



Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο  
Σχολή Χημικών Μηχανικών  
Τομέας IV: Σύνθεσης και Ανάπτυξης Βιομηχανικών Διαδικασιών  
Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων

# Επίδραση μη θερμικών τεχνολογιών στην επιταχυνόμενη αποπύκνωση, ζύμωση και ποιότητα επιτραπέζιων πράσινων ελιών

Διπλωματική Εργασία  
Επιβλέπων Καθηγητής: Πέτρος Ταούκης

Σέρκο Δεκεριάν  
Αθήνα, Σεπτέμβριος 2023

## Πρόλογος

*Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο τροφίμων του Ινστιτούτου Τεχνολογίας Αγροτικών Προϊόντων στο ΕΛΓΟ Δήμητρα, σε συνεργασία με το Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων της Σχολής Χημικών Μηχανικών του ΕΜΠ.*

*Αρχικά, νιώθω την ανάγκη να ευχαριστήσω τον υπεύθυνο καθηγητή κ. Πέτρο Ταούκη και τον Δρ. Γιώργο Κατσαρό για την εμπιστοσύνη ανάθεσης του θέματος. Πρόκειται για ένα θέμα πολύ ενδιαφέρον και καινοτόμο, του οποίου τα αποτελέσματα το καθιστούν ρεαλιστικό και πρακτικά εφαρμόσιμο. Τους ευχαριστώ για τις χρήσιμες προτάσεις και παρατηρήσεις που μου έθεσαν κατά τη διάρκεια της εκπόνησης.*

*Δεν μπορώ παρά να ευχαριστήσω την υπεύθυνη μου Δρ. Βάνα Ανδρέου για τον πειραματικό σχεδιασμό και την καθοδήγηση, αλλά και το υπόλοιπο προσωπικό του εργαστηρίου του ΙΤΑΠ για όλη την πολύτιμη βοήθεια, τις γνώσεις και τις συμβουλές τους, αλλά και για το ευχάριστο και φιλικό κλίμα που δημιούργησαν για εμένα και τα υπόλοιπα παιδιά που έκαναν τη διπλωματική τους.*

*Τέλος, να ευχαριστήσω τους διδάκτορες και υποψήφιους διδάκτορες του ΕΜΠ, που με βοήθησαν και με κατατόπισαν σχετικά με το χώρο και τον εξοπλισμό του εργαστηρίου, τις φορές που χρειάστηκε να εκτελέσω πειράματα στο χώρο τους.*

## Περίληψη

Τα τελευταία χρόνια, η παραγωγή καινοτόμων προϊόντων και η ανάπτυξη τροφίμων απαλλαγμένων από ανεπιθύμητα συστατικά και εμπλουτισμένα με περαιτέρω θρεπτικά, έχουν αποκτήσει ιδιαίτερη δημοφιλία στο καταναλωτικό κοινό. Ωστόσο, μεγάλο μερίδιο της έρευνας και ανάπτυξης γύρω από τα τρόφιμα πραγματεύεται τη βελτιστοποίηση των διεργασιών παραγωγής τους και των τεχνολογικών χαρακτηριστικών που δεν αφορούν τον καταναλωτή. Μέρος της έρευνας στρέφεται σε ταυτόχρονα μεγαλύτερης απόδοσης παραγωγικότητα και οικονομικότερους τρόπους παραγωγής τροφίμων, με σκοπό τη μεγιστοποίηση του κέρδους. Ένα τρόφιμο, του οποίου ο χρόνος παραγωγής είναι σχετικά μεγάλος, είναι η επιτραπέζια ή αλλιώς βρώσιμη ελιά. Η ωμή ελιά, για να καταστεί βρώσιμη, χρειάζεται να περάσει από δυο βασικά στάδια επεξεργασίας: την αποπίκραση και τη ζύμωση. Η αποπίκραση αφορά τη διεργασία απαλλαγής από την ελευρωπαΐνη που είναι υπεύθυνη για την πικρή γεύση του ωμού καρπού. Οι δυο κυριότερες προσεγγίσεις σχετικά με τη διεργασία της αποπίκρασης είναι οι ελιές ελληνικού και ισπανικού τύπου. Οι πρώτες εμβαπτίζονται σε διάλυμα άλμης και αφήνονται μέχρι τον τερματισμό της ζύμωσης, ενώ οι δεύτερες εμβαπτίζονται σε διάλυμα καυστικού νατρίου για μερικές ώρες, στη συνέχεια ξεπλένονται με νερό και τελικά τοποθετούνται και αυτές σε άλμη. Η ζύμωση αποτελεί μια συνήθη διεργασία στην παραγωγή τροφίμων, κατά την οποία, η ενδογενής μικροχλωρίδα της ελιάς χρησιμοποιεί θρεπτικά συστατικά του τροφίμου για να παραχθούν άλλα, τα οποία το καθιστούν μικροβιολογικά σταθερό και ασφαλές. Συγκεκριμένα για τις ελιές, οι μικροοργανισμοί αυτοί είναι οι ζύμες, τα εντεροβακτήρια και τα γαλακτικά βακτήρια, με τα τελευταία να είναι τα επιθυμητά για επικράτηση. Στόχος της ζύμωσης είναι η κατανάλωση πρωτεϊνών, υδατανθράκων και άλλων συστατικών από τα γαλακτικά βακτήρια, η οποία προκαλεί παραγωγή οξέων, δημιουργώντας δυσμενές περιβάλλον για παθογόνους μικροοργανισμούς και μειώνοντας το pH (<4,5).

Η έρευνα γύρω από τα τρόφιμα έχει στραφεί σε μη θερμικές τεχνολογίες που επιταχύνουν υφιστάμενες διεργασίες, όπως αυτή της εκχύλισης στερεού- υγρού, μια διεργασία μεταφοράς μάζας. Εν προκειμένω, η αποπίκραση και η ζύμωση αποτελούν διεργασίες οι οποίες βασίζονται στα φαινόμενα μεταφοράς μάζας, επομένως αναμένεται να επιταχύνονται από μεθόδους σαν αυτές. Οι μελετώμενες μέθοδοι είναι οι Υπέρηχοι, η Υπερυψηλή Πίεση (ΥΠ) και τα Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία (ΠΗΠ). Η πρώτη, με τη βοήθεια μηχανικών κυμάτων, δημιουργεί φυσαλίδες εντός του ιστού, οι οποίες διαρρηγνύονται, προκαλώντας απώλεια ενδοκυτταρικού περιεχομένου. Η ΥΠ, μέσω υδραυλικής συμπίεσης του τροφίμου επιφέρει περαιτέρω διάτρηση στον φυτικό ιστό, σε σχέση με τη συμβατική εκχύλιση. Τα ΠΗΠ προκαλούν αύξηση της διαπερατότητας της κυτταρικής μεμβράνης, ως αποτέλεσμα της εφαρμογής ηλεκτρικού πεδίου (ηλεκτροδιάτρηση). Επομένως, και οι τρεις διεργασίες αποσκοπούν στην ταχύτερη εκχύλιση ελευρωπαΐνης εκτός του καρπού και στην ταχύτερη εισροή καυστικού νατρίου εντός του καρπού, για τις ελιές ελληνικού και ισπανικού τύπου, αντίστοιχα.

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη της επίδρασης των παραπάνω μεθόδων ως προεπεξεργασίες στην αποπίκραση και στη ζύμωση πράσινων επιτραπέζιων ελιών ελληνικού και ισπανικού τύπου. Επιπλέον, θα διερευνηθεί αν αυτές οι προεπεξεργασίες επηρεάζουν τα ποιοτικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τελικών ζυμωμένων επιτραπέζιων πράσινων ελιών.

Η πρώτη θεματική ενότητα της εργασίας αφορά στην κινητική μελέτη της αποπίκρασης ελιών ελληνικού τύπου, κατά την οποία διερευνήθηκε η επίδραση των τριών διαφορετικών

προεπεξεργασιών στην αποπίκραση τους και επιλέχθηκαν οι βέλτιστες συνθήκες στην καθεμία. Όσον αφορά στους υπερήχους, μελετήθηκαν οι συνθήκες επεξεργασίας 50, 70 και 90% της μέγιστης ισχύος, σε χρόνους κατεργασίας 30, 90 και 180 min. Όσο εντονότερες ήταν οι συνθήκες επεξεργασίας με υπερήχους τόσο πιο αποτελεσματική ήταν η εκχυλισσιμότητα σε φαινολικές ενώσεις και σε ενώσεις με αντιοξειδωτική ικανότητα. Επομένως για την πιο έντονη συνθήκη των **90% και 180 min** η οποία επιλέχθηκε ως βέλτιστη, παρατηρήθηκε αύξηση της συγκέντρωσης των εκχυλιζόμενων φαινολικών ενώσεων (έως 13 φορές μεγαλύτερη σε σχέση με το δείγμα αναφοράς), ενώ ταυτόχρονα σε αυτή την συνθήκη δεν παρατηρήθηκε κάποια υποβάθμιση των ποιοτικών χαρακτηριστικών των ελιών. Για την ΥΠ διερευνήθηκαν οι συνθήκες των 100, 250 και 400 MPa για 5 min επεξεργασίας, με την εκχυλισσιμότητα των φαινολικών ενώσεων να αυξάνεται σημαντικά με την αύξηση της πίεσης (ως και 17 φορές παραπάνω από τη συμβατική μετά από 8 ημέρες παραμονής στην άλμη). Σημαντική αύξηση παρουσίασε και η συγκέντρωση σε αντιοξειδωτικές ενώσεις στην άλμη όσο αυξανόταν η ένταση των συνθηκών επεξεργασίας με ΥΠ. Για πιέσεις πάνω από 250 MPa δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην συγκέντρωση της ελευρωπαΐνης στις ελιές. Επομένως ως βέλτιστη η συνθήκη ΥΠ επιλέχθηκαν τα **250 MPa & 5min**, ως η λιγότερο ενεργοβόρα. Παράλληλα, το χρώμα των επεξεργασμένων με ΥΠ ελιών δεν έδειξε να διαφέρει σημαντικά από το ανεπεξέργαστο, σε αντίθεση με τη σκληρότητα των ελιών που παρατηρήθηκε μία μείωση έως και 57% σε σχέση με το ανεπεξέργαστο στις 8 ημέρες παραμονής στην άλμη. Αυτή η μείωση αναμενόταν να παρατηρηθεί και στις ανεπεξέργαστες ελιές κατά την διάρκεια της ζύμωσης σε μεγαλύτερους χρόνους (>1 μήνα – μέση ζύμωσης). Αναφορικά με την προεπεξεργασία των ΠΗΠ, εξετάστηκαν οι συνθήκες 2.5, 3.5, 5.0, 6.5 kV/cm σε 50, 100, 500, 1000 και 2000 παλμούς. Από την οργανοληπτική αξιολόγηση που διεξήχθη, για εντάσεις ηλεκτρικού πεδίου μεγαλύτερες των 5 kV/cm, παρατηρήθηκε η ύπαρξη μιας δυσάρεστης γεύσης (off-flavor), η οποία οδήγησε στην απόρριψη των παραπάνω συνθηκών. Η εκχυλισσιμότητα των φαινολικών ενώσεων ενισχύθηκε με αύξηση της έντασης των συνθηκών με ΠΗΠ, όπως και η συγκέντρωση της ελευρωπαΐνης, η οποία μειώθηκε έως και 76% σε σχέση με το ανεπεξέργαστο μετά από 8 μέρες σε άλμη. Ως βέλτιστη συνθήκη των ΠΗΠ θεωρήθηκαν τα **3.5 kV/cm & 500p** όπου επιτεύχθηκε σημαντική μείωση σε ελευρωπαΐνη χωρίς να παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά από τις πιο έντονες συνθήκες. Παρατίθενται συνοπτικά οι βέλτιστες συνθήκες για κάθε προεπεξεργασία:

Method	UAE	HP	PEF
<b>Optimum</b>	90%, 180min	250MPa, 5min	3,5kV/cm , 500p

Η δεύτερη θεματική ενότητα αφορά στην κινητική μελέτη της αποπίκρασης ελιών ισπανικού τύπου και συγκεκριμένα στη διείδυση καυστικού νατρίου 1.0, 1.5 και 2.0% εντός ελιών, επεξεργασμένων με ΥΠ και ΠΗΠ (στις παραπάνω βέλτιστες συνθήκες) συγκριτικά με τις ανεπεξέργαστες. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως η εφαρμογή και των δύο προεπεξεργασιών οδήγησαν σε σημαντική μείωση του χρόνου αποπίκρασης σε όλες τις συγκεντρώσεις καυστικού νατρίου, ενώ δεν παρατηρήθηκε υποβάθμιση στο χρώμα και την υφή των επεξεργασμένων ελιών. Παράλληλα, δεν υπήρχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων που είχαν υποστεί προεπεξεργασία με ΠΗΠ και ΥΠ για όλες τις συγκεντρώσεις καυστικού νατρίου. Ενδεικτικά, για 2% αλκαλικό διάλυμα, ο χρόνος αποπίκρασης για τα μη προεπεξεργασμένα, επεξεργασμένα με ΥΠ και ΠΗΠ ήταν 7.2, 5.3 και 5.3 ώρες, αντίστοιχα.

Στην τρίτη θεματική ενότητα, για τα δείγματα που προεπεξεργάστηκαν με ΠΗΠ και ΥΠ στις βέλτιστες συνθήκες ακολούθησε η ζύμωση ελιών ελληνικού και ισπανικού τύπου. Οι ζυμώσεις αξιολογούνται ως προς το pH, τα μικροβιακά φορτία ΟΜΧ, γαλακτικών βακτηρίων, ζυμών/μυκήτων και εντεροβακτηρίων και ως προς τα ποιοτικά και οργανοληπτικά των ελιών. Στη ζύμωση ελιών ελληνικού τύπου, τα δείγματα των ΗΡ και ΡΕΦ φαίνεται να μειώνεται το pH τους προοδευτικά με το χρόνο, εμφανίζοντας σημαντικά ταχύτερη μείωση σε σχέση με το δείγμα αναφοράς, σημειώνοντας υποδιπλασιασμό του χρόνου ζύμωσης (100 ημέρες έναντι 213 του ανεπεξέργαστου). Γενικότερα, ως προς τις τιμές των υπόλοιπων εξεταζόμενων μεταβλητών, παρατηρήθηκε ότι στο τέλος όλων ζυμώσεων τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των τελικών ζυμωμένων ελιών δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους. Αυτό σημαίνει πως επιτεύχθηκε μείωση του χρόνου ζύμωσης, χωρίς να προκληθούν αλλαγές στα χαρακτηριστικά των τελικών προϊόντων. Από την άλλη, στη ζύμωση ελιών ισπανικού τύπου δεν παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των δειγμάτων τόσο στον χρόνο ζύμωσης όσο και στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των τελικών ζυμωμένων ελιών, γεγονός που σηματοδοτεί πως οι προεπεξεργασίες δεν επηρεάζουν την διαδικασία της ζύμωσης.

Τα οφέλη ενός εγχειρήματος παραγωγής πράσινης επιτραπέζιας ελιάς ελληνικού τύπου με κάποια μη θερμική μέθοδο ως προεπεξεργασία της ζύμωσης δίνει την δυνατότητα αύξησης της δυναμικότητας μιας υφιστάμενης μονάδας μέχρι και διπλασιασμού, καθώς και ενδεχόμενη μείωση του λειτουργικού κόστους των δεξαμενών ζύμωσης στο μισό, οδηγώντας σε ταχεία παραγωγή ελιών αυτού του τύπου. Όσον αφορά στη ζύμωση ελιών ισπανικού τύπου, αυτή φαίνεται να μην επηρεάστηκε από τις προεπεξεργασίες, επομένως το όφελος αφορά στην επιτάχυνση της αποπίκρασης. Ως εκ τούτου, υπάρχει και εδώ δυνατότητα αύξησης της παραγωγικότητας, καθώς στον ίδιο χρόνο λειτουργίας των δεξαμενών, μπορούν να αποπικραθούν σημαντικά περισσότερες ελιές.

Συμπερασματικά, οι δύο προεπεξεργασίες θεωρήθηκαν κατάλληλες για χρήση στη συμβατική παραγωγική διαδικασία των επιτραπέζιων ελιών, δίνοντας τη δυνατότητα παραγωγής πράσινων επιτραπέζιων ελιών με αυξημένη παραγωγικότητα και μειωμένη κατανάλωση ενέργειας.

## Effect of non-thermal technologies on the accelerated debittering, fermentation and quality of green table olives

In recent years, the production of innovative products and the development of food products, free from unwanted ingredients and enriched with additional nutrients have gained significant popularity among consumers. However, a significant portion of food research and development focuses on optimizing their production processes and technological characteristics that do not directly impact the consumer. Part of the research is aimed at simultaneously achieving higher production efficiency and more economical methods of food production, with the goal of maximizing profit. One food item with a relatively long production time is the table olive, also known as edible olive.

The raw olive, to become edible, needs to undergo two basic processing stages: debittering and fermentation. Debittering involves the process of removing oleuropein, which is responsible for the bitter taste of the raw fruit. The two main approaches to the debittering process are the Greek and Spanish methods. The former involves immersing olives in a brine solution and leaving them until fermentation is complete, while the latter immerses olives in a sodium hydroxide solution for a few hours, then rinses them with water before finally placing them in brine. Fermentation is a common process in food production, during which the endogenous microflora of olives uses food nutrients to produce other compounds, making it microbiologically stable and safe. Specifically for olives, these microorganisms are yeasts, enterobacteria, and lactic acid bacteria, with the latter being desirable for dominance.

The purpose of fermentation is to consume proteins, carbohydrates, and other ingredients by lactic acid bacteria, which results in the production of acids, creating an unfavorable environment for pathogenic microorganisms and reducing the pH (<4.5).

Research in the field of foods has turned to non-thermal technologies that accelerate existing processes, such as solid-liquid extraction, a mass transfer process. In this context, debittering and fermentation are processes based on mass transfer phenomena; therefore, they are expected to be accelerated by methods like these. The studied methods are Ultrasound, High-Pressure (HP), and Pulsed Electric Fields (PEF). The first, using mechanical waves, creates bubbles within the tissue, which rupture, causing intracellular content loss. HP, through hydraulic compression of the food, leads to further disruption of the plant tissue compared to conventional extraction. PEF increases the permeability of the cell membrane due to the application of an electric field (electroporation). Therefore, all three processes aim to accelerate oleuropein extraction from the fruit and sodium hydroxide penetration into the fruit, for Greek and Spanish olives, respectively.

The purpose of this study is to investigate the effect of these methods as pretreatments in the debittering and fermentation of green table olives of Greek and Spanish types. In addition, it will be explored whether these pretreatments affect the qualitative and sensory characteristics of the final fermented green table olives.

The first section of the study deals with the kinetic study of the debittering of Greek-style olives, during which the effect of the three different pretreatments on their debittering was investigated, and the optimum conditions were selected for each. Regarding ultrasound, processing conditions of 50, 70, and 90% of maximum power were studied at processing times of 30, 90, and 180 min. The more intense the ultrasound conditions, the more effective the extractability of phenolic compounds and compounds with antioxidant capacity.

Therefore, for the most intense condition of 90% and 180 min, which was chosen as the optimum, an increase in the concentration of extracted phenolic compounds was observed (up to 13 times higher compared to the reference sample), while at the same time, no deterioration of the olive's quality characteristics was observed under this condition. For HP, processing conditions of 100, 250, and 400 MPa for 5 min were investigated, with the extractability of phenolic compounds increasing significantly with increasing pressure (up to 17 times higher than conventional after 8 days of brine treatment). A significant increase in the concentration of antioxidant compounds in brine was also observed as the intensity of the HP processing conditions increased. For pressures above 250 MPa, there were no significant differences in the concentration of oleuropein in olives. Therefore, the optimal HP condition chosen was 250 MPa and 5 min, as the least energy-intensive. Additionally, the color of the HP-treated olives did not show significant differences from untreated ones, unlike the hardness of the olives, which showed a decrease of up to 57% compared to untreated ones after 8 days in brine. This reduction was also expected to be observed in untreated olives during longer fermentation times (>1 month – average fermentation). Regarding the PEF pretreatment, conditions of 2.5, 3.5, 5.0, 6.5 kV/cm at 50, 100, 500, 1000, and 2000 pulses were examined. From the sensory evaluation conducted, for electric field intensities greater than 5 kV/cm, an unpleasant taste (off-flavor) was observed, leading to the rejection of these conditions. The extractability of phenolic compounds was enhanced with increasing intensity of the PEF conditions, as was the concentration of oleuropein, which decreased by up to 76% compared to untreated olives after 8 days in brine. The optimal PEF conditions were considered to be 3.5 kV/cm and 500 pulses, where a significant reduction in oleuropein was achieved without showing a statistically significant difference from the more intense conditions. The optimal conditions for each pretreatment are summarized as follows:

Method	UAE	HP	PEF
<b>Optimum</b>	90%, 180min	250MPa, 5min	3,5kV/cm , 500p

The second thematic section deals with the kinetic study of the debittering of Spanish-style olives, specifically the penetration of sodium hydroxide at concentrations of 1.0, 1.5, and 2.0% into olives processed with HP and PEF (under the aforementioned optimal conditions) compared to untreated olives. The results showed that the application of both pretreatments led to a significant reduction in the debittering time at all sodium hydroxide concentrations, while there was no degradation in the color and texture of the processed olives. Additionally, among the samples subjected to pretreatment with HP and PEF, there were no statistically significant differences for all sodium hydroxide concentrations. For instance, with a 2% alkaline solution, the debittering time for untreated, HP-processed, and PEF-processed olives was 7.2, 5.3, and 5.3 hours, respectively.

In the third thematic section, the olives that underwent pretreatment with HP and PEF under the optimal conditions were subjected to fermentation of Greek and Spanish types. The fermentations were evaluated based on pH, microbial loads (total mesophilic aerobic counts, lactic acid bacteria, yeast/molds, and enterobacteria), as well as the qualitative and sensory characteristics of the olives. In the fermentation of Greek-style olives, the samples treated with HP and PEF appeared to progressively decrease in pH over time, showing a significantly faster decrease compared to the reference sample, with a reduction in fermentation time by half (100 days compared to 213 for untreated olives). Overall, in terms of the values of the other examined variables, it was observed that at the end of all fermentations, the qualitative

characteristics of the final fermented olives did not differ significantly among them. This means that a reduction in fermentation time was achieved without causing changes in the characteristics of the final products. On the other hand, in the fermentation of Spanish-style olives, no differences were observed between the samples in terms of both fermentation time and the qualitative characteristics of the final fermented olives, indicating that the pretreatments did not affect the fermentation process.

In both cases, the two pretreatments were considered suitable for use as preprocessing steps in the conventional production process of table olives, resulting in high-quality edible green olives with increased productivity and reduced energy consumption.



## Πίνακας περιεχομένων

Πρόλογος .....	1
Περίληψη.....	2
Effect of non-thermal technologies on the accelerated debittering, fermentation and quality of green table olives .....	5
1 Εισαγωγή .....	10
1.1 Η ελιά ως καρπός.....	10
1.1.1 Δομή .....	11
1.1.2 Σύσταση .....	12
1.1.3 Ελευρωπαΐνη .....	12
1.2 Η ελιά ως τρόφιμο .....	13
1.2.1 Επιτραπέζια ελιά.....	13
1.2.2 Κονσερβοελιά .....	14
1.3 Αποπίκραση .....	15
1.3.1 Ελληνικού τύπου.....	15
1.3.2 Ισπανικού Τύπου .....	17
1.3.3 Καλιφορνέζικου Τύπου .....	18
2 Μη Θερμικές Μέθοδοι .....	20
2.1 Υπέρηχοι .....	20
2.1.1 Αρχή Λειτουργίας.....	20
2.1.2 Παράμετροι Λειτουργίας .....	21
2.1.3 Εξοπλισμός.....	22
2.1.4 Εφαρμογές .....	23
2.2 Υπερυψηλή Πίεση.....	24
2.2.1 Αρχή Λειτουργίας.....	24
2.2.2 Παράμετροι Λειτουργίας .....	24
2.2.3 Εξοπλισμός.....	25
2.2.4 Εφαρμογές .....	26
2.3 Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία .....	27
2.3.1 Αρχή Λειτουργίας.....	27
2.3.2 Ηλεκτροδιάτρηση .....	28
2.3.3 Παράμετροι Λειτουργίας .....	30
2.3.4 Ειδική Ενέργεια.....	32
2.3.5 Εξοπλισμός.....	32
2.3.6 Εφαρμογές .....	34
3 Υλικά και Μέθοδοι.....	35

3.1	Πρώτη Ύλη .....	35
3.2	Πειραματικός Σχεδιασμός .....	35
3.3	Προεπεξεργασία ελιών με Μη Θερμικές Μεθόδους.....	37
3.3.1	Προεπεξεργασία με Υπερήχους .....	37
3.3.2	Προεπεξεργασία με Υπερυψηλή Πίεση .....	38
3.3.3	Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία.....	39
3.4	Περιγραφή Αναλυτικών μεθόδων.....	40
3.4.1	Ολικά Φαινολικά Συστατικά.....	40
3.4.2	Ελευρωπαΐνη .....	41
3.4.3	Αντιοξειδωτική δράση .....	42
3.4.4	Αλατότητα.....	43
3.4.5	Χρώμα .....	44
3.4.6	Υφή.....	46
3.4.7	pH .....	46
3.4.8	Μικροβιολογικές Αναλύσεις .....	47
3.4.9	Οργανοληπτική αξιολόγηση .....	49
3.4.10	Στατιστική επεξεργασία .....	49
4	Αποτελέσματα και Σχολιασμός .....	50
4.1	Κινητική μελέτη αποπίκρασης πράσινων επιτραπέζιων ελιών Ελληνικού τύπου ..	50
4.1.1	Κινητική μελέτη αποπίκρασης πράσινων επιτραπέζιων ελιών με Υπερήχους	50
4.1.2	Κινητική μελέτη αποπίκρασης πράσινων επιτραπέζιων ελιών με Υπερυψηλή Πίεση	56
4.1.3	Κινητική μελέτη αποπίκρασης πράσινων επιτραπέζιων ελιών με Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία .....	61
4.2	Κινητική μελέτη αποπίκρασης πράσινων επιτραπέζιων ελιών Ισπανικού τύπου ..	70
4.2.1	Κινητικό Πείραμα Διείσδυσης καυστικού νατρίου .....	70
4.3	Μελέτη ζύμωσης πράσινων επιτραπέζιων ελιών .....	76
4.3.1	Ζύμωση ελιών Ελληνικού τύπου.....	77
4.3.2	Ζύμωση ελιών Ισπανικού τύπου.....	84
5	Συμπεράσματα .....	91
5.1	Πρόταση μελλοντικής έρευνας.....	92
6	Βιβλιογραφία .....	93

# 1 Εισαγωγή

Η μελέτη της επιταχυνόμενης αποπίκρασης αφορά τη βελτίωση των φαινομένων μεταφοράς μάζας από και προς την ελιά, με την κάθε μη θερμική μέθοδο να επιτυγχάνει αυτό το σκοπό με το δικό της τρόπο. Συνοπτικά:

- Οι υπέρηχοι δημιουργούν φυσαλίδες εντός του φυτικού ιστού, οι οποίες διαρρηγνύονται σχηματίζοντας πόρους και απελευθερώνουν ενδοκυτταρικά συστατικά.
- Η υπερυψηλή πίεση που εφαρμόζεται στο τρόφιμο εξαναγκάζει την ώσμωση συστατικών, δηλαδή την εισροή άλμης και την εκροή συστατικών της ελιάς.
- Τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία προκαλούν στα κύτταρα του τροφίμου τη λεγόμενη ηλεκτροδιάτρηση, η οποία αυξάνει τη διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης

Επομένως, αντιλαμβανόμαστε πως γίνεται λόγος για πολλά υποσχόμενες τεχνολογίες, τουλάχιστον όσον αφορά στη δυνατότητα ταχύτερης αποπίκρασης συγκριτικά με τη συμβατική. Γύρω από αυτές, υπάρχει εκτενές ερευνητικό έργο που αποδεικνύει πως επιταχύνουν τις συμβατικές εκχυλίσεις ουσιών από τρόφιμα, καθώς προκαλούν σημαντική κυτταρική διάρρηξη, που οδηγεί στην ταχύτερη απώλεια του ενδοκυτταρικού περιεχομένου.

Μπορούμε να κάνουμε λόγο για τρεις φάσεις πειραμάτων, με την πρώτη να αφορά στη διερεύνηση των βέλτιστων συνθηκών επεξεργασίας των τριών μεθόδων για αποπίκραση ελληνικού τύπου, τη δεύτερη να αφορά στη μελέτη χημικής αποπίκρασης σε αυτές της συνθήκες και την τρίτη, τη μελέτη της ζύμωσης των ελιών (ελληνικού και ισπανικού τύπου) με το πέρασ του χρόνου, η προεπεξεργασία των οποίων έγινε στις βέλτιστες συνθήκες.

Η πρώτη φάση, πέρα από τη μέτρηση ολικού φαινολικού περιεχομένου και ελευρωπαϊνης, περιλαμβάνει και την επίδραση των συνθηκών κατεργασίας σε μετρήσεις δευτερευόντων μεγεθών, δηλαδή αντιοξειδωτικής δράσης, χρώματος, σκληρότητας και οργανοληπτικής αρέσκειας. Από αυτήν εξάγονται οι βέλτιστες συνθήκες επεξεργασίας, οι οποίες είναι κοινές με αυτές της χημικής αποπίκρασης, εφόσον η προεπεξεργασία προηγείται της κατεργασίας με NaOH. Στη δεύτερη, επιλέγεται η καλύτερη συγκέντρωση καυστικού νατρίου, βάσει του απαιτούμενου χρόνου για αποπίκραση, σε ελιές επεξεργασμένες με μη θερμικές μεθόδους, ενώ μελετάται και η επιρροή της επεξεργασίας στο χρώμα και την υφή της ελιάς. Τέλος στην τρίτη φάση, μελετάται η πορεία της ζύμωσης, μέσω μετρήσεων μικροβιολογικού φορτίου και pH και δευτερευόντως, χρώματος, σκληρότητας και αλατότητας.

Η χρησιμότητα του κινητικού πειράματος της πρώτης φάσης αφορά καθαρά στην ποσοτικοποίηση της ταχύτητας αποπίκρασης και στη σύγκριση των μη θερμικών μεθόδων με τη συμβατική. Παρόλα αυτά, αξίζει να αναφέρουμε πως μεγάλο ρόλο στη συνολική διεργασία παίζει η επίδραση της προεπεξεργασίας στην ακολουθούμενη ζύμωση, καθώς από αυτήν εξαρτάται η βιωσιμότητα του προϊόντος. Δηλαδή, το να μελετήσουμε αν αξίζει μια επένδυση σε μια τέτοια τεχνολογία, δεν επηρεάζεται τόσο από το πόσο γρήγορα παραλαμβάνουμε αποπικραμένη ελιά, αλλά τελικό προϊόν ζύμωσης.

## 1.1 Η ελιά ως καρπός

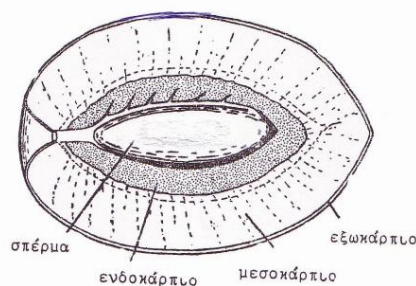
Η ελιά αποτελεί ένα από τα σπουδαιότερα αγροτικά προϊόντα της μεσογειακής διατροφής και παράλληλα κατέχει βαθιά συμβολικό ρόλο, ως καρπός συνυφασμένος με τον αρχαιοελληνικό πολιτισμό. Το ελαιόδεντρο έχει τις ρίζες του στη Μεσογειακή περιοχή, την

τροπική και κεντρική Ασία και ορισμένες περιοχές της Αφρικής και αποτελεί μια από τις αρχαιότερες τροφές γνωστές στον άνθρωπο. Η ελιά ανήκει στο γένος *Olea*, ένα γένος με ευρεία ποικιλία ειδών, με επικρατέστερο το *Olea europaea sativa*. Πλέον, πάνω από το 90% της παγκόσμιας συγκομιδής ελιάς προέρχεται από τη Μεσόγειο με κύριες χώρες την Ιταλία, την Ισπανία και την Ελλάδα. Πέρα από παγκόσμιο σύμβολο αγνότητας, νίκης και ειρήνης, η ελιά μαζί με το ελαιόλαδο αποτελούσαν και εξακολουθούν να αποτελούν χαρακτηριστικά τρόφιμα που συναντώνται συχνότατα στα Ελληνικά νοικοκυριά. (Therios, 2005)

### 1.1.1 Δομή

Η ελιά ανήκει στην κατηγορία των δρυπών, χαρακτηριστικό γνώρισμα των οποίων είναι τα τρία επιμέρους τμήματα που συγκροτούν τον καρπό της:

- Επικάρπιο
- Μεσοκάρπιο
- Ενδοκάρπιο



Εικόνα 1 Σχηματική απεικόνιση δομής ελιάς (Σαράντου, 2008)

Το επικάρπιο, δηλαδή ο εξωτερικός προστατευτικός ιστός (φλούδα) αποτελεί το 1-3% του βάρους του καρπού. Η επιδερμίδα είναι πράσινη στα πρώιμα στάδια ωρίμανσης και μεταβάλλει το χρώμα της σε αποχρώσεις του κίτρινου, ιώδους και μαύρου, ανάλογα με τις εκάστοτε συγκεντρώσεις σε ανθοκυανίνες και καροτενοειδή. Χαρακτηριστικό του επικαρπίου είναι η μικρή διαπερατότητα σε νερό, γεγονός που δυσχεραίνει τη συμβατική επεξεργασία της ελιάς.

Το μεσοκάρπιο, δηλαδή η σάρκα αντιπροσωπεύει το 70-80% του καρπού και όντας το βρώσιμο τμήμα του, είναι το πιο σημαντικό. Στις πράσινες ελιές, η σάρκα έχει υγρασία 70-75% και περιεκτικότητα σε έλαια 14-15%. Το χαμηλό αυτό ποσοστό είναι επιθυμητό στις ελιές που προορίζονται για επιτραπέζια κατανάλωση.

Το ενδοκάρπιο (κουκούτσι) αποτελεί το 10-27% του βάρους της ελιάς και αποτελείται από το χαρακτηριστικό ξυλώδες περίβλημα και το ενδοσπέρμιο (2-4%). Βασικά τεχνολογικά χαρακτηριστικά αποτελούν το μέγεθος και το βάρος του ενδοκαρπίου, καθώς και η αποκολλησιμότητά του από τη σάρκα. (Therios, 2005)

### 1.1.2 Σύσταση

Είναι προφανές πως η σύσταση της ελιάς ποικίλει ανάλογα με το είδος, την προέλευση και τον βαθμό ωρίμανσης, παρόλα αυτά, δεν αποκλίνει σημαντικά από τη μέση προβλεπόμενη σύσταση.

Πίνακας 1 Περιεκτικότητα ελιάς σε κύρια συστατικά (Theios, 2005)

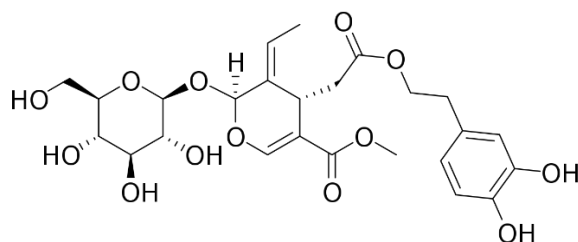
<b>Συστατικό</b>	<b>Βάρος (%)</b>
Υγρασία	50-75
Λιπαρές Ουσίες	10-30
Αναγωγικά Σάκχαρα	2-6
Μη Αναγωγικά Σάκχαρα	0,1-0,3
Πρωτεΐνες	1-2
Ίνες	1-4
Φαινόλες	1-3
Οργανικά Οξέα	0,5-1
Πηκτίνες	0,3-0,6
Μέταλλα	0,6-1
Άλλα	3-7

Οι λιπαρές ουσίες συναντώνται στην ελιά κυρίως υπό τη μορφή τριγλυκεριδίων (98%), αλλά και ως διγλυκερίδια, ελεύθερα λιπαρά οξέα, φωσφολιπίδια και γαλακτολιπίδια. Η ελιά περιέχει επίσης ποσότητες οξαλικού, σουκινικού, μηλικού και κιτρικού οξέος. Από πρωτεϊνικής άποψης, παρά τη μικρή περιεκτικότητα, 15-17 από τα κυριότερα αμινοξέα, μετέχουν στη δόμηση του μορίου της πρωτεΐνης στη σάρκα της ελιάς, ενώ μεταξύ αυτών περιέχονται σε ικανές ποσότητες τα βασικά αμινοξέα για την ανθρώπινη διατροφή. Όσον αφορά στα διαλυτά σάκχαρα, περιέχει μεταξύ άλλων γλυκόζη, φρουκτόζη, σακχαρόζη και μαννιτόλη, και φυτικούς πολυσακχαρίτες όπως η ημικυτταρίνη, η κυτταρίνη, η πηκτίνη και η λιγνίνη, η περιεκτικότητα των οποίων ελαττώνεται με την ωρίμανση. Οι πολυσακχαρίτες ημικυτταρίνη και κυτταρίνη αποτελούν δομικά στοιχεία του κυτταρικού τοιχώματος και συνεισφέρουν στη σύνθεση της σάρκας και κατά συνέπεια στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του ελαιόκαρπου. Οι περιεχόμενες πρωτεΐνες και σάκχαρα, πέρα από θρεπτικά συστατικά για τον άνθρωπο, αποτελούν καλά υποστρώματα για ανάπτυξη γαλακτικών βακτηρίων, που είναι και το ζητούμενο στα πλαίσια της ζύμωσης. Οι περιεχόμενες πηκτίνες περιβάλλουν τα κύτταρα και η υδρόλυσή τους, η οποία προκύπτει από τη δράση των πηκτινολυτικών ενζύμων, είναι υπεύθυνη για τη μεταβολή της υφής κατά την επεξεργασία. Τα κύρια μέταλλα που απαντώνται στην ελιά σε δεσμευμένη μορφή είναι ο σίδηρος, ο φωσφόρος, ο ψευδάργυρος, το ασβέστιο, το μαγνήσιο και ο χαλκός. Παράλληλα, περιέχονται πληθώρα φαινολικών ενώσεων, με επικρατέστερη την ελευρωπαΐνη, εκείνη δηλαδή την ουσία στην οποία αποδίδεται η πικρή γεύση της ελιάς και η οποία δεν συναντάται σε κανέναν άλλο καρπό. Άλλες φαινολικές ουσίες που συναντώνται στην ελιά είναι η τυροσόλη, το καφεϊκό οξύ, η υδροξυτυροσόλη και η διμεθυλο- ελευρωπαΐνη. (Theios, 2005; Μπαλατσούρας, 1995).

### 1.1.3 Ελευρωπαΐνη

Η αποπίκραση αποτελεί τον θεμελιώδη διεργασία στην παρασκευή επιτραπέζιας ελιάς και ισοδυναμεί με την απομάκρυνση ή και κατανάλωση της ελευρωπαΐνης. Πρόκειται για μια

οργανική ένωση κάτω από την ομπρέλα των φαινολικών ουσιών και συγκεκριμένα των πολυφαινολών, η οποία έχει την παρακάτω μορφή:



Εικόνα 2 Συντακτικός τύπος ελευρωπαΐνης

Γενικότερα, στην κατηγορία των φαινολικών ουσιών ανήκουν όλες οι ενώσεις που φέρουν υδροξυλιωμένο αρωματικό δακτύλιο. Αποτελούν βιοδραστικά συστατικά με έντονη αντιοξειδωτική δράση και έχουν την τάση να απαντώνται πολύ συχνά σε φυτικούς ιστούς υπό τη μορφή φαινολικών οξέων, φλαβονοειδών, ταννινών, λιγνινών κ.α. (McMurry, 2017; Therios, 2005). Η ελευρωπαΐνη είναι πολική, επομένως υδατοδιαλυτή και έτσι συνεκχυλίζεται από τη σάρκα της ελιάς κατά την παραμονή στην άλμη. Επίσης, είναι παρούσα σε όλο το ελαιόδεντρο και κυρίως στα φύλλα του. Η πικρή γεύση που προκαλεί, οφείλεται στους 1,2 εστερικούς δεσμούς που φέρει στο μόριό της. Για αυτό το λόγο, σε παγκόσμιο επίπεδο, βιομηχανικά συνηθίζεται η προσθήκη διαλύματος αλκάλεως για την υδρόλυση αυτών των δεσμών. (Μπαλατσούρας, 1995).

## 1.2 Η ελιά ως τρόφιμο

Ο ελαιόκαρπος αποτελεί τη μόνη δρύπη που, λόγω της ελευρωπαΐνης δεν έχει γλυκιά γεύση, αλλά έντονα πικρή, σε σημείο που δεν δύναται να καταναλωθεί χωρίς επεξεργασία.

Πέρα από το παράγωγο της ελιάς, το ελαιόλαδο, αυτή μπορεί να καταλήξει στον καταναλωτή και ως επιτραπέζια, δηλαδή βρώσιμη. Οι επιτραπέζιες ελιές προσφέρονται στις εξής διαφορετικές μορφές εμπορίας: (ΙΟΟC, 2004)

- Ολόκληρες
- Εκπυρηνωμένες
- Γεμιστές
- Ελιές σαλάτα
- Ελιές με κάπαρη
- Πάστα
- Άλλες, ανάλογα με τα πρόσθετα αρτύματα και καρυκεύματα

Η παρούσα εργασία αφορά την επεξεργασία ολόκληρης ελιάς που προορίζεται για επιτραπέζια χρήση.

### 1.2.1 Επιτραπέζια ελιά

Σύμφωνα με το Διεθνές Συμβούλιο Ελαιόλαδου, ως επιτραπέζια ελιά ορίζεται το προϊόν το οποίο προέρχεται από υγιείς καρπούς καθορισμένων ποικιλιών του καλλιεργούμενου ελαιόδεντρου (*Olea europaea L.*), οι οποίοι συγκομίζονται σε στάδιο κατάλληλης ωριμότητας

και ποιότητας, ώστε μετά από την απαιτούμενη επεξεργασία να δώσουν ένα καλά συντηρούμενο βρώσιμο προϊόν. Στην επεξεργασία αυτή μπορεί να προστεθούν διάφορα προϊόντα ή αρωματικές ύλες καλής ποιότητας. Κάθε μέθοδος επεξεργασίας στοχεύει κυρίως στην αποικοδόμηση της φαινολικής ένωσης «ελευρωπαΐνη» που προσδίδει πικρή γεύση στους καρπούς με αποτέλεσμα να καθιστά αδύνατη την άμεση κατανάλωσή τους. (ΙΟΟC, 2004)

Οι διεργασίες οι οποίες πραγματοποιούνται στοχεύουν στην παραλαβή βρώσιμης ελιάς, απαλλαγμένης από την πικρή γεύση, με βελτιωμένα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και μικροβιολογική σταθερότητα.

Ενδεικτικά, οι σημαντικότερες ποικιλίες επιτραπέζιας ελιάς είναι οι εξής:

- Κονσερβοελιά
- Καλαμών ή Νυχάτη
- Χονδροελιά ή Χαλκιδικής
- Μεγαρείτικη
- Θρουμποελιά
- Κοθρέϊκη- Μανάκι
- Ηγουμενίτσας
- Καρυδολιά

Η παρούσα εργασία αφορά επεξεργασία πράσινης κονσερβοελιάς, μερικά χαρακτηριστικά της οποίας παρατίθενται παρακάτω.

