ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«ΜΕΛΕΤΗ ΚΑΙ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΗΣ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΟΞΕΙΔΑΣΗΣ ΚΑΙ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΑΣΗΣ, ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΑ ΣΤΑΔΙΑ ΩΡΙΜΑΝΣΗΣ ΕΛΑΙΟΚΑΡΠΟΥ»



ΤΑΒΛΑΔΩΡΑΚΗ ΧΡΥΣΟΒΑΛΑΝΤΗ

Επιβλέπων Καθηγητής: **Φίλιππος Βερβερίδης**

ΗΡΑΚΛΕΙΟ, 2024

ΚΑΘΗΓΗΤΕΣ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ, ΒΕΡΒΕΡΙΔΗΣ ΦΙΛΙΠΠΟΣ

ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ, ΤΡΑΝΤΑΣ ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ

ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ, ΠΑΣΧΑΛΙΔΗΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ

ΤΟ ΕΡΓΟ ΑΥΤΟ ΥΛΟΠΟΙΗΘΗΚΕ ΣΤΟ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΦΑΡΜΟΓΩΝ ΚΑΙ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ (ΕΒΕΦ)
ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ, ΤΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΟΥ ΕΛΛΗΝΙΚΟΥ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΟΥ ΠΑΝ/ΜΙΟΥ (ΕΛΜΕΠΑ).

Στην οικογένειά μου…

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διατριβή ξεκίνησε και ολοκληρώθηκε στο εργαστήριο Βιολογικών και Βιοτεχνολογικών Εφαρμογών του τμήματος Γεωπονίας της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών, του ΕΛΜΕΠΑ με την επιστημονική υποστήριξη του εργαστηρίου Βιοτεχνολογικών Εφαρμογών και Φυτοπροστασίας. Αυτή τη στιγμή που το έργο έχει ολοκληρωθεί, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή Φίλιππο Βερβερίδη για την ευκαιρία που μου έδωσε να εργαστώ στο εργαστήριό του και την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπό μου, για την ανάθεση ενός τόσο ενδιαφέροντος και όπως αποδείχθηκε, δύσκολου έργου.

Επιπρόσθετα, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλα τα μέλη του Εργαστηρίου Βιολογικών και Βιοτεχνολογικών Εφαρμογών και κυρίως τον Αναπληρωτή Καθηγητή Εμμανουήλ Τραντά, καθώς και τον υποψήφιο διδάκτορα Γρηγόριο Γιακουμάκη, για την πολύτιμη βοήθειά τους σε ό,τι χρειαζόμουν. Θερμές ευχαριστίες στον Επίκουρο Καθηγητή Βασίλειο Τζανακάκη, για την πολύτιμη βοήθεια στη στατιστική επεξεργασία και ανάλυση των αποτελεσμάτων, καθώς και στον Αναπληρωτή Καθηγητή Κωνσταντίνο Πασχαλίδη.

Τέλος, αναμφίβολα πολλά ευχαριστώ αξίζουν στην οικογένειά μου, τους γονείς μου, Μανώλη και Μαρία και την αδερφή μου, Κρυσταλλία, για την αμέριστη αγάπη, την ψυχολογική, αλλά και υλική υποστήριξη, που μου προσφέρουν όλα αυτά τα χρόνια.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ ..... **VI**

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ..... **VII**

ΛΙΣΤΑ ΣΥΝΤΟΜΕΥΣΕΩΝ ..... **IX**

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ..... **X**

ABSTRACT ..... **XII**

1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ **14**

1.1 Η καλλιεργεια της ελιας 14

1.1.1 Η σημασια της ελαιοκαλλιεργειας στην Ελλαδα και την Κρητη 15

1.1.2 Ιστορικη Αναδρομη 17

1.2 Συσταση καρπου της ελιας 20

1.2.1 Αναπτυξη και ωριμανση του καρπου ελιας 24

1.3 Συστηματα Καλλιεργειας Ελιας 26

1.3.1 Βιοδυναμικη Καλλιεργεια (Biodynamic Cultivation, BD) 26

1.3.2 Βιολογικη Καλλιεργεια (Organic Cultivation, OR) 28

1.3.3 Ολοκληρωμενης Διαχειρισης Καλλιεργεια (Integrated management system, IM) 29

1.3.4 Συμβατικη Καλλιεργεια (Conventional Cultivation, CN) 32

1.4 Ένζυμα 33

1.4.1 Δραση των οξειδωτικων ενζυμων στον καρπο της ελιας 35

1.4.2 Βιοσυνθετικο μονοπατι φαινολων της ελιας 35

1.4.3 Ένζυμο Πολυφαινολοξειδαση (Polyphenol Oxidase, PPO) 37

1.4.4 Ένζυμο Υπεροξειδαση (Peroxidase, POD) 41

1.5 Σκοποι της Διπλωματικης Εργασιας 44

2 ΥΛΙΚΑ **46**

2.1 Δειγματα καρπων ελιας και πειραματικος σχεδιασμος 46

2.2 Χημικα Αντιδραστηρια- Αναλωσιμα Υλικα 48

2.2.1 Υποστρωμα Πολυφαινολοξειδασης (PPO) 48

2.2.2 Υποστρωμα Υπεροξειδασης (POD) 48

2.2.3 Διαλυμα ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) 48

2.2.4 Διαλυμα EDTA (Ethylene Diamine Tetraacetic Acid) 48

2.3 Ρυθμιστικα Διαλυματα 48

2.3.1 Ρυθμιστικο Διαλυμα Οξικων/ Acetate Buffer (CH_3COOH/ CH_3COONa) , 50mM, pH=6.0, 0.2L 48

2.3.2 Ρυθμιστικο Διαλυμα Οξικων/ Acetate Buffer (CH_3COOH/ CH_3COONa) , 50mM, pH=5.5, 0.2L 49

2.3.3 Ρυθμιστικο Διαλυμα Οξικων/ Acetate Buffer (CH_3COOH/ CH_3COONa) , 50mM, pH=4.0, 0.2L 49

2.4 Όργανα 50

2.4.1 Πεχαμετρο 50

2.4.2 Φασματοφωτομετρο 50

2.4.3 Φυγοκεντρος 50

2.5 Αναλωσιμα Υλικα Εργαστηριου 51

3 ΜΕΘΟΔΟΙ 52

3.1 Δειγματοληψια Καρπων Ελιας 52
3.2 Δειγματα καρπων ελιας 53
3.3 Παρασκευη Ενζυμικου Εκχυλισματος της PPO & POD απο καρπους ελιας 53
3.4 Μεθοδος Προσδιορισμου της Δραστικοτητας του ενζυμου της Πολυφαινολοξειδασης (PPO) 54
3.5 Μεθοδος Προσδιορισμου της Δραστικοτητας του ενζυμου της Υπεροξειδασης (POD) 57

4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ 60

4.1 Προσδιορισμος της Δραστικοτητας του ενζυμου της Πολυφαινολοξειδασης (PPO) 60
4.2 Προσδιορισμος της ενεργοτητας του ενζυμου της Υπεροξειδασης (POD) 69
4.3 Συγκριση PPO- POD 78

