

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΡΓΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

**«ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ ΧΛΩΡΙΔΑΣ ΣΕ ΕΛΙΕΣ
ΚΑΛΑΜΩΝ ΑΥΘΟΡΜΗΤΗΣ ΖΥΜΩΣΗΣ»**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ
ΙΩΑΝΝΑ ΛΥΤΡΑ



ΚΑΛΑΜΑΤΑ
2009

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΡΓΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

**«ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ ΧΛΩΡΙΔΑΣ ΣΕ ΕΛΙΕΣ
ΚΑΛΑΜΩΝ ΑΥΘΟΡΜΗΤΗΣ ΖΥΜΩΣΗΣ»**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ
ΙΩΑΝΝΑ ΛΥΤΡΑ**

Εξεταστική Επιτροπή:

Μαρίνα Παπαδέλλη (επιβλέπουσα)

Πελαγία Κάτσου

Παγόνα Κυριακοπούλου

ΚΑΛΑΜΑΤΑ

2009

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Για την ολοκλήρωση της πτυχιακής μου μελέτης συνέβαλλαν κάποιοι άνθρωποι που χωρίς την πολύτιμη βοήθειά τους δεν θα μπορούσα να την ολοκληρώσω. Πρώτη από όλους θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα της πτυχιακής μου, την κ. Μαρίνα Παπαδέλλη, γιατί μου πρότεινε το θέμα της πτυχιακής μου εργασίας και με βοήθησε τόσο στην εκτέλεση του πειραματικού της μέρους όσο και στη συγγραφή της. Ακόμα θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη του εργαστηρίου Γαλακτοκομίας, του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών στο οποίο έλαβε χώρα μεγάλο μέρος των πειραμάτων της πτυχιακής μου. Ιδιαίτερα ευχαριστώ την καθηγήτρια κ. Τσακαλίδου και τον αναπληρωτή καθηγητή κ. Κανδαράκη, μέλη του εργαστηρίου Γαλακτοκομίας που μου έδωσαν τη δυνατότητα να κάνω την πρακτική μου άσκηση καθώς και το μεγαλύτερο πειραματικό μέρος της πτυχιακής μου, στο εργαστήριο Γαλακτοκομίας δίνοντας μου την ευκαιρία να αποκτήσω πολύτιμες γνώσεις και εμπειρίες. Τις πιο ευλικρινείς μου ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω στην κ. Ευγενία Μανωλοπούλου, στην κ. Ράνια Αναστασίου και στην κ. Μαρίνα Γεωργαλάκη, μέλη του εργαστηρίου Γαλακτοκομίας, για την πολύτιμη βοήθειά τους σε όλες τις πειραματικές αναλύσεις αλλά και για την όλη υποστήριξή τους, τεχνική και ηθική καθ' όλη τη διάρκεια της πτυχιακής μου. Η προθυμία και υπομονή που έδειξαν ήταν ιδιαίτερα σημαντική για μένα. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω το Κοινωφελές Ίδρυμα Λάτση που χρηματοδότησε το ερευνητικό έργο με τίτλο «Fermented Calamon olives: an unexplored ecosystem, a pool of novel lactic acid bacteria starters», στα πλαίσια του οποίου πραγματοποιήθηκε η πτυχιακή μου μελέτη.

Τέλος ευχαριστώ ιδιαίτερα την οικογένεια και τους φίλους μου για την κατανόηση τους.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Σελίδες

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	5
ΣΚΟΠΟΣ	6
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	
1.1. Ιστορικά στοιχεία	7
1.2. Βοτανικά στοιχεία	8
1.3. Δομή και Χημική Σύσταση Ελαιόκαρπου	9
1.4. Διατροφική αξία της ελιάς	12
1.5. Επιτραπέζιες ελιές	15
1.6. Η επεξεργασία της επιτραπέζιας ελιάς Καλαμών	17
1.7. Γαλακτική ζύμωση	19
1.7.1. Βακτήρια του γαλακτικού οξέος	19
1.8. Χρήση εναρκτηρίων καλλιεργειών για ελεγχόμενη ζύμωση της ελιάς	20
1.9. Ποιότητα της επιτραπέζιας ελιάς	21
1.10. Ασθένειες της επιτραπέζιας ελιάς Ελληνικού τύπου (Καλαμών)	23
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	
2.1. Εργαστηριακές ζυμώσεις ελιών Καλαμών	25
2.2. Μικροβιολογικές αναλύσεις	26
2.2.1. Καταμέτρηση μικροβιακών ομάδων με τη μέθοδο μέτρησης αποικιών	26
2.2.2. Απομόνωση αποικιών από τα τρυβλία των οξυγαλακτικών βακίλων	28
2.2.3. Έλεγχος των οξυγαλακτικών απομονώσεων για ενδιαφέρουσες τεχνολογικές ιδιότητες.	29
2.3. Φυσικοχημικές αναλύσεις στις άλμες και στις ελιές	31
2.3.1. Προσδιορισμός της οξύτητας σε άλμες	31
2.3.2. Προσδιορισμός της συγκέντρωσης των φαινολικών ουσιών στις άλμες και στις ελιές	30
2.4. Οργανοληπτικός έλεγχος σε ελιές	31
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	
3.1. Εργαστηριακές ζυμώσεις ελιών Καλαμών –δειγματοληψία – αναλύσεις	32
3.2. Μικροβιολογική ανάλυση φρέσκων ελιών	33
3.3. Μικροβιολογική ανάλυση άλμεων	34

3.4. Έλεγχος τεχνολογικών ιδιοτήτων των απομονωθέντων οξυγαλακτικών βακτηρίων	38
3.5. Φυσικοχημικές αναλύσεις στις άλμες και στις ελιές	41
3.5.1. Διακύμανση του pH και της οξύτητας στις άλμες	41
3.5.2. Μεταβολή της συγκέντρωσης των φαινολικών ουσιών στις άλμες και στις ελιές	42
3.6. Αποτελέσματα οργανοληπτικού έλεγχου	44
4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	46
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	48

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η ελιά είναι ένα δένδρο του οποίου η καλλιέργεια αλλά και η κατανάλωση του ελαιόκαρπου χάνονται στα βάθη των αιώνων. Ο ελαιόκαρπος και το λάδι θεωρούνται από τις πιο σημαντικές τροφές στο διαιτολόγιο του ανθρώπου. Η επεξεργασία της ελιάς για ελαιοποίηση ή επιτραπέζια χρήση καλύπτει μεγάλο κομμάτι στον αγροτικό τομέα σε όλες τις μεσογειακές χώρες και όχι μόνο. Η επεξεργασία του ελαιόκαρπου για την κατανάλωσή του ως επιτραπέζια ελιά έχει ως πρωταρχικό στόχο την απαλλαγή του από την πικρή ουσία ελευρωπαΐνη, που περιέχεται στην ελιά και την κάνει ακατάλληλη προς βρώση, αλλά και την βελτίωση της γεύσης του λόγω των προϊόντων της μικροβιακής ζύμωσης που λαμβάνει χώρα.

Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας μελετήθηκαν τα μικροβιολογικά και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των άλμεων κατά τη διάρκεια τριών αυθόρμητων ζυμώσεων ελιών Καλαμών. Οι ζυμώσεις πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο και έλαβαν χώρα σε τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις άλμης (0, 5, 10 % NaCl) και θερμοκρασία 20 °C. Κατά τη διάρκεια των ζυμώσεων οι οποίες διήρκεσαν συνολικά 2 μήνες, γινόταν μικροβιολογική ανάλυση των άλμεων, που περιελάμβανε την παρακολούθηση της πορείας εξέλιξης του πληθυσμού των σημαντικότερων μικροβιακών ομάδων που αναπτύσσονται στις άλμες κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Επίσης επιχειρήθηκε η απομόνωση αυτοχθονων στελεχών οξυγαλακτικών βακτηρίων τα οποία θα μπορούσαν μετά από κατάλληλη επιλογή να χρησιμοποιηθούν ως εναρκτήριες καλλιέργειες σε μία μελλοντική ελεγχόμενη ζύμωση των ελιών. Κατά την πορεία των ζυμώσεων μελετήθηκαν και ορισμένα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των άλμεων, όπως το pH, η οξύτητα και το φαινολικό τους περιεχόμενο προκειμένου να κατανοηθεί καλύτερα το βιολογικό αυτό φαινόμενο.

ΣΚΟΠΟΣ

Η εργασία αυτή είχε ως σκοπό τη μελέτη της αυθόρμητης ζύμωσης μαύρων επιτραπέζιων ελιών Καλαμών που πραγματοποιήθηκε σε άλμη συγκέντρωσης 0%, 5% και 10% NaCl. Η μελέτη αφορούσε τη μικροβιολογική ανάλυση και καταγραφή των πληθυσμών των σπουδαιότερων μικροβιακών ομάδων, που αναπτύσσονται στην άλμη, κατά τη διάρκεια της ζύμωσης των ελιών. Στόχος της εργασίας ήταν, επίσης, η απομόνωση αυτόχθονων στελεχών οξυγαλακτικών βακτηρίων, τα οποία θα μπορούσαν μετά από κατάλληλη επιλογή να χρησιμοποιηθούν ως εναρκτήριες καλλιέργειες σε μία μελλοντική ελεγχόμενη ζύμωση των ελιών. Μελετήθηκαν επίσης διάφορα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά όπως η διακύμανση του pH, της οξύτητας, της συγκέντρωσης των φαινολικών ουσιών τόσο στην άλμη όσο και στις ελιές, κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Τέλος πραγματοποιήθηκε οργανοληπτικός έλεγχος των ζυμωμένων ελιών με σκοπό την συγκριτική αξιολόγηση των τριών δειγμάτων.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Ιστορικά στοιχεία

Η ελιά θεωρείται ένα από τα αρχαιότερα καλλιεργούμενα δένδρα στον κόσμο. Η γέννηση της καλλιέργειας της ελιάς βρίσκεται στους μύθους και τις παραδόσεις. Η πρώτη αναφορά στο δένδρο της ελιάς βρίσκεται στη Βίβλο, στο πρώτο βιβλίο Γένεσης, όπου περιγράφεται ότι ένα περιστέρι πέταξε με κλαδί ελιάς ανακοινώνοντας έτσι το τέλος της πλημμύρας (Lousseret and Brousse, 1980).

Μέχρι και σήμερα δεν έχει προσδιοριστεί με ακρίβεια το αρχικό είδος από το οποίο έχει προέλθει το δένδρο της ελιάς όπως το γνωρίζουμε σήμερα. Υπάρχουν δυο εκδοχές που προσδιορίζουν την πιθανή προέλευση της ελιάς. Η μια ορίζει ότι προέρχεται από την αγριελιά που συναντάται μέχρι και σήμερα σε άγρια κατάσταση στη βόρεια Αφρική, στην Πορτογαλία, στη νότια Γαλλία, στην Ιταλία και στις περιοχές της Μαύρης Θάλασσας. Και η άλλη ορίζει ως τόπο προέλευσης της ελιάς την τροπική Αφρική και ότι προέρχεται από το είδος *Olea chrysophylla*. Ανεξάρτητα από την προέλευσή της, η ελιά είναι γεγονός ότι εξαπλώθηκε σε πάρα πολύ μεγάλη έκταση στην ευρωπαϊκή ήπειρο και πιθανολογείται ότι αυτός είναι ο λόγος της ονομασίας *Olea europaea* (ελιά η ευρωπαϊκή) (Κυριτσάκης, 1993).

Η καλλιέργεια της ελιάς εξαπλώθηκε σε όλη τη λεκάνη της Μεσογείου και σε αυτό συνέβαλλαν διάφοροι πολιτισμοί της Μεσογείου όπως οι Φοίνικες, οι Έλληνες και οι Εβραίοι. Εκτός από τη Μεσόγειο οι άποικοι επέκτειναν τη φύτευση των ελαιόδεντρων και τη διαδικασία παραγωγής των ελιών σε χώρες του τότε νέου κόσμου όπως στην Καλιφόρνια, Μεξικό και Σαν Ντιέγκο. Κατά τον ίδιο τρόπο ο μισθοφόροι μετέφεραν το ελαιόδεντρο και το διάδωσαν σε χώρες όπως η Αυστραλία, η νότια Αφρική καθώς και σε χώρες της Άπω Ανατολής όπως την Ιαπωνία (Connell, 1994).

Η ελιά στην αρχαία Ελλάδα θεωρούνταν ένα από τα πιο σημαντικά δένδρα καθώς δινόταν μεγάλη σημασία στην καλλιέργειά της. Μεγάλοι συγγραφείς της εποχής είχαν ασχοληθεί με την παραγωγή της ελιάς και την σημαντικότητά της για τον άνθρωπο. Ένα κλαδί ελιάς αποτελούσε εξαιρετική διάκριση καθώς δινόταν στους νικητές των ολυμπιακών αγώνων. Ακόμη συνδεόταν με τη διατροφή τους, τη θρησκεία, τη διακόσμηση των αγγείων, των τοίχων και των χρυσών κομμοτεχνημάτων. Η ελιά αποτελούσε και αποτελεί και στη σημερινή Ελλάδα ένα σύμβολο ειρήνης και φιλίας ανάμεσα στους λαούς (Κυριτσάκης, 1993).

Η ελαιοκαλλιέργεια υπήρξε η κυριότερη καλλιέργεια σε όλη τη λεκάνη της Μεσογείου, καθώς η ελιά υπήρξε η βασικότερη τροφή για τον άνθρωπο και σημαντικό εμπορεύσιμο προϊόν. Η Ελλάδα είναι μια από τις σημαντικότερες χώρες στον τομέα της ελαιοκαλλιέργειας και κατατάσσεται σε παγκόσμια κλίμακα στην τρίτη θέση σε παραγωγή λαδιού και στη δεύτερη θέση σε παραγωγή βρώσιμης ελιάς (Κυριτσάκης, 1993).

Η ελαιοκαλλιέργεια στη χώρα μας είναι μια από τις πιο διαδεδομένες γεωργικές καλλιέργειες καθώς επικρατούν κατάλληλες περιβαλλοντολογικές και γεωλογικές συνθήκες για την παραγωγή άριστης ποιότητας καρπού. Η οικονομική σημασία της παραγωγής ελιάς στην Ελλάδα είναι μεγάλη, καθώς προσφέρει οφέλη όπως την εξασφάλιση απασχόλησης εργατικού δυναμικού στις αγροτικές περιοχές και τη διατήρηση της γεωργικής δραστηριότητας σε άγονα εδάφη που δεν είναι δυνατή άλλου είδους καλλιέργεια (Κυριτσάκης, 2007).

1.2. Βοτανικά στοιχεία

Η ελιά ανήκει στην οικογένεια των Oleaceae και η βοτανική λατινική ονομασία της είναι *Olea europaea*. Ένα από τα χαρακτηριστικά των ειδών του γένους *Olea* sp. είναι η μακροζωία τους, που μπορεί να ξεπεράσει και τα 100 χρόνια, χωρίς μάλιστα να σταματήσει ή να μειωθεί η παραγωγικότητα αυτών των δένδρων. Η ελιά είναι ένα δένδρο που αντέχει σε ξηρές και θερμές περιοχές καθώς και σε άγονα εδάφη. Επίσης έχει την ικανότητα να βλαστάνει ξανά μετά από τραυματισμό ή καταστροφές του υπέργειου τμήματός της (Κυριτσάκης, 1993).

Το είδος *Olea europaea* περιλαμβάνει τουλάχιστον 5 υποείδη: *Olea europaea* subsp. *europaea* (Ευρώπη), *Olea europaea* subsp. *cuspidata* (Αφρική, Ιράν, Κίνα), *Olea europaea* subsp. *guanchica* (Κανάρια), *Olea europaea* subsp. *maroccana* (Μαρόκο), *Olea europaea* subsp. *laperrinei* (Αλγερία, Σουδάν, Νιγηρία, Ινδία). Υπάρχουν δεκάδες καλλιεργούμενες ποικιλίες ελιάς οι οποίες χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες ανάλογα με την χρήση τους:

- ποικιλίες που παράγουν καρπό μόνο για βρώση (επιτραπέζιες ελιές)
- ποικιλίες που παράγουν καρπό μόνο για την παραγωγή ελαιολάδου
- ποικιλίες που παράγουν καρπό για διπλή χρήση, δηλαδή για ελαιοποίηση και για βρώση ως επιτραπέζιες ελιές (Μπαλατσούρας, 1995).

Η *Olea europaea* είναι ένα μεσαίου μεγέθους δένδρο αειθαλές που αναπτύσσεται σε μεσογειακό κλίμα, στη νότια Αυστραλία, σε μερικά μέρη στη Νέα Ζηλανδία, στην Αμερική, στη νότια Αφρική και σε μικρότερη έκταση σε άλλες χώρες. Τα δένδρα της ελιάς, ανάλογα με την ποικιλία και τις συνθήκες ανάπτυξης μπορεί να φτάσουν στο ύψος των 15-20 m, ωστόσο για καλύτερο χειρισμό κατά την διαδικασία συγκομιδής προτιμάται ύψος δένδρου 3-6 m. Το δένδρο της ελιάς δίνει καρπούς οι οποίοι είναι πικροί λόγω της παρουσίας του γλυκοσιδίου ελευρωπαΐνη. Τα δένδρα της ελιάς, χρειάζονται αρκετά κρύο χειμώνα για την καρπόδεση και μεγάλο διάστημα ζεστής περιόδου για την ανάπτυξη και την ωρίμανση των καρπών. Η παγωνιά κατά την διάρκεια της ανοιξιάτικης άνθησης και οι ζεστοί άνεμοι είναι επιβλαβείς για την παραγωγή των ελιών. Τα δένδρα της ελιάς έχουν μεγάλη διάρκεια ζωής και μπορούν να επιζήσουν κάτω από δυσμενείς συνθήκες. Οι ελιές μεγαλώνουν κάτω από τροπικές συνθήκες αλλά αντέχουν και σε ώρες παγετώνα κατά την άνθηση και την παραγωγή καρπού (Kailis et al., 2007).

Τα δένδρο της ελιάς πολλαπλασιάζεται αγενώς με σταυρογονιμοποίηση και με αερογονιμοποίηση με γύρη. Προσαρμόζεται εύκολα στα μικροκλίματα και στο μικροπεριβάλλον της κάθε χώρας ανάπτυξής της. Η αναλογία του λαδιού και η σύσταση του ελαιοπολτού είναι ασταθής και εξαρτάται από διάφορους παράγοντες όπως το έδαφος, το κλίμα, τα καλλιεργητικά συστήματα, το κλάδεμα, το λίπασμα και τις μεθόδους συλλογής (Gattido Fernández et al., 1997).