### 1.2.2 Κονσερβοελιά

Η κονσερβολιά (*Olea europaea media rotunda*) είναι το επικρατέστερο είδος επιτραπέζιας ελιάς στην Ελλάδα, κατέχοντας το μεγαλύτερο αριθμό ελαιόδεντρων και καλλιεργείται κυρίως στη Στερεά Ελλάδα. Η συγκομιδή τους ξεκινά τον Σεπτέμβριο και έχει περίοδο ωρίμανσης από τα μέσα Οκτωβρίου ως τα μέσα Δεκεμβρίου. (Therios, 2005)

Έχει στρογγυλό και ωοειδές σχήμα, παρουσιάζει μεγάλη αναλογία σάρκας προς πυρήνα και η σάρκα του αποκολλάται εύκολα από τον πυρήνα κατά την εκπυρήνωση ή τη μάσηση. Οι κύριοι εμπορικοί τύποι που παράγονται από τη συγκεκριμένη ποικιλία είναι οι:

- Πράσινη ελιά σε άλμη, η ζύμωση της οποίας διαρκεί 2,5-6 μήνες
- Φυσικά μαύρη ελιά σε άλμη, η ζύμωση της οποίας διαρκεί 3-9 μήνες

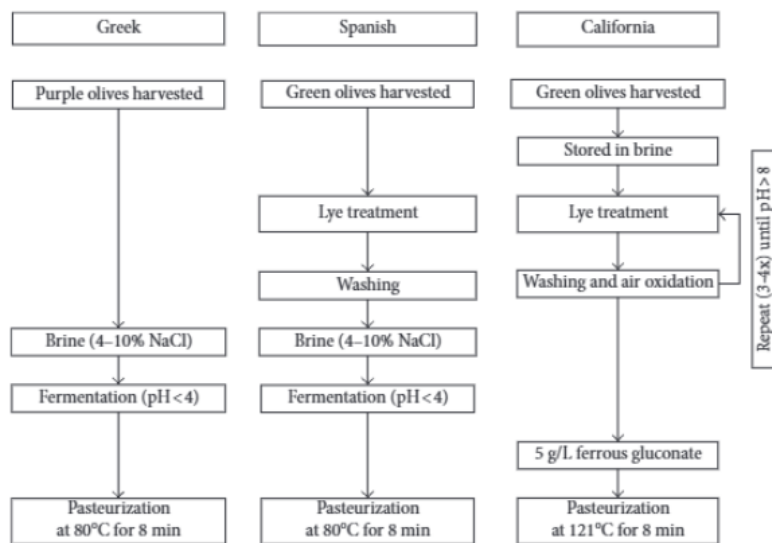
Γίνεται αντιληπτό πως οι ελιές της εν λόγω ποικιλίας προορίζονται μόνο για προϊόντα φυσικής ζύμωσης, η οποία λαμβάνει χώρα σε δεξαμενές ελεγχόμενων συνθηκών, χωρίς αλλαγή άλμης. Μετά το πέρας της ζύμωσης, οι ελιές διαλέγονται και ταξινομούνται βάσει μεγέθους και ακολουθεί η τυποποίηση και συσκευασία. Σε αντίθεση με τις μαύρες ελιές, μόνο το 30% των πράσινων ελιών οδηγείται στην κατανάλωση ως «ολόκληρη ελιά», ενώ οι υπόλοιπες εκπυρηνώνονται ή και γεμίζονται. Στην Ελλάδα, περίπου 80.000 τόνοι πρώτης ύλης μεταποιούνται ετησίως, καταλήγοντας σε 65.000 τόνους προϊόντος. (ΙΟΟC, 2004)

### 1.3 Αποπίκραση

Η απαλλαγή από την ελευρωπαΐνη, με σκοπό την ελάττωση ή και εξάλειψη της πικρής γεύσης της ελιάς, μπορεί να πραγματοποιηθεί με διάφορους τρόπους. Ανεξαρτήτου ποικιλίας, οι τρεις συνηθέστερες μέθοδοι είναι οι παρακάτω:

- Ελληνικού τύπου
- Ισπανικού τύπου
- Καλιφορνέζικου τύπου

Αυτές αφορούν καθαρά τη διεργασία της αποπίκρασης, καθώς κατά τη ζύμωση, όποια μέθοδος και να επιλεγεί, οι ελιές τελικά θα καταλήξουν σε διάλυμα άλμης. Οι διαφοροποιήσεις τους φαίνονται σχηματικά στο παρακάτω διάγραμμα ροής.

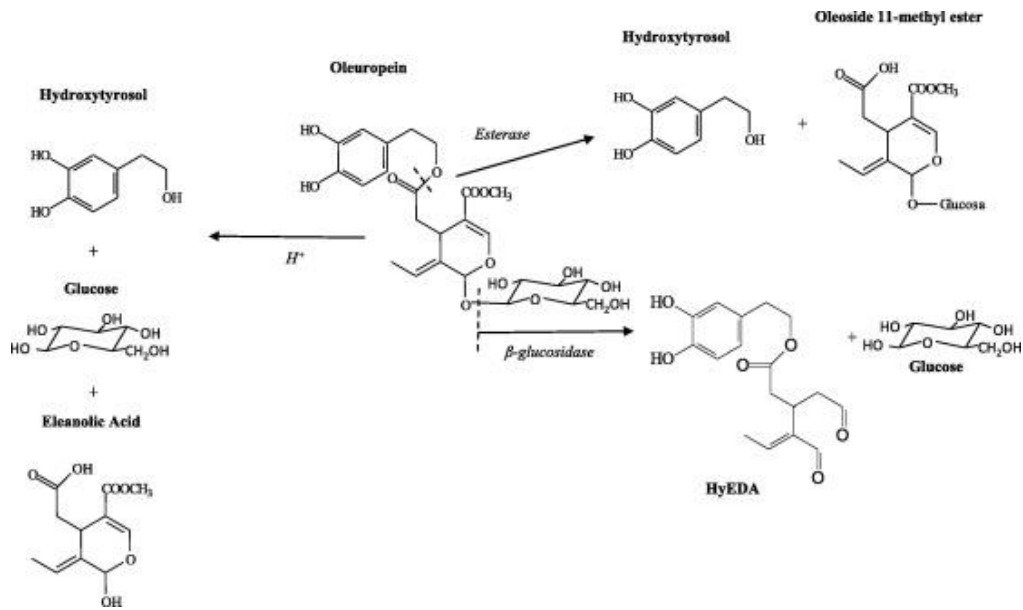


Εικόνα 3 Συγκριτική απεικόνιση των τριών διεργασιών (Johnson & Mitchell, 2018)

#### 1.3.1 Ελληνικού τύπου

Οι επιτραπέζιες ελιές Ελληνικού τύπου (Greek style) ή αλλιώς φυσικά ώριμες ελιές, αποτελούν το επικρατέστερο προϊόν ελιάς στη χώρα μας. Ύστερα από τη συγκομιδή τους στο στάδιο του πράσινου-ιώδους χρώματος, πλένονται, διαχωρίζονται βάσει μεγέθους και στη συνέχεια εμβαπτίζονται σε διάλυμα άλμης 6-10%. Η αποπίκραση επιτυγχάνεται μέσω της διάχυσης της ελευρωπαΐνης στην άλμη και μέσω της ενζυμικής της υδρόλυσης.





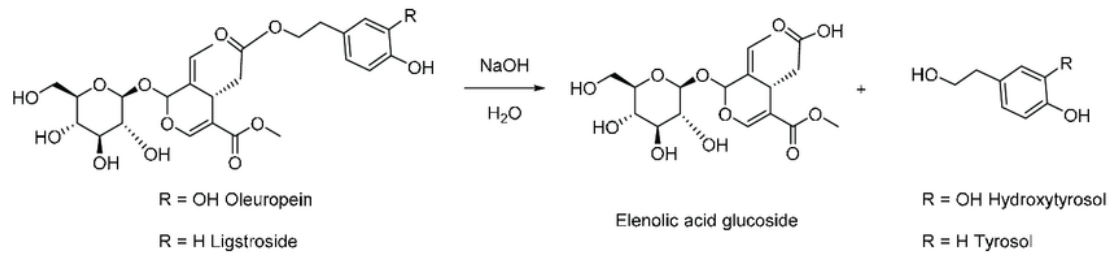
Εικόνα 4 Μηχανισμός ενζυμικής υδρόλυσης ελευρωπαΐνης (Ramírez, Brenes, García, Medina, & Romero, 2016)

Στο διάλυμα αυτό ξεκινά η ζύμωση λόγω του μεταβολισμού της αυτόχθονης χλωρίδας που προέρχεται από την επιφάνεια της πρώτης ύλης, τους ανθρώπινους χειρισμούς, το χρησιμοποιούμενο νερό και το χώρο παραγωγής. Σημαντικές μεταβλητές της διεργασίας αποτελούν η θερμοκρασία αποθήκευσης, η συγκέντρωση του άλατος, τα περιεχόμενα στελέχη μικροοργανισμών στην αρχή της ζύμωσης, αλλά και οι πρακτικές απολύμανσης. Αυτές οι μεταβλητές επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό την πορεία της ζύμωσης και συγκεκριμένα την ανάπτυξη γαλακτικών βακτηρίων, που την ελέγχουν. (Campus et al, 2018) Τα κύρια στελέχη γαλακτικών βακτηρίων που συναντώνται είναι οι *Lactobacillus plantarum* και *Lactobacillus pentosus*, οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για την παραγωγή οξέων, τα οποία μειώνουν το pH και καθιστούν βρώσιμο το τρόφιμο, έχοντας δημιουργήσει ένα αφιλόξενο περιβάλλον για τους παθογόνους μικροοργανισμούς. Πέρα από τα γαλακτικά βακτήρια, εμφανίζονται και ζύμες, οι οποίες, ανάλογα με το στέλεχος μπορούν να επηρεάσουν θετικά ή αρνητικά τη ζύμωση. Οι κύριες εξ αυτών είναι οι *Saccharomyces cerevisiae*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Candida boidinii*, οι οποίες παράγουν πτητικά συστατικά (αιθανόλη, ακεταλδευδη κλπ) και μεταβολίτες, οι οποίοι συμβάλλουν στη βελτίωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών και της συντήρησης. (Perpetuini, 2020)

Αυτή η τεχνική εφαρμόζεται κυρίως στις μαύρες ελιές, η ζύμωση των οποίων διαρκεί 8-12 μήνες. Αυτή λαμβάνει χώρα σε δεξαμενές υαλοβάμβακα με δυνατότητα ελέγχου pH και δειγματοληψίας, για μέτρηση αλατότητας και μικροβιακού περιεχομένου. Η περιεκτικότητα σε αλάτι στην άλμη μειώνεται σταδιακά, καθώς αυτό διαχέεται εντός της ελιάς. Επομένως, απαιτείται ο έλεγχός της ώστε να συμπληρώνεται η κατάλληλη ποσότητα άλατος, για να διατηρείται σταθερή η περιεκτικότητα. Το τελικό προϊόν συσκευάζεται σε σακούλα ή σε βάζο με οξινισμένη άλμη. (Campus et al, 2018; Cillidag, 2013). Λόγω της ηπιότητας αυτής της μεθόδου, το προκύπτον τρόφιμο έχει το μεγαλύτερο φαιολικό φορτίο εν συγκρίσει με τις άλλες μεθόδους, γεγονός που το καθιστά πιο θρεπτικό και ταυτόχρονα η παραγωγή του απαιτεί τη μικρότερη κατανάλωση νερού. Παρόλα αυτά, ο λόγος που δεν προτιμάται σε μεγάλη κλίμακα παγκοσμίως είναι η μεγάλη διάρκεια της αυθόρμητης αποπύκνωσης και ζύμωσης. (Johnson & Mitchell, 2018)

### 1.3.2 Ισπανικού Τύπου

Η αποπίκραση με τη χρήση αλκάλειας (Spanish style) αποτελεί την πιο διαδεδομένη μέθοδο παγκοσμίως και εφαρμόζεται κυρίως σε πράσινες ελιές. Αυτή η μέθοδος ονομάζεται και χημική αποπίκραση, καθώς δεν βασίζεται μόνο στην αύξηση της διαπερατότητας της επιδερμίδας της ελιάς, αλλά και στην υδρόλυση της ελευρωπαΐνης προς απλούστερες φαινολικές ενώσεις, όπως η τυροσόλη και η υδροξυτυροσόλη.



Εικόνα 5 Μηχανισμός χημικής υδρόλυσης ελευρωπαΐνης (Huertas-Alonso, 2022)

Οι ελιές συγκομίζονται όταν η επιδερμίδα του έχει αποκτήσει κίτρινο προς πράσινο χρώμα και στη συνέχεια εμβαπτίζονται σε διάλυμα καυστικού νατρίου 1,3-2,6%. Ο χρόνος παραμονής στο αλκαλικό διάλυμα κυμαίνεται στις 6-12 ώρες και εξαρτάται από τη χρησιμοποιούμενη συγκέντρωση, αλλά και από τη θερμοκρασία αποθήκευσης και την ποικιλία του ελαιόκαρπου. Μετά το πέρας του κατάλληλου χρόνου, ο οποίος σηματοδοτεί τη διείσδυση του αλκάλειου στα 2/3 της σάρκας, οι ελιές αφαιρούνται από το διάλυμα και ξεπλένονται, ενώ το διάλυμα δεν απορρίπτεται, αλλά επαναχρησιμοποιείται 5-7 φορές, καθώς η απόρριψή του θα προκαλούσε σημαντική περιβαλλοντική ρύπανση, λόγω του υψηλού αλκαλικού και φαινολικού φορτίου. Είναι σημαντικό, ο αριθμός των ξεπλυμάτων να είναι μικρός, για να μη χάνονται πολύτιμα θρεπτικά συστατικά και ταυτόχρονα για τον περιορισμό της σπατάλης νερού. (Campus et al, 2018; Therios, 2005) Συνήθως η διαδικασία της έκπλυσης περιλαμβάνει 3 πλυσίματα και ολοκληρώνεται μέσα σε 12-14 ώρες. Συγκεκριμένα, το πρώτο πλύσιμο, που λέγεται και ξέπλυμα, είναι πολύ σύντομο και έχει ως στόχο να παρασύρει το NaOH από την εξωτερική επιφάνεια του καρπού και να αντιστρέψει την πορεία της διάχυσης από το ενδοκάρπιο προς την επιδερμίδα του καρπού. Ακολουθούν το δεύτερο πλύσιμο που διαρκεί 2 ώρες και το τρίτο που διαρκεί 10-12 ώρες.

Παράλληλα, είναι επιθυμητό να μην απωλεστεί όλη η ποσότητα του καυστικού νατρίου από τη σάρκα, ώστε να αντιδράσει με το σχηματιζόμενο γαλακτικό οξύ, παράγοντας γαλακτικό νάτριο. Οι δύο αυτές ενώσεις εξασφαλίζουν στην άλμη ρυθμιστική ικανότητα που είναι απαραίτητη, καθώς ευνοεί την ανάπτυξη των γαλακτικών βακτηρίων και παράλληλα βελτιώνει τις οργανοληπτικές ιδιότητες του τελικού προϊόντος (Μπαλατσούρας, 1995). Μετά το πέρας των εκπλύσεων, οι ελιές μεταφέρονται σε δεξαμενές, ώστε να ζυμωθούν σε άλμη. Στα πρώτα στάδια της γαλακτικής ζύμωσης, επικρατούν τα Gram (-) βακτήρια στην άλμη. Παρόλα αυτά, λόγω αυξανόμενης ποσότητας γαλακτικού οξέος, αυξάνεται η οξύτητα, με αποτέλεσμα την εξάλειψη των παραπάνω βακτηρίων. Η ζύμωση λαμβάνει χώρα σε ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκρασίας, pH, οξύτητας, αλατότητας και μικροβιακού φορτίου, εντός ειδικών δεξαμενών και διαρκεί 1-7 μήνες, λιγότερο από τη φυσική ζύμωση, καθώς η

παρουσία του NaOH επιταχύνει τη διάχυση συστατικών. Παράλληλα, κατά τη ζύμωση, η ύπαρξη του NaOH αλλάζει τους παρόντες βακτηριακούς πληθυσμούς στην επιφάνεια της ελιάς και στην άλμη, επομένως ένα υψηλό pH μπορεί να καταστεί εμπόδιο στην ανάπτυξη της επιθυμητής χλωρίδας. Παρόλα αυτά, οι εμφανιζόμενες αποικίες δεν διαφέρουν από αυτές των ελιών ελληνικού τύπου.

Οι ελιές που υφίστανται επεξεργασία ισπανικού τύπου δεν απαιτείται να αποστειρωθούν, αλλά μπορούν να παστεριωθούν στους 80°C για 8 λεπτά. Το τελικό προϊόν πρέπει να έχει οξύτητα 0.7-1% (εκφρασμένο ως γαλακτικό οξύ), pH 3.8-4 και αλατότητα 5-6%. (Cillidag, 2013; Johnson & Mitchell, 2018)

### 1.3.3 Καλιφορνέζικου Τύπου

Γνωστές και ως τεχνητώς μαύρες ελιές, παρομοιάζουν τις ελιές ισπανικού τύπου, δεδομένου ότι κατεργάζονται επίσης με καυστικό νάτριο. Η βασική διαφορά της διεργασίας έγκειται στο οξειδωτικό μαύρισμα των ελιών. Αποτελεί ταυτόχρονα, την πιο σύγχρονη από τις ευρέως χρησιμοποιούμενες τεχνικές αποπίκρασης, καθώς απαιτεί εξειδικευμένο εξοπλισμό. Παράλληλα, ακολουθούμενη από την τεχνική των ελιών ισπανικού τύπου, αποτελεί τη διεργασία με τη μεγαλύτερη κατανάλωση νερού, λόγω της χρήσης NaOH, πέρα από την άλμη, καθώς και λόγω των απαιτούμενων εκπλύσεων.

Ύστερα από τη συγκομιδή τους σε κίτρινο ή πράσινο χρώμα και το διαχωρισμό τους βάσει μεγέθους, οι ελιές διατηρούνται σε πρώτη φάση σε άλμη 4-6%. Αυτή, συχνά εμπλουτίζεται με οξικό οξύ για την αποφυγή ανάπτυξης αλκαλόφιλων μικροοργανισμών και με χλωριούχο ασβέστιο για την αποφυγή μαλακής υφής. Στη φάση της αποπίκρασης, οι ελιές μεταφέρονται σε ειδικές οριζόντιες και κυλινδρικές δεξαμενές, οι οποίες κατέχουν δυνατότητα αερισμού. Η διάταξη πρέπει να επιτρέπει την επαφή του τροφίμου εξίσου με το καυστικό νάτριο και τον διοχετευόμενο πεπιεσμένο αέρα. (Cillidag, 2013)

Βασική ιδιαιτερότητα αυτής της μεθόδου αποτελεί η απουσία ζύμωσης, η οποία αντικαθίσταται από μια σειρά διαδοχικών εμβαπτίσεων (3-5) σε NaOH, για μερικές ώρες η καθεμία. Μεταξύ των εμβαπτίσεων παρεμβάλλεται η μεταφορά των ελιών σε αεριζόμενες δεξαμενές με νερό, αποσκοπώντας στην ταυτόχρονη έκπλυση και οξείδωση της σάρκας τους. Έτσι, η αποπίκραση επιτυγχάνεται με τον ίδιο μηχανισμό με τις ελιές ισπανικού τύπου, αλλά με αυτή τη μέθοδο παραλαμβάνουμε οξειδωμένη σάρκα. Συγκεκριμένα, η απόκτηση σκούρας απόχρωσης οφείλεται στην οξείδωση της υδροξυτυροσόλης και του καφεϊκού οξέος προς τις αντίστοιχες κινόνες.

Η αποπίκραση θεωρείται λήξασα όταν το υδροξείδιο του νατρίου έχει διεισδύσει πλήρως στη σάρκα της -σκουρόχρωμης πλέον- ελιάς. Τελικά, προστίθεται γλυκονικός σίδηρος, ο οποίος συμπλοκοποιείται με την υδροξυτυροσόλη, δίνοντας το επιθυμητό μαύρο χρώμα. Πέρα από το χαμηλότερο φαινολικό φορτίο συγκριτικά με τις άλλες μεθόδους, το τελικό προϊόν χαρακτηρίζεται ως το πιο αδύναμο οργανοληπτικά. Συσκευάζεται σε βάζα ή σακούλες με άλμη ή ξύδι και έχει pH στην περιοχή 5,8-7,9, γεγονός που το καθιστά ευπαθές σε παθογόνους μικροοργανισμούς. Για την αποφυγή ανάπτυξης αυτών, οι τεχνητώς μαύρες ελιές απαιτείται να αποστειρωθούν στους 121,1 °C για 50 λεπτά. Παρόλα αυτά, μια τέτοια θερμοκρασία είναι υπεύθυνη για την ενδεχόμενη παραγωγή της καρκινογόνου ουσίας ακρυλαμίδιου στην ελιά. (Johnson & Mitchell, 2018)

Τα παραπάνω, παρατίθενται συνοπτικά στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 2 Συγκριτικός Πίνακας μεθόδων αποπίκρασης (Johnson & Mitchell, 2018)

Μέθοδος	Greek	Spanish	Californian
Χρώμα Συγκομιδής Νωπού	Ιώδες	Πράσινο	Πράσινο
Μηχανισμός Αποπίκρασης	Διάχυση	Διάχυση + Αλκαλική Υδρόλυση	Αλκαλική Υδρόλυση
Χρόνος Αποπίκρασης	6-12 μήνες	1-7 μήνες	1 εβδομάδα
Τελικό pH	~4	~4	5,8-7,9
Τελικό Χρώμα	Ιώδες ή Καστανό	Πράσινο ή Κίτρινο	Μαύρο
Γεύση	Αλμυρή, όξινη και ζυμωμένη	Αλμυρή, όξινη και ζυμωμένη	Σαπωνώδης και βουτυρώδης
Υγρά Απόβλητα (m <sup>3</sup> /tn olive)	0,9-1,9	3,9-7,5	8,0
Απαιτούμενη Παστερίωση	Όχι	Όχι	Ναι

Δεδομένου ότι οι ελιές Californian Style είναι οι λιγότερο θρεπτικές, οργανοληπτικά πιο υποβαθμισμένες και ταυτόχρονα απαιτούν τον πιο εξειδικευμένο εξοπλισμό, παράλληλα με μεγάλες ποσότητες αλκάλειας, η μέθοδος αυτή δεν θα εξεταστεί στην παρούσα εργασία. Παράλληλα, οι συμβατικές μέθοδοι Greek και Spanish Style, συνεχίζουν να έχουν ως βασικά μειονεκτήματα το μεγάλο χρόνο ζύμωσης και το μεγάλο φορτίο χημικών αποβλήτων, αντίστοιχα.

Μια λύση σε αυτό το πρόβλημα θα μπορούσαν να δώσουν οι εξεταζόμενες μη θερμικές μέθοδοι. Συγκεκριμένα, οι υπέρηχοι, η υπερυψηλή πίεση και τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία έχουν εκτενές έργο στη βιβλιογραφία, το οποίο αφορά στην υποβοηθούμενη εκχύλιση ενδοκυτταρικών ουσιών. Επομένως, υποψιαζόμαστε πως οι μέθοδοι αυτοί δύναται να εφαρμοστούν ως προεπεξεργασία στη συνολική διεργασία παραγωγής επιτραπέζιας ελιάς, καθώς η καθεμία με τον τρόπο της, επιτυγχάνει διάρρηξη φυτικού ιστού.

## 2 Μη Θερμικές Μέθοδοι

Ο όρος «μη θερμικές μέθοδοι» αφορά τεχνικές επεξεργασίας τροφίμων, οι οποίες δεν βασίζονται στην πρόσδοση θερμότητας στο τρόφιμο, ανεξάρτητα από το γεγονός ότι η εκάστοτε επεξεργασία μπορεί να επιφέρει αύξηση της θερμοκρασίας του. Οι μη θερμικές μέθοδοι που θα εξεταστούν είναι η κατεργασία σε υπερήχους, η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης και παλμικών ηλεκτρικών πεδίων. Οι δύο τελευταίες, παρόλο που είναι καινοτόμες, έχουν μερική εφαρμογή στη βιομηχανία, παρά το μεγάλο κόστος του εξοπλισμού τους, σε αντίθεση με την τεχνολογία των υπερήχων, η οποία έχει παραμείνει σε ερευνητικό στάδιο. Αυτές οι τεχνικές εφαρμόζονται στο στάδιο της προεπεξεργασίας της πρώτης ύλης, με σκοπό τη διερεύνηση τυχόν επιτάχυνσης της αποπύκνωσης, συγκριτικά με δείγμα ανεπεξεργαστων ελιών.

### 2.1 Υπέρηχοι

Πρόκειται για μια ευρέως μελετημένη μέθοδο σε εργαστηριακή κλίμακα, η οποία έχει αποδειχτεί πως βελτιώνει τα φαινόμενα μεταφοράς μάζας ιστών που είναι εμβυπτισμένοι σε κάποιο διαλύτη. Αποτελεί μια κοινή διεργασία σε ερευνητικό επίπεδο, στον τομέα των τροφίμων, η οποία συναντάται ως UAE (Ultrasound- Assisted Extraction) δηλαδή, εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπερήχους. Παρόλη την κατανάλωση ρεύματος που απαιτεί, χαρακτηρίζεται ως πράσινη διεργασία, καθώς δύναται να αντικαταστήσει μεθόδους συμβατικής εκχύλισης με ρυπογόνους διαλύτες, λόγω του μειωμένου χρόνου επεξεργασίας και ποσότητας διαλύτη που απαιτεί. Προσφέρει επίσης υψηλότερες αποδόσεις από τις συμβατικές μεθόδους, ενώ παράλληλα λαμβάνει χώρα σε χαμηλές θερμοκρασίες, αποφεύγοντας έτσι αλλοιώσεις λόγω θέρμανσης στο επεξεργαζόμενο τρόφιμο.

#### 2.1.1 Αρχή Λειτουργίας

Οι υπέρηχοι αποτελούν μηχανικά κύματα υψηλότερης συχνότητας από αυτή που είναι αντιληπτή από το ανθρώπινο αυτί (20Hz-20kHz), τα οποία, μέσω κάποιου διαλύτη, διαδίδονται μέσα σε κάποιο προς εκχύλιση στερεό.

Η αρχή των υπερήχων αποδίδεται σε ένα περίπλοκο μη γραμμικό φαινόμενο που ονομάζεται ακουστική σπηλαίωση. Κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας, όταν ένα υπερηχητικό κύμα συναντά ένα υγρό μέσο, παράγονται διαμήκη κύματα, σχηματίζοντας έτσι περιοχές εναλλασσόμενων κυμάτων αδιαβατικής συμπίεσης και εκτόνωσης που επάγονται στα μόρια του μέσου. Η διαδικασία της διαστολής δημιουργεί φυσαλίδες στο υγρό και παράγει αρνητική πίεση, η οποία μπορεί να φτάσει σε τοπική πίεση μέχρι και τα 50 MPa και έντονη θέρμανση, καθώς επίσης διαρκεί λίγα δευτερόλεπτα. 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. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αυξημένη διείσδυση του διαλύτη στα κύτταρα και την αύξηση του ρυθμού της μεταφοράς μάζας. (Χανιώτη, 2019)

### 2.1.2 Παράμετροι Λειτουργίας

Η απόδοση της εκχύλισης υποβοηθούμενη με υπέρηχους επηρεάζεται από διάφορες παραμέτρους, όπως η ισχύς και η συχνότητα των υπερήχων, ο τύπος του χρησιμοποιούμενου εξοπλισμού, ο κύκλος λειτουργίας, ο χρόνος και η θερμοκρασία κατεργασίας, αλλά και το τρόφιμο και οι φυσικές ιδιότητες του διαλύτη.

#### 2.1.2.1 Συχνότητα

Οι χρησιμοποιούμενες συχνότητες κατεργασίας κυμαίνονται στα 20-120 kHz. Χαμηλότερες συχνότητες δημιουργούν μεγαλύτερες και λιγότερες φυσαλίδες, που ευνοούν τη βίαιη κατάρρευση των φυσαλίδων σπηλαίωσης με υψηλότερες τοπικές θερμοκρασίες και πιέσεις και υψηλότερες αποδόσεις. Οι μικρές και πολλές φυσαλίδες που παρατηρούνται κατά την εφαρμογή υψηλών συχνοτήτων, δημιουργούν μια στρώση που λειτουργεί ως αντίσταση στη μεταφορά μάζας. Επομένως, η επίδραση της συχνότητας είναι κάτι που σπάνια μελετάται, καθώς είθισται να χρησιμοποιείται χαμηλή τιμή της.

#### 2.1.2.2 Ισχύς

Η απόδοση της εκχύλισης αυξάνεται με αύξηση της ισχύος των υπερήχων, μέχρι ενός βέλτιστου και από εκεί και πέρα μειώνεται. Γενικά, η ισχύς έχει παρατηρηθεί πως είναι ανάλογη του μεγέθους των σχηματιζόμενων φυσαλίδων, άρα και της προκαλούμενης καταστροφής του ιστού που έχει ως αποτέλεσμα την αυξημένη εκχύλιση συστατικών. Όταν όμως η ισχύς αυξάνεται σημαντικά, αυξάνεται και ο αριθμός των φυσαλίδων, οι οποίες μάλιστα τείνουν να συσσωματώνονται. Έτσι, το στάσιμο στρώμα φυσαλίδων που συσσωρεύεται κοντά στο στέλεχος, εμποδίζει τη διάδοση των υπερηχητικών κυμάτων.

#### 2.1.2.3 Κύκλος Λειτουργίας

Σημαντική παράμετρο αποτελεί ο λόγος πραγματικού χρόνου επεξεργασίας προς το συνολικό. Οι εξοπλισμοί υπερήχων συνήθως διαθέτουν σύστημα ελέγχου, το οποίο δεν επιτρέπει τη διάδοση υπερήχων όταν το δείγμα υπερβεί κάποια θερμοκρασία, επομένως η επεξεργασία γίνεται παλμικά, δηλαδή με την παρεμβολή πολλαπλών νεκρών χρόνων εντός της διεργασίας. Αυτό έχει αποδειχθεί πως δεν επηρεάζει ιδιαίτερα την εκχυλισσιμότητα, αλλά εξοικονομεί σημαντικό ποσό ενέργειας και παράλληλα προστατεύει τον εξοπλισμό.

#### 2.1.2.4 Θερμοκρασία

Όσον αφορά στη θερμοκρασία, οι υψηλές τιμές της συμβάλλουν βελτίωση των ρυθμών διάχυσης του διαλύτη, ενώ οι χαμηλές θερμοκρασίες βελτιώνουν τη σπηλαίωση. Επομένως, η εξάρτηση απόδοσης από τη θερμοκρασία παρουσιάζει παρόμοια συμπεριφορά με την εξάρτηση με την ισχύ.

Πέρα από την αύξηση θερμοκρασίας που σημειώνεται κατά την κατεργασία με υπερήχους, η επίδραση της θερμοκρασίας έχει νόημα μελέτης σε ορισμένες συσκευές που διαθέτουν δυνατότητα ρύθμισης της θερμοκρασίας, με τη βοήθεια ψυκτικού ή θερμαντικού νερού.

#### 2.1.2.5 Χρόνος Επεξεργασίας

Ο μεγάλος χρόνος εκχύλισης βελτιώνει τις αποδόσεις εκχύλισης, καθώς ο ιστός ολοένα και ενυδατώνεται, διογκώνεται και σχηματίζει πόρους, οπότε επιτρέπει τη μεγαλύτερη απώλεια συστατικών. Όμως ο πολύ αυξημένος χρόνος εκχύλισης μπορεί να προκαλέσει δομικές αλλαγές στην εκχυλιζόμενη ένωση, μειώνοντας την απόδοση μετρούμενη ως προς αυτήν.

#### 2.1.2.6 Διαλύτης

Η φύση του διαλύτη έχει επιρροή στο φαινόμενο ως εξής: ένας πτητικός διαλύτης μπορεί να εξατμιστεί, εάν η εκχύλιση πραγματοποιείται σε υψηλότερη θερμοκρασία για μεγάλο χρονικό διάστημα, ενώ ένας βαρύτερος διαλύτης μειώνει τη σπηλαίωση.

#### 2.1.2.7 Λόγος υγρού-στερεού

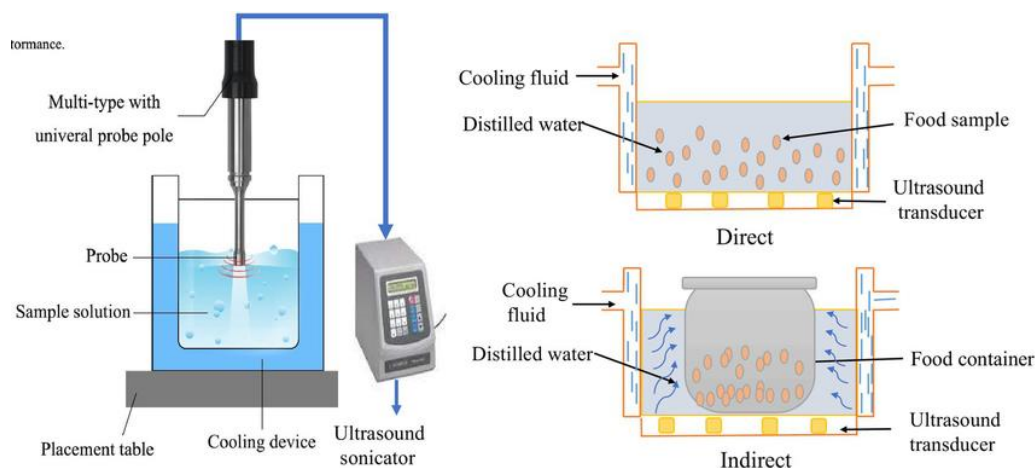
Τέλος, καθοριστικό παράγοντα αποτελεί ο λόγος υγρού-στερεού, δηλαδή η ποσότητα διαλύτη προς την ποσότητα του προς εκχύλιση τροφίμου. Με αύξηση του LSR (liquid solid ratio) η συγκέντρωση του μέσου εκχύλισης μειώνεται, με αποτέλεσμα την αποτελεσματικότερη σπηλαίωση. Από μία τιμή του LSR και έπειτα, η απόδοση της εκχύλισης μειώνεται, λόγω της αδυναμίας διάδοσης της ηχητικής ενέργειας σε όλο τον όγκο ελέγχου. (Χανιώτη, 2019; Kumar K. , 2021)

### 2.1.3 Εξοπλισμός

Τα συστήματα υπερήχων αποτελούνται από ένα μετατροπέα που μετατρέπει την ηλεκτρική ενέργεια σε ηχητική ενέργεια, παράγοντας υπερήχους, δηλαδή προκαλώντας μηχανικές δονήσεις στις υπερηχητικές συχνότητες. Ο παραγόμενος υπέρηχος ακτινοβολείται από τον πομπό, ο οποίος επίσης αποκαλείται αντιδραστήρας, ενισχύοντας τα κύματα. Η τεχνολογία των υπερήχων συναντάται σε δύο τύπους συσκευών: τύπου λουτρού και τύπου στελέχους. Και στις δύο, σκοπός είναι η ικανοποιητική διάρρηξη των κυτταρικών τοιχωμάτων και η επαρκής μεταφορά μάζας, που θεωρούνται ως οι δύο βασικοί παράγοντες που οδηγούν στην ενίσχυση της απόδοσης της εκχύλισης με τη βοήθεια των υπερήχων.

Σε εργαστηριακή κλίμακα, ο συνηθέστερος εξοπλισμός είναι το λουτρό των υπερήχων, το οποίο έχει χαμηλό κόστος εφαρμογής και χρησιμοποιείται για τη διασπορά στερεών σε διαλύτη και για την κατεργασία με υπέρηχους υγρών δειγμάτων σε δοχεία με εμβάπτιση τους στο λουτρό. Ωστόσο, παρουσιάζει ορισμένα μειονεκτήματα όπως η μειωμένη ισχύς με την πάροδο του χρόνου, η έλλειψη ομοιομορφίας στην κατανομή των υπερήχων και η μείωση της επαναληψιμότητας των πειραμάτων.

Για μικρότερους όγκους, χρησιμοποιούνται συσκευές κλειστού τύπου εξοπλισμένοι με έναν αισθητήρα μετατροπής υπερήχων και θεωρούνται πιο ισχυροί, καθώς η ένταση των υπερήχων εκπέμπεται από μία μικρή επιφάνεια όπου το στέλεχος βυθίζεται απευθείας στη φιάλη, αποφεύγοντας την εξασθένηση. Επομένως, αυτές προτιμώνται για εκχύλιση βιοδραστικών συστατικών. Αύξηση της διαμέτρου του στελέχους, ισοδυναμεί με ασθενέστερη σπηλαίωση, αλλά και ικανότητα διάδοσης των υπερηχητικών κυμάτων σε μεγαλύτερο εύρος. (Kumar K. , 2021; Χανιώτη, 2019)



Εικόνα 6 Αναπαράσταση τύπων συσκευών υπερήχων: αριστερά, άμεσης επαφής στελέχους και δεξιά, λουτρό υπερήχων (άμεσο και έμμεσο) (Kumar, et al., 2022)

#### 2.1.4 Εφαρμογές

Παρόλο που πρόκειται για μια πολλά υποσχόμενη μέθοδο, η βιομηχανία τροφίμων δεν έχει ενσωματώσει την τεχνολογία των υπερήχων στις εναλλακτικές μεθόδους εκχύλισης, λόγω υψηλής κατανάλωσης ενέργειας, δεδομένου του μεγάλου χρόνου επεξεργασίας που απαιτεί. Παρόλα αυτά, σε ερευνητικό επίπεδο, συσκευές υπερήχων μικρής κλίμακας έχουν χρησιμοποιηθεί ευρύτατα, με μερικές από τις εφαρμογές να φαίνονται παρακάτω:

Πίνακας 3 Παραδείγματα ερευνητικών χρήσεων υπερήχων

Βιβλιογραφία	Τρόφιμο	Αντικείμενο
Yoo et al. (2018)	Χρησιμοποιημένος καφές	Αύξηση της απόδοσης σε φλαβονοειδή
Dranca & Oroian (2016)	Φλοιός μελιτζάνας	Αύξηση ανακτώμενων φαινολικών συστατικών και ανθοκυανινών
Herrera & de Castro (2005)	Φράουλα	Αύξηση ανακτώμενων φαινολικών συστατικών
Cheok et al. (2013)	Μανγκοστίν	Αύξηση ανακτώμενων φαινολικών συστατικών και ανθοκυανινών
Grassino et al. (2016)	Παραπροϊόντα τομάτας	Αύξηση της απόδοσης σε πηκτίνη και μείωση του χρόνου εκχύλισης
Eh & Teoh (2008)	Παραπροϊόντα τομάτας	Αύξηση της απόδοσης σε λυκοπένιο
Hu et al. (2019)	Κελύφη γαρίδας	Αύξηση της απόδοσης σε ασταξανθίνη
Chanioti et al. (2017)	Ελαιόπαστα	Αύξηση ανακτώμενου πυρηνέλαιου και φαινολικών συστατικών
Goldsmith et al. (2017)	Ελαιόπαστα	Αύξηση ανακτώμενων φαινολικών συστατικών
Habibi et al. (2015)	Επιτραπέζια ελιά	Μείωση χρόνου χημικής αποπίκρασης



## 2.2 Υπερυψηλή Πίεση

Η τεχνολογία της Υπερυψηλής Πίεσης (High Pressure Processing- HPP) αποτελεί μια καινοτόμο διεργασία η οποία δύναται να αντικαταστήσει κατεστημένες θερμικές μεθόδους επεξεργασίας, αλλά και να επιταχύνει άλλες παραδοσιακές μη θερμικές μεθόδους. Πέρα από την εκτενή ερευνητική της εφαρμογή, η τεχνολογία αυτή έχει περάσει το φράγμα της εργαστηριακής και πιλοτικής μονάδας καθώς πλέον εφαρμόζεται και βιομηχανικά για θερμοευαίσθητα τρόφιμα που δεν δύναται να παστεριωθούν θερμικά. Στην Ελλάδα, η τεχνολογία αυτή χρησιμοποιείται για αυτό το λόγο στη βιομηχανία αλλαντικών, ενώ σε παγκόσμιο επίπεδο προτιμάται και για παστερίωση χυμών, έναντι της συμβατικής θερμικής.

Γνωστή και ως Υψηλή Υδροστατική Πίεση (ΥΥΠ), η παρούσα τεχνολογία, η οποία είναι γνωστή για την ικανότητα απενεργοποίησης μικροοργανισμών, έχει στρέψει το ερευνητικό ενδιαφέρον στην υποβοηθούμενη εκχύλιση (High Hydrostatic Pressure Assisted Extraction- ΗΗΡΑΕ) η οποία μάλιστα προσφέρει μεγάλες αποδόσεις. Έχει παρατηρηθεί πως η επεξεργασία τροφίμων με τη μέθοδο αυτή μειώνει επίσης την ενζυμική ενεργότητα, χωρίς να προκαλεί αλλοιώσεις των οργανοληπτικών και θρεπτικών χαρακτηριστικών. Η απενεργοποίηση μικροοργανισμών και ενδογενών ενζύμων αποτελούν μηχανισμούς, μέσω των οποίων επιμηκύνεται η διατηρησιμότητα των τροφίμων. (Ανδρέου, 2020)

### 2.2.1 Αρχή Λειτουργίας

Η λειτουργία της διάταξης Υπερυψηλής Πίεσης βασίζεται στην άσκηση μεγάλης υδροστατικής πίεσης (100-1000 MPa), για συγκεκριμένο χρόνο και υπό ελεγχόμενη θερμοκρασία. Χαρακτηριστικό της υδροστατικής πίεσης αποτελεί η ισοστατική αρχή, βάσει της οποίας, η πίεση εντός του θαλάμου ασκείται ομοιόμορφα προς όλες τις κατευθύνσεις, ανεξάρτητα από τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά του επεξεργαζόμενου υλικού.

Η συμπίεση στην οποία υποβάλλεται το εκάστοτε τρόφιμο προκαλεί διάρρηξη των εξωτερικών τοιχωμάτων των κυττάρων του είτε πρόκειται για στερεό, είτε για υγρό τρόφιμο, εντός ή εκτός συσκευασίας, ενώ γίνεται αντιληπτό πως μεγαλύτερη συμπίεση ισοδυναμεί με εντονότερη κυτταρική διάρρηξη. Μπορεί να εφαρμοστεί σε όλα τα τρόφιμα, αρκεί να έχουν ικανό ποσοστό υγρασίας και να μην διαθέτουν εγκλωβισμένο αέρα.

Δεδομένου αυτού, όταν ένα τρόφιμο πρόκειται να υποβληθεί σε επεξεργασία με ΥΠ, δεν επιλέγεται η μέγιστη πίεση που μπορεί να ασκήσει η υφιστάμενη μονάδα, αλλά μια βέλτιστη. Πέρα από το αυξημένο κόστος εξοπλισμού και λειτουργίας, ο λόγος που συμβαίνει αυτό είναι η αποφυγή πρόκλησης ανεπιθύμητων αποτελεσμάτων στο τρόφιμο, όπως αλλοίωση χρώματος (πχ απώλεια αποδεκτού χρώματος, μαύρισμα) και υφής (πχ απώλεια τραγανότητας, μαλάκωμα), αλλά και απώλεια πολύτιμων συστατικών κατά τη διάρκεια και μετά την επεξεργασία. (Ανδρέου, 2020)

### 2.2.2 Παράμετροι Λειτουργίας

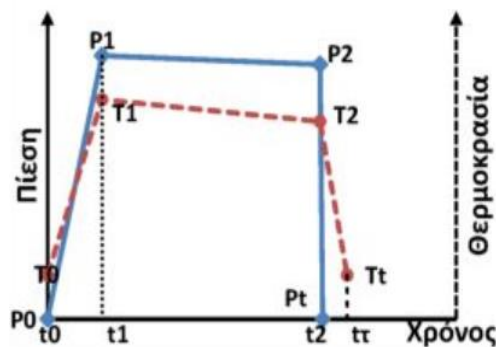
Πέρα από την προφανή επιρροή της πίεσης, της οποίας οι τιμές κυμαίνονται από 100-1000 MPa, παράπλευρο αλλά ταυτόχρονα βασικό ρόλο παίζουν η θερμοκρασία και ο χρόνος επεξεργασίας.