5 ΣΥΖΗΤΗΣΗ 80

6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ 82

6.1 Συμπερασματα 82
6.2 Στοχος για μελλοντικη ερευνα – Επομενα βηματα 84

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 86

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 112

ΛΙΣΤΑ ΣΥΝΤΟΜΕΥΣΕΩΝ

Πίνακας 1*: Οι συντομεύσεις που χρησιμοποιούνται στην παρούσα εργασία.*

Σύντμηση	***Πλήρες όνομα***	
ABTS	*2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)*	*2,2-άζινο δις-3αιθυλβενζοθειαζολίνη-6-σουλφονικό οξύ*
ALDH	*Aldehyde dehydrogenase*	*Αλκοολική αφυδρογονάση*
DOPA	*Dihydroxyphenylalanine*	*Διυδροξυφαινυλαλανίνη*
EDTA	*Ethylene Diamine Tetraacetic Acid*	*Αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ*
HT	*Hydroxytyrosol*	*Υδροξυτυροσόλη*
LOX	*Lipoxygenase*	*Λιποξυγενάση*
MC	*4-Methylcatechol*	*4-μέθυλο-κατεχόλη*
POD	*Peroxidase*	*Υπεροξειδάση*
PPO	*Polyphenol oxidase*	*Πολυφαινολοξειδάση*
3,4-DHPA	*3,4-Dihydroxyphenylacetic acid*	*3,4-διυδροξυφθαλικό οξύ*
TDC	*Tyrosine Decarboxylase*	*Αποκαρβοξυλάση της τυροσίνης*
OR	*Organic cultivation*	*Βιολογική καλλιέργεια (Ελαιώνας 1, Ε1)*
BD	*Biodynamic cultivation*	*Βιοδυναμική καλλιέργεια (Ελαιώνας 2, Ε2)*
CN	*Conventional cultivation*	*Συμβατική καλλιέργεια (Ελαιώνας 3, Ε3)*
IM	*Integrated management system*	*Καλλιέργεια Ολοκληρωμένης διαχείρισης (Ελαιώνας 4, Ε4)*
PVP	*Polyvinylpyrrolidone*	*Πολυβινυλοπυρρολιδόνη*

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η ελιά είναι ένα ευρέως διαδεδομένο φυτό και αποτελεί ένα από τα αρχαιότερα καλλιεργούμενα δέντρα στον κόσμο, αλλά και ένα προϊόν υψίστης σημασίας για τη διατροφή. Είναι γνωστό ότι ένας σημαντικός αριθμός ενζύμων εντοπίζεται στον ελαιόκαρπο. Ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα της ποιότητας των καρπών και του ελαιολάδου είναι η οξείδωση, η οποία έχει ως επακόλουθο την δημιουργία δυσάρεστων οργανοληπτικών χαρακτηριστικών. Στην οξείδωση αυτή καθοριστικό ρόλο παίζουν τα ένζυμα πολυφαινολοξειδάση (PPO), υπεροξειδάση (POD) και λιποξυγονάση (LOX). Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η δραστικότητα της Πολυφαινολοξειδάσης (PPO) και Υπεροξειδάσης (POD), των δύο σημαντικότερων ενζύμων για την ποιότητα των καρπών.

Η PPO συμμετέχει στη διαδικασία οξείδωσης των πολυφαινολών, οι οποίες είναι σημαντικές για την ποιότητα, αλλά και τη γεύση των ελαιόκαρπων. Η POD καταλύει την οξείδωση πολυάριθμων οργανικών ενώσεων, συμπεριλαμβανομένων φαινολών, αρωματικών αμινών, ινδολών και σουλφονικών αλάτων. Ταυτόχρονα είναι ένα από τα βασικά οξειδοαναγωγικά ένζυμα που ελέγχουν τη διαφοροποίηση και την ανάπτυξη των φυτών και συμμετέχει στην προστασία των φυτικών ιστών από βλάβες, που προκαλούνται από το οξειδωτικό στρες.

Η μελέτη έγινε σε διαφορετικά στάδια ωρίμανσης των καρπών (Ιούνιος-Δεκέμβριος). Οι καρποί ήταν αποκλειστικά ποικιλίας Κορωνέικης και προερχόταν από τέσσερις ελαιώνες, διαφορετικού καλλιεργητικού τύπου: Βιολογική καλλιέργεια (OR), Βιοδυναμική, Συμβατική (CN) και Ολοκληρωμένης διαχείρισης (IM).

Αρχικά, παραλήφθηκε το ενζυμικό εκχύλισμα από τους ελαιόκαρπους. Για τον προσδιορισμό της δραστικότητας της PPO χρησιμοποιήθηκε ως υπόστρωμα η 4-μέθυλο-κατεχόλη και έγινε μέτρηση φασματοφωτομετρικά, στα 412nm. Υπάρχουν κι άλλα υποστρώματα για τον προσδιορισμό της πολυφαινολοξειδάσης, όμως η 4-μέθυλο-κατεχόλη επισημαίνετε ως το καλύτερο υπόστρωμα για χρήση, καθώς είναι λιγότερη ευαίσθητη στις διάφορες επιδράσεις του pH. Για τον προσδιορισμό αντίστοιχα της POD χρησιμοποιήθηκε ως υπόστρωμα το υπεροξείδιο

του υδρογόνου (H_2O_2) και έγινε μέτρηση φασματοφωτομετρικά στα 419nm. Από τις απορροφήσεις που λήφθηκαν, υπολογίστηκε ο μέσος όρος απορροφήσεων και υπολογίστηκε η δραστικότητα των ενζύμων (σε τιμές Units).

Όσο ωρίμαζαν οι ελαιόκαρποι, η ενεργότητα του ενζύμου της PPO αυξανόταν, γεγονός που οφείλεται στο ρόλο της να οξειδώνει τις πολυφαινόλες, οι οποίες φτάνουν στην υψηλότερη περιεκτικότητά τους στο στάδιο της πλήρους ωρίμανσης. Από την άλλη, αναμφίβολα, η δραστηριότητα της POD παρουσίασε κάποιες διακυμάνσεις στα διαφορετικά στάδια ανάπτυξης, όπως ήταν αναμενόμενο, καθώς συμμετέχει σε μεταβολικές διεργασίες και στην προστασία από παθογόνα.

Εντούτοις, προκύπτει ότι τα δύο ένζυμα δρουν συνεργατικά στον καρπό της ελιάς, λόγω της συμμετοχής τους σε μεταβολικές διεργασίες, που σχετίζονται με την ωρίμανση και την αντίσταση σε παθογόνους παράγοντες. Για τον παραπάνω λόγο, κρίθηκε σημαντική η μελέτη των ενζύμων της PPO και POD, τα οποία επηρεάζουν την ποιότητα και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των καρπών ελιάς και κατ' επέκταση του ελαιόλαδου.

ABSTRACT

The olive is a widespread plant and one of the oldest cultivated trees in the world, but also a product of great importance for nutrition. It is known that a significant number of enzymes are found in the olive fruit. One of the most important problems affecting the quality of fruit and olive oil is oxidation, which results in unpleasant organoleptic characteristics. The enzymes polyphenol oxidase (PPO), peroxidase (POD) and lipoxygenase (LOX) play a decisive role in this oxidation. In the present study, the activity of polyphenol oxidase (PPO) and peroxidase (POD), the two most important enzymes for fruit quality, was investigated.

