



Cyprus  
University of  
Technology

Faculty of Geotechnical Sciences and  
Environmental Management

**Doctoral Dissertation**

**Study of microbiological and physicochemical characteristics  
of fermented table olives in Cyprus and the multifunctional  
properties of the predominant microbiota**

**Dimitrios A. Anagnostopoulos**

**Limassol, July 2020**



CYPRUS UNIVERSITY OF TECHNOLOGY  
FACULTY OF GEOTECHNICAL SCIENCES AND  
ENVIRONMENTAL MANAGEMENT  
DEPARTMENT OF AGRICULTURAL SCIENCES, BIOTECHNOLOGY  
AND FOOD SCIENCE

Doctoral Dissertation

Study of microbiological and physicochemical characteristics of  
fermented table olives in Cyprus and the multifunctional  
properties of the predominant microbiota

Dimitrios A. Anagnostopoulos

Limassol, July 2020

# Approval Form

Doctoral Dissertation

## **Study of microbiological and physicochemical characteristics of fermented table olives in Cyprus and the multifunctional properties of the predominant microbiota**


Presented by

Dimitrios A. Anagnostopoulos

Research advisor: Dr. Dimitrios Tsaltas, Associate Professor

 14/7/20

Chairperson of the committee: Dr. George-John E. Nychas, Professor

 14-7-2020

Member of the committee: Dr. Marina Papadelli, Associate Professor

 14/7/20

Cyprus University of Technology

Limassol, July 2020

## **Copyrights**

Copyright © 2020, Dimitrios A. Anagnostopoulos

All rights reserved.

The approval of the dissertation by the of Department of Agricultural Sciences, Biotechnology and Food Science does not imply necessarily the approval by the Department of the views of the writer.

## **Ευχαριστίες**

Φτάνοντας στο σημείο να γράφω το κομμάτι των ευχαριστιών, σημαίνει πως έφτασα στο τέλος ενός πολύ όμορφου και μαγευτικού ταξιδιού, κατά τη διάρκεια του οποίου απέκτησα πολύ σημαντικές εμπειρίες που θα τις έχω εφελτήριο για όλη μου τη ζωή. Είναι αλήθεια ότι η δομή και η ιδιοσυγκρασία των διδακτορικών σπουδών είναι κατί παραπάνω από τον τίτλο του Δρ. που απονέμεται. Αποτελεί πηγή έμπνευσης και αλλαγή του τρόπου σκέψης που αντιλαμβανόμαστε τα πράγματα. Νιώθω ευλογημένος που μου δόθηκε η ευκαιρία να περάσω από αυτό το στάδιο και αν γυρνούσα τον χρόνο πίσω, θα το ξαναέκανα χωρίς δεύτερη σκέψη. Όμως, θα ήταν ανέφικτο να ολοκληρώσω τον κύκλο των διδακτορικών μου σπουδών, χωρίς την υποστήριξη και την καθοδήγηση πολλών ανθρώπων, οι οποίοι συνέβαλαν είτε έμμεσα είτε άμεσα στην επιτυχή ολοκλήρωση αυτού του πολύ σημαντικού κεφαλαίου της ζωής μου.

Ένα ευχαριστώ είναι πολύ λίγο για τον μέντορά μου και επιβλέποντα καθηγητή μου Δρ. Δημήτρη Τσάλτα. Τον ευχαριστώ πολύ για την θέση που μου προσέφερε και την ευκαιρία που μου έδωσε να δουλέψω δίπλα του. Η καθοδήγησή του, η συνεχής παρότρυνσή του, οι συμβουλές του και η ψυχολογική και οικονομική του στήριξη, συνέβαλαν τα μέγιστα στη διαμόρφωση ενός ιδανικού περιβάλλοντος για την επιτυχή ολοκλήρωση των σπουδών μου. Νιώθω πολύ τυχερός που είχα την ευκαιρία να τον γνωρίσω και να δουλέψω υπό την αιγίδα του, καθώς πρόκειται για έναν εξαιρετικό δάσκαλο, αλλά και σπάνιο άνθρωπο.

Ευχαριστώ το Τμήμα Γεωπονικών Επιστημών, Βιοτεχνολογίας και Επιστήμης Τροφίμων του Τεχνολογικού Πανεπιστημίου Κύπρου, που με φιλοξένησε ως υποψήφιο διδάκτορα, καθώς επίσης και το Ευρωπαϊκό Ερευνητικό Πρόγραμμα με το ακρώνυμο «ΑΓΡΟΤΑΥΤΟΤΗΤΑ – INTERREG Ελλάδα-Κύπρος» για τη χρηματοδότηση σε μέρος της διδακτορικής μου διατριβής.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της συμβουλευτικής μου επιτροπής, την Δρ. Έφη Τσακαλίδου και τον Δρ. Φώτη Παπαδήμα, για τις χρήσιμες συμβουλές τους καθ' όλη την διάρκεια της διατριβής μου.