1.3. Δομή και Χημική Σύσταση Ελαιόκαρπου

Ο ελαιόκαρπος κατατάσσεται στην κατηγορία της δρύπης όπου συμπεριλαμβάνονται τα αμύγδαλα, το κεράσι, το δαμάσκηνο κ.λπ. Οι δρύπες χωρίζονται σε δυο μέρη:

1. το περικάρπιο το οποίο περιλαμβάνει:
 - ❖ το επικάρπιο ή την επιδερμίδα ή τη μεμβράνη που καλύπτει 1.5 - 3.5 του βάρους του καρπού,
 - ❖ το μεσοκάρπιο ή σάρκα, που περιέχει ιστούς πλούσιους σε λάδι και σε νερό και καλύπτει το 70% - 90% του καρπού,
2. το ενδοκάρπιο ή πυρήνας που αποτελείται από το ξυλώδες τμήμα στο οποίο περιέχεται το ενδοσπέρμιο. Η διαφορά του ελαιόκαρπου από τις άλλες δρύπες περιορίζεται στην χημική του σύσταση.

Όσον αφορά τη χημική σύσταση του ελαιόκαρπου, τα κύρια συστατικά της σάρκας της ελιάς είναι το νερό (50%), το λάδι (22%), τα σάκχαρα (19.1%) (όπως: η γλυκόζη, η φρουκτόζη και η σακχαρόζη), οι πρωτεΐνες (1.6%), οι πηκτίνες, τα οργανικά οξέα (όπως το κιτρικό, το μηλικό, το οξαλικό και όλα μαζί συνθέτουν το 0.1%), οι τανίνες, η ελευρωπαΐνη, τα ανόργανα συστατικά και άλλα. Η σύνθεση του ελαιόκαρπου διαφέρει ανάλογα με την ποικιλία, την περιοχή καλλιέργειας, τη χρονιά και το στάδιο ανάπτυξης. Αυτός είναι ο λόγος που κάποιες ελιές περιέχουν μικρό ποσοστό λαδιού και μεγάλο ποσοστό ζαχάρων όπως συμβαίνει στις μεγαλόκαρπες ποικιλίες και συνήθως χρησιμοποιούνται για βρώση. Ενώ αντίθετα στις μικρότερες ποικιλίες παρατηρείται μεγαλύτερο ποσοστό λαδιού για αυτό και προορίζονται για ελαιοποίηση (Κυριτσάκης, 1993).

Τα συστατικά του ελαιόκαρπου μεταβάλλονται κατά την πορεία της ωρίμανσης, όπως το χρώμα που από πράσινο μεταβάλλεται σε μαύρο λόγω της αλλαγής των χρωστικών. Ο πράσινος καρπός περιέχει χλωροφύλλες ενώ ο μαύρος καρπός περιέχει μελανίνες που σχηματίζονται από την οξειδωση των φαινολικών ουσιών. Εκτός από το χρώμα μεταβάλλονται και άλλα συστατικά του ελαιόκαρπου όπως:

- ο Το νερό, το οποίο αντιπροσωπεύει το 50% του νωπού βάρους του καρπού και είναι η ποσότητα αυτού που δίνει στον καρπό το τελικό του σχήμα, καθώς με την κανονική ποσότητα νερού τα κύτταρα βρίσκονται σε σπαργή και δεν συρρικνώνεται ο καρπός. Μέσα στο νερό του κυτταρικού χυμού βρίσκονται διαλυμένα και τα ζάχαρα, η ελευρωπαΐνη, τα οργανικά οξέα, οι τανίνες και άλλα. Η ποσότητα του νερού και του λαδιού εξαρτάται από το στάδιο ανάπτυξης, την ποικιλία και τις συνθήκες περιβάλλοντος.
- ο Η ελευρωπαΐνη, είναι ένα συστατικό του ελαιόκαρπου στο οποίο οφείλεται η πικρή γεύση του καρπού. Είναι μια πολυφαινόλη και συναντάται στις άγουρες ελιές σε μεγάλο ποσοστό και πολύ λιγότερο στις ώριμες ελιές. Είναι υδατοδιαλυτή ουσία. Δεν είναι διαλυτή στο ελαιόλαδο γι' αυτό δε δημιουργεί πρόβλημα κατά την ελαιοποίηση, καθώς απομακρύνεται με τα φυτικά υγρά. Αντίθετα στις ελιές που προορίζονται για βρώση, η ελευρωπαΐνη δημιουργεί πρόβλημα καθώς οι ελιές πρέπει να δεχτούν συγκεκριμένους χειρισμούς όπως συνεχή πλυσίματα (παρασκευή ελιών τύπου καλαμών ή τσακιστών) ή προσθήκη διαλύματος καυστικού νατρίου και πλυσιμάτων (παρασκευή ελιών Ισπανικού τύπου) για την απομάκρυνσή της από αυτές. Για να μπορέσει να καταναλωθεί η ελιά πρέπει η ελευρωπαΐνη να υποστεί υδρόλυση είτε με τη

δράση οξέων και αλκάλων ή με τη δράση ενζύμων. Το μόριο της ελευρωπαΐνης περιέχει ένα γλυκοζιδικό και έναν εστερικό δεσμό. Με την ενζυμική υδρόλυση αυτή διασπάται σε γλυκόζη και ένα άγλυκο μόριο, το οποίο στη συνέχεια υδρολύεται προς μόρια τα οποία δεν είναι πικρά, όπως είναι το ελενολικό οξύ και η 3,4-δινδροξυ-φαινυλ-αιθανόλη. Συγκεκριμένα η ενζυμική υδρόλυση της ελευρωπαΐνης γίνεται με το ένζυμο β-γλυκοζιδάση με τη δράση του οποίου απελευθερώνεται γλυκόζη (που χρησιμοποιείται από τους οργανισμούς ως πηγή άνθρακα) και ένα άγλυκο μόριο εστέρα. Το τελευταίο μετατρέπεται σε πιο απλά παράγωγα όπως το ελενολικό οξύ (άπικρη ουσία), με την δράση του ενζύμου εστεράση. Η εκτίκρανση αυτή απαιτεί ένα στάδιο ζύμωσης των ελιών σε άλμη κάποιων μήνων ή την χρήση NaOH (μέθοδος ισπανικού τύπου) (Ciafardini et al., 1994).

- Τα διαλυτά σάκχαρα που περιέχονται στην ελιά (κυρίως γλυκόζη, φρουκτόζη, μανόζη, γαλακτόζη και ζαχαρόζη) έχουν ιδιαίτερη σημασία για τη ζύμωσή της από τα οξυγαλακτικά βακτήρια και για τη συντήρησή της στη συνέχεια. Για την παρασκευή των πράσινων ελιών Ισπανικού τύπου και των φυσικώς μαύρων ελιών Ελληνικού τύπου απαιτείται μεγάλη ποσότητα σακχάρων προκειμένου να λάβει χώρα η γαλακτική ζύμωση κατά την οποία σχηματίζεται γαλακτικό οξύ από τη ζύμωση αυτών των σακχάρων. Η ζύμωση αυτή συντελεί στην συντήρηση της ελιάς αλλά και προσδίδει σε αυτές την ιδιαίτερη γεύση τους. Έχει βρεθεί ότι κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης η συγκέντρωση των σακχάρων στον ελαιόκαρπο μειώνεται καθώς αυξάνεται η ποσότητα του ελαιολάδου που συντίθεται. Για το λόγο αυτό έχει αποδοθεί συσχέτιση ανάμεσα στη μείωση των σακχάρων και τη βιοσύνθεση του ελαιολάδου (Garrido Fernández et al., 1997).
- Ο ελαιόκαρπος περιέχει μια ποσότητα πρωτεϊνών της τάξεως του 1.5-3% που κυμαίνεται ανάλογα με το στάδιο ωρίμανσης και την ποικιλία. Στις πρωτεΐνες του ελαιόκαρπου απαντώνται τα αμινοξέα αργινίνη, ασπαραγινικό οξύ και γλουταμινικό οξύ που βρίσκονται στον καρπό των ποικιλιών κορωνέικη, θρούμπα και μεγαρίτικη.
- Το ελαιόλαδο, το οποίο είναι από τα πιο σημαντικά θρεπτικά συστατικά για τον άνθρωπο, περιέχεται στη σάρκα της ελιάς σε ποσοστό 17-35% και επηρεάζει τη συνεκτικότητα της σάρκας καθώς και το σχήμα.

- ο Στην ελιά περιέχονται επίσης ανόργανα στοιχεία όπως ασβέστιο, κάλιο, νάτριο, μαγνήσιο, μαγγάνιο, σίδηρος, ψευδάργυρος, χλώριο και φώσφορος. Το μεγαλύτερο ποσοστό, συγκριτικά με τα άλλα, καλύπτει το κάλιο.
- ο Τέλος στον καρπό της ελιάς συναντάμε ορισμένα οξέα όπως το οξικό, το οξαλικό, το μηλονικό, το γαλακτικό, το τρυγικό, το μηλικό και το κιτρικό. Τα οξέα συναντούνται είτε σε μορφή αλάτων είτε σαν ελεύθερα οξέα. Γενικά τα οξέα του καρπού της ελιάς συμπαρασύρονται με τα φυτικά υγρά και μεταφέρονται στα απόνερα μαζί με άλλα υδατοδιαλυτά συστατικά (Κυριτσάκης, 1993).

1.4. Διατροφική αξία της ελιάς

Ο άνθρωπος πρέπει να καλύπτει τις ημερήσιες ανάγκες του οργανισμού του σε τροφή για να μπορέσει να διατηρηθεί υγιής και παραγωγικός. Οι ανάγκες του ανθρώπου σε τροφή καλύπτονται από τροφές που είναι πλούσιες σε πρωτεΐνη (πρωτεϊνούχες), επίσης από τροφές που περιέχουν ζάχαρα ή υδατάνθρακες και τέλος από τροφές που περιέχουν/έχουν μεγάλο ποσοστό σε λιπαρές ουσίες. Στην τελευταία κατηγορία τροφών ανήκουν και οι επιτραπέζιες ελιές, κυρίως οι επιτραπέζιες, διότι περιέχουν λιπαρές ουσίες σε ποσοστό 20-30% του βάρους τη σάρκας τους. Λόγω της υψηλής θερμιδικής αξίας του καρπού της ελιάς αποτέλεσε κύρια τροφή στους λαούς γύρω από την λεκάνη της μεσογείου όπου κυρίως καλλιεργήθηκε (Μπαλατσούρας, 1995).

Η βιολογική αξία της ελιάς προσδιορίζεται από ορισμένα συστατικά με μηδαμινή θερμιδική αξία που όμως είναι απαραίτητα για την σωστή διατροφή του ανθρώπου. Συστατικά τα οποία προσδιορίζουν την βιολογική αξία της ελιάς είναι κάποια αμινοξέα, λιπαρά οξέα, βιταμίνες, ανόργανα συστατικά και η ελευρωπαΐνη (Μπαλατσούρας, 1995):

- Στην σάρκα της ελιάς περιέχονται χαμηλά επίπεδα από διαλυτή και αδιάλυτη πρωτεΐνη σε συγκεντρώση 1.5% w/w. Διαλύτες πρωτεΐνες μπορούν να μεταφερθούν στην άλμη εξασφαλίζοντας αμινοξέα για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών που επιτελούν τη ζύμωση. Η επεξεργασία ελιών με υδροξείδιο του νατρίου οδηγεί σε χαμηλότερα επίπεδα πρωτεΐνης στη σάρκα της ελιάς όταν τις συγκρίνουμε με ακατέργαστες ελιές (Kailis et al., 2007).

- Στην υψηλή βιολογική αξία της ελιάς συμβάλλουν οι λιπαρές ουσίες με την ποιότητά τους και τον μέτριο βαθμό κορεσμού τους. Ειδικότερα, η σάρκα της ελιάς περιέχει ελαιόλαδο 20%-30% κατά νωπό βάρος, που προσφέρει προστασία λόγω της περιεκτικότητάς του σε αντιοξειδωτικές ουσίες. Επίσης η επιδερμίδα δρα προστατευτικά, αποκλείοντας την άμεση επαφή του ελαιολάδου με το οξυγόνο. Το κύριο ακόρεστο λιπαρό οξύ του ελαιολάδου είναι το ελαϊκό οξύ το οποίο κατέχει πλεονεκτική θέση έναντι των λιπαρών οξέων διότι παρουσιάζει μεγάλη αντοχή στο τάγγισμα. Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και κυρίως το λινελαϊκό, έχουν βιταμινική αξία για τον ανθρώπινο οργανισμό και θα πρέπει να καλύπτουν το 1-2% της ολικής θερμιδικής αξίας του διαιτολογίου του. Τα κορεσμένα λιπαρά οξέα αυξάνουν την χοληστερίνη, τα πολυακόρεστα την μειώνουν και τα μονοακόρεστα δρουν κατά ουδέτερο τρόπο (Μπαλατσούρας, 1995).
- Οι επιτραπέζιες ελιές είτε πράσινες είτε ώριμες θεωρούνται πηγές βιταμινών για τον άνθρωπο. Οι βιταμίνες χωρίζονται σε υδατοδιαλυτές και σε λιποδιαλυτές. Οι υδατοδιαλυτές βιταμίνες χάνονται κατά την διαδικασία της επεξεργασίας της επιτραπέζιας ελιάς ενώ οι διαλυτές στο λάδι διατηρούνται στο προϊόν έως την κατανάλωσή του. Υδατοδιαλυτές βιταμίνες είναι το ασκορβικό οξύ, η θειαμίνη, η ριβοφλαβίνη και η νιασίνη. Οι διαλυτές στο λάδι βιταμίνες (λιποδιαλυτές) είναι οι καροτενοειδείς και οι τοκοφερόλες όπου είναι και αντιοξειδωτικές (Kailis et al., 2007). Η παρουσία των παραπάνω βιταμινών στη σάρκα προσθέτει στη βιολογική αξία της ελιάς ως τροφή του ανθρώπου (Μπαλατσούρας, 1995).
- Τα ανόργανα συστατικά σε φρέσκιες ακατέργαστες ελιές περιλαμβάνουν μακροστοιχεία και ιχνοστοιχεία. Στα μακροστοιχεία περιλαμβάνονται ο φώσφορος, το ποτάσιο, το νάτριο, το κάλιο και το μαγνήσιο που βρίσκεται σε ιδιαίτερα υψηλή συγκέντρωση στην ελιά και είναι πολύτιμο συστατικό για τη σωστή διατροφή του ανθρώπου. Όσον αφορά τα ιχνοστοιχεία που απαντώνται στην ελιά και είναι απαραίτητα για τον άνθρωπο, περιλαμβάνουν το βόρειο, το χαλκό, το σίδηρο, τον ψευδάργυρο και το μαγγάνιο. Τα επίπεδα αυτών των στοιχείων εξαρτώνται από τις συνθήκες καλλιέργειας, την ποιότητα του εδάφους, τη διαθεσιμότητα του νερού και την ποσότητα των λιπασμάτων που χρησιμοποιούνται. Οι φυσικές ελιές είναι μια καλή πηγή πρόσληψης

ιχνοστοιχείων που εξαρτώνται βέβαια από την ποικιλία, την ωρίμανση και τη μέθοδο επεξεργασίας (Kailis et al., 2007).

- Η ελιά είναι η μόνη δρύπη η οποία περιέχει την πικρή ουσία ελευρωπαϊνή. Η ελευρωπαϊνή είναι μια πολυφαινόλη που ανήκει σε μια ομάδα παραγώγων τα οποία ονομάζονται ιριδοειδή γλυκοσίδια και απαντάται στο μεσοκάρπιο χώρο της ελιάς. Είναι υδατοδιαλυτή ουσία, καθώς είναι μια πολική ένωση που απομακρύνεται μερικώς με τα φυτικά υγρά κατά την ελαιοποίηση. Όσον αφορά την ελιά, για να μπορέσει να καταναλωθεί πρέπει η ελευρωπαϊνή να υποστεί υδρόλυση σε γλυκόζη και ένα άγλυκο μόριο, το οποίο στη συνέχεια υδρολύεται προς μόρια τα οποία δεν είναι πικρά, όπως είναι το ελενολικό οξύ και η 3,4-διδρόξυ-φαινυλ-αιθανόλη. Συγκεκριμένα η υδρόλυση της ελευρωπαϊνής που περιέχεται στις επιτραπέζιες ελιές γίνεται με το ένζυμο β-γλυκοζιδάση όπου απελευθερώνεται γλυκόζη (που χρησιμοποιείται από τους οργανισμούς ως πηγή άνθρακα) και ένα άγλυκο μόριο εστέρα. Το τελευταίο μετατρέπεται σε πιο απλά παράγωγα όπως το ελενολικό οξύ (άπικρη ουσία), με την δράση του ενζύμου εστεράση. Η εκπίκραση αυτή απαιτεί ένα στάδιο ζύμωσης των ελιών σε άλμη κάποιων μηνών ή την χρήση NaOH (μέθοδος ισπανικού τύπου) (Ciafardini et al., 1994).

Οι πικρές ουσίες που απαντώνται στα τρόφιμα φυτικής προέλευσης είναι τα φλαβονοειδή, τα τριτερπενικά σώματα και τα αλκαλοειδή. Με εξαίρεση την ελευρωπαϊνή και τα φλαβονοειδή των εσπεριδοειδών όλες οι πικρές ουσίες είναι επικίνδυνες για τον άνθρωπο ζημιώνουν τους οργανοληπτικούς χαρακτήρες των τροφίμων, προξενούν στομαχικές διαταραχές και σε ορισμένες περιπτώσεις το θάνατο. Η ελευρωπαϊνή και οι πικρές ουσίες των εσπεριδοειδών επιζητούνται από το καταναλωτικό κοινό σε μικροποσότητες, γιατί είναι ποιοτικά χαρακτηριστικά για τα αντίστοιχα τρόφιμα. Εισαγόμενες στον οργανισμό επαυξάνουν την έκκριση του γαστρικού υγρού και τονώνουν την όρεξη. Ειδικά οι υπόπικρες επιτραπέζιες ελιές που παράγονται στην χώρα μας, όχι μόνο δεν βλάπτουν, αλλά δρουν ευνοϊκά σε περιπτώσεις παθήσεων του στομάχου που οδηγούν σε μειωμένες εκκρίσεις, αλλά και καρδιακών και άλλων παθήσεων (Μπαλατσούρας, 1995).