PPO is involved in the oxidation process of polyphenols, which are important for the quality and also the taste of olive fruits. POD catalyses the oxidation of numerous organic compounds, including phenols, aromatic amines, indoles and sulphonates. At the same time, it is one of the key redox enzymes that control plant differentiation and growth and is involved in protecting plant tissues from damage caused by oxidative stress.

The study was carried out at different stages of fruit ripening (June-December). The fruits were exclusively of the Koroneiki variety and came from four olive groves of different cultivation types: Organic (OR), Biodynamic, Conventional (CN) and Integrated Management (IM).

Initially, the enzyme extract was obtained from the olive fruits. To determine the activity of PPO, 4-methyl-catechol was used as a substrate and measured spectrophotometrically at 412 nm. There are other substrates for the determination of polyphenol oxidase, but 4-methyl-catechol is indicated as the best substrate to use as it is less sensitive to various pH effects. For the determination of POD, hydrogen peroxide (H2O2) was used as a substrate and measured spectrophotometrically at 419 nm. From the absorbances obtained, the average absorbance was calculated and the enzyme activity (in Units) was calculated.

As the olives ripened, the activity of the PPO enzyme increased, which is due to its role of oxidizing polyphenols, which reach their highest content at the stage of full ripening. On the other hand, undoubtedly, the activity of POD showed some

variations at different growth stages, as expected, as it is involved in metabolic processes and protection against pathogens.

However, it appears that the two enzymes act synergistically in the olive fruit, due to their involvement in metabolic processes related to ripening and resistance to pathogens. For this reason, it was considered important to study the enzymes of PPO and POD, which influence the quality and organoleptic characteristics of olive fruits and, consequently, olive oil.

1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

«Αν αποσυνθέσεις την Ελλάδα, στο τέλος θα δεις να σου απομένουν μια ελιά, ένα αμπέλι και ένα καράβι. Που σημαίνει: με άλλα τόσα την ξαναφτιάχνεις».

Οδυσσέας Ελύτης

1.1 Η καλλιέργεια της ελιάς

Η ελιά (*Olea europaea L.*) είναι ένα ευρέως διαδεδομένο φυτό που προέρχεται από την περιοχή της Μεσογείου (Tsantili et al., 2017). Σύμφωνα με τους (Tsantili et al., 2017), η ελιά είναι ένα αειθαλές δέντρο με πλούσιο φύλλωμα και ασημοπράσινα φύλλα, που διαθέτει λεπτούς κλάδους και μικρά λευκά αρωματικά άνθη, τα οποία παράγουν άφθονη γύρη. Πρόκειται για ένα μακρόβιο δέντρο που μπορεί να φτάσει τα 1.000 χρόνια ζωής και έχει μέσο ύψος 15-20 μέτρα, ενώ με τη σωστή γεωργική πρακτική του κλαδέματος, το ύψος της μπορεί να διατηρηθεί στα 4-5 μέτρα.

Τα ελαιόδεντρα ευδοκιμούν σε ήπιους χειμώνες, με ελάχιστη θερμοκρασία περίπου 4^{o}C, και απαιτούν θερμά και ξηρά καλοκαίρια, όπου οι μέγιστες θερμοκρασίες φτάνουν έως και 40^{o}C, με τη μέση ετήσια θερμοκρασία να κυμαίνεται

από 15 έως 20^{o}C (Tsantili et al., 2017). Σύμφωνα με τους ίδιους συγγραφείς, αν και τα ελαιόδεντρα μπορούν να αντέξουν τον άνεμο, οι περιοχές που πλήττονται από ισχυρούς ανέμους θα πρέπει να αποφεύγονται για την καλλιέργεια τους. Οι ψυχροί, υγροί και θερμοί άνεμοι την άνοιξη μπορεί να οδηγήσουν σε απώλεια των ανθών και σε μείωση της ανάπτυξης, ενώ τις καλοκαιρινές περιόδους, οι υψηλές θερμοκρασίες και οι θερμοί άνεμοι μπορεί να προκαλέσουν πτώση των καρπών. Στις μεσογειακές περιοχές, η καλλιέργεια της ελιάς δεν είναι κατάλληλη σε υψόμετρα που ξεπερνούν τα 800 μέτρα (Tsantili et al., 2017).

Ο καρπός της ελιάς χρησιμοποιείται κυρίως για την παραγωγή ελαιόλαδου και επιτραπέζιων ελιών, καθώς και άλλων προϊόντων (Guo et al., 2018). Αυτό που κυρίως προσφέρει το φυτό της ελιάς είναι το λάδι του, το οποίο είναι διεθνώς αναγνωρίσιμο για τη μοναδική του γεύση και τις θρεπτικές του ιδιότητες. Ο Όμηρος το ονόμαζε «υγρό χρυσάφι». Πολλές μελέτες επιβεβαιώνουν ότι τα οφέλη της μεσογειακής διατροφής σχετίζονται με τη μείωση των περιστατικών χρόνιων ασθενειών και με αυξημένο προσδόκιμο ζωής, γεγονός που αποδίδεται εν μέρει στην κατανάλωση ελαιόλαδου, ενώ ταυτόχρονα και επιδημιολογικά στοιχεία δείχνουν ότι οι φαινολικές ενώσεις και άλλα αντιοξειδωτικά του ελαιόλαδου συμβάλλουν σε αυτά τα οφέλη (Guo et al., 2018).

Σήμερα, η καλλιέργεια ελιάς κερδίζει ολοένα και περισσότερη προσοχή. Η αυξημένη ζήτηση για ελαιόλαδο και ελιές οφείλεται στην ενημέρωση των καταναλωτών σχετικά με τα προϊόντα που προσφέρουν υψηλή διατροφική αξία και υγειονομικά οφέλη (Tsantili et al., 2017).

1.1.1 Η σημασία της ελαιοκαλλιέργειας στην Ελλάδα και την Κρήτη

Η εξάπλωση του πολύτιμου δέντρου της ελιάς, καθώς και οι εξελίξεις στην παραγωγή ελαιόλαδου, συνδέονται στενά με ένα ανώτερο πολιτισμικό επίπεδο. Όπως αναφέρεται αναλυτικά στην Ενότητα 1.2.1, στην Αθήνα των κλασσικών χρόνων, η ελιά θεωρούνταν ιερό δέντρο, ένα θεϊκό δώρο, και εφαρμόζονταν ειδικά μέτρα για την προστασία του.

Η ευημερία και ο πλούτος που χαρακτήριζαν την Αθήνα κατά τον Χρυσό Αιώνα συνδέονταν άμεσα με την υψηλή παραγωγή ελαιόλαδου, ενώ η αξία της ελιάς ήταν καταγεγραμμένη και στα έργα των αρχαίων συγγραφέων. Επιπλέον, στην Κρήτη, η συστηματική καλλιέργεια της ελιάς, που αποτελούσε κεντρική δραστηριότητα των κατοίκων, συνέβαλε καθοριστικά στην εντυπωσιακή ανάπτυξη του μινωικού πολιτισμού (αναλυτικά στην ενότητα 1.2.1).