### 2.2.2.1 Θερμοκρασία

Κατά την κατεργασία με ΥΠ, το υπό συμπίεση σύστημα υφίσταται αδιαβατική θέρμανση. Έτσι, η θερμοκρασία αυξάνεται κατά 3-7°C για κάθε 100MPa συμπίεσης, μια τιμή που έχει αρνητική συσχέτιση με την περιεκτικότητα του σε νερό. Επομένως, πρόκειται για μια μέθοδο επεξεργασίας που χρησιμοποιεί χαμηλές θερμοκρασίες. Βέβαια, υπάρχουν περιπτώσεις που αφορούν καταστροφή θερμοανθεκτικών μικροοργανισμών και σπορίων, στις οποίες, η υπερυψηλή πίεση εφαρμόζεται συνδυαστικά με έντονη θέρμανση. (Ανδρέου, 2020)

### 2.2.2.2 Χρόνος Επεξεργασίας

Ο χρόνος έκθεσης σε υπερυψηλή πίεση μπορεί να κυμαίνεται από 1ms έως 30min, ενώ οι συνηθέστερες διάρκειες είναι 3-20min. Στον συνολικό χρόνο όμως συμπεριλαμβάνονται και οι χρόνοι ανύψωσης και πτώσης της πίεσης εντός του θαλάμου, οι οποίοι φαίνονται στο παρακάτω ποιοτικό διάγραμμα:



Εικόνα 7 Μεταβλητές της διεργασίας της ΥΠ (Αλεξανδράκης, 2015)

Όπου:

- $t_1-t_0$  ο απαιτούμενος χρόνος για να φτάσει το σύστημα στην επιθυμητή πίεση  $P_1$  από την ατμοσφαιρική  $P_0$  και  $T_1-T_0$  η διαφορά θερμοκρασίας που προκαλείται από την αδιαβατική θέρμανση.
- $t_2-t_1$  ο καθαρός χρόνος επεξεργασίας στην πίεση  $P_1$  ( $\approx P_2$ ) και  $T_2-T_1$  η σχεδόν αμελητέα πτώση θερμοκρασίας που οφείλεται στα φαινόμενα μεταφοράς θερμότητας.
- $t_\tau-t_2$  ο χρόνος αποσυμπίεσης στην ατμοσφαιρική πίεση  $P_t$  ( $= P_0$ ) και  $T_t-T_2$  η πτώση θερμοκρασίας λόγω εκτόνωσης. (Ανδρέου, 2020; Αλεξανδράκης, 2015)

### 2.2.3 Εξοπλισμός

Ένα τυπικό σύστημα υπερυψηλής πίεσης αποτελείται από τα εξής μέρη:

1. Θάλαμο ΥΠ (κάθετο ή οριζόντιο) στον οποίο εισάγεται το τρόφιμο. Το γνωστό και ως δοχείο πίεσης, είναι συνήθως κατασκευασμένο από χάλυβα ώστε να αντέχει υψηλή συμπίεση και να μην διαβρώνεται. Εντός αυτού βρίσκεται το υγρό μέσο διάδοσης της πίεσης, το οποίο συνήθως είναι νερό με μικρή περιεκτικότητα λαδιού (για λόγους λίπανσης και αντιδιάβρωσης). Το υγρό αυτό θέλουμε να έχει μικρή συμπιεστότητα, ώστε να καθιστά αποδοτική τη μετάδοση της πίεσης σε όλο τον όγκο του δοχείου.

- Μονάδα παραγωγής πίεσης, άμεσης, έμμεσης ή με θέρμανση του μέσου διάδοσης. Η άμεση συμπίεση πραγματοποιείται με τη βοήθεια εμβόλου, στη μικρότερη πλευρά του οποίου βρίσκεται το ρευστό τρόφιμο. Η μεγάλη πλευρά του εμβόλου είναι συνδεδεμένη με μια αντλία χαμηλής πίεσης, η οποία επιτρέπει τον πολλαπλασιασμό της, με αποτέλεσμα τη συμπίεση του τροφίμου.

Η ευρύτερα χρησιμοποιούμενη είναι η έμμεση, βάσει της οποίας, το μέσο διάδοσης (νερό ή γλυκόλη που έχουν χαμηλή συμπιεστότητα) αντλείται από μια δεξαμενή προς το θάλαμο πίεσης μέχρι να επιτευχθεί η επιθυμητή πίεση.

Για περιπτώσεις τροφίμων όπου απαιτείται συνδυασμός υψηλής θερμοκρασίας και πίεσης, χρησιμοποιείται ο τρίτος τρόπος συμπίεσης, κατά τον οποίο, το μέσο διάδοσης διαστέλλεται λόγω θέρμανσης, με αποτέλεσμα την αύξηση της πίεσης εντός του θαλάμου.

- Μανδύας ελέγχου θερμοκρασίας, ο οποίος περιβάλλει το δοχείο πίεσης και εντός του οποίου ρέει ψυκτικό ή θερμαντικό υγρό, με σκοπό την ελεγχόμενη πραγματοποίηση της διεργασίας. Λόγω της μικρής επιφάνειας εναλλαγής θερμότητας αυτής της διάταξης, μπορεί να χρησιμοποιηθεί εσωτερική σπείρα, για συστήματα που απαιτούν ταχύτερη απόκριση στον θερμοκρασιακό έλεγχο.
- Σύστημα καταγραφής και ελέγχου του δοχείου πίεσης και των επιμέρους οργάνων του συστήματος. (Ανδρέου, 2020)

#### 2.2.4 Εφαρμογές

Η υπερυψηλή πίεση αποτελεί την πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη μη θερμική μέθοδο επεξεργασίας τροφίμων, μεταξύ των εξεταζόμενων. Μερικές εφαρμογές είναι οι εξής:

*Πίνακας 4 Παραδείγματα ερευνητικών χρήσεων υπερυψηλής πίεσης*

<b>Βιβλιογραφία</b>	<b>Τρόφιμο</b>	<b>Αντικείμενο</b>
<b>Yucel et al. (2010)</b>	Καρότο, μήλο, πράσινο φασόλι	Αύξηση ρυθμού ξήρανσης
<b>George et al. (2017)</b>	Τζίντζερ	Εκχύλιση ελαιώδους ρητίνης
<b>Wang et al. (2018)</b>	Λαχανάκι Βρυξελλών	Απενεργοποίηση ενζύμων/ επέκταση χρόνου ζωής
<b>Ritz et al. (2008)</b>	Καπνιστός σολομός	Απενεργοποίηση <i>Listeria monocytogenes</i>
<b>Buzrul et al. (2008)</b>	Χυμός ανανά	Απενεργοποίηση <i>E.coli</i> και <i>Listeria innocua</i>
<b>Jacobo (2010)</b>	Πάστα αβοκάντο	Απενεργοποίηση ενζύμου που υποβαθμίζει τη γεύση
<b>Hsu (2008)</b>	Χυμός τομάτας	Βελτίωση ποιοτικών χαρακτηριστικών
<b>Andreou et al. (2017)</b>	Ελαιόπαστα	Επιτάχυνση αποπύκνωσης/ παραγωγής ελαιόλαδου
<b>Chanioti et al. (2018)</b>	Ελαιοπυρήνας	Αύξηση ανακτώμενων φαινολικών συστατικών
<b>Argyri et al. (2014)</b>	Ζυμωμένη επιτραπέζια ελιά	Παστερίωση/ επέκταση χρόνου ζωής

#### 2.2.4.1 Βιομηχανική Εφαρμογή

Χαρακτηριστικό της διεργασίας της ΥΠ και παράλληλα μειονέκτημά του αποτελεί ο τρόπος επίτευξης της πίεσης, ο οποίος τον καθιστά διαλείποντος έργου. Το γεγονός αυτό δυσχεραίνει την εφαρμογή του στη βιομηχανία, η οποία συνήθως προτιμά διεργασίες συνεχούς έργου. Παρόλα αυτά, τα τελευταία χρόνια παρατηρείται ολοένα και αυξανόμενο ενδιαφέρον στην αγορά για τη συγκεκριμένη τεχνολογία. Ενδεικτικά, το 2019, υπήρχαν πάνω από 550 βιομηχανικές μονάδες ΥΠ παγκοσμίως, με ένα 30% της παραγωγής να αφορά χυμούς και ποτά, ένα 30% να αφορά αλλαντικά, 28% να αφορά κρέμες, σάλτσες που προέρχονται από φρούτα και λαχανικά και το υπολειπόμενο ποσοστό να κατανέμεται στις κατηγορίες: θαλασσινά, γεύματα «έτοιμα για κατανάλωση» και γαλακτοκομικά. (Agapovic, 2021; Ανδρέου, 2020)

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. 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 κυρίως το πάγιο που είναι σχετικά μεγάλο (500.000 € για θάλαμο 50L έως και 2.000.000 € για 420L) και από την άλλη το λειτουργικό κόστος, το οποίο είναι σαφώς μικρότερο. Το συνολικό κόστος, ανά μονάδα προϊόντος μπορεί να μειωθεί σημαντικά αν επενδύσει κανείς σε μονάδα HP υψηλής δυναμικότητας. (Ανδρέου, 2020; Αλεξανδράκης, 2015)

### 2.3 Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία

Πρόκειται για ακόμη μια καινοτόμα και πολλά υποσχόμενη τεχνολογία των τελευταίων ετών, η οποία αφορά τρόφιμα που φέρουν κύτταρα, με την έρευνα να δίνει μεγαλύτερη έμφαση στους φυτικούς ιστούς. Το ερευνητικό ενδιαφέρον που αφορά στη συγκεκριμένη τεχνολογία ξεκίνησε από τη μικροβιακή απενεργοποίηση, ενώ στη συνέχεια στράφηκε στη βελτίωση της εκχυλισιμότητας συστατικών των φυτικών ιστών.

#### 2.3.1 Αρχή Λειτουργίας

Τα Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία (ΠΗΠ) ή αλλιώς Pulsed Electric Fields (PEF) καθιστούν μια μη θερμική μέθοδο επεξεργασίας τροφίμων η οποία βασίζεται στην εφαρμογή εξαιρετικά σύντομων παλμών (μs-ms) ηλεκτρικού πεδίου υψηλής έντασης (0,1-30 kV/cm) σε τρόφιμο που τοποθετείται μεταξύ δυο ηλεκτροδίων. Η εφαρμογή πεδίου είναι υπεύθυνη για το φαινόμενο που ονομάζεται ηλεκτροδιάτρηση, το οποίο προκαλεί την αύξηση της διαπερατότητας της κυτταρικής μεμβράνης του τροφίμου, σχηματίζοντας πόρους και είναι δυνητικά αντιστρέψιμο. Η μέθοδος αφορά κυτταρικά σώματα, είτε σε μορφή αιωρήματος (πχ μαγιά) είτε σε μορφή φυτικών ιστών εμβλαπτισμένων σε κάποιο διάλυμα (πχ ελιές σε νερό).

### 2.3.2 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. 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.

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 και η αφυδάτωση. (Ανδρέου, 2020)

#### 2.3.2.1 Διαμεμβρανικό Δυναμικό

Κατά την έκθεση ενός κυττάρου σε ηλεκτρικό πεδίο, λόγω της συσσώρευσης αντίθετα φορτισμένων ιόντων στις δυο πλευρές της μη αγώγιμης κυτταρικής μεμβράνης, δημιουργείται μια διαφορά δυναμικού που ονομάζεται διαμεμβρανικό δυναμικό. Υποθέτοντας σφαιρικό κύτταρο και άλλες απλοποιητικές παραδοχές, αυτό εκφράζεται μαθηματικά ως:

$$U = 1,5 * E * r * \cos\theta$$

*Εξίσωση 1*

Όπου E το πεδίο, r η ακτίνα του κυττάρου και θ η γωνία μεταξύ κυττάρου και φοράς του πεδίου.

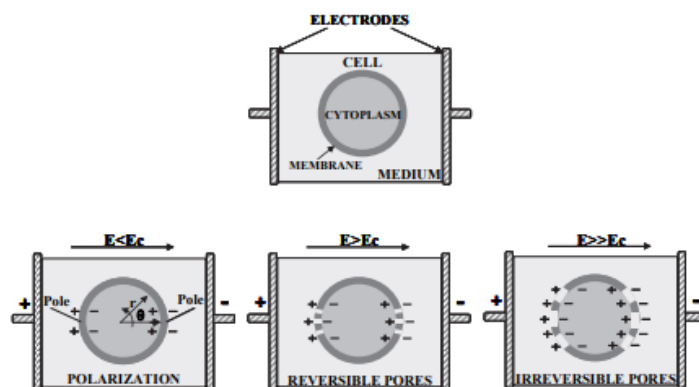
Τα αποτελέσματα της έκθεσης ενός κυττάρου σε εξωτερικό ηλεκτρικό πεδίο μπορούν να περιγραφούν σε τρία βήματα :

1. Αύξηση του διαμεμβρανικού δυναμικού της κυτταροπλασματικής μεμβράνης,
2. Εκκίνηση του σχηματισμού πόρων,
3. Μεταβολή του αριθμού ή και του μεγέθους των δημιουργηθέντων πόρων κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας

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 οδηγώντας τελικά στη θανάτωσή του.

Γίνεται αντιληπτό πως η αντιστρέψιμη ηλεκτροδιάτρηση είναι επιθυμητή σε βιοτεχνολογικές εφαρμογές κατά τις οποίες είναι επιθυμητή η παραλαβή βιώσιμου κυττάρου (πχ υποβοηθούμενη εκχύλιση βιοδραστικών συστατικών), ενώ η μη αντιστρέψιμη, για

εφαρμογές που περιλαμβάνουν απενεργοποίηση μικροοργανισμών. Δεδομένης της γραμμικής σχέσης μεταξύ  $U$  και  $E$ , η εξασφάλιση αντιστρέψιμης ή μη αντιστρέψιμης ηλεκτροδιάτρησης επιτυγχάνεται μέσω της εφαρμογής πεδίου μικρότερης ή μεγαλύτερης τιμής από μια κρίσιμη, η οποία ονομάζεται  $E_c$ . (Ανδρέου, 2020)



Εικόνα 8 Σχηματική απεικόνιση του μηχανισμού της ηλεκτροδιάτρησης. Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν τους σχηματιζόμενους πόρους από το πεδίο  $E$  (Pataro, 2011)

### 2.3.2.2 Δείκτης Κυτταρικής Διάρρηξης

Η ανάγκη ποσοτικοποίησης της ηλεκτροδιάτρησης, δημιούργησε το μέγεθος  $Z$  που ορίζεται ως ο λόγος των κατεστραμμένων κυττάρων προς το συνολικό αριθμό κυττάρων και παίρνει τιμές από 0 έως 1 για άθικτη και πλήρως διερρηγμένη κυτταρική μεμβράνη, αντίστοιχα. Μια από τις ταχύτερες και πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες μεθόδους προσδιορισμού του  $Z$ , είναι η μέθοδος χαμηλής- υψηλής συχνότητας, βάσει της οποίας, ο δείκτης ορίζεται ως εξής:

$$Z = \frac{\sigma_i^h * \sigma_t^l - \sigma_i^l}{\sigma_i^h - \sigma_i^l}$$

Εξίσωση 2

Όπου  $\sigma_i^l$ ,  $\sigma_i^h$  η αγωγιμότητα του ανέπαφου ιστού μετρούμενη σε χαμηλή (1-10 kHz) και υψηλή (50MHz) συχνότητα και  $\sigma_t^l$ ,  $\sigma_t^h$  η αγωγιμότητα του επεξεργασμένου με ΠΗΠ ιστού μετρούμενη σε χαμηλή και υψηλή συχνότητα.

Αυτός ο ορισμός βασίζεται στο γεγονός ότι το κύτταρο συμπεριφέρεται ως πυκνωτής και επομένως, 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 σχηματιζόμενων πόρων. Το πλήρως διερρηγμένο κύτταρο στις χαμηλές και υψηλές συχνότητες είναι πλήρως αγώγιμο, εμφανίζοντας μία πολύ μικρή αντίσταση αφού έχει μεγάλες τιμές αγωγιμότητας, δηλαδή η αντίσταση του είναι ανεξάρτητη της συχνότητας και πλήρως ωμική. Ωστόσο, σε υψηλές συχνότητες, το ανέπαφο κύτταρο είναι πλήρως αγώγιμο και η επίδραση των ΠΗΠ και κατ' επέκταση η διαφορά στην τιμή της

αγωγιμότητας μεταξύ των άθικτων και διερρηγμένων μεμβρανών είναι αμελητέα. (Ανδρέου, 2020)

### 2.3.3 Παράμετροι Λειτουργίας

#### 2.3.3.1 Ένταση Ηλεκτρικού Πεδίου

Η παράμετρος αυτή αποτελεί μια από τις πιο καθοριστικές της διεργασίας των ΠΗΠ και ορίζεται ως το παρακάτω πηλίκο:

$$E = V/d$$

*Εξίσωση 3*

Όπου  $V$  η εφαρμοζόμενη τάση και  $d$  η απόσταση μεταξύ των ηλεκτροδίων του θαλάμου επεξεργασίας.

Το πεδίο πρέπει να είναι όσο το δυνατόν πιο ομοιόμορφα κατανομημένο, ώστε τα επεξεργαζόμενα κύτταρα να διατρώνται ομοιογενώς, παρόλα αυτά, υπάρχει κατανομή της έντασης αυτής στον όγκο του θαλάμου. Η κατανομή αυτή εξαρτάται από το σχήμα των ηλεκτροδίων και το διάκενο του θαλάμου.

Για να προκληθεί ηλεκτροδιάτρηση ενός κυττάρου, πρέπει να εφαρμοστεί πεδίο, έντασης μεγαλύτερης ή ίσης από την κρίσιμη, η οποία εξαρτάται κυρίως από το μέγεθος του κυττάρου και την κατεύθυνση του πεδίου. Όσο λοιπόν μειώνεται το μέγεθος του κυττάρου, αυξάνεται και η απαιτούμενη ένταση πεδίου για την αποτελεσματική ηλεκτροδιάτρησή του.

#### 2.3.3.2 Χρόνος Επεξεργασίας

Συνδυαστικά με την ένταση του πεδίου, ο χρόνος επεξεργασίας αποτελεί τη σημαντικότερη παράμετρο λειτουργίας των ΠΗΠ. Ορίζεται ως το γινόμενο της διάρκειας του κάθε παλμού ( $\tau$ ) επί τον αριθμό των παλμών ( $n$ ) που εφαρμόζονται στο τρόφιμο:

$$t = n * \tau$$

*Εξίσωση 4*

Ο χρόνος ρυθμίζεται μέσω της επιλογής της κατάλληλης συχνότητας παλμών, στο εύρος 1-500Hz (παλμοί/s). Αύξηση της συχνότητας επιφέρει μείωση του συνολικού χρόνου επεξεργασίας, μειώνοντας τον νεκρό χρόνο ανάμεσα στους παλμούς, με αποτέλεσμα την αύξηση της θερμοκρασίας.

Αξίζει να αναφερθεί πως η αύξηση του αριθμού των παλμών επιφέρει αύξηση καταναλισκόμενης ενέργειας, ενώ η αύξηση της διάρκειας των παλμών επιφέρει αύξηση της θερμοκρασίας, επομένως γίνεται λόγος για δύο μεγέθη των οποίων οι τιμές δεν είναι επιθυμητό να είναι υψηλές.

Παράλληλα, περαιτέρω αύξηση του πεδίου και του αριθμού των παλμών από ένα σημείο και πέρα, δεν προκαλεί περεταίρω διάτρηση του κυττάρου (πλατό). Αυτή η μέγιστη τιμή διάρρηξης μπορεί να επιτευχθεί με διαφορετικά ζεύγη τιμών έντασης πεδίου- παλμών, με βέλτιστο εκείνο το ζεύγος που αντιστοιχεί στη χαμηλότερη κατανάλωση ενέργειας.

### *2.3.3.3 Θερμοκρασία*

Βασικό πλεονέκτημα της διεργασίας των ΠΗΠ αποτελεί η χρήση ήπιων θερμοκρασιών, με αποτέλεσμα το τρόφιμο να μην υποβαθμίζεται ποιοτικά και οργανοληπτικά. 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, επηρεάζοντας τη σταθερότητά της και επιτρέποντας την ευκολότερη ανταλλαγή συστατικών του τροφίμου με το μέσο επεξεργασίας.

Κατά την κατεργασία με PEF, η παρεχόμενη ενέργεια μεταφράζεται ως θερμότητα στο τρόφιμο, επομένως, η θερμοκρασία του συνεχώς αυξάνεται. Επίσης, όσο αυξάνεται η ένταση των συνθηκών (E και n), τόσο μεγαλύτερη θερμοκρασίας παρατηρείται. Στις περιπτώσεις όπου τα ΠΗΠ χρησιμοποιούνται ως μέθοδος παστερίωσης, γίνεται προθέρμανση του τροφίμου και στη συνέχεια προκαλείται περαιτέρω αύξηση της θερμοκρασίας λόγω των ΠΗΠ, ενώ πρόκειται για έναν συνδυασμό που έχει φανεί αποτελεσματικότερος από τη συμβατική παστερίωση, όσον αφορά στη μείωση του μικροβιακού φορτίου.

### *2.3.3.4 Χαρακτηριστικά παλμού*

Τα σχήματα παλμών που χρησιμοποιούνται συνήθως στα ΠΗΠ είναι ο τετράγωνος και ο εκθετικός, ενώ ταυτόχρονα, οι παλμοί μπορεί να είναι μονοπολικό ή διπολικό. Οι τετράγωνοι παλμοί είναι συνηθέστεροι και παρουσιάζουν καλύτερη ενεργειακή απόδοση και αποτελεσματικότητα στην απενεργοποίηση των μικροοργανισμών και στη βελτίωση των φαινομένων μεταφοράς μάζας.

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, ενώ οι διπολικό παλμοί προσφέρουν ελάχιστη κατανάλωση ενέργειας, με μειωμένη απόθεση φορτίου και αγωγιμότητα των τροφίμων.

Η διάρκεια του παλμού (πλάτος) για ένα τετραγωνικό παλμό είναι ο χρόνος που η τάση διατηρείται στη μέγιστη τιμή. Αναφορικά με την επίδραση της διάρκειας στην ηλεκτροδιάτρηση, τα πειραματικά αποτελέσματα είναι αμφιλεγόμενα.

### *2.3.3.5 Χαρακτηριστικά τροφίμου και μέσου επεξεργασίας*

Τα αποτελέσματα που προκαλούν τα ΠΗΠ σε τρόφιμα εξαρτώνται από τα χαρακτηριστικά του τροφίμου και από τις ιδιότητες του μέσου. Η ευαισθησία ενός κυττάρου στην εφαρμογή υψηλής έντασης ηλεκτρικού πεδίου σχετίζεται σε μεγάλο βαθμό με τις εγγενείς παραμέτρους του όπως το μέγεθος και το σχήμα και στην περίπτωση των μικροοργανισμών, σχετίζεται και με το είδος και την κατάσταση ανάπτυξης του. 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.

Παρομοίως, τα υγρά μέσα επεξεργασίας 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. Η αγωγιμότητα των περισσότερων τροφίμων καθορίζει τις ιδιότητες ή τη σύστασή του και παίζει καθοριστικό λόγο για τη δημιουργία ηλεκτρικού πεδίου μέσα στον θάλαμο επεξεργασίας, καθώς όταν αυτή 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. Επίσης, έχει βρεθεί ότι το pH δρα συνεργιστικά με την επεξεργασία των ΠΗΠ, καθώς με μείωση του pH του μέσου από ουδέτερο σε όξινο, ο ρυθμός απενεργοποίησης των βακτηρίων αυξάνεται. Το ίδιο αποτέλεσμα επιτυγχάνεται και με τη χρήση διαλυμάτων υψηλής ιοντικής ισχύος. Οι παράγοντες αυτοί αυξάνουν τον ρυθμό απενεργοποίησής των μικροοργανισμών, επηρεάζοντας την ομοιόστασή τους.

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 αφρωδών υγρών ή μπορεί να απελευθερωθούν φυσαλίδες αέρα λόγω αύξησης της θερμοκρασίας ή ηλεκτροχημικών αντιδράσεων. Παρόμοια προβλήματα έχουν παρατηρηθεί όταν συσσωρεύονται μικροοργανισμοί ή σωματίδια με διαφορετικές διηλεκτρικές ιδιότητες, όπως τα σφαιρίδια λίπους. Ο εγκλωβισμένος αέρας, λοιπόν πρέπει να αφαιρείται από τα προϊόντα ώστε να κριθούν κατάλληλα για επεξεργασία.

#### 2.3.4 Ειδική Ενέργεια

Οι βασικές παράμετροι μπορούν να συνοψιστούν στο μέγεθος που ονομάζεται ειδική ενέργεια ( $W$ ) και ορίζεται ως εξής:

$$W = \frac{\sigma * E^2 * \tau * n}{\rho} = \frac{I * V * t}{m}$$

*Εξίσωση 5*

όπου  $W$  η ειδική ενέργεια (J/kg),  $\sigma$  η ειδική αγωγιμότητα (S/m),  $E$  η ένταση ηλεκτρικού πεδίου (V/m),  $\rho$  η πυκνότητα του τροφίμου ( $\text{kg/m}^3$ ),  $I$  η ένταση ηλεκτρικού ρεύματος (A),  $V$  η ηλεκτρική τάση (V),  $t$  ο χρόνος επεξεργασίας (s) και  $m$  η μάζα του τροφίμου (kg).

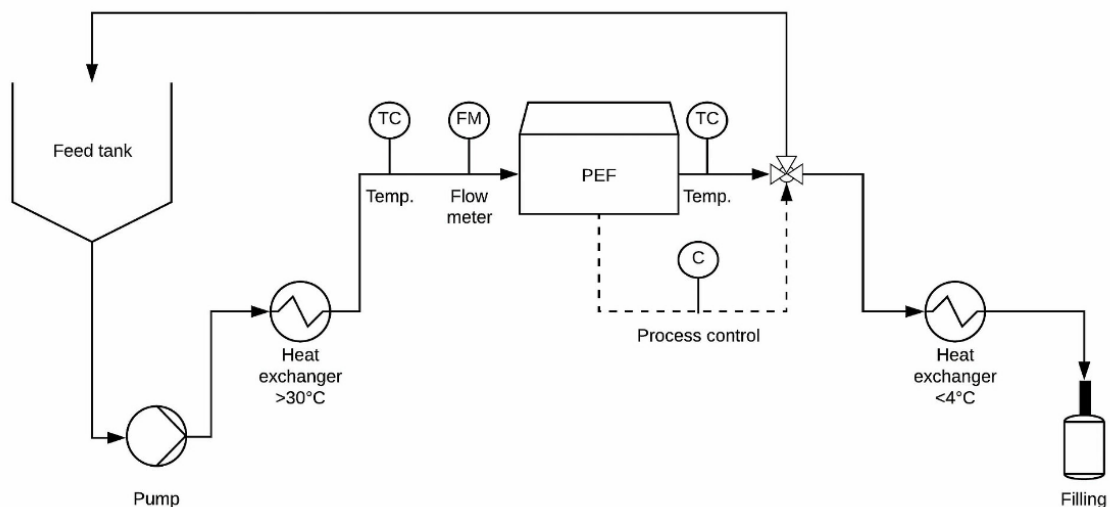
Πρόκειται για μια ολοκληρωμένη παράμετρο που λαμβάνει υπόψη την αντίσταση του θαλάμου επεξεργασίας, αλλά δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μοναδική παράμετρος για τον χαρακτηρισμό μιας επεξεργασίας με ΠΗΠ, καθώς είναι απαραίτητη η αναφορά και της έντασης  $E$ . Παρόλα αυτά, ως ενεργειακός παράγοντας, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη σύγκριση της διεργασίας των PEF με άλλες.

#### 2.3.5 Εξοπλισμός

Μια μονάδα PEF αποτελείται από τα εξής μέρη:

1. Θάλαμος επεξεργασίας, ο οποίος περιέχει δύο ηλεκτρόδια σε μορφή παράλληλων πλακών, μια υψηλής τάσης και μια γειωμένη

2. Γεννήτρια παλμών υψηλής τάσης, η οποία 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.
3. Συστοιχία πυκνωτών η οποία αποσκοπεί στην αποθήκευση ενέργειας και εκτόνωσή της στη συνέχεια στο θάλαμο επεξεργασίας, για τη δημιουργία πεδίου.
4. Διακόπτη για την ενεργειακή αποφόρτιση των πυκνωτών
5. Αντίσταση που περιορίζει το ρεύμα φόρτισης
6. Σύστημα ελέγχου των παραμέτρων της διεργασίας, που περιλαμβάνει παλμογράφο για την παρατήρηση των παλμών, του ρεύματος και της τάσης μέσα στον θάλαμο επεξεργασίας και ένα καταγραφικό θερμοκρασίας.



Εικόνα 9 Διάγραμμα Ροής μονάδας επεξεργασίας τροφίμου με PEF συνεχούς έργου (Siemer, 2018)

Ένα από τα πιο σημαντικά στοιχεία του συστήματος επεξεργασίας είναι ο θάλαμος, ο οποίος καθορίζει αν η διεργασία είναι διαλείπωντος ή συνεχούς έργου. Οι θάλαμοι διαλείπωντος έργου είναι αποσπώμενοι, αφορούν επεξεργασία στερεών και ημιστερεών τροφίμων και προορίζονται κυρίως για εργαστηριακή χρήση. Απαιτούνται μικροί όγκοι επεξεργασίας και η θερμοκρασία επεξεργασίας είναι εύκολο να διατηρηθεί σταθερή με ψύξη των ηλεκτροδίων και με μικρή συχνότητα παλμών.

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 επικρατέστεροι για εμπορική εφαρμογή των ΠΗΠ, είναι οι σχηματισμοί με παράλληλα ηλεκτρόδια, οι ομοαξονικοί και οι συγγραμμικοί.

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 έντονη ψύξη ή ενδιάμεση ψύξη μεταξύ των πολλαπλών ζωνών επεξεργασίας.

### 2.3.6 Εφαρμογές

Εξίσου σημαντικό ερευνητικό έργο με την ΥΠ κατέχει και η τεχνολογία των ΠΗΠ στον τομέα της επεξεργασίας τροφίμων. Μερικές εφαρμογές παρατίθενται παρακάτω:

Πίνακας 5 Παραδείγματα ερευνητικών χρήσεων παλμικών ηλεκτρικών πεδίων

Βιβλιογραφία	Τρόφιμο	Αντικείμενο
Ahmad Shiekh et al. (2021)	Φύλλα μήλου	Αύξηση ανακτώμενων φαινολικών συστατικών
Plazzotta et al. (2021)	Απόβλητα ροδάκινου	Μείωση χρόνου εκχύλισης φαινολικών, ανθοκυανινών, φλαβονοειδών
Frontuto (2019)	Φλούδες πατάτας	Μείωση χρόνου και θερμοκρασίας εκχύλισης φαινολικών
Luengo (2014)	Παραπροϊόντα τομάτας	Αύξηση της απόδοσης σε καροτενοειδή/ Μείωση ποσότητας διαλύτη
Bobinaité et al. (2015)	Μύρτιλο	Αύξηση της απόδοσης σε χυμό
Jin et al. (2017)	Μούρα	Μείωση φορτίου E.coli και Listeria innocua/ Βελτίωση υφής
Faridnia et al. (2015)	Μοσχάρι	Βελτιωμένη υφή και κατακράτηση υγρασίας μετά την απόψυξη
Sharma et al. (2014)	Γάλα	Απενεργοποίηση μικροοργανισμών σε χαμηλή T/ Επέκταση χρόνου ζωής
Rosello – Soto et al. (2015)	Ελαιοπυρήνας	Αύξηση ανακτώμενων φαινολικών συστατικών
Leone et al. (2022)	Ελαιόπαστα	Αύξηση ανακτώμενου ελαιόλαδου

#### 2.3.6.1 Βιομηχανική Εφαρμογή

Σε εμπορική κλίμακα, η τεχνολογία των ΠΗΠ είχε απασχολήσει πάνω από 100 μονάδες παγκοσμίως μέχρι το 2015 και με αυξανόμενο ρυθμό υιοθέτησης της τεχνολογίας από τότε. Οι χρησιμοποιούμενες μονάδες είναι ισχύος της τάξης των 50-600 kW και μπορούν να διαχειριστούν ροή ως και 5000 L/h. Τα ΠΗΠ έχουν χρησιμοποιηθεί για μη θερμική παστερίωση αλλά και για επέκταση της διατηρησιμότητας, στην παραγωγή χυμών. Επίσης, χρησιμοποιούνται για μαλάκωμα του ιστού λαχανικών που προορίζονται για τσιπς και για τηγανητές πατάτες, αντικαθιστώντας την υφιστάμενη διεργασία της προθέρμανσης. Η διεργασία των ΠΗΠ χρησιμοποιείται επίσης ως προεπεξεργασία στην ξήρανση τροφίμων, με σκοπό τη μείωση του απαιτούμενου χρόνου ξήρανσης και του ζαρώματος του αποξηραμένου προϊόντος.

Όσον αφορά στο κόστος, το πάγιο κόστος μια βιομηχανικής μονάδας PEF των 200 kW κυμαίνεται στα 300-500k€, ενώ το λειτουργικό εξαρτάται ισχυρά από το χρόνο και την ένταση επεξεργασίας και έχει μέση τιμή στα μερικά λεπτά του ευρώ ανά kg προϊόντος. Παρόλο το μεγάλο κόστος εξοπλισμού, η επεξεργασία με PEF κοστίζει περίπου το 10-20% της ενδεχόμενης επεξεργασίας με HP. (Kempkes, 2017; Siemer, 2018)

### 3 Υλικά και Μέθοδοι

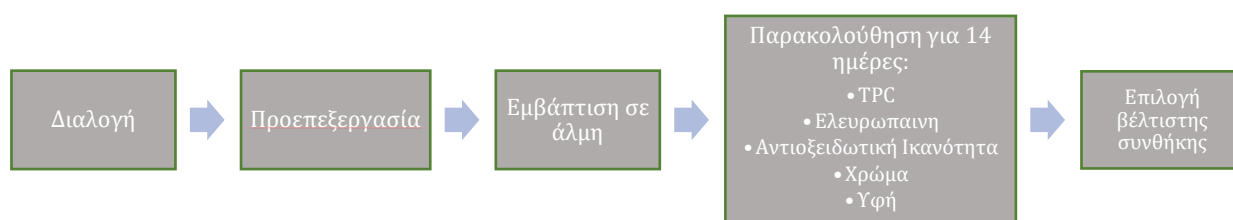
#### 3.1 Πρώτη Ύλη

Οι ελιές που χρησιμοποιήθηκαν στο πειραματικό μέρος είναι πράσινες κονσερβοελιές που συγκομίστηκαν στην Άμφισσα και παραδόθηκαν στο εργαστήριο του Ινστιτούτου Τεχνολογίας Αγροτικών Προϊόντων του ΕΛΓΟ- Δήμητρα, όπου και αποθηκεύτηκαν σε θάλαμο ψύξης. Όλα τα πειράματα και οι αντίστοιχες μετρήσεις έλαβαν χώρα στο παραπάνω εργαστήριο, με εξαίρεση την επεξεργασία ελιών στη συσκευή των PEF που βρίσκεται στο Ημιβιομηχανικό Εργαστήριο του ΕΜΠ και ανήκει στο Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων της Σχολής Χημικών Μηχανικών. Η όποια επεξεργασία αφορά μελέτη προϊόντος που προορίζεται για την κατηγορία της ολόκληρης ελιάς.

#### 3.2 Πειραματικός Σχεδιασμός

1<sup>ο</sup> μέρος: Κινητική μελέτη αποπύκνωσης πράσινων επιτραπέζιων ελιών – Ελληνικού τύπου – υποβοηθούμενης με Υπερήχους, Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία και Υπερυψηλή πίεση – Εύρεση βέλτιστων συνθηκών.

Συγκεκριμένα ποσότητα ελιών προεπεξεργάστηκαν κατάλληλα με την κάθε τεχνολογία σε συγκεκριμένο εύρος συνθηκών. Πριν την κάθε προεπεξεργασία, οι ελιές εμβαπτίζονταν σε νερό βρύσης. Μεταξύ των πειραμάτων διατηρήθηκε σταθερή η αναλογία βάρους ελιών προς βάρος διαλύματος και ίση με 2:3. Τέλος, όλα τα δείγματα ελιών, μετά την όποια επεξεργασία, μεταφέρθηκαν σε άλμη 8%w/v, σε μη περατές πλαστικές συσκευασίες, σφραγίστηκαν και διατηρήθηκαν σε θάλαμο επώασης στους 20°C. Σε συγκεκριμένα χρονικά διαστήματα, στο κάθε δείγμα μετρήθηκε η συγκέντρωση ολικών φαινολικών ενώσεων, ελευρωπαΐνης, αντιοξειδωτική ικανότητα. Οι βασικότεροι ποιοτικοί δείκτες όπως χρώμα και υφή επίσης μετρήθηκαν για κάθε δείγμα. Τέλος, οργανοληπτική αξιολόγηση πραγματοποιήθηκε για κάθε συνθήκη. Στη συνέχεια τα αποτελέσματα περιγράφηκαν μαθηματικά με εμπειρικά μοντέλα και επιλέχθηκαν οι βέλτιστες συνθήκες για κάθε προεπεξεργασία.



Εικόνα 10 Σχηματική απεικόνιση κινητικής μελέτης αποπύκνωσης πράσινων ελιών ελληνικού τύπου

2<sup>ο</sup> μέρος: Κινητική μελέτη αποπύκνωσης πράσινων επιτραπέζιων ελιών – Ισπανικού τύπου – υποβοηθούμενης με Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία και Υπερυψηλή πίεση – Εύρεση βέλτιστων συνθηκών

Συγκεκριμένη ποσότητα ελιών υπέστησαν προεπεξεργασία με την κάθε τεχνολογία PEF ή HP σε συγκεκριμένο εύρος συνθηκών. Μετά την κάθε προεπεξεργασία χρησιμοποιήθηκε διάλυμα NaOH 1.0, 1.5 και 2.0% w/w στο οποίο εμβάπτιστηκαν οι ελιές. Για την κάθε συνθήκη που πραγματοποιήθηκε με ή χωρίς προεπεξεργασία με PEF ή HP στη χημική αποπίκραση, πραγματοποιήθηκε ένα κινητικό πείραμα διείδυσης καυστικού νατρίου εντός της σάρκας της ελιάς. Ανά τακτά χρονικά διαστήματα, πέντε ελιές αφαιρούνταν από κάθε δοχείο. Η κάθε ελιά κοβόταν στη μέση και με τη βοήθεια 1-2 σταγόνων δείκτη φαινολοφθαλεινη φανερώνει ένα μωβ στεφάνι. Αυτό αντιπροσωπεύει το πάχος διείδυσης του αλκάλειου στην ελιά και μετρείται με παχύμετρο. Στη συνέχεια, παραλαμβάνονται καμπύλες διείδυσης συναρτήσεως του χρόνου και προσδιορίζεται ο χρόνος που αντιστοιχεί σε διείδυση στα 2/3 της σάρκας, δηλαδή ο απαιτούμενος χρόνος παραμονής στο αλκαλικό διάλυμα ώστε να επιλεχθούν οι βέλτιστες συνθήκες.



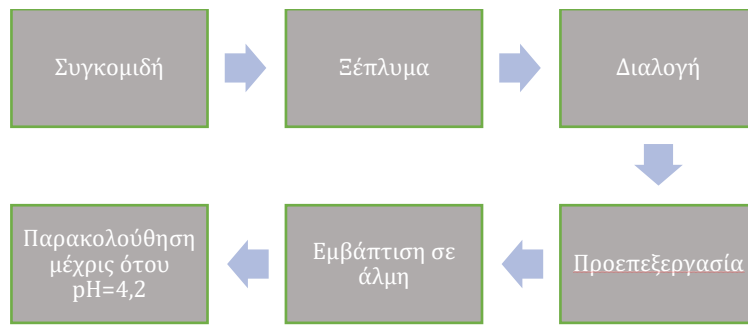
Εικόνα 11 Σχηματική απεικόνιση κινητικής μελέτης αποπίκρασης πράσινων ελιών ισπανικού τύπου

3<sup>ο</sup> μέρος: Ζύμωση πράσινων επιτραπέζιων ελιών Ελληνικού & Ισπανικού τύπου με προεπεξεργασία με PEF και HP στις βέλτιστες συνθήκες – Σύγκριση με τις κλασσικές ζυμώσεις (χωρίς προεπεξεργασία).

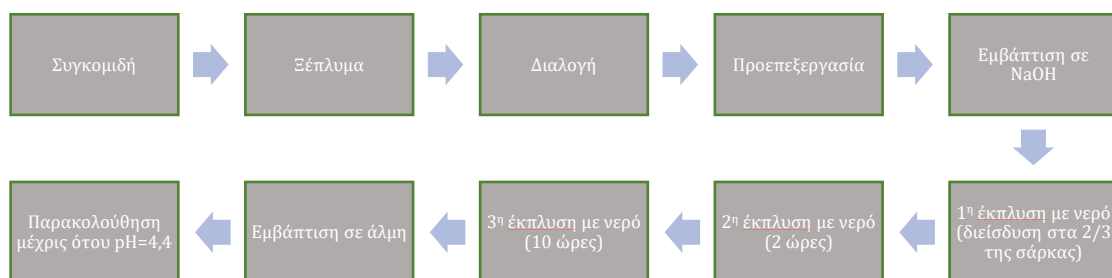
Τέλος, μελετήθηκε η πορεία της ζύμωσης Ελληνικού και Ισπανικού τύπου με προεπεξεργασία ελιών με PEF και HP στις βέλτιστες συνθήκες και μη προεπεξεργασμένες. Επιλέχθηκε να μην χρησιμοποιηθούν οι υπέρηχοι ως προεπεξεργασία για την επιταχυνόμενη αποπίκραση για τους παρακάτω λόγους:

- Διαπιστώθηκε πως είναι η λιγότερο αποδοτική ως προς το κινητικό της αποπίκρασης. Επομένως τα PEF και HP θεωρήθηκαν αποδοτικότερες ως προεπεξεργασίες για αποπίκραση.
- Παράλληλα, αποτελεί τη μέθοδο με το μεγαλύτερο (καθαρό) χρόνο επεξεργασίας (30-180min), εν αντιθέσει με τις άλλες ( $\leq 5$ min), δεδομένου ότι ο χρόνος αποτελεί σημαντική ενεργειακή παράμετρο
- Πρόκειται για τη μόνη τεχνολογία που δεν εφαρμόζεται ακόμη βιομηχανικά

Συνοπτικά, στις μελετώμενες ζυμώσεις (ελληνικού και ισπανικού τύπου) ακολουθούνται τα εξής βήματα:



Εικόνα 12 Διάγραμμα ροής ζύμωσης ελιών ελληνικού τύπου



Εικόνα 13 Διάγραμμα ροής ζύμωσης ελιών ισπανικού τύπου

Η παρακολούθηση που αναφέρεται στα διαγράμματα, πέρα από τις μετρήσεις χρώματος, υφής και αλατότητας, αφορά και το pH και τις μικροβιολογικές μετρήσεις.

