



**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ & ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Συγκριτική μελέτη των μικροβιολογικών και φυσικοχημικών χαρακτηριστικών επιτραπέζιων ελιών της ποικιλίας Καλαμών από συμβατική και βιολογική καλλιέργεια



Σοφία Γ. Τσίπουρα

Επιβλέπων Καθηγητής:
Πανάγου Ευστάθιος, Καθηγητής ΓΠΑ

**ΑΘΗΝΑ
2023**

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ & ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Συγκριτική μελέτη των μικροβιολογικών και φυσικοχημικών χαρακτηριστικών επιτραπέζιων ελιών της ποικιλίας Καλαμών από συμβατική και βιολογική καλλιέργεια

Comparative study of the Microbiological and Physicochemical Characteristics of cv. Kalamata Table Olives from conventional and sustainable farming

Σοφία Γ. Τσίπουρα

Εξεταστική Επιτροπή:

Πανάγου Ευστάθιος, Καθηγητής ΓΠΑ, (Επιβλέπων)

Δασενάκη Μαριλένα, Επίκουρη Καθηγήτρια Χημείας Τροφίμων ΕΚΠΑ

Χωριανόπουλος Νικόλαος, Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ

Συγκριτική μελέτη των μικροβιολογικών χαρακτηριστικών επιτραπέζιων ελιών της ποικιλίας Καλαμών από συμβατική και βιολογική καλλιέργεια

*ΠΜΣ Επιστήμης & Τεχνολογίας Τροφίμων
Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων & Διατροφής του Ανθρώπου
Εργαστήριο Μικροβιολογίας & Βιοτεχνολογίας Τροφίμων*

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι επιτραπέζιες ελιές αποτελούν σημαντικό συστατικό της μεσογειακής διατροφής και ιδιαίτερα οι φυσικές μαύρες ελιές Καλαμών, είναι γνωστές σε όλο τον κόσμο και αποτελούν σημαντικό εξαγωγίμο προϊόν. Στην εργασία αυτή μελετήθηκαν οι μικροβιολογικές και φυσικοχημικές διαφορές σε ελιές Καλαμών από βιολογική (10 δείγματα) και συμβατική (10 δείγματα) καλλιέργεια από την περιοχή της Λακωνίας. Η δειγματοληψία των ελιών πραγματοποιήθηκε από παραγωγούς που εκτός από την πρωτογενή καλλιέργεια, πραγματοποιούσαν τη ζύμωση και την αποθήκευση του καρπού σε δεξαμενές που διατηρούσαν στις εγκαταστάσεις τους. Αρχικά συμπληρώθηκαν ερωτηματολόγια σχετικά με την καταγραφή των συνθηκών μεταποίησης και αποθήκευσης των ελιών. Από την ανάλυση των ερωτηματολογίων προέκυψε ότι η ζύμωση πραγματοποιείται με εμπειρικό τρόπο από τους παραγωγούς και υπάρχει μεγάλη διαφορά σχετικά με τον χειρισμό των ελιών μεταξύ των παραγωγών. Τα μικροβιολογικά αποτελέσματα αποκάλυψαν ότι όλα τα δείγματα ελιών που αναλύθηκαν ήταν ασφαλή για κατανάλωση, καθώς η μικροχλωρίδα του καρπού αποτελείται από οξυγαλακτικά βακτήρια και ζύμες, ενώ δεν ανιχνεύτηκαν παθογόνοι μικροοργανισμοί. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο πληθυσμός των ζυμών στην άλμη των συμβατικών ελιών υπολογίστηκε κατά μέσο όρο σε $4,6 \log \text{CFU/mL}$ και παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά συγκριτικά με τον πληθυσμό των ζυμών στις ελιές βιολογικής καλλιέργειας, $3,3 \log \text{CFU/mL}$. Οι περισσότερες διαφορές μεταξύ ελιών από συμβατική και βιολογική καλλιέργεια παρατηρήθηκαν στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του καρπού. Συγκεκριμένα, η τιμή του pH στην άλμη των βιολογικών ελιών (3,81) ήταν μικρότερη συγκριτικά με την τιμή του pH (4,05) των ελιών από συμβατική καλλιέργεια. Αντίστοιχα με τις τιμές του pH, η ογκομετρούμενη οξύτητα παρουσίασε υψηλότερη τιμή στην άλμη των ελιών από βιολογική καλλιέργεια (1,05%) συγκριτικά με τις ελιές συμβατικής καλλιέργειας (0,68%). Επιπλέον, οι ελιές από βιολογική καλλιέργεια παρουσίασαν μικρότερο ποσοστό αεροθυλακίων (5,6%) σε σχέση με τις συμβατικές ελιές (11,4%). Αναφορικά με την υφή του μεταποιημένου καρπού, οι ελιές συμβατικής καλλιέργειας ήταν περισσότερο συνεκτικές (3,7 N) συγκριτικά με τις βιολογικές

ελιές (3,1 N). Από την ανάλυση του προφίλ των φαινολικών ουσιών, οι σημαντικότερες ενώσεις που ταυτοποιήθηκαν στην άλμη και στις ελιές ήταν, η τυροσόλη, η υδροξυτυροσόλη, το χομοβανιλικό οξύ, ο βερμπασκοζίτης, ο ισο-βερμπασκοζίτης, η ελευρωπαΐνη, η κομσελογοσίδη, η κουερσετίνη, η διοσμετίνη και η λουτεολίνη. Η μέση τιμή της συνολικής περιεκτικότητας πολυφαινολών στις άλμες που προέρχονταν από ελιές συμβατικής και βιολογικής γεωργίας ήταν 819 $\mu\text{g/g}$ και 888 $\mu\text{g/g}$ αντίστοιχα. Η μέση τιμή της συνολικής περιεκτικότητας πολυφαινολών στις ελιές ήταν 1550 $\mu\text{g/g}$ για τα δείγματα συμβατικής γεωργίας και 1780 $\mu\text{g/g}$ για τα δείγματα βιολογικής γεωργίας. Όμως, ούτε στις άλμες ούτε στις ελιές παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων από συμβατική και βιολογική καλλιέργεια. Από τις βιογενείς αμίνες που ταυτοποιήθηκαν στην άλμη, σημαντικότερες ήταν η καδαβερίνη με μέση τιμή 1,08 $\mu\text{g/g}$, η πουτρεσκίνη με μέση τιμή 2,05 $\mu\text{g/g}$, η ισταμίνη με μέση τιμή 1,84 $\mu\text{g/g}$ και η τυραμίνη με μέση τιμή 10,73 $\mu\text{g/g}$, χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων από βιολογική και συμβατική καλλιέργεια. Οι βιογενείς αμίνες που ταυτοποιήθηκαν στα δείγματα των ελιών ήταν η πουτρεσκίνη με μέση τιμή 13,04 $\mu\text{g/g}$, η καδαβερίνη με μέση τιμή 13,98 $\mu\text{g/g}$ και η ισταμίνη με μέση τιμή 11,38 $\mu\text{g/g}$, επίσης, χωρίς στατιστική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων βιολογικής και συμβατικής καλλιέργειας.

Επιστημονική Περιοχή: Μικροβιολογία Τροφίμων

Λέξεις Κλειδιά: Βιολογική γεωργία, συμβατική γεωργία, φυσικές μαύρες ελιές, ποικιλία Καλαμών, μικροβιολογική ποιότητα, βιολειτουργικά χαρακτηριστικά, βιογενείς αμίνες, πολυφαινόλες.

Comparative Study of the Microbiological and Physicochemical Characteristics of Kalamata's Variety Table Olives from Conventional and Sustainable Cultivation

*MSc Food Science & Technology
Department of Food Science & Human Nutrition
Laboratory of Food Microbiology & Biotechnology*

ABSTRACT

Table olives are an important component of the Mediterranean diet, and especially the natural black Kalamon olives, are known all over the world and are an important export product. In this work, the microbiological and physicochemical differences in Kalamon olives from sustainable (10 samples) and conventional (10 samples) cultivation from the region of Laconia were studied. The sampling of the olives was carried out by producers who, in addition to the primary cultivation, carried out the fermentation and storage of the fruit in tanks, that they kept in their facilities. Initially, questionnaires were filled in regarding the recording of the processing and storage conditions of the olives. From the analysis of the questionnaires, it emerged that the fermentation is carried out in an empirical way by the producers and there is a big difference regarding the handling of the olives between the producers. The microbiological results showed that all the olive samples analyzed were safe for consumption, as the microflora of the fruit consisted of lactic acid bacteria and yeasts, while no pathogenic microorganisms were detected. The results showed that the population of yeasts in the brine of conventional olives was calculated on average at 4.6 log CFU/mL and presented a statistically significant difference compared to the population of yeasts in sustainable olives, 3.3 log CFU/mL. Most of the differences between olives from conventional and sustainable cultivation were observed in the physicochemical characteristics of the fruit. In particular, the pH value in the brine of sustainable olives (3.81) was lower compared to the pH value (4.05) of olives from conventional cultivation. Corresponding to the pH values, the titrated acidity presented a higher value in the brine of the organically cultivated olives (1.05%) compared to the conventionally cultivated olives (0.68%). In addition, sustainable olives showed a lower percentage of air pockets (5.6%) compared to conventional olives (11.4%). Regarding the texture of the processed fruit, conventionally grown olives were more cohesive (3.7 N) compared to sustainable olives (3.1 N). From the analysis of the profile of phenolic substances, the most important compounds identified in the brine and olives were, tyrosol, hydroxytyrosol,

homovanillic acid, verbascoside, iso-verbascoside, oleuropein, comeceleside, quercetin, diosmetin and luteolin. The mean value of the total polyphenol content in the brines from conventionally and organically grown olives was 819 $\mu\text{g/g}$ and 888 $\mu\text{g/g}$ respectively. The average value of the total polyphenol content in olives was 1550 $\mu\text{g/g}$ for conventional farming samples and 1780 $\mu\text{g/g}$ for organic farming samples. However, neither in the brines nor in the olives was a statistically significant difference observed between the samples from conventional and sustainable cultivation. About, the biogenic amines identified in the brine, the most important were cadaverine with a mean value of 1.08 $\mu\text{g/g}$, putrescine with a mean value 2.05 $\mu\text{g/g}$, histamine with a mean value of 1.84 $\mu\text{g/g}$ and tyramine with a mean value of 10.73 $\mu\text{g/g}$, with no statistically significant difference between samples from organic and conventional culture. The biogenic amines identified in the olive samples were putrescine with a mean value of 13.04 $\mu\text{g/g}$, cadaverine with a mean value of 13.98 $\mu\text{g/g}$ and histamine with a mean value of 11.38 $\mu\text{g/g}$, also without statistical difference between samples of sustainable and conventional cultivation.

Scientific area: Food Microbiology

Keywords: Sustainable farming, conventional farming, natural black olives, cv. Kalamata's Olives, microbiological quality, biofunctional characteristics, biogenic amines, polyphenols.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα μελέτη εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Μικροβιολογίας και Βιοτεχνολογίας Τροφίμων του ΓΠΑ και στο εργαστήριο Χημείας Τροφίμων και Αναλυτικής Χημείας στο Χημικό τμήμα του ΕΚΠΑ, στο πλαίσιο του Π.Μ.Σ. «Επιστήμη και Τεχνολογία Τροφίμων».

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους καθηγητές του Π.Μ.Σ που με ενέταξαν στον μαγικό κόσμο της επιστήμης των τροφίμων και ειδικότερα τον κ. Ευστάθιο Πανάγου, επιβλέποντα καθηγητή μου. Ο κ. Πανάγου πέρα από γνώσεις, καθοδήγηση και ψυχολογική υποστήριξη που μου χάρισε οποιαδήποτε στιγμή τον χρειάστηκα, μου έμαθε πως καθηγητής και φοιτητής είναι δύο μέλη που συνεργάζονται για έναν κοινό στόχο. Επιπλέον, τον ευχαριστώ θερμά που με εμπιστεύτηκε και συνεργαστήκαμε στην διπλωματική μου εργασία.

Επιπρόσθετα, ευχαριστώ θερμά την κ. Δασενάκη Μαριλένα, μέλος της τριμελούς εξεταστικής επιτροπής, για την καθοδήγηση που μου προσέφερε στον τομέα της ανάλυσης των πολυφαινολών και των βιογενών αμινών. Ένα μεγάλο ευχαριστώ θα ήθελα να εκφράσω στην κ. Πελαγία Λέκκα υποψήφια διδάκτορα του εργαστηρίου Χημείας Τροφίμων και στην κ. Σοφία Δρακοπούλου μεταδιδακτορική ερευνήτρια του εργαστηρίου Αναλυτικής Χημείας του Χημικού τμήματος του ΕΚΠΑ, που με βοήθησαν σε κάθε βήμα των χημικών αναλύσεων. Επίσης, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στο Χημικό τμήμα του ΕΚΠΑ για τη συμβολή του στην εργασία μου, αλλά και για το κλίμα συμπάθειας, οικειότητας και καλής συνεργασίας που ένιωσα από καθηγητές και φοιτητές όλων των βαθμίδων.

Τις ευχαριστίες μου θα ήθελα να εκφράσω στον κ. Χωριανόπουλο Νικόλαο, μέλος της τριμελούς εξεταστικής επιτροπής, που ήταν πάντα πρόθυμος να με βοηθήσει και στην κ. Πασχαλίτσα Τρυφίνοπούλου και κ. Αναστάσιο Σταματίου, μέλη ΕΔΙΠ του Τμήματος ΕΤ&ΔΑ, για την πολύτιμη βοήθειά τους στο εργαστηριακό κομμάτι. Επίσης, ευχαριστώ τους συμφοιτητές μου για την άριστη συνεργασία μας στο εργαστήριο Μικροβιολογίας και Βιοτεχνολογίας Τροφίμων και ιδιαίτερος την Αρετή Αγγελακοπούλου, όπως και τον Γιώργο Τσεκούρα που υπήρξε δίπλα μου οποιαδήποτε στιγμή τον χρειάστηκα.

Φυσικά, οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ στην οικογένειά μου και ειδικότερα τους γονείς μου Γιώργο και Λίτσα και στους φίλους μου, για την αμέριστη βοήθειά και υπομονή τους.

Με την άδειά μου, η παρούσα εργασία ελέγχθηκε από την Εξεταστική Επιτροπή μέσα από λογισμικό ανίχνευσης λογοκλοπής που διαθέτει το ΓΠΑ και διασταυρώθηκε η εγκυρότητα και η πρωτοτυπία της.

Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	1
ABSTRACT	3
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	5
Περιεχόμενα	6
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ	8
PAL: Phenylalanine Ammonia Lyase (Λυάση Αμμωνίας Φαινυλαλανίνης).....	8
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	9
1.1 Γενικές Πληροφορίες.....	9
1.2 Ορισμός Επιτραπέζιας Ελιάς	10
1.3 Ποσότητα	10
1.4 Ορισμός Βιολογικού και Συμβατικού Προϊόντος	11
1.5 Εμπορικές παρασκευές	13
1.5.2 Φυσικές Επιτραπέζιες Ελιές σε Άλμη ή Ελληνικού τύπου	13
1.6 Οργανοληπτικά Χαρακτηριστικά.....	16
1.7 Νομοθεσία και όρια ασφαλείας	16
1.8 Συσκευασία Επιτραπέζιων Ελιών	17
1.9 Πολυφαινόλες (Βιολειτουργικά Χαρακτηριστικά)	18
1.10.1 Παράγοντες που επηρεάζουν την ποσότητα των πολυφαινολών.....	20
1.10.2 Ελευρωπαΐνη	21
1.13 Ζύμωση Ελληνικού Τύπου	24
1.13.1 Οξυγαλακτικά Βακτήρια και Ζύμωση	26
1.13.2 Επίδραση των ζυμών στη ζύμωση των επιτραπέζιων ελιών	27
1.15 Βιογενείς Αμίνες	28
1.16 Βιογενείς Αμίνες και Πτητική Οξύτητα	30
2. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	32
3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	33
3.1 Συλλογή Δειγμάτων	33
3.2 Μικροβιολογικές Αναλύσεις	37
3.2 Ποσοστό αεριοπάθησης	40
3.3 Φυσικοχημικές αναλύσεις.....	41
3.4 Αναλύσεις προφίλ φαινολικών ενώσεων.....	45

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ	51
4.1 Αποτελέσματα ερωτηματολογίου σχετικά με τις συνθήκες ζύμωσης των ελιών	51
4.2 Μικροβιολογικός Έλεγχος	55
4.3 Αποτελέσματα φυσικοχημικών αναλύσεων	60
4.4 Ανίχνευση βιογενών αμινών στα δείγματα ελιάς και άλμης.....	77
Συμπεράσματα	84
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	86

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

GTO: Γενετικά Τροποποιημένοι Οργανισμοί

OMX: Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα

LAB: Lactic Acid Bacteria (Οξυγαλακτικά Βακτήρια)

EE: Ευρωπαϊκή Επιτροπή

MAP: Modified Atmosphere Packaging (Συσκευασία Τροποποιημένης Ατμόσφαιρας)

VP: Vacuum Packaging (Συσκευασία Κενού)

AP: Active Packaging (Ενεργός Συσκευασία)

ECP: Edible Coating Packaging (Συσκευασία με Εδώδιμη Επίστρωση)

PAL: Phenylalanine Ammonia Lyase (Λυάση Αμμωνίας Φαινυλαλανίνης)

HT: Hydroxytyrosol (Υδροξυτυροσόλη)

Tyr: Tyrosol (Τυροσόλη)

β G: β Glycosidation (β -Γλυκοσιδάση)

BA: Βιογενείς Αμίνες

TOF: Time Of Flight (Χρόνος Πτήσης)

ESI: Electrospray ionization (Ιονισμός Ηλεκτροψεκασμού)

HPLC: High-performance liquid chromatography (Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης)

HRMS: High-Resolution Mass Spectrometry (Φασματομετρία μάζας υψηλής ευκρίνειας)

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Γενικές Πληροφορίες

Η ελιά (*Olea europaea L.*) κατάγεται από τις μεσογειακές χώρες και βρέθηκε σε άγρια μορφή στη Μέση Ανατολή. Το δέντρο διαδόθηκε ευρέως σε όλο τον κόσμο, αλλά ειδικότερα στην περιοχή της Μεσογείου, όπου παράγεται το 96% της παγκόσμιας παραγωγής ελιών. Αναπτύσσεται με τη μορφή αειθαλούς δέντρου και η πρώτη οργανωμένη καλλιέργεια χρονολογείται στη Μινωική περίοδο (3500–1500 π.Χ.) στην Κρήτη. Οι καρποί χρησιμοποιούνται κυρίως για την παραγωγή λαδιού και επιτραπέζιων ελιών, μίας τροφής που καταναλώνεται ευρέως στις Μεσογειακές Χώρες. Ο Παγκόσμιος Κατάλογος Ποικιλιών Ελιάς αναφέρει περίπου 2500 ποικιλίες, αλλά μόνο το 10% από αυτές μπορεί να θεωρηθούν εμπορικές, και η επιλεγμένη χρήση τους (έλαιο, επιτραπέζιες ή και τα δύο) καθορίζεται από διαφορετικές παραμέτρους (Conte et al., 2020). Στην επεξεργασία της επιτραπέζιας ελιάς επιθυμητά χαρακτηριστικά είναι το μεσαίο έως μεγάλο μέγεθος του καρπού, η υψηλή αναλογία της σάρκας προς τον πυρήνα (5:1 έως 8:1), η λεπτή σε πάχος επιδερμίδα, τα άριστα χαρακτηριστικά της σάρκας, δηλαδή να είναι συνεκτική και όχι ινώδης, με εύκολο διαχωρισμό της από τον πυρήνα. Οι ελιές που προορίζονται για ζύμωση θα πρέπει να περιέχουν ποσοστό ζυμώσιμων συστατικών 2 έως 4%. Οι κύριες ποικιλίες επιτραπέζιας ελιάς που καλλιεργούνται στις 5 κύριες παραγωγικές περιοχές είναι η Gordal, η Manzanilla και η Hojiblanca στην Ισπανία, η Aggezi Shami, η Hamed και η Toffahi στην Αίγυπτο, η GemLik, η Memecik και η Memely στην Τουρκία, η Κονσερβολιά, η Χαλκιδικής και η Καλαμών στην Ελλάδα, η Azeraj και η Sigoise στην Αλγερία (Conte et al., 2020).



Εικόνα 1: Ελιές Καλαμών ηλικίας 40 ετών Γεράκι Λακωνίας 2020

1.2 Ορισμός Επιτραπέζιας Ελιάς

Ως «επιτραπέζια ελιά» θεωρείται το προϊόν που παρασκευάζεται από τους υγιείς καρπούς των ποικιλιών του καλλιεργούμενου είδους (*Olea europaea* L.). Οι υγιείς καρποί, που επιλέγονται για την παραγωγή ελιών πρέπει να διαθέτουν τον κατάλληλο όγκο, σχήμα, αναλογία σάρκας προς πυρήνα, γεύση, υφή και ευκολία απομάκρυνσης του πυρήνα από το μεσοκάρπιο, που να τις καθιστά ιδιαίτερα κατάλληλες για επεξεργασία. Επιπλέον, οι επιτραπέζιες ελιές είναι επεξεργασμένο προϊόν, διότι έχει απομακρυνθεί η πικρή γεύση και διατηρείται με φυσική ζύμωση ή με θερμική επεξεργασία, με ή χωρίς την προσθήκη συντηρητικών και είναι συσκευασμένες με ή χωρίς υγρό πλήρωσης (IOC, 2004).

Οι επιτραπέζιες ελιές ταξινομούνται σε τρεις τύπους ανάλογα με το βαθμό ωρίμανσης. Πιο συγκεκριμένα οι πράσινες ελιές παρασκευάζονται από καρπούς που συλλέγονται κατά την περίοδο ωρίμανσης και όταν έχουν φτάσει στο κανονικό μέγεθος. Οι ελιές στο στάδιο αλλαγής χρώματος παρασκευάζονται από καρπούς που συγκομίζονται πριν από το στάδιο της πλήρους ωρίμανσης και για τις μαύρες ελιές, οι καρποί συγκομίζονται όταν είναι πλήρως ώριμοι ή λίγο πριν την πλήρη ωρίμανση (IOC, 2004).

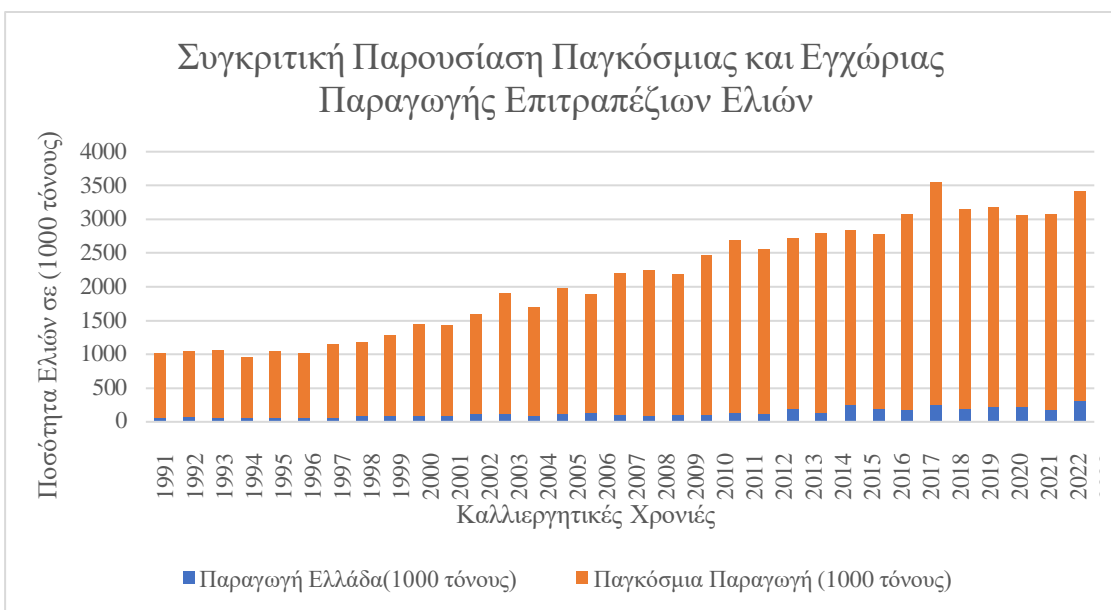


Εικόνα 2: Καρπός ελιάς Καλαμών στο στάδιο μαύρου χρώματος πριν τη συγκομιδή

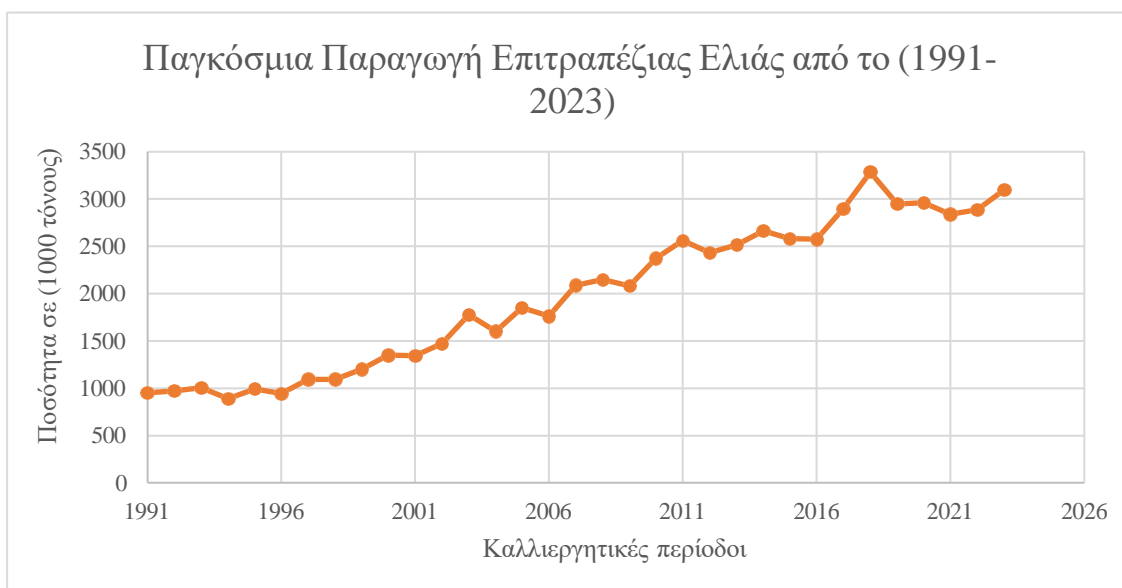
1.3 Ποσότητα

Αναφορικά με την ποσότητα, οι ισπανικές εξαγωγές επιτραπέζιων ελιών έφτασαν τους 321.287 τόνους την καλλιεργητική χρονιά 2021/2022 με εκτιμώμενη αξία 823,7 εκατ. ευρώ, κατατάσσοντάς τη χώρα στην πρώτη θέση. Ακολουθεί η Ελλάδα με 185.196 τόνους με εκτιμώμενη αξία 644,4 εκατ. ευρώ, η Πορτογαλία με 42.019 τόνους και εκτιμώμενη αξία 50,3

εκατ. ευρώ. και η Ιταλία με 30.898 τόνους με εκτιμώμενη αξία 112,1 εκατ. ευρώ (ΙΟΚ, 2022).



Διάγραμμα 1: Συγκριτική παρουσίαση της παγκόσμιας και εγχώριας παραγωγής επιτραπέζιων ελιών. πηγή: ΙΟΚ, 2022



Διάγραμμα 2: Παγκόσμια παραγωγή επιτραπέζιας ελιάς από το 1991-2023. πηγή: ΙΟΚ, 202



Διάγραμμα 3: Παραγωγή επιτραπέζιας ελιάς στην Ελλάδα. πηγή: IOC, 2022

1.4 Ορισμός Βιολογικού και Συμβατικού Προϊόντος

Ο στόχος της Ευρωπαϊκής Ένωσης, μέσω της Ευρωπαϊκής Πράσινης Συμφωνίας που ψηφίστηκε το Μάρτιο του 2021, είναι η αύξηση του ποσοστού των γεωργικών εκτάσεων που θα ακολουθείται βιολογική γεωργία, στο 25% έως το 2030. Αυτή η κατεύθυνση της Ευρωπαϊκής Κοινότητας, για τη Βιολογική Γεωργία σχετίζεται με τη μείωση των περιβαλλοντικών επιπτώσεων από την γεωργική δραστηριότητα. Ειδικότερα, η Ευρωπαϊκή ένωση στοχεύει στην υπεύθυνη χρήση της ενέργειας και των φυσικών πόρων, στη διατήρηση της βιοποικιλότητας, των περιφερειακών οικολογικών ισορροπιών, της ποιότητας του νερού και στη βελτίωση της γονιμότητας του εδάφους (ΕΕ, 2018).

Βιολογικό προϊόν είναι το προϊόν που προέρχεται από βιολογική παραγωγή, εξαιρουμένων των προϊόντων που παράγονται κατά τη διάρκεια της περιόδου μετατροπής από τη συμβατική στη βιολογική γεωργία. Για να χαρακτηριστεί ένα προϊόν βιολογικό θα πρέπει να εφαρμόζονται οι αρχές της βιολογικής γεωργίας στα στάδια παραγωγής, παρασκευής και διανομής. Αναφορικά με το στάδιο της παραγωγής, στη βιολογική γεωργία δε χρησιμοποιούνται Γενετικά Τροποποιημένοι Οργανισμοί (ΓΤΟ), προϊόντα παραγόμενα με ΓΤΟ σε τρόφιμα ή ζωοτροφές. Επιπλέον, υπάρχει ένας κατάλογος με εγκεκριμένα φυτοφάρμακα που είναι επιτρεπτά στη βιολογική γεωργία. Η δραστική ουσία των επιτρεπόμενων φυτοφαρμάκων στη βιολογική γεωργία μπορεί να προέρχονται από φυτά, ζώα,

φύκη, μικροοργανισμούς ή να είναι ανόργανης προέλευσης. Σε περίπτωση που κρίνεται επιτακτική η ανάγκη ψεκασμού με φυτοφάρμακα που χρησιμοποιούνται στη συμβατική γεωργία, οι βιοκαλλιεργητές δεν πρέπει να ψεκάσουν τα φυτά από το στάδιο της καρπόδεσης και έπειτα. Σχετικά με τη λίπανση, η βιολογική φυτική παραγωγή χρησιμοποιεί τεχνικές άρωσης και καλλιέργειας που διατηρούν ή αυξάνουν την οργανική ύλη του εδάφους, βελτιώνουν τη σταθερότητα και τη βιοποικιλότητά του και αποτρέπουν τη συμπίεση και τη διάβρωσή του, όπως η καλλιέργεια ψυχανθών, η χλωρή λίπανση, η διασπορά κόπρου ζώων ή οργανικών υλών. Όταν οι διατροφικές ανάγκες των φυτών δεν είναι δυνατό να ικανοποιηθούν με τα παραπάνω, τότε σε αυτή την περίπτωση, μπορούν να χρησιμοποιούνται μόνο λιπάσματα και βελτιωτικά του εδάφους που έχουν εγκριθεί για χρήση στη βιολογική παραγωγή και μόνο στο βαθμό που είναι απαραίτητα. Στη βιολογική παραγωγή δεν χρησιμοποιούνται αζωτούχα λιπάσματα, ενώ μπορούν να χρησιμοποιηθούν ανόργανα λιπάσματα χαμηλής διαλυτότητας.



Εικόνα 3: Λογότυπο βιολογικής γεωργίας της Ευρωπαϊκής Ένωσης (Κανονισμός ΕΕ 2018/848)

Επιπρόσθετα, η παραγωγή μεταποιημένων βιολογικών τροφίμων βασίζεται στην αρχή της παραγωγής βιολογικών τροφίμων από βιολογικά γεωργικά συστατικά, στον περιορισμό της χρήσης προσθέτων τροφίμων και μη βιολογικών συστατικών που έχουν κυρίως τεχνολογικές λειτουργίες και λειτουργίες επί των αισθήσεων. Επιπλέον, αποκλείονται τρόφιμα που περιέχουν ή αποτελούνται από τεχνολογικά επεξεργασμένα νανοϋλικά, ενώ απαγορεύεται η χρήση ιοντίζουσας ακτινοβολίας για την επεξεργασία των βιολογικών τροφίμων και ζωοτροφών (ΕΕ, 2018).

1.5 Εμπορικές παρασκευές

Οι ελιές υποβάλλονται σε διάφορου είδους εμπορικές παρασκευές (εμπορικοί τύποι) ανάλογα με το βαθμό ωριμότητας του καρπού κατά τη συγκομιδή. Πιο συγκεκριμένα, οι

Επεξεργασμένες Ελιές (treated olives) έχουν υποβληθεί σε αλκαλική επεξεργασία και στη συνέχεια τοποθετούνται σε άλμη, στην οποία υφίστανται πλήρη ή μερική γαλακτική ζύμωση και διατηρούνται με ή χωρίς την προσθήκη μέσων οξίνισης. Οι Φυσικές Ελιές (natural olives) τοποθετούνται απευθείας σε άλμη στην οποία υφίστανται πλήρη ή μερική ζύμωση από μικτή μικροχλωρίδα οξυγαλακτικών βακτηρίων και ζυμών και διατηρούνται με ή χωρίς την προσθήκη μέσων οξίνισης. Οι Αφυδατωμένες και/ή Συρρικνωμένες ελιές (Dehydrated and/or shrivelled olives) έχουν υποστεί ή όχι ήπια αλκαλική επεξεργασία, και διατηρούνται σε άλμη ή μερικώς αφυδατωμένες σε ξηρό αλάτι ή/και με θέρμανση ή με οποιοδήποτε άλλη τεχνολογική διαδικασία. Όλα τα παραπάνω παρασκευάσματα προέρχονται από πράσινες ελιές ή ελιές στο στάδιο αλλαγής χρώματος ή μαύρες ελιές. Οι τεχνητά μαυρισμένες ελιές (black ripe olives) παρασκευάζονται από πράσινες ελιές ή ελιές στο στάδιο αλλαγής χρώματος, μέσω οξείδωσης σε αλκαλικό περιβάλλον. Επίσης, έχουν ομοιόμορφο μαύρο χρώμα, διατηρούνται σε άλμη χαμηλής αλατοπεριεκτικότητας, ενώ συσκευάζονται σε ερμητικά σφραγισμένα δοχεία και υποβάλλονται σε θερμική αποστείρωση (IOC, 2004).

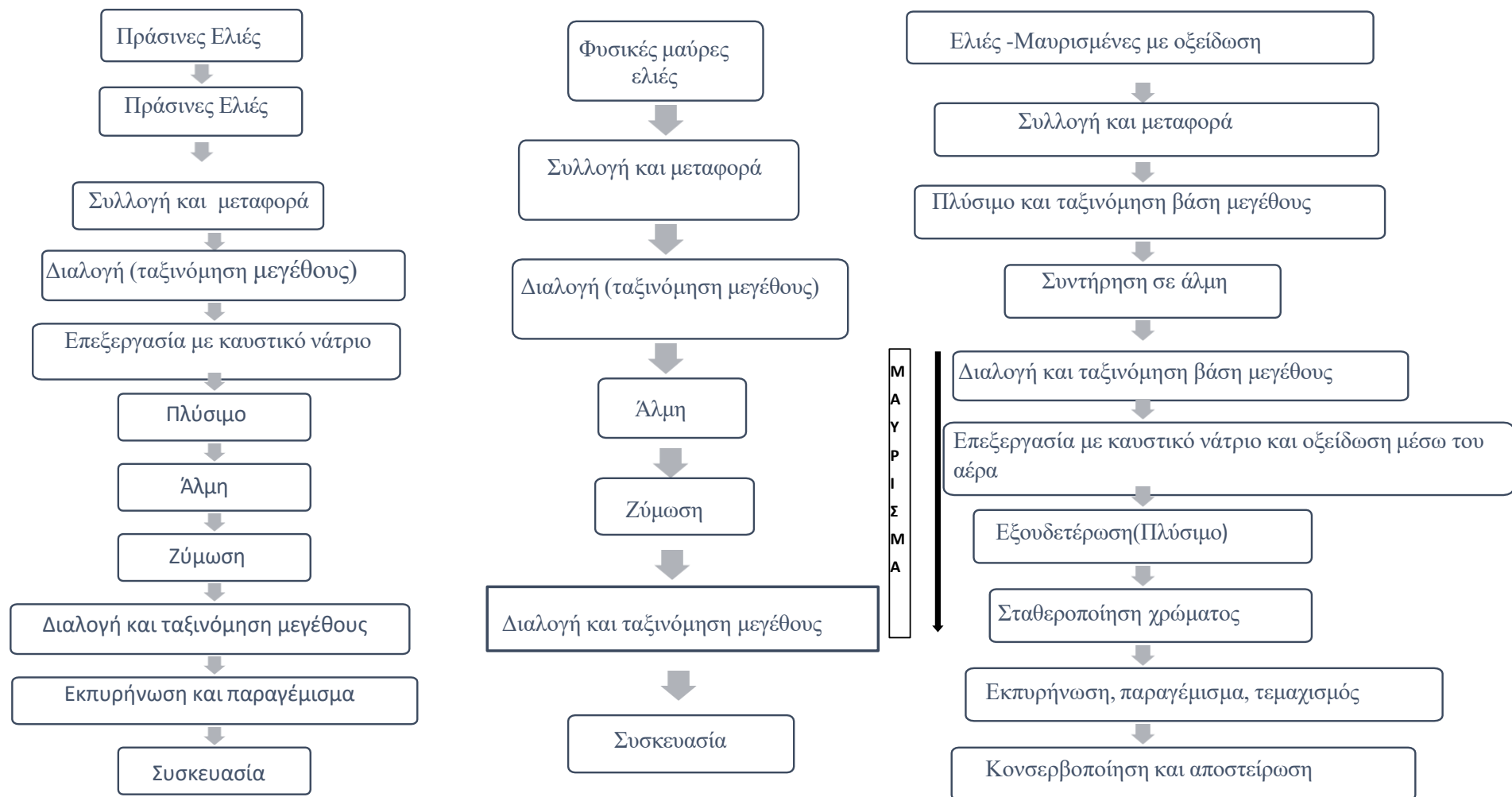
Επιπρόσθετα, οι ελιές μπορεί να προσφέρονται ολόκληρες, τσακιστές, σχισμένες, χωρίς κουκούτσι, κομμένες στη μέση, κομμένες σε φέτες, πάστα και γεμιστές με πιπεριά, κρεμμύδι, αμύγδαλο, σέλινο, γαύρο, φλούδα πορτοκαλιού ή λεμονιού, φουντούκι, κάπαρη, κλπ, ή σε μορφή πάστας (IOC, 2004).

1.5.1 Φυσικές Επιτραπέζιες Ελιές σε Άλμη ή Ελληνικού τύπου

Αυτή η εμπορική παρασκευή πραγματοποιείται με τη συγκομιδή των ελιών στο στάδιο του μαύρου χρώματος και στη συνέχεια ακολουθεί ζύμωση με την τοποθέτηση του καρπού απευθείας σε άλμη. Η ζύμωση μπορεί να επιτευχθεί σε άλμη 8–10% NaCl σε αναερόβιες ή αερόβιες συνθήκες. Στην τελευταία περίπτωση, μια τροποποίηση στη ζύμωση επιτυγχάνεται με εισαγωγή ρεύματος αέρα μέσω μιας κεντρικής στήλης. Η ρύθμιση του NaCl στην άλμη καθορίζει το είδος των μικροοργανισμών που θα επικρατήσουν και κατ' επέκταση το είδος της ζύμωσης, συγκεκριμένα, όταν η συγκέντρωση του NaCl είναι υψηλότερη από 8% επικρατούν οι ζύμες και η ζύμωση είναι περισσότερο αλκοολική και σε μικρότερο βαθμό γαλακτική, ενώ όταν η συγκέντρωση του NaCl κυμαίνεται από 3–6%, τότε υποστηρίζεται η ανάπτυξη των

οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB) (Conte et al., 2020). Σε κάθε πάντως περίπτωση, όταν ολοκληρωθεί η ζύμωση η αλατοπεριεκτικότητα θα πρέπει να ενισχυθεί και να υπερβεί το 8% για να προστατευτεί το τελικό προϊόν από δευτερογενείς ζυμώσεις, ιδιαίτερα με την αύξηση της θερμοκρασίας κατά την καλοκαιρινή περίοδο (Gomez et al., 2006).

Η αναερόβια ζύμωση απαιτεί μεγάλο χρονικό διάστημα, από 8 έως 12 μήνες, για να απομακρυνθεί η ελευρωπαΐνη από το μεσοκάρπιο της ελιάς στην άλμη, ενώ το αερόβιο σύστημα μειώνει σημαντικά τον χρόνο επεξεργασίας και περιορίζει την αλλοίωση που προέρχεται από τα αεροθυλάκια και τη συρρίκνωση των καρπών, λόγω της δράσης των εντεροβακτηρίων και των ζυμών, αντίστοιχα (Sanchez et al., 2006). Οι ελιές μετά τη ζύμωση μπορούν να συσκευαστούν απευθείας σε άλμη και να πωληθούν, ή μπορούν επίσης να υποβληθούν σε παστερίωση ή ακόμη και να διατηρηθούν με την προσθήκη σορβικού οξέος σε συγκέντρωση 0,5 % στην άλμη συσκευασίας (Conte et al., 2020).



Διάγραμμα 4: Διάγραμμα ροής μεταποίησης επεξεργασίας πράσινων, φυσικών επιτραπέζιων και μαύρων μέσω οξείδωσης ελιών (Conte et al., 2020)

1.6 Οργανοληπτικά Χαρακτηριστικά

Οργανοληπτική ανάλυση είναι ο επιστημονικός κλάδος που ασχολείται με τη μέτρηση, την ανάλυση και την ερμηνεία των χαρακτηριστικών των τροφίμων που γίνονται αντιληπτά από το αισθήσεις της όρασης, όσφρησης, γεύσης και ακοής (IOC, 2021). Η μετατροπή του νωπού ελαιόκαρπου σε βρώσιμη επιτραπέζια ελιά προϋποθέτει την αποπίκραση των καρπών και την ανάπτυξη οργανοληπτικών χαρακτηριστικών (οσμή, γεύση και υφή) μέσω της ζύμωσης που καθιστούν το τελικό προϊόν αποδεκτό από τον καταναλωτή. Η εμπορική παρασκευή των φυσικών μαύρων ελιών, παράγει ελιές με χαρακτηριστική πικρή, όξινη και αλμυρή γεύση (Conte et al., 2020). Το Διεθνές Συμβούλιο Ελαιοκομίας (IOC, 2021) έχει δημιουργήσει μια μέθοδο με βάση την οποία οι ομάδες γευσιγνωσίας αξιολογούν και ταξινομούν αισθητηριακά τις ελιές. Πιο συγκεκριμένα, σκοπός αυτής της μεθόδου είναι να πραγματοποιήσει την αισθητηριακή ταξινόμηση των επιτραπέζιων ελιών ανάλογα με την ένταση τυχόν ελαττωμάτων που παρουσιάζουν τη μεγαλύτερη ένταση και οφείλονται σε εκτροπή από τη φυσιολογική ζύμωση.

Αναφορικά με τα περιγραφικά γευστικά χαρακτηριστικά οι ελιές βαθμολογούνται με βάση το αλμυρό, το πικρό και το ξινό, ενώ ως προς τις κιναισθητικές αισθήσεις που σχετίζονται με την υφή, βαθμολογούνται ως προς την σκληρότητα, το ινώδες και την τραγανότητα. Οι ελιές ταξινομούνται σε κατηγορίες με βάση την τιμή του ελαττώματος με την μεγαλύτερη ένταση σε μία δεκάβαθμη κλίμακα. Οι κατηγορίες των ελιών είναι η εξαιρετική (Extra ή Fancy), η πρώτη επιλογή (1st Choice ή Select), η δεύτερη επιλογή (Second Choice) και οι ελιές που είναι ακατάλληλες για κατανάλωση (IOC, 2021).

