



**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ & ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΤΡΟΦΙΜΑ, ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑ
ΧΗΜΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗ**

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Επίδραση τεχνολογικών παραμέτρων κατά τη διαδικασία ελαιοποίησης
στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του ελαιολάδου

Αθηνά Ν. Γριαγγέλου

Επιβλέπουσα καθηγήτρια:

Γαρδέλη Χρυσαιγή, Επίκουρη καθηγήτρια ΓΠΑ

ΑΘΗΝΑ

2024

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ & ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Επίδραση τεχνολογικών παραμέτρων κατά τη διαδικασία ελαιοποίησης
στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του ελαιολάδου

Effect of technological parameters used during the extraction process on
the organoleptic characteristics of olive oil

Αθηνά Ν. Γριαγγέλου

Εξεταστική Επιτροπή:

Γαρδέλη Χρυσαιγή, Επίκουρη καθηγήτρια ΓΠΑ (επιβλέπουσα)

Μαλλούχος Αθανάσιος, Επίκουρος καθηγητής ΓΠΑ

Πανάγου Ευστάθιος, Καθηγητής ΓΠΑ

Επίδραση τεχνολογικών παραμέτρων κατά τη διαδικασία ελαιοποίησης στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του ελαιολάδου

*ΠΜΣ Τρόφιμα, Διατροφή & Υγεία
Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων & Διατροφής του Ανθρώπου
Εργαστήριο Χημείας & Ανάλυσης Τροφίμων*

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το ελαιόλαδο αποτελεί βασικό συστατικό της Μεσογειακής διατροφής, είναι πλούσιο σε μονοακόρεστα λιπαρά οξέα, φαινολικά και βιοδραστικά συστατικά. Η απόδοση σε ελαιόλαδο, η ποιότητα και η σύστασή του εξαρτώνται από ποικίλους παράγοντες, όπως ο βαθμός ωριμότητας των καρπών, η διαδικασία εξαγωγής και η γεωγραφική περιοχή.

Σκοπός της παρούσας έρευνας είναι η μελέτη της επίδρασης διάφορων παραμέτρων κατά τη μάλαξη του ελαιοκάρπου (θερμοκρασία και χρόνος μάλαξης, χρήση τεχνολογικών βοηθημάτων κ.α.) στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του ελαιολάδου και συγκεκριμένα στην πικρή γεύση. Έπειτα από συγκομιδή των ελαιοκάρπων από δυο ελαιώνες (Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών και Καλαμάτα) και ελαιοποίησή τους, έγινε οργανοληπτική αξιολόγηση των δειγμάτων ελαιολάδου που παράχθηκαν από πάνελ δοκιμαστών, προσδιορίστηκε ο δείκτης για το πικρό (Bitter Index) και το ολικό πολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC). Στη συνέχεια συσχετίστηκαν ο δείκτης για το πικρό (Bitter Index) με το ολικό πολικό φαινολικό περιεχόμενο, τη διάμεση τιμή για το πικρό (Median bitter) και τον βαθμό ωριμότητας (Maturity Index) του καρπού κατά τη συλλογή.

Από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων φάνηκε ότι υπάρχει θετική συσχέτιση των παραπάνω και ότι η προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων κατά τη μάλαξη επιδρούν θετικά στην διαμόρφωση της πικρής γεύσης.

Επιστημονική περιοχή: Ελαιόλαδο

Λέξεις κλειδιά: οργανοληπτική αξιολόγηση, φαινολικά συστατικά, Bitter Index

Effect of technological parameters used during the extraction process on the organoleptic characteristics of olive oil

MSc Food Chemistry & Nutrition

Department of Food Science & Human Nutrition

Laboratory of Food Chemistry & Analysis

ABSTRACT

Olive oil is a key component of the Mediterranean diet, rich in monounsaturated fatty acids, phenolic and bioactive ingredients. The yield in olive oil, its quality and composition depend on a variety of factors, such as the maturity index, the extraction process, and the geographical area.

The purpose of this research is to study the effect of various parameters during malaxation of the olive fruit (temperature and malaxation time, the addition of technological coadjuvants etc.) on the organoleptic characteristics of olive oil and specifically on the bitter taste. After harvesting the olives from two olive groves (Agricultural University of Athens and Kalamata) and extracting their oil, organoleptic evaluation of the olive oil samples produced was performed, the indicator for bitter (Bitter Index) and the total polar phenolic content (TPC) were determined. The Bitter Index was then correlated with the total polar phenolic content, the median for the Median bitter and the stage of maturity (Maturity Index).

The statistical processing of the results showed that there is a positive correlation of the above and that the addition of technological coadjuvants during malaxation has a positive effect on bitterness.

Scientific area: Olive oil

Keywords: organoleptic assessment, phenolic compounds, Bitter Index

Ευχαριστίες

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την επιβλέπουσα καθηγήτρια κ. Γαρδέλη Χρυσουγή (Επίκουρη καθηγήτρια ΓΠΑ) για την ανάθεση του συγκεκριμένου θέματος, την καθοδήγηση, τις καίριες παρατηρήσεις και την υποστήριξη της καθ' όλη την διάρκεια της εκπόνησής της.

Ευχαριστώ θερμά τον κ. Α. Μαλλούχο και τον κ. Ε. Πανάγου, μέλη της εξεταστικής επιτροπής, για την ανάγνωση της διατριβής.

Επίσης, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην Δρ. Κανδυλιάρη Αικατερίνη, στην κ. Παπαντώνη Άρτεμις για την πολύτιμη βοήθεια και τις συμβουλές τους καθ' όλη την διάρκεια της πειραματικής πορείας, και στους συμφοιτητές μου για την εξαιρετική συνεργασία.

Ευχαριστώ την διοίκηση του ΙΙΕΚ ΑΛΦΑ Πειραιά για την παρότρυνση και τους συναδέλφους μου που έγιναν αρωγοί, ώστε να μπορέσω να συνδυάσω εργασία και σπουδές.

Ευχαριστώ και ευγνωμονώ την οικογένειά μου που στάθηκαν δίπλα μου και σε αυτό το βήμα μου.

Τέλος, η έναρξη και η ολοκλήρωση του Μεταπτυχιακού Προγράμματος δεν θα ήταν εφικτή χωρίς την ενθάρρυνση και την υπομονή του συντρόφου μου Αγγελάκαρου Παναγιώτη, τον οποίο ευχαριστώ από καρδιάς.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	3
ABSTRACT.....	4
<i>Ευχαριστίες</i>	5
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ	7
ΠΙΝΑΚΕΣ	8
ΣΧΗΜΑΤΑ	9
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	10
1.1 ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ.....	10
1.2 Εξαγωγή ελαιολάδου	11
1.3 Χημική σύσταση ελαιολάδου.....	15
1.4 Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά ελαιολάδου-μέθοδος ταξινόμησης	18
2. ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΕΛΑΙΟΚΑΡΠΟΥ.....	23
2.1 Φαινολικές ενώσεις και γεύση ελαιολάδου	28
2.2 Παραλαβή του φαινολικού κλάσματος.....	32
3. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΑΛΑΞΗΣ ΣΤΑ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ	34
3.1 Επίδραση χρόνου και θερμοκρασίας μάλαξης	34
3.2 Επίδραση προσθήκης τεχνολογικών βοηθημάτων (ταλκ, αλάτι) και ποσότητας νερού στη μάλαξη35	
4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	39
4.1 Σκοπός έρευνας.....	39
4.2 Δείγματα και Βαθμός ωριμότητας (Maturity Index).....	40
4.2.1 Δείγμα ελαιοκάρπου	40
4.2.2 Βαθμός ωριμότητας ελαιοκάρπων (Maturity Index)	40
4.3 Ελαιοποίηση	42
4.4 Οργανοληπτική αξιολόγηση ελαιολάδου (γευστική δοκιμή)	44
4.5 Bitter Index	47
4.6 Προσδιορισμός ολικού φαινολικού κλάσματος ελαιολάδου (δοκιμή Folin-Ciocalteu).....	49
4.7 Στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων	52
5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	53
5.1 Βαθμός ωριμότητας ελαιοκάρπων (Maturity Index)	53
5.2 Απόδοση ελαιολάδου και Βαθμός Ωριμότητας (Maturity index).....	55
5.3 Οργανοληπτική αξιολόγηση για το πικρό (Median bitter)	57
5.4 Ένταση του πικρού (Bitter Index)	59
5.5 Συσχέτιση Bitter Index και του Βαθμού ωριμότητας (Maturity Index)	61
5.6 Συσχέτιση Bitter Index και οργανοληπτικής αξιολόγησης (Median bitter)	64
5.7 Ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC).....	66
5.8 Συσχέτιση Bitter Index και ολικού πολικού φαινολικού κλάσματος (TPC).....	70
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	72

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

BI: Bitter Index

DHPEA: dihydroxyphenyl-ethanol

EFSA: European Food Safety Authority

EVOO: Extra Virgin Olive Oil

F-C: Folin-Ciocalteu

IOC: International Olive Council

Mb: Median bitter

MI: Maturity Index

MUFA: Monounsaturated fatty acids

POD: Peroxidase

PPO: Polyphenol oxidase

PUFA: Polysaturated fatty acids

p-HPEA: p-hydroxyphenyl-ethanol

TPC: Total Phenolic Compound

VOO: Virgin Olive Oil

ΠΙΝΑΚΕΣ

Πίνακας 1.1: Σύσταση ελαιολάδου σε κύρια λιπαρά οξέα, σύμφωνα με τον Διεθνές Συμβούλιο Ελαιοκομίας (IOOC). (πηγή: IOC, COI/T.15/NC No 3/Rev. 19).....	16
Πίνακας 1.2: Εκφράσεις που χρησιμοποιούνται ανάλογα με τη διάμεση τιμή (Median, Me) στα πιστοποιητικά οργανοληπτικής δοκιμής.	20
Πίνακας 1.3: Κατάταξη του ελαιολάδου, ανάλογα με την διάμεση τιμή των ελαττωμάτων και την διάμεση τιμή του φρουτώδους (Median of fruitiness).....	21
Πίνακας 5.1: Βαθμός ωριμότητας (Maturity Index) 1 ^{ου} δείγματος ελαιοκάρπων (συγκομιδή αρχές Ιανουαρίου).	53
Πίνακας 5.2: Βαθμός ωριμότητας (Maturity Index) 2 ^{ου} δείγματος ελαιοκάρπων (συγκομιδή αρχές Ιανουαρίου).	54
Πίνακας 5.3: Απόδοση 2 ^{ου} δείγματος ελαιοκάρπων σε ελαιόλαδο έπειτα από μάλαξη στους 30°C για 30min, με προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων και διαφορετικών ποσοτήτων νερού.	56
Πίνακας 5.4: Απόδοση 1 ^{ου} δείγματος ελαιοκάρπων σε ελαιόλαδο έπειτα από μάλαξη με προσθήκη νερού (200mL).....	56
Πίνακας 5.5: Διάμεση τιμή για το πικρό (Median bitter) των δειγμάτων ελαιολάδου που παράχθηκαν με συνθήκες μάλαξης 30°C για 30min, προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων και διαφορετικών ποσοτήτων νερού.	58
Πίνακας 5.6: Διάμεση τιμή για το πικρό (Median bitter) των δειγμάτων ελαιολάδου που παράχθηκαν με προσθήκη νερού (200mL) κατά τη μάλαξη.....	58
Πίνακας 5.7: Ένταση του πικρού (Bitter index) των δειγμάτων ελαιολάδου που παράχθηκαν με συνθήκες μάλαξης 30°C για 30min, με προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων και διαφορετικών ποσοτήτων νερού.	60
Πίνακας 5.8: Ένταση του πικρού (Bitter index) των δειγμάτων ελαιολάδου που παράχθηκαν με προσθήκη νερού (200mL) κατά τη μάλαξη.....	61
Πίνακας 5.9: Βαθμός ωριμότητας (MI=3,57) των ελαιοκάρπων και ένταση του πικρού (Bitter Index) των δειγμάτων ελαιολάδου που παράχθηκαν σε συνθήκες μάλαξης 30 °C για 30min, με προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων και διαφορετικών ποσοτήτων νερού.....	62
Πίνακας 5.10: Βαθμός ωριμότητας (MI=1,47) των ελαιοκάρπων και ένταση του πικρού (Bitter Index) των δειγμάτων ελαιολάδου που παράχθηκαν με προσθήκη νερού (200mL) κατά τη μάλαξη.	63
Πίνακας 5.11: Η ένταση του πικρού (BI) και η διάμεση τιμή του πικρού (Median bitter) των δειγμάτων ελαιολάδου που παράχθηκαν με συνθήκες μάλαξης 30°C για 30min, με προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων και διαφορετικών ποσοτήτων νερού.	65
Πίνακας 5.12: Η ένταση του πικρού (BI) και η διάμεση τιμή του πικρού (Median bitter) των δειγμάτων ελαιολάδου που παράχθηκαν με προσθήκη νερού (200mL) κατά τη μάλαξη.	65
Πίνακας 5.13: Συγκεντρώσεις καφεϊκού οξέος προτύπων διαλυμάτων και απορρόφηση.....	66
Πίνακας 5.14: Ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC) των δειγμάτων ελαιολάδου που παράχθηκαν με συνθήκες μάλαξης 30°C για 30min, με προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων και διαφορετικών ποσοτήτων νερού.	68
Πίνακας 5.15: Ολικό πολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC) των δειγμάτων ελαιολάδου που παράχθηκαν με προσθήκη νερού (200mL) κατά τη μάλαξη.	69
Πίνακας 5.16: Η ένταση του πικρού (Bitter Index) και το ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC) των δειγμάτων ελαιολάδου που παράχθηκαν με συνθήκες μάλαξης 30°C για 30min, με προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων και διαφορετικών ποσοτήτων νερού.....	71
Πίνακας 5.17: Η ένταση του πικρού (Bitter Index) και το ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC) των δειγμάτων ελαιολάδου που παράχθηκαν με προσθήκη νερού (200mL) κατά τη μάλαξη.	71

ΣΧΗΜΑΤΑ

Σχήμα 1.1: Διάγραμμα ροής ελαιολάδου, (α)3-φάσεων, (β)2-φάσεων. (πηγή: Kalogianni et al., 2019)	14
Σχήμα 1.2: Χημικές δομές κύριων λιπαρών οξέων ελαιολάδου. (πηγή: Di Pietro et al., 2020)	16
Σχήμα 1.3: Χημικές δομές α, β, γ και δ- τοκοφερόλης. (πηγή: Smolarek & Suh, 2011)	17
Σχήμα 1.4: Ποτήρι δοκιμών. (πηγή: Shaker MA 2020)	18
Σχήμα 1.5: Φύλλο χαρακτηρισμού παρθένου ελαιολάδου.	19
Σχήμα 1.6: Απεικόνιση της περιοχής της γλώσσας όπου γίνεται αντιληπτή η πικρή γεύση. (πηγή: Cavallo et al., 2019)	22
Σχήμα 2.1: Χημικές δομές φαινολικών συστατικών που περιέχονται στο ελαιόλαδο. (πηγές: Amiot-Carlin et al., 2014, Tuck & Hayball 2002, Ghanbari et al., 2012)	24
Σχήμα 2.2: Α) μεθυλακετάλη της αγλυκόνης του λιγκστροσιδίου (methyl acetal of the aglycone of ligstroside), Β) εστέρας υδροξυτυροσόλης με το μεθυλο-μηλικό οξύ (hydroxytyrosol ester of methyl malate). (πηγή: Boskou 2015)	25
Σχήμα 2.3: Χημικές δομές βιοφαινολών ελαιολάδου. (πηγές: Boskou 2015, 2006, Malheiro et al., 2015, López-Yerena et al., 2020, Peyrot des Gachons et al., 2021)	26
Σχήμα 2.4: Υδρόλυση της ελευρωπαΐνης. (πηγή: Johnson et al., 2018)	28
Σχήμα 2.5: Χημικές δομές φαινολικών ενώσεων και επίδραση στη γεύση. (πηγή: Genovese et al., 2021)	29
Σχήμα 2.6: Χημικές δομές φαινολικών ενώσεων υπεύθυνων για την πικρή γεύση. (πηγή: Boskou, 2006)	30
Σχήμα 4.1: Κατηγοριοποίηση των καρπών για τον υπολογισμό του βαθμού ωριμότητας (Maturity Index).	41
Σχήμα 4.2: Δοχεία μάλαξης και ογκομετρικοί κύλινδροι.	43
Σχήμα 4.3: Μάλαξη ελαιόπαστας σε ελαιοποιητή Abencor mc2.	43
Σχήμα 4.4: Χρήση κλίμακας αναφοράς 10cm, για την ανίχνευση χαρακτηριστικών από την ρινική οδό. (πηγή: IOC, COI/T.20/Doc. No 14/Rev. 7)	44
Σχήμα 4.5: Φύλλο χαρακτηρισμού παρθένου ελαιολάδου.	46
Σχήμα 4.6: Διαδικασία εκχύλισης (SPE) σε συσκευή κενού και μικροστήλη Chromabond C18.	48
Σχήμα 4.7: Πρότυπο διάλυμα εργασίας καφεϊκού οξέος (1000μg/mL) και διαλύματα βαθμονόμησης (10,14, 20,28, 40,56, 60,84 και 81,12 μg/mL).	50
Σχήμα 4.8: Αναγωγή μολυβδαίνιου και δημιουργία συμπλόκου κυανού χρώματος.	51
Σχήμα 5.1: Διάγραμμα διασποράς για τη συσχέτιση της διάμεσης τιμής του πικρού (Median bitter) και της έντασης του πικρού (Bitter Index).	64
Σχήμα 5.2: Πρότυπη καμπύλη αναφοράς καφεϊκού οξέος.	66
Σχήμα 5.3: Διάγραμμα διασποράς για τη συσχέτιση της έντασης του πικρού (Bitter Index) με το ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC).	70

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ

Το έλαιο που λαμβάνεται από τους καρπούς της ελιάς *Olea europaea* με μηχανικές ή φυσικές μεθόδους χαρακτηρίζεται ως ελαιόλαδο και ανάλογα με τον τρόπο επεξεργασίας του διακρίνεται σε παρθένο, εξευγενισμένο ή ραφινέ (Κώδικας Τροφίμων και Ποτών, Άρθρο 71). Το δέντρο *Olea europaea* καλλιεργείται κυρίως σε χώρες της Μεσογείου, όπως η Ισπανία, η Ιταλία και η Ελλάδα (Romani *et al.*, 2019) και χρησιμοποιείται για την παραγωγή ελαιολάδου, επιτραπέζιας ελιάς και άλλων προϊόντων. Ο καρπός αποτελείται από 3 μέρη: την επιδερμίδα, το μεσοκάρπιο (70-80% σε έλαιο) και το ενδοκάρπιο (15-25%). Η σύσταση του καρπού είναι 50% νερό, 18-25% λιπαρές ύλες, 20% υδατάνθρακες, 6% κυτταρίνη, 1,5% πρωτεΐνες και 1,5% τέφρα (Calabriso *et al.*, 2015).

Το ελαιόλαδο αποτελεί κύρια πηγή της Μεσογειακής Διατροφής και η κατανάλωσή του σχετίζεται με τη πρόληψη ασθενειών, όπως καρδιαγγειακών παθήσεων και είδη καρκίνων, εξαιτίας της αντιοξειδωτικής του δράσης (Vekiaris *et al.*, 2010). Αποτελείται κατά 98% από τριακυλογλυκερόλες, είναι πλούσιο σε μονοακόρεστα λιπαρά οξέα (MUFA), κυρίως ελαϊκό οξύ (C18:1), και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA), όπως λινελαϊκό (C18:2) και λινολενικό οξύ (C18:3). Λόγω της υψηλής περιεκτικότητας σε πολυφαινόλες, το ελαιόλαδο έχει λάβει ισχυρισμό υγείας από την Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια Τροφίμων (EFSA). Συγκεκριμένα, ο ισχυρισμός χρησιμοποιείται όταν το ελαιόλαδο περιέχει τουλάχιστον 5mg υδροξυτυροσόλης και παράγωγά της (τυροσόλη και ελευρωπαΐνη) ανά 20g ελαιολάδου. Ακόμα, οι πολυφαινόλες συνεισφέρουν στην οξειδωτική σταθερότητα του παρθένου ελαιολάδου (VOO).

Τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του ελαιολάδου εξαρτώνται από ποικίλους παράγοντες, όπως η γεωγραφική περιοχή, οι κλιματικές συνθήκες, η ποικιλία, η ελαιοποίηση, αλλά και η ωριμότητα του καρπού κατά την συγκομιδή.

1.2 Εξαγωγή ελαιολάδου

Η παραγωγική διαδικασία του ελαιολάδου επηρεάζει την ποιότητά του και περιλαμβάνει τα στάδια της συγκομιδής, το πλύσιμο των καρπών, την άλεση, την μάλαξη της ελαιόπαστας, την φυγοκέντριση, την αποθήκευση και την διήθηση. Για την παραγωγή υψηλής ποιότητας ελαιολάδου η συγκομιδή πρέπει να γίνεται χειρωνακτικά, προς αποφυγή καταπόνησης του καρπού και η επεξεργασία να πραγματοποιείται εντός 12 έως 24 ωρών από τη συγκομιδή (Calabriso *et al.*, 2015).

Παλαιότερα, η εξαγωγή του ελαιολάδου γινόταν σε παραδοσιακούς πετρόμυλους και η διαδικασία της σύνθλιψης των καρπών διαρκούσε από 20 έως 30min. Τα πλεονεκτήματα της παραδοσιακής μεθόδου αποτελούν η μεγάλη απόδοση σε ελαιόλαδο, η μείωση των παραγόμενων λυμάτων, η χαμηλή περιεκτικότητα σε υγρασία του ελαιολάδου, ο φθηνός εξοπλισμός, και η εύκολη εκχύλιση του ελαιολάδου λόγω της μικρής πιθανότητας σχηματισμού γαλακτωμάτων. Ωστόσο, εξαιτίας του υψηλού κόστους λόγω αυξημένων εργατικών αναγκών και της ασυνεχούς λειτουργίας, οι παραδοσιακοί πετρόμυλοι αντικαταστάθηκαν από σφυρόμυλους. Στους μεταλλικούς σφυρόμυλους, οι οποίοι έχουν τη δυνατότητα συνεχούς λειτουργίας, μεταλλικοί βραχίονες περιστρέφονται με μεγάλη ταχύτητα με αποτέλεσμα να γίνεται η σύνθλιψη των καρπών σε σύντομο χρονικό διάστημα. Πλεονεκτεί λόγω της μεγάλης απόδοσης, του χαμηλού κόστους και της εντονότερης γεύσης του παραγόμενου ελαιολάδου. Ωστόσο, ευνοεί τη δημιουργία γαλακτωμάτων και την αύξηση της θερμοκρασίας της ελαιόπαστας. Τα στάδια παραλαβής του ελαιολάδου περιγράφονται στη συνέχεια:

- *Πλύσιμο των ελαιόκαρπων*: μετά την συγκομιδή οι ελαιόκαρποι πλένονται προκειμένου να απομακρυνθούν ξένες ύλες, όπως χώμα, πέτρες και φύλλα, τα οποία μπορεί να επηρεάσουν την ποιότητα του τελικού προϊόντος.
- *Άλεση ελαιοκάρπου*: σε αυτό το στάδιο γίνεται το σπάσιμο των ιστών και απελευθέρωση των σταγονιδίων του ελαίου που βρίσκονται στα κενοτόπια των φυτικών κυττάρων. Η επιλογή του εξοπλισμού για τη σύνθλιψη των καρπών επηρεάζει την ποιότητα του ελαιολάδου. Έρευνες έδειξαν (Caronio *et al.*, 1999, Veillet *et al.*, 2009) ότι η χρήση σφυρόμυλων έναντι των παραδοσιακών πετρόμυλων οδηγεί σε ελαιόλαδο με μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε φαινολικά

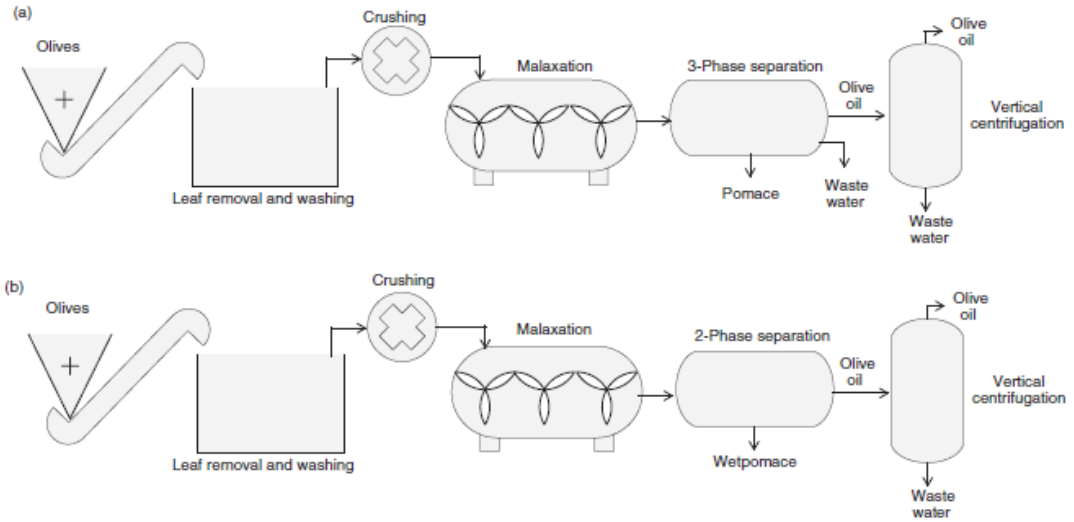
συστατικά και μεγαλύτερη οξειδωτική σταθερότητα ελαιολάδου, αλλά αυξάνει τη θερμοκρασία της ελαιόπαστας με αποτέλεσμα ευνοεί την οξείδωσή του. Στην περίπτωση του σφυρόμυλου, το μέγεθος των οπών και η ταχύτητα περιστροφής, επηρεάζουν την ποιότητα του τελικού προϊόντος. Συγκεκριμένα, σφυρόμυλος με μικρές οπές και μεγάλη ταχύτητα, αυξάνουν την τελική περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά και την πικρή γεύση του ελαιολάδου. Επιπλέον, η παρουσία οξυγόνου και η θερμοκρασία που αναπτύσσεται κατά την άλεση διαμορφώνουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του παραγόμενου ελαιολάδου. Έρευνες έδειξαν ότι η συντήρηση με ψύξη (6°C) των ελαιόκαρπων πριν την άλεση οδήγησε σε μεγαλύτερη περιεκτικότητα φαινολικών.