Σήμερα, η ελαιοκαλλιέργεια κατέχει σημαντική θέση στην Ελλάδα, καθώς το ελαιόλαδο αποτελεί ένα προϊόν ζωτικής σημασίας για την επιβίωση και την ευημερία χιλιάδων οικογενειών. Ενδεικτικά, κάποιες περιοχές όπου καλλιεργείται είναι η Εύβοια, η Λήμνος, η Μυτιλήνη, η Ρόδος και η Φθιώτιδα (Τζίκα, 2008). Σύμφωνα με το Διεθνές Συμβούλιο Ελιάς (International Olive Council, IOC), την καλλιεργητική περίοδο 2020-2021, οι τέσσερις πρώτες, σε παραγωγή, χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης ήταν η Ισπανία (389.000 τόνους), η Ελλάδα (275.000 τόνους), η Ιταλία (273.500 τόνους) και η Πορτογαλία (100.000 τόνους).

Σύμφωνα με την Ελληνική Στατιστική Αρχή (ΕΛΣΤΑΤ) (www.statistics.gr), η παραγωγή ελαιόλαδου ήταν 1.028,66 χιλιάδες τόνοι, τον Δεκέμβριο του 2023 και οι καλλιεργητικές εκτάσεις με ελαιόδεντρα (σύνολο), στην Ελλάδα, αυξήθηκαν κατά 2,3% το 2021, σε σχέση με το 2020. Πιο συγκεκριμένα, οι εκτάσεις με ελαιόδεντρα ανήλθαν το 2021 σε 7.531,6 χιλιάδες στρέμματα, από 7.362 χιλιάδες στρέμματα που ήταν το 2020. Επίσης, σε σύγκριση με το έτος 2021, το 2022 καταγράφηκε αύξηση των εκτάσεων με ελαιόδεντρα κατά 0,5% , με τον αριθμό των στρεμμάτων να ανέρχεται στα 7,566.6 χιλιάδες.

Ωστόσο, τα παραγόμενα προϊόντα (ελαιόλαδο και ελιές) παρουσίασαν μία μικρή μείωση. Συγκεκριμένα, οι ελιές μειώθηκαν κατά 0,2% το 2021 σε σύγκριση με το 2020, ενώ αυξήθηκαν κατά 5,4% το 2022 σε σύγκριση με το 2021. Ειδικότερα, η παραγωγή ελιών ανήλθε σε 3.208,9 χιλιάδες τόνους το 2022, από 3.045,1 χιλιάδες τόνους , που ήταν το 2021 , ενώ το 2020 καταγράφηκαν 3.051,4 χιλιάδες τόνοι (Πίνακας 1.1.1).

Επιπροσθέτως, το ελαιόλαδο μειώθηκε κατά 2,9% το 2022, σε σύγκριση με το 2021, ενώ το 2021 καταγράφηκε σημαντική μείωση, 7,6%, σε σχέση με το 2020.

Συγκεκριμένα, η παραγωγή ελαιόλαδου ανήλθε σε 276,7 και 255,7 χιλιάδες τόνους το 2020 και το 2021 αντίστοιχα, ενώ το 2022 ανήλθε σε 248,3 χιλιάδες τόνους (Πίνακας 1.1.1).

Πίνακας 1.1.1.: Παραγωγή των ελιών και του ελαιολάδου(σε χιλιάδες τόνους) στην Ελλάδα, για τα έτη 2020-2022, σύμφωνα με την ΕΛΣΤΑΤ (www.statistics.gr)

	Παραγωγή σε χιλιάδες τόνους				
Παραγόμενα προϊόντα	**2020**	**2021**	**2022**	**Μεταβολή % 2021/2020**	**Μεταβολή % 2022/2021**
Ελιές	3.051,4	3.045,1	3.208,9	-0,2	5,4
Ελαιόλαδο	276,7	255,7	248,3	-7,6	-2,9

1.1.2 Ιστορική Αναδρομή

Το ελαιόδεντρο αποτελεί ένα από τα αρχαιότερα καλλιεργούμενα δέντρα στον κόσμο (Kiritsakis and Shahidi, 2017). Η καλλιέργεια της ελιάς χρονολογείται πριν από την καταγεγραμμένη ιστορία και έχει σημαντική επίδραση στην ανάπτυξη του ανθρώπινου πολιτισμού (Tsimidou et al., 2003).

Σύμφωνα με τους (Kostelenos and Kiritsakis, 2017), η καλλιέργεια της ελιάς ξεκίνησε στη Συρία, το Ισραήλ, το Λίβανο, την Κύπρο και την Κρήτη. Στις αρχές του 20ου αιώνα, βρέθηκαν μινωικές τοιχογραφίες, στο ανάκτορο της Κνωσσού στην Κρήτη, οι οποίες απεικονίζουν ανθρώπους να καταναλώνουν ελιές και να χρησιμοποιούν ελαιόλαδο για το μαγείρεμα και ως καύσιμο στα λυχνάρια (Eichberger et al., 2007), ενώ τεράστια πήλινα δοχεία (αμφορείς), που χρησιμοποιούνταν για την αποθήκευση του ελαιόλαδου στην αρχαιότητα, υπάρχουν ακόμη και σήμερα στην Κνωσό και τη Φαιστό (Kostelenos and Kiritsakis, 2017).

Πολλοί αρχαιολόγοι πιστεύουν ότι ο πλούτος του Κρητικού Μινωικού Βασιλείου (3500-1000 π.Χ.) οφειλόταν στο επιτυχημένο εμπόριο ελαιόλαδου (Εικόνα 1.2.1.1). Η καλλιέργεια της ελιάς εξαπλώθηκε από την Κρήτη στην υπόλοιπη Ελλάδα (Kostelenos and Kiritsakis, 2017). Γύρω στο 600 π.Χ., η ελιά

μεταφέρθηκε στην Ιταλία και σε άλλες μεσογειακές χώρες από την Ελλάδα ή από τη Βόρεια Αφρική (Kostelenos and Kiritsakis, 2017).



Εικόνα 1.2.1.1: Αμφορέας, όπου αναπαρίσταται η διαδικασία εμπορία ελαιόλαδου, μεταξύ εμπόρου και πελάτη (Eichberger et al., 2007).

Εν πρώτοις, αναμφισβήτητα, οι ελιές και το ελαιόλαδο ήταν ένα από τα πιο πολύτιμα προϊόντα στην αρχαιότητα. Αυτό αποδεικνύεται από την ύπαρξη αγγείων, στα οποία είναι ζωγραφισμένη η διαδικασία συγκομιδής των ελιών (Εικόνα 1.2.1.2.). Συγκεκριμένα, ένα αγόρι κάθεται στην κόμη μίας ελιάς και δύο άνδρες κρατούν ραβδιά από καλάμι, με τα οποία χτυπούν τις ελιές, για να πέσουν, ενώ ένα άλλο αγόρι συλλέγει τους πεσμένους καρπούς σε ένα καλάθι (Eichberger et al., 2007).

Επίσης, ο Έλληνας φιλόσοφος, Διοσκουρίδης μελέτησε τις φαρμακευτικές και θρεπτικές ιδιότητες της ελιάς (Fitch, 2022), ενώ ο Ιπποκράτης αναφέρει αρκετές θεραπείες με ελαιόλαδο για το ανθρώπινο σώμα (Donahue, 2016).

Δευτερευόντως, η ελιά αναφέρεται και στην Παλαιά Διαθήκη (Kostelenos and Kiritsakis, 2017). Έχει ιδιαίτερη θέση στις τελετές της Ορθόδοξης Εκκλησίας, καθώς θεωρείται ιερό δέντρο. Στη βιβλική ιστορία, η ελιά έπαιξε το ρόλο της. Ο Νώε, αφού υποχώρησαν τα νερά του κατακλυσμού, έστειλε ένα περιστέρι έξω από την κιβωτό. Το περιστέρι επέστρεψε μεταφέροντας ένα κλαδί ελιάς στο στόμα του, και έτσι η

ελιά αναγνωρίστηκε ως το σύμβολο της ειρήνης (Kostelenos and Kiritsakis, 2017): *«…καὶ ἀνέστρεψε πρὸς αὐτὸν ἡ περιστερὰ τὸ πρὸς ἑσπέραν, καὶ εἶχε φύλλον ἐλαίας κάρφος ἐν τῷ στόματι αὐτῆς, καὶ ἔγνω Νῶε ὅτι κεκόπακε τὸ ὕδωρ ἀπὸ τῆς γῆς. » (Γένεση 8,11).*



Εικόνα 1.2.1.2: Ο αμφορέας λαιμού του ζωγράφου Αντιμένη, γύρω στο 520-510 π.Χ, όπου δύο άνδρες και δύο αγόρια συγκομίζουν ελιές (Eichberger et al., 2007).

Στην ελληνική μυθολογία, η ελιά πρωταγωνιστεί στη διαφωνία μεταξύ του θεού Ποσειδώνα και της θεάς Αθηνάς, οι οποίοι συγκρούστηκαν με αφορμή την κυριαρχία της πόλης της Αθήνας, στην Ελλάδα (Τζίκα, 2008). Προκειμένου ο Δίας να διευθετήσει αυτή τη διαμάχη, δήλωσε ότι θα έδινε τη χώρα σε όποιον του πρόσφερε το πιο χρήσιμο δώρο για την ανθρωπότητα (Tsimidou et al., 2003). Από την μία, ο θεός Ποσειδώνας χτύπησε το βράχο με την τρίαινά του και ανάβλυσε αλμυρό νερό. Από την άλλη, η θεά Αθηνά παρουσίασε ένα κλαδί. Αυτό το κλαδί έγινε ένα γερό δέντρο, χτυπώντας την τρίαινά της στον άγονο βράχο της Ακρόπολης, το οποίο ήταν ικανό να ζήσει για αμέτρητους αιώνες και του οποίου ο καρπός και το υγρό (ελαιόλαδο) που θα παραλαμβανόταν από αυτόν, θα αποτελούσε κύρια πηγή τροφής για την ανθρωπότητα (Tsimidou et al., 2003). Όπως ήταν αναμενόμενο, η θεά Αθηνά κέρδισε και η πόλη έλαβε το όνομά της.

Επιπροσθέτως, στην αρχαιότητα, η ελιά αποτελούσε σύμβολο της νίκης και του συμβιβασμού (Rhizopoulou, 2004). Στους Ολυμπιακούς Αγώνες, κλαδιά αγριελιάς χρησιμοποιούνταν για τη δημιουργία ενός στεφανιού (κότινου), με το οποίο στεφάνωναν τους νικητές των Ολυμπιακών Αγώνων. Μια γιρλάντα από κλαδί ελιάς ήταν το επίσημο σύμβολο των Ολυμπιακών Αγώνων του 2004 (Εικόνα 1.2.1.4) (Rhizopoulou, 2004).



Εικόνα 1.2.1.4: Αυτή η γιρλάντα ελιάς είναι το επίσημο σύμβολο των ολυμπιακών αγώνων 2004, οι οποίοι πραγματοποιήθηκαν στην Αθήνα (Rhizopoulou, 2004).

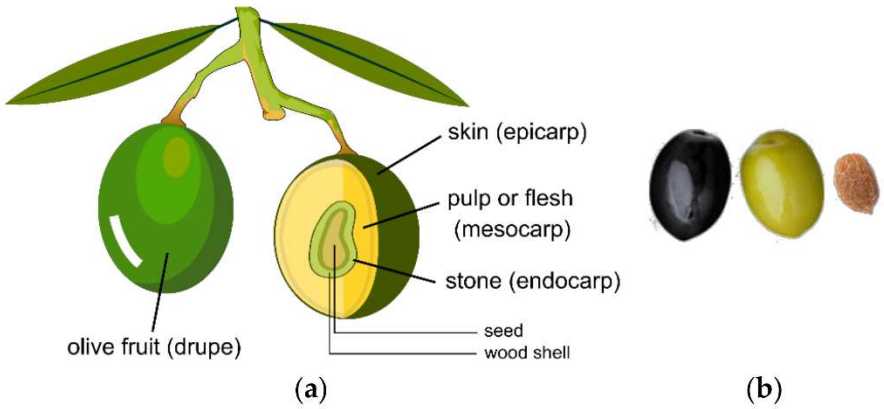
Στη σύγχρονη εποχή, η ελιά έχει εξαπλωθεί σε όλο τον κόσμο και έχει καλλιεργηθεί με επιτυχία σε πολλές περιοχές, που προηγουμένως δεν ήταν γνωστό ότι υπήρχαν ελαιόδεντρα (Kiritsakis and Shahidi, 2017). Ωστόσο, η λεκάνη της Μεσογείου, η οποία ήταν η αρχαία πατρίδα της, έχει τον μεγαλύτερο αριθμό ελαιόδεντρων και εξακολουθεί να αποτελεί την κύρια πηγή ελαιολάδου στον κόσμο (Kiritsakis and Shahidi, 2017).

1.2 Σύσταση καρπού της ελιάς

Ο καρπός της ελιάς είναι δρύπη (όπως το κεράσι ή το δαμάσκηνο), ωοειδούς σχήματος και αποτελείται από δύο κύρια μέρη: το περικάρπιο και το ενδοκάρπιο (Kiritsakis and Shahidi, 2017). Το περικάρπιο αντιπροσωπεύει το 66-85% του

βάρους του καρπού και αποτελείται από το επικάρπιο (ή φλούδα) και το μεσοκάρπιο (ή σάρκα ή πούλπα) (Εικόνα 1.2). Το ενδοκάρπιο, που ονομάζεται επίσης κουκούτσι ή πυρήνας, περιέχει τον σπόρο, ο οποίος αντιπροσωπεύει μικρότερο του 3% του βάρους του καρπού. Το περικάρπιο περιέχει το 96-98% της συνολικής ποσότητας ελαίου – το υπόλοιπο 2-4% του ελαίου βρίσκεται στο ενδοκάρπιο (Kiritsakis and Shahidi, 2017).

Ωστόσο, το σχήμα , το μέγεθος και η μορφολογία της επιφάνειας ποικίλουν μεταξύ των ποικιλιών. Το σχήμα μπορεί να είναι στρογγυλό έως μακρόστενο, αλλά και το χρώμα από πράσινο έως μαύρο, ανάλογα με την ποικιλία (Kiritsakis and Shahidi, 2017).



Εικόνα 1.2: a) Τμήματα του ελαιόκαρπου, όπου απεικονίζεται σχηματικά το ενδοκάρπιο, το μεσοκάρπιο και το επικάρπιο. b) Ο Ελαιόκαρπος και ο πυρήνας του (Valvez et al., 2021).

Τα κύρια συστατικά του ελαιόκαρπου είναι το νερό, τα σάκχαρα, οι πρωτεΐνες, το ελαιόλαδο, τα φαινολικά (ελευρωπαΐνη), οι χρωστικές, οι τοκοφερόλες, οι αρωματικές ενώσεις, οι τανίνες, καθώς και οι πηκτίνες (Kiritsakis and Shahidi, 2017). Η μέση χημική σύσταση των ελαιόκαρπων είναι: νερό (70%), ελαιόλαδο (22%), πρωτεΐνες (1.5-3%) και υδατάνθρακες (4%). Το υπόλοιπο ποσοστό αποτελούν διάφορες φυτικές ίνες, ανόργανα στοιχεία και αντιοξειδωτικές ουσίες (Kiritsakis and Shahidi, 2017).

- **Νερό**

Το νερό είναι ένα από τα κύρια συστατικά του ελαιόκαρπου και

αντιπροσωπεύει περίπου το 70% του βάρους του (Kiritsakis and Shahidi, 2017). Το νερό χρησιμεύει ως διαλύτης για τα οργανικά οξέα, τις τανίνες, την ελευρωπαΐνη και άλλα υδατοδιαλυτά συστατικά του καρπού. Η ποσότητα του νερού στον καρπό εξαρτάται από το στάδιο ωρίμανσης, την ποικιλία και άλλους παράγοντες όπως το κλίμα, την άρδευση και την υγρασία του εδάφους (Kiritsakis and Shahidi, 2017).

- **Ελαιόλαδο**

Το ελαιόλαδο αντιπροσωπεύει το 17-35% του βάρους της νωπής σάρκας και η παρουσία του επηρεάζει τη συνεκτικότητά της (Tzika et al., 2009, Τζίκα, 2008).

- **Φαινολικές ενώσεις**

Ο καρπός της ελιάς περιέχει υψηλές συγκεντρώσεις φαινολικών ενώσεων που μπορεί να κυμαίνονται μεταξύ 1 και 3% του νωπού βάρους του (Kiritsakis and Shahidi, 2017). Οι πολικές κατηγορίες φαινολών που υπάρχουν στις ελιές είναι οι φαινολικές αλκοόλες, όπως η υδροξυτυροσόλη (HT) και η τυροσόλη (T), τα φαινολικά οξέα, τα σεκοϊριδοειδή, τα φλαβονοειδή, οι λιγνάνες και οι υδροξυλο-ισοχρωμάνες (Mougiou et al., 2018). Τα σεκοϊριδοειδή είναι η πιο αντιπροσωπευτική κατηγορία, με την ελευρωπαΐνη να είναι παρούσα σε επίπεδα έως και 14% του ξηρού βάρους (Kiritsakis and Shahidi, 2017). Επίσης, κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης των ελιών, η ελευρωπαΐνη διασπάται σε υδροξυτυροσόλη. Αποτελεί ένα δευτερογενή μεταβολίτη, που συντίθεται χρησιμοποιώντας την τυροσίνη ως πρόδρομο μόριο (Mougiou et al., 2018).

- **Ελευρωπαϊνη**

Η κύρια μεμονωμένη φαινολική ένωση, η οποία συναντάται στον ελαιόκαρπο είναι η ελευρωπαΐνη, η οποία μειώνεται κατά την ωρίμανση και ανήκει στην ομάδα των σεκοϊριδοειδών (Ivancic et al., 2022). Η πικρή γεύση του καρπού αποδίδεται σε αυτήν (Tzika et al., 2009, Τζίκα, 2008).

- **Σάκχαρα**

Τα κύρια σάκχαρα που περιέχονται στον καρπό της ελιάς είναι η γλυκόζη

και η φρουκτόζη (Kiritsakis and Shahidi, 2017). Η γλυκόζη και σε μικρότερες ποσότητες η φρουκτόζη βρίσκονται επίσης στον πυρήνα του καρπού. Ωστόσο, κατά την ωρίμανση του καρπού, μειώνεται η περιεκτικότητα σε σάκχαρα (Kiritsakis and Shahidi, 2017).

- **Πρωτεΐνες**

Το μεσοκάρπιο του καρπού της ελιάς περιέχει 1,5 έως 3,0% πρωτεΐνες ανάλογα με την ποικιλία και το στάδιο ωρίμανσης. Όλα τα αμινοξέα που υπάρχουν στις άλλες φυτικές πρωτεΐνες βρίσκονται μόνο στον καρπό της ελιάς (Kiritsakis and Shahidi, 2017). Στην πραγματικότητα, οι πρωτεΐνες που προέρχονται από τον ελαιόκαρπο μπορεί να είναι χρήσιμες για την παραγωγή πολύτιμων ουσιών, όπως βιοενεργά πεπτίδια, τα οποία μπορούν να επιδείξουν πλήθος βιοενεργών ιδιοτήτων, περιλαμβανομένων των αντι-υπερτασικών και αντιοξειδωτικών δράσεων (Rodríguez et al., 2008).

- **Χρωστικές**

Οι χρωστικές ουσίες παίζουν καθοριστικό ρόλο στο χρώμα του ελαιόλαδου και σε ορισμένες από τις ευεργετικές ιδιότητές του για την υγεία (Vicario et al., 2023). Οι κυριότερες χλωροφύλλες, όπως η χλωροφύλλη α και β, καθώς και τα καροτενοειδή, όπως η λουτεΐνη και το β-καροτένιο, υπάρχουν στο περικάρπιο της ελιάς και συμμετέχουν στη διαδικασία της φωτοσύνθεσης. Κατά τη μεταφορά των χρωστικών από τον καρπό στο ελαιόλαδο, παρατηρούνται σημαντικές αλλαγές που επηρεάζονται από διάφορους παράγοντες, όπως η έκθεση στο φως και το οξυγόνο (Vicario et al., 2023).

Στα πρώτα στάδια ανάπτυξης του ελαιόκαρπου, όπου είναι άωρος, το χρώμα του είναι πράσινο και οφείλεται στην παρουσία χλωροφυλλών (Kiritsakis and Shahidi, 2017). Στα στάδια της ωρίμανσης του καρπού, παρατηρούνται έντονες αλλαγές στη φυσιολογία του, όπως μεταβολές στο χρώμα, που προέρχονται από τις μεταβολές στις χρωστικές ενώσεις (Skodra et al., 2021). Συγκεκριμένα, το μωβ και το μπλε χρώμα οφείλονται στις ανθοκυανίνες και το μαύρο χρώμα σχηματίζεται από την οξείδωση φαινολικών ενώσεων (Kiritsakis

and Shahidi, 2017). Οι ανθοκυανίνες αυξάνονται ραγδαία κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης των ελιών, φθάνοντας σε ένα μέγιστο και στη συνέχεια μειώνονται όταν ο καρπός είναι υπερώριμος (Vlahov and Solinas, 1993).

