



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ ΙV: ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ
ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΈΡΕΥΝΑ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΩΝ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΩΝ
ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΚΑΙ ΠΑΛΜΙΚΩΝ ΗΛΕΚΤΡΙΚΩΝ
ΠΕΔΙΩΝ ΣΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΥΨΗΛΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ
ΦΥΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ
ΠΑΡΑΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΤΟΥΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

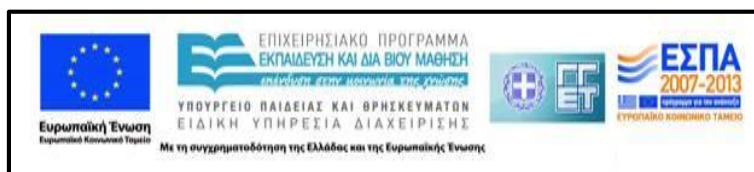
ΒΑΡΒΑΡΑ ΑΝΔΡΕΟΥ
ΧΗΜΙΚΟΣ ΜΗΧΑΝΙΚΟΣ ΕΜΠ

ΑΘΗΝΑ, ΙΟΥΛΙΟΣ 2020

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ανώτατη Σχολή Χημικών Μηχανικών του Ε.Μ. Πολυτεχνείου δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα.

(Ν.5343/1932, Άρθρο 202)

Η παρούσα έρευνα έχει συγχρηματοδοτηθεί μερικώς από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο – ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) – Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: **ΑΡΙΣΤΕΙΑ II** με τίτλο ΗΙΡΕΦΟ-“Μελέτη των νέων τεχνολογιών Υπερυψηλής Πίεσης, Παλλόμενων Ηλεκτρικών Πεδίων και Οζονισμού και εφαρμογή τους στη βελτίωση της ποιότητας και παραγωγικότητας Ελληνικών προϊόντων από φρούτα και λαχανικά”



Πρόλογος

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου υπό την επίβλεψη του Καθηγητή Π. Ταούκη. Με την ολοκλήρωση της διδακτορικής μου διατριβής, σηματοδοτείται το τέλος μίας πολύ εντατικής και δημιουργικής περιόδου της ζωής μου. Αυτά τα έξι χρόνια ήταν γεμάτο αγχωτικές, δύσκολες, παραγωγικές, επιμορφωτικές αλλά και χαρούμενες στιγμές που θα έχω πάντα στο μυαλό μου γιατί με έκαναν να γίνω ακόμα πιο δυνατή και να προχωρήσω παρακάτω φτάνοντας εδώ που είμαι σήμερα.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Καθηγητή μου κ. Πέτρο Ταούκη για την ανάθεση του θέματος της διατριβής αλλά και για την εμπιστοσύνη που επέδειξε στο πρόσωπό μου κατά τη διάρκειά της. Η στήριξη, η καθοδήγηση, η βοήθεια, οι συμβουλές και οι γνώσεις που μου πρόσφερε απλόχερα αλλά και η υπομονή που έδειξε όλα αυτά τα χρόνια ήταν καθοριστικά για την ολοκλήρωση της διατριβής μου.

Οφείλω επίσης να ευχαριστήσω την Καθηγήτρια Κωνσταντίνα Τζιά και τον Καθηγητή Νικόλαο Στοφόρο, για τη συμμετοχή στην τριμελή συμβουλευτική επιτροπή μου και τις παρατηρήσεις και συμβουλές τους κατά την εκπόνηση και τη συγγραφή της διατριβής. Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω όλα τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής, την Καθηγήτρια Βασιλική Ωραιοπούλου (ΕΜΠ), την Καθηγήτρια Μαγδαληνή Κροκίδα (ΕΜΠ), την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Γιαννακούρου Μαρία (ΠΔΑ) και τον Ερευνητή Δρ. Γιώργο Κατσαρό (ΕΛΓΟ ΔΗΜΗΤΡΑ) για την τιμή που μου έκαναν με τη συμμετοχή τους στην επταμελή εξεταστική επιτροπή μου.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους Δρ. Ε. Δερμενσολούογλου, Δρ. Β. Γιάννου και Δρ. Δ. Τσιμογιάννη, Δρ. Ε. Γώγου, Δρ. Φ. Τσιρώνη, Δρ. Μ. Τσεβδού, Δρ. Μ. Γιαννόγλου, Δρ. Ζ. Αλεξανδράκη για την υποστήριξή τους σε όλους τους τομείς, και φυσικά τους υποψήφιους διδάκτορες, Α. Λημναίο, Ι. Σεμένογλου για το ευχάριστο κλίμα κατά τη συνεργασία μας στο εργαστήριο όλα αυτά τα χρόνια.

Δεν θα μπορούσα να μην ευχαριστήσω από τα βάθη της καρδιάς μου τον πολύτιμο φίλο μου υποψήφιο διδάκτορα Γ. Δημόπουλο, για την προσωπική συνεργασία και συμπαράσταση κατά τη διάρκεια της εκπόνησης της διατριβής. Με τον Γιώργο έχουμε ζήσει πολλές δύσκολες καταστάσεις, που η φιλία και η αλληλοϋποστήριξη κατάφεραν να εκμηδενίσουν.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους προπτυχιακούς φοιτητές, Γκιωνάκη Άγγελο, Κουρμπέτη Ελένη και Ψαριανό Μάριο που συνεργαστήκαμε κατά την τέλεση της διπλωματικής εργασίας τους

και συνέβαλαν στο παραγωγικό και φιλικό κλίμα που δημιουργήσαμε όλα αυτά τα χρόνια στο Εργαστήριο.

Θα ήθελα ακόμα να ευχαριστήσω τον Δρ. Δημήτρη Οικονόμου για την άριστη συνεργασία μας κατά τη διεξαγωγή των πειραμάτων στο Εργαστήριο Μηχανικής Τροφίμων του Ινστιτούτου Τεχνολογίας Γεωργικών Προϊόντων του ΕΛΓΟ ΔΗΜΗΤΡΑ, αλλά και για την πολύτιμη βοήθεια του για την εύρεση πρώτης ύλης ελαιόκαρπου από τοπικούς παραγωγούς, από την περιοχή της Πελοποννήσου.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον φίλο Δρ. Γιώργο Κατσαρό για τη βοήθεια διεξαγωγής των πειραμάτων στη Μονάδα Υπερυψηλής Υδροστατικής Πίεσης, του ΕΜΠ και του Ινστιτούτου Τεχνολογίας Γεωργικών Προϊόντων του ΕΛΓΟ ΔΗΜΗΤΡΑ, αλλά και για τις συμβουλές του κατά τη διάρκεια των πειραμάτων και για τη συμπαράσταση του εντός και εκτός εργαστηρίου. Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω στους Ε. Καϊμακάμη και Σ. Μπουλέκου της Δ. Νομικός ΑΒΕΚ, για τις συμβουλές τους και την προσφορά πρώτης ύλης για τη διεξαγωγή των πειραμάτων.

Ολοκληρώνοντας θα ήθελα να ευχαριστήσω τρία πολυαγαπημένα μου πρόσωπα: τους γονείς μου, Νίκο και Αλεξία, που χωρίς την απέραντη αγάπη τους, την ηθική και υλική υποστήριξή τους σε κάθε βήμα της ζωής μου, δεν θα βρισκόμουν σήμερα σε αυτή τη θέση. Τέλος, ευχαριστώ τον σύντροφο μου Γιώργο για την αγάπη, την υπομονή και την ηθική εμπύχωσή του για να μπορέσω να φέρω εις πέρας ως το τέλος, την εκπόνηση αυτής της Διατριβής.

Αθήνα, Ιούλιος 2020

Βαρβάρα Ανδρέου

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας διατριβής με θέμα: «Έρευνα και εφαρμογή των τεχνολογιών Υπερυψηλής Πίεσης και Παλμικών Ηλεκτρικών Πεδίων στην παραγωγή υψηλής ποιότητας φυτικών προϊόντων και στην αξιοποίηση των παραπροϊόντων τους», ήταν η μελέτη της εφαρμογής των δύο αυτών νέων διεργασιών, στην παραγωγή φυτικών προϊόντων με αυξημένη απόδοση σε τελικό προϊόν με βελτιωμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά και στην ενίσχυση της ανάκτησης βιοδραστικών ουσιών από τα παραπροϊόντα τους. Συγκεκριμένα μελετήθηκε η επίδραση των Παλμικών Ηλεκτρικών Πεδίων (ΠΗΠ) και της Υπερυψηλής Πίεσης (ΥΠ) ως προεπεξεργασίες σε διάφορα στάδια της παραγωγικής διαδικασίας της επεξεργασίας βιομηχανικής τομάτας και της εξαγωγής ελαιόλαδου και στην εκχύλιση βιοδραστικών ουσιών από τα παραπροϊόντα τους.

Στο Α' μέρος της παρούσας διατριβής, εφαρμόστηκαν τα ΠΗΠ και η ΥΠ ως προεπεξεργασίες σε διάφορα επιλεγμένα στάδια της παραγωγικής διαδικασίας προϊόντων τομάτας ως προς την απόδοση της κάθε διεργασίας και την ποιότητα των τελικών προϊόντων.

Στην πρώτη θεματική ενότητα έγινε εφαρμογή των ΠΗΠ και της ΥΠ σε χυμό τομάτας πριν το στάδιο της συμπύκνωσης με στόχο την παραγωγή προϊόντων τομάτας απλής συμπύκνωσης με αυξημένη απόδοση και βελτιωμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά μέσω επιλεκτικής απενεργοποίησης του ενζύμου πολυγαλακτουρονάση (PG) και ταυτόχρονη διατήρηση του ενζύμου πηκτινομεθυλεστεράση (PME) του χυμού τομάτας. Αρχικά πραγματοποιήθηκε πλήρης κινητική μελέτη της επίδρασης της θερμικής επεξεργασίας (55-75 °C από 0-60 min) και των παραμέτρων της διεργασίας ΥΠ (200-800MPa, 45-75 °C, 0-60 min) και ΠΗΠ (4.0-12.5 kV/cm, 0-12 ms, 15 μs πλάτος παλμού, συχνότητα 300 Hz) στην απενεργοποίηση των δυο ενζύμων. Χρησιμοποιώντας κατάλληλες μαθηματικές εξισώσεις, περιγράφηκε η συμπεριφορά του κάθε ενζύμου στην κάθε επεξεργασία.

Η απενεργοποίηση των δυο ενζύμων ακολούθησε κινητική πρώτης τάξης στη θερμική επεξεργασία και στην επεξεργασία με ΥΠ ενώ για την επεξεργασία με ΠΗΠ εφαρμόστηκε κλασματικό μοντέλο πρώτης τάξης. Η PME εμφανίστηκε ιδιαίτερα ανθεκτική στην εφαρμογή πίεσης, με την πίεση και τη θερμοκρασία να έχουν ανταγωνιστική δράση στην απενεργοποίηση της. Αντίθετα, η PG εμφανίστηκε περισσότερο ευαίσθητη στην επεξεργασία με ΥΠ, με την πίεση και τη θερμοκρασία να έχουν συνεργιστική δράση στην απενεργοποίηση της. Επιπλέον, η PG φάνηκε ότι είναι πιο ευαίσθητη από την PME στην εφαρμογή ηλεκτρικού πεδίου καθώς σε όλες τις μελετώμενες συνθήκες, ο χαρακτηριστικός χρόνος ημικαταστροφής t (απαιτούμενος χρόνος για να επιτευχθεί 50% απενεργοποίηση του ενζύμου) ήταν μικρότερος.

Με επεξεργασία στις βέλτιστες συνθήκες για την ΥΠ (500 MPa στους 55 °C για 10 min) και τα ΠΗΠ (8kV/cm, 6ms) δημιουργήθηκαν χυμοί τομάτας απλής συμπύκνωσης με αυξημένη απόδοση και βελτιωμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά. Με συμπύκνωση υπό κενό (60 °C, 0,1 bar), παρατηρήθηκε ότι τα τελικά προϊόντα τομάτας με ίδιο ιξώδες (5000 cp, στους 25 °C), από χυμό προεπεξεργασμένο με ΥΠ και ΠΗΠ στις βέλτιστες συνθήκες, είχαν χαμηλότερα ολικά διαλυτά στερεά σε σύγκριση με τα μη προεπεξεργασμένα. Απαιτήθηκε δηλαδή λιγότερη εξατμιζόμενη ποσότητα νερού και μειωμένος χρόνος συμπύκνωσης για την επίτευξη του επιθυμητού ιξώδους. Οι αποδόσεις της συμπύκνωσης που επιτεύχθηκαν ήταν 30,4, 41,0, 34,6% για τα μη προεπεξεργασμένα (συμβατική συμπύκνωση) και τα προεπεξεργασμένα με ΥΠ και ΠΗΠ δείγματα, αντίστοιχα. Συγκριτικά η επεξεργασία με ΥΠ προ της συμπύκνωσης ήταν αποτελεσματικότερη από την επεξεργασία με ΠΗΠ. Η επίδραση της κάθε προεπεξεργασίας στην ποιοτική υποβάθμιση των παστεριωμένων (θέρμανση στους 85 °C για 20 min) συμπυκνωμένων προϊόντων τομάτας ήταν επίσης θετική, καθώς η διατηρησιμότητα τους στους 25 °C υπολογίσθηκε σε 266, 393 και 248 d για τα μη προεπεξεργασμένα, τα προεπεξεργασμένα με ΥΠ και ΠΗΠ δείγματα, αντίστοιχα.

Στη δεύτερη θεματική ενότητα, έγινε μελέτη και εφαρμογή των ΠΗΠ ως προεπεξεργασία σε ολόκληρες τομάτες για να ενισχύσουν ή να αντικαταστήσουν τη συμβατική διαδικασία της αποφλοιώσης. Αρχικά, ολόκληρες μη αποφλοιωμένες τομάτες προεπεξεργάστηκαν με ΠΗΠ (0,5-1,5 kV/cm για 0-8000 παλμούς, συχνότητα 20 Hz και πλάτος παλμού 15 μs) προκειμένου να εκτιμηθεί το έργο για την πλήρη απόσπαση του φλοιού τομάτας από την υπόλοιπη σάρκα καθώς η υφή και η συγκέντρωση λυκοπενίου των τελικών αποφλοιωμένων τοματών. Για να συγκριθεί η προεπεξεργασία με ΠΗΠ με συμβατικές μεθόδους αποφλοιώσης, οι τομάτες υποβλήθηκαν επίσης σε ζεμάτισμα για 1 min στους 70 °C και με ατμό στους 100 °C για 2 min.

Υπολογίσθηκε ότι το έργο αποκόλλησης του φλοιού από την υπόλοιπη σάρκα τομάτας ήταν 72,3, 54,7 και 97,4% μικρότερο σε σχέση με το ανεπεξεργαστο δείγμα (νωπή τομάτα) για τις επεξεργασμένες με ΠΗΠ, ζεματισμένες και επεξεργασμένες με ατμό τομάτες, αντίστοιχα. Οι τρεις μέθοδοι αποφλοιώσης δεν εμφάνισαν σημαντικές διαφορές ως προς τις απώλειες σάρκας (<1% w/w). Ενώ η μέθοδος αποφλοιώσης με ατμό ήταν η πιο αποτελεσματική ως προς την απομάκρυνση του φλοιού, λόγω της χρήσης υψηλών θερμοκρασιών, η τελική υφή (σκληρότητα) των ολόκληρων τοματών υποβαθμίζεται σημαντικά (82,7% μείωση της σκληρότητας αποφλοιωμένων τοματών), καθώς και η συγκέντρωση σε λυκοπένιο ήταν σημαντικά μικρότερη (12% απώλεια σε λυκοπένιο), σε σχέση με τη νωπή τομάτα (5,32 mg/100 g τομάτας). Η προεπεξεργασία με ΠΗΠ μείωσε τη σκληρότητα των τελικών αποφλοιωμένων τοματών κατά

μόλις 21,6% σε σύγκριση με το μη επεξεργασμένο, και η συγκέντρωση του λυκοπενίου έμεινε ανεπηρέαστη (~5,29 mg/100 g τομάτας), αντίστοιχη της νωπής τομάτας.

Η επεξεργασία με ΠΗΠ ερευνήθηκε και εφαρμόστηκε προ του σταδίου της χυμοποίησης ως προς την αύξηση της απόδοσης σε χυμό τομάτας και τη βελτίωση των ποιοτικών χαρακτηριστικών των χυμών τομάτας. Σε ολόκληρες τομάτες εφαρμόστηκαν ΠΗΠ (0.5-2.5 kV/cm για 0-4000 παλμούς, συχνότητα 20 Hz και πλάτος παλμού 15 μ s) και στη συνέχεια χυμοποιήθηκαν σε ραφινέζα (2800 rpm και κόσκινο με σπές διαμέτρου 1.5 mm), υπολογίζοντας σε κάθε περίπτωση την απόδοση σε χυμό τομάτας και συγκρίνοντας με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα (συμβατική χυμοποίηση). Σε αυτό το βήμα, μελετήθηκε επίσης η επίδραση των ΠΗΠ στα υπολείμματα τοματών του πρώτου σταδίου χυμοποίησης (φλοιοί, σπόροι και ένα κλάσμα υπολειπόμενης μη συμπιεσμένης σάρκας τομάτας) για να εκτιμηθεί κατά πόσον η προεπεξεργασία με ΠΗΠ θα μπορούσε να αυξήσει την απόδοση των τελικών χυμών (και από τα δύο στάδια χυμοποίησης). Η επίδραση των ΠΗΠ μελετήθηκε στην απόδοση του χυμού τομάτας, και οι χυμοί τομάτας από το πρώτο αλλά και από το δεύτερο στάδιο αξιολογήθηκαν όσον αφορά το χρώμα, το ιξώδες και τη συνεκτικότητα κατά Bostwick.

Στο πρώτο στάδιο χυμοποίησης, η μέγιστη απόδοση σε χυμό τομάτας από την προεπεξεργασία με ΠΗΠ ήταν ίση με 89,2% ενώ για το μη προεπεξεργασμένο η απόδοση υπολογίστηκε ίση με 71,4%. Παρ' όλη την αύξηση της απόδοσης σε χυμό τομάτας λόγω της προεπεξεργασίας με ΠΗΠ οι τιμές του ιξώδους (<400 cp, στους 25 °C) και της συνεκτικότητας κατά Bostwick (>20 cm) των χυμών του πρώτου σταδίου υποβαθμίστηκαν σε πολύ έντονες συνθήκες ΠΗΠ (με δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z μεγαλύτερο από 0,7). Ως εκ τούτου, επιλέγοντας μία ηπιότερη συνθήκη ΠΗΠ (με δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z από 0,5 έως 0,7) μπορεί να επιτευχθεί χυμός τομάτας με αυξημένη απόδοση (περίπου 10-15% υψηλότερη σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα) και παράλληλα με ιξώδες (550-700 cp, στους 25°C) εντός των ορίων της βιομηχανίας για χυμούς τομάτας. Παράλληλα, σε αυτήν τη συνθήκη η συγκέντρωση του λυκοπενίου στον τελικό χυμό υπολογίστηκε ίση με 3,82 mg/100 g χυμού, δηλαδή περίπου 22% υψηλότερη σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα.

Στο δεύτερο στάδιο της χυμοποίησης, η συνολική απόδοση του χυμού τομάτας (και από τα δύο στάδια χυμοποίησης) ήταν 82,2% για τα μη προεπεξεργασμένα δείγματα, με ιξώδες (950 cp, στους 25 °C) σημαντικά υποβαθμισμένο, λόγω των μεγαλύτερων οπών των διαχωριστήρων που χρησιμοποιούνται στα υπολείμματα του πρώτου σταδίου, εμποδίζοντας την περαιτέρω επεξεργασία του (Gould, 1992). Σε κάθε συνθήκη με ΠΗΠ που εφαρμοζόταν στα υπολείμματα του πρώτου σταδίου, οι χυμοί που προέκυπταν προστίθενται στον αρχικό ανεπεξεργαστο χυμό

τομάτας από το πρώτο στάδιο χυμοποίησης (όπως γίνεται και στη βιομηχανία τομάτας). Η υψηλότερη συνολική απόδοση χυμού και από τα δυο στάδια χυμοποίησης προεπεξεργάζοντας με ΠΗΠ (1,5 kV/cm και δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z ίσο με 0,39) μόνο τα υπολείμματα του πρώτου σταδίου υπολογίσθηκε σε 90,2% (περίπου 10% υψηλότερη σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα) και το ιξώδες του τελικού χυμού είναι σύμφωνα με τα βιομηχανικά αποδεκτά πρότυπα (450 cp, στους 25 °C που αντιστοιχεί σε συνεκτικότητα κατά Bostwick 14,2 cm).

Τέλος μελετήθηκε η εφαρμογή των ΠΗΠ ως προεπεξεργασία στη συμβατική εκχύλιση για την παραλαβή βιοδραστικών συστατικών από τα παραπροϊόντα τομάτας. Οι συνθήκες των ΠΗΠ που εφαρμόστηκαν σε παραπροϊόντα τομάτας (φλοιοί, σπόρια και υπολείμματα σάρκας τομάτας) (1,0-5,0 kV/cm για 0-500 παλμούς, συχνότητα 20 Hz και πλάτος παλμού 15 μs) και στη συνέχεια ακολούθησε εκχύλιση στερεού-υγρού (με διαλύματα εξανίου, ακετόνης και αιθανόλης-νερού) βιοδραστικών ουσιών από τα παραπροϊόντα τομάτας. Οι ενώσεις που εκχυλίστηκαν από τα παραπροϊόντα τομάτας, που προσδιορίστηκε η συγκέντρωσή τους ήταν τα καροτενοειδή, το λυκοπένιο, οι ολικές φαινολικές ενώσεις και επιπλέον μετρήθηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων. Η εκχύλιση υποβοηθούμενη με ΠΗΠ (δείκτης κυτταρικής διάρρηξης Z ίσος με 0,3) οδήγησε σε αύξηση της απόδοσης της εκχύλισης των καροτενοειδών, από 35,9% έως 56,4% σε σύγκριση με το επεξεργασμένο συμβατικά δείγμα (11,36 mg/100 g), επιτυγχάνοντας ανάκτηση του λυκοπενίου ίση με 14,31 mg/100 g σε σχέση με τα επεξεργασμένα συμβατικά δείγματα που ήταν 9,84 mg/100 g. Η προεπεξεργασία των ΠΗΠ αύξησε σημαντικά τη συνολική απόδοση εκχύλισης φαινολικών ενώσεων, διπλασιάζοντας την (56,16 mgGAE/100 g) για ένταση ηλεκτρικού πεδίου 2 kV/cm και 700 παλμούς και οδηγώντας ταυτόχρονα σε εκχυλίσματα με σημαντικά υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα (0,78 mM TE) σε σχέση με το επεξεργασμένο συμβατικά δείγμα (0,29 mM TE).

Στο Β' μέρος της παρούσας διατριβής, εφαρμόστηκαν τα ΠΗΠ και η ΥΠ ως προεπεξεργασίες σε διάφορα στάδια της εξαγωγής ελαιόλαδου και στη διαχείριση του ελαιοπυρήνα, του παραπροϊόντος που προκύπτει μετά το στάδιο του διαχωρισμού. Οι ελιές και ο ελαιοπυρήνας που χρησιμοποιήθηκαν ήταν ποικιλίας *Τσουνάτη* στο δεύτερο στάδιο ωρίμανσής τους.

Στην πρώτη θεματική ενότητα, μελετήθηκε η επίδραση των δυο διεργασιών ως προεπεξεργασίες στο στάδιο της μάλαξης ως προς την απόδοση σε ελαιόλαδο, τους ποιοτικούς δείκτες και τη συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών στα παραγόμενα ελαιόλαδα. Επιπλέον, μελετήθηκε η χρήση των δυο προεπεξεργασιών με ενδεχόμενη μείωση της έντασης των συνθηκών μάλαξης (θερμοκρασία και χρόνος) στην παραγωγή ελαιόλαδου με αυξημένη

απόδοση, ανώτερα ποιοτικά χαρακτηριστικά και υψηλή συγκέντρωση σε αντιοξειδωτικές ουσίες. Πραγματοποιήθηκε πλήρες κινητικό πείραμα των ΠΗΠ (0,5-2,0 kV/cm) και της ΥΠ (100-600 MPa) ως προεπεξεργασίες στην ελαιόπαστα σε διάφορες συνθήκες επεξεργασίας (με βάση τον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z της ελαιόπαστας) πριν το στάδιο της μάλαξης σε διάφορες συνθήκες μάλαξης (15-40 °C και 30 min) και για κάθε συνθήκη προσδιορίστηκαν η απόδοση σε ελαιόλαδο, τα ποιοτικά χαρακτηριστικά (ελεύθερη οξύτητα, αριθμός υπεροξειδίων, ολικές φαινολικές ενώσεις, απορρόφηση στο υπεριώδες) και η οξειδωτική σταθερότητα των παραγόμενων ελαιόλαδων.

Αρχικά, από το κινητικό πείραμα της συμβατικής εξαγωγής ελαιόλαδου σε διάφορες συνθήκες μάλαξης (θερμοκρασία & χρόνος) για το μη προεπεξεργασμένο δείγμα (συμβατική μάλαξη) επιλέχθηκαν οι βέλτιστες συνθήκες (30 °C και 30 min), με κριτήριο τη μέγιστη δυνατή απόδοση (22,5%) χωρίς ποιοτική υποβάθμιση του παραγόμενου ελαιόλαδου. Η παραγωγή ελαιόλαδου στους 15 °C οδηγεί σε ελαιόλαδα με μικρή απόδοση και βελτιωμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά, ενώ η συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών είναι σημαντικά χαμηλότερη (κατά 19,9%) σε σχέση με τους 30 °C (743 mg GAE/kg).

Η προεπεξεργασία με ΠΗΠ έδειξε αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο έως και κατά 20,1% και της συγκέντρωσης των φαινολικών συστατικών στο παραγόμενο ελαιόλαδο έως και κατά 23,1% σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα (απόδοση σε ελαιόλαδο: 22.5% και φαινολικά συστατικά: 743 mg GAE/kg) ανάλογα την ένταση των συνθηκών ΠΗΠ και τη θερμοκρασία μάλαξης. Ταυτόχρονα, η προεπεξεργασία με ΥΠ μπορεί να αυξήσει την απόδοση σε ελαιόλαδο έως και κατά 18,6% και την απόδοση σε φαινολικά συστατικά στο παραγόμενο ελαιόλαδο έως και κατά 20,7% σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα (απόδοση σε ελαιόλαδο: 22.5% και φαινολικά συστατικά: 743 mg GAE/kg) ανάλογα με την ένταση των συνθηκών ΥΠ και τη θερμοκρασία μάλαξης.

Αποδείχθηκε ότι η μεγαλύτερη αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο με τις δυο προεπεξεργασίες παρατηρήθηκε στους 15 °C. Οι δυο προεπεξεργασίες ενισχύοντας τα φαινόμενα μεταφοράς μάζας στο στάδιο της μάλαξης (στους 15 °C) κατάφεραν να οδηγήσουν σε σημαντικά μεγαλύτερες αποδόσεις σε ελαιόλαδο ~ ίση με 22,5-23,0% (σχεδόν ίσες με του μη προεπεξεργασμένου δείγματος στους 30 °C), αυξάνοντας σημαντικά την ανάκτηση των φαινολικών συστατικών (έως και 516 mg GAE/kg) και διατηρώντας τα ποιοτικά χαρακτηριστικά στα παραγόμενα έλαια. Επιβεβαιώθηκε ότι, η θερμοκρασία κατά τη διάρκεια της μάλαξης έχει κυρίαρχο ρόλο στον εμπλουτισμό του ελαίου με βιοδραστικές ενώσεις. Η μέγιστη συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων που εκχυλίστηκαν στο έλαιο ύστερα από επεξεργασία με ΠΗΠ και ΥΠ στους 15 °C ήταν 516 και

501 mg GAE/kg αντίστοιχα, ενώ η αντίστοιχη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων του μη προεπεξεργασμένου δείγματος στους 30 °C ήταν 743 mg GAE/kg.

Η αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο και της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων στο παραγόμενο ελαιόλαδο σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα περιγράφηκε μαθηματικά συναρτήσει του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z με σιγμοειδές μαθηματικό μοντέλο για κάθε προεπεξεργασία, τεκμηριώνοντας ότι η απόδοση εξαρτάται από τον βαθμό διάρρηξης των κυττάρων του, ανεξάρτητα από τον τρόπο με τον οποίο επιτεύχθηκε αυτός (ένταση και παλμοί ή πίεση και χρόνος).

Πραγματοποιήθηκε αριστοποίηση της μάλαξης υποβοηθούμενης με ΠΗΠ και ΥΠ μέσω του σχεδιασμού Box-Behnken με τρεις παραμέτρους (θερμοκρασία, χρόνος μάλαξης και ένταση των συνθηκών επεξεργασίας με ΠΗΠ και ΥΠ) ώστε να διερευνηθεί κατά πόσο οι δυο προεπεξεργασίες μπορούν να μειώσουν την ένταση των συνθηκών της μάλαξης (χρόνος και θερμοκρασία) οδηγώντας σε μέγιστη δυνατή απόδοση με διατήρηση των ποιοτικών χαρακτηριστικών του παραγόμενου ελαιόλαδου. Αποδείχθηκε ότι είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθεί η ελάχιστη δυνατή θερμοκρασία και χρόνος μάλαξης, καθώς και η ελάχιστη δυνατή ένταση συνθηκών με τη μέγιστη δυνατή απόδοση σε ελαιόλαδο και φαινολικά συστατικά για λόγους ελαχιστοποίησης της κατανάλωσης ενέργειας. Για την προεπεξεργασία με ΠΗΠ, τη μέγιστη απόδοση σε ελαιόλαδο (25,02%), και συγκέντρωση φαινολικών συστατικών (832,05 mg GAE/kg ελαίου) έδωσαν οι τιμές των παραγόντων: $T=26^{\circ}\text{C}$, $t=37$ min και $Z=0,7$. Για την προεπεξεργασία με ΥΠ, τη μέγιστη απόδοση σε ελαιόλαδο (25,72%), και συγκέντρωση φαινολικών συστατικών (839,75 mg GAE/kg ελαίου) έδωσαν οι τιμές των παραγόντων: $T=26^{\circ}\text{C}$, $t=37$ min και $Z=0,7$.

Ακολούθως, συγκρίθηκε η προεπεξεργασία με ΠΗΠ (5 kV/cm, 100 παλμούς, $Z=0,7$) και ΥΠ (600 MPa, 5 min, $Z=0,7$) της ελαιόπαστας στις βέλτιστες συνθήκες που προέκυψαν από τα μοντέλα προσαρμογής σε επιλεγμένες συνθήκες μάλαξης (30 °C για 30 και 15 min, 22°C για 30 min) με την αντίστοιχη συμβατική διαδικασία παραγωγής ελαιόλαδου (30 °C και 30 min) όσον αφορά την απόδοση σε ελαιόλαδο, της συγκέντρωση βιοδραστικών συστατικών, τα ποιοτικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του παραγόμενου ελαιόλαδου. Από τα αποτελέσματα υπολογίστηκε ότι η προεπεξεργασία με ΠΗΠ και ΥΠ στις βέλτιστες συνθήκες αύξησε την απόδοση σε ελαιόλαδο κατά 8,3 και 7,0% σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα (22,5%) σε συνθήκες μάλαξης 30 °C και 30 min, ενώ στον μισό χρόνο μάλαξης (15 min), είχαν απόδοση σε ελαιόλαδο 23,1% και 22,8% αντίστοιχα, δηλαδή σχεδόν ίση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα. Επιπλέον, σε χαμηλότερη θερμοκρασία μάλαξης ίση με 22 °C, οι δυο προεπεξεργασίες

είχαν απόδοση σε ελαιόλαδο 23,9 και 22,7%, σχεδόν ίση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα στους 30 °C και 30 min.

Παράλληλα, στους 30 °C η συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών στα παραγόμενα ελαιόλαδα αυξήθηκε κατά 9,3% και 4,9% σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα (745 mg GAE/kg) για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ και ΥΠ δείγματα, αντίστοιχα, ενώ στον μισό χρόνο μάλαξης (15 min) η συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών από τις δυο προεπεξεργασίες εξισώθηκε με αυτήν των μη προεπεξεργασμένων δειγμάτων (συμβατική μάλαξη, 30 °C και 30 min). Παράλληλα, η προεπεξεργασία με ΠΗΠ και ΥΠ αύξησε τη συγκέντρωση των επιμέρους φαινολικών συστατικών [υδροξυτυροσόλης-κατά 68 και 44% (184 mg/kg και 157 mg/kg), τυροσόλης- κατά 63 και 41,6% (93 mg/kg και 81 mg/kg), αντίστοιχα και της α-τοκοφερόλης κατά 59 και 65 % (66,9 mg/kg και 66,5 mg/kg)], αντίστοιχα στα παραγόμενα έλαια. Επιπλέον, σε θερμοκρασία μάλαξης 30 °C και 15 min, οι συγκεντρώσεις όλων των μεμονωμένων φαινολικών συστατικών των ελαιόλαδων που προέκυψαν από την προεπεξεργασία με ΥΠ και ΠΗΠ ήταν μεγαλύτερες (έως και κατά 10 %) από το μη προεπεξεργασμένο δείγμα στους 30 °C και 30 min. Σε θερμοκρασία μάλαξης 22 °C και 30 min, οι δυο προεπεξεργασίες οδήγησαν σε ελαιόλαδα με σχεδόν ίσες συγκεντρώσεις των μεμονωμένων φαινολικών συστατικών σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα. Όπως ήταν αναμενόμενο, οι χρόνοι επαγωγής των ελαιόλαδων είχαν πλήρη συσχέτιση με τη συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών και της α-τοκοφερόλης για όλα τα δείγματα. Τα ελαιόλαδα που είχαν προκύψει από τις δυο προεπεξεργασίες εμφάνισαν μεγαλύτερο χρόνο επαγωγής (178 και 197 h για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ και ΥΠ ελαιόλαδα) σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο ελαιόλαδο στους 30 °C (121 h). Τα ελαιόλαδα που παράχθηκαν από μάλαξη στους 22 °C είχαν ίση ή μικρότερη οξειδωτική σταθερότητα (119 και 125 h για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ και ΥΠ ελαιόλαδα) σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα (121 h). Επιπλέον, οι δυο προεπεξεργασίες δεν επηρέασαν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των παραγόμενων ελαιόλαδων. Αξίζει να σημειωθεί, ότι τα δείγματα που είχαν μαλαχθεί σε θερμοκρασία 22 °C είχαν ελαφρώς πιο φρουτώδη γεύση άλλα λιγότερο πικάντικη και πικρή σε σχέση με τα ελαιόλαδα που προέκυψαν από μάλαξη στους 30 °C. Η πιο φρουτώδης γεύση οφείλεται στη χαμηλότερη θερμοκρασία μάλαξης ενώ η λιγότερο πικρή και πικάντικη γεύση στη μικρότερη συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών που έχουν τα ελαιόλαδα στους 22 °C.

Στη δεύτερη θεματική ενότητα, μελετήθηκε η εκχύλιση ενδοκυτταρικών συστατικών από ελαιοπυρήνα με διαλύτη αιθανόλη-νερό υποβοηθούμενη από ΠΗΠ και ΥΠ, με στόχο την

παραλαβή βιοδραστικών συστατικών από παραπροϊόντα με μεγαλύτερη απόδοση ανάκτησης, καθώς επίσης και με μειωμένη κατανάλωσης ενέργειας.

Ο ελαιοπυρήνας μετά την παραλαβή του από τη φυγόκεντρο δύο φάσεων υπέστη ξήρανση υπό κενό και αλέσθηκε (2 mm). Πραγματοποιήθηκε πλήρες κινητικό πείραμα εκχύλισης σε διάφορες θερμοκρασίες εκχύλισης (25, 40 και 60 °C) και διαλύτη αιθανόλης:νερού (25:75, 50:50 και 70:30), ως προς τη συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών, των πρωτεϊνών και την αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων. Επιλέχθηκαν ως βέλτιστες συνθήκες εκχύλισης η 50% συγκέντρωση αιθανόλης, 25 °C και 60 min. Η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων και των πρωτεϊνών κατά τη διάρκεια της εκχύλισης των 60 min κυμάνθηκε από 1,43 έως 2,64 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. και 1,25 έως 3,98 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β., αντίστοιχα.

Ακολούθως, πραγματοποιήθηκε πλήρες κινητικό πείραμα των ΠΗΠ (1,0-6,5 kV/cm) και της ΥΠ (100-600 MPa) ως προεπεξεργασίες στον ελαιοπυρήνα πριν την εκχύλιση (25 °C, 60 min, 50% συγκέντρωση αιθανόλης σε νερό) προσδιορίζοντας τη συγκέντρωση των ολικών φαινολικών συστατικών και ολικών πρωτεϊνών και την αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων από ελαιοπυρήνα και συγκρίθηκαν με τα επεξεργασμένα συμβατικά εκχυλίσματα. Στα πειραματικά δεδομένα προσαρμόστηκε ανοιγμένο μοντέλο πρώτης τάξης.

Στην προεπεξεργασία με ΠΗΠ, το ολικό περιεχόμενο φαινολικών συστατικών και πρωτεϊνών των εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα κυμάνθηκε από 1,53 έως 3,34 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. και από 2,06 έως 5,72 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β, αντίστοιχα. Παράλληλα, στην προεπεξεργασία με ΥΠ, το ολικό περιεχόμενο φαινολικών συστατικών και πρωτεϊνών των εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα κυμάνθηκε από 1,88 έως 2,94 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. και από 1,30 έως 4,69 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β., αντίστοιχα. Η τάση που ακολουθήθηκε και στις δύο προεπεξεργασίες είναι ότι με αύξηση της έντασης των συνθηκών, ο ρυθμός της εκχύλισης των ενδοκυτταρικών ενώσεων αυξανόταν σημαντικά. Εξάιρεση αποτελεί η ανάκτηση των πρωτεϊνών από ελαιοπυρήνα, καθώς σε υψηλές πιέσεις (>400 MPa) παρατηρήθηκε μείωση της συγκέντρωσής τους, που πιθανώς οφείλεται στη μετουσίωση τους από την αύξηση της πίεσης.

Συγκρίνοντας τις τρεις μεθόδους εκχύλισης, βρέθηκε ότι προεπεξεργασία με ΠΗΠ ήταν πιο αποτελεσματική στην ανάκτηση φαινολικών ενώσεων σε σχέση με την προεπεξεργασία με ΥΠ σε χαμηλές ενέργειες (<6,4 kJ/kg), ενώ το αντίστροφο συνέβη σε μεγαλύτερες ενέργειες (συνθήκη που αντιστοιχεί πάνω από 400 MPa). Το ολικό περιεχόμενο σε φαινολικά συστατικά του εκχυλίσματος που προέκυψε με χρήση των ΠΗΠ και ΥΠ αυξήθηκε κατά 32 και 34% του αντίστοιχου που προέκυψε με τη συμβατική εκχύλιση (2,10 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.).

Επίσης τα εκχυλίσματα που προέκυψαν με τα ΠΗΠ και την ΥΠ εμφάνισαν 21% (3,44 mMTE) και 15% (3,28 mM TE) μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση σε σχέση με το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα (2,84 mM TE). Ως προς την ανάκτηση των πρωτεϊνών από ελαιοπυρήνα, η προεπεξεργασία με ΥΠ, αύξησε σημαντικά (έως και κατά 45%) τη συγκέντρωση των πρωτεϊνών μέχρι τη συνθήκη που αντιστοιχεί στα 6,41 kJ/kg (200 MPa), εφόσον μετά η συγκέντρωση ήταν σχεδόν ίση με του συμβατικά επεξεργασμένου (2,5 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.). Αντιθέτως, τα ΠΗΠ με αύξηση της ενέργειας (πιο έντονες συνθήκες) εμπλούτισαν το εκχύλισμα σε πρωτεΐνες ως και κατά 32% περισσότερο (3,4 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β) από ότι με τη συμβατική εκχύλιση. Επιπρόσθετα, οι δυο προεπεξεργασίες μείωσαν τον απαιτούμενο χρόνο εκχύλισης t_{98} (όπου τα επεξεργασμένα με ΠΗΠ ή ΥΠ δείγματα θα αποκτήσουν το 98% της συγκέντρωσης φαινολικών συστατικών ή πρωτεϊνών που έχει το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα στο τέλος των 60 min της συμβατικής εκχύλισης) έως και σε 5 και 12 min, αντίστοιχα. Στις πιο έντονες συνθήκες των δυο προεπεξεργασιών (>24 kJ/kg) ο απαιτούμενος χρόνος εκχύλισης t_{98} υπολογίστηκε κάτω από 1 min, που αυτό σημαίνει ότι τα εκχυλίσματα είχαν την επιθυμητή συγκέντρωση αμέσως μετά την επεξεργασία με ΠΗΠ ή ΥΠ χωρίς να πραγματοποιηθεί περαιτέρω η συμβατική εκχύλιση.

Μελετήθηκε η αριστοποίηση (μέσω της μεθόδου των αποκριτικών επιφανειών) της εκχύλισης υποβοηθούμενης από ΠΗΠ και ΥΠ ως προς το χρόνο εκχύλισης και την ένταση των συνθηκών με ΠΗΠ ή ΥΠ εκφρασμένη ως προς ενέργεια που καταναλώνεται στην κάθε προεπεξεργασία, βασιζόμενη στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο, και τα επιμέρους φαινολικά συστατικά στα εκχυλίσματα. Η συγκέντρωση των ολικών και των επιμέρους φαινολικών συστατικών (υδροξυτυροσόλη, τυροσόλη, ελευρωπαΐνη, καεμφερόλη, λουτεολίνη και φερουλικό οξύ) για την προεπεξεργασία με ΠΗΠ εμφάνισαν τη μέγιστη τιμή τους σε χρόνους εκχύλισης μικρότερους από 60 min (30-40 min) και για προσφερόμενη ενέργεια από 11-14,5 kJ/kg (που αντιστοιχεί 3-5kV/cm). Αντίστοιχα, για την προεπεξεργασία με ΥΠ, οι αποκρίσεις που μελετήθηκαν εμφάνισαν τη μέγιστη τιμή τους σε χρόνους εκχύλισης μικρότερους από 60 min (30-40 min) και για ενέργεια από 15.0-36,1 kJ/kg (που αντιστοιχεί σε πιέσεις 400-600 MPa).

Τέλος, έγινε αριστοποίηση (μέσω της μεθόδου των αποκριτικών επιφανειών) της συμβατικής εκχύλισης και της εκχύλισης υποβοηθούμενης με ΠΗΠ (5 kV/cm, 11 kJ/kg) και ΥΠ (350 MPa, 10 min, 15 kJ/kg) για την παραλαβή εκχυλίσματος μεγάλης απόδοσης με όσο το μικρότερο δυνατό χρόνο εκχύλισης και όγκο διαλύτη. Για τη συμβατική εκχύλιση, τη μέγιστη τιμή για το ολικό περιεχόμενο φαινολικών συστατικών (2.78 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.), τη συγκέντρωση πρωτεϊνών (4,10 g/100 g ελαιοπυρήνα) και την αντιοξειδωτική ικανότητα (3,27 mM TE) έδωσαν οι τιμές των παραγόντων: $t=50-60$ min και συγκέντρωση αιθανόλης 45-50%. Για την

προεπεξεργασία με ΠΗΠ, τη μέγιστη τιμή για το ολικό περιεχόμενο φαινολικών συστατικών (3,13 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.), τη συγκέντρωση πρωτεϊνών (5,40 g/100 g ελαιοπυρήνα), και την αντιοξειδωτική ικανότητα (3,83 mM TE) έδωσαν οι τιμές των παραγόντων: $t=45-60$ min και συγκέντρωση αιθανόλης 35-50%. Για την προεπεξεργασία με ΥΠ, τη μέγιστη τιμή για το ολικό περιεχόμενο φαινολικών συστατικών (3,18 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.), τη συγκέντρωση πρωτεϊνών (5.13 g/100 g ελαιοπυρήνα), και την αντιοξειδωτική ικανότητα (3,37 mM TE) έδωσαν οι τιμές των παραγόντων: $t=45-60$ min και συγκέντρωση αιθανόλης 40-50%.

Σύμφωνα λοιπόν με τα αποτελέσματα αυτής της διατριβής, τα Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία και η Υπερυψηλή Πίεση έδειξαν να είναι ιδιαίτερα υποσχόμενες νέες τεχνολογίες για εφαρμογή ως προεπεξεργασίες για την παραγωγή φυτικών προϊόντων (προϊόντα τομάτας και ελαιόλαδο) με αυξημένη απόδοση και ανώτερα ποιοτικά χαρακτηριστικά καθώς και για την αποτελεσματικότερη αξιοποίηση των παραπροϊόντων τους. Η χρήση τους στα διάφορα στάδια της παραγωγικής διαδικασίας οδήγησε (α) στην αύξηση της απόδοσης της κάθε διεργασίας, (β) στην παραγωγή προϊόντων με ανώτερα ποιοτικά χαρακτηριστικά, εμπλουτισμένα με βιοδραστικές και αντιοξειδωτικές ουσίες και (γ) στη μείωση της έντασης των συνθηκών της κάθε διεργασίας. Παράλληλα, η χρήση τους ως προεπεξεργασίες για την ενίσχυση ή/και αντικατάσταση των συμβατικών μεθόδων εκχύλισης βιοδραστικών ενώσεων από παραπροϊόντα είναι μία συμφέρουσα και πολύ ελκυστική προσέγγιση για εφαρμογή σε βιομηχανική κλίμακα.

NATIONAL TECHNICAL UNIVERSITY OF ATHENS
SCHOOL OF CHEMICAL ENGINEERING
DEPARTMENT OF SYNTHESIS AND DEVELOPMENT OF INDUSTRIAL PROCESSES
FOOD CHEMISTRY AND TECHNOLOGY LABORATORY

Research and application of High Pressure and Pulsed Electric Field technologies for the production of high quality plant origin products and the valorization of their by-products

Ph.D. Thesis
by
Varvara Andreou

The present PhD thesis, titled “Research and application of High Pressure (HP) and Pulsed Electric Field technologies (PEF) for the production of high quality plant origin products and the valorization of their by-products”, aims to study the application of these two food processing technologies for the production of plant-based products at a higher yield of the final product and with enhanced quality characteristics, as well as for the recovery of the bioactive ingredients from their by-products. Specifically, this thesis explored the effect of the two processes as pretreatments at several steps of the production line of industrial tomato processing and olive oil production, as well as on the extraction of bioactive compounds from their by-products.

On the first part, HP and PEF pretreatments were applied at several steps of the production line of tomato products and their effect on the yield of each process and quality of the final products was studied.

On the first section, PEF and HP were applied on tomato juice before the concentration in order to produce concentrated tomato products with higher yield and improved quality characteristics through the selective inactivation of polygalacturonase (PG) and the preservation of pectinmethylesterase (PME). Initially was performed a complete kinetic study of PME and PG inactivation caused by thermal treatment (55-77°C, 0-60min), HP (200-800MPa, 45-75 °C, 0-60min) and PEF (4.0-12.5kV/cm, 0-12ms, 15µs of pulse width and frequency of 300 Hz) treatments. The behavior of each enzyme was described after each treatment with appropriate mathematical models. The inactivation of PME and PG was described with a first order kinetic model for thermal and HP treatment and with a fractional first order model for PEF treatment. PG appeared more heat resistant than PME. PME proved itself to be quite resistant to the application of HP, displaying an antagonistic effect of pressure and temperature on the PME inactivation. On the contrary, HP inactivation of PG revealed the pressure sensitivity of the enzyme, while a

synergistic effect of pressure and temperature was observed. Furthermore, PG was more sensitive than PME regarding PEF treatment, since at all studied conditions the characteristic damage time τ (time required for the 50% of the enzyme inactivation) of PG was lower.

Afterwards, when optimum treatment conditions of HP (500MPa, 55°C, 10 min) and PEF (8kV/cm, 6ms) were applied on tomato juice was resulted in yield increase of concentrated tomato products in terms of producing products of higher viscosity with less water evaporation, mainly attributed to the action of remaining PME. By using concentration under vacuum (60 °C, 0.1 bar), it was observed that the final concentrated tomato products with the same viscoelastic properties (5000cp) that were produced after applying HP and PEF at optimal conditions, had a lower total soluble solids content compared with the untreated tomato products, while less concentration time was required. The yields obtained from the untreated (conventional concentration), HP and PEF treated samples were 30,4, 41,0, 34,6% respectively. The effect of each pretreatment to the quality degradation of the final products was also positive, since the shelf life of untreated and the HP and PEF treated concentrated tomato products at 25°C was determined to be 266, 393 and 248 d respectively.

On the second section, PEF treatment was applied on whole tomatoes in order to assist or replace the conventional peeling process. Initially, whole unpeeled tomatoes were PEF pretreated (0,5-1,5 kV/cm, 0-8000 pulses, 20 Hz and pulse width of 15 μ s) to determine the required work for peel detachment from the rest tomato fruit, as well as the firmness and the lycopene content of the final peeled tomatoes. In order to compare PEF treatment with other conventional peeling methods, fresh tomatoes were subjected to blanching for 1 min at 70 °C and for 2 min with steam at 100 °C. It was observed that the work for peel detachment for blanched and steamed tomatoes was 54.7% and 97.4% lower compared to untreated, respectively. The detachment work achieved after PEF processing at 1.5 kV/cm electric field strength for 500 pulses was 72.3% lower than untreated. Furthermore, the three peeling processes showed no significant differences regarding the fruit losses (<1% w/w). PEF processing decreased the firmness of final peeled tomatoes by only 21.6% compared to untreated, while steam peeled samples reduced the firmness of the final peeled tomatoes by 82.7%, compared to untreated. The lycopene content of PEF pretreated peeled tomatoes remained unaffected (5,29 mg/100g tomatoes) in compare to the untreated sample (5,32 mg/100g tomatoes). This could be attributed to the reduced exposure to heat prevents with PEF treatment.

Additionally, PEF processing was applied on chopped tomatoes in the first step of juicing. Electric field strengths ranged from 0.5 to 2.5 kV/cm for 0- 5000pulses, a frequency of 20 Hz and pulse

width of 15 μ s. Juice extraction was performed on a lab-scale paddle type extractor. The effects of PEF on the juice yield were studied, while the juices from the first step were assessed in terms of quality attributes, such as colour, viscosity and consistency and compared with untreated tomato juice. Secondly, the tomato residues were reprocessed in order to improve the overall juice yield. In this case, PEF processing was applied on the tomato residues from the first step (seeds, peels and a fraction of unpressed tomato flesh) and the overall juice yield was studied in terms of quality of the final juices such as colour, viscosity and Bostwick consistency.

At the first step of juicing, the highest yield achieved was 89.2% after PEF processing compared to 71.4% for untreated samples. Regardless of the yield increase, for the most intense PEF conditions led to a significant degradation of the final products on viscosity (<400cp) and Bostwick consistency (>20cm). Thus, choosing milder PEF conditions (for values of Z index ranging from 0.5 to 0.7) the final tomato juice had the optimum viscosity, while the juice yield increase was approximately 10–15% higher compared to untreated samples with improved viscosity (550–700cp). At this PEF treatment conditions the lycopene content of tomato juice was 3,82 mg/100g (22% higher in compare to the untreated sample).

At the second step of juicing, the overall tomato juice yield (for both steps) was 82.2% for untreated samples. Reprocessing of tomato residues from the first juicing step with the aim of increasing the yield of tomato juice can be detrimental to the final juice quality. The juice that normally results from the second step of tomato juicing has very high viscosity (0.95 Pa s that corresponds to 10.9 cm Bostwick consistency) and when mixed with the juice resulting from the first juicing, leads to consistencies that are unacceptable by industrial standards (0.55–0.70 Pa s). When PEF processing is applied the observed trend is reversed. PEF processing of tomato before the first juicing step dramatically decreases the juice viscosity, leading to unacceptably low consistencies (values under 0.40 Pa s). However, when PEF treatment is applied to the tomato wastes before the second juicing step a yield increase is observed and the viscosity is higher than that of untreated juice. When the juices from the first juicing (untreated) and second juicing (PEF treated) are finally mixed (at a ratio of approximately 6:1), the overall juice yield is higher (approximately 10%) and the viscosity of the final juice falls within the industrially accepted standard (0.45 Pa s that corresponds to 14.2 cm Bostwick consistency).

PEF technology could potentially be used as a pretreatment on the tomato waste in order to extract high-added value compounds. Tomato waste was subjected at different PEF conditions. Electric field strengths ranged from 1.0 to 5.0 kV/cm for 0–1500 pulses, a frequency of 20 Hz and pulse width of 15 μ s. Afterwards the bioactive compounds were extracted from tomato by-

products with a solid-liquid extraction using ethanol-water solvents. The bioactive compounds extracted were total carotenoids, total phenolics total proteins and the antioxidant activity of the extracts of tomato by-products. More intense PEF conditions resulted in improved extractability of carotenoid compounds, while the increase ranged from 35.9% to 56.4% compared to the conventionally processed extract (11,36 mg/100g) leading to 14.31 mg/100g of extracted lycopene compared with the conventionally processed samples that had 9.84 mg/100 g of extracted lycopene. PEF assisted extraction increased significantly the yield of phenolic compounds, that doubled (56.16 mg GAE/kg) for a PEF treatment at 2 kV/cm for 700 pulses, therefore resulting in a significantly higher antioxidant activity.

On the second part, PEF and HP pretreatments were applied at several steps of the olive oil production line and at the valorization of olive pomace, which is the solid by-product generated after the separation step. The olives and olive pomace used came from olives *Tsounati* variety at the second ripening stage.

On the first section was studied the effect of the two technologies as pretreatments at the malaxation step to increase the olive oil yield and improve the quality characteristics of the final olive oils.

Additionally, the application of HP and PEF as pretreatments on olive paste, combined with milder malaxation conditions (time and temperature) was studied, without impairing the oil extraction yield, while improving olive oil quality and sensorial characteristics. Olive paste was subjected to different PEF (0,5-2,0 kV/cm) and HP (100-600 MPa) process conditions and then malaxated at different malaxation conditions (15-40°C, 30 min) for oil extraction. The extraction yield and quality characteristics such as acidity, peroxide value, K232 and K270 indices, total phenolic compounds, chlorophylls and antioxidant capacity were determined for each sample.

Initially, based on the kinetic study on the conventional olive oil production process at different malaxation conditions (duration and temperature), the optimum malaxation conditions (30 °C and 30 min), were selected based on the olive oil yield while the quality characteristics were not affected. These conditions led to a high olive oil extraction yield (22.5%), while preserving the quality characteristics of the oil. Malaxation at 15 °C, led to significantly lower olive oil yield and phenolic content, compared with malaxation at 30 °C.

An increase in olive oil yield was observed after PEF and HP pretreatments at all the conditions studied. The yield increase of PEF pretreated samples was approximately up to 20.1% and the phenolic content increase was approximately up to 23.1% compared to untreated sample

depending on the process and malaxation conditions. The yield increase of HP pretreated samples was approximately up to 18.6 % and the phenolic content increase was approximately up to 20.7% compared to untreated sample (olive oil yield: 22.5% and phenolic content: 743 mg GAE/kg) depending on the process and malaxation conditions. As a result, the highest olive oil yield increase was observed, after using both pretreatments combined with 15°C malaxation temperature. Two pretreatments enhanced the mass transfer phenomena during the malaxation step at 15°C leading to significant higher oil yields (almost equal to the ones obtained by the untreated sample, malaxated at 30°C), while increasing also the phenolic content without impairing the quality characteristics of the final oils. Nevertheless, malaxation temperature was a major parameter on the oil enrichment with bioactive compounds. The maximum phenolic content of the final oil (after combined effect of PEF and HP with 15°C malaxation temperature) was 516 and 501 mg GAE/kg respectively, while the phenolic content of the conventionally extracted oil at 30 °C malaxation temperature was 743 mg GAE/kg. The olive oil yield increase and the phenolic content of the oils were correlated mathematically with the cell disintegration index Z with a sigmoidal model for each pretreatment, proving that the yield is strongly depended on the cell disruption, regardless of the way that this disruption was achieved (field intensity, pulses, applied pressure and time).

PEF and HP assisted malaxation was optimized through olive oil yield and phenolic content, using Box-Behnken design with three parameters (temperature, malaxation time and intensity of the PEF and HP treatments), to explore their potential use in order to decrease malaxation time and temperature, while at the same time leading to the maximum possible oil yield and preserving the oil's quality characteristics. PEF pretreatment with $Z=0.7$, combined with $T=26^{\circ}\text{C}$, $t=37$ min of malaxation conditions, led to the highest oil yield (25.02%) with a phenolic content of 832,05 mg GAE/kg oil. HP pretreatment with $Z=0.7$, combined with $T=26^{\circ}\text{C}$, $t=37$ min of malaxation conditions, led to the highest oil yield (25.72%) with a phenolic content of 839,75 mg GAE/kg oil.

A comparison of the application of HP (600 MPa, 5 min, $Z=0,7$) and PEF (5 kV/cm, 100 pulses, $Z=0,7$) pretreatments on olive paste at the optimum selected conditions with the conventional malaxation process, was conducted, based on the oil yield, the content of bioactive compounds, the quality and organoleptic characteristics. It was observed that PEF and HP pretreatments at the optimum conditions at 30°C, increased the oil yield by 8.3 and 7.0% respectively compared to untreated (22.5%), while in half of the malaxation time (15min), the oil yield was 23.13 and 22.84% respectively (approximately equal to untreated at 30 °C). Additionally, PEF and HP assisted malaxation at lower temperature (22°C) led to an oil yield of 23.98 and 22.84%

respectively (almost equal to the one obtained from conventional malaxation). At 30°C malaxation temperature with PEF and HP pretreatments led to a 9.3 and 4.9% phenolic content increase respectively, compared to untreated (745 mg GAE/kg), while at 15min of malaxation time the phenolic content of the oil became equal to one obtained from the conventional malaxation. Furthermore, PEF and HP pretreatments increased the individual phenolic compounds (hydroxytyrosol: 68 and 44% increase, tyrosol: 63 and 41.6% increase, respectively) and a-tocopherol content of the final oils by 59 and 65%% (66,9 mg/kg και 66,5 mg/kg) respectively.

Also, malaxation conditions at 30°C and 15 min combined with HP and PEF led to an increase of all individual phenolic compounds (increase up to 10%), compared to untreated olive oil. Malaxation temperature at 22°C, combined with the two pretreatments, led to almost equal individual phenolic content of the oil as the one obtained from the conventional process. As expected, the induction period of olive oil was strongly correlated to phenolic and a-tocopherol content. Both pretreatments led to oils with increased oxidative stability (induction period: 178 and 197 h, for PEF and HP pretreated samples, respectively) compared to untreated (121h). Both pretreatments had no significant effect on the organoleptic characteristics of the final oils. Oils malaxated at 22°C had a slightly more fruity taste but less pungent and bitter taste compared to oils malaxated at 30°C. The stronger fruity taste could be attributed to the lower malaxation temperature used, as well as the lower bitterness related with lower phenolic content of oils malaxated at 22°C.

On the second section, PEF and HP assisted extraction of intracellular compounds from olive pomace was studied using ethanol-water solvent, in order to improve the extractability of high-value bioactive compounds with lower energy consumption.

Olive pomace, (by-product of two-phase centrifugation system), was dried under vacuum and then sieved (2mm). Experiments were conducted in different extraction temperatures (25, 40 and 60 °C) and ethanol concentrations (0, 25, 50 and 70%) in order to select the mildest extraction conditions with the highest extraction yield of intracellular compounds. The concentration of total polyphenols (mg GAE/L), proteins (mg/L) and antioxidant capacity (mM Trolox equivalent) of the extracts were measured. For each extracted group of compounds, the optimum yield was achieved for a 50% ethanol-water solution, at 25 °C for 60 min. The phenolic and protein content extracted during 60min ranged between 1.43-2.64 g GAE/100g d.w. and 1.25-3.98 g/100g d.w. of olive pomace, respectively.

Olive pomace was treated with PEF (0.5-2kV/cm, 50-2000pulses, 20Hz and 15 μ s pulse width) or HP (200-600MPa, 1-60min) processing. All the extracts were analyzed for total phenolic compounds, proteins content and antioxidant activity and compared with samples from conventional extraction. The phenolic and protein content for PEF pretreated samples ranged between 1.53 and 3.34 g GAE/100g d.w. and 2,06 έως 5,72 g /100g d.w., respectively. The phenolic and protein content for HP pretreated samples ranged between 1.88-2.94 g GAE/100g d.w. and 1,30 έως 4,69 g/100g d.w., respectively. More intense PEF or HP conditions applied, resulted in higher extraction yield of intracellular compounds. For pressures >400 MPa, the extracted protein amount was decreased, due to a possible denaturation induced by the applied pressure.

A comparison of the three extraction methods led to the conclusion that PEF assisted extraction was the most effective for phenolic recovery, compared to the HP treatment at low energy inputs (<6,4 kJ/kg), while the opposite was observed after using higher energy input (>400MPa). The total phenolic content of the extracts obtained after PEF and HP treatments was by 32% and 34% higher than the one obtained conventionally. PEF and HP pretreated samples had 21% (3,44 mMTE) and 15% (3,28 mMTE) higher antioxidant capacity, respectively, compared to conventionally treated sample (2,84 mMTE).

Regarding protein recovery, HP treatment increased significantly the protein yield (up to 45% increase) for pressures up to 200MPa compared to conventionally treated sample. On the contrary, more intense PEF conditions (increased energy input) increased the protein yield up to 32% compared to conventionally treated sample. Both pretreatments reduced the extraction completion time t_{98} (describes the required extraction time needed to recover from pretreated samples the 98% of the phenolic or protein content isolated from untreated sample after 60 min of conventional extraction) to 5 and 12 min, respectively. More intense PEF or HP conditions (>24 kJ/kg) reduced the extraction time t_{98} less than 1 min, meaning that the extracts had the preferred content immediately after the pretreatments, without any further extraction.

PEF and HP assisted extraction was optimized through total and individual phenolic content regarding the extraction time and the intensity of the pretreatments conditions. The amount of total and individual phenolic content (hydroxytyrosol, tyrosol, oleuropein, kampferol, luteolin and ferulic acid) obtained from PEF pretreatment showed a maximum value for less than 60min extraction time (30-40min) and for energy inputs 11-14.5 kJ/kg (3-5kV/cm). The maximum value of extracted polyphenols for HP pretreated samples was reached for less than 60min extraction times (30-40min) using energy input 15.0-36,1 kJ/kg (400-600 MPa).

Finally, an optimization for the conventional extraction, assisted by PEF (5 kV/cm, 11 kJ/kg) and HP (350 MPa, 10 min, 15 kJ/kg) was performed, through the extraction time and solvent volume. Regarding the conventional extraction, in order to obtain the maximum yield, 2.78 g GAE/100g d.w. of phenolic content, 4,10 g/100 g d.w. of protein content and an antioxidant activity of 3,27 mM TE, 50-60 min extraction time and 40-50% ethanol content is required. Regarding the PEF assisted extraction in order to obtain the maximum yields, 3.13 g GAE/100g d.w. of phenolic content, 5.40 g/100 g d.w. of protein content and an antioxidant activity of 3,83 mM TE, 40-60 min of extraction time and 35-50% ethanol is required. Regarding the HP assisted extraction in order to obtain the maximum yields, 3.18 g GAE/100g d.w. of phenolic content, 5.13 g/100 g d.w. of protein content and an antioxidant activity of 3,37 mM TE, t=45-60 min of extraction time and 40-50% ethanol is required.

To conclude, PEF and HP proved to be one of the most promising processes that could be used as pretreatments for the production of plant-based products (tomato products and olive oil) with increased yield and improved quality characteristics, as well as for effective valorisation of their by-products. Their use at several steps of the production line led to (a) yield increase, (b) products with improved quality characteristics, enriched with bioactive and antioxidant compounds and (c) the reduction of the processing time and energy consumption of the whole production process. Also, their use as pretreatments to assist or replace the conventional extraction of bioactive compounds from by-products is an approach of high interest that offers a potential industrial use.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

| | |
|----------------------|---|
| Εισαγωγή | 1 |
| ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ..... | 5 |

Κεφάλαιο 1: Τεχνολογία των Παλμικών Ηλεκτρικών Πεδίων (Pulsed Electric Fields-PEF).....

| | |
|--|----|
| 1.1. Ιστορική αναδρομή..... | 6 |
| 1.2. Αρχή της λειτουργίας | 6 |
| 1.3. Ηλεκτροδιάτρηση | 7 |
| 1.4. Παράμετροι λειτουργίας | 10 |
| 1.4.1. Ένταση ηλεκτρικού πεδίου..... | 11 |
| 1.4.2. Χρόνος επεξεργασίας | 12 |
| 1.4.3. Συχνότητα..... | 13 |
| 1.4.4. Σχήμα και χαρακτηριστικά του παλμού | 13 |
| 1.4.5. Ειδική ενέργεια..... | 14 |
| 1.4.6. Θερμοκρασία επεξεργασίας | 15 |
| 1.4.7. Χαρακτηριστικά του τροφίμου | 16 |
| 1.4.8. Χαρακτηριστικά του μέσου επεξεργασίας..... | 16 |
| 1.5. Εφαρμογή των Παλμικών Ηλεκτρικών Πεδίων στα τρόφιμα..... | 17 |
| 1.5.1. Εφαρμογή των Παλμικών Ηλεκτρικών Πεδίων για την απενεργοποίηση μικροοργανισμών | 17 |
| 1.5.2. Εφαρμογή Παλμικών Ηλεκτρικών Πεδίων για την ενίσχυση των φαινομένων μεταφοράς μάζας | 18 |
| 1.6. Δείκτης κυτταρικής διάρρηξης Z..... | 21 |
| 1.7. Τεχνικές ποσοτικοποίησης της ηλεκτροδιάτρησης | 21 |
| 1.7.1. Οπτική μικροσκοπία..... | 22 |
| 1.7.2. Ηλεκτρονική μικροσκοπία | 22 |
| 1.7.3. Ηλεκτρικά χαρακτηριστικά..... | 23 |
| 1.7.4. Συντελεστής διάχυσης..... | 25 |
| 1.7.5. Χαρακτηριστικά υφής..... | 26 |
| 1.7.6. Με φυγοκεντρική αποβολή υγρού | 26 |
| 1.8. Σχεδιασμός Εξοπλισμού ΠΗΠ | 27 |
| 1.8.1. Διάταξη των ΠΗΠ..... | 27 |
| 1.8.2. Θάλαμοι επεξεργασίας..... | 28 |
| 1.9. Εφαρμογές των Παλμικών Ηλεκτρικών Πεδίων στα τρόφιμα και βιβλιογραφική ανασκόπηση | 30 |
| 1.9.1. Εφαρμογές των ΠΗΠ στην απενεργοποίηση των μικροοργανισμών | 31 |

| | | |
|---------|--|----|
| 1.9.2. | Εφαρμογές των ΠΗΠ στην ενζυμική δραστικότητα..... | 32 |
| 1.10. | Εφαρμογές των ΠΗΠ για βελτίωση των φαινομένων μεταφοράς μάζας..... | 33 |
| 1.10.1. | Χυμοποίηση φρούτων και λαχανικών | 33 |
| 1.10.2. | Εκχύλιση ενδοκυττάρων ενώσεων προστιθέμενης αξίας | 34 |
| 1.10.3. | Αφυδάτωση..... | 36 |
| 1.10.4. | Τροποποίηση της υφής..... | 37 |
| 1.11. | Πλεονεκτήματα των ΠΗΠ..... | 38 |
| 1.12. | Βιομηχανική εφαρμογή και εκτίμηση κόστους των ΠΗΠ | 38 |

Κεφάλαιο 2:Τεχνολογία της Υπερυψηλής Πίεσης (High Pressure Processing- HPP).....41

| | | |
|--------|--|----|
| 2.1. | Ιστορική Αναδρομή | 41 |
| 2.2. | Βασικές Αρχές της Υπερυψηλής Πίεσης..... | 42 |
| 2.3. | Παράμετροι της διεργασίας ΥΠ | 43 |
| 2.3.1. | Εφαρμοζόμενη πίεση..... | 43 |
| 2.3.2. | Θερμοκρασία συμπεριλαμβανομένης και της αδιαβατικής θέρμανσης | 44 |
| 2.3.3. | Χρόνος επεξεργασίας | 44 |
| 2.4. | Επίδραση της Υπερυψηλής Πίεσης στα τρόφιμα..... | 45 |
| 2.4.1. | Επίδραση της ΥΠ στους μικροοργανισμούς..... | 46 |
| 2.4.2. | Επίδραση της ΥΠ στα θρεπτικά, ποιοτικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τροφίμου | 48 |
| 2.4.3. | Επίδραση της ΥΠ στα ένζυμα | 49 |
| 2.4.4. | Επίδραση της ΥΠ στην εκχύλιση ενδοκυτταρικών συστατικών από τρόφιμα..... | 52 |
| 2.5. | Πλεονεκτήματα και Περιορισμοί της Υπερυψηλής Πίεσης | 54 |
| 2.6. | Εξοπλισμός και Λειτουργία της Υπερυψηλής Πίεσης..... | 55 |
| 2.7. | Πάγιο και λειτουργικό κόστος της ΥΠ | 57 |

Κεφάλαιο 3: Εφαρμογή της Υπερυψηλής πίεσης και των Παλμικών Ηλεκτρικών Πεδίων σε φυτικά προϊόντα 59

| | | |
|--------|---|----|
| 3.1. | Εισαγωγή..... | 59 |
| 3.2. | Νέες τεχνολογίες για αύξηση της απόδοσης σε παραγωγή προϊόντος και για βελτίωση της ποιότητας των τελικών παραγόμενων προϊόντων φυτικής προέλευσης..... | 59 |
| 3.3. | Η τομάτα και η σύσταση της..... | 60 |
| 3.3.1. | Σύσταση της τομάτας..... | 60 |
| 3.4. | Πηκτινολυτικά ένζυμα τομάτας | 63 |
| 3.4.1. | Μηχανισμός δράσης των ενζύμων στα προϊόντα τομάτας..... | 64 |

| | | |
|---------|--|----|
| 3.5. | Προϊόντα βιομηχανικής επεξεργασίας τομάτας..... | 66 |
| 3.6. | Παραγωγική διαδικασία προϊόντων τομάτας | 68 |
| 3.6.1. | Συγκομιδή και μεταφορά της τομάτας..... | 69 |
| 3.6.2. | Παραλαβή της τομάτας | 69 |
| 3.6.3. | Πλύσιμο της τομάτας..... | 70 |
| 3.6.4. | Διαλογή της τομάτας | 70 |
| 3.6.5. | Αποφλοιώση..... | 70 |
| 3.6.6. | Θραύση | 70 |
| 3.6.7. | Αποχύμωση..... | 71 |
| 3.6.8. | Συμπύκνωση | 72 |
| 3.6.9. | Θερμική επεξεργασία | 72 |
| 3.6.10. | Αποθήκευση..... | 73 |
| 3.7. | Τα «επιλεγμένα» σημεία στην επεξεργασία βιομηχανικής τομάτας | 73 |
| 3.8. | Αποφλοιώση ολόκληρων τοματών | 74 |
| 3.8.1. | Συμβατικές μέθοδοι αποφλοιώσης της τομάτας | 74 |
| 3.8.2. | Νέες τεχνολογίες για την αποφλοιώση τοματών | 76 |
| 3.9. | Χυμοποίηση τοματών | 78 |
| 3.9.1. | Εφαρμογή των ΠΗΠ στην αύξηση της απόδοσης και στη βελτίωση των ποιοτικών χαρακτηριστικών χυμού τομάτας | 79 |
| 3.10. | Συμπύκνωση χυμού τομάτας σε συνδυασμό με τη δράση των πηκτινολυτικών ενζύμων τομάτας..... | 80 |
| 3.10.1. | Εφαρμογή των ΠΗΠ και της ΥΠ στην παραγωγή συμπυκνωμένων προϊόντων τομάτας..... | 81 |
| 3.11. | Το ελαιόλαδο..... | 83 |
| 3.11.1. | Η σύσταση του ελαιόλαδου | 83 |
| 3.12. | Παραγωγική διαδικασία εξαγωγής ελαιόλαδου | 87 |
| 3.12.1. | Συγκομιδή του καρπού | 87 |
| 3.12.2. | Πλύσιμο και αφαίρεση φύλλων | 87 |
| 3.12.3. | Άλεση ή σύνθλιψη | 87 |
| 3.12.4. | Ανάμιξη της πάστας ελιάς (Μάλαξη)..... | 88 |
| 3.12.5. | Εξαγωγή ελαιόλαδου από την ελαιόπαστα | 89 |
| 3.12.6. | Αποθήκευση και εμφιάλωση του ελαιόλαδου..... | 92 |
| 3.13. | Παράγοντες που επηρεάζουν τη σύσταση του ελαιόλαδου..... | 92 |
| 3.14. | Δείκτες ποιότητας ελαιόλαδου | 93 |
| 3.15. | Κατηγορίες ελαιόλαδου..... | 95 |
| 3.15.1. | Παρθένο ελαιόλαδο | 95 |
| 3.16. | Παράγοντες που επηρεάζουν τη διατηρησιμότητα του ελαιόλαδου..... | 96 |

| | | |
|---------|---|-----|
| 3.17. | Τα ένζυμα του ελαιόλαδου..... | 97 |
| 3.18. | Δραστηκότητα των ενδογενών ενζύμων στη διαδικασία εξαγωγής ελαιόλαδου..... | 98 |
| 3.19. | Εφαρμογή μεθόδων για την αύξηση της απόδοσης και βελτίωση της ποιότητας του ελαιόλαδου..... | 100 |
| 3.19.1. | Μάλαξη υποβοηθούμενη από υπερήχους | 101 |
| 3.19.2. | Μάλαξη υποβοηθούμενη με Μικροκύματα | 102 |
| 3.19.3. | Μάλαξη με ενζυμική προκατεργασία..... | 102 |
| 3.20. | Εφαρμογή των ΠΗΠ και της ΥΠ στην παραγωγή υψηλής απόδοσης και ποιότητας ελαιόλαδου..... | 103 |

Κεφάλαιο 4: Εφαρμογή της Υπερυψηλής Πίεσης και των Παλμικών Ηλεκτρικών Πεδίων σε παραπροϊόντα φυτικής προέλευσης..... 107

| | | |
|--------|--|-----|
| 4.1. | Τα παραπροϊόντα της βιομηχανίας τροφίμων: Διαχείριση και αξιοποίηση τους..... | 107 |
| 4.2. | Παραπροϊόντα βιομηχανικής επεξεργασίας τομάτας..... | 109 |
| 4.2.1. | Σύσταση παραπροϊόντων τομάτας..... | 110 |
| 4.2.2. | Αξιοποίηση παραπροϊόντων τομάτας | 111 |
| 4.3. | Παραπροϊόντα ελαιουργίας..... | 112 |
| 4.3.1. | Σύσταση του ελαιοπυρήνα..... | 113 |
| 4.3.2. | Αξιοποίηση του ελαιοπυρήνα..... | 114 |
| 4.3.3. | Διεργασίες διαχείρισης του ελαιοπυρήνα πριν την εκχύλιση βιοδραστικών ενώσεων..... | 115 |
| 4.4. | Εκχύλιση βιοδραστικών ουσιών..... | 116 |
| 4.4.1. | Εκχύλιση στερεού υγρού..... | 117 |
| 4.4.2. | Μειονεκτήματα εκχύλισης στερεού-υγρού | 120 |
| 4.5. | Νέες εναλλακτικές καινοτόμες μέθοδοι εκχύλισης | 120 |
| 4.5.1. | Εκχύλιση με Υπερκρίσιμα Ρευστά (Supercritical Fluid extraction) | 120 |
| 4.5.2. | Εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπερήχους (Ultrasounds assisted extraction)..... | 121 |
| 4.5.3. | Εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα (Microwave assisted extraction)..... | 123 |
| 4.5.4. | Ενζυμική προκατεργασία και εκχύλιση (Enzymatic assisted extraction)..... | 124 |
| 4.5.5. | Εκχύλιση υποβοηθούμενη με χρήση ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας (Homogenate assisted extraction)..... | 124 |
| 4.5.6. | Εκχύλιση υποβοηθούμενη από Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία (PEF assisted extraction)..... | 125 |
| 4.5.7. | Εκχύλιση υποβοηθούμενη από Υπερυψηλή Πίεση (HP assisted extraction).... | 126 |

| | |
|---|------------|
| Κεφάλαιο 5: Πειραματικό Μέρος..... | 133 |
| 5.1. Σκοπός | 133 |
| 5.2. Υλικά και μεθοδολογία | 136 |
| 5.2.1. Υλικά..... | 136 |
| 5.2.2. Χημικά Αντιδραστήρια..... | 138 |
| 5.3. Πειραματική διαδικασία Α' μέρος..... | 138 |
| 5.3.1. Πρώτη θεματική ενότητα – Επίδραση της ΥΠ και των ΠΗΠ στην αύξηση της παραγωγής προϊόντων τομάτας (πάστα τομάτας) με ταυτόχρονη διατήρηση των ποιοτικών χαρακτηριστικών του τελικού προϊόντος. | 139 |
| 5.3.2. Δεύτερη θεματική ενότητα – Εφαρμογή των ΠΗΠ ως προεπεξεργασία για την ενίσχυση της αποφλοιώσης ολόκληρων τοματών, για την παραγωγή χυμού τομάτας με αυξημένη απόδοση και βελτιωμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά και για τη βελτίωση της ανάκτησης ενδοκυτταρικών συστατικών από παραπροϊόντα τομάτας | 142 |
| 5.4. Πειραματικό μέρος- Β' μέρος..... | 148 |
| 5.4.1. Πρώτη θεματική ενότητα – Επίδραση της ΥΠ και ΠΗΠ ως προεπεξεργασίες στην ελαιόπαστα (πριν το στάδιο της μάλαξης) στην απόδοση σε ελαιόλαδο, στα ποιοτικά χαρακτηριστικά και στην οξειδωτική σταθερότητα των τελικών παραγόμενων ελαιόλαδων..... | 149 |
| 5.4.2. Δεύτερη θεματική ενότητα – Μελέτη της εκχύλισης ενδοκυτταρικών συστατικών από ελαιοπυρήνα υποβοηθούμενη με Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία και Υπερυψηλή Πίεση. | 151 |
| 5.5. Μέθοδοι - Αναλύσεις - Μετρήσεις..... | 153 |
| 5.5.1. Προσδιορισμός δραστικότητας της Πηκτινομεθυλεστεράσης (PME)..... | 154 |
| 5.5.2. Προσδιορισμός δραστικότητας της Πολυγαλακτουρονάσης (PG)..... | 154 |
| 5.5.3. Προσδιορισμός της απόδοσης της συμπύκνωσης | 155 |
| 5.5.4. Προσδιορισμός του ιξώδους των συμπυκνωμένων χυμών τομάτας | 155 |
| 5.5.5. Προσδιορισμός των ολικών διαλυτών στερεών °Brix των συμπυκνωμένων χυμών τομάτας. | 156 |
| 5.5.6. Προσδιορισμός της συνεκτικότητας κατά Bostwick των συμπυκνωμένων χυμών τομάτας. | 156 |
| 5.5.7. Προσδιορισμός του χρώματος των συμπυκνωμένων χυμών τομάτας | 157 |
| 5.6. Χημικές Αναλύσεις για τον ποιοτικό προσδιορισμό του ελαιόλαδου | 158 |
| 5.6.1. Προσδιορισμός ελεύθερης οξύτητας | 158 |
| 5.6.2. Προσδιορισμός αριθμού υπεροξειδίων | 158 |
| 5.6.3. Προσδιορισμός συντελεστών απορρόφησης K_{232} και K_{270} | 159 |
| 5.6.4. Προσδιορισμός χλωροφύλλης σε ελαιόλαδο | 159 |
| 5.6.5. Προσδιορισμός λιπαρών οξέων στο ελαιόλαδο..... | 159 |
| 5.6.6. Οργανοληπτική αξιολόγηση ελαιόλαδου | 160 |
| 5.6.7. Προσδιορισμός της οξειδωτικής σταθερότητας των ελαιόλαδων υπό επιταχυνόμενες συνθήκες (Μέθοδος Oxitest) | 160 |
| 5.7. Εκχυλίσεις στερεού-υγρού για ποσοτικοποίηση σε ενδοκυτταρικά συστατικά | 161 |

| | |
|---|-----|
| 5.7.1. Εκχύλιση ελαιόλαδων προς δημιουργία εκχυλισμάτων για τους ποσοτικούς προσδιορισμούς..... | 161 |
| 5.7.2. Εκχύλιση και ποσοτικοποίηση των συνολικών καροτενοειδών στα εκχυλίσματα από ολόκληρες τομάτες, χυμούς τοματών ή από παραπροϊόντα τομάτας | 161 |
| 5.7.3. Εκχύλιση και ποσοτικοποίηση του λυκοπενίου με HPLC στα εκχυλίσματα από ολόκληρες τομάτες, χυμούς τοματών ή από παραπροϊόντα τομάτας | 162 |
| 5.7.4. Εκχύλιση συνολικών φαινολικών ενώσεων και πρωτεϊνών από παραπροϊόντα τομάτας και ελαιοπυρήνα | 163 |
| 5.8. Ποσοτικός προσδιορισμός βιοδραστικών συστατικών από εκχυλίσματα ελαιόλαδου, ελαιοπυρήνα και προϊόντων τομάτας | 163 |
| 5.8.1. Προσδιορισμός των ολικών φαινολικών ενώσεων..... | 163 |
| 5.8.2. Προσδιορισμός μεμονωμένων εκχυλισμένων φαινολικών συστατικών στο ελαιόλαδο και στα εκχυλίσματα του ελαιοπυρήνα με τη μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας (HPLC)..... | 164 |
| 5.8.3. Προσδιορισμός ολικών πρωτεϊνών στον στερεό ελαιοπυρήνα | 164 |
| 5.8.4. Προσδιορισμός της συγκέντρωσης των ολικών πρωτεϊνών | 165 |
| 5.8.5. Προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων..... | 165 |
| 5.8.6. Προσδιορισμός α-τοκοφερόλης σε εκχυλίσματα ελαιόλαδου | 166 |
| 5.9. Εξοπλισμός της Υπερυψηλής Πίεσης..... | 166 |
| 5.10. Εξοπλισμός των Παλμικών Ηλεκτρικών Πεδίων | 167 |
| 5.11. Μαθηματική επεξεργασία των αποτελεσμάτων..... | 168 |
| 5.11.1. Μαθηματική περιγραφή της απενεργοποίησης των δυο ενδογενών ενζύμων χυμού τομάτας από ποικιλία Alamanda με θερμική επεξεργασία και επεξεργασία με ΥΠ..... | 168 |
| 5.11.2. Μαθηματική περιγραφή της απενεργοποίησης των δυο ενδογενών ενζύμων χυμού τομάτας από ποικιλία Alamanda με ΠΗΠ..... | 171 |
| 5.11.3. Μαθηματική περιγραφή του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z..... | 172 |
| 5.11.4. Υπολογισμός Αποδόσεων | 173 |
| 5.11.5. Μαθηματική περιγραφή της αύξησης της απόδοσης σε ελαιόλαδο και της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων στο παραγόμενο έλαιο για τις δυο προεπεξεργασίες με ΠΗΠ και ΥΠ, σε σχέση με το ανεπεξέργαστο δείγμα..... | 173 |
| 5.11.6. Σχεδιασμός Box-Behnken για την αριστοποίηση της μάλαξης της ελαιόπαστας και της εκχύλισης του ελαιοπυρήνα υποβοηθούμενης με ΥΠ και ΠΗΠ..... | 175 |
| 5.12. Σχεδιασμός πειραμάτων..... | 176 |
| 5.13. Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων..... | 186 |

Κεφάλαιο 6: Αποτελέσματα και Σχολιασμός 187

| | |
|--|-----|
| 6.1. Α' μέρος αποτελεσμάτων – Πρώτη θεματική ενότητα: «Εφαρμογή των ΠΗΠ και της ΥΠ για την παραγωγή συμπυκνωμένων προϊόντων τομάτας με αυξημένη απόδοση και βελτιωμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά»..... | 187 |
|--|-----|

| | |
|---|-----|
| 6.1.1. Κινητική μελέτη της επίδρασης της θερμικής επεξεργασίας, επεξεργασίας με ΥΠ και ΠΗΠ στην απενεργοποίηση των ενδογενών ενζύμων ΡΜΕ και ΡΓ χυμού τομάτας. | 187 |
| 6.1.2. Κινητική μελέτη στις συνθήκες της ΥΠ στην απενεργοποίηση των ενζύμων τομάτας..... | 190 |
| 6.1.3. Κινητική απενεργοποίηση της επεξεργασία με ΠΗΠ της ΡΜΕ και ΡΓ χυμού τομάτας..... | 198 |
| 6.1.4. Επιλογή βέλτιστων συνθηκών ΥΠ και ΠΗΠ για την παραγωγή συμπυκνωμένου χυμού τομάτας και κινητική μελέτη βέλτιστης υφής (ιξώδους) και ολικών διαλυτών στερεών σε βέλτιστες συνθήκες ΥΠ και ΠΗΠ..... | 202 |
| 6.1.5. Επιταχυνόμενο πείραμα διατηρησιμότητας σε συμπυκνωμένα προϊόντα τομάτας ποικιλίας Alamanda..... | 206 |
| 6.2. Δεύτερη θεματική ενότητα: «Εφαρμογή των ΠΗΠ ως προεπεξεργασία για την ενίσχυση της αποφλοίσωσης ολόκληρων τοματών, για την παραγωγή χυμού τομάτας με αυξημένη απόδοση και βελτιωμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά και για τη βελτίωση της ανάκτησης ενδοκυτταρικών συστατικών από παραπροϊόντα τομάτας» | 209 |
| 6.2.1. Επιλογή βέλτιστων συνθηκών ΠΗΠ με βάση τον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z..... | 209 |
| 6.2.2. Επίδραση των ΠΗΠ στη βελτίωση της αποφλοίσωσης ολόκληρων τοματών..... | 214 |
| 6.2.3. Συγκριτική μελέτη των ΠΗΠ σε επιλεγμένες συνθήκες με άλλες συμβατικές μεθόδους αποφλοίσωσης – Αποφλοίσωση με ζεμάτισμα και με ατμό..... | 216 |
| 6.2.4. Προσδιορισμός της απόδοσης σε χυμό τομάτας και ποιοτικά χαρακτηριστικά των τελικών χυμών..... | 218 |
| 6.2.5. Εκχύλιση ενώσεων υψηλής προστιθέμενης αξίας από παραπροϊόντα τομάτας υποβοηθούμενη με ΠΗΠ..... | 224 |
| 6.3. Β' μέρος αποτελεσμάτων – Πρώτη θεματική ενότητα: «Επίδραση της ΥΠ και ΠΗΠ ως προεπεξεργασίες στην ελαιόπαστα (πριν το στάδιο της μάλαξης) στην απόδοση σε ελαιόλαδο, στα ποιοτικά χαρακτηριστικά και στην οξειδωτική σταθερότητα των τελικών παραγόμενων ελαιόλαδων» | 230 |
| 6.3.1. Κινητική μελέτη συμβατικής εξαγωγής ελαιόλαδου, ποιοτικών και φαινολικών συστατικών από ελαιόπαστα σε διάφορες συνθήκες μάλαξης..... | 231 |
| 6.3.2. Προσδιορισμός του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z για τον προσδιορισμό των συνθηκών με ΠΗΠ και ΥΠ ως προεπεξεργασίες στην ελαιόπαστα. | 236 |
| 6.3.3. Μελέτη της ΥΠ και των ΠΗΠ ως προεπεξεργασίες πριν το στάδιο της μάλαξης σε επιλεγμένες συνθήκες (30°C και 30 min) στην απόδοση σε ελαιόλαδο, στα ποιοτικά χαρακτηριστικά και στη συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών των τελικών ελαιόλαδων..... | 239 |
| 6.3.4. Μαθηματική περιγραφή των ΠΗΠ και της ΥΠ ως προεπεξεργασίες πριν το στάδιο της μάλαξης στην αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο και της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων | 246 |
| 6.3.5. Αριστοποίηση της διαδικασίας της μάλαξης ως προς τον χρόνο, τη θερμοκρασία και τις συνθήκες προεπεξεργασίας με ΥΠ και ΠΗΠ..... | 262 |

| | |
|---|------------|
| 6.3.6. Σύγκριση της εξαγωγής ελαιόλαδου του μη προεπεξεργασμένου δείγματος με την εξαγωγή ελαιόλαδου από προεπεξεργασμένη με ΠΗΠ και ΥΠ ελαιόπαστα με μάλαξη στις βέλτιστες συνθήκες..... | 275 |
| 6.3.7. Σύγκριση της εξαγωγής ελαιόλαδου του μη προεπεξεργασμένου δείγματος με την εξαγωγή ελαιόλαδου από προεπεξεργασμένη με ΠΗΠ και ΥΠ ελαιόπαστα με μάλαξη σε ηπιότερες συνθήκες..... | 276 |
| 6.4. Β' μέρος αποτελεσμάτων – Δεύτερη θεματική ενότητα: «Μελέτη της εκχύλισης ενδοκυτταρικών συστατικών από ελαιοπυρήνα υποβοηθούμενη με Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία και Υπερυψηλή Πίεση»..... | 286 |
| 6.4.1. Συμβατική εκχύλιση – Κινητική μελέτη των συνθηκών εκχύλισης (θερμοκρασία και συγκέντρωση αιθανόλης) ενδοκυτταρικών ενώσεων από ελαιοπυρήνα..... | 286 |
| 6.4.2. Εκχύλιση των ενδοκυτταρικών ενώσεων από τον ελαιοπυρήνα υποβοηθούμενη με ΠΗΠ..... | 290 |
| 6.4.3. Μαθηματική περιγραφή της εκχύλισης υποβοηθούμενη με ΠΗΠ | 297 |
| 6.4.4. Εκχύλιση των ενδοκυτταρικών ενώσεων από τον ελαιοπυρήνα υποβοηθούμενη με ΥΠ..... | 301 |
| 6.4.5. Μαθηματική περιγραφή της εκχύλισης υποβοηθούμενης με ΥΠ | 310 |
| 6.4.6. Σύγκριση της συμβατικής εκχύλισης και της εκχύλισης υποβοηθούμενης με ΠΗΠ και ΥΠ ως προς τη συγκέντρωση των εκχυλιζόμενων ενδοκυτταρικών συστατικών. | 313 |
| 6.4.7. Σύγκριση της συμβατικής εκχύλισης και της εκχύλισης υποβοηθούμενης με ΠΗΠ και ΥΠ ως προς τον απαιτούμενο χρόνο εκχύλισης t_{98} | 314 |
| 6.4.8. Ανάλυση των εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα σε επιμέρους φαινολικές ενώσεις με HPLC με συμβατική εκχύλιση..... | 319 |
| 6.4.9. Αριστοποίηση της εκχύλισης υποβοηθούμενης με ΠΗΠ και ΥΠ των ολικών, και μεμονωμένων φαινολικών συστατικών από ελαιοπυρήνα. | 322 |
| 6.4.10. Σύγκριση της συμβατικής εκχύλισης και της εκχύλισης υποβοηθούμενη από ΠΗΠ και ΥΠ στις βέλτιστες συνθήκες για την ανάκτηση ολικών και μεμονωμένων φαινολικών ενώσεων από ελαιοπυρήνα..... | 339 |
| 6.4.11. Αριστοποίηση της συμβατικής εκχύλισης και της εκχύλισης υποβοηθούμενης με ΠΗΠ και ΥΠ των ενδοκυτταρικών συστατικών από ελαιοπυρήνα ως προς τον χρόνο και τη συγκέντρωση αιθανόλης..... | 341 |
| 6.4.12. Σύγκριση της συμβατικής εκχύλισης και της υποβοηθούμενης με ΠΗΠ και ΥΠ για την ανάκτηση των ενδοκυτταρικών συστατικών από ελαιοπυρήνα ύστερα από την αριστοποίηση των συνθηκών τους. | 357 |
| Κεφάλαιο 7: Συμπεράσματα-Προτάσεις..... | 363 |
| ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ | 377 |

Εισαγωγή

Στους πρωταρχικούς στόχους της βιομηχανίας τροφίμων βρίσκεται διαχρονικά η βελτιστοποίηση της απόδοσης σε παραγωγή προϊόντος της εκάστοτε διεργασίας με ταυτόχρονη βελτίωση των ποιοτικών χαρακτηριστικών των τελικών προϊόντων. Κατά τις τελευταίες δεκαετίες, καινοτόμες διεργασίες ερευνώνται και εφαρμόζονται σε συνδυασμό με τις συμβατικές με σημαντικά αποτελέσματα. Η Υπερυψηλή Πίεση (ΥΠ) και τα Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία (ΠΗΠ) είναι από τις πιο υποσχόμενες νέες τεχνολογίες για την επίτευξη αυτών των στόχων στη βιομηχανία τροφίμων.

Στην παρούσα διατριβή πραγματοποιήθηκε μελέτη της ΥΠ και των ΠΗΠ στην παραγωγή φυτικών προϊόντων με αυξημένη απόδοση σε παραγωγή προϊόντος και βελτιωμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά και στην ενίσχυση της ανάκτηση βιοδραστικών συστατικών από τα παραπροϊόντα τους. Μελετήθηκε η επίδραση αυτών των τεχνολογιών ως προεπεξεργασίες σε διάφορα στάδια της παραγωγικής διαδικασίας προϊόντων τομάτας, της εξαγωγής ελαιόλαδου και στην ανάκτηση βιοδραστικών ενώσεων από τα παραπροϊόντα τους.

Οι δύο αυτές τεχνολογίες, λόγω της αύξησης της διαπερατότητας των φυτικών ιστών που προκαλούν ενισχύουν τα φαινόμενα μεταφοράς μάζας καθιστώντας την εφαρμογή τους πολύ ελκυστική για τη βιομηχανία τροφίμων. Οι μεταβολές που προκαλούνται στην κυτταρική μεμβράνη των φυτικών ιστών, οδηγούν σε απώλεια του κυτταρικού περιεχομένου με αποτέλεσμα είτε να αυξάνουν την απόδοση σε χυμό είτε να συμβάλλουν στην εκχύλιση βιοδραστικών ενώσεων εμπλουτίζοντας τα τελικά παραγόμενα προϊόντα προσδίδοντας τους βελτιωμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά. Η εφαρμογή τους αποσκοπεί όχι μόνο στην παραγωγή προϊόντων με αυξημένη απόδοση και ανώτερη ποιότητα αλλά και στη χρήση ηπιότερων συνθηκών επεξεργασίας έναντι των συμβατικών μεθόδων.

Η βιομηχανία τομάτας είναι ένας από τους πιο παραγωγικούς κλάδους στη βιομηχανία τροφίμων στην Ελλάδα. Ο κλάδος αντιμετωπίζει σημαντικές προκλήσεις στην παραγωγή προϊόντων, όσον αφορά την απόδοση, τις απώλειες και την υποβάθμιση της ποιότητας των τελικών προϊόντων.

Κατά τη συμπύκνωση του χυμού τομάτας, τα δύο ενδογενή ένζυμα της τομάτας, η Πηκτινομεθυλεστεράση (PME) και η Πολυγαλακτουρονάση (PG) δρουν συνεργιστικά υποβαθμίζοντας την υφή των τελικών προϊόντων τομάτας προκαλώντας δραστική πτώση του ιξώδους, ενώ όταν η PME ενεργεί μόνη της οδηγεί σε αύξηση του ιξώδους. Η εφαρμογή της ΥΠ και των ΠΗΠ σε χυμό τομάτας σε επιλεγμένες συνθήκες πριν το στάδιο της συμπύκνωσης δίνει τη δυνατότητα επιλεκτικής απενεργοποίησης των δύο ενζύμων, οδηγώντας σε μείωση του χρόνου

συμπύκνωσης, και μικρότερη απαίτηση για εξάτμιση νερού, σε τελικά συμπυκνωμένα προϊόντα τομάτας με βελτιωμένη υφή και αυξημένο χρόνο ζωής.

Κατά την αποφλοιώση ολόκληρων τοματών, η χρήση των συμβατικών μεθόδων αποφλοιώσης οδηγεί σε μεγάλες απώλειες σε σάρκα τομάτας, υποβάθμιση της ποιότητας των τελικών αποφλοιωμένων τοματών λόγω των υψηλών θερμοκρασιών που χρησιμοποιούν με μεγάλη κατανάλωση ενέργειας. Τα ΠΗΠ λόγω της ηλεκτροδιάτρησης που προκαλούν στους ιστούς της τομάτας, οδηγούν σε ευκολότερη αποκόλληση του φλοιού από την υπόλοιπη σάρκα με μειωμένες απώλειες σε προϊόν, χωρίς να υποβαθμίζουν τη σκληρότητα και τη συγκέντρωση του λυκοπενίου των τελικών αποφλοιωμένων τοματών λόγω των ήπιων θερμοκρασιών που χρησιμοποιούνται με χαμηλή κατανάλωση ενέργειας. Στόχος ήταν τα ΠΗΠ να συγκριθούν με τις συμβατικές μεθόδους αποφλοιώσης (με ζεμάτισμα και με ατμό), ως προς την απόδοση της διεργασίας (ευκολία απομάκρυνσης του φλοιού τομάτας από την υπόλοιπη σάρκα) και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των τελικών αποφλοιωμένων τοματών.

Στο στάδιο της χυμοποίησης των τοματών, η απόδοση σε χυμό τομάτας μπορεί να φθάνει έως το 85-90%. Η προσπάθεια στη βιομηχανία να αυξηθεί περαιτέρω η απόδοση σε χυμό οδηγεί σε υποβάθμιση του ιξώδους του τελικού χυμού χωρίς να επιτρέπει την περαιτέρω επεξεργασία του. Η εφαρμογή των ΠΗΠ ως προεπεξεργασία του σταδίου της χυμοποίησης στόχο είχε την αύξηση της απόδοσης σε χυμό τομάτας, τη βελτίωση των ποιοτικών χαρακτηριστικών και την αύξηση της συγκέντρωσης του λυκοπενίου των τελικών χυμών τομάτας.

Σε όλα τα στάδια της επεξεργασίας τομάτας παράγεται μια σημαντική ποσότητα παραπροϊόντων. Στόχος της διατριβής ήταν επιπλέον να μελετηθεί η εφαρμογή των ΠΗΠ ως προεπεξεργασία στη συμβατική εκχύλιση για την παραλαβή βιοδραστικών συστατικών από τα παραπροϊόντα τομάτας που αποτελούν μια πολλά υποσχόμενη πηγή αντιοξειδωτικών ενώσεων, σημαντική πηγή φυσικών καροτενοειδών, με κύριο συστατικό το λυκοπένιο. Η τεχνολογία των ΠΗΠ συμβάλλει στην όσο το δυνατόν αποδοτικότερη αξιοποίηση αυτών των παραπροϊόντων σε σύγκριση με τη συμβατική εκχύλιση, οδηγώντας σε εκχυλίσματα πλουσιότερα σε βιοδραστικές ενώσεις με υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα με διεργασία λιγότερο χρονοβόρα και φιλική προς το περιβάλλον.

Στο δεύτερο μέρος της διατριβής μελετήθηκε η εφαρμογή των ΠΗΠ και της ΥΠ, ως προεπεξεργασίες στο στάδιο της μάλαξης, στην παραγωγή εξαιρετικά παρθένου ελαιόλαδου. Η απόδοση και η ποιότητα των τελικών παραγόμενων ελαιόλαδων καθορίζεται σε μεγάλο βαθμό από τη θερμοκρασία και τον χρόνο της μάλαξης. Εντονότερες συνθήκες μάλαξης, μπορούν να οδηγήσουν σε αυξημένη απόδοση και υποβάθμιση της ποιότητας των ελαιόλαδων. Τα ΠΗΠ και

η ΥΠ, λόγω της αύξησης της διαπερατότητας των κυττάρων που προκαλούν, μπορούν να οδηγήσουν σε αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο με ταυτόχρονη διατήρηση των ποιοτικών δεικτών του και σε εμπλουτισμό των ελαιόλαδων από τις αντιοξειδωτικές ουσίες που εκχυλίζονται σε αυτό με χρήση ηπιότερων συνθηκών μάλαξης (μικρότερος χρόνος και θερμοκρασία).

Τέλος, ο ελαιοπυρήνας, είναι ένα φθινό παραπροϊόν πλούσιο σε βιοδραστικές ενώσεις με αντιοξειδωτική δράση και σε άλλες χρήσιμες ενώσεις, όπως είναι οι πρωτεΐνες. Ο ελαιοπυρήνας, χαρακτηρίζεται από χαμηλό ποσοστό πρωτεϊνών, αλλά από αλληλουχία αμινοξέων εξαιρετικά ωφέλιμη για τον άνθρωπο. Είναι σκόπιμο λοιπόν να τον αξιοποιήσει κανείς για το σύνολο των ωφέλιμων συστατικών του. Κρίθηκε σκόπιμη η μελέτη της εκχύλισης ενδοκυτταρικών συστατικών από ελαιοπυρήνα με διαλύματα αιθανόλης:νερού με συμβατική εκχύλιση και με εκχύλιση υποβοηθούμενη από ΠΗΠ και ΥΠ. Οι δυο τεχνολογίες στοχεύουν στην παραλαβή βιοδραστικών συστατικών από ελαιοπυρήνα με μεγαλύτερη απόδοση σε μικρότερο χρόνο εκχύλισης και με μειωμένο όγκο διαλύτη.

Στα επόμενα κεφάλαια της παρούσας διατριβής, θα αναλυθούν λεπτομερώς οι δύο καινοτόμες τεχνολογίες των Παλμικών Ηλεκτρικών Πεδίων και της Υπερυψηλής Πίεσης. Θα περιγραφούν οι αρχές λειτουργίας τους, οι μηχανισμοί με τους οποίους δρουν σε φυτικά κύτταρα με στόχο την ενίσχυση των φαινομένων μεταφοράς μάζας και θα γίνει ανασκόπηση της τρέχουσας έρευνας της εφαρμογής τους ως προεπεξεργασίες στις ήδη υπάρχουσες συμβατικές μεθόδους της παραγωγικής διαδικασίας στην επεξεργασία βιομηχανικής τομάτας, στην εξαγωγή παρθένου ελαιόλαδου και στις συμβατικές εκχυλίσεις για ανάκτηση βιοδραστικών ουσιών από τα παραπροϊόντα τομάτας και ελαιοπυρήνα. Στη συνέχεια θα παρουσιαστούν αναλυτικά η μεθοδολογία, ο πειραματικός σχεδιασμός της έρευνας, τα αποτελέσματα και τα συμπεράσματα της διατριβής σχετικά με την εφαρμογή των ΠΗΠ και της ΥΠ ως προεπεξεργασίες στη συμπύκνωση προϊόντων τομάτας, στην αποφλοιώση ολόκληρων τοματών, στη χυμοποίηση τους και στην εκχύλιση βιοδραστικών ενώσεων από τα παραπροϊόντα τοματών. Αντίστοιχα η μεθοδολογία, ο πειραματικός σχεδιασμός της έρευνας και τα αποτελέσματα και τα συμπεράσματα της εφαρμογής της κάθε διεργασίας πριν το στάδιο της μάλαξης στην εξαγωγή του ελαιόλαδου και στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του καθώς και στην εκχύλιση βιοδραστικών ενώσεων από τον ελαιοπυρήνα.

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Η ολοένα αυξανόμενη τάση προς τρόφιμα υψηλής διατροφικής αξίας οδήγησε τη βιομηχανία τροφίμων να στραφεί σε εναλλακτικές μεθόδους παστερίωσης, αντί των συμβατικών θερμικών επεξεργασιών. Η θερμική επεξεργασία είναι μια σημαντική τεχνολογία που έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως στη βιομηχανία τροφίμων για την αύξηση της διατηρησιμότητας και της ασφάλειας των τροφίμων με χαμηλό κόστος επεξεργασίας (Knoorr et al., 1994). Επιπλέον, η θερμική επεξεργασία παραδοσιακά επιτυγχάνεται με την υποβολή του τροφίμου σε μια περιοχή θερμοκρασιών από 60 έως πάνω από 100 °C για λίγα s έως min, μεταφέροντας ένα μεγάλο ποσό ενέργειας στο τρόφιμο (Jay, 1998). Αν και ο στόχος της θερμικής ενέργειας είναι να απενεργοποιήσει τους μικροοργανισμούς για τη συντήρηση των τροφίμων, πολλές αντιδράσεις ενισχύονται και οδηγούν σε αλλαγές, συμπεριλαμβανομένης της απώλειας της θρεπτικής και οργανοληπτικής ποιότητας των τροφίμων (Alwazeer et al., 2003).

Σήμερα, οι καταναλωτές απαιτούν ασφαλή προϊόντα τροφίμων, υψηλής διατροφικής αξίας, με βιολειτουργικές ιδιότητες, ανώτερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, ευκολία στη χρήση και με εκτεταμένη διάρκεια ζωής. Αναζητούν προϊόντα που είναι ελάχιστα επεξεργασμένα και παράγονται με τρόπο φιλικό προς το περιβάλλον.

Η ανάγκη της βιομηχανίας τροφίμων να καλύψει τις ανάγκες των καταναλωτών έπρεπε να στραφεί σε νέες καινοτόμες τεχνολογίες που θα εξασφαλίζουν ασφάλεια στο τελικό προϊόν και ανώτερη ποιότητα. Εναλλακτικές τεχνολογίες για την απενεργοποίηση των μικροοργανισμών, χωρίς τη χρήση υψηλών θερμοκρασιών, ως επεξεργασίες συντήρησης των τροφίμων έχει λάβει σημαντική ώθηση μόλις τα τελευταία χρόνια. Μη θερμικές τεχνολογίες επεξεργασίας τροφίμων, με τη χρήση θερμοκρασιών περιβάλλοντος ή ήπιων θερμοκρασιών, μπορούν να παρέχουν μια εναλλακτική λύση για τις θερμικές τεχνολογίες, διασφαλίζοντας την ασφάλεια του καταναλωτή και διατηρώντας ή βελτιώνοντας παράλληλα τα ποιοτικά, διατροφικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τροφίμου, καταναλώνοντας χαμηλότερη ενέργεια σε σχέση με τη θερμική επεξεργασία.

1. Κεφάλαιο 1: Τεχνολογία των Παλμικών Ηλεκτρικών Πεδίων (Pulsed Electric Fields-PEF)

Τα Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία (Pulsed Electric Fields-PEF) έχουν αναγνωρισθεί ως ανερχόμενη, καινοτόμα, μη θερμική τεχνολογία τα τελευταία χρόνια (Barbosa-Canovaw & Pothakamury, 1999). Η τεχνολογία αυτή έχει συγκεκριμένες εφαρμογές σε σχέση με τα είδη τροφίμων που μπορούν να υποβληθούν στην κάθε επεξεργασία. Μεταξύ αυτών, τα Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία (ΠΗΠ) είναι μια από τις πιο πολλά υποσχόμενες μεθόδους μη θερμικής επεξεργασίας, η οποία θα αναλυθεί εκτενώς σε αυτό το κεφάλαιο της διατριβής.

1.1. Ιστορική αναδρομή

Αν και η τεχνολογία των ΠΗΠ θεωρείται καινοτόμος επεξεργασία για τη βιομηχανία τροφίμων, μελέτες που αφορούν τη χρήση άμεσου και εναλλασσόμενου ηλεκτρικού ρεύματος για την αύξηση της διαπερατότητας φυτικών ιστών προκειμένου να βελτιωθεί η εκχύλιση διαφόρων ενδοκυτταρικών ενώσεων, όπως ο χυμός από φρούτα και λαχανικά και η ζάχαρη από τα τεύτλα, διεξήχθησαν από Ρώσους ερευνητές στη μέση της του περασμένου αιώνα (Flaumenbaum 1949). Αργότερα, οι πρώτες εφαρμογές των ΠΗΠ για τη διαπερατότητα των κυττάρων περιγράφηκαν από το Doevenspeck (1960). Στη δεκαετία του '80, με βάση τις παρατηρήσεις του Doevenspeck, η γερμανική εταιρεία Kciprs προσπάθησε να εμπορευτεί την τεχνολογία των ΠΗΠ, αλλά η εφαρμογή της τεχνολογίας στη βιομηχανία απέτυχε (Toerfl et al., 2014). Από τις αρχές της δεκαετίας του 1990, το ενδιαφέρον για την εφαρμογή των ΠΗΠ στην επεξεργασία τροφίμων έγινε έντονο. Μελέτες επικεντρώθηκαν κυρίως στην εφαρμογή των ΠΗΠ σε τρόφιμα με στόχο τη μικροβιακή απενεργοποίηση για την ενίσχυση της ασφάλειας και της σταθερότητας των τροφίμων χωρίς να επηρεάζονται τα διατροφικά, ποιοτικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τροφίμων. Ωστόσο, τα τελευταία χρόνια, όλο και περισσότερα ερευνητικά έργα έχουν επικεντρωθεί στην εφαρμογή των ΠΗΠ σε φυτικούς ιστούς με στόχο την αύξηση της διαπερατότητας της κυτταρικής μεμβράνης τους για τη βελτίωση της μεταφοράς μάζας σε διάφορες διεργασίες της βιομηχανίας τροφίμων (Donsi et al., 2010b, Knorr et al., 2011, Vorebiev & Lebonka 2008).

1.2. Αρχή της λειτουργίας

Τα Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία (ΠΗΠ) είναι μια καινοτόμος μη θερμική επεξεργασία τροφίμων που βασίζεται στην εφαρμογή επαναλαμβανόμενων εξαιρετικά σύντομων (ms-μs) παλμών υψηλής έντασης (0,1-30,0 kV/cm), σε ένα υλικό που τοποθετείται μεταξύ δύο ηλεκτροδίων. Η εφαρμογή του εξωτερικού ηλεκτρικού πεδίου στο υλικό προκαλεί την αύξηση της διαπερατότητας της κυτταρικής του μεμβράνης, ένα φαινόμενο που ονομάζεται ηλεκτροδιάτρηση. Η ηλεκτροδιάτρηση

χρησιμοποιείται για τη απενεργοποίηση μικροοργανισμών και για τη βελτίωση της μεταφοράς μάζας ανάλογα με την ένταση των συνθηκών που εφαρμόζονται σε κάθε περίπτωση (Teissie et al., 2005). Η διάρρηξη των ευκαρυωτικών κυττάρων για τη βελτίωση της μεταφοράς μάζας μπορεί να επιτευχθεί σε χαμηλής έντασης ηλεκτρικά πεδία (<10 kV/cm) και για χρόνους επεξεργασίας από 1 έως 10.000 μs ενώ η μικροβιακή απενεργοποίηση απαιτεί εντονότερες συνθήκες με εντάσεις ηλεκτρικού πεδίου >10 kV/cm. Οι περισσότερες μελέτες, έχουν επικεντρωθεί στην επεξεργασία με ΠΗΠ σε υψηλής έντασης ηλεκτρικά πεδία και σχετίζονται με το σχεδιασμό εφαρμογών παστερίωσης ως εναλλακτική λύση στις συμβατικές θερμικές διεργασίες, με χρήση ηπιότερων θερμοκρασιών από εκείνες που χρησιμοποιούνται στις θερμικές διεργασίες, με σκοπό την επίτευξη των κατάλληλων επιπέδων μικροβιακής απενεργοποίησης, καθώς και την παρατήρηση της επίδρασης της διεργασίας αυτής στην ενζυμική δραστηριότητα (Mohamed et al, 2012, Soliva-Fortuny et al, 2009, Klonowski et al, 2006). Από την άλλη πλευρά, η εφαρμογή των ΠΗΠ με ήπια ή μέτρια ένταση ηλεκτρικού πεδίου βρίσκεται υπό μελέτη ώστε να διαπιστωθεί αν η ενίσχυση των φαινομένων μεταφοράς μάζας και η αύξηση της διαπερατότητας των ιστών, επιτρέπουν την εφαρμογή της ως προεπεξεργασία στο πλαίσιο ήδη υφιστάμενων διεργασιών, όπως είναι η εκχύλιση ή αφυδάτωση (Soliva-Fortuny et al, 2009).

1.3. Ηλεκτροδιάτρηση

Η εφαρμογή των παλμών υψηλής έντασης ηλεκτρικού πεδίου σε κύτταρα (μικροβιακά, φυτικά ή ζωικά) επηρεάζει κυρίως τις κυτταρικές τους μεμβράνες, προκαλώντας τοπικές αλλαγές στην κυτταρική τους δομή και προάγοντας το σχηματισμό πόρων. Αυτό το φαινόμενο ονομάζεται ηλεκτροδιάτρηση και προκαλεί δραστική αύξηση της διαπερατότητας των κυτταρικών μεμβρανών, οι οποίες χάνουν την ημιπερατότητά τους, είτε προσωρινά είτε μόνιμα (Weaver & Chizmadzhed, 1996). Ο ακριβής μηχανισμός της ηλεκτροδιάτρησης δεν είναι ακόμη πλήρως κατανοητός. Αρκετές θεωρίες (Chang & Reese, 1992; Neumann et al., 1992; Zimmermann, 1986) με βάση τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν σε μοντέλα συστήματα, βοήθησαν να εξηγηθεί ο μηχανισμός της ηλεκτροδιάτρησης.

Τα αποτελέσματα όταν ένα κύτταρο εκτεθεί σε ένα εξωτερικό ηλεκτρικό πεδίο μπορούν να περιγραφούν σε τέσσερα βήματα (Saulis, 2010): (α) αύξηση του διαμεμβρανικού δυναμικού της κυτταροπλασματικής μεμβράνης, (β) εκκίνηση του σχηματισμού πόρων, (γ) μεταβολές στον αριθμό και/ή στο μέγεθος των δημιουργηθέντων πόρων κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας με ΠΗΠ και (δ) μετά την ολοκλήρωση της επεξεργασίας, η ηλεκτροδιάτρηση μπορεί να είναι αντιστρεπτή, όπου η βιωσιμότητα του ηλεκτροδιατρηθέντος κυττάρου μπορεί να διατηρηθεί με ανάκτηση της ακεραιότητας της μεμβράνης ή μη αντιστρεπτή, οδηγώντας σε πλήρη κατάρρευση

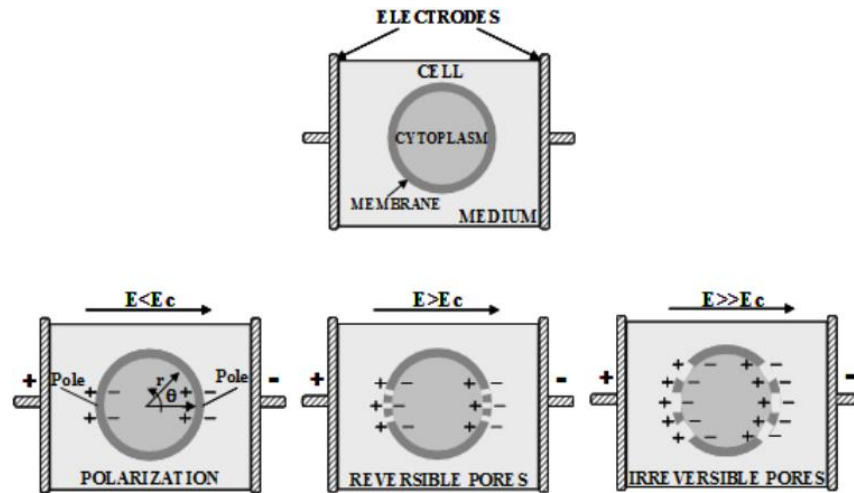
της κυτταρικής μεμβράνης, εκχυλίζοντας ενδοκυτταρικές ενώσεις από το εσωτερικό του κυττάρου προς τα έξω και τελικά τη θανάτωση του.

Διάφορες θεωρίες έχουν προταθεί για να εξηγήσουν τους μηχανισμούς της ηλεκτροδιάτρησης (Ho & Mittal 1996, Teissie et al., 2005, Tsong 1991, Weaver & Chizmadzhev, 1996). Ηλεκτρομηχανικές θεωρίες που προσπαθούν να εξηγήσουν την ηλεκτροδιάτρηση των βιολογικών μεμβρανών καταλήγουν ότι το εξωτερικό ηλεκτρικό πεδίο που εφαρμόζεται σε ένα κύτταρο προκαλεί συμπίεση της κυτταρικής μεμβράνης που οδηγεί σε ρήξη της όταν η ηλεκτρική δύναμη που της ασκείται υπερβεί την ελαστική δύναμη αποκατάστασης της κυτταρικής μεμβράνης (Zimmermann et al., 1974). Όταν το κύτταρο εκτεθεί σε εξωτερικό ηλεκτρικό πεδίο, το διαμεμβρανικό δυναμικό προκαλείται κατά μήκος της κυτταροπλασματικής μεμβράνης λόγω της συσσώρευσης των αντίθετα φορισμένων ιόντων στις δύο πλευρές της μη αγώγιμης μεμβράνης (Teissie et al., 2002). Η έλξη μεταξύ αυτών των ιόντων προκαλεί μείωση του πάχους της κυτταρικής μεμβράνης και σχηματισμό πόρων. Από ηλεκτρική άποψη, λόγω της χαμηλής ηλεκτρικής αγωγιμότητας που έχει η μεμβράνη σε σύγκριση με το περιβάλλον υγρό, ένα κύτταρο μπορεί να θεωρηθεί σαν ένας σφαιρικός πυκνωτής. Το διαμεμβρανικό δυναμικό (U) που παράγεται από ένα εξωτερικό ηλεκτρικό πεδίο για ένα σφαιρικό κύτταρο, υποθέτοντας διάφορους περιορισμούς απλούστευσης, μπορεί να υπολογιστεί ως:

$$U = 1.5 \cdot E \cdot r \cdot \cos\theta \quad (\text{Εξ. 1})$$

όπου r είναι η ακτίνα του κυττάρου, E είναι το εξωτερικό ηλεκτρικό πεδίο που εφαρμόζεται, και θ είναι η γωνία μεταξύ της γωνίας του κυττάρου με την κατεύθυνση του ηλεκτρικού πεδίου. Καθώς το διαμεμβρανικό δυναμικό εξαρτάται από μια γωνιακή παράμετρο, το εξωτερικό ηλεκτρικό πεδίο προκαλεί μια διαφορά δυναμικού εξαρτώμενη από τη θέση του κυττάρου, που σχετίζεται γραμμικά με την ένταση του εφαρμοζόμενου ηλεκτρικού πεδίου. Μια κρίσιμη τιμή του εξωτερικού ηλεκτρικού πεδίου απαιτείται για τη δημιουργία ενός διαμεμβρανικού δυναμικού (0,2-1,0 V) που οδηγεί στο σχηματισμό αναστρέψιμων ή μη αναστρέψιμων πόρων στη μεμβράνη (Saulis, 2010) (Σχήμα 1.1).

Για τις βιοτεχνολογικές εφαρμογές που έχουν τα ΠΗΠ, απαιτείται αναστρέψιμη ηλεκτροδιάτρηση της κυτταρικής μεμβράνης που διατηρεί τη βιωσιμότητα του κυττάρου. Για τη μικροβιολογική απενεργοποίηση και τη βελτίωση της μεταφοράς μάζας που προκαλούν τα ΠΗΠ και χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων απαιτείται μη αναστρέψιμη ηλεκτροδιάτρηση της μεμβράνης. Όταν εφαρμόζεται εξωτερικό ηλεκτρικό πεδίο που είναι κοντά στην κρίσιμη τιμή, συμβαίνει αντιστρεπτή ηλεκτροδιάτρηση, επιτρέποντας στην κυτταρική μεμβράνη να επανέλθει στην αρχική δομή χωρίς να χάνει τη λειτουργικότητά της.



Σχήμα 1.1. Σχηματική απεικόνιση του μηχανισμού διαπερατότητας μιας κυτταρικής μεμβράνης όταν εκτίθεται σε ηλεκτρικό πεδίο E . Η περιοχή που έχει γίνει ηλεκτροδιάτρηση αντιπροσωπεύεται με διακεκομμένη γραμμή. E_c : κρίσιμη ισχύς ηλεκτρικού πεδίου (Pataro et al., 2011).

Όταν εφαρμόζονται ηλεκτρικά πεδία υψηλότερα από την κρίσιμη τιμή, συμβαίνει μη αντιστρεπτή ηλεκτροδιάτρηση που έχει ως αποτέλεσμα την αποσύνθεση της μεμβράνης και την απώλεια κυτταρικού περιεχομένου που οδηγούν τελικά στη θανάτωση του. Σύμφωνα με την Εξ. 1, όσο μεγαλύτερο είναι το μέγεθος του κυττάρου, τόσο μεγαλύτερη είναι το διαμεμβρανικό δυναμικό που παράγεται κατά μήκος της κυτταροπλασματικής μεμβράνης. Επειδή το μέγεθος των ευκαρυωτικών κυττάρων είναι γύρω 10 έως 100 φορές υψηλότερο από το μέγεθος των μικροοργανισμών, η απαιτούμενη ισχύς ηλεκτρικού πεδίου για την ηλεκτροδιάτρηση των φυτικών ή ζωικών κυττάρων (0,1-5 kV/cm) είναι μικρότερη από εκείνη που απαιτείται για τα μικροβιακή απενεργοποίηση (10-35 kV/cm) (Donsi et al., 2010a).

Άλλες θεωρίες ηλεκτροδιάτρησης υποθέτουν ότι η ηλεκτροδιάτρηση σε μια κυτταρική μεμβράνη συμβαίνει στα πρωτεϊνικά μόρια και στα λιπίδια της εξίσου λόγω των συνεργιστικών φαινομένων που συμβαίνουν από το φαινόμενο της θέρμανσης Joule και του εξωτερικού ηλεκτρικού πεδίου (Tsong, 1991). Η εφαρμογή ενός εξωτερικού ηλεκτρικού πεδίου μπορεί να προκαλέσει επαναπροσανατολισμό των λιπιδικών μορίων της μεμβράνης, δημιουργώντας υδρόφιλους πόρους που δημιουργούν διαφορά δυναμικού, διαπερνώντας τα ρεύμα. Αυτό το ρεύμα παράγει τοπική θέρμανση Joule που προκαλεί θέρμανση της λιπιδικής διπλοστοιβάδας. Αυτά τα γεγονότα προκαλούν αλλαγές στα μόρια και δημιουργούν αλλαγές στη διαμόρφωση των λιπιδίων της μεμβράνης αναδιατάσσοντας τη λιπιδική διπλοστοιβάδα μεγαλώνοντας τους υπάρχοντες πόρους και δημιουργώντας νέους υδρόφοβους πόρους σχηματίζοντας έτσι πιο σταθερούς υδρόφιλους πόρους. Με την εφαρμογή των ΠΗΠ, ηλεκτρικό ρεύμα διαπερνά τους πόρους και μετουσιώνει όλα τα πρωτεϊνικής φύσης σώματα του κυττάρου τροποποιώντας τη λειτουργικότητά τους.

Οι προτεινόμενες θεωρίες για την εξήγηση της ηλεκτροδιάτρησης βασίζονται σε πειράματα σε μοντέλα συστήματα, όπως λιποσώματα, ή μέρος ευκαρυωτικών κυττάρων. Ωστόσο, στα τρόφιμα, τα κύτταρα είναι μέρος μεγάλων ιστών που έχουν πολύπλοκη δομή, είναι πολύ ανομοιογενείς και έχουν ιδιότητες που είναι χωρικά εξαρτώμενες. Στην περίπτωση αυτή, η κατανομή του ηλεκτρικού πεδίου είναι σύνθετη και όχι ομοιόμορφη, καθώς τα κύτταρα του τροφίμου έχουν ακανόνιστο σχήμα και τα συστατικά από τα οποία αποτελούνται έχουν διαφορετικές ηλεκτρικές ιδιότητες, πορώδες με αποτέλεσμα η δομή τους να αλλάζει κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας με ΠΗΠ (Vorobiev & Lebonka 2006). Ως σήμερα, υπάρχουν περιορισμένες έρευνες και πληροφορίες σχετικά με τη διαπερατότητα των κυτταρικών μεμβρανών σε συστήματα πραγματικών τροφίμων που έχουν επεξεργαστεί με ΠΗΠ. Η θεμελιώδης κατανόηση αυτών των φαινομένων είναι απαραίτητη για τη σωστή επιλογή των κρίσιμων παραμέτρων της επεξεργασίας με ΠΗΠ όταν χρησιμοποιείται στη βιομηχανία τροφίμων.

Η ηλεκτροδιάτρηση σήμερα χρησιμοποιείται ευρέως στη βιοτεχνολογία και την ιατρική για να βοηθήσει στην ενσωμάτωση φαρμάκων ή γονιδίων σε ζωντανά κύτταρα (Neumann et al., 1982, Fromm et al., 1985, Serša et al., 2003, Miklavčič et al., 2006). Πρόσφατα, το ενδιαφέρον γύρω από το φαινόμενο της ηλεκτροδιάτρησης που προκαλούν τα ΠΗΠ έχει αυξηθεί σημαντικά, καθώς τα τελευταία είκοσι χρόνια μελετάται η δυνατότητα εφαρμογή τους από τη βιομηχανία τροφίμων (Barsotti και Cheftel, 1999, Mosqueda-Melgar et al. 2008; Pataro et al., 2011), ως μία εναλλακτική και μη θερμική επεξεργασία τροφίμων έναντι των παραδοσιακών θερμικών επεξεργασιών. Ταυτόχρονα, η διεργασία των ΠΗΠ έχει χρησιμοποιηθεί πρόσφατα σε εναλλακτικές εφαρμογές κυρίως ως προεπεξεργασία για την επιτάχυνση του χρόνου της αφυδάτωσης, την τροποποίηση της υφής φυτικών ιστών, την εκχύλιση ενώσεων υψηλής προστιθέμενης αξίας από τρόφιμα και παραπροϊόντα τροφίμων, κ.α. (Angersbach, 2000, Vorobiev και Lebonka, 2006. Donsi et al., 2010b).

1.4. Παράμετροι λειτουργίας

Η αποτελεσματικότητα των ΠΗΠ στην ηλεκτροδιάτρηση που προκαλούν στις κυτταρικές μεμβράνες εξαρτάται από τους παράγοντες της επεξεργασίας (ένταση ηλεκτρικού πεδίου, χρόνος επεξεργασίας, ειδική ενέργεια, σχήμα παλμού, πλάτος παλμού, συχνότητα και θερμοκρασία), τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του μέσου (pH και αγωγιμότητα) και τα χαρακτηριστικά των επεξεργασμένων κυττάρων (μέγεθος, σχήμα, κυτταρική μεμβράνη και δομή κυττάρου). Ενώ η επίδραση αυτών των παραγόντων στη μικροβιακή αδρανοποίηση από τα ΠΗΠ έχει διερευνηθεί ευρέως στην βιβλιογραφία (Alvarez et al., 2006). Διάφορες μελέτες για τους παράγοντες που επηρεάζουν τη διαπερατότητα των ευκαρυωτικών κυττάρων για τη βελτίωση της μεταφοράς

μάζας έχουν επικεντρωθεί κυρίως στην επίδραση των παραμέτρων της διεργασίας και στην αποτελεσματικότητα της διαδικασίας.

1.4.1. Ένταση ηλεκτρικού πεδίου

Η ένταση του ηλεκτρικού πεδίου (kV/cm) είναι ένας από τους πιο σημαντικούς παράγοντες της επεξεργασίας με ΠΗΠ που επηρεάζει την ηλεκτροδιάτρηση των κυτταρικών μεμβρανών στα φυτικά και ζωικά κύτταρα. Για να προκληθεί η ηλεκτροδιάτρηση της κυτταρικής μεμβράνης, είναι απαραίτητο να εφαρμοσθεί μία ελάχιστη ένταση ηλεκτρικού πεδίου που ονομάζεται κρίσιμη ένταση ηλεκτρικού πεδίου E_c (Asavasanti et al., 2010). Ο προσδιορισμός αυτής της κρίσιμης τιμής είναι σημαντικός για τη μελέτη των μηχανισμών διαπερατότητας και για τον βέλτιστο σχεδιασμό της διεργασίας. Έχει παρατηρηθεί ότι η κρίσιμη τιμή της έντασης του ηλεκτρικού πεδίου που είναι απαραίτητη για να ξεκινήσει ο σχηματισμός των πόρων πάνω στη μεμβράνη εξαρτάται από το είδος του κυττάρου και από την κατεύθυνση του πεδίου καθώς και από άλλες παραμέτρους της διεργασίας. Καθώς μειώνεται το μέγεθος του κυττάρου, αυξάνεται και η απαιτούμενη ένταση ηλεκτρικού πεδίου για την αποτελεσματική ηλεκτροδιάτρηση του (Toepfl et al., 2006).

Για διαφορετικούς ιστούς, η απαιτούμενη κρίσιμη τιμή έντασης ηλεκτρικού πεδίου έχει αναφερθεί ότι κυμαίνεται από 0.05-0.5 kV/cm, ανάλογα με τον τύπο του ιστού, όταν η διάρκεια της επεξεργασίας με ΠΗΠ σε αυτές τις χαμηλές έως μέτριες εντάσεις ηλεκτρικού πεδίου ήταν 100-10.000 μ s (Asavasanti et al., 2010, Vorobiev & Lebonka 2006). Ωστόσο, όταν εφαρμόζονταν μικρότεροι χρόνοι (<100 μ s), για να προκληθεί η ηλεκτροδιάτρηση της κυτταρικής μεμβράνης χρειαζόνταν εφαρμογή ισχυρών ηλεκτρικών πεδίων, υψηλότερων από 0,5 kV/cm (Lopez et al., 2009, Schilling et al., 2007). Στην περίπτωση των κυττάρων του κρεμμυδιού, στο εύρος των χαμηλών έως μέτριων εντάσεων ηλεκτρικού πεδίου, έχει αποδειχθεί ότι η κρίσιμη τιμή της έντασης του ηλεκτρικού πεδίου για την ηλεκτροδιάτρηση της κυτταροπλασματικής μεμβράνης (0,0067 kV/cm για 10 παλμούς των 100 μ s) ήταν μικρότερη από την κρίσιμη τιμή της έντασης του ηλεκτρικού πεδίου που είναι απαραίτητη για την ηλεκτροδιάτρηση της μεμβράνης που περιβάλλει το κενοτόπιο (0,2 kV/cm για 10 παλμούς των 100 μ s ή 0,133 kV/cm για 100 παλμούς των 100 μ s) (Asavasanti et al., 2010). Το κενοτόπιο είναι ένα ενδοκυτταρικό οργανίδιο το οποίο μπορεί να καταλαμβάνει το 80% έως 90% του συνολικού όγκου του κυττάρου, το οποίο είναι γεμάτο με νερό και μπορεί να περιέχει και άλλες ενώσεις, όπως χρωστικές και αντιοξειδωτικά. Η αύξηση της έντασης ηλεκτρικού πεδίου οδηγεί σε αύξηση της αποδοτικότητας της επεξεργασίας (Hülshager et al., 1983; Boyko, et al., 1998; Heinz, et al., 1999; Heinz & Knorr, 2000; McDonald, et al., 2000; Alvarez, et al., 2003; Heinz et al., 2003).

Η ένταση του ηλεκτρικού πεδίου ορίζεται ως:

$$E = \frac{V}{d} \quad (\text{Εξ. 2})$$

όπου V η εφαρμοζόμενη τάση και d η απόσταση των ηλεκτροδίων του θαλάμου επεξεργασίας.

Η κατανομή της έντασης του ηλεκτρικού πεδίου μέσα στο θάλαμο επεξεργασίας είναι η άλλη παράμετρος που πρέπει να εξεταστεί σε αυτό το σημείο. Πρέπει να κατανέμεται ομοιογενώς, ώστε να έχουμε απόλυτο έλεγχο του πραγματικού πεδίου εφαρμογής. Εκτός αυτού, η ανομοιογενής κατανομή του πεδίου θα μπορούσε να προκαλέσει την ύπαρξη περιοχών όπου θα υπάρχουν κύτταρα που θα επηρεάζονται λιγότερο από κάποια άλλα. Η κατανομή της έντασης του πεδίου εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά του θαλάμου επεξεργασίας, κυρίως από το σχήμα των ηλεκτροδίων, το διάκενο του θαλάμου κ.λπ. (Qin et al., 1995, Qiu et al., 1998, Fiala et al., 2001; Gongora-Nieto et al., 2003).

Γενικά, η επεξεργασία με ΠΗΠ σε υψηλής έντασης ηλεκτρικό πεδίο στοχεύει στην απενεργοποίηση μικροοργανισμών και κυμαίνεται σε εύρος τιμών 12-45 kV/cm (Toerpf et al., 2007). Επιπλέον, η επεξεργασία με ΠΗΠ σε μέτριας έντασης ηλεκτρικό πεδίο ($E=500-1000$ V/cm) προκαλεί επίσης αποτελεσματική ηλεκτροδιάτρηση σε έναν ιστό ενισχύοντας τα φαινόμενα μεταφοράς μάζας.

1.4.2. Χρόνος επεξεργασίας

Ο χρόνος επεξεργασίας (συνήθως μs) ορίζεται ως το γινόμενο της διάρκειας του κάθε παλμού επί τον αριθμό των παλμών που εφαρμόζονται στο τρόφιμο:

$$t = n \cdot \tau \quad (\text{Εξ. 3})$$

όπου n ο αριθμός των παλμών και τ η διάρκεια του κάθε παλμού.

Επίσης, πρέπει να αναφερθεί ότι με αύξηση του αριθμού των παλμών αυξάνεται και η συνολική κατανάλωση ενέργειας, ενώ με αύξηση της διάρκειας των παλμών θα αυξηθεί η θερμοκρασία του τροφίμου. (Toerpf et al., 2006; Purtoles et al., 2012). Ωστόσο, περαιτέρω αυξήσεις στην τιμή της έντασης του ηλεκτρικού πεδίου ή του χρόνου επεξεργασίας πάνω από μια τιμή, δεν προκαλούν περαιτέρω βελτίωση της μεταφοράς μάζας ή του ποσοστού απενεργοποίησης μικροοργανισμών, υποδεικνύοντας ότι έχει επιτευχθεί η μέγιστη διάρρηξη στο κύτταρο (Knorr & Angersbach 1998; Praporscic et al., 2004). Αυτή η μέγιστη διάρρηξη μπορεί να επιτευχθεί εφαρμόζοντας διαφορετικά συνδυασμούς έντασης ηλεκτρικού πεδίου και αριθμού παλμών. Από άποψη σχεδιασμού της

διεργασίας είναι σημαντικό να προσδιοριστούν οι συνδυασμοί και των δύο παραμέτρων που απαιτούν το ελάχιστο ποσό της συνολικής καταναλισκόμενης ενέργειας.

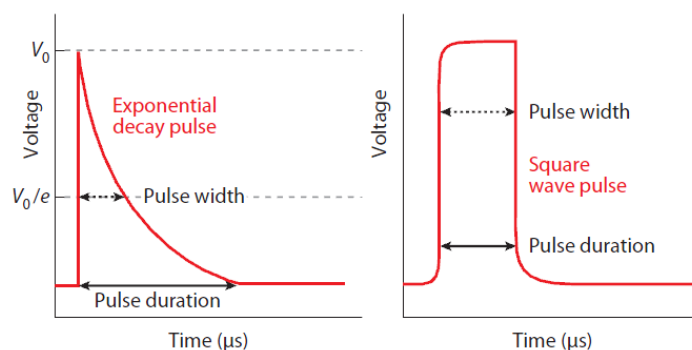
1.4.3. Συχνότητα

Κατά την πραγματοποίηση της διεργασίας με ΠΗΠ ο χρόνος ρυθμίζεται με την επιλογή της αντίστοιχης συχνότητας f (Hz) που αντιστοιχεί σε αριθμό παλμών ανά δευτερόλεπτο. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η συχνότητα που εφαρμόζεται στη επεξεργασία των ΠΗΠ είναι από 1 έως 500 Hz. Η συχνότητα δεν επηρεάζει τον βαθμό απενεργοποίησης μικροοργανισμών και ενζύμων ή το ποσοστό ηλεκτροδιάτρησης των κυττάρων, αρκεί να έχει εφαρμοστεί ο ίδιος συνολικός αριθμός παλμών (Hülshager et al., 1981; Raso et al., 1998; Alvarez et al., 2003). Αυξάνοντας τη συχνότητα μειώνεται ο συνολικός χρόνος επεξεργασίας αλλά η θερμοκρασία στον θάλαμο επεξεργασίας αυξάνεται επηρεάζοντας την ιδιότητες του τροφίμου (Raso et al., 1998).

1.4.4. Σχήμα και χαρακτηριστικά του παλμού

Τα σχήματα παλμών που χρησιμοποιούνται συνήθως στα ΠΗΠ είναι δυο: ο τετράγωνος και ο εκθετικός παλμός. Επιπλέον, οι παλμοί μπορεί να είναι μονοπολικό ή διπολικό. Οι τετράγωνοι παλμοί είναι συνηθέστεροι και έχουν καλύτερη ενεργειακή απόδοση και αποτελεσματικότητα στην απενεργοποίηση των μικροοργανισμών και στη βελτίωση των φαινομένων μεταφοράς μάζας, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία (Zhang et al., 1994). Οι διπολικό παλμοί έχουν πιο πολλά πλεονεκτήματα σε σχέση με τους μονοπολικούς. Διαδοχικοί μονοπολικό παλμοί μπορούν να παράγουν υψηλή συγκέντρωση ηλεκτρικού φορτίου κοντά στα ηλεκτρόδια του θαλάμου επεξεργασίας λόγω της μεταφοράς ιόντων από τα ζωντανά κύτταρα. Οι διπολικό παλμοί προσφέρουν ελάχιστη κατανάλωση ενέργειας, με μειωμένη απόθεση φορτίου πάνω στα ηλεκτρόδια και μειωμένη αγωγιμότητα των τροφίμων (Qin et al., 1994; Wouters and Smelt 1997). Η διάρκεια του παλμού για ένα τετραγωνικό παλμό είναι ο χρόνος που η τάση διατηρείται στη μέγιστη τιμή. Στην περίπτωση του εκθετικού παλμού, η διάρκεια παλμού ορίζεται ως ο χρόνος που απαιτείται για να μειωθεί η τάση στο 37% της μέγιστης τιμής της. Τα δύο είδη παλμών συγκρίνονται καλύτερα στο Σχήμα 1.2. Η βιβλιογραφία δεν διαθέτει επαρκείς πληροφορίες παρά μόνο λίγες μελέτες σχετικές με την επίδραση του πλάτους του παλμού στην ηλεκτροδιάτρηση των κυττάρων και συγκεκριμένα στην απενεργοποίηση διαφορετικών μικροοργανισμών με ΠΗΠ (Martin-Belloso et al. 1997; Wouters et al. 1999; Raso et al. 2000; Manas et al. 2000; Aronsson et al. 2001; Abram et al. 2003; Sampedro et al. 2007). Ορισμένοι συγγραφείς απέδειξαν ότι η απενεργοποίηση μικροοργανισμών ήταν αποτελεσματικότερη σε μεγαλύτερα πλάτη παλμού (Martin-Belloso et al., 1997; Abram et al., 2003) ενώ άλλοι παρατήρησαν μικρή επίδραση του πλάτους παλμού στην απενεργοποίησή τους (Raso et al., 2000, Manas et al., 2000, Sampedro

et al., 2007). Η επίδραση του σχήματος του παλμού και του πλάτους φαίνεται να ποικίλει ανάλογα με την ένταση του ηλεκτρικού πεδίου, καθώς τα ληφθέντα αποτελέσματα από τη βιβλιογραφία είναι αμφιλεγόμενα (Wouters et al., 1999, Aronsson et al., 2001). Αντίθετα αποτελέσματα έχουν ληφθεί από διαφορετικούς συγγραφείς όταν έχει διερευνηθεί η επίδραση του πλάτους των παλμών στην αποτελεσματικότητα της επεξεργασίας με ΠΗΠ για την ηλεκτροδιάτρηση των φυτικών ιστών. Όταν τα κύτταρα των σακχαρότευτλων και των κυττάρων μήλων εκτέθηκαν στον ίδιο χρόνο επεξεργασίας, προέκυψε μεγαλύτερη ηλεκτροδιάτρηση για μεγαλύτερο πλάτους παλμού (10-1000 μs) (De Vito et al., 2008). Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκε σημαντική επίδραση στην αύξηση της διαπερατότητας των κυττάρων κρεμμυδιού όταν το πλάτος παλμού αυξήθηκε (20-1,000 μs).



Σχήμα 1.2. Σχήματα παλμού: Εκθετικός παλμός (αριστερά), τετραγωνικός παλμός (δεξιά) (Puertolas et al, 2012)

1.4.5. Ειδική ενέργεια

Η χρήση της ειδικής ενέργειας έχει προταθεί ως παράμετρος ελέγχου της επεξεργασίας με ΠΗΠ (Heinz et al., 2001). Συνήθως εκφράζεται σε kJ/kg . Η χρήση αυτής της παραμέτρου, αντί του χρόνου επεξεργασίας ή της έντασης του ηλεκτρικού πεδίου, είναι μια ολοκληρωμένη παράμετρος που λαμβάνει υπόψη επιπλέον την αντίσταση του θαλάμου επεξεργασίας, η οποία εξαρτάται από τις διαστάσεις του και την αγωγιμότητα του μέσου επεξεργασίας, την ένταση του ηλεκτρικού πεδίου και τον χρόνο επεξεργασίας.

Ως εκ τούτου, η ειδική ενέργεια δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μοναδική παράμετρος για τον χαρακτηρισμό μιας επεξεργασίας με ΠΗΠ. Θα πρέπει να αναφέρεται και η ένταση του ηλεκτρικού πεδίου. Είναι ένα μέγεθος που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη σύγκριση των ΠΗΠ με άλλες διεργασίες.

Η ειδική ενέργεια υπολογίζεται από την ακόλουθη σχέση:

$$W = \frac{\sigma \cdot E^2 \cdot \tau \cdot n_p}{\rho} = \frac{I \cdot V \cdot n_p \cdot \tau}{m} \quad (\text{Εξ. 4})$$

όπου W η ειδική ενέργεια (J/kg), σ η ειδική αγωγιμότητα (S/m), E η ένταση ηλεκτρικού πεδίου (V/m), τ το πλάτος παλμού (s), ρ η πυκνότητα του τροφίμου (kg/m^3), I η ένταση ηλεκτρικού ρεύματος (A), V η ηλεκτρική τάση (V), n_p ο αριθμός των παλμών και m η μάζα του τροφίμου (kg).

1.4.6. Θερμοκρασία επεξεργασίας

Ένα από τα σημαντικότερα πλεονεκτήματα της ΠΗΠ είναι η χρήση ήπιων θερμοκρασιών που δεν υποβαθμίζουν τα ποιοτικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τροφίμου. Η αύξηση της θερμοκρασίας λόγω της επεξεργασίας εμφανίζει συνεργιστική δράση στην αποτελεσματικότητα της επεξεργασίας, καθώς έχει σημαντική επίδραση στη ρευστότητα και τη σταθερότητα της κυτταρικής μεμβράνης. Ενώ σε χαμηλές θερμοκρασίες τα φωσφολιπίδια είναι συμπαγή σε μια δομή που μοιάζει με πηκτή, η ρευστότητά της αυξάνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας. Η εξαρτώμενη από τη θερμοκρασία αλλαγή φάσης της μεμβράνης επηρεάζει τη σταθερότητα της (D. Stanley & Parkin, 1991). Αυτές οι θερμοκρασίες πρέπει να λαμβάνονται υπόψη, καθώς έχουν αντίκτυπο στα θρεπτικά συστατικά και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τροφίμου. Σε συνεχούς έργου επεξεργασία με ΠΗΠ, η ενέργεια που εφαρμόζεται διαχέεται κυρίως ως θερμότητα μέσα στο προϊόν. Επομένως, η θερμοκρασία του προϊόντος δεν είναι σταθερή και εξαρτάται από την ένταση της επεξεργασίας με ΠΗΠ που εφαρμόζεται (Jeyamkondan et al., 1999, Toerfl et al., 2014). Όσο πιο έντονες είναι οι συνθήκες με ΠΗΠ (αύξηση της έντασης του ηλεκτρικού πεδίου και του χρόνου επεξεργασίας) τόσο πιο μεγάλη είναι η αύξηση της θερμοκρασίας που προκαλείται λόγω των ΠΗΠ. Η αύξηση της αποτελεσματικότητας της εφαρμογής των ΠΗΠ σε αυξημένες θερμοκρασίες επεξεργασίας έχει αναφερθεί σε αρκετές μελέτες (Evrendilek & Zhang, 2003; Heinz et al., 2003; Li, et al., 2005).

Σε πολλές περιπτώσεις, κυρίως όταν τα ΠΗΠ χρησιμοποιούνται ως μέθοδος παστερίωσης, για την απενεργοποίηση μικροοργανισμών γίνεται προθέρμανση του τροφίμου και στη συνέχεια προκαλείται περαιτέρω αύξηση της θερμοκρασίας λόγω των ΠΗΠ. Η επίδραση της θερμοκρασίας έχει μελετηθεί στις ιδιότητες υφής του μήλου από τους Lebonka et al. (2004), δείχνοντας ότι η προθέρμανση στους 50 °C οδήγησε σε πιο αποτελεσματική καταστροφή του ιστού και σε καλύτερη εξαγωγή χυμού με πίεση. Επίσης, οι Dunn & Pearlman (1987) διαπίστωσαν ότι ένας ο συνδυασμός της επεξεργασίας με ΠΗΠ και ήπιας προθέρμανσης πριν την επεξεργασία ήταν πιο αποτελεσματικός από τη συμβατική θερμική επεξεργασία. Ο συνδυασμός της προθέρμανσης σε

θερμοκρασία 55°C και των ΠΗΠ οδήγησε σε μεγαλύτερο ποσοστό απενεργοποίησης μικροοργανισμών σε γάλα της *E. Coli* (Zhang et al., 1995).

1.4.7. Χαρακτηριστικά του τροφίμου

Τα αποτελέσματα που προκαλούν τα ΠΗΠ σε τρόφιμα εξαρτώνται από τα χαρακτηριστικά του τροφίμου και από τις ιδιότητες του μέσου. Όπως ήδη έχει προαναφερθεί το μέγεθος των κυττάρων παίζει καθοριστικό ρόλο στην αποτελεσματικότητα της επεξεργασίας με ΠΗΠ. Τα φυτικά κύτταρα λόγω του μεγέθους τους μπορούν να διαρρηχθούν πολύ πιο εύκολα σε ηπιότερες συνθήκες, σε αντίθεση με τους μικροοργανισμούς και τα ένζυμα που έχουν μικρότερο μέγεθος. Τα μεμονωμένα χαρακτηριστικά των μικροοργανισμών καθώς και η αναπτυξιακή κατάσταση στην οποία έχουν φτάσει είναι επίσης καθοριστικοί παράγοντες που επηρεάζουν την εφαρμογή των ΠΗΠ. Η ευαισθησία ενός μικροοργανισμού στην εφαρμογή υψηλής έντασης ηλεκτρικού πεδίου σχετίζεται σε μεγάλο βαθμό με τις εγγενείς παραμέτρους του μικροοργανισμού όπως το μέγεθος, το σχήμα, το είδος ή η κατάσταση ανάπτυξης του. Γενικά, οι θετικοί κατά gram μικροοργανισμοί είναι πιο ανθεκτικά στην εφαρμογή των ΠΗΠ από τα gram-αρνητικά βακτήρια, ενώ οι ζύμες παρουσιάζουν μεγαλύτερη ευαισθησία από τα βακτήρια (Sale and Hamilton, 1967; Huelsheger et al., 1983; Zhang et al., 1994). Το μεγαλύτερο μέρος της έρευνας επικεντρώνεται στην αδρανοποίηση των βλαστικών κυττάρων των βακτηρίων, ενώ μόνο λίγες αναφορές είναι διαθέσιμες για την απενεργοποίηση σπορίων με ΠΗΠ. Τα σπόρια *Bacillus cereus* από χυμό μήλου υπέστησαν περίπου 1 log μείωση μικροβιακού φορτίου όταν υποβλήθηκαν σε ήπια επεξεργασία με ΠΗΠ σε ένταση ηλεκτρικού πεδίου 20 kV/cm και 10,4 παλμούς (Cserhalmi et al., 2002). Αντίθετα σε μια άλλη μελέτη που διεξήχθη από τον Pagan et al. (1998) διαπιστώθηκε ότι τα σπόρια *Bacillus cereus* δεν επηρεάζονται από την επεξεργασία με ΠΗΠ για ένταση ηλεκτρικού πεδίου 60 kV/cm για 75 παλμούς σε θερμοκρασία δωματίου. Τα ένζυμα και οι πρωτεΐνες είναι γενικά τα πιο ανθεκτικά στην εφαρμογή των ΠΗΠ σε σχέση με τους μικροοργανισμούς. Αυτό απαιτεί περαιτέρω διερεύνηση, ιδίως σχετικά με τις επιδράσεις του pH, της θερμοκρασίας, της ειδικής αντίστασης και της σύνθεσης του ενζύμου ή του περιέχοντος σε πρωτεΐνη μέσου (Barsotti & Cheftel, 1999).

1.4.8. Χαρακτηριστικά του μέσου επεξεργασίας

Παρομοίως τα υγρά μέσα που χρησιμοποιούνται έχουν τους δικούς τους εγγενείς παράγοντες όπως η αγωγιμότητα, η αντίσταση τους, οι διηλεκτρικές ιδιότητες του μέσου, η ιοντική ισχύς, το pH και η ενεργότητα του νερού. Κάθε μία από αυτές τις παραμέτρους επηρεάζουν την επεξεργασία των ΠΗΠ. Η αγωγιμότητα του μέσου παίζει καθοριστικό λόγο για τη δημιουργία ηλεκτρικού πεδίου μέσα στον θάλαμο επεξεργασίας. Όταν η αγωγιμότητα ενός υγρού είναι

μεγάλη, η αντίσταση του μειώνεται. Λόγω της υψηλής συγκέντρωσης ιόντων στο μέσο, η εφαρμογή υψηλής έντασης εξωτερικού ηλεκτρικού πεδίου οδηγεί στη δημιουργία ενός ηλεκτρικού πεδίου μικρότερης έντασης μέσα στον θάλαμο επεξεργασίας. Η αγωγιμότητα των περισσότερων τροφίμων καθορίζει τις ιδιότητες ή τη σύστασή του (Jeyamkondan et al., 1999, Toerfl et al., 2014). Επίσης έχει βρεθεί ότι το pH δρα συνεργιστικά με την επεξεργασία των ΠΗΠ. Καθώς το pH του μέσου μειώνεται από ουδέτερο σε όξινο, ο ρυθμός απενεργοποίησης των βακτηρίων αυξάνεται. Επίσης έχει βρεθεί ότι ο ρυθμός απενεργοποίησης των βακτηρίων μειώνεται σε διαλύματα υψηλότερης ιοντικής ισχύος. Η επεξεργασία με ΠΗΠ και η ιοντική ισχύς δρουν συνεργιστικά για τη φθορά και τη διάτρηση της κυτταρικής μεμβράνης, ενώ το pH του μέσου επηρεάζει το κυτταρόπλασμα όταν ολοκληρωθεί η διάρρηξη. Οι παράγοντες αυτοί επηρεάζουν την ομοιότητα των μικροοργανισμών και αυξάνουν τον ρυθμό απενεργοποίησής τους (Jeyamkondan et al., 1999).

Εκτός από την ηλεκτρική αγωγιμότητα, η διηλεκτρική αντοχή του τροφίμου έχει σημαντική επίδραση στην εφαρμογή των ΠΗΠ, καθώς η ηλεκτρική εκκένωση πρέπει να αποφευχθεί. Μπορεί να υπάρχουν φυσαλίδες αέρα οι οποίες δεν μπορούν να αντέξουν τις υψηλές τιμές του ηλεκτρικού πεδίου, όπως στην περίπτωση των αφρώδων υγρών ή μπορεί να απελευθερωθούν φυσαλίδες αέρα λόγω αύξησης της θερμοκρασίας ή ηλεκτροχημικών αντιδράσεων. Ο αέρας πρέπει να αφαιρεθεί από το προϊόν, ιδιαίτερα στη μικροβιακή αδρανοποίηση, όπου η ένταση του ηλεκτρικού πεδίου κυμαίνεται από 30 έως 50 kV/cm. Οι διαφορετικές διηλεκτρικές ιδιότητες των φυσαλίδων μπορούν να επηρεάσουν την αποτελεσματικότητα της διεργασίας. Παρόμοιο πρόβλημα έχει βρεθεί όταν συσσωρεύονται μικροοργανισμοί και/ή σωματίδια με διαφορετικές διηλεκτρικές ιδιότητες, όπως τα σφαιρίδια λίπους. Ως εκ τούτου, πρέπει να ληφθεί υπόψη η σύσταση του προϊόντος όταν επιλέγονται οι παράμετροι επεξεργασίας για ένα συγκεκριμένο προϊόν. Όταν επεξεργάζονται στερεά τρόφιμα όπως φυτικά ή ζωικά υλικά ή μαρμελάδες φρούτων, πρέπει να αφαιρείται ο εγκλωβισμένος αέρας για να αποφεύγονται οι ηλεκτρικές εκκενώσεις. Προϊόντα στα οποία δημιουργείται αφρός μπορεί να είναι εντελώς ακατάλληλα για επεξεργασία με ΠΗΠ (Toerfl et al., 2014).

1.5. Εφαρμογή των Παλμικών Ηλεκτρικών Πεδίων στα τρόφιμα

1.5.1. Εφαρμογή των Παλμικών Ηλεκτρικών Πεδίων για την απενεργοποίηση μικροοργανισμών

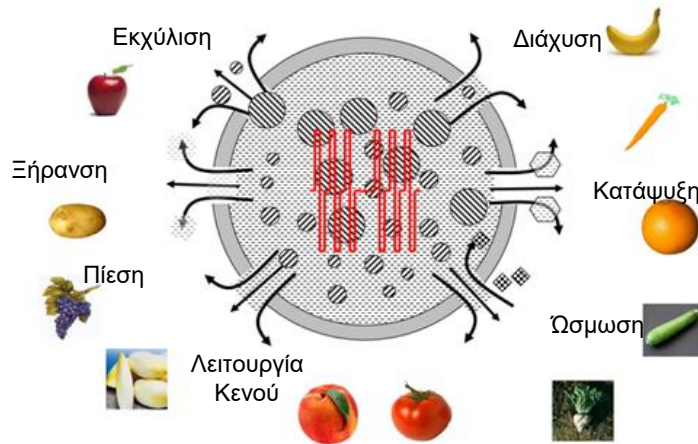
Η επεξεργασία με ΠΗΠ έχει χρησιμοποιηθεί για παστερίωση των τροφίμων και ο μηχανισμός που επιδρά στους μικροοργανισμούς έχει μελετηθεί από αρκετούς ερευνητές (Angersbach et al., 2000; Aronsson et al., 2005; Ferrer et al., 2007). Ο μηχανισμός που είναι γενικά αποδεκτός είναι η άμεση

επίδραση του εξωτερικού ηλεκτρικού πεδίου πάνω στην κυτταρική μεμβράνη. Η ηλεκτροδιάτρηση της κυτταρικής μεμβράνης, δηλαδή η καταστροφή της δομής της είναι υπεύθυνη για την επίδραση των ΠΗΠ στους μικροοργανισμούς. Έχει πραγματοποιηθεί μια πληθώρα μελετών τα τελευταία έτη σε τρόφιμα που αποδεικνύει τη θετική επίδραση των ΠΗΠ ως προς τη μικροβιακή απενεργοποίηση και την ταυτόχρονη διατήρηση θερμοευαίσθητων αλλά πολύτιμων συστατικών.

Ωστόσο, σε σύγκριση με την εκτεταμένη έρευνα που έχει πραγματοποιηθεί σχετικά με την επίδραση των ΠΗΠ στην απενεργοποίηση των μικροοργανισμών από ΠΗΠ, υπάρχει μόνο περιορισμένες διαθέσιμες πληροφορίες σχετικά με τις επιπτώσεις των ΠΗΠ στην ενζυμική δραστηριότητα. Η επίδραση των ΠΗΠ στην ενεργότητα των ενζύμων και κατ' επέκταση στον μηχανισμό απενεργοποίησης κάποιων ενζύμων δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως. Η σημερινή τεχνολογία έχει δημιουργήσει εμπειρικές ενδείξεις γύρω από τη μη αναστρέψιμη επίδραση σε αυτά με χρήση των ΠΗΠ. Τέτοιες μελέτες προτείνουν μια σταδιακή παραμόρφωση ή τεντώματος της πρωτεΐνης κατά μήκος του ηλεκτρικού πεδίου. Αυτή η δομική αλλαγή θα ήταν η απάντηση στην αλληλεπίδραση μεταξύ του εξωτερικού ηλεκτρικού πεδίου και του ετερογενούς φορτίου εντός της πρωτεΐνης. Δεδομένου του γεγονότος ότι τα ένζυμα είναι πρωτεΐνες, μπορούν να υποβάλλονται σε παρόμοια διαδικασία αναδιάταξης όταν υποβάλλονται στην επεξεργασία με ΠΗΠ, γνωστή ως μετουσίωση, και αυτό ουσιαστικά συνεπάγεται απώλεια τριτογενούς και συχνά δευτερογενούς πρωτεϊνικής δομής, η οποία δεν θα πρέπει απαραίτητα να σημαίνει και απώλεια λειτουργικότητας. Αυτό θα μπορούσε να συμβεί στην επεξεργασία με ΠΗΠ ως συνδυαστικό αποτέλεσμα της επίδρασης των ΠΗΠ και μιας απότομης αύξησης της θερμοκρασίας ανομοιογενώς

1.5.2. Εφαρμογή Παλμικών Ηλεκτρικών Πεδίων για την ενίσχυση των φαινομένων μεταφοράς μάζας

Εκτός από την αδρανοποίηση των μικροοργανισμών και την επίδραση στην ενζυμική δραστηριότητα, η εφαρμογή των ΠΗΠ παρέχει μια εξαιρετικά αποτελεσματική προεπεξεργασία των τροφίμων και των συστατικών τους με έναν οικολογικό και ταυτόχρονα ήπιο τρόπο (Guderjan et al., 2005). Η τεχνολογία των ΠΗΠ είναι πιθανό να υποστηρίξει και να ενισχύσει πολλές διαφορετικές διεργασίες με στόχο τη μεταφορά μάζας, αυξάνοντας την απόδοση της κάθε διεργασίας. Συγκεκριμένα, η ενίσχυση της διαπερατότητας της κυτταρικής μεμβράνης με τη βοήθεια των ΠΗΠ, προσφέρει τη δυνατότητα ενίσχυσης της μεταφοράς μάζας σε φυτικά κύτταρα, με στόχο τη σημαντική εξοικονόμηση ενέργειας, την αύξηση της απόδοσης αλλά και τη μείωση του χρόνου της κάθε διεργασίας (Σχήμα 1.3)

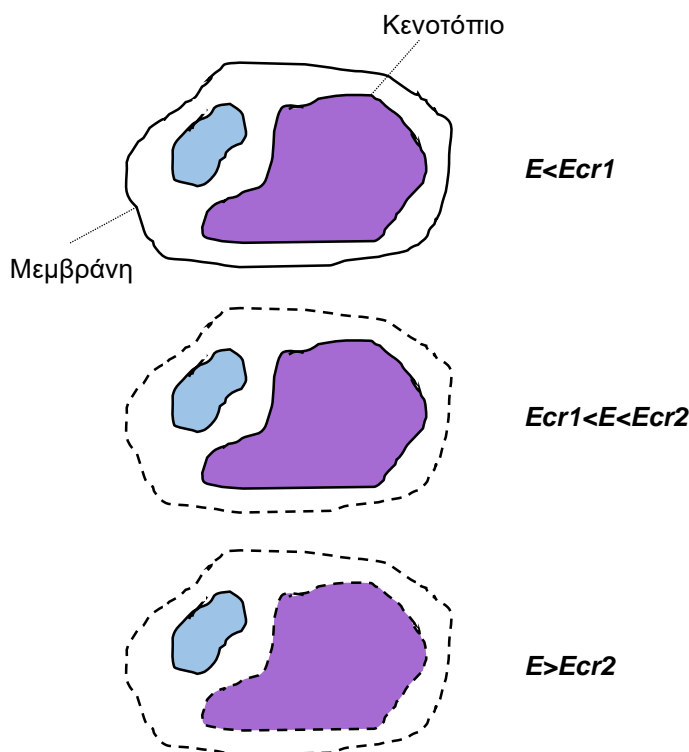


Σχήμα 1.3. Διεργασίες σε φρούτα και λαχανικά, στις οποίες χρησιμοποιούνται ως προεπεξεργασία τα ΠΗΠ

Η αρχή της μεθόδου των ΠΗΠ στην ενίσχυση των φαινομένων μεταφοράς μάζας βασίζεται στη διάτρηση της κυτταρικής μεμβράνης των φυτικών ιστών, μέσω της εφαρμογής εξωτερικού ηλεκτρικού πεδίου. Κατά τη διάρκεια της έκθεσης ενός φυτικού κυττάρου στο ηλεκτρικό πεδίο, τα μόρια που βρίσκονται πάνω στην κυτταρική μεμβράνη διαχωρίζονται με βάση το φορτίο τους, μετατρέποντας το κύτταρο σε δίπολο-πυκνωτή. Με την υπέρβαση μίας κρίσιμης τιμής περίπου 1V δυναμικού διαμεμβράνης, προκαλείται απόφραξη μεταξύ των φορτισμένων μορίων σχηματίζοντας πόρους σε ασθενείς περιοχές της μεμβράνης, με αποτέλεσμα να προκαλείται δραστική αύξηση της διαπερατότητάς της.

Τα ΠΗΠ μπορούν με αυτόν τον τρόπο να αυξήσουν τη μεταφορά μάζας ενδοκυτταρικών ουσιών και νερού από το εσωτερικό του κυττάρου προς τα έξω λόγω καταστροφής της κυτταρικής μεμβράνης των φυτικών υλικών, ενισχύοντας την απόδοση της διεργασίας και μειώνοντας το χρόνο της. Επιπλέον, εκτός από τη μη αναστρέψιμη ηλεκτροδιάτρηση των κυτταρικών μεμβρανών που προκαλούν τα ΠΗΠ πάνω από μία κρίσιμη τιμή ηλεκτρικού πεδίου E_c , έχει βρεθεί βιβλιογραφικά (Pataro et al., 2011) ότι σε περιπτώσεις φυτικών ιστών, η εφαρμογή των ΠΗΠ μπορεί να προκαλέσει και ηλεκτροδιάτρηση στις μεμβράνες των οργανιδίων μέσα στο κύτταρο, όπως είναι το κενοτόπιο, οι χρωμοπλάστες κ.α. Σε πολλές περιπτώσεις έχει παρατηρηθεί, ότι σε χαμηλής έντασης ηλεκτρικά πεδία (<1 kV/cm) δεν παρατηρούνται σημαντικές μεταβολές στα φαινόμενα μεταφοράς μάζας, κυρίως όταν ο στόχος της εφαρμογής των ΠΗΠ είναι η εκχύλιση ενδοκυτταρικών συστατικών (φαινολικές ενώσεις, πρωτεΐνες, καροτενοειδή, χρωστικές κ.α) που βρίσκονται μέσα σε αυτά τα μικρά οργανίδια του κυττάρου. Το Σχήμα 1.4, το αναπαριστά ένα φυτικό κύτταρο το οποίο έχει εκτεθεί σε ηλεκτρικό πεδίο. Αυτό το σχήμα μπορεί να βοηθήσει στην

αποσαφήνιση των διαφορών που παρατηρούνται μεταξύ των μετρούμενων ποσοστών διαπερατότητας και μεταφοράς μάζας και για να εξηγήσει τους μηχανισμούς με τους οποίους ενισχύεται η εκχυλισημότητα των ενδοκυτταρικών συστατικών με την εφαρμογή των ΠΗΠ. Οι πολύτιμες αντιοξειδωτικές ενώσεις-στόχοι περιέχονται κυρίως εντός των κενοτόπιων και συνεπώς η εκχύλισή τους αντιμετωπίζει δύο κύριες αντιστάσεις στη μαζική μεταφορά τους προς το εξωτερικό του κυττάρου, τη μεμβράνη του κενοτοπίου (τονοπλάστη) και την κυτταρική μεμβράνη.



Σχήμα 1.4. Απλοποιημένο σχήμα της επίδρασης των ΠΗΠ με ένταση ηλεκτρικού πεδίου E , σε δομή ενός κυττάρου. E_{cr1} : κρίσιμο ηλεκτρικό πεδίο για ηλεκτροδιάτρηση κυτταρικής μεμβράνης, E_{cr2} : κρίσιμο ηλεκτρικό πεδίο για ηλεκτροδιάτρηση μεμβράνης κενοτοπίου (Pataro et al., 2011).

Επομένως, μπορεί να υποθεθεί ότι το κρίσιμο ηλεκτρικό πεδίο για την κυτταρική μεμβράνη είναι το E_{cr1} , το οποίο θα χαμηλότερο από εκείνο για το κρίσιμο ηλεκτρικό πεδίο που θα επιτευχθεί διαπερατότητα της μεμβράνης του κενοτοπίου, E_{cr2} . Επομένως, όταν εφαρμόζεται ηλεκτρικό πεδίο $E > E_{cr1}$ (~ 1 kV/cm) υπάρχει ηλεκτροδιάτρηση της κυτταρικής μεμβράνης, ενώ για να επιτευχθεί ηλεκτροδιάτρηση του τονοπλάστη πρέπει να εφαρμοσθεί $E > E_{cr2}$ (~ 1-3 kV/cm, ανάλογα τον φυτικό ιστό) (Σχήμα 1.4). Με βάση αυτό το πλεονέκτημα, τα ΠΗΠ μπορούν να εφαρμοσθούν ως προεπεξεργασία σε φυτικούς ιστούς και να προσφέρουν επιλεκτική εκχύλιση ουσιών.

Επιπλέον, σε πολλές περιπτώσεις, τα ΠΗΠ χρησιμοποιούνται ως προεπεξεργασίες σε διάφορες διεργασίες, όπως της διεργασία της αφυδάτωσης, την ενυδάτωσης, της εκχύλισης και ανάκτησης ενδοκυτταρικών συστατικών, καθώς και της χυμοποίησης φρούτων και λαχανικών κτλ.

1.6. Δείκτης κυτταρικής διάρρηξης Z

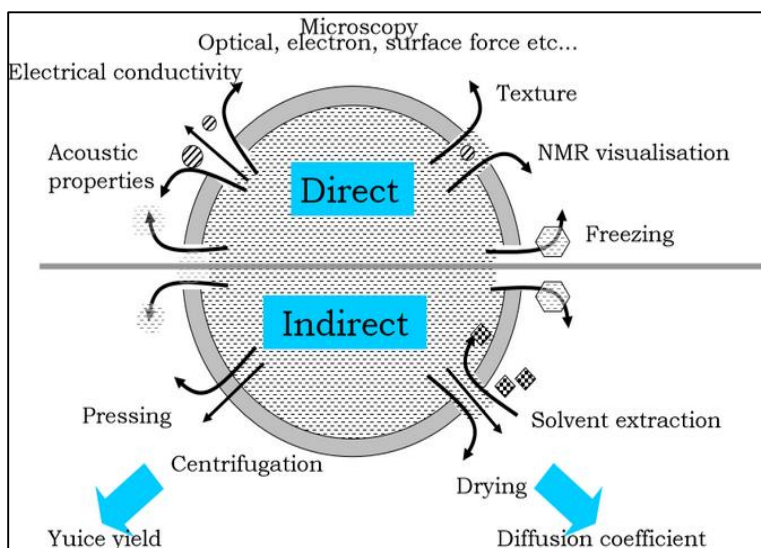
Η εφαρμογή των ΠΗΠ σε ένα κύτταρο προκαλεί ηλεκτροδιάτρηση της κυτταρικής του μεμβράνης. Η ανάγκη ποσοτικοποίησης του ποσοστού της διάτρησης της κυτταρικής μεμβράνης που επιτυγχάνεται με την επεξεργασία των ΠΗΠ ολοένα και αυξανόταν. Οι πρώτες μελέτες σχετικά την ποσοτικοποίηση του βαθμού διάτρησης της κυτταρικής μεμβράνης βασίστηκαν στην απελευθέρωση ενδοκυτταρικών ουσιών (δηλαδή χρωστικών ουσιών) από φυτικά κύτταρα μετά την εφαρμογή των ΠΗΠ (Brodelius et al., 1988, Dörnenburg & Knorr, 1993). Η μη αντιστρεπτή ηλεκτροδιάτρηση της κυτταρικής μεμβράνης ενός φυτικού ιστού πραγματοποιήθηκε για πρώτη φορά σε ιστό πατάτας (που υποβλήθηκε σε επεξεργασία με ΠΗΠ), ποσοτικοποιώντας το βαθμό ηλεκτροδιάτρησης έμμεσα, βασιζόμενοι στην απελευθέρωση του ενδοκυτταρικού υγρού της επεξεργασμένης πατάτας χρησιμοποιώντας φυγόκεντρο δύναμη. Παρατηρήθηκε ότι οι επεξεργασμένες με ΠΗΠ πατάτες απελευθέρωσαν ενδοκυτταρικό υγρό, ενώ στις ανεπεξεργαστες δεν παρατηρήθηκε καμία αποβολή υγρού. Αυτή η απώλεια κυτταρικού υγρού, ερμηνεύτηκε ως συνέπεια της διάρρηξης της κυτταρικής μεμβράνης που προκλήθηκε από την επεξεργασία με ΠΗΠ (Angersbach & Knorr, 1997).

Ωστόσο, ορίστηκε ένα μέγεθος που θα δείχνει το ποσοστό διάτρησης της κυτταρικής μεμβράνης λόγω των ΠΗΠ. Το μέγεθος αυτό ονομάστηκε δείκτης κυτταρικής διάρρηξης Z και ορίζεται ως ο λόγος των κατεστραμμένων κύτταρων λόγω των ΠΗΠ προς τον συνολικό αριθμό των κυττάρων. Ο δείκτης αυτό παίρνει τιμές από μηδέν έως ένα. Για $Z=0$ θεωρούμε ότι η κυτταρική μεμβράνη είναι άθικτη (ανεπεξεργαστο κύτταρο) και για $Z=1$ θεωρούμε ότι η κυτταρική μεμβράνη είναι πλήρως διερρηγμένη (επεξεργασμένο με ΠΗΠ κύτταρο σε πολύ ακραίες συνθήκες, όπου σε πιο έντονες συνθήκες δεν παρατηρείται περαιτέρω ηλεκτροδιάτρηση). Αρκετές άμεσες ή έμμεσες τεχνικές έχουν αναπτυχθεί προκειμένου να μπορεί να υπολογιστεί ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης Z σε διάφορους ιστούς.

1.7. Τεχνικές ποσοτικοποίησης της ηλεκτροδιάτρησης

Διαφορετικές μέθοδοι έχουν χρησιμοποιηθεί για τη μέτρηση της ηλεκτροδιάτρησης της κυτταρικής μεμβράνης ή/και για την ακεραιότητά της σε πολυκύτταρους ιστούς. Μια μέθοδος που παρέχει μια ακριβή και ταχεία μέτρηση του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z σε σύντομο χρονικό διάστημα και της οποίας οι μετρήσεις συσχετίζονται με τη βελτίωση της μεταφοράς μάζας σε διαφορετικές

Λειτουργίες της βιομηχανίας τροφίμων θα ήταν ένα πολύ χρήσιμο εργαλείο για την επιλογή των βέλτιστων συνθηκών επεξεργασίας ΠΗΠ για μια δεδομένη εφαρμογή και την παρακολούθηση της επεξεργασίας των ΠΗΠ κατά τη διάρκεια βιομηχανικών εφαρμογών (Σχήμα 1.5).



Σχήμα 1.5 Άμεσες και έμμεσες μέθοδοι ποσοτικοποίησης ηλεκτροδιάτρησης

1.7.1. Οπτική μικροσκοπία

Η οπτική μικροσκοπία είναι η πιο άμεση τεχνική για την απεικόνιση της επίδρασης των ΠΗΠ στο ποσοστό των ηλεκτροδιατρημένων κυττάρων, των κυττάρων σε αιωρήματα και των ιστών των τροφίμων (Εικόνα). Η άμεση απεικόνιση των αποτελεσμάτων της ηλεκτροδιάτρησης είναι πολύ ελκυστική. Ωστόσο, ο προσδιορισμός του ποσοστού των κατεστραμμένων κυττάρων απαιτεί την οπτική κλασμάτωσή τους και αυτή δεν είναι εύκολο να γίνει με τη χρήση του υπολογιστή καταμετρώντας τα κύτταρα. Επιπλέον, άλλα μειονεκτήματα της μεθόδου είναι η προετοιμασία των δειγμάτων με βαφή από χρωστικές που απαιτεί ειδικές τεχνικές, καθώς και η προσαρμογή του pH και της αγωγιμότητας των διαλυμάτων που χρησιμοποιούνται στη μέθοδο. Στην πραγματικότητα, αυτή η τεχνική είναι καταστροφική και είναι επιθυμητό να χρησιμοποιείται για το χαρακτηρισμό της ηλεκτροδιάτρησης ως συμπληρωματικό εργαλείο ή σε συνδυασμούς με άλλες τεχνικές.

1.7.2. Ηλεκτρονική μικροσκοπία

Το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) και διέλευσης (TEM) εφαρμόστηκαν ευρέως στην έρευνα για τη μελέτη των επιπτώσεων των ΠΗΠ σε υλικά διαφορετικής βιολογικής προέλευσης. Τα SEM και TEM είναι πολύ ισχυρές τεχνικές για την ποσοτικοποίηση των μορφολογικών ιδιοτήτων των μεμβρανών και των κυτταρικών τοιχωμάτων όταν έχουν υποστεί επεξεργασία με ΠΗΠ (Condello et al., 2013). Ωστόσο, αυτές οι τεχνικές απαιτούν την εφαρμογή σύνθετων

μεθόδων παρασκευής για την προετοιμασία του δείγματος (χρώση, στερέωση, αφυδάτωση, τομή κλπ) που ποικίλλουν ανάλογα από τον τύπο των κυττάρων ή των ιστών.

1.7.3. Ηλεκτρικά χαρακτηριστικά

Ένας αριθμός χρήσιμων μεθόδων για το χαρακτηρισμό της ηλεκτροδιάτρησης σε τρόφιμα βασίζονται σε μετρήσεις των ηλεκτρικών χαρακτηριστικών τους (Pliquett, 2010). Τα κύρια ηλεκτρικά χαρακτηριστικά είναι η ηλεκτρική αγωγιμότητα σ και η διηλεκτρική σταθερά ϵ . Η αύξηση της αγωγιμότητας του υγρού που περιβάλλει το κύτταρο εξωτερικά οφείλεται στην άμεση απελευθέρωση και εκροή των ιόντων από το εσωτερικό του κυττάρου λόγω της εφαρμογής των ΠΗΠ (Asavasanti et al., 2010). Ωστόσο, μερικοί περιορισμοί αυτής της μεθόδου περιλαμβάνουν την έλλειψη επιλεκτικότητας όσον αφορά τα διάφορα ιόντα και του χρόνου που απαιτείται για την πλήρη διαρροή τους. Η μέτρηση των μεταβολών στην αγωγιμότητα του υγρού που περιβάλλει τους βιολογικούς ιστούς που έχουν υποστεί επεξεργασία με ΠΗΠ προτείνεται ως μία από τις πιο απλές και αξιόπιστες μεθόδους για τον υπολογισμό του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z (Angersbach et al., 1999).

1.7.3.1. Μέθοδος χαμηλής συχνότητας

Η μέθοδος βασίζεται στις μετρήσεις της ηλεκτρικής αγωγιμότητας σ σε χαμηλές συχνότητες 1-10kHz. Το Σχήμα 1.3 παρουσιάζει την τυπική συμπεριφορά της ηλεκτρικής αγωγιμότητας σ κατά τη διάρκεια της ηλεκτροδιάτρησης. Ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης με βάση την αγωγιμότητα Z ορίζεται από την Εξ. 5 ως (Bazhal, et al., 2003; Lebonka et al., 2002):

$$Z_c = \frac{(\sigma - \sigma_i)}{(\sigma_d - \sigma_i)} \quad (\text{Εξ. 5})$$

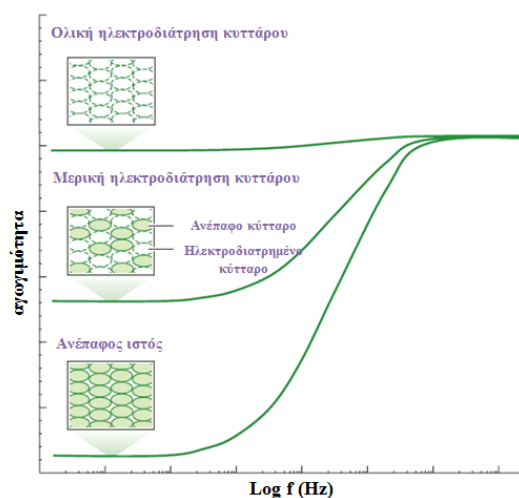
όπου σ είναι η ηλεκτρική αγωγιμότητα μετρούμενη σε χαμηλή συχνότητα (=1-10 kHz) και οι δείκτες "i" και "d" αναφέρονται στις αγωγιμότητες των ανέπαφων και εντελώς κατεστραμμένων κυττάρων, αντίστοιχα. Αυτή η μέθοδος απαιτεί τη γνώση της σ_d η οποία μπορεί να εκτιμηθεί από τα δεδομένα που λαμβάνονται για μεγάλο χρόνο επεξεργασίας ($t_{PEF} = 0,1-1,0s$) και για υψηλή ένταση ηλεκτρικού πεδίου ($E > 1.000 \text{ V/cm}$) ή από τη μέτρηση της ηλεκτρικής αγωγιμότητας του κατεψυγμένου-αποψυγμένου υλικού, στο οποίο θεωρείται ότι παρατηρείται η μέγιστη κυτταρική διάρρηξη.

1.7.3.2. Μέθοδος χαμηλής-υψηλής συχνότητας

Αυτή η μέθοδος βασίζεται σε μετρήσεις της ηλεκτρικής αγωγιμότητας σ , άθικτων και ηλεκτροδιεργημένων κυττάρων σε χαμηλές (=1-10 kHz) και υψηλές (50MHz) συχνότητες (Angersbach, et al., 1999; Angersbach, et al., 2002). Επειδή το κύτταρο συμπεριφέρεται ως

πυκνωτής, σε χαμηλή συχνότητα οι μεμβράνες των κυττάρων έχουν πολύ υψηλή αντίσταση και το ρεύμα δυσκολεύεται να τα διαπεράσει. Η ηλεκτροδιάτρησή τους μπορεί να οδηγήσει σε αξιοσημείωτες αλλαγές στην τιμή της ηλεκτρικής αγωγιμότητάς λόγω της αύξησης των εκχυλιζόμενων ιόντων από το εσωτερικό του κυττάρου και γιατί η αντίσταση της κυτταρικής μεμβράνης μειώνεται λόγω των σχηματισμό των πόρων. Το πλήρως διερρηγμένο κύτταρο στις χαμηλές και υψηλές συχνότητες είναι πλήρως αγωγίμο εμφανίζοντας μία πολύ μικρή αντίσταση έχοντας πολύ μεγάλες τιμές αγωγιμότητας. Δηλαδή, στο διερρηγμένο κύτταρο, η αντίσταση του είναι ανεξάρτητη της συχνότητας και πλήρως ωμική. Ωστόσο, σε υψηλές συχνότητες, το ανέπαφο κύτταρο είναι πλήρως αγωγίμο και η επίδραση των ΠΗΠ και κατ' επέκταση η διαφορά στην τιμή της αγωγιμότητας μεταξύ των άθικτων και διερρηγμένων μεμβρανών είναι αμελητέα.

Το Σχήμα 1.6 παρουσιάζει την εξάρτηση της συχνότητας από την ηλεκτρική αγωγιμότητα σ για ανέπαφα και εν μέρει ηλεκτροδιατρημένα υλικά.



Σχήμα 1.6 Τυπικό διάγραμμα συχνότητας-αγωγιμότητας του φυτικού ιστού με άθικτα, μερικώς ηλεκτροδιατρημένα και εντελώς ηλεκτροδιατρημένα κύτταρα στην περιοχή συχνοτήτων από 1 kHz έως 50 MHz (Knorr & Angersbach, 1998)

Για το πλήρως ηλεκτροδιατρημένο κύτταρο οι τιμές της ηλεκτρικής αγωγιμότητας μετρημένες σε εύρος χαμηλών συχνοτήτων και σε εύρος υψηλών συχνοτήτων θα πρέπει να συμπίπτουν και να είναι ίσες με εκείνες για το ανέπαφο υλικό σε υψηλές συχνότητες. Η εξάρτηση της αγωγιμότητας από τη συχνότητα συνήθως απαιτεί διορθώσεις λόγω της μεταβολής της θερμοκρασίας, του πορώδους του ιστού και της συγκέντρωσης του ηλεκτρολύτη που μπορεί να προκλήθηκε από την εφαρμογή των ΠΗΠ (Angersbach et al., 2002).

Αυτή η διόρθωση μπορεί να γίνει εύκολα με τη χρήση διορθωτικού συντελεστή $\alpha = \sigma_i^h / \sigma_i^l$ που αντιπροσωπεύει τη διαφορά μεταξύ σ_i^h και τη μετρούμενη τιμή του σ_i^h . Ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης Z_c για τη μέθοδο αυτή ορίστηκε από την Εξ. 6 ως (Bazhal et al., 2003; Lebonka et al., 2002):

$$Z_c = \frac{\alpha \sigma_i^l - \sigma_i^l}{\sigma_i^h - \sigma_i^l} \quad (\text{Εξ. 6})$$

όπου α ο συντελεστής διόρθωσης ($\alpha = \sigma_i^h / \sigma_i^l$), σ_i^l , σ_i^h η αγωγιμότητα του ανέπαφου ιστού μετρούμενη σε χαμηλή και υψηλή συχνότητα, σ_i^l , σ_i^h η αγωγιμότητα του επεξεργασμένου με ΠΗΠ ιστού μετρούμενη σε χαμηλή και υψηλή συχνότητα.

Έτσι ο προσδιορισμός του Z_c απαιτεί μετρήσεις της ηλεκτρικής αγωγιμότητας των ανέπαφων και ηλεκτροδιάτρητων υλικών σε μικρές (σ_i^l , σ_i^l) και υψηλές (σ_i^h , σ_i^h) συχνότητες. Για τις δύο προηγούμενες εξισώσεις η παράμετρος Z_c κυμαίνεται από 0 (ανέπαφο υλικό-νωπό τρόφιμο) έως 1 (εντελώς ηλεκτροδιάτρητο υλικό).

Εν κατακλείδι, οι μέθοδοι που βασίζονται στην ηλεκτρική αγωγιμότητα είναι απλές και μπορούν να γίνουν χρήσιμες για γρήγορη εκτίμηση του βαθμού της ηλεκτροδιάτρησης. Οι διαδικασίες είναι απλές, δεν απαιτούν ακριβό εξοπλισμό και μπορούν να εφαρμοστούν εύκολα για συνεχή παρακολούθηση της ηλεκτροδιάτρησης κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας με ΠΗΠ. Ωστόσο, αυτές οι μέθοδοι μπορούν να εφαρμοστούν μόνο με κάποια προφύλαξη. Στην πραγματικότητα, η σχέση μεταξύ Z και ηλεκτρικής αγωγιμότητας σ είναι μη γραμμική (Pliquett, 2010). Επιπλέον, η ηλεκτρική αγωγιμότητα είναι ευαίσθητη και η τιμή μπορεί να επηρεαστεί από διάφορες μεταβολές στην κατανομή του αέρα και της υγρασίας στο εσωτερικό του κυτάρου που δεν σχετίζονται με την ηλεκτροδιάτρηση (Lebonka et al., 2001).

1.7.4. Συντελεστής διάχυσης

Το επίπεδο της ηλεκτροδιάτρησης που προκαλείται με επεξεργασία ΠΗΠ μπορεί επίσης να εκτιμηθεί από την επιταχυνόμενη εκχύλιση διαλυτών ουσιών ή με ξήρανση και αποβολή νερού σε κυτταρικούς ιστούς υπολογίζοντας τον συντελεστή διάχυσης (Lebonka, et al., 2007a; Loginova, et al., 2010). Ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης με βάση το συντελεστή διάχυσης, Z_D ορίζεται από την Εξ. 7 ως (Vorobiev, et al., 2005):

$$Z_D = \frac{(D - D_i)}{(D_d - D_i)} \quad (\text{Εξ. 7})$$

όπου D είναι ο συντελεστής διάχυσης για έναν φυτικό ιστό που επεξεργάστηκε σε μία συνθήκη

ΠΗΠ, και οι δείκτες «i» και «d» αναφέρονται στις τιμές του ανέπαφου (ανεπεξεργαστος ιστός) και πλήρως ηλεκτροδιατηρημένου κυτταρικού ιστού, αντίστοιχα.

Η μέθοδος είναι χρήσιμη για την εκτίμηση της επίδρασης των ΠΗΠ στο συντελεστή διάχυσης σε πειράματα εκχύλισης και ξήρανσης. Δυστυχώς, οι τεχνικές διάχυσης είναι έμμεσες για βιολογικά αντικείμενα και μπορούν να παραβιάσουν τη δομή των ιστών (Lebonka, et al., 2006).

1.7.5. Χαρακτηριστικά υφής

Μια άθικτη κυτταρική μεμβράνη διατηρεί μια διαφορά πίεσης μεταξύ του εσωτερικού και του εξωτερικού του κυττάρου. Το κυτταρικό τοίχωμα είναι ένα σημαντικό συστατικό της ακαμψίας και της σταθερότητας των φυτικών ιστών. Ως συνέπεια της διάρρηξης των κυτταρικών μεμβρανών που προκλήθηκαν από την επεξεργασία με ΠΗΠ, υπάρχει σημαντική επίδραση στις ιξωδοελαστικές ιδιότητες των φυτικών ιστών. Επομένως, οι μετρήσεις υφής μπορούν να χρησιμοποιηθούν έμμεσα για τον υπολογισμό του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z ενός φυτικού ιστού (Fincan & Dejmek 2003, Lebonka et al., 2004). Στις δοκιμές της υφής συνήθως, εφαρμόζονται οι δοκιμές συμπίεσης για ανέπαφους και επεξεργασμένους με ΠΗΠ φυτικούς ιστούς (Grimi, 2009). Τα πειράματα υφής είναι χρήσιμα για τον ποιοτικό χαρακτηρισμό των αλλαγών που προκαλούνται από τα ΠΗΠ. Ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης με βάση τις δοκιμές υφής, Z_F ορίζεται από την Εξ. 8 ως:

$$Z_F = \frac{(F-F_i)}{(F_d-F_i)} \quad (\text{Εξ. 8})$$

όπου, F είναι η δύναμη που μετριέται σε N για έναν φυτικό ιστό που επεξεργάστηκε σε μία συνθήκη ΠΗΠ, και οι δείκτες «i» και «d» αναφέρονται στις τιμές του ανέπαφου και πλήρως ηλεκτροδιατηρημένου κυτταρικού ιστού, αντίστοιχα. Οι ιστοί με υψηλό βαθμό ηλεκτροδιάτησης έχουν μικρότερη δύναμη (μαλακοί ιστοί), και οι ανέπαφοι ιστοί έχουν μεγαλύτερη δύναμη (ανεπεξεργαστοι ιστοί). Συνήθως για το F_d χρησιμοποιείται δείγμα το οποίο έχει υποστεί κατάψυξη-απόψυξη.

1.7.6. Με φυγοκεντρική αποβολή υγρού

Όταν η κυτταρική μεμβράνη είναι διαπερατή, ύστερα από την επεξεργασία με ΠΗΠ, τα ενδοκυτταρικά συστατικά που υπάρχουν μέσα στο κύτταρο διαχέονται προς το εξωτερικό του. Με αυτό τον τρόπο είναι δυνατή η εκτίμηση του βαθμού της ηλεκτροδιάτησης και κατ' επέκταση του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z μετρώντας την ποσότητα του απελευθερούμενου υγρού.

Η ποσοτικοποίηση του υγρού που απελευθερώνεται από το επεξεργασμένο κάθε φορά υλικό που έχει υποστεί επεξεργασία με ΠΗΠ, μπορεί να γίνει υποβάλλοντας το επεξεργασμένο υλικό σε μια

δεδομένη φυγοκεντρική δύναμη στην οποία λαμβάνει χώρα απελευθέρωση του υγρού, ενώ από το μη επεξεργασμένο δεν απελευθερώνεται καθόλου υγρό. Σε αυτήν την περίπτωση, ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης με την Εξ. 9, ορίζεται ως:

$$Z_Y = \frac{(Y-Y_i)}{(Y_d-Y_i)} \quad (\text{Εξ. 9})$$

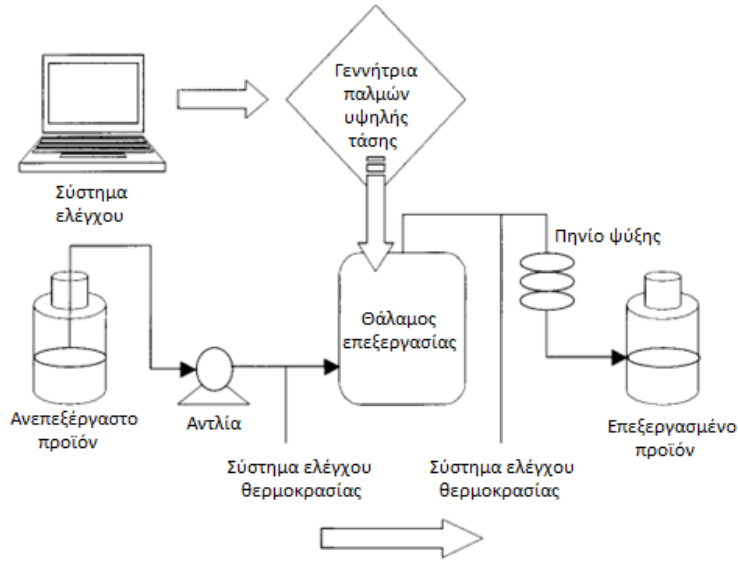
όπου, Y είναι η ποσότητα του υγρού που λαμβάνεται ύστερα από τη φυγόκεντρο δύναμη για έναν φυτικό ιστό που επεξεργάστηκε σε μία συνθήκη ΠΗΠ, και οι δείκτες «i» και «d» αναφέρονται στις τιμές του ανέπαφου και πλήρως ηλεκτροδιατηρημένου κυτταρικού ιστού, αντίστοιχα.

1.8. Σχεδιασμός Εξοπλισμού ΠΗΠ

1.8.1. Διάταξη των ΠΗΠ

Στο Σχήμα 1.7 παρουσιάζεται διάγραμμα ροής ενός τυπικού συστήματος επεξεργασίας με ΠΗΠ. Αποτελείται από μια γεννήτρια παλμών υψηλής τάσης, μία συστοιχία πυκνωτών αποθήκευσης ενέργειας, μία αντίσταση που περιορίζει το ρεύμα φόρτισης, έναν διακόπτη για την ενεργειακή αποφόρτιση των πυκνωτών, ένα θάλαμο επεξεργασίας και ένα σύστημα ελέγχου των παραμέτρων της διεργασίας. Χρησιμοποιείται επίσης παλμογράφος για την παρατήρηση των παλμών, του ρεύματος και της τάσης μέσα στον θάλαμο επεξεργασίας και ένα καταγραφικό θερμοκρασίας.

Η πηγή ισχύος, μια γεννήτρια συνεχούς ρεύματος υψηλής τάσης, μετατρέπει το συνεχές ρεύμα μιας συμβατικής τάσης (110 V) σε εναλλασσόμενο ρεύμα υψηλής τάσης και στη συνέχεια μετατρέπεται και πάλι σε συνεχές ρεύμα υψηλής τάσης. Ενέργεια αποθηκεύεται στη συστοιχία πυκνωτών και εκτονώνεται στο θάλαμο επεξεργασίας που βρίσκεται το τρόφιμο, για τη δημιουργία ενός ηλεκτρικού πεδίου. Η μέγιστη τάση κατά μήκος των πυκνωτών είναι ίση με την τάση κατά μήκος της γεννήτριας. Ένας ηλεκτρικός διακόπτης χρησιμοποιείται για την εκτόνωση της ενέργειας (στιγμιαία σε εκατομμυριοστά του δευτερολέπτου) που αποθηκεύεται στη συστοιχία πυκνωτών. Εκτός από αυτά τα κύρια συστήματα, μερικά πρόσθετα εξαρτήματα είναι επίσης απαραίτητα. Ένα σύστημα ψύξης του θαλάμου μπορεί να χρησιμοποιηθεί ώστε να μειωθεί η θέρμανση του τροφίμου που οφείλεται στην ωμική επίδραση κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας. Αισθητήρες υψηλής τάσης και υψηλού ρεύματος χρησιμοποιούνται για τη μέτρηση της τάσης και του ρεύματος που δέχεται ο θάλαμος (Ho et al., 1995; Barbosa-Cánovas et al., 1999; Floury et al., 2006; & Amiali et al., 2006; Ortega-Rivas et al., 1998) (Σχήμα 1.7)



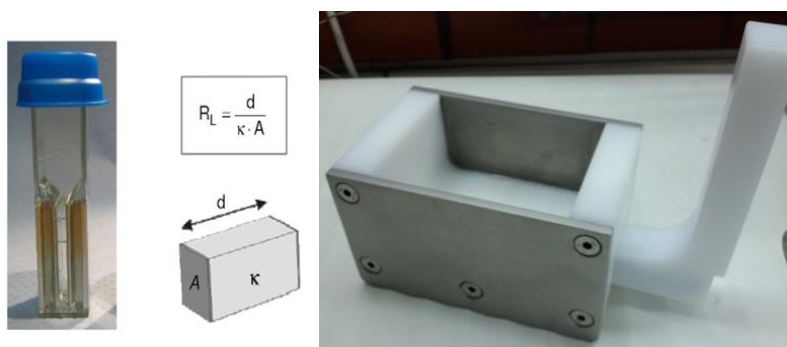
Σχήμα 1.7: Διάγραμμα ροής συστήματος επεξεργασίας τροφίμων PEF (Mohamed et al, 2012)

1.8.2. Θάλαμοι επεξεργασίας

Ένα από τα πιο σημαντικά και περίπλοκα στοιχεία του συστήματος επεξεργασίας είναι ο θάλαμος επεξεργασίας. Στόχος του θαλάμου επεξεργασίας είναι η διατήρηση του επεξεργασμένου προϊόντος στο εσωτερικό κατά τη διάρκεια εφαρμογής των παλμών και για αυτό το λόγο η ομοιομορφία της επεξεργασίας εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το σχεδιασμό του θαλάμου επεξεργασίας. Ο θάλαμος επεξεργασίας (Σχήμα 1.8) στον οποίο τοποθετείται το τρόφιμο περιέχει τουλάχιστον δύο ηλεκτρόδια όπου το ένα το ένα έχει υψηλή τάση ενώ το άλλο έχει γείωση και διαχωρίζονται με μονωτικό υλικό. Συνήθως χρησιμοποιούνται παράλληλες πλάκες, ώστε το ηλεκτρικό πεδίο που θα δημιουργείται εντός των πλακών να είναι ομοιογενές. Ένας μεγάλος αριθμός μελετών έχει πραγματοποιηθεί χρησιμοποιώντας συστήματα παράλληλων πλακών, αρχικά σε λειτουργία διαλείποντος έργου και στη συνέχεια σε λειτουργία συνεχούς ροής. Οι θάλαμοι επεξεργασίας κατατάσσονται σε συνεχούς και διαλείποντος έργου.

Οι θάλαμοι διαλείποντος έργου παρέχουν πολλά πλεονεκτήματα για εργαστηριακή χρήση (Σχήμα 1.8). Οι θάλαμοι διαλείποντος έργου επεξεργασίας τροφίμων με ΠΗΠ εφαρμόζονται κυρίως σε στερεά και ημιστερεά τρόφιμα. Ο θάλαμος επεξεργασίας είναι κατά προτίμηση μια αποσπώμενη μονάδα, η οποία προσαρμόζεται σε ένα πλαίσιο όπου περιέχονται τα ηλεκτρόδια. Απαιτούνται

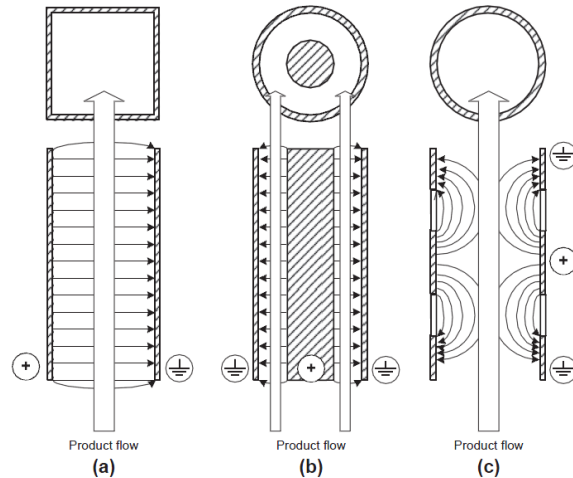
μικροί όγκοι επεξεργασίας και η θερμοκρασία επεξεργασίας είναι εύκολο να διατηρηθεί σταθερή με ψύξη των ηλεκτροδίων και με χαμηλούς ρυθμούς επανάληψης των παλμών (μικρή συχνότητα).



Σχήμα 1.8. Διαμορφώσεις των θαλάμων επεξεργασίας για τα ΠΗΠ διαλείποντος έργου: (αριστερά) κυψελίδα ηλεκτροδιάτρησης (Frey, W. 2016), (δεξιά) θάλαμος επεξεργασίας διαλείποντος έργου 400 mL.

Επίσης, οι θάλαμοι διαλείποντος έργου επιτρέπουν τον έλεγχο των παραμέτρων της επεξεργασίας, δηλαδή της έντασης του ηλεκτρικού πεδίου, τον αριθμό των παλμών, τον χρόνο επεξεργασίας και την ειδική ενέργεια (Toerfl et al., 2014, Sun Da-Wen, 2014). Οι θάλαμοι διαλείποντος έργου, ανάλογα την ένταση του ηλεκτρικού πεδίου που θα εφαρμοστεί και το μέγεθος του τροφίμου μπορούν να έχουν διάφορα μεγέθη που καθορίζονται από την απόσταση των ηλεκτροδίων. Οι πλάκες με παράλληλα ηλεκτρόδια και με ένα μικρό κενό μεταξύ τους παρέχουν ένα ομοιόμορφο ηλεκτρικό πεδίο και αντιπροσωπεύουν την πιο πρακτική επιλογή (De Vito, 2008).

Οι θάλαμοι συνεχούς επεξεργασίας είναι κατάλληλοι για επεξεργασία υγρών τροφίμων, και μπορούν εύκολα να ενσωματωθούν σε βιομηχανικές διεργασίες. Αν και διαφορετικοί σχεδιασμοί έχουν αναπτυχθεί τα τελευταία χρόνια, οι τρεις πιο σημαντικοί σχεδιασμοί των θαλάμων, που σήμερα θεωρούνται κατάλληλοι για εμπορική εφαρμογή των ΠΗΠ, είναι οι σχηματισμοί με παράλληλα ηλεκτρόδια, οι ομοαξονικοί σχηματισμοί (coaxial design) και οι συγγραμμικοί σχηματισμοί (collinear design) (Σχήμα 1.9). Για να επιτευχθούν υψηλές ταχύτητες ροής που απαιτούνται σε βιομηχανικές εφαρμογές, οι παλμοί πρέπει να εφαρμόζονται σε ρυθμό με υψηλές επαναλήψεις, με αποτέλεσμα την ταχεία αύξηση της θερμοκρασίας στο τρόφιμο. Η διατήρηση σταθερής θερμοκρασίας μπορεί να απαιτεί υψηλές προσπάθειες ψύξης ή ενδιάμεση ψύξη μεταξύ των πολλαπλών ζωνών επεξεργασίας (Toerfl, 2014)

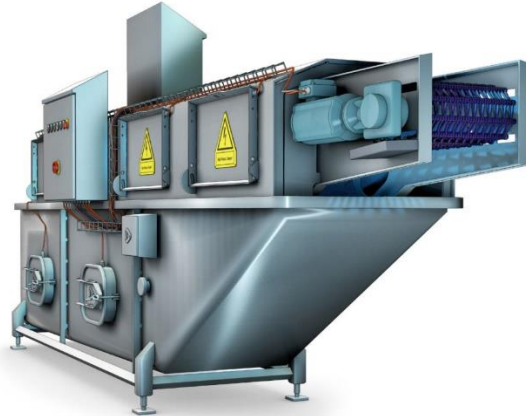


Σχήμα 1.9. Διαμόρφωση των θαλάμων επεξεργασίας ΠΗΠ για διεργασίες συνεχούς ροής, (α) παράλληλη πλάκα, (β) ομοαξονική, (γ) συν-γραμμική διαμόρφωση (Toerfl et al., 2014)

Τα ηλεκτρόδια και το μονωτικό υλικό πρέπει να είναι κατάλληλο για τρόφιμα και να επιδέχεται αποστείρωση και επιπλέον οι ηλεκτροχημικές ιδιότητές του πρέπει να λαμβάνονται υπόψη. Ο Bushnell et al. (1996) πρότεινε χρυσό, λευκόχρυσο, οξείδια του άνθρακα και μετάλλου για χρήση ως εναλλακτική λύση στα ηλεκτρόδια από ανοξείδωτο χάλυβα. Η διάβρωση των ηλεκτροδίων και η απελευθέρωση των μεταλλικών σωματιδίων στο τρόφιμο έχουν αναφερθεί πρόσφατα (Morren et al., 2003). Για να αποφευχθεί η έκθεση του προϊόντος στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου οι Lubicki & Jayaram et al. (1997) ανέπτυξαν ένα σύστημα που αποτελείται από μια γυάλινη σπείρα που περιβάλλει την άνοδο και επιβεβαίωσε ότι η μικροβιακή αδρανοποίηση μπορεί να επιτευχθεί ακόμη και χωρίς άμεση επαφή. Η επεξεργασία με ΠΗΠ των συσκευασμένων τροφίμων χωρίς άμεση επαφή με τα ηλεκτρόδια έχει συζητηθεί τα τελευταία χρόνια και ερωτήματα όπως πόσο αποδοτικό θα είναι ένα επαρκές (και ομοιογενές) ηλεκτρικό πεδίο ή εάν η απαιτούμενη ενέργεια παλμού μπορεί να μεταφερθεί στο προϊόν, θα πρέπει να αντιμετωπιστούν.

1.9. Εφαρμογές των Παλμικών Ηλεκτρικών Πεδίων στα τρόφιμα και βιβλιογραφική ανασκόπηση

Οι περισσότερες μελέτες για επεξεργασία με ΠΗΠ με υψηλή ένταση σχετίζονται με το σχεδιασμό εφαρμογών παστερίωσης (Σχήμα 1.10) ως εναλλακτική λύση στις συμβατικές θερμικές διεργασίες, σε θερμοκρασίες κάτω από εκείνες που χρησιμοποιούνται στις θερμικές διεργασίες, με σκοπό την επίτευξη των κατάλληλων επιπέδων μικροβιακής απενεργοποίησης, καθώς και την παρατήρηση της επίδρασης της τεχνολογίας αυτής στην ενζυμική δραστηριότητα (Mohamed et al., 2012, Jäger, 2012, Soliva-Fortuny et al., 2009, Klonowski et al., 2006).



Σχήμα 1.10 Βιομηχανικός εξοπλισμός Παλμικών Ηλεκτρικών Πεδίων, παραγωγικότητας μεταξύ 1-6 t/h.

Από την άλλη πλευρά, η επεξεργασία με ΠΗΠ με ήπια ή μέτρια ένταση βρίσκεται υπό μελέτη ώστε να διαπιστωθεί η δυνατότητα διαπερατότητας ιστών, επιτρέποντας έτσι την εφαρμογή της τεχνολογίας ΠΗΠ στο πλαίσιο ήδη υφιστάμενων διεργασιών, όπως είναι η εκχύλιση ή η αφυδάτωση (Soliva-Fortuny et al., 2009).

1.9.1. Εφαρμογές των ΠΗΠ στην απενεργοποίηση των μικροοργανισμών

Η χρήση των ΠΗΠ επιτρέπει την απενεργοποίηση των βλαστικών κυττάρων των βακτηρίων και των ζυμομυκήτων σε πολλά τρόφιμα. Καθώς τα βακτηριακά σπόρια είναι ανθεκτικά στα ΠΗΠ, οι εφαρμογές αυτής της τεχνολογίας επικεντρώνονται κυρίως στους παθογόνους και αλλοιογόνους μικροοργανισμούς, ειδικά για τα τρόφιμα με χαμηλό pH. Επιπλέον, η συνεργιστική επίδραση της τεχνολογίας των ΠΗΠ σε συνδυασμό με άλλες ήπιες μεθόδους συντήρησης παρουσιάζει μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον. Σχετικά με την αποτελεσματικότητα της επεξεργασίας ΠΗΠ για υγρά προϊόντα, όπως γάλα, χυμοί φρούτων, αυγά σε υγρή μορφή, και οποιαδήποτε άλλα υγρά τρόφιμα, έχει γίνει εκτεταμένη έρευνα για την εφαρμογή της διεργασίας σε βιομηχανικό επίπεδο (Sale & Hamilton, 1967; Zhang et al., 1994; Gaskova et al., 1996; Qin et al., 1997; Jeyarankondan et al., 1999; Ho & Mittal, 2000; Cserhalmi et al., 2002).

Οι χυμοί φρούτων είναι ίσως τα πιο κατάλληλα προϊόντα για να υποβληθούν σε επεξεργασία με ΠΗΠ. Προς το παρόν, οι χυμοί πρέπει να είναι θερμικά επεξεργασμένοι ώστε να διατεθούν στο εμπόριο είτε σε ψύξη είτε σε θερμοκρασία δωματίου. Οι χυμοί φρούτων μπορεί να υποστούν αλλαγές στην ποιότητα τους, λόγω ανάπτυξης μικροοργανισμών, ενζυμικών και χημικών αντιδράσεων. Η σταθερότητα γενικά εξασφαλίζεται από το συνδυασμό της θερμικής επεξεργασίας, την οξύτητα του προϊόντος και μερικές φορές, τη θερμοκρασία ψύξης. Αντιθέτως, πολλές ενώσεις που είναι υπεύθυνες για τη γεύση σε χυμούς είναι ευαίσθητες στη θερμότητα, και

έτσι οι θερμικά επεξεργασμένοι χυμοί θεωρούνται σημαντικά διαφορετικοί από τους ανεπεξεργαστους χυμούς. Για αυτό το λόγο, τα ΠΗΠ έχουν προταθεί ως μια πιθανή εναλλακτική λύση στις σημερινές θερμικές διεργασίες. Δυστυχώς, λόγω της χαμηλότερης αποτελεσματικότητας των ΠΗΠ έναντι πολλών μυκήτων (Raso et al., 1998) και ορισμένων ενζύμων, η επεξεργασία με ΠΗΠ θεωρείται ως εναλλακτική λύση για τη θερμική επεξεργασία των παστεριωμένων, αλλά όχι των αποστειρωμένων χυμών. Με άλλα λόγια, το προϊόν θα πρέπει κανονικά να διατηρείται υπό ψύξη, ακόμα και μετά από επεξεργασία με ΠΗΠ. Η ταχεία αύξηση ζήτησης στην αγορά των χυμών φρούτων έχει οδηγήσει τους κατασκευαστές να αναζητήσουν τρόπους για να ξεπεραστούν οι επιπτώσεις της θερμικής επεξεργασίας, αυξάνοντας παράλληλα τη διάρκεια ζωής των χυμών (Sadler et al., 1992). Η εφαρμογή των ΠΗΠ είναι ιδιαίτερα ελπιδοφόρα για τον κλάδο των εσπεριδοειδών, ο οποίος ασχολείται με τους μικροοργανισμούς αλλοίωσης και την επακόλουθη παραγωγή ενώσεων με δυσάρεστες οσμές, όπως τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος (Hendrix & Red, 1995). Η επεξεργασία με ΠΗΠ υπήρξε επιτυχής σε διάφορους χυμούς φρούτων με χαμηλό ιξώδες και ηλεκτρική αγωγιμότητα, όπως χυμοί από πορτοκάλι, μήλο, και cranberry. Οι Zhang et al. (1994), οι Qin et al. (1995) και οι Zhang et al. (1995), έχουν μελετήσει την εφαρμογή των ΠΗΠ (25-70 kV/cm, 20-80 παλμούς) σε γάλα και κατάφεραν να μειώσουν 2-3 log την *E.coli*. Οι Qin et al. (1995), και οι Harrison et al. (1997), μελέτησαν την αδρανοποίηση *S. cerevisiae* σε χυμό μήλου και πέτυχαν μείωση έως και 6 log μετά την εφαρμογή των ΠΗΠ στα 25-40 kV/cm και 64 παλμούς.

1.9.2. Εφαρμογές των ΠΗΠ στην ενζυμική δραστηριότητα

Ενδεικτικά αναφέρονται μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί με σκοπό τη χρήση ΠΗΠ για την απενεργοποίηση ενδογενών ενζύμων σε προϊόντα τομάτας (Andreou et al., 2016), της υπεροξειδάσης σε χυμό πορτοκαλιού (Elez Martinez et al., 2005), της παπαΐνης (Yeom et al., 1999), ενώ μελετήθηκε από τους Ohshima et al. (2007) η απενεργοποίηση ποικίλων ενζύμων με χρήση των ΠΗΠ. Συγκεκριμένα πραγματοποιήθηκε απενεργοποίηση της υπεροξειδάσης από ραπανάκια, της ενολάσης από ζύμη, της β-γαλακτοσιδάσης από βακτήρια *E. Coli*, και της γαλακτικής αφυδρογονάσης από καρδιά κοτόπουλου. Επιπλέον οι Loey et al. (2001), μελέτησαν την επίδραση των ΠΗΠ σε συγκεκριμένα ένζυμα (λιποξυγενάση, πολυφαινολοξειδάση, πηκτινομεθυλεστεράση και υπεροξειδάση) σε πρότυπα διαλύματα με απεσταγμένο νερό και με ρυθμιστικά διαλύματα (διαφορετικό pH, αγωγιμότητα), καθώς και σε πραγματικά τρόφιμα που περιέχουν αυτά τα ένζυμα. Σε αυτές τις τρεις περιπτώσεις, παρατηρήθηκε διαφορετική συμπεριφορά των ενζύμων. Ενώ τα «καθαρά» ένζυμα (πρότυπα διαλύματα) ήταν πολύ ανθεκτικά στην επεξεργασία με ΠΗΠ στο απεσταγμένο νερό, στα ρυθμιστικά διαλύματα, όπου το pH, και η

αγωγιμότητα του μέσου μεταβάλλεται υπήρξε μία μείωση της δραστηριότητας τους. Σε όλες τις περιπτώσεις που υπήρξε μείωση της δραστηριότητας των ενζύμων λόγω της επεξεργασίας με ΠΗΠ συνοδευόταν από ακαριαία ανομοιόμορφη αύξηση της θερμοκρασίας (hot spots) λόγω των υψηλών εντάσεων ηλεκτρικού πεδίου. Μόνο η συνεργιστική δράση ΠΗΠ και θερμοκρασίας οδήγησε σε μείωση της ενεργότητας των ενζύμων.