1.7 Νομοθεσία και όρια ασφαλείας

Η διεθνής νομοθεσία καθορίζει την ελάχιστη περιεκτικότητα σε αλάτι και το μέγιστο όριο τιμής του pH για τη συσκευασία επιτραπέζιων ελιών ανάλογα με τον εμπορικό τύπο (Cabello et al., 2020). Στις ελιές Καλαμών που κατατάσσονται στην κατηγορία “φυσικές ελιές”, τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά της άλμης συσκευασίας ή του χυμού της ελιάς μετά την αποκατάσταση της ωσμωτικής ισορροπίας, θα πρέπει να έχουν ως ανώτερο όριο pH την τιμή 4,3, ελάχιστη συγκέντρωση γαλακτικού οξέος 0,3% και ελάχιστη αλατοπεριεκτικότητα 6%, ανεξαρτήτως του τρόπου και των συνθηκών συσκευασίας (IOC, 2021). Εξαίρεση στα παραπάνω όρια αποτελεί η περίπτωση όπου το τελικό προϊόν έχει δεχθεί θερμική επεξεργασία,

οπότε οι τιμές των παραπάνω παραμέτρων θα πρέπει να ακολουθούν την Ορθή Βιομηχανική Πρακτική (ΟΒΠ).

Συγκεκριμένα, στις φυσικές ελιές η ελάχιστη τιμή του pH είναι 4,3, διότι κάτω από αυτό το όριο δεν είναι δυνατό να αναπτυχθούν τα σπόρια του παθογόνου βακτηρίου *Clostridium botulinum* (Cabello et al., 2020). Τα εμπορικά παρασκευάσματα επιτραπέζιων ελιών που δεν συμμορφώνονται με τα παραπάνω φυσικοχημικά χαρακτηριστικά, θα πρέπει να υποβάλλονται σε κατάλληλη επεξεργασία, ώστε να διασφαλίζεται ότι συμμορφώνονται με τις γενικές συστάσεις για την ασφάλεια των τροφίμων. Από μικροβιολογικής άποψης, η νομοθεσία ορίζει ότι θα πρέπει να είναι ελεύθερα από οποιονδήποτε μικροοργανισμό ή των τοξινών τους, που θα μπορούσαν να αποτελέσουν κίνδυνο για την υγεία του καταναλωτή (ΙΟΚ, 2004).

1.8 Συσκευασία Επιτραπέζιων Ελιών

Μετά την επεξεργασία των επιτραπέζιων ελιών, η αποθήκευση ή η συσκευασία του τελικού προϊόντος είναι ένα σημαντικό τμήμα της παραγωγικής διαδικασίας, αφού επηρεάζει τη θρεπτική και οικονομική τους αξία. Υπάρχουν διάφοροι τύποι περιεκτών συσκευασίας, που κυμαίνονται από τα πιο συνηθισμένα γυάλινα, πλαστικά ή αλουμινένια δοχεία καθώς και πολυστρωματικές πλαστικές μεμβράνες. Επιπλέον, οι ελιές μπορούν να συσκευαστούν σε συνθήκες τροποποιημένης ατμόσφαιρας (MAP) και σε συνθήκες κενού (VP) με/χωρίς επικάλυψη με εδωδιμες μεμβράνες (ECP).

Η συσκευασία MAP είναι δημοφιλής ως μέθοδος συσκευασίας φρέσκων φρούτων και λαχανικών, αφού διατηρεί την ποιότητά τους και παρατείνει τη διάρκεια ζωής τους. Η ατμόσφαιρα στο εσωτερικό της συσκευασίας είναι τροποποιημένη και αποτελείται από ένα συγκεκριμένο μείγμα αερίων, κυρίως O₂, CO₂ και/ ή N₂. Η χρήση του MAP ως προς την βελτίωση της ποιότητας της επιτραπέζιας ελιάς και την παράταση της διάρκειας ζωής της σε χαμηλές περιβαλλοντικές θερμοκρασίες έχει τεκμηριωθεί επαρκώς. Έχει αποδειχθεί ότι η συσκευασία των επιτραπέζιων ελιών σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα μπορεί να επηρεάσει την ετερογένεια της μικροχλωρίδας του προϊόντος και να εμποδίσει την ανάπτυξη μυκήτων. Η θερμοκρασία αποθήκευσης και η προεπεξεργασία των επιτραπέζιων ελιών, πριν τη συσκευασία επίσης επηρεάζουν την ποικιλότητα της μικροβιακής κοινότητας και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του προϊόντος. Επιπλέον, ο τύπος και η αναλογία των αερίων που χρησιμοποιούνται στις συσκευασίες MAP έχουν αποδειχθεί ότι έχουν άμεση επίδραση στη

μικροβιακή κοινότητα, επομένως, στις οργανοληπτικές ιδιότητες και την θρεπτική αξία του προϊόντος (Michailidou et al., 2021).



Εικόνα 4: Συσκευασία Ελιών MAP πηγή: Google



Εικόνα 5: Συσκευασία Ελιών κενού πηγή: Google

1.9 Πολυφαινόλες (Βιολειτουργικά Χαρακτηριστικά)

Οι επιτραπέζιες ελιές αποτελούν τυπική τροφή της μεσογειακής διατροφής και μία σημαντική πηγή φαινολικών ενώσεων με υψηλό βιολογικό δυναμικό για την ανθρώπινη υγεία. Τα χημικά συστατικά των ελιών μπορούν να τροποποιηθούν από ορισμένους παράγοντες (γεωγραφική προέλευση, ποικιλία, πρακτικές και βαθμός ωριμότητας). Η μέση σύνθεση των καρπών περιλαμβάνει 50% νερό, 22% λάδι, 19% υδατάνθρακες, 6% κυτταρίνη, 1,6% πρωτεΐνες, 1,5% ανόργανα συστατικά και 1–3% φαινολικά (D' Antuono et al., 2018).

Οι πολυφαινόλες της ελιάς μπορούν να ταξινομηθούν ως εξής: φαινολικά οξέα (καφεϊκό, γαλλικό, συριγγικό), οι λιγνάνες (1-ακετοξυπινορεσινόλη, πινορεσινόλη), φαινολικές αλκοόλες (τυροσόλη, υδροξυτυροσόλη), φαινυλοπροπανοειδή, флаβονοειδείς ουσίες (λουτεολίνη-7-γλυκοσίδη, κυανιδίνη-3-γλυκοσίδη) και σεκοϊριδοειδή όπως η πικρή ελευρωπαΐνη που μειώνεται κατά την ωρίμανση, η διμεθυλολευρωπαΐνη και η διαλδεΐδική μορφή του ελενολικού οξέος που συνδέεται με την τυροσόλη και την υδροξυτυροσόλη. Η ποσότητα των δύο τελευταίων, αυξάνεται με την ωρίμανση του καρπού, επιπλέον οι πολυφαινόλες μπορούν να ταξινομηθούν σε υδρόφιλες και λιπόφιλες (Conte et al., 2020). Το υδρόφιλο κλάσμα περιλαμβάνει τα σεκοϊριδοειδή, τα φαινολικά οξέα, τις φαινολικές αλκοόλες, τα флаβονοειδή και τις λιγνάνες. Η διαλυτότητά τους στο νερό οφείλεται στην παρουσία σακχάρων στο μόριό τους και σε πολλαπλές ομάδες υδροξυλίου. Οι κρεζόλες αποτελούν τις κυρίαρχες λιπόφιλες πολυφαινόλες του καρπού της ελιάς. Τα φαινολικά οξέα, οι φαινολικές αλκοόλες (υδροξυτυροσόλη, τυροσόλη), τα флаβονοειδή και οι λιγνάνες υπάρχουν σε όλα τα

μέρη του καρπού, αλλά κυρίως στη σάρκα. Η υδροξυτυροσόλη είναι μία πολύ σημαντική πολυφαινόλη στις πράσινες και μαύρες ελιές, ενώ η τυροσόλη υπάρχει σε χαμηλότερη συγκέντρωση. Οι ανθοκυάνες ανήκουν στις πολυφαινόλες και εμφανίζονται στο νωπό καρπό μετά το στάδιο αλλαγής χρώματος, περιλαμβάνουν την κυανιδίνη-3-γλυκοζίδιο και την κυανιδίνη-3 ρουτινοζίδιο (Goulas et al., 2012).

Οι ακατέργαστες επιτραπέζιες ελιές είναι πλούσιες σε ελευρωπαΐνη και λιγκστροσίδη, ενώσεις που ευθύνονται για τη χαρακτηριστική πικρή γεύση τους. Κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας ή όταν ο ιστός της ελιάς έχει καταστραφεί από παθογόνα, φυτοφάγα και μηχανική βλάβη, το ένζυμο β-γλυκοζιδάση (βG) υδρολύει τη λιγκστροσίδη και την ελευρωπαΐνη, που παράγει γλυκόζη και τις αντίστοιχες αγλυκόνες, με συνακόλουθη μείωση της πικρής γεύσης (D' Antuono et al., 2018). Το πιο διαδεδομένο σεκοΐριδοειδές που βρίσκεται στον καρπό της ελιάς είναι η ελευρωπαΐνη, ενώ ο βερμπασκοζίτης είναι το κυρίαρχο φαινολικό οξύ (Salis et al., 2021).

Το ελαιόλαδο και οι επιτραπέζιες ελιές αποτελούν πηγές φαινολικών ενώσεων στη διατροφή, παρέχοντας σημαντικά οφέλη για την ανθρώπινη υγεία. Υπάρχουν υψηλές συγκεντρώσεις φαινολικών ενώσεων στις επιτραπέζιες ελιές που έχουν αντιοξειδωτικές, αντικαρκινικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες (Fernandez-Royatos et al., 2019). Επιπλέον, οι πολυφαινόλες των επιτραπέζιων ελιών διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην πρόληψη ασθενειών στις οποίες εμπλέκονται ελεύθερες ρίζες. Μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας, απέδειξαν ότι οι πολυφαινόλες που εντοπίστηκαν ασκούσαν το αποτέλεσμα σαρωτή, στα είδη ελεύθερων ριζών και μείωση του ενδοκυτταρικού οξειδωτικού στρες (D' Antuono et al., 2018). Επιπλέον, η υδροξυτυροσόλη έχει αποδειχθεί ότι έχει ένα ευρύ φάσμα βιολογικών επιδράσεων, συμπεριλαμβανομένων των αντικαρκινικών, καρδιοπροστατευτικών, αντιμικροβιακών, νευροπροστατευτικών και άλλων επιδράσεων. Η ελευρωπαΐνη έχει ισχυρή αντιοξειδωτική δράση, η οποία είναι ευρέως αναγνωρισμένη και σε συνδυασμό με τις αντιφλεγμονώδεις ιδιότητές που διαθέτει, θεωρείται η βάση των αντικαρκινικών, νευροπροστατευτικών, καρδιοπροστατευτικών και άλλων ενεργειών. Η τυροσόλη φαίνεται να είναι ένα αποτελεσματικό αντιοξειδωτικό και έχει ευεργετικά αποτελέσματα κατά της υπερπρόθεσης (μία νεύρωση όπου οι ασθενείς είναι αδύνατον να πραγματοποιήσουν αυτό που σκοπεύουν), της αθηροσκλήρωσης, της καρδιακής ανεπάρκειας, της παχυσαρκίας και άλλων ενεργειών. Η ρουτίνη απέδειξε αντιοξειδωτικές, καρδιοπροστατευτικές, αντικαρκινικές, νευροπροστατευτικές και άλλες φαρμακολογικές

ιδιότητες. Το αναπτυσσόμενο τμήμα της έρευνας δείχνει ότι η λουτεΐνη έχει αντιοξειδωτικές, αντικαρκινικές, αντιφλεγμονώδεις και νευροπροστατευτικές ιδιότητες. Τέλος, ο βερμπασκοζίτης έχει επιδείξει αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες και έχει προταθεί ότι θα μπορούσε να έχει αντικαρκινικές ιδιότητες (Salis et al., 2021).

Η ελευρωπαΐνη δεν ανιχνεύεται στο τέλος της ζύμωσης αφού, κατά την παραπάνω διαδικασία, αυτή η φαινόλη μειώνεται με το χρόνο και μετατρέπεται σε υδροξυτυροσόλη. Η ελευρωπαΐνη είναι υπεύθυνη για την πικρή γεύση των μη επεξεργασμένων ελιών και οι καρποί για να γίνουν βρώσιμοι πρέπει να χάσουν, τουλάχιστον εν μέρει, τη φυσική τους πικράδα. Επιπλέον, ο σχηματισμός βερμπασκοζίτη συνδέεται μεταβολικά με τη σύζευξη υδροξυτυροσόλης με καφεϊκό οξύ. Σε εργασία των Rodrigues et al. (2022) σε επιτραπέζιες ελιές, αναφέρθηκε ότι όταν η συγκέντρωση της υδροξυτυροσόλης μειώθηκε με το στάδιο ωρίμανσης, ο βερμπασκοζίτης αυξήθηκε. Η ρουτίνη και η απιγενίνη ήταν οι ενώσεις που ανιχνεύονται σε μικρότερες ποσότητες. Παρ' όλα αυτά, και οι δύο ενώσεις έχουν ενδιαφέρουσες ιδιότητες για την υγεία. Η ρουτίνη είναι αγγειοπροστατευτική και η απιγενίνη έχει βιολογική δράση για την αναστολή της ανάπτυξης καρκινικών όγκων, καθώς και χημειοπροληπτική δράση (Rodrigues et al., 2022).

Οι υψηλότερες ποσότητες πολυφαινολών έχουν μετρηθεί σε ελιές που είναι στο στάδιο ωρίμανσης, όπου έχουν αποκτήσει ξανθό χρώμα ή στο κρίσιμο στάδιο, ενώ οι ώριμες οξειδωμένες ελιές είχαν τη χαμηλότερη περιεκτικότητα. Οι μαύρες ελιές σε προχωρημένο στάδιο ωρίμανσης που επεξεργάζονται με τον ελληνικό τύπο έχουν την υψηλότερη περιεκτικότητα σε ανθοκυανίνη. Η ανάλυση της λιπιδικής φάσης, που πραγματοποιήθηκε για πρώτη φορά σε αυτήν, έδωσε πολύ σημαντικές γνώσεις, καθώς οι συγγραφείς απέδειξαν ένα μοναδικό φαινολικό προφίλ που διαφέρει από αυτό των ακατέργαστων ελιών. Μάλιστα, στις επιτραπέζιες ελιές απουσίαζαν αγλυκόνια ελευρωπαΐνης και λιγουστροσίδης, οι οποίες, αντίθετα, παρουσίασαν για πρώτη φορά την ένωση κατεχόλη. Οι συγγραφείς κατέληξαν στο ότι οι επιτραπέζιες ελιές είναι μια πλούσια πηγή αντιοξειδωτικών, σε ορισμένες περιπτώσεις, ακόμη και περισσότερο από το παρθένο ελαιόλαδο (Conte et al., 2020).

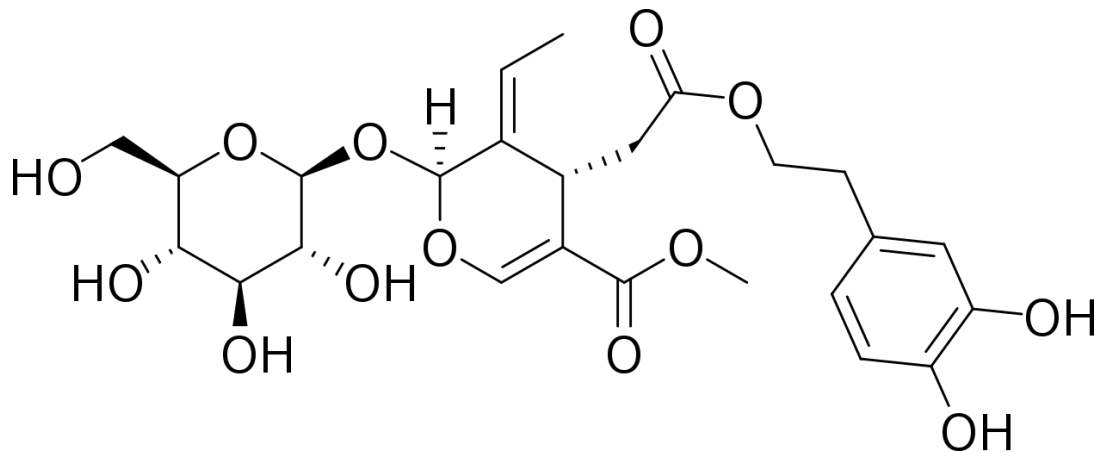
1.10.1 Παράγοντες που επηρεάζουν την ποσότητα των πολυφαινολών

Είναι γενικά αποδεκτό ότι οι φαινολικές ενώσεις είναι πιο άφθονες στα ελαιόδεντρα που υποφέρουν από ξηρασία παρά στα αρδευόμενα. Η τυπική ανταπόκριση των συγκεντρώσεων σεκοϊριδοειδών στη διαθεσιμότητα εδαφικού νερού έχει ήδη αναφερθεί για πλείστες ποικιλίες.

Όσο η έλλειψη του νερού γίνεται εντονότερη, τόσο οι συγκεντρώσεις φαινολών αυξάνονται στον καρπό και το λάδι (Perpetuini et al., 2020). Σε εργασία των Perpetuini et al. (2020) που μελετήθηκαν δείγματα ελιών με ελλειμματική και πλήρη άρδευση εξήχθη το συμπέρασμα, ότι η παραγωγή ελιών με πλήρη άρδευση είχε μέση μείωση της περιεκτικότητας σε βερμπασκοζίτη κατά 36,2%, ελευρωπαϊνή 9,0% και 3,4-DHPEA-EDA κατά 6,3% σε σχέση με τις ελιές ελλειμματικής άρδευσης. Στις ελληνικές ποικιλίες, έχει παρατηρηθεί αύξηση της συνολικής περιεκτικότητας σε φαινόλες, κυρίως λόγω της αύξησης της περιεκτικότητας σε ελευρωπαϊνή υπό σοβαρή υδατική καταπόνηση. Έχει επίσης ανιχνευθεί μια θετική σχέση μεταξύ της συνολικής περιεκτικότητας σε φαινόλες και της αντιοξειδωτικής δράσης, υποδηλώνοντας ότι οι φαινόλες θα μπορούσαν να παίζουν σημαντικό ρόλο στην προστασία από τις επιπτώσεις της ξηρασίας (Perpetuini et al., 2020). Αυτά τα στοιχεία θα μπορούσαν να σχετίζονται με την συγγενή με την ξηρασία διακύμανση της ενζυματικής δράσης, της λυάσης αμμωνίας φαινυλαλανίνης (PAL), ενός βασικού ενζύμου στη βιοσυνθετική οδό των φαινολικών ενώσεων, η οποία εμπλέκεται άμεσα στη συσσώρευση πολυφαινολών και περιεχομένων ο-διφαινόλης στο καρπό της ελιάς. Έχει αναφερθεί ότι η δραστηριότητα του ενζύμου PAL στον ελαιόκαρπο μειώθηκε με την αυξημένη άρδευση. Η ενζυματική δραστηριότητα δεν επηρέασε τη μείωση του βερμπασκοζίτη (Perpetuini et al., 2020).

1.10.2 Ελευρωπαϊνή

Η ελευρωπαϊνή είναι η κύρια πολυφαινόλη στις νωπές ελιές και λόγω της πικρής της γεύσης πρέπει να απομακρυνθεί πλήρως ή μερικώς ή να μετασχηματιστεί προκειμένου να γίνει ο καρπός εδώδιμος. Η ένωση αυτή αποτελείται από ένα μόριο ελενολικού οξέος συνδεδεμένο με την ορθοδιφαινόλη υδροξυτυροσόλη με έναν εστερικό δεσμό και με ένα μόριο γλυκόζης με ένα γλυκοσιδικό δεσμό. Το ένζυμο βG διασπά το δεσμό μεταξύ της γλυκόζης και του υπόλοιπου μορίου της ελευρωπαϊνής. Τότε το ένζυμο εστεράση υδρολύει την αγλυκόνη έτσι ώστε να σχηματιστεί υδροξυτυροσόλη και ελενολικό οξύ (Ramírez et al., 2016).



Εικόνα 6: Ελευρωπαϊνή πηγή: google

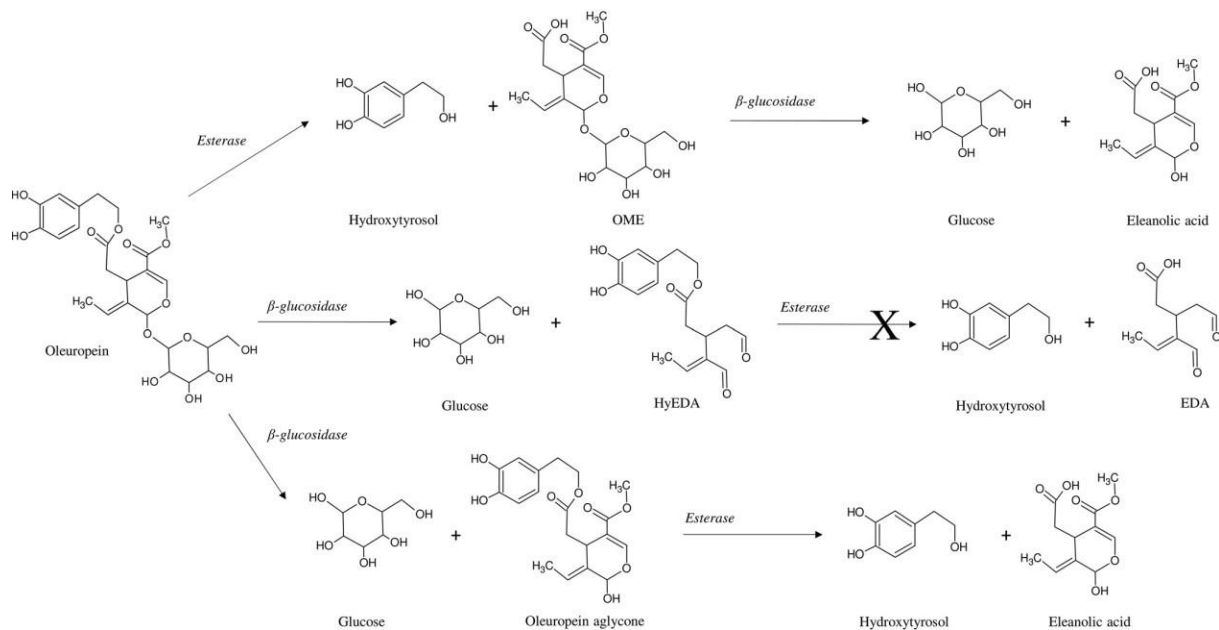
Εκτός από τα ισομερή ελευρωπαϊνης και κομσελογοσιδης, το ελενολικό οξύ και τα παράγωγα αντιπροσώπευαν επίσης υψηλό ποσοστό των ποσοτικοποιημένων ενώσεων. Άλλες ενώσεις, όπως ο 6'-β-εξοφυρανοσυλολεοζίτης, η λιγκστροσίδη και τα παράγωγα παρουσιάζουν απώλεια περίπου 50% κατά τη διαδικασία πέψης (Ramirez et al., 2016).

Σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε από τους Kundisova et al. (2020) εξετάστηκε η βιοδιαθεσιμότητα κάποιων φαινολικών ενώσεων που βρίσκονται στις ελιές με τη χρήση πλάσματος και τη συμβολή αρουραίων. Η υδροξυτυροσόλη, η οποία είναι η κύρια πολυφαινόλη στις επιτραπέζιες ελιές, δεν πέτυχε την υψηλότερη βιοδιαθεσιμότητα, σε αντίθεση με το π-κουμαρικό οξύ που παρουσίασε υψηλή βιοδιαθεσιμότητα. Οι φαινόλες που δεν παρουσίασαν μεταβολή στη χημική τους δομή στο πλάσμα, αντιπροσωπεύουν το 96,6% της συνολικής περιεκτικότητας πολυφαινολών στις ελιές. Η παραπάνω ανακάλυψη στηρίζει την άποψη ότι αυτή η τροφή είναι μία σημαντική πηγή βιοδραστικών ενώσεων που σχετίζονται με την πρόληψη χρόνιων ασθενειών, διότι η χρήση του πλάσματος προσιδιάζει με την πέψη για τη συγκεκριμένη μελέτη. Δεν εντοπίστηκε κουαρκετίνη, βανιλικό οξύ ή καφεϊκό οξύ μετά την κατανάλωση ελιών Καλαμών (Kundisova et al., 2020).

Τα κύρια προϊόντα της υδρόλυσης της ελευρωπαϊνης είναι η υδροξυτυροσόλη (HT), η τυροσόλη (Tyr) και το ελενολικό οξύ που αντιπροσωπεύουν τα αφθονότερα φαινολικά που συναντώνται στις επιτραπέζιες ελιές και είναι αναγνωρισμένα ως παράγοντες προαγωγής της υγείας. Επιπλέον, η ποικιλία, οι περιβαλλοντικοί και τεχνολογικοί παράγοντες, όπως η διαδικασία της ζύμωσης, μπορούν να επηρεάσουν την ποιοτική και ποσοτική φαινολική σύνθεση των ελιών (D' Antuono et al., 2018). Επίσης, η ανάπτυξη και εξέλιξη συγκεκριμένων

μικροοργανισμών κατά την αποθήκευση αναμένεται να επηρεάσει την αποικοδόμηση συγκεκριμένων ενώσεων π.χ. φαινόλες ή/και σχηματισμός άλλων (Michailidou et al., 2021).

Το μόριο της ελευρωπαΐνης (και ομοίως το μόριο της λιγκστροσίδης) έχει τρεις λειτουργικές ομάδες που μπορούν να δράσουν ως στόχος υδρόλυσης. Το πρώτο είναι η εστερική ομάδα που συνδέει το τμήμα υδροξυτυροσόλης (ή τυροσόλης) στον σεκοϊριδοειδή σκελετό. Η υδρόλυση αυτής της ομάδας οδηγεί σε ελαιοσίδη-11-μεθυλεστέρα και υδροξυτυροσόλη (ή τυροσόλη) και οι δύο ενώσεις που απέτυχαν να ενεργοποιήσουν οποιονδήποτε πικρό υποδοχέα (τουλάχιστον μέχρι τη συγκέντρωση που δοκιμάστηκε). Η δεύτερη λειτουργική ομάδα είναι ο γλυκοσιδικός δεσμός μεταξύ της γλυκόζης και του σεκοϊριδοειδούς σκελετού. Η απομάκρυνση του τμήματος γλυκόζης από την ελευρωπαΐνη (ή τη λιγκστροσίδη) οδηγεί σε μια ασταθή μορφή αγλυκόνης που μετατρέπεται αυθόρμητα σε ένα μείγμα δύο διαστερομερών ελευρωπεϊνδίων (ή λιγκστροδίων), που βρίσκονται σε ισορροπία με την αντίστοιχη ενολική μορφή που ονομάζεται oleomissional (ή oleokoronal (4c)), όλα από αυτά έχουν δομή ανοιχτού δακτυλίου. Αυτό το μείγμα των τριών ενώσεων σε ισορροπία μπορεί να αναδιαταχθεί σε μια σταθερή μορφή κλειστού δακτυλίου, που υπάρχει σε δύο πιθανές διαστερομερείς μορφές, με κυρίως τη μία από αυτές να κυριαρχεί φυσικά στο ελαιόλαδο. Όσον αφορά τη διαδικασία ξεπικρίσματος της ελιάς, πρέπει να σημειωθεί ότι ο πραγματικός στόχος δεν πρέπει να είναι μόνο η αφαίρεση της ελευρωπαΐνης, όπως παραδοσιακά θεωρείται, αλλά και η μείωση της συγκέντρωσης των αγλυκονίων, που επιτυγχάνεται από την συνδυασμένη δράση γλυκοσιδάσης και εστεράσης. Η ελευρωπαΐνη έχει πράγματι χαμηλή ισχύ έναντι του υποδοχέα TAS2R8 (υποδοχέας πικρής γεύσης) αλλά, υποθέτουμε ότι όταν μασάμε έναν ωμό καρπό ελιάς, η αφόρητη πικρία προκαλείται κυρίως από τον αυθόρμητο μετασχηματισμό της ελευρωπαΐνης σε μορφές άγλυκου και όχι μόνο από την ίδια την ελευρωπαΐνη (Cui et al., 2021).



Εικόνα 7: Προτεινόμενες μεταβολικές οδοί για αποικοδόμηση ελευρωπαΐνης από το βακτήριο *L. plantarum* F3.5 και C11C8. Το X σημαίνει ότι η συγκεκριμένη οδός δεν ήταν ενεργή και στα δύο στελέχη. (HyEDA, αποκαρβοξυμεθυλ διαλδεϋδική μορφή ελευρωπαΐνης αγλυκόνης. OME, ελαιοσίδη-μεθυλεστέρας; EDA, διαλδεϋδική μορφή αποκαρβοξυμεθυλίου). Πηγή : Vaccalluzzo et al., 2022

1.13 Ζύμωση Ελληνικού Τύπου

Μελέτες (Nychas et al. 2002; Panagou et al. 2006) πάνω στις μικροβιακές και φυσικοχημικές μεταβολές κατά τη διάρκεια της ζύμωσης κυρίως των πράσινων ελιών ποικιλίας Κονσερβολιά έχουν οδηγήσει στην αναγνώριση τριών διαδοχικών φάσεων:

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

Οι κυριότεροι παράγοντες που είναι υπεύθυνοι για την επιτυχή έναρξη και ολοκλήρωση της ζύμωσης είναι:

- ενδογενείς (intrinsic), όπως το pH, η ενεργότητα νερού, η διαθεσιμότητα θρεπτικών στοιχείων, τα οργανικά οξέα, η παρουσία αντιμικροβιακών ουσιών (π.χ. ελευρωπαΐνη), η δομή της επιδερμίδας του καρπού και
- εξωγενείς (extrinsic), όπως η θερμοκρασία ζύμωσης, η συγκέντρωση NaCl, η προσθήκη ζυμώσιμων συστατικών, η χρήση καλλιεργειών εκκίνησης (Spyropoulou et. al., 2001).

Ο έλεγχος των παραμέτρων αυτών, καθορίζει τη σύνθεση και τον πληθυσμό της μικροβιακής χλωρίδας, επιλέγει τις διαφορετικές ομάδες μικροοργανισμών που κατευθύνουν τη ζύμωση και επηρεάζει τη σύνθεση των μεταβολικών προϊόντων των μικροοργανισμών.

Έλεγχος της θερμοκρασίας: Ο έλεγχος της θερμοκρασίας κατά τη ζύμωση σε επίπεδα όπου τα οξυγαλακτικά βακτήρια παρουσιάζουν τη μέγιστη δραστηριότητά τους (20-25°C), αποτελεί ίσως τον σημαντικότερο παράγοντα για τον έλεγχο της πορείας της ζύμωσης. Η διατήρηση σταθερής θερμοκρασίας μπορεί να γίνει είτε με θερμοστάτηση του χώρου μέσα στον οποίο είναι εγκατεστημένες οι δεξαμενές, είτε με διοχέτευση μέρους της άλμης μέσα από εναλλάκτη θερμότητας. Η πρώτη λύση δεν είναι εφικτή λόγω του μεγάλου κόστους, ενώ η δεύτερη έχει δώσει ικανοποιητικά αποτελέσματα στην Ισπανία χωρίς όμως να εφαρμόζεται στη χώρα μας. Μία ιδιαίτερα επιτυχής εναλλακτική λύση είναι η τοποθέτηση των δεξαμενών ζύμωσης μέσα στο έδαφος προκειμένου να εκμεταλλευτούμε τις μικρότερες διακυμάνσεις της θερμοκρασίας του εδάφους. Η ζύμωση της φυσικής μαύρης ελιάς, η οποία συγκομίζεται το (Νοέμβριο-Δεκέμβριο), διακόπτεται από τις χαμηλές θερμοκρασίες του χειμώνα και αρχίζει εκ νέου την άνοιξη.

Έλεγχος και συνεχής διόρθωση της αλατοπεριεκτικότητας της άλμης: Η αρχική συγκέντρωση του άλατος στην άλμη κυμαίνεται από 6-10% ανάλογα με την ποικιλία, το στάδιο ωριμότητας και τον τρόπο επεξεργασίας της επιτραπέζιας ελιάς (Balatsouras., 1990). Κάτω από χαμηλές συγκεντρώσεις άλατος είναι δυνατόν να επικρατήσουν τα αρνητικά κατά Gram βακτήρια και να οδηγήσουν τη ζύμωση σε εκτροπή, με τη δημιουργία σοβαρών ασθενειών όπως η αεριοπάθηση και η zapateria. Για τον λόγο αυτό είναι απαραίτητος ο έλεγχος και η συμπλήρωση της άλμης με χονδρό αλάτι σε τακτά χρονικά διαστήματα, ώστε η αλατοπεριεκτικότητα να επανέλθει στο αρχικό επίπεδο. Η απαραίτητη ποσότητα άλατος

προστίθεται στην επιφάνεια της δεξαμενής ζύμωσης, ενώ η διάλυση της επιτυγχάνεται με κυκλοφορία της άλμης μέσω ειδικής φορητής αντλίας.

Οξίνιση της άλμης: Πραγματοποιείται τη στιγμή που οι ελιές εμβαπτίζονται στην άλμη προκειμένου να μειωθεί η αρχική τιμή του pH σε 4,0-4,5 προκειμένου να παρεμποδιστεί η δράση των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων που επικρατούν στο προκαταρτικό στάδιο της ζύμωσης. Σκοπός του χειρισμού αυτού είναι η μείωση της χρονικής διάρκειας του προκαταρτικού σταδίου στο ελάχιστο, δημιουργώντας τις κατάλληλες συνθήκες για την επικράτηση των οξυγαλακτικών βακτηρίων. Ο απλούστερος τρόπος οξίνισης της άλμης που εφαρμόζεται σε μεγάλη κλίμακα από τις βιομηχανίες είναι με τη χρήση γαλακτικού οξέος του εμπορίου, ενώ είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν και άλλα οξέα, όπως το οξικό και το υδροχλωρικό οξύ κατάλληλο για τρόφιμα (Garrido Fernández et al., 1997).

1.13.1 Οξυγαλακτικά Βακτήρια και Ζύμωση

Η οξυγαλακτική ζύμωση είναι το σημαντικότερο στάδιο στην παραγωγή επιτραπέζιων ελιών. Η ομαλή εξέλιξη αυτής της ζύμωσης δίνει ένα άριστο ποιοτικά προϊόν με μεγάλη διάρκεια ζωής και εμπορική αξία, ενώ αντίθετα η εκτροπή της ζύμωσης οδηγεί σε ένα προϊόν ποιοτικά υποβαθμισμένο. Για την πραγματοποίηση μιας επιτυχημένης ζύμωσης θα πρέπει μέσα στους περιέκτες που τοποθετούνται οι ελιές να επικρατούν όσο το δυνατό περισσότερο αναερόβιες συνθήκες. Επίσης, στη σάρκα του ελαιοκάρπου πρέπει, μετά την έκλυση και την εκπίκραση, να παραμένουν αρκετά ζυμώσιμα σάκχαρα, τα οποία θα μεταφερθούν στην άλμη και θα επιτρέψουν την ανάπτυξη των οξυγαλακτικών βακτηρίων που επιτελούν τη συγκεκριμένη ζύμωση και παράγουν οξέα όπως γαλακτικό και οξικό. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη συσσώρευση οξέων και μείωση του pH της άλμης. Τα κύρια γένη που εμπλέκονται με την ζύμωση των επιτραπέζιων ελιών είναι τα *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* και *Streptococcus* (Kailis et al., 2007). Η ανάπτυξη των παραπάνω μικροοργανισμών παράλληλα με την δράση των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων επηρεάζει την οξύτητα του τελικού προϊόντος. Επιπλέον, παρατηρείται έντονη ανάπτυξη των οξυγαλακτικών βακτηρίων κυρίως του είδους *Lactobacillus plantarum*, ο οποίος υπό κανονικές συνθήκες κυριαρχεί και είναι υπεύθυνος για την ζύμωση των πράσινων ελιών. Ωστόσο έχουν ταυτοποιηθεί και άλλα είδη όπως *L. casei*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus cellobiosus*, *Lactobacillus coryniformis* και *Lactobacillus brevis*, η παρουσία των οποίων εξαρτάται από την ποικιλία της ελιάς. Λόγω της ανάπτυξης του *L. plantarum* που είναι και ο επικρατέστερος μικροοργανισμός παρατηρείται μια σταθερή αύξηση της οξύτητας καθ' όλη τη διάρκεια της ζύμωσης με

επακόλουθη μείωση του pH σε τιμές γύρω στο 4 ή και χαμηλότερα. Ο αριθμός των οξυγαλακτικών βακτηρίων μειώνεται όταν τα θρεπτικά συστατικά του υποστρώματος εξαντληθούν και το pH φτάσει σε τόσο χαμηλές τιμές που καθιστούν αδύνατη ακόμη και την ανάπτυξη του *L. plantarum*, του πιο ανθεκτικού γαλακτοβακίλλου που ολοκληρώνει τις περισσότερες ζυμώσεις των λαχανικών (Garrido Fernandez et al., 1997).

Σε ορισμένες ποικιλίες ελιάς, όταν η περιεκτικότητα της άλμης σε αλάτι είναι χαμηλή (κάτω από 5%), αναπτύσσονται επίσης θετικοί κατά Gram κόκκοι (*Pediococcus* και *Leuconostoc*) κατά τη διάρκεια των πρώτων ημερών της ζύμωσης.

Επιπλέον, εάν η συγκέντρωση του αλατος δεν είναι μεγαλύτερη από 8%, είναι δυνατόν να παρατηρηθεί και ανάπτυξη οξυγαλακτικών βακτηρίων σε όλη τη διάρκεια της ζύμωσης. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια αναπτύσσονται μόνο όταν η συγκέντρωση του αλατος είναι χαμηλή (κάτω από 8%). Αρχικά εμφανίζονται σχεδόν αποκλειστικά οι κόκκοι *Leuconostoc* και *Pediococcus* αλλά μετά από είκοσι ημέρες κυριαρχούν τα οξυγαλακτικά βακτήρια (Garrido Fernandez et al., 1997).

Παράγοντες, όπως η συγκέντρωση της άλμης, η περιεκτικότητά της σε ελευρωπαΐνη, η θερμοκρασία της ζύμωσης και το pH, διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην πορεία εξέλιξης της ζύμωσης αυτής (Nychas et al., 2002), όπως αναφέρθηκε και παραπάνω.

1.13.2 Επίδραση των ζυμών στη ζύμωση των επιτραπέζιων ελιών

Η παρουσία των ζυμών κατά τη ζύμωση των ελιών μπορεί να έχει θετική αλλά και αρνητική επίδραση στην παραγωγή του προϊόντος. Η ανάπτυξη των ζυμών οδηγεί στο σχηματισμό διαφόρων προϊόντων (όπως αιθανόλη, ακεταλδεΐδη, οξικό οξύ κ.ά) που συμβάλλουν στη γεύση και το άρωμα των ελιών. Τα κυριότερα είδη ζυμών που συμμετέχουν στη ζύμωση Ελληνικών μαύρων ελιών σε άλμη είναι τα *Torulaspora delbrueckii*, *Debaryomyces hansenii*, *Cryptococcus laurentii* (Kotzekidou, 1997). Οξειδωτικές ζύμες, για παράδειγμα τα είδη *Saccharomyces oleaginosus* και *Hansenula anomala*, ευθύνονται για αλλοιώσεις στις ελιές, όπως είναι το μαλάκωμα των καρπών και η δημιουργία φυσαλίδων αέρα στο εσωτερικό τους, μια αλλοίωση που είναι γνωστή ως «μάτι ψαριού» (Vaughn et al., 1972). Επίσης, η δημιουργία αναερόβιων συνθηκών είναι σημαντικός παράγοντας για την αποτροπή ανάπτυξης επιφανειακών ζυμών και μυκήτων που καταναλώνουν τα σάκχαρα και τα οξέα από την άλμη αυξάνοντας το pH αυτής, αλλά ταυτόχρονα μπορούν να παράγουν και επικίνδυνες μυκοτοξίνες.

Τέλος η ανάπτυξη των ζυμών σε υψηλούς πληθυσμούς στις συσκευασμένες ελιές, εφόσον υπάρχουν εναπομείναντα σάκχαρα στις συσκευασμένες ελιές, έχει μόνο αρνητικές συνέπειες. Για παράδειγμα, όταν επικρατούν αερόβιες συνθήκες, καταναλώνουν το γαλακτικό και οξικό οξύ που έχει παραχθεί κατά τη ζύμωση ή έχει προστεθεί στην τελική συσκευασία με αποτέλεσμα μικρότερη διάρκεια συντήρησης του προϊόντος. Επίσης, στις συσκευασμένες ελιές οι ζύμες μπορεί να παράγουν αυξημένη ποσότητα αερίου (CO₂) που οδηγεί σε φούσκωμα του περιέκτη συσκευασίας, να προκαλέσουν θόλωμα στην άλμη και να παράγουν δύσοςμα προϊόντα (Garrido-Fernandez et al., 1997; Arroyo-López et al., 2008).

1.15 Βιογενείς Αμίνες

Οι βιογενείς αμίνες εκπληρώνουν μια σειρά από σημαντικές λειτουργίες σε ζωντανούς οργανισμούς, συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπου, έχουν εντοπιστεί σε ζωικούς και φυτικούς ιστούς. Οι βιογενείς αμίνες συμβάλλουν στο μεταβολισμό των μικροοργανισμών και κυρίως των βακτηρίων που τις παράγουν, όμως είναι γνωστές ως τοξικά βιομόρια (Wojcik et al., 2022).

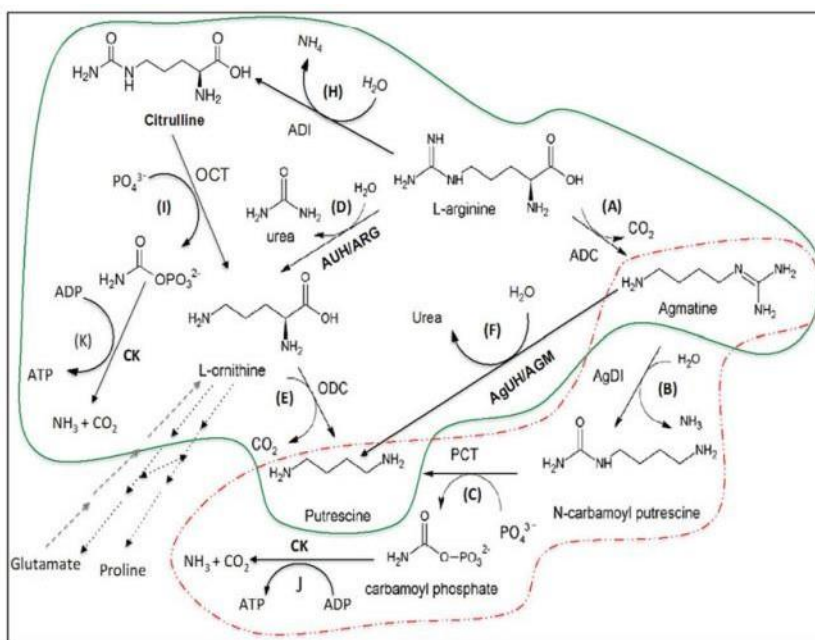
Η ισταμίνη και η τυραμίνη αναφέρονται ως ψυχοδραστικές και αγγειοδραστικές αμίνες. Η υπερβολική πρόσληψη τόσο ισταμίνης όσο και τυραμίνης οδηγεί σε οξείες αλλεργικές αντιδράσεις, ιδιαίτερα στο νευρικό και καρδιαγγειακό σύστημα (Wojcik et al., 2022).

Η καδαβερίνη και η πουτρεσκίνη έχουν σημαντικό αντίκτυπο στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των νεοπλασματικών κυττάρων. Επιταχύνουν τον νεοπλασματικό εκφυλισμό, προκαλώντας αλλαγές εντός της στοματικής κοιλότητας και την ανάπτυξη όγκου (Danchuk et al., 2020).