- *Μάλαξη*: οι μαλακτήρες που χρησιμοποιούνται είναι συνήθως οριζόντιοι και αποτελούνται από δεξαμενή, η οποία περιέχει νερό με ελεγχόμενη θερμοκρασία (από 20 έως 35°C), και περιστρεφόμενους βραχίονες με λεπίδες. Κατά τη διαδικασία της μάλαξης, γίνεται ταυτόχρονη θέρμανση και ανάδευση (από 20 έως 30rpm) της ελαιόπαστας από 30 έως 45min. Θερμοκρασίες άνω των 30°C μπορεί να προκαλέσουν απώλεια σε πτητικά συστατικά και αύξηση της πικρής και στυφής γεύσης. Στο στάδιο της μάλαξης, μικρά σταγονίδια ελαιολάδου συνενώνονται σε μεγάλες σταγόνες και μειώνεται ο σχηματισμός γαλακτώματος τύπου λάδι-σε-νερό. Ακόμη, λαμβάνουν χώρα χημικές και ενζυματικές αντιδράσεις (οξείδωση, υδρόλυση), οι οποίες διαμορφώνουν την τελική χημική σύσταση του ελαιολάδου και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του. Η αποτελεσματικότητα της μάλαξης εξαρτάται από τα ρεολογικά χαρακτηριστικά της ελαιόπαστας, τον χρόνο και την θερμοκρασία μάλαξης.
- *Φυγοκέντριση*: παλαιότερα, η διαδικασία διαχωρισμού του ελαιολάδου γινόταν με συμπίεση, στις σύγχρονες μεθόδους ο διαχωρισμός του ελαιολάδου από το στερεό φυτικό μέρος και τα φυτικά υγρά γίνεται με οριζόντια φυγοκέντριση δύο ή τριών φάσεων (Σχήμα 1.1). Στην οριζόντια φυγοκέντριση προστίθεται νερό για την αραίωση της ελαιόπαστας, ώστε να διευκολυνθεί ο διαχωρισμός. Στην φυγοκέντριση δύο φάσεων, προστίθεται λίγο ή καθόλου νερό, δεν παράγονται υγρά απόβλητα και οι δύο φάσεις (ελαιόλαδο και ελαιοπυρήνας) έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε υγρασία. Στην φυγοκέντριση τριών φάσεων προστίθεται νερό και οι παραγόμενες φάσεις είναι τρεις:

ελαιόλαδο, ελαιοπυρήνας και υγρά απόβλητα. Η φυγοκέντριση πλεονεκτεί σε σχέση με παλαιότερες μεθόδους, διότι είναι συνεχής διαδικασία και το παραγόμενο ελαιόλαδο διαθέτει υψηλή οξειδωτική σταθερότητα λόγω της αυξημένης συγκέντρωσης φαινολικών συστατικών (διφασικά συστήματα). Μελέτες έδειξαν (Amirante *et al.*, 2010, Caronio *et al.*, 2014) υψηλή οξειδωτική σταθερότητα, υψηλή περιεκτικότητα σε φαινόλες και πτητικές ενώσεις, έπειτα από φυγοκέντριση 2 φάσεων.

- *Κάθετη φυγοκέντριση και παραλαβή ελαιολάδου:* με την κάθετη φυγοκέντριση επιτυγχάνεται διαχωρισμός του υπολειπόμενου νερού και των στερεών από το ελαιόλαδο. (Calabriso *et al.*, 2015, Kalogianni, Georgiou & Hasanov, 2019).
- *Διήθηση:* μετά την φυγοκέντριση, το ελαιόλαδο παρουσιάζει θολερότητα εξαιτίας της παρουσίας αιωρούμενων στερεών από τον ελαιόκαρπο και σταγονιδίων νερού. Το νερό ενδέχεται να περιέχει ένζυμα υπεύθυνα για την οξείδωση και υδρόλυση των φαινολών, μερικά από τα οποία προσροφώνται στο σημείο επαφής νερού-ελαίου. Πριν την εμφιάλωση του ελαιολάδου είτε αφήνεται σε δεξαμενές προκειμένου τα καθιζάνουν τα σταγονίδια νερού και τα αιωρούμενα στερεά ή διηθείται. Η βιβλιογραφία αναφέρει (Fortini *et al.*, 2016, Jabeur *et al.*, 2017) ότι με την διήθηση μειώνονται τα αιωρούμενα στερεά και η θολερότητα. Όσον αφορά στην επίδραση της διήθησης στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του ελαιολάδου, έρευνα έδειξε μικρή ή μεγάλη μείωση στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο, μικρή αύξηση τοκοφερολών και μείωση των καρτενοειδών (Jabeur *et al.*, 2017). Η διήθηση μπορεί να οδηγήσει σε ελαιόλαδο με χαμηλή περιεκτικότητα σε φαινολικά και χαμηλή οξειδωτική σταθερότητα (Papadimitriou *et al.*, 2013, Tsimidou *et al.*, 2005). Επίσης παρατηρήθηκε ελαφρά μείωση της φρουτώδους γεύσης όσο και του πικρού και του πικάντικου (Veneziani *et al.*, 2018).
- *Αποθήκευση:* το ελαιόλαδο αποθηκεύεται σε δεξαμενές ή βαρέλια, το εσωτερικό των οποίων πρέπει να είναι κατασκευασμένο από αδρανές υλικό ώστε να μην απορροφά οσμές ή ουσίες που ενδέχεται να προκαλέσουν την οξείδωση. Επιπλέον, φυλάσσεται σε εσωτερικούς χώρους ώστε να προστατεύεται από τον αέρα και την διακύμανση της θερμοκρασίας. Οι δεξαμενές από ανοξείδωτο χάλυβα θεωρούνται ιδανικές για την αποθήκευση

του ελαιολάδου ενώ η οξειδωτική προστασία ενισχύεται από την παρουσία ατμόσφαιρας αζώτου (Boskou 2006).



Σχήμα 1.1: Διάγραμμα ροής ελαιολάδου, (α)3-φάσεων, (β)2-φάσεων. (πηγή: Kalogianni et al., 2019)

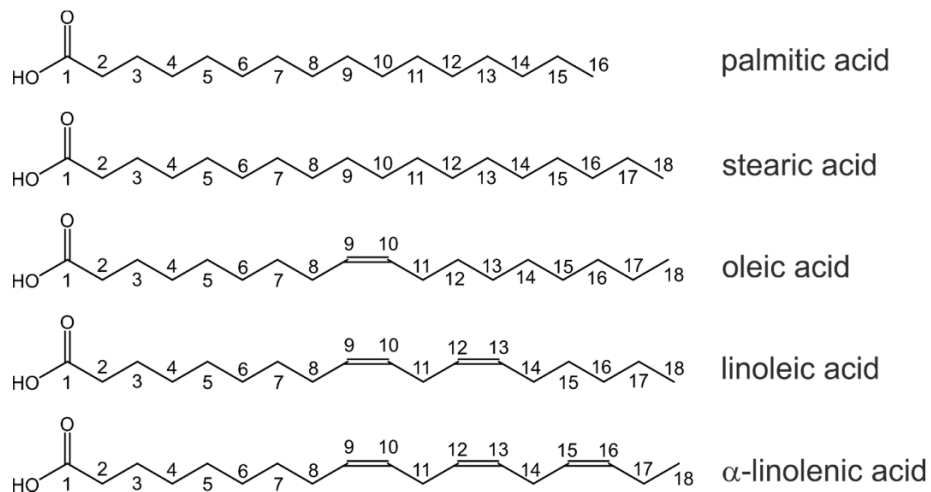
1.3 Χημική σύσταση ελαιολάδου

Τόσο οι καρποί της ελιάς όσο και το ελαιόλαδο χρησιμοποιούνται σε τομείς, όπως η ιατρική, η φαρμακευτική και η βιομηχανία καλλυντικών λόγω των ωφέλιμων συστατικών που διαθέτουν (Bonvino *et al.*, 2018, Romani *et al.*, 2019).

Το ελαιόλαδο αποτελείται κυρίως από τριακυλογλυκερόλες (~99%) και ελεύθερα λιπαρά οξέα (μονο- και δι- ακυλογλυκερόλες), το είδος των οποίων εξαρτάται από τον τύπο του ελαιολάδου (παρθένο, εξαιρετικά παρθένο, μίγμα εξευγενισμένου με παρθένο) και τις συνθήκες αποθήκευσης. Επιπλέον, περιέχει λιπίδια όπως υδρογονάνθρακες, στερόλες, τοκοφερόλες, αλειφατικές αλκοόλες και χρωστικές, φαινολικά και πτητικά συστατικά. Αναφέρεται ότι στο παρθένο ελαιόλαδο (VOO) οι δι-ακυλογλυκερόλες (1- 2,8%) υπερिशύουν έναντι των μονο-ακυλογλυκερολών (<0,25%). Οι ελαιόκαρποι περιέχουν ανθοκυανίνες, φλαβονόλες, φλαβόνες, φαινολικά οξέα και ελευρωπαΐνη.

Τα λιπαρά οξέα του ελαιολάδου αποτελούνται κυρίως από παλμιτικό οξύ (C16:0), στεατικό (C18:0), παλμιτελαϊκό οξύ (C16:1), ελαϊκό οξύ (C18:1), λινελαϊκό οξύ (C18:2) και α-λινολενικό οξύ (C18:3) (Σχήμα 1.2), ενώ περιέχονται σε ίχνη μυριστικό οξύ (C14:0) και η περιεκτικότητα εξαρτάται από την ποικιλία, το στάδιο ωριμότητας και τη σύσταση του εδάφους. Στο παρθένο ελαιόλαδο (VOO) η περιεκτικότητα σε ελαϊκό ποικίλει από 55-83% και η περιεκτικότητα σε λινελαϊκό ποικίλει από 3,5-21% (Gertz *et al.*, 2000) (Πίνακας 1.1).

Καθώς ωριμάζει ο καρπός σχηματίζεται πρώτα το ελαϊκό οξύ, το οποίο ανταγωνίζεται με το παλμιτικό, παλμιτελαϊκό και λινολεϊκό οξύ. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι οι ελαιόκαρποι από μεσογειακές χώρες (Ελλάδα, Ιταλία, Ισπανία) έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε ελαϊκό οξύ και χαμηλή περιεκτικότητα σε λινελαϊκό και παλμιτικό οξύ, ενώ ελαιόλαδα προερχόμενα από την Τυνησία έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε λινελαϊκό και παλμιτελαϊκό και χαμηλότερη σε ελαϊκό (Boskou 2006).



Σχήμα 1.2: Χημικές δομές κύριων λιπαρών οξέων ελαιολάδου. (πηγή: Di Pietro et al., 2020)

Πίνακας 1.1: Σύσταση ελαιολάδου σε κύρια λιπαρά οξέα, σύμφωνα με τον Διεθνές Συμβούλιο Ελαιοκομίας (IOOC). (πηγή: IOC, COI/T.15/NC No 3/Rev. 19)

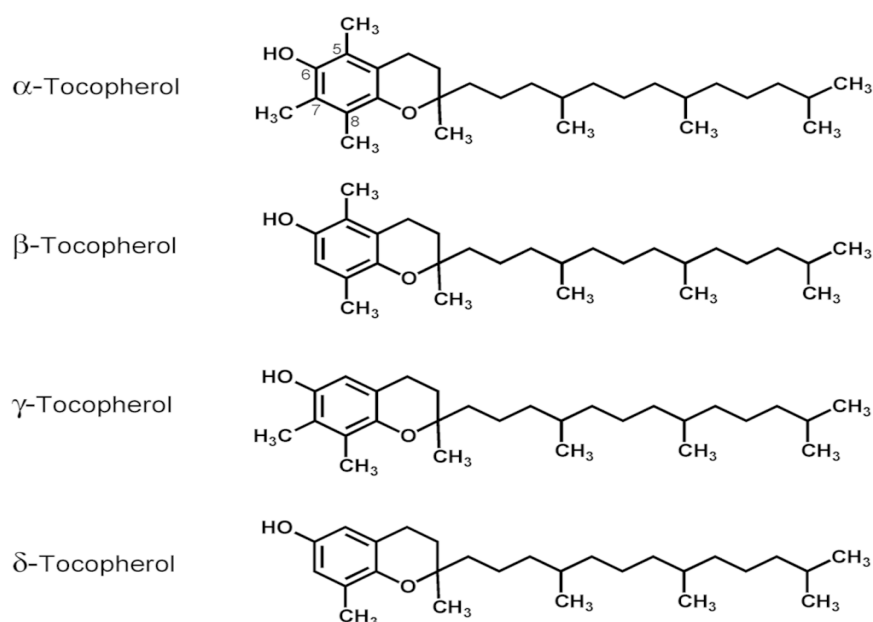
Κύρια Λιπαρά οξέα (Fatty Acids)	% m/m methyl esters (Gas chromatography)
Ελαϊκό C18:1	55,0-85,00
Λινελαϊκό C18:2	2,50-21,00
Λινολενικό C18:3	≤1,00
Παλμιτικό C16:0	7,00-20,00
Παλμιτελαϊκό C16:1	0,30-3,50
Στεατικό C18:0	0,50-5,00

Εκτός από τα κύρια συστατικά, περιέχονται και άλλα σε μικρότερες ποσότητες (<2%), όπως φαινολικά οξέα (p-υδροξυβενζοϊκό, p-κουμαρικό οξύ κ.ά.), φαινολικές αλκοόλες (τυροσόλη p-HPEA και υδροξυτυροσόλη 3,4- DHPEA), σεκοϊριδοειδή (ελευρωπαϊνη, αγλυκόνη της ελευρωπαϊνης, αγλυκόνη του λιγκοτροσιδίου) φλαβονοειδή και λιγνάνες, εξίσου ωφέλιμα για την υγεία (Malheiro R. et al., 2015). Αξιοσημείωτη είναι η αναγνώριση του ελαιολάδου από την Ευρωπαϊκή Αρχή Ασφάλειας Τροφίμων (EFSA) και ο ισχυρισμός υγείας ότι προστατεύει τα λιπίδια του αίματος από το οξειδωτικό stress, λόγω στους παρουσίας φαινολικών συστατικών (υδροξυτυροσόλη και τυροσόλη). Ωστόσο, η σύνθεση των φαινολικών συστατικών διαφέρει ανάμεσα στους διάφορους τύπους ελαιολάδου, διότι εξαρτάται από

κλιματικούς, γενετικούς, περιβαλλοντικούς και αγρονομικούς παράγοντες, την ωρίμανση και το στάδιο συγκομιδής των ελαιόκαρπων (Boskou 2015). Οι πολυφαινόλες σχετίζονται με την οξειδωτική σταθερότητα και την γεύση του παρθένου ελαιολάδου (VOO) (Calabriso *et al.*, 2015).

Άλλα βιοδραστικά συστατικά του ελαιολάδου είναι οι λιποδιαλυτές βιταμίνες, όπως οι τοκοφερόλες (α, β, γ και δ- τοκοφερόλη) (Σχήμα 1.3), οι οποίες συμβάλλουν στην σταθερότητα του ελαιολάδου και η περιεκτικότητά τους ποικίλει από 5 έως 300mg/kg. Η α- τοκοφερόλη περιέχεται σε μεγαλύτερο ποσοστό (95%), ενώ οι β- και γ- τοκοφερόλες περιέχονται σε ποσοστό έως 5%. Μελέτες έδειξαν μεγάλη συγκέντρωση τοκοφερολών σε ελαιόλαδο ποικιλίας Κορωνέικης (άνω των 600mg/kg) (Boskou 2015).

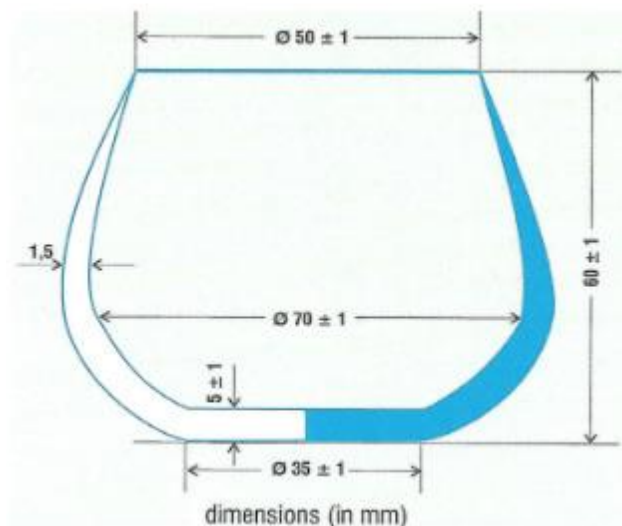
Η θρεπτική αξία του παρθένου ελαιολάδου (VOO) σχετίζεται με την υψηλή περιεκτικότητα σε ελαϊκό οξύ (55-83%), αλλά και την παρουσία ενώσεων με αντιοξειδωτική δράση, όπως τοκοφερόλες (α-τοκοφερόλη), στερόλες (β-στερόλη) και χρωστικές (χλωροφύλλες και καροτενοειδή) (Inarejos-García *et al.*, 2010). Οι χλωροφύλλες και τα καροτενοειδή προσδίδουν το πράσινο χρώμα στις ελιές και εν συνεχεία στο ελαιόλαδο (Rallo *et al.*, 2018).



Σχήμα 1.3: Χημικές δομές α, β, γ και δ- τοκοφερόλης. (πηγή: Smolarek & Suh, 2011)

1.4 Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά ελαιολάδου-μέθοδος ταξινόμησης

Η εμπορική αξία του ελαιολάδου καθορίζεται από τα οργανοληπτικά και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του, σύμφωνα με το Διεθνές Συμβούλιο Ελαιοκομίας. Το Διεθνές Συμβούλιο Ελαιοκομίας (International Olive Council-IOC) έχει θεσπίσει μέθοδο (COI Panel test) για την οργανοληπτική αξιολόγηση του παρθένου ελαιολάδου, σύμφωνα με την οποία ειδικά εκπαιδευμένη ομάδα ατόμων (8 έως 12) καλούνται να διακρίνουν τα θετικά και τα αρνητικά χαρακτηριστικά. Η διεθνής μέθοδος αποσκοπεί στον καθορισμό των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του παρθένου ελαιολάδου και την ταξινόμηση αυτών με βάση την ένταση των ελαττωμάτων και του φρουτώδους. Ο επικεφαλής της ομάδας των δοκιμαστών καλείται να αξιολογήσει τα αποτελέσματα της οργανοληπτικής δοκιμής της ομάδας και να κατατάξει τα ελαιόλαδα σε κατηγορία ποιότητας βασιζόμενος στην ένταση των παραπάνω χαρακτηριστικών (COI/T.20/Doc. No 15/Rev. 10). Η οργανοληπτική αξιολόγηση διεξάγεται σε αίθουσες δοκιμών με συγκεκριμένες προδιαγραφές και τα δείγματα τοποθετούνται σε ειδικά ποτήρια δοκιμών σκούρου μπλε χρώματος (Σχήμα 1.4). Η βαθμολογία σημειώνεται σε φύλλο αξιολόγησης (Σχήμα 1.5)



Σχήμα 1.4: Ποτήρι δοκιμών. (πηγή: Shaker MA 2020)

Ένταση αντίληψη των ελαττωμάτων	
Αποχάδο/Μούργα (*)	
Μουχλιασμένο/νοτισμένο/χωματίλα (*)	
Κρασώδες/ξυδάτο Ξινό/ξητισμένο (*)	
Παγωμένης ελιάς (υγρό ξύλο)	
Ταγγό:	
Άλλες αρνητικές ιδιότητες:	
Περιγραφή:	Μεταλλικό <input type="checkbox"/> Άγουρο <input type="checkbox"/> Σκουλισμασμένο <input type="checkbox"/> Τραχύ Αλμη <input type="checkbox"/> Ψημένο ή καμένο <input type="checkbox"/> Φυτικά υγρά Σπάρτο <input type="checkbox"/> Αγγουρώδες <input type="checkbox"/> Γράσο
(*) Διαγράφεται ό,τι δεν ισχύει.	
Ένταση αντίληψη των θετικών ιδιοτήτων	
Φρουτώδες:	
	Άγουρο <input type="checkbox"/> Ωριμο <input type="checkbox"/>
Πικρό	
Πικάντικο:	
Όνομα του δοκιμαστή:	Κωδικός δοκιμαστή:
Κωδικός δείγματος:	Υπογραφή:

Σχήμα 1.5: Φύλλο χαρακτηρισμού παρθένου ελαιολάδου.