Σε σύγκριση με τις μελέτες απενεργοποίησης των μικροοργανισμών από τα ΠΗΠ, τα ένζυμα είναι γενικά περισσότερο ανθεκτικά στα ΠΗΠ. Πολλές φορές, κάποια ένζυμα στη βιομηχανία τροφίμων είναι επιθυμητά στα τελικά προϊόντα. Εξαιτίας αυτού, τα ΠΗΠ θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν στη βιομηχανία τροφίμων για να απενεργοποιήσουν αλλοιογόνους και παθογόνους μικροοργανισμούς σε ένα τρόφιμο αλλά να μην λειτουργήσουν εις βάρος της βιολογικής δραστηριότητας κάποιου επιθυμητού ενζύμου στο ίδιο τρόφιμο.

1.10. Εφαρμογές των ΠΗΠ για βελτίωση των φαινομένων μεταφοράς μάζας

1.10.1. Χυμοποίηση φρούτων και λαχανικών

Ο χυμός είναι το υγρό που περιέχεται φυσιολογικά σε κύτταρα φρούτων ή λαχανικών. Για τη παραλαβή χυμού συνεπάγεται εφαρμογή μηχανικής πίεσης στο τρόφιμο, η οποία προκαλεί, μεταξύ άλλων επιπτώσεων, τη διάσπαση των κυτταρικών μεμβρανών και κατά συνέπεια διευκολύνει την απελευθέρωση της υγρής φάσης του εσωτερικού των κυττάρων (Bouzzara & Vorobiev 2003). Η αύξηση της απόδοσης σε χυμό και η ταυτόχρονη διατήρηση των ποιοτικών, θρεπτικών και οργανοληπτικών χαρακτηριστικών τους ήταν μία από τις σημαντικότερες προτεραιότητες για τη βιομηχανία τροφίμων. Αρχικά δοκιμάστηκε η χρήση διαλύματος ενζύμων, τα οποία ονομάζονται πηκτινάσες, ως η πιο συνηθισμένη προεπεξεργασία για τη βελτίωση της εκχύλισης των διαλυτών στερεών από φρούτα (Alkorta et al., 1998). Ωστόσο η προεπεξεργασία των φρούτων ή λαχανικών με ΠΗΠ, λόγω της ενίσχυσης των φαινομένων μεταφοράς μάζας από το εσωτερικό του κυττάρου προς τα έξω, έδωσε τη δυνατότητα εφαρμογής τους για τη βελτίωση της απόδοσης τους σε χυμό. Διάφορες μελέτες έχουν ερευνήσει τη χρήση των ΠΗΠ ως προεπεξεργασία ώστε να υποβοηθήσουν την εκχύλιση του χυμού από φυτικούς ιστούς, όπως ζαχαρότευτλα, καρότα, σταφύλια, πατάτες ή μήλα (Bouzzara & Vorobiev, 2001; Eshtiaghi & Knorr, 2002; Bazhal et al., 2001, Bazhal & Vorobiev 2000; Bouzzara & Vorobiev 2003; Grimi et al. 2011; Οι Lebonka et al. 2003; McLellan et al. 1991; Praporscic et al. 2007; Schilling et al. 2007). Μελέτες έδειξαν ότι η προεπεξεργασία με ΠΗΠ (1-5 kV cm⁻¹, 1,1-27 kJ/kg) αύξησε τις αποδόσεις σε χυμό μήλου έως και κατά 7,7% σε σχέση με το ανεπεξεργαστο δείγμα (απόδοση σε χυμό μήλου 64,5%), ενώ η ενζυματική προεπεξεργασία του πολτού είχε ως αποτέλεσμα να βελτιώσει την

απόδοση κατά 4,2% (Schilling et al., 2007). Οι Grimi et al. (2011) παρατήρησαν την επίδραση της προεπεξεργασίας με ΠΗΠ στην απόδοση του χυμού μήλου αν η προεπεξεργασία εφαρμοζόταν σε ολόκληρα μήλα (58% αύξηση της απόδοσης) ή σε φέτες μήλου (64% αύξηση της απόδοσης) σε σχέση με το ανεπεξεργαστο δείγμα (44% για ολόκληρα μήλα και 64% για φέτες μήλου).

1.10.2. Εκχύλιση ενδοκυττάρων ενώσεων προστιθέμενης αξίας

1.10.2.1. Χρωστικές

Η χρήση των ΠΗΠ έχει ερευνηθεί για τη βελτίωση της εκχύλισης διαφορετικών ενώσεων που βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα ή σε οργανίδια των φυτικών κυττάρων, όπως χρωστικές, σακχαρόζη, πολυφαινόλες και έλαια. Τα τελευταία χρόνια, υπάρχει ένα αυξανόμενο ενδιαφέρον από τη βιομηχανία τροφίμων να αντικαταστήσει τις συνθετικές με φυσικές χρωστικές τις οποίες θα παραλάβει από εκχυλίσματα φρούτων και λαχανικών (Cai et al., 2005). Οι φυσικές χρωστικές περιλαμβάνουν τη χλωροφύλλη, τα καροτενοειδή και τα φλαβονοειδή (ιδιαίτερα ανθοκυανίνες). Ανάλογα με τη διαλυτότητα τους, αυτές οι ενώσεις εκχυλίζονται με τη χρήση οργανικών ή ανόργανων διαλυτών. Λόγω της ιδιαίτερης ευαισθησίας τους σε διαφορετικούς παράγοντες όπως το φως, η θερμοκρασία και το οξυγόνο, χρησιμοποιούνται συνήθως για τη βελτίωση της ανάκτησης τους, ήπιες θερμικές επεξεργασίες ή οι τεχνικές συμπίεσης (Delgado-Vargas et al., 2000). Έχει αποδειχθεί ότι η εφαρμογή της διεργασίας των ΠΗΠ ως προεπεξεργασία πριν τη διεργασία της εκχύλισης διευκολύνει την απελευθέρωσή τους σε μεγαλύτερη απόδοση, σε συντομότερο χρονικό διάστημα και οικονομικότερα. Προηγούμενες μελέτες έχουν χρησιμοποιήσει τα ΠΗΠ ως προεπεξεργασία για την εκχύλιση χλωροφυλλών (Koehler et al., 2005), καροτενοειδών (Grimi et al., 2007, Kim et al., 1999, Koehler et al., 2005), βετανίνης (Chalermchat et al., 2004, Fincan et al., 2004, Lopez et al., 2009b) και ανθοκυανινών (Corrales et al., 2008, Gachovska et al., 2010). Οι Koehler et al. (2005) μελέτησαν τη χρήση των ΠΗΠ για την εκχύλιση χλωροφύλλης και καροτενοειδών από *Chlorella vulgaris*, επιτυγχάνοντας αύξηση της απόδοσης της εκχύλισης κατά 80% και 52,2%, αντιστοίχως, μετά την προεπεξεργασία με ΠΗΠ (100 kJ/kg στα 15 kV/cm). Οι Lopez et al. (2009b) ανέφεραν ότι η εφαρμογή των ΠΗΠ (5 παλμών στα 7 kV/cm, 0,24 kJ/kg) αύξησαν κατά τέσσερις φορές τη συνολική ποσότητα της βετανίνης που εξάγεται από τα τεύτλα. Οι Gachovska et al. (2010) κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η προεπεξεργασία με ΠΗΠ (16,63 kJ/kg σε 2.5 kV/cm) αύξησε τη συνολική συγκέντρωση των εκχυλιζόμενων ανθοκυανινών σε νερό από κόκκινο λάχανο κατά 2,15 φορές.

1.10.2.2. Σακχαρόζη από ζαχαρότευτλα

Η παραδοσιακή διαδικασία εκχύλισης σακχαρόζης από ζαχαρότευτλα περιλαμβάνει την κοπή του τεύτλου και την απομάκρυνση του νερού του με χρήση υψηλών θερμοκρασιών (70-75 ° C) για μεγάλο χρονικό διάστημα (περίπου 1,5 h) (Van der Poel et al., 1998). Δυστυχώς, η καταστροφή των κυττάρων λόγω θέρμανσης έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση μη-επιθυμητών ουσιών, όπως πηκτίνη, στο εκχύλισμα, απαιτώντας στη συνέχεια μια δαπανηρή και πολύπλοκη διαδικασία καθαρισμού του. Επιπλέον, η θέρμανση του νερού συνεπάγεται επίσης σημαντική κατανάλωση ενέργειας (περίπου 175 kJ/kg), και οι υψηλές θερμοκρασίες ευνοούν την ανάπτυξη της θερμόφιλης χλωρίδας, η οποία υποβαθμίζει τη σακχαρόζη, μειώνοντας έτσι και την απόδοση (Schultheiss et al., 2002). Η βελτίωση της εκχύλισης σακχαρόζης από ζαχαρότευτλα με τη χρήση των ΠΗΠ ήταν μία από τις πιο σημαντικές εφαρμογές καθώς τα ΠΗΠ δεν χρησιμοποιούν υψηλές θερμοκρασίες (Bouzrara & Vorobiev 2000, El-Belghiti & Vorobiev 2004; El-Belghiti et al. 2005; Eshtiaghi & Knorr 2002; Jemai & Vorobiev 2006; Lebovka et al., 2007, Lopez et al., 2009a).

1.10.2.3. Φυτικά έλαια

Τα έλαια από τα φυτά συνήθως περιέχονται σε σπόρους όπως η σόγια, οι ηλιανθόσποροι, οι κόκκοι καλαμποκιού και οι καρποί φρούτων όπως του φοίνικα ή της ελιάς. Αρκετές έρευνες έχουν διεξαχθεί για να μελετήσουν την εφαρμογή της διεργασίας των ΠΗΠ ως προεπεξεργασία με στόχο την κυτταρική διάρρηξη πριν από τον διαχωρισμό του ελαίου, με σκοπό τη βελτίωση της απόδοσης παραλαβής διάφορων φυτικών ελαίων, όπως για παράδειγμα από καλαμπόκι, σόγια και ελαιοκράμβη. Με περισσότερες λεπτομέρειες, αναφορικά με το καλαμπόκι, η απόδοση της παραλαβής του ελαίου αυξήθηκε κατά 2,9% σε σύγκριση με το ανεπεξέργαστο δείγμα (απόδοση 9 %) για ένταση ηλεκτρικού πεδίου 7,3 kV/cm (Guderjan et al., 2005). Η σόγια είχε καλύτερα αποτελέσματα με μικρότερη ένταση ηλεκτρικού πεδίου (1,3 kV/cm), αφού αυξήθηκε η απόδοση του σογιέλαιου κατά 20% συγκριτικά με το ανεπεξέργαστο δείγμα (Guderjan et al., 2005, Donsi et al., 2010). Η ελαιοκράμβη μελετήθηκε σε δύο περιπτώσεις: με φλοιό και χωρίς φλοιό. Τα δυο έλαια που προέκυψαν μετά τη διεργασία παρουσίασαν αυξημένες αποδόσεις. Η ελαιοκράμβη με φλοιό είχε αύξηση 9% και η χωρίς φλοιό είχε 2% αύξηση για ένταση πεδίου 7 kV/cm (Guderjan et al., 2007) σε σχέση με το ανεπεξέργαστο (23,2%). Επιπλέον, μελέτες έχουν γίνει για το σουσάμι καθώς και τον ηλιάνθο όπου διαπιστώθηκε ότι η διεργασία των ΠΗΠ μπορεί να χρησιμοποιηθεί αποτελεσματικά με σκοπό την αύξηση της απόδοσης παραλαβής των ελαίων των καρπών αυτών. Από την έρευνα του σησαμελαίου προέκυψε αύξηση της απόδοσης κατά 4,9% σε σχέση με το ανεπεξέργαστο (62%) για ένταση ηλεκτρικού πεδίου 20 kV/cm. Από την άλλη, τα αποτελέσματα του πειράματος του ηλιάνθου έδειξαν αύξηση της απόδοσης του ελαίου του κατά 11% περίπου

για ένταση πεδίου 7 kV/cm σε σχέση με το ανεπεξεργαστο (38%) (Sarkis et al., 2015, Shorstkii et al., 2017). Έρευνες που έχουν γίνει για το ελαιόλαδο είναι επίσης ενθαρρυντικές. Σε μια έρευνα παρατηρήθηκε αύξηση στην απόδοση του ελαιόλαδου κατά 13,3% σε σύγκριση με το ανεπεξεργαστο δείγμα (20%) της ελαιόπαστας για ένταση πεδίου 2 kV/cm, συχνότητα 25 Hz με ειδική ενέργεια 11,25 kJ/kg και θερμοκρασία επεξεργασίας 24 ± 3 °C και μάλαξη στους 24 °C για 60 min (Puertolas et al., 2015). Σε μια άλλη μελέτη, η απόδοση του ελαιόλαδου αυξήθηκε σε 14,1% από 13,8% (ανεπεξεργαστο δείγμα) για ένταση πεδίου 2 kV/cm, αριθμό παλμών 50 για 3 μs, με ειδική ενέργεια 5.2 kJ/kg, συχνότητα 125 Hz και θερμοκρασία επεξεργασίας 20 ± 2 °C. Οι συνθήκες της μάλαξης που θεωρήθηκαν βέλτιστες είναι 15°C για 30 min (Abenoza et al., 2013). Τα αποτελέσματα αυτά διαφέρουν λόγω διαφορετικής ποικιλίας που χρησιμοποιήθηκε στα δυο πειράματα (*Arroniz* και *Arbequina* αντίστοιχα), γεγονός που δηλώνει τη σημασία που έχει η ποικιλία της ελιάς στην απόδοση του ελαιόλαδου.

1.10.2.4. Ενώσεις με αντιοξειδωτική δράση από παραπροϊόντα τροφίμων

Η χρήση των ΠΗΠ έχει ερευνηθεί για τη βελτίωση της εκχύλισης ενώσεων υψηλής προστιθέμενης αξίας που βρίσκονται σε παραπροϊόντα τροφίμων. Η εκχύλιση αυτών των συστατικών συνήθως γίνεται με χρήση οργανικών διαλυτών. Η μέθοδος αυτή δεν εφαρμόζεται πρακτικά στη βιομηχανία, λόγω της χαμηλής απόδοσης, της μεγάλης διάρκειας της και της μεγάλης κατανάλωσης σε οργανικούς διαλύτες (Capello et al., 2007, Strati & Oreopoulou, 2014, Luengo et al., 2014). Η χρήση των ΠΗΠ ως προεπεξεργασία μπορεί να οδηγήσει σε ενίσχυση αυτών των ενδοκυτταρικών ουσιών. Πολλές μελέτες έχουν διεξαχθεί στην ενίσχυση της εκχύλισης φαινολικών ενώσεων από παραπροϊόντα τομάτας (Andreou et al., 2020), σταφυλιού (Corrales et al., 2008), φλούδες πορτοκαλιού (Luengo et al., 2013), παραπροϊόντα ελαιουργίας (Rosello-Soto et al., 2015, Andreou et al., 2020, Chanioti et al., 2018), φλούδες παπάγιας (Parniakon et al., 2014), φλούδες μάνγκο (Parniakon et al., 2016) και φύλλα τσαγιού (Zderic et al., 2013).

1.10.3. Αφυδάτωση

Η διεργασία της αφυδάτωσης μπορεί να θεωρηθεί ως μέθοδος συντήρησης κατά την οποία το νερό αφαιρείται από το τρόφιμο. Ο ρυθμός μεταφοράς μάζας του νερού από το τρόφιμο προς τα έξω είναι μια σημαντική παράμετρος για τη διαδικασία της αφυδάτωσης. Επιπλέον, αυτή η απώλεια νερού μειώνει το βάρος και την ποσότητα των προϊόντων, διευκολύνοντας τη μεταφορά και την αποθήκευσή τους. Στη βιομηχανία τροφίμων, η παραγωγή αφυδατωμένων τροφίμων επιτυγχάνεται κυρίως με ξήρανση σε θερμό αέρα. Αυτές οι συμβατικές τεχνικές περιλαμβάνουν υψηλό ενεργειακό κόστος (4-6 MJ/kg) και επίσης επηρεάζουν τη φυσική και τη βιοχημική κατάσταση των τροφίμων, με αποτέλεσμα τη συρρίκνωση και την αλλαγή του χρώματος, της υφής

και της γεύσης τους (Ade-Omowaye et al., 2001). Μία από τις τεχνικές που προτείνονται για τη βελτίωση της διαδικασίας είναι η ωσμωτική αφυδάτωση, στην οποία το τρόφιμο βυθίζεται σε ένα κατάλληλο υπερτονικό διάλυμα (Rastogi et al., 2002), κατά συνέπεια, τη μερική απώλεια του νερού από το τρόφιμο προς το διάλυμα και τη μείωση της ενεργότητας του νερού του. Γενικά, η ωσμωτική αφυδάτωση είναι μια αργή διαδικασία, υποδηλώνοντας την ανάγκη για τη βελτίωση της διαδικασίας χωρίς να επηρεαστεί αρνητικά η ποιότητα των τροφίμων. Διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι η αύξηση της κυτταρικής διαπερατότητας από την επεξεργασία με ΠΗΠ ενισχύει τη συμβατική και ωσμωτική αφυδάτωση. Έχει αναφερθεί ότι η επεξεργασία με ΠΗΠ έχει εφαρμοσθεί σε πολλά λαχανικά για να μειώσει το συνολικό χρόνο ξήρανσης. Βιβλιογραφικά, η πρώτη μελέτη της επίδρασης των ΠΗΠ στη ξήρανση πραγματοποιήθηκε από τους Rastogi et al, 1999 σε ιστούς από καρότο και αποδείχθηκε ότι τα ΠΗΠ μείωσαν το χρόνο της αφυδάτωσης στο μισό. Παρόμοια αποτελέσματα προέκυψαν σε μελέτες πάνω στα μήλα (Chalermchat et al., 2010; Wiktor et al., 2013), τις φράουλες (Taiwo et al., 2003), τις πατάτες (Lebonka et al., 2007) και τα καρότα (Amami et al., 2008). Επίσης έχει μελετηθεί η επίδραση των ΠΗΠ στη ξήρανση και στην ενυδάτωση γλυκοπατάτας, παρατηρώντας μείωση του χρόνου ξήρανσης. Οι Shynkaryk et al. (2008), παρατήρησαν αύξηση της διάχυσης της υγρασίας κατά την ενυδάτωση παντζαριών και μείωση του απαραίτητου χρόνου ξήρανσης με την εφαρμογή των ΠΗΠ. Τέλος οι Baier et al. (2015), μελέτησαν την επίδραση της προεπεξεργασίας ΠΗΠ στην ενυδάτωση και στη ξήρανση μπιζελιών παρατηρώντας ενίσχυση της αποτελεσματικότητας των διεργασιών. Στην περίπτωση ωσμωτικής αφυδάτωσης των λαχανικών, όπως τα καρότα, τα μήλα και οι πιπεριές, οι ερευνητές έχουν αναφέρει μεγαλύτερη απελευθέρωση νερού (έως και 30%) και αύξηση του ποσοστού αφυδάτωσης σε δείγματα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ συγκριτικά με τα ανεπεξεργαστα (Ade-Omowaye et al 2002, 2003a; Amami et al., 2006; 2007; Rastogi et al., 1999; Taiwo et al. 2002, 2003).

1.10.4. Τροποποίηση της υφής

Οι αλλαγές στην υφή των τροφίμων πολλές φορές είναι επιθυμητή. Το μαλάκωμα των φυτικών ιστών με τη χρήση των ΠΗΠ έχει μελετηθεί σε πατάτες, ζαχαρότευτλα και καρότο (Toerfl et al, 2014, Lebonka et al, 2004, Janositz et al, 2010). Ως αποτέλεσμα, η επεξεργασία με ΠΗΠ μπορεί να διευκολύνει τις διαδικασίες κοπής. Λόγω μαλακώματος των ιστών, παρατηρείται λιγότερη θραύση του προϊόντος στα επόμενα στάδια παραγωγής τους. Η διεργασία των ΠΗΠ μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να αντικαταστήσει τη συμβατική προθέρμανση, που πολλές φορές χρησιμοποιείται από τη βιομηχανία για να διευκολύνει την κοπή αυτών των τροφίμων.

1.11. Πλεονεκτήματα των ΠΗΠ

Τα πλεονεκτήματα της επεξεργασίας των τροφίμων με ΠΗΠ είναι :

- Το ηλεκτρικό πεδίο εφαρμόζεται ομοιόμορφα σε όλο το τρόφιμο, με αποτέλεσμα να μην το καταστρέφει.
- Ο χρόνος της επεξεργασίας είναι πολύ μικρός.
- Η θερμοκρασία του προϊόντος δεν επηρεάζεται παρά ελάχιστα μετά την επεξεργασία.
- Είναι πιο αποδοτική όσον αφορά το κόστος, συγκριτικά με τη συμβατική θερμική επεξεργασία
- Μπορεί να λειτουργήσει τόσο σε διεργασία διαλείποντος έργου όσο και σε συνεχούς ροής

1.12. Βιομηχανική εφαρμογή και εκτίμηση κόστους των ΠΗΠ

Αν και πολλή έρευνα έχει διεξαχθεί για χρόνια σχετικά με τις πιθανές εφαρμογές των ΠΗΠ για μεταφορά μάζας, η βιομηχανική εφαρμογή εξακολουθεί να παραμένει αναξιοποίητη. Μία από τις μεγαλύτερες ανησυχίες για την εμπορευματοποίηση της τεχνολογίας ΠΗΠ ήταν η παραγωγή παλμών υψηλής τάσης με επαρκή μέγιστη ισχύ για να ικανοποιήσει τις βιομηχανικές απαιτήσεις (Puertolas et al., 2010). Τα τελευταία χρόνια, διαφορετικός εξοπλισμός πιλοτικής κλίμακας με βιομηχανικά πρότυπα έχει αναπτυχθεί ειδικά για την εξαγωγή της σακχαρόζης από τεύτλα, την επεξεργασία χυμού μήλου, και την οينوποίηση (Sack et al., 2010).

Με βάση τα ελπιδοφόρα αποτελέσματα που επιτεύχθηκαν σε πειράματα εργαστηριακής κλίμακας, το πρώτο βιομηχανικό πρωτότυπο σχεδιασμένο για την εξαγωγή σακχαρόζης από ζαχαρότευτλα αναπτύχθηκε στο Τεχνολογικό Ινστιτούτο της Καρλσρούης χρησιμοποιώντας γεννήτριες Marx (Sack et al., 2010). Σε ένα εργοστάσιο ζάχαρης, επεξεργάζονται 10-50 τόνοι ζαχαρότευτλων ανά h. Αυτό το σύστημα επέτρεψε την εφαρμογή επεξεργασιών ΠΗΠ (3-5 kV/cm) σε ολόκληρα ζαχαρότευτλα με διακίνηση περίπου 10 t/h. Το 2006, επίσης με βάση τις γεννήτριες Marx, αναπτύχθηκε ένα σύστημα ΠΗΠ για την επεξεργασία χυμού μήλου (Sack et al., 2010). Παρ'όλα αυτά, από ό,τι γνωρίζουμε δεν υπάρχουν ακόμα διαθέσιμοι στο εμπόριο χυμοί μήλων που παράγονται από τη διεργασία ΠΗΠ.

Σχετικά με την εφαρμογή των ΠΗΠ για τη βελτίωση της εκχύλισης φαινολικών σε οينوποίηση (κόκκινο κρασί), οι πρώτες ελπιδοφόρες δοκιμές σε οينوποιεία με χρήση βιομηχανικών προτύπων έγιναν από ερευνητές στο Τεχνολογικό Ινστιτούτο της Καρλσρούης χρησιμοποιώντας ένταση ηλεκτρικού πεδίου μεγαλύτερη από 30 kV/cm και ένα ρυθμό ροής των 900 kg/h (Sack et al., 2010)

και από ερευνητές στο Πανεπιστήμιο της Σαραγόσα σε χαμηλότερες εντάσεις ηλεκτρικού πεδίου (<5 kV/cm) και υψηλότερη ογκομετρική παροχή (2.000 kg/h).

Η πιο ολοκληρωμένη προσέγγιση για το οικονομικό κόστος της επεξεργασίας ΠΗΠ, σχετικά με τη βελτίωση της μεταφοράς μάζας για να μαλακώσει τους ιστούς έχει γίνει από τους Klonowski et al., 2006. Σε αυτή τη μελέτη, το κόστος των ΠΗΠ στην εξαγωγή του χυμού μελετήθηκε με λεπτομέρεια. Με την παραδοχή μιας τρέχουσας τιμής των 0,1 €/kWh ως βάση, οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι, για την εφαρμογή της επεξεργασίας ΠΗΠ των 10 kJ/kg σε 1-2 kV/cm και χρησιμοποιώντας δυναμικότητα 10 t/h (3 kWh/t), το κόστος της επεξεργασίας μπορεί να εκτιμηθεί σε 0,33 €/t. Για μια συμβατική ενζυμική διεργασία, το κόστος της επεξεργασίας μπορεί να εκτιμηθεί σε 7,50 €/ton, 22,7 φορές το κόστος της επεξεργασίας ΠΗΠ. Χρησιμοποιώντας τις ίδιες εκτιμήσεις και με βάση τα στοιχεία που δημοσιεύθηκαν, έχει υπολογιστεί ότι το κόστος της επεξεργασίας ΠΗΠ (2-7 kV/cm, 0,56 έως 6,76 kJ/kg) για να βελτιωθεί η φαινολική εκχύλιση στην οινοποίηση θα μπορούσε να είναι περίπου 0,01-0,2 €/t (Puertolas et al., 2012). Όσον αφορά τη χρήση των ΠΗΠ για την εξαγωγή σακχαρόζης, οι Frenzel et al., 2005 ανέφεραν ότι η ηλεκτρική ενέργεια που απαιτείται για την ηλεκτροδιάτρηση είναι μόνο 1-1,5 kWh/t των ζαχαρότευτλων, το οποίο είναι μόνο το 3% της συνολικής κατανάλωσης ηλεκτρικής ενέργειας ενός εργοστασίου ζάχαρης.

Λόγω του χαμηλού κόστους της επεξεργασίας, οι μεγάλες ανησυχίες για την εφαρμογή της τεχνολογίας ΠΗΠ στη βιομηχανία τροφίμων είναι το κόστος των επενδύσεων και η ανάπτυξη του βιομηχανικού εξοπλισμού. Λαμβάνοντας υπόψη τις γενικές παραμέτρους επεξεργασίας που αναφέρθηκαν για τη μεταφορά μάζας (1-7 kV/cm, 2-50 kJ/kg), μια γεννήτρια, με μέγιστη ισχύ φορτίου και τάσης 30kW και 30 kV, αντίστοιχα, είναι απαραίτητη. Το εκτιμώμενο κόστος του εξοπλισμού αυτού είναι 100-200 k€. Αναμένεται ότι το χαμηλό κόστος ανά τόνο από τις επεξεργασίες θα μπορούσε να αποσβέσει την επένδυση σε πολύ σύντομο χρονικό διάστημα. Για παράδειγμα, οι Sack et al., (2010) καθόρισαν ότι για την επεξεργασία χυμού μήλου, η αύξηση 6% του αφιλτράριστου χυμού που λαμβάνεται θα αντισταθμίσει το κόστος της επένδυσης μετά από μόλις 1,5 χρόνια. Επιπλέον, αναμένεται ότι όταν η τεχνολογία θα εμπορευματοποιηθεί, το κόστος του εξοπλισμού θα μειωθεί. Η ικανότητα των ΠΗΠ ως μια αποτελεσματική επεξεργασία για τη βελτίωση της μεταφοράς μάζας σε διάφορες διεργασίες της βιομηχανίας τροφίμων αποδεικνύεται παραπάνω. Η χαμηλή κατανάλωση ενέργειας και οι σύντομοι χρόνοι επεξεργασίας που απαιτούνται για τη διαπερατότητα των ευκαρυωτικών κυττάρων αποτελούν βασικά πλεονεκτήματα για την άμεση εφαρμογή της τεχνολογίας ΠΗΠ σε βιομηχανικό επίπεδο.

2. Κεφάλαιο 2:Τεχνολογία της Υπερουψηλής Πίεσης (High Pressure Processing-HPP)

Η τεχνολογία της Υπερουψηλής Πίεσης (ΥΠ) είναι μία πολλά υποσχόμενη, καινοτόμος διεργασία που ερευνάται και εφαρμόζεται τα τελευταία 30 χρόνια εκτενώς. Η ΥΠ στοχεύει στην ασφάλεια του τελικού προϊόντος απενεργοποιώντας μικροοργανισμούς και ανεπιθύμητα ένζυμα που προκαλούν φυσικοχημικές μεταβολές στο τρόφιμο και στην ελαχιστοποίηση της υποβάθμισης της ποιότητας των τελικών προϊόντων, διατηρώντας αναλλοίωτα τα θρεπτικά, ποιοτικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τροφίμων. Η ΥΠ, λόγω της χρήσης ήπιων θερμοκρασιών επεξεργασίας, προφυλάσσει το τρόφιμο διατηρώντας μεγάλο ποσοστό από τη θρεπτική του αξία και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του κάνοντας το να μοιάζει σαν «φρέσκο».

2.1. Ιστορική Αναδρομή

Η δυνατότητα χρησιμοποίησης της ΥΠ για τη συντήρηση τροφίμων έγινε γνωστή στα τέλη του 19^{ου} αιώνα από τον Hite (1899), ο οποίος μελέτησε την επίδραση της πίεσης στη συντήρηση του γάλακτος. Η βιομηχανική σημασία όμως της τεχνολογίας ΥΠ έγινε αντιληπτή τη δεκαετία του 1980. Τα πρώτα επεξεργασμένα, με αυτήν τη μέθοδο, προϊόντα διατέθηκαν στην Ιαπωνική αγορά το 1990 και ήταν μαρμελάδες και σάλτσες. Αργότερα ακολούθησαν αμερικάνικες εταιρίες και τελικά η τεχνολογία εξαπλώθηκε και στην Ευρώπη (Αλεξανδράκης, 2015, Ταούκης, Ωραιοπούλου, 2009). Επίσης, δύο άλλες εταιρίες άρχισαν την παραγωγή επεξεργασμένων με ΥΠ χύμα χυμών πορτοκαλιού και γκρέιπφρουτ. Οι μαρμελάδες είχαν χρόνο ζωής δύο μηνών υπό ψύξη, η οποία ήταν απαραίτητη για την αποφυγή της ενζυμικής δραστηριότητας. Άλλα προϊόντα που παρήχθησαν με τη διεργασία της ΥΠ περιλαμβάνουν ζελέ φρούτων, σάλτσες, γιαούρτια φρούτων και σάλτσες για σαλάτες (dressings).

Σήμερα, συστήματα ΥΠ χρησιμοποιούνται σε αρκετές βιομηχανίες, ενώ αρκετές μονάδες ΥΠ λειτουργούν σε εργαστήρια και ερευνητικά κέντρα παγκοσμίως. Η τεχνολογία της Υπερουψηλής Πίεσης εφαρμόζεται στα τρόφιμα με σκοπό την επίτευξη της μείωσης του μικροβιακού φορτίου και της ενζυμικής δραστηριότητας των τροφίμων, ενώ παράλληλα η αλλοίωση των θρεπτικών και οργανοληπτικών χαρακτηριστικών είναι πολύ μικρότερη από τις συμβατικές θερμικές μεθόδους συντήρησης (Błaszczak et al., 2017; Γώγου, 2010). Ειδικότερα, μονάδες παστερίωσης υπερυψηλής πίεσης με μέγιστη πίεση έως και 600 MPa χρησιμοποιούνται για την επεξεργασία υψηλής αξίας τροφίμων, ή εξαιρετικά θερμοευαίσθητων προϊόντων που δεν μπορούν να επεξεργαστούν με άλλες τεχνικές (Toerfl et al, 2006). Στην Ελλάδα, η τεχνολογία της ΥΠ χρησιμοποιείται ευρέως από αλλαντοβιομηχανίες.

2.2. Βασικές Αρχές της Υπερουψηλής Πίεσης

Η αρχή λειτουργίας της ΥΠ έγκειται στη διάρρηξη των εξωτερικών τοιχωμάτων κυττάρων μέσω της εφαρμογής μεγάλης υδροστατικής πίεσης (100-1000 MPa) που ασκείται σε αυτά (Αλεξανδράκης, 2015). Η έκθεση του τροφίμου στην πίεση αυτή γίνεται για ελεγχόμενο χρόνο και θερμοκρασία (Leite, et al., 2017, Błaszczak et al., 2017). Εφαρμόζεται σε υγρά ή στερεά, συσκευασμένα ή μη συσκευασμένα τρόφιμα (Ταούκης, Ωραιοπούλου, 2009). Με την εφαρμογή ΥΠ, επιτυγχάνεται μείωση του μικροβιακού φορτίου και της ενζυμικής δραστηριότητας, ενώ περιορίζεται σημαντικά η αλλοίωση των θρεπτικών και οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του τροφίμου. Τρόφιμα που επεξεργάζονται με αυτόν τον τρόπο έχει δειχθεί να διατηρούν την αρχική φρεσκάδα, το άρωμα, τη γεύση τους και οι αλλαγές στο χρώμα είναι ελάχιστες. Η εφαρμογή της πίεσης και τα αποτελέσματά της είναι ακαριαία και ομοιογενώς κατανεμημένα εντός του τροφίμου, ανεξάρτητα από τη γεωμετρία και το μέγεθος του.

Στην επεξεργασία με ΥΠ, το τρόφιμο συσκευάζεται και τοποθετείται στο δοχείο πίεσης και αυτό πωματίζεται. Το μέσον διαβίβασης της πίεσης, που συνήθως είναι το νερό, αντλείται μέσα στο δοχείο. Αφού η πίεση στο εσωτερικό του δοχείου φθάσει στο επιθυμητό επίπεδο, διακόπτεται η άντληση και, σε ιδανικές συνθήκες, δεν απαιτείται παραπάνω εισαγωγή ενέργειας για τη διατήρηση της πίεσης κατά τον χρόνο παραμονής του τροφίμου στο δοχείο (Katsaros & Ταουκίς, 2015). Η πίεση είναι μια από τις βασικές θερμοδυναμικές μεταβλητές. Με τη μεταβολή της πίεσης μεταβάλλεται και η θερμοκρασία. Θερμικές μεταβολές κατά τη διάρκεια μιας διεργασίας πίεσης μπορεί να προκαλέσει μεταβολές στον όγκο και την ενέργεια. Οι τρεις αρχές που διέπουν την ΥΠ είναι:

(α) Ισοστατική Αρχή

Η εφαρμογή της ΥΠ βασίζεται στην ισοστατική αρχή, η οποία θεωρεί ότι η ομοιόμορφη εφαρμογή της πίεσης ασκείται ακαριαία και ομογενώς προς όλες τις κατευθύνσεις μέσα στο τρόφιμο ανεξάρτητα από το σχήμα και το μέγεθος του. Όταν στο τρόφιμο παύει να ασκείται πίεση, τότε εκείνο θα επανέλθει στην αρχική του κατάσταση και σχήμα. Η αρχή αυτή εξηγεί γιατί τα μη πορώδη τρόφιμα με μεγάλη περιεκτικότητα σε νερό δεν μεταβάλλονται μακροσκοπικά μετά την εφαρμογή της ΥΠ. Λόγω της διαφορετικής συμπίεστότητας των ρευστών (νερό και αέρα) υπό πίεση, τρόφιμα που περιέχουν θύλακες αέρα μπορεί το σχήμα και το μέγεθος τους να μεταβληθεί σημαντικά ύστερα από την επεξεργασία με ΥΠ (Balasubramaniam et al., 2015, Balasubramaniam et al., 2016).

(β) Αρχή Le Chatelier

Η αρχή αυτή αφορά τις αλλαγές στην ισορροπία, ως αποτέλεσμα της εφαρμογής της πίεσης. Αναφέρει ότι κάθε διεργασία στην οποία συμβαίνει μείωση του όγκου (αύξηση της πίεσης και αντίστροφα), η ισορροπία μετατοπίζεται προς μια κατεύθυνση που τείνει να μειώσει την αλλαγή που προκλήθηκε (μεταβολή όγκου) (Balasubramaniam et al., 2015, Balasubramaniam et al., 2016). Αντιδράσεις που οδηγούν στην αλλαγή του όγκου, οδηγούν σε τροποποιήσεις της μοριακής διαμόρφωσης, σε μεταβολές στη διαλυτότητα και σε χημικές αντιδράσεις που αδρανοποιούν μικροοργανισμούς. Η υδροστατική πίεση αλλάζει τις διατομικές αποστάσεις, επηρεάζοντας τους δεσμούς που εξαρτώνται από την απόσταση. Για παράδειγμα, οι δεσμοί υδρογόνου και οι van der Waals δυνάμεις εξαρτώνται από την απόσταση και επομένως επηρεάζονται σε μεγάλο βαθμό από την άσκηση πίεσης. Αντιθέτως, οι ομοιοπολικοί δεσμοί δεν επηρεάζονται από την πίεση, επειδή η απόσταση που συνδέει τα άτομα μπορεί να συμπιεστεί ελάχιστα περαιτέρω.

(γ) Αρχή της μικροσκοπικής διάταξης

Βασίζεται, επίσης, στη μεταβατικής κατάσταση, βάσει της οποίας εάν ο γραμμομοριακός όγκος της ενδιάμεσης κατάστασης (ενεργοποιημένο σύμπλεγμα) διαφέρει από εκείνον των αντιδρώντων συστατικών, η ταχύτητα της αντίδρασης μπορεί να αυξηθεί ή να μειωθεί με την αλλαγή της πίεσης, ανάλογα με το εάν η ενδιάμεση κατάσταση είναι λιγότερο ή περισσότερο ογκώδης. Η αρχή αυτή αιτιολογεί την επίδραση της πίεσης σε χημικές και βιοχημικές αντιδράσεις. (Balasubramaniam et al., 2015; Balasubramaniam et al., 2016). Επομένως, η πίεση και η θερμοκρασία ασκούν ανταγωνιστικές δυνάμεις στη μοριακή δομή και τις χημικές αντιδράσεις (Balny & Masson 1993).

2.3. Παράμετροι της διεργασίας ΥΠ

Οι τρεις βασικές παράμετροι της διεργασίας είναι η εφαρμοζόμενη πίεση, η θερμοκρασία συμπεριλαμβανομένης και της αδιαβατικής θέρμανσης και ο χρόνος της επεξεργασίας. Οι τρεις αυτές παράμετροι αποτελούν τον πυρήνα της διεργασίας και ο έλεγχός τους είναι επιβεβλημένος σε οποιοδήποτε τύπου σύστημα ΥΠ.

2.3.1. Εφαρμοζόμενη πίεση

Οι πιέσεις που εφαρμόζονται κυμαίνονται από 100-1000 MPa (1000-10000 atm), ανάλογα με την ένταση της επεξεργασίας (Αλεξανδράκης, 2015). Όσο αυξάνεται η ασκούμενη πίεση τόσο εντονότερη γίνεται η διάρρηξη των κυτταρικών τοιχωμάτων των τροφίμων. Όμως, καθώς αυξάνεται η πίεση αυξάνεται το κόστος του εξοπλισμού και η παροχή ενέργειας που χρειάζεται

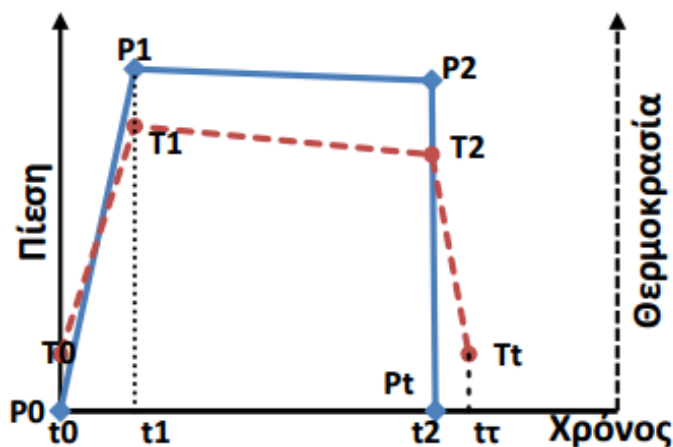
για να λειτουργήσει. Έτσι, επιλέγεται μια βέλτιστη τιμή πίεσης που να ικανοποιεί όλες τις παραμέτρους (Jun Xi et al., 2009).

2.3.2. Θερμοκρασία συμπεριλαμβανομένης και της αδιαβατικής θέρμανσης

Η θερμοκρασία κατά τη διάρκεια της διεργασίας ΥΠ μπορεί να είναι μικρότερη από 0 °C έως και μεγαλύτερη από των 100 °C. Η θερμοκρασία του τρόφιμου αυξάνεται κατά τη διάρκεια της διεργασίας λόγω αδιαβατικής θέρμανσης περίπου 3 °C ανά 100 MPa ανάλογα με τη σύνθεση του τρόφιμου και την περιεκτικότητα του σε νερό. Αξίζει να σημειωθεί ότι ενώ ο ρυθμός αύξησης της θερμοκρασίας των τροφίμων που μοιάζουν με το νερό συμπίπτει με την αλλαγή της πίεσης, τρόφιμα που περιέχουν σημαντική ποσότητα λίπους, συνεπάγεται με μεγαλύτερη αύξηση της θερμοκρασίας του (6-7 °C ανά 100 MPa) (Γώγου, 2010; Farkas & Hoover ,2000).

2.3.3. Χρόνος επεξεργασίας

Ο χρόνος έκθεσης του τρόφιμου στις υπερυψηλές πιέσεις μπορεί να κυμαίνεται από 1 ms, παλμός που επιτυγχάνεται από ταλαντευόμενες αντλίες, έως πάνω από 30 min. Συνήθως, ο χρόνος εφαρμογής υπερυψηλών πιέσεων στην πράξη κυμαίνεται από 3 έως 20 min (Farkas & Hoover, 2000). Παρ' όλα αυτά θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψιν και οι χρόνοι συμπίεσης και αποσυμπίεσης των θαλάμων. Οι χρόνοι της διεργασίας, φαίνονται αναλυτικά στο Σχήμα 2.1.:



Σχήμα 2.1. :Ποιοτικό διάγραμμα των μεταβλητών της διεργασίας ΥΠ συναρτήσεϊ του χρόνου (Αλεξανδράκης, 2015)

- $t_0 - t_1$: Είναι ο χρόνος ο οποίος απαιτείται για να αυξηθεί η πίεση του τρόφιμου από την ατμοσφαιρική στην επιθυμητή τιμή, P_1 . Αυτός ο χρόνος εξαρτάται από το ρυθμό συμπίεσης του ρευστού που χρησιμοποιείται για τη μεταφορά της πίεσης και του ίδιου του τρόφιμου και φυσικά

από την ισχύ του ενισχυτή πίεσης του εξοπλισμού. Η διαφορά της θερμοκρασίας πριν και μετά την εφαρμογή της πίεσης, $T_1 - T_0$, οφείλεται στην αδιαβατική θέρμανση του τρόφιμου. Η θερμοκρασία T_1 στην οποία το τρόφιμο θα φτάσει εξαρτάται από τη συμπιεστότητα και από τη θερμοχωρητικότητα του.

- $t_1 - t_2$: Η χρονική περίοδος όπου η πίεση είναι σταθερή, $P_1 \approx P_2$. Η πιθανή διαφορά θερμοκρασίας, $T_1 - T_2$, κατά τη διάρκεια της διεργασίας οφείλεται σε φαινόμενα μεταφοράς θερμότητας προς το περιβάλλον, η οποία συνήθως θεωρείται αμελητέα.

- $t_2 - t_f$: Είναι ο χρόνος που χρειάζεται για να μειωθεί η πίεση του τρόφιμου στην ατμοσφαιρική, P_f . Σε αυτό το στάδιο της αποσυμπίεσης, η θερμοκρασία του τρόφιμου επιστρέφει σε μία τιμή ελαφρώς μικρότερη από την αρχική του θερμοκρασία.

Άλλοι παράμετροι της διεργασίας με ΥΠ είναι τα χαρακτηριστικά και οι ιδιότητες του τρόφιμου (μέγεθος, pH, ενεργότητα νερού).

Οι χημικές, μικροβιολογικές και ενζυμικές μεταβολές που λαμβάνουν χώρα στο τρόφιμο κατά τη διεργασία είναι συνάρτηση της θερμοκρασίας και του χρόνου επεξεργασίας σε συνδυασμό με την εφαρμοζόμενη πίεση. Οι πιέσεις που χρησιμοποιούνται κατά την επεξεργασία των τροφίμων με ΥΠ φαίνεται να έχουν μικρή επίδραση στους ομοιοπολικούς δεσμούς. Επομένως, τρόφιμά που υπόκεινται σε ΥΠ σε θερμοκρασία περιβάλλοντος δεν υφίστανται σημαντικές χημικές μεταβολές, διατηρώντας έτσι σχεδόν αναλλοίωτα τα ποιοτικά χαρακτηριστικά τους. Παρ' όλα αυτά, κάποιες φορές όσο μεγαλύτερη είναι η πίεση και ο χρόνος εφαρμογής της ΥΠ, τόσο μεγαλύτερη είναι η δυνατότητα να προκληθούν ανεπιθύμητες συνήθως μεταβολές ακόμα και στην εμφάνιση του προϊόντος. Αυτό παρατηρείται κυρίως σε τρόφιμα πλούσια σε πρωτεΐνες, όπου η προκαλούμενη από την πίεση μετουσίωση των πρωτεϊνών είναι και οπτικά εμφανής. Η παραμόρφωση του κυττάρου και η καταστροφή της κυτταρικής μεμβράνης μπορεί να οδηγήσει στην απώλεια του κυτταροπλάσματος και το μαλάκωμα του τρόφιμου (Γώγου, 2010).

2.4. Επίδραση της Υπερυψηλής Πίεσης στα τρόφιμα

Η διεργασία ΥΠ αποτελεί ένα χρήσιμο εργαλείο για τη βιομηχανία τροφίμων που συνδυάζει την ελάχιστη επεξεργασία του τρόφιμου κάνοντας χρήση ήπιων θερμοκρασιών, την αύξηση της διάρκειας ζωής του, αδραντοποιώντας μικροοργανισμούς και ένζυμα για τη διασφάλιση της ασφάλειάς του καταναλωτή με την ταυτόχρονη διατήρηση της θρεπτικής αξίας, της γεύσης και του αρώματός του τελικού προϊόντος. Η επεξεργασία με ΥΠ σε θερμοκρασία περιβάλλοντος είναι

ικανή να απενεργοποιήσει ανεπιθύμητους μικροοργανισμούς και ένζυμα. Σε πολλές περιπτώσεις, απαιτείται ο συνδυασμός επεξεργασίας με υπερυψηλή πίεση με ελαφρώς υψηλότερες θερμοκρασίες, για την επίτευξη της απενεργοποίησης μικροοργανισμών και ενζύμων που ανθίστανται περισσότερο στην πίεση ή/και στη θερμοκρασία.

2.4.1. Επίδραση της ΥΠ στους μικροοργανισμούς

Τα πρώτα πειράματα εφαρμογής της ΥΠ στα τρόφιμα έγιναν το 1899 από τον Hite, σε γάλα και συνεχίστηκαν με εφαρμογές σε φρούτα και λαχανικά και σε κρέας. Η επίδραση της ΥΠ στους μικροοργανισμούς έχει μελετηθεί πολλά χρόνια διεξοδικά.

Ο μηχανισμός της απενεργοποίησης μικροοργανισμών σχετίζεται κυρίως με αλλαγές που συμβαίνουν στην κυτταρική τους μεμβράνη, με τροποποιήσεις στη μορφολογία τους ή σε διάφορα οργανίδια τους ή σε ένζυμα που καταλύουν σημαντικές λειτουργίες μέσα στο κύτταρο (μεταγραφή και μετάφραση διακόπτονται) (Yuste, et al., 2001). Οι πρωτεΐνες της κυτταρικής μεμβράνης μετουσιώνονται και τα φωσφολιπίδια μικραίνουν σε μέγεθος με αποτέλεσμα να μειώνεται η ικανότητα του κυττάρου να απορροφήσει αμινοξέα. Οι υψηλές πιέσεις σταθεροποιούν του δεσμούς υδρογόνου και τα μακρομόρια αυτά γίνονται σταθερότερα (λόγω της μείωσης του όγκου από την εφαρμογή της ΥΠ, τα μόρια τείνουν να λάβουν μορφή με τον μικρότερο δυνατό όγκο). Η μεγάλη άσκηση πίεσης προκαλεί μηχανική καταπόνηση της κυτταρικής μεμβράνης των μικροοργανισμών με αποτέλεσμα να συμβαίνουν αλλοιώσεις πάνω σε αυτή. Επίσης αυξάνεται η διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης με αποτέλεσμα τα συστατικά του κυτταροπλάσματος να διαρρέουν έξω από το κύτταρο, διακόπτοντας ζωτικές λειτουργίες του και οδηγώντας το τελικά στη θανάτωση του. Οι αλλαγές που προκύπτουν στη μορφολογία των κυττάρων των μικροοργανισμών είναι αντιστρεπτές σε χαμηλές πιέσεις, αλλά μη αντιστρεπτές σε υψηλότερες πιέσεις όπου ο μικροβιακός θάνατος οφείλεται στη διάρρηξη της κυτταρικής μεμβράνης (Αλεξανδράκης, 2015).

Για παράδειγμα, παρατηρήθηκε ότι στην περίπτωση του *Saacharomyces cerevasiae*, σε πιέσεις περίπου 400 MPa, η δομή και τα οργανίδια του κυττάρου είχαν παραμορφωθεί σε μεγάλο βαθμό και μεγάλες ποσότητες ενδοκυτταρικού υλικού είχαν διαρρεύσει έξω, ενώ σε 500 MPa, ο πυρήνας δεν μπορούσε πλέον να αναγνωρισθεί και η απώλεια του ενδοκυτταρικού υλικού ήταν σχεδόν πλήρης (Farr, 1990).

Ο βαθμός απενεργοποίησης του κάθε μικροοργανισμού με την επεξεργασία της ΥΠ εξαρτάται από πολλούς παράγοντες. Οι σημαντικότεροι παράγοντες είναι:

(α) οι παράμετροι της διεργασίας (εφαρμοζόμενη πίεση, χρόνος επεξεργασίας και θερμοκρασία). Στις περισσότερες περιπτώσεις με αύξηση της πίεσης και του χρόνου επεξεργασίας, ο ρυθμός απενεργοποίησης μικροοργανισμών μεγαλώνει και η επεξεργασία με ΥΠ γίνεται αποτελεσματικότερη. Επίσης, πολλές φορές η άσκηση της πίεσης πρέπει να συνοδεύεται με ήπια θερμοκρασία, ώστε η απενεργοποίηση των μικροβίων να γίνει πιο αποτελεσματική. Ανάλογα με την ένταση των συνθηκών της ΥΠ μπορεί να δημιουργήσει έναν πληθυσμό τραυματισμένων κυττάρων, τα οποία να αναζωογονηθούν όταν βρεθούν σε περιβάλλον με ευνοϊκές συνθήκες

(β) το είδος του μικροοργανισμού (βακτήρια, ζύμες, σπόρια). Η επεξεργασία με ΥΠ εμφανίζεται αποτελεσματική στην απενεργοποίηση των περισσότερων αλλοιογόνων μικροοργανισμών σε πιέσει πάνω από 200 MPa και θερμοκρασίες κάτω από 45°C (Cheftel, 1995). Σε θερμοκρασία περιβάλλοντος τα βλαστικά κύτταρα καταστρέφονται σε πιέσεις μεταξύ 400 και 600MPa. Οι κόκκοι είναι πιο ανθεκτικοί από τα ραβδία, γιατί υφίστανται λιγότερες μορφολογικές μεταβολές λόγω της πίεσης. Έχει βρεθεί ότι οι ζύμες είναι ιδιαίτερα ευαίσθητες στην άσκηση πίεσης. Σε γενικές γραμμές τα θετικά κατά Gram βακτήρια είναι πιο ανθεκτικά στην πίεση απ' ότι τα αρνητικά κατά Gram. Σε αντίθεση με τα βλαστικά κύτταρα, τα σπόρια σε θερμοκρασία περιβάλλοντος αντέχουν σε πιέσεις των 1000MPa, και είναι απαραίτητη η αύξηση της θερμοκρασίας στους 70°C, για να επιτευχθεί αξιόλογη καταστροφή τους. Η απενεργοποίηση σπορίων, όπως το *Clostridium botulinum* και τα *Bacillus* spp., μπορεί να επιτευχθεί μέσω συνδυασμού αυξημένης θερμοκρασίας και πίεσης.

(γ) το στέλεχος. Κάποια στελέχη είναι πιο ανθεκτικά στην πίεση από κάποια άλλα.

(δ) το μέσο στο οποίο αναπτύσσεται ο μικροοργανισμός, δηλαδή το είδος του τροφίμου, το pH του, την ενεργότητα του νερού του, την περιεκτικότητά του σε θρεπτικά συστατικά. Μικροοργανισμοί που αναπτύσσονται σε ρυθμιστικά διαλύματα καταστρέφονται ευκολότερα από τους μικροοργανισμούς που αναπτύσσονται σε πραγματικά τρόφιμα. Έχει βρεθεί επίσης, ότι μετά τη συμπίεση, υπάρχει πιθανότητα ενεργοποίησης του μικροβιακού πληθυσμού ανάλογα με το περιβάλλον του τροφίμου στο οποίο ζουν.

(ε) τη φάση ανάπτυξης που βρίσκεται ο μικροοργανισμός. Έχει βρεθεί ότι μικρόβια που βρίσκονται στην εκθετική φάση ανάπτυξης είναι πιο ευαίσθητα στην άσκηση της πίεσης, από αυτά που βρίσκονται στη λανθάνουσα ή στη στατική φάση (Hoover et al., 1989).

Ο συνδυασμός της διεργασίας ΥΠ με άλλες φυσικές μεθόδους (ακτινοβόληση, υπέρηχοι, παλμικά ηλεκτρικά πεδία) ή με χημικές μεθόδους συντήρησης (βακτηριοσίνες, συντηρητικά, αντιοξειδωτικά) έχει προταθεί και έχει μελετηθεί, με σκοπό την αύξηση της αποτελεσματικότητας της διεργασίας (Yuste, et al., 2001). Το γεγονός ότι τα τραυματισμένα λόγω της πίεσης κύτταρα είναι λιγότερο ανθεκτικά στη θερμότητα, εξηγεί την επιτυχία του συνδυασμού της υπερυψηλής πίεσης με ήπια θερμική κατεργασία, ιδίως σε ζωικής προέλευσης τρόφιμα, ευαίσθητα στη θέρμανση.

2.4.2. Επίδραση της ΥΠ στα θρεπτικά, ποιοτικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τροφίμου

Οι σημαντικότεροι παράμετροι που καθορίζουν κατά κύριο λόγο την αποδοχή ενός τροφίμου από τους καταναλωτές είναι τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (υφή, χρώμα, γεύση κτλ) και η διατροφική αξία (βιταμίνες, αντιοξειδωτικά κτλ). Οι χημικές και βιοχημικές αντιδράσεις που συμβαίνουν κατά την επεξεργασία των τροφίμων ή κατά τη συντήρηση και αποθήκευσή τους μπορεί να τα υποβαθμίσουν προκαλώντας ανεπιθύμητες μεταβολές στα ποιοτικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος.

Η επεξεργασία της ΥΠ λόγω των ήπιων θερμοκρασιών που χρησιμοποιεί μπορεί να βελτιώσει και να επιβραδύνει ενζυμικές και χημικές αντιδράσεις που αλλοιώνουν την ποιότητα του τροφίμου. Η επίδραση της ΥΠ στα θρεπτικά χαρακτηριστικά των τροφίμων έχει μελετηθεί εκτενώς και έχει βρεθεί ότι η επεξεργασία έχει πολύ μικρή επίδραση στις βιταμίνες (Αλεξανδράκης, 2015). Ένα από τα βασικότερα πλεονεκτήματα της ΥΠ είναι η διατήρηση της φυσικής γεύσης των τροφίμων, των αρωματικών ενώσεων και των θρεπτικών συστατικών (Okamoto, et al., 1990). Μικρά μόρια όπως αμινοξέα, βιταμίνες και αρωματικές ενώσεις παραμένουν ανεπηρέαστα από την ΥΠ, ενώ η δομή μεγάλων μορίων όπως πρωτεΐνες, πολυσακχαρίτες και νουκλεϊκά οξέα μπορεί να μεταβληθούν (Balci & Willbey, 1999).

Πολλές έρευνες έχουν διεξαχθεί που το επιβεβαιώνουν σε διάφορα είδη τροφίμων, σε χυμούς φρούτων και λαχανικών. Για παράδειγμα, ερευνητές αναφέρουν ότι το ασκορβικό οξύ σε δείγμα αρακά μετά από επεξεργασία με ΥΠ στα 900 για 10 min (Quaglia et al., 1996), το 82% της συγκέντρωσης του παρέμεινε ανεπηρέαστο. Επεξεργασμένος πορτοκαλοχυμός στα 500MPa για 5 min στους 35°C εμφάνισε λιγότερη απώλεια ασκορβικού οξέος σε σχέση με τους χυμούς που είχαν παστεριωθεί συμβατικά με θερμική επεξεργασία (80 °C για 30 min) (Polydera et al., 2004). Επίσης καμία σημαντική μείωση ασκορβικού οξέος δεν έχει βρεθεί σε κρόκο αβγού και μαρμελάδες φρούτων (Kimura et al., 1994, Yen & Lin, 1996; Sancho et al., 1999) ύστερα από την επεξεργασία με ΥΠ (πάνω από 400 MPa). Όσον αφορά τα λιπίδια, η ΥΠ προκαλεί την οξειδωση

και υδρόλυση τους. Έχει βρεθεί ότι αυξάνεται η παραγωγή ελεύθερων λιπαρών οξέων σε κρέας ψαριού (Wada, 1992), σε κρέας γαλοπούλας (Dissing et al., 1992).

Παράλληλα, η επίδραση της ΥΠ μπορεί να προκαλέσει αλλαγές στο χρώμα και την υφή των τελικών προϊόντων, όπως στα φρούτα και λαχανικά και το κρέας. Στα φρούτα και τα λαχανικά, όπως πατάτα, γλυκοπατάτα και άλλα ξυλώδη λαχανικά, η υφή τους με την εφαρμογή της ΥΠ γίνεται εύκαμπτη, ενώ φρούτα όπως η φράουλα και το αχλάδι μαλακώνουν (Barbosa-Canovas, 2002). Επιπλέον, επίδραση της πίεσης στην υφή εξαρτάται από το μέγεθος της εφαρμοζόμενης πίεσης και από τον χρόνο επεξεργασίας, οδηγώντας σε μαλάκωμα του ιστού τους. Σε χαμηλές πιέσεις (έως 100 MPa) η απώλεια σταθερότητας προκλήθηκε από τη συμπίεση της κυτταρικής μεμβράνης χωρίς τη διάρρηξη της. Σε υψηλότερες πιέσεις (πάνω από 200 MPa), η αλλαγή στην υφή ήταν αποτέλεσμα της διάρρηξης των κυτταρικών μεμβρανών. Η εφαρμογή της πίεσης σε κορεατικά μπορεί να επηρεάσει την υφή τους (μαλάκωμα του ιστού) (Barbosa-Canovas, 2002) και σε άλλες περιπτώσεις, όπως για παράδειγμα στο επεξεργασμένο ζαμπόν που γίνεται ελαφρώς πιο ινώδες. Παράλληλα, η επεξεργασία με ΥΠ έχει επίδραση στο χρώμα των φρούτων και λαχανικών. Με την εφαρμογή της πίεσης σε τρόφιμα όπως πατάτα, μήλο και αχλάδι, ο ρυθμός της ενζυμικής αμάυρωσης τους μεγαλώνει σημαντικά καθώς η δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης (PPO) πολλαπλασιάζεται κατά τη συμπίεση. Η ΥΠ έχει βρεθεί πως δεν έχει σημαντική επίδραση σε χρωστικές, όπως είναι τα καροτενοειδή και οι χλωροφύλλες. Ωστόσο λόγω της ρήξης της κυτταρικής μεμβράνης που συμβαίνει με την εφαρμογή της ΥΠ μπορεί να προκληθούν αλλαγές. Η ρήξη αυτή μπορεί να απελευθερώσει χρωστικές, δίνοντας στο τρόφιμο πιο έντονο χρώμα αλλά και να τις καταστρέψει. Παράλληλα, στο κρέας (βοδινό, πουλερικά και ψάρια) σε πιέσεις πάνω από 300 MPa, η ΥΠ προσδίδει ένα άσπρο-γκρι χρώμα στα τελικά προϊόντα κάνοντας τα να μοιάζουν με μαγειρεμένα. Αυτό αποτρέπει την εφαρμογή της ΥΠ σε κρέας που θα πουληθεί ωμό, καθώς η μαγειρεμένη όψη του είναι ανεπιθύμητη προς τους καταναλωτές (Cheftel, 1997).

2.4.3. Επίδραση της ΥΠ στα ένζυμα

Οι πρωτεΐνες είναι ευαίσθητα μακρομόρια με τρισδιάστατη δομή στο χώρο. Η δομή τους συγκρατείται με δεσμούς μεταξύ των πολυπεπτιδικών αλυσίδων που τις αποτελούν καθώς και με αλληλεπιδράσεις με το διαλύτη που τις περιβάλλει. Η εφαρμογή της ΥΠ σε πρωτεΐνες, λόγω της μεταβολής της πίεσης (που συνεπάγεται σε μείωση του όγκου) και θερμοκρασίας οδηγώντας σε μετουσίωση τους λόγω της ρήξης των μη ομοιοπολικών δεσμών και αναδιάταξη και αναμόρφωση στα μόρια του διαλύτη που τις περιβάλλει. Σε χαμηλές θερμοκρασίες οι ομοιοπολικοί δεσμοί δεν επηρεάζονται και γι' αυτό η πρωτοταγής δομή των ενζύμων παραμένει αναλλοίωτη κατά τη

διεργασία. Αλλαγές στη δευτεροταγή δομή συμβαίνουν μόνο σε εξαιρετικά υψηλές πιέσεις. Αυτό συμβαίνει γιατί οι δεσμοί υδρογόνου που συγκρατούν τη δευτεροταγή δομή των πρωτεϊνών γίνονται σταθερότεροι σε χαμηλές πιέσεις και καταστρέφονται σε υψηλές. Η αύξηση της πίεσης μπορεί επίσης να προκαλέσει σχηματισμό νέων δισουλφιδικών δεσμών που σταθεροποιούν τις μετουσιωμένες πρωτεΐνες ή προκαλούν συσσωμάτωση πρωτεϊνών. Μεταβολές στην τριτοταγή δομή εμφανίζεται σε πιέσεις άνω των 200 MPa και της τεταρτοταγής δομής σε σχετικά χαμηλές πιέσεις (<150 MPa). Η καλά οργανωμένη τριτοταγής δομή επηρεάζεται από τη μείωση του όγκου προκαλώντας αλλαγές στις αλληλεπιδράσεις ηλεκτροστατικής και υδροφοβικής φύσης που συγκρατούν την τριτοταγή δομή (Barbosa-Canovas et al., 2002). Η διατάραξη των ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση φορτισμένων ομάδων, οι οποίες προκαλούν αναδιάταξη των μορίων νερού και οδηγούν σε ξεδίπλωμα της πολυπεπτιδικής αλυσίδας.

Η μετουσίωση μπορεί να είναι αντιστρεπτή σε χαμηλές πιέσεις αλλά ο χρόνος επαναφοράς τους να είναι μεγάλος και μη αντιστρεπτή σε υψηλές. Η κρίσιμη πίεση, πάνω από την οποία συμβαίνει μη αντιστρεπτή μετουσίωση εξαρτάται από το είδος της πρωτεΐνης. (Hendrickx et al., 1998).

Τα ένζυμα αποτελούν μια ειδική κατηγορία πρωτεϊνών που χαρακτηρίζονται από την έντονη καταλυτική τους δράση και από την εξειδίκευσή τους ως προς το υπόστρωμα στο οποίο δρουν. Η βιολογική δραστηριότητα κάθε ενζύμου προέρχεται από ένα ενεργό κέντρο το οποίο σχετίζεται άμεσα με την τριτοταγή και την τεταρτοταγή δομή. Ακόμα και πολύ μικρές αλλαγές στο ενεργό κέντρο του ενζύμου συνοδεύεται από απώλεια της λειτουργικότητας του. Η μετουσίωση πρωτεϊνών που προκαλείται με την εφαρμογή της ΥΠ συνοδεύεται με δοκιμές μεταβολές που μπορεί να μεταβάλλουν τη λειτουργικότητα του ενζύμου (Van den Broeck, 2000).

Τα ένζυμα επηρεάζονται από την πίεση με δυο τρόπους:

(α) σε σχετικά χαμηλές πιέσεις (<200MPa) είναι δυνατόν η ΥΠ να προκαλέσει ενεργοποίηση κάποιων ενζύμων. Αυτό μπορεί να οφείλεται στη ρήξη των φυτικών ή ζωικών κυττάρων με αποτέλεσμα τα ένζυμα και τα υποστρώματα τους που αρχικά βρίσκονταν σε διαφορετικά κυτταρικά διαμερίσματα, μετά την εφαρμογή της πίεσης και της διαπερατοποίησης της κυτταρικής μεμβράνης έρχονται πλέον σε επαφή.

(β) σε αρκετά υψηλές πιέσεις (>200MPa) προκαλούν κατά κύριο λόγο απενεργοποίηση. Η απενεργοποίησή μπορεί να είναι αντιστρεπτή ή μη αντιστρεπτή άρα να έχουμε ολική ή μερική απενεργοποίηση ενζύμων με εφαρμογή της ΥΠ, ανάλογα της έντασης των συνθηκών και του ίδιου του ενζύμου (χαρακτηριστική κρίσιμη τιμή πίεσης), του pH και του περιβάλλοντος στο οποίο το

ένζυμο βρίσκεται. Η αύξηση της πίεσης σε πάνω από την κρίσιμη τιμή οδηγεί σε περαιτέρω απενεργοποίησή του ενζύμου. Από μία τιμή πίεσης και πάνω συνήθως δεν οδηγεί σε περαιτέρω απενεργοποίησή του ενζύμου. Αυτό οφείλεται στο ότι ένα ποσοστό του ενζύμου μετατρέπεται σε μία μορφή πολύ ανθεκτική στην πίεση και ένα άλλο ποσοστό στην ανενεργή μορφή του.

Η επίδραση της ΥΠ στην απενεργοποίηση των ενζύμων έχει καταδειχθεί ότι εξαρτάται ισχυρά από το είδος του ενζύμου, το pH, τη φύση του μέσου στο οποίο είναι διασκορπισμένα τα ένζυμα, τη θερμοκρασία και τον χρόνο επεξεργασίας. Η επίδραση της ΥΠ στην ενεργότητα ενζύμων σημαντικών για την ποιότητα των τροφίμων, όπως οι φαινολάσες, οι πηκτινάσες και οι υπεροξειδάσες, έχουν μελετηθεί και αναφέρονται σε αρκετές δημοσιεύσεις (Alexandrakis, et al., 2014), (Katsaros, Giannoglou, & Taoukis, 2009), (Katsaros, Katapodis, & Taoukis, 2009), (Katsaros, Alexandrakis & Taoukis, 2015).

Τα βασικότερα ένζυμα που σχετίζονται με την ποιότητα των τροφίμων είναι:

(α) Η πηκτινομεθυλεστεράση (PME) που ευθύνεται για τη μεταβολή της υφής φρούτων και λαχανικών, την απώλεια θολότητας σε φρουτοχυμούς και τη μείωση του ιξώδους ρευστών τροφίμων. Πολλές έρευνες έχουν γίνει που μελετούν την επίδραση της ΥΠ στην ενεργότητα της PME από μπανάνα (Ly Nguyen et al., 2003), καρότο (Sila et al., 2007, Jolie et al., 2009), φράουλα (Ly Nguyen et al., 2002), πορτοκάλι (Cano et al., 1997; Van den Broeck et al., 2000), τομάτα (Crelie et al., 1995; Shook et al., 2001; Rodrigo et al., 2005; Boulekou et al., 2006) και πιπεριάς (Castro et al., 2006). Η PME είναι πολύ ανθεκτική στην πίεση ακόμα και όταν συνδυάζεται με θερμοκρασία (Katsaros et al., 2017).

(β) Η πολυγαλακτουρονάση (PG) που μαζί με την PME ευθύνεται για τη μεταβολή της υφής των φρούτων και των λαχανικών. Fachin et al. (2003), δοκίμασαν να απενεργοποιήσουν PG από τοματοχυμό εφαρμόζοντας ΥΠ (200-550MPa, 5-55°C μεταξύ 6-225 min) και κατάφεραν να την απενεργοποιήσουν σε ποσοστό από 30 έως 80%. Έχει βρεθεί ότι η PG αποτελείται από δυο ισοένζυμα, όπου το ένα έχει μεγάλη αντοχή στη θερμοκρασία.

(γ) Η πολυφαινολική οξειδάση (PPO) που είναι υπεύθυνη για το ενζυμικό μαύρισμα σε φρούτα και λαχανικά αν υποστούν μηχανική καταπόνηση. Η σχέση της πίεσης με την PPO είναι περίπλοκη. Ανάλογα με την προέλευση του ενζύμου η πίεση μπορεί να προκαλέσει ενεργοποίηση και απενεργοποίηση της. Οι Terefe et al. (2010), κατάφεραν να απενεργοποιήσουν PPO από πουρέ φράουλας ύστερα από επεξεργασία με ΥΠ (690MPa και 90°C) έως και 23%, ποσοστό που δεν είναι επαρκές για να περιοριστεί το ενζυμικό μαύρισμα. Επίσης εφάρμοσαν ΥΠ (200-500 MPa,

25°C) σε PPO από χυμό μήλου και έδειξαν μία αύξηση στη δραστηριότητα του ενζύμου έως και 65%.

(δ) Η υπεροξειδάση (POD) που είναι υπεύθυνη για τη δυσάρεστη οσμή των φρούτων και λαχανικών κατά την αποθήκευσή τους. Οι Quaglia et al. (1996) εξέτασαν την επίδραση της ΥΠ (900MPa και 5 min, 60°C) της POD από πράσινα μπιζέλια και παρατήρησαν υπολειπόμενη ενεργότητα της POD 12%. Η απενεργοποίησή της ΠΟ έχει δοκιμαστεί και σε ολόκληρες φράουλες και βατόμουρα όπου η μέγιστη απενεργοποίησή ήταν 35% μετά από επεξεργασία με ΥΠ στα 600 και 800 MPa για 15 min αντίστοιχα (Garcia-Palazon et al., 2004).

(ε) Η λιποξυγενάση (LOX) που είναι υπεύθυνη για τις ανεπιθύμητες οσμές λόγω της οξειδωσης λιπιδίων. Βιβλιογραφικά, έχει μελετηθεί εκτενώς η απενεργοποίησή της LOX από σόγια με ΥΠ. Η σταθερότητα του ενζύμου στην πίεση είναι μέγιστη σε θερμοκρασία δωματίου, αλλά σε συνδυασμό με υψηλή θερμοκρασία η απενεργοποίησή αυτού του ενζύμου είναι αποτελεσματική.

2.4.4. Επίδραση της ΥΠ στην εκχύλιση ενδοκυτταρικών συστατικών από τρόφιμα

Όπως ήδη έχει αναφερθεί, η επεξεργασία με ΥΠ προκαλεί αλλαγές στην κυτταρική μεμβράνη. Οι βιολογικές μεμβράνες αποτελούνται από μία φωσφολιπιδική διπλοστοιβάδα με ενσωματωμένες πρωτεΐνες. Με την αύξηση της πίεσης, η διπλοστοιβάδα φωσφολιπιδίων υφίσταται αλλαγή φάσης. Η φυσιολογική φάση αντιστοιχεί σε μια ρευστοκρυσταλλική φάση, η οποία στη διαταράσσεται καθώς μειώνεται η ρευστότητα της οδηγώντας στη διάρρηξη της μεμβράνης και στη μετουσίωση των συνδεδεμένων στη μεμβράνη πρωτεϊνών, προκαλώντας λειτουργικές διαταραχές στο κύτταρο (San Martin, et al., 2002). Οι συνέπειες της διαπερατοποίησης των κυτταρικών μεμβρανών περιλαμβάνουν την επίδραση στις διεργασίες που σχετίζονται με τη μεταφορά θερμότητας και μάζας στα επεξεργασμένα συστήματα τροφίμων, επηρεάζοντας τη βιωσιμότητα και τη βιοσυνθετική τους δράση (Knorr, et al., 2002).

Συνέπεια της διαπερατοποίησης των κυτάρων λόγω της ΥΠ και, εν γένει, των φυτικών ιστών είναι η εκχύλιση διαφόρων ουσιών από τους φυτικούς ιστούς, οι οποίες παρουσιάζουν έντονο βιομηχανικό ενδιαφέρον. Αυτές οι ενώσεις περιλαμβάνουν αιθέρια έλαια, βιοενεργές ενώσεις (συμπεριλαμβανομένων αυτών που έχουν αντιοξειδωτικές και/ή χρωστικές ιδιότητες) και αρωματικές ενώσεις.

Ένα από τα πλεονεκτήματα της ΥΠ, σαν διεργασία εκχύλισης βιοδραστικών ουσιών είναι ότι:

(α) δεν υποβαθμίζει τη βιολογική λειτουργικότητα τέτοιων μορίων που έχουν χαμηλό μοριακό βάρος. Επίσης λόγω των αμελητέων θερμοκρασιακών μεταβολών που συμβαίνουν στην ΥΠ την καθιστούν κατάλληλη για την ανάκτηση αυτών των θερμοευαίσθητων ουσιών,

(β) μπορεί να βελτιώσει άμεσα με τη διαλυτότητα των βιοδραστικών συστατικών. Με αύξηση της πίεσης, η διαλυτότητα των ουσιών αυτών αυξάνεται (Sadus, 1992),

(γ) μπορεί να αυξήσει την απόδοση της εκχύλισης και να μειώσει τη διάρκειά της. Η αύξηση της πίεσης, η οποία συνεπάγεται σε μείωση του όγκου έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του ρυθμού μεταφορά μάζας αυτών των βιοδραστικών συστατικών προς το εξωτερικό του κυττάρου λόγω της μεταβολής του συντελεστή διάχυσης (Knorr, 1999; Sanchez-Moreno et al., 2009; Barbosa-Canovas, 1998). Η ενίσχυση των φαινομένων μεταφοράς μάζας που οφείλεται στη μεταβολή της πίεσης στις κυτταρικές μεμβράνες προκαλεί τη διαπερατοποίηση τους, μειώνοντας την αντίσταση τους και διευκολύνοντας τη διείσδυση του διαλύτη εκχύλισης μέσα στα κύτταρα, ώστε να εκχυλίσει τα βιοδραστικά συστατικά (Shouqin et al., 2004). Όσο μεγαλύτερη είναι η πίεση που εφαρμόζεται, τόσο περισσότερος διαλύτης μπορεί να εισέλθει στα κύτταρα και περισσότερες βιοδραστικές ενώσεις μπορούν να εκχυλιστούν στο διαλύτη (Shouqin et al., 2005). Οι Corrales et al. (2009) απέδωσαν την ενίσχυση της εκχύλισης βιοενεργών ενώσεων στην εξασθένιση της πολικότητας του νερού σε συνθήκες ΥΠ.

(δ) μπορεί να αδρανοποιεί κάποια από τα ένζυμα αποικοδόμησης, προσφέροντας υψηλότερες αποδόσεις εκχύλισης σε σύγκριση με άλλες τεχνικές (Ahmed & Ramaswamy, 2006).

(ε) μπορεί επίσης να μειώσει την τιμή του pH του διαλύτη κατά την εκχύλιση, ενισχύοντας την αποτελεσματικότητα της εκχύλισης των βιοενεργών συστατικών, καθώς οι περισσότερες από αυτές τις ενώσεις είναι πιο σταθερές σε pH μικρότερο από 4 (Corrales et al., 2008), ενώ οι Corrales et al. (2009) απέδωσαν την ενίσχυση της εκχύλισης ενώσεων όπως τα φλαβονοειδή και οι ανθοκυανίνες στην εξασθένιση της πολικότητας του νερού σε συνθήκες ΥΠ.

Οι βιοενεργές ενώσεις βρίσκονται κυρίως σε φρούτα, λαχανικά και βότανα, τα οποία συχνά αποτελούν την πρώτη ύλη για την εκχύλιση των ενώσεων αυτών. Η χρήση της ΥΠ με στόχο την ενίσχυση της εκχύλισης των ενδοκυτταρικών συστατικών προτάθηκε πρώτη φορά από τους Shouqin et al. (2004), με στόχο την εκχύλιση θρεπτικών συστατικών από βότανα (4% αύξηση της απόδοσης της εκχύλισης στα 600 MPa για 5 min). Επίσης, η επεξεργασία του τσαγιού με υπερυψηλή πίεση μειώνει σημαντικά τον χρόνο που απαιτείται για να πραγματοποιηθεί η

εκχύλιση, από 20 h στην περίπτωση του ανεπεξεργαστού τσαγιού σε μόλις 1 min στην περίπτωση τσαγιού επεξεργασμένου. Η χρήση της ΥΠ με στόχο την ενίσχυση της εκχύλισης θρεπτικών συστατικών έχει μελετηθεί διεξοδικά τα τελευταία χρόνια. Ενδεικτικά αναφέρονται ως παραδείγματα μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί με σκοπό την εκχύλιση βιταμινών από τομάτες (Sanchez-Moreno, et al., 2004) και πιπεριές (Castro, et al. 2011) με χρήση της ΥΠ, ανθοκυανινών από φλούδα σταφυλιών (Corrales, et al, 2008), κατεχινών και πολυφαινόλων (Χι, 2013), φλαβονοειδών και φαινολικών ενώσεων (Prasad, et al., 2009). Οι Pinela et al. (2017) εφάρμοσαν την ΥΠ (600 MPa για 3,1 min) για την εκχύλιση (διαλύτης αιθανόλη) φαινολικών συστατικών από το φυτό νεροκάρδαμο και βρήκαν ότι η μέγιστη συγκέντρωση σε φαινολικό περιεχόμενο ήταν 64.68 mg/g εκχυλίσματος. Οι Alexandre et al. (2018) αναφέρουν ότι εφάρμοσαν ΥΠ (300 MPa για 15 min) για τη βέλτιστη εκχύλιση φαινολικών συστατικών από παραπροϊόντα ροδιού. Επιπλέον, διάφορες μελέτες έχουν διεξαχθεί για τη βελτιστοποίηση της εκχύλισης φαινολικών ενώσεων με οργανικούς διαλύτες και υποβοηθούμενη από ΥΠ σε βύσσινο (Adil, et al., 2008) σε κελύφη φιστικιών (Yu, et al., 2008), σε φύλλα πράσινου τσαγιού (Χι et al., 2009), και σε παραπροϊόντα του φρούτου longan (Prasad et al., 2009; Prasad et al., 2010). Επίσης, έχουν πραγματοποιηθεί μελέτες στα φρούτα, όπως η φράουλες, στις οποίες ύστερα από επεξεργασία με ΥΠ μελετήθηκε η εκχύλιση φαινόλων (Patras et al., 2009) και ανθοκυανινών (Terefe et al., 2009). Πρόσφατες εφαρμογές απέδειξαν το πλεονέκτημα της εφαρμογής της ΥΠ για την εκχύλιση πηκτίνης από πορτοκάλι (Guo, et al., 2011), καφεΐνης από φύλλα τσαγιού (Jun, 2009), καρτενοειδών από προϊόντα τομάτας (Strati et al, 2015) όπως και από τα καρότα (McInerney et al., 2007), και άλλων βιοδραστικών συστατικών, όπως το λυκοπένιο (Χι, 2006), η καφεΐνη (Χι, 2009) , οι λιγνάνες (Liu et al., 2009) κ.α.

Επιπλέον, η ενίσχυση της εκχύλισης λόγω της επεξεργασίας με ΥΠ δεν επιτυγχάνεται μόνο όταν η εκχύλιση πραγματοποιείται ταυτόχρονα με την ΥΠ, αλλά και όταν η ΥΠ αποτελεί προεπεξεργασία, αν και η εκχύλιση έπειτα είναι αναγκαία για την ανάκτηση των επιθυμητών ουσιών. Με βάση τη μελέτη Dimopoulos et al. (2018) εφάρμοσαν προεπεξεργασία με ΥΠ σε εκχυλίσματα μαγιάς, όπου ακολούθησε μια διαδικασία αυτόλυσης, ώστε να αυξηθεί η απόδοση της αυτόλυσης, μειώνοντας τον χρόνο αυτόλυσης.

2.5. Πλεονεκτήματα και Περιορισμοί της Υπερυψηλής Πίεσης

Κάποια από τα σημαντικότερα πλεονεκτήματα και περιορισμοί της διεργασίας της ΥΠ (Stoforos & Taoukis, 2001; Farkas & Hoover, 2000) συνοψίζονται στον παρακάτω Πίνακα 2.1:

Πίνακας 2.1. Πλεονεκτήματα και Περιορισμοί της Υπερυψηλής Πίεσης

| Πλεονεκτήματα | Περιορισμοί |
|---|---|
| Αδρανοποίηση μικροοργανισμών και ενζύμων με ταυτόχρονη διατήρηση ποιοτικών, διατροφικών και οργανοληπτικών χαρακτηριστικών λόγω των ήπιων θερμοκρασιών που χρησιμοποιεί η ΥΠ. | Εμφανίζει υψηλό πάγιο κόστος εξοπλισμού και εγκατάστασης για εφαρμογή σε βιομηχανικό επίπεδο. |
| Στιγμαία και ομοιόμορφη κατανομή πίεσης ανεξάρτητα από το σχήμα και το μέγεθος του τρόφιμου, σε αντίθεση με τις κλασσικές θερμικές κατεργασίες που εξαρτώνται από το μέγεθος και τη γεωμετρία του. | Είναι μία διεργασία διαλείποντος έργου και όχι συνεχούς ροής, με αποτέλεσμα να είναι δύσκολο να ενσωματωθεί σε γραμμή παραγωγής της βιομηχανίας τροφίμων. |
| Τρόφιμα με υψηλή περιεκτικότητα σε νερό δεν παραμορφώνονται από την εφαρμογή της ΥΠ. | Κάθε τρόφιμο έχει τις δικές του βέλτιστες συνθήκες επεξεργασίας. |
| Η παστερίωση του τρόφιμου επιτυγχάνεται κατευθείαν σε συσκευασμένο τρόφιμο αυξάνοντας σημαντικά τον χρόνο ζωής του. | |
| Πολύ χαμηλή κατανάλωση ενέργειας σε σχέση με τις αντίστοιχες θερμικές επεξεργασίες τροφίμων. | |
| Εφαρμόζεται σε όλα τα είδη τροφίμων (υγρά και στερεά) | |
| Φιλική προς το περιβάλλον. Δεν έχει καθόλου απόβλητα και τα αέρια που χρησιμοποιούνται σε ορισμένες περιπτώσεις ως μέσο μετάδοσης της πίεσης είναι ανακυκλώσιμα, καθώς επίσης έχει και ελάχιστη κατανάλωση νερού. | |

2.6. Εξοπλισμός και Λειτουργία της Υπερυψηλής Πίεσης

Ένα τυπικό σύστημα ΥΠ περιλαμβάνει τα εξής βασικά μέρη:

(α) ένα θάλαμο υπερυψηλής πίεσης, στον οποίο εισάγονται τα προς επεξεργασία τρόφιμα και το σύστημα σφράγισης του. Τα δοχεία της ΥΠ μπορεί να είναι κάθετα ή οριζόντια. Δοχεία που είναι σχεδιασμένα να αντέχουν πιέσεις μεγαλύτερες των 400 MPa είναι φτιαγμένα από χάλυβα (για αποφυγή διαβρώσεων) με υψηλή αντοχή σε εφελκυσμό και περιλαμβάνουν δυο

ομοαξονικούς κυλίνδρους για λόγους ασφαλείας. Πολλές φορές το διάκενο μεταξύ των δυο κυλίνδρων γεμίζεται με υγρό σε μόνιμη συμπίεση ώστε σε περίπτωση διαρροής ή θραύσης των εσωτερικών κυλίνδρων να αποφευχθεί η καταστροφή του δοχείου πίεσης, αλλά και για να διασφαλιστεί ο μεγαλύτερος χρόνος ζωής του. Τα εργαστηριακής κλίμακας δοχεία έχουν όγκο από 1-5 L χωρητικότητα, τα δοχεία πιλοτικής κλίμακας 10-25 L και τα δοχεία βιομηχανικής κλίμακας ασυνεχούς λειτουργίας έως και 600 L χωρητικότητα. Στα περισσότερα δοχεία πίεσης χρησιμοποιούνται κυλινδρικά καπάκια με σπείρες για γρήγορο άνοιγμα και κλείσιμο του δοχείου μεταξύ των κύκλων. Το μέσο διάδοσης της πίεσης που χρησιμοποιείται είναι ένα υγρό, συνήθως το νερό με ένα μικρό ποσοστό λαδιού (για αντιδιαβρωτικούς και λιπαντικούς λόγους), το οποίο έχει μικρή συμπιεστότητα και βοηθά στην καλύτερη και αποδοτικότερη διάδοση της πίεσης στο τρόφιμο

(β) μια μονάδα παραγωγής της πίεσης. Αφού αφαιρεθεί από το δοχείο πίεσης ο αέρας, η παραγωγή της πίεσης μπορεί να επιτευχθεί άμεσα, έμμεσα, ή με θέρμανση του μέσου διάδοσης. Στην άμεση συμπίεση με πιστόνι, ένα ρευστό τρόφιμο συμπιέζεται κατευθείαν από τη μικρότερη πλευρά ενός εμβόλου. Η μεγαλύτερη πλευρά του εμβόλου είναι συνδεδεμένη με μια αντλία χαμηλής πίεσης, η οποία επιτρέπει τον πολλαπλασιασμό της πίεσης. Η άμεση συμπίεση είναι γρήγορη, αλλά δεν μπορεί να εφαρμοστεί σε μεγάλη κλίμακα, επειδή υπάρχει το ενδεχόμενο της ανεπάρκειας της στεγανότητας του εμβόλου (Αλεξανδράκης, 2015). Στην έμμεση συμπίεση, το μέσο διάδοσης της πίεσης αντλείται μέσα από ένα μεγάλο δοχείο (δεξαμενή) προς το δοχείο πίεσης μέχρι να επιτευχθεί η επιθυμητή τιμή της πίεσης. Αυτή η μέθοδος χρησιμοποιείται στις περισσότερες μονάδες ΥΠ. Η άσκηση της υπερυψηλής πίεσης επιτυγχάνεται μέσω της πλήρωσης του θαλάμου με το υγρό χαμηλής συμπιεστότητας, που συνήθως είναι το νερό ή η γλυκόλη (Αλεξανδράκης, 2015; Patras et al, 2009). Ο τρίτος τρόπος συμπίεσης επιτυγχάνεται με θέρμανση του μέσου διάδοσης (νερό, γλυκόλη) το οποίο διαστέλλεται. Η μέθοδος αυτή ενδείκνυται σε περιπτώσεις όπου απαιτείται συνδυασμός πίεσης και υψηλής θερμοκρασίας, όπως για παράδειγμα στη μικροβιακή απενεργοποίηση (Ohlsson et al, 2002).

(γ) ένα σύστημα ελέγχου της θερμοκρασίας, το οποίο συνήθως βρίσκεται μέσα στο θάλαμο. Ο έλεγχος της θερμοκρασίας γίνεται μέσω ενός μανδύα ο οποίος περιβάλλει το δοχείο πίεσης. Μέσα στο μανδύα κυκλοφορεί ένα ψυκτικό/θερμαντικό μέσο, ανάλογα με τις ανάγκες. Αυτό είναι ικανοποιητικό στις περισσότερες εφαρμογές, όπου απαιτείται μια σταθερή θερμοκρασία, αλλά αν είναι απαραίτητο να μεταβάλλεται τακτικά η θερμοκρασία, η μεγάλη θερμική αδράνεια του δοχείου πίεσεως και η σχετικά μικρή επιφάνεια εναλλαγής θερμότητας καθιστά αυτό το είδος

θερμοκρασιακού ελέγχου πολύ αργό, προκειμένου να ανταποκριθεί στις μεταβολές. Σε τέτοιες περιπτώσεις, προσαρμόζεται ένας εσωτερικός εναλλάκτης θερμότητας.

(δ) ένα σύστημα ελέγχου όλου του συστήματος που περιλαμβάνει όλα τα όργανα και τις συσκευές (Farkas & Hoover, 2000).

Συνοπτικά, ένας κύκλος επεξεργασίας με ΥΠ περιλαμβάνει **5 βασικά στάδια**:

(α) γέμισμα του δοχείου με το συσκευασμένο τρόφιμο προς επεξεργασία. Οι συσκευασίες που χρησιμοποιούνται είναι από πολυστρωματικό πλαστικό ή φύλλα αλουμινίου ή συνδυασμός και των δυο. Η επιλογή αυτών των υλικών γίνεται με βάση την αντοχή τους σε τόσο μεγάλες πιέσεις και θερμοκρασίες ώστε να διασφαλιστεί ότι το τρόφιμο κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας θα παραμείνει αέριο. Λόγω της μείωσης του όγκου του τροφίμου (περίπου 15%) κατά την ΥΠ, θα πρέπει επίσης η συσκευασία που χρησιμοποιείται να είναι εύκαμπτη. Τέλος, ο σχεδιασμός της συσκευασίας είναι εξίσου σημαντικός τόσο από οικονομική άποψη, όσο και για την πλήρη εκμετάλλευση του όγκου του δοχείου (Αλεξανδράκης, 2015)

(β) κλείσιμο του δοχείου με περιστροφικό πώμα με σπείρες

(γ) εφαρμογή των συνθηκών πίεσης, παρακολουθώντας την αύξηση της πίεσης και θερμοκρασίας εντός του δοχείου από τα κεντρικά σύστημα ελέγχου.

(δ) αποσυμπίεση του δοχείου

(ε) απομάκρυνση του επεξεργασμένου προϊόντος.

2.7. Πάγιο και λειτουργικό κόστος της ΥΠ

Ένα σημαντικό κριτήριο για την αξιολόγηση των μεθόδων συντήρησης ενός τροφίμου είναι το κόστος ανά ποσότητα επεξεργασμένου προϊόντος (Ting & Farkas, 1995). Αν και η διεργασία με ΥΠ είναι μια πολύ υποσχόμενη μέθοδος για την επιμήκυνση του χρόνου ζωής του προϊόντος, είναι πιο ακριβή από τις άλλες συμβατικές μεθόδους (αποστείρωση). Για αυτό το λόγο ακόμα χρησιμοποιείται για συγκεκριμένα προϊόντα, τα οποία με τις άλλες μεθόδους χάνουν θρεπτικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Τέτοια είναι οι φρέσκοι χυμοί φρούτων, τα θαλασσινά και τα αλλαντικά. Τα τελευταία 20 χρόνια, το κόστος επεξεργασίας με ΥΠ έχει μειωθεί σημαντικά και συνεχίζει να μειώνεται λόγω των τεχνικών βελτιώσεων και με την ένταξη στην αγορά νέων βιομηχανιών παραγωγής μονάδων ΥΠ. Σήμερα, το κόστος ενός προϊόντος επεξεργασμένου με ΥΠ κυμαίνεται από 0,10–0,30 €/kg. Το συνολικό κόστος της επένδυσης αφορά το κόστος της

αγοράς και της εγκατάστασης της μονάδας που είναι σχετικά μεγάλο (από 500.000 € έως και 2.000.000 €) και από την άλλη το λειτουργικό κόστος, το οποίο είναι σαφώς μικρότερο.

3. Κεφάλαιο 3: Εφαρμογή της Υπερυψηλής πίεσης και των Παλμικών Ηλεκτρικών Πεδίων σε φυτικά προϊόντα

3.1. Εισαγωγή

Ένας από τους βασικότερους στόχους της βιομηχανίας με φυτικής προέλευσης προϊόντα είναι η αύξηση της απόδοσης σε παραγωγή προϊόντος της εκάστοτε διεργασίας με ταυτόχρονη βελτίωση των ποιοτικών χαρακτηριστικών των τελικών προϊόντων. Κατά τις τελευταίες δεκαετίες, διάφορες καινοτόμες τεχνολογίες έχουν προταθεί ως προεπεξεργασίες στις ήδη υπάρχουσες συμβατικές αποσκοπώντας στην παραγωγή πρώτων υλών ή/και τελικών προϊόντων με βελτιωμένα χαρακτηριστικά ποιότητας. Το «κλειδί» για την επιτυχία, εντοπίστηκε στο να προσφέρουν στις βιομηχανίες τροφίμων την ευκαιρία να βελτιώσουν την ποιότητα των τροφίμων, να εισαγάγουν νέα τρόφιμα στην αγορά και να βελτιστοποιήσουν τις ήδη υπάρχουσες παραγωγικές διαδικασίες επεξεργασίας τροφίμων μειώνοντας παράλληλα το ενεργειακό κόστος.

3.2. Νέες τεχνολογίες για αύξηση της απόδοσης σε παραγωγή προϊόντος και για βελτίωση της ποιότητας των τελικών παραγόμενων προϊόντων φυτικής προέλευσης

Η Υπερυψηλή πίεση (ΥΠ) και τα Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία (ΠΗΠ) έδειξαν τη δυνατότητα να είναι μία από τις πιο υποσχόμενες νέες τεχνολογίες για την επίτευξη αυτών των στόχων στη βιομηχανία τροφίμων. Η εφαρμογή των δυο αυτών τεχνολογιών ως προεπεξεργασίες, λόγω της αύξησης της διαπερατότητας των φυτικών ιστών που προκαλούν ενισχύουν τα φαινόμενα μεταφοράς μάζας καθιστώντας την εφαρμογή τους πολύ ελκυστική για τη βιομηχανία τροφίμων. Τα πλεονεκτήματα αυτών των μεθόδων έναντι των συμβατικών είναι: (α) η αύξηση της απόδοσης σε παραγωγή προϊόντος, (β) η βελτίωση της κάθε διεργασίας, (γ) η μείωση του χρόνου επεξεργασίας, (δ) η μείωση της έντασης των συνθηκών των συμβατικών μεθόδων στην περίπτωση που εφαρμοσθούν ως προεπεξεργασίες, (ε) η βελτίωση των ποιοτικών χαρακτηριστικών των τελικών προϊόντων, (στ) η χαμηλή κατανάλωση ενέργειας, και (ζ) η εύκολη ενσωμάτωση τους στη γραμμή παραγωγής στη βιομηχανία τροφίμων.

Σε αυτό το κεφάλαιο της διατριβής θα αναλυθούν λεπτομερώς πως αυτές οι δυο διεργασίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν έναντι των συμβατικών, καθώς και η πιθανή εφαρμογή τους σε βιομηχανίες με φυτικά προϊόντα. Συγκεκριμένα θα αναλυθούν τα διάφορα στάδια παραγωγής ελαιόλαδου και επεξεργασίας βιομηχανικής τομάτας, οι συμβατικοί μέθοδοι που χρησιμοποιούνται σε κάθε βιομηχανία ξεχωριστά, κάποια επιλεγμένα σημεία στην παραγωγική διαδικασία, στα οποία θα μπορούσαν να εφαρμοσθούν οι δύο διεργασίες και τα ποιοτικά

χαρακτηριστικά των τελικών προϊόντων σε κάθε περίπτωση. Επιπλέον, θα αναλυθεί με ποιο τρόπο και με τι στόχο θα ενσωματωθούν τα ΠΗΠ και η ΥΠ στην παραγωγική διαδικασία των δυο αυτών βιομηχανιών, ώστε να παραχθούν προϊόντα με αυξημένη απόδοση και ανώτερη ποιότητα.

3.3. Η τομάτα και η σύσταση της

Η τομάτα, της οποίας το επιστημονικό όνομα είναι *Solanum lycopersicum* L., ανήκει στο γένος *Solanum* της οικογένειας *Solanaceae* (Σολανωδών). Είναι κατά κανόνα ετήσιο λαχανικό, αρκετά διαδεδομένο και πολύ δημοφιλές.

Ο καρπός είναι ράγα κόκκινου, ρόδινου ή κίτρινου χρώματος και χωρίζεται με σαρκώδη τοιχώματα σε 4-10 χώρους. Αποτελείται από τον φλοιό (εξωκάρπιο), τη σάρκα ή πούλπα (περικάρπιο) και τους σπόρους που περιβάλλονται από μια ζελατινώδη ουσία. Το πάχος του φλοιού αυξάνει στο πρώτο στάδιο της ανάπτυξης του καρπού και μετά λεπταίνει και απλώνει κατά το στάδιο της ωρίμανσης. Το σχήμα του καρπού μπορεί να είναι σφαιρικό, επιμηκυμένο ή κυλινδρικό. Κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης του καρπού της τομάτας, συμβαίνουν πολλές αλλαγές στο χρώμα, υφή, άρωμα και γεύση της. Κατά την ωρίμανση της τομάτας συμβαίνουν οι πρώτες αλλαγές στο χρώμα στην περιοχή των κοιλοτήτων. Καθώς το φρούτο αναπνέει, παρατηρείται απώλεια της χλωροφύλλης, ενώ συντίθενται χρωστικές όπως τα καροτενοειδή (Davies & Hobson, 1981). Επίσης σημαντικές αλλαγές συμβαίνουν στα κυτταρικά τοιχώματα, τα οποία διαλυτοποιούνται κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης. Επιπλέον, παράγονται συστατικά αρώματος και γεύσης, κυρίως σάκχαρα που παράγονται κατά την αποικοδόμηση του αμύλου, καθώς και η παρουσία οργανικών οξέων (Grierson & Kader, 1986).

3.3.1. Σύσταση της τομάτας

Η σύσταση της νωπής τομάτας αποτελείται κυρίως από τη σάρκα και τον χυμό που αποτελούν το 96-97%, οι σπόροι που καταλαμβάνουν το 2-3% και ο φλοιός που αποτελεί το 1-2% του συνολικού βάρους της νωπής τομάτας. Ο φλοιός της τομάτας αποτελείται από κυτταρίνη και δεν παρουσιάζει καμία θρεπτική αξία ενώ οι σπόροι περιέχουν 50-60% υγρασία και λιπαρά σε ποσοστό περίπου 22% επί ξηρής βάσης (Πίνακας 3.1).

-Στερεά: Οι τομάτες περιέχουν συνήθως 7,0 με 8,5% συνολικά στερεά, εκ των οποίων περίπου το 1% είναι σάρκα και σπόροι. Το ποσοστό των στερεών στις τομάτες ποικίλλει ανάλογα την ποικιλία των τοματών, τον χαρακτήρα του εδάφους, και ιδιαίτερα την ποσότητα των βροχοπτώσεων κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου και της συγκομιδής.

-Υδατάνθρακες: Τα σάκχαρα που υπάρχουν κατά κύριο λόγο στην τομάτα είναι αναγωγικά. Αποτελούν το 50-60% των συνολικών στερεών που έχει η τομάτα, επηρεάζοντας άμεσα τη γεύση της τομάτας. Η ποσότητα σακχαρόζης που βρίσκεται στις τομάτες είναι τόσο αμελητέα που μπορεί να αγνοηθεί (Goose & Binsted 1964). Η σακχαρόζη σπάνια υπερβαίνει το 0,1% του συνολικού βάρους. Οι πολυσακχαρίτες στις τομάτες αποτελούν περίπου το 0,7% του χυμού τομάτας.

Πίνακας 3.1. Περιεκτικότητα των κυριότερων συστατικών σύνθεσης της τομάτας

| Συστατικό | %Περιεκτικότητα |
|-------------------------------|-----------------|
| Ολικά στερεά | 7,0-8,5 |
| Αδιάλυτα στερεά | <1,0 |
| Διαλυτά στερεά | 4,0-6,0 |
| Πρωτεΐνες και αμινοξέα | 0,8-1,2 |
| Μεταλλικά στοιχεία | 0,3-0,6 |
| Πηκτίνες | 15,0 |
| Λιπαρά | 0,2 |

Gould,1992; Belitz et al., 2006

-Πρωτεΐνες και αμινοξέα: Στο χυμό τομάτας υπάρχουν συνολικά 19 αμινοξέα, εκ των οποίων το σημαντικότερο είναι το γλουταμινικό οξύ, το οποίο αποτελεί περίπου το 50% του συνολικού βάρους των αμινοξέων που περιέχει η τομάτα. Ένα επίσης σημαντικό αμινοξύ είναι το ασπαρτικό οξύ, του οποίου η συγκέντρωση σε φρέσκο χυμό τομάτας ανέρχεται σε 5,5 mg/100 g χυμού.

-Οργανικά οξέα: επικρατέστερο οξύ στη τομάτα είναι το κιτρικό οξύ και στη συνέχεια το μηλικό οξύ, ενώ υπάρχουν και ίχνη τρυγικού, οξικού και οξαλικού οξέος. Κατά την επεξεργασία και τη μεταποίηση της τομάτας, η περιεκτικότητα σε οξικό οξύ αυξάνεται, ενώ η ολική οξύτητα αποτελεί σημαντικό παράγοντα γεύσης στο τελικό προϊόν.

-Μεταλλικά στοιχεία: Η περιεκτικότητα σε μεταλλικά στοιχεία εξαρτάται άμεσα από το έδαφος και την τεχνική της καλλιέργειας της τομάτας. Τα μεταλλικά στοιχεία αποτελούν περίπου το 0,3-0,6%. Τα κυριότερα από αυτά είναι το κάλιο, το μαγνήσιο, ο φώσφορος, το ασβέστιο και το νάτριο.

-Πηκτίνες: Η πηκτίνη είναι ένα φυσικό συστατικό των ώριμων ντοματών. Η χαρακτηριστική σαρκώδης υφή της τομάτας οφείλεται στην παρουσία πηκτινών που αποτελούν φυσικό συστατικό της ώριμης τομάτας. Οι πηκτίνες είναι πολυμερή γαλακτουρονικού οξέος που συνδέονται μεταξύ τους με 1,4 γλυκοζιτικούς δεσμούς και διαφέρουν μεταξύ τους ως προς το μήκος της αλυσίδας, το μοριακό τους βάρος και το βαθμό διακλάδωσης των μονομερών. Όσο η τομάτα αναπτύσσεται, τα ένζυμα που βρίσκονται στα κύτταρα της αποικοδομούν την πηκτίνη και επηρεάζουν έτσι την

υφή της τομάτας. Οι πηκτίνες συγκρατούν τα κύτταρα μεταξύ τους. Καθώς το φυτό αναπτύσσεται παράγει την πρωτοπηκτίνη, η οποία είναι αδιάλυτη και σταδιακά μετατρέπεται στην πηκτίνη που συνεχίζει και συγκρατεί τα κύτταρα όχι όμως τόσο σταθερά γι' αυτό και η υφή της σάρκας τομάτας με την ωριμότητα μαλακώνει. Στη συνέχεια, γίνεται αποικοδόμηση της πηκτίνης σε διαλυτά συστατικά τα οποία δεν έχουν μικρότερη συνδετική δύναμη με αποτέλεσμα η ώριμη τομάτα να είναι αρκετά μαλακή. Η δράση τους δε σταματά κατά τη συγκομιδή και την επεξεργασία της τομάτας, με αποτέλεσμα να παίζουν σημαντικό ρόλο και στην υφή των προϊόντων τομάτας στο στάδιο της μεταποίησης (Gould, 1992).

-Καροτενοειδή: Ο κόκκινος χρωματισμός του καρπού οφείλεται στο κυριότερο καροτενοειδές της τομάτας, το λυκοπένιο. Είναι ένας πολυακόρεστος υδρογονάνθρακας και μια από τις πλέον ισχυρές αντιοξειδωτικές ουσίες φυτικής προέλευσης. Η βιοσύνθεση του λυκοπενίου πραγματοποιείται μόνο στους φυτικούς ιστούς και ο άνθρωπος το λαμβάνει αποκλειστικά μέσω της τροφής και κυρίως μέσω της κατανάλωσης νωπής τομάτας και των επεξεργασμένων προϊόντων της (Αγγίδης, 1996; Madhavi & Salunkhe, 1998; Heuvelink, 2005). Η συνολική περιεκτικότητα καροτενοειδών της τομάτας κυμαίνεται μεταξύ 7-19 mg/100 g νωπού βάρους (Gross, 1991). Η ποσότητα του β-καροτένιου στην τομάτα είναι περίπου το ένα δέκατο της ποσότητας λυκοπενίου. Τα καροτενοειδή (Πίνακας 3.2) δεν κατανέμονται ομοιόμορφα στον καρπό της τομάτας. Το εξωτερικό περικάρπιο περιέχει το μεγαλύτερο ποσοστό του συνόλου των καροτενοειδών και το λυκοπένιο, ενώ το κοίλο μέρος περιέχει σε μεγάλη αναλογία το καροτένιο (Shi & Le Maguer, 2000).

Πίνακας 3.2. Περιεκτικότητα καροτενοειδών στη τομάτα (mg/100 g νωπού βάρους)

| Καροτενοειδή | %Περιεκτικότητα |
|---------------------------|------------------------|
| Ολικά καροτενοειδή | 5,1-8,5 |
| Φυτοένιο | 1,3 |
| Φυτοφλουένιο | 0,7 |
| β-καροτένιο | 0,59 |
| ζ-καροτένιο | 0.84 |
| Λυκοπένιο | 4,7 |
| α, β-κρυπτοξανθίνη | 0,5 |

* Belitz et al., 2006

-Βιταμίνες: Οι φρέσκιες τομάτες, ο χυμός τομάτας καθώς και άλλα προϊόντα τομάτας συνεισφέρουν σημαντικά στη διατροφή του ανθρώπου λόγω της περιεκτικότητας και της διαθεσιμότητάς τους σε θρεπτικά συστατικά και βιταμίνες (Gould, 1992). Η σπουδαιότητα των καρπών της τομάτας και των προϊόντων της έγκειται στο ότι αποτελούν μία από τις κυριότερες πηγές βιταμίνης C, η οποία εμφανίζεται υπό τη μορφή ασκορβικού οξέος. Η μέση περιεκτικότητα ασκορβικού οξέος στον καρπό της τομάτας είναι περίπου 23 mg/100 g νωπού βάρους. Η τομάτα αποτελεί επίσης σημαντική πηγή βιταμίνης A (1000 IU/100 g), η οποία απαντάται με τη μορφή καροτενίου. Άλλες βιταμίνες που απαντώνται στο φρούτο της τομάτας είναι κάποια είδη βιταμίνης B, όπως η θειαμίνη (0,06 mg/100 g), η νιασίνη και η ριβοφλαβίνη (0,04 mg/100 g) (Gould, 1992; Belitz, 2006).

3.4. Πηκτινολυτικά ένζυμα τομάτας

Στα φρούτα και τα λαχανικά συνήθως λαμβάνουν χώρα ενζυμικές και μη ενζυμικές αντιδράσεις κατά την επεξεργασία και αποθήκευσή τους, που μπορούν να διασπάσουν τις πηκτίνες που υπάρχουν στο κυτταρικό τοίχωμα των φυτικών ιστών ή να μεταβάλλουν τη δομή τους (Sila et al., 2009). Η υφή είναι ίσως ένα από τα πιο σημαντικά ποιοτικά χαρακτηριστικά της τομάτας και των προϊόντων της. Η υφή είναι ένα χαρακτηριστικό στο επίπεδο των φυτικών οργάνων, που εξαρτάται από τη δομή και τη σύσταση του κυτταρικού τοιχώματος (Waldron, Parker, & Smith, 2003). Οι πολυσακχαρίτες που απαρτίζουν το φυτικό κυτταρικό τοίχωμα είναι η κυτταρίνη, η ημικυτταρίνη και η πηκτίνη. Οι αλλαγές στην υφή κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης, της επεξεργασίας και της αποθήκευσης σχετίζονται κυρίως με βιοχημικές μετατροπές της πηκτίνης, καθώς η πηκτίνη είναι κατά κύριο λόγο άφθονη στη διαχωριστική μεμβράνη ανάμεσα στα κύτταρα τομάτας, διαδραματίζοντας κρίσιμο ρόλο στην προσκόλληση των κυττάρων μεταξύ τους και, επιπλέον, διαλύεται ευκολότερα και είναι πιο χημικά δραστική από τα άλλα πολυμερή του κυτταρικού τοιχώματος (Van Buren, 1979).

Η υφή των τελικών προϊόντων τομάτας επηρεάζεται σημαντικά από την παρουσία ενζύμων σε αυτό και κυρίως δύο: της πηκτινομεθυλεστεράσης (PME) και της πολυγαλακτουρονάσης (PG). Τα δύο αυτά ένζυμα βρίσκονται στα κύτταρα της τομάτας και καταλύουν τις αντιδράσεις διάσπασης της πηκτίνης και των γαλακτουρονικών οξέων αντίστοιχα. Τα δύο ένζυμα, PME και PG συμμετέχουν στη διάσπαση πηκτινών, μετά τη σύνθλιψη των τοματών. Οι PME και PG δεν είναι οι μόνοι παράγοντες που καθορίζουν το μαλάκωμα του καρπού, αν και η συντονισμένη δράση τους φαίνεται σε πολλά θέματα που σχετίζονται με την ποιότητα. Η δραστηριότητα των ενζύμων αυτών είναι περιορισμένη μέσα στους ιστούς των φυτών, με τη μέγιστη υδρολυτική ικανότητα να εκφράζεται μόνο για την αντιμετώπιση της διάσπασης των ιστών κατά την ωρίμανση.

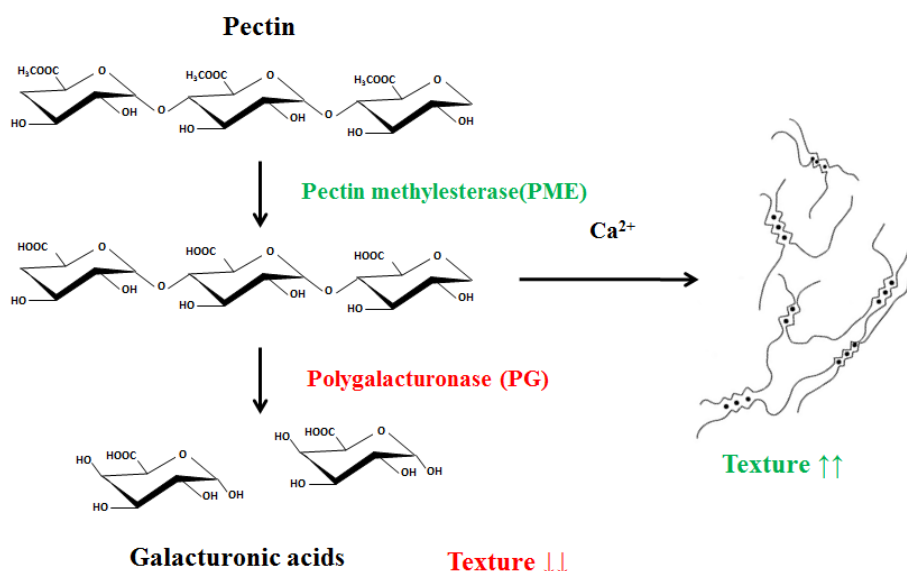
3.4.1. Μηχανισμός δράσης των ενζύμων στα προϊόντα τομάτας

Η PME καταλύει την απομάκρυνση των μεθυλικών ομάδων από την αλυσίδα του πολυγαλακτουρονικού οξέος, αφήνοντας έναν αυξημένο αριθμό ελεύθερων ομάδων καρβοξυλίου που στη συνέχεια δεσμεύουν δισθενή κατιόντα όπως το ασβέστιο (Ca^{2+}) και ενώνουν μεταξύ τους αλυσίδες πηκτίνης, σχηματίζοντας υπερμοριακούς δεσμούς και πηκτές. Οι σχηματισμοί αυτοί δρουν ως μεσοκυτταρική κόλλα προσδίδοντας σταθερότητα στους ιστούς (Bartolome και Hoff, 1972). Παράλληλα οι ελεύθερες καρβοξυλικές ομάδες αποτελούν υπόστρωμα για τη δράση των ενζύμων, όπως η PG που είναι υπεύθυνη για τον αποπολυμερισμό των πηκτινών. Κατά τον αποπολυμερισμό, τα πολυμερή των πηκτινών διασπώνται προς σχηματισμό μικρότερων μορίων, γεγονός που συνδέεται άμεσα με απώλειες της υφής και του ιξώδους, ενώ παράλληλα είναι χρήσιμα στην αύξηση της εκχυλισιμότητας των χυμών και τον έλεγχο της σταθερότητας του θολώματος (Σχήμα 3.1)

Σε χυμούς τομάτας, οι ενωμένες πηκτίνες μπορούν να συγκεντρωθούν και να καθιζάνουν, με αποτέλεσμα το διαχωρισμό των φάσεων (Baker & Cameron, 1999). Όπως συμβαίνει στις περισσότερες ενζυμικές αντιδράσεις, ο ρυθμός απομεθοξυλίωσης της πηκτίνης από την PME ενισχύεται με την αύξηση της θερμοκρασίας, μέχρις ότου προκληθεί απενεργοποίηση του ενζύμου. Σε υψηλές θερμοκρασίες, η πηκτίνη που είναι σε μεγάλο βαθμό μεθοξυλιωμένη είναι επιρρεπής σε μη-ενζυμικές μετατροπές, όπως ο αποπολυμερισμός και η απομεθοξυλίωσή της. Ο αποπολυμερισμός είναι κυρίως υπεύθυνος για το εκτεταμένο μαλάκωμα των καρπών και λαχανικών χαμηλής οξύτητας κατά τη διάρκεια θερμικών επεξεργασιών (Sila, et al., 2006). Η βέλτιστη θερμοκρασία για την καταλυτική ικανότητα της PME ποικίλει από 45-55°C ανάλογα με την προέλευση του ενζύμου και το περιβάλλον δράσης του. Σύμφωνα με τους Van den Broeck et al. (2000), στα προϊόντα τομάτας οι καλύτερες συνθήκες για την ενεργότητα της PME είναι σε pH 7,2 και θερμοκρασία 55°C. Η βέλτιστη θερμοκρασία για τη δράση της PG από τομάτα παρουσία πολυγαλακτουρονικού οξέος κυμάνθηκε μεταξύ 55 και 60°C σε pH 4,4 (Verlent et al., 2004). Αντίθετα για να αποπολυμεριστεί ένα πιο σύνθετο υπόστρωμα, όπως η πηκτίνη, ήταν απαραίτητη η παρουσία, εκτός από την PG της τομάτας, και η PME της τομάτας. Σε αυτήν την περίπτωση, η βέλτιστη θερμοκρασία για την αντίδραση ήταν 50°C και το pH ίσο με 4,4.

Η PME απαντάται σε πολλά ανώτερα φυτά ενώ μπορεί να παραχθεί και από διάφορους μύκητες και βακτήρια. Η PME είναι δεσμευμένη στο κυτταρικό τοίχωμα και εμφανίζεται ως σύμπλοκο με την πηκτίνη μέσω ηλεκτροστατικής επίδρασης (MacMillan & Sheman, 1974; Basak & Ramaswamy, 1996). Από μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί αναφορικά με τη δομή της PME,

έχει αποδειχθεί ότι το ένζυμο αποτελείται από ένα απλό και μικρού μοριακού βάρους πολυπεπτίδιο (Markovic & Jornvall, 1986; Pressey & Woods, 1992).



Σχήμα 3.1. Συνεργιστικός μηχανισμός των ενζύμων PME και PG

Ανάλογα με το φυτό απ' όπου προέρχεται, το πολυπεπτίδιο αυτό μπορεί να παρουσιάζει κάποιον βαθμό γλυκοζυλίωσης. Πρόκειται για μία πρωτεΐνη δομής β-έλικας που χαρακτηρίζεται από την παρουσία παράλληλων β-πτυχωτών φύλλων (Micheli, 2001; Johansson et al., 2002). Η δράση της PME πάνω στην πηκτίνη, και συγκεκριμένα στην ομογαλακτουρονάνη, παράγει ως προϊόν μεθανόλη και πηκτινικά οξέα. Γενικά, οι φυτικές PME έχουν βέλτιστο pH δράσης μεταξύ 6 και 8, ανάλογα με την πηγή προέλευσης, και συχνά απαιτούν συγκέντρωση 0.1-0.2 M NaCl για βέλτιστη κατάλυση. Η δράση οποιασδήποτε PME πάνω σε πηκτίνη υψηλού βαθμού εστεροποίησης δεν οδηγεί σε πλήρη απομεθοξυλίωση, αφήνοντας ένα κατάλοιπο βαθμού μεθυλεστεροποίησης μεταξύ 20% και 30% που οφείλεται στην ύπαρξη ακετυλομάδων.

Η PG, που συντίθεται από μερικά ανώτερα και κατώτερα φυτά, βακτήρια και μύκητες, καταλύει την υδρολυτική διάσπαση του γλυκοζιτικού δεσμού του απομεθοξυλιωμένου α-(1,4) πολυγαλακτουρονικού οξέος. Προτιμά μη εστεροποιημένα υποστρώματα και η ενεργότητα της μειώνεται με αύξηση του βαθμού εστεροποίησης των πηκτινών. Η πολυγαλακτουρονάση αποτελεί μια πρωτεΐνη με δομή β-έλικας που χαρακτηρίζεται από την παρουσία τριών παράλληλων β-πτυχωτών επιφανειών. Αντίστοιχα με την PME, το βέλτιστο pH για τη δράση της PG εξαρτάται τόσο από την πηγή προέλευσης του ενζύμου, όσο και από τη μορφή του ισοενζύμου στην ίδια πηγή και συνήθως κυμαίνεται μεταξύ 4 και 6.

Κατά την επεξεργασία φρούτων και λαχανικών μπορεί να προκληθεί μετουσίωση και μερική ή ολική απενεργοποίηση των πηκτινολυτικών ενζύμων με αποτέλεσμα τη μειωμένη αποικοδόμηση της πηκτίνης, ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις η καταλυτική τους ικανότητα ενισχύεται προκαλώντας αρκετές δομικές αλλαγές των πηκτινών. Σε ορισμένες διεργασίες είναι επιθυμητή η ολική απενεργοποίηση των ενζύμων, ενώ σε κάποιες άλλες η καταλυτική τους ικανότητα θα πρέπει να διατηρείται ή να ενισχύεται ακόμα και υπό έντονες συνθήκες διεργασιών. Επομένως, για το σχεδιασμό διεργασιών με βέλτιστο αποτέλεσμα απαιτείται η γνώση της καταλυτικής ικανότητας και των μηχανισμών απενεργοποίησης των δυο αυτών ενζύμων.

Κατά την επεξεργασία βιομηχανικής τομάτας, τα πηκτινολυτικά ένζυμα συνήθως πρέπει να απενεργοποιούνται προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί η ενεργότητά τους και να αποφευχθεί η αποικοδόμηση της πηκτίνης κατά την αποθήκευση του προϊόντος. Τα προϊόντα τομάτας που είναι επεξεργασμένα σε σχετικά χαμηλές θερμοκρασίες (65°C και Cold Break) έχουν μικρό ιξώδες και χαμηλή συνεκτικότητα, λόγω της εναπομένουσας ενζυμικής ενεργότητας. Αυτό σημαίνει ότι το προϊόν δε διατηρεί τα στερεά σε εναιώρημα με αποτέλεσμα τη συναίρεση. Στη βιομηχανία, για να αντιμετωπιστούν τα προβλήματα συναίρεσης, εφαρμόζεται η θερμή θραύση (85-95°C, Hot Break) της τομάτας κατά την οποία επιτυγχάνεται πλήρης απενεργοποίηση και των δυο ενζύμων, PME και PG. Ωστόσο, σε τέτοιες θερμοκρασίες παρατηρείται υποβάθμιση παραμέτρων ποιότητας των προϊόντων, όπως το χρώμα, η γεύση και η διατροφική τους αξία. Για να διατηρηθούν τα ποιοτικά χαρακτηριστικά, πρέπει αφενός να επιτευχθεί επιλεκτική απενεργοποίηση της PG, αφετέρου δε να διατηρηθεί η ενεργότητα της PME. Κατά τη συμβατική θερμική επεξεργασία δεν είναι εφικτή η επιλεκτική απενεργοποίηση της PG, αφού το ένζυμο αυτό απαιτεί εντονότερες συνθήκες επεξεργασίας από την PME για την πλήρη απενεργοποίησή του.

3.5. Προϊόντα βιομηχανικής επεξεργασίας τομάτας

Ο καρπός της τομάτας χρησιμοποιείται κυρίως σε ολόκληρη και νωπή μορφή. Παρόλα αυτά, λόγω της σχετικής ευκολίας στη σύνθλιψη και τη συμπύκνωση της μεγάλο μέρος των καλλιεργειών τομάτας μεταποιείται σε διάφορα βιομηχανικά προϊόντα (Gould, 1992). Ανάλογα με τον τρόπο επεξεργασίας της πρώτης ύλης και τις τελικές ιδιότητες του προϊόντος που προκύπτει κυρίως ως προς τα ποιοτικά του χαρακτηριστικά όπως είναι το χρώμα, η συνεκτικότητα και η τιμή του ιξώδους, τα συνηθέστερα βιομηχανικά προϊόντα τομάτας είναι:

Φυσικός χυμός τομάτας

Ο φυσικός χυμός τομάτας παράγεται συνήθως από ολόκληρες πολτοποιημένες τομάτες. Οι τομάτες αλέθονται σε υψηλή ή χαμηλή θερμοκρασία και έπειτα ο πολτός που παράγεται,

κοσκινίζεται για να αφαιρεθούν οι φλοιοί και οι σπόροι, ώστε ο χυμός που απομένει τελικά να είναι ομοιογενής χωρίς πολλά στερεά. Ο χυμός αποτελείται από αιωρούμενα σωματίδια μεγαλύτερα από 150 μm σε διάμετρο σε έναν κολλοειδή ορό (Tangleretpaibul & Rao, 1987). Τα αιωρούμενα σωματίδια περιλαμβάνουν ανέπαφα ή σπασμένα κύτταρα, πολυμερή μακράς αλυσίδας από κυτταρίνη, λιγνίνη, ημικυτταρίνη και αδιάλυτο στο νερό υλικό από πηκτίνη. (Barrett, et al., 1998). Η διαδικασία εξαγωγής του χυμού επηρεάζει την απόδοση και εξαρτάται από τον εξοπλισμό που χρησιμοποιείται. Ο φυσικός χυμός έχει ολικά στερεά περίπου 4,5 έως 7,0 °Brix, ανάλογα την ποικιλία και την ωριμότητα του καρπού τομάτας.

Συμπυκνωμένος χυμός τομάτας

Ο συμπυκνωμένος χυμός τομάτας είναι το προϊόν που παρασκευάζεται με συμπύκνωση του σαρκώδους χυμού των νωπών τοματών με απομάκρυνση μέρους νερού. Η συμπύκνωση γίνεται υπό κενό ώστε να χρησιμοποιούνται ήπιες θερμοκρασίες και να μην υποβαθμίζονται τα οργανοληπτικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά του τελικού συμπυκνωμένου χυμού. Συνήθως ο χυμός τομάτας συμπυκνώνεται περισσότερες φορές και έτσι παράγεται χυμός διπλής ή τριπλής συμπύκνωσης. Μετά την πρώτη συμπύκνωση φτάνει τα 9-10 °Brix. Όσο περισσότερες είναι έπειτα οι συμπυκνώσεις τόσο περισσότερα διαλυμένα στερεά θα περιέχει ο χυμός. Οι χυμοί τριπλής συμπύκνωσης μπορούν να φτάσουν και τα 25 °Brix, αλλά από αυτές τις τιμές και έπειτα αρχίζουν να θεωρούνται ως τοματοπολτοί.

Τοματοπολτός

Ο τοματοπολτός είναι το πιο διαδεδομένο προϊόν τομάτας στην παγκόσμια αγορά. Σύμφωνα με τον Κώδικα Τροφίμων και Ποτών ως τοματοπολτός ορίζεται το προϊόν το οποίο προέρχεται από την εν κενό συμπύκνωση του σαρκώδους χυμού των νωπών καρπών τομάτας στον επιθυμητό βαθμό. Ανάλογα με το βαθμό συμπύκνωσης διακρίνονται σε 4 είδη τοματοπολτού (Πίνακας 3.3)

Πίνακας 3.3. Είδη τοματοπολτού με βάση την περιεκτικότητα σε ολικά διαλυτά στερεά

| Τοματοπολτοί* | Ολικά διαλυτά στερεά |
|----------------------|-----------------------------|
| Ημισυμπυκνωμένος | >16% |
| Απλής συμπύκνωσης | >22% |
| Διπλής συμπύκνωσης | >28% |
| Τριπλής συμπύκνωσης | >36% |

*Gould, 1992

Αποφλοιωμένες ολόκληρες ή τεμαχισμένες τομάτες

Οι αποφλοιωμένες τομάτες είναι οι χωρίς φλοιό ολόκληρες τομάτες, που είναι συσκευασμένες σε δοχεία με ή χωρίς χυμό. Από την άλλη, όσον αφορά τη σπασμένη, μοιάζει με τη διαδικασία κονσερβοποίησης της αποφλοιωμένης τομάτας, όμως, αντί για ολόκληρη η τομάτα, εδώ, κομματιάζεται προτού μπει στα κουτιά (κονκασέ). Για να παραχθεί αποφλοιωμένη τομάτα καλής ποιότητας, πρέπει η συγκομιδή να γίνεται όταν οι τομάτες ολοκληρώσουν φυσιολογικά την ωρίμανσή τους. Αυτό συμβαίνει, για να εξασφαλιστεί το ζηρό κόκκινο χρώμα, τα σάκχαρα, το άρωμα και η γεύση στις μέγιστες τιμές τους.

Κέτσαπ

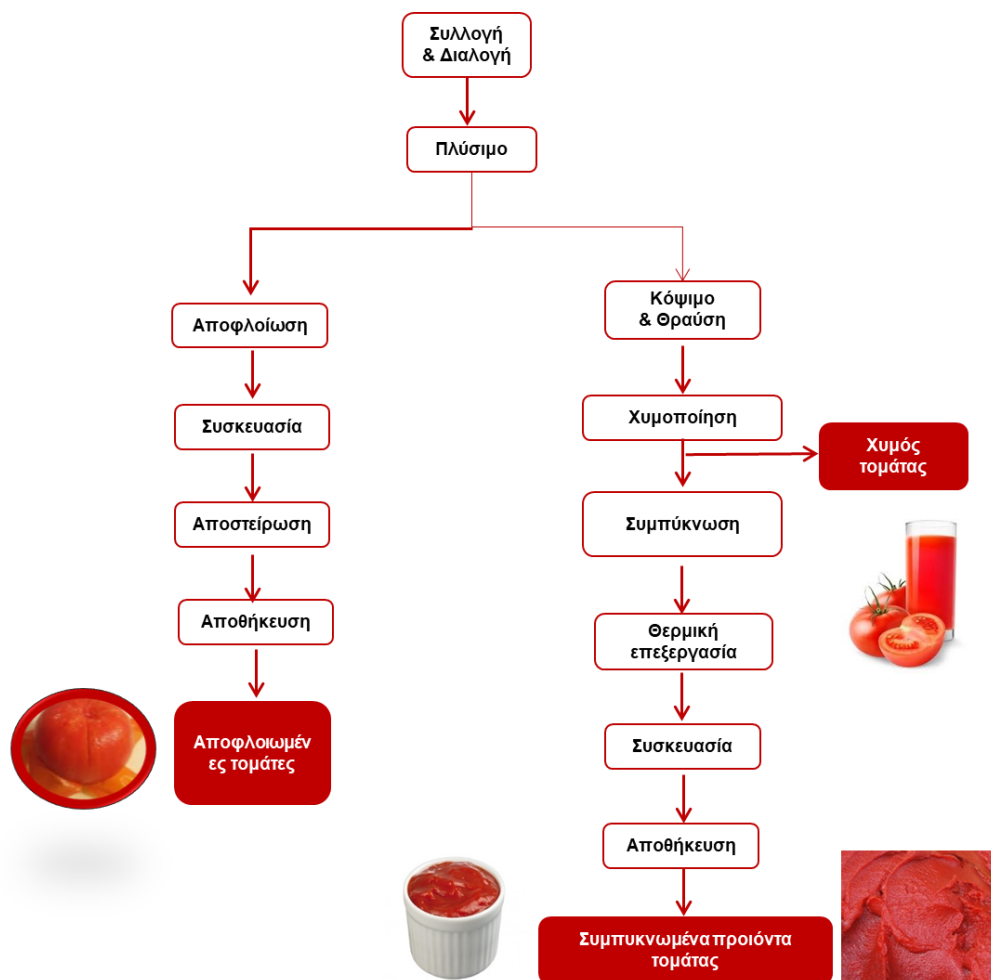
Η κέτσαπ από τομάτα είναι ένα προϊόν σταθερό σε ατμοσφαιρικές συνθήκες, που παρασκευάζεται με ειδική επεξεργασία είτε της ακατέργαστης σάρκας της τομάτας είτε του τοματοπολτού. Συνήθως ο παστεριωμένος τοματοπολτός, αφού έχει συμπυκνωθεί με ψυχρή ή θερμή θραύση, αναμειγνύεται με άλλα συστατικά (άμυλο, ξύδι, μπαχαρικά, αλάτι και φυσικές γλυκαντικές ύλες), βράζεται και στη συνέχεια πληρώνεται εν θερμώ και ασηπτικώς σε ένα ερμητικά σφραγισμένο μπουκάλι. Με αυτήν τη διαδικασία παράγεται η κέτσαπ, και για να σταθεροποιηθεί ακολουθεί η προσθήκη συντηρητικών (βενζοϊκό ή σορβικό οξύ ή ο συνδυασμός και των δύο) (Goose & Binsted, 1973). Η μικροβιακή σταθερότητα της κέτσαπ βασίζεται στο pH (pH μικρότερο από 4), στην παστερίωση ή στην προσθήκη συντηρητικών.

Σκόνη τομάτας

Η σκόνη τομάτας είναι προϊόν της ολοκληρωτικής αφυδάτωσης του χυμού της τομάτας. Βασική πρώτη ύλη είναι ο τοματοπολτός με πυκνότητα 30% με την παραγωγική διαδικασία Hot Break. Το συγκεκριμένο προϊόν για να χρησιμοποιηθεί πρέπει να διαλύεται στο νερό και να γίνεται όμοιο με φυσικό χυμό τομάτας ως προς τη γεύση, το χρώμα, τη φυσική και χημική σύσταση. Η σκόνη τομάτας απαιτεί ειδικές συνθήκες καθαριότητας, υγρασίας και φωτός στους αποθηκευτικούς χώρους. Για τους λόγους που αναφέρθηκαν και εξαιτίας της υγροσκοπικότητας του έχει μικρή διάδοση στην αγορά των τροφίμων.

3.6. Παραγωγική διαδικασία προϊόντων τομάτας

Τα στάδια της επεξεργασίας βιομηχανικής τομάτας φαίνονται συνοπτικά στο σχήμα 3.2. και αναλύονται παρακάτω λεπτομερώς.



Σχήμα 3.2 Διάγραμμα ροής της επεξεργασίας βιομηχανικής τομάτας

3.6.1. Συγκομιδή και μεταφορά της τομάτας

Η συγκομιδή και μεταφορά της τομάτας στο εργοστάσιο πρέπει να γίνεται σταδιακά και όταν η τομάτα ωριμάσει καλά. Η ώριμη τομάτα πρέπει να έχει ζωντανό κόκκινο χρώμα της ποικιλίας, υψηλή περιεκτικότητα σακχάρων και στερεού υπολείμματος (°Brix) και χαμηλή οξύτητα. Η συγκομιδή γίνεται είτε με τη βοήθεια εργατών, οι οποίοι μαζεύουν την τομάτα με τα χέρια είτε με τη βοήθεια συλλεκτικής μηχανής. Κατά τη συγκομιδή πρέπει να απομακρύνονται οι άρρωστες, άγουρες και μωχλιασμένες τομάτες. Η μεταφορά γίνεται την ίδια μέρα στο εργοστάσιο, οπότε και δεν χρειάζεται αποθήκευση του γεωργικού προϊόντος (Αγγίδης, 1996)

3.6.2. Παραλαβή της τομάτας

Η παραλαβή των τοματών από το εργοστάσιο γίνεται άμεσα μετά τη συγκομιδή και η μεταφορά τους σε χώρο με κατάλληλες συνθήκες για τη διατήρησή τους μέχρι την επεξεργασία. Η μεταφορά

τους γίνεται χρησιμοποιώντας νερό, ώστε οι τομάτες να μην υποστούν φθορά. Στη συνέχεια ακολουθεί δειγματοληψία, ώστε να γίνει ποιοτικός έλεγχος και ελεγχθεί η πρώτη ύλη ως προς τα ποιοτικά και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά της.

3.6.3. Πλύσιμο της τομάτας

Το νερό επίσης χρησιμεύει στο πλύσιμο των τοματών πριν την επεξεργασία, ώστε να μην προσχωρήσουν ξένες ουσίες (π.χ. χώμα) και ακαθαρσίες στο τελικό προϊόν. Το πλύσιμο συνεχίζεται στα πλυντήρια, δηλαδή δεξαμενές που διοχετεύεται αέρας υπό πίεση στον πυθμένα τους. Το πλύσιμο της τομάτας εκτελείται σε τρία στάδια: I. Στο πλυντήριο, όπου παραμένουν φύλλα, στελέχη, χώματα II. Στο κυρίως πλυντήριο. Σ αυτή τη φάση εκτοξεύεται αέρας μέσω αεροσυμπιεστή από σωληνώσεις που βρίσκονται στον πυθμένα του πλυντηρίου με αποτέλεσμα η πίεση που ασκείται να αναγκάζει τις τομάτες με την ανάδευση να πλένονται καλά. III. Με εκτόξευση νερού από μπέκ που βρίσκονται πάνω από τη μεταφορική ταινία. Το νερό που χρησιμοποιείται για τις τρεις φάσεις πλυσίματος της τομάτας είναι ζεστό (35°C-40°C) και προέρχεται από επιστροφές του συμπυκνωτή, συντελώντας στην οικονομία του νερού (Goose & Binsted, 1964).

3.6.4. Διαλογή της τομάτας

Η διαδικασία της διαλογής της πρώτης ύλης είναι μεγάλης σημασίας, γιατί έτσι εξασφαλίζεται η καλή ποιότητα των παραγόμενων προϊόντων. Η διαλογή γίνεται μετά το πλύσιμο των τοματών, πάνω σε μεταφορική ταινία, χειρωνακτικά. Οι τομάτες που μεταφέρονται πάνω στη μεταφορική ταινία περιστρέφονται, ώστε με αυτό τον τρόπο να απομακρύνονται οι ακατάλληλοι καρποί.

3.6.5. Αποφλοιώση

Η αποφλοιώση των ολόκληρων τοματών, λαμβάνει χώρα στη βιομηχανία τομάτας όταν πρέπει να παραχθούν ολόκληρες αποφλοιωμένες. Υπάρχουν πολλοί μέθοδοι βιομηχανικής αποφλοιώσης. Η αποφλοιώση με ατμό και η αποφλοιώση με χρήση ισχυρών βάσεων (lye peeling) είναι οι δυο συνηθέστεροι και οικονομικότεροι μέθοδοι αποφλοιώσης.

3.6.6. Θραύση

Η θραύση ακολουθεί τη διαλογή. Οι κατάλληλες για χυμοποίηση τομάτες αποφλοιώνονται και τεμαχίζονται σε ακανόνιστο σχήμα αφού πρώτα προθερμαθούν. Η προθέρμανση προκαλεί τη διάσπαση των πηκτινολυτικών ενζύμων, της πηκτινομεθυλεστεράσης και πολυγαλακτουρονάσης που ελευθερώνονται με το σπάσιμο της τομάτας, την απελευθέρωση των κολλοειδών ουσιών που περιβάλλουν τους σπόρους της τομάτας, τη διευκόλυνση της μεταφοράς της κόκκινης χρωστικής των φλοιών στο χυμό και τη διευκόλυνση του διαχωρισμού του χυμού και της διήθησης. Ακολουθεί

η θραύση τους που μπορεί να είναι είτε ψυχρή (cold break) είτε θερμή (hot break). Κατά την επεξεργασία της τομάτας, το αρχικό στάδιο θραύσης είναι σημαντικό για τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος. Όσον αφορά τη ψυχρή διάσπαση, το προϊόν που προκύπτει θα έχει ανώτερα ποιοτικά χαρακτηριστικά, όπως εντονότερο χρώμα, γεύση και τα θρεπτικά χαρακτηριστικά παραμένουν αναλλοίωτα λόγω των ήπιων θερμοκρασιών που χρησιμοποιούνται (60-75 °C). Σε αυτό το εύρος θερμοκρασιών, τα πηκτινολυτικά ένζυμα που είναι παρόντα στον καρπό της τομάτας διατηρούν τη δραστηριότητά τους προκαλώντας αποικοδόμηση των πηκτινικών ουσιών, με αποτέλεσμα την παραγωγή προϊόντων χαμηλού ιξώδους και στα οποία παρατηρείται εύκολα διαχωρισμός ορού κατά την παραμονή τους. Η μέθοδος αυτή ενδείκνυται στις περιπτώσεις παραγωγής τοματοπολτού τριπλής και υψηλής συμπύκνωσης. Όσον αφορά τη θερμή διάσπαση (θραύση σε πάνω από 90 °C), το προϊόν που προκύπτει διατηρεί υψηλό ιξώδες, έχει αυξημένη συνεκτικότητά λόγω της απενεργοποίησης των ενδογενών ενζύμων της τομάτας με αποτέλεσμα να αποφεύγεται η αποικοδόμηση των πηκτινικών ουσιών. Επίσης τα προϊόντα αυτά έχουν υποβαθμισμένα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, όπως το χρώμα και η γεύση. Ο τοματοπολτός που προέρχεται από προθέρμανση «Hot - Break», έχει συνεκτική υφή, συνεκτικότητα κατά Bostwick κάτω από 9 cm, ενώ δεν δημιουργεί ορό μετά από καιρό. Η μέθοδος αυτή και προτιμάται σε συμπυκνωμένα προϊόντα τομάτας, όπως είναι το κέτσαπ.

3.6.7. Αποχύμωση

Μετά το στάδιο της θραύσης γίνεται αποχύμωση του τοματοπολτού. Η μάζα των τοματών οδηγείται σε σύστημα εξαγωγής του χυμού, τους διαχωριστήρες (ραφινέζες), όπου ολοκληρώνεται η κατάτμηση και ο διαχωρισμός της σάρκας και πραγματοποιείται απομάκρυνση του φλοιού και των σπόρων. Οι διαχωριστήρες αποτελούνται από κυλινδρικά κόσκινα, που η διάμετρος των οπών τους κυμαίνεται από 0,5 έως 5mm. Κατά τη εξαγωγή του χυμού η ποιότητα του λαμβανόμενου προϊόντος επηρεάζεται σημαντικά από τη διάμετρο οπής του κόσκινου, καθώς και από την ταχύτητα περιστροφής των αναδευτήρων του. Μεγάλη διάμετρος οπής όπως επίσης και μεγάλη ταχύτητα περιστροφής συντελούν στην παραλαβή χυμού μεγαλύτερου ιξώδους (Goose & Binsted, 1973). Οι αποδόσεις σε χυμό τομάτας ποικίλουν ανάλογα με το υβρίδιο τομάτας που χρησιμοποιείται και το στάδιο ωρίμανσης του καρπού. Συνήθως η απόδοση κυμαίνεται από 75% έως και 80% σε χυμό τομάτας. Τα στερεά υπολείμματα της πρώτης χυμοποίησης (φλοιοί, σπόρια και ίνες) οδηγούνται σε πιεστήρια ώστε να αποδώσουν συμπληρωματικό ποσό χυμού τομάτας, φτάνοντας την τελική απόδοση σε χυμό περίπου κοντά στο 85-87%. Η ποιότητα αυτού του χυμού ως προς το ιξώδες του είναι αρκετά πιο υποβαθμισμένο σε σχέση με τον αρχικό χυμό τομάτας, λόγω των μεγαλύτερων οπών των διαχωριστήρων που

χρησιμοποιούνται στα υπολείμματα του πρώτου σταδίου (Goose & Binsted, 1964). Ο χυμός της τομάτας, περνώντας από τα τρία διαδοχικά κόσκινα, φιλτράρεται και τελικά συγκεντρώνεται σε δεξαμενές από ανοξείδωτο χάλυβα, χωρητικότητας 1000-2000 λίτρων περίπου. Για την παραγωγή χυμού καλής ποιότητας, η απαέρωσή του είναι επιτακτική εργασία, διότι αφαιρείται το ενσωματωμένο οξυγόνο του χυμού που προκαλεί οξειδώσεις και αλλοιώνει το χρώμα, τη γεύση, το άρωμα και το βιταμινικό του περιεχόμενο. Μέσα στις δεξαμενές του τοματοχυμού υπάρχουν αναδευτήρες για να αποφεύγονται τυχόν καθιζήσεις, όπως επίσης και πλωτήρες για την αποφυγή ξεχειλίσματος.

3.6.8. Συμπύκνωση

Στη συνέχεια ο χυμός τομάτας που παράχθηκε οδηγείται προς συμπύκνωση. Η συμπύκνωση γίνεται με εξάτμιση του νερού και λαμβάνεται τοματοπολτός επιθυμητής περιεκτικότητας σε διαλυτά στερεά. Πραγματοποιείται σε συνθήκες υπό κενό και χαμηλή θερμοκρασία (55-85 °C) που έχουν ως αποτέλεσμα την ταπείνωση του σημείου ζέσεως του νερού, ώστε να εξατμίζεται σε αυτές τις θερμοκρασίες. Έτσι, το τελικό προϊόν διατηρεί σε μεγάλο βαθμό το χρώμα, τη γεύση, το άρωμα και τη διατροφική αξία της νωπής τομάτας. Οι συμπυκνωτήρες που χρησιμοποιούνται είναι συνεχούς ροής και διακρίνονται σε απλής, διπλής, τριπλής και τετραπλής ενέργειας. Ο διαχωρισμός αυτός αφορά τα στάδια που πραγματοποιείται η συμπύκνωση. Στους συμπυκνωτές απλής ενέργειας η συμπύκνωση πραγματοποιείται σε ένα στάδιο, στους διπλής ενέργειας σε δύο στάδια, στους τριπλής σε τρία και σε τετραπλής ενέργειας σε τέσσερα στάδια. Σε όσο περισσότερα στάδια πραγματοποιείται η συμπύκνωση, τόσο περισσότερο αυξάνει η παραγωγή, ενώ οι απαιτήσεις σε ενέργεια είναι μικρότερες.

3.6.9. Θερμική επεξεργασία

Μετά τη συμπύκνωση ακολουθεί η θερμική επεξεργασία, που διακρίνεται σε παστερίωση και αποστείρωση ανάλογα το τελικό προϊόν. Για την παστερίωση του τοματοπολτού χρησιμοποιούνται κυρίως παστεριωτές, όπου ο τοματοπολτός θερμαίνεται σε θερμοκρασία 95°C και ακολουθεί πλήρωση των περιεκτών εν θερμώ. Με αυτόν τον τρόπο παρεμποδίζεται η επιβίωση μικροοργανισμών οι οποίοι μπορούν να προκαλέσουν αλλοίωση του προϊόντος. Στη συνέχεια οι περιέκτες κλείνονται και οδηγούνται σε ψύκτες όπου πραγματοποιείται σταδιακή ψύξη του προϊόντος (Goose & Binsted, 1973). Η εμπορική αποστείρωση πραγματοποιείται σε υψηλότερες θερμοκρασίες, 105-110°C, ανάλογα με το είδος του προϊόντος, και χρησιμοποιείται στην περίπτωση ασηπτικής συσκευασίας σε μεγάλους περιέκτες (200-1000 kg). Για την αποστείρωση χρησιμοποιούνται σωληνωτοί εναλλάκτες θερμότητας με θερμαντικό μέσο υπέρθερμο νερό. Η αποστείρωση πραγματοποιείται σε τρεις φάσεις: αρχικά το προϊόν

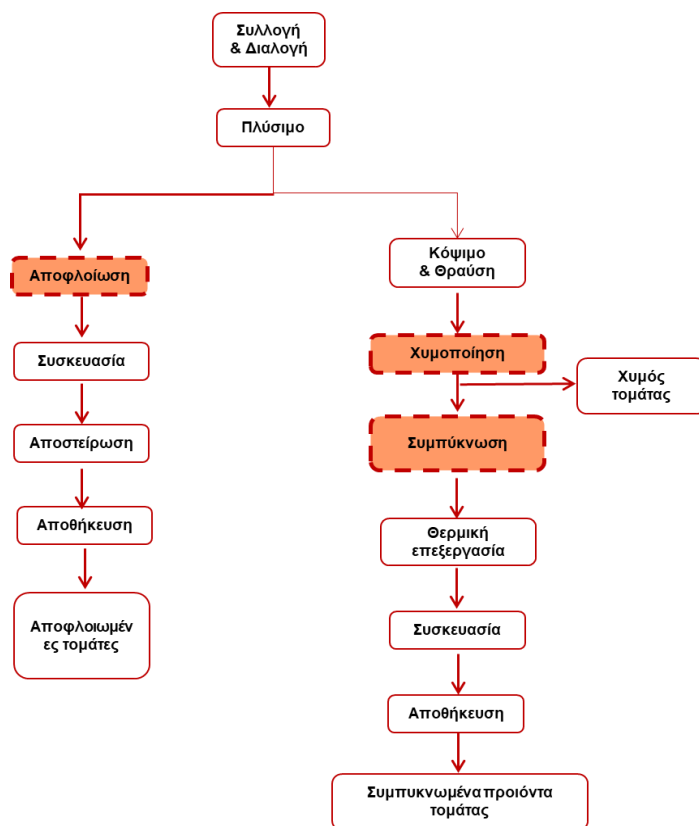
θερμαίνεται στην επιθυμητή θερμοκρασία, στη συνέχεια παραμένει στη θερμοκρασία αποστείρωσης για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα και τέλος ακολουθεί ψύξη του προϊόντος σε θερμοκρασία 35-40°C (Goose & Binsted, 1973).

3.6.10. Αποθήκευση

Τέλος, το προϊόν μετά τη συσκευασία του αποθηκεύεται στις αποθήκες, όπου παραμένει μέχρι τη διανομή και κατανάλωσή του.

3.7. Τα «επιλεγμένα» σημεία στην επεξεργασία βιομηχανικής τομάτας

Η βιομηχανία τομάτας είναι ένας από τους πιο παραγωγικούς κλάδους στη βιομηχανία τροφίμων παγκοσμίως. Ο κλάδος αντιμετωπίζει σημαντικές προκλήσεις στην παραγωγή προϊόντων, όσον αφορά την απόδοση, τις απώλειες και την υποβάθμιση της ποιότητας των τελικών προϊόντων.



Σχήμα 3.3 Τα «επιλεγμένα» στάδια στην επεξεργασία βιομηχανικής τομάτας

Στο σχήμα 3.3 φαίνονται τα επιλεγμένα στάδια στην επεξεργασία βιομηχανικής τομάτας, τα οποία θα αναλυθούν εκτενώς στις επόμενες παραγράφους. Συγκεκριμένα θα αναλυθούν οι συμβατικές

διεργασίες της αποφλοίωσης ολόκληρων τοματών, χυμοποίησης και συμπύκνωσης χυμών τομάτας και θα συγκριθούν με νέες καινοτόμες τεχνολογίες που μπορούν να εφαρμοσθούν ως προεπεξεργασίες στην εκάστοτε διεργασία με στόχο τη βελτίωση της αποφλοίωσης, την αύξηση της απόδοσης σε χυμό και σε συμπυκνωμένα προϊόντα τομάτας καθώς και τον ρόλο τους στην ποιότητα των τελικών προϊόντων τομάτας. Η επιλογή των συγκεκριμένων σταδίων στην επεξεργασία βιομηχανικής τομάτας έγινε με βάση τη δυνατότητα εφαρμογής των νέων διεργασιών ως προεπεξεργασίες στις ήδη υπάρχουσες συμβατικές διεργασίες.

3.8. Αποφλοίωση ολόκληρων τοματών

Στην περίπτωση των ολόκληρων τοματών, η αποφλοίωσή τους περιλαμβάνει τη χρήση συμβατικών μεθόδων (αποφλοίωση με ατμό ή με χρήση χημικών) αυξάνοντας σημαντικά τις απώλειες σε σάρκα τομάτας, καθώς επίσης την κατανάλωση ενέργειας και νερού. Επιπλέον απόβλητα με υψηλό pH δημιουργούνται, προκαλώντας σοβαρή περιβαλλοντική επιβάρυνση. Η ανάγκη για αναζήτηση και χρήση νέων εναλλακτικών μεθόδων αποφλοίωσης, την τελευταία δεκαετία είναι ένα γεγονός που απασχολεί τη βιομηχανία τομάτας. Παρακάτω, αναλύονται διεξοδικά οι συμβατικές μέθοδοι αποφλοίωσης τοματών, καθώς επίσης και νέες πολλά υποσχόμενες τεχνολογίες που πιθανώς θα μπορούσαν να αντικαταστήσουν τις παραδοσιακές μεθόδους αυξάνοντας την απόδοση της διεργασίας.

3.8.1. Συμβατικές μέθοδοι αποφλοίωσης της τομάτας

Παραδοσιακά, η διαδικασία αποφλοίωσης της τομάτας περιλαμβάνει μια σειρά βιοχημικών, θερμικών και φυσικών μηχανισμών για να «χαλαρώσουν» επαρκώς τον φλοιό για την περαιτέρω απομάκρυνσή του. Οι βιοχημικοί μηχανισμοί περιλαμβάνουν τη χημική διάσπαση της πηκτίνης και της ημικυτταρίνης στον φλοιό της τομάτας, προκαλώντας το άνοιγμα του φλοιού. Οι υψηλές θερμοκρασίες συμβάλλουν στο σχηματισμό ατμών κάτω από το δέρμα της τομάτας. Κατά συνέπεια, η διαφυγή του ατμού υπό πίεση λόγω αυξημένης εσωτερικής πίεσης οδηγεί στη θραύση του δέρματος της τομάτας.

Παρά το πλήθος των μεθόδων που χρησιμοποιούνται για την αποφλοίωση των τοματών, η αποτελεσματικότητά τους μπορεί να επηρεαστεί πολύ από διάφορους παράγοντες όπως η ποικιλία της τομάτας, το στάδιο ωριμότητας της, τη γεωγραφική θέση και το κλίμα όπου καλλιεργήθηκαν. Οι μέθοδοι αυτοί περιγράφονται επιγραμματικά παρακάτω.

3.8.1.1. Αποφλοίωση με ζεστό νερό ή ατμό

Στην αποφλοίωση με ζεστό νερό ή ατμό, οι τομάτες οδηγούνται σε ένα υδατόλουτρο υπό κενό και βυθίζονται μέσα σε αυτό. Το θερμικό φορτίο προκαλεί χαλάρωση του δέρματός της τομάτας και

οδηγεί στην αποτελεσματική απομάκρυνση του φλοιού από την υπόλοιπη σάρκα. Στη συνέχεια, οι τομάτες ψεκάζονται με κρύο νερό για να αποφευχθεί το υπερβολικό θερμικό φορτίο. Υπάρχουν δύο βασικά μηχανισμοί, οι οποίοι συμβάλλουν στην αποτελεσματικότητα της αποφλοιώσης της τομάτας χρησιμοποιώντας ατμό ή ζεστό νερό (>98°C, 15–60s, 165–179 kPa). Ο πρώτος μηχανισμός περιλαμβάνει βιοχημικές αλλαγές στις οποίες η κηρώδης επιδερμίδα της τομάτας, μαζί με άλλα χημικά συστατικά όπως η πηκτίνη και άλλοι πολυσακχαρίτες, μεταβάλλονται και αποσυντίθενται επηρεάζοντας την ακαμψία των κυτταρικών τοιχωμάτων. Ο δεύτερος μηχανισμός περιλαμβάνει τη μηχανική διάσπαση του κυττάρου ως αποτέλεσμα εσωτερικής πίεσης, λόγω του ατμού που εγκλωβίζεται κάτω από τη σάρκα και προκαλεί την αποτελεσματική αποκόλληση της. Παρόλο που αυτή η μέθοδος αποφλοιώσης είναι η οικονομικότερη από όλες τις υπόλοιπες συμβατικές μεθόδους αποφλοιώσης, η αποτελεσματικότητα και η απόδοση της είναι χαμηλές. Η υπερβολική αύξηση της θερμοκρασίας μπορεί να οδηγήσει σε υπερβολικό μαλάκωμα της σάρκας, προκαλώντας μεγάλες απώλειες σε προϊόν και να προκαλέσει επίσης και υποβάθμιση των προϊόντων λόγω απώλειας των θρεπτικών συστατικών. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, οι Garcia & Barrett (2015), μελέτησαν την αποφλοιώση τοματών με ατμό υπό πίεση και βρήκαν ότι η βέλτιστη συνθήκη αποφλοιώσης που οδήγησε στις μικρότερες απώλειες ήταν στα 124 kPa για 45 και 75 s. Στις ίδιες συνθήκες η σκληρότητα των τοματών μειώθηκε σημαντικά.

3.8.1.2. Αποφλοιώση με χημική προκατεργασία

Στην αποφλοιώση με χημική προεπεξεργασία, οι τομάτες βυθίζονται σε ένα διάλυμα ισχυρής βάσης με υψηλή συγκέντρωση (8-25%), και σε υψηλή θερμοκρασία, η οποία αποπολυμερίζει το εξωτερικό στρώμα του φλοιού τομάτας, διευκολύνοντας τον διαχωρισμό και την απομάκρυνση του φλοιού από την υπόλοιπη σάρκα. Παρόλο που αυτή η μέθοδος αποφλοιώσης αναφέρεται ότι είναι πολύ πιο αποτελεσματική στην παραγωγή προϊόντων υψηλής ποιότητας με υψηλή απόδοση αποφλοιώσης, η χρήση της παρουσιάζει πολλά προβλήματα, όπως υψηλή κατανάλωση νερού και ενέργειας και ειδικά η απόρριψη μεγάλων ποσοτήτων αποβλήτων που χαρακτηρίζονται από υψηλή αλατότητα και υψηλό οργανικό περιεχόμενο. Ως αποτέλεσμα των περιβαλλοντικών ανησυχιών σχετικά με την απόρριψη χημικών στο περιβάλλον έχουν αναζητηθεί εναλλακτικές λύσεις που θα έχουν λιγότερες περιβαλλοντικές επιπτώσεις. Αυτές περιλαμβάνουν τη χρήση υδροξειδίου του καλίου ή του ασβεστίου έναντι του υδροξειδίου του νατρίου, καθώς τα ιόντα καλίου και ασβεστίου που απορρίπτονται στο έδαφος μπορούν να είναι ωφέλιμα για τα φυτά, σε αντίθεση με τα ιόντα νατρίου που είναι τοξικά γι' αυτά. Οι Das & Barringer (2006), μελέτησαν την αποφλοιώση τοματών με χημική κατεργασία συγκρίνοντας διαλύματα KOH και Ca(OH)₂ με το δείγμα αναφοράς (NaOH). Έδειξαν ότι η χρήση διαλύματος KOH σε χαμηλές συγκεντρώσεις

(<4,5N) οδήγησε σε αύξηση της απόδοσης αποφλοίωσης τοματών (79%) και ταυτόχρονα μείωσε την απαιτούμενη ενέργεια, έχοντας περιβαλλοντικό όφελος.

3.8.1.3. Αποφλοίωση με κατάψυξη

Παρόμοια με την αποφλοίωση με ατμό και χημική επεξεργασία, μία ακόμη μέθοδος που χρησιμοποιείται είναι η αποφλοίωση με κατάψυξη των τοματών. Ο μηχανισμός στηρίζεται στη ρήξη των επιδερμικών κυττάρων του φλοιού τομάτας με αποτέλεσμα να διευκολύνεται η αφαίρεση της. Η διαδικασία της κατάψυξης γίνεται χρησιμοποιώντας χλωριούχο ασβέστιο (CaCl₂) ή Freon. Η ρήξη του κυτταρικού τοιχώματος του φλοιού τομάτας ενισχύει την άμεση απελευθέρωση πηκτολυτικών ενζύμων της τομάτας, τα οποία υδρολύουν την πηκτίνη. Στη συνέχεια, οι τομάτες μεταφέρονται σε ζεστό νερό για να γίνουν περαιτέρω οι ενζυμικές δραστηριότητες. Αν και διάφορες έρευνες έχουν δείξει ότι η αποφλοίωση με κατάψυξη μπορεί να είναι επωφελής και να ελαχιστοποιήσει τις απώλειες σε προϊόν, ψυκτικά όπως το Freon έχει θεωρηθεί επικίνδυνο για το περιβάλλον καθώς και για τον άνθρωπο, και αυτός ήταν ο λόγος για τον οποίο η αποφλοίωση με κατάψυξη με χρήση Freon δεν εμπορευματοποιήθηκε. Ακόμα ένα μειονέκτημα της μεθόδου αυτής, είναι η μεγάλη κατανάλωση ενέργειας που απαιτείται και η χρονοβόρα διαδικασία που απαιτείται ώστε να μπορέσει ο μεγάλος όγκος τοματών να καταψυχθεί. Οι Brown et al. (2006) μείωσαν τις απώλειες στην αποφλοίωση τοματών έως και 50% εφαρμόζοντας ως προεπεξεργασία στις τομάτες την κατάψυξη με χρήση υγρού N₂.

3.8.1.4. Αποφλοίωση με χρήση ενζύμων

Η αποφλοίωση με χρήση ενζύμων περιλαμβάνει την επεξεργασία των τοματών με ειδικά ένζυμα, τα οποία χρησιμοποιούν ως υποστρώματά τους τα δομικά συστατικά του φλοιού. Η επιδερμική στοιβάδα της τομάτας αποτελείται κυρίως από δομικούς υδατάνθρακες όπως πηκτίνη, κυτταρίνη και ημικυτταρίνη, οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για την προσκόλληση και τη δυσκαμψία του φλοιού. Κατά τη διάρκεια της αποφλοίωσης με ένζυμα, αυτοί οι δομικοί υδατάνθρακες διασπώνται ως αποτέλεσμα της υδρόλυσης τους που καταλύεται από αυτά τα ένζυμα όπως πηκτινάσες, κυτταρινάσες και ημικυτταρίνες, αντίστοιχα. Σε σύγκριση με τις συμβατικές μεθόδους που περιγράφηκαν προηγουμένως, η αποφλοίωση με ένζυμα έχει θεωρηθεί φιλική προς το περιβάλλον και οικονομικά αποδοτική, καθώς δεν γίνεται χρήση χημικών και ταυτόχρονα η απόδοση της διεργασίας είναι υψηλή.

3.8.2. Νέες τεχνολογίες για την αποφλοίωση τοματών

Ως απάντηση στις συνεχώς αυξανόμενες περιβαλλοντικές ανησυχίες σχετικά με τα απόβλητα από τη χρήση χημικών στην αποφλοίωση τοματών και για τη μείωση των απωλειών σε προϊόν,

ορισμένες νέες, εναλλακτικές και φιλικές στο περιβάλλον, μη χημικές διεργασίες ερευνήθηκαν πρόσφατα σε εργαστηριακή κλίμακα. Αυτές οι διεργασίες περιλαμβάνουν την αποφλοιώση τοματών με υπέρυθη ακτινοβολία, με ωμική θέρμανση, με υπέρηχους και με παλμικά ηλεκτρικά πεδία. Επί του παρόντος, αυτές οι νέοι μέθοδοι βρίσκονται ακόμη σε εργαστηριακή κλίμακα, απαιτώντας βελτιστοποίηση και πιλοτικές δοκιμές προτού εξεταστούν για εμπορευματοποίηση. Παρακάτω θα δοθεί έμφαση στην αποφλοιώση με παλμικά ηλεκτρικά πεδία, καθώς αυτή η διεργασία και η εφαρμογή της στο στάδιο της αποφλοιώσης τοματών αποτελεί αντικείμενο αυτής της διατριβής.

3.8.2.1. Αποφλοιώση με παλμικά ηλεκτρικά πεδία

Η διεργασία των Παλμικών Ηλεκτρικών Πεδίων (ΠΗΠ) είναι μία πολλά υποσχόμενη νέα διεργασία που στηρίζεται στην εφαρμογή μικρής διάρκειας παλμών υψηλής έντασης ($E < 10 \text{ kV/cm}$) για πολύ μικρούς χρόνους προκαλώντας ηλεκτροδιάτρηση των κυτταρικών μεμβρανών. Η δημιουργία πόρων οδηγεί στην αύξηση της διαπερατότητας της μεμβράνης προκαλώντας αλλαγές ή τροποποιήσεις στη δομή των τροφίμων χωρίς να προκαλεί υποβάθμιση του τροφίμου λόγω των ήπιων θερμοκρασιών που χρησιμοποιεί. Η διεργασία των ΠΗΠ θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως μέθοδος αποφλοιώσης τοματών ή να χρησιμοποιηθεί ως προκατεργασία στις συμβατικές μεθόδους (αποφλοιώση με ατμό) με στόχο το χαμηλότερο ενεργειακό κόστος ($W_T < 10 \text{ kJ/kg}$) και την κατανάλωση νερού της διεργασίας και την αύξηση της απόδοσης της αποφλοιώσης με όσο το δυνατόν μικρότερες απώλειες. Τα ΠΗΠ μπορεί εύκολα να ενσωματωθεί στη γραμμή επεξεργασίας βιομηχανικής τομάτας, πριν από το στάδιο της αποφλοιώσης με ατμό ή να το αντικαταστήσει πλήρως. Τα ΠΗΠ προκαλεί μαλάκωμα του φυτικού ιστού οδηγώντας σε αποτελεσματικότερη απομάκρυνση του φλοιού από την υπόλοιπη σάρκα με πολύ μικρές απώλειες προϊόντος και χωρίς να υποβαθμίζει ποιοτικά το τελικό προϊόν. Η έκθεση ενός φυτικού ιστού στο ηλεκτρικό πεδίο προωθεί τη μαζική μεταφορά νερού μέσα στον καρπό, αυξάνοντας την ποσότητα νερού κάτω από το δέρμα της τομάτας. Καθώς εξατμίζεται περισσότερο νερό κατά τη θέρμανση με ατμό, οι τομάτες που έχουν υποστεί προεπεξεργασία με ΠΗΠ, εμφανίζουν μεγαλύτερη διαφορά πίεσης στο δέρμα τους. Η προεπεξεργασία με ΠΗΠ πραγματοποιείται σε πολύ ήπιες συνθήκες, μειώνοντας την επιφανειακή αντίσταση του δέρματος της τομάτας οδηγώντας σε εύκολη αποκόλληση της από την υπόλοιπη σάρκα. Αυτό διευκολύνει το σχηματισμό ακόμη περισσότερων ρωγμών στους φλοιούς της τομάτας, οι οποίοι στη συνέχεια αφαιρούνται εύκολα. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη μειωμένη απώλεια σε προϊόν, τη βελτιωμένη ποιότητα και λειτουργικότητα του τελικού προϊόντος και τη μειωμένη κατανάλωση νερού και ενέργειας. Η αποφλοιώση των τοματών υποβοηθούμενη από τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία

αποφεύγει την ανάγκη υπερθέρμανσης του καρπού. Υπό ήπιες συνθήκες, το σχήμα και η υφή των τοματών διατηρούνται. Επιπρόσθετα, η χρήση ήπιων θερμοκρασιών διατηρεί τις θερμοευαίσθητες ενώσεις όπως οι βιταμίνες C και A και άλλες αντιοξειδωτικές ενώσεις που περιέχει ο καρπός της τομάτας. Η εφαρμογή των ΠΗΠ (0,5 kV/cm, 1 kJ/kg) στην αποφλοιώση των τοματών σε συνδυασμό με τη συμβατική μέθοδο με ατμό (1 min, 70 °C) μελετήθηκε από τους Pataro et al. (2018), οι οποίοι απέδειξαν ότι η προεπεξεργασία με ΠΗΠ αύξησε την απόδοση της αποφλοιώσης μειώνοντας έως και 90% την απαιτούμενη συνολική ενέργεια της διεργασίας. Η μελέτη και η εφαρμογή των ΠΗΠ ως προκατεργασία πριν το στάδιο της αποφλοιώσης τοματών είναι αρκετά περιορισμένη στη βιβλιογραφία.

Στην παρούσα διατριβή, η αποφλοιώση υποβοηθούμενη από ΠΗΠ ολόκληρων τοματών αποτελεί αντικείμενό της, το οποίο θα παρουσιασθεί εκτενώς στα κεφάλαια με τα αποτελέσματα. Η αποφλοιώση υποβοηθούμενη από ΠΗΠ θα συγκριθεί με συμβατικές μεθόδους αποφλοιώσης και ως προς την απόδοση, την απώλεια προϊόντος, την καταναλισκόμενη ενέργεια αλλά και ως προς τα τελικά ποιοτικά χαρακτηριστικά των αποφλοιωμένων ολόκληρων τοματών.

3.9. Χυμοποίηση τοματών

Το δεύτερο επιλεγμένο στάδιο προς μελέτη στην επεξεργασία βιομηχανικής τομάτας είναι το στάδιο της χυμοποίησης των τοματών. Κατά τη διάρκεια της παραγωγής χυμού τομάτας, οι ολόκληρες τομάτες αφού πρώτα τεμαχιστούν σε μικρότερα κομμάτια χυμοποιούνται. Οι τυπικές αποδόσεις της διεργασίας είναι 70-80% κατά το πρώτο στάδιο της χυμοποίησης, ανάλογα με την ποικιλία, την ωριμότητα των τοματών αλλά και τον εξοπλισμό που χρησιμοποιείται για την εξαγωγή του χυμού. Τα υπολείμματα από το πρώτο στάδιο χυμοποίησης (τα οποία περιέχουν σπόρους, φλοιούς και ένα μικρό ποσοστό υπολειπόμενης μη επεξεργασμένης σάρκας τομάτας) επαναχυμοποιούνται, ώστε η απόδοση σε χυμό τομάτας να φθάσει έως το 85-90%. Η ποιότητα αυτού του χυμού ως προς το ιζώδες του είναι αρκετά πιο υποβαθμισμένο σε σχέση με τον αρχικό χυμό τομάτας, λόγω των μεγαλύτερων οπών των διαχωριστήρων που χρησιμοποιούνται στα υπολείμματα του πρώτου σταδίου πριν τη δεύτερη χυμοποίηση. Επομένως, η επαναχυμοποίηση υποβαθμίζει την ποιότητα των τελικών χυμών τομάτας αυξάνοντας το ιζώδες του τελικού χυμού και υποβαθμίζοντας τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τοματοχυμού. Ο Gould (1992) πρότεινε ότι κατά τη χυμοποίηση θα πρέπει να προτιμούνται χαμηλότεροι ρυθμοί εξαγωγής χυμού τομάτας. Το ποσοστό του χυμού που εκχυλίζεται κατά το στάδιο της χυμοποίησης επηρεάζει τη γεύση του τελικού προϊόντος. Η βέλτιστη απόδοση που προτάθηκε ήταν περίπου 70%. Σε αυτή την απόδοση χυμοποίησης, ο προκύπτον χυμός τομάτας θα έχει πιο έντονη γεύση αυξάνοντας την προτίμηση των καταναλωτών σε αυτό.

Επιπλέον, έχει αποδειχθεί βιβλιογραφικά (Noomhorm & Tansakul, 1992) ότι οι οπές των διαχωριστήρων επηρεάζουν σημαντικά και την απόδοση σε χυμό τομάτας αλλά και το τελικό ιξώδες του. Όσο μεγαλύτερο είναι το μέγεθος των οπών το ιξώδες του χυμού αυξάνεται (μειώνεται η συνεκτικότητα κατά Bostwick). Οι Noomhorm & Tansakul (1992) απέδειξαν ότι αυξάνοντας το μέγεθος των οπών από 1 mm σε 1,5 mm, η απόδοση σε χυμό τομάτας αυξήθηκε από 72,5 σε 73,5% και το ιξώδες από 0.81 σε 3.79 Pa*s. Αυτή η δραματική αύξηση του ιξώδους οφείλεται στην εξαγωγή μεγαλύτερων σωματιδίων όσο το μέγεθος των οπών μεγαλώνει (Tanglertraibul & Rao, 1987), υποβαθμίζοντας την υφή του χυμού, εμποδίζοντας την περαιτέρω επεξεργασίας του. Βιομηχανικά, το μεγαλύτερο μέγεθος των οπών χρησιμοποιείται κατά το δεύτερο στάδιο της χυμοποίησης, δημιουργώντας σημαντικές προκλήσεις ως προς την τελική ποιότητα των χυμών τομάτας. Στον Πίνακα 3.4 παρουσιάζεται η τυπική απόδοση σε χυμό τομάτας και η συνεκτικότητα του χυμού που παραλαμβάνεται από κάθε στάδιο χυμοποίησης ανάλογα με τη διάμετρο των οπών του διαχωριστήρα που χρησιμοποιείται σε κάθε περίπτωση.

Πίνακας 3.4. Τυπική απόδοση σε χυμό τομάτας και η συνεκτικότητα του χυμού τομάτας που παραλαμβάνεται από κάθε στάδιο χυμοποίησης ανάλογα με τη διάμετρο των οπών του διαχωριστήρα που χρησιμοποιείται σε κάθε περίπτωση

| Στάδιο χυμοποίησης | Διάμετρος οπών διαχωριστήρων (mm) | Απόδοση σε χυμό τομάτας (%) | Συνεκτικότητα κατά Bostwick (cm) |
|--------------------|---|--------------------------------|--|
| Πρώτο | 3.5-5.0 | | <12 |
| Πρώτο | 2.0-3.5 | 70-80 | <15 |
| Πρώτο | 1.0-0.5 | | <18 |
| Δεύτερο | 4.0-5.0 | 10-15 | <9 |

*Gould,1992

3.9.1. Εφαρμογή των ΠΗΠ στην αύξηση της απόδοσης και στη βελτίωση των ποιοτικών χαρακτηριστικών χυμού τομάτας

Επομένως, η ανάγκη για χρήση μεθόδων που δυνητικά θα μπορούσαν να αυξήσουν την απόδοση σε χυμό τομάτας και ταυτόχρονα να βελτιώσουν την ποιότητα του παραγόμενου χυμού (ιξώδες, συνεκτικότητα, χρώμα) και τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά (άρωμα) είναι μεγάλη. Προεπεξεργασίες που προκαλούν ρήξη της κυτταρικής δομής ή διαπερατότητα των φυτικών κυττάρων μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αύξηση της απόδοσης κατά τη χυμοποίηση τοματών. Μία πολλά υποσχόμενη τεχνολογία που έχει εφαρμοσθεί εκτενώς και σε εργαστηριακή και σε βιομηχανική κλίμακα για την αύξηση της απόδοσης χυμού από φυτικά προϊόντα είναι τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία (ΠΗΠ).

Τα ΠΗΠ χρησιμοποιούνται συνήθως στην επεξεργασία τροφίμων σε χαμηλές ή μέτριες εντάσεις (1–5 kV/cm), προκειμένου να ενισχυθούν τα φαινόμενα μεταφοράς μάζας. Αυτή η διεργασία, μέσω της αύξησης της διαπερατότητας των κυτταρικών μεμβρανών που προκαλεί, προσφέρει τη δυνατότητα αποτελεσματικής ενίσχυσης της μεταφοράς μάζας από τους φυτικούς ιστούς, οδηγώντας σε σημαντική εξοικονόμηση ενέργειας, σε αυξημένες αποδόσεις κατά την εξαγωγή χυμού, καθώς και στη βελτίωση ποιοτικών χαρακτηριστικών των τελικών προϊόντων, καθώς λόγω των ήπιων θερμοκρασιών που χρησιμοποιεί αυτά δεν υποβαθμίζονται. Το χρώμα και το ιξώδες είναι τα πιο σημαντικά ποιοτικά χαρακτηριστικά του χυμού ντομάτας που επηρεάζουν την επιλογή του καταναλωτή. Επομένως, είναι σημαντικά κριτήρια τα οποία δεν πρέπει να επηρεάζονται ή να υποβαθμίζονται κατά τη διάρκεια των σταδίων επεξεργασίας της τομάτας.

Στην παρούσα διατριβή, η εφαρμογή των ΠΗΠ στο στάδιο της χυμοποίησης τοματών και στην ποιότητα των τελικών χυμών έχει μελετηθεί διεξοδικά και θα αναλυθεί σε επόμενο κεφάλαιο.

3.10. Συμπύκνωση χυμού τομάτας σε συνδυασμό με τη δράση των πηκτινολυτικών ενζύμων τομάτας

Το τρίτο επιλεγμένο στάδιο προς μελέτη στην επεξεργασία βιομηχανικής τομάτας είναι η συμπύκνωση. Όπως έχει ήδη προαναφερθεί, στο στάδιο της συμπύκνωσης γίνεται με εξάτμιση του νερού και λαμβάνεται τοματοπολτός επιθυμητής περιεκτικότητας σε διαλυτά στερεά. Πραγματοποιείται σε συνθήκες υπό κενό και χαμηλή θερμοκρασία (55-85 °C) έτσι ώστε το τελικό προϊόν διατηρεί σε μεγάλο βαθμό το χρώμα, τη γεύση, το άρωμα και τη διατροφική αξία της νωπής τομάτας. Από τα στάδια της συμπύκνωσης μπορεί να ληφθούν δύο ειδών συμπυκνωμένα προϊόντα τομάτας. Οι συμπυκνωμένες πάστες τομάτας που έχουν προκύψει από την «ψυχρή θραύση» και από την «θερμή» θραύση. Η υφή των δύο αυτών τελικών προϊόντων εξαρτάται από τη δράση των ενζύμων της τομάτας κατά τη διάρκεια της συμπύκνωσης. Τα προϊόντα τομάτας «ψυχρής» θραύσης έχουν ανώτερα ποιοτικά χαρακτηριστικά (χρώμα, άρωμα) με χαμηλό ιξώδες στα οποία παρατηρείται εύκολα διαχωρισμός ορού, λόγω της δράσης πηκτινολυτικών ενζύμων (PME και PG), τα οποία διατηρούν τη δραστηριότητα τους καθ' όλη τη διάρκεια της διεργασίας προκαλώντας αποικοδόμηση πηκτικών ουσιών. Το ιξώδες παίζει πολύ σημαντικό ρόλο σε αυτά τα προϊόντα, καθώς καθορίζει την υφή και τη συνεκτικότητα τους (Alviar & Reid, 1990). Η PME απομεθυλιώνει τις πηκτίνες του κυτταρικού τοιχώματος της τομάτας παράγοντας μεθανόλη και ελεύθερες καρβοξυλομάδες ενώ η PG αποπολυμερίζει τις απομεθοξυλιωμένες πηκτίνες, υδρολύοντας τους α-1,4-γλυκοσιδικούς δεσμούς της αλυσίδας του πολυγαλακτουρονικού οξέος, σχηματίζοντας πολυγαλακτουρονικά οξέα χαμηλότερου μοριακού βάρους και μονομερή γαλακτουρονικού οξέος. Αυτά τα δύο ένζυμα, όταν δρουν συνεργιστικά, οδηγούν στον

αποπολυμερισμό αλυσίδων της πηκτίνης του κυτταρικού τοιχώματος προκαλώντας δραστική πτώση του ιξώδους (Fachin et al., 2003). Ωστόσο, όταν η PME ενεργεί μόνη της, τα ελεύθερα τμήματα της καρβοξυλομάδας στις πλευρικές αλυσίδες της πηκτίνης αλληλοεπιδρούν με τα δισθενή κατιόντα, όπως Ca^{2+} και σχηματίζεται ένα συνδεδεμένο δίκτυο που οδηγεί σε αύξηση του ιξώδους του χυμού τομάτας (Crelier, et al., 2001; Errington, et al., 1998). Επομένως, έχει μεγάλη σημασία για τη βιομηχανία τομάτας ο έλεγχος της δραστικότητας των δύο αυτών πηκτινολυτικών ενζύμων, πριν το στάδιο της συμπύκνωσης ώστε να παραχθούν συμπυκνωμένα προϊόντα ανώτερης ποιότητας. Η θερμική επεξεργασία χρησιμοποιείται εδώ και δεκαετίες στη βιομηχανία τροφίμων και στοχεύει στην απενεργοποίηση μικροοργανισμών και ενζύμων που υποβαθμίζουν την ποιότητα των τροφίμων. Η βιομηχανία τομάτας χρησιμοποιεί συνήθως θερμική επεξεργασία για την απενεργοποίηση της PME και της PG στην τομάτα (Gould, 2013), χωρίς να μπορεί να πετύχει την επιθυμητή επιλεκτική απενεργοποίηση της PG με ταυτόχρονη διατήρηση της PME που θα επέτρεπε στην παραγωγή προϊόντων τομάτας με βελτιωμένη υφή. Επιπλέον, η PG έχει βρεθεί ότι είναι πιο ανθεκτική στη αύξηση της θερμοκρασίας σε σχέση με την PME (Crelier et al., 2001; Stoforos, et al., 2002), καθιστώντας την επιλεκτική απενεργοποίηση της αδύνατη.

3.10.1. Εφαρμογή των ΠΗΠ και της ΥΠ στην παραγωγή συμπυκνωμένων προϊόντων τομάτας

Η Υπερυψηλή Πίεση και τα Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία είναι δυο νέες μη θερμικές τεχνολογίες τροφίμων που χρησιμοποιούνται εκτενώς για την απενεργοποίηση μικροοργανισμών και ενζύμων σε τρόφιμα επηρεάζοντας ελάχιστα τα ποιοτικά, θρεπτικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του. Η χρήση των δυο τεχνολογιών για την απενεργοποίηση των πηκτινολυτικών ενζύμων σε τομάτα (Crelier et al., 2001; Kalamaki et al., 2012) έχει μελετηθεί αναλυτικά στη βιβλιογραφία (Πίνακας 3.5). Η συμπεριφορά των δυο ενζύμων στην εφαρμογή της πίεσης και του ηλεκτρικού πεδίου είναι πολύ διαφορετική, επιτρέποντας την επιλεκτική απενεργοποίηση της PG και την πλήρη δράση της PME με τη χρήση αυτών των δυο τεχνολογιών, καθιστώντας δυνατή τη βελτίωση της υφής των τελικών συμπυκνωμένων προϊόντων τομάτας.

Στην παρούσα διατριβή, η συμπεριφορά των δυο ενζύμων στην εφαρμογή της ΥΠ και των ΠΗΠ και η δράση τους στα ποιοτικά χαρακτηριστικά και τη διατηρησιμότητα των συμπυκνωμένων προϊόντων τομάτας έχει μελετηθεί διεξοδικά και θα παρουσιασθεί σε επόμενο κεφάλαιο.

Πίνακας 3.5. Ανασκόπηση βιβλιογραφίας με μελέτες που αφορούν τη χρήση νέων τεχνολογιών της Υπερυψηλής Πίεσης και των Παλμικών Ηλεκτρικών Πεδίων στην ενεργότητα της PME & και της PG από τομάτα.

| Τεχνολογία | Ένζυμο τομάτας | Συνθήκες | Αποτελέσματα της έρευνας | Βιβλιογραφία |
|------------------------|----------------|---|---|------------------------------|
| High Pressure | PME | >700 MPa | Πλήρης απενεργοποίηση PME | Rodrigo et al. (2006) |
| High Pressure | PME | 800 MPa, 20°C, 10 min | 30% απενεργοποίηση PME | Houben et al. (2012) |
| High Pressure | PME | 400-800 MPa, 25-45°C | Πλήρης απενεργοποίηση PME | Shook et al. (2001) |
| High Pressure | PME & PG | 600 MPa, 30°C, 5 min | 0% απενεργοποίηση PME & Πλήρης απενεργοποίηση PG. | Crelief et al. (2001) |
| High Pressure | PME | 850 MPa, 15 min | 50% απενεργοποίηση PME | Plaza et al. (2007) |
| High Pressure | PME | 150 MPa, 30 °C | Απενεργοποίηση 32.5 % | Hernández et al. (1998) |
| High Pressure | PME & PG | 700 MPa, 20 °C | Ενεργοποίηση της PME & 70% απενεργοποίηση PG | Krebbbers et al. (2003) |
| High Pressure | PME & PG | 500 MPa for 10 min at 55 °C | 8% απενεργοποίηση PME & πλήρης απενεργοποίηση PG. | Μπουλέκου, (2010) |
| Pulsed Electric fields | PME & PG | 35 kV/cm, 1500 μs και συχνότητα 100 Hz | 82% απενεργοποίηση PME & 12% απενεργοποίηση PG | Martín-Belloso (2007) |
| Pulsed Electric fields | PME | 87 kV/cm, 40 παλμούς, 50 ° C | Απενεργοποίηση 55% | Nguyen και Mittal (2007) |
| Pulsed Electric fields | PME | 24 kV/cm, 400 παλμούς, πλάτος παλμού 20 μs. | Απενεργοποίηση 93,8% | Giner et al. (2000) |
| Pulsed Electric fields | PME | 30 kV/cm, 4000s | Απενεργοποίηση <10% | Van Loey et al. (2002) |
| Pulsed Electric fields | PME & PG | 80 kV/cm, 20 pulses, 50 °C | 55% απενεργοποίηση PME & 0% απενεργοποίηση PG. | Nguyen et al. (2007) |
| Pulsed Electric fields | PME & PG | 35 kV/cm, 250 Hz, 7 μs, ροή 60 mL/min | 10% απενεργοποίηση PME & 45% απενεργοποίηση PG. | Aguilo-Aguayo et al. (2009a) |

3.11. Το ελαιόλαδο

Ελαιόλαδο είναι ο ελαιώδης χυμός ο οποίος έχει διαχωριστεί από τα υπόλοιπα συστατικά του καρπού της ελιάς αποκλειστικά με μηχανικούς τρόπους και μεθόδους ή επεξεργασίες οπωσδήποτε φυσικές, σε θερμοκρασίες που να μην προκαλούν αλλοίωση του προϊόντος (CAC, 2007). Το ελαιόλαδο καταναλώνεται χωρίς καμία επεξεργασία, γι' αυτό διατηρεί τη γεύση, το άρωμα και όλες τις ευεργετικές ιδιότητες του ελαιόκαρπου.

Η παραγωγή του ελαιόλαδου αντιπροσωπεύει περίπου το 2% του παγκόσμιου εμπορίου βρώσιμων φυτικών ελαίων, που αντιστοιχεί στο 30% του παγκόσμιου εμπορίου τροφίμων (Luchetti et al., 2002). Η εμπορική καλλιέργεια του ελαιόδεντρου περιορίζεται σχεδόν αποκλειστικά στις μεσογειακές χώρες της Ιταλίας, της Ελλάδας, της Ισπανίας, της Τουρκίας και της Τυνησίας. Η Ελλάδα αποτελεί την τρίτη χώρα παραγωγής ελαιόλαδου, ακολουθώντας την Ισπανία και την Ιταλία (Luchetti et al., 2002).

3.11.1. Η σύσταση του ελαιόλαδου

Το ελαιόλαδο είναι μια λιπαρή ουσία, που προέρχεται από το καρπό της ελιάς. Υπερτερεί έναντι των άλλων λιπαρών ουσιών που χρησιμοποιούνται στη διατροφή του ανθρώπου. Η θερμιδική του αξία είναι ίδια με εκείνη των άλλων λιπαρών ουσιών τα άλλα όμως ποιοτικά του χαρακτηριστικά είναι τέτοια, ώστε να του εξασφαλίζουν προβάδισμα σε ο,τι αφορά τη θρεπτική, βιολογική και την υγιεινολογική του αξία. Το ελαιόλαδο είναι ένα φυτικό έλαιο που η κύρια διαφορά του, από πλευράς χημικής σύστασης, με τα υπόλοιπα έλαια είναι η υψηλή περιεκτικότητα του σε μονοακόρεστα λιπαρά οξέα. Πιο αναλυτικά, τα συστατικά του ελαιόλαδου διακρίνονται σε σαπωνοποιησίμα (98,0-99,5) και ασαπωνοποίητα.

-Σαπωνοποίησιμο κλάσμα του ελαιόλαδου

Το σαπωνοποίησιμο κλάσμα του ελαιόλαδου περιλαμβάνει κυρίως τριγλυκερίδια (98-99%) και δευτερευόντως μονοακυλογλυκερόλες (0,2%), διακυλογλυκερόλες (1,3%), ελεύθερα λιπαρά οξέα (FFAs), φωσφολιπίδια (40-135 mg/kg ελαίου) και εστέρες στερολών.

Τα κυριότερα λιπαρά οξέα που υπάρχουν στο ελαιόλαδο είναι: ελαϊκό οξύ (C18:1) (56-84%), παλμιτικό οξύ (C16:1) (12-14%), λινελαϊκό οξύ (C18:2) (8-10%), στεατικό οξύ (C18:0) (2-3%), και λινολενικό οξύ (C18:3) (1%), ενώ σε ίχνη βρίσκονται το μυριστικό οξύ (C14:0), το επταδεκανοϊκό οξύ και το εικοσανοϊκό οξύ. Η υψηλή περιεκτικότητα του ελαιόλαδου σε ελαϊκό οξύ (56-84% επί των συνολικών λιπαρών οξέων) και η χαμηλή περιεκτικότητα λινελαϊκού οξέος (10%) και

λινολενικού οξέος (1%), προσδίδει στο ελαιόλαδο γευστική σταθερότητα και υψηλή οξειδωτική σταθερότητα (White, 2008; Banks et al., 2001).

-Μη σαπωνοποίηση κλάσμα του ελαιόλαδου

Το μη σαπωνοποίησιμο κλάσμα (0,5-1,5%) του ελαιόλαδου αποτελείται από υδατοδιαλυτές ενώσεις μερικές εκ των οποίων είναι υπεύθυνες για την υψηλή οξειδωτική σταθερότητα που χαρακτηρίζει το ελαιόλαδο. Το ασαπωνοποίητο κλάσμα περιλαμβάνει:

(α) Τοκοφερόλες. Το παρθένο ελαιόλαδο έχει επίπεδα τοκοφερολών, ανάλογα με την ωρίμανση των καρπών της ελιάς (O'Brien et al., 2004). Η κυρίαρχη τοκοφερόλη που εντοπίζεται είναι η α-τοκοφερόλη (Βιταμίνη Ε) σε περιεκτικότητα 100-150 mg/kg ελαίου. Η α-τοκοφερόλη είναι το πλέον ισχυρό αντιοξειδωτικό από τις τοκοφερόλες. Εκτός από την αντιοξειδωτική τους δράση λειτουργούν και σαν βιταμίνες των οποίων η ενέργεια αυξάνεται αντίθετα με την αντιοξειδωτική τους ικανότητα δηλαδή από τη δ μορφή προς την α. Η β-τοκοφερόλη και η γ-τοκοφερόλη εντοπίζονται στο ελαιόλαδο αθροιστικά σε περιεκτικότητα μικρότερη των 50 μg/g ελαίου (Paras et al., 2002).

(β) Στερόλες. Οι στερόλες είναι σημαντικά λιπίδια που σχετίζονται με την ποιότητα του ελαίου και χρησιμοποιούνται ευρέως για τον έλεγχο της γνησιότητάς του (Boskou et al., 2006). Στο ασαπωνοποίητο κλάσμα του ελαιόλαδου (1,2%) συγκαταλέγονται οι στερόλες (0,6%) και τα τριτερπένια (0,2%) (Nawar, 1998). Το ποσοστό των κύριων στερολών που εμφανίζονται στο ελαιόλαδο επί του συνολικού ποσοστού των στερολών του είναι: καμπεστερόλη (28 mg/kg ελαίου), στιγμαστερόλη (14 mg/kg ελαίου), β-σιτοστερόλη (1310 mg/kg ελαίου), 4-διμεθυλοστερόλες (87 mg/kg ελαίου), 4-μεθυλοστερόλες (152 mg/kg ελαίου) και τριτερπενικές αλκοόλες (1440 mg/kg ελαίου) (Nawar, 1998; Webe et al., 2006).

(γ) Υδρογονάνθρακες με κυρίαρχο το Σκουαλένιο (40-50% του συνολικού ασαπωνοποίητου κλάσματος). Το σκουαλένιο είναι ο τελευταίος μεταβολίτης που προηγείται του σχηματισμού του δακτυλίου της στερόλης. Η παρουσία του θεωρείται σε κάποιο βαθμό υπεύθυνη για τις ευεργετικές επιπτώσεις του ελαιόλαδου στην υγεία του ανθρώπου. Είναι το κυριότερο συστατικό του ασαπωνοποίητου κλάσματος του ελαιόλαδου. Η περιεκτικότητά του κυμαίνεται από 200 έως 7500 mg/kg ελαίου και εξαρτάται από την ελαιοκαλλιέργεια και την τεχνολογία παραλαβής του ελαίου, ενώ μειώνεται δραματικά κατά τη διάρκεια της διαδικασίας εξευγενισμού (Boskou et al., 2006). Εκτός από το σκουαλένιο, το κλάσμα υδρογονανθράκων του παρθένου ελαιόλαδου περιέχει σε μικρότερες ποσότητες διτερπένιο και τριτερπένιο, ισοπρενοειδείς πολυολεφίνες και η- παραφίνες (Boskou et al., 2006).

(δ) Φαινολικά συστατικά. Οι φαινολικές ενώσεις που απαντώνται στην ελιά σε μεγάλες συγκεντρώσεις. Οι φαινολικές ενώσεις που υπάρχουν στο ελαιόλαδο ανήκουν στις ακόλουθες κατηγορίες (Paiva-Martins & Kiritsakis, 2017):

Φαινολικά οξέα παράγωγα του υδροξυβενζοϊκού οξέος. Τα παράγωγα του υδροξυβενζοϊκού οξέος έχουν μία γενική δομή ατόμων άνθρακα τύπου C6-C1 και προέρχονται από το βενζοϊκό οξύ. Οι διαφορετικές δομές οφείλονται στην υδροξυλίωση και τη μεθοξυλίωση του αρωματικού δακτυλίου. Τα κυριότερα παράγωγα του υδροξυβενζοϊκού οξέος που απαντώνται στο ελαιόλαδο είναι το βανιλλικό οξύ, το γαλλικό οξύ, το συριγγικό οξύ και το p-υδροξυβενζοϊκό οξύ.

Φαινολικά οξέα παράγωγα του υδροξυκινναμικού οξέος. Τα φαινολικά οξέα που ανήκουν σε αυτή την κατηγορία έχουν βασική δομή ατόμων άνθρακα τύπου C6-C3 (κινναμικό οξύ) και είναι κυρίως το καφεϊκό οξύ, το κουμαρικό οξύ, το συναπτικό οξύ και το φερουλικό οξύ.

Φλαβονοειδή. Η ρουτίνη που ανήκει στις φλαβονόλες, και η λουτεολίνη και η απιγενίνη που ανήκουν στις φλαβόνες είναι τα κύρια φλαβονοειδή που συναντώνται στα έλαια αυτά. Πολλές φορές συναντάται και η κερσετίνη.

Φαινολικές αλκοόλες. Αυτές οι ενώσεις περιλαμβάνουν μόρια που περιέχουν τη δομή C6-C2 και αντιστοιχούν είτε στη 2-(4-υδροξυφαινυλ)αιθανόλη (τυροσόλη) είτε στη 2-(3,4-διυδροξυφαινυλ)αιθανόλη (υδροξυτυροσόλη) και τα παράγωγά τους με την αλδεϋδική και διαλδεϋδική μορφή του ελενολικού οξέος. Τόσο η τυροσόλη όσο και η υδροξυτυροσόλη πιστεύεται ότι προέρχονται από την υδρόλυση διαφόρων σεκοϊριδοειδών όπως είναι η ελευρωπαΐνη και ο γλυκοζίτης της.

Σεκοϊροειδή. Δομικά, είναι δικυκλικά συντηγμένα κυκλοπεντανο-πυράνια. Η διάσπαση ενός δεσμού στο δακτύλιο κυκλοπεντανίου δημιουργεί την κατηγορία γνωστή ως σεκοϊροειδή. Κύριες ενώσεις της κατηγορίας αυτής είναι η ελευρωπαΐνη και οι γλυκοζίτες της. Είναι εστέρας του ελενολικού οξέος. Η ελευρωπαΐνη είναι ένα φαινολικό συστατικό που προσδίδει πικρή γεύση στις ελιές, είναι ένα από τα σημαντικότερα αντιμικροβιακά συστατικά του πολυφαινολικού κλάσματος του ελαιόλαδου.

Λιγνάνες. Οι ενώσεις αυτές είναι προϊόντα του διμερισμού δύο φαινυλοπροπενίων ή πρόδρομων φαινυλοπροπενίων (C6-C3 διμερή). Οι λιγνάνες πινορεζινόλη και 1-ακετοξυπινορεζινόλη απαντώνται στο ελαιόλαδο.

Υδροξυ-ισοχρωμάνες. Πρόκειται για ενώσεις που προέρχονται από την αντίδραση μεταξύ της υδροξυτυροσόλης και των αρωματικών αλδεϋδών (όπως η βανιλίνη) και συνήθως

χρησιμοποιείται το ελαϊκό οξύ ως καταλύτης. Η 1-φαινυλ-6,7-διυδροξυισοχρωμάνη και η 1- (3'-μεθοξυ-4'-υδροξυ)φαινυλ-6,7- διυδροξυισοχρωμάνη βρίσκονται στο ελαιόλαδο σε πολύ μικρές ποσότητες.

Οι πολυφαινόλες μαζί με τις τοκοφερόλες επηρεάζουν τις βιολογικές ιδιότητες και την αντιοξειδωτική σταθερότητα του παρθένου ελαιόλαδου. Τα φαινολικά συστατικά του ελαιόλαδου διαθέτουν επίσης φαρμακολογικές και αντιμικροβιακές ιδιότητες.

(ε) Χρωστικές ουσίες. Το παρθένο ελαιόλαδο έχει συνήθως ένα πρασινωπό-κίτρινο χρώμα και χαρακτηριστική γεύση και οσμή. Το χρώμα του παρθένου ελαιόλαδου σχετίζεται κυρίως με την παρουσία χλωροφύλλης και καροτενοειδών, που επίσης παρέχουν προστασία κατά την οξείδωση στο σκοτάδι (Boskou et al., 2006). Η χλωροφύλλη, από χημική άποψη, είναι παράγωγο της πορφυρίνης. Απαντάται σε δύο μορφές, ως χλωροφύλλη α και χλωροφύλλη β. Στο μόριο της χλωροφύλλης συνδέεται με εστερικό δεσμό μια τερπενική αλκοόλη, η φυτόλη, στην οποία οφείλεται η λιπόφιλη συμπεριφορά του μορίου. Επίσης, οι χλωροφύλλες περιέχουν και ένα άτομο μαγνησίου. Οι αντίστοιχες ενώσεις που δημιουργούνται και δεν περιέχουν το άτομο μαγνησίου έχουν χρώμα σκούρο καστανοπράσινο και καλούνται φαιοφυτίνες. Οι φαιοφυτίνες απαντώνται και αυτές σε δύο μορφές, ως φαιοφυτίνη α και φαιοφυτίνη β. Από τις φαιοφυτίνες, στο παρθένο ελαιόλαδο κυριαρχεί η φαιοφυτίνη α (Minguez-Mosquera et al., 1990, Psomiadou & Tsimidou 2001). Τα κύρια καροτενοειδή που περιέχονται στο ελαιόλαδο είναι η λουτεΐνη (ξανθοφύλλη) και το β-καροτένιο (1 έως 20 mg/kg ελαίου). Η παρουσία των καροτενοειδών στο ελαιόλαδο είναι στενά συνδεδεμένη με αυτή των πράσινων χρωστικών και επηρεάζεται από τους ίδιους παράγοντες. Στα καροτενοειδή μπορεί να περιλαμβάνονται και μερικές άλλες ξανθοφύλλες. Η συνολική συγκέντρωση των χλωροφυλλών (α και β) στα φρέσκα παρθένα ελαιόλαδα κυμαίνεται από 1 μέχρι 10 (μπορεί να είναι όμως και υψηλότερη), ενώ των φαιοφυτινών (3 και 4) από 0,2 μέχρι 24 mg/kg. Οι χλωροφύλλες και οι φαιοφυτίνες του ελαιόλαδου έχουν οξειδωτική επίδραση στο έλαιο παρουσία φωτός, αλλά λειτουργούν ως αντιοξειδωτικά συστατικά στο σκοτάδι. Το φως προκαλεί σημαντική υποβάθμιση της ποιότητας του ελαιόλαδου παρουσία αέρα. Το ελαιόλαδο αναπτύσσει μία χαρακτηριστική γεύση από την οξείδωσή του και μετατρέπεται σε άχρωμο λόγω της απώλειας της χλωροφύλλης και των καροτενοειδών (Psomiadou & Tsimidou 2002β).

(στ) Πτητικά συστατικά και Αρωματικοί υδρογονάνθρακες. Το άρωμα και η γεύση είναι τα κυριότερα χαρακτηριστικά του ελαιόλαδου. Οι κυριότερες αλδεΐδες είναι: η εξανάλη (περίπου 1000 μg/L ελαίου), η trans-2-εξανάλη (περίπου 3300 μg/L ελαίου), η trans-2-πεντανάλη (περίπου 3200 μg/L ελαίου), και από αλκοόλες η 1-πεντεν-3-όλη (περίπου 7000 μg/L ελαίου), η 1-

πεντανόλη (περίπου 1000 µg/L ελαίου), η trans-2-πεντεν-1-όλη (περίπου 5000 µg/L ελαίου), 1-εξανόλη (περίπου 10000 µg/L ελαίου), αποτελούν τις κύριες αρωματικές ενώσεις του ελαιόλαδου.

(ε) Άλλα συστατικά. Περιέχει ίχνη από διάφορα μέταλλα, όπως ίχνη σιδήρου (0,5-3,0 ppm), χαλκού (0,001-0,2 ppm), χρωμίου, μαγγανίου, κασσίτερου, νικέλιου και μόλυβδου.

3.12. Παραγωγική διαδικασία εξαγωγής ελαιόλαδου

3.12.1. Συγκομιδή του καρπού

Ο βέλτιστος χρόνος συγκομιδής του καρπού της ελιάς είναι όταν τα επίπεδα ελαιόλαδου είναι υψηλά. Η συγκομιδή πρέπει να ξεκινήσει πριν από τη φυσική πτώση των ελαιόκαρπων από το ελαιόδεντρο. Στις κανονικά ωριμάζουσες ποικιλίες ελιών, ο κατάλληλος χρόνος για την έναρξη της συγκομιδής τους, μπορεί να εκτιμηθεί από το χρώμα του δέρματος των ελαιόκαρπων. Ο ελαιόκαρπος, μετά τη συλλογή του, πρέπει να μεταφερθεί άμεσα στη μονάδα εξαγωγής ελαιόλαδου. Το ελαιόλαδο πρέπει να παραλαμβάνεται από τον ελαιόκαρπο το συντομότερο δυνατόν, πριν αυξηθεί η οξύτητα του ελαιόλαδου και υποβιβαστεί η ποιότητά του.

3.12.2. Πλύσιμο και αφαίρεση φύλλων

Πρώτα γίνεται ο καθαρισμός και η διαλογή των καρπών, που περιλαμβάνει απομάκρυνση ξένων προσμίξεων και καρπών προσβεβλημένων από ασθένειες καθώς επίσης και η απομάκρυνση των φύλλων. Τα περισσότερα ελαιοτριβεία χρησιμοποιούν μεταφορικές ταινίες και ανεμιστήρες για να απομακρύνουν τα φύλλα και άλλα υπολείμματα. Η απομάκρυνση των φύλλων είναι σημαντική, καθώς η παρουσία τους μπορεί να υποβαθμίσει την ποιότητα του ελαιόλαδου. Στη συνέχεια ακολουθεί το πλύσιμο του καρπού με καθαρό νερό. (Vossen, 2007; Τζια, 1987, Γαλαζούλας, 2003).

3.12.3. Άλεση ή σύνθλιψη

Αφού απομακρυνθούν τα ξένα υλικά και ολοκληρωθεί η πλύση των καρπών, οι ελιές αλέθονται προς απελευθέρωση του ελαίου. Το στάδιο της θραύσης αποσκοπεί στον τεμαχισμό των ελαιωδών κυττάρων του καρπού, ώστε να απελευθερωθούν τα σταγονίδια του ελαίου, ώστε να γίνει ευκολότερη η εκχύλισή του. Ο ελαιόκαρπος, είναι από τους λίγους καρπούς που περιέχει σ' όλη του τη μάζα, κυρίως όμως στο μεσοκάρπιο, έλαιο υπό τη μορφή διακριτών σταγονιδίων. Κάθε κύτταρο του μεσοκαρπίου περιέχει χονδρές σταγόνες που είναι διεσπαρμένες στο χυμοτόπιο και μικρότερα σταγονίδια, που απαντούν διάσπαρτα στην κολλοειδή μάζα του κυτταροπλάσματος. Το έλαιο και των δυο κατηγοριών θεωρείται «δεσμευμένο» από τους ιστούς, όσο ο ελαιόκαρπος παραμένει ακέραιος. Με την άλεση του καρπού επιδιώκεται η μετατροπή του «δεσμευμένου»

ελαίου σε «ελεύθερο», έτσι ώστε οι σταγόνες του να μπορούν να συνενωθούν και να δώσουν τη συνεχή ελαιούχα φάση, η οποία θα διαχωριστεί από την ελαιοζύμη. Πρέπει ν' αναφερθεί εδώ, ότι δε μεταπίπτει στην κατάσταση του «ελεύθερου» ελαίου όλο το έλαιο, που περιέχει ο καρπός πριν από την άλεση, και τούτο, γιατί ένα μέρος απ' αυτό μένει κλεισμένο στα κύτταρα, που δεν έχουν διανοιχτεί κατά τη διάρκεια της άλεσης, ένα άλλο μέρος μένει διάσπαρτο στο κολλοειδές σύστημα του κυτταροπλάσματος επειδή τα σταγονίδια με την άλεση και τη μάλαξη δε μπόρεσαν να συνενωθούν σε σταγόνες μεγαλύτερες κι ένα τρίτο μέρος γαλακτοματοποιείται με τα φυτικά υγρά. Κατά το σπάσιμο του καρπού χρειάζεται προσοχή ώστε να αποφεύγεται η αύξηση της θερμοκρασίας στην ελαιόπαστα και να αποφεύγεται η υποβάθμιση του.

Οι δύο βασικοί τύποι μηχανημάτων που χρησιμοποιούνται για την έκθλιψη του ελαιόκαρπου είναι: πετρόμυλος και σφυρόμυλος. Οι περισσότερες ελιές συνθλίβονται με το κουκούτσι και το μέγεθος των θραυσμάτων του κουκουτσιού ορίζει την ποιότητα της πάστας (Vossen, 2007, Τζια, 1987).

(α) Πετρόμυλοι: Τα ελαιοτριβεία με πέτρα αποτελούν την παλαιότερη μέθοδο. Η αργή κίνηση μυλοπετρών δεν θερμαίνει την πάστα και έχει ως αποτέλεσμα τη λιγότερη γαλακτωματοποίηση, έτσι ώστε το έλαιο να εξαγάγετε με μεγαλύτερη ευκολία. Τα μειονεκτήματα της μεθόδου είναι: τα ογκώδη μηχανήματα, το υψηλό κόστος και η αδυναμία τους να λειτουργούν συνεχώς.

(β) Σφαιρόμυλοι: Σε αυτόν τον τύπο μύλων, η σύνθλιψη του καρπού γίνεται με μεγάλες ταχύτητες με αποτέλεσμα να δημιουργούνται περισσότερα γαλακτώματα μεταξύ ελαίου και νερού εντός της ελαιόπαστας λόγω των υψηλών θερμοκρασιών που αναπτύσσονται. Σε αντίθεση, το μεγάλο πλεονέκτημα των σφυρόμυλων είναι η ταχύτητα και η συνεχής λειτουργία τους, η οποία μεταφράζεται σε υψηλή απόδοση, μικρό μέγεθος και χαμηλό κόστος. Ελαιόλαδο που παράγεται από έναν σφυρόμυλο έχει γενικότερα ισχυρότερη γεύση επειδή ο πολτός διασπάται περισσότερο (Vossen, 2007).

3.12.4. Ανάμιξη της πάστας ελιάς (Μάλαξη)

Η μάλαξη αποτελεί το πιο σημαντικό στάδιο της επεξεργασίας του ελαιόκαρπου καθώς προετοιμάζει την πάστα για το διαχωρισμό του ελαίου. Η μάλαξη βοηθάει να:

(α) συνενώνονται σταγονίδια μικρής διαμέτρου που βρίσκονται στο έλαιο, δημιουργώντας μεγαλύτερες σταγόνες, οι οποίες αποχωρίζονται εύκολα είτε με πίεση, είτε με φυγοκέντριση.

(β) αποδιοργανώνονται τα κολλοειδή συστήματα ελαίου-φυτικών υγρών, που δυσκολεύουν πολύ το διαχωρισμό του ελαίου.

Οι μαλακτῆρες ἔχει σχεδιαστεί για να εξασφαλίζουν πλήρη ανάμιξη της ελαιόπαστας, η οποία επιτυγχάνεται με περιστρεφόμενο ἔλικα, που φέρει μικρό αριθμό πτερυγίων. Όλοι οι μαλακτῆρες πλέον κατασκευάζονται από ανοξείδωτο χάλυβα (το εσωτερικό της τμήμα τουλάχιστον), κι ἔχουν διπλά τοιχώματα, διαμέσου των οποίων κυκλοφορεῖ ζεστό νερό. Το νερό είναι απαραίτητο, γιατί τότε η μάλαξη γίνεται πιο αποτελεσματικά και σε σύντομο χρόνο. Πολλοί παράγοντες επιδρουν κι επηρεάζουν, σε σημαντικό βαθμό, τη μάλαξη κι επομένως την ποσότητα και την ποιότητα του παραγομένου ελαίου. Οι παράγοντες που ἔχουν σχέση με την κατασκευή του μαλακτῆρα, είναι: (α) το εἶδος των πτερυγίων, (β) ο τρόπος διάταξης των πτερυγίων πάνω στον άξονα περιστροφῆς και (γ) η ταχύτητα περιστροφῆς των πτερυγίων.

Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν τη μάλαξη της ελαιοζύμης είναι:

(α) η θερμοκρασία μάλαξης. Η πάστα αναδεύεται με αργό ρυθμό για 30 ἔως 60 min.

(β) ο χρόνος μάλαξης. Η θερμοκρασία της πάστας κατά τη διάρκεια της μάλαξης είναι πολύ σημαντική. Θα πρέπει να είναι ζεστή, 26,6 ἔως 30 °C, που εξακολουθεί να είναι σε χαμηλή θερμοκρασία στην αφή, για να βελτιωθεί το ιξώδες του ελαίου και η εκχυλισιμότητα. Θερμοκρασίες άνω των 30 °C μπορεί να προκαλέσουν προβλήματα που επηρεάζουν αρνητικά την ποιότητα του ελαιόλαδου και ευνοούν την ἔναρξη της οξειδωτικῆς τάγγισης, όπως και την υποβάθμιση του ως προς το άρωμα και τη γεύση.

Η τελευταία τάση στη μάλαξη της ελαιόπαστας είναι να πραγματοποιηθεῖ σε συνθήκες άνευ οξυγόνου είτε πλημμυρίζοντας την επιφάνεια των δεξαμενών ανάμιξης με άζωτο ἢ με κενό σε ειδικές δεξαμενές μάλαξης. Ο περιορισμός της ἔκθεσης σε οξυγόνο πιστεύεται ότι μειώνει την ενζυμική δραστηριότητα που μπορεί να διασπάσει πολυφαινόλες, οι οποίες είναι σημαντικές ενώσεις για την τελική γεύση του ελαιόλαδου και τη σταθερότητα του κατά την αποθήκευση.

3.12.5. Εξαγωγή ελαιόλαδου από την ελαιόπαστα

Το επόμενο βήμα είναι η εξαγωγή του λαδιού από την ελαιόπαστα. Το ἔλαιο μπορεί να εξαχθεῖ με πίεση, φυγοκέντρωση, επιλεκτική διήθηση ἢ και με συνδυασμό των διαφόρων μεθόδων.

3.12.5.1. Πίεση

Το σύστημα πίεσης είναι μία από τις παλαιότερες μεθόδους εξαγωγῆς ελαιόλαδου. Αυτή η μέθοδος περιλαμβάνει την άσκηση πίεσης σε συστοιχία φίλτρων (stacked filter mats), το καθένα καλυμμένο με περίπου 1,25 cm ελαιόπαστας, που εναλλάσσονται με μεταλλικούς δίσκους (Vossen, 2007). Η διεργασία της πίεσης συνδέεται με ελαιόλαδα υψηλῆς ποιότητας λόγω της χαμηλῆς θερμοκρασίας που χρησιμοποιεῖται κατά τη διάρκεια της. Όμως, η μέθοδος αυτή είναι

πιο δαπανηρή επειδή απαιτεί περισσότερη εργασία από ότι άλλες μέθοδοι εκχύλισης και ο κύκλος της δεν είναι συνεχής. Επιπλέον, τα φίλτρα μπορεί εύκολα να μολυνθούν, εισάγοντας ελαττώματα ζύμωσης και οξείδωσης μέσα στο ελαιόλαδο. Κατά συνέπεια, η χρήση των παραδοσιακών πιεστηρίων είναι απαρχαιωμένη (Vossen, 2007; Λοϊζίδης, 2009).