1.5. Επιτραπέζιες ελιές

Πρόκειται για τύπους ελιάς που χρησιμοποιούνται για βρώση και όχι για παραγωγή ελαιολάδου. Η Ευρωπαϊκή Ένωση παράγει ετησίως περίπου 400.000 τόνους επιτραπέζιων ελιών. Οι σημαντικότερες Ευρωπαϊκές χώρες ως προς την παραγωγή επιτραπέζιων ελιών είναι η Ισπανία (52%), η Ιταλία (24%) και η Ελλάδα (20%). Η παραγωγή επιτραπέζιας ελιάς στη χώρα μας θεωρείται υψηλής εθνικής σημασίας. Με 100.000 τόνους μέση ετήσια παραγωγή, η Ελλάδα κατατάσσεται 3^η στην Ευρωπαϊκή Ένωση και 5^η σε παγκόσμια κλίμακα. Σύμφωνα με την Πανελλήνια Ένωση Μεταποιητών, Τυποποιητών και Εξαγωγέων Επιτραπέζιων Ελιών (Π.Ε.ΜΕ.Τ.Ε.), από την εγχώρια παραγωγή, περίπου οι 40.000 τόνοι καταναλώνονται από την Ελληνική αγορά και οι υπόλοιποι 60.000 τόνοι εξάγονται σε περίπου 80 χώρες σε όλο τον κόσμο, ποσότητα που ανέρχεται στο 6.5 % των εξαγόμενων Ελληνικών αγροτικών προϊόντων. Από τους 100.000 τόνους, το μεγαλύτερο ποσοστό αφορά τις μαύρες ελιές.

Οι φρέσκιες ελιές όταν συλλέγονται από το δέντρο είναι ιδιαίτερα πικρές, λόγω της υψηλής τους περιεκτικότητας σε φαινολικές ενώσεις, κυρίως ελευρωπαΐνη, και δεν μπορούν να καταναλωθούν όπως είναι. Η ζύμωση της ελιάς αποτελεί την πιο κοινή μέθοδο επεξεργασίας και θεωρείται μία παλιά και ευρέως διαδεδομένη παραδοσιακή μέθοδος επεξεργασίας και συντήρησης διαφόρων γεωργικών προϊόντων στην περιοχή της Μεσογείου. Σήμερα, η παραγωγή ζυμώμενων επιτραπέζιων ελιών αποτελεί ένα σημαντικό κλάδο της γεωργικής βιομηχανίας στην Ελλάδα αλλά και σε άλλες χώρες όπως η Ισπανία, η Ιταλία, η Τουρκία και η Τυνησία (Leone, 2000).

Σύμφωνα με το νέο κανονισμό του Διεθνούς Συμβουλίου Ελαιολάδου (IOOC - International Olive Oil Council) για τις επιτραπέζιες ελιές, οι βασικοί εμπορικοί τύποι που παράγονται σήμερα διεθνώς είναι τέσσερις:

1) Οι **φυσικές ελιές (natural olives)** γνωστές και ως **Ελληνικού τύπου**. Είναι πράσινες, ξανθές αλλά κυρίως ώριμες μαύρες ελιές που τοποθετούνται απ' ευθείας μέσα σε άλμη όπου ζυμώνονται και ξεπικρίζουν σταδιακά με φυσική ζύμωση.

2) Οι **εκπικρισμένες ελιές (treated olives)** γνωστές και ως **Ισπανικού τύπου**. Είναι κυρίως πράσινες ελιές και λιγότερο ξανθές και μαύρες, που αρχικά υφίστανται εκπίκραση με εμβάπτιση σε αραιό διάλυμα NaOH. Ακολουθούν πλυσίματα με νερό για απομάκρυνση του NaOH και στη συνέχεια οι ελιές τοποθετούνται σε άλμη για ζύμωση.

3) Οι **τεχνητά μαυρισμένες ελιές με οξείδωση (olives darkened by oxidation)** είναι ένας τύπος επιτραπέζιας ελιάς που αναπτύχθηκε αρχικά στην Καλιφόρνια. Είναι συνήθως πράσινες ή ξανθές ελιές φρέσκες ή συντηρημένες σε άλμη, που υποβάλλονται σε μια διαδικασία οξείδωσης με διάλυμα NaOH και έντονο αερισμό. Το τελικό προϊόν υφίσταται θερμική επεξεργασία και συντηρείται σε ερμητικά κλειστά δοχεία.

4) Οι **ελιές συρρικνωμένης μορφής (dehydrated and/or shriveled olives)** είναι ένας τύπος επιτραπέζιας ελιάς με μικρότερη εμπορική σημασία. Πρόκειται για πράσινες, ξανθές και κυρίως μαύρες ελιές που συνήθως παρασκευάζονται με ξηράλατη διαδικασία, δηλαδή με αλάτισμα με χονδρόκοκκο αλάτι σε στρώσεις μέσα σε δεξαμενές ή δοχεία. Με την επίδραση του αλατιού οι ελιές χάνουν υγρά από τη σάρκα τους, συρρικνώνονται σταδιακά και ξεπικρίζουν σχετικά σύντομα (1-2 μήνες).

Στην Ελλάδα καλλιεργούνται κυρίως τρεις ποικιλίες ελιάς για επιτραπέζια χρήση: η Καλαμών (φυσική μαύρη), η Κονσερβολιά (πράσινη, πρασινοκόκκινη και μαύρη) και η Χαλκιδικής (πράσινη). Η Καλαμών είναι κατάλληλη για επεξεργασία ως μαύρη ώριμη ελιά Ελληνικού τύπου. Είναι η πιο ακριβή μαύρη επιτραπέζια ελιά και πωλείται συσκευασμένη μέσα σε άλμη ή ζύδι ή ελαιόλαδο. Η Κονσερβολιά έχει πολύ καλή τεχνολογική συμπεριφορά όταν υφίσταται επεξεργασία ως πράσινη, αλλά ως φυσική μαύρη υστερεί ποιοτικά κυρίως στην υφή καθώς η σάρκα μαλακώνει κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Τέλος, η Χαλκιδικής υφίσταται επεξεργασία κυρίως ως πράσινη ελιά Ισπανικού τύπου.

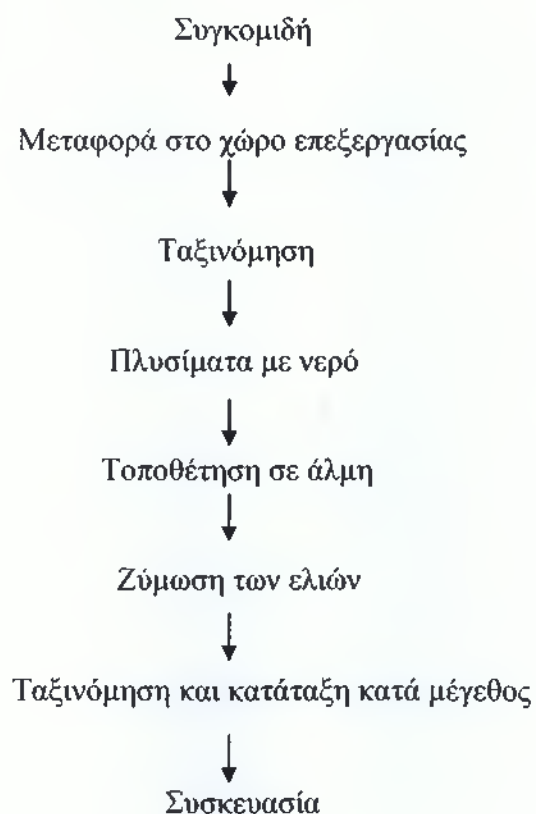
Η υψηλή ποιότητα που χαρακτηρίζει τις Ελληνικές επιτραπέζιες ελιές έχει αποδοθεί στις ιδιότητες του εδάφους, στην αυξημένη ηλιοφάνεια και στις κλιματικές συνθήκες σε συνδυασμό με το γεγονός ότι αποτελεί ένα φυσικό προϊόν, το οποίο συλλέγεται με το χέρι και η επεξεργασία του γίνεται με παραδοσιακό τρόπο (Balatsouras, 1990). Η ετήσια παραγωγή επιτραπέζιας ελιάς στην Ελλάδα, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, φτάνει κατά μέσο όρο τους 100.000 τόνους, με το μεγαλύτερο ποσοστό να αφορά τις μαύρες ελιές. Παρ' όλα αυτά, τα τελευταία χρόνια παρατηρείται μια σταδιακή στροφή προς την παραγωγή πράσινης ελιάς Ισπανικού τύπου, με το ποσοστό παραγωγής τους να αγγίζει το 40% (Beumer, 2001). Κατά την επεξεργασία των ελιών αυτού του τύπου οι ελιές συγκομίζονται, ταξινομούνται κατά μέγεθος και επεξεργάζονται με διάλυμα καυστικού νατρίου για την υδρόλυση της πικρής ουσίας ελευρωπαίνης. Ακολουθούν πλυσίματα με νερό για την απομάκρυνση της περίσσειας του αλκάλειου. Στη συνέχεια οι

ελιές τοποθετούνται στην άλμη όπου γίνεται η ζύμωσή τους, κυρίως με τη δράση οξυγαλακτικών βακτηρίων (Panagou and Tassou, 2006). Ακολουθεί η οριστική ταξινόμηση και η κατάταξη κατά μέγεθος των επεξεργασμένων ελιών και στη συνέχεια ακολουθεί η συσκευασία των ελιών σε δοχεία (IOOC, 1990).

1.6. Η επεξεργασία της επιτραπέζιας ελιάς Καλαμών.

Η ελιά Καλαμών έχει μεγάλο καρπό με αμυγδαλωτό σχήμα, πλούσια και φρουτώδη γεύση και άρωμα. Θεωρείται ο «βασιλιάς» των Ελληνικών επιτραπέζιων ελιών και είναι από τις πιο φημισμένες επιτραπέζιες ελιές στον κόσμο. Έχει χαρακτηριστεί ως Προϊόν Προστατευμένης Ονομασίας Προέλευσης (ΠΟΠ) και παράγεται κυρίως στη Μεσσηνία, τη Λακωνία και την Αιτωλοακαρνανία, αποτελώντας το 20% της παραγωγής επιτραπέζιας ελιάς στη χώρα μας. Είναι η πιο ακριβή μαύρη επιτραπέζια ελιά και πωλείται συσκευασμένη μέσα σε άλμη ή ξύδι ή ελαιόλαδο.

Οι ελιές της ποικιλίας Καλαμών προετοιμάζονται με βάση την ελληνικού τύπου μέθοδο παρασκευής φυσικών μαύρων ελιών σε άλμη. Τα διάφορα στάδια που ακολουθούνται για την παρασκευή αυτού του τύπου επιτραπέζιας ελιάς είναι τα ακόλουθα (IOOC, 1990):



Όπως συμβαίνει και με τα περισσότερα ζυμωμένα φυτικά προϊόντα, η διαδικασία παραγωγής της ελιάς Καλαμών στη χώρα μας παραμένει εμπειρική παρά την ιδιαίτερη οικονομική της σημασία. Σε οικιακή κλίμακα η διαδικασία που ακολουθείται για την επεξεργασία της ελιάς Καλαμών χαρακτηρίζεται από μεγάλη διαφοροποίηση μεταξύ των διαφορετικών παραγωγών γεγονός που οδηγεί σε τελικό προϊόν με διακυμάνσεις στο άρωμα, τη γεύση και την ποιότητα και συχνά οδηγείται σε μικροβιακή αλλοίωση. Και σε βιομηχανική κλίμακα όμως, δεν χρησιμοποιούνται μικροβιακές εναρκτήριες καλλιέργειες για την ελεγχόμενη ζύμωση του προϊόντος παρότι κάτι τέτοιο θα προστάτευε το προϊόν από τη μικροβιακή αλλοίωση και θα οδηγούσε στην παραγωγή ελιών σταθερής υψηλής ποιότητας.

Σύμφωνα με την πιο κοινή πρακτική που ακολουθείται στη χώρα μας για την παραγωγή ζυμούμενων μαύρων ελιών, οι ελιές συλλέγονται με το χέρι στο στάδιο πλήρους ωρίμανσης (δεν πρέπει όμως να έχουν περάσει στο στάδιο της υπερωρίμανσης), πλένονται για την απομάκρυνση της επιφανειακής σκόνης, και τοποθετούνται σε άλμη συγκέντρωσης 9-10% NaCl. Κατά τη διάρκεια παραμονής των ελιών στην άλμη λαμβάνει χώρα τυχαία μικροβιακή ζύμωση από μικτή μικροβιακή ενδογενή χλωρίδα της ελιάς, κυρίως από οξυγαλακτικά βακτήρια (Lactic Acid Bacteria – LAB) και ζύμες (Balatsouras, 1990). Αυτή η ζύμωση έχει ως αποτέλεσμα α) την εκχύλιση και διάσπαση της ελευρωπαΐνης και των φαινολικών ουσιών, β) το σχηματισμό γαλακτικού οξέος, που λειτουργεί ως φυσικό συντηρητικό, και γ) την ανάπτυξη σύνθετων αρωματικών ουσιών οι οποίες είναι προϊόντα της μικροβιακής ζύμωσης.

Η συνήθης πρακτική τόσο για τις πράσινες όσο και για τις μαύρες επιτραπέζιες ελιές είναι η φυσική, αυθόρμητη ζύμωση τόσο σε οικιακή όσο και σε βιομηχανική κλίμακα παραγωγής, χωρίς την προσθήκη οξυγαλακτικών εναρκτήριων καλλιεργειών (Nychas et al., 2002). Ωστόσο, για τη βελτίωση της ζύμωσης και την παραγωγή τελικού προϊόντος σταθερής ποιότητας υπάρχει η ανάγκη ελέγχου των βασικών παραμέτρων που επηρεάζουν τη διαδικασία της ζύμωσης. Αυτοί περιλαμβάνουν τη μέθοδο και το στάδιο συλλογής, τη διάρκεια και τον αριθμό των πλυσιμάτων με νερό, τη συγκέντρωση της άλμης σε αλάτι, τη συχνότητα αντικατάστασης της άλμης, τη θερμοκρασία ζύμωσης, το pH κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, και κυρίως το είδος των μικροβιακών ομάδων που επικρατούν κατά τη διαδικασία της ζύμωσης (Panagou et al., 2008). Επίσης, το περιεχόμενο των ελιών και κατ' επέκταση της άλμης σε πολυφαινόλες και ανάγοντα σάκχαρα έχουν ιδιαίτερη σημασία για την εξέλιξη της

ζύμωσης. Η συγκέντρωση της άλμης σε αλάτι θεωρείται ιδιαίτερα κρίσιμος παράγοντας διότι επηρεάζει αφενός μεν το είδος των μικροοργανισμών που θα επιτελέσουν τη ζύμωση, αφετέρου δε τη διάχυση των διαλυτών συστατικών από το εσωτερικό της ελιάς στην άλμη με συνέπεια να επηρεάζεται ο ρυθμός της ζύμωσης (Özay and Brocakli, 1996).

1.7. Γαλακτική ζύμωση

Η γαλακτική ζύμωση είναι το σημαντικότερο στάδιο στην παραγωγή επιτραπέζιων ελιών. Η ομαλή εξέλιξη της γαλακτικής ζύμωσης δίνει ένα άριστο ποιοτικά προϊόν με καλή συντηρησιμότητα και εμπορική ικανότητα ενώ αντίθετα η εκτροπή της ζύμωσης οδηγεί σε ένα προϊόν ποιοτικά υποβαθμισμένο. Για την πραγματοποίηση μιας επιτυχημένης ζύμωσης θα πρέπει μέσα στους περιέκτες όπου τοποθετούνται οι ελιές να επικρατούν όσο το δυνατό περισσότερο αναερόβιες συνθήκες. Επίσης, στη σάρκα του ελαιοκάρπου πρέπει, μετά την έκλυση και την εκκίκραση, να παραμένουν αρκετά ζυμώσιμα σάκχαρα τα οποία θα μεταφερθούν στην άλμη και θα επιτρέψουν την ανάπτυξη των βακτηρίων του γαλακτικού οξέως. Παράγοντες όπως η συγκέντρωση της άλμης, η περιεκτικότητά της σε ελευρωπαΐνη, η θερμοκρασία της ζύμωσης και το pH διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην πορεία εξέλιξης της ζύμωσης (Nychas et al., 2002).

17.1. Βακτήρια του γαλακτικού οξέος

Στα βακτήρια του γαλακτικού οξέος ανήκουν τα γένη *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* και *Streptococcus*. Τα βακτήρια αυτά είναι διαδεδομένα στη φύση και απαντώνται κυρίως στα φυτά ενώ συχνή είναι η παρουσία κάποιων στον ανθρώπινο οργανισμό. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια χωρίζονται σε δύο ομάδες ανάλογα με τα τελικά προϊόντα του μεταβολισμού τους. Η μια είναι η ομοζυμωτική ομάδα που περιλαμβάνει εκείνα τα οξυγαλακτικά βακτήρια που παράγουν γαλακτικό οξύ ως μοναδικό προϊόν της γαλακτικής ζύμωσης (όπως *Pediococcus*, *Streptococcus* και κάποια στελέχη του γένους *Lactobacillus* sp.) και η άλλη ομάδα είναι ετεροζυμωτική που περιλαμβάνει βακτηριακά στελέχη του γένους *Leuconostoc* και κάποια *Lactobacillus* sp. τα οποία μέσω της γαλακτικής ζύμωσης παράγουν ισάριθμες ποσότητες γαλακτικού οξέος, διοξειδίου του άνθρακα (CO₂) και αιθανόλης. Οι ετεροζυμωτικοί παράγουν επίσης ενώσεις (π.χ. ακεταλδεϋδη και ακετύλιο), που

προσδίδουν ιδιαίτερη γεύση και άρωμα σε ορισμένα προϊόντα. Οι διαφορές μεταξύ των δύο κατηγοριών βακτηρίων γαλακτικού οξέος οφείλονται στη διαφορετική φυσιολογία και γενετική τους. Τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος έχουν απαιτήσεις για μερικά αμινοξέα, βιταμίνες του συμπλέγματος Β, πουρίνες και πουριμιδίνες. Είναι μεσόφιλοι και μπορούν να αναπτύσσονται σε θερμοκρασία 5 °C έως 45 °C. Αναπτύσσονται ακόμα και σε χαμηλά pH (συνήθως 4.0-4.5 αλλά και σε χαμηλότερα). Είναι Gram θετικά βακτήρια και δεν μπορούν να συνθέσουν το ένζυμο καταλάση (Μπαλαστούρας 2006).