Από κει και πέρα θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους φίλους και συναδέλφους του Tsaltas + Papademas team (Ελενα Καμιλάρη, Ελένη Ξενοφώντος, Μαρία Κοσμά, Δρ. Αγνή Χατζηλούκα, Δρ. Μιχάλης Χριστοφόρου, Δρ. Δέσποινα Μποζούδη, Δημήτρης Αδαμίδης, Χρίστος Βούρας, Δρ. Μαρία Ασπρή, Παναγιώτης Μουσικός), με τους οποίους περάσαμε ατέλειωτες ώρες στο εργαστήριο και μοιραστήκαμε πολλά, τόσο σε επιστημονικό, όσο και σε φιλικό επίπεδο. Εύχομαι στον καθένα ξεχωριστά τα καλύτερα και να επιτύχουν τους στόχους τους.

Στη συνέχεια θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Δρ. Βλάση Γούλα και τον Δρ. Νικόλαο Νικολουδάκη, για την σημαντική βοήθειά τους τόσο σε κομμάτι των πειραμάτων, όσο και σε κομμάτι της στατιστικής ανάλυσης.

Ειδική αναφορά στην Δρ. Μαρία Τσολακίδου, για τον καταλυτικό ρόλο που έπαιξε στο ξεκίνημά μου και στην εύκολη και γρήγορη προσαρμογή μου στο εργαστήριο. Την ευχαριστώ πολύ για την συνεχή βοήθειά της σε ότι και αν χρειαζόμουν.

Επιπλέον θα ήθελα να ευχαριστήσω και όλους τους φίλους και συναδέλφους του τμήματος (Άντρη Βαρνάβα, Νικόλας Μαρκαντώνης, Παναγιώτα Ξυλιά, Σμαράγδα Σπανού, Χριστόδουλος Μιχαήλ, Σιμόνη Συμεού, Μαρίνα Χριστοφή), τόσο για την σχέση που αναπτύξαμε και το πολύ φιλικό περιβάλλον που δημιουργήσαμε, όσο και για την στήριξη που δίναμε ο ένας στον άλλον. Αυτό που μένει στο τέλος είναι μία δυνατή και αληθινή φιλία.

Ευχαριστώ θερμά την οικογένειά μου, τόσο στην Ελλάδα όσο και στην Κύπρο, για την αμέριστη συμπαράσταση και στήριξη όλα αυτά τα χρόνια. Ευχαριστώ πολύ τους γονείς μου, Αχιλλέα και Αθανασία και τους δευτέρους γονείς μου, Χρίστο και Αγαθή, που με τη συνεχή τους στήριξη, την παρότρυνση και την αγάπη τους συνέβαλαν σε μεγάλο βαθμό στην επιτυχή μου πορεία.

Ευχαριστώ μέσα από τα βάθη της καρδιάς μου, τη σύντροφό μου Μαρίνα, η οποία μέσα από την αμέριστη συμπαράσταση και κατανόησή της, μου υπενθύμιζε κάθε στιγμή ότι βρίσκεται δίπλα μου, στα εύκολα και στα δύσκολα. Το μεγαλύτερο κομμάτι της επιτυχίας αυτής οφείλεται σε εκείνη. Σ ευχαριστώ για όλα!!

Τέλος, θα ήθελα να επισημάνω ότι η παρούσα διατριβή αφιερώνεται στον αδελφικό μου φίλο Μιχάλη, ο οποίος ‘έφυγε’ τόσο άδικα πριν λίγα χρόνια, αφήνοντάς με πίσω να εκπληρώσω ένα ένα τα όνειρα που κάποτε κάναμε μαζί. Αδερφέ μου δεν θα σε ξεχάσω ποτέ!!