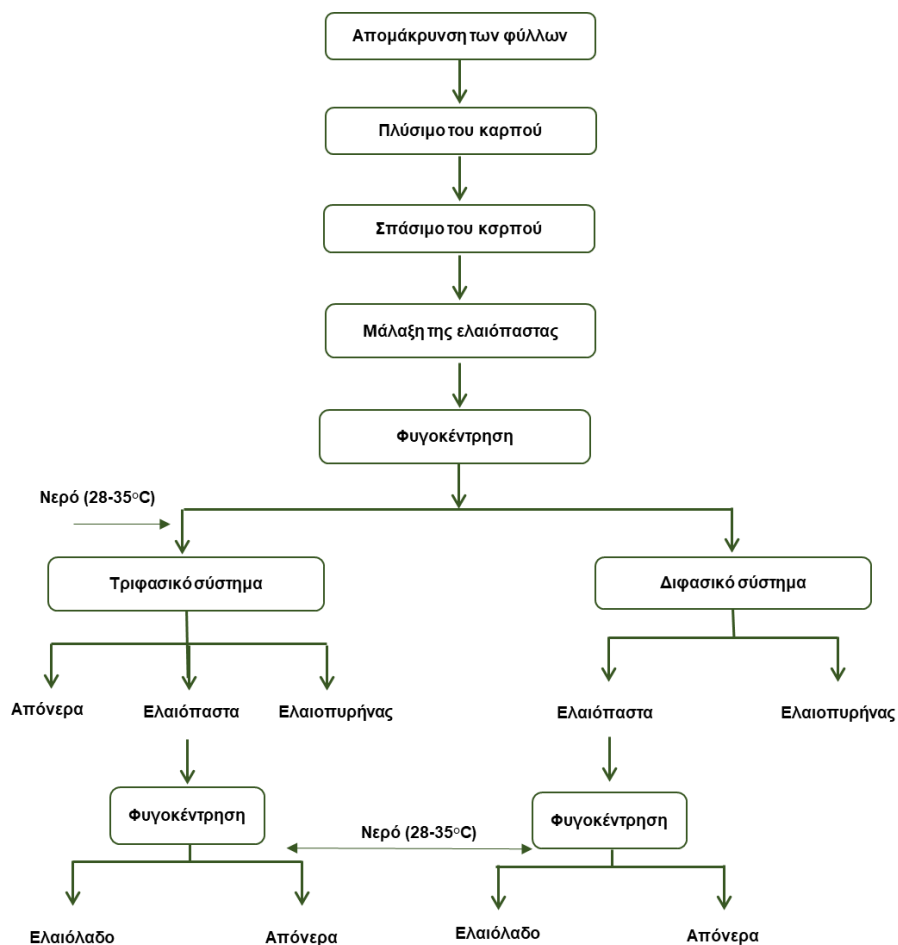
3.12.5.2. Φυγοκέντρηση: τριφασική και διφασική

Η πιο συνηθισμένη μέθοδος διαχωρισμού του ελαιόλαδου είναι η φυγοκέντρηση δύο ή τριών φάσεων. Οι σύγχρονοι φυγοκεντρικοί διαχωριστήρες (decanters) είναι μεγάλοι και οριζόντιοι που διαχωρίζουν το έλαιο από τα στερεά και το νερό σε πολύ λιγότερο χρόνο από το σύστημα πίεσης.

-Η τριφασική διαδικασία είναι συνεχής. Η φυγόκεντρη δύναμη κινεί τα βαρύτερα στερεά υλικά προς τα έξω, ενώ ένα ελαφρύτερο στρώμα νερού σχηματίζεται στη μέση, με το ελαφρύτερο στρώμα λαδιού στο εσωτερικό. Σε ένα τριφασικό σύστημα, νερό προστίθεται για να κάνει την πάστα να ρέει γύρω από τον φυγοκεντρωτή, αλλά έχει ως αποτέλεσμα τη χαμηλότερη περιεκτικότητα του ελαιόλαδου σε πολυφαινόλες, καθώς είναι κυρίως υδατοδιαλυτές. Επίσης, οι μεγάλες ποσότητες νερού που απαιτούνται δημιουργούν σοβαρό περιβαλλοντικό πρόβλημα εξαιτίας της παραγωγής υγρών αποβλήτων. Συγκεκριμένα, από την επεξεργασία 1000 kg ελαιόκαρπου προκύπτουν 200 kg ελαιόλαδο, 500-600 kg ελαιοπυρήνα και 1000-1200 kg υγρά απόβλητα (Alburquerque et al., 2004). Τα κύρια πλεονεκτήματα της τριφασικής διαδικασίας είναι ότι πρόκειται για μία πλήρως αυτοματοποιημένη συνεχή διαδικασία (continuous process) που έχει αντικαταστήσει την παραδοσιακή μέθοδο και ότι από αυτήν προκύπτει ελαιοπυρήνας που έχει υψηλή εμπορική αξία με χαμηλή περιεκτικότητα σε υγρασία, σε ποσοστό 45-55%. Παρουσιάζει όμως και σημαντικά μειονεκτήματα, όπως η υψηλή κατανάλωση νερού και ενέργειας, η παραγωγή μεγάλης ποσότητας υγρών αποβλήτων, η έκπλυση (απώλεια) σημαντικών βιοδραστικών ουσιών που είναι ευεργετικές για την ποιότητα του ελαιόλαδου, όπως οι φαινόλες, λόγω της μεγάλης προσθήκης νερού, και το υψηλό κόστος εγκατάστασης (Roig et al., 2006; Rahmanian et al., 2014).

-Το διφασικό σύστημα χρησιμοποιείται τα τελευταία χρόνια και αποτελεί παραλλαγή του συστήματος τριών φάσεων. Στο διφασικό σύστημα χρησιμοποιούνται επίσης μεγάλες συσκευές φυγοκέντρησης, που περιστρέφονται σε ένα οριζόντιο άξονα, με το λαδί να διαχωρίζεται από τα υπόλοιπα συστατικά της ελιάς (ελαόπαστα, νερό), τα οποία έπειτα εξέρχονται μαζί. Δεν χρειάζεται να προστεθεί νερό, οπότε υπάρχει καλύτερη διατήρηση των πολυφαινολών, η οποίες δεν εκχυλίζονται στην υδατική φάση αλλά συμπαρασύρονται στο έλαιο. Συγκεκριμένα, από την επεξεργασία 1000 kg ελαιόκαρπου προκύπτουν περίπου 100-200 kg ελαιόλαδο και 800-900 kg διφασικού (υγρού) ελαιοπυρήνα (Zbakh & El Abbassi, 2012). Το σημαντικό πλεονέκτημά του

συστήματος είναι η μικρή κατανάλωση νερού, η καλύτερη ποιότητα του παραγόμενου ελαιόλαδου που είναι πιο πλούσιο σε πολυφαινόλες, το μικρότερο κόστος λειτουργίας λόγω μικρότερης κατανάλωσης ενέργειας και νερού και η παραγωγή μικρών ποσοτήτων υγρών αποβλήτων στο στάδιο της παραλαβής του ελαιόλαδου. Ωστόσο, παρουσιάζει και μειονεκτήματα, όπως ο χαμηλής ποιότητας και εμπορικής αξίας διφασικός ελαιοπυρήνας που προκύπτει λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς του σε υγρασία (65-75%), μεταφέροντας το πρόβλημα στα πυρηνελαιουργεία, με αποτέλεσμα να χρειάζεται μεγαλύτερο ενεργειακό κόστος για την περαιτέρω επεξεργασία του (ξήρανση και εκχύλιση ελαίου). Μολονότι το τριφασικό σύστημα δημιουργεί το μεγαλύτερο πρόβλημα από άποψη παραγωγής υγρών αποβλήτων, εξακολουθεί να είναι αυτό που εφαρμόζεται ευρέως στις κύριες ελαιοπαραγωγές χώρες (Dermeche et al., 2013). Στο σχήμα 3.5. παρουσιάζονται τα στάδια παραγωγής ελαιόλαδου με διφασικό και τριφασικό διαχωρισμό.



Σχήμα 3.5. Διαγραμματική απεικόνιση της παραγωγής ελαιόλαδου σε φυγοκεντρικά συστήματα διαχωρισμού δύο και τριών φάσεων

3.12.6. Αποθήκευση και εμφιάλωση του ελαιόλαδου

Η αποθήκευση και η συσκευασία του ελαιόλαδου είναι τα τελικά βήματα της παραγωγικής διαδικασίας, εξίσου όμως υψηλής σημασίας. Οι παράγοντες υποβάθμισης της ποιότητας του προϊόντος κατά τη διάρκεια αυτών των λειτουργιών, απαιτεί τον σωστό έλεγχο και παρακολούθηση ορισμένων παραμέτρων χρήσιμων για τη διάρκεια ζωής του ελαιόλαδου. Το περιβάλλον αποθήκευσης και τα χαρακτηριστικά του συμβάλλουν στη διάρκεια ζωής του. Μετά την παραλαβή, το ελαιόλαδο μπορεί να χρειαστεί να αποθηκεύεται για 1-3 μήνες για να διαχωρίσει περαιτέρω υπολείμματα στερεών σωματιδίων και νερού. Αυτό εξαλείφει τη δημιουργία ιζημάτων στις φιάλες. Η αποθήκευση του ελαιόλαδου γίνεται σε δεξαμενές, το εσωτερικό των οποίων πρέπει να είναι κατασκευασμένο από αδρανές υλικό, ώστε να καθαρίζονται εύκολα και να αποφεύγεται η απορρόφηση οσμών ή άλλων ουσιών, όπως ίχνη μετάλλων, που επιταχύνουν την οξείδωση. Οι δεξαμενές πρέπει να βρίσκονται σε κλειστό χώρο και το ελαιόλαδο δεν πρέπει να έρχεται σε επαφή με τον ατμοσφαιρικό αέρα και το φως (Vossen, 2007, Γαλαζούλας, 2003).

3.13. Παράγοντες που επηρεάζουν τη σύσταση του ελαιόλαδου

Τα παρθένα ελαιόλαδα εμφανίζουν διαφορές στη σύσταση του φαινολικού κλάσματος και στη συγκέντρωση των επιμέρους πολικών φαινολικών συστατικών (Gimeno et al., 2002). Οι παράγοντες που καθορίζουν τη συγκέντρωση των συστατικών αυτών στο ελαιόλαδο είναι (Carrasco-Pancorbo et al. 2005, Del Caro et al., 2006):

(α) Η ποικιλία του καρπού της ελιάς. Μετά από συγκριτικές αναλύσεις διάφορων ποικιλιών μπόρεσε να εξακριβωθεί το γεγονός ότι παρθένα ελαιόλαδα διαφορετικών ποικιλιών έχουν διαφορετικές χημικές ιδιότητες. Οι Gomez-Alonso et al. (2002) αναφέρουν ότι οι συγκεντρώσεις των επιμέρους φαινολικών συστατικών διέφεραν σημαντικά μεταξύ διάφορων ισπανικών ποικιλιών. Οι La Scalia et al. (2017) παρατήρησαν ότι η περιεκτικότητα του ελαιόλαδου σε σεκοϊριδοειδή, όπως η ελαιασίνη, διαφοροποιείται ανάλογα με την ποικιλία, ενώ οι Vinha et al. (2005) αναφέρουν ότι παρθένα ελαιόλαδα που είχαν παραχθεί από καρπό διαφορετικών ποικιλιών αλλά από την ίδια γεωγραφική περιοχή είχαν παρόμοια σύσταση σε φαινολικά συστατικά.

(β) Το στάδιο ωρίμανσής του κατά τη συγκομιδή. Η ωριμότητα της ελιάς είναι επίσης σημαντική για το χρονικό προσδιορισμό της συγκομιδής της, επειδή η συσσώρευση των λιπαρών οξέων αυξάνεται καθώς ωριμάζει όπως και η απόδοση σε ελαιόλαδο. Διαφορετικές συγκεντρώσεις φαινολικών συστατικών παρατηρούνται στα διαφορετικά στάδια ωρίμανσης (Esti et al., 1998, Brenes et al., 1999, Gutierrez et al., 1999, Gimeno et al., 2002, Kalua et al., 2005,

Gomez-Rico et al., 2006). Γενικά η ολική συγκέντρωση των φαινολικών μειώνεται κατά την ωρίμανση του καρπού (Bonoli et al., 2004, Tripoli et al., 2005, Alagna et al., 2012).

(γ) Οι κλιματολογικές συνθήκες της περιοχής και οι εφαρμοζόμενες πρακτικές καλλιέργειας. Γενικά, σε θερμότερα κλίματα, τα έλαια που παράγονται έχουν χαμηλότερες συγκεντρώσεις σε ελαϊκό οξύ και υψηλότερες συγκεντρώσεις σε παλμιτικό, λινελαϊκό και σε μερικές περιπτώσεις α-λινολενικό οξύ. Έτσι, τα παρθένα ελαιόλαδα που προέρχονται από χαμηλά ύψη έχουν υψηλότερες ποσότητες σε στερόλες, τοκοφερόλες, και φαινόλες και χαμηλότερες περιεκτικότητες σε χλωροφύλλες και ακόρεστα λιπαρά οξέα από ότι τα έλαια από τα βουνά. Επίσης οι ελιές σε μεγάλα υψόμετρα ωριμάζουν πιο αργά. Το γεγονός ότι η αναλογία ακόρεστων/κορεσμένων λιπαρών οξέων αυξάνεται με το υψόμετρο, στο οποίο καλλιεργούνται οι ελιές, έχει μεγάλη σημασία τόσο στη διατηρησιμότητα του ελαιόλαδου όσο και στην οργανοληπτική ποιότητα του (Aparicio et al, 2013). Η συγκέντρωση των επιμέρους φαινολικών συστατικών επηρεάζεται από τις γεωργικές τεχνικές, όπως από την άρδευση που γίνεται κατά την καλλιέργεια της ελιάς (Tovar et al., 2001, Romero et al., 2002).

(δ) Η μέθοδος σύνθλιψης του ελαιόκαρπου. Το σύστημα επεξεργασίας του ελαιόκαρπου στο ελαιουργείο επιδρά σημαντικά στη συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών (Gionacchino et al. 1994, Ranalli et al. 1999, Vierhuis et al. 2001, Gimeno et al. 2002, Mailer & Ayton 2004, Romero et al. 2004, Cerretani et al. 2005, Kalua et al. 2006, Frankel et al. 2013). Σε παρθένα ελαιόλαδα που παραλήφθηκαν με χρήση διφασικού συστήματος φυγοκέντρησης, προσδιορίστηκε σημαντικά υψηλότερη περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά, σε σχέση με έλαια που παραλήφθηκαν με χρήση τριφασικού συστήματος (Gimeno et al. 2002, Altieri et al. 2013). Αυτή η διαφορά οφείλεται στην προσθήκη νερού στο τριφασικό σύστημα φυγοκέντρησης, το οποίο απομακρύνει τις φαινόλες κατά την επεξεργασία.

3.14. Δείκτες ποιότητας ελαιόλαδου

Το Διεθνές Ελαιοκομικό Συμβούλιο (IOOC) έχει ορίσει εμπορικά πρότυπα για τον καθορισμό της ποιότητας του ελαιόλαδου. Η ποιότητα του ελαιόλαδου επηρεάζεται σημαντικά από μία πληθώρα παραγόντων που είναι δυνατό να επιδρούν ακόμη και κατά το στάδιο της ανάπτυξης του καρπού, κατά την επαφή του με παράσιτα ή μικροοργανισμούς την υγρασία, το οξυγόνο, το έντονο φως και τη θερμοκρασία. Τα χαρακτηριστικά του ελαιόλαδου τα οποία εξετάζονται για τη σωστή κατηγοριοποίηση των ελαιόλαδων προσδιορίζονται από τη μέτρηση ορισμένων φυσικοχημικών παραμέτρων όπως είναι:

(α) Η οξύτητα (εκφρασμένη σε g ελαϊκού οξέος ανά 1g ελαίου). Η οξύτητα αποτελεί το βασικότερο κριτήριο ποιοτικής αξιολόγησης του ελαιόλαδου. Με βάση την οξύτητα, το ελαιόλαδο διακρίνεται σε βρώσιμο ή βιομηχανικό και ανάλογα διαμορφώνεται η τιμή του. Η οξύτητα του ελαιόλαδου εξαρτάται κατά κύριο λόγο από την ποιοτική κατάσταση του ελαιόκαρπου από τον οποίο προέρχεται και μεταβάλλεται πολύ λίγο μετά την παραλαβή του από τον καρπό. Εκφράζεται σε g ελαϊκού οξέος ανά 100 g ελαιόλαδου.

(β) Ο αριθμός υπεροξειδίων (εκφρασμένος σε meqO₂/kg). Ο αριθμός υπεροξειδίων αποτελεί βασικό κριτήριο ελέγχου του βαθμού οξειδωσης του ελαιόλαδου.

(γ) Η απορρόφηση στο υπεριώδες (K₂₇₀/K₂₃₂/ΔK). Ο προσδιορισμός της απορρόφησης του ελαιόλαδου στην υπεριώδη περιοχή του φάσματος χρησιμοποιείται κατά κανόνα για τον έλεγχο της ποιοτικής του κατάστασης και ειδικότερα για τον προσδιορισμό του βαθμού της οξειδωτικής τάγγισης. Η μέτρηση γίνεται σε φασματοφωτόμετρο υπεριώδους, στα μήκη κύματος 232 nm και 270 nm. Στα 232 nm (σταθερά K₂₃₂) εμφανίζουν μέγιστο απορρόφησης ορισμένα πρωτογενή προϊόντα της οξειδωσης (συζυγή υδροϋπεροξειδία), ενώ στα 270 nm (σταθερά K₂₇₀) εμφανίζουν μέγιστο απορρόφησης ορισμένα δευτερογενή προϊόντα της οξειδωσης (αλδεΐδες, κετόνες).

(δ) Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του, κυρίως το άρωμα και η γεύση (Kiritsakis 1998). Το παρθένο ελαιόλαδο οφείλει κατά κύριο λόγο τη ξεχωριστή γεύση και ιδίως το χαρακτηριστικό του άρωμα στα πτητικά συστατικά του (υδρογονάνθρακες, αλδεΐδες, αλκοόλες, κετόνες, εστέρες κλπ). Η πικρίζουσα γεύση του οφείλεται στην ελευρωπαΐνη και τα άλλα φαινολικά συστατικά του (Kiritsakis & Shahidi 2017). Η οργανοληπτική αξιολόγηση έχει καθιερωθεί ως υποχρεωτικό ποιοτικό κριτήριο. Η οργανοληπτική αξιολόγηση, όπως περιγράφεται με τον Κανονισμό 2568/91 της Ευρωπαϊκής Ένωσης και με το COI/T.20/Doc.no.15 του Διεθνούς Ελαιοκομικού Συμβουλίου, είναι η ανίχνευση και περιγραφή των ποιοτικών και ποσοτικών οσφρητικών και γευστικών χαρακτηριστικών του παρθένου ελαιόλαδου χρησιμοποιώντας τις ανθρώπινες αισθήσεις και η ταξινόμησή του σύμφωνα με τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά. Η μέθοδος εφαρμόζεται από ομάδα επιλεγμένων και κατάλληλα εκπαιδευμένων δοκιμαστών με σκοπό την ταξινόμηση των παρθένων ελαιόλαδων σύμφωνα με την παρουσία ή όχι του φρουτώδους και, εφόσον γίνει αντιληπτό ελάττωμα, την ένταση του επικρατέστερου ελαττώματος.

Οι **θετικές ιδιότητες** του παρθένου ελαιόλαδου την ύπαρξη των οποίων καλείται να προσδιορίσει μέσω της δοκιμής ο δοκιμαστής, είναι:

- *Φρουτώδεις*: Είναι το σύνολο των οσφραντικών αισθήσεων του χυμού του ελαιόκαρπου, το οποίο εξαρτάται από την ποικιλία και το στάδιο ωρίμασης. Μπορεί να διακριθεί σε άγουρο ή ώριμο φρουτώδεις. Γίνεται αντιληπτό με την όσφρηση και την οπισθορινική οδό.

- *Πικρό*: Είναι χαρακτηριστική γεύση ελαιόλαδου που έχει ληφθεί από πράσινες ελιές ή από ελιές που το χρώμα τους αρχίζει να αλλάζει. Γίνεται αντιληπτή από τις περιχαρακωμένες γευστικές θηλές που σχηματίζουν το γευστικό λάμδα στο πίσω μέρος της γλώσσας.

-*Πικάντικο*: Είναι έντονη κιναισθητική αίσθηση (κάψιμο), χαρακτηριστική ελαίων που παράγονται στην αρχή της ελαιοκομικής περιόδου, κυρίως από πράσινες ακόμη ελιές. Γίνεται αντιληπτό σε όλη τη στοματική κοιλότητα και ιδιαίτερα στον λαιμό.

Οι **αρνητικές ιδιότητες**, οι οποίες μπορεί να γίνουν αντιληπτές από τους δοκιμαστές ως ελαττώματα και συνήθως οφείλονται σε κακή κατάσταση του ελαιόκαρπου, ακατάλληλους χειρισμούς κατά τη συγκομιδή, την ελαιοποίηση και την αποθήκευση, είναι: Ατροχάδο-Μούργα, Μουχλιασμένο-Νοτισμένο-Χωματίλα, Κρασώδες-Ξυδάτο-Οξινο-Ξυνό, Ταγγό, Παγωμένης ελιάς (Υγρό ξύλο), Ψημένο ή Καμένο, Άχυρο-Ξύλο, Τραχύ, Γράσο, Φυτικά υγρά, Άλμη, Μεταλλικό, Σπάρτο, Σκουλήκι, Αγγουρώδες.

3.15. Κατηγορίες ελαιόλαδου

3.15.1. Παρθένο ελαιόλαδο

Είναι το ελαιόλαδο το οποίο παραλαμβάνεται από τον ελαιόκαρπο μόνο με μηχανικά ή φυσικά μέσα και κατά την παραλαβή του εφαρμόζονται συνθήκες οι οποίες δεν προκαλούν αλλοιώσεις στην ποιότητά του. Το ελαιόλαδο της κατηγορίας αυτής δεν έχει υποστεί καμία άλλη επεξεργασία, πέραν της πλύσης, μετάγγισης, φυγοκέντρησης και διήθησης. Στην κατηγορία αυτή δεν περιλαμβάνονται τα εστεροποιημένα ελαιόλαδα, μίγματα ελαιόλαδου με έλαια άλλων κατηγοριών και έλαια τα οποία έχουν παραληφθεί έπειτα από εκχύλιση με χρήση διαλύτη. Το παρθένο ελαιόλαδο περιλαμβάνει τις εξής κατηγορίες (CAC, 2007):

α. Εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο (extra virgin olive oil)

Είναι το παρθένο ελαιόλαδο, του οποίου η οξύτητα, εκφρασμένη σε ελαϊκό οξύ, δεν υπερβαίνει το 0,8%, ο αριθμός υπεροξειδίων εκφρασμένος σε meqO_2/kg ελαίου είναι μικρότερος από ή ίσος με 20, η σταθερά K_{232} μικρότερη από ή ίση με 2,50, η σταθερά K_{270} μικρότερη από ή ίση με 0,22 και η σταθερά ΔK μικρότερη ή ίση με 0,01. Σχετικά με την οργανοληπτική αξιολόγηση, θα πρέπει η διάμεση τιμή για το φρουτώδες χαρακτηριστικό να είναι μεγαλύτερη του 0 και η διάμεση τιμή των ελαττωμάτων είναι ίση με 0.

β. Παρθένο ελαιόλαδο (virgin olive oil)

Είναι το παρθένο ελαιόλαδο του οποίου η οξύτητα, εκφρασμένη σε ελαϊκό οξύ, δεν υπερβαίνει το 2%, ο μέγιστος αριθμός υπεροξειδίων και η μέγιστη τιμή ΔΚ καθορίζονται όπως στο εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο, ενώ η σταθερά K_{232} είναι μικρότερη από ή ίση με 2,60 και η σταθερά K_{270} μικρότερη από ή ίση με 0,25. Σχετικά με την οργανοληπτική αξιολόγηση, θα πρέπει η διάμεση τιμή για το φρουτώδες χαρακτηριστικό να είναι μεγαλύτερη του 0 και η διάμεση τιμή των ελαττωμάτων είναι μικρότερη ή ίση του 3,5.

3.16. Παράγοντες που επηρεάζουν τη διατηρησιμότητα του ελαιόλαδου

Οι κύριες αλλοιώσεις του ελαιόλαδου και των άλλων λιπαρών υλών είναι:

(α) Η υδρόλυση ή υδρολυτική τάγγιση. Η υδρόλυση (γνωστή και ως λιπόλυση) λαμβάνει χώρα κυρίως κατά τον χρόνο πριν από την παραλαβή του ελαιόλαδου από τον ελαιόκαρπο, ενώ η οξείδωση παρατηρείται κυρίως μετά την παραλαβή του και ιδιαίτερα κατά τη διάρκεια της αποθήκευσής του σε ακατάλληλες συνθήκες. Συνδέεται με την απελευθέρωση λιπαρών οξέων από τα τριγλυκερίδια. Η απελευθέρωση των λιπαρών οξέων και η παρουσία τους σε ελεύθερη μορφή μέσα στο ελαιόλαδο έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της οξύτητας, την αλλοίωση της γεύσης και γενικότερα την υποβάθμιση της ποιότητας και της εμπορικής αξίας του ελαιόλαδου. Η υδρόλυση των λιπαρών υλών επηρεάζεται από παράγοντες όπως η υγρασία, η θερμοκρασία και η παρουσία ενζύμων και μικροοργανισμών (Κυριτσάκης 2007).

(β) Η οξείδωση ή οξειδωτική τάγγιση. Η οξείδωση λαμβάνει χώρα τόσο απουσία φωτός (αυτοοξείδωση) (Psomiadou & Tsimidou 2002α), όσο και παρουσία φωτός (φωτοοξείδωση) (Psomiadou & Tsimidou 2002β). Η οξείδωση προκαλεί μη επιθυμητές μεταβολές στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (οσμή, γεύση) του ελαιόλαδου. Μπορεί επίσης να μεταβάλει και ορισμένες φυσικές του ιδιότητες, όπως το ιξώδες. Γενικά η οξείδωση προκαλεί μείωση στα επίπεδα των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (όπως λινελαϊκό και λινολενικό) και των λιποδιαλυτών βιταμινών, ενώ μειώνει και τη θρεπτική αξία των λιπαρών υλών. Εκτός από το φως άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν την οξείδωση του ελαιόλαδου και των άλλων λιπαρών υλών είναι το οξυγόνο, η θερμοκρασία, η παρουσία μετάλλων (καταλυτών), όπως και η περιεκτικότητα σε ελεύθερα λιπαρά οξέα. Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (λινελαϊκό, λινολενικό) επιταχύνουν την οξείδωση του ελαιόλαδου, καθώς είναι ασταθή και οξειδώνονται εύκολα. Στην περίπτωση του ελαιόλαδου η περιεκτικότητα σε λινολενικό και λινελαϊκό είναι χαμηλή και αυτός είναι ένας από τους λόγους που το ελαιόλαδο είναι ανθεκτικό στην οξείδωση (Kiritsakis & Dugan 1985).

3.17. Τα ένζυμα του ελαιόλαδου

Στο ελαιόλαδο περιέχονται και ενδογενή ένζυμα όπως πηκτινάσες, λιπάσες, λιποξυγενάσες, υδροϋπεροξειδιακές λυάσες, β-γλυκοσιδάσες, υπεροξειδάσες, και πολυφαινολικές οξειδάσες. Τα ένζυμα αυτά εξάγονται από τον καρπό της ελιάς. Οι σημαντικότερες κατηγορίες ενδογενών ενζύμων είναι η β-γλυκοζιδάση, η οποία υδρολύει τους φαινολικούς γλυκοζίτες, η λιποξυγενάση, η υπεροξειδάση και η πολυφαινολική οξειδάση (Hbaied et al, 2015).

Η λιποξυγενάση (LOX) προκαλεί την οξειδωση των ακόρεστων λιπαρών οξέων με αποτέλεσμα το σχηματισμό ανεπιθύμητων ελευθέρων ενώσεων που καταστρέφουν πρωτεΐνες και βιταμίνες. Επιπλέον, συντελούν και σε σχηματισμό υπεροξειδίων που οδηγούν σε δυσάρεστη γεύση και οσμή του ελαιόλαδου (Andreou et al, 2015). Η λιποξυγενάση εμφανίζει το μέγιστο της δραστηριότητας της όταν παρατηρείται μείωση της συγκέντρωσης του λινελαϊκού οξέος και αύξηση της συγκέντρωσης του ελαϊκού, περίπου από τη μέση της ωρίμανσης του καρπού της ελιά και μετά. Το ένζυμο αυτό επιδρά και στην αποικοδόμηση των χλωροφυλλών και των καροτενοειδών του καρπού. Το πιο συχνό υπόστρωμα της λιποξυγενάσης στο ελαιόλαδο είναι το λινελαϊκό οξύ.

Η πολυφαινολική οξειδάση (PPO) είναι υπεύθυνη για την ενζυμική οξειδωση των πολυφαινολών οδηγώντας σε σκουρόχρωμα ελαιόλαδα. Η πολυφαινολική οξειδάση είναι το κύριο ένζυμο που συμμετέχει στην οξειδωση των μονοφαινολών και των ο-διφαινολών. Η οξειδωση τους περιλαμβάνει δυο αντιδράσεις: την υδροξυλίωση των μονοφαινολών σχηματίζοντας ο-διφαινόλες και την οξειδωση αυτών σε ο-κινόνες. Οι κινόνες που σχηματίζονται πολυμερίζονται και αντιδρούν δευτερογενώς με άλλες ενώσεις προς δημιουργία καστανών ή μελανών χρωστικών (Andreou et al, 2015, Hbaied et al, 2016). Στο ελαιόλαδο, η πολυφαινολική οξειδάση χρησιμοποιεί ως υποστρώματα όλες τις φαινολικές ενώσεις που περιέχει αυτό. Η δράση της ξεκινάει μετά το σπάσιμο του καρπού και κορυφώνεται στη διαδικασία της μάλαξης. Έχει αποδειχθεί πως ελαιόλαδα που προέκυψαν ενώ είχε προηγουμένως απενεργοποιηθεί η PPO στην ελαιόπαστα είχαν μεγαλύτερη συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων. Επιπλέον, κάποιες έρευνες έχουν δείξει ότι όταν η μάλαξη πραγματοποιείται σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 35 °C τότε η PPO μερικώς αδρανοποιείται, με αποτέλεσμα τα ελαιόλαδα που προκύπτουν να έχουν αυξημένη συγκέντρωση σε αντιοξειδωτικές ουσίες.

Η υπεροξειδάση (POD) είναι μια γλυκοπρωτεΐνη η οποία καταλύει την οξειδωση των φαινολικών ενώσεων σε πολύ δραστικά και εύκολα πολυμεριζόμενα ενδιάμεσα ελευθέρων ριζών μέσω είτε υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂) είτε οργανικών υπεροξειδίων ως οξειδωτικό μέσο (Hbaied et al, 2016).

3.18. Δραστηριότητα των ενδογενών ενζύμων στη διαδικασία εξαγωγής ελαιόλαδου

Τα ενδογενή ένζυμα που περιέχονται στον ελαιόκαρπο και συγκεκριμένα, η PPO και η POD προάγουν την οξειδωση των φαινολικών ενώσεων κατά τη διάρκεια των σταδίων της άλεσης και της μάλαξης στη διαδικασία εξαγωγής του ελαιόλαδου (Servili et al., 2008). Ειδικότερα, οι συνθήκες της μάλαξης ευθύνονται για τροποποιήσεις των φαινολικών και πτητικών κλασμάτων στο τελικό παραγόμενο ελαιόλαδο. Κατά τη διάρκεια μάλαξης, πραγματοποιούνται ενζυμικές δραστηριότητες που περιλαμβάνουν τον μετασχηματισμό πτητικών και φαινολικών ενώσεων. Οι συνθήκες μάλαξης επηρεάζουν τις ενζυμικές δραστηριότητες. Έρευνες έχουν δείξει ότι σε συνθήκες μάλαξης απουσία οξυγόνου το ολικό φαινολικό περιεχόμενο του παραγόμενου ελαιόλαδου παρέμεινε υψηλό (Angerosa et al., 2001, Di Giovacchino et al., 2002, Kalua et al., 2006, Ranalli et al., 2001), αποδεικνύοντας ότι οι ενζυμικές οξειδώσεις κατά τη διάρκεια της μάλαξης αναστάλθηκαν ή γίνονταν με πολύ μικρό ρυθμό. Οι νέες γενιάς μαλακτῆρες μπορούν να λειτουργούν σε απουσία οξυγόνου. Υπό αυτές τις συνθήκες, έχει παρατηρηθεί μόνο μία μικρή μείωση στη συγκέντρωση των πολυφαινολών στο τελικό παραγόμενο ελαιόλαδο, λόγω εξάντλησης του οξυγόνου κατά τη διάρκεια της μάλαξης (Servili et al., 2008).

Η αύξηση του χρόνου μάλαξης σε θερμοκρασία μάλαξης κοντά στους 25 °C προκάλεσε απώλεια των φαινολικών ενώσεων, αποδεικνύοντας έτσι την υψηλή δραστηριότητα της PPO και της POD κατά τη διάρκεια της μάλαξης προκαλώντας ενζυμική οξειδωτική αποικοδόμηση των πολυφαινολών.

Η επίδραση της θερμοκρασίας μάλαξης στη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο αποτέλεσε πρόσφατα αντικείμενο νέων ερευνών (Boselli et al., 2009, Gómez-Rico et al., 2009) και βρέθηκε μια θετική σχέση μεταξύ της θερμοκρασίας και της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων. Οι Taticchi et al. (2013), μελέτησαν την επίδραση της θερμοκρασίας μάλαξης στη δραστηριότητα των δυο ενζύμων και στην υποβάθμιση του φαινολικού περιεχομένου στο παραγόμενο παρθένο ελαιόλαδο. Τα αποτελέσματά τους οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι η αύξηση της θερμοκρασίας μάλαξης έδωσαν υψηλότερες συγκεντρώσεις φαινολικών ενώσεων στα έλαια, γεγονός που πιθανώς μπορεί να οφείλεται στη μερική απνεργοποίηση της PPO σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 40 °C. Μία ακόμα πιθανή εξήγηση για την αύξηση του ολικού φαινολικού περιεχομένου κατά τη διάρκεια της μάλαξης θα μπορούσε να είναι η απελευθέρωσή τους από τους πολυσακχαρίτες του κυτταρικού τοιχώματος της ελαιόπαστας, που καταλύονται από τις ενδογενείς ημικυτταρινάσες και τις πολυγαλακτουρονάσες (Vierhuis et al., 2001).

Παράλληλα, οι αντιδράσεις της λιποξυγενάσης (LOX) οδηγούν στο σχηματισμό των πτητικών κορεσμένων και ακόρεστων αλδευδών, αλκοολών και εστέρων (C5 και C6) από την οξειδωτική αποικοδόμηση των ακόρεστων λιπαρών οξέων του ελαιϊκού οξέος (C:18) (Angerosa et al., 2004). Η ιδιαίτερη νόστιμη γεύση και το άρωμα των ελαιόλαδων συνδέονται στενά, και τα δύο σε μη πτητικές ενώσεις (Angerosa & Di Giovacchino, 1996; Montedoro, Baldioli & Servili, 1992), και σε ένα μεγάλο αριθμό πτητικών ενώσεων (Angerosa, et al., 1996; Aparicio, et al., 1996; Morales, et al., 1995). Αυτές οι ενώσεις παράγονται από τις αντιδράσεις της LOX, η οποία προκαλεί οξείδωση πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, κατά τη διάρκεια των σταδίων της σύνθλιψης και της μάλαξης (Hatanaka, et al., 1987; Olias, et al., 1993; Vick & Zimmerman, 1987). Οι πτητικές ενώσεις, οι οποίες είναι δίνουν το άρωμα πολλών φρούτων και λαχανικών, παράγονται ενζυμικά από πολυακόρεστα λιπαρά οξέα που περιέχουν δομή cis-cis 1,4 πενταδιενίου μέσω της μεταβολικής οδού της λιποξυγενάσης (LOX) (Hatanaka, 1993, Vick & Zimmerman, 1987). Πολλά ένζυμα εμπλέκονται σε αυτό το μονοπάτι (Olias, 1993, Salas & Sanchez, 1998a, Salas & Sanchez, 1998b, Salas & Sanchez, 1998c). Σύμφωνα με αυτό το μονοπάτι, πραγματοποιείται οξείδωση, που καταλύεται από την LOX, του λινελαϊκού και λινολενικού οξέος σε 9- και 13-υδροϋπεροξειδία και στη συνέχεια διάσπαση αυτών με τη μεσολάβηση της υδροϋπεροξυ-λυάσης (HPL) (Olias, 1993, Salas & Sanchez, 1998a). Τα προϊόντα αυτής της ενζυμικής διάσπασης είναι C6 αλδεϋδες. Από την άλλη πλευρά, στα παρθένα ελαιόλαδα υπάρχει και αρκετά μεγάλη συγκέντρωση ενώσεων C5, εκτός από τους πτητικούς μεταβολίτες C6. Έρευνες, που πραγματοποιήθηκαν τα τελευταία χρόνια, έδειξαν ότι η παραγωγή ενώσεων C5 θα μπορούσε να εξηγηθεί σε παρθένα ελαιόλαδα ως αποτέλεσμα της δραστηριότητας ενός επιπλέον μεταβολικού μονοπατιού της LOX (Angerosa et al., 1998, Angerosa et al., 1998). Τα μονοπάτια της LOX ενεργοποιούνται κατά τη διάρκεια της άλεσης του ελαιόκαρπου και οι πτητικές ενώσεις C6 και C5, λόγω της διαλυτότητάς τους, ενσωματώνονται γρήγορα στη λιπαρή φάση και συσσωρεύονται κατά τη διάρκεια της μάλαξης της ελαιόπαστας. Τα συστατικά C5 και ειδικά τα C6 συμβάλλουν στη χαρακτηριστική οσμή του εξαιρετικά παρθένου ελαιόλαδου (Guth & Grosh, 1991, Guth & Grosh, 1993, Morales et al., 1999) και κατά συνέπεια αλλαγές των τους μπορούν να τροποποιήσουν αισθητά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του παραγόμενου ελαιόλαδου. Προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι οι συγκεντρώσεις των πτητικών ενώσεων που προκύπτουν από τις οδούς της LOX, αλλάζουν σε σχέση με τον χρόνο μάλαξης (Angerosa, d'Alessandro et al., 1998). Από την άλλη πλευρά, η δραστηριότητα των ενζύμων που εμπλέκονται στις οδούς της LOX επηρεάζονται με διάφορους τρόπους από τη θερμοκρασία της ελαιόπαστας κατά τη διάρκεια της μάλαξης (Salas & Sánchez, 1999).

3.19. Εφαρμογή μεθόδων για την αύξηση της απόδοσης και βελτίωση της ποιότητας του ελαιόλαδου

Μια θεμελιώδης φάση της διαδικασίας εκχύλισης για το ελαιόλαδο είναι η μάλαξη της ελαιόπαστας, επειδή αυτή η διαδικασία βελτιώνει τα διαδοχικά στάδια διαχωρισμού και αυξάνει την απόδοση της εκχύλισης ελαίου. Ένα από τα «επιλεγμένα» σημεία στην παραγωγική διαδικασία εξαγωγής ελαιόλαδου είναι το στάδιο της μάλαξης, επειδή βελτιώνει τα διαδοχικά στάδια διαχωρισμού και αυξάνει την απόδοση της εκχύλισης σε έλαιο. Στόχος όλων των βιομηχανιών παραγωγής ελαιόλαδου, είναι η αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο και η παραγωγή ενός ανώτερου ποιοτικά τελικού εξαιρετικά παρθένου ελαιόλαδου. Στη διεθνή βιβλιογραφία αναφέρεται ότι ο χρόνος και η θερμοκρασία μάλαξης επηρεάζουν σημαντικά όχι μόνο την απόδοση της εκχύλισης του ελαίου, αλλά και τα χημικά και οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά (Kalua et al, 2006; Boselli et al, 2009). Μία λύση για να ξεπεραστεί η χαμηλή απόδοση σε ελαιόλαδο είναι η αύξηση του χρόνου και της θερμοκρασίας της μάλαξης, η οποία βοηθά τα μικρά σταγονίδια ελαίου να συσσωρεύονται, σχηματίζοντας μεγάλα σταγονίδια ελαίου που διαχωρίζονται εύκολα στο στάδιο της φυγοκέντρησης (Di Giovacchino et al., 2007). Αυτή η «λύση» έχει αρνητικές επιπτώσεις στα ποιοτικά και οργανοληπτικά του παραγόμενου ελαιόλαδου (Angerosa et al. 2001; Clodoveo 2012; Clodoveo et al., 2013b; Puértolas & Martínez De Marañón, 2015; Selvaggini et al., 2014), καθώς σε υψηλές θερμοκρασίες πολλές, διαφορετικές χημικές και ενζυμικές αντιδράσεις υποβαθμίζουν την ποιότητα του ελαίου και την περιεκτικότητα του σε φαινολικές ενώσεις που του προσδίδουν οξειδωτική σταθερότητα κατά την αποθήκευση (Fiori et al., 2014; Gomez-Rico et al., 2006; Ranalli et al., 2001; Selvaggini et al., 2014; Yoruk & Marshall 2003). Επομένως, μια ισορροπία μεταξύ απόδοσης και ποιότητας του ελαιόλαδου πρέπει να επιτευχθεί (Servilli et al, 2003).

Τα τελευταία χρόνια, πολλές από τις τελευταίες καινοτόμες τεχνολογίες που έχουν εφαρμοστεί σε εργαστηριακής κλίμακας μονάδες εξαγωγής ελαιόλαδου είχαν ως πρωταρχικό στόχο να αυξήσουν την απόδοση σε ελαιόλαδο από την ελαιόπαστα κατά τη διάρκεια της μάλαξης, διατηρώντας παράλληλα ή βελτιώνοντας τα ποιοτικά χαρακτηριστικά στο παραγόμενο παρθένο ελαιόλαδο. Μερικές από αυτές είναι η χρήση ενζύμων, μικροκυμάτων, υπερήχων, παλμικών ηλεκτρικών πεδίων και υπερυψηλής πίεσης ως προεπεξεργασίες πριν στάδιο της μάλαξης της ελαιόπαστας.

Ένας κοινός ρόλος της χρήσης αυτών των τεχνολογιών είναι να οδηγήσουν σε περαιτέρω κυτταρική διάσπαση του ελαιοπυρήνα και να απελευθερώσει ενδοκυτταρικά συστατικά και έλαιο ώστε να βελτιώσει την απόδοση σε ελαιόλαδο και τα ποιοτικά και οργανοληπτικά του

χαρακτηριστικά (Clodoveo et al., 2017, Puertolas & Martinez de Maranon, 2015, Leone et al., 2018). Κάθε διεργασία επηρεάζει διαφορετικά την κυτταρική δομή της ελαιόπαστας λόγω θερμικών και μη θερμικών φαινομένων που σχετίζονται αυστηρά με μεταβολές στη θερμοκρασία, την πίεση, την ενέργεια, το ηλεκτρικό δυναμικό ή οποιονδήποτε συνδυασμό αυτών. Οι διεργασίες αυτές δημιουργούν δομικές τροποποιήσεις στους ιστούς της ελαιόπαστας, προκαλώντας διαφορετικά αποτελέσματα, όπως ανάπτυξη πόρων, αυξημένη κυτταρική διαπερατότητα και κατάρρευση των κυτταρικών μεμβρανών ή τοιχωμάτων της ελαιόπαστας που δεν έσπασαν κατά την άλεση του ελαιόκαρπου (Chemat et al., 2017). Οι διεργασίες αυτές επιδιώκουν να βελτιώσουν την απελευθέρωση σταγονιδίων ελαίου που βρίσκονται κυρίως στο εσωτερικό των κενοτόπιων των μεσοκαρπικών κυττάρων που υπάρχουν στην ελαιόπαστα. Αυτό το φαινόμενο προκαλεί ταυτόχρονη απελευθέρωση άλλων ενδοκυτταρικών συστατικών με αντιοξειδωτική δράση που εκχυλίζονται στις υδατικές και λιπαρές φάσεις της ελαιόπαστας (Chemat et al., 2017). Εκτός από την αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο επομένως, οι διεργασίες αυτές λόγω της αύξησης της εκχυλισιμότητας που προκαλούν αυξάνουν τη συγκέντρωση αντιοξειδωτικών ουσιών, όπως α-τοκοφερόλων και/ή των υδρόφιλων φαινολών στο παραγόμενο ελαιόλαδο βελτιώνοντας τα ποιοτικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του (Iqdam et al., 2018, Puertolas & Martinez de Maranon, 2015, Almeida et al., 2017, Esposto et al., 2013, Veneziani et al., 2018a). Στις παρακάτω παραγράφους αυτές οι διεργασίες θα αναφερθούν συνοπτικά.

3.19.1. Μάλαξη υποβοηθούμενη από υπερήχους

Η υποβοηθούμενη εκχύλιση του ελαίου και ενδοκυτταρικών ενώσεων με υπερήχους, βασίζεται στο φαινόμενο της «σπηλαιώσης» που επιτρέπει την επιτάχυνση της μεταφοράς θερμότητας και μάζας. Η σπηλαιώση που προκαλείται από του υπερήχους συμβάλλει στη δημιουργία φυσαλίδων αερίου σε υψηλά αρνητική πίεση στην ελαιόπαστα, οι οποίες διαταράσσουν τα κυτταρικά τοιχώματα επιτρέποντας στα μικρά σταγονίδια ελαίου να εξαχθούν (Bejaoui et al. 2016). Επιπλέον, η τεχνολογία των υπερήχων προκαλεί ακαριαία θέρμανση της ελαιόπαστας πριν το στάδιο της μάλαξης, μειώνοντας τον χρόνο μάλαξης. Η αύξηση της θερμοκρασίας στην ελαιόπαστα μειώνει επίσης το ιξώδες του ελαίου που παράγεται, ενισχύοντας τη συσσωμάτωση και τη συσσώρευση σταγονιδίων λαδιού (Fiori et al. 2014). Οι πρώτες μελέτες στη βιβλιογραφία που αξιολόγησαν μάλαξη της ελαιόπαστας υποβοηθούμενη από υπερήχους ως προκατεργασία, οδήγησαν σε βελτιωμένη απόδοση σε ελαιόλαδο, αυξάνοντας επίσης το φαινολικό κλάσμα των παραγόμενων ελαίων (Almeida et al., 2017, Clodoveo et al., 2017, Juliano et al., 2017, Leone et al., 2018). Μειονέκτημα αυτής της προεπεξεργασίας είναι ότι η απότομη αύξηση της θερμοκρασίας μπορεί να προκαλέσει υποβάθμιση θερμοευαίσθητων συστατικών που υπάρχουν

στην ελαιόπαστα μειώνοντας τη συγκέντρωση τους στο παραγόμενο ελαιόλαδο, καθώς επίσης να ενισχυθούν ενζυμικές αντιδράσεις οξειδωσης από ένζυμα που υπάρχουν στην ελαιόπαστα. Στον πίνακα 3.5 αναφέρονται κάποιες από τις μελέτες που έχουν διεξαχθεί είτε σε εργαστηριακή είτε σε ημι-βιομηχανική κλίμακα με την εφαρμογή των υπερήχων ως προκατεργασία στο στάδιο της μάλαξης για την αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο.

3.19.2. Μάλαξη υποβοηθούμενη με Μικροκύματα

Τα μικροκύματα είναι ηλεκτρομαγνητικά κύματα που λειτουργούν από 300 MHz έως 300 GHz (Datta & Anantheswaran, 2000, Lauf et al., 1993), τα οποία θερμαίνουν ογκομετρικά υλικά μέσω της εσωτερικής τριβής μεταξύ των μορίων νερού. Τα μικροκύματα είναι ευρέως διαδεδομένη τεχνολογία και χρησιμοποιείται συχνά ως εναλλακτικό σύστημα για την αντικατάσταση της άμεσης θέρμανσης και τη μείωση του χρόνου θέρμανσης (Chandrasekaran et al., 2013, Cocci et al., 2008, Karaaslan & Tunçer, 2008). Η τοπική θέρμανση με μικροκύματα προκαλεί τη ρήξη και την αποδιάταξη των συστατικών του κυτταρικού τοιχώματος μέσω του σχηματισμού εσωτερικής ροής πίεσης ατμών, διευκολύνοντας την απελευθέρωση των στοιχείων του κυτταρικού τοιχώματος (Aguilera & Stanley, 1999, Jiao et al., 2013).

Μελέτες έχουν δείξει ότι η μάλαξη υποβοηθούμενη από μικροκύματα αυξάνει την απόδοση σε ελαιόλαδο λόγω της αυξημένης διαπερατότητας του κυτταρικού τοιχώματος που οδηγεί στην άμεση απελευθέρωση του ελαιόλαδου από το κενοτόπιο (Uquiche, et al., 2008). Η στιγμιαία θέρμανση της ελαιόπαστας που παρατηρείται με τα μικροκύματα επιτρέπει τη μείωση της διάρκειας της μάλαξης αλλά ταυτόχρονα μπορεί να υποβαθμίσει θερμοευαίσθητα συστατικά με αντιοξειδωτική ικανότητα που υπάρχουν στην ελαιόπαστα μειώνοντας την οξειδωτική σταθερότητα του παραγόμενου ελαιόλαδου.

Στον πίνακα 3.5 αναφέρονται κάποιες από τις μελέτες που έχουν διεξαχθεί με την εφαρμογή των μικροκυμάτων ως προκατεργασία στο στάδιο της μάλαξης για την αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο.

3.19.3. Μάλαξη με ενζυμική προκατεργασία

Όπως ήδη έχει προαναφερθεί, ένα από τα πιο σημαντικά βήματα στη μηχανική εκχύλιση του ελαιόλαδου είναι η μάλαξη (άλεση της πάστας), η οποία συμβάλλει στην ενεργοποίηση πολλών ενζυμικών διεργασιών λόγω της σύνθλιψης του καρπού της ελιάς. Αρκετοί συγγραφείς ανέφεραν ότι η προσθήκη εμπορικών παρασκευασμάτων ενζύμων ή μείξη αυτών (πηκτινάσες και κυτταρινάσες) κατά τη διάρκεια της μάλαξης μπορεί να μειώσουν την πολυπλοκότητα των υδρόφιλων φαινολών αυξάνοντας τη συγκέντρωση τους στην πάστα ελιάς και την επακόλουθη

απελευθέρωσή τους στα παραγόμενα έλαια και τα παραπροϊόντα κατά τη διάρκεια της μάλαξης. Οι μίξεις των ενζύμων που χρησιμοποιούνται διαρρηγνύουν τα κυτταρικά τοιχώματα που δεν είχαν ήδη διαρρηχθεί κατά τη σύνθλιψη του καρπού αλλά και τα γαλακτώματα που δημιουργήθηκαν κατά τη σύνθλιψη του ελαιόκαρπου. Με αυτόν τον τρόπο, τα μικρά σταγονίδια ελαίου απελευθερώνονται σταδιακά και συγχωνεύονται σε μεγαλύτερα σταγονίδια μέχρι να σχηματίσουν μια μάζα ελεύθερου ελαίου, η οποία στη συνέχεια εξάγεται μηχανικά. Εφαρμογές στη βιβλιογραφία την ενζυμικής προκατεργασίας της ελαιόπαστας πριν το στάδιο της μάλαξης για αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο και του ολικού φαινολικού περιεχομένου στο παραγόμενο ελαιόλαδο αναφέρονται στον Πίνακα 3.5.

3.20. Εφαρμογή των ΠΗΠ και της ΥΠ στην παραγωγή υψηλής απόδοσης και ποιότητας ελαιόλαδου

Η εφαρμογή των ΠΗΠ και της ΥΠ ως προεπεξεργασίες μπορούν να ενισχύσουν πολλές διαφορετικές διεργασίες με στόχο τη μεταφορά μάζας, αυξάνοντας την απόδοση της κάθε διεργασίας. Συγκεκριμένα, η ενίσχυση της διαπερατότητας της κυτταρικής μεμβράνης με τη βοήθεια των ΠΗΠ και της ΥΠ, προσφέρει τη δυνατότητα αύξησης των ρυθμών μεταφοράς μάζας σε φυτικά κύτταρα, με στόχο τη σημαντική εξοικονόμηση ενέργειας, την αύξηση της απόδοσης αλλά και τη μείωση του χρόνου της κάθε διεργασίας.

Τα ΠΗΠ και η ΥΠ μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως προεπεξεργασίες στην ελαιόπαστα πριν το στάδιο της μάλαξης οδηγώντας σε περαιτέρω κυτταρική διάσπαση του ελαιοπυρήνα απελευθερώνοντας ενδοκυτταρικά συστατικά και έλαιο. Οι δυο αυτές προεπεξεργασίες στοχεύουν στη βελτίωση της απόδοσης σε ελαιόλαδο και στα ποιοτικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του παραγόμενου ελαίου, καθώς επίσης και στη μείωση της έντασης των συνθηκών της μάλαξης, εξοικονομώντας ταυτόχρονα ενέργεια. Στη βιβλιογραφία, η εφαρμογή των ΠΗΠ ως προεπεξεργασία στην παραγωγή ελαιόλαδου έδωσε θετικά αποτελέσματα (Πίνακας 3.6), ενώ η εφαρμογή της ΥΠ στην ελαιόπαστα δεν έχει μελετηθεί.

Στην παρούσα διατριβή, η χρήση των ΠΗΠ και της ΥΠ ως προεπεξεργασίες στην ελαιόπαστα πριν το στάδιο της μάλαξης έχει μελετηθεί και θα αναλυθεί σε επόμενο κεφάλαιο.

Πίνακας 3.6. Ανασκόπηση βιβλιογραφίας με μελέτες που αφορούν τη χρήση νέων τεχνολογιών ως προκατεργασία πριν το στάδιο της μάλαξης για την αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο

| Προκατεργασία (Ποικιλία) | Συνθήκες | Αποτελέσματα της έρευνας | Βιβλιογραφία |
|--|---|---|--------------------------|
| Enzymatic assisted malaxation (<i>Coratina cv</i>) | Pectinase:Cellulose:Hemicellulose (33.3:33.3:33.3% (v/v/v)) | Μέγιστη απόδοση σε ελαιόλαδο (25.00 mL/kgpaste) μετά από 91,64 min χρόνο μάλαξης με μέγιστο ολικό φαινολικό περιεχόμενο (844.30 gCAE/kg) και αντιοξειδωτική ικανότητα έλαιου (24.93 gDPPH/L). | Aliakbarian et al., 2008 |
| Enzymes assisted malaxation (<i>Tunisian cv</i>) | pectinase 1,pectinase 2, xylanase, cellulase | Αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο (1.5%) και του ολικού φαινολικού περιεχομένου (10%), της συγκέντρωσης των χλωροφυλλών (25%) και καροτενοειδών (30%) | Hadj-Taieb et al., 2012 |
| Enzymes assisted malaxation (<i>Arbequina & Picual cv</i>) | Olivex & Novoferm 12 (1:1) 0.5 g/kg ελαιόπαστας Olivex + Glucanex (1:1) 0.5 g/kg ελαιόπαστας. | Αύξηση των ορθοδυφαινολών και των λιγνανών 65 και 5% στα παραγόμενα ελαιόλαδα. | García et al., 2010 |
| Enzymatic assisted malaxation (<i>Megaritiki cv</i>) | E1: 0.25 mL of Olivex με 0.03 g of Glucanex/kg E2: 0.5 mL of Olivex με 0.06 g of Glucanex/kg E3: 0.5 mL of Olivex με 0.06 g of Glucanex/kg μαζί με N2 (2 L/min) | Απόδοση σε ελαιόλαδο ίση με 14,76, 15,31 και 15 % για τα μείγματα ενζύμων E1, E2 και E3 αντίστοιχα, ενώ το ανεπεξέργαστο δείγμα είχε απόδοση ίση με 13,28%. | Iconomou et al., 2010 |
| Coadjuvants (<i>Coratina cv</i>) | Calcium carbonate 2 % & 4%, | Καμία σημαντική αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο και στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του τελικού παραγόμενου ελαιόλαδου. | Tamborrino et al., 2017 |
| Salt (<i>Arbequina cv</i>) | Αλάτι 0.6 & 1.2% | Αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο 28,2% | Cruz et al., 2007 |
| Ultrasounds assisted malaxation (<i>Coratina & Peranzana</i>) | 8 min, 35 kHz, Παροχή 4.25 L, 150 W | Αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο έως και 1% σε | Clodoveo et al., 2013 |
| Ultrasounds assisted malaxation (<i>Picual cv</i>) | 20, 40, & 80 kHz | Αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο. | Bejaoui et al., 2017 |
| Ultrasounds assisted malaxation (<i>Coratina cv</i>) | 10 min, 35 kHz, Όγκος 4.25 L, 150 W | Μείωση του χρόνου μάλαξης από 60 σε 40 min. Αύξηση 60 και 30 % στη συγκέντρωση των τοκοφερολών και χλωροφυλλών και μείωση στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο 30% | Clodoveo et al., 2013 |

| | | | |
|--|--|---|----------------------------|
| Ultrasounds assisted malaxation (<i>Picual cv</i>) | 40 KHz, 150 W | Αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο από 0.81% έως 2.02% . Μείωση του χρόνου μάλαξης από 40 σε 20 min. Μείωση του ολικού φαινολικού περιεχομένου. | Bejaoui et al., 2016 |
| Ultrasounds assisted malaxation (<i>Ogliarola Garganica cv</i>) | 20 kHz, 2.8 kW, 3 bars | Αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο (22,7%) και του ολικού φαινολικού περιεχομένου (10,1%) | Taticchi et al., 2019 |
| Ultrasound assisted malaxation (<i>Ogliarola garganica cv</i>) | 20 kHz, 2.8 kW | Αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο (22.7%) | Pagano et al., 2019 |
| Microwave assisted malaxation (<i>Ogliarola Garganica cv</i>) | Συνεχής ημι-βιομηχανικής κλίμακας 2.4 GHz, 1 έως 6 kW | Καμία σημαντική αύξηση της απόδοσης και αύξηση της συγκέντρωσης των αρωματικών συστατικών του παραγόμενου ελαιόλαδου. | Tamborrino et al., 2014 |
| HP&PEF assisted malaxation (<i>Tsounati cv</i>) | PEF (1.6, 13.3, 20,0, 50,7 kJ/kg) & HP (200, 600 MPa, 1- 5 min) | Αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο για τις προεπεξεργασμένες με PEF και HP ελιές από 3 έως 18% και 6 έως 24%, αντίστοιχα. Αύξηση του ολικού φαινολικού περιεχομένου από 20,5-28,6% για τα προεπεξεργασμένα δείγματα. | Andreou et al., 2017 |
| PEF assisted malaxation (<i>Arbequina cv</i>) | 2kV/cm | Αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο (14,1%) Μείωση της θερμοκρασίας μάλαξης από 26 σε 15 °C. Μικρή μείωση του ολικού φαινολικού περιεχομένου στα παραγόμενα ελαιόλαδα. | Abenoa et al., 2013 |
| PEF assisted malaxation (<i>Arroniz cv</i>) | 2 kV/cm; 11.25 kJ/kg | Αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο (13,3%) και του ολικού φαινολικού περιεχομένου (11,5%), της συγκέντρωσης των ολικών φυτοστερολών (9,9%) και τοκοφερολών (15,0%) | Puértolas et al., 2015 |
| PEF assisted malaxation (<i>Pietro Leone cv</i>) | 2 kV/cm , 25 Hz, πλάτος παλμού 50 μs, 7.83 kJ/kg | Απόδοση σε ελαιόλαδο ίση με 85,5% για τη προεπεξεργασμένη με PEF ελαιόπαστα σε σχέση με τη ανεπεξεργαστη που είχε απόδοση ίση με 79,5%. | Tamborrino et al., 2020 |
| PEF assisted malaxation (<i>Coratina cv</i>) | 1.7 kV/cm, 17 kJ/kg | Αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο (από 2,3 έως 6,0%) φαινολικού περιεχομένου στα παραγόμενα ελαιόλαδα (από 3,2 έως 14,3%). | Veneziani et al., 2019 |

4. Κεφάλαιο 4: Εφαρμογή της Υπερυψηλής Πίεσης και των Παλμικών Ηλεκτρικών Πεδίων σε παραπροϊόντα φυτικής προέλευσης

4.1. Τα παραπροϊόντα της βιομηχανίας τροφίμων: Διαχείριση και αξιοποίηση τους

Ένα από τα κλειδιά για τη διασφάλιση της περιβαλλοντικής, οικονομικής και κοινωνικής βιωσιμότητας των βιομηχανικών δραστηριοτήτων είναι η βελτίωση της διαχείρισης των αποβλήτων και των παραπροϊόντων που παράγονται. Η βιομηχανία τροφίμων είναι ένας από τους τομείς που παράγουν περισσότερα απόβλητα σε ολόκληρη την αλυσίδα, από την πρωτογενή παραγωγή (άνω των δισεκατομμυρίων τόνων) (Gustavsson et al., 2011), και ως εκ τούτου αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους τομείς που πρέπει να ληφθεί η αποτελεσματική και συστηματική αξιοποίηση τους (Koubaa et al., 2015, Roselló-Soto et al., 2015b).

Από την αρχή της βιομηχανικής επανάστασης έως τον 20^ο αιώνα, τα περισσότερα από αυτά τα απόβλητα αντιμετωπίστηκαν ως άχρηστα, χωρίς να ληφθούν υπόψη οι υψηλές περιβαλλοντικές επιπτώσεις τους καθώς και οι δυνατότητές τους να χρησιμοποιηθούν ως πηγή ενώσεων υψηλής προστιθέμενης αξίας ή ως πρώτη ύλη σε άλλες βιομηχανικές διεργασίες (Galanakis, 2012, Roselló-Soto et al., 2015a, Roselló-Soto et al., 2015b).

Την τελευταία δεκαετία, έχουν μελετηθεί και αναπτυχθεί διάφορες στρατηγικές για την παραγωγή πιο αποτελεσματικών διαδικασιών για την ενίσχυση των γεωργικών αποβλήτων τροφίμων ως παραπροϊόντων, δηλαδή ως παραπροϊόντα που μπορούν να αξιοποιηθούν σε άλλες βιομηχανικές διεργασίες. Τέτοιοι τρόποι θα ήταν η ανάκτηση βιοδραστικών συστατικών και η ενσωμάτωση τους σε άλλα τρόφιμα, φάρμακα ή καλλυντικά, καθώς και η χρήση τους ως πρώτες ύλες. Η ανάκτηση ενώσεων υψηλής προστιθέμενης αξίας που μπορεί να βρεθούν σε παραπροϊόντα τροφίμων συνεπάγεται την εκχύλισή τους χρησιμοποιώντας συστήματα που δεν επηρεάζουν τη λειτουργικότητά τους για την περαιτέρω χρήση τους ως συστατικά. Επιπλέον, η ανάκτηση αυτών θα πρέπει να είναι τεχνολογικά και οικονομικά εφικτή για να καταστεί βιώσιμη ως εναλλακτική αξιοποίηση (Galanakis, 2013; Luengo, 2015).

Οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενες τεχνικές εκχύλισης είναι η χρήση διαλυτών (εκχύλιση στερεού-υγρού), οι οποίοι σε ορισμένες περιπτώσεις είναι τοξικοί (π.χ. μεθανόλη, εξάνιο). Ανάλογα με τη φύση του παραπροϊόντος, η εκχύλιση μπορεί επίσης να υποβοηθηθεί με ήπιες (<40 °C) ή υψηλές

(> 40 °C) θερμοκρασίες για την ενίσχυση της αποτελεσματικότητας της διεργασίας. Ωστόσο, σε πολλές περιπτώσεις οι «ενδιαφέρουσες» ενώσεις που πρέπει να ανακτηθούν είναι θερμοευαίσθητες, επομένως δεν είναι δυνατή η αύξηση της θερμοκρασίας (Barba et al., 2015a). Σε αυτές τις περιπτώσεις, οι τελικές αποδόσεις της εκχύλισης είναι χαμηλές και/ή απαιτούνται μεγάλοι χρόνοι εκχύλισης. Επιπλέον, αυτές οι διεργασίες περιλαμβάνουν τη χρήση μιας πολύ σημαντικής ποσότητας οργανικών διαλυτών, οι οποίοι σε πολλές περιπτώσεις είναι επιβαρυντικές για την ανθρώπινη υγεία και/ή το περιβάλλον (Barba et al., 2014, Deng et al., 2014).

Προκειμένου να αυξηθεί η ποσότητα της ανακτηθείσας ένωσης ή/και να μειωθεί ο χρόνος εκχύλισης, είναι επίσης κοινή η χρήση προκατεργασίας για τη διευκόλυνση της επακόλουθης εκχύλισης, όπως η μείωση του μεγέθους των σωματιδίων ή η χρήση ενζύμων (Barba et al., 2015a). Ωστόσο, σε πολλές περιπτώσεις, οι συμβατικές τεχνικές προεπεξεργασίας είναι δαπανηρές ή διαταράσσουν τα στάδια καθαρισμού και σταθεροποίησης αυτών των ενώσεων (Puértolas et al., 2012).

Τα τελευταία χρόνια, μελετήθηκαν αρκετές καινοτόμες τεχνολογίες προκειμένου να διευκολυνθεί το στάδιο της προεπεξεργασίας της εκχύλισης ώστε να επιλυθούν αυτά τα προβλήματα και να βελτιωθούν οι μελλοντικές διαδικασίες εκχύλισης, όπως μικροκύματα, υπέρηχοι, εκχύλιση με υπερκρίσιμα ρευστά (Esclapez et al., 2011; Juliano et al., 2016; Marousek, 2015; Zhang et al., 2011a).

Σε αυτό το κεφάλαιο της διατριβής, θα αναλυθεί εκτενώς η διεργασία της εκχύλισης στερεού-υγρού αλλά και νέες καινοτόμες τεχνολογίες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως προεπεξεργασίες ώστε είτε να αυξήσουν την απόδοση της εκχύλισης σε ενώσεις προστιθέμενης αξίας από παραπροϊόντα τροφίμων είτε να μειώσουν τον χρόνο και το κόστος της εκχύλισης. Ιδιαίτερη έμφαση θα δοθεί σε παραπροϊόντα της βιομηχανικής επεξεργασίας τομάτας και στα στερεά παραπροϊόντα ελαιουργίας, τα οποία αποτέλεσαν αντικείμενο της παρούσας διατριβής.

Μεταξύ αυτών των νέων καινοτόμων τεχνολογιών, η χρήση των παλμικών ηλεκτρικών πεδίων (ΠΗΠ και της υπερυψηλής πίεσης (ΥΠ) έχει τραβήξει την προσοχή τόσο των ερευνητών όσο και της βιομηχανίας τροφίμων, λόγω της δυνατότητάς τους να αυξήσουν την απόδοση της ανάκτησης αυτών των ενώσεων, και να καταστήσουν την ανάκτηση τους οικονομικά και περιβαλλοντικά βιώσιμη λύση για τη βιομηχανία τροφίμων (Barba et al., 2015a).

Σε προηγούμενα κεφάλαια της διατριβής έχει αναλυθεί εκτενώς πως οι δυο αυτές τεχνολογίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως προεπεξεργασίες σε έναν ιστό φυτικής προέλευσης πριν από τη συμβατική εκχύλιση βελτιώνοντας την επιλεκτική ανάκτηση πολύτιμων ενδοκυτταρικών

ενώσεων χωρίς να καταστρέφεται τη δομή και τη λειτουργικότητά τους λόγω των ήπιων θερμοκρασιών που χρησιμοποιούν (Vorobiev & Lebonka, 2011a).

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφική ανασκόπηση αλλά και τα σημαντικότερα σημεία της αρχής των μεθόδων που διέπουν τις δυο αυτές τεχνολογίες, η χρήση τους ως προεπεξεργασίες της συμβατικής εκχύλισης πλεονεκτεί έναντι άλλων τεχνολογιών καθώς: (α) βελτιώνουν την απόδοση της εκχύλισης, (β) αυξάνουν τον ρυθμό της εκχύλισης (μείωση του χρόνου εκχύλισης), (γ) μειώνουν της ένταση των παραμέτρων της εκχύλισης (π.χ. θερμοκρασία εκχύλισης, συγκέντρωση διαλύτη) και (δ) μειώνουν το κόστος ενέργειας των συμβατικών πρωτοκόλλων εκχύλισης. Στην παρούσα διατριβή έχει μελετηθεί εκτενώς η εφαρμογή και των δύο τεχνολογιών σε στερεά παραπροϊόντα τοματοβιομηχανίας και ελαιουργίας.

4.2. Παραπροϊόντα βιομηχανικής επεξεργασίας τομάτας

Η βιομηχανική επεξεργασία της τομάτας οδηγεί σε έναν τεράστιο όγκο παραπροϊόντων, που αποτελούνται από υγρά και στερεά απόβλητα που προκύπτουν από τα διάφορα στάδια παραγωγής. Τα υγρά απόβλητα προκύπτουν από την πλύση των καρπών, από τα διαλύματα των χημικών ουσιών, από την αποφλοιώση, τα νερά καθαρισμού και τα στερεά κυρίως από σπόρους και φλοιοί (Al-Wandawi, et al., 1985). Οι σπόροι, οι φλοιοί καθώς και οι ελαττωματικοί καρποί δεν θεωρούνται απόβλητα, αλλά παραπροϊόντα, γιατί μπορούν να αποτελέσουν πρώτη ύλη για την παραλαβή πολλών θρεπτικών συστατικών, αφού κυμαίνονται από 5-25% της πρώτης ύλης, συνήθως δε οι φλοιοί και οι σπόροι αποτελούν το 2-3% της πρώτης ύλης. Τα παραπροϊόντα της βιομηχανικής επεξεργασίας της τομάτας αποτελούν σημαντικό περιβαλλοντικό πρόβλημα παγκοσμίως. Η διαχείριση των παραπροϊόντων τομάτας θεωρείται σημαντικό πρόβλημα, καθώς δεν μπορούν να απορριφθούν στο περιβάλλον. Χρησιμοποιούνται κυρίως για ζωοτροφές ή λιπάσματα (Knoblich, et al., 2005), ενώ η πολύ υψηλή υγρασία τους καθιστά δύσκολη την αποθήκευσή τους. Με αυτόν τον τρόπο, συνιστάται γρήγορη κατανάλωση προκειμένου να αποφευχθούν οι διαδικασίες ζύμωσης (οι οποίες ευνοούνται από τις υψηλές θερμοκρασίες κατά τη διάρκεια της περιόδου βιομηχανικής επεξεργασίας τομάτας. Επίσης, τα παραπροϊόντα τομάτας αποτελούν μια πολλά υποσχόμενη πηγή αντιοξειδωτικών ενώσεων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τις θρεπτικές τους ιδιότητες και το βιολογικό δυναμικό τους. Είναι γνωστό ότι τα περισσότερα από αυτά περιλαμβάνουν τοκοφερόλες, καροτενοειδή, πολυφαινόλες, κάποια τερπένια και στερόλες) τα οποία έχουν αντιοξειδωτική δράση και επομένως, μπορούν να ανακτηθούν από τα βιομηχανικά παραπροϊόντα τομάτας και να χρησιμοποιηθούν ως φυσικά αντιοξειδωτικά για την παρασκευή λειτουργικών τροφίμων ή ως πρόσθετες ύλες για την επιμήκυνση της διάρκειας ζωής των τροφίμων (Kalogeropoulos, et al., 2012). Τα παραπροϊόντα

τομάτας επίσης θεωρούνται σημαντική πηγή φυσικών καροτενοειδών, με κύριο συστατικό το λυκοπένιο. Έχει αποδειχθεί ότι το λυκοπένιο είναι ένα φυτοχημικό συστατικό με πολλά οφέλη για την υγεία, ικανό να καταπολεμήσει πολλούς τύπους καρκίνου.

4.2.1. Σύσταση παραπροϊόντων τομάτας

Το παραπροϊόν των φλοιών περιέχει υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη (100,8g/kg), τέφρα (299,4g/kg) και περιέχει και μεγάλο ποσοστό ινών, γεγονός που μπορεί να αξιοποιηθεί με την ενσωμάτωσή τους σε εδώδιμα προϊόντα ώστε να αυξηθεί η περιεκτικότητα του σε διαιτητικές ίνες. Η περιεκτικότητα σε λυκοπένιο του φλοιού ήταν 734 μg/g ξ.β. Υπάρχουν επίσης σημαντικές ποσότητες λουτεΐνης, β-καροτενίου και cis-β-καροτενίου.

Πίνακας 4.1. Συγκέντρωση των κυριότερων ενώσεων σε φλοιούς τομάτας

| Περιεκτικότητα (%)* | Φλοιοί τομάτας |
|-------------------------------------|-----------------------|
| Υγρασία | 10.1 |
| Περιεχόμενο έλαιο (crude) | 1.7 |
| Πρωτεΐνες (crude) | 20.0 |
| Φυτικές Ίνες (crude) | 46.1 |
| Υδατάνθρακες | 26.6 |
| Τέφρα | 5.6 |
| Μέταλλα (mg/100 g)* | |
| Κάλιο | 1270.0 |
| Ασβέστιο | 217.4 |
| Μαγνήσιο | 121.7 |
| Καροτενοειδή (mg/kg)** | |
| Λυκοπένιο | 413.7 |
| β-καροτένιο | 149.8 |
| Τοκοφερόλες(mg/kg)** | 177.93 |
| Στερόλες(mg/kg)** | 833.5 |
| Φαινολικά συστατικά(mg/kg)** | 645.6 |
| Φλαβονοειδή(mg/kg)** | 378.7 |

* Knoblich et al., 2015; **Kalogeropoulos et al., 2012

Το παραπροϊόν του σπόρου περιέχει υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη και λιπαρά, έχοντας μεγάλη διατροφική αξία που μπορούν να εμπλουτίσουν άλλα τρόφιμα. Όμως, το κύριο προϊόν

αξιοποίησης των σπόρων αποτελεί το έλαιο από σπόρους τομάτας, το *τοματέλαιο*, το οποίο είναι πλούσιο σε ακόρεστα λιπαρά οξέα. Το παραπροϊόν σπόρου περιέχει 130 μg λυκοπενίου/kg ξ.β. Το περιεχόμενο άλλων καροτενοειδών ήταν περίπου το μισό από αυτό που υπάρχει στους φλοιούς. Διαπιστώνεται, επομένως, ότι ο φλοιός τομάτας είναι μια πλούσια πηγή λυκοπενίου καθώς περιέχει 6 φορές περισσότερο λυκοπένιο σε σχέση με την υπόλοιπη σάρκα, το οποίο είναι προσαρτημένο στο τμήμα της τομάτας με τις αδιάλυτες φυτικές ίνες, ενώ το β-καροτένιο είναι ισομερώς καταναμημένο σε όλο τον καρπό (Πίνακας 4.1).

4.2.2. Αξιοποίηση παραπροϊόντων τομάτας

Στην περίπτωση των στερεών παραπροϊόντων τομάτας, το χύμα, η λάσπη και οι υπόλοιπες προσμίξεις από την πλύση των καρπών μετά τον εσχαρισμό τους επιστρέφουν στον αγρό. Τα υπολείμματα χρησιμοποιούνται ως λιπάσματα στις ρίζες των φυτών. Διαφορετική περίπτωση αποτελούν οι ελλαττωματικοί καρποί, οι οποίοι μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως ζωοτροφές. Οι καρποί αυτοί αφού πιεστούν για να φύγει ο χυμός που έχουν, αυτός συμπυκνώνεται μερικώς και ότι απομένει οδηγείται για ξήρανση και στη συνέχεια ως ζωοτροφές. Οι σπόροι και οι φλοιοί (τσίπουρο) που διαχωρίζονται κατά την εξαγωγή του τοματοχυμού επίσης μετά τη ξήρανση τους οδηγούνται για ζωοτροφή.

Τα παραπροϊόντα τομάτας βρίσκουν επί του παρόντος χρήσεις χαμηλής προστιθέμενης αξίας ως ζωοτροφές και λιπάσματα (Knoblich et al., 2005, Strati & Oreopoulou, 2014), ή αποστέλλονται απευθείας σε χώρους υγειονομικής ταφής (Rossini et al., 2013). Ωστόσο, εξακολουθούν να είναι πλούσια σε σημαντικά θρεπτικά συστατικά, όπως πρωτεΐνες, λιπίδια, υδατάνθρακες και ίνες και αποτελούν την κύρια πηγή αρκετών καροτενοειδών (Knoblich et al., 2005, Strati & Oreopoulou, 2014). Μία νέα και ελκυστική αξιοποίησή τους θα ήταν η ανάκτηση όλων αυτών των βιοδραστικών συστατικών που περιέχει. Γίνεται λοιπόν αντιληπτό από την πλούσια σύσταση σε καροτενοειδή που εμφανίζουν τα στερεά παραπροϊόντα της τομάτας ότι από αυτά μπορούν να ανακτηθούν μεγάλες ποσότητες καροτενοειδών. Η ανάκτηση αυτών των πολύτιμων ενώσεων με αντιοξειδωτική δράση και η περαιτέρω αξιοποίησή τους ως πρόσθετα σε νέα προϊόντα για τους βιομηχανικούς κλάδους των τροφίμων, καλλυντικών και φαρμακευτικών προϊόντων είναι κάτι περισσότερο από σημαντικό. Κάτι τέτοιο όμως προϋποθέτει την ανάπτυξη ολοκληρωμένων και αρτιότερων καταρτισμένων μεθόδων διαχείρισης τους. Με συγκροτημένες προσπάθειες είναι πολύ πιθανό να υπάρξει δυνατότητα πρακτικής εφαρμογής σε μεγάλη κλίμακα.

4.3. Παραπροϊόντα ελαιουργίας

Η παραγωγική διαδικασία εξαγωγής ελαιόλαδου οδηγεί σε έναν τεράστιο όγκο παραπροϊόντων, που αποτελούνται από υγρά και στερεά απόβλητα που προκύπτουν από τα διάφορα στάδια παραγωγής.

Τα υγρά απόβλητα (κατσίγαρος), προκύπτουν από το νερό που χρησιμοποιείται από την πλύση των καρπών αλλά και από τα διάφορα στάδια παραγωγής του ελαιόλαδου από διφασικό και κυρίως το τριφασικό σύστημα διαχωρισμού. Τα υγρά παραπροϊόντα είναι ένα σκουρόχρωμο υγρό, θολό με χαρακτηριστική οσμή. Το χρώμα του ποικίλει και εξαρτάται από την τιμή του pH του, για όξινες τιμές έχει καφέ σκούρο χρώμα και αλκαλικές τιμές πρασινωπό. Είναι πλούσιο σε οργανικά και ανόργανα συστατικά που είναι διαλυμένα στην υδάτινη κυρίως φάση, με γεύση πικρή και εμφάνιση λαμπερή. Περιέχει επίσης μικρά σωματίδια όπως ιστούς από τη σάρκα της ελιάς και την επιδερμίδα της, κομμάτια από τον πυρήνα, θρύμματα από πέτρες κ.α. ακόμη εντοπίζεται μια ποσότητα ελαιόλαδου υπό τη μορφή γαλακτώματος. Γενικά αποτελούνται από 83-92% νερό, 4-16% οργανικά συστατικά και 1-2% ανόργανα συστατικά. Στο οργανικό κλάσμα περιλαμβάνονται σάκχαρα 1-8%, ενώσεις αζώτου 0,5-2,4%, οργανικά οξέα 0,5-1,5%, λιπίδια 0,02-1% καθώς και φαινόλες και πηκτίνες 1-1,5%. Κάποια από τα σάκχαρα είναι η αραβινόζη, φρουκτόζη, γαλακτόζη, γλυκόζη, ραμνόζη, ξυλόζη, και γαλακτουρονικά οξέα. Οι φαινόλες που εμφανίζονται είναι ουσίες μικρού μοριακού βάρους όπως η υδροξυτυροσόλη, η τυροσόλη, η κατεχόλη, η μεθυλκατεχόλη, το καφεϊκό οξύ (Nawar et al., 1998; Lampri et al., 2002). Τα φαινολικά συστατικά βρίσκονται σε συγκεντρώσεις των 0,5-24 g/L και αυτό εξαρτάται αυστηρά από τη διαδικασία που χρησιμοποιείται για την παραγωγή ελαιόλαδου. Γενικά περιλαμβάνουν ένα εύρος οργανικών ουσιών με κοινά χαρακτηριστικά. Το ανόργανο κλάσμα περιέχει υψηλή συγκέντρωση καλίου και αξιόλογα ποσά αζώτου, φωσφόρου, ασβεστίου, μαγνησίου και σιδήρου. Συνολικά, εκτιμάται ότι ο συνολικός όγκος αποβλήτων που παράγεται είναι περίπου 4,6 εκατομμύρια τόνοι ετησίως σε ευρωπαϊκό επίπεδο, το 80-83% των οποίων είναι νερό (Rodríguez-Gutiérrez et al., 2012).

Το στερεό απόβλητο είναι το υπόλειμμα της ελιάς που απομένει μετά τη διαδικασία εξαγωγής του ελαιόλαδου. Ο ελαιοπυρήνας διαφέρει σε σύσταση ανάλογα με την προέλευσή του, δηλαδή τον τύπο του ελαιοτριβείου και την εφαρμοζόμενη μέθοδο (τεχνολογία) εξαγωγής του ελαιόλαδου. Από το τριφασικό σύστημα εκχύλισης προκύπτει ως στερεό παραπροϊόν ο ελαιοπυρήνας, ενώ στο διφασικό σύστημα εκχύλισης προκύπτει ο υγρός ελαιοπυρήνας, ο οποίος για να μπορέσει να αξιοποιηθεί θα πρέπει πρώτα να απομακρυνθεί το νερό που περιέχει μέσω ξήρανσης. Τόσο στον ελαιοπυρήνα από τριφασικό σύστημα όσο και στον υγρό ελαιοπυρήνα, περιέχεται σε κάποιο αξιόλογο ποσοστό έλαιο, το πυρηνέλαιο, το οποίο μπορεί να ανακτηθεί στα πυρηνελαιουργεία

κυρίως με εκχύλιση με οργανικούς διαλύτες. Το περιεχόμενο των οργανικών ενώσεων που περιέχονται στα στερεά απόβλητα κυρίως φαινολικά συστατικά, χρωστικές και χλωροφύλλες είναι αρκετά υψηλό, καθώς μόνο το 1-2% της συνολικής περιεκτικότητας των ελαιοκάρπων σε πολυφαινόλες περνά στο ελαιόλαδο ενώ τα υπόλοιπα περίπου 45% περνά στον ελαιοπυρήνα (Leouifoudi et al. 2015; Kalogerakis et al., 2013). Λόγω αυτών των βιοδραστικών ενώσεων, η αξιοποίηση του ελαιοπυρήνα κρίνεται λοιπόν αναγκαία.

4.3.1. Σύσταση του ελαιοπυρήνα

Η σύσταση του ελαιοπυρήνα διαφέρει αρκετά στη βιβλιογραφία, γεγονός αναμενόμενο, καθώς η σύσταση του εξαρτάται από την ποικιλία της ελιάς που χρησιμοποιήθηκε κατά την εξαγωγή του ελαιόλαδου, το στάδιο ωριμότητας της καθώς επίσης τον τύπο του ελαιοτριβείου και την εφαρμοζόμενη μέθοδο (τεχνολογία) εξαγωγής του ελαιόλαδου που χρησιμοποιήθηκε. Η μέση σύσταση του ελαιοπυρήνα από σύστημα εξαγωγής ελαιόλαδου με την τεχνική της φυγοκέντρησης τριών φάσεων είναι: νερό 45-55%, λιγνίνη 10%, κυτταρίνη και ημικυτταρίνη 25-26%, υπολειμματικό έλαιο 3-4% και ανόργανα στερεά 2-2,5%.

Πίνακας 4.2. Συγκέντρωση των κυριότερων φαινολικών συστατικών ελαιοπυρήνα

| Φαινολικό συστατικό (mg/g) | Ελαιοπυρήνας |
|-----------------------------------|---------------------|
| Υδροξυτυροσόλη | 0,6-8,7 |
| Καφεϊκό οξύ | 0,002-0,03 |
| Ελευρωπαΐνη | 1,2-13,5 |
| Φερουλικό οξύ | 0,05-0,71 |
| Βανιλλικό οξύ | 0,07-1,01 |
| Βανιλίνη | 0,9-3,6 |
| Κουμαρικό οξύ | 0,09-0,49 |
| Απιγενίνη | 0,4-0,6 |
| Ρουτίνη | 0,2-1,7 |
| Λουτεολίνη | 0,02-0,14 |

Η μέση σύσταση των παραπροϊόντων από σύστημα εξαγωγής ελαιόλαδου με την τεχνική της φυγοκέντρησης δύο φάσεων είναι: νερό 60-70%, λιγνίνη 13-15%, κυτταρίνη και ημικυτταρίνη 18-20%, υπολειμματικό έλαιο 2,5-3% και ανόργανα στερεά 2,5%. Ακόμη, περιέχουν κάποια οργανικά συστατικά όπως: σάκχαρα 3%, πτηνικά λιπαρά οξέα 1%, πολυαλκοόλες 0,2%, πρωτεΐνες 1,5%, πολυφαινόλες 0,2% και άλλες χρωστικές ουσίες 0,5%. Τέλος, είναι πλούσια σε κάλιο, λιγότερο σε

άζωτο (κυρίως οργανικό), φτωχά σε φώσφορο και μικροστοιχεία και η ύπαρξη βαρέων μετάλλων είναι σχεδόν ανύπαρκτη (συγκέντρωση >1mg/kg) (Elsa Uribe et al., 2012; Alburquerque et al., 2004). Τα βιοδραστικά συστατικά που συναντώνται στον ελαιοπυρήνα είναι κυρίως διάφορα πολυφαινολικά συστατικά (De la Puerta et al., 2009; Ruiz-Mendez et al., 2008), όπως απλές φαινόλες (υδροξυτυροσόλη, τυροσόλη, βανιλικό οξύ, βανιλίνη, κουμαρικό οξύ) και λιγνάνες όπως 1-ακετοξυπυρινορεζινόλη και πινορεζινόλη (Πίνακας 4.2) (Kiritsakis et al, 1987).

4.3.2. Αξιοποίηση του ελαιοπυρήνα

Η διαχείριση των παραπροϊόντων της βιομηχανίας του ελαιόλαδου ήταν και εξακολουθεί να είναι ένα δυσεπίλυτο πρόβλημα. Η αξιοποίησή τους, εκτός από τις συνηθισμένες πρακτικές όπως η κομποστοποίηση, η τροποποίηση για τροφή ζώων, η μετατροπή σε λίπασμα, δεν προάγουν τη βιωσιμότητα των ελαιοτριβείων. Στόχος είναι, πριν απορριφθούν στο περιβάλλον να μειωθεί το ρυπαντικό τους φορτίο ώστε να μπορούν να απορριφθούν στο περιβάλλον χωρίς δυσμενείς επιπτώσεις ενώ παράλληλα λαμβάνονται χρήσιμα συστατικά, π.χ. χρωστικές ουσίες και αντιοξειδωτικές ουσίες. Λόγω της μεγάλης περιεκτικότητας των αποβλήτων αυτών, σε ανόργανες και οργανικές ουσίες, γίνονται συνεχώς προσπάθειες για όσο το δυνατό μεγαλύτερη και καλύτερη αξιοποίησή τους.

Η πιο κοινά χρησιμοποιούμενη πρακτική διαχείρισης που ακολουθείται μέχρι και σήμερα είναι η απευθείας διάθεση των αποβλήτων σε υδάτινους αποδέκτες όπως ποταμούς, θάλασσες, λίμνες και χείμαρρους. Η μέθοδος αυτή παρουσιάζει πολλές αρνητικές επιπτώσεις λόγω της τοξικότητας τους. Το διαθέσιμο οξυγόνο καταναλώνεται για την οξείδωση οργανικών ουσιών από μικροοργανισμούς που αναπτύσσονται στα εδάφη απόρριψης των αποβλήτων αυτών και έτσι το ισοζύγιο οξυγόνου του υδάτινου περιβάλλοντος διαταράσσεται, προκαλώντας τοξικά φαινόμενα στην πανίδα και χλωρίδα (Dilis et al., 2009; Lampi et al., 2002; Gunstone et al., 2007)

Μια άλλη πρακτική είναι η απόρριψη των αποβλήτων στο έδαφος, με ή χωρίς προσθήκη άσβεστου. Όμως, οι υψηλές συγκεντρώσεις αλάτων και φαινολικών συστατικών και η υψηλή οξύτητα προκαλούν προβλήματα φυτοτοξικότητας στις αγροτικές καλλιέργειες. Επίσης, μειώνεται σημαντικά η διαπερατότητα του εδάφους από το νερό ενώ έχουν παρατηρηθεί αντιμικροβιακές δράσεις σε μικροοργανισμούς του εδάφους, από κάποιες ουσίες που περιέχονται στα απόβλητα. Συνέπεια των δύο παραπάνω πρακτικών είναι ακόμα η ρύπανση κοντινών επιφανειακών ή υπόγειων υδάτων που με τη σειρά της οδηγεί στη δημιουργία υγειονομικών προβλημάτων σε παραπλήσιες κατοικημένες περιοχές. Ακόμα, η μεγάλη συγκέντρωσή τους σε οργανικά και ανόργανα συστατικά φυτικής προέλευσης, δημιουργήσει παρενέργειες στους ζωντανούς

οργανισμούς που χρησιμοποιούν νερό στο οποίο έχουν απορριφθεί τα απόβλητα (Dilis et al., 2009; Lampi et al., 2002; Ortega-Rivas et al., 2012; Boskou et al., 2006).

Μία νέα και ελκυστική πρακτική που θα μπορούσε να εφαρμοσθεί ώστε να αξιοποιηθεί ο ελαιοπυρήνας πριν απορριφθεί στο περιβάλλον θα ήταν η ανάκτηση όλων των βιοδραστικών συστατικών που περιέχει. Το ενδιαφέρον για τον ελαιοπυρήνα αυξάνεται λόγω των πλεονεκτημάτων που παρουσιάζει όπως ότι προέρχεται από τον ελαιόκαρπο, εμφανίζει, όπως ήδη έχει αναφερθεί, μεγάλη ποσότητα των βιοδραστικών συστατικών τα οποία δεν εκχυλίζονται στο έλαιο και παίρνουν σε αυτό κατά την παραγωγή του ελαιόλαδου. Γίνεται λοιπόν αντιληπτό από την πλούσια σύσταση που εμφανίζει ο ελαιοπυρήνας, ότι από αυτόν μπορούν να εξαχθούν πολλά χρήσιμα προϊόντα. Τα φαινορικά συστατικά που περιέχονται στον ελαιοπυρήνα και έχουν αντιοξειδωτική δράση εμφανίζουν συγκεντρώσεις που φτάνουν μέχρι 600 mg/kg ελαιοπυρήνα, γεγονός που καθιστά την ανάκτησή τους ιδιαίτερα ελκυστική για την προσθήκη τους σε τρόφιμα, καλλυντικά ή φάρμακα. Σύμφωνα με τα παραπάνω, η ανάκτηση αυτών των πολύτιμων ενώσεων και η περαιτέρω αξιοποίησή τους ως πρόσθετα σε νέα προϊόντα για τους βιομηχανικούς κλάδους των τροφίμων, καλλυντικών και φαρμακευτικών προϊόντων είναι κάτι περισσότερο από σημαντικό. Κάτι τέτοιο όμως προϋποθέτει την ανάπτυξη ολοκληρωμένων και αρτιότερων καταρτισμένων μεθόδων διαχείρισής τους. Με συγκροτημένες προσπάθειες είναι πολύ πιθανό να υπάρξει δυνατότητα πρακτικής εφαρμογής σε μεγάλη κλίμακα, των συστημάτων κατεργασίας και αξιοποίησης των αποβλήτων.

4.3.3. Διεργασίες διαχείρισης του ελαιοπυρήνα πριν την εκχύλιση βιοδραστικών ενώσεων

4.3.3.1. Ξήρανση ελαιοπυρήνα

Η ξήρανση αποτελεί μια αναγκαία διεργασία επεξεργασίας των παραπροϊόντων τροφίμων για ποιοτικούς, οικονομικούς και τεχνολογικούς λόγους. Με τη ξήρανση εξασφαλίζεται η υψηλή ποιότητα και η βιολογική σταθερότητα των ξηρών προϊόντων. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω της παρεμπόδισης ανάπτυξης διαφόρων ανεπιθύμητων παθογόνων μικροοργανισμών και πραγματοποίησης διαφόρων ενζυμικών και χημικών δράσεων κατά την αποθήκευσή και τη συντήρησή τους (ποιοτικοί λόγοι). Η ταχύτητα ανάπτυξης των παθογόνων μικροοργανισμών εξαρτάται άμεσα από την υγρασία του προϊόντος. Οι κυριότερη διαφορά μεταξύ των ελαιοπυρήνων που προέρχονται από διαφορετικά συστήματα παραγωγής του ελαιόλαδου οφείλονται κυρίως στη διαφορετική περιεκτικότητά τους σε νερό. Αυτό οδηγεί σε ορισμένες απαιτήσεις πριν την εκχύλιση, όπως η άμεση μεταφορά, η αποθήκευση και η ξήρανση του ελαιοπυρήνα ανάλογα με την περίπτωση. Ανάλογα με το ποσοστό υγρασίας του προς ξήρανση

ελαιοπυρήνα, επιλέγονται διαφορετικές διαδικασίες ξήρανσης. Σε κάθε περίπτωση, η ξήρανση θα πρέπει να γίνεται ελεγχόμενα και σε χαμηλά επίπεδα θερμοκρασίας ώστε να μην υποβαθμίζεται η σύσταση του ελαιοπυρήνα (Leon-Camacho et al., 2003). Ωστόσο, η ξήρανση σε χαμηλές θερμοκρασίες είναι μία αργή διαδικασία που απαιτεί μεγάλο χρονικό διάστημα εφαρμογής, κατά το οποίο μπορεί να διασπαστούν οι βιοδραστικές ενώσεις (Fennell et al., 2004). Για αυτό το λόγο, ορισμένες μελέτες συνιστούν για τη ξήρανση του ελαιοπυρήνα τη χρήση υψηλών θερμοκρασιών για σύντομο χρονικό διάστημα (Gogus & Maskan, 2006). Οι υψηλές θερμοκρασίες επιταχύνουν την κινητική της ξήρανσης, η οποία οδηγεί σε αύξηση της απόδοσης της ξήρανσης σε βιομηχανική κλίμακα (Ahmad-qasem et al., 2013), αλλά ταυτόχρονα απαιτεί τη χρήση μεγάλων ποσών ενέργειας ενώ μπορεί να προάγει την οξειδωτική υποβάθμιση των συστατικών του (Gomes & Caronio, 1997). Γενικότερα, ο ελαιοπυρήνας είναι ευαίσθητος σε αλλοιώσεις, καθώς παρουσιάζει υψηλά επίπεδα ενζυμικών και μικροβιακών δραστηριοτήτων και αυτό πρέπει να λαμβάνεται υπόψη όταν χρησιμοποιείται ως πηγή βιοδραστικών ενώσεων. Η ξήρανση σταθεροποιεί την πρώτη ύλη κατά την αποθήκευσή της και περιορίζει ορισμένες αντιδράσεις υποβάθμισης, αλλά μπορεί να επηρεάσει το βιοδραστικό δυναμικό του πυρηνέλαιου μεταβάλλοντας την ολική περιεκτικότητά του σε φαινολικά συστατικά όπως και την αντιοξειδωτική ικανότητα του (Ahmad-qasem et al., 2013; Que et al., 2008). Δεν συνιστάται η ξήρανση του ελαιοπυρήνα να υπερβαίνει τα 30 min στους 70 °C (Ahmad-qasem et al., 2013).

4.3.3.2. Άλεση ελαιοπυρήνα

Μετά τη διεργασία της ξήρανσης, απαιτείται περαιτέρω προκατεργασία του ελαιοπυρήνα για μεγιστοποίηση της απόδοσης της εκχύλισης που περιλαμβάνει το στάδιο της άλεσης. Η άλεση του ελαιοπυρήνα έχει ως σκοπό να αυξήσει τη διείδυση του διαλύτη στο στερεό υλικό, διευκολύνοντας επομένως την εκχύλιση των βιοδραστικών συστατικών ή του πυρηνέλαιου.

4.4. Εκχύλιση βιοδραστικών ουσιών

Η εκχύλιση αποτελεί την πλέον διαδεδομένη μέθοδο παραλαβής βιοδραστικών ενώσεων από μια στερεή ή υγρή πρώτη ύλη. Το εύρος των πρώτων υλών είναι μεγάλο και εκτείνεται από βακτήρια, μύκητες, φύκη έως υλικά φυτικής προέλευσης, όπως είναι τα παραπροϊόντα από βιομηχανίες τροφίμων (Obergfoll et al., 2018; Ranalli et al., 1996). Για να επιτευχθεί ένας διαχωρισμός πρέπει το προσδιοριζόμενο συστατικό και τα συνυπάρχοντα συστατικά να διαφέρουν σημαντικά τουλάχιστον σε μία φυσική ή χημική ιδιότητα. Ο διαχωρισμός πρέπει να είναι σωστά σχεδιασμένος ώστε να μην οδηγεί σε μερική απώλεια του προσδιοριζόμενου συστατικού ή σε ατελή απομάκρυνση των συνυπαρχόντων ουσιών (Obergfoll et al., 2018; Ranalli et al., 1996). Σκοπός των εφαρμοζόμενων μεθόδων διαχωρισμού αποτελεί η βελτιστοποίηση των

πειραματικών συνθηκών οι οποίες θα οδηγήσουν στη μεγιστοποίηση των υφιστάμενων διαφορών μεταξύ του προσδιοριζόμενου συστατικού και των υπολοίπων ουσιών και έτσι στον αποτελεσματικότερο διαχωρισμό τους. Οι μέθοδοι διαχωρισμού χρησιμοποιούνται και ως μέθοδοι προετοιμασίας του δείγματος, αλλά και ως αναλυτικές μέθοδοι προσδιορισμού.

Στις περισσότερες βιομηχανικές διεργασίες, η διεργασία της εκχύλισης αφορά στην εκχύλιση στερεού-υγρού, η οποία καλείται και έκπλυση. Στην εκχύλιση στερεού (έκπλυση) ένα ή περισσότερα συστατικά του στερεού υλικού απομακρύνεται χρησιμοποιώντας κατάλληλο διαλύτη. Είναι μία από τις σημαντικότερες μεθόδους διαχωρισμού με ευρύτατη εφαρμογή σε μεγάλη ποικιλία συστατικών και δειγμάτων. Η ευρεία χρήση της οφείλεται στην ταχύτητα εκτέλεσης, στην απλότητα και το χαμηλό κόστος, η οποία θα αναλυθεί εκτενώς στην επόμενη παράγραφο.

4.4.1. Εκχύλιση στερεού υγρού

Η εκχύλιση είναι μία διεργασία κατά την οποία ορισμένες ουσίες ενός στερεού διαλύονται με τη βοήθεια ενός υγρού διαλύτη. Το εκχύλισμα αποτελείται από το διαλύτη και τις ουσίες-στόχους, που μεταφέρονται στο διαλύτη από την πρώτη ύλη. Σε σύγκριση με άλλες διεργασίες διαχωρισμού απαιτείται απομάκρυνση του διαλύτη και καθαρισμός των ουσιών-στόχοι (Aguilera, 2003; Sancey, 2002; Sattler & Feidt, 1995). Ο διαλύτης εκχύλισης θα πρέπει να είναι επιλεκτικός για να μπορέσει διαλύσει μόνο τις ουσίες-στόχους από το αδιάλυτο διαπερατό στερεό, ελαχιστοποιώντας τη συνεκχύλιση άλλων ουσιών και βελτιώνοντας έτσι την απόδοση της εκχύλισης.

Η εκχύλιση στερεού-υγρού έχει ποικίλες εφαρμογές στη βιομηχανία τροφίμων, όπου χρησιμοποιείται κατά την επεξεργασία πολλών προϊόντων τροφίμων, όπως η ζάχαρη, τα εδώδιμα έλαια κλπ., ή για την ανάκτηση βιοδραστικών συστατικών ή/και την απομάκρυνση ανεπιθύμητων συστατικών από πρώτες ύλες. Ωστόσο, ο σχεδιασμός και η σωστή λειτουργία της εκχύλισης είναι κρίσιμες παράμετροι, ώστε η διεργασία να είναι οικονομικά αποδοτική. Η επιλογή της κατάλληλης μεθόδου εκχύλισης είναι επίσης σημαντική. Πρόσφατα, η ανάπτυξη και χρήση φιλικών προς το περιβάλλον εναλλακτικών μεθόδων εκχύλισης είναι όλο και πιο δημοφιλής, δεδομένου ότι αυτές βελτιώνουν την απόδοση της εκχύλισης, μειώνοντας παράλληλα την υποβάθμιση των ενώσεων της διαλυμένης ουσίας, μειώνουν τον χρόνο εκχύλισης και τον όγκο των διαλυτών που χρησιμοποιούνται, καθιστώντας τις ελκυστικές και οικονομικά αποδοτικές και βιώσιμες ώστε να αποκτήσουν πρακτική εφαρμογή στη βιομηχανία τροφίμων.

4.4.1.1. Εκχύλιση με διαλύτες

Η εκχύλιση με διαλύτη είναι μια ευρύτερα χρησιμοποιούμενη μέθοδος για την ανάκτηση βιοδραστικών ενώσεων από ένα ευρύ φάσμα φυτικής προέλευσης προϊόντων. Η εκχύλιση περιλαμβάνει:

- (α) την είσοδο του διαλύτη στη μήτρα του στερεού
- (β) τη διαλυτοποίηση του συστατικού-στόχου
- (γ) τη μεταφορά του συστατικού προς το εξωτερικό της μήτρας του στερεού
- (δ) τη μετακίνηση του στον όγκο του διαλύτη και
- (ε) τον διαχωρισμό του εκχυλίσματος από τον διαλύτη

Ο διαλύτης (πολικός ή μη πολικός) διαχέεται στη μήτρα και διαλύει όλες τις διαλυτές ενώσεις σε αυτόν. Στην εκχύλιση στερεού-υγρού, η ένωση στόχος πρέπει να έχει επιλεκτική διαλυτότητα στον διαλύτη επιλογής σε σύγκριση με άλλα συστατικά της στερεάς μήτρας (Aguilera, 2003). Στην πραγματικότητα, ωστόσο, αυτό σπάνια επιτυγχάνεται και, ως εκ τούτου, πολλές ερευνητικές μελέτες έχουν επικεντρωθεί στη βελτιστοποίηση των παραμέτρων εκχύλισης (τύπος διαλύτη, αναλογία διαλύτη προς στερεό, μέγεθος σωματιδίων, θερμοκρασία, χρόνος εκχύλισης) προκειμένου να αυξηθεί η ανάκτηση πολυτίμων συστατικών από παραπροϊόντα.

Στη συνέχεια το εκχύλισμα φυγοκεντρείται και διηθείται για να απομακρυνθεί το στερεό υπόλειμμα και τελικά την απομάκρυνση του διαλύτη και την παραλαβή του συστατικού-στόχου. Το συστατικό στη συνέχεια χρησιμοποιείται ως πρόσθετο τροφίμων για την παρασκευή λειτουργικών τροφίμων. Η επιλογή της κατάλληλης διαδικασίας εκχύλισης εξαρτάται αρχικά από την κατηγορία των ενώσεων προς ανάκτηση αλλά και από τον τύπο και την κατάσταση της προς εκχύλιση πρώτης ύλης. Όπως αναφέρθηκε, η αποτελεσματικότητα της στερεής-υγρής εκχύλισης βασίζεται σε μία σειρά παραγόντων, συμπεριλαμβανομένων της πολικότητας του διαλύτη, του μεγέθους των σωματιδίων του δείγματος, της αναλογίας στερεού-υγρού, και άλλων συνθηκών εκχύλισης όπως ο χρόνος και η θερμοκρασία. Επιτυχής θεωρείται η εκχύλιση κατά την οποία τα συστατικά-στόχοι διαλύονται και μεταφέρονται στον όγκο του διαλύτη έως ότου επιτευχθεί μία συγκέντρωση ισορροπίας (Khanal et al., 2010; Leusink et al, 2010; Xu et al., 2012).

4.4.1.2. Εκχύλιση με τη μέθοδο Soxhlet

Η εκχύλιση Soxhlet είναι μια γενική και καθιερωμένη τεχνική, η οποία ξεπερνά την απόδοση άλλες συμβατικές τεχνικές εκχύλισης εκτός από την εξαγωγή θερμοευαίσθητων ενώσεων (Luque de

Castro & Garcia-Ayuso, 1998) και χρησιμοποιείται κυρίως σε εργαστηριακή κλίμακα. Η αποτελεσματικότητα αυτής της μεθόδου (όπως επίσης και όλων των άλλων τεχνικών εκχύλισης) εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά του φυτικού ιστού και το μέγεθος των σωματιδίων, καθώς η εσωτερική διάχυση μπορεί να είναι το περιοριστικό βήμα κατά την εκχύλιση (Wang & Weller, 2006). Ένα από τα πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι η απουσία του σταδίου της διήθησης μετά την έκπλυση, ενώ στα μειονεκτήματα είναι η μεγάλη χρονική διάρκεια της εκχύλισης, ο μεγάλος όγκος οργανικών διαλυτών που χρησιμοποιούνται, η απουσία ανάδευσης και η πιθανή αποσύνθεση των κάποιων μη πολικών συστατικών (καροτενοειδή) λόγω το ότι η εκχύλιση πραγματοποιείται σε υψηλές σχετικά θερμοκρασίες.

4.4.1.3. Ανάδευση και ομογενοποίηση

Η ανάδευση είναι μια κοινή μέθοδος που χρησιμοποιείται από τις βιομηχανίες, που εφαρμόζεται γενικά σε πρώτες ύλες φυτικής προέλευσης. Αυτή η μέθοδος συνεπάγεται ανάδευση του διαλύτη και του φυτικού υλικού αφήνοντάς τα σε επαφή για λίγα min έως ώρες. Μετά ακολουθεί ο διαχωρισμός τους και η απομάκρυνση του διαλύτη από το στερεό υπόλειμμα και συνήθως ακολουθεί εκ νέου εκχύλιση αυτού. Στην τεχνική αυτή απαιτείται συνεχής ανάδευση ώστε ο διαλύτης να είναι σε συνεχή επαφή με το στερεό. Η ανάδευση επιτυγχάνει τη διασπορά των σωματιδίων του υλικού στον υγρό διαλύτη και επιταχύνει τη διαδικασία αυξάνοντας την απόδοση των εκχυλιζόμενων συστατικών. Στα μειονεκτήματα της μεθόδου περιλαμβάνεται η μεγάλη κατανάλωση οργανικών διαλυτών, η υψηλή ενέργεια που απαιτείται για το διαχωρισμό του μίγματος διαλύτη-στερεού, η σταδιακή μείωση του ρυθμού μεταφοράς μάζας καθώς ο διαλύτης δεν ανανεώνεται και εμπλουτίζεται συνεχώς από τις εκχυλιζόμενες ενώσεις, καθώς επίσης και η εκχύλιση άλλων ανεπιθύμητων συστατικών. Για τη βελτιστοποίηση της μεθόδου αυτής, πολλές ερευνητικές ομάδες έχουν μελετήσει όλους τους παράγοντες της εκχύλισης, και πως αυτοί επιδρούν στην απόδοση της εκχύλισης των καροτενοειδών. Αυτοί οι παράγοντες συνοπτικά είναι: (α) ο διαλύτης, (β) η θερμοκρασία, (γ) η αναλογία διαλύτη-στερεού, (δ) ο χρόνος εκχύλισης, (ε) το μέγεθος των σωματιδίων και της υγρασίας της πρώτης ύλης.

4.4.1.4. Φυγοκεντρική εκχύλιση

Η φυγοκέντρηση επιτρέπει το διαχωρισμό φάσεων με τη δύναμη της φυγόκεντρου. Στη φυγοκεντρική εκχύλιση, η πρώτη ύλη τοποθετείται στο φυγοκεντρικό δοχείο με διαλύτη και υποβάλλεται σε φυγοκέντρηση, ακολουθούμενη από ένα στάδιο διήθησης για διαχωρισμό της εκχυλιζόμενης πρώτης ύλης από το εκχύλισμα. Το κύριο μειονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι η αναγκαιότητα ενός πρόσθετου σταδίου, αυτού της διήθησης. Η φυγοκεντρική εκχύλιση είναι μια τεχνική που χρησιμοποιείται κυρίως για τη λήψη φυτικών εκχυλισμάτων.

4.4.2. Μειονεκτήματα εκχύλισης στερεού-υγρού

Όλες οι συμβατικές μέθοδοι εκχύλισης στερεού-υγρού εμφανίζουν αρκετά μειονεκτήματα, τα οποία είναι:

(α) η μεγάλη κατανάλωση διαλυτών και τα επακόλουθα στάδια του καθαρισμού και της συμπύκνωσης,

(β) η υψηλή ενέργεια που απαιτείται για το διαχωρισμό του μίγματος διαλύτη στερεού,

(γ) η σταδιακή μείωση του ρυθμού μεταφοράς μάζας, εφόσον ο διαλύτης εμπλουτίζεται συνεχώς με διαλυμένες ουσίες,

(δ) η παράλληλη εκχύλιση ανεπιθύμητων συστατικών

(ε) η πιθανή αποικοδόμηση θερμοευαίσθητων συστατικών

(στ) η αποτελεσματικότητα και η απόδοση επηρεάζεται αρνητικά όταν το επιθυμητό συστατικό υπάρχει σε μικρό ποσοστό.

4.5. Νέες εναλλακτικές καινοτόμες μέθοδοι εκχύλισης

Τα τελευταία χρόνια οι συμβατικές μέθοδοι τείνουν να αντικατασταθούν από εναλλακτικές διεργασίες εκχύλισης, που αποσκοπούν στη μείωση του χρόνου της διεργασίας και του όγκου του χρησιμοποιούμενου διαλύτη. Ανάμεσα στις διεργασίες αυτές είναι η υποβοηθούμενη εκχύλιση με μικροκύματα, η υποβοηθούμενη εκχύλιση με υπέρηχους, η εκχύλιση με υπερκρίσιμα ρευστά, η εκχύλιση με ενζυμική προκατεργασία και η συνδυαστική μέθοδος αυτών, οι οποίες έχουν ακόμη ένα πλεονέκτημα καθώς εφαρμόζονται και σε μονάδες συνεχούς λειτουργίας. Επίσης στις νέες εναλλακτικές και καινοτόμες μεθόδους εκχύλισης συμπεριλαμβάνονται και η εκχύλιση υποβοηθούμενη από παλμικά ηλεκτρικά πεδία και η εκχύλιση υποβοηθούμενη από υπερυψηλή πίεση, οι οποίες έχουν περιγραφεί εκτενώς στο προηγούμενο κεφάλαιο της διατριβής. Η αρχή λειτουργίας των τεχνικών αυτών, καθώς και τα σημαντικότερα πλεονεκτήματα και μειονεκτήματά τους, θα σχολιαστούν εν συντομία στις ακόλουθες παραγράφους. Εφαρμογές των μεθόδων αυτών με τα παραπροϊόντα τομάτας και ελαιουργίας αναφέρονται στους Πίνακες 4.3 και 4.4.

4.5.1. Εκχύλιση με Υπερκρίσιμα Ρευστά (*Supercritical Fluid extraction*)

Η εκχύλιση με υπερκρίσιμα ρευστά είναι μέθοδος εκχύλισης, φιλική προς το περιβάλλον που έχει ως πλεονεκτήματα, τη μεγάλη εκλεκτικότητα, τους σύντομους χρόνους εκχύλισης, την πρόληψη της περιβαλλοντικής ρύπανσης και τη χρήση μη τοξικών οργανικών διαλυτών (Wang & Weller, 2006). Η εκχύλιση αυτή βασίζεται ότι κάποια ρευστά (αιθυλένιο, μεθάνιο, άζωτο, ξένον ή

φθοράνθρακες) έχουν την ικανότητα με μεταβολή της πίεσης και της θερμοκρασίας να μεταβάλλουν τις φυσικές τους ιδιότητες (Sihvonon et al., 1999; Herrero et al., 2006). Σε αυτές τις συνθήκες πίεσης και θερμοκρασίας, τα υπερκρίσιμα ρευστά βρίσκονται σε μία ενδιάμεση κατάσταση καθώς έχουν παρόμοιο ιξώδες με αυτό του αερίου και παρόμοια πυκνότητα με αυτή του υγρού (Sihvonon et al., 1999; Wang et al., 2008). Τα υπερκρίσιμα ρευστά έχουν βελτιωμένες ιδιότητες μεταφοράς μάζας σε σχέση με αυτές των υγρών, διότι η πυκνότητά τους ρυθμίζεται με μεταβολή της πίεσης και θερμοκρασίας. Επίσης λόγω της μικρής επιφανειακής τάσης που έχουν αποφεύγονται οι αλλοιώσεις των θερμοευαίσθητων συστατικών. Τα περισσότερα συστήματα διαχωρισμού χρησιμοποιούν διοξείδιο του άνθρακα, καθώς έχει αποδειχθεί ότι είναι μη τοξικό, έχει χαμηλό κόστος και διαλυτοποιεί λιπόφιλες ενώσεις καθώς επίσης μπορεί να ανακτηθεί εύκολα. Παρόλ' αυτά εξαιτίας της χαμηλής πολικότητας του πολλά πολικά συστατικά δεν διαλύονται σε αυτό με αποτέλεσμα να χρησιμοποιούνται συνδιαλύτες (εξάνιο, μεθανόλη, αιθανόλη, ισοπροπανόλη, ακετονιτρίλιο, διχλωρομεθάνιο) σε μικρές ποσότητες, προκειμένου να αυξηθεί η διαλυτότητα των συστατικών και η επιλεκτικότητα της μεθόδου (Sihvonon et al., 1999). Κατά τη διαδικασία της υπερκρίσιμης εκχύλισης, η πρώτη ύλη τοποθετείται στο δοχείο εκχύλισης, όπου η θερμοκρασία και η πίεση ρυθμίζονται στις επιθυμητές συνθήκες. Στο δοχείο ασκείται πίεση από το ρευστό μέσω αντλίας. Στη συνέχεια το ρευστό και τα διαλυμένα συστατικά μεταφέρονται στους διαχωριστήρες, όπου συλλέγονται από το κάτω μέρος τους. Τέλος, το ρευστό αναγεννάται και ανακυκλώνεται ή απελευθερώνεται στο περιβάλλον (Sihvonon et al., 1999).

Η εκχύλιση με υπερκρίσιμα ρευστά έχει μελετηθεί διεξοδικά από διάφορους ερευνητές με στόχο να αυξήσουν την απόδοση της εκχύλισης σε καρροτενοειδή και κυρίως λυκοπένιο από παραπροϊόντα τομάτας (Πίνακας 4.3). Επιπρόσθετα, διάφορες μελέτες έχουν επικεντρωθεί στη μέθοδος αυτή προκατεργασίας η οποία έχει χρησιμοποιηθεί για την ανάκτηση φαινολικών ενώσεων από ελαιοπυρήνα (Πίνακας 4.4), μειώνοντας επίσης και τον χρόνο εκχύλισης.

4.5.2. Εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπερήχους (*Ultrasounds assisted extraction*)

Οι υπέρηχοι περιλαμβάνουν μηχανικά κύματα που διαδίδονται μέσα στο προς εκχύλιση στερεό (Pingret et al., 2013; Azmir et al., 2013; Tekeuchi et al., 2009; Mason et al., 2005). Οι υπέρηχοι χαρακτηρίζονται από τη συχνότητα και το μήκος κύματός τους, τα οποία επηρεάζουν την ταχύτητα διάδοσης του κύματος μέσα στο μέσο. Το πλάτος ή η ένταση των κυμάτων είναι επίσης σημαντική παράμετρος. Η αρχή των υπερήχων αποδίδεται στο φαινόμενο της «ακουστικής σπηλαίωσης». Όταν ένας υπέρηχος χαμηλής συχνότητας εφαρμοσθεί σε ένα υγρό μέσο προκαλεί μια σειρά κυμάτων και συμπίεσεων στα μόρια του μέσου. Τέτοιες αλλαγές πίεσης προκαλούν σχηματισμό φυσαλίδων σε υγρό μέσο. Η τοπική πίεση στο μέσο μπορεί να φτάσει μέχρι και τα 50 MPa με

έντονη θέρμανση, καθώς επίσης διαρκεί λίγα s. Η έκταση της αρνητικής πίεσης εξαρτάται από τη φύση και την καθαρότητα του υγρού. Σε σταθερή ένταση υπερήχων, μεταξύ του σχηματισμού και της κατάρρευσης των φυσαλίδων αποκαθίσταται δυναμική ισορροπία. Όταν οι φυσαλίδες σπηλαίωσης καταρρέουν κοντά στα κυτταρικά τοιχώματα, η υψηλή πίεση και η θερμοκρασία δημιουργούν μικροπίδακες και κύματα κρούσης που κατευθύνονται προς τη στερεή επιφάνεια. Η ενίσχυση της εκχυλιστικής ικανότητας με τη χρήση των υπερήχων αποδίδεται στη διάδοση των ωστικών κυμάτων των υπερήχων διαμέσου του διαλύτη και στα επακόλουθα φαινόμενα σπηλαίωσης. Ο μηχανισμός που ελέγχει την εκχύλιση με χρήση υπερήχων γενικά αποδίδεται σε μηχανικές και θερμικές επιδράσεις που καταλήγουν στη διάρρηξη των κυτταρικών τοιχωμάτων, στη μείωση του μεγέθους των σωματιδίων και στην ενισχυμένη μεταφορά μάζας μέσω των κυτταρικών μεμβρανών (Pingret et al., 2013; Tekeuchi et al., 2009; Mason et al., 2005). Οι φυσικές επιδράσεις των υπερήχων στο τρόφιμο κυριαρχούν στο χαμηλότερο εύρος συχνοτήτων 20–100 kHz με υψηλότερο επίπεδο παροδικής σπηλαίωσης. Η συχνότητα των υπερήχων επηρεάζει σημαντικά το ρυθμό και την κινητική της εκχύλισης. Ωστόσο, αυτές οι επιδράσεις εξαρτώνται και από τη δομή του υλικού και από την προς εκχύλιση ουσία. Σε ορισμένες περιπτώσεις, απαιτούνται χαμηλότερες συχνότητες κατά τη διάρκεια της διεργασίας, προκειμένου να αποφευχθεί η υποβάθμιση των βιοδραστικών ενώσεων (Azmir et al., 2013; Tekeuchi et al., 2009). Τα πλεονεκτήματα της εκχύλισης υποβοηθούμενης από υπερήχους σε σύγκριση με μία συμβατική τεχνική περιλαμβάνουν τη μείωση του χρόνου εκχύλισης, της ενέργειας και της χρήσης του διαλύτη. Η ενέργεια των υπερήχων επιτρέπει επίσης εύκολη ανάμιξη, ταχύτερη μεταφορά ενέργειας, μικρότερη θερμοκρασία εκχύλισης καθώς επίσης και επιλεκτική εκχύλιση (Pingret et al., 2013; Azmir et al., 2013; Tekeuchi et al., 2009; Mason et al., 2005)

Ειδικότερα, έχουν γίνει εκτεταμένες έρευνες στην εκχύλιση αντιοξειδωτικών φαινολικών ενώσεων με τη δράση υπερήχων σε ελαιοπυρήνα (Πίνακας 4.4) και έχει διαπιστωθεί ότι η ανάκτηση καθώς και η αντιοξειδωτική δράση των εν λόγω ενώσεων επηρεάζονται από παραμέτρους της εκχύλισης, όπως ο χρόνος, η θερμοκρασία και η συχνότητα των υπερήχων, ενώ διατηρείται η σταθερότητα των εκχυλιζόμενων συστατικών. Στην περίπτωση των παραπροϊόντων τομάτας, στην εκχύλιση των καροτενοειδών, η μέθοδος εκχύλισης με υπερήχους δεν έδωσε ικανοποιητικά αποτελέσματα γιατί παρατηρήθηκε μεγάλη υποβάθμιση των ενώσεων σε σχέση με άλλες μεθόδους εκχύλισης (Zhao et al., 2006). Άλλοι ερευνητές (Πίνακας 4.3) παρατήρησαν ότι η χρήση των υπερήχων αύξησε την απόδοση της εκχύλισης σε λυκοπένιο.

4.5.3. Εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα (*Microwave assisted extraction*)

Στην εκχύλιση με μικροκύματα, η ηλεκτρομαγνητική ενέργεια (η συχνότητα κυμαίνεται από 300 MHz έως 300 GHz) δημιουργείται μέσω μαγνητών διαφορετικής ισχύος και μετατρέπεται σε θερμική ενέργεια. Η επαγόμενη ενέργεια μεταφέρεται περαιτέρω στο βιολογικό υλικό. Αυτή η θερμική ενέργεια διεισδύει μέσα τα κύτταρα και προκαλεί εξάτμιση, παράγοντας υψηλή πίεση στο κυτταρικό τοίχωμα. Η συσσωρευμένη πίεση στο εσωτερικό του κυττάρου τροποποιεί τις φυσικές ιδιότητες των ιστών (κυτταρικό τοίχωμα και διάσπαση των οργανιδίων) βελτιώνοντας το πορώδες του βιολογικού υλικού και έτσι επιτρέπει την ευκολότερη διείσδυση του διαλύτη εκχύλισης στο υλικό και αυξάνει την ανάκτηση των επιθυμητών συστατικών. Τα μικροκύματα θερμαίνουν τη μήτρα εσωτερικά και εξωτερικά ομοιόμορφα, κάτι που είναι πλεονεκτικό σε σχέση με την εκχύλιση στερεού-υγρού. Η εκχύλιση υποβοηθούμενη από μικροκύματα εμφανίζει πολλά πλεονεκτήματα όπως: χαμηλότερος χρόνος εκχύλισης, χρήση μικρότερων όγκων διαλυτών, επιλεκτικότητα και ελεγχόμενη διαδικασία θέρμανσης καθώς το τρόφιμο θερμαίνεται ομοιόμορφα. Στην εκχύλιση με μικροκύματα, η επιτάχυνση της διαδικασίας καθώς και η υψηλή απόδοση οφείλονται σε δυο ταυτόχρονα φαινόμενα μεταφοράς: θερμότητας και μάζας. Η εκχύλιση με χρήση μικροκυμάτων επηρεάζεται από παράγοντες, όπως η ισχύς, η συχνότητα και ο χρόνος επίδρασης των μικροκυμάτων, καθώς επίσης και από το ποσοστό υγρασίας, την κοκκομετρία του υλικού, τα χαρακτηριστικά του διαλύτη, την αναλογία στερεού-υγρού, τη θερμοκρασία, και την πίεση εκχύλισης. Μεταξύ των προαναφερμένων παραγόντων, ο πιο σημαντικός είναι ο διαλύτης. Για την επιλογή του κατάλληλου διαλύτη λαμβάνονται κυρίως υπόψη τρεις φυσικές παράμετροι: 1) η διαλυτότητα, 2) η διηλεκτρική σταθερά και 3) ο παράγοντας σκέδασης/συντελεστής απωλειών. Οι διαλύτες με μεγάλη διηλεκτρική σταθερά, όπως το νερό και άλλοι πολικοί διαλύτες, απορροφούν μεγάλα ποσά ενέργειας από τα μικροκύματα και θεωρούνται συνήθως αποτελεσματικότεροι από τους μη πολικούς (Wang & Weller, 2006). Ο παράγων σκέδασης/συντελεστής απωλειών του διαλύτη (δηλ. η αποτελεσματικότητα με την οποία οι διαφορετικοί διαλύτες θερμαίνονται κατά τη δράση των μικροκυμάτων) διαδραματίζει έναν εξίσου σημαντικό ρόλο. Παρόλο που το νερό ως διαλύτης έχει μεγαλύτερη διηλεκτρική σταθερά από την αιθανόλη ή τη μεθανόλη, ο παράγων σκέδασης/συντελεστής απωλειών του νερού είναι μικρότερος από τον αντίστοιχο παράγοντα των δύο άλλων διαλυτών και δεν επαρκεί για να απομακρυνθεί η εσωτερική υγρασία του υλικού και να αναπτυχθεί πίεση που ενεργοποιεί την εκχύλιση των επιθυμητών συστατικών (Ajila et al., 2011). Αυτός είναι ο λόγος για τον οποίο έχει διαπιστωθεί ότι η ανάκτηση φαινολικών ενώσεων βελτιώνεται στην αιθανόλη ή και τη μεθανόλη σε σχέση με το νερό. Επομένως, είναι προτιμότερο να χρησιμοποιούνται διαλύτες με μεγάλη διηλεκτρική σταθερά και μεγάλο παράγοντα σκέδασης

και αυτό επιτυγχάνεται με χρήση μιγμάτων νερού και άλλων διαλυτών (αιθανόλης ή μεθανόλης) (Simsek et al., 2012).

Η εκχύλιση υποβοηθούμενη από μικροκύματα έχει μελετηθεί διεξοδικά από διάφορους ερευνητές με στόχο να αυξήσουν την απόδοση της εκχύλισης σε καροτενοειδή και κυρίως λυκοπένιο από παραπροϊόντα τομάτας, διατηρώντας ή και αυξάνοντας την αντιοξειδωτική ικανότητα των αντίστοιχων εκχυλισμάτων (Πίνακας 4.3). Επιπρόσθετα, διάφορες μελέτες έχουν επικεντρωθεί στη μέθοδος αυτή προκατεργασίας η οποία έχει χρησιμοποιηθεί για την ανάκτηση φαινολικών ενώσεων από ελαιοπυρήνα (Πίνακας 4.4), μειώνοντας επίσης και τον χρόνο εκχύλισης.

4.5.4. Ενζυμική προκατεργασία και εκχύλιση (*Enzymatic assisted extraction*)

Η ενζυματική προεπεξεργασία του φυτικού υλικού μπορεί να χρησιμοποιηθεί πριν από τη συμβατική εκχύλιση με διαλύτη. Τα ένζυμα είναι ιδανικοί καταλύτες που μπορούν να βοηθήσουν στην εκχύλιση, τροποποίηση και/ή σύνθεση σύνθετων βιοδραστικών ενώσεων φυσικής προέλευσης. Η εκχύλιση υποβοηθούμενη από κάποιο ένζυμο βασίζεται στην ικανότητα των ενζύμων να αποικοδομούν τα κυτταρικά τοιχώματα και τις μεμβράνες των φυτικών κυττάρων, υπό ήπιες συνθήκες διεργασίας, επιτρέποντας έτσι την αποτελεσματική εκχύλιση και απελευθέρωση των βιοδραστικών ενώσεων (Gardossi et al., 2009; Pinelo, et al., 2006). Αυτή η μέθοδος προσφέρει επίσης μια πιο οικολογική προσέγγιση καθώς η βιομηχανία τροφίμων και οι φαρμακευτικές εταιρείες προσπαθούν να βρουν «καθαρότερες» διαδικασίες για την εξαγωγή βιοδραστικών συστατικών (Meyer, 2010). Ένζυμα, όπως οι κυτταρινάσες, οι πηκτινάσες και οι ημικυτταρινάσες υδρολύουν τα συστατικά του κυτταρικού τοιχώματος και διαταράσσουν τη δομική ακεραιότητα του τοιχώματος των φυτικών κυττάρων. Κατά συνέπεια, αυξάνουν τη διαπερατότητα των κυτταρικών τοιχωμάτων και έτσι επιτυγχάνονται υψηλότερες αποδόσεις εκχύλισης βιοδραστικών ενώσεων (Puri, et al., 2012).

Στον Πίνακα 4.3 καταγράφονται από τη βιβλιογραφία μελέτες που αφορούν τη χρήση των ενζύμων για τη βελτίωση της ανάκτησης του λυκοπενίου από παραπροϊόντα βιομηχανικής επεξεργασίας τομάτας και στον Πίνακα 4.4 ανάκτηση φαινολικών ενώσεων από ελαιοπυρήνα.

4.5.5. Εκχύλιση υποβοηθούμενη με χρήση ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας (*Homogenate assisted extraction*)

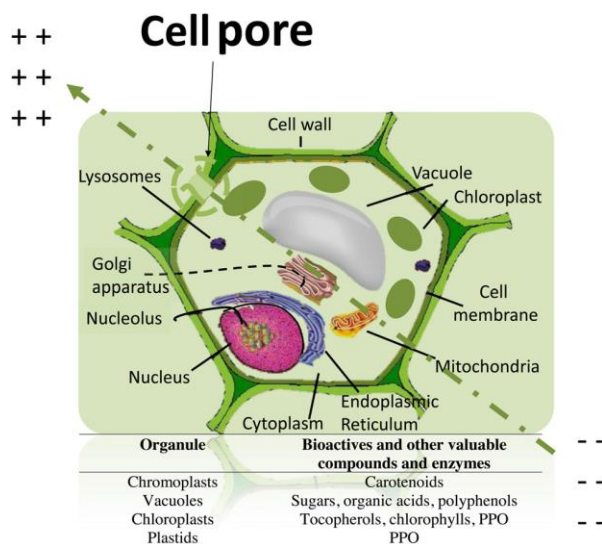
Η εκχύλιση με χρήση ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας είναι μία εναλλακτική μέθοδος για την ανάκτηση βιοδραστικών συστατικών από φυτικά υλικά, όπου η εφαρμογή μηχανικής διάτμησης πολύ υψηλής ταχύτητας έχει ως αποτέλεσμα την ανάμιξη του φυτικού υλικού με το διαλύτη και τη συντριβή χωρίς πίεση των κυτταρικών τοιχωμάτων του υλικού (Guo et al., 2017; Liu et al., 2013;

Zhu et al., 2014). Η αρχή της μεθόδου βασίζεται σε έναν περιστρεφόμενο εσωτερικό κόπτη που οδηγείται από έναν κινητήρα υψηλής ταχύτητας, ο οποίος παράγοντας μία ισχυρή δύναμη διάτμησης μεταξύ των εσωτερικών και εξωτερικών κοπτικών, διαταράσσει τα κυτταρικά τοιχώματα και αναμιγνύει το στερεό υλικό με το διαλύτη. Η μεταφορά μάζας μεταξύ της διαλυμένης ουσίας και του διαλύτη συμβαίνει λόγω των διαφορετικών πιέσεων μεταξύ των εσωτερικών και εξωτερικών κοιλοτήτων που προκαλούνται από την υψηλή ταχύτητα περιστροφής (Guo et al., 2017).

4.5.6. Εκχύλιση υποβοηθούμενη από Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία (PEF assisted extraction)

Η χρήση ηλεκτροτεχνολογιών, όπως τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία μπορεί να αποτελέσουν μία πολλά υποσχόμενη διεργασία που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως προκατεργασία τη συμβατικής εκχύλισης με στόχο να βελτιώσει την απόδοση της εκχύλισης παραπροϊόντων φυτικής προέλευσης. Έχει αποδειχθεί στη βιβλιογραφία ότι η προεπεξεργασία με ΠΗΠ σε ένα φυτικό ιστό πριν από τη συμβατική εκχύλιση βελτιώνει την επιλεκτική ανάκτηση πολύτιμων ενδοκυτταρικών ενώσεων χωρίς να επηρεάζει τη δομή του κυττάρου (Vorobiev & Lebonka, 2011a). Όταν ένα κύτταρο εκτεθεί σε ηλεκτρικό πεδίο προκαλείται ηλεκτροδιάτρηση. Δημιουργούνται πόροι πάνω στην κυτταρική μεμβράνη λόγω των αντίθετα φορισμένων πόλων που δημιουργήθηκαν από τα ιόντα της κυτταρικής μεμβράνης από την έκθεση του κυττάρου στο ηλεκτρικό πεδίο (Barba et al., 2015d; Teissie et al., 2005). Με την υπέρβαση μίας κρίσιμης τιμής περίπου 1V διαμεμβρανικού δυναμικού, προκαλείται μη αντιστρεπτή ηλεκτροδιάτρηση και οι πόροι πάνω στην κυτταρική μεμβράνη δεν ξανακλείνουν, προκαλώντας δραστική αύξηση της διαπερατότητάς της. Τα ΠΗΠ μπορεί να αυξήσει τη μεταφορά μάζας κατά την εκχύλιση λόγω της δημιουργίας πόρων πάνω στην κυτταρική μεμβράνη των φυτικών υλικών, ενισχύοντας την απόδοση της διεργασίας και μειώνοντας το χρόνο της εκχύλισης. Τα ΠΗΠ έχει εφαρμοσθεί για να βελτιώσει την απελευθέρωση των ουσιών-στόχων από πολλά παραπροϊόντα φυτικής προέλευσης (Toepfl et al., 2014). Η επεξεργασία με ΠΗΠ σε μέτριας έντασης ηλεκτρικό πεδίο (<10 kV/cm) βρέθηκε ότι προκαλεί διαπερατοποίηση της κυτταρικής μεμβράνης του φυτικού ιστού με μικρή αύξηση της θερμοκρασίας. Για αυτό το λόγο, τα ΠΗΠ δεν είναι δυνατόν να προκαλέσει υποβάθμιση των θερμοευαίσθητων ενώσεων που περιέχουν τα παραπροϊόντα (Ade-Omowaye et al., 2001). Τα ΠΗΠ έχει πολύ χαμηλές ενεργειακές απαιτήσεις επομένως είναι μια ελκυστική διεργασία από περιβαλλοντική και οικονομική άποψη (Luengo, 2015). Η αποτελεσματικότητα των ΠΗΠ στη απόδοση της εκχύλισης εξαρτάται επίσης από τις παραμέτρους εκχύλισης (θερμοκρασία, μέγεθος σωματιδίων, τύπος και συγκέντρωση του διαλύτη), καθώς και το χαρακτηριστικά της ένωσης που

πρόκειται να εξαχθεί. Επιπλέον, η αποτελεσματικότητα της τεχνολογίας αυτής και ο επιθυμητός βαθμός διαπερατότητας που πρέπει να επιτευχθεί από τα ΠΗΠ σε κάθε περίπτωση, εξαρτάται από τη θέση των ουσιών-στόχοι που πρόκειται να εξαχθούν, μέσα στο κύτταρο (κυτταρόπλασμα, κενोटόπιο, χλωροπλάστες) (Barba et al., 2014; Deng et al., 2014; Soliva-Fortuny et al., 2009)(Σχήμα 4.1).



Σχήμα 4.1. Φυτικό κύτταρο και θέση των ουσιών-στόχοι που πρόκειται να εξαχθούν με εκχύλιση μέσα στο κύτταρο (Soliva-Fortuny et al., 2009)

Στον Πίνακα 4.3 καταγράφονται από τη βιβλιογραφία μελέτες που αφορούν τη χρήση των ΠΗΠ ως προκατεργασία της συμβατικής εκχύλισης για τη βελτίωση της ανάκτησης του λυκοπενίου από παραπροϊόντα βιομηχανικής επεξεργασίας τομάτας και στον Πίνακα 4.4 ανάκτηση φαινολικών ενώσεων από ελαιοπυρήνα.

Οι μελέτες που υπάρχουν ήδη στη βιβλιογραφία, για τη χρήση των ΠΗΠ ως προκατεργασία στη συμβατική εκχύλιση για την ανάκτηση βιοδραστικών ουσιών από παραπροϊόντα τομάτας και ελαιοπυρήνα είναι αρκετά περιορισμένες. Στην παρούσα διατριβή, η εκχύλιση υποβοηθούμενη από ΠΗΠ σε αυτά τα παραπροϊόντα με στόχο την αύξηση της απόδοσης της ανάκτησης τους, καθώς και η μείωση του χρόνου εκχύλισης και του όγκου του διαλύτη που χρησιμοποιείται στην εκάστοτε εκχύλιση θα αποτελέσει αντικείμενο έρευνας. Τα αποτελέσματα αυτά, θα αναλυθούν σε επόμενο κεφάλαιο.

4.5.7. Εκχύλιση υποβοηθούμενη από Υπερυψηλή Πίεση (HP assisted extraction)

Η επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση είναι μία μέθοδος επεξεργασίας τροφίμων, η οποία βρίσκει πολλές εφαρμογές στη βιομηχανία τροφίμων. Στη βιβλιογραφία, έχει αναλυθεί εκτενώς η

εφαρμογή της υπερυψηλής πίεσης στην εκχύλιση βιοδραστικών συστατικών από φυτικά υλικά και τα παραπροϊόντα τους. Η εκχύλιση πραγματοποιείται σε υψηλή πίεση (συνήθως από 100-600 MPa) και χαμηλή θερμοκρασία (συνήθως μέχρι 60 °C), χρησιμοποιώντας μικρούς όγκους διαλυτών (Shouqin et al., 2005b). Προσφέρει υψηλές αποδόσεις εκχύλισης, χαμηλή κατανάλωση ενέργειας και δεν υποβαθμίζει τη δράση και τη δομή των βιοδραστικών συστατικών. Οι παράμετροι που επηρεάζουν σημαντικά την εκχύλιση είναι ο διαλύτης, η πίεση, η θερμοκρασία, ο χρόνος, ο αριθμός των κύκλων κ.α. (Corrales et al., 2008).

Η πίεση θεωρείται ως ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες στην εκχύλιση με υπερυψηλή πίεση και συνδέεται άμεσα με τη διαλυτότητα των βιοδραστικών συστατικών. Στην εκχύλιση υποβοηθούμενη από υπερυψηλή πίεση, ο ρυθμός μεταφοράς μάζας των βιοδραστικών συστατικών από την πρώτη ύλη προς το διαλύτη αυξάνεται, επιβεβαιώνοντας τη θεωρία ότι η εκχύλιση με υπερυψηλή πίεση ευνοεί τα φαινόμενα μεταφοράς μάζας που οδηγούν σε ενισχυμένους ρυθμούς μεταφοράς μάζας λόγω μεταβολής του συντελεστή διάχυσης (Knorr, 1999; Sanchez-Moreno et al., 2009; Barbosa-Canovas et al., 1998). Η μεταβολή του συντελεστή διάχυσης αποδίδεται κυρίως στη μεταβολή της πίεσης που προκαλείται στις φυτικές κυτταρικές μεμβράνες, με αποτέλεσμα να αυξάνεται η διαπερατότητά τους και να διευκολύνεται με αυτό τον τρόπο, η διείσδυση του διαλύτη εκχύλισης μέσα στα κύτταρα των φυτικών πηγών. Όσο μεγαλύτερη είναι η πίεση που εφαρμόζεται, τόσο περισσότερος διαλύτης μπορεί να εισέλθει στα κύτταρα και περισσότερες ενώσεις-στόχοι να διαπεράσουν στο διαλύτη (Shouqin et al., 2005a). Επιπλέον η εφαρμογή της ΥΠ αδρανοποιεί τα ένζυμα αποικοδόμησης, προσφέροντας υψηλότερες αποδόσεις εκχύλισης σε σύγκριση με άλλες τεχνικές (Ahmed & Ramaswamy, 2006). Η ΥΠ μπορεί επίσης να μειώσει την τιμή του pH του διαλύτη κατά την εκχύλιση, ενισχύοντας την αποτελεσματικότητα της εκχύλισης των βιοενεργών συστατικών, καθώς οι περισσότερες από αυτές τις ενώσεις είναι πιο σταθερές σε pH μικρότερο από 4 (Corrales et al., 2008).

Οι μελέτες που υπάρχουν ήδη στη βιβλιογραφία, για τη χρήση της ΥΠ ως προκατεργασία στη συμβατική εκχύλιση για την ανάκτηση βιοδραστικών ουσιών από παραπροϊόντα τομάτας και ελαιοπυρήνα είναι αρκετά περιορισμένες. Στην παρούσα διατριβή, η εκχύλιση υποβοηθούμενη από ΥΠ σε αυτά τα παραπροϊόντα με στόχο την αύξηση της απόδοσης της ανάκτησης τους, καθώς και η μείωση του χρόνου εκχύλισης και του όγκου του διαλύτη που χρησιμοποιείται στην εκάστοτε εκχύλιση θα αποτελέσει αντικείμενο έρευνας. Τα αποτελέσματα αυτά, θα αναλυθούν σε επόμενο κεφάλαιο.

Πίνακας 4.3. Ανασκόπηση βιβλιογραφίας με μελέτες που αφορούν τη χρήση νέων τεχνολογιών ως προκατεργασία της συμβατικής εκχύλισης για τη βελτίωση της ανάκτησης του λυκοπενίου από παραπροϊόντα βιομηχανικής επεξεργασίας τομάτας

| Τεχνολογία εκχύλισης | Συνθήκες επεξεργασίας | Αποτέλεσμα έρευνας | Συστατικό που ανακτήθηκε από παραπροϊόντα τομάτας | Βιβλιογραφία |
|---|---|---|---|------------------------|
| Ultrasounds assisted extraction | 37 kHz, 80 °C, 15 min | Αύξηση της απόδοσης σε πηκτίνη και μείωση του χρόνου εκχύλισης | Πηκτίνη | Grassino et al., 2016 |
| Ultrasounds assisted extraction | Χρόνος εκχύλισης: 45,6 min Θερμοκρασία εκχύλισης: 47.6 °C Αναλογία διαλύτη: στερεού: 74.4:1 v/w n-εξάνιο: ακετόνη: αιθανόλη (2:1:1, v/v/v) 37 KHz | Αύξηση κατά 75.93 %, χωρίς να συμβεί αποκοδόμηση ή ισομερίωση του λυκοπενίου. | <i>all-trans</i> -λυκοπενίου | Eh & Teoh, 2008 |
| Ultrasound under pressure assisted extraction | 20 kHz, 94 l/m, 45°C, 50 kPa 6 min | Ενίσχυση της απόδοσης σε καροτενοειδή κατά 143 %. | Καροτενοειδή | Luengo, et al. 2014 |
| Ultrasonic & microwave assisted extraction | 34 KHz, 40°C and 50°C, 20 bar & 30 bar | Μείωση του χρόνου εκχύλισης και της συγκέντρωσης σε διαλύτη και αύξηση της απόδοσης σε λυκοπένιο έως 5,9% | Λυκοπένιο | Driouich, et al., 2016 |
| Microwave assisted extraction | 5 min, 55 °C, 1:50 στερεό-υγρό, 500 W | Ανάκτηση φαινολικών συστατικών και φλαβονοειδών με ελάχιστο χρόνο επεξεργασίας. | Πολυφαινόλες και φλαβονοειδή | Bakić, et al., 2019 |
| Microwave assisted extraction | 80 °C, 3min, 500 W | Η συγκέντρωση πολυφαινολών 646.40 mg GAE/100 g σε σύγκριση με τη συμβατική εκχύλιση (602.91 mg/100 g). | Πολυφαινόλες | Li, et al., 2012 |
| Microwave assisted extraction | 400W, 24kJ | Η μέγιστη ανάκτηση σε λυκοπένιο ήταν ~13 mg/100 g. | Λυκοπένιο | Ho et al., 2015 |
| Ultrasound & Microwave assisted extraction | 50°C, 8 min, Ανάδευση: 230-280 rpm 100% Γαλακτικός Αιθυλεστέρας Μέγεθος σωματιδίων 1000μm, Ένταση των μικροκυμάτων: 500 W, Ένταση των υπερήχων: 600 W, Αναλογία Στερεού: Διαλυτή: 1:30 w/v | 91.2% αύξηση της απόδοσης σε λυκοπένιο | Λυκοπένιο | Υφαντή, 2017 |
| Supercritical CO ₂ assisted extraction | Πίεση 300 bar, 80 °C, Μέγεθος σωματιδίων: 345 μm, Συνδιαλύτης 5% αιθανόλη | 80% από το λυκοπένιο και 88% από α-καροτένιο | Λυκοπένιο και β-καροτένιο | Sabio et al., 2003 |
| Supercritical CO ₂ assisted extraction | 90 °C, 2.5 h, Πίεση 400 bar, Μέγεθος σωματιδίων 1.05 mm και ογκομετρική ροή CO ₂ 2–4 mL/min | Εκχυλίστηκε το 56% του λυκοπενίου | Λυκοπένιο και καροτενοειδή | Machmudah et al., 2012 |

| | | | | |
|--|--|---|---------------------------|------------------------|
| Supercritical fluid extraction with central composite rotatable design model | 62 °C, 30 min Μέγεθος σωματιδίων 0.5-1.0mm, 3.5 L/min, Πίεση 450 bar, Συνδιαλύτης 14% αιθανόλη | 33% αύξηση της απόδοσης σε λυκοπένιο | Λυκοπένιο | Kassama et al., 2008 |
| Supercritical CO ₂ | 86 °C, 3,3 h, Πίεση 344.7 bar, 2.5 mL/ min | Μέγιστη ανάκτηση σε λυκοπένιο έως 61% (7.19 µg lycorane/g). Το μέγιστο της α και δ τοκοφερόλης ήταν 11 µg/g και 0,1 µg/g | Λυκοπένιο και τοκοφερόλες | Rozzi et al., 2002 |
| Supercritical fluid extraction | 60 °C, 5 h, Πίεση 300 bar, Μέγεθος σωματιδίων 0.36 mm, 0.59 g/min | Αύξηση της συγκέντρωσης σε λυκοπένιο 93% | Λυκοπένιο | Nobre et al., 2012 |
| Supercritical CO ₂ extraction | 65 + 55 °C, 2 h, 300 bar, 4 kg/h, Συνδιαλύτης 15% αιθανόλη | Μέγιστη ανάκτηση σε λυκοπένιο 53.93%, 50 % αύξησης της συγκέντρωσης σε β-καροτένιο | Λυκοπένιο και β-καροτένιο | Baysal et al., 2000 |
| Enzyme assisted extraction | Πηκτινάσες-Κυτταρινάσες | 5πλασιασμός και 7πλασιασμός της απόδοσης σε λυκοπένιο | Καροτενοειδή | Ranveer et al., 2013 |
| Enzyme assisted extraction | Κυτταρινάση (Cellulyne 50LC) Πηκτινάση (Peclyne LI και Prolyne 1000) | 20-30 X αύξηση του λυκοπενίου με χρήση υδρολυτικών ενζύμων και με μεταβολές του pH | Καροτενοειδή | Cuccolini et al., 2013 |
| Enzyme assisted extraction | Μίγμα πηκτινάσης – κυτταρινάσης (50:50) | 8-18X αύξηση της απόδοσης | Καροτενοειδή | Zuorro et al., 2011 |
| PEF assisted extraction | 5 kV/cm & 0–300 µs Διαλύτης εξάνιο:ακετόνη:αιθανόλη (50:25:25) | 39% αύξηση της απόδοσης σε καροτενοειδή Μείωση της συγκέντρωσης σε εξάνιο από 45 σε 30 % | Καροτενοειδή | Luengo et al., 2014 |
| High pressure assisted extraction | 700 MPa, 1-30 min | 2 έως 64% αύξηση της απόδοσης σε καροτενοειδή | Καροτενοειδή | Strati, et al., 2012 |
| High pressure assisted extraction | 100–500 MPa, 1 min | Αύξηση της απόδοσης σε λυκοπένιο (18.19-41.73 mg/100 g) | Λυκοπένιο | Xi, 2006 |
| High pressure assisted extraction | 500 MPa, 1 min αιθανόλη:απιονισμένο νερό (75%, v/v), Αναλογία στερεού/υγρού 1:6 g/ml | Η μέγιστη ανάκτηση σε λυκοπένιο (92%) | Λυκοπένιο | Jun, 2006 |

Πίνακας 4.4. Ανασκόπηση βιβλιογραφίας με μελέτες που αφορούν τη χρήση νέων τεχνολογιών ως προκατεργασία της συμβατικής εκχύλισης για τη βελτίωση της ανάκτησης βιοδραστικών ενώσεων από ελαιοπυρήνα

| Τεχνολογία εκχύλισης | Συνθήκες επεξεργασίας | Αποτέλεσμα έρευνας | Συστατικό που ανακτήθηκε από τον ελαιοπυρήνα | Βιβλιογραφία |
|---|---|--|--|------------------------|
| Ultrasounds assisted extraction | 60.0kHz, 280W Έλαιο: 60°C, Αναλογία στερεού-υγρού: 1:12g/mL, Μέγεθος σωματιδίων: 0.5mm. Φαινολικά Συστατικά:50°C, Αναλογία στερεού-υγρού: 1:8g/mL Μέγεθος σωματιδίων: 0.9mm | Αύξηση της απόδοσης σε έλαιο 11.03%. Αύξηση της απόδοσης σε φαινολικά συστατικά: 0,255 mg GAE/g oil | Πυρηνέλαιο & φαινολικά συστατικά | Chanioti et al. 2017 |
| Ultrasound assisted extraction | 300 W, , Αναλογία στερεού-υγρού: 40:1, 30 min | Συγκέντρωση υδροξυτυροσόλης: 13,02mg/g | Φαινολικές ενώσεις | Morsi et al., 2016 |
| Ultrasound assisted extraction | Εξάνιο, 250 W, 75 min, 40°C, Αναλογία στερεού-υγρού (3g/ 100 mL) με σταθερή θερμοκρασία | Αύξηση συγκέντρωσης ολικών φαινολικών ενώσεων κατά 20-25% | Φαινολικές ενώσεις | Goldsmith et al., 2017 |
| Microwave assisted extraction | 220W, 12min, 60 µL όγκος διαλύτη | Ελευρωπαΐνη: 3539.66 mg/kg Υδροξυτυροσόλη: 1572.19 mg/kg | Ελευρωπαΐνη και Υδροξυτυροσόλη | Habbibi et al., 2017 |
| Microwaves (MAE) & enzymatic (MAEE) assisted extraction | 400 W, citric buffer pH = 4.5, 60 °C & 30 min | MAE Φαινολικά συστατικά: 10.61 mg GAE/g Αντιοξειδωτική ικανότητα: 10.40 mg Trolox/g MAEE Φαινολικά συστατικά: 10.37 mg GAE/g Αντιοξειδωτική ικανότητα:15.93 mg Trolox/g | Φαινολικές ενώσεις | Chanioti et al., 2016 |
| Microwaves with NADES assisted extraction | 200W, 40°C or 60°C & 30 min NADES: Chlorine chloride, Lactic acid | Εκχύλιση φαινολικών ενώσεων ίση με 29.57 mg/g | Φαινολικές ενώσεις | Chanioti et al. 2016 |
| Homogenate assisted extraction (HAE) Microwave assisted extraction (MAE) Ultrasounds assisted extraction (UAE) High pressure | HAE: 60°C, 4000-12000rpm MAE:60°C UAE:60°C HP: 600MPa, 10min NADES: DES-LA | HAE: 16.49mg/g dw UAE: 9.49mg/g dw MAE: 2.51mg/g dw HPAE: 5.31mg/g dw | Φαινολικές ενώσεις | Chanioti et al., 2018 |

| | | | | |
|--|---|--|--------------------|------------------------------|
| assisted (HPAE) extraction | | | | |
| Supercritical CO ₂ extraction | 17.5 MPa, 38°C, 5.4g/min | Αύξηση της απόδοσης σε Σκουαλένιο ίση με 3.018% | Σκουαλένιο | Stavroulias et al., 2015 |
| Supercritical fluid Extraction | 350 bar, 50 °C, 2000mL/h, Συνδιαλύτης: Αιθανόλη | Συγκέντρωση α-τοκοφερόλης: 2084 ppm | Τοκοφερόλες | Ibanez et al., 2000 |
| High Temperature/High pressure under a modified atmosphere assisted extraction | 180 °C, 90 min, 2.5 MPa | Αύξηση συγκέντρωσης ολικών φαινολικών ενώσεων (45.2 mg/g), της ελευρωπαΐνης (2433 mg/100 g) και της τυροσόλης (485 mg/100 g) | Φαινολικές ενώσεις | Aliakbarian et al., 2011 |
| Pulsed Electric fields assisted extraction | 13.3 kV/cm, 109 kJ/kg | Αύξηση συγκέντρωσης ολικών φαινολικών ενώσεων (146 mg/L) | Φαινολικές ενώσεις | Rosello – Sotto et al., 2015 |
| Ultrasounds assisted extraction | 400W, 24kHz, 109 kJ/kg | Αύξηση συγκέντρωσης ολικών φαινολικών ενώσεων (140 mg/L) | | |

5. Κεφάλαιο 5: Πειραματικό Μέρος

5.1. Σκοπός

Ο κλάδος της βιομηχανίας τροφίμων που ασχολείται με εποχιακά προϊόντα φυτικής προέλευσης αντιμετωπίζει πολλές και σημαντικές προκλήσεις στην παραγωγή προϊόντων, όσον αφορά την απόδοση, τις απώλειες σε προϊόν και την υποβάθμιση της ποιότητας των τελικών προϊόντων. Επιπλέον, από όλες τις βιομηχανίες τροφίμων ένας τεράστιος όγκος παραπροϊόντων προκύπτει ετησίως, με αποτέλεσμα την αδυναμία αποτελεσματικής διαχείρισης τους.

Σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν η μελέτη νέων τεχνολογιών Υπερυψηλής Πίεσης (ΥΠ) και Παλμικών ηλεκτρικών πεδίων (ΠΗΠ) στην παραγωγή υψηλής απόδοσης και ποιότητας φυτικών προϊόντων και στην αποτελεσματικότερη αξιοποίηση των παραπροϊόντων τους.

Στο πρώτο μέρος της διατριβής, η μελέτη επικεντρώθηκε στην παραγωγή συμπυκνωμένων προϊόντων τομάτας (απλής συμπύκνωσης) με τη συμβατική διαδικασία συμπύκνωσης υπό κενό στους 60 °C. Με σκοπό την αντιμετώπιση των προβλημάτων ή μειονεκτημάτων που εμφανίζει η συμβατική συμπύκνωση ως προς την απόδοση της διεργασίας και την τελική υφή και ποιότητα των παραγόμενων τοματοπολτών, επιλέχθηκαν προς μελέτη οι σύγχρονες και καινοτόμες διεργασίες της ΥΠ και των ΠΗΠ ως προεπεξεργασίες στον χυμό τομάτας πριν τη συμπύκνωση. Στόχος ήταν η κινητική μελέτη των συνθηκών επεξεργασίας των δυο τεχνολογιών στην απενεργοποίηση των δύο ενδογενών ενζύμων της PME και PG. Τα δύο αυτά ένζυμα όταν δρουν συνεργιστικά υποβαθμίζουν την τελική υφή των συμπυκνωμένων χυμών τομάτας. Επομένως, στόχος ήταν η επιλογή συνθηκών για την κάθε προεπεξεργασία με βάση την επιλεκτική απενεργοποίηση της PG και ταυτόχρονη διατήρηση της PME στους χυμούς τομάτας, που δεν μπορεί να επιτευχθεί με τη θερμική επεξεργασία. Στις βέλτιστες συνθήκες που επιλέχθηκαν για κάθε προεπεξεργασία προσδιορίστηκαν η απόδοση της συμπύκνωσης ως προς την ποσότητα του νερού που εξατμίζεται για να προκύψει συμπυκνωμένος τοματοπολτός με ίδιο ιξώδες και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των τελικών τοματοπολτών απλής συμπύκνωσης συγκρίνοντας τα με το επεξεργασμένο συμβατικά τοματοπολτό. Έπειτα προσδιορίστηκε και ο χρόνος ζωής των τελικών συμπυκνωμένων προϊόντων τομάτας ως προς την υποβάθμιση των ποιοτικών χαρακτηριστικών με επιταχυνόμενο πείραμα διατηρησιμότητας.

Επιπλέον, η μελέτη της διατριβής περιλαμβάνει την εφαρμογή των ΠΗΠ ως προεπεξεργασία σε ολόκληρες τομάτες για να ενισχύσουν ή να αντικαταστήσουν τις συμβατικές διαδικασίες αποφλοιώσης τοματών. Στόχος ήταν η κινητική μελέτη των συνθηκών με ΠΗΠ ως προεπεξεργασία διερευνώντας την επίδραση τους στο έργο αποκόλλησης του φλοιού τομάτας

από την υπόλοιπη σάρκα. Παράλληλα σχεδιάσθηκε συγκριτική μελέτη της αποφλοίωσης με ΠΗΠ με τις συμβατικές μεθόδους αποφλοίωσης, με ατμό και ζεμάτισμα ως προς το έργο αποκόλλησης του φλοιού τομάτας από την υπόλοιπη σάρκα, τη σκληρότητα και τη συγκέντρωση του λυκοπενίου των τελικών αποφλοιωμένων τοματών.

Η διατριβή ακόμα περιλαμβάνει την εφαρμογή των ΠΗΠ ως προεπεξεργασία πριν το πρώτο και δεύτερο στάδιο της χυμοποίησης των τοματών. Στόχος ήταν η κινητική μελέτη των συνθηκών επεξεργασίας με ΠΗΠ ως προεπεξεργασία διερευνώντας την επίδραση τους στην απόδοση σε χυμό τομάτας, στα ποιοτικά χαρακτηριστικά (ιξώδες, συνεκτικότητα) και στη συγκέντρωση του λυκοπενίου των τελικών παραγόμενων χυμών τομάτας και από τα δύο στάδια της χυμοποίησης. Επιπλέον σχεδιάστηκε σύγκριση της συμβατικής εξαγωγής χυμού τομάτας με την υποβοηθούμενη από τα ΠΗΠ ως προς την απόδοση σε χυμό τομάτας, τα ποιοτικά χαρακτηριστικά (ιξώδες, συνεκτικότητα) και τη συγκέντρωση του λυκοπενίου των τελικών παραγόμενων χυμών τομάτας.

Στο τέλος του πρώτου μέρους, η μελέτη περιλαμβάνει την εκχύλιση βιοδραστικών ενώσεων από παραπροϊόντα τομάτας. Στόχος ήταν να μελετηθεί η διεργασία των ΠΗΠ ως προεπεξεργασία στη συμβατική εκχύλιση για την παραλαβή βιοδραστικών συστατικών (καροτενοειδών, λυκοπενίου, φαινολικών ενώσεων) από τα παραπροϊόντα τομάτας. Επιπλέον έγινε κινητική μελέτη των συνθηκών επεξεργασίας με ΠΗΠ και η σύγκριση τους με τη συμβατική εκχύλιση στην απόδοση της εκχύλισης σε βιοδραστικές ενώσεις.

Στο δεύτερο μέρος, η μελέτη της διδακτορικής διατριβής περιλαμβάνει την εξαγωγή ελαιόλαδου με τη συμβατική διαδικασία με φυγοκεντρικό σύστημα δύο φάσεων. Στόχος ήταν η κινητική μελέτη του σταδίου της μάλαξης της ελαιόπαστας διερευνώντας την επίδραση του χρόνου και της θερμοκρασίας μάλαξης στην απόδοση σε ελαιόλαδο, τα ποιοτικά χαρακτηριστικά και τη συγκέντρωση των ολικών φαινολικών ενώσεων στο παραγόμενο έλαιο. Οι παράγοντες αυτοί θεωρούνται στη βιβλιογραφία ως οι σημαντικότεροι που επηρεάζουν τη μάλαξη, ένα στάδιο μεγάλης σημασίας για την απόδοση και την τελική ποιότητα του παραγόμενου ελαιόλαδου.

Με σκοπό την αντιμετώπιση των προβλημάτων ή μειονεκτημάτων που εμφανίζει η συμβατική εξαγωγή του ελαιόλαδου, επιλέχθηκαν προς μελέτη οι σύγχρονες και καινοτόμες διεργασίες της ΥΠ και των ΠΗΠ ως προεπεξεργασίες πριν το στάδιο της μάλαξης. Στόχος ήταν η κινητική μελέτη των συνθηκών επεξεργασίας των δυο διεργασιών σε συνδυασμό με τις συνθήκες μάλαξης στην απόδοση σε ελαιόλαδο, στα ποιοτικά του χαρακτηριστικά, στην ποσότητα των φαινολικών ενώσεων και χλωροφυλλών στο παραγόμενο ελαιόλαδο, καθώς και την αντιοξειδωτική τους

ικανότητα. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε αριστοποίηση των συνθηκών μάλαξης σε συνδυασμό με τη συνθήκες της κάθε προεπεξεργασίας με στόχο την παραλαβή ελαιόλαδου με τη μέγιστη δυνατή απόδοση και τη μέγιστη περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις.

Παράλληλα σχεδιάστηκε συγκριτική μελέτη με τα αντίστοιχα ελαιόλαδα που παράχθηκαν με συμβατικό τρόπο ως προς την απόδοση, τα ποιοτικά χαρακτηριστικά, τη συγκέντρωση των ολικών και μεμονωμένων φαινολικών συστατικών, των χλωροφυλλών, της α-τοκοφερόλης, το προφίλ των λιπαρών οξέων, την αντιοξειδωτική ικανότητα, την οξειδωτική σταθερότητά και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους.

Στη συνέχεια η μελέτη περιλαμβάνει την εκχύλιση βιοδραστικών ενώσεων από ελαιοπυρήνα. Όσον αφορά την εκχύλιση των φαινολικών συστατικών και πρωτεϊνών απευθείας από τον ελαιοπυρήνα, ελήφθη υπόψη ότι η οικονομική αξιοποίηση των παραπροϊόντων της επεξεργασίας του ελαιόλαδου επιβάλλει την ανάπτυξη νέων μεθόδων εκχύλισης αποδοτικότερων, λιγότερο χρονοβόρων και φιλικών προς το περιβάλλον, οι οποίες παράλληλα θα διασφαλίζουν την ποιότητα των προϊόντων. Επομένως, στόχος της μελέτης ήταν η αξιολόγηση νέων (καινοτόμων) εναλλακτικών μεθόδων υποβοηθούμενης εκχύλισης όπως η εκχύλιση με ΠΗΠ, και ΥΠ για την παραλαβή φαινολικών συστατικών και πρωτεϊνών από τον ελαιοπυρήνα.

Επιλέγονται προς μελέτη η συμβατική εκχύλιση με χρήση διαλυμάτων αιθανόλης-νερού ως διαλύτη της εκχύλισης. Στόχος ήταν η κινητική μελέτη της εκχύλισης του ελαιοπυρήνα συναρτήσει του χρόνου διερευνώντας την επίδραση της θερμοκρασίας εκχύλισης και της συγκέντρωσης της αιθανόλης στον διαλύτη στην ποσότητα των εκχυλιζόμενων φαινολικών ενώσεων, πρωτεϊνών στα εκχυλίσματα από ελαιοπυρήνα καθώς και την αντιοξειδωτική τους ικανότητα. Στη συνέχεια, επιλέχθηκε να αξιολογηθεί η χρήση των ΠΗΠ και της ΥΠ για την παραλαβή φαινολικών συστατικών και πρωτεϊνών από ελαιοπυρήνα. Στόχος ήταν η κινητική μελέτη των συνθηκών επεξεργασίας των δυο τεχνολογιών στην απόδοση της εκχύλισης σε φαινολικά συστατικά και πρωτεΐνες στα εκχυλίσματα του ελαιοπυρήνα. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε αριστοποίηση του χρόνου εκχύλισης σε συνδυασμό με τις συνθήκες της κάθε προεπεξεργασίας με στόχο την παραλαβή εκχυλίσματος από ελαιοπυρήνα με τη μέγιστη δυνατή συγκέντρωση σε ολικές και επιμέρους φαινολικές ενώσεις, όπως είναι η υδροξυτυροσόλη, τυροσόλη, ελευρωπαΐνη, καμφερόλη, φερουλικό οξύ και λουτεολίνη. Τέλος, έγινε αριστοποίηση της συμβατικής εκχύλισης και της εκχύλισης υποβοηθούμενης με ΠΗΠ και ΥΠ ως προς τον χρόνο εκχύλισης και τη συγκέντρωση της αιθανόλης στον διαλύτη, με στόχο την παραλαβή εκχυλισμάτων από ελαιοπυρήνα με τη μέγιστη δυνατή συγκέντρωση σε φαινολικές ενώσεις και πρωτεΐνες με τη

μέγιστη δυνατή αντιοξειδωτική ικανότητα, στον ελάχιστο δυνατό χρόνο εκχύλισης και όγκο διαλύτη.

Με βάση τα υπάρχοντα βιβλιογραφικά δεδομένα, καθορίστηκαν οι βασικοί άξονες της έρευνας και έγινε σχεδιασμός του πειράματος, ο οποίος χωρίστηκε σε δυο βασικά μέρη. Ο αναλυτικός σχεδιασμός αναφέρεται σε αυτό το κεφάλαιο διεξοδικά. Η εκπόνηση των πειραμάτων της παρούσας διατριβής πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων της Σχολής Χημικών Μηχανικών του ΕΜΠ.

5.2. Υλικά και μεθοδολογία

5.2.1. Υλικά

5.2.1.1. Α' μέρος – Πρώτη θεματική ενότητα: Πρώτη ύλη για την παρασκευή τοματοχυμού

Για τη διεξαγωγή των πειραμάτων της πρώτης φάσης χρησιμοποιήθηκε χυμός από τομάτα τύπου «βελανίδι» ποικιλίας *Alamanda* (αρχικά ολικά διαλυτά στερεά °Brix 7.0). Οι τομάτες μεταφέρθηκαν στο Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Ε.Μ.Π. όπου και αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία 5 °C μέχρι την επεξεργασία τους. Οι τομάτες αναμίχθηκαν και πολτοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας ένα οικιακό επεξεργαστή τροφίμων. Η πούλπα τομάτας που προέκυψε διηθήθηκε μέσω ενός πλέγματος με οπές 0,5 mm για την απομάκρυνση φλοιού και σπόρων. Ο ομοιογενής χυμός που προέκυψε (διαλυτά στερεά=7,0±0,1 Brix) είχε τιμή pH ίση με 4.32±0.33, ενώ η αρχική τιμή χρώματος ήταν a/b=1,26 (L*=37,7±1,8, a*=19,8±2,5 και b*=15,9±1,9). Ο χυμός τομάτας αποθηκεύτηκε στους -40 °C, μέχρι να χρησιμοποιηθεί περαιτέρω.

5.2.1.2. Α' μέρος – Δεύτερη θεματική ενότητα: Πρώτη ύλη βιομηχανικής τομάτας για δεύτερη ενότητα πειραμάτων

Φρέσκες, ώριμες βιομηχανικές τομάτες (*Heinz 3402 cv.*) εφοδιάστηκαν από ελληνική μονάδα επεξεργασίας τομάτας (ΝΟΜΙΚΟΣ ΑΕ, Αλιάρτος, Βοιωτία) με περιεκτικότητα σε υγρασία 82,58 ± 0,35%, συνολικά διαλυτά στερεά 4,53 ± 0,25 °Brix και αρχικό χρώμα a/b = 1,08 (L*= 45,9±1,8, a*=29,5±2,5 και b*=27,1±1,9). Οι τομάτες μεταφέρθηκαν στο Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Ε.Μ.Π. όπου και αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία 7 °C μέχρι την περαιτέρω επεξεργασία τους.

5.2.1.3. Β' μέρος – Πρώτη θεματική ενότητα: Πρώτη ύλη ελαιόκαρπου

Για τη διεξαγωγή των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκε ελαιόκαρπος ποικιλίας *Τσουνάτη*, οι οποίες καλλιεργήθηκαν στην περιοχή της Σπάρτης. Η συγκομιδή πραγματοποιήθηκε σε τέσσερις

διαφορετικές καλλιεργητικές περιόδους (Δεκέμβρης 2016-2019). Ο ελαιόκαρπος βρισκόταν στο δεύτερο στάδιο ωρίμανσης με χρώμα πράσινο με μωβ κηλίδες και σχετικά μαλακή σάρκα. Οι ελιές μετά τη συγκομιδή τους μεταφέρθηκαν άμεσα στο εργαστήριο τροφίμων του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου. Από εκεί μεταφέρθηκαν στο ΕΛΓΟ ΔΗΜΗΤΡΑ (Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας) όπου και διεξήχθη η εξαγωγή του ελαιόλαδου. Ο ελαιόκαρπος αποθηκευόταν στους 10 °C μέχρι μία εβδομάδα ώστε να διεξαχθούν όλα τα παρακάτω πειράματα.

5.2.1.4. Β' μέρος – Δεύτερη θεματική ενότητα: Παραλαβή, ξήρανση και άλεση ελαιοπυρήνα από την τυπική παραγωγική διαδικασία εξαγωγής ελαιόλαδου.

Ο ελαιοπυρήνας μετά την παραλαβή του από τη φυγόκεντρο δύο φάσεων μεταφέρθηκε άμεσα και αποθηκεύτηκε στους 5 °C, προκειμένου να αποφευχθεί οποιαδήποτε οξειδωτική υποβάθμιση ή ταγγισμός. Η διαδικασία εκχύλισης ελαιόλαδου στο διαφασικό σύστημα (χωρητικότητα 700 g νωπού στερεού) διεξήχθη επανειλημμένα (περίπου 20 φορές) μέχρι να ληφθούν συνολικά 15 kg στερεού νωπού υπολείμματος φυγοκέντρωσης. Στη συνέχεια, η νωπή ελαιόπαστα τοποθετήθηκε σε πλαστικούς σωλήνες και φυγοκεντρήθηκε στα 8000 rpm για 8 min (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, ΗΠΑ) για να απομακρυνθεί το υπολειπόμενο ελαιόλαδο. Ο απελαιομένος ελαιοπυρήνας υπέστη ξήρανση υπό κενό (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA USA) στους 40 °C μέχρι να αποκτήσει ενεργότητα νερού περίπου 0,4. Το αποξηραμένο στερεό παραπροϊόν (ελαιοπυρήνας) αλέσθηκε σε μύλο και στη συνέχεια κοσκινίστηκε με μέγεθος πλέγματος 2 mm (Sieve SS, 200 mm.X50 mm., 2 mm, AnalytikaTM). Ο αποξηραμένος ελαιοπυρήνας αποθηκεύτηκε στους 10 °C μέχρι την περαιτέρω χρήση του στα πειράματα.

Πίνακας 5.1. Σύσταση (g/100g ελαιοπυρήνα, g/100g ξ.β.) του ελαιοπυρήνα ποικιλίας *Τσουνάτη* μετά την παραλαβή ελαιόλαδου από σύστημα δυο-φάσεων.

| Σύσταση του ξηρού ελαιοπυρήνα | g/100 g ελαιοπυρήνα | g/100 g ξ.β. |
|--------------------------------------|----------------------------|---------------------|
| Υγρασία | 54.93±0.05 | 6.38±0.06 |
| Πρωτεΐνες | 4.36±0.12 | 9.68±0.25 |
| Λιπαρά Οξέα | 5.90±0.89 | 13.11±0.12 |
| Τέφρα | 6.39±1.02 | 12.53±0.26 |
| Υδατάνθρακες | 26.53±3.12 | 58.88±1.25 |
| Ολικές φαινολικές ενώσεις | 1.24±0.35 | 2.44±0.48 |

Η σύσταση του αποξηραμένου ελαιοπυρήνα (6% εναπομένουσα υγρασία) περιέχει αρκετές ενώσεις προστιθέμενης αξίας που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν. Εκτός από την υψηλή ποσότητα φαινολικών ενώσεων, υπάρχει αξιοσημείωτη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες (μέθοδος

προσδιορισμού ολικών πρωτεϊνών – σελ 164), οι οποίες θα μπορούσαν επίσης να ανακτηθούν για περαιτέρω αξιοποίηση. Υπάρχουν επίσης και μία ποσότητα λιπαρών οξέων, λόγω του εναπομένουτος ελαίου και σημαντική ποσότητα υδατανθράκων (Πίνακας 5.1).

5.2.2. Χημικά Αντιδραστήρια

Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν για τις εκχυλίσεις ήταν: εξάνιο, ακετόνη, αιθανόλη αναλυτικής καθαρότητας του εμπορικού οίκου Sigma-Aldrich Chemical Co (St. Louis, MO, USA). Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν για την ανάλυση υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης (HPLC) ήταν: ακετονιτρίλιο, νερό, τετραϋδροφουράνιο, τριφθοροοξικό οξύ, διχλωρομεθάνιο και μεθανόλη βαθμού καθαρότητας HPLC του εμπορικού οίκου Merck (Darmstadt, Germany).

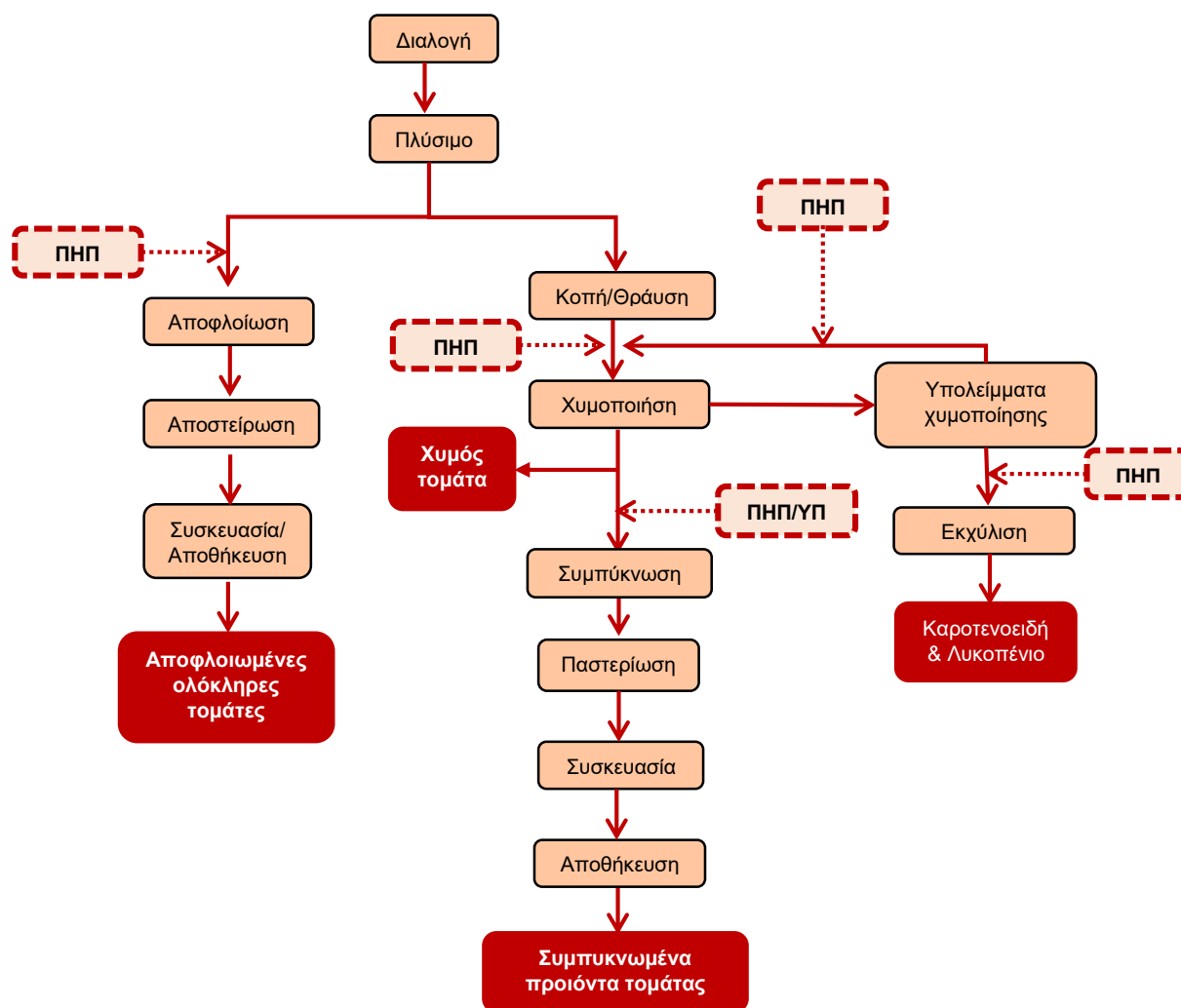
Οι πρότυπες ουσίες των φαινολικών συστατικών: υδροξυτυροσόλη, καφεϊκό οξύ, βανιλίνη, ρουτίνη και λουτεολίνη που χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή πρότυπων καμπυλών αναφοράς για την ανάλυση των φαινολικών συστατικών των εκχυλισμάτων ήταν του εμπορικού οίκου Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA), ενώ η πρότυπη ουσία της ελευρωπαΐνης ήταν του εμπορικού οίκου Extrasynthese (Genay, France). Επιπλέον χρησιμοποιήθηκε πρότυπο διάλυμα α-τοκοφερόλης που χρησιμοποιήθηκε για την κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς για την ανάλυση της α-τοκοφερόλης στα ελαιόλαδα ήταν του εμπορικού οίκου Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA).

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν για τις μετρήσεις της δραστηριότητας των ενζύμων PME και PG ήταν: Διάλυμα πηκτίνης (πηκτίνη από μήλα Fluka Analytical περίπου 75% βαθμού εστεροποίησης), Διάλυμα πολυγαλακτουρονικού οξέος (PGA), $\text{CH}_3\text{COOH}-\text{CH}_3\text{COONa}$, βορικό νάτριο, κυανοακεταμίδιο αγοράστηκαν από την εταιρεία Sigma-Aldrich Co (St. Louis, MO, USA).

Τα αντιδραστήρια Folin-Ciocalteu, 2,2-diphenyl-picrylhydrazyl (DPPH), ανθρακικό νάτριο (Na_2CO_3), καυστικό κάλιο (KOH), υδροξείδιο του νατρίου (NaOH), διμεθυλαιθέρας, Οξικό οξύ, χλωροφόρμιο, ισοοκτάνιο, μεθανόλη, ιωδιούχο κάλιο, θειοθειικό νάτριο ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), μεθανολικό υδροξειδίου του καλίου, $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$, διάλυμα νυιδρίνης, διάλυμα φρουκτόζης, KIO_3 , αντιδραστήριο Bradford αγοράστηκαν από την εταιρεία Sigma-Aldrich Co (St. Louis, MO, USA).

5.3. Πειραματική διαδικασία Α' μέρος

Σκοπός του Α' μέρους της πειραματικής διαδικασίας ήταν να εκτιμηθεί η επίδραση της ΥΠ και των ΠΗΠ σε διάφορα στάδια της επεξεργασίας βιομηχανικής τομάτας. Στο Σχήμα 5.1 παρουσιάζεται το διάγραμμα ροής που ακολουθήθηκε για το Α' μέρος της πειραματικής διαδικασίας και σε ποια ακριβώς σημεία εφαρμόσθηκε η κάθε τεχνολογία.



Σχήμα 5.1. Διάγραμμα ροής που ακολουθήθηκε για το Α' μέρος της πειραματικής διαδικασίας, και η δυνατότητα εφαρμογής της ΥΠ και των ΠΗΠ σε διάφορα στάδια της επεξεργασίας βιομηχανικής τομάτας.

5.3.1. Πρώτη θεματική ενότητα – Επίδραση της ΥΠ και των ΠΗΠ στην αύξηση της παραγωγής προϊόντων τομάτας (πάστα τομάτας) με ταυτόχρονη διατήρηση των ποιοτικών χαρακτηριστικών του τελικού προϊόντος.

5.3.1.1. Θερμική επεξεργασία χυμού τομάτας

Ο χυμός τομάτας υποβλήθηκε σε κινητικό πείραμα θερμικής επεξεργασίας όπου οι θερμοκρασίες κυμαίνονταν μεταξύ 55-75 °C για 6 διαφορετικούς χρόνους. Η επιλογή αυτού του εύρους θερμοκρασιών έγινε μέσω προκαταρκτικών πειραμάτων και βιβλιογραφικά για εκείνο το φάσμα θερμοκρασιών που απενεργοποιούνται τα ενδογενή ένζυμα τομάτας. Δέκα mL χυμού τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικό σωλήνα (διάμετρος 10 mm) και βυθίστηκαν σε λουτρό νερού που

είχε ρυθμιστεί στην επιθυμητή θερμοκρασία. Για το κάθε χρόνο υπήρξαν δυο επαναλήψεις του πειράματος. Μετά απομακρύνονταν τα δείγματα σε προκαθορισμένες χρονικές στιγμές και τοποθετούνταν σε πάγο για γρήγορη πτώση της θερμοκρασίας τους. Μετά το πέρας της επεξεργασίας τα δείγματα φυλάγονταν στην κατάψυξη μέχρι τη μέτρηση της ενεργότητας των ενζύμων.

5.3.1.2. Επεξεργασία χυμού τομάτας με Υπερυψηλή Πίεση

Για τη διεξαγωγή των κινητικών πειραμάτων με ΥΠ χρησιμοποιήθηκε η μονάδα Food Pressure Unit FPU 1.01 της Resato International BV (Roden, The Netherlands) του Σχήματος 5.11, με τη συστοιχία των θαλάμων που χρησιμοποιούνται για κινητικά πειράματα. Αρχικά, για την κινητική μελέτη απενεργοποίησης των PME και PG με ΥΠ έγιναν πειράματα για διάφορες θερμοκρασίες (45-75 °C), πιέσεις (100-600 MPa) και χρόνους (0-60 min). Η κάθε συνθήκη επαναλήφθηκε δύο φορές. Κάθε δείγμα συσκευάστηκε πρώτα σε σακουλάκι από διστρωματικό υλικό πολυαιθυλενίου-πολυπροπυλενίου, με το πολυπροπυλένιο σε επαφή με το δείγμα, και κατόπιν σε δεύτερο σακουλάκι πολυπροπυλενίου υπό συνθήκες κενού. Μετά το πέρας της επεξεργασίας με ΥΠ, τα δείγματα αφαιρέθηκαν από τους θαλάμους και διατηρήθηκαν υπό ψύξη (0 °C) για μερικές ή μέχρι τη μέτρηση της εναπομένουσας δραστηριότητας των ενδογενών ενζύμων τους.

5.3.1.3. Επεξεργασία χυμού τομάτας με Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία

Ο χυμός τομάτας υποβλήθηκε σε επεξεργασία με ΠΗΠ μέσα σε μία πρότυπη κυψελίδα ηλεκτροδιάτρησης των 900 μ L (CellProjects, Ltd UK) του Σχήματος 5.12 με σταθερή απόσταση ηλεκτροδίων 4 mm. Οι συνθήκες με ΠΗΠ ήταν για εντάσεις ηλεκτρικού πεδίου από 4,0 έως 12,5 kV/cm και χρόνους επεξεργασίας από 0 μέχρι 12 ms, πλάτος παλμού 15 μ s και συχνότητα 300 Hz. Η θερμοκρασία εισόδου ήταν 15 °C και η θερμοκρασία εξόδου δεν ξεπέρασε ποτέ τους 60 °C. Οι κυψελίδες ψύχονταν στους 4 °C αμέσως μετά την επεξεργασία με ΠΗΠ σε λουτρό παγωμένου νερού. Στη συνέχεια τα δείγματα διατηρήθηκαν υπό ψύξη (0 °C) για μερικές ή μέχρι τη μέτρηση της εναπομένουσας δραστηριότητας των ενδογενών ενζύμων τους.

5.3.1.4. Παραγωγή συμπυκνωμένων προϊόντων τομάτας με τη χρήση χυμών τομάτας που έχουν υποβληθεί σε επεξεργασία ΥΠ και ΠΗΠ στις βέλτιστες συνθήκες.

Χυμοί τομάτας υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με ΥΠ (55 °C, 500 MPa για 10 min) και ΠΗΠ (8 kV/cm, 6 ms) στις βέλτιστες επιλεγμένες συνθήκες. Οι βέλτιστες συνθήκες με ΥΠ και ΠΗΠ επιλέχθηκαν με βάση την επιλεκτική απενεργοποίηση της PG με ταυτόχρονη διατήρηση της PME, προσφέροντας τα επιθυμητά χαρακτηριστικά υφής στα τελικά συμπυκνωμένα προϊόντα τομάτας. Στη συνέχεια μη επεξεργασμένοι και επεξεργασμένοι με ΠΗΠ και ΥΠ χυμοί τομάτας

συμπυκνώθηκαν υπό κενό (0,1 bar) στους 60 °C με τη χρήση περιστροφικού εξατμιστήρα (Rotavapor RE 111, Büchi, Switzerland) (Σχήμα 5.2).



Σχήμα 5.2. Περιστροφικός εξατμιστήρας (Rotavapor RE 111, Büchi, Switzerland)

Πραγματοποιήθηκε κινητική μελέτη ιξώδους σε συνάρτηση με τα ολικά διαλυτά στερεά °Brix κατά τη συμπύκνωση του χυμού τομάτας με σκοπό τον προσδιορισμό της απόδοσης σε τοματοπολτό συγκρίνοντας την προεπεξεργασία με ΥΠ, ΠΗΠ σε σχέση με τον μη προεπεξεργασμένο χυμό. Η διαδικασία της συμπύκνωσης πραγματοποιήθηκε 3 φορές, μία για κάθε συνθήκη προεπεξεργασίας, και παράχθηκαν 3 συμπυκνωμένοι χυμοί τομάτας.

Το τελικό ιξώδες των τοματοπολτών απλής συμπύκνωσης που προέκυψαν καθορίστηκε περίπου σε κάθε περίπτωση ίση με 5000 cp στους 25 °C. Η επιλογή αυτής της τελικής υφής έγινε προκειμένου στο τέλος της συμπύκνωσης να παραχθεί προϊόν τομάτας απλής συμπύκνωσης (22-28 °Brix). Το μη προεπεξεργασμένο δείγμα που συμπυκνώθηκε στους 60 °C υπό κενό (0,1 bar) είχε τελικά ολικά διαλυτά στερεά 23,9 °Brix, το οποίο αντιστοιχεί σε ιξώδες ίσο με 5000 cp, στους 25 °C. Για τους προεπεξεργασμένους με ΠΗΠ και ΥΠ χυμούς προσδιορίστηκαν τα ολικά διαλυτά στερεά για ιξώδες ίσο με 5000 cp, στους 25°C.

5.3.1.5. Επιταχυνόμενο πείραμα διατηρησιμότητας συμπυκνωμένου χυμού τομάτας ανεπεξέργαστων και προεπεξεργασμένων με ΥΠ και ΠΗΠ στις βέλτιστες συνθήκες.

Μετά τη συμπύκνωση του χυμού αυτός μοιράστηκε σε 18 γυάλινους περιέκτες για κάθε προεπεξεργασία, και 6 για κάθε θερμοκρασία αποθήκευσης (15, 25 και 35 °C). Ακολούθησε θερμική παστερίωση όλων των δειγμάτων στους 85 °C για 20 min και αποθήκευση τους σε σταθερή θερμοκρασία 15, 25 ή 35 °C. Στη συνέχεια μετρήθηκαν τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων ανά τακτά χρονικά διαστήματα και ο προσδιορίστηκε ο χρόνος ζωής τους με βάση τον ρυθμό υποβάθμισης τους. Τα ποιοτικά χαρακτηριστικά που μετρήθηκαν είναι το χρώμα, το ιξώδες και η περιεκτικότητα σε λυκοπένιο.

5.3.2. Δεύτερη θεματική ενότητα – Εφαρμογή των ΠΗΠ ως προεπεξεργασία για την ενίσχυση της αποφλοίωσης ολόκληρων τοματών, για την παραγωγή χυμού τομάτας με αυξημένη απόδοση και βελτιωμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά και για τη βελτίωση της ανάκτησης ενδοκυτταρικών συστατικών από παραπροϊόντα τομάτας

Η προεπεξεργασία με ΠΗΠ εφαρμόστηκε σε τρία διαφορετικά στάδια επεξεργασίας τομάτας, όπως φαίνεται στο Σχήμα 5.1.

5.3.2.1. Προσδιορισμός του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z για ιστό τομάτας

Πριν από την επιλογή των κατάλληλων συνθηκών επεξεργασίας με ΠΗΠ, ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης Z προσδιορίστηκε με τη μέθοδο υψηλών-χαμηλών συχνοτήτων (Angersbach, et al., 1999) για ολόκληρες τομάτες, τεμαχισμένες τομάτες και για παραπροϊόντα τομάτας προκειμένου να επιλεγθούν συνθήκες ΠΗΠ, οι οποίες είχαν διάφορα ποσοστά κυτταρικής διάρρηξης. Στην πειραματική διαδικασία χρησιμοποιήθηκε η γεννήτρια συχνοτήτων Newtronics 200LTPC και ο παλμογράφος Tektronix TDS1012 (Oregon, Η.Π.Α.). Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην εξάρτηση της ηλεκτρικής αγωγιμότητας των κυττάρων από τη συχνότητα. Σε περιοχές χαμηλών συχνοτήτων (1 kHz), η αγωγιμότητα του κυττάρου αυξάνεται ως αποτέλεσμα της μη αναστρέψιμης ηλεκτροδιάτρησης των μεμβρανών. Ωστόσο, οι αλλαγές στην αγωγιμότητα σε περιοχές υψηλών συχνοτήτων (1 MHz) είναι πρακτικά ίδιες για ανεπεξέργαστα κύτταρα και διερρηγμένα κύτταρα, διότι εντός αυτής της περιοχής συχνοτήτων η κυτταρική μεμβράνη δεν παρουσιάζει αντίσταση στο μετρούμενο ηλεκτρικό ρεύμα. Με βάση την εξάρτηση αυτή, ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης Z υπολογίστηκε με την ακόλουθη Εξ. 10:

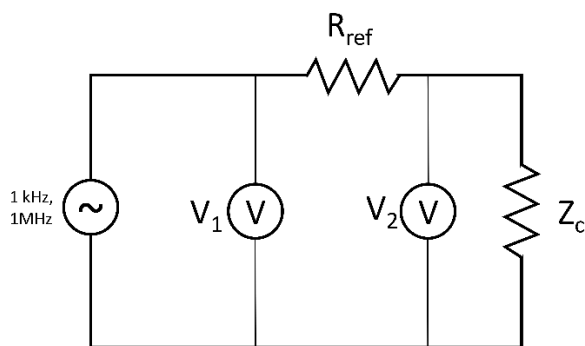
$$Z = \frac{\alpha\sigma_i^l - \sigma_i^h}{\sigma_i^h - \sigma_i^l} \quad (\text{Εξ. 10})$$

όπου α ο συντελεστής διόρθωσης ($\alpha = \sigma_i^h / \sigma_i^l$), σ_i^l , σ_i^h η αγωγιμότητα του ανέπαφου ιστού μετρούμενη σε χαμηλή και υψηλή συχνότητα, σ_i^l , σ_i^h η αγωγιμότητα του επεξεργασμένου με ΠΗΠ ιστού μετρούμενη σε χαμηλή και υψηλή συχνότητα.

Αυτός ο δείκτης χαρακτηρίζει τη διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης σε σχέση με το ανεπεξέργαστο δείγμα. Για ανεπεξέργαστα κύτταρα η τιμή του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z ισούται με μηδέν, ενώ για κύτταρο πλήρως διερρηγμένο, η τιμή του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z ισούται με ένα.

Ολόκληρες τομάτες τοποθετήθηκαν στο θάλαμο επεξεργασίας διαλείποντος έργου με διαστάσεις 10cmx5cmx8cm μαζί με νερό της βρύσης. Οι τεμαχισμένες τομάτες και τα παραπροϊόντα τομάτας τοποθετήθηκαν σε θαλάμους επεξεργασίας με διαστάσεις 4cmx5cmx4cm και 4cmx2,5cmx4cm

χωρίς νερό βρύσης (επεξεργασία με ΠΗΠ κατευθείαν στο τρόφιμο). Επομένως, η επεξεργασία με ΠΗΠ εφαρμόστηκε απευθείας στα δείγματα. Οι ηλεκτρικές αγωγιμότητες για τα δείγματα προσδιορίστηκαν πριν και αμέσως μετά την επεξεργασία με ΠΗΠ για κάθε συνθήκη που εφαρμόστηκε για ολόκληρες τομάτες, τεμαχισμένες τομάτες και για παραπροϊόντα τομάτας. Τα ηλεκτρόδια στους θαλάμους επεξεργασίας έχουν κατασκευαστεί από ανοξείδωτο χάλυβα. Ο θάλαμος επεξεργασίας συνδέθηκε με τη συσκευή μέτρησης όπως φαίνεται στο Σχήμα 5.3. Ο στόχος της συσκευής είναι να μετρήσει την ηλεκτρική αντίσταση του θαλάμου επεξεργασίας καταγράφοντας δύο τιμές τάσης με τον παλμογράφο. Στο Σχήμα 5.3, το Z_c αντιστοιχεί στη σύνθετη αντίσταση του θαλάμου επεξεργασίας μαζί με το δείγμα που υπάρχει μέσα σε κάθε περίπτωση και το R_{ref} αντιστοιχεί σε μία αντίσταση ακριβείας με γνωστή αντίσταση (570 Ω).



Σχήμα 5.3. Διάταξη για τον προσδιορισμό του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z με τη μέθοδο υψηλών-χαμηλών συχνοτήτων ,με τον θάλαμο εξεργασίας, τη γεννήτρια συχνοτήτων Newtronics 200LTPC και τον παλμογράφο Tektronix TDS1012.

Για κάθε μέτρηση, η γεννήτρια σήματος ρυθμίστηκε για να παράγει σήμα ημιτονοειδούς κύματος της απαιτούμενης συχνότητας (1 kHz ή 1 MHz) με σταθερό πλάτος 9 V. Οι τάσεις V_1 και V_2 καταγράφονται χρησιμοποιώντας τον παλμογράφο, ο οποίος καταγράφει το πλάτος και τη διαφορά φάσης των δύο σημάτων (εκφραζόμενη ως γωνία θ). Το μέγεθος της αντίστασης Z_c υπολογίστηκε με την ακόλουθη Εξ. 11:

$$|Z_c| = \frac{V_1 \cdot R_{ref}}{\sqrt{V_1^2 - 2V_1V_2 \cos\theta + V_2^2}} \quad (\text{Εξ. 11})$$

όπου R_{ref} η γνωστή αντίσταση που είναι ίση με 570 Ω , V_1 και V_2 οι τάσεις που καταγράφονται στον παλμογράφο, θ η διαφορά φάσης των δύο σημάτων.

Η ηλεκτρική αγωγιμότητα K για κάθε συχνότητα υπολογίστηκε με την ακόλουθη Εξ. 12:

$$K = \frac{1}{|Z_c|} \cdot \frac{d}{A} \quad (\text{Εξ. 12})$$

όπου d η απόσταση των ηλεκτροδίων και A το εμβαδόν επιφάνειας του ηλεκτροδίου που έρχεται σε επαφή με το δείγμα.

5.3.2.2. Εφαρμογή των Παλμικών Ηλεκτρικών Πεδίων σε ιστούς τομάτας

Η επεξεργασία με ΠΗΠ διεξήχθη σε ένα θάλαμο επεξεργασίας με διαφορετικές διαστάσεις ανάλογα με το δείγμα που κάθε φορά θα επεξεργαζόταν. Ο θάλαμος επεξεργασίας που χρησιμοποιήθηκε για τις ολόκληρες τομάτες είχε διαστάσεις 10 cm x 5 cm x 8 cm (μήκος x βάθος x πλάτος ηλεκτροδίων), 4 cm x 5 cm x 4 cm για τεμαχισμένες τομάτες και 4 cm x 2.5 cm x 4 cm για τα παραπροϊόντα τομάτας. Στην περίπτωση ολόκληρων τοματών, τα δείγματα βυθίστηκαν σε νερό της βρύσης και υπέστησαν επεξεργασία με ΠΗΠ σε εντάσεις ηλεκτρικού πεδίου από 0,5-1,5 kV/cm για 0-8000 παλμούς και ενέργεια 5,7-385 kJ/kg. Στην περίπτωση των τεμαχισμένων τοματών και των παραπροϊόντων τομάτας, η επεξεργασία με ΠΗΠ εφαρμόστηκε απευθείας στα δείγματα σε συνθήκες 0,5-2.5kV/cm για 0-4000 παλμούς ενέργειας 3.5-575 kJ/kg και 1,0-5,0 kV/cm για 0-500 παλμούς ενέργειας 1,1-22,7 kJ/kg, αντίστοιχα για κάθε περίπτωση. Οι παλμοί καταγράφηκαν χρησιμοποιώντας παλμογράφο (Tektronix TDS 1012, Beaverton, OR, USA). Το πλάτος παλμού και η συχνότητα διατηρήθηκαν σταθερά σε όλα τα πειράματα με ΠΗΠ και ίσα με 15 μs και 20 Hz, αντίστοιχα. Η αντίσταση του θαλάμου επεξεργασίας άλλαζε κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας με ΠΗΠ ως συνέπεια της απελευθέρωσης ενδοκυτταρικών συστατικών από το εσωτερικού του τροφίμου προς τα έξω και αυτή η αλλαγή στην αντίσταση επηρέασε το ρεύμα και την τάση μέσα στο θάλαμο επεξεργασίας. Προκειμένου να διατηρηθεί σταθερή η ένταση του ηλεκτρικού πεδίου κατά τη διάρκεια της κάθε επεξεργασίας μη ΠΗΠ, η επεξεργασία πραγματοποιήθηκε σε συνεχόμενα «πακέτα» των 50 παλμών όπου η εξωτερική τάση αυξανόταν μεταξύ κάθε δοκιμής. Το χρονικό διάστημα μεταξύ δύο διαδοχικών δοκιμών ήταν 3 s. Η ενέργεια W (kJ/kg) για την επεξεργασία με ΠΗΠ υπολογίστηκε, σύμφωνα με την Εξ. 13 (Raso et al., 2016):

$$W = n \cdot \frac{1}{m} \int_0^{\infty} V(t) \cdot I(t) dt \quad (\text{Εξ. 13})$$

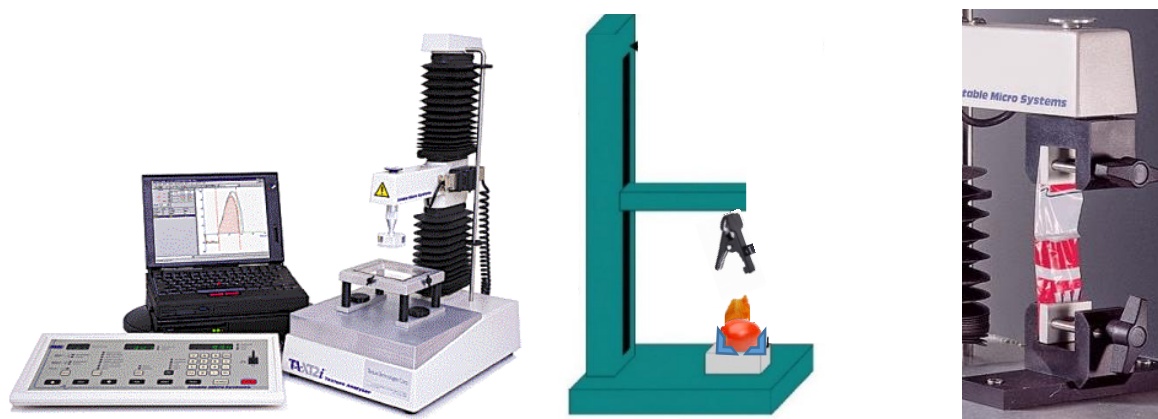
όπου n είναι ο αριθμός των εφαρμοζόμενων παλμών, m είναι η μάζα του δείγματος, $V(t)$ και $I(t)$ είναι αντίστοιχα η τάση και η ένταση του ηλεκτρικού ρεύματος μέσα στο θάλαμο επεξεργασίας κατά χρόνο επεξεργασίας t , όπως καταγράφηκε από τον παλμογράφο. Στους Πίνακες 6.17, 6.18 και 6.19., παρουσιάζονται οι επιλεγμένες συνθήκες με ΠΗΠ σε κάθε ιστό τομάτας και η αντιστοιχία των συνθηκών εκφρασμένες ως προς τον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z .

5.3.2.3. **Αποφλοιώση ολόκληρων μη αποφλοιωμένων τοματών**

Ολόκληρες μη αποφλοιωμένες τομάτες υποβλήθηκαν σε προεπεξεργασία με ΠΗΠ σε διαφορετικές συνθήκες (0,5 έως 1,5 kV/cm, 0-8000pulses, συχνότητα 20 Hz και πλάτος παλμού 15 μ s) προκειμένου να εκτιμηθεί το έργο αποκόλλησης του φλοιού από την υπόλοιπη σάρκα τομάτας (η ευκολία να απομακρυνθεί ο φλοιός τομάτας). Στη συνέχεια η επεξεργασία με ΠΗΠ σε μία επιλεγμένη συνθήκη συγκρίθηκε με άλλες συμβατικές μεθόδους αποφλοιώσης. Νωπές ολόκληρες μη αποφλοιωμένες τομάτες ζεματίστηκαν για 1 min στους 70 °C. Το ζεμάτισμα έγινε με νερό της βρύσης στους 70 °C όπου ολόκληρες τομάτες βυθίστηκαν για 1 min. Νωπές ολόκληρες μη αποφλοιωμένες τομάτες επεξεργάστηκαν για 2 min με ατμό στους 100 °C. Η επεξεργασία με ατμό πραγματοποιήθηκε σε υδατόλουτρο με βραστό νερό και ολόκληρες τομάτες τοποθετήθηκαν πάνω από τη στάθμη του νερού και παρέμειναν για 2 min με ατμό.

5.3.2.4. **Προσδιορισμός του έργου αποκόλλησης του φλοιού από την υπόλοιπη σάρκα τομάτας**

Το έργο αποκόλλησης του φλοιού από την υπόλοιπη σάρκα τομάτας προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας έναν αναλυτή υφής (MODEL TA-XT2i, StableMicro Systems, Godalming, Surrey, UK) για τις μη επεξεργασμένες, επεξεργασμένες με ΠΗΠ, ζεματισμένες και επεξεργασμένες με ατμό ολόκληρες τομάτες. Ο φλοιός από τη σάρκα τομάτας αφαιρέθηκε χρησιμοποιώντας ένα κατάλληλο στέλεχος (Σχήμα 5.4).



Σχήμα 5.4 (α) Αναλυτής υφής TA-XT2i Stable Microsystems, (β) Δοκιμή εφελκυσμού με ειδικό στέλεχος που υπολογίζει το έργο αποκόλλησης του φλοιού από την υπόλοιπη σάρκα τομάτας (γ) Ειδικό στέλεχος του αναλυτή υφής.

Ο φλοιός κόπηκε με ένα νυστέρι για να σχηματιστεί ένα πτερύγιο (ελεύθερο κομμάτι φλοιού) επιφάνειας 4cmx2cm, το οποίο παρέμεινε σταθερό για όλα τα προς μελέτη δείγματα τομάτας. Το στέλεχος προσαρτήθηκε στην άκρη του ελεύθερου πτερυγίου τομάτας και αφαιρέθηκε με ταχύτητα 1 mm/s χρησιμοποιώντας δοκιμή εφελκυσμού ενώ η τομάτα ήταν στερεωμένη σε ειδική

τράπεζα. Το πτερύγιο διατηρήθηκε κάθετα προς την κατεύθυνση του στελέχους και το δείγμα της ολόκληρης τομάτας ήταν στερεωμένο. Κατά τον εφελκυσμό δοκιμάζεται η αντοχή του προϊόντος και καταγραφόταν το μέγιστο έργο (περιοχή κάτω από την καμπύλη του διαγράμματος δύναμης-χρόνου) που απαιτείται για την αποκόλληση του φλοιού από την υπόλοιπη σάρκα τομάτας. Η μέτρηση επαναλήφθηκε πέντε φορές για κάθε συνθήκη.

5.3.2.5. Προσδιορισμός της υφής των αποφλοιωμένων ολόκληρων τοματών

Η τελική υφή (σκληρότητα) προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας έναν αναλυτή υφής (MODEL TA-XT2i, StableMicro Systems, Godalming, Surrey, UK) για τις μη επεξεργασμένες, επεξεργασμένες με ΠΗΠ, ζεματισμένες και επεξεργασμένες με ατμό ολόκληρες τομάτες (Σχήμα 5.4). Η σκληρότητα των αποφλοιωμένων τοματών προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας κατάλληλο στέλεχος το οποίο βυθίστηκε σε ολόκληρες ντομάτες μέχρι 3 mm με ταχύτητα 1 mm/s και μετρήθηκε η μέγιστη δύναμη. Η μέτρηση επαναλήφθηκε πέντε φορές για κάθε συνθήκη.

5.3.2.6. Παραγωγή χυμού τομάτας από προεπεξεργασμένες με ΠΗΠ τεμαχισμένες τομάτες κατά το πρώτο και το δεύτερο στάδιο χυμοποίησης.

Οκτακόσια g τοματών κόπηκαν σε κύβους διαστάσεων $1,5 \times 1,5 \times 1,5 \text{ cm}^3$. Η χυμοποίηση διεξήχθη σε ραφινέζα εργαστηριακής κλίμακας (SpremiTO, Tre Spade, Torino, Ιταλία) (Σχήμα 5.5). Η ραφινέζα διαθέτει ηλεκτρικό κινητήρα σταθερής ταχύτητας 2800 rpm και κόσκινο με οπές διαμέτρου 1.5 mm. Η ραφινέζα δέχεται τομάτα στην είσοδο και διαχωρίζει το προϊόν σε δύο ροές: τοματοχυμό και απόβλητα που περιέχουν φλοιούς και σπόρους. Σταθερή ποσότητα τεμαχισμένης τομάτας περίπου 0,8 kg τοποθετήθηκαν στο χωνί τροφοδοσίας και έγινε συλλογή τόσο του τοματοχυμού όσο και των φλοιών και σπόρων.



Σχήμα 5.5. Ραφινέζα (SpremiTO, Tre Spade, Torino, Ιταλία) που χρησιμοποιήθηκε για τα πειράματα της χυμοποίησης τοματών

Τεμαχισμένες τομάτες προεπεξεργάστηκαν με ΠΗΠ (0,5 έως 2,5 kV/cm για 0-5000 παλμούς, συχνότητα 20 Hz και πλάτος παλμού 15 μs) κατά το πρώτο στάδιο της χυμοποίησης και

συγκρίθηκαν ως προς την απόδοση σε χυμό τομάτας και ως προς τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των τελικών χυμών τομάτας. Στη συνέχεια υπολείμματα από το πρώτο στάδιο χυμοποίησης (σπόρια, φλοιοί και κλάσματα μη χυμοποιημένων τοματών) επαναχυμοποιήθηκαν προκειμένου να αυξηθεί η τελική συνολική απόδοση σε χυμό τομάτας. Σε αυτή την περίπτωση, η προεπεξεργασία με ΠΗΠ (στις ίδιες συνθήκες με του πρώτου σταδίου) εφαρμόστηκε μόνο στα υπολείμματα τομάτας του πρώτου σταδίου χυμοποίησης και ο χυμός που προέκυψε από αυτά προστέθηκε σε χυμό από ανεπεξεργαστες τομάτες και προσδιορίστηκε η συνολική απόδοση σε χυμό καθώς και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των τελικών χυμών τομάτας που προέκυψαν και από τα δυο στάδια χυμοποίησης. Η προεπεξεργασία με ΠΗΠ επαναλήφθηκε δύο φορές για κάθε συνθήκη.

5.3.2.7. Εκχύλιση βιοδραστικών ενώσεων από παραπροϊόντα τομάτας υποβοηθούμενα με ΠΗΠ

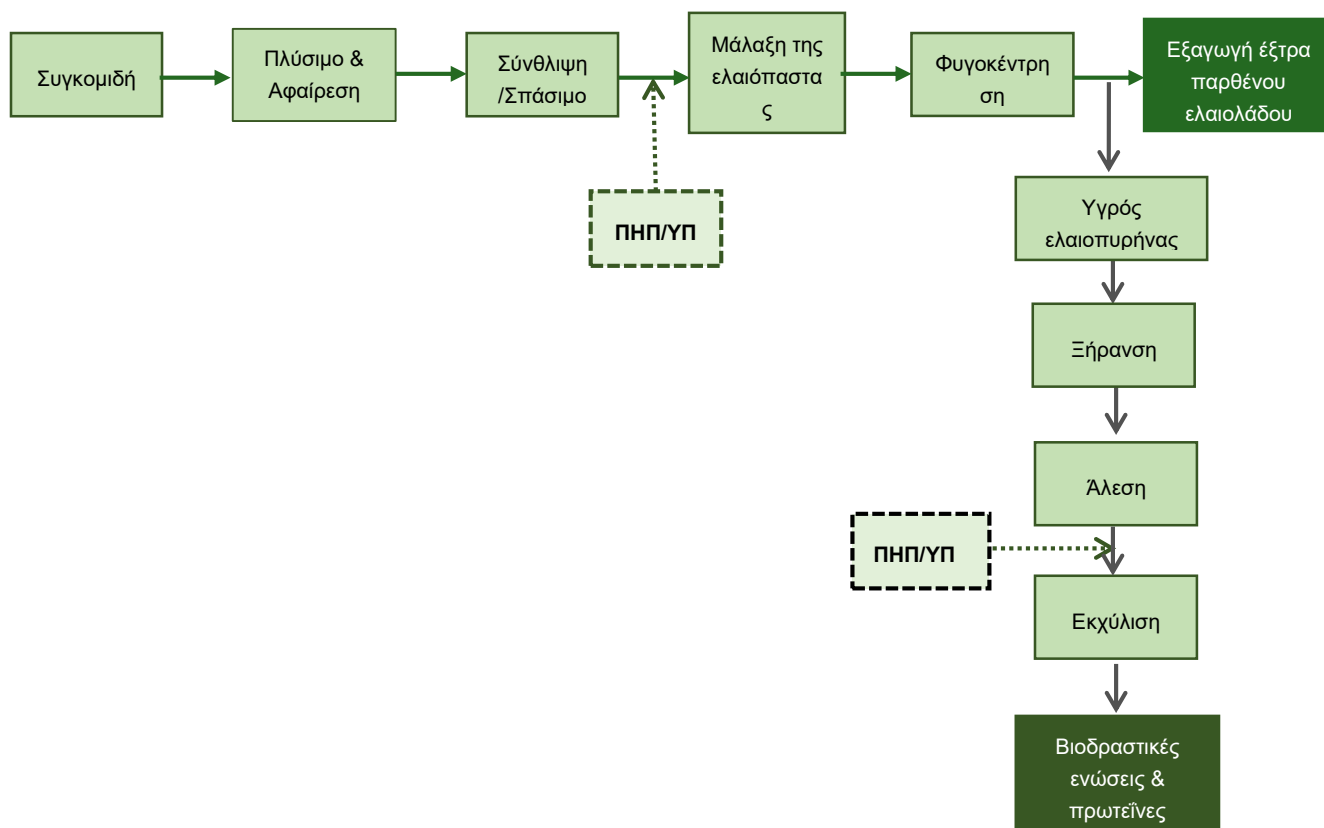
Η επεξεργασία με ΠΗΠ χρησιμοποιήθηκε ως προεπεξεργασία στα παραπροϊόντα τομάτας (φλοιοί και σπόροι από τα δύο στάδια χυμοποίησης) για να ενισχύσει και να υποβοηθήσει την εκχύλιση ενώσεων υψηλής προστιθέμενης αξίας από αυτά. Τα παραπροϊόντα τομάτας και από τα δύο στάδια χυμοποίησης υποβλήθηκαν σε διαφορετικές συνθήκες ΠΗΠ (1,0 έως 5,0 kV/cm για 0-1500 παλμούς, συχνότητα 20 Hz και πλάτος παλμού 15 μs) και συγκρίθηκαν με τη συμβατική εκχύλιση. Η προεπεξεργασία με ΠΗΠ επαναλήφθηκε δύο φορές για κάθε συνθήκη.

