



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΠΟΙΟΤΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΤΟΥ
ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΟΠΩΣ ΕΠΗΡΕΑΖΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ
ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΤΗΣ ΕΛΙΑΣ ΚΑΙ ΤΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΞΑΓΩΓΗΣ

ΕΥΑΓΓΕΛΟΣ ΖΗΚΟΣ
ΓΕΩΠΟΝΟΣ Μ.Sc.

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ
ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2017



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΠΟΙΟΤΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΤΟΥ
ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΟΠΩΣ ΕΠΗΡΕΑΖΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ
ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΤΗΣ ΕΛΙΑΣ ΚΑΙ ΤΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΞΑΓΩΓΗΣ

ΕΥΑΓΓΕΛΟΣ ΖΗΚΟΣ
ΓΕΩΠΟΝΟΣ Μ.Sc.

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ
ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2017

«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Χημείας της Σχολής Θετικών Επιστημών, του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα (Ν. 5343/1932, άρθρο 202, παρ. 2)

Ορισμός Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής από τη Γ.Σ.Ε.Σ.: 844^Α/06-04-2012 όπως αντικαταστάθηκαν από τη Γ.Σ.Ε.Σ.: 921^Α/04.12.2015.

Επιβλέπουσα:

Μπαδέκα Αναστασία, Επικ. Καθηγήτρια

Μέλη:

Σταλίκας Κωνσταντίνος, Καθηγητής

Χατζησαββίδης Χρήστος, Αναπλ. Καθηγητής

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 11-05-2012

Θέμα: «ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΠΟΙΟΤΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΟΠΩΣ ΕΠΗΡΕΑΖΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΤΗΣ ΕΛΙΑΣ ΚΑΙ ΤΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΞΑΓΩΓΗΣ»

ΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ από τη Γ.Σ.Ε.Σ.: 952/07-07-2017

1. Μπαδέκα Αναστασία, Επικ. Καθηγήτρια
2. Σταλίκας Κωνσταντίνος, Καθηγητής
3. Χατζησαββίδης Χρήστος, Αναπλ. Καθηγητής
4. Κοντομηνάς Μιχαήλ, Καθηγητής
5. Βλεσσίδης Αθανάσιος, Καθηγητής
6. Κανελλάκη Μαρία, Καθηγήτρια
7. Μάνος Γεώργιος, Καθηγητής

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 13-09-2017

Η Πρόεδρος του Τμήματος Χημείας
Τμήματος Λέκκα Μαρία - Ελένη, Καθηγήτρια

Η Γραμματέας του
Ζωή-Βαλεντίνα Βαμβέτσου

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Το πειραματικό μέρος της διδακτορικής διατριβής εκπονήθηκε στα κάτωθι εργαστήρια και θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στα μέλη του κάθε εργαστηρίου:

- στο Εργαστήριο Χημείας Τροφίμων του Τομέα Βιομηχανικής Χημείας και Χημείας Τροφίμων του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων (το μέσο βάρος του ελαιοκάρπου, το ποσοστό ελαιολάδου στον καρπό, τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του ελαιολάδου (οξύτητα, υπεροξειδία, K_{232} , K_{270}), λιπαρά οξέα, το πτητικό προφίλ και η φαινολική σύσταση των ελαιολάδων).
- στο Εργαστήριο Εδαφολογίας και Θρέψης Φυτών του Τομέα Φυτικής Παραγωγής του Τ.Ε.Ι. Ηπείρου (υπευθ. ομότιμος καθηγητής κ. Ν. Μαλισόβας).
- στο Εργαστήριο Δενδροκομίας του Τμήματος Αγροτικής Ανάπτυξης, του Δημοκρίτειο Παν/μιο Θράκης (μέτρηση του αζώτου (N) και βορίου (B) σε φύλλα και καρπούς από τον Αναπλ. Καθηγητή κ. Χρήστο Χατζησαββίδη) (μέλος της τριμελούς επιτροπής).
- στο Εργαστήριο Εδαφολογικών Αναλύσεων της Ένωσης Αγροτικών Συνεταιρισμών Κέρκυρας (αναλύσεις εδάφους).

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στην εκλιπούσα επιβλέπουσα Αναπλ. Καθηγήτρια Μαρία Τασιούλα-Μάργαρη για την ανάθεση του θέματος, την καθοδήγηση και τις συμβουλές της κατά την διάρκεια της έρευνας. Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα Επίκ. Καθηγήτρια Αναστασία Μπαδέκα για την καθοδήγησή μου στη συγγραφή της διατριβής.

Θερμές ευχαριστίες, θα ήθελα επίσης να εκφράσω στους κ. Κωνσταντίνο Σταλικά, Καθηγητή του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, και στον κ. Χρήστο Χατζησαββίδη, Αναπλ. Καθηγητή του Τμήματος Αγροτικής Ανάπτυξης του Δημοκρίτειο Παν/μιου Θράκης, που αποτέλεσαν μέλη της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής, καθώς και στα υπόλοιπα μέλη της επταμελούς εξεταστικής επιτροπής για τις πολύτιμες συμβουλές και εύστοχες παρατηρήσεις τους.

Ξεχωριστά να ευχαριστήσω την υποψήφια Δρ. Αγαθή Χυτήρη και τον Δρ. Βασίλειο Χουλιάρα για την πολύτιμη βοήθειά τους καθώς και την μεταπτυχιακή φοιτήτρια Ειρήνη Ανδρέου για την βοήθεια της στην διαδικασία εξαγωγής του ελαιολάδου σε εργαστηριακή κλίμακα.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου και κυρίως την αδερφή μου για την ηθική στήριξη που μου παρείχαν κατά τη διάρκεια των σπουδών μου.

Ευάγγελος Ζήκος

Ιωάννινα 2017

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	1
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	2
ABSTRACT	5
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
Κεφάλαιο 1. Εισαγωγή	8
Κεφάλαιο 2. Καλλιεργητικές φροντίδες της ελαιοκαλλιέργειας	11
2.1 Καλλιέργεια του εδάφους	11
2.2 Άρδευση	11
2.3 Λίπανση	12
Κεφάλαιο 3. Ανάλυση εδάφους	13
3.1. Μέθοδοι σωστής και αντιπροσωπευτικής συλλογής δειγμάτων εδάφους..	14
3.2. Μέθοδοι συλλογής δείγματος	14
3.3. Φυσική ανάλυση εδάφους	16
3.3. Χημική ανάλυση εδάφους	16
Κεφάλαιο 4. Λίπανση	17
4.1 Άζωτο	18
4.2 Φώσφορο	19
4.3 Κάλιο	19
4.4 Ασβέστιο	20
4.5 Μαγνήσιο	20
4.6 Βόριο	20
Κεφάλαιο 5. Φυλλοδιαγνωστική	23
Κεφάλαιο 6. Λίπανση με φύκη	26
6.1 Προέλευση σκευασμάτων εκχυλίσματος φυκών	27
6.2. Χημική σύσταση των εκχυλισμάτων φυκών	28
6.3 Ρυθμιστές αύξησης στα εκχυλίσματα φυκών και στα εμπορικά σκευάσματα	29
6.3.1. Κυτοκινίνες	31
6.3.2. Αυξίνες	32
6.3.3. Βεταΐνες	33
6.4. Αποτελέσματα της εφαρμογής εκχυλισμάτων φύκων στα φυτά	33
6.5. Εμπορικά σκευάσματα εκχυλίσματος φυκών (Maxicrop και Kelp-100)	35
6.5.1. Maxicrop	35
6.5.2. Kelp-100	36
Κεφάλαιο 7. Σύσταση των προϊόντων της ελιάς	39

7.1. Σύσταση ελαιοκάρπου	39
7.2. Σύσταση του ελαιολάδου	40
7.2.1. Συστατικά του ελαιολάδου	40
7.2.2. Σχηματισμός ελαιολάδου	40
7.3. Σαπωνοποιήσιμα συστατικά ελαιολάδου	42
7.3.1. Εκατοστιαία διακύμανση της περιεκτικότητας του ελαιολάδου, σε λιπαρά οξέα	42
7.4 Ασαπωνοποίητα συστατικά του ελαιολάδου	43
7.4.1. Υδρογονάνθρακες	43
7.4.2. Στερόλες	44
7.4.3. Τοκοφερόλες	44
7.4.4. Χρωστικές	45
7.4.5. Τριτερπενικά οξέα	45
7.4.6. Φαινολικές ενώσεις	45
7.4.7. Φωσφολιπίδια	46
7.4.8. Πτητικά συστατικά	46
Κεφάλαιο 8. Φαινολικές ενώσεις	47
8.1. Παράγοντες που επηρεάζουν την σύσταση του ελαιολάδου σε φαινολικές ενώσεις	51
8.1.1. Ποικιλία	51
8.1.2. Αγρονομικοί παράγοντες	51
8.1.3. Περιβαλλοντικοί παράγοντες	52
8.1.4. Τεχνολογικοί παράγοντες	52
8.2. Προσδιορισμός φαινολικών ενώσεων ελαιολάδου	53
8.3. Εκχύλιση φαινολικών ενώσεων από το ελαιολάδο	54
8.3.1. Προσδιορισμός συνολικού φαινολικού περιεχομένου	55
8.3.2. Χρωματογραφικός προσδιορισμός των φαινολικών ενώσεων	56
8.3.3 Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης	56
8.3.4. Αέρια χρωματογραφία	58
8.4. Ποσοτικοποίηση των φαινολικών ενώσεων	58
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9. Πτητικές ενώσεις	60
9.1. Σύσταση του πτητικού κλάσματος του ελαιολάδου και συνεισφορά στο άρωμα...	63
9.2. Παράγοντες που επηρεάζουν το σχηματισμό και τα επίπεδα των πτητικών συστατικών	65
9.3. Αναλυτικός προσδιορισμός των πτητικών ενώσεων του ελαιολάδου	69
9.3.1. Παραλαβή των πτητικών ενώσεων από το δείγμα	69

9.3.2. Αέρια Χρωματογραφία– Φασματομετρία Μάζας (GC– MS)	71
Κεφάλαιο 10. Αλλοιώσεις του ελαιολάδου	73
10.1.Υδρόλυση (λιπόλυση)	73
10.2.Μικροβιακή λιπόλυση	73
10.3.Ενζυμική λιπόλυση	74
10.4.Οξειδωση (αυτοοξειδωση)	74
10.4.1. Μηχανισμός της αυτοοξειδωσης	75
10.4.2. Παράγοντες που προκαλούν την οξειδωση	76
10.4.2.1.Οξυγόνο	76
10.4.2.2. Θερμοκρασία	76
10.4.2.3. Μέταλλα	77
10.4.2.4. Το φως	77
10.4.3. Επιπτώσεις της οξειδωσης του ελαιολάδου στις πτητικές ενώσεις (δυσάρεστη οσμή)	78
10.4.4. Ενζυμική οξειδωση	79
10.5. Διαφοροποιήσεις στην οσμή και τη γεύση του ελαιολάδου που δεν οφείλονται σε χημικές αλλοιώσεις	79
10.6. Θόλωμα του ελαιολάδου	82
Κεφάλαιο 11. Κριτήρια ποιότητας και ποιοτική κατάταξη του ελαιολάδου	83
Σκοπός της διδακτορικής διατριβής.....	85
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	86
Κεφάλαιο 12. Υλικά και μέθοδοι	87
12.1. Ελαιώνας και μεταχειρίσεις	87
12.2. Ελαιόλαδο	88
12.3. Εδαφολογική ανάλυση	89
12.4. Χαρακτηριστικά καρπών	90
12.4.1.Μέσο βάρος	90
12.4.2. Δείκτης ωριμότητας.....	90
12.4.3. Συγκέντρωση καροτενοειδών στο φλοιό των καρπών.....	91
12.4.4. Ποσοστό ελαιολάδου.....	92
12.5. Προσδιορισμός ανόργανων συστατικών στα φύλλα.....	92
12.5.1. Μέτρηση K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn, Cu.....	93
12.5.2. Μέτρηση B.....	93
12.5.3. Μέτρηση P.....	94

12.5.4. Μέτρηση N.....	95
12.6. Ελαιόλαδο	96
12.6.1. Προσδιορισμός κριτηρίων ποιότητας ελαιολάδου	96
12.6.1.1. Ελεύθερη οξύτητα.....	96
12.6.1.2 Αριθμός υπεροξειδίων	96
12.6.1.3. Ειδικοί συντελεστές απόσβεσης (K_{232} , K_{270})	97
12.6.2. Προσδιορισμό των λιπαρών οξέων με GC/FID	97
12.6.3. Εκχύλιση των φαινολικών ενώσεων ελαιολάδου (mg/kg)	98
12.6.3.1. Προσδιορισμός των φαινολικών ενώσεων με HPLC – UV	99
12.6.3.2. Πρότυπα, αντιδραστήρια και διαλύτες	99
12.6.3.3. Συνθήκες ανάλυσης	100
12.6.4. Ημιποσοτικός προσδιορισμός πτητικών ενώσεων ελαιολάδου με SPME-GC/MS	100
12.6.4.1. Αεριοχρωματογραφικές συνθήκες	101
12.6.4.2. Στατιστική Ανάλυση	101
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	102
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 13	103
13.1. Εδαφολογική Ανάλυση.....	103
13.2. Χαρακτηριστικά καρπών.....	106
13.2.1. Μέσο βάρος του ελαιοκάρπου της ποικιλίας «Λιανολιά Κέρκυρας»	106
13.2.2. Δείκτης ωριμότητας και ελαιοπεριεκτικότητα του ελαιοκάρπου της ποικιλίας «Λιανολιά Κέρκυρας»	108
13.2.3. Συγκέντρωση καροτενοειδών στο φλοιό των καρπών της ελιάς της ποικιλίας «Λιανολιά Κέρκυρας».....	113
13.3. Συγκεντρώσεις ανόργανων συστατικών στα φύλλα της ελιάς της ποικιλίας «Λιανολιά Κέρκυρας»	117
13.4. Προσδιορισμός κριτηρίων ποιότητας ελαιολάδου.....	130
13.5. Προσδιορισμό των λιπαρών οξέων.....	132
13.6. Μεταβολές στη φαινολική σύσταση του ελαιολάδου της ποικιλίας «Λιανολιά Κερκύρας» μετά την εφαρμογή εμπορικών προϊόντων εκχυλίσματος φυκών.....	136
13.7. Μεταβολές στη σύσταση του πτητικού κλάσματος των ελαιολάδων μετά την εφαρμογή εμπορικών προϊόντων εκχυλίσματος	

φυκών στα φύλλα της ελιάς της ποικιλίας «Λιανολιά Κέρκυρας»	145
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	170
Προσδιορισμός των ανόργανων στοιχείων στον καρπό της ελιάς της ποικιλίας «Λιανολιά Κέρκυρας» μετά από δυο συνεχόμενα έτη εφαρμογής διαφυλλικού ψεκασμού με τα υγρά σκευάσματα εκχυλίσματος φυκών Maxicrop και Kelp-100	171
Συμπεράσματα –Προοπτικές	176
Βιβλιογραφία.....	180

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η σωστή, έγκαιρη, οικονομική και με βάση τους κώδικες ορθής γεωργικής πρακτικής λίπανση έχει ευνοϊκές επιδράσεις στην απόδοση, ωρίμανση και φυτοϋγειονομική κατάσταση των ελαιοδέντρων. Ένας από τους κυριότερους παράγοντες που επιδρούν στην ανάπτυξη του ελαιοκάρπου και την ποιότητα του ελαιολάδου είναι η θρέψη του φυτού.

Η εφαρμογή σκευασμάτων που προέρχονται από φύκη αποτελεί σύγχρονη καλλιεργητική τεχνική στη γεωργία, λόγω της ευαισθησίας τόσο των παραγωγών όσο και των καταναλωτών σε προϊόντα απαλλαγμένα από υπολείμματα γεωργικών φυτοφαρμάκων και άλλων τοξικών ουσιών. Τα εκχυλίσματα φυκών θεωρούνται «βιο-διεγέρτες» (ρυθμιστές αύξησης φυτικής προέλευσης), περιέχουν ανόργανα στοιχεία επιπλέον των θεμελιωδών, πλήθος αντιοξειδωτικών ουσιών, αμινοξέα και πολυσακχαρίτες.

Τα κυριότερα είδη φυκών που μελετώνται τα τελευταία 15 χρόνια και αποτελούν τη σύσταση των περισσότερων εμπορικών σκευασμάτων είναι τα *Ascorhyllum nodosum* και *Ecklonia maxima*.

Η παρούσα μελέτη διεξήχθη σε πραγματικό χρόνο και συνθήκες και αφορά τη διαφυλλική εφαρμογή των προαναφερθέντων φυκών και τα αποτελέσματά της θα μπορούσαν να συνεισφέρουν στην κατανόηση της επίδρασής τους στην καλλιέργεια της ελιάς, την παραγωγικότητά της, την θρεπτική κατάσταση, καθώς και στα ποιοτικά χαρακτηριστικά και στη σύσταση του φαινολικού και πτητικού κλάσματος του ελαιολάδου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα έρευνα μελετήθηκε η επίδραση των δύο εμπορικών υγρών σκευασμάτων (Maxicrop και Kelp-100) που προέρχονται από τα φύκια *Ascophyllum nodosum* και *Ecklonia maxima*, αντίστοιχα, μετά το διαφυλλικό ψεκασμό ελαιοδένδρων της ποικιλίας «Λιανολιά Κερκύρας» στα ελαιόδενδρα και το παραγόμενο προϊόν (ελαιόλαδο). Τα σκευάσματα Maxicrop και Kelp-100 εφαρμόστηκαν ως εξής: α) κανένας ψεκασμός– μάρτυρας, β) ψεκασμός με διάλυμα 0,4% Maxicrop (15 Ιουνίου, τέλος ανθοφορίας), γ) ψεκασμός με διάλυμα 0,4% Maxicrop (15 Ιουνίου) και με διάλυμα 0,01% B (25 Ιουνίου), δ) διπλός ψεκασμός με διάλυμα 0,4% Maxicrop (15 Ιουνίου και 15 Ιουλίου), ε) ψεκασμός με διάλυμα 0,2% Kelp-100 (15 Ιουνίου), στ) ψεκασμός με διάλυμα 0,2% Kelp-100 (15 Ιουνίου) και με διάλυμα 0,01%B (25 Ιουνίου), ζ) διπλός ψεκασμός με διάλυμα 0,2% Kelp-100 (15 Ιουνίου και 15 Ιουλίου). Δεν εφαρμόστηκε λίπανση από το έδαφος κατά τη διάρκεια του πειράματος.

Συγκεκριμένα, εκτιμήθηκε η θρεπτική κατάσταση των ελαιοδέντρων με τη μέθοδο της φυλλοδιαγνωστικής, μετρήθηκε το μέσο βάρος των καρπών, ο δείκτης ωρίμανσης των καρπών, η συγκέντρωση ορισμένων καροτενοειδών (φλαβοξανθίνη, βιολαξανθίνη, λουτεΐνη, ζεαξανθίνη και β-καροτένιο) στο φλοιό των καρπών και το ποσοστό του παραγόμενου ελαιολάδου. Στο παραληφθέν ελαιόλαδο έγινε προσδιορισμός των κριτηρίων ποιότητας (οξύτητα, αριθμός υπεροξειδίων, K_{232} και K_{270}), του ποσοστού λιπαρών οξέων, των φαινολικών ενώσεων (υδροξυτυροσόλη, DAFOA, AFOA, τυροσόλη, DAFLA, AFLA, 1-ακετοξυτιπινορεσινόλη και λουτεολίνη) και του προφίλ πτητικού κλάσματος.

Η συγκέντρωση του αζώτου (N) στα φύλλα των ελαιοδέντρων, το 2012 αυξήθηκε κυρίως με την απλή εφαρμογή των Maxicrop και Kelp-100 και με την εφαρμογή προσθήκης βορίου (B) ενώ το 2013 ελαττώθηκε τόσο σε σχέση με τον μάρτυρα όσο και σε σχέση με το πρώτο έτος εφαρμογής των σκευασμάτων. Η συγκέντρωση του φωσφόρου (P) αυξήθηκε με την εφαρμογή του Maxicrop, και των συνδυασμών του ενώ με την εφαρμογή του Kelp-100 και των συνδυασμών του παρατηρήθηκε μείωση της συγκέντρωσής του. Η συγκέντρωση του Κ παρουσίασε τάση αύξησης σε όλες τις μεταχειρίσεις σε σχέση με τον μάρτυρα. Η συγκέντρωση του Ca το 2012 δεν επηρεάστηκε σημαντικά σε σχέση με τον μάρτυρα με την εφαρμογή του Maxicrop και των

συνδυασμών του ενώ αντίθετα η εφαρμογή του Kelp-100 και των συνδυασμών του οδήγησαν σε σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης του Ca. Το 2013 συνέβη το αντίθετο, δηλ. η συγκέντρωση του Ca ελαττώθηκε με την εφαρμογή του Kelp-100 και των συνδυασμών του ενώ με την εφαρμογή του Maxicrop και των συνδυασμών του ήταν περίπου στα ίδια επίπεδα με την συγκέντρωση στον μάρτυρα σημειώνοντας μικρή μείωση. Οι συγκεντρώσεις των Mg, Fe, Zn, Mn, Cu και B σημείωσαν αύξηση με την εφαρμογή των δύο σκευασμάτων και των συνδυασμών τους.

Η εφαρμογή των σκευασμάτων προκάλεσε αύξηση στο μέσο νωπό βάρος του καρπού με την μεγαλύτερη να σημειώνεται στη περίπτωση της διπλής εφαρμογής του Kelp-100. Ο διαφυλλικός ψεκασμός με τα δύο εμπορικά σκευάσματα, επιτάχυνε την ωρίμανση των καρπών σε σχέση με το μάρτυρα και προκάλεσε αύξηση του ποσοστού του ελαιολάδου. Δεν επηρεάστηκε σημαντικά η ποιότητα του ελαιολάδου όπου με βάση την οξύτητα όλα τα ελαιόλαδα (με εξαίρεση την περίπτωση εφαρμογής του Maxicrop) κατατάσσονται στην κατηγορία «παρθένο ελαιόλαδο», ενώ οι τιμές του δείκτη υπεροξειδίων, σε όλες τις επεμβάσεις μετά και την επανάληψη των ψεκασμών βρέθηκε μικρότερη του 7,5. Όλες οι επεμβάσεις προκάλεσαν αύξηση της συγκέντρωσης των καροτενοειδών στο φλοιό των καρπών. Στις περιπτώσεις πρόσθετης εφαρμογής του B καθώς και διπλής εφαρμογής των σκευασμάτων παρατηρήθηκε περαιτέρω αύξηση των καροτενοειδών.

Η σύνθεση λιπαρών οξέων δεν επηρεάστηκε από τις εφαρμοζόμενες διαφυλλικές λιπάνσεις με τα προϊόντα που προέρχονται από εκχυλίσματα φυκών.

Η συγκέντρωση της υδροξυτυροσόλης δεν παρουσίασε αρχικά (2012) στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του μάρτυρα και των υπόλοιπων μεταχειρίσεων αλλά μετά και την επανάληψη της εφαρμογής των δύο εμπορικών προϊόντων από φύκη (2013), παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της περιεκτικότητας στο μάρτυρα καθώς και αύξηση τόσο κατά την εφαρμογή του Maxicrop+Maxicrop όσο και στην εφαρμογή του Kelp-100+B. Η συγκέντρωση τυροσόλης το 2012 μειώθηκε αισθητά ενώ το 2013 παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση μετά την εφαρμογή του εμπορικού σκευάσματος Maxicrop και των συνδυασμών του, σε σχέση με τον μάρτυρα. Η εφαρμογή του SWE (εκχυλίσματα φυκών) προκάλεσε μείωση των

παραγώγων της ελαιοευρωπαϊνης και της 1-ακετοξυ-πινορεσινόλης σε σχέση με τον μάρτυρα.

Οι μεταβολές στη σύσταση του πτητικού κλάσματος των παρθένων ελαιολάδων μελετήθηκαν με τη χρήση της τεχνικής SPME–GC–MS. Η εφαρμογή των διαφυλλικών ψεκασμών με SWE προκάλεσε ελάττωση της συγκέντρωσης της E-2-εξανάλης, η οποία αποτελεί την επικρατέστερη ένωση του πτητικού κλάσματος του ελαιολάδου. Η συγκέντρωση των πτητικών προϊόντων οξείδωσης (πεντανάλη, εξανάλη, επτανάλη, και εννεανάλη) καταγράφηκε υψηλότερη στα ελαιοάδα το 2013. Η συγκέντρωση της εξανάλης παρουσίασε τάση αύξησης μετά την εφαρμογή των SWE σε σχέση με τον μάρτυρα. Η συγκέντρωση της E-2-εξεν-1-όλης παρουσίασε τάση αύξησης στις μεταχειρίσεις με την χρήση του Maxicrop και των συνδυασμών του σε σχέση τόσο με τον μάρτυρα όσο και με τις μεταχειρίσεις που εφαρμόστηκε διαφυλλικός ψεκασμός με το Kelp-100 και των συνδυασμών του.

Όσον αφορά τα προϊόντα της οδού της λιποξυγενάσης, τα οποία είναι υπεύθυνα για τις θετικές οργανοληπτικές ιδιότητες του ελαιολάδου, βρέθηκαν σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις στην μεταχείριση του μάρτυρα και μόνο το πρώτο έτος της μελέτης, ενώ παρατηρείται μια τάση αύξησης στις μεταχειρίσεις με την χρήση του Maxicrop και των συνδυασμών του.

ABSTRACT

The purpose of the present research is to study the effects of two seaweed (*Ascophyllum nodosum* and *Ecklonia maxima*) commercial extracts (Maxicrop and Kelp-100) on the nutritional status of the olive oil cultivar 'Lianolia Kerkyras' and the quality of the produced olive oil. The liquid commercial extracts Maxicrop (*Ascophyllum nodosum*) and Kelp-100 (*Ecklonia maxima*) were applied foliarly to trees of the cultivar 'Lianolia Kerkyras', as follows: a) Control, b)Maxicrop (0.4%, 15th of June), c)Maxicrop (0.4 %, on June15th) + B (0.01% onJune25th), d)Maxicrop (0.4% onJune15th) + Maxicrop (0.4 %, on July15th), e)Kelp-100 (0.2%, on June15th, f)Kelp-100 (0.2 %, on June15th) + B (0.01%, on June25th), g)Kelp-100 (0.2%, on June15th) + Kelp (0.2 %, onJuly15th). No other soil fertilization was applied.

Specifically, the nutritional status of the trees was estimated according to leaf nutrient analysis and parameters relating to fruit mean weight, maturity index, concentration of specific skin carotenoids (flavoxanthin, violaxanthin, lutein, zeaxanthin and b-carotene) and the olive oil content were recorded. The qualitative characteristics (i.e. free acidity, peroxide value, K_{232} and K_{270}), the concentration of fatty acids, the concentration of phenolic compounds (hydroxytyrosol , DAFOA, AFOA, tyrosol, DAFLA, AFLA, 1-acetoxypinoresinol and luteonin) and the composition of the volatile fraction were determined in the extracted olive oil.

In 2012, the leaf nitrogen content increased mainly after the treatment with Maxicrop and Kelp-100 applied once in combination with the application of boron. In 2013, all treatments were found to be below the control and declined compared with the first year of application. The leaf phosphorous concentration was higher in all Maxicrop combinations and remained unaltered in both years. The content of potassium was significantly higher in almost all treatments compared with the control, whereas the highest leaf potassium content was observed after Maxicrop had been applied twice, in both years. Leaf calcium concentrations were found to be higher in all fertilization treatments in 2013, compared to those in 2012. The treatments of Maxicrop applied once and Maxicrop+B, exhibited the highest leaf Ca

concentration in 2013, whereas the treatment of Kelp applied twice in 2012. The application of both seaweed products and their combinations caused significant rise of Mg, Fe, Zn, Mn, Cu and B concentrations in olive tree leaves compared with the control.

The application of the seaweed extract caused significant increase in the fruit mean weight in all treatments compared to the control, whereas the highest value was observed after treatment with Kelp-100, when applied twice. The foliar application of Maxicrop and Kelp-100 expedited the olive fruit maturation according to maturity index (M.I.) and increased oil content (expressed as % F.W. and % D.W.) more than did the rest of treatments. The application of both commercial products derived from seaweeds did not influence, significantly, the olive oil quality, expressed by the free acidity, which in all treatments proved to be Virgin (the treatments of Maxicrop applied was excluded). In all treatments including the control, the peroxide value was found to be below 7.5. All treatments showed impressively high amount of carotenoids in fruit skin. The seaweed products, sprayed once accompanied by the additional application of boron caused significant increase in all recorded carotenoids compared to the control. The application of the seaweed products twice, caused further increase in fruit skin carotenoids.

The composition of fatty acids was not influenced by the foliar application of the products derived from seaweed extracts.

In 2012, the concentration of hydroxytyrosol did not show statistically significant differences between the control and the treatments, but after repeating the two commercial algae products (in 2013), a significant reduction in their content was noticed in the control sample as well as an increase in both of them, after the application of Maxicrop + Maxicrop and Kelp-100 + boron. In 2012, tyrosol concentration decreased markedly, while, in 2013, a significant increase was noticeable after the application of Maxicrop and its combinations, compared to control. Moreover, the application of SWE caused a decline in oleuropein derivatives and 1-acetoxy-pinoresinol.

The changes in the composition of the volatile fraction of virgin olive oil were studied using the SPME-GC-MS technique. The application of the foliar sprays with SWE caused a marked decrease in the concentration of E-2-hexenal, which is the predominant compound of the volatile fraction of olive

oil. The concentrations of volatile oxidative products (pentanal, hexanal, heptanal, and nonenal) were found to be at highest in olive oils, in 2013. The concentration of hexanal showed a tendency to increase after the application of SWE, compared to the control. The concentration of E-2-hexen-1-ol showed a tendency to increase in treatments with Maxicrop as compared to the control and the treatments based on Kelp-100 product.

As for the lipoxygenase pathway products which are responsible for the positive organoleptic properties of olive oil, they were found to occur at low concentrations in control treatment and only in the first year of the study, while an increasing tendency was noticed after treatments with Maxicrop and its combinations.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η καλλιέργεια της ελιάς έχει τεράστια οικονομική και οικολογική σημασία για τις χώρες της Μεσογείου, καθώς και πολύτιμη συνεισφορά στη διατροφή των λαών της. Η ελιά καλλιεργείται και σε πολλές άλλες χώρες εκτός της λεκάνης της Μεσογείου, οι βασικότερες ωστόσο χώρες καλλιέργειάς της είναι οι παραμεσόγειες. Οι ελαιώνες στη χώρα μας καταλαμβάνουν το 14,1% της συνολικά καλλιεργούμενης έκτασης, με περίπου 130.000.000 ελαιόδεντρα. Η καλλιεργούμενη ελιά ανήκει στην οικογένεια *Oleaceae* και το γένος *Olea*. Το επιστημονικό της όνομα είναι *Olea europaea*.

Το δέντρο της ελιάς, που καλλιεργείται από τα πανάρχαια χρόνια, κυρίως γύρω από τη λεκάνη της Μεσογείου, πρόσφερε και προσφέρει ένα από τα βασικότερα είδη διατροφής του ανθρώπου και συνδέθηκε με όλους τους πολιτισμούς που αναπτύχθηκαν σ' αυτές. Μία μεγάλη ποσότητα λιπαρής ύλης που καταναλώνεται στη μεσογειακή διατροφή προέρχεται από την κατανάλωση ελαιολάδου (Byrd-Bredbenner et al., 2000, Visioli et al., 2002, Wahrburg et al., 2002, Waterman και Lockwood, 2007). Η Ελλάδα, παρουσιάζει τη μεγαλύτερη κατανάλωση ελαιολάδου σε διεθνές επίπεδο (16,3 kg κατά άτομο) με βάση τα στοιχεία του Διεθνούς Συμβουλίου Ελαιολάδου (ΔΣΕ) για το έτος 2013 (IOC, 2015).

Οι κύριοι νομοί παραγωγής ελαιολάδου στη χώρα μας είναι του Ηρακλείου, της Λέσβου, της Μεσσηνίας, της Λακωνίας, των Χανίων, της Κέρκυρας, του Λασιθίου, του Ρεθύμνου, της Αχαΐας, της Κορινθίας, της Ηλείας, της Ζακύνθου και της Ευβοίας, ενώ οι κυριότερες περιοχές παραγωγής επιτραπέζιων ελιών είναι η Στερεά Ελλάδα, η Θεσσαλία, η Πελοπόννησος, η Ήπειρος, η Μακεδονία και λιγότερο η νησιωτική Ελλάδα και η Θράκη. Οι σπουδαιότερες ποικιλίες επιτραπέζιας ελιάς είναι η Κονσερβολιά και η Καλαμών, ενώ λαδολιάς είναι η Κορωνέϊκη, η Λιανολιά Κερκύρας, η Κουτσουρελιά και η Μαστοειδής.

Η ελιά, ευδοκίμει αυτοφυόμενη και καλλιεργούμενη στις περισσότερες περιοχές της Ελλάδας. Είναι γνωστό ότι η ελιά, χωρίς ιδιαίτερες περιποιήσεις, αποδίδει καρπούς και ευδοκίμει σε διάφορα εδάφη. Αν τα σημερινά κέρδη από την καλλιέργειά της είναι ελαττωμένα, αυτό οφείλεται κατά μεγάλο μέρος

στο ότι ο ελαιοκόμος δεν γνωρίζει τη φυσιολογία του δέντρου, τις θρεπτικές του ανάγκες, τις συνθήκες καρποφορίας, τους εχθρούς και τα μέσα καταπολέμησης αυτών.

Η καλλιέργεια της ελιάς είναι η μεγαλύτερη σε έκταση, αλλά και σε οικονομική σημασία μεταξύ των καρποφόρων δεντροκομικών ειδών και καταλαμβάνει το 15 % περίπου της συνολικής καλλιεργούμενης γης της Ελλάδας, το δε ελαιόλαδο θεωρείται, ως προϊόν ύψιστης Εθνικής σημασίας. Αυτό φαίνεται στο γεγονός ότι η Ελλάδα έρχεται μετά την Ισπανία και την Ιταλία, τρίτη χώρα στην παγκόσμια παραγωγή ελαιολάδου και δεύτερη μετά την Ισπανία στη παραγωγή βρώσιμης ελιάς.

Το ελαιόλαδο, με τη γνωστή χρυσοπράσινη όψη, χρησιμοποιήθηκε για ποικίλους σκοπούς, εκτός από τη διατροφή. Αποτέλεσε τη βασική καύσιμη-φωτιστική ύλη και ήταν από τα λίγα γνωστά φαρμακευτικά μέσα για πολλούς αιώνες. Είναι σπουδαίο προϊόν, μεγάλης οικονομικής και κοινωνικής σημασίας. Η κατανάλωσή του, σύμφωνα με πολλές μελέτες ευθύνεται για τη χαμηλή συχνότητα διάφορων χρόνιων νοσημάτων (Covas, 2007). Πολλές έρευνες απέδειξαν τα οφέλη της κατανάλωσης ελαιολάδου στην υγεία, όπως η προστασία της λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας (LDL) από την οξειδωση, (Covas et al., 2006a, de la Torre-Carbot et al., 2010, Visioli και Galli, 1994), οι αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες (Corona et al., 2009), η μείωση του κινδύνου εκδήλωσης συγκεκριμένων τύπων καρκίνου (Elnagar et al., 2011, Trichoroulou et al., 2000) κ.ά. Οι ευεργετικές ιδιότητες του παρθένου ελαιολάδου έχουν αποδοθεί στην υψηλή αναλογία ακόρεστων/κορεσμένων λιπαρών οξέων (το σημαντικότερο από τα οποία είναι το μονοακόρεστο ελαϊκό οξύ), αλλά και σε ορισμένα από τα δευτερεύοντα συστατικά του όπως είναι οι φαινολικές ενώσεις, οι τοκοφερόλες, το σκουαλένιο κ.α (Covas, 2007, Covas et al., 2006b, Pérez-Jiménez et al., 2007, Waterman και Lockwood, 2007).

Τον Δεκέμβριο του 2012, ξεκίνησε η εφαρμογή του Κανονισμού (ΕΕ) 432/2012 της Ευρωπαϊκής Επιτροπής, με τον οποίο θεσπίστηκε ο κατάλογος επιτρεπόμενων «Ισχυρισμών Υγείας - Health Claim» που διατυπώνονται για τα τρόφιμα, μεταξύ των οποίων βρίσκεται και το ελαιόλαδο. Στον κατάλογο αυτό ορίζεται ότι μπορεί να αναγράφεται στις ετικέτες των ελαιολάδων ο εξής ισχυρισμός υγείας: «οι πολυφαινόλες του ελαιολάδου συμβάλλουν στην

προστασία των λιπιδίων του αίματος από το οξειδωτικό στρες» (EC, 2012). Ωστόσο, ο ισχυρισμός αυτός μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνο για ελαιόλαδα τα οποία περιέχουν τουλάχιστον 5 mg υδροξυτυροσόλης και παραγώγων αυτής ανά 20 g ελαιόλαδου, δεδομένου ότι τα ευεργετικά αποτελέσματα εξασφαλίζονται με την ημερήσια πρόσληψη 20 g ελαιολάδου.

Η μεγάλη αύξηση στη ζήτηση ελαιολάδου υψηλής ποιότητας τα τελευταία χρόνια φαίνεται να συνδέεται και με τα ιδιαίτερα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά, που οφείλονται στις πτητικές και φαινολικές ενώσεις, οι οποίες είναι υπεύθυνες για το άρωμα και τη γεύση, αντίστοιχα (Bendini et al., 2007, Cerretani et al., 2008). Η παραλαβή του ελαιολάδου σε κατάλληλες συνθήκες και από φρέσκους καρπούς καλής ποιότητας, χαρακτηρίζεται από ένα εκλεπτυσμένο και μοναδικό άρωμα και μία ιδιαίτερη γεύση, χαρακτηριστικά τα οποία το διαφοροποιούν από τα υπόλοιπα εδώδιμα έλαια (Alonso et al., 1994, Angerosa et al., 2001).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΕΣ ΦΡΟΝΤΙΔΕΣ ΤΗΣ ΕΛΑΙΟΚΑΛΛΙΕΡΓΙΑΣ

2.1. Καλλιέργεια του εδάφους

Παρά τη σημαντική οικονομική σημασία που έχει η καλλιέργεια της ελιάς κυρίως για τις Μεσογειακές χώρες, οι απαιτήσεις της σε σχέση με τα θρεπτικά στοιχεία δεν είναι καθ' όλα γνωστές. Η ελιά μπορεί να αναπτύσσεται και να καρποφορεί με ελάχιστες καλλιεργητικές φροντίδες ακόμα και σε άγονα εδάφη. Αυτό, όμως, δεν σημαίνει ότι δεν έχει απαιτήσεις σε θρεπτικά στοιχεία. Για παράδειγμα, ιδιαίτερα εμφανή είναι τα συμπτώματα έλλειψης καλίου στους ελαιώνες, τα οποία βέβαια αντιμετωπίζονται με καλιούχο λίπανση αν και εφόσον δεν συνδέονται με υπερβολική ξηρασία. Σπάνιες είναι οι περιπτώσεις θετικής αντίδρασης των ελαιοδέντρων στη φωσφορική λίπανση.

Η συνεχής καλλιέργεια του εδάφους εξαντλεί τις ποσότητες οργανικής ουσίας και καταστρέφει τις επιφανειακές ρίζες της ελιάς. Για το λόγο αυτό θα πρέπει η αυτοφυής βλάστηση να αφήνεται να αναπτυχθεί τον χειμώνα και να παραχώνεται στο έδαφος την άνοιξη, πριν αρχίσει να ανταγωνίζεται την ελιά σε θρεπτικά στοιχεία και υγρασία. Η εφαρμογή ακαλλιέργειας σε συνδυασμό με άρδευση με σταγόνες έχει δώσει ικανοποιητικά αποτελέσματα. Έτσι δεν διαταράσσεται η εδαφική δομή, δεν δημιουργούνται διαβρώσεις και ευνοείται η ανάπτυξη ενεργού επιφανειακού ριζικού συστήματος.

2.2. Άρδευση

Έχει επικρατήσει η αντίληψη ότι το ελαιόδεντρο είναι ανθεκτικό στη ξηρασία και είναι ικανό να αποδίδει σε ξηρά εδάφη, που θεωρούνται περιθωριακά για τη γεωργική εκμετάλλευση. Έτσι, είναι ελάχιστες οι ποσότητες νερού που καταναλώνονται για άρδευση ελαιώνων. Παρότι, όμως, η ελιά είναι τυπικό ξηρόφυτο και μπορεί να αξιοποιήσει τα λίγα αποθέματα του νερού στο έδαφος, για να αποδώσει ικανοποιητικά έχει ανάγκη από κάποιες ποσότητες νερού, οι οποίες πρέπει να παρέχονται κυρίως κατά τους καλοκαιρινούς μήνες.

2.3. Λίπανση

Η ανάλυση εδάφους, καθώς και η φυλλοδιαγνωστική αποτελούν απαραίτητες εργαστηριακές αναλύσεις πριν από οποιαδήποτε επέμβαση στον τομέα της θρέψης και λίπανσης της ελιάς. Στη βιοκαλλιέργεια της ελιάς θα πρέπει να χρησιμοποιούνται χλωρές λιπάνσεις και οργανικά υλικά (ζωικές και φυτικές κοπριές, επεξεργασμένα φύκη, στάχτη, φύλλα, υπολείμματα ξύλου κτλ.) Για την επιλογή των οργανικών υλικών, που θα χρησιμοποιηθούν, θα πρέπει πρώτα να καθοριστούν οι ανάγκες του εδάφους σε θρεπτικά στοιχεία και η διαθεσιμότητα των οργανικών υλικών στην περιοχή. Περιοδικά, μπορεί να χρειαστεί η προσθήκη μικρών ποσοτήτων φωσφόρου ή καλίου σε μορφές που επιτρέπει ο κανονισμός 2092/91 (ορυκτός φωσφόρος). Η προσθήκη ή όχι αυτών των στοιχείων εξαρτάται από τη διαθεσιμότητα τους στο έδαφος (Θεριός, 1996).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΔΑΦΟΥΣ

Η ανάλυση του εδάφους μπορεί να δώσει σημαντικές πληροφορίες σχετικά με τις φυσικές-χημικές ιδιότητες και τη γονιμότητά του, που επηρεάζουν την ποιότητα του εδάφους και την καταλληλότητά του για καλλιέργεια.

Η ανάλυση των εδαφών περιλαμβάνει πέντε στάδια:

- I. Συλλογή εδαφικών δειγμάτων
- II. Εργαστηριακή ανάλυση
- III. Ερμηνεία των αποτελεσμάτων
- IV. Συστάσεις για τη διαχείριση του εδάφους

Η συλλογή των δειγμάτων είναι το πρώτο βήμα για μια ανάλυση εδάφους. Πρέπει να τονιστεί ότι, ουσιαστικά, μόνο ένα πολύ μικρό τμήμα της περιοχής ενδιαφέροντος (π.χ. καλλιεργήσιμη έκταση, πεδίο πειραματισμού, κα.) αναλύεται όντως στο εργαστήριο. Συνεπώς, για μια ακριβή και αξιόπιστη εργαστηριακή ανάλυση είναι σημαντικό να συλλεχθούν δείγματα βάσει μιας καλά σχεδιασμένης και εκτελεσμένης στρατηγικής, έτσι ώστε τα δείγματα που φτάνουν στο εργαστήριο να είναι αντιπροσωπευτικά της περιοχής ενδιαφέροντος. Σε αντίθετη περίπτωση, είτε επειδή τα δείγματα δεν ήταν εξ αρχής αντιπροσωπευτικά, είτε επειδή υπήρξε απροσεξία στο χειρισμό τους, τα δεδομένα θα είναι αμφισβητήσιμα και τα συμπεράσματα επισφαλή.



Τα εδαφικά δείγματα πρέπει άμεσα να αποξηραίνονται – εκτός από τις περιπτώσεις αναλύσεων που απαιτείται νωπό δείγμα, π.χ. αναλύσεις πολυφαινολών, νιτρικών κ.α. – σε θερμοκρασία δωματίου, για 2-3 μέρες και όχι να θερμαίνονται. Αν η άμεση αεροξήρανση δεν είναι εφικτή, τα δείγματα θα πρέπει να διατηρούνται στο ψυγείο και κατόπιν να μεταφέρονται στο

εργαστήριο όσο το δυνατόν συντομότερα (μέσα σε λίγες μέρες από τη συλλογή τους). Κάποιες από τις ιδιότητες του εδάφους καθώς και η περιεκτικότητά του σε μερικά συστατικά είναι πολύ ευμετάβλητη ενώ σε κάποια άλλα σταθερή. Παραδείγματος χάριν, τα επίπεδα του φωσφόρου είναι πολύ απίθανο να αλλάζουν απότομα, οπότε δεν είναι απαραίτητο οι μετρήσεις να γίνονται με μεγάλη συχνότητα. Αντίθετα, τα επίπεδα του αζώτου είναι πολύ ευμετάβλητα και μόνο οι πολύ πρόσφατες αναλύσεις πρέπει να θεωρούνται ότι αντιπροσωπεύουν την τρέχουσα κατάσταση.

3.1. Μέθοδοι σωστής και αντιπροσωπευτικής συλλογής δειγμάτων εδάφους

Το Πρωτόλο ISO 10381-1:2002, καθορίζει τις γενικές αρχές που πρέπει να εφαρμόζονται στο σχεδιασμό προγραμμάτων δειγματοληψίας με σκοπό το χαρακτηρισμό και τον έλεγχο της ποιότητας του εδάφους και την ταυτοποίηση πηγών ρύπανσης και των αποτελεσμάτων της επιβάρυνσης του εδάφους, με έμφαση σε:

- ✓ Διαδικασίες που απαιτούνται για την εύρεση κατάλληλων σημείων για τη συλλογή δείγματος προς εξέταση ή για την εγκατάσταση εξοπλισμού κατάλληλου για επιτόπιες μετρήσεις.
- ✓ Διαδικασίες για τον καθορισμό της απαιτούμενης ποσότητας δείγματος και για τη συλλογή ή όχι μεικτών δειγμάτων.

3.2. Μέθοδοι συλλογής δείγματος

Μέθοδοι για την συσκευασία, την αποθήκευση και τη μεταφορά των δειγμάτων προς αποφυγή της υποβάθμισης ή επιμόλυνσής τους:

1. Το πρότυπο ISO 10381-2:2002, το οποίο παρέχει πληροφορίες σχετικά με τον τυπικό εξοπλισμό για ειδικές περιπτώσεις δειγματοληψίας ώστε να επιτυγχάνονται οι ορθές διαδικασίες δειγματοληψίας και να συλλέγονται αντιπροσωπευτικά δείγματα. Δίνονται οδηγίες σχετικά με την επιλογή του εξοπλισμού και τις απαραίτητες τεχνικές που πρέπει να χρησιμοποιηθούν για τη συλλογή διαταραγμένων ή αδιατάρακτων δειγμάτων σε διάφορα βάθη. Οι παρεχόμενες οδηγίες έχουν σκοπό να βοηθήσουν στη

συλλογή δειγμάτων κατάλληλων για μέτρηση της ποιότητας του εδάφους σχετικά με γεωργικούς σκοπούς αλλά και για τον έλεγχο ρύπανσης. Παρέχονται επίσης οδηγίες σχετικά με την αποθήκευση των εδαφικών δειγμάτων και αναφέρονται κάποιες παράμετροι δειγματοληψίας υπόγειων υδάτων και αερίων μέσα στα πλαίσια ενός ολοκληρωμένου προγράμματος δειγματοληψίας. Το πρότυπο ISO 10381-2:2002 δεν είναι εφαρμόσιμο για δειγματοληψία από σκληρό υπόστρωμα. Δεν καλύπτει επίσης, τεχνικές συλλογής πληροφοριών για την ποιότητα του εδάφους χωρίς την εφαρμογή δειγματοληψίας, π.χ. γεωφυσικές μέθοδοι, ούτε έρευνες για γεωτεχνικούς σκοπούς (αν και σε περιπτώσεις όπου θα μπορούσε να γίνει ανάπλαση χώρου ο συνδυασμός μελέτης της ποιότητας του εδάφους και γεωτεχνικής μελέτης θα ήταν ιδιαίτερα χρήσιμος).



2. Το πρότυπο ISO 10381-3:2001 παρέχει καθοδήγηση σε σχέση με την ασφάλεια κατά τη δειγματοληψία. Σε συνδυασμό με την εφαρμογή των προαναφερθέντων Πρότυπων Μεθόδων, συνιστάται και η εφαρμογή του προτύπου ISO19258, 2005 σχετικά με τον καθορισμό των τιμών υποβάθρου. Η μέθοδος παρέχει καθοδήγηση ως προς τις βασικές αρχές και τις κύριες μεθόδους για τον καθορισμό των πεδογεωχημικών τιμών υποβάθρου και των τιμών υποβάθρου για οργανικές και ανόργανες ουσίες στα εδάφη καθώς και για στρατηγικές δειγματοληψίας και επεξεργασίας δεδομένων και καθορίζει κατάλληλες μεθόδους δειγματοληψίας και ανάλυσης.

Αφού συλλεχθούν, τα δείγματα εδάφους μεταφέρονται για φυσική, χημική, μικροβιολογική και βιοχημική ανάλυση. Είναι ιδιαίτερα σημαντικό να λαμβάνονται τα κατάλληλα μέτρα για τη σωστή συντήρηση των δειγμάτων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσής τους, της μεταφοράς τους και της παραμονής τους στο εργαστήριο.

3.3. Φυσική ανάλυση εδάφους

Οι βασικές παράμετροι που περιλαμβάνει η φυσική ανάλυση του εδάφους, εν γένει, είναι οι εξής:

- ✓ Διηθητικότητα και Υδραυλική αγωγιμότητα (Klute και Dirksen, 1990, Amoozegar και Warrick, 1990, Green et al., 1990)
- ✓ Ειδική ηλεκτρική αγωγιμότητα (ISO 11265, 1994)

3.4. Χημική ανάλυση εδάφους

Η χημική ανάλυση εδάφους περιλαμβάνει ένα μεγάλο φάσμα αναλύσεων όπως:

- ✓ pH εδάφους και ανταλλάξιμη οξύτητα (ISO 14254, 2001)
- ✓ Περιεκτικότητα σε οργανική ύλη & οργανικό άνθρακα (ISO 14235, 1998)
- ✓ Ολικό άζωτο (ISO 11261, 1995, ISO 13878, 1998)
- ✓ Περιεκτικότητα σε ανθρακικό ασβέστιο (ISO 10693, 1995)
- ✓ Διαθέσιμος φωσφόρος (ISO 11263, 1994)
- ✓ Ανταλλάξιμο κάλιο (ISO 11260, 1994, ISO 13536, 1995)
- ✓ Ανταλλάξιμο ασβέστιο (ISO 11260, 1994, ISO 13536, 1995)
- ✓ Ανταλλάξιμο μαγνήσιο (ISO 11260, 1994, ISO 13536, 1995)
- ✓ Ανταλλάξιμο νάτριο (ISO 11260, 1994, ISO 13536, 1995)
- ✓ Διαθέσιμο βόριο (Bingham, 1982)
- ✓ Διαθέσιμα μέταλλα (Cu, Zn, Mn και Fe) (ISO 14870, 2001)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΛΙΠΑΝΣΗ

Με τη λίπανση επιχειρείται να προστεθούν στο έδαφος τα απαραίτητα συστατικά για την θρέψη του φυτού, που δεν είναι διαθέσιμα τη στιγμή που τα έχει ανάγκη για να ολοκληρώσει τον ετήσιο κύκλο του. Μία ορθολογική λοιπόν λίπανση προϋποθέτει καταρχήν προσδιορισμό των συστατικών του εδάφους και γνώση της επίδρασης που θα έχει η συγκεκριμένη λίπανση στην παραγωγικότητα του δέντρου. Κάθε δέντρο της ελιάς αφαιρεί από το έδαφος μία ποσότητα θρεπτικών στοιχείων, τα οποία τα χρησιμοποιεί τόσο για την βλάστηση όσο και για την καρποφορία. Για ένα στρέμμα η ποσότητα θρεπτικών στοιχείων που απορροφούν τα ελαιόδεντρα κάθε έτος από το έδαφος εκτιμάται ότι είναι: για το N 1,5 - 3,5kg, για το P₂O₅ 0,8 – 2kg, για το K₂O 2 – 5kg και για το CaO 2 – 5kg. Τα θρεπτικά αυτά συστατικά πρέπει να επιστρέφονται στο έδαφος υπό μορφή λιπασμάτων, για να διατηρείται το έδαφος σε καλή κατάσταση γονιμότητας (Σφακιωτάκης, 1993).

Για να καθοριστούν οι ανάγκες του ελαιώνα σε λιπαντικά στοιχεία λαμβάνεται υπόψη, εκτός από τη γονιμότητα του εδάφους και η σχέση και το είδος των στοιχείων που απορροφούνται από το έδαφος. Η εξέταση της γονιμότητας στηρίζεται κυρίως στον προσδιορισμό με χημική ανάλυση των θρεπτικών στοιχείων του εδάφους που βρίσκονται σε αφομοιώσιμη μορφή. Στην ελιά, όπως και στις άλλες δενδρώδεις καλλιέργειες, η εξέταση της γονιμότητας είναι χρήσιμη για να διορθωθούν τυχόν ελλείψεις στοιχείων στο έδαφος, έχει όμως περιορισμένη αξία στον προσδιορισμό των λιπαντικών αναγκών. Σήμερα για το σκοπό αυτό χρησιμοποιούμε κυρίως α) τα πειράματα λιπάνσεων και β) την χημική ανάλυση των φυτικών ιστών (Φυλλοδιαγνωστική).

Τα πειράματα λιπάνσεων αποβλέπουν στο να διαπιστωθεί η αντίδραση των δέντρων στη χορήγηση διαδοχικών δόσεων ενός ή περισσοτέρων θρεπτικών στοιχείων σε έδαφος μιας συγκεκριμένης περιοχής. Τα πειράματα όμως λιπάνσεων στον αγρό, ενώ δίνουν στοιχεία πολύ κοντά στις παραγωγικές συνθήκες, συνήθως, παρουσιάζουν μεγάλες δυσκολίες που πολλές φορές καταλήγουν σε συμπεράσματα με περιορισμένη εφαρμογή.

Τέτοιες δυσκολίες σχετίζονται: α) με την παραλλακτικότητα που παρουσιάζεται στις πειραματικές μονάδες, β) με τη βραδεία αντίδραση των δέντρων στη χορήγηση λιπαντικών στοιχείων από το έδαφος και γ) με την επίδραση παραγόντων που δεν μπορούν να ελεγχθούν από τον πειραματιστή, όπως ασθένειες και ασυνήθιστες καιρικές συνθήκες κ.τ.λ.

Σε έρευνες θρέψης της ελιάς εφαρμόζονται σε μεγάλη κλίμακα η φυλλοδιαγνωστική για να διαπιστώσουμε τη θρεπτική κατάσταση των δέντρων και για παρακολούθηση της κίνησης και της δράσης των διαφόρων θρεπτικών στοιχείων κατά την εφαρμογή των λιπάνσεων. Οι συγκεντρώσεις των N, P₂O₅ και K₂O ελαττώνονται στα φύλλα με την ηλικία. Την περιεκτικότητα των φύλλων σε θρεπτικά στοιχεία επηρεάζει και το φυσιολογικό στάδιο της βλάστησης και ανάπτυξης των καρπών. Έτσι, στα νεαρά φύλλα παρατηρείται πτώση της περιεκτικότητας των φύλλων σε N και P₂O₅ από την έναρξη της βλάστησης μέχρι και την εποχή της σκλήρυνσης του πυρήνα (αρχές Αυγούστου), οπότε παρατηρείται και το ελάχιστο της συγκέντρωσης των παραπάνω δύο συστατικών στα φύλλα. Στη συνέχεια παρατηρείται άνοδος της περιεκτικότητας στα φύλλα κατά το πρώτο και δεύτερο έτος και σταθεροποίηση κατά τη διάρκεια του χειμώνα. Ως προς το K₂O, παρατηρείται μείωση της περιεκτικότητας με την ηλικία.

Από τα παραπάνω δεδομένα είναι φανερό ότι για να είναι συγκρίσιμα τα αποτελέσματα της φυλλοδιαγνωστικής πρέπει η δειγματοληψία και η ηλικία των φύλλων να είναι τυποποιημένη (Θεριός, 1996). Η περίοδος του χειμώνα προτείνεται από πολλούς ερευνητές ως η πιο κατάλληλη εποχή για δειγματοληψία, η δε συλλογή των φύλλων πρέπει να γίνεται από το μέσο της βλάστησης του τελευταίου έτους, δηλαδή από φύλλα ηλικίας 5 έως 8 μηνών.

4.1. ΑΖΩΤΟ

Το άζωτο διεγείρει τη βλάστηση, ως συστατικό χλωροφύλλης, και διευκολύνει την αφομοίωση των άλλων στοιχείων. Το ελαιόδενδρο αντιδρά γρήγορα στην αζωτούχο λίπανση και αυξάνει την παραγωγή του. Η υπερβολική όμως λίπανση με άζωτο καθυστερεί την ωρίμανση των καρπών και κάνει το δέντρο ευαίσθητο στους παγετούς και στις προσβολές από παράσιτα. Το δέντρο, όπως είπαμε, έχει τις μεγαλύτερες απαιτήσεις σε άζωτο

από την άνθηση μέχρι την σκλήρυνση του κουκουτσιού. Η αζωτούχος λίπανση μπορεί να δοθεί σε μορφή θειικής αμμωνίας το χειμώνα, που περιέχει 20% άζωτο και συγκρατείται στο έδαφος ή νιτρικής αμμωνίας την άνοιξη, που περιέχει 33% άζωτο και που είναι εύκολα και γρήγορα αφομοιώσιμη, δεν συγκρατείται όμως στο έδαφος, ξεπλένεται από τη βροχή και το πότισμα. Η ουρία, ένα άλλο αζωτούχο λίπασμα, περιέχει 46% άζωτο που μετατρέπεται πολύ σύντομα σε νιτρώδη και νιτρικά άλατα, που αφομοιώνονται αμέσως από το δέντρο. Η ουρία μπορεί να εφαρμοστεί και με ψεκασμούς του φυλλώματος. Τα συνηθισμένα απλά νιτρικά λιπάσματα, που μπορούν να δοθούν και με το νερό του ποτίσματος σε δύο- τρεις δόσεις, μια και δεν διαρκούν πολύ, είναι το νιτρικό νάτριο, που περιέχει 16% άζωτο και δεν πρέπει να χρησιμοποιείται σε συνεκτικά εδάφη και το νιτρικό ασβέστιο, με περιεκτικότητα 15% άζωτο, που βελτιώνει το πορώδες του εδάφους.

4.2. ΦΩΣΦΟΡΟΣ

Είναι από τα βασικά στοιχεία πολλών ενζύμων, των πρωτεϊνών, και παίζει σημαντικό ρόλο στην αναπνοή. Ευνοεί την άνθηση, το δέσιμο των καρπών και επιταχύνει την ωρίμανση. Σπάνια θα διαγνωστεί έλλειψη φωσφόρου στα ελαιόδεντρα. Από τα φωσφορικά λιπάσματα, το υπερφωσφορικό περιέχει 16% P_2O_5 , είναι διαλυτό στο νερό και δρα γρήγορα ενώ το συμπυκνωμένο υπερφωσφορικό περιέχει μέχρι 45 % P_2O_5 , είναι διαλυτό στο νερό και δρα γρήγορα.

4.3. ΚΑΛΙΟ

Το Κ διαδραματίζει σημαντικό ρόλο:

- Στο μεταβολισμό υδατανθράκων και στη σύνθεση και στη διάσπαση του αμύλου.
- Στο μεταβολισμό αζώτου και στη σύνθεση πρωτεϊνών.
- Στην εξουδετέρωση οργανικών οξέων.
- Ως ενεργοποιητής ενζύμων.
- Στη ρύθμιση ανοίγματος και κλεισίματος στομάτων και των υδατικών σχέσεων του φυτού.
- Στην επιτάχυνση ωρίμανσης και βελτίωση της ποιότητας των καρπών.

- Στην αντοχή του φυτού στο ψύχος και τις ασθένειες, στην ανθεκτικότητα στις μυκητολογικές αρρώστιες, ειδικά στο κυκλοκόνιο.
- Στη δράση των ενζύμων ιμβερτάση, διαστάση, πεπτιδάση, καταλάση και πυρουβική κινάση.

Σε συνδυασμό με το άζωτο αυξάνει την παραγωγή. Συμπτώματα της έλλειψης καλίου είναι η αλλαγή χρώματος του φύλλου σε πρασινοκίτρινο και οι καστανόχρωμες νεκρωτικές κηλίδες στην άκρη του. Καλιούχα λιπάσματα είναι το χλωριούχο κάλιο, που περιέχει 50 % οξειδίο του καλίου και το θειικό κάλιο, με περιεκτικότητα 48% σε οξειδίο του καλίου.

4.4. ΑΣΒΕΣΤΙΟ

Είναι συστατικό των κυτταρικών τοιχωμάτων, ελέγχει τη δράση ορισμένων ενζύμων κ.λ.π. Υπάρχει μία αναλογία ασβεστίου /καλίου, που πρέπει να κυμαίνεται περί το 2, για την ισορροπημένη θρέψη του δέντρου. Η ελιά είναι ασβεστόφιλο δέντρο και αυτό θα πρέπει να λαμβάνεται σοβαρά υπόψη στην εγκατάσταση του ελαιώνα. Τα συμπτώματα της έλλειψης ασβεστίου είναι τα ίδια με αυτά της έλλειψης βορίου. Η συγκέντρωση Ca στα φύλλα της ελιάς μετά τη λίπανση με Acadian παραμένει υψηλή όπως και στον μάρτυρα, ενώ ήταν σημαντικά χαμηλότερη στα φύλλα της ελιάς που εφαρμόστηκε λίπανση με το εμπορικό προϊόν Seamac-PCT (*Ascophyllum nodosum*) (Tasioula-Margari et al., 2011)

4.5. ΜΑΓΝΗΣΙΟ

Είναι από τα σημαντικότερα συστατικά της χλωροφύλλης. Η έλλειψη του καθυστερεί την ανάπτυξη του ελαιόδεντρου και μπορεί να οδηγήσει σε φυλλόπτωση.

4.6. ΒΟΡΙΟ

Η δράση του συνδέεται με το μεταβολισμό των υδατανθράκων, με ενζυματικούς μηχανισμούς και με τις ορμονικές λειτουργίες, συμβάλλοντας:

1. στη μεταφορά σακχάρων.
2. στην κυτταροδιαίρεση και σύνθεση πηκτίνης.
3. στη δράση της πολυφαινόλης.

4. στη σύνθεση DNA, RNA και στη γλυκόλυση.
5. στην αύξηση γυρεοσωλήνα και γονιμοποίηση.

Τα συμπτώματα της έλλειψης βορίου είναι εμφανή. Στην αρχή τα φύλλα έχουν θαμπό πράσινο χρώμα με ελαφριά χλώρωση στην κορυφή. Μετά, οι κορυφές νεκρώνονται και τα φύλλα πέφτουν. Η έλλειψη βορίου από τον καρπό στην ελιά προκαλεί παραμόρφωση του σχήματος των καρπών (το σύμπτωμα καλείται διεθνώς ως πρόσωπο μαϊμούς «monkey face»). Οι οφθαλμοί των κορυφών των βλαστών νεκρώνονται. Σε σοβαρές περιπτώσεις ξεραίνονται ολόκληρα κλαδιά και εμφανίζονται ανωμαλίες ακόμα και στον φλοιό. Σε περίπτωση που η έλλειψη δεν είναι μεγάλη, το δέντρο ανθίζει, αλλά η καλοκαιρινή φυλλόπτωση είναι έντονη. Σε σοβαρότερες περιπτώσεις δεν ανθίζει καν. Η χλώρωση των κορυφών, χαρακτηριστική της έλλειψης βορίου, είναι ακριβώς ίδια με την έλλειψη ασβεστίου, ακόμη και τα φύλλα περιέχουν λιγότερο ασβέστιο από το κανονικό. Με τη χορήγηση 200-400 γραμμαρίων βορίου ανά δέντρο αποκαθίστανται οι λειτουργίες του ελαιόδεντρου, όταν φυσικά η έλλειψη δεν είναι σοβαρή και δεν έχει διαρκέσει για πολύ χρόνο.

Το βόριο μετακινείται μέσω του φλοιού στα άνθη και στους νεαρούς αναπτυσσόμενους καρπούς από τους βλαστούς και όχι από τα φύλλα. Πειράματα στη μηλιά, αχλαδιά και κερασιά έδειξαν πως η μικρή περιεκτικότητα σε βόριο προσβάλλει τα άνθη και οι καρποί παρουσιάζουν ανώμαλο σχήμα, εξωτερική και εσωτερική φέλλωση και μετασυλλεκτικές παθήσεις (internal break down) (Garcia et al., 2001). Η μέγιστη συγκέντρωση B σε διαφυλλικούς ψεκασμούς δεν πρέπει να ξεπερνά το 1%, λόγω της μη αύξησης του ποσοστού καρπόδεσης και του μεγέθους των καρπών πάνω από τη συγκέντρωση αυτή (Shorrocks, 1997). Η ίδια μέγιστη συγκέντρωση B συνιστάται και στα σταφύλια. Τέλος, η υπερβολική συγκέντρωση B στον καρπό μπορεί να προκαλέσει φαινόμενα τοξικότητας, υδατώδεις κηλίδες και μετασυλλεκτικές ασθένειες όπως η εσωτερική κασάνωση στα μήλα (Θεριός 1996, Garcia et al., 2001). Ένας από τους παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη του δέντρου της ελιάς και την ποιότητα των καρπών είναι η γονιμοποίηση. Το άζωτο είναι το σημαντικότερο ανόργανο στοιχείο και επηρεάζει σημαντικά τα ελαιόδεντρα, ενώ το βόριο επηρεάζει την κυτταρική διαίρεση και την ωρίμανση των καρπών της ελιάς (Therios, 2009).

Είναι γνωστό ότι όταν το έδαφος περιέχει οργανική ύλη, αυξάνεται η συνοχή του, βελτιώνεται η δομή των βαριών εδαφών, ρυθμίζεται το pH, αυξάνεται η ικανότητα ανταλλαγής ιόντων και κατακράτησης νερού, ενεργοποιείται η μικροβιακή δραστηριότητα και ευνοείται η αφομοίωση των θρεπτικών στοιχείων που βρίσκονται στο έδαφος. Όταν η οργανική ουσία αποσυντίθεται, δίνεται στο έδαφος άζωτο, φώσφορος, κάλιο και πολλά μικροστοιχεία. Από τα οργανικά λιπάσματα, καλύτερη είναι η κοπριά. Πολλές φορές είναι δύσκολο να βρεθεί και τότε μπορούμε να την αντικαταστήσουμε με υπολείμματα διάφορων βιομηχανικών μεταποίησης αγροτικών προϊόντων. Η κοπριά, εκτός του ότι θα εισάγει ζιζάνια στον ελαιώνα, μια και περιέχει τους σπόρους που κατανάλωσαν τα ζώα που την παρήγαγαν, μπορεί να προκαλέσει τεχνητή έλλειψη αζώτου, τη στιγμή της αποσύνθεσής της από τους μικροοργανισμούς που περιέχει, λόγω της κατανάλωσής του από αυτούς. Αυτή η έλλειψη μπορεί να αντιμετωπιστεί με προσθήκη 2-3 κιλών αζώτου ανά στρέμμα. Ο χρόνος αποσύνθεσης της κοπριάς εξαρτάται από το είδος της και από τις κλιματικές συνθήκες. Στα ήπια κλίματα χρειάζονται 1-2 χρόνια, στα ψυχρότερα περισσότερα.

Στα δροσερά-υγρά κλίματα συμφέρει η λίπανση με μεγάλες ποσότητες κοπριάς (3-6 τόνους/στρέμμα), που απλώνεται ομοιόμορφα σε ολόκληρο τον ελαιώνα και η ενσωμάτωσή της αργότερα με την καλλιέργεια του εδάφους. Επίσης, δύναται να τοποθετηθεί και σε λάκους. Στα ψυχρά κλίματα τοποθετείται σε λάκους, γιατί δεν είναι εύκολο να αποσυντεθεί και πιθανόν να δημιουργήσει προβλήματα. Σε αυτή την περίπτωση απλώνεται σε όλη την επιφάνεια του ελαιώνα. Στα ζεστά και ξηρά κλίματα και σε μη ποτιζόμενη καλλιέργεια είναι καλό να λιπαίνουμε με κοπριά κάθε 2-3 χρόνια, σε ποσότητα μέχρι ένα τόνο το στρέμμα. Στα υγρά κλίματα αυτή η λίπανση μπορεί να γίνεται αραιότερα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

ΦΥΛΛΟΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ

Φυλλοδιαγνωστική είναι η χρήση των φύλλων ενός φυτού για ανάλυση προκειμένου να βρούμε τις συγκεντρώσεις των ανόργανων θρεπτικών στοιχείων κατά τη διάρκεια της βλαστικής περιόδου. Με τη φυλλοδιαγνωστική μπορούμε να προσδιορίσουμε την υπάρχουσα θρεπτική κατάσταση αλλά επίσης και να προλάβουμε τις τροφοπενίες. Είναι δυνατό να χρησιμοποιήσουμε και τους καρπούς ή τα στελέχη αλλά κατά κανόνα χρησιμοποιούμε τα φύλλα. Αυτό συμβαίνει διότι στα φύλλα συντελούνται βασικές λειτουργίες όπως είναι η φωτοσύνθεση και ο μεταβολισμός αλλά και επειδή στα φύλλα συγκεντρώνεται πάνω από το 50% του συνόλου των θρεπτικών συστατικών του υπέργειου τμήματος του φυτού. Η περιεκτικότητα των φύλλων σε θρεπτικά στοιχεία σχετίζεται άμεσα με την ανάπτυξη των φυτών και για αυτό χρησιμοποιούνται ως δείκτης της θρεπτικής κατάστασης. Συλλέγονται φύλλα έτσι ώστε να συγκρίνεται η περιεκτικότητά τους σε θρεπτικά στοιχεία. Αυτή η χρήση της φυλλοδιαγνωστικής συμβάλλει αποτελεσματικά στη διάγνωση διαταραχών της ανόργανης θρέψης. Επομένως, η φυλλοδιαγνωστική επιτρέπει την εξακρίβωση του βαθμού εφοδιασμού μιας καλλιέργειας σε θρεπτικά στοιχεία και της αναμενόμενης αντίδρασής της στη χορήγηση ενός ή περισσοτέρων από αυτά. Το αποτέλεσμα αυτό έχει ιδιαίτερη πρακτική αξία γιατί σχετίζεται άμεσα με το είδος των λιπασμάτων που χρειάζεται η καλλιέργεια για να καλυφθούν οι πραγματικές ανάγκες της. Με τη μέθοδο αυτή δεν είναι δυνατόν να καθοριστεί η ποσότητα και η μορφή των λιπασμάτων, χωρίς όμως να υποτιμάται η αξία και η αποτελεσματικότητα της μεθόδου. Το βασικό ερώτημα που απασχολεί κάθε καλλιεργητή είναι ποιά θρεπτικά στοιχεία είναι ενδεχόμενο να περιορίζουν την ανάπτυξη των φυτών που καλλιεργεί κάθε φορά. Η απάντηση που δίνεται στο ερώτημα αυτό με βάση τα δεδομένα της φυλλοδιαγνωστικής είναι η πιο αξιόπιστη που μπορούμε να επιτύχουμε σήμερα (Σφακιωτάκης, 1993).