Σύμφωνα με το πρότυπο COI/T.20/Doc. No 4 (Αισθητηριακή Ανάλυση: Γενικό-Βασικό λεξιλόγιο), στα θετικά χαρακτηριστικά ανήκουν οι γεύσεις του πικρού (*bitter*), του πικάντικου (*pungent*) και του φρουτώδους (*fruity*). Οι παράγοντες που ενισχύουν τα παραπάνω χαρακτηριστικά είναι οι καλές πρακτικές κατά τη συγκομιδή και την έκθλιψη του ελαιοκάρπου, η προστασία από εξωτερικούς παράγοντες, όπως το φως, η υψηλή θερμοκρασία, ο αέρας και ο χρόνος αποθήκευσής του. Πιο αναλυτικά, η αίσθηση του φρουτώδους εξαρτάται από την ποικιλία και είναι χαρακτηριστικό των ελαιόλαδων που προέρχονται από φρέσκους, πράσινους και ώριμους ελαιοκάρπους. Το φρουτώδες διακρίνεται σε άγουρο (*Green fruitiness*), όταν το ελαιόλαδο προέρχεται από πράσινες, υγιείς και φρέσκες ελιές και το σύνολο των οσφραντικών αισθήσεων θυμίζει άγουρο φρούτο, και ώριμο (*Ripe fruitiness*), όταν το ελαιόλαδο προέρχεται από υγιείς και φρέσκες ελιές και το σύνολο των οσφραντικών αισθήσεων θυμίζει ώριμο φρούτο. Η αίσθηση του φρουτώδους γίνεται άμεσα αντιληπτή από τη

μύτη ή την οπισθορινική οδό. Η πικρή γεύση του ελαιολάδου γίνεται αντιληπτή από τις γευστικές θηλές της γλώσσας (Σχήμα 1.6), οφείλεται στην παρουσία της ελευρωπαϊνης και είναι χαρακτηριστικό του ελαιολάδου που προέρχεται από πράσινες ελιές. Επιπλέον, η πικάντικη γεύση ή αίσθηση καύσου είναι χαρακτηριστική των ελαιόλαδων που προέρχονται από πράσινες ελιές και γίνεται αντιληπτή σε όλη τη στοματική κοιλότητα, κυρίως στο λαιμό. Οι θετικές ιδιότητες (φρουτώδες, πικρό και πικάντικο), ανάλογα με την ένταση της αντίληψής τους διακρίνονται σε έντονο (*robust*), μεσαίο (*medium*) και ελαφρό (*delicate*), των οποίων οι διάμεσες τιμές υπερβαίνουν το 6, είναι μεταξύ 3 και 6, και μικρότερες του 3, αντίστοιχα (Πίνακας 1.2). Παρθένο ελαιόλαδο με ελαφρό και μεσαίο πικρό είναι αποδεκτό από τους καταναλωτές, ενώ το έντονο πικρό απορρίπτεται (Gutiérrez-Rosales *et al.*, 2003).

Πίνακας 1.2: Εκφράσεις που χρησιμοποιούνται ανάλογα με τη διάμεση τιμή (*Median, Me*) στα πιστοποιητικά οργανοληπτικής δοκιμής.

Έκφραση	Διάμεση τιμή (<i>Median, Me</i>)
Ελαφρό πικρό	$\leq 3,0$
Μεσαίο πικρό	$3,0 < Me \leq 6,0$
Έντονο πικρό	$> 6,0$
Ελαφρό πικάντικο	$\leq 3,0$
Μεσαίο πικάντικο	$3,0 < Me \leq 6,0$
Έντονο πικάντικο	$> 6,0$

Σύμφωνα με το Ειδικό Λεξιλόγιο για το παρθένο ελαιόλαδο (COI/T.20/Doc. No15/Rev.10 2018), στα οργανοληπτικά ελαττώματα περιλαμβάνονται το ατροχάδο/μούργα (*fusty/muddy sediment*), το μουχλιασμένο (*musty*), το μεταλλικό (*metallic*), το ταγγό (*rancid*) και παγωμένης ελιάς/υγρό ξύλο (*frostbitten olives/wet wood*), τα οποία προκύπτουν από κακής ποιότητας ελαιόκαρπο, μη ορθές πρακτικές κατά την παραγωγή και αποθήκευση, αλλά και μεγάλους χρόνους αναμονής μέχρι την ελαιοποίηση (Shaker MA & Besuny MA, 2020). Άλλα οργανοληπτικά ελαττώματα

αποτελούν κρασώδες-ξυδάτο (*winey-vinegary*), η αίσθηση του ψημένου ή καμένου (*heated/burnt*), άχυρο (*hay*), τραχύ (*rough*), γράσο (*greasy*) και άλμη (*brine*).

Η ταξινόμηση του ελαιολάδου σε κατηγορίες ποιότητας γίνεται βάσει της διάμεσης τιμής των ελαττωμάτων και της διάμεσης τιμής του φρουτώδους. Τα ελαιόλαδα κατατάσσονται στις παρακάτω κατηγορίες (Πίνακας 1.3):

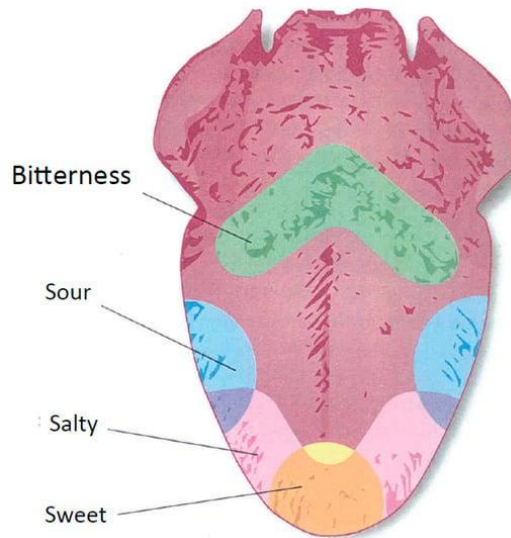
- Εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο (*extra virgin oil*)
- Παρθένο ελαιόλαδο (*virgin oil*)
- Μειονεκτικό (Lampante) παρθένο ελαιόλαδο

Πίνακας 1.3: Κατάταξη του ελαιολάδου, ανάλογα με την διάμεση τιμή των ελαττωμάτων και την διάμεση τιμή του φρουτώδους (*Median of fruitiness*).

Κατηγορία ελαιολάδου	Διάμεση τιμή ελαττωμάτων	Διάμεση τιμή του φρουτώδους (<i>Median of fruitiness</i>)
Εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο	=0,0	>0,0
Παρθένο ελαιόλαδο	0<Me≤3,5	>0,0
Ελαιόλαδο Μειονεκτικό (Lampante)	> 3,5	-----

Ανάλογα με το στάδιο ωριμότητας κατά τη συγκομιδή, τα ελαιόλαδα κατηγοριοποιούνται σε άγουρο (*green*), άγουρο/ώριμο (*green/ripe*) και πλήρως ώριμο (*fully ripe*). Από την πρώιμη συγκομιδή των ελαιόκαρπων εξάγονται ελαιόλαδα με μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά και έντονη πικρή και πικάντικη γεύση. Οι άγουροι/πράσινοι καρποί αποδίδουν μικρότερη ποσότητα ελαιολάδου το οποίο είναι περισσότερο ευαίσθητο στην οξείδωση παρουσία φωτός λόγω της υψηλής περιεκτικότητας σε χλωροφύλλη (φωτοευαίσθητοποιητής). Ελαιόλαδο προερχόμενο από πράσινες ελιές είναι πλούσιο σε υδροξυτυροσόλη και καφεϊκό οξύ. Το ελαιόλαδο με φρουτώδη γεύση (από πράσινες ελιές) οξειδώνεται εύκολα λόγω των $\omega 3$ και $\omega 6$ λιπαρών οξέων με αποτέλεσμα να παρατηρείται μείωση των φαινολικών και αλλαγή της γεύσης (Boustany, 2011). Ωστόσο, η κάθε ποικιλία παρουσιάζει διαφορετικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Ελαιόλαδα προερχόμενα από ελιά ποικιλίας

Κορωνέικης παρουσιάζουν εξαιρετικό άρωμα, φρουτώδη γεύση με μεσαία ένταση πικρού και πικάντικου, στυφό με τόνους από αμύγδαλο, σύκο και φλοιού (Kandyliis *et al.*, 2011).



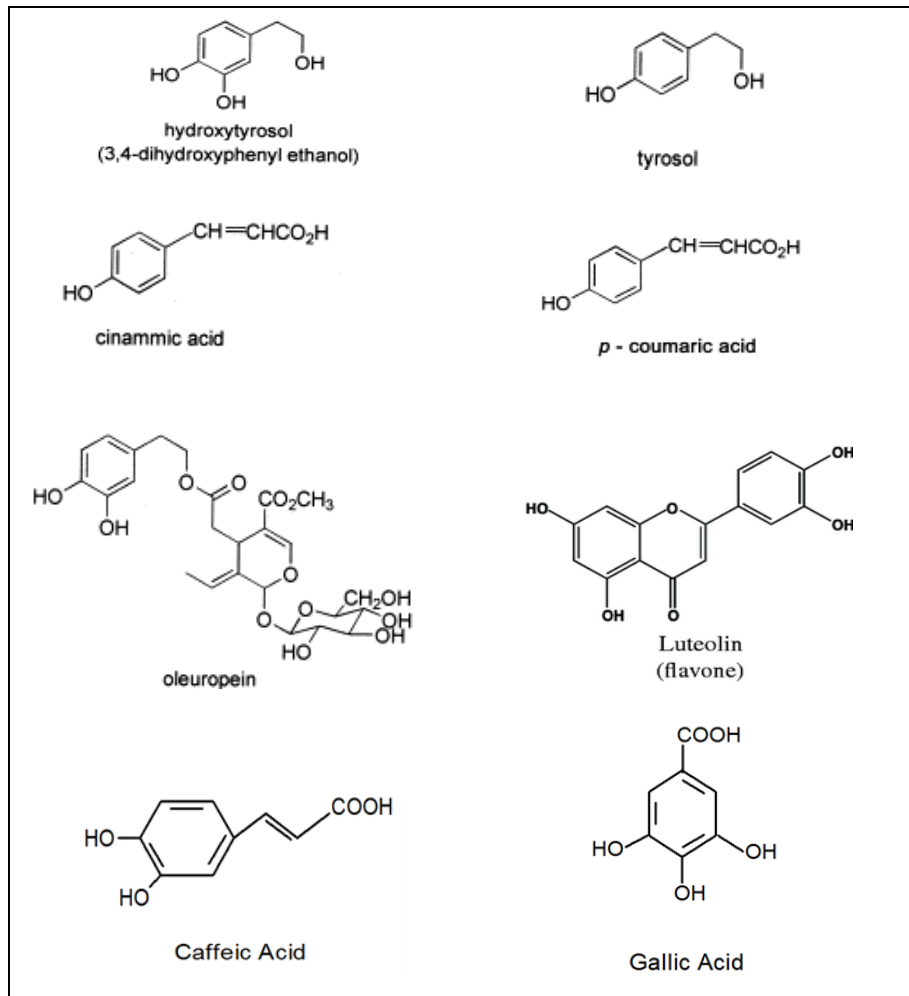
Σχήμα 1.6: Απεικόνιση της περιοχής της γλώσσας όπου γίνεται αντιληπτή η πικρή γεύση. (πηγή: Cavallo *et al.*, 2019)

2. ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΕΛΑΙΟΚΑΡΠΟΥ

Οι πολυφαινόλες είναι κυρίως *ο*-διφαινόλες που συνεισφέρουν στην οξειδωτική σταθερότητα του παρθένου ελαιολάδου (VOO) και η σύνθεσή τους είναι περίπλοκη. Στα κύρια συστατικά τους ανήκουν η τυροσόλη, υδροξυτυροσόλη, απλά φαινολικά οξέα και εστεροποιημένα παράγωγα αυτών (Velasco *et al.*, 2002).

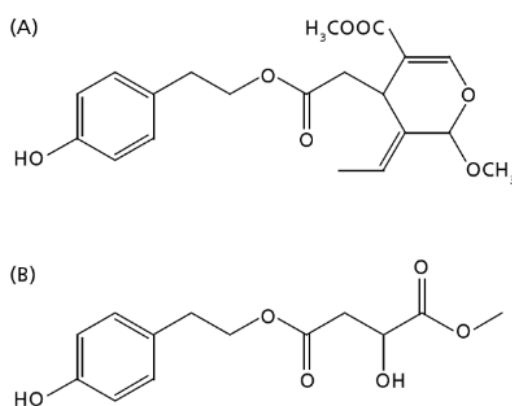
Όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενη παράγραφο, το ελαιόδεντρο της ποικιλίας *Olea europaea* περιέχει σε χαμηλές συγκεντρώσεις 1-2% φαινολικά συστατικά. Στα φύλλα ανευρίσκονται σεκοϊριδοειδή, ελευρωπαΐνη και λιγκστροσίδιο από τα οποία, λόγω χημικής ή ενζυμικής υδρόλυσης παράγονται οι αγλυκόνες τους, όπως αγλυκόνη της ελευρωπαΐνης (3,4-DHPEA-EA), αγλυκόνη του λιγκστροσιδίου (p-HPEA-EA)).

Η υδροξυτυροσόλη ανήκει στις φαινολικές αλκοόλες και ανευρίσκεται κυρίως στον ελαιόκαρπο, στο ελαιόλαδο και στα υποπροϊόντα. Σε μικρότερες συγκεντρώσεις ανευρίσκονται φαινολικά οξέα, όπως γαλλικό οξύ, καφεϊκό οξύ, βανιλικό οξύ, *ο*-κουμαρικό οξύ και *p*-υδροξυβενζοϊκό οξύ, και φλαβονοειδή, όπως λουτεολίνη (Calabriso *et al.*, 2015, Romani *et al.*, 2019) (Σχήμα 2.1).



Σχήμα 2.1: Χημικές δομές φαινολικών συστατικών που περιέχονται στο ελαιόλαδο.
(πηγές: Amiot-Carlin et al., 2014, Tuck & Hayball 2002, Ghanbari et al., 2012)

Οι κύριες φαινολικές ενώσεις του παρθένου ελαιολάδου (VOO) διακρίνονται στα φαινολικά οξέα (υδροξυβενζοϊκό οξύ, υδροξυ-κινναμωμικό οξύ, βανιλικό οξύ, συριγγικό οξύ), τις φαινολικές αλκοόλες και παράγωγά τους (τυροσόλη, υδροξυτυροσόλη, εστέρας υδροξυτυροσόλης με το μεθυλο-μηλικό οξύ), τις λιγνάνες ((+)-1-acetoxypinoresinol, (+)-pinoresinol, syringaresinol), τα φλαβονοειδή (λουτεολίνη, απιγενίνη), τα σεκοϊριδοειδή (ελαιοκανθάλη, ελαιασίνη, ελαιοευρωπαϊνή, p-HPEA-EA) και τα παράγωγα σεκοϊριδοειδών γλυκοζιτών της ελευρωπαϊνης και λιγκστροσιδίου. Σε μικρότερες συγκεντρώσεις ανευρίσκονται ισοχρωμάνες (1-phenyl-6,7-dihydroxy-isochroman, 1-(3' methoxy-4'-hydroxy)phenyl-6,7-dihydroxy-isochroman) (Malheiro *et al.*, 2015) (Σχήμα 2.3). Παλαιότερη έρευνα έδειξε (Bianco *et al.*, 2006) ότι ο εστέρας υδροξυτυροσόλης με το μεθυλο-μηλικό οξύ και η μεθυλακετάλη της αγλυκόνης του λιγκστροσιδίου ευθύνονται για τα χαρακτηριστικά που γίνονται αντιληπτά με τις αισθήσεις στα προϊόντα ελιάς (Σχήμα 2.2). Επιπλέον, περιέχονται και μη φαινολικές ενώσεις (κινναμωμικό οξύ, ελεανολικό οξύ και γλυκοζίτης του ελεανολικού οξέος). Οι φαινόλες και τα φαινολικά οξέα αποτελούν το περισσότερο πολικό κλάσμα του φαινολικού εκχυλίσματος, ενώ στο λιγότερο πολικό ανευρίσκονται η αγλυκόνη της ελαιοευρωπαϊνης και του λιγκστροσιδίου, φλαβόνες, λιγνάνες, ελεανολικό οξύ και κινναμωμικό οξύ (Boskou *et al.*, 2015, 2006).



Σχήμα 2.2: A) μεθυλακετάλη της αγλυκόνης του λιγκστροσιδίου (methyl acetal of the aglycone of ligstroside), B) εστέρας υδροξυτυροσόλης με το μεθυλο-μηλικό οξύ (hydroxytyrosol ester of methyl malate). (πηγή: Boskou 2015)

Φαινολικά οξέα και παράγωγα	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;"> <chem>O=C(O)c1ccc(O)cc1</chem> 4-hydroxybenzoic acid </div> <div style="text-align: center;"> <chem>O=C(O)c1cc(OC)c(O)cc1</chem> vanillic acid </div> <div style="text-align: center;"> <chem>O=C(O)c1cc(OC)c(O)c(OC)c1</chem> syringic acid </div> </div>
Φαινολικές αλκοόλες και παράγωγα	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;"> <chem>OCCc1ccc(O)cc1</chem> Tyrosol (p-HPEA) </div> <div style="text-align: center;"> <chem>OCCc1cc(O)c(O)cc1</chem> Hydroxytyrosol (3,4-DHPEA) </div> </div>
Φλαβονοειδή	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;"> <chem>O=C1C(=C(O)C(=C(O)C1=O)-c2ccc(O)cc2</chem> Apigenin </div> <div style="text-align: center;"> <chem>O=C1C(=C(O)C(=C(O)C1=O)-c2cc(O)c(O)cc2</chem> Luteolin </div> </div>
Λιγνάνες	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;"> <chem>COc1ccc(O)c(c1)-c2oc3c(O)c(OC)cc3o2</chem> Pinoresinol </div> <div style="text-align: center;"> <chem>CC(=O)OC1C(=C(O)C(=C(O)C1=O)-c2ccc(O)c(OC)c2</chem> Acetopinoresinol </div> </div>
Σεκοϊριδοειδή	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;"> <chem>CC(=O)OC1C(=C(O)C(=C(O)C1=O)-C=C</chem> elenolic acid </div> <div style="text-align: center;"> <chem>CC(=O)OC1C(=C(O)C(=C(O)C1=O)-C=C</chem> Oleacein </div> <div style="text-align: center;"> <chem>CC(=O)OC1C(=C(O)C(=C(O)C1=O)-C=C</chem> Oleocanthal </div> </div>
Ισοχρωμάνες	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;"> <chem>Oc1ccc(O)c2c3ccccc3oc21</chem> 1-phenyl-6,7-dihydroxy-isochroman </div> <div style="text-align: center;"> <chem>COc1ccc(O)c2c3ccccc3oc21</chem> 1-(3'methoxy-4'-hydroxy)phenyl-6,7-dihydroxy-isochroman </div> </div>

Σχήμα 2.3: Χημικές δομές βιοφαινολών ελαιολάδου. (πηγές: Boskou 2015, 2006, Malheiro et al., 2015, López-Yerena et al., 2020, Peyrot des Gachons et al., 2021)

Η περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά και η σύνθεση των φαινολικών συστατικών διαφέρει από ελαιόλαδο σε ελαιόλαδο, καθώς εξαρτάται από ποικίλους παράγοντες (ποικιλία ελιάς, κλιματικές συνθήκες, γενετικοί παράγοντες, στάδιο ωριμότητας κατά τη συγκομιδή κ.α.).

Κατά την ωρίμανση των καρπών συμβαίνουν μεταβολικές διεργασίες, οι οποίες επηρεάζουν την σύνθεση των φαινολών. Ελαιόλαδα που παράγονται από ελαιοκάρπους που έχουν συλλεχθεί πρώιμα έχουν υψηλή συγκέντρωση σε φαινολικές ενώσεις, οι οποίες συμβάλλουν στην πικρή και πικάντικη γεύση και στην οξειδωτική σταθερότητα, ενώ σε ελαιόλαδα που προκύπτουν από ώριμους καρπούς παρατηρείται αύξηση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων και μείωση των πολυφαινολών (Velasco *et al.*, 2002, Taticchi *et al.*, 2014, Dag *et al.*, 2011).

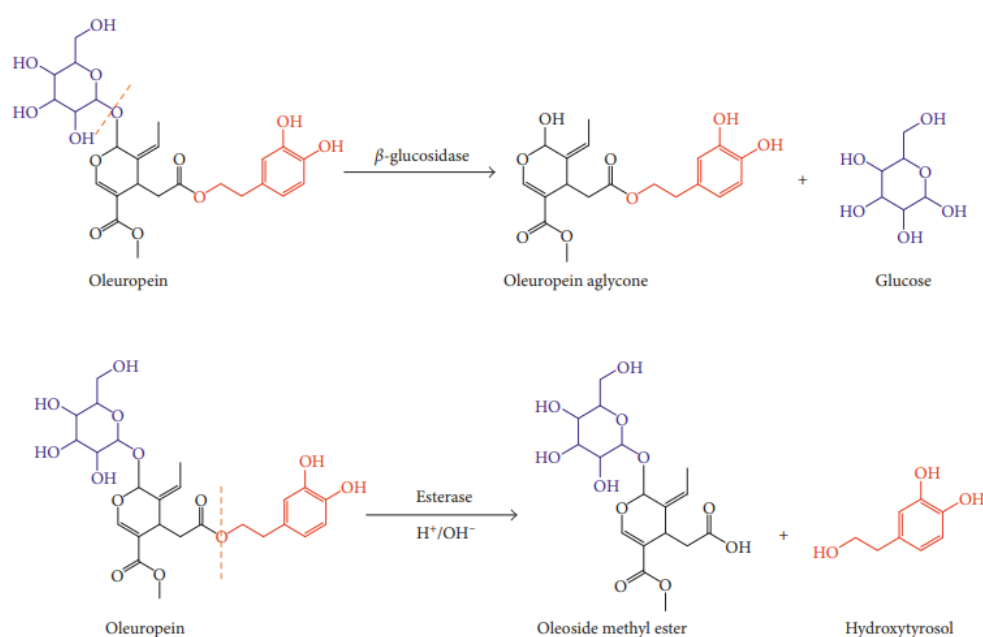
Στα στάδια της σύνθλιψης και μάλαξης των ελαιοκαρπων, συμβαίνει λύση των κυτταρικών ιστών και ενεργοποιούνται ένζυμα (β-γλυκοσιδάσες), τα οποία δρουν επί των φαινολικών συστατικών (Calabriso *et al.*, 2015).

Όσον αφορά την ποικιλία, έρευνες έχουν δείξει ότι το ολικό φαινολικό περιεχόμενο διαφέρει ανάμεσα στις διαφορετικές ποικιλίες ελιάς. Χαρακτηριστικά, το ολικό φαινολικό περιεχόμενο ποικιλίας Κορωνέικης βρέθηκε 236,48 mg/kg, ποικιλία Arbosana 137,84 mg/kg και ποικιλία Arbequina 108,27 mg/kg (Allalout *et al.*, 2009).

Από άλλη έρευνα βρέθηκε ότι ελαιόλαδο που προκύπτει από καρπούς χωρίς τον πυρήνα έχει αρμονικό άρωμα και γεύση, με λιγότερο έντονη την πικρή γεύση, με σημαντικά αυξημένη συγκέντρωση σε β-σιτοστερόλη (φυτοστερόλη) και χαμηλή σε α-τοκοφερόλη, σε σχέση με ελαιόλαδο που εξάγεται από καρπούς με τον πυρήνα. Επιπλέον, σε εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο (EVOO) από ελαιοκάρπους χωρίς πυρήνα βρέθηκε υψηλότερο περιεχόμενο σε φαινολικά συστατικά (τυροσόλη, υδροxyτυροσόλη και p- υδροxyβενζενοϊκό οξύ) και o-διφαινόλη. (Amany *et al.*, 2008)

2.1 Φαινολικές ενώσεις και γεύση ελαιολάδου

Η ένταση της πικρής γεύσης έχει συσχετιστεί με φαινολικές ενώσεις, προερχόμενες από την υδρόλυση της ελευρωπαΐνης και του λιγκστροσιδίου σε παράγωγα (αγλυκόνη ελευρωπαΐνης, ελαιοκανθάλη, ελαιασίνη, τυροσόλη, υδροxyτυροσόλη κ.α.). Για την υδρόλυση, η οποία παρατηρείται κατά την εξαγωγή του παρθένου ελαιολάδου (VOO), υπεύθυνα είναι ένζυμα, όπως γλυκοσιδάσες και εστεράσες (Σχήμα 2.4). Οι γεύσεις του πικρού και του πικάντικου φαίνεται πως οφείλονται στην αλληλεπίδραση των σεκοϊριδοειδών (ελευρωπαΐνη, λιγκστροσίδη) με τους υποδοχείς της γλώσσας (Gutiérrez-Rosales *et al.*, 2003). Η πικρή γεύση εξαρτάται από το μέγεθος του μορίου, την λειτουργική ομάδα, την θέση του σακχάρου, τη μείωση της υδροφιλικότητας και την στερεοχημεία του μορίου και προκειμένου το μόριο να απελευθερώσει το πικρό είναι απαραίτητη η διαλυτότητά του στο νερό (Inarejos-Garcia *et al.*, 2009).