5.3.2.8. Εκχύλιση στερεού-υγρού βιοδραστικών ενώσεων από παραπροϊόντα τομάτας

Ενώσεις υψηλής προστιθέμενης αξίας από παραπροϊόντα τομάτας εκχυλίστηκαν με μέθοδο εκχύλισης στερεού-υγρού (1:10). Σε 2 g παραπροϊόντων τομάτας προστέθηκαν 20 mL μείγματος κατάλληλων μιγμάτων οργανικών διαλυτών και αναδεύτηκαν για 30 min στους 25 °C. Τα εκχυλίσματα φυγοκεντρήθηκαν στις 3000 rpm (φυγοκέντρωση Thermo Scientific Heraeus Megafuge 16R, Waltham, MA, ΗΠΑ) για 10 min. Η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε για τα παραπροϊόντα τομάτας που είχαν προεπεξεργαστεί με ΠΗΠ. Στη συνέχεια τα εκχυλίσματα αποθηκεύτηκαν στους -20 °C μέχρι την περαιτέρω ανάλυσή τους. Οι ενώσεις που εκχυλίστηκαν και προσδιορίστηκε η συγκέντρωσή τους ήταν καροτενοειδή (φασματοφωτομετρικά με τη μέθοδο του Lichtenthaler, 1987), λυκοπένιο (HPLC με τη μέθοδο του Perkins-Veazie, et al., 2001), ολικές φαινολικές ενώσεις (mg GAE/L), ολικές πρωτεΐνες (mg/100 g) καθώς επίσης μετρήθηκε και η αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων (Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) and 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl-hydrate (DPPH) values).

5.4. Πειραματικό μέρος- Β' μέρος

Σκοπός του Β' μέρους της πειραματικής διαδικασίας ήταν να εκτιμηθεί η δυνατότητα εφαρμογής της ΥΠ και των ΠΗΠ σε διάφορα στάδια της εξαγωγής ελαιόλαδου. Στο Σχήμα 5.6 παρουσιάζεται το διάγραμμα ροής που ακολουθήθηκε για το Β' μέρος της πειραματικής διαδικασίας και σε ποια ακριβώς σημεία εφαρμόσθηκε η κάθε τεχνολογία. Σε κάθε περίπτωση, στόχος ήταν να προκύψει παρθένο ελαιόλαδο με αυξημένη απόδοση και ανώτερα ποιοτικά χαρακτηριστικά, καθώς επίσης και εκχυλίσματα από ελαιοπυρήνα πλούσια σε βιοδραστικά συστατικά με αντιοξειδωτική ικανότητα. Τέλος, η χρήση των δυο τεχνολογιών ως προεπεξεργασίες στόχευε στη μείωση της έντασης των συνθηκών μάλαξης και εκχύλισης μειώνοντας το κόστος της κάθε διεργασίας.



Σχήμα 5.6. Διάγραμμα ροής που ακολουθήθηκε για το Β' μέρος της πειραματικής διαδικασίας, και η δυνατότητα εφαρμογής της ΥΠ και των ΠΗΠ σε διάφορα στάδια της παραγωγής ελαιόλαδου.

5.4.1. Πρώτη θεματική ενότητα – Επίδραση της ΥΠ και ΠΗΠ ως προεπεξεργασίες στην ελαιόπαστα (πριν το στάδιο της μάλαξης) στην απόδοση σε ελαιόλαδο, στα ποιοτικά χαρακτηριστικά και στην οξειδωτική σταθερότητα των τελικών παραγόμενων ελαιόλαδων.

5.4.1.1. Κινητική μελέτη της συμβατικής εξαγωγής ελαιόλαδου από ελαιόπαστα σε διάφορες συνθήκες μάλαξης ως προς την απόδοση, τα ποιοτικά και τα ολικά φαινορικά συστατικά των τελικών παραγόμενων ελαιόλαδων.

Σύστημα Συμβατικής εξαγωγής ελαιόλαδου δύο φάσεων

Αρχικά έγινε η διαλογή, δηλαδή η απομάκρυνση φύλλων και των καρπών σε προχωρημένο στάδιο ωρίμανσης και ύστερα το πλύσιμο του ελαιόκαρπου. Στη συνέχεια ακολουθήθηκε η τυπική παραγωγική διαδικασία για την εξαγωγή του ελαιόλαδου από τους καρπούς της ελιάς σε ειδική εργαστηριακή κλίμακα διάταξη δύο φάσεων (Σχήμα 5.7). Αυτή η διαδικασία περιλαμβάνει τρία στάδια: α) τη σύνθλιψη ή αλλιώς άλεση, όπου 850 g ελιές αφού ζυγίστηκαν, θρυμματίστηκαν σε σπαστήρα ώστε να προκύψει μία ομοιογενής ελαιόπαστα, β) τη μάλαξη αυτής, σε ειδικά μεταλλικά δοχεία σε θερμοστατούμενο μαλακτήρα, γ) τη φυγόκέντρωση της μαλαγμένης ελαιόπαστας σε 2000 rpm για 4 min ώστε να διαχωριστεί το παραγόμενο ελαιόλαδο από το στερεό υπόλειμμα. Αφού το ελαιόλαδο συλλεχθεί διηθείται για την απομάκρυνση στερεών και νερού. Τέλος αποθηκεύεται σε ειδικούς γυάλινους συλλέκτες σε θερμοκρασία 15 °C στο σκοτάδι, ώστε να αποφευχθεί οποιαδήποτε υποβάθμιση του μέχρι τις περαιτέρω χημικές αναλύσεις του.



Σχήμα 5.7. Σπαστήρας, μαλακτήρας και φυγόκεντρος εργαστηριακής κλίμακας για την παραγωγή ελαιόλαδου του εργαστηρίου Μηχανικής Τροφίμων του ΕΛΓΟ ΔΗΜΗΤΡΑ.

5.4.1.2. Συνθήκες μάλαξης ελαιόπαστας-Κινητική μελέτη ως προς τον χρόνο και τη θερμοκρασία μάλαξης

Πραγματοποιήθηκε κινητικό πείραμα της μάλαξης της ελαιόπαστας σε διάφορες συνθήκες θερμοκρασίας και χρόνου με σκοπό την επιλογή της βέλτιστης συνθήκης. Οι συνθήκες θερμοκρασίας ήταν 15, 30 και 40 °C και χρόνοι από 0 έως 60 min. Σε όλα τα παραγόμενα

ελαιόλαδα από όλες τις συνθήκες μάλαξης προσδιορίστηκε η απόδοση σε ελαιόλαδο και οι ποιοτικοί δείκτες τους (ελεύθερης οξύτητας, αριθμός υπεροξειδίων, δείκτες K_{232} και K_{270} και ολικών φαινολικών ενώσεων. Όλα τα πειράματα επαναλήφθηκαν δύο φορές για όλες τις μελετηθείσες συνθήκες.

5.4.1.3. Προσδιορισμός του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z για τον προσδιορισμό των συνθηκών με ΠΗΠ και ΥΠ ως προεπεξεργασίες στην ελαιόπαστα.

Πριν από την επιλογή των κατάλληλων συνθηκών ΥΠ και ΠΗΠ, ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης Z προσδιορίστηκε για την ελαιόπαστα. Ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης Z καθορίστηκε έμμεσα με βάση την απόδοση σε ελαιόλαδο που προέκυψε για κάθε επιλεγμένη συνθήκη με φυγοκέντρηση της ελαιόπαστας. Για την επεξεργασία με ΠΗΠ, η ελαιόπαστα τοποθετήθηκε στο θάλαμο επεξεργασίας με διαφορετικές αποστάσεις ηλεκτροδίων (10 cmx5 cmx2-8 cm) και η επεξεργασία με ΠΗΠ πραγματοποιήθηκε κατευθείαν στην ελαιόπαστα. Για την επεξεργασία με ΥΠ, η ελαιόπαστα συσκευάστηκε σε πολυστρωματικό υλικό συσκευασίας και τοποθετήθηκε σε δοχείο χωρητικότητας 40 mL. Μετά από κάθε επεξεργασία, ποσότητα 30 g ελαιόπαστας φυγοκεντρήθηκε (10.000 rpm για 5 min) αμέσως και υπολογίστηκε η απόδοση ελαιόλαδου για κάθε δείγμα με βάση την απόδοση του ανεπεξέργαστου. Με βάση την απόδοση ελαιόλαδου άθικτων (μη επεξεργασμένων) και πλήρως διαπερατοποιημένων (καταψυγμένων-αποψυγμένων) ιστών, υπολογίστηκε ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης Z για κάθε προεπεξεργασία. Οι συνθήκες με ΠΗΠ και ΥΠ που τελικά επιλέχθηκαν για τη συνέχεια των πειραμάτων φαίνονται στους Πίνακες 6.27 και 6.28 αντίστοιχα.

Ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης Z προσδιορίστηκε προκειμένου να επιλεγούν οι συνθήκες ΠΗΠ και ΥΠ έχοντας διάφορα ποσοστά διαπερατότητας των κυτταρικών μεμβρανών της ελαιόπαστας, ώστε να διαπιστωθεί πως αυτό θα επηρεάσει την απόδοση και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των εξαγόμενων ελαιόλαδων. Οι συνθήκες ΠΗΠ που επιλέχθηκαν για τα επόμενα πειράματα ήταν από 0.5 έως 2.0 kV/cm για 0-2000 παλμούς με 15 μ s πλάτος παλμού και συχνότητα 20 Hz. Οι συνθήκες με ΥΠ που επιλέχθηκαν για τα επόμενα πειράματα ήταν πιέσεις από 100 έως 600 MPa για 0-60 min.

5.4.1.4. Κινητική μελέτη της ΥΠ και των ΠΗΠ ως προεπεξεργασίες πριν το στάδιο της μάλαξης σε συνθήκες (15, 30 και 40°C και 30 min) ως προς την απόδοση σε ελαιόλαδο, τα ποιοτικά χαρακτηριστικά και τη συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών των τελικών ελαιόλαδων.

Μελετήθηκε η επίδραση των προεπεξεργασιών με ΠΗΠ (0,5-2,0 kV/cm, 0-2000 παλμοί, 20 Hz, 15 μ s στους 20 °C) και ΥΠ (100-600 MPa, 0-60 min στους 20 °C) στην ελαιόπαστα πριν το στάδιο της μάλαξης ως προς την απόδοση σε ελαιόλαδο, τα ποιοτικά χαρακτηριστικά και τη

συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών των τελικών ελαιόλαδων. Στη συνέχεια, οι ανεπεξεργαστες και οι επεξεργασμένες με ΠΗΠ και ΥΠ ελαιόπαστες μαλάχθηκαν σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες για 30 min. Στα παραγόμενα ελαιόλαδα προσδιορίστηκε η απόδοση του ελαιόλαδου, οι ποιοτικοί δείκτες και η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων.

5.4.1.5. Προεπεξεργασία της ελαιόπαστας με Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία

Η επεξεργασία με ΠΗΠ διεξήχθη στο σύστημα διαλείποντος έργου χρησιμοποιώντας θάλαμο επεξεργασίας με απόσταση ηλεκτροδίων 8 cm και όγκο 400 mL (10cmx5cmx8cm). Οι παλμοί ήταν διπολικοί και σχεδόν ορθογώνιοι. Οι συνθήκες επεξεργασίας με ΠΗΠ ήταν 0,5 έως 2,0 kV/cm ένταση ηλεκτρικού πεδίου για 1 έως 2000 παλμούς, πλάτος παλμού 15 μs και συχνότητα 20 Hz. Η θερμοκρασία των επεξεργασμένων δειγμάτων παρακολουθήθηκε πριν και μετά την επεξεργασία και δεν βρέθηκε να υπερβαίνει τους 27,5°C, ενώ η αρχική θερμοκρασία ήταν σταθερή στους 20 °C. Τριακόσια g ελαιόπαστας τοποθετούνταν στον θάλαμο επεξεργασίας των ΠΗΠ και μετά την επεξεργασία οδηγήθηκαν για μάλαξη. Η ίδια διαδικασία εξαγωγής ελαιόλαδου που περιγράφηκε προηγουμένως πραγματοποιήθηκε για τα δείγματα που είχαν υποβληθεί σε προκατεργασία με ΠΗΠ. Όλες οι προκατεργασίες με ΠΗΠ πραγματοποιήθηκαν δυο φορές για κάθε συνθήκη.

5.4.1.6. Προεπεξεργασία της ελαιόπαστας με Υπερυψηλή Πίεση

Για την προεπεξεργασία της ελαιόπαστας (μετά το σπάσιμο του καρπού και πριν το στάδιο της μάλαξης) με ΥΠ χρησιμοποιήθηκε το δοχείο υψηλής πίεσης χωρητικότητας 1,5 L. Οι συνθήκες της ΥΠ που χρησιμοποιήθηκαν ήταν: 100 MPa για 0-60 min, 200 MPa για 0-40 min, 400 MPa για 0-30 min και 600 MPa για 0-20 min. Οκτακόσια πενήντα g ελαιόπαστας συσκευάστηκαν σε πολυστρωματικό υλικό συσκευασίας (PP aluminium PE) πριν από την επεξεργασία. Μετά την επεξεργασία τα δείγματα οδηγήθηκαν για μάλαξη. Η ίδια διαδικασία εξαγωγής ελαιόλαδου που περιγράφηκε προηγουμένως πραγματοποιήθηκε για τα δείγματα που είχαν υποβληθεί σε προκατεργασία με ΥΠ. Όλες οι προκατεργασίες με ΥΠ πραγματοποιήθηκαν δυο φορές για κάθε συνθήκη.

5.4.2. Δεύτερη θεματική ενότητα – Μελέτη της εκχύλισης ενδοκυτταρικών συστατικών από ελαιοπυρήνα υποβοηθούμενη με Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία και Υπερυψηλή Πίεση.

5.4.2.1. Κινητική μελέτη συνθηκών εκχύλισης (θερμοκρασία και ποσοστό αιθανόλης) ενδοκυτταρικών συστατικών από ελαιοπυρήνα.

Η εκχύλιση των ενδοκυτταρικών συστατικών από ελαιοπυρήνα πραγματοποιήθηκε με οργανικούς διαλύτες υπό ανάδευση. Οι εκχυλίσεις διεξήχθησαν σε διαφορετικές θερμοκρασίες (25, 40 και 60

°C) και συγκεντρώσεις αιθανόλης (0, 25, 50 και 70%) προκειμένου να επιλεγούν οι πιο ήπιες συνθήκες εκχύλισης με την υψηλότερη απόδοση ανάκτησης ενδοκυτταρικών συστατικών (φαινολικών ενώσεων και πρωτεϊνών). Η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών ενώσεων και πρωτεϊνών προσδιορίστηκαν για όλα τα εκχυλίσματα, καθώς και η αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων. Αποδείχτηκε ότι οι βέλτιστες συνθήκες εκχύλισης, όπου επιτυγχάνεται η μέγιστη απόδοση ανάκτησης σε ενδοκυτταρικά συστατικά ήταν η περιεκτικότητα σε αιθανόλη 50% και θερμοκρασία εκχύλισης 25 °C.

5.4.2.2. Συμβατική εκχύλιση

Η εκχύλιση στερεού-υγρού πραγματοποιήθηκε για όλα τα μελετώμενα δείγματα. Ο λόγος στερεού-υγρού ήταν 1:10 (Aliakbarian et al., 2012, Habibi et al., 2018). Ο διαλύτης που επιλέχθηκε ήταν μίγματα αιθανόλης-νερού (Roselló-Soto et al., 2015, Hossein et al., 2018). 10 g ελαιοπυρήνα βυθίστηκαν σε υδροαλκοολικό διάλυμα σε χρονικά διαστήματα από 0 έως 60 min υπό ανάδευση. Ο χρόνος μηδέν για την εκχύλιση αντιστοιχεί στον χρόνο που ο ελαιοπυρήνας βυθίστηκε στον διαλύτη για 30 s. Στη συνέχεια τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν για να ληφθούν τα εκχυλίσματα τα οποία φυλάχθηκαν στους -20 °C. Όλες οι εκχυλίσεις των δειγμάτων πραγματοποιήθηκαν δυο φορές για κάθε συνθήκη.

5.4.2.3. Εκχύλιση ενδοκυτταρικών συστατικών από ελαιοπυρήνα (μετά το στάδιο της ξήρανσης) υποβοηθούμενη από ΥΠ και ΠΗΠ.

Η εκχύλιση των ενδοκυτταρικών συστατικών από ελαιοπυρήνα υποβοηθούμενη από ΥΠ και ΠΗΠ πραγματοποιήθηκε στις βέλτιστες συνθήκες εκχύλισης (περιεκτικότητα σε αιθανόλη 50% και θερμοκρασία εκχύλισης 25 °C). Η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών ενώσεων και πρωτεϊνών προσδιορίστηκαν για τα επεξεργασμένα συμβατικά και τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ και ΥΠ δείγματα, καθώς και η αντιοξειδωτική ικανότητά τους.

5.4.2.4. Εκχύλιση υποβοηθούμενη από Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία

Η επεξεργασία με ΠΗΠ διεξήχθη στο σύστημα διαλείποντος έργου χρησιμοποιώντας θάλαμο επεξεργασίας με απόσταση ηλεκτροδίων 4 cm και όγκο 100 mL (4cmx5cmx5cm). Το σχήμα παλμού, η τάση και το ρεύμα παρακολούθηθηκαν χρησιμοποιώντας έναν παλμογράφο (Tektronix TDS 1012, Beaverton, OR, USA). Οι παλμοί ήταν διπολικοί και σχεδόν ορθογώνιοι. Οι συνθήκες επεξεργασίας με ΠΗΠ ήταν 1 έως 6,5 kV/cm ένταση ηλεκτρικού πεδίου για 1 έως 6000 παλμούς που αντιστοιχεί σε ενέργεια από 0,9 έως 51,1 kJ/kg, πλάτος παλμού 15 μs και συχνότητα 20 Hz. Κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας με ΠΗΠ, η αντίσταση του θαλάμου άλλαξε λόγω της απελευθέρωσης ιοντικών ενδοκυτταρικών ενώσεων στον εξωκυτταρικό χώρο. Επομένως, επηρεάστηκε η ένταση του ηλεκτρικού πεδίου που ασκήθηκε στον θάλαμο. Προκειμένου να

εξασφαλιστεί ομοιόμορφη και ομοιογενής επεξεργασία, οι παλμοί εφαρμόστηκαν ανά 50 σε απόσταση 3 s, ώστε στα ενδιάμεσα κενά η τάση εξόδου της συσκευής ρυθμιζόταν αναλόγως, ώστε να διατηρηθεί σταθερή η ένταση του ηλεκτρικού πεδίου. Η θερμοκρασία των επεξεργασμένων δειγμάτων παρακολουθήθηκε πριν και μετά την επεξεργασία και δεν βρέθηκε να υπερβαίνει τους 27,5°C, ενώ η αρχική θερμοκρασία ήταν σταθερή στους 20 °C. Η ίδια διαδικασία εκχύλισης στερεού υγρού πραγματοποιήθηκε για τα δείγματα που είχαν υποβληθεί σε προκατεργασία ΠΗΠ. Πριν από την επεξεργασία, 10 g ελαιοπυρήνα βυθίστηκαν στον διαλύτη για 30 s για την πιο αποτελεσματική και ομοιογενή ανασύστασή του ώστε να είναι επαρκώς αγωγίμο. Το μη προεπεξεργασμένο επίσης βυθίστηκε στον διαλύτη για την ίδια διάρκεια προκειμένου να επιβεβαιωθεί η επίδραση και των ΠΗΠ στην εκχύλιση. Μετά την επεξεργασία με ΠΗΠ, η εκχύλιση πραγματοποιήθηκε στις βέλτιστες συνθήκες εκχύλισης (50% συγκέντρωση αιθανόλης, 25 °C για 60 min). Όλες οι εκχυλίσεις των ανεπεξεργαστων δειγμάτων και των δειγμάτων που προεπεξεργάστηκαν με ΠΗΠ πραγματοποιήθηκαν δυο φορές για κάθε συνθήκη.

5.4.2.5. Εκχύλιση υποβοηθούμενη από Υπερυψηλή πίεση

Η υποβοηθούμενη εκχύλιση με ΥΠ πραγματοποιήθηκε στα έξι δοχεία υψηλής πίεσης χωρητικότητας 45 mL. Οι συνθήκες της ΥΠ που χρησιμοποιήθηκαν ήταν: 100 MPa για 0-45 min (1,9 kJ/kg), 200 MPa για 0-40 min (6,4 kJ/kg), 400 MPa για 0-30 min (19,7 kJ/kg) και 600 MPa για 0-20 min (36,1 kJ/kg). 2 g ξηρού ελαιοπυρήνα βυθίστηκαν σε 20 mL υδροαλκολικού διαλύματος 50% και συσκευάστηκαν σε πολυστρωματικό υλικό συσκευασίας (PP aluminium PE) πριν από την επεξεργασία. Η βύθιση του ελαιοπυρήνα σε διαλύτη πραγματοποιήθηκε ταυτόχρονα τόσο για δείγματα που δεν υποβλήθηκαν σε ΥΠ επεξεργασία όσο και για δείγματα που θα επεξεργάζονταν με ΥΠ, προκειμένου να γίνει διακριτή η επίδραση της ΥΠ από εκείνη της απλής βύθισης στον διαλύτη. Δείγμα που βυθίστηκε σε διαλύτη για τον υψηλότερο χρόνο επεξεργασίας της ΥΠ για κάθε πίεση θεωρήθηκε ως το μη επεξεργασμένο δείγμα. Μετά την επεξεργασία με ΥΠ, η εκχύλιση πραγματοποιήθηκε στις βέλτιστες συνθήκες εκχύλισης (50% συγκέντρωση αιθανόλης, 25 °C για 60 min). Όλες οι εκχυλίσεις των συμβατικά επεξεργασμένων δειγμάτων και των δειγμάτων που προεπεξεργάστηκαν με ΥΠ πραγματοποιήθηκαν δυο φορές για κάθε συνθήκη.

5.5. Μέθοδοι - Αναλύσεις - Μετρήσεις

Οι αναλυτικές μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν καθώς και οι μετρήσεις - αναλύσεις που διεξήχθησαν κατά τη διάρκεια των πειραμάτων της παρούσας διατριβής περιγράφονται αναλυτικά παρακάτω.

5.5.1. Προσδιορισμός δραστικότητας της Πηκτινομεθυλεστεράσης (PME)

Η μέτρηση της ενεργότητας της PME έγινε με αυτόματο τιτλοδότη (TAM 854, TitraLab, Radiometer Titration Manager) και στηρίζεται στη μέτρηση παροχής διαλύματος NaOH 0.02 N που απαιτείται ώστε να διατηρηθεί σταθερό το pH ενζυμικού διαλύματος και υποστρώματος πηκτίνης στο 7.5, το οποίο συνεχώς μειώνεται λόγω απελευθέρωσης πηκτινικών οξέων από τη δράση του ενζύμου. Για κάθε μέτρηση απαιτούνται 50 mL διαλύματος πηκτίνης (πηκτίνη από μήλα Fluka Analytical περίπου 75% βαθμού εστεροποίησης, 1% w/v, 0.3 M NaCl, διόρθωση σε pH=7.5 με NaOH 0.2 N) και 2 mL χυμού. Συνδυάζοντας το ένζυμο και το υπόστρωμα, ο τιτλοδότης διοχετεύει για 5' διάλυμα NaOH ενώ καταγράφει την ογκομετρική παροχή του διαλύματος μετά το 3^ο min, ώστε αυτή να είναι σταθερή. Η θερμοκρασία στην κυψελίδα του τιτλοδότη ήταν για όλες τις μετρήσεις σταθερή στους 30°C. Από την ογκομετρική παροχή που λαμβάνεται στο τέλος της μέτρησης ως ένδειξη, είναι δυνατόν να υπολογιστεί η δραστικότητα του ενζυμικού διαλύματος. Ως 1 unit PME ορίζεται εκείνη η ποσότητα ενζύμου που απελευθερώνει 1 μmol πηκτινικών οξέων ανά min. Εξουδετέρωση 1 μmol πηκτινικών οξέων απαιτεί 1 μmol NaOH. Έτσι η παροχή διαλύματος καυστικού νατρίου εύκολα ανάγεται σε ενεργότητα ενζύμου σύμφωνα με τα παρακάτω. Αν Q (mL/min) είναι η παροχή NaOH του τιτλοδότη, και το διάλυμα έχει συγκέντρωση 0.02 M, άρα 20 μmol/mL, τότε η δραστικότητα του ενζύμου στα 2 mL του δείγματος που μετράται θα είναι:

$$A\left(\frac{U}{mL}\right) = \frac{1}{2mL} Q\left(\frac{mL}{min}\right) 20\left(\frac{\mu mol}{mL}\right) \quad (\text{Εξ } 14)$$

Η μέτρηση πραγματοποιήθηκε 2 φορές για κάθε μελετηθέν δείγμα προεπεξεργασμένο ή μη.

5.5.2. Προσδιορισμός δραστικότητας της Πολυγαλακτουρονάσης (PG)

5.5.2.1. Εκχύλιση Πολυγαλακτουρονάσης

Πέντε g χυμού τομάτας φυγοκεντρήθηκαν στις 10.000 rpm για 10 min και το υπερκείμενο υγρό αντικαταστάθηκε με αποσταγμένο νερό (1:1) με pH ίσο με 3.0 (ρυθμισμένο με HCl 0.1 M) και ομογενοποιήθηκαν για 30 min. Μετά από φυγοκέντρηση ξανά στις 10.000 rpm για 10 min, το υπερκείμενο υγρό απορρίφθηκε και το ίζημα αναμείχθηκε και αναδεύτηκε με 1.2 M NaCl (1:4) για 1 h. Το μίγμα επαναφυγοκεντρήθηκε στις 10.000 rpm για 10 min και το υπερκείμενο υγρό είναι το ενζυμικό διάλυμα στο οποίο εκχυλίστηκε η εναπομένουσα PG για κάθε δείγμα. Όλα τα βήματα πραγματοποιήθηκαν στους 4 °C.

5.5.2.2. Μέτρηση δραστικότητας Πολυγαλακτουρονάσης

Η δραστικότητα της PG μετρήθηκε χρησιμοποιώντας φωτόμετρο και στηρίζεται στην αντίδραση του πολυγαλακτουρονικού οξέος, που καταλύεται από την PG, παράγοντας αναγωγικά σάκχαρα. Η συγκέντρωση των σακχάρων μετρήθηκε στο φωτόμετρο και εξαρτάται από την ενεργότητα του ενζύμου PG. Εκατό mL του εκχυλισμένου ενζυμικού διαλύματος επωάστηκε με 300 mL διαλύματος πολυγαλακτουρονικού οξέος 0,2% w/v (0,1g PGA και 50 mL ρυθμιστικού διαλύματος CH₃COOH-CH₃COONa 40 mM σε pH 4,4) στους 35 °C για 10 min. Για να σταματήσει η αντίδραση, 2 mL βορικού νατρίου 0,1 M και pH=9,0 και 400μL κυανοακεταμιδίου 1% w/v προστέθηκαν στο κάθε δείγμα. Στη συνέχεια τα μείγματα θερμάνθηκαν στους 100 °C για 10 min. Μετά τη ψύξη, η απορρόφηση μετρήθηκε στα 276 nm. Τα δείγματα αναφοράς προσδιορίστηκαν με τον ίδιο τρόπο χρησιμοποιώντας εκχυλίσματα PG που είχαν πρώτα απενεργοποιηθεί πλήρως (90 °C, 15 min). Κάθε δείγμα μετρήθηκε εις διπλούν.

5.5.3. Προσδιορισμός της απόδοσης της συμπύκνωσης

Το τελικό ιξώδες για όλους τους συμπυκνωμένους χυμούς τομάτας ήταν 5000 cp, στους 25 °C. Η επιλογή αυτού του τελικού ιξώδους έγινε προκειμένου στο τέλος της συμπύκνωσης να παραχθεί προϊόν τομάτας απλής συμπύκνωσης (22-28 °Brix). Το μη προεπεξεργασμένο δείγμα που συμπυκνώθηκε στους 60 °C υπό κενό (0,1 bar) είχε τελικά ολικά διαλυτά στερεά 23,9 °Brix, το οποίο αντιστοιχεί σε ιξώδες ίσο με 5000 cp, στους 25 °C. Σε αυτό το ιξώδες, για κάθε δείγμα προσδιορίστηκαν τα συνολικά διαλυτά στερεά σε °Brix στο τέλος της συμπύκνωσης. Η απόδοση της συμπύκνωσης ορίζεται ως:

$$\text{Απόδοση(\%)} = \frac{^{\circ}\text{Brix}_{\text{initial}}}{^{\circ}\text{Brix}_{\text{final}}} \cdot 100 \quad (\text{Εξ. 15})$$

όπου το Brix_{initial} αντιστοιχεί στα συνολικά διαλυτά στερεά του ανεπεξεργαστου χυμού τομάτας και το Brix_{final} αντιστοιχούν στα συνολικά διαλυτά στερεά των συμπυκνωμάτων με ιξώδες 5000 cp, στους 25 °C για κάθε τα προεπεξεργασμένα ή μη με ΠΗΠ και ΥΠ δείγματα.

5.5.4. Προσδιορισμός του ιξώδους των συμπυκνωμένων χυμών τομάτας

Η μέτρηση του ιξώδους των συμπυκνωμάτων τομάτας έγινε με το ιξωδόμετρο Brookfield (DV-II Pro Viscometer, Brookfield Engineering Laboratories, Middleboro, MA) (Σχήμα 5.8). Είκοσι mL συμπυκνώματος προστίθενται σε δοκιμαστικό σωλήνα διαμέτρου 3 cm. Στη συνέχεια γίνεται αυτόματη βαθμονόμηση του οργάνου και επιλέγεται το στέλεχος S61, καθώς και ο αριθμός των στροφών (50rpm) (Dak et al., 2008). Έπειτα λαμβάνεται η μέτρηση του δείγματος σε cp και σε σταθερή θερμοκρασία 25 °C.



Σχήμα 5.8 Ιξωδόμετρο Brookfield (DV-II Pro Viscometer, Brookfield Engineering Laboratories, Middleboro, MA)

5.5.5. Προσδιορισμός των ολικών διαλυτών στερεών °Brix των συμπυκνωμένων χυμών τομάτας

Τα ολικά στερεά είναι ένας σημαντικός δείκτης ποιότητας των προϊόντων τομάτας, αλλά οι διαθέσιμες τεχνικές που χρησιμοποιούνται για τη μέτρηση τους είναι αρκετά χρονοβόρες. Για αυτό το λόγο γίνεται μέτρηση των διαλυτών στερεών των προϊόντων τομάτας (Gould, 1992). Για τη μέτρηση των διαλυτών στερεών των παραγόμενων χυμών χρησιμοποιήθηκε διαθλασίμετρο (B&C 32400 ABBE) (Σχήμα 5.9).



Σχήμα 5.9 Διαθλασίμετρο (B&C 32400 ABBE).

5.5.6. Προσδιορισμός της συνεκτικότητας κατά Bostwick των συμπυκνωμένων χυμών τομάτας

Η συνεκτικότητα των χυμών τομάτας (αρχικά 4-5 °Brix) μετρήθηκε με τη μέθοδο Bostwick σε θερμοκρασία 25 °C. Η συνεκτικότητα κατά Bostwick ορίζεται ως η απόσταση που διανύει ένα ρευστό μόνο υπό την επίδραση του βάρους του κατά μήκος μιας πλήρως ευθυγραμμισμένης και βαθμονομημένης επιφάνειας σε συγκεκριμένο χρονικό διάστημα (συνήθως 30 s). Για τη μέτρηση της συνεκτικότητας χρησιμοποιήθηκε το Bostwick Consistometer, Extended Length, 30 cm (Σχήμα 5.10). Πρόκειται για ένα «κανάλι» από ανοξείδωτο χάλυβα. Στο ένα άκρο του τοποθετείται το δείγμα σε κατάλληλα διαμορφωμένο χώρο (χωρητικότητας 100 mL) που

χωρίζεται από το υπόλοιπο τμήμα της συσκευής με μεταλλικό έλασμα. Κατάλληλος μηχανισμός επιτρέπει την ακαριαία ανύψωση του ελάσματος και την ελεύθερη ροή του δείγματος στο ευθύγραμμο τμήμα της συσκευής που έχει μήκος 24 cm και είναι βαθμονομημένο ανά 0,5 cm (Μπουλέκου, 2010).



Σχήμα 5.10 Όργανο μέτρηση της συνεκτικότητας κατά Bostwick (Camlab 1179568 Bostwick Consistometer, Extended Length, 30 cm)

5.5.7. Προσδιορισμός του χρώματος των συμπυκνωμένων χυμών τομάτας

Οι μετρήσεις του χρώματος των συμπυκνωμάτων τομάτας έγιναν με χρωματόμετρο MINOLTA CR-200. Πριν από κάθε μέτρηση το όργανο ρυθμιζόταν με την πλάκα βαθμονόμησης ($Y=93.6$, $x=0.3129$, $y=0.3194$). Η χρωματική κλίμακα που χρησιμοποιήθηκε ήταν η CIE 1976, με χρωματικούς δείκτες L (φωτεινότητα), a (ερυθρότητα), b (κίτρινο χρώμα). Κάθε φορά λαμβάνονταν τρεις μετρήσεις σε κάθε δείγμα στην ίδια περιοχή. Η ολική μεταβολή του χρώματος εκφράστηκε από τον παράγοντα ολικής μεταβολής του χρώματος ΔE ($\Delta E = \sqrt{(L - L_0)^2 + (a - a_0)^2 + (b - b_0)^2}$). Κατά τη διάρκεια του επιταχυνόμενου πειράματος διατηρησιμότητας, γίνονταν μετρήσεις ολικής μεταβολής χρώματος σε συναρτήσε με τον χρόνο και τη θερμοκρασία αποθήκευσης των συμπυκνωμένων δειγμάτων τομάτας ποικιλίας *Alamanda*. Παρακάτω γίνεται μια προσπάθεια προσαρμογής των αποτελεσμάτων σε ένα μοντέλο 1^{ης} τάξεως σε γραμμικοποιημένη μορφή, με σκοπό τη διερεύνηση της επίδρασης της θερμοκρασίας στις σταθερές του ρυθμού αύξησης της μ

εταβολής της οπτικής απόκρισης, αλλά και την επίδραση της κάθε προεπεξεργασίας με ΥΠ και ΠΗΠ. Επιλέχθηκε ένα απλό γραμμικό μοντέλο, που δίνει ικανοποιητική προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων, συγκριτικά με άλλα γραμμικά και πολυωνυμικά μοντέλα που εξετάστηκαν και είναι της μορφής:

$$\ln \left(1 - \frac{\Delta E}{\Delta E_{max}} \right) = -k \cdot t \quad (\text{Εξ. 16})$$

όπου ΔE η μεταβολή του χρώματος, ΔE_{max} (=20) η μέγιστη μεταβολή του χρώματος κατά την αποθήκευση, t ο χρόνος αποθήκευσης και k η σταθερά του ρυθμού αύξησης της μεταβολής του χρώματος.

5.6. Χημικές Αναλύσεις για τον ποιοτικό προσδιορισμό του ελαιόλαδου

Οι αναλυτικές μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν καθώς και οι χημικές αναλύσεις που διεξήχθησαν κατά τη διάρκεια των πειραμάτων περιγράφονται παρακάτω αναλυτικά. Όλες οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν δύο φορές για όλες τις υπό μελέτη συνθήκες.

5.6.1. Προσδιορισμός ελεύθερης οξύτητας

Η ελεύθερη οξύτητα των παραγόμενων ελαιόλαδων προσδιορίστηκε με βάση την επίσημη μέθοδο AOCS και εκφράστηκε σε % ελαϊκό οξύ. Ζυγίστηκαν 2 g ελαιόλαδου σε κωνική φιάλη των 50 mL. Σε αυτήν προστέθηκε ένα μίγμα 25 mL αιθανόλης και 25 mL διμεθυλαιθέρα, το οποίο αναμίχθηκε σε ξεχωριστό δοχείο και εξουδετερώθηκε με δείκτη φαινολοφθαλείνης. Έπειτα, πραγματοποιήθηκε ογκομέτρηση με πρότυπο διάλυμα NaOH 0,1 N μέχρι να αλλάξει το χρώμα του δείγματος από άχρωμο σε φούξια.

Η σχέση από την οποία προκύπτει το ποσοστό ελαϊκού οξέος στο ελαιόλαδο είναι η εξής:

$$\frac{mL NaOH \cdot 282 \cdot 0,1}{10 \cdot m} = \% \text{ ελαϊκό οξύ} \quad (\text{Εξ. 17})$$

όπου m τα gr του ελαιόλαδου που ζυγίστηκαν και mL NaOH ο όγκος του πρότυπου διαλύματος NaOH στο σημείο αλλαγής χρώματος του δείγματος.

5.6.2. Προσδιορισμός αριθμού υπεροξειδίων

Ο αριθμός υπεροξειδίων (PV) των παραγόμενων ελαιόλαδων προσδιορίστηκε με βάση την επίσημη μέθοδο AOCS και εκφράστηκε σε χιλιοστοισοδύναμα υπεροξειδίου ανά kg ελαίου (meq/kg). Ζυγίστηκε 1 g ελαιόλαδου σε κωνική φιάλη των 50 mL και προστέθηκε σε αυτή 20 mL μίγματος οξικού οξέος/χλωροφόρμιου σε αναλογία 3:2 και 0,5 mL κορεσμένου ιωδιούχου καλίου (KI). Πραγματοποιήθηκε ανάδευση για 1 min. Προστέθηκαν 20 mL απιονισμένου νερού και 0,5 mL διαλύματος αμύλου (1% w/v). Τέλος, πραγματοποιήθηκε τιτλοδότηση με πρότυπο διάλυμα θειοθειικό νάτριο ($Na_2S_2O_3$) 0,01 N μέχρι αλλαγή χρώματος από μπλε σε άσπρο. Για τον υπολογισμό του αριθμού υπεροξειδίων χρησιμοποιήθηκε ο μαθηματικός τύπος:

$$\frac{mL Na_2S_2O_3 \cdot M \cdot 1000}{m} = meq \text{ υπεροξειδίου/kg} \quad (\text{Εξ. 18})$$

όπου m τα g του ελαιόλαδου που ζυγίστηκαν και M=0,01 N η κανονικότητα του Na₂S₂O₃.

5.6.3. Προσδιορισμός συντελεστών απορρόφησης K₂₃₂ και K₂₇₀

Η φασματοφωτομετρική ανάλυση UV στα παραγόμενα ελαιόλαδα και ο προσδιορισμός των συντελεστών απορρόφησης K₂₃₂ και K₂₇₀ πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με την επίσημη μέθοδο AOCS. Σε ογκομετρική φιάλη των 25 mL ζυγίστηκαν 0,2 g ελαιόλαδου. Αραιώθηκαν μέχρι τη χαραγή με ισοοκτάνιο και έγινε μέτρηση της απορρόφησης σε φασματοφωτόμετρο στα 232 και 270 nm και με κυψελίδα 1 cm με χρήση του φασματοφωτόμετρου. Για δείγμα αναφοράς χρησιμοποιήθηκε το ισοοκτάνιο. Οι σχέσεις που υπολογίζουν τα K δίνονται στη συνέχεια.

$$K_{232} = \frac{A_{232}}{c} \quad (\text{Εξ. 19})$$

$$K_{270} = \frac{A_{270}}{c} \quad (\text{Εξ. 20})$$

όπου A₂₃₂ , A₂₇₀ οι απορροφήσεις στα 232 και 270 nm, αντίστοιχα και C η συγκέντρωση του ελαιόλαδου ανά 100 mL διαλύματος.

Επιπλέον, ορίζεται η σταθερά ΔK, που υπολογίζεται με τη βοήθεια απορροφήσεων σε μήκη κύματος 268, 262 και 274 nm: $\Delta K = \frac{K_{268} - (K_{262} + K_{274})}{2}$

5.6.4. Προσδιορισμός χλωροφύλλης σε ελαιόλαδο

Ο προσδιορισμός της χλωροφύλλης πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τη μέθοδο των Gudifinger, 1981. Ζυγίστηκαν 7,5 g ελαιόλαδου σε ογκομετρική φιάλη των 25 mL και αραιώθηκαν μέχρι τη χαραγή με ισοοκτάνιο. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε μέτρηση της απορρόφησης σε φασματοφωτόμετρο UV στα 630, 670 και 710 nm. Για δείγμα αναφοράς χρησιμοποιήθηκε το ισοοκτάνιο. Ο υπολογισμός των χλωροφυλλών γίνεται με τη βοήθεια της σχέσης:

$$\frac{A_{670} - \frac{(A_{630} + A_{710})}{2}}{10} \cdot 345,3 = mg \text{ φαιοφυτίνες /kg ελαιόλαδου} \quad (\text{Εξ. 21})$$

όπου A₆₃₀ , A₆₇₀ και A₇₁₀ οι απορροφήσεις στα 472, 630, 670 και 710 nm αντίστοιχα. Η συγκέντρωση της χλωροφύλλης εκφράστηκε ως mg φαιοφυτίνης/kg ελαιολάδου.

5.6.5. Προσδιορισμός λιπαρών οξέων στο ελαιόλαδο

Η ανάλυση της σύστασης του ελαιόκαρπου σε λιπαρά οξέα έγινε με τη μέθοδο της ανάλυσης των μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων με αέρια χρωματογραφία σύμφωνα με την επίσημη μέθοδο AOCS. Ζυγίστηκαν 0,2 g ελαιόλαδου και αναμείχθηκαν με 3 mL εξανίου. Στη συνέχεια, στο μίγμα ελαιόλαδου/εξανίου προστέθηκαν 0,4 mL μεθανολικού υδροξειδίου του καλίου 2 N και

αναδεύτηκαν με vortex. Οι μεθυλεστέρες των λιπαρών οξέων μετρήθηκαν σε γυάλινο σωλήνα εσωτερικής διαμέτρου 2 mm. Ο σωλήνας είναι συσκευασμένος με 5% SP-2340 σε Chromosorb WAW (100-120 πλέγματα). Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε σε έναν αέριο χρωματογράφο GC (Hewlett-Packard 5880) με ανιχνευτή φλόγας ιονισμού. Άζωτο χρησιμοποιήθηκε ως φέρον αέριο με ρυθμό ροής 28 mL/min. Η θερμοκρασία στο σημείο που έγινε η έγχυση ήταν 220 °C και στον ανιχνευτή 300 °C. Η θερμοκρασία στον σωλήνα ανήλθε σταδιακά στους 80 °C για 2 min.

5.6.6. Οργανοληπτική αξιολόγηση ελαιόλαδου

Για την οργανοληπτική αξιολόγηση του ελαιόλαδου, τα ελαιόλαδα εστάλησαν στο διαπιστευμένο εργαστήριο ελαιόλαδου Καλαμάτας του ΕΛΓΟ ΔΗΜΗΤΡΑ (ΕΙΑΕ) με πάνελ 8 εκπαιδευμένων δοκιμαστών (Σχήμα 5.11). Η οργανοληπτική αξιολόγηση πραγματοποιήθηκε με δοκιμή πίνακα σύμφωνα με το Κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 2568/1991. Οι δοκιμαστές μύρισαν τα ελαιόλαδα και στη συνέχεια τα δοκίμασαν, σημειώνοντας σε κλίμακα από 0-10 την ένταση για κάθε θετική (φρουτώδους, πικρής και πικάντικης) και αρνητική περιγραφή (σκουρόχρωμη, μούχλα/υγρή, κρασιού, μεταλλικό, παραγμένο, θερμαινόμενο, σανό/ξύλο, ακατέργαστο, λιπαρό, φυτικό νερό, αλατόνερο, σπάρτο, γήινο, τραχύ, αγγούρι, υγρό ξύλο και άλλα). Στη συνέχεια υπολογίστηκαν οι μέσες τιμές για κάθε χαρακτηριστικό.



Σχήμα 5.11 Οργανοληπτική αξιολόγηση ελαιόλαδων στο διαπιστευμένο εργαστήριο ελαιόλαδου Καλαμάτας – Προετοιμασία δειγμάτων σε ειδικούς γυάλινους περιέκτες.

5.6.7. Προσδιορισμός της οξειδωτικής σταθερότητας των ελαιόλαδων υπό επιταχυνόμενες συνθήκες (Μέθοδος Oxitest)

Η οξειδωτική σταθερότητα των ελαιόλαδων αξιολογήθηκε με τη μέθοδο Rancimat (Gutierrez, Albi, Palma, & Rios, 1989) και εκφράστηκε ως επαγωγικός χρόνος σε ώρες, χρησιμοποιώντας έναν αντιδραστήρα οξείδωσης (Oxitest®, Velp Scientifica, Usmate, Milan, Italy) (Σχήμα 5.10). 10 g

ελαιόλαδου παρέμειναν σε θάλαμο με σταθερή θερμοκρασία στους 90 °C και πίεση 6 bar με O₂. Η οξειδωτική σταθερότητα συσχετίστηκε με τον χρόνο επαγωγής (IP, Induction Period). Το IP είναι ο απαραίτητος χρόνος για την οξείδωση του ελαιόλαδου υπό ορισμένες συνθήκες πίεσης, θερμοκρασίας και συγκέντρωσης οξυγόνου. Υψηλότερο IP δείχνει πιο μεγάλη αντοχή του ελαίου στην οξείδωση κατά την αποθήκευση.



Σχήμα 5.10 Ααντιδραστήρας οξείδωσης (Oxitest®, Velp Scientifica, Usmate, Milan, Italy).

5.7. Εκχυλίσεις στερεού-υγρού για ποσοτικοποίηση σε ενδοκυτταρικά συστατικά

5.7.1. Εκχύλιση ελαιόλαδων προς δημιουργία εκχυλισμάτων για τους ποσοτικούς προσδιορισμούς

Για τον προσδιορισμό των ολικών φαινολικών ενώσεων, αρχικά πραγματοποιήθηκε εκχύλιση των ελαιόλαδων σύμφωνα με την τροποποιημένη μέθοδο του Montedoro, (1972). Ζυγίστηκαν 6,25 g ελαιόλαδου σε ογκομετρική φιάλη των 25 mL. Έπειτα, πραγματοποιήθηκε αραίωση μέχρι τη χαραγή με κανονικό εξάνιο. Από την ογκομετρική φιάλη παραλήφθηκαν 20 mL μίγματος ελαιόλαδου/εξανίου και μεταφέρθηκαν σε διαχωριστική χοάνη. Έγιναν 3 πλύσεις του μίγματος ελαιόλαδου/εξανίου με 5 mL μίγματος μεθανόλης/νερού σε αναλογία 80:20 και ελήφθησαν τα εκχυλίσματα. Στη συνέχεια, τα εκχυλίσματα ξηράθηκαν σε φούρνο κενού (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA USA) στους 40 °C για 24 h. Τέλος, τα εκχυλίσματα αναμείχθηκαν με διάλυμα μεθανόλης/νερού 80:20 σε αναλογία 1:1 και αποθηκεύτηκαν στους -20 °C μέχρι την περαιτέρω ανάλυση τους.

5.7.2. Εκχύλιση και ποσοτικοποίηση των συνολικών καροτενοειδών στα εκχυλίσματα από ολόκληρες τομάτες, χυμούς τοματών ή από παραπροϊόντα τομάτας

Τα καροτενοειδή εκχυλίστηκαν από ολόκληρες τομάτες, χυμούς τοματών ή από παραπροϊόντα τομάτας με τη χρήση οργανικού διαλύτη (ακετόνη) όπως περιγράφεται από τους Strati &

Oreorouliou (2011a), με κάποιες τροποποιήσεις. 2 g από κάθε δείγμα τοποθετήθηκαν σε δοχεία και αναδεύτηκαν με 20 mL ακετόνης (στερεό/υγρό=1:10) για 30 min στους 25 °C. Τα εκχυλίσματα φυγοκεντρήθηκαν στις 3000 rpm (φυγοκέντρηση Thermo Scientific Heraeus Megafuge 16R, Waltham, MA, ΗΠΑ) για 10 min. Τα τελικά εκχυλίσματα στη συνέχεια αποθηκεύτηκαν στους -20 °C μέχρι περαιτέρω ανάλυση. Το περιεχόμενο των συνολικών καροτενοειδών εκτιμήθηκε φασματοφωτομετρικά σύμφωνα με τη μέθοδο του Lichtenthaler (1987). Η απορρόφηση των εκχυλισμάτων μετρήθηκε στα 470 nm (A_{470}), 663 nm (A_{663}) και 647 nm (A_{647}). Η περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη α υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας την εξίσωση Lichtenthaler:

$$\text{Chlorophyll } a = 12.25 \cdot A_{663 \text{ nm}} - 2.79 \cdot A_{647 \text{ nm}} \quad (\text{Εξ. 22a})$$

$$\text{Chlorophyll } b = 21.50 \cdot A_{647 \text{ nm}} - 5.10 \cdot A_{663 \text{ nm}} \quad (\text{Εξ. 22b})$$

$$\text{Total carotenoids} = (1000 \cdot A_{470 \text{ nm}} - 1.82 \cdot \text{Chlorophyll } a - 85.02 \cdot \text{Chlorophyll } b) / 228 \quad (\text{Εξ. 22c})$$

5.7.3. Εκχύλιση και ποσοτικοποίηση του λυκοπενίου με HPLC στα εκχυλίσματα από ολόκληρες τομάτες, χυμούς τοματών ή από παραπροϊόντα τομάτας

Δείγμα τομάτας βάρους 2,5 g τοποθετήθηκε σε ποτήρι ζέσεως 250 mL, το οποίο ήταν καλυμμένο εξωτερικά με αλουμινόχαρτο, ώστε να αποκλεισθεί το ενδεχόμενο αποικοδόμησης του λυκοπενίου λόγω φωτοχημικής-οξειδωσης. Αναμίχθηκε με 50 mL μίγματος εξανίου-ακετόνης-αιθανόλης (50:25:25) και ακολούθησε μηχανική ανάδευση για 30 min. Έπειτα προστέθηκαν 10 mL απιονισμένου νερού και η ανάδευση συνεχίστηκε για ακόμη 15 min. Το μίγμα μεταφέρθηκε σε διαχωριστική χοάνη και αφέθηκε σε ηρεμία έως ότου γίνει ορατός ο σχηματισμός και διαχωρισμός δύο στοιβάδων, μιας πολικής και μιας μη πολικής. Με τη βοήθεια μιας μικροπιπέτας λαμβάνεται 1 mL από τη μη πολική πορτοκαλόχρωμη στοιβάδα το οποίο διηθήθηκε μέσω φίλτρου 0,22 μm (Chromafil PET-20/25, Macherey-Nagel, Duren, Germany). Τα μη επεξεργασμένα και προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ εκχυλίσματα τομάτας αναλύθηκαν περαιτέρω με Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (HPLC) με σκοπό την ταυτοποίηση μεμονωμένων καροτενοειδών, όπως το λυκοπένιο. Για κάθε δείγμα εκχυλίσθηκε η συνολική περιεκτικότητα σε λυκοπένιο χρησιμοποιώντας τη μέθοδο HPLC των Sadler et al. (1990) όπως τροποποιήθηκε από τους Perkins-Veazie, et al. (2001). Ο εξοπλισμός HPLC αποτελείται από ένα χρωματογραφικό σύστημα HP Series 1100 (αντλία τεσσάρων καναλιών, απαερωτής κενού, βρόγχος έγχυσης και ανιχνευτής Diode-Array Detector) ελεγχόμενο από κατάλληλο λογισμικό HPChemStation) εφοδιασμένο με στήλη Hypersil ODS (250 * 4.6 mm) μεγέθους σωματιδίων 5 μm. Η έκλουση του δείγματος διεξήχθη σε ισοκρατικό τρόπο με μια κινητή φάση που αποτελείται από μεθανόλη: τετραϋδροφουράνιο: νερό σε αναλογίες 67:27:6. Ο ρυθμός ροής έκλουσης σταθεροποιήθηκε στα

2 m/min. Διεξήχθη ανίχνευση στα 475 nm. Η μέθοδος βαθμονομήθηκε με εξωτερικό πρότυπο. Τα αποτελέσματα από τα χρωματογραφήματα μεταφράστηκαν σε χιλιοστόγραμμα συνολικής περιεκτικότητας σε λυκοπένιο ανά 100 g πρώτης ύλης (σε υγρή βάση). Τα αποτελέσματα των χρωματογραφημάτων εκφράστηκαν σε mg ολικού λυκοπενίου ανά 100 mg τομάτας, με βάση καμπύλη βαθμονόμησης, η οποία κατασκευάστηκε με πρότυπο διάλυμα λυκοπενίου 10%.

5.7.4. Εκχύλιση συνολικών φαινολικών ενώσεων και πρωτεϊνών από παραπροϊόντα τομάτας και ελαιοπυρήνα

Η συγκέντρωση ολικών πολυφαινολών (mg GAE/kg), πρωτεϊνών (mg/100 g προϊόντος τομάτας) και η αντιοξειδωτική ικανότητα (αντιοξειδωτική ικανότητα ισοδύναμου Trolox (TEAC) και 2,2-διφαινυλ- (DPPH)) των εκχυλισμάτων των παραπροϊόντων τομάτας και του ελαιοπυρήνα προσδιορίστηκαν. Η εκχύλιση των παραπροϊόντων διεξήχθη με μια κατάλληλη αναλογία υγρού προς στερεό (10:1) επιτρέποντας να διατηρηθεί μία ομογενής εκχύλιση στερεού-υγρού. 10 g προϊόντος δείγματος αναμειγμένα με διάλυμα αιθανόλης 50% αναδεύθηκαν για 20 min. Η θερμοκρασία εκχύλισης ελέγχθηκε (20 ± 2 °C). Μετά την εκχύλιση, τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν και κατόπιν αποθηκεύτηκαν στους -20 °C, μέχρι περαιτέρω ανάλυση.

5.8. Ποσοτικός προσδιορισμός βιοδραστικών συστατικών από εκχυλίσματα ελαιόλαδου, ελαιοπυρήνα και προϊόντων τομάτας

5.8.1. Προσδιορισμός των ολικών φαινολικών ενώσεων

Η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών ενώσεων στα εκχυλίσματα, προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας τη μέθοδο Folin-Ciocalteu (Folin & Ciocalteu, 1927). Σε δοκιμαστικούς σωλήνες προστέθηκαν 7,9 mL νερό, 100 μ L εκχυλίσματος και 500 μ L διαλύματος Folin. Πραγματοποιήθηκε ανάδευση με vortex. Στο επόμενο 1,5 min, προστέθηκε 1,5 mL κορεσμένου διαλύματος ανθρακικού νατρίου (Na_2CO_3) και έγινε περαιτέρω ανάδευση με vortex. Ακολούθως, οι δοκιμαστικοί σωλήνες θερμάνθηκαν σε υδατόλουτρο (Memmert WB, Germany) στους 40°C για 30 min. Έπειτα έγινε μέτρηση της απορρόφησης με φασματοφωτόμετρο (Helios Unicam, USA) στα 765 nm. Για δείγμα αναφοράς χρησιμοποιήθηκαν 8 mL απιονισμένο νερό με 500 μ L διαλύματος Folin. Η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών του ελαιόλαδου γίνεται με χρήση της καμπύλης αναφοράς GAE και εκφράζεται σε mg GAE/kg. Τα δείγματα αναλύθηκαν εις διπλούν.

5.8.2. Προσδιορισμός μεμονωμένων εκχυλισμένων φαινολικών συστατικών στο ελαιόλαδο και στα εκχυλίσματα του ελαιοπυρήνα με τη μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας (HPLC)

Οι μεμονωμένες φαινολικές ενώσεις προσδιορίστηκαν με τη χρήση της μεθόδου HPLC-DAD όπως τροποποιήθηκε από τους Τσιμογιάννη, Σταυρακάκη & Ωραιοπούλου (2006). Τα εκχυλίσματα διηθήθηκαν μέσω φίλτρου Chrompure PTFE 0,45 μm και έπειτα 20 μL εγχύθηκαν στο σύστημα HPLC-DAD (HP 1100, Hewlett-Packard, Waldbronn, Germany) εξοπλισμένο με στήλη ZORBAX Eclipse XDB-C18 (5 μm, 250x4,6 mm, Agilent, USA). Η έκλυση των ενώσεων παρακολουθήθηκε στα 280 και 360 nm. Τα μεμονωμένα φαινολικά συστατικά ταυτοποιήθηκαν σύμφωνα με πρότυπα διαλύματα, τους χρόνους έκλυσης του καθενός και τη σύγκριση των φασμάτων UV-Vis τους με τα δεδομένα της βιβλιογραφίας που βρέθηκαν στα χρωματογραφήματα. Οι διαλύτες κινητής φάσης είναι: (A) νερό με 0,2% τριφθοροοξικό οξύ (TFA), (B) μεθανόλη με 0,2% TFA και (C) ακετονιτρίλιο με 0,2% TFA. Σε χρόνο μηδέν η κινητή φάση αποτελούταν από 90% A, 6% B και 4% C και σε 5 min η σύνθεση άλλαξε σε 85% A, 9% B και 6% C, στα 30 min ήταν 71% A, B και 11,6% C, και στα 60 min ήταν 0% A, 85% B και 15% C. Η ταχύτητα ροής διατηρήθηκε σταθερή σε 1 mL/min. Οι μεμονωμένες φαινολικές ενώσεις ποσοτικοποιήθηκαν σύμφωνα με τις καμπύλες βαθμονόμησης που πραγματοποιήθηκαν για τα πρότυπα διαλύματα από την Sigma-Aldrich (St. Louis, MO). Η συγκέντρωση κάθε φαινολικής ένωσης εκφράστηκε σε mg/L. Τα δείγματα αναλύθηκαν εις διπλούν.

5.8.3. Προσδιορισμός ολικών πρωτεϊνών στον στερεό ελαιοπυρήνα

Η παρακάτω μέθοδος επιλέχθηκε για προσδιορισμό ολικών πρωτεϊνών ως εναλλακτική της μεθόδου Kjeldahl, η οποία χρησιμοποιείται συχνά για προσδιορισμό ολικών πρωτεϊνών. Η αποφυγή της μεθόδου Kjeldahl επιλέχθηκε σκόπιμα, διότι τα τελευταία χρόνια έχουν προκύψει μελέτες που αποδεικνύουν πως ο παράγοντας μετατροπής του αζώτου που χρησιμοποιείται ευρέως (6.25) είναι λανθασμένος και αποσκοπούν στον προσδιορισμό ενός σωστού παράγοντα μετατροπής. Συγκεκριμένα, οι Onklin-Brittain et al.(1999) χρησιμοποίησαν τη μέθοδο της νινυδρίνης σαν αναφορά για τη διόρθωση του παράγοντα μετατροπής του αζώτου σε αγροτικά υλικά και τον υπολόγισαν ίσο με 4.3, δηλαδή σημαντικά μικρότερο από τον συχνά χρησιμοποιούμενο. Επιπλέον παρόμοιες μελέτες με διόρθωση του παράγοντα μετρατοπής του αζώτου για τη μέθοδο Kjeldahl έχουν πραγματοποιηθεί για διάφορα υλικά που αποτελούν πηγές πρωτεϊνών, όπως μανιτάρια (Yang et al.2020), sheepgrass (Zhang et al.2019), σόγια (Krul,2019), παραπροϊόν καφέ (Macchado et al.2020), βρώσιμα έντομα (Ritvanen et al.,2020; Janssen et

al.,2017), διαφορετικές ποικιλίες superfood (Gosukonda et al.,2020) και τυρόγαλα (Elgar et al.,2020).

Για τον προσδιορισμό της συνολικής συγκέντρωσης πρωτεϊνών στο ξηρό στερεό παραπροϊόν της ελαιουργίας πραγματοποιήθηκε η παρακάτω πειραματική διαδικασία, όπως προτάθηκε από τους Starcher (2001) και στη συνέχεια γίνεται ανάλυση ελεύθερου αμινικού αζώτου (FAN, Free Amino Nitrogen), με τη μέθοδο της νινυδρίνης. Ζυγίζονται με ακρίβεια περίπου 20 mg ξηρής, κονιοποιημένου ελαιοπυρήνα. Κατόπιν προστίθενται 2 mL HCL 6N. Τα δείγματα επωάζονται πωματισμένα στους 100 °C για 24 h και ψύχονται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Το οξύ εξουδετερώνεται με 2 mL NaOH 6N και προστίθενται 4 mL ρυθμιστικού διαλύματος (4 g Na₂HPO₄ και 6 g KH₂PO₄ σε 100 mL νερού). Τα δείγματα μεταφέρονται ποσοτικά σε ογκομετρική φιάλη 200 mL η οποία πληρώνεται με νερό. Για την ανάλυση FAN παρασκευάστηκε αντιδραστήριο νινυδρίνης, διαλύοντας σε 100 mL νερού 4 g Na₂HPO₄ , 6 g KH₂PO₄ , 0.5 g νινυδρίνης και 0.3 g φρουκτόζης. Επιπλέον, παρασκευάστηκε διάλυμα αραίωσης με ανάμιξη 0.5 g KIO₃ , 100 mL αιθανόλης και 150 mL νερού. 0.5 mL δείγματος, καταλλήλως αραιωμένο, αναμειγνύονται με 250 μL αντιδραστηρίου νινυδρίνης και τοποθετούνται σε λουτρό σταθερής θερμοκρασίας 95°C για 20 min και ύστερα ψύχονται σε θερμοκρασία δωματίου. Ύστερα προστίθενται 1.25 mL διαλύματος αραίωσης και μετράται η απορρόφηση στα 575 nm. Για την αντιστοίχιση των απορροφήσεων σε mg πρωτεϊνών κατασκευάστηκε καμπύλη αναφοράς με διαλύματα γνωστής συγκέντρωσης BSA.

5.8.4. Προσδιορισμός της συγκέντρωσης των ολικών πρωτεϊνών

Η συγκέντρωση πρωτεϊνών (mg ισοδύναμου αλβουμίνης ορού βοοειδούς/100 g προϊόντος), προσδιορίστηκε με τη μέθοδο Bradford (Bradford, 1976). 100 μL εκχυλίσματος και 5,0 mL αντιδραστηρίου Bradford (Sigma-Aldrich, France) αναμειχθήκαν. Το δείγμα διατηρήθηκε για 5 min σε θερμοκρασία δωματίου (T=20 °C) και στη συνέχεια μετρήθηκε η απορρόφηση στο μήκος κύματος 595 nm. Η αλβουμίνη ορού βοοειδών (Sigma-Aldrich, France) χρησιμοποιήθηκε για τη βαθμονόμηση της ανάλυσης. Τα δείγματα αναλύθηκαν εις διπλούν.

5.8.5. Προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων

Για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος ελεύθερης ρίζας DPPH (Brand-Williams, Cuvelier & Berset, 1994). 3.9 mL από το αντιδραστήριο DPPH αναμειχθηκε με 100 μL εκχύλισμα (1:10 αραίωση) και επωάστηκε στους 25 °C για 15 min. Πραγματοποιήθηκαν προκαταρκτικά πειράματα για να βρεθεί πότε η αντίδραση DPPH σχεδόν ολοκληρώθηκε. Περισσότερο από το 80% του συνολικού αποχρωματισμού DPPH επιτεύχθηκε εντός των πρώτων 15 min της αντίδρασης. Για το λόγο αυτό μετρήθηκε η

απορρόφηση στα 15 min στα 595 nm. Η καμπύλη βαθμονόμησης δημιουργήθηκε χρησιμοποιώντας Trolox και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως mM Trolox Equivalent (TE). Τα δείγματα αναλύθηκαν εις διπλούν.

5.8.6. Προσδιορισμός α-τοκοφερόλης σε εκχυλίσματα ελαιόλαδου

Για τον προσδιορισμό της α-τοκοφερόλης στα εκχυλίσματα των ελαιόλαδων έγινε σύμφωνα με τους Wagner & Elmadafa (2000). Είκοσι mg ελαιόλαδου αναμειγνύονται με 2 mL εξανίου και στη συνέχεια εξατμίστηκαν σε συνεχή ροή αζώτου σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Το δείγμα επαναδιαλύθηκε σε 600 μ L διαλύματος μεθανόλης:διχλωρομεθανίου με σε αναλογία 85:15 και τα εκχυλίσματα διηθήθηκαν μέσω φίλτρου Chrompure PTFE 0,45 μ m. Η ταυτοποίηση και ο υπολογισμός της συγκέντρωσης των εκχυλισμάτων σε α-τοκοφερόλη έγινε με τη χρήση HPLC-DAD (HP 1100, Hewlett-Packard, Waldbronn, Germany) εξοπλισμένο με στήλη ZORBAX Eclipse XDB-C18 (5 μ m, 250x4,6 mm, Agilent, USA). Η έκλουση των ενώσεων παρακολουθήθηκε στα 295 nm. Την κινητή φάση αποτελούσε διάλυμα μεθανόλης:διχλωρομεθανίου σε αναλογία 85:15 με σταθερή ροή 0,05 mL/min και όγκο έγχυσης 20 μ L. Η ταυτοποίηση και ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης της α-τοκοφερόλης έγινε σύμφωνα με την καμπύλη βαθμονόμησης που πραγματοποιήθηκε για το πρότυπο διάλυμα α-τοκοφερόλης από την Sigma. Η συγκέντρωση της α-τοκοφερόλης εκφράστηκε σε mg/L.

5.9. Εξοπλισμός της Υπερυψηλής Πίεσης

Για τη διεξαγωγή των κινητικών πειραμάτων με ΥΠ χρησιμοποιήθηκε η μονάδα Food Pressure Unit FPU 1.01 της Resato International BV (Roden, The Netherlands) (Σχήμα 5.11). Ο εξοπλισμός περιλαμβάνει μία μονάδα Υπερυψηλής Πίεσης συνδεδεμένη με θάλαμο που είναι κυλινδρικός όγκου 1,5 L και χρησιμοποιείται για την επεξεργασία μεγάλων ποσοτήτων προϊόντων. Για τη διεξαγωγή των κινητικών πειραμάτων με ΥΠ χρησιμοποιήθηκε η συστοιχία από 6 κυλινδρικούς θαλαμίσκους όγκου 42 mL που φέρουν βάνες και μπορούν να λειτουργήσουν ανεξάρτητα (Σχήμα 5.11). Πίεση και θερμοκρασία παρακολουθούνταν συνεχώς και καταγράφηκαν (σε διαστήματα 1 δευτερολέπτου) κατά την επεξεργασία. Η θερμοκρασία παρακολουθήθηκε και καταγράφηκε συνεχώς από θερμοστοιχείο τύπου T (Campbell Scientific CR1000, USA).

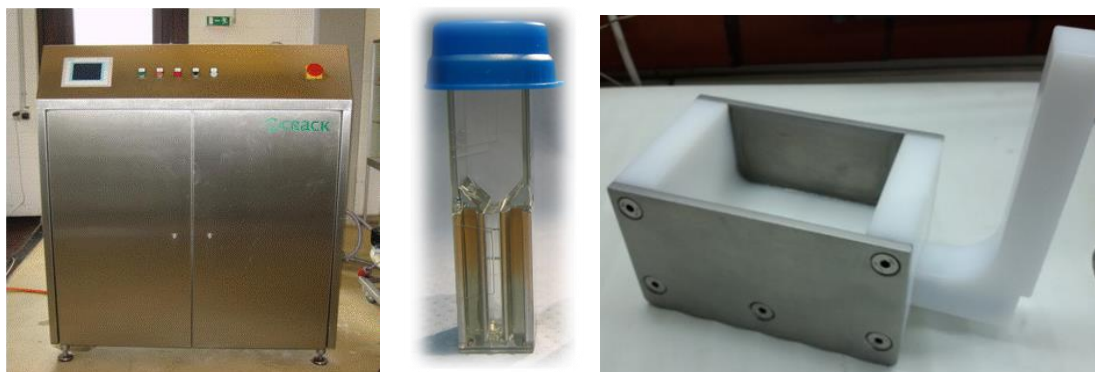


Σχήμα 5.11 Εξοπλισμός Υπερυψηλής Πίεσης (μονάδα Food Pressure Unit FPU 1.01 της Resato International BV – Roden, The Netherlands)

Τα δείγματα προς επεξεργασία (τοματοχυμός, ελαιόπαστα ή ελαιοπυρήνας) συσκευάστηκαν πρώτα σε σακουλάκια από διστρωματικό υλικό πολυαιθυλενίου-πολυπροπυλενίου, με το πολυπροπυλένιο σε επαφή με τα δείγματα, και κατόπιν σε δεύτερο σακουλάκι πολυπροπυλενίου υπό συνθήκες κενού. Για κάθε συνθήκη τα δείγματα τοποθετούνται στους μικρούς θαλάμους, που είναι πληρωμένοι με το υγρό μεταφοράς πίεσης, και οι βαλβίδες παραμένουν ανοιχτές. Το σύστημα ΥΠ τίθεται σε λειτουργία και μόλις φτάσει στην επιθυμητή πίεση (20 MPa/s οι βαλβίδες των θαλάμων κλείνουν (πλην ενός θαλάμου που θεωρείται ως $t=0$). Οι θάλαμοι διατηρούν την επιθυμητή πίεση μέχρι οι βαλβίδες να ανοίξουν ξανά και η πίεση να εκτονωθεί. Ως χρονική στιγμή $t=0$ λαμβάνεται το δείγμα που βρίσκεται στο θάλαμο του οποίου η βαλβίδα δεν κλείνει.

5.10. Εξοπλισμός των Παλμικών Ηλεκτρικών Πεδίων

Για τη διεξαγωγή των πειραμάτων με ΠΗΠ χρησιμοποιήθηκε μία πιλοτικής κλίμακας μονάδα (Elcrack-5kW, DIL, Quakenbrück, Γερμανία) (Σχήμα 5.12). Αποτελείται από μία γεννήτρια παλμών και ένα θάλαμο επεξεργασίας διαλείποντος έργου που λειτουργεί αυτόνομα.



Σχήμα 5.12. Εξοπλισμός Παλμικών Ηλεκτρικών Πεδίων(Elcrack-5kW, DIL, Quakenbrück, Γερμανία) και θάλαμοι επεξεργασίας

Οι θάλαμοι επεξεργασίας που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα διατριβή παρουσιάζονται στο Σχήμα 5.12. Αυτοί οι θάλαμοι διαφέρουν ως προς την απόσταση των ηλεκτροδίων και η επιλογή έγινε με βάση την επίτευξη του ηλεκτρικού πεδίου που χρειαζόταν σε κάθε περίπτωση. Τα ηλεκτρόδια σε όλες τους θαλάμους επεξεργασίας έχουν κατασκευαστεί από ανοξείδωτο χάλυβα και φορτίζονται αντίθετα για την επίτευξη του ηλεκτρικού πεδίου. Η θερμοκρασία των δειγμάτων προσδιορίστηκε με ένα ψηφιακό θερμόμετρο (General Tools & Instruments, NJ) πριν και μετά την επεξεργασία.

5.11. Μαθηματική επεξεργασία των αποτελεσμάτων

Για τη μαθηματική περιγραφή των πειραματικών δεδομένων χρησιμοποιήθηκαν μαθηματικά μοντέλα μίας ή πολλών παραμέτρων, τα οποία έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως στη βιβλιογραφία. Οι παρακάτω μαθηματικές εξισώσεις, χρησιμοποιήθηκαν με στόχο την περιγραφή διεργασιών/φαινομένων/αποκρίσεων όπως είναι η απενεργοποίηση ενζύμων τομάτας με τη χρήση των ΠΗΠ και της ΥΠ, η απόδοση σε ελαιόλαδο και η συγκέντρωση φαινολικών συστατικών στο παραγόμενο ελαιόλαδο από τη μάλαξη της ελαιόπαστας προεπεξεργασμένης ή μη με ΠΗΠ και ΥΠ, και η συγκέντρωση ενδοκυτταρικών συστατικών από την εκχύλιση υποβοηθούμενης με ΠΗΠ ή ΥΠ. Οι παράμετροι του κάθε μοντέλου προσδιορίστηκαν χρησιμοποιώντας μη γραμμική παλινδρόμηση με χρήση του προγράμματος Sigma Plot (Version 10 SYSTAT, Point Richmond, CA, USA).

5.11.1. *Μαθηματική περιγραφή της απενεργοποίησης των δυο ενδογενών ενζύμων χυμού τομάτας από ποικιλία Alamanda με θερμική επεξεργασία και επεξεργασία με ΥΠ*

Η απενεργοποίηση των δύο ενδογενών ενζύμων με θερμική επεξεργασία και με ΥΠ ακολούθησε ένα κινητικό μοντέλο πρώτης τάξης (Broeck, 2000; Knorr, 1996; Seyderhelm, 1996). Η μείωση της δραστηριότητας των ενζύμων ως συνάρτηση του χρόνου σε ισοβαρείς συνθήκες (0,1 έως 800MPa) επεξεργασίας μπορεί να περιγραφεί από την Εξ. 23:

$$A = A_0 \cdot e^{-k \cdot t} \quad (\text{Εξ. 23})$$

η οποία μπορεί να γραμμικοποιηθεί με λογαριθμικό μετασχηματισμό σύμφωνα με την Εξ. 24:

$$\ln A = \ln A_0 - k \cdot t \quad (\text{Εξ. 24})$$

όπου A είναι η ενεργότητα του ενζύμου σε χρόνο t , A_0 είναι η αρχική ενεργότητα του ενζύμου, t είναι ο χρόνος της κάθε επεξεργασίας, k είναι η πρώτης τάξης σταθερά απενεργοποίησης.

Η εξάρτηση της σταθεράς ρυθμού απενεργοποίησης (k) από τη θερμοκρασία της επεξεργασίας χαρακτηρίζεται από την ενέργεια ενεργοποίησης (E_a) και υπολογίστηκε με ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης χρησιμοποιώντας τη Εξ. Arrhenius 25:

$$k_T = k_{T_{ref}} \cdot e^{\frac{E_a}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{ref}} \right)} \quad (\text{Εξ. 25})$$

όπου $k_{T_{ref}}$ είναι η σταθερά απενεργοποίησης σε θερμοκρασία T_{ref} (θερμοκρασία αναφοράς, σε Κ) και R η παγκόσμια σταθερά των αερίων (8.314 J/(mol·K)).

Η κινητική απενεργοποίησης 1^{ης} τάξης μπορεί να εκφραστεί και ως:

$$\ln \frac{A}{A_0} = 2.303 \log \left(\frac{A}{A_0} \right) = -kt \quad (\text{Εξ. 26})$$

Από όπου λαμβάνεται:

$$\log \frac{A}{A_0} = \frac{-kt}{2.303} = -\frac{t}{D} \quad (\text{Εξ. 27})$$

και άρα:

$$D = \frac{2.303}{k} \quad (\text{Εξ. 28})$$

Το μέγεθος D ονομάζεται χρόνος υποδεκαπλασιασμού και εκφράζει το χρόνο που απαιτείται για υποδεκαπλασιαστεί η ενεργότητα του ενζύμου. Όπως φαίνεται από την προηγούμενη σχέση, ο χρόνος υποδεκαπλασιασμού μπορεί να υπολογιστεί κατευθείαν από τη σταθερά του ρυθμού απενεργοποίησης. Η επίδραση της θερμοκρασίας στο χρόνο υποδεκαπλασιασμού μπορεί να εκφραστεί μέσω της σχέσης:

$$D = D_{T_{ref}} 10^{\frac{T_{ref}-T}{Z_T}} \quad (\text{Εξ. 29})$$

όπου $D_{T_{ref}}$ ο χρόνος υποδεκαπλασιασμού στη θερμοκρασία αναφοράς T_{ref} . Η σταθερά Z_T εκφράζει την αύξηση της θερμοκρασίας που απαιτείται για να υποδεκαπλασιαστεί ο χρόνος υποδεκαπλασιασμού. Συνεπώς, μικρή τιμή της σταθεράς σημαίνει ότι μικρές μεταβολές της θερμοκρασίας αυξάνουν πολύ το ρυθμό απενεργοποίησης του ενζύμου. Αντίστοιχα, η επίδραση της πίεσης στο χρόνο υποδεκαπλασιασμού εκφράζεται μέσω της σχέσης:

$$D = D_{P_{ref}} 10^{\frac{P_{ref}-P}{Z_P}} \quad (\text{Εξ. 30})$$

όπου $D_{P_{ref}}$ ο χρόνος υποδεκαπλασιασμού στην πίεση αναφοράς P_{ref} . Η σταθερά Z_P εκφράζει την αύξηση της πίεσης που απαιτείται για να υποδεκαπλασιαστεί ο χρόνος υποδεκαπλασιασμού.

Συνεπώς, μικρή τιμή της σταθεράς σημαίνει ότι μικρές μεταβολές της πίεσης αυξάνουν πολύ το ρυθμό απενεργοποίησης του ενζύμου. Για να περιγραφεί η εξάρτηση της σταθεράς του ρυθμού απενεργοποίησης, k , από την πίεση χρησιμοποιείται η έννοια του όγκου ενεργοποίησης (V_a), όπως δίνεται από τη γραμμικοποιημένη σχέση του Eyring. Η σχέση αυτή ισχύει για ισοθερμοκρασιακές συνθήκες.

$$\ln k = \ln k_{P_{ref}} - \left[\frac{V_a}{RT} (P - P_{ref}) \right] \quad (\text{Εξ. 31})$$

όπου P_{ref} είναι η πίεση αναφοράς και $k_{P_{ref}}$ είναι η σταθερά του ρυθμού απενεργοποίησης στην P_{ref} .

Με βάση την εξάρτηση της σταθεράς του ρυθμού απενεργοποίησης k από την πίεση και τη θερμοκρασία οι Polydera et al. (2004) πρότειναν ένα πολυπαραμετρικό μοντέλο που συνδυάζει την επίδραση της πίεσης και της θερμοκρασίας. Από τα πειράματα που έγιναν βρήκαν ότι η ενέργεια ενεργοποίησης εξαρτάται από την πίεση μέσω εκθετικής σχέσης:

$$E_a = E_{aP} \exp[-b(P - P_{ref})] \quad (\text{Εξ. 32})$$

Ενώ ο όγκος ενεργοποίησης εξαρτάται από τη θερμοκρασία μέσω γραμμικής σχέσης:

$$V_a = V_{aT} + a(T - T_{ref}) \quad (\text{Εξ. 33})$$

Η συνδυαστική επίδραση της πίεσης και της θερμοκρασίας για τα δύο ένζυμα μπορούν να περιγραφούν από ένα κινητικό πολυπαραμετρικό μοντέλο, σύμφωνα με την Εξ. 34 (Polydera et al., 2006; Boulekou et al., 2010;). Το μοντέλο αυτό λαμβάνει υπόψη την επίδραση της πίεσης στην ενέργεια ενεργοποίησης, καθώς και την επίδραση της θερμοκρασίας στον όγκο ενεργοποίησης. Η σταθερά ρυθμού απενεργοποίησης εκφράστηκε από την Εξ. 34:

$$k = k_{ref} \cdot \exp \left\{ -\frac{E_a}{R} \cdot \exp[B \cdot (P - P_{ref})] \cdot \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{ref}} \right) - \frac{[A \cdot (T - T_{ref}) + V_a]}{RT} \cdot (P - P_{ref}) \right\} \quad (\text{Εξ. 34})$$

όπου k_{ref} η σταθερά ρυθμού απενεργοποίησης σε $P_{ref}=400$ MPa και $T_{ref}=333$ K, V_a ο όγκος ενεργοποίησης, E_a η ενέργεια ενεργοποίησης, A η παράμετρος που εκφράζει την επίδραση της θερμοκρασίας στον όγκο ενεργοποίησης και B η παράμετρος που εκφράζει την επίδραση της πίεσης στην ενέργεια ενεργοποίησής στην απενεργοποίηση της PME και PG. Οι σταθερές και οι παράμετροι αυτής της εξίσωσης προσδιορίστηκαν με μη γραμμική παλινδρόμηση μέσω του λογισμικού SYSTAT SigmaPlot 11.0 με ικανοποιητική προσαρμογή.

5.11.2. Μαθηματική περιγραφή της απενεργοποίησης των δυο ενδογενών ενζύμων χυμού τομάτας από ποικιλία *Alamanda* με ΠΗΠ

5.11.2.1. Μοντέλο εκθετικής πρώτης τάξης δυο παραμέτρων

Το μοντέλο κλασματικής πρώτης τάξης δύο παραμέτρων περιγράφεται από την Εξ. 35 (Elez-Martinez et al., 2007):

$$RA = \frac{100}{1 + e^{\left(\frac{E-\tau}{a}\right)}} \quad (\text{Εξ. 35})$$

όπου RA είναι η εναπομένουσα δραστηριότητα των δυο ενζύμων, τ είναι ο χρόνος επεξεργασίας με ΠΗΠ που απαιτείται για να επιτευχθεί εναπομένουσα δραστηριότητα ενζύμου ίση με 50% σε κάθε ένταση ηλεκτρικού πεδίου, και a είναι μια εμπειρική παράμετρος. Στη συνέχεια, η εξάρτηση του χρόνου ημικαταστροφής τ από την ένταση του ηλεκτρικού πεδίου E περιγράφηκε και υπολογίστηκε με ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης χρησιμοποιώντας την Εξ. 36 πρώτης τάξης:

$$\tau = \tau_{Eref} \cdot e^{B \left(\frac{1}{E} - \frac{1}{Eref} \right)} \quad (\text{Εξ. 36})$$

όπου τ , τ_{Eref} είναι ο χρόνος ημικαταστροφής σε ένταση ηλεκτρικού πεδίου E και ένταση ηλεκτρικού πεδίου αναφοράς E_{ref} αντίστοιχα, και B η σταθερά του μοντέλου που δείχνει πόσο ευαίσθητα είναι τα ένζυμα στην αλλαγή της έντασης του ηλεκτρικού πεδίου (8.314 J/(mol·K)).

5.11.2.2. Μοντέλο του Fermi

Η συνδυαστική επίδραση της έντασης του ηλεκτρικού πεδίου και του χρόνου επεξεργασίας με ΠΗΠ για τα δύο ένζυμα μπορεί να περιγραφεί από ένα κινητικό μοντέλο Fermi (Peleg, 1995), το οποίο έχει χρησιμοποιηθεί στη βιβλιογραφία για την απενεργοποίηση ενζύμων με ΠΗΠ (Min et al., 2001, Li et al., 2008; Giner et al., 2000; Elez-Martinez et al., 2007) σύμφωνα με την Εξ.37:

$$RA = \frac{100}{1 + e^{\frac{-[E-Ec(t)]}{a(t)}}} \quad (\text{Εξ. 37})$$

όπου:

$$Ec(t) = Ec_0 \cdot e^{-k_1 \cdot t} \quad (\text{Εξ. 38})$$

$$ac(t) = ac_0 \cdot e^{-k_2 \cdot t} \quad (\text{Εξ. 39})$$

όπου RA είναι η εναπομένουσα δραστικότητα των δυο ενζύμων, E είναι η ένταση του ηλεκτρικού πεδίου (kV/cm), E_c είναι η ένταση του ηλεκτρικού πεδίου (kV/cm) όπου η εναπομένουσα δραστικότητα του ενζύμου ήταν 50%, και a_c είναι η παράμετρος που δείχνει την κλίση της καμπύλης γύρω από E_c , k_1 είναι η σταθερά του ρυθμού που δείχνει τη σχέση μεταξύ της έντασης του ηλεκτρικού πεδίου και του χρόνου επεξεργασίας με ΠΗΠ, k_2 είναι η σταθερά του ρυθμού που δείχνει τη σχέση μεταξύ της παραμέτρου και του χρόνου επεξεργασίας με ΠΗΠ.

5.11.3. Μαθηματική περιγραφή του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z

Ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης Z μοντελοποιήθηκε χρησιμοποιώντας μοντέλο πρώτης τάξης με μία παράμετρο (Dimopoulos et al., 2018) (Εξ. 40) ή με δυο εμπειρικά εκθετικό μοντέλα δύο παραμέτρων (Bazhal, et al., 2003) (Εξ. 41 & Εξ. 42):

$$1 - Z = 2^{-\frac{t_{PEF}}{\tau}} \quad (\text{Εξ. 40})$$

$$Z = \frac{1}{1 + \left(\frac{t_{PEF}}{\tau}\right)^k} \quad (\text{Εξ. 41})$$

$$Z = (1 + Z_0) - 2^{-\frac{t_{PEF}}{\tau}} \quad (\text{Εξ. 42})$$

όπου ο Z ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης, Z_0 είναι ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης για χρόνο επεξεργασίας ίσο με μηδέν, τ ο χαρακτηριστικός χρόνος ημικαταστροφής, ο οποίος ορίζεται ως ο χρόνος επεξεργασίας με ΠΗΠ ή ΥΠ που απαιτείται ώστε ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης να φθάσει την τιμή 0,5 και t_{PEF} ο χρόνος επεξεργασίας με ΠΗΠ και k είναι ένας εμπειρικός εκθέτης.

Στην περίπτωση των τεμαχισμένων τοματών, για τη συσχέτιση του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z με τον χρόνο επεξεργασίας με ΠΗΠ χρησιμοποιήθηκε η Εξ. 40, ενώ στην περίπτωση των ολόκληρων τομάτων και των παραπροϊόντων τομάτας για τη συσχέτιση του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z με τον χρόνο επεξεργασίας με ΠΗΠ χρησιμοποιήθηκε η Εξ. 41. Επιπλέον, στην περίπτωση της ελαιόπαστας για τη συσχέτιση του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z με τον χρόνο επεξεργασίας με ΠΗΠ χρησιμοποιήθηκε η Εξ. 41, ενώ με τον χρόνο επεξεργασίας με ΥΠ χρησιμοποιήθηκε η Εξ. 42. Στην προεπεξεργασία με ΥΠ, για κάθε εφαρμοζόμενη πίεση, χρόνος ίσος με μηδέν αντιστοιχεί σε χρόνο (λίγα s) που στο τρόφιμο εφαρμόζεται πίεση μέχρι να φτάσει την επιθυμητή τιμή πίεσης. Σε αυτόν τον μικρό αλλά σημαντικό χρόνο επεξεργασίας υπάρχει αύξηση του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης καθώς προκαλείται στο τρόφιμο άμεση διαπερατοποίηση από την εφαρμογή της πίεσης. Γι' αυτό το λόγο, για να περιγραφεί κατάλληλα πως η προεπεξεργασία με ΥΠ επηρεάζει την τον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z χρειάστηκε μία επιπλέον παράμετρος Z_0 που εκφράζει τον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης σε χρόνο πίεσης ίσο με

μηδέν. Στην προεπεξεργασία με ΠΗΠ αυτός ο χρόνος θεωρείται αμελητέος και δεν αντιστοιχεί σε κάποια αύξηση του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης που μελετήθηκαν.

5.11.4. Υπολογισμός Αποδόσεων

5.11.4.1. Μαθηματική περιγραφή της αύξησης της απόδοσης σε χυμό τομάτας

Η αύξηση της απόδοσης του χυμού τομάτας για το πρώτο στάδιο της χυμοποίησης αλλά και για τα δύο στάδια χυμοποίησης μοντελοποιήθηκε χρησιμοποιώντας ένα κλασματικό μοντέλο πρώτης τάξης:

$$\omega = \frac{Y-Y_0}{Y_f-Y_0} = e^{-kt} \quad (\text{Εξ. 43})$$

όπου ω η παράμετρος απόδοσης, Y είναι η απόδοση του χυμού σε διαφορετικούς χρόνους επεξεργασίας με ΠΗΠ, και Y_f είναι η απόδοση του χυμού στο τέλος της πρώτης χυμοποίησης ή και από τα δύο στάδια της χυμοποίησης, Y_0 η απόδοση του χυμού των μη επεξεργασμένων δειγμάτων και k η σταθερά του ρυθμού της αύξησης της απόδοσης σε χυμό τομάτας.

5.11.4.2. Υπολογισμός Απόδοσης σε ελαιόλαδο

Η σχέση που υπολογίζει την απόδοση του ελαιόλαδου μετά τη φυγοκέντρηση είναι:

$$\text{Απόδοση \%} = \frac{\text{kg}}{\text{αρχικά kg}} \cdot 100 \quad (\text{Εξ. 44})$$

Για κάθε μελετώμενη συνθήκη η απόδοση σε ελαιόλαδο προσδιορίστηκε δυο φορές.

5.11.5. Μαθηματική περιγραφή της αύξησης της απόδοσης σε ελαιόλαδο και της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων στο παραγόμενο έλαιο για τις δυο προεπεξεργασίες με ΠΗΠ και ΥΠ, σε σχέση με το ανεπεξέργαστο δείγμα

5.11.5.1. Ανοιγμένο μοντέλο πρώτης τάξης

Για τη μοντελοποίηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο, της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων στα παραγόμενα έλαια, για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ και ΥΠ σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα χρησιμοποιήθηκε το ανοιγμένο μοντέλο πρώτης τάξης τριών παραμέτρων, για όλες τις μελετηθείσες συνθήκες της κάθε προεπεξεργασίας συναρτήσει του χρόνου επεξεργασίας στις τρεις θερμοκρασίες μάλαξης. Επιπλέον η Εξ. 45 χρησιμοποιήθηκε για να περιγραφεί μαθηματικά η εκχύλιση υποβοηθούμενη με ΠΗΠ και ΥΠ των φαινολικών συστατικών και πρωτεϊνών από ελαιοπυρήνα. Το ανοιγμένο μοντέλο πρώτης τάξης τριών παραμέτρων περιγράφεται από την Εξ. 45, παρακάτω:

$$A_t = A_0 + (A_f - A_0)(1 - e^{-kt}) \quad (\text{Εξ. 45})$$

όπου, A_t είναι η απόκριση που μελετάται για χρόνο επεξεργασίας με ΠΗΠ ή ΥΠ t , A_0 είναι η απόκριση που μελετάται σε χρόνο επεξεργασίας με ΠΗΠ ή ΥΠ ίσο με μηδέν, k είναι η σταθερά του ρυθμού αύξησης της απόκρισης που μελετάται, A_f είναι η απόκριση στον τελικό χρόνο επεξεργασίας με ΠΗΠ ή ΥΠ.

5.11.5.2. Σιγμοειδές μοντέλο

Επιπλέον, η αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο ή της συγκέντρωσης φαινολικών ενώσεων στα παραγόμενα ελαιόλαδα συσχετίστηκε μαθηματικά με τον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z για κάθε προεπεξεργασία με ΠΗΠ ή ΥΠ με ένα σιγμοειδές μοντέλο. Ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης είναι ένα μέγεθος που αντικατοπτρίζει για κάθε προεπεξεργασία την ένταση των συνθηκών, ανεξάρτητα με τον τρόπο που επιτεύχθηκε σε κάθε περίπτωση (συνδυασμός έντασης-χρόνου, πίεσης-χρόνου). Το σιγμοειδές μοντέλο περιγράφεται με την Εξ. 46:

$$YI (\%) = \frac{a}{1 + e^{-\frac{(Z-Z_0)}{b}}} \quad (\text{Εξ. 46})$$

όπου, $YI (\%)$ η αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο ή της συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων στα παραγόμενα ελαιόλαδα, Z ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης, Z_0 , a και b είναι σταθερές του μοντέλου.

5.11.5.3. Υπολογισμός απαιτούμενου χρόνου εκχύλισης t_{98}

Προκειμένου να αξιολογηθεί η επίδραση και των δύο προκατεργασιών ΠΗΠ και ΥΠ στη διεργασία της εκχύλισης ενδοκυτταρικών συστατικών από τον ελαιοπυρήνα, υπολογίστηκε ο απαιτούμενος χρόνος εκχύλισης t_{98} . Αυτή η παράμετρος ορίστηκε ως ο απαιτούμενος χρόνος για να φτάσει το προεπεξεργασμένο εκχύλισμα το 98% της συγκέντρωσης του ανεπεξεργαστού δείγματος στο τέλος της εκχύλισης των 60 min (Dimopoulos et al., 2018). Αυτή η παράμετρος υπολογίστηκε με βάση τις παραμέτρους των ανοιγμένων μοντέλων πρώτης τάξης (Εξ. 45) που εφαρμόστηκαν στα πειραματικά δεδομένα, με βάση την Εξ. 47:

$$t_{98} = -\frac{1}{k} \cdot \ln\left(\frac{0.98 \cdot C_{fcontrol} - C_f}{C_0 - C_f}\right) \quad (\text{Εξ. 47})$$

όπου $C_{fcontrol}$ είναι η τελική συγκέντρωση του ανεπεξεργαστού δείγματος στο τέλος των 60 min εκχύλισης, C_f και C_0 είναι τελική και αρχική συγκέντρωση των ενδοκυτταρικών συστατικών του ελαιοπυρήνα από την εκχύλιση υποβοηθούμενη με ΠΗΠ και ΥΠ, όπως υπολογίστηκαν από το ανοιγμένο μοντέλο πρώτης τάξης (Εξ. 45).

5.11.6. Σχεδιασμός *Box-Behnken* για την αριστοποίηση της μάλαξης της ελαιόπαστας και της εκχύλισης του ελαιοπυρήνα υποβοηθούμενης με ΥΠ και ΠΗΠ

Η μεθοδολογία αποκριτικών επιφανειών (Response Surface Methodology, RSM) χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των βέλτιστων συνθηκών για τη μάλαξη της ελαιόπαστας υποβοηθούμενη με ΠΗΠ και ΥΠ καθώς εκτιμά την επίδραση πολλαπλών μεταβλητών και των αλληλεπιδράσεων τους στην απόκριση με τον ελάχιστο αριθμό δοκιμών (πειραμάτων). Χρησιμοποιήθηκε σχεδιασμός *Box-Behnken* (BBD) για τρεις ανεξάρτητους παράγοντες (μεταβλητές διαδικασίας) (Box, & Behnken, 1960). Οι παράγοντες που χρησιμοποιούνται είναι: θερμοκρασία μάλαξης (°C, X1), χρόνος μάλαξης (min, X2) και ένταση των συνθηκών με τις προεπεξεργασίες ΠΗΠ και ΥΠ, εκφρασμένες με τον δείκτη κυτταρική διάρρηξης Z (X3) και ο κάθε ένας από αυτούς ορίζεται σε τρία ισαπέχοντα επίπεδα (-1, 0, +1). Τα επίπεδα των τριών παραγόντων επιλέγονται βάσει προκαταρκτικών πειραμάτων. Ο πλήρης σχεδιασμός περιλαμβάνει 15 πειράματα που περιέχουν δώδεκα συνδυασμούς παραγόντων και τρεις επαναλήψεις στο κεντρικό σημείο. Η απόδοση της εκχύλισης σε ελαιόλαδο (%) και το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο (mg/kg) του ελαιόλαδου επιλέγονται ως μεταβλητές απόκρισης (Y). Ο πειραματικός σχεδιασμός καθορίζει την επίδραση των τριών κύριων παραγόντων (X1, X2, X3) και τις αλληλεπιδράσεις τους στη μεταβλητή απόκρισης (Y) και περιγράφεται από ένα μοντέλο παλινδρόμησης 10 συντελεστών, του γενικού τύπου: για το συνδυασμό των ανεξάρτητων μεταβλητών.

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_{ii}^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 \beta_{ij} X_i X_j \quad (\text{Εξ. 48})$$

όπου β_0 είναι σταθερός συντελεστής (σημείο τομής), β_i είναι ο γραμμικός συντελεστής των κύριων παραγόντων, β_{ii} είναι ο τετραγωνικός συντελεστής για τους κύριους παράγοντες και β_{ij} είναι ο συντελεστής αλληλεπίδρασης δεύτερης τάξης. Τα τρισδιάστατα γραφήματα απόκρισης, το διάγραμμα των προβλεπόμενων τιμών καθώς και το επιθυμητό επίπεδο για όλους τους παράγοντες απεικονίζονται γραφικά με τη χρήση του λογισμικού STATISTICA.

Επιπλέον, για την αριστοποίηση της εκχύλισης υποβοηθούμενης από ΠΗΠ και ΥΠ του ελαιοπυρήνα χρησιμοποιήθηκε ένας σχεδιασμός δυο μεταβλητών. Ως παράγοντες (μεταβλητές διαδικασίας) του σχεδιασμού χρησιμοποιούνται ο χρόνος εκχύλισης (X1) και η ένταση των συνθηκών με τις προεπεξεργασίες ΠΗΠ και ΥΠ, εκφρασμένες με την προσφερόμενη ενέργεια

(X2) και ως μεταβλητές απόκρισης (Y) το ολικό περιεχόμενο φαινολικών συστατικών, τα μεμονωμένα φαινολικά συστατικά και η συγκέντρωση των πρωτεϊνών των εκχυλισμάτων του ελαιοπυρήνα. Παρόμοιος σχεδιασμός ακολουθήθηκε για την αριστοποίηση της εκχύλισης του ελαιοπυρήνα με συμβατική εκχύλιση και εκχύλιση υποβοηθούμενη από ΠΗΠ και ΥΠ. Ως παράγοντες (μεταβλητές διαδικασίας) του σχεδιασμού χρησιμοποιούνται ο χρόνος εκχύλισης (X1) και η συγκέντρωση του διαλύτη (X2) και ως μεταβλητές απόκρισης (Y) το ολικό περιεχόμενο φαινολικών συστατικών, η συγκέντρωση των πρωτεϊνών και η αντιοξειδωτική δράση των εκχυλισμάτων του ελαιοπυρήνα.

5.12. Σχεδιασμός πειραμάτων

Ο πειραματικός σχεδιασμός της πρώτης ενότητας παρουσιάζεται αναλυτικά στον Πίνακα 5.1.

Πίνακας 5.1. Πειραματικός σχεδιασμός της πρώτης ενότητας πειραμάτων του Α' μέρους της πειραματικής διαδικασίας.

| |
|---|
| <p><u>Πρώτη θεματική ενότητα</u> Επίδραση της ΥΠ και των ΠΗΠ στην αύξηση της παραγωγής προϊόντων τομάτας (πάστα τομάτας) με ταυτόχρονη διατήρηση των ποιοτικών χαρακτηριστικών του τελικού προϊόντος.</p> |
| <p>(1) Κινητική μελέτη της επίδρασης της θερμικής επεξεργασίας (55-75 °C από 0-60 min), επεξεργασίας με ΥΠ (200-800MPa, 45-75°C, από 0-60 min) και ΠΗΠ (4.0-12.5 kV/cm, χρόνους από 0 έως 12 ms, 15 μs πλάτος παλμού, συχνότητα 300Hz) στην απενεργοποίηση της PME και της PG.</p> |
| <ul style="list-style-type: none"> • Προσδιορισμός της ενεργότητας της Πηκτινομεθυλεστεράσης (PME) για τον θερμικά, με ΥΠ και ΠΗΠ επεξεργασμένο χυμό τομάτας. • Προσδιορισμός της ενεργότητας της Πολυγαλακτουρονάσης (PG) για τον θερμικά, με ΥΠ και ΠΗΠ επεξεργασμένο χυμό τομάτας. |
| <p>(2) Μαθηματική μοντελοποίηση της ενεργότητας των δυο ενζύμων στη θερμική επεξεργασία και στην επεξεργασία με ΥΠ και ΠΗΠ.</p> |
| <ul style="list-style-type: none"> • Μαθηματική μοντελοποίηση της εναπομένουσας δραστηριότητας του κάθε ένζυμου στη θερμική επεξεργασία και στην επεξεργασία με ΥΠ και ΠΗΠ – Εφαρμογή μοντέλου πρώτης τάξης για τη θερμική επεξεργασία και την επεξεργασία με ΥΠ και μοντέλου κλασματικής πρώτης τάξης για την επεξεργασίας με ΠΗΠ. • Εφαρμογή του μοντέλου Arrhenius για την εξάρτηση της σταθεράς του ρυθμού απενεργοποίησης του κάθε ενζύμου από τη θερμοκρασία στη θερμική επεξεργασία. |

| |
|--|
| <ul style="list-style-type: none"> ➤ Υπολογισμός της ενέργειας ενεργοποίησης E_a για κάθε ένζυμο ➤ Υπολογισμός D_T και z_T • Εφαρμογή του μοντέλου Arrhenius & Eyring για την εξάρτηση της σταθεράς του ρυθμού απενεργοποίησης του κάθε ενζύμου από τη θερμοκρασία και την πίεση αντίστοιχα, στην επεξεργασία με ΥΠ. <ul style="list-style-type: none"> ➤ Υπολογισμός της ενέργειας ενεργοποίησης E_a και του όγκου ενεργοποίησης V_a για κάθε ένζυμο ➤ Υπολογισμός D_T, D_P, z_P και z_T • Εφαρμογή συνδυαστικού μοντέλου για την εξάρτηση της σταθεράς του ρυθμού απενεργοποίησης από την πίεση και τη θερμοκρασία του κάθε ενζύμου από τη θερμοκρασία στην επεξεργασία με ΥΠ – Υπολογισμός πέντε παραμέτρων. • Υπολογισμός του χρόνου ημικαταστροφής t από το κλασματικό μοντέλο πρώτης τάξης για κάθε ένζυμο σε κάθε ένταση ηλεκτρικού πεδίου στην επεξεργασία με ΠΗΠ. • Εφαρμογή μοντέλου πρώτης τάξης για τον χρόνο ημικαταστροφής t σε συνάρτηση με την ένταση του ηλεκτρικού πεδίου. • Εφαρμογή συνδυαστικού μοντέλου για την εξάρτηση της σταθεράς του ρυθμού απενεργοποίησης από την ένταση του ηλεκτρικού πεδίου και τον χρόνο επεξεργασίας – Υπολογισμός τεσσάρων παραμέτρων. |
| <p>(3) Επιλογή βέλτιστων συνθηκών της ΥΠ και ΠΗΠ έγινε με στόχο την επιλεκτική απενεργοποίηση της PG με ταυτόχρονη διατήρηση εναπομένουσας δραστηρότητας της PME.</p> |
| <ul style="list-style-type: none"> • Επιλογή βέλτιστων συνθηκών της ΥΠ (500 MPa, 55°C, 10 min) και ΠΗΠ (8 kV/cm, 6 ms) με στόχο την επιλεκτική απενεργοποίηση της PG με ταυτόχρονη διατήρηση εναπομένουσας δραστηρότητας της PME. |
| <p>(4) Παραγωγή συμπυκνωμένων προϊόντων τομάτας (απλής συμπύκνωσης) από μη προεπεξεργασμένο χυμό, προεπεξεργασμένο με ΥΠ (500 MPa, 55°C, 10 min) και ΠΗΠ (8 kV/cm, 6 ms) στις βέλτιστες συνθήκες.</p> |
| <ul style="list-style-type: none"> • Συμπύκνωση χυμού τοματών μη προεπεξεργασμένου, προεπεξεργασμένου με ΥΠ (500 MPa, 55°C, 10 min) και ΠΗΠ (8 kV/cm, 6 ms) με εξάτμιση στους 60 °C υπό κενό (~0,1 bar) με στόχο ένα συμπυκνωμένο προϊόν τομάτας (απλής συμπύκνωσης -5000cp). |

- Προσδιορισμός της απόδοσης σε συμπυκνωμένα προϊόντα τομάτας μη προεπεξεργασμένων, προεπεξεργασμένων με ΥΠ και ΠΗΠ τοματών στις βέλτιστες συνθήκες.
- Κινητική μελέτη της συμπύκνωσης του χυμού μη προεπεξεργασμένων, προεπεξεργασμένων με ΥΠ και ΠΗΠ τοματών στις βέλτιστες συνθήκες – Εξάρτηση του ιξώδους από τη συγκέντρωση των ολικών στερεών ($^{\circ}\text{Brix}$) προϊόντων συμπυκνωμένου χυμού τομάτας.
- Ποιοτικά χαρακτηριστικά σε συμπυκνωμένα προϊόντα τομάτας μη προεπεξεργασμένων, προεπεξεργασμένων με ΥΠ και ΠΗΠ τοματών στις βέλτιστες συνθήκες.

(5) Πείραμα διατηρησιμότητας τοματοχυμού απλής συμπύκνωσης (5000cp) με προεπεξεργασίες ΥΠ (500 MPa, 55 °C, 10 min) και ΠΗΠ (8 kV/cm, 6 ms) και παστεριωμένων θερμικά (85 °C, 20 min) και αξιολόγηση των ποιοτικών τους χαρακτηριστικών.

- Μέτρηση ιξώδους, ολικά διαλυτά στερεά, χρώματος και συγκέντρωσης στα τελικά συμπυκνωμένα προϊόντα τομάτας.
- Προσδιορισμός του χρόνου ζωής των συμπυκνωμένων προϊόντων τομάτας με προεπεξεργασίες ΥΠ και ΠΗΠ και αξιολόγηση των ποιοτικών χαρακτηριστικών.

Ο πειραματικός σχεδιασμός της δεύτερης ενότητας παρουσιάζεται αναλυτικά στον Πίνακα 5.2.

Πίνακας 5.2. Πειραματικός σχεδιασμός της δεύτερης ενότητας πειραμάτων του Α' μέρους της πειραματικής διαδικασίας.

Δεύτερη θεματική ενότητα

Εφαρμογή των ΠΗΠ ως προεπεξεργασία για την ενίσχυση της αποφλοιώσης ολόκληρων τοματών, για την παραγωγή χυμού τομάτας με αυξημένη απόδοση και βελτιωμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά και για τη βελτίωση της ανάκτησης ενδοκυτταρικών συστατικών από παραπροϊόντα τομάτας

(1) Προσδιορισμός του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z για ολόκληρες τομάτες, τεμαχισμένες τομάτες, και παραπροϊόντα τομάτας.

- Προσδιορισμός του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z για την κατάλληλη επιλογή συνθηκών με ΠΗΠ – έμμεσος προσδιορισμός με μέθοδο υψηλών-χαμηλών συχνοτήτων.

| |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Μαθηματική μοντελοποίηση του δείκτη κυτταρική διάρρηξης Z σε κάθε ένταση ηλεκτρικού πεδίου συναρτήσει του χρόνου επεξεργασίας. • Προσδιορισμός της παραμέτρου τ – χρόνος ημικαταστροφής για κάθε ένταση ηλεκτρικού πεδίου – Δευτερογενές μοντέλο πρώτης τάξης. |
| <p>(2)Μελέτη της επίδρασης των ΠΗΠ ως προεπεξεργασία σε ολόκληρες τομάτες για να ενισχύσουν ή να αντικαταστήσουν τις συμβατικές διαδικασίες αποφλοιώσης τοματών.</p> |
| <ul style="list-style-type: none"> • Κινητική μελέτη της επίδρασης των ΠΗΠ (0,5-1,5 kV/cm για 0-8000 παλμούς, συχνότητα 20 Hz και πλάτος παλμού 15 μs) ως προεπεξεργασία σε μη αποφλοιωμένες ολόκληρες τομάτες στο απαιτούμενο έργο για την πλήρη απόσπαση του φλοιού από την υπόλοιπη σάρκα. • Μαθηματική περιγραφή του έργου αποκόλλησης του φλοιού από τη σάρκα συναρτήσει του δείκτη κυτταρική διάρρηξης Z – εφαρμογή μοντέλου πρώτης τάξης. |
| <p>(3)Συγκριτική μελέτη των ΠΗΠ σε επιλεγμένες συνθήκες με άλλες συμβατικές μεθόδους αποφλοιώσης – ζεμάτισμα και με ατμό.</p> |
| <ul style="list-style-type: none"> • Προσδιορισμός του έργου αποκόλλησης του φλοιού από τη σάρκα και των απωλειών σε σάρκα τομάτας των τοματών που είχαν προεπεξεργαστεί με ΠΗΠ (1,5 kV/cm,), ζεμάτισμα για 1 min στους 70 °C και με ατμό στους 100 °C για 2 min. • Προσδιορισμός της σκληρότητας και της συγκέντρωσης του λυκοπενίου των τελικών αποφλοιωμένων τοματών και της καταναλισκόμενης ενέργειας. |
| <p>(4)Μελέτη της επίδρασης των ΠΗΠ ως προεπεξεργασία σε τεμαχισμένες τομάτες στην απόδοση σε χυμό τομάτας.</p> |
| <ul style="list-style-type: none"> • Κινητική μελέτη της επίδρασης των ΠΗΠ (0.5-2.5kV/cm για 0-4000 παλμούς, συχνότητα 20 Hz και πλάτος παλμού 15μs) ως προεπεξεργασία σε τεμαχισμένες τομάτες στην απόδοση σε χυμό τομάτας. • Κινητική μελέτη της επίδρασης των ΠΗΠ (0.5-2.5kV/cm για 0-4000 παλμούς, συχνότητα 20 Hz και πλάτος παλμού 15μs) ως προεπεξεργασία σε ψιλοκομμένες τομάτες στο ιξώδες και τη συνεκτικότητα κατά Bostwick των χυμών τομάτας. • Μαθηματική περιγραφή της αύξησης της απόδοσης σε χυμό τομάτας και του ιξώδους των χυμών τομάτας με τον δείκτη κυτταρική διάρρηξης Z – Εφαρμογή μοντέλου μηδενικής τάξης. |
| <p>(5)Μελέτη της επίδρασης των ΠΗΠ ως προεπεξεργασία στα υπολείμματα τοματών του πρώτου και δεύτερου σταδίου χυμοποίησης (φλοιοί, σπόροι και ένα κλάσμα μη συμπίεσμνης σάρκας τομάτας) στη συνολική απόδοση των τελικών χυμών.</p> |

- Κινητική μελέτη της επίδρασης των ΠΗΠ (0.5-2.5 kV/cm για 0-4000 παλμούς, συχνότητα 20 Hz και πλάτος παλμού 15μs) ως προεπεξεργασία στα υπολείμματα τοματών του πρώτου σταδίου χυμοποίησης (φλοιοί, σπόροι και ένα κλάσμα μη συμπιεσμένης σάρκας τομάτας) στη συνολική απόδοση των τελικών χυμών.
- Προσδιορισμός των ποιοτικών χαρακτηριστικών (χρώμα, ιξώδες, συνεκτικότητα κατά Bostwick) των τελικών χυμών τομάτας για μη προεπεξεργασμένα και προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ δείγματα σε όλες τις μελετηθείσες συνθήκες.

(6)Εκχύλιση ενώσεων υψηλής προστιθέμενης αξίας από παραπροϊόντα τομάτας υποβοηθούμενη με ΠΗΠ (1,0-5,0 kV/cm για 0-500 παλμούς, συχνότητα 20 Hz και πλάτος παλμού 15μs).

- Εκχύλιση και προσδιορισμός ολικών φαινολικών συστατικών από παραπροϊόντα τομάτας από συμβατικά επεξεργασμένα και από δείγματα υποβοηθούμενα με ΠΗΠ σε όλες τις επιλεγμένες συνθήκες.
- Εκχύλιση και προσδιορισμών ολικών καροτενοειδών ενώσεων από παραπροϊόντα τομάτας από συμβατικά επεξεργασμένα και από δείγματα υποβοηθούμενα με ΠΗΠ σε όλες τις επιλεγμένες συνθήκες.
- Εκχύλιση και προσδιορισμός λυκοπενίου από παραπροϊόντα τομάτας από συμβατικά επεξεργασμένα και από δείγματα υποβοηθούμενα με ΠΗΠ σε όλες τις επιλεγμένες συνθήκες.
- Εκχύλιση και προσδιορισμός ολικών πρωτεϊνών από παραπροϊόντα τομάτας από συμβατικά επεξεργασμένα και από δείγματα υποβοηθούμενα με ΠΗΠ σε όλες τις επιλεγμένες συνθήκες.
- Προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής σταθερότητας των εκχυλισμάτων από παραπροϊόντα τομάτας από συμβατικά επεξεργασμένα και από δείγματα υποβοηθούμενα με ΠΗΠ σε όλες τις επιλεγμένες συνθήκες.

Ο πειραματικός σχεδιασμός της πρώτης ενότητας παρουσιάζεται αναλυτικά στον Πίνακα 5.3.

Πίνακας 5.3. Πειραματικός σχεδιασμός της πρώτης ενότητας πειραμάτων του Β' μέρους της πειραματικής διαδικασίας.

| |
|---|
| <p><u>Πρώτη θεματική ενότητα:</u></p> <p>Επίδραση της ΥΠ και ΠΗΠ ως προεπεξεργασίες στην ελαιόπαστα (πριν το στάδιο της μάλαξης) στην απόδοση σε ελαιόλαδο, στα ποιοτικά χαρακτηριστικά και στην οξειδωτική σταθερότητα των τελικών παραγόμενων ελαιόλαδων.</p> |
| <p>(1)Κινητική μελέτη της συμβατικής εξαγωγής ελαιόλαδου από ελαιόπαστα σε διάφορες συνθήκες μάλαξης (15,30 και 40°C για 0 έως 60 min) ως προς την απόδοση, τα ποιοτικά και τα ολικά φαινολικά συστατικά των τελικών παραγόμενων ελαιόλαδων.</p> |
| <ul style="list-style-type: none">• Προσδιορισμός της απόδοσης σε ελαιόλαδο• Προσδιορισμός της ελεύθερης οξύτητας, αριθμού υπεροξειδίων, δεικτών K_{232} και K_{270} και των ολικών φαινολικών ενώσεων• Επιλογή βέλτιστων συνθηκών μάλαξης με βάση την απόδοση και τους ποιοτικούς δείκτες. |
| <p>(2)Προσδιορισμός του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z για τον προσδιορισμό των συνθηκών με ΠΗΠ και ΥΠ ως προεπεξεργασίες στην ελαιόπαστα.</p> |
| <ul style="list-style-type: none">• Έμμεσος προσδιορισμός Z για κάθε επιλεγμένη συνθήκη ΠΗΠ και ΥΠ μέσω απόδοσης σε ελαιόλαδο φυγοκεντρικά.• Εφαρμογή μαθηματικού μοντέλου για τον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z συναρτήσου του χρόνου επεξεργασίας με ΠΗΠ ή ΥΠ σε όλα τα μελετιθέντα ηλεκτρικά πεδία και πιέσεις αντίστοιχα– υπολογισμός χρόνου ημικαταρτροφής τ.• Επιλογή συνθηκών ΠΗΠ (0,5-2,0 kV/cm, 0-2000 παλμούς) και ΥΠ (100-600 MPa, 0-60 min) με διάφορες τιμές Z (διάφορα ποσοστά διερρηγμένων κυττάρων) για τα περαιτέρω πειράματα. |
| <p>(3)Κινητική μελέτη της ΥΠ (100-600 MPa, 0-60 min) και των ΠΗΠ (0,5-2,0 kV/cm, 0-2000 παλμούς) ως προεπεξεργασίες πριν το στάδιο της μάλαξης σε συνθήκες (15, 30 και 40°C και 30 min) ως προς την απόδοση σε ελαιόλαδο, τα ποιοτικά χαρακτηριστικά και τη συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών των τελικών ελαιόλαδων.</p> |
| <ul style="list-style-type: none">• Προσδιορισμός απόδοσης σε ελαιόλαδο από ελαιόπαστα στα μη προεπεξεργασμένα και προεπεξεργασμένα με ΥΠ και ΠΗΠ δείγματα για όλες τις συνθήκες μάλαξης (15, 30 και 40°C και 30 min). |

- Προσδιορισμός ελεύθερης οξύτητας, αριθμός υπεροξειδίων, δείκτες K_{232} και K_{270} και ολικών φαινολικών ενώσεων στα μη προεπεξεργασμένα και προεπεξεργασμένα με ΥΠ και ΠΗΠ δείγματα.
- Μαθηματική μοντελοποίηση της αύξησης της απόδοσης σε ελαιόλαδο και της αύξησης των φαινολικών ενώσεων σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο, για τα προεπεξεργασμένα με ΥΠ και ΠΗΠ δείγματα σε όλες τις μελετηθείσες συνθήκες και για συνθήκες μάλαξης (15, 30 και 40°C για 30 min).
 - Εφαρμογή μοντέλου κλασματικής πρώτης τάξης στην αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο και της αύξησης των φαινολικών ενώσεων σε σχέση με μη προεπεξεργασμένο των προεπεξεργασμένων δειγμάτων σε σύγκριση με το ανεπεξεργαστο δείγμα και του χρόνου μάλαξης σε τρεις θερμοκρασίες μάλαξης 15, 30 και 40°C.
 - Υπολογισμός παραμέτρων από το μοντέλο κλασματικής πρώτης τάξης για κάθε προεπεξεργασία.
 - Εφαρμογή δευτερογενούς μοντέλου στις παραμέτρους σε συνάρτηση με την ένταση ηλεκτρικού πεδίου με ΠΗΠ και την εφαρμοζόμενη πίεση με ΥΠ σε κάθε θερμοκρασία μάλαξης.
 - Εφαρμογή σιγμοειδούς μοντέλου στην αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο και της αύξησης των φαινολικών ενώσεων των προεπεξεργασμένων δειγμάτων σε σύγκριση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα σε συνάρτηση με τον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z.

(4)Αριστοποίηση της διαδικασίας της μάλαξης ως προς τον χρόνο, τη θερμοκρασία και τις συνθήκες προεπεξεργασίας με ΥΠ και ΠΗΠ.

- Επίδραση του χρόνου μάλαξης (15, 30 και 45 min), της θερμοκρασίας μάλαξης (15, 20 και 30 °C) και της έντασης των συνθηκών της κάθε προεπεξεργασίας εκφρασμένη ως προς τον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z (0,3, 0,5 και 0,7) στην απόδοση σε ελαιόλαδο και στη συγκέντρωση φαινολικών συστατικών στο παραγώμενο ελαιόλαδο
- Εφαρμογή της μεθοδολογίας αποκριτικών επιφανειών (Response Surface Methodology, RSM), και ανάπτυξης μοντέλων προσαρμογής και 3D διαγραμμάτων.

(5)Σύγκριση των ανεπεξεργαστων παραγόμενων ελαιόλαδων με τα ελαιόλαδα που προέκυψαν από προεπεξεργασμένη με ΠΗΠ και ΥΠ ελαιόπαστα (στις βέλτιστες

συνθήκες με ΠΗΠ και ΥΠ που προσδιορίστηκαν με χρήση του RSM) ως προς την απόδοση, τα ποιοτικά χαρακτηριστικά και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.

- Προσδιορισμός απόδοσης σε ελαιόλαδο από ελαιόπαστα στα μη προεπεξεργασμένα και προεπεξεργασμένα με ΥΠ και ΠΗΠ δείγματα στις επιλεγμένες συνθήκες.
- Προσδιορισμός ελεύθερης οξύτητας, αριθμός υπεροξειδίων, δείκτες K_{232} και K_{270} , ολικών και μεμονωμένων φαινολικών ενώσεων, α -τοκοφερόλης, προφίλ λιπαρών οξέων στα μη προεπεξεργασμένα και προεπεξεργασμένα με ΥΠ και ΠΗΠ ελαιόλαδα.
- Προσδιορισμός της οξειδωτικής σταθερότητας στα μη προεπεξεργασμένα και προεπεξεργασμένα με ΥΠ και ΠΗΠ ελαιόλαδα.
- Οργανοληπτική αξιολόγηση στα μη προεπεξεργασμένα και προεπεξεργασμένα με ΥΠ και ΠΗΠ δείγματα.

Ο πειραματικός σχεδιασμός της δεύτερης ενότητας παρουσιάζεται αναλυτικά στον Πίνακα 5.4.

Πίνακας 5.4 Πειραματικός σχεδιασμός της δεύτερης ενότητας πειραμάτων του Β' μέρους της πειραματικής διαδικασίας.

Δεύτερη θεματική ενότητα:

Μελέτη της εκχύλισης ενδοκυτταρικών συστατικών από ελαιοπυρήνα υποβοηθούμενη με Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία και Υπερυψηλή Πίεση.

(1)Παραλαβή ελαιοπυρήνα από την τυπική παραγωγική διαδικασία εξαγωγής ελαιολάδου.

- Παραλαβή ελαιοπυρήνα (μετά το στάδιο της φυγοκέντρησης διφασικού συστήματος) μετά την εξαγωγή του ελαιόλαδου.
- Ξήρανση του ελαιοπυρήνα υπό κενό και άλεση.
- Προσδιορισμός της σύστασης του ελαιοπυρήνα

(2)Κινητική μελέτη συνθηκών συμβατικής εκχύλισης (θερμοκρασία και ποσοστό αιθανόλης στον διαλύτη) ενδοκυτταρικών συστατικών του στερεού ελαιοπυρήνα.

- Εκχύλιση και προσδιορισμός ολικών φαινολικών συστατικών από ελαιοπυρήνα σε τρεις θερμοκρασίες (25, 40 και 60°C) σε χρόνους από 0 έως 60 min, και ποσοστό αιθανόλης-νερού (0, 25, 50 και 70 % σε αιθανόλη).

- Εκχύλιση και προσδιορισμός ολικών πρωτεϊνών από ελαιοπυρήνα σε τρεις θερμοκρασίες (25, 40 και 60°C) σε χρόνους από 0 έως 60 min, και ποσοστό αιθανόλης-νερού (0, 25, 50 και 70 % σε αιθανόλη).
- Προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων σε τρεις θερμοκρασίες (25, 40 και 60°C) σε χρόνους από 0 έως 60 min, και ποσοστό αιθανόλης-νερού (0, 25, 50 και 70 % σε αιθανόλη).

(3) Εκχύλιση ενδοκυτταρικών συστατικών από ελαιοπυρήνα (μετά το στάδιο της ξήρανσης) υποβοηθούμενη από ΠΗΠ (1.0-6.5 kV/cm, 0-6000 παλμούς) και ΥΠ (100-600 MPa, 0-40 min).

- Εκχύλιση και προσδιορισμός ολικών φαινολικών συστατικών από ελαιοπυρήνα σε συμβατικά επεξεργασμένα και σε δείγματα υποβοηθούμενα με ΠΗΠ και ΥΠ σε όλες τις επιλεγμένες συνθήκες.
- Εκχύλιση και προσδιορισμός ολικών πρωτεϊνών από ελαιοπυρήνα σε συμβατικά επεξεργασμένα και σε δείγματα υποβοηθούμενα με ΠΗΠ και ΥΠ σε όλες τις επιλεγμένες συνθήκες.
- Προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων από ελαιοπυρήνα σε συμβατικά επεξεργασμένα και σε δείγματα υποβοηθούμενα με ΠΗΠ και ΥΠ σε όλες τις επιλεγμένες συνθήκες.

(4) Μαθηματική μοντελοποίηση της συγκέντρωσης των εκχυλισμένων ενδοκυτταρικών συστατικών με τον χρόνο εκχύλισης για τα συμβατικά επεξεργασμένα δείγματα και τα δείγματα που εκχυλίστηκαν υποβοηθούμενα από ΥΠ και ΠΗΠ.

- Εφαρμογή μοντέλου κλασματικής πρώτης τάξης στη συγκέντρωση των ολικών φαινολικών ενώσεων και του χρόνου εκχύλισης για τα συμβατικά επεξεργασμένα εκχυλίσματα, και για τα δείγματα που εκχυλίστηκαν υποβοηθούμενα από ΥΠ και ΠΗΠ.
- Εφαρμογή μοντέλου κλασματικής πρώτης τάξης στη συγκέντρωση των ολικών πρωτεϊνών και του χρόνου εκχύλισης για τα συμβατικά επεξεργασμένα εκχυλίσματα, και για τα δείγματα που εκχυλίστηκαν υποβοηθούμενα από ΥΠ και ΠΗΠ.
- Υπολογισμός παραμέτρων από το μοντέλο κλασματικής πρώτης τάξης.
- Προσδιορισμός του χρόνου t_{98} (συνολικός χρόνος επεξεργασίας και εκχύλισης, στον οποίο τα εκχυλίσματα είχαν τη συγκέντρωση είτε φαινολικών ενώσεων είτε πρωτεϊνών που έχει το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα ύστερα από 60 min

εκχύλισης) με τη βοήθεια των παραμέτρων από το ανοιγμένο μοντέλο πρώτης τάξης.

(5)Αριστοποίηση της εκχύλισης υποβοηθούμενης με ΠΗΠ και ΥΠ με βάση τα ολικά, μεμονωμένα φαινορικά συστατικά στα εκχυλίσματα από ελαιοπυρήνα.

- Επίδραση του χρόνου εκχύλισης (0, 20 και 45 min) και της έντασης των συνθηκών της κάθε προεπεξεργασίας εκφρασμένη ως προς προσφερόμενη ενέργεια (1,8 10,9 και 14,5 kJ/kg για τα ΠΗΠ και 1,8, 6,41 και 36,1 kJ/kg για την ΥΠ) στη συγκέντρωση των ολικών και μεμονωμένων φαινολικών συστατικών στα εκχυλίσματα από ελαιοπυρήνα.
- Εφαρμογή της μεθοδολογία αποκριτικών επιφανειών (Response Surface Methodology, RSM), ανάπτυξης μοντέλων προσαρμογής και 3D διαγραμμάτων.

(6)Συγκριτική μελέτη της συμβατικής και υποβοηθούμενης με ΥΠ και ΠΗΠ εκχύλισης ενδοκυτταρικών συστατικών από ελαιοπυρήνα στις βέλτιστες συνθήκες.

- Προσδιορισμός μεμονωμένων φαινολικών συστατικών που εκχυλίστηκαν συμβατικά ή υποβοηθούμενα με ΥΠ και ΠΗΠ στις βέλτιστες συνθήκες.

(7)Αριστοποίηση της συμβατικής εκχύλισης και της εκχύλισης υποβοηθούμενης με ΠΗΠ (3 kV/cm, 10,9 kJ/kg) και ΥΠ (200 MPa, 10 min, 6.41 kJ/kg) των ενδοκυτταρικών συστατικών από ελαιοπυρήνα ως προς τον χρόνο και τη συγκέντρωση αιθανόλης.

- Επίδραση του χρόνου εκχύλισης (0, 20 και 45 min) και της συγκέντρωσης σε αιθανόλη ως διαλύτη (25, 50 και 70%) στη συγκέντρωση των ολικών φαινολικών συστατικών και πρωτεϊνών στα εκχυλίσματα από ελαιοπυρήνα που προέκυψαν από τη συμβατική εκχύλιση και την εκχύλιση υποβοηθούμενη από ΠΗΠ (3 kV/cm, 10,9 kJ/kg) και ΥΠ (200 MPa, 10 min, 6.41 kJ/kg).
- Εφαρμογή της μεθοδολογία αποκριτικών επιφανειών (Response Surface Methodology, RSM), ανάπτυξης μοντέλων προσαρμογής και 3D διαγραμμάτων.
- Σύγκριση της συμβατικής εκχύλισης και της υποβοηθούμενης με ΠΗΠ και ΥΠ ύστερα από την αριστοποίηση των συνθηκών τους, ως προς την απόδοση της ανάκτησης των ενδοκυτταρικών ενώσεων, ως προς τη διάρκεια της εκχύλισης και τη συγκέντρωση της αιθανόλης που χρειάστηκε για να γίνει η εκχύλιση αποτελεσματικά.

5.13. Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων

Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων που προέκυψαν από τα πειράματα πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του λογισμικού STATISTICA (StatSoft. Inc, Chicago, IL, USA). Τα πειράματα και οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν εις διπλούν και παρουσιάζεται ο μέσος όρος αυτών. Χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της ανάλυσης διακύμανσης (ANOVA) και η χρήση του κριτηρίου διαφοράς Duncan's test με βαθμό εμπιστοσύνης 95% ($P < 0.05$) για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων που αναφέρθηκαν τόσο για την αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο και της συγκέντρωσης των βιοδραστικών του συστατικών όσο και για την εκχύλιση βιοδραστικών συστατικών απευθείας από τον ελαιοπυρήνα. Το λογισμικό SIGMAPLOT 10.0 (Systat Software Inc. Chicago Ill. USA) χρησιμοποιήθηκε για τη μη γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης των πειραματικών δεδομένων και των παραμέτρων της εξίσωσης για την πρόβλεψη της κινητικής της μάλαξης της ελαιόπαστας ως προς την απόδοση σε ελαιόλαδο, τα ποιοτικά χαρακτηριστικά και του συνολικού φαινολικού περιεχομένου των ελαιόλαδων με τις προεπεξεργασίες ΠΗΠ και ΥΠ στην ελαιόπαστα, όπως επίσης της κινητικής της συμβατικής εκχύλισης και της εκχύλισης υποβοηθούμενης από ΠΗΠ και ΥΠ στην ανάκτηση βιοδραστικών συστατικών απευθείας από τον ελαιοπυρήνα. Για την αριστοποίηση των παραμέτρων της μάλαξης της ελαιόπαστας και της εκχύλισης του ελαιοπυρήνα υποβοηθούμενες από τις τεχνολογίες των ΠΗΠ και της ΥΠ χρησιμοποιήθηκε ο πειραματικός σχεδιασμός Box-Behnken και η μεθοδολογία αποκριτικών επιφανειών μέσω του λογισμικού STATISTICA (StatSoft. Inc, Chicago, IL, USA, 1999).

6. Κεφάλαιο 6: Αποτελέσματα και Σχολιασμός

6.1. Α' μέρος αποτελεσμάτων – Πρώτη θεματική ενότητα: «Εφαρμογή των ΠΗΠ και της ΥΠ για την παραγωγή συμπυκνωμένων προϊόντων τομάτας με αυξημένη απόδοση και βελτιωμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά».

Σύμφωνα με τον πειραματικό σχεδιασμό του Α' μέρους της παρούσας διατριβής, ο οποίος αναλύθηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο, η ποικιλία τομάτας η οποία μελετήθηκε ήταν τομάτα τύπου «βελανίδι» ποικιλίας «*Alamanda*». Για την ποικιλία αυτή, πραγματοποιήθηκαν πειράματα κινητικής μελέτης της επίδρασης των συνθηκών θερμικής επεξεργασίας, επεξεργασίας με ΥΠ και ΠΗΠ στην απενεργοποίηση των ενζύμων PME και PG σε χυμό τομάτας. Στη συνέχεια, αναπτύχθηκαν κατάλληλα μαθηματικά εργαλεία με τα οποία περιγράφηκε η συμπεριφορά των δυο ενζύμων ως προς την εφαρμογή της θερμοκρασίας, της πίεσης και της έντασης του ηλεκτρικού πεδίου ως προς τον χρόνο της κάθε επεξεργασίας. Η επιλογή των βέλτιστων συνθηκών της κάθε επεξεργασίας έγινε με βάση την επιλεκτική απενεργοποίηση της PG με ταυτόχρονη διατήρηση της δραστικότητας της PME, με στόχο την παραγωγή συμπυκνωμένων προϊόντων τομάτας με αυξημένη απόδοση και βελτιωμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά και χρόνο ζωής. Στη συνέχεια, παρατίθενται τα αποτελέσματα των παραπάνω αποτελεσμάτων με τον αντίστοιχο σχολιασμό τους.

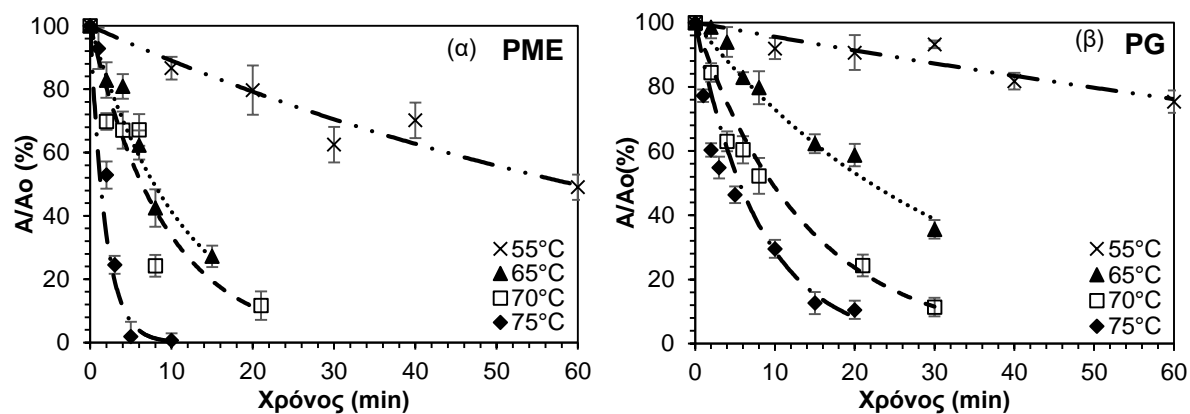
6.1.1. Κινητική μελέτη της επίδρασης της θερμικής επεξεργασίας, επεξεργασίας με ΥΠ και ΠΗΠ στην απενεργοποίηση των ενδογενών ενζύμων PME και PG χυμού τομάτας.

Αρχικά μελετήθηκε η επίδραση των συνθηκών θερμικής επεξεργασίας, επεξεργασίας με ΥΠ και ΠΗΠ στα ενδογενή ένζυμα χυμού τομάτας ποικιλίας *Alamanda*. Στη συνέχεια παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της κινητικής μελέτης απενεργοποίησης των ενζύμων για κάθε επεξεργασία καθώς επίσης και η μαθηματική επεξεργασία τους εφαρμόζοντας κατάλληλα μαθηματικά μοντέλα σε κάθε περίπτωση.

6.1.1.1. Θερμική απενεργοποίηση της PME και PG χυμού τομάτας

Παρακάτω παρουσιάζονται τα διαγράμματα της εναπομένουσας δραστικότητας του κάθε ενζύμου στην κάθε θερμοκρασία από 55 έως 75 °C σε συνάρτηση με το χρόνο (Σχήμα 6.1). Από το σχήμα 6.1, κατά τη θερμική επεξεργασία (55-75 °C) παρατηρήθηκε απενεργοποίηση και των δυο ενζύμων. Αύξηση της θερμοκρασίας οδήγησε σε αύξηση της σταθεράς του ρυθμού απενεργοποίησης και για τα δύο ένζυμα. Σε θερμοκρασία 55 °C, η εναπομένουσα δραστικότητα

της PME μετά από 1 h θερμικής επεξεργασίας ήταν στο 50%, ενώ σε θερμοκρασία 75 °C, παρατηρήθηκε πλήρης απενεργοποίηση του ενζύμου από τα πρώτα 10 min της θερμικής επεξεργασίας.



Σχήμα 6.1. Απενεργοποίηση της (α) PME και (β) PG ποικιλίας *Alamanda* κατά την επεξεργασία σε ατμοσφαιρική πίεση και διάφορες ισοθερμοκρασιακές συνθήκες (×) 55, (▲) 65, (□) 70 και (◆) 75°C. Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή της Εξ. 23 στα πειραματικά δεδομένα. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση από πολλαπλές επεξεργασίες και μετρήσεις.

Η PG εμφανίστηκε πιο ανθεκτική στη θερμοκρασία συγκριτικά με την PME. Σε θερμοκρασία 55 °C, η εναπομένουσα δραστικότητα της PG μετά από 1 h θερμικής επεξεργασίας ήταν στο 75%, ενώ σε θερμοκρασία 75 °C, παρατηρήθηκε πλήρη απενεργοποίηση του ενζύμου από τα πρώτα 15 min της θερμικής επεξεργασίας.

Πίνακας 6.1. Σταθερές ρυθμού απενεργοποίησης k (min^{-1}) (Εξ. 23) της PME και PG κατά τη θερμική επεξεργασία χυμού τομάτας ποικιλίας *Alamanda*.

| PME | | | PG | |
|--------|---------------------------|----------------|---------------------------|----------------|
| T (°C) | k (min^{-1}) | R ² | k (min^{-1}) | R ² |
| 55 | 0.012± 0.002 ^a | 0.996 | 0.005± 0.002 ^a | 0.983 |
| 65 | 0.088± 0.005 ^b | 0.998 | 0.030± 0.005 ^b | 0.974 |
| 70 | 0.109± 0.008 ^c | 0.991 | 0.071± 0.008 ^c | 0.968 |
| 75 | 0.544± 0.012 ^d | 0.926 | 0.137± 0.015 ^d | 0.964 |

± αντιπροσωπεύει την τυπική απόκλιση της μη γραμμικής παλινδρόμησης. Διαφορετικά γράμματα στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) σε μια στήλη (διαφορές μεταξύ θερμοκρασιών).

Η απενεργοποίηση και των δυο ενζύμων ακολουθεί κινητική 1^{ης} τάξης σε όλες τις συνθήκες θερμικής επεξεργασίας, η οποία περιγράφηκε από την Εξ. 23. Οι τιμές της σταθεράς του ρυθμού απενεργοποίησης κατά τη θερμική επεξεργασία της PME και PG στις διάφορες θερμοκρασίες, όπως υπολογίστηκαν παρουσιάζονται στον Πίνακας 6.1. Η εξάρτηση της σταθεράς του ρυθμού απενεργοποίησης της PME και PG από τη θερμοκρασία εκφράστηκε από την Εξ. Arrhenius 25.

Οι ενέργειες ενεργοποίησης, E_a , υπολογίστηκαν ίσες με 169 kJ/mol ($R^2=0.99$) και 155 kJ/mol ($R^2=0.97$) για την PME και PG αντίστοιχα. Επίσης προσδιορίστηκαν οι σταθερές του ρυθμού απενεργοποίησης k_{Tref} για την PME και PG, σε θερμοκρασία αναφοράς 327 K και προσδιορίστηκαν ίσες με $0,004 \text{ min}^{-1}$ και $0,002 \text{ min}^{-1}$, αντίστοιχα.

Στη συνέχεια για κάθε θερμοκρασία υπολογίστηκε ο χρόνος υποδεκαπλασιασμού D_T από την Εξ. 28 και η σταθερά z_T από την Εξ. 29 για το κάθε ένζυμο και παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.2.

Πίνακας 6.2. Χρόνοι υποδεκαπλασιασμού D_T (min) της απενεργοποίησης της PME και PG σε κάθε θερμοκρασία και η σταθερά z_T ($^{\circ}\text{C}$) χυμού τομάτας ποικιλίας *Alamanda* (Εξ. 28, Εξ. 29).

| PME | | | PG | |
|--------------------------|--------------------|------------------------------|----------------------|------------------------------|
| T ($^{\circ}\text{C}$) | D_T (min) | z_T ($^{\circ}\text{C}$) | D_T (min) | z_T ($^{\circ}\text{C}$) |
| 55 | 191.9 ± 6.58^a | | 460.61 ± 12.65^a | |
| 65 | 26.17 ± 2.56^b | 12.87 ± 0.28 | 76.76 ± 5.78^b | 13.73 ± 0.57 |
| 70 | 21.12 ± 1.32^c | | 32.43 ± 8.96^c | |
| 75 | 4.23 ± 0.99^d | | 16.81 ± 1.56^d | |

\pm αντιπροσωπεύει την τυπική απόκλιση της μη γραμμικής παλινδρόμησης. Διαφορετικά γράμματα στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) σε μια στήλη (διαφορές μεταξύ θερμοκρασιών)

Η σταθερά D_T είναι ο χρόνος υποδεκαπλασιασμού της ενεργότητας του ενζύμου σε κάθε θερμοκρασία. Από τον Πίνακα 6.2. παρατηρήθηκε ότι οι τιμές D_T για την PME και την PG παίρνουν τιμές από 191,9 έως και 4,2 min, και από 460,6 έως και 16,8 min αντίστοιχα, σε εύρος θερμοκρασιών από 55-75 $^{\circ}\text{C}$. Είναι φανερό επίσης ότι για κάθε θερμοκρασία ο D_T ήταν σημαντικά μεγαλύτερο για την PG σε σχέση με την PME. Αυτό αποδεικνύει ότι η PG είναι πιο ανθεκτική σε θερμοκρασίες από 55-75 $^{\circ}\text{C}$. Σε κάθε θερμοκρασία το D_T της PG ήταν σχεδόν τετραπλάσιος από της PME. Η σταθερά z_T εκφράζει την αύξηση της θερμοκρασίας που απαιτείται για να υποδεκαπλασιασθεί ο D_T . Για την PME, η σταθερά z_T υπολογίστηκε 12,87 $^{\circ}\text{C}$, ενώ για την PG ήταν 13,73 $^{\circ}\text{C}$. Η θερμοανθεκτικότητα της PG πιθανώς οφείλεται στην ύπαρξη δυο ισοενζύμων PG1 και PG2. Σε υψηλές θερμοκρασίες, άνω των 85 $^{\circ}\text{C}$ έχει παρατηρηθεί πλήρης απενεργοποίηση και των δυο ενζύμων, καθώς πάνω από θερμοκρασία 70 $^{\circ}\text{C}$ ξεκινάει η απενεργοποίηση του ισοενζύμου PG1. Σε μικρότερες θερμοκρασίες των 70 $^{\circ}\text{C}$ συμβαίνει απενεργοποίηση μόνο του ισοενζύμου PG2 (Rodrigo et al., 2005).

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, οι τιμές του D_T και του z_T για την PME και την PG ποικίλλει, ανάλογα με την ποικιλία της τομάτας και το στάδιο ωρίμανσής της. Επιπλέον τα ολικά διαλυτά στερεά, το pH και η σύσταση των υπόλοιπων συστατικών που είναι διαλυμένα στο χυμό τομάτας είναι παράμετροι που επηρεάζουν τις τιμές των D_T και z_T (López et al., 1997, Tajchakavit and

Ramaswamy, 1997). Οι Crelier et al. (2001), υπολόγισαν πως η τιμή του z_T για την PME από χυμό τομάτας ήταν 6,4 °C, ενώ οι Raviyan et al. (2005), στη δική τους έρευνα τον υπολόγισαν ίσο με 12,3 °C, τιμή παρόμοια με τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής. Από τα αποτελέσματα αυτής της έρευνας, η τιμή z_T (12,8 °C) είναι επίσης συγκρίσιμη με τα αποτελέσματα των De Sio et al. (1995). Αντίστοιχα, οι Anthon et al. (2002), υπολόγισαν ότι η σταθερά z_T της θερμικής απενεργοποίησης της PG ήταν 10,1 °C, τιμή κοντινή και συγκρίσιμη με τα αποτελέσματα αυτής της διατριβής.

6.1.2. Κινητική μελέτη στις συνθήκες της ΥΠ στην απενεργοποίηση των ενζύμων τομάτας

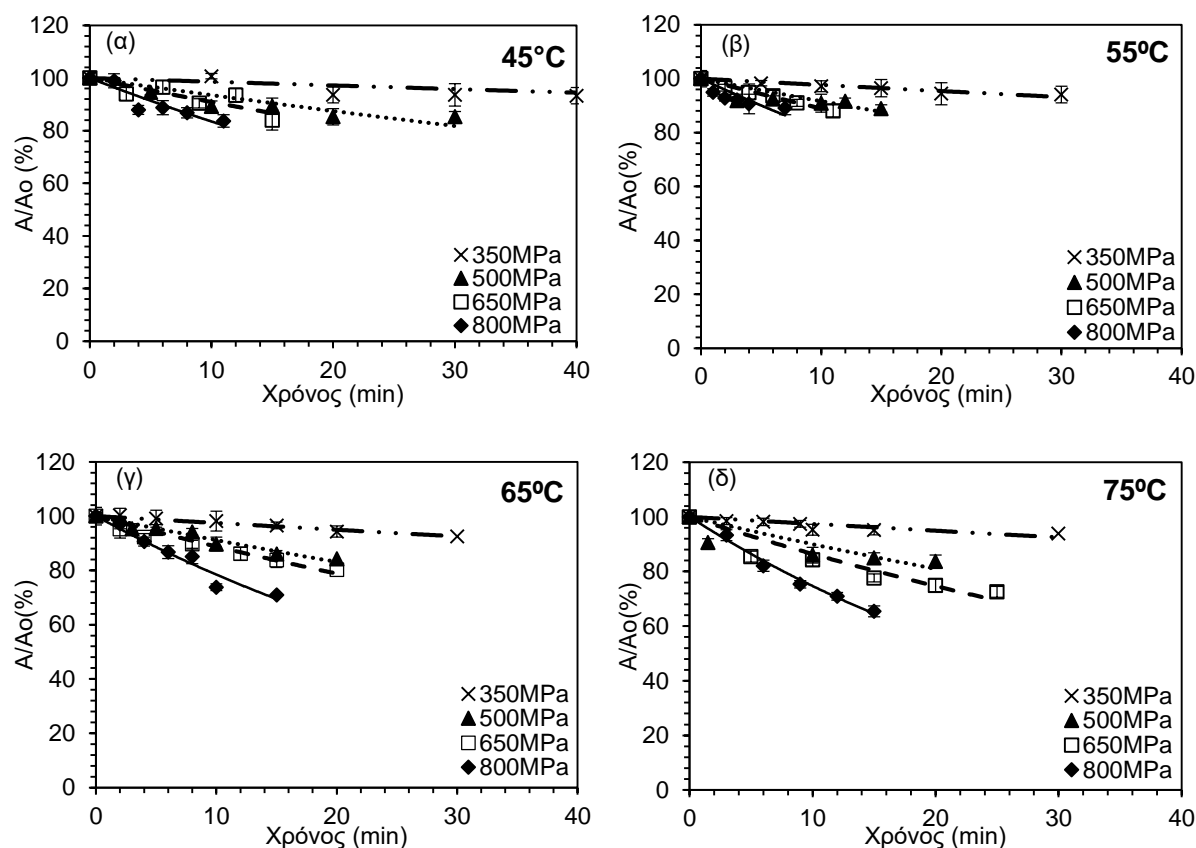
6.1.2.1. Κινητική απενεργοποίηση της επεξεργασία με ΥΠ της PME χυμού τομάτας

Παρακάτω παρουσιάζονται τα διαγράμματα απενεργοποίησης της PME από 45 έως 75 °C συναρτήσει της εφαρμοζόμενης πίεσης από 350 έως 800 MPa και του χρόνου επεξεργασίας (0-60 min) (Σχήμα 6.2). Η απενεργοποίηση και της PME ακολούθησε κινητική 1^{ης} τάξης σε όλες τις συνθήκες επεξεργασίας με ΥΠ, η οποία περιγράφηκε από την Εξ. 23.

Η απενεργοποίηση της PME με ΥΠ εμφάνισε σημαντικά διαφορετική συμπεριφορά σε σύγκριση με τη θερμική απενεργοποίηση σε ατμοσφαιρική πίεση. Η PME εμφανίστηκε ιδιαίτερα ανθεκτική στην εφαρμογή πίεσης συγκριτικά με τη θερμική επεξεργασία. Σε θερμοκρασία 55 °C και 350 MPa, η δραστηριότητα της PME έμεινε σχεδόν ανεπηρέαστη ύστερα από 30 min εφαρμογής της πίεσης (96% εναπομένουσα δραστηριότητα). Ακόμα και η επεξεργασία στα 800 MPa και 75 °C για 15 min δεν επέφερε σημαντική μεταβολή στην ενεργότητα του ενζύμου. Κατά την επεξεργασία με ΥΠ σε πιέσεις 350-800 MPa σε συνδυασμό με τις διάφορες θερμοκρασίες, παρουσιάστηκαν μικρότεροι ρυθμοί απενεργοποίησης του ενζύμου σε σχέση με τη θερμική επεξεργασία σε ατμοσφαιρική πίεση. (Πίνακας 6.3).

Η συμπεριφορά αυτή υποδηλώνει ότι η πίεση έχει προστατευτική επίδραση στο ένζυμο και ότι η πίεση και η θερμοκρασία έχουν ανταγωνιστική δράση στην απενεργοποίηση της PME (Σχήμα 6.3). Η διαφορετική συμπεριφορά της PME σε χαμηλές και υψηλές πιέσεις οφείλεται στο ποσοστό υδροφοβικότητα της (Farkas & Hoover, 2001). Η αύξηση της θερμοκρασίας όπως έχει ήδη προαναφερθεί προκαλεί μετουσίωση των πρωτεϊνών καθώς τα ένζυμα χάνουν μόρια νερού που αποτελούν τα δομικά τους συστατικά. Όταν η αύξηση της θερμοκρασίας συνοδεύεται με αύξηση της πίεσης, ενισχύεται η ενυδάτωση των πολικών και μη πολικών ομάδων της πρωτεΐνης, αναιρώντας το στάδιο της θερμικής μετουσίωσης (Weale, 1967). Αρκετοί ερευνητές έχουν μελετήσει την επίδραση της ΥΠ στην απενεργοποίηση της PME σε προϊόντα τομάτας. Οι Shook

et al. (2001), παρατήρησαν ότι η δραστηριότητα της PME σε κομμάτια τομάτας είναι πολύ ανθεκτική στην περιοχή των 400-800 MPa και 25-45 °C.



Σχήμα 6.2. Απενεργοποίηση της PME ποικιλίας *Alamanda* κατά την επεξεργασία σε σταθερή θερμοκρασία (α) 45, (β) 55, (γ) 65 και (δ) 75°C και διάφορες ισοβαρείς συνθήκες (350 MPa (×), 500 MPa (▲), 650 MPa (□) and 800 MPa (◆)). Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή της Εξ. 23 στα πειραματικά δεδομένα. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση από πολλαπλές επεξεργασίες και μετρήσεις.

Επιπλέον, οι Fachin et al. (2002) εξέτασαν επίσης τη σταθερότητα της ενεργότητας της καθαρισμένης PME από τομάτα (*Lycopersicon esculentum* var. *Flandria Prince*) σε ρυθμιστικό διάλυμα καθώς και σε χυμό τομάτας.

Και στα δύο συστήματα, η δραστηριότητα της PME ήταν ανθεκτική στην πίεση και παρατηρήθηκε ότι η πίεση δρα ανταγωνιστικά προς τη θερμοκρασία. Μια τέτοια συμπεριφορά αναφέρθηκε επίσης από τους Stoforos et al. (2002), επισημαίνοντας ότι η επεξεργασία τομάτας πρέπει να περιγράφεται θεωρώντας δύο μηχανισμούς απενεργοποίησης. Ο ένας από τους μηχανισμούς μπορεί να συσχετισθεί με την πίεση, ενώ ο άλλος με τις αλλαγές που προκαλούνται από τη θερμοκρασία στην ενεργότητα του ενζύμου. Επίσης, οι Houben et al. (2012), έδειξαν τη μεγάλη

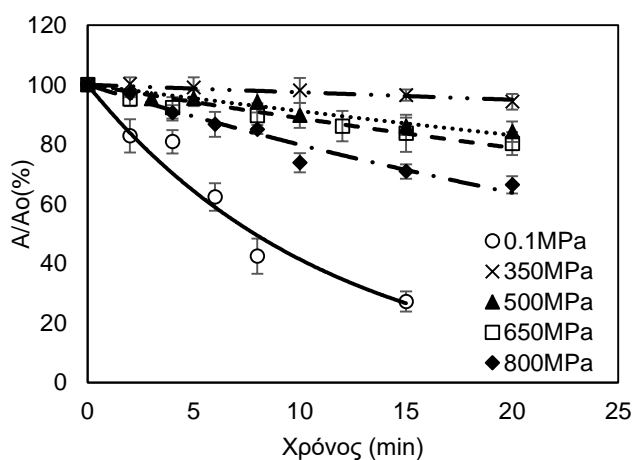
ανθεκτικότητα της PME στην πίεση, καθώς παρατήρησαν μόνο 30% απενεργοποίηση ύστερα από επεξεργασία με ΥΠ στα 800 MPa για 10 min.

Πίνακας 6.3. Σταθερές ρυθμού απενεργοποίησης k (min^{-1}) (Εξ. 23) της PME χυμού τομάτας επεξεργασμένου με διάφορες συνθήκες ΥΠ (350-800MPa) και θερμοκρασίες (45-75°C).

| k (min^{-1}) | Θερμοκρασία (°C) | | | |
|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | 45 | 55 | 65 | 75 |
| 0.1 | 0.0120±0.0022 ^{1a} | 0.0881±0.0051 ^{2a} | 0.1095±0.0081 ^{3a} | 0.5444±0.0121 ^{4a} |
| 350 | 0.0011±0.0011 ^{1b} | 0.0022±0.0013 ^{1b} | 0.0036±0.0012 ^{1b} | 0.0045±0.0012 ^{1b} |
| 500 | 0.0078±0.0022 ^{1c} | 0.0093±0.0012 ^{1c} | 0.0107±0.0013 ^{1c} | 0.0115±0.0013 ^{1c} |
| 650 | 0.0102±0.0016 ^{1c} | 0.0122±0.0022 ^{1c} | 0.0131±0.0022 ^{1c} | 0.0154±0.0012 ^{1d} |
| 800 | 0.0182±0.0035 ^{1d} | 0.0213±0.0041 ^{1d} | 0.0261±0.0026 ^{1d} | 0.0291±0.0031 ^{1e} |

το \pm αντιπροσωπεύει την τυπική απόκλιση της μη γραμμικής ανάλυσης παλινδρόμησης. Διαφορετικά γράμματα στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) σε μια στήλη (διαφορές μεταξύ πιέσεων). Διαφορετικοί αριθμοί στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) σε μια γραμμή (διαφορές μεταξύ θερμοκρασιών)

Στη συνέχεια για κάθε πίεση υπολογίστηκε ο χρόνος υποδεκαπλασιασμού D_p και η σταθερά Z_p από την Εξ. 30 για την PME και παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.4.



Σχήμα 6.3. Απενεργοποίηση της PME ποικιλίας *Alamanda* κατά την επεξεργασία σε σταθερή θερμοκρασία 65°C και διάφορες ισοβαρείς συνθήκες (0.1 MPa (○), 350 MPa (×), 500 MPa (▲), 650 MPa (□) and 800 MPa (◆)). Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή της Εξ. 23 στα πειραματικά δεδομένα. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση από πολλαπλές επεξεργασίες και μετρήσεις.

Η σταθερά D_p είναι ο χρόνος υποδεκαπλασιασμού της ενεργότητας του ενζύμου σε κάθε εφαρμοζόμενη πίεση. Από τον Πίνακα 6.4. παρατηρούμε ότι για κάθε εφαρμοζόμενη πίεση σε όλες τις θερμοκρασίες το D_p εμφάνισε πολύ μεγάλες τιμές. Αυτό αποδεικνύει ότι η PME είναι πολύ ανθεκτική στην εφαρμογή της πίεσης. Σε χαμηλές πιέσεις (<500 MPa) και στους 75 °C ο D_p

υπολογίστηκε πολύ μεγάλες >3,5 h, δείχνοντας ότι η ενεργότητα της PME είναι σχεδόν ανεπηρέαστη σε αυτές τις συνθήκες.

Πίνακας 6.4. Χρόνοι υποδεκαπλασιασμού D_P (min) της απενεργοποίησης της PME σε κάθε πίεση και η σταθερά z_P (MPa) χυμού τομάτας ποικιλίας *Alamanda* (Εξ. 30).

| D_P (min) | Θερμοκρασία (°C) | | | |
|------------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | 45 | 55 | 65 | 75 |
| Πίεση (MPa) | | | | |
| 350 | 2303.3± 25.3 ^{1a} | 1151.5 ± 65.3 ^{2a} | 767.6 ± 21.5 ^{3a} | 575.7 ± 12.5 ^{4a} |
| 500 | 329.1 ± 32.5 ^{1b} | 255.8 ± 12.4 ^{2b} | 230.3± 15.6 ^{2b} | 209.3 ± 24.6 ^{2b} |
| 650 | 230.3 ± 22.4 ^{1c} | 191.9 ± 22.5 ^{1c} | 177.1 ± 32.4 ^{1b} | 153.5 ± 12.6 ^{1b} |
| 800 | 127.9± 32.6 ^{1d} | 109.6 ± 7.5 ^{1d} | 88.6 ± 25.3 ^{2c} | 79.4 ± 26.9 ^{2c} |
| z_P(MPa) | 384.6±15.6 ¹ | 376.1±12.4 ¹ | 300.1±22.1 ² | 255.5±12.3 ² |

± αντιπροσωπεύει την τυπική απόκλιση της μη γραμμικής παλινδρόμησης. Διαφορετικά γράμματα στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) σε μια στήλη (διαφορές μεταξύ πιέσεων). Διαφορετικοί αριθμοί στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) σε μια γραμμή (διαφορές μεταξύ θερμοκρασιών).

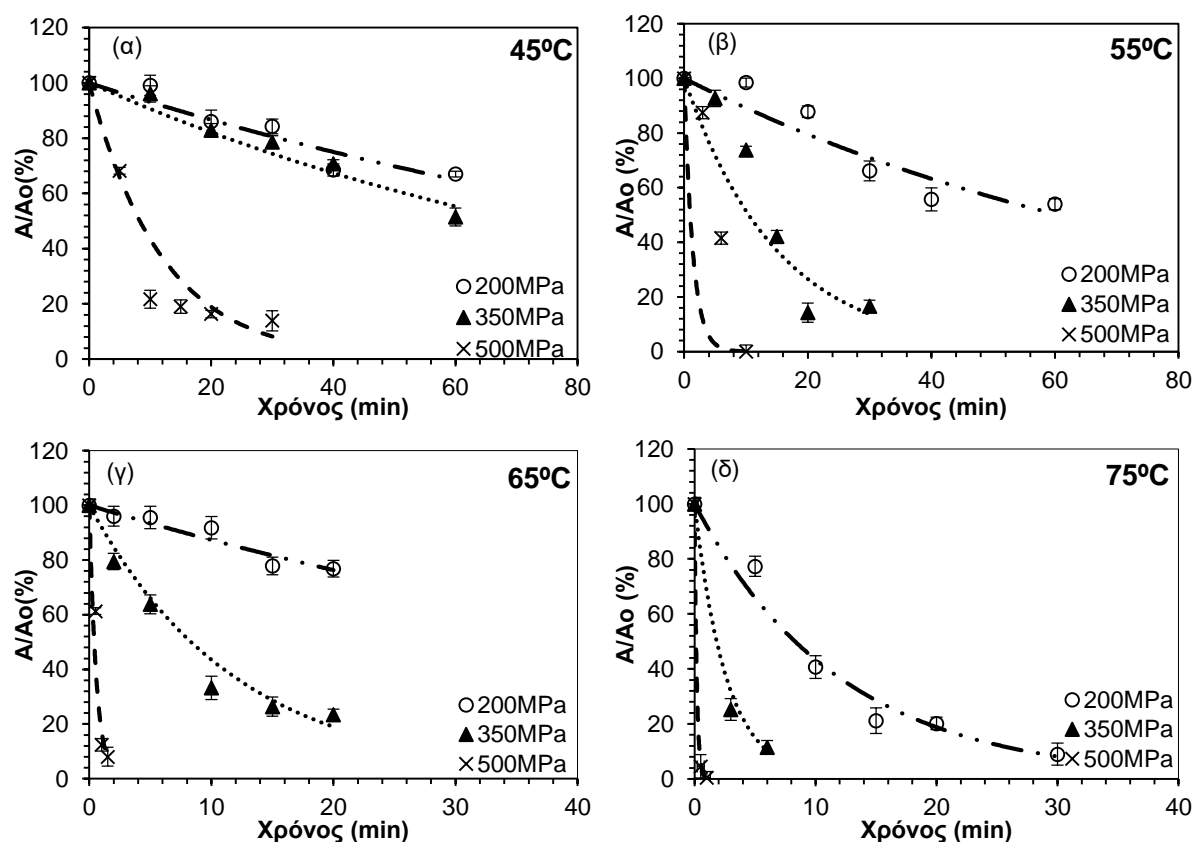
Ακόμα και σε μεγαλύτερες πιέσεις (>650 MPa) στους 75 °C το D_P ήταν πολύ μεγάλο (>1,5 h). Η σταθερά z_P εκφράζει την αύξηση της πίεσης που απαιτείται για να υποδεκαπλασιασθεί το D_P . Για την PME, η σταθερά z_P σε όλες τις θερμοκρασίες υπολογίστηκε πάνω από 250 MPa.

6.1.2.2. **Κινητική απενεργοποίηση με επεξεργασία με ΥΠ της PG χυμού τομάτας**

Παρακάτω παρουσιάζονται τα διαγράμματα απενεργοποίησης (Σχήμα 6.4) της PG από 45 έως 75 °C συναρτήσει της εφαρμοζόμενης πίεσης από 200 έως 500 MPa και του χρόνου επεξεργασίας (0-60 min). Η απενεργοποίηση της PG ακολούθησε κινητική 1^{ης} τάξεως σε όλες τις συνθήκες επεξεργασίας με ΥΠ, η οποία περιγράφηκε από την Εξ. 23.

Σε αντίθεση με την PME, η PG εμφανίστηκε περισσότερο ευαίσθητη στην επεξεργασία με ΥΠ. Παρατηρήθηκε ότι αύξηση της πίεσης είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της σταθεράς του ρυθμού απενεργοποίησης της PG (Πίνακας 6.5). Επιπλέον αύξηση της σταθεράς του ρυθμού απενεργοποίησης παρατηρήθηκε και με αύξηση της πίεσης και με αύξηση της θερμοκρασίας. Στους 55°C και σε πίεση 200 MPa, η εναπομένουσα δραστηριότητα της PG ήταν κάτω από 60% μετά από 30 min επεξεργασίας. Στους 75 °C το ένζυμο αδρανοποιείται πλήρως μέσα στα πρώτα 3 min της επεξεργασίας με ΥΠ. Κατά την επεξεργασία σε πιέσεις μεγαλύτερες από 500 MPa επιτεύχθηκε πλήρης απενεργοποίηση της PG από το χρόνο μηδέν της διεργασίας σε όλα τα επίπεδα θερμοκρασιών που μελετήθηκαν. Ωστόσο όπως φαίνεται και στον Πίνακα 6.5, παρατηρήθηκε ότι με αύξηση της πίεσης σε χαμηλές θερμοκρασίες (45-55 °C) έχουμε σημαντική

αύξηση της σταθεράς του ρυθμού απενεργοποίησης της PG. Αυτό δηλώνει τη συνεργιστική δράση της πίεσης και της θερμοκρασίας στην απενεργοποίηση της PG.



Σχήμα 6.4. Απενεργοποίηση της PG ποικιλίας *Alamanda* κατά την επεξεργασία σε σταθερή θερμοκρασία (α) 45, (β) 55, (γ) 65 και (δ) 75°C και διάφορες ισοβαρείς συνθήκες (200 MPa (○), 350 MPa (▲), 500 MPa (×)). Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή της Εξ. 23 στα πειραματικά δεδομένα. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση από πολλαπλές επεξεργασίες και μετρήσεις.

Αντίθετα, σε χαμηλές πιέσεις των 200 MPa και υψηλές θερμοκρασίες των 65 και 75 °C, παρατηρήθηκε ότι η σταθερά του ρυθμού απενεργοποίησης ήταν μικρότερη σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή που εμφάνισε στην ατμοσφαιρική πίεση. Η συμπεριφορά αυτή υποδηλώνει μια ανταγωνιστική δράση της πίεσης και θερμοκρασίας στην απενεργοποίηση αυτού του ενζύμου (Σχήμα 6.5).

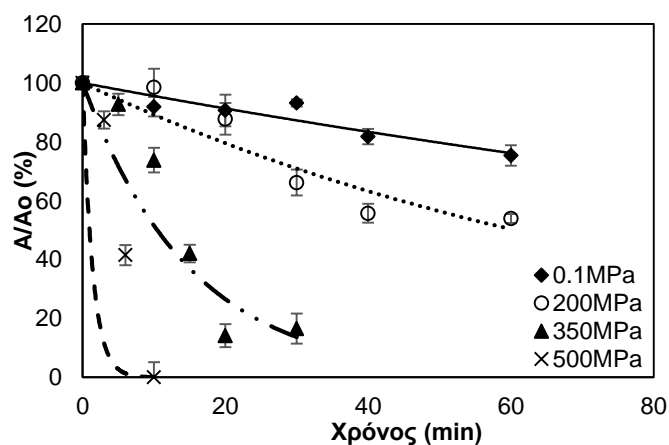
Οι Crelier et al. (2001) σύγκριναν τη θερμική απενεργοποίηση και τη συνδυασμένη απενεργοποίηση πίεσης και θερμοκρασίας των PME και PG σε τοματοχυμό. Οι PME και PG της τομάτας απενεργοποιήθηκαν με θερμική επεξεργασία σε ατμοσφαιρική πίεση ακολουθώντας κινητική 1ης τάξης σε θερμοκρασίες που κυμαίνονται από 60 ως 75 °C και από 80 ως 105 °C, αντίστοιχα. Η PG τομάτας απενεργοποιήθηκε πλήρως από επεξεργασία με ΥΠ στα 600 MPa και 30 °C για 5 min. Η δραστηριότητα της PME παρέμεινε σταθερή σε θερμοκρασίες από 60 έως 75

°C υπό πιέσεις που κυμαίνονται από 100 έως 600 MPa. Οι Krebbers et al. (2003) επίσης παρατήρησαν 70% απενεργοποίηση της PG με εφαρμογή της πίεσης στα 700 MPa.

Πίνακας 6.5. Σταθερές ρυθμού απενεργοποίησης k (min^{-1}) της PG χυμού τομάτας επεξεργασμένου με διάφορες συνθήκες ΥΠ (350-800MPa) και θερμοκρασίες (45-75°C) (Εξ. 23).

| Πίεση (MPa) | Θερμοκρασία (°C) | | | |
|-------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|
| | 45 | 55 | 65 | 75 |
| 0.1 | 0.0010±0.0002 ^{1a} | 0.0052±0.0020 ^{2a} | 0.0303± 0.0051 ^{3a} | 0.1374± 0.0152 ^{4a} |
| 200 | 0.0071±0.0011 ^{1a} | 0.0110±0.0091 ^{1b} | 0.0135± 0.0122 ^{1b} | 0.0843± 0.0201 ^{2b} |
| 350 | 0.0103±0.0020 ^{1a} | 0.0663±0.0102 ^{2c} | 0.0831± 0.0152 ^{3c} | 0.3801± 0.0152 ^{4c} |
| 500 | 0.0830±0.0051 ^{1b} | 0.7162±0.0123 ^{2d} | 1.7473± 0.0123 ^{3d} | 5.5511± 0.0351 ^{4d} |

± αντιπροσωπεύει την τυπική απόκλιση της μη γραμμικής ανάλυσης παλινδρόμησης. Διαφορετικά γράμματα στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικά διαφορετικό μέσο ($p<0.05$) σε μια στήλη (διαφορές μεταξύ πιέσεων). Διαφορετικοί αριθμοί στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικά διαφορετικό μέσο ($p<0.05$) σε μια γραμμή (διαφορές μεταξύ θερμοκρασιών)



Σχήμα 6.5. Απενεργοποίηση της PG ποικιλίας *Alameda* κατά την επεξεργασία σε σταθερή θερμοκρασία 75°C και διάφορες ισοβαρείς συνθήκες (0,1 MPa (♦), 200 MPa (○), 350 MPa (▲), 500 MPa (×)). Οι γραμμές σφάλματος δείχνουν την τυπική απόκλιση. Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή της Εξ. 23 στα πειραματικά δεδομένα.

Στη συνέχεια για κάθε πίεση υπολογίστηκε ο χρόνος υποδεκαπλασιασμού D_p και η σταθερά z_p από την Εξ. 30 για την PG και παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.6. Η σταθερά D_p είναι ο χρόνος υποδεκαπλασιασμού της ενεργότητας του ενζύμου σε κάθε εφαρμοζόμενη πίεση. Από τον Πίνακα 6.6 παρατηρούμε ότι για κάθε εφαρμοζόμενη πίεση σε όλες τις θερμοκρασίες το D_p μειωνόταν με αύξηση της θερμοκρασίας και της πίεσης. Αυτό αποδεικνύει ότι η PG είναι πολύ ευαίσθητη στην εφαρμογή της πίεσης σε συνδυασμό με την αύξηση της θερμοκρασίας. Σε πίεση 500 MPa και στους 75 °C το D_p υπολογίστηκε <1 min, δείχνοντας ότι η δραστηριότητα της PG σχεδόν μηδενίζεται σε αυτές τις συνθήκες. Η σταθερά z_p εκφράζει την αύξηση της πίεσης που απαιτείται

για να υποδεκαπλασιασθεί το D_p . Για την PG, η σταθερά z_p υπολογίστηκε σε όλες τις θερμοκρασίες. Στους 75 °C, η σταθερά z_p μειώθηκε 50% σε σχέση με τους 45 °C.

Πίνακας 6.6. Χρόνοι υποδεκαπλασιασμού D_p (min) της απενεργοποίησης της PG σε κάθε πίεση και η σταθερά z_p (MPa) χυμού τομάτας ποικιλίας *Alamanda* (Εξ. 30).

| D (min) | Θερμοκρασία (°C) | | | |
|-------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------|
| | 45 | 55 | 65 | 75 |
| Πίεση (MPa) | | | | |
| 200 | 329.3± 25.3 ^{1a} | 209.3 ± 15.3 ^{2a} | 177.1 ± 21.5 ^{2a} | 27.4 ± 2.5 ^{3a} |
| 350 | 230.3 ± 32.5 ^{1b} | 34.9 ± 2.4 ^{2b} | 27.7± 5.6 ^{2b} | 6.1 ± 0.6 ^{3b} |
| 500 | 27.74 ± 2.4 ^{1c} | 3.2 ± 0.5 ^{2c} | 1.3 ± 0.4 ^{2c} | 0.4 ± 0.0 ^{3c} |
| z_p | 277.7± 9.8 ¹ | 166.6± 12.3 ² | 140.8± 5.1 ² | 113.9± 7.3 ³ |

± αντιπροσωπεύει την τυπική απόκλιση της μη γραμμικής παλινδρόμησης. Διαφορετικά γράμματα στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) σε μια στήλη (διαφορές μεταξύ πιέσεων). Διαφορετικοί αριθμοί στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) σε μια γραμμή (διαφορές μεταξύ θερμοκρασιών).

6.1.2.3. Συνδυαστικό μαθηματικό μοντέλο πίεσης-θερμοκρασίας για την απενεργοποίηση με επεξεργασία με ΥΠ της PME και PG χυμού τομάτας

Η δραστηριότητα και των δύο ενζύμων επηρεάζεται εξίσου και από την εφαρμογή της πίεσης και τη θερμοκρασία, εμφανίζοντας διαφορετική συμπεριφορά σε κάθε περίπτωση. Προκειμένου να περιγραφεί μαθηματικά η συμπεριφορά της PME και της PG με τη θερμοκρασία και την πίεση κατά την επεξεργασία με ΥΠ χρησιμοποιήθηκε το συνδυαστικό μοντέλο 5.25, λαμβάνοντας υπόψη την εξάρτηση της σταθεράς του ρυθμού απενεργοποίησης από τον όγκο ενεργοποίησης και τη γραμμική εξάρτηση της ενέργειας ενεργοποίησης από την πίεση. Τα αποτελέσματα και οι παράμετροι της Εξ. 34 συνοψίζονται στον πίνακα 6.7 και 6.8 για την PME και PG, αντίστοιχα.

Η ενέργεια ενεργοποίησης E_a και ο όγκος ενεργοποίησης V_a για την PME υπολογίστηκαν ίσες με 18,28 kJ/mol και -10,72 mL/mol ενώ για την PG ήταν 111,85 kJ/mol και -50,21 kJ/mol, αντίστοιχα. Οι πολύ μικρές τιμές των δύο αυτών παραμέτρων για την PME επιβεβαιώνουν την ανθεκτικότητα του ενζύμου στις μεταβολές της πίεσης και της θερμοκρασίας κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας με ΥΠ και την ανταγωνιστική δράση των δύο παραμέτρων στη δραστηριότητα του ενζύμου. Αντίθετα, στην PG οι τιμές της E_a και του V_a έχουν πολύ μεγάλες (δεκαπλάσια και πενταπλάσια σε σύγκριση με της PME, αντίστοιχα) υποδεικνύοντας τη συνεργιστική δράση πίεσης και θερμοκρασίας στην ενεργότητα του ενζύμου κατά την επεξεργασία με ΥΠ. Αυτή η συμπεριφορά επιβεβαιώνει το γεγονός ότι η επεξεργασία με ΥΠ σε συγκεκριμένες συνθήκες μπορεί να οδηγήσει σε πολύ σημαντική απενεργοποίηση της PG και μικρότερη της PME, γεγονός που δεν μπορεί να επιτευχθεί με τη θερμική επεξεργασία.

Πίνακας 6.7. Προσδιορισμός των παραμέτρων της Εξ. 34 για την απενεργοποίηση της PME ποικιλίας *Alamanda* σε συνθήκες πίεσης από 350-800 MPa και θερμοκρασίες 45-75°C για $T_{ref}=333K$, $P_{ref}=400$ MPa. ($R^2=0.971$)

| Παράμετρος | Τιμή | 95% Διάστημα Εμπιστοσύνης | |
|----------------------------|---------|---------------------------|--------------|
| | | Κατώτερο όριο | Ανώτερο όριο |
| $k_{ref}(\text{min}^{-1})$ | 0,005 | 0,004 | 0,006 |
| $E_a(\text{J/mol})$ | 18268 | 10100 | 26436 |
| $B(\text{mL/mol})$ | 0,003 | 0,000 | 0,005 |
| $A(\text{J/mol})$ | 0,240 | -0,507 | 0,988 |
| $V_a(\text{mL/mol})$ | -10,719 | -12,424 | -9,015 |

Πίνακας 6.8. Προσδιορισμός των παραμέτρων της Εξ. 34 για την απενεργοποίηση της PG ποικιλίας *Alamanda* σε συνθήκες πίεσης από 200-500 MPa και θερμοκρασίες 45-75 °C για $T_{ref}=333K$, $P_{ref}=400$ MPa. ($R^2=0.996$)

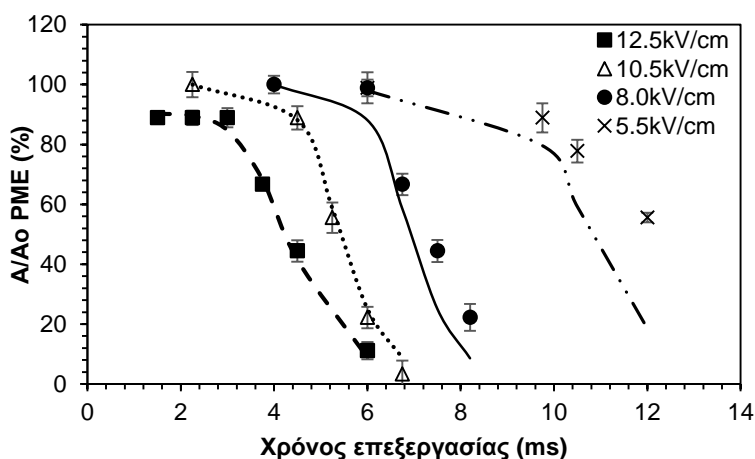
| Παράμετρος | Τιμή | 95% Διάστημα Εμπιστοσύνης | |
|----------------------------|---------|---------------------------|--------------|
| | | Κατώτερο όριο | Ανώτερο όριο |
| $k_{ref}(\text{min}^{-1})$ | 0,134 | 0,101 | 0,167 |
| $E_a(\text{J/mol})$ | 111853 | 65898 | 157808 |
| $B(\text{mL/mol})$ | 0,006 | -0,008 | 0,020 |
| $A(\text{J/mol})$ | 2,413 | -5,153 | 9,979 |
| $V_a(\text{mL/mol})$ | -50,205 | -79,156 | -21254 |

Το ίδιο συνδυαστικό μοντέλο έχει χρησιμοποιηθεί και σε άλλες μελέτες για να περιγραφεί η συμπεριφορά ενζύμων ως προς την εφαρμογή της πίεσης σε συνδυασμό με τη θερμοκρασία. Οι Boulekou et al. (2010) μελέτησαν την επίδραση της ΥΠ στη δραστηριότητα της PME από ροδάκινο, εφαρμόζοντας το ίδιο συνδυαστικό μαθηματικό μοντέλο. Η τιμή της E_a , του V_a και της σταθεράς του ρυθμού απενεργοποίησης k_{ref} υπολογίσθηκαν ίσες με 89,6 kJ/mol, -20,1 mL/mol και 0.160 min^{-1} , αντίστοιχα αποδεικνύοντας ότι η PME από ροδάκινο είναι πιο ευαίσθητη στην εφαρμογή της πίεσης από την PME τομάτας. Οι Polydera et al. (2004) επίσης χρησιμοποίησαν το ίδιο μαθηματικό μοντέλο που εκφράζει τη συνδυασμένη επίδραση της πίεσης και της θερμοκρασίας στον ρυθμό απενεργοποίησης PME από χυμό Navel. Από τα αποτελέσματα προέκυψε ότι η PME από χυμό Navel είναι ευαίσθητη στην εφαρμογή της πίεσης σε συνδυασμό με τη θερμοκρασία καθώς οι δύο παράμετροι εμφάνισαν συνεργιστική δράση στην απενεργοποίηση της PME, υπολογίζοντας τις τιμές της E_a και του V_a ίσες με 148 kJ/mol και -25 mL/mol, αντίστοιχα. Επιπλέον, στη βιβλιογραφία, έχουν αναπτυχθεί και άλλα συνδυαστικά μαθηματικά μοντέλα πίεσης και

θερμοκρασίας πολλαπλών παραμέτρων προκειμένου να περιγράψουν επαρκώς οι συμπεριφορές των ενζύμων PME και PG από χυμό τομάτας στην απενεργοποίησή τους με ΥΠ.

6.1.3. Κινητική απενεργοποίηση της επεξεργασία με ΠΗΠ της PME και PG χυμού τομάτας

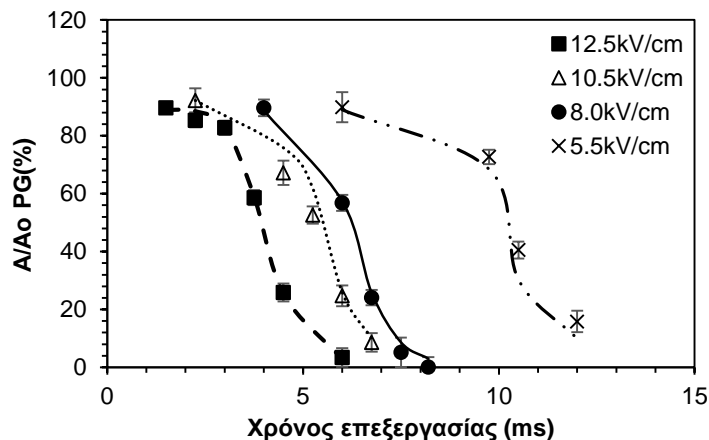
Παρακάτω παρουσιάζονται τα διαγράμματα απενεργοποίησης της PME και PG από την επεξεργασία με ΠΗΠ σε ηλεκτρικά πεδία έντασης από 5.5 έως και 12.5 kV/cm και χρόνους επεξεργασίας από 0 έως 12 ms (πλάτος παλμού 15 μs και συχνότητα 300 Hz) (Σχήμα 6.6). Η απενεργοποίηση και των δυο ενζύμων περιγράφεται από ένα εμπειρικό κλασματικό μοντέλο δύο παραμέτρων (Εξ. 35) σε όλες τις συνθήκες επεξεργασίας με ΠΗΠ.



Σχήμα 6.6. Απενεργοποίηση της PME ποικιλίας *Alamanda* κατά την επεξεργασία με ΠΗΠ σε διάφορες τιμές έντασης ηλεκτρικού πεδίου (5,5 kV/cm (x), 8,0 kV/cm (●), 10,5 kV/cm (Δ), 12,5 kV/cm (■)). Οι γραμμές σφάλματος δείχνουν την τυπική απόκλιση. Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή της Εξ. 35 στα πειραματικά δεδομένα.

Η επεξεργασία με ΠΗΠ οδήγησε σε μείωση της εναπομένουσας δραστηριότητας της PME και PG, ανάλογα με τις συνθήκες της επεξεργασίας (χρόνος επεξεργασίας και ένταση του ηλεκτρικού πεδίου). Η εναπομένουσα δραστηριότητα της PME και της PG έδειξε μια πολύ παρόμοια συμπεριφορά στην απενεργοποίηση από ΠΗΠ. Για σταθερή ένταση ηλεκτρικού πεδίου, η εναπομένουσα δραστηριότητα δεν μειώθηκε μέχρι και ορισμένους χρόνους επεξεργασίας με ΠΗΠ, ενώ για μεγαλύτερους χρόνους επεξεργασίας μειώθηκε σημαντικά. Αυτός ο κρίσιμος χρόνος επεξεργασίας μειώνεται με την αύξηση της έντασης του ηλεκτρικού πεδίου. Μια μέγιστη απενεργοποίηση 98% της PME από χυμό τομάτας παρατηρήθηκε στα 12,5 kV/cm για 6 ms (Σχήμα 6.7). Παρόμοια συμπεριφορά, παρατηρήθηκε και με την εναπομένουσα δραστηριότητα της PG σε όλες τις μελετηθείσες συνθήκες με επεξεργασία με ΠΗΠ. Μια μείωση 80% της δραστηριότητας της PG παρατηρήθηκε όταν χυμός τομάτας εκτέθηκε σε ΠΗΠ σε 12,5 kV/cm για

4,5 ms. Η ίδια απενεργοποίηση της PG παρατηρήθηκε όταν χυμός τομάτας εκτέθηκε σε χαμηλότερες εντάσεις ηλεκτρικού πεδίου (5.5 kV/cm), αλλά με μεγαλύτερο χρόνο επεξεργασίας (11 ms).



Σχήμα 6.7. Απενεργοποίηση της PG ποικιλίας *Alamanda* κατά την επεξεργασία με ΠΗΠ σε διάφορες τιμές έντασης ηλεκτρικού πεδίου (5,5 kV/cm (×), 8,0 kV/cm (●), 10,5 kV/cm (△), 12,5 kV/cm (■)). Οι γραμμές σφάλματος δείχνουν την τυπική απόκλιση. Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή της Εξ. 35 στα πειραματικά δεδομένα.

Η συμπεριφορά των ενζύμων στην έκθεση τους στο ηλεκτρικό πεδίο μένει ακόμα σχετικά ανεξήγητη (Elez-Martinez et al., 2006). Όπως είναι ήδη γνωστό από τη βιβλιογραφία, τα ένζυμα είναι μόρια πρωτεϊνικής φύσης τα οποία αποτελούνται από αμινοξέα που δημιουργούν εξαιρετικά ασύμμετρες χωρικές κατανομές φορτίου, δηλαδή έντονα πολικές και φορτισμένες περιοχές στη μοριακή δομή της πρωτεΐνης (Laberge, 1998). Η συμπεριφορά των ενζύμων κάτω από έντονα ηλεκτρικά πεδία δεν είναι πλήρως αποσαφηνισμένη αλλά πιστεύεται ότι η εφαρμογή προκαλεί αναδίπλωση και μετουσίωση της πρωτεΐνης, διασπώντας ομοιοπολικούς δεσμούς που συγκρατούν τη δευτεροταγή δομή τους, και προκαλώντας αντιδράσεις οξειδωσης, όπως αυτές μεταξύ των ομάδων σουλφιδίων και των δισουλφιδικών δεσμών, λόγω του διαχωρισμού του φορτίου (Barsotti and Cheftel, 1999). Επιπλέον πολλές φορτισμένες ομάδες και δομές είναι ιδιαίτερα ευαίσθητες σε διάφορων ειδών διαταραχές, όπως αυτή της δημιουργίας ηλεκτρικού πεδίου, προκαλώντας τροποποιήσεις στη δομή και κατά συνέπεια στην απώλεια ενεργότητας του ενζύμου.

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η επεξεργασία με ΠΗΠ σε χυμό τομάτας επηρεάζει σημαντικά τη δραστηριότητα των δύο ενζύμων PME και PG από τομάτα, εφόσον έχουν βρεθεί αντικρουόμενα αποτελέσματα για την ανθεκτικότητα των δυο ενζύμων στην εφαρμογή του ηλεκτρικού πεδίου στη βιβλιογραφία. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν έρχονται σε συμφωνία με τους Aguiló- Aguayo et al. (2009a) οι οποίοι μέτρησαν 10% απενεργοποίηση της PME και 45% της PG σε χυμό

τομάτας μετά από επεξεργασία σε ένταση του ηλεκτρικού πεδίου 35 kV/cm και χρόνο επεξεργασίας 7 μ s σε σύστημα συνεχούς ροής. Επιπλέον, οι Vervoort, et al. (2011) έδειξαν ότι εφαρμόζοντας ΠΗΠ στα 30 kV/cm, 4000 s, η απενεργοποίηση της PME δεν ξεπέρασε το 10%. Αντίθετα με τα προκύπτοντα αποτελέσματα, απενεργοποίηση της PME (87% της αρχικής δραστηριότητας) στην τομάτα παρατηρήθηκε από τους Espachs- Barroso et al. (2006), οι οποίοι εφάρμοσαν ΠΗΠ για συνολικό χρόνο επεξεργασίας 1600 μ s σε 16,8 kV/cm. Τέλος, έχει παρατηρηθεί ύστερα από επεξεργασία στα 24 kV/cm για 8 ms 93,8% απενεργοποίηση της PME τομάτας (Giner et al., 2000). Οι Elez-Martínez et al. (2007), μελέτησαν την απενεργοποίηση και των δύο ενζύμων από χυμό τομάτας και παρατήρησαν ότι σε συνθήκες με ΠΗΠ 35 kV/cm, 1500 μ s και συχνότητα 100 Hz επιτεύχθηκε 82% και 12% απενεργοποίηση της PME και της PG, αντίστοιχα.

Στα πειραματικά δεδομένα προσαρμόστηκε μαθηματικό κλασματικό μοντέλο πρώτης τάξης (Εξ. 35). Η επιλογή του μοντέλου αυτού, μπορεί να περιγράψει επαρκώς τη συμπεριφορά των δύο ενζύμων στην έκθεση τους σε ένα πεδίο υψηλής έντασης ηλεκτρικού πεδίου. Η ενεργότητα των δύο ενζύμων σε μικρής έντασης ηλεκτρικά πεδία έμεινε σχεδόν ανεπηρέαστη, ενώ σε μεγαλύτερης έντασης συνθήκες η απενεργοποίησή τους έγινε εντονότερη.

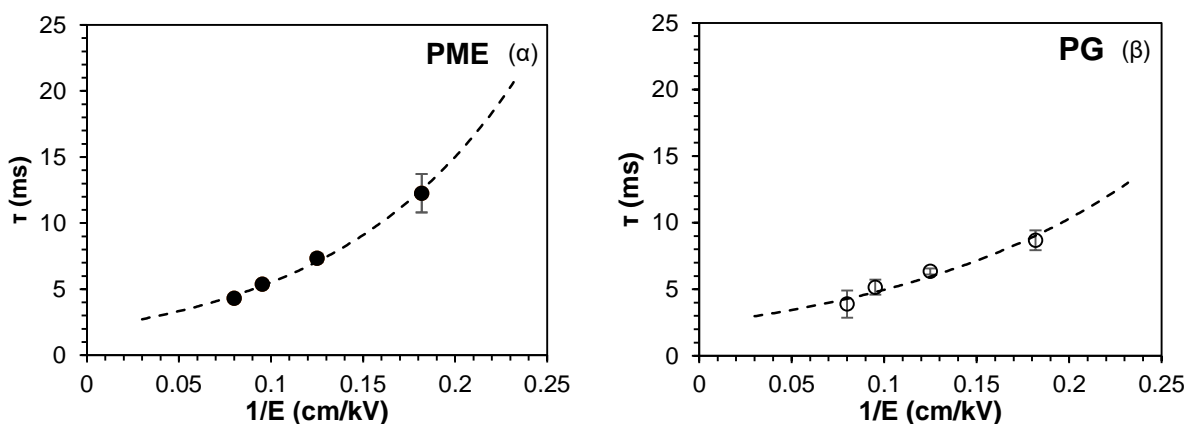
Πίνακας 6.9. Κινητικές παράμετροι απενεργοποίησης της PME και PG κατά τη θερμική επεξεργασία χυμού τομάτας ποικιλίας *Alamanda* (Εξ.35)

| Ένταση ηλεκτρικού πεδίου (kV/cm) | PME | | PG | |
|----------------------------------|-------------------------------|-----------------|------------------------------|-----------------|
| | τ (ms) | a | τ (ms) | a |
| 12.5 | 4.33 \pm 0,12 ^a | 0.83 \pm 0,07 | 3.89 \pm 1,03 ^a | 0.69 \pm 0,07 |
| 10.5 | 5.38 \pm 0,25 ^a | 0.45 \pm 0,01 | 5.16 \pm 0,56 ^b | 0.80 \pm 0,01 |
| 8.0 | 7.35 \pm 0,33 ^b | 0.61 \pm 0,06 | 6.34 \pm 0,22 ^b | 0.55 \pm 0,02 |
| 5.5 | 12.27 \pm 1,45 ^c | 1.31 \pm 0,05 | 8.68 \pm 0,74 ^c | 1.23 \pm 0,01 |

\pm αντιπροσωπεύει την τυπική απόκλιση της μη γραμμικής παλινδρόμησης. Διαφορετικά γράμματα στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) σε μια στήλη (διαφορές μεταξύ έντασης ηλεκτρικού πεδίου).

Επιπλέον, από το μοντέλο αυτό μπορεί να υπολογιστεί για το κάθε ένζυμο ο χρόνος ημικαταστροφής τ , ο οποίος εκφράζει τον απαιτούμενο χρόνο επεξεργασίας με ΠΗΠ ώστε να επιτευχθεί 50% απενεργοποίηση του κάθε ενζύμου για κάθε ένταση ηλεκτρικού πεδίου. Η παράμετρος αυτή αντικατοπτρίζει τη συμπεριφορά και την ευαισθησία του κάθε ενζύμου στην επεξεργασία με ΠΗΠ. Στον παρακάτω πίνακα 6.9 παρουσιάζονται οι παράμετροι του

κλασματικού μοντέλου Εξ. 35. Παρατηρούμε ότι ο χαρακτηριστικός χρόνος ημικαταστροφής τ μειώνεται όσο η ένταση ηλεκτρικού πεδίου αυξάνεται και για τα δύο ένζυμα.



Σχήμα 6.8. Εξάρτηση του χαρακτηριστικού χρόνου ημικαταστροφής τ (ms) ως προς το αντίστροφο της έντασης ηλεκτρικού πεδίου (cm/kV) για την (α) PME και για την (β) PG. Οι γραμμές σφάλματος δείχνουν την τυπική απόκλιση. Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή του μοντέλου πρώτης τάξης στα πειραματικά δεδομένα.

Είναι φανερό, ότι η PG είναι πιο ευαίσθητη από την PME στην εφαρμογή ηλεκτρικού πεδίου καθώς σε όλα τα μελετηθέντα ηλεκτρικά πεδία ο χαρακτηριστικός χρόνος ημικαταστροφής τ ήταν μικρότερος. Στα 8 kV/cm, ο χρόνος ημικαταστροφής τ για την PME υπολογίστηκε 7,35 ms ενώ για την PG 6,34 ms, δηλαδή 13% χαμηλότερος. Οι χρόνοι ημικαταστροφής τ των δυο ενζύμων συσχετίστηκαν με την ένταση ηλεκτρικού πεδίου με ένα μοντέλο πρώτης τάξης. Για την PME και την PG οι εξισώσεις ήταν: $\tau_{PME}=2.02e^{10.025 \cdot 1/E}$, $\tau_{PG}=2.39e^{7.304 \cdot 1/E}$, αντίστοιχα (Σχήμα 6.8).

Η απενεργοποίηση και των δυο ενζύμων περιγράφεται ικανοποιητικά και από το κινητικό μοντέλο Fermi σε όλες τις συνθήκες επεξεργασίας με ΠΗΠ. Το μοντέλο του Fermi, είναι ένα συνδυαστικό μοντέλο που περιγράφει την εξάρτηση της ενεργότητας του κάθε ενζύμου στη μεταβολή της έντασης του ηλεκτρικού πεδίου με τον χρόνο επεξεργασίας με ΠΗΠ.

Οι εναπομένουσες δραστηκότητες των PME και PG ως συνάρτηση της έντασης ηλεκτρικού πεδίου των ΠΗΠ και διαφορετικών χρόνων επεξεργασίας τοποθετήθηκαν στο μοντέλο του Fermi (Εξ. 37). Οι παράμετροι της Εξ. 37 εκτιμήθηκαν χρησιμοποιώντας ανάλυση μη γραμμικής παλινδρόμησης και παρατίθενται στον Πίνακα 6.10. Οι πειραματικές τιμές της εναπομένουσας δραστηκότητας των PME και PG συγκρίθηκαν με τις αντίστοιχες τιμές που προβλέπονται από το κινητικό μοντέλο του Fermi (Εξ. 37). Τιμές που προβλέπονται από το μοντέλο του Fermi συσχετίστηκαν πολύ καλά με τις πειραματικές τιμές ($R^2=0.92$, $R^2=0.90$). Η παράμετρος E_{c0} που υπολογίστηκε για κάθε ένζυμο και εκφράζει την ένταση του ηλεκτρικού πεδίου όπου η εναπομένουσα δραστηκότητα του κάθε ενζύμου ήταν 50%. Η PG εμφάνισε μεγαλύτερη τιμή αυτής

της παραμέτρου ίση με 23,98 kV/cm σε σχέση με την PME που η αντίστοιχη τιμή ήταν ίση με 19,61 kV/cm, επιβεβαιώνοντας ότι η επεξεργασία με ΠΗΠ είναι πιο αποτελεσματική και αδρανοποιεί σε μεγαλύτερο ποσοστό την PG σε σχέση με την PME στις ίδιες συνθήκες με ΠΗΠ.

Πίνακας 6.10. Προσδιορισμός των παραμέτρων της Εξ. 37 για την απενεργοποίηση της PG ποικιλίας *Alamanda* σε συνθήκες ηλεκτρικών πεδίων έντασης από 5,5-12,5kV/cm.

| | E_{c_0} | a_{c_0} | k_1 | k_2 |
|------------|----------------|---------------|---------------|---------------|
| PME | 19.613 ± 0.785 | 0.976 ± 0.068 | 0.113 ± 0.006 | 0.027 ± 0.007 |
| PG | 23.986 ± 2.355 | 1.223 ± 0.083 | 0.170 ± 0.019 | 0.002 ± 0.001 |

± αντιπροσωπεύει την τυπική απόκλιση της μη γραμμικής ανάλυσης παλινδρόμησης.

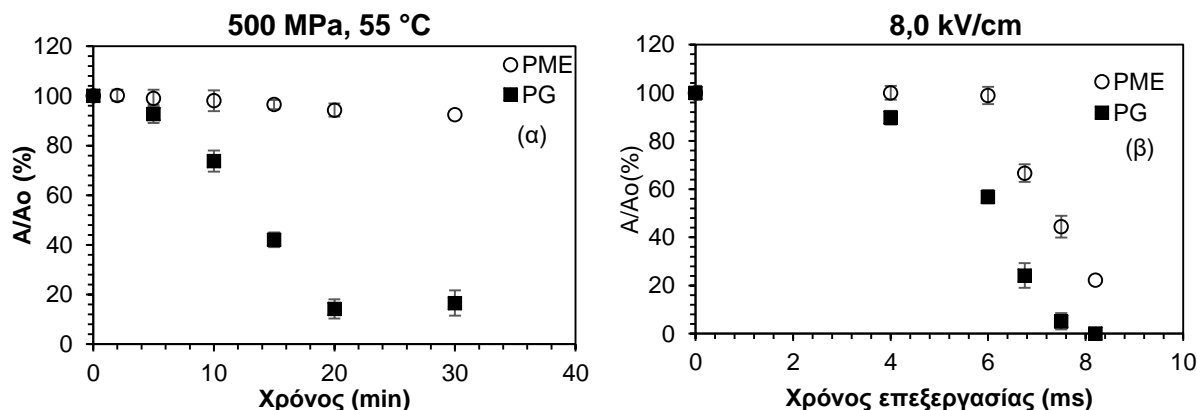
Επιπλέον, η παράμετρος k_i είναι η σταθερά του ρυθμού που δείχνει τη σχέση μεταξύ της έντασης του ηλεκτρικού πεδίου και του χρόνου επεξεργασίας με ΠΗΠ. Η τιμή αυτής της παραμέτρου για την PG υπολογίστηκε ίση με 0,170 ms⁻¹ και για την PME ίση με 0,113 ms⁻¹, περίπου 50% μεγαλύτερη γεγονός που υποδεικνύει ότι η PG είναι πιο ευαίσθητη στην εφαρμογή των ΠΗΠ σε σχέση με την PME, και ότι η PG απενεργοποιείται με σημαντικά μεγαλύτερο ρυθμό σε σχέση με την PME με την εφαρμογή των ίδιων συνθηκών με ΠΗΠ. Οι Peleg et al. (1995) ανέφεραν ότι το κινητικό μοντέλο του Fermi περιγράφει επιτυχώς τις καμπύλες επιβίωσης των μικροοργανισμών που εκτίθενται σε ΠΗΠ. Οι Giner et al. (2000) εφάρμοσαν το κινητικό μοντέλο του Fermi στην απενεργοποίηση καθαρισμένης PME τομάτας με ΠΗΠ και έδειξε ότι είναι εφικτό να χρησιμοποιηθεί το μοντέλο του Fermi για να προβλεφθεί η απενεργοποίηση των ενζύμων. Οι Min et al. (2003) χρησιμοποίησαν το μοντέλο του Fermi για να περιγράψουν την απενεργοποίηση με ΠΗΠ της λιποξυγενάσης από χυμό τομάτας. Επιπλέον το μοντέλο του Fermi έχει επίσης χρησιμοποιηθεί για την απενεργοποίηση της PME με την εφαρμογή των ΠΗΠ και μάλιστα η παράμετρος E_{c_0} υπολογίστηκε ίση με 25 kV/cm (Giner et al., 2000). Ωστόσο, η μοντελοποίηση της απενεργοποίησης της PG από ΠΗΠ σε χυμό τομάτας δεν έχει μοντελοποιηθεί ποτέ με το μοντέλο του Fermi. Η ανάλυση παλινδρόμησης της μελέτης αυτής δείχνει ότι το κινητικό μοντέλο του Fermi περιέγραψε επαρκώς την απενεργοποίηση της PME και PG χυμού τομάτας με εφαρμογή των ΠΗΠ.

6.1.4. Επιλογή βέλτιστων συνθηκών ΥΠ και ΠΗΠ για την παραγωγή συμπυκνωμένου χυμού τομάτας και κινητική μελέτη βέλτιστης υφής (ιξώδους) και ολικών διαλυτών στερεών σε βέλτιστες συνθήκες ΥΠ και ΠΗΠ.

Στόχος αυτής της ενότητας ήταν να επιλεγούν οι βέλτιστες συνθήκες επεξεργασίας για την ΥΠ και τα ΠΗΠ με βάση τις ενεργότητες των ενζύμων PME και PG, με στόχο τη δημιουργία συμπυκνωμένου χυμού τομάτας απλής συμπύκνωσης με βελτιωμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά. Η

«περίεργη» συμπεριφορά των ενζύμων PME και PG της τομάτας, δηλαδή, η πλήρης αντιστροφή της ανθεκτικότητάς των δυο ενζύμων στη θερμοκρασία με την εφαρμογή της ΥΠ και στην ένταση ηλεκτρικού πεδίου με την εφαρμογή των ΠΗΠ, προσφέρει εξαιρετικά ενδιαφέρουσες εφαρμογές στον χυμό τομάτας κατά την επεξεργασία της συμπύκνωσης. Με κατάλληλους συνδυασμούς πίεσης και θερμοκρασίας στην ΥΠ και έντασης ηλεκτρικού πεδίου στα ΠΗΠ, είναι δυνατόν να επιτευχθεί επιλεκτική απενεργοποίηση της PME ή της PG. Για παράδειγμα, αυτό θα μπορούσε να ενισχύσει την τελική υφή των προϊόντων τομάτας μετά τη συμπύκνωση. Σε χυμούς τομάτας, όταν αυτά τα δύο ένζυμα δρουν συνεργιστικά, οδηγούν στον αποπολυμερισμό αλυσίδων της πηκτίνης του κυτταρικού τοιχώματος προκαλώντας δραστική πτώση του ιξώδους (Fachin et al., 2003). Ωστόσο, όταν η PME ενεργεί μόνη της, τα ελεύθερα τμήματα της καρβοξυλομάδας στις πλευρικές αλυσίδες της πηκτίνης αλληλοεπιδρούν με τα δισθενή κατιόντα, όπως Ca^{2+} και σχηματίζεται ένα συνδεδεμένο δίκτυο που οδηγεί σε αύξηση του ιξώδους του χυμού τομάτας (Crelie, Robert, Claude & Juillerat, 2001; Errington, Tucker, & Mitchell, 1998). Επομένως η επιλογή των κατάλληλων συνθηκών επεξεργασίας με ΥΠ και ΠΗΠ στοχεύει στην επιλεκτική απενεργοποίηση της PG και ταυτόχρονη διατήρηση της PME.

Με βάση τα βιβλιογραφικά δεδομένα (Boulekou et al., 2011), αλλά και το κινητικό πείραμα απενεργοποίησης ενζύμων που πραγματοποιήθηκε διαλέχθηκαν οι βέλτιστες συνθήκες επεξεργασίας με ΥΠ και ΠΗΠ.

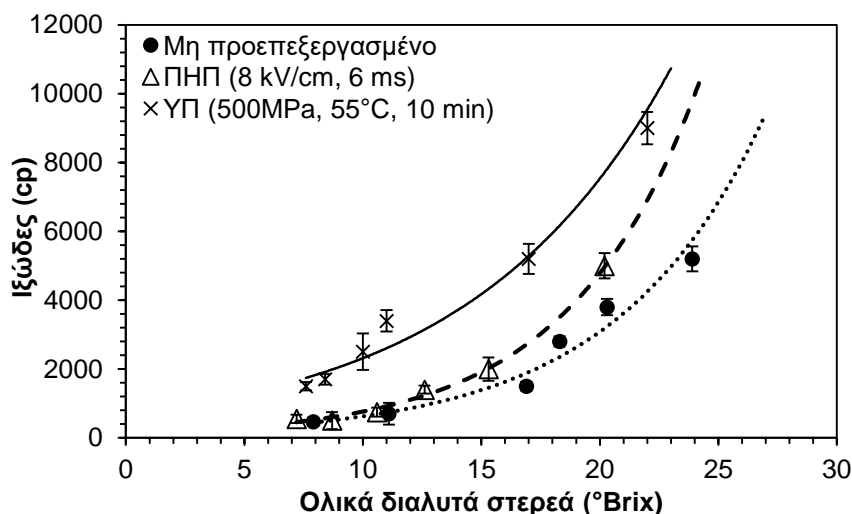


Σχήμα 6.9. Απενεργοποίηση της (α) PME (○) και της (β) PG (■) ποικιλίας *Alamanda* κατά την επεξεργασία με ΥΠ στα 500 MPa, 55°C και κατά την επεξεργασία με ΠΗΠ στα 8 kV/cm. Οι γραμμές σφάλματος δείχνουν την τυπική απόκλιση.

Οι Boulekou et al. (2011), μελέτησαν την επίδραση της ΥΠ στη δραστικότητα των δύο ενζύμων και βρήκαν ότι σε πιέσεις μεγαλύτερες από 400 MPa στους 50 °C, η PG απενεργοποιείται πλήρως, ενώ η δραστικότητα της PME παρέμεινε ανεπηρέαστη. Στην παρούσα διατριβή, για την ΥΠ η βέλτιστη συνθήκη ήταν τα 500 MPa, 55 °C και 10 min και για τα ΠΗΠ τα 8 kV/cm και 6 ms.

Στις βέλτιστες συνθήκες με ΥΠ παρατηρήθηκε πλήρης αδρανοποίηση της ΡG ενώ η εναπομένουσα δραστηριότητα της ΡΜΕ ήταν 93%. Στις βέλτιστες συνθήκες με ΠΗΠ η δραστηριότητα της ΡΜΕ δεν επηρεάστηκε και η απενεργοποίηση της ΡG που επιτεύχθηκε ήταν 55% (Σχήμα 6.9). Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε κινητικό πείραμα συμπύκνωσης χυμού τομάτας. Μη προεπεξεργασμένος, προεπεξεργασμένος με ΥΠ και ΠΗΠ στις βέλτιστες συνθήκες χυμός τομάτας ποικιλίας *Alamanda* συμπυκνώθηκε υπό κενό (~0.1 bar) στους 60 °C.

Κατά τη διάρκεια της συμπύκνωσης προσδιορίστηκαν το εναπομένον νερό του χυμού, τα ολικά διαλυτά στερεά και το ιξώδες του χυμού τομάτας. Στόχος της συμπύκνωσης ήταν η δημιουργία ενός τοματοχυμού (απλής συμπύκνωσης) με επιθυμητή υφή (ιξώδες). Η τελικό ιξώδες για τα συμπυκνωμένα προϊόντα τομάτας *Alamanda* ήταν τα 5000 cp, στους 25 °C (τιμή που αντιστοιχεί σε προϊόντα απλής συμπύκνωσης). Αυτό το ιξώδες, που αντιστοιχεί σε ολικά διαλυτά στερεά >25°Brix, διαλέχθηκε προκειμένου να συγκριθούν οι δύο προεπεξεργασίες με το μη προεπεξεργασμένο ως προς την απόδοση της συμπύκνωσης, παράγοντας προϊόντα με ίδια ιξωδοελαστικά χαρακτηριστικά, και ως προς την ποιότητα των τελικών συμπυκνωμένων προϊόντων.

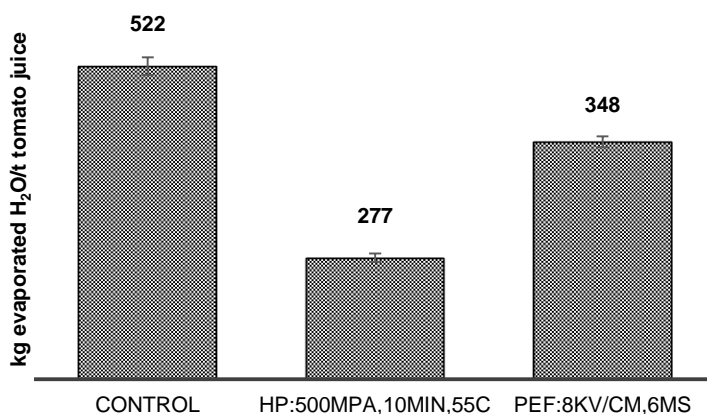


Σχήμα 6.10. Εξάρτηση του ιξώδους από τη συγκέντρωση των ολικών στερεών (°Brix) προϊόντων συμπυκνωμένου χυμού τομάτας ποικιλίας *Alamanda* για τα ανεπεξεργαστα δείγματα (●), τα επεξεργασμένα με ΥΠ (500 MPa, 55°C, 10 min) (×) και ΠΗΠ (8 kV/cm, 6ms)(Δ) δείγματα. Οι γραμμές σφάλματος δείχνουν την τυπική απόκλιση.

Στο Σχήμα 6.10 παρουσιάζεται το ιξώδες του συμπυκνώματος τομάτας σε συνάρτηση με τα ολικά διαλυτά στερεά κατά τη διάρκεια της συμπύκνωσης για το μη προεπεξεργασμένο δείγμα, και το προεπεξεργασμένο με ΠΗΠ και ΥΠ δείγμα. Από το Σχήμα 6.10 παρατηρείται ότι συμπυκνώματα τομάτας ποικιλίας *Alamanda* ίδιων ιξωδοελαστικών χαρακτηριστικών (ιξώδες) που έχουν επεξεργαστεί με ΥΠ και ΠΗΠ έχουν πολύ χαμηλότερα ολικά διαλυτά στερεά (°Brix) σε σχέση με

το μη προεπεξεργασμένο δείγμα με το ίδιο ιξώδες. Συγκεκριμένα για τα 5000 cp, στους 25°C έχουν 23,9, 20,2 και 17,0 °Brix το μη προεπεξεργασμένο, το επεξεργασμένο με ΠΗΠ (8kV/cm, 6ms) και το επεξεργασμένο με ΥΠ (500 MPa στους 55 °C για 10 min) αντίστοιχα.

Τα τελικά συμπυκνωμένα προϊόντα τομάτας με το ίδιο ιξώδες, που προέκυψαν από χυμό τομάτας προεπεξεργασμένο με ΥΠ και ΠΗΠ, είχαν χαμηλότερα ολικά διαλυτά στερεά σε σύγκριση με τα μη προεπεξεργασμένα δείγματα απαιτώντας έτσι εξάτμιση μικρότερης ποσότητας νερού κατά τη συμπύκνωση και χαμηλότερο χρόνο συμπύκνωσης. Η απόδοση της συμπύκνωσης υπολογίστηκε (Εξ. 15) με βάση τα αρχικά και τα τελικά ολικά διαλυτά στερεά του κάθε δείγματος ώστε να φτάσουν να έχουν ιξώδες ίσο με 5000 cp.



Σχήμα 6.11. Απόδοση συμπύκνωσης χυμού τομάτας ποικιλίας *Alamanda* για τα ανεπεξεργαστα δείγματα, τα επεξεργασμένα με ΥΠ (500 MPa, 55°C, 10 min) και ΠΗΠ (8 kV/cm, 6ms) δείγματα. Οι γραμμές σφάλματος δείχνουν την τυπική απόκλιση.

Πίνακας 6.11 Ποιοτικά χαρακτηριστικά τελικού συμπυκνωμένου προϊόντος τομάτας (ποικιλίας *Alamanda*) για τα ανεπεξεργαστα δείγματα, τα επεξεργασμένα με ΥΠ (500 MPa, 55°C, 10 min) και ΠΗΠ (8 kV/cm, 6ms) δείγματα.

| Ποιοτικά χαρακτηριστικά τελικού προϊόντος τομάτας (ποικιλίας <i>Alamanda</i>) | | | | | |
|--|------|------|-----------------------------|------|---------------------------|
| Δείγματα | pH | Brix | Ιξώδες (25°C) (cP @ 50 rpm) | a/b | Λυκοπένιο (mg/100 g υ.β.) |
| Μη προεπεξεργασμένο | 4,05 | 23,9 | 5000 | 1,63 | 62,31 |
| Επεξεργασμένο με ΠΗΠ στα 8 kV/cm και 6 ms | 3,93 | 20,2 | 5000 | 1,45 | 72,53 |
| Επεξεργασμένο με ΥΠ στα 500 MPa στους 55 °C για 10 min | 4,01 | 17,0 | 5000 | 1,50 | 65,04 |

Η υψηλότερη απόδοση που επιτεύχθηκε ήταν 41,0% για τα προεπεξεργασμένα με ΥΠ δείγματα. Τα δείγματα που προεπεξεργάστηκαν με ΠΗΠ πέτυχαν 34,6% απόδοση και 30,4% απόδοση για

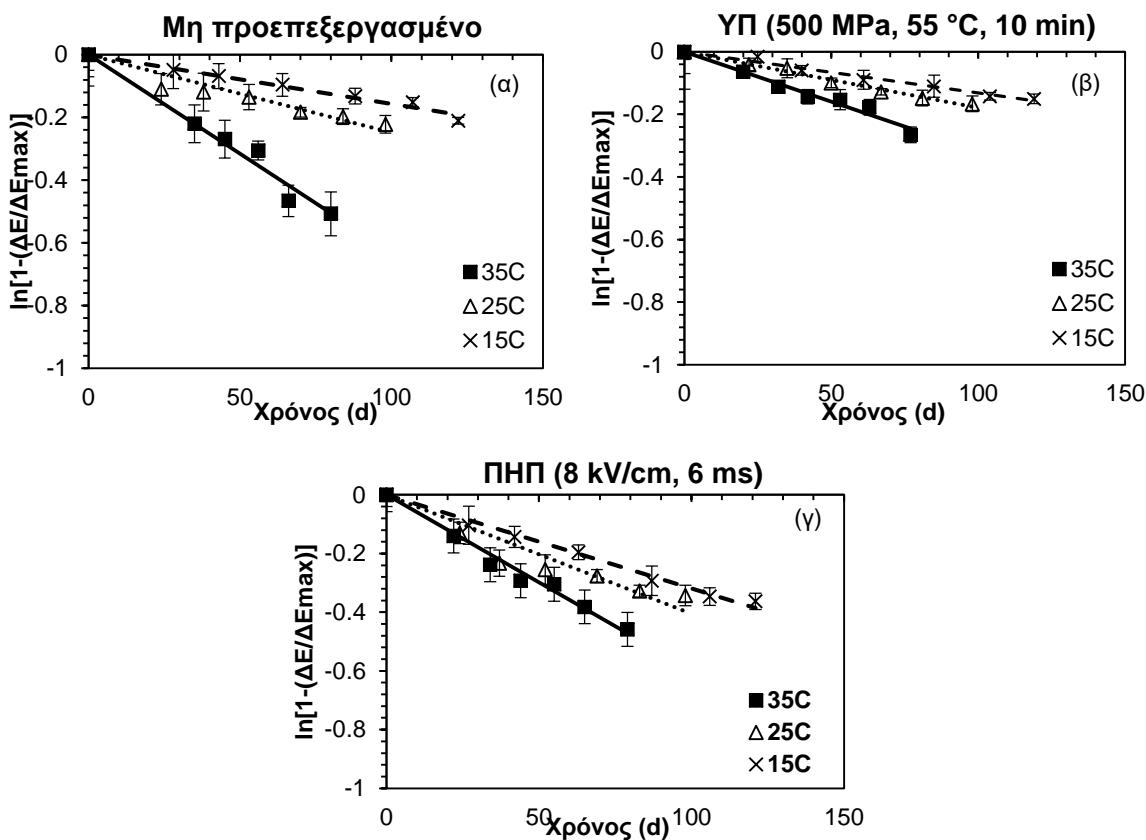
τα μη προεπεξεργασμένο δείγματα τομάτας ποικιλίας *Alamanda* (Σχήμα 6.11). Το πλεονέκτημα της επεξεργασίας με ΥΠ κατά τη συμπύκνωση φάνηκε να είναι μεγαλύτερο από την επεξεργασία με ΠΗΠ. Υπολογίστηκε ότι για να πετύχουμε συμπυκνώματα τομάτας με ίδιο ιξώδες (5000 cp στους 25°C) από έναν τόνο χυμό τομάτας, θα πρέπει να εξατμιστούν 245 και 174 kg νερού λιγότερα σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα, για να προκύψουν τα ΥΠ και ΠΗΠ απλής συμπύκνωσης προϊόντα τομάτας, αντίστοιχα. Στον παρακάτω Πίνακα 6.11, παρουσιάζονται τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των συμπυκνωμάτων που προέκυψαν σε κάθε περίπτωση.