Κατά την διάρκεια της βλαστικής περιόδου στα φυτά παρατηρούνται μεταβολές των θρεπτικών στοιχείων, που σχετίζονται με το στάδιο ανάπτυξης που βρίσκονται τα φυτά μας και τις οποίες μπορούμε να παρακολουθήσουμε

με επαναλαμβανόμενες δειγματοληψίες. Αυτές οι μεταβολές οφείλονται στη κινητικότητα των θρεπτικών στα διάφορα μέρη του φυτού. Ανάλογα με την κινητικότητα αυτή τα ανόργανα θρεπτικά στοιχεία διακρίνονται σε:

α) ευκίνητα που είναι τα άζωτο (N), φώσφορος (P), κάλιο (K), μαγνήσιο (Mg), νάτριο (Na), θείο (S) και χλώριο (Cl)

β) μέτριας κινητικότητας: σίδηρος (Fe), μαγγάνιο (Mn), ψευδάργυρος (Zn), χαλκός (Cu) και το μολυβδαίνιο (Mo) και

γ) δυσκίνητα: ασβέστιο (Ca) και βόριο (B)

Τα ευκίνητα στοιχεία μπορούν να μεταφερθούν από ένα όργανο σε άλλο, ενώ τα δυσκίνητα μεταφέρονται δύσκολα ή και καθόλου.

Η ποσότητα ενός θρεπτικού στοιχείου που προσδιορίζεται σε ένα συγκεκριμένο μέρος (ιστό του φύλλου) μία συγκεκριμένη χρονική στιγμή μπορεί να περιγραφεί ως εξής:

Συγκέντρωση (συσσώρευση) στοιχείου = είσοδος - έξοδος + παραγωγή - κατανάλωση.

Με βάση τη παραπάνω σχέση διακρίνονται οι εξής περιπτώσεις:

- Η ποσότητα του θρεπτικού στοιχείου που εισέρχεται στο φύλλο είναι μεγαλύτερη από την ποσότητα που εξέρχεται, οπότε σε αυτήν την περίπτωση αυξάνεται η ποσότητα του θρεπτικού στοιχείου στο φύλλο (θετική συσσώρευση). Κάτι τέτοιο παρατηρείται σε ένα νεαρό φύλλο.
- Η ποσότητα του θρεπτικού στοιχείου που εισέρχεται στο φύλλο είναι ίση προς την ποσότητα που εξέρχεται, οπότε σε αυτή την περίπτωση διατηρείται η ποσότητα του θρεπτικού στοιχείου φύλλο (μηδενική συσσώρευση). Κάτι τέτοιο παρατηρούμε σε ένα ώριμο φύλλο.
- Η ποσότητα του θρεπτικού στοιχείου που εισέρχεται στο φύλλο είναι μικρότερη από την ποσότητα που εξέρχεται, με συνέπεια να μειώνεται η ποσότητα του θρεπτικού στοιχείου στο φύλλο (αρνητική συσσώρευση). Αυτό το παρατηρούμε σε ένα γερασμένο φύλλο.

Η παραπέρα χρησιμοποίηση των δεδομένων αυτών για την βελτίωση της ανόργανης θρέψης της καλλιέργειας εξαρτάται και από άλλους παράγοντες και κυρίως τις ιδιότητες του εδάφους. Για τον λόγο αυτό η φυλλοδιαγνωστική αποδίδει και αξιοποιείται περισσότερο όταν συνδυάζεται με αναλύσεις

εδάφους, οι οποίες παρέχουν τις απαραίτητες πληροφορίες για την αιτιολογία των τροφοπενιών και την αποτελεσματική χορήγηση των θρεπτικών στοιχείων που χρειάζεται μία καλλιέργεια. Ως όριο επέμβασης διόρθωσης τροφοπενιών θεωρείται η «κρίσιμη συγκέντρωση» που ορίζεται η συγκέντρωση πέρα από την οποία περαιτέρω εφαρμογή ενός θρεπτικού στοιχείου δεν είναι επικερδής (Θεριός, 1996).

Η φυλλοδιαγνωστική έχει και ορισμένα μειονεκτήματα όπως το γεγονός ότι απλά διαπιστώνει την έλλειψη ή την περίσσεια ενός στοιχείου στο φυτό, χωρίς να εξηγεί την αιτία. Έτσι για παράδειγμα έλλειψη ενός στοιχείου στα φύλλα μπορεί να οφείλεται εκτός από έλλειψη του στοιχείου στο έδαφος και σε ανταγωνισμό από άλλο στοιχείο, στην ιονική μορφή αζώτου και το pH ή σε δέσμευση του στοιχείου στα κolloειδή της αργίλου. Επίσης η περιεκτικότητα των φύλλων σε διάφορα ανόργανα στοιχεία μεταβάλλεται ανάλογα με την ηλικία του φύλλου, την καρποφορία κατά τη διάρκεια της βλαστικής περιόδου καθώς και την αλληλεπίδραση των θρεπτικών στοιχείων μεταξύ τους (Θεριός, 1996).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

ΛΙΠΑΝΣΗ ΜΕ ΦΥΚΙΑ

Η πρώτη αναφορά για τη χρήση των φυκών εντοπίζεται στα 2700 πΧ. στην Κίνα και στην Ιαπωνία, όπου αποτελούσε είδος διατροφής. Στην Ευρώπη το 12ο αιώνα άρχισε να χρησιμοποιείται ως λίπασμα. Από τη δεκαετία του 1970 σημειώθηκε αύξηση στη χρήση εμπορικών σκευασμάτων εκχυλισμάτων θαλάσσιων φυκών στη γεωργία και στην κτηνοτροφία. Τα φύκη χρησιμοποιούνται στη διατροφή των ζώων για να συμπληρώσουν τις διατροφικές ανάγκες τους σε πρωτεΐνες, όπως ακριβώς και το άχυρο. Περιέχουν βιταμίνες, πρόδρομες ενώσεις των βιταμινών που τα κάνουν πολύτιμα συμπληρώματα διατροφής.

Τα φύκη συλλέγονται και χρησιμοποιούνται ως εδαφοβελτιωτικά και λιπάσματα στην Ευρώπη εδώ και πολλά χρόνια. Πάντως, η χρήση τους ήταν περιορισμένη λόγω του υψηλού κόστους συλλογής, συγκομιδής, μεταχείρισης και μεταφοράς τους. Τα παράγωγα προϊόντα φυκών που εφαρμόζονται στο έδαφος εφαρμόζονται είτε ως «λιπάσματα» που υποβοηθούν την ανάπτυξη των φυτών καθώς απελευθερώνουν αργά διάφορα στοιχεία, είτε ως εδαφοβελτιωτικά καθώς συμβάλουν στον αερισμό και τη βελτίωση της δομής του εδάφους. Η ιδιότητα των φυκών ως εδαφοβελτιωτικά, οφείλεται στο αλγινικό οξύ, που αποτελεί περίπου το ένα τρίτο των υδατανθράκων τους. Η εμπορική εκμετάλλευση των φυκών σαν ένα φυτικό πρόσθετο δεν είχε πάντα επιτυχή αποτελέσματα, εξαιτίας της αντιφατικής αρθρογραφίας που αναπτύχθηκε σε σχέση με τα ωφέλη των σκευασμάτων. Τα φυσικά προϊόντα από φύκη βελτιώνουν την ανάπτυξη των φυτών, είναι εύκολα στην εφαρμογή τους, έχουν σχετικά χαμηλό κόστος και αποτελούν μια εναλλακτική λύση απέναντι στα συμβατικά λιπάσματα. Πρόσφατες αναφορές επισημαίνουν ότι τα εκχυλίσματα φυκών αυξάνουν τη ζωηρότητα των καλλιεργειών και τις στρεμματικές αποδόσεις με αποτέλεσμα η χρήση τους να συμβάλλει θετικά στην αγροτική παραγωγή. Οι Hong et al (2007) ανέφεραν ότι τα φύκη περιέχουν υψηλά επίπεδα μακροστοιχείων (Ca, K, P). Τα εκχυλίσματα φυκών μπορούν να ενισχύσουν την αποτελεσματικότητα των συμβατικών λιπασμάτων, μετά από διαφυλλικό ψεκασμό, διασφαλίζοντας την επάρκεια στην παροχή θρεπτικών συστατικών στην καλλιέργεια του κριθαριού και του

σιταριού (Mooney και van Staden 1985, Featonby -Smith και van Staden 1987). Αντίστοιχες επιδράσεις έχουν μελετηθεί και για άλλες καλλιέργειες όπως η σίκαλη (Kotze και Joubert, 1980), τα φασόλια (Featonby-Smith και van Staden 1984, Beckett et al., 1994), τα αγγούρια (Nelson και van Staden 1984), και η σόγια (Rathore et al., 2009). Ο Nelson (1985) ανέφερε ότι το Kelpak αύξησε τη συγκέντρωση N σε κόκκους σίτου. Τα αποτελέσματα της εφαρμογής των εκχυλισμάτων φυκών στα φυτά ποικίλουν, τα κυριότερα είναι τα εξής: οι υψηλές στρεμματικές αποδόσεις, η αυξημένη πρόσληψη θρεπτικών στοιχείων, αλλαγές στην σύνθεση των φυτικών ιστών, αυξημένη αντοχή στο ψύχος, σε μυκητολογικές ασθένειες και εντομολογικές προσβολές, μεγαλύτερη διάρκεια «ζωής στο ράφι» και καλύτερη εκβλάστηση των σπόρων (Blunden G, 1991). Οι δυσμενείς επιπτώσεις των συνθετικών λιπασμάτων στο περιβάλλον έχουν στρέψει το ενδιαφέρον στη χρήση λιπασμάτων, βιορρυθμιστών και εδαφοβελτιωτικών που δεν επιβαρύνουν το περιβάλλον. Τα χημικά λιπάσματα προκαλούν απώλεια ή και εξάντληση των συστατικών του εδάφους με αποτέλεσμα την ανθεκτικότητα των καλλιεργειών σε ακόμη πιο ισχυρά χημικά προϊόντα (Denholm et al., 2002) γι' αυτό και η χρήση των εκχυλισμάτων φυκών ολοένα και κερδίζει έδαφος, δεδομένου ότι είναι οικολογικά ασφαλή. Παρόλο που η λίπανση του φυλλώματος των καλλιεργειών δεν αντικαθιστά εντελώς την λίπανση του εδάφους, μπορεί όμως να βελτιώσει την απορρόφηση και την αποτελεσματικότητα των θρεπτικών συστατικών.

6.1. Προέλευση σκευασμάτων εκχυλίσματος φυκών

Η σύσταση των φυκών διαφοροποιείται ανάλογα με την περιοχή και την εποχή του έτους. Τα περισσότερα χρησιμοποιούμενα είδη στην Νορβηγία, Γαλλία και Ιρλανδία είναι του γένους *Fucus*, και *Laminaria* και το *Ascophyllum nodosum*, βέβαια εκεί βρίσκονται και άλλα είδη καφέ, πράσινων και κόκκινων φυκών.

Στη σύγχρονη αγροτική παραγωγή τα περισσότερα προϊόντα φυκών παρασκευάζονται από τα καφέ φύκη που συλέγονται από περιοχές με ήπιο εύκρατο κλίμα. Τα πλέον χρησιμοποιούμενα είδη είναι το *Ascophyllum nodosum*, *Ecklonia maxima* και *Fucus vesiculosus*. Λιγότερο δε,

χρησιμοποιούνται τα είδη φυκών των γενών *Laminaria* και *Sargassum*. Όλα τα παραπάνω είδη ανήκουν στην οικογένεια *Phaeophyceae*, εάν και η χρησιμοποίησή τους έχει καθορισθεί περισσότερο από την διαθεσιμότητά τους και το μέγεθός τους, παρά από την καταλληλότητά τους.

Στην Ευρώπη και τη Βόρεια Αμερική το είδος που συμμετέχει κυρίως, στα εμπορικά προϊόντα από φύκη είναι το *Ascophyllum nodosum* και ακολουθούν το είδος *Fucus seratus* και είδη του *Laminaria*. Εκτός Ευρώπης χρησιμοποιούνται και άλλα είδη όπως, το *Ecklonia maxima* στη Νότια Αφρική, και το *Durvillaea rotatorum* στην Αυστραλία.



Εικόνα 6.1: α) *Ascophyllum nodosum*, β) *Fucus seratus*, γ) *Ecklonia maxima*

6.2. Χημική σύσταση των εκχυλισμάτων φυκών.

Η περιεκτικότητα των φυκών σε θρεπτικά συστατικά είναι δύσκολο να εξακριβωθεί εξαιτίας της πολυπλοκότητας της σύνθεσής τους. Τα αναλυτικά χαρακτηριστικά των φυκών που είναι νωπά διαφέρουν από εκείνα που έχουν εφαρμοστεί στο έδαφος και ιδιαίτερα, από αυτά που έχουν παρασυρθεί από τα θαλάσσια ρεύματα. Σημαντικές ποσότητες υδατοδιαλυτών συστατικών μπορεί να χαθούν από την έκθεση των φυκών στη βροχή ή όταν τα φύκη βρίσκονται στην ακτή ή ακόμα και όταν αυτά αποθηκεύονται σε σωρούς μετά τη συλλογή τους. Με τον ίδιο τρόπο η έκπλυση των φυκών κατά την επεξεργασία τους έχει ως αποτέλεσμα την απομάκρυνση ορισμένων υδατοδιαλυτών ενώσεων.

Αρχικά η βελτίωση της ανάπτυξης των φυτών αποδόθηκε στις εδαφοβελτιωτικές ικανότητες των φυκών όταν ενσωματώνονταν στο έδαφος.

Έχει προταθεί ότι τα πολυάριθμα ωφέλη από τη χρήση των εκχυλισμάτων φυκών αποδίδονται στις χηλικές ιδιότητες συγκεκριμένων συστατικών (Lynn, 1972), που βελτιώνουν την απορρόφηση μακροστοιχείων και μικροστοιχείων (Offermans, 1968, Senn και Kingman, 1978) ή από την παρουσία ρυθμιστών αύξησης (Aitken και Senn 1965, Blunden G). Τα θαλάσσια φύκη περιέχουν όλα τα κύρια και δευτερεύοντα στοιχεία και ιχνοστοιχεία (Stephenson, 1974, Senn, 1987). Τα φύκη είναι πλούσια σε υδατάνθρακες που μπορούν να λειτουργήσουν ως χηλικοί παράγοντες, επίσης, περιέχουν αμινοξέα και βιταμίνες που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν από τα φυτά.

Όπως αναφέρθηκε τα περισσότερα φύκη χρησιμοποιούνται ως εδαφοβελτιωτικά και περιέχουν πολυσακχαρίτες με κυριότερο το αλγινικό οξύ. Οι ενώσεις αυτές έχουν την ικανότητα να απορροφώνται από την άργιλλο και γι' αυτό όταν προστίθενται στο έδαφος βελτιώνουν τη δομή του. Επίσης, άλλες αλγινικές ενώσεις, όπως για παράδειγμα το fucoidan και οι πολυφαινόλες σταθεροποιούν τη δομή του εδάφους. Τέλος, σκευάσματα από εκχύλισμα φυκών βοηθούν στην προστασία του εδάφους από τη διάβρωση, όπως σκευάσματα που περιέχουν 0,25% αλγινικό νάτριο και 2,25% μπετονίτη. Το φύκος *Ascophyllum nodosum* αποτελεί βασικό συστατικό σε προϊόντα που χρησιμοποιούνται ως εδαφοβελτιωτικά στην αρχιτεκτονική τοπίου και σε αποστραγγίσεις, τα σκευάσματα αυτά περιέχουν 20-30% αλγινικό νάτριο.

6.3. Ρυθμιστές αύξησης στα εκχυλίσματα φυκών και στα εμπορικά σκευάσματα

Οι ρυθμιστές αύξησης είναι οργανικές ενώσεις που σε μικρές συγκεντρώσεις προωθούν, αναστέλλουν και γενικότερα ρυθμίζουν τις φυσιολογικές λειτουργίες των φυτών. Φυτοορμόνες είναι οι ρυθμιστές αύξησης που παράγονται από τα φυτά σε μικρές ποσότητες και ρυθμίζουν τις φυσιολογικές λειτουργίες. Οι φυτοορμόνες μεταφέρονται και εκδηλώνουν τη δράση τους σε άλλα σημεία του φυτού. Ως φυτορρυθμιστική ουσία ορίζεται μια οργανική ουσία που δεν είναι θρεπτικό συστατικό, δεν παρέχει δηλαδή στο φυτό ενέργεια ή απαραίτητα μεταλλικά στοιχεία αλλά σε πολύ μικρές

συγκεντρώσεις (<1mM) προάγει, παρεμποδίζει ή τροποποιεί ποιοτικά την αύξηση και ανάπτυξη του φυτού (Moore, 1979).

Οι φυτορρυθμιστικές ουσίες διακρίνονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες τις φυσικές και τις συνθετικές (Πασπάτης, 1998). Φυσικές φυτορρυθμιστικές ουσίες είναι εκείνες που παράγονται σε ορισμένα μέρη του φυτού και που μπορούν από εκεί να μετακινούνται και σε άλλα μέρη προκαλώντας ειδικές βιοχημικές, φυσιολογικές ή μορφολογικές αντιδράσεις. Δρουν τόσο στους ιστούς στους οποίους παράγονται όσο και σε απόσταση από αυτούς. Συνθετικές φυτορρυθμιστικές ουσίες είναι ουσίες που παράγονται τεχνητά και μπορεί να μοιάζουν χημικά με τις φυσικές. Δρουν κατά τον ίδιο τρόπο με τις φυσικές δηλαδή σαν χημικοί αγγελιοφόροι μέσα στο φυτό όταν εφαρμοσθούν με τον κατάλληλο τρόπο και στον κατάλληλο χρόνο. Τα τελευταία χρόνια η χρησιμοποίηση των φυτορρυθμιστικών ουσιών εμφανίζει αυξητική τάση με σκοπό την αύξηση της παραγωγής και τη βελτίωση της ποιότητας των γεωργικών προϊόντων, ιδιαίτερα στους τομείς της λαχανοκομίας, δενδροκομίας και ανθοκομίας, αλλά και στην αμπελουργία (Πασπάτης, 1998). Τα πρώτα εμπορικά σκευάσματα ήταν ξηρά, κονιοροτοποιημένα φύκη που βελτίωναν τη δομή και τον αερισμό του εδάφους. Ο Francki (1960) πρότεινε ότι τα θετικά αποτελέσματα της χρήσης των φυκών στην αγροτική παραγωγή οφείλονται στην επιπλέον ενισχυση με ιχνοστοιχεία (Crouch και Van Staden, 1993).

Λαμβάνοντας υπ' όψιν ότι οι συγκεντρώσεις των σκευασμάτων, που εφαρμόζονται και απαιτούνται ώστε να ενεργοποιηθούν οι φυσιολογικές λειτουργίες, είναι χαμηλές θεωρήθηκε ότι περισσότερο υπεύθυνες για την αύξηση της παραγωγής ήταν οι οργανικές ενώσεις, παρά τα ανόργανα στοιχεία (Blunden, 1977). Ο Booth (1966) υπέθεσε ότι οι κυτοκινίνες εμπλέκονται σε αυτή τη δράση και αυτή η υπόθεση αποδείχθηκε και πειραματικά (Crouch και Van Staden, 1993). Οι Blunden et al (1977) εντόπισαν στενή σχέση μεταξύ των αποτελεσμάτων που αποκτήθηκαν μετά από τη χρήση κινητίνης και μετά από την εφαρμογή ενός εμπορικού σκευάσματος φύκους σε καλλιέργεια πατάτας. Τα αποτελέσματα ερευνών επαληθεύουν τα παραπάνω δεδομένα, αφού σε θαλάσσια φύκη, αλλά και αργότερα σε εμπορικά σκευάσματα, εντοπίστηκαν ουσίες με δράση κυτοκινίνης (Πασπάτης, 1998). Αν και οι κυτοκινίνες έχουν αναγνωρισθεί στα

προϊόντα των φυκών, το ευρύ φάσμα των φυσιολογικών διεργασιών, που επηρεάζονται από την εφαρμογή φυκών, οδηγεί στο συμπέρασμα ότι δεν είναι η μόνη, ωφέλιμη για την αύξηση, κατηγορία ενώσεων που εμπλέκεται στα φαινόμενα αυτά.

6.3.1. Κυτοκινίνες

Οι κυτοκινίνες είναι μια κατηγορία ρυθμιστών αύξησης που επηρεάζουν την κυτταροδιαίρεση. Οι Blunden et al (1977) επισήμαναν ότι η δράση της κυτοκινίνης σε ένα εκχύλισμα φύκους ήταν ανάλογη της δράσης υδατικού διαλύματος 125mg/l κινητίνης. Κυτοκινίνες έχουν βρεθεί ακόμα και στο θαλασσινό νερό. Ο Pedersén (1973) ταυτοποίησε την ισοπεντενυλαδενίνη (iP) στο θαλασσινό νερό που συλλέχθηκε από περιοχή όπου υπήρχαν τα γένη *Ascophyllum* και *Fucus*, ωστόσο η προέλευσή της δεν είναι βέβαιο ότι αποδίδεται στα φύκη.

Η ύπαρξη κυτοκινινών στα φύκη και στα σκευάσματα των εκχυλισμάτων τους έχει απασχολήσει σημαντικά τα τελευταία χρόνια τη βιβλιογραφία. Η περιεκτικότητα των κυτοκινινών σε νωπά θαλάσσια φύκη στο γένος *Ascophyllum* κυμαίνεται από 0,1-10μg/kg νωπού φύκους (Senn, 1987). Ο Brain et al (1973) ήταν ο πρώτος που ανίχνευσε τη δράση κυτοκινινών σε εμπορικά σκευάσματα εκχυλισμάτων φυκών. Η ευεργετική επίδραση των εκχυλισμάτων από φύκη στην ανάπτυξη και την απόδοση των καλλιεργειών (Blunden & Wildgoose 1977, Blunden et al 1979, Featonby-Smith & Van Staden 1983a, 1983b) και η πιθανή επίδραση των ορμονών, ιδίως της κυτοκινίνης (Booth 1966, Blunden & Wildgoose 1977, Featonby-Smith & Van Staden 1983a, 1983b), έχει πλέον καθιερωθεί. Πολλά από τα ευεργετικά αποτελέσματα της επίδρασης των εκχυλισμάτων φυκών σε φυτά παρομοιάζουν με εκείνα που λαμβάνονται μετά την εφαρμογή σε αυτά κυτοκινινών (Blunden and Wildgoose, 1977). Πρόσφατα, οι Khan et al (2011) αναφέρουν ότι το εκχύλισμα του φύκους *Ascophyllum nodosum*, μετά από διαφυλλικό ψεκασμό στο ζιζάνιο *Arabidopsis thaliana* επηρέασε θετικά την ανάπτυξή του λόγω της δράσης της κυτοκινίνης. Ο Blunden (1978) ανίχνευσε ουσίες με δράση κυτοκινινών σε τρία εμπορικά σκευάσματα. Οι Blunden και Wildgoose (1977), αναφέρουν ότι πολλά από τα ευεργετικά αποτελέσματα της

λίπανσης με φύκη σε φυτά ταυτίζονται με αυτά μετά την εφαρμογή κυτοκινών. Οι Kingman και Moore (1982) ανίχνευσαν την παρουσία ρυθμιστών αύξησης, συμπεριλαμβανομένων και των κυτοκινινών, σε ένα Νορβηγικής προέλευσης προϊόν με βάση το φύκος του γένους *Ascophyllum*. Οι Featonby-Smith και VanStaden (1983,1984) και οι Finnie και VanStaden (1985) ανίχνευσαν σε εμπορικό σκεύασμα με βάση το φύκος του γένους *Ecklonia* ενώσεις με δράση παρόμοια αυτής της ζεατίνης. Οι Tay et al (1987), εντόπισαν σε εμπορικό εκχύλισμα του *Durvillea potatorum* την ύπαρξη των εξής κυτοκινινών: *trans*-ζεατίνη (tZ), *trans*-ριβοσίδιο της ζεατίνης (tZR), διυδροζεατίνη (DHZ), ριβοσίδιο της διυδροζεατίνης (DHZR), ισοπεντενυλαδενίνη (iP), το ριβοσίδιο της ισοπεντενυλαδενοσίνης (iPR), και τα γλυκοσίδια της ζεατίνης: Ο-ζεατίνη (ZOG), διυδροζεατίνη Ο-γλυκοσίδιο (DHZOG), διυδροζεατίνη ριβοσίδιο-ο-γλυκοσίδιο (DHZROG) και ζεατίνη ριβοσίδιο-ο-γλυκοσίδιο (ZROG) (Crouch και Van Staden, 1993, Tarakhovskaya et al., 2007). Η εφαρμογή κινετίνης ανέστειλε το ωίδιο στα αγγούρια (Dekker, 1963) και μείωσε την εμφάνιση σκουριάς στο μίσχο του σιταριού (Wang et al., 1961). Ένα από τα ευεργετικά αποτελέσματα που καταγράφονται στις καλλιέργειες στις οποίες γίνεται χρήση εκχυλισμάτων από φύκη είναι οι αυξημένες αποδόσεις τους (Senn et al., 1961, Booth, 1966, Blunden, 1972, Blunden και Wildgoose, 1977, Blunden et al., 1979). Η εφαρμογή κυτοκινίνης σε καλλιέργεια σιταριού, λίγο μετά την άνθηση, αυξάνει τον αριθμό των ενδοσπερμικών κυττάρων (Herzog, 1982). Ωστόσο, και σε αυτές τις μελέτες, βρέθηκαν χαμηλές συγκεντρώσεις κυτοκινινών που δεν εξηγούν επαρκώς τα θετικά αποτελέσματα της εφαρμογής των προϊόντων.

6.3.2. Αυξίνες

Οι αυξίνες ή ενώσεις που έχουν δράση αυξινών, είναι γνωστό ότι βρίσκονται και στα φύκη. Ασθενής δράση αυξίνης ανιχνεύθηκε πρώτα από τον Mowat, (1961) (Blunden et al., 1971), στο φύκος του γένους *Laminaria* και τον Moss (1965) (Buggeln and Craigie, 1971) στο *Ascophyllum*, η οποία θεωρήθηκε ότι ήταν το ινδολυλοξικό οξύ (IAA). Το ινδολυλοξικό οξύ (IAA) θα μπορούσε να ήταν η αυξίνη της οποίας η δράση ερευνήθηκε σε ένα πείραμα σημαντικής έκτασης που διενεργήθηκε το 1970 σε διάφορα γένη φυκών

(*Fucus vesiculosus*, *Laminaria saccharina*, *Alaria esculenta*, *Ascophyllum nodosum*, *Chondrus crispus*, *Halosaccionra mentaceum*, *Furcellaria fastigiata*), όμως η έλλειψη αξιόπιστων μεθόδων ανίχνευσης και προσδιορισμού θέτουν σημαντικές αμφιβολίες (Buggeln και Craigie, 1971). Άλλες αυξίνες που αναφέρονται από τους Crouch και Van Staden (1992) έχουν ταυτοποιηθεί σε εμπορικό σκεύασμα εκχυλίσματος του φύκους του γένους *Ecklonia maxima*, είναι οι εξής: ινδολυλ-3-καρβοξυλικό οξύ (ICA), N,N-διμεθυλτρυπταμίνη, ινδολυλ-3-αλδεΐδη (IAld), *iso*-ινδόλη, 1,3-διον (N-υδροξυαιθυλφθαλιμίδη).

6.3.3. Βεταΐνες

Εξαιτίας των διαφορετικών επιπέδων κυτοκινινών που αναφέρονται για το ίδιο εκχύλισμα φύκους όταν χρησιμοποιούνται διαφορετικές μέθοδοι βιοδοκιμών, οι Blunden et al (1971), υπέθεσαν ότι στα εκχυλίσματα υπάρχουν άλλες ενώσεις που συμπεριφέρονται ως κυτοκινίνες. Οι ενώσεις αυτές προτάθηκε ότι είναι οι βεταΐνες. Οι βεταΐνες φαίνεται να εμπλέκονται στην αντοχή των φυτών στο ψύχος ή ακόμα και στην αλατότητα.

Βεταΐνες έχουν ταυτοποιηθεί σε αρκετά εμπορικά σκευάσματα εκχυλισμάτων φυκών. Στο γένος *Ascophyllum nodosum*, βρέθηκαν οι βεταΐνες: βεταΐνη του γ-αμινοβουτυρικού οξέος, βεταΐνη του δ-αμινοβαλερικού οξέος και η λαμινίνη. Στο γένος *Fucus serratus* ανιχνεύθηκαν οι βεταΐνες: βεταΐνη του γ-αμινοβουτυρικού οξέος, γλυκινοβεταΐνη και λαμινίνη. Στα γένη *Laminaria digitata*, *L. hyperborea*, *L. saccharina*, εντοπίστηκαν οι: γλυκινοβεταΐνη, βεταΐνη του γ-αμινοβουτυρικού οξέος, λαμινίνη και λυσινοβεταΐνη (Blunden, 1991).

6.4. Αποτελέσματα της εφαρμογής εκχυλισμάτων φυκών στα φυτά.

Οι κύριες φυσιολογικές επιδράσεις των κυτοκινινών, που θα μπορούσαν να είναι σημαντικές στη βελτίωση της ανάπτυξης των καλλιεργειών, αφορούν την πρωτεϊνοσύνθεση και την κυτταροδιαίρεση, τον μηχανισμό θρέψης, την καθυστέρηση γήρανσης και την παρεμπόδιση ανάπτυξης μυκητολογικών ασθενειών. Πολλά από τα αποτελέσματα της εφαρμογής των εκχυλισμάτων φυκών μπορούν να εξηγηθούν με τη δράση

ουσιών που επιδρούν όπως οι κυτοκινίνες. Η εφαρμογή εκχυλισμάτων φυκών έχει επίσης, δείξει ότι αυξάνει την περιεκτικότητα της χλωροφύλλης, του βάρους της φυτικής μάζας και της φυλλικής επιφάνειας (Featonby- Smith και Van Staden, 1983).

Ο ρόλος των ρυθμιστών αύξησης στην πρόσληψη των θρεπτικών στοιχείων δεν είναι πλήρως γνωστός. Πέρα από την αύξηση της επιφάνειας του ριζικού συστήματος, που αυξάνει την αποτελεσματικότητα πρόσληψης, υπάρχει μια πιθανή εκδοχή που υποστηρίζει ότι εμπλέκονται άμεσα στο μηχανισμό πρόσληψης ενεργοποιώντας την ATP-αση με τρόπο παρόμοιο με εκείνο των αυξινών (Hager et al., 1971). Από τον Kannan (1986) προτείνεται η αύξηση της πρόσληψης των θρεπτικών στοιχείων από τα φύλλα μετά από διαφυλλικούς ψεκασμούς με εκχυλίσματα φύκους.

Η βελτιωμένη θρέψη, ως αποτέλεσμα της εφαρμογής των εκχυλισμάτων φυκών, έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της ζωηρότητας των φυτών, άρα και της αντοχής των φυτών στις επιζήμιες εντομολογικές προσβολές. Η χρήση εκχυλισμάτων φυκών έχει παρατηρηθεί και επαληθευθεί από πειραματικά δεδομένα ότι αυξάνει την αντοχή των φυτών σε μυκητολογικές ασθένειες και εντομολογικές προσβολές. Ο Mitchell (1963) έδειξε ότι η λαμιναρίνη (laminarin) μειώνει την εμφάνιση σηψηριζιών (Blunden, 1993). Αύξηση της αντοχής των φυτών στην προσβολή από νηματώδεις έχει επίσης, παρατηρηθεί μετά από την εφαρμογή εκχυλίσματος φύκους, ωστόσο δεν είναι ακόμα ξεκάθαρος ο μηχανισμός λειτουργίας αυτού του φαινομένου, δεδομένου ότι στο φαινόμενο αυτό εμπλέκονται οι ρυθμιστές αύξησης, και κυρίως οι κυτοκινίνες.

Τα εκχυλίσματα θαλάσσιων φυκών εφαρμόζονται με ψεκαστικά μηχανήματα ή με διαβροχή του εδάφους. Οι De Villiers et al (1983) παρατήρησαν ότι τα αποτελέσματα της χρήσης εκχυλίσματος θαλάσσιων φυκών στα φυτά δεν είναι πάντα σταθερά. Έτσι, το αποτέλεσμα της εφαρμογής των σκευασμάτων φυκών εξαρτάται από τον τύπο της καλλιέργειας, το στάδιο ανάπτυξης, τη σύσταση και συγκέντρωση του προϊόντος που χρησιμοποιείται.

6.5. Εμπορικά σκευάσματα εκχυλίσματος φυκών (Maxicrop και Kelp-100)

Δύο από τα εμπορικά σκευάσματα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα έρευνα, τα οποία παράγονται από εκχύλισμα θαλάσσιων φυκών του γένους *Ascophyllum nodosum* (L.) και του γένους *Ecklonia maxima* είναι τα Maxicrop και Kelp-100, αντίστοιχα.

6.5.1. Maxicrop



Σύμφωνα με τον παρασκευαστή, πρόκειται για ένα οργανικό φυσικό λίπασμα πλούσιο σε μακρο- και μικρο-θρεπτικά στοιχεία καθώς και ιχνοστοιχεία. Προέρχεται από εκχύλισμα φυκών θαλάσσης του γένους *Ascophyllum nodosum* (περιέχει 60 g εκχυλίσματος φυκών ανά ένα λίτρο σκευάσματος, εκ των οποίων 63,4% είναι οργανική ουσία) που συλλέγονται από τα

κρύα και καθαρά νερά του Βόρειου Ατλαντικού Ωκεανού και στη συνέχεια επεξεργάζονται με τις πιο σύγχρονες μεθόδους προκειμένου να διατηρήσουν το πλούσιο φυσικό τους περιεχόμενο, επίσης, βοηθά την ανάπτυξη των φυτών και αυξάνει τις αποδόσεις, βελτιώνει την ποιότητα και την εμπορική αξία της παραγωγής και είναι ασφαλές για τον άνθρωπο και το περιβάλλον.

Περιέχει:

Φυτοορμόνες: Αυξίνες, γυββερελίνες, κυτοκινίνες.

Φυσικούς βιοδιεγέρτες ανάπτυξης: Βεταΐνη (ισορροπημένο μείγμα γ-αμινοβουτυρικού οξέως, δ-αμινοβαλερικού οξέως και γλυσινοβεταΐνης).

Ουσίες υψηλής βιολογικής αξίας για τα φυτά: αλγινικό οξύ, μανιτόλη, λαμιναρίνη, πεντοζάνες, αμινοξέα, βιταμίνες, πρωτεΐνες κ.α.

Μακροστοιχεία και ιχνοστοιχεία: περίπου 60, εκ των οποίων τα περισσότερα βρίσκονται σε χηλική μορφή (N, P, K, Fe, Zn, B, I, Br, Cu, Ni, Mo, Co, Si, Al κ.α.)

Ολιγοσακχαρίτες

(Kingman και Moore, 1982, Khan et al., 2009)

6.5.2. Kelp-100



Σύμφωνα με τον παρασκευαστή είναι ένα οργανικό φυσικό λίπασμα πλούσιο σε μακρο- και μικρο- θρεπτικά στοιχεία καθώς και ιχνοστοιχεία και προέρχεται από εκχύλισμα φυκών θαλάσσης του γένους *Ecklonia maxima*. Παράγεται μετά από ψυχρή θραύση κυττάρου. Έτσι σχίζονται τα τοιχώματα των κυττάρων απελευθερώνοντας ζωτικές ορμόνες φυτών χωρίς καμία αλλοίωση. Έχει μεγάλη αριθμημένη ποσότητα από ορμόνες ανάπτυξης γνωστές ως αυξίνη και κυτοκινίνη που είναι υπεύθυνες για την ανάπτυξη και για την ποιότητα του καρπού και του άνθους. Υπάρχουν 11,0 mg/l αυξίνης και 0,031mg/l κυτοκινίνης.

Η μεγάλη συγκέντρωση αυξίνης συμβάλει θετικά για ένα μεγαλύτερο και πιο υγιές ριζικό σύστημα.

Οι απαιτούμενες ορμόνες του φυτού βοηθούν την καλλιέργεια να συνέλθει από καταστάσεις καταπόνησης.

Η υψηλή συγκέντρωση του προϊόντος μειώνει την ποσότητα εφαρμογής και το κόστος συσκευασίας και μεταφοράς.

Μπορεί να εφαρμοστεί μαζί με μεγάλη γκάμα αγροχημικών μειώνοντας τον αριθμό και το συνολικό κόστος των ψεκασμών.

Είναι πλήρως διαλυτό και διαθέσιμο στα φυτά ενώ παράλληλα μεταφέρει την απαιτούμενη ποσότητα ορμονών στο φυτό.

Βοηθά στην ανάπτυξη δυνατών κυττάρων.

Μειώνει το γηρασμό σε φυλλώδεις καλλιέργειες.

Η βελτιωμένη γενική υγεία του φυτού βοηθά στην ανθεκτικότητα του φυτού σε ζιζάνια.

Ειδικό βάρος 1,01kg/l

Περιέχει:Κυτοκινίνες, Αυξίνες, Γυββερελίνες, Αμινοξέα, Πρωτεΐνες, Ολιγοσακχαρίτες, Μπεταΐνη

Παρόμοια σκευάσματα που παράγονται από φύκη περιέχουν κυτοκινίνη, αυξίνη, γιββεριλλίνες, βεταΐνη, αμινοξέα και ανόργανα στοιχεία. (Kingman και Moore, 1982, Khan et al., 2009). Έτσι, ο ψεκασμός με εκχυλίσματα φυκών αυξάνει το βάρος και το μέγεθος του καρπού λόγω

αύξησης της κυτταροδιαίρεσης, του μεγέθους του πρωτοπλάσματος και του κυτταρικού τοιχώματος των μεμονωμένων κυττάρων, ενώ προάγει την ωρίμανση λόγω της επαρκούς και πρώιμης πλήρωσης του καρπού με υδατάνθρακες. Η καλλιέργεια των φυτών με την εφαρμογή λίπανσης με εκχυλίσματα φυκών είτε στο έδαφος είτε στα φύλλα, έχει ως αποτέλεσμα την αυξημένη απόδοση των καλλιεργειών, την πρόσληψη ανόργανων στοιχείων από το έδαφος, την αντίσταση των φυτών σε συνθήκες καταπόνησης, την μικρότερη συχνότητα προσβολής από μυκητολογικές και εντομολογικές προσβολές και χαμηλότερο κόστος παραγωγής (Crouch και Staden, 1992, Fornes et al., 2002, Chatzissavvidis και Therios, 2014, Chouliaras et al., 2011). Ακόμη το εκχύλισμα των φυκών μπορεί να καταστείλει ασθένειες και τα παράσιτα εντόμων (Craigie, 2011, Raghavendra et al., 2007). Διαφυλλική εφαρμογή ενός σκευάσματος που περιέχει εκχύλισμα από το *Ascophyllum nodosum* σε ακτινίδια, αύξησε σημαντικά το μέγεθος του καρπού και τον δείκτη ωριμότητας κατά 10-15 ημέρες (Chouliaras et al., 1997). Παρόμοια αποτελέσματα όσον αφορά το μέγεθος του καρπού και τον δείκτη ωριμότητας έχουν αναφερθεί για τα μανταρίνια «Clementine» και τα πορτοκάλια «Navelina» μετά από ψεκασμό με ένα προϊόν *Ascophyllum nodosum* (Fornes et al., 2002). Η κατανάλωση της επιτραπέζιας ελιάς «Κονσερβολιά Άρτας» μετά από την λίπανση με εμπορικά προϊόντα φυκών με βάση το *Ascophyllum nodosum*, θα μπορούσε να έχει ευεργετικές ιδιότητες για τον ανθρώπινο οργανισμό που οφείλονται στην αύξηση της συγκέντρωσης των καροτενοειδών στο φλοιό του καρπού και των πολλαπλών αντιοξειδωτικών που συμβάλουν στην πρόληψη ασθενειών (Paiva και Russell, 1999, Ribaya-Mercado και Blumberg, 2004). Μελέτες σε καλλιέργεια κριθαριού και σιταριού έδειξαν ότι η πρώιμη εφαρμογή εκχυλίσματος φυκών μπορεί να αυξήσει τον αριθμό και την απόδοση του σταχυδίου στην καλλιέργεια σιταριού (Featonby-Smith και van Staden, 1987, Nelson and van Staden, 1986).

Σύμφωνα με τους Khan et al. (2009) τα φύκη του γένους *Ascophyllum nodosum* περιέχουν υψηλότερη συγκέντρωση βεταΐνης σε σύγκριση με αυτή που περιέχεται στα φύκη του γένους *Ecklonia maxima*. Ακόμη, αναφέρουν ότι τα φύκη του γένους *Ecklonia maxima* περιέχει πολυσακχαρίτες όπως agar, agaroids, Carrageenans, Cellulose, Complex mucilage, Furcellaran,

Glycogen, Mannans, Xylans, Rhodymenan με μέγιστη ποσότητα τους Agars, agaroids, και Carrageenans. Τα φύκη του γένους *Ascophyllum nodosum* περιέχουν τους πολυσακχαρίτες Alginates, Fucoidans, Laminarans, Cellulose, Fucose - containing glycans, Complex sulfated hetero glucans, Glucuronoxylofucans με μέγιστη ποσότητα τους Alginates Fucoidans και Laminarans. Όσον αφορά το περιεχόμενο σε στερόλες τα φύκη του γένους *Ecklonia maxima* περιέχουν Cholesterol, 22-Dehydrocholesterol, Fucosterol, 24-Methylenecholesterol, Stigmasterol, Brassicasterol, Cycloartenol, Desmosterol, Sitosterol, 5-Dihydroergosterol, Δ^5 - Ergosterol, $\Delta^{4,5}$ -Ketosteroids, Obusifoliol με κυριότερη την Cholesterol, ενώ τα φύκη του γένους *Ascophyllum nodosum* περιέχουν Fucosterol, 22-Dehydrocholesterol, 24-Methylenecholesterol, Stigmasterol, Brassicasterol, Cholesterol, Cycloartenol, Clionasterol, Porifasterol με κυριότερη να αναφέρεται η Fucosterol (Khan et al., 2009).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7

ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΤΗΣ ΕΛΙΑΣ

7.1. Σύσταση ελαιοκάρπου

Ο καρπός της ελιάς είναι δρύπη με σχήμα ωειδές που συχνά καταλήγει σε μυτερό άκρο. Η διαφορά από τις άλλες δρύπες (πυρηνόκαρπα) συνίσταται στη χημική σύσταση. Ο καρπός της ελιάς χωρίζεται σε τρία μέρη: στο επικάρπιο ή επιδερμίδα ή μεμβράνη (καλύπτει το 1,5-3,5% του καρπού), στο μεσοκάρπιο ή σάρκα (καλύπτει το 70-90% του καρπού) και στο ενδοκάρπιο ή πυρήνας (καλύπτει το υπόλοιπο μέρος του καρπού). Το ενδοκάρπιο αποτελείται από το ξυλώδες τμήμα, με συνήθως ένα και πολύ σπάνια δύο ενδοσπέρμια (σπόροι). Τα συστατικά του ελαιοκάρπου κατά την πορεία της ωρίμανσης, μεταβάλλονται αισθητά. Το χρώμα του, από πράσινο που είναι αρχικά, μεταβάλλεται σε πορφυρό ή μαύρο, εξαιτίας της αλλαγής των χρωστικών. Ο πράσινος καρπός περιέχει χλωροφύλλες, ο φυσικός ώριμος περιέχει τουλάχιστον έξι ανθοκυάνες, ενώ ο μαύρος περιέχει μελανίνες οι οποίες σχηματίζονται από την οξειδωση των φαινολικών ουσιών. Σημαντικές επίσης μεταβολές συμβαίνουν και στα άλλα συστατικά του ελαιοκάρπου.

Τα κυριότερα συστατικά του καρπού της ελιάς, τα οποία μεταβάλλονται αισθητά κατά την πορεία της ωρίμανσης είναι:

- Το νερό (70% περίπου του νωπού βάρους). Μέσα στο νερό του κυτταρικού χυμού βρίσκονται διαλυμένα τα σάκχαρα, τα οργανικά οξέα, οι τανίνες και άλλα συστατικά. Όσο αυξάνεται η ελαιοπεριεκτικότητα ελαττώνεται η περιεκτικότητα σε νερό.
- Η ελαιοευρωπαϊνή (οφείλεται η πικρή γεύση του καρπού).
- Τα σάκχαρα (γλυκόζη, φρουκτόζη, μανόζη, γαλακτόζη και η σακχαρόζη απαντώνται στον καρπό της ελιάς).
- Πρωτεΐνες (συγκέντρωση πρωτεϊνών στον ελαιόκαρπο 1,5–3%).
- Ελαιόλαδο το οποίο καλύπτει το 17-35% του βάρους της νωπής σάρκας.
- Χρωστικές (μεταβάλουν το χρώμα του καρπού)
- Ανόργανα στοιχεία (σίδηρος, ασβέστιο, κάλιο κ.α.)

- Οργανικά στοιχεία (ορισμένα οξέα όπως το οξαλικό, το οξικό, το μηλονικό, το φουμαρικό, το γαλακτικό, το τρυγικό, το μηλικό και το κιτρικό).

7.2. Σύσταση του ελαιολάδου

Η σύσταση του ελαιολάδου επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες όπως η ποικιλία της ελιάς, οι καλλιεργητικές πρακτικές, οι εδαφοκλιματικές συνθήκες καθώς και από τη διαδικασία παραλαβής του στο ελαιοτριβείο (Inglese et al., 2010). Το ελαιόλαδο είναι, κυρίως, μείγμα εστέρων της γλυκερίνης (τριγλυκερίδια) με τα ανώτερα λιπαρά οξέα, μερικά από τα οποία είναι ακόρεστα ενώ άλλα είναι κορεσμένα. Εκτός από τα τριγλυκερίδια το ελαιόλαδο περιέχει μικρές ποσότητες και από άλλα συστατικά όπως: ελεύθερα λιπαρά οξέα, φωσφατίδια (λεκιθίνες), στερόλες, φαινόλες, τοκοφερόλες, χρωστικές και διάφορες ρητινοειδείς και ζελατινοειδείς ουσίες (Frezzotti και Manni, 1956).

7.2.1. Συστατικά ελαιόλαδου

Το ελαιόλαδο αποτελεί το 17-35% του βάρους της νωπής σάρκας και επηρεάζει, με την παρουσία του, τη συνεκτικότητά της. Τα συστατικά του ελαιολάδου χωρίζονται σε δύο κατηγορίες:

- στα ασαπωνοποίητα, όπως είναι οι υδρογονάνθρακες και οι λιπαρές αλκοόλες, φαινόλες και
- στα σαπωνοποίησιμα, όπως είναι τα τριγλυκερίδια, τα ελεύθερα λιπαρά οξέα και τα φωσφατίδια.

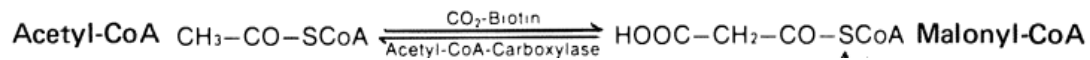
Στο παρθένο ελαιόλαδο τα ασαπωνοποίητα συστατικά κυμαίνονται από 0,5-1,5% ενώ στο πυρηνέλαιο, που παραλαμβάνεται με διαλύτη, φθάνει το 2,5%.

7.2.2. Σχηματισμός ελαιολάδου

Ο τρόπος σχηματισμού του ελαιολάδου, αποτέλεσε αντικείμενο έρευνας από τον περασμένο αιώνα. Πρώτος το 1860 ο Pasquale υποστήριξε ότι το ελαιόλαδο σχηματίζεται από τη χλωροφύλλη. Ο εν λόγω ερευνητής

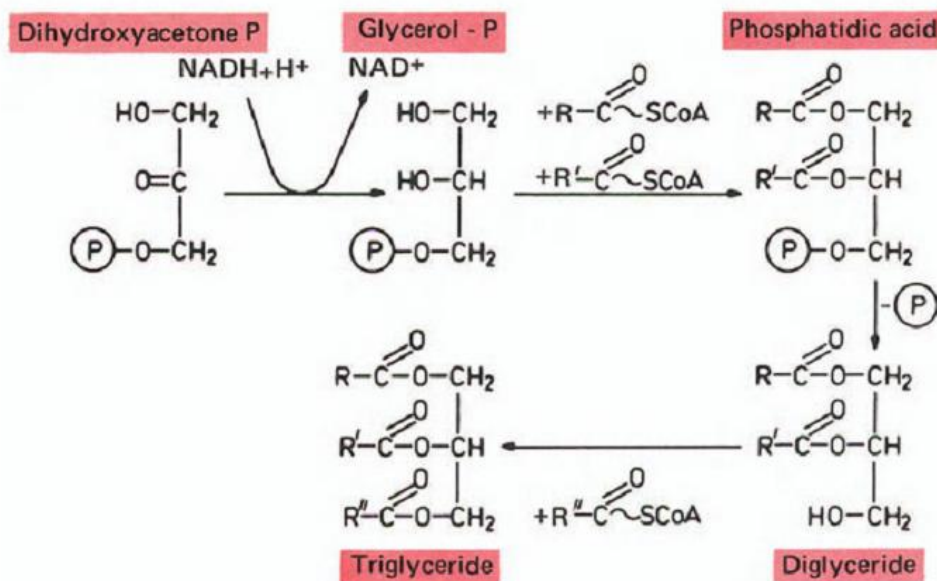
παρατήρησε ότι, κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης του καρπού, σχηματίζονταν σταγόνες λαδιού κοντά στους χλωροπλάστες. Οι σταγόνες αυτές αυξάνονταν συνεχώς με παράλληλη μείωση των χρωροπλαστών. Ακολούθησαν αρκετές θεωρίες έως την τελευταία όπου σύμφωνα με τη θεωρία του Hess (1975) ο σχηματισμός του ελαιολάδου περιλαμβάνει τρία στάδια:

- Στην αρχή σχηματίζονται λιπαρά οξέα με επανειλημμένες προσθήκες μηλονικού συνένζυμου (CoA) σε μόριο ακετυλίου CoA.



- Στη συνέχεια σχηματίζεται το γλυκερίνο-φωσφορικό άλας από το δι-υδροξυ φωσφορικό άλας ακετόνης.

- Στο τελευταίο στάδιο τα λιπαρά οξέα, ως παράγωγα CoA, μεταφέρονται στις υδροξυλικές ομάδες του φωσφορικού άλατος γλυκερίνης. Ακολουθεί αποφωσφορυλίωση και ολοκλήρωση της εστεροποίησης της γλυκερίνης.



- Ο σχηματισμός του ελαιολάδου στον ελαιόκαρπο αρχίζει κυρίως μετά τα μέσα Ιουλίου. Από το δεύτερο δεκαήμερο και μετά αρχίζει βαθμιαία η αύξηση των ελαιοσταγονιδίων, τόσο στο σαρκώδες μέρος όσο και στον πυρήνα. Η διάμετρος των ελαιοσταγονιδίων φτάνει κατά μέσο όρο τα 39–63 μικρά. Όταν τα ελαιοσταγονίδια είναι μεγάλα, καταλαμβάνουν σχεδόν ολόκληρο το χώρο του πρωτοπλάσματος και είναι πιθανό να παραμορφώσουν το κύτταρο με την πίεση την οποία ασκούν στις κυτταρικές μεμβράνες.

- Για την παραλαβή του ελαιολάδου από τον καρπό, είναι απαραίτητη η μετατροπή του ελαιοκάρπου σε ελαιοζύμη, δηλ. ο τεμαχισμός αυτού σε

μικρότερα τεμαχίδια ώστε να είναι δυνατή η απελευθέρωση των ελαιοσταγονιδίων.

7.3. Σαπωνοποιήσιμα συστατικά του ελαιολάδου

Λιπαρά οξέα. Η σύνθεση του ελαιολάδου σε λιπαρά οξέα εξαρτάται:

- από την ποικιλία της ελιάς
- από τις κλιματολογικές συνθήκες, το υψόμετρο και το στάδιο ωρίμανσης του καρπού

(Aparicio et al., 1994, Gómez-Rico et al., 2007, Gutiérrez et al., 1998).

Το μεγαλύτερο ποσοστό των λιπαρών οξέων του ελαιολάδου συνίσταται από ακόρεστα οξέα. Μεταξύ αυτών το μονοακόρεστο ελαϊκό (18:1) περιέχεται σε μεγαλύτερη ποσότητα. Το δεύτερο κατά σειρά ακόρεστο λιπαρό οξύ του ελαιολάδου είναι το λινελαϊκό (18:2). Τα άλλα ακόρεστα οξέα, λινολενικό (18:3) και το παλμιτελαϊκό (16:1) συναντώνται, στο ελαιολάδο, σε μικρότερες ποσότητες. Από τα κορεσμένα οξέα σε μεγαλύτερο ποσοστό συναντάται το παλμιτικό (16:0) και ακολουθεί το στεατικό (18:0). Τα κύρια γλυκερίδια του ελαιολάδου είναι αυτά του ελαϊκού οξέος, που μόνα τους ξεπερνούν το 70 - 80 % του βάρους του λαδιού. Επειδή τα γλυκερίδια αυτά είναι ρευστά, σε θερμοκρασία δωματίου, το ελαιολάδο, στο σύνολο του παραμένει σε υγρή κατάσταση στις συνήθεις θερμοκρασίες δωματίου.

7.3.1. Εκατοστιαία διακύμανση της περιεκτικότητας του ελαιολάδου, σε λιπαρά οξέα.

Η εκατοστιαία διακύμανση του ελαιολάδου σε λιπαρά οξέα σύμφωνα με το Διεθνές Συμβούλιο Ελαιολάδου δίνεται στον Πίνακα 6.1.

Πίνακας 6.1.: Εκατοστιαία διακύμανση της περιεκτικότητας του ελαιολάδου σε λιπαρά οξέα όπως προσδιορίζεται με αέρια χρωματογραφία (% m/m μεθυλεστέρες)* (IOC, 2013c).

Λιπαρά οξέα	Περιεκτικότητα %
Μυριστικό (C14:0)	<0,03
Παλμιτικό (C16:0)	7,50 – 20,00
Παλμιτελαϊκό (C16:0)	0,03 – 3,50
Δεκαεπτανικό (C17:0)	< 0,30
Δεκαεπτενικό(C17:1)	< 0,30
Στεατικό (C18:0)	0,05 – 5,00
Ελαϊκό (C18:1)	55,00 – 83,00
Λινελαϊκό (C18:2)	3,50 – 21,00
Λινολενικό (C18:3)	< 1,00
Αραχιδικό (C20:0)	< 0,60
Εικοσενικό (C20:1)	< 0,40
Βεχενικό (C22:0)	< 0,20**
Λιγνοκηρικό (C24:0)	< 0,20
* Τα όρια περιλαμβάνουν και την ακρίβεια της προτεινομένης μεθόδου. ** < 0,3 για τα πυρηνέλαια.	

7.4. Ασαπwnοποίησητα συστατικά του ελαιολάδου

Τα κυριότερα από τα συστατικά που περιέχονται στο ασαπwnοποίητο κλάσμα του ελαιολάδου είναι: Υδρογονάνθρακες, Στερόλες, Τοκοφερόλες, Καροτινοειδείς χρωστικές, Τριτερπενικές αλκοόλες, Φαινόλες, Φωσφολίπη, Χρωστικές, Πτητικά συστατικά, Φαινολικά συστατικά. Τα συστατικά αυτά είναι υπεύθυνα για τις κυριότερες γευστικές και οσφραντικές ιδιότητες του ελαιολάδου.

7.4.1. Υδρογονάνθρακες.

Στο ασαπwnοποίητο κλάσμα του ελαιολάδου υπάρχουν διάφοροι υδρογονάνθρακες όπως το ναφθαλίνιο και τα παράγωγα του ναφθαλινίου. Το κύριο συστατικό του κλάσματος των υδρογονανθράκων του ελαιολάδου είναι το σκουαλένιο και το β-καροτένιο (το δεύτερο περιγράφεται στις χρωστικές). Το σκουαλένιο αποτελεί περισσότερο από 90% του κλάσματος των

υδρογονανθράκων (Lanzón et al., 1994, Nenadis και Tsimidou, 2002, Owen et al., 2000b, Psomiadou και Tsimidou, 1999) και θεωρείται συστατικό με μεγάλη βιολογική αξία λόγω της προληπτικής δράσης του ως προς κάποια είδη καρκίνου (Newmark, 1997). Τα επίπεδά του σκουαλενίου στο παρθένο ελαιόλαδο σχετίζονται με την ποικιλία (Guinda et al., 1996).

7.4.2. Στερόλες

Οι στερόλες μπορούν να χαρακτηρισθούν σαν τα δακτυλικά αποτυπώματα κάθε λαδιού. Τα κύρια συστατικά του στερολικού κλάσματος είναι η καμπεστερόλη, η στιγμαστερόλη, β-σιτοστερόλη, βρασσικαστερόλη και δ-7 στιγμαστερόλη. Είναι γεγονός ότι η β-σιτοστερόλη καλύπτει σχεδόν το σύνολο του στερολικού κλάσματος των ελαιολάδων και έχει υποχοληστερολεμικές ικανότητες. Κατά το χρόνο αποθήκευσης του ελαιολάδου και με την αύξηση της οξείδωσης παρατηρείται μείωση της περιεκτικότητας, σε στερόλες (Fedeli, 1977).

7.4.3. Τοκοφερόλες.

Είναι ετεροκυκλικές ενώσεις μεγάλου μοριακού βάρους και συναντώνται σε όλα τα φυτικά λάδια. Διακρίνονται ως προς τη θέση και τον αριθμό των μεθυλικών ομάδων σε α-, β-, γ- και δ-, ενώ στο σύνολό τους είναι γνωστές και ως βιταμίνη E. Από τις τοκοφερόλες, οι οποίες συναντώνται στο ελαιόλαδο, η α βρίσκεται σε ποσοστό 88,5%, η β και γ σε ποσοστό 9.9% και η δ σε ποσοστό 1.6%. Όλες οι τοκοφερόλες αποτελούν φυσικά αντιοξειδωτικά των λαδιών αφού παρουσιάζουν αντιοξειδωτική δράση, η οποία αυξάνεται από την α προς τη δ. Η σταθερότητα του ελαιολάδου στην οξείδωση, οφείλεται κατά μεγάλο ποσοστό στην παρουσία των τοκοφερολών. Η περιεκτικότητα σε τοκοφερόλες των ελληνικών ελαιολάδων κυμαίνεται από 98 έως 370 mg/kg ελαίου (Psomiadou et al., 2000). Εκτός από την αντιοξειδωτική τους δράση οι τοκοφερόλες παρουσιάζουν και βιταμινική δράση η οποία αυξάνεται αντίθετα με την αντιοξειδωτική τους ικανότητα, δηλαδή από τη δ προς την α.

7.4.4. Χρωστικές.

Το χρώμα του ελαιολάδου οφείλεται στη παρουσία των καροτενοειδών και των χλωροφυλλών. Στα καροτενοειδή ανήκουν η λουτεΐνη, που είναι το σημαντικότερο καροτενοειδές του ελαιολάδου, και το β-καροτένιο. Η περιεκτικότητα των ελληνικών ελαιολάδων σε καροτενοειδή κυμαίνεται από 1 έως 20 mg/kg (Psomiadou και Tsimidou, 2001). Από τις κυριότερες χρωστικές ουσίες στο ελαιόλαδο είναι η χλωροφύλλη. Η ουσία αυτή δίνει το χαρακτηριστικό πράσινο χρώμα στο ελαιόλαδο αλλά αποτελεί και την κύρια αιτία της οξειδωτικής αλλοίωσης, αν αυτό έλθει σε επαφή με το φως. Η παρουσία των χρωστικών εξαρτάται από την ποικιλία, το στάδιο ωρίμανσης του καρπού, τους τεχνολογικούς παράγοντες και τις συνθήκες αποθήκευσης (Gandul-Rojas και Minguez-Mosquera, 1996, Psomiadou και Tsimidou, 2001, Schwartz και Lorenzo, 1990). Η χρήση του Maxicrop μαζί με μηδική και κοπριά προβάτων, αύξησε σημαντικά τα καροτενοειδή στον φλοιό του ελαιοκάρπου της ποικιλίας «Καλαμών» (Chouliaras et al., 2011). Οι Cardozo et al (2007) αναφέρουν ότι τα εκχυλίσματα φυκών περιέχουν καροτενοειδή και θα μπορούσε να εξεταστεί περαιτέρω αν η αύξηση των καροτενοειδών στο φλοιό των φρούτων είναι είτε λόγω των καροτενοειδών που περιέχονται από εμπορικά προϊόντα εκχυλισμάτων φυκών, είτε λόγω της συμμετοχής των φυκών στο μεταβολισμό των φυτών, είτε στην ίδια την ποικιλία.

7.4.5. Τριτερπενικά οξέα.

Τα τριτερπενικά οξέα αποτελούν σημαντικά συστατικά του καρπού της ελιάς, ωστόσο στο ελαιόλαδο βρίσκονται σε ίχνη.

7.4.6. Φαινολικές ενώσεις

Οι φαινολικές ενώσεις, αφενός επηρεάζουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του ελαιολάδου και αφετέρου συμβάλουν στην σταθερότητα του στην οξείδωση. Ακόμη, είναι υπεύθυνες για τις ευεργετικές ιδιότητες της κατανάλωσης του παρθένου ελαιολάδου στην υγεία (Bendini et al., 2007, Servili et al., 2004, Tasioula-Margari, 2011). Το μεγαλύτερο μέρος του φαινολικού κλάσματος του παρθένου ελαιολάδου αποτελούν τα σεκοϊριδοειδή (παράγωγα της τυροσόλης και της υδροξυτυροσόλης) (Servili et al., 2004,

Tasioula-Margari και Okogeri, 2001a). Η υδροξυτυροσώλη παρουσιάζει αξιόλογη αντιοξειδωτική δράση. Επίσης έχουν ανιχνευθεί και φαινορικά οξέα όπως είναι το καφεϊκό το πρωτοκατεχικό κ.α. Η παρουσία τους ενισχύει σημαντικά την αντοχή του ελαιολάδου στην οξειδωση. Είναι υπεύθυνες για την πικρή γεύση και το κάψιμο στο λαιμό στα φρέσκα ελαιόλαδα.

7.4.7. Φωσφολιπίδια

Το ελαιόλαδο περιέχει μικρή ποσότητα φωσφολιπιδίων που κυμαίνεται από 40 -135 ppm. Η μεγαλύτερη ποσότητα των φωσφολιπιδίων προέρχεται από τον πυρήνα του ελαιοκάρπου. Τα φωσφολιπίδια που συναντώνται, συνήθως, στο ελαιόλαδο είναι η λεκιθίνη και η κεφαλίνη, των οποίων η αφομοίωση ενισχύει τις φωσφορούχες ουσίες του εγκεφάλου και των ιστών του ανθρώπινου οργανισμού.

7.4.8. Πτητικά συστατικά.

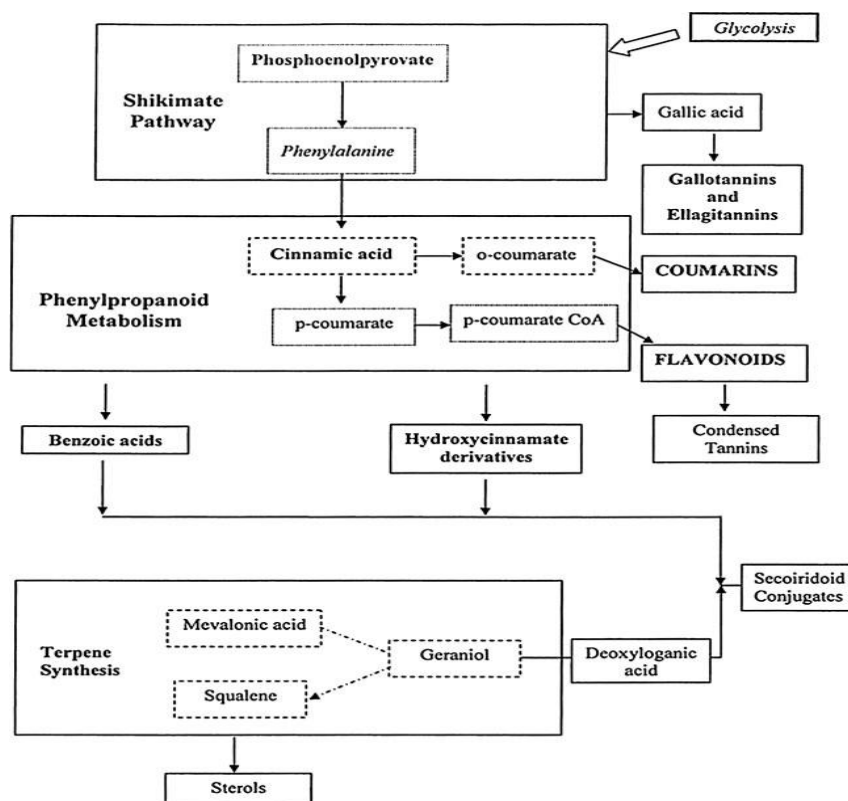
Το ελαιόλαδο έχει χαρακτηριστικό άρωμα και πολύ ευχάριστη γεύση. Τούτο οφείλεται στην παρουσία μεγάλου αριθμού γευστικών και αρωματικών συστατικών που είναι πτητικά, όπως υδρογονάνθρακες, αλδεύδες, και αλκοόλες. Η μεγαλύτερη συγκέντρωση των αρωματικών συστατικών του ελαιολάδου παρατηρείται κατά την περίοδο που ο ελαιοκάρπος έχει αρχίσει να αλλάζει χρώμα από πράσινο-κίτρινο σε μελανοϊώδες. Το στάδιο αυτό συμπίπτει με τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε ελαιόλαδο και με την μεγαλύτερη συγκέντρωση αρωματικών συστατικών.

Στο κλάσμα των πτητικών συστατικών του ελαιολάδου έχουν ταυτοποιηθεί πλήθος πτητικών ενώσεων, οι οποίες έχουν από 5 έως 20 άτομα άνθρακα. Περιλαμβάνονται κυρίως αλδεΰδες, κετόνες, αλκοόλες, εστέρες και υδρογονάνθρακες (Aparicio et al., 1996, Aparicio et al., 1997, Bortolomeazzi et al., 2001, Flath et al., 1973, Guth και Grosch, 1991, Morales et al., 1995, Pouliarekou et al., 2011, Reiners και Grosch, 1998, Servili et al., 1995, Temime et al., 2006, Vichi et al., 2003a, Vichi et al., 2003b, 2005, Vichi et al., 2008).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8

ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

Οι φαινολικές ενώσεις είναι δευτερογενείς μεταβολίτες που βιοσυντίθενται μέσω του μονοπατιού του σικιμικού οξέος όπου σχηματίζεται η φαινυλαλανίνη και το φαινυλοπροπανοϊκό οξύ. Η φαινυλαλανίνη αποτελεί το αρχικό υπόστρωμα για το σχηματισμό των φαινολικών ενώσεων (Herrmann και Weaver, 1999). Η βιοσύνθεση των περισσότερων φαινολικών οξέων, αρχίζει με την απαμίνωση της φαινυλαλανίνης η οποία σηματοδοτεί την έναρξη της μεταβολικής ακολουθίας στην οδό των φαινυλοπροπανοειδών με την παραγωγή του κινναμικού οξέος, σε μια αντίδραση που καταλύεται από το ένζυμο αμμωνιολυάση της φαινυλαλανίνης. Το ένζυμο αυτό επηρεάζεται τόσο από το περιβάλλον όπως είναι οι μεγάλες μεταβολές της θερμοκρασίας, οι τραυματισμοί, οι προσβολές από παθογόνα και η υπεριώδης ακτινοβολία, όσο και από το βαθμό ωρίμανσης του καρπού (Douglas et al., 1992, Ryan et al., 2002).



Σχήμα 8.1.: Απεικόνιση της σύνδεσης των οδών του σικιμικού οξέως και του μεταβολισμού των φαινυλοπροπανοειδών προς τον σχηματισμό φαινολικών ενώσεων τερπενίων και στερολών (Obied et al., 2008).

Οι φαινολικές ενώσεις αποτελούν μια ιδιαίτερα σημαντική κατηγορία φυτικών αντιοξειδωτικών και χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη ενός τουλάχιστον αρωματικού δακτυλίου (C6) με ένα ή περισσότερα υδροξύλια.

Οι φαινολικές ενώσεις του καρπού της ελιάς είναι κυρίως, γλυκοζίτες σεκοϊριδοειδών (ελαιοευρωπαϊνή, λιγκστροζίτης), φλαβονών (γλυκοζίτης της λουτεολίνης), φλαβονολών (ρουτίνη), ελενολικού οξέος και του βερμπασκοζίτη (παράγωγο του καφεϊκού οξέος) (Amiot et al., 1989, Ryan et al., 2002). Κατά την ωρίμανση του καρπού και την αύξηση της υδρολυτικής δράσης, αυξάνονται οι απλές φαινόλες (υδροξυτυροσόλη, τυροσόλη) καθώς και οι αγλυκόνες της ελαιοευρωπαϊνής και του βερμπασκοζίτη (Gómez-Rico et al., 2008). Η περιεκτικότητα των φαινολικών ενώσεων του ελαιολάδου επηρεάζεται από την ποικιλία, το στάδιο ωρίμανσης, τις κλιματολογικές συνθήκες της καλλιέργειας, τις συνθήκες εξαγωγής του ελαιολάδου καθώς και τις συνθήκες αποθήκευσης του ελαιολάδου. Η συγκέντρωση της ελαιοευρωπαϊνής, βρίσκεται σε μεγαλύτερα επίπεδα όταν ο καρπός είναι πράσινος και μειώνεται στη συνέχεια λόγω της δράσης υδρολυτικών ενζύμων (Amiot et al., 1989) ενώ η βιοσυνθετική πορεία αυτής και των παραγώγων της ξεκινά από την τυροσίνη (*p*-υδροξυ φαινυλαλανίνη) (Ryan et al., 2002).

Οι φαινολικές ενώσεις αποτελούν σημαντικό παράγοντα για την εκτίμηση της ποιότητας του ελαιολάδου. Είναι σε μεγάλο βαθμό υπεύθυνες για την σταθερότητά του ελαιολάδου στην οξειδωση λόγω της αντιοξειδωτικής τους δράσης (Baldioli et al., 1996, Papadopoulos και Boskou, 1991, Psomiadou και Tsimidou, 2002a, Tsimidou et al., 1992b) και συνεισφέρουν στα ιδιαίτερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του (Andrewes et al., 2003, Mateos et al., 2004).