### 3.3 Προεπεξεργασία ελιών με Μη Θερμικές Μεθόδους

#### 3.3.1 Προεπεξεργασία με Υπερήχους

Στα πειράματα με υπερήχους χρησιμοποιήθηκε η συσκευή Ultrasonic Cell Disruptor UCD-250 (Biobase, Shandong, China), η οποία βρίσκεται στο εργαστήριο του ΙΤΑΠ. Σε πρώτη φάση διαλέγονται (ώστε να μην φέρουν σημάδια ωρίμανσης και εκδορές) και ζυγίζονται 28 ελιές σε ποτήρι ζέσεως, στο οποίο προστίθεται νερό, 1,5 φορά του βάρους των ελιών. Το ποτήρι μεταφέρεται στη συσκευή υπερήχων, το στέλεχος της εμβαπτίζεται στο διάλυμα μαζί με το θερμοστοιχείο της συσκευής και η πόρτα του θαλάμου σφραγίζεται. Λόγω της φύσης της διεργασίας, παρατηρείται συνεχής αύξηση της θερμοκρασίας. Για λόγους προστασίας του εξοπλισμού αλλά και του τροφίμου από αλλοιώσεις, ο εξοπλισμός είναι σχεδιασμένος να σταματά την κατεργασία όταν η θερμοκρασία φτάνει τους 40°C, επομένως, ο περιέκτης του δείγματος τοποθετείται σε παγόλουτρο εντός της συσκευής, ώστε να αποφεύγονται οι πολλές παύσεις λειτουργίας. Μετά την επεξεργασία, οι ελιές τοποθετούνται σε σακούλα πολυστρωματικού πλαστικού με άλμη και σφραγίζονται.



Εικόνα 14 Συσκευή Υπερήχων ΙΤΑΠ

Πριν την έναρξη λειτουργίας, ο θάλαμος κλείνει και ρυθμίζεται η ισχύς και ο χρόνος κατεργασίας. Αξίζει να σημειωθεί πως η τιμή της ισχύος ρυθμίζεται ως ποσοστό της μέγιστης που πιάνει η συσκευή. Επομένως, οι χρησιμοποιούμενες τιμές των παραμέτρων λειτουργίας είναι οι εξής:

Πίνακας 6 Παράμετροι λειτουργίας υπερήχων

Power (%) / Son.Time (min)	30	90	180
50%	X	X	X
70%	X	X	X
90%	X	X	X

Οι τιμές που επιλέχθηκαν προκύπτουν εμπειρικά, βάσει των τιμών που είθισται να χρησιμοποιούνται βιβλιογραφικά σε φυτικούς ιστούς. Αυτή η συνθήκη ισχύει και για τις τρεις μεθόδους.

### 3.3.2 Προεπεξεργασία με Υπερυψηλή Πίεση

Στα πειράματα με ΥΠ χρησιμοποιήθηκε ο θάλαμος 1,5L της μονάδας Food Pressure Unit FPU 1.01 της Resato International BV (Roden, Netherlands), η οποία βρίσκεται στο εργαστήριο του ΙΤΑΠ. Στη συγκεκριμένη μέθοδο, οι ελιές σφραγίζονται εξαρχής σε σακούλα από πολυστρωματικό πλαστικό μαζί με την κατάλληλη ποσότητα νερού και στη συνέχεια, ο θάλαμος υπερυψηλής πίεσης σφραγίζεται μέσω του περιστροφικού πώματος που φέρει. Ακολουθεί η εφαρμογή της πίεσης για τον απαιτούμενο χρόνο και έπειτα ο θάλαμος αποσφραγίζεται και το τρόφιμο απομακρύνεται. Μετά την επεξεργασία, οι ελιές μεταφέρονται στα αντίστοιχα διαλύματα, δηλαδή άλμη 8% ή καυστικό νάτριο, αντίστοιχα.



Εικόνα 15 Διάταξη Υπερψηλής Πίεσης ΙΤΑΠ

Οι συνθήκες λειτουργίας που επιλέχθηκαν στην επεξεργασία με ΥΠ είναι οι παρακάτω:

Πίνακας 7 Παράμετροι λειτουργίας ΥΠ

Pressure (MPa)/ Time (min)	5
100	X
250	X
400	X

Σε παλαιότερα πειράματα στο εργαστήριο τροφίμων του ΙΤΑΠ, που αφορούσαν αποπίκραση πράσινης ελιάς με ΥΠ, εκτελέστηκε διερεύνηση βέλτιστων συνθηκών σε πιέσεις 100, 250 και 400MPa και χρόνους 5 και 10min και διαπιστώθηκε πως για την ίδια πίεση, τα δείγματα των 5 και 10min δεν διέφεραν σημαντικά ως προς την απώλεια ελευρωπαϊνης. Επομένως, αποφασίστηκε να γίνει διερεύνηση που αφορά μόνο την πίεση, για χρόνο προεπεξεργασίας 5min, εφόσον αποτελεί τη λιγότερο χρονοβόρα (άρα και ενεργοβόρα) συνθήκη.

### 3.3.3 Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία

Στα πειράματα με ΠΗΠ χρησιμοποιήθηκε η πιλοτική μονάδα Elcrack 5kW DIL (Quackenbruck, Germany), η οποία βρίσκεται στο ημιβιομηχανικό εργαστήριο της Σχολής Χημικών Μηχανικών του ΕΜΠ. Η μέθοδος αυτή μειονεκτεί σε χωρητικότητα θαλάμου, επομένως οι ελιές προς επεξεργασία τοποθετούνται ανά πεντάδες με την αντίστοιχη ποσότητα νερού. Όπως και για την ΗΡ, οι ελιές μεταφέρονται στα αντίστοιχα διαλύματα μετά την επεξεργασία και σφραγίζονται σε πλαστικές σακούλες.





Εικόνα 16 Εξοπλισμός ΠΗΠ

Οι συνθήκες λειτουργίας που επιλέχθηκαν στην επεξεργασία με ΠΗΠ είναι οι παρακάτω:

Πίνακας 8 Παράμετροι λειτουργίας ΠΗΠ

El. Field (kV/cm) / Pulses (p)	50	100	500	1000	2000
2,5			X	X	X
3,5		X	X	X	
5,0		X	X	X	
6,5	X	X	X		

### 3.4 Περιγραφή Αναλυτικών μεθόδων

#### 3.4.1 Ολικά Φαινολικά Συστατικά

Η ελευρωπαϊνή, η ουσία- στόχος της διεργασίας της αποπίκρασης, αποτελεί μια φαινολική ουσία, η ποσοτικοποίηση της οποίας απαιτεί ενόργανες μεθόδους ανάλυσης. Μια τέτοια μέθοδος όμως, όπως η HPLC, είναι χρονοβόρα, γεγονός που την καθιστά μη πρακτική σε ένα πρόβλημα που απαιτεί ταχεία αποτελέσματα. Επομένως, η ικανότητα της κάθε διεργασίας να επιτυγχάνει αποπίκραση της ελιάς εκφράζεται και έμμεσα μέσω του προσδιορισμού των ολικών φαινολικών συστατικών (TPC).

Για αυτόν τον υπολογισμό, υπάρχουν δύο προσεγγίσεις: μέτρηση της ποσότητας που περιέχεται στην ελιά ή της ποσότητας που έχει εκχυλιστεί στο διάλυμα στο οποίο είναι εμβαπτισμένη η ελιά. Η πρώτη περιλαμβάνει απομάκρυνση το πυρήνα, στη συνέχεια λυοφιλίωση της ελιάς και κονιοποίηση της ξηρής σάρκας και τέλος, διαλυτοποίηση σε διάλυμα μεθανόλης 80% και παραλαβή του κατεργασμένου δείγματος. Πέρα από το γεγονός ότι αυτή η μέθοδος είναι ενεργοβόρα και κοστοβόρα, χωλαίνει πρακτικότητας λόγω του μεγάλου όγκου δειγμάτων.

Επομένως, επιλέγουμε να προσδιορίσουμε τα φαινολικά συστατικά που έχουν εκχυλιστεί στην άλμη. Το κάθε δείγμα συλλέγεται σε φιαλίδιο Eppendorf και σε δεύτερο χρόνο, μικρή ποσότητά του καταναλώνεται για την αντίστοιχη μέτρηση.

Πρόκειται για μια ταχεία αναλυτική μέθοδο, η μεθοδολογία της οποίας έχει ως εξής: σε δοκιμαστικό σωλήνα προστίθενται 100μL του δείγματος σε 7,9mL απιονισμένου νερού και στη συνέχεια 500μL του αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu (Ainsworth, 2007). Ο σωλήνας αναδεύεται σε vortex για ομοιόμορφη κατανομή των συστατικών πριν την προσθήκη του επόμενου αντιδραστηρίου. Στη συνέχεια προστίθενται 1,5mL κορεσμένο ανθρακικό νάτριο ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) και ο δοκιμαστικός σωλήνας αναδεύεται ξανά και τοποθετείται σε υδατόλουτρο στους 40°C για 30 min.

Ύστερα από το παραπάνω χρονικό διάστημα, το δείγμα αφαιρείται από το λουτρό και παρατηρείται αλλαγή χρώματος. Συγκεκριμένα, η περιεκτικότητα σε φαινολικές ουσίες αποτυπώνεται ποιοτικά μέσω του μπλε χρώματος του υγρού, η ένταση του οποίου ποσοτικοποιείται με τον εξής τρόπο: το δείγμα μεταφέρεται σε κυψελίδα και τοποθετείται σε φασματοφωτόμετρο, όπου μετριέται η απορρόφησή του στα 765nm, έναντι του τυφλού δείγματος. Για την προετοιμασία του αυτού, ακολουθήθηκε η ίδια διαδικασία, με την διαφορά ότι στη θέση του εκχυλίσματος προστέθηκε απιονισμένο νερό. Η απορρόφηση αυτή μεταφράζεται σε ισοδύναμη συγκέντρωση γαλλικού οξέος (GA) με τη βοήθεια της παρακάτω καμπύλης αναφοράς:

$$C_{ga} \text{ (mg GA/mL brine)} = 0,9354 * \Delta A_{765} - 0,0003$$

#### Εξίσωση 6

Αξίζει να σημειωθεί πως όταν η απορρόφηση ενός δείγματος ξεπερνάει τη μονάδα, εκτελούνται οι κατάλληλες αραιώσεις, ώστε η νέα μετρούμενη απορρόφηση να βρίσκεται εντός του πεδίου ορισμού του γραμμικού τμήματος της καμπύλης αναφοράς.

### 3.4.2 Ελευρωπαΐνη

Η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (High Performance Liquid Chromatography), χρησιμοποιείται για την ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση της ελευρωπαΐνης στα δείγματα. Πρόκειται για μια από τις πιο ευρεία χρησιμοποιούμενες μεθόδους ενόργανης ανάλυσης που στηρίζεται στο διαχωρισμό των συστατικών ενός υγρού δείγματος (κινητή φάση), βάσει της συγγένειάς τους με το πληρωτικό υλικό (στατική φάση) της χρωματογραφικής στήλης. (Λιοδάκης, 2001).

Ο προσδιορισμός της ελευρωπαΐνης στα δείγματα γίνεται σε δεύτερο χρόνο, έχοντας ήδη συλλέξει δηλαδή τα δεδομένα του φαινολικού περιεχομένου. Λόγω της μεγάλης διάρκειας των αναλύσεων και του μεγάλου όγκου δειγμάτων, επιλέγεται μέρος αυτών και όχι ολόκληρη η σειρά δειγμάτων για την καθημία συνθήκη. Εν προκειμένω, μας ενδιαφέρει η ανάλυση του φαινολικού προφίλ, που αφορά εκείνη την περιοχή που εκλούνται οι φαινολικές ενώσεις.

Ο προσδιορισμός της ελευρωπαΐνης πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια της μεθόδου HPLC-DAD (Ανδρέου, 2020). Κάθε εκχύλισμα προς μέτρηση πέρασε αρχικά από φίλτρο 0.45 μm. Οι αναλύσεις έγιναν σε συσκευή Agilent 1200 series (Agilent Technologies, Inc., USA) εξοπλισμένο με τα G1315B Diode Array Detector και Rheodyne HPLC manual injector (Model 7010). Για το διαχωρισμό στα επιμέρους συστατικά του δείγματος χρησιμοποιήθηκε η χρωματογραφική στήλη C18 αντίστροφης φάσης ZORBAX Eclipse XDB-C18 (4.6 x 250 mm, 5μm) της Agilent. Όσον αφορά στο δείγμα, εγχύονται 20μL αυτού στη διάταξη. Η κινητή φάση αποτελείται από (Α) νερό με  $\text{H}_3\text{PO}_4$  0.2% (v/v), (Β) μεθανόλη και (Γ) ακετονιτρίλιο με

αρχική ποσοστιαία σύνθεση Α/Β/Γ 96/2/2. Η έκλυση των συστατικών παρακολουθήθηκε στα 280nm. Η ελευρωπαΐνη ποσοτικοποιήθηκε σύμφωνα με καμπύλες βαθμονόμησης και η συγκέντρωση κάθε φαινολικής ένωσης εκφράστηκε σε mg/100g ξμ. Τα δείγματα αναλύθηκαν εις διπλούν.

### 3.4.3 Αντιοξειδωτική δράση

Όπως και η περιεκτικότητα σε φαινολικές ουσίες, πρόκειται για ακόμα μια αναλυτική μέθοδο με χρήση αντιδραστήριου, για προσδιορισμό ουσίας στο εκχύλισμα. Η μέθοδος DPPH, (Blois, 1958) χρησιμοποιεί το εν λόγω αντιδραστήριο (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) με σκοπό τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας ενός διαλύματος, της ικανότητάς του δηλαδή να δεσμεύει ελεύθερες ρίζες.

Λόγω της ευαισθησίας του αντιδραστήριου σε οξείδωση, αυτό παρασκευάζεται τη μέρα που πρόκειται να καταναλωθεί. Παρασκευάζεται λοιπόν 0,0024% w/v μεθανολικό (HPLC grade) διάλυμα DPPH σε ογκομετρική φιάλη και παρατηρείται χρωματισμός του διαλύματος σε βαθύ ιώδες. Αυτό τοποθετείται σε μαγνητική πλάκα για ανάδευση και η φιάλη του τυλίγεται με αλουμινόχαρτο, καθώς το DPPH αντιδρά με το φως (Ozcelik, 2003).

Στη συνέχεια, 3,9mL του διαλύματος μεταφέρονται σε δοκιμαστικό σωλήνα μαζί με 100μL του δείγματος, εν προκειμένω εκχυλίσματος σε άλμη και αναδεύονται σε vortex. Το προκύπτον δείγμα τοποθετείται σε σκοτεινό μέρος για 30min. Εντωμεταξύ, το φασματοφωτόμετρο ρυθμίζεται στα 515nm και μηδενίζεται με απιονισμένο νερό και στη συνέχεια, μετριέται η απορρόφηση του DPPH χωρίς την προσθήκη δείγματος, που ουσιαστικά αποτελεί το τυφλό δείγμα. Τέλος, μετριέται η απορρόφηση του μελετούμενου δείγματος και υπολογίζεται η διαφορά του από το τυφλό ΔΑ.

Η παρακάτω καμπύλη αναφοράς μετατρέπει την παραπάνω διαφορά σε ισοδύναμη συγκέντρωση Trolox:

$$C_{tr} (mg Trolox/mL brine) = 0,4585 * \Delta A_{515} - 0,0152$$

#### Εξίσωση 7

Οπτικά, η ύπαρξη συστατικών με αντιοξειδωτικές ικανότητες στο δείγμα αποτυπώνεται με τον αποχρωματισμό του υγρού και την τάση του προς το κίτρινο και κατά συνέπεια τη μείωση της απορρόφησης.



Εικόνα 17 Σειρά που αφορά το ίδιο δείγμα σε διάφορες μέρες, στην οποία είναι εμφανής η αύξηση της αντιοξειδωτικής δράσης από τα δεξιά προς τα αριστερά

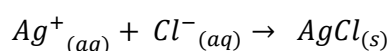
Γενικότερα, το φωτόμετρο μας βοηθά να προσδιορίζουμε συγκεντρώσεις, μετρώντας έμμεσα την ένταση ενός χρώματος, εν προκειμένω του ιώδους. Από τη στιγμή που σε αυτή τη μέθοδο, δεν παρατηρείται απλά αποχρωματισμός, αλλά και αλλαγή χρώματος, αντιλαμβανόμαστε πως όταν ένα δείγμα έχει έντονη αντιοξειδωτική δράση, δηλαδή έχει καταναλώσει πλήρως το DPPH και επομένως έχει αποκτήσει κίτρινη απόχρωση, δεν είναι σωστό να καταγραφεί η απορρόφησή του, καθώς δεν πρόκειται για την ένταση του ίδιου χρώματος με το αρχικό. Επομένως, σε αυτήν την περίπτωση η μέτρηση επαναλαμβάνεται με μεγαλύτερο βαθμό αραιώσης.

#### 3.4.4 Αλατότητα

Η περιεκτικότητα των ζυμώμενων ελιών σε αλάτι μετριέται με τη μέθοδο του Mohr (Kraemer, 1924), δηλαδή, μέσω τιτλοδότησης με διάλυμα  $\text{AgNO}_3$  0,1N, σε δείγματα ελιών που ελήφθησαν σε διάφορους χρόνους κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Οι ελιές αφυδατώθηκαν μέσω λυοφιλίωσης και έχοντας παραμείνει στον ξηραντήρα υπό κατάψυξη για δύο μέρες, στη συνέχεια κονιοποιήθηκαν και παραλήφθηκαν τα προκύπτοντα δείγματα πούδρας.

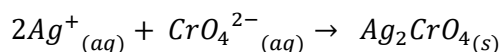
Ζυγίζονται 0,3g από την πούδρα, η οποία ενυδατώνεται με 6,25 mL απιονισμένου νερού και αναδεύεται για 1 min σε μαγνητική πλάκα, με σκοπό τη διάλυση του περιεχόμενου άλατος στο νερό. Στη συνέχεια, το προκύπτον μίγμα διηθείται και 4 mL από το διήθημα μεταφέρονται σε κωνική φιάλη, στην οποία προστίθενται 4 σταγόνες από το δείκτη  $\text{K}_2\text{CrO}_4$  5% w/v.

Κατά την τιτλοδότηση, λαμβάνει χώρα η εξής αντίδραση:



Τα κατιόντα αργύρου δεσμεύουν τα ανιόντα χλωρίου που προέρχονται από την άλμη (NaCl), σχηματίζοντας στερεό χλωριούχο άργυρο. Η παρουσία του άλατος αυτού μετατρέπει το χρώμα από κίτρινο (χρώμα του δείκτη) σε λευκό, ενώ γίνεται αντιληπτή και η θολότητα που προκαλεί στο δείγμα ο σχηματισμός αιωρούμενων στερεών.

Παράλληλα, τα υπολειπόμενα κατιόντα αργύρου, αντιδρούν με τα χρωμικά ανιόντα ως εξής:



Η ογκομέτρηση φτάνει στο τελικό της σημείο όταν το εν λόγω δείγμα χρωματιστεί κεραμιδί και καταγράφεται ο καταναλωθείς όγκος  $AgNO_3$ . Η περιεκτικότητα σε αλάτι υπολογίζεται από την παρακάτω σχέση:

$$S = \frac{T * N * MB * 100}{V_{fil}} * \frac{V_{dil}}{M}$$

*Εξίσωση 8*

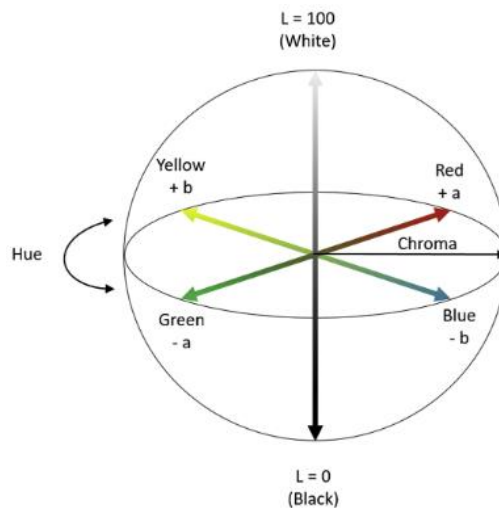
Όπου S η εν λόγω % περιεκτικότητα (g NaCl/100g νωπής ελιάς), T ο καταναλισκόμενος όγκος νιτρικού αργύρου και N=0,1N η κανονικότητά του, MB=58,44 g/mol το μοριακό βάρος του NaCl,  $V_{fil}$ =4mL ο όγκος του διηθήματος,  $V_{dil}$ =6,25mL ο προστιθέμενος όγκος νερού για την παραλαβή του εκχυλίσματος και M η νωπή μάζα της ελιάς.

Δεδομένου ότι χρησιμοποιούνται 0,3g ξηρής ελιάς και οι ελιές μας έχουν μέση υγρασία περίπου 60%, δηλαδή  $\frac{0,6}{1-0,6} = 1,5 \frac{g H_2O}{g \text{ ξηρής ελιάς}}$ , αυτή η ποσότητα αντιστοιχεί σε

$$M = 0,3 * (1 + 1,5) = 0,75g \text{ νωπής ελιάς.}$$

### 3.4.5 Χρώμα

Οι μετρήσεις του χρώματος των δειγμάτων ελιάς πραγματοποιήθηκαν με το χρωματόμετρο MINOLTA CR-200 (Minolta Company, Chuo-Ku, Japan) με χρωματική κλίμακα την CIE Lab, η οποία περιλαμβάνει τους χρωματικούς δείκτες τους: L, a, b. Αυτοί εκφράζουν τη φωτεινότητα, την ένταση κόκκινου/ πράσινου και την ένταση κίτρινου/ μπλε, αντίστοιχα (Ly, 2020).



Εικόνα 18 Κλίμακα CIE Lab

Πριν από κάθε μέτρηση, πραγματοποιούνταν βαθμονόμηση του οργάνου με τη βοήθεια λευκής πλάκας ( $L = 97,50$ ,  $a = -0,31$ ,  $b = -3,83$ ). Η μέτρηση χρώματος στην περίπτωση μας αφορά την εξωτερική επιφάνεια της εκάστοτε ελιάς. Οι μετρήσεις επαναλαμβάνονται έξι φορές σε αντιπροσωπευτική περιοχή του δείγματος και λαμβάνεται η μέση τιμή τους.



Εικόνα 19 Χρωματόμετρο Minolta

Τελικά, οι χρησιμοποιούμενοι χρωματικοί δείκτες έχουν ως εξής:

$$Chroma = \sqrt{a^2 + b^2}, \text{ ο κορεσμός του χρώματος}$$

Εξίσωση 9

$Hue\ Angle = \tan^{-1}\left(\frac{b}{a}\right)$ , χαρακτηριστικό της απόχρωσης

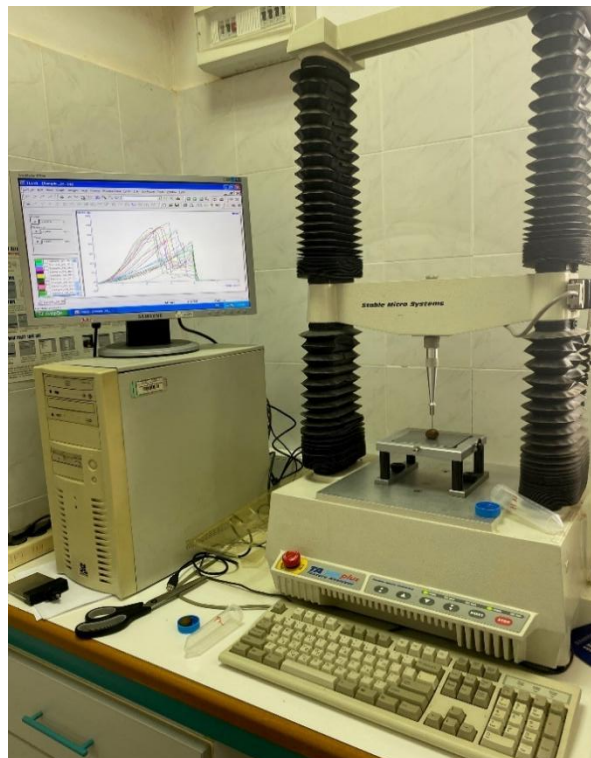
Εξίσωση 10

$\Delta E = \sqrt{(L - L_{ref})^2 + (a - a_{ref})^2 + (b - b_{ref})^2}$ , η συνολική μεταβολή του χρώματος

Εξίσωση 11

### 3.4.6 Υφή

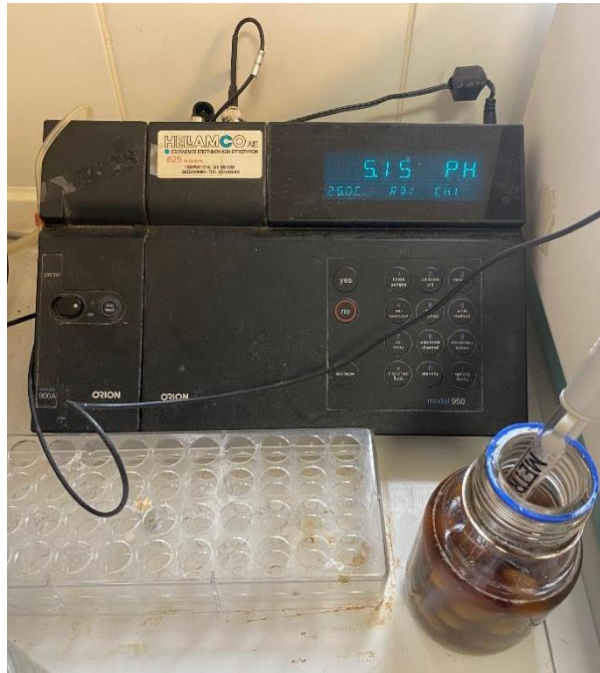
Η σκληρότητα της ελιάς προσδιορίζεται με τη βοήθεια αναλυτή υφής TA-XT2i (StableMicro Systems, Godalming, Surrey, UK). Χρησιμοποιείται κατάλληλο αιχμηρό στέλεχος, το οποίο κατέρχεται με ταχύτητα 1mm/s και σε βάθος 3mm αφού έρθει σε επαφή με το τρόφιμο και τελικά επιστρέφει στην αρχική του θέση. Το λογισμικό με το οποίο είναι συνδεδεμένος ο αναλυτής, καταγράφει την ασκούμενη αντίσταση- σε μονάδες δύναμης- από το τρόφιμο στο άκρο του στελέχους, συναρτήσει του χρόνου. Καταγράφεται λοιπόν η μέγιστη μετρούμενη δύναμη και η μέτρηση επαναλαμβάνεται 6 φορές.



Εικόνα 20 Αναλυτής Υφής

### 3.4.7 pH

Καθοριστική παράμετρο της εξέλιξης της ζύμωσης αποτελεί η τιμή του pH. Το pH των ζυμώμενων ελιών μετριέται με πεχάμετρο ORION 900A (Thermo Fisher Scientific Inc., Fort Collins, CO USA), το οποίο βαθμονομείται με τη βοήθεια ρυθμιστικών διαλυμάτων με τιμές 4 και 7, καθώς αυτό είναι το εύρος pH που συναντάται συνήθως στα τρόφιμα.



Εικόνα 21 Πεχάμετρο

#### 3.4.8 Μικροβιολογικές Αναλύσεις

Για τον υπολογισμό του μικροβιακού φορτίου στις ζυμώμενες ελιές, μετρήθηκαν οι σχηματιζόμενες αποικίες στα αντίστοιχα υποστρώματα, έχοντας όμως ακολουθήσει την εξής προεργασία.

Αρχικά προετοιμάζεται στατό με δοκιμαστικούς σωλήνες που περιέχουν 9mL ορού Ringer, το οποίο τίθεται για αποστείρωση στους 121°C. Έπειτα, προετοιμάζονται οι αραιώσεις ως εξής: 1mL από το προς εξέταση δείγμα μεταφέρεται σε γεμάτο δοκιμαστικό (τελικός όγκος 10ml) και αναδεύεται σε vortex. Στη συνέχεια, 1mL από το προκύπτον αραιωμένο διάλυμα μεταγγίζεται στο διπλανό δοκιμαστικό που περιέχει μόνο ορό, κοκ. Προκύπτει λοιπόν σειρά δοκιμαστικών σωλήνων που περιέχουν διαδοχικά υποδεκαπλάσιες αραιώσεις.

Ο λόγος που εκτελούνται οι αραιώσεις είναι προφανώς η κλίμακα του μικροβιακού φορτίου που αναμένεται να είναι μεγάλη, κάτι που θα καθιστούσε αδύνατη την καταμέτρηση αποικιών σε αναραίωτο δείγμα. Οι αραιώσεις που επιλέγονται κάθε φορά δεν είναι τυχαίες, αλλά προκύπτουν βάσει του φορτίου που μετρήθηκε στην προηγούμενη μικροβιολογική ανάλυση. Γίνεται επομένως κατανοητό πως την πρώτη φορά που μετρούνται αποικίες σε ένα δείγμα, γίνεται μια ευρεία 'σάρωση', ώστε να πετύχουμε τις κατάλληλες αραιώσεις.

Οι μικροοργανισμοί που μελετώνται είναι: η ολική μεσόφιλη χλωρίδα (OMX) σε μη εκλεκτικό υπόστρωμα Plate Count Agar (PCA), τα γαλακτικά βακτήρια σε υπόστρωμα De Man, Rogosa and Sharpe Agar (MRS), οι ζύμες και μύκητες σε υπόστρωμα Rose Bengal Chloramphenicol Agar (RBC) και τα εντερικά βακτήρια σε υπόστρωμα Violet Red Bile Glucose Agar (VRGB). Τα υποστρώματα που χρησιμοποιήθηκαν είναι της Merck (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) .

Παρατίθεται παρακάτω συνοπτικός πίνακας που αφορά τη γενικότερη μεθοδολογία προετοιμασίας των τρυβλίων.



Πίνακας 9 Διαχείριση Υποστρώματων

Μικροοργανισμός/οί	ΟΜΧ	Γαλακτικά Βακτήρια	Ζύμες/ Μύκητες	Εντεροβακτήρια
Υπόστρωμα	PCA	MRS	RBC	VRBG
Αποστείρωση	Αποστειρωτήρας	Αποστειρωτήρας	Αποστειρωτήρας	Πλάκα
Όγκος Δείγματος (μL)	1000	1000	100	1000
Μέθοδος	Αερόβια	Αναερόβια	Spread	Αναερόβια
Θερμοκρασία Επώασης (°C)	30	30	25	37
Διάρκεια Επώασης (d)	3	3	3	1

Η αερόβια μεθοδολογία περιλαμβάνει εισαγωγή του δείγματος σε τρυβλίο Petri και στη συνέχεια του υγρού υποστρώματος, ανακίνηση και αναμονή μέχρι να στερεοποιηθεί. Η διαφορά της αναερόβιας μεθόδου είναι πως μετά την πήξη, περιχύνεται ακόμα μια στρώση υποστρώματος, ώστε να μην έρχεται σε επαφή με τον αέρα ο αναερόβιος μικροοργανισμός και για να παρεμποδίζεται η ανάπτυξη αερόβιων αποικιών. Η μέθοδος spread (άπλωμα) προϋποθέτει πήξη σκέτου υποστρώματος σε τρυβλίο και στη συνέχεια άπλωμα του δείγματος με τη βοήθεια ειδικής αποστειρωμένης πλαστικής σπάτουλας.

Όσον αφορά στη μέθοδο αποστείρωσης, το υπόστρωμα VRBG αποστειρώνεται σε θερμαινόμενη πλάκα υπό ανάδευση μέχρι βρασμού, ενώ τα υπόλοιπα τοποθετούνται στον εργαστηριακό αποστειρωτήρα. Ύστερα από την αποστείρωση, όλα τα υποστρώματα τοποθετούνται σε υδατόλουτρο στους 48°C, ώστε να παραμείνουν υγρά και ταυτόχρονα να μην είναι αρκετά θερμά ώστε απενεργοποιήσουν τους μικροοργανισμούς όταν έρθουν σε επαφή με το δείγμα.

Τελικά, για κάθε δείγμα, παρασκευάζονται τρία τρυβλία ανά υπόστρωμα για τις αντίστοιχες αραιώσεις. Οι αραιώσεις παρασκευάζονται σε τριπλές λόγω της πιθανής αλλαγής της τάξης μεγέθους του αριθμού των μετρήσιμων αποικιών, αλλά και για λόγους επαλήθευσης.

Μετά την καταμέτρηση των αποικιών, υπολογίζεται, όπως είθισται ο  $\log(\text{CFU}/g)$ , όπου CFU (Colony Forming Units) οι σχηματιζόμενες αποικίες ως εξής:

$$\log(\text{CFU}/g) = \log(\text{CFU}_{\text{observed}} * 10^{dd}/g) = \log(\text{CFU}_{\text{observed}}/g) + dd$$

Εξίσωση 12

Όπου  $\text{CFU}_{\text{observed}}$  οι μετρούμενες αποικίες στο τρυβλίο βαθμού αραιώσης  $dd$ .

Εξαιρεση αποτελεί το υπόστρωμα RBC, στο οποίο προστίθεται υποδεκαπλάσιος όγκος δείγματος, επομένως η σχέση μετασχηματίζεται ως εξής:

$$\log(\text{CFU}/100mg) = \log(\text{CFU}_{\text{observed}} * 10^{dd+1}/g) = \log(\text{CFU}_{\text{observed}}/g) + dd + 1$$

Εξίσωση 13

### 3.4.9 Οργανοληπτική αξιολόγηση

Δείγματα επεξεργασμένων ελιών δόθηκαν σε πάνελ οκτώ δοκιμαστών και αξιολογήθηκαν ως προς τη γεύση σε κλίμακα από το 1 ως το 9. Η μετρούμενη μεταβλητή είναι η γευστική μη αρέσκεια με βαθμολογία 1 (πολύ ευχάριστο) έως 9 (πολύ δυσάρεστο). Αυτή εφαρμόστηκε στις ελιές που επεξεργάστηκαν με ΠΗΠ, καθώς παρατηρήθηκε πως πέρα από την εναπομείνασα πικρή γεύση, κάποιες ελιές εμφάνισαν μια δυσάρεστη γεύση.

### 3.4.10 Στατιστική επεξεργασία

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 αφορούν στην ύπαρξη στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ διαφορετικών συνθηκών και προεπεξεργασιών.

Το λογισμικό SIGMAPLOT 10.0 (Systat Software Inc. Chicago III. USA) χρησιμοποιήθηκε για τη μη γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης των πειραματικών δεδομένων και των παραμέτρων της εξίσωσης για την πρόβλεψη της κινητικής απώλειας φαινολικών και αντιοξειδωτικών συστατικών.

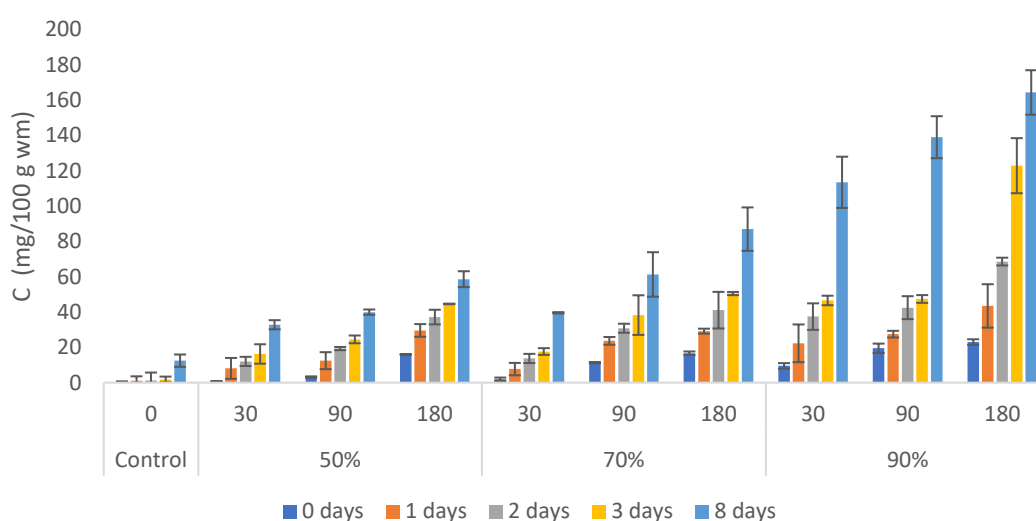
## 4 Αποτελέσματα και Σχολιασμός

### 4.1 Κινητική μελέτη αποπίκρασης πράσινων επιτραπέζιων ελιών Ελληνικού τύπου

#### 4.1.1 Κινητική μελέτη αποπίκρασης πράσινων επιτραπέζιων ελιών με Υπερήχους

##### 4.1.1.1 Ολικό Φαινολικό Περιεχόμενο

Όσον αφορά στην αποτελεσματικότητα των υπερήχων στην εκχυλισσιμότητα φαινολικών συστατικών, παρατηρήθηκε αύξηση αυτών στο εκχύλισμα συναρτήσει του χρόνου όπως φαίνεται στην Εικόνα 22.



Εικόνα 22 Συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων που εκχυλίστηκαν από τις ελιές στην άλμη για τις ανεπεξέργαστες (control) και προεπεξεργασμένες με υπερήχους σε χρόνο μηδέν, μετά από 1, 2, 3 και 8 μέρες για 50, 70 και 90% της συνολικής ισχύς υπερήχων και για χρόνους 30, 90 και 180 min. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων.

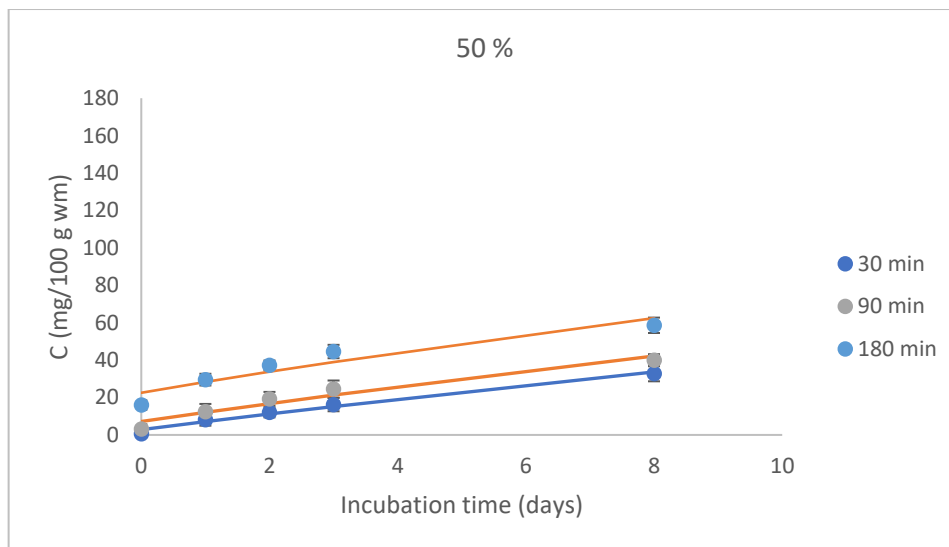
Από το παραπάνω διάγραμμα, γίνεται εύκολα αντιληπτό πως με αύξηση της ισχύος και του χρόνου επεξεργασίας των υπερήχων, αυξάνεται η εκχυλισσιμότητα των φαινολικών ουσιών από την ελιά προς την άλμη. Αυτό ήταν αναμενόμενο, καθώς η αύξηση αυτών επιφέρει ενίσχυση των φαινομένων μεταφοράς εντός και εκτός του καρπού. Δηλαδή, η πρόσδοση όλο και περισσότερης υπερηχητικής ενέργειας στην ελιά, έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία εντονότερης σπηλαίωσης στον ιστό, άρα και διάρρηξης περισσότερων κυττάρων.

Στην καθεμία συνθήκη, η εκχύλιση φαινολικών ενώσεων φαίνεται να πιάνει πλατό με το χρόνο. Επομένως στα πειραματικά δεδομένα προσαρμόστηκε η ανηγμένη μορφή ενός κλασματικού εκθετικού μοντέλου (Εξ. 14):

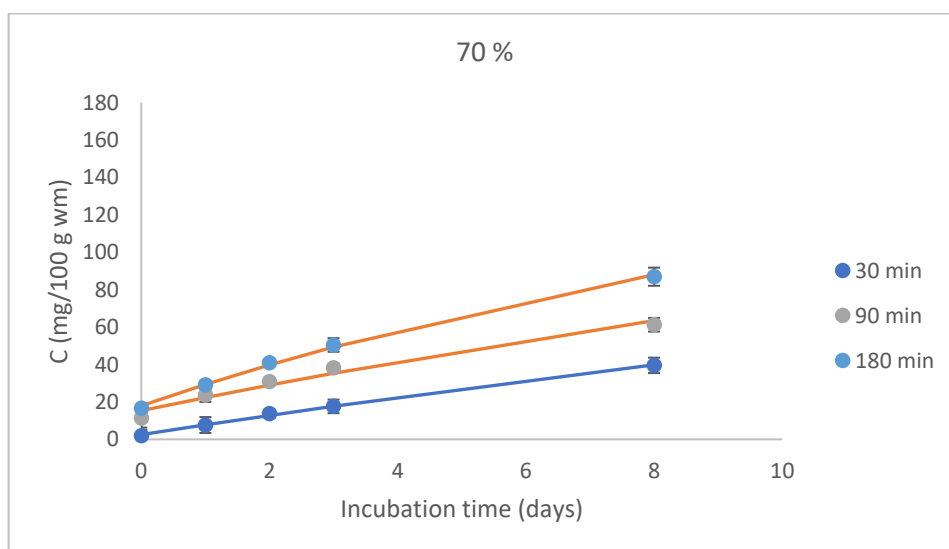
$$y = y_0 + (170 - y_0) * (1 - e^{-kt})$$

Εξίσωση 14

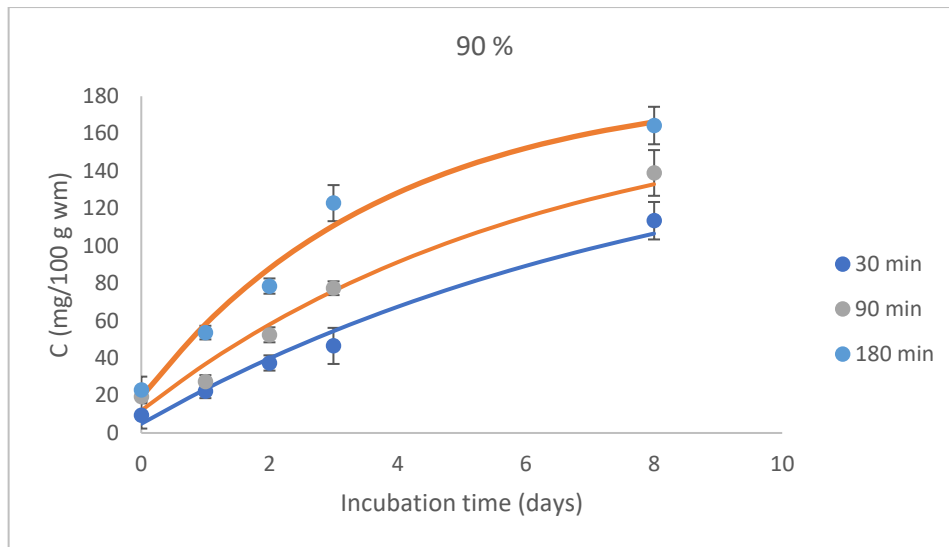
Όπου  $\gamma$ =TPC η συγκέντρωση σε φαινολικές ουσίες σε χρόνο  $t$ ,  $t_0$  ο χρόνος,  $k$  ο ρυθμός αύξησης των φαινολικών ενώσεων στην άλμη και  $\gamma_0$  η αρχική συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων. Παρατίθενται οι αντίστοιχες καμπύλες για ισχύ υπερήχων 50, 70 και 90% της μέγιστης στις εικόνες 23, 24 και 25, αντίστοιχα.