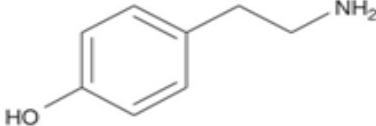
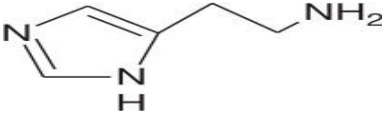
Οι βιογενείς αμίνες (BA) είναι ενώσεις με χαμηλό μοριακό βάρος κάτω από 200 Da. και σχηματίζονται μέσω τριών διεργασιών: αποκαρβοξυλίωση αμινοξέων από μικροοργανισμούς, αναγωγική αμίνωση και τρανσαμίνωση αλδεϋδων και κετονών ή ως αποτέλεσμα ενδογενών δραστηριοτήτων στους ιστούς του οργανισμού. Επιπλέον, μπορούν να συσσωρευτούν στους ιστούς καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής του οργανισμού. Οι βιογενείς αμίνες μπορούν να ταξινομηθούν με βάση τη δομή του αμινοξέος σε: αλειφατικές (πουτρεσκίνη, πτωματίνη, αγματίνη, σπερμίνη, σπερμιδίνη), αρωματικές (τυραμίνη, β-φαινυλαιθυλαμίνη) και ετεροκυκλικές (σεροτονίνη, ισταμίνη και τρυπταμίνη) και με βάση τον αριθμό των ομάδων αμίνης: μονοαμίνες (τυραμίνη, ισταμίνη, τρυπταμίνη), διαμίνες (πουτρεσκίνη, καδαβερίνη) και πολυαμίνες (αγματίνη, σπερμίνη, σπερμιδίνη) (Ahmad et al., 2019). Μπορούν επιπλέον να

διακριθούν σε ενδογενείς και εξωγενείς αμίνες. Οι ενδογενείς αμίνες είναι κυρίως κατεχολαμίνες, ινδολεαμίνες, ισταμίνες και ΒΑ ενδογενούς προέλευσης (σπερμίνη, σπερμιδίνη και χαμηλά επίπεδα πουτρεσκίνης και ισταμίνης), ενώ οι εξωγενείς αμίνες είναι αυτά που σχηματίζονται κυρίως από τη δραστηριότητα μικροοργανισμών (καδαβερίνη, πουτρεσκίνη, τυραμίνη, ισταμίνη, β-φαινυλαιθυλαμίνη) (Wojcik et al., 2022).

Η έκδοση του EFSA το 2011 σχετικά με τις βιογενείς αμίνες σε ζυμωμένα τρόφιμα, αναφέρει ότι δεν παρατηρήθηκαν δυσμενείς επιπτώσεις στην υγεία μετά από έκθεση στα ακόλουθα επίπεδα βιογενών αμινών στα τρόφιμα (ανά άτομο ανά γεύμα): α) 50 mg ισταμίνης για υγιή άτομα, αλλά κάτω από τα ανιχνεύσιμα όρια για άτομα με δυσανεξία στην ισταμίνη. β) 600 mg τυραμίνης για υγιή άτομα, που δεν λάμβαναν το φάρμακο του αναστολέα μονοαμινοοξειδάσης (MAOI), αλλά 50 mg για όσους λαμβάνουν φάρμακα MAOI τρίτης γενιάς ή 6 mg για όσους λαμβάνουν κλασικά φάρμακα MAOI και γ) για την πουτρεσκίνη και την πτωματίνη, οι πληροφορίες ήταν ανεπαρκείς.



Εικόνα 8: Μονοπάτι βιοσύνθεσης της Πουτρεσκίνης από Gram θετικά και Gram αρνητικά βακτήρια. Οι βιογενείς αμίνες μπορούν να παραχθούν σε τρόφιμα από μικροοργανισμούς μέσω το λιγότερο πέντε μεταβολικών δρόμων: (1) μονοπάτι αποκαρβοξυλίωσης της αργινίνης (A-C), (2) μονοπάτι αργινάσης (D-E), (3) μονοπάτι αγματινάσης (A και F), (4) μονοπάτι διυδροξυαμινάσης της αργινίνης (A, H, και I), και (5) αποκαρβοξυλίωση της ορνιθίνης (ODC). πηγή: Ahmad et al., 2019

Βιογενείς Αμίνες	Χημική Δομή	Κατηγοριοποίηση	Πρόδρομη Ένωση
Πουτρεσκίνη		Αλειφατική Διαμίνη	Ορνιθίνη
Καδαβερίνη		Αλειφατική Διαμίνη	Λυσίνη
Τυραμίνη		Αρωματική Μονοαμίνη	Τυροσίνη
Ισταμίνη		Ετεροκυκλική Μονοαμίνη	Ιστιδίνη

Εικόνα 9: Οι βιογενείς αμίνες που εξετάζουμε στο πείραμα. πηγή: Wojcik et al., 2022

Τα βακτήρια που έχουν τη ικανότητα να προκαλέσουν αποκαρβοξυλίωση των αμινοξέων είναι: *Enterobacteriaceae* (*Escherichia*, *Salmonella*), *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Clostridiaceae* και κυρίως αρνητικά κατά Gram βακτήρια, ορισμένα *Lactobacillus* και θετικά κατά Gram βακτήρια, όπως ορισμένοι σταφυλόκοκκοι και εντερόκοκκοι (Wojcik et al., 2022).

1.16 Βιογενείς Αμίνες και Πτητική Οξύτητα

Πτητική οξύτητα υπάρχει πάντοτε στην άλμη των ελιών που έχουν υποστεί ζύμωση και οφείλεται κυρίως, στο οξικό οξύ το σχηματιζόμενο σε βάρος των ζυμώσιμων συστατικών από τα ετεροζυμωτικά γαλακτοβακτήρια (Μπαλατσούρας, 1995). Είναι γενικά γνωστό ότι το οξικό οξύ παράγεται από βακτήρια όπως το *Acetobacter*, το *Clostridium acetobutylicum* καθώς και από ζυμομύκητες με οξείδωση της αιθανόλης (Μικρού et al., 2021). Η πτητική οξύτητα είναι αυξημένη σε περιπτώσεις ασθενειών των ελιών, όπως είναι η ζαπατερία, η βουτυρική ζύμωση, η προπιονική ζύμωση, κτλ. Στις περιπτώσεις αυτές, ο προσδιορισμός της πτητικής οξύτητας στα πρώτα στάδια εμφανίσεως της ασθένειας έχει ιδιαίτερη σημασία, γιατί μπορεί να οδηγήσει στη λήψη άμεσων μέτρων προστασίας του φορτίου των ελιών ή στην άμεση διάθεση του στην κατανάλωση, αν η ποιότητα δεν έχει σοβαρά υποβαθμιστεί (Μπαλατσούρας, 1995).

Οι βιογενείς αμίνες βρίσκονται κυρίως σε προϊόντα πλούσια σε πρωτεΐνες (κρέας, ψάρι, τυρί) και σε προϊόντα ζύμωσης. Στην περίπτωση της ζύμωσης της επιτραπέζιας ελιάς, όταν η

τιμή του pH και η περιεκτικότητα σε αλάτι στην άλμη δεν είναι κατάλληλες, τότε μπορεί να αναπτυχθούν προπιονικά βακτήρια και να προκαλέσουν δευτερογενείς ζυμώσεις που έχουν ως αποτέλεσμα το μεταβολισμό του γαλακτικού οξέος προς οξικό και προπιονικό οξύ με ταυτόχρονη αύξηση της πτητικής οξύτητας. Αυτή η μεταβολή ονομάζεται «ζαπατερία» και προκαλεί, μεταξύ των άλλων, σχηματισμό κυκλοεξανοκαρβοξυλικού οξέος και παραγωγή βιογενών αμινών (καδαβερίνη και τυραμίνη) (Perpetuini et al., 2020).

2. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η διεξαγωγή έρευνας πεδίου για την καταγραφή των μικροβιολογικών και χημικών χαρακτηριστικών επιτραπέζιων ελιών της ποικιλίας Καλαμών, που προέρχονταν από συμβατικό και βιολογικό σύστημα καλλιέργειας και είχαν ζυμωθεί και συντηρηθεί, από διαφορετικούς παραγωγούς στην περιοχή του Γερακίου Λακωνίας.

Τα δείγματα (ελιές και άλμες) συλλέχθηκαν το Σεπτέμβριο του 2022, από δεξαμενές παραγωγών που περιείχαν ελιές που είχαν συγκομιστεί την καλλιεργητική περίοδο 2021-2022, πλην ενός δείγματος που συγκομίστηκε την περίοδο 2020-2021. Τα δείγματα προέρχονταν από διαφορετικούς παραγωγούς, με διαφορές στη διαδικασία ζύμωσης και στις εγκαταστάσεις αποθήκευσης. Μία επιπρόσθετη διαφορά ήταν οι διαφορετικές τοποθεσίες των κτημάτων που συλλέχθηκαν οι ελιές.

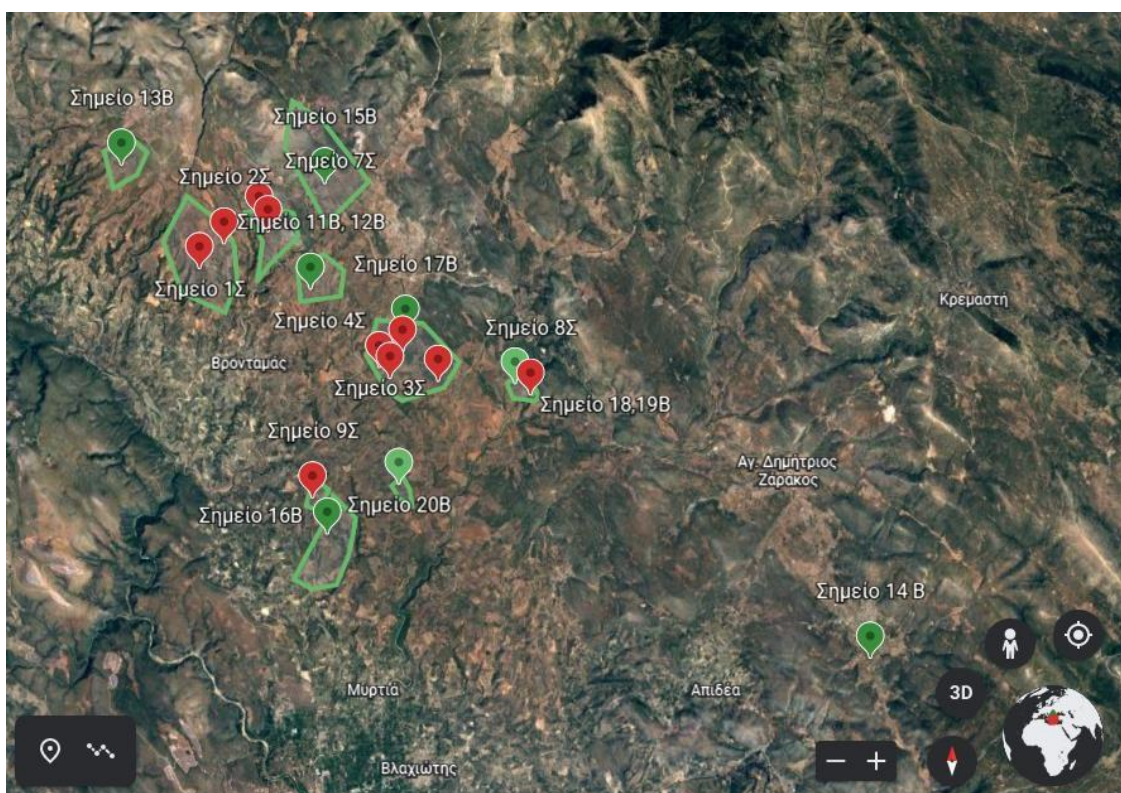
Πιο συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκαν μικροβιολογικές αναλύσεις για την απαρίθμηση των οξυγαλακτικών βακτηρίων, ζυμών, *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* spp., *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, μικρόκοκκων, θειοαναγωγικών βακτηρίων και OMX. Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν ξεχωριστά για τις ελιές και την άλμη.

Πραγματοποιήθηκαν επίσης φυσικοχημικές αναλύσεις για την εκτίμηση της τιμής του pH, της ογκομετρούμενης οξύτητας, της ενεργότητα ύδατος (a_w), της υφής, της πτητικής οξύτητας στην άλμη και της αλατοπεριεκτικότητας. Επιπλέον, προσδιορίστηκε το ποσοστό των καρπών που παρουσίασαν αεροθυλάκια σε κάθε δείγμα. Τέλος, προσδιορίστηκε το προφίλ των φαινολικών ενώσεων και των βιογενών αμινών στα υπό μελέτη δείγματα τόσο στην άλμη όσο και στον καρπό της ελιάς.

3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1 Συλλογή Δειγμάτων

Στην παρούσα μελέτη συλλέχθηκαν είκοσι (20) δείγματα ζυμωμένων ελιών ποικιλίας Καλαμών βιολογικής και συμβατικής καλλιέργειας από ελαιοπαραγωγούς στο Γεράκι Λακωνίας. Τα δείγματα είχαν βάρος 5 κιλά και περιείχαν 3,5 κιλά ελιές και 1,5 λίτρο άλμης περίπου. Η δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε στον Σεπτέμβριο του 2022 και ο καρπός είχε συγκομισθεί τον χειμώνα του 2021, εκτός από ένα δείγμα (δείγμα 12) στο οποίο η συγκομιδή πραγματοποιήθηκε το 2020. Η επιλογή των δειγμάτων, πέραν του κριτηρίου της συμβατικής ή μη καλλιέργειας, έγινε και με βάση την τοποθεσία του κάθε κτήματος στην ευρύτερη περιοχή του Γερακίου. Δύο δείγματα συλλέχθηκαν από δύο γειτονικά χωριά, Άγιοι Ανάργυροι (δείγμα 13) και Νιάτα (δείγμα 14). Όμως, σε κάθε μία από τις οριοθετημένες περιοχές έγινε προσπάθεια λήψης και βιολογικών και συμβατικών δειγμάτων ελιάς, ώστε να εξαλειφθεί η επίδραση της τοποθεσίας ως παράγοντας διαφοροποίησης των δειγμάτων (Βιολογικά- Συμβατικά).



Εικόνα 10: Χάρτης συλλογής δειγμάτων στην περιοχή του Γερακίου Λακωνίας.
πηγή: https://earth.google.com/earth/d/1aOxU0lxrbg7S_RYedE0jhF9Y4gw_WGiq?usp=sharing

Αριθμός Δείγματος	Περιοχή Κτήματος	Τρόπος Καλλιέργειας	Υψόμετρο (m)
1	Κόλαση	Συμβατικές	203
2	Κόλαση	Συμβατικές	186
3	Τζελέτη	Συμβατικές	226
4	Τζελέτη (Λάκκα Ζοριάνη)	Συμβατικές	228
5	Τζελέτη	Συμβατικές	238
6	Τζελέτη	Συμβατικές	259
7	Τσίλια	Συμβατικές	243
8	Άγιος Νικόλαος	Συμβατικές	271
9	Τραμπάλες	Συμβατικές	168
10	Τσίλια	Συμβατικές	233
11	Γιαννίτσαρη	Βιολογικές	213
12	Γιαννίτσαρη	Βιολογικές	213
13	Γκολφάδες Περιοχή Αγίων Αναργύρων	Βιολογικές	287
14	Νιάτα	Βιολογικές	319
15	Κοκκινεκκλησιά	Βιολογικές	310
16	Μετόχι	Βιολογικές	154
17	Τζελέτη	Βιολογικές	242
18	Άγιος Νικόλαος	Βιολογικές	269
19	Άγιος Νικόλαος	Βιολογικές	269
20	Χούνη Δούβρη	Βιολογικές	210

Πίνακας 1: Στοιχεία των δειγμάτων που απεικονίζονται στο χάρτη



Εικόνα 11: Συλλογή δειγμάτων



Εικόνα 12: Συλλογή δειγμάτων και τοποθέτηση σε δοχεία χωρητικότητας 5 Lt με άλμη και επισήμανση κάθε δοχείου



Εικόνα 13: Δεξαμενή κλειστού τύπου(αριστερά), ανοιχτού τύπου (κέντρο), ανοιχτού τύπου σε εσωτερικό χώρο(δεξιά)

Θα πρέπει να σημειωθεί ότι οι δεξαμενές που συλλέχθηκαν οι ελιές από κάθε παραγωγό περιείχαν καρπούς μόνο από τις τοποθεσίες που αναφέρονται στον Πίνακα 1 και δεν ήταν αναμειγμένες με καρπούς από κτήματα άλλων περιοχών. Η δειγματοληψία από τις δεξαμενές πραγματοποιήθηκε με ειδικό δειγματολήπτη, ο οποίος συνέλεγε ελιές από διαφορετικά βάθθη των δεξαμενών. Για την αποφυγή επιμολύνσεων, ο δειγματολήπτης απολυμαινόταν πριν και μετά τη δειγματοληψία με εμβάπτιση σε διάλυμα χλωρίνης 10% και ακολουθούσε έκπλυση με νερό.

Με την ολοκλήρωση της δειγματοληψίας κάθε παραγωγός συμπλήρωνε ειδικό ερωτηματολόγιο στο οποίο καταγραφόταν η διαδικασία μεταποίησης και συντήρησης των ελιών στις δεξαμενές, καθώς επίσης και οι πρώτες ύλες που χρησιμοποιούσε κατά τη ζύμωση των ελιών (Παράρτημα 1).

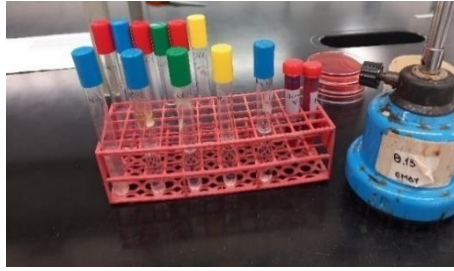
3.2 Μικροβιολογικές Αναλύσεις

Μετά τη μεταφορά των δειγμάτων στο ΓΠΑ, πραγματοποιήθηκαν μικροβιολογικές αναλύσεις στο Εργαστήριο Μικροβιολογίας και Βιοτεχνολογίας Τροφίμων για την εκτίμηση του μικροβιολογικού φορτίου των δειγμάτων. Οι μικροβιολογικές αναλύσεις των δειγμάτων πραγματοποιήθηκαν ξεχωριστά για την ελιά και την άλμη και έγιναν με τη μέθοδο των διαδοχικών δεκαδικών αραιώσεων. Συγκεκριμένα, στην περίπτωση της ελιάς, από κάθε δείγμα ελήφθησαν ασηπτικά 10 g εκπυρηνωμένης ελιάς, από διαφορετικά ύψη του δοχείου, τα οποία μεταφέρθηκαν σε αποστειρωμένη σακούλα Stomacher. Στη συνέχεια προστέθηκαν 90 mL αποστειρωμένου αραιωτικού διαλύματος Ringer και ακολούθησε ομογενοποίηση του δείγματος με χρήση συσκευής Stomacher (Lab Blender 400) σε θερμοκρασία δωματίου για 60s.



Εικόνα 14: Δειγματοληψία άλμης και καρπών από τα δείγματα υπό ασηπτικές συνθήκες

Στην περίπτωση της άλμης, ελήφθησαν περίπου 10 mL από διαφορετικά ύψη του δοχείου, υπό ασηπτικές συνθήκες και τοποθετήθηκαν σε φιάλες falcon. Στη συνέχεια, ακολούθησαν δεκαδικές αραιώσεις σε σωληνάκια που περιείχαν 9 mL διαλύματος Ringer, με λήψη όγκου 1 mL και τοποθέτησή του στο σωλήνα της επόμενης αραιώσης. Οι κατάλληλες, σε κάθε δειγματοληψία, αραιώσεις επιλέχθηκαν για τον εμβολιασμό των τρυβλίων.



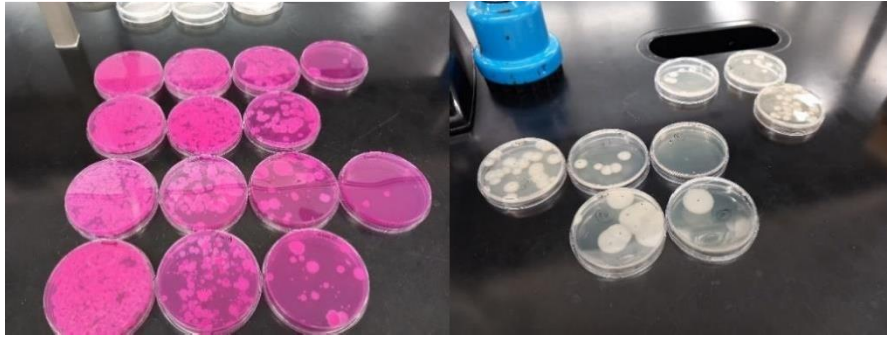
Εικόνα 15: Δεκαδικές Αραιώσεις

Πιο συγκριμένα, μελετήθηκε ο πληθυσμός της ολικής μικροβιακής χλωρίδας (OMX), των βακτηρίων *Pseudomonas* spp., *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, των εντεροβακτηρίων (*Enterobacteriaceae*), των ζυμών, των οξυγαλακτικών βακτηρίων, των θειοαναγωγικών βακτηρίων και των μικρόκοκκων. Παρακάτω παρατίθεται πίνακας που αναγράφονται οι μικροοργανισμοί που εξετάστηκαν, τα θρεπτικά υποστρώματα που χρησιμοποιήθηκαν για την ανάπτυξή τους, καθώς επίσης και οι συνθήκες και ο χρόνος επώασης των μικροβιολογικών υποστρωμάτων.

Ομάδες Μικροοργανισμού	Θρεπτικό Υπόστρωμα	Προσθήκη Αντιβιοτικού	Τεχνική Ενοφθαλμισμού	Συνθήκες Επώασης
OMX (Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα)	Truptic Glucose Yeast Agar (PCA)	-	Επιφανειακή Επίστρωση	25°C αερόβιες συνθήκες για 48h
Ζύμες	Rose Bengal Chloramphenicol Agar Base	Chloramphenicol X009 διαλυμένο σε 5 mL αιθανόλη, Neogen, Heywood, UK	Επιφανειακή Επίστρωση	25°C αερόβιες συνθήκες για 48h
Οξυγαλακτικά Βακτήρια (LAB)	MRS	0.05% (w/v) κυκλοεξαμίδιο	Ενσωμάτωση	30°C αερόβιες συνθήκες για 48h
<i>Staphylococcus aureus</i>	Baird-Parker LAB285	X085: Egg Yolk Tellurite (Neogen, Heywood, UK)	Επιφανειακή Επίστρωση	37°C αερόβιες συνθήκες για 48h
<i>Listeria monocytogenes</i>	Listeria Palcam Agar Base	Listeria PALCAM Antimicrobial Supplement	Επιφανειακή Επίστρωση	37°C αερόβιες συνθήκες για 48h
<i>Escherichia coli</i>	Sorbitol MacConkey Agar		Επιφανειακή Επίστρωση	37°C αερόβιες συνθήκες για 24h
Μικρόκοκκοι	M17	0.05% (w/v) κυκλοεξαμίδιο	Ενσωμάτωση	35°C αερόβιες συνθήκες για 48h
Enterobacteriaceae	VRBGA (Violet Red Bile Glucose Agar)	-	Ενσωμάτωση	37°C αερόβιες συνθήκες για 24h
<i>Pseudomonas</i> spp.	Pseudomonas Agar Base	X108 Modified CFC διάλυση με διάλυμα 5mL 50% αιθανόλης. (Neogen, Heywood, UK).	Επιφανειακή Επίστρωση	25°C αερόβιες συνθήκες για 48h
Θειοαναγωγικά Βακτήρια	Iron Agar		Επιφανειακή Επίστρωση	25°C αναερόβιες συνθήκες για 48-120h
<i>Salmonella</i> spp.	Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLD)	-	Επιφανειακή Επίστρωση	37°C αερόβιες συνθήκες για 24h

Πίνακας 2: Μικροοργανισμοί που αναλύθηκαν, υποστρώματα ανάπτυξης, εμπορική εταιρεία του θρεπτικού υποστρώματος και τυχόν αντιβιοτικού που προστέθηκε, τεχνική εμβολιασμού και συνθήκες επώασης

Μετά το τέλος της επώασης καταμετρήθηκαν οι αποικίες, επιλέχθηκαν τα τρυβλία εκείνα που είχαν εύρος πλήθους αποικιών από 30 έως 300 και προσδιορίστηκε το μικροβιακό φορτίο. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε log CFU/g για τις ελιές και σε log CFU/mL για τις άλμες.



Εικόνα 16: Καταμέτρηση ζυμών, OMX

3.2 Ποσοστό αεροπάθησης

Συλλέχθηκαν 100 ελιές από διαφορετικά βάθη του κάθε δείγματος και τοποθετήθηκαν πάνω σε σχάρα για να στραγγίσουν. Ύστερα, χαραχτήκαν με νυστέρι για να διαπιστωθεί η ύπαρξη αεροθυλακίων. Μετρήθηκαν όσοι καρποί είχαν αεροθυλάκια και υπολογίστηκε το αντίστοιχο ποσοστό (%).



Εικόνα 17: Αεροθυλάκια σε ελιές

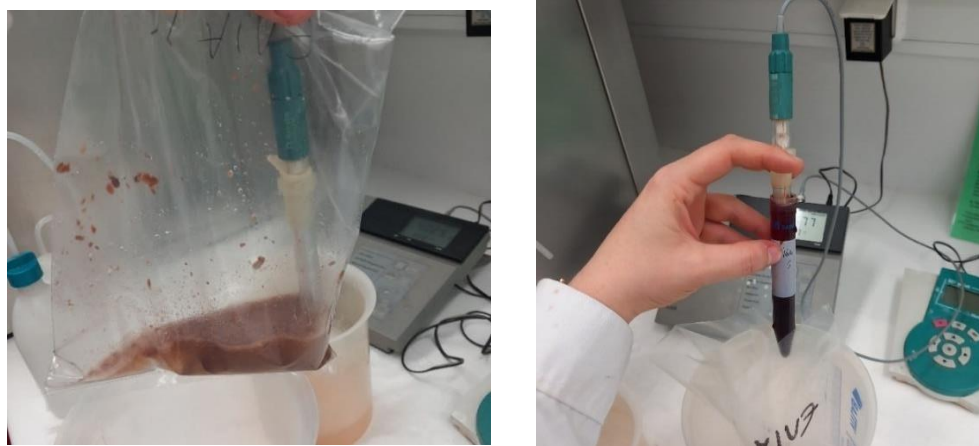


Εικόνα 18: Σχισίματα επιδερμίδας αριστερά και δεξιά φωτογραφία από στερεοσκόπιο αεροθλακίου

3.3 Φυσικοχημικές αναλύσεις

Μέτρηση pH

Η τιμή του pH στην επιτραπέζια ελιά προσδιορίστηκε από την πρώτη δεκαδική αραιώση του δείγματος, δηλαδή στο ομογενοποιημένο διάλυμα της σακούλας Stomacher, ενώ στην άλμη μετρήθηκε με απευθείας εμβάπτιση του pH-μέτρου. Για τη μέτρηση χρησιμοποιήθηκε ψηφιακό πεχάμετρο (Russell RL150). Σε κάθε δείγμα άλμης και ελιάς πραγματοποιήθηκαν 3 επαναλήψεις.



Εικόνα 19: Μέτρηση pH σε ελιές (αριστερά) και σε άλμη (δεξιά)

Μέτρηση ενεργότητας ύδατος στις ελιές

Η μέτρηση της ενεργότητας ύδατος πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του οργάνου Dew Point Water 4TE της Scientact A.E. Αρχικά γεμίζονταν οι πλαστικές κάψες με τεμάχια μεσοκαρπίου ελιάς μέχρι τη χαραγή, ώστε να μην αφήνεται κενός χώρος και το δείγμα τοποθετούταν εντός του οργάνου. Σε κάθε δείγμα πραγματοποιούνται 4 επαναλήψεις, με τη χρήση ελιών από διαφορετικά βάθη του δοχείου.



Εικόνα 20: Μέτρηση ενεργότητας ύδατος στις ελιές (aw)

Προσδιορισμός υφής

Ο προσδιορισμός της υφής πραγματοποιήθηκε με τη χρήση φορητού δυναμόμετρου. Η υφή του καρπού προσδιορίστηκε ως η δύναμη (g) που απαιτείται για τη διάτρηση της επιδερμίδας του καρπού. Πιο συγκεκριμένα, από κάθε δοχείο χρησιμοποιήθηκαν 10 ελιές από διάφορα ύψη του δοχείου και σε κάθε καρπό ελήφθησαν 3 μετρήσεις.



Εικόνα 21: Δυναμόμετρο για τον προσδιορισμό της υφής.

Μέτρηση αλατοπεριεκτικότητας

Η μέτρηση της αλατοπεριεκτικότητας πραγματοποιήθηκε με 3 διαφορετικούς τρόπους:

A) Στην άλμη με τη χρήση πυκνόμετρου

Πιο συγκεκριμένα, συλλέχθηκε άλμη από κάθε δοχείο ύστερα, από ανάδευση και τοποθετήθηκε σε ογκομετρικό κύλινδρο μέσα στον οποίο εμβαπτίστηκε το πυκνόμετρο. Μετά την αποκατάσταση της ισορροπίας του πυκνόμετρου έγινε καταγραφή της ένδειξης και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως βαθμοί °Be.



Εικόνα 22: Μέτρηση αλατοπεριεκτικότητας με πυκνόμετρο σε άλμη

B) Στην άλμη με τη χρήση διαθλασίμετρου

Καταγράφηκε επίσης η αλατοπεριεκτικότητα στα ίδια δείγματα με τη χρήση διαθλασίμετρου (HI 96821 Sodium Chloride Refractometer). Η διαδικασία που ακολουθήθηκε ήταν η εξής:

- Επιλογή της συσκευής για μέτρηση της αλατότητας σε g/100mL.
- Τοποθέτηση απιονισμένου νερού για μηδενισμό (βαθμονόμηση) του οργάνου.
- Τοποθέτηση δείγματος άλμης στην ειδική υποδοχή του οργάνου και ανάγνωση της μέτρησης.
- Καθαρισμός με απιονισμένο νερό και επανάληψη της μέτρησης σε νέο δείγμα.



Εικόνα 23: Μέτρηση αλατοπεριεκτικότητας με διαθλασίμετρο

Γ) Στην άλμη και στην ελιά με ογκομέτρηση

Προετοιμασία διηθημάτων για τον προσδιορισμό οξύτητας και αλατότητας των καρπών

Σε ογκομετρικές φιάλες των 100 mL ζυγίστηκαν 10 g πάστας. Ύστερα, οι φιάλες πληρώθηκαν μέχρι τη χαραγή με ζεστό απιονισμένο νερό, ανακινήθηκαν έντονα χειροκίνητα

και αφέθηκαν σε ηρεμία για 5 λεπτά. Έπειτα, με χρήση διηθητικού φίλτρου, παρελήφθη το διήθημα του διαλύματος, σε φιάλη Duran.

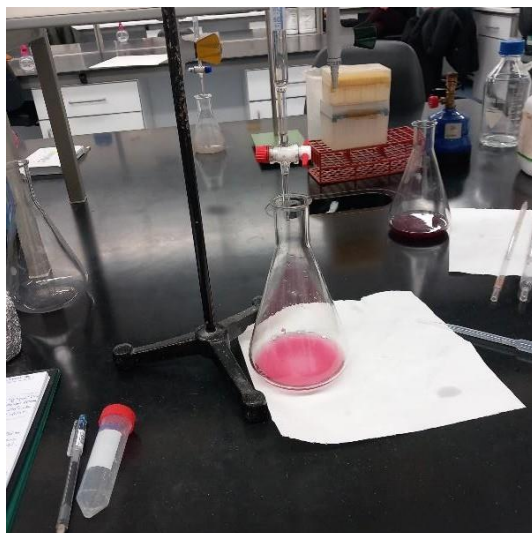
Μέτρηση αλατοπεριεκτικότητας

Η μέτρηση της αλατότητας έγινε με τιτλοδότηση με τη βοήθεια προχοΐδας. Πιο συγκεκριμένα, για την παρασκευή του τιτλοδοτούμενου διαλύματος για μέτρηση της αλατότητας στις ελιές, αναμίχθηκαν 5 mL διηθήματος (αυτό το διάλυμα παρουσιάζει αραιώση 1:10), 85 mL απιονισμένου νερού, 1 mL δείκτη K_2CrO_4 5% w/v και πραγματοποιήθηκε η τιτλοδότηση, με διάλυμα 0,1 N $AgNO_3$. Για τον προσδιορισμό της αλατότητας στην άλμη δημιουργήθηκε ένα διάλυμα αναλογίας 1:10 (2 mL άλμης σε 18 mL απιονισμένου νερού) και από αυτό το διάλυμα ελήφθησαν 5mL και ακολουθήθηκε η ίδια διαδικασία με τον προσδιορισμό της αλατότητας στην ελιά.

Τέλος, ο υπολογισμός της αλατοπεριεκτικότητας στην ελιά και στην άλμη πραγματοποιήθηκε με τιτλοδότηση χρησιμοποιώντας διάλυμα 0,1 N νιτρικού αργύρου ($AgNO_3$) και διάλυμα 1% χρωμικού καλίου (K_2CrO_4) ως δείκτη, σύμφωνα με όσα περιγράφονται στη βιβλιογραφία (Μπαλατσούρας, 2004).

Μέτρηση Ογκομετρούμενης Οξύτητας

Η μέτρηση της ογκομετρούμενης οξύτητας έγινε με τιτλοδότηση με χρήση διαλύματος 0,1 N καυστικού νατρίου (NaOH) και δείκτη 1% (β/ο) φαινολοφθαλεΐνη (Μπαλατσούρας, 2004). Πιο συγκεκριμένα, για την παρασκευή του τιτλοδοτούμενου διαλύματος για μέτρηση της ογκομετρούμενης οξύτητας στις ελιές, αναμίχθηκαν 20 mL διηθήματος και 30 mL απιονισμένου νερού. Στην περίπτωση της άλμης πρώτα δημιουργήθηκε ένα διάλυμα 1:10 άλμης νερού, όγκου 20 mL (2 mL άλμης και 18 mL απιονισμένου νερού) και στη συνέχεια προστέθηκαν 30 mL απιονισμένου νερού. Επιπλέον, προστέθηκαν 3 σταγόνες δείκτη φαινολοφθαλεΐνης 1% (w/v). Ως τιτλοδότης χρησιμοποιήθηκε καυστικό νάτριο (NaOH) κανονικότητας 0,1 N. Η ολοκλήρωση του προσδιορισμού βασίστηκε στην αλλαγή χρώματος του δείκτη και στην ταυτόχρονη άνοδο της τιμής pH στο εύρος 8,2- 8,3.



Εικόνα 24: Τιτλοδότηση για προσδιορισμό ογκομετρούμενης οξύτητας

Μέθοδος Μέτρησης Πτητικής Οξύτητας

Πτητική οξύτητα υπάρχει πάντοτε στην άλμη των ελιών που έχουν υποστεί ζύμωση και οφείλεται κυρίως, στο οξικό οξύ, που σχηματίζεται από το μεταβολισμό των σακχάρων από τα ετεροζυμωτικά γαλακτοβακτήρια. Η πτητική οξύτητα είναι αυξημένη σε περιπτώσεις ασθενειών των ελιών, όπως είναι η ζαπατερία, η βουτυρική ζύμωση, η προπιονική ζύμωση, κτλ. Στις περιπτώσεις αυτές, ο προσδιορισμός της πτητικής οξύτητας στα πρώτα στάδια εμφανίσεως της ασθένειας έχει ιδιαίτερη σημασία, γιατί μπορεί να οδηγήσει στη λήψη άμεσων μέτρων προστασίας του φορτίου των ελιών ή στην άμεση διάθεση του στην κατανάλωση, αν η ποιότητα δεν έχει σοβαρά υποβαθμιστεί (Μπαλατσούρας, 1995). Για τον προσδιορισμό της πτητικής οξύτητας 1 g τρυγικού οξέος προστέθηκε στον εκχυλιστήρα της συσκευής προσδιορισμού της πτητικής οξύτητας. Η χρήση του οξέος αυτού είναι απαραίτητη προκειμένου να αποδεσμευτούν τα πτητικά οξέα και τυχόν άλατά τους στην άλμη. Στη συνέχεια μεταφέρονται στη συσκευή 10 mL άλμης και 10 mL απιονισμένου νερού. Ακολουθεί απόσταξη μέχρι τελικού όγκου 250 mL στον υποδοχέα της συσκευής. Τέλος πραγματοποιείται ογκομέτρηση με διάλυμα 0,1 N NaOH με χρήση δείκτη φαινολοφθαλεΐνης μέχρι εμφάνισης ρόδινης απόχρωσης στο διάλυμα.



Εικόνα 25: Διαδικασία εκχύλισης (αριστερά) και αποτέλεσμα ογκομέτρησης (δεξιά)

3.4 Αναλύσεις προφίλ φαινολικών ενώσεων

Για τη μέτρηση των πολυφαινολών σε ελιές και άλμη, χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της υδροχρωματογραφίας συζευγμένη με φασματομετρία μαζών υψηλής διακριτικής ικανότητας (UHPLC-QTOF-MS), με στόχο τη λήψη όσο το δυνατόν περισσότερων πληροφοριών για την ταυτοποίηση των ενώσεων. Οι ενώσεις που εξετάστηκε η ύπαρξή τους στα δείγματα ελιών και άλμης αναφέρονται στο Παράρτημα 2.

Αρχικά, από τις ελιές αφαιρέθηκε ο πυρήνας και το υπόλοιπο μέρος ομογενοποιήθηκε σε οικιακό blender. Για την μέτρηση των πολυφαινολών στην άλμη χρησιμοποιήθηκε ποσότητα 1 mL δείγματος, ενώ για την ελιά χρησιμοποιήθηκαν 0,5 g ομογενοποιημένου δείγματος. Μεταξύ του χρόνου προετοιμασίας των δειγμάτων και της μέτρησης τα δείγματα αποθηκεύονταν σε θερμοκρασία $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Μέθοδος Εκχύλισης Πολυφαινολών από την Άλμη

- Πραγματοποιήθηκε λήψη 1 mL άλμης με πιπέτα, η ποσότητα αυτή τοποθετήθηκε σε φυγοκεντρικό σωλήνα (falcon) και προστέθηκαν 4 mL οξικού αιθυλεστέρα.
- Ακολούθησε ανάδευση με συσκευή vortex για 30 δευτερόλεπτα και στη συνέχεια ανάδευση σε σέικερ για 10 min. Στη συνέχεια τα falcons τοποθετήθηκαν σε συσκευή υπερήχων για 10 λεπτά.
- Ακολούθησε φυγοκέντρηση για 5 λεπτά στις 4000 στροφές.
- Ακόλουθα, τοποθετήθηκε το υπερκείμενο σε γυάλινο σωλήνα.
- Έπειτα επαναλήφθηκε η ίδια διαδικασία με το στερεό μέρος που είχε απομείνει άλλη μία φορά.

- Τα 9 mL υπερκείμενου που είναι σε falcons εξατμίστηκαν με άζωτο και τα υπολείμματα που έμειναν στα τοιχώματα διαλυτοποιήθηκαν με 1 mL διαλύματος μεθανόλης LC-MS υπερκάθαρου νερού (1:1).

- Ύστερα αναδεύτηκαν με vortex για 1 λεπτό και με τη βοήθεια σύριγγας έγινε λήψη του διαλύματος που φιλτραρίστηκε από φίλτρο με διάμετρο πόρων 0,2 μm, τοποθετήθηκε σε μικρά γυάλινα φιαλίδια (vials) και ήταν έτοιμο για ανάλυση από τη συσκευή LC-QTOF-MS.

Μέθοδοι εκχύλισης φαινολικών ενώσεων σε ελιές

- Ζυγίστηκαν 0,5 gr ελιάς (κομμένη σε μικρά κομμάτια στο μπλέντερ) από το κάθε δείγμα και τοποθετήθηκαν σε φυγοκεντρικό σωλήνα.

- Για την πραγματοποίηση της εκχύλισης προστέθηκαν 5 mL μεθανόλης, extra καθαρής κατάλληλη για LC-MS.

- Οι φυγοκεντρικοί σωλήνες ανακινήθηκαν σε αναδευτήρα για 15 λεπτά.

- Ύστερα, τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε λουτρό υπερήχων για 15 λεπτά.

- Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε φυγοκέντρωση για 5 λεπτά στις 5000 στροφές.

- Ακόλουθα, το υπερκείμενο διάλυμα μεταφέρθηκε σε άλλον φυγοκεντρικό ή δοκιμαστικό σωλήνα.

- Επαναλήφθηκε η ίδια διαδικασία με το στερεό μέρος της ελιάς.

- Στα 10 mL υπερκείμενου που ήταν σε φυγοκεντρικούς ή δοκιμαστικούς σωλήνες πραγματοποιήθηκε εξάτμιση με ρεύμα αζώτου. Τα υπολείμματα που έμειναν στα τοιχώματα διαλυτοποιήθηκαν με 1 mL διαλύματος μεθανόλης-νερού (1:1). Η μεθανόλη ήταν extra καθαρής κατάλληλη για LC-MS.

- Ύστερα, τα falcons ή οι δοκιμαστικοί σωλήνες με τα υπολείμματα και το διάλυμα μεθανόλης-νερού, ανακινήθηκαν σε vortex για 1 λεπτό. Ακόλουθα με τη βοήθεια σύριγγας, το διάλυμα φιλτραρίστηκε από φίλτρο 0,2 μm, τοποθετήθηκε σε γυάλινα φιαλίδια (vials) και ήταν έτοιμο για ανάλυση στη συσκευή LC-QTOF-MS.

Στην ανάλυση των πολυφαινολών, πραγματοποιήθηκε χρωματογραφική εκτέλεση αντίστροφης φάσης αρνητικής λειτουργίας ESI. Στην αρνητική λειτουργία ESI, η υδατική κινητή φάση αποτελούνταν από 80% H₂O, 20% CH₃OH, 5 mM CH₃COONH₄ και η οργανική κινητή φάση αποτελούνταν από CH₃OH, 5 mM CH₃COONH₄. Το πρόγραμμα βαθμιδωτής έκλουσης εφάρμοσε αλλαγές στη κινητή φάση και στον ρυθμό ροής. Ξεκίνησε με 1,0% οργανικής φάσης (ρυθμός ροής 0,200 mL/min) για 1 λεπτό, αυξάνοντας στο 39,0% κατά 3

λεπτά (ταχύτητα ροής 0,200 mL/min), και στη συνέχεια στο 99,9% (ταχύτητα ροής 0,400 mL/min) στα επόμενα 11 λεπτά. Αυτές οι συνθήκες διατηρήθηκαν σταθερές για 2 λεπτά (με ταχύτητα ροής 0,480 mL/min) και στη συνέχεια οι αρχικές συνθήκες αποκαταστάθηκαν εντός 0,1 λεπτού, διατηρήθηκαν για 3 λεπτά και στη συνέχεια ο ρυθμός ροής μειώθηκε στα 0,200 mL/min για το τελευταίο λεπτό. Ο όγκος ένεσης ορίστηκε στα 5 μ L. Οι παράμετροι λειτουργίας της διεπαφής ESI ήταν οι εξής: τριχοειδής τάση 3000 V για αρνητική λειτουργία, μετατόπιση τελικής πλάκας 500 V, πίεση νεφελοποιητή (N_2) 2,0 bar, αέριο ξήρανσης (N_2) 8,0 L/min, θερμοκρασία στεγνώματος 200 °C.

Πραγματοποιήθηκε εξωτερική βαθμονόμηση του φασματόμετρου μάζας QTOF με διάλυμα μυρμηκικού νατρίου πριν από την ανάλυση. Επίσης, μια βαθμονομημένη έγχυση εκτελείται αυτόματα στην αρχή κάθε διαδρομής και το χρονικό τμήμα 0,1-0,25 λεπτά για εσωτερική βαθμονόμηση. Το βαθμονομημένο διάλυμα νατρίου μυρμηκικού άλατος αποτελούνταν από συστάδες μυρμηκικού νατρίου 10 mM σε μείγμα νερού ισοπροπανόλη 1:1. Το λογισμικό της Bruker που χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση ακατέργαστων δεδομένων ήταν το DataAnalysis 4.3, το TASQ Client 1.4 και το TargetAnalysis 1.3.