Σύμφωνα με τον ισχυρισμό υγείας - Health Claim για το ελαιόλαδο- εγκρίθηκε στην οδηγία (EC) no 432/2012 - ο οποίος αναφέρεται στα φαινολικά του ελαιολάδου:

- οι πολυφαινόλες του ελαιολάδου συμβάλουν στην προστασία των λιπιδίων του αίματος από την οξειδωση
- Επιπλέον δίνεται η πληροφορία στους καταναλωτές ότι η ωφέλεια προέρχεται από καθημερινή κατανάλωση 20 g ελαιόλαδου

Επίσης, έχουν αποδοθεί στις φαινολικές ενώσεις πολλά από τα οφέλη της κατανάλωσης του παρθένου ελαιολάδου στην υγεία όπως:

- Προστασία της LDL από την οξειδωση (Covas et al., 2006a, de la Torre-Carbotetal., 2010, Visioli και Galli, 1994),
- Αντιμικροβιακές ιδιότητες (Karaosmanoglu et al., 2010, Romero et al., 2007),
- αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες (Corona et al., 2009),
- προστασία από διάφορες μορφές καρκίνου (Elhagar et al., 2011) κ.α.

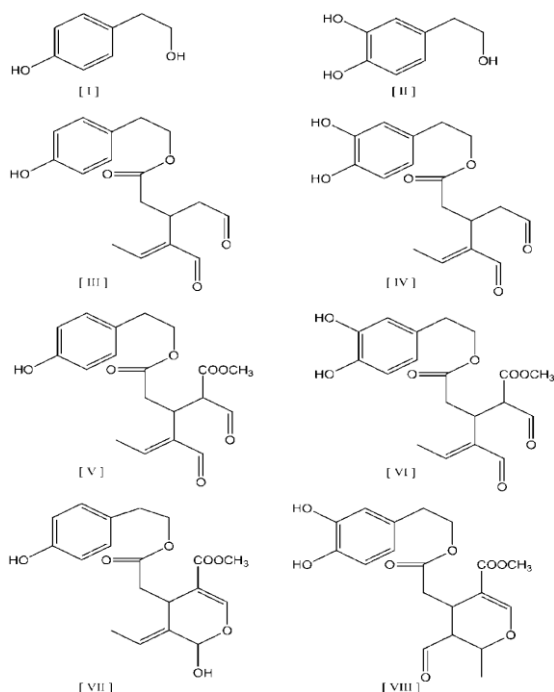
Οι φαινολικές ενώσεις του ελαιολάδου προέρχονται αφενός από τον καρπό και τα φύλλα της ελιάς και αφετέρου σχηματίζονται κατά την παραλαβή του ελαιολάδου στο ελαιοτριβείο. Στο ελαιόλαδο έχουν ανιχνευτεί περισσότερες από 30 φαινολικές ενώσεις (Servili et al., 2004).

Η σύσταση του ελαιολάδου σε φαινολικές ενώσεις καθορίζεται από τους φαινολικούς γλυκοζίτες που βρίσκονται στο καρπό της ελιάς και από τη δράση κάποιων υδρολυτικών ενζύμων (β-γλυκοσιδάση) πάνω σε αυτούς τους γλυκοζίτες. Με την ενζυμική ή/και χημική αποδόμηση των γλυκοζιτών των σεκοϊριδοειδών του καρπού της ελιάς (Angerosa et al., 1996a, El Riachy et al., 2011) παράγονται η διαλδεϋδική αποκαρβοξυλιωμένη μορφή του ελενολικού οξέος συνδεδεμένο με την υδροξυτυροσόλη ή με την τυροσόλη, η αλδεϋδική μορφή του ελενολικού οξέος συνδεδεμένο με την υδροξυτυροσόλη και η αλδεϋδική μορφή του ελενολικού οξέος συνδεδεμένο με την τυροσόλη, που αποτελούν το μεγαλύτερο μέρος του φαινολικού κλάσματος του ελαιολάδου. Η υδροξυτυροσόλη και η τυροσόλη, εντοπίζονται ως εστέρες σε υψηλής ποιότητας φρέσκα ελαιόλαδα (Angerosa et al., 1995). Προέρχονται από τους γλυκοζίτες της ελαιοευρωπαϊνής και του λιγκστροσιδίου (Montedoro et al., 1993).

Κατά τη διαδικασία της εξαγωγής του ελαιολάδου η υδρόλυση των φαινολικών γλυκοζιτών πραγματοποιείται κυρίως από το ένζυμο β-γλυκοσιδάση, το οποίο λόγω συγγένειας υποστρώματος, δρα κυρίως με την ελαιοευρωπαϊνή (Romero-Segura et al., 2009). Επίσης, στο στάδιο του σπασίματος καθώς και της μάλαξης του καρπού η ύπαρξη ενδογενών οξειδοαναγωγασών ευνοεί την οξειδωση των φαινολικών ενώσεων (García-Rodríguez et al., 2011, Romero-Segura et al., 2009).

Οι οξειδοαναγωγάσες, όπως η πολυφαινολοξειδάση και η υπεροξειδάση, είναι τα κυριότερα οξειδωτικά ένζυμα στα φυτικά προϊόντα και δρουν συνεργιστικά. Η πολυφαινολοξειδάση και η υπεροξειδάση εμφανίζουν

μεγαλύτερη δραστικότητα με τα παράγωγα της ελαιοευρωπαϊνής σε σχέση με αυτά του λιγστροζίτη (Angerosa et al., 2001, Artajo et al., 2006b, Ranalli et al., 2005, Servili και Montedoro, 2002, Servili et al., 2007a). Το σημαντικότερο ένζυμο στην οξείδωση των φαινολών κατά την ωρίμανση του καρπού αλλά και σε περίπτωση τραυματισμού του είναι η πολυφαινολοξειδάση (Pourcel et al., 2007). Έχει βρεθεί αρνητική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης της πολυφαινολοξειδάσης και αυτής της ελαιοευρωπαϊνής σε σχέση με το στάδιο ωρίμανσης του καρπού (Ortega-García et al., 2008), επίσης, ο τραυματισμός του καρπού μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση του υπεροξειδίου του υδρογόνου και κατά συνέπεια σε αύξηση της δράσης της υπεροξειδάσης (Takahama και Oniki, 2000).



Σχήμα 8.2.: τυροσόλη (p-HPEA) [I], υδροξυτυροσόλη (3,4-DHPEA) [II], διαλδεϋδική μορφή της αγλυκόνης της ελαιοευρωπαϊνής (p-HPEA-EDA) [III], διαλδεϋδική μορφή της αγλυκόνης του λιγστροζίτη (3,4-DHPEA-EDA) [IV], p-HPEA-EDA καρβοξυμεθυλιωμένη [V], 3,4-HPEA-EDA καρβοξυμεθυλιωμένη [VI], η αγλυκόνη του λιγστροζίτη (p-HPEA-EA) [VII] και η αγλυκόνη της ελαιοευρωπαϊνής (3,4-DHPEA-EA) [VIII].

8.1. Παράγοντες που επηρεάζουν την σύσταση του ελαιολάδου σε φαινολικές ενώσεις

8.1.1. Ποικιλία

Η σύσταση του παρθένου ελαιολάδου σε φαινολικές ενώσεις, εξαρτάται από την ποικιλία της ελιάς και παρουσιάζει πολύ μεγάλες διακυμάνσεις (Baccouri et al., 2007, Brenes et al., 1999, Esti et al., 1998, Issaoui et al., 2010, Romani et al., 1999, Vinha et al., 2005). Το φαινολικό προφίλ επιτρέπει τη διάκριση των διαφορετικών ποικιλιών ελιάς (Gómez-Alonso et al., 2002, Kalua et al., 2005, Lerma-García et al 2008, Ocakoglu et al., 2009).

8.1.2. Αγρονομικοί παράγοντες

Ο βαθμός ωρίμανσης του καρπού παίζει σημαντικό ρόλο στη σύσταση του ελαιολάδου σε φαινολικές ενώσεις. Όταν ο καρπός είναι ακόμη πράσινος, η ελαιοευρωπαΐνη είναι η βασική φαινολική ένωση με συγκέντρωση που μπορεί να φτάσει μέχρι και 14% του καθαρού βάρους του καρπού (Amiot et al., 1986). Κατά την ωρίμανση, όταν ο καρπός αποκτά σκούρο καφέ χρώμα, η συγκέντρωση των σεκοϊριδοειδών μειώνεται και φτάνει σε χαμηλά επίπεδα (Amiot et al., 1989, Amiot et al., 1986, Morelló et al., 2004b) ως αποτέλεσμα της δραστηριότητας των ενζύμων της εστεράσης που αποδομούν τα σεκοϊριδοειδή και σχηματίζουν άλλες φαινολικές ενώσεις (Gómez-Rico et al., 2008). Με την αποδόμηση της ελαιοευρωπαΐνης κατά την ωρίμανση αυξάνεται η απομεθυλιωμένη ελαιοευρωπαΐνη και ο γλυκοζίτης του ελενολικού οξέος (Amiot et al., 1989). Με την ωρίμανση του καρπού παρατηρείται αύξηση των φαινολικών αλκοολών, υδροξυτυροσόλη και τυροσόλη, του βερμπασκοζίτη και των φλαβονοειδών (κυρίως της λουτεολίνης, του γλυκοζίτη της λουτεολίνης και της ρουτίνης) (Artajo et al., 2006b, Gómez-Rico et al., 2008). Οι φαινολικές ενώσεις, όπως είναι το βανιλικό οξύ, η βανιλίνη, το *p*-κουμαρικό οξύ και το φερουλικό οξύ, με την ωρίμανση του καρπού παραμένουν σταθερές (Amiot et al., 1989). Στους υπερώριμους καρπούς η συγκέντρωση της απομεθυλιωμένης ελαιοευρωπαΐνης μειώνεται σημαντικά (Amiot et al., 1989).

8.1.3. Περιβαλλοντικοί παράγοντες

Οι εδαφοκλιματικές συνθήκες, συνεισφέρουν σημαντικά στη χημική σύσταση του καρπού και κατά συνέπεια και σε αυτή του παρθένου ελαιολάδου (Arslan et al., 2013, Issaoui et al., 2010). Οι υψηλές θερμοκρασίες από την καρπόδεση μέχρι τη συγκομιδή του καρπού σε ορισμένες ποικιλίες μειώνουν τη συγκέντρωση των φαινολικών, ενώ σε κάποιες άλλες έχει παρατηρηθεί και αύξηση της συγκέντρωσης τους (Ripaetal., 2008, Tura et al., 2008). Το πότισμα του ελαιώνα δεν επηρεάζει τη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεις, ιδιαίτερα κατά τα πρώτα στάδια της ωρίμανσης του καρπού, σε δέντρα που ποτίζονται συστηματικά σε σχέση με αυτά που ποτίζονται μόνο από το νερό της βροχής. Σύμφωνα με τους Tovar et al., (2001) αυτό μπορεί να σχετίζεται με γενετική ή άλλη αγρονομική παράμετρο. Οι χαμηλές θερμοκρασίες ($\approx 0^{\circ}\text{C}$) κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης καταστρέφουν τον καρπό και το ελαιόλαδο που παράγεται έχει μικρότερη συγκέντρωση σε σεκοϊριδοειδή λόγω της ρήξης των κυτταρικών τοιχωμάτων που οδηγεί σε οξείδωση των φαινολικών ενώσεων (Morelló et. al., 2006). Οι εντομολογικές (*Bactrocera oleae*) προσβολές στον καρπό της ελιάς παίζουν σημαντικό ρόλο στη σύσταση του ελαιολάδου σε φαινολικές ενώσεις. Η προσβολή των καρπών από τον δάκο έχει ιδιαίτερα αρνητικές επιπτώσεις στη σύσταση του ελαιολάδου σε φαινολικές ενώσεις (Kyriakidis και Dougu, 2002).

8.1.4. Τεχνολογικοί παράγοντες

Οι συνθήκες άλεσης και μάλαξης του ελαιόκαρπου αποτελούν τα στάδια όπου συμβαίνουν οι σημαντικότερες μεταβολές στη φαινολική σύσταση (Angerosa et al., 2001, Di Giovanacchino et al., 1994). Οι παράγοντες που εμπλέκονται στη διαδικασία της εξαγωγής του ελαιολάδου (άλεση, χρόνος και θερμοκρασία μάλαξης, ποσότητα προστιθέμενου νερού) είναι ιδιαίτερα σημαντικοί στη διαμόρφωση του φαινολικού προφίλ του παραγόμενου ελαιολάδου (Di Giovanacchino et al., 1994, Ranalli et al 2001, Torres και Maestri, 2006). Η σύσταση του παρθένου ελαιολάδου σε φαινολικές ενώσεις εξαρτάται από τη δράση των ενδογενών ενζύμων του καρπού τα οποία απελευθερώνονται στην ελαιοζύμη κατά το σπάσιμο του

καρπού και τη μάλαξη. Κατά το σπάσιμο του καρπού, οι γλυκοζίτες της ελαιοευρωπαϊνης, του λιγκστροσιδίου και η απομεθυλιωμένη ελαιοευρωπαϊνή υδρολύονται από τις β-γλυκοσιδάσες και σχηματίζονται οι αγλυκόνες των σεκοϊριδοειδών (Romero-Segura et al., 2009, Ryan et al., 2002). Μετά το σπάσιμο του καρπού και κατά τη διάρκεια της μάλαξης, παρατηρείται μείωση στις φαινολικές ενώσεις λόγω της ενεργοποίησης των ενζύμων πολυφαινολοξειδάση και υπεροξειδάση (Montedoro et al., 2002). Η μείωση στις φαινολικές ενώσεις είναι μεγαλύτερη με αύξηση του χρόνου και της θερμοκρασίας μάλαξης (Gómez-Rico et al., 2009).

Ο διαχωριστήρας αποτελεί ένα ακόμη σημαντικό στάδιο που καθορίζει τη σύσταση του ελαιολάδου σε φαινολικές ενώσεις. Το στάδιο αυτό σχετίζεται με την ποσότητα του νερού που προστίθεται στην ελαιόπαστα καθώς αυτό βοηθά στην απομάκρυνση των φαινολών στην υδατική φάση (Di Giovanacchino et al., 1994, Torres και Maestri, 2006).

8.2. Προσδιορισμός φαινολικών ενώσεων ελαιολάδου

Οι αναλυτικές τεχνικές που έχουν χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό των φαινολικών ενώσεων είναι πολλές και περιλαμβάνουν: χρωματομετρικές μεθόδους, βιοαισθητήρες, χρωματογραφία χάρτου (paper chromatography), χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC), αέρια ή υγρή χρωματογραφία με διαφορετικούς ανιχνευτές (υπεριώδους, φθορισμού, μάζας κλπ), τεχνικές πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) και φασματοσκοπίας υπερύθρου (IR) για το χαρακτηρισμό και την ταυτοποίηση αυτών των ενώσεων, τριχοειδή ηλεκτροφόρηση (CE) κ.α. (Angerosa et al., 1996a, Brenes et al., 2000a, Christophoridou et al., 2005, De la Torre-Carbot et al., 2005, Rovellini και Cortesi, 2002, Ryan et al., 1999, Selvaggini et al., 2006, Tasioula-Margari και Okogeri, 2001a). Ωστόσο, μέχρι πρόσφατα, δεν υπήρχε κάποια επίσημη μεθοδολογία και για το λόγο αυτό τα αποτελέσματα, πολλές φορές δεν είναι συγκρίσιμα μεταξύ τους καθώς η αναλυτική τεχνική που χρησιμοποιείται επηρεάζει τα αποτελέσματα (Carrasco-Pancorbo et al., 2005, Hrnčirik και Fritsche, 2004). Εκτός από τις διακυμάνσεις που προκύπτουν από τις διαφορετικές αναλυτικές τεχνικές, σύγχυση προκαλούν και οι διαφορετικοί τρόποι έκφρασης των συγκεντρώσεων (Pirisi et al., 2000).

Για τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό των επιμέρους φαινολικών ενώσεων χρησιμοποιούνται κυρίως τεχνικές υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC). Η υγρή χρωματογραφία είναι ακριβής και ευαίσθητη μέθοδος, αλλά χρονοβόρα και επίσης κρίνεται απαραίτητη η χρήση πρότυπων ενώσεων ή/και κάποιας τεχνικής ταυτοποίησης, όπως είναι η φασματομετρία μάζας. Η αναλυτική διαδικασία για τον προσδιορισμό των επιμέρους φαινολικών ενώσεων στο παρθένο ελαιόλαδο περιλαμβάνει:

- εκχύλιση του φαινολικού κλάσματος από το δείγμα
- αναλυτικό διαχωρισμό
- ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση.

8.3. Εκχύλιση φαινολικών ενώσεων από το ελαιόλαδο

Για την απομόνωση του φαινολικού κλάσματος από το παρθένο ελαιόλαδο χρησιμοποιούνται δύο βασικές τεχνικές εκχύλισης, η εκχύλιση υγρής-υγρής φάσης (LLE) και η εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE).

Στην LLE, η οποία είναι και η περισσότερο διαδεδομένη μέθοδος, ως διαλύτης χρησιμοποιείται η μεθανόλη ή μίγμα μεθανόλης/νερού (το νερό κυμαίνεται μεταξύ 0 και 40%) ενώ στη συνέχεια ακολουθεί εξάτμιση του διαλύτη και έκπλυση του υπολείμματος συνήθως με εξάνιο (Carrasco-Rancorbo et al., 2005). Η αναλογία μεθανόλη/νερό (80:20, v/v) φαίνεται να παρέχει ικανοποιητικά αποτελέσματα στην εκχύλιση των απλών και υδατοδιαλυτών φαινολικών ενώσεων (Montedoro et al., 1992) και γι' αυτό το λόγο προτείνεται και στην επίσημη μεθοδολογία (IOC, 2009). Ωστόσο, από ορισμένους ερευνητές έχει προταθεί η χρήση 100% μεθανόλης για την αποφυγή δημιουργίας γαλακτώματος (Angerosa et al., 1995). Λιγότερο συχνά χρησιμοποιούνται τα συστήματα: μίγμα ισοπροπανόλης/μεθανόλης (20:80, v/v) που παρέχει ικανοποιητική εκχύλιση των σύνθετων φαινολών (Tasioula-Margari & Okogeri, 2001b), διάλυση σε εξάνιο και εκχύλιση με μίγμα μεθανόλης/ νερού (Evangelisti et al., 1997, Tasioula-Margari και Okogeri, 2001b), καθώς και εκχύλιση με N,N-διμεθυλοφορμαμίδιο (Brenes et al., 2000b).

Η SPE έχει χρησιμοποιηθεί τόσο για την απομόνωση των φαινολικών ενώσεων από το ελαιόλαδο όσο και για τον καθαρισμό του εκχυλίσματος.

Έχουν δοκιμαστεί διάφορα υλικά πλήρωσης μικροστηλών και υπάρχει μεγάλο εύρος όσον αφορά την ανάκτηση. Η εκχύλιση στερεάς φάσης με C₈-SPE παρουσιάζει ικανοποιητική ανάκτηση για τις απλές φαινολικές ενώσεις, ωστόσο, φτωχή ανάκτηση έχει παρατηρηθεί όσον αφορά τα σεκοϊριδοειδή και κυρίως τις αλδεϋδικές μορφές αυτών (Servili et al., 1999). Η diol-SPE σε κάποιες περιπτώσεις φαίνεται να είναι αρκετά αποτελεσματική καθώς έχει αναφερθεί ανάκτηση >90% για τις περισσότερες φαινολικές ενώσεις (Mateos et al., 2001). Οι Bendini et al (2003) με τη χρήση C₁₈-SPE και diol-SPE βρήκαν παρόμοιες ανακτήσεις (74 και 72% αντίστοιχα) για το σύνολο των φαινολικών ενώσεων ενώ με τη χρήση C₈-SPE η ανάκτηση έφτασε το 63%.

8.3.1. Προσδιορισμός συνολικού φαινολικού περιεχομένου

Ο ποσοτικός προσδιορισμός των ολικών φαινολικών ενώσεων στο ελαιόλαδο πραγματοποιείται κυρίως με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu, η οποία είναι ευρέως χρησιμοποιούμενη λόγω της απλότητας και της ταχύτητας της ανάλυσης (Blekas et al., 2002). Η μέθοδος αυτή είναι χρωματομετρική και βασίζεται στην αντίδραση του αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu με τις ομάδες υδροξυλίου των φαινολικών ενώσεων. Η μέθοδος περιλαμβάνει εκχύλιση των φαινολικών ενώσεων και μέτρηση της απορρόφησης μετά την αντίδραση με το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu (Gutfinger, 1981). Το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu στην ανηγμένη μορφή του έχει μπλε χρώμα και μπορεί να μετρηθεί από 500 μέχρι 750 nm (Folin και Ciocalteu, 1927).

Το μεγαλύτερο μειονέκτημα της χρωματομετρικής δοκιμής είναι η μικρή εξειδίκευση, καθώς η αντίδραση μπορεί να γίνει με οποιαδήποτε υδροξυλική φαινολική ομάδα που είναι δυνατόν να οξειδωθεί. Επιπλέον, η μέθοδος δεν κάνει διάκριση μεταξύ μεμονωμένων ενώσεων που διαφέρουν ως προς τη μοριακή μάζα (άρα δεν μπορεί να παρέχει ποσοτικοποίηση για τις επιμέρους φαινολικές ενώσεις) και δομή (δηλαδή τον αριθμό των ενεργών ομάδων υδροξυλίου) (Hrnčirik και Fritsche, 2004). Έτσι, δείγματα με συγκρίσιμο ολικό φαινολικό περιεχόμενο, αλλά διαφορετικό προφίλ, μπορεί να δώσουν πολύ διαφορετικό αποτέλεσμα ή και το αντίθετο. Από την άλλη, δεδομένου ότι η απορρόφηση εξαρτάται κυρίως από τον αριθμό των ομάδων υδροξυλίου, η συγκεκριμένη μέτρηση μπορεί να παρέχει άμεσες πληροφορίες σχετικά με τον

αριθμό των αντιοξειδωτικών φαινολικών ομάδων και συνεπώς σχετίζεται με την οξειδωτική σταθερότητα του παρθένου ελαιολάδου (Blekas et al., 2002).

8.3.2. Χρωματογραφικός προσδιορισμός των φαινολικών ενώσεων

Η ανάγκη για τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό των επιμέρους φαινολικών ενώσεων οδήγησε στην αντικατάσταση των παραδοσιακών μεθόδων με χρωματογραφικές μεθόδους. Ο διαχωρισμός πραγματοποιείται συνήθως με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) σε συστήματα ανάστροφης φάσης και με χρήση πολικών κινητών φάσεων και σε λιγότερες περιπτώσεις με αέρια χρωματογραφία (GC). Η ανίχνευση επιτυγχάνεται με μέτρηση της απορρόφησης στο υπεριώδες, κυρίως με χρήση ανιχνευτή συστοιχίας διόδων (DAD), σε διάφορα μήκη κύματος, ενώ για τον ποιοτικό προσδιορισμό είναι απαραίτητη η χρήση και κάποιας τεχνικής ταυτοποίησης όπως είναι η φασματομετρία μάζας (MS).

8.3.3. Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης

Η υγρή χρωματογραφία ανάστροφης φάσης (HPLC-RP) αποτελεί σήμερα την πιο δημοφιλή και αξιόπιστη τεχνική για την ανάλυση των φαινολικών ενώσεων του ελαιολάδου τόσο ποιοτικά όσο και ποσοτικά. Η στατική φάση συνήθως αποτελείται από ένα πολικό υλικό, όπως το οκταδεκυλοσιλάνιο (C18), ενώ η κινητή φάση είναι κάποιος πολικός διαλύτης. Στην RP-HPLC η βαθμωτή έκλυση συνήθως κρίνεται υποχρεωτική λόγω της πολυπλοκότητας του φαινολικού προφίλ των περισσότερων δειγμάτων ελαιολάδου. Για τη βαθμωτή έκλυση χρησιμοποιούνται δυαδικά συστήματα που περιλαμβάνουν έναν υδατικό διαλύτη και ένα λιγότερο πολικό οργανικό διαλύτη, όπως είναι το ακετονιτρίλιο, η μεθανόλη ή μίγμα αυτών (Mateos et al., 2001, Montedoro et al., 1992, Servili et al., 1999, Tasioula-Margari και Okogeri, 2001a, Tsimidou et al., 1992a). Η μείωση του pH με προσθήκη ενός οξέος (οξικό, μυρμηκικό ή φωσφορικό οξύ) στους διαλύτες συμβάλλει στο να αποφευχθεί η διάσπαση των φαινολικών ενώσεων, ενώ ταυτόχρονα βελτιώνει τη συμμετρία της κορυφής.

Η ανίχνευση των φαινολικών ενώσεων γίνεται με ανιχνευτή υπεριώδους, με μέτρηση της απορρόφησης στα 225, 240, 280 και 340 nm.

Επειδή κάποιες φαινολικές ενώσεις παρουσιάζουν διάφορα μέγιστα απορρόφησης, συνιστάται η χρήση ανιχνευτή ορατού-υπεριώδους με διάταξη διόδων (UV-vis DAD) για ταυτόχρονη μέτρηση των διαφορετικών μηκών κύματος (Esti et al., 1998, Montedoro et al., 1992, Pirisi et al., 1997), ωστόσο όταν δεν υπάρχει η δυνατότητα, το συνηθέστερα χρησιμοποιούμενο μήκος κύματος είναι τα 280 nm, στο οποίο παρουσιάζουν μέγιστη απορρόφηση οι περισσότερες από αυτές τις ενώσεις (Montedoro et al., 1992). Ο ποιοτικός προσδιορισμός των φαινολικών ενώσεων στηρίζεται στη συσχέτιση του χρόνου κατακράτησής τους με τους χρόνους κατακράτησης των πρότυπων ενώσεων. Μειονέκτημα ωστόσο αποτελεί το γεγονός ότι δεν υπάρχουν εμπορικά διαθέσιμα πρότυπα για όλες τις ενώσεις, κάτι που μπορεί, εν μέρει, να ξεπεραστεί με την απομόνωση αυτών των ενώσεων με παρασκευαστική HPLC (Andrewes et al., 2003, Mateos et al., 2001, Owen et al., 2000a).

Στην υγρή χρωματογραφία, ο ανιχνευτής μάζας είναι επίσης ευρέως διαδεδομένος για την ταυτοποίηση των φαινολικών ενώσεων του ελαιολάδου. Στην ανάλυση των φαινολικών έχει χρησιμοποιηθεί ο χημικός ιοντισμός ατμοσφαιρικής πίεσης (APCI) και ο ηλεκτροψεκασμός (ESI) (de la Torre-Carbot et al., 2005). Οι φαινολικές ενώσεις δίνουν κορυφές μεγαλύτερης έντασης σε θετικό ιοντισμό, ωστόσο συνήθως επιλέγεται λειτουργία αρνητικού ιοντισμού γιατί έτσι λαμβάνονται καθαρότερα χρωματογραφήματα λόγω μειωμένου χημικού θορύβου (Bianco et al., 2001). Η ταυτοποίηση των φαινολικών ενώσεων βασίζεται σε ψευδομοριακά [M-H] ιόντα, διμερή και θραύσματα (de la Torre-Carbot et al., 2005).

Στις περιπτώσεις που τα δεδομένα της φασματομετρίας μάζας δεν επαρκούν για να εξαχθεί ασφαλές συμπέρασμα για τη δομή της ένωσης, χρησιμοποιείται φασματοσκοπία NMR ή 2D NMR, ως συμπληρωματική τεχνική. Ωστόσο, τα φάσματα NMR των φαινολικών ενώσεων είναι περίπλοκα και η ταυτοποίηση των ενώσεων είναι ιδιαίτερα δύσκολη όταν δεν υπάρχουν τα κατάλληλα πρότυπα. Από την άλλη πλευρά η 2D NMR μπορεί να χρησιμοποιηθεί για ανάλυση της δομής χωρίς πρότυπες ενώσεις, αλλά η τεχνική αυτή απαιτεί σχετικά μεγάλες ποσότητες των ενώσεων. Στις περισσότερες περιπτώσεις πάντως, ο συνδυασμός των UV, MS, και H-NMR παρέχει επαρκείς πληροφορίες για τη διευκρίνιση της δομής (Hrnčirik και Fritsche, 2004, Mateos et al., 2001, Owen et al., 2000a, Owen et al., 2000b).

8.3.4. Αέρια χρωματογραφία

Ο ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός των φαινολικών ενώσεων του ελαιολάδου μπορεί να επιτευχθεί και με αέρια χρωματογραφία (GC). Η χρήση της αέριας χρωματογραφίας προϋποθέτει ότι οι ενώσεις που εγχέονται είναι πτητικές στη θερμοκρασία ανάλυσης και ότι δεν αποσυντίθενται στην θερμοκρασία της έγχυσης ή της ανάλυσης. Στις τυποποιημένες αναλυτικές μεθόδους, ο ανιχνευτής ιονισμού φλόγας (FID) είναι ο πιο ευρέως χρησιμοποιούμενος, ενώ η φασματομετρία μάζας επιτρέπει την απόκτηση δεδομένων για την ταυτοποίηση των ενώσεων. Οι Angerosa et al (1996a) με τη χρήση GC-MS ταυτοποίησαν απλές και σύνθετες φαινολικές ενώσεις του ελαιολάδου. Χρησιμοποιήθηκε επίσης συνδυασμός HPLC και GC-MS για την ταυτοποίηση των σεκοϊριδοειδών του ελαιολάδου (Tasioula-Margari και Okogerí, 2001a). Ωστόσο, η μικρή πτητικότητα των φαινολικών ενώσεων και η ανάγκη ενός βήματος παραγωγοποίησης καθιστούν περιορισμένη τη χρήση της αέριας χρωματογραφίας στον προσδιορισμό αυτών.

8.4. Ποσοτικοποίηση των φαινολικών ενώσεων

Για την ποσοτικοποίηση των φαινολικών ενώσεων δεν υπάρχει ένας ενιαίος τρόπος έκφρασης και για το λόγο αυτό οι συγκεντρώσεις που δίνονται στη βιβλιογραφία τις περισσότερες φορές δεν είναι συγκρίσιμες (Pirisi et al., 2000). Ο ποσοτικός προσδιορισμός των φαινολικών ενώσεων, όταν αυτό είναι δυνατό, γίνεται με τη χρήση διαθέσιμων εμπορικών προτύπων. Ωστόσο, τα σεκοϊριδοειδή τα οποία αποτελούν και το σημαντικότερο μέρος του φαινολικού κλάσματος του παρθένου ελαιολάδου δεν είναι εμπορικά διαθέσιμα και έτσι έχουν προταθεί εναλλακτικές μέθοδοι για την ποσοτικοποίησή τους.

Οι Mateos et al (2001) υπολόγισαν τους συντελεστές απόκρισης αυτών των ενώσεων σε σχέση με εσωτερικά πρότυπα, όπως το *p*-υδροξυφαινυλοξικό οξύ και το *o*-κουμαρικό οξύ. Τα παράγωγα της υδροξυτυροσόλης και τυροσόλης έδειξαν παρόμοιους συντελεστές απόκρισης (mmol/kg). Οι de la Torre-Carbotetal (2005) χρησιμοποίησαν πρότυπη τυροσόλη για την ποσοτική έκφραση της υδροξυτυροσόλης, ελαιοευρωπαΐνη για την έκφραση των σεκοϊριδοειδών και λουτεολίνη για την έκφραση των φλαβονοειδών.

Επιπλέον, έχει προταθεί η χρήση των εμπορικά διαθέσιμων προτύπων, τυροσόλη, ελαιοευρωπαϊνή και πινορεσινόλη, για τον προσδιορισμό των παραγώγων της τυροσόλης, των παραγώγων της υδροξυτυροσόλης και των λιγνανών αντίστοιχα, λαμβάνοντας υπόψη ότι έχουν παρόμοιους συντελεστές απόκρισης (Daskalaki et al., 2009).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9

ΠΤΗΤΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

Στα πτητικά συστατικά που συνεισφέρουν στο άρωμα του ελαιολάδου συγκαταλέγονται κυρίως, αλδεΐδες, κετόνες, αλκοόλες, εστέρες και υδρογονάνθρακες (Aparicio et al., 1997, Flath et al., 1973). Από αυτές, οι ενώσεις με 5 και 6 άτομα άνθρακα και κυρίως οι γραμμικές κορεσμένες και ακόρεστες αλδεΐδες αποτελούν το σημαντικότερο μέρος του πτητικού κλάσματος των παρθένων ελαιολάδων υψηλής ποιότητας και συνεισφέρουν στο χαρακτηριστικό «πράσινο» άρωμα (Aparicio και Morales, 1998, Kalua et al., 2007). Οι περισσότερες πτητικές ενώσεις που συμβάλλουν ευνοϊκά στο άρωμα του παρθένου ελαιολάδου είναι οι αλδεΐδες και οι αλκοόλες, οι οποίες συνεισφέρουν στη γλυκύτητά του. Οι αλδεΐδες απαντώνται στο ελαιολάδο σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σε σχέση με τα άλλα πτητικά συστατικά του και αποτελούν περίπου το 50-75% του συνόλου των πτητικών συστατικών (Montedoro et al., 1978). Οι μεγάλης αλυσίδας αλδεΐδες και αλκοόλες χαρακτηρίζουν τα ελατώματα στο ελαιολάδο που συνδέονται με την οξειδωση κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης του (Kalua et al 2007). Μερικά από τα κυριότερα πτητικά συστατικά του ελαιολάδου περιλαμβάνουν τις ενώσεις με 6 άτομα άνθρακα εξανάλη και *cis*-3-εξενάλη. Οι ενώσεις εξανάλη και *cis*-3-εξενάλη ισομερίζονται στην περισσότερο σταθερή ένωση *trans*-2-εξενάλη οποία ανάγεται σε *trans*-2-εξενόλη. Τα πτητικά αυτά συστατικά συνεισφέρουν στον φρουτώδη χαρακτήρα του αρώματος του. Επίσης οι ενώσεις 3-μεθυλοβουτανόλη, οξικός βουτυλεστέρας, μεθυλοβουτανάλη-3, οξικός εξυλεστέρας και εννεανικός μεθυλεστέρας είναι από τα κυριότερα πτητικά συστατικά του παρθένου ελαιολάδου (Montedoro et al., 1978).

Τα πτητικά συστατικά του ελαιολάδου είναι είτε λιπόφιλα είτε υδρόφιλα. Συνεπώς η διαδικασία της μάλαξης κατά την επεξεργασία του καρπού προκαλεί αύξηση στα επίπεδα των λιπόφιλων συστατικών (αλδεΐδες, εστέρες) και μείωση στα επίπεδα των υδρόφιλων συστατικών (αλκοόλες). (Montedoro et al., 1978).

Ο σχηματισμός των C5 και C6 πτητικών συστατικών, που συνεισφέρουν στη διαμόρφωση του χαρακτηριστικού αρώματος του ελαιολάδου, ξεκινά από τον ελαιοκάρπο και οφείλεται σε μία αλληλουχία

ενζυμικών αντιδράσεων, γνωστή και ως «βιοσυνθετική οδός της λιποξυγενάσης» (Hatanaka, 1993, Olias et al., 1993). Η ανάπτυξη αυτών των ενώσεων εξαρτάται από την ποικιλία της ελιάς, το στάδιο ωρίμανσης την κατάσταση υγείας του καρπού (Aparicio και Luna, 2002, Salas et al., 1999), τις συνθήκες αποθήκευσης του καρπού πριν την εξαγωγή του ελαιολάδου καθώς και από τη θερμοκρασία και τη διάρκεια της μάλαξης (Angerosa et al., 2001, Korriνηjak et al., 2000, Salas και Sánchez, 1998). Μετά την εξαγωγή του ελαιολάδου, το αρωματικό προφίλ διαμορφώνεται κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης καθώς ξεκινάει η οξειδωση των λιπαρών οξέων (Kalua et al., 2008, Kanavouras et al., 2004, Morales et al., 1997).

Η βιοσύνθεση των πτητικών ενώσεων που έχουν σημαντική συνεισφορά στο άρωμα του παρθένου ελαιολάδου οφείλεται:

- στο βιοσυνθετικό μονοπάτι της λιποξυγενάσης
- και στο μεταβολισμό των λιπαρών οξέων και στη βιοσύνθεση και τον μεταβολισμό των αμινοξέων.

Η αντίδραση της λιποξυγενάσης αρχίζει με την απελευθέρωση των ενζύμων κατά την άλεση του ελαιοκάρπου. Η πορεία της αντίδρασης περιλαμβάνει μια σειρά ενζύμων που οξειδώνουν (λιποξυγενάση) και διασπούν (υδροϋπεροξειδική λυάση) πολυακόρεστα λιπαρά οξέα προς αλδεΐδες. Οι αλδεΐδες στη συνέχεια ανάγονται σε αλκοόλες (από την αλκοολική αφυδρογονάση) και εστεροποιούνται (από την ακυλοτρανσφεράση). Στο σχήμα 9.1. φαίνεται η πορεία σχηματισμού των βασικών πτητικών συστατικών του ελαιολάδου.

9.1. Σύσταση του πτητικού κλάσματος του ελαιολάδου και συνεισφορά στο άρωμα

Έχουν προσδιοριστεί πλήθος πτητικών ενώσεων στο πτητικό κλάσμα των ελαιολάδων, ωστόσο, από αυτές τις ενώσεις δεν συνεισφέρουν όλες στο άρωμα του παρθένου ελαιολάδου (Angerosa et al., 2004).

Οι πτητικές ενώσεις που συναντάμε κυρίως στο ελαιολάδο έχουν 5 έως 20 άτομα άνθρακα. Αυτές περιλαμβάνουν αλκοόλες, αλδεΐδες, εστέρες, κετόνες, φαινόλες, λακτόνες, τερπενοειδή και κάποια παράγωγα του φουρανίου (Aparicio et al., 1996, Aparicio et al., 1997, Bortolomeazzi et al., 2001, Flath et al., 1973, Guth και Grosch, 1991, Morales et al., 1995, Pouliarekou et al., 2011, Reiners και Grosch, 1998, Servili et al., 1995, Temime et al., 2006, Vichi et al., 2003a, Vichi et al., 2003b, 2005, Vichi et al., 2008). Οι Kalua et al (2007) αναφέρουν ότι οι αλδεΐδες και οι αλκοόλες συμβάλλουν θετικά στις ιδιότητες του ελαιολάδου και του παρέχουν την πικάντικη γεύση που συσχετίζεται με την πικράδα. Ειδικότερα, οι οσμές του πράσινου μήλου και του φρουτώδους - πικάντικου αναγνωρίστηκαν και αποδόθηκαν στην E-2- πεντενάλη και την πεντανόλη, αντίστοιχα (Baccouri et al 2007, Kalua et al 2007). Το σύνολο των πτητικών ενώσεων με πέντε και έξι άτομα άνθρακα είναι αυτές που κυρίως συνεισφέρουν στα θετικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και συγκεκριμένα στο συνολικό «πράσινο» άρωμα (Aparicio και Morales, 1998, Kalua et al., 2007). Από τις πτητικές ενώσεις, με πέντε και έξι άτομα άνθρακα, αυτή που βρίσκεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση είναι η (E)-2-εξενάλη, η οποία στην πραγματικότητα έχει χαρακτηριστικό άρωμα «κομμένου γρασιδιού», «μήλου» και «πικραμύγδαλου». Αποτελεί το κύριο πτητικό συστατικό του ελαιολάδου και συμβάλλει στο φρουτώδες άρωμά του (Williams et al., 1998). Οι Angerosa et al (1997) και οι Montedoro et al (1978) έδειξαν ότι κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης της ελιάς το ποσοστό της E-2-εξενάλης, αυξάνεται στο μέγιστο, την χρονική στιγμή της αλλαγής του χρώματος του ελαιοκάρπου από κιτρινοπράσινο σε πορφυρό (Angerosa et al., 1999, Montedoro et al., 1978).

Η εξανάλη και η (Z)-3-εξενάλη, που συνήθως είναι οι επόμενες σε συγκέντρωση αλδεΐδες συνδέονται με το «φρέσκο πράσινο» άρωμα. Η εξανάλη, είναι ένωση που αυξάνεται κατά την αποθήκευση και αν ξεπεράσει

κάποια συγκέντρωση προσδίδει αρνητικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Το ποσό της εξανάλης δεν διαφοροποιείται στα οξειδωμένα και στα παρθένα ελαιόλαδα διότι η ένωση αυτή προέρχεται και από τις ενζυμικές και χημικές διαδικασίες οξείδωσης (Morales et al., 1997, Vichi et al., 2003a). Η αναλογία της εξανάλης στα συνολικά πτητικά αλδεϋδών είναι ιδιαίτερου ενδιαφέροντος και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ακόμη και για τον προσδιορισμό της προσβολής του ελαιοκάρπου από το δάκο της ελιάς. Έχει παρατηρηθεί ότι ελαιόλαδα που προκύπτουν από ελιές με αυξημένα ποσοστά δακοπροσβολής έχουν υψηλότερα ποσοστά εξανάλης οπότε τα επίπεδα συγκέντρωσης της εξανάλης μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως ένας σχετικός δείκτης προσβολής του ελαιοκάρπου από το δάκο (Angerosa et al., 1992).

Υπάρχουν πτητικές ενώσεις που σχηματίζονται στο οξειδωμένο ελαιόλαδο ανεξάρτητα από τις εξωτερικές συνθήκες. Οι αλδεϋδες πεντανάλη, εξανάλη, οκτανάλη και εννεανάλη είναι οι σημαντικότερες απ' αυτές τις πτητικές ενώσεις (Kiritsakis et al., 1998, Morales et al., 1997). Ενώ οι περισσότερες μελέτες έχουν χρησιμοποιήσει την εννεανάλη ως δείκτη οξείδωσης, οι Solinas και συν (1987), παρατήρησαν ότι οι κύριοι οξειδωτικοί δείκτες ήταν η 2-πεντανάλη και η 2-επτενάλη. Οι Snyder και συν (1985), βρήκαν ότι οι αρωματικές καρβονυλικές ενώσεις όπως η εξανάλη, η πεντανάλη, η οκτανάλη και η εννεανάλη είναι οι κυριότερες ενώσεις που σχηματίζονται στο οξειδωμένο λάδι (Snyder et al., 1985). Σύμφωνα με τους Blekas και Guth 1993, η οκτανάλη, είναι ένωση που κυρίως συμβάλει στις εναλλαγές της γεύσης του ελαιολάδου (Blekas και Guth, 1993). Σύμφωνα με τους Solinas και συν (1988), η ύπαρξη της οκτανάλης, εννεανάλης και της εξανάλης-2 στο ελαιόλαδο είναι χαρακτηριστικό της ελαιοκαλλιέργειας (Solinas et al., 1988). Οι ενώσεις όπως εννεανάλη, οκτανάλη, και 2-επτενάλη, αποδείχθηκε ότι συσχετίζονται με τις ατέλειες στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του παρθένου ελαιολάδου (Morales et al., 1997, Vichi et al., 2003b).

Η 1-εξανόλη, η (E)-2-εξέν-1-όλη και η (Z)-3-εξεν-1-όλη έχουν συσχετιστεί με το «ώριμο φρουτώδες», «πικρό» και «απαλό πράσινο», ωστόσο η συνεισφορά τους στο συνολικό άρωμα δεν είναι σημαντική λόγω των υψηλών κατωφλιών οσμής τους. Η 1-εξανόλη παράγεται σε μικρές ποσότητες από τα περισσότερα φυτά και προσελκύει τα έντομα. Αποτελεί

συστατικό του αρώματος των λουλουδιών (Angerosa et al 1999) και χρησιμοποιείται στην αρωματοποιία.

Μεταξύ των δευτερευόντων πτητικών ενώσεων που ανιχνεύτηκαν σε ελαιόλαδα, οι ενώσεις: οκτάνιο, επτανάλη, E-2-επτενάλη, οκτανάλη και εννεανάλη οφείλονται στις αντιδράσεις αυτοοξειδωσης που αρχίζουν αναπόφευκτα αφότου έχει εξαχθεί το παρθένο ελαιόλαδο (Morales et al., 1997). Οι Morales και συν. (2005) αναφέρουν ότι σχεδόν όλες αυτές οι πτητικές ουσίες είναι υπεύθυνες για την απώλεια γεύσης στα παρθένα ελαιόλαδα τα οποία έχουν υποστεί οξειδωση (Morales et al., 2005).

Οι Kalua και συν (2007) αναφέρουν ότι τα καρβοξυλικά οξέα με δύο ή τρία άτομα άνθρακα συνδέονται με τη μικροβιακή ζύμωση και άλλα πιθανά ελαττώματα του ελαιοκάρπου τα οποία και μπορούν να αντιμετωπιστούν, ενώ εκείνα με περισσότερα άτομα άνθρακα συνδέονται με το οξειδωτικό τάγγισμα και κατά συνέπεια την υποβάθμιση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του ελαιολάδου (Kalua et al., 2007). Γενικά, τα καρβοξυλικά οξέα συνδέονται με την όξινη και πικάντικη γεύση του ελαιολάδου, συνώνυμη με τις γευστικές αλλοιώσεις του. Άλλες μελέτες αναφέρουν ότι η παρουσία οξικού οξέος στον υπερκείμενο χώρο στις συσκευασίες του ελαιολάδου είναι αποτέλεσμα της διαδικασίας ζύμωσης του καρπού. Το οξικό οξύ έχει ως αποτέλεσμα την απώλεια γεύσης (Angerosa, 2000, Morales et al., 2005).

Τέλος, οι ενώσεις με 5 άτομα άνθρακα που προέρχονται από το βιοσυνθετικό μονοπάτι της LOX, επίσης συνεισφέρουν στα θετικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και οι νότες τους έχουν χαρακτηριστεί ως «πράσινες», «ευχάριστες», «γλυκές» και «φράουλας» (Aparicio και Luna, 2002, Luna et al 2006, Morales et al., 2005, Reiners and Grosch, 1998).

9.2. Παράγοντες που επηρεάζουν το σχηματισμό και τα επίπεδα των πτητικών συστατικών

Στην πραγματικότητα, η ποικιλία, η γεωγραφική περιοχή, ο βαθμός ωρίμανσης του ελαιοκάρπου, και οι μέθοδοι επεξεργασίας επηρεάζουν τη σύνθεση του ελαιολάδου όσον αφορά τα πτητικά του συστατικά (Angerosa et al., 1998, Aparicio και Morales, 1998, Ben Temime, et al 2006, Haddada, et al

2007). Ο σχηματισμός και η συγκέντρωση των πτητικών συστατικών στο ελαιόλαδο σχετίζονται με πολλούς παράγοντες όπως είναι:

- Η ποικιλία, η επίδραση της οποίας στη συγκέντρωση των C6 ενώσεων αποδεικνύεται με τη σύγκριση του πτητικού κλάσματος ελαιολάδων που παραλαμβάνονται από ελιές που βρισκόταν στο ίδιο στάδιο ωρίμανσης και με τις ίδιες συνθήκες εξαγωγής. Οι διαφορές στη σύσταση οφείλονται στις διαφορές στη συγκέντρωση υποστρωμάτων, τόσο των λιπαρών οξέων όσο και των ενζύμων (Aragicio και Luna, 2002).
- Οι αρωματικές - πτητικές ενώσεις του ελαιολάδου αυξάνονται ανάλογα με το βαθμό ωριμότητας του ελαιοκάρπου (Aragicio και Morales, 1998, Kiritsakis et al., 1998, Ranalli et al., 1998). Το στάδιο ωρίμανσης του καρπού, με την υψηλότερη συγκέντρωση πτητικών συστατικών στο ελαιόλαδο παρατηρήθηκε την περίοδο που ο ελαιοκάρπος αρχίζει να αλλάζει χρώμα από πρασινοκίτρινο σε μελανοϊώδες. Από το στάδιο αυτό της ωρίμανσης του έως τον πλήρη χρωματισμό του καρπού παρατηρείται μείωση της συγκέντρωσης των συστατικών αυτών. Οι περισσότερες από τις C6-αλδεΐδες παρουσιάζουν την μεγαλύτερη συγκέντρωση στο στάδιο που η ελιά από πράσινη αρχίζει να μεταχρωματίζεται σε μωβ, ενώ στα πρώιμα στάδια ωρίμανσης, τα ποσά των C6-αλδεΐδων είναι συγκρίσιμα με εκείνα των αλκοολών (Angerosa & Basti, 2001). Η περιεκτικότητα σε C6 πτητικές ενώσεις μειώνεται στα ελαιόλαδα που προέρχονται από ώριμες ελιές (Salas et al., 1999, Salas και Sánchez, 1998). Η μείωση είναι πιο έντονη κατά την αποθήκευση του καρπού πριν την επεξεργασία παραλαβής του ελαιολάδου, εξαιτίας διαφόρων ενζυμικών αντιδράσεων (Montedoro et al., 1978). Μείωση παρατηρείται για τις περισσότερες από τις αλδεΐδες που παράγονται μέσω της αντίδρασης της λιποξυγενάσης εκτός από τη (Z)-3-εξενάλη, η οποία αυξάνει με την ωρίμανση (Aragicio και Morales, 1998). Οι κυριότεροι δείκτες ωρίμανσης του ελαιοκάρπου είναι η (E)-3-εξεν-1-όλη, η (Z)-3-εξεν-1-όλη, η (E)-2-εξεν-1-όλη, η εξενάλη και ο οξικός εξυλεστέρας (Aragicio και Morales, 1998). Επιπλέον, πρόσφατες έρευνες αναφέρουν ότι η σύνθεση σε πτητικά συστατικά του παρθένου ελαιολάδου επηρεάζεται από την άρδευση και το στάδιο ωρίμανσης της ελιάς. Διαπιστώθηκε ότι τα επίπεδα σημαντικών πτητικών συστατικών μειώνονται κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης του ελαιοκάρπου και είναι πιο

υψηλά σε ελαιόλαδα που προέρχονται από ποτιστικές καλλιέργειες ελαιώνα (Gomez-Rico et al., 2006).

- Οι περιβαλλοντικές συνθήκες έχουν πιθανώς έμμεση επίπτωση λόγω του ότι επηρεάζουν τον βαθμό ωρίμανσης (Angerosa et al., 1999). Οι καρποί της ίδιας ποικιλίας που ευδοκιμεί και καλλιεργείται στις διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές και με τις διαφορετικές πρακτικές καλλιέργειας παράγουν ελαιόλαδα με διαφορετικές πτητικές ενώσεις (Angerosa et al., 1999, Benincasa et al., 2003, Prenzler et al., 2002, Ridolfi et al., 2002, Sacchi et al., 1998). Ο ελαιόκαρπος της ίδιας ποικιλίας που καλλιεργείται σε διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές παράγει ελαιόλαδο με διαφορετικές πτητικές ενώσεις (Angerosa et al., 1999, Baccouri et al., 2007, Ben Temime et al., 2006, Haddada et al., 2007).
- Η αποθήκευση του καρπού πριν από την επεξεργασία τους δεν ενδείκνυται. Παρατεταμένη αποθήκευση είτε των καρπών της ελιάς είτε του ελαιολάδου παράγει πτητικές ενώσεις που είναι υπεύθυνες για την απώλεια της γεύσης τους (Kiritsakis et al., 1998) με αποτέλεσμα το ελαιόλαδο να έχει χαρακτηριστικά ανεπιθύμητη οσμή (Garcia et al., 1996). Επιπρόσθετα παρατηρείται μείωση στις πτητικές ενώσεις, που είναι υπεύθυνες για τα θετικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, εξαιτίας διαφόρων ενζυμικών αντιδράσεων (Montedoro et al., 1978). Οι οσμές που αναδεικνύονται λόγω της δράσης των μικροοργανισμών μπορεί να είναι η μούχλα και το κρασώδες-ξιδάτο (Angerosa et al., 1996b, Morales et al., 2005, Schnürer et al., 1999). Οι ελιές θα πρέπει να υποβάλλονται σε επεξεργασία το συντομότερο δυνατόν μετά τη συγκομιδή (Di Giovacchino, 2013).
- Οι τεχνολογικοί παράγοντες, και ειδικότερα, ο χρόνος μάλαξης και η θερμοκρασία, δίνουν ελαιόλαδα με διαφορετικές γεύσεις (Angerosa et al., 1998). Κατά την μάλαξη της ελαιοζύμης, η LOX που έχει απελευθερωθεί από τα κυτταρικά τοιχώματα, μετατρέπει τα ακόρεστα λιπαρά οξέα, λινολενικό και λινελαϊκό, σε C6 και C5 πτητικές ενώσεις οι οποίες συμβάλλουν στο «πράσινο» άρωμα και συσσωρεύονται καθώς προχωρεί η διαδικασία της μάλαξης (Angerosa et al., 2001). Αύξηση παρατηρείται κυρίως στις αλκοόλες και στις καρβονυλικές ενώσεις, όπως η (E)-2-εξενάλη και η εξανάλη, ενώ οι εστέρες και κυρίως ο (Z)-3-οξικός εξενυλεστέρας μειώνονται με την αύξηση

του χρόνου μάλαξης (Angerosa et al., 2001). Η θερμοκρασία μάλαξης υψηλότερη από 25 °C μειώνει τη δραστηριότητα των δύο βασικών ενζύμων που εμπλέκονται στην οδό της LOX, δηλαδή της ίδιας της LOX και της HPL (Salas et al., 1999, Salas και Sánchez, 1999). Η μερική αναστολή των ενζύμων αυτών μειώνει το σχηματισμό των C6 κορεσμένων και ακόρεστων αλδεϋδών, αλκοολών και εστέρων που είναι υπεύθυνες για τις «πράσινες», «φρουτώδεις» και «λουλουδάτες» νότες (Angerosa et al., 2001). Σε ελαιόλαδα που λαμβάνονται από ελαιοτριβεία τα οποία χρησιμοποιούν πέτρα αντί για σπαστήρα παρατηρείται αύξηση των πτητικών ενώσεων σε σχέση με εκείνα που λαμβάνονται μετά από σπάσιμο του ελαιόκαρπου με μεταλλικό σπαστήρα (Angerosa και Di Giacinto, 1995, Angerosa et al., 1998).

- Η αποθήκευση του ελαιοκάρπου συμβάλλει στη γεύση και την ποιότητα του ελαιολάδου (Angerosa, 2002, Venkateshwarlu et al., 2004). Η αποθήκευση προκαλεί οξείδωση των τριγλυκεριδίων και των παραγώγων τους καθώς και αλλαγές που μεταβάλλουν το άρωμα και τη γεύση του ελαιολάδου μειώνοντας την υψηλή διατροφική του αξία (Morales et al., 1997, Velasco και Dobarganes, 2002). Κατά την αποθήκευση παρατηρείται μείωση των πτητικών ενώσεων που είναι υπεύθυνες για το ευχάριστο άρωμα του ελαιολάδου ενώ ταυτόχρονα αναδεικνύονται ανεπιθύμητες ενώσεις. Οι 2-οκτενάλη, 2-επτενάλη και 2-δεκενάλη θεωρούνται οι περισσότερες υπεύθυνες για το ελάττωμα του «ταγγού» λόγω του πολύ χαμηλού κατωφλιού οσμής (Morales et al., 2005). Η οξείδωση του ελαιολάδου αλλά και γενικότερα όλων των λιπαρών υλών οφείλεται στη δράση πολλών παραγόντων όπως το οξυγόνο, η θερμοκρασία, το φως, και η διαθεσιμότητα σε οξυγόνο. Σε υψηλές θερμοκρασίες, υπάρχει μια αύξηση στο ρυθμό της οξείδωσης αλλά ταυτόχρονα και μείωση της διαλυτότητας του οξυγόνου στο ελαιόλαδο. Το οξυγόνο έρχεται σε επαφή με την λιπαρή ύλη εάν είναι διαλυμένο σε αυτή είτε κατά τις μεταγίσεις του στις δεξαμενές αποθήκευσης, είτε κατά τη διαδικασία της συσκευασίας. Επίσης, η λιπαρή ύλη έρχεται σε επαφή με οξυγόνο στη διεπιφάνεια αέρα – ελαίου μέσα στη δεξαμενή αποθήκευσης ή του δοχείου συσκευασίας. Η ποσότητα του διαλυμένου οξυγόνου στο ελαιόλαδο ποικίλει και εξαρτάται από την διάρκεια επαφής του ελαιολάδου με τον αέρα και οδηγεί σε σχηματισμό υδροϋπεροξειδίων με μεγαλύτερο ρυθμό από τον ρυθμό αποσύνθεσής τους κάτι που οδηγεί στην παραγωγή καρβοξυλικών οξέων

(Velasco και Dobarganes, 2002). Όσο περισσότερο χρόνο εκτίθεται το ελαιόλαδο στον αέρα τόσο μεγαλύτερη είναι η ποσότητα του οξυγόνου δεσμεύεται και τόσο πιο γρήγορα οξειδώνεται. Η συσκευασία του ελαιολάδου σε συνθήκες κενού ή σε ατμόσφαιρα αδρανούς αερίου βοηθούν στην αποφυγή της οξειδωτικής τάγγισης του ελαιολάδου (Κυριτσάκης, 1993). Πτητικές ενώσεις που ανιχνεύονται στα πιο προχωρημένα στάδια της οξείδωσης είναι το 2-πεντυλ-φουράνιο (Vichi et al., 2003b). Έχει παρατηρηθεί ότι κατά τη διάρκεια της οξείδωσης αυξάνει ο ρυθμός σχηματισμού των πτητικών ενώσεων εννεανάλη, εξανάλη και οκτάνιο, αλλά και σε μικρότερο βαθμό των 2-πεντυλο-φουράνιο, (E)-2-προπενάλη και 2,4-επταδιενάλη. Αυτές οι ενώσεις μπορούν να θεωρηθούν ως δείκτες της οξείδωσης εκτός από την εξανάλη (Vichi et al., 2003b). Η συγκέντρωση της εξανάλης δεν διακρίνει τα οξειδωμένα από τα παρθένα ελαιόλαδα καθώς αυτή η ένωση προέρχεται τόσο από χημικές όσο και από ενζυματικές πορείες οξείδωσης (Morales et al., 1997, Vichi et al., 2003b). Άλλοι προτεινόμενοι δείκτες οξείδωσης είναι οι C6 αλκοόλες και C5 κετόνες (Cavalli et al., 2004) καθώς και η αναλογία εξανάλη/εννεανάλη (Morales et al., 1997).

9.3. Αναλυτικός προσδιορισμός των πτητικών ενώσεων του ελαιολάδου

9.3.1. Παραλαβή των πτητικών ενώσεων από το δείγμα

Οι τεχνικές παραλαβής των πτητικών συστατικών από το δείγμα μπορούν να χωριστούν σε δύο κατηγορίες ανάλογα με το αν περιλαμβάνουν στάδιο εμπλουτισμού ή όχι (Morales και Tsimidou, 2000). Στις τεχνικές που δεν περιλαμβάνουν στάδιο εμπλουτισμού, ανήκουν η τεχνική της απ' ευθείας έγχυσης του δείγματος (Direct injection, DI) και η τεχνική της κατανομής στην υπερκείμενη αέρια φάση του δείγματος ή Static Headspace (SHS). Στις δυο αυτές τεχνικές το μεγαλύτερο μειονέκτημα είναι ότι δεν επιτρέπουν την ανίχνευση ενώσεων που βρίσκονται σε πολύ χαμηλή συγκέντρωση (Morales και Tsimidou, 2000). Στις τεχνικές που περιλαμβάνουν στάδιο εμπλουτισμού ανήκουν οι τεχνικές απόσταξης και παράλληλης εκχύλισης του αποστάγματος (SDE), θερμικής εκρόφησης μετά από εκδίωξη με διαβίβαση αδρανούς αερίου

και προσρόφηση σε ειδικό πολυμερικό υλικό (DHS), μικροεκχύλισης στερεής φάσης (SPME), εκχύλισης με ρευστό σε υπερκρίσιμη κατάσταση (SCE) και εκχύλισης με διαλύτη (Headspace sorptive extraction-HSSE). Οι πιο συνήθεις μέθοδοι που χρησιμοποιούνται στην ανάλυση των πτητικών ενώσεων του ελαιολάδου περιλαμβάνουν τεχνικές με ένα στάδιο εμπλουτισμού.

Η τεχνική της θερμικής εκρόφησης μετά από εκδίωξη με διαβίβαση αδρανούς αερίου και προσρόφηση σε ειδικό πολυμερικό υλικό (dynamic headspace-DHS) είναι αυτή που εφαρμόζεται συχνότερα. Κατά την εφαρμογή αυτής της τεχνικής, τα πτητικά συστατικά εκδιώκονται από το δείγμα με διαβίβαση αδρανούς αερίου (άζωτο ή ήλιο). Το αέριο μαζί με τα πτητικά συστατικά διέρχεται από μια διάταξη εφοδιασμένη με κατάλληλο προσροφητικό υλικό (παγίδα), όπως Tenax, ενεργό άνθρακα, κ.τ.λ, στην οποία προσροφούνται τα πτητικά συστατικά. Η παγίδα εισάγεται στον αέριο χρωματογράφο και οι ουσίες εκροφούνται θερμικά. Τα προσροφητικά υλικά που χρησιμοποιούνται στον προσδιορισμό των πτητικών ενώσεων του ελαιολάδου είναι το Tenax (Aparicio et al., 1996, Morales et al., 1995, Morales et al., 1996) και ο άνθρακας (Angerosa et al., 2001, Olias et al., 1993).

Η μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (SPME) αποτελεί μια πολύ απλή και αρκετά αποτελεσματική τεχνική παραλαβής των πτητικών συστατικών από τα τρόφιμα. Για την εκχύλιση των πτητικών συστατικών του δείγματος χρησιμοποιείται μια ίνα κατασκευασμένη από διοξείδιο του πυριτίου η οποία έχει καλυφθεί με ένα ειδικό πολυμερικό υλικό που αποτελεί τη στατική φάση. Τα πτητικά συστατικά του δείγματος ή της υπερκείμενης αέριας φάσης του δείγματος αλληλεπιδρούν με το πολυμερικό υλικό και συγκρατούνται με προσρόφηση στην ίνα. Η μέθοδος είναι γρήγορη, οικονομική και δεν απαιτεί τη χρήση διαλυτών. Παράμετροι όπως ο τρόπος ανάδευσης του δείγματος, η θερμοκρασία της δειγματοληψίας, η τιμή του pH του δείγματος και ο όγκος του δείγματος, καθώς και οι συνθήκες προσρόφησης και εκρόφησης των πτητικών συστατικών παίζουν σημαντικό ρόλο και πρέπει να διατηρούνται σταθερές προκειμένου να εξασφαλισθεί η ακρίβεια και η επαναληψιμότητα των μετρήσεων (Vas και Vékely, 2004). Η τεχνική SPME έχει χρησιμοποιηθεί από πολλούς ερευνητές στη διερεύνηση της σύστασης του πτητικού κλάσματος δειγμάτων παρθένου ελαιολάδου (Baccouri et al., 2007, Cavalli et

al., 2004, Cecchi και Alfei, 2013, Jeleń et al., 2000; Kanavouras et al., 2005b, Kandyliis et al., 2011, Vichi et al., 2005).

9.3.2. Αέρια Χρωματογραφία– Φασματομετρία Μάζας (GC– MS)

Ο συνδυασμός αερίου χρωματογράφου με φασματογράφο μαζών χρησιμοποιείται ευρέως στην ανάλυση τροφίμων. Μετά την έκλουση της κάθε ουσίας από τη στήλη του αερίου χρωματογράφου, εισέρχεται στο θάλαμο ιονισμού του φασματογράφου μαζών και γίνεται η πλήρης ταυτοποίηση της. Ο χρόνος σάρωσης στο φασματογράφο μαζών είναι αρκετά γρήγορος, ώστε να επιτυγχάνεται η λήψη φάσματος μαζών της καθεμιάς από τις εκλούόμενες ουσίες. Ο διαχωριστής του δείγματος, λόγω της ειδικής κατασκευής του από πορώδες γυαλί, με τη βοήθεια αντλίας κενού απομακρύνει το φέρον αέριο με πολύ μεγαλύτερη ταχύτητα απ' ό,τι το δείγμα πριν αυτό εισέλθει στο θάλαμο ιονισμού. Με αυτό τον τρόπο επέρχεται εμπλουτισμός της ουσίας που πρόκειται να ταυτοποιηθεί (Βουδούρης και Κοντομηνάς, 1997). Η ταυτοποίηση των πτητικών ενώσεων γίνεται με τρεις τρόπους: (α) με χρήση πρότυπων ενώσεων, συγκρίνοντας τους χρόνους κατακράτησης και τα θραύσματα, (β) με υπολογισμό του δείκτη κατακράτησης, γνωστού και ως Kovats Index ή Retention Index (KI ή RI) ο οποίος συσχετίζει τον χρόνο κατακράτησης του αναλύτη με τους χρόνους κατακράτησης μιας ομόλογης σειράς κανονικών αλκανίων και (γ) με χρήση έτοιμων βιβλιοθηκών φασμάτων μαζών (πχ Wiley ή Nist). Η ποσοτικοποίηση πραγματοποιείται κυρίως με τη χρήση ενός εσωτερικού προτύπου, με αυτόν τον τρόπο υποθέτεται ότι όλες οι αποκρίσεις για όλες τις ενώσεις είναι ίσες με ένα. Ωστόσο επειδή αυτό δεν ισχύει στη πράξη, ο προσδιορισμός χαρακτηρίζεται ημιποσοτικός. Έχει βρεθεί ότι η ανάκτηση των πτητικών ενώσεων που παγιδεύονται μέσω DHS, αλλά και μέσω SPME από ποσοτικής άποψης, είναι διαφορετική και σχετίζεται με τον αριθμό των ατόμων άνθρακα και το είδος και τη θέση της χαρακτηριστικής ομάδας (Angerosa et al., 1997). Για να ξεπεραστούν τα προβλήματα, που σχετίζονται με τη συμπεριφορά της κάθε πτητικής ένωσης και με τις απώλειες κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας του δείγματος, ώστε να γίνει ακριβής ποσοτικός προσδιορισμός τους, θα πρέπει να κατασκευαστούν μία σειρά από πρότυπες καμπύλες. Η

βαθμονόμηση μπορεί να επιτευχθεί με διάφορους τρόπους: με τη χρήση διαφόρων συγκεντρώσεων μιας ένωσης παρόμοιων χαρακτηριστικών με αυτές του δείγματος, με χρήση μίγματος ενώσεων μιας ομόλογης σειράς (π.χ., αλδεΐδες, αλκοόλες κλπ) ή με χρήση μίγματος ενώσεων διαφόρων ομόλογων σειρών η οποία και προτιμάται (Kalua et al., 2006b). Τέλος, για τη λύση των προβλημάτων, που προκύπτουν λόγω ανάκτησης καθώς και της χρωματογραφικής συμπεριφοράς, έχει προταθεί και η τεχνική προσθήκης σταθερών ισοτόπων των αναλυόμενων ενώσεων (Guth και Grosch, 1991).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10

ΑΛΛΟΙΩΣΕΙΣ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

Οι κύριες αλλοιώσεις τόσο του ελαιολάδου όσο και των άλλων λιπαρών υλών είναι :

- Η υδρόλυση ή υδρολυτική τάγγιση
- Η οξείδωση ή οξειδωτική τάγγιση

Η υδρόλυση (λιπόλυση) συμβαίνει κυρίως το χρόνο πριν από την παραλαβή του ελαιολάδου από τον ελαιόκαρπο. Η οξείδωση συμβαίνει κυρίως μετά την παραλαβή του ελαιολάδου και κυρίως στη διάρκεια της αποθήκευσης του σε ακατάλληλες συνθήκες. Η οξείδωση λαμβάνει χώρα είτε παρουσίας (φωτοοξείδωση) είτε απουσίας (αυτοοξείδωση) φωτός.

10.1. Υδρόλυση (λιπόλυση)

Η υδρόλυση είναι από τις βασικότερες αλλοιώσεις του ελαιολάδου και συνδέεται με την απελευθέρωση λιπαρών οξέων από τα τριγλυκερίδια. Η απελευθέρωση αυτή των λιπαρών οξέων από τα τριγλυκερίδια και η παρουσία τους σε ελεύθερη μορφή μέσα στο ελαιολάδο, έχει ως αποτέλεσμα: την αύξηση της οξύτητας, την αλλοίωση της γεύσης, την υποβάθμιση της ποιότητας και της εμπορικής αξίας του ελαιολάδου (Κυριτσάκης 1993).

Η αλλοίωση αυτή λαμβάνει χώρα όταν η λιπαρή ύλη (ελαιόλαδο) βρίσκεται ακόμη στον ελαιόκαρπο διότι εκεί υπάρχουν τα ένζυμα (λιπάσες) που καταλύουν την αντίδραση της υδρόλυσης των τριγλυκεριδίων. Η υδρόλυση του ελαιολάδου επηρεάζεται από την υγρασία, την θερμοκρασία, τα ένζυμα και τους μικροοργανισμούς (Κυριτσάκης, 1993).

Η λιπόλυση, ανάλογα με το αίτιο ή τα αίτια που την προκαλούν, διακρίνεται σε μικροβιακή και ενζυμική.

10.2. Μικροβιακή λιπόλυση

Η μικροβιακή λιπόλυση των τριγλυκεριδίων του ελαιολάδου προκαλείται από την δράση των μικροοργανισμών που αναπτύσσονται στη σάρκα της ελιάς. Έχουν απομονωθεί εκατόν τριάντα είδη βακτηρίων, ζυμών και μυκήτων από τη σάρκα της ελιάς. Περίπου το 70 % από αυτούς τους

μικροοργανισμούς παρουσιάζει λιπολυτική δράση. Η δράση τους είναι τόσο ταχεία, ώστε ο χρόνος που μεσολαβεί από την έκθλιψη του ελαιοκάρπου έως το διαχωρισμό του ελαίου από την ελαιοζύμη είναι αρκετός για την έναρξη της υδρόλυσης των τριγλυκεριδίων. Η αλλοίωση αυτή λαμβάνει χώρα κυρίως κατά το χρόνο διατήρησης του καρπού από την συγκομιδή μέχρι την έκθλιψη. (Suarez, 1975).

10.3. Ενζυμική λιπόλυση

Η ενζυμική λιπόλυση προκαλείται από τα φυσικά ένζυμα (λιπάσες) του ελαιοκάρπου, τα ένζυμα που ελευθερώνονται από τα διάφορα είδη μυκήτων που αναπτύσσονται κατά το χρόνο διατήρησης του καρπού έως την έκθλιψη. Ασήμαντη είναι η δράση των φυσικών ενζύμων στον άγουρο ελαιοκάρπο και η οξύτητα του ελαιολάδου είναι χαμηλή, σε αντίθεση με τον ώριμο και τον υπερώριμο ελαιοκάρπο όπου η δραστηριότητα των ενζύμων είναι μεγάλη και η οξύτητα του ελαιολάδου σχετικά υψηλή (Κυριτσάκης, 1993).