Εικόνα 23 Συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων που εκχυλίστηκαν από τις ελιές στην άλμη μετά από 8 μέρες για τις προεπεξεργασμένες με υπερήχους ελιές για 50% της συνολικής ισχύς υπερήχων και για χρόνους 30, 90 και 180 min. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων. Οι συνεχόμενες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στην Εξ. 14.



Εικόνα 24 Συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων που εκχυλίστηκαν από τις ελιές στην άλμη μετά από 8 μέρες για τις προεπεξεργασμένες με υπερήχους ελιές για 70% της συνολικής ισχύς υπερήχων και για χρόνους 30, 90 και 180 min. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων. Οι συνεχόμενες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στην Εξ. 14.



Εικόνα 25 Συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων που εκχυλίστηκαν από τις ελιές στην άλμη μετά από 8 μέρες για τις προεπεξεργασμένες με υπερήχους ελιές για 90% της συνολικής ισχύς υπερήχων και για χρόνους 30, 90 και 180 min. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων. Οι συνεχόμενες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στην Εξ. 14.

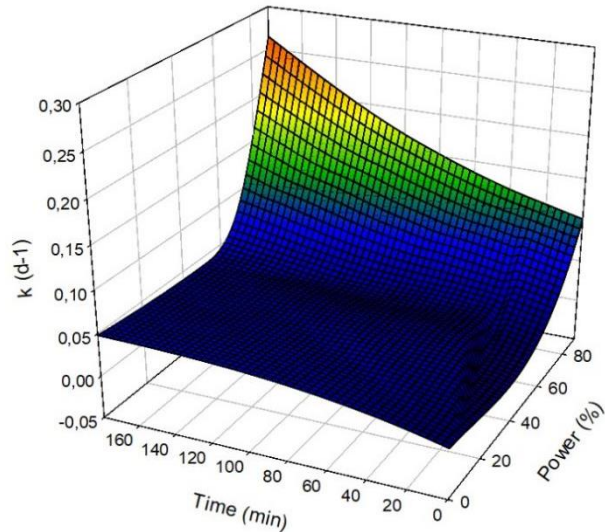
Από την προσαρμογή της εξίσωσης στα πειραματικά δεδομένα υπολογίστηκαν οι ρυθμοί αύξησης των φαινολικών ενώσεων  $k$  και η αρχική συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων  $\gamma_0$  για κάθε συνθήκη που μελετήθηκε. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 10.

Πίνακας 10 Ρυθμοί αύξησης των φαινολικών ενώσεων  $k$  και η αρχική συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων  $\gamma_0$  για τις προεπεξεργασμένες με υπερήχους ελιές με 50, 70 και 90% της συνολικής ισχύς υπερήχων και για χρόνους 30, 90 και 180 min.

US conditions		$k$ ( $d^{-1}$ )	$\gamma_0$ (mg/100 g wm)
<b>50% amplitude</b> (36 W/g)	30 min	0.026±0.012	2.82±0.56
	90 min	0.030±0.011	7.18±2.41
	180 min	0.040±0.012	22.53±3.89
<b>70% amplitude</b> (48 W/g)	30 min	0.032±0.018	2.53±0.35
	90 min	0.043±0.023	15.33±2.32
	180 min	0.077±0.025	17.96±3.26
<b>90% amplitude</b> (66 W/g)	30 min	0.117±0.019	4.92±0.58
	90 min	0.161±0.018	12.03±4.56
	180 min	0.265±0.037	19.25±3.05

Τα  $\pm$  αντιπροσωπεύουν το τυπικό σφάλμα των παραμέτρων που προέκυψαν από την προσαρμογή της Εξ. 14 στα πειραματικά δεδομένα.

Παρατηρήθηκε πως ο ρυθμός αύξησης του φαινολικού περιεχομένου έχει την παρακάτω εξάρτηση από τις συνθήκες επεξεργασίας, δηλαδή την ισχύ των υπερήχων και το χρόνο κατεργασίας.

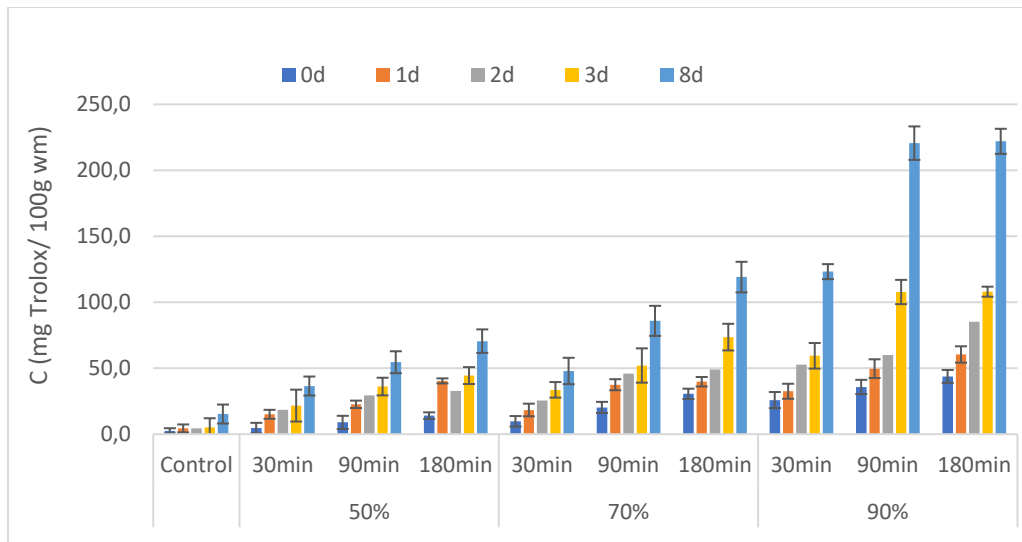


Εικόνα 26 Σχηματική απεικόνιση των ρυθμών αύξησης φαινολικού περιεχομένου με το χρόνο και την ισχύ των υπερήχων.

Το παραπάνω διάγραμμα (Εικόνα 26) φανερώνει πως η αύξηση της έντασης των παραμέτρων των υπερήχων προκάλεσαν ενίσχυση της εκχυλισιμότητας των φαινολικών ουσιών. Παρατηρήθηκε πως οι τιμές των ρυθμών κυμάνθηκε από 0.0255 έως 0.2645 d<sup>-1</sup>. Στην πιο έντονη συνθήκη των 90% ισχύς με 180min ο ρυθμός αύξησης ήταν 10 φορές μεγαλύτερος σε σχέση με την πιο ήπια συνθήκη υπερήχων (50% ισχύς με 30min).

#### 4.1.1.2 Αντιοξειδωτική Ικανότητα

Στο παρακάτω διάγραμμα (Εικόνα 27) παρατηρούμε την μεταβολή της αντιοξειδωτικής ικανότητας, μετρημένη στην άλμη, σε όλες τις συνθήκες προεπεξεργασίας με υπερήχους και στο ανεπεξέργαστο δείγμα σε χρόνους 0-8 μέρες παραμονής στην άλμη.

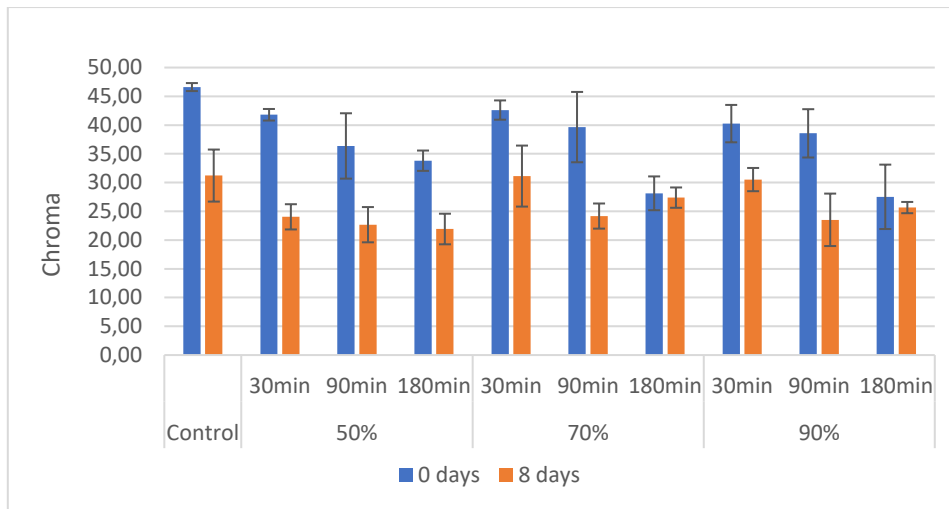


Εικόνα 27 Αντιοξειδωτική ικανότητα για τις ανεπεξεργαστες (control) και προεπεξεργασμένες με υπερήχους ελιές σε χρόνο μηδέν, μετά από 1, 2, 3 και 8 μέρες για 50, 70 και 90% της συνολικής ισχύς υπερήχων και για χρόνους 30, 90 και 180 min. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων.

Παρατηρήθηκε, όπως ήταν αναμενόμενο, σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης των αντιοξειδωτικών ουσιών στο εκχύλισμα με την αύξηση της έντασης των συνθηκών των υπερήχων. Όσο πιο έντονες ήταν οι συνθήκες της προεπεξεργασίας με υπερήχους τόσο πιο μεγάλη ήταν και η συγκέντρωση των φαινολικών ουσιών, άρα και των αντιοξειδωτικών. Επιπλέον, για τις πιο έντονες συνθήκες (90% και >90 min) δεν υπήρξαν σημαντικές διαφορές στην συγκέντρωση των αντιοξειδωτικών ουσιών.

#### 4.1.1.3 Χρώμα και Υφή

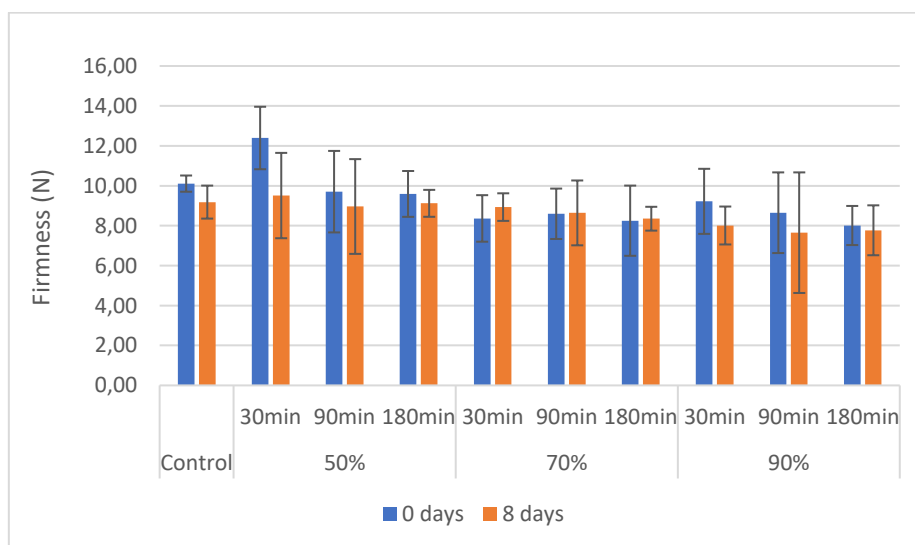
Στο παρακάτω διάγραμμα παρατηρούμε την μεταβολή του χρώματος (chroma) σε όλες τις συνθήκες προεπεξεργασίας με υπερήχους και στο ανεπεξεργαστο δείγμα σε χρόνο μηδέν και μετά από 8 μέρες παραμονής στην άλμη.



Εικόνα 28 Μεταβολή χρώματος ανεπεξεργαστων (control) ελιών και προεπεξεργασμένων με υπερήχους σε χρόνο μηδέν και μετά από 8 μέρες για 50, 70 και 90% της συνολικής ισχύς υπερήχων και για χρόνους 30, 90 και 180 min. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων.

Σε όλα τα δείγματα μπορούμε να κάνουμε λόγο για μείωση της τιμής του χρώματος, δηλαδή την επικράτηση πιο σκούρου πράσινου, την 8<sup>η</sup> μέρα παραμονής στην άλμη, κάτι το οποίο είθισται να συμβαίνει στις ελιές όταν ζυμώνονται. Οι ελιές φαίνεται να σκουραίνουν με τον χρόνο κατεργασίας με υπερήχους και όχι με την αύξηση της έντασης των υπερήχων τη μέρα 0. Παρόλα αυτά, στις 8 μέρες δεν παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ επεξεργασμένων ελιών και του δείγματος αναφοράς.

Στο παρακάτω διάγραμμα(Εικόνα 29) παρατηρούμε την μεταβολή της σκληρότητας των ελιών σε όλες τις συνθήκες προεπεξεργασίας με υπερήχους και στο ανεπεξεργαστο δείγμα σε χρόνο μηδέν και μετά από 8 μέρες παραμονής στην άλμη.



Εικόνα 29 Μεταβολή σκληρότητας ανεπεξεργαστων (control) ελιών και προεπεξεργασμένων με υπερήχους σε χρόνο μηδέν και μετά από 8 μέρες παραμονής στην άλμη. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων.



Γίνεται φανερό πως η υφή της ελιάς δεν επηρεάζεται σημαντικά κατά την προεπεξεργασία με υπερήχους. Επομένως, όσον αφορά τις ποιοτικές παραμέτρους, δεν υπάρχει κάποιο μέγεθος που να μας υποδεικνύει πως η τεχνολογία των υπερήχων υποβαθμίζει το τρόφιμο.

#### *4.1.1.4 Επιλογή συνθήκης με Υπερήχους*

Με βάση τα παραπάνω πειραματικά δεδομένα, δεν μπορούμε παρά να επιλέξουμε την εντονότερη συνθήκη, δηλαδή την 90% & 180min, ως πιο αποτελεσματική, καθώς, εμφάνιζε σημαντικές διαφορές με την αμέσως ηπιότερη συνθήκη ως προς την εκχύλιση φαινολικών ουσιών. Ταυτόχρονα, δεν υπάρχει κάποιο ποιοτικό κριτήριο που να μας εμποδίζει να επιλέξουμε αυτή τη συνθήκη, καθώς αυτή φαίνεται να μην υποβαθμίζει την ελιά ως προς το χρώμα και την υφή. Παρόλα αυτά, γνωρίζουμε πως πρόκειται για ένα ενεργοβόρο εγχείρημα, το οποίο καθιστά λιγότερο ρεαλιστική την εφαρμογή αυτής της πρακτικής σε μεγάλη κλίμακα.

#### *4.1.1.5 Σύγκριση με βιβλιογραφία*

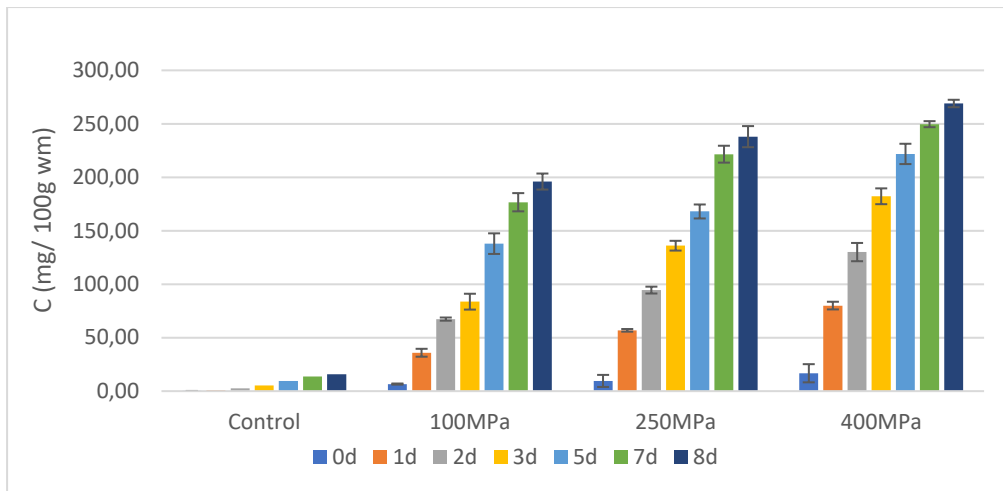
Σε συμφωνία με τα αποτελέσματα αυτής της έρευνας, και οι Ahmad-Qasem et al. (2013) χρησιμοποίησαν τους υπερήχους για να βελτιώσουν την εκχύλιση φαινολικών συστατικών από φύλλα ελιάς, εξετάζοντας ως παραμέτρους την ισχύ των υπερήχων, την επιφάνεια στελέχους και την θερμοκρασία. Ένα βασικό συμπέρασμα της έρευνας ήταν ότι υπάρχει ισχυρή συσχέτιση μεταξύ εκχυλισιμότητας και ισχύος υπερήχων. Συγκεκριμένα, οι ερευνητές επέλεξαν ένα εύρος ισχύος από 40-100% της συνολικής και κατέληξαν στο ότι υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων που υπέστησαν επεξεργασία σε διαφορετική ισχύ, το οποίο συνάδει με τα αποτελέσματα αυτής της εργασίας.

Οι ερευνητές συμπέραναν επίσης πως στις μεγάλες τιμές ισχύος (>70%), ο χρόνος επεξεργασίας δεν έχει σημαντική επίδραση. Συγκεκριμένα, σταμάτησαν να εκχυλίζονται περαιτέρω φαινολικές ουσίες μετά τα πρώτα 15min επεξεργασίας. Αυτή η διαφοροποίηση στα αποτελέσματα μπορεί εύκολα να ερμηνευθεί από το ότι τα φύλλα ελιάς που χρησιμοποιήθηκαν ήταν αποξηραμένα και κονιοποιημένα, αυξάνοντας έτσι την ικανότητα διαβροχής και την επιφάνεια επαφής, αντίστοιχα. Αυξάνεται έτσι ο ρυθμός διάχυσης του διαλύτη στην ιστό, άρα και ο ρυθμός διάχυσης των ενδοκυτταρικών συστατικών στο διαλύτη. Άρα, συγκριτικά με ένα νωπό και αδιάτρητο καρπό, είναι φυσικό να παρατηρείται ταχύτερη εκχύλιση. Παράλληλα, στην παρούσα έρευνα, τα αποτελέσματα περιεκτικότητας φαινολικών συστατικών στο εκχύλισμα, με το χρόνο, προσαρμόστηκαν στο μοντέλο του Naik, το οποίο είναι ένα κινητικό μοντέλο που εμφανίζει πλατό σε μεγάλους χρόνους. Τέλος, οι Ahmad-Qasem et al. ανέλυσαν το φαινολικό προφίλ των εκχυλισμάτων με HPLC-DAD και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η κατεργασία με υπερήχους δεν επηρεάζει τη σύσταση του εκχυλίσματος, δηλαδή τις περιεκτικότητες στα επιμέρους φαινολικά συστατικά, συγκριτικά με τη συμβατική εκχύλιση.

### *4.1.2 Κινητική μελέτη αποπίκνωσης πράσινων επιτραπέζιων ελιών με Υπερυψηλή Πίεση*

#### *4.1.2.1 Ολικό Φαινολικό Περιεχόμενο*

Η εκχύλιση φαινολικών ουσιών στην άλμη, με την πάροδο του χρόνου, για ελιές κατεργασμένες με ΥΠ παρουσιάζεται στην Εικόνα 30.



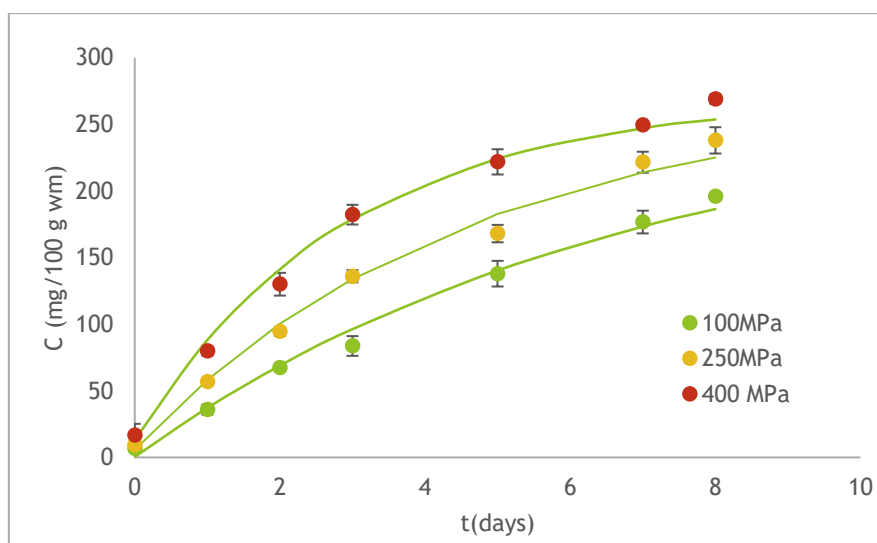
Εικόνα 30 Συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων που εκχυλίστηκαν από τις ελιές στην άλμη για τις ανεπεξεργαστες (control) και προεπεξεργασμένες με ΥΠ σε χρόνο μηδέν, μετά από 1, 2, 3, 5, 7 και 8 μέρες για 100, 250 και 400 MPa για 5 min. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων.

Όπως αναμένεται, η αύξηση της πίεσης ευνοεί την εκχύλιση φαινολικών συστατικών, καθώς με αυτόν τον τρόπο επιτυγχάνεται ισχυρότερη κυτταρική διάρρηξη, επομένως τα ενδοκυτταρικά συστατικά της ελιάς απελευθερώνονται ταχύτερα στην άλμη. Μάλιστα, η πίεση φαίνεται να ενισχύει σε πολύ μεγάλο βαθμό την εν λόγω εκχύλιση, όπως γίνεται αντιληπτό από τη σύγκριση των επεξεργασμένων ελιών με το control.

Για την κάθε συνθήκη, στα πειραματικά δεδομένα προσαρμόστηκε η ανηγμένη μορφή ενός κλασματικού εκθετικού μοντέλου (Εξ. 15) και παρουσιάζονται στην Εικόνα 31. Από την προσαρμογή τις εξίσωσης στα πειραματικά δεδομένα υπολογίστηκαν οι ρυθμοί αύξησης των φαινολικών ενώσεων  $k$  και η αρχική συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων  $y_0$  για κάθε συνθήκη που μελετήθηκε. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 11.

$$y = y_0 + (270 - y_0) * (1 - e^{-kt})$$

Εξίσωση 15



Εικόνα 31 Συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων που εκχυλίστηκαν από τις ελιές στην άλμη μετά από 8 μέρες για τις προεπεξεργασμένες με ΥΠ ελιές για 100, 250 και 400 MPa και για χρόνο 5 min. Οι γραμμές σφάλματος

αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων. Οι συνεχόμενες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στην Εξ. 15.

Πίνακας 11 Ρυθμοί αύξησης των φαινολικών ενώσεων  $k$  και η αρχική συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων  $\gamma_0$  για τις προεπεξεργασμένες με ΥΠ ελιές για 100, 250 και 400 MPa και για 5 min.

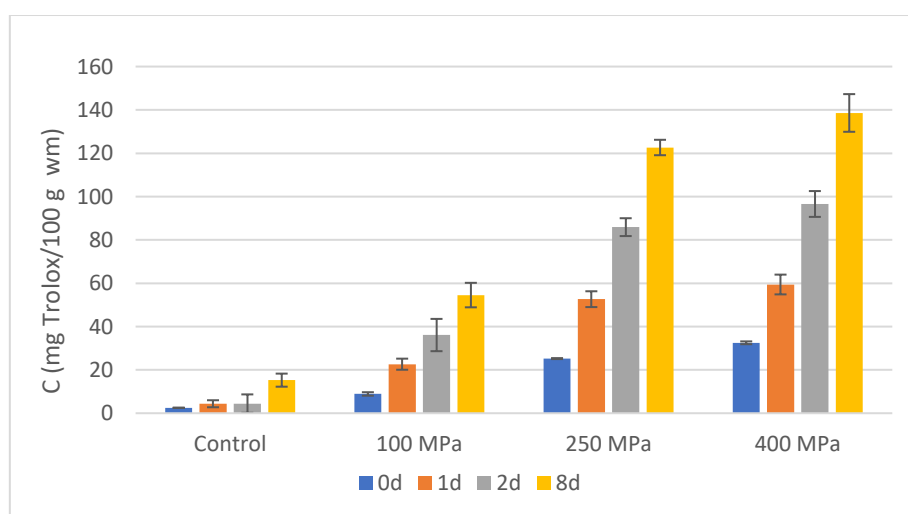
HP conditions	$k$ (d <sup>-1</sup> )	$\gamma_0$ (mg/100 g wm)
100 MPa	0.146±0.032	0.43±0.05
250 MPa	0.221±0.028	5.74±2.36
400 MPa	0.344±0.078	13.19±3.8

Τα  $\pm$  αντιπροσωπεύουν το τυπικό σφάλμα των παραμέτρων που προέκυψαν από την προσαρμογή της Εξ. 15 στα πειραματικά δεδομένα.

Παρατηρήθηκε ότι ο ρυθμός απομάκρυνσης φαινολικών ουσιών αυξάνεται με την αύξηση της πίεσης. Ο ρυθμός αύξησης φαινολικών ενώσεων ήταν 0,146, 0,221 και 0,344 d<sup>-1</sup> για τα 100, 250 και 400 MPa. Παράλληλα, η σταθερά  $\gamma_0$  που αντιπροσωπεύει την αρχική συγκέντρωση σε φαινολικά συστατικά (αμέσως μετά την επεξεργασία), αυξάνεται με αύξηση της πίεσης, κάτι που αναμενόταν, δεδομένου ότι η εντονότερη διάρρηξη κυττάρων ενισχύει την εκχυλισσιμότητα των ενδοκυτταρικών συστατικών αμέσως μετά την επεξεργασία.

#### 4.1.2.2 Αντιοξειδωτική Ικανότητα

Στο παρακάτω διάγραμμα (Εικόνα 32) παρατηρούμε την μεταβολή της αντιοξειδωτικής ικανότητας, μετρημένη στην άλμη, σε όλες τις συνθήκες προεπεξεργασίας με ΥΠ και στο ανεπεξέργαστο δείγμα σε χρόνους 0-8 μέρες παραμονής στην άλμη.



Εικόνα 32 Μεταβολή αντιοξειδωτικής ικανότητας στην άλμη, για τις ανεπεξέργαστες (control) και προεπεξεργασμένες με ΥΠ σε χρόνο μηδέν, μετά από 1, 2, και 8 μέρες για 100, 250 και 400 MPa για 5 min. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων.

Όπως τα φαινολικά συστατικά, έτσι και οι ουσίες με αντιοξειδωτική δράση εκχυλίζονται σε μεγαλύτερο βαθμό με την αύξηση της πίεσης. Στην πιο έντονη συνθήκη των 400 MPa, η αντιοξειδωτική ικανότητα έφτασε τιμή ίση με 138.59 mg Trolox/100 g w.m μετά από 8 μέρες παραμονής στην άλμη, ενώ η αντίστοιχη τιμή για τα ανεπεξέργαστα δείγματα ήταν 15.27 mg Trolox/100 g w.m.

#### 4.1.2.3 Ελευρωπαΐνη

Στον Πίνακα 12 παρατίθεται η συγκέντρωση της ελευρωπαΐνης σε δείγματα ελιών, ανεπεξέργαστων και επεξεργασμένων με ΥΠ σε διάφορες συνθήκες μετά από 8 μέρες παραμονής στην άλμη.

Πίνακας 12 Συγκέντρωση ελευρωπαΐνης για τις ανεπεξέργαστες (control) και προεπεξεργασμένες με ΥΠ ελιές σε χρόνο μηδέν, μετά από 1, 2 και 8 μέρες για 100, 250 και 400 MPa για 5 min.

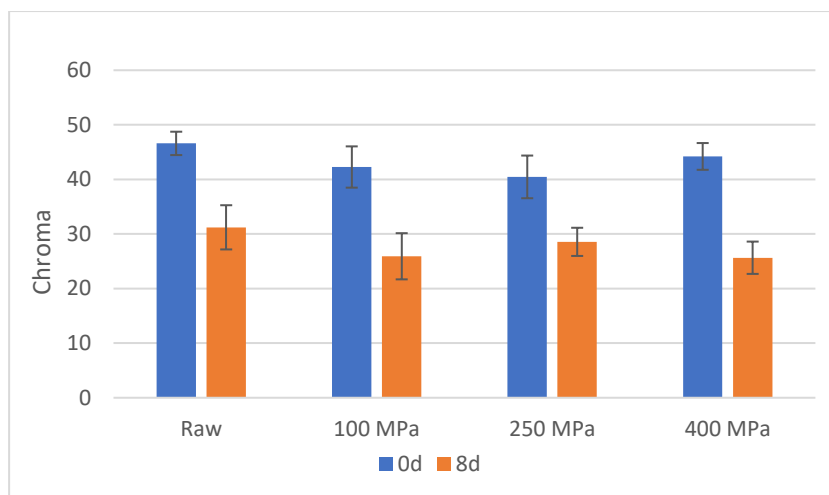
HP conditions	Oleuropein (mg/100 g w.m.)			
	0d	1d	2d	8d
Control	179.3±1.6	175.2±2.7	169.5±3.7	165.2±5.7
100 MPa & 5 min	169.1±3.7	151.7±9.6	98.1±6.7	35.2±6.9
250 MPa & 5min	108.5±5.4	91.2±5.5	43.6±3.6	22.4±4.6
400 MPa & 5min	96.8±4.7	59.4±3.6	22.7±9.5	18.4±1.7

±αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων.

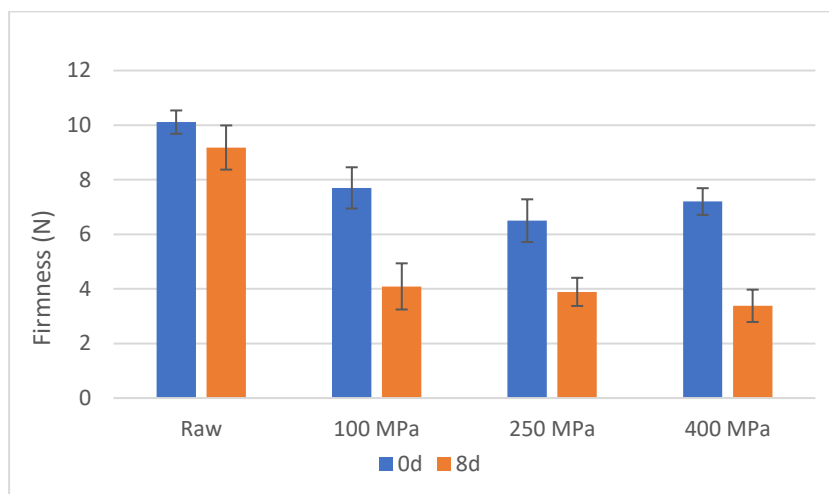
Γενικότερα, μπορεί να παρατηρηθεί πως με αύξηση της πίεσης, είναι εντονότερη η αποβολή της ελευρωπαΐνης από τον καρπό αμέσως μετά την επεξεργασία και κατά την διάρκεια της επώασης στην άλμη, κάτι το οποίο αναμενόταν. Ενδιαφέρουσα λεπτομέρεια αποτελεί το γεγονός ότι κατά την παραμονή των ελιών στην άλμη, οι συνθήκες 250 και 400MPa δεν διαφέρουν σημαντικά ως προς την συγκέντρωση της ελευρωπαΐνης (~20 mg/100 g w.m). Αξίζει να αναφερθεί πως, η συγκέντρωση ελευρωπαΐνης αμέσως μετά την επεξεργασία με ΥΠ μειώθηκε έως και 46% στην πιο έντονη συνθήκη (400 MPa & 5min) σε σχέση με το ανεπεξέργαστο δείγμα (από 179,3 mg/100 g w.m σε 96,8 mg/100 g w.m).

#### 4.1.2.4 Χρώμα και Υφή

Στα παρακάτω διαγράμματα (Εικόνα 33 & 34) παρατηρείται η μεταβολή του χρώματος και της υφής πράσινων ελιών, επεξεργασμένων με ΥΠ, σε σύγκριση με το ανεπεξέργαστο δείγμα σε χρόνους 0-8 μέρες παραμονής στην άλμη.



Εικόνα 33 Μεταβολή χρώματος για τις ανεπεξέργαστες (control) και προεπεξεργασμένες με ΥΠ ελιές σε χρόνο μηδέν, μετά από 8 μέρες για 100, 250 και 400 MPa για 5 min. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων.



Εικόνα 34 Μεταβολή σκληρότητας για τις ανεπεξέργαστες (control) και προεπεξεργασμένες με ΥΠ ελιές σε χρόνο μηδέν, μετά από 8 μέρες για 100, 250 και 400 MPa για 5 min. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων.

Η επεξεργασία με ΥΠ φαίνεται να επηρεάζει το χρώμα των δειγμάτων. Συγκεκριμένα, σε χρόνο μηδέν, αλλά και μετά από 8 μέρες παραμονής στην άλμη, τα δείγματα ελιών όλων των πιέσεων, δεν παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές ως προς τη χρωματική αλλαγή σε σύγκριση με το δείγμα αναφοράς παίρνοντας τιμές χρώματος μεταξύ 25,65 και 31,22. Δηλαδή, το χρώμα των επεξεργασμένων ελιών σκουραίνει ελαφρώς, αλλά όσο σκουραίνει και το χρώμα των ανεπεξέργαστων.

Όσον αφορά την σκληρότητα των δειγμάτων, οι ελιές μαλακώνουν σε χρόνο μηδέν λόγω της προεπεξεργασίας με ΥΠ, καθώς όλα τα δείγματα των επεξεργασμένων με ΥΠ ελιών εμφανίζουν χαμηλότερη σκληρότητα έως και 28% σε σχέση με το ανεπεξέργαστο. Στις 8 ημέρες παραμονής στην άλμη, οι επεξεργασμένες με ΥΠ ελιές φαίνεται να μην έχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους ως προς τη σκληρότητα (3,38-4,09 N). Σε σχέση με το ανεπεξέργαστο δείγμα, μετά από 8 μέρες παραμονής, τα επεξεργασμένα με ΥΠ

δείγματα εμφανίζουν μια μείωση της σκληρότητας καθώς από 9,11 N (ανεπεξεργαστο την 8<sup>η</sup> μέρα) η τιμή της σκληρότητας φτάνει 3,38 N (επεξεργασμένο με ΥΠ την 8<sup>η</sup> μέρα).

#### 4.1.2.5 Επιλογή Συνθήκης Υπερψηλής Πίεσης

Όσον αφορά στην απομάκρυνση του ολικού φαινολικού περιεχομένου από την ελιά στην άλμη, η εντονότερη συνθήκη με ΥΠ (400 MPa & 5 min) φαίνεται να ήταν η αποτελεσματικότερη, με σημαντικές διαφορές από την 250 MPa & 5 min. Παρόλα αυτά, δεδομένου ότι το ζητούμενο της εργασίας είναι η αποπίκραση, δηλαδή η απομάκρυνση της ελευρωπαΐνης, θα λάβουμε υπόψη τα αποτελέσματα αυτής για την επιλογή της βέλτιστης συνθήκης επεξεργασίας. Βάσει αυτών, παρατηρήθηκε πως με το χρόνο παραμονής στη άλμη, οι συγκέντρωση ελευρωπαΐνης των ελιών που επεξεργάστηκαν με ΥΠ στα 250 και 400 MPa δεν εμφάνισαν σημαντικές διαφορές μεταξύ τους. Λαμβάνοντας υπόψη και τις ενεργειακές απαιτήσεις για την κάθε συνθήκη με ΥΠ και διαλέγοντας την πιο ήπια ενεργειακά συνθήκη που δίνει την μέγιστη μείωση της ελευρωπαΐνης η βέλτιστη συνθήκη επεξεργασίας με ΥΠ που επιλέχθηκε ήταν η 250MPa & 5min. Παράλληλα, όσον αφορά στην υποβάθμιση της υφής, θεωρούμε πως σε μια ενδεχόμενη ζύμωση, η παραμονή στην άλμη για χρόνο που ξεπερνά τους 3 μήνες, θα μπορούσε να καταστήσει μη σημαντική τη διαφορά υφής μεταξύ επεξεργασμένης με ΥΠ και ανεπεξεργαστης ελιάς.

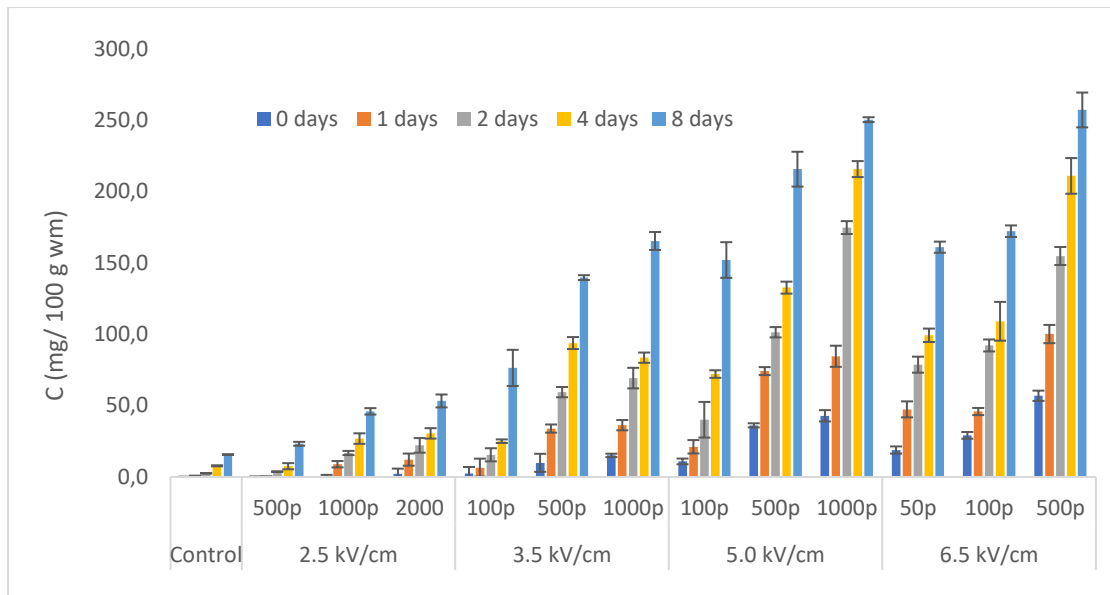
#### 4.1.2.6 Σύγκριση με βιβλιογραφία

Οι Andreou et al. (2021) επιχείρησαν την αποπίκραση ελαιόπαστας, με τη βοήθεια της διεργασίας της ΥΠ, αποσκοπώντας στην παραγωγή μιας καινοτόμου αλοιφής με βάση την πάστα ελιάς. Η πρώτη ύλη της εργασίας αποτελεί βασικό παραπροϊόν της βιομηχανίας παραγωγής ελαιόλαδου και παραλήφθηκε ύστερα από μηχανική συμπίεση και απελαίωση ελιών. Οι συνθήκες κατεργασίας που επιλέχθηκαν ήταν οι 200 & 600 MPa για χρόνους 5 και 20 min και συγκρίθηκαν με τη συμβατική μέθοδο αποπίκρασης ελαιόπαστας. Οι ερευνήτριες συμπέραναν ότι η εκχύλιση φαινολικών συστατικών υποβοηθάται σημαντικά από την άσκηση υπερψηλής πίεσης. Το ολικό φαινολικό φορτίο παρουσίασε μείωση ως και 76% μεγαλύτερη της συμβατικής εκχύλισης, ενώ η ελευρωπαΐνη ως και 50% μεγαλύτερη της συμβατικής. Αυτά βέβαια αφορούν την εκχύλιση στην ακραία συνθήκη των 600MPa & 20min, αλλά η αποπίκραση ήταν αποτελεσματική (βάσει μετρήσεων και οργανοληπτικής δοκιμής) ακόμα και στις ηπιότερες συνθήκες επεξεργασίας (<400 MPa). Επομένως, τα αποτελέσματα αυτά ενισχύουν τον ισχυρισμό μας ότι η ΥΠ αποτελεί μια αποτελεσματική διεργασία για την επιτάχυνση αποπίκρασης ελιάς.

### 4.1.3 Κινητική μελέτη αποπίκρασης πράσινων επιτραπέζιων ελιών με Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία

#### 4.1.3.1 Ολικό Φαινολικό Περιεχόμενο

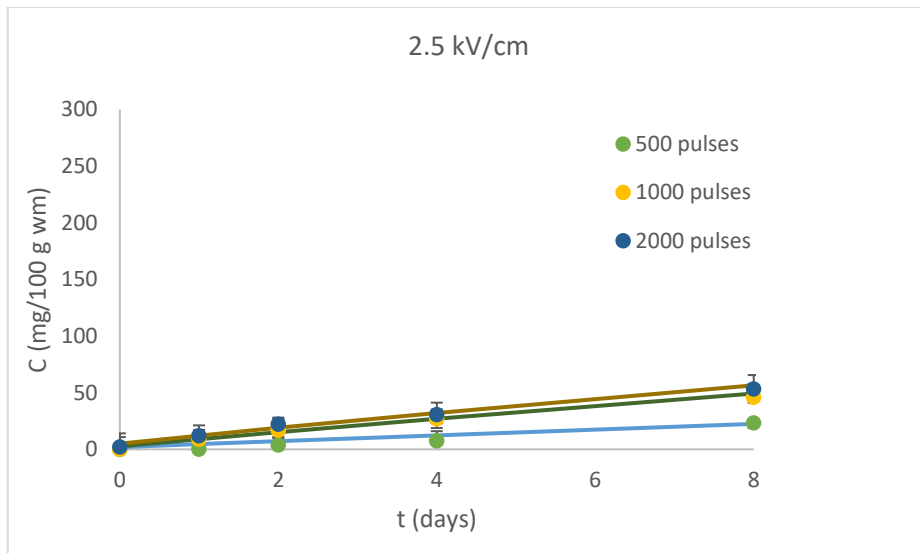
Τα αποτελέσματα των μετρήσεων φαινολικού περιεχομένου στη διάρκεια του χρόνου, σε ελιές επεξεργασμένες με ΠΗΠ σε όλες τις συνθήκες που μελετήθηκαν παρουσιάζονται στην Εικόνα 35:



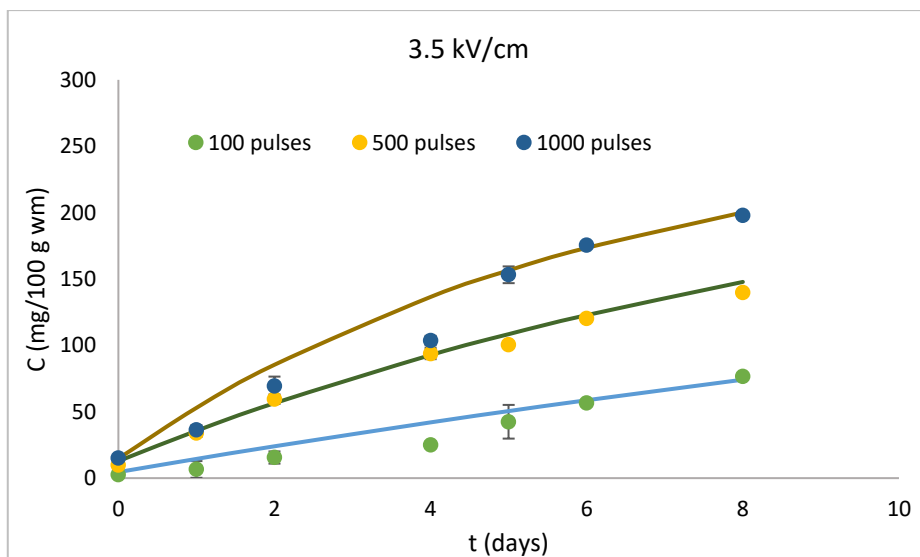
Εικόνα 35 Συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων που εκχυλίστηκαν από τις ελιές στην άλμη για τις ανεπεξέργαστες (control) και προεπεξεργασμένες με ΠΗΠ σε χρόνο μηδέν, μετά από 1, 2, 4 και 8 μέρες για 2,5, 3,5, 5,0 και 6,5 kV/cm για έως και 2000 παλμούς. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων.