Εντούτοις, το χρώμα του ελαιόκαρπου, το οποίο μεταβάλλεται σταδιακά, είναι συνυφασμένο με τις αλλαγές των προαναφερθέντων χρωστικών.

1.2.1 Ανάπτυξη και ωρίμανση του καρπού ελιάς

Κατά την ανάπτυξη του καρπού της ελιάς πραγματοποιούνται εμφανείς αλλαγές. Συγκεκριμένα, μεταβάλλεται το μέγεθος (βάρος, διαστάσεις, σχήμα), η σύσταση (περιεκτικότητα σε ελαιόλαδο), το χρώμα, η συνεκτικότητα (πόσο μαλακός είναι), καθώς και η γεύση (Guo et al., 2018). Η ωρίμανση των καρπών αποτελεί σημαντικό παράγοντα που επηρεάζει τη χημική σύνθεση και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του ελαιόλαδου (Tous, 2017). Η περίοδος ανάπτυξης και εξέλιξης του καρπού για τους ελιές είναι 6 έως 7 μήνες, περίοδος η οποία θεωρείται εξαιρετικά μεγάλη σε σύγκριση με άλλα πυρηνόκαρπα (Kiritsakis and Sakellaropoulos, 2017).

Ακόμη, η προχωρημένη ωρίμανση των καρπών μειώνει τις δραστηριότητες της LOX, μειώνοντας την ποσότητα των πτητικών ενώσεων που είναι υπεύθυνες για τα θετικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του εξαιρετικά παρθένου ελαιόλαδου (Tous, 2017).

Τα στάδια ωρίμανσης της ελιάς είναι ορατά με γυμνό μάτι, κυρίως από το χρώμα του φλοιού, και είναι σημαντικό να τα παρατηρούμε προσεκτικά για να προσδιορίσουμε την κατάλληλη στιγμή για τη συγκομιδή τους. Όπως τα περισσότερα φρούτα, έτσι και οι ελιές περνούν από διάφορες φάσεις ανάπτυξης, οι οποίες περιλαμβάνουν πέντε βασικά στάδια (Εικόνα 1.2.1).

1. **Άγουρες ελιές**: Σε αυτό το πρώτο στάδιο, οι ελιές εξακολουθούν να αναπτύσσονται. Η σάρκα τους είναι σκληρή. Το στάδιο αυτό διαρκεί τους μήνες Ιούνιο-Ιούλιο.

2. **Πράσινες ελιές**: Σε αυτή τη φάση, οι ελιές είναι πράσινες και πλούσιες σε αντιοξειδωτικά, όπως τα σεκοϊριδοειδή και η ελευρωπαΐνη (Guo et

al., 2018). Σε αυτό το στάδιο, το σαρκώδες μέρος αρχίζει να αναπτύσσεται, ενώ μέχρι το τέλος ο πυρήνας αποκτά το τελικό του μέγεθος και σκληραίνει. Είναι ιδανικές για την παραγωγή ελαιόλαδων με έντονη φρουτώδη γεύση και ευχάριστες πικάντικες νότες (Guo et al., 2018).



Εικόνα 1.2.1. : Στάδια ωρίμανσης ελαιόκαρπων της. Ακολουθώντας την πορεία ανάπτυξης του καρπού, από αριστερά προς τα δεξιά, παρατηρείται η αλλαγή χρώματός, λόγω της αντικατάστασης της χλωροφύλλης με ανθοκυανίνες (IOC, 2011, Council, 2011, 2011).

3. **Ελιές Veraison**: Στο στάδιο αυτό, το χρώμα των ελιών αρχίζει να αλλάζει από πράσινο σε μωβ, καθώς η χρωστική της χλωροφύλλης αντικαθίσταται από την ανθοκυανίνη (Kiritsakis and Sakellaropoulos, 2017). Η συγκομιδή πραγματοποιείται συνήθως σε αυτό το σημείο, καθώς τότε επιτυγχάνεται η παραγωγή λαδιού με τις καλύτερες δυνατές οργανοληπτικές ιδιότητες. Αυτό είναι επίσης το καλύτερο στάδιο συγκομιδής για τις επιτραπέζιες ελιές.

4. **Πλήρως ώριμες ελιές**: Σε αυτό το στάδιο, ο φλοιός των ελιών είναι μαύρος (Carli, 2016). Αυτή είναι η καλύτερη φάση για την παραγωγή ελαιολάδου από άποψη ποσότητας, αλλά δεν είναι η πιο κατάλληλη αν επιδιώκουμε την ανώτερη ποιότητα (Carli, 2016). Το στάδιο αυτό λαμβάνει χώρα τον μήνα Οκτώβριο.

5. **<u>Υπερώριμες ελιές</u>**: Σε αυτή την τελική φάση, οι ελιές αρχίζουν να πέφτουν από το δέντρο και είναι επιρρεπείς σε προσβολές από έντομα. Οι ελιές αυτές παράγουν λάδι χαμηλότερης ποιότητας, με μεγαλύτερη οξύτητα και λιγότερο έντονη γεύση.

Αξιοσημείωτο είναι ότι οι φαινολικές ενώσεις αλλάζουν ποιοτικά και ποσοτικά κατά την περίοδο ωρίμανσης, φθάνοντας στην υψηλότερη περιεκτικότητά τους στο στάδιο μεταξύ του κιτρινοπράσινου και του μωβ χρώματος (Kiritsakis and Sakellaropoulos, 2017). Κατά το στάδιο της όψιμης ωρίμανσης, η συνολική ποσότητα των φαινολικών ενώσεων, ιδίως της ελευρωπαΐνης, αποικοδομείται από το ένζυμο εστεράση και μειώνεται σημαντικά (Kiritsakis and Sakellaropoulos, 2017).

1.3 Συστήματα Καλλιέργειας Ελιάς

Τα πιο συνήθη χρησιμοποιούμενα καλλιεργητικά συστήματα ελαιώνων είναι τα ακόλουθα:

- Βιολογική Καλλιέργεια (Organic Cultivation), BD
- Βιοδυναμική Καλλιέργεια (Biodynamic Cultivation), OR
- Ολοκληρωμένης Διαχείρισης Καλλιέργεια (Integrated Management System), IM
- Συμβατική Καλλιέργεια (Conventional Cultivation), CN

1.3.1 Βιοδυναμική Καλλιέργεια (Biodynamic Cultivation, BD)

Η βιοδυναμική γεωργία αποτελεί πρόγονο της βιολογικής γεωργίας (Paull and Hennig, 2020). Η πρώτη αναφορά στη βιοδυναμική γεωργία έγινε το 1924 από τον Rudolf Steiner, στο χωριό Koberwitz, της Γερμανίας (Paull and Hennig, 2020), ο οποίος την παρουσίασε σε 111 αγρότες, ως μία εναλλακτική μορφή γεωργίας, η οποία στις ημέρες μας θεωρείται μορφή βιολογικής γεωργίας (Santoni et al., 2022), καθώς απορρίπτει την επικρατούσα υιοθέτηση συνθετικών χημικών ουσιών (Paull and Hennig, 2020) και στοχεύει στη χρήση ενός συνόλου παρασκευασμάτων, για

την ενίσχυση της λίπανσης και την εφαρμογή άλλων ομοιοπαθητικών θεραπειών, που βασίζονται σε φυτικά εκχυλίσματα. Αυτή η ολιστική προσέγγιση έχει απώτερο σκοπό τη διατήρηση της ζωής και της υψηλής ποιότητας του εδάφους, αφού ο Steiner είχε χαρακτηρίσει «το αγρόκτημα ως οργανισμό» (Paull and Hennig, 2020), με σκοπό την ανάκτηση, διατήρηση ή και βελτίωση της οικολογικής αρμονίας .