Η αύξηση της οξύτητας του ελαιολάδου σημειώνεται κυρίως κατά την διατήρηση του καρπού σε ακατάλληλες συνθήκες, πριν από την έκθλιψη. Ο ελαιοκάρπος είναι ένας ζωντανός οργανισμός που αναπνέει. Με την αναπνοή (καύση) ελευθερώνεται θερμότητα η οποία μπορεί να προκαλέσει αύξηση της θερμοκρασίας σε βαθμό που καθιστά την δράση των λιπολυτικών ενζύμων έντονη.

Η επαφή των τριγλυκεριδίων με το νερό έχει επίσης ως συνέπεια την υδρόλυσή τους. Η αυξημένη υγρασία δημιουργεί προβλήματα διότι ευνοεί την υδρόλυση και έμμεσα την δράση των λιπολυτικών ενζύμων και την ανάπτυξη μικροοργανισμών. Η δράση των μικροοργανισμών συνδέεται και με ανεπιθύμητες οργανοληπτικές μεταβολές στο ελαιολάδο. Η δράση των μικροοργανισμών είναι εντονότερη στον τραυματισμένο από ότι στον υγιή ελαιοκάρπο. Ο ευνοϊκότερος συνδυασμός για την δράση της λιπάσης είναι η θερμοκρασία 45°C και pH 8,3.

10.4. Οξείδωση (αυτοοξείδωση)

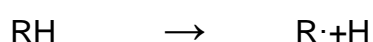
Η οξείδωση είναι η πιο συνηθισμένη και η σοβαρότερη αλλοίωση του ελαιολάδου. Όλες γενικά οι λιπαρές ύλες, αυτούσιες ή ως συστατικά άλλων

τροφίμων, περιέχουν στα τριγλυκερίδιά τους ακόρεστα λιπαρά οξέα τα οποία είναι ευοξειδωτά σε χαμηλές θερμοκρασίες (Ηλιόπουλος, 1987). Πολλά από τα προϊόντα της οξειδωσης των ακόρεστων λιπαρών οξέων έχουν δυσάρεστη οσμή και γεύση με αποτέλεσμα να υποβαθμίζεται η ποιότητα των λιπαρών υλών. Η οξειδωση του ελαιολάδου επιφέρει τροποποίηση στα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά (οσμή, γεύση), και αλλαγή σε ορισμένες φυσικές ιδιότητες του ελαιολάδου (ιξώδες).

10.4.1. Μηχανισμός της αυτοοξειδωσης

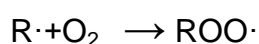
Πολλές θεωρίες προσπάθησαν να ερμηνεύσουν το μηχανισμό της αυτοοξειδωσης. Σήμερα πιστεύεται ότι ο όλος μηχανισμός περιλαμβάνει τρία στάδια:

- της έναρξης (επώασης) –είναι η περίοδος που απαιτείται για τον σχηματισμό των πρώτων ελεύθερων ριζών ή αλλιώς η περίοδος πριν την εμφάνιση της ανεπιθύμητης οσμής και γεύσης. Στο στάδιο αυτό δεν καταναλώνεται ατμοσφαιρικό οξυγόνο.

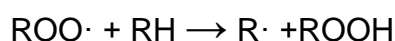


ακόρεστο ελεύθερη ρίζα ακόρεστου λιπαρού οξέος
λιπαρό οξύ

- της διάδοσης – αποτελεί το στάδιο κατά το οποίο οι ελεύθερες ρίζες τύπου R που έχουν σχηματιστεί αρχικά αντιδρούν με το ατμοσφαιρικό οξυγόνο προ υπερόξυ-ρίζες (ROO·), οι οποίες μετατρέπονται σε υδροϋπεροξειδία (ROOH) μετά την απόσπαση ατόμου υδρογόνου από το μόριο του ακόρεστου λιπαρού οξέος, στο οποίο δεν έχει αρχίσει η οξειδωση μέχρι εκείνη τη στιγμή. Η ρίζα R· που προκύπτει αντιδρά με το οξυγόνο προς νέα υπερόξυ – ρίζα (ROO·) οπότε αρχίζει να επιταχύνεται η οξειδωση.

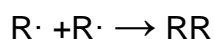


ελεύθερη ρίζα υπεροξειδίου (υπεροξύ-ρίζα)

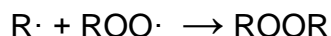


υδροϋπεροξειδίο

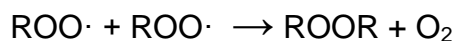
- του τερματισμού- σε αυτό το στάδιο σχηματίζονται σταθερά προϊόντα που δεν έχουν χαρακτήρα ελεύθερης ρίζας (Κυριτσάκης, 1993).



αδρανή προϊόντα



αδρανή προϊόντα



αδρανή προϊόντα

όπου: $R\cdot$, $ROO\cdot$ = ελεύθερες ρίζες

RR , $ROOR$ = προϊόντα τελικής αντίδρασης

10.4.2. Παράγοντες που προκαλούν την οξειδωση

Η οξειδωση του ελαιολάδου αλλά και γενικότερα όλων των λιπαρών υλών οφείλεται στη δράση πολλών παραγόντων όπως το οξυγόνο, η θερμοκρασία, το φως, η παρουσία μετάλλων, κ.α.

10.4.2.1. Οξυγόνο

Το οξυγόνο έρχεται σε επαφή με την λιπαρή ύλη είτε διαλυμένο σε αυτή είτε στη διαχωριστική επιφάνεια αέρα – ελαίου μέσα στη δεξαμενή αποθήκευσης ή του δοχείου συσκευασίας. Η ποσότητα του διαλυμένου οξυγόνου στο ελαιολάδο ποικίλει και εξαρτάται από την διάρκεια της επαφής του ελαιολάδου με τον αέρα, είτε κατά την μάλαξη της ελαιοζύμης, είτε κατά τις μεταγγίσεις του στις δεξαμενές αποθήκευσης, είτε κατά τη διαδικασία της συσκευασίας. Όσο περισσότερο χρόνο εκτίθεται το ελαιολάδο στον αέρα τόσο μεγαλύτερη ποσότητα οξυγόνου δεσμεύεται και τόσο πιο γρήγορα οξειδώνεται. Η συσκευασία του ελαιολάδου σε συνθήκες κενού ή σε ατμόσφαιρα αδρανούς αερίου (άζωτο) βοηθούν στην αποφυγή της οξειδωτικής τάγγισης του ελαιολάδου (Κυριτσάκης, 1993).

10.4.2.2. Θερμοκρασία

Η θερμοκρασία επηρεάζει σημαντικά την ταχύτητα οξειδωσης του ελαιολάδου. Η υψηλή θερμοκρασία στο χώρο αποθήκευσης του ελαιολάδου επιταχύνει την οξειδωση. Ιδανική θερμοκρασία αποθήκευσης του ελαιολάδου

θεωρείται η θερμοκρασία γύρω στους 10°C, διότι έτσι περιορίζεται η οξειδωση.

10.4.2.3. Μέταλλα

Από τα μέταλλα που έχουν ανιχνευθεί στο ελαιόλαδο σε μεγαλύτερη συγκέντρωση απαντά ο σίδηρος, ο οποίος προέρχεται από τις μεταλλικές επιφάνειες των μηχανημάτων του ελαιουργείου, με τις οποίες και έρχεται σε επαφή η ελαιοζύμη και το ελαιόλαδο κατά τις φάσεις επεξεργασίας τους, όταν αυτές δεν είναι ανοξειδωτες, καθώς και από τις επιφάνειες των μέσων αποθήκευσης (δεξαμενές). Άλλα μέταλλα που έχουν ανιχνευθεί στο ελαιόλαδο είναι ο χαλκός και το μαγνήσιο. Το μαγνήσιο αποτελεί συστατικό του μορίου της χλωροφύλλης. Το μέταλλο που δημιουργεί το σοβαρότερο πρόβλημα στο ελαιόλαδο είναι ο χαλκός. Ο σίδηρος στην ίδια συγκέντρωση δημιουργεί μικρότερο πρόβλημα διότι είναι λιγότερο δραστικός και παρουσιάζει μικρότερη διαλυτότητα. Τα μέταλλα εκτός του ότι καταλύουν την οξειδωση του ελαιολάδου, δίνουν σε αυτό και ανεπιθύμητη γεύση. Θα πρέπει λοιπόν να αποφεύγεται με κάθε τρόπο η παρουσία μετάλλων στο ελαιόλαδο, αφού αποτελούν κύριο αίτιο ποιοτικής αλλοίωσης.

10.4.2.4. Το φως

Το φως επιταχύνει την οξειδωση του ελαιολάδου με τον μηχανισμό της φωτοοξειδωσης η οποία συνδέεται με την παρουσία ορισμένων φυσικών χρωστικών. Υπεύθυνες είναι η χλωροφύλλη και η φαιοφυτίνη γνωστές ως ευαισθητοποιητές. Για να αρχίσει η φωτοοξειδωση, πρέπει οι ευαισθητοποιητές να έλθουν σε επαφή με το φως. Αυτό συμβαίνει όταν το ελαιόλαδο συσκευάζεται σε διαφανή δοχεία. Τα αντιοξειδωτικά δεν είναι σε θέση να παρεμποδίσουν την φωτοοξειδωση και να αποτρέψουν την αλλοίωση που προκαλεί. Υπάρχουν ουσίες που είναι σε θέση να περιορίσουν την αλλοίωση αυτή (β – καροτένιο, α-τοκοφερόλη, χηλικές ενώσεις του νικελίου)). Σύμφωνα με τον Foote και συν. (1970) η δράση του β-καροτενίου συμβάλλει στην προστασία των ζωντανών οργανισμών από το φως. Το ελαιόλαδο περιέχει χρωστικές που δρούν τόσο ως ευαισθητοποιητές όσο και ως αποσβέστες. Όταν εκτίθεται στο φως η δράση της χλωροφύλλης και της

φαιοφυτίνης που προάγουν την φωτοοξειδωση παρεμποδίζεται από το β – καροτένιο. Ο βαθμός της τελικής αλλοίωσης συνδέεται άμεσα με την συγκέντρωση των ανωτέρω χρωστικών στο ελαιόλαδο και με το χρόνο της έκθεσής τους στο φως.

10.4.3. Επιπτώσεις της οξειδωσης του ελαιολάδου στις πτητικές ενώσεις (δυσάρεστη οσμή).

Κατά την οξειδωση του ελαιολάδου σχηματίζονται αρκετές πτητικές ενώσεις από τις οποίες είναι δύσκολο να καθοριστεί επακριβώς ποιες από αυτές είναι υπεύθυνες για τη δυσάρεστη οσμή. Η Snyder και οι συν. (1985), υποστήριξαν ότι οι κύριες πτητικές ενώσεις που απαντούν στο οξειδωμένο ελαιόλαδο είναι κορεσμένες καρβονυλικές ενώσεις όπως η πεντανάλη, η εξανάλη, η οκτανάλη και η εννεανάλη. Έχουν ανιχνευθεί σε παλαιό ελαιόλαδο πτητικές ενώσεις όπως, το καμφένιο, το μυρκένιο, η μενθόλη, η ανηθόλη, ο οξικός μεθυλεστέρας και η φαρνεσόλη. Η περιεκτικότητα του ελαιολάδου σε εξανόλη αυξάνεται μετά από αποθήκευση 24 μηνών (Colakoglu και Unal., 1980). Η παρουσία της 2-πεντενάλης και της 2-επτενάλης αποτελεί ένδειξη οξειδωτικής τάγγισης (Solinas et al., 1987). Η εξανάλη που σχηματίζεται από το 13-υδροϋπεροξειδίο του λινελαϊκού οξέος είναι το κύριο από τα πτητικά συστατικά που έχουν προσδιοριστεί σε οξειδωμένο στους 60°C ελαιόλαδο. OBarrío και οι συν. (1981), διερεύνησαν με οργανοληπτική αξιολόγηση και ανάλυση με αεριοχρωματογραφία, τη σχέση ανάμεσα στη συγκέντρωση του οκτανίου στο ελαιόλαδο και στη γεύση του. Η αύξηση του εμβαδού της κορυφής που αντιστοιχούσε στο οκτάνιο συνοδεύτηκε από μεγάλη υποβάθμιση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του ελαιολάδου στο διάστημα των 100 ημερών που αποθηκεύτηκε το ελαιόλαδο.

Οι πτητικές καρβονυλικές ενώσεις που σχηματίζονται κατά την οξειδωση των ελαίων όταν αυτά χρησιμοποιούνται στο τηγάνισμα, εξαρτώνται από τον ακόρεστο χαρακτήρα του ελαίου. Η αύξηση περιεκτικότητας σε λινελαϊκό οξύ έχει ως αποτέλεσμα εντονότερη δυσάρεστη οσμή (Kellil-Talantikite et al., 1993).

10.4.4. Ενζυμική οξείδωση

Η οξείδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων καταλύεται από τη δράση ενζύμων που είναι γνωστά ως λιποξειδάσες ή λιποοξυγονάσες. Ο μηχανισμός της οξείδωσης, που καταλύεται από τις λιποξειδάσες, περιλαμβάνει τον ενδιάμεσο σχηματισμό ελευθέρων ριζών κατά τρόπο ανάλογο προς τον μηχανισμό της αυτοοξείδωσης. Η ενζυμική οξείδωση διαφέρει όμως από την αυτοοξείδωση στο ότι αυτή μπορεί να πραγματοποιηθεί και σε θερμοκρασία 0°C. Τα υδροϋπεροξειδία που σχηματίζονται από την δράση των ενζύμων στη συνέχεια διασπώνται από ένα άλλο ένζυμο τη λυάση των υδροϋπεροξειδίων οπότε προκύπτουν αλδεΐδες ή βινυλοκετόνες που αλλοιώνουν το άρωμα. Η δραστηριότητα των λιποξειδασών σε χαμηλές θερμοκρασίες αποτελεί σημαντικό παράγοντα στην οξειδωτική αποικοδόμηση των κατεψυγμένων λιπαρών προϊόντων. Στην περίπτωση όμως του ελαιολάδου η ενζυμική οξείδωση δεν αποτελεί σοβαρό πρόβλημα (Κυριτσάκης, 2007).

10.5. Διαφοροποιήσεις στην οσμή και τη γεύση του ελαιολάδου που δεν οφείλονται σε χημικές αλλοιώσεις.

Το ελαιόλαδο, όπως και το κρασί, έχει ένα σημαντικό αριθμό γευστικών και αρωματικών συστατικών. Το φυσικό άρωμα και η γεύση εξαρτώνται σ' ένα βαθμό από την ποιότητα του ελαιόλαδου αλλά και από την ποικιλία της ελιάς, τις κλιματολογικές και εδαφολογικές συνθήκες στις οποίες αναπτύχθηκε, και φυσικά από το βαθμό ωρίμανσης του καρπού. Έχει παρατηρηθεί ότι η μεγαλύτερη συγκέντρωση των αρωματικών συστατικών στο ελαιόλαδο σημειώνεται την περίοδο κατά την οποία ο καρπός από το έντονο πράσινο χρώμα περνά στο ελαφρώς μελανό και προς το ιώδες. Μερικά από τα αρωματικά συστατικά του ελαιόλαδου είναι οι αλδεΐδες (εξανάλη, trans-2-εξενάλη, 1-εξανόλη κ.λπ.), οι υδρογονάνθρακες (ισοπεντάνιο, οκτάνιο, αρωματικοί υδρογονάνθρακες κ.λπ.) και οι αλειφατικές αλκοόλες (μεθανόλη, αιθανόλη κ.λπ.).

Ο ενιαίος κανονισμός της ΕΟΚ, που εφαρμόζεται από όλες τις ελαιοπαραγωγικές χώρες κατά την αξιολόγηση του ελαιόλαδου, είναι ο υπ' αριθμ. 2568/91. Αυτός ο κανονισμός, βάσει του οποίου εκτιμώνται και

καταγράφονται τα χαρακτηριστικά των ελαιόλαδων, βοηθά να εντοπιστούν και να γίνει γνωστός ο πλούτος των γεύσεων και των αρωμάτων που παρουσιάζουν οι διάφοροι τύποι των λαδιών.

Οι διαφοροποιήσεις λοιπόν στην οσμή και τη γεύση του ελαιολάδου δεν οφείλονται μόνο σε χημικές αλλοιώσεις, αλλά και σε άλλα αίτια όπως:

- Ελαιόλαδα που προέρχονται από ελαιόκαρπο που επεξεργάζεται στο ελαιουργείο μαζί με κομμάτια από ξύλο ελιάς, από ξερά φύλλα και από άλλες ξένες ύλες που πιθανόν τον συνοδεύουν, έχουν συνήθως ανεπιθύμητη γεύση.
- Η έντονη δακοπροσβολή επηρεάζει δυσμενώς τη γεύση του ελαιολάδου. Στις οπές που σχηματίζονται κατά την έξοδο των προνυμφών του εντόμου από τον καρπό, δημιουργούνται εστίες μόλυνσης. Στα σημεία αυτά κατά την αποθήκευση του ελαιολάδου αναπτύσσονται δευτερογενώς μύκητες, οι οποίοι εκκρίνουν λιπολυτικά ένζυμα που υδρολύουν το ελαιόλαδο, αυξάνουν αισθητά την οξύτητα του και υποβαθμίζουν τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά. Ακόμη οι οπές αυτές ευνοούν και την οξειδωση του ελαιολάδου διότι έρχεται σε επαφή με τον ατμοσφαιρικό αέρα.
- Τα ίχνη σιδήρου που τυχόν περιέχει μπορεί να δώσουν άσχημη γεύση στο ελαιόλαδο.
- Η προσβολή του καρπού της ελιάς από το γλοιοσπόριο (μύκητας) είναι ένας σημαντικός λόγος αλλοίωσης του ελαιολάδου και ιδιαίτερα στην περιοχή της Κέρκυρας. Μικρότερη ζημιά προκαλεί το κυκλοκόνιο και η ξεροβούλα. Γενικότερα κάθε είδους εντομολογική ή μυκητολογική προσβολή, η οποία προκαλεί λύση στη συνέχεια των κυττάρων του καρπού, δημιουργεί τις προϋποθέσεις μιας σειράς βιοχημικών αντιδράσεων οι οποίες οδηγούν στην αλλοίωση της ποιότητας του ελαιολάδου (Suarez, 1975, Kiritsakis et al., 1998).
- Η παρουσία καπνού στο χώρο του ελαιουργείου και της αποθήκης επηρεάζει την οσμή και την γεύση του ελαιολάδου.
- Κατά την αποθήκευση του ελαιοκάρπου μέχρι την επεξεργασία του σημειώνονται ποικίλες ποιοτικές αλλοιώσεις οι οποίες συνδέονται ακόμη και με την μείωση των αρωματικών συστατικών του ελαιολάδου, στις οποίες αποδίδεται το χαρακτηριστικό του άρωμα. Ο περιορισμός

λοιπόν του χρόνου αποθήκευσης του ελαιοκάρπου στο ελάχιστο, συμβάλλει σημαντικά στην εξασφάλιση ελαιολάδου καλύτερης ποιότητας (Suarez, 1975).

- Η ζύμωση των συστατικών που καθιζάνουν στον πυθμένα των μέσων αποθήκευσής του, προσδίδει σ' αυτό μία ανεπιθύμητη οσμή και γεύση και παράλληλα προκαλεί διαφοροποίηση στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του.
- Τα υπολείμματα των γεωργικών φαρμάκων που οφείλονται στην μη εφαρμογή των κανόνων ορθής γεωργικής πρακτικής στο στάδιο παραγωγής του ελαιοκάρπου.
- Οι πτητικοί αλογονωμένοι διαλύτες (τετραχλωροαιθυλένιο, FREON, τριχλωροαιθάνιο και τριχλωροαιθυλένιο). Η παρουσία του τετραχλωροαιθυλενίου έχει αποδοθεί στην προσθήκη υπολειμμάτων ελαίου από τον ποσοτικό προσδιορισμό ελαίου σε ελιές ο οποίος γίνεται με διαλύτη τετραχλωροαιθυλένιο. Η παρουσία FREON σε ελαιολάδο αποδίδεται κυρίως σε διαρροές ψυγείων οινοποιητικών μονάδων που γειτνιάζουν με ελαιουργεία ή τυποποιητήρια ελαιολάδου. Η προέλευση των άλλων δύο χλωριωμένων διαλυτών έχει αποδοθεί σε διαλύτες κόλας λάστιχου σε πώματα βυτίων μεταφοράς ελαιολάδου, σε διαλύτες λιπαντικών, καθαρισμού, κλπ.
- Οι περιβαλλοντικοί ρυπαντές. Είναι κυρίως οι διοξίνες, τα πολυχλωριωμένα διφαινύλια (PCBs) και οι αρωματικοί υδρογονάνθρακες, (βενζόλιο, τολουόλιο, αιθυλοβενζόλιο, ξυλόλιο, κλπ.).
- Επικίνδυνες ουσίες που μεταναστεύουν στα έλαια από τα υλικά συσκευασίας οι οποίες οφείλονται στη χρήση ακατάλληλων υλικών. Υλικά συσκευασίας μπορούν για διάφορους λόγους (κακή κατασκευή, εγκλεισμός μονομερούς κλπ.) να επιμολύνουν τα έλαια με ξένες ουσίες π.χ. πλαστικοποιητές, μονομερές VC (βινυλοχλωρίδιο) προερχόμενο από PVC.

10.6. Θόλωμα του ελαιολάδου

Η αποθήκευση του ελαιολάδου σε χαμηλές θερμοκρασίες (<math><5^{\circ}\text{C}</math>), πολλές φορές, οδηγεί στη δημιουργία θολώματος. Το θόλωμα αυτό οφείλεται στην πήξη ορισμένων τριγλυκεριδίων που περιέχουν στο μόριό τους στεατικό ή παλμιτικό οξύ. Η στερεοποίηση αυτή οφείλεται στο γεγονός ότι τα μόρια των κορεσμένων λιπαρών οξέων έχουν σχετικά υψηλό σημείο τήξεως, λόγω της γραμμικής αλυσίδας τους. Αντίθετα τα τριγλυκερίδια που περιέχουν ελαϊκό οξύ ή άλλα ακόρεστα λιπαρά οξέα, το μόριο των οποίων δεν είναι γραμμικό, έχουν χαμηλό σημείο τήξεως. Για τον λόγο αυτό απαντούν σε υγρή κατάσταση ακόμα και σε χαμηλές θερμοκρασίες.

Ελαφρύ θόλωμα εμφανίζουν και κάποια φρέσκα ελαιόλαδα, στα οποία είναι ενδεικτικό του ότι έχουν εφαρμοστεί ήπιες συνθήκες κατά την επεξεργασία του ελαιοκάρπου στο ελαιουργείο. Η παραλαβή διαυγέστατου ελαιολάδου από το ελαιοτριβείο φανερώνει τη χρήση νερού υψηλής θερμοκρασίας στα διάφορα στάδια της επεξεργασίας.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 11

ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΠΟΙΟΤΙΚΗ ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

Τα κριτήρια ποιότητας για το ελαιόλαδο, σύμφωνα με τον Κανονισμό 2568/91 της Ευρωπαϊκής Ένωσης και σύμφωνα με το Εμπορικό Πρότυπο του Διεθνούς Συμβουλίου Ελαιολάδου αναφέρονται στον Πίνακα 11.1.. Τα κριτήρια ποιότητας αποτελούν η ελεύθερη οξύτητα, ο αριθμός υπεροξειδίων, η απορρόφηση στο υπεριώδες και η οργανοληπτική αξιολόγηση (πίνακας 11.1.). Από αυτά, η οργανοληπτική αξιολόγηση αποτελεί κριτήριο ποιότητας μόνο για το παρθένο ελαιόλαδο.

Εκτός από τα κριτήρια ποιότητας, για το ελαιόλαδο έχουν θεσπιστεί και κριτήρια γνησιότητας δηλαδή οι χημικές αναλύσεις που απαιτούνται για την ανίχνευση της νοθείας του ελαιολάδου με πυρηνέλαιο, με ραφιναρισμένα έλαια ή με άλλα φυτικά έλαια. Τα όρια που έχουν ορισθεί για κάθε κριτήριο περιλαμβάνουν τις ακριβείς τιμές της επίσημης μεθόδου σύμφωνα με τον Κανονισμό 2568/91 και εφαρμόζονται στα ελαιόλαδα και τα πυρηνέλαια:

1. Ανίχνευση νοθείας ελαιολάδου με πυρηνέλαιο:
 - Προσδιορισμός αλειφατικών αλκοολών.
 - Προσδιορισμός ερυθροδιόλης και ουβαόλης.
 - Προσδιορισμός κηρών.
2. Ανίχνευση νοθείας παρθένου ελαιολάδου με ραφιναρισμένα έλαια με:
 - Φασματοφωτομετρική εξέταση στο υπεριώδες.
 - Προσδιορισμός trans λιπαρών οξέων.
 - Προσδιορισμός στιγμασταδιενίων.
3. Ανίχνευση νοθείας ελαιολάδου ή πυρηνελαίου με άλλα φυτικά έλαια με:
 - Ανάλυση μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων.
 - Προσδιορισμός ΔECN42.
 - Προσδιορισμός λιπαρών οξέων στην 2 θέση τριγλυκεριδίων.
 - Προσδιορισμός trans λιπαρών οξέων.
 - Προσδιορισμός στερολών.

Πίνακας 11.1.: Κριτήρια ποιότητας ελαιόλαδου σύμφωνα με τον κανονισμό 2568/91 και το εμπορικό πρότυπο του ΔΣΕ (ΙΟΚ, 2013c).

	<i>Εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο</i>	<i>Παρθένο ελαιόλαδο</i>	<i>Κοινό*</i>	<i>Μειονεκτικό ελαιόλαδο (Lampante)</i>	<i>Εξευγενισμένο Ελαιόλαδο</i>	<i>Ελαιόλαδο</i>
Οξύτητα (% ελαϊκό οξύ)	≤0,8	≤2,0	≤ 3,3	•2	≤ 0,3	≤ 1,0
				(•3,3)**		
K₂₇₀	≤0,22	≤0,25	0,25	-	≤ 1,10	≤ 0,90
K₂₃₂	≤2,50	≤2,50	≤2,60	-	-	-
ΔΚ	≤0,01	≤0,01	≤0,01	-	≤0,16	≤ 0,15
Αριθμός Υπεροξειδί ων (meq/kg)	≤20	≤20	≤20	-	≤ 5	≤ 15
Μέση τιμή φρουτώδου ς	Me>0	Me>0	-	-	-	-
Μέση τιμή Ελαττώματο ς	Me=0	Me≤3,5	3,5<Me ≤6,0***	> 3,5	-	-
				(> 6,0)**		
<p>* Η κατηγορία «κοινό» έχει καταργηθεί στην Ευρωπαϊκή Ένωση. ** Οι τιμές αντιστοιχούν στα όρια της κατηγορίας «μειονεκτικό ελαιόλαδο» πριν τη κατάργηση της κατηγορίας «κοινό». *** Ή όταν η μέση τιμή του ελαττώματος είναι μικρότερη ή ίση με 3,5 και η μέση τιμή του φρουτώδους είναι ίση με 0.</p>						

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

Σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν η μελέτη της επίδρασης των δύο εμπορικών υγρών σκευασμάτων (Maxicrop και Kelp-100) που προέρχονται από τα φύκη *Ascophyllum nodosum* και *Ecklonia maxima* στο ελαιόδεντρο της ποικιλίας «Λιανολιά Κερκύρας» και στο παραγόμενο προϊόν. Συγκεκριμένα μελετήθηκαν:

- το μέσο βάρος του ελαιοκάρπου
- το ποσοστό ελαιολάδου στον καρπό
- ο δείκτης ωρίμανσης
- η συγκέντρωση καροτενοειδών στο φλοιό του καρπού της ελιάς
- ο προσδιορισμός ανόργανων στοιχείων στα φύλλα των ελαιόδεντρων
- τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του ελαιολάδου (οξύτητα, υπεροξειδία, Κ 232, Κ 270)
- ο προσδιορισμός των λιπαρών οξέων
- το πτητικό προφίλ
- η φαινολική σύσταση των ελαιολάδων

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 12

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

12.1.Ελαιώνας και μεταχειρίσεις

Επιλέχθηκε ελαιώνας (εικόνα 12.1.1.) στον οποίο θα εφαρμόζονταν οι διαφυλλικοί ψεκασμοί με οργανικά φυσικά λιπάσματα από φύκη (Maxicor και Kelp-100). Ο ελαιώνας βρισκόταν στην τοποθεσία Γουβιά της Ν. Κέρκυρας (γεωγραφικές συντεταγμένες 39°65',19°83') και αποτελείτο από ελαιόδεντρα ηλικίας 35 ετών της ποικιλίας «Λιανοελιά Κερκύρας», ύψους περίπου 4-5m και φυτεμένα σε αποστάσεις 7×7m . Οι μέσες θερμοκρασίες κατά τη διάρκεια του έτους ήταν 8-38°C. Ο ελαιώνας δεν ήταν αρδευόμενος (ξηρική καλλιέργεια).

Η εφαρμογή των ψεκασμών και οι δειγματοληψίες καρπών, έγιναν για δύο συνεχόμενα έτη (2012 και 2013). Ένα έτος πριν την πρώτη δειγματοληψία δεν εφαρμόστηκε λίπανση στο έδαφος. Τα δέντρα δεν δέχθηκαν κανένα ψεκασμό για μυκητολογικές ασθένειες (κυκλοκόνιο, γλουσπόριο) και για τις εντομολογικές προσβολές (βαμβακάδα, πυρηνοτρήτης, ρυγχίτης, λεκάνιο) καθώς και για τον δάκο κατά τη διάρκεια των αναφερόμενων ετών.



Εικόνα 12.1.1.: Ο ελαιώνας όπου έλαβε χώρα η εφαρμογή των διαφυλλικών ψεκασμών της παρούσα έρευνα.

Οι διαφυλλικοί ψεκασμοί έγιναν λίγο μετά την καρπόδεση (όταν ο καρπός είχε μέγεθος φακής). Σε κάθε μεταχείριση χρησιμοποιήθηκαν 6 ελαιόδεντρα του ελαιώνα και οι διαφυλλικοί ψεκασμοί έγιναν ως εξής:

1^η μεταχείριση – Μάρτυρας (μη ψεκασμός)

2^η μεταχείριση – Ψεκασμός με διάλυμα Maxicrop (Maxicrop L.T.D. Αγγλίας) 0,4% (v/v) (καλή διαβροχή της κόμης, 4 lt ψεκαστικού υγρού ανά δέντρο στο τέλος της ανθοφορίας - 15 Ιουνίου).

3^η μεταχείριση – Διπλός ψεκασμός με διάλυμα Maxicrop 0,4% (v/v) (καλή διαβροχή της κόμης, 4lt ψεκαστικού υγρού ανά δέντρο στο τέλος της ανθοφορίας και επαναληπτικός ψεκασμός ένα μήνα μετά τον πρώτο ψεκασμό - 15 Ιουλίου).

4^η μεταχείριση – Ψεκασμός με διάλυμα Maxicrop 0,4% (v/v) και διάλυμα βορίου 0,01% B (καλή διαβροχή της κόμης, 4 lt ψεκαστικού υγρού ανά δέντρο στο τέλος της ανθοφορίας - 15 Ιουνίου και διαφυλλικός ψεκασμός με το διάλυμα B μία εβδομάδα μετά - 25 Ιουνίου).

5^η μεταχείριση – Ψεκασμός με διάλυμα Kelp-100 (AfriKelp, Νότια Αφρική) 0,2% (v/v) (καλή διαβροχή της κόμης, 4 lt ψεκαστικού υγρού ανά δέντρο στο τέλος της ανθοφορίας - 15 Ιουνίου).

6^η μεταχείριση – Διπλός ψεκασμός με διάλυμα Kelp-100 0,2% (v/v) (καλή διαβροχή της κόμης, 4lt ψεκαστικού υγρού ανά δέντρο στο τέλος της ανθοφορίας - 15 Ιουνίου και επαναληπτικός ψεκασμός ένα μήνα μετά τον πρώτο ψεκασμό - 15 Ιουλίου).

7^η μεταχείριση – Ψεκασμός με διάλυμα Kelp-100 0,2% (v/v) και διάλυμα 0,01% B (καλή διαβροχή της κόμης, 4lt ψεκαστικού υγρού ανά δέντρο στο τέλος της ανθοφορίας - 15 Ιουνίου και διαφυλλικός ψεκασμός με B μία εβδομάδα μετά τον πρώτο ψεκασμό - 25 Ιουνίου).

12.2.Ελαιόλαδο

Η συλλογή του ελαιοκάρπου έγινε τις τελευταίες μέρες του Νοεμβρίου κάθε έτους με ηλεκτρικά ελαιοραβδιστικά. Η εξαγωγή του ελαιολάδου πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο με χρήση blender (Moulinex) για τη σύνθλιψη και mixer (Moulinex) για τη μάλαξη της ελιάς. Η μάλαξη της ελαιοζύμης πραγματοποιήθηκε με την προσθήκη νερού σε αναλογία 2:1 και διήρκεσε 30 λεπτά στους 27°C. Στη συνέχεια το ελαιόλαδο διαχωρίστηκε από

την ελαιόπαστα με φυγοκέντρηση σε 11.200 rpm (Biosan LMC-4200R, Λετονία). Πριν την ανάλυση τα δείγματα διηθήθηκαν μέσω φίλτρων Whatman 1 και διατηρήθηκαν στην κατάψυξη (-18°C) για περίπου 2 εβδομάδες, πριν την ανάλυση.



Εικόνα 12.1.2.: Μεθοδος συλλογής του ελαιόκαρπου

12.3. Εδαφολογική ανάλυση

Η εδαφολογική ανάλυση έγινε συμπληρωματικά, μετά το δεύτερο έτος των ψεκασμών (δύο μήνες μετά τον τελευταίο διαφυλικό ψεκασμό) προκειμένου να γίνει σύγκριση της σύστασης του εδάφους του «μάρτυρα» και των υπόλοιπων μεταχειρίσεων.

Οι δειγματοληψίες έλαβαν χώρα σύμφωνα με την διαδικασία που ακολουθεί το Εργαστήριο Εδαφολογικών Αναλύσεων της Ε.Α.Σ. Κέρκυρας:

1. Αρχικά έγινε επιλογή των σημείων δειγματοληψίας.
2. Απομακρύνθηκαν τα ζιζάνια.

3. Σκάφτηκε λάκκος σε καθένα από τα επιλεγμένα σημεία.
4. Χρησιμοποιώντας το φτυάρι αποκόπηκε από τη μια πλευρά του λάκκου, κάθετα, μια φέτα ίσου πάχους εδάφους από πάνω μέχρι κάτω (30 – 60 εκατοστά).
5. Το δείγμα εδάφους τοποθετήθηκε σε δοχείο και αναμίχθηκε καλά, μέχρι να γίνει ομοιογενές.
6. Απομάκρυνση τυχόν πετρών, ριζών κ.τ.λ.
7. Από το ομοιογενές δείγμα ποσότητα περίπου 1 κιλού τοποθετήθηκε σε πλαστικό περιέκτη και μεταφέρθηκε στο εργαστήριο Εδαφολογικής Ανάλυσης της Ένωσης Γεωργικών Συνεταιρισμών Κέρκυρας για ανάλυση.

12.4. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΡΠΩΝ

12.4.1. Μέσο βάρος

Ζυγίστηκαν 10 αντιπροσωπευτικοί καρποί ανά δέντρο (οι καρποί επιλέχτηκαν τυχαία) από όλες τις επεμβάσεις (μάρτυρα, Maxicrop, Maxicrop+Maxicrop, Maxicrop+B, Kelp-100, Kelp-100+Kelp 100, Kelp-100+B). Το μέσο βάρος των μετρήσεων δόθηκε σε g.

12.4.2. Δείκτης ωριμότητας

Συλλέχθηκε τυχαίο δείγμα (περίπου 2 κιλά καρπών) από τα ελαιόδεντρα της κάθε επέμβασης. Οι καρποί επιλέχθηκαν περιμετρικά και από κάθε ύψος των ελαιοδέντρων έτσι ώστε το δείγμα να είναι αντιπροσωπευτικό. Η συλλογή καρπών πραγματοποιήθηκε 3 φορές έως την τελική συγκομιδή του ελαιοκάρπου. Διαχωρίστηκε το κάθε δείγμα (100 καρποί) σε οκτώ κατηγορίες χρωμάτων με βάση το διάγραμμα χρώματος όπως περιγράφεται παρακάτω (International Olive Oil Council, IOOC, 1984):

0 = Το χρώμα του φλοιού βαθύ πράσινο – σκληρός καρπός

1 = Το χρώμα του φλοιού κίτρινο-πράσινο – ο καρπός αρχίζει να μαλακώνει

2 = Λιγότερο από το ήμισυ της επιφάνειας του φλοιού με χρώμα κόκκινο, μοβ ή μαύρο

3 = Περισσότερο από το ήμισυ της επιφάνειας του φλοιού με χρώμα κόκκινο, μοβ ή μαύρο

4 = Το χρώμα του φλοιού μοβ ή μαύρο με τη σάρκα άσπρη ή πράσινη

5 = Το χρώμα του φλοιού μοβ ή μαύρο και με λιγότερο του ήμισυ της σάρκας με χρώμα μοβ

6 = Το χρώμα του φλοιού μοβ ή μαύρο και με περισσότερο του ήμισυ της σάρκας με χρώμα μοβ

7 = Το χρώμα του φλοιού μοβ ή μαύρο και της σάρκας μοβ

Ο υπολογισμός του δείκτη ωριμότητας (maturityindex, MI) γίνεται με τον τύπο:

$$MI = A \times 0 + B \times 1 + C \times 2 + D \times 3 + E \times 4 + F \times 5 + G \times 6 + H \times 7 / 100$$

(A – H) = ο αριθμός των καρπών σε κάθε κατηγορία χρώματος.

12.4.3. Συγκέντρωση καροτενοειδών στο φλοιό των καρπών

Η συγκέντρωση των καροτενοειδών προσδιορίστηκε με τη μέθοδο Britton (Britton, 1991).

Η εκχύλιση των καροτενοειδών έγινε με άμεση ομογενοποίηση δίσκων του φλοιού των καρπών της ελιάς, το νωπό βάρος των οποίων είχε ζυγιστεί (350mg) σε αναλυτικό ζυγό (η τελική συγκέντρωση υπολογίστηκε με αναγωγή στο γραμμάριο νωπού βάρους), με ιγδίο πορσελάνης, σε σκοτεινό χώρο του εργαστηρίου (bimof lightin a darkroom), με αιθανόλη (98%) (20 ml) και επανάληψη της εκχύλισης. Το τελικό εκχύλισμα, διηθήθηκε μέσω φίλτρων Whatman 1 και αραιώθηκε σε τελικό όγκο 20 ml. Ακολούθησε ανάδευση.

Στη συνέχεια έγινε μέτρηση της απορρόφησης σε φωτόμετρο απλής δέσμης. Το διάλυμα αναφοράς που χρησιμοποιήθηκε ήταν αλκοόλη 98% (Spectrophotometer UV-1202 Shimadzu, Japan) σε μήκη κύματος 417nm, 421nm, 425nm, 428nm, 437nm, 478nm και 445nm.

Ay / (A1% 1cm x 100) Τυποποιημένη σχέση από τη μέθοδο Britton

Violaxanthine	417 nm and 471 nm	coefficient	2550
Flavoxanthin	421 nm	coefficient	2100
β-carotene	425 nm	coefficient	2592
zeaxanthin	428 nm	coefficient	2580
γ-carotene	437 nm	coefficient	3100
β-cryptoxanthin	478 nm	coefficient	2386
luteine	445 nm	coefficient	2500

A = η τιμή μέτρησης της απορρόφησης στα αντίστοιχα μήκη κύματος

y = ο όγκος του διαλύματος

$A_{1\% \ 1\text{cm}}$ = ο ειδικός συντελεστής απορρόφησης του διαλύτη (στη συγκεκριμένη περίπτωση αιθανόλη) για διαδρομή φωτός 1 cm, για το συγκεκριμένο καροτενοειδές στο συγκεκριμένο μήκος κύματος.

12.4.4. Ποσοστό ελαιολάδου

Σε blender έγινε η άλεση των καρπών και 10 g πάστας μεταφέρθηκαν σε προζυγισμένη κάψα και ξηραίνονται σε φούρνο στους 80°C μέχρι τη λήψη δείγματος σταθερού βάρους (περίπου μία μέρα). Στη συνέχεια η πάστα μεταφέρθηκε σε φύσιγγα Soxhlet και έγινε εκχύλιση του ελαίου με πετρελαϊκό αιθέρα (περίπου 250 ml), σε προζυγισμένη σφαιρική φιάλη των 500 ml για 6 ώρες.

Μετά το πέρας των 6 ωρών, ο διαλύτης εξατμίστηκε σε περιστροφικό εξατμιστήρα κενού (Rotavapor R-300, Buchi, Flawil, Switzerland) και αφέθηκε για ξήρανση σε πυριαντήριο στους 100°C, ψύχθηκε σε ξηραντήριο και ζυγίστηκε. Η διαδικασία θέρμανσης, ψύξης και ζύγισης επαναλήφθηκε έως την επίτευξη σταθερού βάρους. Η περιεκτικότητα σε έλαιο εκφράστηκε ως % w/w.

12.5. Προσδιορισμός ανόργανων συστατικών στα φύλλα

Στις αρχές Νοεμβρίου κάθε έτους έγινε συλλογή αντιθέτων φύλλων από το μέσο μη καρποφορούντων ετήσιων βλαστών από ύψος περίπου 2 μέτρων από το έδαφος και από τα τέσσερα σημεία του ορίζοντα για κάθε κόμη ελαιοδέντρου (30 φύλλα ανά δέντρο). Τα δείγματα φύλλων τοποθετήθηκαν σε χάρτινο περιέκτη και μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο όπου πλύθηκαν για την απομάκρυνση σκόνης και τυχόν άλλων ξένων υλών.

Το κάθε δείγμα πλύθηκε για 10 δευτερόλεπτα, πρώτα σε λεκάνη με άφθονο νερό βρύσης και στην συνέχεια με απιονισμένο νερό θερμοκρασίας 20°C και ακολούθησε απομάκρυνση του νερού με απορροφητικό χαρτί. Τέλος, τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε νέους χάρτινους περιέκτες και αποξηράνθηκαν σε πυριαντήριο τύπου Heraeus στους 70°C, τουλάχιστον για 48 ώρες (έως σταθερού βάρους). Στη συνέχεια, τα δείγματα αλέστηκαν σε μύλο (Glen Creston Ltd. Culattityp MFC, Middx, UK) ώστε να

κονιορτοποιηθούν. Ποσότητα 0,5 g αλεσμένου δείγματος τοποθετήθηκε σε αριθμημένο χωνευτήριο. Ακολούθησε ξηρή καύση σε φούρνο Heraeus (NABERTHERM, model D-2804 N3P Tuttlingen, Germany) στους 550°C για 8 ώρες. Μετά τις 8 ώρες, τα δείγματα αφέθηκαν να κρυώσουν, έγινε προσθήκη 20 ml HCl 2N στο χωνευτήριο, διήθηση του περιεχομένου σε ογκομετρικές φιάλες των 100 ml και συμπλήρωση με απιονισμένο νερό μέχρι τα 100 ml. Ακολούθησε ο προσδιορισμός των ανόργανων στοιχείων K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn και Cu.

12.5.1. Μέτρηση K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn, Cu

Τα κατιόντα K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn, Cu προσδιορίστηκαν με την μέθοδο της ατομικής απορρόφησης (συσκευή Perkin Elmer 2380, Analytical Instruments Brokers LLC 1200 Mendelssohn Ave N. Suite 50, Golden Valley, MN 55427 U.S.A).

12.5.2. Μέτρηση βορίου

Χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Azomethine-H (Wolf, 1971), όπως περιγράφεται πιο κάτω.

Μετά την ξηρή καύση των αλεσμένων δειγμάτων σε φούρνο Heraeus (NABERTHERM, model D-2804 N3P Tuttlingen, Germany) στους 550°C για 8 ώρες και αφού μειώθηκε η θερμοκρασία των δειγμάτων σε θερμοκρασία δωματίου έγινε διάλυση της τέφρας με 10 mL 0,1N HCl και ακολούθησε διήθηση. Σε όλες τις φάσεις χρησιμοποιήθηκαν μόνο πλαστικά σκεύη και όχι γυάλινα που κατασκευάζονται από βοριούχα υλικά. Από το διήθημα ελήφθησαν 2 mL και αναμίχθηκαν με 4 mL ρυθμιστικού διαλύματος και 4 mL αζωμεθίνης και ακολούθησε ανάδευση. Το ρυθμιστικό διάλυμα παρασκευάστηκε ως εξής: 250 g οξικού αμμωνίου ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$) και 15 g $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ διαλύθηκαν σε 400 ml απιονισμένου νερού και μετά τη διάλυση προστέθηκαν 125 ml glacial οξικού οξέος. Το διάλυμα αζωμεθίνης-H παρασκευάστηκε με την εξής διαδικασία: 0,45 g αζωμεθίνης και 1 g ασκορβικού οξέος διαλύθηκαν σε 100 ml απιονισμένου νερού. Το διάλυμα αυτό παρασκευαζόταν εκ νέου κάθε φορά που γίνονταν η μέτρηση.

Η αζωμεθίνη σχηματίζει σταθερό έγχρωμο (κίτρινο) σύμπλοκο με το βορικό οξύ με γραμμική σχέση μοριακής απορρόφησης για εύρος συγκεντρώσεων

0,5-10 µg B/mL. Η μέθοδος είναι γρήγορη, αξιόπιστη και ακριβής για μεγάλο εύρος συγκεντρώσεων B. Η μέτρηση έγινε σε φασματοφωτόμετρο (spectrophotometer UV-1202 Shimadzu, Japan) στα 420 nm, μετά το πέρας 30 λεπτών από την προσθήκη της αζωμεθίνης. Το τυφλό που χρησιμοποιήθηκε ήταν διάλυμα 4 ml ρυθμιστικού διαλύματος και 4 ml αζωμεθίνης. Η συγκέντρωση του B εκφράζεται τελικά σε µg/gξηρής ουσίας, αφού πρωτίστως σχηματιστεί η καμπύλη αναφοράς με βάση τα πρότυπα διαλύματα B σε συγκεντρώσεις 0,5-10 µgB/ ml.

12.5.3. Μέτρηση φωσφόρου

Μετά την συλλογή των φύλλων, ακολούθησε πλύσιμο – καθαρισμός τους και στη συνέχεια στέγνωμα. Ακολούθησε η ξήρανση των φύλλων σε ξηραντήριο (BINDER, model ED720, Lilienthal, Bremen, Germany) στους 65-70°C, για 24-48 ώρες και η άλεση τους. Στη συνέχεια έγινε ξηρή καύση 1g φυτικών ιστών, για 6-8 ώρες, σε φούρνο (NABERTHERM, model D-2804 N3 PTuttlingen, Germany) σε θερμοκρασία 550°C. Μετά την καύση ακολούθησε η παραλαβή του υπολείμματος, προσθέτοντας μικρή ποσότητα απεσταγμένου νερού στο χωνευτήριο και 3mL διαλύματος HCl 6N και αυτό ξεπλήθηκε με απεσταγμένο νερό σε ογκομετρική φιάλη των 50 ml.

Προετοιμασία για τον προσδιορισμό του φωσφόρου:

Για την καμπύλη αναφοράς χρησιμοποιήθηκε:

- Πυκνό διάλυμα φωσφόρου που παρασκευάστηκε από 4,3937g KH_2PO_4 , (αφού έχει προηγηθεί ξήρανση αυτού στους 105-110°C τουλάχιστον για 2 ώρες) σε 1000 ml νερό περιεκτικότητας 1mg P/ml, αραιώθηκε με νερό έως τελικής συγκέντρωσης 1ppm με την προσθήκη 10ml–βαναδομολυβδαινικού* αμμωνίου σε τελικό όγκο 50ml. Με αυτή τη συγκέντρωση σχηματίστηκε η καμπύλη αναφοράς στο φωτόμετρο (Spectrophotometer UV-1202 Shimadzu, Japan) στα 882nm.
- Το τυφλό που χρησιμοποιήθηκε αποτελείτο από νερό 40ml και 10ml βαναδομολυβδαινικού αμμωνίου.

*Το βαναδομολυβδαινικό αντιδραστήριο αντιδρά με το φώσφορο και δίνει κίτρινο χρώμα και παρασκευάζεται ως εξής:

20 g μολυβδαινικού αμμωνίου $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ διαλύονται σε 200ml νερού με θέρμανση και μετά την διάλυση τους το διάλυμα ψύχεται. 1g μονοβαναδικού αμμωνίου (NH_4VO_3) διαλύεται σε 125ml νερού και μετά την διάλυση αυτού ψύχεται το διάλυμα. Κατόπιν, προσθέτονται 125ml HClO_4 70%. Το μολυβδαινικό διάλυμα προσθέτεται σιγά-σιγά στο μονοβαναδικό διάλυμα με ταυτόχρονη ανάδευση και αραιώνεται μέχρι τα 1000ml.

12.5.4. Μέτρηση αζώτου

Ζυγίζεται 1 g ξηρού φυτικού δείγματος σε σκόνη και τοποθετείται σε γυάλινους σωλήνες. Προστίθενται 20 ml πυκνού H_2SO_4 και δυο ταμπλέτες καταλύτη σεληνίου Merck. Οι ταμπλέτες σεληνίου περιέχουν 200 mg CuSO_4 και 10 g K_2SO_4 . Γίνεται προθέρμανση του συστήματος πέψης στους 120°C για 15 min και ακολουθεί υγρή καύση (πέψη) των δειγμάτων στους 390°C μέχρι να αποχρωματιστούν τα δείγματα σύμφωνα με το blank (λευκό). Το blank αποτελείται από 20 ml πυκνού H_2SO_4 και δυο ταμπλέτες καταλύτη σεληνίου Merck, χωρίς φυτικό δείγμα. Η πέψη ολοκληρώνεται όταν όλος ο οργανικός άνθρακας μετατρέπεται σε CO_2 . Αφού κρυώσουν τα δείγματα για 20 min γίνεται η απόσταξη στο σύστημα της αυτόματης απόσταξης (Büchi, Autokjeldahl unit K-370, Switzerland) προσθέτοντας 50 ml νερό και 90 ml NaOH 32% w/v. Με την απόσταξη το διάλυμα γίνεται πράσινο. Προστίθεται βορικό οξύ (H_3BO_3) 2% w/v για να δεσμεύσει την NH_3 με τη μορφή συμπλόκου και στη συνέχεια γίνεται ογκομέτρηση με H_2SO_4 0,1N (σχηματισμός $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$ και απελευθέρωση βορικών ανιόντων) και το διάλυμα γίνεται ροζ.

Ο τύπος με τον οποίο υπολογίζεται η συγκέντρωση N στο δείγμα είναι ο εξής:

$$N (\%) = (T - B) \times \text{Normality} \times 1,4 / S$$

Όπου:

T = ml του διαλύματος που ογκομετρούμε (τιτλοδότης),

B = ml του διαλύματος που τιτλοδοτούμε το λευκό δείγμα (blank),

Normality = κανονικότητα του διαλύματος ογκομέτρησης (π.χ. 1/10),

S = βάρος του αρχικού δείγματος σε γραμμάρια.

12.6. ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ

12.6.1. Προσδιορισμός κριτηρίων ποιότητας ελαιολάδου

Οι προσδιορισμοί του αριθμού υπεροξειδίων, της ελεύθερης οξύτητας και των ειδικών συντελεστών απόσβεσης (K_{232} , K_{270}) πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με τις επίσημες μεθόδους του Κανονισμού της Ευρωπαϊκής Κοινότητας (EEC/2568/91). Οι μετρήσεις έλαβαν χώρα στο Εργαστήριο Χημείας Τροφίμων του Τομέα Βιομηχανικής Χημείας και Χημείας Τροφίμων του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

12.6.1.1. Ελεύθερη οξύτητα

Ο προσδιορισμός της οξύτητας έγινε με ογκομέτρηση των ελεύθερων λιπαρών οξέων που υπάρχουν σε 5 g λιπαρής ύλης με διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου 0,1N. Συγκεκριμένα 5 g δείγματος διαλύθηκαν σε 25 ml μείγματος αιθανόλη/διαιθυλαιθέρα (1:1) και ογκομετρήθηκαν με διάλυμα NaOH 0,1N. Ως δείκτης χρησιμοποιείται η φαινολοφθαλείνη (διάλυμα 1% σε αιθανόλη). Το ρόδινο χρώμα της φαινολοφθαλείνης θα πρέπει να διατηρηθεί για τουλάχιστον 10 δευτερόλεπτα

Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως g ελαϊκού οξέος/100 g ελαιολάδου με τη χρήση του τύπου:

$$\text{Οξύτητα (\%)} = \frac{V \times c \times M}{10 \times m}$$

όπου V είναι ο όγκος (σε ml) του τιτλοδοτημένου διαλύματος υδροξειδίου του νατρίου που έχει χρησιμοποιηθεί, c είναι η ακριβής συγκέντρωση, σε moles ανά λίτρο, του τιτλοδοτημένου διαλύματος υδροξειδίου του νατρίου που έχει χρησιμοποιηθεί, M είναι το γραμμομοριακό βάρος, σε γραμμάρια ανά mole, του οξέος που χρησιμοποιήθηκε για την έκφραση του αποτελέσματος (= 282), m είναι το βάρος, σε γραμμάρια, του δείγματος δοκιμής.

12.6.1.2. Αριθμός υπεροξειδίων (A.Y.)

Σε εσφυρισμένη κωνική φιάλη ζυγίστηκαν 1.0000 g ελαιολάδου. Προστέθηκαν 10 ml χλωροφόρμιου, 15ml οξικού οξέος (διαλυτοποίηση του δείγματος μεέντονη ανάδευση) και 1 ml κορεσμένου διαλύματος ιωδιούχου

καλίου (ΚΙ). Η φιάλη πωματίστηκε, αναδεύτηκε για ένα λεπτό, και αφέθηκε για 5 λεπτά ακριβώς σε σκοτεινό μέρος σε θερμοκρασία 15 έως 25°C. Πριν την ογκομέτρηση έγινε προσθήκη 75 ml απεσταγμένου νερού. Το ιώδιο που απελευθερώνεται ογκομετρείται με διάλυμα θειοθειικού νατρίου ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 0,002 N χρησιμοποιώντας δείκτη διαλύματος αμύλου (1%). Εκτελείται ταυτόχρονα λευκός προσδιορισμός.

Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως mg O_2/kg ελαιολάδου με τη χρήση του τύπου:

$$AY = \frac{V \times T \times 1000}{m}$$

όπου V είναι ο αριθμός των ml του προτύπου διαλύματος $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (ml που χρησιμοποιήθηκαν για το δείγμα – ml που χρησιμοποιήθηκαν για λευκό προσδιορισμό), T είναι η ακριβής κανονικότητα του διαλύματος $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ που χρησιμοποιήθηκε και m είναι το βάρος του δείγματος σε γραμμάρια.

12.6.1.3. Ειδικό συντελεστής απόσβεσης (K_{232} , K_{270})

Πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τις επίσημες μεθόδους του Κανονισμού της Ευρωπαϊκής Κοινότητας (EC, 1991).

Διαλύτης: ισο-οκτάνιο (κατάλληλο για φασματοφωτομετρική χρήση).

Συσκευή: φασματοφωτόμετρο υπεριώδους – ορατού UltraspecII LBK Biochrom (Cambridge, England)

Πειραματική πορεία: Ζυγίστηκαν 0,1g δείγματος σε ογκομετρική φιάλη των 10ml. Έγινε διάλυση του δείγματος με ισοοκτάνιο και συμπληρώθηκε ο όγκος μέχρι τη χαραγή με τον διαλύτη (ισοοκτάνιο). Αυτό το διάλυμα χρησιμοποιήθηκε για τη μέτρηση της απορρόφησης στα 270 nm στο φασματοφωτόμετρο υπεριώδους – ορατού, χρησιμοποιώντας γυάλινη κυψελίδα (1cm). Το ανωτέρω διάλυμα αραιώθηκε 1/5 με ισοοκτάνιο για την μέτρηση της απορρόφησης στα 232 nm. Ως τυφλό χρησιμοποιήθηκε ο διαλύτης (ισοοκτάνιο).

12.6.2. Προσδιορισμός λιπαρών οξέων με GC/FID

Ο προσδιορισμός των λιπαρών οξέων (F.A.) διεξήχθη με ψυχρή μετεστεροποίηση σε μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφεται στην Ευρωπαϊκή Οδηγία (EEC/2568/91).

0,1 g ελαιολάδου διαλύονται σε 2 mL εξανίου και έγινε προσθήκη 2 mL μεθανολικού διαλύματος KOH 2N. Ακολούθησε ισχυρή ανάδευση και φυγοκέντρηση για 5min στα 1350 rpm. Για την αεριοχρωματογραφική ανάλυση λαμβάνεται 1μL από την υπερκείμενη στοιβάδα και εισήχθη στον εισαγωγέα του αέριου χρωματογράφου.

Όργανο: Αέριος χρωματογράφος Agilent 6890N με ανιχνευτή FID.

Στήλη: CarbowaxτηςAltech Associates (Inc. Deerfield, IL)

Μήκος: 30 mm

Εσωτερική διάμετρος: 0,32 mm

Πάχος στρώματος: 0,25μm

Ροή φέροντος αερίου (He): 40cm/s

Splitratio:1:20

Θερμοκρασία θαλάμου εξαέρωσης και ανιχνευτή: 250 °C

Θερμοκρασιακό πρόγραμμα φούρνου: Αρχική θερμοκρασία 180°C όπου παραμένει για 2 min, αύξηση της θερμοκρασία στους 250°C με ρυθμό 3°C και παραμονή στους 250°C για 2 min.

Η περιεκτικότητα σε δεδομένο συστατικό εκφράζεται σε εκατοστιαία κατά μάζα αναλογία σύμφωνα με τον τύπο:

$$i (\%) = \frac{A_i}{\sum_a} \times 100$$

όπου i είναι το δεδομένο συστατικό, A_i είναι το εμβαδόν της κορυφής που αντιστοιχεί στο i και \sum_a είναι το άθροισμά των εμβαδών όλων των κορυφών.

Τα κύρια λιπαρά οξέα που μελετήθηκαν είναι: το παλμιτικό (C16:0), το παλμιτελαϊκό (C16:1), το δεκαεπτανικό (C17:0), το δεκαεπτενικό (C17:1), το στεατικό (C18:0), το ελαϊκό (C18:1), το λινελαϊκό (C18:2), το λινολενικό (C18:3), το αραχιδικό (C20:0), το εικοσενικό (C20:1), το βεχενικό (C22:0) και το λιγνοκηρικό (C24:0) εκφρασμένα (%).

12.6.3. Εκχύλιση των φαινολικών ενώσεων ελαιολάδου

Στο δοχείο ζύγισης (γυάλινος σωλήνας με βιδωτό πώμα) του δείγματος προστέθηκαν 0,5 ml εσωτερικού προτύπου 4-υδροξυφαινυλοξικό οξύ

(διαλύματος συγκέντρωσης 100 ppm σε μεθανόλη) και εξατμίστηκαν με διαβίβαση ρεύματος αζώτου. Στη συνέχεια, στο ίδιο δοχείο, ζυγίστηκαν 5,00 g δείγματος. Έγινε εκχύλιση των φαινολικών ενώσεων με μεθανόλη(3 x 5 ml) με ανατάραξη στο Vortex για ένα (1) λεπτό κάθε φορά. Η μεθανολική φάση συγκεντρώθηκε σε σφαιρική φιάλη και η εξάτμιση του διαλύτη έγινε σε περιστροφικό εξατμιστήρα στους 40 °C. Το ξηρό υπόλειμμα επαναδιαλύθηκε σε 5 ml ακετονιτρίλιου. Ακολούθησε έκπλυση με εξάνιο (3 x 5 ml) για απομάκρυνση ελαιολάδου που τυχόν είχε απομείνει. Η φάση του ακετονιτρίλιου μεταφέρθηκε σε σφαιρική φιάλη και τοποθετήθηκε εκ νέου σε περιστροφικό εξατμιστήρα στους 40 °C για εξάτμιση του διαλύτη. Τέλος, το ξηρό υπόλειμμα επαναδιαλύθηκε σε 2 ml μίγματος μεθανόλης:νερού (1:1 v/v) και διηθήθηκε με φίλτρο (φίλτρο Acrodisc 13 mm Syringefilter με 0.45 μm Nylonmembrane).

12.6.3.1. Προσδιορισμός των φαινολικών ενώσεων με HPLC - UV

Ο διαχωρισμός των φαινολικών ενώσεων έγινε σε υγρο χρωματογράφο υψηλής απόδοσης JASCO MODEL (Tokyo, Ιαπωνία) με μονάδα μίξης και διανομής των διαλυτών LG-980-02 και αντλία PU-980, συνδεδεμένα με ανιχνευτή UV/vis, UV-970. Η εισαγωγή των δειγμάτων έγινε με βαλβίδα εισαγωγής Rheodyne, χωρητικότητας 20μL. Χρησιμοποιήθηκε η στήλη Lichrospher 100RP18 (4.0 mmid× 250 mm, μέγεθος σωματιδίων: 5 μm Merck).

12.6.3.2.Πρότυπα, αντιδραστήρια και διαλύτες

Η μεθανόλη, το ακετονιτρίλιο, το εξάνιο και το νερό που χρησιμοποιήθηκαν για την εκχύλιση των φαινολικών ενώσεων αλλά και για τον χρωματογραφικό προσδιορισμό ήταν HPLC καθαρότητας από τη Merck (Darmstadt, Γερμανία). Τα πρότυπα που χρησιμοποιήθηκαν για τη ταυτοποίηση και τον ποσοτικό προσδιορισμό των φαινολικών ενώσεων ήταν: η τυροσόλη (5-100 ppm) (για την ποσοτικοποίηση των παραγώγων τυροσόλης) από Sigma-Aldrich (Steinheim, Γερμανία), ελαιοευρωπαϊνή(10-500 ppm) (για την ποσοτικοποίηση των παραγώγων υδροξυτυροσόλης) από την Extrasynthese (Genay, Γαλλία), λουτεολίνη (3-150 ppm) από την Merck-Schuchardt (Hohenbrunn, Γερμανία) και η πινορεσινόλη (1-20 ppm) (για την

ποσοτικοποίηση της 1-ακετοξυπινореσινόλης) από την SeparationResearch (Turku, Φιλανδία). Τέλος, το *p*-υδροξυ-φαινυλοξικό οξύ από την Sigma-Aldrich (Steinheim, Γερμανία) χρησιμοποιήθηκε ως εσωτερικό πρότυπο.

12.6.3.3. Συνθήκες ανάλυσης

Οι διαλύτες έκλουσης που χρησιμοποιήθηκαν ήταν 2,5% υδατικό διάλυμα οξικού οξέος (A) και μεθανόλη / ακετονιτρίλιο, 1/1 v/v (B).

Το πρόγραμμα βαθμωτής έκλουσης που χρησιμοποιήθηκε ήταν το εξής:

- Αρχικές συνθήκες: 95% A και 5% B,
- 70% A και 30% B στα 20 λεπτά,
- 65% A και 35% B στα 25 λεπτά,
- 60% A και 40% B στα 45 λεπτά,
- 30% A και 70% B στα 60 λεπτά,
- 0% A και 100% B στα 65 λεπτά και διατήρηση μέχρι τα 75 λεπτά και τέλος
- επιστροφή στις αρχικές συνθήκες στα 80 λεπτά.

Η ταχύτητα ροής της κινητής φάσης ήταν 1 ml/min, η ανάλυση έγινε σε θερμοκρασία δωματίου και ο όγκος δείγματος που εισήχθη ήταν 20μL. Ο προσδιορισμός των φαινολικών ενώσεων πραγματοποιήθηκε στα 280nm και 340nm.

12.6.4. Ημιποσοτικός προσδιορισμός πτητικών ενώσεων ελαιολάδου με SPME-GC/MS

Η συλλογή του πτητικού κλάσματος των δειγμάτων ελαιολάδου έγινε με τη μέθοδο της μικροεκχύλισης σε στερεά φάση (Solid-phase microextraction - SPME) και η ταυτοποίηση και ο ημιποσοτικός προσδιορισμός του πτητικού κλάσματος των δειγμάτων ελαιολάδου έγινε με αέρια χρωματογραφία συζυεγμένη με φασματογράφο μάζας.

Για την ανάλυση, 5 g δείγματος τοποθετήθηκαν σε ειδικό φιαλίδιο των 20ml, προστέθηκαν 0,2ml εσωτερικού προτύπου (4-μεθυλ-2-πεντανόλη 6,4 mg/L) και το φιαλίδιο σφραγίστηκε με πώμα. Η δειγματοληψία έγινε με έκθεση της ίνας 30/50μm DVB/CAR/PDMS (SupelcoLtd., Bellefonte, PA) για 30 λεπτά στον υπερκείμενο χώρο του δείγματος. Η θερμοκρασία του δείγματος

παρέμεινε σταθερή, υπό ανάδευση, στους 50°C. Κάθε ανάλυση πραγματοποιήθηκε εις τριπλούν.

12.6.4.1. Αεριοχρωματογραφικές συνθήκες

Αέριος Χρωματογράφος GC-2010 Plus Chromatograph εξοπλισμένος με φασματογράφο μάζας MS-QP 2010 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan).

Θερμοκρασία εισαγωγέα: 260°C.

Λόγος split: 2:1

Θερμοκρασιακό πρόγραμμα: αρχική θερμοκρασία 40°C για 5 min, άνοδος της θερμοκρασίας στους 160°C με ρυθμό 3°C/min, άνοδοστης θερμοκρασίας τους 240°C με ρυθμό 10°C/min και διατήρηση στους 240°C για 15 min

Στήλη: DB5-MS, 60m × 0.25mm × 1μm (J & W Scientific, Folsom, CA, USA).

Θερμοκρασία γραμμής μεταφοράς: 270°C.

Φέρον αέριο: ήλιο (He) καθαρότητας 99,999% με ταχύτητα ροής 1,5 mL/min.

Συνθήκες MS: MS Source: 230°C, θερμοκρασία τετράπολου: 150°C

Καταγραφή όλων των ιόντων με λόγο: m/z = 29-350

Scan/sec: 3

Ενέργεια δέσμης ηλεκτρονίων ιονισμού: 70 eV.

Ο ημιποσοτικός προσδιορισμός των πτητικών ενώσεων έγινε με τη βοήθεια της συγκέντρωσης του εσωτερικού προτύπου. Οι συγκεντρώσεις των επιμέρους πτητικών ενώσεων εκφράστηκαν ως mg 4-μεθυλ-2-πεντανόλης ανά κιλό ελαιολάδου. Η ταυτοποίηση των πτητικών συστατικών πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια της βιβλιοθήκης φασμάτων μαζών Nist 11 Mass Spectral Library και τον υπολογισμό των δεικτών κατακράτησης (RI). Για τον υπολογισμό των δεικτών κατακράτησης χρησιμοποιήθηκε διάλυμα αλκανίων C8-C20 (Supelco Bellefonte, PA, USA).

12.6.4.2. Στατιστική Ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με το κριτήριο Duncan για P=0.05. Ίδιο γράμμα κατά τη στατιστική ανάλυση σημαίνει μη στατιστικώς σημαντικές διαφορές.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 13

13.1. Εδαφολογική ανάλυση

Η εδαφολογική ανάλυση του εδάφους του ελαιώνα, στον οποίο εφαρμόστηκε η διαφυλλική λίπανση με τα δύο εμπορικά σκευάσματα από εκχύλισμα φυκών, έγινε συμπληρωματικά μετά το δεύτερο χρόνο τουπειράματος, δύο μήνες μετά από τον τελευταίο διαφυλλικό ψεκασμό, προκειμένου να παρατηρήσουμε τη σύσταση του εδάφους με την χρήση των δύο οργανικών φυσικών λιπασμάτων Maxicrop και Kelp-100 σε συνδυασμό με την προσθήκη βορίου και σε συνάρτηση με τον μάρτυρα (πίνακας 12.1.). Οι δειγματοληψίες έγιναν σύμφωνα με τη διαδικασία, που ακολουθεί το εργαστήριο εδαφολογικών αναλύσεων της Ένωσης Συνεταιρισμένων Αγροτών Κέρκυρας. Οι μετρήσεις έγιναν στο εργαστήριο εδαφολογικών αναλύσεων της Ένωσης Συνεταιρισμένων Αγροτών Κέρκυρας.

Τα αποτελέσματα των εδαφολογικών αναλύσεων, όπως φαίνονται στο Πίνακα 13.1. έδειξαν ότι:

Σε όλες οι μεταχειρίσεις παρατηρήθηκαν αυξημένα επίπεδα της οργανικής ουσίας, και μείωση του pH. Η αυξημένη ωστόσο παρουσία της οργανικής ουσίας βοηθά μεν στην βελτίωση της δομής του εδάφους (καλλίτερος αερισμός, συγκράτηση νερού και θρεπτικών συστατικών), μπορεί όμως να προκαλέσει και μείωση της διαθεσιμότητας του Mn για τα φυτά (Fageria et al., 1997, Foth et al., 1997, Kabata – Pendias et al., 2001).

Η ηλεκτρική αγωγιμότητα σε όλες τις μεταχειρίσεις, κρίνεται ως χαμηλή. Λόγω της σημαντικής μετακίνησης των ανόργανων στοιχείων από το έδαφος προς τα φύλλα και τους καρπούς, και της μη εφαρμογής λίπανσης στο έδαφος, διαφαίνεται ότι η δεξαμενή του εδάφους στο σύνολο των ανιόντων και κατιόντων, σχεδόν εξαντλείται.

Το pH του εδάφους είναι ουδέτερο, και ως εκ τούτο δεν προκαλεί αρνητικές επιπτώσεις στην διαθεσιμότητα των στοιχείων Mn, Zn, και Fe, όπως παρατηρείται σε υψηλότερες τιμές εδαφικού pH (Davieset 1994, Kabata – Pendias et al., 2001).

Η συγκέντρωση του καλίου μας δείχνει ότι το έδαφος βρίσκεται σε καλή κατάσταση (Κουκουλάκης, 1995), με επάρκεια του συγκεκριμένου στοιχείου

σε όλες τις επεμβάσεις. Η μεγαλύτερη τιμή καταγράφεται στο δείγμα της μεταχείρισης με το Kelp-100.

Η τιμή της συγκέντρωσης του Fe μας δίνει την πληροφορία ότι το έδαφος βρίσκεται σε μέτρια προς ικανοποιητική κατάσταση αναφορικά με το συγκεκριμένο στοιχείο σε όλες τις μεταχειρίσεις. Η χαμηλότερη τιμή παρατηρείται στην μεταχείριση με το Kelp-100. Το γεγονός αυτό θα μπορούσε να οφείλεται στη μεγαλύτερη απορρόφηση του Fe στην εν λόγω μεταχείριση.

Οι συγκεντρώσεις Cu κυμάνθηκαν σε επίπεδα επάρκειας στο έδαφος σε όλες τις μεταχειρίσεις. Την μεγαλύτερη συγκέντρωση Cu παρουσιάζει ο μάρτυρας. Επίσης, παρατηρούμε ότι τα επίπεδα Cu στα φύλλα βρίσκονται σε πολύ ικανοποιητικά επίπεδα.