Από το παραπάνω διάγραμμα, η εκχυλισσιμότητα φαίνεται να βελτιώνεται με την αύξηση της έντασης του ηλεκτρικού πεδίου και τον αριθμό των παλμών (δηλαδή το χρόνο επεξεργασίας). Αυτό ήταν αναμενόμενο, καθώς τα ΠΗΠ προκαλούν ηλεκτροδιάτρηση των φυτικών ιστών οδηγώντας σε ταχύτερη και αποτελεσματικότερη διάχυση μεγαλύτερης ποσότητας ενδοκυτταρικού περιεχομένου από την ελιά προς την άλμη.

Για την κάθε συνθήκη, στα πειραματικά δεδομένα προσαρμόστηκε η ανηγμένη μορφή ενός κλασματικού εκθετικού μοντέλου (Εξ. 15) και παρουσιάζονται στις εικόνες 36-39. Από την προσαρμογή της εξίσωσης στα πειραματικά δεδομένα υπολογίστηκαν οι ρυθμοί αύξησης των φαινολικών ενώσεων  $k$  και η αρχική συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων  $\gamma_0$  για κάθε συνθήκη που μελετήθηκε. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 13.

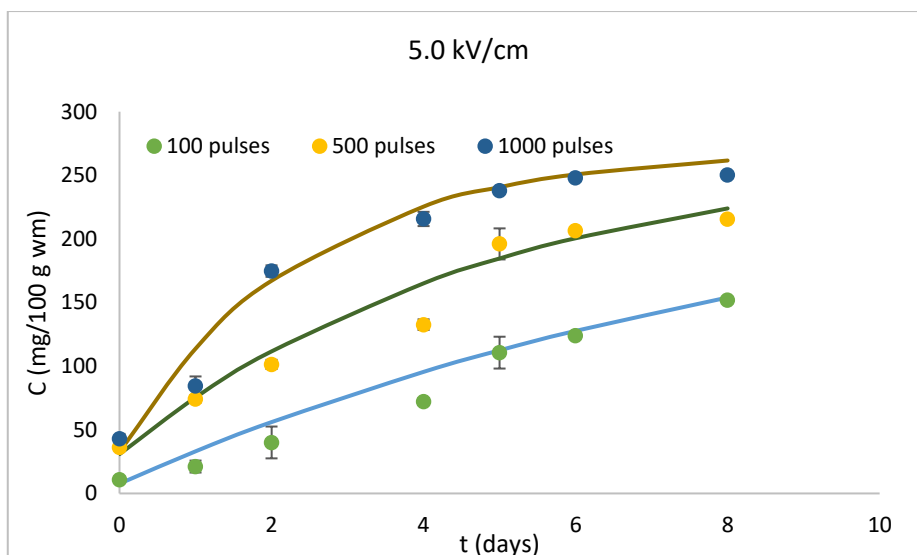


Εικόνα 36 Συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων που εκχυλίστηκαν από τις ελιές στην άλμη μετά από 8 μέρες για τις προεπεξεργασμένες με ΠΗΠ ελιές για 2,5 kV/cm για 500, 1000 και 2000 παλμούς. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων. Οι συνεχόμενες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στην Εξ. 15.

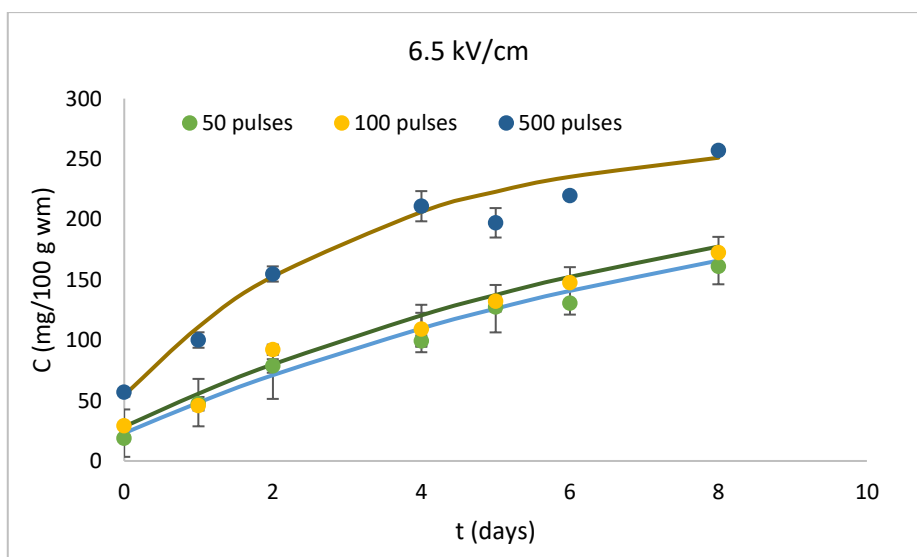


Εικόνα 37 Συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων που εκχυλίστηκαν από τις ελιές στην άλμη μετά από 8 μέρες για τις προεπεξεργασμένες με ΠΗΠ ελιές για 3,5 kV/cm για 100, 500 και 1000 παλμούς. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων. Οι συνεχόμενες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στην Εξ. 15.





Εικόνα 38 Συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων που εκχυλίστηκαν από τις ελιές στην άλμη μετά από 8 μέρες για τις προεπεξεργασμένες με ΠΗΠ ελιές για 5,0 kV/cm για 100, 500 και 1000 παλμούς. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων. Οι συνεχόμενες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στην Εξ. 15.



Εικόνα 39 Συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων που εκχυλίστηκαν από τις ελιές στην άλμη μετά από 8 μέρες για τις προεπεξεργασμένες με ΠΗΠ ελιές για 6,5 kV/cm για 50, 100 και 500 παλμούς. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων. Οι συνεχόμενες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στην Εξ. 15.

Παράλληλα, μέσω της Εξ. 5 υπολογίζεται η ειδική ενέργεια για την κάθε συνθήκη με ΠΗΠ, ώστε να συσχετιστεί με το ρυθμό απώλειας φαινολικών συστατικών και να επιλεγεί η βέλτιστη συνθήκη. Εκμεταλλευόμαστε, δηλαδή αυτό το ενεργειακό μέγεθος, το οποίο συγχωνεύει τις δύο παραμέτρους λειτουργίας των ΠΗΠ σε μια, ώστε να διευκολύνουμε την ανάλυσή μας, αναφορικά με την επιλογή των βέλτιστων συνθηκών. Η εξίσωση έχει την μορφή:  $W = \frac{I \cdot V \cdot t}{m}$

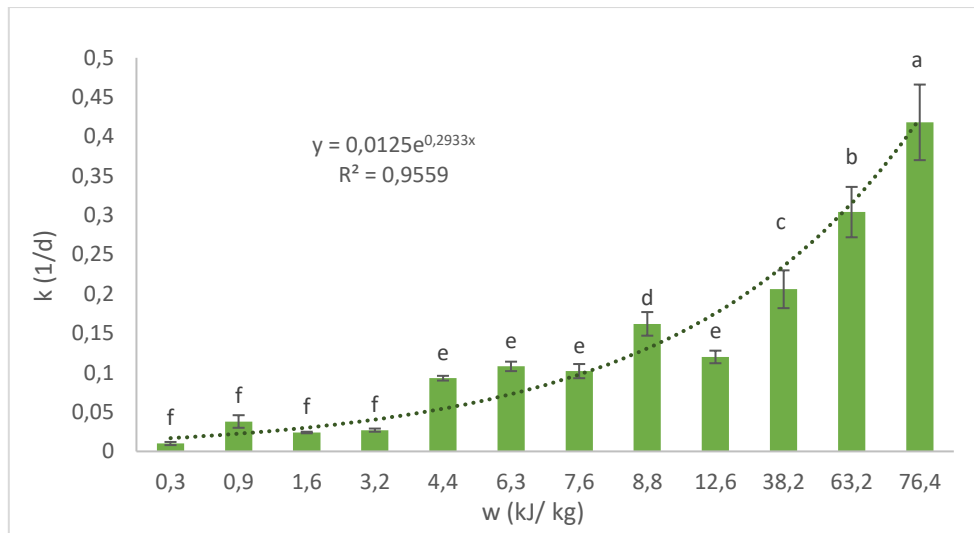
Στον πίνακα 13 συνοψίζονται οι σταθερές  $k$ ,  $\gamma_0$  που προέκυψαν από την προσαρμογή του μοντέλου συναρτήσεως της ειδικής ενέργειας.

Πίνακας 13 Ρυθμοί αύξησης των φαινολικών ενώσεων  $k$  και η αρχική συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων  $\gamma_0$  για τις προεπεξεργασμένες με ΠΗΠ ελιές για 2,5, 3,5, 5,0 και 6,5 kV/cm για 50 έως και 2000 παλμούς.

PEF conditions		PEF energy input (kJ/kg)	$k$ (d <sup>-1</sup> )	$\gamma_0$ (mg/100 g wm)
	500 pulses	0.3	0.010±0.002	1.87±0.23
2.5 kV/cm	1000 pulses	1.6	0.024±0.001	2.56±1.41
	2000 pulses	3.2	0.027±0.002	5.04±1.89
3.5 kV/cm	100 pulses	0.9	0.038±0.008	4.56±1.35
	500 pulses	4.4	0.093±0.003	12.81±2.87
	1000 pulses	8.8	0.162±0.015	14.75±4.56
5.0 kV/cm	100 pulses	7.6	0.102±0.009	7.65±2.25
	500 pulses	38.2	0.206±0.024	30.86±12.90
	1000 pulses	76.4	0.418±0.048	32.64±13.05
6.5 kV/cm	50 pulses	6.3	0.108±0.006	23.05±4.89
	100 pulses	12.6	0.120±0.008	28.44±6.18
	500 pulses	63.2	0.304±0.032	54.45±1.27

±αντιπροσωπεύουν το τυπικό σφάλμα των παραμέτρων που προέκυψαν από την προσαρμογή της Εξ. 14 στα πειραματικά δεδομένα.

Παρατηρήθηκε ότι ο ρυθμός απομάκρυνσης φαινολικών ουσιών αυξάνεται με την αύξηση της έντασης των συνθηκών. Οι ρυθμοί αύξησης των φαινολικών ενώσεων κυμαίνονταν από 0,010 έως και 0,304 d<sup>-1</sup>. Παράλληλα, η σταθερά  $\gamma_0$  που αντιπροσωπεύει την αρχική συγκέντρωση σε φαινολικά συστατικά (αμέσως μετά την επεξεργασία με ΠΗΠ), αυξανόταν με αύξηση της έντασης των συνθηκών με ΠΗΠ παίρνοντας τιμές από 1,87 έως και 54,45 mg/100 g wm, κάτι που αναμενόταν, δεδομένου ότι η εντονότερη διάρρηξη κυττάρων ενισχύει την εκχυλισσιμότητα των ενδοκυτταρικών συστατικών αμέσως μετά την επεξεργασία. Στην Εικόνα 40 φαίνεται η συσχέτιση ρυθμού αποβολής φαινολικών ουσιών με την κατανάλωση ενέργειας λόγω ΠΗΠ.

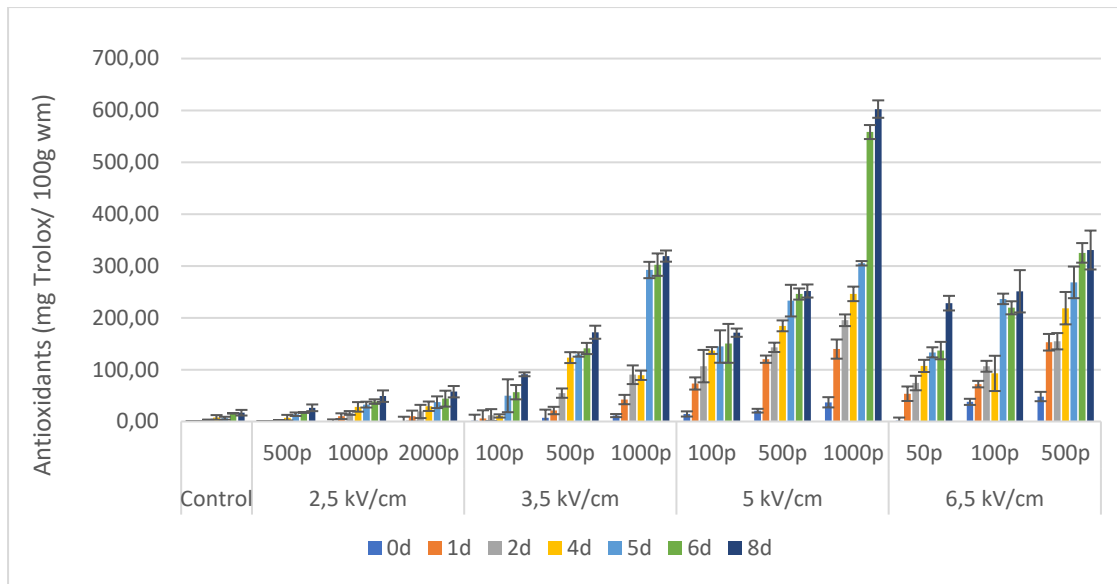


Εικόνα 40 Συσχέτιση ρυθμού αποβολής φαινολικών ουσιών με κατανάλωση ενέργειας λόγω ΠΗΠ. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν το τυπικό σφάλμα των παραμέτρων που προέκυψαν από την προσαρμογή της Εξ. 5 στα πειραματικά δεδομένα.

Ο ρυθμός απώλειας φαινολικών συστατικών συναρτήσει της ειδικής ενέργειας προσαρμόζεται πολύ ικανοποιητικά σε εκθετικό μοντέλο, το οποίο σημαίνει πως με μικρές μεταβολές στις παραμέτρους λειτουργίας, αυξάνεται η απαιτούμενη κατανάλωση ενέργειας εκθετικά. Επομένως, είναι προφανές πως η ταχύτερη αποβολή φαινολικών ουσιών επιτυγχάνεται στα 76,4 kJ/kg που αντιστοιχούν στη συνθήκη 5kV/cm- 1000p. Μπορούμε επίσης να παρατηρήσουμε πως για ειδική ενέργεια από 4,4 kJ/kg έως και 12,6 kJ/kg, δεν εμφανίζονται στατιστικά σημαντικές διαφορές στο ρυθμό απομάκρυνσης φαινολικών.

#### 4.1.3.2 Αντιοξειδωτική Ικανότητα

Στο παρακάτω διάγραμμα (Εικόνα 41) παρατηρούμε την μεταβολή της αντιοξειδωτικής ικανότητας, μετρημένη στην άλμη, σε όλες τις συνθήκες προεπεξεργασίας με ΠΗΠ συγκριτικά με το ανεπεξεργαστο δείγμα σε χρόνους 0-8 μέρες παραμονής στην άλμη.



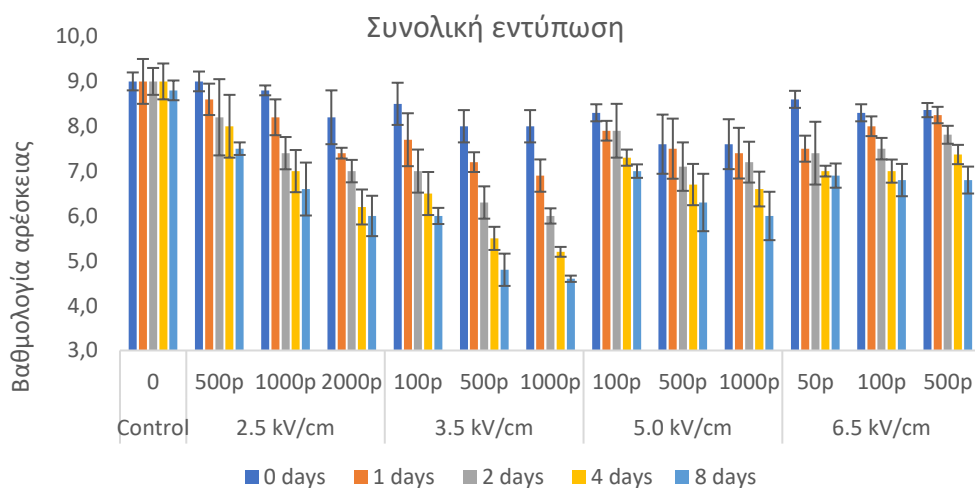
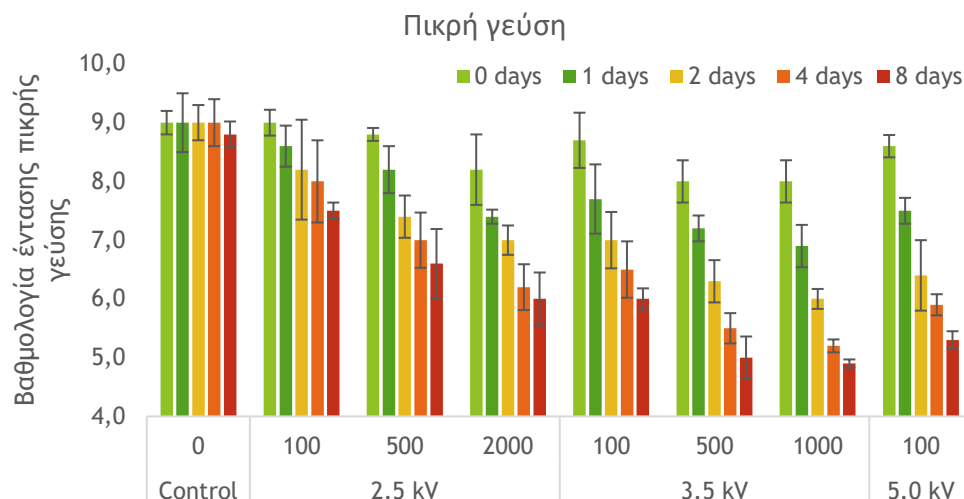
Εικόνα 41 Μεταβολή αντιοξειδωτικής ικανότητας στην άλμη, για τις ανεπεξεργαστες (control) και προεπεξεργασμένες με ΠΗΠ σε χρόνο μηδέν, μετά από 1, 2, 4, 6 και 8 μέρες για 2,5, 3,5, 5,0 και 6,5 kV/cm για έως και 2000 παλμούς. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων.

Από το παραπάνω διάγραμμα φαίνεται πως με την αύξηση του πεδίου και του χρόνου επεξεργασίας με ΠΗΠ εκχυλίζονται εκτός της ελιάς περισσότερα συστατικά με αντιοξειδωτική ικανότητα. Παρατηρείται επίσης πως στις ακραίες συνθήκες, η απώλεια των ουσιών αυτών είναι μεγάλη και δεν παύει να αυξάνεται, κάτι το οποίο καθιστά το τρόφιμο λιγότερο θρεπτικό.

#### 4.1.3.3 Οργανοληπτική Αξιολόγηση

Για τη λήψη της απόφασης σχετικά με τη βέλτιστη συνθήκη επεξεργασίας με ΠΗΠ, σχεδιάστηκε και οργανοληπτική αξιολόγηση, ώστε να βαθμολογηθούν τα δείγματα από δοκιμαστές για την ένταση της πικρής γεύσης. Όπως ήταν αναμενόμενο η ένταση της πικρής γεύσης μειωνόταν όσο πιο έντονες ήταν οι συνθήκες με ΠΗΠ. Με την αύξηση της έντασης του ηλεκτρικού πεδίου και του χρόνου επεξεργασίας, παρατηρείται μεγαλύτερη μείωση της πικρής γεύσης με το χρόνο, κάτι το οποίο αναμενόταν, λόγω ταχύτερης εκχύλισης της ελευρωπαΐνης εκτός του καρπού.

Παρόλα αυτά, κατά τη διάρκεια των δοκιμών, στις έντονα επεξεργασμένες ελιές, παρατηρήθηκε μια ακόμη δυσάρεστη γεύση (off-flavor) που προκαλούσε η επεξεργασία με ΠΗΠ, η οποία καθιστούσε πλέον το τρόφιμο γευστικά μη αποδεκτό. Πιο συγκεκριμένα, από τα 5kV/cm-100p και πάνω, φαίνεται να αυξάνονται οι βαθμολογίες μη αποδοχής, καθώς επικράτησε η δυσάρεστη γεύση που αναφέρθηκε παραπάνω, ενώ από τα 3,5kV/cm- 1000p και κάτω επικρατεί μόνο η πικρή γεύση. Επομένως, στην Εικόνα 42α και 42β φαίνεται η βαθμολογία των δοκιμαστών για τη ένταση της πικρής γεύσης και της συνολική αποδοχή της βρώσιμης ελιάς συναρτήσει των συνθηκών επεξεργασίας με ΠΗΠ.



Εικόνα 42 Οργανοληπτική αξιολόγηση (α) ένταση πικρής γεύσης και (β) συνολική εντύπωση των ανεπεξεργαστων (control) και προεπεξεργασμένων με ΠΗΠ ελιών σε χρόνο μηδέν, μετά από 1, 2, 4, και 8 μέρες για 2,5, 3,5, 5,0 και 6,5 Kv/cm για έως και 2000 παλμούς. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων.

#### 4.1.3.4 Ελευρωπαϊνή

Έχοντας απορρίψει τις ακραίες συνθήκες (>5,0 kV/cm) από την οργανοληπτική αξιολόγηση, επιλέχθηκαν δείγματα ελιάς από τις υπόλοιπες συνθήκες σε διάφορους χρόνους παραμονής στην άλμη, ώστε να προσδιοριστεί η εναπομείνασα ελευρωπαϊνή στον καρπό ελιάς. Παρακάτω στον Πίνακα 14, παρουσιάζονται οι μετρήσεις ελευρωπαϊνής σε δείγματα επεξεργασμένων με ΠΗΠ και ανεπεξεργαστων ελιών για διάστημα 0-8 ημερών παραμονής στην άλμη.

Πίνακας 14 Συγκέντρωση ελευρωπαϊνης για τις ανεπεξέργαστες (control) και προεπεξεργασμένες με ΠΗΠ ελιές σε χρόνο μηδέν, μετά από 1, 2 και 8 μέρες για 2,5 και 3,5 για έως και 2000 παλμούς.

PEF conditions		Oleuropein (mg/100 g w.m.)			
t (days)		0d	1d	2d	8d
	<b>Control</b>	179.3±1.6	175.2±2.7	169.5±3.7	165.2±5.7
2.5 kV/cm	<b>100 pulses</b>	165.2±2.7	161.0±9.6	156.0±6.7	125.5±6.9
	<b>500 pulses</b>	162.5±3.6	152.4±5.5	133.3±3.6	119.3±1.6
	<b>1000 pulses</b>	157.6±5.7	148.7±3.6	126.0±9.5	99.2±9.7
3.5 kV/cm	<b>100 pulses</b>	163.7±5.6	154.2±4.9	136.8±8.6	122.6±4.6
	<b>500 pulses</b>	119.8±7.7	85.4±6.9	58.7±6.7	39.6±5.7
	<b>1000 pulses</b>	110.0±4.6	75.7±5.7	26.1±3.6	3.9±0.6
5.0 kV/cm	<b>100 pulses</b>	139.2±3.7	107.1±2.9	68.2±4.7	55.2±2.7

±αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων.

Γίνεται αντιληπτό πως με την αύξηση των συνθηκών επεξεργασίας με ΠΗΠ η μείωση της ελευρωπαϊνης είναι εντονότερη. Αξίζει να σημειωθεί πως στα 3,5 kV/cm και 1000 παλμούς η μείωση της ελευρωπαϊνης έφτασε το 98% σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή στο ανεπεξέργαστο δείγμα μετά από 8 μέρες παραμονής στην άλμη (από 165.2 mg/100 g w.m στα 3,9 mg/100 g w.m).

#### 4.1.3.5 Επιλογή βέλτιστης συνθήκης ΠΗΠ

Για την αξιολόγηση στις ποιότητας στις τροφίμου, η γεύση αποτελεί τη σημαντικότερη παράμετρο, επομένως, δεδομένης στις δυσάρεστης γεύσης που εμφανίστηκε για εντάσεις ηλεκτρικού πεδίου >5kV/cm, δεν θα μπορούσαμε να επιλέξουμε μια από στις έντονες συνθήκες επεξεργασίας. Από στις υπόλοιπες συνθήκες, την πιο ταχεία αποπύκρωση (οργανοληπτικά και βάσει στις μετρούμενης ελευρωπαϊνης) την επιτυγχάνει η συνθήκη 3,5kV/cm- 1000p, αλλά με μη σημαντικές διαφορές από την 3,5kV/cm- 500p. Επομένως, παρόλο που η συνθήκη 3,5kV/cm με 1000p παρουσιάζει παρόμοια εικόνα οργανοληπτικά και καλύτερη εικόνα ως στις την αντικειμενική μέτρηση στις ελευρωπαϊνης, δεν επιλέγεται καθώς:

- i. Αντιστοιχεί σε διπλάσια ενεργειακή κατανάλωση από την 3,5kV/cm- 500p (8,8 έναντι 4,4 kJ/kg).
- ii. Οι ποσότητες ελευρωπαϊνης στα μετρούμενα δείγματα, παρόλο που διαφέρουν σημαντικά, αφορούν την 8<sup>η</sup> μέρα παραμονής στην άλμη, ενώ η εκχύλιση συνεχίζεται μέχρι τη λήξη στις ζύμωσης, όπου και αναμένεται να περιέχουν παρόμοια ή και μηδενικά επίπεδα στις ουσίας.

Στη συνέχεια, αναφορικά με τη συσχέτιση ρυθμού- ειδικής ενέργειας, μπορούμε να κάνουμε την εξής σημείωση: Πέρα από τα 4,4 kJ/kg, που αντιστοιχούν στη συνθήκη 3,5 kV/cm- 500 p, για να παρατηρηθεί σημαντική μεταβολή του ρυθμού και συγκεκριμένα διπλασιασμός, θα έπρεπε να καταναλωθεί δεκαπλάσια ενέργειας (38,2 kJ/kg). Τέλος, έχουμε ακόμα ένα λόγο να προτιμήσουμε ως βέλτιστη μια ενδιάμεση συνθήκη, ώστε παράλληλα με το σκοπό στις αποπύκνωση που καλείται να επιτύχει, να μην παράγει προϊόν με μεγάλη απώλεια σε αντιοξειδωτικές ουσίες, στις φάνηκε να συμβαίνει στις πιο έντονες συνθήκες με ΠΗΠ. Επομένως, επιλέγεται ως βέλτιστη η συνθήκη των 3,5kV/cm- 500 p.

#### 4.1.3.6 Σύγκριση με βιβλιογραφία

Οι Rosello – Soto et al. (2015) μελέτησαν, μεταξύ άλλων θερμικών μεθόδων, την επίδραση των ΠΗΠ στην εκχυλισσιμότητα φαινολικών ενώσεων και πρωτεϊνών από ελαιοπυρήνα. Οι ερευνητές διερεύνησαν την εφαρμογή ΠΗΠ σε τρία επίπεδα ειδικής ενέργειας (18, 55 και 109 kJ/kg), ελέγχοντας τον αριθμό των παλμών και διατηρώντας σταθερή την ένταση του πεδίου στα 13,3 kV/cm. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως για μικρό χρόνο επεξεργασίας, η εκχύλιση φαινολικών υποβοηθούμενη με PEF δεν διαφέρει σημαντικά από τη συμβατική, κάτι το οποίο οφείλεται στη δομή του κουκουτσιού, η οποία δεν επιτρέπει εύκολα το σχηματισμό πόρων. Παρόλα αυτά, στο μέγιστο μελετούμενο χρόνο επεξεργασίας, η εκχύλιση φαινολικών με τη βοήθεια των ΠΗΠ αυξάνεται κατά 50% συγκριτικά με τη συμβατική μέθοδο.

## 4.2 Κινητική μελέτη αποπύκνωσης πράσινων επιτραπέζιων ελιών Ισπανικού τύπου

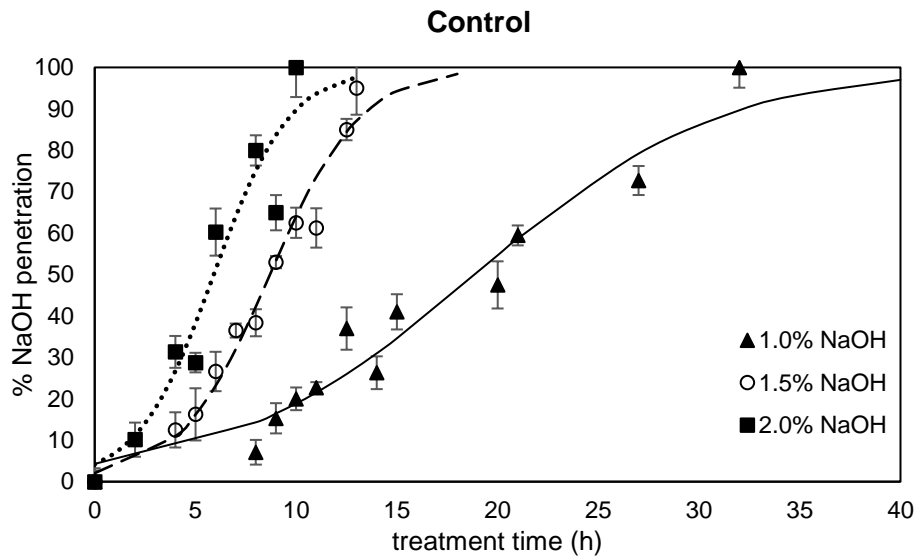
### 4.2.1 Κινητικό Πείραμα Διείσδυσης καυστικού νατρίου

Για την επιλογή στις αποτελεσματικότερης συγκέντρωσης καυστικού νατρίου για την αποπύκνωση ισπανικού τύπου, μετρήθηκε η διείσδυσή του σε ελιές control και επεξεργασμένες με HP και PEF, στις βέλτιστες συνθήκες που επιλέχθηκαν. Τα παρακάτω αποτελέσματα αφορούν μετρήσεις ποσοστιαίου πάχους διείσδυσης συναρτήσει του χρόνου παραμονής στο αλκαλικό διάλυμα και προσαρμόστηκαν σε σιγμοειδείς καμπύλες (Εικόνες 43-45). Για την κάθε συνθήκη, στα πειραματικά δεδομένα προσαρμόστηκε ένα σιγμοειδές μοντέλο (Εξ. 16) που έχει την μορφή:

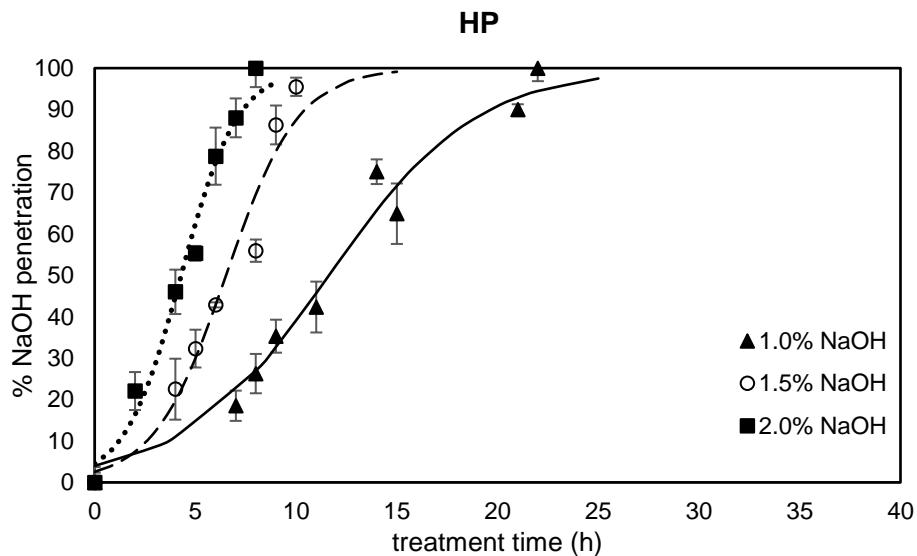
$$y = \frac{100}{1 + e^{-k(t-t_{50})}}$$

Εξίσωση 16

Όπου  $\gamma$  η ποσοστιαία διείσδυση,  $k$  ο ρυθμός διείσδυσης,  $t_{50}$  ο απαιτούμενος χρόνος διείσδυσης του καυστικού νατρίου στο 50% της σάρκας.

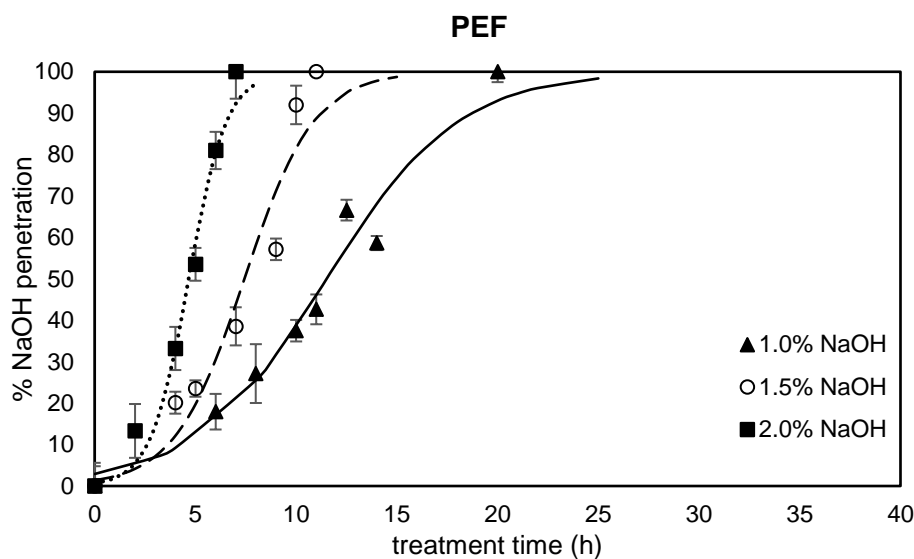


Εικόνα 43 Καμπύλες διείσδυσης καυστικού νατρίου με το χρόνο σε ανεπεξέργαστες ελιές και συγκέντρωση καυστικού νατρίου 1,0, 1,5 και 2,0% w/w. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων. Οι συνεχόμενες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στην Εξ. 16.



Εικόνα 44 Καμπύλες διείσδυσης καυστικού νατρίου με το χρόνο σε προεπεξεργασμένες με ΥΠ ελιές (250 MPa & 5 min) και συγκέντρωση καυστικού νατρίου 1,0, 1,5 και 2,0% w/w. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων. Οι συνεχόμενες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στην Εξ. 16.





Εικόνα 45 Καμπύλες διείσδυσης καυστικού νατρίου με το χρόνο σε προεπεξεργασμένες με ΠΗΠ ελιές (3.5 kV/cm & 500 παλμοί) και συγκέντρωση καυστικού νατρίου 1,0, 1,5 και 2,0% w/w. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων. Οι συνεχόμενες γραμμές αντιπροσωπεύουν την προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στην Εξ. 16.

Παρατηρώντας τις καμπύλες, γίνεται φανερό πως οι μέθοδοι προεπεξεργασίας με ΠΗΠ και ΥΠ επιταχύνουν τη διείσδυση του NaOH στη σάρκα, καθώς τα κυτταρικά τοιχώματα των επεξεργασμένων ελιών είναι διετρημένα σε μεγαλύτερο βαθμό. Συνεργιστικά στην επιτάχυνση δρα και η αύξηση στη συγκέντρωση του αλκαλικού διαλύματος, αφού έχει ως αποτέλεσμα τη βελτίωση των φαινομένων μεταφοράς.

Από την προσαρμογή της εξίσωσης στα πειραματικά δεδομένα υπολογίστηκαν οι ρυθμοί διείσδυσης του καυστικού νατρίου μέσα στην ελιά  $k$  και  $\eta$  ο χρόνος διείσδυσης του καυστικού νατρίου έως να φτάσει στο 50% της σάρκας από το κουκούτσι  $t_{50}$  για όλες τις μελετώμενες συνθήκες. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 15.

Πίνακας 15 Ρυθμοί διείσδυσης του καυστικού νατρίου μέσα στην ελιά  $k$  και  $\eta$  ο χρόνος διείσδυσης του καυστικού νατρίου έως να φτάσει στο 50% της σάρκας από το κουκούτσι  $t_{50}$  για τις ανεπεξέργαστες (control), προεπεξεργασμένες με ΥΠ (250 MPa & 5 min) και ΠΗΠ (3.5 kV/cm & 500 παλμοί) ελιές και συγκέντρωση καυστικού νατρίου 1,0, 1,5 και 2,0% w/w.

Lye pretreatment		Control	
NaOH concentration	$k$	$t_{50}$	$R^2$
1.0% w/v	0.082±0.021 <sup>bA</sup>	18.87±1.34 <sup>aA</sup>	0.950
1.5% w/v	0.218±0.071 <sup>aA</sup>	8.70±0.35 <sup>bA</sup>	0.953
2.0% w/v	0.265±0.054 <sup>aB</sup>	5.91±0.39 <sup>cA</sup>	0.949
HP			
	$k$	$t_{50}$	$R^2$

<b>1.0% w/v</b>	0.137±0.053 <sup>ba</sup>	11.63±1.17 <sup>aB</sup>	0.969
<b>1.5% w/v</b>	0.278±0.063 <sup>abA</sup>	6.52±0.26 <sup>bB</sup>	0.956
<b>2.0% w/v</b>	0.357±0.096 <sup>aAB</sup>	4.29±0.41 <sup>cB</sup>	0.981
<b>PEF</b>			
	k	t <sub>50</sub>	R <sup>2</sup>
<b>1.0% w/v</b>	0.152±0.031 <sup>cA</sup>	11.51±1.04 <sup>aB</sup>	0.9634
<b>1.5% w/v</b>	0.289±0.028 <sup>bA</sup>	7.43±0.15 <sup>bB</sup>	0.948
<b>2.0% w/v</b>	0.532±0.125 <sup>aA</sup>	4.67±0.39 <sup>cB</sup>	0.980

± αντιπροσωπεύουν το τυπικό σφάλμα των παραμέτρων που προέκυψαν από την προσαρμογή της Εξ. 16 στα πειραματικά δεδομένα.

Παρατηρήθηκε ότι ο ρυθμός διείδυσης καυστικού νατρίου αυξανόταν όσο αυξανόταν και η συγκέντρωση του καυστικού νατρίου. Οι ρυθμοί διείδυσης καυστικού νατρίου κυμαίνονταν από 0,082 έως και 0,532 h<sup>-1</sup>. Για 2% w/v συγκέντρωση καυστικού νατρίου, ο ρυθμός διείδυσης καυστικού νατρίου για τα επεξεργασμένα με ΥΠ και ΠΗΠ δείγματα ήταν 35 και 100% μεγαλύτερος σε σχέση με τα μη επεξεργασμένα δείγματα (0,265 h<sup>-1</sup>).

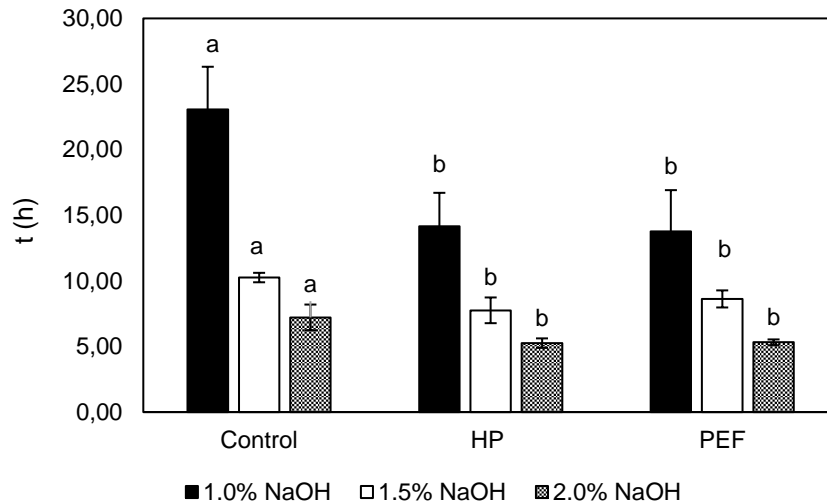
Παράλληλα, η σταθερά t<sub>50</sub> που αντιπροσωπεύει τον χρόνο διείδυσης του καυστικού νατρίου έως να φτάσει στο 50% της σάρκας από το κουκούτσι, μειωνόταν για τα δείγματα που ήταν προεπεξεργασμένα με ΠΗΠ και ΥΠ παίρνοντας τιμές από 4.29 έως και 11.63 h.

Επιπλέον, για την κάθε συνθήκη υπολογίστηκε σύμφωνα με την Εξ. 17 ο χρόνος στον οποίο παρατηρείται διείδυση του καυστικού νατρίου στα 2/3 (67%) της σάρκας:

$$t_{2/3} = \frac{\ln 2}{k} + t_{50}$$

*Εξίσωση 17*

Στην εικόνα 46 παρουσιάζονται οι απαιτούμενοι χρόνοι παραμονής στο αλκαλικό διάλυμα που τηρήθηκαν πριν τη ζύμωση για όλες τις μελετώμενες συνθήκες.



Εικόνα 46 Χρόνος αποπύκνωσης ελιών στον οποίο παρατηρείται διείσδυση του καυστικού νατρίου στα 2/3 (67%) της σάρκας για τις ανεπεξεργαστες (control), προεπεξεργασμένες με ΥΠ (250 MPa & 5 min) και ΠΗΠ (3.5 kV/cm & 500 παλμοί) ελιές και συγκέντρωση καυστικού νατρίου 1,0, 1,5 και 2,0% w/w.

Παρατηρείται πως οι μέθοδοι προεπεξεργασίας με ΠΗΠ και ΥΠ εμφανίζουν μεταξύ τους παρόμοιους απαιτούμενους χρόνους αποπύκνωσης και σημαντικά χαμηλότερους από αυτούς της ανεπεξεργαστης ελιάς (έως και 70% μείωση του χρόνου αποπύκνωσης), καθώς επιτυγχάνουν ισχυρότερη διάρρηξη κυττάρων. Αξίζει να σημειωθεί πως οι δυο προεπεξεργασίες θα μπορούσαν πιθανώς να οδηγήσουν και σε μείωση της συγκέντρωσης του καυστικού νατρίου που χρησιμοποιείται για την αποπύκνωση τους.