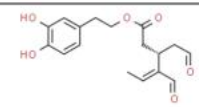
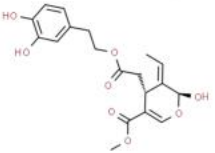
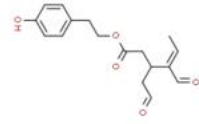
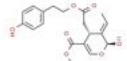


Σχήμα 2.4: Υδρόλυση της ελευρωπαΐνης. (πηγή: Johnson *et al.*, 2018)

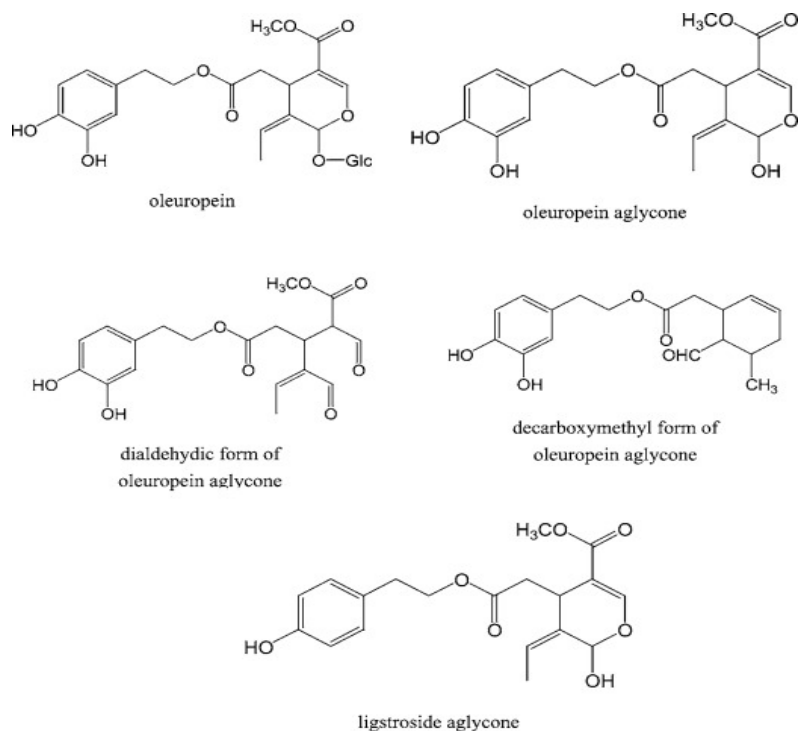
Αν και δεν έχουν αποσαφηνιστεί όλες οι ενώσεις που συνεισφέρουν στην πικρή και πικάντικη γεύση, έρευνες δείχνουν ότι η πικρή γεύση οφείλεται σε ενώσεις, όπως η ελαιασίνη (διαλδευδική μορφή του αποακετοξυλιωμένου ελενολικού οξέος με 3,4- DHPEA, 3,4- DHPEA EDA), η διαλδευδική μορφή της αγλυκόνης της ελευρωπαΐνης, η αγλυκόνη του λιγκστροσιδίου (p- HEPA-EA), η οποία προσδίδει καυστική και πικάντικη γεύση και οι αγλυκόνες της ελευρωπαΐνης (3,4- DHPEA-EA)

ευθύνονται για την πικρή και στυφή γεύση (Pedan *et al.*, 2019). Η ελαιασίνη προσδίδει αντιοξειδωτική δράση στο ελαιόλαδο, καθώς στην χημική της δομή έχει δύο φαινολικά υδροξύλια, ενώ η ελαιοκανθάλη περιέχει ένα φαινολικό υδροξύλιο (Σχήμα 2.5) (Demopoulos *et al.*, 2012). Από μελέτη των Demopoulos *et al.*, 2012, βρέθηκαν τιμές για το πικρό από 0.40 έως 2.65 και συσχετίστηκαν θετικά με τις συγκεντρώσεις της ελαιοκανθάλης και της ελαιασίνης.

Σε παλαιότερη έρευνα (Dierkes *et al.*, 2012), οι ενώσεις ελευρωπαΐνη, διαλδεϋδική αποκαρβοξυλιωμένη μορφή της αγλυκόνης του λιγκτροσιδίου, αγλυκόνη του λιγκτροσιδίου (p-HPEA-EA), ελενολικό οξύ και μεθυλεστέρας του ελενολικού οξέος παρουσίασαν ισχυρή συσχέτιση με την αίσθηση του πικρού και του πικάντικου (Σχήμα 2.5, Σχήμα 2.6).

Chemical Compound	Chemical Structure	Sensory Property
3,4-DHPEA-EDA (oleacein)		bitter, astringent and burning (mostly on tongue)
3,4-DHPEA-EA (oleuropein aglycon)		very bitter, very astringent
p-HPEA-EDA (oleocanthal)		strong burning/pungent (mostly at the back of throat); slightly bitter and astringent
p-HEPA-EA (ligstroside aglycon)		dry mouth, burning/pungent, and not bitter

Σχήμα 2.5: Χημικές δομές φαινολικών ενώσεων και επίδραση στη γεύση.
(πηγή: Genovese *et al.*, 2021)



Σχήμα 2.6: Χημικές δομές φαινολικών ενώσεων υπεύθυνων για την πικρή γεύση. (πηγή: Boskou, 2006)

Η ελαιοκανθάλη (διαλδεϋδική μορφή του αποακετοξυλιωμένου ελενολικού οξέος με p-HPEA (p- HEPA-EDA)) παρουσιάζει ισχυρά καυστική και πικάντικη γεύση, η οποία γίνεται αντιληπτή κυρίως στο λαιμό (Vulcano *et al.*, 2015, Genovese, Carofaso & Sacchi, 2021). Η συγκέντρωση της ελαιοκανθάλης εξαρτάται κυρίως από την ποικιλία της ελιάς. Σε εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο (EVOO) ποικιλίας Κορωνέικης η συγκέντρωση της ελαιοκανθάλης κυμάνθηκε από 62,6mg/kg (Allalout *et al.*, 2009) έως 76,8mg/kg (Stefanoudaki *et al.*, 2011) και η ελαιασίνη κυμάνθηκε από 69,6mg/kg (Allalout *et al.*, 2009) έως 76,8mg/kg (Stefanoudaki *et al.*, 2011).

Κατά την εξαγωγή του ελαιολάδου, τα φαινολικά συστατικά κατανέμονται μεταξύ της υδατικής και ελαιώδους φάσης, και ένα άλλο μέρος παγιδεύεται στην στέρεη φάση (ελαιοπυρήνας) (Clodoneo, 2012). Το ολικό φαινολικό περιεχόμενο (Total Phenolic Compound-TPC) ποικίλει από 50-1000mg/kg, ανάλογα με την περιοχή συγκομιδής, την ποικιλία της ελιάς, τον βαθμό ωρίμανσης και την διαδικασία παραγωγής. Σε μελέτη (Gawel, R. & Rogers, D. A., 2009) έγινε κατηγοριοποίηση των ελαιόλαδων ανάλογα με το ολικό φαινολικό περιεχόμενο σε «γλυκά» (*mild*) όταν το TPC<80mg/kg και ως «έντονα» (*robust*) όταν TPC>440mg/kg. Σε άλλες μελέτες κατηγοριοποιούν την αίσθηση του πικρού σε παρθένο ελαιόλαδο (VOO), ως «γλυκιά» (*mild*), «μέτρια» (*medium*) ή «έντονη» (*robust*). Παρθένο ελαιόλαδο με «έντονη»

αίσθηση του πικρού τείνει να έχει ολικό φαινολικό περιεχόμενο άνω 300mg/kg, ενώ με «γλυκιά» αίσθηση του πικρού κάτω από 180mg/kg (Boskou 2015). Σε παλαιότερη έρευνα (Beltran et al., 2007), το φαινολικό περιεχόμενο κυμάνθηκε κάτω από 220mg/kg για ελαιόλαδα που δεν είχαν πικρή γεύση, από 220 έως 340mg/kg για ελαιόλαδα με ελαφρώς πικρή γεύση, 340 έως 410mg/kg για ελαιόλαδα με πικρή γεύση και μεγαλύτερο από 410mg/kg για πολύ πικρά.

2.2 Παραλαβή του φαινολικού κλάσματος

Οι φαινολικές ενώσεις (φαινολικά οξέα, απλές φαινόλες, πολύπλοκα παράγωγα ελευρωπαΐνης, φλαβονοειδή, λιγνάνες και υδροξυϊσοχρωμάνες) μεταφέρονται κατά την εξαγωγή του ελαιολάδου από τον ελαιόκαρπο. Οι απλές και σύνθετες φαινολικές ενώσεις προσδίδουν τις γευστικές ιδιότητες του πικρού και του πικάντικου στο παρθένο ελαιόλαδο (VOO) και ευθύνονται για την οξειδωτική σταθερότητα. Η διαδικασία για τον προσδιορισμό των φαινολικών ενώσεων περιλαμβάνει την απομόνωσή τους με εκχύλιση (χρήση μίγματος Μεθανόλη:Νερό-80:20 v/v ή 60:40 v/v) και ακολουθεί φασματοφωτομετρικός προσδιορισμός με το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu (F-C). Επιπρόσθετα, η μέθοδος εκχύλισης στερεής φάσης (solid phase extraction- SPE) αποτελεί τεχνική προκατεργασίας δειγμάτων και η διαβίβαση του διαλύτη μπορεί να γίνει σε ειδικές συσκευές υπό κενό, με φυγοκέντριση ή ασκώντας πίεση. Η διαβίβαση του διαλύτη γίνεται μέσω μικροστήλης μιας χρήσεως, το οποίο έχει προσροφητικό υλικό (συνήθως silica πυριτίας (SiO₂) C-18 και C-8) που φέρει ομάδες (μη πολικές, πολικές, ομοιοπολικές, κατιονταλλακτικές, ανιοανταλλακτικές). Η εκχύλιση στερεής φάσης διακρίνεται σε αντίστροφης και κανονικής φάσης. Στην πρώτη περίπτωση, μη πολικές ή ελάχιστα πολικές ενώσεις, οι οποίες είναι διαλυμένες σε πολικό διαλύτη, κατακρατούνται από τη στατική φάση, ενώ στην εκχύλιση κανονικής φάσης πολικές ή μέτρια πολικές ενώσεις, διαλυμένες σε μη πολικό διαλύτη, κατακρατούνται από τη στατική φάση που περιέχει πολικές ομάδες. Στην εκχύλιση αντίστροφης φάσης οι ενώσεις εκκλύονται με χρήση μη πολικών διαλυτών, αντίθετα στην εκχύλιση κανονικής φάσης οι ενώσεις εκκλύονται με χρήση πολικών διαλυτών. Η έκλυση της προσροφημένης ουσίας από τον σωλήνα SPE αντίστροφης φάσης γίνεται με τη χρήση πολικού διαλύτη, τα μόρια του οποίου ανταγωνίζονται την προσροφημένη ουσία, την οποία απομακρύνουν από το υπόστρωμα. Το είδος του διαλύτη επηρεάζει την κατακράτηση του αναλύτη στο προσροφητικό υλικό. Στην SPE αντίστροφης φάσης χρησιμοποιούνται διαλύτες, όπως νερό, μεθανόλη, ακετονιτρίλιο και ισοπροπυλική αλκοόλη. Άλλος σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει την εκχύλιση είναι η ταχύτητα ροής του δείγματος και του μέσου έκλυσης. Συνήθως, αν το πληρωτικό υλικό βρίσκεται σε σωλήνα, η ταχύτητα ροής είναι 3-10mL/min και αν βρίσκεται σε δίσκο είναι 10-100mL/min.

Η εκχύλιση στερεής φάσης αποτελεί απλή, γρήγορη και αποτελεσματική μέθοδο και έχει εφαρμοστεί σε μελέτες για τον προσδιορισμό του πικρού σε έλαια (Gutiérrez-Rosales *et al.*, 1992). Σύμφωνα με την παραπάνω μελέτη, έγινε εκχύλιση των συστατικών που προσδίδουν την πικρή γεύση με διάλυμα μεθανόλης:νερό και μέτρηση της απορρόφησης στα 225nm. Παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση της έντασης του πικρού με τα αποτελέσματα από την οργανοληπτική αξιολόγηση. Ο αντικειμενικός προσδιορισμός του πικρού υπολογίστηκε από την εξίσωση $BI = 13.33 \cdot K_{225} - 0.837$, όπου το K_{225} είναι η απορρόφηση στα 225nm του εκχυλίσματος που παρελήφθη μετά από εκχύλιση στερεής φάσης. Οι Servili *et al.*, 2004 επισημαίνουν ότι η παραλαβή απλών φαινολών επιτυγχάνεται καλύτερα με την εκχύλιση της στερεής φάσης.

3. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΑΛΑΞΗΣ ΣΤΑ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

Κατά τη μάλαξη οι μικρού μεγέθους σταγόνες ελαιολάδου συνενώνονται σε μεγαλύτερες και καθίστανται εύκολα διαχωρίσιμες από την συμπαγή ελαιόπαστα. Ωστόσο, είναι πιθανός ο σχηματισμός γαλακτώματος με τα στερεά ή υγρά απόβλητα, με αποτέλεσμα να καθίσταται δύσκολη η εξαγωγή του ελαίου με φυγοκέντριση, μειώνοντας την απόδοση. Η ευκολία ή δυσκολία εξαγωγής του ελαιολάδου εξαρτάται από την ποικιλία της ελιάς, την ωριμότητα των ελαιόκαρπων, αλλά και την προσβολή από δάκο. Το σπάσιμο των γαλακτωμάτων μπορεί να επιτευχθεί χρησιμοποιώντας πηκτινολυτικά ένζυμα, τα οποία διασπούν το κυτταρικό τοίχωμα, ή τεχνολογικά βοηθήματα με βιοχημική ή χημική δράση. Ενδεικτικά, η χρήση μικροταλκ (ένυδρο πυριτικό μαγνήσιο) κατά τη μάλαξη της ελαιόπαστας αποτελεί αποτελεσματικό τρόπο παρεμπόδισης του σχηματισμού γαλακτώματος και οδηγεί σε μεγαλύτερη απόδοση σε ελαιόλαδο. Άλλο φυσικό τεχνολογικό βοήθημα αποτελεί το αλάτι (NaCl), το οποίο αυξάνει το ιοντικό φορτίο και την πυκνότητα με αποτέλεσμα να απωθείται το έλαιο με την υδρόφιλη φάση. Εκτός από τη χρήση τεχνολογικών βοηθημάτων, άλλοι σημαντικοί παράγοντες που επηρεάζουν την απόδοση είναι ο χρόνος και η θερμοκρασία μάλαξης.

3.1 Επίδραση χρόνου και θερμοκρασίας μάλαξης

Όσον αφορά τον χρόνο μάλαξης (Mt), η αύξησή του βελτιώνει την απόδοση σε ελαιόλαδο, εξαιτίας της δράσης ενδογενών ενζύμων, και για το λόγο αυτό οι παραγωγοί αυξάνουν τον χρόνο από 45min έως 60min. Ωστόσο, η αύξηση του χρόνου μάλαξης μπορεί να επηρεάσει την θρεπτική αξία του παρθένου ελαιολάδου (VOO), λόγω της παρατεταμένης έκθεσης στο ατμοσφαιρικό οξυγόνο. Οι *Amirante et al.*, (2001) εφάρμοσαν χρόνους μάλαξης 30, 45 και 60min και θερμοκρασίες 27, 32 και 35°C. Διαπίστωσαν ότι η μέγιστη απόδοση σε παρθένο ελαιόλαδο (VOO) παρατηρήθηκε στα 45min και θερμοκρασία 35°C, ενώ στα 60min παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της απόδοσης. Η αύξηση του χρόνου μάλαξης δεν επηρέασε το ποσοστό των ελεύθερων λιπαρών οξέων ούτε και τον αριθμό υπεροξειδίων του παρθένου ελαιολάδου. Όσον αφορά το φαινολικό περιεχόμενο, ο χρόνος μάλαξης επηρεάζει περισσότερο τη σύνθεση των φαινολικών συστατικών της ελαιόπαστας, ενώ

η θερμοκρασία μάλαξης (MT) επιδρά στο φαινολικό περιεχόμενο του ελαιολάδου. Στο παρθένο ελαιόλαδο (VOO), η περιεκτικότητα των φαινολικών συστατικών επηρεάζεται περισσότερο από την θερμοκρασία μάλαξης, έναντι του χρόνου. Με την αύξηση του χρόνου μάλαξης παρατηρήθηκε ελαφρά μείωση στα παράγωγα των σεκοϊριδοειδών της υδροξυτυροσόλης (5%), πιθανόν λόγω δράσης ενζύμων (polyphenol oxidase- PPO, peroxide- POD) (Gomez-Rico *et al.*, 2009).

Η ποιότητα του παρθένου ελαιολάδου (VOO) επηρεάζεται από την θερμοκρασία μάλαξης (MT). Η αύξηση της θερμοκρασίας μάλαξης οδηγεί σε αυξημένη απόδοση σε ελαιόλαδο όμως επηρεάζεται αρνητικά το φαινολικό περιεχόμενο και παρατηρείται μείωση των πτητικών ενώσεων, υπεύθυνες για το άρωμα και τη γεύση.

Έρευνες έδειξαν ότι η θερμοκρασία μάλαξης δεν θα πρέπει να ξεπερνά τους 30°C. Με θερμοκρασία μάλαξης 30°C παρατηρήθηκε καλή απόδοση σε ελαιόλαδο, ενώ στους 35°C διαπιστώθηκε μη σημαντική αύξηση της απόδοσης, αλλά και μείωση σε σημαντικά συστατικά για την ποιότητα του ελαιολάδου. Επιπλέον, στους 45°C παρατηρείται σημαντική μείωση της απόδοσης σε ελαιόλαδο, λόγω αλληλεπιδράσεων των λιπιδίων, των πρωτεϊνών και των υδατανθράκων και κατ' επέκταση του εγκλωβισμού του ελαιολάδου στην ελαιόπαστα (Ranalli *et al.*, 2001, Kalua *et al.*, 2007).

Σχετικά με το φαινολικό περιεχόμενο παρατηρήθηκε αύξηση σε θερμοκρασίες μάλαξης από 25°C έως 30°C, ενώ φαίνεται να επηρεάζεται δυσμενώς σε εύρος θερμοκρασιών από 30°C έως 36°C. Όσον αφορά τις σεκοϊριδοειδείς ενώσεις, διαπιστώθηκε αυξημένη συγκέντρωση σε θερμοκρασία μάλαξης 30°C ενώ σε μεγαλύτερες θερμοκρασίες παρατηρήθηκε μείωσή τους πιθανόν λόγω αποδόμησης από ενδογενή ένζυμα (polyphenol oxidase- PPO, peroxidase- POD) των οποίων η δραστηριότητα είναι μέγιστη στους 35 °C (Clodoveo, 2012, Parenti *et al.*, 2008).

3.2 Επίδραση προσθήκης τεχνολογικών βοηθημάτων (ταλκ, αλάτι) και ποσότητας νερού στη μάλαξη

Η απόδοση σε ελαιόλαδο μπορεί να βελτιωθεί και με την προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων. Περίπου το 20% του ελαιολάδου παραμένει δεσμευμένο με το νερό δημιουργώντας γαλάκτωμα, το οποίο περιβάλλεται από φωσφολιπίδια και πρωτεΐνες, με αποτέλεσμα να καθίσταται δύσκολη η εξαγωγή του. Η χρήση φυσικώς

προερχομένων τεχνολογικών βοηθημάτων βοηθούν στη διάσπαση των γαλακτωμάτων λάδι/νερό και με αυτό τον τρόπο διευκολύνεται η εξαγωγή του ελαιολάδου, το οποίο συνεπάγεται αυξημένη απόδοση. Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή νομοθεσία, δεν αποκλείεται η χρήση βοηθημάτων (αλάτι, ταλκ, ανθρακικό ασβέστιο και νερό), ενώ δεν επιτρέπεται η χρήση ενζύμων (Clodoveo, 2012).

Το ταλκ (ένυδρο πυριτικό μαγνήσιο) χρησιμοποιείται στην παραγωγή ελαιολάδου για τη βελτίωση της απόδοσης σε χώρες όπως η Ισπανία και η Ιταλία. Αναφέρεται ότι η προσθήκη του αυξάνει την απόδοση (έως και 24%) (η αυξημένη προσθήκη δρα ανασταλτικά), δεν επηρεάζει την χημική σύσταση του ελαιολάδου, την θρεπτική του αξία και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του. Το ταλκ πλεονεκτεί λόγω των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών του, καθώς έχει υψηλή θερμική αγωγιμότητα, χαμηλή ηλεκτρική αγωγιμότητα, υψηλή πυκνότητα, πεπλατυσμένη δομή, χαμηλή σκληρότητα, παρουσιάζει και υδρόφοβη και υδρόφιλη συμπεριφορά και είναι χημικά αδρανές. Επιπλέον, έχει την ικανότητα να διασπά γαλακτώματα λάδι σε νερό, λόγω του υδρόφοβου χαρακτήρα, επηρεάζοντας την επιφανειακή δραστηριότητα των πηκτινών. Μετά την φυγοκέντριση της ελαιοπάστας, το σύμπλοκο που δημιουργείται, εξαιτίας των ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων του ταλκ και της πηκτίνης καθιζάνει, μειώνοντας τα μόρια της πηκτίνης που έχουν προσροφηθεί στην επιφάνεια του γαλακτώματος λάδι σε νερό. Ακόμα, απομακρύνεται με τα στερεά απόβλητα, μετά την εκχύλιση εξαιτίας του ειδικού βάρους που έχει με αποτέλεσμα το ελαιολάδο που εξάγεται να είναι απαλλαγμένο από αυτό. Όσον αφορά την επίδραση του ταλκ στη σύσταση, παρατηρήθηκε μείωση της περιεκτικότητας του ελαιοπυρήνα σε 3,4-DHPEA και p-HPEA ενώ δεν επηρέασε το ολικό φαινολικό περιεχόμενο του ελαιολάδου. Έρευνες έδειξαν ότι η προσθήκη ταλκ δεν επηρεάζει το ολικό φαινολικό περιεχόμενο (Carariso *et al.*, 2013, Moya *et al.*, 2010), ενώ σε άλλη έρευνα (Augilera *et al.*, 2015) παρατηρήθηκε μικρή αύξηση της απιγενίνης, των λιγνανών και της ελαιασίνης (3,4-DHPEA-EDA) και τελικά συσχετίστηκε η πικρή γεύση με το ολικό φαινολικό περιεχόμενο και την προσθήκη ταλκ. Οι Caronio *et al.*, (2014, 2015) διαπίστωσαν ότι με την προσθήκη ταλκ (1 και 2% w/w) το φαινολικό περιεχόμενο αυξήθηκε, αλλά όχι σημαντικά. Οι Criado *et al.*, 2007, διαπίστωσαν ότι η προσθήκη ταλκ προκαλεί σημαντική αύξηση στη συγκέντρωση των καροτενοειδών και της χλωροφύλλης στα παραγόμενα ελαιολάδα. Σχετικά με την επίδραση του ταλκ στις πτητικές ενώσεις,

έρευνες έδειξαν ότι δεν επηρεάζει σημαντικά ενώσεις, όπως αλδεΐδες, αλκοόλες, κετόνες, ακόρεστους υδρογονάνθρακες και οξέα, όμως παρατηρήθηκε αύξηση στη συγκέντρωση του προπιονικού οξέος και του οξικού οξέος (Caronio *et al.*, 2016). Η ποσότητα του ταλκ που χρησιμοποιείται κυμαίνεται από 0,3% έως 1% (Clodoveo 2012).