Διαφαίνεται ότι με την επαναλαμβανόμενη χρήση των δύο διαφυλλικών σκευασμάτων προκαλείται εξάντληση του εδάφους των ανόργανων στοιχείων Mn και B μετά την εφαρμογή του Maxicrop και των ανόργανων στοιχείων Fe, B και P μετά την εφαρμογή του Kelp-100, οπότε πιθανολογείται να προκληθεί και έντονη παρεννιαυτοφορία.

Σύμφωνα με τους Σταματάκο et al. (2013), η διαφυλλική εφαρμογή εκχυλισμάτων φυκών στην ποικιλία ελιάς 'Μαστοειδής' χωρίς λίπανση από το έδαφος, προκάλεσε σημαντική μείωση της ηλεκτρικής αγωγιμότητας και δραματική μείωση της συγκέντρωσης ορισμένων βασικών ανόργανων στοιχείων στο έδαφος σε επίπεδα ανεπάρκειας, κυρίως λόγω της εντυπωσιακής αύξησης της παραγωγικότητας των ελαιοδέντρων και της μετακίνησης των ανόργανων στοιχείων από το έδαφος προς τα φύλλα και τους καρπούς. Τα ανωτέρω αποτελέσματα είναι σε σχετική συμφωνία με τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας.

Συμπερασματικά, για τη διατήρηση της θρεπτικής κατάστασης της ελιάς σε επίπεδα επάρκειας για επαναλαμβανόμενες καλλιεργητικές περιόδους, προτείνεται ο συνδυασμός των σκευασμάτων που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα έρευνα με κλασικές μεθόδους λίπανσης οργανικής γεωργίας (κοπριά ή χορτοδοτικά ψυχανθή), είτε με σχετικά χαμηλές ποσότητες ανόργανων λιπασμάτων σε πρόγραμμα ολοκληρωμένης διαχείρισης.

Πίνακας 13.1.Εδαφολογική ανάλυση

	Μέθοδος	Επίπεδα επάρκειας (Κουκουλάκης, 1995)	CONTROL	MAX	KELP-100	Μονάδες
Μηχανική κατάταξη εδάφους			M	M	M	
Μηχανική Σύσταση			49,6% Άμμος 28,4% Ίλος 22,0% Άργιλος	52,2% Άμμος 22,0% Ίλος 27,8% Άργιλος	52,0% Άμμος 30,0% Ίλος 18,0% Άργιλος	
Ειδική Ηλ. Αγωγιμότητα	Εκχύλιση κορεσμού	250-750	158	106	119	mS/cm
PH – Οξύτητα	Αιώρημα Εδάφους:Νερού	6-7,5	7,16	6,32	6,03	-
Οργανική Ουσία	Wickley – Black	1-3	2,18	2,58	3,24	%
Ολικό Ανθρ. Ασβ. (CaCO₃)	Ασβεστόμετρο –Bernard	2-20	0	0	0	%
Νιτρικό Άζωτο (NO₃-N)	Εκχύλιση με KCl/φασμ.	21-40	18,6	28,7	21,6	ppm
Φώσφορος (P)	Κατά Olsen/φασματοφ.	16-25	12,6	29,4	14,1	ppm
Κάλιο (K)	Εκχύλιση με Ac-NH ₄ /AAS	0.6-0.9cmol/kg	186,6	150,6	271,2	ppm
Σίδηρος (Fe)	Εκχύλιση με DTPA/AAS	11-24	14,6	22,2	10,8	ppm
Βόριο (B)	Ζέον Ύδωρ	0,7-1,2	0,71	0,64	0,59	ppm
Χαλκό (Cu)		0,8-2	26,6	15,2	18,1	ppm
Μαγγάνιο (Mn)		50-100	24,8	21,2	27,8	ppm
Ψευδάργυρος (Zn)		1-2	1,75	1,3	1,7	ppm

13.2. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΚΑΡΠΩΝ

13.2.1. Μέσο Βάρος του ελαιοκάρπου της ποικιλίας «Λιανολιά».

Στον Πίνακα 13.2. δίνονται οι μέσοι όροι του βάρους (g) 10 αντιπροσωπευτικών ελαιοκάρπων ανά δέντρο της ποικιλίας «Λιανολιά Κερκύρας» για κάθε μεταχείριση.

Πίνακας 13.2. Μέσο βάρος (g) ελαιοκάρπου της ποικιλίας «Λιανολιά Κερκύρας» μετά από ψεκασμό των ελαιοδέντρων με Maxicrop, Kelp-100, B και των συνδυασμών τους κατά τα δύο έτη (2012 και 2013).

Μεταχείριση	Μέσο βάρος καρπού (g) (2012)	Μέσο βάρος καρπού (g) (2013)
Μάρτυρας	1,34 ^a	1,38 ^a
Maxicrop	1,41 ^a	1,45 ^a
Maxicrop+B	1,46 ^{ab}	1,59 ^{ab}
Maxicrop+Maxicrop	1,64 ^c	1,66 ^c
Kelp-100	1,46 ^{ab}	1,58 ^{ab}
Kelp-100+B	1,59 ^{bc}	1,67 ^{bc}
Kelp-100+Kelp-100	1,72 ^c	1,78 ^c

a, b, c ... Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με το κριτήριο Duncan για $p=0,05$. Διαφορετικό γράμμα στην ίδια στήλη σημαίνει στατιστικώς σημαντικές διαφορές.

Από τα αποτελέσματα παρατηρείται ότι οι ψεκασμοί με τα σκευάσματα Maxicrop και Kelp-100 μία φορά προκάλεσαν την μικρότερη αύξηση του βάρους του καρπού σε σχέση με τον μάρτυρα, ενώ οι υπόλοιπες μεταχειρίσεις (διπλός ψεκασμός και προσθήκη βορίου, κυρίως στο σκεύασμα Kelp-100) προκάλεσαν τη μεγαλύτερη αύξηση στο μέσο βάρος του καρπού. Μεταξύ των εφαρμογών των δύο σκευασμάτων την μεγαλύτερη αύξηση στο μέσο βάρος του καρπού προκάλεσε η εφαρμογή του Kelp-100, είτε μία φορά, είτε με την προσθήκη B ενώ τη μεγαλύτερη αύξηση έδωσε η διπλή εφαρμογή του. Τα ίδια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και τα δύο έτη εφαρμογής.

Μελέτες έχουν διερευνήσει την δυνατότητα χρήσης θρεπτικών συστατικών με ψεκασμό για τη βελτίωση του βάρους του καρπού της ελιάς (Yermiyahu et al., 2009). Ο Booth (1966) υπέθεσε ότι οι κυτοκινίνες εμπλέκονται σε αυτή τη δράση, και αυτή η υπόθεση αποδείχθηκε και πειραματικά (Crouchl, 1993). Οι Blunden και Wildgoose (1977) εντόπισαν στενή σχέση μεταξύ των αποτελεσμάτων που ελήφθησαν μετά από τη χρήση κινητίνης και μετά από την εφαρμογή ενός εμπορικού σκευάσματος από φύκη σε καλλιέργεια πατάτας. Τα αποτελέσματα ερευνών επαληθεύουν τα παραπάνω δεδομένα, αφού σε θαλάσσια φύκη, αλλά και αργότερα σε εμπορικά σκευάσματα, εντοπίστηκαν ουσίες με δράση κυτοκινίνης (Πασπάτης, 1998). Σημαντική βελτίωση στο μέγεθος του καρπού της ελιάς και στην ποιότητα του ελαιολάδου παρατηρήθηκε σε δένδρα τα οποία ψεκάστηκαν με εκχύλισμα του φύκους *Ascophyllum nodosum* και την προσθήκη N και B (Chouliaras et al., 2009, Tasioula-Margari et al., 2011). Αύξηση του βάρους του καρπού της ντομάτας παρατηρήθηκε μετά από λίπανση με κομποστ που περιείχε φύκη (Illera-Vives et al. 2012). Οι Hutton & Van Staden (1984) βρήκαν ότι κατά το στάδιο της καρποφορίας οι καρποί περιέχουν υψηλά επίπεδα κυτοκινίνης. Η εφαρμογή κυτοκινίνης σε καλλιέργεια σιταριού, λίγο μετά την άνθηση, αυξάνει τον αριθμό των ενδοσπερμικών κυττάρων (Herzog, 1982). Ο ψεκασμός των δέντρων μηλιάς με εκχυλίσματα φυκών (Goëmar 86 και Kelpak) οδήγησε σε αύξηση του μεγέθους των καρπών των μήλων και της απόδοσης τους, ειδικά με το προϊόν Goëmar (Basak 2008). Οι Chouliaras et al (2011) παρατήρησαν ότι ο συνδυασμός κοπριάς προβάτου και εφαρμογής οδήγησαν σε περαιτέρω αύξηση του μέσου βάρους των καρπών της επιτραπέζιας ελιάς της ποικιλίας «Καλαμών» απ' ό,τι η μεταχείριση με την χρήση μόνο κοπριάς προβάτων.

Στην παρούσα μελέτη, η υψηλή ποσότητα αμινοξέων που περιέχεται στα εμπορικά σκευάσματα Kelp-100 και Maxicrop, θα μπορούσε να είναι η αιτία για την υψηλότερη αύξηση του καρπού της ελιάς. Οι επιδράσεις των φυκών και των προϊόντων που προέρχονται από αυτά στην ανάπτυξη των καρπών έχουν μελετηθεί και για άλλα είδη όπως η φράουλα (Ramezani et al., 2009, Roussos et al., 2009). Διαφυλλική εφαρμογή ενός σκευάσματος εκχυλίσματος φυκών από το *Ascophyllum nodosum* σε ακτινίδια (Chouliaras et al., 1997) και σε σταφύλια (Ali Sabir et al., 2014) αύξησε σημαντικά το

μέγεθος του καρπού. Παρόμοια αποτελέσματα όσον αφορά στο μέγεθος του καρπού και τον δείκτη ωριμότητας έχουν αναφερθεί για τα μανταρίνια «Clementine» και τα πορτοκάλια «Navelina» μετά από ψεκασμό με ένα προϊόν του φύκους *Ascophyllum nodosum* (Fornesetal., 2002).

13.2.2. Δείκτης ωριμότητας και ελαιοπεριεκτικότητα του ελαιόκαρπου της ποικιλίας «Λιανολιά».

Στον Πίνακα 12.3. δίνονται τα αποτελέσματα μέτρησης του δείκτη ωριμότητας για όλες τις μεταχειρίσεις για τα δύο έτη (2012 και 2013).

Πίνακας 13.3.: Μεταβολές του δείκτη ωριμότητας (*maturity index, M.I.*) μετά από ψεκασμό των ελαιοδέντρων της ποικιλίας «Λιανολιά Κερκύρας» με *Maxicrop*, *Kelp-100* και *B* και των συνδυασμών τους, κατά τα έτη 2012 και 2013.

Μεταχείριση	M.I. (2012)	M.I. (2013)
Μάρτυρας	3,1±0,02b	3,0±0,02a
Maxicrop	3,7±0,06 ^c	3,1±0,01 ^a
Maxicrop+B	3,6±0,03 ^c	3,2±0,03 ^a
Maxicrop+Maxicrop	3,6±0,04 ^c	3,6±0,05 ^b
Kelp-100	2,9±0,01 ^{ab}	3,5±0,03 ^{ab}
Kelp-100+B	3,1±0,03 ^b	3,6±0,05 ^b
Kelp-100+Kelp-100	2,7±0,01 ^a	3,7±0,07 ^b

Με την εφαρμογή διαφυλλικού ψεκασμού της ελιάς με *Maxicrop*, *Maxicrop+B* και *Maxicrop+Maxicrop* το 2012 επιταχύνθηκε η ωρίμανση του ελαιόκαρπου (3,7, 3,6 και 3,6, αντίστοιχα) σε σύγκριση με το μάρτυρα. Η προσθήκη του *B* και ο διπλός ψεκασμός με *Maxicrop* δεν βοήθησε ιδιαίτερα την πρωίμιση. Η εφαρμογή του *Kelp-100* (*Kelp-100*, *Kelp-100+Kelp-100*) οδήγησε σε χαμηλότερο M.I. σε σύγκριση με αυτή του μάρτυρα (2,9 και 2,7, αντίστοιχα). Η συμπληρωματική εφαρμογή του *B* με το *Kelp-100* είχε ως

αποτελεσμα ελαφρώς υψηλότερο M.I., σχεδόν τιμή παρόμοια με αυτή του μάρτυρα (M.I.: 3,1).

Τα αποτελέσματα μέτρησης του M.I. κατά το δεύτερο έτος (2013) εφαρμογής ψεκασμού με τα σκευάσματα Maxicrop, Kelp-100, B και τον συνδυασμών τους ήταν διαφορετικά. Σε γενικές γραμμές, η χρήση των σκευασμάτων επιτάχυνε την ωρίμανση σε σύγκριση με το μάρτυρα. Οι μεταχειρίσεις με το σκεύασμα Kelp-100 σε όλους τους συνδυασμούς του έδωσαν υψηλότερες τιμές M.I. (Kelp-100–M.I.: 3,5, Kelp-100+B–M.I.: 3,6, Kelp-100+Kelp-100–M.I.: 3,7) σε σύγκριση με την εφαρμογή των συνδυασμών του σκευάσματος Maxicrop (Maxicrop–M.I.: 3,1, Maxicrop+B–M.I.:3,2, Maxicrop+Maxicrop–M.I.: 3,6).

Συγκρίνοντας τους δείκτες ωρίμανσης μεταξύ των δύο ετών εφαρμογής των σκευασμάτων παρατηρείται ελάττωση του M.I. του μάρτυρα και των εφαρμογών με το σκεύασμα Maxicrop το δεύτερο έτος, ενώ η εφαρμογή του Kelp-100 κατά το δεύτερο έτος (2013) έδωσε υψηλότερους M.I. σε σύγκριση με αυτούς του 2012.

Οι Chouliaras et al. (2009) παρατήρησαν ότι η εφαρμογή του SWE αφενός επιτάχυνε την ωρίμανση των καρπών και αφετέρου παρατηρήθηκε αύξηση της ελαιοπεριεκτικότητας του ελαιοκάρπου. Το βόριο (B) αποτελεί σημαντικό ανόργανο στοιχείο το οποίο επηρεάζει την κυτταρική διαίρεση και την ωρίμανση των καρπών της ελιάς (Therios, 2009). Οι Ali Sabir et al (2014) παρατήρησαν ότι η διαφυλλική εφαρμογή ψεκασμού της αμπέλου με SWE (*A. nodosum*), το πρώτο έτος εφαρμογής, δεν επηρέασε την ωρίμανση των καρπών της, ωστόσο, το δεύτερο έτος εφαρμογής των ψεκασμών παρατηρήθηκε επιτάχυνση της ωρίμανσης των καρπών της αμπέλου. Αντίστοιχα αποτελέσματα αναφέρονται σε έρευνες για την καλλιέργεια πιπεριάς (Arthur et al., 2003) και ντομάτας (Crouch and van Staden, 1992). Επανειλημμένη εφαρμογή ψεκαστικού διαλύματος που περιέχει εκχυλίσματα από φύκη στα φύλλων (Maxicrop) αύξησε το μήκος, τη διάμετρο και την απόδοση των καρπών στις πιπεριές ενώ συμβάλλει και στην πρόωμη συγκομιδή της καλλιέργειας (Eris et al., 1995).

Στον Πίνακα 13.4. δίνονται τα αποτελέσματα μέτρησης της ελαιοπεριεκτικότητας νωπού και ξηρού καρπού κατά τα δύο έτη (2012 και

2013) εφαρμογής των σκευασμάτων Maxicrop, Kelp-100, B και των συνδυασμών τους.

Πίνακας 13.4 :Ελαιοπεριεκτικότητα (%) νωπών και ξηρών καρπών της ποικιλίας «Λιανολιά» μετά από ψεκάσμό των ελαιοδέντρων με Maxicrop, Kelp-100 και B και των συνδυασμών τους κατά τα έτη 2012 και 2013.

Μεταχείριση	Oil% (F.w.) (2012)	Oil% (F.w.) (2013)	Oil% (D.w.) (2012)	Oil% (D.w.) (2013)
Μάρτυρας	13,3±3,1 ^a	12±3 ^a	31,9±6,8 ^a	25,5±5,5 ^a
Max	15,7±3,6 ^a	13,4±3,2 ^a	37,7±7,6 ^a	28±6 ^a
Max+B	17±4 ^a	13,0±3,2 ^a	43±8 ^a	25,7±5,3 ^a
Max+Max	16,3±3,7 ^a	14,4±3,4 ^a	42±8 ^a	30,3±6,5 ^a
Kelp-100	14,5±3,4 ^a	15,5±3,5 ^a	30,0±6,6 ^a	32,8±6,9 ^a
Kelp-100+B	14,1±3,3 ^a	14,0±3,3 ^a	34,3±7,2 ^a	29,1±6,3 ^a
Kelp-100+Kelp-100	13,3±3,3 ^a	15,8±3,6 ^a	34,4±7,1 ^a	30,6±6,7 ^a

Συγκρίνοντας την ελαιοπεριεκτικότητα επί νωπού καρπού το 2012, καταγράφηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ του μάρτυρα και των μεταχειρίσεων. Ο ψεκάσμος των ελαιοδέντρων με Maxicrop, Maxicrop + B και Maxicrop+Maxicrop και Kelp-100, και Kelp-100+B έδωσε τιμές υψηλότερες απ' ότι η μεταχείριση του μάρτυρα. Σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε μεταξύ του μάρτυρα (13.3%) και των μεταχειρίσεων που έγινε ψεκάσμος με Maxicrop (15.7%) Maxicrop+B (16.8%) και Maxicrop+Maxicrop (16.3%).

Συγκρίνοντας την ελαιοπεριεκτικότητα επί ξηρού καρπού το 2012, καταγράφηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ του μάρτυρα και των υπολοίπων μεταχειρίσεων. Ο ψεκάσμος των ελαιοδέντρων με Maxicrop, Maxicrop+B και Maxicrop+Maxicrop και Kelp-100+B και Kelp-100+Kelp-100 έδωσε τιμές υψηλότερες απ' ότι η μεταχείριση του μάρτυρα. Σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε μεταξύ του μάρτυρα (31.9%) και των μεταχειρίσεων που έγινε ψεκάσμος με Kelp-100 δύο φορές (34.4%), με Kelp-100 και B (34.3%), με

Maxicrop (37.7%), με Maxicrop και B (42.7%) και Maxicrop δύο φορές (42.5%).

Όσον αφορά στην διακύμανση της ελαιοπεριεκτικότητας του επί τις εκατό του νωπού βάρους των καρπών των μεταχειρίσεων το δεύτερο έτος (2013) εφαρμογής ψεκασμού με τα σκευάσματα Maxicrop, Kelp-100, B και τον συνδυασμών τους σε σχέση με τον μάρτυρα παρατηρούμε ότι υπάρχει σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Ο ψεκασμός των ελαιοδέντρων με Maxicrop και Kelp-100, Kelp-100+B και Kelp-100+Kelp-100 έδωσε τιμές υψηλότερες απ' ότι ο μάρτυρας. Σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε μεταξύ του μάρτυρα (12.1%) και των μεταχειρίσεων που έγινε ψεκασμός με Kelp-100 (15.5%), με Kelp-100+Kelp-100 (15.8%), με Kelp-100 και B (14.0%) και με Maxicrop+Maxicrop (14.4%) (Πίνακας 13.4.).

Συγκρίνοντας την ελαιοπεριεκτικότητα επί ξηρού καρπού το δεύτερο έτος (2013) εφαρμογής ψεκασμού με τα σκευάσματα Maxicrop, Kelp-100 και τον συνδυασμών τους παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ του μάρτυρα και των υπολοίπων μεταχειρίσεων. Ο ψεκασμός των ελαιοδέντρων με Maxicrop και Maxicrop+Maxicrop και Kelp-100, Kelp-100+B και Kelp-100+Kelp-100 έδωσε τιμές υψηλότερες απ' ότι ο μάρτυρας. Σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε μεταξύ του μάρτυρα (25.5%) και των μεταχειρίσεων που έγινε ψεκασμός με Kelp-100 (32.8%), με Kelp-100+Kelp-100 (30.6%), με Kelp-100 και B (29.1%), με Maxicrop (27.6%) και Maxicrop+Maxicrop (30.3%). (Πίνακας 13.4.)

Τα φύκη και τα προϊόντα που τα περιέχουν, έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως στην παραγωγή διαφόρων καλλιεργειών λόγω της παρουσίας ενός αριθμού διεγερτικών ενώσεων που συμβάλλουν στην ανάπτυξη των φυτών, όπως οι κυτοκίνες, αυξίνες, γιββερελλίνες, ανόργανα άλατα, βεταΐνες, αμινοξέα, πρωτεΐνες και ολιγοσακχαρίτες (Cardozo et al., 2007, Khan et al., 2009, Craigie et al., 2011). Οι επιδράσεις φυκών και των προϊόντων, που προέρχονται από αυτά, στην ωρίμανσή τους έχουν μελετηθεί και για άλλα προϊόντα, όπως τα μανταρίνια, τα πορτοκάλια, και οι φράουλες (Fornes et al., 2002, Ramezani et al., 2009, Roussos et al., 2009). Η διαφυλλική εφαρμογή ενός σκευάσματος εκχυλίσματος φυκών από το *Ascophyllum nodosum* σε ακτινίδια, αύξησε σημαντικά τον δείκτη ωριμότητας κατά 10-15 ημέρες (Chouliaras et al., 1997). Σύμφωνα με τον Basak, (2008) η εφαρμογή ενός

εμπορικού προϊόντος από φύκη κατά τη διάρκεια της άνθισης της μηλιάς, καθώς και στα πρώτα στάδια της ανάπτυξης του καρπού της, διεγείρει την κυτταρική διαίρεση στον καρπό (καθοριστικός παράγοντας για το τελικό μέγεθος των καρπών), εντείνει την πρόσληψη μετάλλων από το έδαφος, και ενεργοποιεί τη μεταφορά αφομοιώσιμων μεταλλικών αλάτων στους ταχέως αναπτυσσόμενους ιστούς (Basak et al., 2008). Οι Kingman και Moore (1982) αποκάλυψαν την παρουσία ρυθμιστών αύξησης, συμπεριλαμβανομένων και των κυτοκινινών, σε ένα Νορβηγικής προέλευσης προϊόν με βάση τα φύκη του γένους *Ascophyllum*. Οι Featonby-Smith και Van Staden, (1983,1984) και οι Finnie και Van Staden, (1985) βρήκαν ότι σε εμπορικό σκεύασμα με βάση τα φύκη του γένους *Ecklonia* υπάρχουν ενώσεις με δράση παρόμοια με αυτής της ζεατίνης. Αποτελέσματα έρευνας μετά από διαφυλλική εφαρμογή εκχυλισμάτων φυκών σε καλλιέργεια φασολιού (B.C. Featonby-Smith and J. Van Staden, 1984) έδειξαν ότι η υψηλή συγκέντρωση κυτοκινίνης στον καρπό του φασολιού συνδέεται με την αύξηση της ξηρής μάζας του. Πρόσφατα, οι Khan et al. (2011) αναφέρουν ότι το εκχύλισμα του φύκου *Ascophyllum nodosum*, μετά από διαφυλλικό ψεκασμό στο ζιζάνιο *Arabidopsis thaliana* επηρέασε θετικά την ανάπτυξή του, λόγω της δράσης της κυτοκινίνης. Οι Crouch και Van Staden (1992, 1993) διαπίστωσαν ότι μετά το διαφυλλικό ψεκασμό με σκεύασμα εκχυλίσματος φυκών (*Ecklonia maxima*) σε καλλιέργεια ντομάτας, αύξησε το νωπό της βάρος. Το ίδιο αποτέλεσμα είχε και έρευνα των Kumari et al. (2011). Αύξηση της νωπής και ξηρής μάζας καταγράφηκαν σε ντομάτες που το υπόστρωμα της καλλιέργειας αποτελούνταν από επεξεργασμένα ιχθυερά και εκχυλίσματα του *A. Nodosum* (Ponolny 1981). Τα εκχύλισματα αλγών αποδείχτηκε ότι βελτιώνουν την περιεκτικότητα των μακροθρεπτικών συστατικών στα φύλλα, βοηθούν στην ανάπτυξη και στην ανθεκτικότητα σε συνθήκες ξηρασίας στα σταφύλια (Mancuso et al., 2006).

13.2.3. Συγκέντρωση καροτενοειδών στο φλοιό του καρπού της ελιάς της ποικιλίας «Λιανολιά Κερκύρας»

Τα αποτελέσματα της περιεκτικότητας των καροτενοειδών (φλαβοξανθίνη, βιολαξανθίνη, λουτεΐνη, ζεαξανθίνη, β-καροτένιο) στο φλοιό του καρπού μετά την εφαρμογή του ψεκασμού με τα εκχυλίσματα φυκών για τα έτη 2012 και 2013, δίνονται στους πίνακες 12.5 και 12.6 αντίστοιχα.

Πίνακας 13.5 :Περιεκτικότητα του φλοιού του ελαιοκαρπού σε καροτενοειδή (μg/g)μετά την εφαρμογή των εκχυλισμάτων φυκών σε ελαιόδενδρα της ποικιλίας «Λιανολιά Κερκύρας» το 2012.

Μεταχείριση	Φλαβοξανθίνη	Βιολαξανθίνη	Λουτεΐνη	Ζεαξανθίνη	β-καροτένιο
Μάρτυρας	169,2 ^a	162,2 ^a	190,1 ^a	179,3 ^a	169,7 ^a
Maxicrop	249,7 ^b	220,6 ^b	244,3 ^b	250,6 ^b	238,9 ^b
Maxicrop+B	276,9 ^c	275,6 ^c	289,4 ^c	271,6 ^c	269,4 ^c
Maxicrop+ Maxicrop	296,7 ^d	298,4 ^d	310,2 ^d	302,8 ^d	296,3 ^b
Kelp-100	250,3 ^b	218,3 ^b	249,7 ^b	256,3 ^{bc}	234,4 ^b
Kelp-100+B	280,8 ^{cd}	262,9 ^c	288,6 ^c	274,6 ^c	250,8 ^b
Kelp-100+ Kelp-100	296,4 ^d	296,4 ^d	298,6 ^{cd}	303,6 ^d	299,6 ^d

a, b, c, d ... Διαφορετικό γράμμα στην ίδια στήλη σημαίνει στατιστικώς σημαντικές διαφορές. Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με το κριτήριο Duncan για $p=0,05$.

Η εφαρμογή των ψεκασμών με τα δύο εμπορικά σκευάσματα οδήγησε σε σημαντική αύξηση της περιεκτικότητας των καροτενοειδών στον φλοιό. Η μεταχείριση με προσθήκη B καθώς και η διπλή εφαρμογή των εμπορικών σκευασμάτων προκάλεσαν περαιτέρω αύξηση. Δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην περιεκτικότητα καροτενοειδών μεταξύ των δύο

εμπορικών σκευασμάτων σε όλες μεταχειρίσεις. Τα αποτελέσματα ακολούθησαν στην ίδια τάση και τα δύο έτη εφαρμογής των σκευασμάτων.

Πίνακας 13.6 : Περιεκτικότητα του φλοιού του ελαιοκάρπου σε καροτενοειδή ($\mu\text{g} / \text{g}$) μετά την εφαρμογή των εκχυλισμάτων φυκών σε ελαιόδενδρα της ποικιλίας «Λιανολιά Κερκύρας» το 2013.

Μεταχείριση	Φλαβοξανθίνη	Βιολαξανθίνη	Λουτεΐνη	Ζεαξανθίνη	β -καροτένιο
Μάρτυρας	105,8 ^a	69,8 ^a	58,7 ^a	59,7 ^a	90,7 ^a
Maxicrop	197,7 ^b	162,8 ^b	186,6 ^b	187,2 ^b	175,9 ^b
Maxicrop+B	217,3 ^c	189,8 ^c	190,2 ^c	192,9 ^c	182,3 ^c
Maxicrop+ Maxicrop	243,6 ^d	206,8 ^d	210,8 ^d	212,2 ^d	196,3 ^b
Kelp-100	208,2 ^b	195,3 ^b	182,4 ^b	187,7 ^{bc}	189,4 ^b
Kelp-100+B	219,1 ^{cd}	204,7 ^c	183,5 ^c	193,8 ^c	189,7 ^b
Kelp-100+ Kelp-100	269,9 ^d	211,6 ^d	190,5 ^{cd}	210,6 ^d	215,3 ^d

a, b, c ... Διαφορετικό γράμμα στην ίδια στήλη σημαίνει στατιστικώς σημαντικές διαφορές. Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με το κριτήριο Duncan για $p=0,05$.

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, οι Chatzissavvidis et al (2014) στο πλαίσιο της μελέτης της επιτραπέζιας ποικιλίας ελιάς «Κονσερβολιά Άρτας», παρατήρησαν ότι οι μεταχειρίσεις που περιείχαν εκχυλίσματα φυκών με βάση το *Ascophyllum nodosum* παρουσίασαν αύξηση στη συγκέντρωση των καροτενοειδών στο φλοιό του καρπού γεγονός που παρατηρήθηκε και στην παρούσα μελέτη στον καρπό της ποικιλίας «Λιανολιά Κερκύρας».

Η περιεκτικότητα του φλοιού του καρπού της ελιάς σε καροτενοειδή, μπορεί να επηρεαστεί από γενετικούς παράγοντες, που χαρακτηρίζουν κυρίως την ποικιλία της ελιάς (Giuffrida et al., 2007), από την θρεπτική κατάσταση και την ωρίμανση των καρπών (Baccouri et al., 2008), από τις

συνθήκες επεξεργασίας και αποθήκευσης του καρπού (Gimeno et al., 2002), από τις εναλλαγές των καιρικών συνθηκών που παρατηρούνται κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης και της συγκομιδής του ελαιοκάρπου, από τις κλιματικές παραμέτρους, όπως η έκθεση στο φως και η απόσταση από τη θάλασσα (Issaoui et al., 2010). Δεδομένου ότι όλες αυτές οι παράμετροι ενδεχομένως να διαφοροποιούνται ανάλογα με την περιοχή που βρίσκεται ο ελαιώνας, η περιεκτικότητα σε καροτενοειδή θα μπορούσε να είναι ένας καλός δείκτης του EVOO (Portarena et al., 2016).

Οι καροτενοειδείς ενώσεις ταξινομούνται είτε ως καροτένια είτε ως ξανθοφύλλες. Τα καροτένια εμφανίζουν υψηλή δράση βιταμίνης A, οι οποίες μεταβολίζονται σε ρετινόλη στο ανθρώπινο σώμα. Από αυτές, το β-καροτένιο έχει την υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση (Fernandez-Garcíaetal et al., 2012). Οι μεταχειρίσεις με την εφαρμογή των δύο εμπορικών σκευασμάτων τόσο το 2012 όσο και το 2013 κατέγραψαν υψηλότερες τιμές σε β-καροτένιο σε σχέση με το μάρτυρα. Οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις παρατηρήθηκαν στις μεταχειρίσεις με την διπλή εφαρμογή των δύο εμπορικών σκευασμάτων. Οι ενώσεις της ξανθοφύλλης, οι οποίες περιλαμβάνουν λουτεΐνη και ζεαξανθίνη, έχει αποδειχθεί ότι προστατεύουν από τις παθήσεις των ματιών και από καρδιακές παθήσεις (Ribaya-Mercado & Blumberg, 2004). Το ελαιόλαδο θα μπορούσε να είναι μια καλή πηγή ενίσχυσης της πρόσληψης των καροτενοειδών από τον οργανισμό καθημερινά. Οι μεταχειρίσεις με την εφαρμογή των δύο εμπορικών σκευασμάτων και τα δύο έτη εφαρμογής τους (2012 και 2013) έδωσαν υψηλότερες τιμές λουτεΐνης και ζεοξανθίνης σε σχέση με το μάρτυρα, με τις υψηλότερες συγκεντρώσεις να παρατηρούνται στις μεταχειρίσεις με την προσθήκη B (Maxicrop+B, Kelp-100+B) καθώς και με την διπλή εφαρμογή των δύο εμπορικών σκευασμάτων (Maxicrop-Maxicrop, Kelp-100+Kelp-100).

Τα οφέλη για την υγεία από την κατανάλωση ελαιολάδου μπορεί να σχετίζονται με την χημική του σύνθεση, η οποία επιδρά τόσο στην οξειδωση όσο και την ποιότητα του ελαιολάδου (Bendini et al., 2007). Τα καροτενοειδή αποτελούν ένα από τα σημαντικότερα βιοενεργά συστατικά στον ανθρώπινο οργανισμό (Gaziano et al., 1995) και επηρεάζουν την ανθρώπινη υγεία (Granado, Olmedilla & Blanco, 2003). Το β-καροτένιο χρησιμοποιείται για την θεραπεία του άσθματος και της ερυθροποιητικής πρωτοπορφυρίας και για τη

μείωση του κινδύνου εμφάνισης τόσο του καρκίνου του μαστού και του πνεύμονα όσο και για των καρδιαγγειακών νοσημάτων (Omenn et al., 1996). Οι Cardozo et al (2007) διαπίστωσαν ότι τα φύκη περιέχουν καροτενοειδή. Θα μπορούσε να εξεταστεί περαιτέρω αν η αύξηση των καροτενοειδών στο φλοιό των καρπών οφείλεται στην συγκέντρωση των καροτενοειδών που περιέχονται στα εμπορικά προϊόντα, είτε αν οφείλεται στη συμμετοχή των φυκών στο μεταβολισμό των φυτών, είτε στην ίδια την ποικιλία.

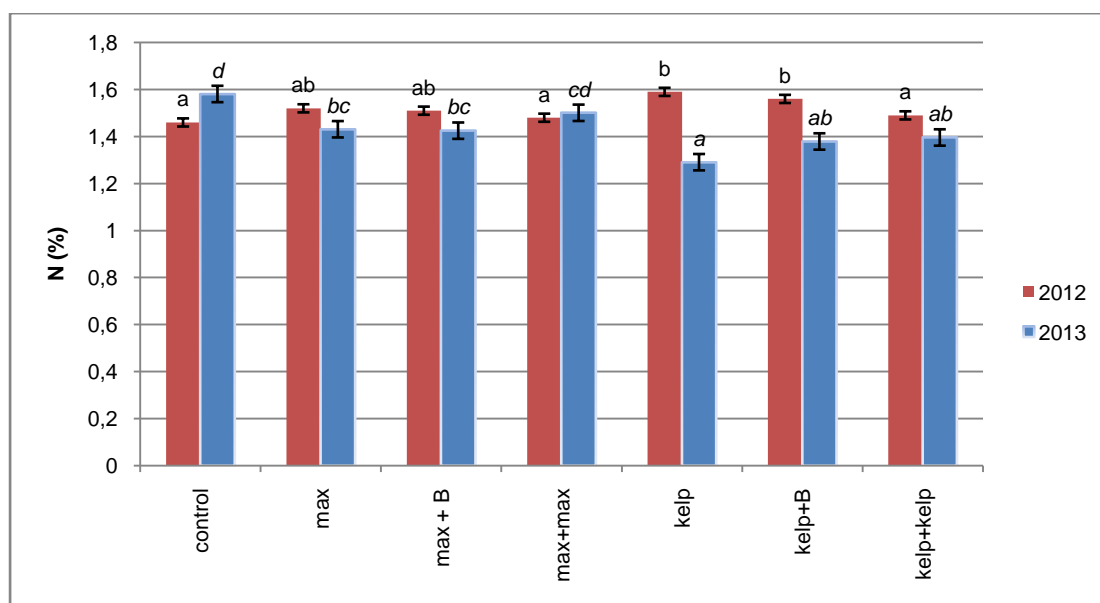
Οι Chouliaras et al., (2011) παρατήρησαν ότι η μεταχείριση με την εφαρμογή του εμπορικού σκευάσματος Maxicrop παράλληλα με μηδική και κοπριά προβάτων προκάλεσε περαιτέρω αύξηση της συγκέντρωσης των καροτενοειδών στον φλοιό της επιτραπέζιας ελιάς της ποικιλίας «Καλαμών» απ' ότι η μεταχείριση με τη χρήση μόνο εφαρμογής του εμπορικού σκευάσματος Maxicrop.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της τρέχουσας μελέτης, φαίνεται ότι η κατανάλωση της ποικιλίας «Λιανολιά Κερκύρας» ως βρώσιμη ελιά θα μπορούσε να είναι ευεργετική για τον ανθρώπινο οργανισμό λόγω της υψηλής συγκέντρωσης καροτενοειδών στον φλοιό της.

13.3. ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ ΑΝΟΡΓΑΝΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ ΤΗΣ ΕΛΙΑΣ ΤΗΣ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ «ΛΙΑΝΟΛΙΑ ΚΕΡΚΥΡΑΣ»

Στους Πίνακες 13.7 και 13.8. δίνονται οι μεταβολές της συγκέντρωσης των ανόργανων στοιχείων N, P, K, Ca, Mg, Fe, Zn, Mn, Cu και B μετά το διαφυλλικό ψεκάσμο με τα δύο εμπορικά σκευάσματα Maxicrop, Kelp-100 και των συνδυασμών τους για τα έτη 2012 και 2013.

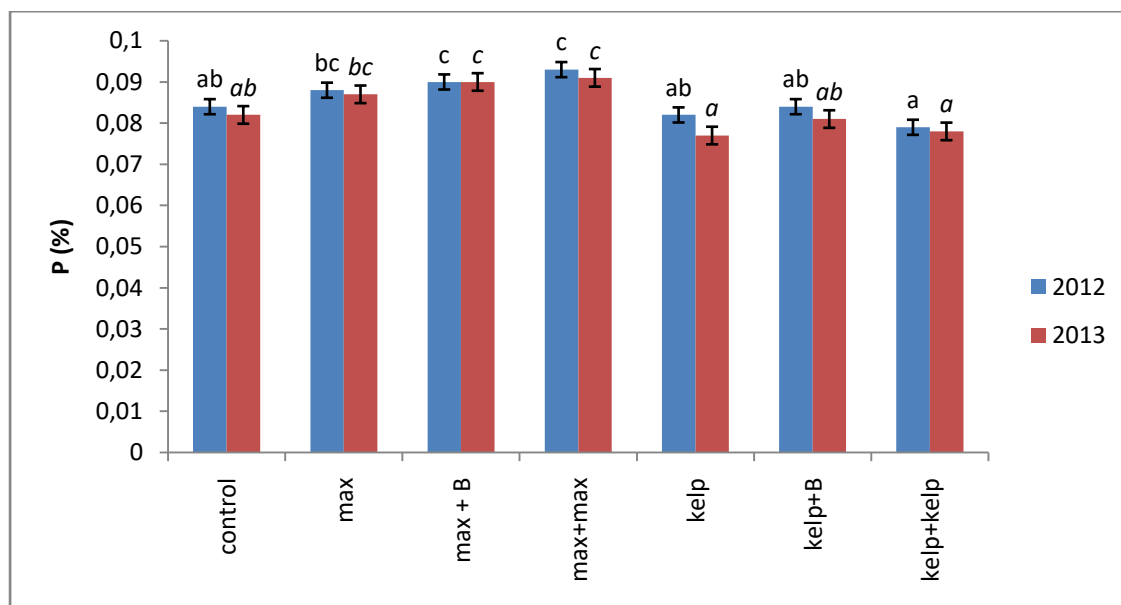
Η συγκέντρωση του N το 2012 αυξήθηκε κυρίως με τη μονή εφαρμογή Maxicrop, Kelp-100 (1,52%ξ.β., 1,59%ξ.β) και των συνδυασμών τους με το B (1,51%ξ.β -1,56%ξ.β). Η διπλή εφαρμογή και των δύο σκευασμάτων δεν επηρέασε σημαντικά τη συγκέντρωσή του. Το 2013 η συγκέντρωση του N ελαττώθηκε τόσο σε σχέση με τον μάρτυρα όσο και σε σχέση με το πρώτο έτος εφαρμογής των σκευασμάτων (Σχήμα 13.1.). Η μεγαλύτερη μείωση παρατηρήθηκε κατά την εφαρμογή του Kelp-100 και των συνδυασμών του (1,29%ξ.β –1,40%ξ.β).



Σχήμα 13.1 : Η συγκέντρωση του αζώτου κατά τα έτη 2012 και 2013 στα φύλλα της ελιάς «Λιανολιά Κερκύρας» μετά από ψεκάσμο με τα εμπορικά σκευάσματα φυκών και των συνδυασμών τους.

Η συγκέντρωση του φωσφόρου (P) το 2012 αυξήθηκε με την εφαρμογή του Maxicrop, Maxicrop+B και Maxicrop-Maxicrop (0,088%ξ.β–0,093%ξ.β)

ενώ με την εφαρμογή του Kelp-100 και των συνδυασμών του παρατηρήθηκε μείωση της συγκέντρωσης του P (0,079%ξ.β – 0.082%ξ.β) στα φύλλα. Το ίδιο παρατηρείται και το 2013 (Σχήμα 13.2.).



Σχήμα 13.2 : Η συγκέντρωση του φωσφόρου κατά τα έτη 2012 και 2013 στα φύλλα της ελιάς «Λιανολιά Κερκύρας» μετά από ψεκάσμο με τα εμπορικά σκευάσματα φυκών και των συνδυασμών τους.

Τα ανόργανα στοιχεία οι συγκεντρώσεις των οποίων αυξήθηκαν μετά το δεύτερο έτος εφαρμογής των σκευασμάτων εκχυλίσματος φυκών στον μάρτυρα ήταν το άζωτο (N) και το ασβέστιο (Ca), ενώ όλων των υπολοίπων στοιχείων ελαττώθηκαν.

Πίνακας 13.7.: Συγκέντρωση ανόργανων στοιχείων στα φύλλα των ελαιόδεντρων της ποικιλίας «Λιανολιά Κερκύρας» μετά το διαφυλλικό ψεκάσμο με τα δύο εμπορικά προϊόντα και των συνδυασμών τους την πρώτη χρονιά της επέμβασης (2012).

	N (% ξ.β.)	P (% ξ.β.)	K (% ξ.β.)	Ca (% ξ.β.)	Mg (% ξ.β.)	Fe ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Mn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$)	B ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Control	1,46 ^a	0,084 ^{ab}	0,76 ^a	1,44 ^a	0,26 ^a	73 ^a	21 ^a	23 ^a	5,9 ^a	15,9 ^a
Maxicrop	1,52 ^{ab}	0,088 ^{bc}	0,8 ^{ab}	1,43 ^a	0,28 ^{ab}	81 ^b	23,5 ^b	25 ^b	6,9 ^{bc}	17,8 ^b
Maxicrop+ B	1,51 ^{ab}	0,09 ^c	0,84 ^{bc}	1,4 ^a	0,3 ^{bc}	83 ^b	24,6 ^b	24 ^{ab}	7,3 ^{cd}	19,6 ^c
Maxicrop+ Maxicrop	1,48 ^a	0,093 ^c	0,89 ^c	1,39 ^a	0,32 ^{cd}	87 ^{bc}	26,2 ^c	25 ^b	7,8 ^d	18,7 ^{bc}
Kelp-100	1,59 ^b	0,082 ^{ab}	0,78 ^{ab}	1,58 ^{bc}	0,3 ^{bc}	86 ^{bc}	22,1 ^a	28 ^c	6,2 ^a	16,3 ^a
Kelp-100+B	1,56 ^b	0,084 ^{ab}	0,8 ^{ab}	1,56 ^b	0,34 ^d	90 ^c	22,6 ^a	29 ^c	6,4 ^b	17,7 ^b
Kelp-100+ kelp-100	1,49 ^a	0,079 ^a	0,82 ^b	1,69 ^c	0,37 ^e	91 ^c	21,3 ^a	33 ^d	6,8 ^b	17,6 ^b

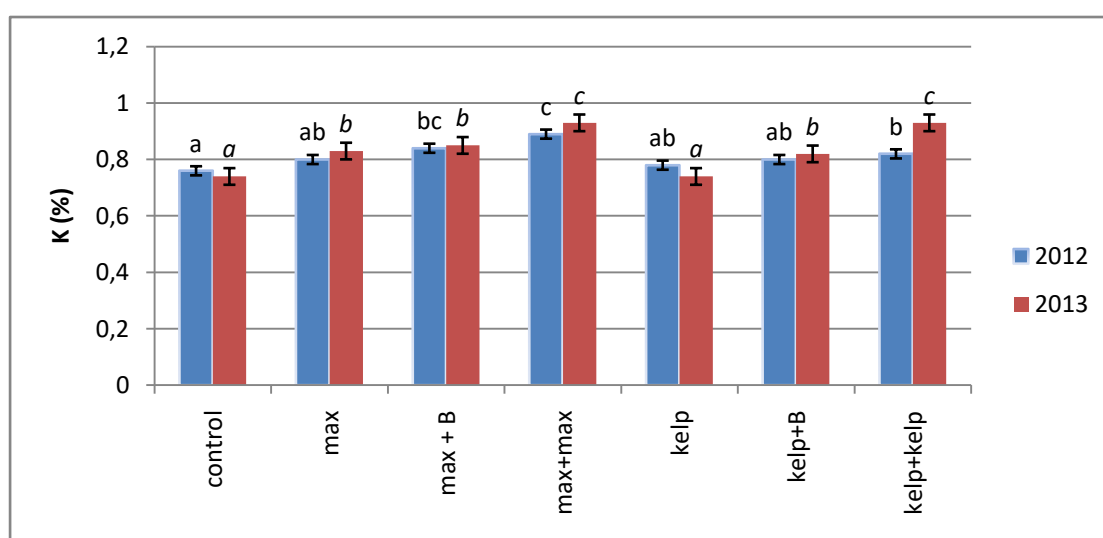
a, b, c Διαφορετικός εκθέτης στην ίδια στήλη δηλώνει στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$)

Πίνακας 13.8.: Συγκέντρωση ανόργανων στοιχείων στα φύλλα των ελαιόδεντρων της ποικιλίας «Λιανολιά Κερκύρας» μετά το διαφυλλικό ψεκασμό με τα δύο εμπορικά προϊόντα και των συνδυασμών του την δεύτερη χρονιά της επέμβασης (2013).

	N (% ξ.β.)	P (% ξ.β.)	K (% ξ.β.)	Ca (% ξ.β.)	Mg (% ξ.β.)	Fe ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Mn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$)	B ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Control	1,58 ^d	0,082 ^{ab}	0,74 ^a	1,93 ^{bc}	0,19 ^a	53 ^a	18 ^a	20 ^a	4,3 ^a	15,84 ^a
Maxicrop	1,43 ^{bc}	0,087 ^{bc}	0,83 ^b	2,05 ^c	0,22 ^b	60 ^b	21 ^b	27 ^b	5,4 ^b	18,7 ^b
Maxicrop+ B	1,42 ^{bc}	0,090 ^c	0,86 ^b	2,01 ^c	0,23 ^b	64 ^b	23 ^{cd}	21 ^a	6,6 ^d	20,41 ^c
Maxicrop+ Maxicrop	1,50 ^{cd}	0,091 ^c	0,91 ^c	1,89 ^{ab}	0,26 ^{cd}	68 ^{bc}	24 ^{de}	34 ^d	6,7 ^d	19,59 ^{bc}
Kelp-100	1,29 ^a	0,077 ^a	0,75 ^a	1,92 ^{bc}	0,19 ^a	59 ^{bc}	22 ^{bc}	31 ^c	5,3 ^b	18,52 ^b
Kelp-100+B	1,38 ^{ab}	0,081 ^{ab}	0,82 ^b	1,86 ^{ab}	0,24 ^c	72 ^c	25 ^{ef}	25 ^b	5,5 ^{bc}	19,16 ^{bc}
Kelp-100+ kelp-100	1,40 ^{ab}	0,078 ^a	0,91 ^c	1,76 ^a	0,27 ^d	77 ^c	26 ^f	39 ^e	5,8 ^c	18,72 ^b

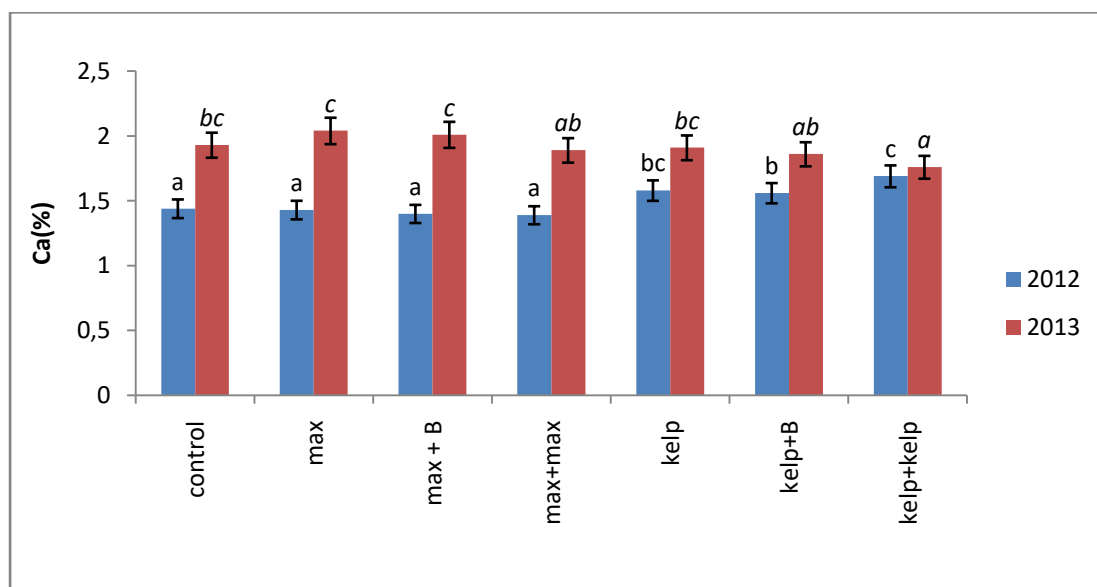
a, b, c Διαφορετικός εκθέτης στην ίδια στήλη δηλώνει στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$)

Η συγκέντρωση του καλίου (K) στα φύλλα το 2012 αυξήθηκε όταν εφαρμόστηκαν τα δύο σκευάσματα, με την εφαρμογή του Maxicrop και των συνδυασμών του (0,80%ξ.β.–0,89%ξ.β.) να δίνει μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σε σχέση με την εφαρμογή Kelp-100 και των συνδυασμών του (0,78%ξ.β.–0,82%ξ.β.). Η χαμηλότερη τιμή του K στις μεταχειρίσεις με την εφαρμογή του Kelp-100 πιθανόν να οφείλεται στην μικρότερη απορρόφηση του K από το έδαφος (πίνακας 13.1.). Το 2013 η συγκέντρωση του καλίου παρουσίασε αντίστοιχη τάση αύξησης (Σχήμα 13.3.).



Σχήμα 13.3 : Η συγκέντρωση του καλίου (K) κατά τα έτη 2012 και 2013 στα φύλλα της ελιάς «Λιανολιά Κερκύρας» μετά από ψεκασμό με τα εμπορικά σκευάσματα φυκών και των συνδυασμών τους.

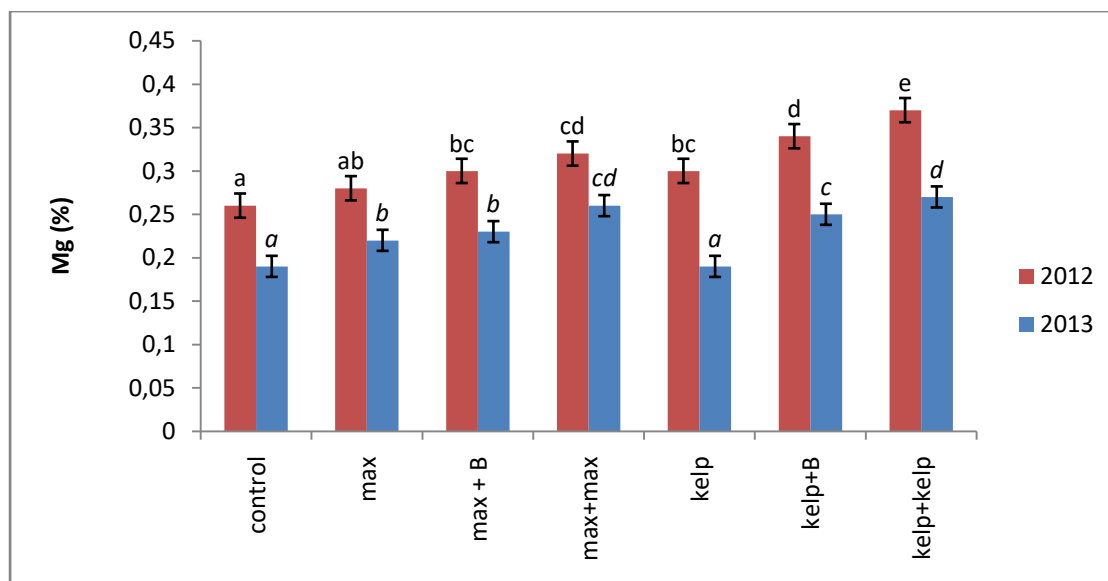
Η συγκέντρωση του ασβεστίου (Ca) το 2012 δεν διέφερε σημαντικά σε σχέση με τον μάρτυρα κατά την εφαρμογή του Maxicrop και των συνδυασμών του (1,39%ξ.β.–1,43%ξ.β.). Αντίθετα, η εφαρμογή του Kelp-100 και των συνδυασμών του οδήγησαν σε σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης του ασβεστίου (Ca) (1,69%ξ.β.–1,58%ξ.β.). Το 2013 συνέβη το αντίθετο, δηλ. η συγκέντρωση του ασβεστίου ελαττώθηκε με την εφαρμογή του Kelp-100 και των συνδυασμών του (1,76%ξ.β.–1,92%ξ.β.), ενώ με την εφαρμογή του Maxicrop και των συνδυασμών του η συγκέντρωση του ασβεστίου ήταν περίπου στα ίδια επίπεδα με την συγκέντρωση στον μάρτυρα σημειώνοντας μικρή μείωση (1,89%ξ.β.–2,05%ξ.β.) (σχήμα 13.4.).



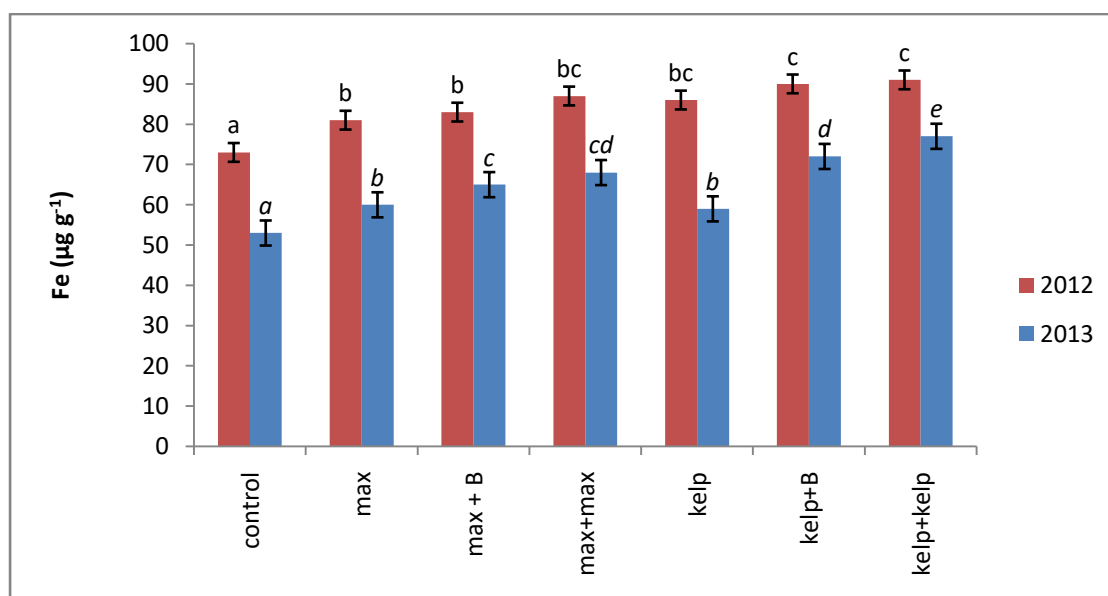
Σχήμα 13.4 : Η συγκέντρωση του ασβεστίου (Ca) κατά τα έτη 2012 και 2013 στα φύλλα της ελιάς «Λιανολιά Κερκύρας» μετά από ψεκασμό με τα εμπορικά σκευάσματα φυκών και των συνδυασμών τους.

Η συγκέντρωση του μαγνησίου (Mg) στα φύλλα το 2012, γενικά, σημείωσε αύξηση με την εφαρμογή των δύο σκευασμάτων και των συνδυασμών τους. Η εφαρμογή Kelp-100, Kelp-100 + B και Kelp-100+Kelp-100 αύξησε τη συγκέντρωση του μαγνησίου (0,30%ξ.β.–0,37%ξ.β.) σε μεγαλύτερο ποσοστό σε σχέση με το Maxicrop και των συνδυασμών του (0,28%ξ.β.–0,32%ξ.β.). Το δεύτερο έτος εφαρμογής των σκευασμάτων οδήγησε σε αύξηση των συγκεντρώσεων του μαγνησίου σε σχέση με τον μάρτυρα, χωρίς να υπάρχουν σημαντικές διαφορές στις συγκεντρώσεις μεταξύ της εφαρμογής των 2 σκευασμάτων (Σχήμα 13.5.).

Η συγκέντρωση του σιδήρου (Fe) το 2012 αυξήθηκε σημαντικά μετά την εφαρμογή των 2 σκευασμάτων. Η μεγαλύτερη αύξηση παρατηρήθηκε μετά την εφαρμογή του Kelp-100 και των συνδυασμών του (86μg g⁻¹-91μg g⁻¹). Το 2013 παρατηρήθηκε η ίδια τάση αύξησης με το 2012 (σχήμα 13.6.).



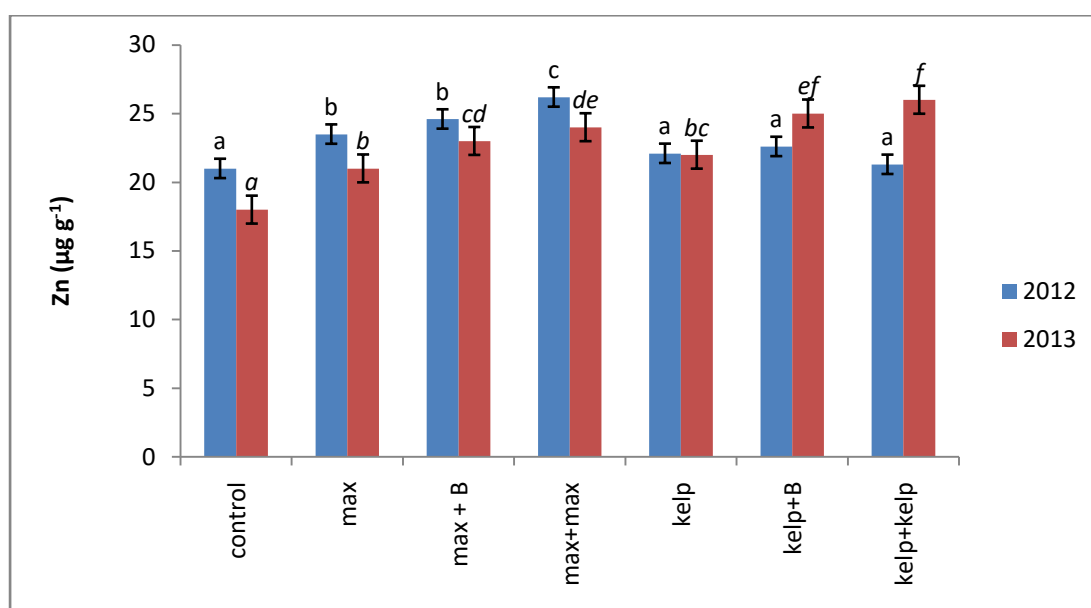
Σχήμα 13.5 : Η συγκέντρωση του μαγνησίου (Mg) κατά τα έτη 2012 και 2013 στα φύλλα της ελιάς «Λιανολιά Κερκύρας» μετά από ψεκασμό με τα εμπορικά σκευάσματα φυκών και των συνδυασμών τους.



Σχήμα 13.6 : Η συγκέντρωση Fe κατά τα έτη 2012 και 2013 στα φύλλα της ελιάς «Λιανολιά Κερκύρας» μετά από ψεκασμό με τα εμπορικά σκευάσματα φυκών και των συνδυασμών τους.

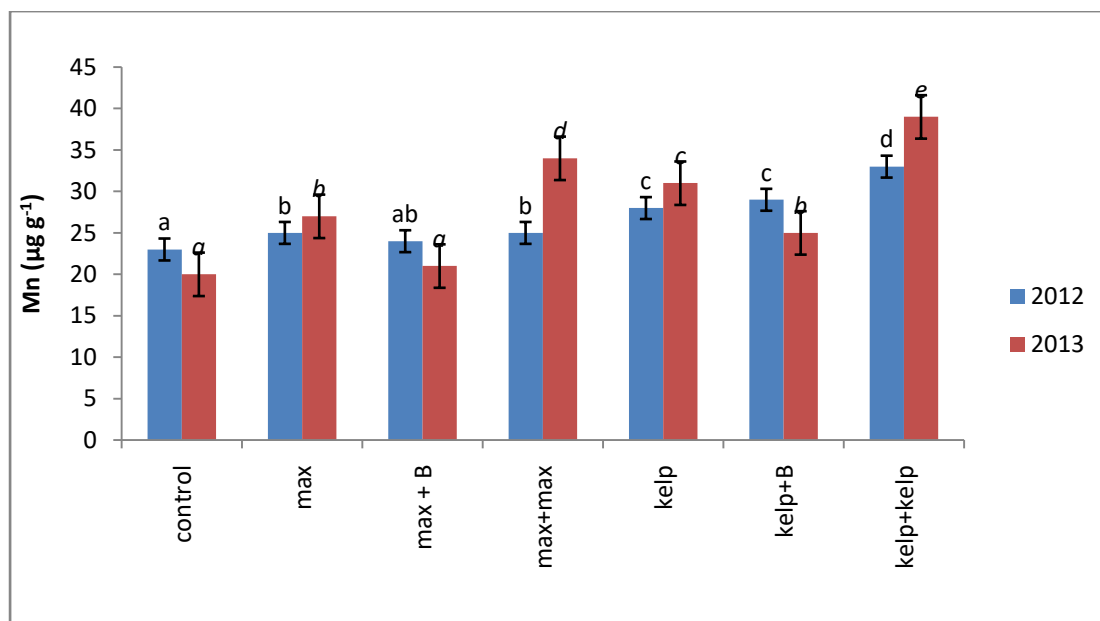
Το 2012 μετά την εφαρμογή του Kelp-100 και των συνδυασμών του δεν επηρέασε τη συγκέντρωση του ψευδαργύρου (Zn), ενώ η εφαρμογή του

Maxicrop, Maxicrop+B και Maxicrop+Maxicrop αύξησε σημαντικά τη συγκέντρωσή του ($23,5\mu\text{g g}^{-1}$ – $26,2\mu\text{g g}^{-1}$). Το 2013 η εφαρμογή των δύο σκευασμάτων αύξησε τη συγκέντρωση του Zn, με την εφαρμογή του Kelp-100 και των συνδυασμών του να δίνει σημαντικά μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ($22\mu\text{g g}^{-1}$ - $26\mu\text{g g}^{-1}$) σε σχέση με τον μάρτυρα ($18\mu\text{g g}^{-1}$) και των δειγμάτων μετά τον ψεκασμό με Maxicrop και των συνδυασμών του ($21\mu\text{g g}^{-1}$ - $24\mu\text{g g}^{-1}$) (Σχήμα 13.7.)



Σχήμα 13.7 : Η συγκέντρωση του ψευδαργύρου (Zn) κατά τα έτη 2012 και 2013 στα φύλλα της ελιάς «Λιανολιά Κερκύρας» μετά από ψεκασμό με τα εμπορικά σκευάσματα φυκών και των συνδυασμών τους.

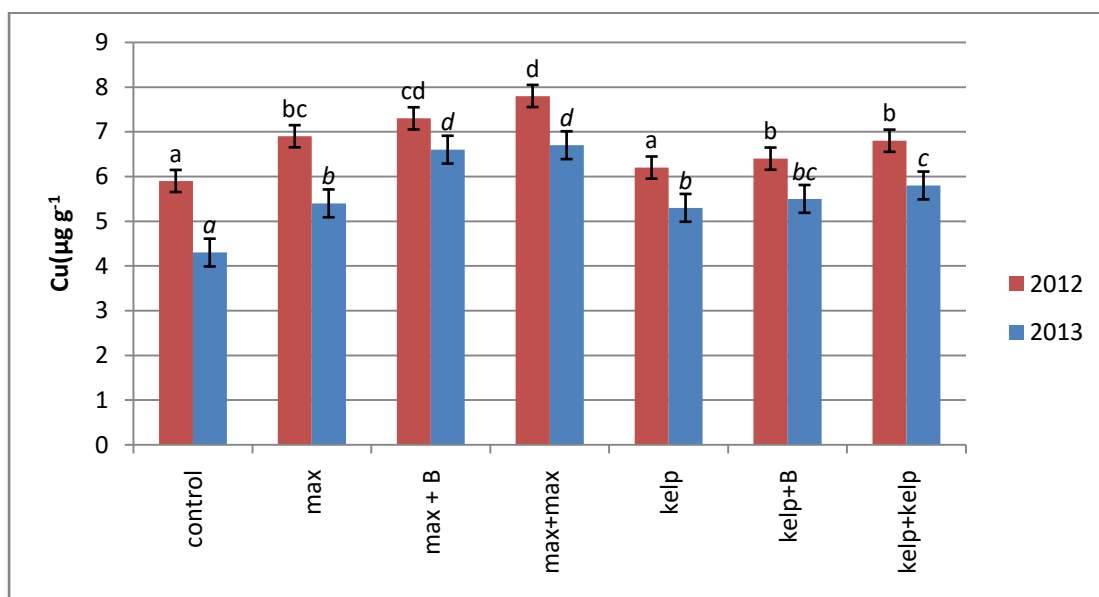
Η συγκέντρωση του μαγγανίου (Mn) το 2012 επηρεάστηκε θετικά με την εφαρμογή των δύο σκευασμάτων και των συνδυασμών τους. Η εφαρμογή του Kelp-100 έδωσε τις υψηλότερες συγκεντρώσεις του μαγγανίου (Mn), με τη διπλή εφαρμογή να οδηγεί στη μεγαλύτερη συγκέντρωση ($25\mu\text{g g}^{-1}$). Το 2013 τα αποτελέσματα ήταν παρόμοια.



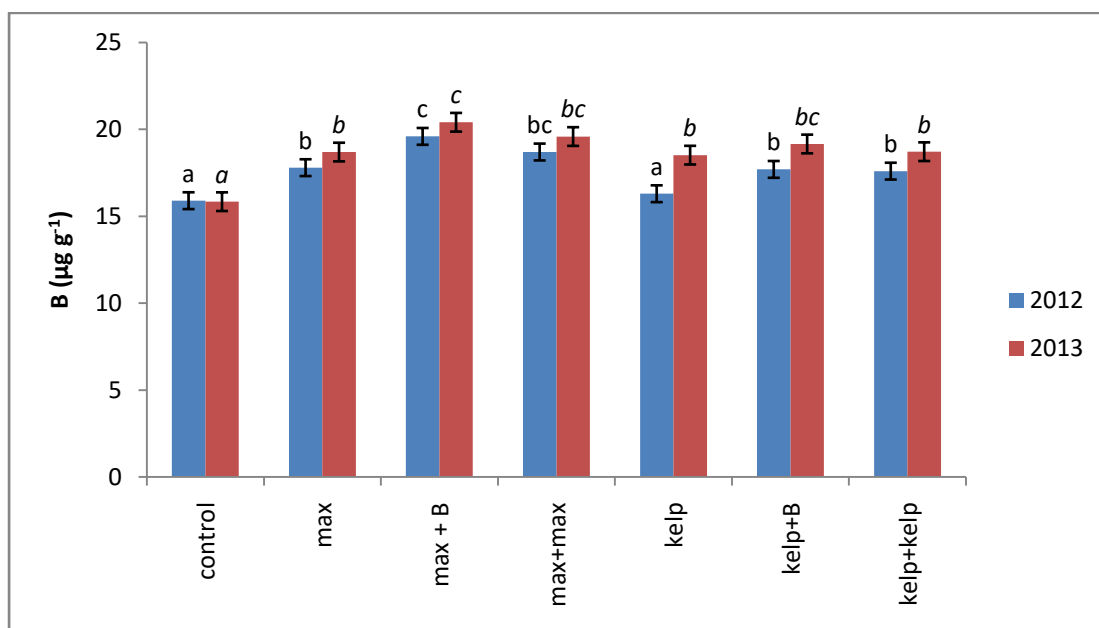
Σχήμα 13.8 : Η συγκέντρωση του μαγγανίου (Mn) κατά τα έτη 2012 και 2013 στα φύλλα της ελιάς «Λιανολιά Κερκύρας» μετά από ψεκάσμο με τα εμπορικά σκευάσματα φυκών και των συνδυασμών τους.

Η συγκέντρωση του χαλκού (Cu) και το 2012 και το 2013 σημείωσε αύξηση σε σχέση με αυτή του μάρτυρα. Συγκεκριμένα, η εφαρμογή του Maxicrop, Maxicrop+B και Maxicrop+Maxicrop αύξησε σημαντικά τη συγκέντρωση του χαλκού (Cu) και τα δύο έτη εφαρμογής του σκευάσματος ($6,9\mu\text{g g}^{-1}$ - $7,8\mu\text{g g}^{-1}$ και $5,4\mu\text{g g}^{-1}$ - $6,7\mu\text{g g}^{-1}$, αντίστοιχα). Η εφαρμογή του Kelp-100 και των συνδυασμών του αύξησε σε μικρότερο βαθμό τη συγκέντρωση του χαλκού (Cu) και τα 2 έτη (Σχήμα 13.9.).

Στις μεταχειρίσεις με προσθήκη B στο διάλυμα ψεκάσμου και τα δύο έτη παρατηρήθηκε αύξηση στην συγκέντρωση του βορίου (B) στα φύλλα των ελαιόδεντρων, κάτι που ήταν αναμενόμενο. Η εφαρμογή του Maxicrop και των συνδυασμών του και τα δύο έτη αύξησαν τη συγκέντρωση του βορίου (B) σε μεγαλύτερο βαθμό σε σχέση με την εφαρμογή του Kelp-100 και των συνδυασμών του. Γενικά, το δεύτερο έτος εφαρμογής παρατηρήθηκαν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις βορίου (B) σε σχέση με το πρώτο έτος εφαρμογής (σχήμα 13.10.).



Σχήμα 13.9 : Η συγκέντρωση χαλκού (Cu) κατά τα έτη 2012 και 2013 στα φύλλα της ελιάς «Λιανολιά Κερκύρας» μετά από ψεκασμό με τα εμπορικά σκευάσματα φυκών και των συνδυασμών τους.



Σχήμα 13.10 : Η συγκέντρωση του βορίου (B) κατά τα έτη 2012 και 2013 στα φύλλα της ελιάς «Λιανολιά Κερκύρας» μετά από ψεκασμό με τα εμπορικά σκευάσματα φυκών και των συνδυασμών τους.