Εκτός από τα δείγματα ελιών και άλμης, παρασκευάστηκαν και αναλύθηκαν και δείγματα ποιοτικού Ελέγχου (QC) σε όλη την παρτίδα για να επαληθευτεί η επαρκής αναλυτική απόδοση. Τα δείγματα QC παρασκευάστηκαν από ανάμειξη κλασμάτων ίδιου όγκου όλων των εκχυλισμάτων επιτραπέζιας ελιάς που εξετάστηκαν, που αντιπροσωπεύουν και τη μήτρα του δείγματος και το μεταβολικό προφίλ των δειγμάτων. Τέλος, τέσσερα αναλυτικά κενά δείγματα (μίγματα MeOH: H₂O, 80:20, v/v) παρασκευάστηκαν και αναλύθηκαν. Στη μέτρηση χρησιμοποιήθηκαν επίσης πρότυπα διαλύματα από μίγμα φαινολών που μελετήθηκαν στο πείραμα με τις εξής συγκεντρώσεις: 0, 5, 1, 2, 5, 10 ppm.



Εικόνα 26: UHPLC-QTOF-MS Maxis Impact, Bruker Daltonics



Εικόνα 27: Δεγματολήπτης

Μέτρηση Βιογενών Αμινών

Για τη μέτρηση των βιογενών αμινών χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της υγρής χρωματογραφίας μάζας HPLC-MS/MS, χρωματογραφία που ενδείκνυται για πολικές ενώσεις. Οι βιογενείς αμίνες που μελετήθηκαν ήταν η πουτρεσκίνη, η кадаβερίνη, η τυραμίνη και η τυροσίνη. Οι άλμες και τα δείγματα ελιάς που χρησιμοποιήθηκαν είχαν υποστεί την ίδια ακριβώς επεξεργασία με τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν για την μέτρηση των πολυφαινολών.

Μέθοδος Προσδιορισμού Βιογενών Αμινών στην Άλμη Ελιάς

- Πραγματοποιήθηκε αραιώση 1:5 του κάθε δείγματος άλμης με υπερκάθαρο νερό.
- Από το αραιωμένο δείγμα έγινε λήψη ποσότητα 200 μL και μαζί με 800 μL ACN τοποθετήθηκαν σε vial κατάλληλο για το όργανο HPLC- MS/MS.

Μέθοδος προσδιορισμού βιογενών αμινών στις ελιές

- Ζύγιση 2 g δείγματος ελιάς σε φυγοκεντρικό σωλήνα των 50 mL.
- Προσθήκη 20 mL διαλύματος 5% HClO_4 και ανάδευση για 5 λεπτά σε vortex.
- Sanication για 20 λεπτά.
- Πραγματοποιήθηκε διήθηση με διηθητικό χαρτί και συλλέχθηκε το διήθημα με σταγονόμετρο Pasteur σε ογκομετρικό σωλήνα των 50 mL.
- Ακόλουθα, έγινε επανάληψη αυτής της διαδικασίας άλλη μία φορά.
- Ρυθμίστηκε το pH του διαλύματος στην τιμή 3 με τη χρήση διαλύματος NaOH (400g/L).
- Ο υπόλοιπος όγκος μέχρι τα 50 mL συμπληρώθηκε με διάλυμα 0,5% HClO_4 .
- Ύστερα, λαμβάνονται 2 mL από το καθαρό εκχύλισμα και μεταφέρονται σε δοκιμαστικό σωλήνα όπου αναμειγνύονται με 5 mL n-Hexane.
- Αυτό το παρασκεύασμα μένει για 5 λεπτά σε ηρεμία
- 250 μL του καθαρού διαλύματος του πυθμένα συλλέχθηκαν και αναμείχθηκαν σε 750 μL ακετονιτρίλιο (ACN) σε ένα σωληνάριο.
- Ακολούθησε διήθηση με φίλτρα διαμέτρου 15 mm και διάμετρο πόρων 0,2 μm και το δείγμα ήταν έτοιμο προς ανάλυση.

Τα δείγματα τοποθετήθηκαν στο όργανο HPLC- MS/MS μαζί με δείγματα spike με mix των βιογενών αμινών που μελετήθηκαν. Οι συγκεντρώσεις των βιογενών αμινών που προστέθηκαν σε 1 δείγμα ελιάς ήταν 5 ppm και 10 ppm ή 100 μL από mix βιογενών αμινών συγκέντρωσης 100 ppm και 200 μL από mix βιογενών αμινών συγκέντρωσης 100 ppm, αντίστοιχα. Για την άλμη το δείγμα spike που δημιουργήθηκε είχε συγκέντρωση των βιογενών αμινών 200 ppb ή διαφορετικά προστέθηκαν 10 μL από το mix των βιογενών αμινών με συγκέντρωση 100 ppm.

Ο χρωματογραφικός διαχωρισμός των δειγμάτων γίνεται σε στήλη HILIC, με κινητή φάση A σε νερό: 10 mmol/L μυρμηκικό αμμώνιο και 0,5 % μυρμηκικό οξύ σε νερό, και ως κινητή φάση B: 10 mmol/L μυρμηκικό αμμώνιο και 0,5 % μυρμηκικό οξύ σε ακετονιτρίλιο για

ρύθμιση του pH στο 6. Ο ρυθμός ροής ορίστηκε στα 0,3 mL/min με όγκο ένεσης 2 μ L και θερμοκρασία στήλης 35°C. Η έκλουση ήταν βαθμιδωτή.

Στατιστική ανάλυση

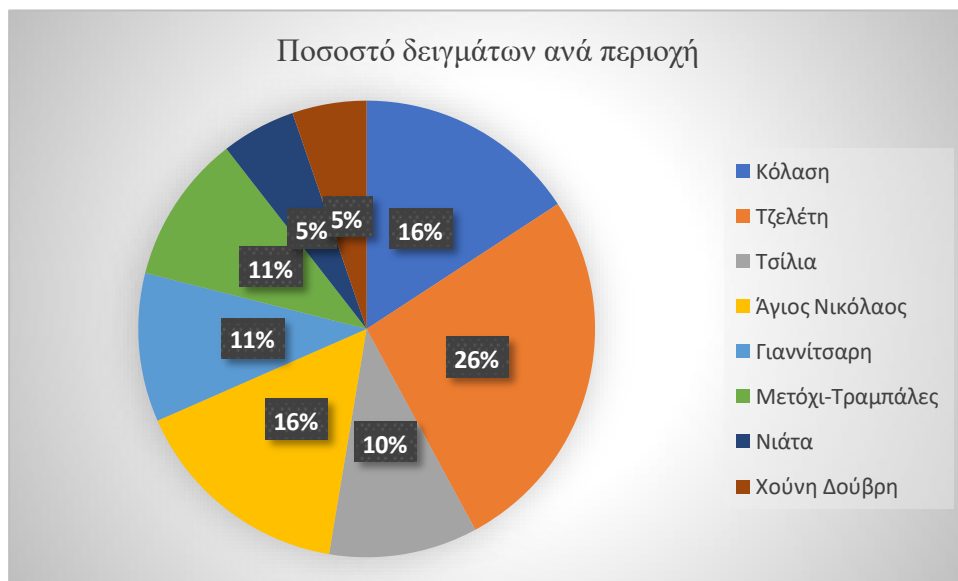
Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με το πρόγραμμα STATGRAPHICS 14 με ποσοστό σημαντικότητας 95%.

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1 Αποτελέσματα ερωτηματολογίου σχετικά με τις συνθήκες ζύμωσης των ελιών

Από την ανάλυση των ερωτηματολογίων που συμπλήρωναν οι παραγωγοί κατά τη δειγματοληψία των ελιών προέκυψαν οι ακόλουθες παρατηρήσεις, ενώ οι απαντήσεις των παραγωγών για κάθε δείγμα που παρέδωσαν για ανάλυση στο πλαίσιο της παρούσας έρευνας πεδίου παρουσιάζονται στο Παράρτημα 1.

Αναφορικά με τις περιοχές συλλογής των δειγμάτων παρατηρούμε ότι τα δείγματα κατανέμονται ως εξής:



Διάγραμμα 6: Ποσοστό δειγμάτων ανά περιοχή

Οι ελιές Καλαμών συλλέγονται κυρίως το μήνα Νοέμβριο (ποσοστό 85%). Μέχρι τα μέσα Δεκεμβρίου η συλλογή της επιτραπέζιας ελιάς στην περιοχή της Λακωνίας έχει ολοκληρωθεί. Το ποσοστό των δειγμάτων που συλλέχθηκαν το Δεκέμβριο του 2021 ήταν 10%. Όμως από τα συλλεχθέντα δείγματα, το δείγμα 12 (ποσοστό 5%) συγκομίσθηκε την καλλιεργητική περίοδο 2020-2021, ενώ όλα τα υπόλοιπα την περίοδο 2021-2022.

Οι εκτάσεις που καλλιεργούνται ελιές Καλαμών στην περιοχή του Γερακίου είναι αρδευόμενες. Συγκεκριμένα, όπως φαίνεται και στο διάγραμμα, το 95% των δειγμάτων, αντιστοιχεί στα 19 από τα 20 δείγματα, είναι αρδευόμενα και μόλις ένα δείγμα, το 14 προέρχεται από μη αρδευόμενη έκταση από την περιοχή των Νιάτων Λακωνίας.

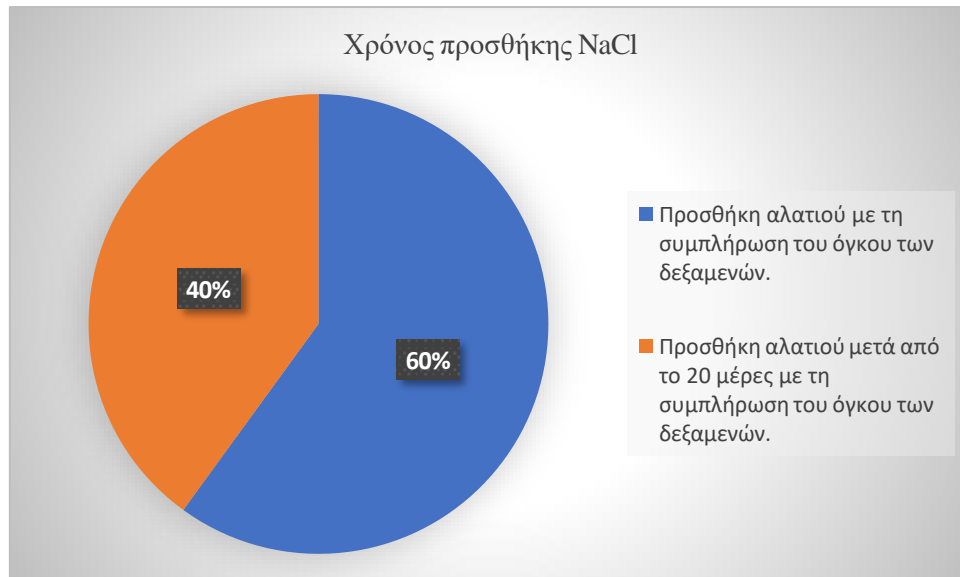
Οι εγκαταστάσεις ζύμωσης και συντήρησης από παραγωγούς ελιών Καλαμών στην περιοχή του Γερακίου Λακωνίας ποικίλλαν. Πιο συγκεκριμένα, τα δείγματα που εξετάστηκαν

στη συγκεκριμένη μελέτη προήλθαν από (α) δεξαμενές σε εξωτερικό χώρο, (β) σε αποθήκες με πάνελ, (γ) σε υπόγεια σπιτιών και (δ) σε αποθήκη που έχει μία πλευρά της είναι ακάλυπτη ή και περισσότερες. Το μεγαλύτερο ποσοστό (40%) των δειγμάτων προήλθαν από δεξαμενές που βρίσκονταν σε εξωτερικό χώρο και ήταν εκτεθειμένες σε συνθήκες περιβάλλοντος. Ποσοστό 30% των δειγμάτων προήλθαν από δεξαμενές που βρίσκονταν σε αποθήκες με πάνελ ή σε κατασκευές όπου απλά η οροφή ήταν καλυμμένη με αυτό το υλικό. Αρκετές αποθήκες είναι χτισμένες με τσιμεντόλιθους και στην οροφή τους έχουν πάνελ. Ακολούθως, ποσοστό 25% των δειγμάτων προήλθαν από δεξαμενές που βρίσκονταν σε υπόγεια κατοικιών, ενώ τέλος το δείγμα 4 (5%) προήλθε από δεξαμενές που βρίσκονταν σε αποθήκη με πάνελ, με τη μία πλευρά εκτεθειμένη στον ατμοσφαιρικό αέρα.

Οι δεξαμενές που ζυμώνονται και συντηρούνται οι επιτραπέζιες ελιές χωρίζονται στις κλειστού και ανοιχτού τύπου. Τα δείγματα που συλλέχτηκαν είχαν ζυμωθεί κατά 70% σε δεξαμενές ανοιχτού τύπου. Βέβαια σε αυτού του είδους τις δεξαμενές, οι ελιές σκεπάζονταν είτε με κάποιο πλαστικό καπάκι, ίδιου υλικού με τη δεξαμενή, είτε με κάποια επιφάνεια από μεμβράνη πολυαιθυλενίου, η οποία γεμιζόταν με αλατόνερο, με σκοπό τη δημιουργία αναερόβιων συνθηκών στην επιφάνεια των ελιών και τον περιορισμό σχηματισμού υμενίου στην επιφάνεια της άλμης.

Από το σύνολο των 20 δειγμάτων που αναλύθηκαν, στα 17 (ποσοστό 85%) είχε χρησιμοποιηθεί μόνο NaCl κατά την επεξεργασία (ζύμωση) και δεν είχε χρησιμοποιηθεί κάποιος παράγοντας οξίνισης ή βελτιωτικό της υφής της ελιάς. Σε ένα δείγμα (13) είχε προστεθεί γαλακτικό οξύ τη στιγμή που γεμιζόταν η δεξαμενή με ελιές και ύστερα από 10 μέρες προστέθηκε αλάτι. Σαν παράγοντας βελτίωσης της υφής χρησιμοποιήθηκε CaCl_2 σε συγκέντρωση 1%, σε δύο δείγματα (4 και 11) όταν γέμιζε η δεξαμενή, και ύστερα από 10 μέρες προστέθηκε και το αλάτι.

Οι παραγωγοί καθώς συλλέγουν τις ελιές, τις περνούν από διαλογέα όπου τις κατανέμει με βάση το μέγεθός τους. Ύστερα, οι αγρότες τοποθετούν τις ελιές σε δεξαμενές με νερό του δικτύου υδροδότησης και προσθέτουν αλάτι, είτε με το απογέμισμα των δεξαμενών, είτε μετά από 20 ημέρες, όταν πλέον έχει συλλεχθεί όλος ο καρπός. Τα δείγματα που προστέθηκε αλάτι αμέσως μετά το γέμισμα των δεξαμενών είναι τα εξής: 1, 2, 3, 4, 7, 8, 10, 15, 16, 18, 19, 20. Τα δείγματα που προστέθηκε αλάτι στο νερό των δεξαμενών μετά από 20 ημέρες από τη συμπλήρωση του όγκου είναι το 5, 6, 9, 11, 12, 13, 14, 17.



Διάγραμμα 7: Χρόνος προσθήκης NaCl από τη συμπλήρωση του όγκου των δεξαμενών με ελιές

Πρέπει να αναφερθεί ότι σε όλα σχεδόν τα δείγματα η αρχική περιεκτικότητα σε NaCl μέχρι τους μήνες Μάρτιο-Απρίλιο ήταν μεταξύ 5-7%. Τα δείγματα που διέφεραν από αυτά τα όρια ήταν το δείγμα 17, όπου αρχική αλατοπεριεκτικότητα ήταν 2,5% και τα δείγματα 18 και 19 με αρχική αλατοπεριεκτικότητα 4%. Οι παραπάνω τιμές της αλατοπεριεκτικότητας αφορούν την τιμή της στην άλμη από την προσθήκη του πρώτου άλατος μέχρι τους μήνες Μάρτιο-Απρίλιο. Από τα μέσα της άνοιξης και έπειτα η αλατοπεριεκτικότητα αυξάνεται σχεδόν σε όλα τα δείγματα, λόγω αύξησης της θερμοκρασίας σε τιμή μεγαλύτερη του 8%.

Ποσοστό Βιολογικών-Συμβατικών δειγμάτων

Συλλέχθηκαν 10 δείγματα ελιών βιολογικής γεωργίας (δείγμα: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20) και 10 δείγματα ελιών συμβατικής γεωργίας (δείγμα: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10).



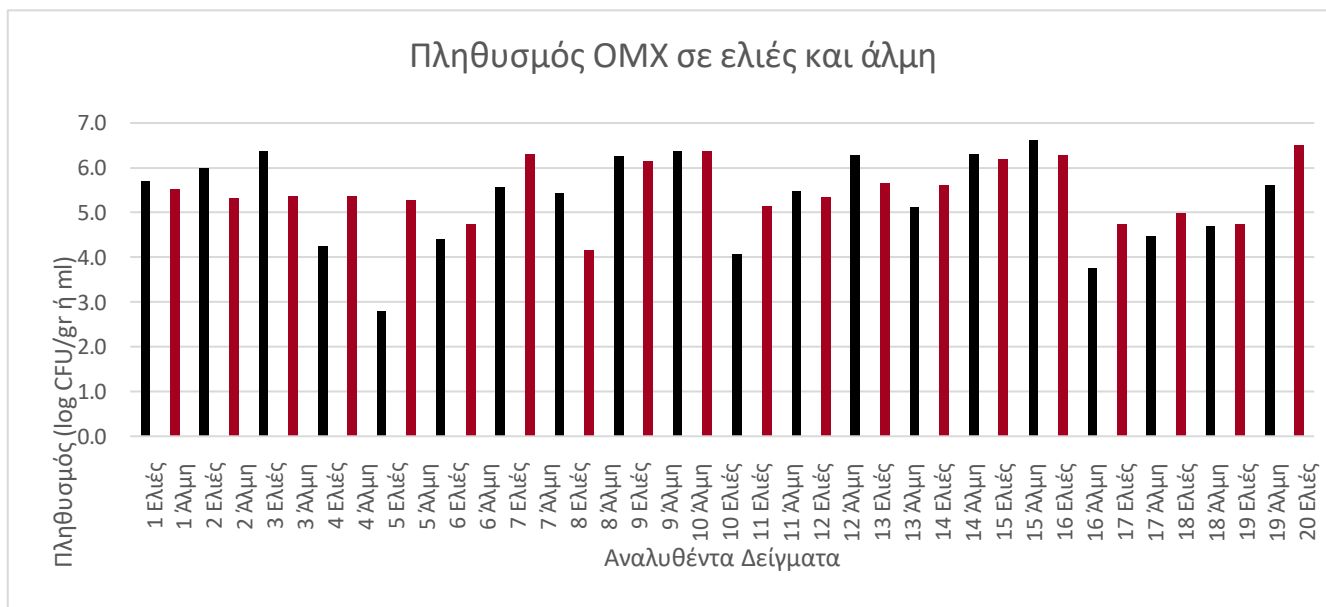
Διάγραμμα 8: Καταμερισμός δειγμάτων βιολογικής και συμβατικής γεωργίας

Υψόμετρο κτημάτων

Μία ακόμα πληροφορία που εξετάστηκε στο ερωτηματολόγιο ήταν το υψόμετρο των κτημάτων που συλλέχθηκαν οι ελιές κάθε δείγματος. Τα δείγματα κατατάχθηκαν στις εξής κατηγορίες υψομέτρων: 150-200 m, 200-250 m, 250-300 m και 300-320 m. Στην πρώτη κατηγορία 150-200 m είναι 3 δείγματα και συγκεκριμένα τα 2, 9, 16. Στην δεύτερη κατηγορία υψομέτρου 200-250 m βρίσκονται τα κτήματα που παράγονται τα μισά δείγματα και συγκεκριμένα τα 1, 3, 4, 5, 7, 10, 11, 12, 17, 20. Στην τρίτη κατηγορία 250-300 m ταξινομούνται τα δείγματα 6, 8, 13, 18, 19 που έχουν συλλεχθεί από κτήματα αυτών των υψομέτρων. Στη τελευταία κατηγορία 300-320 m ταξινομούνται τα δείγματα 14, 15.

4.2 Μικροβιολογικός Έλεγχος

Τα αποτελέσματα των μικροβιολογικών αναλύσεων σχετικά με τον προσδιορισμό της OMX στην άλμη και στις ελιές παρουσιάζονται στα Διαγράμματα 9-11.

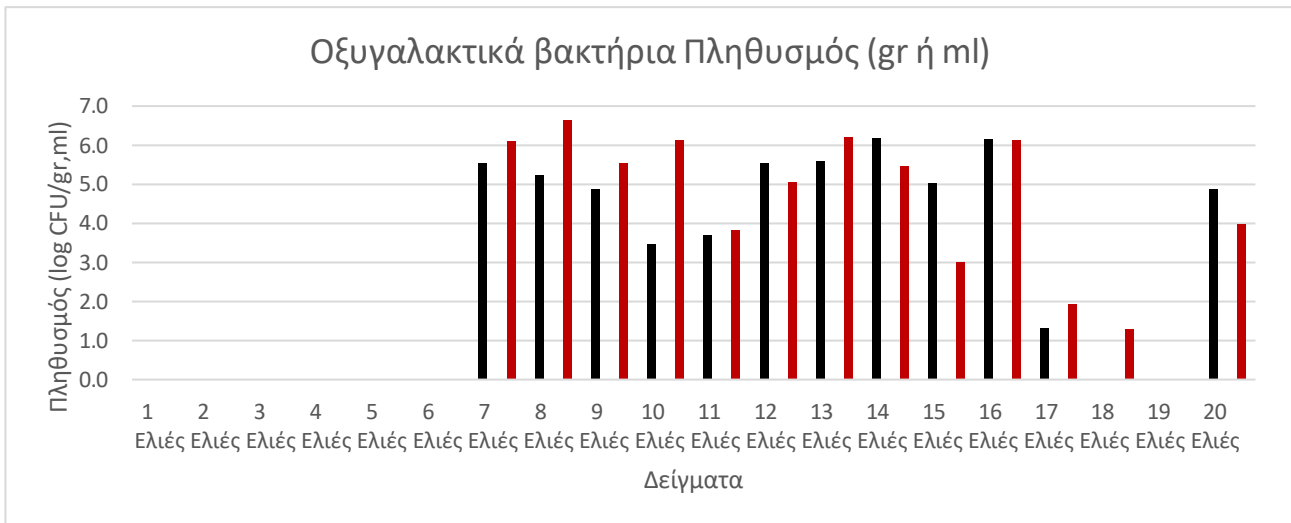


Διάγραμμα 9: Πληθυσμός OMX για ελιές και άλμη

Αναλύοντας στατιστικά τον πληθυσμό των OMX για τις ελιές, από τα δείγματα συμβατικής και βιολογικής γεωργίας δεν παρατηρήθηκε καμία διαφορά μεταξύ τους σε επίπεδο σημαντικότητας 5%. Το ίδιο αποτέλεσμα είχε και η στατιστική ανάλυση για τον πληθυσμό της OMX μεταξύ της άλμης από τα δείγματα συμβατικής και βιολογικής γεωργίας. Τον υψηλότερο πληθυσμό OMX στις ελιές παρουσίασε το δείγμα 16 με πληθυσμό 6,6 log CFU/g και τον ελάχιστο, το δείγμα 5 με πληθυσμό 2,8 log CFU/g. Από τις άλμες, την μέγιστη τιμή πληθυσμού OMX (6,5 log CFU/mL) παρουσίασε η άλμη 20, ενώ τον ελάχιστο πληθυσμό (4,1 log CFU/mL) η άλμη 8.

Οξυγαλακτικά βακτήρια

Ο πληθυσμός των οξυγαλακτικών βακτηρίων στις ελιές και στην άλμη προσδιορίζεται στο διάγραμμα 10.



Διάγραμμα 10: Πληθυσμός Οξυγαλακτικών βακτηρίων για ελιές και άλμη

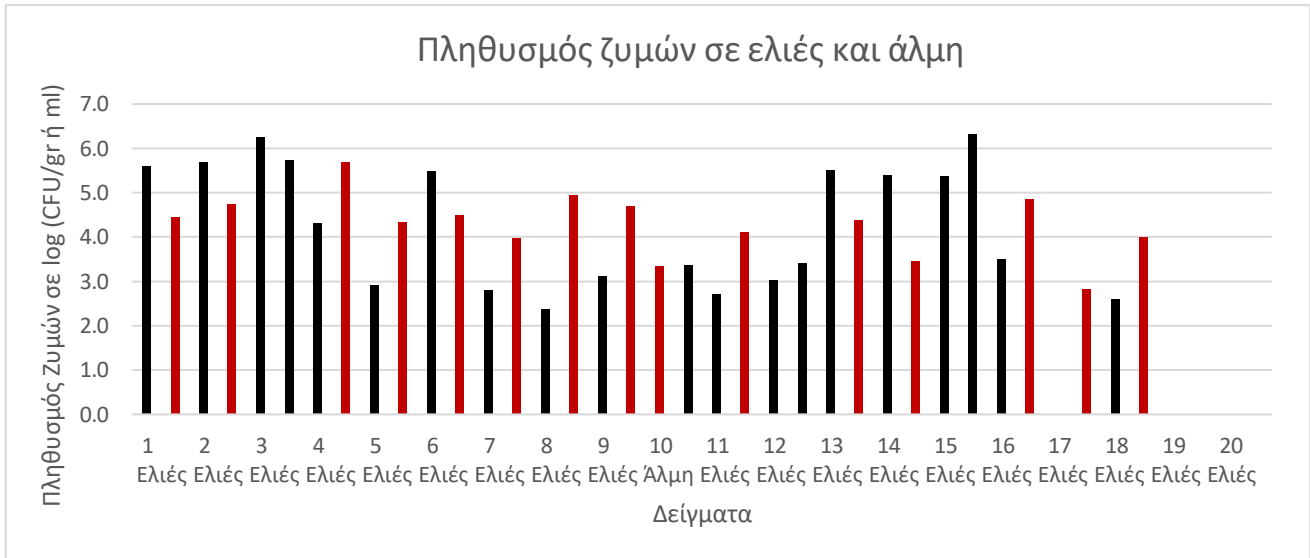
Από το διάγραμμα 10 σχετικά με τον πληθυσμό των οξυγαλακτικών βακτηρίων στις άλμες προέκυψε ότι στα δείγματα 1, 2, 3, 4, 5, 6 και 19 δεν καταμετρήθηκαν τα προαναφερθέντα βακτήρια. Αυτό θα μπορούσε εν μέρη να αποδοθεί στην υψηλή περιεκτικότητα αλατιού στην άλμη (9,5%, 9,8%, 10%, 10%, 9,2%, 8%, 9,7%) αντίστοιχα. Σε εργασία των Penland et al. (2022) μελετήθηκε η ανάπτυξη των LAB κατά τη διάρκεια ζύμωσης φυσικής μαύρης επιτραπέζιας ελιάς της γαλλικής ποικιλίας Nyons και παρατηρήθηκε ότι συγκέντρωση αλατιού 8% καθυστερεί την εμφάνισή τους. Είναι χαρακτηριστικό ότι στα ίδια δείγματα δεν απαριθμήθηκαν οξυγαλακτικά βακτήρια στις ελιές (Διάγραμμα 10), με εξαίρεση το δείγμα 18 όπου ο πληθυσμός των οξυγαλακτικών βακτηρίων στην άλμη ήταν 1,3 log CFU/mL ενώ στην ελιά δεν ανιχνεύθηκαν οξυγαλακτικά βακτήρια.

Ο μέγιστος πληθυσμός των οξυγαλακτικών βακτηρίων στις ελιές ήταν 6,2 log CFU/g (δείγμα 14), ενώ στην άλμη ο μέγιστος πληθυσμός παρατηρήθηκε στο δείγμα 8 (6,6 log CFU/mL).

Ο πληθυσμός των οξυγαλακτικών βακτηρίων στα δείγματα ελιάς και άλμης δεν παρουσιάζει καμία στατιστική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας 95% μεταξύ συμβατικής και βιολογικής γεωργίας.

Ζύμες

Τα αποτελέσματα των μικροβιολογικών αναλύσεων σχετικά με τον προσδιορισμό των ζυμών στην άλμη και στις ελιές παρουσιάζονται στο Διάγραμμα 14.



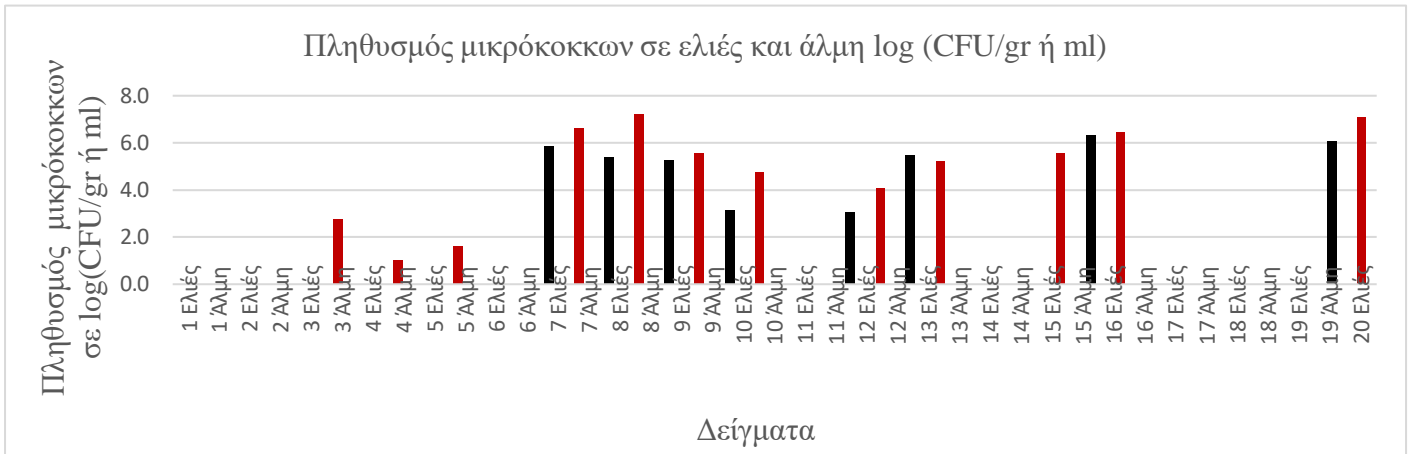
Διάγραμμα 11: Πληθυσμός ζυμών για ελιές και άλμη

Από το Διάγραμμα 11 φαίνεται ότι στα δείγματα 17, 19 και 20 της ελιάς δεν καταμετρήθηκαν αποικίες ζυμών. Αντίστοιχα, από το ίδιο διάγραμμα προκύπτει ότι στα δείγματα 19 και 20 της άλμης δεν καταμετρήθηκαν αποικίες ζυμών. Η μέγιστη τιμή πληθυσμού ζυμών στις ελιές ήταν 6,2 log CFU/g και παρατηρήθηκε στο δείγμα 3. Επιπλέον, δεν υπήρξε στατιστική διαφορά στον πληθυσμό των ζυμών στις ελιές που προέρχονται από βιολογική και συμβατική καλλιέργεια. Ο μέσος πληθυσμός ζυμών όλων των δειγμάτων ελιών ήταν 3,5 log CFU/g. Ο πληθυσμός των ζυμών στις άλμες που προέρχονται από ελιές συμβατικής γεωργίας ήταν στατιστικά μεγαλύτερος (μέσος όρος 4,6 log CFU/mL), από τον πληθυσμό ζυμών στις άλμες που προέρχονται από ελιές βιολογικής γεωργίας, (μέσος όρος 3,3 log CFU/mL). Την μέγιστη τιμή πληθυσμού ζυμών στην άλμη παρουσίασε το δείγμα 15 με πληθυσμό 6,3 log CFU/mL, ενώ ο μέσος όρος του πληθυσμού των ζυμών στις άλμες ήταν 3,9 log CFU/mL. Οι τιμές αυτές των μέσων όρων του πειράματος, διαφέρουν από πείραμα των Bonatsou et al. (2018) σε επιτραπέζιες ελιές Καλαμών που εξετάστηκε η ζύμωσή τους με/χωρίς την προσθήκη παραγόντων οξίνισης της άλμης (γαλακτικό οξύ, οξικό οξύ) στην αρχή της ζύμωσης. Οι ερευνητές ανέφεραν ότι ανεξάρτητα από την αρχική οξίνιση της άλμης, οι ζύμες παρουσίασαν μέσο αρχικό πληθυσμό 5,2 log₁₀ CFU/g, ο οποίος διατηρήθηκε γύρω από αυτήν την τιμή καθ' όλη τη διάρκεια της ζύμωσης.

Μικρόκοκκοι

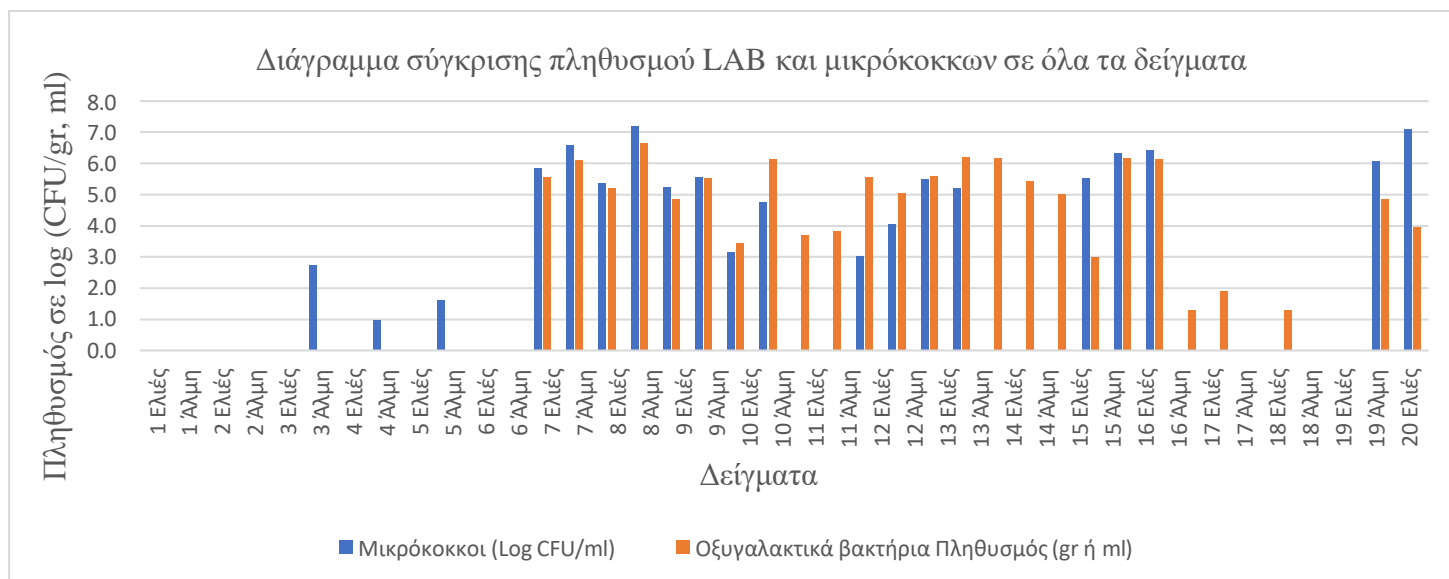
Οι μικρόκοκκοι μαζί με τα γαλακτοβακτήρια είναι υπεύθυνα για την παραγωγή του γαλακτικού οξέος κατά τη ζύμωση (Benítez-Cabello et al., 2020).

Τα αποτελέσματα των μικροβιολογικών αναλύσεων σχετικά με τον προσδιορισμό των μικρόκοκκων στην άλμη και στις ελιές παρουσιάζονται στο Διάγραμμα 15.



Διάγραμμα 12: Πληθυσμός μικρόκοκκων σε ελιές και άλμη σε log (CFU/g, mL)

Από το Διάγραμμα 12 προκύπτει ότι στα δείγματα ελιών 1, 2, 3, 4, 5, 6, 11, 14, 17, 18 και 19 δεν καταμετρήθηκαν μικρόκοκκοι. Επίσης, απουσία μικρόκοκκων παρατηρήθηκε στα δείγματα των άλμεων 1, 2, 6, 11, 14, 17, 18 και 19. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι στα δείγματα 1, 2, 3, 4, 5, 6, 18 και 19 δεν καταμετρούνται επίσης και οξυγαλακτικά βακτήρια, ενώ στο δείγμα 17 καταμετρούνται οξυγαλακτικά βακτήρια της τάξης του ενός λογαρίθμου. Συγκριτικά ο πληθυσμός των δύο βακτηρίων παρουσιάζεται στο διάγραμμα 13.



Διάγραμμα 13: Διάγραμμα σύγκρισης πληθυσμού LAB και μικρόκοκκων σε όλα τα δείγματα (ελιές και άλμη)

Από το Διάγραμμα 13 φαίνεται ότι οι πληθυσμοί των οξυγαλακτικών βακτηρίων και των μικρόκοκκων έχουν μία συσχέτιση. Και τα δύο είδη παράγουν κατά το μεταβολισμό τους γαλακτικό οξύ και όπως φαίνεται συνυπάρχουν στα περισσότερα δείγματα ελιών και άλμεων.

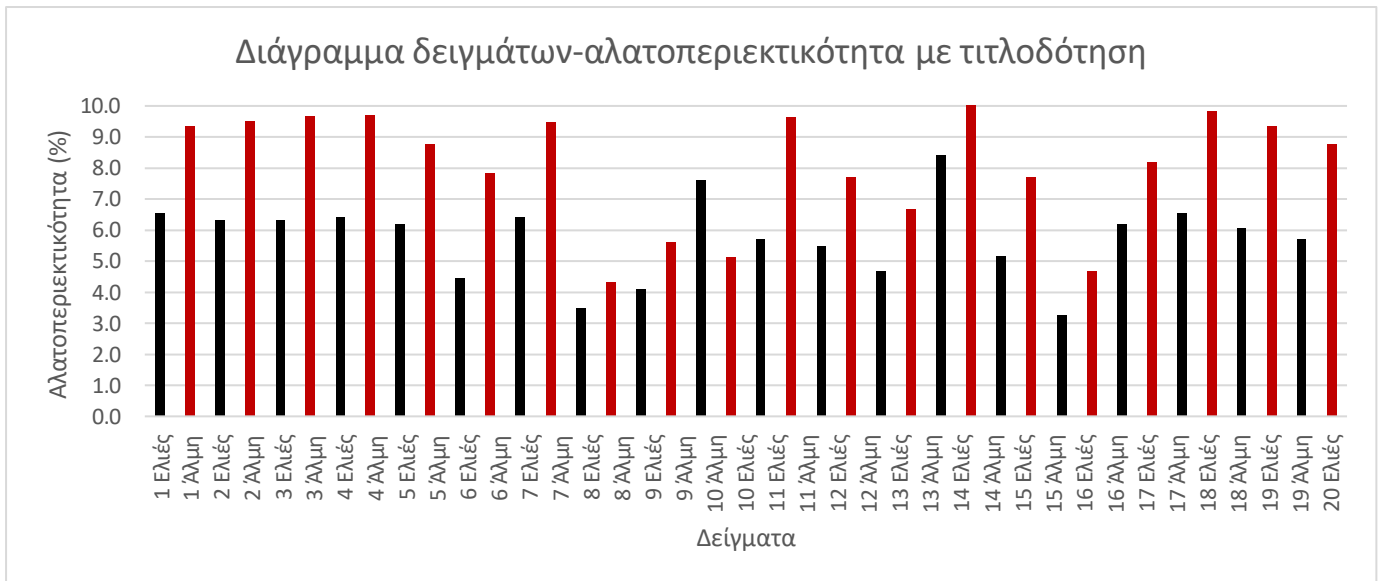
Τέλος, από την ανάλυση των δειγμάτων ελιάς και άλμης δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ συμβατικής και βιολογικής καλλιέργειας.

Επιπλέον, στα δείγματα της ελιάς και της άλμης από συμβατική και βιολογική γεωργία μελετήθηκε η παρουσία των ακόλουθων μικροοργανισμών: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* και θειοαναγωγικών βακτηρίων. Ο πληθυσμός τους ήταν κάτω από το όριο ανίχνευσης της μεθόδου των δεκαδικών αραιώσεων, δηλαδή < 2,0 log CFU/g και < 1 log CFU/mL για τις ελιές και την άλμη αντίστοιχα. Επιπρόσθετα, στα ίδια δείγματα ελιάς και άλμης απαριθμήθηκε ο πληθυσμός των *Enterobacteriaceae* που ήταν κάτω από το όριο ανίχνευσης της μεθόδου των δεκαδικών αραιώσεων. Επίσης σε κανένα από τα δείγματα που αναλύθηκαν δεν ανιχνεύθηκαν ψευδομονάδες (*Pseudomonas spp.*) αλλά και θειοαναγωγικά βακτήρια. Τέλος, σε κανένα δείγμα δεν ανιχνεύθηκε η παρουσία του παθογόνου βακτηρίου *Salmonella spp.*

4.3 Αποτελέσματα φυσικοχημικών αναλύσεων

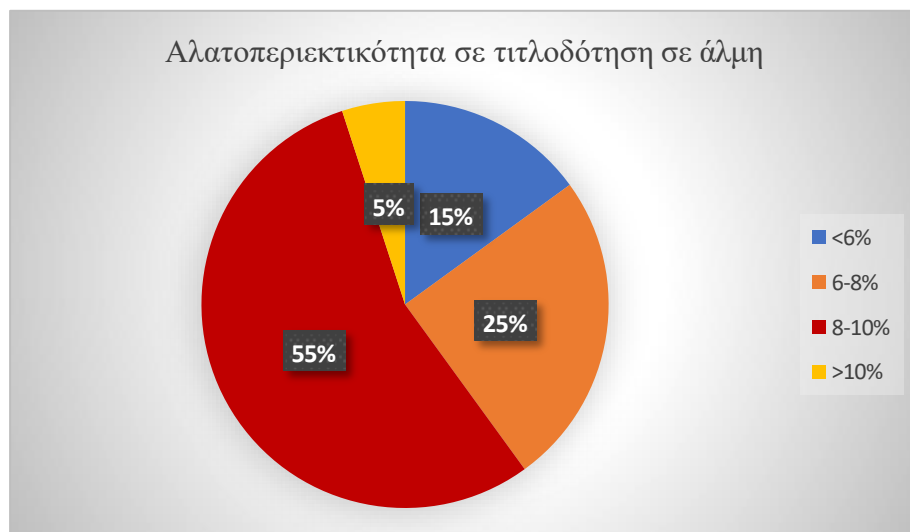
4.3.1 Αλατοπεριεκτικότητα

- 4.3.1.1 Προσδιορισμός αλατοπεριεκτικότητα με τιτλοδότηση σε ελιές και άλμη



Διάγραμμα 14: Αλατοπεριεκτικότητα δειγμάτων ελιών και άλμης μετρημένα με τη μέθοδο της τιτλοδότησης

Από το Διάγραμμα 14 εξάγεται το συμπέρασμα ότι για το ίδιο δείγμα η άλμη έχει μεγαλύτερη τιμή αλατοπεριεκτικότητας σε σχέση με την ελιά και αυτό είναι λογικό. Το NaCl_2 προστίθεται στο νερό και λόγω διάχυσης μεταφέρεται στις δρύπες. Το φαινόμενο της διάχυσης γίνεται για την εξισορρόπηση των συγκεντρώσεων στα δύο διαλύματα, όμως είναι αδύνατον η αλατοπεριεκτικότητα στον καρπό να είναι ίδια με την άλμη, λόγω του ότι ο καρπός αποτελείται και από άλλα συστατικά, έλαιο, φυτικές ίνες, πέραν του νερού που αποτελούν εμπόδιο για την μεταφορά του NaCl_2 (López-López et al., 2023).