Η προσθήκη νερού κατά τη μάλαξη επηρεάζει την ποιότητα του παρθένου ελαιολάδου (VOO), καθώς τροποποιεί τις συγκεντρώσεις των συστατικών που διαλύονται στην ελαιώδη και στην υδατική φάση. Αναφορικά με τις φαινόλες, κατά τη μάλαξη κατανέμονται μεταξύ ελαιώδους και υδατικής φάσης και η κατανομή εκφράζεται από την σταθερά ισορροπίας (K), η οποία εκφράζεται από τη σχέση:

$$K = \frac{[A]_{aqueous\ phase}}{[A]_{oily\ phase}}$$

Οι υδρόφιλες φαινολικές ενώσεις μειώνονται συναρτήσει της ποσότητας του νερού που προστέθηκε. Η προσθήκη νερού διευκολύνει την εκχύλιση του ελαιολάδου, αλλά το ελαιόλαδο που προκύπτει έχει χαμηλή περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες. Ωστόσο, η σταθερά κατανομής ισχύει για κάθε ένωση ξεχωριστά και όχι για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο του ελαιολάδου. Οι φαινόλες που υπάρχουν στον καρπό, στο ελαιόλαδο και στα φυτικά υγρά (απόβλητα), έχουν διαφορετική κατανομή (K) στην ελαιώδη και υδατική φάση. Για την μείωση της απώλειας των φαινολικών συστατικών σε τριών φάσεων διαχωριστήρες, έγιναν μικρές βελτιώσεις ώστε να επιτυγχάνεται διαχωρισμός του ελαιολάδου χρησιμοποιώντας μικρή ποσότητα χλιαρού νερού (0 έως 20L/100Kg ελιές) για την αραίωση της ελαιόπαστας και να παράγεται ελαιόλαδο πλούσιο σε πολυφαινόλες. (Ben-David *et al.*, 2010)

Το αλάτι (NaCl) ως τεχνολογικό βοήθημα, βοηθά στην δραστηριότητα των ενζύμων, αυξάνει την πυκνότητα και την ιοντική ισχύ της υδατικής φάσης, επηρεάζοντας την διαλυτότητα ενώσεων, χωρίς να επηρεάζει την ποιότητα του παρθένου ελαιολάδου (VOO) (Cruz *et al.*, 2007). Επιπλέον, το αλάτι (NaCl) σχετίζεται με την παρουσία σ -διφαινολών και με την παρουσία β -καροτενίου, λουτεΐνης, α -και β -χλωροφύλλης και πτητικών ουσιών, και κατ' επέκταση με αύξηση της πικρής γεύσης στο ελαιόλαδο, λόγω της αύξησης της διαλυτότητας των ενώσεων παρουσία του αλάτος (Clodoveo, 2012, Cruz *et al.*, 2007). Οι Cruz *et al.* (2007), παρατήρησαν ότι η

προσθήκη άλατος κατά την εξαγωγή του ελαιολάδου, σχετίστηκε με την αύξηση της οξειδωτικής σταθερότητας του ελαιολάδου και την αύξηση της έντασης του πικρού.

4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

4.1 Σκοπός έρευνας

Η παρούσα έρευνα μελετά την επίδραση των παραμέτρων ελαιοποίησης (θερμοκρασία, χρόνος και ποσότητα νερού κατά τη μάλαξη) και της προσθήκης τεχνολογικών βοηθημάτων, συγκεκριμένα ταλκ και άλατος, κατά τη μάλαξη, στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του ελαιολάδου και ειδικά στην πικρή γεύση.

Η ποικιλία της ελιάς που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη ήταν η Κορωνέικη και η συγκομιδή πραγματοποιήθηκε κατά την ελαιοκομική περίοδο 2022-2023 από 2 ελαιώνες (Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών και Καλαμάτα). Η ελαιοποίηση έγινε σε εργαστηριακό ελαιοποιητή (Abencor mc2) στο Εργαστήριο Χημείας και Ανάλυσης Τροφίμων του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Η αποτίμηση της αίσθησης του πικρού (Bitter Index) πραγματοποιήθηκε με τη χρήση της μεθόδου εκχύλισης στερεής φάσης (SPE- Solid Phase Extraction) και διερευνήθηκε η συσχέτισή του με τα αποτελέσματα του οργανοληπτικού ελέγχου για το πικρό (Median bitter), του ολικού πολικού φαινολικού περιεχομένου (TPC) και του βαθμού ωριμότητας των ελαιόκαρπων (Maturity Index). Η μέθοδος Folin-Ciocalteu (F-C) χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό του ολικού φαινολικού περιεχομένου (TPC) των δειγμάτων. Τέλος, η στατιστική ανάλυση των δεδομένων έγινε με τη χρήση λογισμικού StatGraphics Version 17.2.00.

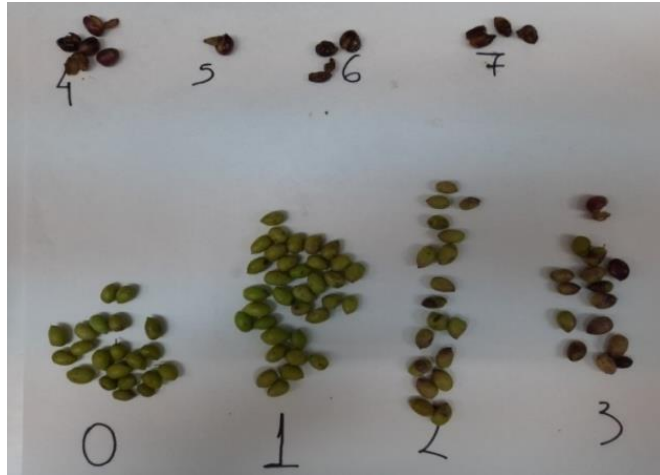
4.2 Δείγματα και Βαθμός ωριμότητας (Maturity Index)

4.2.1 Δείγμα ελαιοκάρπου

Η ελαιοποίηση των δειγμάτων περιλάμβανε διαφορετικές συνθήκες κατά τη μάλαξη. Στο δείγμα της Κορωνέικης που συλλέχθηκε στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών (1^ο δείγμα) εξετάστηκε η επίδραση διαφορετικών θερμοκρασιών: 20, 25 και 30°C και χρόνων μάλαξης: 30, 45 και 60min. Στο δείγμα Κορωνέικης από την Καλαμάτα (2^ο δείγμα) η μάλαξη έγινε με προσθήκη 1% talc, σε θερμοκρασία 30°C και χρόνο μάλαξης 30min, μεταβάλλοντας την ποσότητα νερού μάλαξης (0-200mL) και την ποσότητα άλατος που προστέθηκε στον μαλακτήρα (0-10%). Τα ελαιόλαδα που παράχθηκαν αξιολογήθηκαν ως προς τα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά από πάνελ δοκιμαστών (6 έως 9) που εκπαιδεύτηκαν για τις ανάγκες της παρούσας μελέτης.

4.2.2 Βαθμός ωριμότητας ελαιοκάρπων (Maturity Index)

Κατά την ωρίμανση των ελαιοκάρπων, γίνεται ο σχηματισμός του ελαιολάδου, διαμορφώνονται τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του και μεταβάλλεται σταδιακά το χρώμα και η υφή της σάρκας του ελαιοκάρπου. Στο στάδιο αυτό, το χρώμα των καρπών μεταβάλλεται από πράσινο σε μωβ, λόγω συσσώρευσης των ανθοκυανινών (Roca & Minguez-Mosquera, 2001), και τελικά σε μαύρο, ενώ ταυτόχρονα παρατηρούνται αλλαγές στην υφή της σάρκας. Το ελαιόλαδο που παράγεται από πράσινες ελιές (χαμηλός βαθμός ωριμότητας) έχει πράσινο χρώμα, ενώ ελαιόλαδο προερχόμενο από ώριμες ελιές έχει χρυσό χρώμα. Με τον υπολογισμό του βαθμού ωριμότητας εκτιμάται, με υποκειμενικό τρόπο, η ωριμότητα των καρπών, παρατηρώντας αλλαγή στο χρώμα της σάρκας και κατηγοριοποιώντας τους καρπούς σε κατηγορίες από το 0 έως το 7 (Σχήμα 4.1). Ο βαθμός ωριμότητας αποτελεί εργαλείο των παραγωγών, καθώς μπορεί να εκτιμηθεί ο βέλτιστος χρόνος συγκομιδής (Guzmán *et al.*, 2015). Από άθικτους ώριμους καρπούς εξάγεται ελαιόλαδο αρωματικό και ισορροπημένο γευστικά με μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά (Boskou, 2006).



Σχήμα 4.1: Κατηγοριοποίηση των καρπών για τον υπολογισμό του βαθμού ωριμότητας (Maturity Index).

Στην παρούσα μελέτη, κατόπιν της συγκομιδής υπολογίστηκε ο βαθμός ωριμότητας (Maturity Index) των ελαιόκαρπων ακολουθώντας τη διαδικασία που περιγράφεται από τον IOC (COI/OH/Doc. No 1), σύμφωνα με την οποία επιλέγονται τυχαία 100 ελαιόκαρποι, ακολουθεί μακροσκοπικός έλεγχος του χρώματος της σάρκας σχίζοντας με νυστέρι τους ελαιοκάρπους. Στον παρακάτω πίνακα, παρουσιάζονται οι κατηγορίες σύμφωνα με τις οποίες έγινε ο διαχωρισμός των καρπών:

Category 0	Skin colour deep green
Category 1	Skin colour yellow green
Category 2	Skin colour green with reddish spots on < half the fruit surface. Start of colour change.
Category 3	Skin colour with >half the fruit surface turning reddish or purple. End of colour change.
Category 4	Skin colour black with white flesh.
Category 5	Skin colour black with < half the flesh turning purple.
Category 6	Skin colour black with not all the flesh purple to the stone.
Category 7	Skin colour black with all the flesh purple to the stone.

4.3 Ελαιοποίηση

Κατόπιν της συγκομιδής, πραγματοποιήθηκαν 2 κύκλοι ελαιοποιήσεων με διαφορετικές παραμέτρους, όπως αναφέρθηκε προηγούμενα. Παρακάτω περιγράφεται η ελαιοποίηση με προσθήκη νερού (mL) κατά τη μάλαξη:

1. Πλύσιμο καρπού: σε τρεχούμενο νερό βρύσης έγινε πλύσιμο των καρπών προκειμένου να απομακρυνθούν φύλλα και κοτσάνια και αφέθηκαν σε σκεύος έως απομάκρυνσης της υγρασίας.
2. Άλεση: 2kg ελαιοκάρπου αλέστηκαν σε κυλινδρικό μύλο. Η ελαιόπαστα συλλέχθηκε σε δοχείο και αναμίχθηκε ελαφρώς με σπάτουλα. Ποσότητα ελαιόπαστας 600g ή 500g τοποθετήθηκε σε κατάλληλο περιέκτη (δοχείο μάλαξης), ο οποίος εισήχθη στον μαλακτήρα σε σταθερή κάθε φορά θερμοκρασία 20, 25 και 30°C αντίστοιχα. Ο κάθε περιέκτης απομακρύνθηκε από το δοχείο μάλαξης σε διαφορετικούς χρόνους 30, 45 και 60min.
3. Μάλαξη: προστέθηκαν 200mL καυτού νερού βρύσης 10min πριν το τέλος της μάλαξης.
4. Φυγοκέντριση: το περιεχόμενο του κάθε περιέκτη φυγοκεντρήθηκε για 1min και η ελαιόπαστα συλλέχθηκε σε ογκομετρικό κύλινδρο (1000mL) που βρισκόταν στην έξοδο της φυγόκεντρου. Ακολούθως ξεπλύθηκε το δοχείο μάλαξης με 100mL καυτού νερού και επαναλήφθηκε η φυγοκέντριση για 1min. Το ελαιόλαδο συλλέχθηκε στον ίδιο ογκομετρικό κύλινδρο. Η παραπάνω διαδικασία επαναλήφθηκε για όλα τα δείγματα. Ο κάθε κύλινδρος σφραγίστηκε με parafilm και φυλάχθηκε σε σκοτεινό μέρος για 1h. Κατόπιν, σημειώθηκε ο όγκος του ελαίου.
5. Δεύτερη φυγοκέντριση: το ελαιόλαδο που διαχωρίστηκε παραλήφθηκε με σύριγγα, μεταφέρθηκε σε falcon των 50mL και οδηγήθηκε σε εργαστηριακού τύπου φυγόκεντρο (HERMLE, μοντέλο Z326K, Germany). Με το πέρας της δεύτερης φυγοκέντρισης, τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε σκουρόχρωμα μπουκάλια σε ατμόσφαιρα αζώτου και αποθηκεύτηκαν στους -20°C.

Κατά την ελαιοποίηση του 2^{ου} δείγματος μελετήθηκαν η επίδραση της προσθήκης ταρκ, διαφορετικών ποσοτήτων νερού και άλατος. Η διαδικασία διαφοροποιήθηκε στο στάδιο της μάλαξης. Η μάλαξη έγινε σε θερμοκρασία 30°C για 30min.

Η οργανοληπτική αξιολόγηση και η αξιολόγηση του δείκτη της πικρής γεύσης πραγματοποιήθηκε στα δείγματα που απέδωσαν ικανή ποσότητα για την εκτέλεση των δοκιμών.



Σχήμα 4.2: Δοχεία μάλαξης και ογκομετρικοί κύλινδροι.



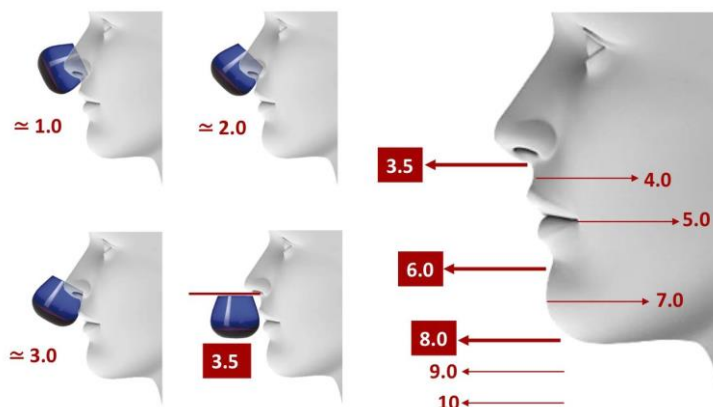
Σχήμα 4.3: Μάλαξη ελαιόπαστας σε ελαιοποιητή Abencor mc2.

4.4 Οργανοληπτική αξιολόγηση ελαιολάδου (γευστική δοκιμή)

Η οργανοληπτική αξιολόγηση των δειγμάτων έγινε σύμφωνα με τη μέθοδο του Διεθνούς Συμβουλίου Ελαιοκομίας (COI/T.20/Doc. No 15/Rev. 10).

Αρχικά, έγινε εκπαίδευση και αξιολόγηση των δοκιμαστών, σύμφωνα με την μέθοδο του Διεθνούς Συμβουλίου ελαιοκομίας (COI/T.20/Doc. No 14/Rev. 7). Κατά τη διάρκεια της οργανοληπτικής αξιολόγησης ο επικεφαλής της ομάδας ήταν υπεύθυνος για την τήρηση των φύλλων αξιολόγησης, ώστε να συμμορφώνονται με τα διεθνή πρότυπα.

Η εκπαίδευση των δοκιμαστών περιλάμβανε το θεωρητικό και το πρακτικό μέρος. Στο πρώτο μέρος, παρουσιάστηκαν οι κατηγορίες του παρθένου ελαιολάδου, τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του, η σημαντικότητα της οργανοληπτικής αξιολόγησης και η μέθοδος, το ειδικό λεξιλόγιο, η οργάνωση και η λειτουργία του εργαστηρίου και τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα της οσμής και της γεύσης. Κατά την πρακτική εκπαίδευση και αξιολόγηση των δοκιμαστών, ο επικεφαλής της ομάδας επέλεξε πρότυπα δείγματα, προκειμένου να εξοικειωθούν οι δοκιμαστές με τα χαρακτηριστικά του παρθένου ελαιολάδου (π.χ. ταγγό, φρουτώδες, πικρό, κρασώδες), και να βελτιώσουν την ικανότητα ανίχνευσης των παραπάνω στα δείγματα του ελαιολάδου. Πιο συγκεκριμένα, οι δοκιμαστές εξοικειώθηκαν με τα αρνητικά και θετικά γνωρίσματα του ελαιολάδου και εκπαιδεύτηκαν στη χρήση του φύλλου αξιολόγησης και σε ποιες κατηγορίες να κατατάσσουν το ελαιόλαδο. Οι δοκιμαστές αξιολόγησαν τα δείγματα του ελαιολάδου σύμφωνα με την κλίμακα αναφοράς των 10cm που παρουσιάζεται στο Σχήμα 4.4.



Σχήμα 4.4: Χρήση κλίμακας αναφοράς 10cm, για την ανίχνευση χαρακτηριστικών από την ρινική οδό. (πηγή: IOC, COI/T.20/Doc. No 14/Rev. 7)

Στην παρούσα μελέτη, η οργανοληπτική αξιολόγηση διεξήχθη πρωινές ώρες (10πμ με 12μμ), όπως αναφέρεται στη μέθοδο (IOC, COI/T.20/Doc. No 14/Rev. 7) από ομάδα δοκιμαστών (6 έως 9), τηρούμενων των γενικών κανόνων δεοντολογίας. Κατά τον οργανοληπτικό έλεγχο των δειγμάτων, χρησιμοποιήθηκαν ειδικά ποτήρια δοκιμών σκούρου μπλε χρώματος, σε κάθε ένα από τα οποία έγινε προσθήκη 14 έως 16mL δείγματος ελαιολάδου και καλύφθηκαν με ύαλο. Τα δείγματα επισημάνθηκαν και διατηρήθηκαν σε υδατόλουτρο με θερμοκρασία $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Η τεχνική της οργανοληπτικής αξιολόγησης περιλάμβανε την ήπια ανάδευση του ποτηριού από τον δοκιμαστή, την απομάκρυνση του υάλου και την αξιολόγηση της οσμής, φέρνοντας το ποτήρι κοντά στην ρινική οδό για 30sec το μέγιστο. Κατόπιν, της οσφραντικής δοκιμασίας, ακολούθησε η αξιολόγηση της γεύσης, βάζοντας 3mL περίπου ελαίου στο στόμα. Η κατανομή του ελαίου έγινε σε όλη την στοματική κοιλότητα, καθώς η ένταση διαφέρει ανάλογα με την ζώνη της γλώσσας, την υπερώα και τον φάρυγγα, και ακολούθησε κατάποση του ελαιολάδου για να γίνει αντιληπτή η αίσθηση του πικρού και του πικάντικου. Κατόπιν, έγινε η καταγραφή της έντασης των θετικών ή αρνητικών χαρακτηριστικών και των παρατηρήσεων στην κλίμακα των 10cm, στο φύλλο χαρακτηρισμού (Σχήμα 4.5). Ενδιάμεσα των δοκιμών των δειγμάτων, οι δοκιμαστές κατανάλωσαν κομμάτια μήλου και νερό προκειμένου να αποφευχθεί απώλεια της ευαισθησίας και να εξαλειφτούν υπολείμματα από το προηγούμενο δείγμα.

Έπειτα από την συλλογή των δεδομένων, έγινε στατιστικός υπολογισμός με βάση τον υπολογισμό της διάμεσης τιμής από τον επικεφαλή της ομάδας των δοκιμαστών. Υπολογίστηκε η τιμή του ανθεκτικού συντελεστή μεταβλητότητας (CVr%) και η διάμεση τιμή για την αίσθηση του πικρού (Median bitter). Ο CVr% αποτελεί καθαρό αριθμό που δείχνει το επί τοις εκατό ποσοστό μεταβλητότητας του αναλυόμενου συνόλου αριθμών. Η τιμή του ανθεκτικού συντελεστή μεταβλητότητας (CVr%). Χρησιμοποιείται για τον έλεγχο της αξιοπιστίας των δοκιμαστών της ομάδας. Η ομοιογένεια στις αποκρίσεις των δοκιμαστών επιτυγχάνεται όταν ο $CVr \leq 20\%$.

Ένταση αντίληψης των ελαττωμάτων	
Απρογάδο/Μούργα (*)	
Μουχλιασμένο/νοτισμένο/ χωματίλα (*)	
Κρασάδες/ξοδάτο Ξινό/ξηλασμένο (*)	
Παγωμένης ελιάς (υγρό ξύλο)	
Ταγγό:	
Άλλες αρνητικές ιδιότητες:	
Περιγραφή:	Μεταλλικό <input type="checkbox"/> Αχρο <input type="checkbox"/> Εκουληρασμένο <input type="checkbox"/> Τραχύ Αλμη <input type="checkbox"/> Ψημένο ή καμένο <input type="checkbox"/> Φυτικά υγρά Σπάρτο <input type="checkbox"/> Αγγουράδες <input type="checkbox"/> Γράσο
(*) Διαγράφεται ό,τι δεν ισχύει.	
Ένταση αντίληψης των θετικών ιδιοτήτων	
Φρουτώδες:	
	Άγουρο <input type="checkbox"/> Ωριμο <input type="checkbox"/>
Πικρό	
Πικάντικο:	
Όνομα του δοκιμαστή:	Κωδικός δοκιμαστή:
Κωδικός δείγματος:	Υπογραφή:

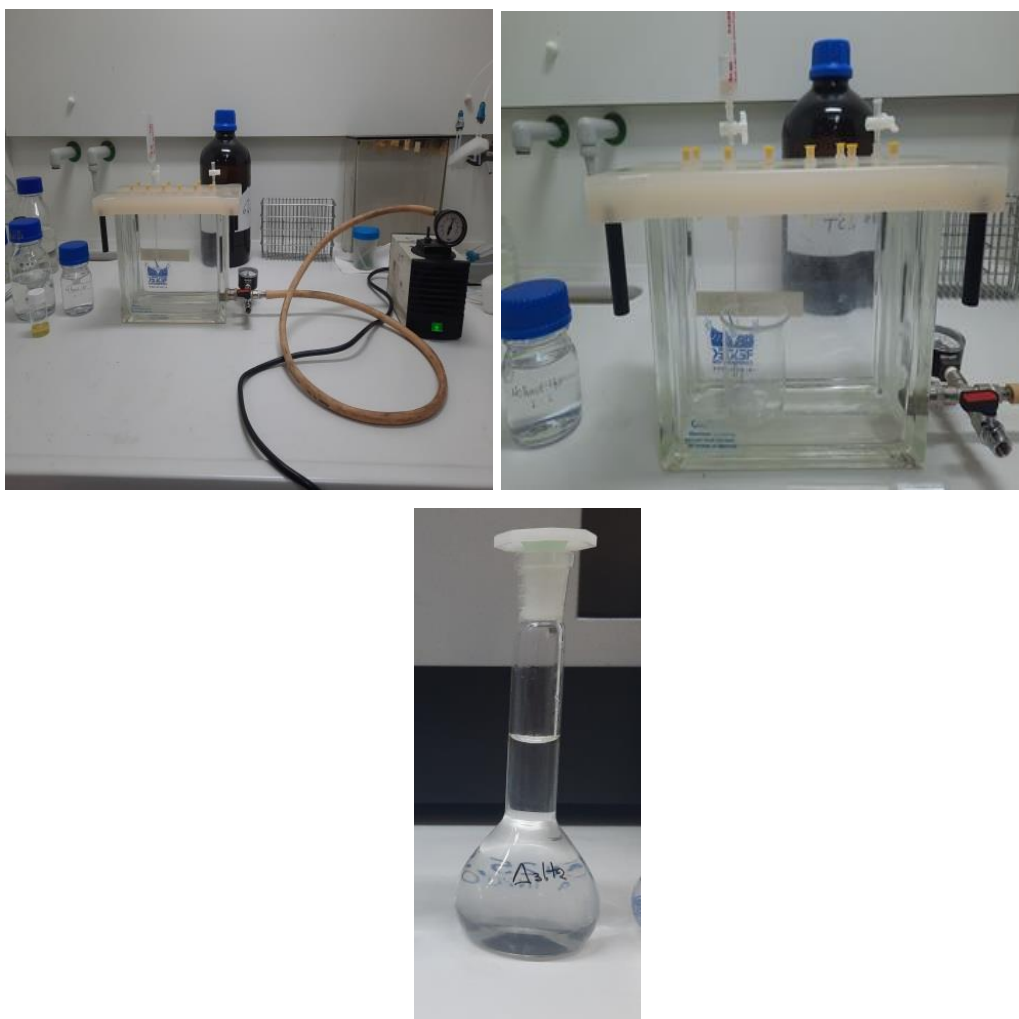
Σχήμα 4.5: Φύλλο χαρακτηρισμού παρθένου ελαιολάδου.

4.5 Bitter Index

Μελέτες δείχνουν ότι η πικρή γεύση του εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου σχετίζεται με την περιεκτικότητά του σε φαινολικά συστατικά με επικρατέστερη την ελευρωπαΐνη (Oleuropein aglycone, 3,4-DHPEA-EA) (Siliani *et al.*, 2006).