## **ABSTRACT**

Table olives are one of the most well-known traditionally fermented vegetables and their global consumption is increasing exponentially. According to the directly brining method, table olives are produced spontaneously, without any pre-treatment. This process remains empirical and inconstant, since it is strongly affected by physicochemical attributes of the fruit and the microbiota coming from the olive fruit and the environment. Nowadays, process modernization is extremely recommended worldwide, aiming to innovative products and/or processes. The stabilization of fermentation and thus, increasing the added value of the final product is a highly needed innovation making one of the oldest traditional food processes and products highly modernized. Furthermore, the reduction levels of sodium chloride used during processing is one of the main industry's challenges. In this regard, in the present thesis, the significant contribution of a commercial starter culture containing *L. plantarum* to both Cypriot and Picual table olives fermentation is illustrated, even in lower NaCl concentration (7%), supporting the application of starter cultures in table olives processing. Furthermore, considering microorganism acclimation to local conditions, industrial interest and consumers demand, for the development of indigenous starter cultures, several LAB and yeasts strains were isolated from Cypriot table olives and screened for interesting technological and potential probiotic features. Results indicated that Cypriot olives is a new source of probiotic microorganisms, as a series of them (including LAB and yeast strains) exhibited very promising multifunctional profile and thus, are recommended to be used as starter cultures at industrial scale fermentation process, in order to produce stable, novel and potentially functional table olives. Finally, the present thesis fully supports the concept of local microbial terroir and can potentially fingerprint the products.

**Keywords:** *Table olives, Fermentation, Starter culture, LAB, Yeasts, Technological properties, Probiotics*

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η επιτραπέζια ελιά είναι ένα από τα πιο δημοφιλή, παραδοσιακά, ζυμούμενα προϊόντα και η παγκόσμια παραγωγή και κατανάλωσή της αυξάνονται εκθετικά. Σύμφωνα με τη μέθοδο του φυσικού τύπου παραγωγής, οι ελιές υπόκεινται σε απευθείας ζύμωση σε άλμη, χωρίς καμία προ-επεξεργασία ξεπικρίσματος. Η διαδικασία αυτή παραμένει μέχρι και σήμερα εμπειρική και ασταθής, καθώς επηρεάζεται έντονα από τις φυσικοχημικές ιδιότητες του καρπού και τη μεταβολική δραστηριότητα μικροοργανισμών, οι οποίοι είναι προσαρτημένοι στον καρπό ή μεταδίδονται από το περιβάλλον. Στις μέρες μας, ο εκσυγχρονισμός της διαδικασίας παραγωγής έχει κεντρίσει το ενδιαφέρον τόσο της βιομηχανίας όσο και της επιστημονικής κοινότητας, με στόχο τη σταθεροποίηση της ζύμωσης και συνεπώς, την αύξηση της προστιθέμενης αξίας του τελικού προϊόντος. Επιπλέον, η μείωση του επιπέδου χλωριούχου νατρίου που χρησιμοποιείται κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, είναι μία από τις κυριότερες προκλήσεις της βιομηχανίας και απαιτήσεις της αγοράς. Για τον λόγο αυτό, στην παρούσα διατριβή, εφαρμόστηκε και μελετήθηκε η χρήση μιας εμπορικής καλλιέργειας εκκίνησης (*L. plantarum*) στη ζύμωση τόσο της κυπριακής όσο και της ποικιλίας Picual, ακόμη και σε χαμηλότερη συγκέντρωση NaCl (7%). Από τα αποτελέσματα προκύπτει η σημαντική συμβολή της καλλιέργειας εκκίνησης και προτείνεται η μόνιμη εφαρμογή της σε βιομηχανική κλίμακα. Επιπλέον, λαμβάνοντας υπόψη τόσο το βιομηχανικό ενδιαφέρον όσο και την απαίτηση των καταναλωτών για την ανάπτυξη νέων λειτουργικών τροφίμων, εξετάστηκε το τεχνολογικό και προβιοτικό προφίλ αυτόχθονων οξυγαλακτικών βακτηρίων και ζυμών, που απομονώθηκαν κατά τη ζύμωση της κυπριακής ελιάς. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι κυπριακές ελιές θα μπορούσαν να θεωρηθούν ως μία νέα πηγή προβιοτικών μικροοργανισμών, καθώς μια σειρά από απομονώσεις έδειξε ενδιαφέροντα

βιοτεχνολογικά χαρακτηριστικά. Συνεπώς, συνίσταται η χρήση τους ως καλλιέργειες εκκίνησης σε μελλοντικές ζυμώσεις βιομηχανικής κλίμακας, με σκοπό την παραγωγή σταθερών, καινοτόμων και πιθανώς λειτουργικών επιτραπέζιων ελιών. Τέλος, η παρούσα διατριβή υποστηρίζει πλήρως την έννοια του τοπικού μικροβιακού terroir και μπορεί δυνητικά να αποτυπώσει το προϊόντα.

**Λέξεις-κλειδιά:** *Επιτραπέζιες ελιές, Ζύμωση, Καλλιέργεια εκκίνησης, Οξυγαλακτικά βακτήρια, Ζύμες, Τεχνολογικές ιδιότητες, Προβιοτικά*