1.8. Χρήση εναρκτηρίων καλλιέργειών για ελεγχόμενη ζύμωση της ελιάς

Η σύνθεση της μικροβιακής χλωρίδας και η εξέλιξή της επηρεάζει σημαντικά τη διαδικασία της ζύμωσης των ελιών και την ποιότητα του τελικού προϊόντος. Σε μία φυσιολογική ζύμωση, οι κυρίαρχες μικροβιακές ομάδες είναι τα οξυγαλακτικά βακτήρια και οι ζύμες, ενώ η αναλογία των πληθυσμών αυτών των δύο ομάδων καθορίζει την ποιότητα του τελικού προϊόντος (Panagou et al., 2008). Από την άλλη μεριά, η παρουσία μικροοργανισμών όπως οι *Enterobacter* sp., *Clostridium* sp. και *Propionibacterium* sp., μπορεί να οδηγήσει σε υποβάθμιση της ποιότητας του τελικού προϊόντος με εμφάνιση δυσάρεστης γεύσης και οσμής (Özay and Brocakli, 1996).

Η εφαρμογή επιλεγμένων εναρκτηρίων καλλιέργειών για την έναρξη αλλά και την πρόοδο της διαδικασίας της ζύμωσης έχει ως στόχο την παραγωγή τελικού προϊόντος σταθερής και υψηλής ποιότητας (Flemming et al., 1985). Καθαρές μικροβιακές καλλιέργειες επιλέγονται με βάση διάφορα κριτήρια τεχνολογικής σημασίας για την παραγωγή ζυμούμενων ελιών, όπως για παράδειγμα η ικανότητα ομογαλακτικής ζύμωσης, η ικανότητα επικράτησης έναντι της υπόλοιπης μικροβιακής χλωρίδας (π.χ. λόγω γρήγορης ανάπτυξης στις συνθήκες της ζύμωσης και/ή παραγωγή ανταγωνιστικών ουσιών όπως βακτηριοσινών), η ικανότητα υδρόλυσης της ελευρωπαΐνης, η παραγωγή οξέος, η ανθεκτικότητα σε υψηλές συγκεντρώσεις άλατος και οξέων, η ικανότητα ανάπτυξης στο επιθυμητό εύρος θερμοκρασιών, η παραγωγή πτητικών αρωματικών ουσιών κ.ά. (Ruiz-Barba et al., 1994).

Παρότι στη διεθνή βιβλιογραφία υπάρχουν αρκετές αναφορές για τη χρήση εναρκτηρίων οξυγαλακτικών καλλιέργειών – κυρίως *Lactobacillus pentosus* και *Lactobacillus plantarum* - στην παραγωγή ζυμούμενων πράσινων ελιών Ισπανικού τύπου (Ruiz-Barba et al., 1994, Marsilio et al., 2005, Panagou and Tassou 2006), αντίστοιχες μελέτες για χρήση εναρκτηρίων καλλιέργειών στη ζύμωση μαύρων

φυσικών ελιών (Ελληνικού τύπου) είναι πολύ περιορισμένες (Panagou et al., 2008). Όσον αφορά τις ελιές Καλαμών δεν αναφέρεται καμία σχετική εργασία, στη διεθνή βιβλιογραφία.

1.9. Ποιότητα της επιτραπέζιας ελιάς

Ο βαθμός αποδοχής ενός τροφίμου επομένως και της ελιάς καθορίζεται από τα χαρακτηριστικά που ορίζουν την ποιότητά του. Η μέτρηση των ποιοτικών χαρακτηριστικών υποκειμενικά για συγκεκριμένα συστατικά του τροφίμου γίνεται από τον ίδιο τον καταναλωτή με τα αισθητήρια όργανά του. Η αντικειμενική εκτίμηση απαιτεί τη χρήση οργάνων και εργαστηριακών συσκευών τα οποία μπορούν να προσδιορίσουν φυσικά, χημικά, φυσικοχημικά, μικροβιολογικά και άλλα χαρακτηριστικά των ελιών.

Σύμφωνα με τον Μπαλατσούρα (1995), τα ποιοτικά χαρακτηριστικά της ελιάς που προσδιορίζουν την ποιότητά της είναι τα ακόλουθα:

1. Μέγεθος – σχήμα- σχέση σάρκας προς πυρήνα.

Το μέγεθος και το σχήμα του ελαιόκαρπου είναι ο κύριος προσδιοριστικός παράγοντας της ποιότητας και ακολούθως της τιμής που θα λάβει η ελιά. Ενδιαφέρει κυρίως η αυξημένη αναλογία σάρκας προς πυρήνα που καθορίζει σε μεγάλο βαθμό την τιμή της, διότι λειτουργεί θετικά στην ψυχολογία του καταναλωτή καθώς του δημιουργείται το αίσθημα σωστού κριτηρίου επιλογής αγοράς για το συγκεκριμένο προϊόν. Χωρίς αυτό να σημαίνει απαραίτητα ότι η μεγάλη ελιά συνδέεται με αυξημένα τα υπόλοιπα ποιοτικά χαρακτηριστικά της. Το ίδιο συμβαίνει και με το σχήμα της ελιάς όπου ο καταναλωτής έχει συνηθίσει να επιλέγει καρπούς χαρακτηριστικού σχήματος της κάθε ποικιλίας χωρίς αυτό να είναι παράγοντας ποιότητας.

Το μέγεθος του πυρήνα θα πρέπει να είναι μικρότερο από το βρώσιμο μέρος της ελιάς. Αυτό είναι κάτι που αναζητείται από τον καταναλωτή καθώς το θεωρεί σημαντικό ποιοτικό χαρακτηριστικό για τις ελιές. Ακόμα ένα ποιοτικό χαρακτηριστικό του ελαιόκαρπου είναι η εύκολη αποχώρηση του πυρήνα του, που διευκολύνει τον χειρισμό των ελιών.

Η σχέση σάρκας προς πυρήνα θα πρέπει να κυμαίνεται από 5:1 έως 10:1. Όσο μεγαλύτερη η σχέση αυτή, τόσο αυξάνεται το εδώδιμο μέρος της ελιάς και τόσο καλύτερη θεωρείται η ποικιλία της ελιάς για επιτραπέζια κατανάλωση.

2. Η λεπτότητα και η ανθεκτικότητα της επιδερμίδας.

Επιδιώκεται η ελιά να διατηρεί ανέπαφη την επιδερμίδα της μετά από τους διάφορους χειρισμούς που υφίσταται όπως η χρήση αλκαλικού διαλύματος και η παραμονή της σε αυξημένης συγκέντρωσης άλμη. Επίσης είναι επιθυμητή η ανθεκτικότητα της επιδερμίδας στις αντιξοότητες τους περιβάλλοντος, όπως χαμηλές θερμοκρασίες κατά το στάδιο της συγκομιδής ή θερμοκρασίες πάνω από 21°C. Οι ποικιλίες της ελιάς με χονδρή επιδερμίδα είναι μειονεκτικές, πράγμα που το αντιλαμβανόμαστε στο στάδιο της μάσησης.

2. Το χρώμα.

Το χρώμα είναι ένα από τα πιο σημαντικά ποιοτικά χαρακτηριστικά για την ελιά. Το χρώμα στις ελιές εξαρτάται από την ποικιλία, το στάδιο ωριμότητας καθώς και το χειρισμό που δέχεται ο ελαιόκαρπος. Το πρασινοκίτρινο χρώμα στις ελιές οφείλεται σε λιποδιαλυτές χρωστικές και το μελανό χρώμα οφείλεται σε ανθοκυάνες. Το χρώμα αποτελεί βασικό ποιοτικό χαρακτηριστικό καθώς ο καταναλωτής αγοράζει αναζητώντας το χαρακτηριστικό χρώμα και η απόκλιση από αυτό ισοδυναμεί με κατώτερη ποιοτικά ελιά.

4. Η συνεκτικότητα της σάρκας.

Ένα από τα σημαντικότερα χαρακτηριστικά προσδιορισμού της ποιότητας είναι η συνεκτικότητα της σάρκας της ελιάς. Όσο πιο αυξημένο είναι το ποσοστό της συνεκτικότητας τόσο πιο εύκολα μπορεί η ελιά να χειριστεί σε όλα τα στάδια επεξεργασίας, να λάβει υψηλή τιμή πώλησης και να αποφύγει την υποβάθμιση από φυσικούς και χημικούς παράγοντες.

5. Τα γευστικά και οσφρητικά χαρακτηριστικά.

Τα γευστικά και οσφρητικά χαρακτηριστικά της ελιάς προσδιορίζονται από διάφορα συστατικά. Τα σπουδαιότερα συστατικά της σάρκας που είναι υπεύθυνα για τη γεύση είναι τα οξέα γαλακτικό και οξικό, η ελευρωπαΐνη, το αλάτι, οι πολυφαινόλες (στυφή γεύση) κ.α. Το άρωμα στις ελιές γίνεται αντιληπτό χωρίς την χρήση ειδικών οργάνων και είναι όμοιο για όλους τους εμπορικούς τύπους ελιάς εκτός των τεχνικών μαύρων ελιών που στερούνται αρώματος.

Η υποκειμενική εκτίμηση των χαρακτηριστικών του ελαιόκαρπου βασίζεται στις πέντε αισθήσεις (αφή, ακοή, όραση, γεύση και όσφρηση) όπου με τη βοήθεια

συγκεκριμένου αισθητήριου οργάνου κάθε φορά μεταβιβάζεται στον εγκέφαλο συγκεκριμένη πληροφορία. Η αντικειμενική μέτρηση των ποιοτικών χαρακτηριστικών της επιτραπέζιας ελιάς γίνεται με διάφορα όργανα όπως ζυγός, χρωματόμετρο, pH-μετρο κ.ά.

1.10. Ασθένειες της επιτραπέζιας ελιάς Ελληνικού τύπου (Καλαμών)

Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως η παρουσία στην άλμη ζύμωσης των ελιών, μικροοργανισμών όπως οι *Enterobacter* sp., *Clostridium* sp. και *Propionibacterium* sp., μπορεί να οδηγήσει σε υποβάθμιση της ποιότητας του τελικού προϊόντος με εμφάνιση δυσάρεστης γεύσης και οσμής (Özay and Brocaklı, 1996). Οι σπουδαιότερες αλλοιώσεις που εμφανίζονται στις ζυμούμενες επιτραπέζιες ελιές λόγω της παρουσίας μη επιθυμητών μικροβιακών ομάδων είναι οι ακόλουθες :

Αεριοπάθηση. Είναι μια ασθένεια του ελαιόκαρπου που οφείλεται κυρίως σε μικρόβια που παράγουν CO₂ μόνο ή σε μικρόβια που παράγουν μείγμα H₂ και CO₂. Τα κολιβακτήρια θεωρούνται ότι ευθύνονται μερικώς για την εμφάνιση και την εξέλιξη της αεριοπάθησης. Τα υπεύθυνα για την αεριοπάθηση κολιβακτήρια ανήκουν στα γένη *Escherichia* sp. και *Enterobacter* sp. Και τα δυο είναι παράσιτα του πεπτικού σωλήνα του ανθρώπου και των ζώων, μπορούν και φτάνουν στις δεξαμενές των ελιών από τα χέρια των εργατών, όταν δηλαδή δεν τηρούνται οι κανόνες υγιεινής. Η ένταση της αεριοπάθησης οφειλόμενης στα εντεροβακτήρια εξαρτάται από τόσο από τον αριθμό των κολιβακτηρίων που θα φθάσουν στην άλμη, αλλά και από την περιεκτικότητα της άλμης σε αλάτι. Η ανάπτυξη των κολιβακτηρίων μπορεί να περιοριστεί με σχολαστική καθαριότητα, με τήρηση υγιεινολογικών συνθηκών, με σχολαστική έκπλυση του ελαιόκαρπου, με εμβάπτισή του σε πυκνότερη άλμη και με την όσο το δυνατόν γρηγορότερη εγκατάσταση των ελιών σε δεξαμενές ζύμωσης.

Ζαπατέρα. Η αλλοίωση αυτή συνδέεται με υποβάθμιση της γεύσης, της οσμής και της συνεκτικότητας της σάρκας και είναι πάντοτε συνδεδεμένη με χαμηλή οξύτητα στην άλμη. Προκαλείται κυρίως από βακτήρια του γένους *Clostridium* υποβοηθούμενα από προπιονικά βακτήρια (*Propionibacterium* sp.). Η αλλοίωση αυτή δεν είναι επικίνδυνη για την υγεία του καταναλωτή και εμφανίζεται σχεδόν πάντοτε σε ελιές που είναι εμβαπτισμένες σε άλμη χαμηλής αλατοπεριεκτικότητας με υψηλή τιμή του pH. Παρεμποδίζεται με την πλήρη αναεροβίωση, την αυξημένη αλατοπεριεκτικότητα της άλμης και την αυστηρή τήρηση συνθηκών καθαριότητας.

Βουτυρική ζύμωση. Οφείλεται σε ανάπτυξη ζακχαρολυτικών κλωστριδίων, που ανήκουν στο είδος *Clostridium butyricum*, και έχει ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη αποκρουστικής οσμής στις ελιές που είναι η χαρακτηριστική οσμή ταγγισμένου βουτύρου. Η βουτυρική ζύμωση εμφανίζεται στα πρώτα στάδια εμβάπτισης των πράσινων κυρίως ελιών στην άλμη. Στις φυσικές ώριμες ελιές δεν εμφανίζεται συχνά η βουτυρική ζύμωση διότι οι συνθήκες δεν ευνοούν την ανάπτυξη των ζακχαρολυτικών κλωστριδίων. Όταν η χαμηλή συγκέντρωση άλατος, η υψηλή θερμοκρασία στον χώρο της ζύμωσης και οι αυξημένες ζυμώσιμες ουσίες στην άλμη συνυπάρξουν τότε κάνει την εμφάνισή της η ασθένεια της βουτυρικής ζύμωσης.

Μαλακή υφή. Πρόκειται για μαλάκωμα των ιστών της ελιάς από δράση πηκτινολυτικών ενζύμων μικροβιακής προέλευσης, κυρίως μύκητες και ζύμες. Η πάθηση προλαμβάνεται με αναεροβίωση στους χώρους ζύμωσης και αποθήκευσης (Μπαλατσούρας, 1995).

Στη χώρα μας η διαδικασία παραγωγής ζυμούμενων ελιών Καλαμών παραμένει εμπειρική παρά την οικονομική της σημασία. Σε οικιακή κλίμακα, υπάρχει μεγάλη διαφοροποίηση στην διεξαγωγή της διαδικασίας από παραγωγό σε παραγωγό που οδηγεί σε παραγωγή προϊόντος με μεγάλη διακύμανση στην ποιότητα και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά που συχνά υφίσταται μικροβιακή αλλοίωση. Σε βιομηχανική κλίμακα, δεν εφαρμόζεται ακόμη ελεγχόμενη ζύμωση με τη χρήση εναρκτηρίων καλλιεργειών παρά τη σημασία της για την παραγωγή ελιών σταθερής ποιότητας με σταθερά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Στόχοι αυτής της εργασίας αποτελούν η μελέτη του μικροβιακού οικοσυστήματος κατά τη διάρκεια εργαστηριακών ζυμώσεων ελιών Καλαμών σε διαφορετικές συγκεντρώσεις άλμης καθώς και η απομόνωση και επιλογή κατάλληλων οξυγαλακτικών βακτηρίων με επιθυμητές τεχνολογικές ιδιότητες που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως καλλιέργειες εκκινητές σε ελεγχόμενη ζύμωση των ελιών που θα εξασφαλίσει παραγωγή προϊόντος υψηλής και σταθερής ποιότητας.

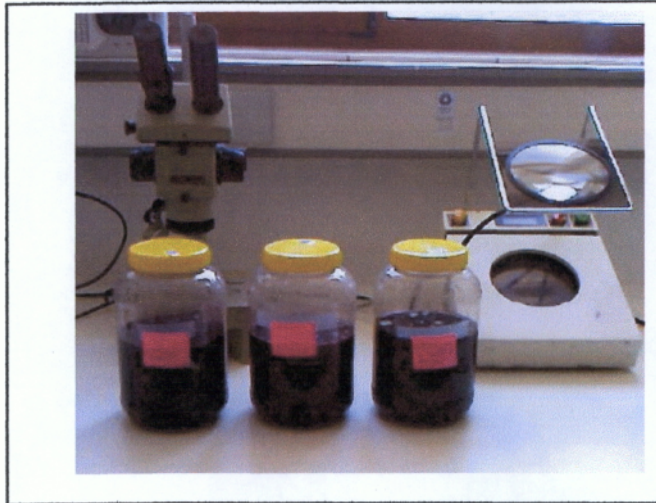
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Στην εργασία αυτή πραγματοποιήθηκαν στα εργαστήρια τρεις αυθόρμητες ζυμώσεις σε ελιές Καλαμών και ανά τακτά χρονικά διαστήματα γινόταν λήψη δείγματος άλμης στα οποία γινόταν μικροβιολογική και φυσικοχημική ανάλυση.

2.1. Εργαστηριακές ζυμώσεις ελιών Καλαμών

Οι ελιές που χρησιμοποιήθηκαν στην εργασία αυτή προέρχονται από την Καλαμάτα, είναι φυσικές μαύρες ελιές ποικιλίας Καλαμών και η συλλογή τους έγινε το Μάρτιο του 2009. Οι ελιές αυτές χρησιμοποιήθηκαν σε τρεις εργαστηριακές αυθόρμητες ζυμώσεις η κάθε μία από τις οποίες είχε διαφορετική συγκέντρωση άλμης (Ζύμωση A1: 0% NaCl, Ζύμωση A2: 5% NaCl, Ζύμωση A3: 10% NaCl). Η διαδικασία που ακολουθήθηκε είναι η ακόλουθη:

Οι ελιές, μετά τη συγκομιδή τους, ξεπλύθηκαν δύο φορές με νερό βρύσης και στη συνέχεια τοποθετήθηκαν σε τρία διαφορετικά πλαστικά δοχεία (870 γρ. ελιές σε κάθε δοχείο). Σε κάθε δοχείο προστέθηκαν 750 ml άλμης διαφορετικής συγκέντρωσης για κάθε δοχείο: 0 % NaCl (δηλαδή νερό βρύσης) για το δοχείο ζύμωσης A1, 5 % NaCl για το δοχείο ζύμωσης A2 και 10 % NaCl για το δοχείο ζύμωσης A3 (Εικόνα 1). Ακολουθώντας τα δοχεία τοποθετήθηκαν σε επωαστικό κλίβανο θερμοκρασίας 20 °C για να πραγματοποιηθεί η ζύμωση. Την ημέρα που έγινε αυτή η διαδικασία (3 ώρες μετά την τοποθέτηση των ελιών στην άλμη) έγινε και η πρώτη δειγματοληψία και θεωρείται η ημέρα 0. Στη συνέχεια, ανά τακτά χρονικά διαστήματα (ημέρες 5, 10, 14, 21, 28, 42 και 60) γινόταν δειγματοληψία 30 ml άλμης με ασηπτικές συνθήκες, για μικροβιολογική και φυσικοχημική ανάλυση. Η πρώτη γινόταν την ίδια ημέρα της δειγματοληψίας ενώ η δεύτερη μπορούσε να πραγματοποιηθεί και άλλη ημέρα (έως την ανάλυση το δείγμα φυλασσόταν σε καταψύκτη στους -20 °C). Όσον αφορά τις ελιές, η δειγματοληψία (10 ελιές) έγινε τις ίδιες ημέρες και αφορούσε μόνο ανάλυση των φαινολικών ουσιών. Επίσης πραγματοποιήθηκε μικροβιολογική ανάλυση στις ελιές της ημέρας 0.