6.1.5. Επιταχυνόμενο πείραμα διατηρησιμότητας σε συμπυκνωμένα προϊόντα τομάτας ποικιλίας *Alamanda*

Τέλος, πραγματοποιήθηκαν πειράματα που αφορούν τον προσδιορισμό του χρόνου ζωής των συμπυκνωμένων προϊόντων τομάτας ποικιλίας *Alamanda* με βάση τα ποιοτικά χαρακτηριστικά και συγκεκριμένα τη μεταβολή του χρώματος με νέες τεχνολογίες των ΥΠ (500 MPa, 55°C, 10 min) και ΠΗΠ (8 kV/cm, 6 ms) στις βέλτιστες συνθήκες. Με βάση το ιξώδες (που αντιστοιχεί σε συγκεκριμένη τιμή ολικών διαλυτών στερεών), επιλέχθηκε για την κάθε ποικιλία το τελικό ιξώδες, ώστε να δημιουργηθούν προϊόντα τομάτας απλής συμπύκνωσης (5000 cp, στους 25 °C). Όλα τα δείγματα παστεριώθηκαν θερμικά (85 °C για 20 min) και αποθηκεύτηκαν σε γυάλινους περιέκτες. Τα δείγματα τομάτας που ήταν προεπεξεργασμένα με νέες τεχνολογίες στις βέλτιστες συνθήκες καθώς και τα συμβατικά αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασίες 15, 25 και 35 °C και ανά τακτά χρονικά διαστήματα γινόταν δειγματοληψία για τον έλεγχο των τιμών των ποιοτικών δεικτών τους, όπως είναι το χρώμα, το pH, καθώς και οι κυρίαρχοι αλλοιογόνοι μικροοργανισμοί.

Η ολική μικροβιακή χλωρίδα καθ' όλη τη διάρκεια της αποθήκευσης παρέμεινε κάτω του ορίου ανίχνευσης (<2 logCFU/g) και για τα τρία δείγματα. Στο Σχήμα 6.12 που ακολουθεί δίνονται οι καμπύλες της μεταβολής του χρώματος για όλα τα δείγματα τομάτας τύπου *Alamanda* που έχουν παστεριωθεί θερμικά, με προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στην Εξ. 16 για τις τρεις θερμοκρασίες αποθήκευσης για τα ανεπεξέργαστα, τα προεπεξεργασμένα με ΥΠ και ΠΗΠ δείγματα. Είναι φανερό ότι το χρώμα των δειγμάτων τομάτας τύπου *Alamanda* που έχουν υποστεί προεπεξεργασία με ΥΠ (500 MPa, 55 °C, 10 min) παρουσιάζουν τις μικρότερες μεταβολές, ενώ τα δείγματα τομάτας που είναι ανεπεξέργαστα υφίστανται τις μεγαλύτερες αλλαγές του αρχικού τους χρώματος, που είναι τόσο μεγαλύτερες όσο αυξάνεται ο χρόνος και η θερμοκρασία αποθήκευσής τους. Τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ (8 kV/cm, 6 ms) δείγματα υφίστανται και αυτά σημαντικές αλλαγές του αρχικού τους χρώματος, λιγότερες όμως από τα συμβατικά παστεριωμένα. Επιπλέον, η θερμοκρασία αποθήκευσης επηρεάζει τον ρυθμό με τον οποίο πραγματοποιούνται οι αλλαγές αυτές. Όσο μικρότερη είναι η θερμοκρασία αποθήκευσης,

η σταθερά του ρυθμού μεταβολής του χρώματος μειώνεται. Παρακάτω παρουσιάζονται οι σταθερές του ρυθμού μεταβολής της χρώματος των συμπυκνωμένων προϊόντων τομάτας σε όλες τις θερμοκρασίες αποθήκευσης (Πίνακας 6.12).



Σχήμα 6.12. Η συνολική μεταβολή χρώματος (ΔE) των συμβατικά θερμικά παστεριωμένων δειγμάτων χωρίς προεπεξεργασία, προεπεξεργασμένων με ΥΠ και προεπεξεργασμένων με ΠΗΠ δειγμάτων συμπυκνωμένου χυμού τομάτας τύπου *Alamanda* που έχουν παστεριωθεί θερμικά με τον χρόνο αποθήκευσης, σε θερμοκρασίες αποθήκευσης (α) 15 (×), (β) 25 (Δ) και (γ) 35 (■) ° C. Οι γραμμές σφάλματος δείχνουν την τυπική απόκλιση. Οι γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή της Εξ.16 στα πειραματικά δεδομένα.

Η εξάρτηση της σταθεράς του ρυθμού μεταβολής χρώματος της πάστας τομάτας τύπου *Alamanda* από τη θερμοκρασία εκφράστηκε από την εξίσωση Arrhenius. Οι ενέργειες ενεργοποίησης, E_a , υπολογίστηκαν ίσες με 50 kJ/mol, 33 kJ/mol και 23 kJ/mol για τα μη προεπεξεργασμένα, τα προεπεξεργασμένα με ΥΠ και προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ δείγματα τομάτας τύπου *Alamanda* που είχαν παστεριωθεί θερμικά, αντίστοιχα. Επίσης προσδιορίστηκαν οι σταθερές του ρυθμού μεταβολής οπτικής απόκλισης $k_{T,ref}$, σε θερμοκρασία αναφοράς 277K και προσδιορίστηκαν ίσες με 0,000638 d⁻¹ ($R^2=0,9531$), 0,000718 d⁻¹ ($R^2=0,9685$) και 0,00211d⁻¹ ($R^2=0,9660$), αντίστοιχα. Στη συνέχεια υπολογίστηκαν οι χρόνοι διατήρησης των δειγμάτων σε κάθε θερμοκρασία αποθήκευσης με βάση την ολική μεταβολή χρώματος ($\Delta E_{max}=20$), όπως προέκυψαν από τις σταθερές του ρυθμού μεταβολής χρώματος και παρουσιάζονται στον Πίνακα

6.13. Με βάση τα αποτελέσματα, καταλληλότερη προεπεξεργασία τομάτας θεωρήθηκε η ΥΠ συγκριτικά με τα μη προεπεξεργασμένα, καθώς σε όλες τις θερμοκρασίες ο χρόνος ζωής ήταν σημαντικά μεγαλύτερος. Η προεπεξεργασία με ΠΗΠ εμφάνισε μικρότερη αύξηση συγκριτικά με την ΥΠ. Ο χρόνος ζωής στους 25 °C υπολογίστηκε για τα δείγματα προεπεξεργασμένα με ΥΠ σε 393 d, σε σχέση με τα μη προεπεξεργασμένα δείγματα που είχαν 248 d.

Πίνακας 6.12. Κινητικές παράμετροι μεταβολής χρώματος (Εξ.16) κατά την αποθήκευση θερμικά παστεριωμένων προϊόντων συμπυκνωμένου χυμού τομάτας ποικιλίας *Alamanda* μη προεπεξεργασμένων, προεπεξεργασμένων με ΥΠ και ΠΗΠ δειγμάτων.

| T (°C) | Μη προεπεξεργασμένο | | ΠΗΠ | | ΥΠ | |
|--------|-----------------------------|----------------|-----------------------------|----------------|-----------------------------|----------------|
| | k (d ⁻¹) | R ² | k (d ⁻¹) | R ² | k (d ⁻¹) | R ² |
| 35 | 0,0063±0.0003 ^{1a} | 0,9677 | 0,0060±0.0001 ^{1a} | 0,9786 | 0,0032±0.0002 ^{2a} | 0,9677 |
| 25 | 0,0025±0.0006 ^{1b} | 0,8813 | 0,0040±0.0002 ^{2b} | 0,8530 | 0,0018±0.0003 ^{3b} | 0,9845 |
| 15 | 0,0016±0.0001 ^{1c} | 0,9758 | 0,0032±0.0001 ^{2c} | 0,9884 | 0,0013±0.0001 ^{3b} | 0,9749 |

± αντιπροσωπεύει την τυπική απόκλιση της μη γραμμικής παλινδρόμησης. Διαφορετικά γράμματα στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές (p<0.05) σε μια στήλη (διαφορές μεταξύ θερμοκρασίας αποθήκευσης). Διαφορετικά νούμερα στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές (p<0.05) σε μια γραμμή (διαφορές μεταξύ των προεπεξεργασιών).

Πίνακας 6.13. Χρόνος διατήρησης των προϊόντων συμπυκνωμένου χυμού τομάτας τύπου *Alamanda* (πρόβλεψη, με εφαρμογή του μοντέλου Arrhenius) μη προεπεξεργασμένων, προεπεξεργασμένων με ΥΠ και ΠΗΠ δειγμάτων.

| Χρόνος διατήρησης των δειγμάτων με βάση τη μεταβολή του χρώματος (d) | | | |
|--|---------------------|-----|-----|
| T (°C) | Μη προεπεξεργασμένο | ΥΠ | ΠΗΠ |
| 35 | 191 | 273 | 203 |
| 25 | 248 | 393 | 266 |
| 15 | 312 | 581 | 353 |

Τα δείγματα που προεπεξεργάστηκαν με ΠΗΠ είχαν χρόνο ζωής 266 d. Η επίδραση της κάθε προεπεξεργασίας στην ποιοτική υποβάθμιση του συμπυκνωμένου χυμού τομάτας ήταν συνεπώς θετική. Τελικά, συμπεραίνεται ότι οι δύο μη θερμικές διεργασίες που εξετάστηκαν, της ΥΠ και των ΠΗΠ, θα μπορούσαν δυνητικά να χρησιμοποιηθούν σαν εναλλακτικές προεπεξεργασίες της θερμής θραύσης κατά την παραγωγή απλής συμπύκνωσης προϊόντων τομάτας. Οι προεπεξεργασίες αυτές οδηγούν σε προϊόντα με βελτιωμένες αποδόσεις, ποιοτικά χαρακτηριστικά αλλά και χρόνο ζωής.

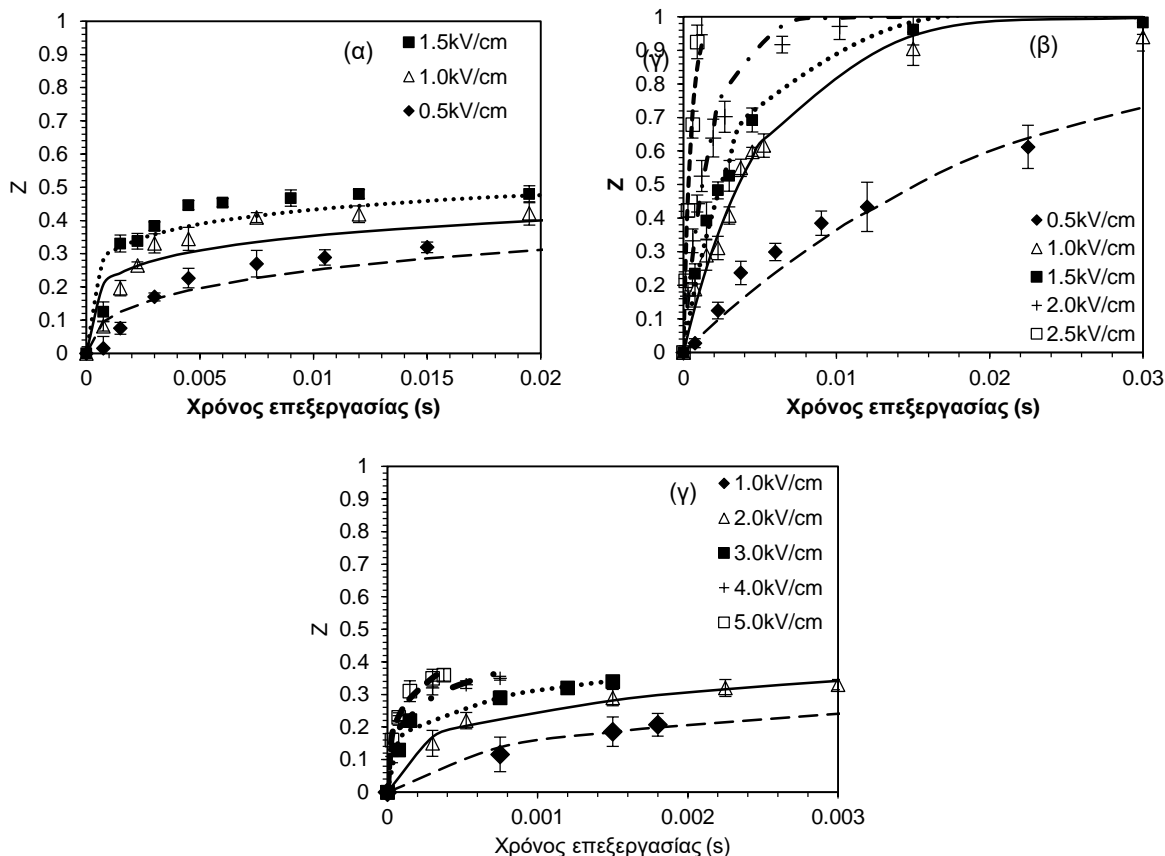
6.2. Δεύτερη θεματική ενότητα: «Εφαρμογή των ΠΗΠ ως προεπεξεργασία για την ενίσχυση της αποφλοίωσης ολόκληρων τοματών, για την παραγωγή χυμού τομάτας με αυξημένη απόδοση και βελτιωμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά και για τη βελτίωση της ανάκτησης ενδοκυτταρικών συστατικών από παραπροϊόντα τομάτας»

Σύμφωνα με τον πειραματικό σχεδιασμό του Α' μέρους της παρούσας διατριβής, η ποικιλία τομάτας η οποία μελετήθηκε ήταν το βιομηχανικό υβρίδιο τομάτας *Heinz 3402*. Για την ποικιλία αυτή, πραγματοποιήθηκαν πειράματα σε τρία διαφορετικά στάδια της επεξεργασίας βιομηχανικής τομάτας. Στο πρώτο στάδιο, μελετήθηκε η επίδραση των ΠΗΠ στην αποφλοίωση ολόκληρων τοματών με χαμηλή κατανάλωση ενέργειας και απώλειες σε προϊόν της διεργασίας συγκρίνοντας τη με τις συμβατικές μεθόδους αποφλοίωσης, με ατμό και ζεστό νερό. Στο δεύτερο στάδιο, διεξήχθη κινητικό πείραμα της εφαρμογής των ΠΗΠ ως προεπεξεργασία στα στάδια χυμοποίησης των τοματών με στόχο να αυξηθεί η απόδοση σε χυμό και να βελτιωθούν τα ποιοτικά του χαρακτηριστικά. Στο τρίτο στάδιο, πραγματοποιήθηκε εφαρμογή των ΠΗΠ στα παραπροϊόντα τομάτας που προκύπτουν από όλα τα στάδια παραγωγής, με στόχο να ενισχύσουν την εκχύλιση βιοδραστικών ουσιών, αυξάνοντας τις αποδόσεις ανάκτησης τους. Στη συνέχεια, παρατίθενται τα αποτελέσματα των παραπάνω αποτελεσμάτων με τον αντίστοιχο σχολιασμό τους.

6.2.1. Επιλογή βέλτιστων συνθηκών ΠΗΠ με βάση τον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z

Αρχικά, και πριν την εφαρμογή των ΠΗΠ στα διάφορα στάδια επεξεργασίας της βιομηχανικής τομάτας, πραγματοποιήθηκε η επιλογή των συνθηκών με ΠΗΠ για κάθε πείραμα ξεχωριστά, μέσω του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z. Ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης Z παίρνει τιμές από 0 έως 1 εκφράζοντας το ποσοστό των διερρηγμένων κυττάρων λόγω της επεξεργασίας με ΠΗΠ. Πραγματοποιήθηκε κινητικό πείραμα προσδιορισμού του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z σε διάφορες συνθήκες με ΠΗΠ για τις ολόκληρες τομάτες, τις τεμαχισμένες τομάτες, και τα παραπροϊόντα τομάτας. Παρακάτω παρουσιάζονται τα διαγράμματα του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z σε συνάρτηση με το χρόνο επεξεργασίας με ΠΗΠ για τους 3 διαφορετικούς ιστούς τομάτας που χρησιμοποιήθηκαν (ολόκληρες, τεμαχισμένες και παραπροϊόντα τομάτας) (Σχήμα 6.13). Ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης Z βρέθηκε να εξαρτάται τόσο από την ένταση του ηλεκτρικού πεδίου όσο και από τον χρόνο επεξεργασίας με ΠΗΠ. Η αύξηση της έντασης του ηλεκτρικού πεδίου και του χρόνου επεξεργασίας οδήγησε σε αύξηση της τιμής του Z. Στις ολόκληρες τομάτες η μέγιστη τιμή Z που επιτεύχθηκε ήταν περίπου 0,5 για τις τεμαχισμένες

τομάτες ήταν 1,0 και για τα παραπροϊόντα τομάτας ήταν ίσο με 0,3. Αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν ότι για τα παραπροϊόντα τομάτας απαιτούνται εντονότερες συνθήκες με ΠΗΠ ώστε να επιτευχθεί αποτελεσματική διάρρηξη των κυττάρων.



Σχήμα 6.13. Δείκτης κυτταρικής διάρρηξης Z για (α) ολόκληρες τομάτες, (β) ψιλοκομμένες τομάτες και (γ) παραπροϊόντα τομάτας. Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή των Εξ. 40 και Εξ. 41 στα πειραματικά δεδομένα. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση από πολλαπλές επεξεργασίες και μετρήσεις.

Ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης Z εξαρτάται από πολλές παραμέτρους. Αυτές οι σημαντικές διαφορές ως προς τη μέγιστη τιμή του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z μεταξύ των διαφορετικών ιστών τομάτας θα μπορούσαν ενδεχομένως να σχετίζονται με το μέγεθος των κυττάρων σε κάθε περίπτωση. Η κυτταρική ακτίνα είναι ανάλογη με τον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z , επηρεάζοντας κατά πολύ το ποσοστό διάρρηξης που θα επιτευχθεί στον κάθε ιστό τομάτας όταν εφαρμοσθεί σε αυτό ένα ηλεκτρικό πεδίο (Zimmermann, Pilwat, & Riemann 1974, Luengo et al., 2014). Επίσης, αυτές οι σημαντικές διαφορές θα μπορούσαν να αποδοθούν σε διαφορετικές ηλεκτρικές ιδιότητες των συστατικών του υλικού, πορώδες και δομή, που είναι πιθανοί παράγοντες που επηρεάζουν τις μέγιστες τιμές Z των διάφορων ιστών τομάτας (Vorobiev & Lebonka 2006). Επιπλέον, η επιδερμίδα του επικαρπίου της τομάτας (φλοιός) θα μπορούσε να

λειτουργήσει ως μονωτικό στρώμα, παρεμποδίζοντας τη διέλευση του ρεύματος μέσα στην τομάτα (Wongsa-Ngasri, 2004). Σε συμφωνία με τα αποτελέσματα αυτά, οι Luengo et al. (2012), εφάρμοσαν τα ΠΗΠ σε φλοιούς και προσδιόρισαν σε κάθε περίπτωση τον μέγιστο δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z , ο οποίος ήταν ίσος με 0,3.

Ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης Z χρησιμοποιήθηκε σε κάθε περίπτωση για να μπορούν να επιλεγθούν συνθήκες επεξεργασίας με ΠΗΠ ώστε να επιτευχθούν διάφορα ποσοστά ηλεκτροδιάτρησης, δηλαδή ένα εύρος τιμών Z για κάθε ιστό τομάτας (ολόκληρες, τεμαχισμένες και παραπροϊόντα). Ίδια τιμή Z μπορεί να επιτευχθεί με διάφορους συνδυασμούς έντασης ηλεκτρικού πεδίου και παλμών (χρόνος επεξεργασίας). Για παράδειγμα, για τις τεμαχισμένες τομάτες, σε ένταση ηλεκτρικού πεδίου 2.0 kV/cm και 20 παλμούς οδηγήσαν σε δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z ίσο με 0.5, ενώ σε ένταση ηλεκτρικού πεδίου 0.5 kV/cm, πάνω από 800 παλμοί απαιτήθηκαν για να επιτευχθεί η ίδια τιμή Z .

Τα πειραματικά δεδομένα του σχήματος 6.13 προσαρμόστηκαν στις Εξ. 40 για τις τεμαχισμένες τομάτες και Εξ. 41 για ολόκληρες τομάτες και παραπροϊόντα τομάτας. Οι εξισώσεις αυτές περιγράφουν την εξάρτηση του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z από τον χρόνο επεξεργασίας με ΠΗΠ. Οι παράμετροι του μοντέλου παρουσιάζονται στους Πίνακες 6.14, 6.15 και 6.16.

Η επίδραση της επεξεργασίας με ΠΗΠ αντικατοπτρίστηκε επίσης στη μείωση του χαρακτηριστικού χρόνου ημικαταστροφής τ . Με την αύξηση της έντασης του ηλεκτρικού πεδίου ο χρόνος ημικαταστροφής τ μειωνόταν σε κάθε περίπτωση ιστού τομάτας. Οι παράμετροι τ των Εξ. 40 και Εξ. 41 για τις ολόκληρες, τεμαχισμένες τομάτες και τα παραπροϊόντα τομάτας αντίστοιχα, εξαρτώνται από την ένταση του ηλεκτρικού πεδίου E και αυτή η εξάρτηση είναι εκθετική, όπως φαίνεται στο σχήμα 6.14 ($\tau=0.0187e^{0.9449 \cdot 1/E}$, $R^2=0.994$) και 5b ($\tau=0,0003e^{2.0149 \cdot 1/E}$, $R^2=0.961$), και 5γ ($\tau=0,0016e^{3.235 \cdot 1/E}$, $R^2=0.972$) για τις ολόκληρες, τις τεμαχισμένες και τα παραπροϊόντα τομάτας, αντίστοιχα. Η εκθετική εξάρτηση του χρόνου ημικαταστροφής από την ένταση ηλεκτρικού πεδίου έχει παρατηρηθεί στη βιβλιογραφία και σε άλλους φυτικούς ιστούς, όπως πατάτα, μήλο και καρότο (Lebonka et al., 2005).

Οι δείκτες κυτταρικής διάρρηξης Z κυμαίνονταν από 0 (ανεπεξεργαστο) έως 1 (πλήρως διερρηγμένο) και επιτεύχθηκαν χρησιμοποιώντας διαφορετικούς συνδυασμούς έντασης ηλεκτρικού πεδίου και αριθμού παλμών για κάθε ιστό τομάτας. Στους παρακάτω Πίνακες 6.17, 6.18 και 6.19 παρουσιάζονται οι συνθήκες με ΠΗΠ που χρησιμοποιήθηκαν σε κάθε περίπτωση και τον αντίστοιχο δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z που αντιστοιχεί για κάθε συνθήκη με ΠΗΠ.

Πίνακας 6.14. Χαρακτηριστικοί χρόνοι ημικαταστροφής τ (s) για διαφορετικές τιμές έντασης ηλεκτρικού πεδίου όπως υπολογίζεται από την Εξ. 40 για τις τεμαχισμένες τομάτες.

| Τεμαχισμένες τομάτες | | |
|----------------------|----------------------------|-------|
| E(kV/cm) | τ (s) | R^2 |
| 0.5 | 0.0153±0.0009 ¹ | 0.994 |
| 1.0 | 0.0036±0.0005 ² | 0.995 |
| 1.5 | 0.0025±0.0009 ² | 0.926 |
| 2.0 | 0.0012±0.0002 ³ | 0.956 |
| 2.5 | 0.0003±0.0003 ⁴ | 0.974 |

± αντιπροσωπεύει την τυπική απόκλιση της μη γραμμικής παλινδρόμησης όπως υπολογίστηκε από την Εξ. 40. Διαφορετικοί αριθμοί στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) σε μια γραμμή (διαφορές μεταξύ εντάσεων ηλεκτρικού πεδίου).

Πίνακας 6.15. Χαρακτηριστικοί χρόνοι ημικαταστροφής τ (s), και η σταθερά k του εκθέτη για διαφορετικές τιμές έντασης ηλεκτρικού πεδίου όπως υπολογίζεται από την Εξ. 41 για τις ολόκληρες τομάτες.

| Ολόκληρες τομάτες | | | |
|-------------------|----------------------------|-----------------------------|-------|
| E (kV/cm) | τ (s) | k | R^2 |
| 0.5 | 0.1157±0.0131 ¹ | -0.4476±0.0121 ¹ | 0.929 |
| 1.0 | 0.0829±0.0161 ² | -0.2851±0.0351 ² | 0.910 |
| 1.5 | 0.0287±0.0035 ³ | -0.2585±0.0611 ² | 0.986 |

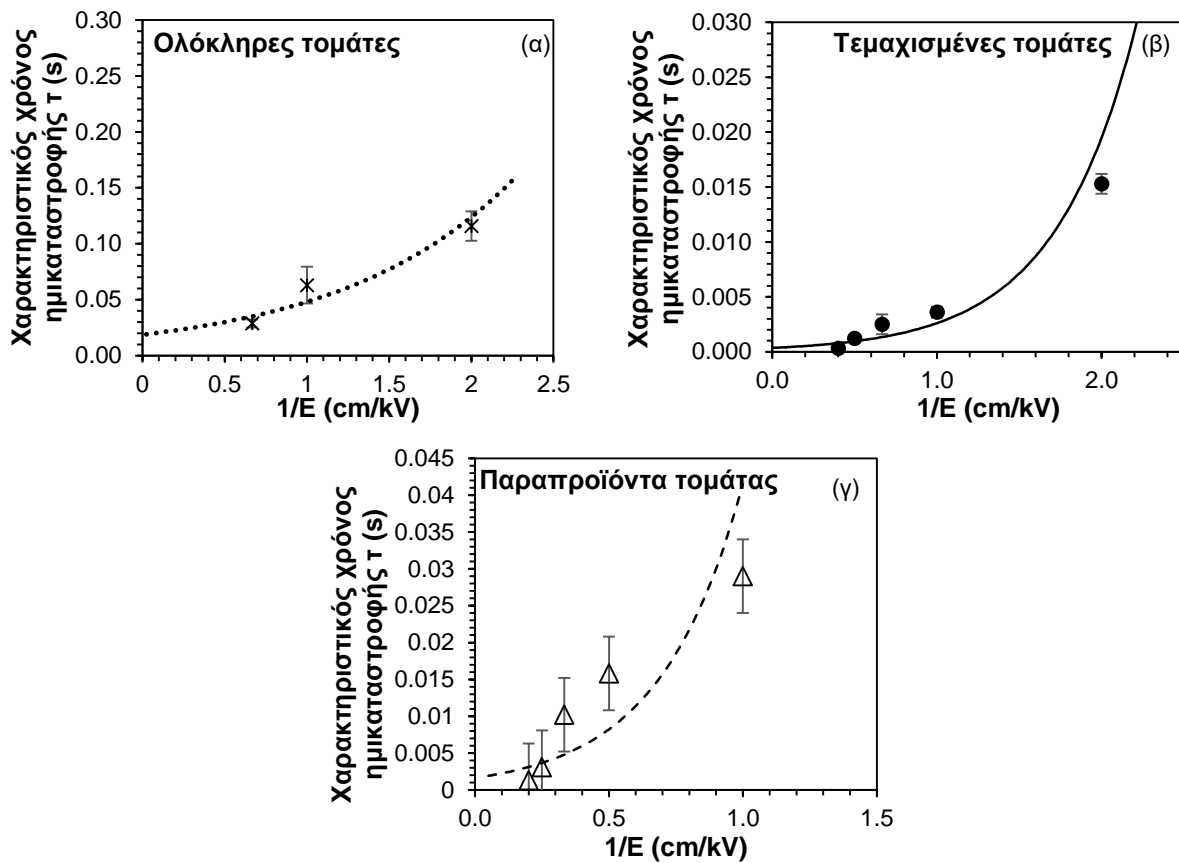
± αντιπροσωπεύει το τυπικό σφάλμα της μη γραμμικής παλινδρόμησης όπως υπολογίστηκε από την Εξ. 41. Διαφορετικοί αριθμοί στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) σε μια γραμμή (διαφορές μεταξύ εντάσεων ηλεκτρικού πεδίου).

Πίνακας 6.16. Χαρακτηριστικοί χρόνοι ημικαταστροφής τ (s) και η σταθερά k του εκθέτη για διαφορετικές τιμές έντασης ηλεκτρικού πεδίου όπως υπολογίζεται από την Εξ. 41 για τα παραπροϊόντα τομάτας.

| Παραπροϊόντα τομάτας | | | |
|----------------------|----------------------------|---------------------------|-------|
| E (kV/cm) | τ (s) | k | R^2 |
| 1.0 | 0.0290±0.0031 ¹ | -0.500±0.021 ¹ | 0.965 |
| 2.0 | 0.0158±0.0016 ² | -0.426±0.031 ¹ | 0.936 |
| 3.0 | 0.0102±0.0025 ³ | -0.343±0.052 ¹ | 0.935 |
| 4.0 | 0.0031±0.0015 ⁴ | -0.382±0.071 ¹ | 0.974 |
| 5.0 | 0.0013±0.0005 ⁴ | -0.419±0.071 ¹ | 0.994 |

± αντιπροσωπεύει το τυπικό σφάλμα της μη γραμμικής παλινδρόμησης όπως υπολογίστηκε από την Εξ. 41. Διαφορετικοί αριθμοί στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) σε μια γραμμή (διαφορές μεταξύ εντάσεων ηλεκτρικού πεδίου).

Με βάση τους υπολογισμούς του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z , επιλέχθηκαν οι κατάλληλες συνθήκες επεξεργασίας με ΠΗΠ για να μελετηθεί η επίδραση των διαφόρων ποσοστών ηλεκτροδιάτρησης των κυττάρων στην αποφλοιώση των τοματών, στην απόδοση σε χυμό τομάτας και στην εκχύλιση βιοδραστικών ενώσεων από παραπροϊόντα τομάτας.



Σχήμα 6.14. Εξάρτηση του χαρακτηριστικού χρόνου ημικαταστροφής τ (ms) ως προς την ένταση ηλεκτρικού πεδίου (kV/cm) για την (α) ολόκληρες τομάτες, (β) για τις τεμαχισμένες τομάτες και (γ) για τα παραπροϊόντα τομάτας. Οι γραμμές σφάλματος δείχνουν την τυπική απόκλιση. Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή του μοντέλου πρώτης τάξης στα πειραματικά δεδομένα.

Πίνακας 6.17. Δείκτης κυτταρικής διάρρηξης Z για τις ολόκληρες τομάτες σε αντιστοιχία με τις συνθήκες επεξεργασίας (ένταση ηλεκτρικού πεδίου και αριθμός παλμών)

| Ολόκληρες τομάτες | | | | | |
|-------------------|------|----------------|------|----------------|------|
| E=0,5 kV/cm | | E=1,0 kV/cm | | E=1,5 kV/cm | |
| Αριθμός παλμών | Z | Αριθμός παλμών | Z | Αριθμός παλμών | Z |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 200 | 0.17 | 100 | 0.27 | 50 | 0.22 |
| 1000 | 0.29 | 300 | 0.33 | 250 | 0.4 |
| 4000 | 0.42 | 800 | 0.44 | 400 | 0.42 |
| 8000 | 0.49 | 5000 | 0.51 | 2000 | 0.5 |

Πίνακας 6.18. Δείκτης κυτταρικής διάρρηξης Z για τις τεμαχισμένες τομάτες σε αντιστοιχία με τις συνθήκες επεξεργασίας (ένταση ηλεκτρικού πεδίου και αριθμός παλμών)

| Τεμαχισμένες τομάτες | | | | | | | | | |
|----------------------|------|----------------|------|----------------|------|----------------|------|----------------|------|
| E=0,5 kV/cm | | E=1,0 kV/cm | | E=1,5 kV/cm | | E=2,0 kV/cm | | E=2,5 kV/cm | |
| Αριθμός παλμών | Z | Αριθμός παλμών | Z | Αριθμός παλμών | Z | Αριθμός παλμών | Z | Αριθμός παλμών | Z |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 150 | 0.22 | 50 | 0.2 | 50 | 0.23 | 25 | 0.25 | 10 | 0.21 |
| 400 | 0.39 | 200 | 0.4 | 100 | 0.39 | 50 | 0.4 | 20 | 0.42 |
| 1500 | 0.57 | 350 | 0.61 | 300 | 0.65 | 120 | 0.6 | 35 | 0.65 |
| 4000 | 0.72 | 1500 | 0.75 | 1000 | 0.76 | 200 | 0.75 | 50 | 0.82 |
| 8000 | 1 | 4000 | 1 | 3000 | 1 | 1000 | 1 | 80 | 1 |

Πίνακας 6.19. Δείκτης κυτταρικής διάρρηξης Z για τα παραπροϊόντα τομάτας σε αντιστοιχία με τις συνθήκες επεξεργασίας (ένταση ηλεκτρικού πεδίου και αριθμός παλμών)

| Παραπροϊόντα τομάτας | | | | | | | | | |
|----------------------|------|----------------|------|----------------|------|----------------|------|----------------|------|
| E=1,0 kV/cm | | E=2,0 kV/cm | | E=3,0 kV/cm | | E=4,0 kV/cm | | E=5,0 kV/cm | |
| Αριθμός παλμών | Z | Αριθμός παλμών | Z | Αριθμός παλμών | Z | Αριθμός παλμών | Z | Αριθμός παλμών | Z |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 100 | 0,18 | 25 | 0,16 | 10 | 0,19 | 5 | 0,22 | 2 | 0,16 |
| 250 | 0,25 | 100 | 0,29 | 50 | 0,29 | 20 | 0,32 | 10 | 0,31 |
| 500 | 0,31 | 200 | 0,33 | 100 | 0,34 | 50 | 0,35 | 25 | 0,36 |

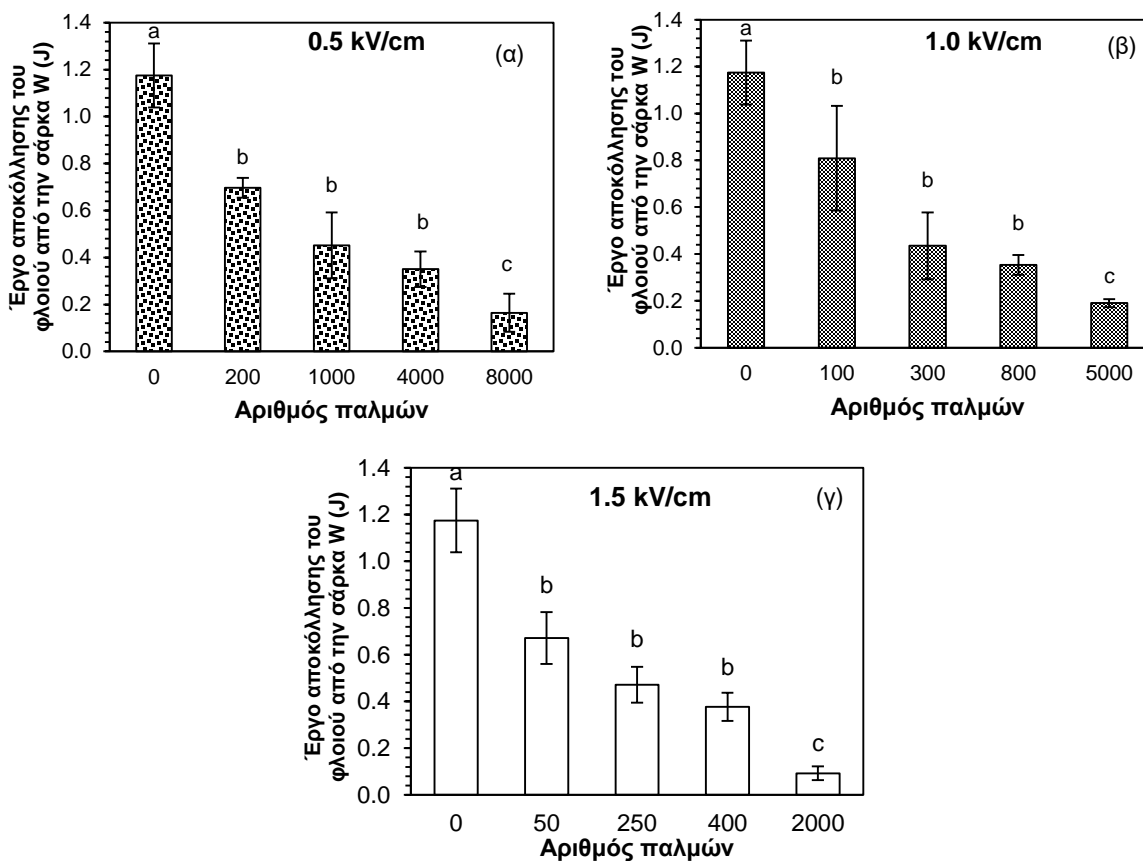
6.2.2. Επίδραση των ΠΗΠ στη βελτίωση της αποφλοιώσης ολόκληρων τοματών

Σε αυτήν την ενότητα μελετήθηκε η επίδραση των ΠΗΠ ως προεπεξεργασία στη βελτίωση της αποφλοιώσης ολόκληρων τοματών και στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των τελικών αποφλοιωμένων τοματών. Οι συνθήκες με ΠΗΠ που εφαρμόστηκαν σε ολόκληρες μη αποφλοιωμένες τομάτες ήταν για εντάσεις ηλεκτρικού πεδίου από 0,5 έως 1,5 kV/cm και για 0 έως 4000 παλμούς (Σχήμα 6.15).

Σε όλες τις μελετηθείσες συνθήκες παρατηρήθηκε ότι η προεπεξεργασία με ΠΗΠ διευκόλυε σημαντικά την απομάκρυνση του φλοιού από την υπόλοιπη σάρκα τομάτας. Το έργο που απαιτήθηκε για την αποφλοιώση τομάτας εξαρτάται από το χρόνο επεξεργασίας με ΠΗΠ σε

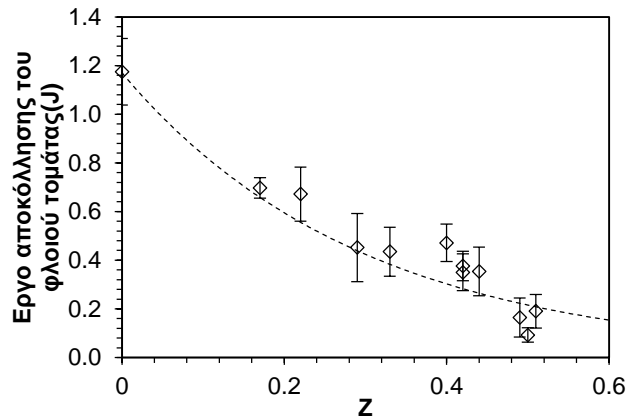
ολόκληρες τομάτες για όλες τις εντάσεις ηλεκτρικού πεδίου. Η προεπεξεργασία με ΠΗΠ σε ολόκληρες τομάτες σε ένταση ηλεκτρικού πεδίου 1.5 kV/cm οδήγησε σε μείωση έως και 92% του έργου της αποκόλλησης του φλοιού από την υπόλοιπη σάρκα σε σχέση με το ανεπεξεργαστο δείγμα (Σχήμα 6.15). Η αύξηση του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z οδήγησε σε μειωμένο έργο αποκόλλησης σε όλες τις μελετηθείσες συνθήκες ($p < 0,05$).

Η εξάρτηση του έργου αποκόλλησης (W) του φλοιού τομάτας από την υπόλοιπη σάρκα από τον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z περιγράφηκε με ένα μαθηματικό μοντέλο πρώτης τάξης ($W = 1,17e^{-3.38Z}$, $R^2 = 0,896$) (Σχήμα 6.16).



Σχήμα 6.15. Έργο (J) που απαιτείται για την πλήρη αποκόλληση του φλοιού τομάτας από την υπόλοιπη σάρκα για (α) 0,5, (β) 1.0 και (γ) 1.5 kV/cm ένταση ηλεκτρικού πεδίου. Οι γραμμές σφάλματος δείχνουν την τυπική απόκλιση. Διαφορετικά γράμματα στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) μεταξύ των παλμών του ίδιου πεδίου.

Η προεπεξεργασία με ΠΗΠ τροποποιεί τη δομή της ολόκληρης τομάτας προκαλώντας διάρρηξη στα κύτταρα, δημιουργώντας πόρους πάνω στην κυτταρική μεμβράνη των φυτικών ιστών, οδηγώντας σε μαλάκωμα των ιστών επομένως σε ευκολότερη απομάκρυνση του φλοιού με πολύ χαμηλή κατανάλωση ενέργειας.



Σχήμα 6.16 Εξάρτηση του έργου αποκόλλησης (J) του φλοιού ως προς τον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z στην αποφλοιώση ολόκληρων τοματών υποβοηθούμενη με ΠΗΠ. Οι γραμμές σφάλματος δείχνουν την τυπική απόκλιση. Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή του μοντέλου πρώτης τάξης στα πειραματικά δεδομένα.

Η έκθεση στο ηλεκτρικό πεδίο προωθεί τη μαζική μεταφορά του νερού μέσα στην τομάτα, αυξάνοντας την ποσότητα του νερού κάτω από τη σάρκα της. Αυτό οδηγεί σε διαφορά πίεσης σε όλο το μήκος του φλοιού μειώνοντας την επιφανειακή αντίσταση και τη συγκολλητικότητα της πάνω στη σάρκα, διευκολύνοντας έτσι την αποτελεσματική απομάκρυνσή της από το υπόλοιπη σάρκα τομάτας οδηγώντας σε μειωμένη απώλεια σάρκας κατά την αποφλοιώση (Donsi et al., 2010b).

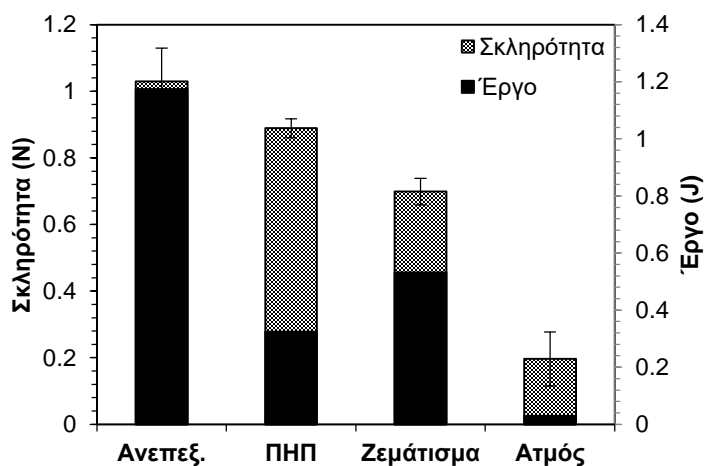
6.2.3. Συγκριτική μελέτη των ΠΗΠ σε επιλεγμένες συνθήκες με άλλες συμβατικές μεθόδους αποφλοιώσης – Αποφλοιώση με ζεμάτισμα και με ατμό

Για να διαπιστωθεί αν η αποφλοιώση ολόκληρων τοματών υποβοηθούμενη με ΠΗΠ εμφανίζει πλεονεκτήματα συγκρίθηκε με άλλες συμβατικές μεθόδους αποφλοιώσης. Η προεπεξεργασία με ΠΗΠ σε μία επιλεγμένη συνθήκη (1,5 kV/cm ένταση ηλεκτρικού πεδίου και 500 παλμοί) συγκρίθηκε με ατμό (100 °C για 2 min) ή ζεμάτισμα (70 °C για 1 min).

Παρατηρήθηκε ότι το έργο για την πλήρη αποκόλληση του φλοιού τομάτας για τις ζεματισμένες τομάτες και με ατμό ήταν 54,7% και 97,4% χαμηλότερο σε σχέση με τις μη επεξεργασμένες, αντίστοιχα. Το έργο για την αποφλοιώση που χρειάστηκε μετά την προεπεξεργασία με ΠΗΠ σε ένταση ηλεκτρικού πεδίου 1,5 kV/cm για 500 παλμούς ήταν 72,3% χαμηλότερη σε σχέση με το ανεπεξεργαστο δείγμα. Ακολουθώντας, για κάθε μέθοδο αποφλοιώσης εκτιμήθηκε η απώλεια (w/w %) σε σάρκα τομάτας. Και οι τρεις μέθοδοι αποφλοιώσης δεν εμφάνισαν σημαντικές διαφορές μεταξύ τους, καθώς εκτιμήθηκαν απώλειες σε σάρκα τομάτας μικρότερες από 1% w/w.

Επιπλέον, για τις τρεις μεθόδους αποφλοιώσης προσδιορίστηκε η τελική ποιότητα των αποφλοιωμένων ολόκληρων τοματών. Κατά την αποφλοιώση, λόγω της χρήσης υψηλών

θερμοκρασιών, η τελική υφή των ολόκληρων τοματών υποβαθμίζεται σημαντικά. Η προεπεξεργασία με ΠΗΠ μείωσε τη σκληρότητα των τελικών αποφλοιωμένων τοματών κατά μόλις 21,6% (0.89 N) σε σύγκριση με το μη επεξεργασμένο (1.03 N), ενώ η αποφλοίωση με ζεμάτισμα και με ατμό μείωσε τη σκληρότητα των τελικών αποφλοιωμένων τοματών κατά 38,3% (0.67 N) και 82,7% (0.19 N) αντίστοιχα, σε σύγκριση με τις ανεπεξεργαστες.



Σχήμα 6.17. Έργο (J) που απαιτείται για την πλήρη αποκόλληση του φλοιού τομάτας από την υπόλοιπη σάρκα και σκληρότητα (N) των τελικών αποφλοιωμένων τοματών για ανεπεξεργαστα, προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ (1,5 kV/cm, 500 παλμοί), ζεματισμένα (70 °C για 1 min) και με ατμό (100 °C για 2 min) δείγματα. Οι γραμμές σφάλματος δείχνουν την τυπική απόκλιση.

Η αποφλοίωση ολόκληρων τοματών υποβοηθούμενη με ΠΗΠ θα μπορούσε να θεωρηθεί ότι προσφέρει μία επιθυμητή υφή στα τελικά προϊόντα τομάτας λόγω των πολύ ήπιων θερμοκρασιών που αναπτύσσονται κατά την επεξεργασία με ΠΗΠ, όπου η τελική θερμοκρασία δεν ξεπερνά τους 27,5 °C. Αυτή η μειωμένη έκθεση στις υψηλές θερμοκρασίες εμποδίζει την καταστροφή του φυτικού ιστού της τομάτας. Κάτω από τις ήπιες θερμοκρασίες που αναπτύσσονται στην επεξεργασία με ΠΗΠ, το σχήμα και η υφή των τελικών αποφλοιωμένων τοματών διατηρούνται. Ταυτόχρονα, η αποφλοίωση υποβοηθούμενη με ΠΗΠ είναι ιδιαίτερα επωφελής για τη διατήρηση θερμοευαίσθητων ενώσεων, όπως είναι το λυκοπένιο και άλλων αντιοξειδωτικών ενώσεων, τα οποία είναι επιθυμητά στα τελικά προϊόντα αποφλοιωμένων τοματών. Τέλος, για κάθε μέθοδο αποφλοίωσης προσδιορίστηκε η συγκέντρωση του λυκοπενίου στις ολόκληρες αποφλοιωμένες τομάτες και συγκρίθηκε με το ανεπεξεργαστο δείγμα (νωπή τομάτα) (Πίνακας 6.20). Οι συμβατικές μέθοδοι αποφλοίωσης με ατμό και ζεμάτισμα μείωσαν τη συγκέντρωση του λυκοπενίου 12,0 (4,68 mg/100 g τομάτας) και 9,5% (4,81 mg/100 g τομάτας) σε σχέση με το ανεπεξεργαστο δείγμα (5,32 mg/100 g τομάτας), αντίστοιχα. Οι υψηλές θερμοκρασίες (>70 °C), που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τομάτας ώστε να επιτευχθεί η αποτελεσματική αποφλοίωση των ολόκληρων τοματών με τις ελάχιστες δυνατές απώλειες, φαίνεται να υποβαθμίζουν τα τελικά προϊόντα τομάτας ως

προς τη συγκέντρωση του λυκοπενίου. Από τα αποτελέσματα είναι φανερό ότι, οι αποφλοιωμένες τομάτες που είχαν προεπεξεργαστεί με ΠΗΠ (5.29 mg/100 g τομάτας), δεν εμφάνισαν σημαντικές διαφορές ($p > 0.05$) σε σχέση με το ανεπεξεργαστο δείγμα, αποδεικνύοντας ότι η διεργασία των ΠΗΠ διατηρεί τα επιθυμητά ενδοκυτταρικά συστατικά της τομάτας, όπως είναι τα καροτενοειδή, στα τελικά προϊόντα, έχοντας τη σύσταση σχεδόν της νωπής τομάτας.

Πίνακας 6.20 Συγκέντρωση του λυκοπενίου (mg/100 g τομάτας) στις ολόκληρες αποφλοιωμένες τομάτες για τα ανεπεξεργαστα, προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ (1,5 kV/cm, 500 παλμοί), ζεματισμένα (70 °C για 1 min) και με ατμό (100 °C για 2 min) δείγματα

| Διεργασία Αποφλοίωσης | Συγκέντρωση λυκοπενίου (mg/100 g τομάτας) | Απώλεια λυκοπενίου σε σύγκριση με το ανεπεξεργαστο δείγμα (%) |
|------------------------------------|--|--|
| Ανεπεξεργαστο δείγμα | 5.32±0,03 | - |
| Ζεμάτισμα (70 °C για 1 min) | 4,81±0,05 | 9,5 |
| Ατμός (100 °C για 2 min) | 4,68±0,10 | 12,0 |
| ΠΗΠ (1,5 kV/cm, 500 παλμοί) | 5,29±0,09 | 0,5 |

± αντιπροσωπεύει την τυπική απόκλιση των πολλαπλών μετρήσεων.

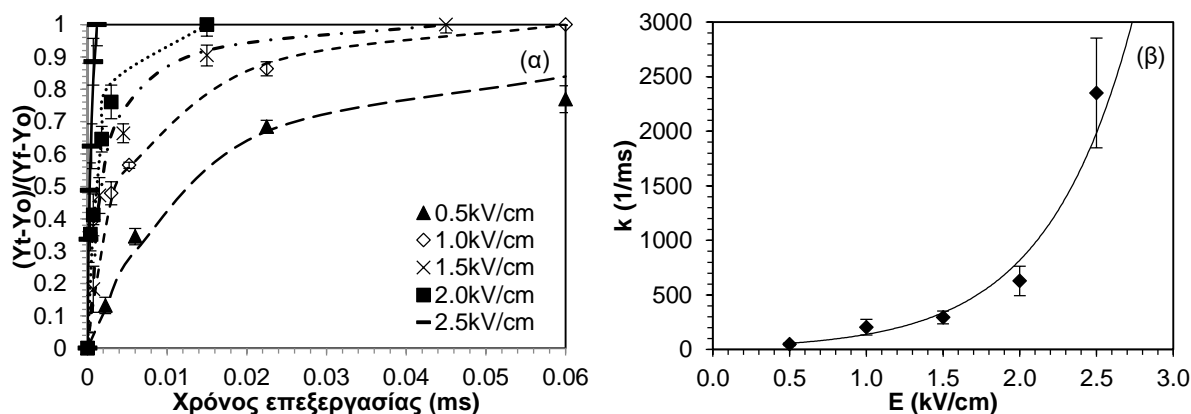
Όσον αφορά την κατανάλωση ενέργειας για κάθε μέθοδο αποφλοίωσης, η προεπεξεργασία με ΠΗΠ είχε τη χαμηλότερη ενέργεια (46 kJ/kg) σε σύγκριση με τις άλλες δυο. Πρόσφατα, οι Pataro et al., (2018) μελέτησαν τη δυνατότητα συνδυασμού της προεπεξεργασίας με ΠΗΠ (1 kV/cm και 1 kJ/kg) με ατμό (60 °C) για την αποφλοίωση ολόκληρων τοματών και βρήκαν ότι η ενέργεια που καταναλώθηκε ήταν 20-30% χαμηλότερη σε σύγκριση με τη συμβατική διαδικασία αποφλοίωσης με ατμό.

6.2.4. Προσδιορισμός της απόδοσης σε χυμό τομάτας και ποιοτικά χαρακτηριστικά των τελικών χυμών

Κατά τη διάρκεια της παραγωγής χυμού τομάτας, οι τομάτες τεμαχίζονται σε μικρούς κύβους και χυμοποιούνται σε ειδική διάταξη (ραφινέζα). Τυπικές αποδόσεις της διεργασίας αυτής κατά το πρώτο στάδιο χυμοποίησης, σε χυμό τομάτας είναι 70-80%, ανάλογα με την ποικιλία, την ωριμότητα των τοματών. Στη συνέχεια, τα υπολείμματα από το πρώτο στάδιο χυμοποίησης (τα οποία περιέχουν σπόρους, φλοιούς και ένα μικρό ποσοστό μη επεξεργασμένης σάρκας τομάτας) επαναχυμοποιούνται, ώστε η απόδοση σε χυμό τομάτας να μπορεί να φθάσει κοντά στο 85%. Ωστόσο, η επαναχυμοποίηση υποβαθμίζει την ποιότητα των τελικών χυμών τομάτας, λόγω των μεγαλύτερων οπών των διαχωριστήρων που χρησιμοποιούνται στα υπολείμματα του πρώτου σταδίου, αυξάνοντας το ιξώδες του τελικού χυμού, εμποδίζοντας την περαιτέρω επεξεργασία του (Gould, 1992).

6.2.4.1. Μελέτη των ΠΗΠ ως προεπεξεργασία σε τεμαχισμένες τομάτες πριν το πρώτο στάδιο χυμοποίησης για την αύξηση της απόδοσης σε χυμό τομάτας

Σε αυτό το στάδιο, οι τεμαχισμένες τομάτες υποβλήθηκαν σε συνθήκες ΠΗΠ (0.5-2.5 kV/cm για 0-4000 παλμούς, συχνότητα 20 Hz και πλάτος παλμού 15μs) και στη συνέχεια χυμοποιήθηκαν σε ραφινέζα (2800 rpm και κόσκινο με σπές διαμέτρου 1.5 mm) (Σχήμα 6.18).



Σχήμα 6.18. (α) Παράμετρος ω της αύξηση της απόδοσης σε χυμό τομάτας με τον χρόνο επεξεργασίας (ms) για διάφορες εντάσεις ηλεκτρικού πεδίου (0,5 (▲), 1,0 (◇), 1,5 (×), 2,0 (■), 2,5 (-) kV/cm), (β) Εξάρτηση της σταθεράς του ρυθμού k (1/ms) αύξησης της απόδοσης σε χυμό τομάτας με την ένταση του ηλεκτρικού πεδίου E (kV/cm). Οι γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή της Εξ. 43 στα πειραματικά δεδομένα. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση από πολλαπλές επεξεργασίες και μετρήσεις.

Στο πρώτο στάδιο χυμοποίησης, παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της απόδοσης σε χυμό τομάτας για τις τεμαχισμένες τομάτες σε όλες τις υπό μελέτη συνθήκες. Όπως αναμενόταν, οι πιο έντονες συνθήκες με ΠΗΠ, οδήγησαν σε υψηλότερες αποδόσεις (Σχήμα 6.18). Η αύξηση της απόδοσης των δειγμάτων που προεπεξεργάστηκαν με ΠΗΠ κυμαίνεται από 2% έως περίπου 20,5% (από 73,0 έως 89,2%) σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα (71,4%), ανάλογα με την ένταση των συνθηκών επεξεργασίας καθώς και με τον κυτταρικής διάρρηξης Z που επιτυγχάνεται σε κάθε συνθήκη με ΠΗΠ. Όσο αυξανόταν η ένταση του ηλεκτρικού πεδίου, τόσο μικρότερος είναι ο χρόνος επεξεργασίας που χρειαζόταν για να επιτευχθεί η ίδια απόδοση σε χυμό τομάτας. Για παράδειγμα, για αύξηση της απόδοσης σε χυμό τομάτας 10% σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα, εφαρμόστηκε επεξεργασία με ΠΗΠ έντασης ηλεκτρικού πεδίου 1,0 kV/cm και 350 παλμούς, ενώ ταυτόχρονα επιτεύχθηκε και με ένταση ηλεκτρικού πεδίου 2,0 kV/cm και 50 παλμούς. Η υψηλότερη απόδοση που επιτεύχθηκε ήταν 89,2% μετά την επεξεργασία με ΠΗΠ σε σύγκριση με 71,4% για τα δείγματα που δεν είχαν υποβληθεί σε προεπεξεργασία με ΠΗΠ.

Στη βιβλιογραφία, η τεχνολογία των ΠΗΠ με εφαρμογή χαμηλής έντασης ηλεκτρικού πεδίου (<10 kV/cm) σε φυτικούς ιστούς για την αύξηση της απόδοσης σε χυμό έχει μελετηθεί από πολλούς

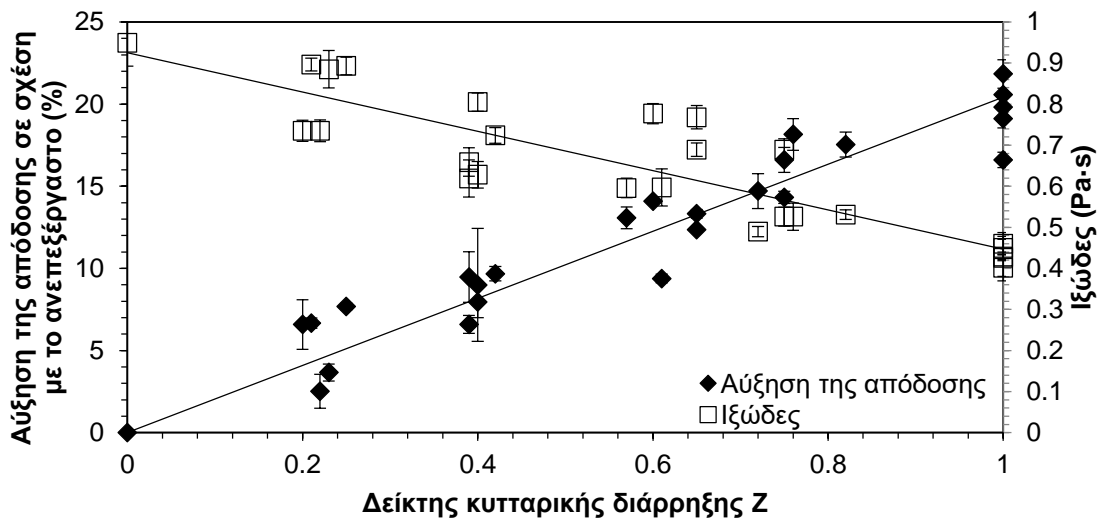
ερευνητές. Η μη αντιστρεπτή ηλεκτροδιάτρηση που προκαλείται στις κυτταρικές μεμβράνες των φυτικών ιστών οδηγεί σε άμεση απελευθέρωση του υγρού και των ενδοκυτταρικών συστατικών των κυττάρων. Η μη θερμική επίδραση των ΠΗΠ στα τρόφιμα, μπορεί να ασκήσει επιλεκτική διαπερατότητα των μεμβρανών (μεμβράνη τονοπλαστών και πλάσματος) ενώ το κυτταρικό τοίχωμα παραμένει άθικτο, γεγονός που βελτιώνει την απόδοση των ενδοκυτταρικών συστατικών στους χυμούς που προκύπτουν (Bobinaité et al., 2015). Η αποτελεσματικότητα της διεργασίας των ΠΗΠ έχει αποδειχθεί βάσει βιβλιογραφίας, στη χυμοποίηση από πουρέ μήλου (Bazhal et al., 2001; Lebonka et al., 2004; Praporscic et al., 2007; Schilling et al., 2007), κομμάτια καρότου (Grimi et al., 2007; Knorr et al., 1994), μύρτιλα (Bobinaité et al., 2015) και πιπεριές (Ade-Omowaye et al., 2001). Πιο συγκεκριμένα, η προεπεξεργασία με ΠΗΠ σε πολτό μήλου αύξησε την απόδοση του χυμού κατά 4,1% (Turk et al. 2012) ή από 1,7 σε 7,7% (Schilling et al. 2007) σε σχέση με το ανεπεξέργαστο δείγμα. Επιπλέον, μία αύξηση σε χυμό μύρτιλου έως και 3% παρατηρήθηκε από τους Bobinaité et al. (2015) με εφαρμογή των ΠΗΠ (3 kV/cm, 10 kJ/kg).

Η αύξηση της απόδοσης σε χυμό τομάτας των τεμαχισμένων τοματών συσχετίστηκε με τον χρόνο επεξεργασίας με ΠΗΠ μέσω της Εξ. 43 και υπολογίστηκαν οι σταθερές του ρυθμού αύξησης της απόδοσης σε χυμό k . Στη συνέχεια, οι σταθερές του ρυθμού αύξησης της απόδοσης σε τομάτα k συσχετίστηκαν με την ένταση του ηλεκτρικού πεδίου E με μοντέλο πρώτης τάξης ($k=23,75e^{1,77E}$, $R^2 = 0,964$) (Σχήμα 6.18). Είναι ενδιαφέρον ότι, η αύξηση της απόδοσης σε χυμό τομάτας εξαρτάται μόνο από τον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z , ανεξάρτητα από τις συνθήκες επεξεργασίας με ΠΗΠ που χρησιμοποιήθηκαν για να επιτευχθεί αυτός (ένταση ηλεκτρικού πεδίου και χρόνος επεξεργασίας). Είναι ένα μέγεθος που αντιπροσωπεύει την συνδυαστική επίδραση της έντασης του ηλεκτρικού πεδίου και του χρόνου επεξεργασίας στις διάφορες μελετώμενες παραμέτρους.

Επιπλέον, η αύξηση της απόδοσης σε χυμό τομάτας συσχετίστηκε με τον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z με μαθηματικό μοντέλο μηδενικής τάξης ($R^2 = 0.914$) (Σχήμα 6.19).

Οι δείκτες ποιότητας (χρώμα, pH και ολικά διαλυτά στερεά) για όλους τους χυμούς τομάτας είχαν μικρές διαφορές σε σχέση με το ανεπεξέργαστο, εκτός από το ιξώδες και τη συνεκτικότητα κατά Bostwick. Οι τελικοί χυμοί τομάτας από προεπεξεργασμένες με ΠΗΠ τεμαχισμένες τομάτες είχαν μειωμένο ιξώδες σε σύγκριση με το μη επεξεργασμένο, σε όλες τις υπό μελέτη συνθήκες.

Η προεπεξεργασία με ΠΗΠ οδηγεί σε αυξημένη διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης και του κενοτοπίου και έτσι διευκολύνει την άμεση απελευθέρωση του νερού, οδηγώντας σε μειωμένο ιξώδες των τελικών χυμών τομάτας (Puertolas, Luengo, Alvarez, & Raso, 2012).



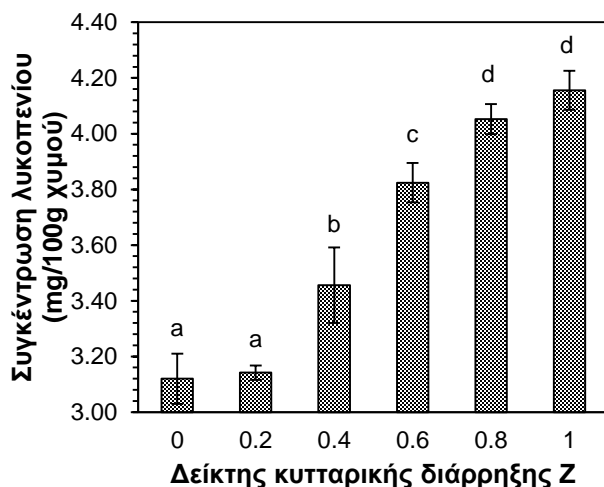
Σχήμα 6.19 Αύξηση της απόδοσης σε χυμό τομάτας (%) σε σχέση με το ανεπεξεργαστο δείγμα για όλες τις μελετώμενες συνθήκες με ΠΗΠ και ιξώδες (Pa·s) των τελικών χυμών τομάτας σε συναρτήσει με τον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z. Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή του μοντέλου μηδενικής τάξης στα πειραματικά δεδομένα. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση από πολλαπλές επεξεργασίες και μετρήσεις.

Αυτό το γεγονός θα μπορούσε επίσης να αποδοθεί στην ακαριαία απελευθέρωση ενδογενών ενζύμων, όπως η PME και η PG από το εσωτερικό του κυττάρου προς το εξωτερικό, αμέσως μετά την επεξεργασία με ΠΗΠ. Αυτά τα δύο ένζυμα, όταν δρουν συνεργιστικά, οδηγούν σε δραστηκή πτώση του ιξώδους των τελικών προϊόντων. Οι τιμές συνεκτικότητας κατά Bostwick των μη επεξεργασμένων χυμών ήταν περίπου 12,5 cm, ενώ για τους προεπεξεργασμένους με ΠΗΠ χυμούς κυμαίνονταν από 15,2 έως 30 cm. Η σχέση μεταξύ του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z και του ιξώδους των τελικών χυμών τομάτας περιγράφηκε γραμμικά ($R^2 = 0.908$) (Σχήμα 6.19).

Οι βέλτιστες τιμές συνεκτικότητας κατά Bostwick των χυμών τομάτας που είναι κοινώς αποδεκτές από τη βιομηχανία τομάτας κυμαίνονται από 12 cm έως περίπου 18 cm (Gould, 1992), που αντιστοιχεί σε ιξώδες 550-700 cp στους 25 °C (0,55-0,70 Pa·s). Στο Σχήμα 6.19 μπορεί να παρατηρηθεί ότι όταν ο χυμός τομάτας είχε το βέλτιστο ιξώδες (550-700 cp, στους 25 °C) αυτό αντιστοιχούσε σε τιμές του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z από 0,5 έως 0,7, ενώ η απόδοση σε χυμό τομάτας ήταν περίπου 10-15% υψηλότερη σε σύγκριση με τα μη προεπεξεργασμένα δείγματα (71,4%). Για τις πιο έντονες συνθήκες με ΠΗΠ που αντιστοιχούν σε δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z περίπου 1, η αύξηση της απόδοσης ήταν η υψηλότερη (περίπου 20%), ωστόσο το ιξώδες αυτών των χυμών τομάτας μειώθηκε σε τιμές κάτω από 400 cp, στους 25 °C, μη αποδεκτές για τη βιομηχανία τομάτας. Στη βιβλιογραφία, προηγούμενες μελέτες έδειξαν μειωμένο ιξώδες σε χυμό τομάτας που έχει υποστεί επεξεργασία με ΠΗΠ (Aguiló-Aguayo, Soliva-Fortuny, & Martín-Belloso, 2010) και χυμό πορτοκαλιού συνδυάζοντας υψηλή πίεση και ΠΗΠ (Sanchez-Moreno et

al., 2005). Επίσης, οι Aadil et al., 2015 παρατήρησαν μέχρι και 37% μείωση στο ιξώδες σε χυμό από γκρέιπφρουτ με εφαρμογή των ΠΗΠ (20 kV/cm για 600 μs).

Ακολούθως προσδιορίστηκε η συγκέντρωση του λυκοπενίου στους χυμούς σε όλες τις μελετηθείσες συνθήκες (Σχήμα 6.20).



Σχήμα 6.20 Συγκέντρωση λυκοπενίου (mg/100 g χυμού) για τους ανεπεξεργαστους και προεπεξεργασμένους με ΠΗΠ χυμούς τομάτας με τον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση από πολλαπλές επεξεργασίες και μετρήσεις. Διαφορετικά γράμματα υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) μεταξύ των δεικτών κυτταρικής διάρρηξης Z.

Για χαμηλής έντασης συνθήκες με ΠΗΠ, που αντιστοιχεί σε δείκτη κυτταρικής διάρρηξης μικρότερο από 0,2 δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα στη συγκέντρωση του λυκοπενίου στους χυμούς τομάτας (3,12 mg/100 g χυμού). Σε πιο έντονες συνθήκες με ΠΗΠ παρατηρήθηκε μία αύξηση στη συγκέντρωση λυκοπενίου στους χυμούς έως και 32%. Η μέγιστη τιμή στη συγκέντρωση λυκοπενίου έφτασε τα 4,15 mg/100 g χυμού. Σε δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z ίσο με 0,6 (που αντιστοιχεί σε χυμό τομάτας με το βέλτιστο ιξώδες, εντός των ορίων με βάση τα βιομηχανικά πρότυπα), η συγκέντρωση του λυκοπενίου στον τελικό χυμό υπολογίστηκε ίση με 3,82 mg/100 g χυμού, δηλαδή περίπου 22% υψηλότερη σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα (3,12 mg/100 g χυμού).

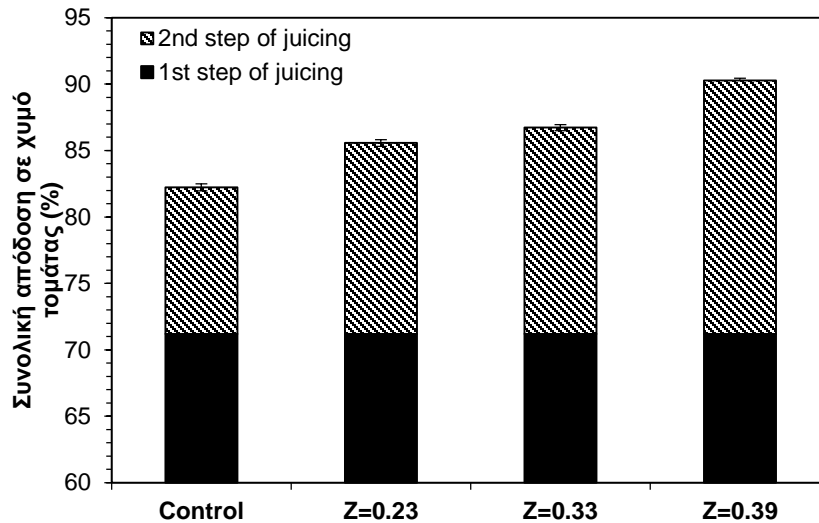
Η διαπερατότητα των κυτάρων και οι απότομες μεταβολές που συμβαίνουν μέσα στο κύτταρο λόγω της εφαρμογής του εξωτερικού ηλεκτρικού πεδίου έχουν αναφερθεί ότι ενισχύουν την άμεση απελευθέρωση των καροτενοειδών από τους χρωμοπλάστες των κυττάρων (Balasa et al., 2006, Toepfl et al., 2006, Vallverdu-Queralt et al., 2013). Με την επίδραση των ΠΗΠ προκαλείται επιλεκτική διαπερατότητα των μεμβρανών (κυτταρική μεμβράνη και μεμβράνες πλαστιδίων) βελτιώνοντας την εκχυλιστικότητα τέτοιων ουσιών στους τελικούς χυμούς.

6.2.4.2. Μελέτη των ΠΗΠ ως προεπεξεργασία στο δεύτερο στάδιο χυμοποίησης για την αύξηση της απόδοσης σε χυμό τομάτας

Στο δεύτερο στάδιο χυμοποίησης, τα υπολείμματα του πρώτου σταδίου (σπόροι, φλοιοί και ένα μέρος μη συμπιεσμένης σάρκας ντομάτας) επαναχυμοποιούνται στη ραφινέζα (2800 grm και κόσκινο με οπές διαμέτρου 1.5 mm). Ο χυμός τομάτας που προκύπτει από το δεύτερο στάδιο της χυμοποίησης αναμειγνύεται με τον χυμό τομάτας που προκύπτει από το πρώτο στάδιο (όπως γίνεται και στη βιομηχανία τομάτας). Η ποσότητα του χυμού που προκύπτει από το δεύτερο στάδιο της χυμοποίησης αποτελεί περίπου το 1/6 της συνολικής ποσότητας σε χυμό τομάτας που προκύπτουν και από τα δυο στάδια μαζί. Πιο συγκεκριμένα η συνολική απόδοση του χυμού τομάτας (και από τα δύο στάδια) ήταν 82,2% για τα ανεπεξεργαστα δείγματα. Αυτό πρακτικά σημαίνει ότι από το δεύτερο στάδιο χυμοποίησης προέκυψε χυμός τομάτας ίσος με 10,8% (πρώτο στάδιο ίσο με 71,4%). Παράλληλα, η δεύτερη χυμοποίηση υποβαθμίζει σημαντικά την ποιότητα των τελικών χυμών τομάτας αυξάνοντας σημαντικά το ιξώδες τους (1100 cp, στους 25 °C). Η τιμή της συνεκτικότητας κατά Bostwick των μη προεπεξεργασμένων χυμών τομάτας που προκύπτουν ύστερα από την τελική ανάμιξη των χυμών και των δυο σταδίων ήταν περίπου 10,9 cm, μια τιμή η οποία είναι μη αποδεκτή σύμφωνα με τα πρότυπα της βιομηχανίας τομάτας (550-700 cp, στους 25 °C) και η οποία δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί περαιτέρω ως έχει.

Σε αυτήν την ενότητα, μελετήθηκε η επίδραση των ΠΗΠ μόνο στα υπολείμματα τοματών του πρώτου σταδίου χυμοποίησης (φλοιοί, σπόροι και ένα κλάσμα μη συμπιεσμένης σάρκας τομάτας) πριν την επαναχυμοποίηση τους στο δεύτερο στάδιο, για να εκτιμηθεί κατά πόσον η προεπεξεργασία με ΠΗΠ θα μπορούσε να αυξήσει την απόδοση των τελικών χυμών εφαρμόζοντας τη μόνο πριν το δεύτερο στάδιο. Συγκεκριμένα εφαρμόστηκαν τα ΠΗΠ (1,5 kV/cm ένταση ηλεκτρικού πεδίου, σε 500, 1000 και 5000 παλμούς που αντιστοιχούν σε για δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z ίσο με 0,23, 0,33 και 0,39, αντίστοιχα) μόνο πριν το δεύτερο στάδιο της χυμοποίησης, στα υπολείμματα του πρώτου σταδίου (σπόροι, φλοιοί και ένα μέρος μη συμπιεσμένης σάρκας τομάτας) (Σχήμα 6.21).

Η απόδοση που επιτεύχθηκε για τα μη προεπεξεργασμένα δείγματα ήταν 71,4% μόνο από το πρώτο στάδιο της χυμοποίησης. Σε κάθε συνθήκη με ΠΗΠ που εφαρμοζόταν στα υπολείμματα του πρώτου σταδίου, οι χυμοί που προκύπταν προστίθενται στον αρχικό μη προεπεξεργασμένο χυμό τομάτας από το πρώτο στάδιο χυμοποίησης. Στην προεπεξεργασία με ΠΗΠ, η συνολική απόδοση σε χυμό αυξήθηκε σε όλες τις μελετηθείσες συνθήκες. Η υψηλότερη συνολική απόδοση χυμού και από τα δυο στάδια χυμοποίησης προεπεξεργάζοντας με ΠΗΠ μόνο τα υπολείμματα του πρώτου σταδίου ήταν έως και 90,2% για ένταση ηλεκτρικού πεδίου 1,5 kV/cm και δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z ίσο με 0,39 (Σχήμα 6.21).



Σχήμα 6.21 Συνολική απόδοση σε χυμό τομάτας και από τα δύο στάδια χυμοποίησης για το ανεπεξεργαστο δείγμα και για 1,5 kV/cm ένταση ηλεκτρικού πεδίου και Z από 0,2 έως 0,4. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση από πολλαπλές επεξεργασίες και μετρήσεις.

Η προεπεξεργασία με ΠΗΠ οδήγησε σε αυξημένες αποδόσεις σε χυμό τομάτας και βελτιωμένο τελικό ιξώδες. Η προεπεξεργασία με ΠΗΠ στο πρώτο στάδιο της χυμοποίησης σε πολύ έντονες συνθήκες οδήγησε σε πολύ μειωμένο ιξώδες για τους χυμούς που προκύπταν (τιμές κάτω από 400 cp, στους 25 °C). Στο δεύτερο στάδιο, ο τελικός χυμός τομάτας προκύπτει από ανάμειξη και των δύο σταδίων χυμοποίησης και το δεύτερο αποτελεί μόνο το 1/6 του τελικού χυμού, κατά συνέπεια, η μείωση του ιξώδους του χυμού που επιτεύχθηκε από τα ΠΗΠ στο πρώτο στάδιο, δεν επηρέασε αρνητικά το τελικό ιξώδες του τελικού χυμού τομάτας, όταν αναμιγνύονται οι χυμοί και από τα δύο στάδια. Όταν τελικά αναμιγνύονται οι χυμοί από το πρώτο στάδιο χυμοποίησης (μη προεπεξεργασμένο) και τον χυμό από το δεύτερο στάδιο χυμοποίησης (προεπεξεργασμένο με ΠΗΠ) (περίπου 6:1), η συνολική απόδοση χυμού είναι υψηλότερη (περίπου 10%) και το ιξώδες του τελικού χυμού είναι σύμφωνα με τα βιομηχανικά αποδεκτά πρότυπα (450 cp στους 25°C που αντιστοιχεί σε συνεκτικότητα κατά Bostwick 14,2 cm). Ως εκ τούτου, τα αποτελέσματά μας υποδεικνύουν ότι ο χυμός τομάτας μπορεί να επηρεαστεί θετικά όταν επεξεργαστεί η πρώτη ύλη τομάτας πριν από το δεύτερο στάδιο χυμοποίησης, αυξάνοντας τη συνολική απόδοση και διασφαλίζοντας την παραγωγή χυμού με υψηλής ποιότητας χαρακτηριστικά.

6.2.5. Εκχύλιση ενώσεων υψηλής προστιθέμενης αξίας από παραπροϊόντα τομάτας υποβοηθούμενη με ΠΗΠ

Σε αυτήν την περίπτωση, τα ΠΗΠ εφαρμόστηκαν σε παραπροϊόντα τομάτας (και από τα δύο στάδια χυμοποίησης) (1,0-5,0 kV/cm για 0-500 παλμούς, συχνότητα 20 Hz και πλάτος παλμού

15μs) και στη συνέχεια εκχυλίστηκαν βιοδραστικές ενώσεις. Οι ενώσεις που εκχυλίστηκαν και προσδιορίστηκε η συγκέντρωσή τους ήταν τα καροτενοειδή (mg/100 g), το λυκοπένιο (mg/100 g), οι ολικές φαινολικές ενώσεις (mg GAE/kg), οι ολικές πρωτεΐνες (mg/100 g) και μετρήθηκε και η αντιοξειδωτική ικανότητα (mM Trolox equivalent). Τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ παραπροϊόντα τομάτας (και από τα δύο στάδια χυμοποίησης) οδήγησαν σε σημαντική αύξηση ($p < 0,05$) της εκχύλισης όλων των ενδοκυτταρικών συστατικών σε σύγκριση με τα επεξεργασμένα με συμβατική εκχύλιση δείγματα (Πίνακας 6.21). Οι πιο έντονες συνθήκες με ΠΗΠ (υψηλότερος δείκτης Z) οδήγησαν σε υψηλότερες συγκεντρώσεις όλων των ενδοκυτταρικών ενώσεων που μελετήθηκαν. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν έδειξαν ότι η ηλεκτροδιάτρηση των κυτταρικών μεμβρανών των παραπροϊόντων τοματών δημιούργησε πόρους, προκαλώντας καλύτερη απελευθέρωση των ενδοκυτταρικών ενώσεων προς το εξωτερικό του κυττάρου και κυρίως την εκχύλιση των λιποδιαλυτών ενώσεων όπως τα καροτενοειδή. Οι πιο έντονες συνθήκες με ΠΗΠ οδήγησαν σε αύξηση της απόδοσης της εκχύλισης των καροτενοειδών ενώσεων, από 35,9% έως 56,4% σε σύγκριση με το συμβατικά επεξεργασμένο (χωρίς κάποια προεπεξεργασία) (11,36 mg/100 g). Επιπλέον, η προεπεξεργασία με ΠΗΠ, ανάλογα με την ένταση των συνθηκών εκτός ότι μπορεί να προκαλέσει ηλεκτροδιάτρηση των κυτταρικών μεμβρανών μπορεί να επηρεάσει και άλλα οργανίδια του κυττάρου προκαλώντας και σε αυτά ηλεκτροδιάτρηση, αν και εφόσον η ένταση του ηλεκτρικού πεδίου ξεπεράσει μια κρίσιμη τιμή που είναι διαφορετική για κάθε φυτικό ιστό και οργανίδιο. Μπορεί να προκαλέσει πόρους ακόμα και σε κάποια μικρότερα οργανίδια του κυττάρου, όπως είναι οι χρωμοπλάστες όπου εκεί βρίσκονται τα καροτενοειδή, οδηγώντας σε καλύτερη απελευθέρωση αυτών των ενώσεων (Cuccolini, Aldini, Visai, Daglia, & Ferrari, 2013). Οι Luengo et al. (2014), μελέτησαν την εκχύλιση καροτενοειδών ενώσεων από φλοιούς νωπής τομάτας, και διαπίστωσαν ότι η επεξεργασία με ΠΗΠ στα 5 kV/cm ένταση ηλεκτρικού πεδίου για 90 μs, αύξησε τις αποδόσεις εκχύλισης κατά 50%, σε σύγκριση με μια συμβατική εκχύλιση με οργανικό διαλύτη. Οι Pataro et al. (2018) επίσης παρατήρησαν ότι η προεπεξεργασία με ΠΗΠ σε ολόκληρες τομάτες πριν την αποφλοιώση τους αύξησε την εκχυλισιμότητα των καροτενοειδών ενώσεων από τους φλοιούς τοματών κατά 44%, 144% και 189% στα 0,25, 0,50 και 0,75kV/cm ένταση ηλεκτρικού πεδίου, αντίστοιχα, σε σύγκριση με τη συμβατική εκχύλιση. Ωστόσο, στην παρούσα διατριβή, η προεπεξεργασία με ΠΗΠ εφαρμόστηκε απευθείας στα παραπροϊόντα τομάτας (μετά από τα δύο στάδια χυμοποίησης) και όχι σε ολόκληρες τομάτες (Pataro et al., 2018) ή φλοιοί νωπών τοματών (Luengo et al., 2014).

Το σημαντικότερο καροτενοειδές που έχει η τομάτα είναι το λυκοπένιο. Το λυκοπένιο αποτελεί το 80-86% των καροτενοειδών που υπάρχουν στις τομάτες και στα προϊόντα τομάτας (Pataro, Sinik, Capitoli, Donsi & Ferrari, 2015, Sharma & Le Maguer, 1996).

Πίνακας 6.21. Συγκέντρωση ολικών καροτενοειδών (mg/100 g), ολικών φαινολικών ενώσεων (mg of GAE/100 g), λυκοπενίου (mg /100 g), πρωτεϊνών (mg/100 g) και αντιοξειδωτική ικανότητα (mM TE) των εκχυλισμάτων από παραπροϊόντα τομάτας για το ανεπεξεργαστο δείγμα (0 kV/cm) και τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ δείγματα (1.0-5.0 kV/cm για 0-500 παλμούς).

| | kV/cm | Παλμοί (Z) | Ενέργεια (kJ/kg) | Ολικά καροτενοειδή (mg carotenoids/100 g) | Ολικές φαινολικές ενώσεις (mg of GAE/kg) | Λυκοπένιο (mg lycopenes/100 g) | Πρωτεΐνες (mg /100 g) | Αντιοξειδωτική ικανότητα (mM Trolox equivalent/100 g) |
|----------------------|------------|---------------|--------------------------|--|--|--------------------------------------|--------------------------|--|
| Ανεπεξεργαστο | 0.0 | 0 (0) | 0.0 | 11.36±0.25 ^A | 27.95±3.26 ^A | 9.84±0.11 ^A | 88.9±3.5 ^A | 0.29±0.11 ^A |
| | 1.0 | 100 (0.18) | 5.7 | 15.44±0.09 ^{Ba} | 36.11±2.11 ^{BCa} | 11.07±0.38 ^{Ca} | 107.4±4.2 ^{ABa} | 0.48±0.08 ^{Ba} |
| | | 250 (0.25) | 14.2 | 16.12±0.11 ^{Bb} | 47.73±1.56 ^{BCb} | 12.71±0.41 ^{Cb} | 127.1±3.5 ^{ABa} | 0.57±0.05 ^{Ba} |
| ΠΗΠ | 2.0 | 500 (0.31) | 28.5 | 17.77±0.36 ^{Bc} | 52.83±4.65 ^{BCc} | 14.31±0.33 ^{Cc} | 144.4±2.6 ^{ABb} | 0.64±0.06 ^{Bb} |
| | | 25 (0.16) | 2.8 | 15.81±0.25 ^{Ba} | 47.02±3.25 ^{Da} | 10.87±0.92 ^{BCa} | 103.9±1.2 ^{Ba} | 0.43±0.04 ^{Ba} |
| | 3.0 | 100 (0.29) | 11.4 | 16.81±0.14 ^{Bb} | 52.01±1.85 ^{Db} | 12.65±0.43 ^{BCb} | 124.6±3.9 ^{Ba} | 0.52±0.08 ^{Ba} |
| 200 (0.33) | | 22.8 | 17.62±0.08 ^{Bc} | 56.16±3.65 ^{Dc} | 14.29±1.01 ^{BCc} | 143.4±6.5 ^{Bb} | 0.73±0.10 ^{Bb} | |
| ΠΗΠ | 4.0 | 10 (0.22) | 1.7 | 15.45±0.95 ^{Ba} | 44.5±4.12 ^{CDa} | 10.41±0.24 ^{BCa} | 117.4±7.5 ^{Ba} | 0.45±0.15 ^{Ba} |
| | | 50 (0.29) | 8.5 | 16.54±0.65 ^{Bb} | 47.83±1.52 ^{CDb} | 11.96±1.03 ^{BCb} | 132.6±10.1 ^{Ba} | 0.52±0.21 ^{Ba} |
| | 100 (0.34) | 17.1 | 17.49±0.45 ^{Bc} | 54.50±3.68 ^{CDc} | 13.59±1.09 ^{BCc} | 143.6±9.6 ^{Bb} | 0.77±0.15 ^{Bb} | |
| ΠΗΠ | 5.0 | 5 (0.22) | 1.1 | 15.42±0.39 ^{Ba} | 38.66±4.52 ^{BCa} | 9.83±0.15 ^{Ba} | 115.2±5.8 ^{Ba} | 0.42±0.19 ^{Ba} |
| | | 20 (0.32) | 4.6 | 16.29±0.74 ^{Bb} | 47.01±1.25 ^{BCb} | 11.79±0.74 ^{Bb} | 125.6±6.5 ^{Ba} | 0.53±0.08 ^{Ba} |
| | 50 (0.35) | 11.4 | 17.58±0.36 ^{Bc} | 50.33±3.65 ^{BCc} | 13.03±0.54 ^{Bc} | 139.9±4.1 ^{Bb} | 0.78±0.06 ^{Bb} | |
| ΠΗΠ | 5.0 | 2 (0.16) | 0.7 | 15.31±0.25 ^{Ba} | 35.33±2.85 ^{Ba} | 11.23±0.23 ^{BCa} | 113.4±3.2 ^{Ba} | 0.40±0.05 ^{Ba} |
| | | 10 (0.31) | 2.8 | 16.81±0.12 ^{Bb} | 43.66±3.65 ^{Bb} | 12.43±0.43 ^{BCb} | 132.1±6.7 ^{Ba} | 0.55±0.09 ^{Ba} |
| | | 25 (0.36) | 7.1 | 17.11±0.41 ^{Bc} | 48.66±1.25 ^{Bc} | 13.98±0.81 ^{BCc} | 145.1±4.5 ^{Bb} | 0.72±0.11 ^{Bb} |

± αντιπροσωπεύει την τυπική απόκλιση των πολλαπλών μετρήσεων. Διαφορετικά γράμματα στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές (p<0.05) μεταξύ των παλμών. Διαφορετικοί αριθμοί στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές (p<0.05) μεταξύ έντασης ηλεκτρικού πεδίου.

Επιπλέον, η εφαρμογή προεπεξεργασίας με ΠΗΠ στα παραπροϊόντα τομάτας είχε ως αποτέλεσμα βελτιωμένη εκχύλιση του λυκοπενίου. Η απόδοση της εκχύλισης του λυκοπενίου για τα δείγματα που είχαν προεπεξεργαστεί με ΠΗΠ ήταν υψηλότερη έως και 45% σε σχέση με το συμβατικά επεξεργασμένο. Η συγκέντρωση του λυκοπενίου που εκχυλίστηκε από τα συμβατικά επεξεργασμένα δείγματα ήταν 9,84 mg/100 g, συγκέντρωση η οποία συμφωνεί με προηγούμενες εργασίες (Knoblich et al, 2005, Luengo et al., 2014, Strati & Oreopoulou, 2014), ενώ για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ (1,0 kV/cm για 7,5ms) ήταν 14,31 mg/100 g.

Η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων για τα συμβατικά επεξεργασμένα δείγματα ήταν 27,95 mgGAE/L. Η προεπεξεργασία των ΠΗΠ αύξησε σημαντικά ($p < 0,05$) τη συνολική απόδοση εκχύλισης φαινολικών ενώσεων, διπλασιάζοντας την (56,16 mgGAE/L) για ένταση ηλεκτρικού πεδίου 2 kV/cm και 700 παλμούς, επιβεβαιώνοντας ότι τα ΠΗΠ μπορούν να βελτιώσουν τα φαινόμενα μεταφοράς μάζας κατά τη διάρκεια της εκχύλισης. Οι φαινολικές ενώσεις περιέχονται κυρίως στα κενοτόπια των κυττάρων τομάτας (Gonzali, Mazzucato, & Perata, 2009). Για να εξαχθούν οι ενδοκυτταρικές ενώσεις από το κενοτόπιο πρέπει να διαρρηχθεί και η κυτταρική μεμβράνη αλλά και η μεμβράνη του κενοτόπιου (Pataro et al., 2011). Η προεπεξεργασία με ΠΗΠ προκαλεί τη διάρρηξη της κυτταρικής μεμβράνης λόγω του εφαρμοζόμενου εξωτερικού ηλεκτρικού πεδίου. Για να προκληθεί μη αντιστρεπτή ηλεκτροδιάτρηση στη μεμβράνη του κενοτόπιου απαιτούνται πιο έντονες συνθήκες με ΠΗΠ, ενισχύοντας την εκχύλιση των πολυφαινολών προς το εξωτερικό (Pataro et al., 2011). Για τους παραπάνω λόγους, όσο μεγαλύτερος ήταν ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης Z που επιτεύχθηκε με την επεξεργασία των ΠΗΠ τόσο πιο αποτελεσματική μεταφορά μάζας συνέβη λόγω της αύξησης της διαπερατότητας και των δύο μεμβρανών (κυττάρου και κενοτόπιου). Άλλοι ερευνητές έχουν παρατηρήσει ότι η αύξηση της διαπερατότητας των κυτταρικών μεμβρανών λόγω της επεξεργασίας με ΠΗΠ είναι αποτελεσματική για τη βελτίωση εκχύλισης ενδοκυτταρικών συστατικών από φυτικά παραπροϊόντα, όπως οι ανθοκυανίνες (Bobinaité et al., 2015, Corrales, Toepfl, Butz, Knorr, & Tauscher, 2008, Puertolas, Cregenzan, Rosello-Soto et al., 2014, Luengo, Alvarez, & Raso, 2013, Parniakov et al., 2015).

Επιπλέον, μελετήθηκε η εκχύλιση των ολικών πρωτεϊνών υποβοηθούμενη με ΠΗΠ. Η συγκέντρωση των ολικών πρωτεϊνών που εκχυλίστηκαν από τα παραπροϊόντα τομάτας αυξήθηκε με αύξηση της έντασης ηλεκτρικού πεδίου και του χρόνου επεξεργασίας με ΠΗΠ. Για παράδειγμα, η προεπεξεργασία με ΠΗΠ στα 5 kV/cm για 1,5 ms αύξησε τη συγκέντρωση των ολικών πρωτεϊνών από 88,9 mg/100 g για τα συμβατικά επεξεργασμένα παραπροϊόντα τομάτας σε 145,1 mg/100 g. Η εκχύλιση πρωτεϊνών από κύτταρα έχει μελετηθεί και σε προηγούμενες εργασίες σε

σχετικά χαμηλή ένταση ηλεκτρικού πεδίου (κάτω από 10 kV/cm) (Dimopoulos et al., 2017, Ohshima & Sato, 1995, Parniakov et al., 2015).

Τέλος, τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ εκχυλίσματα από παραπροϊόντα τομάτας είχαν σημαντικά ($p < 0,05$) υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση σε σύγκριση με το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα. Γενικά, σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) ανιχνεύθηκαν μόνο μεταξύ των εκχυλισμάτων που υποβλήθηκαν σε προεπεξεργασία με ΠΗΠ και χωρίς (συμβατικά επεξεργασμένα) και όχι μεταξύ των εκχυλισμάτων με ΠΗΠ σε διαφορετικές συνθήκες ($p > 0,05$). Παρατηρήθηκε επίσης, ότι η αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων από παραπροϊόντα τομάτας σχετίζεται απόλυτα με τη συνολική συγκέντρωση των εκχυλιζόμενων καροτενοειδών ($R^2=0,802$) και τη συγκέντρωση του λυκοπενίου ($R^2=0,756$). Άλλοι ερευνητές (Luengo et al., 2014, Pataro et al., 2018) επίσης έχουν παρατηρήσει μια πολύ θετική συσχέτιση μεταξύ της συνολικής περιεκτικότητας σε καροτενοειδή, της περιεκτικότητας σε λυκοπένιο και της αντιοξειδωτικής δράσης.

Πίνακας 6.22. Συντελεστές συσχέτισης (R^2) μεταξύ του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z των παραπροϊόντων τομάτας και της συγκέντρωσης των ολικών καροτενοειδών, του λυκοπενίου, των ολικών φαινολικών ενώσεων, των πρωτεϊνών και της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων από παραπροϊόντα τομάτας για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ δείγματα σε διαφορετικές εντάσεις ηλεκτρικού πεδίου (1-5 kV/cm) και παλμών (0-500).

| Z-Ολικά Καροτενοειδή | Z-Συγκέντρωση λυκοπενίου | Z-Ολικές φαινολικές ενώσεις | Z-Ολικές πρωτεΐνες | Z-Αντιοξειδωτική ικανότητα |
|-----------------------------|---------------------------------|------------------------------------|---------------------------|-----------------------------------|
| 0.842 | 0.852 | 0.858 | 0.815 | 0.819 |

Ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης Z των παραπροϊόντων τομάτας είχε επίσης θετική συσχέτιση με τη συγκέντρωση όλων των εκχυλιζόμενων ενδοκυτταρικών ενώσεων (Πίνακας 6.22), γεγονός που επιβεβαίωσε ότι η επίδραση της προεπεξεργασίας με ΠΗΠ στην εκχύλιση ενώσεων υψηλής προστιθέμενης αξίας από παραπροϊόντα τομάτας αντανακλάται στο δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z, ανεξάρτητα από τον τρόπο με τον οποίο επιτεύχθηκε (ένταση ηλεκτρικού πεδίου και χρόνος επεξεργασίας).

Τελικά, τα αποτελέσματα της δεύτερης θεματικής ενότητας του πρώτου μέρους της παρούσας διατριβής, η εφαρμογή των ΠΗΠ στα διάφορα στάδια επεξεργασίας της βιομηχανικής τομάτας θα μπορούσε να αποτελέσει μία ελκυστική και οικονομικά βιώσιμη προσέγγιση για τη βιομηχανία ώστε να μπορέσει να ενσωματωθεί στη γραμμή παραγωγής της. Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν στην έρευνά αυτή δείχνουν ότι η διεργασία των ΠΗΠ σε επιλεγμένες συνθήκες θα μπορούσε να εφαρμοστεί ως προεπεξεργασία στο στάδιο της αποφλοιώσης ολόκληρων τοματών ενισχύοντας τη με χαμηλή κατανάλωση ενέργειας (~46 kJ/kg) και ταυτόχρονη διατήρηση των ποιοτικών χαρακτηριστικών και της συγκέντρωσης του λυκοπενίου των τελικών αποφλοιωμένων

τοματών. Επιπλέον, η προεπεξεργασία με ΠΗΠ θα μπορούσε να εφαρμοσθεί για την αύξηση της απόδοσης σε χυμό τομάτας, βελτιώνοντας τα τελικά ποιοτικά χαρακτηριστικά των χυμών. Τα ΠΗΠ μπορούν εύκολα να ενσωματωθούν στη γραμμή παραγωγής επεξεργασίας τομάτας, πριν από τη χυμοποίηση. Λαμβάνοντας υπόψη ότι η επεξεργασία των ΠΗΠ έχει χαμηλές ενεργειακές απαιτήσεις (<30 kJ/kg), θα μπορούσε να είναι μια οικονομικά βιώσιμη προσέγγιση για τις βιομηχανίες τομάτας. Τέλος, τα αποτελέσματα έδειξαν τα ΠΗΠ θα μπορούσαν να εφαρμοσθούν στα παραπροϊόντα τοματών που προκύπτουν από τη βιομηχανία, προκειμένου να ληφθούν υψηλές αποδόσεις εκχύλισης καροτενοειδών, λυκοπενίου, πρωτεϊνών και φαινολικών ενώσεων, χωρίς να χάνεται η λειτουργικότητα και η αντιοξειδωτική τους ικανότητα.

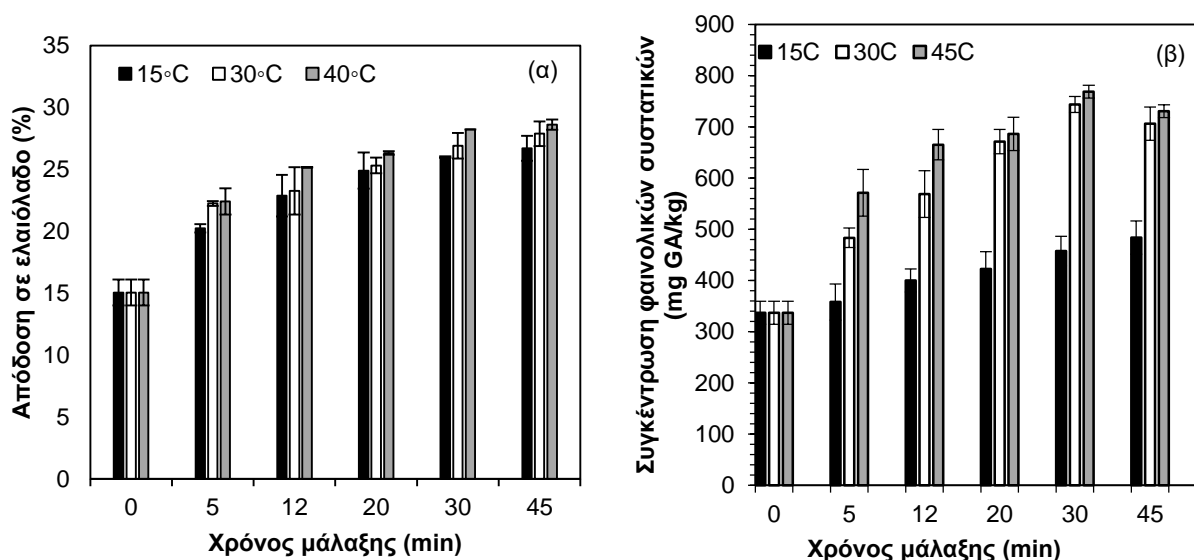
6.3. Β' μέρος αποτελεσμάτων – Πρώτη θεματική ενότητα: «Επίδραση της ΥΠ και ΠΗΠ ως προεπεξεργασίες στην ελαιόπαστα (πριν το στάδιο της μάλαξης) στην απόδοση σε ελαιόλαδο, στα ποιοτικά χαρακτηριστικά και στην οξειδωτική σταθερότητα των τελικών παραγόμενων ελαιόλαδων»

Σύμφωνα με τον πειραματικό σχεδιασμό του Β' μέρους της παρούσας διατριβής, ο οποίος αναλύθηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο, η ποικιλία ελιάς που χρησιμοποιήθηκε για τα πειράματα είναι *Τσουνάτη* στο δεύτερο στάδιο ωρίμανσης. Η συγκομιδή του καρπού γινόταν την περίοδο του Νοεμβρίου-Δεκεμβρίου από την κεντρική περιοχή της Πελοποννήσου για τέσσερις συνολικά καλλιεργητικές περιόδους (2015-2018).

Αρχικά, πραγματοποιήθηκε πλήρες κινητικό πείραμα της συμβατικής εξαγωγής ελαιόλαδου σε διάφορες συνθήκες μάλαξης (θερμοκρασία & χρόνος) ως προς την απόδοση σε ελαιόλαδο και την ποιότητα του παραγόμενου ελαιόλαδου (ελεύθερη οξύτητα), αριθμός υπεροξειδίων, απορρόφηση στο υπεριώδες, προφίλ λιπαρών οξέων) με στόχο να επιλεγθούν οι βέλτιστες συνθήκες μάλαξης, πετυχαίνοντας τη μέγιστη δυνατή απόδοση χωρίς όμως να υποβαθμίζεται ποιοτικά το παραγόμενο ελαιόλαδο. Ακολούθως, πραγματοποιήθηκε πλήρες κινητικό πείραμα των ΠΗΠ και της ΥΠ ως προεπεξεργασίες στην ελαιόπαστα πριν το στάδιο της μάλαξης σε διάφορες συνθήκες (15-40 °C και 30 min), προσδιορίζοντας την απόδοση σε ελαιόλαδο, τα ποιοτικά χαρακτηριστικά, τη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων συγκρίνοντας τα με το μη προεπεξεργασμένο ελαιόλαδο. Στη συνέχεια, αναπτύχθηκαν κατάλληλα μαθηματικά εργαλεία με τα οποία περιγράφηκε η επίδραση των δυο τεχνολογιών στην αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο και της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων σε σύγκριση με το μη προεπεξεργασμένο. Τέλος, έγινε αριστοποίηση (μέσω της μεθόδου αποκριτικής επιφάνειας) της διεργασίας της μάλαξης υποβοηθούμενη από ΠΗΠ και ΥΠ ως προς το χρόνο, τη θερμοκρασία και την ένταση των συνθηκών με ΠΗΠ ή ΥΠ βασιζόμενη στην απόδοση σε ελαιόλαδο και στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο των ελαιόλαδων. Τέλος, συγκρίθηκαν τα μη προεπεξεργασμένα παραγόμενα ελαιόλαδα με τα ελαιόλαδα που προέκυψαν από προεπεξεργασμένη με ΠΗΠ και ΥΠ ελαιόπαστα (στις βέλτιστες συνθήκες με ΠΗΠ και ΥΠ που προσδιορίστηκαν από κατάλληλα μοντέλα προσαρμογής) ως προς την απόδοση, τα ποιοτικά χαρακτηριστικά (ελεύθερη οξύτητα, αριθμός υπεροξειδίων, απορρόφηση στο υπεριώδες, προφίλ λιπαρών οξέων, συγκέντρωση ολικών και μεμονωμένων φαινολικών ενώσεων, συγκέντρωση α-τοκοφερόλης) και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Στη συνέχεια, παρατίθενται τα αποτελέσματα των παραπάνω αποτελεσμάτων με τον αντίστοιχο σχολιασμό τους.

6.3.1. Κινητική μελέτη συμβατικής εξαγωγής ελαιόλαδου, ποιοτικών και φαινολικών συστατικών από ελαιόπαστα σε διάφορες συνθήκες μάλαξης

Στην πρώτη ενότητα πειραμάτων πραγματοποιήθηκε κινητικό πείραμα της εξαγωγής ελαιόλαδου από μη προεπεξεργασμένη ελαιόπαστα σε διάφορες συνθήκες μάλαξης (χρόνος και θερμοκρασία). Όπως αναφέρθηκε στην πειραματική διαδικασία, η ελαιόπαστα μαλάχθηκε σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες (15, 30, 40 °C) και σε 6 διαφορετικούς χρόνους (0, 5, 12, 20, 30 και 45 min). Στη συνέχεια, παρατίθενται πίνακες και διαγράμματα που παρουσιάζουν την επίδραση των συνθηκών της μάλαξης στην απόδοση σε ελαιόλαδο, στους ποιοτικούς δείκτες του ελαιόλαδου, με σκοπό την επιλογή των βέλτιστων συνθηκών μάλαξης (θερμοκρασία και χρόνος) (Σχήμα 6.22).



Σχήμα 6.22. Επίδραση της θερμοκρασίας και του χρόνου μάλαξης στην (α) απόδοση του ελαιόλαδου και (β) τη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων για τη μη προεπεξεργασμένη ελαιόπαστα ποικιλίας *Τσουνάτη*. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση από πολλαπλές επεξεργασίες και μετρήσεις.

Από τα διαγράμματα παρατηρήθηκε ότι η θερμοκρασία και ο χρόνος μάλαξης της ελαιόπαστας επηρέασαν σημαντικά ($p < 0,05$) την απόδοση σε ελαιόλαδο. Συγκεκριμένα η αύξηση της θερμοκρασίας και του χρόνου μάλαξης οδήγησε σε αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο. Η μάλαξη είναι μία πολύ σημαντική διεργασία στη διαδικασία εξαγωγής ελαιόλαδου, τόσο για την αύξηση της απόδοσης όσο και για την τελική ποιότητα του παραγόμενου ελαιόλαδου. Η απόδοση σε ελαιόλαδο φαίνεται στο Σχήμα 6.22. Από το διάγραμμα έγινε εμφανές ότι η απόδοση αυξήθηκε σημαντικά τα πρώτα 15 min της μάλαξης σε όλες τις μελετηθείσες θερμοκρασίες. Στους 40 °C παρατηρήθηκαν οι υψηλότερες αποδόσεις, ενώ ταυτόχρονα στους 30 °C η απόδοση σε ελαιόλαδο δεν διέφερε σημαντικά από τους 40 °C ($p > 0,05$). Επιπλέον, πάνω από τα 30 min μάλαξης δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στην απόδοση σε ελαιόλαδο.

Στο παραπάνω Πίνακα 6.23 παρουσιάζονται τα σημαντικότερα ποιοτικά χαρακτηριστικά των ελαιόλαδων σε όλες τις μελετηθείσες συνθήκες. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές ($p>0.05$) στην οξύτητα, στον αριθμό υπεροξειδίων και στους φασματομετρικούς δείκτες K_{232} και K_{270} σε όλες τις συνθήκες μάλαξης.

Πίνακας 6.23 Επίδραση των συνθηκών μάλαξης στους ποιοτικούς δείκτες του μη προεπεξεργασμένου ελαιόλαδου της ποικιλίας *Τσουνάτη*, οξύτητα (%), αριθμό υπεροξειδίων (meq/kg), K_{232} και K_{270} .

| Θερμοκρασία μάλαξης(°C) | Χρόνος μάλαξης (min) | Οξύτητα (% ελαϊκό οξύ) | Αριθμός υπεροξειδίων (meq/kg) | K_{232} | K_{270} |
|-------------------------|----------------------|-----------------------------|-------------------------------|---------------------------|----------------------------|
| 15 | 0 | 0,620±0,009 ^{ab} | 5,405±0,030 ^b | 1,456±0,071 ^a | 0,102±0,002 ^a |
| | 5 | 0,630±0,016 ^{abc} | 5,952±0,260 ^{bc} | 1,496±0,032 ^a | 0,113±0,001 ^b |
| | 12 | 0,643±0,005 ^{cde} | 6,182±0,261 ^{bc} | 1,403±0,084 ^a | 0,114±0,001 ^b |
| | 20 | 0,640±0,010 ^{bcde} | 6,208±0,612 ^{bc} | 1,416±0,015 ^a | 0,115±0,001 ^b |
| | 30 | 0,650±0,007 ^{cdef} | 6,261±0,553 ^{bc} | 1,444±0,066 ^a | 0,110±0,002 ^a |
| | 45 | 0,650±0,004 ^{cdef} | 6,353±0,196 ^c | 1,456±0,011 ^a | 0,118±0,002 ^b |
| 30 | 0 | 0,620±0,009 ^{ab} | 5,405±0,035 ^b | 1,456±0,072 ^a | 0,102±0,002 ^a |
| | 5 | 0,634±0,007 ^{abcd} | 6,168±0,171 ^{bc} | 1,620±0,073 ^b | 0,129±0,000 ^c |
| | 12 | 0,656±0,003 ^{efg} | 6,146±0,202 ^{bc} | 1,659±0,054 ^{bc} | 0,129±0,001 ^c |
| | 20 | 0,650±0,006 ^{ef} | 6,257±0,853 ^{bc} | 1,671±0,004 ^{bc} | 0,130±0,001 ^c |
| | 30 | 0,663±0,007 ^{fgi} | 6,366±0,076 ^c | 1,682±0,001 ^{bc} | 0,130±0,000 ^{cd} |
| | 45 | 0,665±0,010 ^{cdef} | 6,448±0,856 ^c | 1,687±0,191 ^{bc} | 0,134±0,002 ^{cde} |
| 40 | 0 | 0,620±0,009 ^a | 5,405±0,030 ^b | 1,456±0,072 ^a | 0,102±0,002 ^a |
| | 5 | 0,650±0,005 ^{cdef} | 6,233±0,241 ^{bc} | 1,699±0,093 ^{bc} | 0,129±0,000 ^c |
| | 12 | 0,650±0,009 ^{def} | 6,392±0,626 ^c | 1,713±0,011 ^{bc} | 0,135±0,000 ^{cde} |
| | 20 | 0,678±0,009 ⁱ | 6,567±0,104 ^c | 1,729±0,071 ^{bc} | 0,137±0,001 ^{de} |
| | 30 | 0,674±0,010 ^{gi} | 6,677±0,143 ^a | 1,748±0,054 ^{bc} | 0,137±0,000 ^d |
| | 45 | 0,697±0,009 ^j | 6,782±0,081 ^c | 1,777±0,005 ^c | 0,140±0,000 ^d |

± αντιπροσωπεύει την τυπική απόκλιση των πολλαπλών μετρήσεων. Διαφορετικά γράμματα στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές ($p<0.05$) σε μια στήλη (διαφορές μεταξύ του χρόνου μάλαξης). Διαφορετικοί αριθμοί στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές ($p<0.05$) σε μια στήλη (διαφορές μεταξύ της θερμοκρασίας μάλαξης).

Συγκεκριμένα η θερμοκρασία των 15 °C και των 30 °C παρουσίασε τους καλύτερους ποιοτικούς δείκτες, δηλαδή πολύ μικρές τιμές οξύτητας, αριθμού υπεροξειδίων και τιμές K_{232} και K_{270} . Στους 40 °C, οι τιμές των δεικτών ποιότητας ήταν ελαφρώς υψηλότερες από τις άλλες θερμοκρασίες μάλαξης, αλλά εντός των ορίων (από την κοινοτική νομοθεσία) ώστε το ελαιόλαδο να παραμένει εξαιρετικά παρθένο ανεξάρτητα από τη θερμοκρασία και το χρόνο μάλαξης. Αυτό πιθανώς οφείλεται σε αυξημένη δραστηριότητα του ενζύμου λιπάση (υπεύθυνη για την αύξηση της ελεύθερης οξύτητας) και σε αύξηση του ρυθμού οξειδωσης σε υψηλότερες θερμοκρασίες (υπεύθυνη για την αύξηση του αριθμού των υπεροξειδίων και των δεικτών K_{232} και K_{270}) (Angerosa et al., 1996). Θα ήταν σκόπιμο, προς επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων να προσδιοριστεί η ενεργότητα αυτού του ενζύμου σε διάφορες θερμοκρασίες μάλαξης και να επιβεβαιωθεί για το αν αυξάνει την ελεύθερη οξύτητα σε υψηλότερες θερμοκρασίες μάλαξης.

Επιπλέον, στους 40 °C, οι τιμές των K είναι σημαντικά μεγαλύτερες σε σχέση με τις άλλες δύο θερμοκρασίες, που αυτό πιθανώς συσχετίζεται και με τα πτητικά χαρακτηριστικά του ελαιόλαδου. Σε υψηλές θερμοκρασίες ενισχύονται οι οξειδώσεις καθώς και η παραγωγή αλδευδών και άλλων ενώσεων (>C7), οι οποίες προσδίδουν στο ελαιόλαδο υποβαθμισμένο άρωμα (off-flavor).

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, σε υψηλότερες θερμοκρασίες μάλαξης (>40 °C), διάφορες χημικές και ενζυμικές αντιδράσεις λαμβάνουν χώρα υποβαθμίζοντας τα αρωματικά συστατικά του ελαιόλαδου (Kalua et al., 2007). Οι αρωματικές ενώσεις στο ελαιόλαδο είναι ένα από τα βασικότερα χαρακτηριστικά του, καθώς αυτές του προσδίδουν αυτό το «χαρακτηριστικό» του άρωμα (Angerosa et al., 1998). Οι αρωματικές ενώσεις στο ελαιόλαδο παράγονται από τις μεταβολικές οδούς της λιποξυγενάσης κατά του σπάσιμο του καρπού και εκχυλίζονται στο ελαιόλαδο κατά τη μάλαξη. Η λιποξυγενάση μετατρέπει από δυο κύριες μεταβολικές οδούς τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (λινολενικό και λινελαϊκό οξύ) που έχει ο ελαιόκαρπος με τη βοήθεια άλλων ενζύμων, δημιουργώντας αλκοόλες, αλδεΐδες (κυρίως C5 και C6), οξέα και εστέρες που είναι υπεύθυνες για το άρωμα του ελαιόλαδου (Buttery et al., 1994). Το άρωμα του παραγόμενου ελαιόλαδου εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως η ωριμότητα και η ποικιλία του ελαιόκαρπου καθώς και οι συνθήκες εξαγωγής του ελαιόλαδου (Salas, & Sánchez 1998). Σε υψηλές θερμοκρασίες μάλαξης, πολλά πτητικά συστατικά μπορούν να σχηματιστούν από τη χημική οξείδωση του ελαιόλαδου τα οποία είναι υπεύθυνα για την υποβάθμιση του τελικού αρώματος, προσδίδοντας του άρωμα που αναφέρεται και ως «οξειδωτική τάγγα». Παράλληλα, η αύξηση του χρόνου μάλαξης έχει βρεθεί ότι σχετίζεται με αύξηση των συνολικών πτητικών ενώσεων, μειώνοντας αυτά που σχετίζονται με το ευχάριστο άρωμα και αυξάνοντας την παραγωγή πτητικών όπως τη 2-μέθυλο-βουτανόλη και 3-μέθυλο-βουτανόλη, οι οποίες σχετίζονται με ελαττώματα στο άρωμα (Ranalli et al., 2003)

Στο Σχήμα 6.22 παρουσιάζεται η συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων που εκχυλίστηκαν στο ελαιόλαδο κατά την εξαγωγή του. Η επίδραση της θερμοκρασίας και του χρόνου μάλαξης στη συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων ήταν σημαντική ($p < 0,05$). Η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών ενώσεων του ελαιόλαδου είχε σημαντικές διαφορές στις δυο υψηλές θερμοκρασίες συγκριτικά με τους 15 °C. Η μέγιστη συγκέντρωση αυτών παρατηρήθηκε στους 40 °C, με μικρές διαφορές συγκριτικά με τους 30 °C. Επομένως είναι φανερό ότι η θερμοκρασία μάλαξης πρέπει να είναι πάνω από τους 25 °C, ώστε οι φαινολικές ενώσεις να εκχυλιστούν αποτελεσματικά στο ελαιόλαδο. Στους 30 °C η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων έφτασε έως και τα 743,5 mg GAE/kg μετά από 30 min μάλαξης. Αντίστοιχα στους 15 °C και στους 40 °C στον ίδιο χρόνο

μάλαξης η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων ήταν 457 mg GAE/kg και 768 mg GAE/kg, αντίστοιχα.

Η αυξημένη φαινολική συγκέντρωση στο ελαιόλαδο είναι επιθυμητή και είναι ένα δείκτης μεγάλης οξειδωτικής σταθερότητας για το ελαιόλαδο κατά την αποθήκευσή του. Επιπλέον, ο χρόνος μάλαξης των 30 min οδήγησε στις σχεδόν υψηλότερες συγκεντρώσεις φαινολικών σε σύγκριση με τους άλλους χρόνους μάλαξης. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, κατά τη μάλαξη της πάστας ελιάς δυο ταυτόχρονα φαινόμενα συμβαίνουν. Από τη μία, η αύξηση της θερμοκρασίας στη μάλαξη υποβαθμίζει τη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων λόγω ενζυμικών αντιδράσεων που συμβαίνουν παρουσία οξυγόνου (αντίδραση οξειδωσης φαινολικών συστατικών από την PPO και την POD) και από την άλλη η αύξηση της θερμοκρασίας βελτιώνει τη διαλυτότητα των φαινολικών ενώσεων στη λιπαρή φάση καθώς ενισχύει τα φαινόμενα μεταφοράς μάζας απελευθερώνοντας φαινολικές ενώσεις από τους κυτταρικούς ιστούς λόγω της αποικοδόμησης του κυτταρικού τοιχώματος της ελαιόπαστας στη μάλαξη. Έχει βρεθεί βιβλιογραφικά, ότι η POD έχει μεγάλη θερμική σταθερότητα σε αντίθεση με την PPO στους 40 °C και επιπλέον εμφανίζει έως και 40% μείωση της ενεργότητάς της. Η μερική απενεργοποίηση της PPO στους 40 °C οδηγεί ενδεχομένως σε αύξηση των ολικών φαινολικών ενώσεων, καθώς η μείωση στην ενεργότητα της δεν οδηγεί στην οξείδωση και υποβάθμισή του φαινολικού περιεχομένου στο τελικό παραγόμενο ελαιόλαδο (Taticchi et al., 2013).

Στον παρακάτω πίνακα 6.24 παρουσιάζονται το προφίλ των ελεύθερων λιπαρών οξέων για τα ελαιόλαδα που μαλάχθηκαν στις τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες μάλαξης για 30 min. Παρατηρήθηκε ότι μεταξύ των δειγμάτων δεν υπήρχε σημαντική διαφορά μεταξύ των λιπαρών οξέων. Οι βέλτιστες συνθήκες μάλαξης, που ήταν 30 °C για 30 min, επιλέχθηκαν με βάση την απόδοση ελαιόλαδου και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά. Οι συνθήκες αυτές οδήγησαν σε υψηλή απόδοση σε ελαιόλαδο (22,5%), διατηρώντας παράλληλα τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του ελαιόλαδου. Τα αποτελέσματα που προκύπτουν σε αυτήν την ενότητα πειραμάτων συγκρίθηκαν με άλλες μελέτες που έχουν γίνει πάνω στην επίδραση των συνθηκών μάλαξης στην απόδοση του ελαιόλαδου, χωρίς να έχει προηγηθεί κάποια προεπεξεργασία. Σύμφωνα με τους Kalua et al (2006), οι οποίοι χρησιμοποίησαν θερμοκρασίες μάλαξης 15, 30, 45 και 60 °C και χρόνους 30, 60, 90 και 120 min σε ελαιόπαστα ποικιλίας Frantoio. Τα αποτελέσματα της έρευνας τους έδειξαν ότι ο χρόνος και η θερμοκρασία μάλαξης επηρεάζουν σημαντικά την αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο, με τους 45 °C όμως να παρουσιάζουν μικρότερες αποδόσεις σε σχέση με τις άλλες θερμοκρασίες, που μπορεί να οφείλεται στην αλλαγή της ρεολογίας της ελαιόπαστας με αποτέλεσμα τον εγκλωβισμό του ελαίου στην ελαιόπαστα. Τα καλύτερα αποτελέσματα

παρουσιάστηκαν στους 30 °C για 90 min μάλαξης (με διαφορά 14% από τα 30 min μάλαξης στην ίδια θερμοκρασία).

Πίνακας 6.24: Επίδραση της θερμοκρασίας μάλαξης (15, 30 και 40 °C) στα προφίλ λιπαρών οξέων του μη προεπεξεργασμένου ελαιόλαδου της ποικιλίας *Τσουνάτη*.

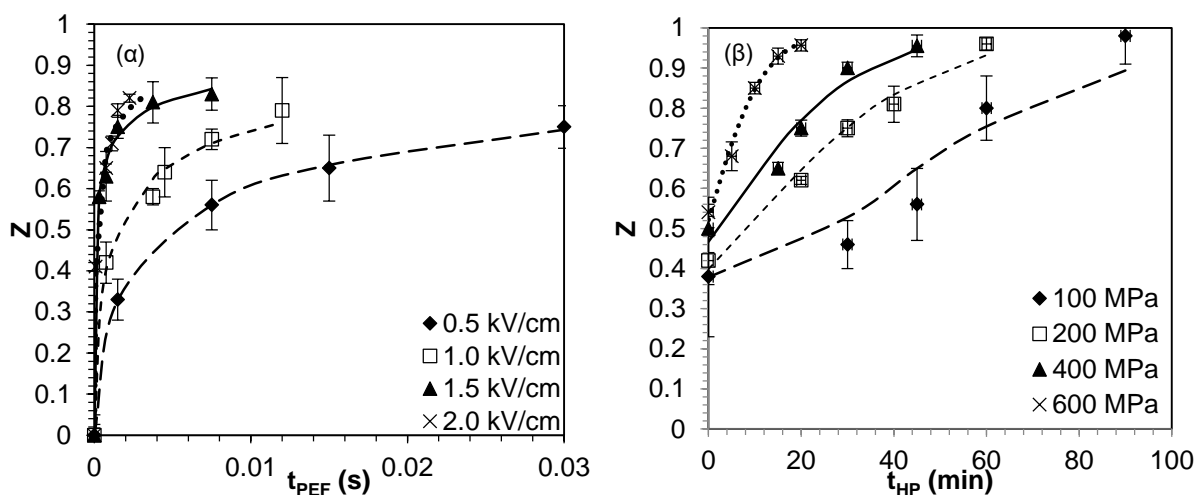
| Ποικιλίες | <i>Τσουνάτη</i> | | | Όρια* |
|--------------------------------------|-----------------|----------------|---------------|-------------|
| | 15 °C, 30 min | 30 °C, 30 min | 40 °C, 30 min | |
| Σύνθεση Λιπαρών Οξέων | | | | |
| Μυριστικό | 0,01 | Μη ανιχνεύσιμο | 0,01 | max 0,03 |
| Παλμιτικό | 9,23 | 8,42 | 9,03 | 7,50-20,00 |
| Παλμιτελαϊκό | 0,50 | 0,41 | 0,45 | 0,30-3,50 |
| Δεκαεπτανικό | 0,11 | 0,12 | 0,11 | max 0,30 |
| Δεκαεπτενικό | 0,23 | 0,21 | 0,22 | max 0,30 |
| Στεατικό | 2,47 | 3,07 | 2,67 | 0,50-5,00 |
| Ελαϊκό | 80,02 | 81,37 | 80,95 | 55,00-83,00 |
| Λινελαϊκό | 4,96 | 4,97 | 4,99 | 3,50-21,00 |
| Λινολενικό | 0,45 | 0,48 | 0,45 | max 1,00 |
| Εικοσανικό | 0,45 | 0,47 | 0,45 | max 0,60 |
| Εικοσενοϊκό | 0,30 | 0,29 | 0,30 | max 0,40 |
| Βεχενικό | 0,11 | 0,14 | 0,12 | max 0,20 |
| Λιγνοκηρικό | 0,05 | 0,05 | 0,05 | max 0,20 |
| Ελαϊκό/Λινελαϊκό | 16,13 | 16,37 | 16,22 | |

*Κανονισμός (ΕΟΚ) 2568/91 και τροποποιήσεις του για το εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο.

Επίσης, με την αύξηση της θερμοκρασίας μάλαξης παρατηρήθηκε αύξηση των φαινολικών ενώσεων, ενώ ο χρόνος δεν επηρέασε σημαντικά τη συγκέντρωση των φαινολών. Οι Inarejos-Garcia et al (2009) χρησιμοποίησαν ελιές ποικιλίας Cornicabra, οι οποίες μαλάχθηκαν σε θερμοκρασίες 20, 28 και 40 °C και χρόνους 30, 60 και 90 min. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι με αύξηση του χρόνου και της θερμοκρασίας μάλαξης αυξήθηκε η απόδοση σε ελαιόλαδο, με την επίδραση της θερμοκρασίας να είναι σημαντικότερη. Στην αύξηση της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων μεγαλύτερη επίδραση είχε η αύξηση της θερμοκρασίας παρά του χρόνου μάλαξης. Αντίθετα με την παρούσα διατριβή, οι Kalua et al., 2006 έδειξαν ότι η αύξηση της θερμοκρασίας μάλαξης μειώνει την απόδοση του ελαιόλαδου από 38% σε 33,8%, ενώ η αύξηση του χρόνου μάλαξης πάνω από 60 min επηρεάζει σημαντικά την απόδοση ελαιόλαδου, η οποία αυξήθηκε έως 44%.

6.3.2. Προσδιορισμός του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z για τον προσδιορισμό των συνθηκών με ΠΗΠ και ΥΠ ως προεπεξεργασίες στην ελαιόπαστα.

Στη δεύτερη ενότητα πειραμάτων μελετήθηκε η επίδραση των διεργασιών ΠΗΠ και ΥΠ ως προεπεξεργασίες στην πάστα ελιάς πριν το στάδιο της μάλαξης. Ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης Z προσδιορίστηκε έμμεσα με φυγοκεντρική μέθοδο για τις προεπεξεργασίες ΠΗΠ και ΥΠ στην πάστα ελιάς, υπολογίζοντας την απόδοση σε έλαιο που σε κάθε περίπτωση διαχωριζόταν από το στερεό. Παρατηρήθηκε ότι οι πιο έντονες συνθήκες ΠΗΠ και ΥΠ οδήγησαν σε αυξημένη τιμή του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z, οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι και οι δυο προεπεξεργασίες προκάλεσαν μερική διάσπαση της κυτταρικής μεμβράνης με διαφορετικούς μηχανισμούς (Σχήμα 6.23). Αν και η πάστα ελιάς είναι ένα υλικό το οποίο ήδη είχε υποβληθεί σε άλεση, ήταν προφανές ότι υπήρχε υπολειμματική κυτταρική δομή που παραμένει ανεπηρέαστη, και έτσι και οι δύο προεπεξεργασίες ήταν ικανές να προκαλέσουν περαιτέρω διαπερατοποίηση των κυττάρων, οδηγώντας σε ευκολότερη εξαγωγή του ελαιόλαδου από το εσωτερικό του κυττάρου. Τα ΠΗΠ και η ΥΠ είναι δυο διεργασίες που μπορούν να προκαλέσουν διαπερατοποίηση των κυττάρων αλλά και μικρότερων οργανιδίων μέσα στο κύτταρο, όπως το κενοτόπιο, το οποίο περιέχει το μεγαλύτερο ποσοστό (περίπου 76%) σε έλαιο από όλο το κύτταρο (Obergholl, 1997).



Σχήμα 6.23 Δείκτης κυτταρικής διάρρηξης Z για την προεπεξεργασία της ελαιόπαστας με (α) ΠΗΠ, και (β) ΥΠ σε διάφορες συνθήκες έντασης ηλεκτρικού πεδίου και εφαρμοζόμενης πίεσης πριν το στάδιο της μάλαξης. Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή των εξισώσεων 5.32 και 5.33 στα πειραματικά δεδομένα. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση από πολλαπλές επεξεργασίες και μετρήσεις.

Για προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ και ΥΠ δείγματα, οι μέγιστες τιμές Z ήταν 0,85 και 0,98, αντίστοιχα σε όλες τις μελετηθείσες συνθήκες. Για την προεπεξεργασία με ΠΗΠ, η αύξηση της έντασης του ηλεκτρικού πεδίου είχε ως αποτέλεσμα υψηλότερο ρυθμό αύξησης (σε μικρότερο χρόνο επεξεργασίας) του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z. Παρόμοια τάση παρατηρήθηκε και για τα

δείγματα που είχαν προεπεξεργαστεί με ΥΠ. Αξίζει να σημειωθεί ότι τα δείγματα που είχαν προεπεξεργαστεί με ΥΠ, σε χρόνο πίεσης ίσο με μηδέν (εφαρμογή της εκάστοτε πίεσης για χρόνο μέχρι να φτάσει την τιμή αυτή) για όλες τις μελετηθείσες πιέσεις είχαν δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z ίσο με 0,5.

Ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης Z χρησιμοποιήθηκε σε κάθε περίπτωση για να μπορούν να επιλεχθούν συνθήκες επεξεργασίας με ΠΗΠ και ΥΠ ώστε να επιτευχθούν διάφορα ποσοστά ηλεκτροδιάτρησης, δηλαδή ένα εύρος τιμών Z για την ελαιόπαστα. Ίδια τιμή Z μπορεί να επιτευχθεί με διάφορους συνδυασμούς έντασης ηλεκτρικού πεδίου και παλμών (χρόνος επεξεργασίας), καθώς επίσης με διάφορους συνδυασμούς πίεσης και χρόνου επεξεργασίας. Για παράδειγμα, σε ένταση ηλεκτρικού πεδίου 2.0 kV/cm και 50 παλμούς οδήγησαν σε δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z ίσο με 0.65, ενώ σε ένταση ηλεκτρικού πεδίου 1.0 kV/cm, πάνω από 300 παλμοί απαιτήθηκαν για να επιτευχθεί η ίδια τιμή Z . Αντίστοιχα, σε εφαρμοζόμενη πίεση 600 MPa και 5 min οδήγησαν σε δείκτη κυτταρικής διάρρηξης ίσο με 0.85, ενώ σε εφαρμοζόμενη πίεση ίση με 200 MPa, πάνω από 40 min απαιτήθηκαν για να επιτευχθεί η ίδια τιμή Z .

Τα πειραματικά δεδομένα των Σχημάτων 6.23 προσαρμόστηκαν στην Εξ. 41 και Εξ. 42 αντιστοίχως και οι παράμετροι του μοντέλου υπολογίστηκαν και παρουσιάζονται στους Πίνακες 6.25 και 6.26.

Πίνακας 6.25. Χαρακτηριστικοί χρόνοι ημικαταστροφής τ (s) και σταθερά k του εκθέτη για διαφορετικές τιμές έντασης ηλεκτρικού πεδίου όπως υπολογίζεται από την Εξ. 41 για την ελαιόπαστα που προεπεξεργάστηκε με ΠΗΠ.

| E (kV/cm) | τ (s) | k | R^2 |
|------------------|------------------------------|----------------------------|-------------------------|
| 0.5 | 0.00500±0.00150 ^a | -0.594±0.012 ^a | 0.989 |
| 1.0 | 0.00153±0.00051 ^b | -0.562±0.035 ^a | 0.960 |
| 1.5 | 0.00015±0.00005 ^c | -0.434±0.081 ^b | 0.976 |
| 2.0 | 0.00010±0.00005 ^c | -0.522±0.012 ^{ab} | 0.996 |

± αντιπροσωπεύει το τυπικό σφάλμα της μη γραμμικής παλινδρόμησης όπως υπολογίστηκε από την Εξ. 41. Διαφορετικά γράμματα στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) σε μια γραμμή (διαφορές μεταξύ εντάσεων ηλεκτρικού πεδίου).

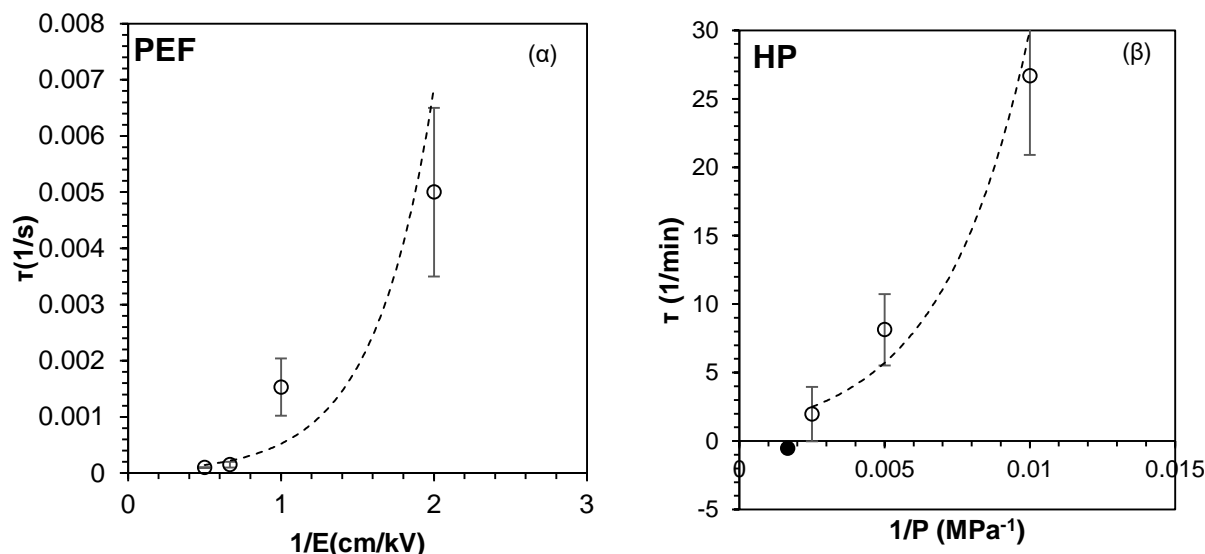
Ο χαρακτηριστικός χρόνος ημικαταστροφής τ (ο χρόνος που απαιτείται για κάθε προεπεξεργασία ώστε ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης Z να φτάσει την τιμή 0,5) είναι μια παράμετρος που αντικατοπτρίζει κατά πόσο κάθε προεπεξεργασία (ΠΗΠ ή ΥΠ) επηρεάζει την κυτταρική μεμβράνη σε διαφορετική ένταση συνθηκών. Η αύξηση της έντασης του ηλεκτρικού πεδίου για τα ΠΗΠ και η αύξηση της εφαρμοζόμενης πίεσης για την ΥΠ οδήγησε σε μείωση του χρόνου ημικαταστροφής τ (Σχήμα 6.24). Επιπρόσθετα, για την προεπεξεργασία με ΥΠ στα 600 MPa, ο χαρακτηριστικός

χρόνος ημικαταστροφής τ ήταν μικρότερος του μηδενός, καθώς σε αυτή τη συνθήκη πίεσης για χρόνο επεξεργασίας μηδέν το Z είχε φτάσει ήδη την τιμή 0,54.

Πίνακας 6.26. Χαρακτηριστικοί χρόνοι καταστροφής τ (s) και σταθερά t_0 (min) για διαφορετικές τιμές εφαρμοζόμενης πίεσης όπως υπολογίζεται από την Εξ. 42 για την ελαιόπαστα που προεπεξεργάστηκε με ΥΠ.

| P (MPa) | t_0 (min) | τ (min) | R^2 |
|---------|-------------------------|-------------------------|-------|
| 100 | 29.74±5.78 ^a | 26.68±1.32 ^a | 0.925 |
| 200 | 19.77±2.61 ^b | 8.13±2.12 ^b | 0.986 |
| 400 | 14.98±1.98 ^b | 1.97±0.35 ^c | 0.975 |
| 600 | 6.16±2.36 ^c | <0 | 0.954 |

± αντιπροσωπεύει το τυπικό σφάλμα της μη γραμμικής παλινδρόμησης όπως υπολογίστηκε από την Εξ. 42. Διαφορετικά γράμματα στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) σε μια γραμμή (διαφορές μεταξύ εφαρμοζόμενων πιέσεων).



Σχήμα 6.24. Εξάρτηση του χαρακτηριστικού χρόνου ημικαταστροφής τ ως προς (α) την ένταση ηλεκτρικού πεδίου (kV/cm) και (β) την εφαρμοζόμενη πίεση (MPa). Οι γραμμές σφάλματος δείχνουν την τυπική απόκλιση. Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή του μοντέλου πρώτης τάξης στα πειραματικά δεδομένα.

Ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης Z προσδιορίστηκε προκειμένου να επιλεγούν οι συνθήκες ΠΗΠ και ΥΠ έχοντας διάφορα ποσοστά διαπερατότητας των κυτταρικών μεμβρανών της πάστας ελιάς, ώστε να διαπιστωθεί πως αυτό θα επηρεάσει την απόδοση και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των εξαγόμενων ελαιόλαδων. Οι συνθήκες ΠΗΠ που επιλέχθηκαν για τα επόμενα πειράματα ήταν από 0.5 έως 2.0 kV/cm για 0-1000 παλμούς με 15 μ s πλάτος παλμού και συχνότητα 20 Hz. Οι συνθήκες με ΥΠ που επιλέχθηκαν για τα επόμενα πειράματα ήταν πιέσεις από 100 έως 600 MPa

για 0-60 min. Στους παρακάτω πίνακες 6.27 και 6.28 φαίνονται οι συνθήκες με ΥΠ και ΠΗΠ που επιλέχθηκαν με τις αντίστοιχες τιμές του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z για κάθε συνθήκη.

Πίνακας 6.27. Δείκτης κυτταρικής διάρρηξης Z για τις προεπεξεργασμένες με ΠΗΠ ελαιόπαστες σε αντιστοιχία με τις συνθήκες επεξεργασίας (ένταση ηλεκτρικού πεδίου και αριθμός παλμών)

| Συνθήκες ΠΗΠ | | | | | | | |
|----------------|------|----------------|------|----------------|------|----------------|------|
| E=0,5 kV/cm | | E=1,0 kV/cm | | E=1,5 kV/cm | | E=2,0 kV/cm | |
| Αριθμός παλμών | Z | Αριθμός παλμών | Z | Αριθμός παλμών | Z | Αριθμός παλμών | Z |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 100 | 0.33 | 50 | 0.41 | 20 | 0.58 | 5 | 0.42 |
| 500 | 0.56 | 250 | 0.58 | 50 | 0.63 | 50 | 0.50 |
| 1000 | 0.62 | 300 | 0.64 | 100 | 0.75 | 75 | 0.61 |
| 2000 | 0.75 | 500 | 0.71 | 250 | 0.81 | 100 | 0.83 |

Πίνακας 6.28. Δείκτης κυτταρικής διάρρηξης Z για τις προεπεξεργασμένες με ΥΠ ελαιόπαστες σε αντιστοιχία με τις συνθήκες επεξεργασίας (εφαρμοζόμενη πίεση και χρόνος επεξεργασίας)

| Συνθήκες ΥΠ | | | | | | | |
|---------------------------|------|---------------------------|------|---------------------------|------|---------------------------|------|
| 100 MPa, 25 °C | | 200 MPa, 25 °C | | 400 MPa, 25 °C | | 600 MPa, 25 °C | |
| Χρόνος επεξεργασίας (min) | Z | Χρόνος επεξεργασίας (min) | Z | Χρόνος επεξεργασίας (min) | Z | Χρόνος επεξεργασίας (min) | Z |
| 0 | 0.38 | 0 | 0.42 | 0 | 0.50 | 0 | 0.53 |
| 30 | 0.46 | 20 | 0.62 | 15 | 0.65 | 5 | 0.68 |
| 45 | 0.56 | 30 | 0.75 | 20 | 0.75 | 10 | 0.85 |
| 60 | 0.80 | 40 | 0.81 | 30 | 0.90 | 15 | 0.93 |

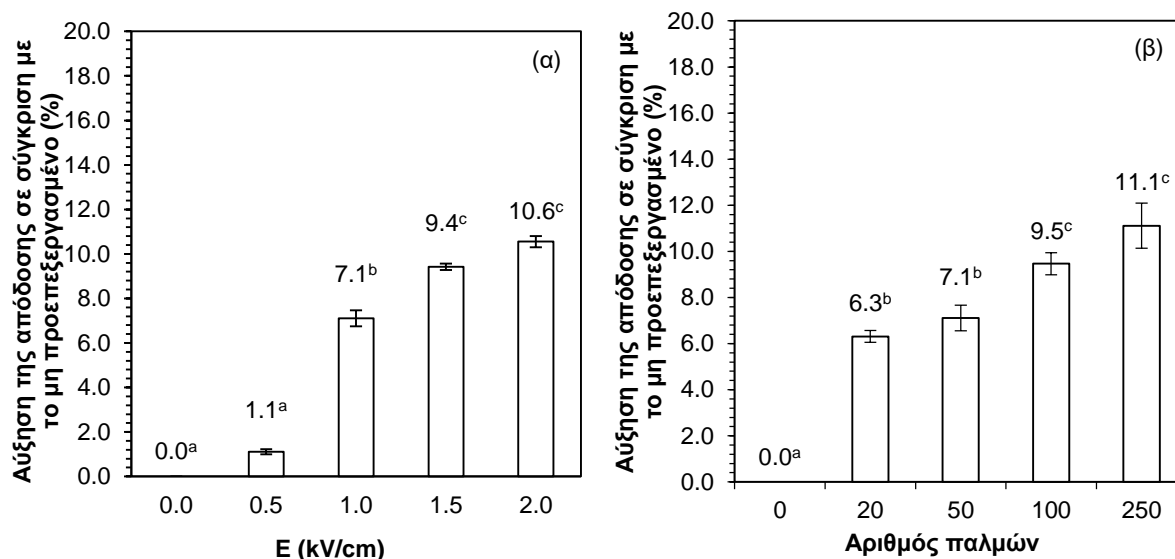
6.3.3. Μελέτη της ΥΠ και των ΠΗΠ ως προεπεξεργασίες πριν το στάδιο της μάλαξης σε επιλεγμένες συνθήκες (30°C και 30 min) στην απόδοση σε ελαιόλαδο, στα ποιοτικά χαρακτηριστικά και στη συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών των τελικών ελαιόλαδων

Στην ενότητα αυτή πραγματοποιήθηκε κινητικό πείραμα των ΠΗΠ (0-2 kV/cm, 0-6000 παλμούς) και της ΥΠ (100-600 MPa, 0-60 min) ως προεπεξεργασίες στην πάστα ελιάς σε επιλεγμένες συνθήκες μάλαξης που προέκυψαν από την προηγούμενη ενότητα (30 °C και 30 min). Σε αυτές

τις συνθήκες στην προηγούμενη ενότητα βρέθηκε ότι έχουμε μεγάλη απόδοση χωρίς να επηρεάζονται τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του τελικού ελαιόλαδου.

6.3.3.1. Μάλαξη υποβοηθούμενη με ΠΗΠ

Στην προεπεξεργασία με ΠΗΠ παρατηρείται ότι αυξάνοντας την ένταση των συνθηκών (πεδίο και παλμούς) τόσο η αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο ήταν μεγαλύτερη σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα (Σχήμα 6.25).



Σχήμα 6.25 Αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα για (α) διάφορες εντάσεις ηλεκτρικού πεδίου (0,5-2,0 kV/cm) και σταθερά 50 παλμούς, (β) για διάφορους χρόνους επεξεργασίας (20-250 παλμοί) και 1,0 kV/cm ένταση ηλεκτρικού πεδίου. Οι γραμμές σφάλματος δείχνουν την τυπική απόκλιση. Διαφορετικά γράμματα στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) σε μια γραμμή (διαφορές μεταξύ εντάσεων ηλεκτρικού πεδίου ή μεταξύ των παλμών).

Σε ένταση ηλεκτρικού πεδίου μικρότερη του 0,5 kV/cm, η αύξηση της απόδοσης ήταν πολύ μικρή, γεγονός που ίσως οφείλεται ότι τα κύτταρα για να διαρρηχθούν αναντίστρεπτα χρειάζεται μια κρίσιμη τιμή ηλεκτρικού πεδίου και πάνω. Όπως περιγράφεται από τους Raso & Heinz, 2006, κατά τη διάρκεια μιας επεξεργασίας με ΠΗΠ, εάν η ένταση του ηλεκτρικού πεδίου υπερβεί μια κρίσιμη τιμή, το διαμεμβρανικό δυναμικό αυξάνεται και δημιουργούνται πόροι πάνω στην κυτταρική μεμβράνη αναντίστρεπτα. Επιπλέον, όπως είναι ήδη γνωστό, μέσα στο κύτταρο, το μεγαλύτερο μέρος του ελαιόλαδου βρίσκεται κυρίως στο κενοτόπιο. Τα ΠΗΠ κυρίως προκαλούν ηλεκτροδιάτρηση της κυτταρικής μεμβράνης, αλλά σε πιο έντονες συνθήκες μπορούν να προκαλέσουν και ηλεκτροδιάτρηση της μεμβράνης του κενοτόπιου (τονοπλάστη), ενισχύοντας κατά πολύ την απελευθέρωση ελαίου προς το εξωτερικό του κυττάρου. Επομένως, όσο πιο έντονες ήταν οι συνθήκες με ΠΗΠ τόσο πιο αποτελεσματικά ήταν τα φαινόμενα μεταφοράς μάζας λόγω των ηλεκτροδιατρημένων μεμβρανών (κυττάρου και κενοτοπίου). Στην πιο έντονη συνθήκη

των ΠΗΠ στα 2 kV/cm (50 παλμοί) η αύξηση της απόδοσης έφτασε το 10,6% (24,9%) σε σύγκριση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα (22,5%). Ίδια τάση παρουσιάστηκε και αυξάνοντας τους παλμούς που εφαρμόστηκαν για ένα σταθερό πεδίο (1 kV/cm). Στο μη προεπεξεργασμένο δείγμα η απόδοση σε ελαιόλαδο ήταν 22,5%, ενώ στα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ δείγματα η συνολική απόδοση σε ελαιόλαδο κυμάνθηκε από 22,7 έως και 24,7%.

Τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των ελαιόλαδων που προέκυψαν από τις προεπεξεργασμένες με ΠΗΠ ελαιόπαστες φαίνονται στον παρακάτω Πίνακα 6.29. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων ($p > 0.05$) σε όλες τις μελετηθείσες συνθήκες.

Πίνακας 6.29: Επίδραση των συνθηκών ΠΗΠ (0.5-2.0 kV/cm και 50 παλμούς, 1,0 kV/cm από 20-250 παλμοί) στους ποιοτικούς δείκτες του ελαιόλαδου, οξύτητα (%), αριθμό υπεροξειδίων (meq/kg), K₂₃₂ και K₂₇₀ στις βέλτιστες συνθήκες μάλαξης (30°C, 30 min).

| Συνθήκες με ΠΗΠ | Οξύτητα (% ελαϊκό οξύ) | Αριθμός υπεροξειδίων (meq/kg) | K ₂₃₂ | K ₂₇₀ |
|---------------------|---------------------------|-------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Μη προεπεξεργασμένο | 0,663±0,002 ^a | 6,615±0,691 ^a | 1,391±0,051 ^a | 0,123±0,002 ^a |
| 50 παλμοί | 0,5kV/cm | 0,684±0,001 ^b | 6,692±0,381 ^a | 1,461±0,061 ^a |
| | 1,0kV/cm | 0,695±0,000 ^a | 6,605±0,052 ^a | 1,478±0,030 ^a |
| | 1,5kV/cm | 0,680±0,005 ^a | 6,678±0,063 ^a | 1,548±0,083 ^a |
| | 2,0kV/cm | 0,684±0,003 ^c | 6,619±0,352 ^a | 1,511±0,016 ^a |
| 1,0kV/cm | 20 παλμοί | 0,698±0,001 ^b | 6,902±1,351 ^a | 1,455±0,005 ^a |
| | 50 παλμοί | 0,695±0,000 ^b | 6,605±0,192 ^a | 1,478±0,061 ^a |
| | 100 παλμοί | 0,696±0,013 ^b | 6,659±0,363 ^a | 1,518±0,002 ^a |
| | 250 παλμοί | 0,698±0,008 ^b | 6,568±0,286 ^a | 1,552±0,004 ^a |

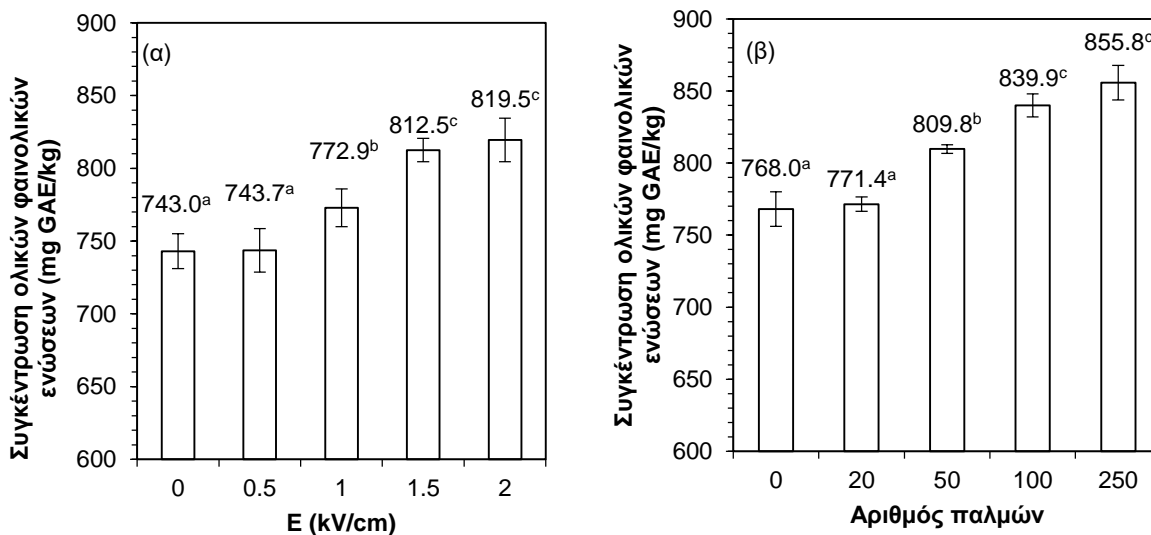
± αντιπροσωπεύει την τυπική απόκλιση των πολλαπλών μετρήσεων. Διαφορετικά γράμματα στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) σε μια στήλη (διαφορές μεταξύ των συνθηκών με ΠΗΠ και του μη προεπεξεργασμένου).

Παρατηρήθηκε μία μικρή αύξηση της οξύτητας στα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ δείγματα σε σχέση με τα μη προεπεξεργασμένα. Αυτό μπορεί πιθανώς να οφείλεται στην απελευθέρωση ιχνών μετάλλων (όπως σίδηρος και χαλκός) από τα ηλεκτρόδια του θαλάμου επεξεργασίας των ΠΗΠ που χαρακτηρίζονται από προοξειδωτικές δραστηριότητες και αντιδράσεις στο προϊόν και θα μπορούσαν ενδεχομένως να επηρεάσουν την οξύτητα και γενικότερα την οξειδωτική σταθερότητα του παραγόμενου ελαιόλαδου (Veneziani et al., 2019).

Στο σχήμα 6.26 παρατηρείται ότι η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων του ελαιόλαδου επηρεάζεται σημαντικά από την προεπεξεργασία με ΠΗΠ. Η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών ενώσεων αυξάνεται με την αύξηση της έντασης του ηλεκτρικού πεδίου και του χρόνου επεξεργασίας και κυμαίνεται από 768,7 έως και 847,0 mg GAE/kg.

Για σταθερό χρόνο επεξεργασίας με ΠΗΠ (50 παλμοί), για μικρές εντάσεις ηλεκτρικού πεδίου έως και 1.0 kV/cm, δεν υπάρχει σημαντική αύξηση ($p > 0.05$) στην απόδοση σε ελαιόλαδο και στη

συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών, ενώ για μεγαλύτερη από 1.0 kV/cm παρουσιάζεται σημαντική αύξηση ($p < 0.05$) και στις δύο παραμέτρους.



Σχήμα 6.26 Αύξηση της απόδοσης της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων στο παραγόμενο ελαιόλαδο σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα για (α) διάφορες εντάσεις ηλεκτρικού πεδίου (0,5-2,0 kV/cm) και σταθερά 50 παλμούς, (β) για διάφορους χρόνους επεξεργασίας (20-250 παλμοί) και 1,0 kV/cm ένταση ηλεκτρικού πεδίου. Οι γραμμές σφάλματος δείχνουν την τυπική απόκλιση πολλαπλών μετρήσεων. Διαφορετικά γράμματα στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) σε μια γραμμή (διαφορές μεταξύ εντάσεων ηλεκτρικού πεδίου ή παλμών).

Αξίζει να σημειωθεί ότι εφαρμόζοντας ΠΗΠ στα 2,0 kV/cm για 50 παλμούς προέκυψε ελαιόλαδο περίπου 10% (817,3 mg GAE/kg) περισσότερο εμπλουτισμένο σε φαινολικά συστατικά από τα αντίστοιχο μη προεπεξεργασμένο (743,0 mg GAE/kg), επιβεβαιώνοντας ότι τα ΠΗΠ ενισχύουν την εκχύλιση ενδοκυτταρικών συστατικών από το κύτταρο προς τα έξω. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι τα ΠΗΠ θεωρείται μία μη θερμική τεχνολογία, καθώς η εφαρμογή των ΠΗΠ δεν προκαλεί σημαντική αύξηση της θερμοκρασίας. Αυτό είναι απολύτως απαραίτητο για τη διατήρηση και τη λειτουργικότητα των εκχυλιζόμενων θερμοευαίσθητων βιοδραστικών συστατικών στο τελικό ελαιόλαδο. Αυτό επιβεβαιώνεται και από την αντιοξειδωτική ικανότητα των ελαιόλαδων που προέκυψαν από προεπεξεργασμένες με ΠΗΠ ελαιόπαστες.

Η αντιοξειδωτική ικανότητα των ανεπεξεργαστων ελαιόλαδων ήταν 211,0 mg Trolox/kg, ενώ των προεπεξεργασμένων με ΠΗΠ έφτασαν έως και την τιμή με 235,1 mg Trolox/kg. Η αντιοξειδωτική δράση των δειγμάτων, όπως αναμένονταν (Πίνακας 6.30), ακολουθεί την τάση της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων, τα οποία όπως έχει αναφερθεί αποτελούν τα κύρια αντιοξειδωτικά συστατικά του ελαιόλαδου, μαζί με τις τοκοφερόλες. Η συγκέντρωση των χλωροφυλλών επίσης ενισχύθηκε σημαντικά με την προεπεξεργασία της ΠΗΠ φτάνοντας σε μέγιστη τιμή ως και 9,30

mg/kg (αύξηση περίπου 25%), σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα που η συγκέντρωση των χλωροφυλλών ήταν 7,43 mg/kg.

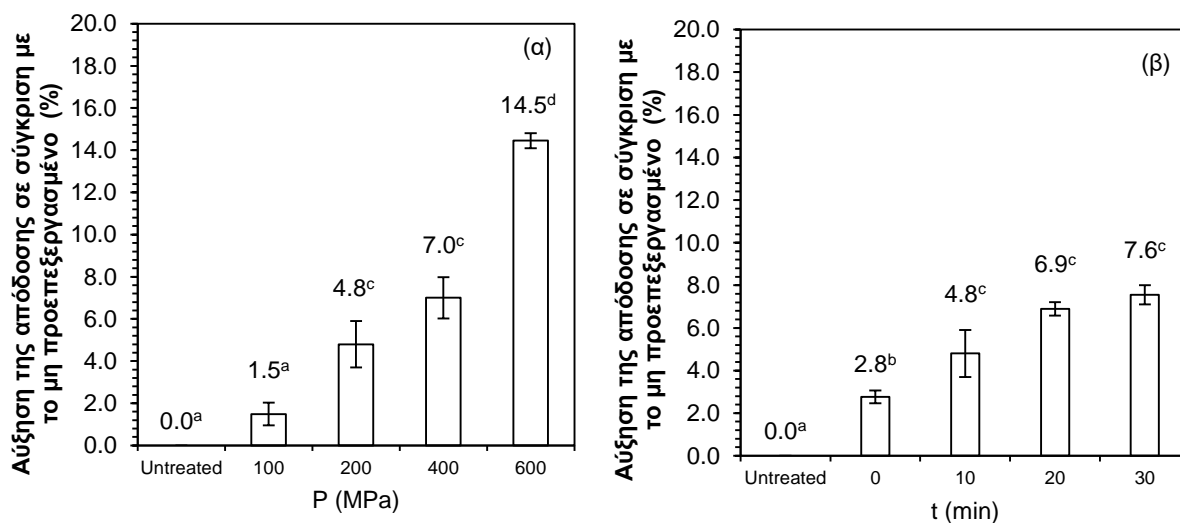
Πίνακας 6.30 Αύξηση της συγκέντρωσης φαινολικών ενώσεων (%) σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα και αντιοξειδωτική ικανότητα (mgTrolox/kg) των παραγόμενων ελαιόλαδων που έχουν προκύψει από προεπεξεργασία με ΠΗΠ

| Συνθήκες με ΠΗΠ | Αύξηση της Συγκέντρωσης φαινολικών ενώσεων σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο (%) | Χλωροφύλλες (mg/kg) | Αντιοξειδωτική ικανότητα (mgTrolox/kg) |
|---------------------|---|------------------------|--|
| Μη προεπεξεργασμένο | 0,0 ^a | 7.43±0,12 ^a | 211,0±0,3 ^a |
| 50 παλμοί | 0,5kV/cm | 0,9±0,4 ^a | 211,1±0,2 ^a |
| | 1,0kV/cm | 4,1±1,2 ^b | 219,5±0,1 ^b |
| | 1,5kV/cm | 9,3±1,3 ^c | 230,7±0,8 ^c |
| | 2,0kV/cm | 10,3±0,6 ^c | 232,7±0,4 ^c |
| 1,0 kV/cm | 20 παλμοί | 0,4±0,7 ^a | 211,9±0,1 ^a |
| | 50 παλμοί | 5,4±2,2 ^b | 222,5±0,6 ^b |
| | 100 παλμοί | 9,3±1,3 ^c | 230,7±0,8 ^c |
| | 250 παλμοί | 11,4±0,8 ^c | 235,1±1,3 ^d |

± αντιπροσωπεύει την τυπική απόκλιση των πολλαπλών μετρήσεων. Διαφορετικά γράμματα στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) σε μια στήλη (διαφορές μεταξύ των συνθηκών με ΠΗΠ).

6.3.3.2. Μάλαξη υποβοηθούμενη με ΥΠ

Στην προεπεξεργασία με ΥΠ, παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν, όπως στην προεπεξεργασία με ΠΗΠ. Η ένταση των συνθηκών με ΥΠ (πίεση και χρόνος) αύξησε σημαντικά την απόδοση σε ελαιόλαδο.



Σχήμα 6.27 Αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα για (α) διάφορες εφαρμόζόμενες πιέσεις (100-600 MPa) για 10 min, για (β) διάφορους χρόνους επεξεργασίας (0-30 min) και 200 MPa εφαρμόζόμενη πίεση. Οι γραμμές σφάλματος δείχνουν την τυπική απόκλιση από πολλαπλές μετρήσεις.

Η μεγαλύτερη απόδοση σε ελαιόλαδο παρατηρήθηκε στα 600 MPa για 10 min, όπου αυξήθηκε περίπου 14,5% (ίσο με 25,8%) σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα (22,5%). Η εφαρμοζόμενη πίεση σε ένα κύτταρο έχει ως αποτέλεσμα την ενίσχυση της εκχύλισης ενδοκυτταρικών συστατικών. Η διαφορά συμπιεστότητας του εσωτερικού και του εξωτερικού του κυττάρου προκαλεί μηχανική καταπόνηση στο κύτταρο (διαπερατοποίηση) και ενίσχυση των φαινομένων μεταφοράς μάζας διευκολύνοντας τα ενδοκυτταρικά συστατικά να εκχυλιστούν σε μεγαλύτερο ποσοστό προς το εξωτερικό. Στο μη προεπεξεργασμένο δείγμα η απόδοση σε ελαιόλαδο ήταν 22,5%, ενώ στα προεπεξεργασμένα με ΥΠ δείγματα η συνολική απόδοση σε ελαιόλαδο κυμάνθηκε από 22,9 έως και 25,8% (Σχήμα 6.27).

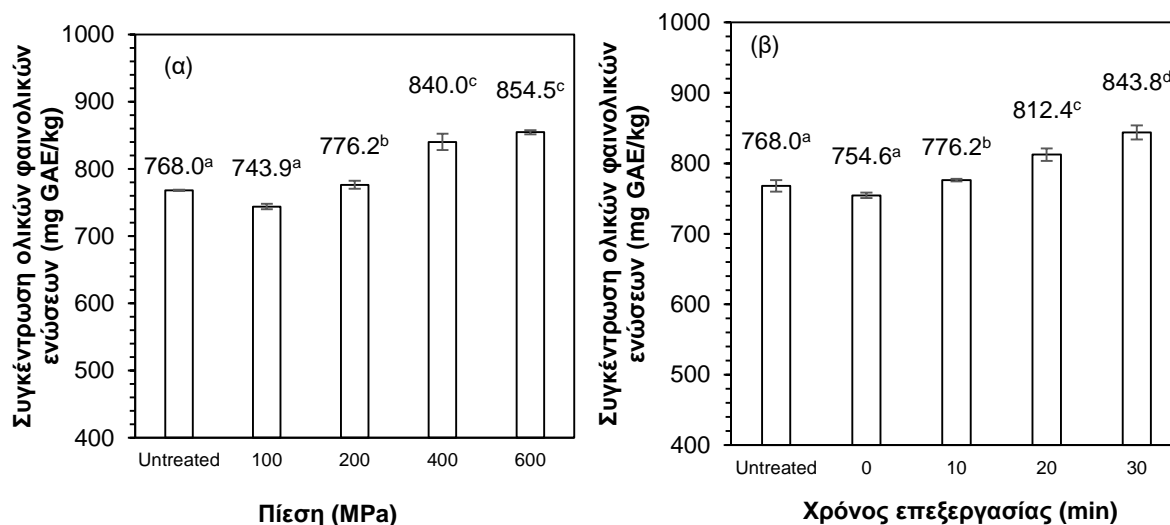
Πίνακας 6.31: Επίδραση των συνθηκών ΥΠ (100-600 MPa και 10 min, 200 MPa από 0-30 min) στους ποιοτικούς δείκτες του ελαιόλαδου, οξύτητα (%), αριθμό υπεροξειδίων (meq/kg), K232 και K270 στις βέλτιστες συνθήκες μάλαξης (30°C, 30 min).

| Συνθήκες με ΥΠ | Οξύτητα (% ελαϊκό οξύ) | Αριθμός υπεροξειδίων (meq/kg) | K232 | K270 |
|---------------------|--------------------------|-------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Μη προεπεξεργασμένο | 0,663±0,002 ^d | 6,615±0,691 ^a | 1,391±0,051 ^a | 0,123±0,002 ^a |
| 10 min | 100 MPa | 0,654±0,001 ^c | 6,624±0,812 ^a | 1,469±0,005 ^a |
| | 200 MPa | 0,631±0,008 ^a | 6,600±0,634 ^a | 1,409±0,022 ^a |
| | 400 MPa | 0,671±0,003 ^e | 6,653±0,352 ^a | 1,448±0,051 ^a |
| | 600 MPa | 0,639±0,001 ^b | 6,694±0,031 ^a | 1,461±0,044 ^a |
| 200 MPa | 0 min | 0,643±0,001 ^c | 6,642±0,410 ^a | 1,483±0,012 ^a |
| | 10 min | 0,650±0,001 ^b | 6,600±0,174 ^a | 1,409±0,004 ^a |
| | 20 min | 0,657±0,003 ^a | 6,663±0,050 ^a | 1,445±0,015 ^a |
| | 30 min | 0,696±0,003 ^d | 6,663±0,027 ^a | 1,461±0,047 ^a |

± αντιπροσωπεύει την τυπική απόκλιση των πολλαπλών μετρήσεων. Διαφορετικά γράμματα στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) σε μια στήλη (διαφορές μεταξύ των συνθηκών με ΥΠ).

Τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των ελαιόλαδων που προέκυψαν από τις προεπεξεργασμένες με ΥΠ ελαιόπαστες φαίνονται στον παρακάτω πίνακα 6.31. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων ($p > 0.05$) σε όλες τις μελετηθείσες συνθήκες.

Επιπρόσθετα, η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων στο τελικό παραγόμενο ελαιόλαδο φαίνεται ότι επηρεάζεται από την προεπεξεργασία με ΥΠ (Σχήμα 6.28). Η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών ενώσεων αυξάνεται με την αύξηση της εφαρμοζόμενης πίεσης και του χρόνου επεξεργασίας και κυμαίνεται από 769,0 έως και 883,2 mg GAE/kg. Η αύξηση στη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων έφτασε περίπου το 11,3% σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα ύστερα από προεπεξεργασία με ΥΠ στα 600 MPa για 10 min. Η αντιοξειδωτική δράση των δειγμάτων, όπως αναμένονταν, ακολουθεί την τάση της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων, τα οποία όπως έχει αναφερθεί αποτελούν τα κύρια αντιοξειδωτικά συστατικά του ελαιόλαδου.



Σχήμα 6.28 Αύξηση της απόδοσης της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων στο παραγόμενο ελαιόλαδο σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα για (α) διάφορες εφαρμοζόμενες πιέσεις (100-600 MPa) για 10 min, (β) για διάφορους χρόνους επεξεργασίας (0-30 min) και 200 MPa εφαρμοζόμενη πίεση. Οι γραμμές σφάλματος δείχνουν την τυπική απόκλιση.

Η μέγιστη αντιοξειδωτική ικανότητα των ελαιόλαδων που προέκυψε από την προεπεξεργασία με ΥΠ έφτασε μέχρι και την τιμή 231,9 mgTrolox/kg, περίπου 10% αύξηση σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο ελαιόλαδο (211,0 mgTrolox/kg) (Πίνακας 6.32).

Πίνακας 6.32 Αύξηση της συγκέντρωσης φαινολικών ενώσεων (%) σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα και αντιοξειδωτική ικανότητα (mgTrolox/kg) των παραγόμενων ελαιόλαδων που έχουν προκύψει από προεπεξεργασία με ΥΠ

| Συνθήκες με ΥΠ | Αύξηση της Συγκέντρωσης φαινολικών ενώσεων σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο (%) | Χλωροφύλλες (mg/kg) | Αντιοξειδωτική ικανότητα (mgTrolox/kg) |
|---------------------|---|------------------------|--|
| Μη προεπεξεργασμένο | 0,0 ^a | 7.43±0,12 ^a | 211,0±0,3 ^a |
| 10 min | 100 MPa | 0,0±0,0 ^a | 7.82±0,09 ^a |
| | 200 MPa | 1,1±0,0 ^b | 7.95±0,02 ^b |
| | 400 MPa | 9,4±0,5 ^c | 8.12±0,10 ^b |
| | 600 MPa | 11,3±1,5 ^c | 9.28±0,08 ^c |
| 200 MPa | 0 min | 0,1±0,0 ^a | 7.52±0,06 ^a |
| | 10 min | 1,1±0,3 ^b | 7.95±0,02 ^b |
| | 20 min | 5,8±1,2 ^c | 8.12±0,01 ^c |
| | 30 min | 9,9±1,4 ^d | 8.56±0,11 ^d |

± αντιπροσωπεύει την τυπική απόκλιση των πολλαπλών μετρήσεων. Διαφορετικά γράμματα στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) σε μια στήλη (διαφορές μεταξύ των συνθηκών με ΥΠ).

Η συγκέντρωση των χλωροφυλλών επίσης ενισχύθηκε σημαντικά με την προεπεξεργασία της ΥΠ φτάνοντας σε μέγιστη τιμή ως και 9,28 mg/kg, σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα που η συγκέντρωση των χλωροφυλλών ήταν 7,43 mg/kg.

Τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής συμφωνούν με τα συμπεράσματα προηγούμενων μελετών που εστιάζουν στην επίδραση των ΠΗΠ και της ΥΠ ως προεπεξεργασίες στη διαδικασία εξαγωγής ελαιόλαδου. Είναι προφανές ότι η επεξεργασία με ΠΗΠ και ΥΠ μπορεί να οδηγήσει σε διάρρηξη των κυττάρων με διαφορετικούς μηχανισμούς, ενισχύοντας έτσι τη διαδικασία εκχύλισης ενδοκυτταρικών συστατικών των κυττάρων ελιάς. Οι διαφορές, οι οποίες μπορούν να παρατηρηθούν, στο ποσοστό αύξησης της απόδοσης του ελαιόλαδου και των πολυφαινόλων που εκχυλίζονται στο παραγόμενο ελαιόλαδο μπορούν να αποδοθούν στις διαφορετικές συνθήκες με ΠΗΠ ή ΥΠ που χρησιμοποιούνται σε κάθε μελέτη καθώς επίσης και στις διαφορετικές ποικιλίες που χρησιμοποιούνται (στάδιο ωρίμανσης καρπού, διαφορετικό μέγεθος και σκληρότητα σάρκας κτλ.). Μία από τις έρευνες αυτές είναι των Puertolas et al. (2015), οι οποίοι χρησιμοποίησαν την ποικιλία ελιάς *Arroñiz* και την επεξεργάστηκαν με ΠΗΠ σε ένταση πεδίου 2 kV/cm και ειδική ενέργεια 11.25 kJ/kg με μάλαξη της ελαιόπαστας στους 24 °C για 60 min. Τα αποτελέσματα του πειράματός τους έδειξαν ότι η απόδοση σε ελαιόλαδο αυξάνεται κατά 13,3% σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο και η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων του ελαιόλαδου αυξάνονται κατά 11,5%, ενώ τα ποιοτικά χαρακτηριστικά παρέμειναν ανεπηρέαστα από την προεπεξεργασία με ΠΗΠ. Οι Abenoza et al. (2013) επίσης απέδειξαν ότι και στις ελιές ποικιλίας *Arbequina* αυξάνεται η απόδοση σε ελαιόλαδο μετά από προεπεξεργασία με ΠΗΠ σε ένταση ηλεκτρικού πεδίου 2 kV/cm και ειδική ενέργεια 5,22 kJ/kg με μάλαξη της ελαιόπαστας στους 15 °C για 30 min. Η αύξηση της απόδοσης ήταν 14,1% σε σύγκριση με το μη προεπεξεργασμένο (απόδοση ίση με 13,1%), ενώ παρατηρήθηκε μείωση στις φαινολικές ενώσεις κατά 24,6% (112.2 mg GAE/kg), η οποία μάλλον οφείλεται στη χαμηλή θερμοκρασία μάλαξης που εφαρμόστηκε. Τέλος οι Veneziani et al. (2019) επίσης μελέτησαν την προεπεξεργασία με ΠΗΠ σε τρεις διαφορετικές ποικιλίες ελιάς (*Carolea*, *Coratina*, and *Ottobratica*) και απέδειξαν ότι τα ΠΗΠ μπορούν να αυξήσουν την απόδοση σε ελαιόλαδο από 2,3 έως και 6,0% σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα (απόδοση ίση με 15%), ενώ τις αντίστοιχες εκχυλιζόμενες φαινολικές ενώσεις στο ελαιόλαδο από 3,2 έως και 14,3% σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα (598 mg GAE/kg).

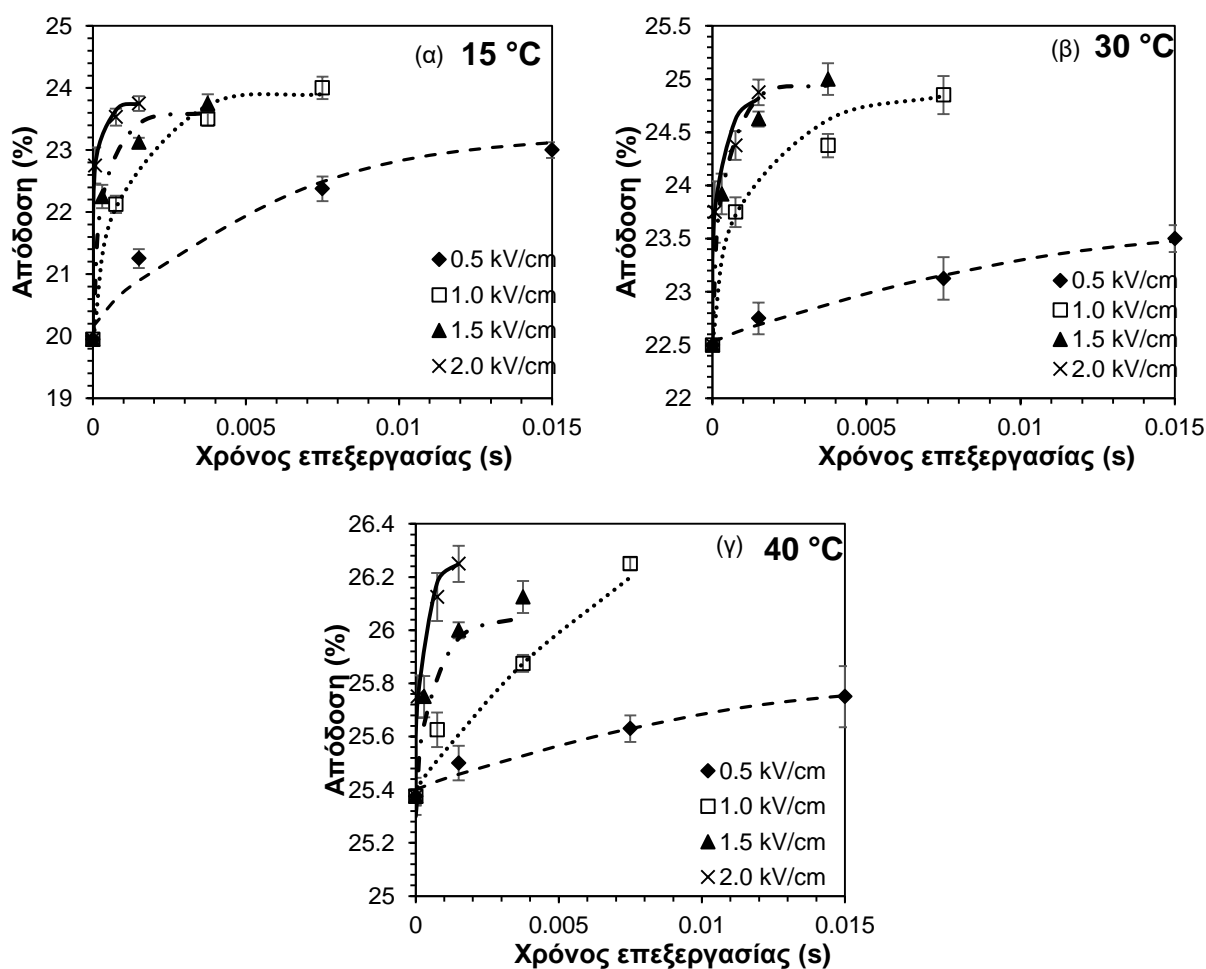
6.3.4. Μαθηματική περιγραφή των ΠΗΠ και της ΥΠ ως προεπεξεργασίες πριν το στάδιο της μάλαξης στην αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο και της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων

Σε αυτήν την ενότητα πειραμάτων, προεπεξεργάστηκε η ελαιόπαστα πριν το στάδιο της μάλαξης με ΠΗΠ (0,5-2.0 kV/cm, 0-2000 παλμούς) και ΥΠ (100-600 MPa, 0-60 min) σε διάφορες συνθήκες μάλαξης (15, 30, 40 °C θερμοκρασία μάλαξης) για 30 min και συγκρίθηκαν ως προς την αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο και ως προς την αύξηση της

συγκέντρωσης των φαινολικών συστατικών στα παραγόμενα ελαιόλαδα. Τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των ελαιόλαδων προσδιορίστηκαν σε όλα τα δείγματα και δεν παρατηρήθηκε κάποια σημαντική μεταβολή μεταξύ των δύο προεπεξεργασιών με ΠΗΠ και ΥΠ και στο μη προεπεξεργασμένο δείγμα.

6.3.4.1. Μαθηματική περιγραφή των ΠΗΠ για την απόδοση σε ελαιόλαδο και τη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο

Σε κάθε θερμοκρασία αυξάνοντας την ένταση των συνθηκών με ΠΗΠ (ένταση ηλεκτρικού πεδίου και χρόνος επεξεργασίας) η απόδοση σε ελαιόλαδο ήταν υψηλότερη.



Σχήμα 6.29 Απόδοση σε ελαιόλαδο (%) ως προς τον χρόνο επεξεργασίας για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ δείγματα σε διάφορες εντάσεις ηλεκτρικού πεδίου (0,5 (♦), 1,0 (□), 1,5 (▲) και 2,0 (×) kV/cm) στους (α) 15, (β) 30 και (γ) 40 °C θερμοκρασία μάλαξης. Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή της Εξ.45 στα πειραματικά δεδομένα. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση από πολλαπλές επεξεργασίες και μετρήσεις.

Η απόδοση σε ελαιόλαδο στους 15 °C κυμάνθηκε από 21,25 έως 23,75% για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ δείγματα (ανάλογα την ένταση των συνθηκών με ΠΗΠ) ενώ το μη προεπεξεργασμένο δείγμα είχε απόδοση ίση με 19,90% (αύξηση έως και κατά 20,1%). Στους 30 και 40 °C, για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ δείγματα, η απόδοση σε ελαιόλαδο κυμάνθηκε από 22,75 έως 24,87% και 25,50 έως 26,25%, αντίστοιχα, ενώ το μη προεπεξεργασμένο δείγμα είχε απόδοση ίση με 22,50% (αύξηση έως και κατά 10,5%) και 25,40% (αύξηση έως και κατά 3,4%), αντίστοιχα (Σχήμα 6.29).

Τα πειραματικά δεδομένα μοντελοποιήθηκαν με ένα ανοιγμένο μοντέλο πρώτης τάξης τριών παραμέτρων (Εξ. 45) και υπολογίστηκαν οι παράμετροι του μοντέλου, η σταθερά του ρυθμού αύξησης της απόδοσης σε ελαιόλαδο k , η αρχική απόδοση σε ελαιόλαδο Y_0 και η τελική απόδοση σε ελαιόλαδο Y_f για τον τελικό χρόνο επεξεργασίας με ΠΗΠ σε κάθε ένταση ηλεκτρικού πεδίου.

Το μοντέλο αυτό χρησιμοποιήθηκε για να περιγράψει μαθηματικά την αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο με την προεπεξεργασία των ΠΗΠ. Η μορφή αυτού του μοντέλου αντικατοπτρίζει την αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο σε συνάρτησι με τον χρόνο επεξεργασίας με ΠΗΠ για κάθε ένταση ηλεκτρικού πεδίου, καθώς σε χαμηλούς χρόνους επεξεργασίας η αύξηση της απόδοσης είναι απότομη και σημαντική και σε μεγαλύτερους χρόνους αρχίζει και σταθεροποιείται, χωρίς να μπορεί να αυξηθεί περαιτέρω. Επιπλέον, η σταθερά του ρυθμού αύξησης της απόδοσης σε ελαιόλαδο που υπολογίζεται από το μοντέλο αυτό, αντικατοπτρίζει την επίδραση της κάθε συνθήκης με ΠΗΠ στην αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο, και κατά πόσο ή όχι είναι η σημαντική η επίδραση της διεργασίας αυτής στην ενίσχυση της απόδοσης σε ελαιόλαδο πριν το στάδιο της μάλαξης. Οι σταθερές του μοντέλου Εξ. 45 παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.33.

Παρατηρήθηκε ότι όσο πιο μεγάλη ήταν η ένταση του ηλεκτρικού πεδίου τόσο πιο μεγάλη ήταν η σταθερά του ρυθμού αύξησης της απόδοσης σε ελαιόλαδο για κάθε θερμοκρασία μάλαξης. Η αρχική Y_0 και τελική απόδοση Y_f σε ελαιόλαδο δεν εμφάνισε σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών με ΠΗΠ. Για κάθε θερμοκρασία μάλαξης, όσο αυξανόταν η ένταση ηλεκτρικού πεδίου, τόσο μεγαλύτερη ήταν η σταθερά του ρυθμού της αύξησης της απόδοσης.

Για παράδειγμα, στους 15 °C, η σταθερά του ρυθμού αύξησης της απόδοσης στα 2 kV/cm ήταν 3,5 φορές μεγαλύτερη σε σχέση με τη σταθερά του ρυθμού αύξησης στο 1,5 kV/cm. Αξιοσημείωτο είναι, ότι στους 15 °C, η απόδοση σε ελαιόλαδο κατάφερε να φτάσει περίπου την τιμή 22,25% ύστερα από εφαρμογή των ΠΗΠ (1,5 kV/cm και 20 παλμούς), δηλαδή αντίστοιχη τιμή απόδοσης που είχε το μη προεπεξεργασμένο δείγμα στους 30 °C.

Πίνακας 6.33 Σταθερές του ρυθμού της αύξησης της απόδοσης k (ms^{-1}) σε ελαιόλαδο, η αρχική απόδοση σε ελαιόλαδο Y_0 και η τελική απόδοση σε ελαιόλαδο Y_f για τις προεπεξεργασμένες με ΠΗΠ ελαιόπαστες σε διάφορες εντάσεις ηλεκτρικού πεδίου (0,5-2,0 kV/cm) και σε θερμοκρασίες μάλαξης 15, 30, 40 °C που υπολογίστηκαν από την Εξ. 45.

| Ένταση ηλεκτρικού πεδίου (kV/cm) | Θερμοκρασία μάλαξης (°C) | | |
|--|----------------------------|----------------------------|---------------------------|
| | 15 | 30 | 40 |
| | k (ms^{-1}) | | |
| 0.5 | 0.174±0.021 ^{1a} | 0.089±0.017 ^{1a} | 0.071±0.006 ^{2a} |
| 1.0 | 1.068±0.173 ^{1b} | 0.991±0.051 ^{1b} | 0.101±0.027 ^{2b} |
| 1.5 | 5.489±0.618 ^{1c} | 3.042±0.205 ^{2c} | 2.382±0.088 ^{3c} |
| 2.0 | 18.960±2.181 ^{1d} | 11.814±2.121 ^{2d} | 8.156±1.973 ^{3d} |
| Y_0 (%) | | | |
| 0.5 | 20.06±0.09 ^{1a} | 22.53±0.04 ^{2a} | 25.40±0.02 ^{3a} |
| 1.0 | 19.96±0.11 ^{1a} | 22.53±0.01 ^{2a} | 25.43±0.09 ^{3a} |
| 1.5 | 19.95±0.12 ^{1a} | 22.51±0.04 ^{2a} | 25.38±0.07 ^{3a} |
| 2.0 | 19.95±0.15 ^{1a} | 22.50±0.05 ^{2a} | 25.37±0.08 ^{3a} |
| Y_f (%) | | | |
| 0.5 | 23.70±0.08 ^{1a} | 24.78±0.08 ^{2a} | 25.90±0.05 ^{3a} |
| 1.0 | 23.70±0.08 ^{1a} | 24.78±0.15 ^{2a} | 26.90±1.70 ^{3a} |
| 1.5 | 23.30±0.12 ^{1a} | 24.80±0.30 ^{2a} | 25.98±0.09 ^{3a} |
| 2.0 | 23.50±0.19 ^{1a} | 24.60±0.43 ^{3a} | 26.10±0.10 ^{3a} |

± αντιπροσωπεύει το τυπικό σφάλμα της μη γραμμικής παλινδρόμησης όπως υπολογίστηκε από την Εξ. 45. Διαφορετικά γράμματα στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) σε μια στήλη (διαφορές μεταξύ των συνθηκών με ΠΗΠ). Διαφορετικοί αριθμοί στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) σε μια γραμμή (διαφορές μεταξύ των θερμοκρασιών μάλαξης).

Επιπλέον, μεταξύ των θερμοκρασιών της μάλαξης παρατηρήθηκε ότι τα ΠΗΠ ενίσχυσαν εντονότερα την εξαγωγή ελαιόλαδου σε ηπιότερες θερμοκρασίες μάλαξης (<30 °C). Στην προηγούμενη ενότητα παρατηρήθηκε ότι στους 15 °C η απόδοση σε ελαιόλαδο για το μη προεπεξεργασμένο δείγμα ήταν σημαντικά μικρότερη από τις άλλες δυο θερμοκρασίες μάλαξης. Στους 15 °C, οι σταθερές του ρυθμού αύξησης της απόδοσης σε ελαιόλαδο είναι 20-60% μεγαλύτερες από τις αντίστοιχες των 30 και 40 °C σε όλες τις μελετηθείσες εντάσεις ηλεκτρικού πεδίου. Αυτό σημαίνει ότι η προεπεξεργασία με ΠΗΠ θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σε χαμηλές κυρίως θερμοκρασίες μάλαξης όπου οι αποδόσεις σε ελαιόλαδο είναι πολύ μικρές και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του τελικού ελαιόλαδου βελτιωμένα.

Η θερμοκρασία στη μάλαξη παίζει πολύ καταλυτικό και σημαντικό ρόλο ώστε να εξαχθεί το ελαιόλαδο αποτελεσματικά από την ελαιόπαστα. Κύτταρα τα οποία δεν έσπασαν κατά την άλεση, στο στάδιο της μάλαξης σπάνε. Τα μικρά σταγονίδια ελαίου που είχαν σχηματιστεί κατά τη διάρκεια της άλεσης, ενώνονται μεταξύ τους σχηματίζοντας μεγαλύτερα με στόχο να διαχωριστούν. Η θερμοκρασία της μάλαξης θα πρέπει να είναι σχετικά χαμηλή ώστε να επιτευχθεί η καλύτερη ποιότητα του τελικού ελαιόλαδου. Τα ΠΗΠ ως προεπεξεργασία, λόγω της ηλετροδιάτρησης των κυττάρων που προκαλούν οδηγούν σε ευκολότερη απελευθέρωση του ελαίου από τα κύτταρα προς τα έξω.

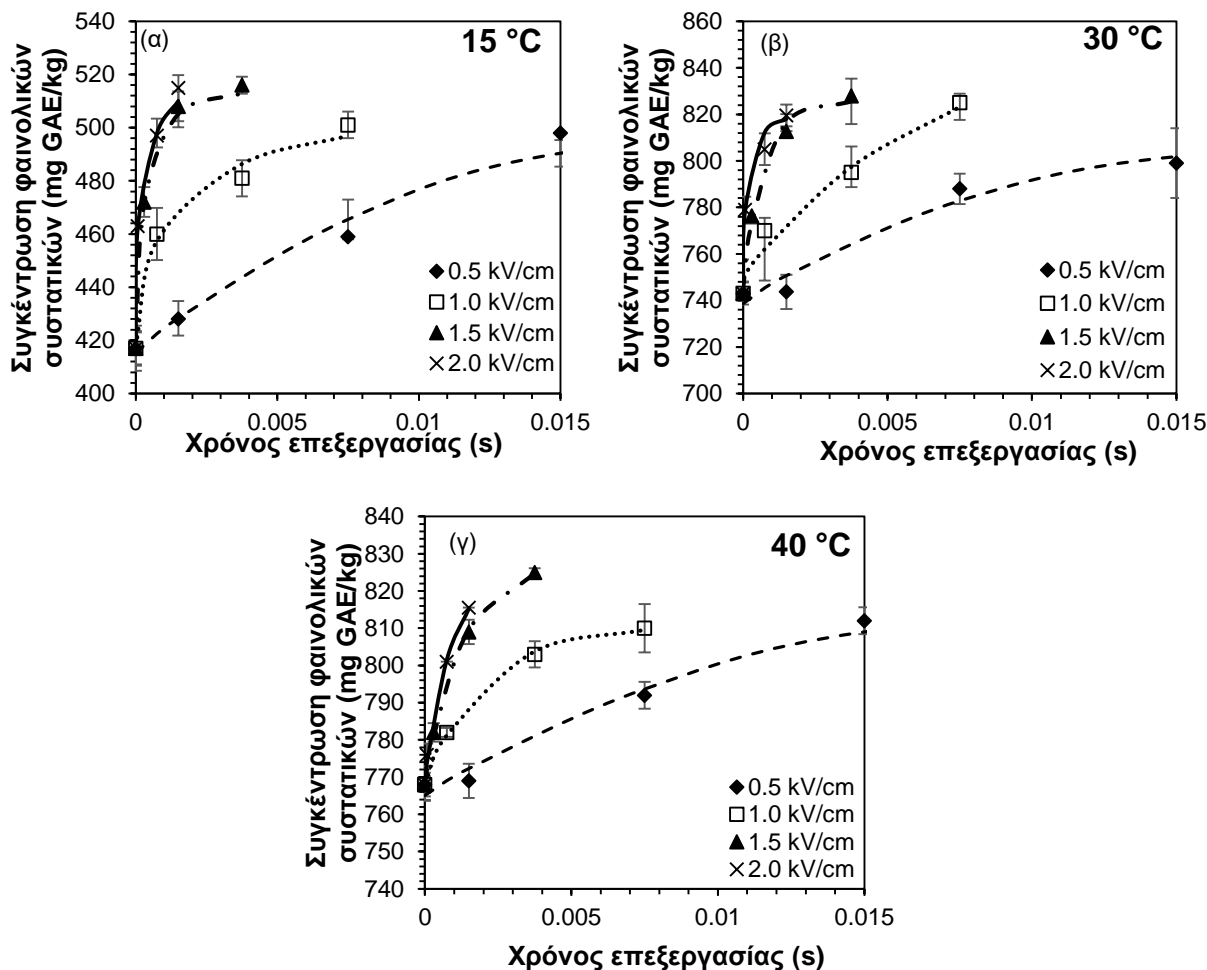
Ως εκ τούτου, σε χαμηλή θερμοκρασία μάλαξης τα ΠΗΠ ενισχύουν εντονότερα τα φαινόμενα μεταφοράς μάζας, απελευθερώνοντας αποτελεσματικότερα το έλαιο προς το εξωτερικό. Ταυτόχρονα, σε υψηλότερες θερμοκρασίες (>30 °C), τα φαινόμενα μεταφοράς μάζας, άρα και η απελευθέρωση του ελαίου, ενισχύονται ταυτόχρονα και από την αύξηση της θερμοκρασίας (προκαλώντας ρήξη της κυτταρικής μεμβράνης, με στόχο την απελευθέρωση του ελαίου προς το εξωτερικό) αλλά και από την εφαρμογή των ΠΗΠ, με αποτέλεσμα η επίδραση των ΠΗΠ στην αύξηση της απόδοσης να είναι μικρότερη. Επιπλέον σε θερμοκρασία 40 °C, φαίνεται πως τα ΠΗΠ δεν επηρέασαν σημαντικά την αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο, παρά μόνο σε πολύ έντονες συνθήκες (~2 kV/cm), καθώς η απόδοση σε ελαιόλαδο αυξήθηκε μόνο 3,4% (από 25,40 σε 26,25%) σε αυτήν τη θερμοκρασία.

Παρόμοια τάση παρουσίασε και η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων των παραγόμενων ελαιόλαδων από προεπεξεργασμένη με ΠΗΠ ελαιόπαστα (Σχήμα 6.30).

Σε κάθε θερμοκρασία αυξάνοντας την ένταση των συνθηκών με ΠΗΠ (ένταση ηλεκτρικού πεδίου και χρόνος επεξεργασίας) η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο ήταν υψηλότερη. Η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο στους 15°C κυμάνθηκε από 428 έως 515 mg GAE/kg για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ δείγματα (ανάλογα την ένταση των συνθηκών με ΠΗΠ) ενώ το μη προεπεξεργασμένο δείγμα είχε συγκέντρωση ίση με 414 mg GAE/kg (αύξηση έως και κατά 23,1%). Στους 30 και 40 °C, για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ δείγματα, η συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο κυμάνθηκε από 753 έως 819 mg GAE/kg και 770 έως 823 mg GAE/kg, αντίστοιχα, ενώ το μη προεπεξεργασμένο δείγμα είχε συγκέντρωση ίση με 743 mg GAE/kg (αύξηση έως και κατά 10,6%) και 768 mg GAE/kg (αύξηση έως και κατά 7,2%), αντίστοιχα (Σχήμα 6.30).

Τα πειραματικά δεδομένα μοντελοποιήθηκαν με ένα ανοιγμένο μοντέλο πρώτης τάξης τριών παραμέτρων (Εξ. 45) και υπολογίστηκαν οι παράμετροι του μοντέλου. η σταθερά του ρυθμού αύξησης της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων k , η αρχική συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο C_0 και η τελική συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο C_f για τον τελικό χρόνο επεξεργασίας με ΠΗΠ σε κάθε ένταση ηλεκτρικού πεδίου (Πίνακας 6.34).

Από τις σταθερές του ρυθμού αύξησης επιβεβαιώθηκε ότι αυξάνοντας την ένταση του ηλεκτρικού πεδίου σε κάθε θερμοκρασία μάλαξης, η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων αυξανόταν σημαντικά ($p < 0.05$) στο έλαιο.



Σχήμα 6.30 Συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων (mg GAE/kg) ως προς τον χρόνο επεξεργασίας για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ δείγματα σε διάφορες εντάσεις ηλεκτρικού πεδίου (0,5 (◆), 1,0 (□), 1,5 (▲) και 2,0 (×) kV/cm) στους (α) 15, (β) 30 και (γ) 40 °C θερμοκρασία μάλαξης. Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή της Εξ.45 στα πειραματικά δεδομένα. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση από πολλαπλές επεξεργασίες και μετρήσεις.

Η αρχική C_0 και τελική C_f συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων σε ελαιόλαδο δεν εμφάνισε σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών με ΠΗΠ. Για κάθε θερμοκρασία μάλαξης, όσο αυξανόταν η ένταση ηλεκτρικού πεδίου, τόσο μεγαλύτερη ήταν η σταθερά του ρυθμού της αύξησης των φαινολικών ενώσεων. Επίσης, σε όλες τις θερμοκρασίες μάλαξης, τα 2 kV/cm ένταση ηλεκτρικού πεδίου εμφάνισαν τις μεγαλύτερες σταθερές ρυθμών αύξησης της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων σε σχέση με τις υπόλοιπες εντάσεις ηλεκτρικού πεδίου. Στους 15°C, η σταθερά του ρυθμού αύξησης της απόδοσης στα 2 kV/cm ήταν τετραπλάσια σε σχέση με τη σταθερά του ρυθμού αύξησης στο 1,5 kV/cm.

Επιπλέον, μεταξύ των θερμοκρασιών της μάλαξης παρατηρήθηκε ότι τα ΠΗΠ ενίσχυσαν εντονότερα την εκχύλιση φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο σε ηπιότερες θερμοκρασίες

μάλαξης (<30 °C). Στην προηγούμενη ενότητα παρατηρήθηκε ότι στους 15°C η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων για το μη προεπεξεργασμένο δείγμα ήταν σημαντικά μικρότερη από τις άλλες δυο θερμοκρασίες μάλαξης.

Πίνακας 6.34 Σταθερές του ρυθμού αύξησης της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων $k(\text{ms}^{-1})$, η αρχική συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο C_0 και η τελική συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο C_f σε ελαιόλαδο για τις προεπεξεργασμένες με ΠΗΠ ελαιόπαστες σε διάφορες εντάσεις ηλεκτρικού πεδίου (0,5-2,0 kV/cm) και σε θερμοκρασίες μάλαξης 15, 30, 40 °C που υπολογίστηκαν από την Εξ. 45.

| Ένταση ηλεκτρικού πεδίου (kV/cm) | Θερμοκρασία μάλαξης (°C) | | |
|--|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | 15 | 30 | 40 |
| | k (ms ⁻¹) | | |
| 0.5 | 0.190±0.005 ^{1a} | 0.112±0.012 ^{2a} | 0.082±0.006 ^{3a} |
| 1.0 | 1.023±0.085 ^{1b} | 0.753±0.051 ^{2b} | 0.482±0.013 ^{3b} |
| 1.5 | 2.790±0.126 ^{1c} | 1.501±0.115 ^{2c} | 0.782±0.038 ^{3c} |
| 2.0 | 9.646±1.023 ^{1d} | 4.732±1.021 ^{2c} | 1.140±0.065 ^{3d} |
| C ₀ (mg GAE/kg) | | | |
| 0.5 | 415.3±6.1 ^{1a} | 741.7±5.9 ^{2a} | 765.0±3.2 ^{3a} |
| 1.0 | 417.8±2.6 ^{1a} | 743.1±7.8 ^{2a} | 768.4±1.1 ^{3a} |
| 1.5 | 417.2±4.6 ^{1a} | 744.6±5.5 ^{2a} | 768.6±1.1 ^{3a} |
| 2.0 | 417.2±2.6 ^{1a} | 743.4±2.2 ^{2a} | 769.5±2.1 ^{3a} |
| C _f (mg GAE/kg) | | | |
| 0.5 | 514.5±5.3 ^{1a} | 849.2±3.2 ^{2a} | 826.8±6.5 ^{3a} |
| 1.0 | 498.3±5.4 ^{1a} | 854.2±3.5 ^{2a} | 820.6±1.7 ^{3a} |
| 1.5 | 512.1±5.7 ^{1a} | 854.3±7.3 ^{2a} | 827.9±2.1 ^{3a} |
| 2.0 | 506.9±5.5 ^{1a} | 848.3±5.3 ^{3a} | 825.3±9.6 ^{3a} |

± αντιπροσωπεύει το τυπικό σφάλμα της μη γραμμικής παλινδρόμησης όπως υπολογίστηκε από την Εξ. 45. Διαφορετικά γράμματα στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) σε μια στήλη (διαφορές μεταξύ των συνθηκών με ΠΗΠ). Διαφορετικοί αριθμοί στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) σε μια γραμμή (διαφορές μεταξύ των θερμοκρασιών μάλαξης).

Η θερμοκρασία της μάλαξης παίζει πολύ σημαντικό ρόλο για την τελική συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο. Η αύξηση της θερμοκρασίας είναι επιθυμητή καθώς ενισχύει τα φαινόμενα μεταφοράς μάζας απελευθερώνοντας φαινολικές ενώσεις από την ελαιόπαστα προς το έλαιο. Παράλληλα, η αύξηση της θερμοκρασίας αυξάνει τη διαλυτότητα αυτών των ενώσεων. Επίσης η αύξηση της θερμοκρασίας ενισχύει την υδρόλυση των γλυκοζιτών επιταχύνοντας τον σχηματισμό των σεκοιοριδίων καθώς και των απλών αλκοολών τους. Τέλος, η αύξηση της θερμοκρασίας ενισχύει τις αντιδράσεις αποικοδόμησης του κυτταρικού τοιχώματος που καταλύονται από κυτταρινάσες και πολυγαλακτουρονάσες, ελευθερώνοντας άμεσα προς το έλαιο φαινολικά συστατικά που υπάρχουν στα κυτταρικά τοιχώματα της ελαιόπαστας (Vierhuis et al., 2001). Αντίθετα, κατά τη διάρκεια της μάλαξης, η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων υποβαθμίζεται από τη δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης (PPO) και της υπεροξειδάσης (POD). Τα δυο αυτά ένζυμα καταλύουν την απελευθέρωση σεκοϊριδοειδίων από τις αντίστοιχες

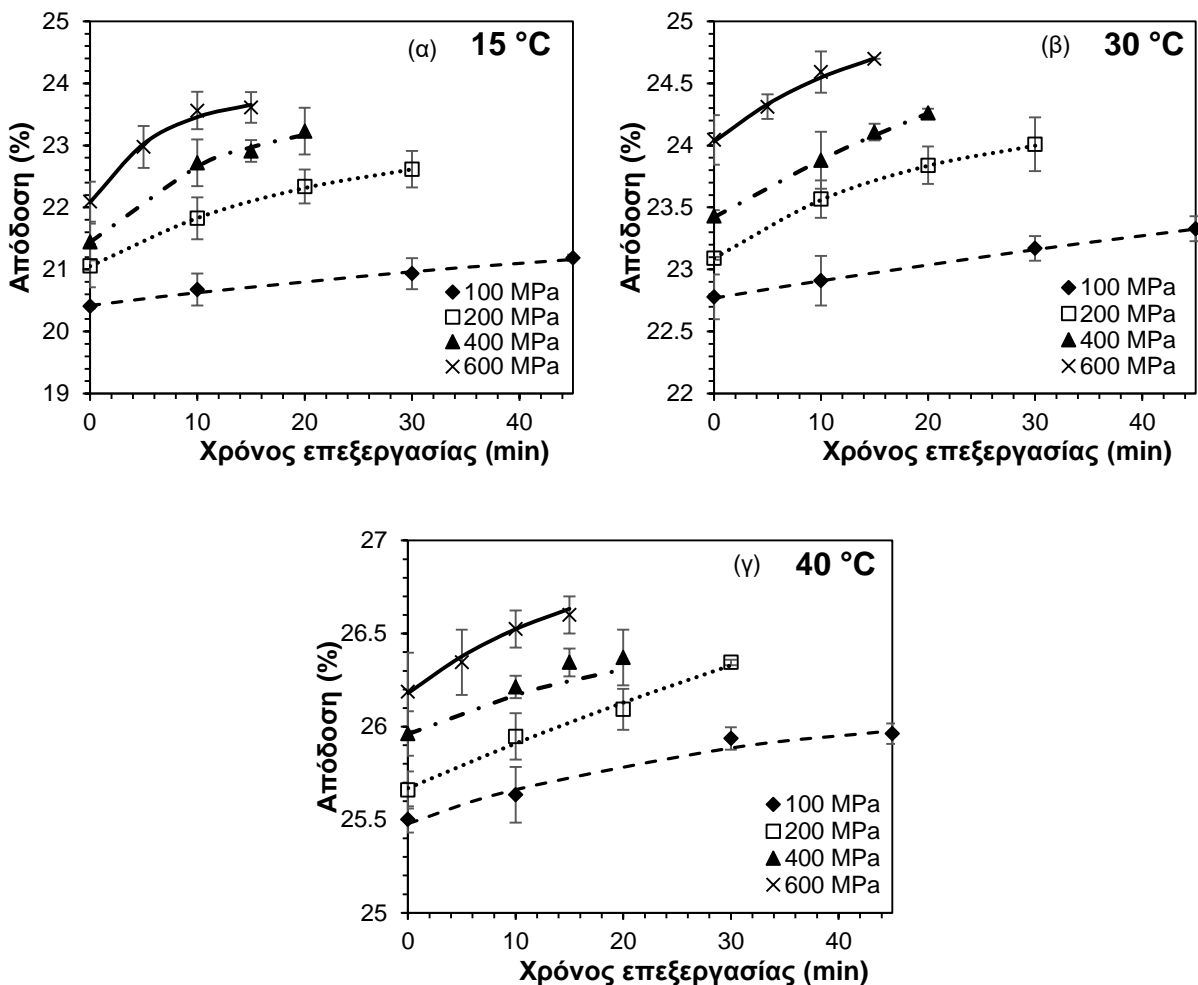
γλυκοζυλιωμένες μορφές τους καθώς επίσης καταλύουν την οξειδωτική αποικοδόμηση τους (Servili et al., 2004).

Τα ΠΗΠ σε όλες τις μελετηθείσες συνθήκες μάλαξης αύξησαν τη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων. Σε χαμηλές θερμοκρασίες μάλαξης, η επίδραση των ΠΗΠ ήταν πιο έντονη. Αυτό πιθανώς οφείλεται ότι λόγω της ηλεκτροδιάτρησης που προκαλείται στα κύτταρα της ελαιόπαστας πριν τη μάλαξη οδηγεί σε άμεση απελευθέρωση των σεκοϊριοειδών από την ελαιόπαστα στο έλαιο. Η χαμηλή θερμοκρασία (<30 °C) δεν ενισχύει τα φαινόμενα μεταφοράς μάζας στη μάλαξη καθώς επίσης δεν βοηθάει και στην αύξηση της διαλυτότητας αυτών των ουσιών με αποτέλεσμα τα ΠΗΠ να υποβοηθούν πιο αποτελεσματικά στην απελευθέρωση των φαινολικών ενώσεων στο έλαιο σε χαμηλές θερμοκρασίες. Σε υψηλότερες θερμοκρασίες η επίδραση των ΠΗΠ δεν ήταν τόσο έντονη καθώς η αύξηση στη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων δεν ήταν τόσο μεγάλη όσο στους 15 °C. Παρόλ' αυτά η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων στους 15 °C μετά την επεξεργασία με ΠΗΠ δεν κατάφερε να φτάσει τη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων του μη προεπεξεργασμένου δείγματος στους 30 °C, αποδεικνύοντας πόσο καταλυτικό ρόλο παίζει η θερμοκρασία μάλαξης για τον εμπλουτισμό του ελαίου με βιοδραστικές ενώσεις. Η μέγιστη συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων που εκχυλίστηκαν στο έλαιο ύστερα από επεξεργασία με ΠΗΠ στους 15 °C ήταν 516 mg GAE/kg, ενώ η αντίστοιχη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων του μη προεπεξεργασμένου δείγματος στους 30 °C θερμοκρασία μάλαξης ήταν 743 mg GAE/kg.

6.3.4.2. Μαθηματική περιγραφή των ΥΠ για την απόδοση σε ελαιόλαδο και τη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο

Στην προεπεξεργασία με ΥΠ, σε κάθε θερμοκρασία μάλαξης αυξάνοντας την εφαρμοζόμενη πίεση και τον χρόνο επεξεργασίας αυξάνεται η απόδοση σε ελαιόλαδο. Η απόδοση σε ελαιόλαδο στους 15°C κυμάνθηκε από 20,41 έως 23,61% για τα προεπεξεργασμένα με ΥΠ δείγματα (ανάλογα την ένταση των συνθηκών με ΥΠ) ενώ το μη προεπεξεργασμένο δείγμα είχε απόδοση ίση με 19,90% (αύξηση έως και κατά 18,6%). Στους 30 και 40 °C, για τα προεπεξεργασμένα με ΥΠ δείγματα, η απόδοση σε ελαιόλαδο κυμάνθηκε από 22,77 έως 24,69% και 25,50 έως 26,60%, αντίστοιχα, ενώ το μη προεπεξεργασμένο δείγμα είχε απόδοση ίση με 22,50% (αύξηση έως και κατά 9,7%) και 25,40% (αύξηση έως και κατά 4,7%), αντίστοιχα (Σχήμα 6.31).

Τα πειραματικά δεδομένα προσαρμόστηκαν σε ένα μαθηματικό μοντέλο εκθετικής πρώτης τάξης τριών παραμέτρων (Εξ. 45) και υπολογίστηκαν οι παράμετροι του μοντέλου, η σταθερά του ρυθμού αύξησης της απόδοσης σε ελαιόλαδο k , η αρχική απόδοση σε ελαιόλαδο Y_0 και η τελική απόδοση σε ελαιόλαδο Y_f για τον τελικό χρόνο επεξεργασίας με ΥΠ σε κάθε εφαρμοζόμενη πίεση.



Σχήμα 6.31 Απόδοση σε ελαιόλαδο (%) ως προς τον χρόνο επεξεργασίας για τα προεπεξεργασμένα με ΥΠ δείγματα σε διάφορες εφαρμοζόμενες πιέσεις (100 (♦), 200 (□), 400 (▲) και 600 (×) MPa) στους (α) 15, (β) 30 και (γ) 40 °C θερμοκρασία μάλαξης. Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή της Εξ. 45 στα πειραματικά δεδομένα. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση από πολλαπλές επεξεργασίες και μετρήσεις.

Το μοντέλο αυτό χρησιμοποιήθηκε για να περιγράψει μαθηματικά την αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο με την προεπεξεργασία της ΥΠ. Η μορφή αυτού του μοντέλου αντικατοπτρίζει την αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο σε συνάρτησι με τον χρόνο επεξεργασίας με ΥΠ για κάθε ένταση ηλεκτρικού πεδίου, καθώς σε χαμηλούς χρόνους επεξεργασίας η αύξηση της απόδοσης είναι απότομη και σημαντική και σε μεγαλύτερους χρόνους αρχίζει και σταθεροποιείται, χωρίς να μπορεί να αυξηθεί περαιτέρω.

Επιπλέον, η σταθερά του ρυθμού αύξησης της απόδοσης σε ελαιόλαδο που υπολογίζεται από το μοντέλο αυτό, αντικατοπτρίζει την επίδραση της κάθε συνθήκης με ΥΠ στην αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο, και κατά πόσο ή όχι είναι η σημαντική η επίδραση της διεργασίας αυτής στην ενίσχυση της απόδοσης σε ελαιόλαδο πριν το στάδιο της μάλαξης. Επιπλέον, η αρχική

απόδοση σε ελαιόλαδο Y_0 είναι διαφορετική για κάθε εφαρμοζόμενη πίεση. Στην προεπεξεργασία με ΥΠ, για κάθε εφαρμοζόμενη πίεση, χρόνος ίσος με μηδέν αντιστοιχεί σε χρόνο (λίγα s που στο τρόφιμο εφαρμόζεται πίεση έως να φτάσει την επιθυμητή τιμή πίεσης). Σε αυτόν τον μικρό αλλά σημαντικό χρόνο επεξεργασίας υπάρχει αύξηση στην απόδοση σε ελαιόλαδο και στη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων. Οι παράμετροι του μοντέλου παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.35.