Διάγραμμα 15: Κατανομή αλατοπεριεκτικότητας δειγμάτων ελιάς με τη μέθοδο της τιτλοδότησης

Στο Διάγραμμα 15 παρουσιάζεται η κατανομή των δειγμάτων της ελιάς ανάλογα με την αλατοπεριεκτικότητα του καρπού. Δεδομένου ότι στο συγκεκριμένο εμπορικό τύπο (φυσικές ελιές) η ελάχιστη αλατοπεριεκτικότητα στον καρπό της ελιάς είναι 6%, σύμφωνα με το εμπορικό πρότυπο του Διεθνούς Ελαιοκομικού Συμβουλίου, ποσοστό 15% των δειγμάτων (3 δείγματα συμβατικών και 2 δείγματα βιολογικών ελιών) δεν πληρεί τη συγκεκριμένη προδιαγραφή. Ακολούθως, ποσοστό 25% των δειγμάτων είχε αλατοπεριεκτικότητα που κυμάνθηκε από 6-8%, ενώ άξιο αναφοράς είναι ότι το 55% των δειγμάτων είχε αλατοπεριεκτικότητα από 8 έως 10%. Τέλος, συγκέντρωση αλατιού μεγαλύτερη του 10% παρουσίασε το 15% των δειγμάτων που αναλύθηκαν. Συνολικά ποσοστό 60% των δειγμάτων είχε αλατοπεριεκτικότητα > 8%. Η υψηλή αυτή περιεκτικότητα αλατιού είναι απαραίτητη προκειμένου να αποτραπεί το λεγόμενο τέταρτο στάδιο της ζύμωσης, το οποίο παρατηρείται μετά την ολοκλήρωση της κανονικής ζύμωσης, ιδιαίτερα όταν η συγκέντρωση του άλατος είναι χαμηλή και ευνοεί την ανάπτυξη ανεπιθύμητων μικροοργανισμών που συμβάλουν στη δημιουργία μια ασθένειας που καλείται zapateria, η οποία υποβαθμίζει την οργανοληπτική ποιότητα των ελιών (Perpetuini et al., 2020).

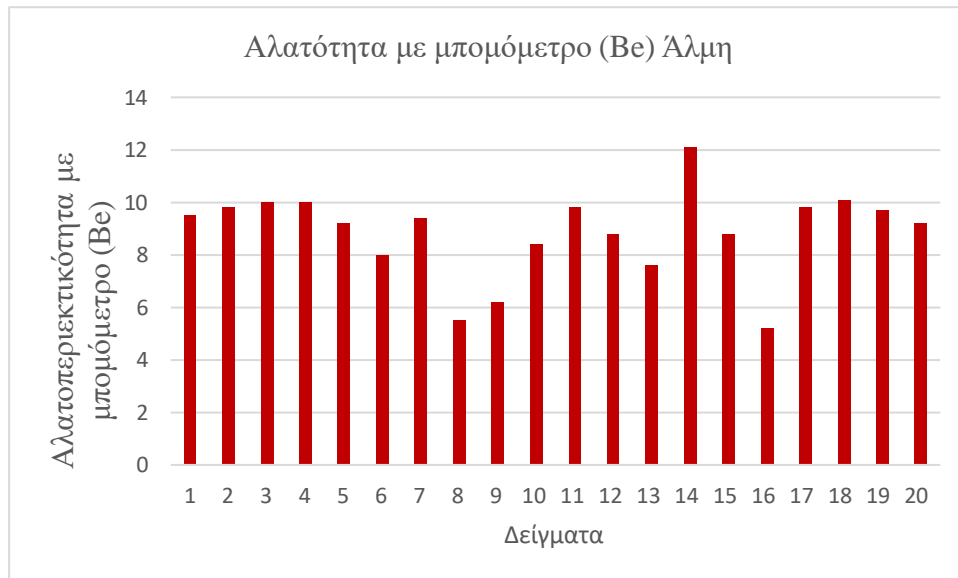


Διάγραμμα 16: Η αλατοπεριεκτικότητα μετρημένη με τη μέθοδο της τιτλοδότησης στη σάρκα της ελιάς

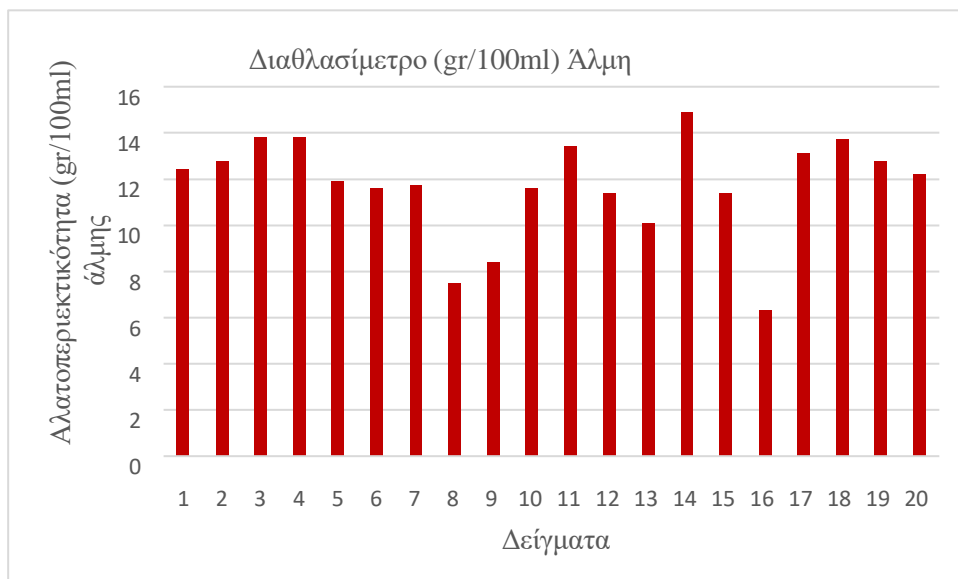
Στο Διάγραμμα 16 φαίνεται ότι το μεγαλύτερο ποσοστό των δειγμάτων (45%) έχει αλατοπεριεκτικότητα μεταξύ 6-7% (6 δείγματα από συμβατικά και 3 από βιολογική καλλιέργεια), ενώ ένα εξίσου μεγάλο ποσοστό των δειγμάτων (40%) έχει αλατοπεριεκτικότητα 4-6% (3 δείγματα από συμβατική και 5 από βιολογική καλλιέργεια). Ακόμα το 10% των δειγμάτων ελιάς έχει αλατοπεριεκτικότητα μικρότερη του 4% (δείγματα 8 και 16) και το 5% των δειγμάτων (δείγμα 14) έχει αλατοπεριεκτικότητα >7%.

Η αλατοπεριεκτικότητα σχετίζεται με την επικράτηση των οξυγαλακτικών βακτηρίων κατά τη ζύμωση, διότι συγκέντρωση άλατος > 8% ευνοεί την ανάπτυξη των ζυμών, που αποτελούν την επικρατούσα μικροχλωρίδα, και σε μικρότερο βαθμό την επικράτηση των οξυγαλακτικών βακτηρίων (Tassou et al., 2003). Συγκεκριμένα, τα δείγματα που παρουσιάζουν συγκέντρωση άλατος < 4,1% (δείγματα 8, 9 και 16), τα οξυγαλακτικά βακτήρια αποτελούν την επικρατούσα μικροχλωρίδα έναντι των ζυμών με πληθυσμούς που κυμαίνονται από 2.4 log CFU/g (δείγμα 8) έως 3.5 log CFU/g (δείγμα 16). Αυτά τα αποτελέσματα συμφωνούν με προηγούμενες μελέτες (Bonatsou et al., 2017) για ζύμωση ελληνικού τύπου ελιών της ποικιλίας Καλαμών, όπου αναφέρεται ότι η αλατοπεριεκτικότητα της άλμης στο επίπεδο του 5% ευνοεί την ανάπτυξη των οξυγαλακτικών βακτηρίων, ενώ η αλατοπεριεκτικότητα άνω του 7% προκαλούσε δυνητικό στρες στους εν λόγω μικροοργανισμούς.

4.3.1.2 Αλατοπεριεκτικότητα σε πυκνόμετρο και διαθλασίμετρο



Διάγραμμα 17: Η αλατοπεριεκτικότητα μετρημένη με μπομόμετρο στην άλμη



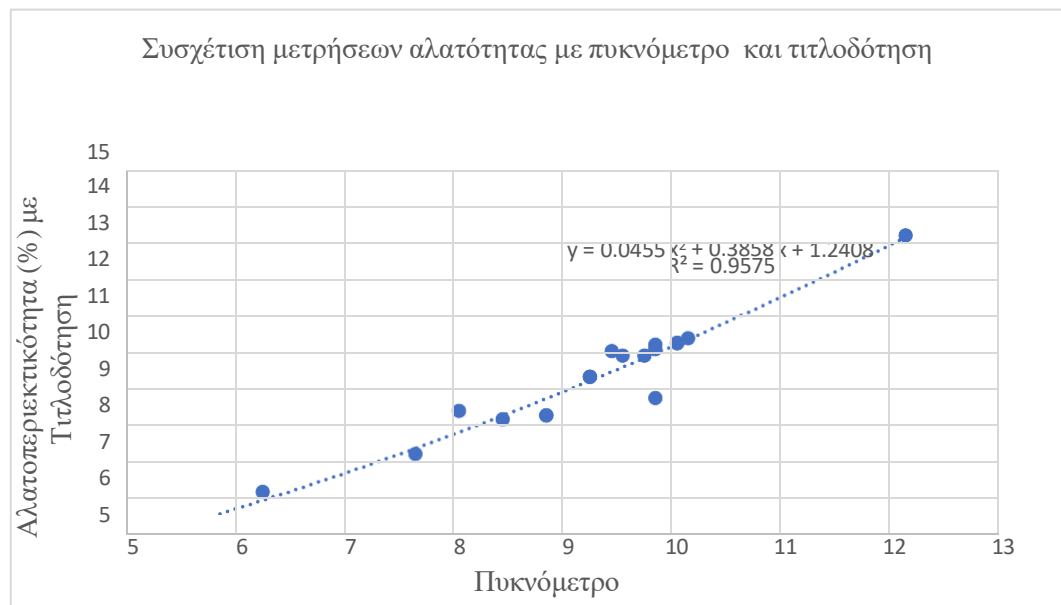
Διάγραμμα 18: Η αλατοπεριεκτικότητα μετρημένη με διαθλασίμετρο στην άλμη.

Η μέτρηση της αλατοπεριεκτικότητας με διαθλασίμετρο και πυκνόμετρο είναι μία πολύ εύκολη και γρήγορη διαδικασία, που βρίσκει εφαρμογή τόσο σε επίπεδο παραγωγού όσο και σε επίπεδο μεταποιητικής μονάδας. Γι' αυτό το λόγο, έγινε προσπάθεια συσχέτισης των μετρήσεων από το διαθλασίμετρο και το πυκνόμετρο με τις μετρήσεις της αλατότητας με τη μέθοδο της τιτλοδότησης.

Μετά από στατιστική επεξεργασία των μετρήσεων της αλατοπεριεκτικότητας με τη μέθοδο της τιτλοδότησης με διάλυμα νιτρικού αργύρου, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων ελιάς από βιολογική και συμβατική καλλιέργεια. Πιο συγκριμένα, ο μέσος όρος των δειγμάτων βιολογικής γεωργίας ήταν 5,7% και η μέγιστη και ελάχιστη αλατοπεριεκτικότητα κυμάνθηκε από 8,4% έως 5,1%. Στα δείγματα συμβατικής καλλιέργειας ο μέσος όρος της αλατοπεριεκτικότητας ήταν 5,5% ενώ η μέγιστη και ελάχιστη τιμή ήταν 6,5% και 3,5% αντίστοιχα.

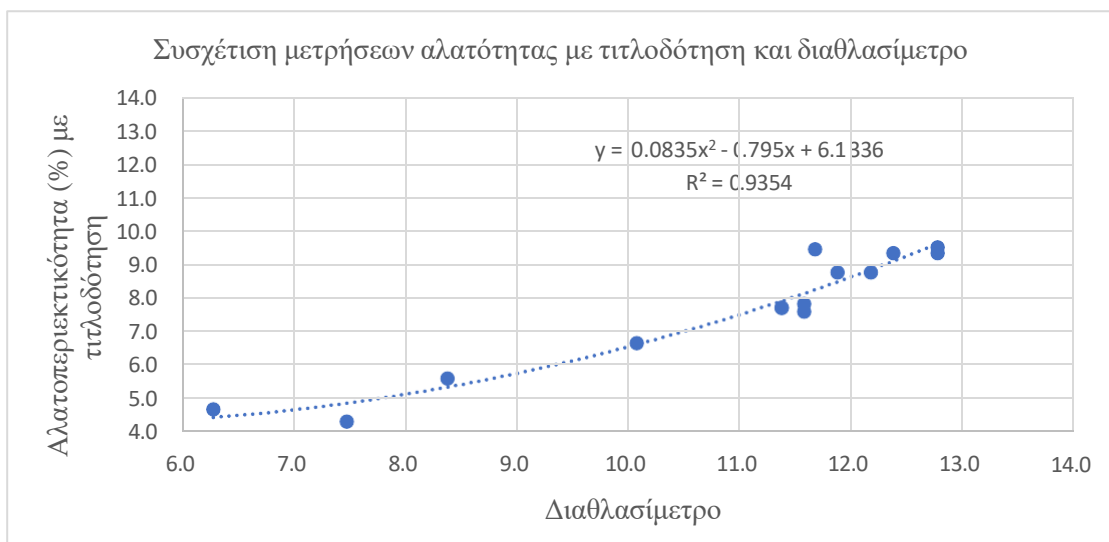
Αναφορικά με την αλατοπεριεκτικότητα των δειγμάτων της άλμης με τη μέθοδο της τιτλοδότησης με διάλυμα νιτρικού αργύρου, ο μέσος όρος των δειγμάτων βιολογικής γεωργίας ήταν 8,5% και η μέγιστη και ελάχιστη αλατοπεριεκτικότητα ήταν 12,6% και 4,7% αντίστοιχα. Στα δείγματα συμβατικής καλλιέργειας ο μέσος όρος της αλατοπεριεκτικότητας είναι 8,18% με μέγιστη και ελάχιστη περιεκτικότητα 9,7% και 4,3% αντίστοιχα.

Ενδιαφέρουσα παρατήρηση αποτελεί η διαφορά στην αλατοπεριεκτικότητα μεταξύ καρπού και άλμης, η οποία ήταν της τάξης του 3%.



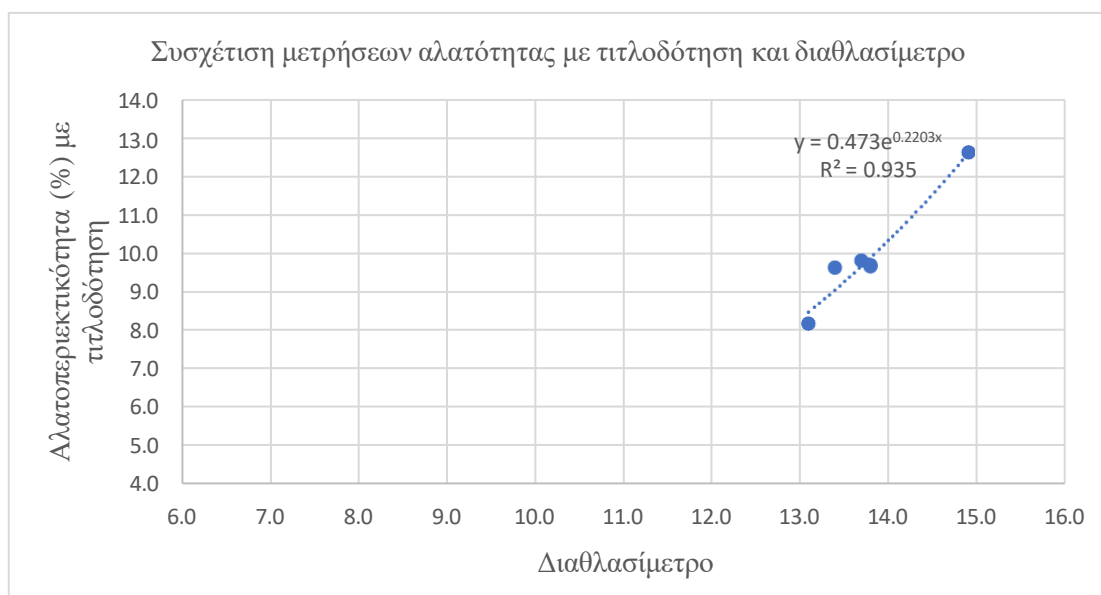
Διάγραμμα 19: Η αλατοπεριεκτικότητα μετρημένη με τιτλοδότηση και πυκνόμετρο στην άλμη

Στο Διάγραμμα 19 φαίνεται η σχέση που συνδέει την τιμή της αλατοπεριεκτικότητας της άλμης που προσδιορίζεται με το πυκνόμετρο και με τιτλοδότηση με διάλυμα νιτρικού αργύρου. Η εξίσωση που περιγράφει καλύτερα τη σχέση μεταξύ των δύο μεταβλητών είναι πολυώνυμο δευτέρου βαθμού με συντελεστή προσδιορισμού (R^2) 0,9575.



Διάγραμμα 20: Η αλατοπεριεκτικότητα μετρημένη με τιτλοδότηση και διαθλασίμετρο στην άλμη

Στο διάγραμμα 20 φαίνεται η σχέση που συνδέει την ένδειξη του διαθλασίμετρου μέχρι την 13 (gr/100mL).



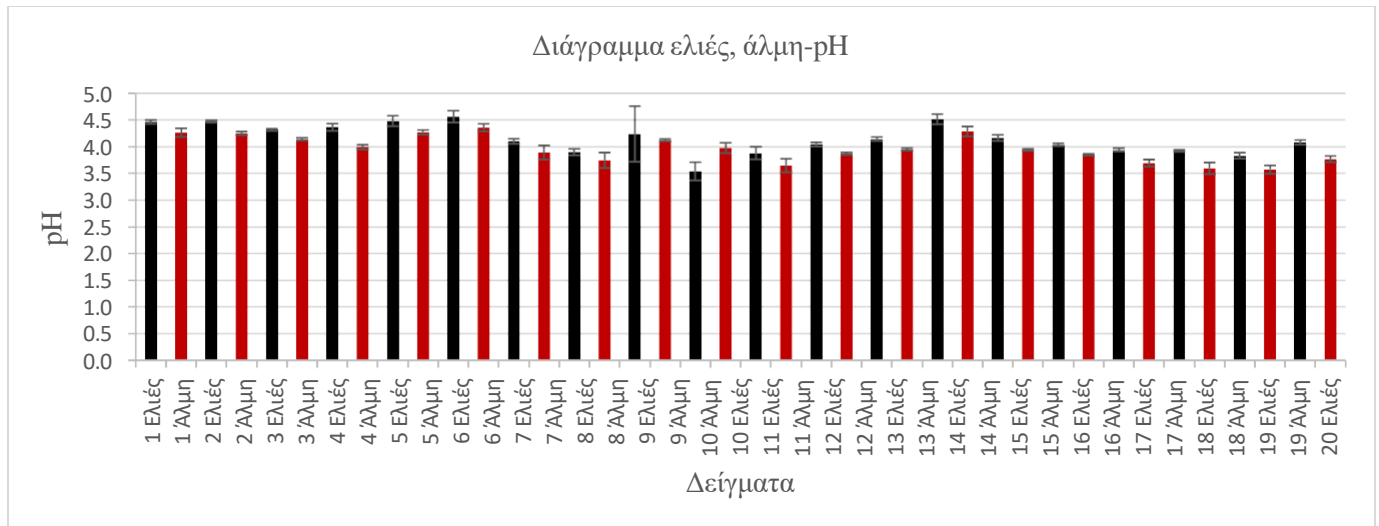
Διάγραμμα 21: Η αλατοπεριεκτικότητα μετρημένη με τιτλοδότηση και διαθλασίμετρο στην άλμη από την ένδειξη 13 g/100mL

Στο Διάγραμμα 21 φαίνεται η εξίσωση που συνδέει την ένδειξη του διαθλασίμετρου με τιμές αλατοπεριεκτικότητας πάνω από 13 g/100 mL της τιτλοδότησης. Το R^2 κρίνεται ικανοποιητικό (0,949).

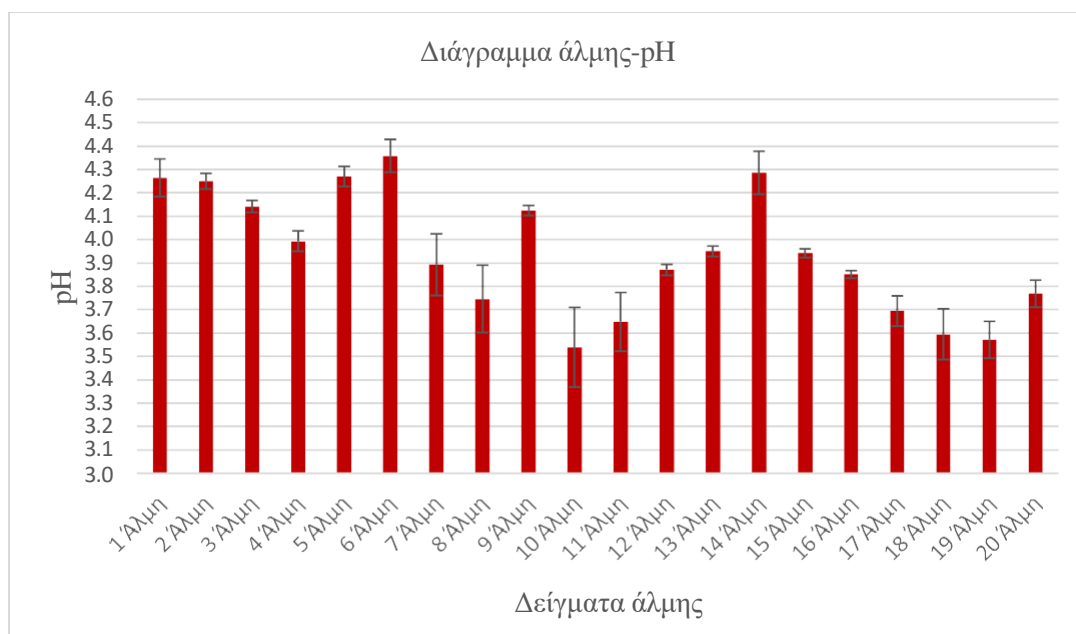
Ο λόγος που υπάρχουν διαφορετικές εξισώσεις για τιμές του διαθλασίμετρου μεγαλύτερες και μικρότερες του 13 σχετίζεται με το γεγονός ότι η εξίσωση που συνδέει την

τιμή της αλατοπεριεκτικότητας και του διαθλασίμετρου δεν έδινε ικανοποιητικά αποτελέσματα σε όλο το εύρος της αλατοπεριεκτικότητας που μετρήθηκε, με αποτέλεσμα η τιμή R^2 να είναι μικρή. Για το σκοπό αυτό, κρίθηκε απαραίτητο να δημιουργηθούν δύο εξισώσεις που συσχετίζουν τις τιμές των δύο οργάνων, μια μέχρι την τιμή 13 και μια πάνω από την τιμή αυτή.

4.3.2 Αποτελέσματα τιμών pH και ογκομετρούμενης οξύτητας



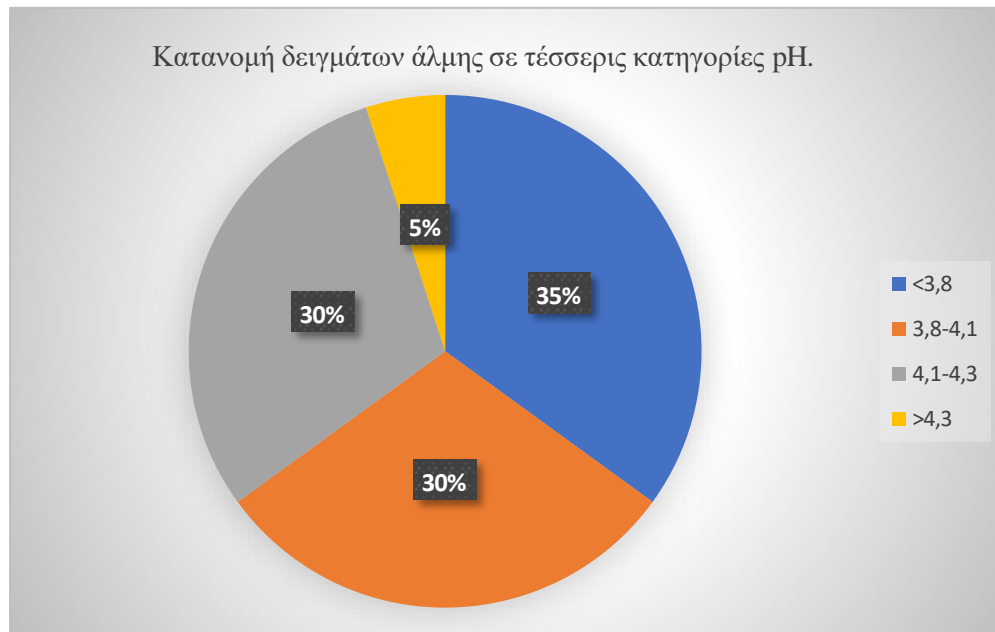
Διάγραμμα 22: Οι τιμές pH των δειγμάτων σε ελιά και άλμη



Διάγραμμα 23: Οι τιμές του pH στα δείγματα άλμης

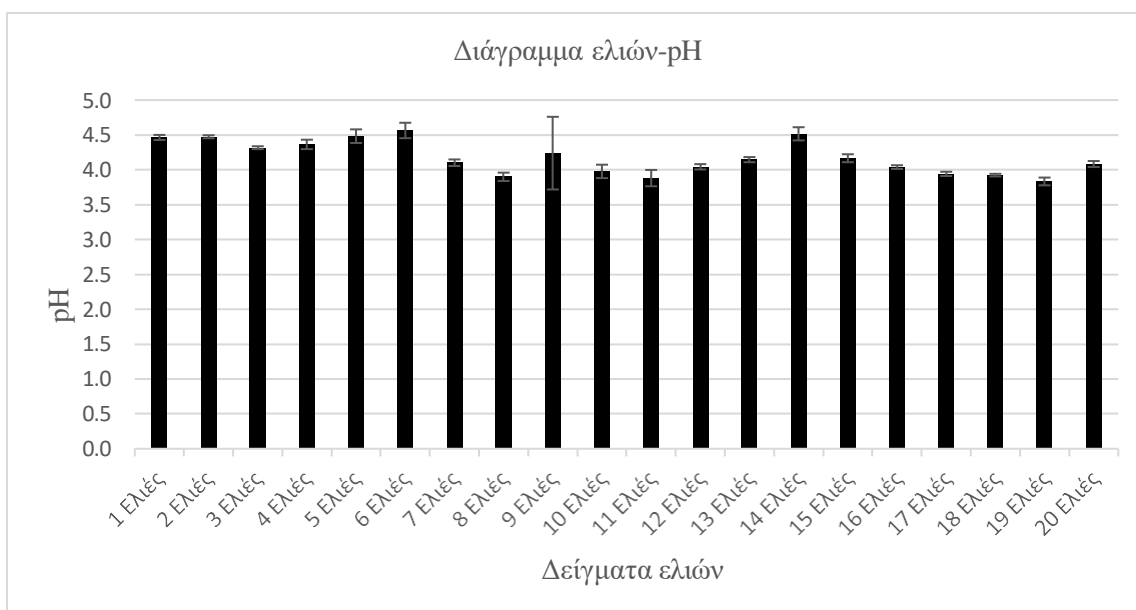
Οι τιμές του pH των δειγμάτων ελιάς κυμάνθησαν σε ικανοποιητικά επίπεδα και ήταν σύμφωνες με το εμπορικό πρότυπο του Διεθνούς Ελαιοκομικού Συμβουλίου για τον

συγκεκριμένο εμπορικό τύπο ελιάς (φυσικές μαύρες ελιές). Θα πρέπει να σημειωθεί ότι σε ένα μόνο δείγμα (6) η τιμή του pH ήταν μεγαλύτερη από 4,3 που αποτελεί το όριο (μέγιστη τιμή) του pH για τον εν λόγω εμπορικό τύπο (Διάγραμμα 23) τόσο στην άλμη όσο και στο μεσοκάρπιο μετά την αποκατάσταση της ωσμωτικής ισορροπίας, με ιδιαίτερη έμφαση στο προϊόν που δεν έχει υποστεί θερμική επεξεργασία. Η κατανομή της τιμής του pH στα δείγματα που αναλύθηκαν παρουσιάζεται στο Διάγραμμα 24.



Διάγραμμα 24: Κατανομή δειγμάτων άλμης σύμφωνα με την τιμή του pH

Στο διάγραμμα φαίνεται ότι το 95% (9/10 και 8/10 δείγματα από ελιές βιολογικής και συμβατικής καλλιέργειας αντίστοιχα) των δειγμάτων είχε τιμή pH μικρότερη από 4,3 που αποτελεί το όριο για το συγκεκριμένο εμπορικό τύπο όπως προαναφέρθηκε. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι ένα μόνο δείγμα είχε τιμή pH 4,36, που είναι πάνω από το όριο που θέτει το εμπορικό πρότυπο, αλλά απέχει από την τιμή του pH που απαιτείται για τη βλάστηση των σπορίων του γένους *Clostridium*. Σε πρόσφατη εργασία (Cabello et al., 2020) μελετήθηκαν 72 εμπορικά δείγματα διαφορετικών ποικιλιών ελιών, που δεν είχαν παστεριωθεί, συμπεριλαμβανομένης και της ποικιλίας Καλαμών, και σε κανένα δείγμα δεν ανιχνεύθηκε ο παθογόνος μικροοργανισμός *Clostridium botulinum*. Το αποτέλεσμα της παραπάνω εργασίας ενισχύονται, και από τα συμπεράσματα άλλων εργασιών, σύμφωνα με τις οποίες ένα κοκτέιλ από διαφορετικά στελέχη του βακτηρίου *C. sporogenes* χρειάστηκαν τιμή pH πάνω από 5,0 για να βλαστήσουν τόσο σε συνθετικό εργαστηριακό μέσο όσο και στην άλμη της ελιάς (Cabello et al., 2020).



Διάγραμμα 25: Οι τιμές pH στα δείγματα ελιών

Από το Διάγραμμα 25 φαίνεται ότι η χαμηλότερη τιμή pH παρατηρήθηκε στο δείγμα άλμης 10 (pH 3.54), δείγμα στο οποίο δεν είχε προστεθεί γαλακτικό οξύ, όπως το δείγμα 13. Επομένως, συμπεραίνεται ότι η αρχική προσθήκη μέσων οξίνισης στην άλμη δεν επηρεάζει το pH του τελικού προϊόντος. Αυτή η παρατήρηση ενισχύεται και από αποτελέσματα προηγούμενης εργασίας (Bonatsou et al., 2018) σε ελιές ποικιλίας Καλαμών, που μελετήθηκε η διακύμανση του pH σε δείγματα με και χωρίς την προσθήκη μέσων οξίνισης στην άλμη (γαλακτικό και οξικό οξύ) κατά την έναρξη της ζύμωσης. Η τιμή του pH στην άλμη στο τέλος της ζύμωσης ήταν παρόμοια σε όλες τις ζυμώσεις.

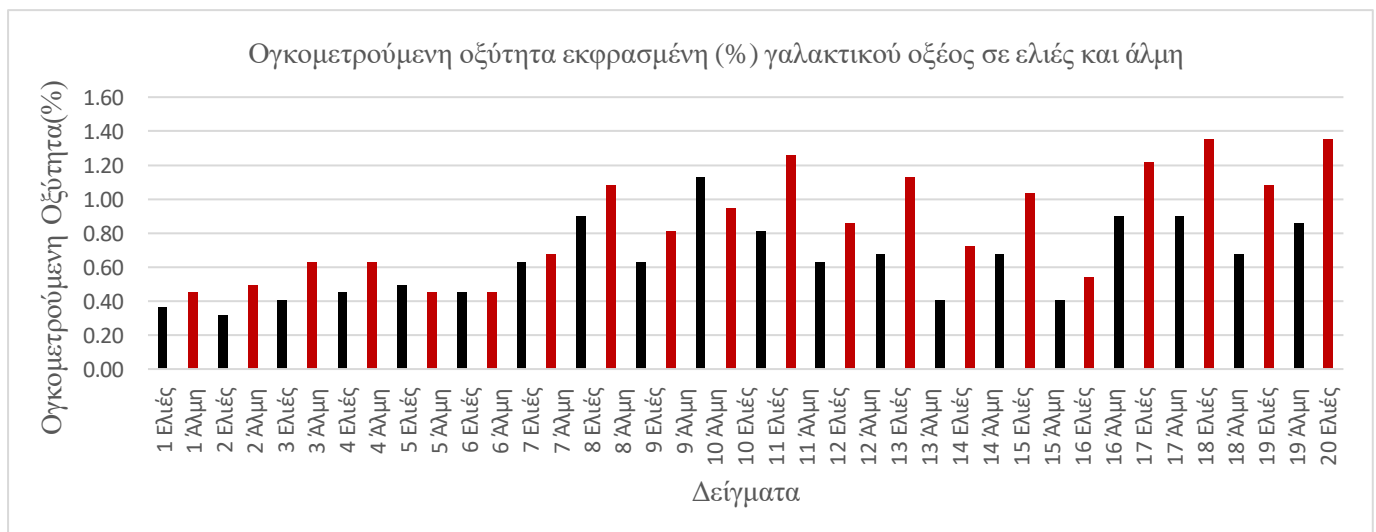
Άξιο αναφοράς αποτελεί το γεγονός ότι δεν διαφοροποιείται το pH της άλμης και του καρπού για το ίδιο δείγμα.

Αναλύοντας στατιστικά τα αποτελέσματα του pH των άλμεων παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά με τον μέσο όρο των δειγμάτων 11 έως 20 να είναι 3,82, η ελάχιστη τιμή 3,57 και μέγιστη τιμή 4,29. Ο μέσος όρος των δειγμάτων άλμεων από συμβατικές ελιές έχει μέσο όρο pH 4,06, ελάχιστη τιμή 3,54 και μέγιστη τιμή 4,36. Επιπλέον, στατιστικά σημαντική διαφορά παρατηρείται στο pH των ελιών μεταξύ βιολογικής και συμβατικής καλλιέργειας με μέσο όρο στις πρώτες να είναι 4,06, ελάχιστη τιμή 3,83 και μέγιστη 4,52, ενώ στις δεύτερες μέσος όρος pH 4,29, ελάχιστη 3,90 και μέγιστη τιμή 4,56 αντίστοιχα.

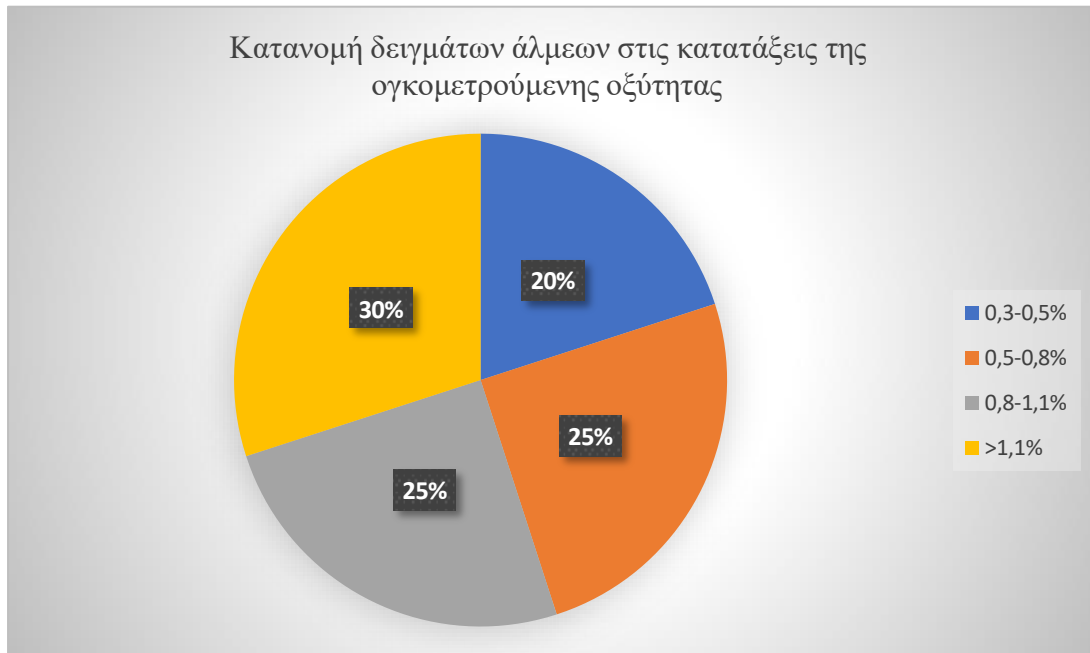
4.3.3 Αποτελέσματα ογκομετρούμενης οξύτητας

Η ανάλυση της διακύμανσης (ANOVA) σε επίπεδο σημαντικότητας 95% έδειξε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στις τιμές της ογκομετρούμενης οξύτητας μεταξύ των ελιών συμβατικής και βιολογικής γεωργίας. Τα δείγματα συμβατικής γεωργίας είχαν μέσο όρο ογκομετρούμενης οξύτητας 0,56%, με μέγιστη τιμή 0,94% (δείγμα ελιάς 10) και ελάχιστη 0,31% (δείγμα ελιάς 2), ενώ τα δείγματα βιολογικής γεωργίας είχαν μέσο όρο 0,69%, μέγιστη τιμή 0,90% (δείγματα ελιάς 17, 18) και ελάχιστη 0,40% (δείγμα ελιάς 14).

Πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση σε επίπεδο σημαντικότητας 5% και διαπιστώθηκε ότι υπάρχει διαφορά ογκομετρούμενης οξύτητας μεταξύ των άλμεων βιολογικής και συμβατικής καλλιέργειας, με τις άλμεις των βιολογικών δειγμάτων να εμφανίζουν υψηλότερες τιμές ογκομετρούμενης οξύτητας. Πιο συγκεκριμένα ο μέσος όρος σε γαλακτικό οξύ (%) των άλμεων που προέρχονται από συμβατικές ελιές ήταν 0,68% και η μέγιστη και ελάχιστη τιμή κυμάνθηκαν από 1,13% (δείγμα άλμης 10) έως 0,45% (δείγματα άλμης 1,5,6), ενώ για τις βιολογικές ελιές ο μέσος όρος ήταν 1,05% και η μέγιστη και ελάχιστη τιμή κυμάνθηκαν από 1,35% (δείγμα άλμης 18) έως 0,54% (δείγμα άλμης 16).



Διάγραμμα 26: Ογκομετρούμενη οξύτητα στα δείγματα ελιάς και άλμης.



Διάγραμμα 27: Κατανομή των δειγμάτων άλμεων στις 4 κατηγορίες ογκομετρούμενης οξύτητας εκφρασμένη σε γαλακτικό οξύ(%)

Από τα Διαγράμματα 26-17 είναι εμφανές ότι κανένα δείγμα άλμης δεν έχει ογκομετρούμενη οξύτητα μικρότερη από 0,3%, που αποτελεί το χαμηλότερο όριο συγκέντρωσης για το συγκεκριμένο εμπορικό τύπο ελιάς (φυσικές ελιές) σύμφωνα με το εμπορικό πρότυπο του Διεθνούς Ελαιοκομικού Συμβουλίου. Από το διάγραμμα 30 προκύπτει ότι το 20% των δειγμάτων της άλμης που αναλύθηκαν είχαν ογκομετρούμενη οξύτητα από 0,3-0,5% (δείγματα 1, 2, 5, 6). Ακολούθως, ποσοστό 25% των δειγμάτων παρουσίασαν τιμές ογκομετρούμενης οξύτητας από 0,5-0,8%, ενώ υψηλότερη ογκομετρούμενη οξύτητα (0,8-1,1%) παρουσίασε επίσης το 25% των δειγμάτων. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι ποσοστό 30% των δειγμάτων παρουσίασε τιμή ογκομετρούμενης οξύτητας > 1,1% (δείγματα 10, 11, 13, 17, 18 και 20), εκ των οποίων μόνο ένα δείγμα (10) ήταν συμβατικής γεωργίας, ενώ όλα τα υπόλοιπα βιολογικής γεωργίας.

Πιο αναλυτικά, στο δείγμα 10 (έχει προστεθεί CaCl_2), η αλατοπεριεκτικότητα τον Μάρτιο διαμορφώνεται στο 7% με την προσθήκη άλατος στη δεξαμενή και διατηρείται σε αυτό το επίπεδο ως την πώληση. Στο δείγμα 11 η αλατοπεριεκτικότητα ρυθμίζεται στο 8-9% τον Μάιο, ενώ αξιοσημείωτη διαφορά είναι ότι το δείγμα 12 που έχει υποβληθεί στον ίδιο ακριβώς χειρισμό με το 11, παρουσιάζει χαμηλότερη τιμή ογκομετρούμενης οξύτητας. Η διαφορά αυτή θα μπορούσε να αποδοθεί στην προσθήκη CaCl_2 στο δείγμα 11 ή στα διαφορετικά είδη γαλακτοβακτηρίων που φέρουν οι ελιές στην επιδερμίδα τους ανάλογα με τις καιρικές

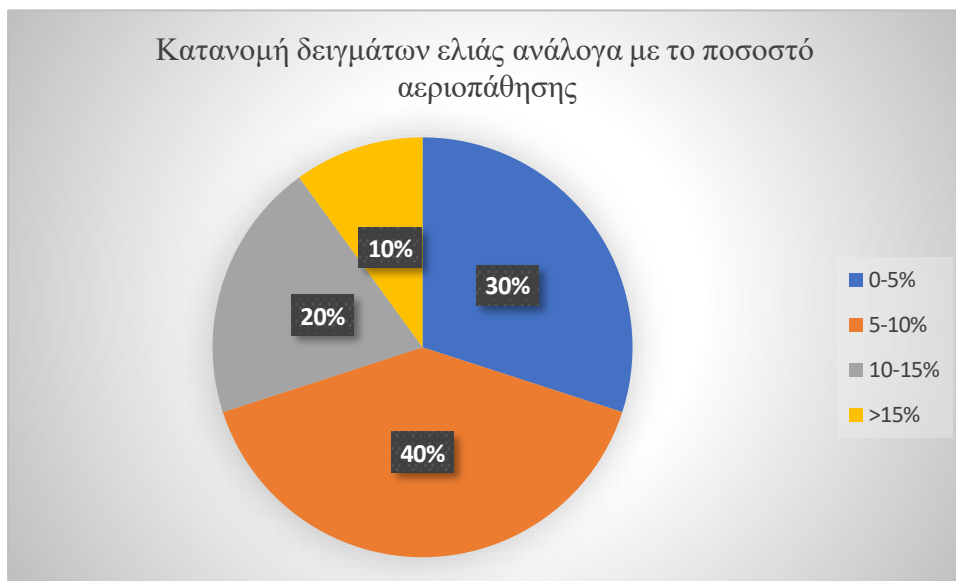
συνθήκες κάθε εποχής, γεγονός βέβαια που χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση.

Στο δείγμα 13 είχε προστεθεί γαλακτικό οξύ, και η αλατοπεριεκτικότητα αυξήθηκε στο 9% τέλη Απριλίου, όπως και στο δείγμα 17 η αλατοπεριεκτικότητα αυξάνεται στα ίδια επίπεδα την ίδια περίοδο και μέχρι τότε διατηρούνταν στα επίπεδα του 6%. Στο δείγμα 18 τον Μάρτιο η αλατοπεριεκτικότητα αυξήθηκε στο 9%. Επίσης, αξιοσημείωτη διαφορά παρατηρείται με το δείγμα 19 (ογκομετρούμενη οξύτητα 1,08%) που προέρχεται από το ίδιο κτήμα με το δείγμα 18, και έχει δεχθεί τους ίδιους ακριβώς χειρισμούς με το 18, όμως η διαφορά τους είναι ότι το δείγμα 18 διατηρείται σε υπόγειο στεγασμένο χώρο, ενώ η δεξαμενή του δείγματος 19 διατηρείται σε εξωτερικό χώρο. Η διαφορά αυτή μεταξύ των δειγμάτων βιολογικής και συμβατικής καλλιέργειας ίσως οφείλεται στην μη εφαρμογή φυτοφαρμάκων. Ουσιαστικά με την αποφυγή ψεκασμών με χημικά φυτοφάρμακα διατηρείται ανεπηρέαστη η φυσική χλωρίδα των καρπών και επιτελείται η ζύμωση, εν' αντιθέσει με τις συμβατικές ελιές που ίσως έχουν επηρεαστεί πληθυσμιακά και ποιοτικά και ζύμες και τα γαλακτοβακτήρια.