Εικόνα 1. Δοχεία όπου τοποθετήθηκαν οι ελιές για να ζυμωθούν κατά την διάρκεια του πειράματος.

2.2. Μικροβιολογικές αναλύσεις

2.2.1. Καταμέτρηση μικροβιακών ομάδων με τη μέθοδο μέτρησης αποικιών

Στα δείγματα άλμης των 0, 5, 10, 14, 21, 28, 42 και 60 ημερών καθώς και στις φρέσκιες ελιές έγινε εκτίμηση του πληθυσμού των ακόλουθων μικροβιακών ομάδων: Ολική μεσόφιλη χλωρίδα (OMX), Ζύμες-Μύκητες, Οξυγαλακτικοί Βάκλιοι, Οξυγαλακτικοί Κόκκοι. Η μέθοδος που εφαρμόστηκε είναι αυτή της μέτρησης των αποικιών σε εκλεκτικό στερεό θρεπτικό υλικό μετά από διαδοχικές αραιώσεις (Plate Count Method). Τα θρεπτικά υλικά που χρησιμοποιήθηκαν καθώς και οι συνθήκες επώασης που εφαρμόστηκαν για την καταμέτρηση των παραπάνω μικροβιακών ομάδων παρουσιάζονται στον **Πίνακα 1**. Στον **Πίνακα 2** αναφέρεται η σύσταση των θρεπτικών υλικών του Πίνακα 1.

Πίνακας 1. Θρεπτικά υλικά και συνθήκες επώασης που χρησιμοποιήθηκαν για την καταμέτρηση των διαφόρων μικροβιακών ομάδων.

Μικροβιακές ομάδες	Θρεπτικό υλικό	Προσθήκη αντιβιοτικού	Είδος εμβολιασμού	Συνθήκες επώασης
ΟΜΧ	PCA	-	Ενσωμάτωση	30 °C / 72h, αερόβια
Ζύμες-Μύκητες	YGC	-	Επιφανειακή εξάπλωση	25 °C / 72h, αερόβια
Οξυγαλακτικοί Βάκιλλοι	MRS	Κυκλοεξαμίδιο 100μg/ml	Ενσωμάτωση διπλή στρώση	30 °C / 48h, αερόβια
Οξυγαλακτικοί κόκκοι	M17	-	Ενσωμάτωση	30 °C / 48h, αερόβια

Πίνακας 2. Συνταγές των θρεπτικών υλικών που χρησιμοποιήθηκαν για την καταμέτρηση των διαφόρων μικροβιακών ομάδων.

Μικροβιακές ομάδες	Θρεπτικό υλικό	Συνταγή (g/l)
ΟΜΧ	PCA	Tryptone 5, Yeast Extract 2.5, Glucose 1, Bacteriological Agar 12, pH: 7.0+/-0.2.
Ζύμες-Μύκητες	YGC	Yeast Extract 5.0, Glucose 20.0, Chloramphenicol 0.1, Agar-agar 14.9, pH: 6.6+/-0.2.
Οξυγαλακτικοί Βάκιλλοι	MRS	Polypeptone 10, Meat extract 10, Yeast extract 5, Glucose 20, Tween 1.08, Dipotassium phosphate 2, Sodium acetate 5, Ammonium citrate 2, Magnesium sulfate 0.2, Manganese sulfate 0.05, pH: 5.4+/-0.2.
Οξυγαλακτικοί κόκκοι	M17	Tryptone 2.5, Peptic digest of meat 2.5, Peptic digest of soybean meal 5, Yeast Extract 2.5, Meat Extract 5, Lactose 5, Sodium glycerophosphate 19, Magnesium sulfate 0.25, Ascorbic acid 0.5, pH: 7.1+/-0.2(25°C).

Για την εφαρμογή της μεθόδου μέτρησης των αποικιών ακολουθείται η ακόλουθη διαδικασία:

A) Για τα δείγματα των άλμewων: Λαμβάνεται 1 ml δείγματος το οποίο χρησιμοποιείται για τη διαδικασία των διαδοχικών αραιώσεων. Συγκεκριμένα το 1 ml άλμης τοποθετείται ασηπτικά σε σωλήνα που περιέχει 9 ml αποστειρωμένου διαλύτη (0,9 % NaCl) επιτυγχάνοντας έτσι αραιώση του δείγματος 1:10 ή αλλιώς 10^{-1} . Ακολουθεί ανάδευση και μεταφορά 1 ml από το σωλήνα με την αραιώση 10^{-1} σε ένα νέο σωλήνα που περιέχει πάλι 9 ml αποστειρωμένου διαλύτη, επιτυγχάνοντας έτσι την 10^{-2} αραιώση του δείγματος. Με τον ίδιο τρόπο δημιουργούνται οι αραιώσεις 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} και 10^{-7} . Στην συνέχεια ακολουθεί εμβολιασμός των αραιωμένων δειγμάτων στα στερεά θρεπτικά υλικά που αναφέρθηκαν παραπάνω. Ο εμβολιασμός γίνεται με ενσωμάτωση (χρησιμοποιώντας 1 ml από την κάθε αραιώση) ή με επιφανειακή εξάπλωση (0.1 ml από την κάθε αραιώση) ανάλογα με την μικροβιακή ομάδα που εξετάζεται κάθε φορά (Πίνακας 1). Ακολουθεί επώαση στις κατάλληλες συνθήκες που αναφέρονται στον Πίνακα 1. Μετά το τέλος της επώασης γίνεται καταμέτρηση των αποικιών που αναπτύχθηκαν και υπολογισμός του αντίστοιχου μικροβιακού πληθυσμού εκφρασμένου σε cfu μικροοργανισμών/ml άλμης (όπου cfu, colony forming units).

B) Για το δείγμα των ελιών: Ζυγίζονται 10 g ελιών (χωρίς κουκούτσι) και τοποθετούνται σε μία αποστειρωμένη σακούλα “stomacher”, προστίθενται 90 ml αποστειρωμένου διαλύτη (0.9 % NaCl) και ακολουθεί έντονη ανάδευση στον ομογενοποιητή τύπου stomacher για 2 λεπτά. Με αυτό τον τρόπο επιτυγχάνεται αραιώση του δείγματος 1:10 ή αλλιώς 10^{-1} . Στην συνέχεια ακολουθείται ακριβώς η ίδια διαδικασία που περιγράφηκε παραπάνω για την άλμη, με τη διαφορά ότι το τελικό αποτέλεσμα εκφράζεται σε cfu μικροοργανισμών /g ελιών.

2.2.2. Απομόνωση αποικιών από τα τρυβλία των οξυγαλακτικών βακίλων.

Με στόχο την απομόνωση αυτόχθονων στελεχών οξυγαλακτικών βακτηρίων κατά τη διάρκεια των ζυμώσεων, αντιπροσωπευτικές αποικίες από τα τρυβλία με υλικό MRS και M17, που προκύψανε από τα δείγματα άλμewων, λαμβάνονταν υπό ασηπτικές συνθήκες, μεταφέρονταν σε υγρό θρεπτικό υλικό Nutrient Broth [με συνταγή (g/l): tryptone 10, meat extract 5, sodium chloride 5, σε pH 7.2 +/-0.2] στο οποίο είχε

προσθεθεί 20% γλυκερόλη και αποθηκεύονται στους $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ για περαιτέρω μελέτη και προσδιορισμό των τεχνολογικών τους ιδιοτήτων.

2.2.3. Έλεγχος των οξυγαλακτικών απομονώσεων για ενδιαφέρουσες τεχνολογικές ιδιότητες.

Οι αποικίες οξυγαλακτικών βακτηρίων που ανακτήθηκαν από τα τρυβλία MRS και M17 κατά τη διάρκεια των εργαστηριακών αυθόρμητων ζυμώνσεων ελέγχθηκαν ως προς την αντοχή τους στην ελευρωπαΐνη και για τυχόν δράση του ενζύμου β-γλυκοζιδάση που εμπλέκεται στην υδρόλυση της ελευρωπαΐνης.

- Δοκιμή αντοχής στην παρουσία ελευρωπαΐνης.

Οι οξυγαλακτικές αποικίες αφού αναγεννήθηκαν μετά την ανάκτησή τους από τους $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, καθεμία από αυτές ξεχωριστά εμβολιάστηκαν σε στερεό θρεπτικό υλικό MRS ή M17 (ανάλογα με το υλικό από το οποίο είχαν αρχικά απομονωθεί) στο οποίο είχε προστεθεί ελευρωπαΐνη σε συγκέντρωση 1%. Ο εμβολιασμός γινόταν με τοποθέτηση 2 μl από την κάθε υγρή καλλιέργεια στην επιφάνεια του υλικού. Ακολουθούσε επώαση στους $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ για 3 ημέρες και έλεγχος για παρουσία μικροβιακής ανάπτυξης.

- Δοκιμή για τη δράση του ενζύμου β-γλυκοζιδάση.

Στις οξυγαλακτικές καλλιέργειες που έδειξαν ανθεκτικότητα στη δοκιμή αντοχής στην παρουσία ελευρωπαΐνης, έγινε η δοκιμή για την παρουσία-δράση του ενζύμου β-γλυκοζιδάση. Για τη δοκιμή αυτή χρησιμοποιήθηκε τρυβλίο με στερεό θρεπτικό υλικό MRS ή M17 στην επιφάνεια του οποίου εξαπλώθηκαν 0.2 ml διαλύματος της ουσίας X-Glc (5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-glucopyranoside), σε διαλύτη N,N-dimethylformide και συγκέντρωση 0.3% (wt/vol). Το τρυβλίο στη συνέχεια τοποθετήθηκε στο σκοτάδι για 3 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου και στη συνέχεια εμβολιάστηκε με την τοποθέτηση 2 μl από την κάθε υγρή καλλιέργεια στην επιφάνεια του υλικού. Ακολουθούσε επώαση στους $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ για 3 ημέρες και έλεγχος για παρουσία μικροβιακής ανάπτυξης. Η δημιουργία μπλε αποικιών δηλώνει θετικό αποτέλεσμα, ήτοι μικροοργανισμούς που παράγουν το ένζυμο β-γλυκοζιδάση.

2.3. Φυσικοχημικές αναλύσεις στις άλμες και στις ελιές

2.3.1. Προσδιορισμός της οξύτητας σε άλμες

Με τον προσδιορισμό της οξύτητας μπορούμε να έχουμε μια εικόνα για την πορεία της γαλακτικής ζύμωσης και την παραγωγή του γαλακτικού οξέος. Ο προσδιορισμός της οξύτητας έγινε σε όλα τα δείγματα άλμης από την ημέρα 5 έως την ημέρα 60 που είναι και η τελευταία μέρα του πειράματος. Για τον προσδιορισμό της οξύτητας εφαρμόστηκε τιτλοδότηση με διάλυμα NaOH 0.1 N. Συγκεκριμένα, από το κάθε δείγμα άλμης χρησιμοποιήθηκαν 5 ml στα οποία προστέθηκαν 45 ml νερό (αραίωση 1:10). Στο αυτό το αραιωμένο πλέον δείγμα έγινε η τιτλοδότηση και μετρήθηκε ο όγκος διαλύματος NaOH 0.1 N που καταναλώθηκε μέχρι το pH του δείγματος να φτάσει στην τιμή 8.2 (ο προσδιορισμός του pH γινόταν με πεχάμετρο). Η οξύτητα εκφραζόταν σε % γαλακτικού οξέος (w/v) με βάση τον τύπο:

$$\% \text{ γαλακτικού οξέος (w/v)} = (V \times N \times G) \times 100 / \text{όγκος δείγματος}$$

Όπου : V, ο όγκος διαλύματος NaOH 0,1 N που καταναλώθηκαν

N, η κανονικότητα του διαλύματος NaOH (δηλαδή 0.1)

G, το γραμμοισοδύναμο βάρος του γαλακτικού οξέος (δηλαδή 90).

2.3.2. Προσδιορισμός της συγκέντρωσης των φαινολικών ουσιών στις άλμες και στις ελιές

Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των φαινολικών ουσιών στα δείγματα ελιών και άλμεων (ημέρες 0, 5, 10, 14, 21, 28, 42 και 60) χρησιμοποιήθηκε η φωτομετρική μέθοδος Folin-Ciocalteu που περιγράφεται από τους Marsilio et al., (2005). Συγκεκριμένα, όσον αφορά τις ελιές, γινόταν εκχύλιση των φαινολικών ουσιών με τη χρήση μεθανόλης και τη βοήθεια του ομογενοποιητή τύπου stomacher, ακολουθούσε φυγοκέντρηση (10000 στρ/λεπτό για 10 λεπτά, 20 °C) και κατάλληλη αραίωση του δείγματος. 100 μl από το αραιωμένο δείγμα τοποθετούνταν σε δοκιμαστικό σωλήνα μαζί με 1 ml αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu, ακολουθούσε ανάδευση, ακινησία για 5 λεπτά και προσθήκη 3 ml διαλύματος Na₂CO₃ 20% (w/v). Ο όγκος συμπληρωνόταν στα 10 ml με την προσθήκη νερού, ακολουθούσε ανάδευση και ακινησία για 30 λεπτά πριν γίνει η φωτομέτρηση στα 725 nm. Όσον αφορά τη μέτρηση των φαινολικών ουσιών στα δείγματα των άλμεων, ακολουθήθηκε η ίδια διαδικασία ξεκινώντας με 100 μl αραιωμένου δείγματος (1:10), χωρίς εκχύλιση με μεθανόλη. Τα

αποτελέσματα εκφράστηκαν σε mg gallic acid/ml, με τη χρήση πρότυπης καμπύλης που κατασκευάστηκε με τη χρήση διαφόρων συγκεντρώσεων γαλλικού οξέος (0.05 – 1.00 mg/ml) .

2.4. Οργανοληπτικός έλεγχος στις ελιές

Ο οργανοληπτικός έλεγχος των τριών δειγμάτων ελιών (A1: 0%, A2: 5% και A3 10% αλάτι) έγινε μετά το πέρας των 2 μηνών όταν είχε ολοκληρωθεί η ζύμωση. Στον οργανοληπτικό έλεγχο πήραν μέρος 13 δοκιμαστές.

Οι δοκιμαστές κλήθηκαν να δοκιμάσουν τις ελιές οι οποίες ήταν τοποθετημένες σε τρία πιάτα αριθμημένα από το 1 έως το 3, με τυχαία σειρά. Ζητήθηκε από τους δοκιμαστές να βαθμολογήσουν τις ελιές ως προς την υφή, την αλατότητα, την πικρότητα, την εμφάνιση, τη γεύση και το άρωμα και τέλος το χρώμα.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

3.1. Εργαστηριακές ζυμώσεις ελιών Καλαμών –δειγματοληψία - αναλύσεις

Οι εργαστηριακές πειραματικές ζυμώσεις που περιγράφηκαν στο κεφάλαιο Υλικά και Μέθοδοι (παρ. 2.1) ξεκίνησαν το Μάρτιο του 2009 με ελιές που είχαν ήδη φτάσει σε προχωρημένο στάδιο ωρίμανσης (υπερωρίμανσης). Τεχνικοί λόγοι δεν επέτρεψαν τη συλλογή των ελιών σε πιο πρώιμο στάδιο όπως είναι η συνήθης τακτική για τις επιτραπέζιες ελιές Καλαμών.

Η μοναδική διαφοροποίηση ανάμεσα στις τρεις εργαστηριακές ζυμώσεις ήταν η συγκέντρωση της άλμης (A1: 0%, A2: 5% και A3 10% αλάτι). Γνωρίζοντας ότι οι παραγωγοί στην Καλαμάτα τοποθετούν τις ελιές σε άλμη με περιεκτικότητα άλατος που κυμαίνεται από 10%-14%, επιλέχθηκε μια συγκέντρωση που βρίσκεται κοντά στην επιλογή των παραγωγών (10%) στην προσπάθεια μας να εφαρμόσουμε παρόμοιες συνθήκες ζύμωσης. Η συγκέντρωση (5%) επιλέχθηκε διότι τα τελευταία χρόνια επιχειρείται η ανάπτυξη τεχνολογίας με σκοπό τη μείωση του χλωριούχου νατρίου στα τρόφιμα καθώς σχετίζεται με ασθένειες του καρδιαγγειακού συστήματος και ταυτόχρονα δημιουργεί προβλήματα σε σχέση με τη μόλυνση του περιβάλλοντος (Guillou and Floros, 1993). Για το λόγο αυτό άλλωστε επιχειρείται τελευταία η ανάπτυξη τεχνολογίας με σκοπό την αντικατάσταση του χλωριούχου νατρίου από άλλα άλατα (π.χ. χλωριούχο κάλιο), χωρίς όμως να αλλοιώνονται τα υπόλοιπα διατροφικά και αισθητηριακά χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος (Tsapatsaris & Kotzekidou, 2004).

Όσον αφορά τη θερμοκρασία η οποία επιλέχθηκε για τη διεξαγωγή των ζυμώσεων, ήταν αυτή των 20 °C λόγω του ότι θεωρήθηκε ότι πλησιάζει περισσότερο με τη μέση θερμοκρασία που επικρατεί κατά τη διάρκεια ζύμωσης των ελιών σε οικιακή κλίμακα.

Η δειγματοληψία γινόταν τόσο από τις ελιές όσο και από την άλμη του κάθε δοχείου ζύμωσης. Η πρώτη δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε την ημέρα 0 (τρεις ώρες μετά την τοποθέτηση των ελιών στην άλμη) και ακολούθως τις ημέρες 5, 10, 14, 21, 28, 42 και 60. Οι πρώτες δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν με μικρότερα χρονικά διαστήματα μεταξύ τους σε σχέση με τις επόμενες διότι η μεταβολή των μικροβιακών πληθυσμών αναμενόταν μεγαλύτερη τις πρώτες ημέρες της ζύμωσης. Οι Panagou et al. (2006), για παράδειγμα, μελετώντας την αυθόρμητη ζύμωση κονσερβολιάς εφάρμοσαν δειγματοληψία τις ημέρες 2, 4, 7, 11, 14, 18, 21, 26, 33 και 40 και παρατήρησαν

απότομη αύξηση των μικροβιακών πληθυσμών τις πρώτες 7 ημέρες ενώ στη συνέχεια αυτοί σταθεροποιήθηκαν.

Στα δείγματα των ελιών έγινε μόνο ανάλυση της συγκέντρωσης των φαινολικών τους ουσιών, ενώ στα δείγματα των αντίστοιχων άλμεων έγινε επιπλέον μικροβιολογική ανάλυση καθώς και μέτρηση του pH και της οξύτητας. Ο λόγος που οι περισσότερες αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν στις άλμες είναι διότι η διαδικασία της ζύμωσης λαμβάνει χώρα μέσα στην άλμη, με τη δράση μικροοργανισμών που μεταφέρονται από την επιφάνεια των ελιών προς την άλμη. Επίσης τα απαραίτητα για την μικροβιακή ανάπτυξη θρεπτικά συστατικά (π.χ. σάκχαρα) μεταφέρονται με φαινόμενα ώσμωσης από το εσωτερικό του καρπού στην άλμη.

Επιπλέον πραγματοποιήθηκε μικροβιολογική ανάλυση στις φρέσκες ελιές πριν τοποθετηθούν στην άλμη.

3.2. Μικροβιολογική ανάλυση φρέσκων ελιών

Η μικροβιολογική ανάλυση των φρέσκων ελιών (πριν την τοποθέτησή τους στις άλμες) αφορούσε την εκτίμηση του πληθυσμού των μικροβιακών ομάδων : OMX, ζύμες-μύκητες, οξυγαλακτικοί βάκιλοι (*Lactobacillus*, *Leuconostoc*) και οξυγαλακτικοί κόκκοι (*Streptococcus*, *Pediococcus*). Στον Πίνακα 3 αναφέρονται τα αποτελέσματα των μικροβιακών πληθυσμών στις φρέσκες ελιές.

Πίνακας 3. Μικροβιακοί πληθυσμοί διαφόρων μικροβιακών ομάδων σε φρέσκες ελιές (πριν τοποθετηθούν στην άλμη των εργαστηριακών ζυμώσεων)

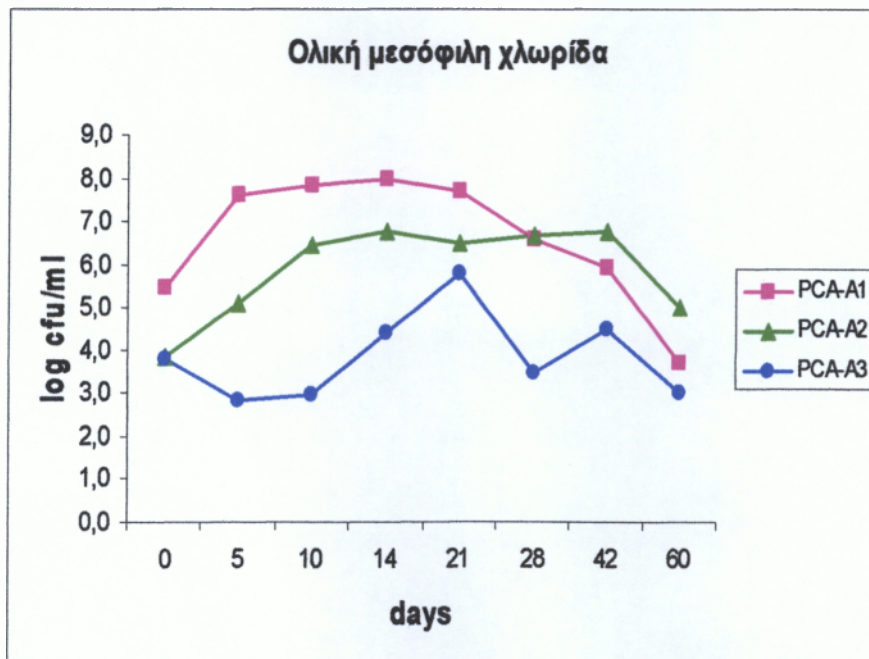
ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΕΣ ΟΜΑΔΕΣ	ΘΡΕΠΤΙΚΟ ΜΕΣΟ	ΠΛΗΘΥΣΜΟΙ (cfu/g)
OMX	PCA	3.8×10^3
Οξυγαλακτικοί βάκιλοι	MRS	3.2×10^3
Οξυγαλακτικοί κόκκοι	M17	3.8×10^3
Ζύμες-Μύκητες	YGC	3×10^2

Οι Ozay and Borcakli (1996) σε μικροβιολογική ανάλυση ελιών της τούρκικης ποικιλίας Gemlik, που επεξεργάζεται και αυτή ως μαύρη επιτραπέζια ελιά, βρήκαν πολύ χαμηλό πληθυσμό οξυγαλακτικών βακτηρίων αλλά παρόμοια επίπεδα μικροβιακών πληθυσμών ζυμών. Ο Panagou (2006) σε φρέσκιες ελιές ποικιλίας Θάσου βρήκε πληθυσμό οξυγαλακτικών βακτηρίων της τάξης των 10^4 και ζυμών της τάξης των 10^5 cfu/g.

3.3. Μικροβιολογική ανάλυση άλμεων

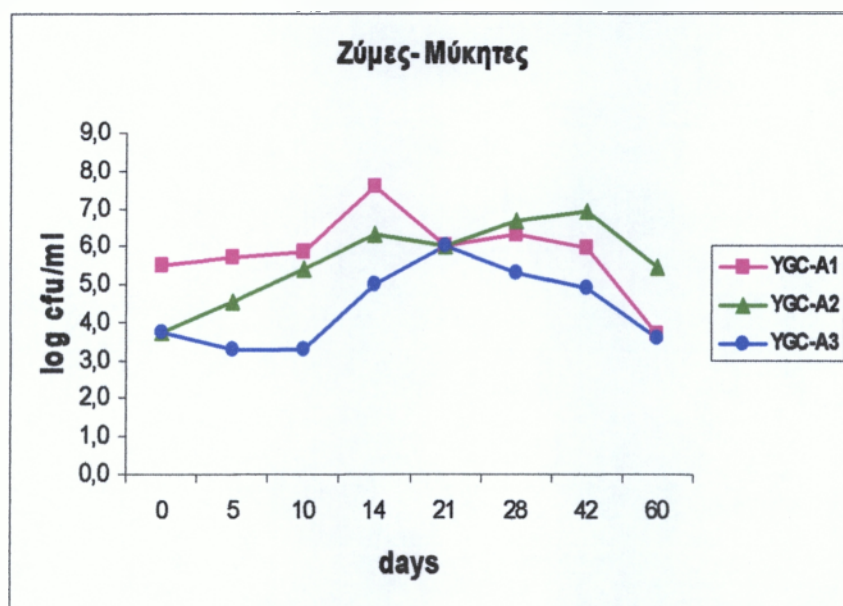
Η μικροβιολογική ανάλυση των άλμεων αφορούσε τις ίδιες μικροβιακές ομάδες που εξετάστηκαν και στις φρέσκιες ελιές και έγινε ανά τακτά διαστήματα και για τα τρία δείγματα των διαφορετικών ζυμώσεων (A1: 0% αλάτι, A2: 5% αλάτι, A3: 10% αλάτι). Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στα διαγράμματα των σχημάτων 1, 2, 3 και 4 όπου τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ξεχωριστά για κάθε μικροβιακή ομάδα.

Όσον αφορά τον πληθυσμό της OMX (Εικόνα 2), και στις τρεις συγκεντρώσεις άλμης παρουσίασε μία αύξηση η οποία ομαλοποιήθηκε μετά τις 10 ημέρες ζυμώσεις οπότε ο πληθυσμός άρχισε σταδιακά να μειώνεται. Ωστόσο όσο μεγαλύτερη ήταν η συγκέντρωση του αλάτος τόσο χαμηλότερα διατηρήθηκαν ο πληθυσμός της OMX, προφανώς λόγω της παρεμποδιστικής δράσης του αλάτος.



Εικόνα 2. Μεταβολή πληθυσμού της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας (OMX) κατά τη διάρκεια των τριών ζυμώσεων A1 (0 % NaCl), A2 (5 % NaCl), A3 (10 % NaCl).

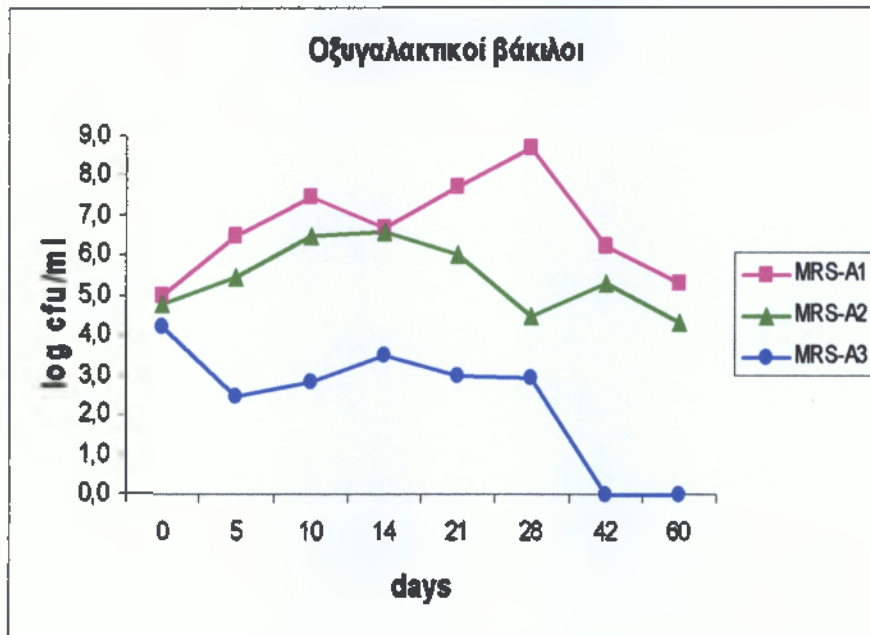
Μια αντίστοιχη πορεία παρατηρήθηκε και στον πληθυσμό των ζυμών-μυκήτων (Εικόνα 3) με τους πληθυσμούς να είναι σε χαμηλότερα επίπεδα στο δείγμα A3 σε σχέση με το A2 και το A1, χωρίς ωστόσο οι διαφορές αυτές να είναι τόσο έντονες όπως στους πληθυσμούς της OMX, γεγονός που εξηγείται από την υψηλότερη αντοχή αυτών των μικροοργανισμών στο αλάτι. Οι Menz et al. (2008) σε μικροβιολογική ανάλυση άλμης ελιών Καλαμών, στις οποίες είχαν εφαρμόσει πλυσίματα με νερό πριν την τοποθέτησή τους σε άλμη, βρήκαν παρόμοια επίπεδα πληθυσμών ζυμών της τάξης των 10^5 cfu/ml.



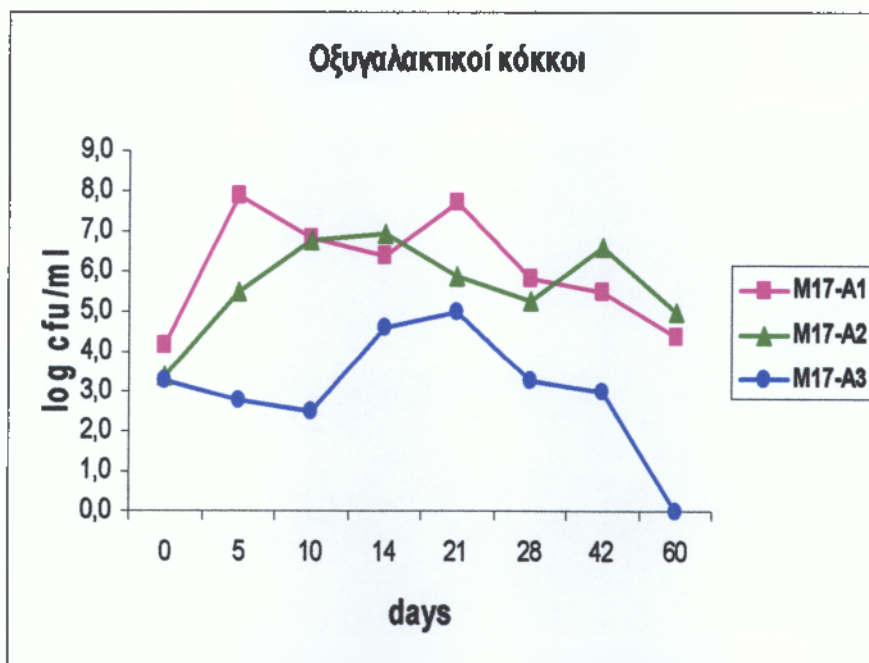
Εικόνα 3. Μεταβολή πληθυσμού των ζυμών-μυκήτων κατά τη διάρκεια των τριών ζυμώσεων A1 (0 % NaCl), A2 (5 % NaCl), A3 (10 % NaCl).

Η πορεία μεταβολής του πληθυσμού των οξυγαλακτικών βακτηρίων (βακίλων και κόκκων) περιγράφεται στα διαγράμματα των Εικόνων 4 και 5 αντίστοιχα. Καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος οι πληθυσμοί των οξυγαλακτικών βακίλων ήταν χαμηλότεροι όσο μεγαλύτερη ήταν η συγκέντρωση άλατος. Και στις τρεις συγκεντρώσεις άλατος τις πρώτες 14 ημέρες παρατηρείται μία μικρή αύξηση του πληθυσμού των βακίλων, ενώ μετά την 28^η ημέρα η πτώση είναι σημαντική ιδιαίτερα στο δείγμα A3 που ο πληθυσμός τους μηδενίζεται. Οι πληθυσμοί των οξυγαλακτικών κόκκων μειώθηκαν σημαντικά στο δείγμα A3 μετά την 42^η ημέρα. Το ίδιο διάστημα παρατηρήθηκε μείωση και στα άλλα δύο δείγματα (A1 και A2) αλλά αυτή ήταν πιο ομαλή σε σχέση με το A3. Οι Marsilio et al. (2005) σε άλμη μαύρων ελιών ελληνικού τύπου που υπέστησαν αυθόρμητη ζύμωση, βρήκαν πληθυσμούς οξυγαλακτικών βακτηρίων της τάξεως 10^5

cfu/ml. Οι Menz et al. (2008) όταν μελέτησαν την πορεία εξέλιξης των οξυγαλακτικών βακτηρίων βρήκαν μία συνεχή αύξηση του πληθυσμού τους μέχρι την τάξη των 10^5 cfu/ml.

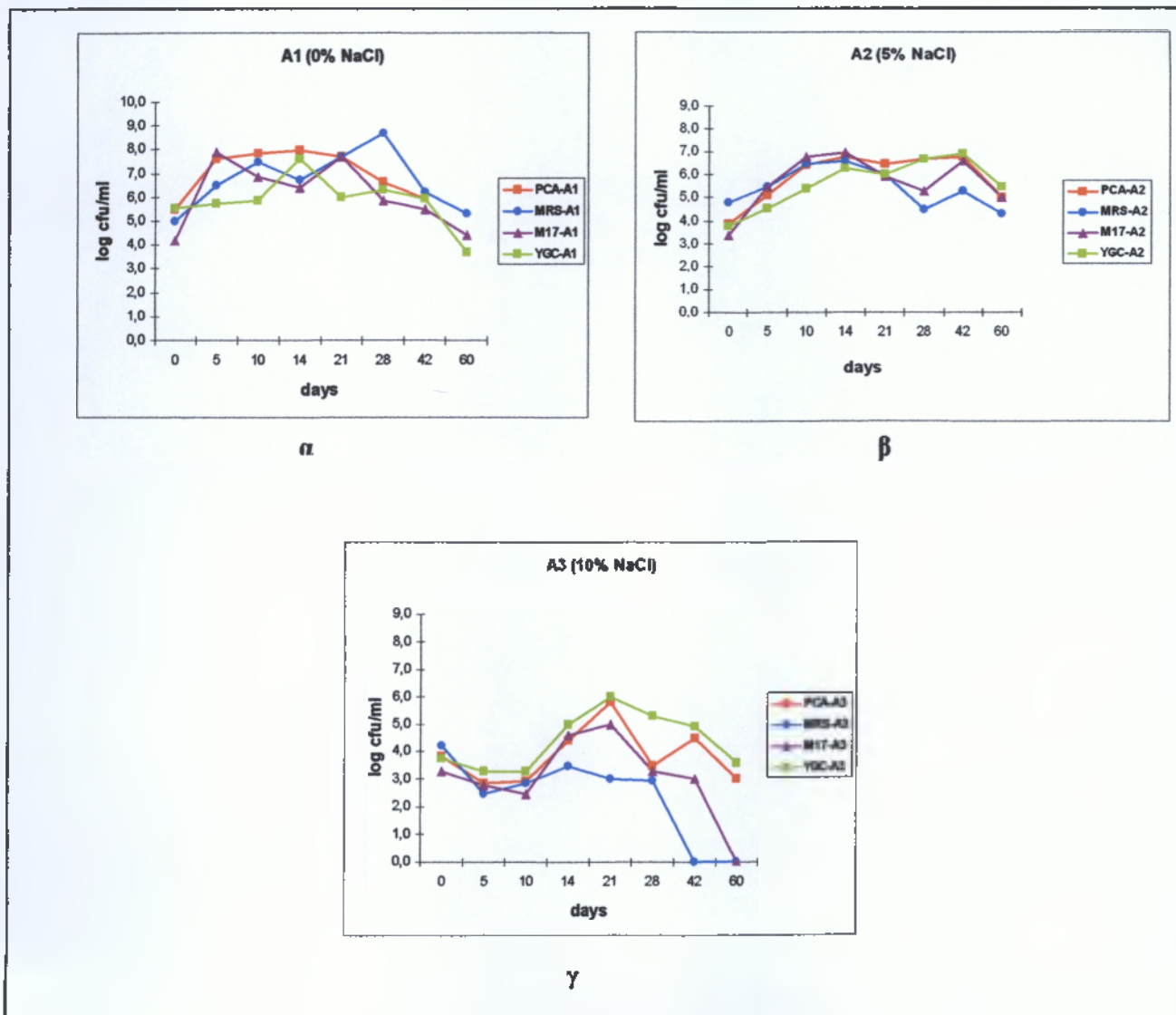


Εικόνα 4. Μεταβολή πληθυσμού των οξυγαλακτικών βακίλων κατά τη διάρκεια των τριών ζυμώσεων A1 (0 % NaCl), A2 (5 % NaCl), A3 (10 % NaCl).



Εικόνα 5. Μεταβολή πληθυσμού των οξυγαλακτικών κόκκων κατά τη διάρκεια των τριών ζυμώσεων A1 (0 % NaCl), A2 (5 % NaCl), A3 (10 % NaCl).

Στην **Εικόνα 6** παρουσιάζονται τα διαγράμματα μεταβολής των μικροβιακών πληθυσμών ομαδοποιημένα ανά ξεχωριστή ζύμωση A1 (0 % NaCl), A2 (5 % NaCl), A3 (10 % NaCl). Παρατηρούμε ότι γενικά οι μικροβιακοί πληθυσμοί όλων των ομάδων που εξετάστηκαν διατηρούνται σε χαμηλότερα επίπεδα στην υψηλότερη συγκέντρωση άλμης.



Εικόνα 6. Μεταβολή μικροβιακών πληθυσμών για της ομάδες OMX (PCA), ζύμες-μύκητες (YGC), οξυγαλακτικοί βάκλιοι (MRS), οξυγαλακτικοί κόκκοι (M17) στις τρεις εργαστηριακές ζυμώσεις: α) A1 0 % NaCl, β) A2 5 % NaCl και γ) A3 10 % NaCl .

3.4. Έλεγχος τεχνολογικών ιδιοτήτων των απομονωθέντων οξυγαλακτικών βακτηρίων.

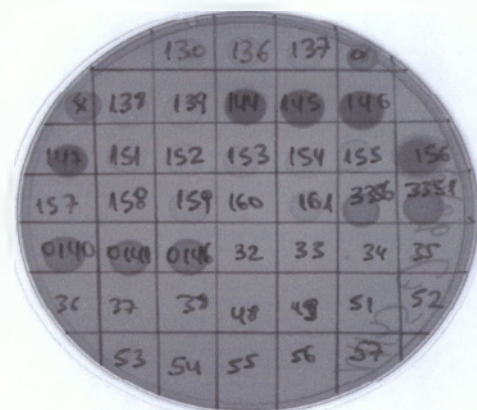
Με στόχο την επιλογή οξυγαλακτικών στελεχών με επιθυμητές ιδιότητες για την χρήση τους ως εναρκτήριες καλλιέργειες σε ελεγχόμενη ζύμωση ελιών Καλαμών, έγιναν απομονώσεις αποικιών οξυγαλακτικών βακτηρίων καθ' όλη τη διάρκεια των εργαστηριακών ζυμώσεων.

Ο Πίνακας 4 που ακολουθεί δείχνει τον αριθμό των πιθανών αποικιών οξυγαλακτικών βακίλων και κόκκων που απομονώθηκαν από τα θρεπτικά υλικά M17 και MRS αντίστοιχα κατά τις ημέρες δειγματοληψίας από τα τρία δείγματα άλμεων των πειραματικών ζυμώσεων A1 (0% αλάτι), A2 (5% αλάτι) και A3 (10% αλάτι). Οι αριθμοί στις παρενθέσεις υποδεικνύουν πόσες από αυτές έδωσαν θετικό αποτέλεσμα στη δοκιμή αντοχής στην ελευρωπαϊνή. Η δοκιμή ανθεκτικότητας στην ελευρωπαϊνή έγινε για να οριστεί ποιες από τις συνολικά 127 αποικίες που παραλάβαμε από το M17 και από τις 20 αποικίες από το MRS είναι ανθεκτικές στην ελευρωπαϊνή, χαρακτηριστικό απαραίτητο για την επιλογή ενός οξυγαλακτικού βακτηριακού στελέχους που θα εφαρμοστεί ως εναρκτήριο καλλιέργεια για την ελεγχόμενη ζύμωση ελιών.

Πίνακας 4. Αποικίες οξυγαλακτικών βακίλων και κόκκων που απομονώθηκαν από τα θρεπτικά υλικά MRS και M17, αντίστοιχα. Οι αριθμοί στις παρενθέσεις υποδεικνύουν πόσες από αυτές έδωσαν θετικό αποτέλεσμα στη δοκιμή αντοχής στην ελευρωπαϊνή.

ΗΜΕΡΑ ΔΕΙΓ/ΨΙΑΣ	Αριθμός αποικιών που απομονώθηκαν από M17 και MRS					
	M17			MRS		
	A1	A2	A3	A1	A2	A3
0	10 (10)	9 (9)	7 (7)	0	0	0
5	10 (10)	10 (10)	10 (10)	3 (1)	2 (1)	0
10	10 (10)	10 (10)	0	1 (1)	0	0
14	0	10 (10)	10 (10)	3 (3)	1 (1)	4 (4)
21	8 (0)	0	3 (3)	0	0	0
28	10 (0)	0	10 (8)	3 (3)	0	0
42	0	0	0	0	0	0
56	0	0	0	3 (3)	0	0
ΣΥΝΟΛΟ	48 (30)	39 (39)	40 (38)	13 (11)	3 (2)	4 (4)
ΓΕΝΙΚΟ ΣΥΝΟΛΟ	127 (107)			20 (17)		

Στην **Εικόνα 7** φαίνεται ένα τρυβλίο με θρεπτικό υπόστρωμα M17 στο οποίο έχει προστεθεί ελευρωπαϊνή σε συγκέντρωση 1%, εμβολιασμένο με πολλές διαφορετικές απομονώσεις οξυγαλακτικών κόκκων προκειμένου να ελεγχθεί η ανθεκτικότητά τους στην ελευρωπαϊνή. Στα σημεία που παρατηρείται μικροβιακή ανάπτυξη αντιστοιχούν στελέχη ανθεκτικά στην ελευρωπαϊνή ενώ η απουσία ανάπτυξης υποδηλώνει ευαισθησία σε αυτήν.



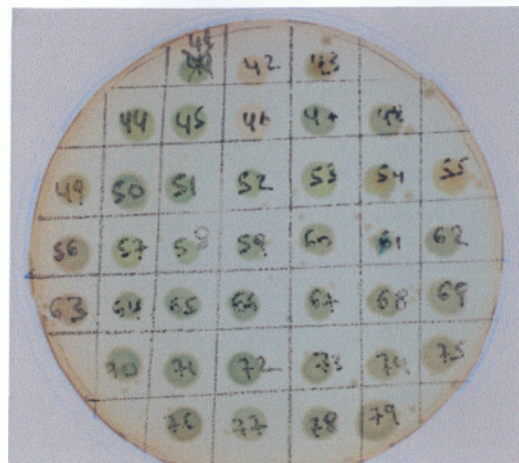
Εικόνα 7. Τρυβλίο δοκιμής οξυγαλακτικών βακτηρίων ως προς την αντοχή τους στην ελευρωπαϊνή.

Σε όσες αποικίες οξυγαλακτικών βακτηρίων ήταν ανθεκτικές στην δοκιμή αντοχής στην παρουσία ελευρωπαϊνης, έγινε η δοκιμή για τη δράση του ενζύμου β-γλυκοζιδάση. Το ένζυμο αυτό, όπως αναφέρθηκε και στο κεφάλαιο της εισαγωγής, απαιτείται για το πρώτο στάδιο υδρόλυσης της ελευρωπαϊνης σε γλυκόζη και εστέρα. Ο **Πίνακας 5** δείχνει πόσες από τις ανθεκτικές στην ελευρωπαϊνή αποικίες οξυγαλακτικών βακτηρίων έδειξαν ενεργότητα στη δοκιμή της β-γλυκοζιδάσης.

Στην **εικόνα 8**, φαίνεται ένα τρυβλίο με θρεπτικό υλικό M17 στο οποίο έχει προστεθεί το υπόστρωμα X-Glc, εμβολιασμένο με διάφορες απομονώσεις οξυγαλακτικών κόκκων οι οποίοι ήταν θετικοί στην δοκιμή της ελευρωπαϊνης. Η μικροβιακή ανάπτυξη με μπλε χρώμα αντιστοιχεί σε στελέχη που παράγουν το ένζυμο β-γλυκοζιδάση ενώ στελέχη που δεν παράγουν το συγκεκριμένο ένζυμο και άρα δεν υδρολύουν την ελευρωπαϊνή, δίνουν υποκίτρινη βιομάζα.

Πίνακας 5. Αποικίες οξυγαλακτικών βακίλων και κόκκων ανθεκτικών στην ελευρωπαΐνη που απομονώθηκαν από τα θρεπτικά υλικά MRS και M17, αντίστοιχα. Οι αριθμοί στις παρενθέσεις υποδεικνύουν πόσες από αυτές έδωσαν θετικό αποτέλεσμα στη δοκιμή της β-γλυκοζιδάσης

ΗΜΕΡΑ ΔΕΙΓ/ΨΙΑΣ	Αριθμός αποικιών ανθεκτικών στην ελευρωπαΐνη					
	M17			MRS		
	0 %	5 %	10 %	0 %	5 %	10 %
0	10 (5)	9 (4)	7 (5)	0	0	0
5	10 (9)	10 (6)	10 (7)	1 (1)	1 (1)	0
10	10 (9)	10 (10)	0	1 (1)	0	0
14	0	10 (9)	10 (9)	3 (3)	1 (1)	4 (0)
21	0	0	3 (3)	0	0	0
28	0	0	8 (2)	3 (3)	0	0
42	0	0	0	0	0	0
56	0	0	0	3 (2)	0	0
ΣΥΝΟΛΟ	30 (23)	39 (29)	38 (26)	11 (10)	2 (2)	4 (0)
ΓΕΝΙΚΟ ΣΥΝΟΛΟ	107 (78)			17 (12)		

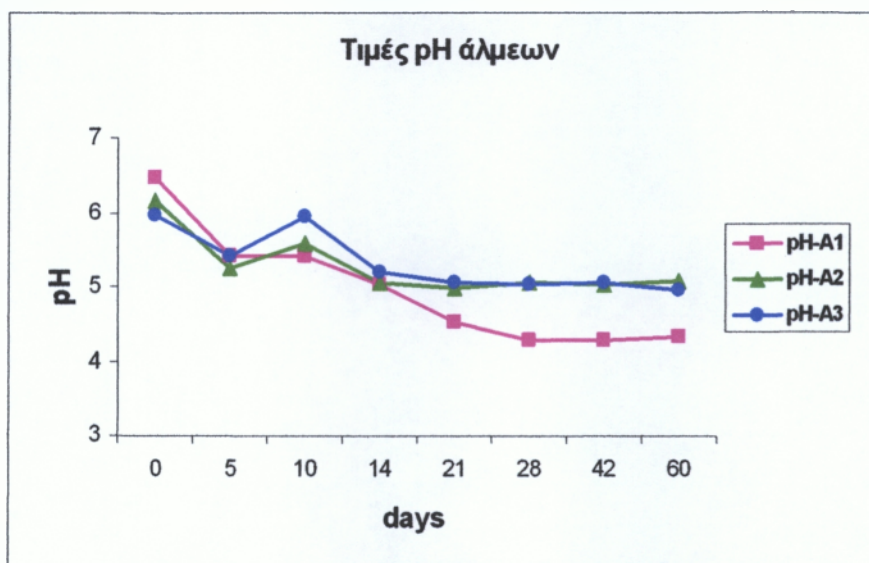


Εικόνα 8. Τρυβλίο δοκιμής οξυγαλακτικών βακτηρίων ως προς την ενεργότητα της β-γλυκοζιδάσης.

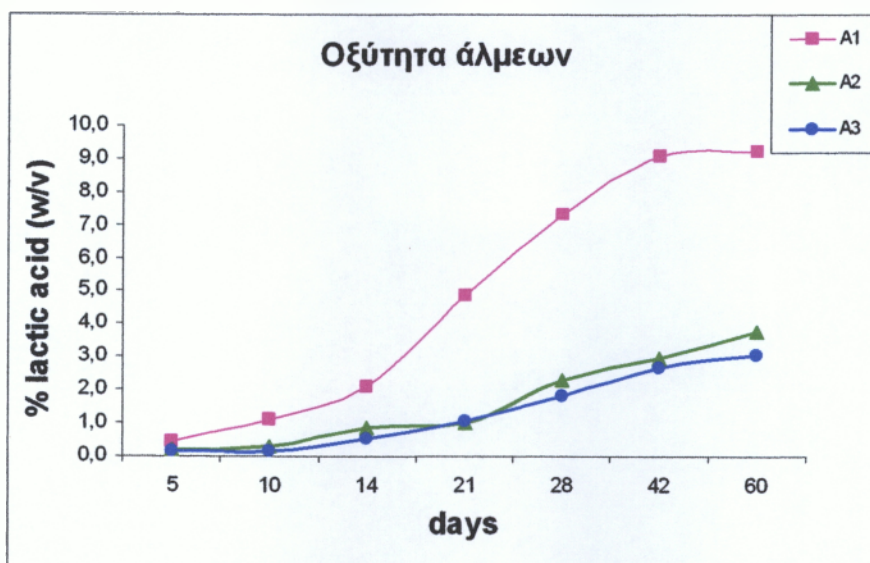
3.5. Φυσικοχημικές αναλύσεις στις άλμες και στις ελιές

3.5.1. Διακύμανση του pH και της οξύτητας στις άλμες

Στο διάγραμμα της Εικόνας 9 φαίνεται η διακύμανση του pH των άλμεων και σε αυτό της Εικόνας 10 η διακύμανση της ογκομετρούμενης οξύτητας αυτών, κατά την διαδικασία των τριών εργαστηριακών ζυμώσεων.



Εικόνα 9. Διακύμανση του pH των άλμεων κατά την διαδικασία των τριών εργαστηριακών ζυμώσεων A1 (0 % NaCl), A2 (5 % NaCl), A3 (10 % NaCl) .

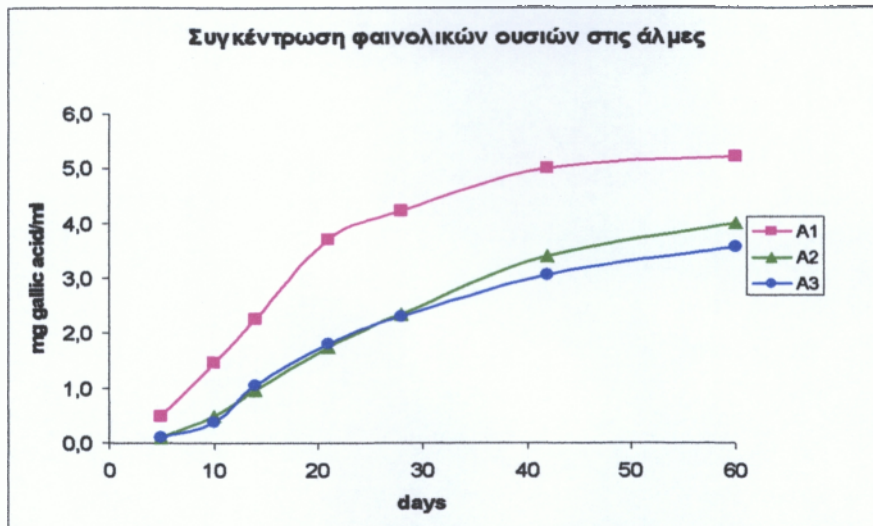


Εικόνα 10. Διακύμανση της ογκομετρούμενης οξύτητας των άλμεων κατά την διαδικασία των τριών εργαστηριακών ζυμώσεων A1 (0 % NaCl), A2 (5 % NaCl), A3 (10 % NaCl).

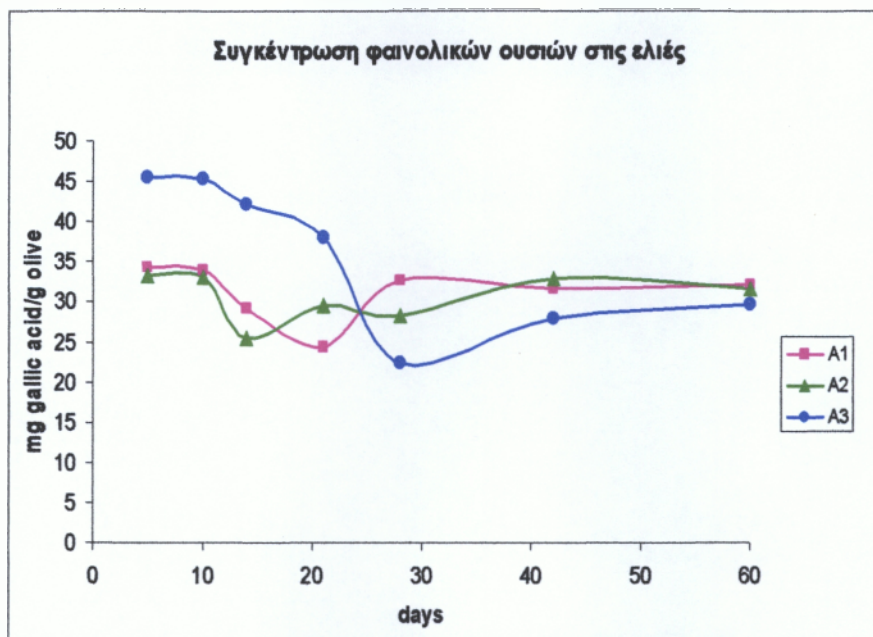
Όσον αφορά το pH, ξεκινώντας από μία τιμή 6-6.5 παρατηρείται μία σταθερή πτώση της τιμής του και στις τρεις ζυμώσεις. Στην ζύμωση A1, ωστόσο, η τελική τιμή του pH έφτασε σε χαμηλότερα επίπεδα (4.32) σε σχέση με τα άλλα δύο δείγματα A2 και A3 που η πτώση του έφτασε μέχρι την τιμή 5.07 και 4.96 αντίστοιχα. Αντίστροφη μεταβολή ακολουθεί η ογκομετρούμενη οξύτητα όπως ήταν αναμενόμενο. Η πτώση του pH για τα δείγματα A2 και A3 δεν είναι ικανοποιητική αφού η αποδεκτή τιμή pH για τις ζυμούμενες μαύρες ελιές είναι 3.5-4.0, μία τιμή που αφενός υποδεικνύει ότι ολοκληρώθηκε η ζύμωση από τους μικροοργανισμούς και αφετέρου εξασφαλίζει ένα μικροβιολογικά ασφαλές προϊόν για κατανάλωση. Αυτή η μη ικανοποιητική πτώση του pH στις εργαστηριακές ζυμώσεις αποδίδεται στην προχωρημένη ωρίμανση των ελιών που είχε ως αποτέλεσμα μειωμένο περιεχόμενο σακχάρων που δεν επέτρεψε την ικανοποιητική ανάπτυξη οξυγαλακτικών βακτηρίων τα οποία έχουν υψηλές θρεπτικές απαιτήσεις (Salminen and vonWright, 1998). Οι Tassou et al. (2002) σε ανάλυση άλμεων από φυσικές μαύρες ελιές της ποικιλίας Κονσερβολιά από την περιοχή του Βόλου, όπου ζυμώθηκαν σε διαφορετικές συγκεντρώσεις άλατος, βρήκαν ότι το pH ξεκινάει από 6.3 και πέφτει στο 4.0 - 3.5 κατά την ολοκλήρωση τις ζύμωσης.

3.5.2. Μεταβολή της συγκέντρωσης των φαινολικών ουσιών στις άλμες και στις ελιές

Στο διάγραμμα της Εικόνας 11 καταγράφεται η μεταβολή της συγκέντρωσης των φαινολικών ουσιών στις άλμες και στο διάγραμμα της Εικόνας 12 η αντίστοιχη μεταβολή στις ελιές, κατά την διαδικασία των τριών εργαστηριακών ζυμώσεων. Η ανάλυση των άλμεων και των ελιών έγινε ανά τακτά διαστήματα και για τα τρία δείγματα των διαφορετικών ζυμώσεων (A1: 0% αλάτι, A2: 5% αλάτι, A3: 10% αλάτι).



Εικόνα 11. Διακύμανση των φαινολικών ουσιών στις άλμες κατά την διαδικασία των τριών εργαστηριακών ζυμώσεων.



Εικόνα 12. Διακύμανση των φαινολικών ουσιών στις ελιές κατά την διαδικασία των τριών εργαστηριακών ζυμώσεων.

Στο διάγραμμα της **Εικόνας 11** φαίνεται η μεταβολή της συγκέντρωσης των φαινολικών ουσιών στις πειραματικές άλμες (A1: 0% αλάτι, A2: 5% αλάτι, A3: 10% αλάτι) κατά τη διάρκεια της ζυμώσης. Σε όλα τα δείγματα η συγκέντρωση των φαινολικών ουσιών ακολουθεί μια ομαλά αυξητική πορεία από την 0 έως την 60 ημέρα. Η πορεία αυτή της συγκέντρωσης των φαινολικών ουσιών των άλμεων είναι αναμενόμενη αλλά και επιζητούμενη, διότι κατά τη διάρκεια της ζύμωσης οι

φαινολικές ουσίες οδηγούνται λόγω του φαινομένου της ώσμωσης από την ελιά στην άλμη. Με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται σταδιακή εκπίκρυνση των ελιών λόγω του ότι αυτές οι φαινολικές ενώσεις ευθύνονται για την πικρή γεύση της ελιάς, με κύριο εκπρόσωπό τους την ελευρωπαΐνη. Όσο υψηλότερη είναι η συγκέντρωση του άλατος στην άλμη τόσο μικρότερη είναι η παρατηρούμενη μετακίνηση φαινολικών ουσιών προς αυτήν, γεγονός αναμενόμενο αφού η υψηλή περιεκτικότητα των διαλυτών συστατικών επιβραδύνει την μετακίνηση μορίων κατά το φαινόμενο της ώσμωσης. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα η εκπίκρυνση να γίνεται γρηγορότερα σε σκέτο νερό ή σε χαμηλή συγκέντρωση άλατος.

Στο διάγραμμα της **Εικόνας 12**, που αφορά τις φαινολικές ουσίες των αντίστοιχων ελιών, παρατηρούμε ότι υπάρχει σταδιακή μείωση της συγκέντρωσής τους με το πέρασμα των ημερών. Η μείωση αυτή οφείλεται στην εκχύλιση των φαινολικών ουσιών από τις ελιές στις άλμες. Ωστόσο η μείωση αυτή δεν ακολουθεί το ίδιο ομαλή πορεία σε σχέση με την αύξηση που παρατηρείται στις αντίστοιχες συγκεντρώσεις φαινολικών ουσιών στις άλμες.

3.6. Αποτελέσματα οργανοληπτικού έλεγχου

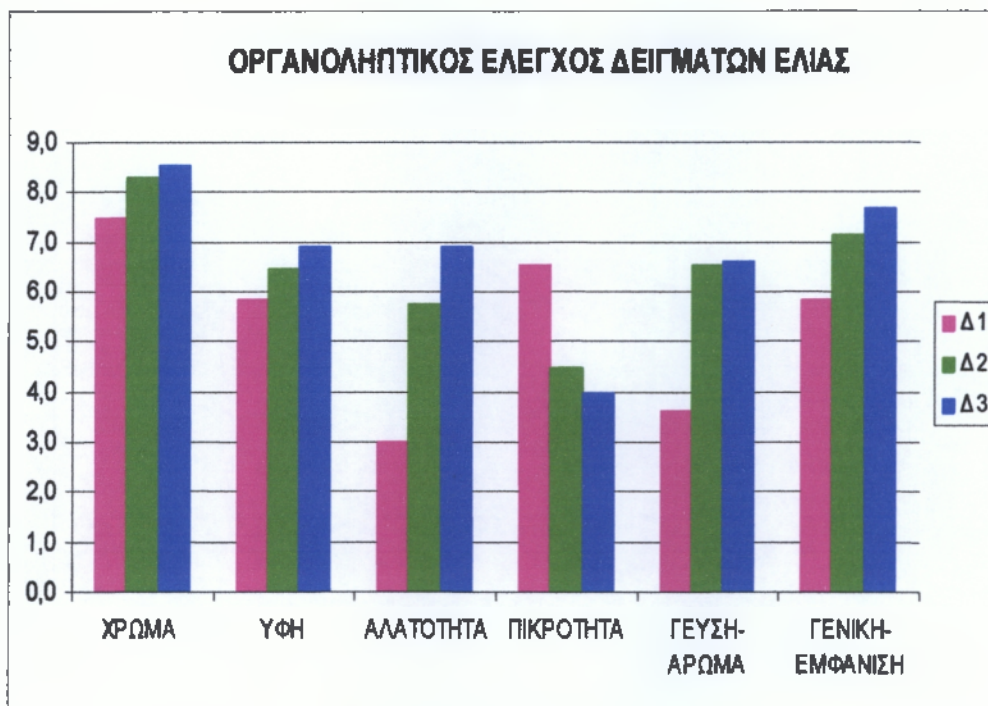
Στον **Πίνακα 6** φαίνονται οι μέσοι όροι βαθμολογίας που δόθηκαν στα τρία δείγματα ελιών μετά την ολοκλήρωση της ζύμωσης (στους 2 μήνες) από τους 13 δοκιμαστές. Η βαθμολογία αφορούσε το χρώμα, την ύφη, την αλατότητα, την πικρότητα, τη γεύση και το άρωμα και τέλος την εμφάνιση των ελιών.

Πίνακας 6. Μέσος όρος αποτελεσμάτων από τον οργανοληπτικό έλεγχο ελιών. Όπου, Δ1: οι ελιές με 0 % NaCl, Δ2: οι ελιές με 5 % NaCl και Δ3: οι ελιές με 10 % NaCl.

	ΧΡΩΜΑ	ΥΦΗ	ΑΛΑΤΟΤΗΤΑ	ΠΙΚΡΟΤΗΤΑ	ΓΕΥΣΗ-ΑΡΩΜΑ	ΓΕΝΙΚΗ-ΕΜΦΑΝΙΣΗ	ΣΥΝΟΛΟ
Δ1	7.5	5.8	3.0	6.5	3.6	5.8	32.2
Δ2	8.3	6.5	5.8	4.5	6.5	7.2	38.8
Δ3	8.5	6.9	6.9	4.0	6.6	7.7	40.6

Στο διάγραμμα της **Εικόνας 13** φαίνεται η διακύμανση των προτιμήσεων των δοκιμαστών στα διάφορα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά για το κάθε δείγμα. Η αξιολόγηση έγινε σε κλίμακα βαθμολογίας από το 0-10, με το 0 να αντιστοιχεί στο χειρότερο και το 10 στο βέλτιστο. Παρατηρείται ότι το δείγμα Δ3 πήρε υψηλότερη

βαθμολογία σε όλα τα χαρακτηριστικά, εκτός από την πικρότητα και υψηλότερη συνολική βαθμολογία. Δηλαδή οι δοκιμαστές δείχνουν προτίμηση στις ελιές με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση άλατος, πιθανότατα διότι είναι πιο ευχάριστες κατά την κατανάλωση λόγω συνήθειας των ανθρώπων σήμερα να καταναλώνουν ελιές με μεγάλη συγκέντρωση άλατος. Ακόμα μπορούμε να παρατηρήσουμε ότι οι ελιές στο δείγμα Δ3 είναι περισσότερο πικρές από τα άλλα δείγματα λόγω μικρότερης μετακίνησης φαινολικών ουσιών από τις ελιές προς την άλμη που οφείλεται στην υψηλότερη συγκέντρωση άλατος.



Εικόνα 13. Αποτελέσματα οργανοληπτικού ελέγχου στα τρία δείγματα ελιών Δ1 (0 % NaCl), Δ2 (5 % NaCl) και Δ3 (10 % NaCl).

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε σε εργαστηριακές συνθήκες η αυθόρμητη ζύμωση ελιών Καλαμών σε τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις άλμης (A1: 0% αλάτι, A2: 5% αλάτι, A3: 10% αλάτι). Η μελέτη αφορούσε μικροβιολογική και φυσικοχημική ανάλυση ενώ παράλληλα επιχειρήθηκε η απομόνωση οξυγαλακτικών βακτηρίων με επιθυμητά χαρακτηριστικά για την μελλοντική εφαρμογή τους ως εναρκτήριες καλλιέργειες σε ελεγχόμενη ζύμωση ελιών Καλαμών. Από τη μελέτη αυτή προέκυψαν τα ακόλουθα:

- ❖ Όλες οι μικροβιακές ομάδες που εξετάστηκαν (OMX, ζύμες-μύκητες, οξυγαλακτικοί βάκιλοι και κόκκοι) έφτασαν σε χαμηλότερους πληθυσμούς στο δείγμα με την υψηλή συγκέντρωση άλατος (A3, 10% αλάτι) σε σχέση με το σκέτο νερό (A1) και με το δείγμα με 5% αλάτι (A2). Αυτό αποδίδεται στην ανασταλτική δράση που έχει το αλάτι στη μικροβιακή ανάπτυξη.
- ❖ Η μείωση του pH αλλά και η αύξηση της οξύτητας στο δείγμα A1 (0% αλάτι) ήταν μεγαλύτερη σε σχέση με τα άλλα δύο δείγματα γεγονός που σχετίζεται και με μεγαλύτερη ανάπτυξη οξυγαλακτικών βακτηρίων στο δείγμα αυτό. Η υψηλή συγκέντρωση άλατος στο δείγμα 3 (10% αλάτι) προφανώς είναι πολύ υψηλή για την ανάπτυξη των οξυγαλακτικών βακτηρίων.
- ❖ Η πτώση του pH και στα τρία δείγματα, αλλά κυρίως στα δείγματα 2 (5% αλάτι) και 3 (10% αλάτι) δεν ήταν ικανοποιητική γεγονός που οφείλεται κατά πάσα πιθανότητα στην ιδιαίτερα χαμηλή περιεκτικότητα των ελιών σε σάκχαρα, λόγω του ότι αυτές συλλέχθηκαν σε στάδιο προχωρημένης ωριμότητας (Μάρτιο). Η έλλειψη σακχάρων σε συνδυασμό και με την υψηλή συγκέντρωση άλατος (στα δείγματα 2 και 3) δεν επέτρεψε την ικανοποιητική ανάπτυξη των οξυγαλακτικών βακτηρίων που διεξάγουν την οξυγαλακτική ζύμωση η οποία κυρίως ευθύνεται για την πτώση του pH.
- ❖ Παρατηρήθηκε σταδιακή αύξηση των φαινολικών ενώσεων στις άλμες κατά το πέρασμα των ημερών, γεγονός που αποδεικνύει την απομάκρυνσή τους από το εσωτερικό της ελιάς και κατά συνέπεια την εκκρίκρυσή τους. Η απομάκρυνση ήταν ταχύτερη και υψηλότερη στο σκέτο νερό (δείγμα A1) και χαμηλότερη στο δείγμα με το περισσότερο αλάτι (δείγμα A3).

- ❖ Από τις άλμες των ελιών απομονώθηκαν 90 συνολικά στελέχη πιθανά οξυγαλακτικά βακτήρια που παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στην ελευρωπαϊνή αλλά και διαθέτουν το ένζυμο β-γλυκοσιδάση το οποίο είναι υπεύθυνο για το πρώτο στάδιο της υδρόλυσης της ελευρωπαϊνης. Από τα στελέχη αυτά, αφού επιβεβαιωθεί ότι είναι πράγματι οξυγαλακτικά βακτήρια, και αφού ελεγχθούν και για άλλες τεχνολογικής σημασίας ιδιότητες, θα μπορούσαν να επιλεγούν κάποια για μελλοντική χρήση ως εναρκτήριες καλλιέργειες για την παραγωγή ελιών Καλαμών ελεγχόμενης ζύμωσης, σταθερής και υψηλής ποιότητας.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ελληνική

- Κυριτσάκης Κ. Α. (1993) Το ελαιόλαδο. Χημική σύνθεση, τεχνολογία, ποιοτικός έλεγχος, βιολογική αξία. Έκδοση Κυριτσάκη, Θεσσαλονίκη.
- Κυριτσάκης Κ. Α. (2007) Ελαιόλαδο, Συμβατικό και βιολογικό βρώσιμη, ελιά -πάστα ελιάς. Αγροτόπος.
- Μπαλατσούρας Δ. Γ. (1995) Η επιτραπέζια ελιά. Έκδοση Μπαλατσούρας, Αθήνα.
- Μπαλατσούρας Δ. Γ. (2006) Μικροβιολογία Τροφίμων. Εκδόσεις Έμβρυο, Αθήνα.

Ξενόγλωσση

- Balatsouras G.D. (1990) Edible olive cultivars, chemical composition of fruit, harvesting, transportation, processing, sorting and packaging, styles of black olives, deterioration, quality standards, chemical analysis, nutritional and biological value of the end product. In *Olio d'oliva e olive da tavola: tecnologia e qualità*. Istituto Sperimentale per la Elaiotecnica, Pescara.
- Beumer R.R. (2001) Microbiological hazards and their control: bacteria. In *Fermentation and Food Safety* (Ed. Adams M.R. and Robert Nout M.J.), Aspen Publishers Inc., Maryland.
- Ciafardini G., Marsilio V., Lanza B., and Pozzi N. (1994) Hydrolysis of Oleuropein by *Lactobacillus plantarum* Strains Associated with Olive Fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 4142-4147.
- Connell J.H. (1994) Botany of the olive. In *Olive Production Manual*. University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, Oakland, CA.
- Flemming H.P., McFeeters R.F., and Daeschel M.A. (1985) The lactobacilli, pediococci, and leuconostocs: vegetable products. In *Bacterial Starter Cultures for Food* (Ed. Gilliland S.E.), CRC Press.
- IOOC (International Olive Oil Council) (1990) Table olive processing. Madrid.

- Garrido Fernández A., Fernández Díez M.J., Adams M.R. (1997) Table olives production and processing. Springer.
- Guillou A.A., Flovos J.D. (1993) Multi response optimization minimizes salt in natural cucumber fermentation and storage. *Journal of Food Science* 58, 1381-1389.
- Kailis S. and Harris D. (2007) Producing Table olives. Landlinks Press.
- Leone E.G. (2000) The globalization of olive oil market and the competitive position of the sector in Italy: an international comparison. *Olivae* 83, 10-14.
- Loussert R. and Brousse G. (1980) Botanica, biología y fisiología, in El olivo, Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.
- Marsilio V., Seghetti L., Iannucci E., Russi F., Lanza B. and Felicioni M. (2005) Use of a lactic acid bacteria starter culture during green olive (*Olea europaea* L cv Ascolana tenera) processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 85, 1084-1090.
- Menz G., Bradbury M. and Vriesekoop F. (2008) Changes in the Prefermentation Static Washing Regime of Kalamata Olives Affect the Fermentation Profile. *Food Technology Biotechnology* 46, 341-345.
- Nychas G.-J.E., Panagou E.Z., Parker M.L., Waldron K.W. and Tassou C.C. (2002) Microbial colonization of naturally black olives during fermentation and associated biochemical activities in the cover brine. *Letters in Applied Microbiology* 34, 173-177.
- Ozay G. and Borcakli M. (1996) Effect of brine replacement and salt concentration on the fermentation of naturally black olives. *Food Research International* 28, 553-559.
- Panagou E.Z. (2006) Greek dry-salted olives: Monitoring the dry-salting process and subsequent physico-chemical and microbiological profile during storage under different packing conditions at 4 and 20 °C. *LWT* 39, 322-329.
- Panagou E.Z. and Tassou C.C. (2006) Changes in volatile compounds and related biochemical profile during control fermentation of cv. Conservolea green olives. *Food Microbiology* 23, 738-746.

- Panagou E.Z., Schillinger U., Franz C.M.A.P. and Nychas G.-J.E. (2008) Microbiological and biochemical profile of cv. Conservolea naturallu black olives during controlled fermentation with selected strains of lactic acid bacteria. *Food Microbiology* 25, 348-358.
- Ruiz-Barba J.L., Cathcart D.P., Warner P.J. and Jimenez-Diaz R. (1994) Use of *Lactobacillus plantarum* LPCO10, a bacteriocin producer, as a starter culture in Spanish style green olive fermentation. *Applied and Environmental Microbiology* 60, 2059-2064.
- Salminen S. and vonWright A. (1998) Lactic Acid Bacteria. Marcel Dekker Inc.
- Tassou C.C., Panagou E.Z. and Katsaboxakis K.Z. (2002) Microbiological and physicochemical changes of naturally black olives fermented at different temperatures and NaCl levels in the brines. *Food Microbiology* 19, 605-615.
- Tsapatsaris S., Kotzekidou P. (2004) Application of central composite design and response surface methodology to the fermentation of juice by *Lactobacillus plantarum* and *Debaryomyces hansenii*. *International Journal of Food Microbiology* 95, 157-168.