Παρατηρήθηκε ότι όσο πιο μεγάλη ήταν η εφαρμοζόμενη πίεση τόσο πιο μεγάλη ήταν η σταθερά του ρυθμού αύξησης της απόδοσης σε ελαιόλαδο για κάθε θερμοκρασία μάλαξης. Η τελική απόδοση Y_f σε ελαιόλαδο δεν εμφάνισε σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών με ΥΠ. Για κάθε θερμοκρασία μάλαξης, όσο αυξανόταν η ένταση ηλεκτρικού πεδίου, τόσο μεγαλύτερη ήταν η σταθερά του ρυθμού της αύξησης της απόδοσης. Επίσης, σε όλες τις θερμοκρασίες μάλαξης, τα 600 MPa εμφάνισαν τις μεγαλύτερες σταθερές ρυθμών αύξησης της απόδοσης σε σχέση με τις υπόλοιπες πιέσεις.

Πίνακας 6.35 Σταθερές του ρυθμού αύξησης της απόδοσης $k(\text{min}^{-1})$ σε ελαιόλαδο, η αρχική απόδοση σε ελαιόλαδο Y_0 και η τελική απόδοση σε ελαιόλαδο Y_f για τις προεπεξεργασμένες με ΥΠ ελαιόπαστες σε διάφορες εφαρμοζόμενες πιέσεις (100-600 MPa) και σε θερμοκρασίες μάλαξης 15, 30, 40 °C που υπολογίστηκαν από την Εξ. 45.

| Θερμοκρασία μάλαξης (°C) | | | |
|--------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Πίεση (MPa) | 15 | 30 | 40 |
| | k (min ⁻¹) | | |
| 100 | 0.0136±0.0005 ^{1a} | 0.0072±0.0002 ^{2a} | 0.0033±0.0006 ^{3a} |
| 200 | 0.0474±0.0085 ^{1b} | 0.0132±0.0021 ^{2b} | 0.0091±0.0003 ^{3b} |
| 400 | 0.0867±0.0026 ^{1c} | 0.0207±0.0011 ^{2c} | 0.0163±0.0038 ^{3c} |
| 600 | 0.1565±0.0015 ^{1d} | 0.0669±0.0042 ^{2c} | 0.0537±0.0065 ^{3d} |
| Y ₀ (%) | | | |
| 100 | 20.42±0.10 ^{1a} | 22.77±0.01 ^{2a} | 25.48±0.10 ^{3a} |
| 200 | 21.05±0.03 ^{1b} | 23.09±0.00 ^{2b} | 25.67±0.09 ^{3a} |
| 400 | 21.44±0.17 ^{1b} | 23.42±0.03 ^{2c} | 25.96±0.05 ^{3b} |
| 600 | 22.08±0.21 ^{1c} | 24.03±0.08 ^{2d} | 26.18±0.05 ^{3c} |
| Y _t (%) | | | |
| 100 | 22.98±1.01 ^{1a} | 24.07±0.39 ^{2a} | 26.10±0.10 ^{3a} |
| 200 | 23.10±0.16 ^{1a} | 24.15±0.03 ^{2a} | 26.25±0.72 ^{3a} |
| 400 | 23.05±0.07 ^{1a} | 24.80±0.12 ^{2b} | 26.59±0.76 ^{3a} |
| 600 | 23.24±0.17 ^{1a} | 25.09±0.08 ^{3b} | 26.95±0.66 ^{3a} |

± αντιπροσωπεύει το τυπικό σφάλμα της μη γραμμικής παλινδρόμησης όπως υπολογίστηκε από την Εξ. 45. Διαφορετικά γράμματα στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) σε μια στήλη (διαφορές μεταξύ των συνθηκών με ΥΠ). Διαφορετικά αριθμοί στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) σε μια γραμμή (διαφορές μεταξύ των θερμοκρασιών μάλαξης).

Αξιοσημείωτο είναι, ότι στους 15 °C, η απόδοση σε ελαιόλαδο κατάφερε να φτάσει περίπου την τιμή 22,5% ύστερα από εφαρμογή των ΥΠ (100 MPa), δηλαδή αντίστοιχη τιμή απόδοσης που είχε το μη προεπεξεργασμένο δείγμα στους 30 °C. Η προεπεξεργασία με ΥΠ ενίσχυσε αρκετά

την εξαγωγή του ελαιόλαδου μέσω της μηχανικής διάρρηξης των μεμβρανών που συμβαίνει με την εφαρμογή της πίεσης.

Η σταθερά Y_0 του μοντέλου εκφράζει την απόδοση σε ελαιόλαδο για χρόνο επεξεργασίας με ΥΠ πρακτικά μηδέν (χρόνος εφαρμογής πίεσης μέχρι να φτάσει την επιθυμητή τιμή της πίεσης). Από τα Y_0 του μοντέλου παρατηρούμε ότι σε κάθε θερμοκρασία μάλαξης, η αρχική απόδοση σε ελαιόλαδο Y_0 αυξανόταν με αύξηση της εφαρμοζόμενης πίεσης. Είναι αξιοσημείωτο, ότι για τα 600 MPa, η απόδοση σε χρόνο μηδέν Y_0 , ήταν 22,08%, δηλαδή σχεδόν ίση με την απόδοση σε ελαιόλαδο για το μη προεπεξεργασμένο δείγμα στους 30 °C θερμοκρασία μάλαξης. Αυτό σημαίνει ότι με την εφαρμογή της ΥΠ μπορεί να οδηγήσει σε σημαντική αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο ακόμα και σε χρόνο επεξεργασίας ίσο με μηδέν.

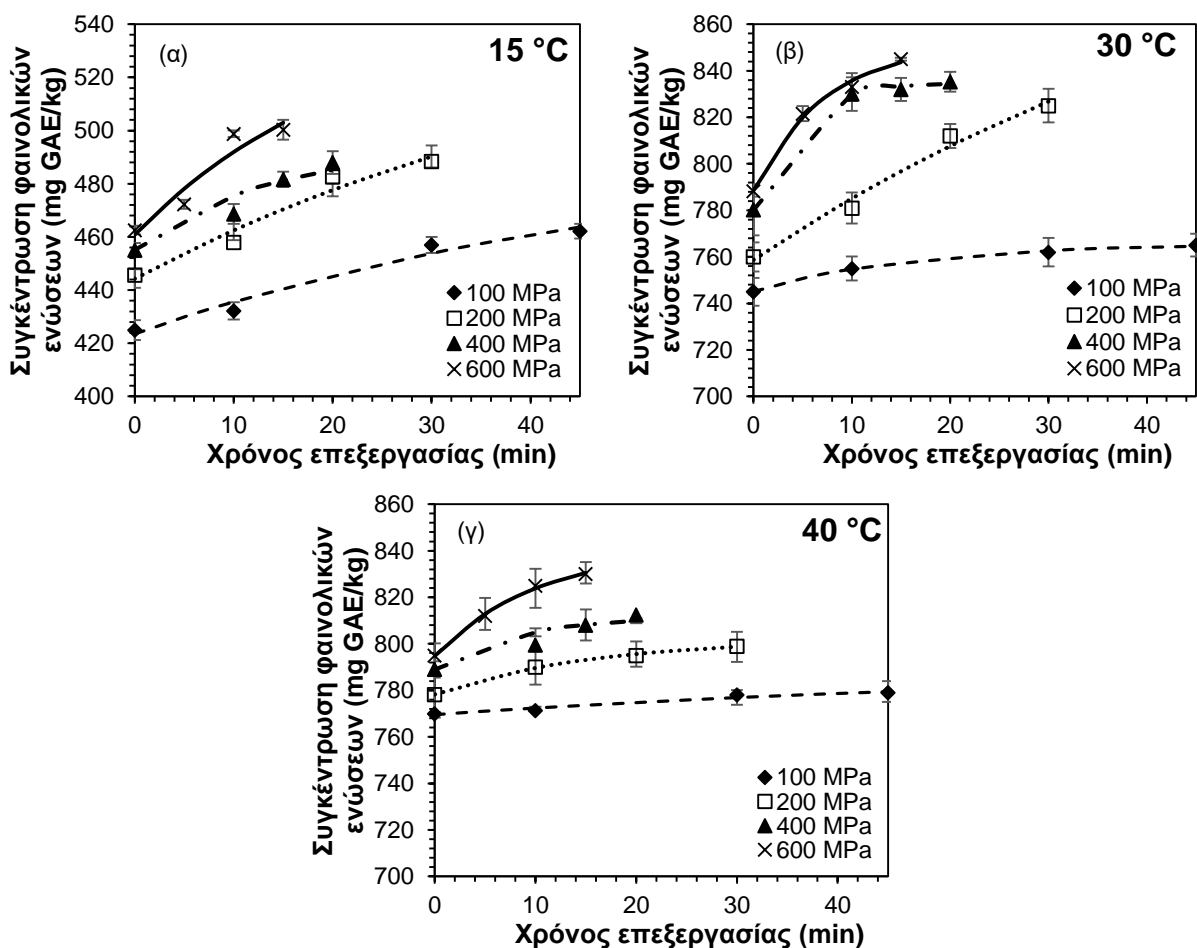
Επιπλέον, μεταξύ των θερμοκρασιών της μάλαξης παρατηρήθηκε ότι τα ΥΠ ενίσχυσαν εντονότερα την εξαγωγή ελαιόλαδου σε ηπιότερες θερμοκρασίες μάλαξης (<30 °C). Στους 15 °C, οι σταθερές του ρυθμού αύξησης της απόδοσης σε ελαιόλαδο είναι μεγαλύτερες από τις αντίστοιχες των 30 και 40 °C σε όλες τις μελετηθείσες πιέσεις. Αυτό σημαίνει ότι η προεπεξεργασία με ΥΠ θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σε χαμηλές κυρίως θερμοκρασίες μάλαξης όπου οι αποδόσεις σε ελαιόλαδο είναι πολύ μικρές και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του τελικού ελαιόλαδου βελτιωμένα.

Ως εκ τούτου, σε χαμηλή θερμοκρασία μάλαξης τα ΥΠ ενισχύουν εντονότερα τα φαινόμενα μεταφοράς μάζας, απελευθερώνοντας αποτελεσματικότερα το έλαιο προς το εξωτερικό. Ταυτόχρονα, σε υψηλότερες θερμοκρασίες (>30 °C), τα φαινόμενα μεταφοράς μάζας, άρα και η απελευθέρωση του ελαίου, ενισχύονται ταυτόχρονα και από την αύξηση της θερμοκρασίας (προκαλώντας ρήξη της κυτταρικής μεμβράνης, με στόχο την απελευθέρωση του ελαίου προς το εξωτερικό) αλλά και από την εφαρμογή των ΥΠ, με αποτέλεσμα η επίδραση των ΠΗΠ στην αύξηση της απόδοσης να είναι μικρότερη. Επιπλέον σε θερμοκρασία 40 °C, φαίνεται πως τα ΥΠ δεν επηρέασαν σημαντικά την αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο, παρά μόνο σε πολύ έντονες συνθήκες (~600 MPa).

Παρόμοια τάση παρουσίασε και η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων των παραγόμενων ελαιόλαδων από προεπεξεργασμένη με ΥΠ ελαιόπαστα (Σχήμα 6.32).

Σε κάθε θερμοκρασία αυξάνοντας την ένταση των συνθηκών με ΥΠ (εφαρμοζόμενη πίεση και χρόνος επεξεργασίας) η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο ήταν υψηλότερη. Η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο στους 15 °C κυμάνθηκε από 425 έως 500 mg GAE/kg για τα προεπεξεργασμένα με ΥΠ δείγματα (ανάλογα την ένταση των συνθηκών

με ΥΠ) ενώ το μη προεπεξεργασμένο δείγμα είχε συγκέντρωση ίση με 414 mg GAE/kg (αύξηση έως και κατά 20,7%). Στους 30 και 40 °C, για τα προεπεξεργασμένα με ΥΠ δείγματα, η συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο κυμάνθηκε από 745 έως 845 mg GAE/kg και 770 έως 830 mg GAE/kg, αντίστοιχα, ενώ το μη προεπεξεργασμένο δείγμα είχε συγκέντρωση ίση με 743 mg GAE/kg (αύξηση έως και κατά 13,7%) και 768 mg GAE/kg (αύξηση έως και κατά 8,0%), αντίστοιχα (Σχήμα 6.32).



Σχήμα 6.32 Συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων (mg GAE/kg) ως προς τον χρόνο επεξεργασίας για τα προεπεξεργασμένα με ΥΠ δείγματα σε διάφορες εφαρμοζόμενες πιέσεις (100 (♦), 200 (□), 400 (▲) και 600 (×) kV/cm) στους (α) 15, (β) 30 και (γ) 40 °C θερμοκρασία μάλαξης. Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή της Εξ. 45 στα πειραματικά δεδομένα. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση από πολλαπλές επεξεργασίες και μετρήσεις.

Τα πειραματικά δεδομένα μοντελοποιήθηκαν με ένα ανοιγμένο μοντέλο πρώτης τάξης τριών παραμέτρων (Εξ. 45) και υπολογίστηκαν οι παράμετροι του μοντέλου. η σταθερά του ρυθμού αύξησης της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων k , η αρχική συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο C_0 και η τελική συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο C_f για τον τελικό χρόνο επεξεργασίας με ΥΠ σε κάθε εφαρμοζόμενη πίεση (Πίνακας 6.36).

Σε κάθε θερμοκρασία αυξάνοντας την ένταση των συνθηκών με ΥΠ (εφαρμοζόμενη πίεση και χρόνος επεξεργασίας) η αύξηση της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο ήταν υψηλότερη. Η τελική C_t συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων σε ελαιόλαδο δεν εμφάνισε σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών με ΥΠ. Είναι αξιοσημείωτο, ότι για τα 600 MPa, η τελική συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο C_t , ήταν 758 mg GAE/kg, δηλαδή σχεδόν ίση με τη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων σε ελαιόλαδο για το μη προεπεξεργασμένο δείγμα στους 40 °C θερμοκρασία μάλαξης (768 mg GAE/kg). Αυτό σημαίνει ότι με την εφαρμογή της ΥΠ μπορεί να οδηγήσει σε σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης φαινολικών συστατικών σε ελαιόλαδο, εμπλουτίζοντας το παραγόμενο έλαιο σε βιοδραστικές και αντιοξειδωτικές ουσίες.

Πίνακας 6.36 Σταθερά του ρυθμού αύξησης της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων στο παραγόμενο ελαιόλαδο k (min^{-1}), η αρχική συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο C_0 και η τελική συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο C_t για τις προεπεξεργασμένες με ΥΠ ελαιόπαστες σε διάφορες εφαρμοζόμενες πιέσεις (100-600 MPa) και σε θερμοκρασίες μάλαξης 15, 30, 40 °C που υπολογίστηκαν από Εξ. 45.

| Πίεση (MPa) | Θερμοκρασία μάλαξης (°C) | | |
|-------------|---|-----------------------------|----------------------------|
| | 15 | 30 | 40 |
| | k (min^{-1}) | | |
| 100 | 0.0184±0.0022 ^{1a} | 0.0102±0.0033 ^{2a} | 0.0052±0.005 ^{3a} |
| 200 | 0.0206±0.0015 ^{1a} | 0.0158±0.0017 ^{2b} | 0.0064±0.002 ^{3a} |
| 400 | 0.0551±0.0013 ^{1b} | 0.0432±0.0015 ^{2c} | 0.0076±0.003 ^{3b} |
| 600 | 0.1048±0.0199 ^{1c} | 0.0657±0.0032 ^{2d} | 0.0099±0.002 ^{3c} |
| | C_0 (mg GAE/kg) | | |
| 100 | 423.5±4.8 ^{1a} | 745.1±0.8 ^{2a} | 769.5±1.63 ^{3a} |
| 200 | 444.3±6.9 ^{1b} | 758.7±6.2 ^{2a} | 778.3±0.74 ^{3b} |
| 400 | 455.1±0.6 ^{1c} | 780.2±1.5 ^{2b} | 789.3±0.16 ^{3c} |
| 600 | 460.8±5.4 ^{1d} | 788.5±3.4 ^{2b} | 794.8±1.53 ^{3d} |
| | C_t (mg GAE/kg) | | |
| 100 | 494.8±4.01 ^{1a} | 798.6±1.3 ^{2a} | 788.8±2.10 ^{3a} |
| 200 | 503.9±2.16 ^{1a} | 835.6±1.0 ^{2b} | 802.2±2.14 ^{3b} |
| 400 | 499.8±3.43 ^{1a} | 834.9±2.3 ^{2b} | 812.2±0.43 ^{3c} |
| 600 | 506.9±1.47 ^{1a} | 841.8±8.9 ^{3c} | 840.9±6.73 ^{3d} |

± αντιπροσωπεύει το τυπικό σφάλμα της μη γραμμικής παλινδρόμησης όπως υπολογίστηκε από Εξ. 45. Διαφορετικά γράμματα στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) σε μια στήλη (διαφορές μεταξύ των συνθηκών με ΥΠ). Διαφορετικά αριθμοί στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) σε μια γραμμή (διαφορές μεταξύ των θερμοκρασιών μάλαξης).

Για κάθε θερμοκρασία μάλαξης, όσο αυξανόταν η εφαρμοζόμενη πίεση, τόσο μεγαλύτερη ήταν η σταθερά του ρυθμού της αύξησης των φαινολικών ενώσεων. Επίσης, σε όλες τις θερμοκρασίες μάλαξης, τα 600 MPa εμφάνισαν τις μεγαλύτερες σταθερές ρυθμών αύξησης της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων σε σχέση με τις υπόλοιπες πιέσεις. Στους 15 °C θερμοκρασία μάλαξης, οι σταθερές του ρυθμού αύξησης της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο ήταν

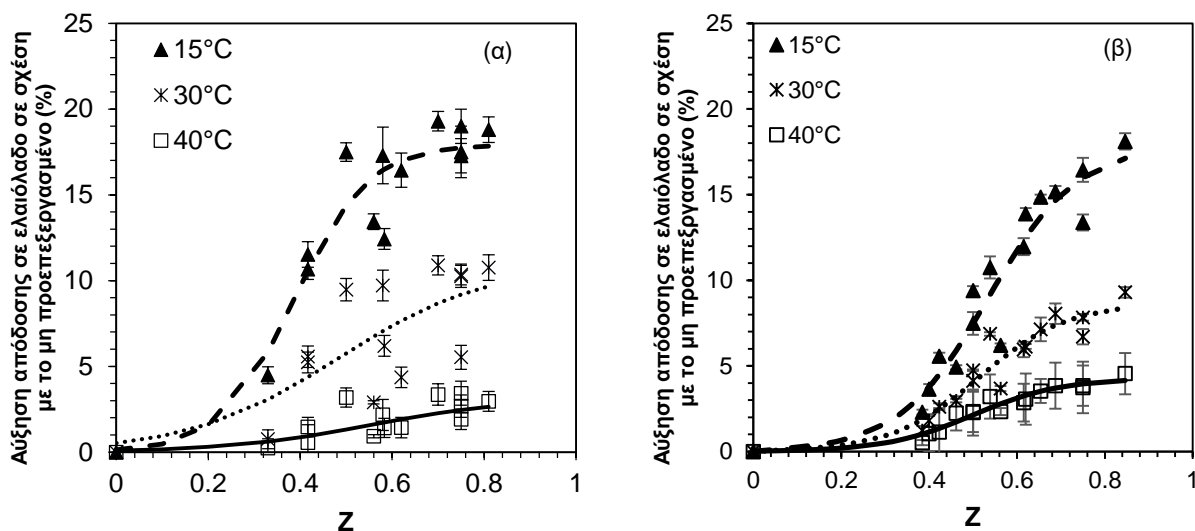
50% με 70% μεγαλύτερες σε σχέση με τους 30 °C και σχεδόν τριπλάσιες σε σχέση με τους 40 °C σε όλες τις μελετηθείσες εφαρμοζόμενες πιέσεις.

Η σταθερά C_0 του μοντέλου εκφράζει τη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο για χρόνο επεξεργασίας με ΥΠ πρακτικά μηδέν (χρόνος εφαρμογής πίεσης μέχρι να φτάσει την επιθυμητή τιμή της πίεσης). Από τα C_0 του μοντέλου παρατηρούμε ότι σε κάθε θερμοκρασία μάλαξης, η αρχική συγκέντρωση σε φαινολικές ενώσεις C_0 αυξανόταν με αύξηση της εφαρμοζόμενης πίεσης. Επιπλέον, μεταξύ των θερμοκρασιών της μάλαξης παρατηρήθηκε ότι τα ΥΠ ενίσχυσαν εντονότερα την εκχύλιση φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο σε ηπιότερες θερμοκρασίες μάλαξης (<30 °C). Στην προηγούμενη ενότητα παρατηρήθηκε ότι στους 15 °C η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων για το μη προεπεξεργασμένο δείγμα ήταν σημαντικά μικρότερη από τις άλλες δυο θερμοκρασίες μάλαξης.

6.3.4.3. Μαθηματική περιγραφή του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z ως προς την αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο και της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα για τα προεπεξεργασμένα μα ΠΗΠ και ΥΠ δείγματα

Οι δυο προεπεξεργασίες αύξησαν σημαντικά την απόδοση σε ελαιόλαδο από την ελαιόπαστα ενισχύοντας σημαντικά και τον εμπλουτισμό των ελαίων σε φαινολικά συστατικά. Για να μπορέσουν να συγκριθούν οι δυο προεπεξεργασίες ως προς την αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο, οι συνθήκες της κάθε προεπεξεργασίας εκφράστηκαν συναρτήσεως του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z (Σχήμα 6.33).

Η αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα μοντελοποιήθηκε με τον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z με σιγμοειδές μοντέλο (Εξ. 46) και υπολογίστηκαν οι αντίστοιχοι παράμετροι και για τις δυο προεπεξεργασίες. Σε κάθε προεπεξεργασία, παρατηρήθηκε ότι η απόδοση εξαρτάται από τον βαθμό διάρρηξης των κυττάρων του, ανεξάρτητα από τον τρόπο με τον οποίο επιτεύχθηκε αυτός (ένταση και παλμοί ή πίεση και χρόνος). Για παράδειγμα, στην προεπεξεργασία με ΠΗΠ, για δέκτη κυτταρικής διάρρηξης $Z=0.5$, παρατηρούμε, ότι στους 15 °C, η αύξηση της απόδοσης είναι περίπου 14%, στους 30 °C είναι 6% και στους 40 °C είναι 3%. Αντίστοιχα στην προεπεξεργασία με ΥΠ, στους 15 °C, η αύξηση της απόδοσης είναι περίπου 8%, στους 30 °C είναι 5% και στους 40 °C είναι 2,5%. Στην προεπεξεργασία με ΠΗΠ, παρατηρήθηκε ότι για το μεγαλύτερο δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z (περίπου 0,8) η αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο ήταν περίπου 19.5% μεγαλύτερη σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο στους 15 °C.



Σχήμα 6.33 Αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο (%) σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα σε σχέση με τον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ και ΥΠ δείγματα σε θερμοκρασία μάλαξης 15 (▲), 30 (×) και 40 (□) °C για 30 min. . Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή της Εξ.46 στα πειραματικά δεδομένα. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση από πολλαπλές επεξεργασίες και μετρήσεις.

Αντίστοιχα, στην προεπεξεργασία με ΥΠ, παρατηρήθηκε ότι για το μεγαλύτερο δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z (περίπου 0,8), η αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο ήταν περίπου 17.5% μεγαλύτερη σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο στους 15 °C.

Οι παράμετροι του σιγμοειδούς μοντέλου (Εξ. 46) για την αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα και για τις δυο προεπεξεργασίες παρουσιάζονται στους Πίνακες 6.37 και 6.38.

Πίνακας 6.37 Σταθερές παράμετροι a, b, Z₀ όπως υπολογίστηκαν από την Εξ. 46 για την αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ δείγματα σε θερμοκρασίες μάλαξης 15, 30 και 40 °C

| ΠΗΠ | Θερμοκρασία μάλαξης (°C) | | |
|----------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | 15 | 30 | 40 |
| a | 17,93±2,31 ^a | 10,97±3,25 ^b | 3,15±1,80 ^c |
| b | 0.08±0.01 ^a | 0.16±0.02 ^b | 0.16±0.03 ^{ab} |
| Z ₀ | 0.39±0.03 ^a | 0.48±0.04 ^b | 0.55±0.13 ^c |

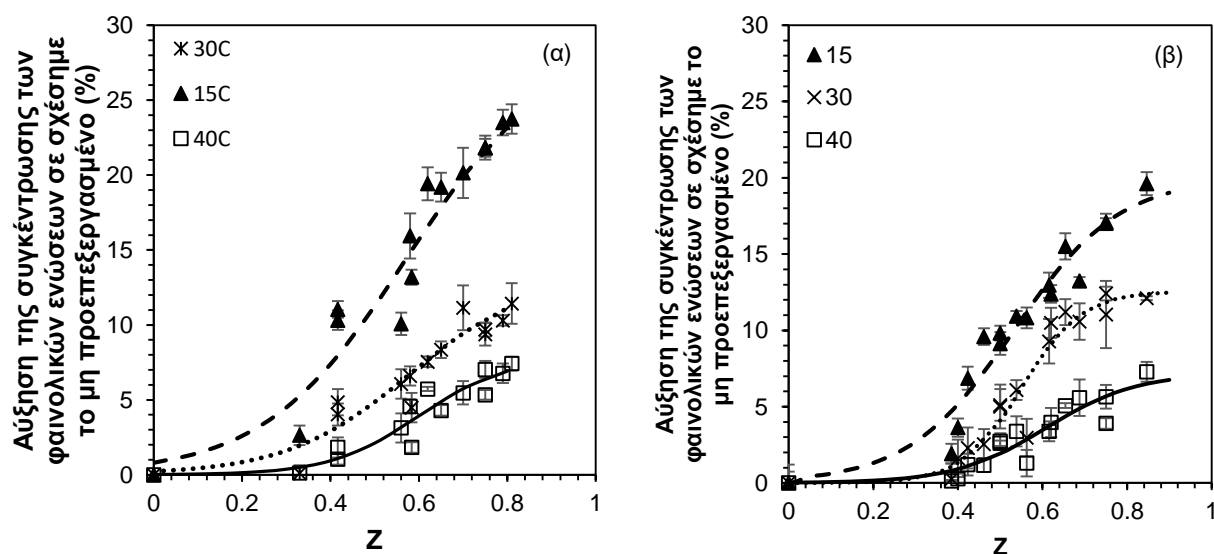
± αντιπροσωπεύει το τυπικό σφάλμα της μη γραμμικής παλινδρόμησης όπως υπολογίστηκε από την Εξ. 46. Διαφορετικά γράμματα στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές (p<0.05) σε μια γραμμή (διαφορές μεταξύ των θερμοκρασιών μάλαξης).

Πίνακας 6.38 Σταθερές παράμετροι a, b, Z₀ όπως υπολογίστηκαν από την Εξ. 46 για την αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα για τα προεπεξεργασμένα με ΥΠ δείγματα σε θερμοκρασίες μάλαξης 15, 30 και 40 °C

| ΥΠ | Θερμοκρασία μάλαξης (°C) | | |
|----------------|--------------------------|------------------------|------------------------|
| | 15 | 30 | 40 |
| a | 17,91±3,21 ^a | 8,71±1,50 ^b | 4,28±1,25 ^c |
| b | 0.10±0,03 ^a | 0.10±0,01 ^a | 0.10±0.01 ^a |
| Z ₀ | 0.53±0.02 ^a | 0.51±0.02 ^a | 0.50±0.07 ^a |

± αντιπροσωπεύει το τυπικό σφάλμα της μη γραμμικής παλινδρόμησης όπως υπολογίστηκε από την Εξ. 46 Διαφορετικά γράμματα στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές (p<0.05) σε μια γραμμή (διαφορές μεταξύ των θερμοκρασιών μάλαξης).

Παρόμοια τάση παρουσίασε και η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων των παραγόμενων ελαιόλαδων από προεπεξεργασμένη με ΥΠ ελαιόπαστα σε σχέση με τη μη προεπεξεργασμένη (Σχήμα 6.34). Για παράδειγμα στην προεπεξεργασία με ΠΗΠ, για δέκτη κυτταρικής διάρρηξης Z=0.5, παρατηρούμε, ότι στους 15 °C, η αύξηση της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων είναι περίπου 12%, στους 30 °C είναι 4% και στους 40 °C είναι 2.5%. Αντίστοιχα στην προεπεξεργασία με ΥΠ, στους 15 °C, η αύξηση της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων είναι περίπου 11%, στους 30 °C είναι 7% και στους 40 °C είναι 2%. Στην προεπεξεργασία με ΠΗΠ, παρατηρήθηκε ότι για το μεγαλύτερο δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z (περίπου 0,8), η αύξηση της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο ήταν περίπου 23,5% (511.3 mg GAE/kg) μεγαλύτερη σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο στους 15°C (414 mg GAE/kg).



Σχήμα 6.34 Αύξηση της απόδοσης της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων (%) σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα σε σχέση με τον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ και ΥΠ δείγματα σε θερμοκρασία μάλαξης 15 (▲), 30 (x) και 40 (□) °C για 30 min. . Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή της Εξ.46 στα πειραματικά δεδομένα. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση από πολλαπλές επεξεργασίες και μετρήσεις.

Αντίστοιχα, στην προεπεξεργασία με ΥΠ, παρατηρήθηκε ότι για το μεγαλύτερο δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z (περίπου 0,8) η αύξηση της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο ήταν περίπου 19,9% (496 mg GAE/kg) μεγαλύτερη σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο στους 15 °C (414 mg GAE/kg).

Οι παράμετροι του σιγμοειδούς μοντέλου (Εξ. 46) για την αύξηση της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα και για τις δυο προεπεξεργασίες παρουσιάζονται στους Πίνακες 6.39 και 6.40.

Πίνακας 6.39 Σταθερές παράμετροι a, b, Z₀ όπως υπολογίστηκαν από την Εξ. 46 για την αύξηση της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων στο παραγόμενο ελαιόλαδο σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ δείγματα σε θερμοκρασίες μάλαξης 15, 30 και 40 °C

| ΠΗΠ | Θερμοκρασία μάλαξης (°C) | | |
|----------------------|--------------------------|-------------------------|------------------------|
| | 15 | 30 | 40 |
| a | 28,68±2,31 ^a | 13,43±3,25 ^b | 7,85±1,80 ^c |
| b | 0.16±0.01 ^a | 0.14±0.03 ^a | 0.10±0.03 ^a |
| Z₀ | 0.57±0.03 ^a | 0.58±0.04 ^a | 0.60±0.13 ^a |

± αντιπροσωπεύει το τυπικό σφάλμα της μη γραμμικής παλινδρόμησης όπως υπολογίστηκε από την Εξ. 46. Διαφορετικά γράμματα στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές (p<0.05) σε μια γραμμή (διαφορές μεταξύ των θερμοκρασιών μάλαξης).

Πίνακας 6.40 Σταθερές παράμετροι a, b, Z₀ όπως υπολογίστηκαν από την Εξ. 46 για την αύξηση της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων στο παραγόμενο ελαιόλαδο σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα για τα προεπεξεργασμένα με ΥΠ δείγματα σε θερμοκρασίες μάλαξης 15, 30 και 40 °C

| ΥΠ | Θερμοκρασία μάλαξης (°C) | | |
|----------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | 15 | 30 | 40 |
| a | 20.03±2,31 ^a | 12.57±1,25 ^b | 7.21±1,80 ^c |
| b | 0.13±0.01 ^a | 0.07±0.03 ^b | 0.10±0.03 ^{ab} |
| Z₀ | 0.53±0.03 ^a | 0.55±0.04 ^a | 0.60±0.03 ^a |

± αντιπροσωπεύει το τυπικό σφάλμα της μη γραμμικής παλινδρόμησης όπως υπολογίστηκε από την Εξ. 46. Διαφορετικά γράμματα στους εκθέτες υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές (p<0.05) σε μια γραμμή (διαφορές μεταξύ των θερμοκρασιών μάλαξης).

6.3.5. Αριστοποίηση της διαδικασίας της μάλαξης ως προς τον χρόνο, τη θερμοκρασία και τις συνθήκες προεπεξεργασίας με ΥΠ και ΠΗΠ.

Σκοπός αυτής της πειραματικής ενότητας ήταν η βελτιστοποίηση της μάλαξης της προεπεξεργασμένης ελαιόπαστας με ΠΗΠ και ΥΠ από την άποψη της απόδοσης σε ελαιόλαδο και της συγκέντρωσης φαινολικών ενώσεων εφαρμόζοντας τη μεθοδολογία αποκριτικών επιφανειών (RSM). Προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι η θερμοκρασία και ο χρόνος μάλαξης είναι οι κυριότερες συνθήκες που επηρεάζουν την απόδοση σε ελαιόλαδο. Επίσης, στην παρούσα εργασία έχει αποδειχθεί ότι οι προεπεξεργασίες ΠΗΠ και ΥΠ στην ελαιόπαστα πριν το στάδιο της μάλαξης επηρεάζουν σημαντικά την απόδοση σε ελαιόλαδο ανάλογα με την ένταση των συνθηκών τους. Οι συνθήκες αυτές (θερμοκρασία μάλαξης, χρόνος μάλαξης και ένταση των

συνθηκών της κάθε προεπεξεργασίας) έχει βρεθεί ότι επηρεάζουν επίσης την εκχύλιση ενδογενών βιοδραστικών ενώσεων, που ανήκουν στο ελαιόκαρπο όπως τα φαινολικά συστατικά που εκχυλίζονται στο ελαιόλαδο. Ως προς τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του ελαιολάδου παρέμειναν πρακτικά σταθερά σε όλες τις ως προς μελέτη συνθήκες. Όπως έχει αποδειχθεί και σε προηγούμενη ενότητα, οι δύο προεπεξεργασίες για θερμοκρασίες μάλαξης <30 °C δεν επηρεάζουν τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του ελαιόλαδου. Επομένως δεν κρίνεται σκόπιμο να επεξεργαστούν μαθηματικά, όπως η απόδοση σε ελαιόλαδο και η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων, καθώς δεν μεταβάλλονται.

Επομένως, κατά τη διάρκεια του πειράματος της μάλαξης μελετήθηκε η επίδραση της θερμοκρασίας μάλαξης (X₁), του χρόνου μάλαξης (X₂) και της έντασης της κάθε προεπεξεργασίας με ΠΗΠ ή ΥΠ εκφρασμένη ως προς τον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z (X₃) στην απόδοση σε ελαιόλαδο, καθώς και στο ολικό περιεχόμενο φαινολικών συστατικών που εκχυλίζονται στο ελαιόλαδο κατά τη διάρκεια της μάλαξης.

Πίνακας 6.41 Σχεδιασμός Box-Behnken με τις αποκρίσεις για την απόδοση σε ελαιόλαδο (%) και τη συνολική περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά –TPC (mg GAE/kg ελαίου) του παραγόμενου ελαιόλαδου για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ και ΥΠ δείγματα.

| Α/Α | Επίπεδα μεταβλητών | | | Αποκρίσεις | | | |
|-----|-------------------------------------|---------------------------------|--|--------------------|-------------------|-----------------------|-----------------------|
| | X ₁ (θερμοκρασία, °C) | X ₂ (χρόνος, min) | X ₃ (δείκτης κυτταρικής διάρρηξης) | ΠΗΠ Απόδοση (%) | ΥΠ Απόδοση (%) | TPC (mg GAE/g ελαίου) | TPC (mg GAE/g ελαίου) |
| 1 | -1 (15) | -1 (15) | 0 (0,5) | 21,25 | 431.2 | 20,54 | 428.3 |
| 2 | 1 (30) | -1 (15) | 0 (0,5) | 23,12 | 758.2 | 22,84 | 727.4 |
| 3 | -1 (15) | 1 (45) | 0 (0,5) | 23,80 | 469.5 | 21,68 | 455.5 |
| 4 | 1 (30) | 1 (45) | 0 (0,5) | 24,98 | 798.2 | 24,88 | 777.3 |
| 5 | -1 (15) | 0 (30) | -1 (0,3) | 20,84 | 428.6 | 20,40 | 425.3 |
| 6 | 1 (30) | 0 (30) | -1 (0,3) | 22,75 | 743.7 | 22,41 | 745.6 |
| 7 | -1 (15) | 0 (30) | 1 (0,7) | 23,79 | 501.0 | 22,61 | 488.3 |
| 8 | 1 (30) | 0 (30) | 1 (0,7) | 25,00 | 825.7 | 24,69 | 835.2 |
| 9 | 0 (20) | -1 (15) | -1 (0,3) | 21,10 | 601.4 | 21,95 | 590.0 |
| 10 | 0 (20) | 1 (45) | -1 (0,3) | 22,70 | 682.9 | 23,68 | 654.7 |
| 11 | 0 (20) | -1 (15) | 1 (0,7) | 22,98 | 677.1 | 23,25 | 631.1 |
| 12 | 0 (20) | 1 (45) | 1 (0,7) | 24,98 | 712.0 | 24,39 | 704.3 |
| 13 | 0 (20) | 0 (30) | 0 (0,5) | 23,98 | 697.4 | 22,69 | 658.7 |
| 14 | 0 (20) | 0 (30) | 0 (0,5) | 23,98 | 697.4 | 22,69 | 658.7 |
| 15 | 0 (20) | 0 (30) | 0 (0,5) | 23,98 | 697.4 | 22,69 | 658.7 |

Οι τρεις ανεξάρτητες μεταβλητές που ορίστηκαν, ρυθμίστηκαν σε τρία επίπεδα. Η απόδοση σε ελαιόλαδο και η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων στο τελικό ελαιόλαδο που προκύπτουν από τους τρεις διαφορετικούς χρόνους μάλαξης (15, 30, 45 min) και για τις τρεις διαφορετικές

θερμοκρασίες μάλαξης (15, 20 και 30 °C) και τρεις διαφορετικές εντάσεις συνθηκών των προεπεξεργασιών με ΠΗΠ ή ΥΠ με βάση τον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z (0.3, 0.5 και 0.7). Τα αποτελέσματα των 15 πειραμάτων με βάση το σχεδιασμό Box-Behnken πραγματοποιήθηκαν με τυχαία σειρά και παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.41.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η απόδοση σε ελαιόλαδο από προεπεξεργασμένη ελαιόπαστα με ΠΗΠ κυμάνθηκε από 21,25 έως 25,00%. Η μέγιστη απόδοση βρέθηκε στις εξής πειραματικές συνθήκες: X1 = 30 °C, X2 = 30 min και X3 = 0.7. Περαιτέρω, το ολικό περιεχόμενο φαινολικών συστατικών του ελαιόλαδου κυμάνθηκε από 431.2 έως 825.7 mg GAE/kg ελαίου. Το ελαιόλαδο με το υψηλότερο ολικό φαινολικό περιεχόμενο προέκυψε με τις πειραματικές συνθήκες X1 = 30 °C, X2 = 30 min και X3 = 0,7.

Περαιτέρω, η απόδοση σε ελαιόλαδο από προεπεξεργασμένη ελαιόπαστα με ΥΠ κυμάνθηκε από 20,54 έως 24,69%. Η μέγιστη απόδοση βρέθηκε στις εξής πειραματικές συνθήκες: X1 = 30 °C, X2 = 30 min και X3 = 0,7. Περαιτέρω, το ολικό περιεχόμενο φαινολικών συστατικών του ελαιόλαδου κυμάνθηκε από 428,3 έως 835,2 mg GAE/kg ελαίου. Το ελαιόλαδο με το υψηλότερο ολικό φαινολικό περιεχόμενο προέκυψε με τις πειραματικές συνθήκες X1 = 30 °C, X2 = 30 min και X3 = 0,7.

6.3.5.1. Μοντέλα Προσαρμογής

Ως εκ τούτου, θα πρέπει να διερευνηθούν οι βέλτιστες συνθήκες διεργασίας της προεπεξεργασίας με ΠΗΠ και ΥΠ σε συνδυασμό με τις βέλτιστες συνθήκες μάλαξης, προκειμένου να επιτευχθεί η εξαγωγή του ελαιόλαδου που θα παρέχει τη μέγιστη απόδοση σε έλαιο, καθώς και έλαιο με το μέγιστο ποσοστό ολικού περιεχόμενου φαινολικών συστατικών, ενώ ταυτόχρονα θα είναι και οι πιο ήπιες ενεργειακά.

Οι Πίνακες 6.42 και 6.43 παρουσιάζουν τα αποτελέσματα προσαρμογής των πειραματικών δεδομένων στα μοντέλα. Η ακρίβεια των μοντέλων που αναπτύχθηκαν αξιολογήθηκαν με βάση την τιμή του συντελεστή προσδιορισμού (R^2). Οι τιμές R^2 ήταν 0.9964, 0.9662, 0.9916 και 0.9952 για την απόδοση σε ελαιόλαδο και το ολικό περιεχόμενο σε φαινολικές ενώσεις στο παραγόμενο ελαιόλαδο από ελαιόπαστα προεπεξεργασμένη με ΠΗΠ και ΥΠ, αντίστοιχα, υποδεικνύοντας ότι τα μοντέλα αντιπροσωπεύουν επαρκώς τη σχέση μεταξύ των επιλεγμένων παραμέτρων. Η σημασία των διαφορετικών όρων για κάθε συντελεστή προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας την τιμή F και την τιμή P. Μεγάλη τιμή F ή μικρή τιμή P αντίστοιχα συνεπάγεται σημαντική επίδραση στην αντίστοιχη μεταβλητή απόκρισης (Yolmeh, Habibi Najafi, & Farhoosh, 2014). Η συσχέτιση μεταξύ της απόδοσης σε έλαιο (Y), και του ολικού περιεχόμενου φαινολικών συστατικών για κάθε

προεπεξεργασία με τις τρεις παραμέτρους επεξεργασίας (X1, X2, X3) περιγράφηκε από τις ακόλουθες πολυωνυμικές εξισώσεις:

Προεπεξεργασία με ΠΗΠ

$$\text{Απόδοση σε ελαιόλαδο (Y}_{\text{ΠΗΠ}}\%)=1,175+0,619X_1+0,253X_2+35,429X_3-0,002X_2^2-27,747X_3^2 \quad (\text{Εξ. 49})$$

$$\text{Ολικό περιεχόμενο φαινολικών ενώσεων}=-1252.24+125.97X_1+9.13X_2+594.77X_3-2.34X_1^2-0.09X_2^2 \quad (\text{Εξ. 50})$$

Προεπεξεργασία με ΥΠ

$$\text{Απόδοση σε ελαιόλαδο (Y}_{\text{ΥΠ}}\%)=11.539+0,750X_1-0.028X_2+0.037X_3-0,014X_1^2 \quad (\text{Εξ. 51})$$

$$\text{Ολικό περιεχόμενο φαινολικών ενώσεων}=-798.20+102.74X_1+5.94X_2-135.77X_3-1.90X_1^2-0,088X_2^2 \quad (\text{Εξ. 52})$$

Οι μεταβλητές με τη μεγαλύτερη επίδραση στην απόδοση σε ελαιόλαδο από ελαιόπαστα προεπεξεργασμένη με ΠΗΠ ήταν οι γραμμικοί όροι θερμοκρασίας μάλαξης (X1), του χρόνου μάλαξης (X2) και του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z (X3), και ακολούθως ο τετραγωνικός όρος του χρόνου μάλαξης (X2²). Ο τετραγωνικός όρος του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z (X3²) ήταν επίσης σημαντικός (P<0,05). Αντίθετα, ο τετραγωνικός όρος της θερμοκρασίας μάλαξης (X1²) και οι αλληλοεπίδρασεις μεταξύ των παραμέτρων (X1X2, X1X3, X2X3) δεν συνέβαλαν σημαντικά στην απόδοση του ελαιόλαδου υποβοηθούμενη από ΠΗΠ. Η τιμή F του μοντέλου 16,17 και η τιμή σημαντικότητας (P<0,05) υποδηλώνουν ότι το μοντέλο είναι σημαντικό.

Πίνακας 6.42. Ανάλυση διακύμανσης της επιφάνειας απόκρισης της απόδοσης σε ελαιόλαδο (%), για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ και ΥΠ δείγματα.

| Απόκριση | Συντελεστές | Τυπικό σφάλμα | F-value | Απόκριση | Συντελεστές | Τυπικό σφάλμα | F-value |
|----------------|-------------|---------------|--------------------|----------------|-------------|---------------|--------------------|
| ΠΗΠ | | | | ΥΠ | | | |
| Μοντέλο | 1.175 | 0.681 | 16.17* | Μοντέλο | 11.539 | 3.954 | 13.23* |
| X1 (T) | 0.619 | 0.021 | 34.12** | X1 (T) | 0.750 | 0.023 | 49.40*** |
| X2 (t) | 0.253 | 0.074 | 33.91** | X2 (t) | -0.028 | 0.008 | 31.14** |
| X3 (Z) | 35.429 | 7.447 | 45.37*** | X3 (Z) | 0.037 | 0.012 | 27.94** |
| T ² | -0.011 | 0.004 | 6.39 ^{NS} | T ² | -0.014 | 0.004 | 9.92* |
| t ² | -0.002 | 0.000 | 6.76* | t ² | -0.001 | 0.000 | 3.45 ^{NS} |
| Z ² | -27.747 | 6.1184 | 20.13* | Z ² | 4.263 | 0.642 | 0.41 ^{NS} |
| T*t | -0.001 | 0.000 | 0.22 ^{NS} | T*t | 0.001 | 0.000 | 0.01 ^{NS} |
| T*Z | 0.013 | 0.001 | 0.01 ^{NS} | T*Z | 0.081 | 0.009 | 0.28 ^{NS} |
| T*Z | -0.061 | 0.002 | 0.71 ^{NS} | T*Z | -0.058 | 0.017 | 0.56 ^{NS} |
| Υπόλοιπο | | | | Υπόλοιπο | | | |
| Σύνολο | | | | Σύνολο | | | |

* P<0,05, ** P<0,01, *** P<0,001, NS – Μη σημαντικό

Οι μεταβλητές με τη μεγαλύτερη επίδραση στη συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο το οποίο έχει προκύψει από ελαιόπαστα προεπεξεργασμένη με ΠΗΠ ήταν οι γραμμικοί όροι θερμοκρασίας μάλαξης (X1) και του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z (X3) και ο τετραγωνικός όρος της θερμοκρασίας (X1²) και ακολούθως ο γραμμικός όρος του χρόνου μάλαξης (X2) τετραγωνικός όρος του χρόνου μάλαξης (X2²). Αντίθετα, ο τετραγωνικός όρος της δείκτη κυτταρικής διάρρηξης (X3²) και οι αλληλοεπίδρασεις μεταξύ των παραμέτρων (X1X2, X1X3, X2X3) δεν συνέβαλαν σημαντικά στη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο το οποίο έχει προκύψει από ελαιόπαστα προεπεξεργασμένη με ΠΗΠ. Η τιμή F του μοντέλου 266,92 και η τιμή σημαντικότητας (P<0,05) υποδηλώνουν ότι το μοντέλο είναι σημαντικό.

Η μεταβλητή με τη μεγαλύτερη επίδραση στην απόδοση σε ελαιόλαδο από ελαιόπαστα προεπεξεργασμένη με ΥΠ ήταν ο γραμμικός όρος της θερμοκρασίας μάλαξης (X1).

Ακολούθως, ήταν οι γραμμικοί όροι του χρόνου μάλαξης (X2) και του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z (X3), και ακολούθως ο τετραγωνικός όρος της θερμοκρασίας μάλαξης (X1²). Όλοι οι υπόλοιποι όροι δεν συνέβαλαν σημαντικά στην απόδοση του ελαιόλαδου υποβοηθούμενη από ΥΠ. Η τιμή F του μοντέλου 13,23 και η τιμή σημαντικότητας (P<0,05) υποδηλώνουν ότι το μοντέλο είναι σημαντικό.

Πίνακας 6.43. Ανάλυση διακύμανσης της επιφάνειας απόκρισης της απόδοσης της συνολικής περιεκτικότητας σε φαινολικά συστατικά –TPC (mg GAE/kg ελαίου) του παραγόμενου ελαιόλαδου για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ και ΥΠ δείγματα.

| Απόκριση | Συντελεστές | Τυπικό σφάλμα | F-value | Απόκριση | Συντελεστής | Τυπικό σφάλμα | F-value |
|----------------|-------------|---------------|--------------------|----------------|-------------|---------------|--------------------|
| ΠΗΠ | | | | ΥΠ | | | |
| Μοντέλο | -1252.24 | 91.14 | 266.92*** | Μοντέλο | -798.20 | 135.24 | 115.8** |
| X1 (T) | 125.97 | 5.39 | 2104.08*** | X1 (T) | 102.74 | 7.99 | 946.05*** |
| X2 (t) | 9.13 | 1.91 | 42.31** | X2 (t) | 5.94 | 1.84 | 25.86** |
| X3 (Z) | 594.77 | 184.36 | 84.45*** | X3 (Z) | -135.77 | 25.30 | 36.63** |
| T ² | -2.34 | 0.10 | 483.75*** | T ² | -1.90 | 0.15 | 144.38*** |
| t ² | -0.09 | 0.02 | 14.44* | t ² | -0.08 | 0.02 | 16.57* |
| Z ² | -348.12 | 28.32 | 5.17 ^{NS} | Z ² | 122.99 | 12.35 | 0.29 ^{NS} |
| T*t | -0.01 | 0.00 | 0.05 ^{NS} | T*t | 0.03 | 0.01 | 0.18 ^{NS} |
| T*Z | 2.83 | 0.49 | 0.65 ^{NS} | T*Z | 6.72 | 1.25 | 1.67 ^{NS} |
| T*Z | -4.00 | 1.79 | 4.95 ^{NS} | T*Z | 1.04 | 0.05 | 0.15 ^{NS} |
| Υπόλοιπο | | | | Υπόλοιπο | | | |
| Σύνολο | | | | Σύνολο | | | |

* P<0,05, ** P<0,01, *** P<0,001, NS – Μη σημαντικό

Οι μεταβλητές με τη μεγαλύτερη επίδραση στη συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο το οποίο έχει προκύψει από ελαιόπαστα προεπεξεργασμένη με ΥΠ ήταν οι γραμμικοί και ο τετραγωνικός όρος θερμοκρασίας μάλαξης (X1, X1²), ακολούθως οι γραμμικοί όροι του χρόνου μάλαξης (X2) και του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z (X3) και τέλος ο τετραγωνικός όρος του

χρόνου μάλαξης (X^2). Αντίθετα, ο τετραγωνικός όρος της δείκτη κυτταρικής διάρρηξης (X^3) και οι αλληλοεπίδρασεις μεταξύ των παραμέτρων (X_1X_2 , X_1X_3 , X_2X_3) δεν συνέβαλαν σημαντικά στη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο το οποίο έχει προκύψει από ελαιόπαστα προεπεξεργασμένη με ΥΠ. Η τιμή F του μοντέλου 115,80 και η τιμή σημαντικότητας ($p < 0,05$) υποδηλώνουν ότι το μοντέλο είναι σημαντικό.

6.3.5.2. Γραφήματα Αποκριτικής επιφάνειας

(α) Απόδοση σε ελαιόλαδο για τη μάλαξη προεπεξεργασμένη με ΠΗΠ

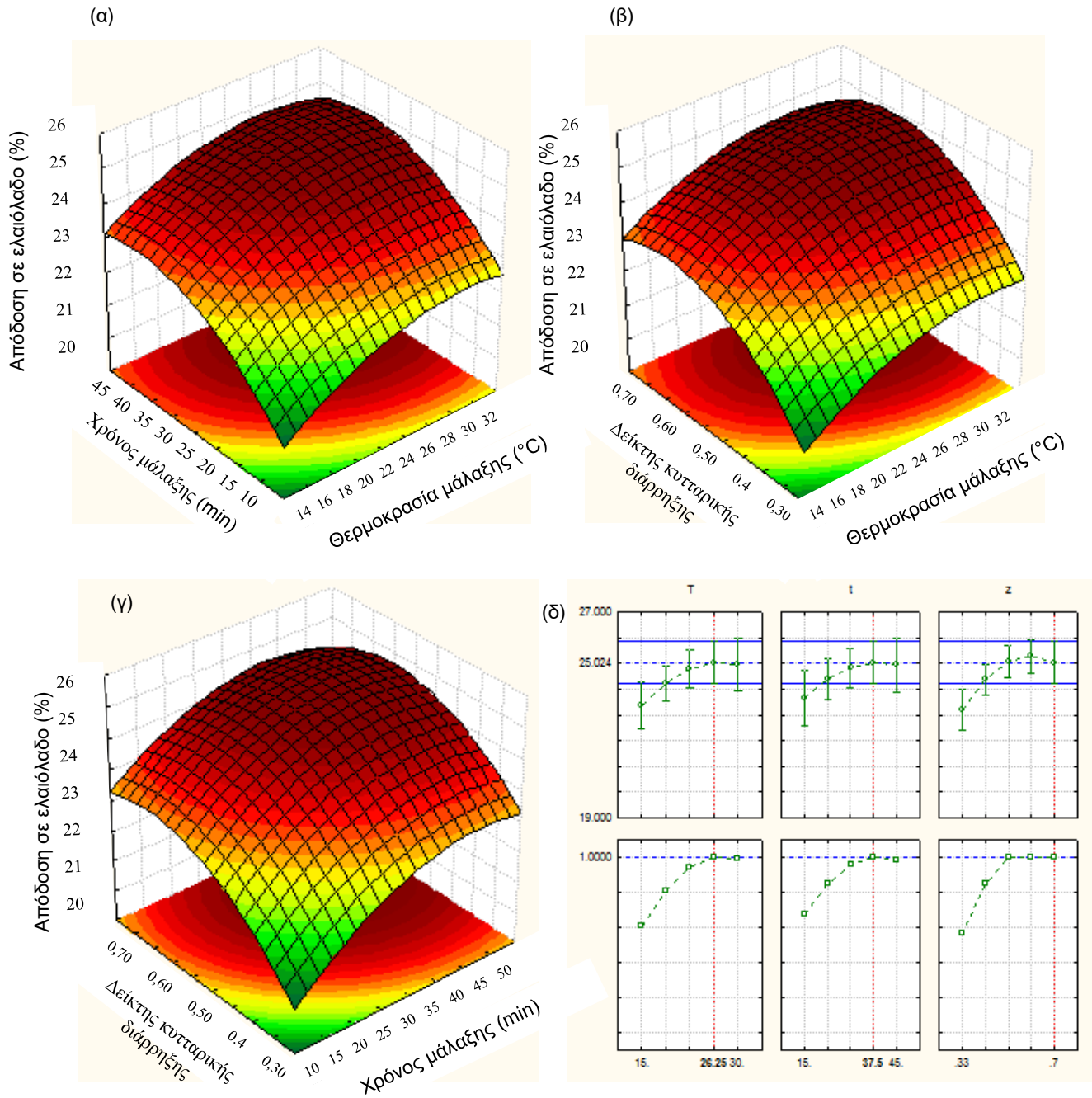
Η σχέση μεταξύ των ανεξάρτητων και των εξαρτημένων μεταβλητών απεικονίσθηκε σε 3D γραφήματα αποκριτικής επιφάνειας που δημιουργήθηκαν από το μοντέλο για την απόδοση σε ελαιόλαδο και τη συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών στο ελαιόλαδο από ελαιόπαστα προεπεξεργασμένη από ΠΗΠ ή ΥΠ. Αυτά τα γραφήματα προέκυψαν απεικονίζοντας δύο μεταβλητές εντός πειραματικού εύρους και διατηρώντας την τρίτη μεταβλητή σταθερή σε μηδενικό επίπεδο. Για την καλύτερη κατανόηση των αποτελεσμάτων, τα προβλεπόμενα μοντέλα για την απόδοση σε ελαιόλαδο από ελαιόπαστα προεπεξεργασμένη από ΠΗΠ παρουσιάζονται στο Σχήμα 6.35 ως 3D απεικονίσεις.

Το Σχήμα 6.35α δείχνει την αλληλεπίδραση μεταξύ της θερμοκρασίας μάλαξης και του χρόνου μάλαξης στην απόδοση σε ελαιόλαδο με σταθερό δείκτη κυτταρικής διάρρηξης ίσο με 0,5. Όπως φαίνεται στο Σχήμα 6.35α, η αύξηση της θερμοκρασίας από 15 σε 30 °C (για ελαιόπαστα με δείκτη κυτταρικής διάρρηξης 0,5) ακόμα και σε χαμηλούς χρόνους μάλαξης (15 min) οδήγησε σε αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο από 21,25% σε 23,12%.

Σε μία ορισμένη θερμοκρασία μάλαξης, η απόδοση σε ελαιόλαδο αυξήθηκε με αύξηση του χρόνου μάλαξης και έφτασε σε ένα μέγιστο σε χρόνο μάλαξης πάνω από 35 min.

Στο σχήμα 6.35β δείχνει την επίδραση της θερμοκρασίας μάλαξης και του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z στην απόδοση σε ελαιόλαδο για έναν σταθερό χρόνο μάλαξης στα 30 min. Περαιτέρω, η αύξηση του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης της ελαιόπαστας από 0,3 σε 0,7 (στους 30 °C) οδήγησε επίσης σε σημαντική αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο από 22,75 σε 25% (αύξηση περίπου 10 %).

Από την άλλη πλευρά, σε χρόνο 45 min και θερμοκρασία μάλαξης 20 °C, η αύξηση του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης της ελαιόπαστας από 0,3 σε 0,7 προκάλεσε αύξηση της απόδοσης από 22,70 σε 24,98%. Επιπλέον, όταν η ελαιόπαστα έχει δείκτη κυτταρικής διάρρηξης ίσο με 0,5, σε θερμοκρασία 30 °C και μεταβαλλόμενο χρόνο μάλαξης από 15 σε 45 min, η απόδοση σε ελαιόλαδο αυξάνεται από 23,12 σε 24,98 % (αύξηση περίπου 8 %).



Σχήμα 6.35. Γραφήματα αποκριτικής επιφάνειας που δείχνουν την επίδραση της θερμοκρασίας μάλαξης, του χρόνου μάλαξης και του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z στην απόδοση του ελαιόλαδου από προεπεξεργασμένη με ΠΗΠ ελαιόπαστα. (α) θερμοκρασία έναντι χρόνου μάλαξης (δείκτης κυτταρικής διάρρηξης = 0,5) (β) θερμοκρασία μάλαξης έναντι δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z (χρόνος μάλαξης=30 min) (γ) χρόνος μάλαξης έναντι δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z (θερμοκρασία μάλαξης=20 °C), (δ) Προφίλ για τις προβλεπόμενες τιμές της απόδοσης σε ελαιόλαδο και το επίπεδο ικανοποίησης του μοντέλου για τους διάφορους παράγοντες για μέγιστη απόδοση σε ελαιόλαδο που έχει προκύψει από ελαιόπαστα προεπεξεργασμένη με ΠΗΠ.

Η γραμμική επίδραση του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης στην απόδοση σε ελαιόλαδο είναι σαφής από τα Σχήματα 6.35β και 6.35γ, καθώς η αύξηση του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z

αντανακλάται από την αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο ανεξάρτητα από το χρησιμοποιούμενο χρόνο μάλαξης και τη θερμοκρασία μάλαξης που επίσης χρησιμοποιήθηκε.

Στο Σχήμα 6.35δ απεικονίζονται τα διαγράμματα με τα επιθυμητά επίπεδα των παραμέτρων της μάλαξης προεπεξεργασίας με ΠΗΠ, προκειμένου να επιτευχθεί η μέγιστη απόδοση (οριζόμενη με την τιμή 1, σε κλίμακα από 0-1) σε ελαιόλαδο. Η μέγιστη επιθυμητή απόδοση σε ελαιόλαδο από ελαιόπαστα προεπεξεργασμένη με ΠΗΠ (25,02%) επιτεύχθηκε με θερμοκρασία μάλαξης από 26 έως 30 °C, χρόνο μάλαξης από 37 έως 45 min και δείκτη κυτταρικής διάρρηξης από 0,5 έως 0,7.

(β) Συγκέντρωση φαινολικών συστατικών για τη μάλαξη προεπεξεργασμένη με ΠΗΠ

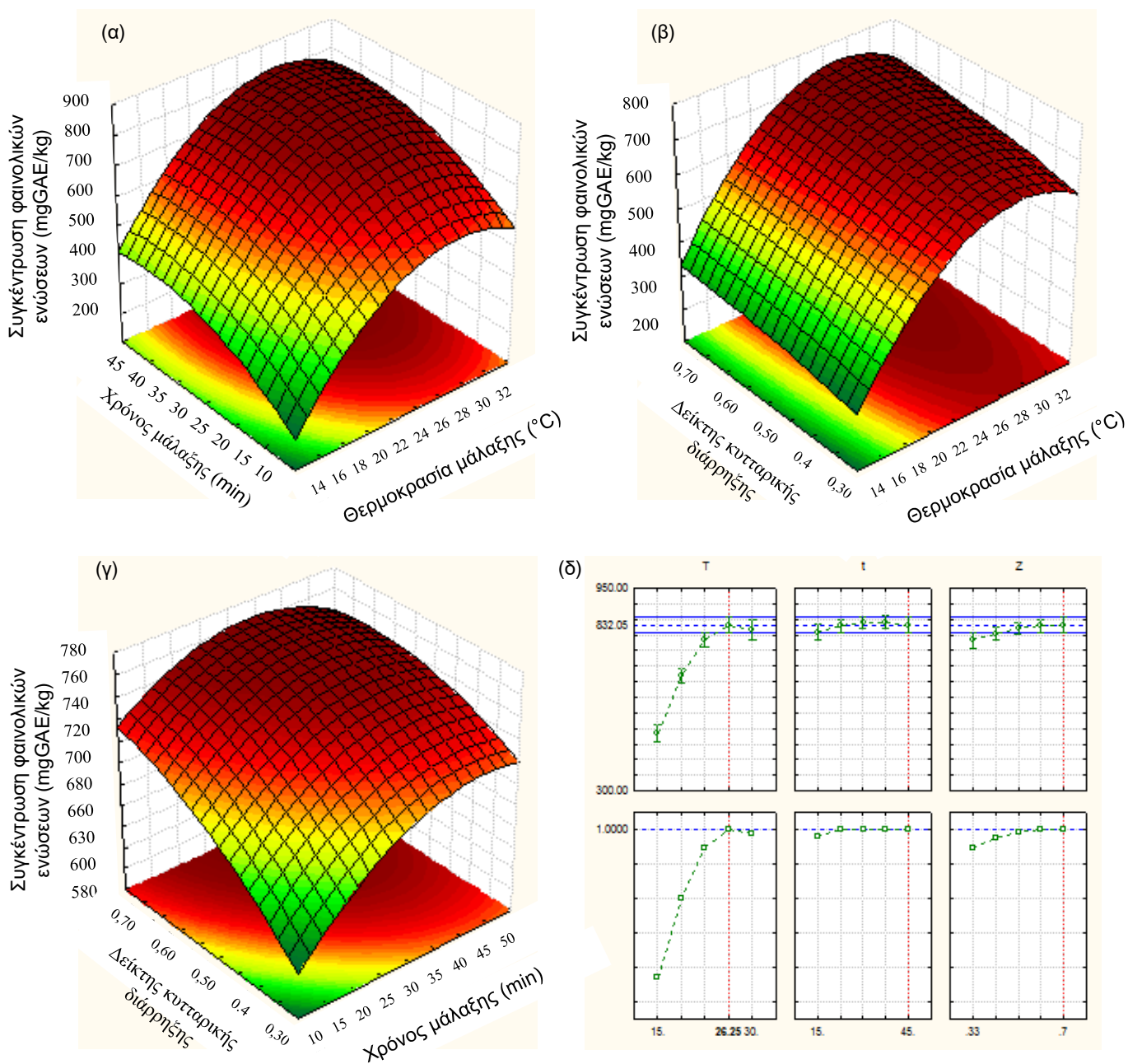
Τα γραφήματα αποκριτικής επιφάνειας που παριστάνουν τις επιδράσεις της θερμοκρασίας μάλαξης, του χρόνου μάλαξης και του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z που προκλήθηκε από την κάθε προεπεξεργασία, στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο των ελαιόλαδων που προέκυψαν από την προεπεξεργασμένη με ΠΗΠ ελαιόπαστα εμφανίζονται στο σχήμα 6.36.

Το Σχήμα 6.36α δείχνει την αλληλεπίδραση μεταξύ της θερμοκρασίας μάλαξης και του χρόνου μάλαξης στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο του παραγόμενου ελαιόλαδου με σταθερό δείκτη κυτταρικής διάρρηξης ίσο με 0,5. Όπως φαίνεται στο Σχήμα 6.36α, η αύξηση της θερμοκρασίας από 15 σε 30 °C (για ελαιόπαστα με δείκτη κυτταρικής διάρρηξης 0,5) ακόμα και σε χαμηλούς χρόνους μάλαξης (15 min) οδήγησε σε αύξηση της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο από 431,2 mg GAE/kg σε 758.2 mg GAE/kg (αύξηση περίπου 75.8 %). Σε μία ορισμένη θερμοκρασία μάλαξης, το ολικό φαινολικό περιεχόμενο αυξήθηκε με αύξηση του χρόνου μάλαξης και έφτασε σε ένα μέγιστο στον υψηλότερο χρόνο μάλαξης που εξετάστηκε.

Το Σχήμα 6.36β δείχνει την επίδραση της θερμοκρασίας μάλαξης και του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο του ελαιόλαδου για έναν σταθερό χρόνο μάλαξης στα 30 min. Περαιτέρω, η αύξηση του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης της ελαιόπαστας από 0,3 σε 0,7 (στους 30 °C) οδήγησε επίσης σε σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο από 743.7 mg GAE/kg σε 825.7 mg GAE/kg (αύξηση περίπου 11%). Το τετραγωνικό αποτέλεσμα της θερμοκρασίας ήταν καθαρό και το ολικό φαινολικό περιεχόμενο που έφτασε επίσης στην υψηλότερη τιμή στους 30 °C.

Από την άλλη πλευρά, σε χρόνο 45 min και θερμοκρασία μάλαξης 20 °C, η αύξηση του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης της ελαιόπαστας από 0,3 σε 0,7 προκάλεσε αύξηση της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο από 682.9 mg GAE/kg σε 712.0 mg GAE/kg. Επιπλέον, όταν η ελαιόπαστα έχει δείκτη κυτταρικής διάρρηξης ίσο με 0,5, σε θερμοκρασία 30 °C και

μεταβαλλόμενο χρόνο μάλαξης από 15 σε 45 min, η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο αυξάνεται από 758.2 mg GAE/kg σε 798.2 mg GAE/kg.



Σχήμα 6.36. Γραφήματα αποκριτικής επιφάνειας που δείχνουν την επίδραση της θερμοκρασίας μάλαξης, του χρόνου μάλαξης και του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z στη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων στο παραγόμενο ελαιόλαδο από προεπεξεργασμένη με ΠΗΠ ελαιόπαστα. (α) θερμοκρασία έναντι χρόνου μάλαξης (δείκτης κυτταρικής διάρρηξης = 0,5) (β) θερμοκρασία μάλαξης έναντι δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z (χρόνος μάλαξης=30 min) (γ) χρόνος μάλαξης έναντι δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z (θερμοκρασία μάλαξης=20 °C), (δ) Προφίλ για τις προβλεπόμενες τιμές της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων στα παραγόμενα ελαιόλαδα και το επίπεδο ικανοποίησης του μοντέλου για τους διάφορους παράγοντες για μέγιστη συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων που έχει προκύψει από ελαιόπαστα προεπεξεργασμένη με ΠΗΠ.

Περαιτέρω, η γραμμική επίδραση του χρόνου μάλαξης στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο του ελαιόλαδου είναι σαφής στο Σχήμα 6.36γ, καθώς η αύξηση του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z αντανakλάται από την αύξηση του ολικού φαινολικού περιεχομένου ανεξάρτητα από το χρησιμοποιούμενο χρόνο μάλαξης (Σχήμα 6.36γ) και τη θερμοκρασία που δοκιμάστηκε (Σχήμα 6.36β).

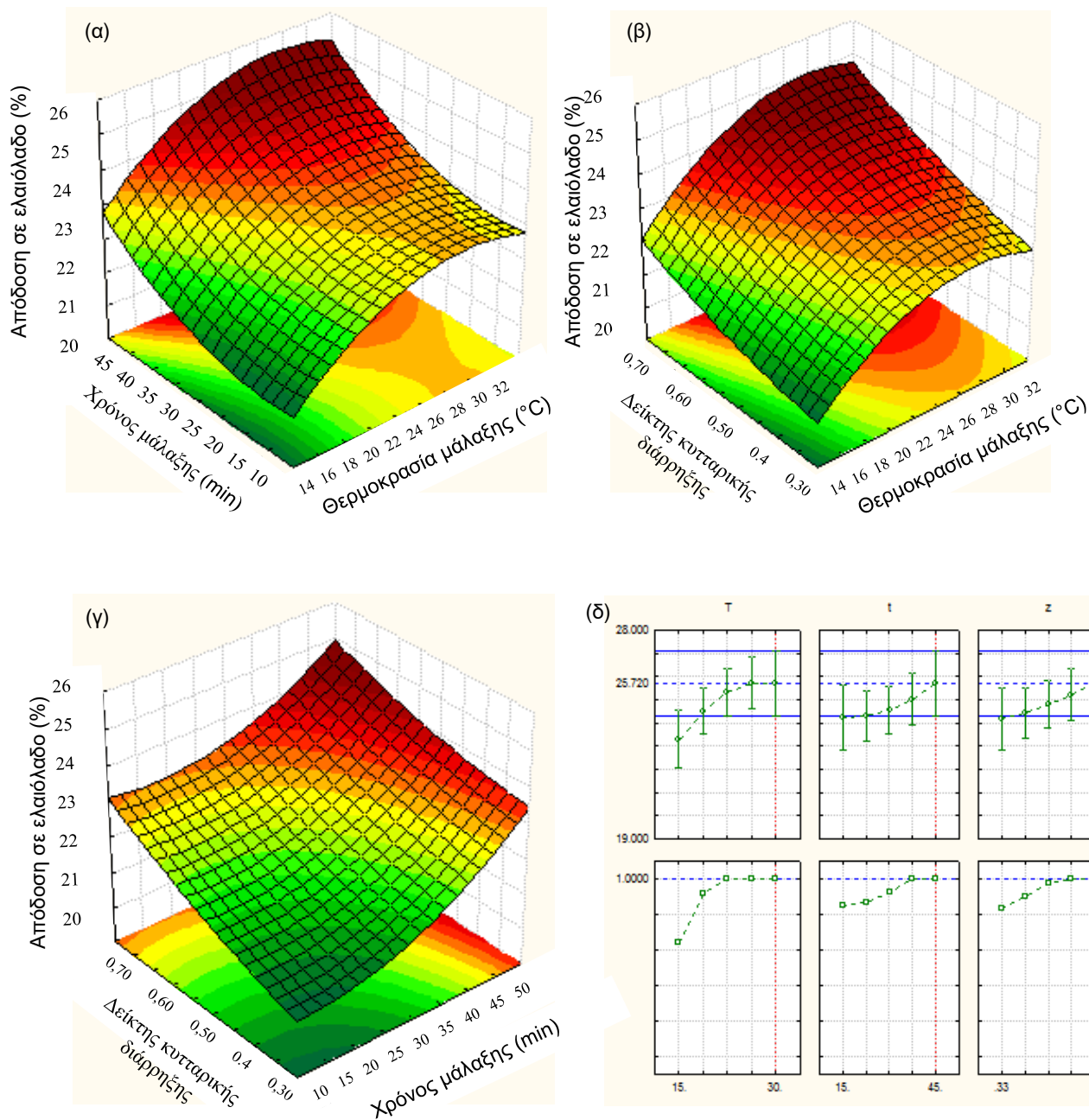
Στο Σχήμα 6.36δ απεικονίζονται τα διαγράμματα με τα επιθυμητά επίπεδα των παραμέτρων της μάλαξης προεπεξεργασίας με ΠΗΠ, προκειμένου να επιτευχθεί η μέγιστη απόδοση (οριζόμενη με την τιμή 1, σε κλίμακα από 0-1) σε συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο. Η βέλτιστη τιμή του ολικού φαινολικού περιεχομένου του ελαιόλαδου που προέκυψε από προεπεξεργασμένη ελαιόπαστα με ΠΗΠ ήταν 832,05 mg GAE/kg ελαίου που μπορεί να επιτευχθεί όταν η ελαιόπαστα μαλάζεται από 26 έως 30 °C για χρόνο από 17 έως και 45 min και με δείκτη κυτταρικής διάρρηξης που έχει προέλθει από την προεπεξεργασία με ΠΗΠ από 0,6 έως 0,7.

(γ) Απόδοση σε ελαιόλαδο για τη μάλαξη προεπεξεργασμένη με ΥΠ

Στη συνέχεια, παρουσιάζονται σε 3D απεικονίσεις τα προβλεπόμενα μοντέλα για την απόδοση σε ελαιόλαδο από ελαιόπαστα προεπεξεργασμένη με ΥΠ., για την καλύτερη κατανόηση των αποτελεσμάτων (Σχήμα 6.37).

Το Σχήμα 6.37α δείχνει την αλληλεπίδραση μεταξύ της θερμοκρασίας μάλαξης και του χρόνου μάλαξης στην απόδοση σε ελαιόλαδο με σταθερό δείκτη κυτταρικής διάρρηξης ίσο με 0,5. Όπως φαίνεται στο Σχήμα 6.37α, η αύξηση της θερμοκρασίας από 15 σε 30 °C (για ελαιόπαστα με δείκτη κυτταρικής διάρρηξης 0,5) ακόμα και σε χαμηλούς χρόνους μάλαξης (15 min) οδήγησε σε αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο από 20,54% σε 22,84%. Σε μία ορισμένη θερμοκρασία μάλαξης, η απόδοση σε ελαιόλαδο αυξήθηκε με αύξηση του χρόνου μάλαξης και έφτασε σε ένα μέγιστο σε χρόνο μάλαξης πάνω από 40 min.

Το Σχήμα 6.37β δείχνει την επίδραση της θερμοκρασίας μάλαξης και του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z στην απόδοση σε ελαιόλαδο για έναν σταθερό χρόνο μάλαξης στα 30 min. Περαιτέρω, η αύξηση του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης της ελαιόπαστας από 0,3 σε 0,7 (στους 30 °C) οδήγησε επίσης σε σημαντική αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο από 22,41 σε 24,69% (αύξηση περίπου 10 %). Η γραμμική επίδραση της θερμοκρασίας μάλαξης στην απόδοση σε ελαιόλαδο είναι σαφής από τα Σχήματα 6.37α και 6.37β, καθώς η αύξηση θερμοκρασίας μάλαξης αντανakλάται από την αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο ανεξάρτητα από το χρησιμοποιούμενο χρόνο μάλαξης και τον δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z που επιτεύχθηκε. Από την άλλη πλευρά, σε χρόνο 45 min και θερμοκρασία μάλαξης 20 °C, η αύξηση του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης της ελαιόπαστας από 0,3 σε 0,7 προκάλεσε αύξηση της απόδοσης από 23,68 σε 24,39%.



Σχήμα 6.37 Γραφήματα αποκριτικής επιφάνειας που δείχνουν την επίδραση της θερμοκρασίας μάλαξης, του χρόνου μάλαξης και του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z στην απόδοση του ελαιόλαδου από προεπεξεργασμένη με ΥΠ ελαιόπαστα. (α) θερμοκρασία έναντι χρόνου μάλαξης (δείκτης κυτταρικής διάρρηξης = 0,5) (β) θερμοκρασία μάλαξης έναντι δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z (χρόνος μάλαξης=30 min) (γ) χρόνος μάλαξης έναντι δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z (θερμοκρασία μάλαξης=20 °C), (δ) Προφίλ για τις προβλεπόμενες τιμές της απόδοσης σε ελαιόλαδο και το επίπεδο ικανοποίησης του μοντέλου για τους διάφορους παράγοντες για μέγιστη απόδοση σε ελαιόλαδο που έχει προκύψει από ελαιόπαστα προεπεξεργασμένη με ΥΠ.

Επιπλέον, όταν η ελαιόπαστα έχει δείκτη κυτταρικής διάρρηξης ίσο με 0,5, σε θερμοκρασία 30 °C και μεταβαλλόμενο χρόνο μάλαξης από 15 σε 45 min, η απόδοση σε ελαιόλαδο αυξάνεται από 22,84 σε 24,88 % (αύξηση περίπου 8 %).

Στο Σχήμα 6.37δ απεικονίζονται τα διαγράμματα με τα επιθυμητά επίπεδα των παραμέτρων της μάλαξης προεπεξεργασίας με ΥΠ, προκειμένου να επιτευχθεί η μέγιστη απόδοση (οριζόμενη με την τιμή 1, σε κλίμακα από 0-1) σε ελαιόλαδο. Η μέγιστη επιθυμητή απόδοση σε ελαιόλαδο από ελαιόπαστα προεπεξεργασμένη με ΥΠ (25,72%) επιτεύχθηκε με θερμοκρασία μάλαξης από 20 έως 30 °C, χρόνο μάλαξης από 37 έως 45 min και δείκτη κυτταρικής διάρρηξης από 0,5 έως 0,7.

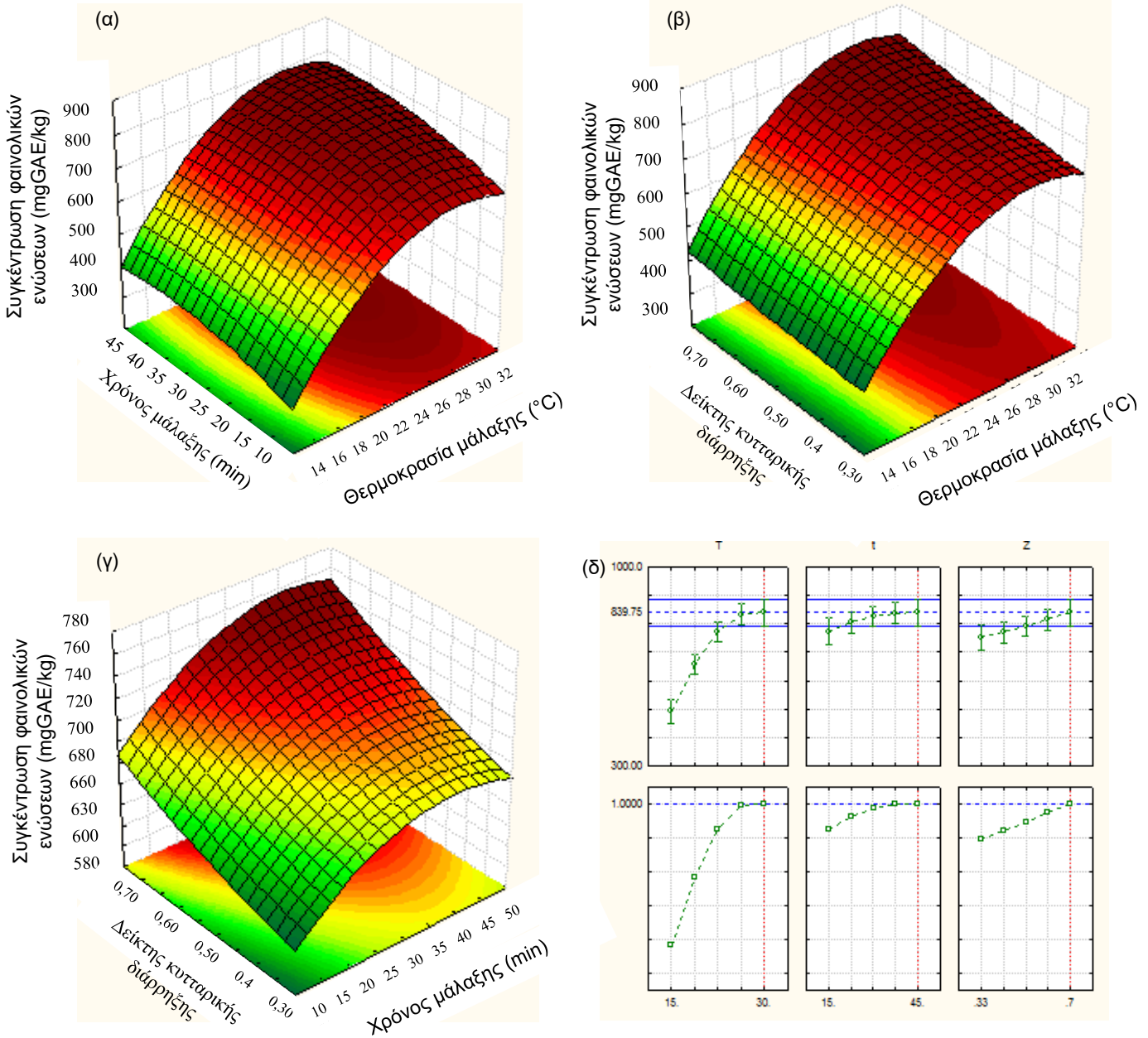
(δ) Συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων για τη μάλαξη προεπεξεργασμένη με ΥΠ

Επιπλέον, παρουσιάζονται σε 3D απεικονίσεις τα προβλεπόμενα μοντέλα για τη συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο το οποίο έχει προκύψει από ελαιόπαστα προεπεξεργασμένη με ΥΠ, για την καλύτερη κατανόηση των αποτελεσμάτων (Σχήμα 6.38).

Όπως φαίνεται στο Σχήμα 6.38α, η αύξηση της θερμοκρασίας από 15 σε 30 °C (για ελαιόπαστα με δείκτη κυτταρικής διάρρηξης 0,5) ακόμα και σε χαμηλούς χρόνους μάλαξης (15 min) οδήγησε σε αύξηση της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο από 428.3 mg GAE/kg σε 727.4 mg GAE/kg (αύξηση περίπου 70%).

Το Σχήμα 6.38β δείχνει την επίδραση της θερμοκρασίας μάλαξης και του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο για σταθερό χρόνο εκχύλισης ίσο με 30 min. Περαιτέρω, η αύξηση του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης της ελαιόπαστας από 0,3 σε 0,7 (στους 30 °C) οδήγησε επίσης σε σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο από 754.6 mg GAE/kg σε 835.2 mg GAE/kg (αύξηση περίπου 12 %). Η θερμοκρασία μάλαξης είχε τετραγωνική καθαρή επίδραση στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο που έφθασε στην υψηλότερη τιμή στους 30 °C, ενώ το ολικό φαινολικό περιεχόμενο αυξανόταν με αύξηση του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης.

Από την άλλη πλευρά, η επίδραση του χρόνου μάλαξης και του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z φαίνεται στο Σχήμα 6.38γ για σταθερή θερμοκρασία μάλαξης 20 °C. Το ολικό φαινολικό περιεχόμενο αυξήθηκε με αύξηση του χρόνου εκχύλισης και του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z και η μέγιστη τιμή προέκυψε για χρόνο εκχύλισης 45 min και του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z ίσο με 0,7. Για παράδειγμα, σε χρόνο 45 min και θερμοκρασία μάλαξης 20 °C, η αύξηση του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης της ελαιόπαστας από 0,3 σε 0,7 προκάλεσε αύξηση της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο από 654.7 mg GAE/kg σε 704.3 mg GAE/kg. Επιπλέον, όταν η ελαιόπαστα έχει δείκτη κυτταρικής διάρρηξης ίσο με 0,5, σε θερμοκρασία 30 °C και μεταβαλλόμενο χρόνο μάλαξης από 15 σε 45 min, η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο αυξάνεται από 727.4 mg GAE/kg σε 777.3 mg GAE/kg.



Σχήμα 6.38 Γραφήματα αποκριτικής επιφάνειας που δείχνουν την επίδραση της θερμοκρασίας μάλαξης, του χρόνου μάλαξης και του δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z στη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων στο παραγόμενο ελαιόλαδο από προεπεξεργασμένη με ΥΠ ελαιόπαστα. (α) θερμοκρασία έναντι χρόνου μάλαξης (δείκτης κυτταρικής διάρρηξης = 0,5) (β) θερμοκρασία μάλαξης έναντι δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z (χρόνος μάλαξης=30 min) (γ) χρόνος μάλαξης έναντι δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z (θερμοκρασία μάλαξης=20 °C), (δ) Προφίλ για τις προβλεπόμενες τιμές της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων στα παραγόμενα ελαιόλαδα και το επίπεδο ικανοποίησης του μοντέλου για τους διάφορους παράγοντες για μέγιστη συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων που έχει προκύψει από ελαιόπαστα προεπεξεργασμένη με ΥΠ.

Στο Σχήμα 6.38δ απεικονίζονται τα διαγράμματα με τα επιθυμητά επίπεδα των παραμέτρων της μάλαξης προεπεξεργασίας με ΥΠ, προκειμένου να επιτευχθεί η μέγιστη απόδοση (οριζόμενη με την τιμή 1, σε κλίμακα από 0-1) σε συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων στο τελικό έλαιο. Η

βέλτιστη τιμή του ολικού φαινολικού περιεχομένου του ελαιόλαδου που προέκυψε από προεπεξεργασμένη ελαιόπαστα με ΥΠ ήταν 839,75 mg GAE/kg ελαίου που μπορεί να επιτευχθεί όταν η ελαιόπαστα μαλάζεται στους 26,2 °C για χρόνο από 37,5 έως και 45 min και με δείκτη κυτταρικής διάρρηξης που έχει προέλθει από την προεπεξεργασία με ΥΠ ίσο με 0,7.

6.3.5.3. Αριστοποίηση των μοντέλων πρόβλεψης για τη μάλαξη υποβοηθούμενη με ΠΗΠ και ΥΠ

Τέλος, για επικύρωση των προβλεπόμενων μεταβλητών, διεξήχθησαν πειράματα χρησιμοποιώντας τις αριστοποιημένες παραμέτρους για κάθε μεμονωμένη απόκριση. Στον πίνακα 6.44 παρουσιάζονται επίσης στα επίπεδα μεταβλητών που αριστοποιούνται για κάθε απόκριση, οι τιμές για τις υπόλοιπες αποκρίσεις που προέκυψαν είτε από το μοντέλο ή πειραματικά. Οι πειραματικές τιμές δεν εμφάνισαν σημαντικές διαφορές σε σχέση με τις προβλεπόμενες, υποδεικνύοντας ότι τα μοντέλα που αναπτύχθηκαν ήταν αξιόπιστα και επαρκή στις προβλέψεις τους και συνεπώς μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αριστοποίηση της μάλαξης της ελαιόπαστας προεπεξεργασμένης με ΠΗΠ ή ΥΠ.

Πίνακας 6.44 Προβλεπόμενες και πειραματικές τιμές για τις αποκρίσεις που προέκυψαν στα διάφορα επίπεδα των μεταβλητών

| Μεταβλητές της διεργασίας | | | Προβλεπόμενες τιμές | | | Πειραματικές τιμές ^a | | | | |
|---------------------------|---------------------|-----------|---------------------|------------------------|-------------|---------------------------------|-------------|------------------------|-------------|------------------------|
| | | | ΠΗΠ/ΥΠ | | | | | | | |
| X1 (Θερμοκρασία, °C) | X2 (Χρόνος, min) | X3 (Z) | Απόδοση (%) | TPC (mg GAE/kg ελαίου) | Απόδοση (%) | TPC (mg GAE/kg ελαίου) | Απόδοση (%) | TPC (mg GAE/kg ελαίου) | Απόδοση (%) | TPC (mg GAE/kg ελαίου) |
| 26 | 37 | 0,7 | 24,88 | 793,00 | 24,56 | 763,77 | 24.65±0.14 | 785.6±15.6 | 24.12±0.35 | 752.6±10.3 |
| 30 | 45 | 0,7 | 25,13 | 815,79 | 24,97 | 788,06 | 25.15±0.06 | 818.4±8.4 | 24.87±0.08 | 791.4±7.8 |
| 26 | 45 | 0,7 | 25,45 | 826,07 | 25,04 | 793,70 | 25.42±0.05 | 822.32±7.12 | 24.92±0.12 | 799.1±11.7 |

TPC: Συνολική περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά του ελαιόλαδου (mg GAE/g ελαίου)

^a Μέση τιμή τριών επαναλήψεων ± τυπική απόκλιση

6.3.6. Σύγκριση της εξαγωγής ελαιόλαδου του μη προεπεξεργασμένου δείγματος με την εξαγωγή ελαιόλαδου από προεπεξεργασμένη με ΠΗΠ και ΥΠ ελαιόπαστα με μάλαξη στις βέλτιστες συνθήκες.

Προκειμένου να αξιολογηθεί η αποτελεσματικότητα της μεθόδου της μάλαξης με την προεπεξεργασία των ΠΗΠ ή της ΥΠ στην ελαιόπαστα, οι βέλτιστες συνθήκες της μάλαξης

υποβοηθούμενη από τις δυο προεπεξεργασίες συγκρίθηκαν με τη μάλαξη στις βέλτιστες συνθήκες (30°C και 30 min) όσον αφορά την απόδοση σε ελαιόλαδο και το ολικό φαινολικό περιεχόμενο στο παραγόμενο ελαιόλαδο. Η επιλογή των συνθηκών έγινε με βάση τα μοντέλα προσαρμογής που αναπτύχθηκαν στην προηγούμενη ενότητα, όπου παρατηρήθηκε η μέγιστη δυνατή απόδοση σε ελαιόλαδο αλλά και το μέγιστο φαινολικό περιεχόμενο, λαμβάνοντας υπόψη ταυτόχρονα την ελάχιστη κατανάλωση ενέργειας αλλά και το ελάχιστο δυνατό χρόνο από θέμα κόστους και αύξηση της παραγωγικότητας.

Οι βέλτιστες συνθήκες ήταν για την προεπεξεργασία με ΠΗΠ (1,5 kV/cm, 100 παλμοί) και ΥΠ (600 MPa, 5 min), που αντιστοιχούν σε δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z ίσο με 0,7 και σε συνθήκες μάλαξης 26 και 35 min. Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα από τις τρεις διαφορετικές μεθόδους, βρέθηκε ότι η απόδοση σε ελαιόλαδο που βρέθηκε στα παραγόμενα ελαιόλαδα ήταν 24,88% και 24,56% για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ και ΥΠ δείγματα αντίστοιχα, σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο που είχε απόδοση σε ελαιόλαδο ίση με 22,5%. Πρέπει να σημειωθεί ότι το βέλτιστο αποτέλεσμα από την εκχύλιση με ΠΗΠ και ΥΠ ελήφθη σε μειωμένη θερμοκρασία μάλαξης (26 °C). Επιπλέον, παρατηρήθηκε ότι το ελαιόλαδο που ελήφθη με χρήση ΠΗΠ και ΥΠ εμφάνισε μεγαλύτερο περιεχόμενο ολικών φαινολικών συστατικών κατά 6% και ίσο με 793,1 mgGAE/kg και κατά 3% και ίσο με 763,7 mgGAE/kg, αντίστοιχα από εκείνο που ελήφθη με τη συμβατική μέθοδο μάλαξης του μη προεπεξεργασμένου δείγματος.

Λαμβάνοντας υπόψη τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του ελαιόλαδου και τη θερμική ευαισθησία των αρωματικών ενώσεων του, η μάλαξη σε χαμηλότερη θερμοκρασία υποβοηθούμενη με ΠΗΠ και ΥΠ πλεονεκτεί σε σύγκριση με τη συμβατική μάλαξη στους 30 °C. Ως εκ τούτου, μάλαξη υποβοηθούμενη με τις δύο προεπεξεργασίες παρέχει χαμηλότερη θερμοκρασία της διεργασίας, επομένως δεν υπάρχει θερμική υποβάθμιση πολλών μη σταθερών μικρο-συστατικών, εξοικονομώντας ταυτόχρονα ενέργεια για την επίτευξη ελαιόλαδων τόσο με υψηλή απόδοση όσο και πλούσια σε βιοδραστικές ενώσεις.

6.3.7. Σύγκριση της εξαγωγής ελαιόλαδου του μη προεπεξεργασμένου δείγματος με την εξαγωγή ελαιόλαδου από προεπεξεργασμένη με ΠΗΠ και ΥΠ ελαιόπαστα με μάλαξη σε ηπιότερες συνθήκες.

Σε αυτήν την ενότητα μελετήθηκε η επίδραση των δυο προεπεξεργασιών στις βέλτιστες συνθήκες τους, με στόχο τη χρήση τους ως προεπεξεργασίες πριν το στάδιο της μάλαξης είτε για αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο και για βελτίωση της ποιότητας των τελικών ελαιόλαδων, είτε για τη μείωση του χρόνου και της θερμοκρασίας μάλαξης στη διαδικασία εξαγωγής του έξτρα παρθένου ελαιόλαδου. Προκειμένου να αξιολογηθεί η αποτελεσματικότητα των δύο προεπεξεργασιών στη

εξαγωγή του ελαιόλαδου, επιλέχθηκαν οι βέλτιστες συνθήκες τους σε συνδυασμό με ηπιότερες συνθήκες μάλαξης (μικρότερη θερμοκρασία και χρόνος) και συγκρίθηκαν με τη συμβατική μάλαξη στις βέλτιστες συνθήκες (30 °C και 30 min) του μη προεπεξεργασμένου δείγματος.

Οι βέλτιστες συνθήκες των ΠΗΠ και της ΥΠ ως προεπεξεργασίες στη διεργασία της μάλαξης σε ηπιότερες συνθήκες: 22 °C με 30 min (PEF22, HP22), 30 °C με 15 min (PEF30/15, HP30/15) συγκρίθηκαν με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα (30 °C και 30 min, Control) ως προς την απόδοση σε ελαιόλαδο, στα ποιοτικά χαρακτηριστικά, στη συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών και των επιμέρους κλασμάτων τους, καθώς επίσης στη συγκέντρωση της α-τοκοφερόλης, την αντιοξειδωτική ικανότητα, το προφίλ των λιπαρών οξέων, την οξειδωτική σταθερότητα και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τελικών ελαιόλαδων που προέκυψαν.

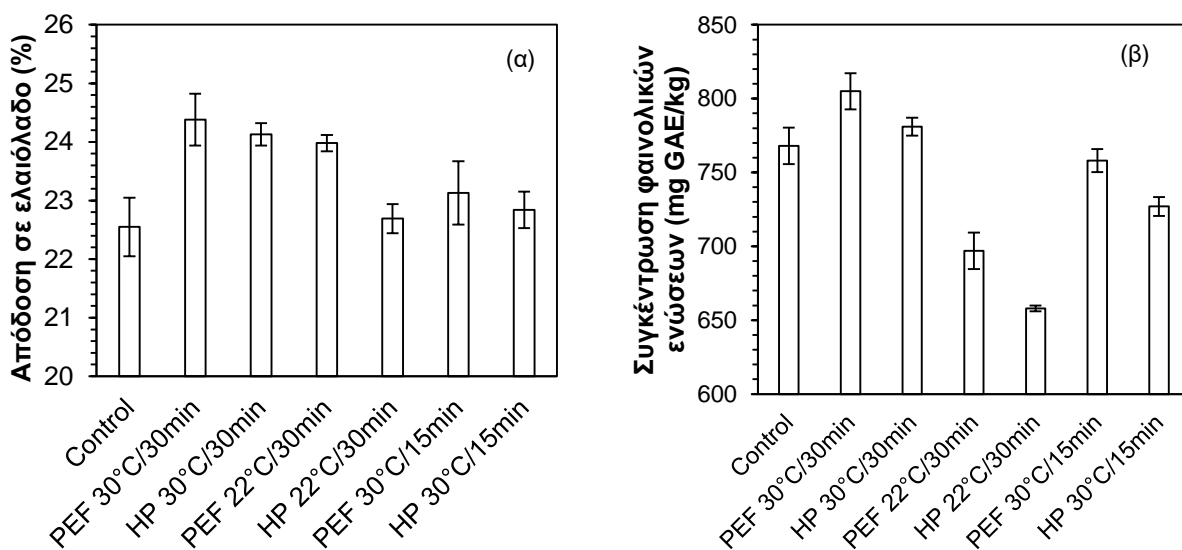
Σύμφωνα με τα μοντέλα αριστοποίησης της μάλαξης που αναπτύχθηκαν στην προηγούμενη ενότητα, τα ΠΗΠ μπορούν να επιτύχουν εξίσου υψηλή απόδοση σε ελαιόλαδο και συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων στο τελικό ελαιόλαδο για ένταση συνθηκών που αντιστοιχεί σε δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z μεγαλύτερο από 0,6, σε θερμοκρασία μάλαξης μεγαλύτερη των 22 °C και σε χρόνο μάλαξης πάνω από 30 min. Παράλληλα, η ΥΠ μπορεί να επιτύχει εξίσου υψηλή απόδοση σε ελαιόλαδο και συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων στο τελικό ελαιόλαδο για ένταση συνθηκών που αντιστοιχεί σε δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z μεγαλύτερο από 0,6, σε θερμοκρασία μάλαξης μεγαλύτερη των 20 °C και σε χρόνο μάλαξης πάνω από 25 min. Για λόγους μείωσης κόστους και κατανάλωσης ενέργειας επιλέχθηκαν ως βέλτιστες συνθήκες με ΠΗΠ το 1,5 kV/cm ένταση ηλεκτρικού πεδίου και 100 παλμούς και ως βέλτιστες στην ΥΠ τα 600 MPa για 5 min, που αντιστοιχούν σε δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z ίσο με 0,7 και για τις δυο προεπεξεργασίες.

Τα προεπεξεργασμένα δείγματα με ΠΗΠ (1,5 kV/cm, 100 παλμούς) και ΥΠ (600 MPa, 5 min) στις βέλτιστες συνθήκες, μαλάχθηκαν στους 30 °C για 30 και 15 min καθώς και σε χαμηλότερη θερμοκρασία των 22 °C και χρόνο 30 min και συγκρίθηκαν με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα που είχε μαλαχθεί στις τυπικές και πιο συνηθισμένες συνθήκες μάλαξης (30° C και 30 min) και συγκρίθηκαν ως προς την απόδοση σε ελαιόλαδο, στα ποιοτικά χαρακτηριστικά, στη συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών και των επιμέρους κλασμάτων τους, καθώς επίσης στη συγκέντρωση της α-τοκοφερόλης, το προφίλ των λιπαρών οξέων, την οξειδωτική σταθερότητα και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τελικών ελαιόλαδων που προέκυψαν.

Συγκρίνοντας τα προεπεξεργασμένα δείγματα με ΠΗΠ και ΥΠ στις βέλτιστες συνθήκες τους και σε επιλεγμένες συνθήκες μάλαξης των 30°C και 30 min με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα

παρατηρήθηκε ότι η απόδοση σε ελαιόλαδο αυξήθηκε 8,3 και 7,0% σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο (22,55%), αντίστοιχα. Παρατηρήθηκε επίσης, ότι στους 30 °C οι δυο προεπεξεργασίες θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για να μειώσουμε το χρόνο μάλαξης στα 15 min, εφόσον ακόμα και σε μικρότερο χρόνο μάλαξης είχαν απόδοση σε ελαιόλαδο 23,13% και 22,84%, δηλαδή σχεδόν ίση ή και μεγαλύτερη σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα. Επιπλέον, σε θερμοκρασία μάλαξης 22 °C, οι δυο προεπεξεργασίες είχαν απόδοση σε ελαιόλαδο 23,98 και 22,69%. Ακόμα και σε χαμηλότερη θερμοκρασία μάλαξης, οι δυο προεπεξεργασίες οδήγησαν σε απόδοση σχεδόν ίση με το μη προεπεξεργασμένο (Σχήμα 6.39).

Ως προς τα φαινολικά συστατικά, η θερμοκρασία μάλαξης έπαιξε καταλυτικό ρόλο ως προς την τελική τους συγκέντρωση στο παραγόμενο ελαιόλαδο. Το ελαιόλαδο που παράχθηκε στους 30 °C και 30 min είχε συγκέντρωση φαινολικών συστατικών 745 mgGAE/kg ενώ παρατηρήθηκε επίσης, ότι και οι δυο προεπεξεργασίες επηρέασαν τις ολικές φαινολικές ενώσεις που εκχυλίστηκαν στο ελαιόλαδο κατά τη διάρκεια της εξαγωγής ελαιόλαδου (Σχήμα 6.42).



Σχήμα 6.39 (α) Απόδοση σε ελαιόλαδο (%) και (β) συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων (mg/kg ελαίου) στα παραγόμενα ελαιόλαδα που έχουν προκύψει από μη προεπεξεργασμένη ελαιόπαστα (Control), προεπεξεργασμένη με ΠΗΠ (1.5 kV/cm, 100 παλμούς) και ΥΠ (600 MPa, 5 min) σε συνθήκες μάλαξης: 30 °C και 30 min (PEF30 & HP30), 22°C και 30 min (PEF22 & HP22), 30°C και 15 min (PEF30/15 & HP30/15).

Στους 30 °C, παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση στη συγκέντρωση των ολικών φαινολικών ενώσεων περίπου 9,3% και 4,9% σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα (745 mg GAE/kg) για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ και ΥΠ δείγματα, αντίστοιχα. Στους 30 °C θερμοκρασία μάλαξης, τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ δείγματα κατάφεραν να φτάσουν τη συγκέντρωση των ολικών φαινολικών ενώσεων (768 mgGAE/kg) των μη προεπεξεργασμένων δειγμάτων σε 30 min,

μόλις στο μισό χρόνο μάλαξης (15 min). Σε αντίθεση με τη σημαντική αύξηση της απόδοσης στους 22 °C που εμφάνισαν τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ ή ΥΠ δείγματα, δεν συνέβει το ίδιο και στη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων. Μετά από 30 min μάλαξης στους 22 °C, η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων κατάφερε να φτάσει περίπου 697 mgGAE/kg και 658 mgGAE/kg για τα ΠΗΠ και ΥΠ προεπεξεργασμένα δείγματα, αντίστοιχα. Αυτές οι τιμές είναι σημαντικά χαμηλότερες από την αντίστοιχη του μη προεπεξεργασμένου δείγματος ύστερα από 30 min μάλαξης στους 30 °C. Οι φαινολικές ενώσεις παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο ως προς τη διάρκεια ζωής του τελικού ελαιόλαδου, καθώς λόγω της αντιοξειδωτικής τους δράσης προστατεύει το ελαιόλαδο από την οξείδωση του κατά την αποθήκευση.

Ως προς τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των παραγόμενων ελαιόλαδων, τα δείγματα δεν εμφάνισαν σημαντικές διαφορές ($p>0.05$) μεταξύ τους. Οι τιμές της ελεύθερης οξύτητας, του αριθμού υπεροξειδίων και των φασματοφωτομετρικών δεικτών K_{232} και K_{270} ήταν εντός των ορίων που ορίζει ο Κανονισμός (Πίνακας 6.45).

Πίνακας 6.45 Ποιοτικοί δείκτες στα ελαιόλαδα που έχουν προκύψει από μη προεπεξεργασμένη ελαιόπαστα, προεπεξεργασμένη με ΠΗΠ (1.5 kV/cm, 100 παλμούς) και ΥΠ (600 MPa, 5 min) σε συνθήκες μάλαξης: 30 °C και 30 min (PEF30 & HP30), 22°C και 30 min (PEF22 & HP22), 30°C και 15 min (PEF30/15 & HP30/15), οξύτητα (%), αριθμό υπεροξειδίων (meq/kg), K_{232} και K_{270} .

| | Οξύτητα (%) | Αριθμός Υπεροξειδίων(meq/kg) | K_{232} | K_{270} |
|-----------------|-------------|---------------------------------|-----------|-------------|
| Control | 0,66±0,01 | 5,405±0,010 | 1,65±0,01 | 0,132±0,001 |
| PEF30 | 0,67±0,01 | 6,347±0,015 | 1,67±0,02 | 0,130±0,002 |
| HP30 | 0,67±0,02 | 6,240±0,012 | 1,66±0,01 | 0,129±0,001 |
| PEF22 | 0,67±0,02 | 6,315±0,008 | 1,66±0,02 | 0,129±0,001 |
| HP22 | 0,66±0,01 | 6,229±0,011 | 1,64±0,01 | 0,128±0,003 |
| PEF30/15 | 0,65±0,03 | 6,188±0,005 | 1,66±0,01 | 0,129±0,002 |
| HP30/15 | 0,66±0,02 | 6,266±0,003 | 1,68±0,02 | 0,131±0,001 |

± αντιπροσωπεύει την τυπική απόκλιση των πολλαπλών μετρήσεων.

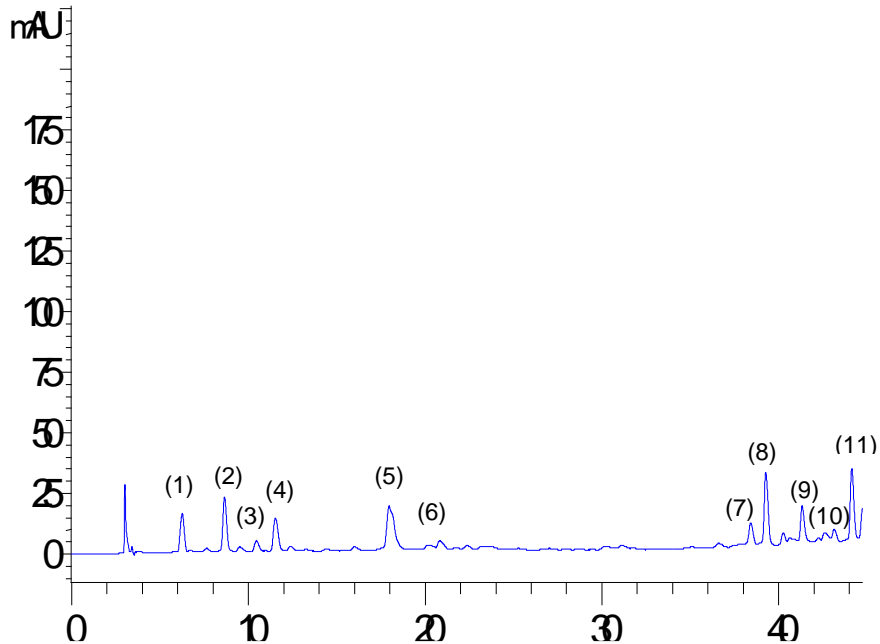
Στη συνέχεια, μετρήθηκε η σύσταση των παραγόμενων ελαιόλαδων των λιπαρών οξέων. Σε σχέση με την επίδραση των δυο προεπεξεργασιών των ΠΗΠ και της ΥΠ στο προφίλ των λιπαρών οξέων, η ανάλυση που πραγματοποιήθηκε δεν έδειξε σημαντικές διαφορές στο περιεχόμενο των κορεσμένων, των ακόρεστων και των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα (Πίνακας 6.46). Παρόμοια αποτελέσματα ελήφθησαν και για το ελαϊκό οξύ, το οποίο είναι το πιο αξιοσημείωτο πολυακόρεστο λιπαρό οξύ του ελαιόλαδου, ως προς τη θρεπτική άποψη που του προσφέρει. Το κλάσμα του ελαϊκού οξέος/λινοελαϊκού οξέος κυμάνθηκε

για όλα τα παραγόμενο ελαιόλαδα από 12,82 έως 13,28. Η αρκετά υψηλή τιμή του ελαϊκού οξέος και η χαμηλή τιμή του λινοελαϊκού οξέος στο ελαιόλαδο, έδωσε ένα μεγάλο κλάσμα το οποίο αντικατοπτρίζει τη σταθερότητα του ελαιόλαδου στην οξείδωση κατά την αποθήκευση.

Πίνακας 6.46 Προφίλ λιπαρών οξέων στα ελαιόλαδα που έχουν προκύψει από μη προεπεξεργασμένη ελαιόπαστα, προεπεξεργασμένη με ΠΗΠ (1.5 kV/cm, 100 παλμούς) και ΥΠ (600 MPa, 5 min) σε συνθήκες μάλαξης: 30 °C και 30 min (PEF30 & HP30), 22°C και 30 min (PEF22 & HP22), 30°C και 15 min (PEF30/15 & HP30/15).

| Προφίλ Λιπαρών Οξέων | Control | PEF30 | HP30 | PEF22 | HP22 | PEF30/1 5 | HP30/1 5 | Όρια* |
|----------------------------|---------|-------|-------|-------|-------|--------------|-------------|-----------------|
| Μυριστικό | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | max 0,03 |
| Παλμιτικό | 11,91 | 11,83 | 11,64 | 11,75 | 11,57 | 11,71 | 11,74 | 7,50-20,00 |
| Παλμιτελαϊκό | 0,77 | 0,77 | 0,76 | 0,76 | 0,77 | 0,77 | 0,76 | 0,30-3,50 |
| Δεκαεπτανικό | 0,04 | 0,04 | 0,04 | 0,04 | 0,04 | 0,04 | 0,04 | max 0,30 |
| Δεκαεπτενικό | 0,07 | 0,07 | 0,07 | 0,07 | 0,08 | 0,07 | 0,07 | max 0,30 |
| Στεατικό | 2,76 | 2,75 | 2,77 | 2,76 | 2,74 | 2,75 | 2,79 | 0,50-5,00 |
| Ελαϊκό | 75,54 | 76,81 | 76,99 | 76,97 | 76,94 | 77,03 | 76,94 | 55,00- 83,00 |
| Λινελαϊκό | 6,97 | 5,89 | 5,90 | 5,82 | 5,86 | 5,80 | 5,84 | 3,50-21,00 |
| Λινολενικό | 0,73 | 0,75 | 0,73 | 0,73 | 0,72 | 0,73 | 0,72 | max 1,00 |
| Εικοσανικό | 0,52 | 0,51 | 0,52 | 0,51 | 0,51 | 0,52 | 0,52 | max 0,60 |
| Εικοσenoϊκό | 0,33 | 0,34 | 0,33 | 0,33 | 0,33 | 0,33 | 0,33 | max 0,40 |
| Βεχενικό | 0,18 | 0,17 | 0,17 | 0,17 | 0,17 | 0,17 | 0,17 | max 0,20 |
| Λιγνοκερικό | 0,07 | 0,06 | 0,07 | 0,07 | 0,06 | 0,07 | 0,07 | max 0,20 |
| Ελαϊκό/Λινελαϊ κό | 12,82 | 13,04 | 13,04 | 13,22 | 13,12 | 13,28 | 13,17 | |

Τα προφίλ των μεμονωμένων φαινολικών ενώσεων των ελαιόλαδων που εκχυλίστηκαν κατά την εξαγωγή του παρουσιάζονται στο Πίνακα 6.47. Τα χρωματογραφήματά τους στα 280 nm και 360 nm φαίνονται στο Σχήμα 6.40. Τα μεμονωμένα φαινολικά συστατικά που έχουν ταυτοποιηθεί ανήκουν σε τρεις κατηγορίες: φαινυλαιθανοειδή (τυροσόλη, υδροξυτυροσόλη, ελευρωπαΐνη), φαινυλοπροπανοειδή (βαννιλικό, χλωρογενικό και κουμαρικό οξύ), φλαβονοειδή (κουερσετίνη και απιγενίνη) και λιγνάνες (πινορεσινόλη και 1-ακετοξυπινορεσινόλη). Οι προεπεξεργασίες με ΠΗΠ και ΥΠ στις επιλεγμένες συνθήκες είχαν σημαντική επίδραση ($p < 0,05$) στην ανάκτηση ορισμένων μεμονωμένων πολυφαινολών.



Σχήμα 6.40 Χρωματογράφημα που προέκυψε από την HPLC των μεμονωμένων φαινολικών συστατικών του ελαιόλαδου στα 280 nm. Οι κορυφές που ταυτοποιήθηκαν ήταν: (1) υδροξυτυροσόλη, (2) τυροσόλη, (3) παράγωγο υδροξυτυροσόλης (4) βανιλικό οξύ, (5) χλωρογενικό οξύ, (6) π-κουμαρικό οξύ, (7) 1-ακετοξυπινωρεσόλη, (8) πινωρεσινόλη, (9) ελευρωπαΐνη, (10) κερκετίνη και (11) απιγενίνη.

Συγκεκριμένα, σε θερμοκρασία μάλαξης 30 °C και 30 min, όλα τα μεμονωμένα φαινολικά συστατικά είχαν μεγαλύτερη συγκέντρωση στο τελικό παραγόμενο ελαιόλαδο για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ και ΥΠ ελαιόλαδα σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο (Πίνακας 6.50). Τα ελαιόλαδα που προέκυψαν από την προεπεξεργασία με ΠΗΠ και ΥΠ ήταν κατά 68 και 44% (184 mg/kg και 157 mg/kg) περισσότερο εμπλουτισμένα με το κυριότερο φαινολικό συστατικό του ελαιόλαδου, που είναι η υδροξυτυροσόλη. Παράλληλα η συγκέντρωση της τυροσόλης στο ελαιόλαδο που είχε προκύψει από την προεπεξεργασία με ΠΗΠ σχεδόν διπλασιάστηκε (93,84 mg/kg) σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα (57,23 mg/kg). Οι συγκεντρώσεις όλων των φαινυλοπρωτανειδίων (βανιλικό, χλωρογενικό και κουμαρικό οξύ) τριπλασιάστηκαν στα ελαιόλαδο που προέκυψε από την προεπεξεργασία με ΠΗΠ. Στο ελαιόλαδο που προέκυψε από την προεπεξεργασία με ΥΠ, οι αντίστοιχες συγκεντρώσεις για το βανιλικό, χλωρογενικό και κουμαρικό οξύ ήταν 35,53, 11,11 και 4,75 mg/kg αντίστοιχα. Το σύνολο των λιγνανών (πινωρεσινόλη και 1-ακετοξυπινωρεσινόλη) ήταν 410,05, 293,68 mg/kg για τα ελαιόλαδο που προεπεξεργάστηκαν με ΠΗΠ και ΥΠ αντίστοιχα, ενώ για τα μη προεπεξεργασμένα δείγματα ήταν 267,5 mg/kg. Η συγκέντρωση της ελευρωπαΐνης στα τελικά παραγόμενα ελαιόλαδα ήταν 64 και 20% μεγαλύτερη σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα, στις ίδιες συνθήκες μάλαξης. Για τα φλαβονοειδή, η συγκέντρωση της απιγενίνης ήταν μεγαλύτερη στα ελαιόλαδα που είχαν

προεπεξεργαστεί με ΠΗΠ (16,29 mg/kg) και ΥΠ (15,55 mg/kg) σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα (7,95 mg/kg).

Πίνακας 6.47 Μεμονωμένα φαινολικά συστατικά (mg/kg) στα ελαιόλαδα που έχουν προκύψει από μη προεπεξεργασμένη ελαιόπαστα, προεπεξεργασμένη με ΠΗΠ (1.5 kV/cm, 100 παλμούς) και ΥΠ (600 MPa, 5 min) σε συνθήκες μάλαξης: 30 °C και 30 min (PEF30 & HP30), 22°C και 30 min (PEF22 & HP22), 30°C και 15 min (PEF30/15 & HP30/15).

| Φαινολικά συστατικά | Control | PEF30 | HP30 | PEF22 | HP22 | PEF30/15 | HP30/15 |
|-----------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Ολικά | 768,2±12.3 | 805.1±6.2 | 781.4±5.1 | 697.0±2.3 | 658.1±1.9 | 758.2±7.8 | 727.2±4.4 |
| Υδροξυτυροσόλη | 109.51±2,35 | 184.64±1,12 | 157.09±2,56 | 102.26±3,65 | 86.51±1,69 | 128.29±2,36 | 76.08±1,22 |
| Τυροσόλη | 57.23±2,56 | 93.84±2,35 | 81.04±1,89 | 55.73±1,22 | 50.25±2,64 | 64.24±0,85 | 59.29±2,35 |
| Παράγωγο Υδροξ. | 51.01±3,45 | 73.18±3,33 | 65.10±0,65 | 45.56±1,85 | 49.70±3,78 | 59.51±0,45 | 60.47±1,47 |
| Βαννιλικό οξύ | 18.26±3,22 | 42.66±6,21 | 35.53±1,25 | 19.68±0,22 | 18.74±0,14 | 26.35±0,99 | 25.31±2,89 |
| Χλωρογενικό οξύ | 7.15±0,65 | 17.53±1,65 | 11.11±0,45 | 6.64±1,01 | 6.40±1,36 | 7.83±10,12 | 7.42±1,65 |
| Κουμαρικό οξύ | 3.72±1,36 | 10.61±0,36 | 4.75±0,12 | 2.77±0,56 | 2.57±0,98 | 5.79±0,36 | 2.57±0,23 |
| 1-ακετοξυπινορεσινόλη | 78.13±2,85 | 112.67±2,65 | 92.18±2,98 | 87.79±0,33 | 82.92±,78 | 77.62±1,45 | 71.18±1,45 |
| Πινορεσινόλη | 189.37±4,96 | 287.38±3,21 | 219.04±3,47 | 190.44±0,14 | 181.82±0,41 | 211.74±2,11 | 180.85±0,77 |
| Ελευρωπαΐνη | 53.73±2,85 | 87.44±2,98 | 64.64±3,65 | 49.00±0,36 | 55.70±0,55 | 60.78±0,36 | 54.30±0,65 |
| Κερκετίνη | 31.48±0,21 | 35.60±0,35 | 33.44±0,88 | 30.57±0,36 | 28.28±0,16 | 32.371,85 | 31.17±0,26 |
| Απιγενίνη | 7.95±0,55 | 16.29±1,56 | 15.55±0,65 | 7.78±0,36 | 7.27±0,06 | 9.49±3,65 | 9.96±0,36 |

± αντιπροσωπεύει την τυπική απόκλιση των πολλαπλών μετρήσεων.

Σε θερμοκρασία μάλαξης 30 °C και 15 min, οι συγκεντρώσεις όλων των μεμονωμένων φαινολικών συστατικών των ελαιόλαδων που προέκυψαν από την προεπεξεργασία με ΥΠ και ΠΗΠ ήταν μεγαλύτερες από το μη προεπεξεργασμένο δείγμα στους 30°C και 30 min. Η προεπεξεργασία με ΠΗΠ οδήγησε σε ελαιόλαδο που είχε έως και 10 % μεγαλύτερη συγκέντρωση σε όλα τα μεμονωμένα φαινολικά συστατικά. Συγκεκριμένα η συγκέντρωση των κυριότερων μεμονωμένων φαινολικών συστατικών, της υδροξυτυροσόλης, της τυροσόλης, της ελευρωπαΐνης, του βαννιλικού οξέος, των λιγνανών και της κερκετίνης ήταν 129,28, 60,78, 26,35, 26,35, 289,2 και 32,37 mg/kg για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ δείγματα, αντίστοιχα, ενώ για τα μη προεπεξεργασμένα ήταν 109,51, 57,23, 18,26, 267,35, 53,73 και 31,48 mg/kg. Αντίστοιχα, η προεπεξεργασία με ΥΠ οδήγησε σε ελαιόλαδο περισσότερο εμπλουτισμένο σε φαινολικά συστατικά έως και 5% στον μισό χρόνο μάλαξης (15 min) σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο (30 min) στους 30 °C. Σε θερμοκρασία μάλαξης 22 °C, οι δύο προεπεξεργασίες οδήγησαν σε ελαιόλαδα με σχεδόν ίσες ή και μεγαλύτερες συγκεντρώσεις των μεμονωμένων φαινολικών συστατικών σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα, αποδεικνύοντας ότι οι δύο προεπεξεργασίες μπορούν να ενισχύσουν τον εμπλουτισμό των παραγόμενων ελαιόλαδων με βιοδραστικές ενώσεις, ενώ ταυτόχρονα να μειώσουν τον χρόνο και τη θερμοκρασία μάλαξης.

Ακολούθως, προσδιορίστηκε η συγκέντρωση των χλωροφυλλών στα παραγόμενα ελαιόλαδα. Οι δύο προεπεξεργασίες ενίσχυσαν την εκχύλιση χλωροφυλλών στο ελαιόλαδο, αυξάνοντας τη συγκέντρωση σε περίπου 25-30% σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα (Πίνακας 6.48).

Επιπλέον μελετήθηκε η συγκέντρωση της α-τοκοφερόλης και η αντιοξειδωτική ικανότητα των ελαιόλαδων (Πίνακας 6.48). Η συγκέντρωση σε α-τοκοφερόλη ήταν υψηλότερη κατά 59 και 65% (66,9 mg/kg και 66,5 mg/kg) για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ και ΥΠ δείγματα αντίστοιχα σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο (42,48 mg/kg) στους 30 °C και 30 min. Ταυτόχρονα σε χαμηλότερη θερμοκρασία μάλαξης των 22 °C, τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ και ΥΠ δείγματα εμφάνισαν παραπλήσια συγκέντρωση α-τοκοφερόλης με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα και ίση με 43,34 και 39,23 mg/kg, αντίστοιχα. Παρόμοια τάση ακολούθησε και η αντιοξειδωτική ικανότητα των ελαιόλαδων. Ως εκ τούτου, σε θερμοκρασία 22 °C, η αντιοξειδωτική ικανότητα των ελαιόλαδων ήταν ίση με αυτή του μη προεπεξεργασμένου δείγματος στους 30 °C (211,0 mg Trolox/kg oil), αποδεικνύοντας ότι ακόμα και σε χαμηλές θερμοκρασίες οι δυο προεπεξεργασίες οδηγούν σε ελαιόλαδα με εξίσου υψηλή αντιοξειδωτική δράση.

Πίνακας 6.48 Συγκέντρωση α-τοκοφερόλης (mg/kg oil) και της αντιοξειδωτικής ικανότητας (mg Trolox/kg oil) των ελαιόλαδων που έχουν προκύψει από μη προεπεξεργασμένη ελαιόπαστα, προεπεξεργασμένη με ΠΗΠ (1.5 kV/cm, 100 παλμούς) και ΥΠ (600 MPa, 5 min) σε συνθήκες μάλαξης: 30 °C και 30 min (PEF30 & HP30), 22°C και 30 min (PEF22 & HP22), 30°C και 15 min (PEF30/15 & HP30/15).

| | α-Τοκοφερόλη (mg/kg oil) | Χλωροφύλλες (mg/kg) | DPPH (mg Trolox/kg) |
|-----------------|-------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Control | 42.48±0,12 | 7.53±0,32 | 211.0±1.9 |
| PEF30 | 66.90±0,18 | 9.85±0,15 | 332.3±2.5 |
| HP30 | 69.50±0,02 | 9.32±0,06 | 345.2±3.3 |
| PEF22 | 43.34±0,11 | 8.35±0,10 | 215.2±0.9 |
| HP22 | 39.23±0,05 | 8.02±0,06 | 199.8±4.2 |
| PEF30/15 | 49.20±0,03 | 7.99±0,02 | 244.4±1.4 |
| HP30/15 | 47.53±0,07 | 7.83±0,03 | 235.9±2.1 |

± αντιπροσωπεύει την τυπική απόκλιση των πολλαπλών μετρήσεων.

Επειδή τόσο η συγκέντρωση τόσο σε φαινολικά συστατικά όσο και σε α-τοκοφερόλη συμβάλλει στην οξειδωτική σταθερότητα του ελαιόλαδου κατά την αποθήκευση, η οξειδωτική σταθερότητα επίσης μετρήθηκε και εκφράστηκε σε χρόνο επαγωγής για όλα τα μελετηθέντα ελαιόλαδα. Μεγαλύτερος χρόνος επαγωγής συνεπάγεται μεγαλύτερη οξειδωτική σταθερότητα για το ελαιόλαδο. Όπως ήταν αναμενόμενο, οι χρόνοι επαγωγής των ελαιόλαδων είχαν πλήρη συσχέτιση με τη συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών και της α-τοκοφερόλης για όλα τα

δείγματα. Τα ελαιόλαδα που είχαν προκύψει από τις δυο προεπεξεργασίες εμφάνισαν μεγαλύτερο χρόνο επαγωγής σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο ελαιόλαδο στους 30 °C. Τα ελαιόλαδα που παράχθηκαν από μάλαξη στους 22 °C είχαν μικρότερη οξειδωτική σταθερότητα σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα (Πίνακας 6.49).

Πίνακας 6.49 Χρόνος επαγωγής των ελαιόλαδων που έχουν προκύψει από μη προεπεξεργασμένη ελαιόπαστα, προεπεξεργασμένη με ΠΗΠ (1.5 kV/cm, 100 παλμούς) και ΥΠ (600 MPa, 5 min) σε συνθήκες μάλαξης: 30 °C και 30 min (PEF30 & HP30), 22°C και 30 min (PEF22 & HP22), 30°C και 15 min (PEF30/15 & HP30/15).

| Induction period | (h) |
|-------------------------|------------|
| Control | 121.2±2.5 |
| PEF30 | 178.3±1.8 |
| HP30 | 197.5±1.5 |
| PEF22 | 119.5±1.9 |
| HP22 | 125.6±3.5 |
| PEF30/15 | 148.3±2.2 |
| HP30/15 | 167.5±4.1 |

± αντιπροσωπεύει την τυπική απόκλιση των πολλαπλών μετρήσεων.

Στη συνέχεια μελετήθηκαν τα παραγόμενα ελαιόλαδα ως προς τα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά (Πίνακας 6.50). Σύμφωνα με τον Κανονισμό, τα έξτρα παρθένα ελαιόλαδα χαρακτηρίζονται από ένα πάνελ δοκιμαστών ως προς την ένταση τριών χαρακτηριστικών (φρουτώδες, πικρό και πικάντικο), καθώς επίσης αν έχουν κάποιο ελάττωμα ως προς τη γεύση ή το άρωμα τους.

Ο Πίνακας 6.50 δείχνει τα χαρακτηριστικά έντασης που αντιλήφθηκαν οι δοκιμαστές στο μη προεπεξεργασμένο, και τα προεπεξεργασμένα ΠΗΠ και ΥΠ ελαιόλαδα σε θερμοκρασία μάλαξης 22 και 30 °C. Τόσο το μη προεπεξεργασμένο ελαιόλαδο όσο και τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ και ΥΠ ελαιόλαδα είχαν οργανοληπτικά χαρακτηριστικά που ανήκουν στην κατηγορία των έξτρα παρθένων ελαιόλαδων (Κανονισμός ΕΚ 640/2008). Οι τιμές των τριών χαρακτηριστικών είναι σχετικά μικρές για όλα τα παραγόμενα ελαιόλαδα που πιθανώς οφείλεται στην ποικιλία ή στην ωριμότητα του ελαιόκαρπου που χρησιμοποιήθηκε. Από πρακτική άποψη, οι δυο προεπεξεργασίες δεν επηρέασαν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των παραγόμενων ελαιόλαδων. Η μέση τιμή των ελαττωμάτων ήταν 0 για όλα τα εξεταζόμενα ελαιόλαδα, που σημαίνει ότι οι δοκιμαστές δεν αντιλαμβάνονταν καμία συγκεκριμένη επίγευση ή αρνητικό χαρακτηριστικό που σχετίζεται με τις δύο προεπεξεργασίες.

Πίνακας 6.50 Οργανοληπτική αξιολόγηση στα ελαιόλαδα που έχουν προκύψει από μη προεπεξεργασμένη ελαιόπαστα, προεπεξεργασμένη με ΠΗΠ (1.5 kV/cm, 100 παλμούς) και ΥΠ (600 MPa, 5 min) σε συνθήκες μάλαξης: 30 °C και 30 min (PEF30 & HP30), 22°C και 30 min (PEF22 & HP22), 30°C και 15 min (PEF30/15 & HP30/15).

| | Φρουτώδες | Πικρό | Πικάντικο | Ελάττωμα |
|-----------------|------------------|--------------|------------------|-----------------|
| Control | 2,8 | 3,2 | 3,4 | 0 |
| PEF30 | 2,8 | 3,4 | 3,7 | 0 |
| HP30 | 2,8 | 3,5 | 3,6 | 0 |
| PEF22 | 3,1 | 2,9 | 3,0 | 0 |
| HP22 | 3,1 | 2,9 | 3,0 | 0 |
| PEF30/15 | 2,8 | 3,3 | 3,5 | 0 |
| HP30/15 | 2,8 | 3,2 | 3,4 | 0 |

Αξίζει να σημειωθεί, ότι τα δείγματα που είχαν μαλαχθεί σε θερμοκρασία 22 °C είχαν ελαφρώς πιο φρουτώδη γεύση άλλα λιγότερο πικάντικη και πικρή σε σχέση με τα ελαιόλαδα που προέκυψαν από μάλαξη στους 30 °C. Η πιο φρουτώδης γεύση μπορεί να οφείλεται στη χαμηλότερη θερμοκρασία μάλαξης καθώς επίσης η λιγότερο πικρή και πικάντικη γεύση στη μικρότερη συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών που έχουν τα ελαιόλαδα στους 22 °C. Η πικάντικη και πικρή γεύση στο ελαιόλαδο των 30 °C, είναι αποτέλεσμα των φαινολικών συστατικών που περιέχει, εξηγώντας γιατί τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ και ΥΠ δείγματα είχαν μεγαλύτερη τιμή αυτών των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών από τους δοκιμαστές σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο ελαιόλαδο.

Τελικά, η διεργασία των ΠΗΠ και της ΥΠ θα μπορούσαν να εφαρμοστούν ως προεπεξεργασίες σε ελαιόπαστα πριν το στάδιο της μάλαξης για την παραγωγή εξαιρετικά παρθένου ελαιόλαδου ανώτερης ποιότητας με αυξημένη απόδοση. Και οι δύο διεργασίες θα μπορούσαν να επιτρέψουν τη μείωση της θερμοκρασίας ή του χρόνου μάλαξης χωρίς να επηρεάσουν την απόδοση, τα ποιοτικά και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τελικών ελαιόλαδων. Τα ελαιόλαδα που προέκυψαν από την προεπεξεργασία με ΠΗΠ ή ΥΠ είχαν αυξημένη οξειδωτική σταθερότητα και διάρκεια ζωής σε σύγκριση με τα μη προεπεξεργασμένα γεγονός που θα μπορούσε να συσχετιστεί με την αύξηση της εκχυλισιμότητας των πολυφαινολών και της α-τοκοφερόλης στο έλαιο. Οι χαμηλές απαιτήσεις ενέργειας και οι σύντομοι χρόνοι επεξεργασίας που απαιτούνται για τις διεργασίες των ΠΗΠ και της ΥΠ, καθώς επίσης και το γεγονός ότι αυτές οι προκατεργασίες δεν επηρεάζουν τα ποιοτικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τελικών ελαιόλαδων αυξάνοντας την απόδοση και την παραγωγικότητα, καθιστούν την εφαρμογή τους σε βιομηχανίες εξαγωγής ελαιόλαδου πολύ ελκυστική.

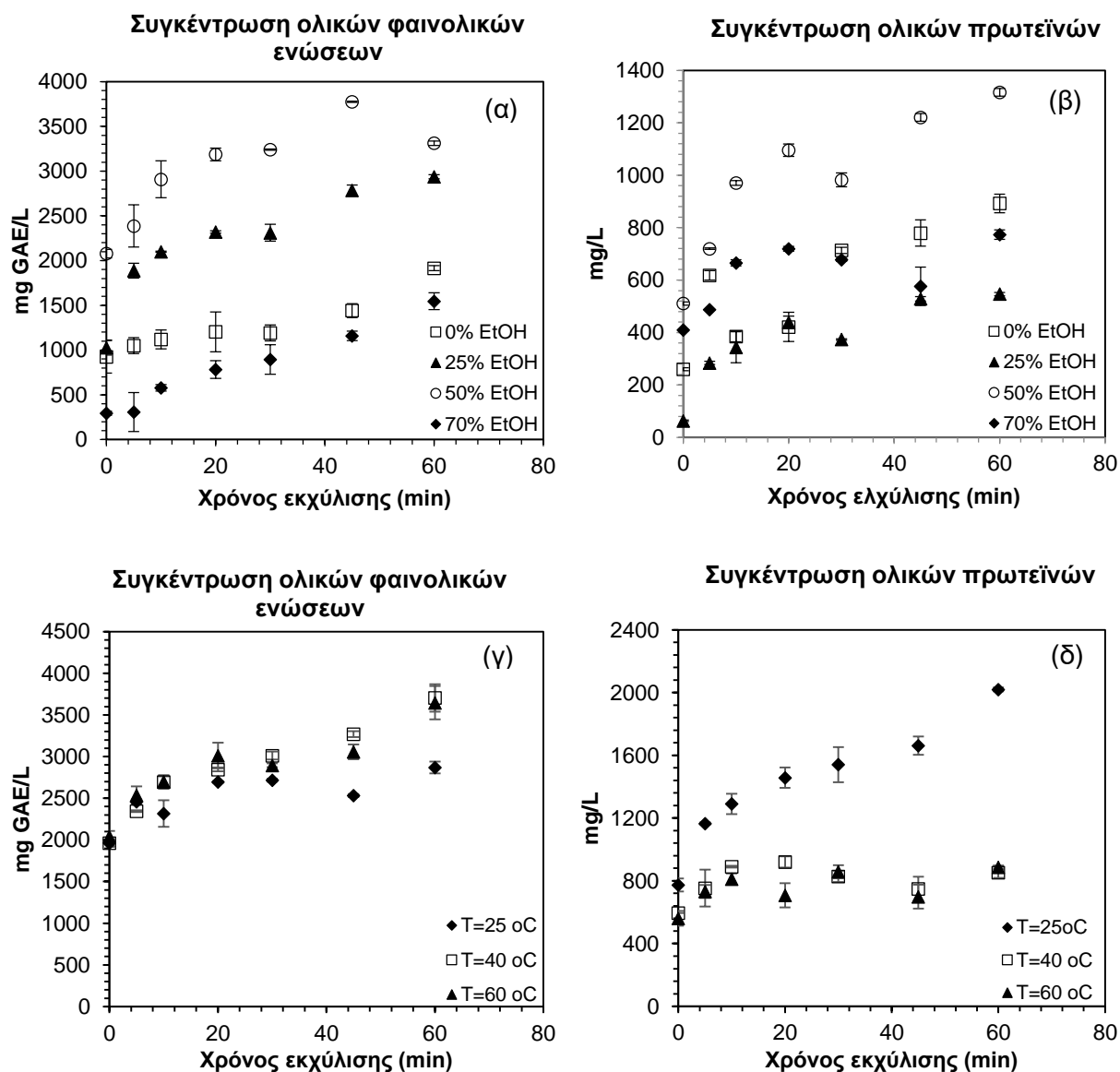
6.4. Β' μέρος αποτελεσμάτων – Δεύτερη θεματική ενότητα: «Μελέτη της εκχύλισης ενδοκυτταρικών συστατικών από ελαιοπυρήνα υποβοηθούμενη με Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία και Υπερυψηλή Πίεση».

Σύμφωνα με τον πειραματικό σχεδιασμό του Β' μέρους της παρούσας διατριβής, ο οποίος αναλύθηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο, ο ελαιοπυρήνας που χρησιμοποιήθηκε προέκυψε από ποικιλία ελιάς *Τσουνάτη* στο δεύτερο στάδιο ωρίμανσης. Ο ελαιοπυρήνας μετά την παραλαβή του από τη φυγόκεντρο δύο φάσεων υπέστη ξήρανση υπό κενό μέχρι να αποκτήσει ενεργότητα νερού περίπου 0,4 και αλέσθηκε (2 mm). Αρχικά, πραγματοποιήθηκε πλήρες κινητικό πείραμα εκχύλισης σε διάφορες θερμοκρασίες εκχύλισης και συγκέντρωσης αιθανόλης στον διαλύτη, και προσδιορίστηκε η συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών, των πρωτεϊνών και η αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων, με στόχο να επιλεγθούν οι βέλτιστες συνθήκες εκχύλισης. Ακολούθως, πραγματοποιήθηκε πλήρες κινητικό πείραμα των ΠΗΠ και της ΥΠ ως προεπεξεργασίες στον ελαιοπυρήνα πριν την εκχύλιση προσδιορίζοντας τη συγκέντρωση των ενδοκυτταρικών ενώσεων των εκχυλισμάτων από ελαιοπυρήνα και συγκρίθηκαν με τα συμβατικά επεξεργασμένα εκχυλίσματα. Αναπτύχθηκαν κατάλληλα μαθηματικά εργαλεία με τα οποία περιγράφηκε η επίδραση των δυο διεργασιών στην απόδοση της ανάκτησης των ενδοκυτταρικών συστατικών από τον ελαιοπυρήνα. Επιπλέον, έγινε αριστοποίηση (μέσω της μεθόδου RSM) της συμβατικής εκχύλισης και της εκχύλισης υποβοηθούμενης με ΠΗΠ και ΥΠ στις βέλτιστες συνθήκες ως προς τον χρόνο και τη συγκέντρωση αιθανόλης, με στόχο την αύξηση της απόδοσης της ανάκτησης των ενδοκυτταρικών συστατικών, την ελάττωση του χρόνου εκχύλισης και τη μείωση του όγκου του διαλύτη. Στη συνέχεια, παρατίθενται τα αποτελέσματα των παραπάνω αποτελεσμάτων με τον αντίστοιχο σχολιασμό τους.

6.4.1. Συμβατική εκχύλιση – Κινητική μελέτη των συνθηκών εκχύλισης (θερμοκρασία και συγκέντρωση αιθανόλης) ενδοκυτταρικών ενώσεων από ελαιοπυρήνα

Λαμβάνοντας υπόψη τη σημασία των φαινολικών ενώσεων και τη χρήση τους ως συστατικά υψηλής προστιθέμενης αξίας με δυνητικές εφαρμογές στη βιομηχανία τροφίμων και φαρμάκων, η αξιοποίηση του ελαιοπυρήνα, ο οποίος, όπως έχει ήδη αναφερθεί, περιέχει περίπου το 98% των φαινολικών ενώσεων του ελαιόκαρπου, έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Μέχρι στιγμής, οι συμβατικές διεργασίες εκχύλισης που έχουν εφαρμοστεί για την ανάκτηση φαινολικών ενώσεων και πρωτεϊνών από φυτικές πηγές απαιτούν μεγάλες ποσότητες οργανικών διαλυτών και μεγάλους χρόνους εκχύλισης (Yao et al., 2015). Σε αυτή την πειραματική ενότητα εξετάστηκε ως οργανικός διαλύτης η αιθανόλη σε διάφορες συγκεντρώσεις με το νερό (0, 25, 50 και 70 % v/v)

και πραγματοποιήθηκε αριστοποίηση της διεργασίας ως προς τη συγκέντρωση της αιθανόλης και της θερμοκρασίας της εκχύλισης (25, 40 και 60 °C). Η επίδραση αυτών των παραμέτρων εκχύλισης στο ολικό περιεχόμενο φαινολικών συστατικών, στη συγκέντρωση των ολικών πρωτεϊνών και στην αντιοξειδωτική δράση, αξιολογήθηκε. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο Σχήμα 6.41, όπου τα διαγράμματα α και β αντιπροσωπεύουν την επίδραση της συγκέντρωσης της αιθανόλης, ενώ τα γ και δ την επίδραση της θερμοκρασίας στην ανάκτηση φαινολικών συστατικών και πρωτεϊνών από ελαιοπυρήνα σε συνάρτησι με τον χρόνο εκχύλισης, αντίστοιχα.



Σχήμα 6.41 Κινητική εκχύλιση πολυφαινολών (α,γ) και πρωτεϊνών (β,δ) εκχυλισμάτων του ελαιοπυρήνα με διαφορετική συγκέντρωση αιθανόλης (0% (□), 25% (▲), 50% (○) και 70% (◆)) σε θερμοκρασία δωματίου και διαφορετική θερμοκρασία εκχύλισης (25 °C (◆), 40 °C (□) και 60 °C (▲)) σε συγκέντρωση αιθανόλης 50% για 60 min. Οι ράβδοι σφάλματος αντιπροσωπεύουν τυπική απόκλιση από πολλές επεξεργασίες και μετρήσεις.

Από όλα τα διαγράμματα είναι φανερό πως οι συγκεντρώσεις των ενδοκυτταρικών συστατικών του εκχυλίσματος παρουσιάζουν αύξηση στους πρώτους χρόνους της εκχύλισης, ενώ μετά από τα πρώτα 60 min οι τιμές τείνουν να σταθεροποιούνται (οι τιμές δεν παρουσιάζονται). Το γεγονός αυτό αποτελεί ένδειξη πως ύστερα από χρόνο 60 min, ο χρόνος εκχύλισης παύει να έχει σημαντική επίδραση ($p < 0.05$) στην αύξηση της εκχύλισης των ενδοκυτταρικών συστατικών του ελαιοπυρήνα.

Η συγκέντρωση της αιθανόλης με την οποία εκχυλίστηκε το μεγαλύτερο ποσοστό φαινολικών ενώσεων είναι 50%, στην οποία έχει διπλάσια συγκέντρωση σε σχέση με τους διαλύτες 0 και 70% στο τέλος των 60 min της εκχύλισης. Η μεγάλη πολικότητα της αιθανόλης επιταχύνει τη διάρρηξη των δεσμών των λιπιδίων με τις κυτταρικές μεμβράνες (Tir et al., 2012). Αυτό αποδεικνύει ότι τα περισσότερα από τα φαινολικά συστατικά του ελαιοπυρήνα είναι υδρόφιλα ή υδατοδιαλυτά και η χρήση της αιθανόλης οδήγησε σε καλύτερα αποτελέσματα σε σχέση με το νερό. Η αύξηση της απόδοσης της εκχύλισης των φαινολικών ενώσεων με 50% αιθανόλη ήταν περίπου 30% παραπάνω σε σύγκριση με την εκχύλιση με 25% αιθανόλη. Αυτό μπορεί να οφείλεται στη μεγάλη ποικιλομορφία των πολυφαινολών όσον αφορά την πολικότητα τους, από υδατοδιαλυτές σε λιποδιαλυτές ενώσεις, ή από την κυτταρική αλλοίωση και διαπερατότητα που προκαλείται από ένα οργανικό διαλύτη, όπως η αιθανόλη, πάνω στη διπλοστοιβάδα φωσφολιπιδίων των βιολογικών μεμβρανών (Shi, Yu, Pohorly, & Kakuda, 2003). Η υψηλότερη συγκέντρωση αιθανόλης (70%) μείωσε σημαντικά ($p < 0,05$) την απόδοση εκχύλισης σε φαινολικές ενώσεις και πρωτεΐνες. Τα κύτταρα, τα οποία περιέχουν τις εκχυλισμένες ενώσεις, έχουν επίσης ένα λιπιδικό κλάσμα, το οποίο είναι υδρόφοβο και συνεπώς το απλό νερό δεν μπορεί να διεισδύσει στα κύτταρα επαρκώς για να εκχυλίσει τις απαραίτητες ενώσεις, οι οποίες είναι υδατοδιαλυτές. Για το λόγο αυτό, το νερό πρέπει να αναμιχθεί με ένα αναμείξιμο οργανικό διαλύτη (για παράδειγμα αιθανόλη) για να βοηθήσει στην απομόνωση αυτών των ενώσεων από το λιπαρό τμήμα των εκχυλισμάτων.

Επιπλέον, και στην εκχύλιση των πρωτεϊνών, η συγκέντρωση της αιθανόλης με την οποία εκχυλίστηκε το μεγαλύτερο ποσοστό ήταν 50%. Συγκεκριμένα η συγκέντρωση των πρωτεϊνών που εκχυλίστηκαν με σύσταση 50% σε αιθανόλη είναι σχεδόν 75% μεγαλύτερη από εκείνη του δείγματος με 0% στο τέλος των 60 min της εκχύλισης. Σε σύγκριση με τα υπόλοιπα ποσοστά σε αιθανόλη, το υδροαλκοολικό διάλυμα 50% εμφανίζει τη διπλάσια συγκέντρωση πρωτεϊνών. Παρόλο που οι πρωτεΐνες είναι υδατοδιαλυτές, η συγκέντρωση των πρωτεϊνών ήταν μεγαλύτερη στα υδατοαιθανολικά εκχυλίσματα. Οι πρωτεΐνες είναι λιγότερο διαλυτές στην αιθανόλη σε σχέση με το νερό. Κατά την εκχύλιση, η αιθανόλη εισέρχεται μέσα στο κύτταρο με αποτέλεσμα διάφορα

συστατικά που είναι ευδιάλυτα σε αυτήν να εκχυλίζονται προς το εξωτερικό, σε αντίθεση με το νερό που δεν εισέρχεται μέσα στα κύτταρα, οδηγώντας σε μικρότερες αποδόσεις εκχύλισης. Επίσης, υπάρχουν και κάποιες πρωτεΐνες που είναι δεν είναι υδατοδιαλυτές, με αποτέλεσμα να μπορούν να ανακτώνται μέσα στο εκχύλισμα μέσω μηχανικής παράσυρσης.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, για την εκχύλιση πρωτεϊνών χρησιμοποιήθηκαν μείγματα αιθανόλης νερού. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι ο διαλύτης αυτός δεν ενδείκνυται για εκχύλιση στερεού-υγρού των πρωτεϊνών σύμφωνα με τη βιβλιογραφία. Συγκεκριμένα, με βάση τη μελέτη των Prandi et al.(2019), οι οποίοι προσδιόρισαν το πρωτεϊνικό περιεχόμενο και την αλληλουχία αμινοξέων σε 39 αγροτικά παραπροϊόντα, αναμεσά τους και στον ελαιοπυρήνα, φάνηκε ότι ο ελαιοπυρήνας χαρακτηρίζεται από γενικά χαμηλό ποσοστό πρωτεϊνών, αλλά από αλληλουχία αμινοξέων εξαιρετικά ωφέλιμη για τον άνθρωπο. Για το λόγο αυτό οι Prandi et al.(2019) ανέφεραν σχετικά με τον ελαιοπυρήνα πως δεν είναι σκόπιμο να τον αξιοποιήσει κανείς για το πρωτεϊνικό του περιεχόμενο, αλλά για το σύνολο των ωφέλιμων συστατικών του, απομονώνοντας παράλληλα τις πρωτεΐνες μαζί με τα φαινολικά συστατικά. Αυτό το σκεπτικό ακολουθήθηκε και στην παρούσα διατριβή, όπου η εκχύλιση στόχευσε κυρίως στην εκχύλιση των φαινολικών συστατικών, ενώ στο ίδιο εκχύλισμα πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός των πρωτεϊνών, ώστε να μελετηθεί η πιθανή επίδραση των νέων διεργασιών στην απόδοση της εκχύλισής τους. Παρόλα αυτά η χρήση αλκοολικού διαλύματος για εκχύλιση πρωτεϊνών, αν και σπανίζει, έχει χρησιμοποιηθεί για ελαιοπυρήνα, μικροφύκη, νιφάδες καλαμποκιού και ελαιοκράμβη (Rosello-Sotto et al.,2015; Myers et al.,1994; Zhang et al.,2017; Eklund et al.,1971)

Και οι δύο ομάδες ενώσεων λοιπόν εκχυλίστηκαν αποτελεσματικότερα από τον ελαιοπυρήνα σε συγκέντρωση αιθανόλης 50% με μέγιστες συγκεντρώσεις 3500 mg GAE/L και 1300 mg/L για φαινολικές ενώσεις και πρωτεΐνες, αντίστοιχα στο τέλος των 60 min της εκχύλισης. Οι Rosello-Soto et al. (2015) παρατήρησαν ότι η συγκέντρωση αιθανόλης 50% οδήγησε στην υψηλότερη απόδοση εκχύλισης σε φαινολικές ενώσεις, ωστόσο η μεγαλύτερη συγκέντρωση πρωτεΐνης επιτεύχθηκε για 25% συγκέντρωση αιθανόλης.

Επιπλέον, εξετάστηκε επίσης η επίδραση της θερμοκρασίας στην εκχύλιση. Για κάθε εξαγόμενη ομάδα ενώσεων, επιτυγχάνεται η βέλτιστη απόδοση για διάλυμα 50% αιθανόλης, στους 25 °C για 60 min. Η συνολική συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων ήταν σχεδόν ίση (3200 mgGAE/L) για τις τρεις θερμοκρασίες (25, 40 και 60 °C) που μελετήθηκαν μετά από 60 min εκχύλισης. Η αύξηση της θερμοκρασίας δεν οδήγησε σε σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) στην απόδοση της εκχύλισης των φαινολικών συστατικών. Οι Aliakbarian et al. (2011) μελέτησαν επίσης την επίδραση της υψηλής θερμοκρασίας για την εκχύλιση φαινολικών ενώσεων από ελαιοπυρήνα και

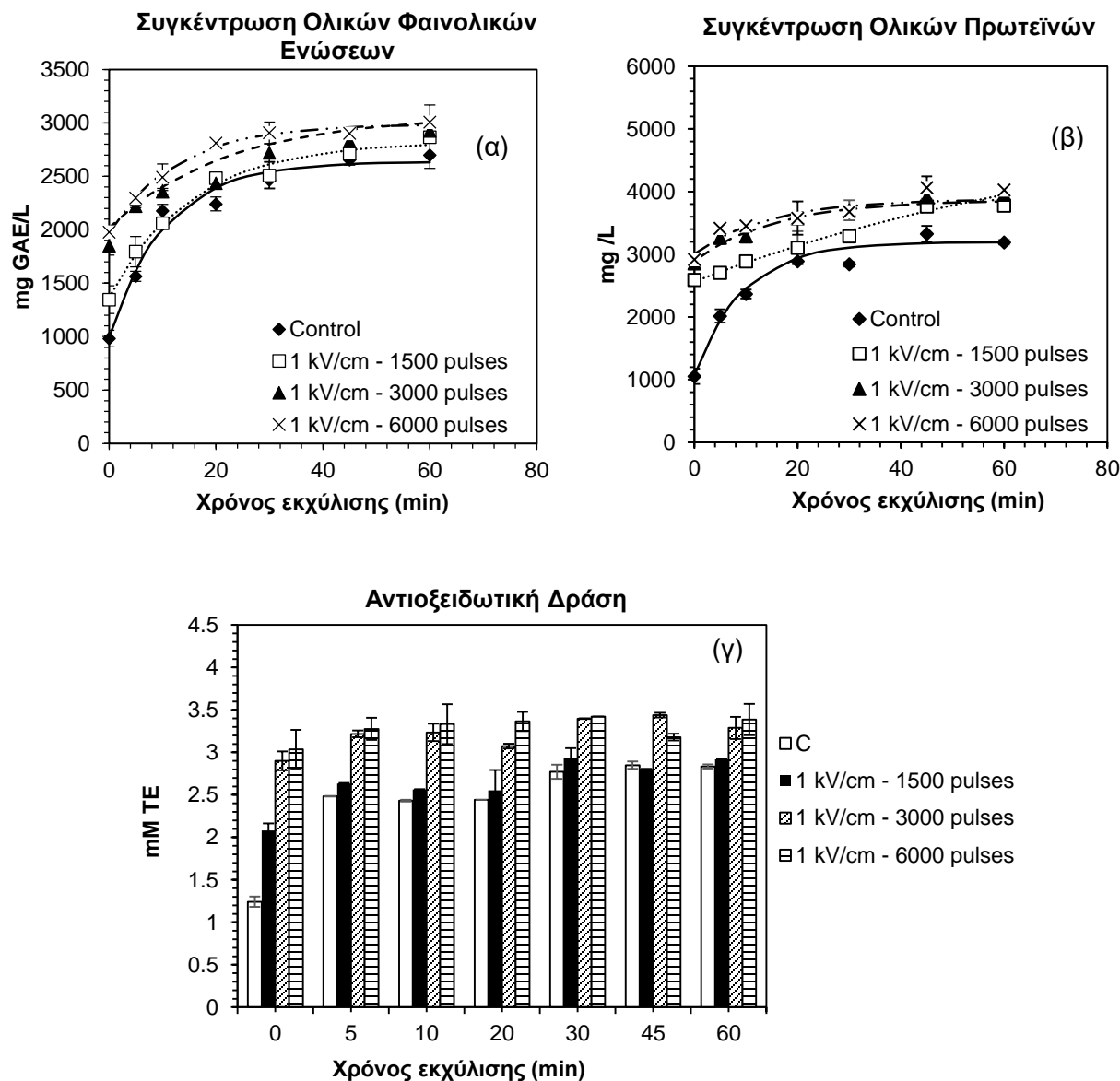
κατάφεραν να εκχυλίσουν μόνο το 10% της συνολικής ποσότητας πολυφαινολών. Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας, οι θερμοκρασίες υψηλότερες από 25 °C φαίνεται να είναι επιζήμιες για τις πρωτεΐνες ως αποτέλεσμα της μετουσίωσης τους που προκαλείται με θέρμανση. Όσο αυξάνεται η θερμοκρασία, η διηλεκτρική σταθερά του διαλύτη μειώνεται, με συνέπεια την ελάττωση της πολικότητάς του. Η θερμοκρασία ρυθμίζει την πολικότητα του διαλύτη, έτσι ώστε να προσεγγίσει την πολικότητα των ανακτώμενων συστατικών (Dunford, Irmak, & Jonhala, 2010). Για παράδειγμα, η τιμή της διηλεκτρικής σταθεράς του νερού είναι περίπου 80 σε θερμοκρασία δωματίου, ενώ στους 250 °C μειώνεται σε 30. Σε αυτές τις συνθήκες, η τιμή της διηλεκτρικής σταθεράς είναι παρόμοια με αυτήν που έχουν οργανικοί διαλύτες, όπως η αιθανόλη. Με βάση τα παραπάνω αποτελέσματα φάνηκε ότι παρόλο που η θερμική επεξεργασία του παραπροϊόντος έχει μια μικρή θετική επίδραση στην εκχύλιση των φαινολικών ενώσεων, έχει έντονα αρνητική επίδραση στις πρωτεΐνες και εξαιτίας αυτού επιλέχθηκε η θερμοκρασία δωματίου ως βέλτιστη.

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η μέγιστη εκχύλιση φαινολικών ενώσεων ήταν 3,7 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. Σε προηγούμενες εργασίες, η συγκέντρωση των εκχυλιζόμενων φαινολικών ενώσεων κυμαίνεται από 1,3 έως 3,0 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. (Aliakbarian et al., 2011, Goldsmith et al., 2017, Chanioti & Tzia, 2018). Αντιθέτως, οι Delisi et al. (2017) εκχύλισαν μια ποσότητα φαινολικών ενώσεων ίση με 1,2-1,7 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. Οι διαφορές αυτές στις εκχυλισμένες φαινολικές ενώσεις από τον ελαιοπυρήνα σχετίζονται με την ωριμότητα και την ποικιλία των ελιών που χρησιμοποιήθηκαν. Επιπλέον, οι Rosello-Soto et al. (2015) ανέφεραν όταν εκχύλισαν πρωτεΐνες από ελαιοπυρήνα με συγκέντρωση 0,72 g/100 ελαιοπυρήνα ξ.β., ενώ στην παρούσα διατριβή, μετά από 60 min εκχύλισης, εκχυλίστηκε ποσότητα πρωτεϊνών ίση με 1,59 g/100 ελαιοπυρήνα ξ.β.

6.4.2. Εκχύλιση των ενδοκυτταρικών ενώσεων από τον ελαιοπυρήνα υποβοηθούμενη με ΠΗΠ

Η τεχνολογία των ΠΗΠ εφαρμόζεται ως μία μέθοδος που μπορεί να υποβοηθήσει την εκχύλιση και την ανάκτηση ενδοκυτταρικών συστατικών από ελαιούχους σπόρους. Η επεξεργασία με ΠΗΠ στηρίζεται στο φαινόμενο της ηλεκτροδιάτρησης, δηλαδή όταν τα κύτταρα εκτίθενται σε ηλεκτρικό πεδίο υψηλής έντασης, η κυτταρική τους μεμβράνη αποκτά πόρους με αποτέλεσμα να αυξάνεται ο ρυθμός μεταφοράς μάζας και η εκχυλισιμότητα των ενδοκυτταρικών συστατικών. Η ένταση του ηλεκτρικού πεδίου και ο χρόνος επεξεργασίας είναι κάποιες από τις σημαντικότερες παραμέτρους που επηρεάζουν την επεξεργασία με ΠΗΠ, για αυτό το λόγο αξιολογήθηκε η επίδρασή τους στην ανάκτηση φαινολικών συστατικών και πρωτεϊνών από τον ελαιοπυρήνα. Στα παρακάτω διαγράμματα (Σχήματα 6.42, 6.43, 6.44 και 6.45) παρουσιάζεται η επίδραση της

προεπεξεργασίας με ΠΗΠ στον ελαιοπυρήνα σε διάφορες συνθήκες έντασης ηλεκτρικού πεδίου (1,0-6,5 kV/cm) και αριθμού παλμών (200-6000) και συγκεκριμένα στη δυνατότητα εκχύλισης των φαινολικών του ενώσεων, των πρωτεϊνών και της αντιοξειδωτικής δράσης των εκχυλισμάτων.



Σχήμα 6.42 Κινητική μελέτη της εκχύλισης των (α) ολικών φαινολικών ενώσεων (mg GAE/L), (β) ολικών πρωτεϊνών (mg/L) και (γ) την αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων (mM TE) του συμβατικά επεξεργασμένα ελαιοπυρήνα (♦) και του ελαιοπυρήνα που είχε προεπεξεργαστεί με ΠΗΠ σε 1 kV/cm ένταση ηλεκτρικού πεδίου σε 1000 (□), 3000 (▲) και 6000 παλμούς (×) μετά από 60 min εκχύλισης στους 25 °C και 50% συγκέντρωση αιθανόλης. Οι ράβδοι σφάλματος αντιπροσωπεύουν τυπική απόκλιση από πολλές επεξεργασίες και μετρήσεις. Οι γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στην Εξ.45.

Τα δείγματα που είχαν προεπεξεργαστεί με ΠΗΠ οδήγησαν σε αυξημένες συγκεντρώσεις των φαινολικών ενώσεων και των πρωτεϊνών σε σύγκριση με τα συμβατικά επεξεργασμένα δείγματα

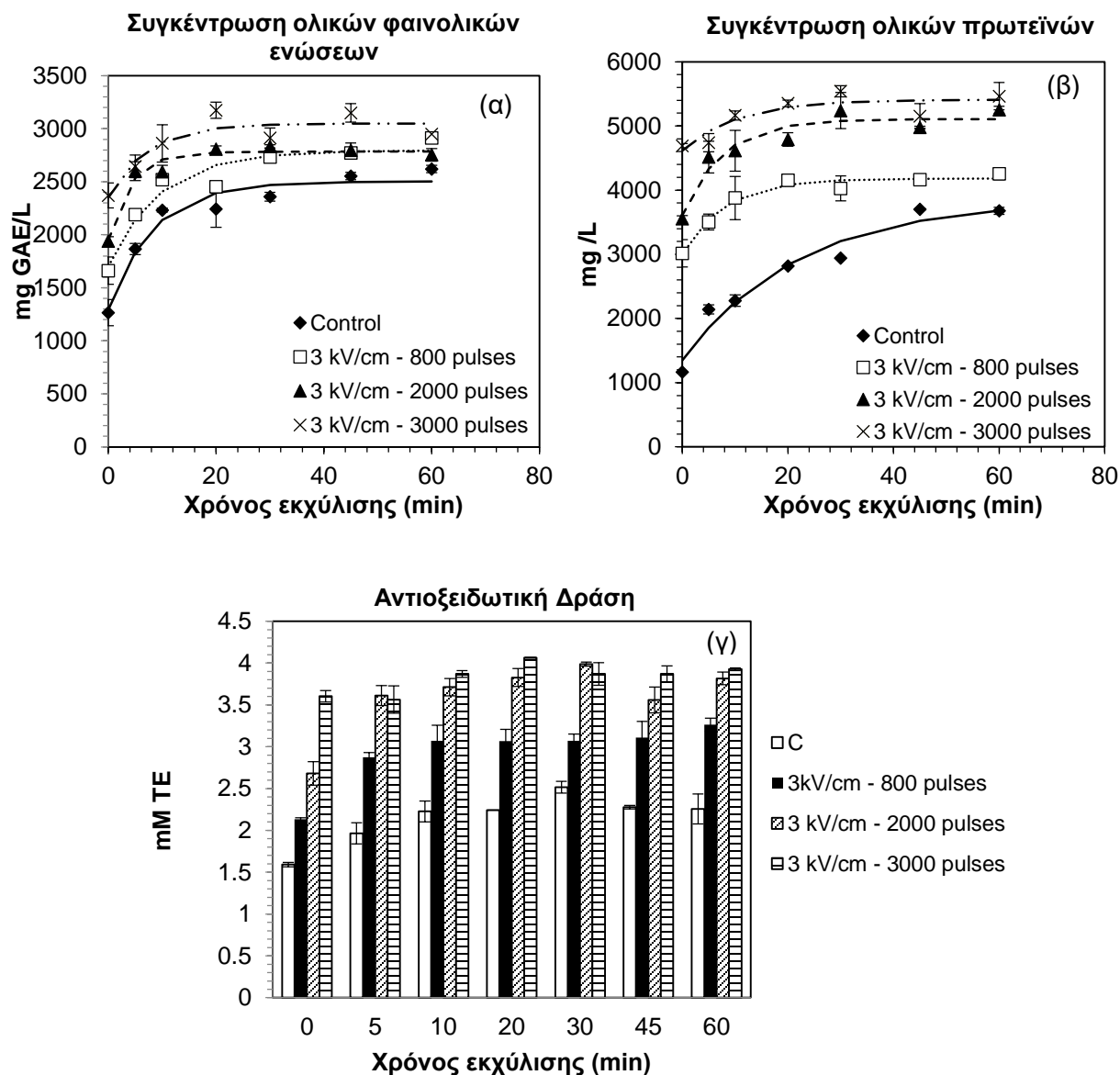
σε όλες τις μελετηθείσες συνθήκες. Οι πιο έντονες συνθήκες με ΠΗΠ (περισσότεροι παλμοί που εφαρμόστηκαν σε κάθε ένταση ηλεκτρικού πεδίου) είχαν ως αποτέλεσμα υψηλότερες αποδόσεις εκχύλισης των φαινολικών ενώσεων και των πρωτεϊνών.

Για ένταση ηλεκτρικού πεδίου ίση με 1 kV/cm, η συγκέντρωση των εκχυλισμένων φαινολικών ενώσεων ήταν σχεδόν ίση ($p > 0,05$) με τα συμβατικά επεξεργασμένα δείγματα στο τέλος των 60 min της εκχύλισης. Τα επεξεργασμένα με ΠΗΠ δείγματα παρουσιάζουν αύξηση της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων και των πρωτεϊνών τους σε σχέση με το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα στα πρώτα min της εκχύλισης. Η αύξηση του αριθμού των παλμών για πάνω από 3000 δεν φαίνεται να επιδρά σημαντικά στην εκχύλιση των φαινολικών συστατικών και των πρωτεϊνών, καθώς δεν εμφάνισαν σημαντικές διαφορές μεταξύ τους ($p > 0,05$). Η αντιοξειδωτική δράση των δειγμάτων, όπως αναμένονταν, ακολουθεί την τάση της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων, τα οποία όπως έχει αναφερθεί αποτελούν το κύριο αντιοξειδωτικό συστατικό του ελαιοπυρήνα. Το ολικό περιεχόμενο φαινολικών συστατικών των εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα κυμάνθηκε από 1,06 έως 2,66 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. για το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα ενώ για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ δείγματα για ένταση ηλεκτρικού πεδίου 1 kV/cm από 1,33 έως 3,08 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. Τη συγκέντρωση των ολικών πρωτεϊνών των εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα κυμάνθηκε από 1,03 έως 1,59 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. για το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα ενώ για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ δείγματα για ένταση ηλεκτρικού πεδίου 1 kV/cm από 2,87 έως 4,04 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.

Ωστόσο, για εντάσεις ηλεκτρικού πεδίου πάνω από 3 kV/cm, η προεπεξεργασία με ΠΗΠ αύξησε σημαντικά ($p < 0,05$) την απόδοση της εκχύλισης των φαινολικών ενώσεων και των πρωτεϊνών κατά 91,6% και δύο φορές υψηλότερες από τα συμβατικά επεξεργασμένα δείγματα, αντίστοιχα, στο τέλος των 60 min της εκχύλισης.

Τα ΠΗΠ σε ένταση ηλεκτρικού πεδίου πάνω από 3 kV/cm φαίνεται ότι προκάλεσε μη αναστρέψιμους πόρους στις φυτικές μεμβράνες του ελαιοπυρήνα αυξάνοντας τη δυνατότητα εκχύλισης των πολυφαινολών και των πρωτεϊνών από το εσωτερικό του κυττάρου προς τα έξω. Η ηλεκτροδιάτρηση συμβαίνει και στην κυτταρική μεμβράνη των κυττάρων του ελαιοπυρήνα αλλά μπορεί να υποτεθεί ότι πραγματοποιείται ταυτόχρονα και ηλεκτροδιάτρηση της μεμβράνης του κενοτόπιου, αυξάνοντας την ένταση του ηλεκτρικού πεδίου (κρίσιμη τιμή E που ήταν πιθανώς περίπου 3 kV/cm). Η ηλεκτροδιάτρηση της κυτταρικής μεμβράνης απαιτεί χαμηλότερες κρίσιμες τιμές ηλεκτρικού πεδίου και γι' αυτό προηγείται της ηλεκτροδιάτρησης των κενοτόπιων (Donsì, Ferrari, Fruilo, & Pataro, 2011). Επιπροσθέτως, σε μερικές μελέτες παρατηρήθηκε ότι η αύξηση της απόδοσης της εκχύλισης των ενδοκυτταρικών ενώσεων δεν θα μπορούσε να είναι απλώς

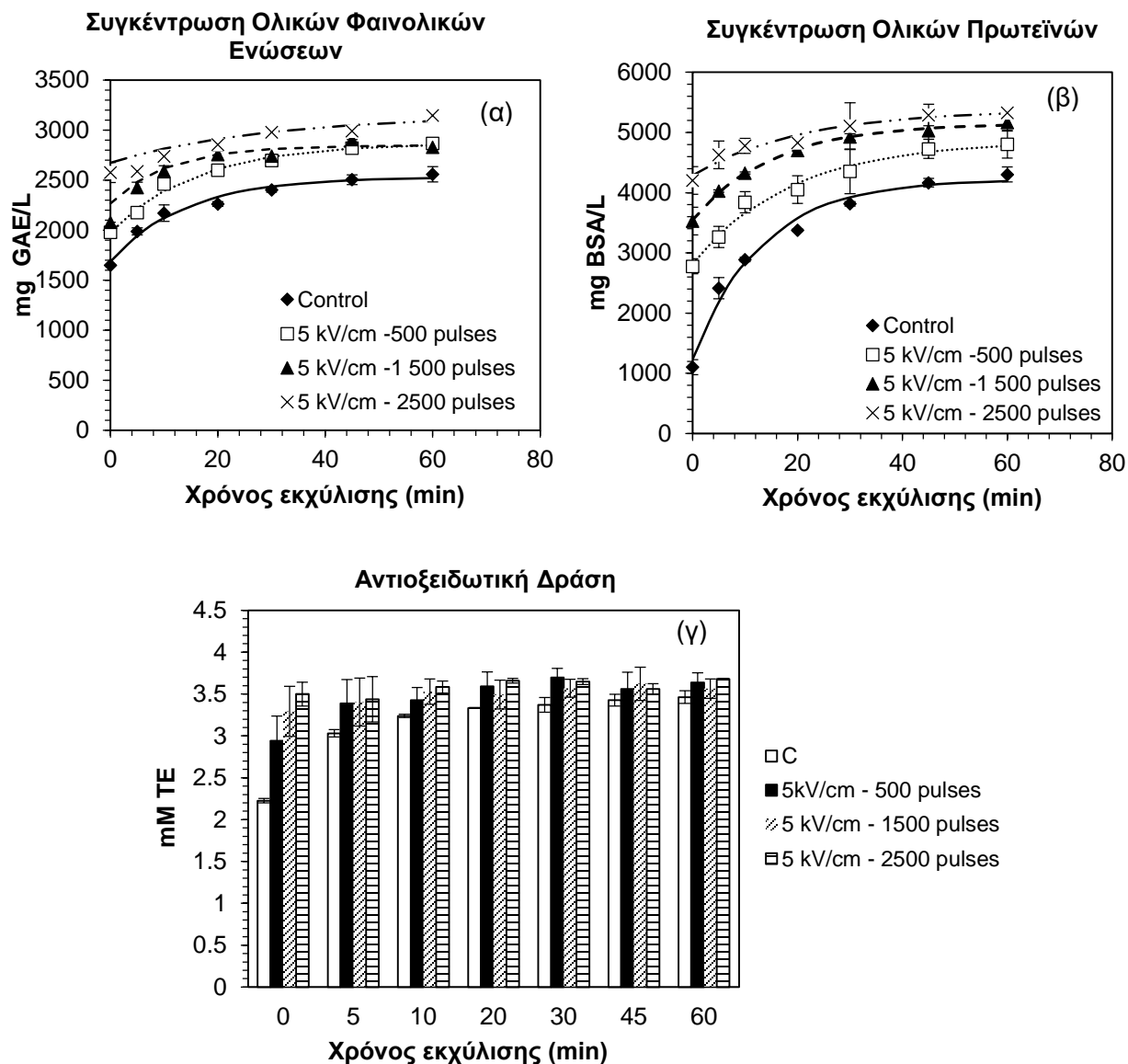
αποτέλεσμα ηλεκτροδιάτρησης, αλλά συνεργιστική επίδραση κυτταρικής διάσπασης και αλλαγής της μοριακής δομής που επηρεάζουν τη διαλυτότητα (Qian, Ma, Wang, & Jiang, 2016).



Σχήμα 6.43 Κινητική μελέτη της εκχύλισης των (α) ολικών φαινολικών ενώσεων (mg GAE/L), (β) ολικών πρωτεϊνών (mg/L) και (γ) την αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων (mM TE) του ανεπεξεργαστού ελαιοπυρήνα (♦) και του ελαιοπυρήνα που είχε προεπεξεργαστεί με ΠΗΠ σε 3 kV/cm ένταση ηλεκτρικού πεδίου σε 800 (□), 2000 (▲) και 3000 παλμούς (×) μετά από 60 min εκχύλισης στους 25 °C και 50% συγκέντρωση αιθανόλης. Οι ράβδοι σφάλματος αντιπροσωπεύουν τυπική απόκλιση από πολλές επεξεργασίες και μετρήσεις. Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στην Εξ.45.

Το ολικό περιεχόμενο φαινολικών συστατικών των εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ δείγματα για ένταση ηλεκτρικού πεδίου 3 kV/cm κυμάνθηκε από 1,80 έως 3,29 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. Η συγκέντρωση των ολικών πρωτεϊνών των

εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ δείγματα για ένταση ηλεκτρικού πεδίου 3 kV/cm κυμάνθηκε από 3,29 έως 5,53 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. Η υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα ήταν 3,7 mM TE και ελήφθη για δείγματα που υπέστησαν προεπεξεργασία με ΠΗΠ στα 3 kV/cm. Αντίθετα, για δείγματα που δεν υποβλήθηκαν σε προεπεξεργασία με ΠΗΠ, η αντιοξειδωτική ικανότητα ήταν ίση με 2,5 mM TE.



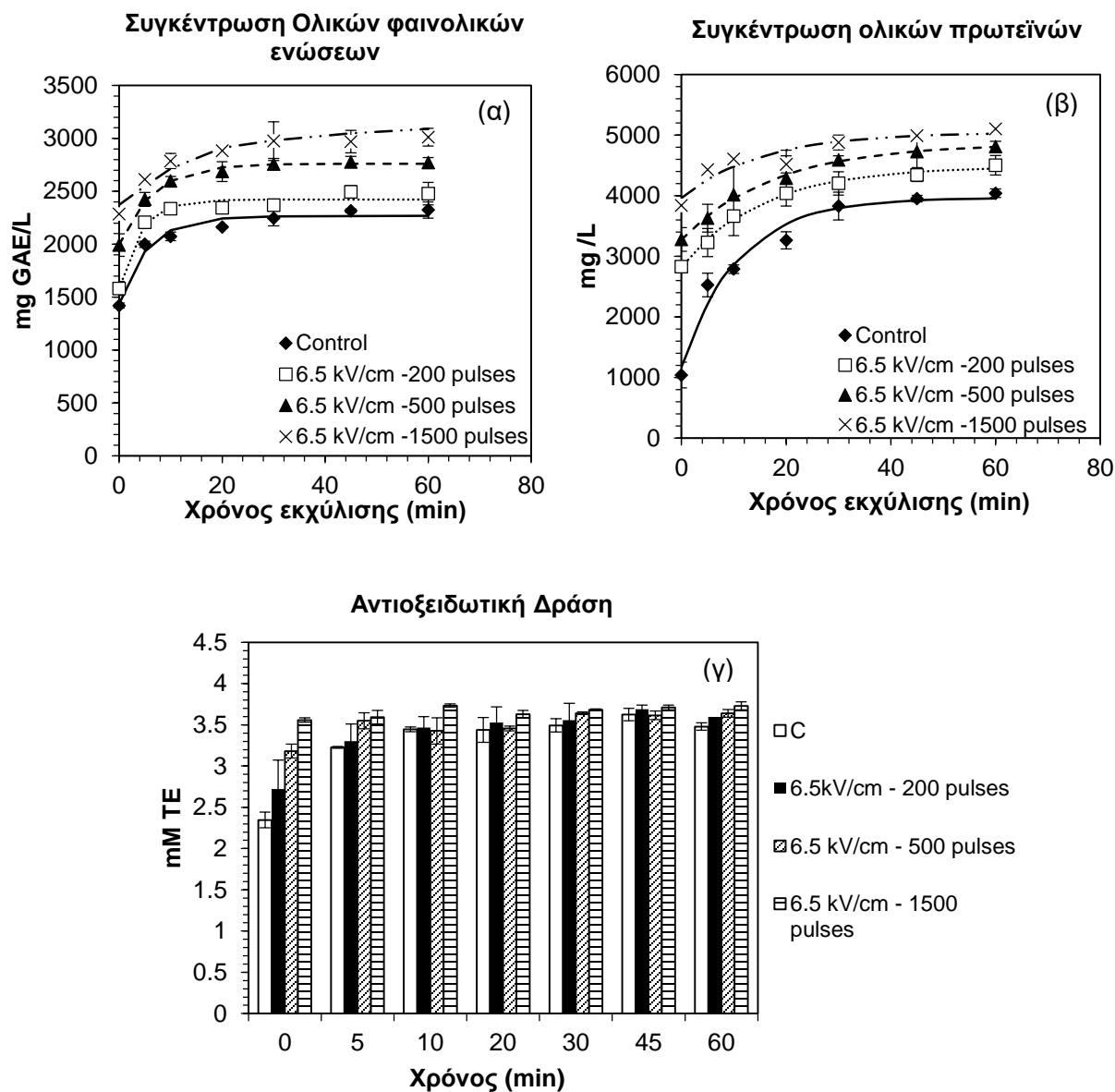
Σχήμα 6.44.Κινητική μελέτη της εκχύλισης των (α) ολικών φαινολικών ενώσεων (mg GAE/L), (β) ολικών πρωτεϊνών (mg/L) και (γ) την αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων (mM TE) του συμβατικά επεξεργασμένου ελαιοπυρήνα (◆) και του ελαιοπυρήνα που είχε προεπεξεργαστεί με ΠΗΠ σε 5 kV/cm ένταση ηλεκτρικού πεδίου σε 500 (□), 1500 (▲) και 2500 παλμούς (×) μετά από 60 min εκχύλισης στους 25 °C και 50% συγκέντρωση αιθανόλης. Οι ράβδοι σφάλματος αντιπροσωπεύουν τυπική απόκλιση από πολλές επεξεργασίες και μετρήσεις. Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στην Εξ.45.

Με βάση το Σχήμα 6.44, η προεπεξεργασία με ΠΗΠ και στα 5 kV/cm έχει σημαντική ($p < 0.05$) επίδραση στην εκχυλισσιμότητα των ενδοκυτταρικών συστατικών του παραπροϊόντος ελαιουργίας. Όλα τα επεξεργασμένα δείγματα με ΠΗΠ στα 5 kV/cm οδήγησαν σε υψηλότερη συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων και πρωτεϊνών σε σχέση με το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα. Επιπλέον, είναι εμφανείς και σημαντικές οι διαφορές ($p < 0.05$) ανάμεσα στα επεξεργασμένα δείγματα με ΠΗΠ, όσον αφορά την εκχυλιζόμενη ποσότητα των ολικών πρωτεϊνών. Όσο εντονότερη γινόταν η συνθήκη επεξεργασίας, δηλαδή όσο αυξάνεται ο αριθμός των παλμών, τόσο πιο έντονα ήταν τα φαινόμενα μεταφοράς μάζας και η εκχύλιση είχε μεγαλύτερη απόδοση, σε όλη της διάρκεια της, καθώς και στο τέλος της εκχύλισης. Αξίζει να σημειωθεί ότι εφαρμόζοντας ΠΗΠ στα 5 kV/cm για 2500 παλμούς προέκυψαν εκχυλίσματα περίπου 31% περισσότερο εμπλουτισμένα (2,79 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.) σε φαινολικά συστατικά από τα αντίστοιχα εκχυλίσματα που προέκυψαν από τη συμβατική εκχύλιση από μη επεξεργασμένο ελαιοπυρήνα στα μισά της εκχύλισης (30 min).

Η εκχύλιση των πρωτεϊνών υποβοηθούμενη με ΠΗΠ στα 5 kV/cm από τα εκχυλίσματα ελαιοπυρήνα είχε μεγαλύτερη απόδοση από το πρώτο min της εκχύλισης σχεδόν τετραπλασιάζοντας την αρχική συγκέντρωση εκχυλιζόμενων πρωτεϊνών (4,46 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.) σε σχέση με το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα (1,17 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.). Το ολικό περιεχόμενο φαινολικών συστατικών των εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ δείγματα για ένταση ηλεκτρικού πεδίου 5 kV/cm κυμάνθηκε από 2,02 έως 3,34 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. Η συγκέντρωση των ολικών πρωτεϊνών των εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ δείγματα για ένταση ηλεκτρικού πεδίου 5 kV/cm κυμάνθηκε από 2,94 έως 5,65 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. Όμοια με τα παραπάνω αποτελέσματα, η αντιοξειδωτική δράση των δειγμάτων ακολουθεί την τάση της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων. Η υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα ήταν 3,68 mM TE και ελήφθη για δείγματα που υπέστησαν προεπεξεργασία με ΠΗΠ στα 5 kV/cm. Αντίθετα, για δείγματα που δεν υποβλήθηκαν σε προεπεξεργασία με ΠΗΠ, η αντιοξειδωτική ικανότητα ήταν ίση με 2,50 mM TE.

Παρόμοια τάση με τα 5 kV/cm, εμφάνισαν οι συγκεντρώσεις και των δύο εκχυλισμένων ενώσεων στα 6,5 kV/cm. Οι συγκεντρώσεις τους ήταν σημαντικά υψηλότερες ($p < 0.05$) από τα συμβατικά επεξεργασμένα δείγματα καθ' όλη τη διάρκεια της εκχύλισης. Η απόδοση της εκχύλισης των φαινολικών ενώσεων και πρωτεϊνών αυξήθηκε περίπου 18% (3,20 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.) και 23% (5,29 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.), αντίστοιχα σε σχέση με το συμβατικά

επεξεργασμένο δείγμα, όταν τα δείγματα προεπεξεργάστηκαν με ΠΗΠ στα 6,5 kV/cm για 500 παλμούς στο τέλος των 60 min της εκχύλισης.



Σχήμα 6.45.Κινητική μελέτη της εκχύλισης των (α) ολικών φαινολικών ενώσεων (mg GAE/L), (β) ολικών πρωτεϊνών (mg/L) και (γ) την αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων (mM TE) του συμβατικά επεξεργασμένου ελαιοπυρήνα (♦) και του ελαιοπυρήνα που είχε προεπεξεργαστεί με ΠΗΠ σε 6,5 kV/cm ένταση ηλεκτρικού πεδίου σε 200 (□),500 (▲) και 1500 παλμούς (×) μετά από 60 min εκχύλισης στους 25 °C και 50% συγκέντρωση αιθανόλης. Οι ράβδοι σφάλματος αντιπροσωπεύουν τυπική απόκλιση από πολλές επεξεργασίες και μετρήσεις. Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στην Εξ.45.

Αξίζει να σημειωθεί ότι εφαρμόζοντας ΠΗΠ στα 6,5 kV/cm για 1500 παλμούς προέκυψαν εκχυλίσματα περίπου 28% περισσότερο εμπλουτισμένα σε φαινολικά συστατικά (3,20 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.) από τα αντίστοιχα εκχυλίσματα που προέκυψαν από τη συμβατική εκχύλιση

από μη επεξεργασμένο ελαιοπυρήνα στο τέλος των 60 min της εκχύλισης. Στην ίδια συνθήκη με ΠΗΠ, τα εκχυλίσματα είχαν περίπου 26% μεγαλύτερη συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών (5,42 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.) σε σχέση με το συμβατικά επεξεργασμένο (4,29 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.) στο τέλος των 60 min της εκχύλισης. Η υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα ήταν 3,76 mM TE και ελήφθη για δείγματα που υπέστησαν προεπεξεργασία με ΠΗΠ στα 6,5 kV/cm και 1500 παλμούς.

6.4.3. Μαθηματική περιγραφή της εκχύλισης υποβοηθούμενη με ΠΗΠ

Ως εκ τούτου, στα πειραματικά δεδομένα προσαρμόστηκε το ανοιγμένο μοντέλο 1^{ης} τάξης (Εξ. 45) και προσδιορίστηκαν οι παράμετροι C_0 (συγκέντρωση ουσίας σε χρόνο t_0), C_f (συγκέντρωση ουσίας σε τελικό χρόνο εκχύλισης) και η σταθερά του ρυθμού αύξησης k για όλες τις μελετηθείσες συνθήκες (Πίνακας 6.51 και 6.52).

Πίνακας 6.51: Παράμετροι του κλασματικού μοντέλου 1ης τάξης Εξ. 45, η αρχική συγκέντρωση C_0 , η τελική συγκέντρωση C_f , η σταθερά του ρυθμού αύξησης της συγκέντρωσης k στις διάφορες συνθήκες επεξεργασίας με ΠΗΠ για τη εκχύλιση των φαινολικών ενώσεων.

| Συνθήκες επεξεργασίας με ΠΗΠ | Παράμετροι | | | |
|------------------------------|----------------------------|------------------------------|---------------------------|---------|
| | C_0 (mg/L) | C_f (mg/L) | k (s ⁻¹) | R^2 |
| Συμβατικά επεξεργασμένο | 1353.01±46.87 ^a | 2493,43±141.83 ^a | 0.0946±0.05 ^b | 0.9601 |
| 1,0 kV/cm – 1500 pulses | 1459.14±53.09 ^b | 2827.19±98.71 ^a | 0.0640±0.01 ^a | 0.9845 |
| 1,0 kV/cm – 3000 pulses | 1818.60±58.07 ^b | 3072.83±121.65 ^a | 0.0452±0.02 ^a | 0.9542 |
| 1,0 kV/cm – 6000 pulses | 1971.80±61.55 ^b | 2989.96±143.77 ^a | 0.0777±0.01 ^a | 0.9772 |
| 3,0 kV/cm – 800 pulses | 1701.06±67.63 ^b | 2794.56±105.78 ^b | 0.1044±0.05 ^b | 0.93.45 |
| 3,0 kV/cm – 2000 pulses | 1950.17±68.59 ^b | 2784.08±121.63 ^b | 0.2414±0.07 ^b | 0.9277 |
| 3,0 kV/cm – 3000 pulses | 2349.00±80.49 ^c | 3049.00±101.03 ^c | 0.1379±0.04 ^a | 0.9921 |
| 5,0 kV/cm – 500 pulses | 1969,66±65.23 ^b | 2837.09±138.54 ^{ab} | 0.0810±0.03 ^b | 0.9575 |
| 5,0 kV/cm – 1500 pulses | 2266.07±64.33 ^c | 2846.96±137.79 ^{ab} | 0.0933±0.03 ^b | 0.9399 |
| 5,0 kV/cm – 2500 pulses | 2672.00±99.61 ^d | 3148.42±281.84 ^b | 0.0349±0.003 ^a | 0.8890 |
| 6.5 kV/cm – 200 pulses | 1985.51±65.27 ^b | 2622.07±137.58 ^{ab} | 0.2559±0.06 ^b | 0.9710 |
| 6.5 kV/cm – 500 pulses | 2231,9±49.09 ^c | 2586.00±95.00 ^b | 0.1529±0.04 ^a | 0.9045 |
| 6.5 kV/cm – 1500 pulses | 2592.50±25.15 ^d | 2985.98±53.38 ^c | 0.1183±0.01 ^a | 0.9934 |

± αντιπροσωπεύει το τυπικό σφάλμα της μη γραμμικής παλινδρόμησης όπως υπολογίστηκε από την Εξ. 45. Τα γράμματα στον εκθέτη δηλώνουν τη στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0.05$) μεταξύ των επεξεργασμένων δειγμάτων με ΠΗΠ και σε σύγκριση με το συμβατικά επεξεργασμένο

Η επίδραση της προεπεξεργασίας με ΠΗΠ στην εκχύλιση ενδοκυτταρικών συστατικών αντικατοπτρίζεται στην εξάρτηση των παραμέτρων του μοντέλου C_0 και C_f από την ένταση των συνθηκών με ΠΗΠ (ένταση ηλεκτρικού πεδίου και χρόνος επεξεργασίας). Στην επεξεργασία με ΠΗΠ, η εφαρμογή ισχυρών ηλεκτρικών πεδίων, υψηλότερων από την κρίσιμη τιμή (περίπου 3 kV/cm) έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του ποσοστού ηλεκτροδιάτρησης της μεμβράνης και ως

εκ τούτου, μια σημαντική βελτίωση στη μεταφορά μάζας που εξαρτάται τόσο από την ένταση του ηλεκτρικού πεδίου όσο και από τον χρόνο επεξεργασίας (αύξηση στον αριθμό των παλμών).

Πίνακας 6.52 Παράμετροι του κλασματικού μοντέλου 1ης τάξης Εξ. 45, η αρχική συγκέντρωση C_0 , η τελική συγκέντρωση C_f , η σταθερά του ρυθμού αύξησης της συγκέντρωσης k στις διάφορες συνθήκες επεξεργασίας με ΠΗΠ για τη εκχύλιση των πρωτεϊνών.

| Συνθήκες επεξεργασίας με ΠΗΠ | Παράμετροι | | | |
|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|---------------------------|--------|
| | C_0 (mg/L) | C_f (mg/L) | k (s ⁻¹) | R^2 |
| Συμβατικά επεξεργασμένο | 1184.90±67.89 ^a | 3750.90±98.55 ^a | 0.1052±0.04 ^b | 0.9768 |
| 1 kV/cm – 1500 pulses | 1949.80±56.23 ^b | 3734.92±150.93 ^b | 0.0570±0.008 ^a | 0.9548 |
| 1 kV/cm – 3000 pulses | 2598.55±77.51 ^c | 3.943.91±199.41 ^b | 0.0694±0.02 ^b | 0.9371 |
| 1 kV/cm – 6000 pulses | 3005.00±46.30 ^c | 3881.00±141.27 ^b | 0.0677±0.02 ^b | 0.9629 |
| 3 kV/cm – 800 pulses | 3002.93±56.77 ^b | 4182.57±132.96 ^b | 0.1243±0.04 ^b | 0.9168 |
| 3 kV/cm – 2000 pulses | 3609.22±96.65 ^c | 4807.95±112.47 ^c | 0.1321±0.02 ^b | 0.8903 |
| 3 kV/cm – 3000 pulses | 4616.81±68.51 ^d | 5408.55±125.97 ^d | 0.0963±0.04 ^a | 0.9678 |
| 5 kV/cm – 500 pulses | 3874.23±106.56 ^b | 5133.97±300.02 ^b | 0.0416±0.02 ^a | 0.9490 |
| 5 kV/cm – 1500 pulses | 4282.53±170.80 ^c | 5105.39±382.11 ^b | 0.0659±0.05 ^a | 0.8943 |
| 5 kV/cm – 2500 pulses | 4285.00±170.17 ^c | 5380.00±461.79 ^b | 0.0477±0.03 ^a | 0.8395 |
| 6.5 kV/cm – 200 pulses | 3231.00±153.86 ^b | 4591.00±366.87 ^{ab} | 0.0611±0.02 ^a | 0.9260 |
| 6.5 kV/cm – 500 pulses | 4509.00±136.1 ^b | 5119.00±246.9 ^b | 0.0355±0.01 ^a | 0.9598 |
| 6.5 kV/cm – 1500 pulses | 4562.89±216.80 ^b | 4812.13±457.65 ^b | 0.1945±0.09 ^b | 0.8708 |

± αντιπροσωπεύει το τυπικό σφάλμα της μη γραμμικής παλινδρόμησης όπως υπολογίστηκε από την Εξ. 45. Τα γράμματα στον εκθέτη δηλώνουν τη στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0.05$) μεταξύ των επεξεργασμένων δειγμάτων με ΠΗΠ, και σε σύγκριση με το συμβατικά επεξεργασμένο.

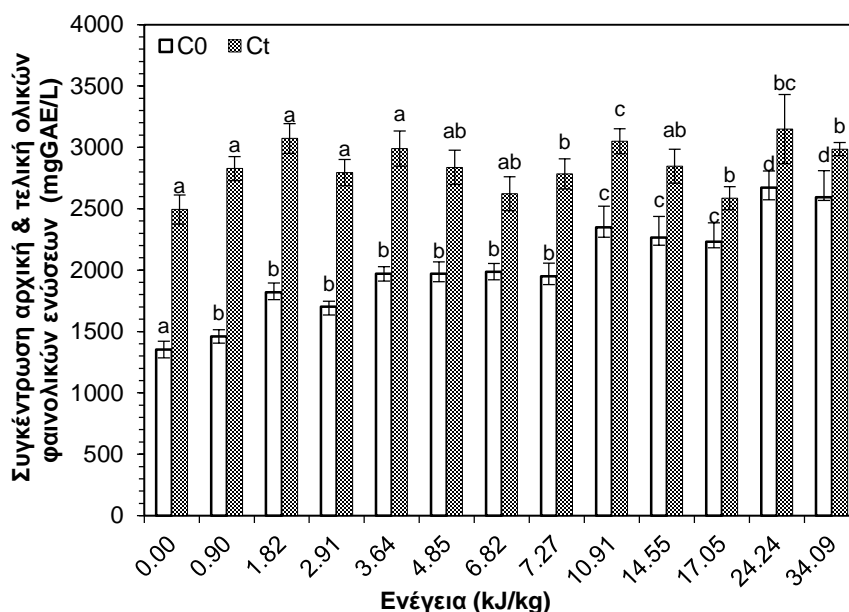
Ωστόσο, αυτή η αύξηση στην απόδοση της εκχύλισης των ενδοκυτταρικών συστατικών από ελαιοπυρήνα μπορεί να επιτευχθεί εφαρμόζοντας διαφορετικούς συνδυασμούς έντασης ηλεκτρικού πεδίου και αριθμού παλμών, από άποψη σχεδιασμού της διεργασίας.

Πίνακας 6.53: Αντιστοίχιση των συνθηκών επεξεργασίας με ΠΗΠ του ξηρού στερεού παραπροϊόντος με την τιμή της ενέργειας που καταναλώθηκε κατά την επεξεργασία με ΠΗΠ

| E (kV/cm) | Παλμοί | Ενέργεια (kJ/kg) |
|-----------|--------|------------------|
| 1 | 1500 | 0.90 |
| 1 | 3000 | 1.82 |
| 3 | 800 | 2.91 |
| 1 | 6000 | 3.64 |
| 5 | 500 | 4.85 |
| 6.5 | 200 | 6.82 |
| 3 | 2000 | 7.27 |
| 3 | 3000 | 10.91 |
| 5 | 1500 | 14.55 |
| 6.5 | 500 | 17.05 |
| 5 | 2500 | 24.24 |
| 6.5 | 1500 | 34,09 |

Είναι σημαντικό να προσδιοριστούν οι συνδυασμοί και των δύο παραμέτρων που απαιτούν το ελάχιστο ποσό της συνολικής καταναλισκόμενης ενέργειας. Η τιμή της ενέργειας που καταναλώθηκε κατά την επεξεργασία των ΠΗΠ στις διάφορες συνθήκες υπολογίστηκε με βάση την Εξ.13 και οι ενέργειες παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.53.

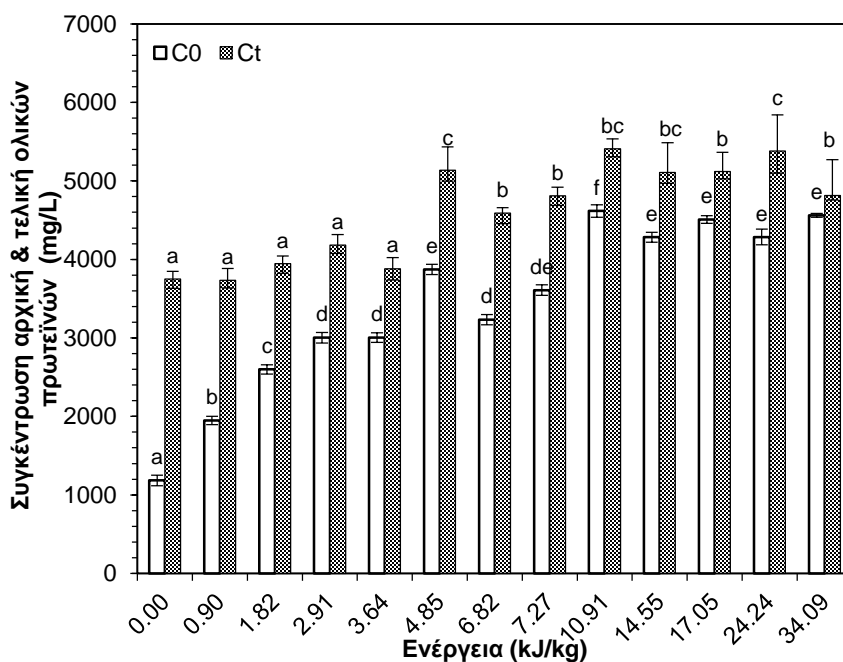
Στα Σχήματα 6.46 και 6.47 παρουσιάζονται οι παράμετροι του μοντέλου (Εξ. 45) C_0 και C_t συναρτήσει της ενέργειας που καταναλώθηκε κατά την επεξεργασία με ΠΗΠ για κάθε συνθήκη. Τα αποτελέσματα επιβεβαιώνουν ότι η προεπεξεργασία με ΠΗΠ ενίσχυσε σε όλες τις συνθήκες την εκχύλιση των φαινολικών ενώσεων και των πρωτεϊνών από τον ελαιοπυρήνα.



Σχήμα 6.46. Αρχική συγκέντρωση C_0 και τελική συγκέντρωση C_t των ολικών φαινολικών ενώσεων (mg GAE / L) από εκχυλίματα ελαιοπυρήνα για συμβατικά επεξεργασμένα δείγματα (0 kJ/kg) και προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ σε όλες τις μελετηθείσες συνθήκες (ενέργειες ΠΗΠ από 0,90-34,09 kJ/kg) σε θερμοκρασία 25 °C και συγκέντρωση αιθανόλης 50%. Οι ράβδοι σφάλματος αντιπροσωπεύουν τυπική απόκλιση με βάση τη στατιστική μεταβολή στις κινητικές παραμέτρους της Εξ.45 - Ανάλυση παλινδρόμησης. Τα διάφορα γράμματα δείχνουν τις σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις συνθήκες ($p < 0,05$) (διαφορές μεταξύ των συνθηκών με ΠΗΠ).

Από τα Σχήματα 6.46 και 6.47, είναι εμφανές ότι η αρχική συγκέντρωση C_0 των φαινολικών ενώσεων και πρωτεϊνών αυξανόταν σημαντικά όσο αυξανόταν και η ενέργεια (πιο έντονες συνθήκες με ΠΗΠ). Η υψηλότερη αρχική συγκέντρωση C_0 φαινολικών ενώσεων ήταν περίπου 2,6 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. για ενέργεια 24,24 kJ/kg που ήταν 72,1% υψηλότερη σε σχέση με το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα (1.51 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.). Επιπλέον, η αρχική συγκέντρωση πρωτεϊνών C_0 διπλασιάστηκε (3.82 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.) και τριπλασιάστηκε (4.85 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.) για δείγματα που ήταν προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ με ενέργεια

7.27 kJ/kg και 34.10 kJ/kg αντίστοιχα, σε σύγκριση με το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα (1.25 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.).



Σχήμα 6.47 Αρχική συγκέντρωση C_0 και τελική συγκέντρωση C_t των ολικών πρωτεϊνών (mg/L) από εκχυλίσματα ελαιοπυρήνα για συμβατικά επεξεργασμένα δείγματα (0 kJ/kg) και προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ σε όλες τις μελετηθείσες συνθήκες (ενέργειες ΠΗΠ από 0,90-34,09 kJ/kg) σε θερμοκρασία 25 °C και συγκέντρωση αιθανόλης 50%. Οι ράβδοι σφάλματος αντιπροσωπεύουν τυπική απόκλιση με βάση τη στατιστική μεταβολή στις κινητικές παραμέτρους της Εξ.45 - Ανάλυση παλινδρόμησης. Τα διάφορα γράμματα δείχνουν τις σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις συνθήκες ($p < 0,05$) (διαφορές μεταξύ των συνθηκών με ΠΗΠ).

Ωστόσο, η τελική συγκέντρωση C_t και για τις δύο ενδοκυτταρικές ενώσεις δεν παρουσίασε σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) μεταξύ των προεπεξεργασμένων δειγμάτων με ΠΗΠ έως και τα 4,85 kJ/kg ενέργειας σε σύγκριση με το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα. Για τις πιο έντονες συνθήκες με ΠΗΠ (ενέργειες που κυμαίνονται από 7.27 έως 34.10 kJ/kg) η τελική συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων και πρωτεϊνών C_t αυξήθηκε έως 20 και 33% σε σύγκριση με το συμβατικά επεξεργασμένο, αντίστοιχα. Η τελική συγκέντρωση C_t των φαινολικών συστατικών των εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ δείγματα στις πιο έντονες συνθήκες (ενέργειες που κυμαίνονται από 7.27 έως 34.10 kJ/kg) κυμαινόταν από 2,97 έως 3,34 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. Η τελική συγκέντρωση C_t των ολικών πρωτεϊνών των εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ δείγματα στις ίδιες συνθήκες κυμάνθηκε από 3,82 έως 5,74 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.

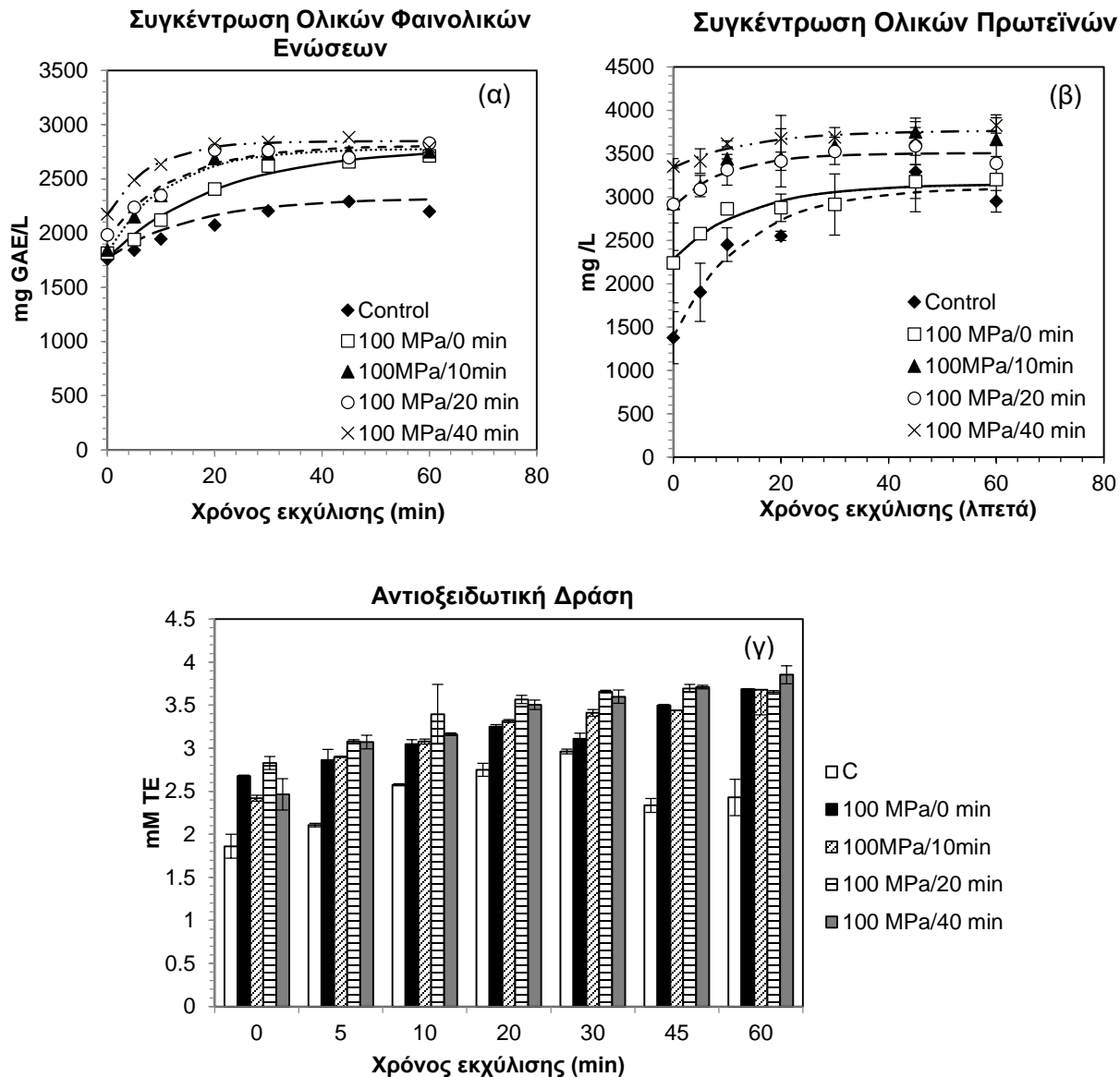
Στη βιβλιογραφία, η εφαρμογή των ΠΗΠ στην εκχύλιση ενδοκυτταρικών ενώσεων από ελαιοπυρήνα είναι αρκετά περιορισμένη. Η επίδραση της διεργασίας των ΠΗΠ στην εκχύλιση

ενδοκυτταρικών ενώσεων από ελαιοπυρήνα μελετήθηκε από τους Rosello-Soto et al. (2015). Οι συνολική συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων και πρωτεϊνών των εκχυλισμάτων αυξήθηκαν κατά μόλις 2% σε σύγκριση με τα μη επεξεργασμένα δείγματα στα 13,5 kV/cm και 109,1 kJ/kg. Επιπλέον, η διεργασία των ΠΗΠ (5 kV/cm και 60 παλμούς, 42 kJ/kg) έχει χρησιμοποιηθεί για την εκχύλιση πολυφαινολών, α-τοκοφερόλων και φυτοστερολών σε έλαιο από σπόρους ελαιοκράμβης (Guderjan et al., 2007)

6.4.4. Εκχύλιση των ενδοκυτταρικών ενώσεων από τον ελαιοπυρήνα υποβοηθούμενη με ΥΠ

Η τεχνολογία της ΥΠ εφαρμόζεται ως μία νέα μέθοδος εκχύλισης με πολλές εφαρμογές τελευταία στην ανάκτηση φαινολικών συστατικών και πρωτεϊνών από ελαιούχους σπόρους. Η επεξεργασία με ΥΠ αυξάνει το ρυθμό μεταφοράς μάζας και ενισχύει την είσοδο του διαλύτη στα κύτταρα, διαταράσσοντας τα κυτταρικά τοιχώματα και οδηγώντας σε υψηλότερη διαπερατότητα (Barbosa-Canovas, GV Pothakamury, Palou, & Swanson, 1998, Prasad, Yang, Yi, Zhao, & Jiang, 2009). Έχει επίσης την ικανότητα να αποπρωτονιώνει τις φορτισμένες ομάδες και να διαταράσσει τους υδρόφοβους δεσμούς στις κυτταρικές μεμβράνες, με αποτέλεσμα να επιτυγχάνονται υψηλές αποδόσεις εκχύλισης των ενδοκυτταρικών ενώσεων (Briones-Labarca, Plaza-Morales, Giovagnoli-Vicuna, & Fabiola, 2015, Barbosa-Canovas, GV Pothakamury et al., 1998). Η πίεση και ο χρόνος είναι κάποιοι από τις σημαντικότερες παραμέτρους που επηρεάζουν την ΥΠ, για αυτό το λόγο αξιολογήθηκε η επίδρασή τους στην ανάκτηση ενδοκυτταρικών συστατικών από τον ελαιοπυρήνα.

Στα παρακάτω διαγράμματα παρουσιάζεται η επίδραση της προεπεξεργασίας με ΥΠ στον ελαιοπυρήνα σε διάφορες συνθήκες πίεσης (100-600 MPa) και χρόνους επεξεργασίας (0-40 min) και συγκεκριμένα στη δυνατότητα εκχύλισης των φαινολικών του ενώσεων, των πρωτεϊνών και της αντιοξειδωτικής δράσης των εκχυλισμάτων (Σχήματα 6.48, 6.49, 6.50 και 6.51). Τα δείγματα που είχαν προεπεξεργαστεί με ΥΠ οδήγησαν σε αυξημένες συγκεντρώσεις των φαινολικών ενώσεων και των πρωτεϊνών σε σύγκριση με τα συμβατικά επεξεργασμένα δείγματα σε όλες τις μελετηθείσες συνθήκες. Οι πιο έντονες συνθήκες με ΥΠ είχαν ως αποτέλεσμα υψηλότερες αποδόσεις εκχύλισης των φαινολικών ενώσεων και των πρωτεϊνών. Τα επεξεργασμένα με ΥΠ δείγματα συγκρίνονται με το συμβατικά επεξεργασμένο που παρέμεινε καταβυθισμένο στο διαλύτη για το μεγαλύτερο χρονικό διάστημα της ΥΠ σε κάθε μελετηθείσα πίεση. Έτσι, εξασφαλίζεται ότι η αύξηση στη συγκέντρωση των ενδοκυτταρικών ενώσεων που μετρήθηκαν οφείλεται αποκλειστικά και μόνο στην επεξεργασία με ΥΠ.



Σχήμα 6.48 Κινητική μελέτη της εκχύλισης των (α) ολικών φαινολικών ενώσεων (mg GAE/L), (β) ολικών πρωτεϊνών (mg/L) και (γ) την αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων (mM TE) του συμβατικά επεξεργασμένου ελαιοπυρήνα (♦) και του ελαιοπυρήνα που είχε προεπεξεργαστεί με ΥΠ στα 100 MPa εφαρμοζόμενη πίεση σε 0 (□), 10 (▲), 20 (○) και 40 (×) min χρόνο επεξεργασίας μετά από 60 min εκχύλισης στους 25 °C και 50% συγκέντρωση αιθανόλης. Οι ράβδοι σφάλματος αντιπροσωπεύουν τυπική απόκλιση από πολλές επεξεργασίες και μετρήσεις. Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στην Εξ.45.

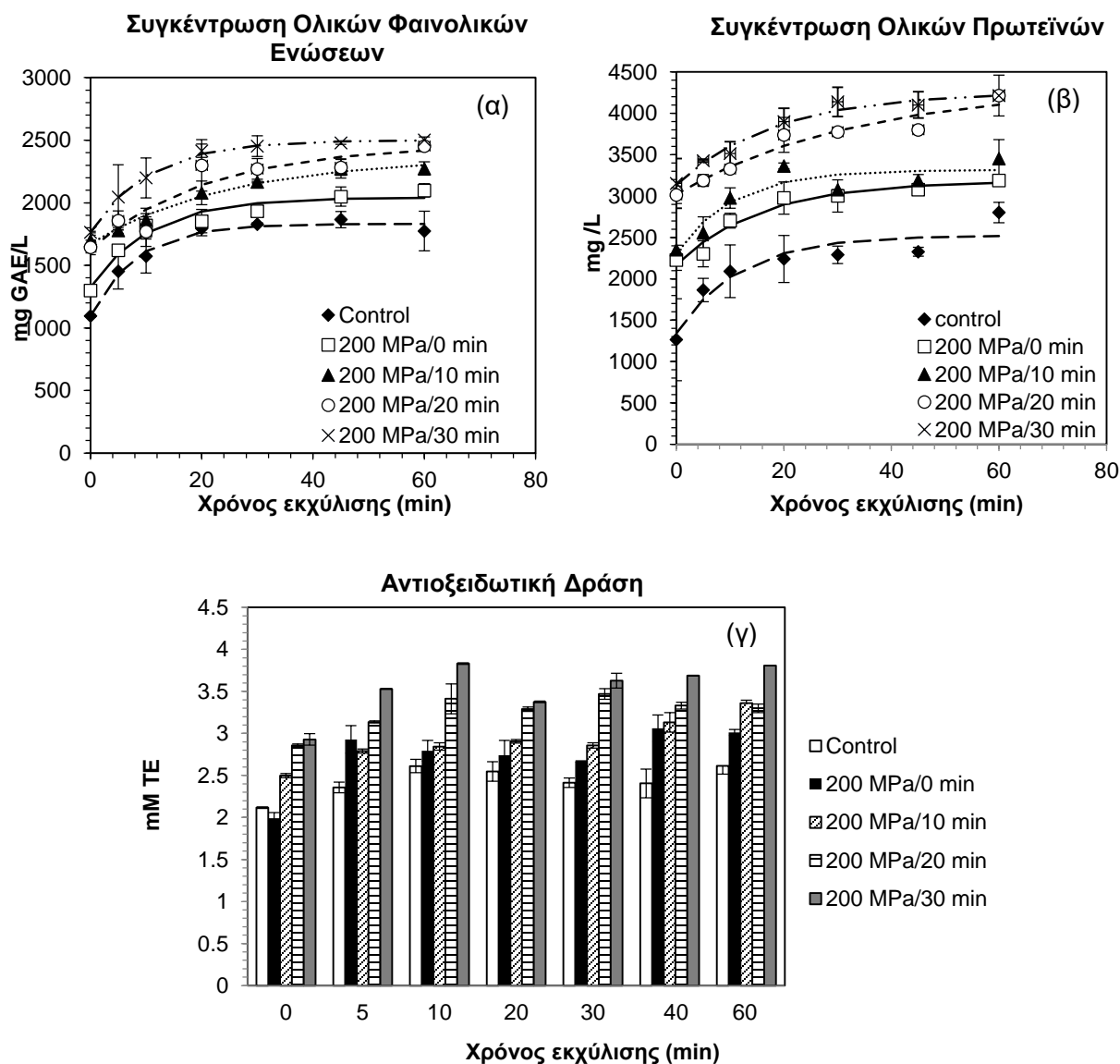
Από τα διαγράμματα παρατηρήθηκε ότι η επίδραση της προεπεξεργασίας με ΥΠ ενίσχυσε την εκχύλιση των ενδοκυτταρικών ενώσεων κατά τη διάρκεια της εκχύλισης. Τα δείγματα που είχαν προεπεξεργαστεί με ΥΠ στα 100 MPa οδήγησαν σε σημαντική αύξηση της απόδοσης της εκχύλισης και των δυο ενδοκυτταρικών ενώσεων σε σχέση με το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα (το οποίο είχε παραμείνει μέσα στον διαλύτη βυθισμένο 40 min, όσο και ο μέγιστος χρόνος επεξεργασίας με ΥΠ στα 100 MPa). Στο τέλος των 60 min της εκχύλισης, τα προεπεξεργασμένα

με ΥΠ δείγματα δεν εμφάνισαν σημαντικές διαφορές ($p > 0.05$) μεταξύ τους στην τελική συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων (2,87 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.), αλλά ήταν περίπου 27% περισσότερο εμπλουτισμένα σε φαινολικές ενώσεις σε σχέση με το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα (2,34 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.). Το ολικό περιεχόμενο πρωτεϊνών των εκχυλισμάτων έδειξε σημαντική αύξηση ($p < 0,05$) (έως και 1,5 φορά υψηλότερη συγκέντρωση) αυξάνοντας το χρόνο επεξεργασίας με ΥΠ σε σχέση με το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα (1,45 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.).