Για τον προσδιορισμό της πικρής γεύσης εφαρμόστηκε η μέθοδος της εκχύλισης στερεάς φάσης (solid-phase extraction, SPE) (F. Gutierrez Rosales *et al.*, 1992), όπως περιγράφεται στη συνέχεια. Η τεχνική της εκχύλισης στερεάς φάσης είναι απλή, γρήγορη και αποτελεσματική και βασίζεται στην κατακράτηση του αναλύτη λόγω αλληλεπίδρασης με τις πολικές ομάδες του προσροφητικού υλικού. Ο διαλύτης έκλουσης ανταγωνίζεται την προσροφημένη ουσία και απομακρύνεται από τη στήλη. Τα στάδια εκχύλισης στερεάς φάσης περιλαμβάνουν την ενεργοποίηση των δραστικών ομάδων του προσροφητικού υλικού με την διαβίβαση κατάλληλου διαλύτη, την διαβίβαση του δείγματος, έκπλυση με διαλύτη ώστε να απομακρυνθούν ανεπιθύμητες ουσίες και εκλεκτική έκλυση με κατάλληλο διαλύτη.

Για την εκχύλιση των συστατικών στα οποία οφείλεται η πικρή γεύση διαλύονται 1.0 ± 0.01 g ελαιολάδου σε 4mL εξανίου. Για την εκχύλιση χρησιμοποιήθηκε συσκευή κενού και μικροστήλη Chromabond C18 (500mg, 6mL) (Σχήμα 4.6), η οποία είχε προηγουμένα ενεργοποιηθεί με 6mL μεθανόλης και ακολούθως είχε καθαριστεί με 6mL εξανίου. Κατόπιν, έγινε φόρτωση του δείγματος στην μικροστήλη. Για την απομάκρυνση του λίπους, εισήχθησαν 10mL εξανίου. Τα συστατικά συγκρατήθηκαν στην μικροστήλη και έγινε έκλυση αυτών με διάλυμα MeOH/H₂O (1:1) σε ογκομετρική φιάλη των 25mL, στη συνέχεια ο όγκος συμπληρώθηκε στα 25mL με διαλύτη. Η απορρόφηση του εκχυλίσματος μετράται σε φασματοφωτόμετρο ορατού/υπεριώδους (Jasco V-530) σε μήκος κύματος 225nm. Ως τυφλό δείγμα χρησιμοποιήθηκε το μίγμα MeOH/H₂O (1:1). Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως απορρόφηση στα 225nm δείγματος 1.0 ± 0.01 g ελαιολάδου στα 100g. Η μέτρηση της απορρόφησης επαναλήφθηκε 3 φορές και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως «μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση» (MEAN \pm SD).



Σχήμα 4.6: Διαδικασία εκχύλισης (SPE) σε συσκευή κενού και μικροστήλη Chromabond C18.

4.6 Προσδιορισμός ολικού φαινολικού κλάσματος ελαιολάδου (δοκιμή Folin-Ciocalteu)

Κατά την εξαγωγή του ελαιολάδου από τον ελαιόκαρπο μεταφέρονται φαινολικές ενώσεις σε αυτό, όπως φαινολικά οξέα, απλές φαινόλες, πολύπλοκα παράγωγα ελευρωπαΐνης, λιγνάνες και φλαβονοειδή, οι οποίες ευθύνονται για την πικρή και πικάντικη γεύση, καθώς και την οξειδωτική σταθερότητα του ελαιολάδου.

Η διαδικασία για τον προσδιορισμό των φαινολικών ενώσεων περιλαμβάνει την παραλαβή τους, η οποία επιτυγχάνεται με εκχύλιση με χρήση μίγματος MeOH:H₂O (80:20 ή 60:40 v/v) και έπειτα τον φασματοφωτομετρικό προσδιορισμό τους χρησιμοποιώντας το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu (F-C). Η αντίδραση του αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu που οδηγεί σε μπλε σύμπλοκο παραμένει άγνωστη λόγω της πολυπλοκότητάς της. Ωστόσο, θεωρείται ότι περιλαμβάνει αλληλουχίες αντιδράσεων αναγωγής. Από τα συστατικά του αντιδραστηρίου το φωσφομολυβδαινικό οξύ (H₃[PMo₁₂O₄₀]) ανάγεται πιο εύκολα από το φωσφοβολφραμικό οξύ (H₃[PW₁₂O₄₀]) και η μεταφορά ηλεκτρονίων συμβαίνει μεταξύ του αναγωγικού συστατικού (υπόστρωμα) και του φωσφομολυβδαινικού οξέος. Στη συνέχεια, το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu αντιδρά με τα συστατικά του υποστρώματος σε pH ~ 10, το οποίο επιτυγχάνεται με την προσθήκη διαλύματος ανθρακικού νατρίου (Na₂CO₃). Η μέθοδος αυτή δεν είναι εξειδικευμένη, καθώς συνπροσδιορίζονται εκτός από τα φαινολικά συστατικά και άλλα συστατικά του εκχυλίσματος που έχουν αναγωγική δράση.

Στην παρούσα μελέτη, ο προσδιορισμός των φαινολικών ενώσεων έγινε με τη δοκιμή Folin-Ciocalteu, κατά την οποία γίνεται εκχύλιση των φαινολικών ενώσεων με μίγμα Μεθανόλη:Νερό (60:40 v/v) και φασματοφωτομετρικός προσδιορισμός με χρήση του αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu. Με το αντιδραστήριο F-C, οι φαινολικές ενώσεις σχηματίζουν έγχρωμο προϊόν κυανού χρώματος, του οποίου μετρήθηκε η απορρόφηση στα 765nm σε φασματοφωτόμετρο ορατού-υπεριώδους.

Παρασκευή πρότυπου διαλύματος καφεϊκού οξέος

Για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς παρασκευάστηκε πρότυπο διάλυμα καφεϊκού οξέος 1000μg/mL σε ογκομετρική φιάλη των 50mL, το οποίο περιείχε 0.05g καφεϊκού οξέος (καθαρότητας >98%), διαλυτοποιημένο σε 30mL μίγμα Μεθανόλη:Νερό (60:40 v/v).

Παρασκευή πρότυπων διαλυμάτων βαθμονόμησης

Από το πρότυπο διάλυμα καφεϊκού οξέος 1000μg/mL μεταφέρθηκαν με μηχανική πιπέτα 100, 200, 400, 600 και 800μL σε ογκομετρικές φιάλες των 10mL, έγινε συμπλήρωση αυτών με απιονισμένο νερό και ακολούθησε ανάδευσή τους (Σχήμα 4.7).



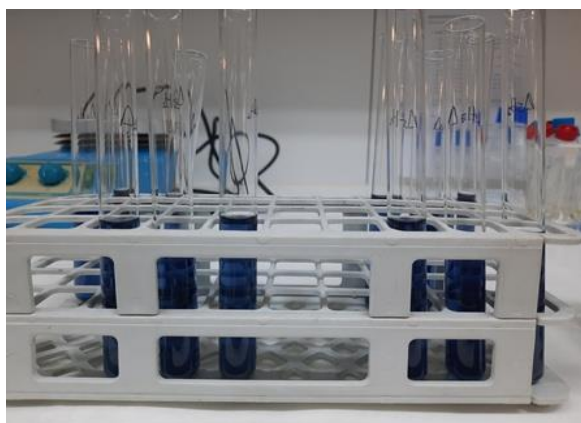
Σχήμα 4.7: Πρότυπο διάλυμα εργασίας καφεϊκού οξέος (1000μg/mL) και διαλύματα βαθμονόμησης (10,14, 20,28, 40,56, 60,84 και 81,12 μg/mL).

Εκχύλιση φαινολικών συστατικών ελαιολάδου

Για την εκχύλιση των φαινολικών συστατικών, αρχικά έγινε ζύγιση σε αναλυτικό ζυγό 1g ελαιολάδου σε σωλήνες φυγοκέντρου των 15mL, ακολούθησε προσθήκη 2mL εξανίου με σιφώνιο και ανάδευσή τους, προσθήκη 2mL μίγμα Μεθανόλη:Νερό (60:40 v/v) με σιφώνιο και ανάδευσή τους για 2min σε κυκλοαναμίκτη. Κατόπιν, οι σωλήνες φυγοκεντρήθηκαν για 10min/2500rpm και με το πέρας αυτού, απορρίφθηκε η άνω στοιβάδα του εξανίου με πιπέτα Pasteur. Η κάτω στοιβάδα, η οποία αποτελεί την υδατομεθανολική φάση που συλλέχθηκε, περιείχε τα φαινολικά συστατικά του ελαιολάδου.

Από την υδατομεθανολική φάση, μεταφέρθηκαν 0.25mL και 0.75mL απιονισμένο H₂O σε 3 γυάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες για το κάθε δείγμα ελαιολάδου, 1mL

απιονισμένου H_2O για τον λευκό προσδιορισμό και 1mL για κάθε διάλυμα βαθμονόμησης. Σε όλα τα παραπάνω, προστέθηκαν 5mL αντιδραστήριο F-C και 4mL διάλυμα ανθρακικού νατρίου (Na_2CO_3) (5% w/v). Έπειτα, οι δοκιμαστικοί σωλήνες παρέμειναν σε σκοτεινό μέρος για 2h (Σχήμα 4.8) και τέλος, μετρήθηκε η απορρόφησή τους στα 765nm, με χρήση πλαστικών κυψελίδων. Ο μηδενισμός του φασματοφωτομέτρου έγινε με διάλυμα που περιείχε τα προαναφερθέντα αντιδραστήρια και απιονισμένο νερό.



Σχήμα 4.8: Αναγωγή μολυβδαίνιου και δημιουργία συμπλόκου κυανού χρώματος.

Με αναγωγή στην ποσότητα του ελαίου που χρησιμοποιήθηκε για την παραλαβή του πολικού κλάσματος, υπολογίστηκε η περιεκτικότητα του ελαιολάδου σε ολικά φαινολικά συστατικά. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε mg ισοδύναμων καφεϊκού οξέος/Kg ελαιολάδου.

4.7 Στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με τη χρήση του προγράμματος Statgraphics Centurion 3.0 για τον προσδιορισμό του δειγματικού συντελεστή γραμμικής συσχέτισης Pearson. Τα αποτελέσματα εξετάστηκαν σε διάστημα εμπιστοσύνης 95%. Στο διάστημα αυτό η κρίσιμη τιμή P-value. Κάτω από την οποία τα αποτελέσματα διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους είναι 0.05.

Ερμηνεία του συντελεστή γραμμικής συσχέτισης r :

Ο συντελεστής γραμμικής συσχέτισης r δίνει ένα μέτρο του μεγέθους της γραμμικής συσχέτισης μεταξύ δύο μεταβλητών. Παίρνει τιμές στο κλειστό διάστημα $[-1,1]$.

Αν $r = \pm 1$ υπάρχει τέλεια γραμμική συσχέτιση.

Αν $-0.3 \leq r < 0.3$ δεν υπάρχει γραμμική συσχέτιση.

Αν $-0.5 < r \leq -0.3$ ή $0.3 \leq r < 0.5$ υπάρχει ασθενής γραμμική συσχέτιση.

Αν $-0.7 < r \leq -0.5$ ή $0.5 \leq r < 0.7$ υπάρχει μέση γραμμική συσχέτιση.

Αν $-0.8 < r \leq -0.7$ ή $0.7 \leq r < 0.8$ υπάρχει ισχυρή γραμμική συσχέτιση.

Αν $-1 < r \leq -0.8$ ή $0.8 \leq r < 1$ υπάρχει πολύ ισχυρή γραμμική συσχέτιση.

Ο βαθμός γραμμικής συσχέτισης καθορίζεται από την απόλυτη τιμή του r και όχι από το πρόσημο του r . Το πρόσημο του r καθορίζει το είδος, μόνο, της συσχέτισης (θετική ή αρνητική).

5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

5.1 Βαθμός ωριμότητας ελαιοκάρπων (Maturity Index)

Από το γινόμενο του αριθμού των καρπών με τον αριθμό της κάθε κατηγορίας, το άθροισμα αυτών και την διαίρεσή τους με το σύνολο των καρπών, υπολογίστηκε ο βαθμός ωριμότητας (Maturity Index) (εξίσωση 5.1).

$$M.I. = \frac{A0 + B1 + C2 + D3 + E4 + F5 + G6 + H7}{100} \quad (\text{εξίσωση 5.1})$$

Πίνακας 5.1: Βαθμός ωριμότητας (Maturity Index) 1^{ου} δείγματος ελαιοκάρπων (συγκομιδή αρχές Ιανουαρίου).

Κατηγορίες	Αριθμός	Γινόμενο
0	38	0
1	13	13
2	24	48
3	19	57
4	3	12
5	2	10
6	0	0
7	1	7
		147
	M.I	1,47

Πίνακας 5.2: Βαθμός ωριμότητας (*Maturity Index*) 2^{ου} δείγματος ελαιοκάρπων (συγκομιδή αρχές Ιανουαρίου).

Κατηγορίες	Αριθμός	Γινόμενο
0	0	0
1	0	0
2	12	24
3	48	144
4	15	60
5	21	105
6	4	24
7	0	0
		357
	M.I	3,57

Σύμφωνα με το IOC (COI/OH/Doc. No 1), για την εξαγωγή υψηλής ποιότητας ελαιολάδου, ο βαθμός ωριμότητας των καρπών κυμαίνεται από 3 έως 4. Στην παρούσα μελέτη, ο βαθμός ωριμότητας του 1^ο δείγματος ελαιοκάρπων βρέθηκε κάτω από 2 (Πίνακας 5.1), το οποίο υποδηλώνει ανώριμους καρπούς και του 2^{ου} δείγματος (Πίνακας 5.2) βρέθηκε άνω του 3 το οποίο υποδηλώνει ώριμους καρπούς.

5.2 Απόδοση ελαιολάδου και Βαθμός Ωριμότητας (Maturity index)

Στους πίνακες 5.3 και 5.4 παρουσιάζονται οι συνθήκες μάλαξης των δειγμάτων που αναλύθηκαν και η απόδοσή τους σε ελαιόλαδο.

Η μεγαλύτερη απόδοση σε ελαιόλαδο παρατηρήθηκε στα δείγματα που παράχθηκαν με προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων και διαφορετικών ποσοτήτων νερού και οι τιμές κυμάνθηκαν από 11,38% έως 14,42% (δείγματα από M9 έως M15) (Πίνακας 5.3), ενώ στα δείγματα που παράχθηκαν μόνο με προσθήκη νερού, χωρίς προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων κατά τη μάλαξη, η απόδοση κυμάνθηκε από 8,35% έως 9,86% (δείγματα από M17 έως M21) (Πίνακας 5.4). Όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενο κεφάλαιο (3.1), τα τεχνολογικά βοηθήματα (ταλκ, αλάτι) αυξάνουν την απόδοση, διότι προκαλούν διάσπαση των γαλακτωμάτων λάδι σε νερό. Επιπλέον, τα αποτελέσματα συμφωνούν με την βιβλιογραφία, καθώς μεγαλύτερη απόδοση παρατηρείται στους 30°C, και σύμφωνα με μελέτη των Amirante *et al.* (2001), για χρόνο μάλαξης 60min παρατηρήθηκε σημαντική μείωση (Πίνακας 5.4). Συμπερασματικά από ελαιόκαρπο αυξημένης ωριμότητας (δείγμα 2) και με την παρουσία τεχνολογικών βοηθημάτων η απόδοση σε ελαιόλαδο ήταν μεγάλη.

Πίνακας 5.3: Απόδοση 2^{ου} δείγματος ελαιόκαρπων σε ελαιόλαδο έπειτα από μάλαξη στους 30°C για 30min, με προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων και διαφορετικών ποσοτήτων νερού.

Δείγματα	Προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων	Προσθήκη νερού	Total Oil Content%
M9	1% talc 10% NaCl	200mL νερό	11,38
M10	1% talc 5% NaCl	100mL νερό	14,42
M11	1% talc 10% NaCl	100mL νερό	14,42
M12	1% talc	100mL νερό	12,90
M13	1% talc 5% NaCl	200mL νερό	11,38
M14	1% talc 10% NaCl	Χωρίς προσθήκη	14,42
M15	1% talc 7,7% NaCl	200mL νερό	12,14

Πίνακας 5.4: Απόδοση 1^{ου} δείγματος ελαιόκαρπων σε ελαιόλαδο έπειτα από μάλαξη με προσθήκη νερού (200mL).

Δείγματα	Συνθήκες μάλαξης	Total Oil Content%
M17	20°C, 60min	9,86
M18	25°C, 60min	9,11
M19	30°C, 60min	9,11
M20	20°C, 45min	9,11
M21	25°C, 45min	8,35

5.3 Οργανοληπτική αξιολόγηση για το πικρό (Median bitter)

Από την οργανοληπτική αξιολόγηση για το πικρό (Πίνακες 5.5 και 5.6), φαίνεται ότι τα δείγματα που παράχθηκαν με προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων και διαφορετικών ποσοτήτων νερού, με βαθμό ωριμότητας ελαιόκαρπων $MI=3,57$ (δείγματα M9 έως M15), είχαν τιμές από 1,8 έως 4 και κατατάχθηκαν στην κατηγορία του παρθένου ελαιολάδου (Median bitter 1,8 έως 3,6) και του λαμπάντε (Median bitter=4), ενώ στα δείγματα που έγινε μόνο προσθήκη νερού και με βαθμό ωριμότητας καρπών $MI=1,47$ (δείγματα M17 έως M21) παρατηρήθηκαν τιμές από 0,5 έως 0,7 και κατατάχθηκαν στην κατηγορία του εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου. Η διάμεση τιμή για το πικρό (Median bitter) κυμάνθηκε από ελαφρό πικρό ($\leq 3,0$) (Πίνακας 5.5) και μεσαίο πικρό ($3,0 < Me \leq 6,0$) για τα δείγματα M9-M15 (Πίνακας 5.6). Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία αναμένεται σε ελαιόλαδα πρώιμης συγκομιδής Mb ανώτερο του 6,0 («έντονο πικρό»), διότι η συγκέντρωση σε φαινολικά συστατικά είναι μεγαλύτερη σε αυτό το στάδιο. Η πικρή γεύση των δειγμάτων M9-M15 μπορεί να εξηγείται και από την προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων, καθώς η προσθήκη ταλκ σχετίζεται με αύξηση της απιγενίνης και ελαιασίνης, υπεύθυνη για την πικρή γεύση (Aguilera *et al.*, 2015). Επιπλέον η προσθήκη άλατος, οδηγεί σε αύξηση της διαλυτότητας των ενώσεων και επομένως ενίσχυση της πικρής γεύσης (Clodoveo, 2012, Cruz *et al.*, 2007). Ο χαρακτηρισμός των δειγμάτων ως «μεσαίο πικρό» οφείλεται και στην ποικιλία, καθώς είναι χαρακτηριστικό του ελαιολάδου ποικιλίας Κορωνέικης (Kandyliis *et al.*, 2011).

Πίνακας 5.5: Διάμεση τιμή για το πικρό (*Median bitter*) των δειγμάτων ελαιολάδου που παράχθηκαν με συνθήκες μάλαξης 30°C για 30min, προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων και διαφορετικών ποσοτήτων νερού.

Δείγματα	Προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων και νερού	Αριθμός Δοκιμαστών	Οργανοληπτική Αξιολόγηση (<i>Median bitter</i>)	CVr%	Κατηγορία
M9	1% talc 10% NaCl 200mL νερό	6	4	17,6	Λαμπάντε
M10	1% talc 5% NaCl 100mL νερό	6	3	20,2	Παρθένο
M11	1% talc 10% NaCl 100mL νερό	6	3,6	19,4	Παρθένο
M12	1% talc 100mL νερό	6	4	0,0	Παρθένο
M13	1% talc 5% NaCl 200mL νερό	6	1,8	18,4	Παρθένο
M14	1% talc 10% NaCl	6	2,1	13,8	Εξαιρετικά Παρθένο
M15	1% talc 7,7% NaCl 200mL νερό	6	3,1	>20	Παρθένο

Πίνακας 5.6: Διάμεση τιμή για το πικρό (*Median bitter*) των δειγμάτων ελαιολάδου που παράχθηκαν με προσθήκη νερού (200mL) κατά τη μάλαξη.

Δείγματα	Συνθήκες μάλαξης	Αριθμός Δοκιμαστών	Οργανοληπτική Αξιολόγηση (<i>Median bitter</i>)	CVr%	Κατηγορία
M17	20°C, 60min	7	0	-	Εξαιρετικά Παρθένο
M18	25°C, 60min	7	0,7	>20	Εξαιρετικά Παρθένο
M19	30°C, 60min	7	0,7	11,8	Εξαιρετικά Παρθένο
M20	20°C, 45min	7	0,5	>20	Εξαιρετικά Παρθένο
M21	25°C, 45min	7	0,5	>20	Εξαιρετικά Παρθένο

5.4 Ένταση του πικρού (Bitter Index)

Η έντονη πικρή γεύση στο ελαιόλαδο δεν είναι ανεκτή από τους καταναλωτές, ωστόσο δεν υπάρχει σαφές όριο αποδοχής ή μη από τους καταναλωτές για την ένταση του πικρού. Οι Gutierrez *et al.* (1992) πρότειναν τη χρήση της απορρόφησης σε μήκος κύματος 225nm του φαινολικού εκχυλίσματος που λαμβάνεται από παρθένο ελαιόλαδο για την αξιολόγηση της πικρής γεύσης, καθώς βρέθηκε να συσχετίζεται ισχυρά ($r = 0,914$) με την ένταση του πικρού που αξιολογήθηκε από ομάδα δοκιμαστών. Εμπειρικά καθόρισαν ως σημείο αναφοράς της έντασης για το πικρό την τιμή 2,5 και απορρόφηση $K_{225} = 0,250$. Όταν η αξιολόγηση για το πικρό ξεπεράσει την τιμή 2,5 και η απορρόφηση $K_{225} > 0,360$ τότε τα ελαιόλαδα είναι αρκετά πικρά (υψηλές ή εξαιρετικά υψηλές εντάσεις), τα οποία απορρίπτονται από πολλούς καταναλωτές. Οι ίδιοι ερευνητές βρήκαν πειραματικά και πρότειναν τη χρήση της εξίσωσης 5.2 για τον υπολογισμό της έντασης του πικρού (intensity of bitterness, IB) με τη χρήση του K_{225}

$$IB = 13.33 \cdot K_{225} - 0.837 \text{ (F. Gutierrez Rosales et al., 1992) (εξίσωση 5.2)}$$

Στην παρούσα μελέτη, από την ανάλυση για τον προσδιορισμό της έντασης για το πικρό, οι τιμές BI κυμάνθηκαν από 14,09 έως 17,69 με τιμές K_{225} από $0,558 \pm 0,08$ έως $0,695 \pm 0,02$ για τα δείγματα ελαιολάδου που παράχθηκαν με προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων και διαφορετικών ποσοτήτων νερού κατά τη μάλαξη (Πίνακας 5.7). Μικρότερες τιμές IB από 7,83 έως 9,43 με τιμές απορρόφησης $0,323 \pm 0,01$ έως $0,383 \pm 0,01$ υπολογίστηκαν για τα δείγματα που παράχθηκαν με προσθήκη νερού (200mL) και χωρίς προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων κατά τη μάλαξη (Πίνακας 5.8). Λαμβάνοντας υπόψη ότι τα όρια για την αποδοχή του πικρού από τους καταναλωτές είναι $IB < 2,5$ και $K_{225} < 0,360$ (F. Gutierrez Rosales *et al.*, 1992), οι τιμές της απορρόφησης στα 225nm που υπολογίστηκαν στα δείγματα ελαιολάδου της παρούσης μελέτης είναι πέραν του ανεκτού για το πικρό ($K_{225} > 0,360$), με εξαίρεση τα δείγματα M18, M19 και M20 στα οποία οι τιμές της απορρόφησης βρέθηκαν κάτω από 0,360. Σε έρευνα των Amanya *et al.* (2008), οι οποίοι μελέτησαν εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο (EVOO) μετά την αφαίρεση του πυρήνα του καρπού της ελιάς (ποικιλίες *Koronakii*, *Picual*, *Arbiquene*, *Carotenía* και *Forntoi*) παρατήρησαν ότι αυξάνονται το φαινολικό περιεχόμενο (τυροσόλη, υδροxyτυροσόλη και p- υδροxy-

βενζοϊκό οξύ), οι *o*-διφαινόλες και οι τιμές για το πικρό (Bitter Index) σε σχέση με το ελαιόλαδο που παράχθηκε από ολόκληρο τον καρπό, με BI=7,30 και BI=5,50 αντίστοιχα. Η γεύση των ελαιόλαδων που παράχθηκαν από ολόκληρο τον ελαιόκαρπο δεν ήταν αρεστή από τους καταναλωτές, ενώ τα ελαιόλαδα που προήλθαν από ελαιοκάρπους χωρίς τον πυρήνα ήταν περισσότερο αρωματικά με λιγότερο έντονη την πικρή και στυφή γεύση. Όσον αφορά την προσθήκη άλατος, τα αποτελέσματα συμφωνούν με συμπεράσματα παρόμοιων ερευνών, που έδειξαν ότι προσθήκη άλατος (NaCl) κατά τη μάλαξη αυξάνει την πικρή γεύση (Clodoveo, 2012).