4.3.4 Σχηματισμός αεροθλακίων



Διάγραμμα 28: Ποσοστά αεριοπάθησης ανά δείγμα ελιάς



Διάγραμμα 29: Κατανομή των δειγμάτων άλμεων στις 4 κατηγορίες ογκομετρούμενης οξύτητας εκφρασμένη σε γαλακτικό οξύ(%)

Μια παράμετρος ποιότητας που μελετήθηκε στα υπό εξέταση δείγματα ήταν το ποσοστό αεριοπάθησης που παρουσίασαν οι καρποί. Αεριοπάθηση ονομάζεται το φαινόμενο σχηματισμού θυλάκων αερίου CO₂ που διασπούν τη σάρκα ή/και την επιδερμίδα των καρπών της ελιάς. Αυτό το ελάττωμα έχει θεωρηθεί ότι προκαλείται από μικροοργανισμούς που είναι σε θέση να παράγουν αέριο CO₂ όπως τα Gram αρνητικά βακτήρια κατά τις πρώτες μέρες της ζύμωσης, αλλά και με την ανάπτυξη ζυμών. Ακόμη, προκαλείται αεριοπάθηση και από την διαπνοή των καρπών εντός των δεξαμενών (Castro et al. , 2022).

Από το Διάγραμμα 29 προκύπτει ότι υψηλό ποσοστό δειγμάτων ελιάς (30%) παρουσιάζει ποσοστό αεριοπάθησης που υπερβαίνει το 10%. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι κανένα από τα δείγματα δεν ανακινήθηκε τις πρώτες μέρες της ζύμωσης προκειμένου να απομακρυνθεί από την άλμη το διοξείδιο του άνθρακα που δημιουργείται αφενός από την αναπνοή του καρπού και αφετέρου από την μεταβολική δραστηριότητα των εντεροβακτηρίων που αποτελούν την επικρατούσα μικροχλωρίδα στο πρώτο στάδιο της ζύμωσης. Επίσης θα πρέπει να σημειωθεί ότι σε ένα μόνο δείγμα (13) είχε προστεθεί γαλακτικό οξύ κατά την έναρξη της ζύμωσης, προκειμένου να μειωθεί η τιμή του pH και να δημιουργηθούν δυσμενείς συνθήκες για την επιβίωση των εντεροβακτηρίων που συμβάλλουν στη δημιουργία αεροθυλακίων. Μικρό ποσοστό αεριοπάθησης (0-5%) παρουσίασαν τα δείγματα 9, 12, 13, 15, 16 και 18.

Έχει αναφερθεί ότι καρποί μεγάλου μεγέθους, με μεγάλη αναλογία σάρκας προς πυρήνα (Σ/Π), συνήθως δίνουν μαλακές ελιές, ευάλωτες στην αεριοπάθηση και ευαίσθητες στη συρρίκνωση (ζάρωμα) της επιδερμίδας όταν η συγκέντρωση του αλατιού στην άλμη είναι υψηλή (Κυριτσάκης, 2021). Κατά την καταμέτρηση των αεροθυλακίων στους καρπούς στο δείγμα 2 παρατηρήθηκε ότι οι μεγαλύτερες ελιές σε μέγεθος και οι πιο ώριμες είχαν μεγαλύτερα αεροθυλάκια. Στα δείγματα 9 και 12 οι ελιές ήταν μικρές, στο στάδιο του πράσινου χρώματος και ενδεχομένως το χαμηλό ποσοστό αεριοπάθησης που παρατηρήθηκε σε αυτά τα δείγματα (5% και 4%) να οφείλεται σε αυτό το γεγονός.

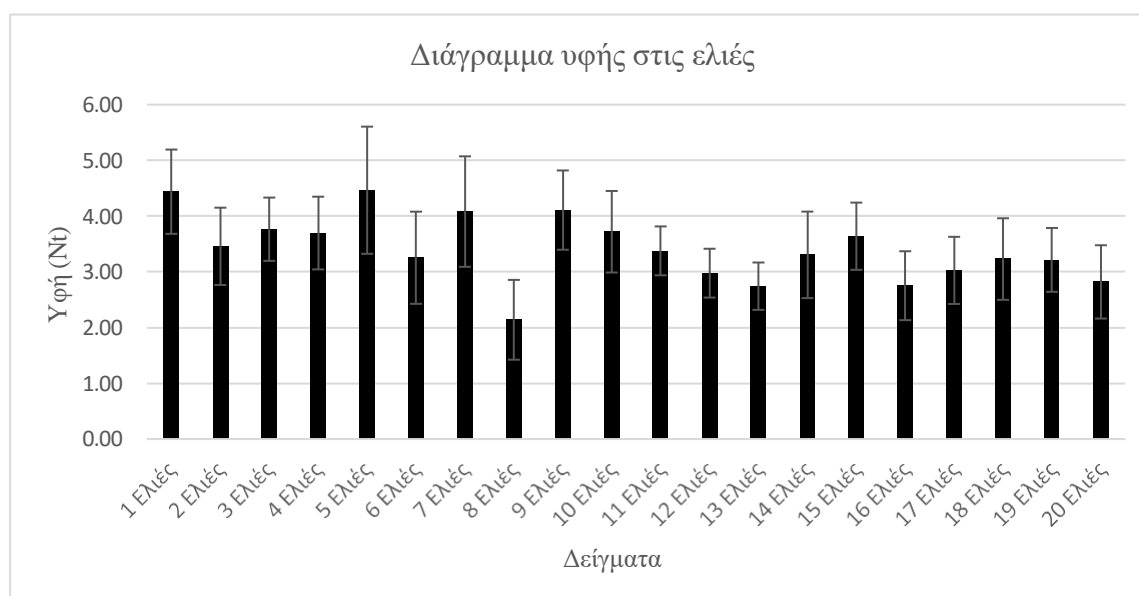
Στα δείγματα 15, 16 και 18 (ελιές ώριμες με υψηλή αναλογία σάρκας/πυρήνα) δεν εξηγείται με τα μέχρι στιγμής δεδομένα το χαμηλό ποσοστό αεριοπάθησης που παρατηρήθηκε. Ίσως κατά τη συλλογή των ελιών, αλλά και κατά τη διαλογή να επικράτησαν οι κατάλληλες συνθήκες υγιεινής και επιπλέον οι ελιές τοποθετήθηκαν σε δεξαμενές ανοικτού τύπου που επιτρέπουν τη διαφυγή του διοξειδίου του άνθρακα στην ατμόσφαιρα και περιορίζεται με τον τρόπο αυτό ο σχηματισμός αεροθυλακίων στον καρπό.

Σε πείραμα που έγινε σε ελιές της ποικιλίας Καλαμών από προηγούμενους ερευνητές (Bonatsou et al., 2018) μελετήθηκε η ζύμωση σε άλμη με αρχική συγκέντρωση άλατος 7%, σε συνδυασμό με/χωρίς την αρχική οξίνιση της άλμης με 0,1% γαλακτικό οξύ και 0,5 % οξικό οξύ. Οι ερευνητές ανέφεραν ότι η μεταβολή του πληθυσμού των *Enterobacteriaceae* ήταν παρόμοια μεταξύ οξινισμένων και μη δειγμάτων. Συγκεκριμένα, ο αρχικός πληθυσμός των εντεροβακτηρίων ήταν 5,6 log₁₀ CFU/g, αλλά μειώθηκε γρήγορα και μετά από 11 ημέρες ζύμωσης δεν ανιχνεύθηκε η συγκεκριμένη ομάδα μικροοργανισμών στις ελιές. Σχετικά με επίδραση των διαφορετικών μέσων οξίνισης στην έναρξη της ζύμωσης, η χρήση οξικού οξέος μείωσε τον χρόνο επιβίωσης των εντεροβακτηρίων κατά 4 ημέρες, σε σύγκριση με τον μάρτυρα (άλμη χωρίς οξίνιση) και την οξίνιση με το γαλακτικό οξύ.

Συγκρίνοντας, το ποσοστό αεροθυλακίων στα δείγματα ελιών συμβατικής και βιολογικής γεωργίας διαπιστώνεται ότι σε επίπεδο σημαντικότητας 5% τα δείγματα βιολογικής γεωργίας έχουν μικρότερο ποσοστό αεροθυλακίων. Συγκεκριμένα, ο μέσος όρος αεροθυλακίων, για τα δείγματα από τη συμβατική γεωργία ήταν 11,4% και η μέγιστη-ελάχιστη τιμή ήταν 19% (δείγμα 6) και 5% (δείγμα 9) αντίστοιχα. Επίσης, για τα δείγματα βιολογικής γεωργίας ο μέσος όρος ήταν 5,6% και η μέγιστη-ελάχιστη τιμή ήταν 11% (δείγμα 14) και 1% (δείγμα 16) αντίστοιχα.

4.3.5 Μέτρηση Υφής

Τα αποτελέσματα της υφής του καρπού για τις ελιές βιολογικής και συμβατικής καλλιέργειας παρουσιάζονται στο Διάγραμμα 33.



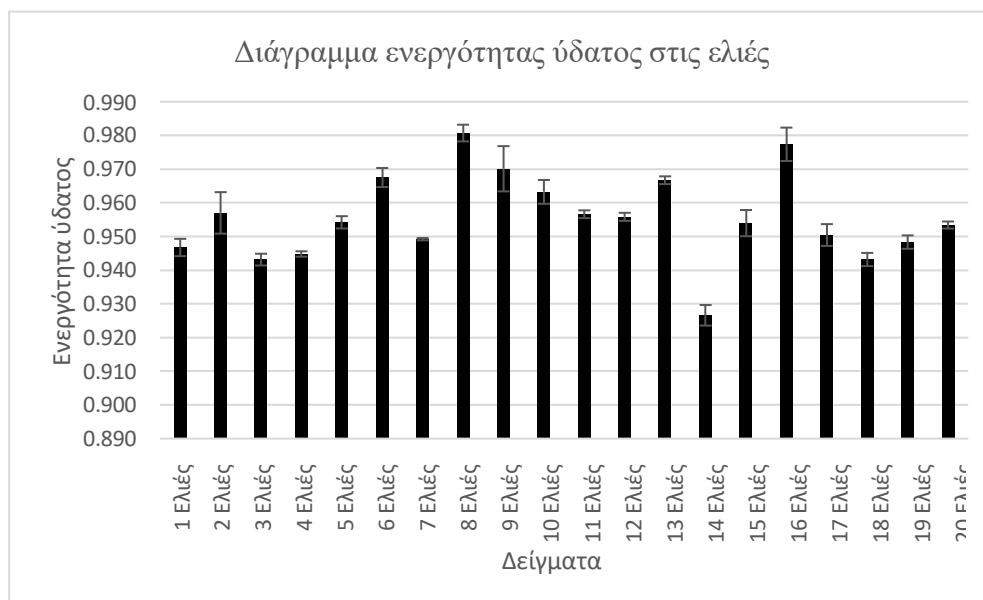
Διάγραμμα 30: Διάγραμμα υφής ανά δείγμα ελιάς. Οι τιμές είναι ο μέσος όρος 10 επαναλήψεων \pm την τοπική απόκλιση

Από την ανάλυση της διακύμανσης προέκυψε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ελιών συμβατικής και βιολογικής καλλιέργειας. Συγκεκριμένα, ο μέσος όρος της υφής των συμβατικών ελιών ήταν 3,71 N, με μέγιστη και ελάχιστη τιμή 4,47 N και 2,14 N για τα δείγματα 5 και 8 αντίστοιχα, ενώ για τα βιολογικά δείγματα ο μέσος όρος της υφής ήταν 3,11 N και οι μέγιστες και ελάχιστες τιμές των δειγμάτων 3,64 N και 2,74N αντίστοιχα για τα δείγματα 15 και 13.

Η υφή επηρεάζεται από τον τρόπο καλλιέργειας, τη συγκέντρωση θρεπτικών συστατικών και την καλλιέργεια. Πιο συγκεκριμένα, υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της υφής και των στοιχείων: B, Ca, Se, Si. Αυτά τα στοιχεία βοηθούν στην αύξηση του πάχους του κυτταρικού τοιχώματος των φρούτων της τομάτας. Σε εργασία των Ceglie et al. (2016) συμβατικά ακτινίδια έδειξαν μεγαλύτερη σκληρότητα από βιολογικά. Ακόμη, σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε από τους Islam et al. (2018) σε γλυκές πιπεριές, οι βιολογικής καλλιέργειας έδειξαν υψηλότερο επίπεδο σκληρότητας από τις γλυκές πιπεριές συμβατικής καλλιέργειας, λόγω υψηλότερης περιεκτικότητας σε Ca. Εάν το σύστημα βιολογικής καλλιέργειας περιέχει υψηλή περιεκτικότητα σε B, Ca, Se και Si, μπορεί επίσης να αυξήσει τη σκληρότητα των

φρέσκων προϊόντων. Επιπλέον, τα μικρότερα φρούτα παρουσιάζουν μεγαλύτερη σκληρότητα από τα μεγαλύτερα (Rahman et al., 2021).

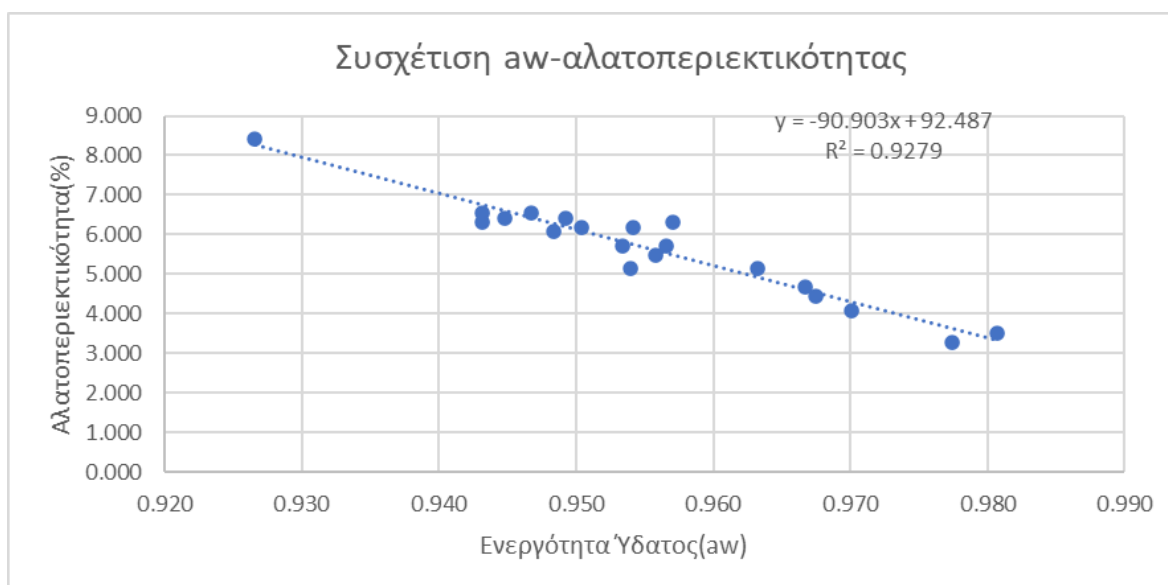
4.3.6 Μέτρηση ενεργότητας ύδατος (a_w)



Διάγραμμα 31: Τιμές ενεργότητας ύδατος ανά δείγμα ελιάς. Οι τιμές είναι ο μέσος όρος 3 επαναλήψεων \pm την τοπική απόκλιση

Οι τιμές της ενεργότητας ύδατος των δειγμάτων ελιάς παρουσιάζονται στο Διάγραμμα 31. Παρατηρούμε ότι τη χαμηλότερη τιμή ενεργότητας ύδατος στις ελιές παρουσιάζει το δείγμα 14 (0,927), το οποίο προέρχεται από ξηρική καλλιέργεια και έχει τη μεγαλύτερη αλατοπεριεκτικότητα (8,4%) στην ελιά, μετρημένη με τη μέθοδο της τιτλοδότησης με διάλυμα νιτρικού αργύρου.

Η ανάλυση της διακύμανσης (ANOVA) σε επίπεδο σημαντικότητας 5% έδειξε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών της ενεργότητας ύδατος για τις ελιές βιολογικής και συμβατικής καλλιέργειας. Πιο συγκεκριμένα, οι ελιές που προέρχονται από συμβατική γεωργία έχουν μέσο όρο ενεργότητας ύδατος 0,957 με μέγιστη και ελάχιστη τιμή 0,981 και 0,943 στα δείγματα 8 και 3 αντίστοιχα. Οι ελιές βιολογικής γεωργίας έχουν μέσο όρο ενεργότητας ύδατος 0,953 με μέγιστη και ελάχιστη τιμή 0,977 και 0,927 στα δείγματα 16 και 14 αντίστοιχα.



Διάγραμμα 32: Συσχέτιση ενεργότητας ύδατος και αλατοπεριεκτικότητας για δείγματα ελιάς

4.3.7 Μέτρηση πτητικής οξύτητας

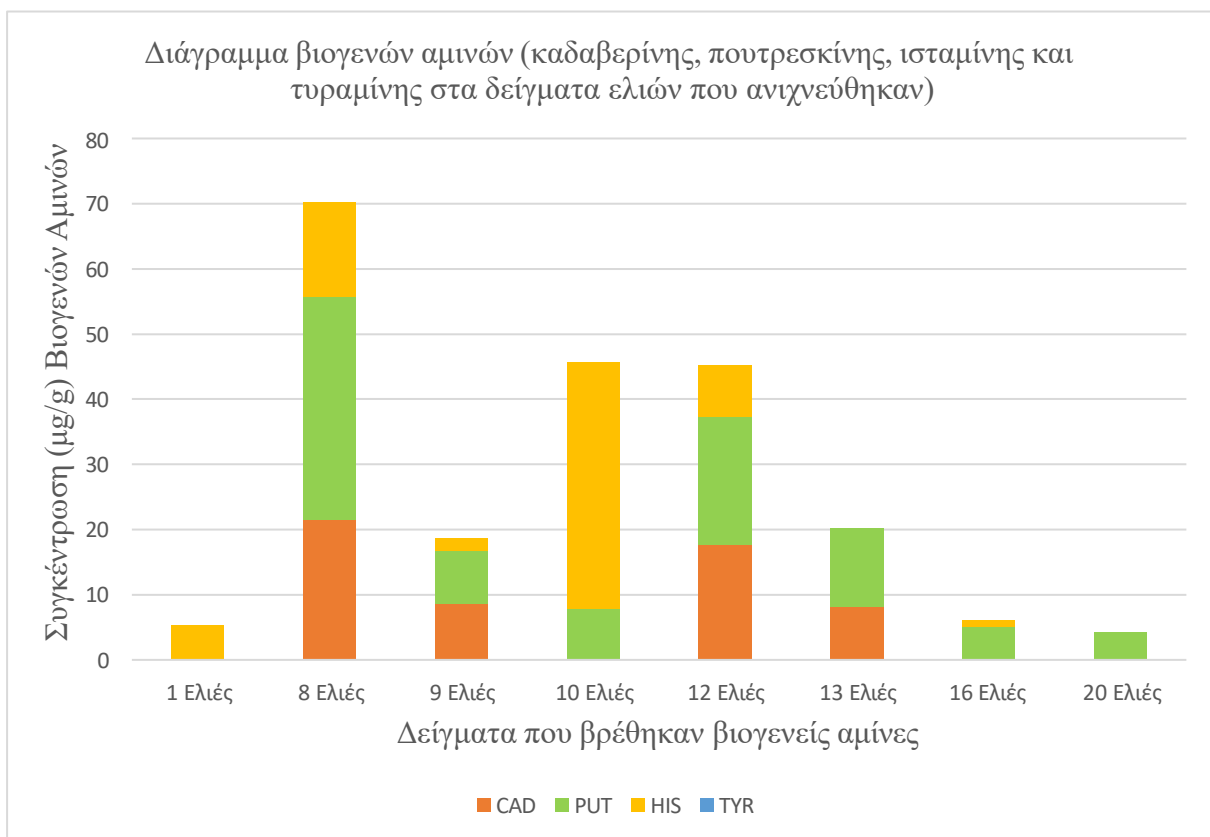


Διάγραμμα 33: Συγκέντρωση πτητικής οξύτητας ανά δείγμα άλμης

Οι τιμές της πτητικής οξύτητας των δειγμάτων άλμης των ελιών τόσο από βιολογική όσο και συμβατική καλλιέργεια παρουσιάζονται στο Διάγραμμα 31. Πιο συγκεκριμένα, οι άλμες των ελιών που προέρχονταν από συμβατική γεωργία είχαν μέσο όρο πτητικής οξύτητας 2,38 (g οξικού οξέος/L) με μέγιστη και ελάχιστη τιμή 3,78 (g οξικού οξέος/lt) και 1,32 (g οξικού οξέος/L) στα δείγματα 9 και 2 αντίστοιχα. Οι ελιές βιολογικής γεωργίας είχαν μέσο όρο πτητικής οξύτητας 2,34 (g οξικού οξέος/L) με μέγιστη και ελάχιστη τιμή 3,48 (g οξικού οξέος/L) και 0,78 (gr οξικού οξέος/L) στα δείγματα 13 και 14 αντίστοιχα. Η μέτρηση της

πητικής οξύτητας παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον στη ζύμωση της επιτραπέζιας ελιάς και οφείλεται κυρίως στην παρουσία οξικού οξέος που σχηματίζεται κατά τον μεταβολισμό των ζυμώσιμων συστατικών της ελιάς από τα ετεροζυμωτικά οξυγαλακτικά βακτήρια (Μπαλατσούρας, 2004). Η τιμή της πτητικής οξύτητας είναι αυξημένη σε περιπτώσεις εκτροπής της ζύμωσης, όπως η βουτυρική ζύμωση, η προπιονική ζύμωση και η zapateria. Ιδιαίτερα στην περίπτωση των φυσικά μαύρων (ώριμων) επιτραπέζιων ελιών η τιμή της πτητικής οξύτητας στο τέλος της ζύμωσης δε θα πρέπει να υπερβαίνει την τιμή των 3,0 g οξικού οξέος ανά λίτρο άλμης. Σε εργασία των Μικρού et al. (2021) μελετήθηκαν οι πτητικές ενώσεις σε διάφορα είδη ελιών, όπως και ελιών της ποικιλίας Καλαμών από την Πελοπόννησο και βρέθηκε ότι η περιεκτικότητα οξικού οξέος αποτελεί το 16,98% του συνόλου των πτητικών ενώσεων.

4.4 Ανίχνευση βιογενών αμινών στα δείγματα ελιάς και άλμης



Διάγραμμα 34: Διάγραμμα βιογενών αμινών (καδαβερίνης, πουτρεσκίνης, ισταμίνης, τυραμίνης) στα δείγματα ελιών που ανιχνεύθηκαν

Συγκέντρωση σε $\mu\text{g/g}$ ελιάς					
Βιογενείς αμίνες	CAD	PUT	HIS	TYR	Σύνολο
Δείγμα 1	-	-	5,3	-	5,3
Δείγμα 8	21,5	34,2	14,6	-	70,3
Δείγμα 9	8,6	8,2	1,9	-	18,7
Δείγμα 10	-	7,8	37,8	-	45,6
Δείγμα 12	17,6	19,8	7,8	-	45,2
Δείγμα 13	8,2	12	-	-	20,2
Δείγμα 16	-	5,1	0,9	-	6
Δείγμα 20	-	4,2	-	-	4,2

Πίνακας 1: Βιογενείς αμίνες στα δείγματα ελιών

Συγκέντρωση σε $\mu\text{g/g}$ άλμης					
Βιογενείς αμίνες	CAD	PUT	HIS	TYR	Σύνολο
Δείγμα 8	-	-	0,7	23,4	24,1
Δείγμα 9	-	-	0,59	6,7	7,29
Δείγμα 10	-	-	-	1,3	1,3
Δείγμα 12	0,84	0,73	3,45	11,5	16,52
Δείγμα 13	1,28	2,78	-	-	4,06
Δείγμα 16	1,12	3,01	2,6	-	6,73
Δείγμα 20	-	1,69	-	-	1,69

Πίνακας 2: Βιογενείς αμίνες σε άλμες

Στο Διάγραμμα 35 φαίνεται ότι την μεγαλύτερη ποσότητα βιογενών αμινών από τις ελιές, έχει το δείγμα 8 (70,3 $\mu\text{g/g}$), ακολουθούν τα δείγματα 12, 13 και ύστερα τα υπόλοιπα δείγματα. Σύμφωνα με τα όρια της EFSA (2011), αναφορικά με την μέγιστη συγκέντρωση βιογενών αμινών που δεν προκαλούν δυσμενείς επιπτώσεις στην υγεία των καταναλωτών, δηλαδή 50 mg ισταμίνης και 600 mg τυραμίνης για υγιή άτομα, κανένα από τα δείγματα δεν είναι επικίνδυνο για κατανάλωση.

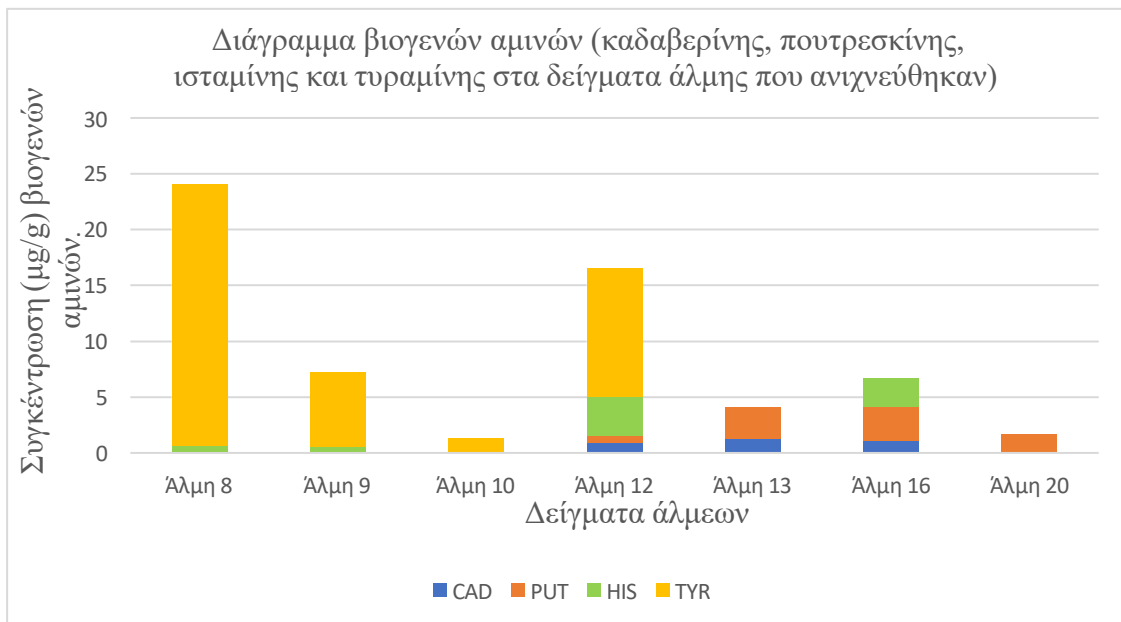
Η αλατοπεριεκτικότητα των άλμεων στα δείγματα 8, 9, 16 είναι κάτω από το όριο του 6%, συνθήκη που ευνοεί την ανάπτυξη των μικροοργανισμών που ευθύνονται για τις βιογενείς αμίνες. Συγκεκριμένα, το δείγμα 8 έχει την μικρότερη αλατοπεριεκτικότητα από όλα τα δείγματα. Επιπλέον, η αλατοπεριεκτικότητα των δειγμάτων 10, 12 είναι στα ίδια επίπεδα γύρω στο 7,5% και του δείγματος 13 στο 6,7%. Άξιο αναφοράς στη συγκεκριμένη περίπτωση είναι το δείγμα 13, που έχει μόνο πουτρεσκίνη και καδαβερίνη, βιογενείς αμίνες που προέρχονται

από πρωταρχικές ουσίες που είχαν τη χαρακτηριστική ομάδα του καρβοξυλικού οξέος και δεν είναι τυχαίο το ότι σε αυτό το δείγμα είχε προστεθεί γαλακτικό οξύ.

Σε εργασία των Garcia-Garcia et al. (2000) μελετήθηκε η ποσότητα των βιογενών αμινών σε φυσικές μαύρες ελιές και συγκεκριμένα: η πουτρεσκίνη με μέση τιμή 18,6 mg/kg ελάχιστη και μέγιστη αντίστοιχα 1,5 και 50,2 mg/kg, η καδαβερίνη με μέση τιμή 1,1, ελάχιστη και μέγιστη 0 έως 2,3 mg/kg και η τυραμίνη μέση τιμή 0,5 mg/kg και ελάχιστη- μέγιστη τιμή 0,2-2,1 mg/kg.

Τα αποτελέσματα των Garcia-Garcia et al. (2000) απέχουν πολύ από της παρούσας εργασίας, αν και η παρούσα εργασία αναφέρεται σε ζυμωμένες ελιές Καλαμών. Η πουτρεσκίνη στις ελιές Καλαμών έχει μέση τιμή 13,04 μg/g με μέγιστη και ελάχιστη τιμή 34,2 μg/g και 4,2 μg/g στα δείγματα 8 και 20 αντίστοιχα. Η καδαβερίνη έχει μέση τιμή 13,98 μg/g με μέγιστη και ελάχιστη τιμή 21,5 μg/g και 8,2 μg/g, ενώ τη ισταμίνη έχει μέση τιμή 11,38 μg/g με μέγιστη και ελάχιστη τιμή την 37,8 μg/g και μg/g στα δείγματα 10 και 20, 16 αντίστοιχα.

Μετά από στατιστική ανάλυση σε επίπεδο σημαντικότητας 5% παρατηρείται ότι τα δείγματα ελιών βιολογικής και συμβατικής γεωργίας, δεν διαφέρουν μεταξύ τους στην συνολική ποσότητα βιογενών αμινών.



Διάγραμμα 35: Διάγραμμα βιογενών αμινών (καδαβερίνης, πουτρεσκίνης, ισταμίνης, τυραμίνης) στα δείγματα άλμης που ανιχνεύθηκαν

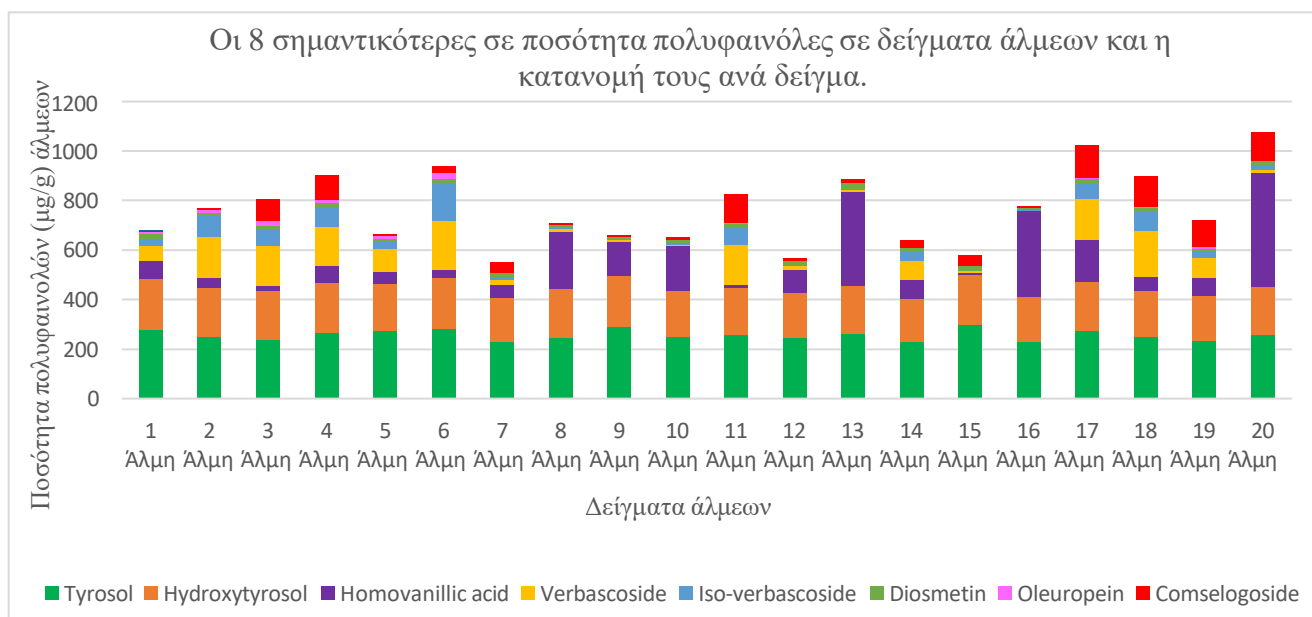
Συγκρίνοντας τα Διαγράμματα 34 και 35 παρατηρείται διαφοροποίηση των βιογενών αμινών μεταξύ ελιών και άλμης για τα ίδια δείγματα που αναλύθηκαν. Αρχικά στα δείγματα

8, 9, 10, 12 υπάρχει ποσότητα τυραμίνης στην άλμη, ενώ στις ελιές δεν ανιχνεύεται η συγκεκριμένη βιογενής αμίνη. Η καδαβερίνη στις άλμες εμφανίζεται σε μικρότερη συγκέντρωση συγκριτικά με τις ελιές, όπως επίσης και η πουτρεσκίνη και η ισταμίνη. Η καδαβερίνη έχει μέση τιμή στις άλμες 1,08 μg/g, μέγιστη και ελάχιστη τιμή 1,28 μg/g και 0,84 μg/g στα δείγματα 13 και 12 αντίστοιχα, η πουτρεσκίνη έχει μέση τιμή 2,05 μg/g, μέγιστη και ελάχιστη τιμή 3,01 μg/g και 0,73 μg/g στα δείγματα 16 και 12 αντίστοιχα. Επιπλέον, η ισταμίνη έχει μέση τιμή στις άλμες 1,8 μg/g, μέγιστη και ελάχιστη τιμή 3,45 μg/g και 0,59 μg/g στα δείγματα 12 και 9 αντίστοιχα και τέλος η τυραμίνη μέση τιμή 10,7 μg/g, μέγιστη και ελάχιστη τιμή 23,4 μg/g και 1,3 μg/g στα δείγματα 8 και 10 αντίστοιχα.

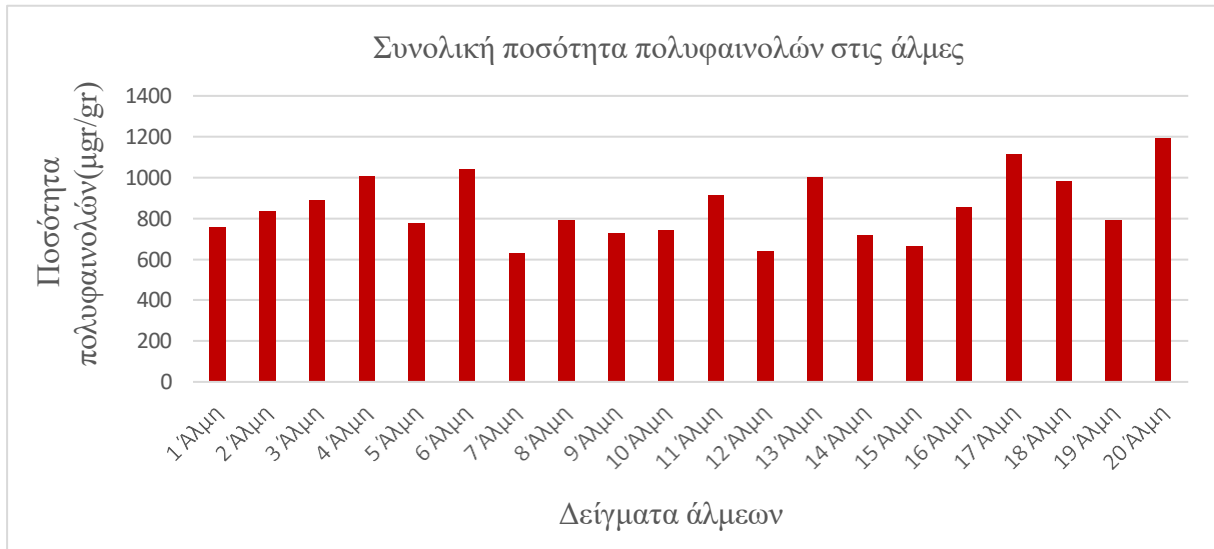
Αναλύοντας στατιστικά τα δεδομένα σε επίπεδο σημαντικότητας 5%, παρατηρείται ότι τα δείγματα άλμεων βιολογικής και συμβατικής γεωργίας, δεν διαφέρουν μεταξύ τους στην συνολική ποσότητα βιογενών αμινών.

Πολυφαινόλες

Από τις φαινολικές ενώσεις που ανιχνεύτηκαν και ταυτοποιήθηκαν στις άλμες επιλέχθηκαν οι 8 σημαντικότερες, με βάση ένα διάγραμμα Pareto που κατασκευάστηκε σε συνδυασμό με την ταξινόμηση των φαινολικών ενώσεων κατά μειούμενη σειρά με βάση την συγκέντρωση. Η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε και για την επιλογή των 11 πολυφαινολών των ελιών. Οι τιμές των πολυφαινολών που μετρήθηκαν ανά δείγμα αναγράφονται στο Παράρτημα 3.

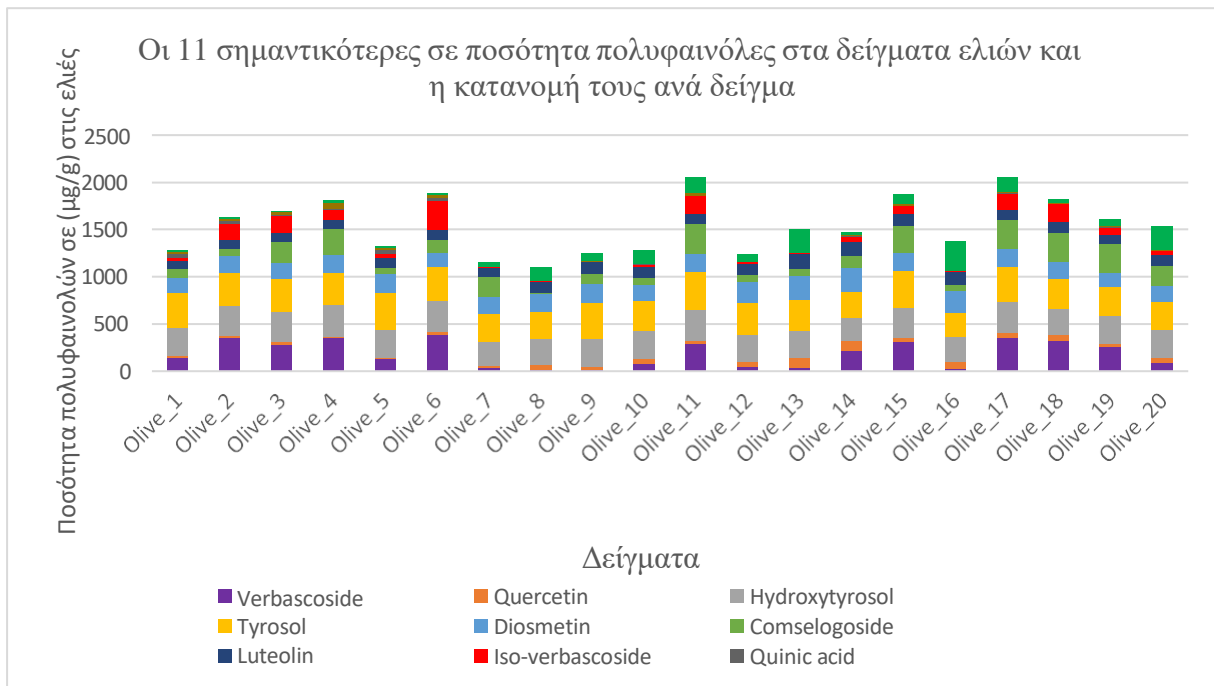


Διάγραμμα 36: Διάγραμμα των 8 μεγαλύτερων σε συγκέντρωση πολυφαινολών ανά δείγμα άλμης



Διάγραμμα 37: Διάγραμμα συγκέντρωσης ολικών πολυφαινολών σε δείγμα άλμεων

Μετά από στατιστική ανάλυση σε επίπεδο σημαντικότητας 5%, των δειγμάτων άλμης από ελιές βιολογικής και συμβατικής γεωργίας δεν παρατηρούνται διαφορές στην συνολική περιεκτικότητα των πολυφαινολών στις άλμες. Οι άλμες ελιών συμβατικής γεωργίας έχουν μέση τιμή 819 μg/g, μέγιστη και ελάχιστη τιμή 1040 μg/g και 630 μg/g στα δείγματα 6 και 7 αντίστοιχα, ενώ οι άλμες ελιών βιολογικής γεωργίας έχουν μέση τιμή 888 μg/g, με μέγιστη και ελάχιστη τιμή 1190 μg/g και 640 μg/g στα δείγματα 20 και 12 αντίστοιχα.



Διάγραμμα 38: Διάγραμμα των 11 μεγαλύτερων σε συγκέντρωση πολυφαινολών ανά δείγμα ελιών



Διάγραμμα 39: Διάγραμμα συγκέντρωσης ολικών πολυφαινολών σε δείγματα ελιών

Στο Διάγραμμα 39 φαίνεται ότι το δείγμα 11 παρουσίασε τη μεγαλύτερη ποσότητα πολυφαινολών. Οι ελιές του δείγματος 11 την στιγμή της συλλογής δεν βρίσκονταν στο στάδιο της πλήρους ωρίμανσης.

Τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης σε επίπεδο σημαντικότητας 5% δεν έδειξαν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων ελιών από βιολογική και συμβατική καλλιέργεια, αναφορικά με τη συνολική ποσότητα των πολυφαινολών. Πιο συγκεκριμένα, οι ελιές συμβατικής γεωργίας είχαν μέση τιμή πολυφαινολών 1553 μg/g, με μέγιστη και ελάχιστη τιμή 2052 μg/g και 1198 μg/g στα δείγματα 6 και 8 αντίστοιχα, ενώ οι ελιές βιολογικής γεωργίας είχαν μέση τιμή 1776 μg/g, με μέγιστη και ελάχιστη τιμή 2202 μg/g και 1320 μg/g στα δείγματα 11 και 12 αντίστοιχα.

Στο Διάγραμμα 39 ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα δείγματα 11 και 12, που ήταν δείγματα βιολογικής γεωργίας από το ίδιο κτήμα και ζυμώθηκαν με τον ίδιο ακριβώς τρόπο και με τις ίδιες συνθήκες, με τη διαφορά ότι το δείγμα 12 είχε συλλεχθεί το έτος 2020 και βρισκόταν στις δεξαμενές 2 χρόνια, ενώ το δείγμα 11 ήταν στις δεξαμενές 1 χρόνο. Στα εν λόγω δείγματα παρατηρήθηκε διαφορά στη συγκέντρωση ολικών πολυφαινολών, γεγονός που θα μπορούσε να αποδοθεί στη διαφορετική σύνθεση της μικροχλωρίδας που συνέβαλε στη ζύμωση, λόγω διαφορετικών καιρικών συνθηκών κάθε έτος, αλλά και στο διαφορετικό χρόνο αποθήκευσης. Σύμφωνα με τους Michailidou et al. (2021), οι οποίοι ανέλυσαν το προφίλ των

πολυφαινολών σε ζυμωμένες ελιές Καλαμών, κατά τη συντήρησή τους σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, ο χρόνος συντήρησης επηρεάζει τόσο την συγκέντρωση των ολικών πολυφαινολών, όσο και τη συγκέντρωση κάθε μιας ξεχωριστά.