Ο χρόνος αποπύκνωσης που χρειάζονται οι ανεπεξεργαστες ελιές με χρήση καυστικού νατρίου συγκέντρωσης 2% w/w ήταν 7,2 ώρες, δηλαδή ίδιος χρόνος αποπύκνωσης που έχουν οι προεπεξεργασμένες ελιές με ΥΠ και ΠΗΠ όταν γίνεται χρήση καυστικού νατρίου συγκέντρωσης 1,5% w/w.

Ταυτόχρονα, παρατηρείται πως η αύξηση της συγκέντρωσης του αλκαλικού διαλύματος επιταχύνει την αποπύκνωση, δεδομένου ότι αυξάνεται η βαθμίδα (gradient) της συγκέντρωσης, η οποία είναι ανάλογη του ρυθμού διάχυσης εντός της ελιάς. Επομένως, όπως ήταν αναμενόμενο, η συγκέντρωση του 2% προκαλεί την ταχύτερη αποπύκνωση και μάλιστα με διαφορά 2-3 ωρών από την αμέσως χαμηλότερη. Δεδομένου ότι ακόμη και για τα βιομηχανικά δεδομένα, αυτή η συγκέντρωση των 2% w/w καυστικού νατρίου χρησιμοποιείται, επιταχύνοντας σημαντικά την υδρόλυση της ελευρωπαΐνης, το στάδιο των ζυμώσεων συνεχίστηκε με αποπικραμένες ελιές με συγκέντρωση 2% w/w.

#### 4.2.1.1 Χρώμα και Υφή

Στον παρακάτω πίνακα 16 παρατίθενται τα αποτελέσματα που αφορούν το χρώμα την υφή των δειγμάτων, καθώς και τη συγκέντρωση σε φαινολικές ενώσεις, μετρημένα σε ελιές που υπέστησαν επεξεργασία ισπανικού τύπου, στον τελικό χρόνο για το κάθε κινητικό πείραμα.

Πίνακας 16 Δείκτες χρώματος, σκληρότητα και συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων για τις ανεπεξεργαστες (control), προεπεξεργασμένες με ΥΠ (250 MPa & 5 min) και ΠΗΠ (3.5 kV/cm & 500 παλμοί) ελιές και συγκέντρωση καυστικού νατρίου 1,0, 1,5 και 2,0% w/w στο τέλος κάθε αποπίκρασης ισπανικού τύπου.

Samples	NaOH concentration (% w/v)	Quality parameters							TPC (mg/100g wb)
		Firmness (N)	Color parameters			Chroma	Hue angle	ΔE	
			L	a	b				
Control	1.0	4.52±0.72	44.95±1.98	-9.68±0.79	24.76±1.62	26.59±1.74	111.69±0.97	24.92±1.99	262.9
	1.5	4.45±0.58	42.58±1.65	-9.47±0.88	25.65±1.45	27.34±1.89	110.62±0.98	25.91±2.25	190.7
	2.0	4.03±0.26	48.36±2.71	-10.05±1.03	30.59±2.14	32.20±1.71	108.52±0.85	19.5±1.91	169.8
PEF	1.0	3.71±0.41	43.02±0.88	-10.25±1.25	29.08±2.07	30.83±1.65	109.78±1.11	23.40±1.74	260.9
	1.5	3.65±0.62	43.08±1.98	-7.68±0.79	30.00±1.62	30.97±0.65	104.74±0.96	24.53±0.36	172.6
	2.0	3.72±0.44	43.12±1.52	-8.41±1.01	30.30±2.41	32.01±2.65	109.16±1.32	22.74±2.70	163.9
HP	1.0	4.19±0.65	42.58±1.96	-7.65±1.47	28.65±2.36	29.71±1.22	105.71±1.08	25.31±3.25	221.3
	1.5	4.22±0.56	43.75±1.28	-10.55±0.27	26.02±1.63	28.08±1.56	112.45±1.13	24.41±1.79	174.2
	2.0	3.82±0.29	43.38±1.41	-8.59±1.34	28.33±1.91	29.61±2.18	107.17±1.61	24.52±2.49	140.0
Raw – Untreated Table Olives		10.12±0.92	58.73±1.25	-23.54±0.36	40.23±0.78	46.60±0.65	120.64±0.96	0.00±0.00	611.4

±αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων.

Παρατηρείται πως για κάθε μέθοδο, με την αύξηση της συγκέντρωσης του καυστικού νατρίου, υπάρχει μια μικρή υποβάθμιση της υψής (μαλάκωμα) και του χρώματος (πιο σκούρο), η οποία όμως δεν είναι σημαντική.

Ενδεικτικά παρατίθενται και οι τιμές που αφορούν την ωμή ελιά, οι οποίες διαφέρουν σημαντικά από τις αποπικραμένες. Αξίζει να σημειωθεί πως οι προεπεξεργασμένες ελιές με ΠΗΠ και ΥΠ και οι μη προεπεξεργασμένες δεν έχουν σημαντικές διαφορές ως προς τα ποιοτικά τους χαρακτηριστικά στο τέλος της διαδικασίας της αποπίκρασης. Συνολικά υπήρξε μια μείωση (πάνω από 50%) στην σκληρότητα των ελιών σε σχέση με τις ωμές/νωπές για όλα τα δείγματα στο τέλος της αποπίκρασης.

Στη συνέχεια, όλες οι ελιές έχουν χάσει σημαντικό ποσοστό των φαινολικών τους ουσιών, συγκριτικά με την ωμή ελιά (μείωση έως και 80%). Δεδομένου ότι τα δείγματα αυτά ελήφθησαν στο τέλος της αποπίκρασης, μπορεί να θεωρηθεί πως όλη η περιεχόμενη ελευρωπαΐνη έχει υδρολυθεί, επομένως οι ελιές έχουν απαλλαγεί από την πικρή γεύση. Παράλληλα, οι τελικές αποπικραμένες ελιές έχουν συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων που κυμαίνεται μεταξύ 140 και 260 mg/100g wb για όλα τα μελετώμενα δείγματα.

#### 4.2.1.2 Σύγκριση με βιβλιογραφία

Ο Kopsidas (1991), μελέτησε μαθηματικά την διείδυση καυστικού νατρίου σε πράσινη κονσερβοελιά. Το μοντέλο που χρησιμοποίησε αφορά ποσοστιαία διείδυση του καυστικού νατρίου με το χρόνο και η μελέτη αφορούσε μεταβολή των παραμέτρων θερμοκρασίας και συγκέντρωσης καυστικού νατρίου. Επομένως, συγκρίνοντας τα αποτελέσματα που προέκυψαν από αυτή την μελέτη με τα αποτελέσματα αυτής της εργασίας παρατηρούμε πως υπάρχει μια απόκλιση έως και 10% στο χρόνο αποπύκνωσης (Πίνακας 17).

Πίνακας 17 Σύγκριση πειραματικών δεδομένων διείδυσης αλκάλειως με προηγούμενη έρευνα

NaOH Concentration (w/v)	t (h)		
	Kopsidas (1991)	Dekerian (2023)	Error%
1,0	20,7	23,1	10,1
1,5	10,5	10,3	2,0
2,0	6,6	7,2	9,2

Δεδομένου ότι κάνουμε λόγο για σύγκριση πειραματικών μετρήσεων, οι μεταξύ τους διαφορές που προκύπτουν θεωρούνται μικρές, καθώς υπεισέρχονται πολλές πηγές σφαλμάτων κατά τη διάρκεια των μετρήσεων.

Στη συνέχεια, οι Habibi et al. (2015), επιχείρησαν να εκτελέσουν χημική αποπύκνωση ελιάς υποβοηθούμενη από υπερήχους, μεταβάλλοντας τις ίδιες παραμέτρους με τον Kopsidas (1991) και συγκρίνοντας τη διείδυση του αλκαλικού διαλύματος, με αυτήν των ανεπεξέργαστων ελιών. Τα δείγματα control τους συμφωνούσαν με του Kopsidas (1991), ενώ τα δείγματα επιτραπέζιων ελιών επεξεργασμένων με υπερήχους εμφάνιζαν σημαντικά χαμηλότερους χρόνους αποπύκνωσης σε όλες τις συνθήκες θερμοκρασίας και συγκέντρωσης καυστικού νατρίου που μελετήθηκαν. Τέλος, στην ίδια μελέτη, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στη συνολική μεταβολή χρώματος, για δείγματα διαφορετικών συγκεντρώσεων NaOH, όπως και στη παρούσα εργασία, αλλά εντοπίστηκαν διαφορές στη σκληρότητα των δειγμάτων. Αυτό πιθανότατα να οφείλεται στη διαφορετική ποικιλία ελιάς που χρησιμοποίησαν οι παραπάνω μελετητές. Συγκεκριμένα, χρησιμοποίησαν ποικιλία Dezfuli, στο τέλος της περιόδου ωριμότητας, οπότε μπορεί να υποθεθεί ότι πρόκειται για φυτικό ιστό πιο ευπαθή σε αλκαλικό περιβάλλον.

### 4.3 Μελέτη ζύμωσης πράσινων επιτραπέζιων ελιών

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, λόγω της μεγάλης κατανάλωσης ενέργειας/ μεγάλου χρόνου επεξεργασίας της τεχνολογίας των υπερήχων και της απουσίας αυτής από τη βιομηχανική εφαρμογή, αυτή δεν επιλέχθηκε για τη διερεύνηση της ζύμωσης. Επομένως, η όποια σύγκριση για την πορεία της ζύμωσης της πράσινης ελιάς θα αφορά τι συνθήκες:

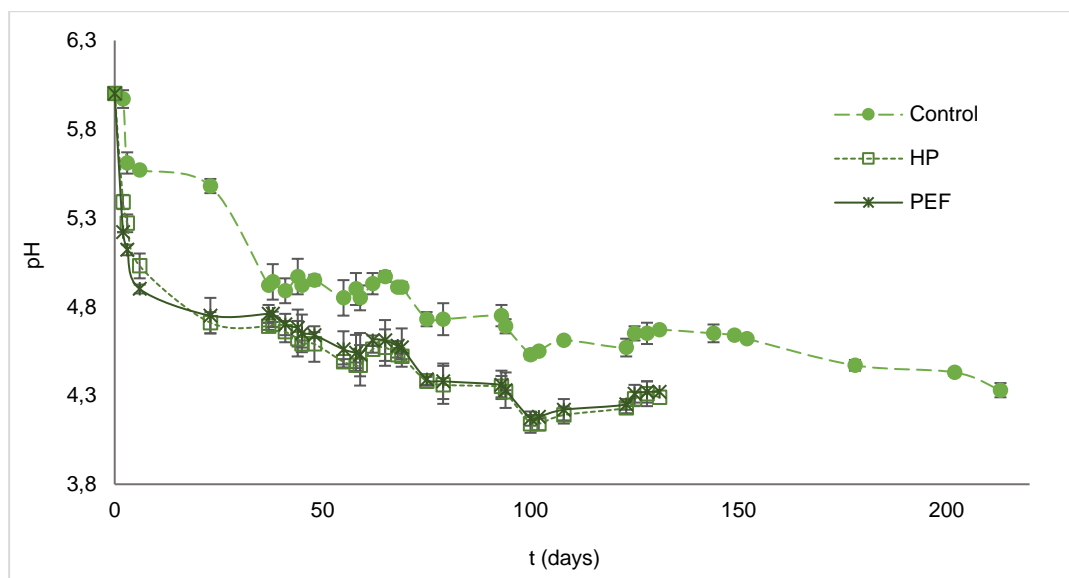
- Control
- HP- 250 MPa & 5 min
- PEF- 3,5 kV/cm & 500 p

Αυτές οι συνθήκες επεξεργασίας θα εξεταστούν για ζύμωση ελιών ελληνικού και ισπανικού τύπου.

### 4.3.1 Ζύμωση ελιών Ελληνικού τύπου

#### 4.3.1.1 pH

Στο παρακάτω διάγραμμα (Εικόνα 47) απεικονίζεται η μείωση του pH κατά τη διάρκεια της ζύμωσης ελληνικού τύπου για ελιές ανεπεξεργαστες και επεξεργασμένες με HP και PEF:



Εικόνα 47 Χρονική εξέλιξη του pH για τις ανεπεξεργαστες (control), προεπεξεργασμένες με ΥΠ (250 MPa & 5 min) και ΠΗΠ (3.5 kV/cm & 500 παλμοί) ελιές κατά την διάρκεια της ελληνικού τύπου ζύμωσης. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων.

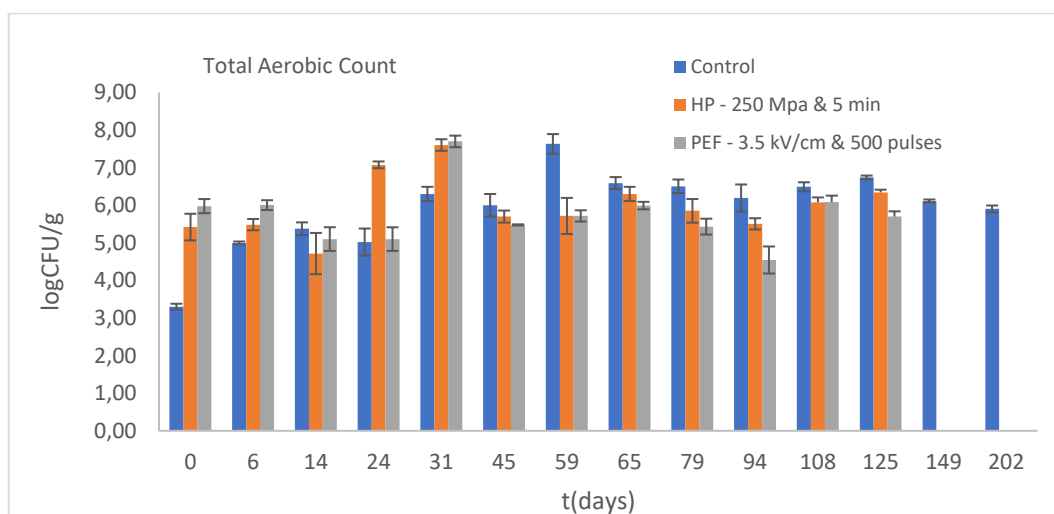
Παραπάνω φαίνεται πως κατά την διάρκεια της ζύμωσης επιτεύχθηκε πτώση του pH, η οποία οφείλεται στην παραγωγή γαλακτικού, οξικού και προπιονικού οξέος (Johnson & Mitchell, 2018) και αποσκοπεί στην παραγωγή ενός ασφαλούς τροφίμου, απαλλαγμένου από παθογόνους μικροοργανισμούς για όλα τα δείγματα. Στην αρχή της ζύμωσης των επεξεργασμένων ελιών με ΠΗΠ ή ΥΠ, παρατηρείται μια απότομη πτώση του pH, πολύ εντονότερη από αυτή των ανεπεξεργαστων. Μια πιθανή εξήγηση για αυτό είναι ότι στην άλμη των επεξεργασμένων ελιών, στην οποία μετρήθηκε το μικροβιακό φορτίο, έχουν εκχυλιστεί πολύ περισσότερα φαινολικά και άλλα συστατικά (σάκχαρα κλπ), σε σχέση με την άλμη του ανεπεξεργαστου. Αυτά τα συστατικά αποτελούν υπόστρωμα ανάπτυξης για τα γαλακτικά βακτήρια, τα οποία με αυτόν τον τρόπο παράγουν γαλακτικό οξύ και άλλα μεταβολικά παράγωγα, τα οποία προκαλούν μείωση του pH. Επομένως, στην άλμη των προεπεξεργασμένων ελιών, παράγεται γαλακτικό οξύ με μεγαλύτερο ρυθμό, συγκριτικά με του control.

Τα δείγματα των HP και PEF φαίνεται να εμφανίζουν μια κοινή πορεία ως προς τη ζύμωση και μάλιστα σημαντικά ταχύτερη από το μη προεπεξεργασμένο δείγμα. Συγκεκριμένα, η ζύμωση των επεξεργασμένων ελιών φτάνει σε pH= 4,2 στις 100 μέρες, ενώ οι ελιές control στο διπλάσιο χρόνο. Αυτό αποτελεί ένα θετικό αποτέλεσμα, καθώς το μόνο μειονέκτημα των

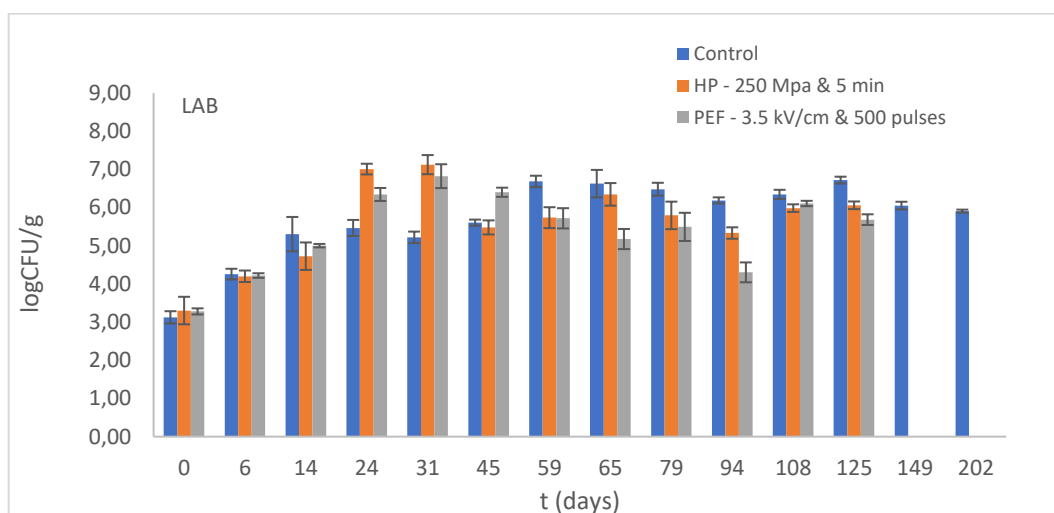
ελιών ελληνικού τύπου είναι ο μεγάλος χρόνος παραμονής στην άλμη, κάτι το οποίο φαίνεται να βελτιώνεται με την προσθήκη των δύο προεπεξεργασιών. Πριν όμως εξαχθεί το οποιοδήποτε συμπέρασμα, είναι απαραίτητο να εξετάσουμε και τις υπόλοιπες παραμέτρους.

#### 4.3.1.2 Μικροβιολογικό Φορτίο

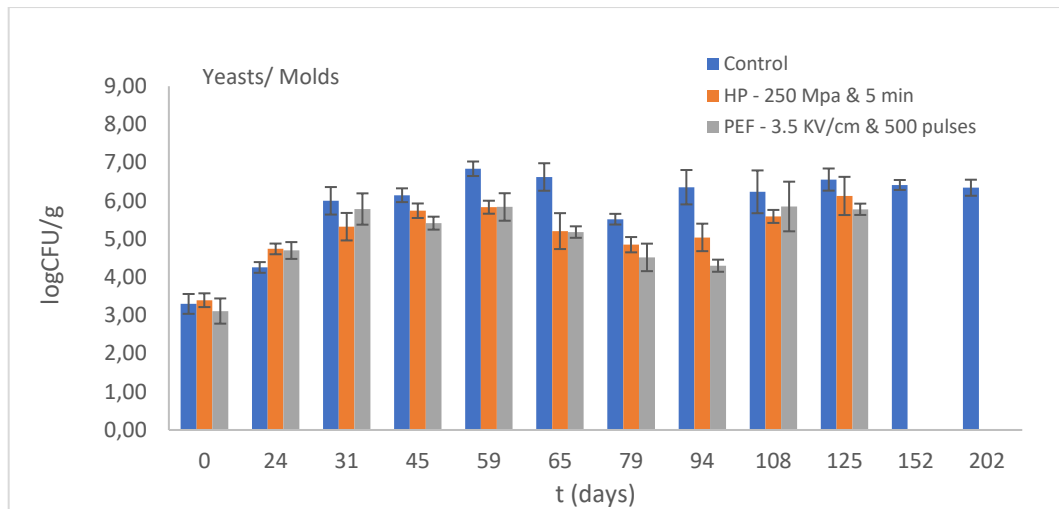
Στα παρακάτω διαγράμματα (Εικόνες 48, 49, 50 και 51) απεικονίζονται τα μικροβιακά φορτία για τις διάφορες ομάδες αναπτυσσόμενων μικροοργανισμών, με την πάροδο του χρόνου, για ζύμωση πράσινων ελιών ελληνικού τύπου για όλα τα μελετώμενα δείγματα.



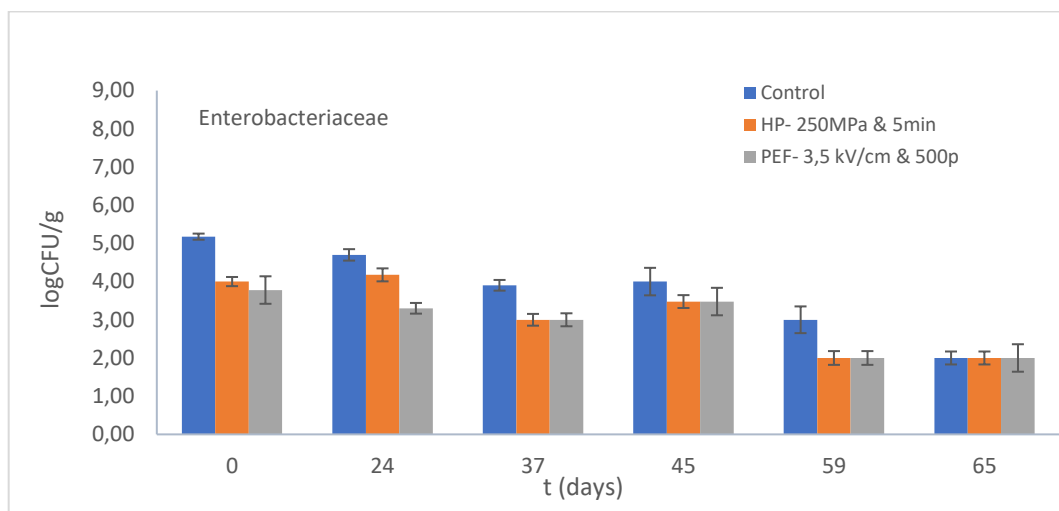
Εικόνα 48 Ολική μεσόφιλη χλωρίδα για τις ανεπεξέργαστες (control), προεπεξεργασμένες με ΥΠ (250 MPa & 5 min) και ΠΗΠ (3.5 kV/cm & 500 παλμοί) ελιές κατά την διάρκεια της ελληνικού τύπου ζύμωσης. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων.



Εικόνα 49 Γαλακτικά βακτήρια για τις ανεπεξέργαστες (control), προεπεξεργασμένες με ΥΠ (250 MPa & 5 min) και ΠΗΠ (3.5 kV/cm & 500 παλμοί) ελιές κατά την διάρκεια της ελληνικού τύπου ζύμωσης. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων.



Εικόνα 50 Ζύμες/Μύκητες για τις ανεπεξέργαστες (control), προεπεξεργασμένες με ΥΠ (250 MPa & 5 min) και ΠΗΠ (3.5 kV/cm & 500 παλμοί) ελιές κατά την διάρκεια της ελληνικού τύπου ζύμωσης. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων.



Εικόνα 51 Εντεροβακτήρια για τις ανεπεξέργαστες (control), προεπεξεργασμένες με ΥΠ (250 MPa & 5 min) και ΠΗΠ (3.5 kV/cm & 500 παλμοί) ελιές κατά την διάρκεια της ελληνικού τύπου ζύμωσης. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων.

Όσον αφορά τη συνολική χλωρίδα, σε πρώτη φάση, παρατηρείται ένα αυξημένο φορτίο στην άλμη των επεξεργασμένων ελιών, το οποίο με το χρόνο αυξάνεται και σταθεροποιείται. Αυτό είναι μια καλή ένδειξη ότι η προεπεξεργασία δεν επηρεάζει την αναπτυσσόμενη χλωρίδα κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Από αυτό εξάγεται το συμπέρασμα ότι η ζύμωση της προεπεξεργασμένης ελιάς, παράγει τελικό προϊόν ίδιας σταθερότητας με τη συμβατική ζύμωση. Τα γαλακτικά βακτήρια, δείχνουν μια αυξητική τάση τις πρώτες 30 μέρες και στη συνέχεια υπάρχει σχετική σταθεροποίηση για όλα τα δείγματα, κάτι το οποίο είναι και το επιθυμητό, δεδομένου ότι αυτά ελέγχουν τη ζύμωση, προκαλώντας πτώση του pH. Επίσης, το αυξημένο φορτίο γαλακτικών βακτηρίων στις επεξεργασμένες ελιές σε σχέση με τις ανεπεξέργαστες, στις 24 και 31 ημέρες αποτυπώνεται και στην απότομη πτώση του pH σε εκείνη τη φάση. Παρατηρείται μάλιστα πως η παραπάνω αύξηση φορτίου (ως και 7 log) που

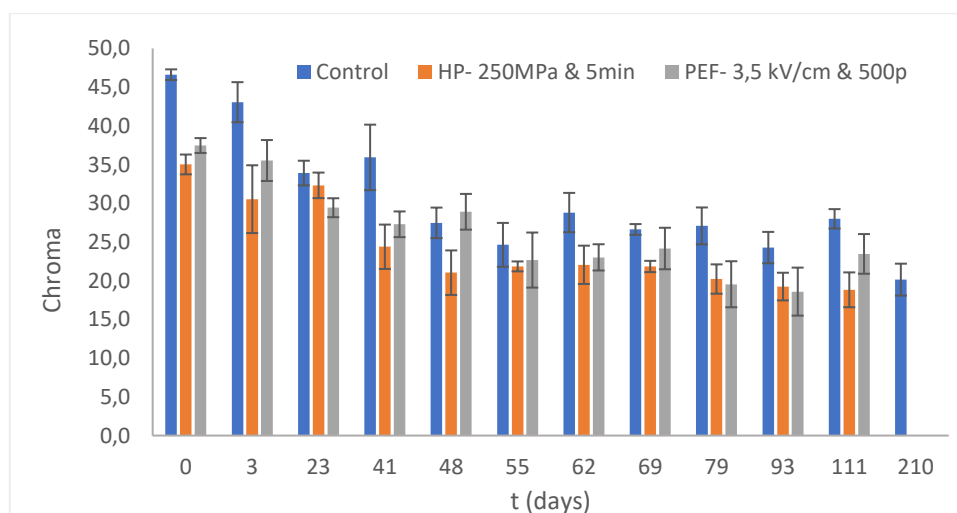


αφορά τα δείγματα των επεξεργασμένων ελιών, προηγείται κατά 35 ημέρες (24 έναντι 59) της αντίστοιχης αύξησης (ως και 6,7 log) που σημειώνει το φορτίο των ανεπεξέργαστων. Το φορτίο των ζυμών και μυκήτων παρουσιάζει μια αυξητική τάση σε πρώτη φάση και τελικά μια σταθεροποίηση. Εδώ δεν μπορούμε να κάνουμε λόγο για εξάρτηση του pH από το φορτίο, καθώς είθισται να αναπτύσσονται διαφορετικά είδη μυκήτων, τα οποία επιφέρουν είτε αύξηση είτε μείωση του pH. Η ύπαρξη ζυμο/μυκήτων στην άλμη αλλά όχι η επικράτηση τους έναντι των γαλακτικών βακτηρίων θεωρείται επιθυμητή, καθώς οι ενώσεις που παράγουν, προσδίδουν επιθυμητά οργανοληπτικά (γεύση και άρωμα) χαρακτηριστικά στα τελικά ζυμωμένα προϊόντα. Η ποσότητα των εντεροβακτηρίων έμεινε σε χαμηλά επίπεδα κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, το οποίο είναι επιθυμητό, καθώς προκαλούν αλλοιώσεις. Επιπλέον, με το πέρασμα του χρόνου, το φορτίο τους μειώνεται, ως αποτέλεσμα της επικράτησης των γαλακτικών βακτηρίων και της αύξησης του pH.

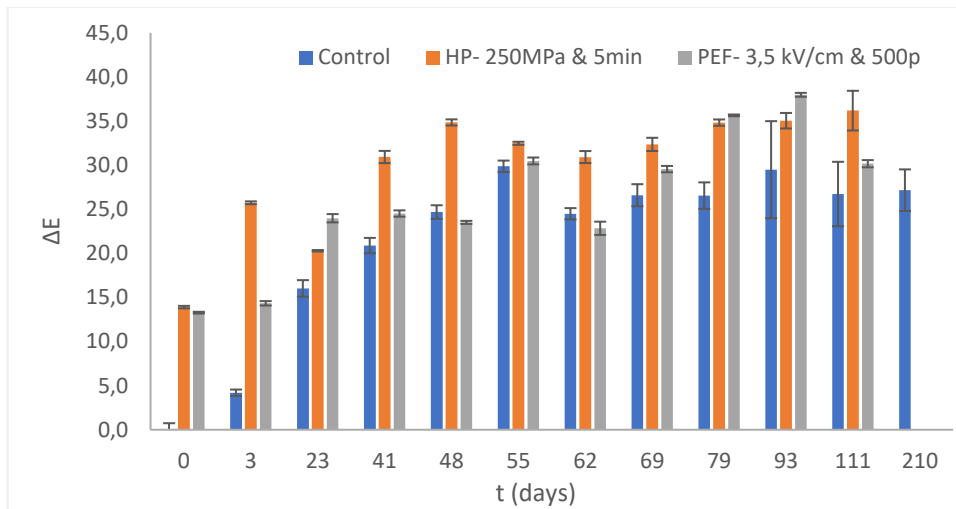
Συνολικά, είναι σημαντικό να παρατηρήσουμε πως για την καθεμία ομάδα μικροοργανισμών, συγκρίνοντας το πέρασμα της κάθε ζύμωσης (μετρήσεις  $108^{th}$  μέρας για τις HP και PEF και  $202^{th}$  μέρας για control), τα μετρούμενα φορτία είναι σχεδόν ταυτόσημα, οδηγώντας μας στο συμπέρασμα πως οι προεπεξεργασίες επιτάχυναν τη ζύμωση, χωρίς να επηρεάζονται τα αναπτυσσόμενα μικροβιακά φορτία.

#### 4.3.1.3 Χρώμα και Υφή

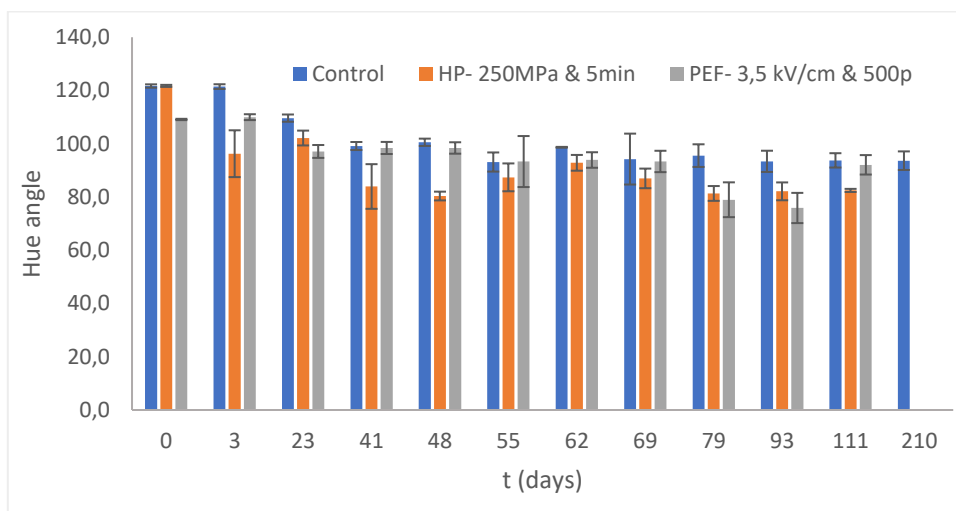
Παρακάτω στις Εικόνες 52, 53, 54 και 55 παρατίθενται οι μετρήσεις που αφορούν στο χρώμα και την υφή των δειγμάτων κατά τη διάρκεια ζύμωσης ελληνικού τύπου:



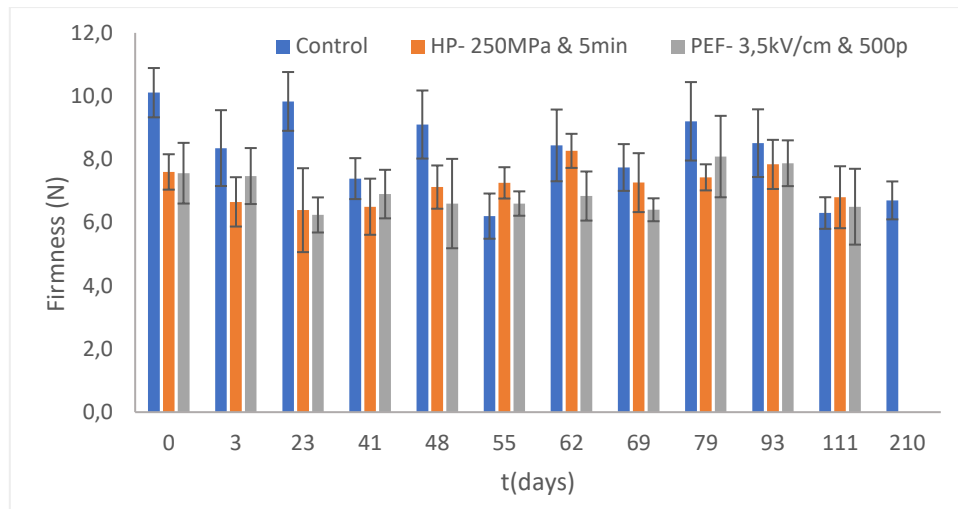
Εικόνα 52 Μεταβολή χρώματος για τις ανεπεξέργαστες (control), προεπεξεργασμένες με ΥΠ (250 MPa & 5 min) και ΠΗΠ (3.5 kV/cm & 500 παλμοί) ελιές κατά την διάρκεια της ελληνικού τύπου ζύμωσης. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων



Εικόνα 53 Μεταβολή συνολικού χρώματος σε σχέση με το χρόνο μηδέν για τις ανεπεξέργαστες (control), προεπεξεργασμένες με ΥΠ (250 MPa & 5 min) και ΠΗΠ (3.5 kV/cm & 500 παλμοί) ελιές κατά την διάρκεια της ελληνικού τύπου ζύμωσης. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων.



Εικόνα 54 Μεταβολή γωνίας απόχρωσης για τις ανεπεξέργαστες (control), προεπεξεργασμένες με ΥΠ (250 MPa & 5 min) και ΠΗΠ (3.5 kV/cm & 500 παλμοί) ελιές κατά την διάρκεια της ελληνικού τύπου ζύμωσης. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων



Εικόνα 55 Μεταβολή σκληρότητας για τις ανεπεξεργαστες (control), προεπεξεργασμένες με ΥΠ (250 MPa & 5 min) και ΠΗΠ (3.5 kV/cm & 500 παλμοί) ελιές κατά την διάρκεια της ελληνικού τύπου ζύμωσης. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων

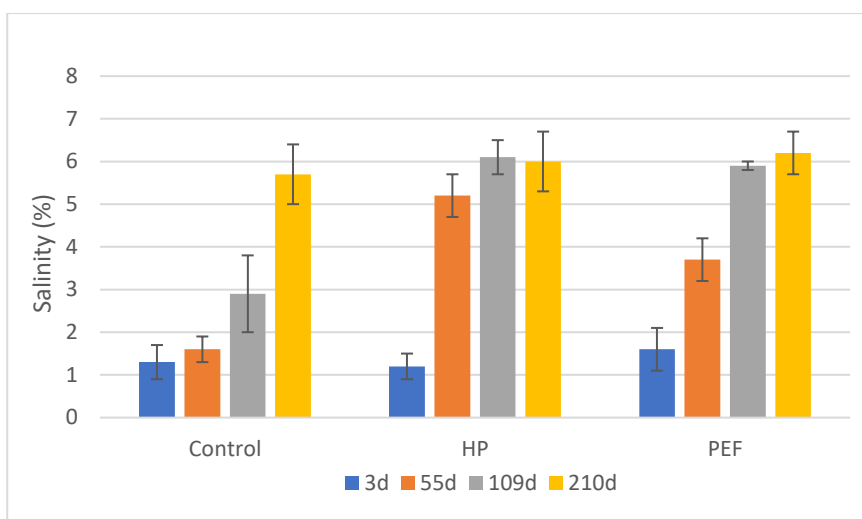
Όσον αφορά στο χρώμα, η επιδερμίδα της ελιάς σκουραίνει με το πέρας του χρόνου ζύμωσης (από ~46 σε ~23). Σε χρόνο μηδέν παρατηρείται πιο σκούρο χρώμα των επεξεργασμένων, συγκριτικά με τις ανεπεξεργαστες ελιές, αλλά η διαφορά αυτή σταματά να υπάρχει στο τέλος της κάθε ζύμωσης. Δηλαδή, δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά χρώματος μεταξύ τέλους της ζύμωσης των HP και PEF (111 μέρες) και τέλους ζύμωσης του δείγματος αναφοράς (210 μέρες). Η συνολική συνισταμένη του χρώματος φαίνεται να μεταβάλλεται σημαντικά σε σχέση με την ωμή ελιά, αλλά οι επεξεργασμένες ελιές δεν διαφέρουν σημαντικά από το control.

Η μεταβλητή hue angle μεταβάλλεται ελαφρώς συναρτήσει του χρόνου ζύμωσης και παρουσιάζει κοντινές τιμές μεταξύ HP και PEF, οι οποίες όμως καταλήγουν στα ίδια επίπεδα με την control στο τέλος της κάθε ζύμωσης αντίστοιχα. Επομένως, η απόχρωση του τελικού προϊόντος δεν επηρεάζεται από την προεπεξεργασία.

Όπως παρατηρήθηκε και στις μετρήσεις χρώματος, η υφή υποβαθμίζεται ελαφρώς αμέσως μετά την προεπεξεργασία, αλλά με το πέρας του χρόνου. Τα προεπεξεργασμένα δείγματα και ανεπεξεργαστα δεν παρουσιάζουν μεταξύ τους διαφορές. Συνολικά λοιπόν, δεν υπάρχει κάποιο μέγεθος που αφορά στην ποιότητα της ελιάς, οι τιμές του οποίου να μας αποτρέπουν να επιλέξουμε κάποια από τις δυο μεθόδους ως προεπεξεργασία της ζύμωσης.

#### 4.3.1.4 Αλατότητα

Στο παρακάτω διάγραμμα (Εικόνα 56) φαίνονται τα αποτελέσματα μετρήσεων αλατότητας πράσινων ελιών ελληνικού τύπου κατά τη διάρκεια της ζύμωσης για όλα τα δείγματα.



Εικόνα 56 Αλατοπεριεκτικότητα για τις ανεπεξεργαστες (control), προεπεξεργασμένες με ΥΠ (250 MPa & 5 min) και ΠΗΠ (3.5 kV/cm & 500 παλμοί) ελιές κατά την διάρκεια της ελληνικού τύπου ζύμωσης. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων

Από το παραπάνω διάγραμμα φαίνεται πως στις 3 ημέρες, τα δείγματα των HP και PEF δεν διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους και σε σχέση με το control, αλλά στους επόμενους χρόνους παρουσιάζουν μεγάλη αύξηση σε σχέση με αυτό (ως και 3,3 φορές μεγαλύτερη περιεκτικότητα στις 55 ημέρες). Επομένως, τα προεπεξεργασμένα δείγματα έχουν σημαντικά μεγαλύτερο ρυθμό πρόσληψης άλατος από το ανεπεξεργαστο. Οι ελιές των HP και PEF, λόγω της προεπεξεργασίας, έχουν πιο διερρηγμένο ιστό σε σχέση με το ανεπεξεργαστο δείγμα, επομένως παρατηρείται μεγαλύτερη εισροή άλατος σε αυτές. Παρόλα αυτά, στο τέλος της καθημίας ζύμωσης (109 μέρες για τις επεξεργασμένες και 210 για τις ανεπεξεργαστες ελιές), όλα τα δείγματα έχουν μη στατιστικά σημαντικές διαφορές στην περιεκτικότητα σε αλάτι (6,2 g/100 g). Δηλαδή, παρόλο που οι επεξεργασμένες ελιές το προσλαμβάνουν ταχύτερα, η αλατότητα όλων των δειγμάτων στο τέλος της ζύμωσης παραμένει ίδια.

#### 4.3.1.5 Σύγκριση με βιβλιογραφία

Οι Bonatsou et al. (2018) επιχείρησαν να μελετήσουν την εξέλιξη των ζυμών κατά την αυθόρμητη ζύμωση ελιών Καλαμών σε άλμη 7% (control) και σε δύο ακόμη άλμες εμπλουτισμένες με ποσότητα ξυδιού και γαλακτικού οξέος, αντίστοιχα. Πέρα από το συνολικό φορτίο των ζυμών, οι μελετητές μέτρησαν μεταξύ άλλων εντεροβακτήρια, γαλακτικά βακτήρια, pH, οξύτητα, αλατότητα κλπ. Η εξέλιξη του pH είχε πολύ παρόμοια εικόνα με τα αποτελέσματα αυτής της εργασίας και με μικρή διαφορά στο χρόνο ζύμωσης (187 ημέρες έναντι 200). Αυτή η διαφορά οφείλεται στις διαφορές στην ποικιλία ελιάς, στις συνθήκες ζύμωσης και στην περιεκτικότητα της άλμης.

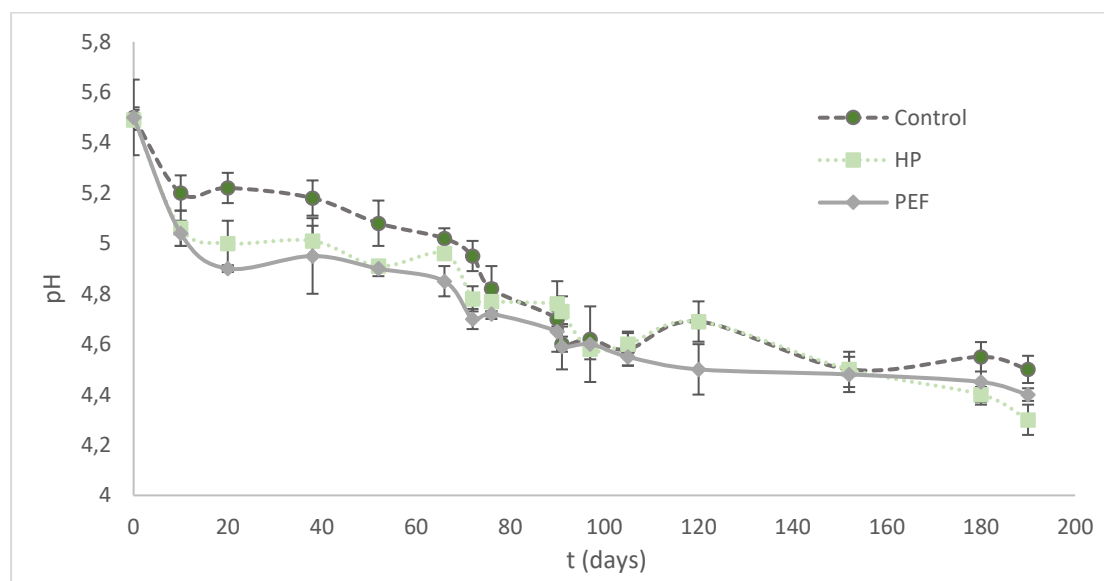
Οι Fauster et al. (2020) εξέτασαν, μεταξύ άλλων, την επίδραση των ΠΗΠ στη ζύμωση του λευκού οίνου. Οι ερευνητές χρησιμοποίησαν ως πρώτη ύλη πολτό σταφυλιού, τον οποίο επεξεργάστηκαν στα 3 και 10kV/cm, ύστερα από τη συμβατική, καθιερωμένη επεξεργασία. Πέρα από τα οφέλη που παρουσίασε αυτό το εγχείρημα ως προς τη βελτίωση της γεύσης και την αύξηση στην εκχυλιστικότητα πολύτιμων (οργανοληπτικά και θρεπτικά) συστατικών, υπήρξαν και διαφορές στη ζύμωση σε σχέση με το control. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε σημαντική μείωση στον απαιτούμενο χρόνο ζύμωσης, η οποία έφτανε μέχρι και 20%.