Πίνακας 5.7: Ένταση του πικρού (Bitter index) των δειγμάτων ελαιολάδου που παράχθηκαν με συνθήκες μάλαξης 30°C για 30min, με προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων και διαφορετικών ποσοτήτων νερού.

Δείγματα	Προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων και νερού	Απορρόφηση (225nm)	Bitter Index (BI)
M9	1% talc 10% NaCl 200mL νερό	0,581±0,02	14,63
M10	1% talc 5% NaCl 100mL νερό	0,695±0,02	17,69
M11	1% talc 10% NaCl 100mL νερό	0,558±0,08	14,09
M12	1% talc 100mL νερό	0,566±0,09	14,23
M13	1% talc 5% NaCl 200mL νερό	0,577±0,00	14,49
M14	1% talc 10% NaCl	0,660±0,00	16,76
M15	1% talc 7,7% NaCl 200mL νερό	0,616±0,01	15,56

Πίνακας 5.8: Ένταση του πικρού (*Bitter index*) των δειγμάτων ελαιολάδου που παράχθηκαν με προσθήκη νερού (200mL) κατά τη μάλαξη.

Δείγματα	Συνθήκες μάλαξης	Απορρόφηση (225nm)	Bitter Index (BI)
M17	20°C, 60min	0,378±0,00	9,29
M18	25°C, 60min	0,336±0,00	8,09
M19	30°C, 60min	0,323±0,01	7,83
M20	20°C, 45min	0,361±0,00	8,76
M21	25°C, 45min	0,383±0,01	9,43

5.5 Συσχέτιση Bitter Index και του Βαθμού ωριμότητας (Maturity Index)

Παρατηρήθηκε ότι οι τιμές για την ένταση του πικρού (Bitter Index- BI) (Πίνακες 5.9 και 5.10) συσχετίστηκαν ισχυρά θετικά με τους βαθμούς ωριμότητας (Maturity Index-MI) των ελαιόκαρπων ($r= 0,827$).

Φαίνεται ότι ο βαθμός ωριμότητας (MI= 3,57) των ελαιόκαρπων από τους οποίους παράχθηκαν τα δείγματα ελαιολάδου με προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων και διαφορετικών ποσοτήτων νερού, κατά τη μάλαξη (Πίνακας 5.9) συσχετίστηκε θετικά με τον αυξημένο δείκτη για το πικρό (Bitter Index- BI). Ομοίως για τον βαθμό ωριμότητας (MI=1,47) των καρπών από τους οποίους παράχθηκαν τα δείγματα ελαιολάδου με προσθήκη νερού, χωρίς προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων κατά τη μάλαξη (Πίνακας 5.10).

Από άλλη μελέτη παρατηρήθηκε υψηλό ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC) ελαιολάδου προερχόμενο από ελαιόκαρπους που συλλέχθηκαν σε πρώιμο στάδιο ωρίμανσης, ενώ παρατηρήθηκε μειωμένο ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC) σε ελαιόλαδο προερχόμενο από ώριμους καρπούς. Το ποσοστό μείωσης του ολικού πολικού φαινολικού περιεχομένου (TPC) εξαρτάται από την ποικιλία και το στάδιο ωριμότητας κατά τη συγκομιδή (El Qarnifa *et al.*, 2019). Από τη βιβλιογραφία προκύπτει ότι ελαιόλαδα προερχόμενα από ανώριμους καρπούς έχουν υψηλό φαινολικό περιεχόμενο, το οποίο προσδίδει επιπρόσθετη πικρή και πικάντικη γεύση (Shaker & Basuny, 2020). Ωστόσο, παρατηρείται ότι αν και αναμενόταν (σύμφωνα με

τη βιβλιογραφία) λιγότερο πικρή γεύση στα δείγματα ελαιολάδου που παράχθηκαν από ώριμους καρπούς (MI=3,57), οι τιμές για την αίσθηση του πικρού (BI) βρέθηκαν υψηλότερες σε σχέση με τα δείγματα που προήλθαν από ανώριμους καρπούς (MI=1,47). Αυτό οφείλεται στη χρήση ταλκ και άλατος, τα οποία σύμφωνα με παλιότερες μελέτες (Cruz *et al.*, 2007, Aguilera *et al.*, 2015) ενισχύουν την πικρή γεύση, καθώς το αλάτι επηρεάζει την διαλυτότητα των ενώσεων ενώ το ταλκ με την υδρόφοβη και υδρόφιλη συμπεριφορά βελτιώνει την απελευθέρωση των φαινολικών ενώσεων (Caronio *et al.*, 2016).

Πίνακας 5.9: Βαθμός ωριμότητας (MI=3,57) των ελαιόκαρπων και ένταση του πικρού (Bitter Index) των δειγμάτων ελαιολάδου που παράχθηκαν σε συνθήκες μάλαξης 30 °C για 30min, με προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων και διαφορετικών ποσοτήτων νερού.

Δείγματα	Προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων και νερού	Bitter Index (BI)	Maturity Index (MI)
M9	1% talc 10% NaCl 200mL νερό	14,63	
M10	1% talc 5% NaCl 100mL νερό	17,69	
M11	1% talc 10% NaCl 100mL νερό	14,09	3,57
M12	1% talc 100mL νερό	14,23	
M13	1% talc 5% NaCl 200mL νερό	14,49	
M14	1% talc 10% NaCl	16,76	
M15	1% talc 7,7% NaCl 200mL νερό	15,56	

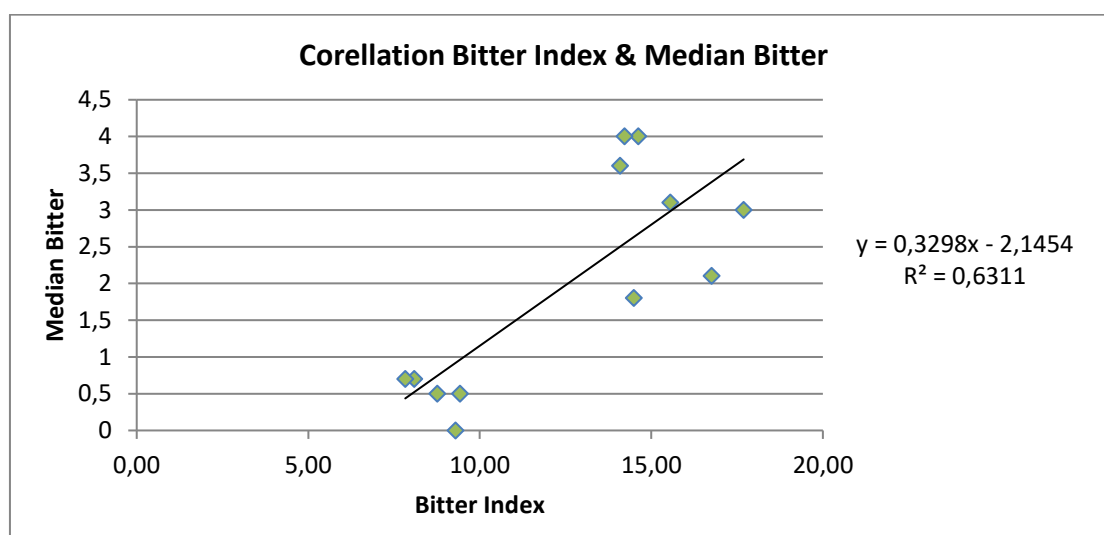
Πίνακας 5.10: Βαθμός ωριμότητας ($MI=1,47$) των ελαιόκαρπων και ένταση του πικρού (*Bitter Index*) των δειγμάτων ελαιολάδου που παράχθηκαν με προσθήκη νερού (200mL) κατά τη μάλαξη.

Δείγματα	Συνθήκες μάλαξης	Bitter Index (BI)	Maturity Index (MI)
M17	20°C, 60min	9,29	
M18	25°C, 60min	8,09	
M19	30°C, 60min	7,83	1,47
M20	20°C, 45min	8,76	
M21	25°C, 45min	9,43	

5.6 Συσχέτιση Bitter Index και οργανοληπτικής αξιολόγησης (Median bitter)

Οι τιμές για την ένταση του πικρού (Bitter Index-BI) επίσης συσχετίστηκαν και με τη διάμεση τιμή για του πικρό (Median bitter-Mb) από την οργανοληπτική αξιολόγηση (υποκειμενική μέθοδος). Από το διάγραμμα διασποράς (Σχήμα 5.1) φαίνεται ότι η διάμεση τιμή του πικρού (Mb) συσχετίστηκε ισχυρά θετικά ($r = 0,794$) με τις τιμές του πικρού (BI).

Οι F. Gutierrez Rosales *et al.*, (1992) βρήκαν μεγαλύτερη συσχέτιση της έντασης του πικρού (Bitter Index-BI) με την οργανοληπτική αξιολόγηση από πάνελ δοκιμαστών ($r = 0,914$).



Σχήμα 5.1: Διάγραμμα διασποράς για τη συσχέτιση της διάμεσης τιμής του πικρού (Median bitter) και της έντασης του πικρού (Bitter Index).

Πίνακας 5.11: Η ένταση του πικρού (BI) και η διάμεση τιμή του πικρού (Median bitter) των δειγμάτων ελαιολάδου που παράχθηκαν με συνθήκες μάλαξης 30°C για 30min, με προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων και διαφορετικών ποσοτήτων νερού.

Δείγματα	Προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων και νερού	Bitter Index (BI)	Median bitter (Mb)
M9	talc 1% 10% αλάτι 200mL νερό	14,63	4
M10	talc 1% 5% αλάτι 100mL νερό	17,69	3
M11	talc 1% 10% αλάτι 100mL νερό	14,09	3,6
M12	talc 1% 100mL νερό	14,23	4
M13	talc 1% 5% αλάτι 200mL νερό	14,49	1,8
M14	talc 1% 10% αλάτι	16,76	2,1
M15	talc 1% 7,7% αλάτι 200mL νερό	15,56	3,1

Πίνακας 5.12: Η ένταση του πικρού (BI) και η διάμεση τιμή του πικρού (Median bitter) των δειγμάτων ελαιολάδου που παράχθηκαν με προσθήκη νερού (200mL) κατά τη μάλαξη.

Δείγματα	Συνθήκες μάλαξης	Bitter Index (BI)	Median bitter (Mb)
M17	20°C, 60min	9,29	0
M18	25°C, 60min	8,09	0,7
M19	30°C, 60min	7,83	0,7
M20	20°C, 45min	8,76	0,5
M21	25°C, 45min	9,43	0,5

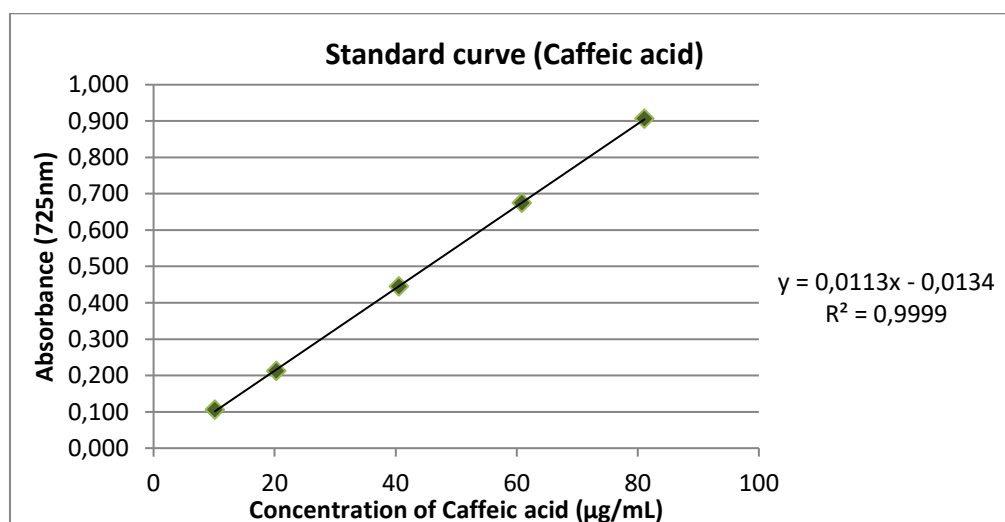
5.7 Ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC)

Από την εξίσωση της ευθείας της πρότυπης καμπύλης του καφεϊκού ($y = 0,0113x - 0,0134$) υπολογίστηκαν τα μg ισοδύναμων καφεϊκού οξέος στο σωλήνα και στη συνέχεια τα mg/Kg ελαιολάδου (Πίνακας 5.13).

Από την στατιστική ανάλυση παλινδρόμησης ($p < 0,05$) και ($R^2 = 0,999$), το γραμμικό μοντέλο κρίνεται στατιστικά σημαντικό για να προβλέψει τη μάζα καφεϊκού οξέος δείγματος σε σχέση με την απορρόφηση του στα 765nm (Σχήμα 5.2).

Πίνακας 5.13: Συγκεντρώσεις καφεϊκού οξέος προτύπων διαλυμάτων και απορρόφηση.

Συγκέντρωση καφεϊκού οξέος ($\mu\text{g/mL}$)	Απορρόφηση (765nm)
10,14	0,106
20,28	0,212
40,56	0,445
60,84	0,675
81,12	0,907



Σχήμα 5.2: Πρότυπη καμπύλη αναφοράς καφεϊκού οξέος.

Όπως φαίνεται στους Πίνακες 5.13 και 5.14, το ολικό πολικό φαινολικό περιεχόμενο κυμάνθηκε από $139 \text{ mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ έως $477 \text{ mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$, με το μέγιστο να παρατηρείται στα δείγματα ελαιολάδου (M9 έως M15) που παρήχθησαν με προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων και διαφορετικών ποσοτήτων νερού (Πίνακας 5.14). Οι τιμές του ολικού πολικού φαινολικού περιεχομένου των δειγμάτων που παρήχθησαν μόνο με προσθήκη νερού κατά τη μάλαξη, χωρίς προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων (M17 έως M21) κυμάνθηκαν από $139 \text{ mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ έως $162 \text{ mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ (Πίνακας 5.15). Τα αποτελέσματα συμφωνούν με παρόμοιες μελέτες, καθώς το ολικό πολικό φαινολικό περιεχόμενο ποικίλει από 50 έως $1000 \text{ mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$, ανάλογα με την διαδικασία εξαγωγής, την γεωγραφική περιοχή, τον βαθμό ωριμότητας, την περίοδο συγκομιδής (I. Oueslati *et al.*, 2009, Aguilera *et al.*, 2005) και τις διαφορετικές ποικιλίες ελιάς (Allalout *et al.*, 2009). Σε έρευνα των Blekas *et al.*, (2002), το ολικό πολικό φαινολικό περιεχόμενο ελαιολάδου προερχόμενο από ποικιλία Κορωνέικη κυμάνθηκε από 20 έως $339 \text{ mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$, το οποίο συμφωνεί με τα αποτελέσματα των δειγμάτων, ενώ σε μελέτη των Kalogeropoulos & Tsimidou, (2014) το ολικό πολικό φαινολικό περιεχόμενο ελαιολάδου, πάλι ποικιλίας Κορωνέικης, βρέθηκε ίσο με $373.3 \text{ mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ κατά την ελαιοποίηση σε διφασικά ελαιοτριβεία και $315.9 \text{ mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ σε τριφασικά.

Επιπλέον, τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας για το ολικό πολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC), συμφωνούν με παρόμοιες μελέτες που έδειξαν ότι για θερμοκρασία μάλαξης 30°C παρατηρήθηκε αυξημένο φαινολικό περιεχόμενο (Parenti *et al.*, 2008). Το ολικό φαινολικό περιεχόμενο των δειγμάτων που παράχθηκαν με χρήση τεχνολογικών βοηθημάτων και διαφορετικών ποσοτήτων νερού, με θερμοκρασία μάλαξης 30°C βρέθηκε αυξημένο, σε σχέση με τα δείγματα ελαιολάδου που παράχθηκαν μόνο με προσθήκη νερού, χωρίς προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων, με θερμοκρασίες μάλαξης 20, 25 και 30°C . Σε αυτό το σημείο, παρατηρείται ότι ενώ και στους 2 κύκλους ελαιοποιήσεων η μάλαξη έγινε σε σχετικά χαμηλές θερμοκρασίες, μεγαλύτερη απόδοση παρατηρήθηκε στα δείγματα στα οποία έγινε προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων (ταλκ και αλάτι). Τα αποτελέσματα συμφωνούν με την έρευνα των Caronio *et al.* (2014, 2015), οι οποίοι διαπίστωσαν ότι με την προσθήκη ταλκ (1 και 2%) το φαινολικό περιεχόμενο αυξήθηκε, αλλά όχι σημαντικά.

Να σημειωθεί ότι μελετήθηκε δείγμα ταγγού ελαιολάδου (rancid) το οποίο παρασκευάστηκε με την μέθοδο επιταχυνόμενης οξείδωσης σε συσκευή Rancimat 679 (Metrohn, Herisau, Switzerland). Το ταγγό δείγμα είχε μικρή περιεκτικότητα σε ολικό φαινολικό περιεχόμενο ($84 \text{ mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$), το οποίο αναμένεται, καθώς με την οξείδωση προκαλείται αποικοδόμηση των φαινολών (Morales *et al.*, 2013).

Πίνακας 5.14: Ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC) των δειγμάτων ελαιολάδου που παράχθηκαν με συνθήκες μάλαξης 30°C για 30min, με προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων και διαφορετικών ποσοτήτων νερού.

Δείγματα	Προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων και νερού	mg/ kg ελαιολάδου
M9	1% talc 10% NaCl 200mL νερό	369
M10	1% talc 5% NaCl 100mL νερό	394
M11	1% talc 10% NaCl 100mL νερό	477
M12	1% talc 100mL νερό	327
M13	1% talc 5% NaCl 200mL νερό	371
M14	1% talc 10% NaCl	438
M15	1% talc 7,7% NaCl 200mL νερό	396

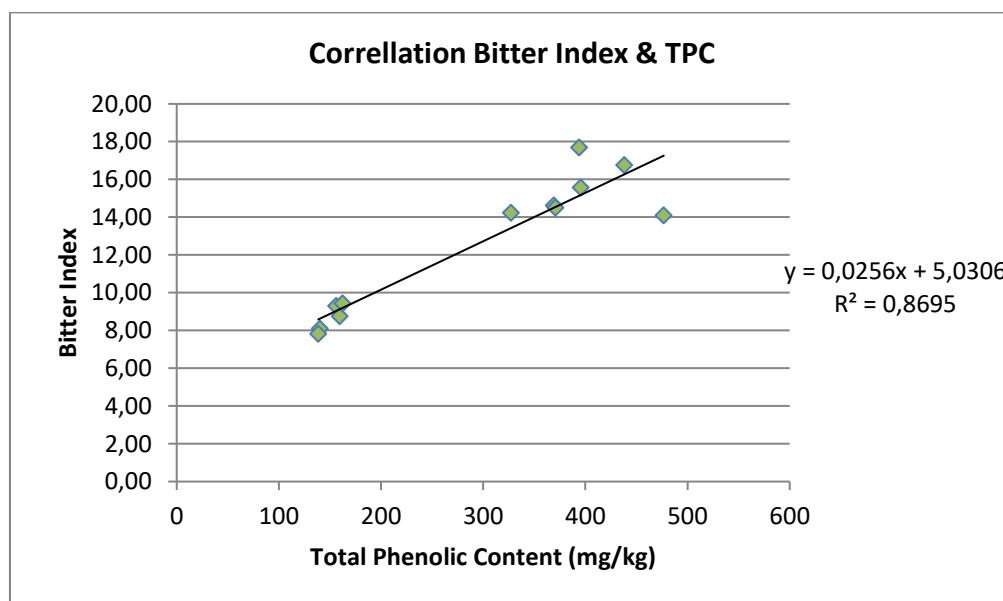
Πίνακας 5.15: Ολικό πολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC) των δειγμάτων ελαιολάδου που παράχθηκαν με προσθήκη νερού (200mL) κατά τη μάλαξη.

Δείγματα	Συνθήκες μάλαξης	mg/ kg ελαιολάδου
M17	20°C, 60min	156
M18	25°C, 60min	140
M19	30°C, 60min	139
M20	20°C, 45min	160
M21	25°C, 45min	162

5.8 Συσχέτιση Bitter Index και ολικού πολικού φαινολικού κλάσματος (TPC)

Στην παρούσα μελέτη από το διάγραμμα διασποράς για την συσχέτιση των τιμών του δείκτη πικρού (Bitter Index-BI) με το ολικό πολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC), παρατηρήθηκε πολύ ισχυρή συσχέτιση ($r= 0,932$) (Σχήμα 5.3).

Παρατηρήθηκε στην παρούσα έρευνα ότι το φαινολικό περιεχόμενο των δειγμάτων M9 έως M15 κυμάνθηκε μεταξύ 327 και 477 mg/kg με υψηλές τιμές για το πικρό (BI: 14,09 έως 17,69), τα οποία είχαν διάμεση τιμή για το πικρό (Mb) από 1,8 έως 3,6 και εκφράστηκαν ως «μεσαία πικρά». Το φαινολικό περιεχόμενο των δειγμάτων M17 έως M21 κυμάνθηκε μεταξύ 139 και 162 mg/kg, με χαμηλότερες τιμές για το πικρό (BI: 7,83- 9,43), τα οποία είχαν διάμεση τιμή (Mb) από 0,5-0,7 και εκφράστηκαν ως «ελαφρά πικρά» (Πίνακες 5.16 και 5.17). Σε αντίθεση, οι Beltran et al., (2007) βρήκαν ότι το φαινολικό περιεχόμενο κυμαίνεται κάτω από 220mg/kg για ελαιόλαδα που δεν είχαν πικρή γεύση, από 220-340mg/kg για ελαιόλαδα με ελαφρώς πικρή γεύση, 340-410mg/kg για ελαιόλαδα με πικρή γεύση και μεγαλύτερο από 410mg/kg για πολύ πικρά.



Σχήμα 5.3: Διάγραμμα διασποράς για τη συσχέτιση της έντασης του πικρού (Bitter Index) με το ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC).

Πίνακας 5.16: Η ένταση του πικρού (Bitter Index) και το ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC) των δειγμάτων ελαιολάδου που παράχθηκαν με συνθήκες μάλαξης 30°C για 30min, με προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων και διαφορετικών ποσοτήτων νερού.

Δείγματα	Προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων και νερού	Bitter Index (BI)	mg/ kg ελαιολάδου
M9	talc 1% 10% αλάτι 200mL νερό	14,63	369
M10	talc 1% 5% αλάτι 100mL νερό	17,69	394
M11	talc 1% 10% αλάτι 100mL νερό	14,09	477
M12	talc 1% 100mL νερό	14,23	327
M13	talc 1% 5% αλάτι 200mL νερό	14,49	371
M14	talc 1% 10% αλάτι	16,76	438
M15	talc 1% 7,7% αλάτι 200mL νερό	15,56	396

Πίνακας 5.17: Η ένταση του πικρού (Bitter Index) και το ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC) των δειγμάτων ελαιολάδου που παράχθηκαν με προσθήκη νερού (200mL) κατά τη μάλαξη.

Δείγματα	Συνθήκες μάλαξης	Bitter Index (BI)	mg/ kg ελαιολάδου
M17	20°C, 60min	9,29	156
M18	25°C, 60min	8,09	140
M19	30°C, 60min	7,83	139
M20	20°C, 45min	8,76	160
M21	25°C, 45min	9,43	162

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Οι συνθήκες μάλαξης, η προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων (ταλκ, αλάτι) και διαφορετικών ποσοτήτων νερού επηρεάζουν την απόδοση σε ελαιόλαδο, αλλά και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του.

Αναφορικά με την απόδοση του ελαιολάδου, παρατηρήθηκε μεγαλύτερη απόδοση στα δείγματα που παράχθηκαν με προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων, διαφορετικών ποσοτήτων νερού, και προήλθαν από υψηλότερου βαθμού ωριμότητας ελαιόκαρπους, σε σχέση με τα δείγματα που παράχθηκαν μόνο με προσθήκη νερού κατά τη μάλαξη και προήλθαν από ελαιόκαρπους με χαμηλότερο βαθμό ωριμότητας. Η θερμοκρασία μάλαξης και στις δυο περιπτώσεις δεν ξεπέρασε τους 30°C.

Από την οργανοληπτική αξιολόγηση για το πικρό (Median bitter) που έγινε από πάνελ δοκιμαστών (6 έως 9), παρατηρήθηκε ελαφριά έως μέτριας έντασης για το πικρό στα δείγματα που παράχθηκαν με προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων και διαφορετικών ποσοτήτων νερού (M9 έως M15), με τιμές που κυμάνθηκαν από 1,8 έως 4. Για τα δείγματα που παράχθηκαν με προσθήκη νερού, χωρίς προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων, παρατηρήθηκε ελαφριά ένταση του πικρού και η διάμεση τιμή κυμάνθηκε από 0 έως 0,7.

Το ολικό πολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC) των δειγμάτων που παράχθηκαν με χρήση τεχνολογικών βοηθημάτων και διαφορετικών ποσοτήτων νερού, με θερμοκρασία μάλαξης 30°C βρέθηκε αυξημένο, σε σχέση με τα δείγματα ελαιολάδου που παράχθηκαν μόνο με προσθήκη νερού, χωρίς προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων, με θερμοκρασίες μάλαξης 20, 25 και 30°C.

Οι τιμές για τον προσδιορισμό του δείκτη του πικρού (Bitter Index-BI) και οι τιμές από τον προσδιορισμό του ολικού πολικού φαινολικού περιεχομένου (TPC), παρουσίασαν θετική συσχέτιση ($r= 0,932$, $p \leq 0,05$). Στα δείγματα με προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων και διαφορετικών ποσοτήτων νερού κατά τη μάλαξη παρατηρήθηκαν υψηλότερες τιμές σε ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC), οι οποίες συσχετίστηκαν με τις τιμές για το πικρό (Bitter Index- BI) για τον αντικειμενικό προσδιορισμό του. Στα δείγματα που παράχθηκαν μόνο με προσθήκη νερού, χωρίς προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων, κατά τη μάλαξη παρατηρήθηκαν χαμηλότερες τιμές σε φαινολικό περιεχόμενο και ένταση του πικρού.

Από την συσχέτιση της οργανοληπτικής αξιολόγησης (Median bitter) (υποκειμενική μέθοδος) και της έντασης του πικρού με αντικειμενική μέθοδο (Bitter Index), παρατηρήθηκε ισχυρή θετική συσχέτιση ($r= 0,794, p\leq 0,05$).

Από την συσχέτιση του βαθμού ωριμότητας (MI) και του δείκτη για το πικρό (BI) ($r= 0,827, p\leq 0,05$), παρατηρείται ότι τα δείγματα του ελαιολάδου που προήλθαν από ώριμους καρπούς (MI=3,57) και παράχθηκαν με προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων και διαφορετικές ποσότητες νερού κατά τη μάλαξη είχαν μεγαλύτερες τιμές για το πικρό (Bitter Index-BI) και μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά συστατικά (TPC), έναντι των δειγμάτων ελαιολάδου που προήλθαν από ανώριμους καρπούς (MI=1,47) και παράχθηκαν με προσθήκη νερού κατά τη μάλαξη, τα οποία είχαν χαμηλότερες τιμές για το πικρό και μικρότερο φαινολικό περιεχόμενο. Δεδομένου ότι κατά την ωρίμανση μειώνεται η συγκέντρωση των φαινολικών, στη παρούσα μελέτη φαίνεται πως τα δείγματα ελαιολάδου προερχόμενα από ώριμους καρπούς, παραγόμενα με προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων και διαφορετικών ποσοτήτων νερού κατά τη μάλαξη παρουσίασαν αυξημένη συγκέντρωση σε ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC), χαρακτηρίστηκαν από ελαφρύ έως μεσαίο πικρό (Mb) κατά την οργανοληπτική αξιολόγηση, έναντι των υπόλοιπων δειγμάτων που παρήχθησαν χωρίς την προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων και προήλθαν από ανώριμους καρπούς.

Συνολικά, παρατηρείται ότι η προσθήκη τεχνολογικών βοηθημάτων οδηγεί σε αυξημένη απόδοση, αυξημένο φαινολικό περιεχόμενο και κατ' επέκταση αυξημένη ένταση του πικρού. Από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης φάνηκε ότι ο δείκτης του πικρού (BI) μπορεί να χρησιμοποιηθεί με σχετική αξιοπιστία στις περιπτώσεις που δεν είναι διαθέσιμο εκπαιδευμένο πάνελ δοκιμαστών για την αξιολόγηση του πικρού. Ωστόσο, απαιτείται παραπάνω διερεύνηση αναφορικά με τις ενώσεις με την μεγαλύτερη επίδραση στη γεύση του πικρού.

Βιβλιογραφία

- Aguilera, M. P., Beltrán, G., Ortega, D., Fernández, A., Jiménez, A., & Uceda, M. (2005). Characterisation of virgin olive oil of Italian olive cultivars: Frantoio'andLeccino', grown in Andalusia. *Food chemistry*, 89(3), 387-391.
- Aguilera, M. P., Jimenez, A., Sanchez-Villasclaras, S., Uceda, M., & Beltran, G. (2015). Modulation of bitterness and pungency in virgin olive oil from unripe "Picual" fruits. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 117(9), 1463-1472.
- Allalout, A., Krichène, D., Methenni, K., Taamalli, A., Oueslati, I., Daoud, D., & Zarrouk, M. (2009). Characterization of virgin olive oil from super intensive Spanish and Greek varieties grown in northern Tunisia. *Scientia horticulturae*, 120(1), 77-83.
- Alu'datt, M. H., Rababah, T., Alhamad, M. N., Gammoh, S., Ereifej, K., Al-Mahasneh, M. A., ... & Kubow, S. (2017). Application of olive oil as nutraceutical and pharmaceutical food: composition and biofunctional constituents and their roles in functionality, therapeutic, and nutraceutical properties. *Soft chemistry and food fermentation*, 265-298.
- Amany, M., Arafat, M. S., & Dalia, M. M. (2008). Virgin olive oil quality: relationship between bioactive components and organoleptic evaluation. *Journal of Food Science and Technology*, 21-29.
- Amany, M., Arafat, M. S., & Dalia, M. M. (2008). Virgin olive oil quality: relationship between bioactive components and organoleptic evaluation. *Journal of Food Science and Technology*, 21-29.
- Amirante, P., Clodoveo, M. L., Tamborrino, A., Leone, A., & Paice, A. G. (2010). Olives and olive oil in health and disease prevention.
- Amirante, P., Pasqualone, A., Clodoveo, M. L., Montel, G. L., Catalano, P., Cini, E., ... & Cresti, G. (2001). Influence of extraction techniques on the quality of oil in Tuscany. *New systems of olive cultivation*, 81.
- Amiot-Carlin, M. J. (2014). Olive oil and health effects: from epidemiological studies to the molecular mechanisms of phenolic fraction. *OCL Oilseeds and fats crops and lipids*, 21(5), 1-8.

- Amiot, M. J., Fleuriet, A., & Macheix, J. J. (1986). Importance and evolution of phenolic compounds in olive during growth and maturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 34(5), 823-826.
- Amiot-Carlin, M. J. (2014). Olive oil and health effects: from epidemiological studies to the molecular mechanisms of phenolic fraction. *OCL Oilseeds and fats crops and lipids*, 21(5), 1-8.
- Bianco, A., Chiacchio, M. A., Grassi, G., Iannazzo, D., Piperno, A., & Romeo, R. (2006). Phenolic components of *Olea europaea*: Isolation of new tyrosol and hydroxytyrosol derivatives. *Food Chemistry*, 95(4), 562-565.
- Ben-David, E., Kerem, Z., Zipori, I., Weissbein, S., Basheer, L., Bustan, A., & Dag, A. (2010). Optimization of the Abencor system to extract olive oil from irrigated orchards. *European journal of lipid science and technology*, 112(10), 1158-1165.
- Beltrán, G., Ruano, M. T., Jiménez, A., Uceda, M., & Aguilera, M. P. (2007). Evaluation of virgin olive oil bitterness by total phenol content analysis. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109(3), 193-197.
- Blekas, G., Psomiadou, E., Tsimidou, M., & Boskou, D. (2002). On the importance of total polar phenols to monitor the stability of Greek virgin olive oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104(6), 340-346.
- Bonvino, N. P., Liang, J., McCord, E. D., Zafiridis, E., Benetti, N., Ray, N. B., ... & Karagiannis, T. C. (2018). OliveNet™: a comprehensive library of compounds from *Olea europaea*. *Database*, 2018, bay016.
- Boskou, D. (2015). Olive fruit, table olives, and olive oil bioactive constituents. In *Olive and olive oil bioactive constituents* (pp. 1-30). AOCS Press.
- Boskou, D. (2006). Characteristics of the olive tree and olive fruit. In *Olive Oil* (pp. 13-19). AOCS Press.

- Boustany, N. (2011). *The Millenium Olives (Olea europea L.) in Lebanon: Rejuvenation, Micropropagation and Olive Oil Variation during Maturation And Conservation* (Doctoral dissertation, Università degli Studi di Sassari).
- Calabriso, N., Scoditti, E., Pellegrino, M., & Carluccio, M. A. (2015). Olive oil. In *The Mediterranean Diet* (pp. 135-142). Academic Press.
- Caponio, F., Alloggio, V., & Gomes, T. (1999). Phenolic compounds of virgin olive oil: influence of paste preparation techniques. *Food Chemistry*, *64*(2), 203-209.
- Caponio, F., Summo, C., Paradiso, V. M., & Pasqualone, A. (2014). Influence of decanter working parameters on the extra virgin olive oil quality. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *116*(12), 1626-1633.
- Caponio, F., Squeo, G., Monteleone, J. I., Paradiso, V. M., Pasqualone, A., & Summo, C. (2015). First and second centrifugation of olive paste: Influence of talc addition on yield, chemical composition, and volatile compounds of the oils. *LWT-Food Science and Technology*, *64*(1), 439-445.
- Caponio, F., Squeo, G., Difonzo, G., Pasqualone, A., Summo, C., & Paradiso, V. M. (2016). Has the use of talc an effect on yield and extra virgin olive oil quality? *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *96*(10), 3292-3299.
- Carrapiso, A. I., García, A., Petró, M. J., & Martín, L. (2013). Effect of talc and water addition on olive oil quality and antioxidants. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *115*(5), 583-588.
- Cavallo, C., Cicia, G., Del Giudice, T., Sacchi, R., & Vecchio, R. (2019). Consumers' perceptions and preferences for bitterness in vegetable foods: The case of extra-virgin olive oil and brassicaceae—A narrative review. *Nutrients*, *11*(5), 1164.
- Clodoveo, M. L. (2012). Malaxation: Influence on virgin olive oil quality. Past, present and future—An overview. *Trends in Food Science & Technology*, *25*(1), 13-23.

- Criado, M. N., Romero, M. P., & Motilva, M. J. (2007). Effect of the technological and agronomical factors on pigment transfer during olive oil extraction. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(14), 5681-5688.
- Cruz, S., Yousfi, K., Perez, A. G., Mariscal, C., & Garcia, J. M. (2007). Salt improves physical extraction of olive oil. *European Food Research and Technology*, 225, 359-365.
- Dag, A., Kerem, Z., Yogev, N., Zipori, I., Lavee, S., & Ben-David, E. (2011). Influence of time of harvest and maturity index on olive oil yield and quality. *Scientia Horticulturae*, 127(3), 358-366.
- Demopoulos, V., Karkoula, E., Magiatis, P., Melliou, E., Kotsiras, A., & Mouroutoglou, C. (2012, June). Correlation of oleocanthal and oleacein concentration with pungency and bitterness in 'Koroneiki' virgin olive oil. In *International Symposium on Horticulture in Europe 1099* (pp. 219-224).
- Dierkes, G., Krieger, S., Dück, R., Bongartz, A., Schmitz, O. J., & Hayen, H. (2012). High-performance liquid chromatography–mass spectrometry profiling of phenolic compounds for evaluation of olive oil bitterness and pungency. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(31), 7597-7606.
- Di Pietro, M. E., Mannu, A., & Mele, A. (2020). NMR determination of free fatty acids in vegetable oils. *Processes*, 8(4), 410.
- Emmanouilidou, M.G.; Koukourikou-Petridou, M.; Gerasopoulos, D.; Kyriacou, M.C. Evolution of physicochemical constitution and cultivar-differential maturity configuration in olive (*Olea europaea* L.) fruit. *Sci. Hortic.* 2020, 272, 109516.
- El Qarnifa, S., El Antari, A., & Hafidi, A. (2019). Effect of maturity and environmental conditions on chemical composition of olive oils of introduced cultivars in Morocco. *Journal of Food Quality*, 2019, 1-14.
- Fortini, M., Migliorini, M., Cherubini, C., Cecchi, L., Guerrini, L., Masella, P., & Parenti, A. (2016). Shelf life and quality of olive oil filtered without vertical

centrifugation. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 118(8), 1213-1222.

Fregapane, G.; Gómez-Rico, A.; Salvador, M.D. Chapter 6: Influence of Irrigation Management and Ripening on Virgin Olive Oil Quality and Composition; San Diego, Ed.; *Academic Press: Cambridge*, MA, USA, 2010; pp. 51–58.

Gawel, R., & Rogers, D. A. (2009). The relationship between total phenol concentration and the perceived style of extra virgin olive oil. *Grasas y Aceites*, 60(2), 134-138.

Genovese, A., Caporaso, N., & Sacchi, R. (2021). Flavor chemistry of virgin olive oil: An overview. *Applied Sciences*, 11(4), 1639.

Genovese, A., Yang, N., Linforth, R., Sacchi, R., & Fisk, I. (2018). The role of phenolic compounds on olive oil aroma release. *Food Research International*, 112, 319-327.

Gertz, C., Klostermann, S., & Kochhar, S. P. (2000). Testing and comparing oxidative stability of vegetable oils and fats at frying temperature. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 102(8-9), 543-551.

Ghanbari, R., Anwar, F., Alkharfy, K. M., Gilani, A. H., & Saari, N. (2012). Valuable nutrients and functional bioactives in different parts of olive (*Olea europaea* L.)—a review. *International journal of molecular sciences*, 13(3), 3291-3340.

Gomez-Rico, A., Inarejos-Garcia, A. M., Salvador, M. D., & Fregapane, G. (2009). Effect of malaxation conditions on phenol and volatile profiles in olive paste and the corresponding virgin olive oils (*Olea europaea* L. Cv. Cornicabra). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(9), 3587-3595.

Gómez-Rico, A.; Fregapane, G.; Salvador, M.D. Effect of cultivar and ripening on minor components in Spanish olive fruits and their corresponding virgin olive oils. *Food Res. Int.* 2008, 41, 433–440.

- Guzmán, E., Baeten, V., Pierna, J. A. F., & García-Mesa, J. A. (2015). Determination of the olive Maturity Index of intact fruits using image analysis. *Journal of food science and technology*, *52*, 1462-1470.
- Gutiérrez-Rosales, F., Rios, J. J., & Gomez-Rey, M. L. (2003). Main polyphenols in the bitter taste of virgin olive oil. Structural confirmation by on-line high-performance liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*(20), 6021-6025.
- I. Oueslati, C. Anniva, D. Daoud, M. Z. Tsimidou, and M. Zarrouk, "Virgin olive oil (VOO) production in Tunisia: the commercial potential of the major olive varieties from the arid Tataouine zone," *Food Chemistry*, vol. 112, no. 3, pp. 733–741, 2009.
- Inarejos-García, A. M., Androulaki, A., Salvador, M. D., Fregapane, G., & Tsimidou, M. Z. (2009). Discussion on the objective evaluation of virgin olive oil bitterness. *Food Research International*, *42*(2), 279-284.
- Inarejos-García, A. M., Santacatterina, M., Salvador, M. D., Fregapane, G., & Gómez-Alonso, S. (2010). PDO virgin olive oil quality—Minor components and organoleptic evaluation. *Food Research International*, *43*(8), 2138-2146.
- Jabeur, H., Zribi, A., & Bouaziz, M. (2017). Changes in chemical and sensory characteristics of Chemlali extra-virgin olive oil as depending on filtration. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *119*(1), 1500602.
- Kalogeropoulos, N., & Tsimidou, M. Z. (2014). Antioxidants in Greek virgin olive oils. *Antioxidants*, *3*(2), 387-413.
- Johnson, R. L., & Mitchell, A. E. (2018). Reducing phenolics related to bitterness in table olives. *Journal of food quality*, 2018.
- Kalogianni, E. P., Georgiou, D., & Hasanov, J. H. (2019). Olive oil processing: Current knowledge, literature gaps, and future perspectives. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *96*(5), 481-507.
- Kalua, C. M., Bedgood, D. R., Bishop, A. G., & Prenzler, P. D. (2006). Changes in volatile and phenolic compounds with malaxation time and temperature during virgin

- olive oil production. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(20), 7641-7651.
- Kandylis, P., Vekiari, A. S., Kanellaki, M., Kamoun, N. G., Msallem, M., & Kourkoutas, Y. (2011). Comparative study of extra virgin olive oil flavor profile of Koroneiki variety (*Olea europaea* var. *Microcarpa alba*) cultivated in Greece and Tunisia during one period of harvesting. *LWT-Food Science and Technology*, 44(5), 1333-1341.
- Keast, R. S. J. (2007). Flavour as an analytical tool-An anti-inflammatory compound in olive oil. *Food Australia*, 59(8), 363.
- López-Yerena, A., Vallverdú-Queralt, A., Mols, R., Augustijns, P., Lamuela-Raventós, R. M., & Escribano-Ferrer, E. (2020). Absorption and intestinal metabolic profile of oleocanthal in rats. *Pharmaceutics*, 12(2), 134.
- Malheiro, R., Rodrigues, N., & Pereira, J. A. (2015). Olive oil phenolic composition as affected by geographic origin, olive cultivar, and cultivation systems. In *Olive and olive oil bioactive constituents* (pp. 93-121). AOCS Press.
- Morales, M. T., Przybylski, R., In: Aparicio, R., Harwood, J. (Eds.), *Handbook of olive oil: Analysis and properties*, Springer Science, New York 2013, p. 479–522.
- Moya, M., Espínola, F., Fernández, D. G., de Torres, A., Marcos, J., Vilar, J., ... & Castro, E. (2010). Industrial trials on coadjuvants for olive oil extraction. *Journal of Food Engineering*, 97(1), 57-63.
- Papadimitriou, V., Dulle, M., Wachter, W., Sotiroudis, T. G., Glatter, O., & Xenakis, A. (2013). Structure and dynamics of veiled virgin olive oil: Influence of production conditions and relation to its antioxidant capacity. *Food Biophysics*, 8, 112-121.
- Parenti, A., Spugnoli, P., Masella, P., & Calamai, L. (2008). The effect of malaxation temperature on the virgin olive oil phenolic profile under laboratory-scale conditions. *European journal of lipid science and technology*, 110(8), 735-741.

- Pedan, V., Popp, M., Rohn, S., Nyfeler, M., & Bongartz, A. (2019). Characterization of phenolic compounds and their contribution to sensory properties of olive oil. *Molecules*, *24*(11), 2041.
- Peyrot des Gachons, C., O'Keefe, A. J., Slade, L., & Beauchamp, G. K. (2021). Protein suppresses both bitterness and oleocanthal-elicited pungency of extra virgin olive oil. *Scientific Reports*, *11*(1), 11851.
- Rallo, L., Díez, C. M., Morales-Sillero, A., Miho, H., Priego-Capote, F., & Rallo, P. (2018). Quality of olives: A focus on agricultural preharvest factors. *Scientia horticulturae*, *233*, 491-509.
- Ranalli, A., Contento, S., Schiavone, C., & Simone, N. (2001). Malaxing temperature affects volatile and phenol composition as well as other analytical features of virgin olive oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *103*(4), 228-238.
- Roca M, Minguez-Mosquera MI (2001) Change in the natural ratio between chlorophylls and carotenoids in olive fruit during processing for virgin olive oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* *78* (2), 133–138.
- Romani, A., Ieri, F., Urciuoli, S., Noce, A., Marrone, G., Nediani, C., & Bernini, R. (2019). Health effects of phenolic compounds found in extra-virgin olive oil, by-products, and leaf of *Olea europaea* L. *Nutrients*, *11*(8), 1776.
- Servili, M., Selvaggini, R., Esposto, S., Taticchi, A., Montedoro, G., & Morozzi, G. (2004). Health and sensory properties of virgin olive oil hydrophilic phenols: agronomic and technological aspects of production that affect their occurrence in the oil. *Journal of Chromatography A*, *1054*(1-2), 113-127.
- Siliani, S., Mattei, A., Innocenti, L. B., & Zanoni, B. (2006). Bitter taste and phenolic compounds in extra virgin olive oil: an empirical relationship. *Journal of food quality*, *29*(4), 431-441.
- Shaker MA, Besuny MA (2020). Sensory analysis of Olive Oil. *COJ Technical & Scientific Research*. *3*(1).

- Smolarek, A. K., & Suh, N. (2011). Chemopreventive activity of vitamin E in breast cancer: a focus on γ - and δ -tocopherol. *Nutrients*, *3*(11), 962-986.
- Stefanouadaki, E., Koutsaftakis, A., & Harwood, J. L. (2011). Influence of malaxation conditions on characteristic qualities of olive oil. *Food Chemistry*, *127*(4), 1481-1486.
- Taticchi, A., Esposito, S., & Servili, M. (2014). The basis of the sensory properties of virgin olive oil. *Olive oil sensory science*, 33-54.
- Tsimidou, M. Z., Georgiou, A., Koidis, A., & Boskou, D. (2005). Loss of stability of "veiled" (cloudy) virgin olive oils in storage. *Food Chemistry*, *93*(3), 377-383.
- Tuck, K. L., & Hayball, P. J. (2002). Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health effects. *The Journal of nutritional biochemistry*, *13*(11), 636-644.
- Veillet, S., Tomao, V., Bornard, I., Ruiz, K., & Chemat, F. (2009). Chemical changes in virgin olive oils as a function of crushing systems: Stone mill and hammer crusher. *Comptes Rendus Chimie*, *12*(8), 895-904.
- Vekiari, S. A., Oreopoulou, V., Kourkoutas, Y., Kamoun, N., Msallem, M., Psimouli, V., & Arapoglou, D. (2010). Characterization and seasonal variation of the quality of virgin olive oil of the Throumbolia and Koroneiki varieties from Southern Greece. *Grasas y Aceites*, *61*(3), 221-231.
- Velasco, J., & Dobarganes, C. (2002). Oxidative stability of virgin olive oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *104*(9-10), 661-676.
- Veneziani, G., Esposito, S., Taticchi, A., Urbani, S., Selvaggini, R., Sordini, B., & Servili, M. (2018). Characterization of phenolic and volatile composition of extra virgin olive oil extracted from six Italian cultivars using a cooling treatment of olive paste. *LWT*, *87*, 523-528.
- Vulcano, I., Halabalaki, M., Skaltsounis, L., & Ganzera, M. (2015). Quantitative analysis of pungent and anti-inflammatory phenolic compounds in olive oil by capillary electrophoresis. *Food Chemistry*, *169*, 381-386.