Ο Francki (1960) παρατήρησε ότι τα φύλλα φυτών τομάτας, στα οποία έγινε εφαρμογή εκχυλίσματος από φύκη, περιείχαν μεγαλύτερη ποσότητα μαγγανίου. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης έρχονται σε πλήρη συμφωνία με αυτά της παρούσας μελέτης. Η συγκέντρωση του Mn αυξήθηκε σημαντικά μετά την εφαρμογή των εκχυλισμάτων από φύκη σε όλες τις μεταχειρίσεις.

Η χορήγηση βορίου (B) δεν είχε επίδραση στη συγκέντρωση του μαγγανίου (Mn) στα νεαρά φύλλα σιταριού και κριθαριού (Nable, 1988b), αλλά ούτε και στο καλαμπόκι (Touchton και Boswell, 1975). Τα αποτελέσματα της μελέτης συμφωνούν με τα ως άνω αποτελέσματα καθώς καταγράφηκε ότι η προσθήκη βορίου (B) στα δύο εμπορικά σκευάσματα εκχυλίσματος φυκών δεν επέδρασαν στη συγκέντρωση του Mn.

Ο Lynn (1972) διαπίστωσε την αποτελεσματική απορρόφηση των ανόργανων στοιχείων (βόριο, χαλκός, μαγγάνιο και ψευδάργυρος) μετά από εφαρμογή εκχυλίσματος φυκών σε φυτά πιπεριάς, γεγονός που παρατηρείται και στην παρούσα μελέτη (πίνακες 13.7., 13.8.). Η ικανότητα των φυκών να σχηματίζουν χηλικές ενώσεις πιθανά να οφείλεται στην ιδιότητα ιοντοανταλλαγής των περιεχόμενων πολυσακχαριτών. Για παράδειγμα, τα αλγινικά άλατα, που αποτελούνται από D-μαννουρονικό οξύ και γουλουρονικό οξύ, είναι ικανά να σχηματίσουν σύμπλοκα με τα ιχνοστοιχεία σίδηρο, κοβάλτιο, μαγγάνιο και ψευδάργυρο. Το μαγγάνιο (Mg) μπορεί να δράσει άμεσα ως ενεργοποιητής ενζύμων και έχει σημαντικό ρόλο στη διαίρεση των κυττάρων (Scharenberg, 2003).

Οι Turan και Kose (2004) αναφέρουν ότι η λίπανση με φύκη αύξησε την συγκέντρωση των K, Fe και Cu στα φύλλα της αμπέλου γεγονός που συμφωνεί με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης. Η συγκέντρωση των Fe και Cu, στις μεταχειρίσεις εφαρμογής των δύο εμπορικών σκευασμάτων, παρουσίασε σημαντική αύξηση σε σχέση με τον μάρτυρα με στατιστικά σημαντικές διαφορές. Υψηλότερες ήταν και οι συγκεντρώσεις του K σε όλες τις μεταχειρίσεις σε σχέση με το μάρτυρα, με μικρότερη στατιστική απόκλιση της μεταχείρισης με την εφαρμογή μίας φορές του διαφυλλικού ψεκασμού με Kelp-100. Τα εκχυλίσματα φυκών, πλούσια σε ιχνοστοιχεία (Cu, Zn, Mn, Fe, καθώς και B), εφαρμόζονται είτε στο έδαφος είτε διαφυλλικά (Milton 1962), βελτιώνοντας την ανάπτυξη, την απόδοση και την θρέψη των φυτών.

Οι Tasioula-Margari et al (2011) διαπίστωσαν σημαντική αύξηση του K, B και Cu και σημαντική μείωση του N και Ca σε φύλλα ελιάς της ποικιλίας «Μαστοειδής» μετά από την διαφυλλική εφαρμογή του υγρού εμπορικού σκευάσματος Seamac-PCT™ (εκχυλίσμα από φύκη *Ascophyllum nodosum*). Η συγκέντρωση Ca στα φύλλα της ελιάς μετά την λίπανση με Acadian παραμένει υψηλή όπως και στον μάρτυρα. Στην παρούσα μελέτη διαπιστώθηκε σημαντική αύξηση του K, B και Cu. Η συγκέντρωση του N το 2012 δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική μεταβολή, ενώ το 2013 μειώθηκε, ιδιαίτερα στις μεταχειρίσεις με την εφαρμογή του Kelp-100. Η συγκέντρωση του Ca το 2012 αυξήθηκε μετά την εφαρμογή του εμπορικού σκευάσματος Kelp-100, ενώ το 2013 παρουσίασε μείωση μετά την διπλή εφαρμογή των δύο εμπορικών σκευασμάτων (Maxicrop+Maxicrop, Kelp-100+Kelp-100). Οι ανωτέρω διαφορές μπορεί να οφείλονται τόσο στα χαρακτηριστικά της ποικιλίας (Μαστοειδής, Λιανολιά Κερκύρας), όσο και στις κλιματολογικές συνθήκες της περιοχής καλλιέργειας. Τα συμπτώματα έλλειψης Ca στα φύλλα μπορεί να εμφανιστούν και κάτω από αλκαλικές συνθήκες. Η ανεπάρκεια του Ca μπορεί επίσης να προκληθεί υπό συνθήκες ξηρασίας, μειώνοντας την μετακίνηση του Ca από το έδαφος (Pillbeam and Morely, 2007). Η εφαρμογή εκχυλισμάτων φυκών με την προσθήκη N ή / και B αυξάνει τη συγκέντρωση K, B, Mn και Cu στα φύλλα της ελιάς ποικιλίας «Κορωνέικη» (Chouliaras et al., 2009). Τα αποτελέσματα αυτά ταυτίζονται με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης. Η αύξηση της συγκέντρωσης N μετά από λίπανση με διάλυμα εκχυλίσματος από φύκη μπορεί να αποδοθεί στην συνεισφορά των υδατανθράκων και του N που περιέχουν τα φύκη (Lahaye, 2001).

Οι μεταχειρίσεις με την προσθήκη B δεν επηρέασαν το επίπεδο του Zn στα φύλλα, διαπίστωση που συνάδει και με αναφορές άλλων ερευνητών (Touchton and Boswell, 1975, Cartwright et al., 1986). Οι χαμηλές συγκεντρώσεις του Zn στα φύλλα του μάρτυρα πιθανόν να οφείλονταν κυρίως στο υψηλό pH (7,16) του εδάφους. Η τροφοπενία του Zn στα εσπεριδοειδή είναι πολύ συνηθισμένη τόσο στη χώρα μας όσο και σε άλλα κράτη (Θερίος, 1996). Ο διαφυλλικός ψεκασμός με εκχυλίσματα φυκών (*Ascophyllum nodosum*) αύξησαν την συγκέντρωση Zn στα φύλλα του αμπελιού (Ali Sabir et.al., 2014).

Οι Soyergin et al (2002) βρήκαν ότι με τη λίπανση με φύκη υπάρχουν σημαντικές και θετικές συσχετίσεις μεταξύ του περιεχομένου K των φύλλων και του δείκτη ωριμότητας, θετική συσχέτιση μεταξύ της αναλογίας K/Ca + Mg των φύλλων και του δείκτη ωριμότητας και σημαντική αρνητική συσχέτιση μεταξύ της αναλογία N/K του φύλλου και του δείκτη ωριμότητας. Πειράματα σε μηλιά, αχλαδιά και κερασιά έδειξαν πως άνθη με μικρή περιεκτικότητα σε B νεκρώνονται, αλλά επίσης και οι καρποί παρουσιάζουν ανώμαλο σχήμα, εξωτερική και εσωτερική φέλλωση και μετασυλλεκτικές παθήσεις (π.χ. εσωτερική κατάρρευση–internal break down) (Garcia et al., 2001). Το άζωτο (N) είναι το σημαντικότερο ανόργανο στοιχείο και επηρεάζει σημαντικά τα ελαιόδεντρα, ενώ το βόριο (B) επηρεάζει την κυτταρική διαίρεση και την ωρίμανση των καρπών της ελιάς (Therios, 2009). Οι Hong et al (2007) ανέφεραν ότι τα φύκη περιέχουν υψηλά επίπεδα μακροστοιχείων (Ca, K, P). Έρευνες στην καλλιέργεια κριθαριού και σιταριού έδειξαν ότι τα εκχυλίσματα φυκών μετά από διαφυλλικό ψεκασμό μπορούν να ενισχύσουν την αποτελεσματικότητα των συμβατικών λιπασμάτων, διασφαλίζοντας την επάρκεια στην παροχή θρεπτικών συστατικών (Mooney και van Staden 1985, Featonby -Smith και van Staden 1987). Παρόμοιες επιδράσεις έχουν μελετηθεί και για άλλες καλλιέργειες όπως η σίκαλη (Kotze και Joubert 1980), τα φασόλια (Featonby-Smith και Van Staden 1984, Beckett et al., 1994), τα αγγούρια (Nelson και van Staden 1984), και η σόγια (Rathore et al. 2009).

13.4. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΚΡΙΤΗΡΙΩΝ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

Οι προσδιορισμοί του αριθμού υπεροξειδίων, της ελεύθερης οξύτητας και των ειδικών συντελεστών απόσβεσης (K_{232} , K_{270}) πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με τις επίσημες μεθόδους του Κανονισμού της Ευρωπαϊκής Κοινότητας (EEC/2568/91).

Στον πίνακα 13.11. δίνονται τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των ελαιολάδων που προέρχονται από τα ελαιόδεντρα της ποικιλίας «Λιανολιά Κερκύρας» του μάρτυρα (χωρίς ψεκασμό) και των ελαιοδέντρων που είχαν διαφυλλικά ψεκαστεί με τα εμπορικά σκευάσματα Kelp-100 και Maxicrop και τους συνδιασμούς τους για τα έτη συγκομιδής 2012 και 2013.

Πίνακας 13.11 : Ελεύθερη οξύτητα (% ελαϊκό οξύ), αριθμός υπεροξειδίων (meq/kg), οι δείκτες απόσβεσης K_{232} και K_{270} των ελαιολάδων της ποικιλίας «Λιανολιά Κερκύρας» για όλες τις μεταχειρίσεις τα έτη 2012 και 2013.

	Control	Kelp-100	Kelp-100+ Kelp-100	Kelp-100+B	Maxicrop	Maxicrop+ Maxicrop	Maxicrop+ B
2012							
Οξύτητα (% ελαϊκό οξύ)	0,95±0,01 ^a	1,31±0,03 ^b	1,24±0,01 ^c	1,11±0,03 ^d	1,11±0,01 ^d	1,22±0,04 ^c	1,25±0,02 ^c
Αριθμός υπεροξειδίων (meq/kg)	6,4±0,4 ^a	6,6±0,6 ^{ab}	5,9±0,4 ^a	7,5±0,4 ^b	7,6±0,4 ^b	7,2±0,5 ^b	6,6±0,3 ^{ab}
K_{232}	1,87±0,02 ^a	1,78±0,02 ^b	1,64±0,01 ^c	1,45±0,02 ^d	1,82±0,03 ^b	1,88±0,01 ^a	1,66±0,01 ^c
K_{270}	0,13±0,01 ^a	0,12±0,01 ^a	0,14±0,02 ^a	0,13±0,01 ^a	0,15±0,01 ^a	0,15±0,01 ^a	0,15±0,01 ^a
2013							
Οξύτητα (% ελαϊκό οξύ)	0,73±0,03 ^a	1,04±0,03 ^b	1,01±0,01 ^b	0,78±0,01 ^a	1,55±0,02 ^c	1,85±0,01 ^d	3,00±0,04 ^f
Αριθμός υπεροξειδίων (meq/kg)	5,2±0,3 ^a	5,7±0,4 ^{ab}	5,3±0,2 ^a	5,2±0,2 ^a	6,5±0,5 ^b	6,3±0,5 ^b	7,4±0,6 ^b
K_{232}	1,97±0,01 ^a	1,86±0,02 ^b	1,92±0,01 ^c	2,06±0,02 ^d	2,71±0,01 ^e	2,65±0,01 ^f	2,77±0,01 ^c
K_{270}	0,17±0,02 ^a	0,19±0,01 ^a	0,17±0,01 ^a	0,17±0,01 ^a	0,35±0,03 ^b	0,23±0,01 ^c	0,28±0,02 ^c

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων των ανωτέρω παραμέτρων είναι εντός των ορίων των κανονισμών της Ευρωπαϊκής Κοινότητας (1991) για την κατηγορία «παρθένο ελαιόλαδο» για τα δείγματα ελαιολάδου τους έτους 2012.

Από τα αποτελέσματα φαίνεται ότι η οποιαδήποτε μεταχείριση και συνδυασμός δεν επηρέασε ιδιαίτερα τις παραμέτρους ποιότητας. Αντίθετα το έτος 2013 έδωσε δείγματα ελαιολάδου τα οποία ήταν εκτός ορίων της κατηγορίας «παρθένο ελαιόλαδο» όταν ψεκάστηκαν με το σκεύασμα Maxicrop (είτε μόνο του είτε σε συνδυασμό).

Η εφαρμογή και των δύο εμπορικών προϊόντων που προέρχονται από φύκη επηρέασαν την ποιότητα του ελαιόλαδου διότι ο καρπός ήταν ιδιαίτερα προσβεβλημένος από το δάκο καθώς και από μυκητολογικές ασθένειες κυρίως από γλοιοσπόριο λόγω των εξαιρετικά υγρών κλιματικών συνθηκών ιδίως κατά τη διάρκεια του μήνα πριν τη συγκομιδή. Η επίδραση των συνθηκών αυτών μαζί με τη μη επέμβαση στον ελαιώνα με ψεκασμό (εντομοκτόνο και μυκητοκτόνο συμβατικό ή προϊόν βιολογικής καλλιέργειας) φαίνεται ότι επηρέασε αρνητικά την ποιότητα του ελαιολάδου.

Ο Chouliaras et al., (2009) αναφέρουν ότι οι μεταχειρίσεις στις οποίες εφαρμόστηκε διαφυλλικός ψεκασμός με N (άζωτο) + B (βόριο) + SWE (εκχύλισμα από φύκη) σε ελαιώνα της ποικιλίας «Κορωνέικη» κατέγραψαν χαμηλότερη τιμή οξύτητας σε σχέση με αυτή του μάρτυρα, ενώ αυξημένη τιμή οξύτητας σε σχέση με τον μάρτυρα κατέγραψαν οι μεταχειρίσεις στις οποίες εφαρμόστηκε ψεκασμός με N, N και SWE καθώς και N και B.

13.5. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ

Ο προσδιορισμός των λιπαρών οξέων είναι σημαντικός για την αξιολόγηση της ποιότητας και της προέλευσης των ελαίων. Τα λιπαρά οξέα που προσδιορίστηκαν ήταν το παλμιτικό, παλμιτελαϊκό, δεκαεπτανικό, δεκαεπτενικό, στεατικό, ελαϊκό, λινελαϊκό, λινολενικό, αραχιδικό, εικοσενικό, βεχενικό, λιγνοκηρικό. Τα ποσοστά των λιπαρών οξέων δίνονται στους Πίνακες 13.12. και 13.13. για τα έτη 2012 και 2013 αντίστοιχα. Τα ποσοστά των λιπαρών οξέων είναι εντός των θεσπισμένων ορίων σύμφωνα με το Διεθνές Συμβούλιο Ελαιολάδου με εξαίρεση το βεχενικό οξύ.

Η εκατοστιαία διακύμανση του ελαιολάδου σε λιπαρά οξέα σύμφωνα με το Διεθνές Συμβούλιο Ελαιολάδου δίνεται στο Κεφάλαιο 6.3.

Λαμβάνοντας υπόψη ότι ο δείκτης ωριμότητας ήταν παρόμοιος για όλες τις μεταχειρίσεις, η σύνθεση λιπαρών οξέων δεν επηρεάστηκε από τις εφαρμοζόμενες λιπάνσεις. Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στα ποσοστά του δεκαεπτανικού και του βεχενικού οξέος μεταξύ των εφαρμοζόμενων μεταχειρίσεων και τα 2 έτη ενώ το 2013 παρατηρήθηκαν επιπλέον στατιστικά σημαντικές διαφορές και στα ποσοστά του παλμιτελαϊκού και λινελαϊκού οξέος.

Συγκεκριμένα, το έτος 2012 το ποσοστό του δεκαεπτανικού οξέος αυξήθηκε ($0,22 \pm 0,01$) κατά την εφαρμογή του Maxicrop+B σε σύγκριση με τον μάρτυρα ενώ η εφαρμογή του Kelp-100 και των συνδυασμών του δεν φάνηκε να επηρεάζει το ποσοστό του. Αντίστοιχα το έτος 2013 το ποσοστό του αυξήθηκε κατά τις εφαρμογές Maxicrop+Maxicrop ($0,54 \pm 0,05$) και Maxicrop+B ($0,46 \pm 0,02$) ενώ με την εφαρμογή του Kelp-100 και των συνδυασμών του δεν επηρέασε καθόλου το ποσοστό του. Το ποσοστό του βεχενικού οξέος αυξήθηκε σημαντικά κατά την απλή εφαρμογή του σκευάσματος Kelp-100 και τα 2 έτη της μελέτης ($0,65 \pm 0,04$ και $0,51 \pm 0,05$ για το 2012 και 2013 αντίστοιχα). Το ποσοστό του παλμιτελαϊκού οξέος αυξήθηκε (στατιστικά σημαντικά) κατά την εφαρμογή του Maxicrop και των συνδυασμών του και την εφαρμογή του Kelp-100+B ($2,10 \pm 0,09$, $2,13 \pm 0,13$, $2,12 \pm 0,11$ και $2,30 \pm 0,08$, αντίστοιχα). Τέλος, το ποσοστό του λινελαϊκού οξέος το 2013 ήταν μεγαλύτερο κατά την εφαρμογή του Kelp-100+B ($11,37 \pm 0,21$).

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης είναι σε μερική συμφωνία με τα αποτελέσματα των Tekaya et al. (2013) οι οποίοι αναφέρουν ότι ο διαφυλλικός ψεκάσμος του ελαιώνα με N, Mg, B, Μη, S, K, P, Ca δεν επηρέασε σημαντικά τη σύνθεση των λιπαρών οξέων σε ελαιόλαδα που προέρχονται από την ποικιλία Picholine στην Τυνησία. Αντίθετα, οι Simoes et al (2002) κατέγραψαν σημαντική μείωση της περιεκτικότητας σε κορεσμένα λιπαρά οξέα και, επομένως, αύξηση στην αναλογία ακόρεστων / κορεσμένων και πολυακόρεστων/κορεσμένων λιπαρών οξέων όταν έγινε εφαρμογή υψηλών επιπέδων N και K σε ελαιώνα της ποικιλίας «Carrasquenha».

Οι Inglese & Gullo (2002) ανέφεραν ότι ο λόγος ελαϊκό/λινελαϊκό οξύ αυξήθηκε λόγω της εφαρμογής N και K ενώ στην παρούσα έρευνα με την εφαρμογή των διαφυλλικών ψεκασμών με σκευάσματα εκχυλίσματος φυκών που περιέχουν μεταξύ άλλων και N και K δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική μεταβολή στο λόγο ελαϊκό/λινελαϊκό οξύ.

Τα διαφορετικά συμπεράσματα που προκύπτουν από τα αποτελέσματα ερευνών μπορεί να οφείλονται τόσο στην ποικιλία του ελαιώνα όσο και στις διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες καλλιέργειάς του.

Πίνακας 13.12: Ποσοστό (%) λιπαρών οξέων σε δείγματα ελαιολάδου της ποικιλίας «Λιανολιά Κερκύρας» μετά το διαφυλλικό ψεκασμό των ελαιοδέντρων με τα δύο εμπορικά προϊόντα *Maxicrop* και *Kelp-100* το 2012.

2012	CONTROL	MAXICROP	MAXICROP- MAXICROP	MAXICROP+B	KELP-100	KELP-100+	KELP-100+B
Παλμιτικό οξύ (C16:0)	14,8±0,3 ^a	14,6±0,3 ^a	14,6±0,3 ^a	14,5±0,3 ^a	14,5±0,3 ^a	14,3±0,3 ^a	14,5±0,3 ^a
Παλμιτελαϊκό οξύ (C16:1)	1,59±0,08 ^a	1,5±0,1 ^a	1,51±0,09 ^a	1,5±0,1 ^a	1,50±0,09 ^a	1,4±0,1 ^a	1,45±0,08 ^a
Δεκαεπτανικό οξύ (C17:0)	0,14±0,01 ^{abc}	0,08±0,04 ^a	0,12±0,02 ^{ab}	0,22±0,01 ^c	0,09±0,04 ^{ab}	0,17±0,01 ^{bc}	0,11±0,01 ^{ab}
Δεκαεπτενικό οξύ (C17:1)	0,1±0,1 ^a	0,10±0,09 ^a	0,1±0,1 ^a	0,10±0,09 ^a	0,1±0,1 ^a	0,10±0,09 ^a	0,1±0,1 ^a
Στεατικό οξύ (C18:0)	1,9±0,2 ^a	1,9±0,2 ^a	1,9±0,2 ^a	1,9±0,2 ^a	1,9±0,2 ^a	1,8±0,2 ^a	1,9±0,2 ^a
Ελαϊκό οξύ (C18:1)	67,72±1,03 ^a	67,9±1,1 ^a	68±1 ^a	68,22±1,01 ^a	68±1 ^a	68,6±1,1 ^a	68,3±0,9 ^a
C18:1 /7	2,6±0,9 ^a	2,64±1,05 ^a	2,80±1,09 ^a	2±1 ^a	2,8±0,9 ^a	2,71±1,09 ^a	2,84±1,07 ^a
Λινελαϊκό οξύ (C18:2)	9,2±0,2 ^a	9,3±0,2 ^a	9,2±0,2 ^a	9,2±0,2 ^a	9,2±0,2 ^a	9,1±0,2 ^a	8,9±0,2 ^a
Λινολενικό οξύ (C18:3)	0,81±0,09 ^a	0,8±0,1 ^a	0,87±0,09 ^a	0,8±0,1 ^a	0,8±0,1 ^a	0,80±0,08 ^a	0,77±0,09 ^a
Αραχιδικό οξύ (C20:0)	0,4±0,2 ^a	0,4±0,1 ^a	0,4±0,1 ^a	0,4±0,2 ^a	0,4±0,1 ^a	0,4±0,2 ^a	0,4±0,2 ^a
Εικοσενικό οξύ (C20:1)	0,3±0,1 ^a	0,3±0,2 ^a	0,3±0,2 ^a	0,2±0,1 ^a	0,4±0,2 ^a	0,3±0,1 ^a	0,4±0,1 ^a
Βεχενικό οξύ (C22:0)	0,34±0,02 ^{bc}	0,29±0,01 ^{ab}	0,40±0,04 ^c	0,32±0,01 ^{abc}	0,65±0,04 ^d	0,23±0,02 ^a	0,28±0,03 ^{ab}
Λιγνοκηρικό οξύ (C24:0)	0,15±0,01 ^a	0,16±0,01 ^a	0,15±0,03 ^a	0,15±0,02 ^a	0,14±0,01 ^a	0,16±0,04 ^a	0,15±0,04 ^a

Πίνακας 13,13 : Ποσοστό (%) λιπαρών οξέων σε δείγματα ελαιολάδου της ποικιλίας «Λιανολιά Κερκύρας» μετά το διαφυλλικό ψεκάσμο των ελαιοδέντρων με τα δύο εμπορικά προϊόντα Maxicrop και Kelp-100 το 2013,

2013	CONTROL	MAXICROP	MAXICROP- MAXICROP	MAXICROP+B	KELP-100	KELP-100+	KELP-100+B
Παλμιτικό οξύ (C16:0)	15,71±0,31 ^a	15,96±0,29 ^a	15,85±0,34 ^a	15,53±0,30 ^a	15,99±0,29 ^a	15,54±0,31 ^a	16,12±0,28 ^a
Παλμιτελαϊκό οξύ (C16:1)	1,9±0,1 ^a	2,10±0,09 ^{ab}	2,1±0,1 ^{ab}	2,1±0,1 ^{ab}	1,9±0,1 ^a	1,93±0,09 ^a	2,30±0,08 ^b
Δεκαεπτανικό οξύ (C17:0)	0,13±0,04 ^a	0,14±0,02 ^a	0,54±0,05 ^b	0,46±0,02 ^b	0,16±0,01 ^a	0,10±0,03 ^a	0,12±0,04 ^a
Δεκαεπτενικό οξύ (C17:1)	0,10±0,09 ^a	0,1±0,1 ^a	0,11±0,09 ^a	0,1±0,1 ^a	0,10±0,09 ^a	0,1±0,1 ^a	0,11±0,08 ^a
Στεατικό οξύ (C18:0)	2,0±0,2 ^a	2,0±0,2 ^a	1,7±0,2 ^a	2,0±0,1 ^a	2,0±0,2 ^a	2,0±0,2 ^a	1,9±0,2 ^a
Ελαϊκό οξύ (C18:1)	64±1 ^a	63,47±1,02 ^a	63,38±1,06 ^a	64±1 ^a	63,1±1,1 ^a	64,78±1,07 ^a	63±1 ^a
C18:1 /7	3,0±0,9 ^a	3,2±0,9 ^a	3,03±1,01 ^a	2,8±0,9 ^a	3±1 ^a	2,89±1,03 ^a	3,3±1,1 ^a
Λινελαϊκό οξύ (C18:2)	10,9±0,2 ^{ab}	10,9±0,2 ^{ab}	10,9±0,2 ^{ab}	10,3±0,2 ^a	11,2±0,2 ^b	10,6±0,2 ^{ab}	11,4±0,2 ^b
Λινολενικό οξύ (C18:3)	0,9±0,1 ^a	0,96±0,08 ^a	1,0±0,1 ^a	1,06±0,09 ^a	0,9±0,1 ^a	0,9±0,1 ^a	0,96±0,09 ^a
Αραχιδικό οξύ (C20:0)	0,4±0,1 ^a	0,4±0,2 ^a	0,4±0,1 ^a	0,4±0,1 ^a	0,4±0,2 ^a	0,4±0,1 ^a	0,4±0,1 ^a
Εικοσενικό οξύ (C20:1)	0,3±0,1 ^a	0,3±0,1 ^a	0,3±0,2 ^a	0,3±0,1 ^a	0,3±0,1 ^a	0,3±0,1 ^a	0,3±0,1 ^a
Βεχενικό οξύ (C22:0)	0,36±0,01 ^b	0,24±0,02 ^a	0,26±0,04 ^{ab}	0,29±0,02 ^{ab}	0,51±0,05 ^c	0,22±0,02 ^a	0,31±0,04 ^{ab}
Λιγνοκηρικό οξύ (C24:0)	0,14±0,02 ^a	0,15±0,01 ^a	0,14±0,02 ^a	0,16±0,03 ^a	0,14±0,02 ^a	0,14±0,01 ^a	0,12±0,01 ^a

13.6. Μεταβολές στη φαινολική σύσταση του ελαιολάδου της ποικιλίας «Λιανολιά Κερκύρας» μετά την εφαρμογή εμπορικών προϊόντων εκχυλίσματος φυκών.

Το 2011, η Ευρωπαϊκή Αρχή Ασφάλειας Τροφίμων (EFSA), βασισμένη σε πολλές επιστημονικές μελέτες (Covas et al., 2006a, de la Torre-Carbot et al., 2010), ενέκρινε έναν ισχυρισμό υγείας, σύμφωνα με τον οποίο η διατροφική πρόσληψη των πολυφαινολών του παρθένου ελαιολάδου μπορεί να εμποδίσει την οξειδωση της LDL. Η υδροξυτυροσώλη και τα παράγωγά της είναι οι κύριες ενώσεις με αυτή τη δράση και έτσι προκειμένου κάποιο παρθένο ελαιόλαδο να μπορεί να υποστηρίξει τον ισχυρισμό, θα πρέπει να περιέχει ποσότητα ικανή για να παρέχει 5mg αυτών των ενώσεων ημερησίως.

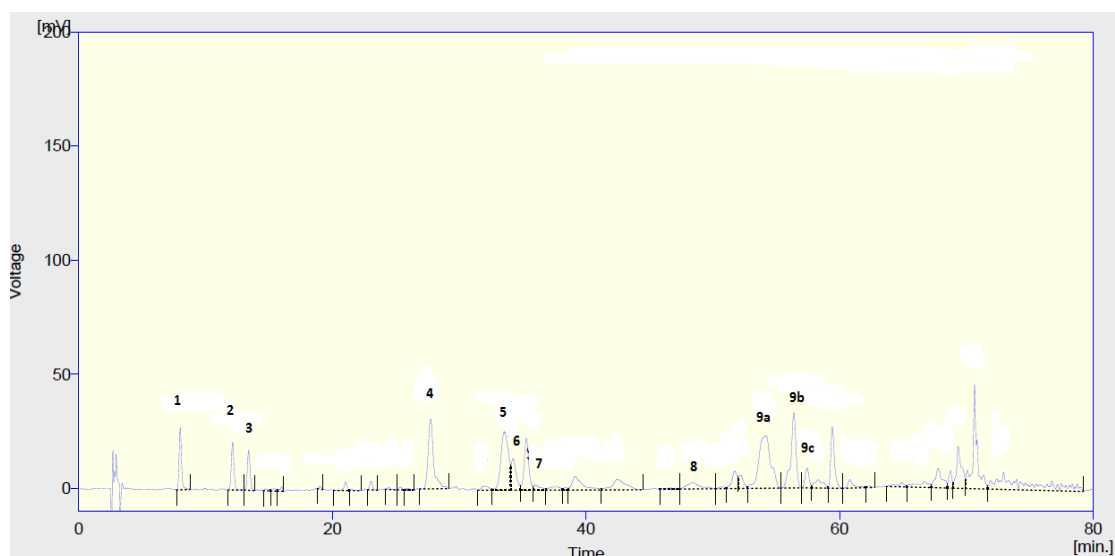
Λαμβάνοντας υπόψη τη σημασία του φαινολικού κλάσματος, όσον αφορά την αντιοξειδωτική ικανότητα, τις οργανοληπτικές ιδιότητες και τα οφέλη στην υγεία, οι μεταβολές αυτών των ενώσεων, σε συνάρτηση με τη λίπανση, αποτελούν σημαντικό κριτήριο ποιότητας του παρθένου ελαιολάδου.

Οι φαινολικές ενώσεις που ταυτοποιήθηκαν ποσοτικά ήταν: η τυροσώλη, η υδροξυτυροσώλη, αλδεϋδική και διαλδεϋδική μορφή της ελαιοευρωπαϊίνης (AFOA και DAFOA), η αλδεϋδική και διαλδεϋδική μορφή του λιγκστροζίτη (AFLA και DAFLA), η 1-ακετοξυ-πινορεσινόλη και η λουτεολίνη.

Στους πίνακες 13.15 και 13.16. δίνονται οι ποσότητες των φαινολικών ενώσεων του ελαιολάδου για το 2012 και 2013 μετά τον ψεκασμό με τα εμπορικά εκχυλίσματα φυκών Maxicrop και Kelp-100 και των συνδυασμών τους.

Η υδροξυτυροσώλη είναι από τις σημαντικότερες φαινολικές ενώσεις που υπάρχουν στον καρπό της ελιάς και το ελαιόλαδο (Romero et al., 2002). Η συγκέντρωση της υδροξυτυροσώλης το 2012 ελαττώθηκε όταν εφαρμόστηκαν τα δύο σκευάσματα από φύκη Maxicrop και Kelp-100 και οι συνδυασμοί τους. Μεταξύ των εφαρμογών των δύο σκευασμάτων οι συγκεντρώσεις των φαινολικών δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές. Το δεύτερο έτος (2013) της μελέτης, η περιεκτικότητα της υδροξυτυροσώλης στο μάρτυρα μειώθηκε σημαντικά ($2,79 \pm 0,72$ mg/kg έναντι $7,11 \pm 0,58$ mg/kg το 2012). Στις μεταχειρίσεις που αυξήθηκε τη συγκέντρωση της

υδροξυτυροσόλης ήταν η διπλή εφαρμογή του Maxicrop ($3,39 \pm 1,56$ mg/kg) και ο συνδυασμός Kelp-100+B ($4,25 \pm 0,20$ mg/kg).



Σχήμα 13.11.: Χρωματογράφημα HPLC-UV δείγματος ποικιλίας «Λιανολιά Κερκύρας»: (1) Υδροξυτυροσόλη, (2) Τυροσόλη, (3) (IS) εσωτερικό πρότυπο (p-υδροξυφαινυλ-οξικό οξύ), (4) DAFOA, Διαλδεϋδική μορφή της αγλυκόνης της ελαιοευρωπαΐνης, (5) DAFLA, Διαλδεϋδική μορφή της αγλυκόνης του λιγκστροζίτη, (6) 1-Ακετοξυ-πινορεσινόλη, (7) Λουτεολίνη, (8) AFOA, Αλδεϋδική μορφή της αγλυκόνης της ελαιοευρωπαΐνης, (9a, 9b, 9c) AFLA Αλδεϋδική μορφή της αγλυκόνης του λιγκστροζίτη.

Η τυροσόλη είναι η δεύτερη κύρια φαινολική αλκοόλη στο ελαιόλαδο (Ryan et al., 1998, Romero et al., 2002). Μετά την εφαρμογή εμπορικών προϊόντων εκχυλίσματος φυκών το 2012 παρατηρήθηκε αισθητή μείωση της συγκέντρωσης της τυροσόλης στα δείγματα ελαιολάδου. Το 2013 (δεύτερο έτος εφαρμογής) η συγκέντρωση τυροσόλης αυξήθηκε σημαντικά, όταν εφαρμόστηκε το εκχύλισμα Maxicrop, Maxicrop+B και Maxicrop+Maxicrop ($8,05 \pm 0,23$ mg/kg, $12,36 \pm 0,22$ mg/kg και $11,08 \pm 0,19$ mg/kg), σε σχέση με τον μάρτυρα ($4,08 \pm 1,17$ mg/kg). Η εφαρμογή Kelp-100 και των συνδυασμών του είτε δεν επηρέασε σημαντικά τη συγκέντρωση της τυροσόλης είτε μείωσε σε σχέση με τον μάρτυρα. Η συγκέντρωση της τυροσόλης στις μεταχειρίσεις του πειράματος μετά και το δεύτερο διαφυλλικό ψεκασμό με τα εμπορικά προϊόντα κυμαίνονταν μεταξύ 2,05 και 12,36 mg/kg δηλ. σε παρόμοιες τιμές

με τα αποτελέσματα που αναφέρθηκαν σε μελέτη των Gómez-Rico et al., (2008) όπου η συγκέντρωση της τυροσόλης σε έξι ισπανικές ποικιλίες ελιάς (Arbequina, Cornicabra, Morisca, Picolimón, Picudo και Picual) κυμάνθηκε μεταξύ 1,2-29,8 mg/kg.

Πίνακας 13.14 :Περιεκτικότητα φαινολικών ενώσεων(mg/kg) του ελαιολάδου της ποικιλίας «Λιανολιά Κερκύρας» μετά την εφαρμογή εμπορικών προϊόντων εκχυλίσματος φυκών και των συνδυασμών τους το 2012.

	Υδροξυτυροσόλη	DAFOA ¹	AFOA ²	Τυροσόλη	DAFLA ³	AFLA ⁴	1-Ακετοξυ- πινορεσινόλη	Λουτεολίνη
Control	7,1±0,6 ^b	25,5±8,2 ^b	3,8±0,3 ^c	5,0±1,6 ^c	35,8±0,5 ^c	54,1±3,5 ^c	7,8±0,2 ^d	1,3±0,4 ^{ab}
Maxicrop	1,6±0,3 ^a	3,6±0,7 ^a	2,1±0,3 ^a	2,1±0,1 ^a	10,7±1,3 ^{ab}	49,4±5,6 ^{abc}	4,4±0,2 ^b	1,9±0,7 ^b
Maxicrop+Βόριο	4,8±4,2 ^{ab}	1,9±0,3 ^a	1,8±0,1 ^a	2,5±0,6 ^{ab}	11,1±0,7 ^{ab}	42±3 ^a	4,1±0,1 ^b	0,83±0,04 ^a
Maxicrop+Maxicrop	3±1 ^{ab}	2,2±0,1 ^a	2,7±0,1 ^b	3,9±0,2 ^{bc}	10,4±0,9 ^{ab}	52,7±6,7 ^{bc}	3,21±0,05 ^a	1,8±0,4 ^b
Kelp-100	3,5±2,7 ^a	1,0±0,1 ^a	2,07±0,05 ^a	2,3±0,2 ^{ab}	9,1±0,8 ^a	44±1 ^{ab}	2,9±0,4 ^a	0,6±0,3 ^a
Kelp-100+B	0,6±0,2 ^a	1,7±0,3 ^a	1,9±0,1 ^a	1,5±0,1 ^a	9,9±0,5 ^a	48,8±1,6 ^{abc}	3,1±0,2 ^a	1,94±0,08 ^{ab}
Kelp-100+Kelp-100	3,5±0,5 ^{ab}	1,7±0,3 ^a	2,02±0,05 ^a	2,36±0,06 ^{ab}	12,4±0,4 ^b	42,7±1,7 ^a	4,8±0,1 ^c	0,8±0,1 ^a

¹ DAFOA, Διαλδεϋδική μορφή της αγλυκόνης της ελαιοευρωπαΐνης.

² AFOA, Αλδεϋδική μορφή της αγλυκόνης της ελαιοευρωπαΐνης.

³ DAFLA, Διαλδεϋδική μορφή της αγλυκόνης του λιγκστροζίτη.

⁴ AFLA αλδεϋδική μορφή της αγλυκόνης του λιγκστροζίτη

a, b, c ... Διαφορετικό γράμμα στην ίδια στήλη σημαίνει στατιστικώς σημαντικές διαφορές. Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με το κριτήριο Duncan για p=0,05.

Πίνακας 13.15 :Περιεκτικότητα φαινολικών ενώσεων (mg/kg) του ελαιολάδου της ποικιλίας «Λιανολιά Κερκύρας» μετά την εφαρμογή εμπορικών προϊόντων εκχυλίσματος φυκών και των συνδυασμών του το 2013.

2013	Υδροξυτυροσόλη	DAFOA ¹	AFOA ²	Τυροσόλη	DAFLA ³	AFLA ⁴	1-Ακετοξυ- ππινορεσινόλη	Λουτεολίνη
Control	2,79±0,72 ^{bc}	12,20±14,45 ^{ab}	2,96±0,69 ^b	4,08±1,17 ^b	12,44±6,48 ^a	86,45±17,84 ^a	4,79±0,37 ^d	2,69±0,27 ^{ab}
Maxicrop	1,20±0,2 ^{ab}	0,78±0,87 ^a	1,62±0,78 ^a	8,05±0,23 ^c	14,63±1,00 ^a	66,37±15,54 ^a	4,35±0,01 ^{cd}	3,56±0,25 ^b
Maxicrop+Βόριο	1,35±1,06 ^{ab}	1,61±0,46 ^a	1,32±0,26 ^a	12,36±0,22 ^e	20,61±0,79 ^b	64,58±8,20 ^a	4,42±0,24 ^c	3,61±0,47 ^b
Maxicrop+Maxicrop	3,39±1,56 ^c	3,59±0,92 ^{ab}	3,43±0,58 ^{bc}	11,08±0,19 ^d	24,44±0,19 ^b	81,23±1,36 ^a	5,97±0,31 ^e	3,58±1,45 ^b
Kelp-100	1,13±0,15 ^{ab}	8,42±0,75 ^{ab}	2,76±0,09 ^b	3,63±0,07 ^b	14,40±0,60 ^a	70,43±16,61 ^a	2,91±0,28 ^a	1,93±0,20 ^a
Kelp-100+B	4,25±0,20 ^c	17,13±0,13 ^b	4,25±0,04 ^c	2,05±0,10 ^a	25,11±0,32 ^b	77,20±0,30 ^a	3,77±0,23 ^{bc}	2,04±0,07 ^a
Kelp-100+Kelp100	0,80±0,10 ^a	6,29±0,30 ^{ab}	2,82±0,08 ^b	4,36±0,55 ^b	13,79±0,13 ^a	91,13±7,70 ^a	3,52±0,59 ^{ab}	1,74±0,22 ^a

¹ DAFOA, Διαλδεϋδική μορφή της αγλυκόνης της ελαιοευρωπαϊνης.

² AFOA, Αλδεϋδική μορφή της αγλυκόνης της ελαιοευρωπαϊνης.

³ DAFLA, Διαλδεϋδική μορφή της αγλυκόνης του λιγκστροζίτη.

⁴ AFLAΑλδεϋδική μορφή της αγλυκόνης του λιγκστροζίτη

a, b, c ... Διαφορετικό γράμμα στην ίδια στήλη σημαίνει στατιστικώς σημαντικές διαφορές. Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με το κριτήριο Duncan για $p=0,05$.

Η ελαιοευρωπαϊνή βρίσκεται στα φύλλα και στον καρπό της ελιάς σε μεγάλες ποσότητες, ενώ έχει ανιχνευτεί σε μικρές ποσότητες στο ελαιόλαδο. Μελέτες έχουν δείξει ότι η περιεκτικότητα της ελαιοευρωπαϊνής εξαρτάται από την ωρίμανση της ελιάς (Gutiérrez et al., 1999), την ποικιλία (Esti et al., 1998), την περίοδο συγκομιδής (Σεπτέμβριος–Μάρτιος) και την μέθοδο εξαγωγής του ελαιολάδου (Di Giovanacchino L. 1997, Caronio et al., 1999). Οι κύριες φαινολικές ενώσεις που ταυτοποιούνται στα ελαιόλαδα είναι η αλδεϋδική μορφή της ελαιοευρωπαϊνής και του λιγκστροσιδίου (Brenes et al., 1999).

Η διαλδεϋδική μορφή της αγλυκόνης της ελαιοευρωπαϊνής (DAFOA) το πρώτο έτος εφαρμογής (2012) καταγράφει σημαντική μείωση των συγκεντρώσεων της (μάρτυρας $25,55 \pm 8,17$ mg/kg, ενώ οι συγκεντρώσεις των μεταχειρίσεων κυμάνθηκαν από $1,03 \pm 0,11$ mg/kg έως $3,63 \pm 0,66$ mg/kg). Το δεύτερο έτος εφαρμογής η συγκέντρωση στον μάρτυρα μειώθηκε σχεδόν στο μισό ($12,20 \pm 14,45$ mg/kg), η εφαρμογή του Maxicrop και των συνδυασμών του μείωσε τη συγκέντρωσή της ($0,78 \pm 0,87$ mg/kg, $1,61 \pm 0,46$ mg/kg και $3,59 \pm 0,92$ mg/kg αντίστοιχα για το Maxicrop, Maxicrop+B και Maxicrop+Maxicrop), ενώ η εφαρμογή των συνδυασμών του Kelp-100 μείωσε τις συγκεντρώσεις σε μικρότερο βαθμό ($8,42 \pm 0,75$ mg/kg για το Kelp-100 και $6,29 \pm 0,30$ mg/kg για το Kelp-100+B), εκτός από την περίπτωση του Kelp-100+ B που οδήγησε σε αύξηση της συγκέντρωσης του DAFOA ($17,13 \pm 0,13$ mg/kg).

Η αλδεϋδική μορφή της αγλυκόνης της ελαιοευρωπαϊνής (AFOA) το πρώτο έτος εφαρμογής (2012) καταγράφει μείωση των συγκεντρώσεων της (μάρτυρας $3,76 \pm 0,33$ mg/kg, ενώ οι συγκεντρώσεις των μεταχειρίσεων κυμάνθηκαν από $1,80 \pm 0,13$ mg/kg έως $2,66 \pm 0,14$ mg/kg). Το δεύτερο έτος εφαρμογής η συγκέντρωση στον μάρτυρα μειώθηκε ($2,96 \pm 0,69$ mg/kg), η εφαρμογή των συνδυασμών του Maxicrop μείωσε τη συγκέντρωσή της ($1,62 \pm 0,78$ mg/kg για το Maxicrop και $1,32 \pm 0,26$ mg/kg για το Maxicrop+B), εκτός από την περίπτωση της διπλής εφαρμογής του Maxicrop που οδήγησε σε αύξηση της συγκέντρωσης του AFOA ($3,43 \pm 0,58$ mg/kg) ενώ η εφαρμογή των συνδυασμών του Kelp-100 αύξησε τις συγκεντρώσεις AFOA σε μικρότερο βαθμό στις μεταχειρίσεις με την εφαρμογή του Kelp-100 και της διπλής εφαρμογής του ($2,76 \pm 0,09$ mg/kg και $2,82 \pm 0,08$ mg/kg αντίστοιχα) και σε

μεγαλύτερο βαθμό (σχεδόν διπλάσιο) στη μεταχείριση με την προσθήκη B ($4,25 \pm 0,04$ mg/kg).

Μετά την εφαρμογή των δύο εμπορικών προϊόντων εκχυλίσματος φυκών το 2012 παρατηρήθηκε αισθητή μείωση της συγκέντρωσης της διαλδεϋδική μορφή της αγλυκόνης του λιγκστροζίτη (DAFLA) στα δείγματα ελαιολάδου (μάρτυρας $35,80 \pm 0,52$ mg/kg, ενώ οι συγκεντρώσεις των μεταχειρίσεων κυμάνθηκαν από $9,15 \pm 0,82$ mg/kg έως $12,41 \pm 0,42$ mg/kg). Το 2013 (δεύτερο έτος εφαρμογής) η συγκέντρωση της DAFLA αυξήθηκε σημαντικά, όταν εφαρμόστηκε το εκχύλισμα Maxicrop+B και Maxicrop+Maxicrop ($20,61 \pm 0,79$ mg/kg και $24,44 \pm 0,19$ mg/kg), σε σχέση με τον μάρτυρα ($12,44 \pm 6,48$ mg/kg) ο οποίος μειώθηκε αισθητά, καθώς και με την εφαρμογή του Kelp-100+B ($25,11 \pm 0,32$ mg/kg). Η εφαρμογή του Maxicrop μία φορά καθώς και η εφαρμογή του Kelp-100 και η διπλή εφαρμογή αυτού δεν επηρέασε σημαντικά τη συγκέντρωση της DAFLA (μη στατιστικά σημαντική αύξηση σε σχέση με τον μάρτυρα).

Η αλδεϋδική μορφή της αγλυκόνης του λιγκστροζίτη (AFLA) το πρώτο έτος εφαρμογής (2012) καταγράφει αισθητή μείωση της συγκέντρωσής της στις μεταχειρίσεις με την εφαρμογή του Maxicrop+B ($49,42 \pm 5,64$ mg/kg και $42,16 \pm 2,96$ mg/kg αντίστοιχα) καθώς και στις μεταχειρίσεις με την εφαρμογή του Kelp-100 και των συνδυασμών του ($43,99 \pm 1,46$ mg/kg για το Kelp-100, $48,76 \pm 1,58$ mg/kg για το Kelp-100+B και $42,66 \pm 1,63$ mg/kg για το Kelp-100+Kelp-100). Το δεύτερο έτος εφαρμογής η συγκέντρωση στον μάρτυρα αυξήθηκε αισθητά ($86,45 \pm 17,84$ mg/kg) καθώς και οι συγκεντρώσεις των μεταχειρίσεων, οι οποίες κυμάνθηκαν από $64,58 \pm 8,20$ mg/kg έως $91,13 \pm 7,70$ mg/kg. Μεταξύ των εφαρμογών των δύο σκευασμάτων και του μάρτυρα, οι συγκεντρώσεις της AFLA δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές.

Οι συγκεντρώσεις της λουτεολίνης κυμάνθηκαν μεταξύ $0,61$ – $1,89$ mg/kg το 2012. Συγκεκριμένα η εφαρμογή του Kelp-100 και των συνδυασμών του οδήγησε σε μικρή ελάττωση της συγκέντρωσης λουτεολίνης, ενώ με την εφαρμογή Maxicrop και Maxicrop+Maxicrop αύξησε σε μικρό ποσοστό τη συγκέντρωσή της. Το 2013 η εφαρμογή του Kelp-100 και των συνδυασμών του δεν επηρέασε σημαντικά τη συγκέντρωση της λουτεολίνης, ενώ η εφαρμογή του Maxicrop και των συνδυασμών του αύξησε τη συγκέντρωση χωρίς να υπάρχει σημαντική διαφορά μεταξύ των συνδυασμών (Μάρτυρας –

2,69±0,27 mg/kg, Maxicrop–3,56±0,25 mg/kg, Maxicrop+B–3,61±0,47 mg/kg και Maxicrop+Maxicrop–3,58±1,45 mg/kg).

Οι Vinha et al (2005) αναφέρουν ότι η μέση περιεκτικότητα λουτεολίνης σε 29 δείγματα από 18 διαφορετικές ποικιλίες και διαφορετικές τοποθεσίες της βόρειας (Macedo de Cavaleiros, Mirandela, Valpaços, Mogadouro και Figueira de Castelo Rodrigo) και κεντρικής Πορτογαλίας (Fundão και Castelo Branco), ήταν πάνω από 100 mg/kg (η λουτεολίνη συναντάται κυρίως σε χαμηλές ποσότητες κάτω από 100 mg/kg). Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δεν συμφωνούν με αυτά της βιβλιογραφίας κι αυτό μπορεί να οφείλεται στο ότι είναι διαφορετικές οι ποικιλίες.

Οι συγκεντρώσεις της 1-ακετοξυ-πινορεσινόλης το 2012 κυμάνθηκαν μεταξύ 2,86±0,39–7,83±0,19 mg/kg. Συγκεκριμένα η εφαρμογή των δύο εμπορικών σκευασμάτων οδήγησε σε αισθητή ελάττωση της συγκέντρωσης της 1-ακετοξυ-πινορεσινόλης (2,86±0,39–4,80±0,15 mg/kg) σε σχέση με τον μάρτυρα (7,83±0,19 mg/kg). Το 2013 η συγκέντρωση του μάρτυρα μειώθηκε αισθητά (4,79±0,37 mg/kg). Η εφαρμογή του Maxicrop και του Maxicrop με την προσθήκη B (4,35±0,01 mg/kg και 4,42±0,24 mg/kg αντίστοιχα) μείωσε τη συγκέντρωση της 1-ακετοξυ-πινορεσινόλης σε σχέση με τον μάρτυρα. Το ίδιο παρατηρούμε και μετά την εφαρμογή του Kelp-100 και των συνδυασμών του (2,91±0,28 mg/kg για το Kelp-100, 3,77±0,23 mg/kg για το Kelp-100+B και 3,52±0,59 mg/kg για το Kelp-100+Kelp-100). Η διπλή εφαρμογή του Maxicrop κατέγραψε σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης της 1-ακετοξυ-πινορεσινόλης (5,97±0,31 mg/kg).

Η ποικιλία της ελιάς, το στάδιο ωρίμανσης των καρπών, το μικροκλίμα της περιοχής, οι καλλιεργητικές πρακτικές οι κλιματολογικές συνθήκες καθώς και οι συνθήκες επεξεργασίας της αποτελούν παράγοντες που επηρεάζουν τη συγκέντρωση των φαινολικών σε παρθένα ελαιόλαδα (Servili et al., 2002, Esti et al., 1998, Patumi et al., 2002, Tovar et al., 2002). Οι εντομολογικές προσβολές (*Bactrocera oleae*) στον καρπό της ελιάς παίζουν σημαντικό ρόλο στη σύσταση του ελαιολάδου σε φαινολικές ενώσεις. Η προσβολή των καρπών από τον δάκο έχει ιδιαίτερα αρνητικές επιπτώσεις στη σύσταση σε φαινολικές ενώσεις, του ελαιολάδου (Kyriakidis και Dourou, 2002).

Η φαινολική σύσταση του παρθένου ελαιολάδου στις πιο γνωστές ποικιλίες της Τουρκίας, Memecik, Edremit και Gemlik έχουν μέσες τιμές 112,34 mg/kg, 116,46 mg/kg και 83,53 mg/kg αντίστοιχα (Soyergin. et al., 2002). Οι Garcia et al (2002) ανέφεραν συνολική περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις για ελαιόλαδα που προέρχονται από την ποικιλία Picual ίση με 300-700 mg / kg. Παρόμοια προφίλ σε φαινολικές ενώσεις έχουν αναφερθεί για τις κυριότερες ισπανικές ποικιλίες όπως είναι η Picual, η Picudo, η Cornicabra, η Arbequina, η Empeltre και η Hojiblanca (Brenes et al., 1999). Σε ισπανικές και ιταλικές ποικιλίες έχει αναφερθεί υψηλή περιεκτικότητα σε πινορεσινόλη (Oliveras-Lopez et al., 2007).

Οι Okogeri και Tasioula-Margari, (2002) παρατήρησαν απώλεια 50-62% στο σύνολο των φαινολικών ενώσεων κατά την αποθήκευση ελαιολάδων Λιανολιάς Κλερκυρας για 12 μήνες. Τα δείγματα αυτά ήταν αποθηκευμένα σε γυάλινα μπουκάλια με κενό 3%, σε θερμοκρασία δωματίου στο σκοτάδι. Σε ισπανικά ελαιόλαδα της ποικιλίας Cornicabra που αποθηκεύθηκαν στους 25 °C, στο σκοτάδι χωρίς κενό για 21 μήνες, η μείωση των συνολικών φαινολικών ενώσεων κυμάνθηκε από 43% έως 73%, παρότι οι αριθμοί υπεροξειδίων δεν υπερέβησαν το ανώτατο όριο των 20 meq/kg κατά τη διάρκεια της περιόδου αποθήκευσης (Gomez-Alonso et al., 2007). Αποδεικνύεται σαφώς ότι η θερμοκρασία και η διαθεσιμότητα σε οξυγόνο είναι σημαντικοί παράγοντες για τον περιορισμό της απώλειας φαινολικών ενώσεων. Η χρήση κατάλληλων συνθηκών αποθήκευσης για το παρθένο ελαιόλαδο, δίνει τη δυνατότητα διατήρησης της ποιότητάς του για μεγάλο χρονικό διάστημα. Λαμβάνοντας υπόψη ότι η συσκευασία του ελαιολάδου γίνεται συνήθως 2 με 6 μήνες μετά την παραλαβή αυτού και ότι η μέγιστη διάρκεια ζωής του είναι 18 μήνες, η αρχική συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων πρέπει να είναι μεγαλύτερη από 350 mg/kg ώστε το ελαιόλαδο να καλύπτει τον ισχυρισμό υγείας της EFSA (περιεκτικότητα 250 mg/kg) κατά τη διάρκεια όλου του διαστήματος αποθήκευσης.

Δεν υπάρχει επαρκής πληροφορία στη βιβλιογραφία σχετικά με τις επιδράσεις εμπορικών προϊόντων εκχυλίσματος φυκών στη συγκέντρωση των μεμονωμένων φαινολικών ενώσεων.

13.7 Μεταβολές στη σύσταση του πτητικού κλάσματος των ελαιολάδων μετά την εφαρμογή εμπορικών προϊόντων εκχυλίσματος φυκών στα φύλλα της ελιάς της ποικιλίας «Λιανολιά Κέρκυρας».

Η αύξηση της ζήτησης, για υψηλής ποιότητας παρθένο ελαιόλαδο, μπορεί να αποδοθεί όχι μόνο στα πιθανά οφέλη για την υγεία, αλλά επίσης, και στις άριστες οργανοληπτικές ιδιότητες που το χαρακτηρίζουν. Το ιδιαίτερο άρωμα του ελαιολάδου οφείλεται στις πτητικές ενώσεις που σχηματίζονται από την ενζυματική οξείδωση του λινελαϊκού και λινολενικού οξέος, μέσω μιας αλληλουχίας αντιδράσεων, που είναι γνωστές ως «βιοσυνθετική οδός της λιποξυγενάσης» (Hatanaka, 1993, Olias et al., 1993). Οι ενώσεις με 5 και 6 άτομα άνθρακα και κυρίως οι C6 κορεσμένες και ακόρεστες γραμμικές αλδεΐδες, αλκοόλες και εστέρες, αποτελούν το σημαντικότερο κλάσμα. Η δημιουργία αυτών των ενώσεων εξαρτάται από την ποικιλία της ελιάς, το στάδιο ωρίμανσης του καρπού, τις συνθήκες αποθήκευσης του καρπού πριν την εξαγωγή του ελαιολάδου καθώς και από τη θερμοκρασία και τη διάρκεια της μάλαξης (Angerosa et al., 2001, Benincasa et al., 2003, Morales et al., 1996). Οι ενώσεις αυτές είναι υπεύθυνες για το «πράσινο άρωμα» του ελαιολάδου (Aparicio και Morales, 1998, Kalua et al., 2007). Τα κυριότερα πτητικά συστατικά προέρχονται από το λινελαϊκό και λινολενικό οξύ μέσω της βιοσυνθετικής πορείας της λιποξυγενάσης. Συγκεκριμένα η εξανάλη, η 1-εξανόλη και ο οξικός εξυλεστέρας προέρχονται από το λινελαϊκό οξύ και η Z-3-εξανάλη, η E-2-εξανάλη, η E-2-εξεν-1-όλη και ο Z-3-οξικός εξενυλεστέρας από το λινολενικό οξύ. Επιπλέον, από το λινολενικό οξύ προκύπτουν η 1-πεντεν-3-όλη, η 1-πεντεν-3-όνη, η πεντανάλη, η E-2-πεντενάλη και η Z-2-πεντεν-1-όλη (Hatanaka, 1993, Olias et al., 1993).

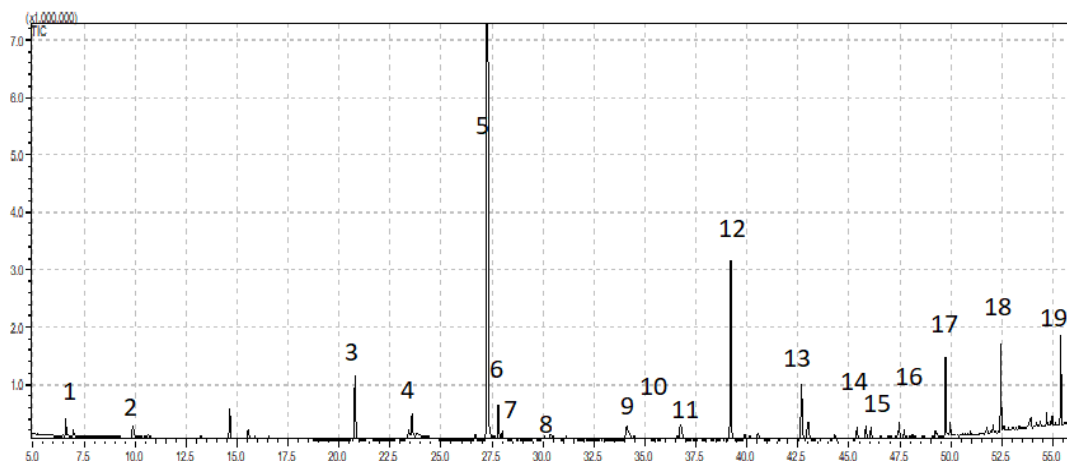
Μετά την παραλαβή του ελαιολάδου από τον καρπό αρχίζει η διαδικασία της οξείδωσης, η οποία επηρεάζεται από τις συνθήκες της αποθήκευσης, όπως θερμοκρασία, φως και διαθεσιμότητα σε οξυγόνο καθώς και από την ίδια τη σύσταση του λαδιού (Gutiérrez και Fernández, 2002, Velasco και Dobarganes, 2002). Οι ενώσεις, που συμβάλλουν στη διαδικασία της οξείδωσης είναι τα πολυακόρεστα οξέα, λινελαϊκό και λινολενικό.

Οι ενώσεις, που συνεισφέρουν στο οργανοληπτικό μειονέκτημα του ταγγού, είναι οι C5-C10 κορεσμένες και ακόρεστες αλδεΐδες, οι C6-C9 διενάλες και τα καρβοξυλικά οξέα. Εκτός από την αντίληψη του ταγγού οι περισσότερες από αυτές τις ενώσεις έχουν συσχετιστεί με τις αντιλήψεις του «ελαιώδους» και του «λιπαρού» (Morales et al., 2005). Οι αλκοόλες και οι αλδεΐδες (χαμηλού μοριακού βάρους), σχετίζονται με αντιδράσεις ζύμωσης, οπότε εντοπίζονται κυρίως σε ελαιόλαδα με αρνητικές οργανοληπτικές ιδιότητες, όπως μουχλιαμένα ή κρασώδη (Morales et al., 2005).

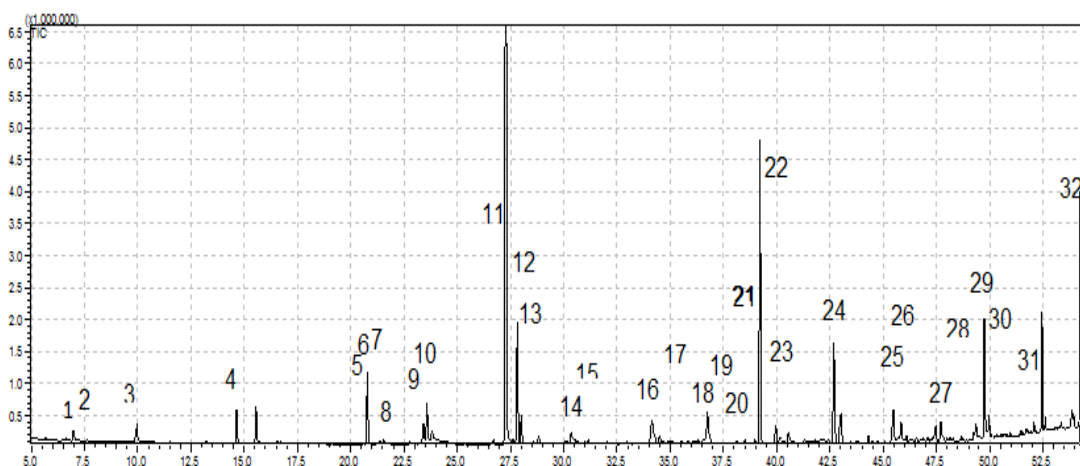
Τα πτητικά συστατικά του ελαιολάδου είναι είτε λιπόφιλα είτε υδρόφιλα. Η διαδικασία της μάλαξης κατά την επεξεργασία του καρπού προκαλεί αύξηση στα επίπεδα των λιπόφιλων συστατικών (αλδεΐδες, εστέρες) και μείωση στα επίπεδα των υδρόφιλων συστατικών (αλκοόλες) (Montedoro et al 1978). Οι Gomez-Rico et al (2009) διαπίστωσαν ότι τα επίπεδα σημαντικών πτητικών συστατικών είναι πιο υψηλά σε ελαιόλαδα που προέρχονται από αρδευόμενες καλλιέργειες ελαιώνα.

Στην παρούσα μελέτη τα δείγματα ελαιολάδου προέρχονταν από ελαιόδεντρα της ποικιλίας «Λιανολιά Κέρκυρας» από μη αρδευόμενη, συμβατική καλλιέργεια ελαιώνα. Η συλλογή του ελαιοκάρπου και τις δύο χρονιές πραγματοποιήθηκε την περίοδο που ο ελαιοκάρπος αρχίζει να αλλάζει χρώμα από πρασινοκίτρινο σε μελανοϊώδες. Η διαδικασία εξαγωγής του ελαιολάδου έγινε σε εργαστηριακή κλίμακα. Οι πτητικές ενώσεις εκφρασμένες ως mg 4-μεθυλο-2-πεντανόλη ανά kg ελαιολάδου, για όλες τις μεταχειρίσεις για το έτος 2012 και 2013 δίνονται στους πίνακες 13.16 και 13.17 αντίστοιχα. Το πτητικό κλάσμα των δειγμάτων που αναλύθηκαν αποτελείται από αλδεΐδες, αλκοόλες, εστέρες, υδρογονάνθρακες, τερπένια, οξέα και κετόνες.

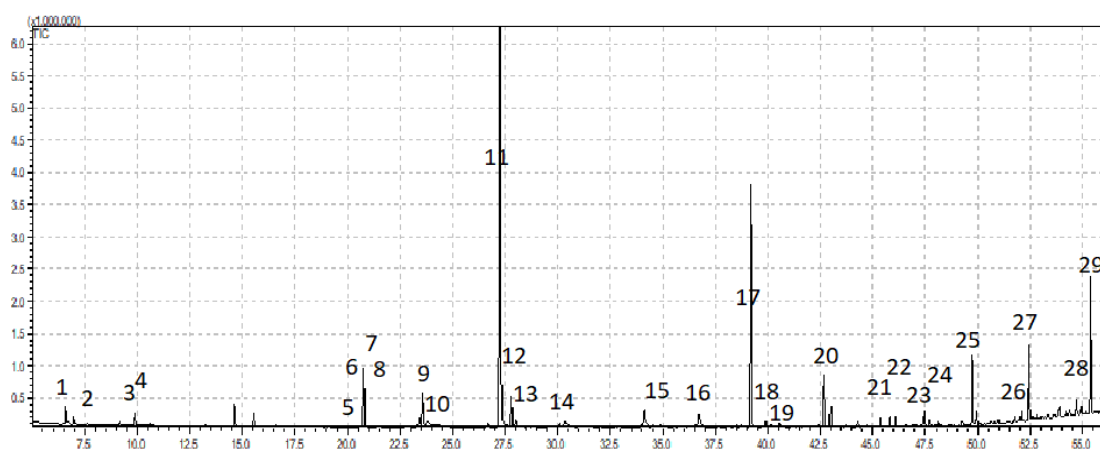
Αντιπροσωπευτικά χρωματογραφήματα του πτητικού κλάσματος δειγμάτων μάρτυρα, μετά το ψεκάσμο με Maxisorp και Kelp-100 δίνονται στα σχήματα 13.12, 13.13 και 13.14.



Σχήμα 13.12 : Μυρμηκικό οξύ, 2. Οξικό οξύ, 3. 4-Μεθυλ-2-πεντανόλη-1S, 4. Εξανάλη, 5. 2-Εξανάλη, (E), 6. 2-Εξεν-1-όλη, (E), 7. 1-Εξανόλη, 8. Επτανάλη, 9. Επτανόλη-1 10.Οκτανάλη, 11. Εθανόλη 2-(2-αιθοξυαιθοξυ) 12. 3,7-διμέθυλ-1,3,6-οκτατριένιο, 13. 1-Εννεανάλη, 14. 2-Εννεανάλη (E), 15. 1-Εννεανόλη 16. Δεκανάλη, 17. 2-Δεκανάλη, (Z), 18. 2-Ενδεκανάλη, 19. α.-Φαρνεσένιο (E,E).



Σχήμα 13.13 : Αιθανόλη, 2 Μυρμηκικό οξύ, 3. 1,3-Πενταδιένιο, (E), 4. 1-Πεντεν-3-όλη, 5. 4-Μεθυλ-2-πεντανόλη-1S, 6. Τολουόλιο, 7. Οκτάνιο, 8. Εξανάλη, 9. 2-Εξενάλη, (E), 10. 2-Εξεν-1-όλη, (E) 11. 1-Εξανόλη, 12. Επτανάλη, 13. 2,4-Εξαδιενάλη, (E, E), 14. α-ξυλένιο, 15. 3-Αιθυλο-1,5-Οκταδιένιο, 16. 6-Μεθυλο-5-επτεν-2-όνη, 17. Οκτανάλη, 18. Επτανοϊκό οξύ, 19. 2-Οκτενάλη (E), 20. 1-Οκτανόλη, 21. 1-Ενδεκάνιο, 22. Εννεανάλη, 23. Φαινυλαιθυλική αλκοόλη, 24. 2-Εννεανάλη, (E), 25. 2-Δεκανόνη, 26. Δεκανάλη, 27. 2-Δεκενάλη (Z), 28. Ενδεκανάλη, 29. 2,4-Δεκαδιενάλη, 30. 2-Ενδεκανάλη, 31. 2-Δωδεκανάλη, 32. α-Φαρνεσένιο, (E,E).



Σχήμα 13.14 : Μυρμηκικό οξύ, 2. 1,3-Πενταδιένιο, 3. Οξικό οξύ, 4. η-εξάνιο, 5. 2-Πεντενάλη, 6. 4-Μεθυλ-2-πεντανόλη-1S, 7. 2-Πεντενόλη, 8. Τολουόλιο, 9. 2-Μέθυλ-4-πεντενάλη, 10. Εξανάλη, 11. 2-Εξενάλη, (E), 12. 2-Εξεν-1-όλη, (E), 13. 1-Εξανόλη, 14. Επτανάλη, 15. 2-Εθανόλη, 16. Οκτανάλη, 17. *trans*-β-Οκιμένιο, 18. Επτανοϊκό οξύ, 19. 2-Οκτενάλη, (E), 20. Εννεανάλη, 21. 2-Εννεανάλη, (E), 22. 1-εννεανόλη, 23. 2-Δεκανόνη, 24. Δεκανάλη, 25. 2-Δεκενάλη (Z), 26. 2,4-Δεκαδιενάλη, 27. 2-Ενδεκανάλη, 28. 2-Δωδεκανάλη, 29. α-Φαρνεσένιο, (E,E).

Πίνακας 13.16: Ημιποσοτικός προσδιορισμός των πτητικών ενώσεων στα δείγματα ελαιολάδου του 2012 μετά τις μεταχειρίσεις με τα εμπορικά προϊόντα εκχυλίσματος φυκών και των συνδυασμών τους (εκφρασμένες ως mg 4-μεθυλο-2-πεντανόλης/kg ελαιολάδου).