Το ολικό περιεχόμενο πρωτεϊνών των εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα που είχαν προεπεξεργαστεί στα 100 MPa κυμάνθηκε από 2,38 έως 3,56 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. στην έναρξη της συμβατικής εκχύλισης, ενώ για το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα ήταν μόλις 1,45 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. Ακόμη, αξίζει να σημειωθεί ότι εφαρμόζοντας την ΥΠ στα 100 MPa, προέκυψαν εκχυλίσματα κατά περίπου 30% περισσότερο εμπλουτισμένα σε πρωτεΐνες (4,06 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.) από τα αντίστοιχα συμβατικά επεξεργασμένα εκχυλίσματα (3,14 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.) στο τέλος των 60 min της εκχύλισης. Από το διάγραμμα παρατηρήθηκε ότι η αντιοξειδωτική δράση των εκχυλισμάτων του ελαιοπυρήνα που λαμβάνονται από την προεπεξεργασία με ΥΠ ήταν σημαντικά ($p < 0,05$) υψηλότερη σε σύγκριση με τα εκχυλίσματα που προέκυψαν από τη συμβατική εκχύλιση. Τα εκχυλίσματα με τη μέγιστη τιμή αντιοξειδωτικής δράσης προέκυψαν με εφαρμογή ΥΠ στα 100 MPa για 40 min (3,85 mM TE) και ήταν περίπου 60% πιο δραστικά με εκείνα που προέκυψαν από την εφαρμογή της συμβατικής εκχύλισης (2,42 mM TE).

Στο Σχήμα 6.49, παρατηρήθηκε ότι η εκχύλιση των φαινολικών ενώσεων και των πρωτεϊνών ενισχύθηκε μετά από την προεπεξεργασία των δειγμάτων με ΥΠ στα 200 MPa. Η αύξηση της πίεσης και ο χρόνος επεξεργασίας που εφαρμόστηκαν οδήγησαν σε υψηλότερη συγκέντρωση ενδοκυτταρικών ενώσεων στην αρχή και κατά τη διάρκεια της εκχύλισης των 60 min σε σχέση με τα εκχυλίσματα των 100 MPa και του συμβατικά επεξεργασμένου δείγματος (το οποίο είχε παραμείνει μέσα στον διαλύτη βυθισμένο 30 min, όσο και ο μέγιστος χρόνος επεξεργασίας με ΥΠ στα 200 MPa). Το ολικό περιεχόμενο των φαινολικών ενώσεων των εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα που είχαν προεπεξεργαστεί στα 200 MPa κυμάνθηκε από 1,37 έως 2,65 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. καθ' όλη τη διάρκεια της συμβατικής εκχύλισης, ενώ για το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα κυμάνθηκε από 1,12 έως 1,88 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. Η υψηλότερη συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων που επιτεύχθηκε με την προεπεξεργασία με ΥΠ στα 200 MPa για 30 min ήταν περίπου 71,8% υψηλότερη (2,66 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.) από τη συγκέντρωση του συμβατικά επεξεργασμένου δείγματος (1,88 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα

ξ.β.) στο τέλος των 60 min της εκχύλισης. Επιπλέον, παρατηρήθηκε ότι η συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων που είχε το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα (1,88 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.) στο τέλος των 60 min της εκχύλισης, την είχαν τα προεπεξεργασμένα με ΥΠ (200MPa, 20 min) εκχυλίσματα σε χρόνο t=0 της εκχύλισης, δηλαδή μόνο λόγω της προεπεξεργασίας της ΥΠ και χωρίς να ακολουθήσει η συμβατική εκχύλιση.

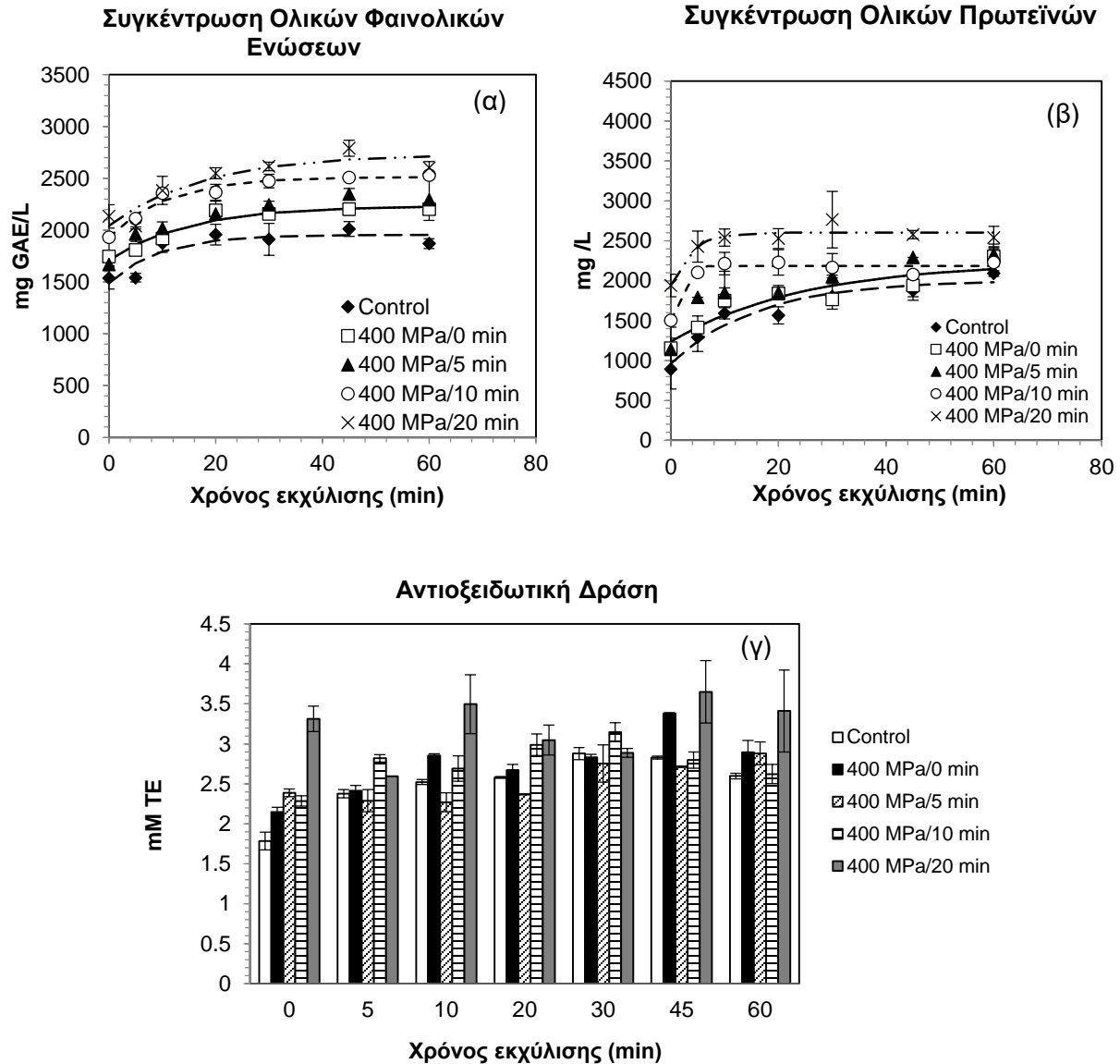


Σχήμα 6.49.Κινητική μελέτη της εκχύλισης των (α) ολικών φαινολικών ενώσεων (mg GAE/L), (β) ολικών πρωτεϊνών (mg/L) και (γ) την αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων (mM TE) του συμβατικά επεξεργασμένου ελαιοπυρήνα (◆) και του ελαιοπυρήνα που είχε προεπεξεργαστεί με ΥΠ στα 200 MPa εφαρμοζόμενη πίεση σε 0 (□), 10 (▲), 20 (○) και 30 (×) min χρόνο επεξεργασίας μετά από 60 min εκχύλισης στους 25 °C και 50% συγκέντρωση αιθανόλης. Οι ράβδοι σφάλματος αντιπροσωπεύουν τυπική απόκλιση από πολλές επεξεργασίες και μετρήσεις. Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στην Εξ.45.

Το ολικό περιεχόμενο των πρωτεϊνών των εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα που είχαν προεπεξεργαστεί στα 200 MPa κυμάνθηκε από 2,36 έως 4,47 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. καθ' όλη τη διάρκεια της συμβατικής εκχύλισης, ενώ για το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα κυμάνθηκε από 1,34 έως 2,97 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. Η υψηλότερη συγκέντρωση πρωτεϊνών που επιτεύχθηκε με την προεπεξεργασία με ΥΠ στα 200 MPa για 30 min ήταν περίπου 50% υψηλότερη από τη συγκέντρωση του συμβατικά επεξεργασμένου δείγματος στο τέλος των 60 min της εκχύλισης. Αξίζει να σημειωθεί ότι η προεπεξεργασία με ΥΠ οδήγησε σε εκχυλίσματα που ήταν εμπλουτισμένα σε πρωτεΐνες μιάμιση και δύο φορές παραπάνω (3,35 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.) από τα εκχυλίσματα που προέκυψαν από τη συμβατική εκχύλιση (1,34 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.) σε χρόνο μηδέν της εκχύλισης. Την τάση της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων ακολουθεί και η αντιοξειδωτική δράση των δειγμάτων καθώς, όπως έχει προαναφερθεί, αποτελούν τη βασική αντιοξειδωτική ουσία του ελαιοπυρήνα. Τα εκχυλίσματα με τη μέγιστη τιμή αντιοξειδωτικής δράσης προέκυψαν με εφαρμογή ΥΠ στα 200 MPa για 30 min (3,80 mM TE) και ήταν περίπου 36% πιο δραστικά με εκείνα που προέκυψαν από την εφαρμογή της συμβατικής εκχύλισης (2,79 mM TE).

Η ενίσχυση των φαινομένων μεταφοράς μάζας που οφείλεται στη μεταβολή της πίεσης στις κυτταρικές μεμβράνες προκαλεί τη διαπερατοποίηση τους, μειώνοντας την αντίσταση τους και διευκολύνοντας τη διείσδυση του διαλύτη εκχύλισης μέσα στα κύτταρα, ώστε να εκχυλίσει τα βιοδραστικά συστατικά. (Yang, Li, Zhu, & Zhang, 2010, Shouqin et al., 2004). Όσο μεγαλύτερη είναι η πίεση που εφαρμόζεται, τόσο περισσότερος διαλύτης μπορεί να εισέλθει στα κύτταρα και περισσότερες βιοδραστικές ενώσεις μπορούν να εκχυλιστούν στο διαλύτη (Shouqin, Jun, & Changzheng, 2005a). Η διαπερατοποίηση της μεμβράνης συμβαίνει με την εφαρμογή της πίεσης, καθώς λόγω διαφορετικής συμπιεστότητας του εσωτερικού και εξωτερικού του κυττάρου, προκαλείται διάρρηξη της μεμβράνης με αποτέλεσμα ενδοκυτταρικές ενώσεις να απελευθερώνονται στο εξωτερικό του κυττάρου.

Στο Σχήμα 6.50, παρατηρήθηκε ότι η εκχύλιση των φαινολικών ενώσεων και των πρωτεϊνών ενισχύθηκε μετά από την προεπεξεργασία των δειγμάτων με ΥΠ και στα 400 MPa. Η αύξηση της πίεσης και του χρόνου επεξεργασίας που εφαρμόστηκε οδήγησαν σε υψηλότερη συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων στην αρχή και κατά τη διάρκεια της εκχύλισης των 60 min σε σχέση με τα εκχυλίσματα των 100 και 200 MPa και του συμβατικά επεξεργασμένου δείγματος (το οποίο είχε παραμείνει μέσα στον διαλύτη βυθισμένο 20 min, όσο και ο μέγιστος χρόνος επεξεργασίας με ΥΠ στα 400 MPa).



Σχήμα 6.50.Κινητική μελέτη της εκχύλισης των (α) ολικών φαινολικών ενώσεων (mg GAE/L), (β) ολικών πρωτεϊνών (mg/L) και (γ) την αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων (mM TE) του συμβατικά επεξεργασμένου ελαιοπυρήνα (♦) και του ελαιοπυρήνα που είχε προεπεξεργαστεί με ΥΠ στα 400 MPa εφαρμοζόμενη πίεση σε 0 (□), 5 (▲), 10 (○) και 20 (×) min χρόνο επεξεργασίας μετά από 60 min εκχύλισης στους 25 °C και 50% συγκέντρωση αιθανόλης. Οι ράβδοι σφάλματος αντιπροσωπεύουν τυπική απόκλιση από πολλές επεξεργασίες και μετρήσεις. Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στην Εξ.45.

Το ολικό περιεχόμενο των φαινολικών ενώσεων των εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα που είχαν προεπεξεργαστεί στα 400 MPa κυμάνθηκε από 1,85 έως 2,76 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. καθ' όλη τη διάρκεια της συμβατικής εκχύλισης, ενώ για το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα κυμάνθηκε από 1,62 έως 1,98 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. Η υψηλότερη συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων που επιτεύχθηκε με την προεπεξεργασία με ΥΠ στα 400 MPa για 20 min

ήταν περίπου 40% υψηλότερη από τη συγκέντρωση του συμβατικά επεξεργασμένου δείγματος στο τέλος των 60 min της εκχύλισης.

Στα 400 MPa η εκχύλιση των πρωτεϊνών από τον ελαιοπυρήνα δεν ενισχύθηκε τόσο πολύ όπως στα 100 και τα 200 MPa. Το ολικό περιεχόμενο των πρωτεϊνών των εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα που είχαν προεπεξεργαστεί στα 400 MPa κυμάνθηκε από 1,22 έως 2,77 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. καθ' όλη τη διάρκεια της εκχύλισης, ενώ για το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα κυμάνθηκε από 0,94 έως 2,22 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. Αξίζει να σημειωθεί ότι η προεπεξεργασία με ΥΠ στα 400 MPa για 10 min, οδήγησε σε εκχυλίσματα εμπλουτισμένα σε φαινολικές ενώσεις περίπου κατά 11% περισσότερο (2,77 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.) σε σχέση με τα εκχυλίσματα που είχαν προεπεξεργαστεί με ΥΠ στα 200 MPa στον ίδιο χρόνο. Αντίθετα για τον ίδιο χρόνο επεξεργασίας με ΥΠ (10 min), η συγκέντρωση των πρωτεϊνών στα 400 MPa μειώθηκε περίπου 35% (3,67 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.) σε σχέση με τα εκχυλίσματα που είχαν προεπεξεργαστεί με ΥΠ στα 200 MPa, στο τέλος των 60 min της εκχύλισης. Την τάση της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων ακολουθεί και η αντιοξειδωτική δράση των δειγμάτων καθώς, όπως έχει προαναφερθεί, αποτελούν τη βασική αντιοξειδωτική ουσία του ελαιοπυρήνα. Τα εκχυλίσματα με τη μέγιστη τιμή αντιοξειδωτικής δράση προέκυψαν με εφαρμογή ΥΠ στα 400 MPa για 20 min (3,41 mM TE) και ήταν περίπου 32% πιο δραστικά με εκείνα που προέκυψαν από την εφαρμογή της συμβατικής εκχύλισης (2,59 mM TE).

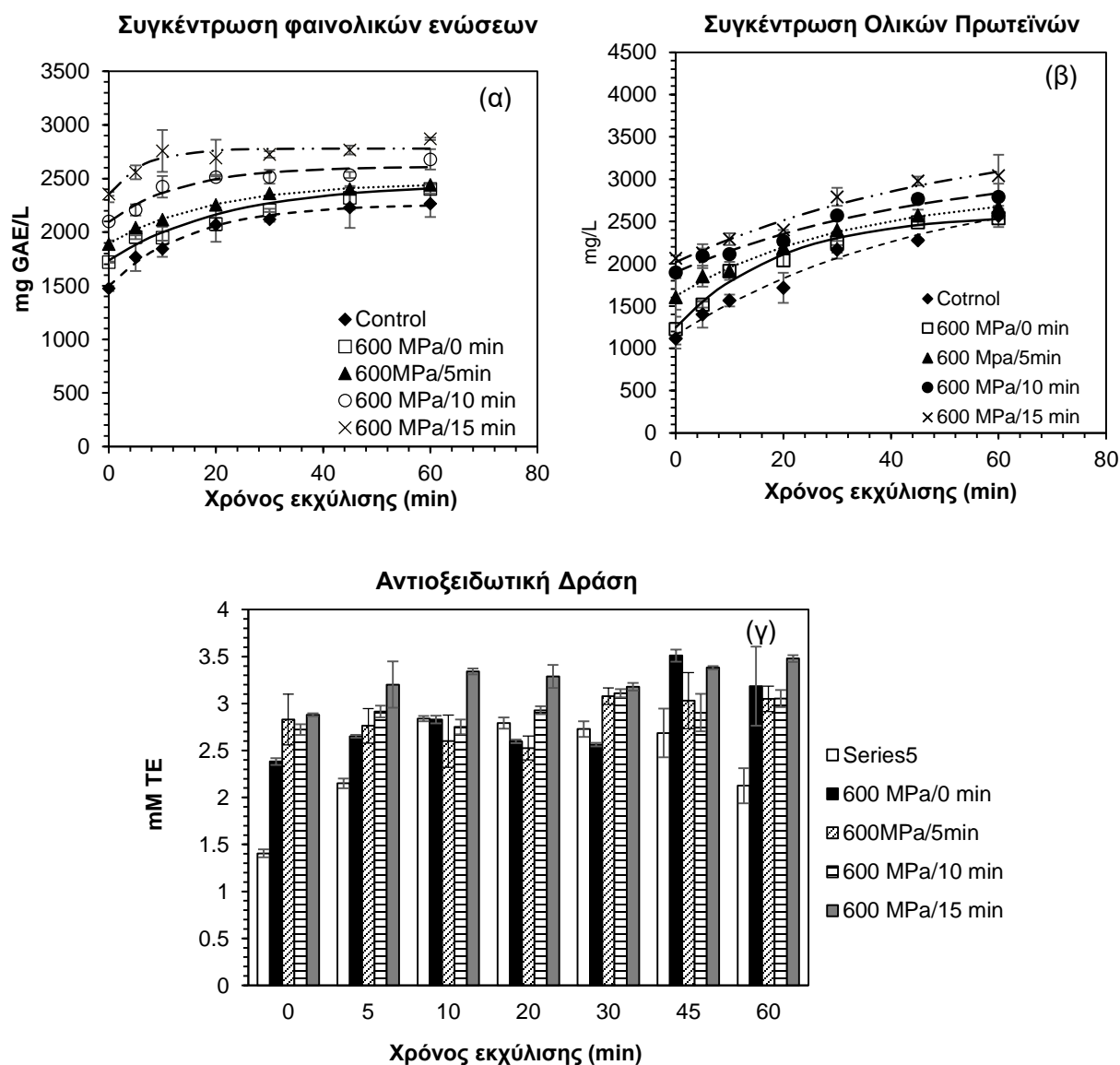
Η επεξεργασία με ΥΠ μπορεί να επηρεάσει μόνο μεγάλα μόρια καθώς η αύξηση της πίεσης μπορεί να σπάσει αδύναμους μη ομοιοπολικούς δεσμούς, αφήνοντας ανεπηρέαστα μικρά μόρια όπως είναι τα φαινολικά συστατικά. Σε πολύ μεγάλες πιέσεις οι ομοιοπολικοί δεσμοί επηρεάζονται, ενώ σε μικρότερες σταθεροποιούνται (λόγω της μείωσης του όγκου από την εφαρμογή της ΥΠ, τα μόρια τείνουν να λάβουν μορφή με τον μικρότερο δυνατό όγκο). Εξαιτίας αυτού μπορεί να εξηγηθεί γιατί με αύξηση της πίεσης, η συγκέντρωση των εκχυλιζόμενων φαινολικών ενώσεων αυξανόταν. Οι φαινολικές ενώσεις είναι ενώσεις μικρού μοριακού βάρους που η αύξηση της πίεσης δεν αλλάζει τη δομή τους. Με αυτόν τρόπο δεν επηρεάζεται ούτε η δομή τους αλλά και η λειτουργικότητά τους, ενώ ταυτόχρονα αυξάνεται ο ρυθμός εκχύλισης του λόγω των διαπερατοποιημένων κυττάρων από την αύξηση της πίεσης. Η εφαρμογή της ΥΠ πάνω από 400 MPa μείωσε σημαντικά τη συγκέντρωση των εκχυλιζόμενων πρωτεϊνών. Οι πρωτεΐνες λόγω της άσκησης της πίεσης οδηγούνται σε μετουσίωση λόγω της ρήξη των μη ομοιοπολικών δεσμών που συγκρατούν την τριτοταγή δομή τους. Η καλά οργανωμένη τριτοταγής δομή επηρεάζεται από τη μείωση του όγκου προκαλώντας αλλαγές στις αλληλεπιδράσεις ηλεκτροστατικής και υδροφοβικής φύσης που συγκρατούν την τριτοταγή δομή (Barbosa-Canovas et al., 1997). Η

διατάραξη των ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση φορτισμένων ομάδων, οι οποίες προκαλούν αναδιάταξη των μορίων νερού και οδηγούν σε ξεδίπλωμα της πολυπεπτιδικής αλυσίδας (Weale et al., 1997).

Στο Σχήμα 6.51, παρατηρήθηκε ότι η εκχύλιση των φαινολικών ενώσεων και των πρωτεϊνών ενισχύθηκε μετά από την προεπεξεργασία των δειγμάτων με ΥΠ και στα 600 MPa σε σχέση με το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα (το οποίο είχε παραμείνει μέσα στον διαλύτη βυθισμένο 15 min, όσο και ο μέγιστος χρόνος επεξεργασίας με ΥΠ στα 600 MPa). Παρόμοια τάση με τα 400 MPa εμφάνισαν και τα εκχυλίσματα στα 600 MPa. Το ολικό περιεχόμενο των φαινολικών ενώσεων των εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα που είχαν προεπεξεργαστεί στα 600 MPa κυμάνθηκε από 1,82 έως 3,05 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. καθ' όλη τη διάρκεια της συμβατικής εκχύλισης, ενώ για το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα κυμάνθηκε από 1,77 έως 2,40 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. Η υψηλότερη συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων που επιτεύχθηκε με την προεπεξεργασία με ΥΠ στα 600 MPa για 15 min ήταν περίπου 27% υψηλότερη από τη συγκέντρωση του συμβατικά επεξεργασμένου δείγματος στο τέλος των 60 min της εκχύλισης. Το ολικό περιεχόμενο των πρωτεϊνών των εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα που είχαν προεπεξεργαστεί στα 600 MPa κυμάνθηκε από 1,30 έως 3,65 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. καθ' όλη τη διάρκεια της συμβατικής εκχύλισης, ενώ για το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα κυμάνθηκε από 1,18 έως 2,72 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. Αξίζει να σημειωθεί ότι η προεπεξεργασία με ΥΠ στα 600 MPa για 10 min, οδήγησε σε εκχυλίσματα εμπλουτισμένα σε φαινολικές ενώσεις περίπου κατά 17 και 5% περισσότερο σε σχέση με τα εκχυλίσματα που είχαν προεπεξεργαστεί με ΥΠ στα 200 και 400 MPa στον ίδιο χρόνο, αντίστοιχα. Την τάση της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων ακολουθεί και η αντιοξειδωτική δράση των δειγμάτων καθώς, όπως έχει προαναφερθεί, αποτελούν τη βασική αντιοξειδωτική ουσία του ελαιοπυρήνα. Τα εκχυλίσματα με τη μέγιστη τιμή αντιοξειδωτικής δράσης προέκυψαν με εφαρμογή ΥΠ στα 600 MPa για 15 min (3,47 mM TE) και ήταν περίπου 32% πιο δραστικά με εκείνα που προέκυψαν από την εφαρμογή της συμβατικής εκχύλισης (2,73 mM TE).

Στα 600MPa, η συγκέντρωση των πρωτεϊνών ήταν μικρότερη από τα 200 MPa και παρόμοια με τα 400 MPa. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί στο γεγονός ότι δυο παράλληλα φαινόμενα συμβαίνουν. Από τη μία η εκχύλιση που λαμβάνει χώρα σε μεγάλες πιέσεις λόγω της διαπερατοποίησης των κυττάρων και ταυτόχρονα η μετουσίωση των πρωτεϊνών. Η εφαρμογή της υψηλής πίεσης μπορεί να προκαλέσει σπάσιμο των ομοιοπολικών δεσμών που συγκρατούν τη δευτεροταγή δομή των πρωτεϊνών και παράλληλα μπορεί να προκαλέσει αποπρωτονίωση φορτισμένων ομάδων και

διάρρηξη αλυσιδωτών γεφυρών και υδρόφοβων δεσμών, με αποτέλεσμα μεταβολές στη αναδιαμόρφωση των πρωτεϊνών οδηγώντας τελικά στη μετουσίωση τους.



Σχήμα 6.51 Κινητική μελέτη της εκχύλισης των (α) ολικών φαινολικών ενώσεων (mg GAE/L), (β) ολικών πρωτεϊνών (mg/L) και (γ) την αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων (mM TE) του συμβατικά επεξεργασμένου ελαιοπυρήνα (♦) και του ελαιοπυρήνα που είχε προεπεξεργαστεί με ΥΠ στα 600 MPa εφαρμοζόμενη πίεση σε 0 (□), 5 (▲), 10 (○) και 15 (×) min χρόνο επεξεργασίας μετά από 60 min εκχύλισης στους 25 °C και 50% συγκέντρωση αιθανόλης. Οι ράβδοι σφάλματος αντιπροσωπεύουν τυπική απόκλιση από πολλές επεξεργασίες και μετρήσεις. Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στην Εξ.45.

Παράλληλα σε υψηλές πιέσεις, ευνοείται ο σχηματισμών δυσουλφισικών δεσμών που μπορούν να συσσωματώσουν πρωτεΐνες με αποτέλεσμα την καταβύθιση τους.

6.4.5. Μαθηματική περιγραφή της εκχύλισης υποβοηθούμενης με ΥΠ

Ως εκ τούτου, στα πειραματικά δεδομένα προσαρμόστηκε το ανοιγμένο μοντέλο 1^{ης} τάξης (Εξ. 45) και προσδιορίστηκαν οι παράμετροι C_0 (συγκέντρωση ουσίας σε χρόνο t_0), C_f (συγκέντρωση ουσίας σε τελικό χρόνο εκχύλισης) και η σταθερά του ρυθμού αύξησης k για όλες τις μελετηθείσες συνθήκες (Πίνακας 6.54 και 6.55).

Πίνακας 6.54: Παράμετροι του κλασματικού μοντέλου 1ης τάξης (Εξ. 45), η αρχική συγκέντρωση C_0 , η τελική συγκέντρωση C_f , η σταθερά του ρυθμού αύξησης της συγκέντρωσης k στις διάφορες συνθήκες επεξεργασίας με ΥΠ για τη εκχύλιση των φαινολικών ενώσεων.

| Συνθήκες επεξεργασίας με ΥΠ | Παράμετροι | | | |
|---|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|--------|
| | C_0 (mg/L) | C_f (mg/L) | k (s ⁻¹) | R^2 |
| Συμβ. επεξεργασμένο (Βύθιση στο διαλύτη 40 min) | 1783.31±44.14 ^a | 1827.45±62.43 ^a | 0.0526±0.017 ^{ab} | 0.9590 |
| 100 MPa – 0 min | 1772.26±47.27 ^a | 2793.97±73.43 ^b | 0.0475±0.009 ^a | 0.8855 |
| 100 MPa – 10 min | 1826.26±43.29 ^a | 2780.03±49.71 ^b | 0.0891±0.012 ^c | 0.9893 |
| 100 MPa - 20 min | 1959.10±85.60 ^b | 2808.55±99.48 ^b | 0.0825±0.025 ^{bc} | 0.9482 |
| 100 MPa – 40 min | 2171.12±38.19 ^c | 2848.64±42.78 ^b | 0.125±0.019 ^d | 0.9844 |
| Συμβ. επεξεργασμένο (Βύθιση στο διαλύτη 30 min) | 1297.13±42.71 ^a | 1831.95±47.83 ^a | 0.1219±0.0193 ^b | 0.9834 |
| 200 MPa – 0 min | 1326.12±65.35 ^b | 2042.12±75.39 ^b | 0.0925±0.0251 ^b | 0.9575 |
| 200 MPa – 10 min | 1672.22±29.33 ^{cd} | 2362.17±55.73 ^c | 0.0403±0.0080 ^a | 0.9863 |
| 200 MPa - 20 min | 1628.38±99.58 ^c | 2465.47±0.18 ^d | 0.0478±0.0380 ^a | 0.8885 |
| 200 MPa – 30 min | 1763.84±15.94 ^d | 2500.65±18.16 ^d | 0.0952±0.0060 ^b | 0.8997 |
| Συμβ. επεξεργασμένο (Βύθιση στο διαλύτη 20 min) | 1389.32±99.76 ^a | 1955.44±97.83 ^a | 0.1053±0.0632 ^a | 0.8106 |
| 400 MPa – 0 min | 1707.31±56.71 ^b | 2233.05±69.35 ^b | 0.0679±0.0247 ^a | 0.9374 |
| 400 MPa – 5 min | 1696.51±44.33 ^b | 2317.17±51.73 ^b | 0.0787±0.0174 ^a | 0.9733 |
| 400 MPa - 10 min | 1930.19±48.30 ^c | 2513.17±55.18 ^c | 0.0931±0.0225 ^a | 0.9655 |
| 400 MPa – 20 min | 2041.98±65.94 ^c | 2733.98±48.16 ^{4d} | 0.0571±0.0355 ^a | 0.8557 |
| Συμβ. επεξεργασμένο (Βύθιση στο διαλύτη 15 min) | 1472.75±28.12 ^a | 1955.44±32.40 ^a | 0.0869±0.0088 ^{ab} | 0.9939 |
| 600 MPa – 0 min | 1737.34±81.80 ^b | 2456.70±34.35 ^b | 0.0450±0.0235 ^a | 0.9158 |
| 600 MPa – 5 min | 1969.45±20.43 ^c | 2509.4±44.10 ^{bc} | 0.0370±0.0078 ^a | 0.9884 |
| 600 MPa - 10 min | 1887.78±61.33 ^{cd} | 2582.37±68.62 ^c | 0.1289±0.0306 ^b | 0.9655 |
| 600 MPa – 15 min | 2055.77±70.05 ^d | 2770.57±77.59 ^d | 0.2577±0.0741 ^c | 0.9550 |

± αντιπροσωπεύει το τυπικό σφάλμα της μη γραμμικής παλινδρόμησης όπως υπολογίστηκε από την Εξ. 45. Τα γράμματα στον εκθέτη δηλώνουν τη στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0.05$) μεταξύ των επεξεργασμένων δειγμάτων με ΥΠ, και σε σύγκριση με το συμβατικά επεξεργασμένο

Η επίδραση της προεπεξεργασίας με ΥΠ στην εκχύλιση ενδοκυτταρικών συστατικών αντικατοπτρίζεται στην εξάρτηση των παραμέτρων του μοντέλου (Εξ. 45) C_0 και C_f από την ένταση των συνθηκών με ΥΠ (εφαρμοζόμενη πίεση και χρόνος επεξεργασίας).

Η αρχική συγκέντρωση C_0 φαινολικών ενώσεων αυξήθηκε όταν αυξανόταν η πίεση και ο χρόνος επεξεργασίας. Στα 100 MPa (1,8 kJ/kg), η αρχική συγκέντρωση C_0 των φαινολικών ενώσεων αυξήθηκε περίπου έως και 21% (2,30 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.) ύστερα από 40 min επεξεργασίας σε σχέση με το συμβατικά επεξεργασμένο. Στα 200 και 400 MPa, τα εκχυλίσματα από ελαιοπυρήνα ήταν εμπλουτισμένα κατά 36 και 44% περισσότερο σε φαινολικές ενώσεις σε

χρόνο μηδέν της εκχύλισης (δηλαδή εξαιτίας μόνο της προεπεξεργασίας με ΥΠ). Στα 600 MPa (36,1 kJ/kg) η αρχική φαινολική συγκέντρωση C_0 εμφάνισε τη μεγαλύτερη τιμή της φθάνοντας 2,18 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. (1,53 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. για το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα). Οι υψηλότερες πιέσεις και ο χρόνος επεξεργασίας διευκολύνουν τη διαπερατότητα των διαλυτών στα κύτταρα εκχυλίζοντας έτσι περισσότερες ενδοκυτταρικές ενώσεις (Zhang et al., 2004). Επιπλέον, οι τελικές συγκεντρώσεις C_f των φαινολικών ενώσεων εμφάνισαν σημαντικές διαφορές μόνο σε μεγάλες πιέσεις και χρόνους επεξεργασίας σε σχέση με το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα. Η υψηλότερη τελική συγκέντρωση C_f φαινολικών ενώσεων για δείγματα προεπεξεργασμένα με ΥΠ ήταν 2,82 g GAE/ 100 g ελαιοπυρήνα ξ.β ενώ το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα έφθασε σε τιμή 2,07 g GAE/ 100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. Η ΥΠ διαταράσσει τις κυτταρικές δομές και διευκολύνει τη διείσδυση του διαλύτη στην κυτταρική μήτρα ενισχύοντας έτσι τη μεταφορά μάζας των ενδοκυτταρικών ενώσεων (Prasad et al., 2009). Όταν σε ένα τρόφιμο ασκούνται τόσο μεγάλες πιέσεις, η διαφορετική συμπίεστικότητα του εσωτερικού και του εξωτερικού του κυττάρου οδηγεί σε άμεση διείσδυση διαλυτών και προκαλεί μια στιγμιαία αύξηση της εκχυλισιμότητας των ενδοκυτταρικών ενώσεων (Prasad et al., 2009).

Οι Aliakbarian et al. (2011), χρησιμοποίησαν αντιδραστήρα υψηλής πίεσης και υψηλής θερμοκρασίας, προκειμένου να ενισχυθεί η εξαγωγή φαινολικών ενώσεων από ελαιοπυρήνα. Ωστόσο η αύξηση της απόδοσης δεν ήταν μεγαλύτερη από 10%. Οι Koubaa, Lepreux, Barba, Mhemdi & Vorobien (2017), χρησιμοποίησαν υψηλή πίεση (10-40 MPa) κατά την εκχύλιση των φαινολικών ενώσεων από ελαιοπυρήνα ως εναλλακτική λύση στη συμβατική εκχύλιση. Οι Chanioti & Tzia (2018) μελέτησαν την επίδραση της ΥΠ (600 MPa για 5min) στην ανάκτηση πολυφαινολών από ελαιοπυρήνα και φύλλα ελιάς και η υψηλότερη συγκέντρωσή που ανακτήθηκε ήταν 2,5 g GAE/100 g ξ.β.

Επιπλέον, η προεπεξεργασία με ΥΠ οδήγησε σε αύξηση της αρχικής συγκέντρωσης πρωτεϊνών C_0 σε πιέσεις έως και 200 MPa. Ο μεγαλύτερος χρόνος επεξεργασίας κάθε εφαρμοζόμενης πίεσης προκάλεσε μια πιο αποτελεσματική διαπερατοποίηση στην κυτταρική μεμβράνη και οδήγησε σε υψηλότερη αρχική συγκέντρωση πρωτεϊνών C_0 .

Ως γνωστών, οι πρωτεΐνες αποτελούν δομικά συστατικά όλων των μεμβρανών που υπάρχουν μέσα στο κύτταρο. Η εφαρμογή της πίεσης προκαλεί διαπερατότητα της κυτταρικών μεμβρανών λόγω μηχανικής διάρρηξης. Η τελική συγκέντρωση των πρωτεϊνών C_f επηρεάστηκε επίσης από την εφαρμοζόμενη πίεση. Όσον αφορά τα δείγματα που υποβλήθηκαν σε επεξεργασία στα 100 MPa και στα 200 MPa κάτω από 10 min, δεν υπήρχαν σημαντικές επιδράσεις ($p>0,05$) στην τελική συγκέντρωση πρωτεΐνης C_f .

Πίνακας 6.55: Παράμετροι του κλασματικού μοντέλου 1ης τάξης (Εξ. 45), η αρχική συγκέντρωση C_0 , η τελική συγκέντρωση C_f , η σταθερά του ρυθμού αύξησης της συγκέντρωσης k στις διάφορες συνθήκες επεξεργασίας με ΥΠ για τη εκχύλιση των πρωτεϊνών.

| Συνθήκες επεξεργασίας με ΥΠ | Παράμετροι | | | |
|---|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|--------|
| | C_0 (mg/L) | C_f (mg/L) | k (s ⁻¹) | R^2 |
| Συμβ. επεξεργασμένο (Βύθιση στο διαλύτη 40 min) | 1783.31±44.14 ^a | 3610.76±62.43 ^{bc} | 0.0526±0.017 ^a | 0.9239 |
| 100 MPa – 0 min | 2286.45±95.35 ^b | 3152.45±93.43 ^a | 0.0738±0.029 ^a | 0.8855 |
| 100 MPa – 10 min | 2928.73±74.86 ^c | 3702.17±88.71 ^c | 0.0749±0.023 ^a | 0.9507 |
| 100 MPa – 20 min | 2895.37±79.58 ^c | 3508.37±90.18 ^b | 0.1022±0.038 ^a | 0.9205 |
| 100 MPa – 40 min | 3341.83±59.58 ^d | 3766.04±71.82 ^c | 0.0709±0.033 ^a | 0.8997 |
| Συμβ. επεξεργασμένο (Βύθιση στο διαλύτη 30 min) | 1341.13±4514 ^a | 2525.53±32.43 ^a | 0.0855±0.019 ^a | 0.9239 |
| 200 MPa – 0 min | 2169.65±52.35 ^b | 3184.68±61.43 ^b | 0.0634±0.059 ^a | 0.9855 |
| 200 MPa – 10 min | 2305.56±96.86 ^c | 3318.24±88.71 ^c | 0.0956±0.033 ^a | 0.9507 |
| 200 MPa – 20 min | 3021.65±29.58 ^d | 4323.32±90.18 ^d | 0.0298±0.028 ^a | 0.9205 |
| 200 MPa – 30 min | 3135.33±32.58 ^e | 4258.69±71.82 ^d | 0.0548±0.013 ^a | 0.8997 |
| Συμβ. επεξεργασμένο (Βύθιση στο διαλύτη 20 min) | 961.65±26.71 ^a | 2007.26±48.83 ^a | 0.0614±0.0244 ^a | 0.8590 |
| 400 MPa – 0 min | 1236.59±45.35 ^b | 2234.97±6.39 ^b | 0.0403±0.0302 ^a | 0.8735 |
| 400 MPa – 5 min | 1262.03±69.33 ^b | 2255.67±75.73 ^b | 0.0769±0.0394 ^a | 0.9863 |
| 400 MPa – 10 min | 1502.08±6558 ^c | 2182.37±71.18 ^b | 0.4512±0.0200 ^c | 0.9576 |
| 400 MPa – 20 min | 1941.79±15.9 ^d | 2602.79±18.16 ^c | 0.2533±0.010 ^b | 0.9080 |
| Συμβ. επεξεργασμένο (Βύθιση στο διαλύτη 15 min) | 1155.86±73.18 ^a | 2540.23 ±32.56 ^a | 0.0216±0.0092 ^a | 0.9801 |
| 600 MPa – 0 min | 1246.22±72.23 ^a | 2591.90±24.22 ^a | 0.0512±0.0113 ^a | 0.9814 |
| 600 MPa – 5 min | 1617.54±56.94 ^b | 2657.52±94.56 ^b | 0.0318±0.0085 ^a | 0.9873 |
| 600 MPa – 10 min | 1899.91±70.50 ^c | 2784.67±7762 ^c | 0.0217±0.0136 ^a | 0.8632 |
| 600 MPa – 15 min | 2019.38±72.05 ^d | 3015.88±46.55 ^c | 0.0185±0.0406 ^a | 0.8012 |

± αντιπροσωπεύει το τυπικό σφάλμα της μη γραμμικής παλινδρόμησης όπως υπολογίστηκε από την Εξ. 45. Τα γράμματα στον εκθέτη δηλώνουν τη στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0.05$) μεταξύ των επεξεργασμένων δειγμάτων με ΥΠ, και σε σύγκριση με το συμβατικά επεξεργασμένο

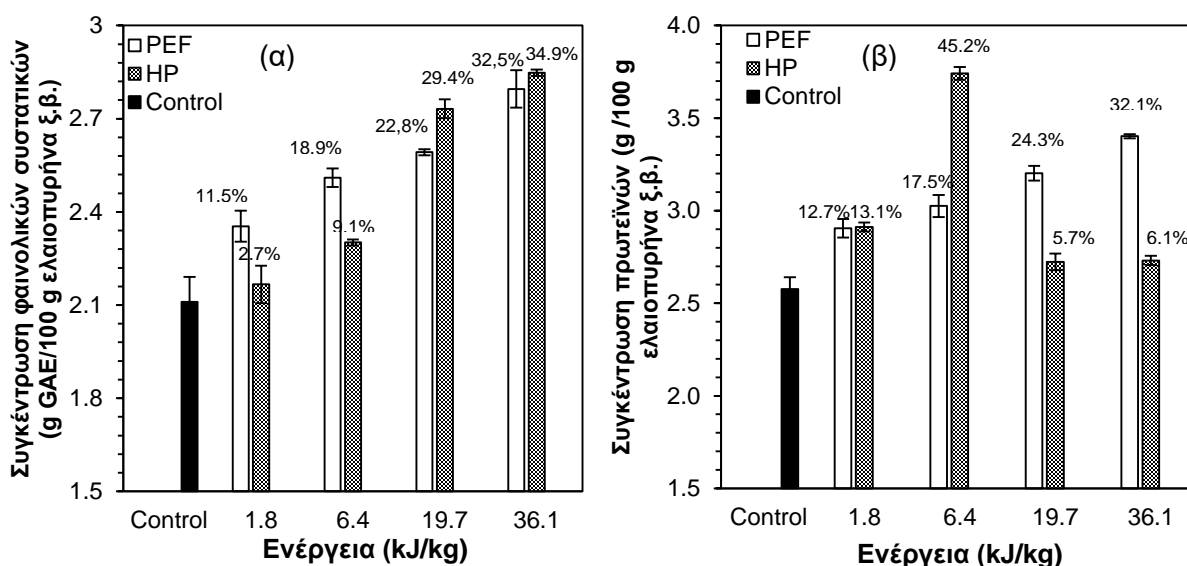
Παρόλα αυτά, υπήρξε σημαντική επίδραση ($p < 0,05$) στην τελική συγκέντρωση πρωτεϊνών C_f των δειγμάτων που υποβλήθηκαν σε πίεση με 200 MPa για περισσότερο από 10 min. Η υψηλότερη τελική συγκέντρωση πρωτεϊνών (4323 mg/L) εκχυλίστηκε από τον ελαιοπυρήνα στα 200 MPa για 20 min (6,41 kJ/kg) (αύξηση 23% σε σύγκριση με το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα). Επιπλέον, η συγκέντρωση των πρωτεϊνών στα εκχυλίσματα μειώθηκε, όταν οι εφαρμοζόμενες πιέσεις ήταν πάνω από 400 MPa, λόγω της μετουσίωσης τους. Η υψηλότερη αρχική συγκέντρωση C_0 αυτών των εκχυλισμάτων ήταν 1941 mg/L και 2019 mg/L για 400 και 600 MPa αντίστοιχα. Αυτές οι συγκεντρώσεις πρωτεϊνών θεωρήθηκαν χαμηλές σε σύγκριση με αυτές που απομονώθηκαν από τα δείγματα με ΥΠ με πιέσεις μέχρι 200 MPa. Τα δείγματα που υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με ΥΠ στα 200 MPa για 20 min, η αρχική περιεκτικότητα των πρωτεϊνών C_0 ήταν 3021 mg/L και η αντίστοιχη τελική τιμή ήταν 4323 mg/L, οι οποίες ήταν δυο και μιάμιση φορά μεγαλύτερες σε σχέση με τις αντίστοιχες συγκεντρώσεις των πρωτεϊνών στο συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα.

Στη βιβλιογραφία η εκχύλιση υποβοηθούμενη με ΥΠ πρωτεϊνών από ελαιοπυρήνα δεν έχει μελετηθεί. Παρόλ' αυτά, η διεργασία της ΥΠ έχει χρησιμοποιηθεί από ερευνητές για την εκχύλιση πρωτεϊνών από κύτταρα. Οι Jung et al. (2009) εκχύλισαν έως και 82% περισσότερο πρωτεΐνες

από νιφάδες σόγιας χρησιμοποιώντας τη διεργασία της ΥΠ (500 MPa για 15 min) ως προεπεξεργασία σε συνδυασμό με ένζυμα πριν τη συμβατική εκχύλιση.

6.4.6. Σύγκριση της συμβατικής εκχύλισης και της εκχύλισης υποβοηθούμενης με ΠΗΠ και ΥΠ ως προς τη συγκέντρωση των εκχυλιζόμενων ενδοκυτταρικών συστατικών.

Προκειμένου να αξιολογηθεί η αποτελεσματικότητα της μεθόδου της εκχύλισης υποβοηθούμενης με ΠΗΠ και ΥΠ, και να συγκριθούν με τη συμβατική εκχύλιση όσον αφορά το ολικό περιεχόμενο φαινολικών συστατικών και των πρωτεϊνών που εκχυλίστηκαν, επιλέχθηκαν τέσσερις συνθήκες για κάθε προεπεξεργασία με παραπλήσια καταναλισκόμενη ενέργεια (1,8, 6,4, 19,7, 36,1 kJ/kg)..



Σχήμα 6.52 Συγκέντρωση των (α) ολικών φαινολικών ενώσεων (mg GAE/L), (β) ολικών πρωτεϊνών (mg/L) των εκχυλισμάτων του συμβατικά επεξεργασμένου ελαιοπυρήνα και του ελαιοπυρήνα που είχε προεπεξεργαστεί με ΠΗΠ και ΥΠ συναρτήσει της ενέργειας που καταναλώθηκε σε κάθε προεπεξεργασία μετά από 60 min εκχύλισης στους 25 °C και 50% συγκέντρωση αιθανόλης. Οι ράβδοι σφάλματος αντιπροσωπεύουν τυπική απόκλιση από πολλές επεξεργασίες και μετρήσεις και οι αριθμοί την αύξηση (%) της συγκέντρωσης σε φαινολικά ή πρωτεΐνες του κάθε δείγματος συγκριτικά με εκχύλιση που έχει προκύψει με συμβατική εκχύλιση.

Τα διαγράμματα του Σχήματος 6.52 δείχνουν τη συγκέντρωση των ενδοκυτταρικών συστατικών στο συμβατικά επεξεργασμένο, προεπεξεργασμένο με ΠΗΠ και ΥΠ εκχύλιση από ελαιοπυρήνα ύστερα από 30 min εκχύλισης. Παρατηρείται πως και οι δυο προεπεξεργασίες αύξησαν σημαντικά την απόδοση της εκχύλισης των ενδοκυτταρικών συστατικών. Η προεπεξεργασία με ΠΗΠ αποδείχτηκε πιο αποτελεσματική στην ανάκτηση φαινολικών ενώσεων σε σχέση με την προεπεξεργασία με ΥΠ σε χαμηλές ενέργειες (<6,4 kJ/kg), καθώς στις εντονότερες συνθήκες (υψηλότερη τιμή ενέργειας) τα προεπεξεργασμένα με ΥΠ δείγματα είχαν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις φαινολικών συστατικών σε σχέση με τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ δείγματα.

Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα από τις τρεις διαφορετικές μεθόδους, βρέθηκε ότι το ολικό περιεχόμενο σε φαινολικά συστατικά του εκχυλίσματος που προέκυψε με χρήση των ΠΗΠ και ΥΠ αυξήθηκε κατά 32 και 34% του αντίστοιχου που προέκυψε με τη συμβατική εκχύλιση (2,1 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β). Επίσης τα εκχυλίσματα που προέκυψαν με τα ΠΗΠ και την ΥΠ εμφάνισαν 21% (3,44 mMTE) και 15% (3,28 mMTE) μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση σε σχέση με το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα (2,84 mMTE). Ως εκ τούτου, η μέθοδος εκχύλισης υποβοηθούμενη από ΠΗΠ και ΥΠ οδηγεί σε αύξηση της απόδοσης της εκχύλισης με χαμηλή κατανάλωση ενέργειας και ταυτόχρονη δημιουργία εκχυλισμάτων που είναι πλούσια σε βιοδραστικές ενώσεις και πρωτεΐνες και έχουν υψηλή αντιοξειδωτική δράση.

Ως προς την ανάκτηση των πρωτεϊνών από ελαιοπυρήνα, παρόμοια τάση παρατηρήθηκε όπως και στην εκχύλιση των φαινολικών ενώσεων. Εδώ η προεπεξεργασία με ΥΠ, αύξησε σημαντικά (έως και κατά 45%) τη συγκέντρωση των πρωτεϊνών μέχρι τη συνθήκη που αντιστοιχεί στα 6,41 kJ/kg, εφόσον μετά η συγκέντρωση ήταν σχεδόν ίση με του συμβατικά επεξεργασμένου από τη συμβατική εκχύλιση (2,6 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.). Αντίθετα, τα ΠΗΠ με αύξηση της ενέργειας (πιο έντονες συνθήκες) εμπλούτισαν το εκχύλισμα σε πρωτεΐνες ως και 32% περισσότερο (3,4 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β) από ότι με τη συμβατική εκχύλιση.

6.4.7. Σύγκριση της συμβατικής εκχύλισης και της εκχύλισης υποβοηθούμενης με ΠΗΠ και ΥΠ ως προς τον απαιτούμενο χρόνο εκχύλισης t_{98} .

Ένας άλλος τρόπος για να γίνει σύγκριση της συμβατικής εκχύλισης και της εκχύλισης υποβοηθούμενης με ΠΗΠ και ΥΠ είναι ο απαιτούμενος χρόνος εκχύλισης t_{98} . Ο απαιτούμενος χρόνος εκχύλισης t_{98} είναι ο χρόνος όπου τα επεξεργασμένα με ΠΗΠ ή ΥΠ δείγματα θα αποκτήσουν το 98% της συγκέντρωσης φαινολικών συστατικών ή πρωτεϊνών που έχει το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα στο τέλος των 60 min της συμβατικής εκχύλισης. Ο χρόνος αυτός περιγράφει την επίδραση της προκατεργασίας με ΠΗΠ ή ΥΠ στην εκχύλιση των ενδοκυτταρικών ενώσεων. Υποδεικνύει εάν ο χρόνος της εκχύλισης θα μπορούσε να μειωθεί επιτυγχάνοντας την ίδια συγκέντρωση ενδοκυτταρικών ενώσεων όπως το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα. Ο απαιτούμενος χρόνος t_{98} υπολογίστηκε με την Εξ. 47, χρησιμοποιώντας παραμέτρους C_0 και C_f της Εξ. 45 για τις εκχυλιζόμενες φαινολικές ενώσεις και πρωτεΐνες για την κάθε προεπεξεργασία.

Η παράμετρος αυτή αντικατοπτρίζει την επίδραση των ΠΗΠ και της ΥΠ στην εκχύλιση ενδοκυτταρικών συστατικών από ελαιοπυρήνα, επιτρέποντας στο να μπορεί να γίνει σύγκριση μεταξύ των δύο προεπεξεργασιών και με τη συμβατική εκχύλιση. Μικρές τιμές αυτής της παραμέτρου σήμαινε πως ο ρυθμός της εκχύλισης ήταν υψηλός, οδηγώντας στο συμπέρασμα,

για το ποια διεργασία είχε μεγαλύτερη επίδραση και υποβλήθηκε εντονότερα τη συμβατική εκχύλιση.

Οι απαιτούμενοι χρόνοι εκχύλισης t_{98} για όλες τις μελετηθείσες συνθήκες των ΠΗΠ υπολογίστηκαν και παρουσιάζονται στον πίνακα 6.56.

Πίνακας 6.56: Απαιτούμενος χρόνος εκχύλισης t_{98} (min) για τα προεπεξεργασμένα δείγματα με ΠΗΠ όταν θα αποκτήσουν το 98% της συγκέντρωσης που έχει το συμβατικά επεξεργασμένο στο τέλος της εκχύλισης των 60 min για τις διάφορες συνθήκες με ΠΗΠ.

| Συνθήκες επεξεργασίας | t_{98} φαινολικών συστατικών (min) | t_{98} πρωτεϊνών (min) |
|-------------------------|--------------------------------------|--------------------------|
| Συμβατικά επεξεργασμένο | 60 ^b | 60 ^c |
| 1 kV/cm – 1500 pulses | 27.67±2.76 ^a | 18.92±10.30 ^b |
| 1 kV/cm – 3000 pulses | 16.77±8.77 ^a | 7.21±1.14 ^a |
| 1 kV/cm – 6000 pulses | 11.68±4.98 ^a | 2.23±0.07 ^a |
| 3 kV/cm – 800 pulses | 11.13±1.68 ^a | 5.80±0.49 ^c |
| 3 kV/cm – 2000 pulses | 3.82±2.36 ^a | 0.00 ^b |
| 3 kV/cm – 3000 pulses | 1.16±1.04 ^a | 0.00 ^a |
| 5 kV/cm – 500 pulses | 9.76±2.65 ^b | 4.94±2.36 ^b |
| 5 kV/cm – 1500 pulses | 5.18±2.32 ^b | 0.00 ^a |
| 5 kV/cm – 2500 pulses | 0.00 ^a | 0.00 ^a |
| 6.5 kV/cm – 200 pulses | 5.59±1.07 ^c | 5.21±2.03 ^b |
| 6.5 kV/cm – 500 pulses | 3.17±1.28 ^b | 2.29±1.92 ^b |
| 6.5 kV/cm – 1500 pulses | 0.00 ^a | 0.00 ^a |

± αντιπροσωπεύει το τυπικό σφάλμα της μη γραμμικής παλινδρόμησης όπως υπολογίστηκε από την Εξ. 47. Τα γράμματα στον εκθέτη δηλώνουν τη στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0.05$) μεταξύ των επεξεργασμένων δειγμάτων με ΠΗΠ, και σε σύγκριση με το συμβατικά επεξεργασμένο

Η επίδραση των ΠΗΠ στην εκχύλιση των ενδοκυτταρικών ενώσεων από ελαιοπυρήνα αντικατοπτρίζεται και από το χρόνο εκχύλισης t_{98} καθώς δείχνει αν αυτή η προεπεξεργασία θα μπορούσε πιθανώς να χρησιμοποιηθεί για να μειώσει το συνολικό χρόνο συμβατικής εκχύλισης πετυχαίνοντας ταυτόχρονα εκχυλίσματα εξίσου πλούσια σε ενδοκυτταρικά συστατικά. Παρατηρούμε ότι η προεπεξεργασία με ΠΗΠ μείωσε σημαντικά τους χρόνους εκχύλισης και των δυο ενδοκυτταρικών συστατικών. Στην πιο ήπια συνθήκη με ΠΗΠ, η οποία αντιστοιχεί σε ενέργεια κάτω από 1 kJ/kg, ο χρόνος εκχύλισης των φαινολικών ενώσεων και των πρωτεϊνών μειώθηκε στο μισό (27,5 min) και στο 1/3 (18 min), αντίστοιχα σε σχέση με το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα (60 min συμβατικής εκχύλισης). Είναι φανερό επίσης, ότι σε ένταση ηλεκτρικού πεδίου 3 kV/cm και πάνω, ο χρόνος εκχύλισης των φαινολικών ενώσεων μειώθηκε πάνω από 70% (κάτω από 12 min εκχύλισης) σε σχέση με τα 60 min εκχύλισης του συμβατικά επεξεργασμένου δείγματος. Στις πιο έντονες συνθήκες με ΠΗΠ, ο χρόνος εκχύλισης τόσο των φαινολικών ενώσεων όσο και των πρωτεϊνών ήταν λιγότερο από 5 min και σε κάποιες περιπτώσεις μηδενίστηκε. Πρακτικά αυτό σημαίνει, ότι τα εκχυλίσματα είχαν την επιθυμητή συγκέντρωση σε χρόνο εκχύλισης $t=0$, δηλαδή αμέσως μετά την επεξεργασία με ΠΗΠ χωρίς να πραγματοποιηθεί η συμβατική εκχύλιση. Όταν σε ένα τρώφιμο εφαρμοστούν ισχυρές εντάσεις ηλεκτρικού πεδίου, η

ένισχυση της μεταφοράς μάζας από το εσωτερικό του κυττάρου προς τα έξω μπορεί να είναι τόσο έντονη που να προκαλέσει απότομη αύξηση της συγκέντρωσης των εκχυλιζόμενων συστατικών.

Στη συνέχεια υπολογίστηκαν οι απαιτούμενοι χρόνοι εκχύλισης t_{98} (Εξ. 47) για όλες τις μελετηθείσες συνθήκες των ΥΠ και παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.57.

Πίνακας 6.57: Απαιτούμενος χρόνος εκχύλισης t_{98} (min) για τα προεπεξεργασμένα δείγματα με ΠΗΠ όταν θα αποκτήσουν το 98% της συγκέντρωσης που έχει το συμβατικά επεξεργασμένο στο τέλος της εκχύλισης των 60 min για τις διάφορες συνθήκες με ΥΠ.

| Συνθήκες επεξεργασίας | t_{98} φαινολικών συστατικών (min) | t_{98} πρωτεϊνών (min) |
|-------------------------|--------------------------------------|--------------------------|
| Συμβατικά επεξεργασμένο | 60 ^b | 60 ^c |
| 100 MPa – 0 min | 15.09±4.53 ^a | 27.69±1.63 ^b |
| 100 MPa – 10 min | 6.97±1.15 ^b | 8.75±1.71 ^a |
| 100 MPa – 20 min | 5.45±1.32 ^b | 2.45±0.95 ^a |
| 100 MPa – 40 min | 0.19±0.01 ^c | 1.05 ±0.78 ^a |
| 200 MPa – 0 min | 11.57±3.32 ^c | 5.64±0.98 ^d |
| 200 MPa – 10 min | 5.38±0.86 ^b | 1.83±0.98 ^c |
| 200 MPa – 20 min | 4.95±2.99 ^b | 0 ^b |
| 200 MPa – 30 min | 0.45±0.42 ^a | 0 ^a |
| 400 MPa – 0 min | 7.59±0.92 ^c | 51.06±6.54 ^c |
| 400 MPa – 5 min | 6.81±0.92 ^c | 45.25±9.14 ^b |
| 400 MPa – 10 min | 2.35±0.25 ^b | 37.69±0.06 ^a |
| 400 MPa – 20 min | 1.98±0.11 ^a | 35.22±0.32 ^a |
| 600 MPa – 0 min | 6.03±2.92 ^a | 52.66±6.58 ^b |
| 600 MPa – 5 min | 4.07±1.67 ^a | 51.92±5.18 ^{ab} |
| 600 MPa – 10 min | 1.28±0.29 ^a | 45.85±7.90 ^{ab} |
| 600 MPa – 15 min | 0.33±0.09 ^a | 43.04±1.49 ^a |

± αντιπροσωπεύει το τυπικό σφάλμα της μη γραμμικής παλινδρόμησης όπως υπολογίστηκε από την Εξ. 47. Τα γράμματα στον εκθέτη δηλώνουν τη στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0.05$) μεταξύ των επεξεργασμένων δειγμάτων με ΥΠ, και σε σύγκριση με το συμβατικά επεξεργασμένο

Η επίδραση της ΥΠ αντικατοπτρίζεται από το χρόνο εκχύλισης t_{98} καθώς δείχνει αν αυτή η προεπεξεργασία θα μπορούσε πιθανώς να χρησιμοποιηθεί για να μειώσει το συνολικό χρόνο συμβατικής εκχύλισης πετυχαίνοντας ταυτόχρονα εκχυλίσματα εξίσου πλούσια σε ενδοκυτταρικά συστατικά. Παρατηρούμε ότι η προεπεξεργασία με ΥΠ μείωσε σημαντικά τους χρόνους εκχύλισης των φαινολικών συστατικών σε όλες τις μελετηθείσες συνθήκες.

Στην πιο ήπια συνθήκη με ΥΠ, η οποία αντιστοιχεί στα 100 MPa, ο χρόνος εκχύλισης των φαινολικών ενώσεων και των πρωτεϊνών μειώθηκε στο 1/4 (15 min) και στο 1/2 (28 min), αντίστοιχα σε σχέση με το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα (60 min συμβατικής εκχύλισης). Επίσης, παρατηρούμε ότι αυξάνοντας την εφαρμοζόμενη πίεση και τον χρόνο επεξεργασίας, ο απαιτούμενος χρόνος εκχύλισης t_{98} των φαινολικών ενώσεων μειώνεται σημαντικά, φτάνοντας στη πιο έντονη συνθήκη των 600 MPa να είναι σχεδόν μηδενικός. Αυτό πρακτικά σημαίνει, ότι τα εκχυλίσματα είχαν την επιθυμητή συγκέντρωση αμέσως μετά την επεξεργασία με ΥΠ χωρίς να πραγματοποιηθεί περαιτέρω εκχύλιση. Είναι επίσης φανερό ότι στα 200 MPa, ο απαιτούμενος χρόνος εκχύλισης των πρωτεϊνών μειώθηκε πάνω από 90% (κάτω από 5 min εκχύλισης) σε

σχέση με τα 60 min εκχύλισης του συμβατικά επεξεργασμένου δείγματος. Σε πιέσεις πάνω από 200 MPa, ο χρόνος εκχύλισης των πρωτεϊνών έμεινα πρακτικά σταθερός μεταξύ των συνθηκών επεξεργασίας με ΥΠ και όχι με σημαντικές διαφορές ($p > 0.05$) από το αντίστοιχο συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα στα 60 min εκχύλισης. Αυτό πρακτικά επιβεβαιώνει ότι η ΥΠ σε πιέσεις μεγαλύτερες των 400 MPa προκαλεί μετουσίωση των πρωτεϊνών του ελαιοπυρήνα. Παρόλο που τα φαινόμενα μεταφοράς μάζας ενισχύονται με την αύξηση της πίεσης, η τελική συγκέντρωση των πρωτεϊνών σε όλες τις εφαρμοζόμενες πιέσεις πάνω από 400 MPa χρειάζονται περίπου τον ίδιο χρόνο για να εκχυλιστούν όπως το συμβατικά επεξεργασμένο με τη συμβατική εκχύλιση.

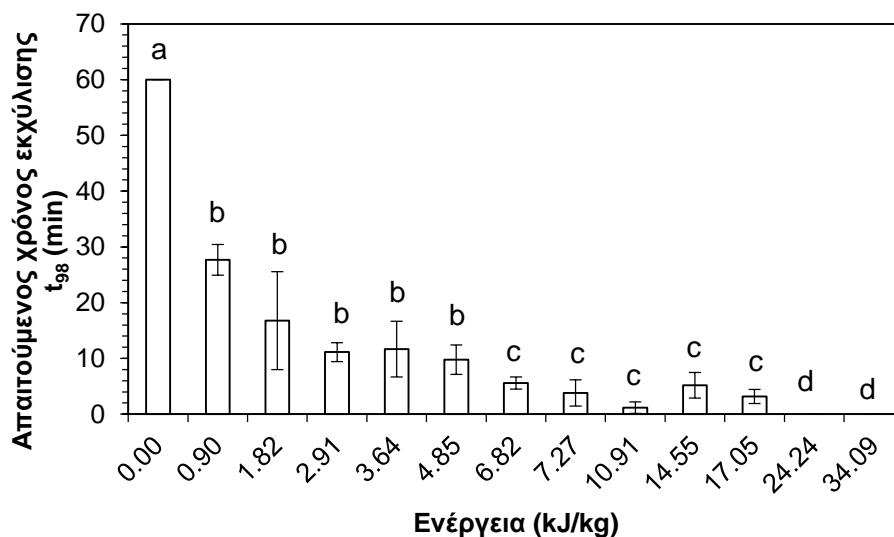
Για να συγκρίνουμε τις δυο προεπεξεργασίες ως προς τους απαιτούμενους χρόνους εκχύλισης t_{98} μεταξύ τους αλλά και με τη συμβατική εκχύλιση του συμβατικά επεξεργασμένου δείγματος, παρακάτω παρουσιάζονται τα διαγράμματα που απεικονίζουν τους απαιτούμενους χρόνους εκχύλισης για κάθε προεπεξεργασία. Για κάθε συνθήκη με ΠΗΠ επιλέχθηκε το ενδοκυτταρικό συστατικό (φαινολικές ενώσεις ή πρωτεΐνες) με το μεγαλύτερο απαιτούμενο χρόνο εκχύλισης t_{98} (Σχήμα 6.53).

Είναι φανερό πως οι εντονότερες συνθήκες επεξεργασίας (υψηλότερη τιμή ενέργειας) με ΠΗΠ προκάλεσαν μεγαλύτερη μείωση του απαιτούμενου χρόνου εκχύλισης των ενδοκυτταρικών συστατικών. Τη μέγιστη μείωση προκάλεσαν οι συνθήκες με την υψηλότερη τιμή ενέργειας, δηλαδή 24,24 kJ/Kg και 34,09 kJ/Kg, που αντιστοιχούν σε συνθήκες επεξεργασίας με 5 kV/cm-2500 παλμοί και 6.5 kV/cm-1500 παλμοί, αντίστοιχα.

Η επεξεργασία με ΠΗΠ στις δύο αυτές εντονότερες συνθήκες φαίνεται να οδήγησαν σε χρόνο εκχύλισης με αριθμητική τιμή μικρότερη του μηδενός. Το αποτέλεσμα αυτό σημαίνει πως τα επεξεργασμένα με ΠΗΠ δείγματα σε αυτές τις συνθήκες απέδωσαν στα εκχυλίσματα την επιθυμητή συγκέντρωση πριν το χρόνο $t=0$ της εκχύλισης, δηλαδή αμέσως μετά την επεξεργασία με ΠΗΠ. Δηλαδή τα εκχυλίσματα πρακτικά εμπλουτίστηκαν με βιοδραστικές ενώσεις και πρωτεΐνες μόνο λόγω της προεπεξεργασίας με ΠΗΠ και χωρίς περαιτέρω εκχύλιση. Θα μπορούσαμε να θεωρήσουμε πως μία από τις βέλτιστες συνθήκες με ΠΗΠ είναι εκείνη που από τη μία έχει πολύ μικρό απαιτούμενο χρόνο εκχύλισης t_{98} αλλά ταυτόχρονα και όσο το δυνατόν χαμηλότερη καταναλισκόμενη ενέργεια λόγω της προεπεξεργασίας με ΠΗΠ. Τέτοιες συνθήκες με ΠΗΠ αντιστοιχούν σε ενέργειες από 6,82-10,91 kJ/Kg, όπου ο απαιτούμενος χρόνος εκχύλισης t_{98} υπολογίστηκε κάτω από 6 min.

Σε αντίθεση με την προεπεξεργασία των ΠΗΠ, στην προεπεξεργασία με ΥΠ ο χρόνος επεξεργασίας δεν θεωρείται αμελητέος. Στην προεπεξεργασία με ΠΗΠ, οι χρόνοι επεξεργασίας

είναι της τάξεως των μs-ms, ενώ στην προεπεξεργασία με ΥΠ, οι χρόνοι είναι της τάξεως των min.

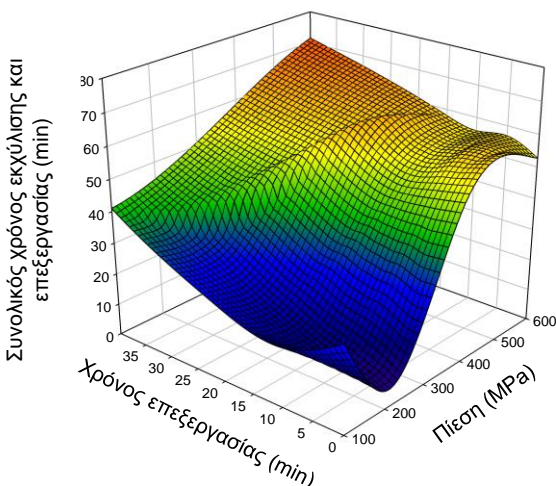


Σχήμα 6.53 Απαιτούμενος χρόνος εκχύλισης t_{98} (min) για τα προεπεξεργασμένα δείγματα με ΠΗΠ όταν θα αποκτήσουν το 98% της συγκέντρωσης που έχει το συμβατικά επεξεργασμένο στο τέλος της εκχύλισης των 60 min για τις διάφορες συνθήκες με ΠΗΠ εκφρασμένες ως προς την καταναλισκόμενη ενέργεια (kJ/kg). Οι ράβδοι σφάλματος αντιπροσωπεύουν τυπική απόκλιση με βάση τη στατιστική μεταβολή στις κινητικές παραμέτρους της Εξ. 47 - Ανάλυση παλινδρόμησης. Τα διάφορα γράμματα δείχνουν τις σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις συνθήκες ($p < 0,05$) (διαφορές μεταξύ των συνθηκών με ΠΗΠ).

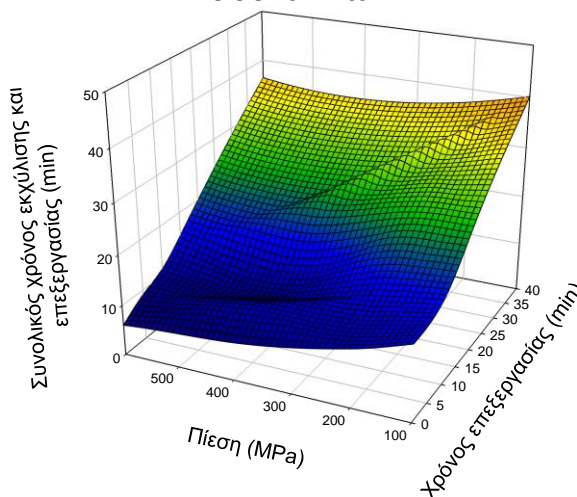
Στο σχήμα 6.54 παρουσιάζονται οι συνολικοί χρόνοι (χρόνος επεξεργασίας και εκχύλισης) για την προεπεξεργασία με ΥΠ. Οι πιο έντονες συνθήκες με ΥΠ οδήγησαν σε μείωση του απαιτούμενου χρόνου εκχύλισης t_{98} για την ανάκτηση των φαινολικών συστατικών, ωστόσο το t_{98} για την ανάκτηση των πρωτεϊνών μειώθηκε για πίεση μέχρι τα 200 MPa. Θα μπορούσαμε να θεωρήσουμε πως μία βέλτιστη συνθήκη με ΥΠ είναι εκείνη που από τη μία έχει πολύ μικρό απαιτούμενο χρόνο εκχύλισης t_{98} και για τα δυο ενδοκυτταρικά συστατικά αλλά ταυτόχρονα και όσο το δυνατόν ηπιότερη συνθήκη της επεξεργασίας με ΥΠ. Με δεδομένο αυτό, πιέσεις πάνω από 400 MPa δεν θεωρούνται κατάλληλες για να υποβοηθήσουν τη συμβατική εκχύλιση λόγω της μετουσίωσης των πρωτεϊνών που λαμβάνει χώρα. Αν ο στόχος της εκχύλισης ήταν να εκχυλιστούν μόνο οι φαινολικές ενώσεις από τον ελαιοπυρήνα, τότε θα μπορούσαν να επιλεγούν και εντονότερες συνθήκες (>400 MPa). Οι συνθήκες με ΥΠ όπου ο συνολικός χρόνος εκχύλισης και επεξεργασίας ήταν ο χαμηλότερος και ίσος με 12,3 min (47,7 min μικρότερο σε σύγκριση με το μη επεξεργασμένο) ήταν τα 200 MPa για 0 min. Αυτή η συνθήκη αντιστοιχεί σε καταναλισκόμενη ενέργεια 6,41 kJ/Kg. Η αντίστοιχη συνθήκη με ΠΗΠ, όπου η καταναλισκόμενη ενέργεια είναι περίπου ίση με 6,82 kJ/Kg (σχεδόν ίση με την αντίστοιχη ενέργεια της ΥΠ-6,41

kJ/Kg), ο απαιτούμενος χρόνος εκχύλισης ήταν περίπου 6 min. Επομένως, η προκατεργασία με ΠΗΠ θα μπορούσε να θεωρηθεί ελαφρώς πιο αποτελεσματική ως προς την ανάκτηση ενδοκυτταρικών συστατικών από ελαιοπυρήνα, μειώνοντας τον απαιτούμενο χρόνο εκχύλισης κατά 54 min σε σχέση με το συμβατικά επεξεργασμένο (60 min της συμβατικής εκχύλισης) ενώ η προεπεξεργασία με ΥΠ τον μείωσε κατά 48 min.

(α) Συγκέντρωση πρωτεϊνών



(β) Συγκέντρωση φαινολικών συστατικών

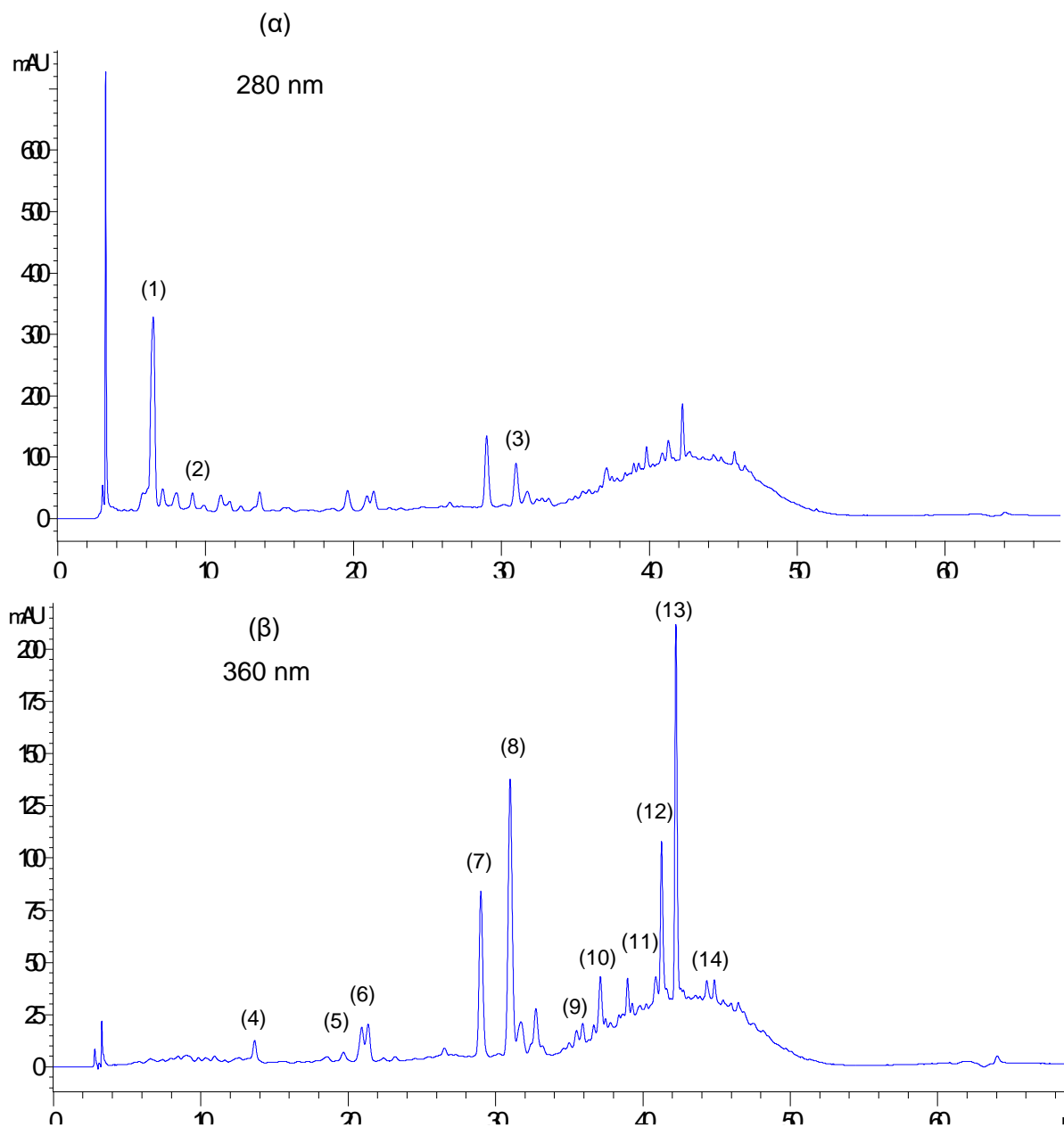


Σχήμα 6.54 Συνολικός χρόνος εκχύλισης (χρόνος επεξεργασίας με ΥΠ και απαιτούμενος χρόνος εκχύλισης t_{98} (min)) για τα προεπεξεργασμένα δείγματα με ΥΠ όταν θα αποκτήσουν το 98% της συγκέντρωσης (α) των φαινολικών ενώσεων και (β) των πρωτεϊνών που έχει το συμβατικά επεξεργασμένο στο τέλος της εκχύλισης των 60 min) για τις διάφορες συνθήκες με ΥΠ. Οι ράβδοι σφάλματος αντιπροσωπεύουν τυπική απόκλιση με βάση τη στατιστική μεταβολή στις κινητικές παραμέτρους της Εξ.47 - Ανάλυση παλινδρόμησης. Τα διάφορα γράμματα δείχνουν τις σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις συνθήκες ($p < 0,05$) (διαφορές μεταξύ των συνθηκών με ΥΠ).

6.4.8. Ανάλυση των εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα σε επιμέρους φαινολικές ενώσεις με HPLC με συμβατική εκχύλιση

Στη συνέχεια, προσδιορίστηκαν τα επιμέρους φαινολικά συστατικά από τα εκχυλίσματα του ελαιοπυρήνα με τη συμβατική εκχύλιση. Οι συνθήκες της εκχύλισης ήταν οι βέλτιστες που βρέθηκαν σε προηγούμενη ενότητα, στους 25 °C με 50% συγκέντρωση αιθανόλης για 60 min.

Τα χρωματογραφήματα που προέκυψαν από την HPLC στα 280 και 360 nm των φαινολικών ενώσεων των εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα από τη συμβατική εκχύλιση με χρήση διαλύτη συγκέντρωσης σε αιθανόλη 50% και θερμοκρασία 25 °C του συμβατικά επεξεργασμένου δείγματος σε διάφορους χρόνους εκχύλισης παρουσιάζονται στο Σχήμα 6.55.

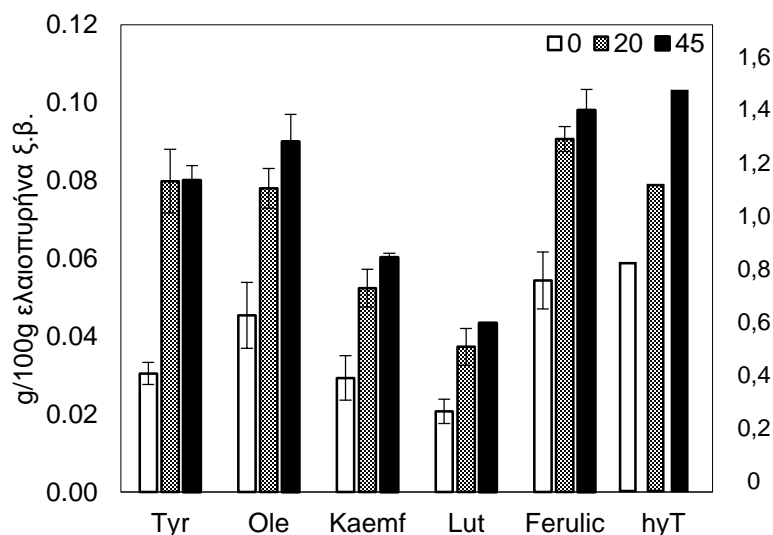


Σχήμα 6.55 Χρωματογράφημα που προέκυψε από την HPLC των μεμονωμένων φαινολικών συστατικών του ελαιόπυρηνά από τη συμβατική εκχύλιση με χρήση διαλύτη συγκέντρωσης σε αιθανόλη 50% και θερμοκρασία 25 °C του συμβατικά επεξεργασμένου δείγματος (α) στα 280 και (β) 360 nm.

Τα μεμονωμένα φαινολικά συστατικά που έχουν ταυτοποιηθεί ανήκουν σε τρεις κατηγορίες: φαινυλαιθανοειδή (τυροσόλη, υδροξυτυροσόλη, ελευρωπαΐνη), φαινυλοπροπανοειδή (καφεϊκό, φερουλικό, κουμαρικό, κινναμικό οξύ) και флаβονοειδή (καεμφερόλη, ρουτίνη, κουερσετίνη, λουτεολίνη, απιγενίνη). Οι κορυφές που ταυτοποιήθηκαν ήταν: (1) υδροξυτυροσόλη, (2) τυροσόλη, (3) ελευρωπαΐνη, (4) καφεϊκό οξύ, (5) π-κουμαρικό οξύ, (6) Άγνωστο I & II, (7)

φερουλικό οξύ, (8) καεμφερόλη, (9) ρουτίνη, (10) παράγωγο ελευρωπαΐνης, (11) κινναμικό οξύ, (12) κερκετίνη, (13) λουτεολίνη και (14) απιγενίνη.

Οι κυρίαρχες φαινολικές ενώσεις που βρέθηκαν σε μεγαλύτερη συγκέντρωση ήταν η υδροξυτυροσόλη, η τυροσόλη, η ελευρωπαΐνη, από τα φλαβονοειδή ήταν η καεμφερόλη και η λουτεολίνη ενώ από τα φαινολικά οξέα το φερουλικό οξύ. Στη σχήμα 6.56 παρουσιάζονται, τα κυρίαρχα μεμονωμένα φαινολικά συστατικά που ανακτήθηκαν από τον ελαιοπυρήνα σε διάφορους χρόνους εκχύλισης (0, 20 και 45 min) με συμβατική εκχύλιση.



Σχήμα 6.56 Συγκέντρωση των μεμονωμένων φαινολικών συστατικών (g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.) της υδροξυτυροσόλης (HyT), τυροσόλης (Tyr), ελευρωπαΐνης (Ole), καεμφερόλης (Kaemf), λουτεολίνης (Lut), φερουλικού οξέος (Ferulic) του ελαιοπυρήνα από τη συμβατική εκχύλιση με χρήση διαλύτη συγκέντρωσης σε αιθανόλη 50% και θερμοκρασία 25 °C του συμβατικά επεξεργασμένου δείγματος για χρόνους εκχύλισης 0, 20 και 45 min.

Η ανάκτηση των φαινολικών ενώσεων ενισχύθηκε σημαντικά με αύξηση του χρόνου εκχύλισης σε όλες τις περιπτώσεις των φαινολικών ενώσεων ($p < 0,05$). Στους μεγαλύτερους χρόνους εκχύλισης (45 min) δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) σε σχέση με τα 20 min χρόνο εκχύλισης. Η υδροξυτυροσόλη ήταν εκείνο το επιμέρους φαινολικό συστατικό με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση στο εκχύλισμα του ελαιοπυρήνα καθώς η συγκέντρωσή του έφτασε 1,4 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. μετά από 60 min εκχύλισης. Επιπλέον, πλούσια σε τυροσόλη, ελευρωπαΐνη και φερουλικό οξύ ήταν τα εκχυλίσματα του ελαιοπυρήνα, στα οποία υπολογίστηκαν συγκεντρώσεις ίσες με 0,08, 0,09 και 0,10 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β., αντίστοιχα για το κάθε ένα.

Τα είδη των επιμέρους φαινολικών συστατικών του ελαιοπυρήνα που προέκυψαν με την εκχύλιση στερεού υγρού έρχονται σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία (Cioffi et al., 2010; Chanioti et al. 2018, Servili et al., 1999; Peralbo-Molina et al., 2012), καθώς και άλλοι ερευνητές έχουν βρει αυτά τα

επιμέρους φαινορικά συστατικά σε ελαιοπυρήνα αλλά σε διαφορετικές συγκεντρώσεις, πράγμα αναμενόμενο καθώς τα κλάσματα του φαινολικού περιεχομένου εξαρτώνται από την ωριμότητα του καρπού, την ποικιλία της ελιάς καθώς επίσης και το σύστημα εξαγωγής ελαίου από το οποίο έχει προκύψει ο ελαιοπυρήνας. Οι Cioffi et al., (2010) ανέλυσαν ως προς τις επιμέρους φαινολικές ενώσεις εκχυλίσματα από ελαιοπυρήνα ποικιλίας *La Pera* και βρήκαν ότι περιείχε υδροξυτυροσόλη, τυροσόλη, ελευρωπαΐνη και καφεϊκό οξύ σε συγκεντρώσεις 10,4, 20,7, 83,0 και 13,5 mg/100 g, αντίστοιχα.

6.4.9. Αριστοποίηση της εκχύλισης υποβοηθούμενης με ΠΗΠ και ΥΠ των ολικών, και μεμονωμένων φαινολικών συστατικών από ελαιοπυρήνα.

Σκοπός αυτής της πειραματικής ενότητας ήταν η αριστοποίηση της εκχύλισης υποβοηθούμενης με ΠΗΠ και ΥΠ ως προς την εκχύλιση ολικών και μεμονωμένων φαινολικών συστατικών από ελαιοπυρήνα που προέκυψαν στα εκχυλίσματα, εφαρμόζοντας τη μεθοδολογία αποκριτικών επιφανειών (RSM). Ως εκ τούτου, εφαρμόστηκε ένας σχεδιασμός με δυο μεταβλητές τριών επιπέδων για την αριστοποίηση των συνθηκών της εκχύλισης υποβοηθούμενης από ΠΗΠ και ΥΠ, προκειμένου να ληφθεί η μέγιστη ανάκτηση σε φαινολικές ενώσεις και των επιμέρους κλασμάτων τους από τον ελαιοπυρήνα σε κάθε είδος εκχύλισης. Οι δύο ανεξάρτητες μεταβλητές που ορίστηκαν ήταν ο χρόνος εκχύλισης (X1) και η ένταση των συνθηκών με ΠΗΠ ή ΥΠ εκφρασμένη ως προς την προσφερόμενη ενέργεια (X2) και κάθε μεταβλητή ρυθμίστηκε σε τρία επίπεδα. Οι συγκεντρώσεις των φαινολικών ενώσεων (TPC) και των επιμέρους σημαντικότερων φαινολικών κλασμάτων των εκχυλισμάτων που προκύπτουν από τους τρεις διαφορετικούς χρόνους εκχύλισης (0, 20, 45 min) και για τις τρεις διαφορετικές εντάσεις συνθηκών με ΠΗΠ ή ΥΠ με βάση την προσφερόμενη ενέργεια (1,8 10,9 και 14,5 kJ/kg για τα ΠΗΠ και 1,8, 6,41 και 36,1 kJ/kg για την ΥΠ) φαίνονται στους Πίνακες 6.58 και 6.59. Σε προηγούμενη ενότητα διαπιστώθηκε ότι τα κυριότερα φαινορικά συστατικά που ανακτήθηκαν σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις από τον ελαιοπυρήνα ήταν η τυροσόλη (Tyr), η υδροξυτυροσόλη (Hyt), η ελευρωπαΐνη (Ole), η λουτεολίνη (Lut), καεμπεφερόλη (Kaemp) και το φερουλικό οξύ (Fer).

Για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ δείγματα, οι πειραματικές τιμές της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων κυμαίνονταν από 1,97 έως 3,24 g GAE/100 g ξ.β., για την υδροξυτυροσόλη από 1,02 έως 1,75 g/100 g ξ.β., για την τυροσόλη από 0,080 έως 0,181 g/100 g ξ.β., για την ελευρωπαΐνη από 0,063 έως 0,106 g/100 g ξ.β., για την καεμπεφερόλη από 0,041 έως 0,065 g/100 g ξ.β., για τη λουτεολίνη από 0,027 έως 0,056 g/100 g ξ.β., για το φερουλικό οξύ από 0,078 έως 0,111 g/100 g ξ.β.

Πίνακας 6.58 Συγκέντρωση μεμονωμένων φαινολικών συστατικών (g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.), της υδροξυτυροσόλης (HyT), τυροσόλης (Tyr), ελευρωπαΐνης (Ole), καεμφερόλης (Kaempf), λουτεολίνης (Lut), φερουλικού οξέος (Fer) των εκχυλισμάτων του ελαιοπυρήνα που προέκυψαν από εκχύλιση υποβοηθούμενη από ΠΗΠ ως προς τις δυο ανεξάρτητες μεταβλητές X1 (Χρόνος εκχύλισης, min) και X2 (προσφερόμενη ενέργεια με ΠΗΠ, kJ/kg).

| Εκχύλιση Υποβοηθούμενη με ΠΗΠ | | | | | | | | | |
|-------------------------------------|---|--------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--|
| Επίπεδα μεταβλητών | | Αποκρίσεις (g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β) | | | | | | | |
| X1 (Χρόνος εκχύλισης, min) | X2 (Προσφερόμενη ενέργεια με ΠΗΠ, kJ/kg) | HyT | Tyr | Ole | Kaemp | Lut | Fer | TPC | |
| 0 | 1.82 | 1.021 | 0.080 | 0.063 | 0.041 | 0.027 | 0.078 | 1.970 | |
| 20 | 1.82 | 1.193 | 0.102 | 0.085 | 0.055 | 0.045 | 0.098 | 2.592 | |
| 45 | 1.82 | 1.263 | 0.109 | 0.090 | 0.062 | 0.044 | 0.104 | 3.001 | |
| 0 | 10.9 | 1.201 | 0.109 | 0.084 | 0.057 | 0.041 | 0.108 | 2.493 | |
| 20 | 10.9 | 1.656 | 0.142 | 0.097 | 0.064 | 0.052 | 0.118 | 3.163 | |
| 45 | 10.9 | 1.757 | 0.144 | 0.105 | 0.065 | 0.054 | 0.127 | 3.243 | |
| 0 | 14.5 | 1.345 | 0.118 | 0.085 | 0.057 | 0.043 | 0.094 | 2.410 | |
| 20 | 14.5 | 1.697 | 0.179 | 0.097 | 0.061 | 0.054 | 0.109 | 3.035 | |
| 45 | 14.5 | 1.724 | 0.181 | 0.106 | 0.063 | 0.056 | 0.112 | 3.088 | |

Πίνακας 6.59 Συγκέντρωση μεμονωμένων φαινολικών συστατικών (g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.), της υδροξυτυροσόλης (HyT), τυροσόλης (Tyr), ελευρωπαΐνης (Ole), καεμφερόλης (Kaempf), λουτεολίνης (Lut), φερουλικού οξέος (Fer) των εκχυλισμάτων του ελαιοπυρήνα που προέκυψαν από εκχύλιση υποβοηθούμενη από ΥΠ ως προς τις δυο ανεξάρτητες μεταβλητές X1 (Χρόνος εκχύλισης, min) και X2 (προσφερόμενη ενέργεια με ΥΠ, kJ/kg).

| Εκχύλιση Υποβοηθούμενη με ΥΠ | | | | | | | | | |
|-------------------------------------|--|--------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--|
| Επίπεδα μεταβλητών | | Αποκρίσεις (g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β) | | | | | | | |
| X1 (Χρόνος εκχύλισης, min) | X2 (Προσφερόμενη ενέργεια με ΥΠ, kJ/kg) | HyT | Tyr | Ole | Kaemp | Lut | Fer | TPC | |
| 0 | 1.82 | 0.705 | 0.038 | 0.054 | 0.038 | 0.025 | 0.065 | 1.895 | |
| 20 | 1.82 | 1.024 | 0.068 | 0.077 | 0.046 | 0.039 | 0.094 | 2.540 | |
| 45 | 1.82 | 1.109 | 0.088 | 0.080 | 0.048 | 0.043 | 0.102 | 2.637 | |
| 0 | 6.41 | 0.804 | 0.073 | 0.072 | 0.049 | 0.027 | 0.067 | 2.120 | |
| 20 | 6.41 | 1.252 | 0.111 | 0.085 | 0.062 | 0.031 | 0.096 | 2.512 | |
| 45 | 6.41 | 1.336 | 0.123 | 0.090 | 0.063 | 0.042 | 0.104 | 2.912 | |
| 0 | 36.1 | 1.057 | 0.098 | 0.079 | 0.058 | 0.035 | 0.075 | 2.520 | |
| 20 | 36.1 | 1.450 | 0.133 | 0.091 | 0.066 | 0.052 | 0.099 | 3.121 | |
| 45 | 36.1 | 1.555 | 0.135 | 0.095 | 0.066 | 0.056 | 0.112 | 3.352 | |

Για τα προεπεξεργασμένα με ΥΠ δείγματα, οι πειραματικές τιμές της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων κυμαίνονταν από 1,89 έως 3,35 g GAE/100 g ξ.β., για την υδροξυτυροσόλη από 0,70 έως 1,55 g/100 g ξ.β., για την τυροσόλη από 0,038 έως 0,135 g/100 g ξ.β., για την ελευρωπαΐνη από 0,054 έως 0,095 g/100 g ξ.β., για την καεμπεφερόλη από 0,038 έως 0,066

g/100 g ξ.β., για τη λουτεολίνη από 0,025 έως 0,056 g/100 g ξ.β., για το φερουλικό οξύ από 0,065 έως 0,112 g/100 g ξ.β..

Η αύξηση της διαπερατότητας που προκαλούν τα ΠΗΠ και τα ΥΠ στα κύτταρα του ελαιοπυρήνα πριν από τη διαδικασία της εκχύλισης αύξησε σημαντικά ($p < 0.05$) τη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων και των επιμέρους κλασμάτων τους στα εκχυλίσματα από τους πρώτους χρόνους εκχύλισης. Ωστόσο, η απόδοση της εκχύλισης των ολικών και των επιμέρους φαινολικών συστατικών βελτιώθηκε με την αύξηση της έντασης των συνθηκών της προεπεξεργασίας με ΠΗΠ και ΥΠ, δηλαδή αυξάνοντας την προσφερόμενη ενέργεια.

Προκειμένου να βελτιστοποιηθεί η ένταση των συνθηκών της κάθε προεπεξεργασίας (ΠΗΠ ή ΥΠ) που χρησιμοποιείται πριν την εκχύλιση καθώς και ο χρόνος εκχύλισης που απαιτείται για την εξαγωγή των βιοδραστικών συστατικών από το ελαιοπυρήνα για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ και ΥΠ δείγματα πραγματοποιήθηκε ανάλυση πολλαπλής παλινδρόμησης σύμφωνα με τα πειραματικά δεδομένα που παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.58 και 6.59.

6.4.9.1. Αριστοποίηση της εκχύλισης υποβοηθούμενης με ΠΗΠ

Η συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων και των επιμέρους κλασμάτων τους των εκχυλισμάτων από ελαιοπυρήνα με τις δυο παραμέτρους επεξεργασίας (X_1 =χρόνος εκχύλισης, X_2 =ένταση των συνθηκών της κάθε προεπεξεργασίας εκφρασμένη ως προς προσφερόμενη ενέργεια) για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ δείγματα περιγράφηκε από τις ακόλουθες πολυωνμικές εξισώσεις:

$$\text{Hyt}=0.107+0.006X_1+0.010X_2 \quad (\text{Εξ. 53})$$

$$\text{Tyr}=0.078+0.0023X_1-0.0011X_2-0.001X_1^2 \quad (\text{Εξ. 54})$$

$$\text{Oleu}=0.0593+0.0011X_1-0.00359X_2-0.00001X_1^2 \quad (\text{Εξ. 55})$$

$$\text{Kaemp}=0.0367+0.00075X_1-0.00332X_2-0.0007X_1^2-0.00016X_2^2-0.00002X_1X_2 \quad (\text{Εξ. 56})$$

$$\text{Lut}=0.0259+0.0001X_1-0.0009X_2-0.00180X_1^2 \quad (\text{Εξ. 57})$$

$$\text{Fer}=0.0639+0.00114X_1-0.00937X_2-0.00001X_1^2-0.00049X_2^2 \quad (\text{Εξ. 58})$$

$$\text{TPC}=1.685+0.048X_1+0.147X_2-0.0005X_1^2-0.006X_2^2 \quad (\text{Εξ. 59})$$

Παρατηρείται ότι η συγκέντρωση φαινολικών συστατικών του προεπεξεργασμένου με ΠΗΠ δείγματος επηρεάζεται κυρίως από τον γραμμικό όρο του χρόνου εκχύλισης (X_1) και ακολούθως από τον γραμμικό όρο της προσφερόμενης ενέργειας από τα ΠΗΠ (X_2) καθώς και από τους

τετραγωνικούς όρους του χρόνου εκχύλισης ($X1^2$) και της προσφερόμενης ενέργειας από τα ΠΗΠ ($X2^2$). Η κυρίαρχη επίδραση στο μοντέλο που αναπτύχθηκε για τη συγκέντρωση της υδροξυτυροσόλης στα εκχυλίσματα από ελαιοπυρήνα καθορίστηκε επίσης από τον γραμμικό όρο της προσφερόμενης ενέργειας από τα ΠΗΠ ($X2$), στη συνέχεια από τον γραμμικό όρο του χρόνου εκχύλισης ($X1$). Στο μοντέλο της συγκέντρωσης της τυροσόλης στα εκχυλίσματα που έχουν προκύψει από την προεπεξεργασία με ΠΗΠ, η κυρίαρχη επίδραση καθορίστηκε από τον γραμμικό όρο της προσφερόμενης ενέργειας από τα ΠΗΠ ($X2$) και ακολούθως από τον γραμμικό και τετραγωνικό όρο του χρόνου εκχύλισης ($X1, X1^2$). Το μοντέλο που αναπτύχθηκε για τη συγκέντρωση της ελευρωπαΐνης στα εκχυλίσματα από ελαιοπυρήνα καθορίστηκε από τους γραμμικούς όρους του χρόνου εκχύλισης ($X1$) και ακολούθως της προσφερόμενης ενέργειας από τα ΠΗΠ ($X2$). Επιπλέον, οι μεταβλητές με τη μεγαλύτερη επίδραση στη συγκέντρωση της καμφερόλης των εκχυλισμάτων ήταν ο γραμμικός όρος του χρόνου εκχύλισης ($X1$), ακολούθως ο γραμμικός όρος της προσφερόμενης ενέργειας από τα ΠΗΠ ($X2$) και η αλληλεπίδραση μεταξύ του χρόνου εκχύλισης και της προσφερόμενης ενέργειας από τα ΠΗΠ ($X1X2$) και τέλος οι τετραγωνικοί όροι του χρόνου εκχύλισης ($X1^2$) και της προσφερόμενης ενέργειας από τα ΠΗΠ ($X2^2$). Για τη συγκέντρωση της λουτεολίνης στα εκχυλίσματα, το μοντέλο που αναπτύχθηκε επηρεάστηκε κυρίως από τους γραμμικούς όρους του χρόνου εκχύλισης ($X1$) και της προσφερόμενης ενέργειας από τα ΠΗΠ ($X2$) και στη συνέχεια και από τον τετραγωνικό όρο του χρόνου εκχύλισης ($X1^2$). Τέλος, η κυρίαρχη επίδραση στο μοντέλο της συγκέντρωσης του φερουλικού οξέος στα εκχυλίσματα από ελαιοπυρήνα που έχουν προκύψει από υποβοηθούμενη εκχύλιση με ΠΗΠ καθορίστηκε από τον γραμμικό όρο του χρόνου εκχύλισης ($X1$), ακολούθως καθορίστηκε από τον γραμμικό και τετραγωνικό όρο της προσφερόμενης ενέργειας από τα ΠΗΠ ($X2, X2^2$) και τέλος από τον τετραγωνικό όρο του χρόνου εκχύλισης ($X1^2$).

Οι τιμές R^2 για το ολικό περιεχόμενο φαινολικών συστατικών και την ανάκτηση της υδροξυτυροσόλης, της τυροσόλης, της ελευρωπαΐνης, της καμφερόλης, της λουτεολίνης και του φερουλικού οξέος των εκχυλισμάτων ήταν: 0,956, 0,964, 0,979, 0,986, 0,994, 0,983 και 0,988 αντίστοιχα, για τα δείγματα που προεπεξεργάστηκαν με ΠΗΠ υποδεικνύοντας ότι τα μοντέλα αντιπροσωπεύουν επαρκώς τη σχέση μεταξύ των επιλεγμένων παραμέτρων.

Οι συντελεστές παλινδρόμησης των γραμμικών και τετραγωνικών όρων αλλά και των όρων των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μεταβλητών του μοντέλου για τα συμβατικά επεξεργασμένα, τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ δείγματα για τη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων και των επιμέρους κλασμάτων τους των εκχυλισμάτων παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.60. Ο Πίνακας 6.60 δείχνει τις τιμές F και p για όλες τις μεταβλητές και τις αλληλεπιδράσεις τους από τις εξισώσεις που περιγράφουν τη σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης των ολικών και επιμέρους φαινολικών

ενώσεων με το χρόνο εκχύλισης και με την ένταση των συνθηκών των ΠΗΠ εκφρασμένη ως προς την προσφερόμενη ενέργεια.

Προκειμένου να προσδιοριστούν τα βέλτιστα επίπεδα των μεταβλητών για την ανάκτηση του ολικού περιεχόμενου φαινολικών συστατικών, της συγκέντρωσης της υδροξυτυροσόλης, της τυροσόλης, της ελευρωπαΐνης, της καεμφερόλης, της λουτεολίνης και του φερουλικού οξέος των εκχυλισμάτων από τον ελαιοπυρήνα με εκχύλιση με χρήση της ΠΗΠ ως προεπεξεργασία, δημιουργήθηκαν 3D γραφήματα αποκριτικής επιφάνειας από το μοντέλο που αντιστοιχεί στις παραπάνω εξισώσεις. Τα 3D διαγράμματα που αντιστοιχούν στις επιδράσεις του χρόνου εκχύλισης και της έντασης των συνθηκών της προεπεξεργασίας με ΠΗΠ εκφρασμένη σε προσφερόμενη ενέργεια στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο και στα επιμέρους φαινολικά συστατικά των εκχυλισμάτων του ελαιοπυρήνα εμφανίζονται στις εικόνες του Σχήματος 6.57.

Όπως φαίνεται στα Σχήμα 6.57ζ, χρησιμοποιώντας προσφερόμενη ενέργεια από ΠΗΠ 10 kJ/kg, η αύξηση του χρόνου εκχύλισης από 0 σε 20 min προκάλεσε αύξηση του ολικού περιεχόμενου φαινολικών συστατικών από 2,4 σε 3,1 g GAE/100 g ξ.β. Όπως φαίνεται στο Σχήμα 6.57ζ για χρόνους εκχύλισης πάνω από 20 min και προσφερόμενη ενέργεια από τα ΠΗΠ ίση και μεγαλύτερη από 10 kJ/kg (ένταση ηλεκτρικού πεδίου πάνω από 3 kV/cm), η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών ενώσεων έγινε μέγιστη και κυμαίνονταν από 3,08 έως 3,24 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.

Η γραμμική επίδραση του χρόνου εκχύλισης και της προσφερόμενης ενέργειας από ΠΗΠ στη συγκέντρωση της υδροξυτυροσόλης, της τυροσόλης και της ελευρωπαΐνης είναι σαφής από τα Σχήματα 6.57α, 6.57β, και 6.57γ, καθώς η αύξηση του χρόνου εκχύλισης και της προσφερόμενης ενέργειας από ΠΗΠ αντανακλάται από την αύξηση των συγκεντρώσεων της υδροξυτυροσόλης, τυροσόλης και ελευρωπαΐνης φτάνοντας τις μέγιστες τιμές τους σε χρόνο εκχύλισης 45 min και προσφερόμενη ενέργεια από ΠΗΠ 14 kJ/kg (ένταση ηλεκτρικού πεδίου 5 kV/cm) ίσες με 1,724, 0,181 και 0,106 g/100 g ξ.β αντίστοιχα.

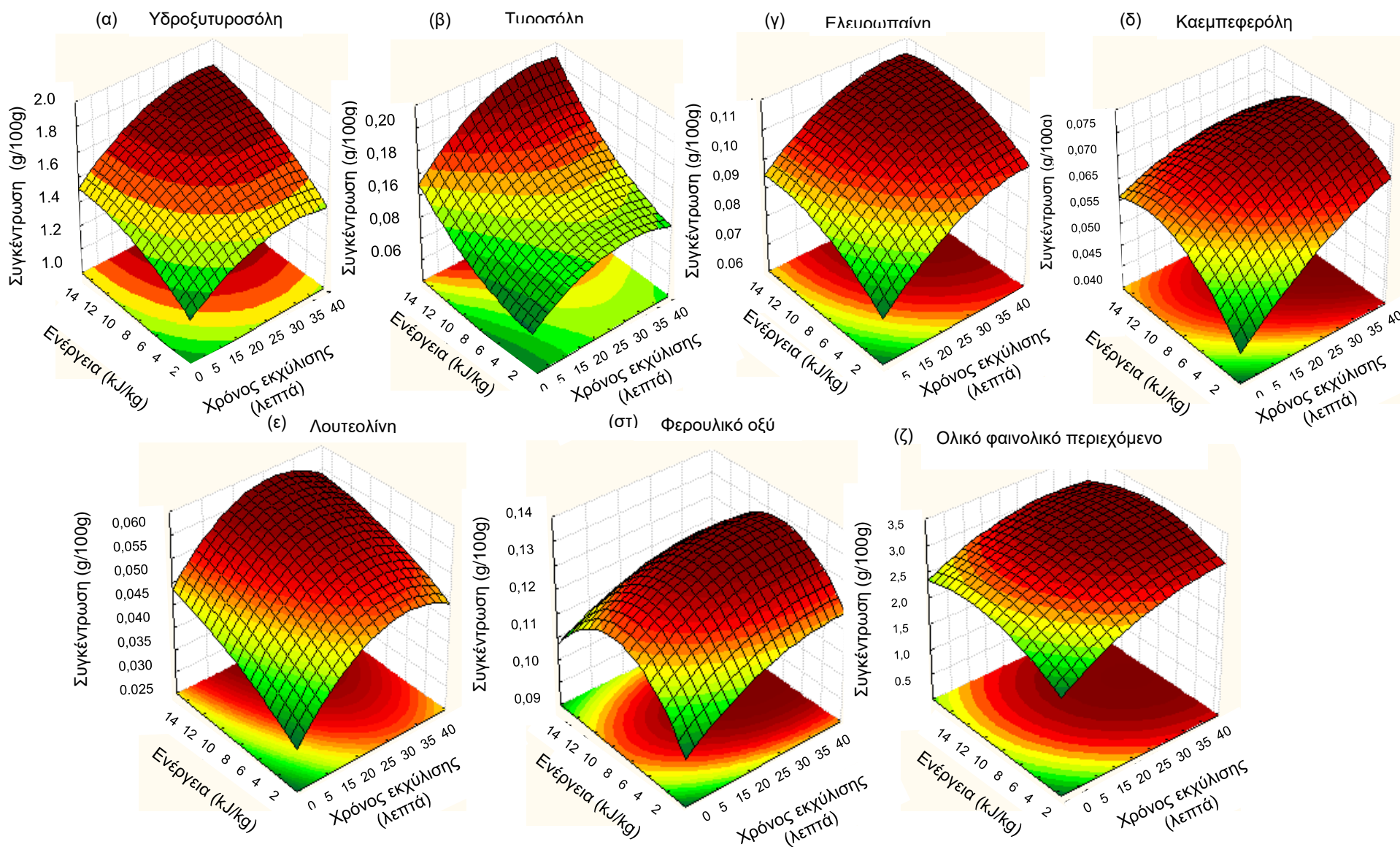
Το Σχήμα 6.57ε δείχνει την επίδραση του χρόνου εκχύλισης και της προσφερόμενης ενέργειας από τα ΠΗΠ στη συγκέντρωση της λουτεολίνης στα εκχυλίσματα του ελαιοπυρήνα. Ο χρόνος της εκχύλισης είχε τετραγωνική καθαρή επίδραση στη συγκέντρωση της λουτεολίνης που έφθασε στην υψηλότερη τιμή της μετά τα 30 min και ήταν ίση με 0,062 g/100 g ξ.β.

Διαπιστώθηκε επίσης ότι η υψηλότερη συγκέντρωση της καεμφερόλης και του φερουλικού οξέος μπορεί να επιτευχθεί σε προσφερόμενη ενέργεια από ΠΗΠ 10 kJ/kg.

Πίνακας 6.60. Συντελεστές παλινδρόμησης των γραμμικών και τετραγωνικών όρων και των όρων των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μεταβλητών και ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των μοντέλων για τη συγκέντρωση της υδροξυτυροσόλης (HyT), τυροσόλης (Tyr), ελευρωπαΐνης (Ole), καεμφερόλης (Kaempf), λουτεολίνης (Lut), φερουλικού οξέος (Fer), των ολικών φαινολικών συστατικών των εκχυλισμάτων του ελαιοπυρήνα που προέκυψαν από εκχύλιση υποβοηθούμενη από ΠΗΠ.

| A | Υδροξυτυροσόλη | | Τυροσόλη | | Ελευρωπαΐνη | | Καεμφερόλη | | Λουτεολίνη | | Φερουλικό οξύ | | TPC | |
|---|-------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-----------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-----------------|
| | COEF _{F^a} | SE ^a | COEFF ^a | SE ^a | COEFF ^a | SE ^a | COEFF ^a | SE ^a | COEFF ^a | SE ^a | COEFF ^a | SE ^a | COEFF ^a | SE ^a |
| Συντελεστές παλινδρόμησης των μοντέλων | | | | | | | | | | | | | | |
| Μοντέλο | 0.864 | 0.107 | 0.078 | 0.012 | 0.0593 | 0.0030 | 0.0367 | 0.0017 | 0.0260 | 0.0023 | 0.0639 | 0.0030 | 1.686 | 0.082 |
| X1 | 0.019 | 0,006 | 0.0023 | 0.000 | 0.0011 | 0.0001 | 0.0007 | 0.0000 | -0.00001 | 0.0001 | 0.0011 | 0.0001 | 0.048 | 0.004 |
| X2 | 0.062 | 0.010 | -0.0011 | 0.0003 | 0.0036 | 0.0008 | 0.0033 | 0.0004 | 0.0009 | 0.0001 | 0.0093 | 0.0008 | 0.147 | 0.024 |
| X1 ² | -0.001 | 0,000 | -0.0001 | 0.0000 | -0.0000 | 0.0000 | 0.0007 | 0.0001 | 0.0018 | 0.0006 | -0.0001 | 0.0000 | -0.001 | 0.000 |
| X2 ² | -0.002 | 0,000 | 0.0002 | 0.0000 | -0.0001 | 0.0000 | -0.0001 | 0.0000 | -0.0000 | 0.0000 | -0.0004 | 0.0000 | -0.006 | 0.001 |
| X1X2 | 0.001 | 0,000 | 0.00003 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | -0.0000 | 0.0000 | -0.001 | 0.000 |
| Ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) | | | | | | | | | | | | | | |
| B | SS ^b | F-value | SS ^b | F-value | SS ^b | F-value | SS ^b | F-value | SS ^b | F-value | SS ^b | F-value | SS ^b | F-value |
| Μοντέλο | 0.600 | 36.36** | 0.0094 | 18.88** | 0.0013 | 78.00*** | 0.00043 | 25.80* | 0.0006 | 36.00* | 0.00162 | 97.20*** | 1.47 | 88.20*** |
| X1 | 0.210 | 28.63* | 0.0024 | 24,56** | 0.0007 | 130.31*** | 0.00024 | 132.82*** | 0.0002 | 82.86** | 0.00067 | 110.96*** | 1.040.15 | 240.61*** |
| X2 | 0.280 | 38,39** | 0.0059 | 59.00*** | 0.0003 | 65.32** | 0.00007 | 39.53** | 0.0002 | 63.96** | 0.00019 | 31.55** | 0.15 | 33.90* |
| X1 ² | 0.040 | 6,30 ^{NS} | 0.0008 | 7.97* | 0.00001 | 8.81 ^{NS} | 0.00002 | 10.24* | 0.0000 | 26.52* | 0.00001 | 11.54* | 0.09 | 33.97* |
| X2 ² | 0.001 | 1,29 ^{NS} | 0.0002 | 1,92 ^{NS} | 0.0000 | 5.42 ^{NS} | 0.00003 | 18.47* | 0.0000 | 1.09 ^{NS} | 0.00049 | 81.72** | 0.04 | 20.03* |
| X1X2 | 0.001 | 1,24 ^{NS} | 0.0002 | 1.99 ^{NS} | 0.0000 | 1.47 ^{NS} | 0.00001 | 35.67** | 0.0000 | 0.88 ^{NS} | 0.00001 | 4.08 ^{NS} | 0.01 | 9.00 |
| Υπόλοιπο | 0.020 | | 0.0003 | | 0.0000 | | 0.00001 | | 0.0000 | | 0.00001 | | 1.48 | |
| Σύνολο | 0.620 | | 0.0097 | | 0.0013 | | 0.00044 | | 0.0006 | | 0.00163 | | | |

^a COEFF: Συντελεστές, SE: Τυπικό σφάλμα ^b SS: Άθροισμα τετραγώνων * P<0,05, ** P<0,01, *** P<0,001, NS – Μη Σημαντικό

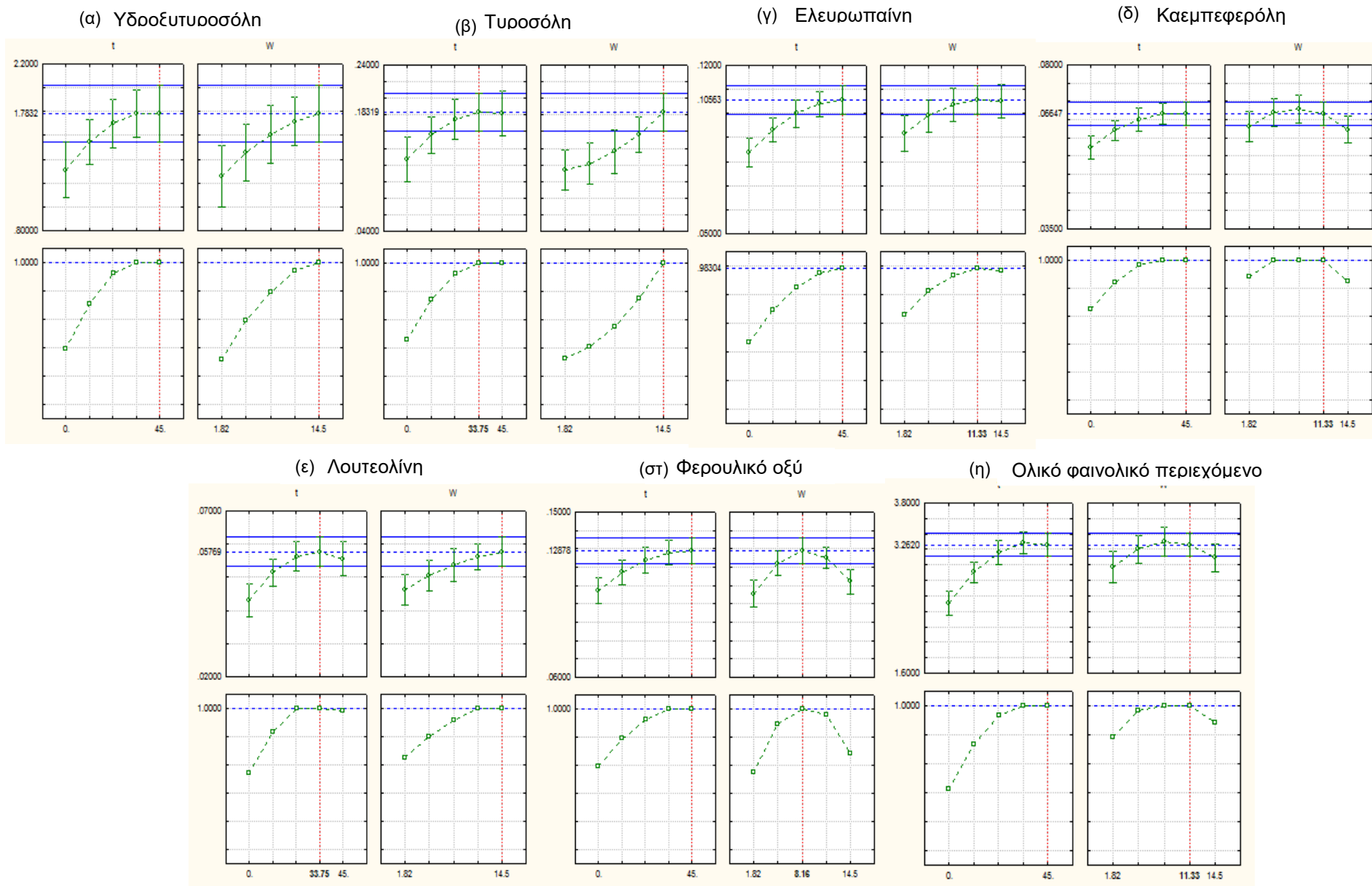


Σχήμα 6.57 Γραφήματα αποκριτικής επιφάνειας που δείχνουν την επίδραση του χρόνου εκχύλισης και της ενέργειας που καταναλώθηκε από τα ΠΗΠ στη συγκέντρωση της (α) υδροξυτυροσόλης (HyT), (β) τυροσόλης (Tyr), (γ) ελευρωπαίνης (Ole), (δ) καεμπερόλης (Kaemf), (ε) λουτεολίνης (Lut), (στ) του φερουλικού οξέος (Fer), και (ζ) των ολικών φαινολικών συστατικών των εκχυλισμάτων του ελαιοπυρήνα που προέκυψαν από εκχύλιση υποβοηθούμενη από ΠΗΠ

Περαιτέρω, τα Σχήματα 6.57δ και 6.57στ δείχνουν ότι υπάρχει ένα σημείο με την εφαρμογή ενέργειας από ΠΗΠ στα 11 kJ/kg (ένταση ηλεκτρικού πεδίου περίπου 3 kV/cm), στο οποίο η περιεκτικότητα σε καεμφερόλη και σε φερουλικό οξύ εμφάνισε τη μέγιστη τιμή 0,065 και 0,127 g/100 g ξ.β., αντίστοιχα. Είναι φανερό ότι η προσφερόμενη ενέργεια από ΠΗΠ είχε τετραγωνική καθαρή επίδραση στη συγκέντρωση της καεμφερόλης και του φερουλικού οξέος.

Στο σχήμα 6.58 απεικονίζονται τα διαγράμματα με τα επιθυμητά επίπεδα των παραμέτρων της εκχύλισης προκειμένου να επιτευχθεί η μέγιστη απόδοση (οριζόμενη με την τιμή 1, σε κλίμακα από 0-1) της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων και των επιμέρους κλασμάτων τους στα εκχυλίσματα από ελαιοπυρήνα προεπεξεργασμένο με ΠΗΠ.

Η μέγιστη περιεκτικότητα της υδροξυτυροσόλης ήταν 1,78 g/100 g και επιτεύχθηκε σε χρόνο εκχύλισης από 33,75 έως και 45 min για προσφερόμενη ενέργεια από τα ΠΗΠ 14,5 kJ/kg (ένταση συνθηκών 5 kV/cm). Η μέγιστη περιεκτικότητα της τυροσόλης ήταν 0,18 g/100 g και επιτεύχθηκε σε χρόνο εκχύλισης 33,75 min για προσφερόμενη ενέργεια από τα ΠΗΠ 14,5 kJ/kg (ένταση συνθηκών 5 kV/cm). Για την ελευρωπαΐνη η μέγιστη περιεκτικότητα υπολογίστηκε 0,105 g/100 g και επιτεύχθηκε σε χρόνο εκχύλισης 45 min για προσφερόμενη ενέργεια από τα ΠΗΠ 11,3 kJ/kg (ένταση συνθηκών 3,5 kV/cm). Η μέγιστη περιεκτικότητα της καεμφερόλης ήταν 0,066 g/100 g που προέκυψε με εκχύλιση για 33 έως και 45 min και προσφερόμενη ενέργεια από τα ΠΗΠ από 6,0 έως και 11,3 kJ/kg (ένταση συνθηκών από 2,0 έως 3,5 kV/cm). Η μέγιστη περιεκτικότητα λουτεολίνης ήταν 0,067 g/100 g, η οποία προέκυψε για χρόνο εκχύλισης από 22,5 έως και 34 min και προσφερόμενη ενέργεια από τα ΠΗΠ από 11,3 έως και 14,5 kJ/kg (ένταση συνθηκών από 3,5 έως 5,0 kV/cm). Περαιτέρω, για το φερουλικό οξύ η μέγιστη περιεκτικότητα 0,128 g/100 g επιτεύχθηκε σε χρόνο εκχύλισης από 34 έως και 45 min για προσφερόμενη ενέργεια από τα ΠΗΠ 8,16 kJ/kg (ένταση συνθηκών 3,0 kV/cm). Επιπλέον, η μέγιστη περιεκτικότητα της συγκέντρωσης των φαινολικών συστατικών ήταν 3,26 g/100 g, η οποία προέκυψε για χρόνο εκχύλισης από 34 έως και 45 min και προσφερόμενη ενέργεια από τα ΠΗΠ από 6,0 έως 11,3 kJ/kg (ένταση συνθηκών από 2,0 έως 3,5 kV/cm). Συνίσταται να χρησιμοποιείται η ελάχιστη δυνατή κατανάλωση ενέργειας από την προεπεξεργασία με ΠΗΠ για λόγους κόστους, καθώς επίσης και ο ελάχιστος δυνατός χρόνος εκχύλισης για λόγους κόστους, διαχείρισης και ευκολίας, αλλά κυρίως για λόγους αύξησης της παραγωγικότητας.



330

Σχήμα 6.58 Προφίλ για τις προβλεπόμενες τιμές της συγκέντρωσης της(α) υδροξυτυροσόλης (HyT), (β) τυροσόλης (Tyr), (γ) ελευρωπαΐνης (Ole), (δ) καμπεφερόλης (Kamf), (ε) λουτεολίνης (Lut), (στ) του φερουλικού οξέος (Fer), και (ζ) των ολικών φαινολικών συστατικών των εκχυλισμάτων του ελαιοπυρήνα και το επίπεδο ικανοποίησης του μοντέλου για τους διάφορους παράγοντες για μέγιστη συγκέντρωση που έχει προκύψει από εκχύλιση υποβοηθούμενη από ΠΗΠ

6.4.9.2. Αριστοποίηση της εκχύλισης υποβοηθούμενης με ΥΠ

Η συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων και των επιμέρους κλασμάτων τους των εκχυλισμάτων από ελαιοπυρήνα με τις δυο παραμέτρους επεξεργασίας (X_1 =χρόνος εκχύλισης, X_2 =ένταση των συνθηκών της κάθε προεπεξεργασίας εκφρασμένη ως προς προσφερόμενη ενέργεια) για τα προεπεξεργασμένα με ΥΠ δείγματα περιγράφηκε από τις ακόλουθες πολυωνυμικές εξισώσεις:

$$\text{Hyt}=0.5835+0.02585X_1+0.04735X_2-0.00034X_1^2-0.00095X_2^2 \quad (\text{Εξ. 60})$$

$$\text{Tyr}=0.0176+0.00243X_1+0.01027X_2-0.00002X_1^2-0.00022X_2^2 \quad (\text{Εξ. 61})$$

$$\text{Oleu}=0.05163+0.00116X_1+0.00332X_2-0.00007X_2^2 \quad (\text{Εξ. 62})$$

$$\text{Kaemp}=0.03068+0.00068X_1-0.00369X_2-0.00001X_1^2-0.00008X_2^2 \quad (\text{Εξ. 63})$$

$$\text{Lut}=0.02841+0.00070X_1-0.00001X_1^2 \quad (\text{Εξ. 64})$$

$$\text{Fer}=0.0650+0.00181X_1-0.00044X_2-0.00002X_1^2 \quad (\text{Εξ. 65})$$

$$\text{TPC}=1.8598+0.0344X_1+0.0374X_2 \quad (\text{Εξ. 66})$$

Παρατηρείται ότι η συγκέντρωση φαινολικών συστατικών του προεπεξεργασμένου με ΥΠ δείγματος επηρεάζεται κυρίως από τον γραμμικό όρο του χρόνου εκχύλισης (X_1) και ακολούθως από τον γραμμικό όρο της προσφερόμενης ενέργειας από την ΥΠ (X_2). Η κυρίαρχη επίδραση στο μοντέλο που αναπτύχθηκε για τη συγκέντρωση της υδροξυτυροσόλης στα εκχυλίσματα από ελαιοπυρήνα καθορίστηκε από τον γραμμικό όρο της προσφερόμενης ενέργειας από την ΥΠ (X_2) και εξίσου από τον γραμμικό όρο του χρόνου εκχύλισης (X_1). Ακολούθως καθορίστηκε από τους τετραγωνικούς όρους του χρόνου εκχύλισης (X_1^2) και του της προσφερόμενης ενέργειας από την ΥΠ (X_2^2). Στο μοντέλο της συγκέντρωσης της τυροσόλης και της καεμφερόλης στα εκχυλίσματα που έχουν προκύψει από την προεπεξεργασία με ΥΠ, η κυρίαρχη επίδραση καθορίστηκε από τους γραμμικούς όρους του χρόνου εκχύλισης (X_1) και της προσφερόμενης ενέργειας από την ΥΠ (X_2) και ακολούθως από τους τετραγωνικούς όρους του χρόνου εκχύλισης (X_1^2) και από της προσφερόμενης ενέργειας από την ΥΠ (X_2^2). Το μοντέλο που αναπτύχθηκε για τη συγκέντρωση της ελευρωπαΐνης στα εκχυλίσματα από ελαιοπυρήνα καθορίστηκε από τον γραμμικό και τετραγωνικό όρο του χρόνου εκχύλισης (X_1 , X_1^2) και ακολούθως από τον τετραγωνικό όρο της προσφερόμενης ενέργειας από την ΥΠ (X_2^2). Για τη συγκέντρωση της λουτεολίνης στα

εκχυλίσματα, το μοντέλο που αναπτύχθηκε επηρεάστηκε κυρίως από τους γραμμικούς όρους του χρόνου εκχύλισης (X_1) και της προσφερόμενης ενέργειας από την ΥΠ (X_2).

Τέλος, η κυρίαρχη επίδραση στο μοντέλο της συγκέντρωσης του φερουλικού οξέος στα εκχυλίσματα από ελαιοπυρήνα που έχουν προκύψει από υποβοηθούμενη εκχύλιση με ΥΠ καθορίστηκε από τον γραμμικό όρο του χρόνου εκχύλισης (X_1), ακολούθως καθορίστηκε από τον γραμμικό όρο της προσφερόμενης ενέργειας από την ΥΠ (X_2) και τέλος από τον τετραγωνικό όρο του χρόνου εκχύλισης (X_1^2).

Οι τιμές R^2 για το ολικό περιεχόμενο φαινολικών συστατικών, και την ανάκτηση της υδροξυτυροσόλης, της τυροσόλης, της ελευρωπαΐνης, της καεμφερόλης, της λουτεολίνης και του φερουλικού οξέος των εκχυλισμάτων ήταν: 0,965, 0,999, 0,983, 0,974, 0,981, 0,991 και 0,995 αντίστοιχα, για τα δείγματα που προεπεξεργάστηκαν με ΥΠ υποδεικνύοντας ότι τα μοντέλα αντιπροσωπεύουν επαρκώς τη σχέση μεταξύ των επιλεγμένων παραμέτρων. Οι συντελεστές παλινδρόμησης των γραμμικών και τετραγωνικών όρων αλλά και των όρων των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μεταβλητών του μοντέλου για τα συμβατικά επεξεργασμένα, τα προεπεξεργασμένα με ΥΠ δείγματα για τη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων και των επιμέρους κλασμάτων τους των εκχυλισμάτων παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.61. Ο Πίνακας 6.61 δείχνει τις τιμές F και p για όλες τις μεταβλητές και τις αλληλεπιδράσεις τους από τις εξισώσεις που περιγράφουν τη σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης των ολικών και επιμέρους φαινολικών ενώσεων με το χρόνο εκχύλισης και με την ένταση των συνθηκών της ΥΠ εκφρασμένη ως προς την προσφερόμενη ενέργεια.

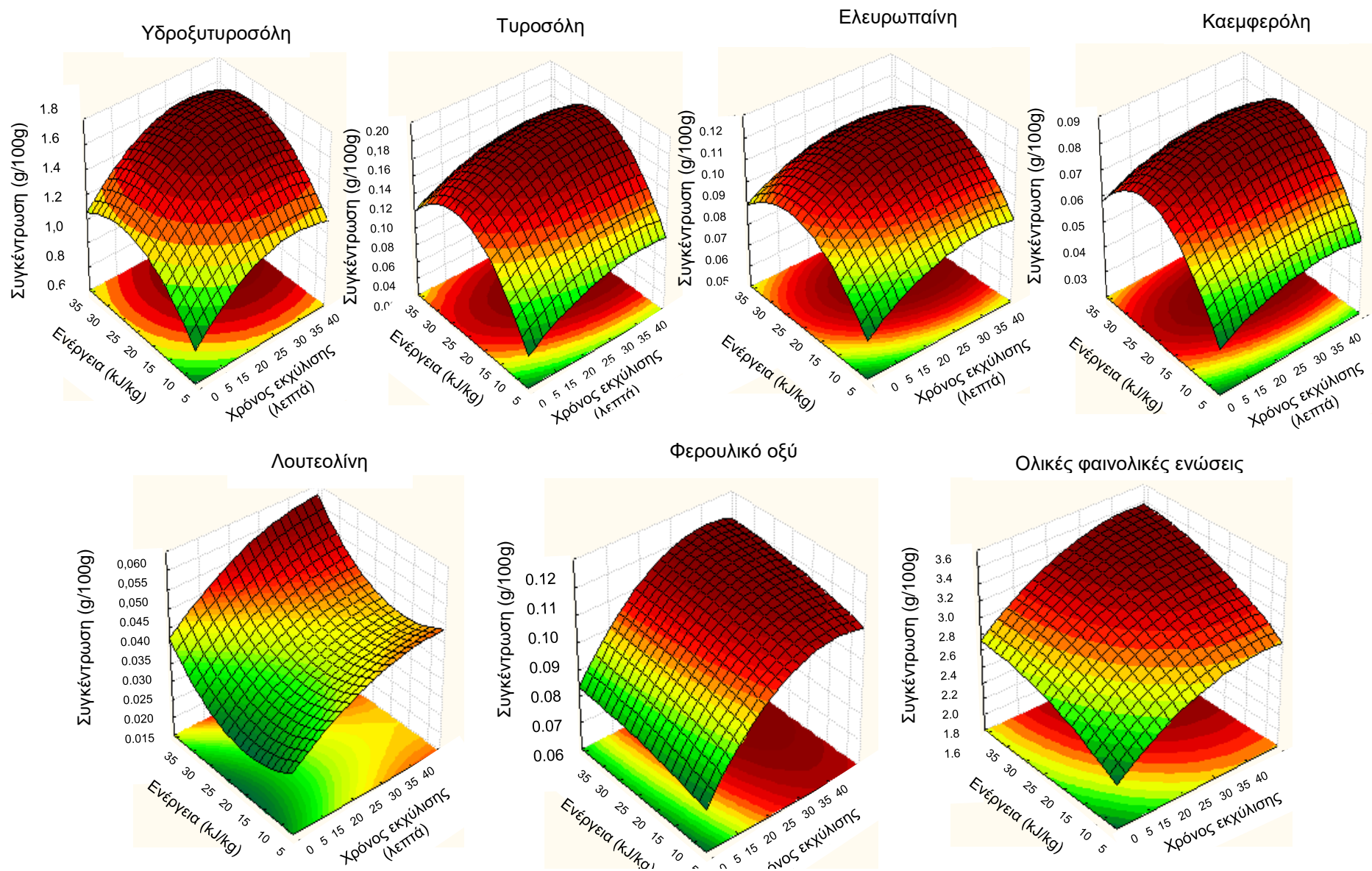
Προκειμένου να προσδιοριστούν τα βέλτιστα επίπεδα των μεταβλητών για την ανάκτηση του ολικού περιεχόμενου φαινολικών συστατικών, της συγκέντρωσης της υδροξυτυροσόλης, της τυροσόλης, της ελευρωπαΐνης, της καεμφερόλης, της λουτεολίνης και του φερουλικού οξέος των εκχυλισμάτων από τον ελαιοπυρήνα με εκχύλιση με χρήση της ΥΠ ως προεπεξεργασία, δημιουργήθηκαν 3D γραφήματα αποκριτικής επιφάνειας από το μοντέλο που αντιστοιχεί στις παραπάνω εξισώσεις. Τα 3D διαγράμματα που αντιστοιχούν στις επιδράσεις του χρόνου εκχύλισης και της έντασης των συνθηκών της προεπεξεργασίας με ΥΠ εκφρασμένη σε προσφερόμενη ενέργεια στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο και στα επιμέρους φαινολικά συστατικά των εκχυλισμάτων του ελαιοπυρήνα εμφανίζονται στις εικόνες του Σχήματος 6.59.

Όπως φαίνεται στα Σχήματα 6.59ζ για χρόνους εκχύλισης πάνω από 20 min και προσφερόμενη ενέργεια από την ΥΠ ίση και μεγαλύτερη από 20 kJ/kg (εφαρμοζόμενη πίεση πάνω από 400 MPa), η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών ενώσεων έγινε μέγιστη και κυμαίνονταν από 2,5 έως 2,9 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.

Πίνακας 6.61. Συντελεστές παλινδρόμησης των γραμμικών και τετραγωνικών όρων και των όρων των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μεταβλητών και ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των μοντέλων για τη συγκέντρωση της υδροξυτυροσόλης (HyT), τυροσόλης (Tyr), ελευρωπαΐνης (Ole), καεμφερόλης (Kaempf), λουτεολίνης (Lut), φερουλικού οξέος (Fer), των ολικών φαιολικών συστατικών των εκχυλισμάτων του ελαιοπυρήνα που προέκυψαν από εκχύλιση υποβοηθούμενη από ΠΗΠ.

| A | Υδροξυτυροσόλη | | Τυροσόλη | | Ελευρωπαΐνη | | Καεμφερόλη | | Λουτεολίνη | | Φερουλικό οξύ | | TPC | |
|-----------------|-----------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | COEFF ^a | SE ^a | COEFF ^a | SE ^a | COEFF ^a | SE ^a | COEFF ^a | SE ^a | COEFF ^a | SE ^a | COEFF ^a | SE ^a | COEFF ^a | SE ^a |
| Μοντέλο | 0.5835 | 0.0448 | 0.0176 | 0.0045 | 0.05163 | 0.00364 | 0.03068 | 0.00191 | 0.02841 | 0.00431 | 0.0650 | 0.0019 | 1.8598 | 0.1027 |
| X1 | 0.0258 | 0.0028 | 0.0024 | 0.0002 | 0.00116 | 0.00023 | 0.00068 | 0.00012 | 0.00070 | 0.00027 | 0.0018 | 0.0001 | 0.0344 | 0.0066 |
| X2 | 0.0473 | 0.0093 | 0.1027 | 0.0009 | 0.00332 | 0.00076 | 0.00369 | 0.00039 | -0.00008 | 0.00000 | 0.0004 | 0.0001 | 0.0374 | 0.0021 |
| X1 ² | -0.0003 | 0.0000 | -0.0001 | 0.0000 | -0.00001 | 0.00000 | -0.0000 | 0.00000 | -0.00001 | 0.00000 | -0.0001 | 0.0000 | -0.0003 | 0.0001 |
| X2 ² | -0.0001 | 0.0000 | -0.0002 | 0.0000 | -0.00001 | 0.00000 | -0.0000 | 0.00000 | 0.00003 | 0.00001 | -0.0000 | 0.0000 | -0.0005 | 0.0001 |
| X1X2 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | -0.00000 | 0.00000 | -0.0000 | 0.00000 | 0.00000 | 0.00000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0001 | 0.0000 |
| B | Ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) | | | | | | | | | | | | | |
| | SS ^b | F-value | SS ^b | F-value | SS ^b | F-value | SS ^b | F-value | SS ^b | F-value | SS ^b | F-value | SS ^b | F-value |
| Μοντέλο | | | | | | | | | | | | | | |
| X1 | 0.3261 | 189.33*** | 0.0027 | 149.96** | 0.00048 | 42.51* | 0.00015 | 48.20* | 0.00046 | 29.92* | 0.0019 | 586.14*** | 0.8854 | 97.83** |
| X2 | 0.2500 | 145.13** | 0.0049 | 273.47*** | 0.00047 | 42.05* | 0.00056 | 180.72** | 0.00021 | 13.36* | 0.0002 | 31.89* | 0.6130 | 67.73** |
| X1 ² | 0.0604 | 35.06** | 0.0004 | 22.59* | 0.00010 | 9.30 ^{NS} | 0.00004 | 13.59* | 0.00002 | 1.69 ^{NS} | 0.0000 | 73.45** | 0.0757 | 8.37 ^{NS} |
| X2 ² | 0.0285 | 16.57* | 0.0015 | 85.36** | 0.00015 | 14.02* | 0.00021 | 66.90* | 0.00003 | 1.99 ^{NS} | 0.0001 | 0.31 ^{NS} | 0.0085 | 0.94 ^{NS} |
| X1X2 | 0.0006 | 0.35 ^{NS} | 0.0001 | 3.02 ^{NS} | 0.00001 | 1.49 ^{NS} | 0.00001 | 0.92 ^{NS} | 0.00000 | 0.15 ^{NS} | 0.0000 | 0.05 ^{NS} | 0.0014 | 0.15 ^{NS} |
| Υπόλοιπο | 0.0051 | | 0.0001 | | 0.00001 | | 0.00000 | | | | 0.0000 | | | |
| Σύνολο | 0.6422 | | 0.0008 | | 0.00121 | | 0.00081 | | | | 0.0023 | | | |

^a COEFF: Συντελεστές, SE: Τυπικό σφάλμα ^b SS: Άθροισμα τετραγώνων * P<0,05, ** P<0,01, *** P<0,001, NS – Μη Σημαντικό



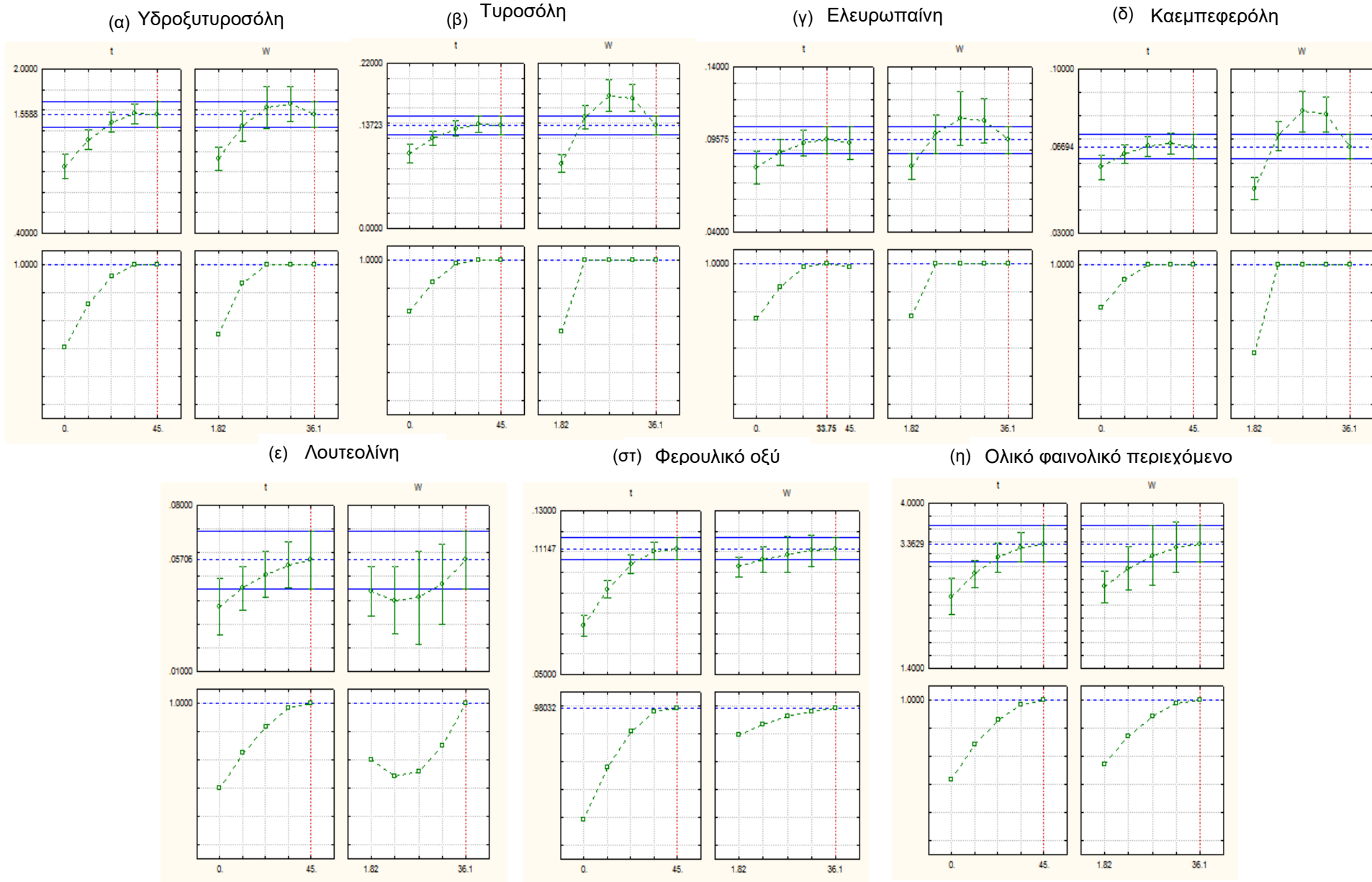
Σχήμα 6.59. Γραφήματα αποκριτικής επιφάνειας που δείχνουν την επίδραση του χρόνου εκχύλισης και της ενέργειας που καταναλώθηκε από τα ΥΠ στη συγκέντρωση της (α) υδροξυτυροσόλης (HyT), (β) τυροσόλης (TyT), (γ) ελευρωπαΐνης (Ole), (δ) καεμφερόλης (Kaemf), (ε) λουτεολίνης (Lut), (στ) του φερουλικού οξέος (Fer), (ζ) των ολικών φαινολικών συστατικών των εκχυλισμάτων του ελαιοπυρήνα που προέκυψαν από εκχύλιση υποβοηθούμενη από ΥΠ.

Η γραμμική επίδραση του χρόνου εκχύλισης και της προσφερόμενης ενέργειας από ΥΠ στη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων είναι σαφής από το Σχήμα 6.59ζ, καθώς η αύξηση και του χρόνου εκχύλισης και της προσφερόμενης ενέργειας από ΥΠ αντανakλάται από την αύξηση της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων φτάνοντας τις μέγιστες τιμές τους σε χρόνο εκχύλισης 45 min και προσφερόμενη ενέργεια από ΥΠ τα 36 kJ/kg (εφαρμοζόμενη πίεση 600 MPa) ίση με 3,35 g GAE/100 g ξ.β αντίστοιχα.

Η γραμμική επίδραση του χρόνου εκχύλισης και της προσφερόμενης ενέργειας από την ΥΠ στη συγκέντρωση της υδροξυτυροσόλης και της λουτεολίνης είναι σαφής από τα Σχήματα 6.59α και 6.63ε, καθώς η αύξηση και του χρόνου εκχύλισης και της προσφερόμενης ενέργειας από την ΥΠ αντανakλάται από την αύξηση των συγκεντρώσεων της υδροξυτυροσόλης και της λουτεολίνης φτάνοντας τις μέγιστες τιμές τους σε χρόνο εκχύλισης 45 min και προσφερόμενη ενέργεια από την ΥΠ 36 kJ/kg (εφαρμοζόμενη πίεση 600 MPa) ίσες με 1,555 και 0,056 g/100 g ξ.β αντίστοιχα. Διαπιστώθηκε επίσης ότι η υψηλότερη συγκέντρωση της τυροσόλης, της ελευρωπαΐνης και της καεμφερόλης μπορεί να επιτευχθεί σε προσφερόμενη ενέργεια από την ΥΠ 20 kJ/kg. Περαιτέρω, τα Σχήματα 6.59β, 6.59γ και 6.59δ δείχνουν ότι υπάρχει ένα σημείο με την εφαρμογή ενέργειας από την ΥΠ στα 20 kJ/kg (εφαρμοζόμενη πίεση 400 MPa), στο οποίο η περιεκτικότητα σε τυροσόλη, ελευρωπαΐνη και καεμφερόλη εμφάνισε τη μέγιστη τιμή στο 0,130, 0,090 και 0,065 g/100 g ξ.β., αντίστοιχα. Είναι φανερό ότι η προσφερόμενη ενέργεια από ΥΠ είχε τετραγωνική καθαρή επίδραση στη συγκέντρωση της τυροσόλης, της ελευρωπαΐνης και της καεμφερόλης. Το Σχήμα 6.59στ δείχνει την επίδραση του χρόνου εκχύλισης και της προσφερόμενης ενέργειας από την ΥΠ στη συγκέντρωση του φερουλικού οξέος στα εκχυλίσματα ελαιοπυρήνα. Ο χρόνος της εκχύλισης είχε τετραγωνική καθαρή επίδραση στη συγκέντρωση της λουτεολίνης που έφθασαν στην υψηλότερη τιμή τους μετά τα 35 min και ήταν ίσες με 0,105 g/100 g ξ.β.

Στο σχήμα 6.60 απεικονίζονται τα διαγράμματα με τα επιθυμητά επίπεδα των παραμέτρων της εκχύλισης προκειμένου να επιτευχθεί η μέγιστη απόδοση (οριζόμενη με την τιμή 1, σε κλίμακα από 0-1) της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων και των επιμέρους κλασμάτων τους στα εκχυλίσματα από ελαιοπυρήνα προεπεξεργασμένο με ΥΠ.

Η μέγιστη περιεκτικότητα υδροξυτυροσόλης ήταν 1,55 g/100 g και επιτεύχθηκε σε χρόνο εκχύλισης από 34 έως και 45 min για προσφερόμενη ενέργεια από την ΥΠ από 18 έως και 36 kJ/kg (ένταση συνθηκών από 400 έως 600 MPa). Η μέγιστη περιεκτικότητα της τυροσόλης ήταν 0,13 g/100 g και επιτεύχθηκε σε χρόνο εκχύλισης από 34 έως και 45 min για προσφερόμενη ενέργεια από την ΥΠ από 10 έως και 36 kJ/kg (ένταση συνθηκών από 350 έως 600 MPa).



Σχήμα 6.60 Προφίλ για τις προβλεπόμενες τιμές της συγκέντρωσης της(α) υδροξυτυροσόλης (HyT), (β) τυροσόλης (Tyr), (γ) ελευρωπαΐνης (Ole), (δ) καεμπεφερόλης (Kaemf), (ε) λουτεολίνης (Lut), (στ) του φερουλικού οξέος (Fer), (ζ) των ολικών φαινολικών συστατικών των εκχυλισμάτων του ελαιοπυρήνα και το επίπεδο ικανοποίησης του μοντέλου για τους διάφορους παράγοντες για μέγιστη συγκέντρωση που έχει προκύψει από εκχύλιση υποβοηθούμενη από ΥΠ

Για την ελευρωπαΐνη η μέγιστη περιεκτικότητα υπολογίστηκε 0,095 g/100 g και επιτεύχθηκε σε χρόνο εκχύλισης 33,7 min για προσφερόμενη ενέργεια από την ΥΠ από 10 έως και 36 kJ/kg (ένταση συνθηκών από 350 έως 600 MPa). Η μέγιστη περιεκτικότητα της καεμφερόλης ήταν 0,066 g/100 g που προέκυψε με εκχύλιση για 30 έως και 45 min και προσφερόμενη ενέργεια από την ΥΠ από 10 έως και 36 kJ/kg (ένταση συνθηκών από 350 έως 600 MPa). Η μέγιστη περιεκτικότητα λουτεολίνης ήταν 0,057 g/100 g, η οποία προέκυψε για χρόνο εκχύλισης 45 min και προσφερόμενη ενέργεια από την ΥΠ 36 kJ/kg (ένταση συνθηκών 600 MPa). Περαιτέρω, για το φερουλικό οξύ η μέγιστη περιεκτικότητα 0,111 g/100 g επιτεύχθηκε σε χρόνο εκχύλισης από 34 έως και 45 min για προσφερόμενη ενέργεια από την ΥΠ 36 kJ/kg (ένταση συνθηκών 600 MPa). Επιπλέον, η μέγιστη περιεκτικότητα της συγκέντρωσης των φαινολικών συστατικών ήταν 3,36 g/100 g, η οποία προέκυψε για χρόνο εκχύλισης 45 min και προσφερόμενη ενέργεια από την ΥΠ 36 kJ/kg (ένταση συνθηκών 600 MPa). Συνίσταται να χρησιμοποιείται η ελάχιστη δυνατή κατανάλωση ενέργειας από την προεπεξεργασία με ΥΠ για λόγους κόστους, καθώς επίσης και ο ελάχιστος δυνατός χρόνος εκχύλισης για λόγους κόστους, διαχείρισης και ευκολίας.

Τέλος, για επικύρωση των προβλεπόμενων μεταβλητών, διεξήχθησαν πειράματα χρησιμοποιώντας τις αριστοποιημένες παραμέτρους για κάθε μεμονωμένη απόκριση. Στον Πίνακα 6.62 παρουσιάζονται επίσης στα επίπεδα μεταβλητών που αριστοποιούνται για κάθε απόκριση, και οι τιμές για τις υπόλοιπες αποκρίσεις που προέκυψαν είτε από το μοντέλο είτε πειραματικά. Οι πειραματικές τιμές δεν ήταν σημαντικά διαφορετικές από τις προβλεπόμενες, υποδεικνύοντας ότι τα μοντέλα που αναπτύχθηκαν ήταν επαρκή στις προβλέψεις τους και μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αριστοποίηση της εκχύλισης με χρήση των ΠΗΠ ή της ΥΠ ως προεπεξεργασία.

Πίνακας 6.62. Προβλεπόμενες και πειραματικές τιμές για τις αποκρίσεις που προέκυψαν στα διάφορα επίπεδα των μεταβλητών για την εκχύλιση υποβοηθούμενη από ΠΗΠ και ΥΠ.

| Εκχύλιση υποβοηθούμενη με ΠΗΠ | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------------------------------------|------------|----------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|--|
| Μεταβλητές διεργασίας | | Προβλεπόμενες τιμές | | | | | | | Πειραματικές τιμές ^a | | | | | | | |
| X1 (min) | X2 (kJ/kg) | TPC | HYT | TYR | OLE | KAΕ | LUT | FER | TPC | HYT | TYR | OLE | KAΕ | LUT | FER | |
| 45 | 14,5 | 3.373 | 1.703 | 0.178 | 0.101 | 0.059 | 0.053 | 0.115 | 3.127± 0,012 | 1.716± 0,008 | 0.181± 0,008 | 0.105± 0,002 | 0.064± 0,001 | 0.057± 0,000 | 0.111± 0,005 | |
| 45 | 11,3 | 3.120 | 1.748 | 0.134 | 0.098 | 0.062 | 0.050 | 0.121 | 3.222± 0,015 | 1.751± 0,002 | 0.140± 0,004 | 0.102± 0,000 | 0.064± 0,000 | 0.053± 0,002 | 0.125± 0,004 | |
| 45 | 8,3 | 2.980 | 1.513 | 0.099 | 0.080 | 0.061 | 0.049 | 0.114 | 3.025± 0,002 | 1.631± 0,004 | 0.103± 0,001 | 0.087± 0,001 | 0.062± 0,000 | 0.051± 0,001 | 0.119± 0,003 | |
| 33 | 14,5 | 3,061 | 1,711 | 0,178 | 0,102 | 0,061 | 0,055 | 0,110 | 3,075± 0,015 | 1,719± 0,012 | 0,183± 0,009 | 0,112± 0,003 | 0,061± 0,001 | 0,059± 0,000 | 0,111± 0,001 | |

| Εκχύλιση υποβοηθούμενη με ΥΠ | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------------|------------|----------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|--|
| Μεταβλητές διεργασίας | | Προβλεπόμενες τιμές | | | | | | | Πειραματικές τιμές ^a | | | | | | | |
| X1 (min) | X2 (kJ/kg) | TPC | HYT | TYR | OLE | KAΕ | LUT | FER | TPC | HYT | TYR | OLE | KAΕ | LUT | FER | |
| 45 | 36.1 | 3.321 | 1.517 | 0.130 | 0.092 | 0.061 | 0.048 | 0.108 | 3.351± 0,018 | 1.532± 0,010 | 0.134± 0,009 | 0.095± 0,001 | 0.065± 0,000 | 0.054± 0,010 | 0.111± 0,002 | |
| 45 | 6,7 | 2,891 | 1,325 | 0,119 | 0,085 | 0,058 | 0,035 | 0,098 | 2,900± 0,024 | 1,330± 0,009 | 0,122± 0,002 | 0,089± 0,002 | 0,062± 0,001 | 0,039± 0,007 | 0,102± 0,003 | |
| 33,7 | 36,1 | 3,288 | 1,495 | 0,133 | 0,089 | 0,065 | 0,054 | 0,105 | 3,288± 0,033 | 1,515± 0,011 | 0,136± 0,001 | 0,092± 0,001 | 0,066± 0,001 | 0,057± 0,002 | 0,109± 0,000 | |

TPC: Ολικό περιεχόμενο φαινολικών συστατικών (g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.), HYT:Υδροξυτετροσόλη (g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.), TYR: Τυροσόλη (g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.), OLE: Ελευρωπαΐνη (g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.), KAΕ: Καεμφερόλη (g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.), LUT: Λουτεολίνη (g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.), FER: Φερουλικό οξύ (g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.)

^a Μέση τιμή τριών επαναλήψεων ± τυπική απόκλιση.

6.4.10. Σύγκριση της συμβατικής εκχύλισης και της εκχύλισης υποβοηθούμενη από ΠΗΠ και ΥΠ στις βέλτιστες συνθήκες για την ανάκτηση ολικών και μεμονωμένων φαινολικών ενώσεων από ελαιοπυρήνα.

Προκειμένου να αξιολογηθεί η αποτελεσματικότητα της μεθόδου της εκχύλισης υποβοηθούμενης με ΠΗΠ και ΥΠ, οι βέλτιστες συνθήκες των δύο προεπεξεργασιών συγκρίθηκαν με τις βέλτιστες συνθήκες της συμβατικής εκχύλισης (60 min χρόνος εκχύλισης) όσον αφορά το ολικό περιεχόμενο φαινολικών συστατικών (TPC), τη συγκέντρωση της υδροξυτυροσόλης, της τυροσόλης, της ελευρωπαΐνης, της καεμφερόλης, της λουτεολίνης και του φερουλικού οξέος.

Πίνακας 6.63 Συγκέντρωση μεμονωμένων φαινολικών συστατικών, της υδροξυτυροσόλης, της τυροσόλης, της ελευρωπαΐνης, της καεμφερόλης, της λουτεολίνης και του φερουλικού οξέος των εκχυλισμάτων του ελαιοπυρήνα που προέκυψαν από τη συμβατική εκχύλιση (45 min), την εκχύλιση υποβοηθούμενη από ΠΗΠ (5 kV/cm, 1000 παλμοί, 11 kJ/kg), 33 min και ΥΠ (350 MPa, 10 min, 15 kJ/kg, 30 min).

| Μεμονωμένα φαινολικά συστατικά | ΠΗΠ/ΥΠ συνθήκες | | |
|-----------------------------------|-----------------------------|--|-----------------------------------|
| | Συμβατική εκχύλιση (60 min) | 5 kV/cm – 1000 παλμοί (11 kJ/kg), 33 min | 350 MPa-10 min (15 kJ/kg), 30 min |
| Υδροξυτυροσόλη (mg/L) | 1149.86±10.96 | 1556.78±42.26 | 2001.56±22.26 |
| Τυροσόλη (mg/L) | 92.27±2.26 | 134.48±3.15 | 124.88±3.01 |
| Ελευρωπαΐνη (mg/L) | 75.75±2.16 | 91.82±4.17 | 84.65±1.25 |
| Καφεϊκό οξύ (mg/L) | 9.53±0.14 | 12.02±1.64 | 10.27±0.74 |
| Π-κουμαρικό οξύ (mg/L) | 2.41±0.33 | 3.83±0.35 | 2.69±0.22 |
| Φερουλικό οξύ (mg caffeic acid/L) | 82.66±3.81 | 111.74±2.65 | 108.68±1.02 |
| Καεμφερόλη(mg quercetin/L) | 40.66±0.77 | 51.21±0.85 | 43.30±0.31 |
| Ρουτίνη (mg/L) | 8.64±0.64 | 15.94±1.87 | 17.59±0.65 |
| Παράγωγο ελευρωπαΐνης (mg/L) | 34.11±0.61 | 45.95±0.12 | 46.23±0.97 |
| Κινναμικό οξύ (mg caffeic acid/L) | 3.21±0.36 | 8.43±2.36 | 5.41±1.15 |
| Κερκετίνη (mg/L) | 14.54±0.64 | 17.35±0.54 | 17.55±0.12 |
| Λουτεολίνη (mg apigenin/L) | 34.87±0.65 | 43.15±2.15 | 39.27±1.45 |
| Απιγενίνη (mg/L) | 2.41±0.09 | 2.36±0.04 | 2.42±0.09 |

± αντιπροσωπεύει την τυπική απόκλιση των πολλαπλών μετρήσεων.

Σύμφωνα με τα μοντέλα προσαρμογής που αναπτύχθηκαν στην προηγούμενη παράγραφο και λαμβάνοντας υπόψη ότι συνίσταται σε κάθε περίπτωση να χρησιμοποιείται η λιγότερο έντονη συνθήκη ώστε να υπάρχει η ελάχιστη δυνατή κατανάλωση ενέργειας από την κάθε προεπεξεργασία και ο ελάχιστος δυνατός χρόνος εκχύλισης για λόγους κόστους, διαχείρισης και ευκολίας, επιλέχθηκαν οι βέλτιστες συνθήκες. Για την προεπεξεργασία με ΠΗΠ επιλέχθηκαν τα 5 kV/cm και 1000 παλμοί, που αντιστοιχεί σε κατανάλωση ενέργειας περίπου 11 kJ/kg και χρόνος εκχύλισης 33 min, και για την προεπεξεργασία με ΥΠ επιλέχθηκαν τα 350 MPa για 10 min, που

αντιστοιχεί σε κατανάλωση ενέργειας περίπου 15 kJ/kg και χρόνος εκχύλισης τα 25 min. Στον παρακάτω πίνακα 6.63 παρουσιάζονται όλα τα εκχυλιζόμενα φαινολικά συστατικά από ελαιοπυρήνα ύστερα από 60 min συμβατικής εκχύλισης, και της εκχύλισης υποβοηθούμενης από ΠΗΠ και ΥΠ στις προαναφερθείσες βέλτιστες συνθήκες.

Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα από τις τρεις διαφορετικές μεθόδους εκχύλισης, η αύξηση της απόδοσης της εκχύλισης σε ολικά φαινολικά συστατικά ήταν περίπου 41% μεγαλύτερη σε σχέση με το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα της συμβατικής εκχύλισης στις επιλεγμένες συνθήκες (5 kV/cm, 11 kJ/kg). Για την προεπεξεργασία της ΥΠ, η αύξηση της απόδοσης της εκχύλισης σε φαινολικά συστατικά ήταν περίπου 16% μεγαλύτερη σε σχέση με το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα στις επιλεγμένες συνθήκες (350 MPa, 10 min, 15 kJ/kg). Ωστόσο, πρέπει να σημειωθεί ότι το μέγιστο αποτέλεσμα από την εκχύλιση με ΠΗΠ και ΥΠ προέκυψε σε μειωμένο χρόνο εκχύλισης (33 min και 25 min, αντίστοιχα), ενώ το αντίστοιχο αποτέλεσμα με τη συμβατική μέθοδο προέκυψε για χρόνο 60 min. Επιπλέον, για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ και ΥΠ εκχυλίσματα η απόδοση της εκχύλισης σε υδροξυτυροσόλη από ελαιοπυρήνα ήταν 35,4 και 74,1% υψηλότερη σε σχέση με εκείνη που επιτεύχθηκε με τη συμβατική εκχύλιση (1149.86 mg/L). Η συγκέντρωση της τυροσόλης που εκχυλίστηκε από το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα ήταν 92,27 mg/L (0,092 g/100 g ξ.β.), ενώ από τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ και ΥΠ δείγματα ήταν 134,48 mg/L (0,134 g/100 g ξ.β.) και 124,88 mg/L (0,124 g/100 g ξ.β.), αντίστοιχα. Και στις δύο προκατεργασίες αυξήθηκε σημαντικά ($p < 0,05$) η συγκέντρωση της ελευρωπαΐνης, η οποία ήταν 21 και 11% υψηλότερη από το συμβατικά επεξεργασμένο (75.75 mg/L) για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ και ΥΠ δείγματα, αντίστοιχα.

Από τα σημαντικότερα εκχυλιζόμενα φλαβονοειδή, όπως είναι καεμφερόλη, η προεπεξεργασία με ΠΗΠ οδήγησε σε σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης της (51.21 mg/L) κατά 28% σε σύγκριση με το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα (40.66 mg/L). Η ρουτίνη, που ανήκει στα δευτερεύοντα φλαβονοειδή που εκχυλίστηκαν από τον ελαιοπυρήνα (λόγω της μικρής συγκέντρωσης της), παρουσίασε την υψηλότερη αύξηση της συγκέντρωσης της και με τις δύο προκατεργασίες. Η προεπεξεργασία με ΠΗΠ αύξησε κατά 85% τη συγκέντρωση της ρουτίνης (15.94 mg/L), ενώ η προεπεξεργασία με ΥΠ διπλασίασε τη συγκέντρωση της (17.59 mg/L). Οι Habibi et al. (2018) μελέτησαν την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα και απέδειξαν ότι τα μικροκύματα ενίσχυσαν την εκχύλιση της ελευρωπαΐνης (0,35 g/100 g ξ.β.) και της υδροξυτυροσόλης (0,15 g /100 g ξ.β.) από ελαιοπυρήνα. Οι Chanioti & Tzia (2018) εξέτασαν την εκχύλιση υποβοηθούμενη με ομοιογενποιητή, με υπερήχους και με ΥΠ για την ανάκτηση της ελευρωπαΐνης, της υδροξυτυροσόλης, της βανιλίνης και της ρουτίνης από ελαιοπυρήνα με

ευετυκτικούς διαλύτες και απέδειξαν ότι η υποβοηθούμενη από την ΥΠ εκχύλιση προκάλεσε σχεδόν διπλάσια αύξηση της απόδοσης.

Ως εκ τούτου, η μέθοδος των εκχύλισης με ΠΗΠ και ΥΠ παρέχει μικρότερο χρόνο εκχύλισης που οδηγεί στην εξοικονόμηση ενέργειας και την επίτευξη εκχυλισμάτων πλούσιων σε βιοδραστικές ενώσεις.

6.4.11. Αριστοποίηση της συμβατικής εκχύλισης και της εκχύλισης υποβοηθούμενης με ΠΗΠ και ΥΠ των ενδοκυτταρικών συστατικών από ελαιοπυρήνα ως προς τον χρόνο και τη συγκέντρωση αιθανόλης.

Σκοπός αυτής της πειραματικής ενότητας ήταν η βελτιστοποίηση της εκχύλισης των φαινολικών ενώσεων, των ολικών πρωτεϊνών, και της αντιοξειδωτικής δράσης των εκχυλισμάτων του ελαιοπυρήνα από την άποψη του χρόνου εκχύλισης και του ποσοστού συγκέντρωσης της αιθανόλης στον διαλύτη εφαρμόζοντας τη μεθοδολογία αποκριτικών επιφανειών (RSM). Στόχος αυτής της βελτιστοποίησης είναι η πιθανή μείωση της έντασης των συνθηκών εκχύλισης (χρόνος και συγκέντρωση του διαλύτη) με τη χρήση των δυο προεπεξεργασιών στη συμβατική εκχύλιση.

Η επίδραση των παραμέτρων εκχύλισης, όπως ο χρόνος εκχύλισης και η συγκέντρωση της αιθανόλης στον διαλύτη στην ανάκτηση των ενδοκυτταρικών συστατικών από ελαιοπυρήνα έχει μεγάλη σημασία. Στις προηγούμενες ενότητες συμπεράναμε ότι η εκχύλιση υποβοηθούμενη από ΠΗΠ (5 kV/cm, 11 kJ/kg) και ΥΠ (350 MPa, 10 min, 15 kJ/kg) σε επιλεγμένες συνθήκες την ενισχύουν σημαντικά αυξάνοντας την απόδοση της συγκέντρωσης των ενδοκυτταρικών συστατικών. Στόχος αυτής της ενότητας είναι να χρησιμοποιηθούν οι προεπεξεργασίες με ΥΠ και ΠΗΠ στην εκχύλιση ενδοκυτταρικών συστατικών από ελαιοπυρήνα είτε μειώνοντας τον χρόνο εκχύλισης είτε τη συγκέντρωση της αιθανόλης στον διαλύτη.

Ως εκ τούτου, εφαρμόστηκε ένας σχεδιασμός τριών επιπέδων για την αριστοποίηση των συνθηκών της εκχύλισης υποβοηθούμενης από ΠΗΠ και ΥΠ αλλά και της συμβατικής, προκειμένου να ληφθεί η μέγιστη ανάκτηση σε ενδοκυτταρικές ενώσεις από τον ελαιοπυρήνα σε κάθε είδος εκχύλισης ή ενδεχόμενα να ληφθεί συμπέρασμα για το αν και κατά πόσο μπορεί να μειωθεί ο χρόνος εκχύλισης ή η συγκέντρωση της αιθανόλης στον διαλύτη με τη χρήση των προεπεξεργασιών ΠΗΠ και ΥΠ στην εκχύλιση.

Οι δύο ανεξάρτητες μεταβλητές που ορίστηκαν ήταν ο χρόνος εκχύλισης (X1) και η συγκέντρωση αιθανόλης στον διαλύτη (X2) και κάθε μεταβλητή ρυθμίστηκε σε τρία επίπεδα. Οι συγκεντρώσεις των φαινολικών ενώσεων, των ολικών πρωτεϊνών και η αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων που προκύπτουν από τις τρεις διαφορετικές αναλογίες αιθανόλης/νερού (25:75, 50:50, 70:30) σε τρεις διαφορετικούς χρόνους εκχύλισης (15, 30, 60 min) για το συμβατικά

επεξεργασμένο δείγμα και για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ και ΥΠ δείγματα φαίνονται στον Πίνακα 6.64.

Πίνακας 6.64 Συγκέντρωση ολικών φαινολικών ενώσεων (g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.), ολικών πρωτεϊνών (g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β) και αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων (mM TE) του συμβατικά επεξεργασμένου ελαιοπυρήνα, του ελαιοπυρήνα που είχε προεπεξεργαστεί με ΠΗΠ (5 kV/cm, 11 kJ/kg) και ΥΠ (350 MPa, 10 min, 15 kJ/kg) στους 25 °C ως προς τη μεταβλητή X1 (χρόνος εκχύλισης) και X2 (συγκέντρωση αιθανόλης).

| | Συμβατική εκχύλιση | | | Εκχύλιση με ΠΗΠ (5 kV/cm, 11 kJ/kg) | | | Εκχύλιση με ΥΠ (350 MPa, 10 min, 15 kJ/kg) | | |
|--|---------------------------|------|------|--|------|------|---|------|------|
| | Χρόνος εκχύλισης (min) | | | Συγκέντρωση αιθανόλης στον διαλύτη (%) | | | | | |
| t | 25 | 50 | 70 | 25 | 50 | 70 | 25 | 50 | 70 |
| Συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων (g GAE/100 g ξ.β.) | | | | | | | | | |
| 15 | 1.49 | 2.12 | 0.61 | 1.99 | 2.54 | 1.02 | 1.93 | 2.51 | 0.82 |
| 30 | 2.09 | 1.45 | 0.95 | 2.49 | 2.79 | 1.18 | 2.44 | 2.90 | 1.06 |
| 60 | 2.04 | 2.74 | 1.32 | 2.74 | 3.13 | 1.37 | 2.57 | 3.04 | 1.18 |
| Συγκέντρωση πρωτεϊνών (g/100 g ξ.β.) | | | | | | | | | |
| 15 | 1.25 | 3.07 | 0.71 | 2.13 | 4.61 | 1.09 | 1.86 | 4.14 | 1.04 |
| 30 | 1.48 | 3.91 | 0.89 | 3.51 | 5.05 | 1.35 | 2.36 | 4.86 | 1.33 |
| 60 | 2.01 | 4.11 | 0.80 | 4.01 | 5.06 | 1.56 | 2.87 | 4,94 | 1.38 |
| Αντιοξειδωτική ικανότητα (mM TE) | | | | | | | | | |
| 15 | 2.82 | 2.92 | 1,65 | 2.88 | 3.25 | 2.40 | 2.74 | 3.01 | 2.60 |
| 30 | 2.96 | 3.16 | 2,35 | 3.25 | 3.31 | 2.88 | 3.03 | 3.25 | 2.45 |
| 60 | 3.03 | 3.23 | 2.85 | 3.44 | 3.97 | 2.86 | 2.57 | 3.36 | 2.98 |

Οι πειραματικές τιμές της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων κυμαίνονταν από 0,61 έως 2,74 g GAE/100 g ξ.β. για το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα, από 1,02 έως 3,13 g GAE/100 g ξ.β. για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ δείγματα και από 0.82 έως 3,04 g GAE/100 g ξ.β. για τα προεπεξεργασμένα με ΥΠ δείγματα. Οι πειραματικές τιμές της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών κυμαίνονταν από 0,71 έως 4,11 g/100 g ξ.β. για το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα, από 1,09 έως 4,94 g/100 g ξ.β. για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ δείγματα και από 1,04 έως 5,06 g/100 g ξ.β. για τα προεπεξεργασμένα με ΥΠ δείγματα. Οι πειραματικές τιμές της αντιοξειδωτικής ικανότητας κυμαίνονταν από 1,65 έως 3,23 mM TE για το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα, από 2.40 έως 3,97 mM TE για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ δείγματα και από 2.60 έως 3,36 mM TE για τα προεπεξεργασμένα με ΥΠ δείγματα.

Η αύξηση της διαπερατότητας που προκαλούν τα ΠΗΠ και τα ΥΠ στα κύτταρα του ελαιοπυρήνα πριν από τη διαδικασία της εκχύλισης αύξησε σημαντικά ($p < 0.05$) τη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων, των πρωτεϊνών και την αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων από

τους πρώτους χρόνους εκχύλισης. Ωστόσο, η απόδοση της εκχύλισης των φαινολικών συστατικών βελτιώθηκε με την προεπεξεργασία των ΠΗΠ και ΥΠ έως ότου έφτασε περίπου σε 14,5% και 10,1% αύξηση σε σύγκριση με το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα, αντίστοιχα. Παράλληλα, η αύξηση της απόδοσης της εκχύλισης των πρωτεϊνών έφτασε περίπου σε 23,1% και 20,2% αύξηση σε σύγκριση με το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ και ΥΠ δείγματα, αντίστοιχα.

Προκειμένου να βελτιστοποιηθεί το ποσοστό της συγκέντρωσης της αιθανόλης που χρησιμοποιείται σαν διαλύτης στην εκχύλιση καθώς και ο χρόνος εκχύλισης που απαιτείται για την εξαγωγή των βιοδραστικών συστατικών από το ελαιοπυρήνα για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ και ΥΠ δείγματα και τα συμβατικά επεξεργασμένα πραγματοποιήθηκε ανάλυση πολλαπλής παλινδρόμησης σύμφωνα με τα πειραματικά δεδομένα που παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.64. Η συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων, της συγκέντρωσης των ολικών πρωτεϊνών, και της αντιοξειδωτική δράσης των εκχυλισμάτων από ελαιοπυρήνα με τις δυο παραμέτρους επεξεργασίας (X_1 =χρόνος εκχύλισης, X_2 =% συγκέντρωση αιθανόλης στον διαλύτη) για τα συμβατικά επεξεργασμένα και τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ και ΥΠ δείγματα περιγράφηκε από τις ακόλουθες πολυωνυμικές εξισώσεις:

Συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα

$$\text{Ολικές φαινολικές ενώσεις} = -2.1483 + 0,0432X_1 + 0,1793X_2 - 0,0021X_2^2 \quad (\text{Εξ. 67})$$

$$\text{Ολικές πρωτεΐνες} = -8,4401 + 0,4786X_2 - 0,0051X_2^2 \quad (\text{Εξ. 68})$$

$$\text{Αντ. ικανότητα} = 1,6067 + 0,0199X_1 + 0,0536X_2 - 0,0002X_1^2 - 0,0536X_2^2 + 0,0001X_1X_2 \quad (\text{Εξ. 69})$$

Δείγμα προεπεξεργασμένο με ΠΗΠ

$$\text{Ολικές φαινολικές ενώσεις} = -1.6128 + 0,0415X_1 + 0,1795X_2 - 0,0021X_2^2 \quad (\text{Εξ. 70})$$

$$\text{Ολικές πρωτεΐνες} = -7,8746 + 0,1169X_1 + 0,4927X_2 - 0,0053X_2^2 \quad (\text{Εξ. 71})$$

$$\text{Αντιοξειδωτική ικανότητα} = 1,6101 + 0,0338X_1 - 0,0011X_2^2 \quad (\text{Εξ. 72})$$

Δείγμα προεπεξεργασμένο με ΥΠ

$$\text{Ολικές φαινολικές ενώσεις} = -2.4327 + 0,0503X_1 + 0,2138X_2 - 0,0004X_1^2 - 0,0025X_2^2 \quad (\text{Εξ. 73})$$

$$\text{Ολικές πρωτεΐνες} = -9.0283 + 0,0739X_1 + 0,5456X_2 - 0,0058X_2^2 \quad (\text{Εξ. 74})$$

$$\text{Αντιοξειδωτική ικανότητα} = 1.3293 + 0,0225X_1 - 0.0007X_2^2 \quad (\text{Εξ. 75})$$

Παρατηρείται ότι η συγκέντρωση φαινολικών συστατικών του συμβατικά επεξεργασμένου δείγματος επηρεάζεται κυρίως από τον τετραγωνικό όρο της συγκέντρωσης της αιθανόλης (X_2^2) και ακολούθως από τους γραμμικούς όρους του χρόνου εκχύλισης (X_1) και της συγκέντρωσης της αιθανόλης στον διαλύτη (X_2). Επιπλέον, η μεταβλητή με τη μεγαλύτερη επίδραση στη συγκέντρωση των πρωτεϊνών ήταν ξανά ο τετραγωνικός όρος της συγκέντρωσης της αιθανόλης (X_2^2) και ακολούθως ο γραμμικός όρος της συγκέντρωσης της αιθανόλης στον διαλύτη (X_2). Η κυρίαρχη επίδραση στο μοντέλο που αναπτύχθηκε για τη αντιοξειδωτική ικανότητα του εκχυλίσματος ελαιοπυρήνα καθορίστηκε επίσης από τον τετραγωνικό όρο της συγκέντρωσης της αιθανόλης (X_2^2), στη συνέχεια από τους γραμμικούς όρους του χρόνου εκχύλισης (X_1) και της συγκέντρωσης της αιθανόλης στον διαλύτη (X_2), ακολούθως από τον τετραγωνικό όρο του χρόνου εκχύλισης (X_1^2), καθώς επίσης και από την αλληλεπίδραση μεταξύ του χρόνου εκχύλισης και της συγκέντρωσης της αιθανόλης στον διαλύτη (X_1X_2).

Παρατηρείται ότι η συγκέντρωση φαινολικών συστατικών του προεπεξεργασμένου με ΠΗΠ δείγματος επηρεάζεται κυρίως από τον τετραγωνικό όρο της συγκέντρωσης της αιθανόλης (X_2^2) και ακολούθως από τους γραμμικούς όρους του χρόνου εκχύλισης (X_1) και της συγκέντρωσης της αιθανόλης στον διαλύτη (X_2). Επιπλέον, η μεταβλητή με τη μεγαλύτερη επίδραση στη συγκέντρωση των πρωτεϊνών ήταν ξανά ο τετραγωνικός όρος της συγκέντρωσης της αιθανόλης (X_2^2) και ακολούθως οι γραμμικοί όροι του χρόνου εκχύλισης (X_1) και της συγκέντρωσης της αιθανόλης στον διαλύτη (X_2). Η κυρίαρχη επίδραση στο μοντέλο που αναπτύχθηκε για τη αντιοξειδωτική ικανότητα του εκχυλίσματος ελαιοπυρήνα με ΠΗΠ καθορίστηκε επίσης από τον τετραγωνικό όρο της συγκέντρωσης της αιθανόλης (X_2^2), στη συνέχεια από τον γραμμικό όρο του χρόνου εκχύλισης (X_1).

Παρατηρείται ότι η συγκέντρωση φαινολικών συστατικών του προεπεξεργασμένου με ΥΠ δείγματος επηρεάζεται κυρίως από τον τετραγωνικό όρο της συγκέντρωσης της αιθανόλης (X_2^2) και από τον γραμμικό όρο της συγκέντρωσης της αιθανόλης στον διαλύτη (X_2). Ακολούθως επηρεάζεται από τον γραμμικό όρο του χρόνου εκχύλισης (X_1) και από τον τετραγωνικό όρο του χρόνου εκχύλισης (X_1^2). Επιπλέον, η μεταβλητή με τη μεγαλύτερη επίδραση στη συγκέντρωση των πρωτεϊνών ήταν ξανά ο τετραγωνικός όρος της συγκέντρωσης της αιθανόλης (X_2^2) και ακολούθως οι γραμμικοί όροι του χρόνου εκχύλισης (X_1) και της συγκέντρωσης της αιθανόλης στον διαλύτη (X_2). Η κυρίαρχη επίδραση στο μοντέλο που αναπτύχθηκε για τη αντιοξειδωτική ικανότητα του εκχυλίσματος ελαιοπυρήνα καθορίστηκε επίσης από τον τετραγωνικό όρο της συγκέντρωσης της αιθανόλης (X_2^2) και στη συνέχεια από τον γραμμικό όρο του χρόνου εκχύλισης (X_1).

Οι συντελεστές παλινδρόμησης των γραμμικών και τετραγωνικών όρων αλλά και των όρων των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μεταβλητών του μοντέλου για τα συμβατικά επεξεργασμένα, τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ και ΥΠ δείγματα για τη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων, των πρωτεϊνών και η αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων παρουσιάζονται στους Πίνακες 6.65, 6.66, 6.67.

Πίνακας 6.65. Συντελεστές παλινδρόμησης των γραμμικών και τετραγωνικών όρων και των όρων των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μεταβλητών των μοντέλων για τη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων στα εκχυλίσματα ελαιοπυρήνα για το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα, το προεπεξεργασμένο με ΠΗΠ και ΥΠ.

| Συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων | | | | | | |
|---------------------------------------|---|----------------------|--------------------|----------------------|--------------------|----------------------|
| | Συμβατικά επεξεργασμένο | | ΠΗΠ | | ΥΠ | |
| | Συντελεστές παλινδρόμησης των μοντέλων | | | | | |
| | Συντελεστές | Τυπικό σφάλμα | Συντελεστές | Τυπικό σφάλμα | Συντελεστές | Τυπικό σφάλμα |
| Μοντέλο | -2.1483 | 0,4344 | -1,6128 | 0,2716 | -2,4327 | 0,2911 |
| X1 | 0,0432 | 0,0153 | 0,0415 | 0,0095 | 0,0508 | 0,0010 |
| X2 | 0.1793 | 0.0159 | 0.1795 | 0.0099 | 0,2138 | 0,0121 |
| X1² | -0.0004 | 0.0001 | -0.0003 | 0.0001 | -0,0004 | 0,0001 |
| X2² | -0.0021 | 0.0001 | -0.0021 | 0.0001 | -0,0025 | 0,0001 |
| X1X2 | 0.0001 | 0.0000 | 0.0002 | 0.0000 | -0,0001 | 0,0000 |

Πίνακας 6.66. Συντελεστές παλινδρόμησης των γραμμικών και τετραγωνικών όρων και των όρων των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μεταβλητών των μοντέλων για τη συγκέντρωση των πρωτεϊνών στα εκχυλίσματα ελαιοπυρήνα για το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα, το προεπεξεργασμένο με ΠΗΠ και ΥΠ.

| Συγκέντρωση πρωτεϊνών | | | | | | |
|------------------------------|---|----------------------|--------------------|----------------------|--------------------|----------------------|
| | Συμβατικά επεξεργασμένο | | ΠΗΠ | | ΥΠ | |
| | Συντελεστές παλινδρόμησης των μοντέλων | | | | | |
| | Συντελεστές | Τυπικό σφάλμα | Συντελεστές | Τυπικό σφάλμα | Συντελεστές | Τυπικό σφάλμα |
| Μοντέλο | -8,4401 | 0,9492 | -7,8746 | 1,2635 | -9.0283 | 0.4558 |
| X1 | 0,0648 | 0,0334 | 0,1169 | 0,0446 | 0.0738 | 0.0160 |
| X2 | 0.4786 | 0.0349 | 0.4927 | 0.0464 | 0.5456 | 0.0167 |
| X1² | -0.0005 | 0.0002 | -0.0008 | 0.0003 | -0.0005 | 0.0001 |
| X2² | -0.0051 | 0.0003 | -0.0053 | 0.0005 | -0.0058 | 0.0001 |
| X1X2 | 0.0003 | 0.0000 | 0.0006 | 0.0002 | -0.0003 | 0.0000 |

Πίνακας 6.67. Συντελεστές παλινδρόμησης των γραμμικών και τετραγωνικών όρων και των όρων των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μεταβλητών των μοντέλων για τη αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα για το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα, το προεπεξεργασμένο με ΠΗΠ και ΥΠ.

| Αντιοξειδωτική ικανότητα | | | | | | |
|---------------------------------|---|----------------------|--------------------|----------------------|--------------------|----------------------|
| | Συμβατικά επεξεργασμένο | | ΠΗΠ | | ΥΠ | |
| | Συντελεστές παλινδρόμησης των μοντέλων | | | | | |
| | Συντελεστές | Τυπικό σφάλμα | Συντελεστές | Τυπικό σφάλμα | Συντελεστές | Τυπικό σφάλμα |
| Μοντέλο | 1,6067 | 0,1271 | 1,6101 | 0,1581 | 1.3293 | 0.2388 |
| X1 | 0,0199 | 0,0044 | 0,0338 | 0,0267 | 0.0225 | 0.0084 |
| X2 | 0.0536 | 0.0046 | 0,1023 | 0,0278 | 0.0637 | 0.0087 |
| X1² | -0.0002 | 0.0000 | -0,0002 | 0,0000 | -0.0003 | 0.0001 |
| X2² | -0.0536 | 0.0000 | -0,0011 | 0,0002 | -0.0007 | 0.0001 |
| X1X2 | 0.0001 | 0.0000 | -0,0001 | 0,0000 | 0.0001 | 0.0000 |

Οι Πίνακες 6.68, 6.69, 6.70 δείχνει τις τιμές F και p για όλες τις μεταβλητές και τις αλληλεπιδράσεις τους από τις εξισώσεις που περιγράφουν τη σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων, τη συγκέντρωση των πρωτεϊνών και την αντιοξειδωτική ικανότητα με το ποσοστό συγκέντρωσης αιθανόλης ως διαλύτης και με το χρόνο εκχύλισης τόσο για συμβατικά επεξεργασμένα δείγματα και τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ και ΥΠ δείγματα.

Πίνακας 6.68. Ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) για την επιφάνεια απόκρισης της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων στα εκχυλίσματα ελαιοπυρήνα για το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα, το προεπεξεργασμένο με ΠΗΠ και ΥΠ.

| Συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων | | | | | | |
|---------------------------------------|------------------------------------|--------------------|-----------------------|--------------------|-----------------------|--------------------|
| | Συμβατικά επεξεργασμένο | | ΠΗΠ | | ΥΠ | |
| | Ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) | | | | | |
| | SS^b | F-value | SS^b | F-value | SS^b | F-value |
| Μοντέλο | 3.96 | 79,00*** | 4,61 | 153,93*** | 5,78 | 115,6*** |
| X1 | 0.57 | 43,53** | 0.43 | 43,53** | 0.44 | 74,75** |
| X2 | 1.19 | 90,35** | 2,24 | 90,35** | 2.51 | 422.89*** |
| X1 ² | 0.08 | 6,37 ^{NS} | 0.03 | 6,37 ^{NS} | 0.07 | 12.47* |
| X2 ² | 2.28 | 172,97*** | 2,21 | 172,97*** | 3.13 | 528.24*** |
| X1X2 | 0.01 | 1,04 ^{NS} | 0.03 | 1,04 ^{NS} | 0,01 | 2,41 ^{NS} |
| Υπόλοιπο | 0,03 | | 0,02 | | 0,02 | |
| Σύνολο | 3.99 | | 4,63 | | 5,80 | |

^b SS: Άθροισμα τετραγώνων, * P<0,05, ** P<0,01, *** P<0,001, NS – Μη σημαντικό

Πίνακας 6.69. Ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) για την επιφάνεια απόκρισης της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών στα εκχυλίσματα ελαιοπυρήνα για το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα, το προεπεξεργασμένο με ΠΗΠ και ΥΠ.

| Συγκέντρωση πρωτεϊνών | | | | | | |
|------------------------------------|--------------------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|------------------------|
| | Συμβατικά επεξεργασμένο | | ΠΗΠ | | ΥΠ | |
| Ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) | | | | | | |
| | SS^b | F-value | SS^b | F-value | SS^b | F-value |
| Μοντέλο | 14,22 | 45,14 ^{***} | 20,50 | 36,64 ^{***} | 19,43 | 292,18 ^{***} |
| X1 | 0,61 | 9,77 ^{NS} | 1,24 | 11,11 ^{**} | 0,87 | 60,16 ^{**} |
| X2 | 0,98 | 15,56 [*] | 5,64 | 50,46 ^{**} | 1,93 | 133,04 ^{**} |
| X1 ² | 0,08 | 1,35 ^{NS} | 0,30 | 2,69 ^{NS} | 0,11 | 8,20 ^{NS} |
| X2 ² | 12,96 | 205,18 ^{***} | 14,46 | 129,19 ^{**} | 17,23 | 1183,34 ^{***} |
| X1X2 | 0,11 | 1,77 ^{NS} | 0,44 | 4,00 ^{NS} | 0,11 | 7,68 ^{NS} |
| Υπόλοιπο | 0,18 | | 0,33 | | 0,04 | |
| Σύνολο | 14,40 | | 20,83 | | 19,47 | |

^b SS: Αθροισμα τετραγώνων, * P<0,05, ** P<0,01, *** P<0,001, NS – Μη σημαντικό

Πίνακας 6.70. Ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) για την επιφάνεια απόκρισης της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα για το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα, το προεπεξεργασμένο με ΠΗΠ και ΥΠ.

| Αντιοξειδωτική ικανότητα | | | | | | |
|------------------------------------|--------------------------------|-----------------------|-----------------------|---------------------|-----------------------|---------------------|
| | Συμβατικά επεξεργασμένο | | ΠΗΠ | | ΥΠ | |
| Ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) | | | | | | |
| | SS^b | F-value | SS^b | F-value | SS^b | F-value |
| Μοντέλο | 0,557 | 98,32 ^{***} | 1,47 | 17,35 ^{**} | 0,46 | 27,87 ^{**} |
| X1 | 0,17 | 148,23 ^{**} | 0,51 | 12,58 [*] | 0,15 | 37,48 ^{**} |
| X2 | 0,14 | 120,92 ^{**} | 0,34 | 8,52 ^{NS} | 0,02 | 5,84 ^{NS} |
| X1 ² | 0,02 | 21,86 [*] | 0,02 | 0,57 ^{NS} | 0,03 | 6,94 ^{NS} |
| X2 ² | 0,24 | 208,54 ^{***} | 0,68 | 16,90 [*] | 0,27 | 67,91 ^{**} |
| X1X2 | 0,02 | 16,92 [*] | 0,01 | 0,08 ^{NS} | 0,01 | 2,42 ^{NS} |
| Υπόλοιπο | 0,003 | | 0,12 | | 0,01 | |
| Σύνολο | 0,56 | | 1,59 | | 0,47 | |

^b SS: Αθροισμα τετραγώνων, * P<0,05, ** P<0,01, *** P<0,001, NS – Μη σημαντικό

Οι πίνακες 6.68, 6.69, 6.70 παρουσιάζουν τα αποτελέσματα προσαρμογής των πειραματικών δεδομένων στα μοντέλα. Η ακρίβεια των μοντέλων που αναπτύχθηκαν αξιολογήθηκαν με βάση την τιμή του συντελεστή προσδιορισμού (R^2). Οι τιμές R^2 ήταν 0.9900, 0.9966 και 0.9969 για τη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων, 0.9968, 0.9838 και 0.9926 για τη συγκέντρωση των ολικών πρωτεϊνών, και 0.9940, 0.9841 και 0.9835 για την αντιοξειδωτική δράση των εκχυλισμάτων από ελαιοπυρήνα για τα συμβατικά επεξεργασμένα, τα προεπεξεργασμένα με

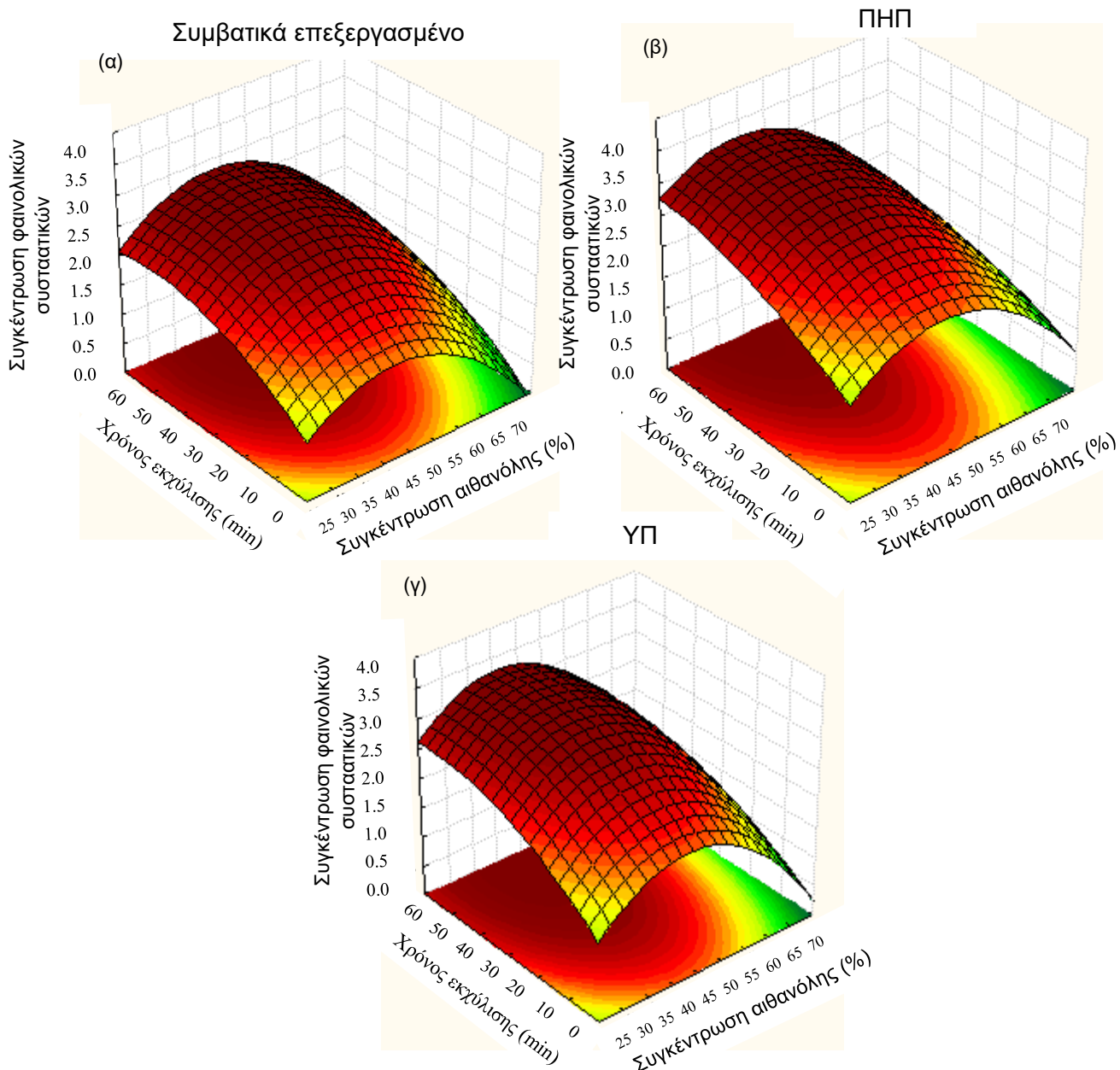
ΠΗΠ και ΥΠ δείγματα αντίστοιχα, υποδεικνύοντας ότι τα μοντέλα αντιπροσωπεύουν επαρκώς τη σχέση μεταξύ των επιλεγμένων παραμέτρων. Οι προσαρμοσμένες τιμές R^2 (R^2 -adj), οι οποίες διορθώνουν το R^2 σύμφωνα με το μέγεθος του δείγματος και τον αριθμό των όρων του μοντέλου ήταν παρόμοιες με τις αντίστοιχες τιμές R^2 , υποδεικνύοντας ότι υπάρχει καλή συσχέτιση μεταξύ των πειραματικών και των προβλεπόμενων τιμών. Η σημασία των διαφορετικών όρων για κάθε συντελεστή προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας την τιμή F και την τιμή P. Μεγάλη τιμή F ή μικρή τιμή P αντίστοιχα συνεπάγεται σημαντική επίδραση στην αντίστοιχη μεταβλητή απόκρισης. Οι τιμές F για τις παραμέτρους του μοντέλου είναι πολύ χρήσιμες ως δείκτες της σημασίας των επιδράσεων των μεταβλητών και των αλληλεπιδράσεών τους.

Προκειμένου να προσδιοριστούν τα βέλτιστα επίπεδα των μεταβλητών για την ανάκτηση των ενδοκυτταρικών συστατικών από τον ελαιοπυρήνα με τη συμβατική εκχύλιση και την εκχύλιση υποβοηθούμενη με ΠΗΠ και ΥΠ, δημιουργήθηκαν 3D γραφήματα αποκριτικής επιφάνειας από το μοντέλο που αντιστοιχεί στις παραπάνω εξισώσεις (Σχήμα 6.61).

Όπως φαίνεται το Σχήμα 6.61 και όπως έχει παρατηρηθεί και από τις προηγούμενες πειραματικές ενότητες, χρησιμοποιώντας συγκέντρωση αιθανόλης 40-55% (σε ανάμειξη με νερό) ως διαλύτη εκχύλισης και για χρόνους εκχύλισης πάνω από 20 min οι συγκεντρώσεις των φαινολικών ενώσεων στο συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα ήταν οι μέγιστες και κυμαίνονταν από 1,5 έως 2,9 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. Από 55% και πάνω συγκέντρωση αιθανόλης, η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων στα εκχυλίσματα από ελαιοπυρήνα ήταν σημαντικά χαμηλότερες (<1.5 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β).

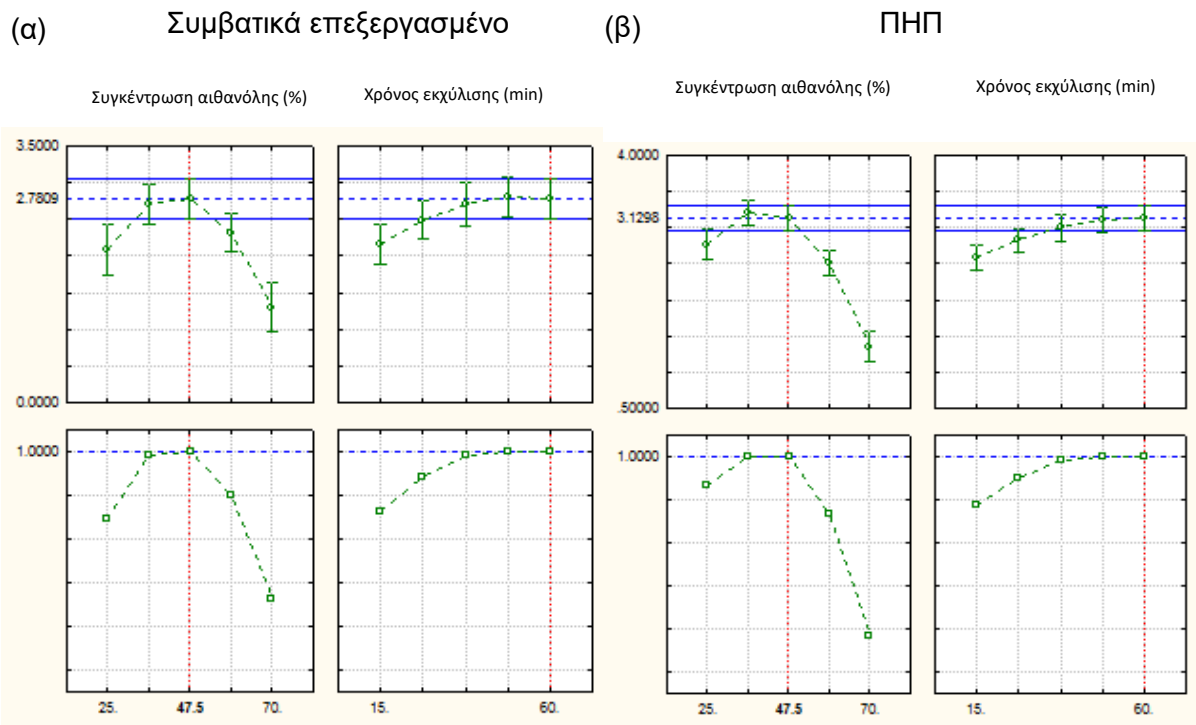
Στην εκχύλιση φαινολικών συστατικών από ελαιοπυρήνα υποβοηθούμενη από ΠΗΠ ως προεπεξεργασία παρατηρήθηκε ότι οι μέγιστες συγκεντρώσεις φαινολικών ενώσεων επιτεύχθηκαν για συγκέντρωση αιθανόλης από 30-55% για χρόνο εκχύλισης πάνω από 15 min και κυμαίνονταν από 1,9 έως 3,3 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. Η προεπεξεργασία με ΠΗΠ λόγω της διάρρηξης που προκαλεί στα κύτταρα του ελαιοπυρήνα βελτίωσε την απόδοση της εκχύλισης σε φαινολικά συστατικά, καθώς τα εκχυλίσματα που είχαν προεπεξεργαστεί με ΠΗΠ ήταν περίπου 14% πιο εμπλουτισμένα σε φαινολικά συστατικά σε σχέση με το συμβατικά επεξεργασμένο εκχύλισμα ελαιοπυρήνα ύστερα από 30 min εκχύλισης με διαλύτη συγκέντρωσης 50% σε αιθανόλη.

Στην εκχύλιση φαινολικών συστατικών από ελαιοπυρήνα υποβοηθούμενη από ΥΠ ως προεπεξεργασία παρατηρήθηκε ότι οι μέγιστες συγκεντρώσεις φαινολικών ενώσεων επιτεύχθηκαν για συγκέντρωση αιθανόλης από 30-55% για χρόνο εκχύλισης πάνω από 25 min και κυμαίνονταν από 1,8 έως 3,2 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.

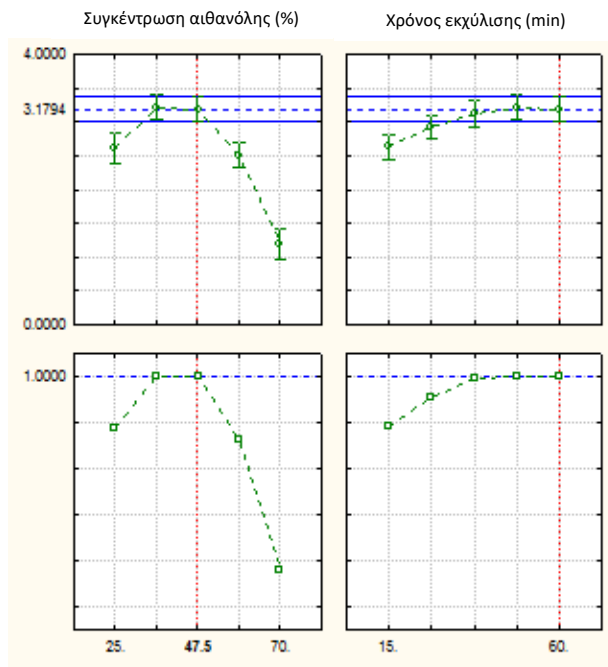


Σχήμα 6.61. Γραφήματα αποκριτικής επιφάνειας για την ανάκτηση των φαινολικών ενώσεων της (α) συμβατικής εκχύλισης, (β) της εκχύλισης υποβοηθούμενης με ΠΗΠ και (γ) της εκχύλισης υποβοηθούμενης με ΥΠ που επηρεάζονται από το χρόνο της εκχύλισης και τη συγκέντρωση της αιθανόλης στον διαλύτη.

Η προεπεξεργασία με ΥΠ λόγω της διάρρηξης που προκαλεί στα κύτταρα του ελαιοπυρήνα βελτίωσε την απόδοση της εκχύλισης σε φαινολικά συστατικά, καθώς τα εκχυλίσματα που είχαν προεπεξεργαστεί με ΠΗΠ ήταν περίπου 10% πιο εμπλουτισμένα σε φαινολικά συστατικά σε σχέση με το συμβατικά επεξεργασμένο εκχύλισμα ελαιοπυρήνα ύστερα από 30 min εκχύλισης με διαλύτη συγκέντρωσης 50 % σε αιθανόλη.



(γ) ΥΠ



Σχήμα 6.62. Προφίλ για τις προβλεπόμενες τιμές των παραμέτρων της εκχύλισης προκειμένου να επιτευχθεί η μέγιστη απόδοση (οριζόμενη με την τιμή 1, σε κλίμακα από 0-1) της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων της (α) συμβατικής εκχύλισης, της (β) εκχύλισης υποβοηθούμενης με ΠΗΠ και της (γ) εκχύλισης υποβοηθούμενης με ΥΠ στα εκχυλίσματα του ελαιοπυρήνα.

Στο Σχήμα 6.62 απεικονίζονται τα διαγράμματα με τα επιθυμητά επίπεδα των παραμέτρων της εκχύλισης προκειμένου να επιτευχθεί η μέγιστη απόδοση (οριζόμενη με την τιμή 1, σε κλίμακα

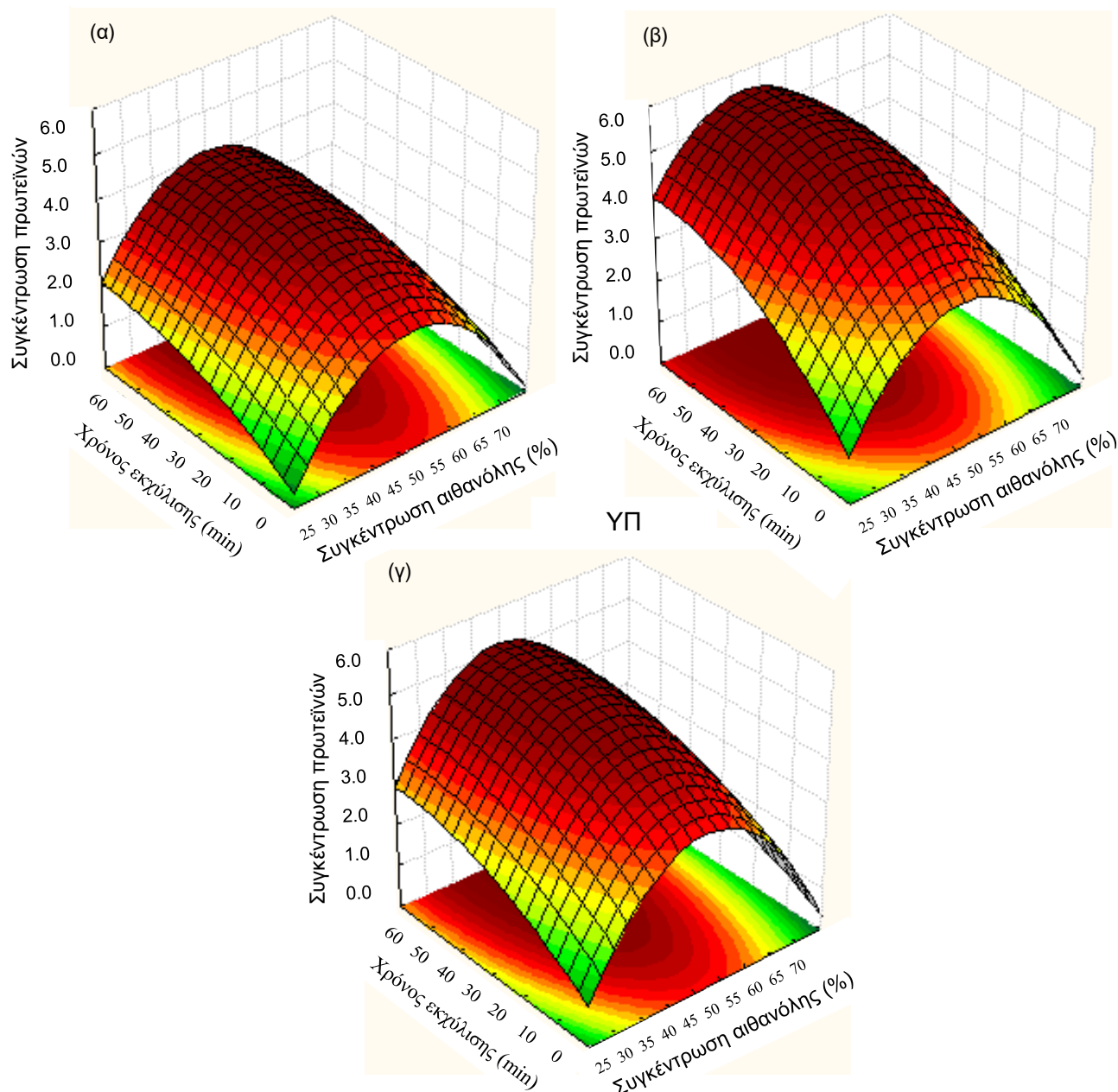
από 0-1) της συγκέντρωσης των φαινολικών συστατικών στα εκχυλίσματα από ελαιοπυρήνα. Η μέγιστη περιεκτικότητα φαινολικών ενώσεων για το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα ήταν 2,78 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. και επιτεύχθηκε σε συγκέντρωση αιθανόλης περίπου από 35 έως 50% σε χρόνο εκχύλισης από 50 έως 60 min. Η μέγιστη περιεκτικότητα φαινολικών ενώσεων για το επεξεργασμένο με ΠΗΠ ήταν 3,13 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. και επιτεύχθηκε σε συγκέντρωση αιθανόλης από 35 έως 50% σε χρόνο εκχύλισης από 40 έως 60 min. Η μέγιστη περιεκτικότητα φαινολικών ενώσεων για το επεξεργασμένο με ΥΠ ήταν 3,18 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. και επιτεύχθηκε σε συγκέντρωση αιθανόλης από 35 έως 50% σε χρόνο εκχύλισης από 40 έως 60 min.

Όπως φαίνεται στο Σχήμα 6.63 και όπως έχει παρατηρηθεί και από τις προηγούμενες πειραματικές ενότητες, χρησιμοποιώντας συγκέντρωση αιθανόλης 40-55% (σε ανάμειξη με νερό) ως διαλύτη εκχύλισης και για χρόνους εκχύλισης πάνω από 20 min οι συγκεντρώσεις και των πρωτεϊνών στο συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα ήταν οι μέγιστες και κυμαίνονταν από 2,9 έως 4,1 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. Από 55% και πάνω συγκέντρωση αιθανόλης, η συγκέντρωση πρωτεϊνών στα εκχυλίσματα από ελαιοπυρήνα ήταν σημαντικά χαμηλότερες (<2,5 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β). Στην εκχύλιση των πρωτεϊνών από ελαιοπυρήνα υποβοηθούμενη από ΠΗΠ ως προεπεξεργασία παρατηρήθηκε ότι οι μέγιστες συγκεντρώσεις πρωτεϊνών επιτεύχθηκαν για συγκέντρωση αιθανόλης από 30-55% για χρόνο εκχύλισης πάνω από 15 min και κυμαίνονταν από 3,9 έως 5,2 g /100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. Η προεπεξεργασία με ΠΗΠ λόγω της διάρρηξης που προκαλεί στα κύτταρα του ελαιοπυρήνα βελτίωσε την απόδοση της εκχύλισης σε πρωτεΐνες, καθώς τα εκχυλίσματα που είχαν προεπεξεργαστεί με ΠΗΠ ήταν περίπου 27% πιο εμπλουτισμένα σε πρωτεΐνες σε σχέση με το συμβατικά επεξεργασμένο εκχύλισμα ελαιοπυρήνα ύστερα από 30 min εκχύλισης με διαλύτη συγκέντρωσης 50% σε αιθανόλη.

Στην εκχύλιση των πρωτεϊνών από ελαιοπυρήνα υποβοηθούμενη από ΥΠ ως προεπεξεργασία παρατηρήθηκε ότι οι μέγιστες συγκεντρώσεις πρωτεϊνών επιτεύχθηκαν για συγκέντρωση αιθανόλης από 35-55% για χρόνο εκχύλισης πάνω από 12 min και κυμαίνονταν από 3,7 έως 4,9 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. Η προεπεξεργασία με ΥΠ λόγω της διάρρηξης που προκαλεί στα κύτταρα του ελαιοπυρήνα βελτίωσε την απόδοση της εκχύλισης σε πρωτεΐνες, καθώς τα εκχυλίσματα που είχαν προεπεξεργαστεί με ΥΠ ήταν περίπου 25% πιο εμπλουτισμένα σε πρωτεΐνες σε σχέση με το συμβατικά επεξεργασμένο εκχύλισμα ελαιοπυρήνα ύστερα από 30 min εκχύλισης με διαλύτη συγκέντρωσης 50% σε αιθανόλη.