Συμπεράσματα

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης ανέδειξαν αρχικά την ελλιπή πληροφόρηση από την πλευρά των παραγωγών σχετικά με τη ζύμωση και τη συντήρηση των ελιών της ποικιλίας Καλαμών. Επιπλέον, υπάρχει μεγάλη ποικιλομορφία στις εγκαταστάσεις και στον εξοπλισμό των παραγωγών που πραγματοποιούν τη ζύμωση, η οποία κατά κανόνα γίνεται με εμπειρικό τρόπο και χωρίς την εφαρμογή επιστημονικής γνώσης ή την παρακολούθηση της διαδικασίας από ειδικό επιστήμονα.

Όμως, παρά τις διαφορές που παρατηρήθηκαν σε επίπεδο παραγωγού και παραγωγικής διαδικασίας, τα αποτελέσματα των μικροβιολογικών αναλύσεων δειγμάτων ελιάς και άλμης από τις δεξαμενές των παραγωγών ήταν πολύ ενθαρρυντικά. Σε όλα τα δείγματα δεν παρατηρήθηκε παρουσία παθογόνων μικροοργανισμών και ο πληθυσμός της τεχνολογικής μικροχλωρίδας (οξυγαλακτικά βακτήρια και ζύμες), καθώς επίσης και των αλλοιογόνων εντεροβακτηρίων ήταν εντός των ορίων που ορίζονται από το εμπορικό πρότυπο για την επιτραπέζια ελιά του Διεθνούς Ελαιοκομικού Συμβουλίου, καθώς επίσης και από τον σχετικό κανονισμό του Codex Alimentarius.

Οι φυσικοχημικές αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν, ιδιαίτερα οι τιμές του pH, της ολικής ογκομετρούμενης οξύτητας και της αλατότητας, έδωσαν επίσης ενθαρρυντικά αποτελέσματα για την ασφάλεια του ζυμωμένου προϊόντος. Αναφορικά με τη σύγκριση μεταξύ δειγμάτων από βιολογική και συμβατική καλλιέργεια της επιτραπέζιας ελιάς ως προς τις τιμές του pH, τα αποτελέσματα έδειξαν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο αυτών κατηγοριών, με τα βιολογικά δείγματα (ελιές και άλμη) να παρουσιάζουν χαμηλότερες τιμές pH. Επιπλέον, στατιστικά σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε και στα δείγματα άλμης κατά τη ζύμωση καρπών που προήλθαν από βιολογική και συμβατική καλλιέργεια αναφορικά με τις τιμές της ογκομετρούμενης οξύτητας. Οι άλμες από τα δείγματα βιολογικής καλλιέργειας παρουσίασαν υψηλότερες συγκεντρώσεις γαλακτικού οξέος, σε σχέση με τις άλμεις των δειγμάτων της συμβατικής καλλιέργειας. Ως προς την αλατότητα δεν παρατηρήθηκε καμία διαφορά μεταξύ βιολογικών και συμβατικών δειγμάτων. Τέλος, τα δείγματα ελιών βιολογικής καλλιέργειας εμφάνισαν μικρότερο ποσοστό αεριοπάθησης συγκριτικά με τα δείγματα από τη συμβατική καλλιέργεια.

Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν από τις μετρήσεις βιογενών αμινών και πολυφαινολών δεν παρουσίασαν διαφοροποίηση μεταξύ βιολογικών και συμβατικών δειγμάτων. Σύμφωνα με τα νομοθετικά όρια της Ευρωπαϊκής Αρχής για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA)

αναφορικά με τη μέγιστη συγκέντρωση βιογενών αμινών ημερησίως για την ισταμίνη είναι 50 mg, για την τυραμίνη 600 mg, ενώ δεν υπάρχουν όρια για την πουτρεσκίνη και την καδαβερίνη. Στην παρούσα εργασία, τα αποτελέσματα της ανίχνευσης βιογενών αμινών στις άλμες έδειξαν ότι η μέγιστη συνολική συγκέντρωση βιογενών αμινών (πουτρεσκίνης, καδαβερίνης, ισταμίνης και τυραμίνης) ήταν 16,52 $\mu\text{g}/\text{mL}$, με κυριότερη την τυραμίνη 11,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ή 11500mg/mL. Αντίθετα, η χαμηλότερη συγκέντρωση βιογενών αμινών που προσδιορίστηκε στην άλμη ήταν 1,3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ή 1300 mg/mL, με επικρατέστερη βιογενή αμίνη την τυροσίνη. Ακόμα, η μέγιστη συνολική τιμή βιογενών αμινών που ανιχνεύτηκε στους καρπούς ήταν 70,3 $\mu\text{g}/\text{mL}$, με σειρά μειούμενης συγκέντρωσης πουτρεσκίνη, καδαβερίνη και ισταμίνη. Η τελευταία παρουσίασε συγκέντρωση 14,6 $\mu\text{g}/\text{g}$ ή 0,0146 mg/g. Η ελάχιστη συγκέντρωση βιογενών αμινών ήταν 4,2 $\mu\text{g}/\text{g}$ ή 0,0042 mg/g. Δεδομένου ότι καταναλώνεται ο καρπός της ελιάς και όχι η άλμη, κρίνοντας από τις συγκεντρώσεις των βιογενών αμινών στον καρπό και σύμφωνα με τις συστάσεις της EFSA, όλα τα δείγματα των ελιών που μελετήθηκαν στην παρούσα εργασία μπορούν να καταναλωθούν. Επιπρόσθετα, οι σημαντικότερες ποσοτικά πολυφαινόλες στις άλμες ήταν η υδροξυτυροσόλη, η τυροσόλη, ο βερμπασκοσίδης, ο ισο-βερμπασκοσίδης, η ελευρωπαΐνη, με μέγιστη και ελάχιστη συγκέντρωση μεταξύ 1190 $\mu\text{g}/\text{mL}$ και 630 $\mu\text{g}/\text{mL}$ αντίστοιχα. Στις ελιές οι σημαντικότερες ποσοτικά πολυφαινόλες ήταν ο βερμπασκοσίδης, η λουτεολίνη, η κουαρκετίνη, η υδροξυτυροσόλη, η τυροσόλη, η ελευρωπαΐνη, η κομσελογοσίδη, με μέγιστη και ελάχιστη συγκέντρωση μεταξύ 2202 $\mu\text{g}/\text{g}$ και 1198 $\mu\text{g}/\text{g}$.

Εν κατακλείδι, παρά τη μεγάλη διαφοροποίηση των συνθηκών επεξεργασίας και των εγκαταστάσεων ζύμωσης της ελιάς, παρά την έλλειψη επιστημονικής γνώσης και την τάση πειραματισμού των αγροτών, το τελικό προϊόν που προσφέρουν στον αγοραστή-έμπορο είναι ασφαλές για κατανάλωση.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ελληνική Βιβλιογραφία

- Κανονισμός (ΕΕ) 2018/848 του ευρωπαϊκού κοινοβουλίου και του συμβουλίου.
- Κεφάλαια Αναστασία, 2019, Διπλωματική εργασία «Μέθοδοι επιλογής μεταβλητών για δεδομένα πωλήσεων από την εταιρεία IRI» ΕΜΠ.
- Κυριτσάκης Απόστολος, 2021, Η επιτραπέζια ελιά και ο βιολειτουργικός της ρόλος, Θεσσαλονίκη, Εκδόσεις CCITY PUBLISH.
- Μπαλατσούρας Γεώργιος, 1995, Η επιτραπέζια ελιά, Αθήνα, Β΄ Έκδοση.
- Νυχάς, Πανάγου Εργαστηριακές Σημειώσεις του Μαθήματος «Μικροβιολογία Τροφίμων» ΓΠΑ.

Ξένη Βιβλιογραφία

- Ahmad, W., Mohammed, G.I., Al-Eryani, D.A., Saigl, Z.M., Alyoubi, A.O., Alwael, H., Bashammakh, A.S., O' Sullivan, C.K., El-Shahawi, M.S. (2019) Biogenic Amines Formation Mechanism and Determination Strategies: Future Challenges and Limitations. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 50(6), 485–500.
- Michailidou, S., Economou Petrovits, G., Kyritsi, M., Argiriou, A. (2021) Amplicon metabarcoding data of prokaryotes and eukaryotes present in 'Kalamata' table olives packaged under modified atmosphere. *Data in Brief*, 38, 107314.
- Anagnostopoulos, D.A., Tsaltas, D. (2022) Current Status, Recent Advances, and Main Challenges on Table Olive Fermentation: The Present Meets the Future. *Frontiers in Microbiology*, 12, 797295.
- Antonio de Castro, José L. Ruiz-Barba, Concepción Romero, Antonio H. Sánchez, Pedro García, Manuel Brenes. (2020) Formation of gas pocket defect in Spanish-style green olives by the halophile *Celerinatantimonas* sp. *Food Control*; Volume 136
- Antonio Higinio Sánchez Gómez, Pedro García García and Luis Rejano Navarro. Trends in table olive production. (2012) *Elaboration of table olives*, Departamento de Biotecnología de Alimentos, Instituto de la Grasa (CSIC), Avda. Padre García Tejero 4, 41012 Sevilla (Spain).
- Benítez-Cabello, A., Romero-Gil, V., Medina-Pradas, E. et al. (2020) Exploring bacterial diversity in commercialized table olive biofilms by metataxonomic and compositional data analysis.

- Bevilacqua A, Campaniello D, Speranza B, Sinigaglia M and Corbo MR. (2018) Survival of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in Synthetic Brines. Studying the Effects of Salt, Temperature and Sugar through the Approach of the Design of Experiments. *Front. Microbiol* 9:240
- Bonatsou S, Paramithiotis S and Panagou EZ. (2018) Evolution of Yeast Consortia during the Fermentation of Kalamata Natural Black Olives upon Two Initial Acidification Treatments. *Front. Microbiol.* 8:2673.
- Bonatsou, S.; Tassou, C.C.; Panagou, E.Z.; Nychas, G.-J.E. (2017) Table Olive Fermentation Using Starter Cultures with Multifunctional Potential. *Microorganisms* 5, 30.
- Ceglie F.G., Amodio M.L., Colelli G. (2016) Effect of organic production systems on quality and postharvest performance of horticultural produce. *Horticulturae*.2:4.
- In : Cillidag N. (ed.), Arroyo López F.N. (ed.), Caballero J. (ed.), D'Andria R. (ed.), Fernández M. (ed.), Fernandez Escobar R. (ed.), Garrido A. (ed.), López-Miranda J. (ed.), Msallem M. (ed.), Parras M. (ed.), Rallo L. (ed.), Zanolli R. (ed.).(2013) Table olive processing technologies Present and future of the Mediterranean olive sector. Zaragoza: CIHEAM / IOC, 2013; p. 67-64 (Options Méditerranéennes: Série A. Séminaires Méditerranéens; n. 106).
- Codex Alimentarius “GENERAL STANDARD FOR FOOD ADDITIVES CODEX STAN 192-1995”. (2021) https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B192-1995%252FCXS_192e.pdf.
- Codex Standard For Table Olives Codex Stan 66-1981
- COI/OT/MO No1/Rev3 June 2021.
- Conte, P.; Fadda, C.; Del Caro, A.; Urgeghe, P.P.; Piga, A. (2020) Table Olives: An Overview on Effects of Processing on Nutritional and Sensory Quality. *Foods* 9, 514.
- Cui, M., Chen, B., Xu, K. et al. (2021) Activation of specific bitter taste receptors by olive oil phenolics and secoiridoids. *Sci Rep* 11, 22340.
- D'Antuono, I., Bruno, A., Insalatas, V., Minervini, F., Garbetta, A., Tufariello, M., ... Cardinali, A. (2018) Fermented Apulian table olives: Effect of selected microbial starters on polyphenols composition, antioxidant activities and bioaccessibility. *Food Chemistry* 248, 137-145.

- Danchuk, A.; Komova, N.S.; Mobarez, S.N.; Doronin, S.Y.; Burmistrova, N.A.; Markin, A.V.; Duerkop, A. (2020) Optical sensors for determination of biogenic amines in food. *Anal. Bioanal. Chem.* 412, 4023–4036.
- De Angelis, M., Campanella, D., Cosmai, L., Summo, C., Rizzello, C. G., & Caponio, F. (2015) Microbiota and metabolome of un-started and started Greek-type fermentation of Bella di Cerignola table olives. *Food Microbiology* 52, 18–30.
- EFSA Journal. Scientific Opinion on risk-based control of biogenic amine formation in fermented foods¹ EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ)², ³ European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy, 2011.
- Fernández-Poyatos MP, Ruiz-Medina A, Llorent-Martínez EJ. (2019) Phytochemical profile, mineral content, and antioxidant activity of *Olea europaea* L. cv. Cornezuelo table olives. Influence of in vitro simulated gastrointestinal digestion. *Food Chem.* Nov 297:124933.
- Gandul-Rojas B, Gallardo-Guerrero. (2020) L. Characterization and Processing of Table Olives: A Special Issue. *Foods*.
- Garcí A-Garcí A,* M. Brenes-Balbuena, C. Romero-Barranco, And A. Garrido-Ferna´ Ndez (2000) Biogenic Amines in Packed Table Olives and Pickles P. Food Biotechnology Department, Instituto de la Grasa (C.S.I.C.), Avda Padre Garcõa Tejero 4, 41012 Sevilla, Spain. MS 00-220.
- Goulas,V., Charisiadis,P., Gerothanassis, I.P.,& Manganaris, G.A. (2012) Classification, biotransformation, and antioxidant activity of olive fruit biophenols: a review. *Current Bioactive Compounds.* 8, 232-239.
- IOC 2022, <https://www.internationaloliveoil.org/what-we-do/economic-affairs-promotion-unit/#figures>.
- IOC, Trade Standard Applying to Table Olives COI/OT/NC no1 2004.
- Islam M.Z., Mele M.A., Choi K.-Y., Kang H.-M. (2018) Nutrient and salinity concentrations effects on quality and storability of cherry tomato fruits grown by hydroponic system. *Bragantia.*77:385–393.
- Kundisová I, Juan ME, Planas JM. (2020) Simultaneous Determination of Phenolic Compounds in Plasma by LC-ESI-MS/MS and Their Bioavailability after the Ingestion of Table Olives. *J Agric Food Chem.* Sep 16;68(37):10213-10222.

- López-García E, Benítez-Cabello A, Ramiro-García J, Ladero V, Arroyo-López FN. (2023) In Silico Evidence of the Multifunctional Features of *Lactiplantibacillus pentosus* LPG1, a Natural Fermenting Agent Isolated from Table Olive Biofilms. *Foods*. 12(5):938.
- López-López, A.; Moreno-Baquero, J.M.; Garrido-Fernández, A. (2023) The Desalting Process for Table Olives and Its Effect on Their Physicochemical Characteristics and Nutrient Mineral Content. *Foods* 12, 2307.
- Lucia Parafati, Rosa Palmeri, Iole Pitino, Cristina Restuccia. (2022) Killer yeasts isolated from olive brines: Technological and probiotic aptitudes, *Food Microbiology*. Volume 103, 103950
- Mikrou, T.; Kasimati, K.; Doufexi, I.; Kapsokefalou, M.; Gardeli, C.; Mallouchos, A. (2021). Volatile Composition of Industrially Fermented Table Olives from Greece. *Foods*. 10, 1000.
- Penland Marine, Audrey Pawtowski, Azzurra Pioli, Marie-Bernadette Maillard, Stella Debaets, Stéphanie-Marie Deutsch, Héléne Falentin, Jérôme Mounier, Monika Coton. (2022). Brine salt concentration reduction and inoculation with autochthonous consortia: Impact on Protected Designation of Origin Nyons black table olive fermentations. *Food Research International*.
- Perpetuini G, Prete R, Garcia-Gonzalez N, Khairul Alam M, Corsetti A. (2020) Table Olives More than a Fermented Food. *Foods*. Feb 12;9(2):178.
- Porru, C., Rodríguez-Gómez, F., Benítez-Cabello, A., Jiménez-Díaz, R., Zara, G., Budroni, M., et al (2018). Genotyping, identification and multifunctional features of yeasts associated to Bosana naturally black table olive fermentations. *Food Microbiology* 69, 33–42.
- Rahman SME, Mele MA, Lee YT, Islam MZ. (2021) Consumer Preference, Quality, and Safety of Organic and Conventional Fresh Fruits, Vegetables, and Cereals. *Foods*. 10(1):105.
- Ramírez, E., Brenes, M., García, P., Medina, E., & Romero, C. (2016) Oleuropein hydrolysis in natural green olives: Importance of the endogenous enzymes. *Food Chemistry* 206, 204–209.
- RIRDC (2012) The Voluntary Industry Standard for Table Olives in Australia. Έκδοση No 12/111.

- Rodrigues, N.; Oliveira, C.; Casal, S.; Pereira, J.A.; Ramalhosa, E. (2022) “Table Olive Flours”: An Ingredient Rich in Bioactive Compounds? *Appl. Sci.* 12, 1661.
- Sacchi, R.; Corrado, G.; Basile, B.; Mandarello, D.; Ambrosino, M.L.; Paduano, A.; Savarese, M.; Caporaso, N.; Aponte, M.; Genovese. (2022). A. Effect of Salt Addition and Fermentation Time on Phenolics, Microbial Dynamics, Volatile Organic Compounds, and Sensory Properties of the PDO Table Olives of Gaeta (Italy). *Molecules* 27, 8100.
- Salis, C., Papadakis, I. E., & Hagedimitriou. (2021) M. Identification and quantification of phenolic compounds in fresh and processed table olives of cv. ‘Kalamata’. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca.* 49(2), 12394.
- Sánchez, R.; Fernández, A.; Martín-Tornero, E.; Meléndez, F.; Lozano, J.; Martín-Vertedor, D. (2022) Application of Digital Olfaction for Table Olive Industry. *Sensors* 22, 5702.
- Solieri L, Sola L, Vaccalluzzo A, Randazzo CL, Martini S, Tagliazucchi D. (2022) Characterization of Cell-Envelope Proteinases from Two *Lactobacillus casei* Strains Isolated from Parmigiano Reggiano Cheese. *Biology (Basel).* 11(1):139.
- Soto-Giron, M.J., Kim, J.N., Schott, E. et al. (2021). The Edible Plant Microbiome represents a diverse genetic reservoir with functional potential in the human host. *Sci Rep* 11, 24017
- Stan Kailis and David Harris. (2017) *Producing Table Olives Australia*. Land links press.
- Vaccalluzzo A, Pino A, Russo N, De Angelis M, Caggia C, Randazzo CL. (2020) FoodOmics as a new frontier to reveal microbial community and metabolic processes occurring on table olives fermentation. *Food Microbiol.* 92:103606.
- Vaccalluzzo A, Solieri L, Tagliazucchi D, Cattivelli A, Martini S, Pino A, Caggia C, Randazzo CL. (2022) Metabolomic and Transcriptional Profiling of Oleuropein Bioconversion into Hydroxytyrosol during Table Olive Fermentation by *Lactiplantibacillus plantarum*. *Appl Environ Microbiol.* 88(6):e0201921.
- Wójcik, W.; Łukasiewicz-Mierzejewska, M.; Damaziak, K.; Bień. D. (2022) Biogenic Amines in Poultry Meat and Poultry Products: Formation, Appearance, and Methods of Reduction. *Animals* 12, 1577.
- Xiong, R.-G.; Zhou, D.-D.; Wu, S.-X.; Huang, S.-Y.; Saimaiti, A.; Yang, Z.-J.; Shang, A.; Zhao, C.-N.; Gan, R.-Y.; Li, H.-B. (2022) Health Benefits and Side Effects of Short-Chain Fatty Acids. *Foods* 11, 2863.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ

Παράρτημα 1: Οι πληροφορίες για κάθε δείγμα που συλλέχθηκε

Αριθμός Δείγματος	Περιοχή Κτήματος	Μήνας Συλλογής	Αρδευόμενα ή Μη αρδευόμενα	Συνθήκες αποθήκευσης των Ελιών	Τύπος Δεξαμενών	Έχουν χρησιμοποιηθεί γαλακτικό οξύ ή CaCl ₂	Κατάσταση Καπακιών	Λεπτομέρειες αλατοπεριεκτικότητας	Βιολογικές ή Συμβατικές	Υψόμετρο (m)
1	Κόλαση	Αρχές Νοεμβρίου	Αρδευόμενα	Δεξαμενές σε εξωτερικό χώρο	Κλειστού τύπου	ΟΧΙ	Δύο στροφές ανοιχτά καθ' όλη τη διάρκεια που παραμένουν στις δεξαμενές από την συμπλήρωση του όγκου μέχρι την πώληση.	Από την συμπλήρωση του όγκου της δεξαμενής προσθήκη 100 κιλά αλάτι στα 2300 κιλά νερό. Προσθήκη αλατιού τον Ιανουάριο ώστε τότε να φτάσει το 6% αλατοπεριεκτικότητα. Ακόμα προστίθενται 50 κιλά το Γενάρη και τον Μάρτιο ανεβαίνει στο 7,5% η αλατοπεριεκτικότητα. Τέλη Απριλίου η αλατοπεριεκτικότητα αυξάνεται στο 8,8 με 9 %.	Συμβατικές	203

Αριθμός Δείγματος	Περιοχή Κτήματος	Μήνας Συλλογής	Αρδευόμενα ή Μη αρδευόμενα	Συνθήκες αποθήκευσης των Ελιών	Τύπος Δεξαμενών	Έχουν χρησιμοποιηθεί γαλακτικό οξύ ή CaCl ₂	Κατάσταση Καπακίων	Λεπτομέρειες αλατοπεριεκτικότητας	Βιολογικές ή Συμβατικές	Υψόμετρο (m)
2	Κόλαση	Μέσα Νοεμβρίου	Αρδευόμενα	Δεξαμενές σε εξωτερικό χώρο	Κλειστού τύπου	ΟΧΙ	Δύο στροφές ανοιχτά καθ' όλη τη διάρκεια που παραμένουν στις δεξαμενές από την συμπλήρωση του όγκου μέχρι την πώληση.	Από την συμπλήρωση του όγκου της δεξαμενής προσθήκη 100 κιλά αλάτι στα 2300 κιλά νερό. Προσθήκη άλλων 100 κιλών αλάτι σε 20 μέρες. Ύστερα 50 ακόμα κιλά το Δεκέμβριο και 50 τον Ιανουάριο ώστε τότε να φτάσει το 6% αλατοπεριεκτικότητα. Ακόμα προστίθενται 50 κιλά το Γενάρη και τον Μάρτιο ανεβαίνει στο 7,5% η αλατοπεριεκτικότητα. Τέλη Απριλίου η περιεκτικότητα της άλμης ανεβαίνει στο 8,8 με 9 %.	Συμβατικές	186

Αριθμός Δείγματος	Περιοχή Κτήματος	Μήνας Συλλογής	Αρδευόμενα ή Μη αρδευόμενα	Συνθήκες αποθήκευσης των Ελιών	Τύπος Δεξαμενών	Έχουν χρησιμοποιηθεί γαλακτικό οξύ ή CaCl ₂	Κατάσταση Καπακίων	Λεπτομέρειες αλατοπεριεκτικότητας	Βιολογικές ή Συμβατικές	Υψόμετρο (m)
3	Τζελέτη	Τέλη Νοεμβρίου	Αρδευόμενα	Δεξαμενές σε αποθήκη με πάνελ	Ανοιχτού τύπου με καπάκι	ΟΧΙ	Εφαρμοσμένα καπάκια αλλά σε αυτό τον τύπο εισβάλλει αέρας	Από την συμπλήρωση του όγκο της δεξαμενής προσθήκη 100 κιλά αλάτι στα 2300 κιλά νερό. Προσθήκη άλλων 100 κιλών αλάτι σε 20 μέρες. Ύστερα 50 ακόμα κιλά το Δεκέμβριο και 50 τον Ιανουάριο ώστε τότε να φτάσει το 6% αλατοπεριεκτικότητα. Ακόμα προστίθενται 50 κιλά το Γενάρη και τον Μάρτιο ανεβαίνει στο 7,5% η αλατοπεριεκτικότητα. Τέλη Απριλίου η περιεκτικότητα της άλμης ανεβαίνει στο 8,8 με 9 %.	Συμβατικές	226

Αριθμός Δείγματος	Περιοχή Κτήματος	Μήνας Συλλογής	Αρδευόμενα ή Μη αρδευόμενα	Συνθήκες αποθήκευσης των Ελιών	Τύπος Δεξαμενών	Έχουν χρησιμοποιηθεί γαλακτικό οξύ ή CaCl ₂	Κατάσταση Καπακιών	Λεπτομέρειες αλατοπεριεκτικότητας	Βιολογικές ή Συμβατικές	Υψόμετρο (m)
4	Τζελέτη (Λάκκα Ζοριάνη)	Νοέμβριος	Αρδευόμενα	Δεξαμενές σε αποθήκη (σε ισόγειο σπιτιού κλειστό και από 4 μεριές)	Ανοιχτού τύπου με καπάκι	Προσθήκη CaCl ₂ 1% , όμως παρατήρηση παραγωγού ότι οι ελιές με προσθήκη της παραπάνω ουσίας αλλάζει η γεύση και χαρακτηρίζονται άνοστες	Στην αρχή ξεσκεπάστες μετά από 3 εβδομάδες σκέπασμα με νάιλον.	Αρχική αλατότητα στην προσθήκη άλμης 7% με το γέμισμα και σταδιακή προσθήκη άλατος όπου το Μάρτιο ανεβαίνει στο 7 και ύστερα ανεβαίνει στο 8 με 8,5%.	Συμβατικές	228

Αριθμός Δείγματος	Περιοχή Κτήματος	Μήνας Συλλογής	Αρδευόμενα ή Μη αρδευόμενα	Συνθήκες αποθήκευσης των Ελιών	Τύπος Δεξαμενών	Έχουν χρησιμοποιηθεί γαλακτικό οξύ ή CaCl ₂	Κατάσταση Καπακίων	Λεπτομέρειες αλατοπεριεκτικότητας	Βιολογικές ή Συμβατικές	Υψόμετρο (m)
5	Τζελέτη	Αρχές Νοεμβρίου	Αρδευόμενα	Αποθήκη με πάνελ 3 πλευρές κλειστές	Ανοιχτού τύπου με καπάκι	ΟΧΙ	Εφαρμοσμένα καπάκια αλλά σε αυτό τον τύπο εισβάλλει αέρας	15 Δεκεμβρίου το πρώτο αλάτι (μετά από ένα μήνα δηλαδή) 100 κιλά και ύστερα 100 κιλά αρχές Μάη και τέλος Ιουλίου 75 κιλά (δεν χρησιμοποιείται γραδόμετρο), όλα αυτά σε δεξαμενές χωρητικότητας 4500 λίτρων ή περίπου 2000 κιλά νερό.	Συμβατικές	238

Αριθμός Δείγματος	Περιοχή Κτήματος	Μήνας Συλλογής	Αρδευόμενα ή Μη αρδευόμενα	Συνθήκες αποθήκευσης των Ελιών	Τύπος Δεξαμενών	Έχουν χρησιμοποιηθεί γαλακτικό οξύ ή CaCl ₂	Κατάσταση Καπακίων	Λεπτομέρειες αλατοπεριεκτικότητας 15 Δεκεμβρίου το πρώτο αλάτι (μετά από ένα μήνα δηλαδή από την τοποθέτησή τους στις δεξαμενές) 100 κιλά και ύστερα 100 κιλά αρχές Μάη και τέλος Ιουλίου 75 κιλά (δεν χρησιμοποιείται γραδόμετρο), όλα αυτά σε δεξαμενές χωρητικότητας 4500 λίτρων ή περίπου 2000 κιλά νερό.	Βιολογικές ή Συμβατικές	Υψόμετρο (m)
6	Τζελέτη	Αρχές Δεκεμβρίου	Αρδευόμενα	Εξωτερικό χώρο	Κλειστού τύπου	ΟΧΙ	Ερμητικά Κλειστά από την συμπλήρωση της δεξαμενής	259	Συμβατικές	259
7	Τσίλια	Μέσα Νοεμβρίου	Αρδευόμενα	Εξωτερικό χώρο	Ανοιχτού τύπου με καπάκι και Νάilon για προστασία από το νερό της βροχής.	ΟΧΙ	Εφαρμοσμένα καπάκια αλλά σε αυτό τον τύπο εισβάλλει αέρας	243	Συμβατικές	243

Αριθμός Δείγματος	Περιοχή Κτήματος	Μήνας Συλλογής	Αρδευόμενα ή Μη αρδευόμενα	Συνθήκες αποθήκευσης των Ελιών	Τύπος Δεξαμενών	Έχουν χρησιμοποιηθεί γαλακτικό οξύ ή CaCl ₂	Κατάσταση Καπακιών	Λεπτομέρειες αλατοπεριεκτικότητας	Βιολογικές ή Συμβατικές	Υψόμετρο (m)
8	Άγιος Νικόλαος	Μέσα Νοεμβρίου	Αρδευόμενα	Αποθήκη	Ανοιχτού τύπου	ΟΧΙ	Κλείσιμο με καπάκια και από τον Ιανουάριο και έπειτα	Με την συμπλήρωση του όγκου σε κάθε δεξαμενή προστίθεται ποσότητα αλατιού τέτοια, ώστε η άλμη να φτάσει 6,25%. Ύστερα, προστίθεται σταδιακά αλάτι σε ποσότητα τέτοια που να συνεχίσει να έχει αυτές τις τιμές η άλμη γύρω στο 6% και τον Απρίλιο η περιεκτικότητα της άλμης φτάνει το 8% και τον Μάη το 9%, αυτή η τιμή διατηρείται καθ' όλη τη διάρκεια του καλοκαιριού.	Συμβατικές	271

Αριθμός Δείγματος	Περιοχή Κτήματος	Μήνας Συλλογής	Αρδευόμενα ή Μη αρδευόμενα	Συνθήκες αποθήκευσης των Ελιών	Τύπος Δεξαμενών	Έχουν χρησιμοποιηθεί γαλακτικό οξύ ή CaCl ₂	Κατάσταση Καπακίων	Λεπτομέρειες αλατοπεριεκτικότητας	Βιολογικές ή Συμβατικές	Υψόμετρο (m)
9	Τραμπάλες	Μέσα Νοεμβρίου	Αρδευόμενα	Υπόγειο σπιτιού	Ανοιχτού τύπου	ΟΧΙ	Κλείσιμο με καπάκια μετά από τις πρώτες 20 ημέρες από τη συλλογή.	20 μέρες μετά τη συλλογή 75 κιλά αλάτι σε 2000 κιλά νερό και ύστερα από 2 μήνες άλλα 50 κιλά (δεν μετράμε γράδο), ώσπου τον Απρίλιο μόνο ώστε να τα φέρουμε στο 7% και τον Ιούλιο φτάνει στο 9%.	Συμβατικές	168
10	Τσίλια	Μέσα Νοεμβρίου	Αρδευόμενα	Αποθήκη	Ανοιχτού τύπου	Προσθήκη CaCl ₂ 1% , όμως παρατήρηση παραγωγού ότι οι ελιές με προσθήκη της παραπάνω ουσίας αλλάζει η γεύση και χαρακτηρίζονται άνοστες	Όταν γεμίσει η δεξαμενή τοποθετούνται καπάκια όπου πάνω έχουν ανοιχτεί τρύπες και εκεί ρίχνεται το αλάτι.	Μόλις γεμίσει η δεξαμενή γράδο 5% και στη συνέχεια Γενάρη, Φλεβάρη 6%, Μάρτιος 7% και μέχρι τώρα διατήρηση στο 6,5 με 7%.	Συμβατικές	233

Αριθμός Δείγματος	Περιοχή Κτήματος	Μήνας Συλλογής	Αρδευόμενα ή Μη αρδευόμενα	Συνθήκες αποθήκευσης των Ελιών	Τύπος Δεξαμενών	Έχουν χρησιμοποιηθεί γαλακτικό οξύ ή CaCl ₂ Προσθήκη CaCl ₂ 1% , όμως παρατήρηση παραγωγού ότι οι ελιές με προσθήκη της παραπάνω ουσίας αλλάζει η γεύση και χαρακτηρίζονται άνοστες	Κατάσταση Καπακίων	Λεπτομέρειες αλατοπεριεκτικότητας	Βιολογικές ή Συμβατικές	Υψόμετρο (m)
11	Γιαννίτσαρη	Αρχές Νοεμβρίου	Αρδευόμενα	Υπόγειο σπιτιού	Ανοιχτού τύπου		Ανοιχτές οι δεξαμενές	15 μέρες μετά τη συλλογή προσθέτουμε 75 κιλά/ 2000 κιλά νερό και άλλα 50 κιλά τον Δεκέμβριο και η Τρίτη προσθήκη σε αλάτι γίνεται το Μάη όπου χρησιμοποιείται γραδόμετρο και η άλμη φτάνει το 8 με 9%. 15 μέρες μετά τη συλλογή προσθέτουμε 75 κιλά/ 2000 κιλά νερό και άλλα 50 κιλά τον Δεκέμβριο και η Τρίτη προσθήκη σε αλάτι γίνεται το Μάη όπου χρησιμοποιείται γραδόμετρο και η άλμη φτάνει το 8 με 9%.	Βιολογικές	213
12	Γιαννίτσαρη	2020	Αρδευόμενα	Υπόγειο σπιτιού	Ανοιχτού τύπου	ΟΧΙ	Ανοιχτές οι δεξαμενές	15 μέρες μετά τη συλλογή προσθέτουμε 75 κιλά/ 2000 κιλά νερό και άλλα 50 κιλά τον Δεκέμβριο και η Τρίτη προσθήκη σε αλάτι γίνεται το Μάη όπου χρησιμοποιείται γραδόμετρο και η άλμη φτάνει το 8 με 9%.	Βιολογικές	213

Αριθμός Δείγματος	Περιοχή Κτήματος	Μήνας Συλλογής	Αρδευόμενα ή Μη αρδευόμενα	Συνθήκες αποθήκευσης των Ελιών	Τύπος Δεξαμενών	Έχουν χρησιμοποιηθεί γαλακτικό οξύ ή CaCl_2	Κατάσταση Καπακίων	Λεπτομέρειες αλατοπεριεκτικότητας	Βιολογικές ή Συμβατικές	Υψόμετρο (m)
13	Γκολφάδες Περιοχή Αγίων Αναργύρων	Νοέμβριος	Αρδευόμενα	Αποθήκη με πάνελ	Ανοιχτού τύπου	Γαλακτικό οξύ	Νάιλον	<p>Πρώτα προστίθεται το οξιμιστικό και ύστερα από 10 μέρες προστίθεται η πρώτη δόση αλατιού. 50 κιλά στα 2000 kg νερό=2,5%, ύστερα τα Χριστούγεννα άλλα 50 κιλά και Φεβρουάριο άλλα 50 κιλά αλατιού και τέλος Μαρτίου φροντίζουν μέσω του γραδόμετρου να φτάσει η άλμη τα 7,5%. Στη συνέχεια, τέλη Απριλίου φτάνει η άλμη 9. Ανάδευση με κοντρεσέρ γίνεται 1 με 2 φορές το καλοκαίρι.</p>	Βιολογικές	287

Αριθμός Δείγματος	Περιοχή Κτήματος	Μήνας Συλλογής	Αρδευόμενα ή Μη αρδευόμενα	Συνθήκες αποθήκευσης των Ελιών	Τύπος Δεξαμενών	Έχουν χρησιμοποιηθεί γαλακτικό οξύ ή CaCl ₂	Κατάσταση Καπακίων	Λεπτομέρειες αλατοπεριεκτικότητας	Βιολογικές ή Συμβατικές	Υψόμετρο (m)
14	Νιάτα	Νοέμβριος	Μη αρδευόμενα	Αποθήκη με πάνελ	Ανοιχτού τύπου	ΟΧΙ	Καπάκι	Νερό για 20 μέρες και μετά αλάτι στο 6 %, χωρίς προσθήκη άλλου αλατιού μέχρι τον Μάη όπου προστέθηκε η δεύτερη δόση και η άλμη έφτασε στο 9 %.	Βιολογικές	319
15	Κοκκινεκκλησιά	Νοέμβριος	Αρδευόμενα	Αποθήκη	Ανοιχτού τύπου	ΟΧΙ	Νάιλον (όταν ρίξει το πρώτο αλάτι)	Όταν γεμίσει η λούμπα 75 κιλά στους 2 τόνους νερό και κάθε μήνα από 50 κιλά αλάτι (δεν χρησιμοποιείται γραδόμετρο). Όμως τη στιγμή της συλλογής του δείγματος μετρήθηκε ο γράδος και βρέθηκε να έχει τιμή 8%.	Βιολογικές	310

Αριθμός Δείγματος	Περιοχή Κτήματος	Μήνας Συλλογής	Αρδευόμενα ή Μη αρδευόμενα	Συνθήκες αποθήκευσης των Ελιών	Τύπος Δεξαμενών	Έχουν χρησιμοποιηθεί γαλακτικό οξύ ή CaCl ₂	Κατάσταση Καπακίων	Λεπτομέρειες αλατοπεριεκτικότητας	Βιολογικές ή Συμβατικές	Υψόμετρο (m)
16	Μετόχι	Δεκέμβριος	Αρδευόμενα	Εξωτερικό χώρο	Ανοιχτού τύπου	ΟΧΙ	Νάιλον	Όταν γεμίσει η κάθε δεξαμενή προσθήκη αλατιού , μέχρι να φτάσει η άλμη 5%, το Φεβρουάριο 7% και τον Μάη 9%.	Βιολογικές	154
17	Τζελέτη	Μέσα Νοεμβρίου	Αρδευόμενα	Εξωτερικό χώρο	Κλειστού τύπου	ΟΧΙ	Ανοιχτά και μετά από 20 μέρες ερμητικά κλειστά	Όταν γέμισε η δεξαμενή μετά από 15 ημέρες 100 Kg (2,5% η περιεκτικότητα σε αλάτι), τον Ιανουάριο προσθήκη 100 Kg αλάτι δεν χρησιμοποιούν γραδόμετρο, τον Μάρτιο άλλα 100 kg και χρήση γραδόμετρου άλμη 6-7%. Τέλη Απριλίου με αρχές Μάη 9%. Όχι κούνημα.	Βιολογικές	242

Αριθμός Δείγματος	Περιοχή Κτήματος	Μήνας Συλλογής	Αρδευόμενα ή Μη αρδευόμενα	Συνθήκες αποθήκευσης των Ελιών	Τύπος Δεξαμενών	Έχουν χρησιμοποιηθεί γαλακτικό οξύ ή CaCl ₂	Κατάσταση Καπακιών	Λεπτομέρειες αλατοπεριεκτικότητας Όταν γεμίσει η δεξαμενή άλμη 4%, το Φεβρουάριο 7%, το Μάρτιο 9% και διατήρηση μέχρι την πώληση.	Βιολογικές ή Συμβατικές	Υψόμετρο (m)
18	Άγιος Νικόλαος	Μέσα Νοεμβρίου	Αρδευόμενα	Υπόγειο σπιτιού	Ανοιχτού τύπου	ΟΧΙ	Νάιλον	Όταν γεμίσει η δεξαμενή άλμη 4%, το Φεβρουάριο 7%, το Μάρτιο 9% και διατήρηση μέχρι την πώληση.	Βιολογικές	269
19	Άγιος Νικόλαος	Μέσα Νοεμβρίου	Αρδευόμενα	Εξωτερικό χώρο	Κλειστού τύπου	ΟΧΙ	Μένουν με ανοιχτό καπάκι το μικρό για δύο μήνες και μετά ερμητικά κλειστά.	Όταν γεμίσει η δεξαμενή άλμη 4%, το Φεβρουάριο 7%, το Μάρτιο 10% και διατήρηση μέχρι την πώληση.	Βιολογικές	269
20	Χούνη Δούβρη	Μέσα Νοεμβρίου	Αρδευόμενα	Εξωτερικό χώρο	Κλειστού τύπου	ΟΧΙ	Συνέχεια Κλειστό το καπάκι	Μόλις γεμίσει η δεξαμενή αλατοπεριεκτικότητα 5,7% και στη συνέχεια Γενάρη προσθήκη 175 κιλών αλάτι δεν χρησιμοποιήθηκε γραδόμετρο και τον Μάρτιο άλμη 10% αλατοπεριεκτικότητα.	Βιολογικές	210

Παράρτημα 2: Οι φαινολικές ενώσεις που ανιχνεύτηκαν στα δείγματα ελιάς και άλμης που αναλύθηκαν στην παρούσα εργασία

2',4'-Dihydroxychalcone	Isorhoifolin	Capsaicin	Oleomissional
Iso-verbascoside	Vanillin	Isofraxidin	Verbascoside
2,5-Dihydroxybenzoic acid (Gentisic acid)	Kaempferide	Catechin	Oleoside
2-cis,4-trans-Abscisic acid	Kaempferol	Catechol	Oleuropein
3,4 Dihydroxyphenylacetic acid	Ligstroside aglycone	Chlorogenic acid	Oleuropein aglycone
3,4,5-Trimethoxy-benzoic acid (eudesmic acid)	Luteolin	Chrysin	Phloretin
3,4-Dihydroxybenzoic acid (Protocatechuic acid)	Luteolin 3-glucoside	Cinnamic acid	Phloridzin
3-hydroxybenzoic acid	Luteolin 4-glucoside	Citric acid	Pinobanksin
4-hydroxybenzoic acid	Luteolin 7-glucoside	Comselogoside	Pinocembrin
8-Prenylnaringenin	Maslinic acid	Dihydro-oleuropein	Pinoresinol
Acacetin	Myricetin	Diosmetin	Quercetin
Apigenin	Naringenin	Epicatechin	Quinic acid
Apigenin 7-glucoside	Oleacein	Eriodictyol	Resveratrol
Beta-hydroxyacteoside	Oleocanthal	Ethyl vanillin	Rosmarinic acid
Caffeic acid	Oleocanthalic acid	Ferulic acid	Rutin
Caffeoyl 6-secologanoside	Oleokoronal	Fraxetin	Sakuranetin
Hydroxytyrosol	Vanillic acid	Homovanillic acid	Tyrosol
Genistein	Sinapic acid	Scopoletin	Taxifolin (Dihydro quercetin)
Syringic acid	benzoic acid	Fraxidin	Hesperetin
Galangin	p-coumaric acid	Fraxin	Salicylic acid
Syringaldehyde	Gallic acid		

Παράρτημα 3: Οι τιμές των πολυφαινολών σε (μg/g) που ανιχνεύθηκαν στα δείγματα ελιών και άλμεων από μία βιβλιοθήκη 82 φαινολικών ενώσεων

Analyte	slope (b)	Calibration range	a	R ²	Regression $y = bx + a$	Almi_1	Almi_2	Almi_3	Almi_4	Almi_5	Almi_6	Almi_7	Almi_8	Almi_9	Almi_10
2,5-Dihydroxybenzoic acid (Gentisic acid)	224.715	0.5-5	242.618	0,9784	$y = 224715x + 242618$	0,530	0,360	0,650	0,540	0,510	0,570	0,360	0,450	0,420	0,460
2-cis,4-trans-Abscisic acid	221.188	0.5-5	52.472	0,9965	$y = 221188x + 52472$	0,090	0,110	0,120	0,130	0,100	0,090	0,090	0,110	0,150	0,150
3,4-Dihydroxyphenylacetic acid	71.422					4,16	4,39	4,75	5,15	6,60	6,68	8,60	5,39	4,76	17,4
3,4-Dihydroxybenzoic acid (Protocatechuic acid)	11.957					14,7	8,32	22,2	30,5	40,5	14,8	2,85	3,24	1,93	0,950
3-hydroxybenzoic acid	147.075	0.5-5	52.568	0,9935	$y = 147075x + 52568$	7,46	6,58	8,67	8,17	6,75	6,83	7,41	7,32	8,46	4,67