Επομένως, οι ελιές δεν αποτελούν το μόνο τρόφιμο, η ζύμωση του οποίου δύναται να επιταχυνθεί με τη βοήθεια των PEF.

### 4.3.2 Ζύμωση ελιών Ισπανικού τύπου

#### 4.3.2.1 pH

Στο παρακάτω διάγραμμα (Εικόνα 57) απεικονίζεται η πορεία του pH κατά τη διάρκεια της ζύμωσης ισπανικού τύπου για ελιές ανεπεξεργαστες και επεξεργασμένες με HP και PEF:

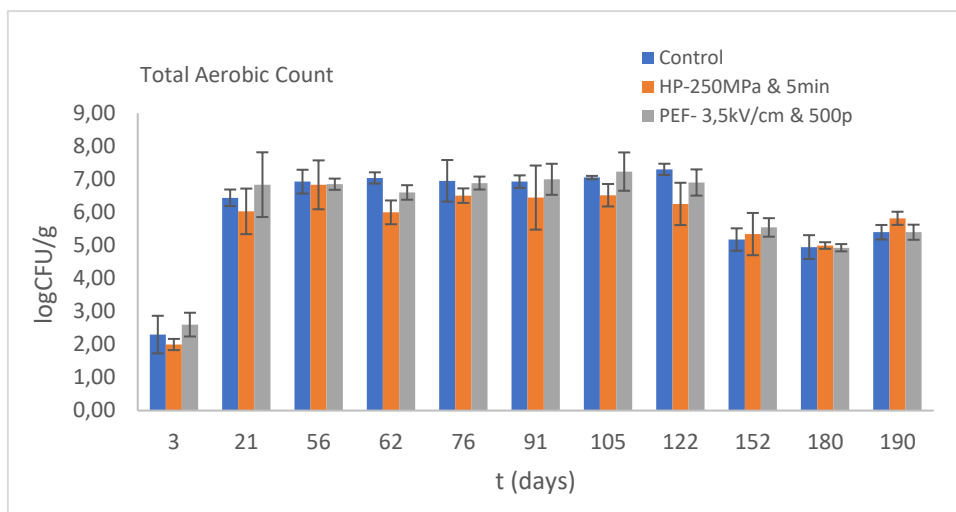


Εικόνα 57 Χρονική εξέλιξη του pH για τις ανεπεξεργαστες (control), προεπεξεργασμένες με ΥΠ (250 MPa & 5 min) και ΠΗΠ (3.5 kV/cm & 500 παλμοί) ελιές κατά την διάρκεια του ισπανικού τύπου ζύμωσης. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων.

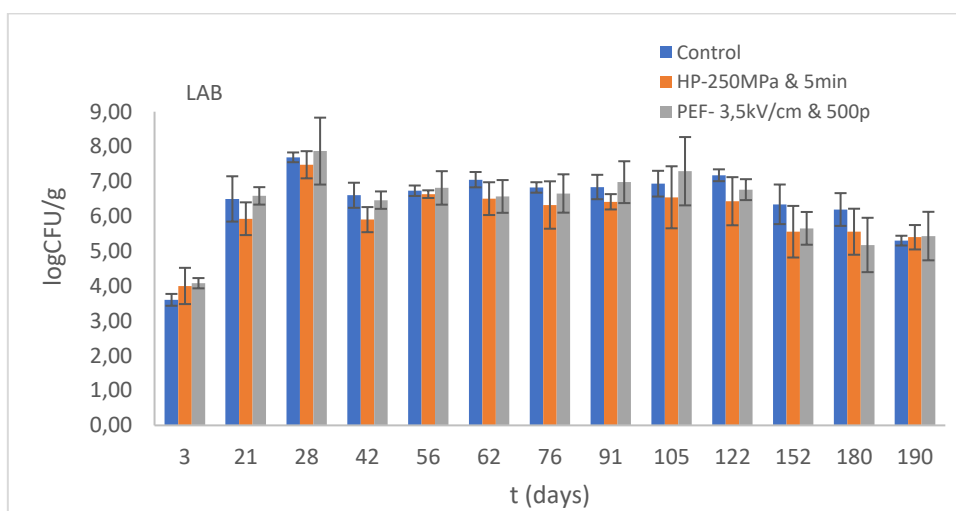
Παρατηρείται πως εδώ το pH παρουσιάζει υψηλότερες τιμές, κάτι το λογικό, δεδομένου ότι πρόκειται για ελιές που είχαν υποστεί επεξεργασία με αλκαλικό διάλυμα, το οποίο προκαλεί αύξηση του pH. Εδώ πάλι εμφανίζεται κάποια μεγαλύτερη πτώση του pH των επεξεργασμένων ελιών, εν συγκρίσει με τις control, αλλά όχι τόσο ραγδαία όσο στη ζύμωση ελληνικού τύπου. Αυτή η πτώση πιθανότατα να οφείλεται στα ίδια αίτια, αλλά να παρεμποδίζεται από τη μερική παραγωγή αλκαλικών μεταβολικών προϊόντων από τα εντεροβακτήρια, τα οποία σε εκείνη τη φάση υπάρχουν σε αφθονία. Εδώ γίνεται προφανές πως η όποια προεπεξεργασία δεν επηρεάζει το χρόνο ζύμωσης, δεδομένου ότι τα δείγματα control, HP και PEF φτάνουν μαζί στο τελικό pH. Αυτό όμως δε σημαίνει πως η σύζευξη μη θερμικής μεθόδου με τη χημική αποπύκνωση δεν παρουσιάζει τεχνολογικά οφέλη στη διεργασία παραγωγής επιτραπέζιας ελιάς.

#### 4.3.2.2 Μικροβιολογικό Φορτίο

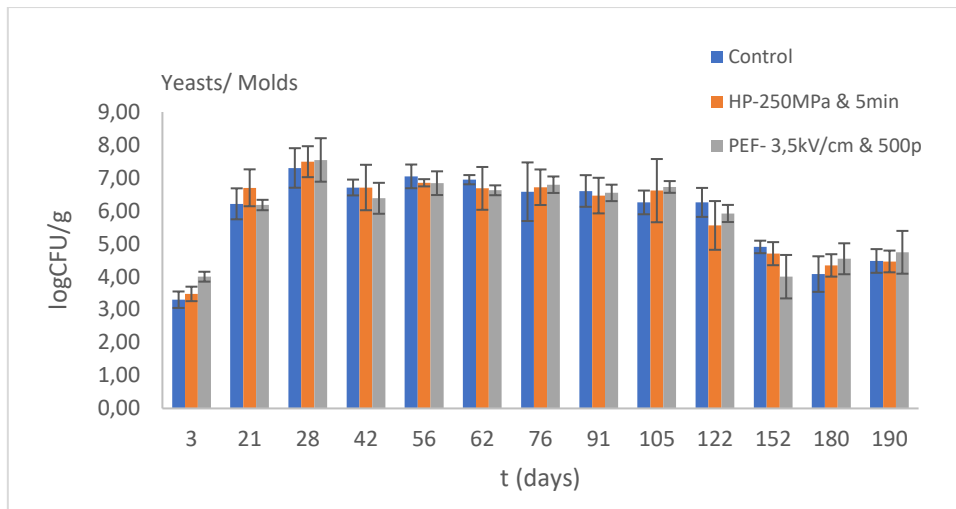
Στα παρακάτω διαγράμματα (Εικόνα 58, 59, 60 και 61) απεικονίζονται μικροβιακά φορτία για τις διάφορες ομάδες αναπτυσσόμενων μικροοργανισμών, με την πάροδο του χρόνου, για ζύμωση πράσινων ελιών ισπανικού τύπου:



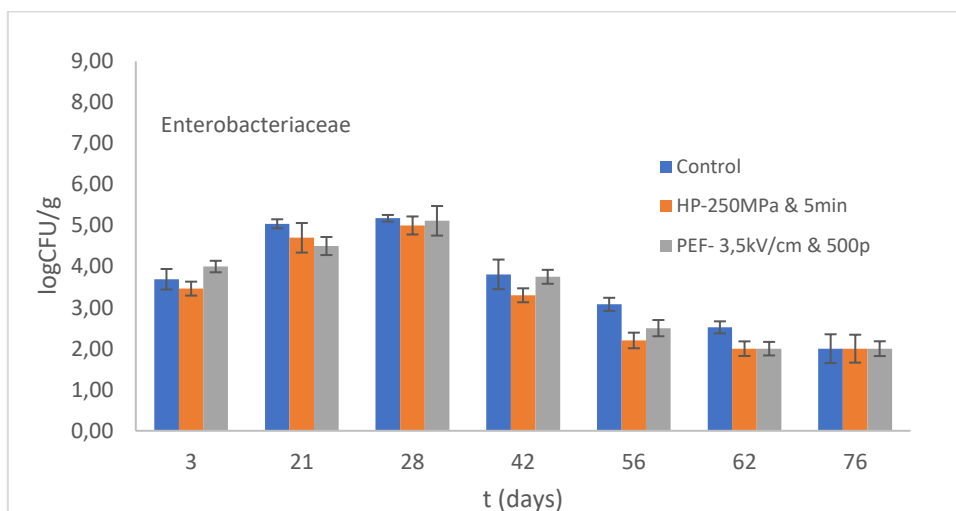
Εικόνα 58 Ολική μεσόφιλη χλωρίδα για τις ανεπεξέργαστες (control), προεπεξεργασμένες με ΥΠ (250 MPa & 5 min) και ΠΗΠ (3.5 kV/cm & 500 παλμοί) ελιές κατά την διάρκεια του ισπανικού τύπου ζύμωσης. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων.



Εικόνα 59 Γαλακτικά βακτήρια για τις ανεπεξέργαστες (control), προεπεξεργασμένες με ΥΠ (250 MPa & 5 min) και ΠΗΠ (3.5 kV/cm & 500 παλμοί) ελιές κατά την διάρκεια του ισπανικού τύπου ζύμωσης. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων.



Εικόνα 60 Ζύμες/Μύκητες για τις ανεπεξέργαστες (control), προεπεξεργασμένες με ΥΠ (250 MPa & 5 min) και ΠΗΠ (3.5 kV/cm & 500 παλμοί) ελιές κατά την διάρκεια του ισπανικού τύπου ζύμωσης. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων.



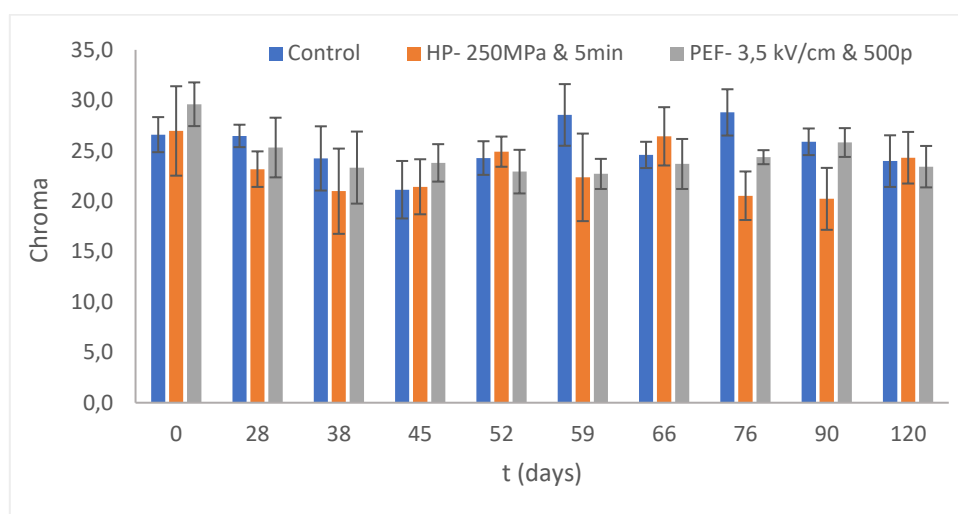
Εικόνα 61 Εντεροβακτήρια για τις ανεπεξέργαστες (control), προεπεξεργασμένες με ΥΠ (250 MPa & 5 min) και ΠΗΠ (3.5 kV/cm & 500 παλμοί) ελιές κατά την διάρκεια του ισπανικού τύπου ζύμωσης. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων.

Δεδομένου ότι στις ελιές ισπανικού τύπου οι ζυμώσεις των διαφόρων συνθηκών τερματίζουν μαζί, έχει νόημα να συγκρίνουμε την εξέλιξη των αποικιών στον ίδιο χρόνο, καθώς μπορούμε να υποθέσουμε ότι όλα τα δείγματα βρίσκονται στην ίδια φάση της ζύμωσης. Γενικότερα, βάσει της βιβλιογραφίας (Johnson & Mitchell, 2018), οι ζυμώσεις ελληνικού και ισπανικού τύπου δεν διαφέρουν ως προς το είδος των μικροοργανισμών. Η ολική αερόβια χλωρίδα, τα γαλακτικά βακτήρια και οι ζύμες με τους μύκητες, εμφανίζουν αύξηση τις πρώτες ημέρες της ζύμωσης και στη συνέχεια τα φορτία τους σταθεροποιούνται. Τα εντεροβακτήρια, παρόλο που αυξάνονται σε πρώτη φάση, στη συνέχεια φθίνουν και εξαφανίζονται έγκαιρα, λόγω επικράτησης των γαλακτικών βακτηρίων. Τη μεγαλύτερη ανθεκτικότητά τους στο χρόνο σε σχέση με τη ζύμωση ελληνικού τύπου μπορούμε να την ερμηνεύσουμε ως συνέπεια των

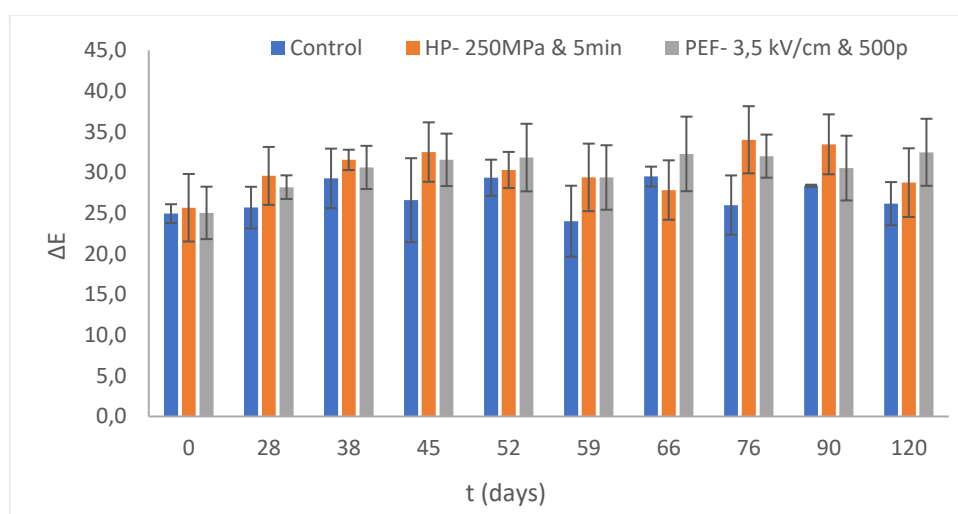
υψηλότερων τιμών pH. Είναι γνωστό (Johnson & Mitchell, 2018) πως η ύπαρξη του NaOH αλλάζει την περιεχόμενη χλωρίδα στην άλμη, για αυτό οι ζυμώσεις ελληνικού και ισπανικού τύπου παρουσιάζουν διαφορές στην εξέλιξή τους στο χρόνο. Άλλωστε, η επικράτηση υψηλών pH είναι ο λόγος που η ζύμωση ισπανικού τύπου αποτελεί πρόκληση, δεδομένου ότι μπορεί η ποσότητα εντεροβακτηρίων να εκτροχιαστεί και η ζύμωση να κινηθεί προς την αντίθετη πλευρά.

#### 4.3.2.3 Χρώμα και Υφή

Παρακάτω παρατίθενται οι μετρήσεις που αφορούν στο χρώμα και την υφή της ελιάς κατά τη διάρκεια ζύμωσης ισπανικού τύπου (Εικόνες 62, 63, 64 και 65).

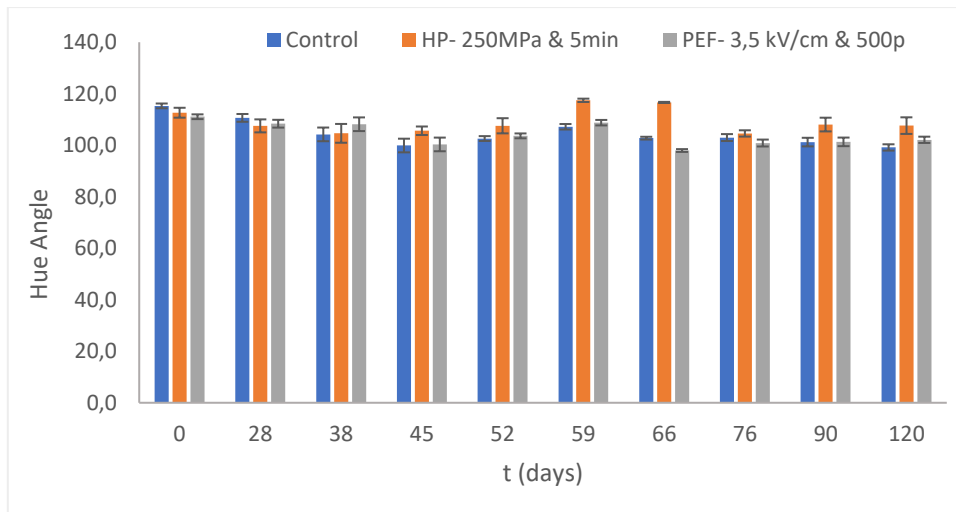


Εικόνα 62 Μεταβολή φωτεινότητας χρώματος για τις ανεπεξέργαστες (control), προεπεξεργασμένες με ΥΠ (250 MPa & 5 min) και ΠΗΠ (3.5 kV/cm & 500 παλμοί) ελιές κατά την διάρκεια του ισπανικού τύπου ζύμωσης. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων.

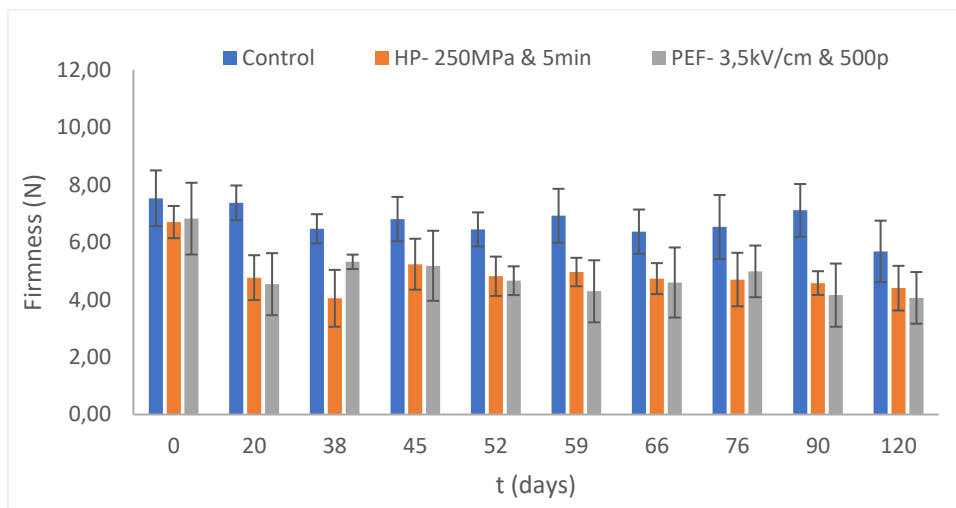


Εικόνα 63 Μεταβολή συνολικού χρώματος με το χρόνο για τις ανεπεξέργαστες (control), προεπεξεργασμένες με ΥΠ (250 MPa & 5 min) και ΠΗΠ (3.5 kV/cm & 500 παλμοί) ελιές κατά την διάρκεια του ισπανικού τύπου ζύμωσης. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων.





Εικόνα 64 Μεταβολή γωνίας απόχρωσης για τις ανεπεξεργαστες (control), προεπεξεργασμένες με ΥΠ (250 MPa & 5 min) και ΠΗΠ (3.5 kV/cm & 500 παλμοί) ελιές κατά την διάρκεια του ισπανικού τύπου ζύμωσης. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων.



Εικόνα 65 Μεταβολή σκληρότητας για τις ανεπεξεργαστες (control), προεπεξεργασμένες με ΥΠ (250 MPa & 5 min) και ΠΗΠ (3.5 kV/cm & 500 παλμοί) ελιές κατά την διάρκεια του ισπανικού τύπου ζύμωσης. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων.

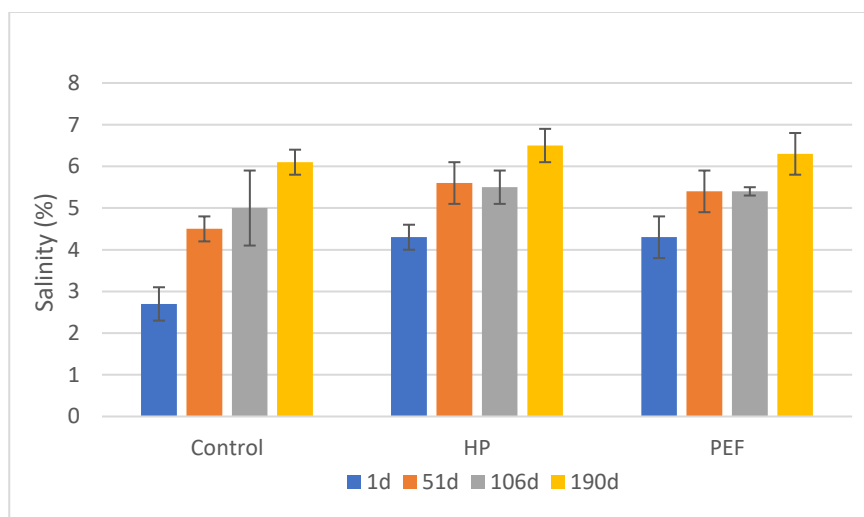
Όπως και στις ζυμώσεις ελληνικού τύπου, το χρώμα και η υφή φαίνεται να έχουν μια κοινή πορεία στο χρόνο για τα δείγματα των ΥΠ και ΠΗΠ. Η φωτεινότητα, που αποτελεί τη σημαντικότερη χρωματική παράμετρο, φαίνεται να μη μεταβάλλεται σημαντικά (ως και ~20% μείωση από την αρχή ως το τέλος της ζύμωσης), ενώ τα τρία δείγματα δεν εμφανίζουν διαφορές στην τελευταία μέτρηση (τέλος ζύμωσης). Η συνολική συνισταμένη του χρώματος φαίνεται να μεταβάλλεται σημαντικά σε σχέση με την ωμή ελιά (μεγάλες τιμές ΔΕ), αλλά αυτό δεν μας απασχολεί, αφού οι επεξεργασμένες ελιές δεν διαφέρουν σημαντικά από το control στο τέλος της ζύμωσης. Συγκεκριμένα, οι επεξεργασμένες ελιές έχουν ως και 30% διαφορετικό συνολικό χρώμα σε σχέση με το control στις 76 ημέρες ζύμωσης, η οποία διαφορά τελικά μειώνεται στο 23%.

Η μεταβλητή hue angle που αφορά στην απόχρωση, δεν εμφανίζει σημαντικές μεταβολές συναρτήσει του χρόνου ζύμωσης και των συνθηκών. Ενδεικτικά, η μέγιστη μείωση μεταξύ αρχής και τέλους ζύμωσης αφορά το control και είναι της τάξης του 4% και ταυτόχρονα όλα τα δείγματα φαίνεται να έχουν μη σημαντικές διαφορές στην τελική απόχρωση.

Όσον αφορά την υφή, παρατηρείται κάποια υποβάθμιση των επεξεργασμένων ελιών σε κάθε φάση της ζύμωσης, δεδομένου ότι ήταν πιο μαλακές από τις ανεπεξέργαστες (ως και 43% στις 90 ημέρες). Δεδομένου ότι κάτι τέτοιο δεν παρατηρήθηκε στις ελιές ελληνικού τύπου, θεωρούμε πως αυτή η υποβάθμιση οφείλεται στην επίδραση του αλκαλικού διαλύματος στη δομή της ελιάς. Παρόλα αυτά, δεν θεωρείται πως αυτή η μείωση της σκληρότητας είναι οργανοληπτικά μη αποδεκτή ώστε να μπορέσει να αποτρέψει την ενδεχόμενη παραγωγή του εν λόγω προϊόντος.

#### 4.3.2.4 Αλατότητα

Στο παρακάτω διάγραμμα (Εικόνα 56) φαίνονται τα αποτελέσματα μετρήσεων αλατότητας πράσινων ελιών ισπανικού τύπου κατά τη διάρκεια της ζύμωσης για όλα τα μελετώμενα δείγματα.



Εικόνα 66 Αλατοπεριεκτικότητα για τις ανεπεξέργαστες (control), προεπεξεργασμένες με ΥΠ (250 MPa & 5 min) και ΠΗΠ (3.5 kV/cm & 500 παλμοί) ελιές κατά την διάρκεια του ισπανικού τύπου ζύμωσης. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων.

Από το παραπάνω διάγραμμα φαίνεται πως από την αρχή κιάλας της ζύμωσης υπάρχουν διαφορές στην αλατότητα μεταξύ ανεπεξέργαστης ελιάς και επεξεργασμένων, δεδομένου ότι οι τελευταίες έχουν ιστό με περισσότερους πόρους. Αυτές οι διαφορές συνεχίζουν να υπάρχουν, μέχρι που γίνονται στατιστικά μη σημαντικές στο τέλος της ζύμωσης, το οποίο χρονικά είναι κοινό για όλες τις συνθήκες (~6,3 g/100 g). Μπορούμε επίσης να παρατηρήσουμε πως από την αρχή, όλα τα δείγματα παρουσιάζουν υψηλότερες τιμές άλατος σε σχέση με τις ελιές ελληνικού τύπου. Αυτό πιθανότατα οφείλεται στο γεγονός ότι οι εν λόγω ελιές έχουν υποστεί περαιτέρω κατεργασία με καυστικό νάτριο, επομένως παρουσιάζουν υψηλότερο ρυθμό πρόσληψης άλατος τις πρώτες μέρες της ζύμωσης. Επομένως κανένα από τα δείγματα δεν εμφανίζει υπερβολική πρόσληψη σε αλάτι, γεγονός που θα ήταν επιβαρυντικό για την υγεία ενός υποθετικού καταναλωτή.

#### 4.3.2.5 Σύγκριση με βιβλιογραφία

Οι Rosa et al. (2016) μελέτησαν την αυθόρμητη ζύμωση πράσινης ελιάς ισπανικού τύπου, συγκριτικά με τη ζύμωση του ίδιου τύπου, με τη βοήθεια εναρκτήριας καλλιέργειας. Η χημική αποπύκνωση έγινε με καυστικό νάτριο 1%, ενώ η ζύμωση εκτελέστηκε σε διάφορα διαλύματα άλμης, μεταβάλλοντας τις συγκεντρώσεις σε χλωριούχο νάτριο και σακχαρόζη.

Οι ερευνητές αξιολόγησαν την πορεία της ζύμωσης βάσει του pH, του φορτίου γαλακτικών βακτηρίων και άλλων μεταβλητών, όπως γαλακτικό οξύ, αναγωγικά σάκχαρα κλπ. Όπως συμβαίνει και στη παρούσα εργασία, με το πέρας του χρόνου, παρατηρείται αύξηση και σταθεροποίηση του φορτίου των γαλακτικών βακτηρίων στην ίδια τάξη μεγέθους ( $7 \log$ ), η οποία μεταφράζεται σε μείωση του pH, μέχρι να σταθεροποιηθεί στην επιθυμητή τιμή.

## 5 Συμπεράσματα

Η ελιά αποτελεί έναν από τους ευρύτατα καταναλισκόμενους καρπούς στη Μεσόγειο που υφίστανται ζύμωση πριν καταναλωθούν, ενώ ταυτόχρονα αφήνει ένα μεγάλο συμβολικό και οικονομικό αποτύπωμα στις περιοχές που την παράγουν. Εκτενής έρευνα που έχει εκτελεστεί γύρω από την ελιά και συγκεκριμένα από την επιτραπέζια ελιά, έχει αποδείξει πως οι διεργασίες επεξεργασίας και οι συνθήκες αποθήκευσης και ζύμωσης έχουν μεγάλη επίδραση στην αναπτυσσόμενη μικροχλωρίδα και κατά συνέπεια στη θρεπτική αξία και στα οργανοληπτικά της χαρακτηριστικά. Κάτι το οποίο δεν είχε μελετηθεί είναι η απόπειρα επιτάχυνσης της αποπύκνωσης και της ζύμωσης, που αποτελούν τις βασικότερες διεργασίες στην παραγωγή επιτραπέζιας ελιάς. Συγκεκριμένα, οι συμβατικές μέθοδοι παραγωγής επιτραπέζιας ελιάς, ελληνικού και ισπανικού τύπου, έχουν ως βασικά μειονεκτήματα το μεγάλο χρόνο ζύμωσης και το μεγάλο όγκο χημικών αποβλήτων, αντίστοιχα. Η παρούσα μελέτη αφορά την εφαρμογή των υπερήχων, της ΥΠ και των ΠΗΠ ως προεπεξεργασίες, με σκοπό την αποτελεσματικότερη και ταχύτερη αποπύκνωση και ζύμωση της επιτραπέζιας ελιάς.

Μέσω των κινητικών πειραμάτων, αποδείχτηκε πως η χρήση των υπό εξέταση μη θερμικών μεθόδων μπορεί να φέρει εις πέρας την ταχύτερη αφαίρεση της πικρής γεύσης από την πράσινη ελιά, και για τους δυο τύπους επεξεργασίας, οπότε εξήχθησαν οι βέλτιστες συνθήκες στις οποίες έλαβαν χώρα οι ζυμώσεις. Δεδομένου ότι η αποπύκνωση ελιών ελληνικού τύπου αποτελεί μια ενιαία διεργασία με τη ζύμωση, καταλαβαίνει κανείς πως μεμονωμένα η επιτάχυνση της αποπύκνωσης με την υποβοήθηση κάποιας μη θερμικής μεθόδου, δεν παρουσιάζει κάποιο τεχνολογικό όφελος. Αποδείξαμε όμως ότι επιταχύνεται και η ζύμωση (μείωση χρόνου από 6 μήνες στους 3) ,άρα και η παραγωγή του τελικού προϊόντος. Σε ένα σενάριο ένταξης μιας μη θερμικής μεθόδου ως διεργασία προεπεξεργασίας σε μια υφιστάμενη, συμβατική μονάδα, αυτή η επιτάχυνση θα παρουσίαζε τα εξής οφέλη:

- Σε συγκεκριμένο χρόνο παράγεται μεγαλύτερη ποσότητα ελιών σε σχέση με τη συμβατική μονάδα, δηλαδή εξετάζουμε το ενδεχόμενο αύξησης της δυναμικότητας. Δεδομένου ότι η προεπεξεργασία μειώνει το χρόνο ζύμωσης στο μισό, υπάρχει δυνατότητα διπλασιασμού της ετήσιας δυναμικότητας!
- Η υφιστάμενη βιομηχανία θα γλίτωνε 3 μήνες λειτουργίας των δεξαμενών ζύμωσης, εξοικονομώντας σε λειτουργικό κόστος.

Για τις ελιές ισπανικού τύπου δεν παρατηρήθηκε επιτάχυνση στην παραγωγή του τελικού προϊόντος, αλλά σημειώθηκε σημαντική μείωση στο χρόνο αποπύκνωσης (5h από 7h), το οποίο παρουσιάζει το εξής όφελος:

- Παραμονή συγκεκριμένης ποσότητας ελιών στη δεξαμενή NaOH για μικρότερο χρονικό διάστημα. Με αυτόν τον τρόπο θα μπορούσε κανείς να παράξει μεγαλύτερη ποσότητα ελιών στον ίδιο χρόνο, χρησιμοποιώντας την ίδια ποσότητα αλκάλειω, μειώνοντας έτσι την κατανάλωση kg NaOH/kg προϊόντος.

Παράλληλα, μέσω αυτού του εγχειρήματος, είναι πιθανό να ενθαρρυνθεί η μαζικότερη παραγωγή ελιάς ελληνικού τύπου, τη μέθοδο επεξεργασίας που καταλήγει στο θρεπτικότερο και νοστιμότερο προϊόν, η οποία αποφεύγεται μόνο για το μεγάλο χρόνο ζύμωσής της. Ένα σημαντικό όφελος από αυτή την υποθετική εξέλιξη φυσικά είναι η μείωση των χημικών αποβλήτων που δημιουργεί η παραγωγή ελιάς ισπανικού τύπου, μέσω της μείωσης του μεριδίου της στην αγορά.

### 5.1 Πρόταση μελλοντικής έρευνας

Μπορούμε να προτείνουμε τη μελλοντική διενέργεια ανάλυσης βιωσιμότητας ενός σχετικού εγχειρήματος. Ως γνωστόν, καμία επιχείρηση δεν παράγει μόνο πράσινες ελιές, επομένως θα μπορούσε σε πρώτη φάση να γίνει μια αντίστοιχη μελέτη αποπίκρασης και ζύμωσης για παραγωγή μαύρων επιτραπέζιων ελιών, προεπεξεργασμένων με κάποια μη θερμική μέθοδο. Δεδομένου ότι οι ΥΠ και ΠΗΠ δεν εμφάνισαν μεταξύ τους διαφορές στο τελικό προϊόν και ότι τα ΠΗΠ αποτελούν μια σημαντικά φθηνότερη επένδυση, θα προτείναμε τη διερεύνηση μόνο αυτής. Η ένταξη των ΠΗΠ σε μια υφιστάμενη μονάδα παραγωγής επιτραπέζιας ελιάς θα ήταν πολύ ελκυστική και πιθανώς συμφέρουσα επιλογή για την σχετική βιομηχανία. Έχοντας λοιπόν συλλέξει δεδομένα που αφορούν το χρόνο ζύμωσης ελιών ελληνικού και ισπανικού τύπου και τον απαιτούμενο χρόνο χημικής αποπίκρασης, απαιτούνται επίσης τα εξής δεδομένα:

- Κόστος εξοπλισμού ΠΗΠ βάσει της διαθέσιμης βιβλιογραφίας
- Κόστος λειτουργίας ΠΗΠ που προκύπτει από την ειδική ενέργεια, ίσως πολλαπλασιασμένο με κάποιο συντελεστή (>1), λόγω της μεταφοράς σε βιομηχανική κλίμακα
- Κόστος συντήρησης
- Εργατικά κόστη ανά βάρδιες
- Κόστος λειτουργίας δεξαμενών ζύμωσης και εξοπλισμού πλυσίματος/διαχωρισμού ελιών

Στη συνέχεια, πρέπει να γίνει ένας κατάλληλος σχεδιασμός ώστε όλο το χρόνο η επιχείρηση να παράγει ελιές. Λόγω της εποχικότητας και των διαφορών στην εποχή συγκομιδής, οι πρώτες ύλες παραλαμβάνονται από την επιχείρηση με μη σταθερό ρυθμό. Συγκεκριμένα, αυτός ο ρυθμός παραλαβής στην αρχή αυξάνεται, σταθεροποιείται και τελικά μειώνεται και κάπως έτσι κινείται και η συνάρτηση του ρυθμού πωλήσεων με το χρόνο (Kopsidas G. , 1994). Αυτό αποτελεί μια πρόκληση, καθώς οι ελιές παραλαμβάνονται από αρχές Σεπτεμβρίου (πράσινες) ως και τέλη Δεκεμβρίου (μαύρες). Επομένως, λόγω της προεπεξεργασίας που μειώνει το χρόνο ζύμωσης στις 100 μέρες, η παραγωγή τελικού προϊόντος θα τελειώνει στη μέση του έτους. Οπότε, χρειάζεται να γίνουν οι απαραίτητοι χειρισμοί ως προς τη συντήρηση της πρώτης ύλης και τον κύκλο λειτουργίας της μονάδας, ώστε να εξαλειφθεί ο νεκρός χρόνος στην παραγωγή.

## 6 Βιβλιογραφία

- Aganovic, K. H. (2021). Aspects of high hydrostatic pressure food processing: Perspectives on technology and food safety. *Compr Rev Food Sci Food Saf*(20), σσ. 3225–3266.
- Ahmad-Qasem, & al. (2013). Kinetic and compositional study of phenolic extraction from olive leaves (var. Serrana) by using power ultrasound. *Innovative Food Science & Emerging Technologies Vol.17*, σσ. 120-129.
- Ainsworth, E. G. (2007). Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. *Nat Protoc*(2), σσ. 875–877.
- Blois, M. S. (1958, 04 01). Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nature*(181), σσ. 1199–1200. Ανάκτηση από <https://doi.org/10.1038/1811199a0>
- Bonatsou, & al, e. (2018). Evolution of Yeast Consortia during the Fermentation of Kalamata Natural Black Olives upon Two Initial Acidification Treatments. *Frontiers in Microbiology* 8.
- Campus et al, .. (2018). Technologies and Trends to Improve Table Olive Quality and Safety. *Front. Microbiol.*9:617. doi:10.3389/fmicb.2018.00617
- Cillidag, S. (2013). Table olive processing technologies. *Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; n. 106*, σσ. 67-74.
- Fauster, T. P. (2020). Impact of a combined pulsed electric field (PEF) and enzymatic mash treatment on yield, fermentation behaviour and composition of white wine. *Eur Food Res Technol* 246, σσ. 609–620.
- Habibi, M., & al. (2015). Ultrasound-accelerated debittering of olive fruits. *Innovative Food Science & Emerging Technologies VL 31*, σσ. 105-115. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.06.014>
- Huertas-Alonso, A. &.-S.-P.-V. (2022). Table Olive Wastewater as a Potential Source of Biophenols for Valorization: A Mini Review. *Fermentation*. 8. 215. doi:10.3390/fermentation8050215.
- IOOC. (2004). Trade Standard Applying to Table Olives. Madrid.
- Johnson, R. L., & Mitchell, A. E. (2018). Reducing Phenolics Related to Bitterness in Table Olives. *Journal of Food Quality*.
- Kempkes, M. (2017). *Industrial Pulsed Electric Field Systems* (Τόμ. Handbook of Electroporation). (D. Miklavcic, Επμ.) Springer International Publishing AG. doi:10.1007/978-3-319-26779-1\_211-1
- Kopsidas, G. (1991). A regression analysis on the green olives debittering. *Grasas y Aceites VL 42*. doi:10.3989/gya.1991.v42.i6.1200
- Kopsidas, G. (1994). Wastewater from the table olive industry. *Water Research Volume 28, Issue 1*, σσ. 201-205.
- Kraemer, E. O. (1924). Mohr’s Method for the Determination of Silver and Halogens in other than Neutral Solutions. *J. Am. Chem. Soc.*, σσ. 2707-2709.

- Kumar, G., Upadhyay, S., Kumar Yadav, D., Malakar, S., Dhurve, P., & Suri, S. (2022). Application of ultrasound technology for extraction of color pigments from plant sources and their potential bio-functional properties: A review. *Journal of Food Process Engineering*. doi:10.1111/jfpe.14238
- Kumar, K. (2021). Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. *Ultrason Sonochem*. doi:10.1016/j.ultsonch.2020.105325
- Ly, B. &. (2020). Research Techniques Made Simple: Cutaneous Colorimetry: A Reliable Technique for Objective Skin Color Measurement. *The Journal of investigative dermatology*, pp. 3-12. doi:10.1016/j.jid.2019.11.003
- McMurry, J. (2017). *Οργανική Χημεία*. Ηράκλειο: Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης.
- Ozcelik, B. L. (2003). Effects of Light, Oxygen, and pH on the Absorbance of 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl. *Journal of Food Science*(68), σσ. 487-490. Ανάκτηση από <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb05699.x>
- Pataro, G. F. (2011). Mass Transfer Enhancement by Means of Electroporation. *InTech*. doi:10.5772/22386
- Perpetuini, G. P.-G. (2020). Table Olives More than a Fermented Food. *Foods*.
- Ramírez, E., Brenes, M., García, P., Medina, E., & Romero, C. (2016). Oleuropein hydrolysis in natural green olives: Importance of the endogenous enzymes. *Food Chemistry* 206, σσ. 204-209. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.061>
- Rosa, A. d. (2016). Green olive fermentation using spontaneous and *Lactobacillus plantarum* cultures. *J. Verbr. Lebensm.* 11, σσ. 249–257.
- Roselló-Soto, E., Barba, F., & Parniakov, O. e. (2015). High Voltage Electrical Discharges, Pulsed Electric Field, and Ultrasound Assisted Extraction of Protein and Phenolic Compounds from Olive Kernel. *Food Bioprocess Technol* 8, σσ. 885–894.
- Siemer, C. (2018). Use of Pulsed Electric Fields (PEF) in the Food Industry. *DLG Expert report* 5/2018.
- Therios, I. (2005). *Olives, Crop Production Science In Horticulture*. Thessaloniki: CABI.
- Αλεξανδράκης, Ζ. (2015). *Μελέτη βιοχημικών, καταλυτικών και δομικών μεταβολών φυτικών ενζύμων σε συνθήκες υπερυψηλής πίεσης*. Αθήνα: Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο.
- Ανδρέου, Β. (2020). *Έρευνα και εφαρμογή των τεχνολογιών υπερυψηλής πίεσης και παλμικών ηλεκτρικών πεδίων στην παραγωγή υψηλής ποιότητας φυτικών προϊόντων και στην αξιοποίηση των παραπροϊόντων τους*. Αθήνα: Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο.
- Λιοδάκης, Σ. (2001). *Αναλυτική Χημεία*. Αθήνα: Εκδόσεις Παπασωτηρίου.
- Μπαλατσούρας, Γ. (1995). *Η επιτραπέζια ελιά : ποικιλίες, χημική σύσταση, εμπορικοί τύποι, ποιοτικά χαρακτηριστικά, συσκευασία, εμπορία*. Αθήνα.
- Σαράντου, Σ. (2008). *Ποιοτική Έρευνα στο ελληνικό ελαιόλαδο: Η περίπτωση του προφίλ του ελληνικού ελαιολάδου από την πλευρά της οξύτητας, των λιπαρών οξέων και των*

τριγλυκεριδίων, σε 25 ελαιοκομικούς συνεταιρισμούς της χώρας. Αθήνα: Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο, Τμήμα Οικιακής Οικονομίας & Οικολογίας, Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών "Βιώσιμη Ανάπτυξη", Διπλωματική Μελέτη.

Χανιώτη, Σ. (2019). *Εναλλακτικές Μέθοδοι Εκχύλισης Φυτικών Λιπαρών και Βιοδραστικών Συστατικών τους*. Αθήνα: Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων, Σχολή Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ.