



Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης
Σχολή Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής

Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΩΝ ΠΟΙΟΤΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΤΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ
ΣΕ ΠΑΣΤΑ ΕΛΙΑΣ ΚΑΙ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΤΟΥ ΥΠΑΡΧΟΝΤΟΣ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΟΥ
ΦΟΡΤΙΟΥ ΜΕ ΣΥΣΚΕΥΗ ΚΑΤΑΜΕΤΡΗΣΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΩΝ



ΜΟΣΧΟΥΤΑ ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ
ΣΤΑΥΡΙΔΗΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2011

ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΩΝ ΠΟΙΟΤΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΤΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ
ΣΕ ΠΑΣΤΑ ΕΛΙΑΣ ΚΑΙ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΤΟΥ ΥΠΑΡΧΟΝΤΟΣ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΟΥ ΦΟΡΤΙΟΥ
ΜΕ ΣΥΣΚΕΥΗ ΚΑΤΑΜΕΤΡΗΣΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΩΝ

ΜΟΣΧΟΥΤΑ ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ
ΣΤΑΥΡΙΔΗΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ

Υποβολή Πτυχιακής Διατριβής που αποτελεί μέρος απαιτήσεων για την
απονομή του Πτυχίου του Τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων του ΑΤΕΙ
Θεσσαλονίκης

ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ 2011

Εισηγητής καθηγητής: Κυριτσάκης Απόστολος

Εξεταστές : Καλογιάννη Ελένη & Λάγουρη Βασιλική

Σε εκείνους που μας στηρίζουν
Και μας ενθαρρύνουν όλα αυτά τα χρόνια
τους γονείς μας ...

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία εκπονήθηκε από την Αικατερίνη Μοσχούτα και τον Κωνσταντίνο Σταυρίδη και αποτελεί μέρος των απαιτήσεων για την απονομή Πτυχίου του Τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων. Το πειραματικό μέρος της εργασίας πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο τεχνολογίας και ποιοτικού ελέγχου ελαιολάδου και λιπαρών υλών του τμήματος υπό την επίβλεψη του καθηγητή κ. Απόστολου Κυριτσάκη.

Επιθυμούμε να εκφράσουμε τις ειλικρινείς μας ευχαριστίες σε όλους όσους μας βοήθησαν και συνέβαλαν στην ολοκλήρωση αυτής της εργασίας.

Στον κ. Κυριτσάκη Απόστολο για την επιστημονική καθοδήγηση που μας παρείχε καθώς και για τις πολύτιμες συμβουλές που μας προσέφερε.

Θερμότερες ευχαριστίες θα θέλαμε να δώσουμε επίσης στους :

Κα. Νικολάου Δόμνα για την πρόθυμη και πολύτιμη βοήθεια που μας προσέφερε καθ' όλη την διάρκεια της εργασίας.

Κ. Παπαντωνίου Δημήτριο και το προσωπικό του εργαστηρίου Μικροβιολογίας (κα. Ακριτίδου Αφροδίτη και κα. Τουλιά Μαρία) για την παροχή εργαστηριακού εξοπλισμού και για τις πληροφορίες που μας παρείχαν.

Κ. Πετρίδη Δημήτριο για την καθοδήγηση, τις παρατηρήσεις και τις συμβουλές που μας παρείχε για την στατιστική αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της πτυχιακής μας εργασίας.

Κα. Καλογιάννη Ελένη για το ενδιαφέρον που έδειξε και τις συμβουλές που μας παρείχε κατά την προετοιμασία έναρξης της πειραματικής διαδικασίας.

Στον Φίλο και καθηγητή Μικροβιολογίας Ψωμά Ευδόξιο για την έμπρακτη συμβολή του για την αξιολόγηση των μικροβιακών αναλύσεων.

ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΩΝ ΠΟΙΟΤΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΤΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ
ΣΕ ΠΑΣΤΑ ΕΛΙΑΣ ΚΑΙ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΤΟΥ ΥΠΑΡΧΟΝΤΟΣ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΟΥ ΦΟΡΤΙΟΥ
ΜΕ ΣΥΣΚΕΥΗ ΚΑΤΑΜΕΤΡΗΣΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΩΝ

Μοσχούτα Αικατερίνη
Σταυρίδης Κωνσταντίνος

**ΑΤΕΙ Θεσσαλονίκης, Σχολή Τεχνολογίας Τροφίμων & Διατροφής,
Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων, 541 01, Τ.Θ 14561**

Περίληψη

Στην παρούσα εργασία αναλύθηκαν δείγματα πάστας ελιάς 3 διαφορετικών ποικιλιών (πράσινη, μαύρη και καλαμών), η προμήθεια των οποίων έγινε από το εμπόριο. Στα δείγματα που αγοράστηκαν μελετήθηκε η ποιότητα του περιεχόμενου ελαιολάδου, καθώς και το μικροβιακό φορτίο της πάστας με την πάροδο του χρόνου. Για την μεταβολή της ποιότητας του ελαιολάδου με την πάροδο του χρόνου, μελετήθηκε η μεταβολή της οξύτητας, της οξειδωσης με τον αριθμό υπεροξειδίων και των ειδικών συντελεστών απορρόφησης (K_{232} , K_{270}). Καθώς και με τις μεταβολές του φαινολικού φορτίου. Όσον αφορά την καταμέτρηση του μικροβιακού φορτίου, το οποίο υπήρχε αρχικά στα δείγματα ή αναπτύχθηκαν κατά τον χρόνο της αποθήκευσης, χρησιμοποιήθηκε η συσκευή καταμέτρησης των μικροβίων Soleris και προσδιορίστηκε η ολική μεσόφιλη χλωρίδα καθώς και η παρουσία ζυμών – μυκήτων, σταφυλόκοκκων και E. Coli. Ο όλος πειραματισμός έγινε στο εργαστήριο τεχνολογίας και ποιοτικού ελέγχου του ΑΤΕΙΘ, όπου παρέμειναν τα δείγματα αποθηκευμένα καθ' όλο το διάστημα των αναλύσεων.

Τα αποτελέσματα των αναλύσεων έδειξαν ότι η οξύτητα, ο αριθμός υπεροξειδίων και οι ειδικοί συντελεστές απορρόφησης αυξήθηκαν κατά την διάρκεια της αποθήκευσης και η συγκέντρωση των φαινολών μειώθηκε. Υπήρξε βέβαια κάποια μικρή διαφοροποίηση στην μείωση των τιμών από ποικιλία σε ποικιλία. Στον τύπο μαύρης ελιάς μειώθηκε από 175,3 έως 69,5 ppm, στον τύπο καλαμών από 170,4 έως 52,8 ppm και στον τύπο πράσινης ελιάς από 116,9 έως 40,8 ppm.

Όσον αφορά το μικροβιακό φορτίο η E. coli δεν παρουσιάστηκε σε κανένα τύπο πάστας καθ' όλη την διάρκεια των αναλύσεων. Στους σταφυλόκοκκους και στις ζύμες – μύκητες εμφάνισαν χαμηλά επίπεδα και τιμές κάτω των 10 cfu/g όπως ορίζεται και από την νομοθεσία. Τέλος υπήρξε μια αύξηση της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας με μεγαλύτερη συγκέντρωση σε αυτή της μαύρης ελιάς και ακολούθησε αυτή του τύπου καλαμών. Ο τύπος πράσινης πάστας ελιάς εμφάνισε την μικρότερη συγκέντρωση.

Γενικά η πάστα ελιάς, με βάση την ποιότητα του περιεχόμενου ελαιολάδου και το μικροβιακό φορτίο όπως αυτά αξιολογήθηκαν αρχικά αλλά και με την πάροδο του χρόνου αποθήκευσης, με τα καλύτερα ποιοτικά χαρακτηριστικά ήταν αυτή της πράσινης ελιάς ενώ στην συνέχεια ακολούθησε της μαύρης ελιάς και τέλος αυτή του τύπου καλαμών.

MEASUREMENT OF QUALITATIVE CHARACTERISTICS OF OLIVE OIL CONTENT IN
PASTE AND MONITORING THE EXCISTING MICROBIAL LOAD BY MEASURING
MICROBE DEVICE

Mosxouta Aikaterini

Stavridis Konstantinos

**Alexander Technological Educational Institution of Thessaloniki, School of Food
Technology and Nutrition, Department of Food Technology, 54101 Thessaloniki,
P.O. Box 14561, GREECE**

ABSTRACT

In the present study, a sufficient number of samples of olive paste, which are supplied by trade were studied. The samples which are used was 3 different varieties of olive paste (green, black olives and kalamwn). The samples were studied to their quality of the content olive oil and the microbial load of the paste over the storage time. The evaluation of olive oil quality over the storage time, we studied the hange in acidity, oxidation with peroxide value and specific absorption rates (K232, K270) and with the changes in phenolic load. For counting the bacterial load which was originally developed in the samples or at the storage time, used the measuring microbes device Soleris and determined the total variable count and the presence of yeast-mould, staphylococci and E.coli.

The experimental procedure was conducted in the quality control labolatory of olive oil and other lipids of Alexander Technological Educational Institute of Thessaloniki, on samples stored at room temperature.

The results showed that acidity, peroxide value and specific absorption rates increased during storage, while the phenol concentration decreases in black olives from 175,3 to 69,5 ppm, in kalamwn from 170,4 to 52,8 ppm and in green olives from 116,9 to 40,8 ppm.

Regarding the microbial load, E. coli didn't present at any type of paste over yhe course of analysis. In staphylococci and yeast-mould showed low nd below 10 cfu/g results as defined by the E.U. regulation.

Finally there was an increase of total variable count with greater concentration in black olives and followed by kalamwn olives. Green olive paste showed the lowest concentration. Generally, the olive paste, based on quality of the oil content and the bacterial load, the best qualities was that of olive green an then followed by black olive and kalamwn.

Περιεχόμενα

Παράρτημα Πινάκων	3
Παράρτημα Σχημάτων	4
1. Εισαγωγή.....	6
2. Βιβλιογραφική Ανασκόπηση	7
2.1 Επιτραπέζια Ελιά.....	7
2.1.1 Ελληνικές ποικιλίες επιτραπέζιας ελιάς	7
2.1.2. Συστατικά του καρπού της ελιάς.....	7
2.1.3. Ελαιόλαδο	8
2.2. Κυριότερες αλλοιώσεις ελαιόλαδου	10
2.2.1. Υδρόλυση.....	10
2.2.2. Οξειδωση	11
2.3. Πάστα ελιάς.....	14
2.3.1. Παραγωγή πάστας ελιάς	14
2.4. Κριτήρια ποιότητας πάστας ελιάς	16
2.4.2. Κριτήρια ποιότητας ελαιόλαδου πάστας ελιάς	22
3. Σκοπός Εργασίας.....	26
4. Πειραματικό Μέρος	27
4.1. Υλικά και Μέθοδοι	27
4.1.1. Υλικά.....	27
4.1.2 Μέθοδοι Ανάλυσης.....	28
4.1.3 Μέθοδοι στατιστικής ανάλυσης των αποτελεσμάτων.....	46
5. Αποτελέσματα – Συζήτηση.....	48
5.1 Τιμές κριτηρίων ποιότητας ελαιολάδων των δειγμάτων πάστας	48
5.1.1 Προσδιορισμός της οξύτητας του περιεχόμενου ελαιολάδου	48
5.1.2 Προσδιορισμός του αριθμού υπεροξειδίων του περιεχόμενου ελαιολάδου	51
5.1.3 Τιμές των ειδικών συντελεστών απορρόφησης K_{232} , K_{270} και Δ_K στα δείγματα πάστας ελιάς.....	54
5.1.4 Προσδιορισμός της περιεκτικότητας των φαινολών του περιεχόμενου ελαιολάδου των δειγμάτων	60
5.2 Μικροβιακές Τιμές κριτηρίων ποιότητας στους 3 τύπους πάστας ελιάς που αναλύθηκαν.....	62

4. Συμπεράσματα	65
5. Προτάσεις για μελλοντική έρευνα.....	67
6. Βιβλιογραφία.....	68
Ξενόγλωσση Βιβλιογραφία	68
Ελληνική Βιβλιογραφία.....	70
9. Παράρτημα	71
Π1. Έλεγχος της οξύτητας	71
Π2. Έλεγχος τιμής υπεροξειδίων	79
Π3. Μεταβολή των ειδικών συντελεστών απορρόφησης K_{232} , K_{270} & ΔK	84
Π3.1 Μεταβολή του ειδικού συντελεστή απορρόφησης K_{232}	84
Π3.2 Μεταβολή του ειδικού συντελεστή απορρόφησης K_{270}	87
Π3.3 Μεταβολή της σχέσης ΔK	91
Π4. Έλεγχος συγκέντρωσης φαινολικών ενώσεων	92

Παράρτημα Πινάκων

Πίνακας 1.	Μέση σύσταση του ελαιολάδου.....	9
Πίνακας 2.	Κριτήρια ποιότητας ελαιολάδου (επίσημη εφημερίδα της ευρωπαϊκής ένωσης L161/13, 2007).....	10
Πίνακας 3.	Όρια μικροβιακού φορτίου που ισχύουν για την πάστα της ελιάς.....	18
Πίνακας 4.	Σύγκριση χρόνου επώασης βασικών μικροοργανισμών με την παραδοσιακή μέθοδο και με την μέθοδο της συσκευής Soleris.....	20
Πίνακας 5.	Αποτελέσματα απορροφήσεων (A_{725}) για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης καφεϊκού οξέος.....	34
Πίνακας 6.	Τιμές της οξύτητας στα δείγματα πάστας ελιάς.....	48
Πίνακας 7.	Τιμές των υπεροξειδίων στα δείγματα πάστας ελιάς.....	51
Πίνακας 8.	Τιμές των ειδικών συντελεστών απορρόφησης K_{232} στα δείγματα πάστας ελιάς.....	54
Πίνακας 9.	Τιμές των ειδικών συντελεστών απορρόφησης K_{270} στα δείγματα πάστας ελιάς.....	56
Πίνακας 10.	Τιμές της σχέσης Δ_k στα δείγματα πάστας ελιάς.....	58
Πίνακας 11.	Περιεκτικότητα φαινολικών ενώσεων στα δείγματα της πάστα ελιάς (σε ppm).....	60
Πίνακας 12.	Αποτελέσματα μικροβιακού φορτίου Ζυμών – Μυκήτων για κάθε πάστα ελιάς.....	62
Πίνακας 13.	Αποτελέσματα μικροβιακού φορτίου E-coli για κάθε πάστα ελιάς.....	63
Πίνακας 14.	Αποτελέσματα μικροβιακού φορτίου σταφυλόκοκκου για κάθε πάστα ελιάς.....	63
Πίνακας 15.	Αποτελέσματα μικροβιακού φορτίου ολικής μεσόφιλης χλωρίδας για κάθε πάστα ελιάς.....	64

Παράρτημα Σχημάτων

Σχήμα 1.	Απεικόνιση φασματομετρικού προσδιορισμού μικροβιακού φορτίου πάστας.....	19
Σχήμα 2.	Τα τρία προς εξέταση δείγματα πάστας ελιάς.....	27
Σχήμα 3.	Καμπύλη αναφοράς με τη χρήση συγκεκριμένων μεθανολικών διαλυμάτων καφεϊκού οξέος για τον προσδιορισμό των φαινολών.....	34
Σχήμα 4.	Αραίωση δειγμάτων για την δοκιμή της ολικής μεσόφιλης Χλωρίδας.....	36
Σχήμα 5.	Αραίωση δειγμάτων για την δοκιμή του ελέγχου παρουσίας E.coli.....	38
Σχήμα 6.	Απεικόνιση αρνητικών – θετικών αποτελεσμάτων E.coli.....	39
Σχήμα 7.	Αραίωση δειγμάτων για την δοκιμή του ελέγχου παρουσίας Ζυμών – Μυκήτων.....	41
Σχήμα 8.	Απεικόνιση αρνητικών – θετικών αποτελεσμάτων ζυμών – μυκήτων.....	42
Σχήμα 9.	Απεικόνιση αρνητικών – θετικών αποτελεσμάτων σταφυλόκοκκων.....	43
Σχήμα 10.	Αραίωση δειγμάτων για την δοκιμή του ελέγχου παρουσίας Staph.....	45
Σχήμα 11.	Μεταβολές στον αριθμό της οξύτητας στις τρεις πάστες ελιάς κατά την διάρκεια της αποθήκευσης.....	49
Σχήμα 12.	Η επίδραση των παραγόντων «Χρόνος» και «Ποικιλία πάστας ελιάς» στον αριθμό της οξύτητας.....	50
Σχήμα 13.	Μεταβολές του αριθμού υπεροξειδίων στις τρεις πάστες ελιάς κατά την διάρκεια της αποθήκευσης.....	52
Σχήμα 14.	Η επίδραση των παραγόντων «Χρόνος» και «Ποικιλία πάστας ελιάς» στην τιμή των υπεροξειδίων.....	53

Σχήμα 15.	Μεταβολές στον ειδικό συντελεστή K_{232} στις τρεις πάστες ελιάς κατά την διάρκεια της αποθήκευσης.....	54
Σχήμα 16.	Η επίδραση των παραγόντων «Χρόνος» και «Ποικιλία πάστας ελιάς» στον ειδικό συντελεστή K_{232}	55
Σχήμα 17.	Μεταβολές στον ειδικό συντελεστή K_{270} στις τρεις πάστες ελιάς κατά την διάρκεια της αποθήκευσης.....	56
Σχήμα 18.	Η επίδραση των παραγόντων «Χρόνος» και «Ποικιλία πάστας ελιάς» στον ειδικό συντελεστή K_{270}	57
Σχήμα 19.	Μεταβολές της ποσότητας των φαινολών στις τρεις πάστες ελιάς κατά την διάρκεια της αποθήκευσης.....	60
Σχήμα 20.	Η επίδραση των παραγόντων «Χρόνος» και «Ποικιλία πάστας ελιάς» στην ποσότητα των φαινολικών ενώσεων.....	61

1. Εισαγωγή

Η πάστα ελιάς είναι ένα νέο προϊόν το οποίο εμφανίστηκε σε παγκόσμια κλίμακα μόλις πριν μια δεκαετία περίπου. Μετά από έρευνα στο διαδίκτυο, η Ελλάδα βρέθηκε να κατέχει σημαντική θέση στην παγκόσμια αγορά όσον αφορά την παραγωγή και διακίνηση του προϊόντος.

Είναι ένα προϊόν που παράγεται από την επεξεργασμένη βρώσιμη ελιά και πρέπει να είναι παχύρρευστη με άρωμα συγκρίσιμο με το χαρακτηριστικό άρωμα του ελαιολάδου (Κυριτσάκης, 2007).

Τα κυριότερα συστατικά του προϊόντος με την επωνυμία «πάστα ελιάς» είναι η επιτραπέζια ελιά και το ελαιόλαδο. Η πάστα ελιάς λόγω της περιεκτικότητας της σε ελαιόλαδο αλλά και των συστατικών του καρπού, επηρεάζεται από πιθανές αλλοιώσεις του. Οι κυριότερες αλλοιώσεις είναι η υδρόλυση και η οξειδωση (Φωτοοξείδωση και αυτοοξείδωση).

(Psomiadou and Tsimidou, 2002).

Αναλυτικότερα τα σημαντικότερα κριτήρια για την ποιότητα του ελαιολάδου που εμπεριέχεται στην πάστα είναι ο αριθμός οξύτητας, η τιμή υπεροξειδίων, η ποσότητα φαινολών και οι ειδικοί συντελεστές K_{232} , K_{270} & Δ_K (Mendez and Falque, 2006). Όσο αφορά την ποιότητα της ίδιας της πάστας το βασικότερο κριτήριο είναι η παρουσία της μικροχλωρίδας της γι' αυτό και γίνεται έλεγχος της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας, σταφυλόκοκκων, ζυμών – μυκήτων και της E.coli.

Έτσι σκοπός της παρούσης ερευνητικής εργασίας είναι η μελέτη της μεταβολής των ποιοτικών χαρακτηριστικών του ελαιολάδου και της πάστας σε τρεις διαφορετικές ποικιλίες ελιών (πράσινης, μαύρης και καλαμών), μέσα σε πάροδο τριών μηνών από την ημερομηνία προμήθειας.

2. Βιβλιογραφική Ανασκόπηση

2.1 Επιτραπέζια Ελιά

Η επιτραπέζια ελιά εμπίπτει στην κατηγορία τροφίμων φυτικής προέλευσης διατηρημένων με αλάτι, ξύδι, λάδι ή οινόπνευμα (*Κώδικας Τροφίμων, Ποτών και Αντικειμένων Κοινής Χρήσης, 2003*). Είναι οι «ώριμοι καρποί ή ημιώριμοι καρποί της ευρωπαϊκής ελιάς οι διατιθέμενοι στην κατανάλωση, κατόπιν ειδικής επεξεργασίας και που έγιναν διατηρήσιμοι με αλάτισμα ή σε άλμη ή σε ξύδι ή με ελαιόλαδο». Οι όροι που πρέπει να πληροί το προϊόν αναφέρονται στην παράγραφο 9 του άρθρου 123 (*κεφάλαιο XIII*) του Κώδικα(ΚΤΠ).

2.1.1 Ελληνικές ποικιλίες επιτραπέζιας ελιάς

Οι χαρακτηριστικότερες ελληνικές ποικιλίες που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή επιτραπέζιας ελιάς είναι η Καλαμών, η Νυχάτη, η Κονσερβολιά (ή ελιά Αμφίσσης) και η Χαλκιδικής.

2.1.2. Συστατικά του καρπού της ελιάς

Ο ελαιόκαρπος αποτελείται από τρία βασικά μέρη: την επιδερμίδα (*επικάρπιο*), την σάρκα (*μεσοκάρπιο*) και τον πυρήνα (*ενδοκάρπιο*). Αποτελείται από περίπου 70% χυμό (νερό και λάδι) 40-60% νερό και 10-30% λάδι. Ο ελαιόκαρπος είναι περίπου 30% στερεό επί ξηρού, 1-3% κουκούτσι, 8-10% η επιδερμίδα και στερεά σάρκας, 3% σάκχαρα, 2% πρωτεΐνες, και 2% άλλες ενώσεις όπως οξέα, βιταμίνες, μέταλλα, και πηκτίνες. Σε μια επί ξηρού βάση, η επιδερμίδα, που αντιπροσωπεύει μόνο το 3% του βάρους του ελαιοκάρπου, και περιέχει περίπου 3% λάδι. Ο πυρήνας αντιπροσωπεύει το 23% του βάρους του ελαιοκάρπου και περιέχει περίπου 1% λάδι. Το περισσότερο ελαιόλαδο βρίσκεται στην σάρκα, η οποία αντιπροσωπεύει περίπου το 70% του βάρους του καρπού και περιέχει περίπου 50% ελαιόλαδο. Δεν μπορεί όλο το ελαιόλαδο να εξαχθεί από τα στερεά με μόνο μια φυσική επεξεργασία, έτσι τα στερεά συνήθως περιέχουν 6-10% ελαιόλαδο ανάλογα με την ποικιλία, την ωριμότητα, και

την αποδοτικότητα της μεθόδου εξαγωγής. Τα στερεά περιέχουν 25-70% υγρασία ανάλογα με την επεξεργασία που χρησιμοποιήθηκε (Vossen, 2007).

Οι ποικιλίες με μεγάλο ποσοστό ελαιολάδου χρησιμοποιούνται για ελαιοποίηση. Αντίθετα ο καρπός των μεγαλόκαρπων ποικιλιών που περιέχουν μικρό ποσοστό ελαιολάδου και μεγάλο ποσοστό σακχάρων χρησιμοποιείται συνήθως για την παρασκευή της βρώσιμης ελιάς (επιτραπέζιας) (Κυριτσάκης,2007). Επίσης οι ελιές αυτές χρησιμοποιούνται και για την παρασκευή ελαιόπαστας (Romero et al,2004).

Η επεξεργασία των μαύρων ελιών αποτελείται από την συντήρηση των καρπών στην άλμη ή σε όξινο διάλυμα και κατόπιν σκουραίνουν με τον αέρα υπό αλκαλικές συνθήκες. Οι φαινόλες, κυρίως η ελαιωρωπαΐνη διασκορπίζονται από την σάρκα των ελιών στα περιβάλλοντα διαλύματα κατά την διάρκεια της συντήρησης και εμφανίζεται η όξινη υδρόλυσή τους. Στην συνέχεια οι όρθοδιφαινόλες οξειδώνονται και πολυμερίζονται καθώς οι ελιές σκουραίνουν. Στις μαύρες ελιές με την μείωση της ελαιωρωπαΐνης παρατηρείται μια αύξηση του γλυκοσιδίου της υδροξυτυροσόλης κατά την διάρκεια της ωρίμανσης και αυτή η ουσία γίνεται επικρατέστερη στις ώριμες μαύρες ελιές (Romero et al, 2004).

Οι ελιές καλαμών συγκομιδίζονται όταν είναι πλήρως ώριμες και τοποθετούνται άμεσα στην άλμη για να γίνει η ζυμωτική ζύμωση. Οι κύριες αλλαγές στις φαινόλες είναι η υδρόλυση του οξέος της ελαιωρωπαΐνης και του γλυκοσιδίου της υδροξυτυροσόλης και ο πολυμερισμός των ανθοκυανών που συμβάλει στην σταθεροποίηση του χρώματος. Όσον αφορά στο ελαιόλαδο οι κύριες απλές φαινολικές ενώσεις (των επιτραπέζιων ελιών) είναι η υδροξυτυροσόλη και η τυροσόλη (Romero et al, 2004).

2.1.3. Ελαιόλαδο

Το ελαιόλαδο είναι το έλαιο της ελιάς, δηλαδή του καρπού της ελιάς της Ευρωπαϊκής (*olea Europaea*) και το οποίο λαμβάνεται με μηχανικό τρόπο. Χαρακτηριστικό του ελαιολάδου είναι ότι προέρχεται από τον χυμό του καρπού της ελιάς και είναι το μόνο έλαιο που μπορεί να καταναλωθεί όπως ακριβώς λαμβάνεται από τον καρπό και εφόσον υποστεί την κατάλληλη επεξεργασία διατηρεί αμετάβλητη την γεύση και το άρωμα του.

Το ελαιόλαδο είναι μίγμα τριγλυκεριδίων δηλαδή τριεστέρων της γλυκερόλης με ανώτερα λιπαρά οξέα. Το μεγαλύτερο ποσοστό των λιπαρών οξέων καταλαμβάνουν

τα ακόρεστα, από τα οποία το ελαϊκό οξύ περιέχεται σε μεγαλύτερο ποσοστό και ακολουθούν το λινελαϊκό, το λινολενικό, το αραχιδονικό και το παλμιτολεϊκό. Από τα κορεσμένα σε μεγαλύτερο ποσοστό συμμετέχει το παλμιτικό οξύ ακολουθεί το στεατικό και σε πάρα πολύ μικρή ποσότητα το μυριστικό και το αραχιδονικό (Κυριτσάκης, 1993).

Πίνακας 1. Μέση σύσταση του ελαιολάδου.

Παλμιτικό οξύ (C16:0)	7,5 - 20 %
Παλμιτελαϊκό οξύ (C16:1)	0,3 – 30,5 %
Στεατικό οξύ (C18:0)	0,5 – 5,0 %
Ελαϊκό οξύ (C18:1)	55,0 – 83,0 %
Λινελαϊκό οξύ (C18:2)	3,5 – 21 %
Άλλα	1,5 – 3,5 %

Η σύσταση του ελαιολάδου σε λιπαρά οξέα διαφέρει από δείγμα σε δείγμα και εξαρτάται από πάρα πολλούς παράγοντες όπως για παράδειγμα τη ποικιλία του ελαιόδεντρου, τις κλιματολογικές αλλαγές, την ωριμότητα του καρπού κτλ.

Άλλες ουσίες που περιέχονται στο ελαιόλαδο (από άλλα συστατικά που προέρχονται από τον ελαιόκαρπο ή σχηματίζονται κατά την παραλαβή του) είναι οι τοκοφερόλες που συναντιούνται στις ισομερείς μορφές α, β, γ και δ, οι φαινόλες με κυριότερους αντιπροσώπους την τυροσόλη και την 3-υδροξυτυροσόλη, οι στερόλες, υδρογονάνθρακες, φωσφολίπη, χρωστικές, όπως η χλωροφύλλη και τα καροτινοειδή, αλλά και διάφορα αρωματικά συστατικά (Κυριτσάκης, 1993).

Το ελαιόλαδο αποτελεί το κύριο προϊόν του καρπού του ελαιόδεντρου (Patterson, 1989). Ανάλογα με τα χαρακτηριστικά του ελαιολάδου, αυτό κατατάσσεται σε διάφορες ποιοτικές κατηγορίες, όπως φαίνεται στον πίνακα 2 που ακολουθεί.

Πίνακας 2. Κριτήρια ποιότητας ελαιόλαδου (επίσημη εφημερίδα της ευρωπαϊκής ένωσης L 161/13, 2007)

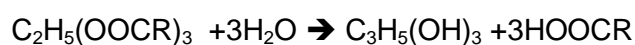
Κατηγορία	Οξύτητα (%)	Αριθμός υπεροξειδίων (meq O ₂ /Kg)	K ₂₃₂	K ₂₇₀	Δ _K
Εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο	<0,8	<20	<2,5	<0,20	<0,01
Παρθένο ελαιόλαδο	<2,0	<20	<2,6	<0,25	<0,01
Παρθένο λαμπαντέ	>2,0	>20	<3,70	>0,25	–
Εξευγενισμένο ελαιόλαδο	<0,5	<5	<3,40	<1,20	<0,16

2.2. Κυριότερες αλλοιώσεις ελαιόλαδου

Το ελαιόλαδο είναι επιρρεπείς στις αλλοιώσεις αυτού. Οι κυριότερες αλλοιώσεις του ελαιόλαδου είναι η υδρόλυση και η οξειδωση (αυτοξείδωση και φωτοξείδωση) (Psomiadou & Tsimidou, 2002a; Psomiadou & Tsimidou, 2002b).

2.2.1. Υδρόλυση

Η υδρόλυση, γνωστή και ως υδρολυτικό τάγγισμα, προκύπτει από την αντίδραση των λιπαρών υλών με το νερό, απελευθερώνοντας ελεύθερα λιπαρά οξέα (FFA) από τα μόρια των τριγλυκεριδίων:



Μερική υδρόλυση δίνει μόνο και διγλυκερίδια ενώ μερικά μόρια γλυκερόλης μπορεί τελικώς να σπάσουν σε $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$, ανάλογα με τις συνθήκες.

Η υδρόλυση συνοδεύεται με αύξηση της οξύτητας και αλλαγή της γεύσης, μειονεκτήματα τα οποία έχουν σαν αποτέλεσμα την υποβάθμιση της εμπορικής αξίας των λιπαρών υλών (Κυριτσάκης, 1993). Τα λιπαρά οξέα με μήκος αλυσίδας μικρότερο από 14 άνθρακες, παρουσιάζουν την πιο έντονα δυσάρεστη οσμή και γεύση. Η υδρόλυση επηρεάζεται από την υγρασία και την θερμότητα. Εφόσον τα ελεύθερα λιπαρά οξέα βοηθούν στην αύξηση της διαλυτότητας του νερού στο λάδι, η υδρόλυση γίνεται αυτοκαταλυτική.

Η μεγάλη υγρασία ευνοεί επίσης και την ανάπτυξη μικροοργανισμών (βακτήρια, ζύμες, μούχλα) στη σάρκα του καρπού, οι οποίοι προκαλούν επίσης, υδρόλυση των γλυκεριδίων, την λεγόμενη μικροβιακή λιπόλυση.

2.2.2. Οξειδωση

Η ακορεστότητα των λιπαρών οξέων κάνει τα λίπη και έλαια ευάλωτα σε αντίδραση του οξυγόνου, που οδηγεί σε σύνθετες χημικές αλλαγές, οι οποίες σταδιακά εκδηλώνονται με την ανάπτυξη δυσάρεστων οσμών και γεύσεων στα τρόφιμα. Η διαδικασία αυτή, είναι γνωστή ως οξειδωση ή τάγγισμα. Η οξειδωση ανάλογα με τις συνθήκες κάτω από τις οποίες πραγματοποιείται, διακρίνεται σε αυτοοξειδωση και φωτοοξειδωση.

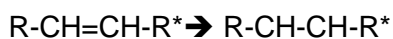
2.2.2.1. Αυτοοξειδωση

Η τάγγιση των λιπαρών ουσιών ολοκληρώνεται μέσα σε τρία στάδια.

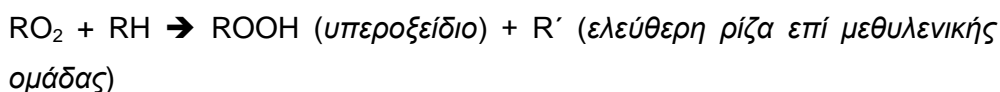
Στο πρώτο στάδιο δημιουργούνται ελεύθερες ρίζες επί των μακρομορίων των λιπαρών ουσιών. Σε επόμενο στάδιο, η αντίδραση αυτοκαταλύεται και μπορεί, θεωρητικά να προχωρήσει με ταχύτατο ρυθμό μέχρι της εξαντλήσεως όλων των υγιών ακόρεστων λιπαρών οξέων, υπό τον όρο ότι, είναι απρόσκοπτη η τροφοδοσία του συστήματος με οξυγόνο.

Σχηματικά, τα δύο στάδια της επαγωγής και της διάδοσης, μπορούν να απεικονισθούν κατά τον ακόλουθο τρόπο:

- **Στάδιο επαγωγής**



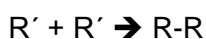
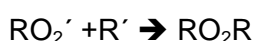
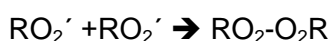
- **Στάδιο διαδόσεως**



Η διαδικασία επαναλαμβάνεται, αφού για κάθε μόριο σχηματιζόμενου υδροϋπεροξειδίου του λιπαρού οξέος, δημιουργείται και μια ελεύθερη ρίζα (μονήρες ηλεκτρόνιο) επί μιας μεθυλενικής ομάδας ενός άλλου μορίου λιπαρού οξέος.

- **Στάδιο τερματισμού**

Ο τερματισμός της διαδικασίας της ταγγίσεως θεωρητικά είναι δυνατός βάσει των ακόλουθων μηχανισμών:



Τέλος, οι αντιοξειδωτικές ουσίες, που είναι συνήθως υδροξυενώσεις, κορέννουν τις ελεύθερες ρίζες των λιπαρών οξέων (τα μονήρη ηλεκτρόνια) δημιουργώντας όμοιες επί του ίδιου τους μορίου. Ελεύθερες ρίζες επάνω στο μόριο της αντιοξειδωτικής ουσίας, δεν παίρνουν μέρος στην αλυσιδωτή αντίδραση της ταγγίσεως, γιατί αδρανοποιούνται διαμέσου διμερισμού ή άλλων αντιδράσεων κατά το ακόλουθο πρότυπο:



Από όλες τις αντιοξειδωτικές ουσίες, οι τοκοφερόλες προλαμβάνουν την οξείδωση των λιπαρών ουσιών *in vivo* και είναι για τον λόγο αυτόν πολύτιμα πρόσθετα του σιτηρεσίου του ανθρώπου και των ανωτέρων ζώων.

Τέλος θα πρέπει να σημειωθεί ότι η προστιθέμενη αντιοξειδωτική ουσία αδρανοποιείται. Κατά συνέπεια, η προστασία είναι προσωρινή, εκτός αν προστίθεται νέα ποσότητα αντιοξειδωτικού κατά διαστήματα. Γενικά, η αντίδραση $A' + RH \rightarrow AH + R'$ δεν είναι δυνατή (Μπαλατσούρας, 1997)

2.2.2.2 Φωτοξείδωση

Η φωτοξείδωση συνδέεται με τον σχηματισμό μιας ενεργοποιημένης μορφής οξυγόνου, του οξυγόνου απλής κατάστασης σε αντίθεση με την αυτοξείδωση που προκαλείται από το κοινό οξυγόνο, ή οξυγόνο τριπλής κατάστασης. Συγκεκριμένα η φωτοξείδωση ξεκινά όταν οι χρωστικές που περιέχει η λιπαρή ύλη έρθουν σε επαφή με το φως (κατευθείαν ηλιακό, διάχυτο φως δωματίου ή φως φθορισμού). Η απορρόφηση φωτός στο ορατό ή κοντά στο υπεριώδες φάσμα, έχει σαν αποτέλεσμα την μετατροπή των ευαίσθητοποιιών ουσιών στην ηλεκτρονική διεγερμένη κατάσταση τους. Συνεπώς, οι ουσίες αυτές είναι ικανές να μεταφέρουν την επιπλέον ενέργειά τους στο οξυγόνο που υπάρχει είτε στον ελεύθερο χώρο των δοχείων συσκευασίας είτε διαλυμένο στο λάδι. Η ενέργεια που απορροφάται προκαλεί αλλαγή στην κατανομή των ηλεκτρονίων του οξυγόνου, οδηγώντας στον σχηματισμό μιας περισσότερο ενεργού μορφής οξυγόνου, του οξυγόνου απλής κατάστασης. Αυτό το οξυγόνο αντιδρά περίπου 1000-10000 φορές πιο γρήγορα από το κανονικό οξυγόνο και είναι ικανό να αντιδράσει με ένα μόριο λιπιδίου σχηματίζοντας υπεροξειδία (Κυριτσάκης, 1993).

Το φως συμβάλει κατά πολύ στο οξειδωτικό τάγγισμα, ακόμα και απουσία χλωροφύλλης, γιατί η ενέργειά του διασπά τα υδροϋπεροξειδία κατά τα πρώτα στάδια του ταγγίσματος κατά το ακόλουθο πρότυπο: $ROOH \xrightarrow{\text{φως}} RO' + \cdot OH$

(Μπαλατσούρας, 1997).

2.3. Πάστα ελιάς

Η πάστα ελιάς όπως αναφέρθηκε είναι ένα προϊόν που παράγεται από την επεξεργασμένη βρώσιμη ελιά και πρέπει να είναι παχύρρευστη, με άρωμα συγκρίσιμο με το χαρακτηριστικό άρωμα του ελαιολάδου (Κυριτσάκης, 2007).

Τα κύρια συστατικά της πάστας είναι ο ελαιόκαρπος και το ελαιόλαδο και η παραγωγή της επηρεάζεται από την εξέλιξη του βιομηχανικού τομέα της βρώσιμης ελιάς.

Στον κανονισμό 2081/92 που θέσπισε η Ε.Ε. ορίζονται οι προϋποθέσεις που θα πρέπει να πληροί ο ελαιώνας η παραγωγή του οποίου μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή της πάστας ελιάς. Ορίζονται επίσης, η διαδικασία συγκομιδής των ελιών και οι συνθήκες επεξεργασίας τους πριν αυτές αποτελέσουν την πρώτη ύλη για το προϊόν της πάστας ελιάς.

2.3.1. Παραγωγή πάστας ελιάς

Τα ενδιαφέροντα από χημική άποψη στάδια μιας τυπικής διαδικασίας παρασκευής πάστας ελιάς είναι η αφαλάτωση του επεξεργασμένου ελαιόκαρπου (είτε ως πράσινη, είτε σαν καλαμών ή μαύρη σε άλμη) αμέσως μετά την παραλαβή του και η θερμική επεξεργασία στην οποία υποβάλλεται το προϊόν. Πριν τη συσκευασία παρεμβάλεται ένα στάδιο θέρμανσης, και σε μεταγενέστερο στάδιο το συσκευασμένο προϊόν παστεριώνεται για την εξασφάλιση ελάχιστου μικροβιακού φορτίου. Για την παρασκευή της πάστας ελιάς ακολουθείτε η παρακάτω διαδικασία :

- 1. Παραλαβή πρώτης ύλης:** οι ελιές, οι οποίες μπορεί να έχουν επεξεργαστεί είτε σαν πράσινη είτε σαν καλαμών είτε σαν μαύρη σε άλμη παραλαμβάνονται μέσα σε δοχεία. Οι ακατάλληλες ελιές δεν παραλαμβάνονται για την παρασκευή της πάστας.
- 2. Αφαλάτωση:** οι επεξεργασμένες ελιές, εφόσον αναφερθήκαμε σε βρώσιμες ελιές σε άλμη, οδηγούνται σε μια δεξαμενή με παροχή νερού και εκεί πραγματοποιείται η αφαλάτωση και η απομάκρυνση των ξένων ουσιών. Στην συνέχεια οι επεξεργασμένες ελιές μεταφέρονται σε ειδικούς χώρους με

ρυθμιζόμενη θερμοκρασία για ξήρανση όπου και παραμένουν για χρονικό διάστημα από 24 έως 48 ώρες.

3. **Εκπυρήνωση:** οι ελιές οδηγούνται στο μηχάνημα εκπυρήνωσης το οποίο έχει έμβολα διαμέτρου 4 – 5 mm, όπου και πραγματοποιείται η απομάκρυνση του πυρήνα.
4. **Πολτοποίηση ελιάς:** μετά την εκπυρήνωση οι ελιές με ειδική μεταφορική ταινία οδηγούνται στο μηχάνημα πολτοποίησης.
5. **Προσθήκη πρόσθετων υλικών:** στο στάδιο αυτό γίνεται η προσθήκη των διάφορων αρωματικών υλών σε δεξαμενή με αναδευτήρα συνεχούς λειτουργίας έτσι ώστε να αποκτήσει το προϊόν το χαρακτηριστικό άρωμα και γεύση.
6. **Συσκευασία:** η πάστα θερμαίνεται στους 60 °C και στην συνέχεια περνάει στην μηχανή γεμίσματος των δοχείων τα οποία κλείνονται αεροστεγώς αφαιρώντας τον αέρα και αντικαθιστώντας τον με αδρανή αέρια. Τα δοχεία που χρησιμοποιούνται για την τοποθέτηση της πάστας είναι συνήθως γυάλινα βάζα τα οποία έχουν χωρητικότητα 100 – 200 g.
7. **Παστερίωση:** τα δοχεία παστεριώνονται σε θερμοκρασία 78 °C περίπου για 20min. Η θέρμανση της πάστας θα πρέπει να γίνεται ομοιόμορφα μέσα στο δοχείο.
8. **Ψύξη:** μετά την παστερίωση τα βαζάκια αφήνονται να ψυχθούν μέχρι να αποκτήσουν θερμοκρασία περιβάλλοντος.
9. **Αποθήκευση:** τα βαζάκια σε αυτό το στάδιο οδηγούνται σε ένα θάλαμο στο εσωτερικό του οποίου εκτοξεύεται αέρας με πίεση για να στεγνώσουν. Αμέσως μετά περνούν στο τυποποιητήριο όπου τοποθετούνται οι ετικέτες και γίνεται η απαραίτητη κωδικοποίηση. Τέλος το προϊόν τοποθετείται σε παλέτες και μεταφέρεται στην αποθήκη μέχρι την στιγμή που θα διοχετευτεί στην αγορά (Κυριτσάκης, 2007).

Τόσο κατά την παραγωγή της πάστας και ιδιαίτερα στο στάδιο της ζύμωσης όσο και στην αποθήκευση είναι δυνατόν να επιμολυνθεί η πάστα από μικροβιακό φορτίο. Για την αποφυγή της εμφάνισης του μικροβιακού φορτίου συνίσταται να λάβει χώρα σωστή παστερίωση (Swanson et al., 2001).

2.4. Κριτήρια ποιότητας πάστας ελιάς

2.4.1.1. Μικροβιακό φορτίο πάστας ελιάς

Όπως προαναφέρθηκε η πάστα ελιάς προέρχεται από την ζύμωση και η διαδικασία ζύμωσης των επιτραπέζιων ελιών είναι αργή, καθώς η διάχυση των διαλυτών ενώσεων μέσω του δέρματος των καρπών γίνεται με αργούς ρυθμούς όταν καμία θερμική αγωγή αλυσίδας δεν έχει εφαρμοστεί. Gram(-) βακτήρια μικροοργανισμών εμφανίζονται τις πρώτες ημέρες αλλά εξαφανίζονται μετά από 1 ή 2 εβδομάδες. Σε αυτή τη ζύμωση υπερισχύουν οι ζύμες, οι οποίες φθάνουν στο μέγιστο αριθμό μετά από 10 έως 25 ημέρες. Ζυμωτικές ζύμες, όπως ο *Saccharomyces oleagi-nosus* και ο *Hansenula anomala* υπάρχουν πάντα, μαζί με μερικές προαιρετικές οξειδωτικές ζύμες, όπως *Torulopsis Candida*, *Debaryomyces hansenii*, *Candida diddensii*, και οξειδωτικά είδη όπως *Pichia membranaefaciens*" Επίσης, στελέχη των γενών *Pediococcus*, *Leu-conostoc*, και σε ένα μεταγενέστερο στάδιο *Lactobacillus* , εμφανίζονται και παράγουν οξέα. Τα σημαντικότερα προϊόντα ζύμωσης είναι γαλακτικά και οξικά οξέα, αιθανόλη, αιθυλακετάλη, ακεταλδεύδη, ακετόνη, ν-προπανόλη, 2-μέθυλ-προπανόλη και 2-μέθυλ-βουτανόλη. Σε αυτόν τον τύπο ζύμωσης, ο εξαγνισμός αέρα μπορεί να εφαρμοστεί για την αφαίρεση της υπερβολικής ποσότητας CO₂ και αποτρέπει την έκλυση αερίου και η συρρίκνωση των φρούτων. Κατά συνέπεια, η διαλυμένη συγκέντρωση οξυγόνου είναι υψηλότερη στην ζύμωση και αυτό ευνοεί την αύξηση των οξειδωτικών ζυμών. Το τελικό pH είναι μεταξύ 4,3 και 4,5, ενώ η συγκέντρωση οξέος ποικίλλει μεταξύ 0,3% και 0,5%, Για αυτόν τον λόγο, στο τέλος της ζύμωσης η συγκέντρωση άλατος πρέπει να αυξηθεί από 8% σε 10% για να εξασφαλιστεί η επαρκής συντήρηση.

Οι παραπάνω μικροοργανισμοί είναι δυνατόν να εμφανιστούν στην πάστα και έτσι βασικό στοιχείο είναι ο προσδιορισμός της μικροχλωρίδας της. Ακόμη κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης στην άλμη που πολλές φορές γίνεται έγχυση αέρα μπορεί να ενισχυθεί το μαύρισμα και έτσι είναι δυνατόν να αναπτυχθούν ζύμες. Στην περίπτωση αυτή και ανάλογα με τις ποικίλες διαφορές στα επίπεδα φαινολών και στην συγκέντρωση άλατος στην άλμη, είναι δυνατόν να εμφανιστούν βακτήρια γαλακτικού οξέος που μπορεί να υπερισχύσουν στη ζύμωση.

2.4.1.2. Μικροβιολογικές και χημικές αλλαγές κατά τη διάρκεια της ζύμωσης των ελιών

Στις επεξεργασμένες μαύρες ελιές η παστεριωμένη άλμη, η οποία χρησιμοποιείται περιστασιακά πριν από το οξειδωτικό μαύρισμα, μπορεί να αποτρέψει την απώλεια υφής λόγω των πεκτινολυτικών ζυμών. Η παστερίωση θα καταστρέψει επίσης τα βλαστικά κύτταρα *Bacillus spp.* Τα ενδοσπόρια *Bacillus spp* που μένουν ζωντανά είναι σε θέση να βλαστήσουν υπό τις κατάλληλες περιβαλλοντικές συνθήκες.

Σε όλους τους τύπους ελιών, οι αλλοιώσεις με ανάπτυξη δυσάρεστων οσμών μπορούν να προκληθούν από διάφορους αναερόβιους μικροοργανισμούς, όπως με την παραγωγή πρωτεολυτικών στελεχών *Clostridium*. Η οσμή βουτυρικού οξέος μπορεί να προκύψει από την ανάπτυξη των βακτηριδίων που παράγουν βουτυρικό οξύ, όπως *Clostridium butyricum*. Μια διαφορετική οσμή στο προϊόν αποκαλούμενη "zapatera" χαρακτηρίζεται από την ενδεχόμενη ανάπτυξη μιας αποκρουστικής περιπτωματικής δυσωδίας, και προκαλείται από το *Clostridium sporogenes*, *Clostridia* και στελέχη των *Propionibacterium spp.*

Η μόλυνση των συντηρημένων σε άλμη ελιών με αυτά τα αναερόβια βακτηρίδια μπορεί να προέλθει από το νερό, την σκόνη, ένζυμα ή από τον εξοπλισμό που χρησιμοποιείται στην επεξεργασία, ή ενδεχομένως από την επιφάνεια των ελιών.

Η αλλοίωση αρχίζει συνήθως στο αρχικό στάδιο της ζύμωσης όπου επικρατούν αναερόβιες συνθήκες και μπορεί γενικά να αποτραπεί με συνθήκες υγιεινής, έλεγχου του pH (<4.6) και συγκέντρωσης άλατος (25%) (Adams & Moss, 2007).

2.4.1.3. Έλεγχος ασφάλειας στις ζυμώμενες ελιές.

Το σημαντικότερο ζήτημα ασφάλειας στις ζυμώμενες ελιές εμφανίζεται να είναι ο κίνδυνος της ανάπτυξης του *Clostridium botulinum* και του σχηματισμού τοξινών. Εκτιμώντας ότι η αναερόβια αλλοίωση μπορεί να εμφανιστεί κατά τη διάρκεια των αρχικών ή μεταγενέστερων σταδίων επεξεργασίας, η εμφάνιση του *C. botulinum* εμφανίζεται σπάνια. Χαμηλό pH (< 4.4), σχετικά υψηλή συγκέντρωση άλατος NaCl 27% (w/v), ή ο συνδυασμός τους παρέχει επαρκή προστασία ενάντια στην αλλαντίαση. Τα γαλακτικά βακτήρια παράγουν το γαλακτικό και οξικό οξύ. Μια προστατευτική επίδραση των γαλακτικών βακτηρίων μπορεί να επιτευχθεί από την παραγωγή της βακτηριοσίνης, όπως *plantaricin* και *sakacin*, οι οποίες εντούτοις δεν

ήταν αποτελεσματικές έναντι του *C. botulinum*. Μια άλλη πτυχή της ασφάλειας τροφίμων είναι ο έλεγχος των παθογόνων όπως οι σαλμονέλες. Οι έρευνες στην ανασταλτική επίδραση της ελευρωπαίνης έδειξαν ότι αυτό το γλυκοσίδιο δεν εμποδίζει τους την ανάπτυξη του *S. enteritidis* πράγμα που σημαίνει ότι πρέπει να ληφθούν άλλα μέτρα για την προστασία του προϊόντος.

Οι επεξεργασμένες μαύρες ελιές στην άλμη αποστειρώνονται (121°C για 30 s) όταν το pH τους ποικίλλει από 5 σε 8 και η συγκέντρωση άλατος τους από 2,5% έως 5% w/v. Οι φυσικές μαύρες ελιές δεν μπορούν να αποστειρωθούν για λόγους απώλειας υφής. Για αυτόν τον λόγο, το pH τους στα λιανικά προϊόντα διατηρείται κάτω από 4,6 και η συγκέντρωση άλατος τους από 7% έως 8% w/v. Επιπλέον, άλατα καλίου επιτρέπονται σε αυτό το προϊόν σε μια τελική συγκέντρωση 0,05% w/v σορβικού οξέος. Οι ελιές μπορούν να φέρουν μούχλα *propagules*. Υπό κατάλληλες συνθήκες (αερόβια επώαση), η ανάπτυξη των μυκήτων ήταν σημαντική στις φρέσκες, κατεστραμμένες μαύρες ελιές και στην πάστα τους, αλλά ήταν ασθενής (ανάπτυξη) στις άθικτες μαύρες ελιές. Αυτό υπονοεί ότι προτιμάται η χρήση των άθικτων ελιών για την επιπλέον επεξεργασία, οι ελιές πρέπει να προστατευθούν από την ανάπτυξη της μούχλας σε ερμητικά σφραγισμένα εμπορευματοκιβώτια (Eltem, 1996).

Πίνακας 3. Όρια μικροβιολογικού φορτίου που ισχύουν για την πάστα της ελιάς.

Συνολικός Αριθμός (Total plate count)	< 1000 / g
Ζύμες και μύκητες	< 100 / g
Γαλακτικά βακτήρια	< 100 / g
Coliforms	< 10 / g
<i>E. Coli</i>	< 10 / g
<i>Staph. Aureus</i>	Αρνητικά / g
<i>Salmonella</i>	Αρνητικά / g
Enterobacteria	< 10 / g
<i>Clostridium perfigens</i>	< 10 / g

(Κυριτσάκης, 2007)

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΟΥ ΦΟΡΤΙΟΥ ΤΗΣ ΠΑΣΤΑΣ ΕΛΙΑΣ

Για τον προσδιορισμό του μικροβιακού φορτίου που μπορεί να εμφανιστεί τόσο στην παρασκευή όσο και στην αποθήκευση γίνεται χρήση των παραδοσιακών μεθόδων αλλά και μιας νέας μεθόδου της Soleris. Η νέα μέθοδος καταμέτρησης μικροβιακού φορτίου, έναντι των παραδοσιακών μεθόδων είναι αυτή της χρήσης συσκευών καταμέτρησης του μικροβιακού φορτίου. Η χρήση των καταμετρητών επίσης μας δίνει αποτελέσματα σε πολύ μικρότερο χρονικό διάστημα σε σχέση με τις κλασικές μεθόδους. Μια από αυτές τις τεχνικές είναι αυτή του καταμετρητή Soleris.

Η τεχνική της συσκευής Soleris απεικονίζει τις αλλαγές στα χημικά χαρακτηριστικά του υγρού μέσου ανάπτυξης των μικροβίων (*υποστρώματος*) και ανιχνεύει τους μικροοργανισμούς μέσω του pH και άλλων *αντιδραστηρίων*. Οι φασματοφωτομετρικές ιδιότητες των αντιδραστηρίων μεταβάλλονται μέσω της ενζυμικής μεταβολικής διαδικασίας που λαμβάνει χώρα και οι οποίες μπορούν να ανιχνευθούν φωτομετρικά με ένα οπτικό όργανο, οι οποίες καταγράφονται σε προκαθορισμένα χρονικά διαστήματα. Το βασικότερο σημείο της μεθόδου αυτής είναι ότι η παρακολούθηση των αλλαγών γίνεται σε ειδικά φιαλίδια στα οποία είναι συγκεκριμένη η ποσότητα των μικροοργανισμών που προκαλούν τις αλλαγές αυτές. (*Alles et. al, 2009*).

Ο πίνακας 3 δείχνει την μείωση του χρόνου στην ανάλυση και τον προσδιορισμό του μικροβιακού φορτίου των παραδοσιακών έναντι της μεθόδου Soleris, όπου χρησιμοποιήσαμε στο εργαστήριο.

Στο σχήμα 1 δείχνει το φιαλίδιο που χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό και απεικονίζει πως γίνεται φασματομετρικά η καταμέτρηση του μικροβιακού φορτίου της πάστας.



Σχήμα 1. Απεικόνιση φασματομετρικού προσδιορισμού μικροβιακού φορτίου πάστας

Πίνακας 4. Σύγκριση χρόνου επώασης βασικών μικροοργανισμών με την παραδοσιακή μέθοδο και με την μέθοδο της συσκευής Soleris.

ΤΕΣΤ	Τυπικά όρια προσδιορισμού	Παραδοσιακή μέθοδος Χρόνος εξέτασης	Soleris Τελικός χρόνος εξέτασης για αρνητικά ή κοντά στο όριο δείγματα	Soleris συντομότερος χρόνος εντοπισμού θετικών αποτελεσμάτων
Ολική μεσόφιλη Χλωρίδα	< 10.000	48 ώρες	18 ώρες	6-8 ώρες
Coliforms	< 100	24 ώρες	14 ώρες	6-10 ώρες
<i>E. Coli</i>	Αρνητικό	24 ώρες	20 ώρες	6-10 ώρες
Ζύμες Μύκητες	<100	5 ημέρες	72 ώρες	30-48 ώρες
Γαλακτικά Βακτήρια	<100	3-5 ημέρες	48 ώρες	30-35 ώρες

Αρχή λειτουργίας συσκευής

Η καρδιά του λειτουργικού συστήματος της συσκευής Soleris είναι το έτοιμο προς χρήση φιαλίδιο (Σχήμα 1). Το σύστημα αυτό έχει την ικανότητα να μετρά την μικροβιακή ανάπτυξη στο κάθε φιαλίδιο καταγράφοντας τις αλλαγές στην τιμή του pH καθώς και άλλες βιοχημικές αντιδράσεις. Τα πιο χαρακτηριστικά βήματα αυτής της μεθόδου είναι τα εξής :

1. Δείγματα έως και 5 ml (ανάλογα με το τεστ) προσθέτονται στα φιαλίδια τα οποία περιέχουν ήδη την προκαθορισμένη ποσότητα του αντίστοιχου υποστρώματος .
2. Η συσκευή καταγράφει αλλαγές στα χημικά χαρακτηριστικά του υποστρώματος και ο δείκτης αλλάζουν χρώμα ως αποτέλεσμα της μεταβολικής διεργασίας.
3. Οι οπτικές αλλαγές καταγράφονται στην ημίρρευστη περιοχή του φιαλιδίου κάθε 6 λεπτά, η οποία διαχωρίζεται από το δείγμα για την εξάλειψη τυχών παρεμβολών.
4. Οι αλλαγές του χρώματος, εκφράζονται σε οπτικές μονάδες, οι οποίες εντοπίζονται από τον οπτικό αισθητήρα και καταγράφονται στον υπολογιστή.

5. Όσο υψηλότερη είναι η τιμή των μικροοργανισμών τόσο μικρότερος ο χρόνος εντοπισμού των πρώτων θετικών αποτελεσμάτων.

Δυνατότητες προσδιορισμού της συσκευής Soleris

Τα φιαλίδια Soleris μπορούν να εντοπίσουν το ελάχιστο ένα μικροοργανισμό μέχρι 1×10^7 βακτήρια το μέγιστο. Το μεγάλο αυτό δυναμικό εύρος επιτρέπει να πάρουμε πληροφορίες για :

- Την παρουσία – απουσία μικροοργανισμών
- Αραίωση με προδιαγραφές
- Βαθμονόμηση/πιστοποίηση μεθόδων

Με την συσκευή Soleris υπάρχουν δυο τεχνικές προσδιορισμού ανάλογα με το είδος του μικροοργανισμού που πρόκειται να αναλυθεί.

Με την πρώτη μέθοδο που καλείται άμεση προσδιορίζονται η ολική μεσόφιλη χλωρίδα, ο σταφυλόκοκκος και η e-coli, ενώ με την μέθοδο που αποκαλείται φιαλίδιο σε φιαλίδιο προσδιορίζονται οι ζύμες και οι μύκητες. Αναλυτικότερα :

I. Άμεση μέθοδος

Η άμεση μέθοδος βασίζεται στην δημοφιλέστερη διαδικασία, στην οποία τα βακτηρίδια τρέφονται με τα σάκχαρα, μετατρέποντας αυτά τα σάκχαρα σε οξέα και μειώνοντας το pH της καλλιέργειας. Το κρίσιμο σημείο της βακτηριακής ανάπτυξης προκαλεί τον δείκτη του pH να αλλάζει χρώμα και στο σύστημα να καταγράφει θετικά αποτελέσματα του δείγματος.

II. Vial in vial – Μέθοδος φιαλίδιο μέσα σε φιαλίδιο

Η μοναδική αυτή μέθοδος σχεδιάστηκε για να βελτιώσει την ανίχνευση των μικροοργανισμών που είναι δύσκολο να αναπτηχθούν ή χρειάζονται μεγάλο χρονικό διάστημα. Το εσωτερικό φιαλίδιο περιέχει είτε κάποια ειδική καλλιέργεια είτε κάποια αποστειρωμένα αφουγγαράκια μέσα στο οποίο εμβολιάζεται το προς εξέταση δείγμα και στην συνέχεια τοποθετείται στο εξωτερικό φιαλίδιο το οποίο περιέχει ένα χρωμογόνο δείκτη. Όσο οι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται στο εσωτερικό φιαλίδιο, παράγεται αέριο διοξειδίου του άνθρακα που επιδρά στον δείκτη και παράγεται ένα καθαρά θετικό αποτέλεσμα.

Με τις παραπάνω μεθόδους υπάρχει η δυνατότητα σε σύντομο χρονικό διάστημα να γνωστοποιείται εάν το δείγμα είναι εντός ή εκτός των προδιαγραφών που ορίζεται.

2.4.2. Κριτήρια ποιότητας ελαιόλαδου πάστας ελιάς

Λόγω έλλειψης βιβλιογραφικών δεδομένων σχετικών με την μεταβολή των ποιοτικών χαρακτηριστικών της πάστας ελιάς, τόσο κατά την παρασκευή της όσο και κατά τον χρόνο αποθήκευσης εστιάσθηκε σε μεγάλο βαθμό η ανάλυση μας και στον έλεγχο των ποιοτικών χαρακτηριστικών του ελαιολάδου που συνόδευε τα δείγματα πάστας ελιάς εκτιμώντας ότι τα χαρακτηριστικά αυτά θα αποτελούν και δείκτες ποιότητας του όλου προϊόντος αυτού κάθε αυτού.

Τα σημαντικότερα κριτήρια για την ποιότητα του περιεχόμενου ελαιολάδου της πάστας ελιάς είναι η οξύτητα, ο αριθμός υπεροξειδίων, η ποσότητα των φαινολών και οι ειδικοί συντελεστές απορρόφησης (*Mendez & Falque, 2007*).

2.4.2.1.Οξύτητα ελαιολάδου πάστας ελιάς

Η οξύτητα ως γνωστό αποτελεί το βασικότερο κριτήριο ποιοτικής αξιολόγησης του ελαιολάδου. Με βάση την οξύτητα, το ελαιόλαδο διακρίνεται σε εδώδιμο ή βιομηχανικό και ανάλογα διαμορφώνεται η τιμή του. Είναι δυνατόν ελαιόλαδα με μικρή οξύτητα να είναι οξειδωμένα και να έχουν υποβαθμισμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά. (*Κυριτσάκης, 2007; Μπαλατσούρας, 1997*).

Η ελεύθερη οξύτητα στο ελαιόλαδο οφείλεται βασικά στη δράση της λιπάσης. Το ένζυμο αυτό υπάρχει στον ελαιόκαρπο και δρα όμως μόνο στην περίπτωση λύσεως της συνέχειας των ιστών (*άλεσμα, φυγοκέντριση πάστας κ.τ.λ.*). Κυριότερη πηγή λιπάσης είναι κατά σειρά οι μύκητες, οι ζύμες και τα βακτήρια που αναπτύσσονται, είτε στα νύγματα του δάκου, είτε στους σωρούς του ελαιοκάρπου κατά το μεσοδιάστημα μεταξύ συγκομιδής και βιομηχανικής επεξεργασίας (*Μπαλατσούρας, 1997*).

Η οξύτητα του ελαιολάδου εξαρτάται κατά κύριο λόγο από την ποιοτική κατάσταση του ελαιοκάρπου από τον οποίο προέρχεται και μεταβάλλεται πολύ λίγο μετά την παραλαβή του απ' αυτόν. Η μικρή αυτή αύξηση της οξύτητας του ελαιολάδου, μετά την παραλαβή του από τον ελαιόκαρπο, οφείλεται κυρίως στην παρουσία υδρολυτικών ενζύμων και υγρασίας στο ίζημα (*μούργα*), που συγκεντρώνεται στον πυθμένα των δοχείων αποθήκευσης και διατήρησης (*Κυριτσάκης, 2007*).

2.4.2.2. Αριθμός υπεροξειδίων ελαιολάδου πάστας ελιάς

Ο αριθμός των υπεροξειδίων αποτελεί ένα ακόμα κριτήριο αξιολόγησης της ποιότητας του ελαιολάδου. Είναι μια μέθοδος προσδιορισμού των πρωτογενών προϊόντων οξειδωσης. Τα προϊόντα αυτά είναι τα υδρουπεροξειδία τα οποία δημιουργούνται από τις ελεύθερες ρίζες τύπου R που έχουν σχηματιστεί αρχικά, με την απόσπαση ενός ατόμου υδρογόνου από το μόριο του ακόρεστου λιπαρού οξέος. (*Κυριτσάκης, 2007*). Με αυτό τον τρόπο έχουμε την αλλοίωση της ποιότητας του ελαιολάδου γιατί έχουμε την έναρξη της οξειδωτικής τάγγισης του. Όσο μεγαλύτερη η ποσότητα των ακόρεστων λιπαρών οξέων τόσο πιο γρήγορος είναι ο ρυθμός της οξειδωτικής διαδικασίας (*Bilancia et al., 2007*).

Άρα διαπιστώνουμε πως όσο μεγαλύτερη η τιμή του αριθμού υπεροξειδίων τόσο μεγαλύτερη είναι η υποβάθμιση του ελαιολάδου. Για να θεωρείται ένα ελαιόλαδο παρθένο θα πρέπει η τιμή των υπεροξειδίων να είναι μικρότερη ή ίση του 20 (*Fernandez et al 2004*).

2.4.2.3. Απορρόφηση στο υπεριώδες φάσμα του ελαιολάδου πάστας ελιάς

Καθώς το ελαιόλαδο που χρησιμοποιείται στις πάστες ελιάς δηλώνεται ως παρθένο ή εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο και προκειμένου να ληφθούν πληροφορίες για την οξειδωτική κατάσταση της λιπαρής φάσης που περιλαμβάνεται από τα δείγματα πραγματοποιείται φασματοφωτομετρική διερεύνηση στο υπεριώδες.

Σύμφωνα με τον κανονισμό ΕΟΚ αριθμ. 2568/91 ο "ειδικός συντελεστής απόσβεσης $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ " (η απόσβεση διαλύματος 1% του λίπους στον ορισμένο διαλύτη, σε πάχος 1

cm) της λιπαρής ύλης στα 232 και 270 nm μπορεί να δώσει πληροφορίες ως προς την ποιότητα ενός λίπους, την κατάσταση συντήρησης του και τις μεταβολές που έχουν επέλθει οφειλόμενες σε τεχνολογικές διαδικασίες.

Η απορρόφηση του ελαιολάδου στο υπεριώδες φάσμα είναι ακόμα μία μέθοδος προσδιορισμού της πορείας οξειδωσης του και είναι πολύ σημαντικός γιατί προσδιορίζει την ποιοτική κατάσταση του και συγκεκριμένα την οξειδωτική του αλλοίωση. Ακόμα είναι ένα κριτήριο νοθείας του ελαιολάδου με την ανάμιξή του με ραφινρισμένο ελαιόλαδο στην περίπτωση που έχουμε πολύ υψηλές τιμές (Κυριτσάκης, 2007).

Η μέθοδος στηρίζεται στο γεγονός ότι τα πρωτογενή προϊόντα της οξειδωσης των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (συζυγή υδροϋπεροξειδία) εμφανίζουν μέγιστο απορρόφησης σε μήκος κύματος 232nm, ενώ σε μήκος κύματος 270nm απορροφούν ορισμένα προϊόντα της διάσπασης των υδροϋπεροξειδίων. Μεγάλες τιμές απορρόφησης στα 270nm μπορεί να οφείλονται σε προχωρημένη οξειδωση του παρθένου ελαιολάδου, κυρίως όμως σε νοθεία του με εξευγενισμένο ελαιόλαδο ή σπορέλαιο. Αντίθετα μικρές τιμές K_{232} , K_{270} και ΔK υποδηλώνουν παρθένο ελαιόλαδο καλής ποιότητας (Κυριτσάκης, 2007).

Γενικά, υψηλές τιμές απορρόφησης στα μήκη αυτά, δείχνουν οξειδωση ή νοθεία ή και τα δύο. Καλύτερη εικόνα της ποιοτικής κατάστασης του ελαιολάδου δίνει ο προσδιορισμός των απορροφήσεων σε μήκη κύματος γύρω στα 270 nm και συγκεκριμένα στα 262, στα 268 και στα 274 nm, με την βοήθεια της εξίσωσης :

$$\Delta K = K_{268} - (K_{262} + K_{274}) / 2 \text{ (Κυριτσάκης, 2007).}$$

2.4.2.4. Φαινόλες ελαιολάδου πάστας ελιάς

Το ελαιόλαδο είναι πλούσιο σε αντιοξειδωτικά και τα πιο σημαντικό είναι οι πολυφαινόλες, οι τοκοφερόλες και οι χρωστικές ουσίες, δεδομένου ότι οι ενώσεις αυτές καθυστερούν την οξειδωση των λιπαρών οξέων και την παραγωγή δυσάρεστων γεύσεων (Baccouri et al., 2008). Το παρθένο ελαιόλαδο είναι το πιο σταθερό έλαιο σε σχέση με άλλα βρώσιμα έλαια λόγω της υψηλής περιεκτικότητας του σε φαινολικές ουσίες, τοκοφερόλες, καροτονοειδή και μονοακόρεστα λιπαρά οξέα (Tura et al., 2007).

Οι φαινολικές και πτητικές ενώσεις μπορούν να θεωρηθούν βασικοί παράγοντες για την ποιότητα του παρθένου ελαιολάδου. Η κύρια κατηγορία των φαινολών αποτελείται από παράγωγα των σεκοϊριδοειδών, εκτός των φαινολικών αλκοολών, των φαινολικών οξέων και των φλαβονοειδών. Τα σεκοϊριδοειδή έχουν βιολογική δραστηριότητα για την βελτίωση της διάρκειας ζωής του λαδιού. Οι ολικές φαινόλες του ελαιολάδου είναι πολύ σημαντικές γιατί επηρεάζουν την οξειδωτική σταθερότητα του ελαιολάδου αλλά και την αντοχή του στο χρόνο (*Angerosa et al., 2001*).

Οι φαινόλες αντιπροσωπεύουν την κατηγορία ενώσεων που κυρίως παρέχει τις οργανοληπτικές ιδιότητες και την αντίσταση στην οξείδωση των παρθένων ελαιολάδων επίσης συμβάλλουν στον καθορισμό σε μερικά από τα θρεπτικά χαρακτηριστικά τους (*Caronio & Gomes, 2001*).

Οι επιτραπέζιες ελιές είναι μια καλή πηγή φαινολικών αντιοξειδωτικών, και σε μερικές ποικιλίες η ποσότητα των φαινολικών ουσιών είναι ακόμα μεγαλύτερη και από την ποσότητα που περιέχεται στο παρθένο ελαιόλαδο (*Romero et al, 2004*). Κατά την διάρκεια της επεξεργασίας τους όμως υποβάλλονται σε χημικές αντιδράσεις και γενικά η συγκέντρωσή τους μειώνεται (*Romero et al, 2004*).

Αυτά τα φυσικά αντιοξειδωτικά παρέχουν στο ελαιόλαδο ορισμένα χημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Σε χημικό επίπεδο, υπάρχει ένας συσχετισμός μεταξύ των συνολικών πολυφαινολών και στη σταθερότητας του ελαιολάδου ενάντια στην οξείδωση (*Monteleone et al, 1998*). Ο *Chimi* και οι συνεργάτες του ανέφεραν ότι οι φαινολικές ενώσεις υποβιβάστηκαν σαν συνεπεία της αντιοξειδωτικής δραστηριότητάς τους και το ποσοστό υποβάθμισής τους συσχετίστηκε θετικά στην αντιοξειδωτική αποτελεσματικότητά τους (*Chimi et al, 1991*).

Ειδικότερα, μεταξύ των φυσικών αντιοξειδωτικών, φαινολικές ενώσεις, α - τοκοφερόλη και β - καροτίνη, αναφέρεται να έχουν διαδραματίσει ένα βασικό ρόλο στην παρεμπόδιση της οξείδωσης και έχουν συσχετιστεί με την σταθερότητα κατά την αποθήκευση των παρθένων ελαιολάδων (*Mendez & Falque, 2007*).

3. Σκοπός Εργασίας

Σκοπός της ερευνητικής εργασίας ήταν η μελέτη της μεταβολής των ποιοτικών χαρακτηριστικών του ελαιολάδου της πάστας μέσω του ελέγχου της οξύτητας, του αριθμού των υπεροξειδίων, των ειδικών συντελεστών $K_{232} - K_{270}$ και της ποσότητας των φαινολών. Ήταν επίσης και η καταμέτρηση του μικροβιακού φορτίου της πάστας με την βοήθεια συσκευής μέτρησης μικροβίων (*Neogen Soleris*), σε τρεις διαφορετικές ποικιλίες πάστας ελιάς (*πράσινη, καλαμών και μαύρη ελιά*) τόσο στο στάδιο της παραλαβής τους όσο και για το χρονικό διάστημα αποθήκευσης.

4. Πειραματικό Μέρος

4.1. Υλικά και Μέθοδοι

4.1.1. Υλικά

Δείγματα πάστας 3 τύπων ελιάς καλαμών, πράσινης και μαύρης σε άλμη, 30 στον αριθμό (30 βάζα των 135 g έκαστο από κάθε τύπο) αγοράστηκαν από σούπερ μάρκετ της περιοχής της Σίνδου το 2010.

Τα δείγματα κάθε τύπου ήταν της ίδιας σειράς και είχαν την ίδια ημερομηνία παραγωγής και λήξης. Η αποθήκευση των δειγμάτων έγινε στον χώρο του εργαστηρίου λιπαρών υλών και ελαίων σε μέρος απαλλαγμένο από φως, υγρασία και σε θερμοκρασία δωματίου. Η πειραματική διαδικασία διήρκησε περίπου τρεις μήνες (9 Μετρήσεις – Μέτρηση ανά 10 ημέρες) αλλά χρειάστηκε μεγάλο χρονικό διάστημα για την προετοιμασία του πειράματος και για την διεξαγωγή δοκιμαστικών μετρήσεων.

Το σχήμα 2 δείχνει τρία δείγματα από τους τρεις τύπους πάστας ελιάς που χρησιμοποιήθηκαν για τον πειρατισμό.



Σχήμα 2. Τα τρία προς εξέταση δείγματα πάστας ελιάς

Συστατικά πάστας ελιάς

Για τον τύπο Καλαμών

Ελιές καλαμών
Αλάτι
Κόκκινη πιπεριά
Ελαιόλαδο
Ξύδι
Ρίγανη
Διορθωτικό οξύτητας: γαλακτικό οξύ

Για τον τύπο Πράσινης ελιάς

Ελιές πράσινες
Ελαιόλαδο
Αλάτι
Κόκκινη πιπεριά
Αμύγδαλο
Μαϊντανός
Χυμός Λεμονιού
Διορθωτικό οξύτητας: γαλακτικό οξύ
Αντιοξειδωτικό ασκορβικό οξύ

Για τον τύπο Μαύρης ελιάς

Μαύρες ελιές
Χυμός λεμονιού
Ρίγανη
Διορθωτικό οξύτητας: γαλακτικό οξύ
Αλάτι
Ελαιόλαδο

4.1.2 Μέθοδοι Ανάλυσης

4.1.2.1. Αναλύσεις ελαιολάδου που περιείχε η πάστα ελιάς

4.1.2.1.1. Παραλαβή ελαιολάδου από την πάστα

Για την παραλαβή του ελαιολάδου από την πάστα ελιάς ακολούθησε η εξής διαδικασία : σε ποσότητα 30g πάστας προστίθονταν 10ml νερού θερμοκρασίας 35°C. Γίνονταν ανάμιξη και ακολούθησε φυγοκέντριση με την βοήθεια φυγοκέντρου (*Rotofix 32A, Hettich Zentrifugen*) για 10 min στις 4000 rpm.

4.1.2.1.2. Προσδιορισμός Οξύτητας

Με τον υπολογισμό της οξύτητας πραγματοποιείτε ο προσδιορισμός των ελεύθερων λιπαρών οξέων που υπάρχουν στο λάδι δηλαδή η υδρόλυση που έχουν υποστεί τα τριγλυκερίδια. Για το προσδιορισμό της οξύτητας χρησιμοποιήθηκε η μεθοδολογία που περιγράφεται στο *CR EEC/702/2007*.

Υλικά – Σκεύη

Κωνικές φιάλες (*Erlenmeyer*) των 250 ml

Αναλυτικός Ζυγός (*Kern 572*)

Προχοΐδα

Αντιδραστήρια

Αιθυλική αλκοόλη 95%, η οποία θερμάνθηκε μέχρι βρασμού και έγινε εξουδετέρωση των ελεύθερων οξέων με καυστικό νάτριο. Στο σημείο της εξουδετέρωσης παρουσία δείκτη φαινολοφθαλεΐνης, η αλκοόλη εμφανίζει ένα ελαφρό ροζ χρώμα .

Διάλυμα δείκτη φαινολοφθαλεΐνης 1% σε 95% αιθανόλη.

Διάλυμα καυστικού νατρίου κανονικότητας 0,1N.

Διαδικασία

Σε μια κωνική φιάλη των 250 ml ζυγίστηκαν 10 g δείγματος (*ελαιόλαδο*) στην συνέχεια προστέθηκαν 50 ml ζεστής εξουδετερωμένης αλκοόλης και 2-3 σταγόνες δείκτη φαινολοφθαλεΐνης.

Τέλος τιτλοδοτήθηκε το διάλυμα με προθήκη διαλύματος καυστικού νατρίου και ισχυρή ανάδευση της φιάλης μέχρι να εμφανιστεί ρόδινο χρώμα (*το οποίο θα πρέπει να παραμείνει για τουλάχιστον 20 δευτερόλεπτα*).

Υπολογισμός της οξύτητας

Ο υπολογισμός της οξύτητας έγινε με τα βοήθεια του παρακάτω τύπου και εκφράστηκε σε g ελαϊκού οξέος ανά 100 g ελαίου :

$$\text{Οξύτητα (\%)} = \frac{\text{ml NaOH} \times \text{κανονικότητα NaOH} \times 0,282 \times 100}{\text{Βάρος δείγματος (g)}}$$

(Όπου 0,282 το χιλιοστοϊσοδύναμο του ελαϊκού οξέος)

4.1.2.1.3. Προσδιορισμός αριθμού υπεροξειδίων

Για το προσδιορισμό του αριθμού των υπεροξειδίων χρησιμοποιήθηκε η μεθοδολογία που περιγράφεται στο *CR EEC/702/2007*.

Υλικά – Σκεύη

Εσφυρισμένες με πώματα κωνικές φιάλες των 250 ml

Αναλυτικός Ζυγός (*Kern 572*)

Προχοϊδα

Αντιδραστήρια

Διάλυμα Οξικού οξέος - χλωροφορμίου 3:2

Κορεσμένο διάλυμα ιωδιούχου καλίου

Διάλυμα θειοθειϊκού νατρίου ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 0,1N

Άμυλο 1% σε αποσταγμένο νερό

Διαδικασία

Ζυγίστηκαν με ακρίβεια 2 g ελαιολάδου σε κωνική φιάλη των 250 ml με εσφυρισμένο πώμα. Προστέθηκαν 25ml διαλύματος οξικού οξέος χλωροφορμίου και 1 ml κορεσμένο διάλυμα ιωδιούχου καλίου. Στην συνέχεια ακολούθησε ανάδευση και παραμονή στο σκοτάδι για ένα λεπτό. Τέλος έγινε προσθήκη 75 ml αποσταγμένου νερού και 2 ml δείκτη αμύλου. Ακολούθησε τιτλοδότηση με διάλυμα θειοθειϊκού νατρίου μέχρι τον αποχρωματισμό του προς εξέταση δείγματος (*εξαφάνιση του σκούρου χρώματος*).

Υπολογισμός αριθμού υπεροξειδίων

Ο υπολογισμός του αριθμού υπεροξειδίων έγινε με τον παρακάτω τύπο και εκφράστηκε σε meq O_2/kg ελαιολάδου :

$$A.Y \text{ (meq } \text{O}_2/\text{kg} \text{ ελαίου)} = \frac{\text{ml } \text{Θειοθειϊκού Νατρίου} \times \text{κανονικότητα} \times 1000}{\text{Βάρος δείγματος (g)}}$$

4.1.2.1.4. Προσδιορισμός των ειδικών συντελεστών απορρόφησης του ελαιολάδου (K_{232} , K_{270} και Δ_K)

Η μέθοδος στηρίζεται στο γεγονός ότι τα πρωτογενή προϊόντα της οξειδωσης των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (*συζυγή υπεροξειδία*) εμφανίζουν μέγιστο απορρόφησης στα 232 nm μήκος κύματος, ενώ στα 270 nm μήκος κύματος απορροφούν ορισμένα προϊόντα διάσπασης των υδροϋπεροξειδίων καθώς και τα συζυγή διένια και τριένια που σχηματίζονται κατά το ραφινάρισμα. Έτσι μεγάλες τιμές απορρόφησης στα 270 nm μήκος κύματος είναι δυνατό να προέρχονται από την οξειδωση του ελαιολάδου ή από την χημική επεξεργασία που έχει δεχθεί το λάδι.

Για το προσδιορισμό των τιμών απορροφήσεων στα 232 και 270 στο υπεριώδες φάσμα χρησιμοποιήθηκε η μεθοδολογία που περιγράφεται στο *CR EEC/702/2007*.

Αντιδραστήρια

Καθαρό *ισσοκτάνιο*

Υλικά – Σκεύη

Φασματοφωτόμετρο Heliosa Thermoscientific

Κυψελίδα 1 cm

Ογκομετρική φιάλη των 100 ml

Διαδικασία

Διηθείται το λάδι αν δεν είναι καθαρό

Ζυγίστηκε με ακρίβεια 1g δείγματος σε ογκομετρική φιάλη των 100ml, προστέθηκε ο διαλύτης (*ισσοκτάνιο*), Έγινε ισχυρή ανάδευση και συμπληρώθηκε η φιάλη με διαλύτη μέχρι τη χαραγή. Έπειτα γεμίστηκε μια κυψελίδα και μετρήθηκε η απορρόφηση στα μήκη κύματος 232nm, 270nm, 268nm, 262nm και 274nm χρησιμοποιώντας σαν μάρτυρα καθαρό διαλύτη.

Οι μετρήσεις στα 268 nm, 262 nm και 274 nm μήκη κύματος πραγματοποιήθηκαν για να γίνει ο υπολογισμός της σχέσης Δ_K .

Υπολογισμός της σχέσης Δ_K

Ο υπολογισμός της σχέσης Δ_K έγινε με τον παρακάτω τύπο :

$$\Delta K = K_{268} - \frac{K_{262} + K_{274}}{2}$$

4.1.2.1.5. Προσδιορισμός φαινολικών ουσιών

Ο προσδιορισμός των φαινολικών ουσιών, δηλ. των φυσικών αντιοξειδωτικών που περιέχονται στο ελαιόλαδο, μας δείχνει την ανθεκτικότητα του ελαιολάδου στον χρόνο, αντιδρώντας κατά του μηχανισμού της οξειδωσης. Άρα έχει ιδιαίτερη σημασία να γνωρίζουμε την περιεκτικότητα των φαινολών σε κάθε δείγμα για να σχηματισθεί μια σφαιρική εικόνα του προϊόντος όσο αφορά την οξειδωτική αλλοίωση.

Ο προσδιορισμός των φαινολών βασίζεται στον σχηματισμό χρώματος χρησιμοποιώντας το αντιδραστήριο Folin – Ciocalteu το οποίο ανάγει τις φαινόλες παρουσία διαλύματος Na_2CO_3 (Gutfinger, 1981).

Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην οξειδωση του συνόλου των φαινολικών συστατικών, σε αλκαλικό περιβάλλον από το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu. Το αντιδραστήριο αυτό αποτελείται από ένα μίγμα φωσφοροβολφραιμικού οξέος, το οποίο ανάγεται κατά την οξειδωση των φαινολών, σε μίγμα κυανών οξειδίων του βολφραμίου και του μολυβδαινίου. Το κυανό χρώμα που προκύπτει παρουσιάζει μέγιστη απορρόφηση περίπου στα 750nm, και έτσι είναι ανάλογο της συγκέντρωσης των φαινολικών συστατικών. Η μέθοδος ου ακολουθήθηκε ήταν αυτή που περιγράφεται από τον Κυριτσάκης (2007).

Αντιδραστήρια

Αντιδραστήριο *Folin – Ciocalteu* 2N

Υδατική μεθανόλη (60:40 v/v)

Διάλυμα Na_2CO_3 (35%)

Εξάνιο

Μεθανόλη

Υλικά – Σκεύη

Φασματοφωτόμετρο Heliosa Thermoscientific

Κυψελίδα 1cm

Κωνικές φιάλες (Erlenmeyer) των 250 ml

Σφαιρικές φιάλες των 25 ml

Διαχωριστική Χοάνη – στατό

Περιστρεφόμενος Εξατμιστήρας

Διαδικασία

Ζυγίστηκαν 10 g ελαιόλαδο σε φιάλη Erlenmeyer των 250 ml και προστέθηκαν 50 ml εξανίου για να διαλυθεί το ελαιόλαδο.

Έπειτα προστέθηκαν 20 ml υδατικής μεθανόλης (60%) και μετά από ισχυρή ανάδευση για 3 λεπτά αφέθηκε σε διαχωριστική χοάνη για να διαχωριστούν οι δύο φάσεις, απομακρύνθηκε η υδατομεθανολική φάση σε ποτήρι ζέσεως. Η διαδικασία αυτή επαναλήφθηκε άλλες δυο φορές.

Μετά και τις τρεις εκχυλίσεις εξατμίστηκαν τα μεθανολικά εκχυλίσματα μέχρι ξηρού υπολείμματος με την χρήση περιστρεφόμενου εξατμιστή στους 70 °C. Έγινε προσθήκη 1 ml μεθανόλης για την διάλυση του ξηρού υπολείμματος που παρέμεινε στο δοχείο. Μεταφέρθηκε 0,1 ml του μεθανολικού διαλύματος σε ογκομετρική φιάλη των 25 ml. Προστέθηκαν 5 ml αποσταγμένου νερού και 0,25 ml αντιδραστηρίου Folin – Ciocalteu (2N), ακολούθησε ισχυρή ανάδευση.

Μετά το πέρας 3 λεπτών προστέθηκε 1 ml διαλύματος Na_2CO_3 (35%) και συμπληρώθηκε η φιάλη με αποσταγμένο νερό μέχρι την χαραγή.

Μετά από μία ώρα, μετρήθηκε η απορρόφηση του προς εξέταση δείγματος στα 725 nm με χρήση φασματοφωτομέτρου. Για μάρτυρα χρησιμοποιήθηκε ίδιο διάλυμα αλλά αντί 0,1 ml μεθανολικού διαλύματος των φαινολών περιείχε 0,1 ml μεθανόλης.

Για τον υπολογισμό των φαινολών κατασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη αναφοράς με τη χρήση διαλυμάτων καφεϊκού οξέος (Σχήμα 3 - Η περιεκτικότητα σε φαινόλες εκφράζεται σε $\mu\text{g/g}$ λαδιού).

Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης πραγματοποιήθηκε η εξής διαδικασία:

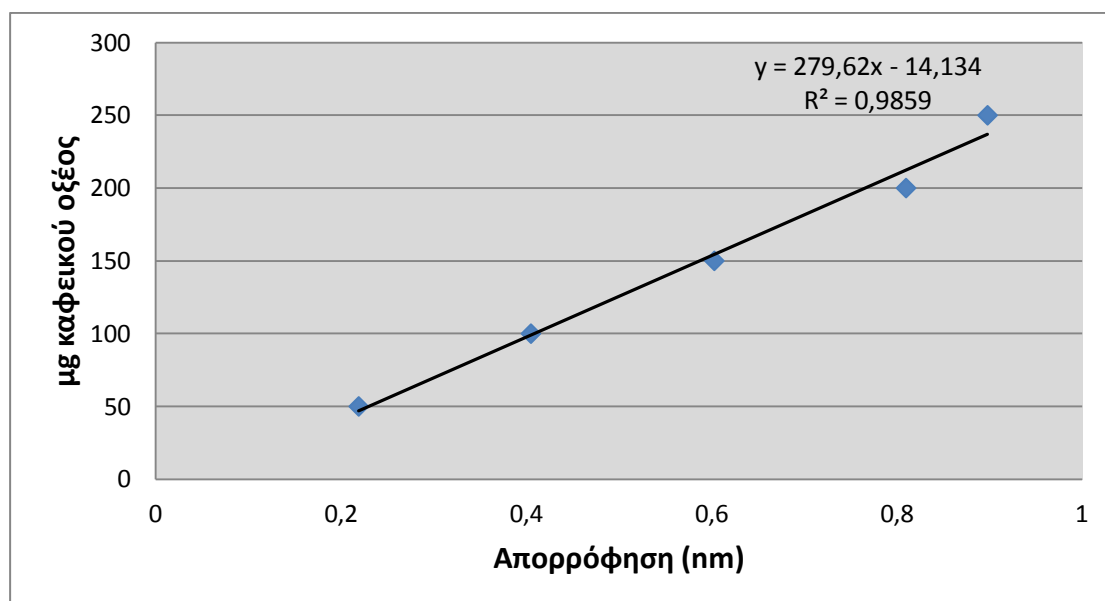
Ζυγίστηκαν 10 mg καφεϊκού οξέος και διαλύθηκαν με υδατική μεθανόλη 60% σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml. Από το πρότυπο αυτό διάλυμα μεταφέρθηκαν σε ογκομετρικές φιάλες των 25 ml οι ποσότητες των 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 ml τα οποία αντιστοιχούν σε 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25 mg καφεϊκού οξέος (ή σε 50, 100, 150, 200, 250 μg καφεϊκού οξέος αντίστοιχα).

Σε κάθε φιάλη ακολούθησε η διαδικασία που περιγράφηκε παραπάνω και οι μετρήσεις χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή της καμπύλης.

Η πρότυπη καμπύλη καφεϊκού οξέος που φαίνεται παρακάτω (Σχήμα 3) κατασκευάστηκε από τις τιμές του πίνακα 5 και η εξίσωση της καμπύλης αναφοράς που προέκυψε είναι: $y = 279,62x - 14,134$ με $R^2 = 0,9859$, όπου το y αντιστοιχεί στα μg καφεϊκού οξέος και το x στην απορρόφηση.

Πίνακας 5. Αποτελέσματα απορροφήσεων (A_{725}) για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης καφεϊκού οξέος

μg καφεϊκού οξέος	Απορρόφηση
50	0,219
100	0,405
150	0,603
200	0,810
250	0,898



Σχήμα 3. Καμπύλη αναφοράς με τη χρήση συγκεκριμένων μεθανολικών διαλυμάτων καφεϊκού οξέος για τον προσδιορισμό των φαινολών

4.1.2.2. Προσδιορισμός μικροβιακού φορτίου πάστας ελιάς

4.1.2.2.1. Προσδιορισμός ολικής μεσόφιλης χλωρίδας

Στην μέθοδο εντοπισμού της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας χρησιμοποιείται ειδικό φιαλίδιο της συσκευής soleris, το φιαλίδιο περιέχει θρεπτικό υπόστρωμα που έχει δεξτρόζη ως πηγή άνθρακα. Ως δείκτης pH γίνεται χρήση του Bromocresol Purple (BCP) αντιδραστηρίου.

Αντιδραστήρια

Αποστειρωμένο διάλυμα *NaOH* 1N

Αποστειρωμένο διάλυμα *HCL* 1N

Butterfield's Phosphate Buffer και *Peptone Water* (αραιωτικό)

Υλικά – Σκεύη

Συσκευή καταμέτρησης μικροβίων Soleris Neogen

Γκαζάκι

Συσκευή μέτρησης pH

Ομογενοποιητής

Αναλυτικός ζυγός

Αποστειρωμένα σακουλάκια ομογενοποίησης

Φιαλίδιο καταμέτρησης με κατάλληλο υπόστρωμα (TVC)

Κλίβανος (για την αποστείρωση των σκευών)

Αποστειρωμένα σιφώνια μιας χρήσης των 2 ml

Γυάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες Pyrex

Συνθήκες δοκιμής

Θερμοκρασία : 32°C

Διάρκεια : 16-18 h

Τεστ : TVC Medium

Διαδικασία

Προετοιμασία δείγματος

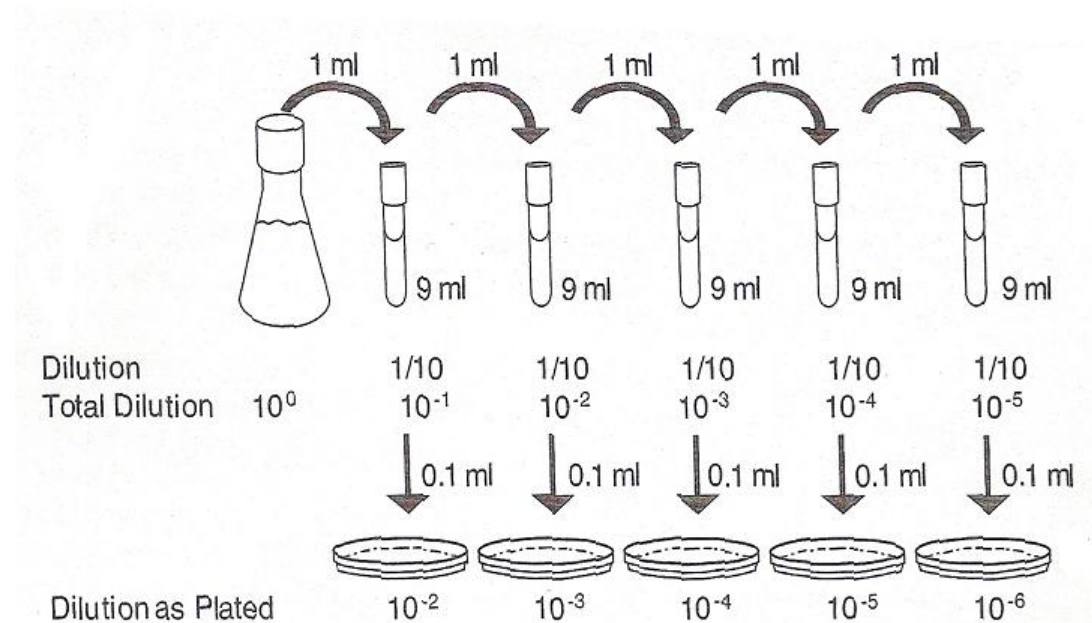
Προετοιμάστηκε διάλυμα 1:10 προσθέτοντας 11 g δείγματος (*πάστας*) σε 99 ml αποστειρωμένου αραιωτικού *Butterfield's Phosphate Buffer* και *Peptone Water*. Στην συνέχεια έγινε ομογενοποίηση του προς εξέταση δείγματος. Τέλος μετρήθηκε η τιμή pH του δείγματος και σταθεροποιήθηκε σε συνθήκες pH με τιμή $6,7 \pm 0,2$ με προσθήκη *NaOH* (1N) ή *HCL* (1N) αντίστοιχα.

Για τον προσδιορισμό του φορτίου ακολούθησαν ορισμένες αραιώσεις. Έτσι για την ολική μεσόφιλη χλωρίδα πραγματοποιήθηκαν 5 αραιώσεις από το αρχικό δείγμα (10^{-2} έως 10^{-6}).

Για την αραιώση απαιτήθηκαν 5 γυάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες , οι οποίοι περιείχαν 9 ml αραιωτικό (*Butterfield's Phosphate Buffer* ή *Peptone Water*) ο

κάθε ένας. Η αραιώση έγινε ως εξής : Τοποθετήθηκε από το αρχικό δείγμα στον δοκιμαστικό σωλήνα της 1^{ης} αραιώσης 1 ml δείγματος, στην συνέχεια έγινε ανάδευση και έπειτα τοποθετήθηκε από τον 1^ο σωλήνα αραιώσης 1 ml δείγματος στον 2^ο σωλήνα. Η ίδια διαδικασία επαναλήφθηκε με τον ίδιο τρόπο αντίστοιχα και για τις υπόλοιπες αραιώσεις.

Η διαδικασία που περιγράφηκε παραπάνω περιγράφεται στο σχήμα 4 που ακολουθεί :



Σχήμα 4. Αραίωση δειγμάτων για την δοκιμή της ολικής μεσόφιλης Χλωρίδας

Εμβολιασμός

Μετά την διαδικασία της αραιώσης ακολούθησε ο εμβολιασμός των φιαλιδίων ολικής μεσόφιλης χλωρίδας με τον εξής τρόπο :

Εμβολιάστηκε το φιαλίδιο με 2 ml του προς εξέταση δείγματος. Στην συνέχεια σφραγίστηκε και ανακινήθηκε 3 φορές για να γίνει ανάμιξη. Τέλος εισήρθε στον προθερμασμένο θάλαμο (32°C) της συσκευής καταμέτρησης μικροβίων *soleris* και έγινε η εκκίνηση της συσκευής μέσω της επιλογής του αντίστοιχου προγράμματος από τον ηλεκτρονικό υπολογιστή με τον οποίο ήταν συνδεδεμένη.

Μετά το πέρας της δοκιμής το πρόγραμμα μας έδινε τον αριθμό της συγκέντρωσης cfu/g και τον χρόνο ανίχνευσης καθώς και τα αντίστοιχα γραφήματα.

4.1.2.2. Προσδιορισμός E. Coli

Αντιδραστήρια

Αποστειρωμένο διάλυμα *NaOH* 1N

Αποστειρωμένο διάλυμα *HCL* 1N

Butterfield's Phosphate Buffer και *Peptone Water* (αραιωτικό)

Υλικά – Σκεύη

Συσκευή καταμέτρησης μικροβίων Soleris Neogen

Γκαζάκι και συσκευή μέτρησης pH

Ομογενοποιητής

Αναλυτικός ζυγός

Αποστειρωμένα σακουλάκια ομογενοποίησης

Φιαλίδιο καταμέτρησης με κατάλληλο υπόστρωμα (E.Coli)

Κλίβανος (για την αποστείρωση των σκευών)

Αποστειρωμένα σιφώνια μιας χρήσης των 2 ml

Γυάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες Pyrex

Συνθήκες δοκιμής

Θερμοκρασία : 43°C

Διάρκεια : 14 h

Τεστ : E. Coli Medium

Διαδικασία

Προετοιμασία δείγματος

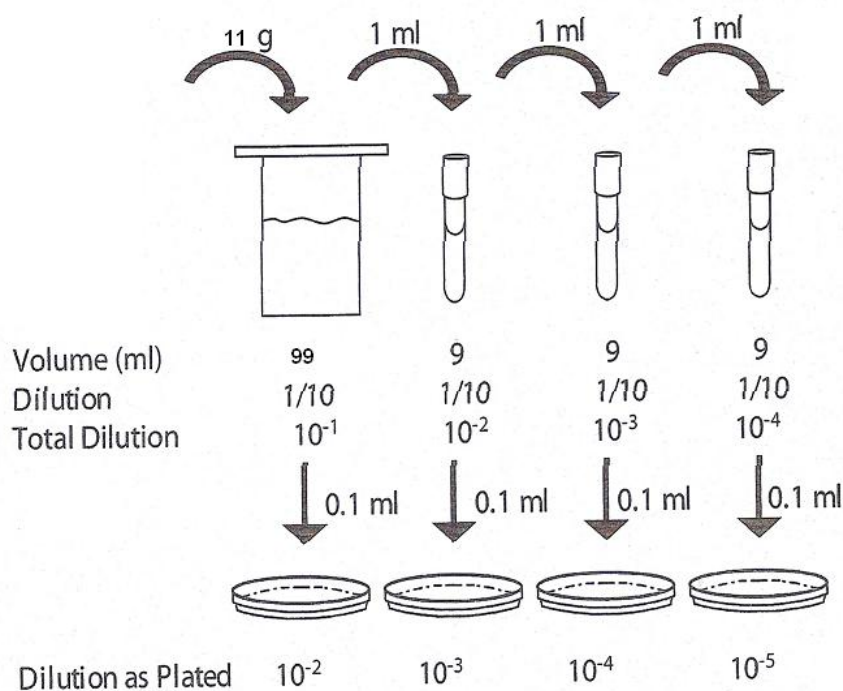
Προετοιμάστηκε διάλυμα 1:10 προσθέτοντας 11 g δείγματος (*πάστας*) σε 99 ml αποστειρωμένου αραιωτικού *Butterfield's Phosphate Buffer* και *Peptone Water*. Στην συνέχεια έγινε ομογενοποίηση του προς εξέταση δείγματος. Τέλος μετρήθηκε η τιμή pH του δείγματος και σταθεροποιήθηκε σε συνθήκες pH με τιμή $6,7 \pm 0,2$ με προσθήκη *NaOH* (1N) ή *HCL* (1N) αντίστοιχα.

Για τον προσδιορισμό του φορτίου ακολούθησαν ορισμένες αραιώσεις. Έτσι για την E.Coli πραγματοποιήθηκαν 3 αραιώσεις από το αρχικό δείγμα (10^{-2} έως 10^{-5}).

Για την αραιώση απαιτήθηκαν 3 γυάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες , οι οποίοι περιείχαν 9 ml αραιωτικό (*Butterfield's Phosphate Buffer* και *Peptone Water*) ο κάθε ένας. Η αραιώση έγινε ως εξής : Τοποθετήθηκε από το αρχικό δείγμα στον

δοκιμαστικό σωλήνα της 1^{ης} αραιώσης 1 ml δείγματος, στην συνέχεια έγινε ανάδευση και έπειτα τοποθετήθηκε από τον 1^ο σωλήνα αραιώσης 1 ml δείγματος στον 2^ο σωλήνα. Η ίδια διαδικασία επαναλήφθηκε με τον ίδιο τρόπο αντίστοιχα και για τις υπόλοιπες αραιώσεις.

Η διαδικασία που περιγράφηκε παραπάνω περιγράφεται στο σχήμα που ακολουθεί :



Σχήμα 5. Αραίωση δειγμάτων για την δοκιμή του ελέγχου παρουσίας E. Coli

Εμβολιασμός

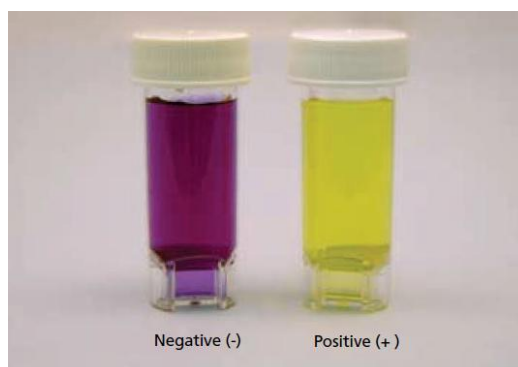
Μετά την διαδικασία της αραιώσης ακολούθησε ο εμβολιασμός των E. Coli φιαλιδίων με τον εξής τρόπο :

Εμβολιάστηκε το φιαλίδιο με 5 ml του προς εξέταση δείγματος. Στην συνέχεια σφραγίστηκε και ανακινήθηκε 3 φορές για να γίνει ανάμιξη. Τέλος εισήρθε στον προθερμασμένο θάλαμο (43°C) της συσκευής καταμέτρησης μικροβίων *soleris* και έγινε η εκκίνηση της συσκευής μέσω της επιλογής του αντίστοιχου προγράμματος από τον ηλεκτρονικό υπολογιστή με τον οποίο ήταν συνδεδεμένη.

Μετά το πέρας της δοκιμής το πρόγραμμα μας έδινε την δυνατότητα να παρατηρήσουμε την παρουσία ή απουσία της E.Coli και τον χρόνο ανίχνευσης καθώς και τα αντίστοιχα τυχών γραφήματα.

Ως δείκτης pH χρησιμοποιείται το αντιδραστήριο Bromocresol Purple (BCP). Ο δείκτης BCP αλλάζει από μωβ σε κίτρινο χρώμα (σχήμα 5) καθώς παράγεται οξύ από τον μεταβολισμό της E.Coli.

Έτσι μπορούμε να αντιληφθούμε την απεικόνιση αρνητικών ή θετικών αποτελεσμάτων ανάλογα με το χρώμα του φιαλιδίου όπως φαίνεται και στο σχήμα 5.



Σχήμα 6. Απεικόνιση αρνητικών – θετικών αποτελεσμάτων E. coli.

4.1.2.2.3. Προσδιορισμός Ζυμών – Μυκήτων (Yeast – Mold)

Όπως αναφέρθηκε και πριν, χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό των ζυμών και των μυκήτων η τεχνική φιαλίδιο μέσα σε φιαλίδιο. Το εσωτερικό φιαλίδιο περιέχει κομμάτια σφουγγαριού εμποτισμένα με ένα μέσο ανάπτυξης (δεξτρόζη ως πηγή άνθρακα, πεπτόνη και εκχύλισμα ζυμομυκήτων). Το εσωτερικό φιαλίδιο τοποθετείται στο εξωτερικό, το οποίο περιέχει το διάλυμα, KOH-thymolphthalein ως δείκτη στο σημείο ενοφθαλμισμού.

Yeast and mold supplement

Το αντιδραστήριο που προστίθεται στο φιαλίδιο, περιέχει χλωραμφενικύλη και chlortetracycline και χρησιμοποιείται για να αναστείλει την ανάπτυξη της καλλιέργειας εκκίνησης γαλακτικού οξέος και άλλων βακτηριδίων που εμπεριέχονται στο δείγμα.

Αντιδραστήρια

Butterfield's Phosphate Buffer και Peptone Water (αραιωτικό)

Rehydrated Yeast and Mold Supplement

Αποστειρωμένο νερό

Καθαρή αιθανόλη

Διάλυμα *KOH-thymolphthalein* Mold indicator (Δείκτης Μύκητα)

Υλικά – Σκεύη

Συσκευή καταμέτρησης μικροβίων Soleris Neogen

Γκαζάκι

Ομογενοποιητής

Αναλυτικός ζυγός

Αποστειρωμένα σακουλάκια ομογενοποίησης

Φιαλίδιο καταμέτρησης με κατάλληλο υπόστρωμα (Yeast – Mold)

Κλίβανος (για την αποστείρωση των σκευών)

Αποστειρωμένα σιφώνια μιας χρήσης των 2 ml

Γυάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες Pyrex

Συνθήκες δοκιμής

Θερμοκρασία : 32°C

Διάρκεια : 72 h

Τεστ : Mold vial Assembly

Διαδικασία

Προετοιμασία φιαλιδίου

Το συγκεκριμένο φιαλίδιο περιείχε και ένα εσωτερικό φιαλίδιο, οπότε στο εξωτερικό φιαλίδιο έγινε προσθήκη 0,7 ml του Mold indicator πριν γίνει ο εμβολιασμός του τροφίμου στο εσωτερικό φιαλίδιο (του οποίου το καπάκι αφαιρούνταν στο τέλος).

Προετοιμασία του Yeast – Mold supplement

(Μόνο την 1^η φορά της πειραματικής διαδικασίας, στην συνέχεια αποθηκεύτηκε για τις υπόλοιπες μετρήσεις στο ψυγείο)

Έγινε προσθήκη 1 ml Καθαρής αιθανόλης στο φιαλίδιο που περιείχε την σκόνη του αντιδραστηρίου και ακολούθησε ανάδευση. Τέλος έγινε προσθήκη 9 ml αποστειρωμένου αποσταγμένου νερού και ισχυρή ανάδευση του διαλύματος.

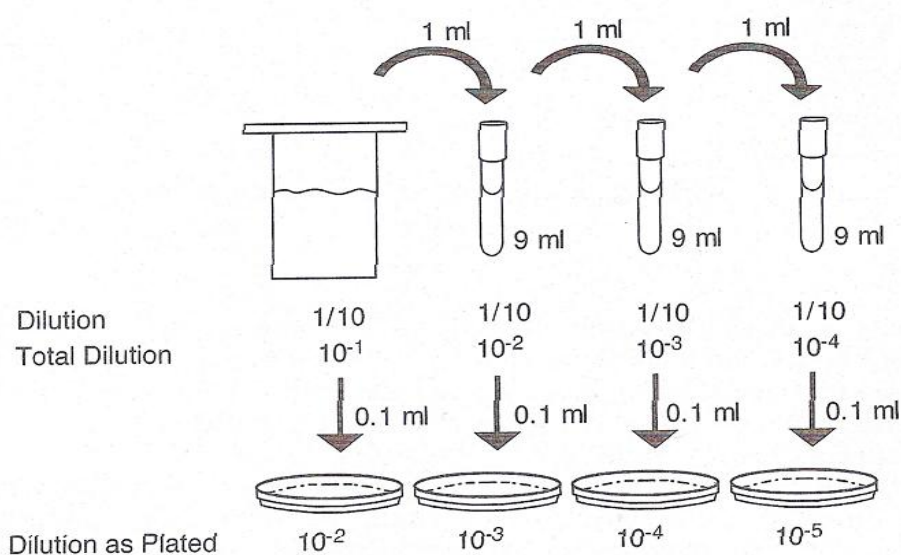
Προετοιμασία δείγματος

Προετοιμάστηκε διάλυμα 1:10 προσθέτοντας 11 g δείγματος (πάστας) σε 99 ml αποστειρωμένου αραιωτικού *Butterfield's Phosphate Buffer* και *Peptone Water*. Στην συνέχεια έγινε ομογενοποίηση του προς εξέταση δείγματος.

Για τον προσδιορισμό του φορτίου ακολούθησαν ορισμένες αραιώσεις. Έτσι για την τις ζύμες και του μύκητες πραγματοποιήθηκαν 3 αραιώσεις από το αρχικό δείγμα (10^{-2} έως 10^{-5}).

Για την αραιώση απαιτήθηκαν 3 γυάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες, οι οποίοι περιείχαν 9 ml αραιωτικό (*Butterfield's Phosphate Buffer και Peptone Water*) ο κάθε ένας. Η αραιώση έγινε ως εξής: Τοποθετήθηκε από το αρχικό δείγμα στον δοκιμαστικό σωλήνα της 1^{ης} αραιώσης 1 ml δείγματος, στην συνέχεια έγινε ανάδευση και έπειτα τοποθετήθηκε από τον 1^ο σωλήνα αραιώσης 1 ml δείγματος στον 2^ο σωλήνα. Η ίδια διαδικασία επαναλήφθηκε με τον ίδιο τρόπο αντίστοιχα και για τις υπόλοιπες αραιώσεις.

Η διαδικασία που περιγράφηκε παραπάνω περιγράφεται στο σχήμα που ακολουθεί:



Σχήμα 7. Αραιώση δειγμάτων για την δοκιμή του ελέγχου παρουσίας Ζυμών – Μυκήτων

Εμβολιασμός

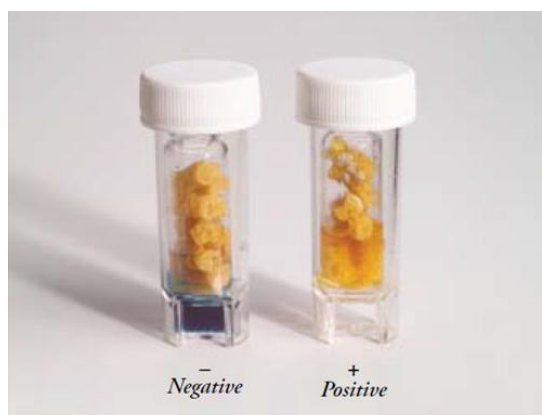
Μετά την διαδικασία της αραιώσης ακολούθησε ο εμβολιασμός των Mold – Yeast φιαλιδίων με τον εξής τρόπο:

Εμβολιάστηκε το εσωτερικό φιαλίδιο με 1 ml του προς εξέταση δείγματος και με 0,05 ml του yeast – mold supplement. Στην συνέχεια σφραγίστηκε το εσωτερικό φιαλίδιο και ανακινήθηκε 3 φορές για να γίνει ανάμιξη. Έπειτα αφαιρέθηκε το καπάκι του εσωτερικού φιαλιδίου και προστέθηκε στο εξωτερικό φιαλίδιο που περιείχε το mold indicator. Τέλος εισήρθε στον προθερμασμένο θάλαμο (32°C) της συσκευής καταμέτρησης μικροβίων *soleris* και έγινε η εκκίνηση της συσκευής

μέσω της επιλογής του αντίστοιχου προγράμματος από τον ηλεκτρονικό υπολογιστή με τον οποίο ήταν συνδεδεμένη.

Μετά το πέρας της δοκιμής το πρόγραμμα μας έδινε την δυνατότητα να παρατηρήσουμε την συγκέντρωση των ζυμών – μυκήτων και τον χρόνο ανίχνευσης καθώς και τα αντίστοιχα γραφήματα τους.

Η παραγωγή διοξειδίου του άνθρακα από τους μικροοργανισμούς αλλάζουν τον δείκτη του pH και έτσι μέσω της αλλαγής αυτής στο χρώμα του δείκτη παρατηρούνταν αν το δείγμα ήταν θετικό ή αρνητικό όπως φαίνεται στο σχήμα 7.



Σχήμα 7. Απεικόνιση αρνητικών – θετικών αποτελεσμάτων ζυμών - μυκήτων

4.1.2.2.4. Προσδιορισμός ύπαρξης σταφυλόκοκκου – staph

Το φιαλίδιο για τους σταφυλόκοκκους περιέχει την Aniline Blue ως δείκτη. Τα γένη των σταφυλόκοκκων και ειδικότερα του *S. aureus*, εάν εμφανιστούν στο προς εξέταση δείγμα, προκαλεί ζύμωση της μανιτόλης στο ζυμό μετατρέποντας την σε οξύ, το οποίο αλλάζει το απαλό μπλε χρώμα του υποστρώματος σε σκούρο μπλε (Σχήμα 9).

Staph supplement

Το αντιδραστήριο staph που προστίθεται στο φιαλίδιο περιέχει polymixin B, η οποία χρησιμοποιείται για να αναστείλει την ανάπτυξη των Gram αρνητικών βακτηρίων και να καθυστερήσουν την ανάπτυξη των Gram θετικών .



Σχήμα 9. Απεικόνιση αρνητικών – θετικών αποτελεσμάτων σταφυλόκοκκων

Αντιδραστήρια

Αποστειρωμένο διάλυμα $NaOH$ 1N

Αποστειρωμένο διάλυμα HCL 1N

Butterfield's Phosphate Buffer και *Peptone Water* (αραιωτικό)

Staph Supplement

Υλικά – Σκεύη

Συσκευή καταμέτρησης μικροβίων Soleris Neogen

Γκαζάκι

Συσκευή μέτρησης pH

Ομογενοποιητής

Αναλυτικός ζυγός

Αποστειρωμένα σακουλάκια ομογενοποίησης

Φιαλίδιο καταμέτρησης με κατάλληλο υπόστρωμα (Staph)

Κλίβανος (για την αποστείρωση των σκευών)

Αποστειρωμένα σιφώνια μιας χρήσης των 2 ml

Γυάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες Pyrex

Συνθήκες δοκιμής

Θερμοκρασία : 37°C

Διάρκεια : 14 h

Τεστ : Staph Medium

Διαδικασία

Προετοιμασία του staph supplement

Έγινε προσθήκη 5 ml αποστειρωμένου νερού στο φιαλίδιο που περιείχε την σκόνη του αντιδραστηρίου για να γίνει η ενυδάτωση του και στην συνέχεια ακολούθησε ανάδευση του φιαλιδίου. Το αντιδραστήριο διατηρήθηκε στο ψυγείο καθ' όλη την διάρκεια χρήσης του.

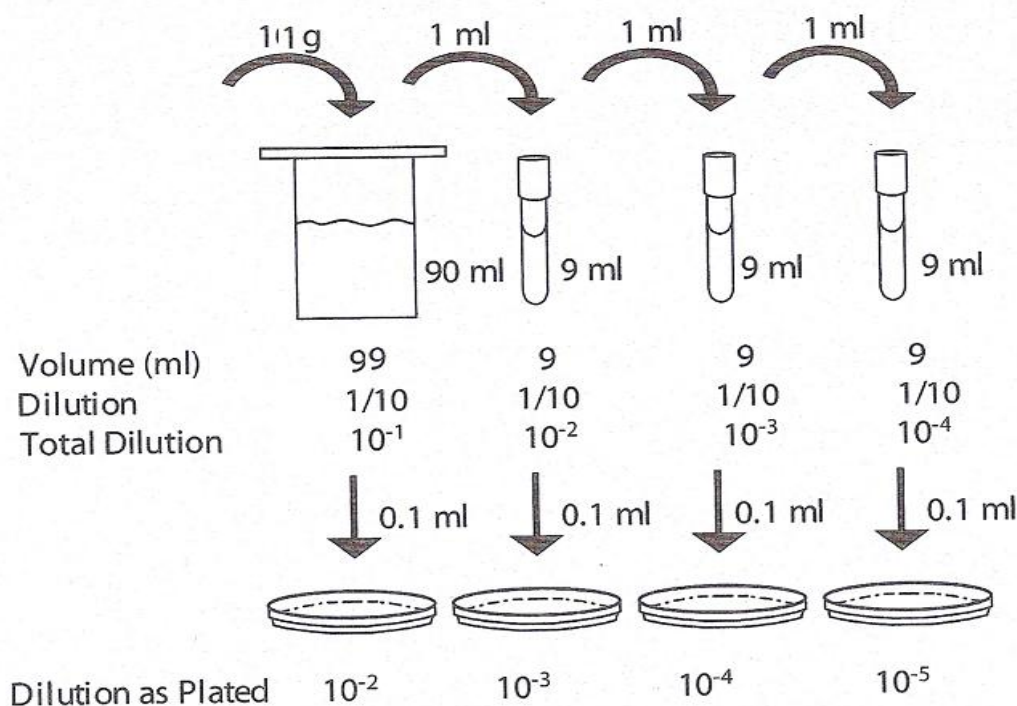
Προετοιμασία δείγματος

Προετοιμάστηκε διάλυμα 1:10 προσθέτοντας 11 g δείγματος (πάστας) σε 99 ml αποστειρωμένου αραιωτικού *Butterfield's Phosphate Buffer και Peptone Water*. Στην συνέχεια έγινε ομογενοποίηση του προς εξέταση δείγματος. Μετρήθηκε η τιμή pH του δείγματος και σταθεροποιήθηκε σε συνθήκες pH με τιμή 7.0-7.4 με προσθήκη NaOH (1N) ή HCL (1N) αντίστοιχα.

Για τον προσδιορισμό του φορτίου ακολούθησαν ορισμένες αραιώσεις. Έτσι για τον staph πραγματοποιήθηκαν 3 αραιώσεις από το αρχικό δείγμα (10^{-2} έως 10^{-5}).

Για την αραιώση απαιτήθηκαν 3 γυάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες, οι οποίοι περιείχαν 9 ml αραιωτικό (*Butterfield's Phosphate Buffer και Peptone Water*) ο κάθε ένας. Η αραιώση έγινε ως εξής: Τοποθετήθηκε από το αρχικό δείγμα στον δοκιμαστικό σωλήνα της 1^{ης} αραιώσης 1 ml δείγματος, στην συνέχεια έγινε ανάδευση και έπειτα τοποθετήθηκε από τον 1^ο σωλήνα αραιώσης 1 ml δείγματος στον 2^ο σωλήνα. Η ίδια διαδικασία επαναλήφθηκε με τον ίδιο τρόπο αντίστοιχα και για τις υπόλοιπες αραιώσεις.

Η διαδικασία που περιγράφηκε παραπάνω περιγράφεται στο σχήμα που ακολουθεί:



Σχήμα 10. Αραίωση δειγμάτων για την δοκιμή του ελέγχου παρουσίας Staph

Εμβολιασμός

Μετά την διαδικασία της αραίωσης ακολούθησε ο εμβολιασμός των Staph φιαλιδίων με τον εξής τρόπο :

Εμβολιάστηκε το φιαλίδιο με 1 ml του προς εξέταση δείγματος και με 0,1 ml του staph supplement. Στην συνέχεια σφραγίστηκε και ανακινήθηκε 3 φορές για να γίνει ανάμιξη. Τέλος εισήρθε στον προθερμασμένο θάλαμο (37°C) της συσκευής καταμέτρησης μικροβίων soleris και έγινε η εκκίνηση της συσκευής μέσω της επιλογής του αντίστοιχου προγράμματος από τον ηλεκτρονικό υπολογιστή με τον οποίο ήταν συνδεδεμένη.

Μετά το πέρας της δοκιμής το πρόγραμμα μας έδινε την δυνατότητα να παρατηρήσουμε την παρουσία ή απουσία του staph και τον χρόνο ανίχνευσης καθώς και τα αντίστοιχα τυχών γραφήματα.

4.1.3 Μέθοδοι στατιστικής ανάλυσης των αποτελεσμάτων

4.1.3.1 Στατιστική ανάλυση του αριθμού οξύτητας

Για την στατιστική ανάλυση του αριθμού οξύτητας πραγματοποιήθηκε ο έλεγχος της υπόθεσης σύγκρισης ενός δείγματος (*one sample t-test*) και η ανάλυση της διακύμανσης 2 παραγόντων (*two way Anova*) για κάθε πάστα. Οι δυο παράγοντες που μελετήθηκαν ως προς τον αριθμό της οξύτητας ήταν οι τρεις διαφορετικές ποικιλίες πάστας ελιάς και ο χρόνος (9 μετρήσεις). Τα αποτελέσματα του στατιστικού ελέγχου παρουσιάζονται στην ενότητα 5.1.1 και στο παράρτημα ενότητα Π1. Το στατιστικό πρόγραμμα που χρησιμοποιήθηκε για την εφαρμογή των παραπάνω ελέγχων καθώς και για τον έλεγχο ύπαρξης ομοιογένειας και κανονικότητας που προηγήθηκε, ήταν το Minitab 16.

4.1.3.2 Στατιστική ανάλυση της τιμής των υπεροξειδίων

Για την στατιστική ανάλυση της τιμής των υπεροξειδίων πραγματοποιήθηκε ο έλεγχος της υπόθεσης σύγκρισης ενός δείγματος (*one sample t-test*) και η ανάλυση της διακύμανσης 2 παραγόντων (*two way Anova*) για κάθε πάστα. Οι δυο παράγοντες που μελετήθηκαν ως προς τον αριθμό της οξύτητας ήταν οι τρεις διαφορετικές ποικιλίες πάστας ελιάς και ο χρόνος (9 μετρήσεις). Τα αποτελέσματα του στατιστικού ελέγχου παρουσιάζονται στην ενότητα 5.1.2 και στο παράρτημα ενότητα Π2. Το στατιστικό πρόγραμμα που χρησιμοποιήθηκε για την εφαρμογή των παραπάνω ελέγχων καθώς και για τον έλεγχο ύπαρξης ομοιογένειας και κανονικότητας που προηγήθηκε, ήταν το Minitab 16.

4.1.3.3 Στατιστική ανάλυση των ειδικών συντελεστών απορρόφησης K_{232} και K_{270}

Για την στατιστική ανάλυση των ειδικών συντελεστών απορρόφησης K_{232} και K_{270} πραγματοποιήθηκε η ανάλυση της διακύμανσης 2 παραγόντων (*two way Anova*) για κάθε πάστα. Οι δυο παράγοντες που μελετήθηκαν ως προς τον αριθμό της οξύτητας ήταν οι τρεις διαφορετικές ποικιλίες πάστας ελιάς και ο χρόνος (9 μετρήσεις). Τα αποτελέσματα του στατιστικού ελέγχου παρουσιάζονται στην ενότητα 5.1.3 και στο παράρτημα ενότητα Π3.1 και Π3.2. Το στατιστικό πρόγραμμα που χρησιμοποιήθηκε για την εφαρμογή των παραπάνω ελέγχων καθώς και για τον έλεγχο ύπαρξης ομοιογένειας και κανονικότητας που προηγήθηκε, ήταν το Minitab 16.

4.1.3.4 Στατιστική ανάλυση της ποσότητας των φαινολών

Για την στατιστική ανάλυση της ποσότητας των φαινολών πραγματοποιήθηκε η ανάλυση της διακύμανσης 2 παραγόντων (*two way Anova*) για κάθε πάστα. Οι δυο παράγοντες που μελετήθηκαν ως προς τον αριθμό της οξύτητας ήταν οι τρεις διαφορετικές ποικιλίες πάστας ελιάς και ο χρόνος (9 μετρήσεις). Τα αποτελέσματα του στατιστικού ελέγχου παρουσιάζονται στην ενότητα 5.1.4 και στο παράρτημα ενότητα Π4. Το στατιστικό πρόγραμμα που χρησιμοποιήθηκε για την εφαρμογή των παραπάνω ελέγχων καθώς και για τον έλεγχο ύπαρξης ομοιογένειας και κανονικότητας που προηγήθηκε, ήταν το Minitab 16.

5. Αποτελέσματα – Συζήτηση

5.1 Τιμές κριτηρίων ποιότητας ελαιολάδων των δειγμάτων πάστας

Τα δείγματα ελαιολάδου που προήλθαν από την πάστα ελιάς εξετάστηκαν ως προς τα κυριότερα κριτήρια ποιότητας τους, κάθε κριτήριο εξετάσθηκε ξεχωριστά και για τις τρεις ποικιλίες της πάστας με αποτέλεσμα να προκύψουν οι πίνακες των αποτελεσμάτων που ακολουθούν. Οι αναλύσεις των δειγμάτων έγιναν εις διπλούν και για την στατιστική αξιολόγηση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε ο μέσος όρος αυτών.

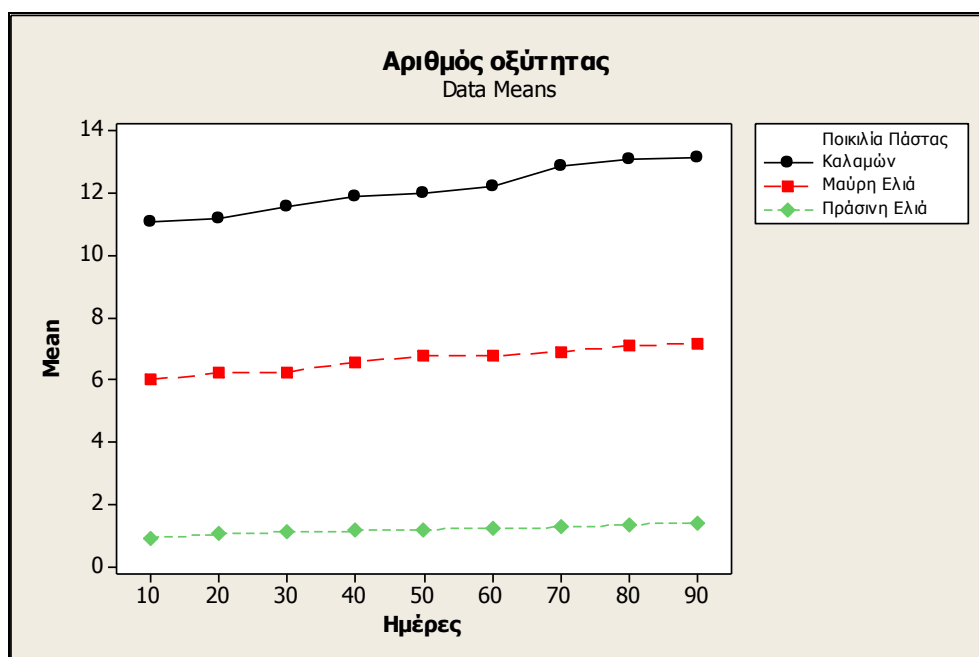
5.1.1 Προσδιορισμός της οξύτητας του περιεχόμενου ελαιολάδου

Πίνακας 6. Τιμές της οξύτητας στα δείγματα πάστας ελιάς

ΟΞΥΤΗΤΑ									
Δείγμα Ημέρα	ΠΡΑΣΙΝΗ			ΚΑΛΑΜΩΝ			ΜΑΥΡΗ		
	1 ^η Μέτρηση	2 ^η Μέτρηση	M.O	1 ^η Μέτρηση	2 ^η Μέτρηση	M.O	1 ^η Μέτρηση	2 ^η Μέτρηση	M.O
10 ^η	0,95	0,87	0,91	11,05	11,09	11,07	5,96	6,03	5,995
20 ^η	1,00	1,09	1,045	11,18	11,17	11,175	6,14	6,29	6,215
30 ^η	1,09	1,12	1,105	11,60	11,54	11,57	6,23	6,27	6,25
40 ^η	1,13	1,16	1,145	11,78	11,99	11,885	6,64	6,54	6,59
50 ^η	1,17	1,19	1,18	12,04	11,95	11,99	6,73	6,83	6,78
60 ^η	1,19	1,29	1,24	12,09	12,41	12,25	6,75	6,80	6,775
70 ^η	1,23	1,28	1,255	12,83	12,95	12,89	6,86	6,97	6,915
80 ^η	1,32	1,37	1,345	13,06	13,12	13,09	7,06	7,14	7,10
90 ^η	1,44	1,39	1,415	13,10	13,19	13,145	7,16	7,20	7,18
	95% C.I. OF MEAN	1,064 – 1,301		95% C.I. OF MEAN	11,512 – 12,724		95% C.I. OF MEAN	6,327 – 6,962	

Ο πίνακας 6 δείχνει τις μεταβολές της οξύτητας των 3 τύπων πάστας ελιάς καθ' όλη την διάρκεια της πειραματικής μελέτης. Είναι χαρακτηριστικό ότι η οξύτητα ξεκίνησε από 0,91 έως 1,415 για τον τύπο πράσινης ελιάς, 11,017 έως 13,145 για την πάστα καλαμών και 5,995 έως 7,18 για την πάστα μαύρης ελιάς. Την μικρότερη οξύτητα εμφάνισε το ελαιόλαδο του τύπου πράσινης ελιάς. Αυτό μπορεί να αποδοθεί στο γεγονός ότι η πάστα μπορεί να προήρθε από καρπό που δεν είχε ωριμάσει ακόμη και δεν είχε ενεργοποιηθεί το ένζυμο λιπάση, το οποίο μπορεί να αυξήσει την οξύτητα του προϊόντος (Κυριτσάκης, 2007).

Για την αξιολόγηση των παραπάνω μετρήσεων όσο αφορά την τιμή της οξύτητας εξετάσθηκε αν η μέση τιμή της οξύτητας είναι μικρότερη από την τιμή 2 που έχει τεθεί ως ανώτατο όριο για να είναι ένα ελαιόλαδο εδώδιμο δηλαδή κατάλληλο για κατανάλωση σύμφωνα με τον *Κώδικα Τροφίμων & Ποτών* και τον Κανονισμό *EEC/702/2007* της Ευρωπαϊκής Ένωσης.



Σχήμα 11. Μεταβολές στον αριθμό της οξύτητας στις τρεις πάστες ελιάς κατά την διάρκεια της αποθήκευσης

Στο σχήμα 11 παρατηρούμε έναν μικρό ρυθμό αύξησης του αριθμού της οξύτητας και στα τρία δείγματα.

Η οξύτητα του ελαιολάδου στα δείγματα (πίνακας 6) κατά τον χρόνο παραλαβής τους ήταν αυξημένη για τους τύπους καλαμών και μαύρης ελιάς που πιθανόν να οφείλεται στην υποβαθμισμένη ποιότητα του ελαιοκάρπου και στην πιθανή προσβολή από μύκητες που είχε σαν συνέπεια την αύξηση του βαθμού υδρολυτικής αλλοίωσης. Όμως και κατά τον χρόνο τη αποθήκευσης παρατηρείται αύξηση στην οξύτητα και πιθανόν αυτό να οφείλεται στην παρουσία του νερού της πάστας ή ακόμη και του ενζύμου λιπάσης που υποβοηθά την απελευθέρωση λιπαρών οξέων και την αύξηση της οξύτητας (Κυριτσάκης, 2007).

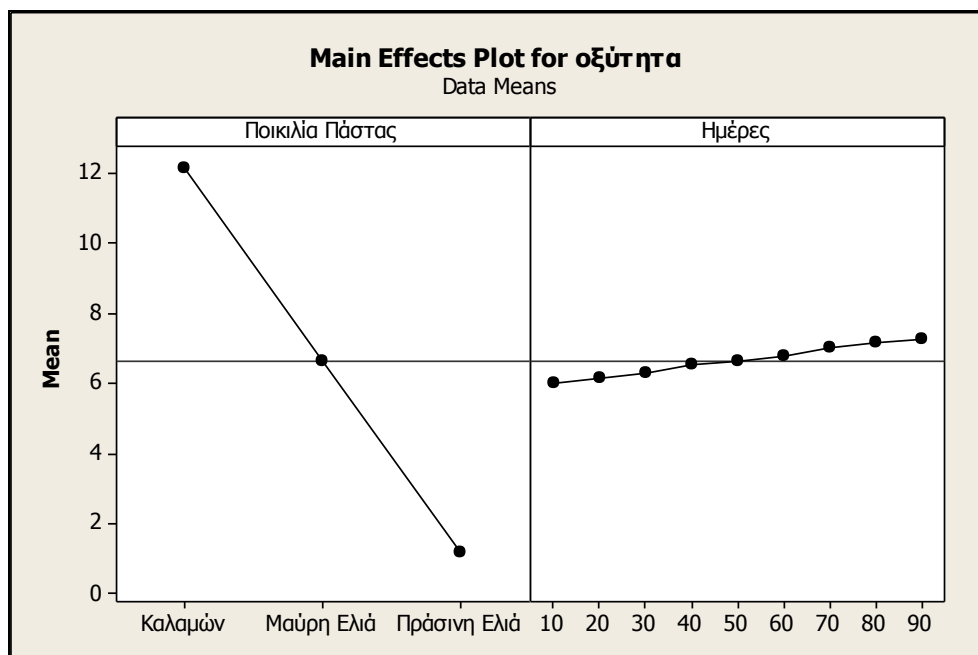
Κάνοντας τον έλεγχο της υπόθεσης της σύγκρισης ενός δείγματος (one sample t-test) σε κάθε πάστα ελιάς διεξήχθησαν τα εξής συμπεράσματα :

Για τον τύπο πράσινης ελιάς : Εφόσον $P \leq 0,001$ αντιλαμβανόμαστε ότι το ελαιόλαδο του δείγματος με την ποικιλία πράσινης ελιάς μπορεί να χαρακτηριστεί ως εδώδιμο.

Για τον τύπο μαύρης ελιάς : Η τιμή $P \leq 0,001$ οπότε η τιμή της οξύτητας υπερβαίνει τα προβλεπόμενα όρια που ορίζονται για να είναι ένα ελαιόλαδο εδώδιμο. Το ίδιο συμπέρασμα διεξάγετε αν λάβουμε υπόψη και τα 95 % όρια εμπιστοσύνης (6,327 –

6,962) τα οποία υπερβαίνουν την τιμή 2 . Έτσι λοιπόν το συγκεκριμένο ελαιόλαδο δεν μπορεί να χαρακτηριστεί ως εδώδιμο.

Για τον τύπο καλαμών : Η τιμή $P \leq 0,001$ άρα συμπεραίνουμε ότι η τιμή των υπεροξειδίων είναι και αυτή εκτός των προβλεπόμενων ορίων οπότε το ελαιόλαδο της ποικιλίας καλαμών δεν χαρακτηρίζεται ως εδώδιμο. Όρια εμπιστοσύνης 95% : (11,512 – 12,724).



Σχήμα 12. Η επίδραση των παραγόντων «Χρόνος» και «Ποικιλία πάστας ελιάς» στον αριθμό της οξύτητας

Σύμφωνα με το σχήμα 12 παρατηρούμε ότι όσο αυξάνεται ο χρόνος αποθήκευσης αυξάνεται και ο αριθμός της οξύτητας και στα 3 προς εξέταση δείγματα. Όσο αφορά τον τύπο της πάστας ο μεγαλύτερος αριθμός οξύτητας παρουσιάζεται στην πάστα καλαμών και ο μικρότερος στην πάστα πράσινης ελιάς.

Με την προϋπόθεση ότι ισχύει η κανονικότητα και η ομοιογένεια των δειγμάτων διεξήχθη η ανάλυση διακύμανσης 2 παραγόντων (*two way ANOVA*) για την κάθε ποικιλία πάστας ελιάς.

Ο στατιστικός έλεγχος έδειξε, ότι η τιμή της οξύτητας διέφερε και στα 3 δείγματα και ήταν εξαρτημένες από τον χρόνο καθώς $P=0,001$ που σημαίνει ότι με την πάροδο του χρόνου αποθήκευσης παρατηρείται μια αύξηση στην οξύτητα.

Τον μεγαλύτερο αριθμό οξύτητας παρουσίασε η πάστα καλαμών (3,48) ενώ ακολούθησε η πάστα μαύρης ελιάς (2,58). Τον μικρότερο αριθμό οξύτητας εμφάνισε η πάστα πράσινης ελιάς (1,085).

Δηλαδή ισχύει η σχέση (για τον αριθμό οξύτητας) : Πάστα καλαμών (3,48) > πάστα μαύρης ελιάς (2,58) > πάστα πράσινης ελιάς (1,085)

5.1.2 Προσδιορισμός του αριθμού υπεροξειδίων του περιεχόμενου ελαιολάδου

Πίνακας 7. Τιμές των υπεροξειδίων στα δείγματα πάστας ελιάς.

Δείγμα	ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΑ								
	ΠΡΑΣΙΝΗ			ΚΑΛΛΑΜΩΝ			ΜΑΥΡΗ		
Ημέρα	1 ^η Μέτρηση	2 ^η Μέτρηση	M.O	1 ^η Μέτρηση	2 ^η Μέτρηση	M.O	1 ^η Μέτρηση	2 ^η Μέτρηση	M.O
10 ^η	9,90	9,95	9,925	7,39	7,43	7,41	9,71	9,80	9,755
20 ^η	9,90	12,44	11,17	7,43	7,46	7,445	9,95	9,90	9,925
30 ^η	12,50	15,00	13,75	7,83	7,92	7,875	10,00	12,50	11,25
40 ^η	15,77	15,60	15,65	9,52	9,95	9,735	14,92	15,00	14,96
50 ^η	16,00	16,12	16,06	12,38	12,50	12,44	15,99	16,24	16,11
60 ^η	16,74	16,98	16,86	12,44	12,52	12,48	17,50	19,70	18,60
70 ^η	17,5	17,83	17,67	14,63	15,00	14,81	20,48	21,18	20,83
80 ^η	18,50	19,05	18,78	15,57	16,23	15,90	22,39	23,75	23,07
90 ^η	19,70	20,39	20,04	17,50	19,70	18,60	24,63	26,57	25,60
	95% C.I. OF MEAN	12,95 – 18,14		95% C.I. OF MEAN	8,75 – 14,96		95% C.I. OF MEAN	12,23 – 21,12	

Στον πίνακα 7 φαίνονται οι αρχικές τιμές των υπεροξειδίων κατά το στάδιο της 1^{ης} ανάλυσης καθώς και οι μεταβολές αυτών κατά τον χρόνο αποθήκευσης των προϊόντων σε συνθήκες θερμοκρασίας δωματίου και σε σκοτεινό μέρος. Είναι χαρακτηριστικό ότι οι τιμές των υπεροξειδίων ήταν στο αρχικό στάδιο μικρότερες του ήμισυ της τιμής που ορίζει το διεθνές συμβούλιο ελαιολάδου και η Ευρωπαϊκή Ένωση προκειμένου ένα λάδι να χαρακτηριστεί ως παρθένο ή εξαιρετικά παρθένο (<20).

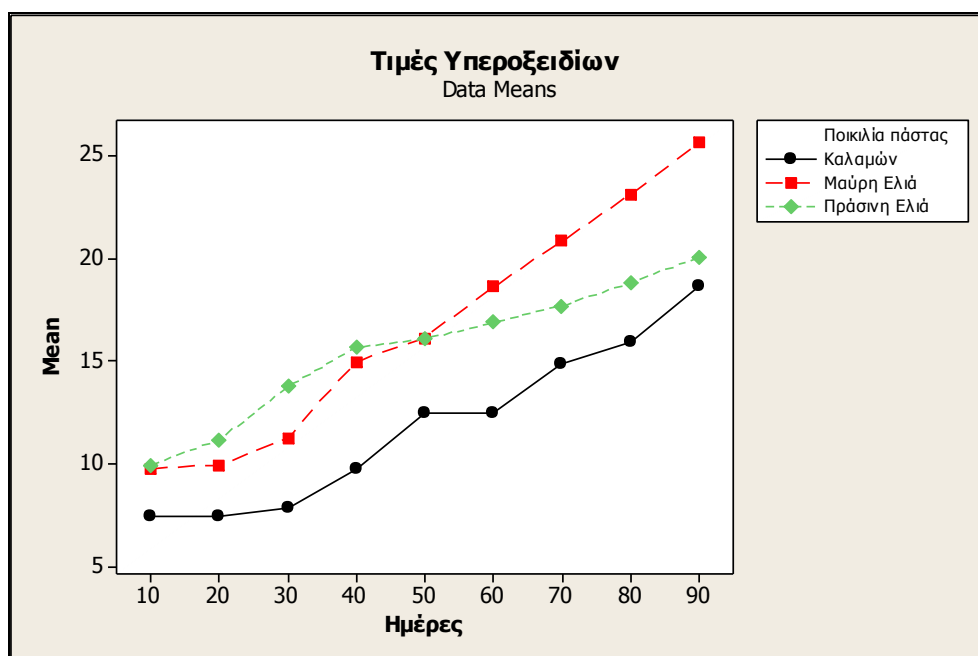
Οι τιμές αυτές αυξήθηκαν κατά τον χρόνο της αποθήκευσης και είχαν ξεπεράσει την τιμή του 20 (άνωτερο όριο) για τα δείγματα της μαύρης ελιάς.

Κάνοντας τον έλεγχο της υπόθεσης της σύγκρισης ενός δείγματος (one sample t-test) σε κάθε πάστα ελιάς διεξήχθησαν τα εξής συμπεράσματα :

Για τον τύπο πράσινης ελιάς : Εφόσον $P = 0,002 < 0,05$ αντιλαμβανόμαστε ότι το ελαιόλαδο του δείγματος με τον τύπο πράσινης ελιάς μπορεί να χαρακτηριστεί ως εξαιρετικά παρθένο.

Για τον τύπο της μαύρης ελιάς : Η τιμή $P = 0,062 > 0,05$ οπότε η τιμή των υπεροξειδίων υπερβαίνει τα προβλεπόμενα όρια που ορίζονται για το έξτρα παρθένο ελαιόλαδο. Το ίδιο συμπέρασμα διεξάγετε αν λάβουμε υπόψη και τα 95 % όρια εμπιστοσύνης (12,23 – 21,12) τα οποία υπερβαίνουν την τιμή 20 . Έτσι λοιπόν το συγκεκριμένο ελαιόλαδο δεν μπορεί να χαρακτηριστεί έξτρα παρθένο όσο αφορά την τιμή των υπεροξειδίων.

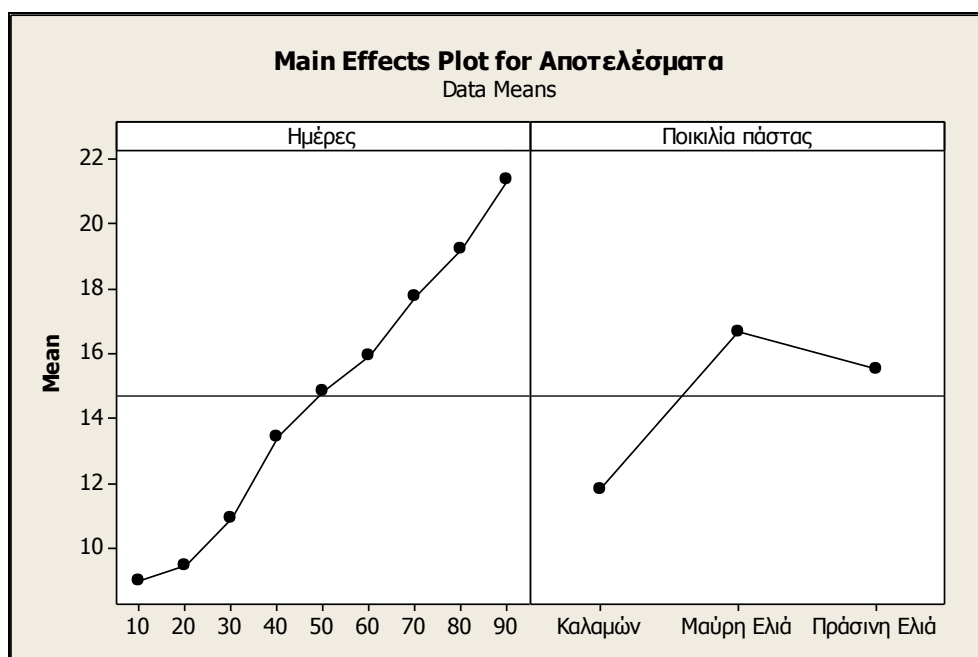
Για τον τύπο καλαμών : Η τιμή $P < 0.001$ άρα συμπεραίνουμε ότι η τιμή των υπεροξειδίων είναι εντός των προβλεπόμενων ορίων οπότε το ελαιόλαδο του τύπου καλαμών χαρακτηρίζεται ως έξτρα παρθένο. Όρια εμπιστοσύνης 95% : (8,75 – 14,96).



Σχήμα 13. Μεταβολές του αριθμού υπεροξειδίων στις τρεις πάστες ελιάς κατά την διάρκεια της αποθήκευσης

Στο σχήμα 13 παρατηρούμε ότι η πάστα μαύρης ελιάς παρουσιάζει τον μεγαλύτερο ρυθμό αύξησης του αριθμού των υπεροξειδίων ειδικά μετά την 3^η μέτρηση, ενώ τον μικρότερο ρυθμό αύξησης είχε η πάστα πράσινης ελιάς. Για την πάστα μαύρης ελιάς και καλαμών παρατηρούμε ότι δεν υπάρχει καμία στατιστικά σημαντική αύξηση των υπεροξειδίων στις 2 πρώτες μετρήσεις, ενώ ο ρυθμός αύξησης τους ήταν σχεδόν ο ίδιος μέχρι και την 4^η μέτρηση.

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τις μετρήσεις των υπεροξειδίων στις τρεις ποικιλίες της πάστας έρχονται όπως προαναφέρθηκε και πριν σε συμφωνία με τους *Mendez & Falque* (2007) που ανέφεραν ότι μια αύξηση της τιμής των υπεροξειδίων εμφανίζεται σε όλα τα δείγματα μέσα σε χρονικό διάστημα 3 μηνών.



Σχήμα 14. Η επίδραση των παραγόντων «Χρόνος» και «Ποικιλία πάστας ελιάς» στην τιμή των υπεροξειδίων

Σύμφωνα με το σχήμα 14 παρατηρούμε ότι όσο αυξάνεται ο χρόνος αποθήκευσης αυξάνεται και η τιμή των υπεροξειδίων και στα 3 προς εξέταση δείγματα. Επίσης παρατηρείται ότι στην μαύρη ελιά υπήρχε ο μεγαλύτερος αριθμός υπεροξειδίων έπειτα ακολούθησε αυτή της πράσινης ελιάς και τέλος αυτή του τύπου καλαμών.

Με την προϋπόθεση ότι ισχύει η κανονικότητα και η ομοιογένεια των δειγμάτων διεξήχθη η ανάλυση διακύμανσης 2 παραγόντων (*two way ANOVA*) για την κάθε ποικιλία πάστας ελιάς.

Ο στατιστικός έλεγχος έδειξε, ότι οι τιμές των υπεροξειδίων διέφεραν και στα 3 δείγματα και ήταν εξαρτημένες από τον χρόνο καθώς $P=0,001$ (στατιστικά σημαντική διαφορά) που σημαίνει ότι όταν αυξάνεται ο χρόνος αποθήκευσης αυξάνεται και η τιμή των υπεροξειδίων.

Το συμπέρασμα αυτό έρχεται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα των *Mendez & Falque* (2007), οι οποίοι ανέφεραν ότι όσο αυξάνεται ο χρόνος αποθήκευσης αυξάνεται και η τιμή των υπεροξειδίων.

Όπως φαίνεται στον πίνακα 14 και με βάση τον στατιστικό έλεγχο την μεγαλύτερη τιμή υπεροξειδίων παρουσίασε η πάστα μαύρης ελιάς (16,68) ενώ ακολούθησε η πάστα πράσινης ελιάς (15,545). Την μικρότερη τιμή υπεροξειδίων εμφάνισε η πάστα καλαμών (11,86).

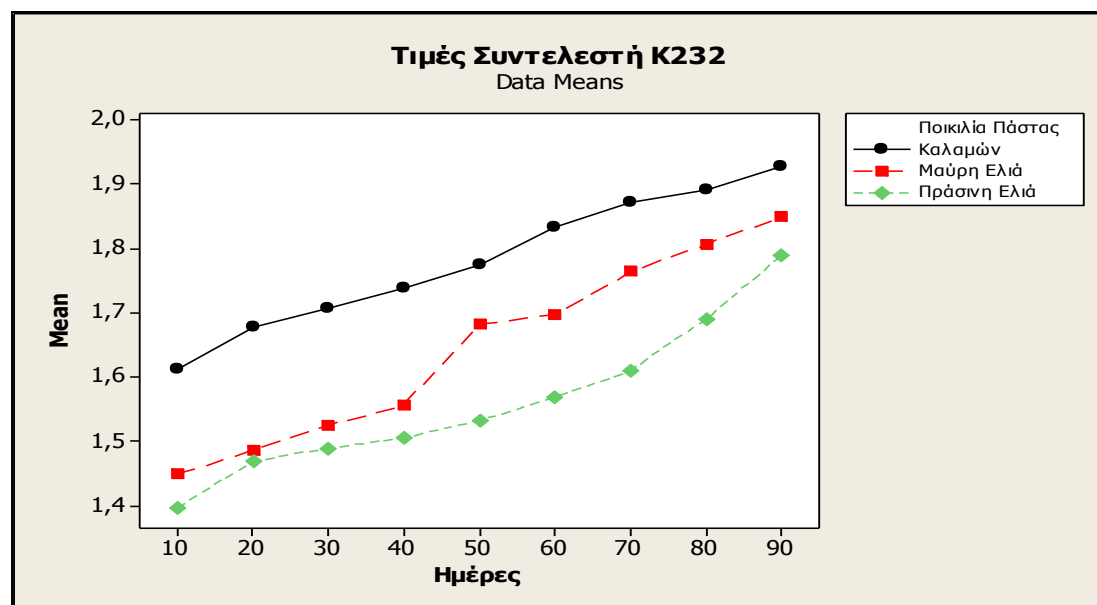
Δηλαδή ισχύει η σχέση : Πάστα μαύρης ελιάς (16,68) > πάστα πράσινης ελιάς (15,545) > πάστα καλαμών (11,86)

5.1.3 Τιμές των ειδικών συντελεστών απορρόφησης K_{232} , K_{270} και Δ_K στα δείγματα πάστας ελιάς

Πίνακας 8. Τιμές των ειδικών συντελεστών απορρόφησης K_{232} στα δείγματα πάστας ελιάς

K232									
Δείγμα	ΠΡΑΣΙΝΗ			ΚΑΛΛΑΜΩΝ			ΜΑΥΡΗ		
Ημέρα	1 ^η Μέτρηση	2 ^η Μέτρηση	M.O	1 ^η Μέτρηση	2 ^η Μέτρηση	M.O	1 ^η Μέτρηση	2 ^η Μέτρηση	M.O
10 ^η	1,392	1,401	1,396	1,612	1,615	1,613	1,444	1,453	1,448
20 ^η	1,473	1,465	1,469	1,673	1,682	1,677	1,483	1,489	1,486
30 ^η	1,487	1,492	1,489	1,704	1,711	1,707	1,521	1,530	1,525
40 ^η	1,501	1,509	1,505	1,740	1,738	1,739	1,552	1,560	1,556
50 ^η	1,537	1,528	1,532	1,769	1,781	1,775	1,676	1,689	1,682
60 ^η	1,565	1,571	1,568	1,829	1,840	1,834	1,701	1,693	1,697
70 ^η	1,608	1,613	1,610	1,878	1,867	1,872	1,762	1,767	1,764
80 ^η	1,692	1,688	1,690	1,896	1,889	1,892	1,804	1,811	1,807
90 ^η	1,785	1,793	1,789	1,939	1,916	1,927	1,845	1,854	1,849
	95% C.I. OF MEAN	1,468 – 1,653		95% C.I. OF MEAN	1,699 – 1,864		95% C.I. OF MEAN	1,533 – 1,759	

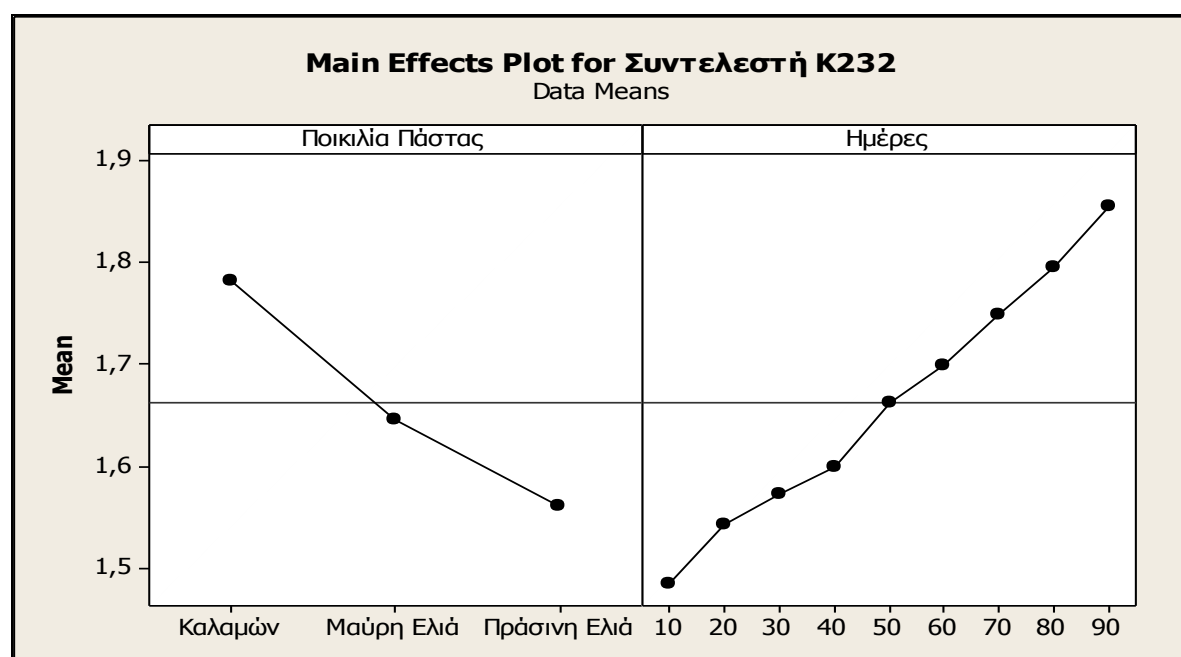
Στον πίνακα 8 φαίνεται η αρχική τιμή και η μεταβολή στα υπόλοιπα στάδια του συντελεστή K_{232} σε κάθε τύπο πάστας ελιάς. Είναι χαρακτηριστικό ότι οι τιμές αυτές ήταν χαμηλές σε σχέση με τις ανώτερες τιμές που ορίζονται από τον διεθνή οργανισμό ελαιολάδου και την Ευρωπαϊκή Ένωση και με βάση αυτές θα μπορούσε να χαρακτηριστεί ως εξαιρετικά παρθένο. Εξυπακούεται ότι θα πρέπει και οι άλλοι παράμετροι ελέγχου της ποιότητας να βρίσκονται εντός των ορίων που ορίζονται από τους κανονισμούς.



Σχήμα 15. Μεταβολές στον ειδικό συντελεστή K_{232} στις τρεις πάστες ελιάς κατά την διάρκεια της αποθήκευσης

Σύμφωνα με το σχήμα 15 παρατηρούμε ότι ο τύπος καλαμών έχει μια σταθερά αυξητική τάση ως προς την τιμή του συντελεστή, σε αντίθεση με τις ποικιλίες μαύρης και πράσινης ελιάς στις οποίες ο ρυθμός αύξησης είχε διακυμάνσεις ειδικότερα στην ποικιλία μαύρης ελιάς μεταξύ της 4^{ης} και 6^{ης} μέτρησης. Ο τύπος πράσινης ελιάς και αυτή όπως αναφέρθηκε δεν είχε σταθερή αύξηση αλλά οι μεταβολές των διακυμάνσεων ήταν μικρότερες σε σχέση με αυτές της μαύρης ελιάς, με εξαίρεση τις τρεις τελευταίες μετρήσεις.

Όσο αφορά την μαύρη ελιά η αύξηση της τιμής στην 50^η ημέρα και στην συνέχεια η μείωση της στην επόμενη μέτρηση θα μπορούσε να οφείλεται σε πειραματικό λάθος.



Σχήμα 16. Η επίδραση των παραγόντων «Χρόνος» και «Ποικιλία πάστας ελιάς» στον ειδικό συντελεστή K_{232}

Στο σχήμα 16 παρατηρούμε ότι με την αύξηση του χρόνου αποθήκευσης ο ειδικός συντελεστής K_{232} αυξάνεται. Σύμφωνα και με τον στατιστικό έλεγχο ο ειδικός συντελεστής K_{232} διέφερε στα 3 προς εξέταση δείγματα και ήταν εξαρτημένος από τον χρόνο καθώς $P=0,001$.

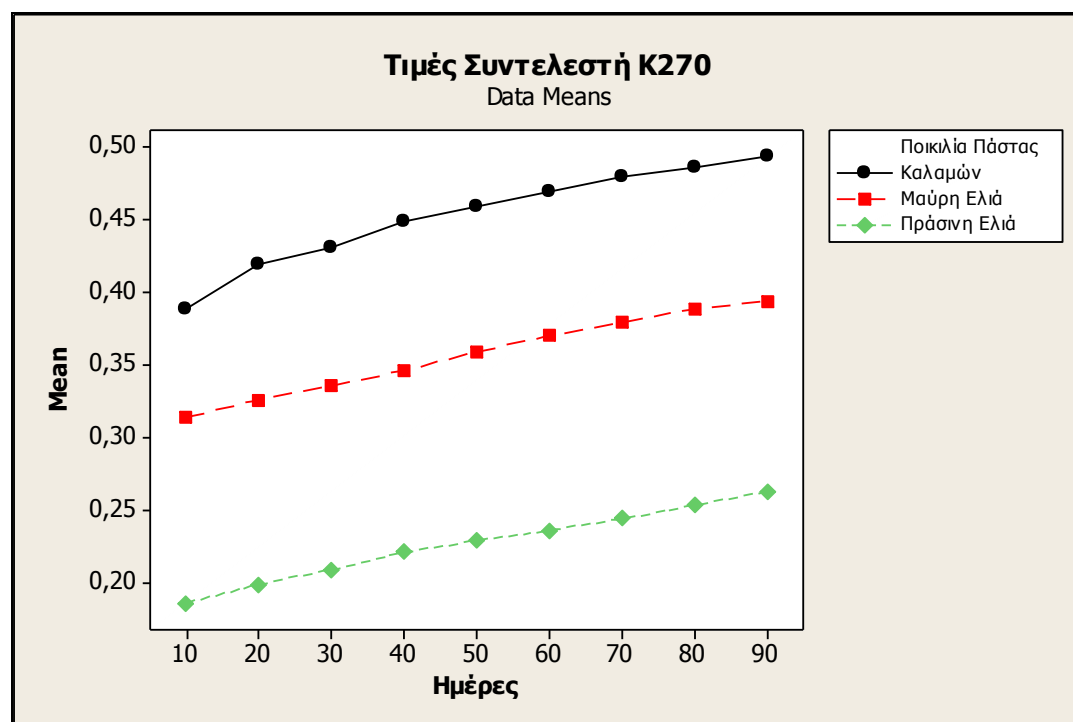
Έτσι λοιπόν σύμφωνα με τον στατιστικό έλεγχο διαπιστώθηκε πως η πάστα καλαμών είχε την μεγαλύτερη τιμή στον συντελεστή απορρόφησης K_{232} (1,782) και στην συνέχεια ακολούθησε ο συντελεστής K_{232} της πάστας μαύρης ελιάς (1,646), ενώ ο συντελεστής της πράσινης ελιάς είχε τον μικρότερο συντελεστή (1,561).

Ισχύει η σχέση : Πάστα καλαμών (1,782) > πάστα μαύρης ελιάς (1,646) > πάστα πράσινης ελιάς (1,561)

Πίνακας 9. Τιμές των ειδικών συντελεστών απορρόφησης K_{270} στα δείγματα πάστας ελιάς

K270									
Δείγμα Ημέρα	ΠΡΑΣΙΝΗ			ΚΑΛΛΑΜΩΝ			ΜΑΥΡΗ		
	1 ^η Μέτρηση	2 ^η Μέτρηση	M.O	1 ^η Μέτρηση	2 ^η Μέτρηση	M.O	1 ^η Μέτρηση	2 ^η Μέτρηση	M.O
10 ^η	0,183	0,189	0,186	0,382	0,394	0,388	0,312	0,317	0,314
20 ^η	0,197	0,202	0,199	0,418	0,421	0,419	0,322	0,330	0,326
30 ^η	0,207	0,211	0,209	0,429	0,434	0,431	0,334	0,338	0,336
40 ^η	0,218	0,225	0,221	0,447	0,451	0,449	0,345	0,347	0,346
50 ^η	0,228	0,231	0,229	0,458	0,461	0,459	0,357	0,361	0,359
60 ^η	0,234	0,239	0,236	0,466	0,472	0,469	0,369	0,372	0,370
70 ^η	0,247	0,242	0,244	0,478	0,481	0,479	0,377	0,381	0,379
80 ^η	0,251	0,255	0,253	0,485	0,487	0,486	0,386	0,390	0,388
90 ^η	0,260	0,266	0,263	0,490	0,496	0,493	0,396	0,392	0,394
	95% C.I. OF MEAN	0,207 – 0,246		95% C.I. OF MEAN	0,426 – 0,479		95% C.I. OF MEAN	0,335 – 0,378	

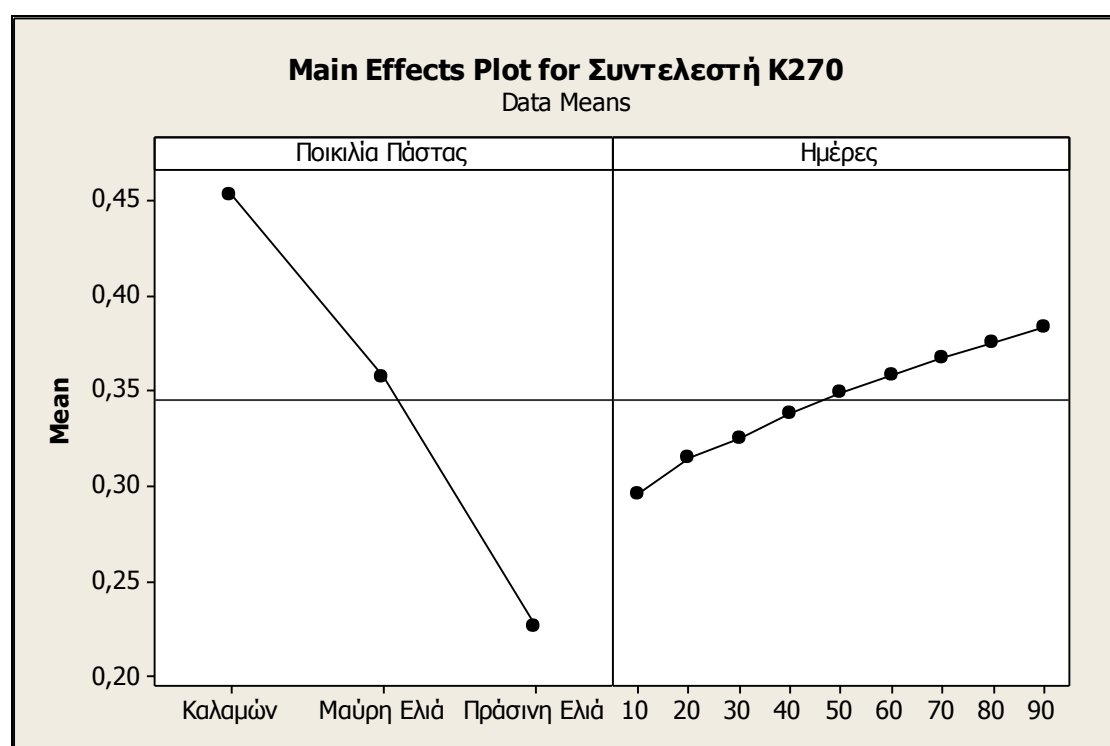
Είναι φανερό ότι οι τιμές του συντελεστή K_{270} (πίνακας 9) ακόμη και στην αρχική μέτρηση ξεπερνούν τα θεσμοθετημένα όρια του διεθνούς συμβουλίου ελαιολάδου και της Ευρωπαϊκής Ένωσης που είναι κάτω της τιμής του 2,5. Οι τιμές αυτές ήταν για τον τύπο της μαύρης ελιάς και της καλαμών 0,314 και 0,388 αντίστοιχα, ενώ για την πράσινη η τιμή ήταν 0,186. Σύμφωνα με τον Κυριτσάκης (2007), υψηλές τιμές απορρόφησης στο μήκος κύματος 270 nm μπορεί να οφείλονται τόσο σε οξειδωση όσο σε νοθεία ή και στα δυο.

**Σχήμα 17.** Μεταβολές στον ειδικό συντελεστή K_{270} στις τρεις πάστες ελιάς κατά την διάρκεια της αποθήκευσης

Το σχήμα 17 δείχνει ότι η τιμή του συντελεστή K_{270} για τον τύπο της πάστας μαύρης και πράσινης ελιάς σημειώνει μια σταθερή αλλά μικρή αυξητική τάση σε σχέση με τον τύπο της πάστας καλαμών. Συγκεκριμένα όσο αφορά την πάστα καλαμών παρουσιάζει μια μεγαλύτερη αυξητική τάση και ιδιαίτερα στις 3 πρώτες μετρήσεις.

Όταν υπάρχουν υψηλές τιμές απορρόφησης στο μήκος κύματος 270 μας δείχνουν ότι τα προς εξέταση δείγματα έχουν οξειδωθεί ή νοθευτεί ή και τα δυο (Κυριτσάκης, 2007).

Γι' αυτό λοιπόν λαμβάνοντας υπόψη και τους δυο ειδικούς συντελεστές απορρόφησης εξάγεται το συμπέρασμα πως στην πάστα καλαμών το περιεχόμενο ελαιόλαδο πιθανόν να είναι νοθευμένο με ραφινρισμένο ελαιόλαδο ή σπορέλαιο καθ' ότι η διεργασία του ραφινρισματος προκαλεί συζυγία των ακόρεστων διπλών δεσμών και αύξηση της τιμής απορρόφησης σε αυτά τα μήκη κύματος.



Σχήμα 18. Η επίδραση των παραγόντων «Χρόνος» και «Ποικιλία πάστας ελιάς» στον ειδικό συντελεστή K_{270}

Στο σχήμα 18 παρατηρούμε πως ο συντελεστής K_{270} αυξάνεται και αυτός με την αύξηση του χρόνου αποθήκευσης. Ο στατιστικός έλεγχος έδειξε πως όπως στον συντελεστή K_{232} έτσι και στον συντελεστή K_{270} τα προς εξέταση δείγματα διαφέρουν μεταξύ τους και εξαρτώνται από τον χρόνο (Mendez A.I. and Falque E., 2007).

Έτσι λοιπόν σύμφωνα με τον στατιστικό έλεγχο της ανάλυσης της διακύμανσης 2 παραγόντων διαπιστώθηκε πως η πάστα καλαμών είχε την μεγαλύτερη τιμή στον συντελεστή απορρόφησης K_{270} (0,452) και στην συνέχεια ακολούθησε ο συντελεστής K_{232} της πάστας μαύρης ελιάς (0,357), ενώ ο συντελεστής της πράσινης ελιάς είχε την μικρότερη τιμή (0,227).

Δηλαδή ισχύει η σχέση : Πάστα καλαμών (0,452) > πάστα μαύρης ελιάς (0,357) > πάστα πράσινης ελιάς (0,227)

Πίνακας 10. Τιμές της σχέσης Δ_K στα δείγματα πάστας ελιάς

Δείγμα Ημέρα	Δ_K								
	ΠΡΑΣΙΝΗ			ΚΑΛΛΑΜΩΝ			ΜΑΥΡΗ		
	1 ^η Μέτρηση	2 ^η Μέτρηση	Μ.Ο	1 ^η Μέτρηση	2 ^η Μέτρηση	Μ.Ο	1 ^η Μέτρηση	2 ^η Μέτρηση	Μ.Ο
10 ^η	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20 ^η	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30 ^η	0	0	0	0	0	0	0	0	0
40 ^η	0	0	0	0	0,0025	0,0012	0	0	0
50 ^η	0,002	0,0065	0,004	0,0010	0,0017	0,001	0	0,0150	0,007
60 ^η	0,0085	0,0095	0,009	0,0091	0,0062	0,008	0,0185	0,0200	0,019
70 ^η	0,0135	0,0142	0,014	0,1350	0,1400	0,014	0,0225	0,0251	0,024
80 ^η	0,0165	0,017	0,018	0,0230	0,0235	0,023	0,0370	0,0320	0,035
90 ^η	0,0195	0,020	0,020	0,0385	0,0372	0,038	0,0485	0,0437	0,046
	95% C.I. OF MEAN	-0,0103 – 0,0129		95% C.I. OF MEAN	-0,0093 – 0,0270		95% C.I. OF MEAN	-0,0103 – 0,0194	

Στον πίνακα 10 εμφανίζονται οι τιμές της σχέσης Δ_K οι οποίες μαζί με τους υπόλοιπους δείκτες ποιότητας μας βοηθούν στο να κατατάξουμε τα προς εξέταση ελαιόλαδα σε κατηγορίες σύμφωνα με τον πίνακα ποιότητας ελαιολάδου που έχει οριστεί.

Με βάση τα κριτήρια ποιοτικής αξιολόγησης του περιεχόμενου ελαιολάδου στους 3 τύπους πάστας ελιάς που αναλύθηκαν, αυτό για την πράσινη ελιά κατατάσσεται στην κατηγορία του παρθένου ελαιολάδου αφού ένα από τα κριτήρια όπως η οξύτητα π.χ. είναι μεγαλύτερη της τιμής 0,8 και μικρότερη του 2. Οι τιμές των υπόλοιπων παραμέτρων είναι :

- Για τα υπεροξείδια < 20 ενώ το ελαιόλαδο της ελαιόπαστας είχε όρια εμπιστοσύνης 12,95-18,14. (πίνακας 7)
- Για τον συντελεστή K_{232} < 3,70 ενώ το ελαιόλαδο της ελαιόπαστας είχε όρια εμπιστοσύνης 1,468 – 1,653 (πίνακας 8)
- Για τον συντελεστή K_{270} < 0,25 ενώ το ελαιόλαδο της ελαιόπαστας είχε όρια εμπιστοσύνης 0,207 – 0,246 (πίνακας 9)
- Για τον συντελεστή Δ_K < 0,01 ενώ το ελαιόλαδο της ελαιόπαστας είχε όρια εμπιστοσύνης -0,0103 – 0,0129 (πίνακας 10)

Με τον ίδιο τρόπο κατατάσσουμε και τα ελαιόλαδα των άλλων δυο τύπων πάστας ελιάς όπως καταγράφονται παρακάτω :

Πάστα καλαμών

Σύμφωνα με τα όρια εμπιστοσύνης που παρουσίασε η ελαιόπαστα καλαμών παρατηρούμε ότι σχεδόν όλοι οι παράμετροι (εκτός από τον αριθμό υπεροξειδίων) που ελέχθησαν βρίσκονται εντός των ορίων της κατηγορίας παρθένο λαμπάντε τα οποία σύμφωνα με τον πίνακα ήταν:

- Για την οξύτητα $> 2,0$ ενώ το ελαιόλαδο της ελαιόπαστας είχε όρια εμπιστοσύνης 11,512 – 12,724 (πίνακας 6)
- Για τα υπεροξειδία > 20 ενώ το ελαιόλαδο της ελαιόπαστας είχε όρια εμπιστοσύνης 8,75 – 14,96. (πίνακας 7)
- Για τον συντελεστή $K_{232} < 3,70$ ενώ το ελαιόλαδο της ελαιόπαστας είχε όρια εμπιστοσύνης 1,699 – 1,864 (πίνακας 8)
- Για τον συντελεστή $K_{270} > 0,25$ ενώ το ελαιόλαδο της ελαιόπαστας είχε όρια εμπιστοσύνης 0,426 – 0,479 (πίνακας 9)
- Όσον αφορά τον συντελεστή απορρόφησης ΔΚ, αυτός δεν ενδείκνυται στην συγκεκριμένη κατηγορία (ελαιόλαδο λαμπάντε)
-

Το ελαιόλαδο λαμπάντε είναι ακατάλληλο για κατανάλωση ως έχει και προορίζεται για ραφινάρισμα ή για βιομηχανική χρήση (Κυριτσάκης, 2007).

Πάστα μαύρης ελιάς

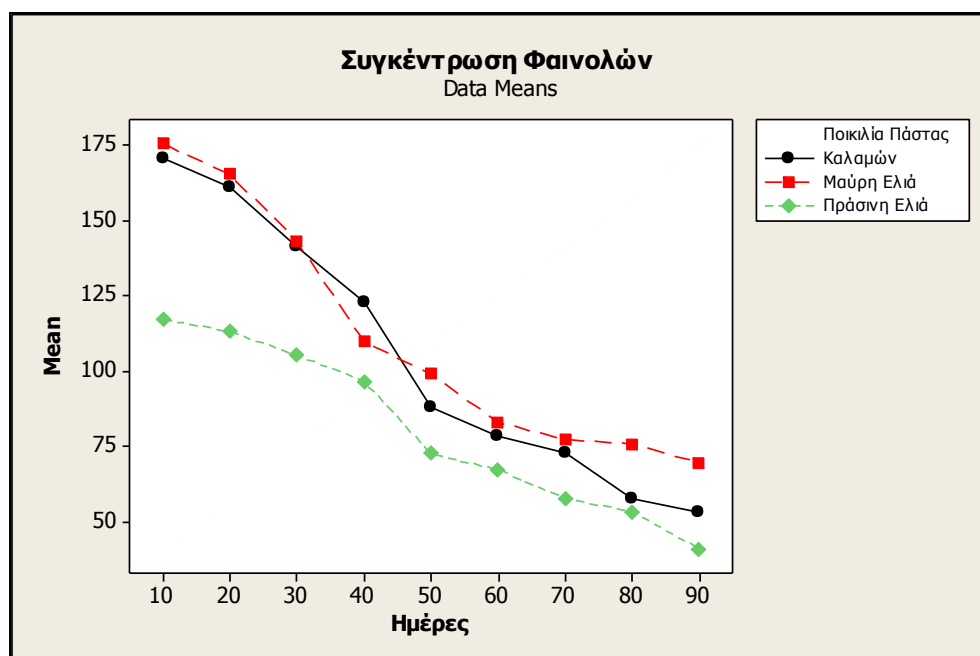
Σύμφωνα με τα όρια εμπιστοσύνης που παρουσίασε η ελαιόπαστα μαύρης ελιάς παρατηρούμε ότι σχεδόν όλοι οι παράμετροι που ελέχθησαν βρίσκονται εντός των ορίων της κατηγορίας παρθένο λαμπάντε τα οποία σύμφωνα με τον πίνακα ήταν:

- Για την οξύτητα $> 2,0$ ενώ το ελαιόλαδο της ελαιόπαστας είχε όρια εμπιστοσύνης 6,327 – 6,962 (πίνακας 6)
- Για τα υπεροξειδία > 20 ενώ το ελαιόλαδο της ελαιόπαστας είχε όρια εμπιστοσύνης 12,23 – 21,12 (πίνακας 7)
- Για τον συντελεστή $K_{232} < 3,70$ ενώ το ελαιόλαδο της ελαιόπαστας είχε όρια εμπιστοσύνης 1,533 – 1,759 (πίνακας 8)
- Για τον συντελεστή $K_{270} > 0,25$ ενώ το ελαιόλαδο της ελαιόπαστας είχε όρια εμπιστοσύνης 0,335 – 0,378 (πίνακας 9)
- Όσον αφορά τον συντελεστή απορρόφησης ΔΚ, αυτός δεν ενδείκνυται στην συγκεκριμένη κατηγορία (ελαιόλαδο λαμπάντε)

5.1.4 Προσδιορισμός της περιεκτικότητας των φαινολών του περιεχόμενου ελαιολάδου των δειγμάτων

Πίνακας 11. Περιεκτικότητα φαινολικών ενώσεων στα δείγματα της πάστας ελιάς (σε ppm)

Δείγμα Ημέρα	ΦΑΙΝΟΛΕΣ								
	ΠΡΑΣΙΝΗ			ΚΑΛΛΑΜΩΝ			ΜΑΥΡΗ		
	1 ^η Μέτρηση	2 ^η Μέτρηση	Μ.Ο	1 ^η Μέτρηση	2 ^η Μέτρηση	Μ.Ο	1 ^η Μέτρηση	2 ^η Μέτρηση	Μ.Ο
10 ^η	116,2	117,6	116,9	172,4	168,5	170,4	173,5	177,1	175,3
20 ^η	112,3	113,9	113,1	160,1	161,5	160,8	164,8	165,7	165,2
30 ^η	103,3	106,7	105,0	142,5	140,2	141,3	142,2	143,9	143,0
40 ^η	96,6	95,5	96,5	122,0	123,2	122,6	107,5	112,0	109,7
50 ^η	73,9	71,2	72,5	86,8	88,8	87,8	98,3	99,7	99,0
60 ^η	66,1	68,1	67,1	76,7	79,3	78,0	82,6	83,2	82,9
70 ^η	56,6	58,3	57,4	70,9	73,9	72,4	76,2	78,1	77,2
80 ^η	52,1	54,1	53,1	57,4	58,0	57,7	74,5	76,5	75,5
90 ^η	39,6	42,1	40,8	52,4	53,3	52,8	68,4	70,6	69,5
	95% C.I. OF MEAN (58,615 – 101,919)			95% C.I. OF MEAN (70,418 – 139,315)			95% C.I. OF MEAN (79,640 – 141,983)		

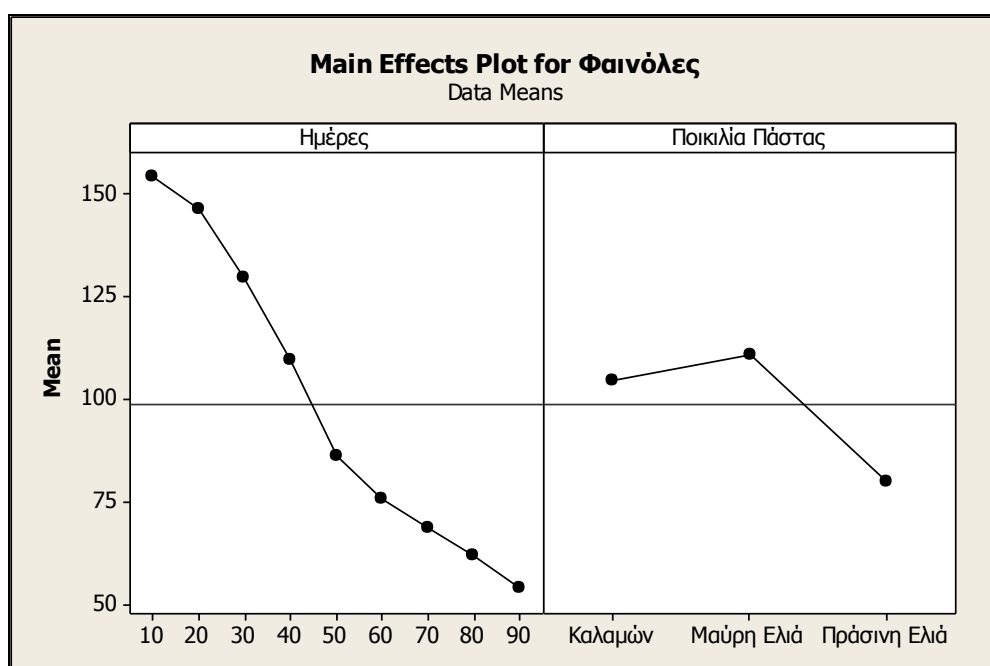


Σχήμα 19. Μεταβολές της ποσότητας των φαινολών στις τρεις πάστες ελιάς κατά την διάρκεια της αποθήκευσης

Στο σχήμα 19 παρατηρούμε ότι η πάτα ελιάς καλαμών και η πάστα μαύρης ελιάς έχουν σχεδόν τον ίδιο ρυθμό μείωσης του αριθμού των φαινολών. Με μια λίγο πιο απότομη πτώση μεταξύ 4^{ης} – 6^{ης} και 7^{ης} – 9^{ης} μέτρησης. Ένα μικρότερο ρυθμό μείωσης παρουσιάζει η πάστα πράσινης ελιάς.

Ο Romero και οι συνεργάτες του αναφέρουν ότι η ποσότητα σε φαινόλες στις επεξεργασμένες ελιές μειώνεται διότι οι φαινόλες διασκορπίζονται από την σάρκα στα περιβάλλοντα διαλύματα, όπως για παράδειγμα σε άλμη.

Η κύρια αιτία της υποβάθμισης της ποιότητας του έξτρα παρθένου ελαιολάδου κατά την διάρκεια της αποθήκευσης είναι οι αντιδράσεις οξειδωσης και υδρόλυσης και ως αποτέλεσμα αυτών τα προϊόντα παρουσιάζουν, απώλεια φυσικών αντιοξειδωτικών.



Σχήμα 20. Η επίδραση των παραγόντων «Χρόνος» και «Ποικιλία πάστας ελιάς» στην ποσότητα των φαινολικών ενώσεων

Σύμφωνα με το σχήμα 20 παρατηρούμε ότι όσο αυξάνεται ο χρόνος μειώνεται η ποσότητα των φαινολικών ουσιών και στα 3 προς εξέταση δείγματα. Ο μεγαλύτερος ρυθμός μείωσης των φαινολικών ενώσεων παρατηρούνται κατά την 3^η, 4^η και 5^η μέτρηση.

Όσο αφορά την ποικιλία της πάστας η μεγαλύτερη ποσότητα φαινολών παρουσιάζεται στην πάστα μαύρης ελιάς και η μικρότερη στην πάστα πράσινης ελιάς.

Με την προϋπόθεση ότι ισχύει η κανονικότητα και η ομοιογένεια των δειγμάτων διεξήχθη η ανάλυση διακύμανσης 2 παραγόντων (*two way ANOVA*) για την κάθε ποικιλία πάστας ελιάς.

Ο στατιστικός έλεγχος έδειξε, ότι οι ποσότητες των φαινολών διέφεραν και στα 3 δείγματα και ήταν εξαρτημένες από τον χρόνο καθώς $P=0,001$ γεγονός που επιβεβαιώνει τους *Mendez & Falque* (2007) οι οποίοι αναφέρουν ότι η ποσότητα των φαινολών μειώνεται με την πάροδο του χρόνου αποθήκευσης αφού παίζουν σημαντικό ρόλο στην παρεμπόδιση της οξειδωσης.

Την μεγαλύτερη ποσότητα φαινολών παρουσίασε η πάστα μαύρης ελιάς (110,81) ενώ ακολούθησε η πάστα καλαμών (104,87). Την μικρότερη ποσότητα φαινολών εμφάνισε η πάστα πράσινης ελιάς (80,267).

Οπότε ισχύει η σχέση : Πάστα μαύρης ελιάς (110,81) > πάστα καλαμών (104,87) > πάστα πράσινης ελιάς (80,267)

5.2 Μικροβιακές Τιμές κριτηρίων ποιότητας στους 3 τύπους πάστας ελιάς που αναλύθηκαν

Πίνακας 12. Αποτελέσματα μικροβιακού φορτίου Ζυμών – Μυκήτων για κάθε πάστα ελιάς

Δείγμα Ημέρα	Ζύμες – Μύκητες											
	ΠΡΑΣΙΝΗ				ΚΑΛΛΑΜΩΝ				ΜΑΥΡΗ			
	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}
10 ⁿ	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
20 ⁿ	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
30 ⁿ	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
40 ⁿ	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
50 ⁿ	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
60 ⁿ	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
70 ⁿ	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
80 ⁿ	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
90 ⁿ	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10

Ο πίνακας 12 δίνει τα αποτελέσματα του μικροβιακού φορτίου ζυμών – μυκήτων για κάθε κατηγορία πάστας ελιάς στο διάστημα του πειραματισμού. Είναι φανερό ότι οι τιμές αυτές καθ' όλη την διάρκεια ήταν κάτω από το όριο των 10 cfu/g όπως ορίζει ο κανονισμός. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι έγινε αποτελεσματική παστερίωση και στο γεγονός ότι χρησιμοποιήθηκαν πρώτες ύλες με καλής μικροβιολογικής ποιότητας. Επίσης βασικό παράγοντα παίζουν οι συνθήκες συντήρησης όπως είναι η θερμοκρασία και η συγκέντρωση του οξυγόνου.

Πίνακας 13. Αποτελέσματα μικροβιακού φορτίου *E. coli* για κάθε πάστα ελιάς

E. coli												
Δείγμα	ΠΡΑΣΙΝΗ				ΚΑΛΛΑΜΩΝ				ΜΑΥΡΗ			
Ημέρα	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
10 ^η	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20 ^η	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30 ^η	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40 ^η	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50 ^η	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60 ^η	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
70 ^η	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
80 ^η	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
90 ^η	<10 (10.6)	6.3E +1 (8.6)	6.3E +1 (8.6)	5.1E +1 (8.7)	1.0E +0 (10.4)	5.1E +1 (8.7)	9.0E +0 (9.5)	9.0E +0 (9.5)	-	6.0E+ 0 (9.7)	2.7E +1 (9.0)	2.2E +1 (9.1)

Σχετικά με τα αποτελέσματα του μικροβιακού φορτίου της *E. coli* όπως εμφανίζονται στον πίνακα 13, για κάθε κατηγορία πάστας ελιάς δεν εντοπίστηκε η παρουσία του μικροοργανισμού σε όλη την διάρκεια του πειραματισμού, εκτός από την τελευταία μέτρηση η οποία έδειξε μικρή τιμή στην συγκέντρωση του μικροοργανισμού κάτι που μπορεί να οφείλεται σε επιμόλυνση του προϊόντος είτε σε πειραματικό σφάλμα. Ιδιαίτερη προσοχή θα πρέπει να λαμβάνεται κατά τους χειρισμούς καθώς εκεί μπορεί να υπάρξει επιμόλυνση του προϊόντος.

Πίνακας 14. Αποτελέσματα μικροβιακού φορτίου σταφυλόκοκκου για κάθε πάστα ελιάς

Σταφυλόκοκκος – Staph												
Δείγμα	ΠΡΑΣΙΝΗ				ΚΑΛΛΑΜΩΝ				ΜΑΥΡΗ			
Ημέρα	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
10 ^η	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
20 ^η	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
30 ^η	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
40 ^η	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
50 ^η	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
60 ^η	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
70 ^η	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
80 ^η	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
90 ^η	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10

Ο πίνακας 14 εμφανίζει τα αποτελέσματα του μικροβιακού φορτίου σταφυλόκοκκων για κάθε κατηγορία πάστας ελιάς στο διάστημα του πειραματισμού. Είναι φανερό ότι σε οι τιμές αυτές καθ' όλη την διάρκεια ήταν κάτω από το όριο των 10 cfu/g όπως ορίζει ο κανονισμός. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι έγινε αποτελεσματική παστερίωση και στο γεγονός ότι χρησιμοποιήθηκαν πρώτες ύλες με καλής μικροβιολογικής ποιότητας για την παρασκευή των προϊόντων.

Πίνακας 15. Αποτελέσματα μικροβιακού φηρτίου ολικής μεσόφιλης χλωρίδας για κάθε πάστα ελιάς

Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα – TVC															
Δείγμα	ΠΡΑΣΙΝΗ					ΚΑΛΛΑΜΩΝ					ΜΑΥΡΗ				
Μέτρηση	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶
Ημέρα	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
10 ^η	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
20 ^η	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
30 ^η	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
40 ^η	5.7 E +6 (2.3)	5.7 E +6 (2.3)	5.7E +6 (2.3)	5.7 E +6 (2.3)	3.5E +6 (2.7)	5.7 E +6 (2.3)	5.7 E +6 (2.3)	5.7E +6 (2.3)	5.7 E +6 (2.3)	5.1E +6 (2.4)	5.7 E +6 (2.3)	5.7 E +6 (2.3)	5.7E +6 (2.3)	5.7 E +6 (2.3)	4.0E +6 (2.6)
50 ^η	1.3E +6 (3.5)	1.2E +6 (3.6)	1.2E +6 (3.6)	1.2E +6 (3.6)	1.2E +6 (3.6)	1.0E +6 (3.7)	1.0E +6 (3.7)	9.2E +5 (3.8)	1.3E +6 (3.5)	7.2E +5 (4.0)	1.2E +6 (3.6)	1.0E +6 (3.7)	1.2E +6 (3.6)	9.2E +5 (3.8)	9.2E +5 (3.8)
70 ^η	9.1E +4 (5.7)	1.1E +4 (7.4)	3.4E +3 (8.4)	2.3E +3 (8.7)	7.0E +3 (7.8)	1.1E +2 (11.2)	1.2E +1 (13.0)	4.8E +2 (10.0)	5.4E +2 (9.9)	1.1E +2 (11.2)	6.3E +4 (6.0)	1.5E +4 (7.2)	3.4E +3 (8.4)	3.0E +3 (8.5)	3.4E +3 (8.4)
80 ^η	1.0E +4 (7.5)	3.4E +3 (8.4)	1.8E +3 (8.9)	1.0E +3 (9.4)	4.8E +2 (10.0)	7.0E +3 (7.8)	3.4E +3 (8.4)	2.1E +3 (8.8)	1.1E +3 (9.3)	1.3E +3 (9.2)	7.0E +3 (7.8)	3.4E +3 (8.4)	2.1E +3 (8.8)	1.1E +3 (9.3)	1.3E +3 (9.2)

Στον πίνακα 15 παρατηρούμε τα αποτελέσματα της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας, η οποία είναι ένα γενικός δείκτης εκτίμησης του μικροβιακού αριθμού του προϊόντος. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αρχικά υπήρχε ένας μικρός αριθμός μικροοργανισμών λόγω της αρχικής παστερίωσης που είχε υποστεί το προϊόν ενώ στην συνέχεια υπήρξε μια αύξηση του μικροβιακού φορτίου γεγονός που οφείλεται στο ότι κατά την θερμική επεξεργασία της παστερίωσης δεν σκοτώνει το σύνολο των μικροοργανισμών καθώς το προϊόν δέχεται μια ήπια θερμική επεξεργασία. Επίσης η αύξηση του μικροβιακού φορτίου μπορεί να οφείλεται στους χειρισμούς κατά την μέτρηση καθώς και στο γεγονός ότι το προϊόν αποθηκεύτηκε σε θερμοκρασία δωματίου. Τέλος η αυξομείωση αυτή του μικροβιακού αριθμού ίσως να οφείλεται σε πιθανή ανταγωνιστική δράση μεταξύ των μικροοργανισμών.

4. Συμπεράσματα

Τα αποτελέσματα της εργασίας αυτής έδειξαν ότι :

- Η οξύτητα αυξάνεται κατά την διάρκεια της αποθήκευσης.
- Το αυξημένο μικροβιακό φορτίο συνδέεται με μεγαλύτερο βαθμό υδρόλυσης του ελαιολάδου και αύξηση της οξύτητας.
- Η τιμή των υπεροξειδίων αυξάνεται κατά την διάρκεια της αποθήκευσης.
- Οι ειδικοί συντελεστές απορρόφησης αυξάνονται κατά την διάρκεια της αποθήκευσης.
- Η ποσότητα σε φαινόλες μειώνεται κατά την διάρκεια της αποθήκευσης.
- Η περιεκτικότητα σε φαινόλες διέφερε ανάλογα το είδος της ελιάς που χρησιμοποιήθηκε.
- Το ελαιόλαδο της πάστας καλαμών πιθανών να περιέχει νοθευμένο ελαιόλαδο και κατατάσσεται στην κατηγορία παρθένο λαμπάντε.
- Το ελαιόλαδο της πάστας μαύρης ελιάς πιθανών να έχει και νοθεία και οξειδωση και κατατάσσεται στην κατηγορία παρθένο λαμπάντε.
- Το ελαιόλαδο της πάστας πράσινης ελιάς πιθανών να μην έχει νοθεία ή οξειδωση και κατατάσσεται στην κατηγορία παρθένο ελαιόλαδο.
- Με βάση τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του περιεχόμενου ελαιολάδου όσο και του μικροβιακού φορτίου της πάστας αυτής κάθε αυτής ως καλύτερη αξιολογήθηκε η πάστα πράσινης ελιάς, ακολουθούμενη από αυτή της μαύρης και τέλος αυτής της καλαμών.
- Όσο αφορά το μικροβιακό φορτίο ζυμών - μυκήτων και σταφυλόκοκκου ήταν εντός των προδιαγραφών και κάτω του ορίου της τιμής 10. Το ίδιο παρατηρήθηκε και για την E.Coli με εξαίρεση την τελευταία μέτρηση.

- Για την ολική μεσόφιλη χλωρίδα παρατηρήθηκε ότι αρχικά υπήρχε μικρή ποσότητα μικροβίων ενώ στην συνέχεια υπήρξε μια αυξομείωση του μικροβιακού φορτίου.

5. Προτάσεις για μελλοντική έρευνα

Εξέταση των μεταβολών στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του προϊόντος με :

- i. Αποθήκευση σε διάφορες συνθήκες (διάχυτο φως, υψηλές θερμοκρασίες, μακροχρόνια αποθήκευση).
- ii. Η αξιολόγηση και άλλων τύπων ελιάς .
- iii. Σύγκριση δειγμάτων ίδιου τύπου διαφορετικών εταιριών.

6. Βιβλιογραφία

Ξενογλωσση Βιβλιογραφία

1. Adams, M., Moss, M. Food Microbiology, 3rd edition, RSC Publishing.U.K.,**2007**
2. Alles S., Shrestha N., Ellsworth A., Rider A., Foti D., Knickerbocker j. & Mozola M., (2009). Validation of the soleris ® yeast and mold test for semiquantative determination of yeast mold in selected foods. *J. AOAC*, **92**, 1396-1415
3. Angerosa F., Mostallino R., Basti C. & Vito R., (2001). Influence of malaxation temperature and time on the quality of virgin olive oils. *Food chemistry*, **72**, 19 – 28
4. Baccouri O., Guerfel M., Baccouri B., Cerretani L., Bendini A., Lercker G., Zarrouk M. & Douja Daoud Ben Miled, (2008). Chemical composition and oxidative stability of Tunisian monovarietal virgin olive oils with regard to fruit ripening. *Food Chemistry*, **109**, 743 – 754
5. Ciafardini G. and Zullo B.A., (2002). Microbiological activity in stored olive oil. *International Journal of Food Microbiology*, **75**, 111-118
6. Cinquanta, L., Esti, M., La Notte, E., (1997). Evolution of Phenolic Compounds in Virgin Olive Oil During Storage. *JAOCS*, **74**, 1259 – 1264
7. Eltem, R., (1996). Growth and Aflatoxin B-1 Production on Olives and Olive Paste by Moulds Isolated from Turkish – style Natural Black Olives in Brine. *International Journal of Food Microbiology*, **32**, 217 – 223.
8. European Union Commission (2007). Regulation EEC/702/2007 amending Commission Regulation (EEC) No 2568/91 on the characteristics of olive and olive residue oil and on the relevant methods of analysis. *Official Journal of the European Community*, **L 161**, 11-27
9. European Union Commission (2007). Regulation EEC/702/2007 amending Commission Regulation (EEC) No 2568/91 on the characteristics of olive and olive residue oil and on the relevant methods of analysis. *Official Journal of the European Community*, **L 161**, 661-676

10. Gonez – Alonso S., Mancebo – Campos F., Salvador M.D., (2007). Evolution of major and minor components of oxidation indices of virgin olive oil during 21 months storage at room temperature. *Food Chemistry*, **100**, 36-42
11. Gutfinger J., (1981). Polyphenols in olive oils. *Journal American Oil Chemistry Society*, **58**, 966
12. Jasson V., Jacxsens L., Luning P., Rajkovic A. & Uyttendaele M., (2010). Alternative microbial methods: An overview and selection criteria. *Food Microbiology*, **27**, 710-730
13. McLandsborough L. Food Microbiology Laboratory, CRC Press, **2004**
14. Mendez A.I. and Falque E., (2007). Effect of storage time and container type on the quality of extra virgin olive oil. *Food Control*, **18**, 521-529
15. Psomiadou E. & Tsimidou M., (2002). Stability of virgin olive oil. 1. Autoxidation studies, *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 716-721
16. Psomiadou E. & Tsimidou M., (2002). Stability of virgin olive oil. 2. Photo-oxidation studies, *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 722-727
17. Romero, C., Brenes, M., Garcia, P., Garcia, A., Garrido, A., (2004). Polyphenol Changes During Fermentation of Naturally Black Olives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**, 1973 – 1979
18. Servili M., Taticchi A., Esposito S., Urbani S., Selvaggini R. & Montedoro G., (2008). Influence of the decrease in oxygen during malaxation of olive paste on the composition of volatiles and phenolic compounds in virgin olive oil. *J. Agric. Food Chem.*, **56**, 10048-10055
19. Soleris (2007), Operator's manual, Version 6.1.2F, Neogen Corporation
20. Swanson, K.M.J., Peetran, R.L. and J.H. Hanlin. Culture Methods for Enumeration of Microorganisms. In F.P. Downes and K. Ito (ed), Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, American Public Health Association, Washington, DC, **2001**
21. Tura D., Gigliotti C., Pedo S., Failla O., Bassi D. & Serraiocco A., (2007). Influence of cultivar and site of cultivation on levels of lipophilic and hydrophilic antioxidants in virgin olive oils (*Olea Europea L.*) and correlations with oxidative stability. *Scientia Horticulturae*, **112**, 108 – 119

Ελληνική Βιβλιογραφία

1. Κυριτσάκης Α. Ελαιόλαδο Συμβατικό και Βιολογικό βρώσιμη ελιά – πάστα ελιάς, Απόστολος Κ. Κυριτσάκης, Θεσσαλονίκη, **2007**
2. Κυριτσάκης, Α. Το ελαιόλαδο. Αγροτουριστικές Συνεταιριστικές εκδόσεις Α.Ε., Θεσσαλονίκη, **1993**
3. Κώδικας Τροφίμων, Ποτών και Αντικειμένων Κοινής Χρήσης, Τόμος 2, Κεφάλαιο XIII, άρθρο 123, παράγραφος 9, *Εθνικό τυπογραφείο*, Αθήνα, **2003**.
4. Μπαλατσούρας Γ. Δ., Η επιτραπέζια ελιά, Μπαλατσούρας Γ.Δ., Αθήνα, **1995**
5. Πετρίδης Δ. Εφαρμοσμένη στατιστική με έμφαση στην επιστήμη των τροφίμων, Εκδόσεις Όμηρος, Θεσσαλονίκη, **2000**

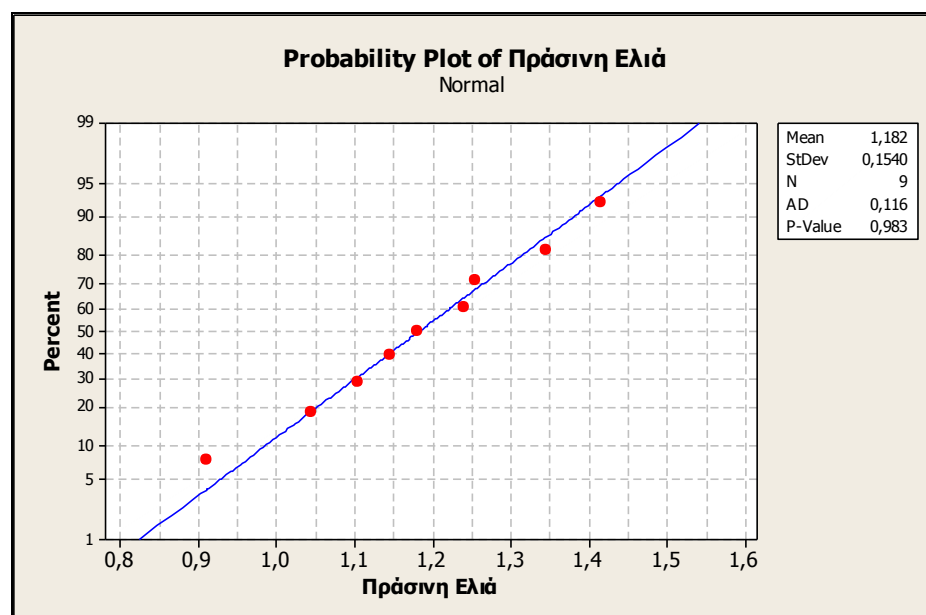
9. Παράρτημα

Στην ενότητα αυτή παρουσιάζονται όλοι οι απαραίτητοι έλεγχοι που προηγήθηκαν των βασικών ελέγχων για την στατιστική αξιολόγηση των αποτελεσμάτων.

Ο έλεγχος της κανονικότητας γίνεται για το κάθε δείγμα ξεχωριστά με τη χρήση του ελέγχου *Ryan – Joiner*.

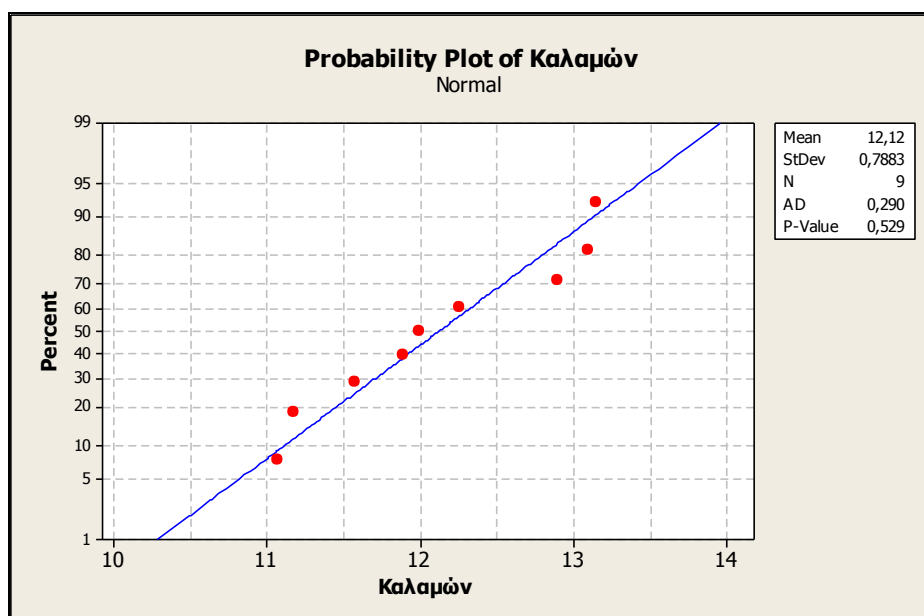
Ο έλεγχος που χρησιμοποιήθηκε για τον έλεγχο της ομοιογένειας των διακυμάνσεων, είναι ο έλεγχος του *Lavene* (Πετρίδης, 2000).

Π1. Έλεγχος της οξύτητας



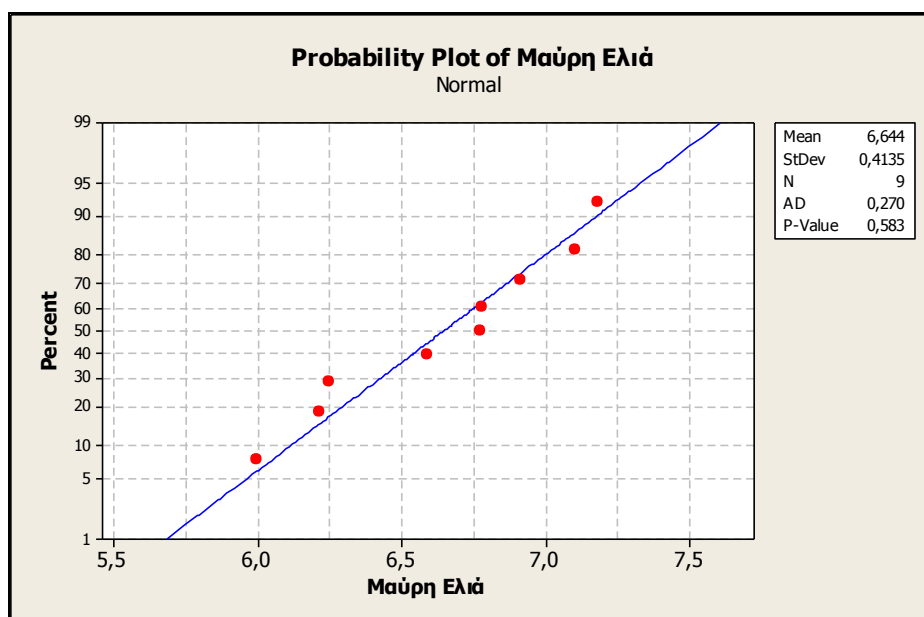
Σχήμα Π1. Έλεγχος κανονικότητας για τα αποτελέσματα μετρήσεων της τιμής της οξύτητας για την ποικιλία πράσινης ελιάς

$P = 0,983 > 0,05$ οπότε υπάρχει κανονική κατανομή των αποτελεσμάτων



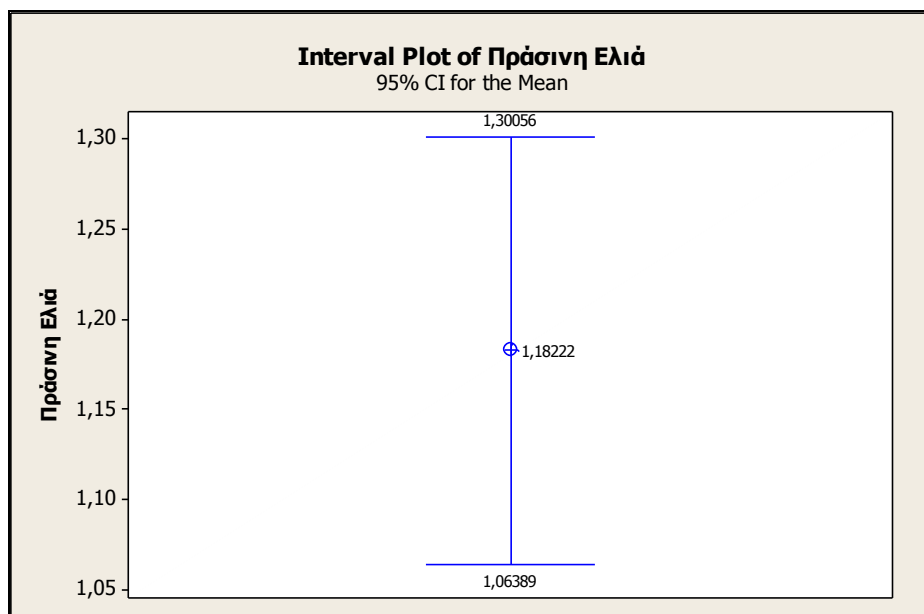
Σχήμα Π2. Έλεγχος κανονικότητας για τα αποτελέσματα μετρήσεων της τιμής της οξύτητας για την ποικιλία Καλαμών

$P = 0,529 > 0,05$ οπότε υπάρχει κανονική κατανομή των αποτελεσμάτων

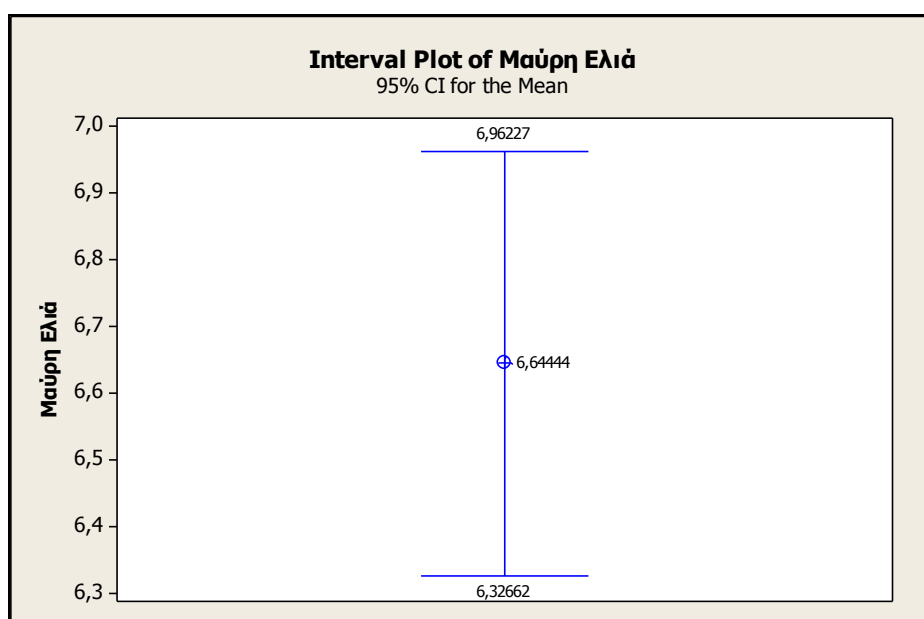


Σχήμα Π3. Έλεγχος κανονικότητας για τα αποτελέσματα μετρήσεων της τιμής των υπεροξειδίων για την ποικιλία Μαύρης ελιάς

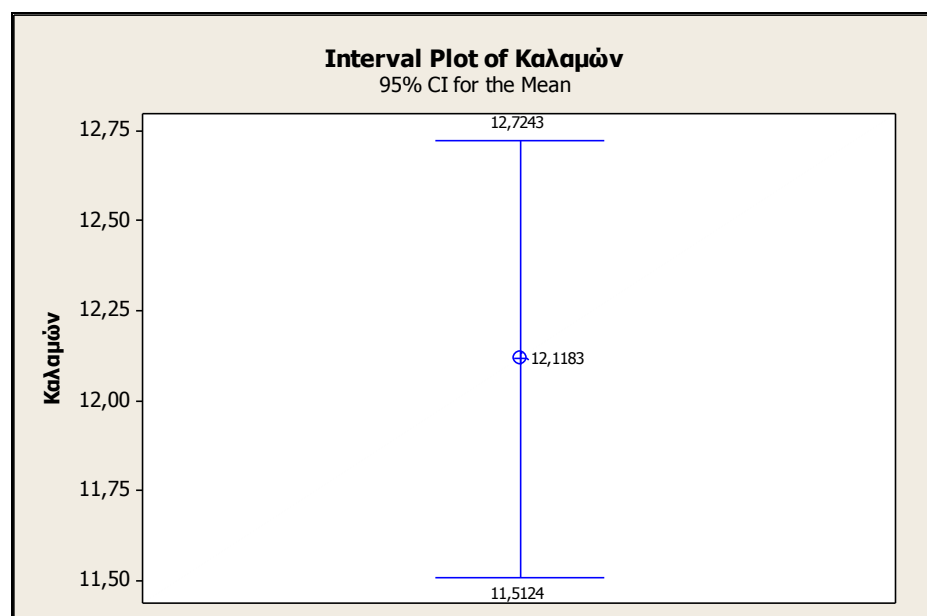
$P = 0,583 > 0,05$ οπότε υπάρχει κανονική κατανομή των αποτελεσμάτων



Σχήμα Π4. 95 % όρια εμπιστοσύνης για την εξέταση της οξύτητας για την ποικιλία πράσινης ελιάς



Σχήμα Π5. 95 % όρια εμπιστοσύνης για την εξέταση της τιμής της οξύτητας για την ποικιλία Μαύρης ελιάς



Σχήμα Π6. 95 % όρια εμπιστοσύνης για την εξέταση της τιμής της οξύτητας για την ποικιλία Καλαμών

Κάνοντας τον έλεγχο της υπόθεσης της σύγκρισης ενός δείγματος (one sample t-test) σε κάθε πάστα ελιάς διεξήχθησαν τα εξής συμπεράσματα :

One-Sample T-test : Έλεγχος t μεταξύ της διαφοράς του μέσου όρου της οξύτητας με το όριο 2 για το εδώδιμο ελαιόλαδο της ποικιλίας πράσινης ελιάς.

Test of mu = 2 vs <2

Variable	N	Mean	StDev	SE Mean	95% Upper Bound	T	P
Πράσινη Ελιά	9	1,1822	0,1540	0,0513	1,2776	-15,94	0,001

Εφόσον $P \leq 0,001$ αντιλαμβανόμαστε ότι το ελαιόλαδο του δείγματος με την ποικιλία πράσινης ελιάς μπορεί να χαρακτηριστεί ως εδώδιμο.

One-Sample T-test : Έλεγχος t μεταξύ της διαφοράς του μέσου όρου της οξύτητας με το όριο 2 για το εδώδιμο ελαιόλαδο της ποικιλίας μαύρης ελιάς.

(Σε αυτή την περίπτωση εξετάστηκε αν ο αριθμός της οξύτητας είναι μεγαλύτερος της τιμής 2 σε αντίθεση με την πάστα πράσινης ελιάς που εξετάστηκε αν είναι μικρότερη από 2)

Test of mu = 2 vs > 2

Variable	N	Mean	StDev	SE Mean	95% Lower Bound	T	P
Μαύρη Ελιά	9	6,644	0,413	0,138	6,388	93,70	0,001

Η τιμή $P \leq 0,001$ οπότε η τιμή της οξύτητας υπερβαίνει τα προβλεπόμενα όρια που ορίζονται για να είναι ένα ελαιόλαδο εδώδιμο. Το ίδιο συμπέρασμα διεξάγετε αν λάβουμε υπόψη και τα 95 % όρια εμπιστοσύνης (6,327 – 6,962) τα οποία

υπερβαίνουν την τιμή 2 . Έτσι λοιπόν το συγκεκριμένο ελαιόλαδο δεν μπορεί να χαρακτηριστεί ως εδώδιμο.

One-Sample T-test : Έλεγχος t μεταξύ της διαφοράς του μέσου όρου της οξύτητας με το όριο 2 για το εδώδιμο ελαιόλαδο της ποικιλίας καλαμών.

(Σε αυτή την περίπτωση εξετάστηκε αν ο αριθμός της οξύτητας είναι μεγαλύτερος της τιμής 2 σε αντίθεση με την πάστα πράσινης ελιάς που εξετάστηκε αν είναι μικρότερη από 2)

Test of mu = 2 vs > 2

Variable	N	Mean	StDev	SE Mean	95% Lower Bound	T	P
Καλαμών	9	12,118	0,788	0,263	11,630	38,51	0,001

Η τιμή $P \leq 0,001$ άρα συμπεραίνουμε ότι η τιμή των υπεροξειδίων είναι και αυτή εκτός των προβλεπόμενων ορίων οπότε το ελαιόλαδο της ποικιλίας καλαμών δεν χαρακτηρίζεται ως εδώδιμο. Όρια εμπιστοσύνης 95% : (11,512 – 12,724).

Έλεγχος ομοιογένειας αποτελεσμάτων

95% Bonferroni confidence intervals for standard deviations

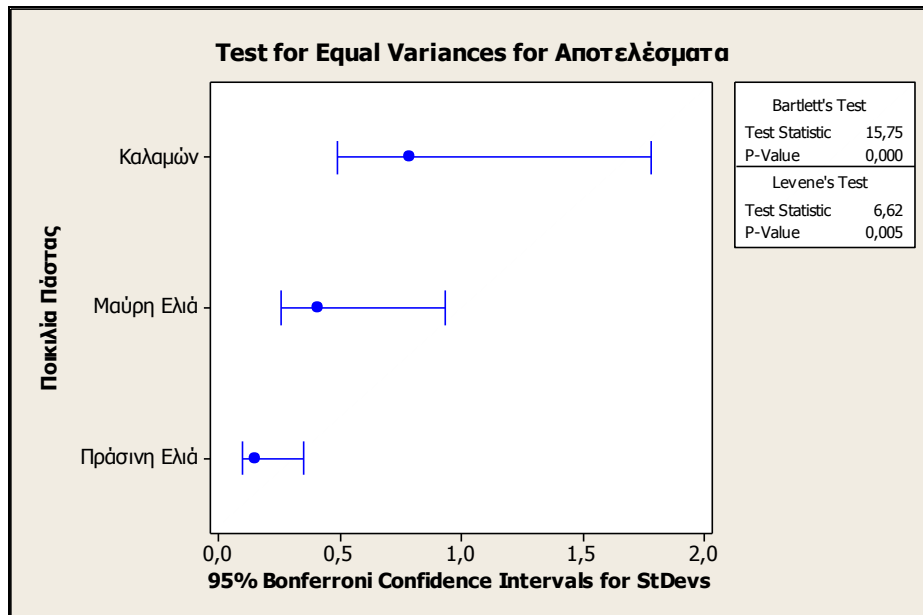
Ποικιλία Πάστας	N	Lower	StDev	Upper
Καλαμών	9	0,491427	0,788309	1,78519
Μαύρη Ελιά	9	0,257760	0,413479	0,93636
Πράσινη Ελιά	9	0,095972	0,153950	0,34863

Bartlett's Test (Normal Distribution)

Test statistic = 15,75; p-value = 0,000

Levene's Test (Any Continuous Distribution)

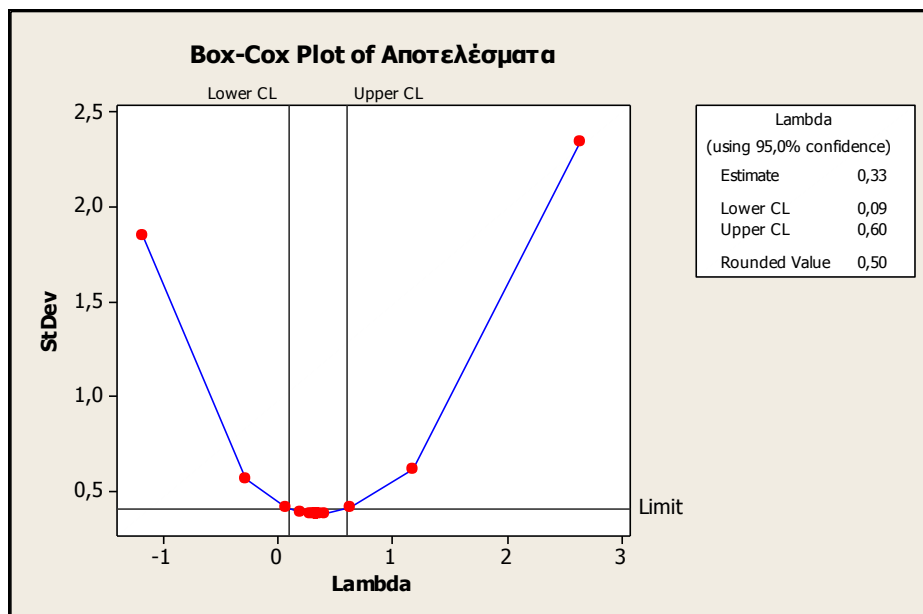
Test statistic = 6,62; p-value = 0,005



Σχήμα Π7. Έλεγχος ομοιογένειας των αποτελεσμάτων των αριθμών οξύτητας

Η τιμή P είναι μικρότερη από 0,05 οπότε δεν ισχύει η ομογένεια των διακυμάνσεων στα δείγματα.

Επειδή δεν ισχύει η ομοιογένεια των διακυμάνσεων έγινε χρήση του Box – Cox Plot για να δούμε τι είδους μετασχηματισμός θα πρέπει να γίνει στα αποτελέσματα για να υπάρξει στα ανασχηματισθέντα αποτελέσματα ομογένεια των διακυμάνσεων.



Σχήμα Π8. Γράφημα μετασχηματισμού Box Cox

Από το γράφημα Box Cox Plot παρατηρούμε πως η τιμή R-value είναι ίση με 0,50 που σημαίνει ότι στα αποτελέσματα θα πρέπει να γίνει μετασχηματισμός της ρίζας.

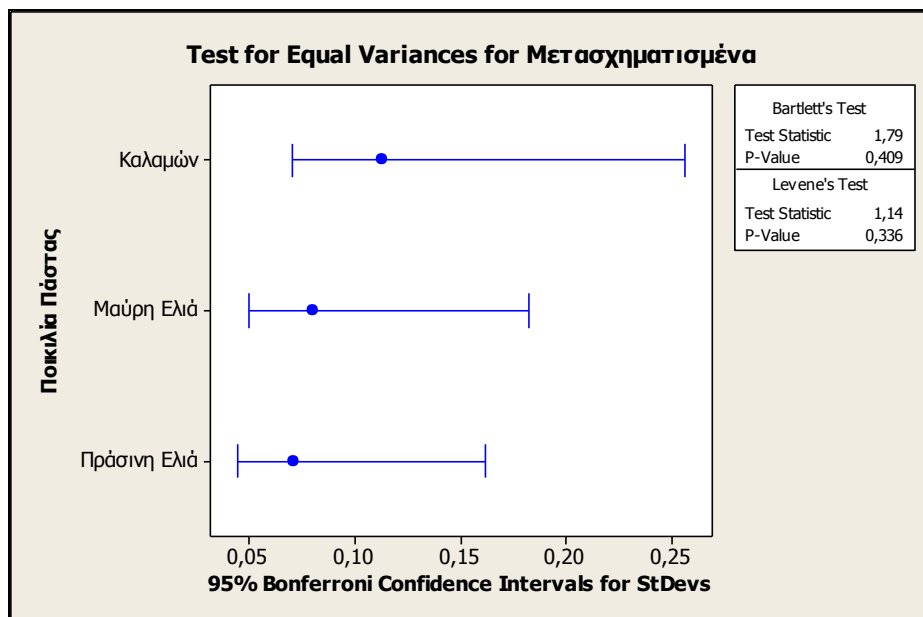
Test for Equal Variances: Μετασχηματισμένα versus Ποικιλία Πάστας

95% Bonferroni confidence intervals for standard deviations

Ποικιλία Πάστας	N	Lower	StDev	Upper
Καλαμών	9	0,0705582	0,113184	0,256314
Μαύρη Ελιά	9	0,0502365	0,080585	0,182492
Πράσινη Ελιά	9	0,0446585	0,071638	0,162229

Bartlett's Test (Normal Distribution)
Test statistic = 1,79; p-value = 0,409

Levene's Test (Any Continuous Distribution)
Test statistic = 1,14; p-value = 0,336



Σχήμα Π9. Έλεγχος ομοιογένειας των αποτελεσμάτων των αριθμών οξύτητας

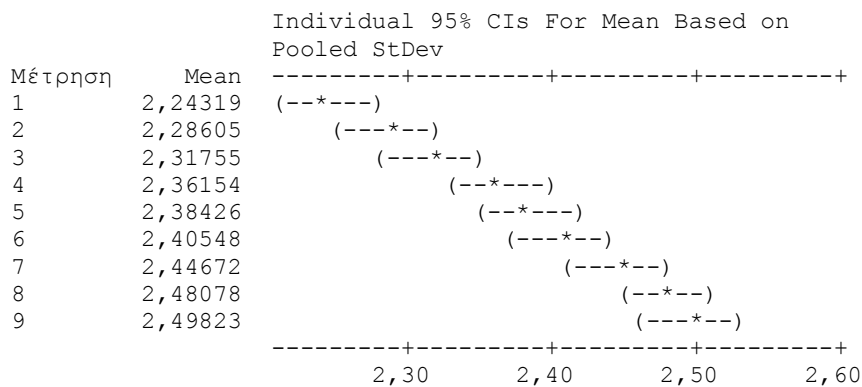
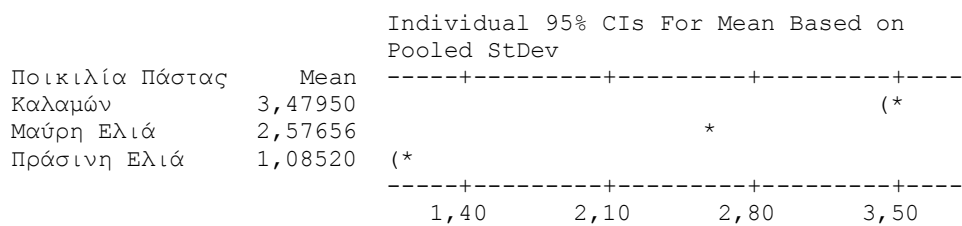
Η τιμή P είναι μεγαλύτερη από 0,05 οπότε ισχύει η ομογένεια των διακυμάνσεων στα δείγματα.

Με την προϋπόθεση ότι ισχύει η κανονικότητα και η ομοιογένεια των δειγμάτων διεξήχθη η ανάλυση διακύμανσης 2 παραγόντων (two way ANOVA) για την κάθε ποικιλία πάστας ελιάς.

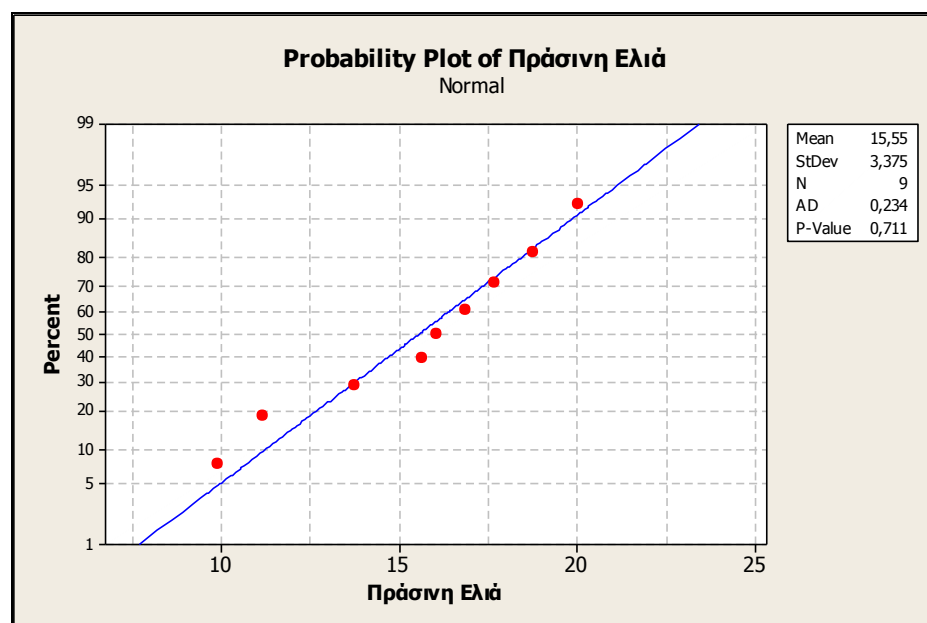
Two-way ANOVA: Μετασηματισμένα versus Ποικιλία Πάστας; Μέτρηση

Source	DF	SS	MS	F	P
Ποικιλία Πάστας	2	26,3164	13,1582	17003,27	0,001
Μέτρηση	8	0,1831	0,0229	29,58	0,001
Error	16	0,0124	0,0008		
Total	26	26,5119			

S = 0,02782 R-Sq = 99,95% R-Sq(adj) = 99,92%

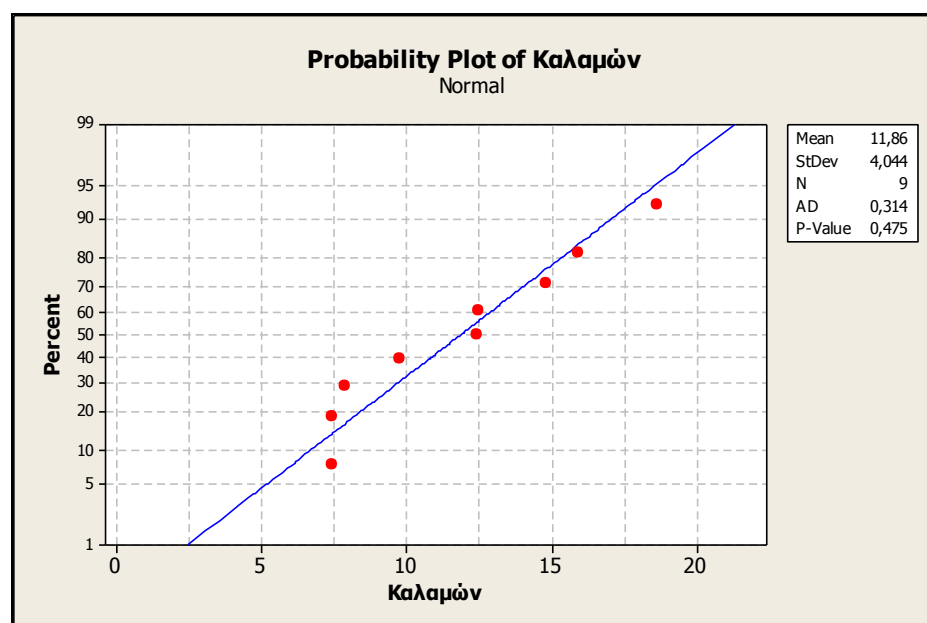


Π2. Έλεγχος τιμής υπεροξειδίων



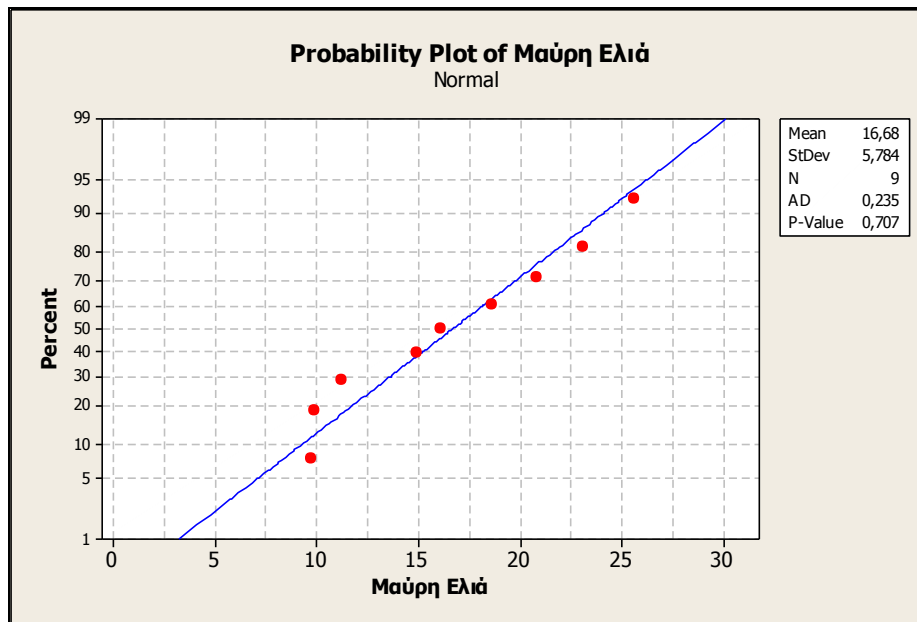
Σχήμα Π10. Έλεγχος κανονικότητας για τα αποτελέσματα μετρήσεων της τιμής των υπεροξειδίων για την ποικιλία πράσινης ελιάς

$P = 0,711 > 0,05$ οπότε υπάρχει κανονική κατανομή των αποτελεσμάτων



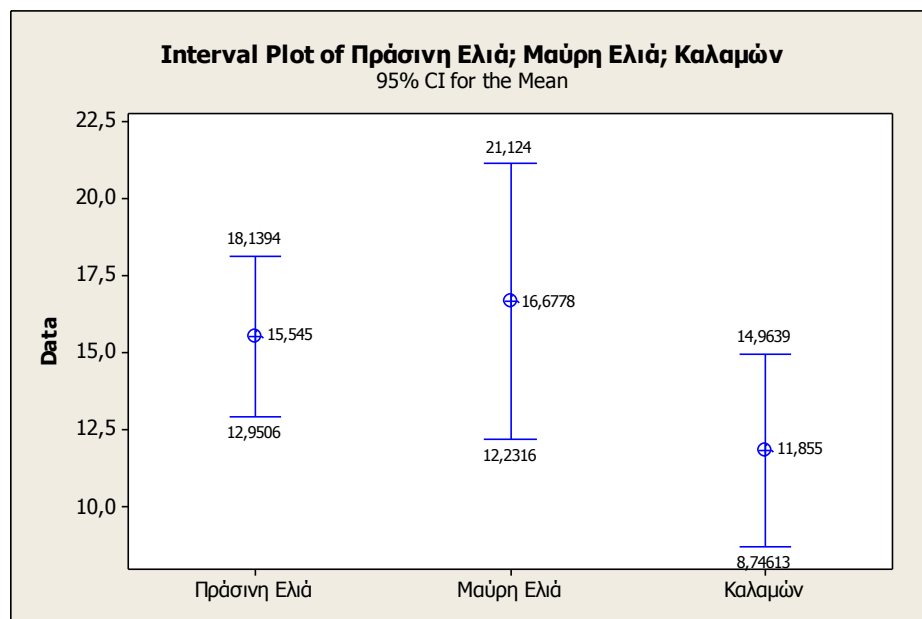
Σχήμα Π11. Έλεγχος κανονικότητας για τα αποτελέσματα μετρήσεων της τιμής των υπεροξειδίων για την ποικιλία Καλαμών

$P = 0,475 > 0,05$ οπότε υπάρχει κανονική κατανομή των αποτελεσμάτων



Σχήμα Π12. Έλεγχος κανονικότητας για τα αποτελέσματα μετρήσεων της τιμής των υπεροξειδίων για την ποικιλία Μαύρης ελιάς

$P = 0,707 > 0,05$ οπότε υπάρχει κανονική κατανομή των αποτελεσμάτων



Σχήμα Π13. 95 % όρια εμπιστοσύνης για την εξέταση της τιμής των υπεροξειδίων για την κάθε ποικιλία ξεχωριστά

Κάνοντας τον έλεγχο της υπόθεσης της σύγκρισης ενός δείγματος (one sample t-test) σε κάθε πάστα ελιάς διεξήχθησαν τα εξής συμπεράσματα :

One-Sample T-test : Έλεγχος t μεταξύ της διαφοράς του μέσου όρου του αριθμού υπεροξειδίων με το όριο 20 για το ελαιόλαδο της ποικιλίας πράσινης ελιάς.

Test of mu = 20 vs < 20

Variable	N	Mean	StDev	SE Mean	95% Upper Bound	T	P
Πράσινη Ελιά	9	15,55	3,38	1,13	17,64	-3,96	0,002

Εφόσον $P = 0,002 < 0,05$ αντιλαμβανόμαστε ότι το ελαιόλαδο του δείγματος με την ποικιλία πράσινης ελιάς μπορεί να χαρακτηριστεί ως εξαιρετικά παρθένο.

One-Sample T-test : Έλεγχος t μεταξύ της διαφοράς του μέσου όρου του αριθμού υπεροξειδίων με το όριο 20 για το ελαιόλαδο της ποικιλίας μαύρης ελιάς.

Test of mu = 20 vs < 20

Variable	N	Mean	StDev	SE Mean	95% Upper Bound	T	P
Μαύρη Ελιά	9	16,68	5,78	1,93	20,26	-1,72	0,062

Η τιμή $P = 0,062 > 0,05$ οπότε η τιμή των υπεροξειδίων υπερβαίνει τα προβλεπόμενα όρια που ορίζονται για το έξτρα παρθένο ελαιόλαδο. Το ίδιο συμπέρασμα διεξάγετε αν λάβουμε υπόψη και τα 95 % όρια εμπιστοσύνης (12,23 – 21,12) τα οποία υπερβαίνουν την τιμή 20 . Έτσι λοιπόν το συγκεκριμένο ελαιόλαδο δεν μπορεί να χαρακτηριστεί έξτρα παρθένο όσο αφορά την τιμή των υπεροξειδίων.

One-Sample T-test : Έλεγχος t μεταξύ της διαφοράς του μέσου όρου του αριθμού υπεροξειδίων με το όριο 20 για το ελαιόλαδο της ποικιλίας καλαμών.

Test of mu = 20 vs < 20

Variable	N	Mean	StDev	SE Mean	95% Upper Bound	T	P
Καλαμών	9	11,86	4,04	1,35	14,36	-6,04	0,001

Η τιμή $P < 0,001$ άρα συμπεραίνουμε ότι η τιμή των υπεροξειδίων είναι εντός των προβλεπόμενων ορίων οπότε το ελαιόλαδο της ποικιλίας καλαμών χαρακτηρίζεται ως έξτρα παρθένο. Όρια εμπιστοσύνης 95% : (8,75 – 14,96).

Έλεγχος ομοιογένειας αποτελεσμάτων

Test for Equal Variances: Αποτελέσματα versus Ποικιλία πάστας

95% Bonferroni confidence intervals for standard deviations

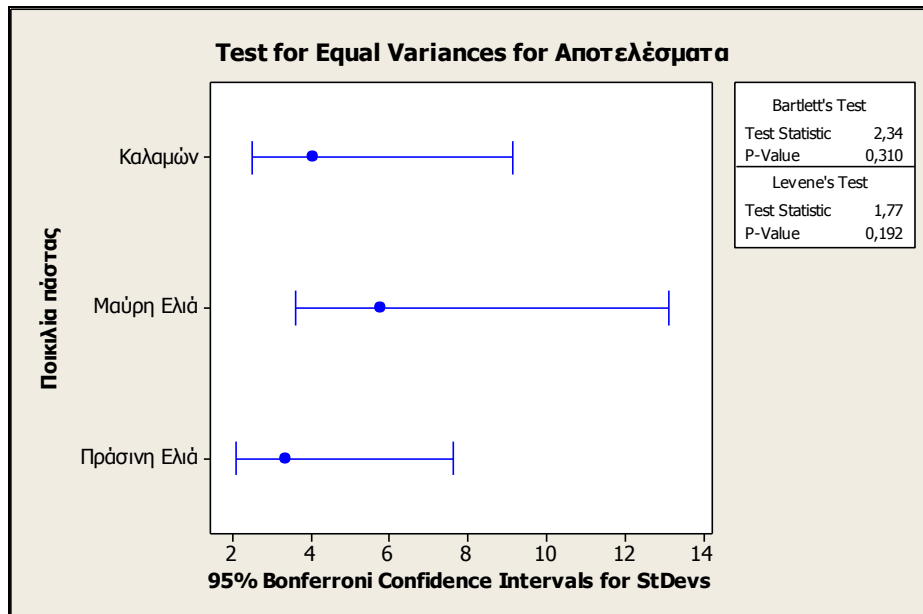
Ποικιλία πάστας	N	Lower	StDev	Upper
Καλαμών	9	2,52131	4,04448	9,1591
Μαύρη Ελιά	9	3,60587	5,78426	13,0989
Πράσινη Ελιά	9	2,10411	3,37525	7,6435

Bartlett's Test (Normal Distribution)

Test statistic = 2,34; p-value = 0,310

Levene's Test (Any Continuous Distribution)

Test statistic = 1,77; p-value = 0,192



Σχήμα Π14. Έλεγχος ομοιογένειας των αποτελεσμάτων των τιμών υπεροξειδίων

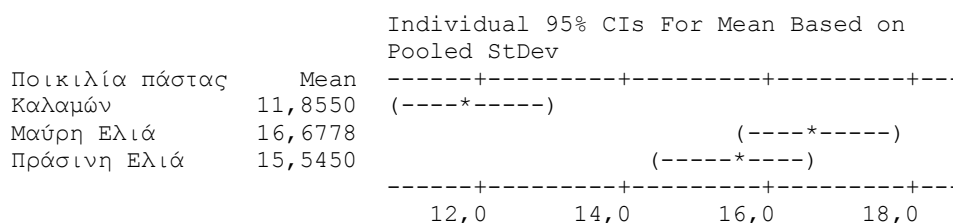
Η τιμή P είναι μεγαλύτερη από 0,05 οπότε ισχύει η ομογένεια των διακυμάνσεων στα δείγματα.

Με την προϋπόθεση ότι ισχύει η κανονικότητα και η ομοιογένεια των δειγμάτων διεξήχθη η ανάλυση διακύμανσης 2 παραγόντων (*two way ANOVA*) για την κάθε ποικιλία πάστας ελιάς.

Two-way ANOVA: Αποτελέσματα versus Ποικιλία πάστας; Μέτρηση

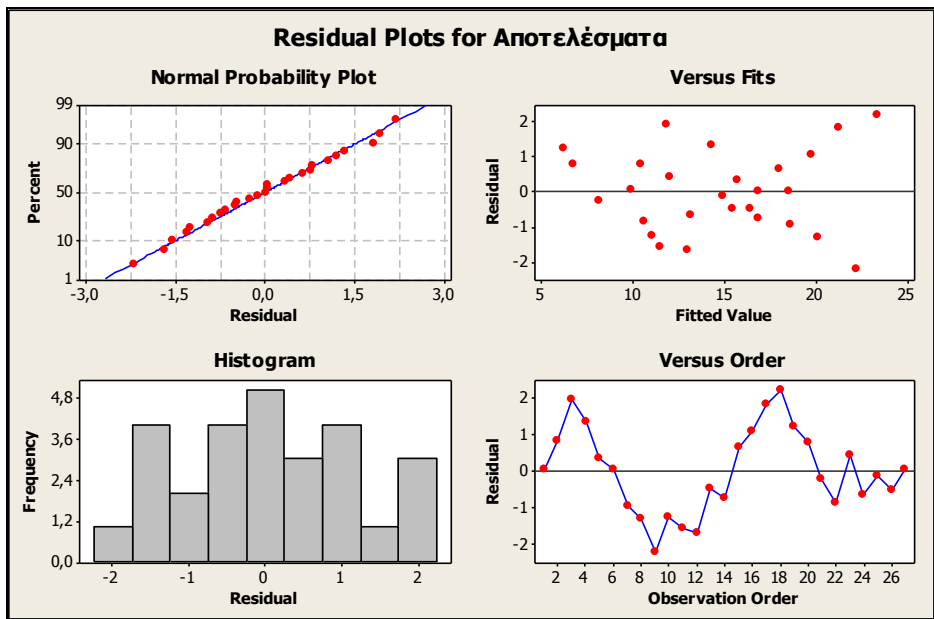
Source	DF	SS	MS	F	P
Ποικιλία πάστας	2	114,475	57,2377	26,00	0,001
Μέτρηση	8	454,441	56,8051	25,80	0,001
Error	16	35,222	2,2014		
Total	26	604,138			

S = 1,484 R-Sq = 94,17% R-Sq(adj) = 90,53%



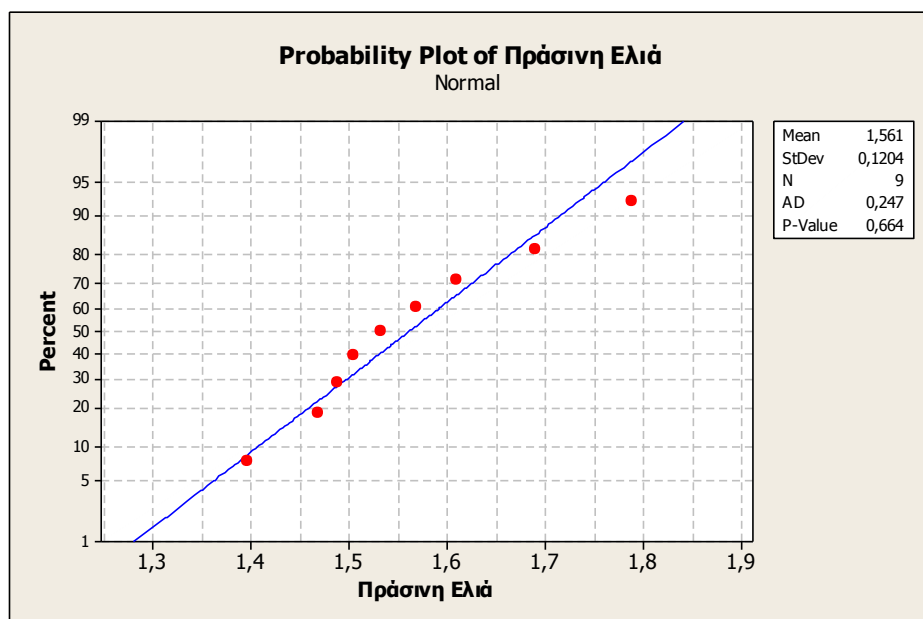
Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev

Μέτρηση	Mean	CI Lower	CI Upper
1	9,0300	8,0000	10,0600
2	9,5133	8,5000	10,5266
3	10,9583	9,9000	11,9966
4	13,4483	12,4000	14,4966
5	14,8700	13,8000	15,9400
6	15,9800	14,9000	17,0600
7	17,7700	16,7000	18,8400
8	19,2500	18,2000	20,3000
9	21,4133	20,4000	22,4266



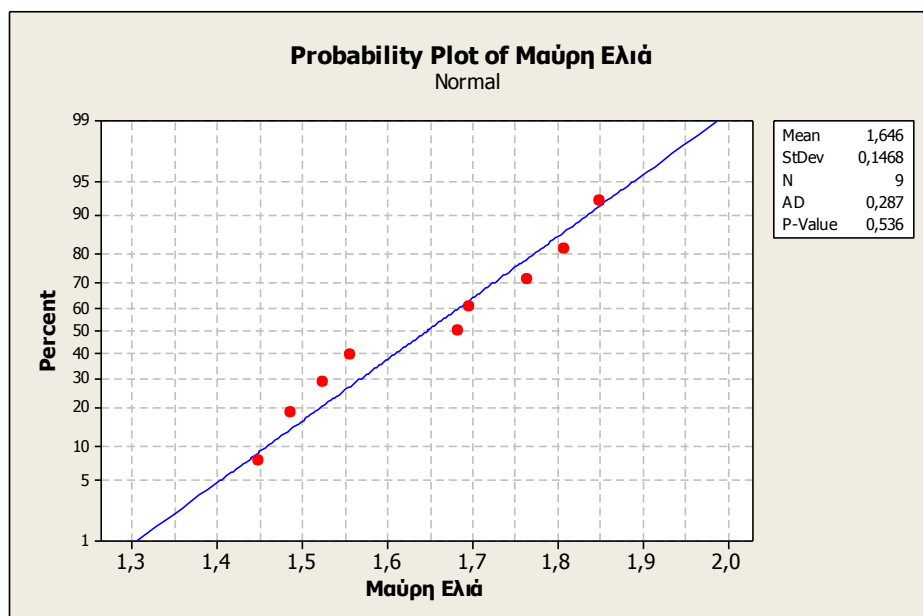
Π3. Μεταβολή των ειδικών συντελεστών απορρόφησης K_{232} , K_{270} & Δ_K

Π3.1 Μεταβολή του ειδικού συντελεστή απορρόφησης K_{232}



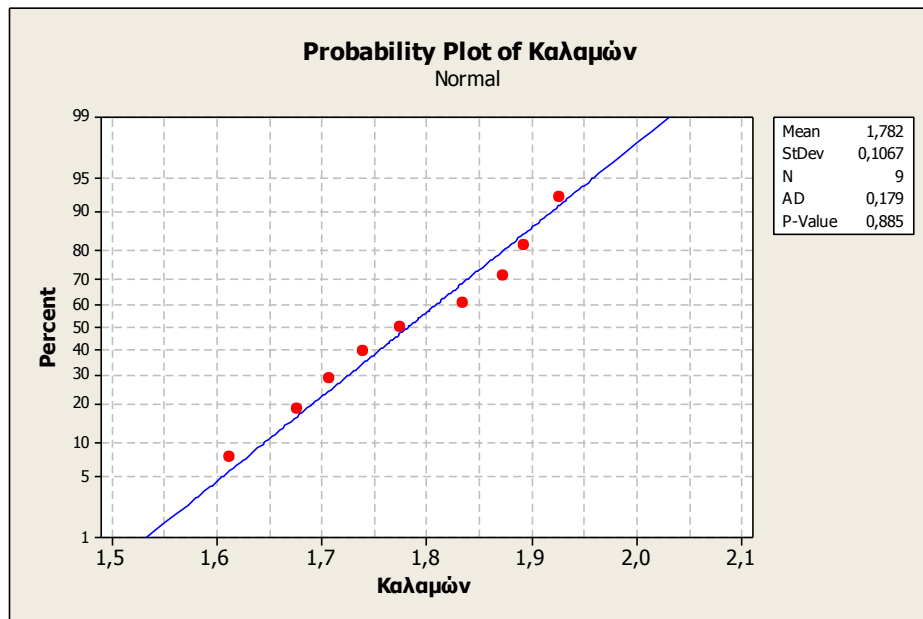
Σχήμα Π15. Έλεγχος κανονικότητας για τα αποτελέσματα μετρήσεων μεταβολής του ειδικού συντελεστή K_{232} για την ποικιλία πράσινης ελιάς

$P = 0,664 > 0,05$ οπότε υπάρχει κανονική κατανομή των αποτελεσμάτων



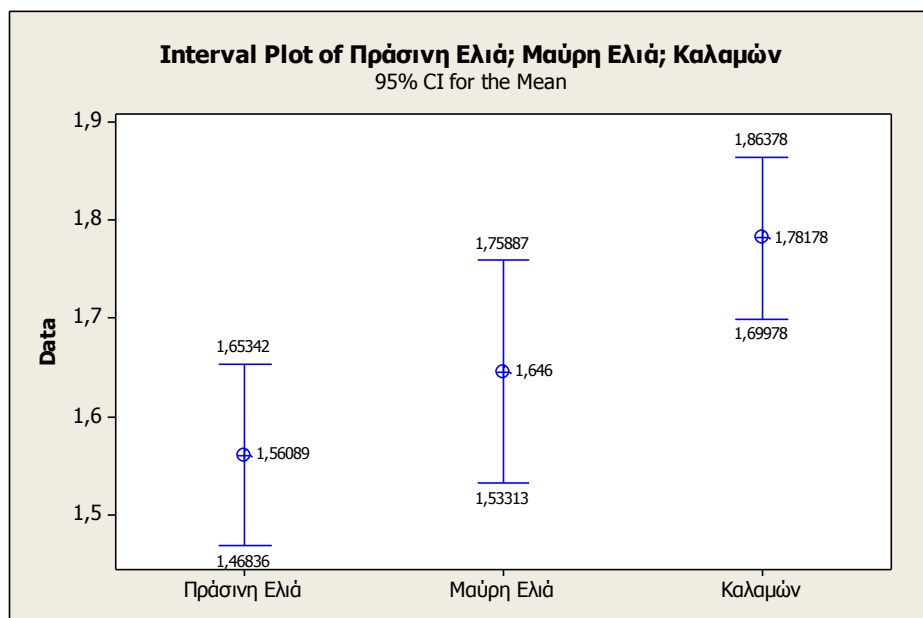
Σχήμα Π16. Έλεγχος κανονικότητας για τα αποτελέσματα μετρήσεων μεταβολής του ειδικού συντελεστή K_{232} για την ποικιλία μαύρης ελιάς

$P = 0,536 > 0,05$ οπότε υπάρχει κανονική κατανομή των αποτελεσμάτων



Σχήμα Π17. Έλεγχος κανονικότητας για τα αποτελέσματα μετρήσεων μεταβολής του ειδικού συντελεστή K_{232} για την ποικιλία καλαμών

$P = 0,885 > 0,05$ οπότε υπάρχει κανονική κατανομή των αποτελεσμάτων



Σχήμα Π18. 95 % όρια εμπιστοσύνης για τα αποτελέσματα μετρήσεων μεταβολής του ειδικού συντελεστή K_{232} για κάθε ποικιλία πάστας ελιάς.

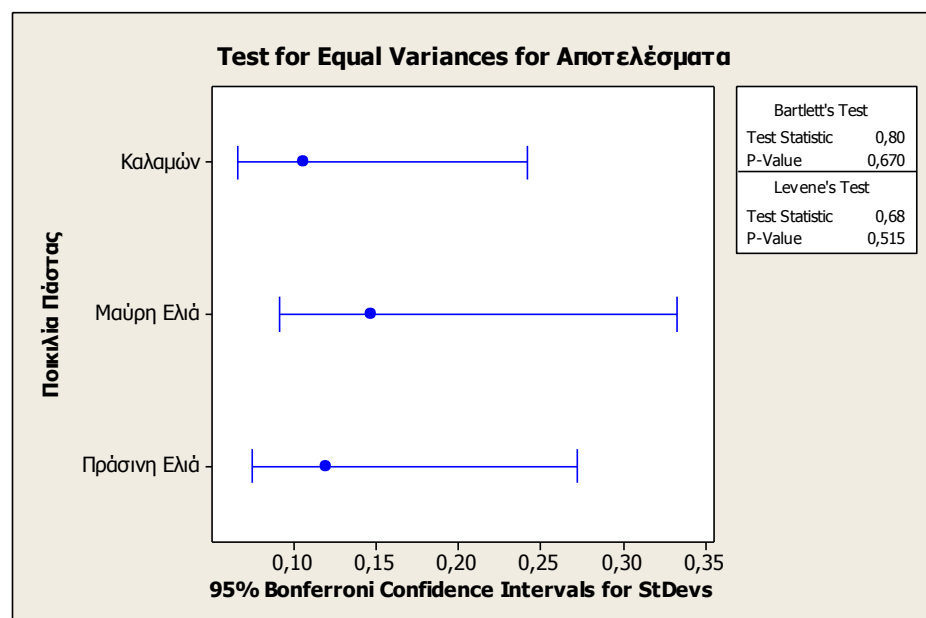
Έλεγχος ομοιογένειας αποτελεσμάτων**Test for Equal Variances: Αποτελέσματα versus Ποικιλία Πάστας**

95% Bonferroni confidence intervals for standard deviations

Ποικιλία Πάστας	N	Lower	StDev	Upper
Καλαμών	9	0,0665009	0,106676	0,241575
Μαύρη Ελιά	9	0,0915391	0,146840	0,332531
Πράσινη Ελιά	9	0,0750422	0,120377	0,272603

Bartlett's Test (Normal Distribution)
 Test statistic = 0,80; p-value = 0,670

Levene's Test (Any Continuous Distribution)
 Test statistic = 0,68; p-value = 0,515



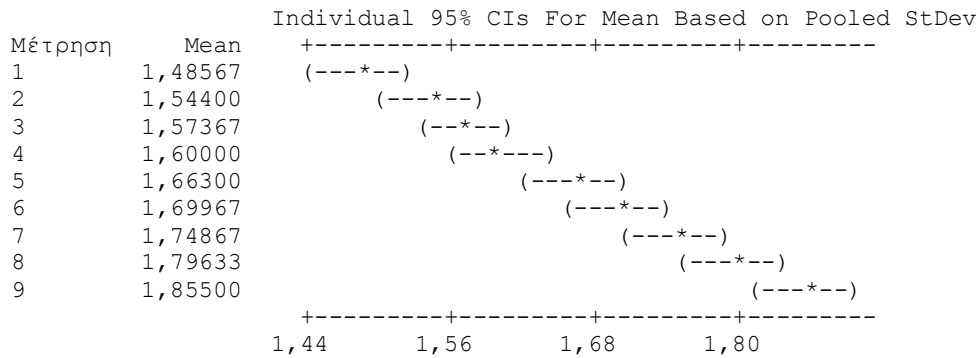
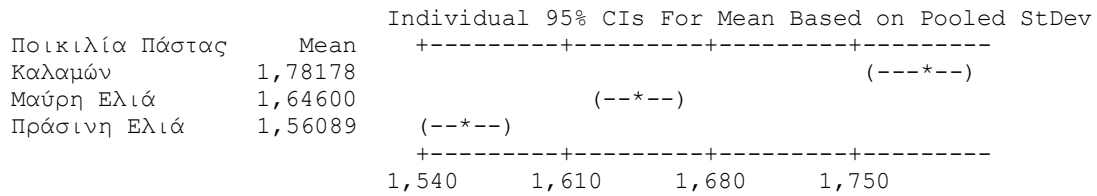
Σχήμα Π19. Έλεγχος ομοιογένειας των αποτελεσμάτων του συντελεστή K_{232}

Η τιμή P είναι μεγαλύτερη από 0,05 οπότε ισχύει η ομογένεια των διακυμάνσεων στα δείγματα.

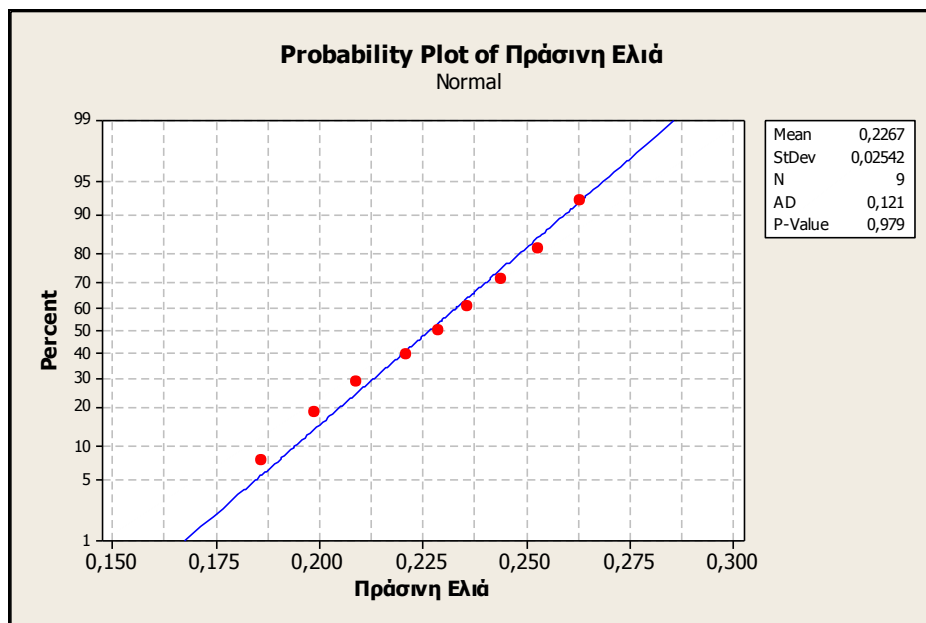
Two-way ANOVA: Αποτελέσματα versus Ποικιλία Πάστας; Μέτρηση

Source	DF	SS	MS	F	P
Ποικιλία Πάστας	2	0,223414	0,111707	106,32	0,001
Μέτρηση	8	0,362647	0,045331	43,14	0,001
Error	16	0,016811	0,001051		
Total	26	0,602873			

S = 0,03241 R-Sq = 97,21% R-Sq(adj) = 95,47%

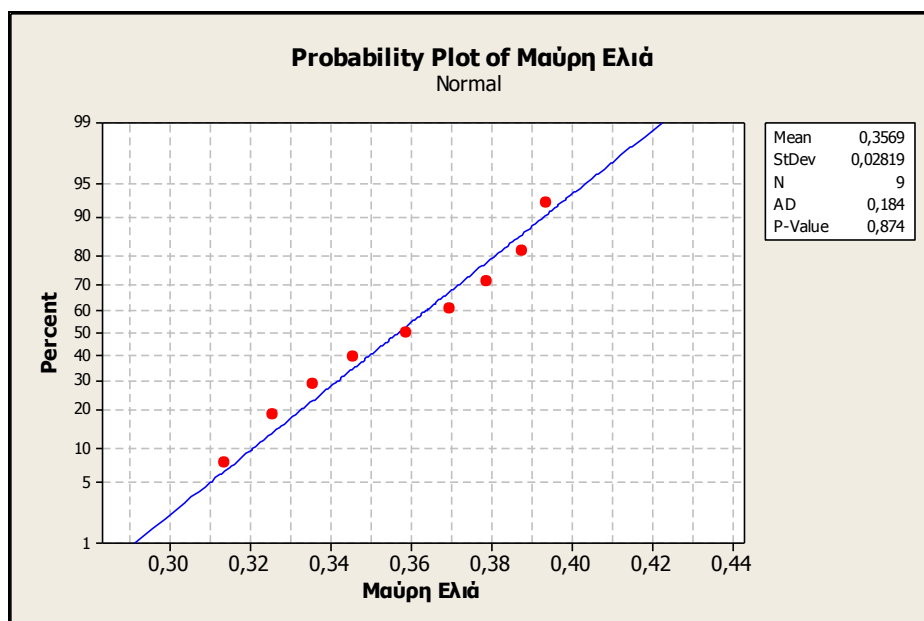


Π3.2 Μεταβολή του ειδικού συντελεστή απορρόφησης K₂₇₀



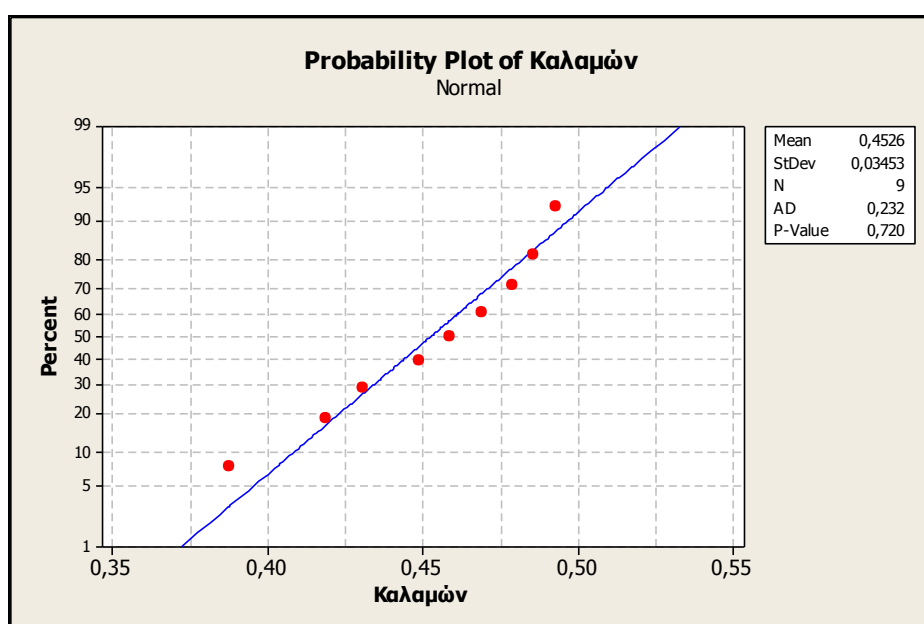
Σχήμα Π20. Έλεγχος κανονικότητας για τα αποτελέσματα μετρήσεων μεταβολής του ειδικού συντελεστή K₂₇₀ για την ποικιλία πράσινης ελιάς

P = 0,979 > 0,05 οπότε υπάρχει κανονική κατανομή των αποτελεσμάτων



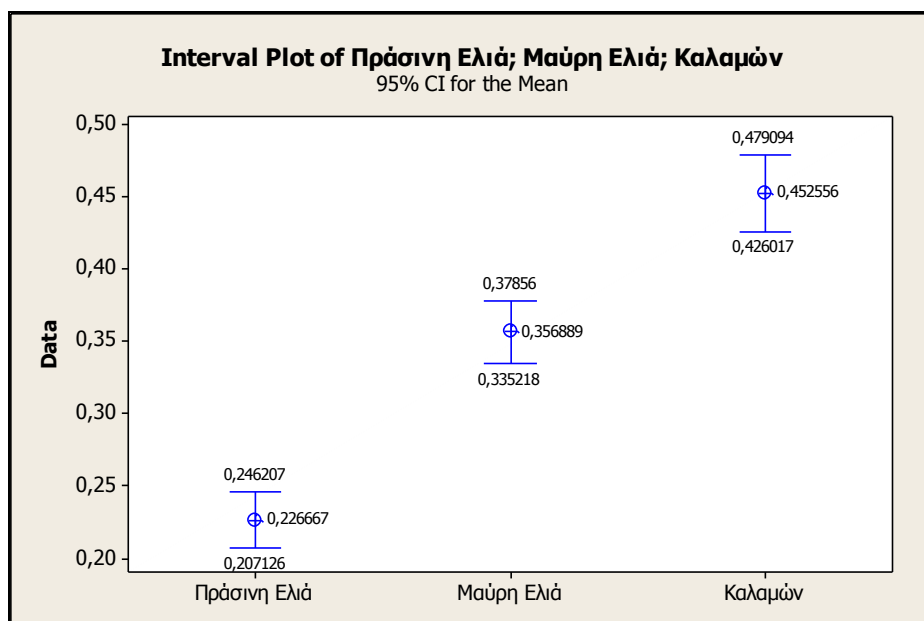
Σχήμα Π21. Έλεγχος κανονικότητας για τα αποτελέσματα μετρήσεων μεταβολής του ειδικού συντελεστή K_{270} για την ποικιλία μαύρης ελιάς

$P = 0,874 > 0,05$ οπότε υπάρχει κανονική κατανομή των αποτελεσμάτων



Σχήμα Π22. Έλεγχος κανονικότητας για τα αποτελέσματα μετρήσεων μεταβολής του ειδικού συντελεστή K_{270} για την ποικιλία καλαμών

$P = 0,720 > 0,05$ οπότε υπάρχει κανονική κατανομή των αποτελεσμάτων



Σχήμα Π23. 95 % όρια εμπιστοσύνης για τα αποτελέσματα μετρήσεων μεταβολής του ειδικού συντελεστή K_{270} για κάθε ποικιλία πάστας ελιάς.

Έλεγχος ομοιογένειας αποτελεσμάτων

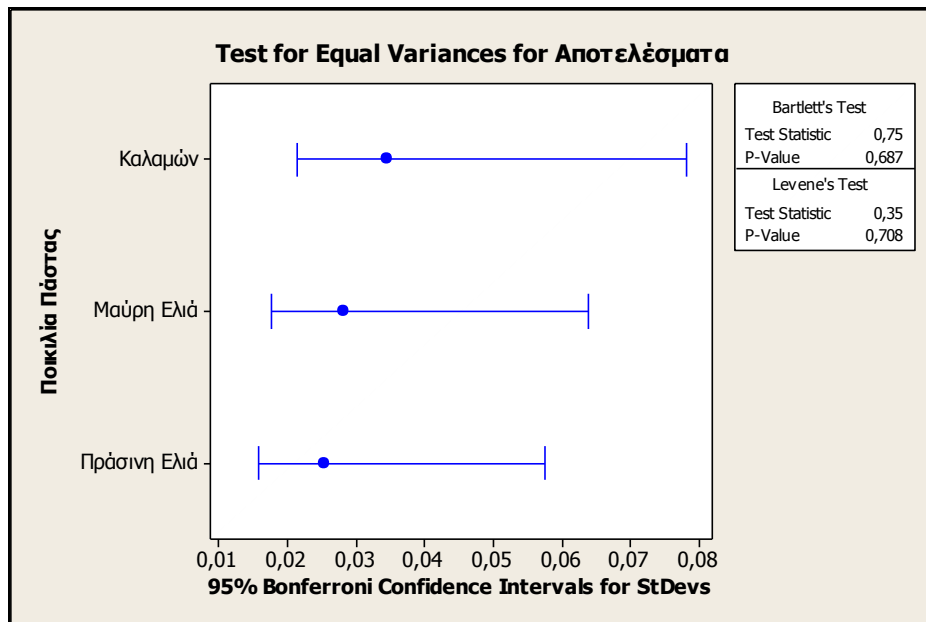
Test for Equal Variances: Αποτελέσματα versus Ποικιλία Πάστας

95% Bonferroni confidence intervals for standard deviations

Ποικιλία Πάστας	N	Lower	StDev	Upper
Καλαμών	9	0,0215231	0,0345258	0,0781863
Μαύρη Ελιά	9	0,0175755	0,0281933	0,0638459
Πράσινη Ελιά	9	0,0158476	0,0254214	0,0575689

Bartlett's Test (Normal Distribution)
Test statistic = 0,75; p-value = 0,687

Levene's Test (Any Continuous Distribution)
Test statistic = 0,35; p-value = 0,708



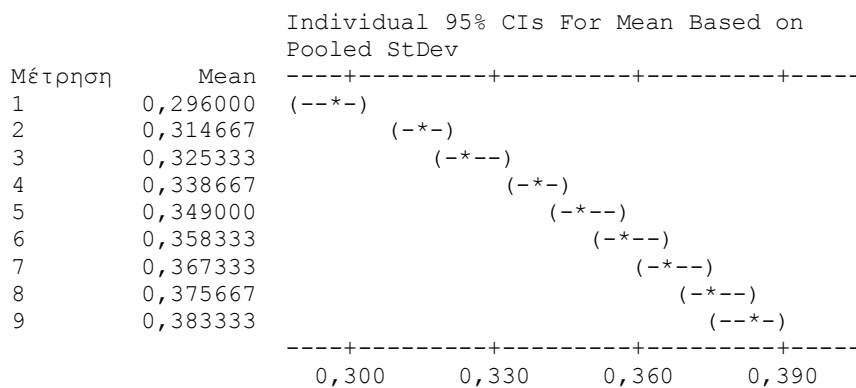
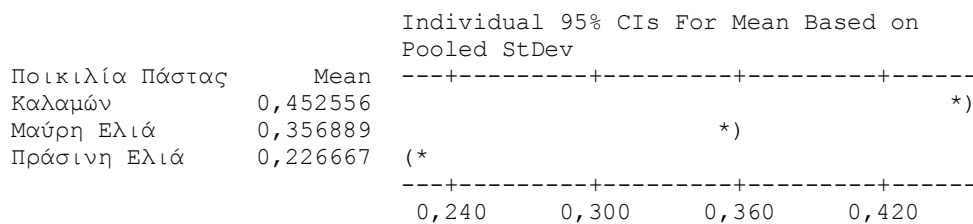
Σχήμα Π24. Έλεγχος ομοιογένειας των αποτελεσμάτων του συντελεστή K_{232}

Η τιμή P είναι μεγαλύτερη από 0,05 οπότε ισχύει η ομογένεια των διακυμάνσεων στα δείγματα.

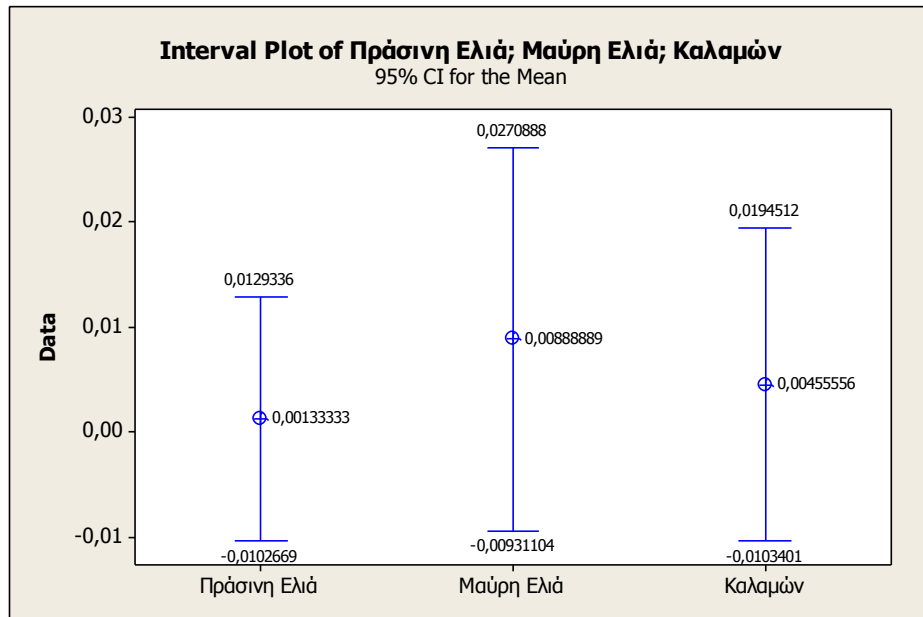
Two-way ANOVA: Αποτελέσματα versus Ποικιλία Πάστας; Μέτρηση

Source	DF	SS	MS	F	P
Ποικιλία Πάστας	2	0,231407	0,115704	3577,44	0,001
Μέτρηση	8	0,020548	0,002568	79,41	0,001
Error	16	0,000517	0,000032		
Total	26	0,252472			

S = 0,005687 R-Sq = 99,80% R-Sq(adj) = 99,67%

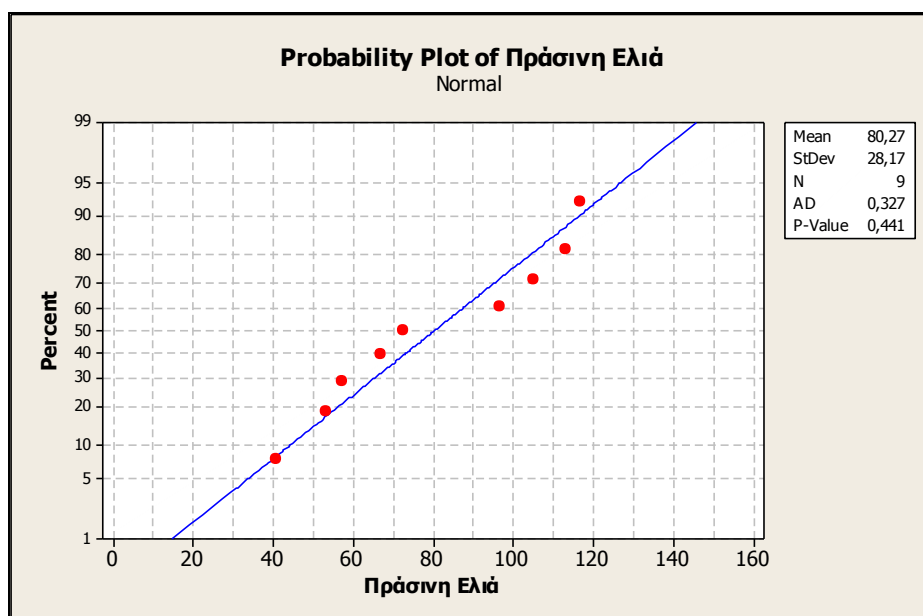


Π3.3 Μεταβολή της σχέσης ΔΚ



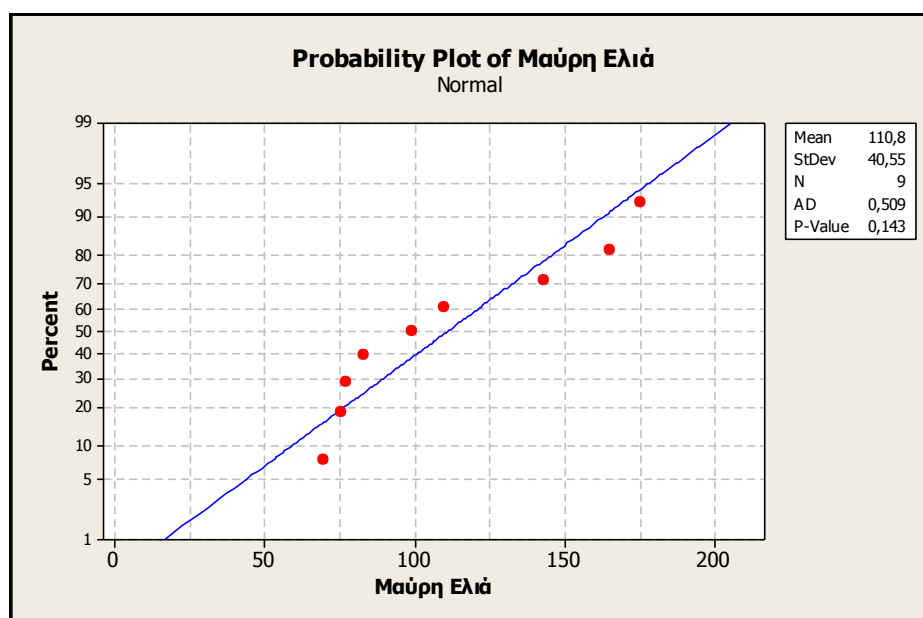
Σχήμα Π25. 95 % όρια εμπιστοσύνης για τα αποτελέσματα μετρήσεων μεταβολής της σχέσης ΔΚ για κάθε ποικιλία πάστας ελιάς.

Π4. Έλεγχος συγκέντρωσης φαινολικών ενώσεων



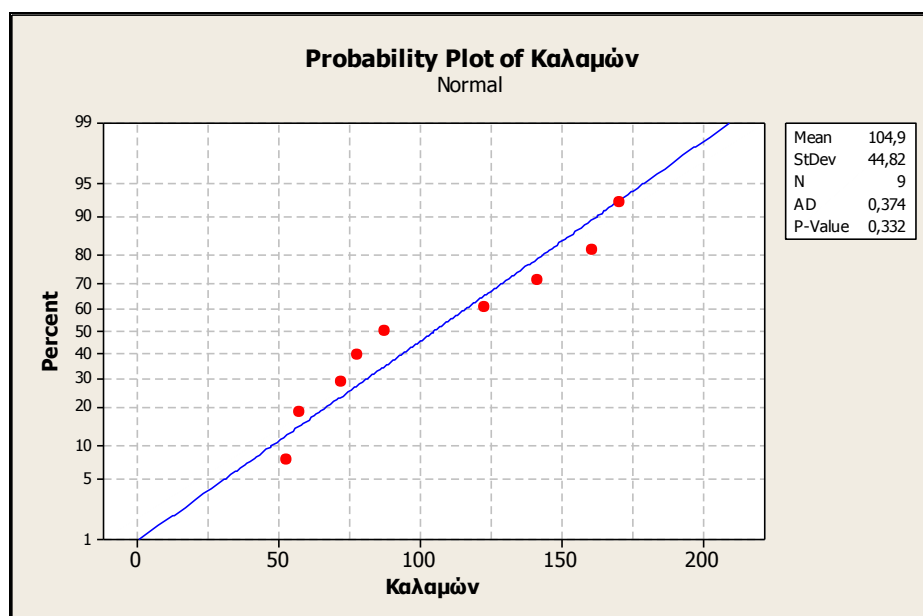
Σχήμα Π26. Έλεγχος κανονικότητας για τα αποτελέσματα μετρήσεων της ποσότητας των φαινολικών ενώσεων για την ποικιλία πράσινης ελιάς

$P = 0,441 > 0,05$ οπότε υπάρχει κανονική κατανομή των αποτελεσμάτων



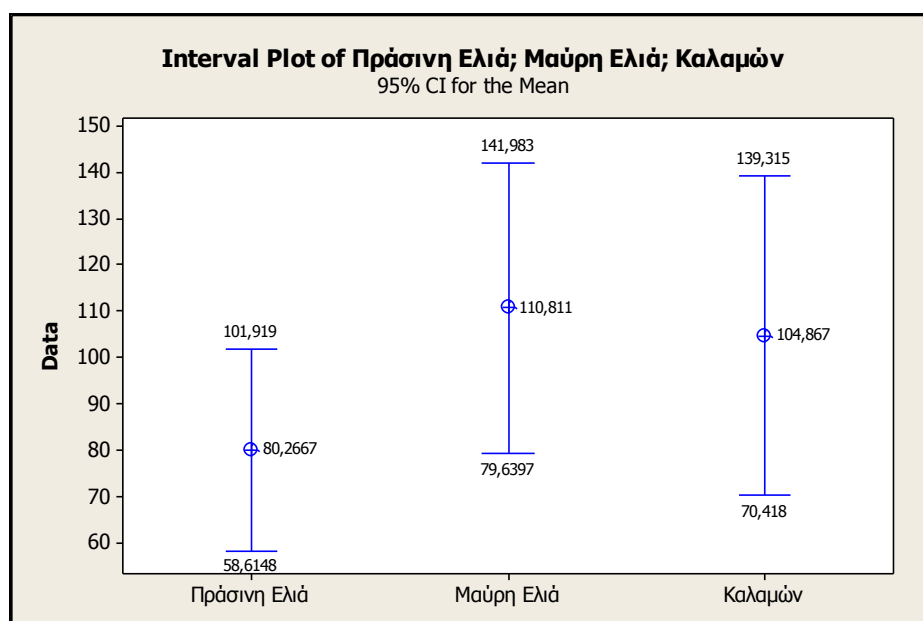
Σχήμα Π27. Έλεγχος κανονικότητας για τα αποτελέσματα μετρήσεων της ποσότητας των φαινολικών ενώσεων για την ποικιλία μαύρης ελιάς

$P = 0,143 > 0,05$ οπότε υπάρχει κανονική κατανομή των αποτελεσμάτων



Σχήμα Π28. Έλεγχος κανονικότητας για τα αποτελέσματα μετρήσεων της ποσότητας των φαινολικών ενώσεων για την ποικιλία καλαμών

$P = 0,332 > 0,05$ οπότε υπάρχει κανονική κατανομή των αποτελεσμάτων



Σχήμα Π29. 95 % όρια εμπιστοσύνης για την εξέταση της ποσότητας των φαινολών για κάθε ποικιλία πάστας ελιάς.

Έλεγχος ομοιογένειας αποτελεσμάτων

Test for Equal Variances: Αποτελέσματα versus Ποικιλία Πάστας

95% Bonferroni confidence intervals for standard deviations

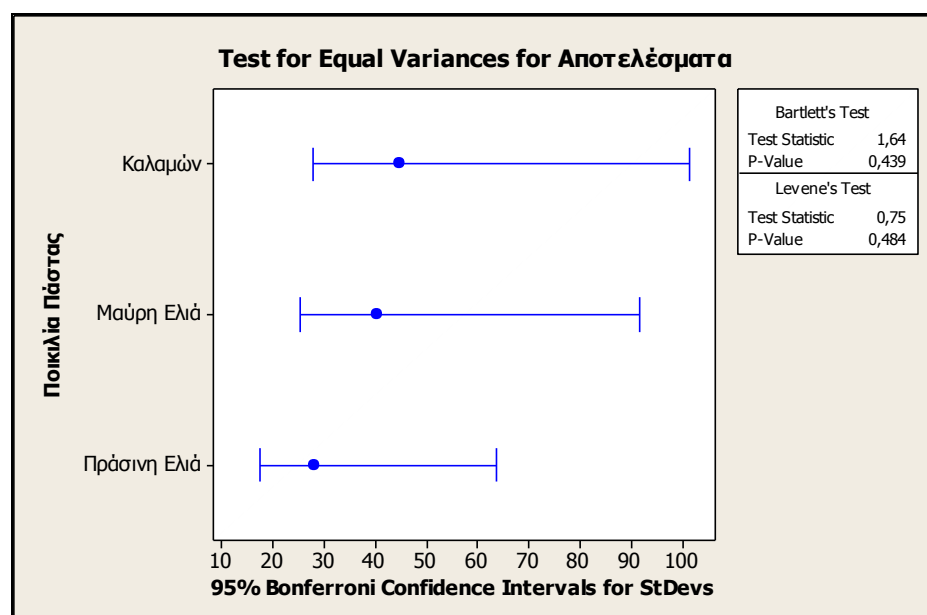
Ποικιλία Πάστας	N	Lower	StDev	Upper
Καλαμών	9	27,9380	44,8160	101,489
Μαύρη Ελιά	9	25,2802	40,5525	91,834
Πράσινη Ελιά	9	17,5598	28,1680	63,789

Bartlett's Test (Normal Distribution)

Test statistic = 1,64; p-value = 0,439

Levene's Test (Any Continuous Distribution)

Test statistic = 0,75; p-value = 0,484



Σχήμα Π30. Έλεγχος ομοιογένειας των αποτελεσμάτων των συγκεντρώσεων φαινολών

Η τιμή P είναι μεγαλύτερη από 0,05 οπότε ισχύει η ομογένεια των διακυμάνσεων στα δείγματα.

Με την προϋπόθεση ότι ισχύει η κανονικότητα και η ομοιογένεια των δειγμάτων διεξήχθη η ανάλυση διακύμανσης 2 παραγόντων (*two way ANOVA*) για την κάθε ποικιλία πάστας ελιάς.

Two-way ANOVA: Αποτελέσματα versus Μέτρηση; Ποικιλία Πάστας

Source	DF	SS	MS	F	P
Μέτρηση	8	33867,4	4233,43	39,75	0,001
Ποικιλία Πάστας	2	4720,4	2360,19	22,16	0,001
Error	16	1703,9	106,50		
Total	26	40291,7			

S = 10,32 R-Sq = 95,77% R-Sq(adj) = 93,13%