2012		CONTROL	MAXICROP	MAXICROP+B	MAXICROP+MAXICROP	KELP-100	KELP-100+B	KELP-100+KELP-100
	RI ^a	M.O.±S.D.	M.O.±S.D.	M.O.±S.D.	M.O.±S.D.	M.O.±S.D.	M.O.±S.D.	M.O.±S.D.
Αλδεΐδες								
Πεντανάλη	707	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,09±0,01b	0,14±0,01c
3-Εξενάλη, (Ζ)-	814	n.d.	n.d.	0,43±0,02b	0,59±0,03c	n.d.	n.d.	0,97±0,05d
Εξανάλη	806	0,72±0,04b	0,45±0,02a	1,73±0,09c	1,9±0,1d	2,0±0,1d	0,63±0,03a	1,7±0,1c
2-Εξενάλη, (Ε)-	814	85±5c	40±2a	55±3b	52±2,6b	52±2b	54±3b	56±3b
Επτανάλη	905	0,36±0,02b	0,08±0,01a	0,31±0,01b	0,78±0,04c	1,29±0,06c	0,87±0,04c	1,23±0,04d
2,4-Εξαδιενάλη, (Ε,Ε)-	822	n.d.	0,08±0,01b	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,29±0,01c
Οκτανάλη	1005	1,54±0,08b	1,02±0,04a	0,94±0,04a	2,0±0,1c	1,48±0,08b	1,55±0,08b	2,8±0,1d
2-Οκτενάλη, (Ε)-	1013	0,29±0,01b	0,36±0,02c	0,38±0,02c	0,40±0,02c	0,55±0,03d	0,22±0,01a	0,6±0,03d
Εννεανάλη	1104	5,1±0,3a	7,6±0,4b	8,7±0,5bc	8,1±0,4bc	8,0±0,4bc	8,4±0,5bc	8,8±0,5c
2-Εννεανάλη, (Ε)-	1112	0,21±0,01a	0,88±0,05b	0,95±0,05b	0,86±0,04b	0,19±0,01a	0,1±0,1a	1,23±0,07c
Δεκανάλη	1204	n.d.	0,08±0,01b	n.d.	n.d.	0,65±0,03d	0,48±0,02c	0,78±0,04e
2-Δεκενάλη, (Ζ)-	1212	4,0±0,2a	5,2±0,2b	5,0±0,2b	4,7±0,2ab	5,0±0,2b	4,2±0,2a	7,1±0,3c
Ενδεκανάλη	1303	0,28±0,01c	0,30±0,01cd	0,31±0,01de	0,3±0,01cd	n.d.	0,09±0,01b	0,33±0,01e
2,4-Δεκαδιενάλη	1220	0,19±0,01b	0,24±0,01cd	0,25±0,01de	0,21±0,01bc	n.d.	0,22±0,01bcd	0,26±0,01e
2-Ενδεκανάλη	1311	6,42±0,34b	4,5±0,2a	3,9±0,2a	4,6±0,2a	6,7±0,4b	6,0±0,3b	6,6±0,2b
2-Δωδεκανάλη	1410	n.d.	1,11±0,06c	1,05±0,05c	1,00±0,05c	0,65±0,03b	n.d.	1,09±0,06c
ΣΥΝΟΛΟ		104,11	61,90	78,95	77,44	78,51	76,85	89,92

Αλκοόλες								
Αιθανόλη	<507	n.d.	0,24±0,01c	0,46±0,02d	0,12±0,01b	n.d.	n.d.	n.d.
1-Πεντεν-3-όλη	640	n.d.	0,07±0,01b	0,09±0,01b	0,1±0,01b	n.d.	n.d.	n.d.
2-Εξεν-1-όλη, (E)-	868	1,12±0,06d	0,62±0,03b	1,24±0,07e	1,08±0,06cd	0,63±0,03b	0,47±0,02a	0,98±0,05c
1-Εξανόλη	860	0,75±0,04d	0,3±0,01a	0,71±0,04c	0,63±0,03b	0,59±0,03b	0,29±0,01a	0,65±0,03b
1-Επτανόλη	960	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,32±0,01b
1-οκτανόλη	1059	0,39±0,02a	0,32±0,01a	0,74±0,04d	0,46±0,02b	0,7±0,04d	0,49±0,02c	0,83±0,04e
Φαινυλαιθυλική αλκοόλη	1136	n.d.	0,08±0,01b	n.d.	0,12±0,01c	0,07±0,00b	n.d.	n.d.
1-εννεανόλη	1159	0,34±0,01c	n.d.	1,29±0,07e	0,44±0,02d	0,32±0,01c	0,1±0,1b	0,27±0,07c
ΣΥΝΟΛΟ		2,60	1,63	4,53	2,95	2,31	1,35	3,05
Κετόνες								
6-Μεθυλ-5-επτεν-2-όνη	938	n.d.	0,19±0,01c	0,45±0,02d	0,17±0,01c	n.d.	n.d.	0,1±0,01b
2-Εννεανόνη	1052	n.d.	n.d.	0,07±0,01c	n.d.	n.d.	0,05±0,01b	0,16±0,01d
2-Δεκανόνη	1151	0,04±0,01 a	0,07±0,01bc	0,05±0,01ab	0,09±0,01c	0,18±0,01d	0,21±0,01e	0,19±0,01de
ΣΥΝΟΛΟ		0,04	0,26	0,57	0,26	0,18	0,26	0,45
Οξέα								
Μυρμηκικό οξύ	<507	0,56±0,03 d	0,3±0,01b	0,22±0,01a	0,7±0,04e	0,49±0,02c	0,46±0,02c	0,32±0,01b
Οξικό οξύ	576	1,26±0,07 e	n.d.	0,95±0,05d	0,91±0,05d	0,68±0,03c	0,37±0,02b	0,67±0,03c
Επτανικό οξύ	1073	0,05±0,01 a	1,13±0,06d	0,08±0,01a	0,57±0,03c	1,04±0,05d	0,47±0,02b	0,65±0,03c
ΣΥΝΟΛΟ		1,87	1,16	1,25	2,18	2,21	1,30	1,64
Υδρογονάνθρακες								
1,3-Πενταδιένιο, (E)-	516	n.d.	0,06±0,01 b	0,08±0,01 b	0,07±0,01 b	n.d.	n.d.	n.d.
n-εξάνιο	618	n.d.	n.d.	0,03±0,01 b	n.d.	0,13±0,00 d	n.d.	0,09±0,01 c

Εππάνιο	717	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,16±0,01 b
Τολουόλιο	794	n.d.	0,1±0,01b	0,25±0,01d	0,12±0,01c	n.d.	n.d.	n.d.
Οκτάνιο	816	0,11±0,01 a	0,12±0,01a	0,19±0,01b	0,30±0,01d	0,23±0,01c	0,28±0,01d	0,35±0,02e
3-Αιθυλ-1,5-οκταδιένιο	949	n.d.	0,13±0,01e	0,11±0,01d	0,26±0,01f	0,05±0,00b	0,09±0,01c	0,11±0,01d
1-ενδεκένιο	1105	n.d.	0,13±0,01c	n.d.	0,20±0,01d	n.d.	0,09±0,01b	0,22±0,01d
α-Φαρνεσένιο, (E,E)-	1458	4,6±0,2 bc	6,9±0,3d	6,8±0,4d	5,0±0,2c	3,17±0,11a	4,0±0,2b	3,2±0,1a
ΣΥΝΟΛΟ		4,71	7,44	7,46	5,95	3,58	4,46	3,97
Διάφορα								
α-ξυλένιο	907	n.d.	0,05±0,01b	n.d.	0,14±0,01c	n.d.	n.d.	n.d.
4-υδροξυ-βενζυλοαιθανόλη	1356	n.d.	0,28±0,01cd	0,06±0,01b	0,36±0,02e	0,29±0,01d	n.d.	0,26±0,01c

^a RI: Δείκτες κατακράτησης (DB-5 column)

a, b, c ... Διαφορετικό γράμμα στην ίδια στήλη σημαίνει στατιστικώς σημαντικές διαφορές. Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με το κριτήριο Duncan για $p=0,05$.

Πίνακας 13.17 : Ημιποσοτικός προσδιορισμός των πτητικών ενώσεων στα δείγματα ελαιολάδου του 2013 μετά τις μεταχειρίσεις με τα εμπορικά προϊόντα εκχυλίσματος φυκών και των συνδυασμών τους (εκφρασμένες ως mg 4-μεθυλο-2-πεντανόλης/kg ελαιολάδου).

2013		CONTROL	MAXICROP	MAXICROP+BOPIO	MAXICROP+MAXICROP	KELP-100	KELP-100+B	KELP-100+KELP-100
	RI ^a	M.O.±S.D.	M.O.±S.D.	M.O.±S.D.	M.O.±S.D.	M.O.±S.D.	M.O.±S.D.	M.O.±S.D.
Αλδεΐδες								
2-Πεντενάλη, (E)-	715	0,11±0,01	n.d.	n.d.	0,06±0,01	0,11±0,01	0,09±0,01	0,11±0,01
2-Μεθυλ-4-πεντενάλη	732	1,55±0,07d	1,36±0,07bc	n.d.	1,67±0,06d	1,52±0,08cd	1,32±0,07b	1,34±0,06bc
3-Εξενάλη, (Z)-	814	n.d.	n.d.	1,67±0,07b	1,99±0,06c	n.d.	n.d.	n.d.
Εξανάλη	806	3,5±0,1b	4,5±0,2de	5,5±0,2f	5,0±0,2ef	4,1±0,2cd	2,8±0,1a	3,7±0,2bc
2-Εξενάλη, (E)-	855	107±5 b	87±5a	98±5ab	127±7c	97±5 ab	91±5a	86±5a
Επτανάλη	905	0,96±0,05b	1,5±0,3d	1,89±0,10e	2,5±0,1f	1,25±0,07c	0,72±0,04a	0,96±0,05b
2,4-Εξαδιενάλη, (E, E)-	822	0,1±0,01b	0,48±0,02e	0,32±0,01d	0,54±0,03f	0,12±0,01b	n.d.	0,28±0,01c
Οκτανάλη	1005	2,8±0,1a	4,6±0,2c	4,5±0,2c	6,4±0,3d	2,6±0,1a	2,5±0,1a	3,6±0,2b
2-Οκτενάλη, (E)-	1013	0,56±0,03b	0,81±0,04d	0,8±0,03d	0,82±0,04d	0,53±0,03b	0,25±0,01a	0,69±0,03c
Εννεανάλη	1104	7,5±0,3ab	11,7±0,6c	12,9±0,5c	12,2±0,7c	7,6±0,4ab	6,3±0,3a	8,1±0,4c
2-Εννεανάλη, (E)-	1112	1,29±0,07ab	1,58±0,07c	1,82±0,08d	1,49±0,08bc	1,28±0,06ab	1,13±0,06a	2,1±0,1e
Δεκανάλη	1204	0,82±0,04a	1,9±0,1d	1,22±0,06c	1,03±0,05b	1,25±0,07c	0,86±0,04b	1,21±0,06c
2-Δεκανάλη, (Z)-	1212	6,8±0,4a	10,0±0,5c	10,1±0,6c	9,8±0,6c	7,3±0,3b	6,0±0,3a	9,0±0,4c
Ενδεκανάλη	1303	0,34±0,01de	0,35±0,02e	0,32±0,01d	0,29±0,01c	n.d.	0,11±0,01b	0,36±0,02e
2,4-Δεκαδιενάλη	1220	0,21±0,01b	0,32±0,01d	0,33±0,01e	0,29±0,01cd	0,08±0,01a	0,21±0,01b	0,27±0,01c
2-Ενδεκανάλη	1311	7,0±0,4b	9,6±0,4c	8,8±0,5c	9,7±0,5c	6,3±0,3ab	5,6±0,3a	6,0±0,3ab
2-Δωδεκανάλη	1410	1,17±0,06c	1,01±0,05bc	1,16±0,06c	0,92±0,05b	1,39±0,07d	n.d.	1,53±0,08d
ΣΥΝΟΛΟ		141,71	136,71	149,33	181,41	132,43	118,89	125,25

Αλκοόλες								
Αιθανόλη	<507	n.d.	0,19±0,01 c	0,32±0,01d	0,08±0,01b	n.d.	n.d.	n.d.
1-Πεντεν-3-όλη	640	n.d.	0,24±0,01b	0,28±0,01c	0,32±0,01d	n.d.	n.d.	n.d.
2-Πεντεν-1-όλη, (Z)-	769	0,21±0,01a	0,31±0,01b	0,35±0,02c	0,43±0,02d	0,19±0,01a	0,18±0,01a	0,17±0,01a
2-Εξεν-1-όλη, (E)-	868	4,6±0,3b	13,0±0,7d	22±1e	6,3±0,3c	3,9±0,2ab	2,8±0,1a	4,4±0,2b
1-Εξανόλη	860	1,11±0,06b	3,3±0,1d	7,3±0,4e	1,9±0,1c	0,96±0,05b	0,49±0,02a	0,98±0,05b
1-Επτανόλη	960	0,44±0,02c	0,84±0,04e	0,69±0,03d	0,96±0,05f	n.d.	n.d.	0,3±0,01b
1-οκτανόλη	1059	0,40±0,02a	1,43±0,08e	0,86±0,04cd	1,57±0,05f	0,73±0,04bc	0,62±0,03b	0,89±0,05d
Φαινυλαιθυλική αλκοόλη	1136	n.d.	0,48±0,02d	n.d.	0,59±0,03e	0,32±0,01c	n.d.	0,09±0,01b
1-εννεανόλη	1159	1,06±0,06cd	n.d.	1,61±0,09e	0,61±0,03b	1,13±0,06d	0,59±0,03b	0,97±0,05c
1-διμεθυλ- 4,8-εννεανόλη	1229	0,95±0,05b	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,04±0,01a	n.d.
ΣΥΝΟΛΟ		8,77	19,79	33,41	12,76	7,23	4,72	7,80
Κετόνες								
1-Πεντεν-3-όνη	644	0,19±0,01d	n.d.	n.d.	0,07±0,01b	n.d.	0,23±0,01e	0,15±0,01c
6-Μεθυλ-5-επτεν-2-όνη	938	n.d.	0,32±0,01b	0,93±0,05c	0,31±0,01b	n.d.	n.d.	0,32±0,01b
2-Δεκανόνη	1151	0,22±0,01b	0,38±0,02c	0,37±0,02c	0,43±0,02d	0,18±0,01ab	0,15±0,01a	0,14±0,01a
ΣΥΝΟΛΟ		0,41	0,70	1,30	0,81	0,18	0,38	0,61
Οξέα								
Μυρμηκικό οξύ	<507	0,73±0,04b	0,94±0,04b	0,55±0,03a	1,46±0,08d	0,78±0,04b	0,68±0,03b	0,56±0,02a
Οξικό οξύ	576	2,0±0,1e	0,90±0,05a	1,33±0,07bc	1,4±0,07bcd	1,58±0,07d	1,28±0,06b	1,49±0,08cd
Επτανικό οξύ	1073	0,65±0,03b	4,5±0,1e	1,19±0,06c	2,4±0,1d	0,73±0,04b	0,24±0,01a	0,33±0,01a
ΣΥΝΟΛΟ		3,38	6,34	3,07	5,26	3,09	2,20	2,38
Υδρογονάνθρακες								

1,3-Πενταδιένιο, (E)-	516	0,02±0,01b	0,11±0,01 c	0,15±0,01 e	0,13±0,01d	0,03±0,01b	0,03±0,01b	n.d.
n-Εξάνιο	618	0,14±0,01c	n.d.	0,45±0,01e	0,44±0,01e	0,22±0,01d	n.d.	0,1±0,01b
Τολουόλιο	794	0,23±0,01b	0,50±0,01d	0,93±0,05e	0,43±0,02c	0,23±0,01b	n.d.	n.d.
3-Αιθυλ-1,5-οκταδιένιο	949	n.d.	0,20±0,01b	0,18±0,01b	0,46±0,02c	n.d.	n.d.	n.d.
trans-β-Οκιμένιο	976	0,18±0,01a	0,39±0,02c	0,57±0,03e	0,51±0,02d	0,29±0,01b	0,23±0,01a	0,21±0,01a
α-Φαρνεσένιο, (E,E)-	1458	7,8±0,4a	9,0±0,5b	9,6±0,4b	6,9±0,4a	12,0±0,6c	7,5±0,4a	9,4±0,5b
ΣΥΝΟΛΟ		8,37	10,20	11,88	8,87	12,77	7,76	9,71
Διάφορα								
Οξικός αιθυλεστέρας	586	0,10±0,01	0,10±0,01	0,12±0,01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2-(2-αιθοξυαιθοξυ)αιθανόλη	1012	0,54±0,03b	0,97±0,03d	0,31±0,01a	0,82±0,04c	0,32±0,01a	0,57±0,03b	0,33±0,01a
4-υδροξυ-βενζυλοαιθανόλη	1356	n.d.	1,03±0,05e	0,9±0,05d	1,31±0,07f	0,81±0,04cd	0,39±0,02b	0,75±0,04c

^a RI: Δείκτες κατακράτησης (DB-5 column)

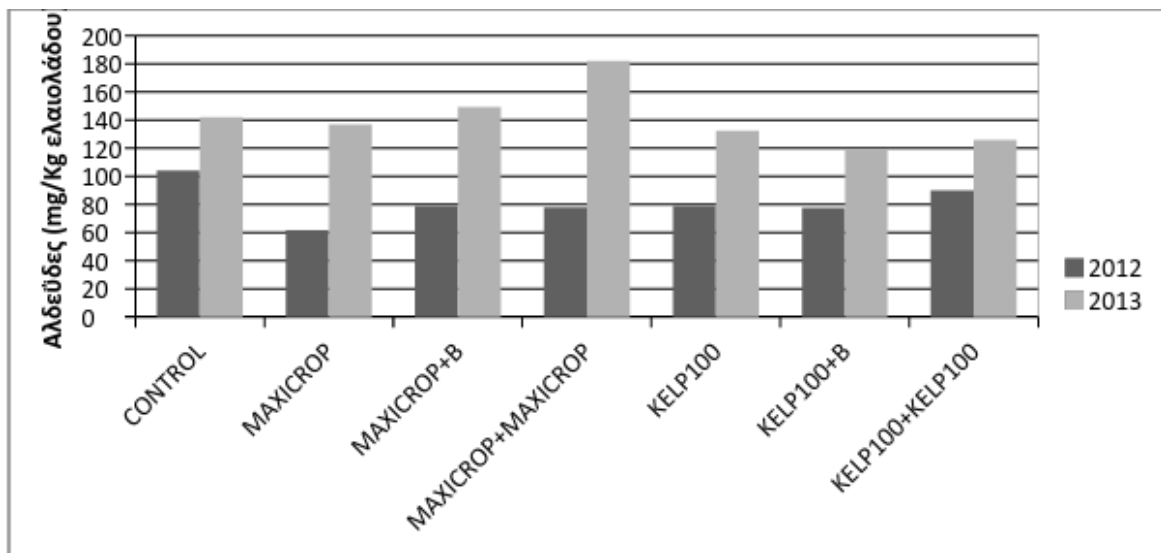
a, b, c ... Διαφορετικό γράμμα στην ίδια στήλη σημαίνει στατιστικώς σημαντικές διαφορές. Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με το κριτήριο Duncan για $p=0,05$.

Αλδεΐδες

Οι αλδεΐδες απαντώνται στο ελαιόλαδο σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σε σχέση με τα άλλα πτητικά συστατικά του και αποτελούν περίπου το 50-75% του συνόλου των πτητικών συστατικών με κυρίαρχες τις C6 αλδεΐδες (Montedoro et al., 1978). Οι μεγάλης αλυσίδας αλδεΐδες χαρακτηρίζουν «τα ελαττώματα» στο ελαιόλαδο που συνδέονται με την οξειδωση κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης του ελαιολάδου (Kalua et al., 2007). Οι περισσότερες από τις C6 αλδεΐδες παρουσιάζουν τη μεγαλύτερη συγκέντρωση στο στάδιο όπου η ελιά από πράσινη αρχίζει να χρωματίζεται μωβ, ενώ στα πρώιμα στάδια ωρίμανσης η περιεκτικότητα σε C6 αλδεΐδες είναι συγκρίσιμη με εκείνη των C6 αλκοολών (Angerosa and Basti, 2001).

Η αύξηση των πτητικών ενώσεων που είναι υπεύθυνες για το οργανοληπτικό ελάττωμα του «ταγγού» (εξανάλη, εννεανάλη, επτανάλη) μπορούν να αποδοθούν στην αρχική σύσταση των δειγμάτων σε λιπαρά οξέα. Από τις πτητικές ενώσεις που υπάρχουν σε ταγγισμένα δείγματα δεν ευθύνονται όλες και στον ίδιο βαθμό για την άσχημη οσμή. Το κατά πόσο μία ένωση συνεισφέρει στο τελικό άρωμα εξαρτάται από το κατώφλι οσμής. Έτσι, ενώσεις που συνεισφέρουν στο ελάττωμα του «ταγγού» είναι οι C7-C12 κορεσμένες και ακόρεστες αλδεΐδες καθώς και οι C6-C9 διενάλες και τα καρβοξυλικά οξέα (Morales et al., 2005).

Στο Σχήμα 13.15. φαίνεται το συνολικό περιεχόμενο των αλδεϊδών στο πτητικό κλάσμα των δειγμάτων ελαιολάδου κατά τις μεταχειρίσεις με το Maxicrop, το Kelp-100 και τους αντίστοιχους συνδυασμούς του, τα έτη 2012 και 2013.



Σχήμα 13.15 :Συνολική περιεκτικότητα αλδεϋδών στο πτητικό κλάσμα των ελαιολάδων που προήλθαν από ελαιόδεντρα της ποικιλίας «Λιανολιά Κερκύρας» μετά το διαφυλλικό ψεκάσμο με τα εμπορικά σκευάσματα φυκών και των συνδυασμών τους το 2012 και 2013.

Παρατηρείται ότι η συγκέντρωση των αλδεϋδών τα δύο έτη της έρευνας (2012 και 2013), παρουσίασαν μια τάση αύξησης τόσο στην μεταχείριση του μάρτυρα όσο και στις υπόλοιπες μεταχειρίσεις, με τη μεγαλύτερη αύξηση να καταγράφεται στις μεταχειρίσεις με την εφαρμογή του Maxicrop και των συνδυασμών του. Το έτος 2012 η υψηλότερη περιεκτικότητα καταγράφηκε στον μάρτυρα (104,11 mg/kg) ενώ στις μεταχειρίσεις με τα σκευάσματα φυκών παρατηρήθηκε μείωση του περιεχομένου των συνολικών αλδεϋδών. Το 2013 σημειώθηκε μείωση των αλδεϋδών σε σύγκριση με τον μάρτυρα, εκτός από την περίπτωση της εφαρμογής Maxicrop+B (149,33 mg/kg) και Maxicrop-Maxicrop (181,41 mg/kg).

Η χρήση των σκευασμάτων φυκών φαίνεται να επιδρά στην διαθεσιμότητα ή/και τη δραστηριότητα των ενζύμων που συμμετέχουν στην βιοσυνθετική πορεία της λιποξυγενάσης. Η *E*-2-εξενάλη αποτελεί το κύριο πτητικό συστατικό του ελαιολάδου (Williams et al., 1998). Προκύπτει από την πορεία της λιποξυγενάσης μέσω της δράσης του ενζύμου *cis*3:*trans*2-enal ισομεράσης, επί της ασταθούς (*Z*)-3-εξενάλης (Kalua et al., 2007). Οι οργανοληπτικές ιδιότητες της *E*-2-εξενάλης έχουν περιγραφεί σαν «πράσινες», «κομμένο γρασίδι», «πράσινο μήλο» και «πικραμύγδαλο» (Aparicio και Luna, 2002, Luna et al., 2006, Morales et al., 2005, Reiniers και

Grosch, 1998). Οι Angerosa et al (1997) και οι Montedoro et al (1978) αναφέρουν ότι κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης της ελιάς το ποσοστό της *E-2*-εξανάλης αυξάνεται στο μέγιστο, την χρονική στιγμή της αλλαγής του χρώματος του ελαιοκάρπου από κιτρινοπράσινο σε πορφυρό (Angerosa et al., 1999, Montedoro et al., 1978). Η συγκέντρωσή της *E-2*-εξανάλη στο δείγμα του μάρτυρα το 2012 κατέγραψε την υψηλότερη τιμή (85 mg/kg) σε σχέση με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις, ενώ μεταξύ των μεταχειρίσεων δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (52 mg/kg έως 55 mg/kg) εκτός από την περίπτωση της απλής εφαρμογής με Maxicrop (40 mg/kg). Το δεύτερο έτος της μελέτης στον μάρτυρα αυξήθηκε η συγκέντρωση της *E-2*-εξανάλης (107 mg/kg), ενώ στις υπόλοιπες μεταχειρίσεις η συγκέντρωσή της ήταν ελαφρά χαμηλότερη εκτός από την περίπτωση της διπλής εφαρμογής του Maxicrop (127 mg/kg).

Η εξανάλη συνδέεται με το «φρέσκο πράσινο» άρωμα και προκύπτει από τη δράση του ενζύμου υπεροξειδική λυάση στα 13-υδροϋπεροξειδία του λινελαϊκού οξέος. Επιπλέον, αυξάνεται κατά την αποθήκευση του ελαιολάδου αλλά δεν διακρίνει τα οξειδωμένα από τα παρθένα ελαιόλαδα, καθώς προέρχεται τόσο από χημικές όσο και από ενζυμικές πορείες οξειδωσης (Morales et al., 1997, Vichi et al., 2003b). Η αναλογία της εξανάλης στα συνολικά πτητικά αλδεϋδών είναι ιδιαίτερου ενδιαφέροντος και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ακόμη και για τον προσδιορισμό της προσβολής του ελαιοκάρπου από το δάκο της ελιάς. Έχει παρατηρηθεί ότι ελαιόλαδα που προκύπτουν από ελιές με αυξημένα ποσοστά δακοπροσβολής έχουν υψηλότερα ποσοστά εξανάλης, οπότε τα επίπεδα συγκέντρωσης της εξανάλης μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως ένας σχετικός δείκτης προσβολής του ελαιοκάρπου από το δάκο (Angerosa et al., 1992). Η συγκέντρωση της εξανάλης στον μάρτυρα το 2012, κυμάνθηκε σε χαμηλά επίπεδα (0,72 mg/kg), ενώ το 2013 αυξήθηκε αισθητά (3,5 mg/kg). Οι συγκεντρώσεις της εξανάλης στις μεταχειρίσεις με την εφαρμογή των εμπορικών σκευασμάτων το 2012 κυμάνθηκαν μεταξύ 0,45 mg/kg (Maxicrop) και 2,0 mg/kg (Kelp-100) και στις περισσότερες περιπτώσεις η συγκέντρωσή της σημείωσε αύξηση σε σύγκριση με τον μάρτυρα. Το 2013 παρατηρείται μια μεγαλύτερη τάση αύξησης της συγκέντρωσης της εξανάλης με την εφαρμογή του Maxicrop και των συνδυασμών του (από 4,5 mg/kg έως 5,5 mg/kg) σε σχέση με τις

συγκεντρώσεις της εξανάλης στα δείγματα με την εφαρμογή του Kelp-100 με εξαίρεση την περίπτωση της εφαρμογής του Kelp-100+B (2,8mg/kg). Η αύξηση της συγκέντρωσης της εξανάλης (μια εκ των πτητικών ενώσεων που είναι υπεύθυνες για το οργανοληπτικό ελάττωμα του «ταγγού») ίσως να μπορεί να αποδοθεί στην αύξηση της δακοπροσβολής που παρατηρήθηκε το 2013 στα ελαιόδεντρα.

Μεταξύ των δευτερευουσών πτητικών ενώσεων που ανιχνεύτηκαν στα ελαιόλαδα των μεταχειρίσεων της έρευνας, ανιχνεύτηκαν και οι ενώσεις: επτανάλη, οκτανάλη και εννεανάλη οι οποίες οφείλονται στις αντιδράσεις αυτοοξειδωσης που αρχίζουν αναπόφευκτα μετά την εξαγωγή του παρθένου ελαιολάδου (Morales et al., 1997). Η εννεανάλη έχει προταθεί ως δείκτης θερμοοξειδωσης και η αναλογία εξανάλης/εννεανάλης για τη διάκριση μεταξύ οξειδωμένων και καλής ποιότητας δειγμάτων (Vichi et al., 2003b και Morales et al., 1997), επίσης, η εννεανάλη έχει προταθεί ως δείκτης για την ανίχνευση του αρχικού σταδίου της οξειδωσης θερμοοξειδωμένων δειγμάτων. Η επτανάλη χαρακτηρίζεται από μικρό κατώφλι οσμής με συνέπεια η συνεισφορά της στα αρνητικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά να είναι σημαντική. Οι συγκεντρώσεις των δευτερευόντων πτητικών ενώσεων είναι υψηλότερες το έτος 2013, δεδομένης της έντονης προσβολής του ελαιοκάρπου τόσο από τον δάκο όσο και από το γλοιοσπόριο. Ο Morales et al (2005) αναφέρουν ότι σχεδόν όλες αυτές οι πτητικές ενώσεις είναι υπεύθυνες για την απώλεια γεύσης στα παρθένα ελαιόλαδα, τα οποία έχουν υποστεί οξειδωση.

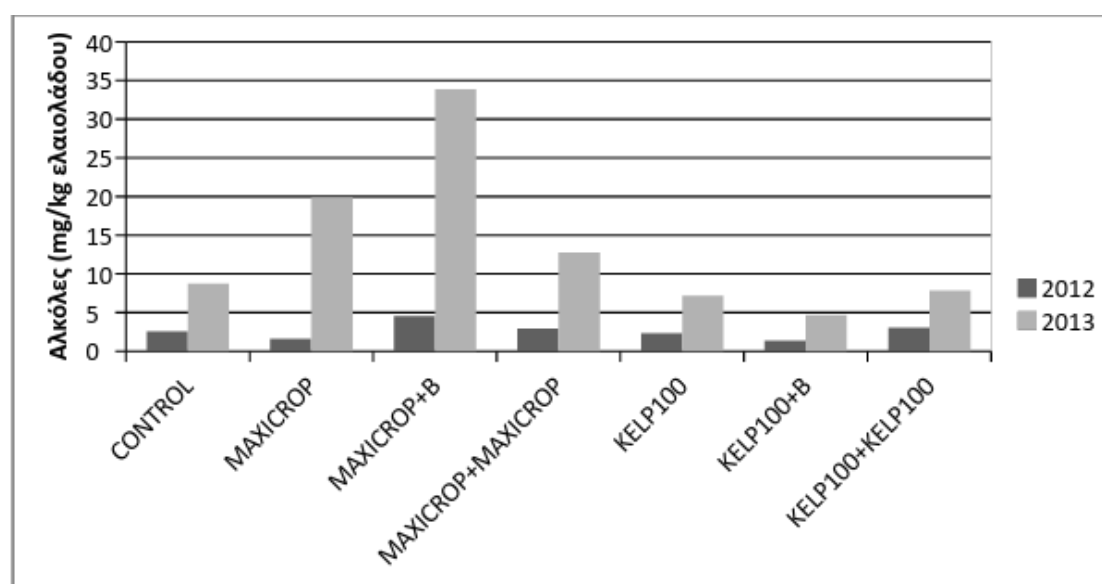
Η επτανάλη το έτος 2012 παρουσίασε τη μεγαλύτερη τάση αύξησης στις μεταχειρίσεις με την εφαρμογή του Kelp-100 και των συνδυασμών του ενώ η εννεανάλη έδωσε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις, στατιστικά σημαντικές, σε όλες τις μεταχειρίσεις με την εφαρμογή των εμπορικών σκευασμάτων από φύκη σε σχέση με την μεταχείριση του μάρτυρα (πίνακας 13.16). Το 2013 η επτανάλη, και οκτανάλη παρουσίασαν τη μεγαλύτερη τάση αύξησης της συγκέντρωσής τους στις μεταχειρίσεις με την εφαρμογή του Maxicrop και των συνδυασμών του ενώ η συγκέντρωση της εννεανάλης αυξήθηκε σε όλες σχεδόν τις μεταχειρίσεις με την εφαρμογή των εμπορικών σκευασμάτων από φύκη σε σχέση με την μεταχείριση του μάρτυρα, με εξαίρεση την μεταχείριση με την εφαρμογή του Kelp-100+B που δεν παρατηρήθηκε διαφορά σε σχέση

με τον μάρτυρα (πίνακας 13.17). Η ίδια τάση παρατηρήθηκε και στις συγκεντρώσεις των 2-δεκανάλης και 2-ενδεκανάλης.

Αλκοόλες

Οι αλκοόλες με 5 και 6 άτομα άνθρακα (C5 και C6) που προέρχονται από το λινελαϊκό και λινολενικό οξύ μέσω της βιοσυνθετικής πορείας της λιποξυγενάσης (1-πεντεν-3-όλη, Z-2-πεντεν-1-όλη 1-εξανόλη, E-2-εξεν-1-όλη, Z-3-εξεν-1-όλη) είναι υπεύθυνες για τα θετικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (Hatanaka, 1993; Olias et al., 1993). Οι πτητικές ενώσεις με 5 άτομα άνθρακα ευθύνονται για τις θετικές οργανοληπτικές ιδιότητες που θυμίζουν «πράσινο», «γλυκό», «φράουλας» κ.α. (Aparicio & Luna, 2002; Luna et al., 2006; Morales et al., 2005; Reiners & Grosch, 1998)

Στο Σχήμα 13.16 φαίνεται το συνολικό περιεχόμενο των αλκοολών στο πτητικό κλάσμα των δειγμάτων ελαιολάδου κατά τις μεταχειρίσεις με το Maxicrop, το Kelp-100 και τους αντίστοιχους συνδυασμούς του τα έτη 2012 και 2013.



Σχήμα 13.16 :Συνολική περιεκτικότητα αλκοολών στο πτητικό κλάσμα των ελαιολάδων που προήλθαν από ελαιόδεντρα της ποικιλίας «Λιανολιά Κερκύρας» μετά το διαφυλλικό ψεκασμό με τα εμπορικά σκευάσματα φυκών και των συνδυασμών τους το 2012 και 2013.

Παρατηρείται ότι η συγκέντρωση των αλκοολών τα δύο έτη της έρευνας (2012 και 2013), παρουσίασαν μια τάση αύξησης τόσο στην μεταχείριση του μάρτυρα όσο και στις υπόλοιπες μεταχειρίσεις, με την μεγαλύτερη αύξηση να καταγράφεται στις μεταχειρίσεις με την εφαρμογή του Maxicrop και των συνδυασμών του. Το έτος 2012, με την εφαρμογή των σκευασμάτων από φύκη σημειώθηκε μείωση των αλκοολών σε σύγκριση με τον μάρτυρα (2,60 mg/kg), εκτός από τις περιπτώσεις της εφαρμογής του Maxicrop + B και Maxicrop (4,53 mg/kg και 9,95 mg/kg αντίστοιχα). Το 2013 η υψηλότερη περιεκτικότητα καταγράφηκε στις περιπτώσεις με την εφαρμογή του Maxicrop και των συνδυασμών του (12,76 mg/kg-33,41 mg/kg) ενώ σημειώθηκε μείωση των αλκοολών με την εφαρμογή του Kelp-100 και των συνδυασμών του (4,72 mg/kg-7,80 mg/kg) σε σύγκριση με τον μάρτυρα (8,77 mg/kg).

Η εξαν-1-όλη και η E-2-εξεν-1-όλη έχουν συσχετιστεί με τα αρώματα «ώριμο φρουτώδες», «πικρό» και «απαλό πράσινο», ενώ η συνεισφορά τους στο αρωματικό προφίλ είναι μικρότερη σε σχέση με αυτή των αλδεϋδών λόγω του υψηλότερου κατωφλιού οσμής (Aparicio και Luna, 2002, Luna et al., 2006, Morales et al., 2005, Reiners και Grosch, 1998). Οι αλκοόλες αυτές προκύπτουν στο πτητικό κλάσμα του ελαιόλαδου έπειτα από τη δράση του ενζύμου αλκοολική αφυδρογονάση στις αντίστοιχες αλδεϋδες.

Το 2012 η δράση του ενζύμου αλκοολική αφυδρογονάση επί της εξανόλης δεν φαίνεται να έχει σημαντική επίδραση καθώς η παραγόμενη εξανόλη παρέμεινε σε χαμηλά επίπεδα. Η εξαν-1-όλη το 2012, στη μεταχείριση του μάρτυρα κατέγραψε την υψηλότερη τιμή (0,75 mg/kg) σε σχέση με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις, ενώ μεταξύ των μεταχειρίσεων δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (0,3 mg/kg-0,65 mg/kg), εκτός από την περίπτωση της εφαρμογής με Maxicrop+B (0,71 mg/kg). Το δεύτερο έτος της μελέτης παρατηρείται αύξηση της συγκέντρωσης της εξαν-1-όλης τόσο στο μάρτυρα (1,11 mg/kg) όσο και στις υπόλοιπες μεταχειρίσεις. Το γεγονός αυτό πιθανόν να οφείλεται στην αύξηση της εξανόλης με αποτέλεσμα τη μεγαλύτερη διαθεσιμότητα υποστρώματος για τη δράση της αλκοολικής αφυδρογονάσης και την παραγωγή της εξανόλης. Στις μεταχειρίσεις με την εφαρμογή του Kelp-100 και των συνδυασμών του, η συγκέντρωση της εξαν-1-όλης κυμάνθηκε σε χαμηλότερα επίπεδα από αυτή του μάρτυρα (0,49 mg/kg-0,98 mg/kg) ενώ παρατηρήθηκαν στατιστικά

σημαντικές διαφορές στις συγκεντρώσεις της μετά την εφαρμογή του Maxicrop και των συνδυασμών του (1,9 mg/kg-7,3 mg/kg).

Η *E*-2-εξεν-1-όλη το 2012 κατέγραψε την υψηλότερη τιμή στην μεταχείριση του μάρτυρα (1,12 mg/kg) σε σχέση με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις, εκτός από την μεταχείριση με την εφαρμογή του Maxicrop+B (1,24 mg/kg). Οι υπόλοιπες μεταχειρίσεις με την εφαρμογή των εμπορικών σκευασμάτων από φυκών, κατέγραψαν χαμηλότερες τιμές (0,47 mg/kg -1,08 mg/kg), ενώ δεν παρατηρήθηκαν μεταξύ του στατιστικά σημαντικές διαφορές. Το 2013 η συγκέντρωση της *E*-2-εξεν-1-όλη στο μάρτυρα αυξήθηκε (4,6 mg/kg) ενώ τις υψηλότερες τιμές έδωσαν οι μεταχειρίσεις με την εφαρμογή του Maxicrop και των συνδυασμών του (6,3 mg/kg - 22 mg/kg). Στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων, παρατηρήθηκαν με την εφαρμογή του Maxicrop (13,0 mg/kg) καθώς και την εφαρμογή του Maxicrop+B (22 mg/kg).

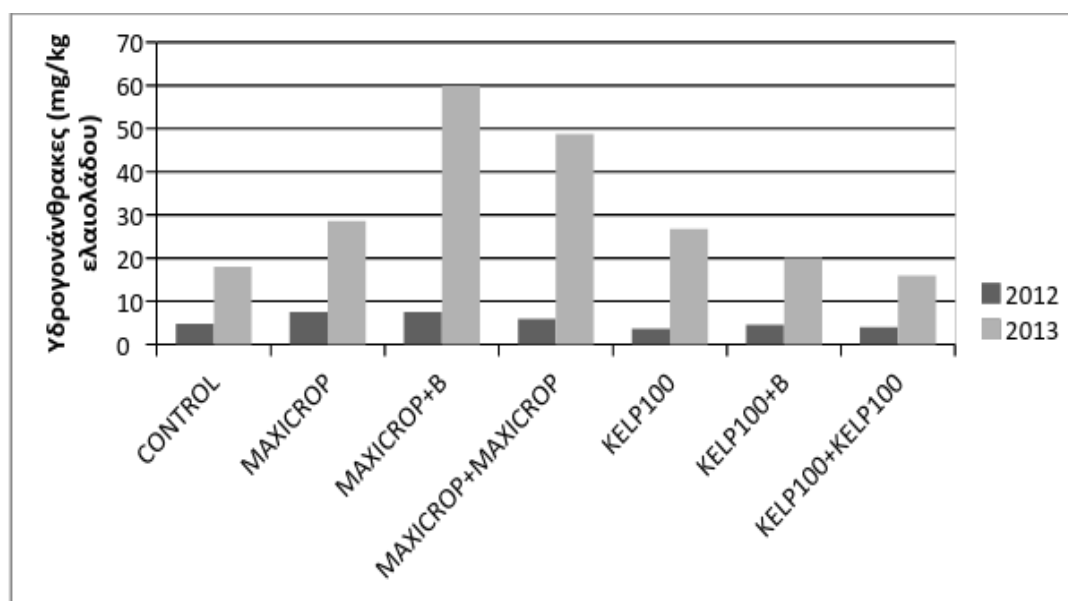
Οι πτητικές ενώσεις με 5 άτομα άνθρακα όπως είναι η 1-πεντεν-3-όλη, η 1-πεντεν-3-όνη, και η *Z*-2-πεντεν-1-όλη, προκύπτουν από παρακλάδι της βιοσυνθετικής πορείας λιποξυγενάσης και προσδίδουν στο άρωμα του ελαιόλαδου πράσινες νότες. Συγκεκριμένα, η διάσπαση των 13-υδροϋπεροξειδίων μέσω αλκόξυ ριζών οδηγεί στο σχηματισμό των σταθερών 1,3-πεντενίων, τα οποία στη συνέχεια ενώνονται με μια υδρόξυ ρίζα που είναι παρούσα στο υπόστρωμα προς την παραγωγή των C5 αλκοολών. Οι αλκοόλες αυτές στη συνέχεια μπορούν να οξειδωθούν ενζυμικά προς τις αντίστοιχες καρβονυλικές ενώσεις (Kalua et al., 2007 & Angerosa et al., 2004). Οι ενώσεις αυτές ευθύνονται για τις θετικές οργανοληπτικές ιδιότητες που θυμίζουν «πράσινο», «γλυκό», «φράουλες» κ.α. (Aparicio και Luna, 2002, Luna et al., 2006, Morales et al., 2005, Reiners και Grosch, 1998). Οι Kalua et al (2007) αναφέρουν ότι οι αλδεΐδες και οι αλκοόλες συμβάλλουν θετικά στις ιδιότητες του ελαιολάδου και του παρέχουν την πικάντικη γεύση που συσχετίζεται με την πικράδα. Οι οσμές του πράσινου μήλου και του φρουτώδους - πικάντικου αναγνωρίστηκαν και αποδόθηκαν στην *E*-2-πεντενάλη και την πεντανόλη, αντίστοιχα (Baccouri et al., 2007, Kalua et al., 2007). Στην παρούσα έρευνα το ανωτέρω παρακλάδι της λιποξυγενάσης δεν φαίνεται να ενισχύεται σημαντικά, καθώς οι ενώσεις με 5 άτομα άνθρακα (1-πεντεν-3-όλη, 1-πεντεν-3-όνη, *E*-2-πεντενάλη, *Z*-2-πεντεν-1-όλη) βρέθηκαν σε

πολύ μικρές συγκεντρώσεις στην μεταχείριση του μάρτυρα και μόνο το έτος 2013, συγκεντρώσεις που συνολικά δεν ξεπερνούσαν τα 0,21 mg/kg. Η συγκέντρωσή τους το έτος 2012 στις μεταχειρίσεις με την εφαρμογή των εμπορικών προϊόντων από φυκών δεν ξεπερνά τα 0,1 mg/kg, ενώ το 2013 οι συγκεντρώσεις των ενώσεων με 5 άτομα άνθρακα δεν ξεπερνούσαν τα 0,43 mg/kg.

Υδρογονάνθρακες

Στα δείγματα που μελετήθηκαν βρέθηκαν και κάποιοι υδρογονάνθρακες. Ωστόσο ο ρόλος αυτών των ενώσεων στο άρωμα του ελαιολάδου δεν είναι πλήρως διευκρινισμένος.

Στο Σχήμα 13.17 φαίνεται το συνολικό περιεχόμενο των υδρογονανθράκων στο πτητικό κλάσμα των δειγμάτων ελαιολάδου κατά τις μεταχειρίσεις με το Maxicrop, το Kelp-100 και τους αντίστοιχους συνδυασμούς του τα έτη 2012 και 2013.



Σχήμα 13.17 : Συνολική περιεκτικότητα υδρογονανθράκων στο πτητικό κλάσμα των ελαιολάδων που προήλθαν από ελαιόδεντρα της ποικιλίας «Λιανολιά Κερκύρας» μετά το διαφυλλικό ψεκάσμο με τα εμπορικά σκευάσματα φυκών και των συνδυασμών τους το 2012 και 2013.

Παρατηρείται ότι η συγκέντρωση των υδρογονανθράκων τα δύο έτη της έρευνας (2012 και 2013), παρουσίασαν μία τάση αύξησης τόσο στην

μεταχείριση του μάρτυρα όσο και στις υπόλοιπες μεταχειρίσεις, με την μεγαλύτερη αύξηση να καταγράφεται στις μεταχειρίσεις με την εφαρμογή του Maxicrop+B. Το έτος 2012 η υψηλότερη περιεκτικότητα καταγράφηκε στις μεταχειρίσεις με την εφαρμογή του Maxicrop (7,44 mg/kg) και την εφαρμογή του Maxicrop+B (7,46 mg/kg), ενώ στα δείγματα όπου εφαρμόστηκε ψεκάσμος με το Kelp-100 και των συνδυασμών του παρατηρήθηκε μείωση του περιεχομένου των συνολικών υδρογονανθράκων. Το 2013 σημειώθηκε αύξηση των υδρογονανθράκων στις μεταχειρίσεις με την εφαρμογή των σκευασμάτων με φύκη (8,87 mg/kg-12,77 mg/kg), σε σύγκριση με τον μάρτυρα (8,37 mg/kg), εκτός από την μεταχείριση της εφαρμογής Kelp-100+B (7,76 mg/kg).

Το 1,3-πενταδιένιο-(*E*) το 2012 δεν ανιχνεύτηκε στην μεταχείριση του μάρτυρα καθώς και στις μεταχειρίσεις με την εφαρμογή του Kelp-100 και των συνδυασμών του. Η συγκέντρωση του 1,3-πενταδιένιο-(*E*) στις μεταχειρίσεις με την εφαρμογή του Maxicrop και των συνδυασμών του κυμάνθηκε σε χαμηλά επίπεδα (0,06mg/kg-0,08mg/kg), ενώ μεταξύ τους δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Το δεύτερο έτος της μελέτης η συγκέντρωσή του 1,3-πενταδιένιο-(*E*) στον μάρτυρα κυμάνθηκε σε χαμηλά επίπεδα (0,02 mg/kg), καθώς και στις μεταχειρίσεις με την εφαρμογή του Kelp-100 (0,03 mg/kg) και Kelp-100+B (0,03 mg/kg), ενώ οι μεταχειρίσεις με την εφαρμογή του Maxicrop και των συνδυασμών του κατέγραψαν υψηλότερες συγκεντρώσεις (0,11mg/kg-0,15mg/kg) με στατιστικά σημαντικές διαφορές σε σχέση με τον μάρτυρα. Στη μεταχείριση με την διπλή εφαρμογή του Kelp-100 το 1,3-πενταδιένιο-(*E*) δεν ανιχνεύτηκε.

Το 3-αιθύλ-1,5-οκταδιένιο, γνωστό και ως διμερές πεντενίου, καθώς προκύπτει από την πορεία της λιποξυγενάσης έπειτα από τη διάσπαση των 13-υδροϋπεροξειδίων μέσω αλκόξυ ριζών προς σχηματισμό σταθερών 1,3-πεντενίων, τα οποία στη συνέχεια διμερίζονται προς υδρογονάνθρακες με C10 (Kalua et al., 2007). Εμφανίστηκε το 2012 σ' όλες τις μεταχειρίσεις με τα εμπορικά σκευάσματα φυκών, ενώ το 2013 η συγκέντρωσή του αυξήθηκε μόνο στις μεταχειρίσεις με το Maxicrop και δεν ανιχνεύθηκε στις μεταχειρίσεις με το Kelp-100. Τόσο το 2012 όσο και το 2013 το 3-αιθύλ-1,5-οκταδιένιο ήταν απόν από το μάρτυρα.

Μεταξύ των ενώσεων που εντοπίζονται στις μεταχειρίσεις της έρευνας είναι και τερπενικοί υδρογονάνθρακες, όπως το *trans*-β-οκιμένιο και το (*E,E*) α-φαρνεσένιο, οι οποίες δίνουν το άρωμα «ευκαλύπτου», «λεμονιού», «χόρτου», «κίτρου», «βοτάνων», «ξύλου» κ.α (Temime et al., 2006).

Το (*E,E*) α-φαρνεσένιο που βρίσκεται στη φλούδα των μήλων και άλλων φρούτων είναι υπεύθυνο για την χαρακτηριστική οσμή του πράσινου μήλου. Η οξειδωσή του από τον αέρα παράγει ενώσεις που καταστρέφουν το φρούτο. Το (*E,E*) α-φαρνεσένιο, επίσης, είναι η βασική ένωση που συμβάλει στο άρωμα της γαρδένιας. Το έτος 2012, η μεταχείριση του μάρτυρα κατέγραψε συγκέντρωση 4,6 mg/kg ενώ η εφαρμογή του Maxicrop και των συνδυασμών του κατέγραψε αύξηση στη συγκέντρωσης του (από 5,0mg/kg έως 6,9 mg/kg) σε σχέση τόσο με τον μάρτυρα όσο και με τις μεταχειρίσεις με την εφαρμογή του Kelp-100 και των συνδυασμών του. Το δεύτερο έτος της μελέτης η συγκέντρωσή του στο δείγμα του μάρτυρα κυμάνθηκε σε υψηλό επίπεδο (7,8 mg/kg). Το ίδιο έτος παρατηρείται και αυξημένη η συγκέντρωση και στις υπόλοιπες μεταχειρίσεις (από 6,9 mg/kg έως 12,0 mg/kg), χωρίς στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους και σε σχέση με τον μάρτυρα, με εξαίρεση το δείγμα με την εφαρμογή του Kelp-100 (12,03 mg/kg).

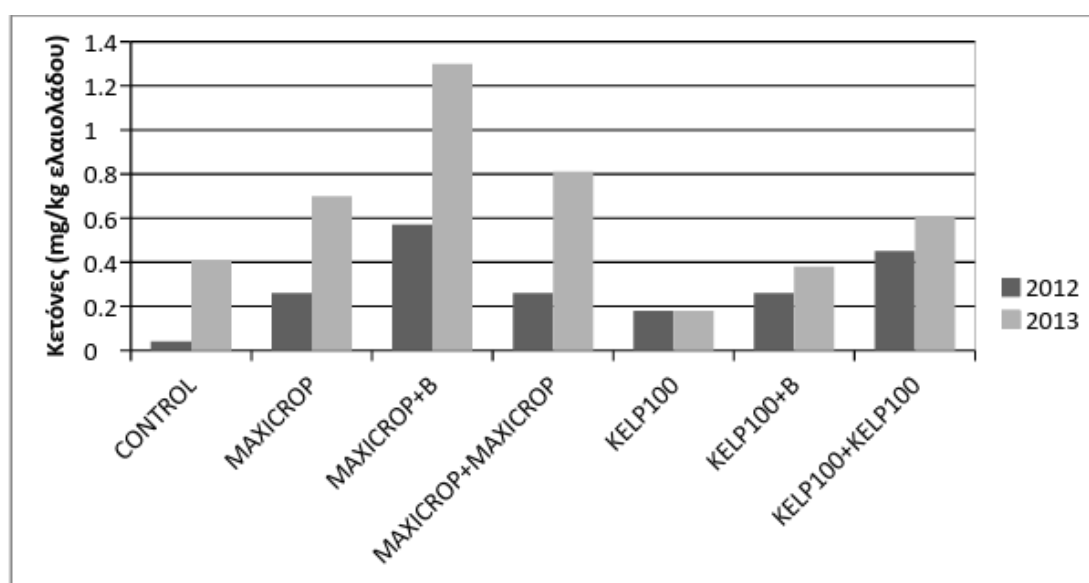
Το οκιμένιο είναι ένα μονοτερπένιο που απαντά στα φρούτα και σε διάφορα φυτά. Συχνά βρίσκεται στη φύση ως μίγμα διαφόρων μορφών. Είναι έλαιο με ευχάριστη οσμή που χρησιμοποιείται στην αρωματοποιία. Η *trans* μορφή του ανιχνεύτηκε μόνο το δεύτερο έτος της μελέτης. Η συγκέντρωσή του στην μεταχείριση του μάρτυρα κυμάνθηκε σε χαμηλά επίπεδα (0,18 mg/kg). Η συγκέντρωση του *trans*-β-οκιμένιο κατέγραψε την υψηλότερη τιμή σε σχέση τόσο με τον μάρτυρα όσο και με τις μεταχειρίσεις με την εφαρμογή του Kelp-100 και των συνδυασμών του, με την εφαρμογή του Maxicrop και των συνδυασμών του (από 0,39mg/kg έως 0,57 mg/kg), με στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Κετόνες

Η ανίχνευση των κετονών στο ελαιόλαδο, έστω και σε μικρές συγκεντρώσεις, έχουν επιπτώσεις στο άρωμα του ελαιολάδου (Cavalli et al 2004). Οι περισσότερες από τις κετόνες, με πέντε έως επτά άτομα άνθρακα, συνδέονται με τα θετικά γευστικά χαρακτηριστικά του ελαιολάδου. Τα

ελαττώματα της γεύσης του ελαιολάδου που προκύπτουν από την αποθήκευση του ελαιοκάρπου συνδέονται με την εμφάνιση κετονών μεγάλης αλυσίδας, με τουλάχιστον οκτώ άτομα άνθρακα (Kalua et al 2007). Οι ενώσεις C7 ως C12 είναι χαρακτηριστικές για το άρωμα κατά την παλαίωση του ελαιολάδου (Angerosa, 2002).

Στο Σχήμα 13.18 φαίνεται το συνολικό περιεχόμενο των κετονών στο πτητικό κλάσμα των δειγμάτων ελαιολάδου κατά τις μεταχειρίσεις με το Maxicrop, το Kelp-100 και τους αντίστοιχους συνδυασμούς του τα έτη 2012 και 2013.



Σχήμα 13.18 : Συνολική περιεκτικότητα κετονών στο πτητικό κλάσμα των ελαιολάδων που προήλθαν από ελαιόδεντρα της ποικιλίας «Λιανολιά Κερκύρας» μετά το διαφυλλικό ψεκασμό με τα εμπορικά σκευάσματα φυκών και των συνδυασμών τους το 2012 και 2013.

Παρατηρείται ότι η συγκέντρωση των κετονών τα δύο έτη της έρευνας (2012 και 2013), παρουσίασαν μια τάση αύξησης τόσο στην μεταχείριση του μάρτυρα όσο και στις υπόλοιπες μεταχειρίσεις, με την μεγαλύτερη αύξηση να καταγράφεται στις μεταχειρίσεις με την εφαρμογή του Maxicrop και των συνδυασμών του. Το έτος 2012, η υψηλότερη περιεκτικότητα καταγράφηκε στα δείγματα με την εφαρμογή του Maxicrop+B (0,57 mg/kg) και στα δείγματα με την διπλή εφαρμογή του Kelp-100 (0,45 mg/kg) ενώ η μεταχείριση του μάρτυρα κυμάνθηκε σε πολύ χαμηλά επίπεδα (0,04 mg/kg). Κατά το δεύτερο

χρόνο της μελέτης σημειώθηκε αύξηση των κετονών σε όλες τις μεταχειρίσεις. Η συγκέντρωση του μάρτυρα κατέγραψε τιμή 0,41 mg/kg ενώ μεγαλύτερη περιεκτικότητα κετονών, σε σύγκριση με αυτή του μάρτυρα, παρατηρείται στις μεταχειρίσεις με την εφαρμογή του Maxicrop μία φορά (0,70 mg/kg) και την εφαρμογή του Maxicrop+Maxicrop και του Maxicrop + B (0,81 mg/kg και 1,30 mg/kg αντίστοιχα)

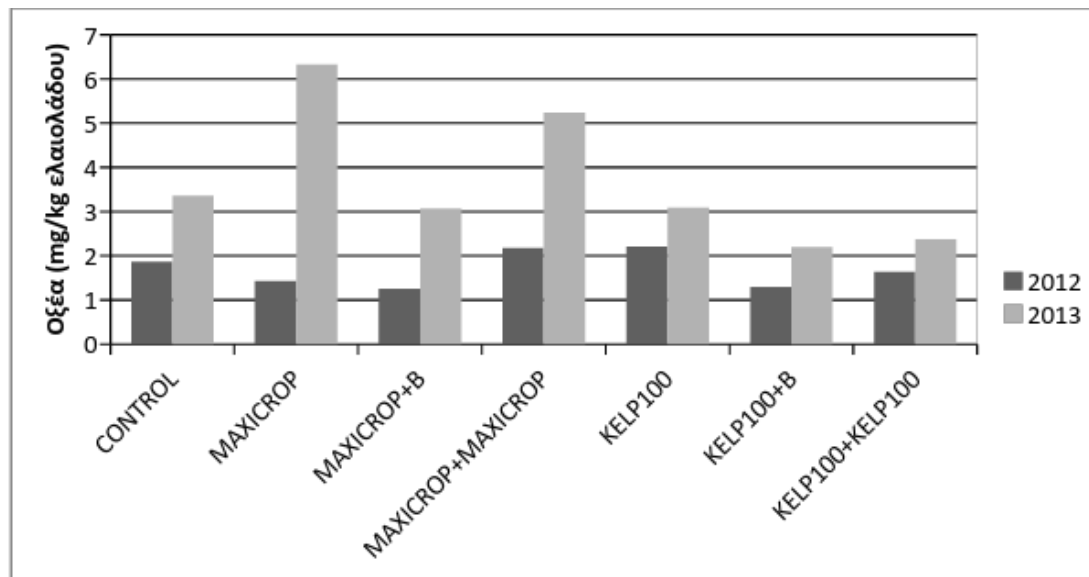
Η 6-μεθυλ-5-επτεν-2-όνη ευθύνεται για τις οργανοληπτικές ιδιότητες του «πικάντικου», «πράσινου» (Morales et al., 2005). Δεν ανιχνεύτηκε στις μεταχειρίσεις του μάρτυρα τα δύο έτη της μελέτης. Η συγκέντρωσή της το 2012 κατέγραψε την υψηλότερη τιμή στο δείγμα με την εφαρμογή του Maxicrop+B (0,45 mg/kg), ενώ δεν ανιχνεύτηκε στις μεταχειρίσεις με την εφαρμογή του Kelp-100 και Kelp-100+B. Το έτος 2013, η μεγαλύτερη συγκέντρωση 6-μεθυλ-5-επτεν-2-όνη καταγράφεται στη μεταχείριση με την εφαρμογή του Maxicrop+B (0,93 mg/kg), ενώ δεν ανιχνεύτηκε στις μεταχειρίσεις με την εφαρμογή του Kelp-100 και Kelp-100+B.

Η 2-δεκανόνη το 2012 στην μεταχείριση του μάρτυρα κυμάνθηκε σε χαμηλά επίπεδα, 0,04 mg/kg ενώ το δεύτερο έτος της μελέτης η συγκέντρωσή της κατέγραψε τιμή 0,22 mg/kg. Το 2012 η συγκέντρωση της 2-δεκανόνης στα δείγματα με την εφαρμογή του Maxicrop και των συνδυασμών του κυμάνθηκε (από 0,05 mg/kg έως 0,09mg/kg), ενώ υψηλότερη καταγράφηκε η συγκέντρωσή της στις μεταχειρίσεις με την εφαρμογή του Kelp-100 και των συνδυασμών του (0,18 mg/kg έως 0,21 mg/kg). Το δεύτερο έτος της μελέτης παρατηρήθηκε αύξηση της συγκέντρωσής της στις μεταχειρίσεις με την εφαρμογή του Maxicrop και των συνδυασμών του (από 0,37 mg/kg έως 0,43 mg/kg), ενώ παρατηρήθηκε ελάττωση της συγκέντρωσής της στις μεταχειρίσεις με την εφαρμογή του Kelp-100 και των συνδυασμών του.

Οξέα

Η έντονη όξινη γεύση του ελαιολάδου που παραπέμπει σε ελαττωματική γεύση, αποδίδεται στα καρβοξυλικά οξέα. Τα καρβοξυλικά οξέα με δύο ή τρία άτομα άνθρακα σχετίζονται με τη μικροβιακή ζύμωση και άλλα ελαττώματα του ελαιοκάρπου, ενώ εκείνα με περισσότερα άτομα άνθρακα σχετίζονται με οξειδωτικό τάγγισμα (Kalua et al 2007).

Στο Σχήμα 13.19 φαίνεται το συνολικό περιεχόμενο των οξέων στο πτητικό κλάσμα των δειγμάτων ελαιολάδου κατά τις μεταχειρίσεις με το Maxicrop, το Kelp-100 και τους αντίστοιχους συνδυασμούς του τα έτη 2012 και 2013.



Σχήμα 13.19 : Συνολική περιεκτικότητα οξέων στο πτητικό κλάσμα των ελαιολάδων που προήλθαν από ελαιόδεντρα της ποικιλίας «Λιανολιά Κερκύρας» μετά το διαφυλλικό ψεκάσμο με τα εμπορικά σκευάσματα φυκών και των συνδυασμών τους το 2012 και 2013.

Παρατηρείται ότι η συγκέντρωση των οξέων τα δύο έτη της έρευνας (2012 και 2013), παρουσίασαν τάση αύξησης τόσο στην μεταχείριση του μάρτυρα όσο και στις υπόλοιπες μεταχειρίσεις, με την μεγαλύτερη αύξηση να καταγράφεται στις μεταχειρίσεις με την εφαρμογή του Maxicrop και των συνδυασμών του. Το έτος 2012, η συγκέντρωσή τους στην μεταχείριση του μάρτυρα κατέγραψε τιμή 1,87 mg/kg ενώ υψηλότερη περιεκτικότητα σε σύγκριση με τον μάρτυρα καταγράφηκε στα δείγματα με την διπλή εφαρμογή του Maxicrop (2,18 mg/kg) και την εφαρμογή του Kelp-100 μία φορά (2,21 mg/kg). Το 2013, σημειώθηκε αύξηση των οξέων σε όλα τα δείγματα σε σύγκριση με το πρώτο έτος της μελέτης. Η συγκεντρωσή τους στην μεταχείριση του μάρτυρα κατέγραψε τιμή 3,38 mg/kg, ενώ σε υψηλότερα επίπεδα κυμάνθηκε η συγκέντρωσή του με την απλή εφαρμογή του Maxicrop (6,34 mg/kg) και με την διπλή εφαρμογή του (5,26 mg/kg).

Το οξικό οξύ ευθύνεται για τη γεύση του «ξινού», «ξιδάτου» στο ελαιόλαδο (Morales et al. 2005). Η συγκέντρωσή του το 2012 στη μεταχείριση του μάρτυρα κατέγραψε τιμή 1,26 mg/kg. Στις υπόλοιπες μεταχειρίσεις η συγκέντρωση του κυμάνθηκε σε υψηλότερα επίπεδα (από 0,37 mg/kg έως 0,95 mg/kg) ενώ δεν ανιχνευτικέ στην μεταχείριση με την εφαρμογή του Maxicrop μία φορά. Κατά το δεύτερο έτος της μελέτης, το δείγμα του μάρτυρα κατέγραψε την υψηλότερη τιμή (2,0 mg/kg) σε σχέση με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις ενώ μεταξύ των μεταχειρίσεων δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (1,33 mg/kg έως 1,58 mg/kg) με εξαίρεση την μεταχείριση του Maxicrop μία φορά (0,90 mg/kg) που κατέγραψε την χαμηλότερη τιμή σε σχέση με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις.

Το επτανικό οξύ προσδίδει το ελάττωμα του «ταγκού» και του «λιπαρού» στο ελαιόλαδο (Morales et al. 2005). Η συγκέντρωση του το 2012, στην μεταχείριση του μάρτυρα κυμάνθηκε σε χαμηλά επίπεδα, ενώ μεταξύ των μεταχειρίσεων παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (από 0,08 mg/kg έως 1,13 mg/kg). Το 2013, η συγκέντρωση του στην μεταχείριση του μάρτυρα αυξήθηκε, καταγράφοντας τιμή 0,65 mg/kg ενώ μεταξύ των μεταχειρίσεων παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (από 0,24mg/kg έως 4,5 mg/kg) με τις υψηλότερες τιμές να καταγράφονται στα δείγματα με την εφαρμογή του Maxicrop και των συνδυασμών του (από 1,19 mg/kg έως 4,5 mg/kg).

Η συγκέντρωση του μυρμηκικού οξέος στη μεταχείριση του μάρτυρα τα δύο έτη της μελέτης κυμάνθηκε σε χαμηλά επίπεδα (0,56 mg/kg και 0,73 mg/kg αντίστοιχα). Το 2012 η συγκέντρωση του μυρμηκικού οξέος μεταξύ των μεταχειρίσεων καταγράφει στατιστικά σημαντικές διαφορές σε σχέση με το δείγμα του μάρτυρα. Η τιμές της κυμάνθηκαν από 0,22 mg/kg (Maxicrop+B) έως 0,7 mg/kg (Maxicrop+Maxicrop). Το έτος 2013 παρατηρείται αύξηση της συγκέντρωσης του μυρμηκικού οξέως σε όλες τις μεταχειρίσεις της μελέτης. Οι τιμές του κυμάνθηκαν από 0,55 mg/kg (Maxicrop+B) έως 1,46 mg/kg (Maxicrop+Maxicrop), ενώ μεταξύ των μεταχειρίσεων δεν παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές σε σχέση με τον μάρτυρα, με εξαίρεση την μεταχείριση με την εφαρμογή του Maxicrop+Maxicrop (1,46 mg/kg).

Τέλος, παρατηρήθηκε μια τάση ενίσχυσης εκ μέρους των εμπορικών σκευασμάτων φυκών της διαθεσιμότητας ή/και της δραστηριότητας ορισμένων

ενζύμων που συμμετέχουν στη βιοσυνθετική πορεία της λιποξυγενάσης. Ειδικότερα, παρατηρήθηκε αύξηση στη δραστηριότητα του ενζύμου αλκοολική αφυδρογονάση, γεγονός που εξηγείται από την αύξηση της περιεκτικότητας της εξαν-1-όλης το 2013. Επιπλέον, παρατηρήθηκε αυξημένη δραστηριότητα της cis3:trans2 enal ισομεράσης καθώς ανιχνεύθηκαν μικρές ποσότητες (Z)-3-εξενάλης στις μεταχειρίσεις Maxicrop+B, Maxicrop+Maxicrop, και Kelp-100+Kelp-100 το 2012 και στις Maxicrop+B και Maxicrop+Maxicrop, το 2013.

Σημαντική παρατήρηση αναφορικά με το πτητικό κλάσμα ελαιόλαδου που προέκυψε από τις διάφορες μεταχειρίσεις με τα εμπορικά σκευάσματα φυκών ήταν η απουσία εστέρων. Παρά τη μικρή περιεκτικότητά τους στο πτητικό κλάσμα του ελαιόλαδου, η συνεισφορά των εστέρων είναι σημαντική καθώς προσδίδουν χαρακτηριστικές ευχάριστες-γλυκές νότες. Η παραγωγή εστέρων ενισχύεται μέσα από τη δράση του ενζύμου αλκοολική ακετυλο-τρασφεράση. Η αλκοολική ακετυλο-τρασφεράση, ένζυμο που συμμετέχει στην πορεία της λιποξυγενάσης καταλύει την παραγωγή οξικών εστέρων μέσω παραγώγων του Ακετυλο-Co. Στην παρούσα έρευνα, η απουσία του οξικού (Z)-3-εξενυλεστέρα οφείλεται πιθανόν στην πλήρη ισομερίωση της (Z)-3-εξενάλης προς (E)-2-εξενάλη με αποτέλεσμα την απουσία διαθέσιμου υποστρώματος για τη δράση της αλκοολικής αφυδρογονάσης επί της (Z)-3-εξενόλης. Από την άλλη πλευρά, παρά τη διαθεσιμότητα της εξανόλης, δεν ανιχνεύθηκε οξικός εξυλεστέρας, γεγονός που δηλώνει απενεργοποίηση του ενζύμου.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΝΟΡΓΑΝΩΝ ΣΤΟΙΧΕΙΩΝ ΣΤΟΝ ΚΑΡΠΟ ΤΗΣ ΕΛΙΑΣ ΤΗΣ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ «ΛΙΑΝΟΛΙΑ ΚΕΡΚΥΡΑΣ» ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΔΥΟ ΣΥΝΕΧΟΜΕΝΑ ΕΤΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ ΔΙΑΦΥΛΛΙΚΟΥ ΨΕΚΑΣΜΟΥ ΜΕ ΤΑ ΥΓΡΑ ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΑ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΦΥΚΙΩΝ MAXICROP ΚΑΙ KELP-100.

Την δεύτερη χρονιά του πειράματος πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις των ανόργανων στοιχείων στον καρπό της ελιάς της ποικιλίας «Λιανολιά Κερκύρας» μετά από διαφυλλικό ψεκασμό με τα δύο εμπορικά σκευάσματα από εκχυλίσματα φυκών. Ο προσδιορισμός τους έγινε στο Δημοκρίτειο Παν/μιο Θράκης, Τμήμα Αγροτικής Ανάπτυξης, Εργαστήριο Δενδροκομίας και στο Αριστοτέλειο Παν/μιο, Τμήμα Γεωπονίας, Εργαστήριο Δενδροκομίας.

Συλλογή και επεξεργασία ελαιοκάρπων

Κατά την περίοδο συλλογής του ελαιοκάρπου (τέλη Νοεμβρίου), συγκομίστηκαν με το χέρι υγιείς καρποί ελιάς, στο βέλτιστο στάδιο ωρίμανσής τους (πίνακας Π.1.). Επιλέχθηκαν 15 καρποί ανά δένδρο, οι οποίοι αφού συντηρήθηκαν σε πλαστικές σακούλες σε ψυγείο (5°C), μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο και πλύθηκαν με νερό βρύσης και με απιονισμένο νερό (μέγιστη συνολική διάρκεια εμβάπτισης: 10 δευτερόλεπτα).

Η σάρκα των καρπών τεμαχίστηκε και οι πυρήνες (ενδοκάρπιο) θρυμματίστηκαν με σφυρί σε μικρά κομμάτια (διάμετρος < 0,5cm). Εισήχθησαν σε κλίβανο ξήρανσης (Binder, model ED720, Lilienthal, Bremen, Germany) στους 70°C για περίπου 72 ώρες, έως τη σταθεροποίηση του βάρους τους. Στη συνέχεια αλέστηκαν σε εργαστηριακό μύλο (Glen Creston Ltd., Culatti typ MFC, Middx, UK) με σήτα που έφερε 16 οπές/cm².

Η ξηρή καύση των αλεσμένων δειγμάτων έγινε σε φούρνο πύρωσης (Nabertherm, model D-2804 N3 P, Tuttlingen, Germany) στους 550°C για 6 ώρες.

Πίνακας Π.1 Μεταβολές του δείκτη ωριμότητας (*maturity index, M.I.*) και του μέσου βάρους των καρπών μετά από διαφυλλικό ψεκάσμο των ελαιοδέντρων της ποικιλίας «Λιανολιά Κερκύρας» με *Maxicrop*, *Kelp-100* και *B* και των συνδυασμών τους, το έτος 2013.

2013		
	Δείκτης ωριμότητας	Μέσο βάρος (g)
Control	3,03	1,38
Maxicrop	3,15	1,45
Maxicrop+B	3,26	1,59
Maxicrop+Maxicrop	3,65	1,66
Kelp-100	3,51	1,58
Kelp-100+B	3,65	1,66
Kelp-100+Kelp-100	3,77	1,78

Ακολούθησε ο προσδιορισμός των ανόργανων στοιχείων στον ελαιόκαρπο όπως έχει περιγραφεί για τα φύλλα στο Κεφ 12.

Πίνακας Π.2 Συγκέντρωση ανόργανων στοιχείων στο καρπό της ποικιλίας «Λιανολιά Κερκύρας» μετά το δεύτερο έτος (2013) του διαφυλλικού ψεκασμού με τα δύο εμπορικά σκευάσματα φυκών (Maxicrop & Kelp-100).