Συμβατικά επεξεργασμένο

ΠΗΠ



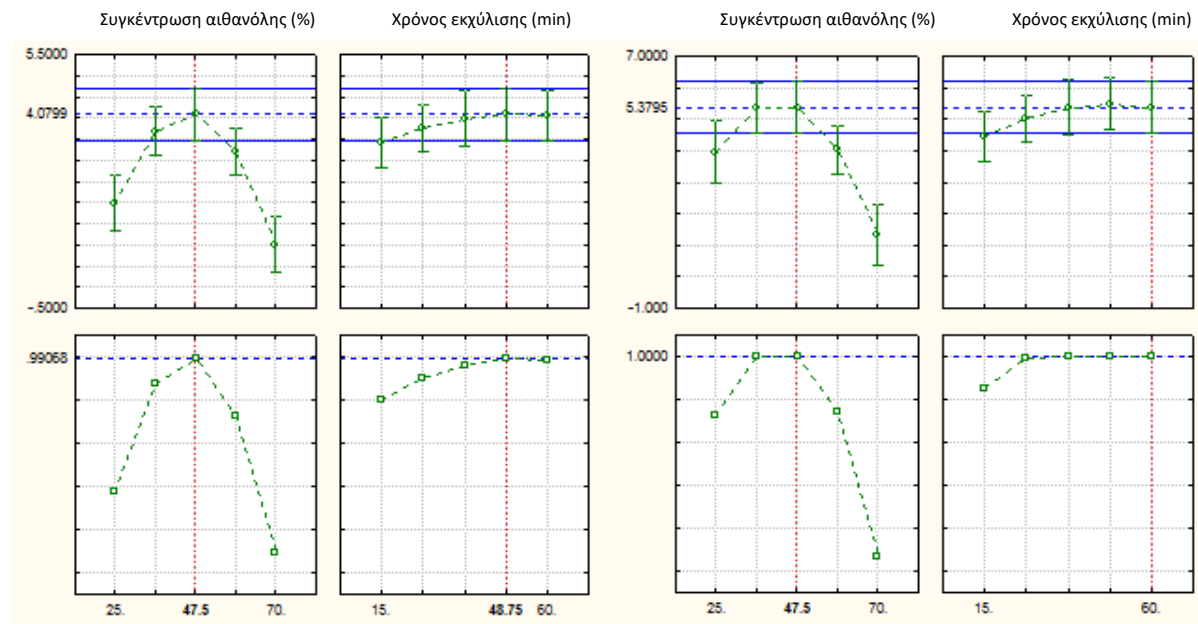
Σχήμα 6.63 Γραφήματα αποκριτικής επιφάνειας για την ανάκτηση των πρωτεϊνών της (α) συμβατικής εκχύλισης, (β) της εκχύλισης υποβοηθούμενης με ΠΗΠ και (γ) της εκχύλισης υποβοηθούμενης με ΥΠ που επηρεάζονται από το χρόνο της εκχύλισης και τη συγκέντρωση της αιθανόλης στον διαλύτη.

Στο Σχήμα 6.64 απεικονίζονται τα διαγράμματα με τα επιθυμητά επίπεδα των παραμέτρων της εκχύλισης προκειμένου να επιτευχθεί η μέγιστη απόδοση (οριζόμενη με την τιμή 1, σε κλίμακα από 0-1) της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών στα εκχυλίσματα από ελαιοπυρήνα. Η μέγιστη

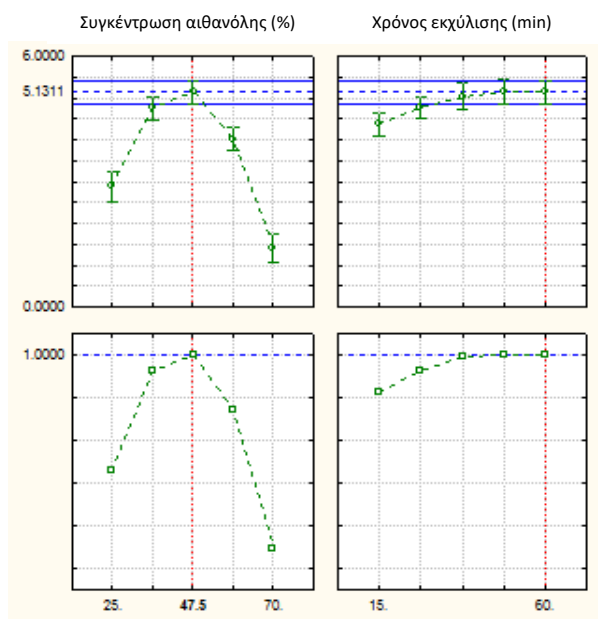
περιεκτικότητα πρωτεϊνών για το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα ήταν 4,1 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. και επιτεύχθηκε σε συγκέντρωση αιθανόλης περίπου 50% σε χρόνο εκχύλισης 50 min.

(α) Συμβατικά επεξεργασμένο

(β) ΠΗΠ



(γ) ΥΠ

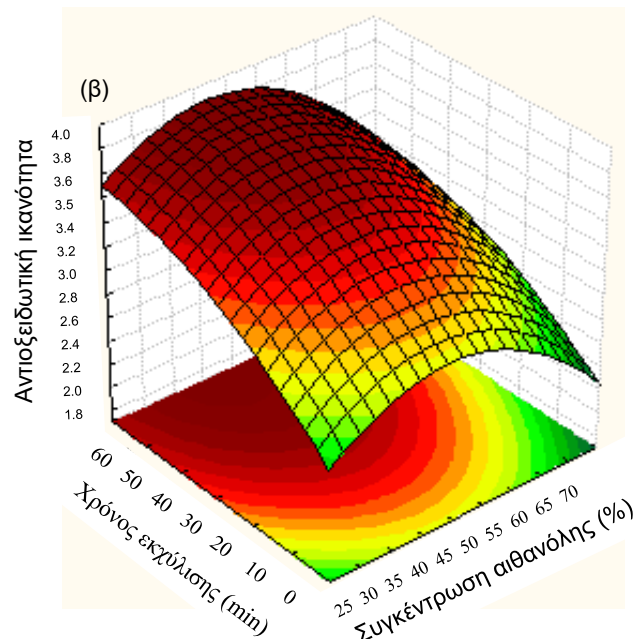
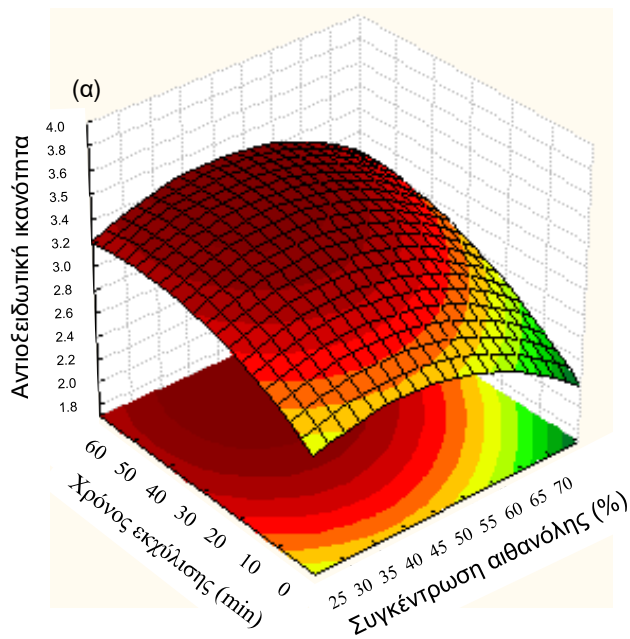


Σχήμα 6.64 Προφίλ για τις προβλεπόμενες τιμές των παραμέτρων της εκχύλισης προκειμένου να επιτευχθεί η μέγιστη απόδοση (οριζόμενη με την τιμή 1, σε κλίμακα από 0-1) της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών της (α) συμβατικής εκχύλισης, της (β) εκχύλισης υποβοηθούμενης με ΠΗΠ και της (γ) εκχύλισης υποβοηθούμενης με ΥΠ στα εκχυλίσματα του ελαιοπυρήνα.

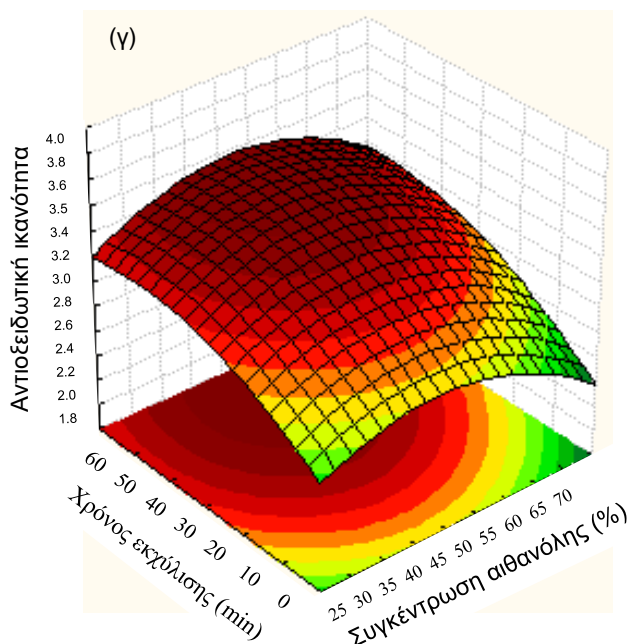
Η μέγιστη περιεκτικότητα πρωτεϊνών για το επεξεργασμένο με ΠΗΠ ήταν 5,4 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. και επιτεύχθηκε σε συγκέντρωση αιθανόλης από 35 έως 50% σε χρόνο εκχύλισης από 30 έως και 60 min.

Συμβατικά επεξεργασμένο

ΠΗΠ



ΥΠ



Σχήμα 6.65 Γραφήματα αποκριτικής επιφάνειας για την αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων που προέκυψαν από την (α) συμβατική εκχύλιση, (β) την εκχύλιση υποβοηθούμενη με ΠΗΠ και (γ) την εκχύλιση υποβοηθούμενη με ΥΠ που επηρεάζονται από το χρόνο της εκχύλισης και τη συγκέντρωση της αιθανόλης στον διαλύτη.

Τέλος, η μέγιστη περιεκτικότητα πρωτεϊνών για το επεξεργασμένο με ΥΠ ήταν 5,13 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. και επιτεύχθηκε σε συγκέντρωση αιθανόλης περίπου 50% σε χρόνο εκχύλισης από 37 έως και 60 min. Τέλος, στο Σχήμα 6.65 παρατηρήθηκε πως η αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων από ελαιοπυρήνα είχε παρόμοια τάση με τη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων κατά τη διάρκεια της εκχύλισης σε όλες τις μελετηθείσες συνθήκες.

Η αντιοξειδωτική ικανότητα για το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα κυμάνθηκε από 2,6 έως 3,3 mM TE χρησιμοποιώντας συγκέντρωση αιθανόλης 40-55% (σε ανάμειξη με νερό) ως διαλύτη εκχύλισης και για χρόνους εκχύλισης πάνω από 20 min. Οι τιμές της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων από ελαιοπυρήνα προεπεξεργασμένο με ΠΗΠ κυμάνθηκαν από 3,1 έως 3,9 mM TE για συγκέντρωση αιθανόλης από 30-55% για χρόνο εκχύλισης πάνω από 15 min. Τέλος, οι τιμές της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων από ελαιοπυρήνα προεπεξεργασμένο με ΥΠ κυμάνθηκαν από 2,8 έως 3,5 mM TE για συγκέντρωση αιθανόλης από 40-50% για χρόνο εκχύλισης πάνω από 20 min.

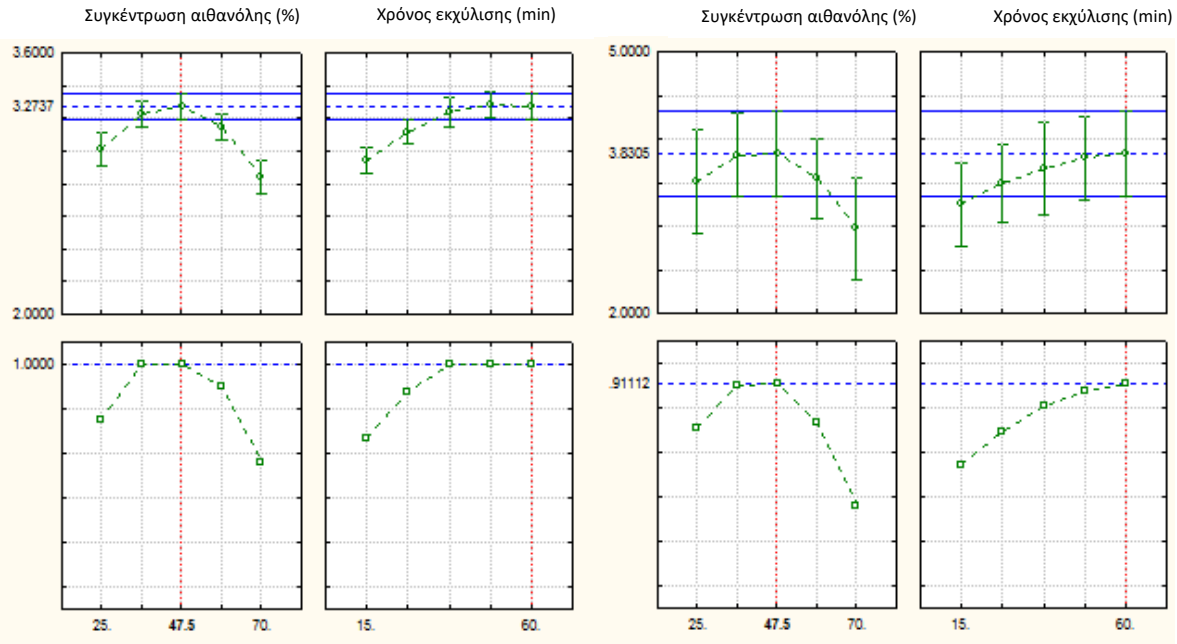
Στο σχήμα 6.66 απεικονίζονται τα διαγράμματα με τα επιθυμητά επίπεδα των παραμέτρων της εκχύλισης προκειμένου να επιτευχθεί η μέγιστη αντιοξειδωτική ικανότητα (οριζόμενη με την τιμή 1, σε κλίμακα από 0-1) των εκχυλισμάτων από ελαιοπυρήνα.

Η μέγιστη αντιοξειδωτική ικανότητα για το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα ήταν 3,27 mM TE και επιτεύχθηκε σε συγκέντρωση αιθανόλης από 35 έως 50% σε χρόνο εκχύλισης από 37,5 έως 60 min. Η μέγιστη αντιοξειδωτική ικανότητα για το επεξεργασμένο με ΠΗΠ ήταν 3,83 mM TE και επιτεύχθηκε σε συγκέντρωση αιθανόλης από 35 έως 50% σε χρόνο εκχύλισης 60 min. Η μέγιστη αντιοξειδωτική ικανότητα για το επεξεργασμένο με ΥΠ ήταν 3,37 mM TE και επιτεύχθηκε σε συγκέντρωση αιθανόλης περίπου 50% σε χρόνο εκχύλισης 50 min.

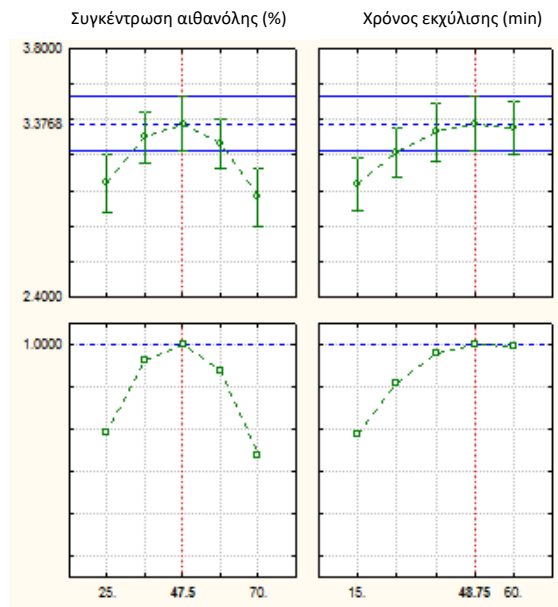
Τέλος, για επικύρωση των προβλεπόμενων μεταβλητών, διεξήχθησαν πειράματα χρησιμοποιώντας τις αριστοποιημένες παραμέτρους για κάθε μεμονωμένη απόκριση. Στον Πίνακα 6.71 παρουσιάζονται επίσης στα επίπεδα μεταβλητών που αριστοποιούνται για κάθε απόκριση, οι τιμές για τις υπόλοιπες αποκρίσεις που προέκυψαν είτε από το μοντέλο ή πειραματικά. Οι πειραματικές τιμές δεν εμφάνισαν σημαντικές διαφορές σε σχέση με τις προβλεπόμενες, υποδεικνύοντας ότι τα μοντέλα που αναπτύχθηκαν ήταν αξιόπιστα και επαρκή στις προβλέψεις τους και συνεπώς μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αριστοποίηση της εκχύλισης του ελαιοπυρήνα είτε για τη συμβατική είτε για την υποβοηθούμενη με ΠΗΠ ή ΥΠ εκχύλιση.

(α) Συμβατικά επεξεργασμένο

(β) ΠΗΠ



(γ) ΥΠ



Σχήμα 6.66 Προφίλ για τις προβλεπόμενες τιμές των παραμέτρων της εκχύλισης προκειμένου να επιτευχθεί η μέγιστη απόδοση (οριζόμενη με την τιμή 1, σε κλίμακα από 0-1) της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων που προέκυψαν από την (α) συμβατική εκχύλιση, την (β) εκχύλιση υποβοηθούμενη με ΠΗΠ και την (γ) εκχύλιση υποβοηθούμενη με ΥΠ στα εκχυλίσματα του ελαιουπυρήνα.

Πίνακας 6.71 Προβλεπόμενες και πειραματικές τιμές για τις αποκρίσεις που προέκυψαν στα διάφορα επίπεδα των μεταβλητών

| Μεταβλητές της διεργασίας | | Προβλεπόμενες τιμές | | | Πειραματικές τιμές ^a | | | |
|---------------------------|--------|--|--------------------------|---------------------------------|--|--------------------------|---------------------------------|-----------|
| X1 (min) | X2 (%) | Φαινολικά Συστατικά (g GAE/100 g ξ.β.) | Πρωτεΐνες (g/100 g ξ.β.) | Αντιοξειδωτική ικανότητα (mMTE) | Φαινολικά Συστατικά (g GAE/100 g ξ.β.) | Πρωτεΐνες (g/100 g ξ.β.) | Αντιοξειδωτική ικανότητα (mMTE) | |
| 60 | 47,5 | Συμβατικά επεξεργασμένο | 2.82 | 4.20 | 3.30 | 2.70±0.23 | 4.12±0.32 | 3.12±0.05 |
| | | ΠΗΠ | 3.23 | 5.16 | 4.05 | 3.09±0.04 | 5.02±0.01 | 3.75±0.07 |
| | | ΥΠ | 3.12 | 5.04 | 3.56 | 3.01±0.07 | 4.90±0.06 | 3.25±0.11 |

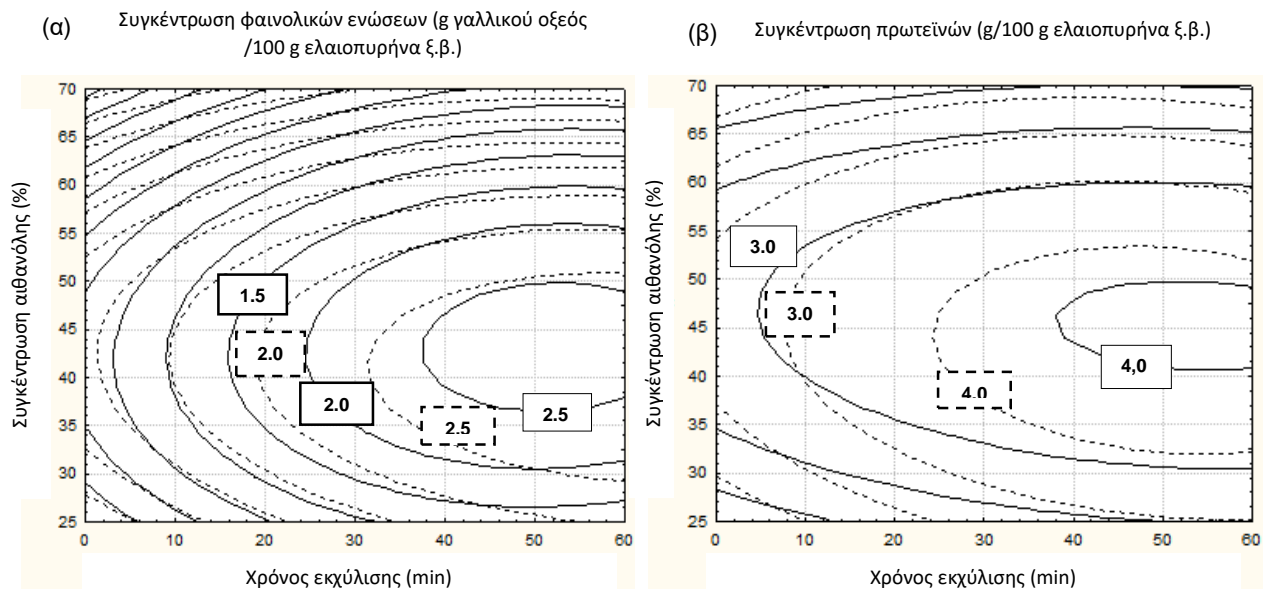
^a Μέση τιμή τριών επαναλήψεων ± τυπική απόκλιση.

6.4.12. Σύγκριση της συμβατικής εκχύλισης και της υποβοηθούμενης με ΠΗΠ και ΥΠ για την ανάκτηση των ενδοκυτταρικών συστατικών από ελαιοπυρήνα ύστερα από την αριστοποίηση των συνθηκών τους.

Από την άλλη πλευρά, αυτά τα πολυωνυμικά μοντέλα επέτρεψαν την εκτίμηση των συνθηκών εκχύλισης (ποσοστό αιθανόλης στον διαλύτη και χρόνος εκχύλισης) για να επιτευχθεί μία συγκεκριμένη συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων στο συμβατικά επεξεργασμένο και στο προεπεξεργασμένο με ΠΗΠ εκχύλισμα από ελαιοπυρήνα. Για παράδειγμα, το Σχήμα 6.67 δείχνει το συνδυασμό του χρόνου εκχύλισης και της συγκέντρωσης αιθανόλης στον διαλύτη για την εκχύλιση ορισμένης ποσότητας φαινολικών συστατικών από ελαιοπυρήνα σε συμβατικά επεξεργασμένο και προεπεξεργασμένο με ΠΗΠ εκχύλισμα σε όλο το εύρος συνθηκών που μελετήθηκε.

Στο Σχήμα 6.67α, μπορεί να παρατηρηθεί ότι η βελτίωση της απόδοσης της ανάκτησης σε φαινολικά συστατικά από ελαιοπυρήνα που προκαλείται από την προεπεξεργασία των ΠΗΠ θα μπορούσε να επιτρέψει τη μείωση του ποσοστού αιθανόλης ως διαλύτη μετά από ένα δεδομένο χρόνο εκχύλισης ώστε να εκχυλιστεί μία συγκεκριμένη ποσότητα φαινολικών ενώσεων. Για παράδειγμα, προκειμένου να επιτευχθεί συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων 2,2 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β για το προεπεξεργασμένο με ΠΗΠ δείγμα θα μπορούσε η συγκέντρωση της αιθανόλης να μειωθεί από 50 σε 30% μέσα στο διαλύτη για χρόνο εκχύλισης 30 min και να έχει ακριβώς ίση συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων με το συμβατικά επεξεργασμένο για 50% συγκέντρωση αιθανόλης στον ίδιο χρόνο εκχύλισης (30 min). Πιο αισθητά, από αυτό το Σχήμα

6.67α μπορεί να επισημανθεί ότι η εφαρμογή της προεπεξεργασίας με ΠΗΠ θα επέτρεπε και τη μείωση του χρόνου εκχύλισης.



Σχήμα 6.67 Γραφήματα αποκριτικής επιφάνειας (2D) από τα μοντέλα πρόβλεψης για τη συγκέντρωση των (α) φαινολικών ενώσεων και (β) πρωτεϊνών των εκχυλισμάτων που προέκυψαν από τη συμβατική εκχύλιση (-----) και την εκχύλιση υποβοηθούμενη με ΠΗΠ (- - - -) που επηρεάζονται από το χρόνο της εκχύλισης και τη συγκέντρωση της αιθανόλης στον διαλύτη.

Για παράδειγμα, η εφαρμογή της επεξεργασία με ΠΗΠ πριν την εκχύλιση θα μπορούσε να μειώσει τον χρόνο εκχύλισης από 30 σε 20 min για να εκχυλιστεί 2,2 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β με 45% συγκέντρωση αιθανόλης ως διαλύτη στην εκχύλιση σε σύγκριση με το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα.

Παράλληλα στο Σχήμα 6.67β, μπορεί να παρατηρηθεί ότι η προεπεξεργασία με ΠΗΠ ενίσχυσε σημαντικά την απόδοση της ανάκτησης των πρωτεϊνών από ελαιοπυρήνα και θα μπορούσε ενδεχομένως να επιτρέψει τη μείωση του ποσοστού αιθανόλης ως διαλύτη μετά από ένα δεδομένο χρόνο εκχύλισης ώστε να εκχυλιστεί μία συγκεκριμένη ποσότητα πρωτεϊνών. Για παράδειγμα, προκειμένου να επιτευχθεί συγκέντρωση πρωτεϊνών 3,5 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β για το προεπεξεργασμένο με ΠΗΠ δείγμα θα μπορούσε η συγκέντρωση της αιθανόλης να μειωθεί από 45 σε 35% μέσα στο διαλύτη για χρόνος εκχύλισης 25 min και να έχει ακριβώς ίση συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων με το συμβατικά επεξεργασμένο για 45% συγκέντρωση αιθανόλης στον ίδιο χρόνο εκχύλισης (25 min). Πιο αισθητά, από αυτό το Σχήμα 6.67β μπορεί να επισημανθεί ότι η εφαρμογή της προεπεξεργασίας με ΠΗΠ θα επέτρεπε και τη μείωση του χρόνου εκχύλισης. Για παράδειγμα, η εφαρμογή της επεξεργασία με ΠΗΠ πριν την εκχύλιση θα μπορούσε

να μειώσει τον χρόνο εκχύλισης από 39 σε 25 min για να εκχυλιστεί 4,0 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β με 45% συγκέντρωση αιθανόλης ως διαλύτη στην εκχύλιση σε σύγκριση με το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα (60 min).

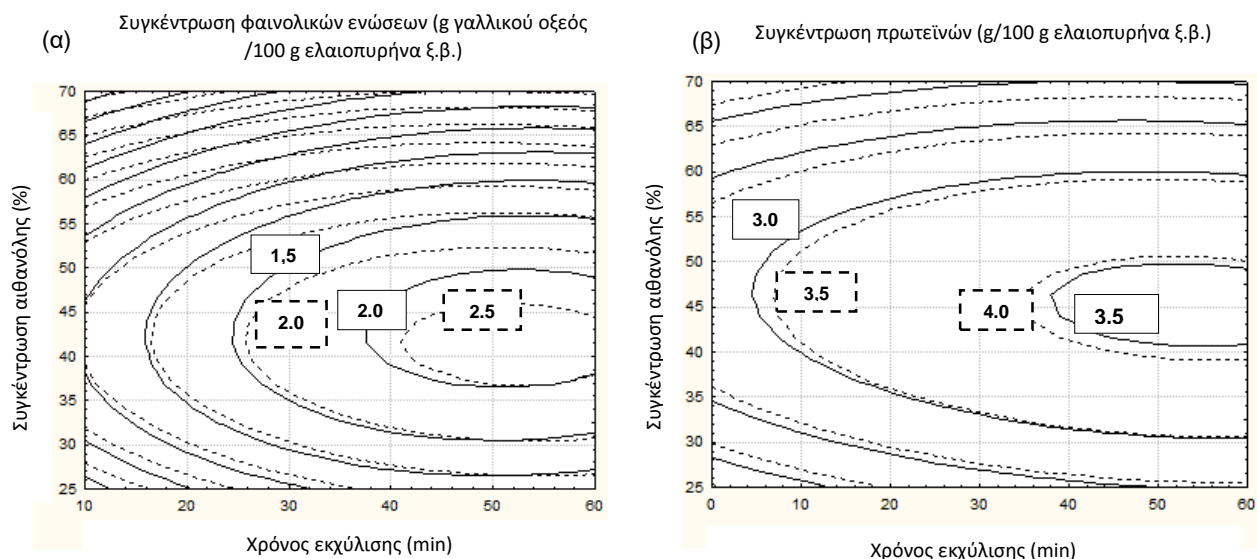
Επιπλέον, τα πολυωνυμικά μοντέλα επέτρεψαν την εκτίμηση των συνθηκών εκχύλισης (ποσοστό αιθανόλης και χρόνος εκχύλισης) για να επιτευχθεί μία συγκεκριμένη συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων στο συμβατικά επεξεργασμένο και στο προεπεξεργασμένο με ΥΠ εκχύλισμα από ελαιοπυρήνα. Για παράδειγμα, το Σχήμα 6.68 δείχνει το συνδυασμό του χρόνου εκχύλισης και της συγκέντρωσης αιθανόλης στον διαλύτη για την εκχύλιση ορισμένης ποσότητας φαινολικών συστατικών από ελαιοπυρήνα σε συμβατικά επεξεργασμένο και προεπεξεργασμένο με ΥΠ εκχύλισμα σε όλο το εύρος συνθηκών που μελετήθηκε.

Στο Σχήμα 6.68α, μπορεί να παρατηρηθεί ότι η βελτίωση της απόδοσης της ανάκτησης σε φαινορικά συστατικά από ελαιοπυρήνα που προκαλείται από την προεπεξεργασία των ΥΠ θα μπορούσε να επιτρέψει τη μείωση του ποσοστού αιθανόλης ως διαλύτη μετά από ένα δεδομένο χρόνο εκχύλισης ώστε να εκχυλιστεί μία συγκεκριμένη ποσότητα φαινολικών ενώσεων.

Για παράδειγμα, προκειμένου να επιτευχθεί συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων 2,0 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β για το προεπεξεργασμένο με ΥΠ δείγμα θα μπορούσε η συγκέντρωση της αιθανόλης να μειωθεί από 40 σε 32% μέσα στο διαλύτη για χρόνος εκχύλισης 40 min και να έχει ακριβώς ίση συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων με το συμβατικά επεξεργασμένο για 40 % συγκέντρωση αιθανόλης στον ίδιο χρόνο εκχύλισης (40 min). Πιο αισθητά, από αυτό το Σχήμα 6.68α μπορεί να επισημανθεί ότι η εφαρμογή της προεπεξεργασίας με ΥΠ θα επέτρεπε και τη μείωση του χρόνου εκχύλισης. Για παράδειγμα, η εφαρμογή της επεξεργασίας με ΥΠ πριν την εκχύλιση θα μπορούσε να μειώσει τον χρόνο εκχύλισης από 38 σε 25 min για να εκχυλιστεί 2,0 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β με 42% συγκέντρωση αιθανόλης ως διαλύτη στην εκχύλιση σε σύγκριση με το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα.

Παράλληλα στο Σχήμα 6.68β, μπορεί να παρατηρηθεί ότι η προεπεξεργασία με ΥΠ ενίσχυσε σημαντικά την απόδοση της ανάκτησης των πρωτεϊνών από ελαιοπυρήνα και θα μπορούσε ενδεχομένως να επιτρέψει τη μείωση του ποσοστού αιθανόλης ως διαλύτη μετά από ένα δεδομένο χρόνο εκχύλισης ώστε να εκχυλιστεί μία συγκεκριμένη ποσότητα πρωτεϊνών. Για παράδειγμα, προκειμένου να επιτευχθεί συγκέντρωση πρωτεϊνών 3,5 g /100 g ελαιοπυρήνα ξ.β για το προεπεξεργασμένο με ΥΠ δείγμα θα μπορούσε η συγκέντρωση της αιθανόλης να μειωθεί από 45 σε 32% μέσα στο διαλύτη για χρόνος εκχύλισης 40 min και να έχει ακριβώς ίση

συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων με το συμβατικά επεξεργασμένο για 45% συγκέντρωση αιθανόλης στον ίδιο χρόνο εκχύλισης (40 min).



Σχήμα 6.68 Γραφήματα αποκριτικής επιφάνειας (2D) από τα μοντέλα πρόβλεψης για τη συγκέντρωση των (α) φαινολικών ενώσεων και (β) πρωτεϊνών των εκχυλισμάτων που προέκυψαν από τη συμβατική εκχύλιση (-----) και την εκχύλιση υποβοηθούμενη με ΥΠ (- - - - -) που επηρεάζονται από το χρόνο της εκχύλισης και τη συγκέντρωση της αιθανόλης στον διαλύτη.

Πιο αισθητά, από αυτό το Σχήμα 6.68β μπορεί να επισημανθεί ότι η εφαρμογή της προεπεξεργασίας με ΥΠ θα επέτρεπε και τη μείωση του χρόνου εκχύλισης. Για παράδειγμα, η εφαρμογή της επεξεργασία με ΥΠ πριν την εκχύλιση θα μπορούσε να μειώσει τον χρόνο εκχύλισης από 38 σε 10 min για να εκχυλιστεί 3,5 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β με 45% συγκέντρωση αιθανόλης ως διαλύτη στην εκχύλιση σε σύγκριση με το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα.

Στη βιβλιογραφία, η εκχύλιση υποβοηθούμενη με ΠΗΠ έχει χρησιμοποιηθεί προκειμένου να μειώσει τον συνολικό χρόνο εκχύλισης και τη συγκέντρωση του διαλύτη και από άλλους ερευνητές. Για παράδειγμα, οι Luengo et al. (2014), απέδειξαν ότι χρησιμοποιώντας τα ΠΗΠ σε επιλεγμένες συνθήκες (5 kV/cm, 90 μs) ως προεπεξεργασία στη συμβατική εκχύλιση για την ανάκτηση καροτενοειδών από φλοιούς τομάτας κατάφεραν να μειώσουν το ποσοστό εξανίου από 45 σε 30% στον διαλύτη και τον χρόνο εκχύλισης από 130 σε 20 min πετυχαίνοντας την ίδια απόδοση ανάκτησης (30 μg/g FW) με τη συμβατική εκχύλιση. Επιπλέον οι Puertolas et al. (2013), μελέτησαν την εκχύλιση ανθοκυανών από μωβ πατάτα με τη χρήση των ΠΗΠ (4 kV/cm, 105 μs). Πιο συγκεκριμένα, μετά από 480 min στους 40°C, η απόδοση της εκχύλισης των ανθοκυανών που ελήφθη για το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα χρησιμοποιώντας 96% αιθανόλη ως διαλύτη

(63,9 mg/100 g fw) ήταν παρόμοια με αυτήν που λήφθηκε προεπεξεργασμένο με ΠΗΠ δείγμα χρησιμοποιώντας σκέτο νερό (65,8 mg/100 g fw). Επιπλέον, η διεργασία των ΠΗΠ έχει δοκιμαστεί για την εκχύλιση φαινολικών συστατικών και πρωτεϊνών από σουσάμι (Sarkis et al., 2015), λιναρόσπορο (Teh et al., 2015) και κάνναβη (Teh et al., 2014). Τα αποτελέσματα έδειξαν σε κάθε περίπτωση ότι η χρήση των ΠΗΠ μπορεί να μειώσει τη χρήση οργανικών διαλυτών και την ανάγκη για χρήση υψηλών θερμοκρασιών ώστε η εκχύλιση να είναι εξίσου αποτελεσματική όπως και η συμβατική.

Σύμφωνα λοιπόν με τα αποτελέσματα αυτής της ενότητας η χρήση των δύο τεχνολογιών ως προεπεξεργασίες της συμβατικής εκχύλισης είναι μία συμφέρουσα και πολύ ελκυστική προσέγγιση ώστε να μπορέσει να εφαρμοσθεί βιομηχανικά. Οι δυο διεργασίες κατάφεραν να βελτιώνουν την απόδοση της εκχύλισης αυξάνοντας τον ρυθμό της εκχύλισης σε κάθε περίπτωση. Επιπλέον, μπορούν να οδηγήσουν σε αποτελεσματική εκχύλιση δίνοντας εκχυλίσματα εξίσου πλούσια σε βιοδραστικές ενώσεις και ταυτόχρονα μειώνουν την ένταση των συνθηκών της εκχύλισης (π.χ. χρόνος εκχύλισης και συγκέντρωση διαλύτη) μειώνοντας αισθητά το κόστος ενέργειας της διεργασίας.

7. Κεφάλαιο 7: Συμπεράσματα-Προτάσεις

Ο κλάδος της βιομηχανίας τροφίμων που ασχολείται με εποχιακά προϊόντα φυτικής προέλευσης αντιμετωπίζει πολλές και σημαντικές προκλήσεις στην παραγωγή προϊόντων, όσον αφορά την απόδοση σε παραγόμενο προϊόν, τις απώλειες προϊόντος και την υποβάθμιση της ποιότητας των τελικών προϊόντων. Επιπλέον, από όλες τις βιομηχανίες τροφίμων ένας τεράστιος όγκος παραπροϊόντων προκύπτει ετησίως, ο οποίος δεν είναι εύκολα διαχειρίσιμος προκαλώντας περιβαλλοντική επιβάρυνση. Κατά τις τελευταίες δεκαετίες, διάφορες ήπιες, «μη» θερμικές διεργασίες έχουν προταθεί ως εναλλακτικές στις παραδοσιακές συμβατικές αποσκοπώντας στην παραγωγή πρώτων υλών ή/και τελικών προϊόντων με βελτιωμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά, στην αύξηση της απόδοσης τους, στην αποτελεσματικότερη αξιοποίηση των παραπροϊόντων τους και στην ταυτόχρονη χαμηλή κατανάλωση ενέργειας. Τα Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία (ΠΗΠ) και η Υπερυψηλή Πίεση (ΥΠ) έδειξαν τη δυνατότητα να είναι από τις πιο υποσχόμενες νέες τεχνολογίες για την επίτευξη αυτών των στόχων στη βιομηχανία τροφίμων.

Στην παρούσα διατριβή, μελετήθηκε η επίδραση αυτών των διεργασιών ως προεπεξεργασίες σε διάφορα στάδια της παραγωγικής διαδικασίας της επεξεργασίας βιομηχανικής τομάτας με έμφαση στη συμπύκνωση τοματοχυμού, στην αποφλοιώση ολόκληρων τοματών, στη χυμοποίηση αλλά και στην εκχύλιση βιοδραστικών συστατικών, όπως καροτενοειδή, λυκοπένιο και φαινολικά συστατικά απευθείας από τα παραπροϊόντα τομάτας.

Χρησιμοποιήθηκε τομάτα ποικιλίας *Alamanda* και βιομηχανικό υβρίδιο τομάτας *Heinz 3402* για την παραγωγή προϊόντων τομάτας. Αρχικά εξετάστηκε η κινητική απενεργοποίησης της Πηκτινομεθυλεστεράσης (PME) και Πολυγαλακτουρονάσης (PG) σε χυμούς τομάτας ποικιλίας *Alamanda*, με θερμική επεξεργασία, επεξεργασία με ΥΠ και ΠΗΠ, με στόχο την παραγωγή συμπυκνωμένων προϊόντων τομάτας με αυξημένη απόδοση και βελτιωμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά. Σε χυμούς τομάτας, όταν αυτά τα δύο ένζυμα δρουν συνεργιστικά, οδηγούν στον αποπολυμερισμό αλυσίδων της πηκτίνης του κυτταρικού τοιχώματος προκαλώντας δραστική πτώση του ιξώδους. Ωστόσο, η επιλεκτική απενεργοποίηση της PG και η ταυτόχρονη διατήρηση της PME, οδηγεί σε προϊόντα τομάτας με βελτιωμένη υφή. Από την κινητική μελέτη βρέθηκε ότι η απενεργοποίηση των δυο ενζύμων ακολούθησε κινητική πρώτης τάξης στη θερμική επεξεργασία και στην επεξεργασία με ΥΠ ενώ για την επεξεργασία με ΠΗΠ εφαρμόστηκε κλασματικό μοντέλο πρώτης τάξης. Κατά τη θερμική επεξεργασία παρατηρήθηκε ότι η PG ($E_a=155$ kJ/mol) εμφανίστηκε πιο ανθεκτική στην εφαρμογή της θερμοκρασίας συγκριτικά με την PME ($E_a=169$ kJ/mol), γεγονός που δεν επιτρέπει την επιλεκτική απενεργοποίηση της PG με τη

θερμική επεξεργασία. Αντίθετα, στην εφαρμογή της πίεσης, η PME εμφανίστηκε ιδιαίτερα ανθεκτική, ενώ οι ρυθμοί απενεργοποίησης που παρατηρήθηκαν κατά την επεξεργασία με ΥΠ ήταν μικρότεροι από τους αντίστοιχους σε συνθήκες ατμοσφαιρικής πίεσης, υποδηλώνοντας ότι η πίεση έχει προστατευτική επίδραση στο ένζυμο και ότι πίεση και θερμοκρασία έχουν ανταγωνιστική δράση στην απενεργοποίηση της PME. Σε αντίθεση με την PME, η PG εμφανίστηκε περισσότερο ευαίσθητη στην επεξεργασία με ΥΠ καθώς σε πιέσεις μεγαλύτερες από 500 MPa επιτεύχθηκε πλήρης απενεργοποίηση της PG, υποδηλώνοντας τη συναγωνιστική δράση της πίεσης και της θερμοκρασίας στην απενεργοποίηση της PG. Τα αποτελέσματα αυτά, ήρθαν σε πλήρη συμφωνία με τις προβλέψεις του συνδυαστικού μοντέλου που χρησιμοποιήθηκε για να περιγράψει τη συμπεριφορά των δυο ενζύμων με την εφαρμογή της ΥΠ. Επιπλέον, η δραστηριότητα της PME και της PG έδειξε μια πολύ παρόμοια συμπεριφορά στην απενεργοποίηση από τα ΠΗΠ. Για σταθερή ένταση ηλεκτρικού πεδίου σε μικρούς χρόνους επεξεργασίας, η δραστηριότητα των δύο ενζύμων δεν μειωνόταν, ενώ για μεγαλύτερους χρόνους επεξεργασίας μειωνόταν σημαντικά. Η PG φάνηκε ότι είναι πιο ευαίσθητη από την PME στην εφαρμογή ηλεκτρικού πεδίου καθώς σε όλα τα μελετηθέντα ηλεκτρικά πεδία ο χαρακτηριστικός χρόνος ημικαταστροφής τ (απαιτούμενος χρόνος για να επιτευχθεί 50% απενεργοποίηση του ενζύμου) ήταν μικρότερος. Στα 8 kV/cm, ο χρόνος ημικαταστροφής τ για την PME υπολογίστηκε 7,35 ms ενώ για την PG 6,34 ms, δηλαδή 13% χαμηλότερος. Τα αποτελέσματα αυτά, ήρθαν σε πλήρης συμφωνία με τις προβλέψεις του συνδυαστικού μοντέλου Fermi που χρησιμοποιήθηκε για να περιγράψει τη συμπεριφορά των δυο ενζύμων με την εφαρμογή των ΠΗΠ.

Ως εκ τούτου, οι δυο διεργασίες σε επιλεγμένες συνθήκες μπορούν να οδηγήσουν σε επιλεκτική απενεργοποίηση των ενζύμων PME και PG της τομάτας, οδηγώντας σε αύξηση της απόδοσης σε τοματοπολτό κατά την επεξεργασία της συμπύκνωσης. Επιλέγοντας τις βέλτιστες συνθήκες της ΥΠ (500 MPa στους 55 °C για 10 min) και των ΠΗΠ (8 kV/cm, 6 ms) και εφαρμόζοντας τις σε χυμούς τομάτας πριν το στάδιο της συμπύκνωσης, εξετάστηκε η απόδοση σε παραγωγή τοματοχυμών απλής συμπύκνωσης και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των τελικών προϊόντων. Από το κινητικό πείραμα συμπύκνωσης, παρατηρήθηκε ότι τα τελικά συμπυκνωμένα προϊόντα τομάτας με το ίδιο ιξώδες, που προέκυψαν από χυμό τομάτας προεπεξεργασμένο με ΥΠ και ΠΗΠ στις βέλτιστες συνθήκες, είχαν χαμηλότερα ολικά διαλυτά στερεά σε σύγκριση με τα μη προεπεξεργασμένα δείγματα απαιτώντας έτσι χαμηλότερο χρόνο συμπύκνωσης, αλλά και μικρότερη ποσότητα νερού που χρειάζεται να εξατμισθεί για να παραχθεί ένα προϊόν τομάτας απλής συμπύκνωσης. Η υψηλότερη απόδοση που επιτεύχθηκε ήταν 41,0% για τα προεπεξεργασμένα με ΥΠ δείγματα. Τα δείγματα που προεπεξεργάστηκαν με ΠΗΠ πέτυχαν

34,6% απόδοση και 30,4% απόδοση για τα μη προεπεξεργασμένα. Το πλεονέκτημα της επεξεργασίας με ΥΠ κατά τη συμπίκνωση φάνηκε να είναι μεγαλύτερο από την επεξεργασία με ΠΗΠ. Τέλος προσδιορίστηκε ο χρόνος ζωής των συμπυκνωμάτων τομάτας που προέκυψαν από τις επεξεργασίες με βάση τη μεταβολή του χρώματος κατά την αποθήκευση, ύστερα από θερμική παστερίωση. Ο χρόνος ζωής στους 25 °C υπολογίστηκε για τα δείγματα προεπεξεργασμένα με ΥΠ σε 393 d, σε σχέση με τα μη προεπεξεργασμένα δείγματα που είχαν 248 d. Τα δείγματα που προεπεξεργάστηκαν με ΠΗΠ είχαν χρόνο ζωής 266 d.

Έπειτα, εξετάστηκε η διεργασία της αποφλοιώσης ολόκληρων τοματών με συμβατικές μεθόδους (ζεμάτισμα και ατμό) και συγκρίθηκε με τα ΠΗΠ, ως προς το έργο αποκόλλησης του φλοιού τομάτας από την υπόλοιπη σάρκα, τις απώλειες σε προϊόν, τη σκληρότητα και τη συγκέντρωση σε λυκοπένιο των τελικών αποφλοιωμένων τοματών. Από τη σύγκριση των τριών μεθόδων αποφλοιώσης βγήκαν τα εξής συμπεράσματα:

- Το έργο αποκόλλησης του φλοιού από την υπόλοιπη σάρκα ήταν 72,3, 54,7 και 97,4% μικρότερο σε σχέση με το ανεπεξεργαστο δείγμα (νωπή τομάτα) για τις επεξεργασμένες με ΠΗΠ, ζεματισμένες και επεξεργασμένες με ατμό τομάτες, αντίστοιχα. Επιπλέον και οι τρεις μέθοδοι αποφλοιώσης δεν εμφάνισαν σημαντικές διαφορές ως προς τις απώλειες σάρκας (<1% w/w). Τα αποτελέσματα επιβεβαίωσαν πως η προεπεξεργασία με ΠΗΠ τροποποιεί τη δομή της ολόκληρης τομάτας προκαλώντας διάρρηξη στα κύτταρα των φυτικών ιστών, οδηγώντας σε μαλάκωμα και ευκολότερη απομάκρυνση του φλοιού με μειωμένη απώλεια σάρκας. Η μείωση του έργου αποκόλλησης επιβεβαιώνει πως τα ΠΗΠ συσσωρεύουν το νερό του κυττάρου της τομάτας κάτω από τη σάρκα ενισχύοντας την ευκολότερη απομάκρυνση της, χωρίς τη χρήση υψηλών θερμοκρασιών.
- Ενώ η μέθοδος αποφλοιώσης με ατμό φαινόταν η πιο αποτελεσματική ως προς την απομάκρυνση του φλοιού, λόγω της χρήσης υψηλών θερμοκρασιών, η τελική υφή των ολόκληρων τοματών υποβαθμίζεται σημαντικά (82,7% μείωση της σκληρότητας αποφλοιωμένων τοματών σε σχέση με τη νωπή ανεπεξεργαστη τομάτα), καθώς και η συγκέντρωση σε λυκοπένιο ήταν σημαντικά μικρότερη (12% απώλεια σε λυκοπένιο), σε σχέση με τη νωπή ανεπεξεργαστη τομάτα. Παράλληλα, η προεπεξεργασία με ΠΗΠ μείωσε τη σκληρότητα των τελικών αποφλοιωμένων τοματών κατά μόλις 21,6% σε σύγκριση με το μη επεξεργασμένο, καθώς επίσης η συγκέντρωση του λυκοπενίου έμεινε ανεπηρέαστη (5,29 mg/100 g τομάτας) έχοντας τη σύσταση σχεδόν της νωπής τομάτας.

Έπειτα, εξετάστηκε η διεργασία της χυμοποίησης τοματών ως προς την απόδοση σε χυμό τομάτας και την ποιότητα (ιξώδες, συνεκτικότητα) των τελικών χυμών. Η χυμοποίηση των

τοματών αποτελείται από δύο στάδια. Στο πρώτο στάδιο, η απόδοση σε χυμό τομάτας υπολογίστηκε ίση με 71,4% για το μη προεπεξεργασμένο δείγμα. Στη συνέχεια τα υπολείμματα του πρώτου σταδίου επαναχυμοποιούνται με στόχο την αύξηση της απόδοσης σε χυμό τομάτας, υποβαθμίζοντας έτσι την υφή των τελικών παραγόμενων χυμών τομάτας (950 cp, στους 25 °C), λόγω των μεγαλύτερων οπών των διαχωριστήρων που χρησιμοποιούνται στα υπολείμματα του πρώτου σταδίου πριν τη δεύτερη χυμοποίηση, εμποδίζοντας την περαιτέρω επεξεργασία του. Η συνολική απόδοση σε χυμό τομάτας του μη προεπεξεργασμένου δείγματος και από τα δύο στάδια χυμοποίησης ήταν 82,2%.

Στα πλαίσια της μελέτης της παραγωγής χυμού τομάτας με σκοπό την αύξηση της απόδοσης του και ταυτόχρονα τη βελτίωση των ποιοτικών χαρακτηριστικών των παραγόμενων χυμών τομάτας, εφαρμόστηκαν τα ΠΗΠ ως προεπεξεργασίες στο πρώτο ή στο δεύτερο στάδιο της χυμοποίησης. Από την κινητική μελέτη της προεπεξεργασίας με ΠΗΠ στη χυμοποίηση τοματών κατά το πρώτο στάδιο της χυμοποίησης, βρέθηκε ότι η αύξηση της έντασης των συνθηκών με ΠΗΠ (όσο αυξανόταν ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης) οδήγησε σε αύξηση της απόδοσης σε χυμό (έως και κατά 20% αύξηση) σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα, φτάνοντας σε απόδοση έως και 89,2% ενώ για το μη προεπεξεργασμένο η απόδοση υπολογίστηκε ίση με 71,4% στο πρώτο στάδιο χυμοποίησης. Παρ' όλη την αύξηση της απόδοσης σε χυμό τομάτας λόγω της προεπεξεργασίας με ΠΗΠ οι τιμές του ιξώδους και της συνεκτικότητας των χυμών του πρώτου σταδίου υποβαθμίστηκαν σε πολύ έντονες συνθήκες (για δείκτη κυτταρικής διάρρηξης πάνω από 0,7). Οι τιμές συνεκτικότητας κατά Bostwick των μη επεξεργασμένων χυμών ήταν περίπου 12,5 cm, ενώ για τους προεπεξεργασμένους με ΠΗΠ χυμούς κυμαίνονταν από 15,2 έως 30 cm. Για τις πιο έντονες συνθήκες με ΠΗΠ που αντιστοιχούν σε δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z περίπου 1, η αύξηση της απόδοσης ήταν η υψηλότερη (περίπου αύξηση κατά 20%), ωστόσο το ιξώδες αυτών των χυμών τομάτας μειώθηκε σε τιμές κάτω από 400 cp στους 25 °C (συνεκτικότητα κατά Bostwick μεγαλύτερες από 20 cm), τιμές μη αποδεκτές για τη βιομηχανία τομάτας. Ως εκ τούτου, επιλέγοντας μία ηπιότερη συνθήκη με ΠΗΠ (με δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z από 0,5 έως 0,7) μπορεί να επιτευχθεί παράλληλα χυμός τομάτας με αυξημένη απόδοση (περίπου 10-15% υψηλότερη σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα) και με βελτιωμένο ιξώδες (550-700 cp, στους 25 °C). Παράλληλα, σε αυτήν τη συνθήκη η συγκέντρωση του λυκοπενίου στον τελικό χυμό υπολογίστηκε ίση με 3,82 mg/100 g χυμού, δηλαδή περίπου 22% υψηλότερη σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα. Επιπλέον, εφαρμόζοντας τα ΠΗΠ ως προεπεξεργασία στα υπολείμματα του πρώτου σταδίου πριν την επαναχυμοποίηση τους, η υψηλότερη συνολική απόδοση χυμού που υπολογίστηκε και από τα δύο στάδια χυμοποίησης προεπεξεργάζοντας με

ΠΗΠ (1,5 kV/cm και δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z ίσο με 0,39) υπολογίσθηκε έως και 90,2% (περίπου 10% υψηλότερη σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα) και το ιξώδες του τελικού χυμού είναι αποδεκτό, σύμφωνα με τα βιομηχανικά αποδεκτά πρότυπα (450 cp, στους 25 °C που αντιστοιχεί σε συνεκτικότητα κατά Bostwick 14,2 cm). Από τα αποτελέσματα επιβεβαιώθηκε ότι τα ΠΗΠ προκαλούν μη αντιστρεπτή ηλεκτροδιάτρηση στις κυτταρικές μεμβράνες των τοματών οδηγώντας σε άμεση απελευθέρωση του υγρού και των ενδοκυτταρικών του συστατικών γεγονός που βελτιώνει την απόδοση σε χυμό και σε ενδοκυτταρικά συστατικά στους χυμούς που προκύπτουν. Ως εκ τούτου, τα αποτελέσματα μας υποδεικνύουν ότι ο χυμός τομάτας μπορεί να επηρεαστεί θετικά όταν επεξεργαστεί η πρώτη ύλη τομάτας πριν από το δεύτερο στάδιο χυμοποίησης, αυξάνοντας τη συνολική απόδοση και διασφαλίζοντας την παραγωγή χυμού με υψηλής ποιότητας χαρακτηριστικά.

Έπειτα, στα πλαίσια της μελέτης της εκχύλισης βιοδραστικών συστατικών από παραπροϊόντα τομάτας με σκοπό την αύξηση της απόδοσης της εκχύλισης σε βιοδραστικές ενώσεις χωρίς την υποβάθμιση αυτών των συστατικών εφαρμόστηκε η εκχύλιση υποβοηθούμενη με ΠΗΠ. Από την κινητική μελέτη της προεπεξεργασίας με ΠΗΠ στα παραπροϊόντα τομάτας, βρέθηκε ότι η αύξηση της έντασης των συνθηκών με ΠΗΠ οδήγησαν σε μεγαλύτερη απόδοση ανάκτησης όλων των βιοδραστικών συστατικών, όπως τα καροτενοειδή, το λυκοπένιο, οι πρωτεΐνες και οι φαινολικές ενώσεις σε σύγκριση με το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα. Η εκχύλιση υποβοηθούμενη με ΠΗΠ (δείκτης κυτταρικής διάρρηξης Z ίσος με 0,3) οδήγησαν σε αύξηση της απόδοσης της εκχύλισης των καροτενοειδών, από 35,9 έως 56,4% σε σύγκριση με το συμβατικά επεξεργασμένο (11,36 mg/100 g). Η απόδοση της εκχύλισης του λυκοπενίου για τα δείγματα που είχαν προεπεξεργαστεί με ΠΗΠ ήταν υψηλότερη, έως και 45% σε σχέση με το συμβατικά επεξεργασμένο. Η συγκέντρωση του λυκοπενίου που εκχυλίστηκε από τα μη επεξεργασμένα δείγματα ήταν 9,84 mg/100 g, ενώ για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ (1,0 kV/cm για 7,5 ms) ήταν 14,31 mg/100 g. Η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων για τα συμβατικά επεξεργασμένα δείγματα ήταν 27,95 mg GAE/L. Η προεπεξεργασία των ΠΗΠ αύξησε σημαντικά τη συνολική απόδοση εκχύλισης φαινολικών ενώσεων, διπλασιάζοντας την (56,16 mgGAE/L) για ένταση ηλεκτρικού πεδίου 2 kV/cm και 700 παλμούς, επιβεβαιώνοντας ότι τα ΠΗΠ μπορούν να βελτιώσουν τα φαινόμενα μεταφοράς μάζας κατά τη διάρκεια της εκχύλισης. Ως εκ τούτου, τα εκχυλίσματα από παραπροϊόντα τομάτας που προέκυψαν από την εκχύλιση υποβοηθούμενη με ΠΗΠ είχαν σημαντικά υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση σε σύγκριση με το συμβατικά μεγαλύτερη ποσότητα καροτενοειδών και φαινολικών συστατικών από την προεπεξεργασία με ΠΗΠ. Τα

αποτελέσματα επιβεβαιώνουν, ότι η προεπεξεργασία με ΠΗΠ αυξάνει τον ρυθμό της εκχύλισης σε βιοδραστικές ενώσεις οδηγώντας σε αποτελεσματικότερη αξιοποίηση των παραπροϊόντων.

Στη συνέχεια μελετήθηκε η επίδραση αυτών των διεργασιών ως προεπεξεργασίες στην ελαιόπαστα πριν το στάδιο της μάλαξης με έμφαση στην παραγωγή εξαιρετικά παρθένου ελαιόλαδου με αυξημένη απόδοση, ανώτερα ποιοτικά χαρακτηριστικά, εμπλουτισμένο σε βιοδραστικά συστατικά, όπως φαινολικά συστατικά, με υψηλή αντιοξειδωτική σταθερότητα αλλά και στην εκχύλιση φαινολικών συστατικών και πρωτεϊνών απευθείας από τον ελαιοπυρήνα.

Χρησιμοποιήθηκε ελιά ποικιλίας *Τσουνάτη* στο δεύτερο στάδιο ωρίμανσης για την παραγωγή έξτρα παρθένου ελαιόλαδου. Αρχικά εξετάστηκε η διεργασία της μάλαξης στην απόδοση σε ελαιόλαδο, στην ποιότητα των παραγόμενων ελαιόλαδων και στον εμπλουτισμό τους με φαινολικές ενώσεις. Από την κινητική μελέτη της διεργασίας της μάλαξης εξετάζοντας τους παράγοντες που την επηρεάζουν (θερμοκρασία, χρόνος) βρέθηκε ότι συνθήκες 30 °C και 30 min οδήγησαν σε απόδοση σε ελαιόλαδο ίση με 22,5% με ταυτόχρονη διατήρηση των ποιοτικών χαρακτηριστικών και συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων ίση με 743 mg GAE/kg. Γενικότερα από την κινητική μελέτη προέκυψε ότι η αύξηση της έντασης των συνθηκών της μάλαξης (θερμοκρασία και χρόνος) αύξησε σημαντικά την απόδοση σε ελαιόλαδο, ενισχύοντας και την εκχύλιση των φαινολικών συστατικών στο παραγόμενο έλαιο, υποβαθμίζοντας ελαφρώς τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του ελαιόλαδου σε θερμοκρασίες >30°C.

Στα πλαίσια της μελέτης της παραγωγής έξτρα παρθένου ελαιόλαδου με σκοπό τη μείωση του χρόνου και της θερμοκρασίας μάλαξης και ταυτόχρονα την αύξηση της απόδοσης σε ελαιόλαδο και της συγκέντρωσης φαινολικών ενώσεων με ταυτόχρονη διατήρηση των ποιοτικών χαρακτηριστικών των παραγόμενων ελαιόλαδων, εφαρμόστηκαν τα ΠΗΠ και η ΥΠ ως προεπεξεργασίες στη μάλαξη. Από την κινητική μελέτη της προεπεξεργασίας με ΠΗΠ στην ελαιόπαστα πριν το στάδιο της μάλαξης βρέθηκε ότι η αύξηση της έντασης των συνθηκών με ΠΗΠ (όσο αυξανόταν ο δείκτης κυτταρικής διάρρηξης) οδήγησαν σε αύξηση του ρυθμού της αύξησης της απόδοσης σε ελαιόλαδο και της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα, μένοντας ανεπηρέαστα τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των τελικών ελαίων. Συγκεκριμένα, με την προεπεξεργασία των ΠΗΠ, η απόδοση σε ελαιόλαδο έφτασε έως και 25,0%, δηλαδή αύξηση κατά ~10,1% σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα στους 30 °C και 30 min, συνθήκες μάλαξης. Ταυτόχρονα, η συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών στο ελαιόλαδο ήταν 819 mg GAE/kg για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ δείγματα (αύξηση κατά 10,6%) και η αντιοξειδωτική ικανότητα ίση με 234.1 mg Trolox/kg. Αντίστοιχα, με την προεπεξεργασία της ΥΠ, η απόδοση σε ελαιόλαδο έφτασε έως και 24,69%, δηλαδή αύξηση κατά

~9,7% σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα στους 30 °C και 30 min, συνθήκες μάλαξης. Ταυτόχρονα, η συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών στο ελαιόλαδο ήταν 845 mg GAE/kg για τα προεπεξεργασμένα με ΥΠ δείγματα (αύξηση κατά 13,7%) και η αντιοξειδωτική ικανότητα ίση με 235.1 mg Trolox/kg.

Γενικότερα από την κινητική μελέτη προέκυψε ότι και οι δύο διεργασίες προκαλούν ενίσχυση των φαινομένων μεταφοράς. Η διάρρηξη των κυττάρων της ελαιόπαστας πριν το στάδιο της μάλαξης που προκαλείται, επιτρέπει την άμεση απελευθέρωση του ελαίου και αντιοξειδωτικών ενώσεων από το εσωτερικό του κυττάρου προς τα έξω από τα πρώτα λεπτά της μάλαξης ακόμα και σε χαμηλές θερμοκρασίες (<30 °C). Οι συνθήκες της μάλαξης (θερμοκρασία και χρόνος) είναι εξίσου όμως σημαντικές για να μπορέσει να παραχθεί υψηλής απόδοσης και ποιότητας ελαιόλαδο. Συνδυάζοντας χαμηλές θερμοκρασίες μάλαξης με τις δύο προεπεξεργασίες παρατηρήθηκε ότι σε θερμοκρασία 15 °C, η επίδραση των ΠΗΠ και της ΥΠ ήταν εντονότερη, καθώς η απόδοση σε ελαιόλαδο αυξήθηκε κατά 20,1 και 18,6% και η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων κατά 23,1 και 20,7% σε σχέση με το μη επεξεργασμένο στην ίδια θερμοκρασία (απόδοση: 19,9% και συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων: 417 mg GAE/kg), αντίστοιχα.

Από τη μελέτη των ΠΗΠ και της ΥΠ ως προεπεξεργασίες στη μάλαξη για την απόδοση σε ελαιόλαδο και τον εμπλουτισμό των παραγόμενων ελαίων σε φαινολικά συστατικά μέσω πειραματικού σχεδιασμού αποκριτικών επιφανειών με ταυτόχρονη εξέταση τριών παραγόντων [θερμοκρασία μάλαξης, χρόνος μάλαξης και ένταση των συνθηκών της κάθε προεπεξεργασίας, εκφρασμένη ως προς δείκτη κυτταρικής διάρρηξης Z] προέκυψε ότι για την προεπεξεργασία με ΠΗΠ και ΥΠ, η απόδοση σε ελαιόλαδο (25,02% & 25,72%, αντίστοιχα) και το ολικό περιεχόμενο φαινολικών συστατικών (832,05 mg GAE/kg ελαίου & 839,75 mg GAE/kg ελαίου, αντίστοιχα) εμφάνισαν τις μέγιστες τιμές τους με εφαρμογή: T=26 °C, t=30 min και Z=0,7, ενώ του μη προεπεξεργασμένου δείγματος η απόδοση υπολογίστηκε ίση με 22,5% και η συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών ίση με 743 mg GAE/kg ελαίου, σε θερμοκρασία μάλαξης ίση με 30 °C. Πρέπει να σημειωθεί ότι το βέλτιστο αποτέλεσμα από την εκχύλιση με ΠΗΠ και ΥΠ ελήφθη σε μειωμένη θερμοκρασία μάλαξης (26 °C) πλεονεκτώντας σε σύγκριση με τη συμβατική μάλαξη στους 30 °C.

Συγκρίνοντας την αποτελεσματικότητα των ΠΗΠ (1,5 kV/cm, 100 παλμούς) και της ΥΠ (600 MPa, 5 min) ως προεπεξεργασίες στη μάλαξη στις βέλτιστες συνθήκες που προέκυψαν από τα μοντέλα προσαρμογής σε επιλεγμένες συνθήκες μάλαξης (30 °C για 30 και 15 min, 22°C για 30 min) με την αντίστοιχη συμβατική διαδικασία παραγωγής ελαιόλαδου (30 °C και 30 min) όσον αφορά την απόδοση, τη συγκέντρωση βιοδραστικών συστατικών, τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του

παραγόμενου ελαιόλαδου, καθώς και όσον αφορά τη μείωση του χρόνου και της θερμοκρασίας μάλαξης στη διαδικασία εξαγωγής του έξτρα παρθένου ελαιόλαδου προέκυψαν τα παρακάτω συμπεράσματα:

- Παρατηρήθηκε ότι η απόδοση σε ελαιόλαδο αυξήθηκε 8,3 και 7,0% σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο (22,55%), για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ και ΥΠ δείγματα, αντίστοιχα. Παρατηρήθηκε επίσης, ότι στους 30 °C οι δυο προεπεξεργασίες θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για να μειώσουμε το χρόνο μάλαξης στα 15 min, εφόσον ακόμα και σε μικρότερο χρόνο μάλαξης είχαν απόδοση σε ελαιόλαδο 23,13 και 22,84%, δηλαδή σχεδόν ίση σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα. Επιπλέον, σε θερμοκρασία μάλαξης 22 °C, οι δυο προεπεξεργασίες είχαν απόδοση σε ελαιόλαδο 23,98 και 22,69%, σχεδόν ίση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα στους 30 °C και 30 min.
- Στους 30 °C, παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση στη συγκέντρωση των ολικών φαινολικών ενώσεων περίπου 9,3 και 4,9% σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα (745 mg GAE/kg) για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ και ΥΠ δείγματα, αντίστοιχα. Στους 30 °C θερμοκρασία μάλαξης, τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ δείγματα κατάφεραν να φτάσουν τη συγκέντρωση των ολικών φαινολικών ενώσεων (768 mg GAE/kg) των μη προεπεξεργασμένων δειγμάτων σε 30 min, μόλις στο μισό χρόνο μάλαξης (15 min).
- Τα ελαιόλαδα που προέκυψαν από την προεπεξεργασία με ΠΗΠ και ΥΠ στους 30 °C ήταν κατά 68 και 44% (184 mg/kg και 157 mg/kg) αντίστοιχα, περισσότερο εμπλουτισμένα με το κυριότερο φαινολικό συστατικό του ελαιόλαδου που είναι η υδροξυτυροσόλη. Παράλληλα η συγκέντρωση της τυροσόλης, καθώς και οι συγκεντρώσεις όλων των φαινυλοπροπανοειδών (βαννιλικό, χλωρογενικό και κουμαρικό οξύ) και των λιγνανών αυξήθηκε στα ελαιόλαδα που προέκυψε από την προεπεξεργασία με ΠΗΠ και ΥΠ. Επιπλέον, σε θερμοκρασία μάλαξης 30 °C και 15 min, οι συγκεντρώσεις όλων των μεμονωμένων φαινολικών συστατικών των ελαιόλαδων που προέκυψαν από την προεπεξεργασία με ΥΠ και ΠΗΠ ήταν μεγαλύτερες (έως και κατά 10%) από το μη προεπεξεργασμένο δείγμα στους 30 °C και 30 min. Σε θερμοκρασία μάλαξης 22 °C, οι δυο προεπεξεργασίες οδήγησαν σε ελαιόλαδα με σχεδόν ίσες συγκεντρώσεις των μεμονωμένων φαινολικών συστατικών σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα.
- Τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των παραγόμενων ελαιόλαδων, δεν εμφάνισαν σημαντικές διαφορές ($p > 0.05$) μεταξύ τους. Οι τιμές της ελεύθερης οξύτητας, του αριθμού υπεροξειδίων και των φασματοφωτομετρικών δεικτών K_{232} και K_{270} ήταν εντός των ορίων για τα έξτρα παρθένα ελαιόλαδα.

- Η συγκέντρωση σε α-τοκοφερόλη ήταν υψηλότερη κατά 59 και 65% (66,9 mg/kg και 66,5 mg/kg) για τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ και ΥΠ δείγματα αντίστοιχα σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο (42,48 mg/kg) στους 30 °C και 30 min. Ταυτόχρονα σε χαμηλότερη θερμοκρασία μάλαξης των 22 °C, τα προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ και ΥΠ δείγματα εμφάνισαν παραπλήσια συγκέντρωση α-τοκοφερόλης με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα ίση με 43,34 και 39,23 mg/kg, αντίστοιχα.
- Όπως ήταν αναμενόμενο, οι χρόνοι επαγωγής των ελαιόλαδων είχαν πλήρη συσχέτιση με τη συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών και της α-τοκοφερόλης για όλα τα δείγματα. Τα ελαιόλαδα που είχαν προκύψει από τις δυο προεπεξεργασίες εμφάνισαν μεγαλύτερο χρόνο επαγωγής (178 και 197 h για ΠΗΠ και ΥΠ, αντίστοιχα) σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο ελαιόλαδο στους 30 °C. Τα ελαιόλαδα που παράχθηκαν από μάλαξη στους 22 °C είχαν ίση ή μικρότερη οξειδωτική σταθερότητα (119 και 125 h για ΠΗΠ και ΥΠ, αντίστοιχα) σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα (121 h).
- Τέλος, οι δυο προεπεξεργασίες δεν επηρέασαν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των παραγόμενων ελαιόλαδων. Αξίζει να σημειωθεί, ότι τα δείγματα που είχαν μαλαχθεί σε θερμοκρασία 22 °C είχαν ελαφρώς πιο φρουτώδη γεύση άλλα λιγότερο πικάντικη και πικρή σε σχέση με τα ελαιόλαδα που προέκυψαν από μάλαξη στους 30 °C. Η πιο φρουτώδης γεύση μπορεί να οφείλεται στη χαμηλότερη θερμοκρασία μάλαξης, καθώς η λιγότερο πικρή και πικάντικη γεύση στη μικρότερη συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών που έχουν τα ελαιόλαδα στους 22 °C.

Με βάση αυτά τα αποτελέσματα η χρήση της των ΠΗΠ και της ΥΠ ως προεπεξεργασίες προτείνεται για την παραλαβή ελαιόλαδων με υψηλή απόδοση και πλούσια σε φαινολικά συστατικά, τα οποία έχουν τη μέγιστη αντιοξειδωτική δράση χωρίς να υποβαθμίζονται τα ποιοτικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τελικών ελαιόλαδων σε σχέση με το μη προεπεξεργασμένο δείγμα (30 °C και 30 min) που εξετάστηκε και λαμβάνονται σε μικρότερο χρόνο μάλαξης ή σε χαμηλότερη θερμοκρασία.

Κατά τη διερεύνηση της εκχύλισης βιοδραστικών συστατικών απευθείας από τον ελαιοπυρήνα, χρησιμοποιήθηκε νωπός ελαιοπυρήνας (από ποικιλία ελιάς *Τσουνάτη* στο δεύτερο στάδιο ωρίμανσης) από σύστημα εξαγωγής ελαιόλαδου δύο φάσεων, ο οποίος ξηράθηκε και αλέσθηκε στην κατάλληλη κοκκομετρία. Αρχικά εξετάστηκε η πορεία αξιοποίησης του ξηρού ελαιοπυρήνα για την εκχύλιση φαινολικών συστατικών και πρωτεϊνών με συμβατική εκχύλιση με μίγμα αιθανόλης-νερού. Από την κινητική μελέτη της διεργασίας της εκχύλισης εξετάζοντας τους παράγοντες που επηρεάζουν (θερμοκρασία, χρόνος, συγκέντρωση αιθανόλης σε νερό) βρέθηκε

ότι συνθήκες θερμοκρασίας δωματίου για 60 min και σε συγκέντρωση αιθανόλης 50% οδήγησαν σε αυξημένη συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων (2,10 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.) και πρωτεϊνών (3,98 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.) με μέγιστη αντιοξειδωτική ικανότητα (2,84 mM TE) στα εκχυλίσματα του ελαιοπυρήνα.

Γενικότερα από την κινητική μελέτη προέκυψε ότι η αύξηση της συγκέντρωσης της αιθανόλης έως και 50% αύξησε σημαντικά την απόδοση της εκχύλισης όλων των ωφέλιμων συστατικών από τον ελαιοπυρήνα, καθώς η αιθανόλη λόγω της μεγάλης πολικότητας της επιταχύνει τη διάρρηξη των δεσμών των λιπιδίων με τις κυτταρικές μεμβράνες και μπορεί να διεισδύσει στο λιπαρό τμήμα του ελαιοπυρήνα και να εκχυλίσει αποτελεσματικά αυτές τις ενώσεις. Επιπλέον, η χρήση αλκοολικού διαλύματος για την εκχύλιση πρωτεϊνών, αν και σπανίζει στη βιβλιογραφία, έχει χρησιμοποιηθεί. Οι πρωτεΐνες αν και υδατοδιαλυτές, ένα μέρος τους (περίπου το 39%) εκχυλίστηκε στα αλκοολικά διαλύματα, καθώς στόχος ήταν η εκχύλιση όλων των ωφέλιμων συστατικών που περιέχει στο σύνολο του ο ελαιοπυρήνας.

Στα πλαίσια της μελέτης της εκχύλισης βιοδραστικών συστατικών από ελαιοπυρήνα με σκοπό την εξοικονόμηση όγκου διαλυτών, του χρόνου εκχύλισης και ταυτόχρονα την αύξηση της απόδοσης της εκχύλισης σε βιοδραστικές ενώσεις χωρίς τη μείωση της υποβάθμισης αυτών των συστατικών εφαρμόστηκε η εκχύλιση υποβοηθούμενη με ΠΗΠ και ΥΠ. Οι δυο αυτές διεργασίες έχουν προταθεί μεταξύ άλλων εναλλακτικών μεθόδων εκχύλισης λόγω πολλών πλεονεκτημάτων όπως η βελτιωμένη απόδοση και η μείωση του χρόνου εκχύλισης αποφεύγοντας τη θερμική υποβάθμιση των εκχυλισμάτων.

Από την κινητική μελέτη της διεργασίας της εκχύλισης υποβοηθούμενης με ΠΗΠ βρέθηκε ότι συνθήκες έντασης ηλεκτρικού πεδίου >3 kV/cm, οδήγησαν σε σημαντική αύξηση της απόδοσης της εκχύλισης σε βιοδραστικές ενώσεις από ελαιοπυρήνα, σε σχέση με τη συμβατική εκχύλιση. Με περαιτέρω αύξηση της έντασης των συνθηκών, ο ρυθμός της εκχύλισης των ενδοκυτταρικών ενώσεων αυξανόταν σημαντικά. Συγκεκριμένα η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών ενώσεων έφτασε έως 3,34 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. και των πρωτεϊνών έως 5,72 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. Γενικότερα από την κινητική μελέτη προέκυψε ότι τα ΠΗΠ προκαλούν αύξηση της διαπερατότητας των φυτικών κυτταρικών μεμβρανών του ελαιοπυρήνα ενισχύοντας την εκχύλιση των πολυφαινολών και των πρωτεϊνών από το εσωτερικό του κυττάρου προς τα έξω. Η ηλεκτροδιάτρηση συμβαίνει και στη μεμβράνη των κυττάρων του ελαιοπυρήνα αλλά μπορεί να υποθεθεί ότι πραγματοποιείται ταυτόχρονα και ηλεκτροδιάτρηση της μεμβράνης του κενοτόπιου ενισχύοντας την άμεση διείσδυση του διαλύτη μέσα σε αυτό και την αποτελεσματική εκχύλιση των ενδοκυτταρικών του ενώσεων.

Αντίστοιχα, από την κινητική της διεργασίας της εκχύλισης υποβοηθούμενης με ΥΠ, βρέθηκε ότι με αύξηση της έντασης των συνθηκών (εφαρμοζόμενη πίεση και χρόνος επεξεργασίας), οδήγησαν σε σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης των φαινολικών συστατικών, ενώ για πιέσεις >400 MPa, η συγκέντρωση των πρωτεϊνών στα εκχυλίσματα δεν αυξήθηκε περαιτέρω λόγω της μετουσίωσής τους. Το ολικό περιεχόμενο φαινολικών συστατικών των εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα έφτασε έως 2,94 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. και των πρωτεϊνών έως 4,69 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β. στις μελετηθείσες συνθήκες. Γενικότερα από την κινητική μελέτη προέκυψε ότι η ΥΠ ενισχύει τα φαινόμενα μεταφοράς μάζας προκαλώντας διαπερατοποίηση στην κυτταρική μεμβράνη του ελαιοπυρήνα, διευκολύνοντας τη διείσδυση του διαλύτη εκχύλισης μέσα στα κύτταρα, ώστε να εκχυλίσει αποτελεσματικότερα και σε συντομότερο χρόνο τα βιοδραστικά συστατικά.

Τα πειραματικά δεδομένα και από τις μεθόδους εκχύλισης περιγράφηκαν μαθηματικά από ένα ανοιγμένο μοντέλο πρώτης τάξης, προκειμένου να δοθεί η δυνατότητα σωστού και αποτελεσματικού σχεδιασμού της εκχύλισης υποβοηθούμενης από τα ΠΗΠ και την ΥΠ, που θα επιφέρει την επιθυμητή απόδοση ανάκτησης βιοδραστικών συστατικών στα εκχυλίσματα του ελαιοπυρήνα. Συγκρίνοντας την αποτελεσματικότητα της εκχύλισης υποβοηθούμενης με ΠΗΠ και ΥΠ όσον αφορά το ολικό περιεχόμενο φαινολικών συστατικών και των πρωτεϊνών που εκχυλίστηκαν από τον ελαιοπυρήνα, προέκυψαν τα εξής συμπεράσματα:

- Η προεπεξεργασία με ΠΗΠ αποδείχτηκε πιο αποτελεσματική στην εκχύλιση φαινολικών ενώσεων σε σχέση με την προεπεξεργασία με ΥΠ σε ηπιότερες συνθήκες (καταναλισκόμενη ενέργεια <6,4 kJ/kg), ενώ το αντίστροφο συνέβη σε εντονότερες συνθήκες (καταναλισκόμενη ενέργεια: 6,4-32,5 kJ/kg). Το ολικό περιεχόμενο σε φαινολικά συστατικά του εκχυλίσματος που προέκυψε με χρήση των ΠΗΠ και ΥΠ έφθασε το 32 και 34% του αντίστοιχου που προέκυψε με τη συμβατική εκχύλιση (2,10 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β).
- Επίσης τα εκχυλίσματα που προέκυψαν με τα ΠΗΠ και την ΥΠ εμφάνισαν 21% (3,44 mM TE) και 15% (3,28 mM TE) μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση σε σχέση με το συμβατικά επεξεργασμένο δείγμα (2,84 mM TE).
- Ως προς την ανάκτηση των πρωτεϊνών από ελαιοπυρήνα, η προεπεξεργασία με ΥΠ, αύξησε σημαντικά (έως και κατά 45%) τη συγκέντρωση των πρωτεϊνών μέχρι τη συνθήκη που αντιστοιχεί στα 6,41 kJ/kg (200 MPa) (3,77 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β). Αντιθέτως, τα ΠΗΠ με αύξηση της ενέργειας (πιο έντονες συνθήκες) εμπλούτισαν το εκχύλισμα σε

πρωτεΐνες ως και 32% περισσότερο (3,4 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β) από ότι με τη συμβατική εκχύλιση.

- Επιπλέον, και οι δύο προεπεξεργασίες μπορούν να μειώσουν σημαντικά τον χρόνο εκχύλισης. Στην εκχύλιση υποβοηθούμενη με ΠΗΠ, σε συνθήκες >3 kV/cm ο χρόνος εκχύλισης μειώθηκε ~70-85% (από 5-12 min συνολικός χρόνος εκχύλισης) σε σχέση με τα 60 min της συμβατικής εκχύλισης. Στις πιο έντονες συνθήκες ($W > 24$ kJ/kg), ο χρόνος εκχύλισης σχεδόν μηδενίστηκε, που πρακτικά αυτό σημαίνει, ότι τα εκχυλίσματα είχαν την επιθυμητή συγκέντρωση αμέσως μετά την επεξεργασία με ΠΗΠ χωρίς να πραγματοποιηθεί η συμβατική εκχύλιση. Στην εκχύλιση υποβοηθούμενη με ΥΠ, ο χρόνος επεξεργασίας δεν θεωρείται αμελητέος, καθώς είναι της τάξεως των min. Η προεπεξεργασία με ΥΠ οδήγησε σε σημαντική μείωση του χρόνου εκχύλισης, ίσο με 12 min (συνολικό χρόνο επεξεργασίας και εκχύλισης).

Στα πλαίσια της μελέτης της εκχύλισης του ελαιοπυρήνα με σκοπό την εξοικονόμηση χρόνου, και ενέργειας που καταναλώνεται κατά την κάθε προεπεξεργασία, εφαρμόστηκε εκχύλιση υποβοηθούμενη με ΠΗΠ και ΥΠ για την παραλαβή εκχυλίσματος υψηλής συγκέντρωσης ολικών φαινολικών και των επιμέρους κλασμάτων τους στο τελικό παραγόμενο εκχύλισμα κατά την κάθε προεπεξεργασία. Στη συνέχεια, μέσω πειραματικού σχεδιασμού με ταυτόχρονη εξέταση δυο παραγόντων (χρόνος εκχύλισης-t, ένταση των συνθηκών επεξεργασίας με ΠΗΠ ή ΥΠ εκφρασμένη την ενέργεια που καταναλώνεται-W) βρέθηκε ότι:

- Για την προεπεξεργασία με ΠΗΠ, η υδροξυτυροσόλη ($HyT=1,78$ g/100 g ελαιοπυρήνα), η τυροσόλη ($Tyr=0,18$ g/100 g ελαιοπυρήνα) εμφάνισαν τις μέγιστες τιμές τους με εφαρμογή: $t=33-45$ min και $W=14,5$ kJ/kg. Επιπλέον, το ολικό περιεχόμενο φαινολικών συστατικών ($TPC=3.26$ g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.), η ελευρωπαΐνη ($Ole=0,105$ g/100 g ελαιοπυρήνα) και η καεμφερόλη ($Kaem=0,066$ g/100 g ελαιοπυρήνα), με εφαρμογή: $t=45$ min και $W=11$ kJ/kg, ενώ η λουτεολίνη ($Lut=0,067$ g/100 g ελαιοπυρήνα) και το φερουλικό οξύ ($Fer=0,128$ g/100 g ελαιοπυρήνα) με εφαρμογή: $t=20-33$ min και $W=11-14,5$ kJ/kg.
- Για την προεπεξεργασία με ΥΠ, η υδροξυτυροσόλη ($HyT=1,55$ g/100 g ελαιοπυρήνα), η τυροσόλη ($Tyr=0,13$ g/100 g ελαιοπυρήνα), η ελευρωπαΐνη ($Ole=0,095$ g/100 g ελαιοπυρήνα) και η καεμφερόλη ($Kaem=0,057$ g/100 g ελαιοπυρήνα), εμφάνισαν τις μέγιστες τιμές τους με εφαρμογή: $t=33-45$ min και $W=12,0-36,1$ kJ/kg. Επιπλέον, το ολικό περιεχόμενο φαινολικών συστατικών ($TPC=3.36$ g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.), το

φερουλικό οξύ (Fer=0,111 g/100 g ελαιοπυρήνα), η λουτεολίνη (Lut=0,067 g/100 g ελαιοπυρήνα), με εφαρμογή: t=45 min και W=36kJ/kg.

Τέλος, στα πλαίσια της μελέτης της εκχύλισης του ελαιοπυρήνα με σκοπό την εξοικονόμηση χρόνου, ενέργειας που καταναλώνεται κατά την κάθε προεπεξεργασία και του όγκου διαλυτών που χρησιμοποιείται κατά την εκχύλιση, με ταυτόχρονη τη διατήρηση των βιοδραστικών συστατικών του τελικού παραγόμενου εκχυλίσματος, εφαρμόστηκε συμβατική εκχύλιση και εκχύλιση υποβοηθούμενη με ΠΗΠ (5 kV/cm, 11 kJ/kg) και ΥΠ (350 MPa, 10 min, 15 kJ/kg) για την παραλαβή εκχυλίσματος μεγάλης απόδοσης με όσο το μικρότερο δυνατό χρόνο εκχύλισης και όγκο διαλύτη. Στη συνέχεια, μέσω πειραματικού σχεδιασμού με ταυτόχρονη εξέταση δυο παραγόντων (χρόνος εκχύλισης-t, συγκέντρωση αιθανόλης στον διαλύτη-%) βρέθηκε ότι για την προεπεξεργασία με ΠΗΠ και ΥΠ, το ολικό περιεχόμενο φαινολικών συστατικών (TPC=3,13 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β και 3,18 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β), η συγκέντρωση πρωτεϊνών (PR=5,40 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β και 5.13 g/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β), και η αντιοξειδωτική ικανότητα (DPPH=3,83 mM TE και 3,37 mM TE) με εφαρμογή: t=45 min και συγκέντρωση αιθανόλης 35-40%. Ενώ για τη συμβατική εκχύλιση το ολικό περιεχόμενο φαινολικών συστατικών (TPC=2.78 g GAE/100 g ελαιοπυρήνα ξ.β.), η συγκέντρωση πρωτεϊνών (PR=4,10 g/100 g ελαιοπυρήνα) και η αντιοξειδωτική ικανότητα (DPPH=3,27 mM TE) με εφαρμογή: t=60 min και συγκέντρωση αιθανόλης 45-50%.

Με βάση αυτά τα αποτελέσματα η χρήση της εκχύλισης υποβοηθούμενης με ΠΗΠ και ΥΠ προτείνεται για την παραλαβή εκχυλισμάτων πλούσιων σε φαινολικά συστατικά και πρωτεΐνες από ελαιοπυρήνα, τα οποία έχουν τη μέγιστη συγκέντρωση τους και την υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση σε σχέση με τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης (60 min, 50%v/v αιθανόλη) που εξετάστηκε και λαμβάνονται σε μικρότερο χρόνο εκχύλισης (45 min) και όγκο διαλύτη (συγκέντρωση αιθανόλης 35% v/v).

Προτάσεις

Από τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής, διαφαίνεται ότι η τεχνολογία των Παλμικών Ηλεκτρικών Πεδίων και της Υπερυψηλής Πίεσης μπορούν να εφαρμοσθούν ως προεπεξεργασίες σε στάδια παραγωγής μίας τοματοματοβιομηχανίας και ενός ελαιουργείου, καθώς και στην αποτελεσματική αξιοποίηση των παραπροϊόντων τους. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, οι δύο προεπεξεργασίες κατάφεραν να: α) αυξήσουν την απόδοση της κάθε διεργασίας που εφαρμόστηκαν ως προς το προϊόν που παράγεται σε κάθε περίπτωση, (β) μειώσουν τον χρόνο επεξεργασίας της κάθε διεργασίας, (γ) μειώσουν την ένταση των συνθηκών των συμβατικών

μεθόδων στην περίπτωση που εφαρμοσθούν ως προεπεξεργασίες, (δ) βελτιώσουν τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των τελικών προϊόντων, και (στ) επιτύχουν χαμηλή κατανάλωση ενέργειας.

Ταυτόχρονα, τα ενθαρρυντικά αυτά αποτελέσματα οδηγούν σε νέα ερευνητικά μονοπάτια, όπως:

- Σχεδιασμός και εφαρμογή των ΠΗΠ και της ΥΠ στα διάφορα στάδια της τοματοβιομηχανίας (αποφλοιώση, συμπύκνωση και χυμοποίηση) σε πιλοτική κλίμακα με στόχο την παραγωγή προϊόντων τομάτας υψηλής απόδοσης και ποιότητας-Τεχνικοοικονομική μελέτη.
- Σχεδιασμός και εφαρμογή των ΠΗΠ και της ΥΠ σε ελαιουργείο πιλοτικής κλίμακας με στόχο την παραγωγή έξτρα παρθένου ελαιόλαδου με αυξημένη απόδοση και ανώτερα ποιοτικά χαρακτηριστικά με μέγιστη οξειδωτική σταθερότητα – Τεχνικοοικονομική μελέτη.
- Μελέτη της σταθερότητας και λειτουργικότητας των βιοδραστικών συστατικών που ανακτώνται από τα παραπροϊόντα της τοματοβιομηχανίας και ελαιουργίας και ενσωμάτωσή τους σε συμπληρώματα διατροφής, σε συσκευασμένα τρόφιμα, σε φαρμακευτικά προϊόντα ή σε καλλυντικά.
- Σχεδιασμός και εφαρμογή των εκχυλίσεων των παραπροϊόντων με τις νέες καινοτόμες μεθόδους που εξετάστηκαν σε πιλοτική κλίμακα, καθώς όπως αποδείχτηκε προσφέρουν πολλά πλεονεκτήματα συμπεριλαμβανομένων της μεγάλης απόδοσης, του μειωμένου χρόνου και όγκου διαλυτών και της υψηλότερης απόδοσης της ανάκτησης βιοδραστικών συστατικών-στόχων.
- Τεχνικοοικονομική μελέτη πιλοτικής μονάδας επεξεργασίας, ικανής να χειριστεί μεγάλες ποσότητες παραπροϊόντων, ώστε να παράγει σημαντικές ποσότητες βιοδραστικών συστατικών. Πιο συγκεκριμένα, μελέτη της οικονομικής βιωσιμότητας με βάση τόσο το περιβαλλοντικό αποτύπωμα των γραμμών παραγωγής όσο και την ποιότητα των τελικών εκχυλισμάτων.

8. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Aadil, R. M., Zeng, X. A., Ali, A., Zeng, F., Farooq, M. A., Han, Z., ... & Jabbar, S. (2015). Influence of different pulsed electric field strengths on the quality of the grapefruit juice. *International journal of food science & technology*, 50(10), 2290-2296.
- Abenoza, M., Benito, M., Saldaña, G., Álvarez, I., Raso, J., & Sánchez-Gimeno, A. C. (2013). Effects of pulsed electric field on yield extraction and quality of olive oil. *Food and Bioprocess Technology*, 6(6), 1367-1373.
- Abram, F., Smelt, J. P. P. M., Bos, R., & Wouters, P. C. (2003). Modelling and optimization of inactivation of *Lactobacillus plantarum* by pulsed electric field treatment. *Journal of Applied Microbiology*, 94(4), 571-579.
- Ade-Omowaye, B. I. O., Angersbach, A., Taiwo, K. A., & Knorr, D. (2001). Use of pulsed electric field pre-treatment to improve dehydration characteristics of plant based foods. *Trends in Food Science & Technology*, 12(8), 285-295.
- Ade-Omowaye, B. I. O., Angersbach, A., Taiwo, K. A., & Knorr, D. (2001). The use of pulsed electric fields in producing juice from paprika (*Capsicum annum* L.). *Journal of food processing and preservation*, 25(5), 353-365.
- Ade-Omowaye, B. I. O., Rastogi, N. K., Angersbach, A., & Knorr, D. (2003). Combined effects of pulsed electric field pre-treatment and partial osmotic dehydration on air drying behaviour of red bell pepper. *Journal of Food Engineering*, 60(1), 89-98.
- Ade-Omowaye, B. I. O., Rastogi, N. K., Angersbach, A., & Knorr, D. (2002). Osmotic dehydration of bell peppers: influence of high intensity electric field pulses and elevated temperature treatment. *Journal of food Engineering*, 54(1), 35-43.
- Adil, I. H., Yener, M. E., & Bayındırlı, A. (2008). Extraction of total phenolics of sour cherry pomace by high pressure solvent and subcritical fluid and determination of the antioxidant activities of the extracts. *Separation Science and Technology*, 43(5), 1091-1110.
- Aguilera, J. M., & Stanley, D. W. (1999). *Microstructural principles of food processing and engineering*. Springer Science & Business Media.
- Aguilera, J. M. (2003). Solid-liquid extraction. In *Extraction optimization in food engineering* (pp. 51-70). CRC Press.
- Aguiló-Aguayo, I., Soliva-Fortuny, R., & Martín-Belloso, O. (2009). Avoiding non-enzymatic browning by high-intensity pulsed electric fields in strawberry, tomato and watermelon juices. *Journal of Food Engineering*, 92(1), 37-43.
- Aguiló-Aguayo, I., Soliva-Fortuny, R., & Martín-Belloso, O. (2010). Color and viscosity of watermelon juice treated by high-intensity pulsed electric fields or heat. *Innovative food science & emerging technologies*, 11(2), 299-305.
- Ahmad-Qasem, M. H., Cánovas, J., Barraojón-Catalán, E., Micol, V., Cárcel, J. A., & García-Pérez, J. V. (2013). Kinetic and compositional study of phenolic extraction from olive leaves (var. Serrana) by using power ultrasound. *Innovative food science & emerging technologies*, 17, 120-129.
- Ahmed, J., & Ramaswamy, H. S. (2006). Changes in colour during high pressure processing of fruits and vegetables.
- Ajila, C. M., Brar, S. K., Verma, M., Tyagi, R. D., Godbout, S., & Valero, J. R. (2011). Extraction and analysis of polyphenols: recent trends. *Critical Reviews in Biotechnology*, 31(3), 227-249.

- Alagna, F., Mariotti, R., Panara, F., Caporali, S., Urbani, S., Veneziani, G., & Perrotta, G. (2012). Olive phenolic compounds: metabolic and transcriptional profiling during fruit development. *BMC plant biology*, 12(1), 162.
- Albuquerque, J. A., González, J., Garcia, D., & Cegarra, J. (2004). Agrochemical characterisation of "alperujo", a solid by-product of the two-phase centrifugation method for olive oil extraction. *Bioresource technology*, 91(2), 195-200.
- Alexandrakis, Z., Katsaros, G., Stavros, P., Katapodis, P., Nounesis, G., & Taoukis, P. (2014). Comparative structural changes and inactivation kinetics of pectin methylesterases from different orange cultivars processed by high pressure. *Food and bioprocess technology*, 7(3), 853-867.
- Alexandre, E. M., Silva, S., Santos, S. A., Silvestre, A. J., Duarte, M. F., Saraiva, J. A., & Pintado, M. (2019). Antimicrobial activity of pomegranate peel extracts performed by high pressure and enzymatic assisted extraction. *Food research international*, 115, 167-176.
- Aliakbarian, B., De Faveri, D., Converti, A., & Perego, P. (2008). Optimisation of olive oil extraction by means of enzyme processing aids using response surface methodology. *Biochemical Engineering Journal*, 42(1), 34-40.
- Aliakbarian, B., Casazza, A. A., & Perego, P. (2011). Valorization of olive oil solid waste using high pressure-high temperature reactor. *Food chemistry*, 128(3), 704-710.
- Alkorta, I., Garbisu, C., Llama, M. J., & Serra, J. L. (1998). Industrial applications of pectic enzymes: a review. *Process Biochemistry*, 33(1), 21-28.
- Almeida, B., Valli, E., Bendini, A., & Gallina Toschi, T. (2017). Semi-industrial ultrasound-assisted virgin olive oil extraction: Impact on quality. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 119(1), 1600230.
- Altieri, G., Di Renzo, G. C., & Genovese, F. (2013). Horizontal centrifuge with screw conveyor (decanter): optimization of oil/water levels and differential speed during olive oil extraction. *Journal of food engineering*, 119(3), 561-572.
- Alvarez, I., Condon, S., & Raso, J. (2006). Microbial inactivation by pulsed electric fields. In *Pulsed electric fields technology for the food industry* (pp. 97-129). Springer, Boston, MA.
- Álvarez, I., Pagán, R., Condón, S., & Raso, J. (2003). The influence of process parameters for the inactivation of *Listeria monocytogenes* by pulsed electric fields. *International Journal of Food Microbiology*, 87(1-2), 87-95.
- Alvarez, I., Virto, R., Raso, J., & Condón, S. (2003). Comparing predicting models for the *Escherichia coli* inactivation by pulsed electric fields. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 4(2), 195-202.
- Alviar, M. S. B., & Reid, D. S. (1990). Determination of rheological behavior of tomato concentrates using back extrusion. *Journal of food science*, 55(2), 554-555.
- Al-Wandawi, H., Abdul-Rahman, M., & Al-Shaikhly, K. (1985). Tomato processing wastes as essential raw materials source. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 33(5), 804-807.
- Amami, E., Fersi, A., Vorobiev, E., & Kechaou, N. (2007). Osmotic dehydration of carrot tissue enhanced by pulsed electric field, salt and centrifugal force. *Journal of Food Engineering*, 83(4), 605-613.
- Amami, E., Vorobiev, E., & Kechaou, N. (2006). Modelling of mass transfer during osmotic dehydration of apple tissue pre-treated by pulsed electric field. *LWT-Food Science and Technology*, 39(9), 1014-1021.
- Amami, E., Khezami, L., Vorobiev, E., & Kechaou, N. (2008). Effect of pulsed electric field and osmotic dehydration pretreatment on the convective drying of carrot tissue. *Drying technology*, 26(2), 231-238.

Amiali, M., Ngadi, M. O., Raghavan, V. G., & Nguyen, D. H. (2006). Electrical conductivities of liquid egg products and fruit juices exposed to high pulsed electric fields. *International Journal of Food Properties*, 9(3), 533-540.

Andreou, V., Dimopoulos, G., Katsaros, G., & Taoukis, P. (2016). Comparison of the application of high pressure and pulsed electric fields technologies on the selective inactivation of endogenous enzymes in tomato products. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 38, 349-355.

Andreou, V., Dimopoulos, G., Alexandrakis, Z., Katsaros, G., Oikonomou, D., Toepfl, S., ... & Taoukis, P. (2017). Shelf-life evaluation of virgin olive oil extracted from olives subjected to nonthermal pretreatments for yield increase. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 40, 52-57.

Andreou, V., Psarianos, M., Dimopoulos, G., Tsimogiannis, D., & Taoukis, P. (2020). Effect of pulsed electric fields and high pressure on improved recovery of high-added-value compounds from olive pomace. *Journal of Food Science*.

Andreou, V., Dimopoulos, G., Dermesonlouoglou, E., & Taoukis, P. (2020). Application of pulsed electric fields to improve product yield and waste valorization in industrial tomato processing. *Journal of Food Engineering*, 270, 109778.

Angerosa, F., d'Alessandro, N., Basti, C., & Vito, R. (1998a). Biogenesis of volatile compounds in virgin olive oil: their evolution in relation to malaxation time. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(8), 2940-2944.

Angerosa, F., Camera, L., d'Alessandro, N., & Mellerio, G. (1998b). Characterization of seven new hydrocarbon compounds present in the aroma of virgin olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(2), 648-653.

Angerosa, F., Giacinto, L. D., Vito, R., & Cumitini, S. (1996). Sensory evaluation of virgin olive oils by artificial neural network processing of dynamic head-space gas chromatographic data. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 72(3), 323-328.

Angerosa, F., Mostallino, R., Basti, C., & Vito, R. (2001). Influence of malaxation temperature and time on the quality of virgin olive oils. *Food Chemistry*, 72(1), 19-28.

Angersbach, A., Heinz, V., & Knorr, D. (2000). Effects of pulsed electric fields on cell membranes in real food systems. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 1(2), 135-149.

Angersbach, A., Heinz, V., & Knorr, D. (2002). Evaluation of process-induced dimensional changes in the membrane structure of biological cells using impedance measurement. *Biotechnology Progress*, 18(3), 597-603.

Angersbach, A., & Knorr, D. (1997). High intensity electric field pulses as pretreatment for effecting dehydration characteristics and rehydration properties of potato cubes. *Nahrung (Germany)*.

Angersbach, A., Heinz, V., & Knorr, D. (1999). Electrophysiological model of intact and processed plant tissues: cell disintegration criteria. *Biotechnology Progress*, 15(4), 753-762.

Anthon, G. E., Sekine, Y., Watanabe, N., & Barrett, D. M. (2002). Thermal inactivation of pectin methylesterase, polygalacturonase, and peroxidase in tomato juice. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(21), 6153-6159.

Aparicio, R., & Harwood, J. (2013). *Handbook of olive oil* (pp. 163-395). New York, NY, USA.: Springer.

Aronsson, K., Lindgren, M., Johansson, B. R., & Rönner, U. (2001). Inactivation of microorganisms using pulsed electric fields: the influence of process parameters on *Escherichia coli*, *Listeria innocua*, *Leuconostoc mesenteroides* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2(1), 41-54.

Asavasanti, S., Ersus, S., Ristenpart, W., Stroeve, P., & Barrett, D. M. (2010). Critical electric field strengths of onion tissues treated by pulsed electric fields. *Journal of food science*, 75(7), E433-E443.

Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., & Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of food engineering*, 117(4), 426-436.

Baier, A. K., Bußler, S., & Knorr, D. (2015). Potential of high isostatic pressure and pulsed electric fields to improve mass transport in pea tissue. *Food Research International*, 76, 66-73.

Baker, R. A., & Cameron, R. G. (1999). Clouds of citrus juices and juice drinks. *Food technology (Chicago)*, 53(1), 64-69.

Bakić, M. T., Pedisić, S., Zorić, Z., Dragović-Uzelac, V., & Grassino, A. N. (2019). Effect of microwave-assisted extraction on polyphenols recovery from tomato peel waste. *Acta Chimica Slovenica*, 66(2), 367-377.

Balasa, A., Toepfl, S., & Knorr, D. (2006). Pulsed electric field treatment of grapes. *Food factory of the future*, 3.

Balasubramaniam, V. B., Martinez-Monteagudo, S. I., & Gupta, R. (2015). Principles and application of high pressure-based technologies in the food industry.

Balasubramaniam, V. M., Barbosa-Cánovas, G. V., & Lelieveld, H. L. (2016). High pressure processing of food. *Food Engineering Series*.

BALCI, A. T., & Wilbey, R. A. (1999). High pressure processing of milk-the first 100 years in the development of a new technology. *International Journal of Dairy Technology*, 52(4), 149-155.

Balny, C., & Masson, P. (1993). Effects of high pressure on proteins. *Food Reviews International*, 9(4), 611-628.

Banks D. E., Lusas E.W., Oils and Industrial Frying, In Lusas E. W., Rooney L. W. (Eds) *Snack Foods Processing*, p.15, CRC Press LLC, 2001

Barba, F. J., Esteve, M. J., & Frígola, A. (2014). Bioactive components from leaf vegetable products. In *Studies in natural products chemistry (Vol. 41, pp. 321-346)*. Elsevier.

Barba, F. J., Parniakov, O., Pereira, S. A., Wiktor, A., Grimi, N., Boussetta, N., ... & Lebovka, N. (2015a). Current applications and new opportunities for the use of pulsed electric fields in food science and industry. *Food Research International*, 77, 773-798.

Barba, F. J., Grimi, N., & Vorobiev, E. (2015). Evaluating the potential of cell disruption technologies for green selective extraction of antioxidant compounds from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves. *Journal of Food Engineering*, 149, 222-228.

Barbosa-Cánovas, G. V., Pothakamury, U. R., Gongora-Nieto, M. M., & Swanson, B. G. (1999). *Preservation of foods with pulsed electric fields*. Elsevier.

Barbosa-Cánovas, G. V., Pothakamury, U. R., Palou, E., & Swanson, B. G. (1998). Biological effects and applications of pulsed electric fields for the preservation of foods. *Nonthermal preservation of foods*, 73-112.

Barbosa, C., Pothakamury, U. R., Palou, E., & Swason, B. G. (1997). *Nonthermal preservation of foods*. Marcel Dekker Inc..

Barrett, D. M., Garcia, E., & Wayne, J. E. (1998). Textural modification of processing tomatoes. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38(3), 173-258.

- Bartolome, L. G., & Hoff, J. E. (1972). Firming of potatoes. Biochemical effects of preheating. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 20(2), 266-270.
- Barsotti, L., & Cheftel, J. C. (1999). Food processing by pulsed electric fields. II. Biological aspects. *Food Reviews International*, 15(2), 181-213.
- Basak, S., & Ramaswamy, H. S. (1996). Ultra high pressure treatment of orange juice: a kinetic study on inactivation of pectin methyl esterase. *Food Research International*, 29(7), 601-607.
- Baysal, T. A. N. E. R., Ersus, S. E. D. A., & Starmans, D. A. J. (2000). Supercritical CO₂ extraction of β -carotene and lycopene from tomato paste waste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(11), 5507-5511.
- Bazhal, M., Lebovka, N., & Vorobiev, E. (2003). Optimisation of pulsed electric field strength for electroplasmolysis of vegetable tissues. *Biosystems Engineering*, 86(3), 339-345.
- Bazhal, M. I., Lebovka, N. I., & Vorobiev, E. (2001). Pulsed electric field treatment of apple tissue during compression for juice extraction. *Journal of Food Engineering*, 50(3), 129-139.
- Bazhal, M., & Vorobiev, E. (2000). Electrical treatment of apple cossettes for intensifying juice pressing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(11), 1668-1674.
- Bejaoui, M. A., Sánchez-Ortiz, A., Sánchez, S., Jiménez, A., & Beltrán, G. (2017). The high power ultrasound frequency: Effect on the virgin olive oil yield and quality. *Journal of Food Engineering*, 207, 10–17
- Bejaoui, M. A., Beltran, G., Aguilera, M. P., & Jimenez, A. (2016). Continuous conditioning of olive paste by high power ultrasounds: Response surface methodology to predict temperature and its effect on oil yield and virgin olive oil characteristics. *LWT - Food Science and Technology*, 69, 175–184
- Belitz H-D., Grosch W., Schieberle P., (2006). Χημεία Τροφίμων. 3η έκδοση, Θεσσαλονίκη: Εκδόσεις Τζιόλα. Σελ 1237-87
- Bhaskaracharya, R. K., Kentish, S., & Ashokkumar, M. (2009). Selected applications of ultrasonics in food processing. *Food Engineering Reviews*, 1(1), 31.
- Błaszczak, W., Amarowicz, R., & Górecki, A. R. (2017). Antioxidant capacity, phenolic composition and microbial stability of aronia juice subjected to high hydrostatic pressure processing. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 39, 141-147.
- Bobinaitė, R., Pataro, G., Lamanauskas, N., Šatkauskas, S., Viškelis, P., & Ferrari, G. (2015). Application of pulsed electric field in the production of juice and extraction of bioactive compounds from blueberry fruits and their by-products. *Journal of food science and technology*, 52(9), 5898-5905.
- Bonoli, M., Bendini, A., Cerretani, L., Lercker, G., & Gallina Toschi, T. (2004). Qualitative and semiquantitative analysis of phenolic compounds in extra virgin olive oils as a function of the ripening degree of olive fruits by different analytical techniques. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(23), 7026-7032.
- Boselli, E., Di Lecce, G., Strabbioli, R., Pieralisi, G., & Frega, N. G. (2009). Are virgin olive oils obtained below 27° C better than those produced at higher temperatures?. *LWT-Food Science and Technology*, 42(3), 748-757.
- Boskou, D., *Characteristics of the Olive Tree and Olive Fruit*, In Boskou, D. (Eds), *Olive Oil Chemistry and Technology*, p. 13-17, AOCS Press, 2006
- Boulekou, S. S., Stoforos, N. G., Katsaros, G. J., Taoukis, P. S., & Mallidis, K. (2006). Effect of high pressure on quality parameters of cherry tomato juice. In X International Symposium on the Processing Tomato 758 (pp. 139-144).

- Boulekou, S. S., Katsaros, G. J., & Taoukis, P. S. (2010). Inactivation kinetics of peach pulp pectin methylesterase as a function of high hydrostatic pressure and temperature process conditions. *Food and Bioprocess Technology*, 3(5), 699-706.
- Boulekou, S., Mallidis, C., Taoukis, P. S., & Stoforos, N. G. (2011). Quality evaluation of slightly concentrated tomato juice produced under high pressure conditions. *Procedia Food Science*, 1(1), 800-804.
- Bouzzara, H., & Vorobiev, E. (2003). Solid-liquid expression of cellular materials enhanced by pulsed electric field. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 42(4), 249-257.
- Bouzzara, h., & Vorobiev, e. (2001). Non-thermal pressing and washing of fresh sugarbeet cossettes combined with a pulsed electrical field. *Zuckerindustrie*, 126(6), 463-466.
- Bouzzara, H., & Vorobiev, E. (2000). Beet juice extraction by pressing and pulsed electric fields. *International Sugar Journal*, 102(1216), 194-200.
- Box, G. E. P., & Behnken, D. W. (1960). Simplex-sum designs: a class of second order rotatable designs derivable from those of first order. *The Annals of Mathematical Statistics*, 31(4), 838-864.
- Boyko, N. I., Tur, A. N., Evdoshenko, L. S., Zarochentsev, A. I., & Ivanov, V. M. (1998). A high-voltage pulse generator with mean power up to 50 kW for the treatment of foodstuffs. *Instruments and experimental techniques*, 41(2), 257-263.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT—Food Science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Brenes, M., García, A., García, P., Rios, J. J., & Garrido, A. (1999). Phenolic compounds in Spanish olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(9), 3535-3540.
- Briones-Labarca, V., Plaza-Morales, M., Giovagnoli-Vicuna, C., & Jamett, F. (2015). High hydrostatic pressure and ultrasound extractions of antioxidant compounds, sulforaphane and fatty acids from Chilean papaya (*Vasconcellea pubescens*) seeds: Effects of extraction conditions and methods. *LWT-Food Science and Technology*, 60(1), 525-534.
- Brodellius, P. E., Funk, C., & Shillito, R. D. (1988). Permeabilization of cultivated plant cells by electroporation for release of intracellularly stored secondary products. *Plant cell reports*, 7(3), 186-188.
- Bushnell, A. H., Clark, R. W., Dunn, J. E., & Lloyd, S. W. (1996). U.S. Patent No. 5,514,391. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Buttery, R. G., & Takeoka, G. R. (2004). Some unusual minor volatile components of tomato. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(20), 6264-6266.
- Cano, M. P., Hernandez, A., & De Ancos, B. (1997). High pressure and temperature effects on enzyme inactivation in strawberry and orange products. *Journal of Food Science*, 62(1), 85-88.
- Cai, Y. Z., Sun, M., & Corke, H. (2005). Characterization and application of betalain pigments from plants of the Amaranthaceae. *Trends in Food Science & Technology*, 16(9), 370-376.
- Capello, C., Fischer, U., & Hungerbühler, K. (2007). What is a green solvent? A comprehensive framework for the environmental assessment of solvents. *Green Chemistry*, 9(9), 927-934.

- Carrasco-Pancorbo, A., Cerretani, L., Bendini, A., Segura-Carretero, A., Del Carlo, M., Gallina-Toschi, T., & Fernandez-Gutierrez, A. (2005). Evaluation of the antioxidant capacity of individual phenolic compounds in virgin olive oil. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(23), 8918-8925.
- Castro, S. M., Van Loey, A., Saraiva, J. A., Smout, C., & Hendrickx, M. (2006). Inactivation of pepper (*Capsicum annuum*) pectin methylesterase by combined high-pressure and temperature treatments. *Journal of food engineering*, 75(1), 50-58.
- Cerretani, L., Bendini, A., Rotondi, A., Lercker, G., & Toschi, T. G. (2005). Analytical comparison of monovarietal virgin olive oils obtained by both a continuous industrial plant and a low-scale mill. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 107(2), 93-100.
- Chalermchat, Y., Fincan, M., & Dejmek, P. (2004). Pulsed electric field treatment for solid-liquid extraction of red beetroot pigment: mathematical modelling of mass transfer. *Journal of Food Engineering*, 64(2), 229-236.
- Chalermchat, Y., Malangone, L., & Dejmek, P. (2010). Electroporabilization of apple tissue: Effect of cell size, cell size distribution and cell orientation. *Biosystems engineering*, 105(3), 357-366.
- Chandrasekaran, S., Ramanathan, S., & Basak, T. (2013). Microwave food processing—A review. *Food Research International*, 52(1), 243-261.
- Chang, D. C., & Reese, T. S. (1990). Changes in membrane structure induced by electroporation as revealed by rapid-freezing electron microscopy. *Biophysical journal*, 58(1), 1.
- Chanoti, S., & Tzia, C. (2018). Extraction of phenolic compounds from olive pomace by using natural deep eutectic solvents and innovative extraction techniques. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 48, 228-239.
- Chanoti, S., & Tzia, C. (2017). Optimization of ultrasound-assisted extraction of oil from olive pomace using response surface technology: Oil recovery, unsaponifiable matter, total phenol content and antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 79, 178-189.
- Chanoti, S., Siamandoura, P., & Tzia, C. (2016). Application of natural deep eutectic solvents for extraction of polyphenolics from olive oil by-products using microwaves. *Waltham: Thermo*, 107-9.
- Cheftel, J. C. (1995). High-pressure, microbial inactivation and food preservation. *Food science and technology international*, 1(2-3), 75-90.
- Cheftel, J. C., & Culioli, J. (1997). Effects of high pressure on meat: a review. *Meat science*, 46(3), 211-236.
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. S., & Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics sonochemistry*, 34, 540-560.
- Cioffi, G., Pesca, M. S., De Caprariis, P., Braca, A., Severino, L., & De Tommasi, N. (2010). Phenolic compounds in olive oil and olive pomace from Cilento (Campania, Italy) and their antioxidant activity. *Food Chemistry*, 121(1), 105-111.
- Clodoveo, M. L. (2012). Malaxation: Influence on virgin olive oil quality. Past, present and future—An overview. *Trends in Food Science & Technology*, 25(1), 13-23.
- Clodoveo, M. L., Durante, V., La Notte, D., Punzi, R., & Gambacorta, G. (2013). Ultrasound-assisted extraction of virgin olive oil to improve the process efficiency. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 115(9), 1062-1069

Clodoveo, M. L., Durante, V., & La Notte, D. (2013). Working towards the development of innovative ultrasound equipment for the extraction of virgin olive oil. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(5), 1261–1270. doi:10.1016/j.ultsonch.2013.02.001

Clodoveo, M. L., & Hbaieb, R. H. (2013). Beyond the traditional virgin olive oil extraction systems: Searching innovative and sustainable plant engineering solutions. *Food Research International*, 54(2), 1926-1933.

Clodoveo, M. L., Moramarco, V., Paduano, A., Sacchi, R., Di Palma, T., Crupi, P., ... & Amirante, R. (2017). Engineering design and prototype development of a full scale ultrasound system for virgin olive oil by means of numerical and experimental analysis. *Ultrasonics sonochemistry*, 37, 169-181.

Condello, M., Caraglia, M., Castellano, M. A. R. I. A., Arancia, G., & Meschini, S. (2013). Structural and functional alterations of cellular components as revealed by electron microscopy. *Microscopy research and technique*, 76(10), 1057-1069.

Connor, D. J., & Fereres, E. (2005). The physiology of adaptation and yield expression in olive. *Horticultural reviews*, 31, 155-229.

Corrales, M., Toepfl, S., Butz, P., Knorr, D., & Tauscher, B. (2008). Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: A comparison. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(1), 85-91.

Corrales, M., García, A. F., Butz, P., & Tauscher, B. (2009). Extraction of anthocyanins from grape skins assisted by high hydrostatic pressure. *Journal of Food Engineering*, 90(4), 415-421.

Crelier, S., Robert, M. C., Claude, J., & Juillerat, M. A. (2001). Tomato (*Lycopersicon esculentum*) pectin methylesterase and polygalacturonase behaviors regarding heat-and pressure-induced inactivation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11), 5566-5575.

Cruz, S., Yousfi, K., Pérez, A. G., Mariscal, C., & Garcia, J. M. (2007). Salt improves physical extraction of olive oil. *European Food Research and Technology*, 225(3-4), 359-365.

Cserhalmi, Z., Vidács, I., Beczner, J., & Czukor, B. (2002). Inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* and *Bacillus cereus* by pulsed electric fields technology. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 3(1), 41-45.

Cuccolini, S., Aldini, A., Visai, L., Daglia, M., & Ferrari, D. (2013). Environmentally friendly lycopene purification from tomato peel waste: enzymatic assisted aqueous extraction. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(8), 1646-1651.

Dak, M., Verma, R. C., & Jaaffrey, S. N. A. (2008). Rheological properties of tomato concentrate. *International Journal of Food Engineering*, 4(7).

Das, D. J., & Barringer, S. A. (2006). Potassium hydroxide replacement for lye (sodium hydroxide) in tomato peeling. *Journal of food processing and preservation*, 30(1), 15-19.

Davies, J. N., Hobson, G. E., & McGlasson, W. B. (1981). The constituents of tomato fruit—the influence of environment, nutrition, and genotype. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 15(3), 205-280.

De Castro, M. L., & Garcia-Ayuso, L. E. (1998). Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. *Analytica chimica acta*, 369(1-2), 1-10.

De Sio, F., Dipollina, G., Villari, G., Loiudice, R., Laratta, B., & Castaldo, D. (1995). Thermal resistance of pectin methylesterase in tomato juice. *Food Chemistry*, 52(2), 135-138.

De Vito, F., Ferrari, G., Lebovka, N. I., Shynkaryk, N. V., & Vorobiev, E. (2008). Pulse duration and efficiency of soft cellular tissue disintegration by pulsed electric fields. *Food and Bioprocess Technology*, 1(4), 307-313.

- Del Caro, A., Vacca, V., Poiana, M., Fenu, P., & Piga, A. (2006). Influence of technology, storage and exposure on components of extra virgin olive oil (Bosana cv) from whole and de-stoned fruits. *Food Chemistry*, 98(2), 311-316.
- Delgado-Vargas, F., Jiménez, A. R., & Paredes-López, O. (2000). Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains—characteristics, biosynthesis, processing, and stability. *Critical reviews in food science and nutrition*, 40(3), 173-289.
- Delisi, R., Ciriminna, R., Arvati, S., Meneguzzo, F., & Pagliaro, M. (2018). Olive biophenol integral extraction at a two-phase olive mill. *Journal of Cleaner Production*, 174, 1487-1491.
- Deng, Y., Yang, G., Yue, J., Qian, B., Liu, Z., Wang, D., ... & Zhao, Y. (2014). Influences of ripening stages and extracting solvents on the polyphenolic compounds, antimicrobial and antioxidant activities of blueberry leaf extracts. *Food Control*, 38, 184-191.
- Dermeche, S., Nadour, M., Larroche, C., Moulti-Mati, F., & Michaud, P. (2013). Olive mill wastes: biochemical characterizations and valorization strategies. *Process Biochemistry*, 48(10), 1532-1552.
- Destandau, E., Michel, T., & Elfakir, C. (2013). Microwave-assisted extraction. *Natural product extraction: principles and applications*, (21), 113.
- Di Giovacchino, L., Solinas, M., & Miccoli, M. (1994). Effect of extraction systems on the quality of virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 71(11), 1189-1194.
- Dilis V., Trichopoulou A., *Mediterranean Diet and Olive Oil Consumption- Estimations of Daily Intake of Antioxidants from Virgin Olive Oil and Olive*, In Boskou D. (Eds), *Olive Oil- Minor Constituents and Health*, p. 2-6, Taylor & Francis Group, 2009
- Dimopoulos, G., Stefanou, N., Andreou, V., & Taoukis, P. (2018). Effect of pulsed electric fields on the production of yeast extract by autolysis. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 48, 287-295.
- Dissing, J., Bruun-Jensen, L., & Skibsted, L. H. (1997). Effect of high-pressure treatment on lipid oxidation in turkey thigh muscle during chill storage. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und-Forschung A*, 205(1), 11-13.
- Doevenspeck, H. (1960). Method for food preservation. German patent, (1), 237.
- Donsì, G., Ferrari, G., & Maresca, P. (2010a). Pasteurization of fruit juices by means of a pulsed high pressure process. *Journal of food science*, 75(3), E169-E177.
- Donsì, F., Ferrari, G., & Pataro, G. (2010b). Applications of pulsed electric field treatments for the enhancement of mass transfer from vegetable tissue. *Food Engineering Reviews*, 2(2), 109-130.
- Donsì, F., Ferrari, G., Fruilo, M., & Pataro, G. (2011). Pulsed electric fields—assisted vinification. *Procedia Food Science*, 1, 780-785.
- Dörnenburg, H., & Knorr, D. (1993). Cellular permeabilization of cultured plant tissues by high electric field pulses or ultra high pressure for the recovery of secondary metabolites. *Food Biotechnology*, 7(1), 35-48.
- Driouch, R., Bousselmi, O., & Cherif, A. (2016). Valorization of Tomato Processing Waste for Lycopene Extraction. *cancer*, 11, 12.
- Dunford, N. T., Irmak, S., & Jonnala, R. (2010). Pressurised solvent extraction of policosanol from wheat straw, germ and bran. *Food chemistry*, 119(3), 1246-1249.
- Dunn, J. E., & Pearlman, J. S. (1987). U.S. Patent No. 4,695,472. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

El Belghiti, K., & Vorobiev, E. (2004). Mass transfer of sugar from beets enhanced by pulsed electric field. *Food and Bioproducts Processing*, 82(3), 226-230.

El-Belghiti, K., Rabhi, Z., & Vorobiev, E. (2005). Kinetic model of sugar diffusion from sugar beet tissue treated by pulsed electric field. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(2), 213-218.

Elez-Martínez, P., Aguiló-Aguayo, I., & Martín-Belloso, O. (2006). Inactivation of orange juice peroxidase by high-intensity pulsed electric fields as influenced by process parameters. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(1), 71-81.

Elez-Martínez, P., Suárez-Recio, M., & Martín-Belloso, O. (2007). Modeling the reduction of pectin methyl esterase activity in orange juice by high intensity pulsed electric fields. *Journal of Food Engineering*, 78(1), 184-193.

Errington, N., Tucker, G. A., & Mitchell, J. R. (1998). Effect of genetic down-regulation of polygalacturonase and pectin esterase activity on rheology and composition of tomato juice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76(4), 515-519.

Esclapez, M. D., García-Pérez, J. V., Mulet, A., & Cárcel, J. A. (2011). Ultrasound-assisted extraction of natural products. *Food Engineering Reviews*, 3(2), 108.

Eshtiaghi, M. N., & Knorr, D. (2002). High electric field pulse pretreatment: potential for sugar beet processing. *Journal of Food Engineering*, 52(3), 265-272.

Espachs-Barroso, A., Van Loey, A., Hendrickx, M., & Martín-Belloso, O. (2006). Inactivation of plant pectin methylesterase by thermal or high intensity pulsed electric field treatments. *Innovative food science & emerging technologies*, 7(1-2), 40-48.

Esposito, S., Veneziani, G., Taticchi, A., Selvaggini, R., Urbani, S., Di Maio, I., ... & Servili, M. (2013). Flash thermal conditioning of olive pastes during the olive oil mechanical extraction process: impact on the structural modifications of pastes and oil quality. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(20), 4953-4960.

Esti, M., Cinquanta, L., Sinesio, F., Moneta, E., & Di Matteo, M. (2002). Physicochemical and sensory fruit characteristics of two sweet cherry cultivars after cool storage. *Food Chemistry*, 76(4), 399-405.

Evrendilek, G. A., & Zhang, Q. H. (2003). Effects of pH, temperature, and pre-pulsed electric field treatment on pulsed electric field and heat inactivation of *Escherichia coli* O157: H7. *Journal of food protection*, 66(5), 755-759.

Fachin, D., Van Loey, A. M., Nguyen, B. L., Verlent, I., & Hendrickx, M. E. (2003). Inactivation kinetics of polygalacturonase in tomato juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 4(2), 135-142.

Fachin, D., Loey, A. V., VanLoeyIndrawati, A., Ludikhuyze, L., & Hendrickx, M. (2002). Thermal and high-pressure inactivation of tomato polygalacturonase: A kinetic study. *Journal of Food Science*, 67(5), 1610-1615.

Farkas, D. F., & Hoover, D. G. (2000). High pressure processing. *Journal of Food Science*, 65, 47-64.

Farr, D. (1990). High pressure technology in the food industry. *Trends in Food Science & Technology*, 1, 14-16.

Fellows, P. (2000). Principles and practice. *Food processing technology, 2nd ed., ed. Ellis Horwood, Chichester, UK*, 369-380.

Feng, H., & Yang, W. (2011). Ultrasound processing. *Nonthermal processing technologies for food. Wiley-Blackwell, Oxford. doi, 10, 9780470958360.*

- Fennell, C. W., Light, M. E., Sparg, S. G., Stafford, G. I., & Van Staden, J. (2004). Assessing African medicinal plants for efficacy and safety: agricultural and storage practices. *Journal of Ethnopharmacology*, 95(2-3), 113-121.
- Fernández-Arche, A., Marquez-Martín, A., de la Puerta Vazquez, R., Perona, J. S., Terencio, C., Perez-Camino, C., & Ruiz-Gutierrez, V. (2009). Long-chain fatty alcohols from pomace olive oil modulate the release of proinflammatory mediators. *The Journal of nutritional biochemistry*, 20(3), 155-162.
- Flaumenbaum, B. (1949). Electrical treatment of fruits and vegetables before juice extraction. *Trudy OTIKP*, 3, 15-20.
- Floury, J., Grosset, N., Leconte, N., Pasco, M., Madec, M. N., & Jeantet, R. (2006). Continuous raw skim milk processing by pulsed electric field at non-lethal temperature: effect on microbial inactivation and functional properties. *Le Lait*, 86(1), 43-57.
- Fiala, A., Wouters, P. C., van den Bosch, E., & Creyghton, Y. L. (2001). Coupled electrical-fluid model of pulsed electric field treatment in a model food system. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2(4), 229-238.
- Fincan, M., & Dejmek, P. (2003). Effect of osmotic pretreatment and pulsed electric field on the viscoelastic properties of potato tissue. *Journal of Food Engineering*, 59(2-3), 169-175.
- Fincan, M., DeVito, F., & Dejmek, P. (2004). Pulsed electric field treatment for solid-liquid extraction of red beetroot pigment. *Journal of Food Engineering*, 64(3), 381-388.
- Fiori, F., Di Lecce, G., Boselli, E., Pieralisi, G., & Frega, N. G. (2014). Effects of olive paste fast preheating on the quality of extra virgin olive oil during storage. *LWT-Food Science and Technology*, 58(2), 511-518.
- Folin, O., & Ciocalteu, V. (1927). On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 73(2), 627-650.
- Frankel, E. N. (2011). Nutritional and biological properties of extra virgin olive oil. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(3), 785-792
- Frenzel, S., Michelberger, T., Sack, M., Bluhm, H., & Kern, M. (2005). Entwicklung und bau einer elektroimpuls-pilotanlage. Final Report, FKZ, 330434.
- Fromm, M., Taylor, L. P., & Walbot, V. (1985). Expression of genes transferred into monocot and dicot plant cells by electroporation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 82(17), 5824-5828.
- Gachovska, T., Cassada, D., Subbiah, J., Hanna, M., Thippareddi, H., & Snow, D. (2010). Enhanced anthocyanin extraction from red cabbage using pulsed electric field processing. *Journal of Food Science*, 75(6), E323-E329.
- Galanakis, C. M. (2013). Emerging technologies for the production of nutraceuticals from agricultural by-products: a viewpoint of opportunities and challenges. *Food and Bioproducts Processing*, 91(4), 575-579.
- García, A., Brenes, M., José Moyano, M., Alba, J., García, P., & Garrido, A. (2001). Improvement of phenolic compound content in virgin olive oils by using enzymes during malaxation. *Journal of Food Engineering*, 48(3), 189-194. doi:10.1016/s0260-8774(00)00157-6
- Garcia-Palazon, A., Suthanthangjai, W., Kajda, P., & Zabetakis, I. (2004). The effects of high hydrostatic pressure on β -glucosidase, peroxidase and polyphenoloxidase in red raspberry (*Rubus idaeus*) and strawberry (*Fragaria x ananassa*). *Food Chemistry*, 88(1), 7-10.
- Gardossi, L., Poulsen, P. B., Ballesteros, A., Hult, K., Švedas, V. K., Vasić-Rački, Đ., ... & Halling, P. J. (2010). Guidelines for reporting of biocatalytic reactions. *Trends in biotechnology*, 28(4), 171-180

- Gimeno, E., Castellote, A. I., Lamuela-Raventós, R. M., De la Torre, M. C., & López-Sabater, M. C. (2002). The effects of harvest and extraction methods on the antioxidant content (phenolics, α -tocopherol, and β -carotene) in virgin olive oil. *Food Chemistry*, 78(2), 207-211.
- Giner, J., Gimeno, V., Espachs, A., Elez, P., Barbosa-Cánovas, G. V., & Martín, O. (2000). Inhibition of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) pectin methylesterase by pulsed electric fields. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 1(1), 57-67.
- Göğüş, F., & Maskan, M. (2006). Air drying characteristics of solid waste (pomace) of olive oil processing. *Journal of Food Engineering*, 72(4), 378-382.
- Goldsmith, C. D., Vuong, Q. V., Stathopoulos, C. E., Roach, P. D., & Scarlett, C. J. (2018). Ultrasound increases the aqueous extraction of phenolic compounds with high antioxidant activity from olive pomace. *LWT*, 89, 284-290.
- Gomes, T., & Caponio, F. (1997). Evaluation of the state of oxidation of crude olive-pomace oils. Influence of olive-pomace drying and oil extraction with solvent. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(4), 1381-1384.
- Gómez-Alonso, S., Salvador, M. D., & Fregapane, G. (2002). Phenolic compounds profile of Cornicabra virgin olive oil. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(23), 6812-6817.
- Gómez-Rico, A., Salvador, M. D., La Greca, M., & Fregapane, G. (2006). Phenolic and volatile compounds of extra virgin olive oil (*Olea europaea* L. Cv. Cornicabra) with regard to fruit ripening and irrigation management. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(19), 7130-7136.
- Góngora-Nieto, M. M., Pedrow, P. D., Swanson, B. G., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2003). Energy analysis of liquid whole egg pasteurized by pulsed electric fields. *Journal of Food Engineering*, 57(3), 209-216.
- Gonzali, S., Mazzucato, A., & Perata, P. (2009). Purple as a tomato: towards high anthocyanin tomatoes. *Trends in plant science*, 14(5), 237-241.
- Goose, P. G., & Binsted, R. (1964). *Tomato paste, purée, juice and power* (No. TX612. T7 G4).
- Goose, P. G., & Binsted, R. (1973). *Tomato paste and other tomato products*.
- Gould, W. A. *Tomato Production, Processing, and Technology*, 3rd ed.; CTI Publishing: Baltimore, MD, 1992; pp 202-203, 254, 297-344, 359-367, 436.
- Grassino, A. N., Brnčić, M., Vikić-Topić, D., Roca, S., Dent, M., & Brnčić, S. R. (2016). Ultrasound assisted extraction and characterization of pectin from tomato waste. *Food Chemistry*, 198, 93–100. doi:10.1016/j.foodchem.2015.11.095
- Grierson, D., & Kader, A. A. (1986). Fruit ripening and quality in Atherton JG and Rudich, J.(eds) *The tomato Crop*.
- Grimi, N., Lebovka, N. I., Vorobiev, E., & Vaxelaire, J. (2009). Effect of a pulsed electric field treatment on expression behavior and juice quality of chardonnay grape. *Food Biophysics*, 4(3), 191-198.
- Grimi, N., Lebovka, N., Vorobiev, E., & Vaxelaire, J. (2009). Compressing behavior and texture evaluation for potatoes pretreated by pulsed electric field. *Journal of texture studies*, 40(2), 208-224.
- Grimi, N., Mamouni, F., Lebovka, N., Vorobiev, E., & Vaxelaire, J. (2011). Impact of apple processing modes on extracted juice quality: Pressing assisted by pulsed electric fields. *Journal of Food Engineering*, 103(1), 52-61.
- Grimi, N., Praporscic, I., Lebovka, N., & Vorobiev, E. (2007). Selective extraction from carrot slices by pressing and washing enhanced by pulsed electric fields. *Separation and Purification Technology*, 58(2), 267-273.

Gross, K. C., & KC, G. (1982). A rapid and sensitive spectrophotometric method for assaying polygalacturonase using 2-cyanoacetamide.

Guderjan, M., Töpfl, S., Angersbach, A., & Knorr, D. (2005). Impact of pulsed electric field treatment on the recovery and quality of plant oils. *Journal of Food Engineering*, 67(3), 281-287.

Guderjan, M., Elez-Martínez, P., & Knorr, D. (2007). Application of pulsed electric fields at oil yield and content of functional food ingredients at the production of rapeseed oil. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8(1), 55-62.

Gunstone F. D., Harwood J. L., *Occurrence and Characterisation of Oils and Fats*, p. 47-50, Taylor and Francis Group LLC, 2007

Gunstone, F. (Ed.). (2011). *Vegetable oils in food technology: composition, properties and uses*. John Wiley & Sons.

Guo, X., Zhao, W., Liao, X., Hu, X., Wu, J., & Wang, X. (2017). Extraction of pectin from the peels of pomelo by high-speed shearing homogenization and its characteristics. *LWT-Food Science and Technology*, 79, 640-646.

Guo, X., Han, D., Xi, H., Rao, L., Liao, X., Hu, X., & Wu, J. (2012). Extraction of pectin from navel orange peel assisted by ultra-high pressure, microwave or traditional heating: A comparison. *Carbohydrate Polymers*, 88(2), 441-448.

Gustavsson, J., Cederberg, C., Sonesson, U., Van Otterdijk, R., & Meybeck, A. (2011). Global food losses and food waste.

Gutfinger, T. (1981). Polyphenols in olive oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 58 (11), 966-968.

Guth, H., & Grosch, W. (1991). A comparative study of the potent odorants of different virgin olive oils. *Lipid/Fett*, 93(9), 335-339.

Guth, H., & Grosch, W. (1993). Quantitation of potent odorants of virgin olive oil by stable-isotope dilution assays. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 70(5), 513-518.

Gutierrez, F., Albi, M. A., Palma, R., Rios, J. J., & Olias, J. M. (1989). Bitter taste of virgin olive oil: Correlation of sensory evaluation and instrumental HPLC analysis. *Journal of Food Science*, 54(1), 68-70.

Habibi, H., Mohammadi, A., Farhoodi, M., & Jazaeri, S. (2018). Application and optimization of microwave-assisted extraction and dispersive liquid-liquid microextraction followed by high-performance liquid chromatography for the determination of Oleuropein and Hydroxytyrosol in olive pomace. *Food analytical methods*, 11(11), 3078-3088.

Hadj-Taieb, N., Grati, N., Ayadi, M., Attia, I., Bensalem, H., & Gargouri, A. (2012). Optimisation of olive oil extraction and minor compounds content of Tunisian olive oil using enzymatic formulations during malaxation. *Biochemical Engineering Journal*, 62, 79-85

Hbaieb, R. H., Kotti, F., García-Rodríguez, R., Gargouri, M., Sanz, C., & Pérez, A. G. (2015). Monitoring endogenous enzymes during olive fruit ripening and storage: Correlation with virgin olive oil phenolic profiles. *Food chemistry*, 174, 240-247.

Hbaieb, R. H., Kotti, F., Cortes-Francisco, N., Caixach, J., Gargouri, M., & Vichi, S. (2016). Ripening and storage conditions of Chétoui and Arbequina olives: Part II. Effect on olive endogenous enzymes and virgin olive oil secoiridoid profile determined by high resolution mass spectrometry. *Food chemistry*, 210, 631-639.

Heinz, V., & Knorr, D. (1996). High pressure inactivation kinetics of *Bacillus subtilis* cells by a three-state-model considering distributed resistance mechanisms. *Food Biotechnology*, 10(2), 149-161.

- Heinz, V., Phillips, S. T., Zenker, M., & Knorr, D. (1999). Inactivation of *Bacillus subtilis* by high intensity pulsed electric fields under close to isothermal conditions. *Food Biotechnology*, 13(2), 155-168.
- Heinz, V., & Knorr, D. (2000). Effect of pH, ethanol addition and high hydrostatic pressure on the inactivation of *Bacillus subtilis* by pulsed electric fields. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 1(2), 151-159.
- Heinz, V., Toepfl, S., & Knorr, D. (2003). Impact of temperature on lethality and energy efficiency of apple juice pasteurization by pulsed electric fields treatment. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 4(2), 167-175.
- Heinz, V., Álvarez, I., Angersbach, A., & Knorr, D. (2001). Preservation of liquid foods by high intensity pulsed electric fields—basic concepts for process design. *Trends in food science & technology*, 12(3-4), 103-111.
- Hendrickx, M., Ludikhuyze, L., Van den Broeck, I., & Weemaes, C. (1998). Effects of high pressure on enzymes related to food quality. *Trends in Food Science & Technology*, 9(5), 197-203.
- Hernández, A., & Cano, M. P. (1998). High-pressure and temperature effects on enzyme inactivation in tomato puree. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(1), 266-270.
- Herrero, M., Cifuentes, A., & Ibañez, E. (2006). Sub-and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: Plants, food-by-products, alGA and microalGA: A review. *Food chemistry*, 98(1), 136-148.
- Heuvelink, E. (2005). Developmental processes. *Tomatoes*, 53-83.
- Ho, K. K. H. Y., Ferruzzi, M. G., Liceaga, A. M., & San Martín-González, M. F. (2015). Microwave-assisted extraction of lycopene in tomato peels: Effect of extraction conditions on all-trans and cis-isomer yields. *LWT - Food Science and Technology*, 62(1), 160–168
- Ho, S. Y., & Mittal, G. S. (1996). Electroporation of cell membranes: a review. *Critical reviews in biotechnology*, 16(4), 349-362.
- Ho, S. Y., Mittal, G. S., Cross, J. D., & Griffiths, M. W. (1995). Inactivation of *Pseudomonas fluorescens* by high voltage electric pulses. *Journal of food Science*, 60(6), 1337-1340.
- Hoover, D. G., Metrick, C., Papineau, A. M., Farkas, D. F., & Knorr, D. (1989). Biological effects of high hydrostatic pressure on food microorganisms. *Food technology (Chicago)*, 43(3), 99-107.
- Houben, K., Kermani, Z. J., Van Buggenhout, S., Jolie, R. P., Van Loey, A. M., & Hendrickx, M. E. (2013). Thermal and high-pressure stability of pectinmethylesterase, polygalacturonase, β -galactosidase and α -arabinofuranosidase in a tomato matrix: towards the creation of specific endogenous enzyme populations through processing. *Food and Bioprocess Technology*, 6(12), 3368-3380.
- Hülshager, H., Potel, J., & Niemann, E. G. (1983). Electric field effects on bacteria and yeast cells. *Radiation and environmental biophysics*, 22(2), 149-162.
- Hülshager, H., Potel, J., & Niemann, E. G. (1981). Killing of bacteria with electric pulses of high field strength. *Radiation and environmental biophysics*, 20(1), 53-65.
- Hülshager, H., Potel, J., & Niemann, E. G. (1983). Electric field effects on bacteria and yeast cells. *Radiation and environmental biophysics*, 22(2), 149-162.
- Ibanez, E., Palacios, J., Senorans, F. J., Santa-Maria, G., Tabera, J., & Reglero, G. (2000). Isolation and separation of tocopherols from olive by-products with supercritical fluids. *Journal of the American Oil Chemists' Society*

- Iconomou, D., Arapoglou, D., & Israilides, C. (2010). Improvement of phenolic antioxidants and quality characteristics of virgin olive oil with the addition of enzymes and nitrogen during olive paste processing. *grasas y aceites*, 61(3), 303-311.
- Inarejos-García, A. M., Gómez-Rico, A., Salvador, M. D., & Fregapane, G. (2009). Influence of malaxation conditions on virgin olive oil yield, overall quality and composition. *European Food Research and Technology*, 228(4), 671-677.
- Iqdiyam, B. M., Mostafa, H., Goodrich-Schneider, R., Baker, G. L., Welt, B., & Marshall, M. R. (2018). High power ultrasound: impact on olive paste temperature, malaxation time, extraction efficiency, and characteristics of extra virgin olive oil. *Food and bioprocess technology*, 11(3), 634-644.
- Janositz, A., Noack, A. K., & Knorr, D. (2011). Pulsed electric fields and their impact on the diffusion characteristics of potato slices. *LWT-Food Science and Technology*, 44(9), 1939-1945.
- Jay, J. M. (1998). Intrinsic and extrinsic parameters of foods that affect microbial growth. In *Modern food microbiology* (pp. 38-66). Springer, Boston, MA.
- Jemai, A. B., & Vorobiev, E. (2006). Pulsed electric field assisted pressing of sugar beet slices: towards a novel process of cold juice extraction. *Biosystems Engineering*, 93(1), 57-68.
- Jeyamkondan, S., Jayas, D. S., & Holley, R. A. (1999). Pulsed electric field processing of foods: a review. *Journal of food protection*, 62(9), 1088-1096.
- Johansson, K., El-Ahmad, M., Friemann, R., Jörnvall, H., Markovič, O., & Eklund, H. (2002). Crystal structure of plant pectin methylesterase. *Febs Letters*, 514(2-3), 243-249.
- Jolie, R. P., Christiaens, S., De Roeck, A., Fraeye, I., Houben, K., Van Buggenhout, S., ... & Hendrickx, M. E. (2012). Pectin conversions under high pressure: Implications for the structure-related quality characteristics of plant-based foods. *Trends in food science & technology*, 24(2), 103-118.
- Juliano, P., Swiergon, P., Mawson, R., Knoerzer, K., & Augustin, M. A. (2013). Application of ultrasound for oil separation and recovery of palm oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 90(4), 579-588.
- Juliano, P., Balczyk, F., Swiergon, P., Supriyatna, M. I. M., Guillaume, C., Ravetti, L., ... & Xu, X. Q. (2017). Extraction of olive oil assisted by high-frequency ultrasound standing waves. *Ultrasonics sonochemistry*, 38, 104-114.
- Jun, X. (2009). Caffeine extraction from green tea leaves assisted by high pressure processing. *Journal of Food Engineering*, 94(1), 105-109.
- Jung, S., Mahfuz, A., & Maurer, D. (2009). Structure, protein interactions and in vitro protease accessibility of extruded and pressurized full-fat soybean flakes. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86(5), 475-483.
- Kalamaki, M. S., Stoforos, N. G., & Taoukis, P. S. (2006). Pectic enzymes in tomatoes. *Food biochemistry and food processing*, 271.
- Kalogerakis, N., Politi, M., Foteinis, S., Chatzisyneon, E., & Mantzavinos, D. (2013). Recovery of antioxidants from olive mill wastewaters: a viable solution that promotes their overall sustainable management. *Journal of environmental management*, 128, 749-758.
- Kalogeropoulos, N., Chiou, A., Pyriochou, V., Peristeraki, A., & Karathanos, V. T. (2012). Bioactive phytochemicals in industrial tomatoes and their processing byproducts. *LWT-Food Science and Technology*, 49(2), 213-216.
- Kalua, C. M., Bedgood, D. R., Bishop, A. G., & Prenzler, P. D. (2006). Discrimination of storage conditions and freshness in virgin olive oil. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(19), 7144-7151.

- Kalua, C. M., Allen, M. S., Bedgood, D. R., Bishop, A. G., & Prenzler, P. D. (2005). Discrimination of olive oils and fruits into cultivars and maturity stages based on phenolic and volatile compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(20), 8054-8062.
- Karaaslan, S. N., & Tuncer, I. K. (2008). Development of a drying model for combined microwave–fan-assisted convection drying of spinach. *Biosystems Engineering*, 100(1), 44-52.
- Kassama, L. S., Shi, J., & Mittal, G. S. (2008). Optimization of supercritical fluid extraction of lycopene from tomato skin with central composite rotatable design model. *Separation and Purification Technology*, 60(3), 278–284.
- Katsaros, G., Alexandrakis, Z., & Taoukis, P. (2015). High-Pressure Processing of Foods: Technology and Applications. In *Handbook of Food Processing* (pp. 460-485). CRC Press.
- Katsaros, G. I., Giannoglou, M. N., & Taoukis, P. S. (2009). Kinetic study of the combined effect of high hydrostatic pressure and temperature on the activity of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* aminopeptidases. *Journal of food science*, 74(5), E219-E225.
- Katsaros, G. I., Katapodis, P., & Taoukis, P. S. (2009). High hydrostatic pressure inactivation kinetics of the plant proteases ficin and papain. *Journal of Food Engineering*, 91(1), 42-48.
- Katsaros, G. J., Alexandrakis, Z. S., & Taoukis, P. S. (2017). Kinetic assessment of high pressure inactivation of different plant origin pectinmethylesterase enzymes. *Food Engineering Reviews*, 9(3), 170-189.
- Khanal, R. C., Howard, L. R., & Prior, R. L. (2010). Effect of heating on the stability of grape and blueberry pomace procyanidins and total anthocyanins. *Food Research International*, 43(5), 1464-1469.
- Kimura, K., Ida, M., Yosida, Y., Ohki, K., Fukumoto, T., & Sakui, N. (1994). Comparison of keeping quality between pressure-processed jam and heat-processed jam: changes in flavor components, hue, and nutrients during storage. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 58(8), 1386-1391.
- Kiritsakis, A. (2007). Olive Oil, Table Olives, and Olive Paste. *A book (In Greek)*. Copy City, Thessaloniki, Greece.
- Kiritsakis, A. (1987). Markakis P. Olive oil: A review. *Adv Food Res*, 31, 453-482.
- Kiritsakis, A., & Dugan, L. R. (1985). Studies in photooxidation of olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 62(5), 892-896.
- Klonowski, I., Heinz, V., Toepfl, S., Gunnarsson, G., & Porkelsson, G. (2006). Applications of pulsed electric field technology for the food industry. *Iceland Fishes Laboratory Report 06*, 6.
- Knoblich, M., Anderson, B., & Latshaw, D. (2005). Analyses of tomato peel and seed byproducts and their use as a source of carotenoids. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(7), 1166-1170.
- Knorr, D., Geulen, M., Grahl, T., & Sitzmann, W. (1994). Food application of high electric field pulses. *Trends in food science & technology*, 5(3), 71-75.
- Knorr, D., Froehling, A., Jaeger, H., Reineke, K., Schlueter, O., & Schoessler, K. (2011). Emerging technologies in food processing. *Annual review of food science and technology*, 2, 203-235.
- Knorr, D., & Angersbach, A. (1998). Impact of high-intensity electric field pulses on plant membrane permeabilization. *Trends in Food Science & Technology*, 9(5), 185-191.
- Knorr, D., Heinz, V., Angersbach, A., & Lee, D. U. (2002). Membrane permeabilization and inactivation mechanisms of biological systems by emerging technologies. In *Engineering and Food for the 21st Century* (pp. 729-744). CRC Press.

Knorr, D. (1999). Process assessment of high-pressure processing of foods: an overview. In *Processing foods: Quality optimization and process assessment* (pp. 249-267). CRC Press, Boca Raton, USA.

Koehler, E., Toepfl, S., Knorr, D., & Pulz, O. (2005, May). Unconventional procedures for the production and stabilization of extracts with active agents. In 6th European workshop microalgal biotechnology.

Krebbbers, B., Matser, A. M., Hoogerwerf, S. W., Moezelaar, R., Tomassen, M. M., & van den Berg, R. W. (2003). Combined high-pressure and thermal treatments for processing of tomato puree: evaluation of microbial inactivation and quality parameters. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 4(4), 377-385.

Koubaa, M., Rosello-Soto, E., Šic Žlabur, J., Rezek Jambrak, A., Brncic, M., Grimi, N., ... & Barba, F. J. (2015). Current and new insights in the sustainable and green recovery of nutritionally valuable compounds from *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(31), 6835-6846.

Koubaa, M., Lepreux, L., Barba, F. J., Mhemdi, H., & Vorobiev, E. (2017). Gas assisted mechanical expression (GAME) for the selective recovery of lipophilic and hydrophilic compounds from olive kernel. *Journal of Cleaner Production*, 166, 387-394.

Laberge, M. (1998). Intrinsic protein electric fields: basic non-covalent interactions and relationship to protein-induced Stark effects. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1386(2), 305-330.

Lampi A., Eldin A., Piironen V., *Tocopherols and Tocotrienols from Oil and Cereal Grains*, In Mazza G. (Eds), *Functional Foods and Nutraceuticals Series*, p. 12, CRC Press LLC, 2002.

La Scalia, G., Micale, R., Cannizzaro, L., & Marra, F. P. (2017). A sustainable phenolic compound extraction system from olive oil mill wastewater. *Journal of Cleaner Production*, 142, 3782-3788.

Lebovka, N. I., Praporscic, I., Ghnimi, S., & Vorobiev, E. (2005). Temperature enhanced electroporation under the pulsed electric field treatment of food tissue. *Journal of food engineering*, 69(2), 177-184.

Lebovka, N. I., Praporscic, I., & Vorobiev, E. (2004). Combined treatment of apples by pulsed electric fields and by heating at moderate temperature. *Journal of Food Engineering*, 65(2), 211-217.

Lebovka, N. I., Shynkaryk, N. V., & Vorobiev, E. (2007). Pulsed electric field enhanced drying of potato tissue. *Journal of Food Engineering*, 78(2), 606-613.

Lebovka, N. I., Bazhal, M. I., & Vorobiev, E. (2002). Estimation of characteristic damage time of food materials in pulsed-electric fields. *Journal of Food Engineering*, 54(4), 337-346.

Lebovka, N. I., Shynkaryk, M. V., & Vorobiev, E. (2006). Drying of potato tissue pretreated by ohmic heating. *Drying technology*, 24(5), 601-608.

Lebovka, N. I., Bazhal, M. I., & Vorobiev, E. (2001). Pulsed electric field breakage of cellular tissues: visualisation of percolative properties. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2(2), 113-125.

Lebovka, N. I., Praporscic, I., & Vorobiev, E. (2003). Enhanced expression of juice from soft vegetable tissues by pulsed electric fields: consolidation stages analysis. *Journal of Food Engineering*, 59(2-3), 309-317.

Lebovka, N. I., Praporscic, I., & Vorobiev, E. (2004). Effect of moderate thermal and pulsed electric field treatments on textural properties of carrots, potatoes and apples. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 5(1), 9-16.

Lebovka, N. I., Praporscic, I., & Vorobiev, E. (2004). Effect of moderate thermal and pulsed electric field treatments on textural properties of carrots, potatoes and apples. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 5(1), 9-16.

- Lebovka, N. I., Shynkaryk, M. V., El-Belghiti, K., Benjelloun, H., & Vorobiev, E. (2007). Plasmolysis of sugarbeet: pulsed electric fields and thermal treatment. *Journal of food engineering*, 80(2), 639-644.
- Leite, T. S., de Jesus, A. L. T., Schmiele, M., Tribst, A. A., & Cristianini, M. (2017). High pressure processing (HPP) of pea starch: Effect on the gelatinization properties. *LWT-Food Science and Technology*, 76, 361-369.
- León-Camacho, M., Viera-Alcaide, I., & Ruiz-Méndez, M. V. (2003). Elimination of polycyclic aromatic hydrocarbons by bleaching of olive pomace oil. *European journal of lipid science and technology*, 105(1), 9-16.
- Leone, A., Romaniello, R., Tamborrino, A., Urbani, S., Servili, M., Amarillo, M., ... & Juliano, P. (2018). Application of microwaves and megasound to olive paste in an industrial olive oil extraction plant: impact on virgin olive oil quality and composition. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 120(1), 1700261.
- Leonelli, C., Veronesi, P., & Cravotto, G. (2012). Microwave-assisted extraction: An introduction to dielectric heating. In *Microwave-assisted Extraction for Bioactive Compounds* (pp. 1-14). Springer, Boston, MA.
- Leouifoudi, I., Harnafi, H., & Ziad, A. (2015). Olive mill waste extracts: polyphenols content, antioxidant, and antimicrobial activities. *Advances in pharmacological sciences*, 2015.
- Leusink, G. J., Kitts, D. D., Yaghmaee, P., & Durance, T. (2010). Retention of antioxidant capacity of vacuum microwave dried cranberry. *Journal of food science*, 75(3), C311-C316.
- Li, H., Deng, Z., Wu, T., Liu, R., Loewen, S., & Tsao, R. (2012). Microwave-assisted extraction of phenolics with maximal antioxidant activities in tomatoes. *Food Chemistry*, 130(4), 928–936.
- Li, S. Q., Zhang, H. Q., Jin, T. Z., Turek, E. J., & Lau, M. H. (2005). Elimination of *Lactobacillus plantarum* and achievement of shelf stable model salad dressing by pilot scale pulsed electric fields combined with mild heat. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6(2), 125-133.
- Li, X., Pan, Z., Bingol, G., McHugh, T. H., & Atungulu, G. G. (2009). Feasibility study of using infrared radiation heating as a sustainable tomato peeling method. In *2009 Reno, Nevada, June 21-June 24, 2009* (p. 1). American Society of Agricultural and Biological Engineers.
- Lichtenthaler Harmut K., Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148(C), 350–382 (1987)
- Liu, T., Ma, C., Yang, L., Wang, W., Sui, X., Zhao, C., & Zu, Y. (2013). Optimization of shikonin homogenate extraction from *Arnebia euchroma* using response surface methodology. *Molecules*, 18(1), 466-481.
- Liu, C., Zhang, S., & Wu, H. (2009). Non-thermal extraction of effective ingredients from *Schisandra chinensis* Baill and the antioxidant activity of its extract. *Natural product research*, 23(15), 1390-1401.
- Loginova, K. V., Shynkaryk, M. V., Lebovka, N. I., & Vorobiev, E. (2010). Acceleration of soluble matter extraction from chicory with pulsed electric fields. *Journal of Food Engineering*, 96(3), 374-379.
- Lopez, N., Puertolas, E., Condon, S., Raso, J., & Alvarez, I. (2009a). Enhancement of the solid-liquid extraction of sucrose from sugar beet (*Beta vulgaris*) by pulsed electric fields. *LWT-Food Science and Technology*, 42(10), 1674-1680.
- López, N., Puértolas, E., Condón, S., Raso, J., & Alvarez, I. (2009b). Enhancement of the extraction of betanine from red beetroot by pulsed electric fields. *Journal of Food Engineering*, 90(1), 60-66.
- Lopez, P., Sanchez, A. C., Vercet, A., & Burgos, J. (1997). Thermal resistance of tomato polygalacturonase and pectinmethylesterase at physiological pH. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und-Forschung A*, 204(2), 146-150.

- Lubicki, P., & Jayaram, S. (1997). High voltage pulse application for the destruction of the Gram-negative bacterium *Yersinia enterocolitica*. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 43(1), 135-141.
- Luchetti F., Importance and future of olive oil in the world market an introduction to olive oil, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, p. 104: 559–563, 2002
- Luengo, E., Álvarez, I., & Raso, J. (2013). Improving the pressing extraction of polyphenols of orange peel by pulsed electric fields. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 17, 79-84.
- Luengo, E., Condón-Abanto, S., Álvarez, I., & Raso, J. (2014). Effect of pulsed electric field treatments on permeabilization and extraction of pigments from *Chlorella vulgaris*. *The Journal of membrane biology*, 247(12), 1269-1277.
- Luengo, E., Martínez, J. M., Bordetas, A., Álvarez, I., & Raso, J. (2015). Influence of the treatment medium temperature on lutein extraction assisted by pulsed electric fields from *Chlorella vulgaris*. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 29, 15-22.
- Luengo, E., Álvarez, I., & Raso, J. (2014). Improving carotenoid extraction from tomato waste by pulsed electric fields. *Frontiers in nutrition*, 1, 12
- Luengo, E., Condón-Abanto, S., Condón, S., Álvarez, I., & Raso, J. (2014). Improving the extraction of carotenoids from tomato waste by application of ultrasound under pressure. *Separation and Purification Technology*, 136, 130–136. doi:10.1016/j.seppur.2014.09.008
- Ly-Nguyen, B., Van Loey, A. M., Smout, C., Verlent, I., Duvetter, T., & Hendrickx, M. E. (2003). Effect of mild-heat and high-pressure processing on banana pectin methylesterase: a kinetic study. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(27), 7974-7979.
- Ly-Nguyen, B., Van Loey, A. M., Fachin, D., Verlent, I., Duvetter, T., Vu, S. T., ... & Hendrickx, M. E. (2002). Strawberry pectin methylesterase (PME): purification, characterization, thermal and high-pressure inactivation. *Biotechnology progress*, 18(6), 1447-1450.
- Machmudah, S., Winardi, S., Sasaki, M., Goto, M., Kusumoto, N., & Hayakawa, K. (2012). Lycopene extraction from tomato peel by-product containing tomato seed using supercritical carbon dioxide. *Journal of Food Engineering*, 108(2), 290-296.
- MacMillan JD, Sheman MI, (1974). Pectic enzymes. In:Whitaker JR editors. *Food Related Enzymes (Advances in Chemistry Series VI. 136)*. Washington DC: American Chemical Society. p 101-30.
- Madhavi, D. L., & Salunkhe, D. K. (1998). Tomato. In *Handbook of vegetable science and technology* (pp. 189-220). CRC Press.
- Mailer, R. J., & Ayton, J. (2004). Comparison of olive oil (*Olea europaea*) quality extracted by stonemill and hammermill
- Manas, P., Pagan, R., Raso, J., Sala, F. J., & Condon, S. (2000). Inactivation of *Salmonella Enteritidis*, *Salmonella Typhimurium*, and *Salmonella Senftenberg* by ultrasonic waves under pressure. *Journal of food protection*, 63(4), 451-456.
- Markovič, O., & Jörnvall, H. (1986). Pectinesterase: the primary structure of the tomato enzyme. *European journal of biochemistry*, 158(3), 455-462.
- Maroušek, J., Hašková, S., Maroušková, A., Myšková, K., Vaničková, R., Váchal, J., ... & Žák, J. (2015). Financial and biotechnological assessment of new oil extraction technology. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*, 37(16), 1723-1728.

- Martín-Belloso, O., Vega-Mercado, H., Qin, B. L., Chang, F. J., Barbosa-Cánovas, G. V., & Swanson, B. C. (1997). Inactivation of *Escherichia coli* suspended in liquid egg using pulsed electric fields. *Journal of Food Processing and Preservation*, 21(3), 193-208.
- Mason, T. J., Riera, E., Vercet, A., & Lopez-Buesa, P. (2005). Application of ultrasound. In *Emerging technologies for food processing* (pp. 323-351). Academic Press.
- McDonald, C. J., Lloyd, S. W., Vitale, M. A., Petersson, K., & Innings, F. (2000). Effects of pulsed electric fields on microorganisms in orange juice using electric field strengths of 30 and 50 kV/cm. *Journal of Food Science*, 65(6), 984-989.
- McLellan, M. R., Kime, R. L., & Lind, L. R. (1991). Electroporation and other treatments to improve apple juice yield. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 57(2), 303-306.
- McInerney, J. K., Seccafien, C. A., Stewart, C. M., & Bird, A. R. (2007). Effects of high pressure processing on antioxidant activity, and total carotenoid content and availability, in vegetables. *Innovative food science & emerging technologies*, 8(4), 543-548.
- Metrick, C., Hoover, D. G., & Farkas, D. F. (1989). Effects of high hydrostatic pressure on heat-resistant and heat-sensitive strains of *Salmonella*. *Journal of Food Science*, 54(6), 1547-1549.
- Meyer, A. S. (2010). Enzyme technology for precision functional food ingredient processes. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1190(1), 126-132.
- Micheli, F. (2001). Pectin methylesterases: cell wall enzymes with important roles in plant physiology. *Trends in plant science*, 6(9), 414-419.
- Miklavcic, D., Corovic, S., Pucihar, G., & Pavselj, N. (2006). Importance of tumour coverage by sufficiently high local electric field for effective electrochemotherapy. *European Journal of Cancer Supplements*, 4(11), 45-51.
- Min, S., Jin, Z. T., & Zhang, Q. H. (2003). Commercial scale pulsed electric field processing of tomato juice. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(11), 3338-3344.
- Minguez-Mosquera, M. I., Gandul-Rojas, B., Garrido-Fernandez, J., & Gallardo-Guerrero, L. (1990). Pigments present in virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 67(3), 192-196.
- Mohamed, M. E., & Eissa, A. H. A. (2012). Pulsed electric fields for food processing technology. *Structure and function of food engineering*, 11, 275-306.
- Mohamed Hassan El-Malah, Minar Mahmoud M. Hassanein, Mohamed Helmy Areif and Eman Fawzi Al-Amrousi, 2015. Utilization of Egyptian Tomato Waste as a Potential Source of Natural Antioxidants Using Solvents, Microwave and Ultrasound Extraction Methods. *American Journal of Food Technology*, 10: 14-25.
- Montedoro, G. (1972). Phenolic substances present in virgin olive oil. Note I. Identification of phenolic acids and their antioxidant power. *Sci. Tecnol. Aliment*, 2, 177-186.
- Morales, M. T., Luna, G., & Aparicio, R. (2005). Comparative study of virgin olive oil sensory defects. *Food Chemistry*, 91(2), 293-301.
- Morales, M. T., Alonso, M. V., Rios, J. J., & Aparicio, R. (1995). Virgin olive oil aroma: relationship between volatile compounds and sensory attributes by chemometrics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(11), 2925-2931.
- Morren, J., Roodenburg, B., & de Haan, S. W. (2003). Electrochemical reactions and electrode corrosion in pulsed electric field (PEF) treatment chambers. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 4(3), 285-295.

Morsi, M. K. S., Malal, S., & Alabdulla, O. (2016). Antioxidative activity of olive pomace polyphenols obtained by ultrasound assisted extraction. *J. Environ. Sci. Toxicol. Food Technol*, 10, 95-100.

Mosqueda-Melgar, J., Raybaudi-Massilia, R. M., & Martin-Belloso, O. (2008). Combination of high-intensity pulsed electric fields with natural antimicrobials to inactivate pathogenic microorganisms and extend the shelf-life of melon and watermelon juices. *Food Microbiology*, 25(3), 479-491.

Nawar W. W., *Biochemical Processes-Lipid instability*, In Taub I. A., Singh R. P (Eds), *Food Storage Stability*, CRC Press LLC, 1998

Neumann, E., Sprafke, A., Boldt, E., & Wolf, H. (1992). Biophysical considerations of membrane electroporation. *Guide to electroporation and electrofusion*, 77-90.

Neumann, E., Schaefer-Ridder, M., Wang, Y., & Hofschneider, P. (1982). Gene transfer into mouse lyoma cells by electroporation in high electric fields. *The EMBO journal*, 1(7), 841-845.

Nguyen, P., & Mittal, G. S. (2007). Inactivation of naturally occurring microorganisms in tomato juice using pulsed electric field (PEF) with and without antimicrobials. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 46(4), 360-365.

Nobre, B. P., Gouveia, L., Matos, P. G., Cristino, A. F., Palavra, A. F., & Mendes, R. L. (2012). Supercritical extraction of lycopene from tomato industrial wastes with ethane. *Molecules*, 17(7), 8397-8407.

Noomhorm, A., & Tansakul, A. (1992). Effect of pulper-finisher operation on quality of tomato juice and tomato puree. *Journal of food process engineering*, 15(4), 229-239.

Obergfoll H. M., *The use of enzymes in extraction of olive oil*, Switzerland, Novo Nordisk Ferment Ltd, 1997.

Ohshima, T., Tamura, T., & Sato, M. (2007). Influence of pulsed electric field on various enzyme activities. *Journal of Electrostatics*, 65(3), 156-161.

Ohshima, T., Sato, M., & Saito, M. (1995). Selective release of intracellular protein using pulsed electric field. *Journal of Electrostatics*, 35(1), 103-112.

Okamoto, M., Kawamura, Y., & Hayashi, R. (1990). Application of high pressure to food processing: textural comparison of pressure-and heat-induced gels of food proteins. *Agricultural and Biological Chemistry*, 54(1), 183-189.

Olias, J. M., Perez, A. G., Rios, J. J., & Sanz, L. C. (1993). Aroma of virgin olive oil: biogenesis of the "green" odor notes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(12), 2368-2373.

Ortega-Rivas E., *Non-Thermal Food Engineering Operations: Separation Techniques for Solids and Suspensions*, p. 172-173, Springer, 2012

Ortega-Rivas, E., Zárate-Rodríguez, E., & Barbosa-Cánovas, G. V. (1998). Apple juice pasteurization using ultrafiltration and pulsed electric fields. *Food and Bioproducts Processing*, 76(4), 193-198.

O'Brien R. D., *Fats and Oils: Formulating and Processing for Applications: Fats and Oil Formulation*, CRC Press LLC, 2004

Pagan, R. (1998). Inactivation of *Bacillus subtilis* spores using high intensity pulsed electric fields in combination with other food conservation technologies. *Food Science and Technology International*, 4, 33-44.

Pagán, A., Conde, J., Ibarz, A., & Pagán, J. (2010). Effluent content from albedo degradation and kinetics at different temperatures in the enzymatic peeling of grapefruits. *Food and Bioproducts Processing*, 88(2-3), 77-82.

Pagano, M., Tomasone, R., Cedrola, C., Fedrizzi, M., Veneziani, G., & Servili, M. (2019, September). Use of Ultrasound in the Extraction Process of Virgin Olive Oil and Influence on Malaxation Time. In International Mid-Term Conference of the Italian Association of Agricultural Engineering (pp. 703-712). Springer, Cham.

Paiva-Martins, F., & Kiritsakis, A. (2017). Olive fruit and olive oil composition and their functional compounds. *Olives and olive oil as functional foods. Bioactivity, chemistry and processing*. Wiley, Hoboken, 81-116.

Papas A.M., Beyond α -Tocopherol: The Role of the Other Tocopherols and Tocotrienols, In Meskin M. S., Bidlack W. R., Davies A. J., Omay S. T. (Eds), *Phytochemicals in Nutrition and Health*, CRC Press LLC, 2002

Parniakov, O., Barba, F. J., Grimi, N., Lebovka, N., & Vorobiev, E. (2016). Extraction assisted by pulsed electric energy as a potential tool for green and sustainable recovery of nutritionally valuable compounds from mango peels. *Food Chemistry*, 192, 842-848.

Parniakov, O., Barba, F. J., Grimi, N., Lebovka, N., & Vorobiev, E. (2014). Impact of pulsed electric fields and high voltage electrical discharges on extraction of high-added value compounds from papaya peels. *Food Research International*, 65, 337-343.

Parniakov, O., Roselló-Soto, E., Barba, F. J., Grimi, N., Lebovka, N., & Vorobiev, E. (2015). New approaches for the effective valorization of papaya seeds: Extraction of proteins, phenolic compounds, carbohydrates, and isothiocyanates assisted by pulsed electric energy. *Food Research International*, 77, 711-717.

Pataro, G., Carullo, D., Siddique, M. A. B., Falcone, M., Donsì, F., & Ferrari, G. (2018). Improved extractability of carotenoids from tomato peels as side benefits of PEF treatment of tomato fruit for more energy-efficient steam-assisted peeling. *Journal of food engineering*, 233, 65-73.

Pataro, G., Ferrari, G., & Donsì, F. (2011). Mass transfer enhancement by means of electroporation. In *Mass Transfer in Chemical Engineering Processes*. IntechOpen.

Pataro, G., Sinik, M., Capitoli, M. M., Donsì, G., & Ferrari, G. (2015). The influence of post-harvest UV-C and pulsed light treatments on quality and antioxidant properties of tomato fruits during storage. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 30, 103-111.

Patras, A., Brunton, N. P., Da Pieve, S., & Butler, F. (2009). Impact of high pressure processing on total antioxidant activity, phenolic, ascorbic acid, anthocyanin content and colour of strawberry and blackberry purées. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10(3), 308-313.

Peleg, M. (1995). A model of microbial survival after exposure to pulsed electric fields. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 67(1), 93-99.

Peralbo-Molina, A., Priego-Capote, F., & Luque de Castro, M. D. (2012). Tentative identification of phenolic compounds in olive pomace extracts using liquid chromatography–tandem mass spectrometry with a quadrupole–quadrupole-time-of-flight mass detector. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(46), 11542-11550.

Perkins-Veazie, P., Collins, J., Pair, S., & Roberts, W. (2001). Lycopene content differs among red fleshed watermelon cultivars*, *Science of Food and Agriculture*, 81(10), 983-987.

Pinela, J., & Ferreira, I. C. (2017). Nonthermal physical technologies to decontaminate and extend the shelf-life of fruits and vegetables: Trends aiming at quality and safety. *Critical reviews in food science and nutrition*, 57(10), 2095-2111.

Pinelo, M., Arnous, A., & Meyer, A. S. (2006). Upgrading of grape skins: Significance of plant cell-wall structural components and extraction techniques for phenol release. *Trends in Food Science & Technology*, 17(11), 579-590.

- Pingret, D., Fabiano-Tixier, A. S., & Chemat, F. (2013). Ultrasound-assisted extraction. *Natural product extraction: principles and applications*, 21, 89.
- Plaza, L., Duvetter, T., Monfort, S., Clynen, E., Schoofs, L., Van Loey, A. M., & Hendrickx, M. E. (2007). Purification and thermal and high-pressure inactivation of pectinmethylesterase isoenzymes from tomatoes (*Lycopersicon esculentum*): a novel pressure labile isoenzyme. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(22), 9259-9265.
- Pliquett, U. (2010). Bioimpedance: a review for food processing. *Food Engineering Reviews*, 2(2), 74-94.
- Polydera, A. C., Stoforos, N. G., & Taoukis, P. S. (2004). The effect of storage on the antioxidant activity of reconstituted orange juice which had been pasteurized by high pressure or heat. *International journal of food science & technology*, 39(7), 783-791.
- Polydera, A. C., Galanou, E., Stoforos, N. G., & Taoukis, P. S. (2004). Inactivation kinetics of pectin methylesterase of greek Navel orange juice as a function of high hydrostatic pressure and temperature process conditions. *Journal of Food Engineering*, 62(3), 291-298.
- Praporscic, I., Muravetchi, V., & Vorobiev, E. (2004). Constant rate expressing of juice from biological tissue enhanced by pulsed electric field. *Drying technology*, 22(10), 2395-2408.
- Praporscic, I., Lebovka, N., Vorobiev, E., & Mietton-Peuchot, M. (2007). Pulsed electric field enhanced expression and juice quality of white grapes. *Separation and Purification Technology*, 52(3), 520-526.
- Prasad, K. N., Yang, B., Shi, J., Yu, C., Zhao, M., Xue, S., & Jiang, Y. (2010). Enhanced antioxidant and antityrosinase activities of longan fruit pericarp by ultra-high-pressure-assisted extraction. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 51(2), 471-477.
- Prasad, K. N., Hao, J., Shi, J., Liu, T., Li, J., Wei, X., ... & Jiang, Y. (2009). Antioxidant and anticancer activities of high pressure-assisted extract of longan (*Dimocarpus longan* Lour.) fruit pericarp. *Innovative food science & emerging technologies*, 10(4), 413-419.
- Prasad, K. N., Yang, E., Yi, C., Zhao, M., & Jiang, Y. (2009). Effects of high pressure extraction on the extraction yield, total phenolic content and antioxidant activity of longan fruit pericarp. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10(2), 155-159.
- Pressey, R., & Woods, F. M. (1992). Purification and properties of two pectinesterases from tomatoes. *Phytochemistry*, 31(4), 1139-1142.
- Psomiadou, E., & Tsimidou, M. (2002a). Stability of virgin olive oil. 1. Autoxidation studies. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(4), 716-721.
- Psomiadou, E., Tsimidou, M. (2002b). Stability of virgin olive oil. Photo-oxidation studies. *J. Agric. Food chem*, 50, 722.
- Psomiadou, E., & Tsimidou, M. (2001). Pigments in Greek virgin olive oils: occurrence and levels. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(7), 640-647.
- Puértolas, E., Luengo, E., Álvarez, I., & Raso, J. (2012). Improving mass transfer to soften tissues by pulsed electric fields: fundamentals and applications. *Annual review of food science and technology*, 3, 263-282.
- Puértolas, E., & de Marañón, I. M. (2015). Olive oil pilot-production assisted by pulsed electric field: Impact on extraction yield, chemical parameters and sensory properties. *Food chemistry*, 167, 497-502.
- Puértolas, E., Saldaña, G., Condón, S., Álvarez, I., & Raso, J. (2010). Evolution of polyphenolic compounds in red wine from Cabernet Sauvignon grapes processed by pulsed electric fields during aging in bottle. *Food Chemistry*, 119(3), 1063-1070.

- Puértolas, E., López, N., Condón, S., Álvarez, I., & Raso, J. (2010). Potential applications of PEF to improve red wine quality. *Trends in Food Science & Technology*, 21(5), 247-255.
- Puértolas, E., Luengo, E., Álvarez, I., & Raso, J. (2012). Improving mass transfer to soften tissues by pulsed electric fields: fundamentals and applications. *Annual review of food science and technology*, 3, 263-282.
- Puértolas, E., Cregenzán, O., Luengo, E., Álvarez, I., & Raso, J. (2013). Pulsed-electric-field-assisted extraction of anthocyanins from purple-fleshed potato. *Food Chemistry*, 136(3-4), 1330-1336.
- Puri, M., Sharma, D., & Barrow, C. J. (2012). Enzyme-assisted extraction of bioactives from plants. *Trends in biotechnology*, 30(1), 37-44.
- Qian, J. Y., Ma, L. J., Wang, L. J., & Jiang, W. (2016). Effect of pulsed electric field on structural properties of protein in solid state. *LWT*, 74, 331-337.
- Qin, B. L., Chang, F. J., Barbosa-Cánovas, G. V., & Swanson, B. G. (1995). Nonthermal inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* in apple juice using pulsed electric fields. *LWT-Food Science and Technology*, 28(6), 564-568.
- Qin, B. L., Barbosa-Canovas, G. V., Swanson, B. G., Pedrow, P. D., & Olsen, R. G. (1998). Inactivating microorganisms using a pulsed electric field continuous treatment system. *IEEE Transactions on Industry Applications*, 34(1), 43-50.
- Qin, B. L., Zhang, Q., Barbosa-Canovas, G. V., Swanson, B. G., & Pedrow, P. D. (1994). Inactivation of microorganisms by pulsed electric fields of different voltage waveforms. *IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation*, 1(6), 1047-1057.
- Quaglia, G. B., Gravina, R., Paperi, R., & Paoletti, F. (1996). Effect of high pressure treatments on peroxidase activity, ascorbic acid content and texture in green peas. *LWT-Food Science and Technology*, 29(5-6), 552-555.
- Que, F., Mao, L., Fang, X., & Wu, T. (2008). Comparison of hot air-drying and freeze-drying on the physicochemical properties and antioxidant activities of pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.) flours. *International journal of food science & technology*, 43(7), 1195-1201.
- Rahmanian, N., Jafari, S. M., & Galanakis, C. M. (2014). Recovery and removal of phenolic compounds from olive mill wastewater. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91(1), 1-18.
- Ranalli, A., Malfatti, A., Lucera, L., Contento, S., & Sotiriou, E. (2005). Effects of processing techniques on the natural colourings and the other functional constituents in virgin olive oil. *Food Research International*, 38(8-9), 873-878.
- Raso, J., Calderón, M. L., Góngora, M., Barbosa-Cánovas, G. V., & Swanson, B. G. (1998). Inactivation of *Zygosaccharomyces bailii* in fruit juices by heat, high hydrostatic pressure and pulsed electric fields. *Journal of food science*, 63(6), 1042-1044.
- Raso, J., Frey, W., Ferrari, G., Pataro, G., Knorr, D., Teissie, J., & Miklavčič, D. (2016). Recommendations guidelines on the key information to be reported in studies of application of PEF technology in food and biotechnological processes. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 37, 312-321.
- Raso, J., Alvarez, I., Condón, S., & Trepát, F. J. S. (2000). Predicting inactivation of *Salmonella senftenberg* by pulsed electric fields. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 1(1), 21-29.
- Rastogi, N. K., Eshtiaghi, M. N., & Knorr, D. (1999). Accelerated mass transfer during osmotic dehydration of high intensity electrical field pulse pretreated carrots. *Journal of Food Science*, 64(6), 1020-1023.
- Rastogi, N. K., Raghavarao, K. S. M. S., Niranjana, K., & Knorr, D. (2002). Recent developments in osmotic dehydration: methods to enhance mass transfer. *Trends in Food Science & Technology*, 13(2), 48-59.

- Raviyan, P., Zhang, Z., & Feng, H. (2005). Ultrasonication for tomato pectinmethylesterase inactivation: effect of cavitation intensity and temperature on inactivation. *Journal of food engineering*, 70(2), 189-196.
- Rendueles, E., Omer, M. K., Alvseike, O., Alonso-Calleja, C., Capita, R., & Prieto, M. (2011). Microbiological food safety assessment of high hydrostatic pressure processing: A review. *LWT-Food Science and Technology*, 44(5), 1251-1260.
- Richardson, P. (Ed.). (2001). *Thermal technologies in food processing*. Taylor & Francis.
- Rock, C., Yang, W., Nooji, J., Teixeira, A., & Feng, H. (2010). Evaluation of Roma Tomato (*Solanum lycopersicum*) Peeling Methods: Conventional vs. Power Ultrasound..
- Rodríguez-Gutiérrez, G., Duthie, G. G., Wood, S., Morrice, P., Nicol, F., Reid, M., ... & De Roos, B. (2012). Alperujo extract, hydroxytyrosol, and 3, 4-dihydroxyphenylglycol are bioavailable and have antioxidant properties in vitamin E-deficient rats—a proteomics and network analysis approach. *Molecular nutrition & food research*, 56(7), 1131-1147.
- Rodrigo, D., Cortés, C., Clynen, E., Schoofs, L., Van Loey, A., & Hendrickx, M. (2006). Thermal and high-pressure stability of purified polygalacturonase and pectinmethylesterase from four different tomato processing varieties. *Food Research International*, 39(4), 440-448
- Roig, A., Cayuela, M. L., & Sánchez-Monedero, M. A. (2006). An overview on olive mill wastes and their valorisation methods. *Waste Management*, 26(9), 960-969.
- Romero, C., García, P., Brenes, M., García, A., & Garrido, A. (2002). Phenolic compounds in natural black Spanish olive varieties. *European Food Research and Technology*, 215(6), 489-496.
- Roselló-Soto, E., Barba, F. J., Parniakov, O., Galanakis, C. M., Lebovka, N., Grimi, N., & Vorobiev, E. (2015a). High voltage electrical discharges, pulsed electric field, and ultrasound assisted extraction of protein and phenolic compounds from olive kernel. *Food and Bioprocess Technology*, 8(4), 885-894.
- Roselló-Soto, E., Koubaa, M., Moubarik, A., Lopes, R. P., Saraiva, J. A., Boussetta, N., ... & Barba, F. J. (2015). Emerging opportunities for the effective valorization of wastes and by-products generated during olive oil production process: Non-conventional methods for the recovery of high-added value compounds. *Trends in Food Science & Technology*, 45(2), 296-310.
- Rossini, G., Toscano, G., Duca, D., Corinaldesi, F., Foppa Pedretti, E., & Riva, G. (2013). Analysis of the characteristics of the tomato manufacturing residues finalized to the energy recovery. *Biomass and Bioenergy*, 51, 177–182. doi:10.1016/j.biombioe.2013.01.018
- Rozzi, N. L., Singh, R. K., Vierling, R. A., & Watkins, B. A. (2002). Supercritical Fluid Extraction of Lycopene from Tomato Processing Byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(9), 2638–2643. doi:10.1021/jf011001t
- Ruiz-Méndez, M. V., López-López, A., & Garrido-Fernández, A. (2008). Characterization and chemometric study of crude and refined oils from table olive by-products. *European journal of lipid science and technology*, 110(6), 537-546.
- Sabio, E., Lozano, M., Montero de Espinosa, V., Mendes, R. L., Pereira, A. P., Palavra, A. F., & Coelho, J. A. (2003). Lycopene and β -Carotene Extraction from Tomato Processing Waste Using Supercritical CO₂. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 42(25), 6641–6646. doi:10.1021/ie0301233
- Sack, M., Sigler, J., Eing, C., Stukenbrock, L., Stangle, R., Wolf, A., & Muller, G. (2010). Operation of an electroporation device for grape mash. *IEEE transactions on plasma science*, 38(8), 1928-1934.
- Sack, M., Sigler, J., Frenzel, S., Eing, C., Arnold, J., Michelberger, T., ... & Müller, G. (2010). Research on industrial-scale electroporation devices fostering the extraction of substances from biological tissue. *Food Engineering Reviews*, 2(2), 147-156.

Sadus, R. J. (1992). Influence of quantum effects on the high-pressure phase behavior of binary mixtures containing hydrogen. *The Journal of Physical Chemistry*, 96(9), 3855-3860.

Salas, J. J., & Sánchez, J. (1999). The decrease of virgin olive oil flavor produced by high malaxation temperature is due to inactivation of hydroperoxide lyase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(3), 809-812.

Salas, J. J., & Sánchez, J. (1998). Alcohol dehydrogenases from olive (*Olea europaea*) fruit. *Phytochemistry*, 48(1), 35-40.

Sadler, G., Davis, J., & Dezman, D. (1990). Rapid extraction of lycopene and β -carotene from reconstituted tomato paste and pink grapefruit homogenates. *Journal of food science*, 55(5), 1460-1461.

Sale, A. J. H., & Hamilton, W. A. (1967). Effects of high electric fields on microorganisms: I. Killing of bacteria and yeasts. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 148(3), 781-788.

Sampedro, F., Rivas, A., Rodrigo, D., Martínez, A., & Rodrigo, M. (2007). Pulsed electric fields inactivation of *Lactobacillus plantarum* in an orange juice–milk based beverage: Effect of process parameters. *Journal of food engineering*, 80(3), 931-938.

San Martin, M. F., Barbosa-Cánovas, G. V., & Swanson, B. G. (2002). Food processing by high hydrostatic pressure. *Critical reviews in food science and nutrition*, 42(6), 627-645.

Sanchez-Moreno, C., De Ancos, B., Plaza, L., Elez-Martinez, P., & Cano, M. P. (2009). Nutritional approaches and health-related properties of plant foods processed by high pressure and pulsed electric fields. *Critical reviews in food science and nutrition*, 49(6), 552-576.

Sánchez-Moreno, C., Plaza, L., Elez-Martínez, P., De Ancos, B., Martín-Belloso, O., & Cano, M. P. (2005). Impact of high pressure and pulsed electric fields on bioactive compounds and antioxidant activity of orange juice in comparison with traditional thermal processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(11), 4403-4409.

Sancho, F., Lambert, Y., Demazeau, G., Largeteau, A., Bouvier, J. M., & Narbonne, J. F. (1999). Effect of ultra-high hydrostatic pressure on hydrosoluble vitamins. *Journal of Food Engineering*, 39(3), 247-253.

Sarkis, J. R., Boussetta, N., Tessaro, I. C., Marczak, L. D. F., & Vorobiev, E. (2015). Application of pulsed electric fields and high voltage electrical discharges for oil extraction from sesame seeds. *Journal of Food Engineering*, 153, 20-27.

Saulis, G. (2010). Electroporation of cell membranes: the fundamental effects of pulsed electric fields in food processing. *Food Engineering Reviews*, 2(2), 52-73.

Schilling, S., Alber, T., Toepfl, S., Neidhart, S., Knorr, D., Schieber, A., & Carle, R. (2007). Effects of pulsed electric field treatment of apple mash on juice yield and quality attributes of apple juices. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8(1), 127-134.

Schilling, S., Toepfl, S., Ludwig, M., Dietrich, H., Knorr, D., Neidhart, S., ... & Carle, R. (2008). Comparative study of juice production by pulsed electric field treatment and enzymatic maceration of apple mash. *European Food Research and Technology*, 226(6), 1389-1398.

Selvaggini, R., Esposto, S., Taticchi, A., Urbani, S., Veneziani, G., Di Maio, I., ... & Servili, M. (2014). Optimization of the temperature and oxygen concentration conditions in the malaxation during the oil mechanical extraction process of four Italian olive cultivars. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(17), 3813-3822.

Serša, G., Čemažar, M., & Rudolf, Z. (2003). Application of electroporation in electrochemotherapy of tumors.

Servili, M., Taticchi, A., Esposto, S., Urbani, S., Selvaggini, R., & Montedoro, G. (2008). Influence of the decrease in oxygen during malaxation of olive paste on the composition of volatiles and phenolic compounds in virgin olive oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(21), 10048-10055.

Servili, M., Selvaggini, R., Taticchi, A., Esposto, S., & Montedoro, G. (2003). Volatile compounds and phenolic composition of virgin olive oil: optimization of temperature and time of exposure of olive pastes to air contact during the mechanical extraction process. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(27), 7980-7988.

Servili, M., Selvaggini, R., Esposto, S., Taticchi, A., Montedoro, G., & Morozzi, G. (2004). Health and sensory properties of virgin olive oil hydrophilic phenols: agronomic and technological aspects of production that affect their occurrence in the oil. *Journal of Chromatography A*, 1054(1-2), 113-127.

Servili, M., Baldioli, M., Selvaggini, R., Macchioni, A., & Montedoro, G. (1999). Phenolic compounds of olive fruit: one- and two-dimensional nuclear magnetic resonance characterization of nüzhenide and its distribution in the constitutive parts of fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(1), 12-18.

Seyderhelm, I., BOGUSLAWSKI, S., MICHAELIS, G., & KNORR, D. (1996). Pressure induced inactivation of selected food enzymes. *Journal of Food Science*, 61(2), 308-310.

Sharma, S. K., & Le Maguer, M. (1996). Lycopene in tomatoes and tomato pulp fractions. *Italian Journal of Food Science*, 8(2), 107-113.

Shi, J., & Maguer, M. L. (2000). Lycopene in tomatoes: chemical and physical properties affected by food processing. *Critical reviews in food science and nutrition*, 40(1), 1-42.

Shi, J., Yu, J., Pohorly, J. E., & Kakuda, Y. (2003). Polyphenolics in grape seeds—biochemistry and functionality. *Journal of medicinal food*, 6(4), 291-299.

Shook, C. M., Shellhammer, T. H., & Schwartz, S. J. (2001). Polygalacturonase, pectinesterase, and lipoxygenase activities in high-pressure-processed diced tomatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(2), 664-668.

Shorstkii, I., Mirshekarloo, M. S., & Koshevoi, E. (2017). Application of pulsed electric field for oil extraction from sunflower seeds: electrical parameter effects on oil yield. *Journal of food process engineering*, 40(1), e12281.

Shouqin, Z., Junjie, Z., & Changzhen, W. (2004). Novel high pressure extraction technology. *International Journal of Pharmaceutics*, 278(2), 471-474.

Shouqin, Z., Jun, X., & Changzheng, W. (2005). Note: Effect of high hydrostatic pressure on extraction of flavonoids in propolis. *Food science and technology international*, 11(3), 213-216.

Schultheiss, C., Bluhm, H., Mayer, H. G., Kern, M., Michelberger, T., & Witte, G. (2002). Processing of sugar beets with pulsed-electric fields. *IEEE Transactions on Plasma Science*, 30(4), 1547-1551.

Shynkaryk, M. V., Lebovka, N. I., & Vorobiev, E. (2008). Pulsed electric fields and temperature effects on drying and rehydration of red beetroots. *Drying Technology*, 26(6), 695-704.

Sibbett, G. S., & Ferguson, L. (2005). *Olive production manual* (Vol. 3353). UCANR Publications.

Siemer, C., Toepfl, S., & Heinz, V. (2014). Inactivation of *Bacillus subtilis* spores by pulsed electric fields (PEF) in combination with thermal energy—I. Influence of process- and product parameters. *Food Control*, 39, 163-171.

Sihvonen, M., Järvenpää, E., Hietaniemi, V., & Huopalahti, R. (1999). Advances in supercritical carbon dioxide technologies. *Trends in Food Science & Technology*, 10(6-7), 217-222.

- Sila, D. N., Smout, C., Elliot, F., Loey, A. V., & Hendrickx, M. (2006). Non-enzymatic depolymerization of carrot pectin: toward a better understanding of carrot texture during thermal processing. *Journal of food science*, 71(1), E1-E9.
- Sila, D. N., Van Buggenhout, S., Duvetter, T., Fraeye, I., De Roeck, A., Van Loey, A., & Hendrickx, M. (2009). Pectins in processed fruits and vegetables: Part II—Structure–function relationships. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 8(2), 86-104.
- Sila, D. N., Smout, C., Satara, Y., Truong, V., Van Loey, A., & Hendrickx, M. (2007). Combined thermal and high pressure effect on carrot pectinmethylesterase stability and catalytic activity. *Journal of Food Engineering*, 78(3), 755-764.
- Simsek, M., Sumnu, G., & Sahin, S. (2012). Microwave assisted extraction of phenolic compounds from sour cherry pomace. *Separation Science and Technology*, 47(8), 1248-1254
- Soliva-Fortuny, R., Balasa, A., Knorr, D., & Martín-Belloso, O. (2009). Effects of pulsed electric fields on bioactive compounds in foods: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 20(11-12), 544-556.
- Stanley, D. W., & Parkin, K. L. (1991). Biological membrane deterioration and associated quality losses in food tissues. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 30(5), 487-553.
- Stavroulias, S., & Panayiotou, C. (2005). Determination of optimum conditions for the extraction of squalene from olive pomace with supercritical CO₂. *Chemical and biochemical engineering quarterly*, 19(4), 373-381.
- Stoforos, N. G., Crelier, S., Robert, M. C., & Taoukis, P. S. (2002). Kinetics of tomato pectin methylesterase inactivation by temperature and high pressure. *Journal of Food Science*, 67(3), 1026-1031.
- Stoforos, N. G., & Taoukis, P. S. (2001). Pressure process evaluation through kinetic modelling. In *Proceedings of the eight international congress on engineering and food* (pp. 1437-1441).
- Strati, I. F., Gogou, E., & Oreopoulou, V. (2015). Enzyme and high pressure assisted extraction of carotenoids from tomato waste. *Food and Bioproducts Processing*, 94, 668-674.
- Strati, I. F., & Oreopoulou, V. (2014). Recovery of carotenoids from tomato processing by-products—a review. *Food research international*, 65, 311-321.
- Strati, I. F., & Oreopoulou, V. (2011). Effect of extraction parameters on the carotenoid recovery from tomato waste. *International journal of food science & technology*, 46(1), 23-29.
- Sun, D. W. (2014). *Emerging technologies for food processing*. Elsevier.
- Tajchakavit, S., & Ramaswamy, H. S. (1997). Thermal vs. Microwave inactivation kinetics of pectin methylesterase in orange juice under batch mode heating conditions. *LWT-Food Science and Technology*, 30(1), 85-93.
- Tamborrino, A., Squeo, G., Leone, A., Paradiso, V. M., Romaniello, R., Summo, C., ... Caponio, F. (2017). Industrial trials on coadjuvants in olive oil extraction process: Effect on rheological properties, energy consumption, oil yield and olive oil characteristics. *Journal of Food Engineering*, 205, 34–46.
- Tamborrino, A., Romaniello, R., Zagaria, R., & Leone, A. (2014). Microwave-assisted treatment for continuous olive paste conditioning: Impact on olive oil quality and yield. *Biosystems Engineering*, 127, 92–102
- Tamborrino, A., Urbani, S., Servili, M., Romaniello, R., Perone, C., & Leone, A. (2020). Pulsed Electric Fields for the Treatment of Olive Pastes in the Oil Extraction Process. *Applied Sciences*, 10(1), 114
- Tanglertpaibul, T., & Rao, M. A. (1987). Intrinsic viscosity of tomato serum as affected by methods of determination and methods of processing concentrates. *Journal of Food Science*, 52(6), 1642-1645.

- Tangwongchai, R., Ledward, D. A., & Ames, J. M. (2000). Effect of high-pressure treatment on the texture of cherry tomato. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1434-1441.
- Taticchi, A., Esposito, S., Veneziani, G., Urbani, S., Selvaggini, R., & Servili, M. (2013). The influence of the malaxation temperature on the activity of polyphenoloxidase and peroxidase and on the phenolic composition of virgin olive oil. *Food Chemistry*, 136(2), 975-983.
- Taticchi, A., Selvaggini, R., Esposito, S., Sordini, B., Veneziani, G., & Servili, M. (2019). Physicochemical characterization of virgin olive oil obtained using an ultrasound-assisted extraction at an industrial scale: Influence of olive maturity index and malaxation time. *Food Chemistry*.
- Taiwo, K. A., Angersbach, A., & Knorr, D. (2002). Influence of high intensity electric field pulses and osmotic dehydration on the rehydration characteristics of apple slices at different temperatures. *Journal of Food Engineering*, 52(2), 185-192.
- Taiwo, K. A., Eshtiaghi, M. N., Ade-Omowaye, B. I., & Knorr, D. (2003). Osmotic dehydration of strawberry halves: influence of osmotic agents and pretreatment methods on mass transfer and product characteristics. *International journal of food science & technology*, 38(6), 693-707.
- Teh, S. S., Niven, B. E., Bekhit, A. E. D. A., Carne, A., & Birch, E. J. (2014). The use of microwave and pulsed electric field as a pretreatment step in ultrasonic extraction of polyphenols from defatted hemp seed cake (*Cannabis sativa*) using response surface methodology. *Food and bioprocess technology*, 7(11), 3064-3076.
- Teh, S. S., Niven, B. E., Bekhit, A. E. D. A., Carne, A., & Birch, E. J. (2015). Microwave and pulsed electric field assisted extractions of polyphenols from defatted canola seed cake. *International Journal of Food Science & Technology*, 50(5), 1109-1115.
- Teissie, J., Golzio, M., & Rols, M. P. (2005). Mechanisms of cell membrane electroporation: a minireview of our present (lack of?) knowledge. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1724(3), 270-280.
- Teissie, J., Eynard, N., Vernhes, M. C., Benichou, A., Ganeva, V., Galutzov, B., & Cabanes, P. A. (2002). Recent biotechnological developments of electropulsation. A prospective review. *Bioelectrochemistry*, 55(1-2), 107-112.
- Terefe, N. S., Yang, Y. H., Knoerzer, K., Buckow, R., & Versteeg, C. (2010). High pressure and thermal inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase in strawberry puree. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(1), 52-60.
- Ting, E. Y., & Farkas, D. F. (1995). Cost of ultrahigh pressure food pasteurization. *ASME-PUBLICATIONS-PVP*, 297, 75-84.
- Toepfl, S., Mathys, A., Heinz, V., & Knorr, D. (2006). Potential of high hydrostatic pressure and pulsed electric fields for energy efficient and environmentally friendly food processing. *Food Reviews International*, 22(4), 405-423.
- Toepfl, S., Heinz, V., & Knorr, D. (2006). Applications of pulsed electric fields technology for the food industry. In *Pulsed electric fields technology for the food industry* (pp. 197-221). Springer, Boston, MA.
- Toepfl, S., Heinz, V., & Knorr, D. (2007). High intensity pulsed electric fields applied for food preservation. *Chemical engineering and processing: Process intensification*, 46(6), 537-546.
- Toepfl, S., Siemer, C., Saldaña-Navarro, G., & Heinz, V. (2014). Overview of pulsed electric fields processing for food. In *Emerging technologies for food processing* (pp. 93-114). Academic Press.

- Toker, I., & Bayındırlı, A. (2003). Enzymatic peeling of apricots, nectarines and peaches. *LWT-Food Science and Technology*, 36(2), 215-221.
- Tovar, M. J., Motilva, M. J., Luna, M., Girona, J., & Romero, M. P. (2001). Analytical characteristics of virgin olive oil from young trees (*Arbequina* cultivar) growing under linear irrigation strategies. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78(8), 843-849.
- Tripoli, E., Giammanco, M., Tabacchi, G., Di Majo, D., Giammanco, S., & La Guardia, M. (2005). The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and beneficial effects on human health. *Nutrition research reviews*, 18(1), 98-112.
- Tsimogiannis, D., Stavrakaki, M., & Oreopoulou, V. (2006). Isolation and characterisation of antioxidant components from oregano (*Origanum heracleoticum*). *International journal of food science & technology*, 41, 39-48.
- Tsong, T. Y., 1991, Electroporation of cell membranes, *Biophys. J.* 24: 271–295.
- Turk, M. F., Vorobiev, E., & Baron, A. (2012). Improving apple juice expression and quality by pulsed electric field on an industrial scale. *LWT-Food Science and Technology*, 49(2), 245-250.
- Uribe, E., Lemus-Mondaca, R., Vega-Gálvez, A., López, L. A., Pereira, K., López, J., ... & Di Scala, K. (2013). Quality characterization of waste olive cake during hot air drying: nutritional aspects and antioxidant activity. *Food and Bioprocess Technology*, 6(5), 1207-1217.
- Uquiche, E., Jeréz, M., & Ortíz, J. (2008). Effect of pretreatment with microwaves on mechanical extraction yield and quality of vegetable oil from Chilean hazelnuts (*Gevuina avellana* Mol). *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(4), 495-500.
- Vallverdú-Queralt, A., Oms-Oliu, G., Odriozola-Serrano, I., Lamuela-Raventós, R. M., Martín-Belloso, O., & Elez-Martínez, P. (2013). Metabolite profiling of phenolic and carotenoid contents in tomatoes after moderate-intensity pulsed electric field treatments. *Food chemistry*, 136(1), 199-205.
- Van Buren, J. P. (1979). The chemistry of texture in fruits and vegetables. *Journal of Texture Studies*, 10(1), 1-23.
- Van den Broeck, I., Ludikhuyze, L. R., Van Loey, A. M., & Hendrickx, M. E. (2000). Inactivation of orange pectinesterase by combined high-pressure and-temperature treatments: a kinetic study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1960-1970.
- Van der Poel, P. (1998). Sugar technology beet and cane sugar manufacture PW van der Poel, H. Schiweck, T. Schwartz. Berlin: Verlag Dr. Bartens KG, 479-563.
- Van Loey, A., Verachtert, B., & Hendrickx, M. (2001). Effects of high electric field pulses on enzymes. *Trends in Food Science & Technology*, 12(3-4), 94-102.
- Veneziani, G., Esposito, S., Taticchi, A., Urbani, S., Selvaggini, R., Sordini, B., & Servili, M. (2018). Characterization of phenolic and volatile composition of extra virgin olive oil extracted from six Italian cultivars using a cooling treatment of olive paste. *LWT*, 87, 523-528.
- Veneziani, G., Esposito, S., Taticchi, A., Selvaggini, R., Sordini, B., Loreface, A., ... & Servili, M. (2019). Extra-virgin olive oil extracted using pulsed electric field technology: Cultivar impact on oil yield and quality. *Frontiers in nutrition*, 6, 134.
- Verlent, I., Loey, A. V., Smout, C., Duvetter, T., Nguyen, B. L., & Hendrickx, M. E. (2004). Changes in purified tomato pectinmethylesterase activity during thermal and high pressure treatment. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(14), 1839-1847.
- Vervoort, L., Van der Plancken, I., Grauwet, T., Timmermans, R. A., Mastwijk, H. C., Matser, A. M., ... & Van Loey, A. (2011). Comparing equivalent thermal, high pressure and pulsed electric field processes for

mild pasteurization of orange juice: Part II: Impact on specific chemical and biochemical quality parameters. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 12(4), 466-477.

Vierhuis, E., Servili, M., Baldioli, M., Schols, H. A., Voragen, A. G., & Montedoro, G. (2001). Effect of enzyme treatment during mechanical extraction of olive oil on phenolic compounds and polysaccharides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(3), 1218-1223.

Vinha, A. F., Ferreres, F., Silva, B. M., Valentao, P., Gonçalves, A., Pereira, J. A., ... & Andrade, P. B. (2005). Phenolic profiles of Portuguese olive fruits (*Olea europaea* L.): Influences of cultivar and geographical origin. *Food chemistry*, 89(4), 561-568.

Vorobiev, E., & Lebovka, N. (2008). *Electrotechnologies for extraction from food plants and biomaterials* (Vol. 5996). New York: Springer.

Vorobiev, E., & Lebovka, N. I. (2006). Extraction of intercellular components by pulsed electric fields. In *Pulsed electric fields technology for the food industry* (pp. 153-193). Springer, Boston, MA.

Vorobiev, E., Jemai, A. B., Bouzrara, H., Lebovka, N., Bazhal, M., Barbosa-Cánovas, G. V., & Cano, M. P. (2005). *Novel Food Processing Technologies*. CRC Press, Boca Raton, 141, 105-130.

Vorobiev, E., & Lebovka, N. (2011). Pulse electric field-assisted extraction. *Enhancing extraction processes in the food industry*, 25-84.

Vossen, P. (2007). Olive oil: history, production, and characteristics of the world's classic oils. *HortScience*, 42(5), 1093-1100.

Wada, S. (1992). Quality and lipid change of sardine meat by high pressure treatment. *Colloques-institut national de la sante et de la recherche medicale colloques et seminaires*, 235-235.

Wagner, K. H., & Elmadfa, I. (2000). Effects of tocopherols and their mixtures on the oxidative stability of olive oil and linseed oil under heating. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 102(10), 624-629.

Waldron, K. W., Parker, M. L., & Smith, A. C. (2003). Plant cell walls and food quality. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 2(4), 128-146.

Wang, L., Chen, Y., Song, Y., Chen, Y., & Liu, X. (2008). GC-MS of volatile components of *Schisandra chinensis* obtained by supercritical fluid and conventional extraction. *Journal of separation science*, 31(18), 3238-3245.

Wang, L., & Weller, C. L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, 17(6), 300-312.

Weale, K. E. (1967). *Chemical reactions at high pressures*.

Weaver, J. C., & Chizmadzhev, Y. A. (1996). Theory of electroporation: a review. *Bioelectrochemistry and bioenergetics*, 41(2), 135-160.

Weber N., Mukherjee, Plant Sterols and Sterol Esters in Functional Foods and Nutraceuticals, In Shahidi F. (Eds), *Nutraceutical and Specialty Lipids and their Co-Products*, p. 488, Taylor & Francis Group, 2006

White P. J., Fatty Acids in Oilseeds (Vegetable Oils), In Chow C. K. (Eds), *Fatty Acids in Foods and their Health Implications*, p. 240-241, CRC Press, 2008.

Wiktor, A., Iwaniuk, M., Śledź, M., Nowacka, M., Chudoba, T., & Witrowa-Rajchert, D. (2013). Drying kinetics of apple tissue treated by pulsed electric field. *Drying Technology*, 31(1), 112-119.

Wongsa-Ngasri, P. (2004). *Ohmic heating of biomaterials: peeling and effects of rotating electric field* (Doctoral dissertation, The Ohio State University).

- Wouters, P. C., & Smelt, J. P. (1997). Inactivation of microorganisms with pulsed electric fields: potential for food preservation. *Food Biotechnology*, 11(3), 193-229.
- Wouters, P. C., Dutreux, N., Smelt, J. P., & Lelieveld, H. L. (1999). Effects of pulsed electric fields on inactivation kinetics of *Listeria innocua*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65(12), 5364-5371.
- X. Jun (2006) Application of high hydrostatic pressure processing of food to extracting lycopene from tomato paste waste, *High Pressure Research*, 26:1, 33-41,
- Xi, J. (2006). Effect of High Pressure Processing on the Extraction of Lycopene in Tomato Paste Waste. *Chemical Engineering & Technology*, 29(6), 736–739. doi:10.1002/ceat.200600024
- Xi, J., Xue, Y., Xu, Y., & Shen, Y. (2013). Artificial neural network modeling and optimization of ultrahigh pressure extraction of green tea polyphenols. *Food chemistry*, 141(1), 320-326.
- Xi, J., Shen, D., Zhao, S., Lu, B., Li, Y., & Zhang, R. (2009). Characterization of polyphenols from green tea leaves using a high hydrostatic pressure extraction. *International Journal of Pharmaceutics*, 382(1-2), 139-143.
- Xi, J. (2006). Effect of high pressure processing on the extraction of lycopene in tomato paste waste. *Chemical Engineering & Technology: Industrial Chemistry-Plant Equipment-Process Engineering-Biotechnology*, 29(6), 736-739.
- XU, Z. G., WANG, L. J., WU, Y. K., CHI, R. A., ZHANG, L., & Ming, W. U. (2012). Solvent extraction of hafnium from thiocyanic acid medium in DIBK-TBP mixed system. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 22(7), 1760-1765.
- Yao, S., Nie, S., Yuan, Y., Wang, S., & Qin, C. (2015). Efficient extraction of bagasse hemicelluloses and characterization of solid remainder. *Bioresource Technology*, 185, 21-27.
- Yen, G. C., & Lin, H. T. (1996). Comparison of high pressure treatment and thermal pasteurization effects on the quality and shelf life of guava puree. *International journal of food science & technology*, 31(2), 205-213.
- Yeom, H. W., Zhang, Q. H., & Dunne, C. P. (1999). Inactivation of papain by pulsed electric fields in a continuous system. *Food Chemistry*, 67(1), 53-59.
- Yolmeh, M., Najafi, M. B. H., & Farhoosh, R. (2014). Optimisation of ultrasound-assisted extraction of natural pigment from annatto seeds by response surface methodology (RSM). *Food chemistry*, 155, 319-324.
- Yoruk, R., & Marshall, M. R. (2003). Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase: a review 1. *Journal of food biochemistry*, 27(5), 361-422.
- Yu, Y., Zhang, S., & Gao, F. (2008, October). Comparison of the polyphenol yield and antioxidant activity of peanut shell extract made by different solvent extraction methods. In 13th International Biotechnology Symposium and Exhibition (第 13 届 IUPAC 国际生物工程会议) (pp. 508-508). 大连理工大学.
- Yuste, J., Capellas, M., Pla, R., Fung, D. Y., & Mor-mur, M. (2001). High pressure processing for food safety and preservation: A review 1. *Journal of Rapid Methods & Automation in Microbiology*, 9(1), 1-10.
- Zbakh, H., & El Abbassi, A. (2012). Potential use of olive mill wastewater in the preparation of functional beverages: A review. *Journal of functional foods*, 4(1), 53-65.
- Zderic, A., Zondervan, E., & Meuldijk, J. (2013). Breakage of cellular tissue by pulsed electric field: extraction of polyphenols from fresh tea leaves. *Chemical Engineering*, 32, 1795-1800.

- Zhang, Q., Monsalve-González, A., Gin, B. I., Barbosa-Cánovas, G. V., & Swanson, B. G. (1994). Inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* in apple juice by square-wave and exponential-decay pulsed electric fields. *Journal of Food Process Engineering*, 17(4), 469-478.
- Zhang, Q., Qin, B. I., Barbosa-Cánovas, G. V., & Swanson, B. G. (1995). Inactivation of *E. coli* for food pasteurization by high-strength pulsed electric fields. *Journal of Food Processing and Preservation*, 19(2), 103-118.
- Zhang, H. F., Yang, X. H., & Wang, Y. (2011). Microwave assisted extraction of secondary metabolites from plants: Current status and future directions. *Trends in Food Science & Technology*, 22(12), 672-688.
- Zhang, S., Zhu, J., & Wang, C. (2004). Novel high pressure extraction technology. *International Journal of Pharmaceutics*, 78, 471-474
- Zhao, L., Zhao, G., Chen, F., Wang, Z., Wu, J., & Hu, X. (2006). Different effects of microwave and ultrasound on the stability of (all-E)-astaxanthin. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(21), 8346-8351.
- Zhu, X., Mang, Y., Shen, F., Xie, J., & Su, W. (2014). Homogenate extraction of gardenia yellow pigment from *Gardenia Jasminoides* Ellis fruit using response surface methodology. *Journal of food science and technology*, 51(8), 1575-1581.
- Zimmermann, U., 1986, Electric breakdown, electropermeabilization and electrofusion, *Rev. Phys. Biochem. Pharmacol.* 105: 196-256
- Zimmermann, U., Pilwat, G., and Riemann, F., 1974, Dielectric breakdown of cell membranes, *Biophys. J.* 14: 881-899.
- Αγγίδης, Δ. Α. (1996). Τομάτα Υπαίθρια: Επιτραπέζια-Βιομηχανική, Καλλιέργεια-Αξιοποίηση. *Εκδόσεις Ζήτη, Θεσσαλονίκη*.
- Λοϊζίδης, Μ. (2009). *Επεξεργασία υγρών αποβλήτων ελαιολιβιών με τη μέθοδο της συγχουμοποίησης τους με πυρηνόξυλο* (Doctoral dissertation, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο (ΕΜΠ). Τμήμα Χημικών Μηχανικών).
- Αλεξανδράκης Ζαχαρίας (2015). Μελετη βιοχημικών, καταλυτικών και δομικών μεταβολών φυτικών ενζύμων σε συνθήκες υπερυψηλής πίεσης, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Σχολή Χημικών Μηχανικών, Τομέας Σύνθεσης και Ανάπτυξης Βιομηχανικών Διαδικασιών (IV), Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων, Διδακτορική Διατριβή
- Γαλαζούλας, Χ. (2003). Αριστοποίηση φυγοκεντρικής μεθόδου παραγωγής ελαιολάδου. Καθαρισμός και αξιοποίηση των αποβλήτων ελαιολιβιού (Doctoral dissertation, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο (ΕΜΠ). Σχολή Χημικών Μηχανικών. Τομέας Ανάλυσης, Σχεδιασμού και Ανάπτυξης Διεργασιών και Συστημάτων (II)).
- Γώγου Ελένη (2010). Αναπτυξη δεικτών αξιολόγησης και ελέγχου της διεργασίας υπερυψηλής υδροστατικής πίεσης στα τρόφιμα, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Σχολή Χημικών Μηχανικών, Τομέας Σύνθεσης και Ανάπτυξης Βιομηχανικών Διαδικασιών (IV), Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων, Διδακτορική Διατριβή
- Μπουλέκου, Σ. (2010). Μελέτη της επίδρασης των παραμέτρων της διεργασίας υπερυψηλής υδροστατικής πίεσης στα ένζυμα της τομάτας και εφαρμογή για την παραγωγή προϊόντων με επιθυμητά χαρακτηριστικά (No. GRI-2010-5193). Aristotle University of Thessaloniki.
- Ποντίκης, Κ. (2000). Ειδική δενδροκομία, ελαιοκομία. *Σταμούλη, Αθήνα*.
- Ταούκης Π. & Ωραιπούλου Β. (2009). Επιστήμη και Μηχανική Διεργασιών Τροφίμων, Σημειώσεις από τις παραδόσεις, ΕΜΠ, Αθήνα

Τζια, Κ. (1987). Συμβολή στη μελέτη του εξευγενισμού υψηλοβαθμων πυρηνελαιων (Doctoral dissertation, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο (ΕΜΠ), Τμήμα Χημικών Μηχανικών.

Υφαντή, Α. (2018). Αξιοποίηση παραπροϊόντων της βιομηχανίας επεξεργασίας τομάτας. Διπλωματική Εργασία, Σχολή Χημικών Μηχανικών, ΕΜΠ