					5x+ 52568											
Analyte	slope (b)	Calibrati on range	a	R ²	Regressi on $y = bx + a$	Almi_1	Almi_2	Almi_3	Almi_4	Almi_5	Almi_6	Almi_7	Almi_8	Almi_9	Almi_10	
4- hydroxy benzoic acid	149.449	0.5-5	52.877	0,9934	$y=14944$ $9x +$ 52877	0,650	0,570	0,770	0,780	0,600	0,620	0,670	0,840	0,850	0,620	
Apigenin	1.600.00 0	0.5-5	879.095	0,9805	$y=16000$ $00x+879$ 095	0,0900	0,0600	0,0500	0,0700	0,0500	0,0800	0,0600	0,0600	0,0600	0,0800	
Apigenin 7- glucosid e	1.600.00 0		4.120	0,9746	$y=4239x$ $+ 4120$	0,00	0,00	0,0100	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	
Beta- hydroxy acteoside	256.830					0,270	0,500	0,470	0,540	0,310	0,700	0,0800	0,0200	0,00	0,0300	
Caffeic acid	259.673	0.5-5	30.046	0,9987	$y=25967$ $3x +$ 30046	10,2	9,16	3,17	2,69	6,03	10,53	0,160	0,0400	0,0500	0,0400	
Caffeoyl 6- secologa noside	259.673					0,440	0,610	7,66	6,95	0,40	1,92	4,78	0,390	0,220	0,700	

Catechin	6.849	0.5-5	(-) 1023,4	0,9991	$y=6849x - 1023,4$	0,910	0,940	0,920	1,83	1,28	1,35	1,56	1,93	1,88	2,32
Catechol	2.424.860					0,270	0,330	0,190	0,600	2,38	0,510	1,23	6,01	2,73	3,94
Chlorogenic acid	77.106	0.5-5	55.021	0,9931	$y=77106x + 55021$	0,110	0,0900	0,150	0,170	0,100	0,180	0,100	0,00	0,00	0,00
Chrysin	1.600.000	0.5-5	954.133	0,9885	$y=160000x+954133$	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Cinnamic acid	24.557	1.0-5	6.772	0,9587	$y=24557x + 6772$	9,42	7,41	8,08	11,57	5,69	8,99	24,90	22,20	17,11	22,43
Citric acid	52.015					0,380	0,180	0,0800	0,0800	0,0400	1,04	0,140	0,0500	0,0500	0,0300
Comsologoside	66.053					7,75	9,37	87,7	97,9	6,33	25,0	43,1	3,42	3,21	10,39
Dihydrooleuropein	256.830					0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Diosmetin	9.309					17,9	13,1	13,5	15,5	12,5	20,6	12,6	11,1	10,8	15,5
Epicatechin	56.291	0.5-10	(-13485)	0,9993	$y=56291x - 13485$	0,240	0,250	0,180	0,410	0,310	0,310	0,420	0,530	0,510	0,560
Eriodictyol	31.725					0,190	0,190	0,170	0,300	0,180	0,410	0,200	0,290	0,170	0,460

Ferulic acid	47.085	1.0-5	31.851	0,9922	$y=47085x + 31851$	1,12	1,57	3,32	2,58	1,01	1,04	4,32	5,38	2,52	1,63
Gallic acid	174.476					0,140	0,130	0,140	0,130	0,250	0,110	0,0500	0,0900	0,0600	0,0500
Homovanillic acid	18.533	0.5-5	13.108	0,9945	$y=18533x + 13108$	74,0	38,0	19,0	71,0	48,0	31,0	54,0	235	139	181
Hydroxytyrosol	168.181					205	199	202	201	190	207	176	192	207	190
Isoverbascoside	66.053					30,9	87,2	66,6	80,0	29,61	151	13,9	6,11	2,49	2,85
Isofraxidin	120.903	0.5-2	149.824	0,8079	$y=120903x + 149824$	0,160	0,170	0,350	0,360	0,180	0,380	0,250	0,100	0,100	0,120
Isorhoifolin	120.903					0,420	0,650	0,760	0,840	0,590	0,830	0,00	0,00	0,00	0,310
Luteolin	353.805	1.0-10	42.341	1	$y=353805x + 42341$	4,54	4,57	4,09	5,51	4,26	7,46	4,94	4,46	3,28	5,52
Ligstroside aglycone	1.537.892					0,0200	0,0100	0,0200	0,0200	0,0400	0,0300	0,0100	0,00	0,0100	0,0100
Luteolin 3-glucoside	353.805					0,0200	0,0300	0,0500	0,08000	0,0300	0,0700	0,0300	0,0200	0,0200	0,0500
Luteolin 4-	353.805					0,0700	0,0700	0,190	0,190	0,0800	0,280	0,0900	0,0500	0,0200	0,03000

glucoside															
Luteolin 7-glucoside	353.805					0,100	0,130	0,230	0,320	0,130	0,300	0,110	0,0800	0,0700	0,230
Maslinic acid	240.263	0.5-5	226.925	0,9854	$y=240263x + 226925$	2,66	2,07	2,71	2,71	2,04	2,60	2,10	3,23	2,93	2,72
Naringenin	2.600.000	0.5-10	4.600.000	0,9613	$y=2600000x + 4600000$	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01
Oleacein	303.085					3,60	1,15	1,03	1,72	7,51	6,57	0,300	0,170	0,460	0,320
Oleocanthal	201.870					0,280	0,240	0,230	0,220	0,300	0,330	0,170	0,180	0,250	0,310
Oleocanthalic acid	217.686					2,62	1,40	1,60	1,44	4,15	3,47	0,880	0,780	1,68	0,960
Oleokoronal	30.794		138	0,9083	$y=221,14x + 138$	1,70	1,47	4,50	3,33	5,58	8,74	0,87	0,69	1,22	0,79
Oleomissional	346.371		-15,25	1	$y=244,25x - 15,25$	1,46	0,840	1,04	1,25	1,79	1,06	0,390	0,140	0,380	0,300
Oleoside	256.830					0,00	0,0300	0,120	0,150	0,0700	0,130	0,00	0,00	0,00	0,00
Oleuropein	256.830					5,69	9,29	16,9	13,3	10,5	23,5	0,450	0,150	0,590	0,250
Oleuropein aglycone	1.149.963					0,560	0,460	0,520	0,740	1,57	0,700	0,110	0,0300	0,100	0,0700

Pinobanksin	2.600.000	0.5-2	4.600.000	0,9615	$y=260000x + 4600000$	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,0100
Pinocebrin	2.600.000	1.0-10	3.600.000	0,9648	$y=260000x + 3600000$	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Pinoresinol	132.836	0.5-10	67.124	0,9938	$y=132836x+67124$	0,250	0,240	0,190	0,210	0,320	0,440	0,0700	0,0300	0,0200	0,0600
Quercetin	80.929	0.5-5	71.825	0,9660	$y=80929x+71825$	0,630	0,650	0,690	0,930	0,670	1,77	0,910	0,860	0,560	1,22
Quinic acid	186.687	0.5-10	409.012	0,9770	$y = 186687x + 409012$	0,540	0,320	0,0900	0,0900	0,170	1,70	0,0700	0,0100	0,0300	0,0100
Rutin	2.600.000					0,01000	0,0100	0,0300	0,0400	0,0100	0,0400	0,00	0,00	0,00	0,0100
Salicylic acid	284.394	0.5-10	465.429	0,9827	$y = 284394x + 465429$	0,460	0,360	0,450	0,380	0,400	0,430	0,350	0,470	0,440	0,440
Scopoletin	156.866	0.5-10	-	0,9852	$y = 156866x$	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Sinapic acid	94.932	0.5-10	76.027	0,9888	$y = 94932x + 76027$	0,500	0,490	0,960	0,590	0,530	0,450	0,180	0,0900	0,230	0,200

Taxifolin (Dihydroquercetin)	148.966					0,0200	0,0200	0,0300	0,0400	0,0200	0,0500	0,0300	0,0500	0,0300	0,0700
Tyrosol	70.428	0.5-10		0,9913	$y = 70428x$	278	251	235	266	274	281	229	248	290	248
Vanillic acid	46.319	0.5-10	19.603	0,9976	$y = 46319x + 19603$	1,52	1,33	1,60	0,700	1,52	1,24	1,41	1,41	0,790	0,610
Vanillin	710.506					2,82	1,96	1,76	2,54	2,79	2,14	1,72	0,840	1,91	1,96
Verbascoside	66.053					58,6	163	162	157	92,9	199	21,3	11,2	4,77	3,84
benzoic acid	34.362					3,44	2,59	2,92	6,72	2,94	3,14	5,80	18,6	11,3	18,6
p-coumaric acid	155.521	0.5-10	274.886	0,9537	$y = 155521x + 274886$	0,23	0,14	0,23	0,24	0,24	0,24	0,41	0,40	0,25	0,61
						758	835	891	1.006	775	1.039	630	794	726	743

Analyte	slope (b)	Calibration range	a	R ²	Regression	Almi_11	Almi_12	Almi_13	Almi_14	Almi_15	Almi_16	Almi_17	Almi_18	Almi_19	Almi_20
2,5-Dihydroxybenzoic acid (Gentisic acid)	224.715	0.5-5	242.618	0,9784	$y = 224715x + 242618$	0,450	0,520	0,570	0,460	0,560	0,260	0,450	0,270	0,200	0,780
2-cis,4-trans-Abscisic acid	221.188	0.5-5	52.472	0,9965	$y = 221188x + 52472$	0,110	0,100	0,120	0,0700	0,100	0,0900	0,100	0,110	0,0800	0,120
3,4-Dihydroxyphenylacetic acid	71.422					12,3	2,77	6,33	6,64	11,04	3,90	9,90	10,8	4,38	8,89
3,4-Dihydroxybenzoic acid (Protocatechuic acid)	11.957					3,20	1,72	4,84	14,2	4,07	2,38	1,45	0,590	0,580	1,66
3-hydroxybenzoic acid	147.075	0.5-5	52.568	0,9935	$y = 147075x + 52568$	3,99	6,95	8,80	6,94	5,02	7,21	3,52	3,16	4,14	4,75
4-hydroxybenzoic acid	149.449	0.5-5	52.877	0,9934	$y = 149449x + 52877$	0,620	0,730	0,820	0,600	0,810	0,600	0,500	0,440	0,470	0,670
Apigenin	1.600.000	0.5-5	879.095	0,9805	$y = 1600000x + 879095$	0,0600	0,100	0,160	0,0900	0,0900	0,0500	0,0500	0,0500	0,0300	0,120
Apigenin 7-glucoside	1.600.000		4.120	0,9746	$y = 4239x + 4120$	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,0100	0,00	0,00	0,00
Beta-hydroxyacteoside	256.830					0,300	0,0400	0,00	0,590	0,0700	0,00	0,210	0,430	0,150	0,0900
Caffeic acid	259.673	0.5-5	30.046	0,9987	$y = 259673x + 30046$	0,0500	0,0500	0,0500	8,56	0,0500	0,0700	0,0400	0,0300	0,0500	0,0600

Caffeoyl 6-secoliganoside	259.673					10,1	1,15	1,12	1,67	3,51	0,310	12,5	13,3	8,26	12,8
Catechin	6.849	0.5-5	(-) 1023,4	0,999 1	$y=6849x - 1023,4$	1,16	1,34	1,99	1,43	2,04	1,93	1,11	1,49	1,07	1,94
Catechol	2.424.8 60					0,710	1,31	4,98	1,09	1,50	1,77	0,80	0,98	1,24	2,65
Chlorogenic acid	77.106	0.5-5	55.021	0,993 1	$y=77106x + 55021$	0,110	0,060	0,00	0,0700	0,0900	0,0500	0,100	0,0800	0,140	0,0900
Chrysin	1.600.0 00	0.5-5	954.133	0,988 5	$y=1600000x+954133$	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Cinnamic acid	24.557	1.0-5	6.772	0,958 7	$y=24557x + 6772$	13,3	25,6	36,6	10,1	15,4	24,7	12,6	19,5	16,9	20,2
Citric acid	52.015					0,100	0,0700	0,0400	0,570	0,0700	0,0500	0,0900	0,0900	0,0500	0,0700
Comselogoside	66.053					115	11,2	16,4	28,8	43,9	3,78	127	123	106	115
Dihydro-oleuropein	256.830					0,00	0,0100	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Diosmetin	9.309					13,8	16,4	26,3	15,5	18,4	8,85	13,3	13,8	7,37	23,3
Epicatechin	56.291	0.5-10	(-) 13485)	0,999 3	$y=56291x - 13485$	0,30	0,390	0,540	0,420	0,520	0,510	0,300	0,430	0,240	0,450
Eriodictyol	31.725					0,290	0,180	0,380	0,430	0,500	0,240	0,250	0,330	0,180	0,330
Ferulic acid	47.085	1.0-5	31.851	0,992 2	$y=47085x + 31851$	4,99	4,86	2,13	1,28	4,51	3,10	5,34	3,23	3,49	3,07
Gallic acid	174.476					0,0700	0,0600	0,0600	0,170	0,0600	0,0500	0,0400	0,0400	0,0500	0,0600
Homovanillic acid	18.533	0.5-5	13.108	0,994 5	$y=18533x + 13108$	12,0	94,0	382	74,0	9,00	349	173	59,0	72,0	458
Hydroxytyrosol	168.181					189	186	197	173	200	180	198	184	182	198

Iso-verbascoside	66.053					68,34	4,57	1,72	33,68	2,80	0,94	68,43	78,57	29,66	11,59
Isofraxidin	120.903	0.5-2	149.824	0,807 9	$y=120903x + 149824$	0,330	0,120	0,140	0,270	0,190	0,110	0,390	0,470	0,330	0,390
Isorhoifolin	120.903					0,470	0,00	0,00	0,360	0,310	0,00	1,03	1,08	0,750	0,510
Luteolin	353.805	1.0-10	42.341	1	$y=353805x + 42341$	5,59	5,35	8,80	7,39	5,40	4,05	5,51	6,65	3,89	8,40
Ligstroside aglycone	1.537.8 92					0,0200	0,0100	0,0100	0,0100	0,0200	0,0100	0,0100	0,0100	0,0100	0,0100
Luteolin 3-glucoside	353.805					0,0500	0,0300	0,0800	0,0600	0,0500	0,0100	0,120	0,180	0,0700	0,0900
Luteolin 4-glucoside	353.805					0,130	0,0400	0,0300	0,0300	0,0300	0,00	0,710	0,510	0,400	0,16
Luteolin 7-glucoside	353.805					0,200	0,110	0,350	0,250	0,210	0,0600	0,530	0,790	0,290	0,410
Maslinic acid	240.263	0.5-5	226.925	0,985 4	$y=240263x + 226925$	2,08	3,23	2,94	1,68	2,62	1,33	2,48	2,01	4,54	4,62
Naringenin	2.600.0 00	0.5-10	4.600.0 00	0,961 3	$y=2600000x + 4600000$	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01
Oleacein	303.085					0,470	0,230	0,230	1,35	0,560	0,260	0,320	0,220	0,360	0,330
Oleocanthal	201.870					0,520	0,280	0,330	0,160	0,640	0,310	0,470	0,300	0,640	0,310
Oleocanthalic acid	217.686					1,05	1,12	0,79	0,83	1,40	0,570	0,970	0,990	0,700	0,880
Oleokoronal	30.794		138	0,908 3	$y=221,14x + 138$	3,48	0,890	0,660	1,43	1,31	0,690	6,56	1,63	4,99	1,14
Oleomissional	346.371		-15,25	1	$y=244,25x - 15,25$	0,990	0,120	0,210	0,450	1,47	0,160	0,410	0,530	0,580	0,720
Oleoside	256.830					0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,110	0,00	0,180	0,00
Oleuropein	256.830					5,71	0,220	0,270	1,93	0,78	0,0900	7,56	4,20	9,30	1,15

Oleuropein aglycone	1.149,963					0,480	0,0200	0,0300	0,220	0,530	0,0300	0,110	0,180	0,110	0,260
Pinobanksin	2.600,000	0.5-2	4.600,000	0,9615	$y=2600000x + 4600000$	0,00	0,00	0,0100	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,0100
Pinocembrin	2.600,000	1.0-10	3.600,000	0,9648	$y=2600000x + 3600000$	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Pinoresinol	132.836	0.5-10	67.124	0,9938	$y=132836x+67124$	0,160	0,0300	0,0300	0,160	0,110	0,0100	0,330	0,120	0,190	0,100
Quercetin	80.929	0.5-5	71.825	0,9660	$y=80929x+71825$	1,31	1,07	3,04	2,73	1,40	1,10	1,45	1,67	0,850	2,57
Quinic acid	186.687	0.5-10	409.012	0,9770	$y = 186687x + 409012$	0,0800	0,0300	0,0300	0,660	0,0300	0,0300	0,0500	0,0400	0,0100	0,0200
Rutin	2.600,000					0,00	0,00	0,00	0,0300	0,0100	0,00	0,0400	0,0600	0,0200	0,0300
Salicylic acid	284.394	0.5-10	465.429	0,9827	$y = 284394x + 465429$	0,460	0,370	0,430	0,400	0,470	0,350	0,430	0,420	0,390	0,490
Scopoletin	156.866	0.5-10	-	0,9852	$y = 156866x$	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Sinapic acid	94.932	0.5-10	76.027	0,9888	$y = 94932x + 76027$	0,370	0,150	0,120	0,370	0,160	0,0800	0,250	0,320	0,520	0,220
Taxifolin (Dihydro quercetin)	148.966					0,0300	0,0200	0,0800	0,0900	0,0500	0,0400	0,0200	0,0600	0,0200	0,0600
Tyrosol	70.428	0.5-10		0,9913	$y = 70428x$	257	244	260	230	298	229	273	251	233	256
Vanillic acid	46.319	0.5-10	19.603	0,9976	$y = 46319x + 19603$	0,470	1,34	1,11	1,30	0,700	2,00	0,540	0,310	0,430	0,540
Vanillin	710.506					1,60	1,10	2,04	1,54	1,87	1,32	1,75	1,97	1,26	1,87

Verbascoside	66.053					166	10,6	4,37	82,2	6,59	2,44	162	183	81,7	14,2
benzoic acid	34.362					15,4	10,4	25,1	2,27	16,3	16,9	16,4	8,25	7,13	32,5
p-coumaric acid	155.521	0.5-10	274.886	0,953 7	$y = 155521x + 274886$	0,690	0,520	0,370	0,200	0,570	0,420	0,620	0,570	0,610	0,390
						915	641	1.004	718	665	852	1.114	982	792	1.192

Analyte	slope (b)	Calibration range	a	R ²	Regression	Olive_1	Olive_2	Olive_3	Olive_4	Olive_5	Olive_6	Olive_7	Olive_8	Olive_9	Olive_10
2,5-Dihydroxybenzoic acid (Gentisic acid)	224.715	0.5-5	242.618	0,9784	$y = 224715x + 242618$	0,220	0,170	0,3200	0,27	0,270	0,340	0,240	0,350	0,320	0,290
2-cis,4-trans-Abscisic acid	221.188	0.5-5	52.472	0,9965	$y=221188x + 52472$	0,140	0,160	0,200	0,200	0,210	0,120	0,180	0,190	0,220	0,290
3,4-Dihydroxyphenylacetic acid	71.422					4,08	4,38	5,90	5,52	7,81	8,31	6,87	4,28	4,45	10,6
3,4-Dihydroxybenzoic acid (Protocatechuic acid)	11.957					5,59	6,19	7,35	6,82	9,49	9,70	2,84	3,62	1,91	2,27
3-hydroxybenzoic acid	147.075	0.5-5	52.568	0,9935	$y=147075x+ 52568$	6,57	7,27	9,51	8,27	9,24	7,36	7,91	8,61	5,34	7,81
4-hydroxybenzoic acid	149.449	0.5-5	52.877	0,9934	$y=149449x + 52877$	0,600	0,640	0,840	0,770	0,830	0,680	0,710	0,760	0,480	0,740
Apigenin	1.600.000	0.5-5	879.095	0,9805	$y=1600000x+879095$	0,850	1,00	0,870	1,09	0,970	0,800	0,890	1,26	1,35	1,16
Apigenin 7-glucoside	1.600.000		4.120	0,9746	$y=4239x + 4120$	0,0100	0,0100	0,0400	0,0400	0,0100	0,0400	0,0200	0,00	0,00	0,00
Beta-hydroxyacteoside	256.830					3,17	10,2	6,33	4,02	10,5	16,0	0,510	0,250	0,160	0,230
Caffeic acid	259.673	0.5-5	30.046	0,9987	$y=259673x + 30046$	5,13	5,45	2,54	2,17	4,65	5,21	0,250	0,230	0,370	0,250
Caffeoyl 6-secologanoside	259.673					4,60	5,41	16,0	12,2	3,81	9,64	12,1	1,56	3,20	4,19
Catechin	6.849	0.5-5	(-)1023,4	0,9991	$y=6849x - 1023,4$	1,11	1,29	1,23	1,32	2,13	1,91	1,66	1,74	2,52	2,19
Catechol	2.424.860					0,290	0,500	0,280	0,870	3,42	0,660	1,73	10,2	4,69	7,56
Chlorogenic acid	77.106	0.5-5	55.021	0,9931	$y=77106x + 55021$	0,370	0,240	0,340	0,860	0,370	1,33	0,190	0,190	0,130	0,210
Chrysin	1.600.000	0.5-5	954.133	0,9885	$y=1600000x+954133$	0,0100	0,0100	0,0100	0,0100	0,0100	0,0100	0,0100	0,0100	0,0100	0,0100

Cinnamic acid	24.557	1.0-5	6.772	0,9587	$y=24557x + 6772$	7,96	6,85	7,61	7,91	5,91	7,70	19,7	29,9	16,2	20,3
Citric acid	52.015					18,7	14,6	6,95	0,890	7,15	25,4	1,69	0,810	0,360	0,320
Comselogoside	66.053					93,0	80,2	224	279	70,6	129	213	19,6	109	78,3
Dihydro-oleuropein	256.830					0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Diosmetin	9.309					158	172	176	187	194	157	171	186	200	168

Epicatechin	56.291	0.5-10	(-13485)	0,9993	$y=56291x - 13485$	0,400	0,410	0,360	0,400	0,570	0,520	0,540	0,620	0,680	0,610
Eriodictyol	31.725					1,88	2,18	2,52	3,78	2,90	4,76	1,89	3,71	3,06	5,82
Ferulic acid	47.085	1.0-5	31.851	0,9922	$y=47085x + 31851$	1,53	2,04	3,43	2,81	1,82	1,27	3,90	3,89	1,98	1,37
Gallic acid	174.476					0,140	0,110	0,120	0,0900	0,140	0,0900	0,0700	0,100	0,0700	0,0500
Homovanillic acid	18.533	0.5-5	13.108	0,9945	$y=18533x + 13108$	22,6	11,7	8,00	29,2	11,5	10,2	44,4	139	80,4	146
Hydroxytyrosol	168.181					301	309	318	330	291	317	258	282	299	306
Iso-verbascoside	66.053					44,4	168	175	98,8	42,3	300	17,8	7,28	6,85	31,37
Isofraxidin	120.903	0.5-2	149.824	0,8079	$y=120903x + 149824$	0,390	0,320	0,770	0,630	0,390	0,860	0,670	0,190	0,290	0,330
Isorhoifolin	120.903					2,02	2,13	3,06	2,89	2,71	2,20	2,36	0,12	1,34	2,24
Luteolin	353.805	1.0-10	42.341	1	$y=353805x + 42341$	82,0	97,6	94,5	96,90	100	112	90,9	112	126	107
Ligstroside aglycone	1.537.892					0,0800	0,0600	0,0900	0,130	0,240	0,120	0,0500	0,0200	0,0500	0,0200
Luteolin 3-glucoside	353.805					0,360	0,370	0,950	0,960	0,460	0,660	0,490	0,320	0,650	0,520
Luteolin 4-glucoside	353.805					1,76	1,19	4,89	6,34	1,58	4,29	3,33	0,760	1,11	0,680
Luteolin 7-glucoside	353.805					1,49	1,57	4,00	4,04	1,91	2,77	1,97	1,32	2,76	2,25
Maslinic acid	240.263	0.5-5	226.925	0,9854	$y=240263x + 226925$	5,98	6,63	5,94	7,38	4,36	5,48	4,80	6,19	4,64	5,77

Naringenin	2.600.000	0.5-10	4.600.000	0,9613	$y=2600000x + 4600000$	0,0400	0,0500	0,0400	0,0600	0,0500	0,0500	0,0200	0,0600	0,0400	0,110
Oleacein	303.085					6,17	2,16	2,20	5,06	10,5	10,8	0,560	0,140	0,720	0,340
Oleocanthal	201.870					0,380	0,380	0,330	0,400	0,650	0,630	0,260	0,160	0,380	0,310
Oleocanthalic acid	217.686					3,17	1,62	1,98	1,76	6,89	3,73	0,930	0,690	1,48	0,850
Oleokoronal	30.794		138	0,9083	$y=221,14x + 138$	2,53	1,69	8,43	22,5	5,35	15,5	3,17	1,12	2,06	1,58

Oleomissional	346.371		-15,25	1	$y=244,25x-15,25$	0,960	1,11	1,54	2,89	1,50	1,10	0,780	0,240	0,660	0,700
Oleoside	256.830					3,20	2,75	6,43	9,78	4,72	5,92	1,06	0,340	0,190	0,00
Oleuropein	256.830					10,3	12,7	27,8	56,9	13,1	28,7	2,83	0,53	1,14	1,73
Oleuropein aglycone	1.149.963					0,380	0,380	0,600	0,950	1,09	0,470	0,240	0,020	0,200	0,160
Pinobanksin	2.600.000	0.5-2	4.600.000	0,9615	$y=2600000x + 4600000$	0,0400	0,0500	0,0400	0,0700	0,0500	0,0600	0,0200	0,0600	0,0400	0,110
Pinocembrin	2.600.000	1.0-10	3.600.000	0,9648	$y=2600000x + 3600000$	0,0200	0,0200	0,100	0,100	0,0300	0,100	0,0200	0,0400	0,0200	0,0700
Pinoresinol	132.836	0.5-10	67.124	0,9938	$y=132836x+67124$	1,47	1,56	1,77	1,27	2,73	2,32	0,600	0,210	0,330	0,430
Quercetin	80.929	0.5-5	71.825	0,9660	$y=80929x+71825$	19,4	26,3	27,1	25,9	23,7	42,2	25,4	48,3	37,2	50,5
Quinic acid	186.687	0.5-10	409.012	0,9770	$y = 186687x + 409012$	41,3	35,6	17,2	18,4	49,8	43,0	0,7700	0,73	0,140	1,39
Rutin	2.600.000					0,120	0,110	0,460	0,440	0,180	0,280	0,0400	0,0100	0,0400	0,160
Salicylic acid	284.394	0.5-10	465.429	0,9827	$y = 284394x + 465429$	0,700	0,650	0,790	0,610	0,800	0,740	0,600	0,750	0,760	0,710
Scopoletin	156.866	0.5-10	-	0,9852	$y = 156866x$	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Sinapic acid	94.932	0.5-10	76.027	0,9888	$y = 94932x + 76027$	2,80	1,99	4,03	2,80	3,16	2,34	1,01	0,300	0,870	0,970
Taxifolin (Dihydro quercetin)	148.966					0,160	0,190	0,260	0,240	0,280	0,350	0,120	0,270	0,140	0,350
Tyrosol	70.428	0.5-10		0,9913	$y = 70428x$	371	356	347	338	396	356	298	283	374	313
Vanillic acid	46.319	0.5-10	19.603	0,9976	$y = 46319x + 19603$	1,04	1,35	1,71	0,57	1,42	1,52	0,810	1,22	0,730	0,490
Vanillin	710.506					2,67	2,17	1,76	2,91	5,28	2,73	1,81	0,82	1,37	1,86
Verbascoside	66.053					138	351	279	346	123	384	31,3	14,5	12,1	77,2

benzoic acid	34.362					3,71	3,47	3,67	5,12	4,16	3,89	3,40	16,5	3,47	18,3
p-coumaric acid	155.521	0.5-10	274.886	0,9537	$y = 155521x + 274886$	0,390	0,320	0,430	0,550	0,580	0,530	0,510	0,470	0,390	0,770
						1.386	1.725	1.823	1.949	1.449	2.052	1.248	1.199	1.319	1.387

Analyte	slope (b)	Calibration range	a	R ²	Regression	Olive_11	Olive_12	Olive_13	Olive_14	Olive_15	Olive_16	Olive_17	Olive_18	Olive_19	Olive_20
	224.715	0.5-5	242.618	0,9784	$y = 224715x + 242618$	0,320	0,570	0,370	0,220	0,400	0,230	0,300	0,230	0,250	0,230
2-cis,4-trans-Absciscic acid	221.188	0.5-5	52.472	0,9965	$y=221188x + 52472$	0,210	0,260	0,220	0,120	0,300	0,170	0,250	0,210	0,300	0,240
3,4-Dihydroxyphenylacetic acid	71.422					2,5-Dihydroxybenzoic acid (Gentisic acid)	2,79	5,11	6,58	10,2	3,50	9,46	8,77	6,65	5,62
3,4-Dihydroxybenzoic acid (Protocatechuic acid)	11.957					6,22	2,04	2,95	8,37	4,68	2,76	8,50	3,67	3,96	4,96
3-hydroxybenzoic acid	147.075	0.5-5	52.568	0,9935	$y=147075x + 52568$	10,7	8,89	8,39	7,78	10,2	8,97	8,49	7,06	6,38	7,50
4-hydroxybenzoic acid	149.449	0.5-5	52.877	0,9934	$y=149449x + 52877$	0,95	0,78	0,72	0,68	0,90	0,73	0,75	0,61	0,57	0,66
Apigenin	1.600.000	0.5-5	879.095	0,9805	$y=1600000x+879095$	1,04	1,52	1,81	1,53	0,900	1,85	0,910	0,950	0,760	1,10
Apigenin 7-glucoside	1.600.000		4.120	0,9746	$y=4239x + 4120$	0,0600	0,0100	0,00	0,0200	0,0500	0,00	0,0600	0,0600	0,0500	0,0300
Beta-hydroxyacteoside	256.830					1,49	0,260	0,190	8,56	2,05	0,200	0,900	2,23	0,690	0,540
Caffeic acid	259.673	0.5-5	30.046	0,9987	$y=259673x + 30046$	0,950	0,230	0,370	7,56	0,440	0,150	0,610	0,550	0,380	0,490
Caffeoyl 6-secologanoside	259.673					18,3	5,00	4,50	7,53	18,0	3,55	21,3	18,3	17,2	14,3
Catechin	6.849	0.5-5	(-)1023,4	0,9991	$y=6849x - 1023,4$	1,43	1,74	1,85	2,45	1,60	1,92	2,04	1,87	1,31	1,30
Catechol	2.424.860					1,23	2,39	9,33	1,44	1,88	2,00	1,18	1,42	1,95	2,91
Chlorogenic acid	77.106	0.5-5	55.021	0,9931	$y=77106x + 55021$	0,190	0,140	0,150	0,230	0,360	0,0900	0,660	0,180	0,510	0,180
Chrysin	1.600.000	0.5-5	954.133	0,9885	$y=1600000x+954133$	0,0100	0,0100	0,0200	0,0100	0,0100	0,0100	0,0100	0,0100	0,0100	0,0100
Cinnamic acid	24.557	1.0-5	6.772	0,9587	$y=24557x + 6772$	15,1	22,3	32,4	6,45	19,9	19,3	13,3	23,5	16,0	22,6
Citric acid	52.015					0,800	0,370	0,590	7,50	2,43	0,420	2,23	1,14	0,870	1,80
Comselogoside	66.053					322	75,6	74,5	131	292	63,9	307	296	301	214
Dihydro-oleuropein	256.830					0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Diosmetin	9.309					188	223	255	250	188	230	184	193	148	176
Epicatechin	56.291	0.5-10	(-13485)	0,9993	$y=56291x - 13485$	0,430	0,610	0,710	0,640	0,470	0,560	0,490	0,520	0,340	0,420
Eriodictyol	31.725					4,62	3,00	6,05	9,86	3,01	4,70	2,34	4,24	3,86	3,02
Ferulic acid	47.085	1.0-5	31.851	0,9922	$y=47085x + 31851$	3,62	3,69	1,72	1,59	3,37	1,79	3,77	2,67	3,04	2,25
Gallic acid	174.476					0,110	0,0800	0,0900	0,160	0,0600	0,0600	0,120	0,0800	0,0700	0,0800
Homovanillic acid	18.533	0.5-5	13.108	0,9945	$y=18533x + 13108$	158	75,0	249	30,0	107	313	148	35,0	67,0	250
Hydroxytyrosol	168.181					330	291	293	244	312	260	322	275	290	292
Iso-verbascoside	66.053					193	14,4	11,5	51,9	85,1	7,04	168	188	81,8	46,9
Isofraxidin	120.903	0.5-2	149.824	0,8079	$y=120903x + 149824$	0,860	0,320	0,330	0,600	0,760	0,290	0,830	0,910	0,750	0,680
Isorhoifolin	120.903					2,91	0,860	1,05	3,40	3,00	0,470	3,38	3,64	3,24	1,71
Luteolin	353.805	1.0-10	42.341	1	$y=353805x + 42341$	105	124	157	151	120	142	119	122	96,14	111
Ligstroside aglycone	1.537.892					0,120	0,0300	0,0200	0,0600	0,0500	0,0200	0,0700	0,0300	0,0400	0,0300
Luteolin 3-glucoside	353.805					0,940	0,480	1,03	1,26	0,760	0,410	0,970	1,28	0,730	0,600
Luteolin 4-glucoside	353.805					8,36	1,57	0,820	1,95	6,91	1,84	8,15	8,91	8,44	3,49
Luteolin 7-glucoside	353.805					3,78	1,94	4,18	4,90	2,97	1,51	3,65	4,60	2,71	1,98
Maslinic acid	240.263	0.5-5	226.925	0,9854	$y=240263x + 226925$	6,50	5,00	5,01	5,96	5,50	6,45	6,24	5,57	9,58	11,1
Naringenin	2.600.000	0.5-10	4.600.000	0,9613	$y=2600000x + 4600000$	0,0400	0,0400	0,0900	0,110	0,0400	0,0700	0,0300	0,0400	0,0300	0,0600
Oleacein	303.085					0,760	0,270	0,170	2,92	0,550	0,160	0,430	0,270	0,310	0,280
Oleocanthal	201.870					0,430	0,240	0,250	0,270	0,340	0,190	0,340	0,360	0,250	0,360
Oleocanthalic acid	217.686					1,06	0,980	0,700	1,17	1,17	0,550	1,05	0,840	0,900	0,670
Oleokoronol	30.794		138	0,9083	$y=221,14x + 138$	12,0	2,28	1,39	2,61	8,99	1,54	11,1	6,26	9,41	2,80
Oleomissional	346.371		-15,25	1	$y=244,25x - 15,25$	1,95	0,300	0,470	0,510	2,46	0,400	0,830	1,24	1,23	1,62
Oleoside	256.830					7,41	0,420	0,190	0,730	11,6	0,00	10,7	9,44	17,3	2,34

Oleuropein	256.830					26,4	1,27	0,710	4,61	21,93	1,16	14,1	14,0	19,8	5,39
Oleuropein aglycone	1.149.963					0,690	0,0500	0,0700	0,180	0,660	0,0900	0,190	0,280	0,240	0,460
Pinobanksin	2.600.000	0.5-2	4.600.000	0,9615	$y=2600000x + 4600000$	0,0400	0,0400	0,0900	0,110	0,0400	0,0800	0,0300	0,0400	0,0300	0,0700
Pinocebrin	2.600.000	1.0-10	3.600.000	0,9648	$y=2600000x + 3600000$	0,140	0,0400	0,0900	0,110	0,0300	0,0700	0,0600	0,0400	0,0300	0,100
Pinoresinol	132.836	0.5-10	67.124	0,9938	$y=132836x+67124$	1,21	0,570	0,250	1,76	0,830	0,180	2,34	0,890	1,92	0,500
Quercetin	80.929	0.5-5	71.825	0,9660	$y=80929x+71825$	35,2	43,1	101	97,9	43,7	81,4	55,0	54,2	32,7	55,0
Quinic acid	186.687	0.5-10	409.012	0,9770	$y = 186687x + 409012$	2,45	0,180	0,190	10,5	0,680	0,140	2,79	1,03	1,48	0,930
Rutin	2.600.000					0,470	0,0500	0,0800	0,490	0,260	0,0300	0,310	0,620	0,210	0,230
Salicylic acid	284.394	0.5-10	465.429	0,9827	$y = 284394x + 465429$	0,730	0,580	0,610	0,590	0,730	0,510	0,630	0,550	0,610	0,590
Scopoletin	156.866	0.5-10	-	0,9852	$y = 156866x$	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Sinapic acid	94.932	0.5-10	76.027	0,9888	$y = 94932x + 76027$	2,33	0,680	0,380	2,28	2,54	0,300	1,02	1,47	1,41	1,16
Taxifolin (Dihydro quercetin)	148.966					0,210	0,130	0,530	0,820	0,150	0,350	0,180	0,280	0,160	0,270
Tyrosol	70.428	0.5-10		0,9913	$y = 70428x$	402	336	327	278	394	255	372	315	311	291
Vanillic acid	46.319	0.5-10	19.603	0,9976	$y = 46319x + 19603$	0,610	1,00	0,870	1,29	0,920	2,26	1,18	0,500	1,02	0,480
Vanillin	710.506					1,73	1,06	2,05	1,71	1,70	1,43	1,68	1,65	1,37	1,53
Verbascoside	66.053					286	53,2	36,4	222	312	25,2	357	330	262	92,4
benzoic acid	34.362					19,2	8,38	7,17	3,15	13,4	2,58	16,7	5,76	9,40	18,5
p-coumaric acid	155.521	0.5-10	274.886	0,9537	$y = 155521x + 274886$	0,720	0,630	0,670	0,280	0,760	0,470	0,780	0,800	0,780	0,460
						2.202	1.321	1.613	1.590	2.027	1.455	2.199	1.956	1.749	1.657

Παράρτημα 4α: Οι 8 κυριότερες σε συγκέντρωση πολυφαινόλες στην άλμη (μg/g) από δείγματα που προήλθαν από συμβατική καλλιέργεια

Φαινολική ένωση	1 Άλμη	2 Άλμη	3 Άλμη	4 Άλμη	5 Άλμη	6 Άλμη	7 Άλμη	8 Άλμη	9 Άλμη	10 Άλμη
Tyrosol	278,0	251,0	235,0	266,0	274,0	281,0	229,0	248,0	290,0	248,0
Hydroxytyrosol	205,0	199,0	202,0	201,0	190,0	207,0	176,0	192,0	207,0	190,0
Homovanillic acid	74,4	38,4	19,1	71,1	47,8	31,1	54,0	235,0	139,0	181,0
Verbascoside	58,6	163,0	162,0	157,0	92,9	199,0	21,3	11,2	4,77	3,84
Iso-verbascoside	30,9	87,2	66,6	80,0	29,6	151,0	13,9	6,1	2,5	2,9
Diosmetin	17,9	13,1	13,5	15,5	12,4	20,6	12,6	11,8	10,8	15,5
Oleuropein	5,7	9,3	16,9	13,3	10,5	23,5	0,45	0,15	0,59	0,25
Comselogoside	7,8	9,4	87,7	97,8	6,3	25,0	43,1	3,4	3,2	10,4
Σύνολο(μg/g)	758,0	835,0	891,0	1006,0	775,0	1040,0	630,0	794,0	726,0	743,0

Παράρτημα 4β: Οι 8 κύριες σε ποσότητα πολυφαινόλες των άλμεων σε (μg/g) από δείγματα ελιών βιολογικής γεωργίας

Φαινολική ένωση	11 Άλμη	12 Άλμη	13 Άλμη	14 Άλμη	15 Άλμη	16 Άλμη	17 Άλμη	18 Άλμη	19 Άλμη	20 Άλμη
Tyrosol	257,0	244,0	260,0	230,0	298,0	229,0	273,0	251,0	233,0	256,0
Hydroxytyrosol	189,0	186,0	197,0	173,0	200,0	180,0	198,0	184,0	182,0	198,0
Homovanillic acid	11,7	93,7	382,0	73,8	8,9	349,0	173,0	59,3	71,7	458,0
Verbascoside	166,0	10,6	4,4	82,2	6,6	2,4	162,0	183,0	81,7	14,1
Iso-verbascoside	68,3	4,6	1,7	33,7	2,8	0,94	68,4	78,6	29,7	11,6
Diosmetin	13,8	16,4	26,3	15,5	18,4	8,9	13,3	13,8	7,4	23,3
Oleuropein	5,7	0,22	0,27	1,9	0,78	0,09	7,6	4,2	9,3	1,2
Comselogoside	115,0	11,2	16,4	28,8	43,9	3,8	128,0	122,0	106,0	115,0
Σύνολο (μg/g)	915,0	641,0	1000,0	718,0	665,0	852,0	1110,0	982,0	792,0	1190,0

Παράρτημα 4γ: Οι 11 σημαντικότερες σε συγκέντρωση πολυφαινόλες (μg/g) στις ελιές συμβατικής καλλιέργειας και η συνολική συγκέντρωση των πολυφαινολών ανά δείγμα σύμφωνα με τη μέθοδο UHPLC-QTOF-MS

Φαινολική ένωση	1 Ελιές	2 Ελιές	3 Ελιές	4 Ελιές	5 Ελιές	6 Ελιές	7 Ελιές	8 Ελιές	9 Ελιές	10 Ελιές
Verbascoside	138,0	352,0	279,0	347,0	123,0	385,0	31,3	14,5	12,1	77,2
Quercetin	19,4	26,3	27,1	25,9	23,7	42,2	25,3	48,3	37,2	50,5
Hydroxytyrosol	301,0	309,0	318,0	330,0	291,0	317,0	258,0	282,0	299,0	306,0
Tyrosol	371,0	356	347	338	396	356	298	283	374	313
Diosmetin	158,0	173,0	176,0	188,0	195,0	158,0	172,0	186,0	201,0	169,0
Comselogoside	93,0	80,2	225,0	280,0	70,6	130,0	214,0	19,6	109,0	78,3
Luteolin	82,0	97,6	94,5	96,9	101,0	112,0	90,9	112,0	126,0	107,0
Iso-verbascoside	44,4	168,0	175,0	98,8	42,3	300,0	17,8	7,3	6,9	31,4
Quinic acid	41,3	35,6	17,2	18,4	49,8	43,0	0,77	0,73	0,14	1,4
Oleuropein	10,3	12,7	27,8	56,9	13,1	28,7	2,83	0,533	1,14	1,73
Homovanillic acid	22,6	11,7	7,79	29,2	11,5	10,2	44,4	139,0	80,4	146,0
Συνολική ποσότητα	1390,0	1730,0	1820,0	1950,0	1449,0	2050,0	1250,0	1200,0	1320,0	1390,0

Παράρτημα 4δ: Οι 11 σημαντικότερες σε ποσότητα πολυφαινόλες (μg/g) στις βιολογικές ελιές και η συνολική ποσότητα των πολυφαινολών ανά δείγμα

Φαινολική ένωση	11 Ελιές	12 Ελιές	13 Ελιές	14 Ελιές	15 Ελιές	16 Ελιές	17 Ελιές	18 Ελιές	19 Ελιές	20 Ελιές
Verbascoside	286,0	53,2	36,4	222,0	312,0	25,2	357,0	330,0	262,0	92,4
Quercetin	35,2	43,0	101,0	97,9	43,7	81,4	55,0	54,2	32,7	54,9
Hydroxytyrosol	330,0	291,0	293,0	244,0	312,0	260,0	322,0	275,0	290,0	292,0
Tyrosol	402,0	336,0	327,0	278,0	394,0	255,0	372,0	315,0	311,0	291,0
Diosmetin	188,0	223,0	255,0	250,0	188,0	230,0	184,0	193,0	148,0	176,0
Comselogoside	323,0	75,6	74,5	132,0	293,0	63,9	307,0	296,0	301,0	214,0
Luteolin	105,0	124,0	157,0	151,0	120,0	142,0	119,0	122,0	96,1	111,0
Iso-verbascoside	194,0	14,4	11,5	51,9	85,1	7,0	168,0	188,0	81,8	46,9
Quinic acid	2,5	0,18	0,19	10,5	0,68	0,14	2,8	1,0	1,5	0,9
Oleuropein	26,4	1,3	0,71	4,6	21,9	1,2	14,1	13,9	19,8	5,4
Homovanillic acid	158,0	75,0	249,0	30,0	107,0	313,0	148,0	35,3	66,9	250,0
Συνολική ποσότητα	2200,0	1320,0	1610,0	1590,0	2030,0	1455,0	2200,0	1960,0	1750,0	1660,0