Μεταχειρίσεις	N (%ξ.β.)	K (%ξ.β.)	Ca (%ξ.β.)	Mg (%ξ.β.)	Fe (μg g ⁻¹)	Mn (μg g ⁻¹)	Zn (μg g ⁻¹)	B (μg g ⁻¹)
Control	0,49±0,01 ^{bc}	0,07±0,00 ^a	0,09±0,00 ^d	0,07±0,00 ^b	13±1,58 ^a	5±0,35 ^a	8±0,35 ^a	4,06±0,03 ^a
Maxicrop	0,64±0,01 ^e	0,08±0,00 ^b	0,08±0,00 ^c	0,08±0,00 ^c	18±2,28 ^b	6±0,36 ^b	9±0,35 ^b	6,10±0,16 ^b
Maxicrop+B	0,57±0,01 ^d	0,09±0,003 ^{bc}	0,06±0,00 ^a	0,08±0,00 ^c	21±2,04 ^c	5±0,35 ^a	10±0,35 ^c	8,06±0,20 ^d
Maxicrop+Maxicrop	0,41±0,17 ^a	0,09±0,01 ^c	0,06±0,00 ^a	0,06±0,00 ^a	24±2,38 ^d	7±0,35 ^c	10±0,35 ^c	6,90±0,14 ^c
Kelp-100	0,69±0,02 ^f	0,08±0,01 ^b	0,07±0,00 ^a	0,08±0,00 ^c	19±1,64 ^b	7±0,35 ^c	10±0,35 ^c	5,67±0,15 ^b
Kelp-100+B	0,51±0,01 ^c	0,08±0,00 ^{bc}	0,07±0,00 ^b	0,07±0,00 ^b	23±1,64 ^d	6±0,35 ^b	10±0,35 ^c	8,98±0,15 ^e
Kelp-100+Kelp-100	0,46±0,15 ^b	0,09±0,00 ^{bc}	0,06±0,00 ^a	0,06±0,00 ^a	27±2,04 ^e	7±0,35 ^c	11±0,50 ^d	7,82±0,20 ^d

Η εφαρμογή των δύο εμπορικών σκευασμάτων μία φορά κατέγραψε σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης του N (0,64–0,69 %ξ.β.).

Το άζωτο (N) είναι το σημαντικότερο ανόργανο στοιχείο και επηρεάζει την υψηλή καρπόδεση και την καλή καρποφορία της ελιάς (Therios, 2009). Οι Keller et al (1998) αναφέρουν ότι το άζωτο έχει συσχετιστεί με το χρώμα των σταφυλιών της ποικιλίας “Cabernet Sauvignon”.

Με την εφαρμογή των δύο σκευασμάτων εκχυλίσματος φυκών μία φορά και με την προσθήκη B και δύο φορές, παρατηρείται τάση αύξησης της συγκέντρωσης του K (0,085-0,091%ξ.β.), του Fe (21-27 $\mu\text{g g}^{-1}$), του Zn (10-11 $\mu\text{g g}^{-1}$) και του B (6,90–8,98 $\mu\text{g g}^{-1}$) στον καρπό σε σύγκριση με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις καθώς και με τη μεταχείριση του μάρτυρα (0.076%ξ.β., 13 $\mu\text{g g}^{-1}$, 8 $\mu\text{g g}^{-1}$, και 4,06 $\mu\text{g g}^{-1}$, αντίστοιχα). Η περαιτέρω αύξηση της συγκέντρωσης του βορίου στις μεταχειρίσεις που προστέθηκε B στο διάλυμα εφαρμογής με τα δύο εμπορικά σκευάσματα ήταν αναμενόμενη.

Ο Θεριός (2009) αναφέρει ότι το βόριο επηρεάζει την κυτταρική διαίρεση και την ωρίμανση των καρπών της ελιάς. Οι Garcia et al (2001) έδειξαν ότι μικρή περιεκτικότητα σε B στη μηλιά, αχλαδιά και κερασιά έχει σαν αποτέλεσμα την παρουσίαση ανώμαλου σχήματος στον καρπό, καθώς και εξωτερική και εσωτερική φέλλωση και μετασυλλεκτικές παθήσεις (internal break down). Η υπερβολική συγκέντρωση B στον καρπό μπορεί να προκαλέσει φαινόμενα τοξικότητας, υδατώδεις κηλίδες και μετασυλλεκτικές ασθένειες όπως η εσωτερική κασάνωση στα μήλα (Θεριός 1996, Garciaetal., 2001). Ο Θεριός (1996) αναφέρει ότι το B και το K έχουν θετικές επιδράσεις στο μέγεθος και στην ωρίμανση των καρπών εξαιτίας της αύξησης του μεγέθους του μεσοκαρπίου. Ελαιόδεντρα που υποφέρουν από έλλειψη βορίου καθυστερούν σημαντικά την έναρξη της καρποφορίας και παρατηρείται σημαντική πτώση της παραγωγικότητας καθώς τα ελαιόδεντρα δεν παρουσιάζουν φυσιολογική ανάπτυξη και ικανοποιητικό φορτίο καρπών (Γαβαλάς, 1978).

Η μεταχείριση με την χρήση του Kelp-100 μία φορά οδήγησε σε σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης των N (0,69%ξ.β.), Zn (10 $\mu\text{g g}^{-1}$) και Mn (7 $\mu\text{g g}^{-1}$), σε σύγκριση με αυτή του μάρτυρα (0,49, 8 και 5 $\mu\text{g g}^{-1}$ αντίστοιχα), ενώ η συγκέντρωση του Ca (0,07%ξ.β.) κατέγραψε στατιστικά σημαντική μείωση σε συνάρτηση με αυτή του μάρτυρα (0,09%ξ.β.). Σε όλες τις

μεταχειρίσεις με την εφαρμογή των δύο σκευασμάτων εκχυλίσματος φυκών, παρατηρήθηκε τάση μείωσης του Ca (0,06-0,08%ξ.β.) σε σχέση με τον μάρτυρα (0,09%ξ.β.). Το Ca έχει συσχετιστεί με την αύξηση της συνεκτικότητας του μεσοκαρπίου στα μήλα της ποικιλίας "Gala" (Johnson, 2000).

Ο ψεκασμός με υγρό εκχύλισμα φυκών (Maxicrop), στις φράουλες, κατέστειλε την εξάπλωση του βοτρυτή (*Botrytis cinerea*) στον καρπό της φράουλας και βελτίωσε την απόδοση (Stephenson 1966). Ο Stephenson (1966) ανέφερε σημαντική μείωση στις προσβολές των φασολιών από τις αφίδες (*Aphis fabae*) μετά από ψεκασμό των φύλλων με Maxicrop σε σύγκριση με το μάρτυρα. Ο πληθυσμός των ακάρεων (*Tetranychus telarius*) σε οπωρώνες μετά από ψεκασμό με εκχύλισμα φυκών διατηρήθηκε σε χαμηλό επίπεδο σε σχέση με τα μη ψεκαζόμενα δένδρα. (Craigie 2011).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ

- Στις μεταχειρίσεις με την προσθήκη Β στο ψεκαστικό διάλυμα και τα δύο έτη της μελέτης παρατηρείται αύξηση στην συγκέντρωση του Β στα φύλλα των ελαιόδεντρων, κάτι που ήταν αναμενόμενο. Η εφαρμογή του Maxicrop και των συνδυασμών του αύξησαν τη συγκέντρωση του Β σε μεγαλύτερο βαθμό σε σχέση με την εφαρμογή του Kelp-100 και των συνδυασμών του.
- Η συγκέντρωση του Ν φύλλων το 2012 αυξήθηκε κυρίως με την απλή εφαρμογή των Maxicrop και Kelp-100 και των συνδυασμών τους με το Β ενώ το 2013 ελαττώθηκε τόσο σε σχέση με τον μάρτυρα όσο και σε σχέση με το πρώτο έτος εφαρμογής των σκευασμάτων.
- Η συγκέντρωση του Ρ στα φύλλα μετά το δεύτερο έτος εφαρμογής των ψεκασμών αυξήθηκε με την εφαρμογή του Maxicrop και των συνδυασμών του ενώ με την εφαρμογή του Kelp-100 και των συνδυασμών του καταγράφηκε μείωση της συγκέντρωσής του.
- Η συγκέντρωση του Κ στα φύλλα παρουσίασε τάση αύξησης και τα δύο έτη της μελέτης σε όλες τις μεταχειρίσεις σε σχέση με τον μάρτυρα.
- Η συγκέντρωση του Ca στα φύλλα το 2012 δεν διέφερε σημαντικά σε σχέση με τον μάρτυρα κατά την εφαρμογή του Maxicrop και των συνδυασμών του, ενώ αντίθετα η εφαρμογή του Kelp-100 και των συνδυασμών του οδήγησαν σε σημαντική αύξηση της συγκέντρωσής του. Το 2013 συνέβη το αντίθετο, δηλ. η συγκέντρωση του Ca ελαττώθηκε με την εφαρμογή του Kelp-100 και των συνδυασμών του ενώ με την εφαρμογή του Maxicrop και των συνδυασμών του ήταν περίπου στα ίδια επίπεδα με την συγκέντρωση στον μάρτυρα σημειώνοντας μικρή μείωση.
- Οι συγκεντρώσεις των Fe, Zn, Mn, και Cu στα φύλλα, σημείωσαν αύξηση με την εφαρμογή των δύο σκευασμάτων και των συνδυασμών τους μετά και το δεύτερο έτος της μελέτης.
- Μεταξύ των εφαρμογών των δύο σκευασμάτων η μεγαλύτερη αύξηση στο μέσο βάρος του καρπού καταγράφεται μετά την απλή εφαρμογή του Kelp-100 καθώς και με την προσθήκη Β.
- η εφαρμογή του Maxicrop και κυρίως η διπλή εφαρμογή του, αυξάνει τον βαθμό ωριμότητας του καρπού από το πρώτο έτος των ψεκασμών, ενώ η

εφαρμογή του Kelp-100 δίνει υψηλότερες τιμές M.I. μετά την επανάληψη του διαφυλλικού ψεκασμού το δεύτερο έτος.

- Η ελαιοπεριεκτικότητα επί ξηρού βάρους καρπού ακολουθεί σε γενικές γραμμές ανάλογη πορεία με εκείνη του νωπού βάρους καρπού στις περιπτώσεις που εξετάσαμε. Και τα δύο έτη παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ του μάρτυρα και των μεταχειρίσεων που εφαρμόστηκε διαφυλλικός ψεκασμός με τα σκευάσματα Maxicrop, Kelp-100 και των συνδυασμών τους, δίνοντας τιμές υψηλότερες απ' ό,τι οι μεταχείριση του μάρτυρα.
- Οι μεταχειρίσεις, όπου εφαρμόστηκε διαφυλλικός ψεκασμός για δύο έτη με σκευάσματα από εκχυλίσματα φυκών έδωσαν υψηλές τιμές στα καρτενοειδή του φλοιού του ελαιοκάρπου της ποικιλίας «Λιανολιά Κερκύρας». Η μεταχείριση με προσθήκη B καθώς και η διπλή εφαρμογή των εμπορικών σκευασμάτων προκάλεσαν περαιτέρω αύξηση.
- Η συγκέντρωση της υδροξυτυροσόλης δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του μάρτυρα και των υπόλοιπων μεταχειρίσεων. Στις εφαρμοζόμενες μεταχειρίσεις παρατηρείται μείωση των παραγώγων της ελαιοευρωπαϊνης. Η υψηλότερη συγκέντρωση τυροσόλης (στατιστικά σημαντική) σε σχέση τόσο με τον μάρτυρα όσο και με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις, καταγράφεται στην μεταχείριση με την εφαρμογή του Maxicrop και του Maxicrop+B. Οι συγκεντρώσεις της λουτεολίνης δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του μάρτυρα και των υπόλοιπων μεταχειρίσεων. Η 1-ακετοξυ-πινορεσινόλης μειώθηκε αισθητά μετά την εφαρμογή του Kelp-100 και των συνδυασμών του σε σχέση με την μεταχείριση του μάρτυρα.
- Η εφαρμογή των διαφυλλικών ψεκασμών με SWE για δύο έτη προκάλεσε ελάττωση της συγκέντρωσης της E-2-εξενάλης, η οποία αποτελεί την επικρατέστερη ένωση του πτητικού κλάσματος του ελαιολάδου.
- Η συγκέντρωση των πτητικών προϊόντων οξειδωσης (πεντανάλη, εξανάλη, επτανάλη, και εννεανάλη) καταγράφηκε υψηλότερη στα ελαιολάδα το 2013 και αυτό πιθανόν να οφείλεται στο γεγονός ότι τον δεύτερο χρόνο του πειράματος παρατηρήθηκε αυξημένη προσβολή του ελαιοκάρπου από το δάκο. Η συγκέντρωση της εξανάλης παρουσίασε τάση αύξησης μετά και τις επιδράσεις του SWE σε σχέση με την μεταχείριση του μάρτυρα.

- Η συγκέντρωση της E-2-εξεν-1-όλης παρουσίασε μια τάση αύξησης στις μεταχειρίσεις με την χρήση του Maxicrop και των συνδυασμών του σε σχέση με τον μάρτυρα και τα δείγματα που εφαρμόστηκε διαφυλλικός ψεκασμός με το Kelp-100 και των συνδυασμών του μετά και το δεύτερο έτος εφαρμογής των διαφυλλικών ψεκασμών.
- Ο ρυθμός σχηματισμού πτητικών προϊόντων οξείδωσης ήταν υψηλότερος κατά την επανάληψη του πειράματος.
- Τα προϊόντα της οδού της λιποξυγενάσης βρέθηκαν σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις στην μεταχείριση του μάρτυρα και μόνο το πρώτο έτος της μελέτης, ενώ παρατηρείται μια τάση αύξησης στις μεταχειρίσεις με την χρήση του Maxicrop και των συνδυασμών του.
- Αν και δεν υπάρχει επαρκής βιβλιογραφία που να περιγράφει τις μεταβολές στο πτητικό κλάσμα του ελαιολάδου μετά από διαφυλλικό ψεκασμό με εμπορικά σκευάσματα εκχυλίσματος φυκών, αυτές αποτελούν ένα κρίσιμο ζήτημα, αφού σχετίζονται με την ποιότητα του παρθένου ελαιολάδου.
- Την δεύτερη χρονιά του πειράματος πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις και των ανόργανων στοιχείων στον καρπό της ελιάς της ποικιλίας «Λιανολιά Κερκύρας» για κάθε μεταχείριση. Η εφαρμογή των δύο εμπορικών σκευασμάτων μία φορά κατέγραψε σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης του N καθώς και μια τάση αύξησης της συγκέντρωσης του K στον καρπό της ελιάς. Η μεταχείριση με την χρήση του Kelp-100 μία φορά οδήγησε σε σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης των N, Zn και Mn στον καρπό της ελιάς, σε σύγκριση με αυτή του μάρτυρα, ενώ η συγκέντρωση του Ca κατέγραψε στατιστικά σημαντική μείωση σε συνάρτηση με αυτή του μάρτυρα. Προτείνεται η περαιτέρω διερεύνηση της μετακίνησης των ανόργανων στοιχείων στο καρπό της ελιάς και της πιθανής συνεργιστικής ή ανταγωνιστικής δράσης μεταξύ φύλλων και καρπών ως προς την κατανομή των ανόργανων θρεπτικών στοιχείων, καθώς και της επίδρασή τους στον φυτικό μεταβολισμό του ελαιοδέντρου.
- Με βάση τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας προτείνεται η χρήση σκευασμάτων που προέρχονται από εκχυλίσματα φυκών με σκοπό τη βελτίωση της θρεπτικής κατάστασης των ελαιοδέντρων της ποικιλίας

«Λιανολιά Κερκύρας», την αύξηση του μέσου βάρους των καρπών και την επιτάχυνση της ωρίμανσης του ελαιοκάρπου.

- Η υψηλή περιεκτικότητα σε καροτενοειδή ακόμη και στον μάρτυρα, στην ποικιλία «Λιανολιά Κερκύρας» θα μπορούσε να θεωρηθεί ως ένα από τα ποιοτικά χαρακτηριστικά της ποικιλίας.
- Δεν παρατηρήθηκαν οι αναμενόμενες μεταβολές στα ποιοτικά, οργανοληπτικά, φαινολικά και πτητικά συστατικά του ελαιολάδου λόγω των δυσμενών καιρικών συνθηκών καθώς και των εντομολογικών και μυκητολογικών προσβολών του ελαιοκάρπου. Σε αυτό συνέβαλε και η μη εφαρμογή προϊόντων φυτοπροστασίας προκειμένου να αντιμετωπιστούν οι προαναφερθείσες προσβολές.
- Σε όλες τις μεταχειρίσεις της παρούσας μελέτης καταγράφηκαν υψηλές συγκεντρώσεις των καροτενοειδών στο φλοιό των καρπών της ποικιλίας «Λιανολιά Κερκύρας», οπότε προτείνεται η περαιτέρω διερεύνηση πιθανής αύξησης της περιεκτικότητας των καροτενοειδών (φλαβοξανθίνη, βιολαξανθίνη, λουτεΐνη, ζεαξανθίνη, β-καροτένιο) στο ελαιόλαδο της εν λόγω ποικιλίας.
- Παρατηρήθηκε μείωση της συγκέντρωσης ορισμένων ανόργανων στοιχείων στα φύλλα των δέντρων μετά το πέρας του δεύτερου έτους εφαρμογής των διαφυλλικών ψεκασμών με εκχυλίσματα φυκών καθώς και των ανόργανων στοιχείων του εδάφους. Συνεπώς η αποκλειστική εφαρμογή των εκχυλισμάτων φυκών δεν καλύπτει τις θρεπτικές ανάγκες του ελαιώνα. Προτείνεται ο συνδυασμός με εφαρμογή λίπανσης από το έδαφος με οργανικά λιπάσματα (στη Βιολογική Γεωργία) ή με μικρές ποσότητες ανόργανων λιπασμάτων (σε Πρόγραμμα Ολοκληρωμένης Διαχείρισης του Ελαιώνα).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Βιβλιογραφία

- Aitken, J.B. and Senn, T.L. (1965). Seaweed products as a fertilizer and soil conditioner for horticultural crops. *Botanica Marina* 8: 144-148.
- Ali Sabir, Kevser Yazar, Ferhan Sabir, Zeki Kara, M. Atilla Yazici, Nihal Goksu, (2014). Vine growth, yield, berry quality attributes and leaf nutrient content of grapevines as influenced by seaweed extract (*Ascophyllum nodosum*) and nanosize fertilizer pulverizations. *Scientia Horticulturae* 175, 1-8.
- Alonso, M. V., Aparicio, R., Calvente, J. J., & Morales, M. T. (1994). Good control practices underlined by an on-line fuzzy control database. *Grasas Aceites*, 45, 75-81.
- Amelotti, G., Daghetta, A., & Ferrario, A. (1989). Content and structure of partial glycerides in virgin olive oil: Their evolution by different working process and preservation form. *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*, 66, 681–692.
- Amiot, M.-J., Fleuriet, A., & Macheix, J.-J. (1989). Accumulation of oleuropein derivatives during olive maturation. *Phytochemistry*, 28(1), 67-69.
- Amoozegar, A. and Warrick, A.W. Hydraulic conductivity of saturated soils :field methods. In: In *Methods of soil Analysis-Part 1: Physical and Mineralogical methods*. Klute A. (Ed.). American Society of Agronomy, Inc., Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wisconsin, USA, pp. 735-770.
- Andrewes, P., Busch, J. L., de Joode, T., Groenewegen, A., & Alexandre, H. (2003). Sensory properties of virgin olive oil polyphenols: identification of deacetoxy-ligstroside aglycon as a key contributor to pungency. *J Agric Food Chem*, 51(5), 1415-1420.
- Angerosa, F. (2000). Sensory Quality of Olive Oils. In J. Harwood & R. Aparicio (Eds.), *Handbook of Olive Oil* (pp. 355-392): Springer US.
- Angerosa, F. (2002). Influence of volatile compounds on virgin olive oil quality evaluated by analytical approaches and sensor panels. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104(9-10), 639-660.

- Angerosa, F., & Basti, C. (2001). Olive oil volatile compounds from the lipoxygenase pathway in relation to fruit ripeness. *Italian Journal of Food Science*, 13, 421–428.
- Angerosa, F., Basti, C., & Vito, R. (1999). Virgin Olive Oil Volatile Compounds from Lipoxygenase Pathway and Characterization of Some Italian Cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(3), 836-839.
- Angerosa, F., d' Alessandro, N., Corana, F., & Mellerio, G. (1996a). Characterization of phenolic and secoiridoid aglycons present in virgin olive oil by gas chromatography-chemical ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 736(1–2), 195-203.
- Angerosa, F., d' Alessandro, N., Konstantinou, P., & Di Giacinto, L. (1995). GC-MS Evaluation of Phenolic Compounds in Virgin Olive Oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(7), 1802-1807.
- Angerosa, F., Di Giacinto, L. Crushing (1995) influence on the quality characteristics of virgin olive oil. Note II. *Riv. Ital. Sostanze Grasse* 72, 1-4.
- Angerosa, F., d'Alessandro, N.; Basti, C.; Vito R. (1998) Biogenesis of volatile compounds in virgin olive oil: their evolution in relation to malaxation time. *J. Agric. Food Chem.*, 46, 2940-2944.
- Angerosa, F., Di Giacinto, L., & d'Alessandro, N. (1997). Quantitation of some flavor components responsible for the "green" attributes in virgin olive oils. *Journal of High Resolution Chromatography*, 20(9), 507-510.
- Angerosa, F., Lanza, B., & Marsilio, V. (1996b). Biogenesis of "fusty" defect in virgin olive oils. *Grasas y Aceites*, 47, 142-150.
- Angerosa, F., Mostallino, R., Basti, C., & Vito, R. (2001). Influence of malaxation temperature and time on the quality of virgin olive oils. *Food Chemistry*, 72(1), 19-28.
- Aparicio, R., Ferreiro, L., & Alonso, V. (1994). Effect of climate on the chemical composition of virgin olive oil. *Analytica Chimica Acta*, 292(3), 235-241.
- Aparicio, R., & Luna, G. (2002). Characterisation of monovari et al virgin olive oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104(9-10), 614-627.

- Aparicio, R., & Morales, M. T. (1998). Characterization of Olive Ripeness by Green Aroma Compounds of Virgin Olive Oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(3), 1116-1122.
- Aparicio, R., Morales, M. T., & Alonso, M. V. (1996). Relationship between volatile compounds and sensory attributes of olive oils by the sensory wheel. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73(10), 1253-1264.
- Aparicio, R., Morales, M. T., & Alonso, V. (1997). Authentication of European Virgin Olive Oils by Their Chemical Compounds, Sensory Attributes, and Consumers' Attitudes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(4), 1076-1083.
- Arthur, G.D., Stirk, W.A., van Staden, J. (2003). Effect of a seaweed concentrate on the growth and yield of three varieties of *Capsicum annum*. *S. Afr. J. Bot.*, 69, 207–211.
- Baccouri, O., Cerretani, L., Bendini, A., Caboni, M. F., Zarrouk, M., Pirrone, L., et al. (2007). Preliminary chemical characterization of Tunisian monovarietal virgin olive oils and comparison with Sicilian ones. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109(12), 1208-1217.
- Baccouri, O., Guerfel, M., Baccouri, B., Cerretani, L., Bendini, A., Lercker, G. (2008). Chemical composition and oxidative stability of Tunisian monovarietal virgin olive oils with regard to fruit ripening. *Food Chemistry*, 109, 743–754.
- Beckett, RP, Mathegka, ADM, Van Staden, J. (1994). Effect of seaweed concentrate on yield of nutrient-stressed tepary bean (*Phaseolus acutifolius* Gray). *Journal of Applied Phycology* 6: 429-430.
- Baldioli, M., Servili, M., Perretti, G., & Montedoro, G. F. (1996). Antioxidant activity of tocopherols and phenolic compounds of virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73(11), 1589-1593.
- Bendini, A., Cerretani, L., Carrasco-Pancorbo, A., Gomez-Caravaca, A. M., Segura-Carretero, A., Fernandez-Gutierrez, A., et al. (2007). Phenolic molecules in virgin olive oils: a survey of their sensory properties, health effects, antioxidant activity and analytical methods. An overview of the last decade. *Molecules*, 12(8), 1679-1719.

- Basak, A. (2008). Effect of preharvest treatment with seaweed products, Kelpak® and Goemar BM 86®, on fruit quality in apple. *Int. J. Fruit Sci.*, 8, 1-14.
- Benincasa, C., De Nino, A., Lombardo, N., Perri, E., Sindona, G., & Tagarelli, A. (2003). Assay of Aroma Active Components of Virgin Olive Oils from Southern Italian Regions by SPME-GC/Ion Trap Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(3), 733-741. Bortolomeazzi, R.
- Berno, P., Pizzale, L., & Conte, L. S. (2001). Sesquiterpene, Alkene, and Alkane Hydrocarbons in Virgin Olive Oils of Different Varieties and Geographical Origins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(7), 3278-3283.
- Blunden, G., Hardman, R., & Hind, F. J. (1971). The comparative morphology and anatomy of *Dioscorea sylvatica* Eckl. from Natal and the Transvaal. *Botanical Journal of Linnean Society*, 64, 431-446. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1095-8339.1971.tb02156.x>.
- Blunden, G. & Wildgoose, P.B. (1977). The effects of aqueous seaweed extract and kinetin on potato yields. *J. Sci. Food. Agric.* 28: 121-125.
- Blunden G., Jones E.M., Passam H.C., (1978). Effects of Post-Harvest Treatment of Fruit and Vegetables with Cytokinin-Active Seaweed Extracts and Kinetin Solutions DOI: <https://doi.org/10.1515/botm>.
- Blunden, G. & Wildgoose, P.B. & Nicholson, F.E. (1979). The effects of aqueous seaweed extracts on sugar beet. *Botanica Mar.* 22: 539-541.
- Blunden, G., (1991). "Agricultural uses of seaweeds and seaweed extracts", Portsmouth Polytechnic, UK.
- Brain KR, Chalipin MC, Turner TD, Blunden G, Wildgoose PB (1973) Cytokinin activity of commercial aqueous seaweed extract. *Plant Sci Lett* 1Q241-245
- Bramley, P. M., Bird, C. R. and Schuch, W., (1993). Biosynthesis and Manipulation of Plant Products. Carotenoid biosynthesis and manipulation. Blackie Academic & Professional. pp 139-177.
- Brenes, M., García, A., García, P., Rios, J. J., & Garrido, A. (1999). Phenolic Compounds in Spanish Olive Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(9), 3535-3540.

- Britton, G (1991) Carotenoids. *In* BV Charlwood, DV Banthorpe, eds, *Methods in Plant Biochemistry*, Vol 7. Academic Press, London, p. 473-515.
- Booth, E. (1966). Some properties of seaweed manures. *Proc. 5th Int. Seaweed Symp.* Pergamon Press, London. pp. 349-357.
- Bortolomeazzi, R., Berno, P., Pizzale, L., & Conte, L. S. (2001). Sesquiterpene, Alkene, and Alkane Hydrocarbons in Virgin Olive Oils of Different Varieties and Geographical Origins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(7), 3278-3283.
- Boskou, D., Blekas, G., & Tsimidou, M. (2006). Olive Oil Composition. *In* D. Boskou (Ed.), *Olive Oil: Chemistry and Technology*, Second Edition. Champaign, Illinois: AOCS Publishing.
- Buggeln R.G. and Craigie L.S. (1971). Evaluation of evidence for the presence of indole-3-acetic acid in marine algae. *Planta*, 97, 173-8.
- Byrd-Bredbenner, C., Lagiou, P., & Trichopoulou, A. (2000). A comparison of household food availability in 11 countries. *J Hum Nutr Diet*, 13(3), 197-204.
- Cardozo, K.H.M., Guaratini, T., Barros, M.P., Falcao, V.R., Tonon, A.P., Lopes, N.P., Campos, S., Torres, M.A., Souza, A.O., Colepicolo, P., Pinto, E. (2007), Metabolites from algae with economical impact. *Comp. Biochem. Physiol. C-Toxicol. Pharmacol.*, 146, 60-78.
- Cartwright, C. P., Juroszek, J., Beavan, M. J., Ruby, F. M., De Morais, S. F. M. & Raw, A. H., (1986). Ethanol dissipates the proton-motive force across the plasma membrane of *Saccharmyces cerevisiae*. *Journal of General Microbiology* 132, 369- 377.
- Cavalli, J.-F., Fernandez, X., Lizzani-Cuvelier, L., & Loiseau, A.-M. (2003). Comparison of Static Headspace, Headspace Solid Phase Microextraction, Headspace Sorptive Extraction, and Direct Thermal Desorption Techniques on Chemical Composition of French Olive Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(26), 7709-7716.
- Cavalli, J.-F., Fernandez, X., Lizzani-Cuvelier, L., & Loiseau, A.-M. (2004). Characterization of volatile compounds of French and Spanish virgin olive oils by HS-SPME: Identification of quality-freshness markers. *Food Chemistry*, 88(1), 151-157.

- Cecchi, T., & Alfei, B. (2013). Volatile profiles of Italian monovarietal extra virgin olive oils via HS-SPME–GC–MS: Newly identified compounds, flavors molecular markers, and terpenic profile. *Food Chemistry*, 141(3), 2025-2035.
- Cerretani, L., Salvador, M., Bendini, A., & Fregapane, G. (2008). Relationship Between Sensory Evaluation Performed by Italian and Spanish Official Panels and Volatile and Phenolic Profiles of Virgin Olive Oils. *Chemosensory Perception*, 1(4), 258-267.
- Chatzissavvidis C. and Therios I. (2014). Role of algae in agriculture. In: *Seaweeds: Agricultural Uses, Biological and Antioxidant Agents*, Pomin V.H. (ed.). Nova Science Publishers, pp. 1-38.
- Chatzissavvidis C., Therios I., Evagelinou D., Tsaprali E., Chouliaras V., Malissovas N. and Mantzoutsos I. (2014). The effect of fertilization treatments on productivity, maturation, carotenoid content and nutritional status of the table olive cultivar “Konservolia Artas”. *Balkan Agriculture Congress*, Edirne, Turkey.
- Chouliaras, V., Gerasopoulos, D., Lionakis, S. (1997), Effects of seaweed extract on fruit growth, weight and maturation of ‘Hayward’ kiwifruit. *Acta Hort.*, 444, 485– 492.
- Chouliaras, V., Therios, I., Chatzissavvidis, Chr., Kouropalatis, Th. and Mantzoutsos, I., (2011). Organic farming fertilization treatments on productivity, skin carotenoids and nutritional status of ‘Kalamon’ table olives. *Proceedings of the 4th International Conference on ‘Olive Culture and Biotechnology of Olive Tree Products’*. Olivebioteq 2011, Volume 2: 465-470.
- Corona, G., Spencer, J., & Dessì, M. (2009). Extra virgin olive oil phenolics: absorption, metabolism, and biological activities in the GI tract. *Toxicology and Industrial Health*, 25(4-5), 285-293.
- Covas, M.-I. (2007). Olive oil and the cardiovascular system. *Pharmacological Research*, 55(3), 175-186.
- Covas, M.-I., de la Torre, K., Farré-Albaladejo, M., Kaikkonen, J., Fitó, M., López-Sabater, C., et al. (2006a). Postprandial LDL phenolic content and LDL oxidation are modulated by olive oil phenolic compounds in humans. *Free Radical Biology and Medicine*, 40(4), 608-616.

- Covas, M. a.-I., Nyssönen, K., Poulsen, H. E., Kaikkonen, J., Zunft, H.-J. F., Kieseewetter, H., et al. (2006b). The Effect of Polyphenols in Olive Oil on Heart Disease Risk Factors A Randomized Trial. *Annals of Internal Medicine*, 145(5), 333-341.
- Craigie, J.S. (2011), Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. *J. Appl. Phycol.*, 23, 371-393.
- Crouch, I.J., Van Staden, J. (1993), Evidence for the presence of plant growth regulators in commercial seaweed products, *Plant Growth Regulators* 13: 21- 29.
- De la Torre-Carbot, K., Chávez-Servín, J. L., Jaúregui, O., Castellote, A. I., Lamuela-Raventós, R. M., Nurmi, T., et al. (2010). Elevated Circulating LDL Phenol Levels in Men Who Consumed Virgin Rather Than Refined Olive Oil Are Associated with Less Oxidation of Plasma LDL. *Journal of Nutrition*, 140(3), 501-508.
- De Villiers, J., Kotze, W.A.G. and Joubert, M. (1983). Effect of seaweed foliar sprays on fruit quality and mineral nutrition. *The Deciduous Fruit Grower* 33: 97-101.
- Dekker, J., (1963) Effect of Kinetin on Powdery Mildew, *Nature*, vol. 197, pp. 1027-1028.
- Denholm, I., Devine, G.J., Williamson, M.S. (2002). Evolutionary genetics, insecticide resistance on the move. *Science*, 297, pp. 2222–2223.
- Di Giovacchino, L. (2013). Technological Aspects. In J. Harwood & R. Aparicio (Eds.), *Handbook of Olive Oil: Analysis and Properties*. New York: Springer.
- Douglas, C., Ellard, M., Hauffe, K., Molitor, E., de Sá, M., Reinold, S., et al. (1992). General Phenylpropanoid Metabolism: Regulation By Environmental and Developmental Signals. In H. Stafford & R. Ibrahim (Eds.), *Phenolic Metabolism in Plants* (Vol. 26, pp. 63-89): Springer US.
- Gandul-Rojas, B. and M.I. Mínguez-Mosquera, (1996) Chlorophyllase activity in olive fruits and its relationship with the loss of chlorophyll pigments in the fruits and oils. *J. Sci. Agr.* 72Q291-294.
- Gimeno, E., Castellote, A.I., Lamuela, R., De la Torre, M.C., Lopez-Sabater M.C. (2002). The effects of the harvest and extraction methods on the

- antioxidant content (phenolics, alpha-tocopherol, and beta-carotene) in virgin olive oil. *Food Chemistry*, 78, 207–211.
- Giuffrida, D., Salvo, F., Salvo, A., La Pera, L., Dugo Pigments, G. (2007), composition in monovarietal virgin olive oils from various Sicilian olive varieties. *Food Chemistry*, 101, 833–837.
- EC. (2012). Commission Regulation (EC) No 432/2012 of 16 May 2012 establishing a list of permitted health claims made on foods, other than those referring to the reduction of disease risk and to children's development and health. *Official Journal of the European Communities*, L163.
- El Riachy, M., Priego-Capote, F., León, L., Rallo, L., & Luque de Castro, M. D. (2011). Hydrophilic antioxidants of virgin olive oil. Part 1: Hydrophilic phenols: A key factor for virgin olive oil quality. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113(6), 678-691.
- Elnagar, A. Y., Sylvester, P. W., & El Sayed, K. A. (2011). Oleocanthal as a c-Met Inhibitor for the Control of Metastatic Breast and Prostate Cancers. *Planta Med*, 77(10), 1013-1019.
- Eris, A., Sivritepe, H.Ö., Sivritepe, N., (1995). The effect of seaweed (*Ascophyllum nodosum*) extract on yield and quality criteria in peppers. *Int. Symp. Solanacea Fresh Mark* 412, 185–192.
- Escuderos, M. E. (2011). Olive Oil Aroma Evaluation By Gas Chromatographic Method: A Critical Review. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 41(1), 70-80.
- Esti, M., Cinquanta, L., La Notte, E. (1998), Phenolic compounds in different olive varieties. *J. Agric. Food Chem.*, 46, 32–35.
- Featonby-Smith, BC, Van Staden, J. (1983b). The effect of seaweed concentrate and fertilizer on the growth of *Beta vulgaris*. *Z. Pflanzenphysiol.* 112: 155-162.
- Featonby-Smith, BC, Van Staden, J. (1983a). The effect of seaweed concentrate on the growth of tomatoes in nematode infested soil. *Sci. Hortic.* 20: 137-146.
- Featonby-Smith, B.C. and van Staden, J., (1984). Plant Development Research Unit, Department of Botany, University of Natal,

- Pietermaritzburg, 3200 Republic of South Africa «To whom correspondence should be addressed».
- Featonby-Smith, BC, Van Staden, J (1987) Effects of seaweed concentrate on grain yield in barley. *S Afr J Bot* 53:125–128
- Fedeli, E., (1977), *Lipids of olives*, Prog. Chem. Fats and other Lipids. Pergamos press, Great Britain, pp. 15-57.
- Fernández-García, E., Carvajal-Lérida, I., Jarén-Galán, M., Garrido-Fernández, J., Pérez-Gálvez, A., & Hornero-Méndez, D. (2012). Carotenoids bioavailability from foods: From plant pigments to efficient biological activities. *Food Research International*, 46(2), 438–450.
- Finnie JF, VanStaden (1985) Effect of seaweed concentrate and applied hormones on in vitro cultured tomato roots. *J Plant Physiol* 120Q215-222.
- Flath, R. A., Forrey, R. R., & Guadagni, D. G. (1973). Aroma components of olive oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 21(6), 948-952.
- Fornes, F., Sanchez-Perales, M., Guardiola, J.L. (2002), Effect of a seaweed extract on the productivity of 'De nules' clementine mandarin and Navelina orange. *Bot Marina*, 45, 486-489.
- Frezzotti G. and Manni M. (1956). *Olive Oil Processing in Rural Mills*, Food and Agriculture Organization of the United Nations
- Gandul-Rojas, B., & Minguéz-Mosquera, M. I. (1996). Chlorophyll and Carotenoid Composition in Virgin Olive Oils from Various Spanish Olive Varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 72(1), 31-39.
- Garcia, A., Brenes, M., Romero, C., Garcí'a, P., Garrido, A. (2002), Study of phenolic compounds in virgin olive oils of the Picual variety. *Eur. Food Res. Technol.*, 215, 407– 412.
- García-Rodríguez, R., Romero-Segura, C., Sanz, C., Sánchez-Ortiz, A., & Pérez, A. G. (2011). Role of polyphenol oxidase and peroxidase in shaping the phenolic profile of virgin olive oil. *Food Research International*, 44(2), 629-635.
- García, J. M., Seller, S., & Pérez-Camino, M. C. (1996). Influence of Fruit Ripening on Olive Oil Quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(11), 3516-3520.

- Garcia, J. M., Yousfi, K., Mateos, R., Olmo, M., & Cert, A. (2001). Reduction of oil bitterness by heating of olive (*Olea europaea*) fruits. *J Agric Food Chem*, 49(9), 4231-4235.
- Gaziano, J. M., Manson, J. E., Branch, L. G., Colditz, G. A., Willett, W. C., & Buring, J. E. (1995). A prospective study of consumption of carotenoids in fruits and vegetables and decreased cardiovascular mortality in the elderly. *Annals of Epidemiology*, 5, 255–260.
- Gersani, M. & Kende, H. (1982). Studies on cytokinin-stimulated translocation in isolated bean leaves. *J. Plant Growth Regul.* 1: 161-171.
- Green, R.E., Ahuja, L.R., and Chong, S.K. 1990. Hydraulic conductivity, diffusivity, and sorptivity of unsaturated soils:field methods. In : In *Methods of soil Analysis-Part 1: Physical and Mineralogical methods*. Klute A. (Ed.). American Society of Agronomy, Inc., Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wisconsin, USA, pp. 771-798.
- Gómez-Alonso, S., Mancebo-Campos, V., Salvador, M. D., & Fregapane, G. (2007). Evolution of major and minor components and oxidation indices of virgin olive oil during 21 months storage at room temperature. *Food Chemistry*, 100(1), 36-42.
- Gómez-Rico, A., Fregapane, G., & Salvador, M. D. (2008). Effect of cultivar and ripening on minor components in Spanish olive fruits and their corresponding virgin olive oils. *Food Research International*, 41(4), 433-440.
- Gómez-Rico, A., Salvador, M. D., Moriana, A., Pérez, D., Olmedilla, N., Ribas, F., et al. (2007). Influence of different irrigation strategies in a traditional Cornicabra cv. olive orchard on virgin olive oil composition and quality. *Food Chemistry*, 100(2), 568-578.
- Granado, F., Olmedilla, B., & Blanco, I. (2003). Nutritional and clinical relevance of lutein in human health. *British Journal of Nutrition*, 90, 487–502.
- Guinda, A., Lanzón, A., & Albi, T. (1996). Differences in Hydrocarbons of Virgin Olive Oils Obtained from Several Olive Varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(7), 1723-1726.
- Guth, H., & Grosch, W. (1991). A Comparative Study of the Potent Odorants of Different Virgin Olive Oils. *Lipid / Fett*, 93(9), 335-339.

- Gutiérrez, F., Jiménez, B., Ruíz, A., & Albi, M. A. (1998). Effect of Olive Ripeness on the Oxidative Stability of Virgin Olive Oil Extracted from the Varieties Picual and Hojiblanca and on the Different Components Involved. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(1), 121-127.
- Gutiérrez, F., & Fernández, J. L. (2002). Determinant Parameters and Components in the Storage of Virgin Olive Oil. Prediction of Storage Time beyond Which the Oil Is No Longer of "Extra" Quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(3), 571-577.
- Hager A, Menzel H and Krauss A (1971) Versuche und Hypo-these zur Primärwirkung des Auxins beim Streckungswachstum. *Planta* 100, 47–75.
- Hatanaka, A. (1993). The biogeneration of green odour by green leaves. *Phytochemistry*, 34(5), 1201-1218.
- Hatzakis, E., Koidis, A., Boskou, D., & Dais, P. (2008). Determination of Phospholipids in Olive Oil by ³¹P NMR Spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(15), 6232-6240.
- Herrmann, K. M., & Weaver, L. M. (1999). The Shikimate Pathway. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 50, 473-503.
- Hong, D. D., H. M. Hien,, P. N. Son. (2007). Seaweeds from Vietnam used for functional food, medicine and biofertilizer. *J. Appl. Phycol.* 19: 817 – 826
- Hudson, B. J. F., & Lewis, J. I. (1983). Polyhydroxy flavonoid antioxidants for edible oils. Phospholipids as synergists. *Food Chemistry*, 10(2), 111-120.
- Hutton, M.J. & Van Staden, J. (1984). Transport and metabolism of labelled zeatin applied to the stems of *Phaseolus vulgaris* at different stages of development. *Z. Pflanzenphysiol.* 114: 331-339.
- Illera-Vives, M., Seoane Labandeira, S., Brito, L.M., López-Fabal, A., López-Mosquera, M.E. (2012). Evaluation of compost from seaweed and fish waste as a fertilizer for horticultural use. *Scientia Horticulturae*, Volume 186, Pages 101-107.
- Inglese, P., Famiani, F., Galvano, F., Servili, M., Esposito, S., & Urbani, S. (2010). Factors Affecting Extra-Virgin Olive Oil Composition. *Horticultural Reviews*, 38,83-147.

- IOOC. (1984). International Olive Oil Council, Document no. 6. International Olive Oil Council, Madrid 1984.
- IOC. (2007a). International Olive Council: Sensory Analysis of Olive Oil: General Basic Vocabulary. COI/T.20/Doc. N° 4/Rev. 1. September 2007.
- IOC. (2007b). International Olive Council: Sensory Analysis of Olive Oil: Glass for oil Tasting. COI/T.20/Doc. N° 5/Rev. 1. September 2007.
- IOC. (2007c). International Olive Council: Sensory Analysis of Olive Oil: Guide for the Installation of a Test Room. COI/T.20/Doc. N° 6/Rev.1. September 2007.
- IOC. (2013a). International Olive Council: Standard guide for the selection, training and monitoring of skilled virgin olive oil testers. COI/T.20/ Doc. N°14/Rev. 4. May 2013.
- IOC. (2013b). International Olive Council: Method for the organoleptic assessment of virgin olive oil. COI/T.20/Doc. N° 15/Rev. 6. November 2013.
- IOC. (2013c). International Olive Council: Trade standard applying to olive oils and olive-pomace oils. COI/T.15/NC N° 3/Rev. 7. May 2013.
- IOC. (2015). Trends in world olive oil consumption. Market Newsletter., No 91.
- Issaoui, M., Flamini, G., Brahmi, F., Dabbou, S., Ben Hassine, K., Taamali, A. (2010). Effect of the growing area conditions on differentiation between Chemlali and Chétoui olive oils Food Chemistry, 119, pp. 220–225.
- Jeleń, H. H., Obuchowska, M., Zawirska-Wojtasiak, R., & Wąsowicz, E. (2000). Headspace Solid-Phase Microextraction Use for the Characterization of Volatile Compounds in Vegetable Oils of Different Sensory Quality. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48(6), 2360-2367.
- Jiménez, M. S., Velarte, R., & Castillo, J. R. (2007). Direct determination of phenolic compounds and phospholipids in virgin olive oil by micellar liquid chromatography. Food Chemistry, 100(1), 8-14.
- Kalua, C. M., Allen, M. S., Bedgood Jr, D. R., Bishop, A. G., Prenzler, P. D., & Robards, K. (2007). Olive oil volatile compounds, flavour development and quality: A critical review. Food Chemistry, 100(1), 273-286.

- Kalua, C. M., Bedgood, D. R., Bishop, A. G., & Prenzler, P. D. (2008). Changes in Virgin Olive Oil Quality during Low-Temperature Fruit Storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(7), 2415-2422.
- Kalua, C. M., Bedgood Jr, D. R., & Prenzler, P. D. (2006b). Development of a headspace solid phase microextraction-gas chromatography method for monitoring volatile compounds in extended time-course experiments of olive oil. *Analytica Chimica Acta*, 556(2), 407-414.
- Kannan, S. (1986). Foliar transport of inorganic nutrients. *CRC Crit. Rev. Pl. Sci.* 4: 341- 375.
- Kanavouras, A., Hernandez-Münoz, P., & Coutelieris, F. A. (2004). Shelf life predictions for packaged olive oil using flavor compounds as markers. *European Food Research and Technology*, 219(2), 190-198.
- Kanavouras, A., Kiritsakis, A., & Hernandez, R. J. (2005b). Comparative study on volatile analysis of extra virgin olive oil by dynamic headspace and solid phase micro-extraction. *Food Chemistry*, 90(1–2), 69-79.
- Kandylis, P., Vekiari, A. S., Kanellaki, M., Grati Kamoun, N., Msallem, M., & Kourkoutas, Y. (2011). Comparative study of extra virgin olive oil flavor profile of Koroneiki variety (*Olea europaea* var. *Microcarpa alba*) cultivated in Greece and Tunisia during one period of harvesting. *LWT - Food Science and Technology*, 44(5), 1333-1341.
- Karaosmanoglu, H., Soyer, F., Ozen, B., & Tokatli, F. (2010). Antimicrobial and Antioxidant Activities of Turkish Extra Virgin Olive Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(14), 8238-8245.
- Kashima, M., Cha, G.-S., Isoda, Y., Hirano, J., & Miyazawa, T. (1991). The antioxidant effects of phospholipids on perilla oil. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 68(2), 119-122.
- Keller, M., Arnink K.J. and Hrazdina G., (1998). Interaction of nitrogen availability during bloom and light intensity during veraison: Effects of grapevine growth, fruit development and ripening. *Amer. J. Enol. Vitic.* 49: 333-340.
- Kingman AR, Moore J (1982) Isolation, purification and quantitation of several growth regulating substances in *Ascomyces nodosum* (Phaeophyta). *Bot. mar.* 25: 149–153.

- Kiosseoglou, V., & Kouzounas, P. (1993). The role of diglycerides, monoglycerides, and free fatty acids in olive oil minor surface-active lipid interaction with proteins at oil-water interfaces *Journal of Dispersion Science and Technology*, 14(5), 527-539.
- Kiritsakis, A., Nanos, G. D., Polymenopoulos, Z., Thomai, T., & Sfakiotakis, E. M. (1998). Effect of fruit storage conditions on olive oil quality. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75(6), 721-724.
- Khan W, Hiltz D, Critchley A, Prithiviraj B (2011) Bioassay to detect *Ascophyllum nodosum* extract-induced cytokinin-like activity in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Applied Phycology* 23: 409-414.
- Khan W., Rayirath U.P., Subramanian S., Jithesh M.N., Rayorath P., Hodges D.M., Critchley A.T., Craigie J.S., Norrie J., and Privithiraj B. (2009). Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *J Plant Growth Regul*, 28: 386-399.
- Klute, A. and Dirksen, C. 1990. Hydraulic conductivity and diffusivity: Laboratory methods. In: *Methods of soil Analysis-Part 1: Physical and Mineralogical methods*. Klute A. (Ed.). American Society of Agronomy, Inc., Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wisconsin, USA, pp. 687-734.
- Koidis, A., & Boskou, D. (2006). The contents of proteins and phospholipids in cloudy (veiled) virgin olive oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108(4), 323-328.
- Koprivnjak, O., Procida, G., & Zelinotti, T. (2000). Changes in the volatile components of virgin olive oil during fruit storage in aqueous media. *Food Chemistry*, 70(3), 377-384.
- Kotze and Joubert (1980). Influence of foliar spraying with seaweed products on the growth and mineral nutrition of rye and cabbage. *Elsenburg* 4,17-20.
- Lanzón, A., Albi, T., Cert, A., & Gracián, J. (1994). The hydrocarbon fraction of virgin olive oil and changes resulting from refining. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 71(3), 285-291.
- Lahaye, M. 2001. Chemistry and physic-chemistry of phycocolloids. *Cahiers de Biologie Marine* 42:137-157.

- Luna, G., Morales, M. T., & Aparicio, R. (2006). Characterisation of 39 varietal virgin olive oils by their volatile compositions. *Food Chemistry*, 98(2), 243-252.
- Mateos, R., Cert, A., Pérez-Camino, M. C., & García, J. (2004). Evaluation of virgin olive oil bitterness by quantification of secoiridoid derivatives. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 81(1), 71-75.
- Mancuso, S., Azzarello, E., Mugnai, S., Briand, X. (2006). Marine bioactive substances (IPA extract) improve foliar ion uptake and water tolerance in potted *Vitis vinifera* plants *Advances in Horticultural Science*, 20, 156–161.
- Mitchell, R. & Alexander, M. (1963). Lysis of soil fungi by bacteria. *Canadian Journal of Microbiology* 15, 689-696.
- Michel, M., & Buszewski, B. (2009). Porous graphitic carbon sorbents in biomedical and environmental applications. *Adsorption*, 15(2), 193-202.
- Milton, RF (1962) The production of compounds of heavy metals with organic residues. British Patent no. 902,563. 3pp.
- Montedoro, G., Bertuccioli, M., & Anichini, F. (1978). Aroma analysis of virgin olive oil by head space volatiles extraction techniques. In G. Charalampous & G. Inglet (Eds.), *Flavor of foods and beverages* (pp. 247–281). New York: Academic Press.
- Montedoro, G., Servili, M., Baldioli, M., Selvaggini, R., Miniati, E., & Macchioni, A. (1993). Simple and hydrolyzable compounds in virgin olive oil. 3. Spectroscopic characterizations of the secoiridoid derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(11), 2228-2234.
- Mooney, PA, Van Staden, J. (1985). Effect of seaweed concentrate on the growth of wheat under conditions of water stress. *South African Journal of Science* 81: 632-633.
- Moore, T.C., (1979). *Biochemistry and Physiology of Plant Hormones*. 2nd Edn., Springer-Verlage, New York, USA.
- Morales, M. T., Alonso, M. V., Rios, J. J., & Aparicio, R. (1995). Virgin Olive Oil Aroma: Relationship between Volatile Compounds and Sensory Attributes by Chemometrics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(11), 2925-2931.

- Morales, M. T., Aparicio, R., & Calvente, J. J. (1996). Influence of Olive Ripeness on the Concentration of Green Aroma Compounds in Virgin Olive Oil. *Flavour and Fragrance Journal*, 11(3), 171-178.
- Morales, M. T., Aparicio, R., & Rios, J. J. (1994). Dynamic headspace gas chromatographic method for determining volatiles in virgin olive oil. *Journal of Chromatography A*, 668(2), 455-462.
- Morales, M. T., Luna, G., & Aparicio, R. (2005). Comparative study of virgin olive oil sensory defects. *Food Chemistry*, 91(2), 293-301.
- Morales, M. T., Rios, J. J., & Aparicio, R. (1997). Changes in the Volatile Composition of Virgin Olive Oil during Oxidation: Flavors and Off-Flavors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(7), 2666-2673.
- Morales, M. T., & Tsimidou, M. (2000). The role of volatile compounds and polyphenols in olive oil.
- Moss, B. L. (1965). Apical dominance in *Fucus vesiculosus*. *New Phytol.*, 64, 387.
- Murkovic, M., Lechner, S., Pietzka, A., Bratacos, M., Katzogiannos, E. (2004), Analysis of minor components in olive oil. *J. Biochem. Biophys. Methods*, 61, 155–160.
- Nable, R.O. (1988). Resistance to boron toxicity amongst several barley and wheat cultivars: A preliminary examination of the resistance mechanism. *Plant Soil* 112:45-52.
- Nelson, W.R., Van Staden, J. (1984). The effect of seaweed concentrate on growth of nutrient-stressed, greenhouse cucumbers. *HortScience*, 19, pp. 81–82.
- Nelson, WR, van Staden, J (1986). Effect of seaweed concentrate on the growth of wheat. *S Afr J Science* 82:199–200.
- Nelson, W R (1985). The Effect of Seaweed Concentrate on the Growth of Wheat. MSc. Thesis, University of Natal, Pietermaritzburg, South Africa, 152p.
- Nenadis, N., & Tsimidou, M. (2002). Determination of squalene in olive oil using fractional crystallization for sample preparation. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79(3), 257-259.
- Newmark, H. L. (1997). Squalene, olive oil, and cancer risk: a review and hypothesis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 6(12), 1101-1103.

- Nooden, L.D. & Leopold, A. C. (1978). Phytohormones and the endogenous regulation of senescence and abscission. In: Phytohormones and related compounds - a comprehensive treatise 1, eds Letham D.S., Gollnow, P.B. & Higgins, T.J.V. Elsevier/North Holland, Amsterdam. pp. 329-369.
- Offermans, C.N. (1968). Effect of brown algae (*Macrocystis intergrifolia*) in increasing iron availability of a calcareous soil. *Chemical Abstracts* 68: 104216.
- Okogeri, O., & Tasioula-Margari, M. (2002). Changes Occurring in Phenolic Compounds and α -Tocopherol of Virgin Olive Oil during Storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(5), 1077-1080.
- Olias, J. M., Perez, A. G., Rios, J. J., & Sanz, L. C. (1993). Aroma of virgin olive oil: Biogenesis of the "green" odor notes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(12), 2368-2373.
- Oliveras-López, M. J., Innocenti, M., Giaccherini, C., Ieri, F., Romani, A., & Mulinacci, N. (2007). Study of the phenolic composition of Spanish and Italian monocultivar extra virgin olive oils: Distribution of lignans, secoiridoidic, simple phenols and flavonoids. *Talanta*, 73(4), 726-732.
- Omenn, G. S., Goodman, G. E., Thornquist, M. D., Balmes, J., Cullen, M. R., Glass, A., et al. (1996). Effects of a combination of beta carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. *The New England Journal of Medicine*, 334, 1150–1155.
- Owen, R. W., Mier, W., Giacosa, A., Hull, W. E., Spiegelhalder, B., & Bartsch, H. (2000b). Phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, secoiridoids, lignans and squalene. *Food and Chemical Toxicology*, 38(8), 647-659.
- Palmer, M.V., Scott, I.M. & Horgan, R. (1981b). Cytokinin metabolism in *Phaseolus vulgaris* L. II. Comparative metabolism of exogenous cytokinins by detached leaves. *Plant Sci. Lett.* 22: 187-195.
- Papadopoulos, G., & Boskou, D. (1991). Antioxidant effect of natural phenols on olive oil. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 68(9), 669-671.

- Patumi, M., d'Andria, R., Marsilio, V., Fontanazza, (2002), Olive and olive oil quality after intensive monocone olive growing (*Olea europaea* L., cv. Kalamata) in different irrigation regimes. *Food Chem.*, 77, 27–34.
- Pérez-Jiménez, F., Ruano, J., Perez-Martinez, P., Lopez-Segura, F., & Lopez-Miranda, J. (2007). The influence of olive oil on human health: not a question of fat alone. *Molecular Nutrition & Food Research*, 51(10), 1199-1208.
- Pilbeam, D.J., Morely, P.S. Barker, A.V., Pilbeam, D.J. (Eds.), (2007). *Handbook of plant nutrition, Calcium*, CRC Press, New York, NY pp. 121–144.
- Portarena, S., Baldacchini, C., & Brugnoli, E. (2016). Geographical discrimination of extra-virgin olive oils from the Italian coasts by combining stable isotope data and carotenoid content within a multivariate analysis. *Food Chemistry*, 215 (2017) 1–6.
- Pouliarekou, E., Badeka, A., Tasioula-Margari, M., Kontakos, S., Longobardi, F., & Kontominas, M. G. (2011). Characterization and classification of Western Greek olive oils according to cultivar and geographical origin based on volatile compounds. *J Chromatogr A*, 1218 (42), 7534-7542.
- Psomiadou, E., & Tsimidou, M. (1999). On the Role of Squalene in Olive Oil Stability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(10), 4025-4032.
- Psomiadou, E., & Tsimidou, M. (2001). Pigments in Greek virgin olive oils: occurrence and levels. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(7), 640-647.
- Psomiadou, E., & Tsimidou, M. (2002a). Stability of Virgin Olive Oil. 1. Autoxidation Studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(4), 716-721.
- Psomiadou, E., Tsimidou, M., & Boskou, D. (2000). α -Tocopherol Content of Greek Virgin Olive Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1770-1775.
- Raghavendra, V., Lokesh, S., Prakash, H.S., Dravya, (2007). A product of seaweed extract (*Sargassum wightii*), induces resistance in cotton against *Xanthomonas campestris* pv. *malsvacearum*, *Phytoparasitica* 35 442e449.

- Ramezani, S., Shekafandeh, A., (2009). Roles of gibberellic acid and zinc sulphate in increasing size and weight of olive fruit. *Afr. J. Biotechnol*, 8, 6791-6794.
- Rathore, S.S., Chaudhary, D.R., Boricha, G.N., Ghosh, A., Bhatt, B.P., Zodape, S.T., Patolia, J.S., (2008). Effect of seaweed extract on the growth, yield and nutrient uptake of soybean (*Glycine max*) under rainfed conditions. *South African Journal of Botany*, Vol 75, Issue 2, April 2009, Pages 351-355
- Reiners, J., & Grosch, W. (1998). Odorants of Virgin Olive Oils with Different Flavor Profiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(7), 2754-2763.
- Ribaya-Mercado, J. D., & Blumberg, J. B. (2004). Lutein and zeaxanthin and their potential roles in disease prevention. *Journal of the American College of Nutrition*, 23(sup6), 567S–587S.
- Romero, C., Brenes, M., Garcja, P., Garrido, A. (2002), Hydroxytyrosol 4- α -D-glucoside, an important phenolic compound in olive fruits and derived products. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 3835–3839.
- Romero-Segura, C., Sanz, C., & Perez, A. G. (2009). Purification and Characterization of an Olive Fruit β -Glucosidase Involved in the Biosynthesis of Virgin Olive Oil Phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(17), 7983-7988.
- Romero, C., Medina, E., Vargas, J., Brenes, M., & De Castro, A. (2007). *In Vitro* Activity of Olive Oil Polyphenols against *Helicobacter pylori*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(3), 680-686.
- Roussos, P.A., Denaxa, N., Damvakaris, T. (2009), Strawberry fruit quality attributes after application of plant growth stimulating compounds. *Sci. Hort.*, 119, 138-146.
- Ryan, D., Robards, K. (1998). Phenolic compounds in olives. *Analyst*, 123, 31R-44R.
- Ryan, D., Antolovich, M., Prenzler, P., Robards, K., & Lavee, S. (2002). Biotransformations of phenolic compounds in *Olea europaea* L. *Scientia Horticulturae*, 92(2), 147-176.
- Sabir A., Yazar K., Sabir F., Kara Z., Atilla Yazici M., GoksuN., (2014). Vine growth, yield, berry quality attributes and leaf nutrient content of

- grapevines as influenced by seaweed extract (*Ascophyllum nodosum*) and nanosize fertilizer pulverizations. *Scientia Horticulture*, 175: 1–8.
- Salas, J., Willams, M., Harwood, J., & Sánchez, J. (1999). Lipoxygenase activity in olive (*Olea europaea*) fruit. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76(10), 1163-1168.
- Salas, J. J., & Sánchez, J. (1998). Alcohol dehydrogenases from olive (*Olea europaea*) fruit. *Phytochemistry*, 48(1), 35-40.
- Salas, J. n. J., & Sánchez, J. (1999). Hydroperoxide lyase from olive (*Olea europaea*) fruits. *Plant Science*, 143(1), 19-26.
- Senn, T.L. and Kingman, A.R. (1978) Seaweed research in crop production: Economic Development of Administration, United states Department of Commerce, Washington, D.C. pp. ii xx; 1-25.
- Senn, T.L., J.A. Martin, J.H. Crawford, and C.W. Derting. 1961. The effect of Norwegian seaweed (*Ascophyllum nodosum*) on the development and composition of certain horticultural and special crops. *South Carolina Agr. Expt. Sta., Res. Serial 23*.
- Senn, T.L. and Kingman, A.R. (1987) *Seaweed and Plant Growth*.
- Senn, T.L. (1987). *Seaweed and Plant Growth*. Faith Printing Co., Taylor, South Carolina. 166 pp.
- Shorrocks, V.M. (1997). The occurrence and correction of boron deficiency. *Plant Soil* 193:121-148.
- Schnürer, J., Olsson, J., & Börjesson, T. (1999). Fungal Volatiles as Indicators of Food and Feeds Spoilage. *Fungal Genetics and Biology*, 27(2–3), 209-217.
- Schwartz, S. J., & Lorenzo, T. V. (1990). Chlorophylls in foods. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 29(1), 1-17.
- Servili, M., Conner, J. M., Piggott, J. R., Withers, S. J., & Paterson, A. (1995). Sensory characterisation of virgin olive oil and relationship with headspace composition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 67(1), 61-70.
- Servili, M., Montedoro, G., (2002). Contribution of phenolic compounds to virgin olive oil quality. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 104, 602-613.
- Servili, M., Selvaggini, R., Esposito, S., Taticchi, A., Montedoro, G., & Morozzi, G. (2004). Health and sensory properties of virgin olive oil hydrophilic

- phenols: agronomic and technological aspects of production that affect their occurrence in the oil. *Journal of Chromatography A*, 1054(1–2), 113-127.
- Solinas, M., Angerosa, F., & Cucurachi, A. (1987). Relation between the autoxidation of oils and fats and the rising of Rancidity in organoleptic Evaluation *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*, 64, 137.
- Soyergin, S., Genc, C. and Fidan, A.E., (2002). Studies on the relationship between late ripening and the nutrition of olive variety ‘Gemlik’ in the Marmara region. *Acta Hort.*, 586: 301-305.
- Stamatakis, G., Tasioula-Margari, M., Chatzissavvidis, Chr., Mantzoutsos, I., Chouliaras, V., Chytiri, Ag. and Rini, M., (2013). The effect of foliar products on quantitative parameters, the effect of olive oil and the nutritional status of the olive cultivar ‘Mastoidis’ (‘Athinoelia’). 26th Scientific Congress of Greek Soc for Hort. Sci, Kalamata, 15-18 Oct. 2013 (abstract).
- Stephenson, WA, (1974). *Seaweed in agriculture and horticulture*, 3rd edn. B and G Rateaver, Pauma Valley, p. 241.
- Tarakhovskaya, E. R., Maslov, YU. I., and Shishova, M. F. (2006), “Phytohormones in Algae”, *Russian Journal of Plant Physiology*, 2007, Vol. 54, No. 2, pp. 163–170.
- Tarakhovskaya ER, Maslov YI, Shishova MF. (2007). Phytohormones in algae. *Russian Journal of Plant Physiology* 54: 186–194.
- Tasioula-Margari, M. (2011). Virgin olive oil antioxidants In C. Savalas & S. Nicolau (Eds.), *Olive Consumption and Health United States*: Nova Science Publishers.
- Tasioula-Margari, M., & Okogeri, O. (2001a). Isolation and Characterization of Virgin Olive Oil Phenolic Compounds by HPLC/UV and GC-MS. *Journal of Food Science*, 66(4), 530-534.
- Tay SA, Macleod JK, Palni LM, Letham DS (1985) Detection of cytokinins in a seaweed extract. *Phytochemistry* 24Q2611-2614.
- Tekaya, M., Mechri, B., Bchir, A., Attia, F., Cheheb, H., Daassa, M., Hammami, M. (2013), Enhancement of antioxidants in olive oil by foliar fertilization of olive trees. *Am. Oil Chem. Soc.*, 90, 1377–1386.

- Temime, S. B., Campeol, E., Cioni, P. L., Daoud, D., & Zarrouk, M. (2006). Volatile compounds from Chétoui olive oil and variations induced by growing area. *Food Chemistry*, 99(2), 315-325.
- Touchton, J.T. and F.C. Boswell, (1975). Boron application for corn grown on selected Southeastern soils. *Agron, J.* 67:197-200.
- Tovar, M. J., Romero, M. P., Girona, J., Motilva, M. J. (2002), L-Phenylalanineammonia-lyase activity and concentration of phenolics in developing fruit of olive tree (*Olea europaea* L. cv. Arbequina) grown under different irrigation regimes. *J. Sci. Food Agric.*, 82, 892–898.
- Tsimidou, M., Papadopoulos, G., & Boskou, D. (1992b). Phenolic compounds and stability of virgin olive oil—Part I. *Food Chemistry*, 45(2), 141-144.
- Tura, D., Prenzler, P. D., Bedgood Jr, D. R., Antolovich, M., & Robards, K. (2004). Varietal and processing effects on the volatile profile of Australian olive oils. *Food Chemistry*, 84(3), 341-349.
- Turan, M., Köse, C., (2004). Seaweed extracts improve copper uptake of grapevine. *Acta Agriculturae Scandinavica. Section B, Soil and Plant Science* 54, 213-220.
- Turrey, P.M. & Patrick, J.W. (1979). Kinetin-promoted transport of assimilates in stems of *Phaseolus vulgaris* L. Localised versus remote site(s) of action. *Planta* 147: 151-155.
- Yermiyahu, U., Erel, R., Ben-Gal, A., Schwartz, A., Dag, A., (2009). The Role of Macro nutrients in Olive Tree Flowering and Fruit Set. In: Brown P (ed). *The Proceedings of the International Plant Nutrition Colloquium XVI*.
- Vas, G., & Vékey, K. (2004). Solid-phase microextraction: a powerful sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis. *Journal of Mass Spectrometry*, 39(3), 233-254.
- Velasco, J., & Dobarganes, C. (2002). Oxidative stability of virgin olive oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104(9-10), 661-676.
- Vichi, S., Castellote, A. I., Pizzale, L., Conte, L. S., Buxaderas, S., & López-Tamames, E. (2003a). Analysis of virgin olive oil volatile compounds by headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography with mass spectrometric and flame ionization detection. *Journal of Chromatography A*, 983(1–2), 19-33.

- Vichi, S., Guadayol, J. M., Caixach, J., López-Tamames, E., & Buxaderas, S. (2006). Monoterpene and sesquiterpene hydrocarbons of virgin olive oil by headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1125(1), 117-123.
- Vichi, S., Pizzale, L., Conte, L. S., Buxaderas, S., & López-Tamames, E. (2003b). Solid-Phase Microextraction in the Analysis of Virgin Olive Oil Volatile Fraction: Modifications Induced by Oxidation and Suitable Markers of Oxidative Status. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(22), 6564-6571.
- Vichi, S., Pizzale, L., Conte, L. S., Buxaderas, S., & López-Tamames, E. (2005). Simultaneous determination of volatile and semi-volatile aromatic hydrocarbons in virgin olive oil by headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1090(1–2), 146-154.
- Vichi, S., Romero, A., Tous, J., Tamames, E. L., & Buxaderas, S. (2008). Determination of volatile phenols in virgin olive oils and their sensory significance. *Journal of Chromatography A*, 1211(1–2), 1-7.
- Vinha, A. F., Ferreres, F., Silva, B. M., Valentaño, P. (2005). Phenolic profiles of Portuguese olive fruits (*Olea europaea* L.): Influences of cultivar and geographical origin. *Food Chem.*, 89, 561–568.
- Visioli, F., & Galli, C. (1994). Oleuropein protects low density lipoprotein from oxidation. *Life Sci*, 55(24), 1965-1971.
- Visioli, F., Poli, A., & Gall, C. (2002). Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. *Medicinal Research Reviews*, 22(1), 65-75.
- Wahrburg, U., Kratz, M., & Cullen, P. (2002). Mediterranean diet, olive oil and health. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104(9-10), 698-705.
- Wang, D., Hao, H. and Waywood, E., (1961). Effect of benzimidazole analogues on stem rust and chlorophyll metabolism. *Can. J. Bot.*, 39: 1029--1036.
- Wang, T.L., Thompson, A.G. & Horgan, R. (1977). A cytokinin glucoside from the leaves of *Phaseolus vulgaris* L. *Planta* 135: 285-288.

- Wang, T.L. & Horgan, R. (1978). Dihydrozeatin riboside, a minor cytokinin from the leaves of *Phaseolus vulgaris* L. *Planta* 140: 151-153.
- Waterman, E., & Lockwood, B. (2007). Active components and clinical applications of olive oil. *Altern Med Rev*, 12(4), 331-342.
- Werkhoff, P., & Bretschneider, W. (1987). Dynamic headspace gas chromatography: concentration of volatile components after thermal desorption by intermediate cryofocusing in a cold trap : II. Effect of sampling and desorption parameters on recovery. *Journal of Chromatography A*, 405(0), 99-106.
- Williams, M., Morales, M. T., Aparicio, R., & Harwood, J. L. (1998). Analysis of volatiles from callus cultures of olive *Olea europaea*. *Phytochemistry*, 47(7), 1253-1259.
- Wolf B (1974) Improvements in the azomethine-H method for the determination of boron. *Commun Soil Sci Plant Anal* 5:39-44.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Γαβαλάς Ν.Α. (1978). Η ανόργανος θρέψη και η λίπανση της ελιάς, Αθήνα: Εκδόσεις Μπενεακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου.
- Θεριός, Ι. Ανόργανη θρέψη και λιπάσματα, (1996). Εκδόσεις Δεδούση.
- Καράταγλης, Σ. Φυσιολογία φυτών, (1999). Εκδόσεις ART of TEXT, Τρίτη έκδοση.
- Κεραμίδας Β. (1999). Ιδιότητες του εδάφους που επηρεάζουν τη γονιμότητά του". Πρακτικά διημερίδας "Θρέψη - Λίπανση Περιβάλλοντος, Λάρισα 18-19 Νοεμβρίου, σελ.25-35.
- Κυριτσάκης, Α. (2007). Ελαιόλαδο Συμβατικό και Βιολογικό, Βρώσιμη Ελιά - Πάστα Ελιάς.
- Πασπάτης Ε. (1998). «Φυτορρυθμιστικές Ουσίες (Φυτοορμόνες), Ο ρόλος τους στα φυτά, οι εφαρμογές τους στις καλλιέργειες». Εκδόσεις Αγρότυπος Α.Ε.
- Σφακιωτάκης, Ε. (1993). Μαθήματα Ελαιοκομίας. Εκδόσεις τυρο ΜΑΝ, Θεσσαλονίκη.



Cinquantaquattro operai che colgono olive verdi da pasto in una sola pianta 1896, (Fototeca Georgofili - Fondo R.E.D.A.)