Σύμφωνα με τον παγκόσμιο χάρτη με τα στατιστικά εκταρίων βιοδυναμικών καλλιεργειών των (Paull and Hennig, 2020), κυρίαρχη θέση έχει η Ευρώπη. Αναλυτικότερα, η Γερμανία κατέχει την πρώτη θέση με 84.426 εκτάρια βιοδυναμικών καλλιεργειών και ποσοστό 34% του κόσμου συνολικά, ενώ ακολουθεί η Αυστραλία (Jaeger et al., 2023) με 49.797 εκτάρια βιοδυναμικών καλλιεργειών και ποσοστό 20% του κόσμου συνολικά και η Γαλλία με 14.629 εκτάρια βιοδυναμικών καλλιεργειών και ποσοστό 6% του κόσμου συνολικά. Η Ελλάδα καταλαμβάνει 381 εκτάρια του κόσμου με βιοδυναμικές καλλιέργειες, αφήνοντας κατά πολύ πίσω το Βέλγιο (143 εκτάρια), την Αίγυπτο (2,610 εκτάρια), την Ιταλία (10,781 εκτάρια), καθώς και άλλες πολλές χώρες (Paull and Hennig, 2020).

Η βιοδυναμική γεωργία και η βιολογική γεωργία έχουν πολλά κοινά χαρακτηριστικά, όπως η χρήση φυσικών λιπασμάτων και η αποφυγή συμβατικών ζιζανιοκτόνων, εντομοκτόνων και μυκητοκτόνων (Muhie, 2022). Η βασική διαφορά μεταξύ της βιοδυναμικής και βιολογικής καλλιέργειας είναι ότι η βιοδυναμική καλλιέργεια εξετάζει τους φυσικούς ρυθμούς, όπως τις σεληνιακές και ηλιακές κινήσεις, προκειμένου να προσδιοριστεί ο βέλτιστος χρόνος για τη συγκομιδή των φυτών (Muhie, 2022). Είναι μια ολιστική τεχνική στην οποία εξετάζονται όλα τα ζωντανά διασυνδεδεμένα συστήματα, συμπεριλαμβανομένων των ζώων, των φυτών και ολόκληρου του σύμπαντος (Muhie, 2022).

Ως εκ τούτου, η βιοδυναμική γεωργία συμβάλλει στη βιωσιμότητα της γεωργίας βελτιώνοντας την ποιότητα του εδάφους, την ποσότητα και τη θρεπτική αξία των προϊόντων και τον έλεγχο των εντόμων (Muhie, 2022). Κατά συνέπεια, η βιοδυναμική θεωρείται ως μια πιθανή διαδρομή προς την ολοκληρωμένη και βιώσιμη γεωργία του μέλλοντος (Muhie, 2022).

1.3.2 Βιολογική Καλλιέργεια (Organic Cultivation, OR)

Στον δυτικό κόσμο, το ενδιαφέρον για τη βιολογική γεωργία βρίσκεται επί του παρόντος σε απαράμιλλα υψηλό επίπεδο (Litterick and Watson, 2003). Αυτό είναι άρρηκτα συνδεδεμένο με τις αρνητικές επιπτώσεις που επιφέρει η συμβατική γεωργία ευρύτερα στην κοινωνία, το περιβάλλον, το οικοσύστημα, αλλά και στην υγεία του ανθρώπου, μέσω της εντατικής χρήσης συνθετικών χημικών σκευασμάτων, της διάβρωσης του εδάφους, της απώλειας βιοποικιλότητας, καθώς και της παρατεταμένης εκμετάλλευσης της γης και των υδάτινων πόρων (Raimondo et al., 2021). Όλα αυτά οδήγησαν σε μία τάση αναζήτησης αγροτικών προϊόντων, τα οποία παράγονται με περισσότερο φυσικό τρόπο, σε σχέση με τα προϊόντα της συμβατικής γεωργίας (Berg et al., 2018).

Η βιολογική γεωργία αποτελεί ένα σύστημα παραγωγής, το οποίο αποφεύγει ή εξαιρεί ευρέως τη χρήση συνθετικών χημικών λιπασμάτων, φυτοφαρμάκων, ρυθμιστών αύξησης και πρόσθετων ζωοτροφών (Berg et al., 2018). Τα βιολογικά συστήματα καλλιέργειας βασίζονται στην αμειψισπορά, στις ζωικές κοπριές, τα χούμος, τα οργανικά απόβλητα κ.ά. (Litterick and Watson, 2003).

Σύμφωνα με τον φορέα International Federation of Organic Agriculture Movements (I.F.O.A.M.), βιολογική γεωργία είναι ένας οικολογικά, κοινωνικά και οικονομικά μακροπρόθεσμα βιώσιμος τρόπος άσκησης της γεωργίας, που ελαχιστοποιεί την επιβάρυνση του περιβάλλοντος και τη χρήση μη ανανεώσιμων φυσικών πόρων.

Το έτος 2020, σύμφωνα με το Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, στην Ελλάδα, οι καλλιεργήσιμες εκτάσεις βιολογικής παραγωγής ελαιόδεντρων καταλαμβάνουν 38.828 εκτάρια. Σύμφωνα με τα πιο πρόσφατα στοιχεία, πάνω από 186 χώρες έχουν εφαρμόσει ενεργά τη βιολογική γεωργία από το 2018. Η πρακτική της βιολογικής γεωργίας έχει αυξηθεί, φτάνοντας τα 2,8 εκατομμύρια το 2018.

Κάνοντας μία αναδρομή, είναι προφανές ότι υπήρχαν τρία βασικά κινήματα, ως πρόδρομα της βιολογικής γεωργίας και εμπνέονται από διάφορα φιλοσοφικά ρεύματα, καθώς και το πολιτικοοικονομικό πλαίσιο των χωρών, στις οποίες εμφανίσθηκαν (Πολυράκης, 2003).

Το πρώτο κίνημα εμφανίστηκε στη Γερμανία με κύριο εκφραστή τον Rudolf

Steiner, όπως αναφέρεται στην ενότητα 1.3.1. Ο μαθητής του Pfeiffer ανέπτυξε τη βιοδυναμική γεωργία (biodynamic agriculture), που προωθεί την άποψη μιας υγιούς και ισορροπημένης διατροφής που να στηρίζεται σε διάφορες βασικές αρχές του βιολογικού τρόπου παραγωγής, όπως η απόρριψη των ανόργανων διαλυτών λιπασμάτων (αναλυτικότερα στην ενότητα 1.3.1).

Το δεύτερο κίνημα εμφανίστηκε στην Αγγλία μετά το Β' Παγκόσμιο Πόλεμο με την ανάπτυξη της θεωρίας της οργανικής γεωργίας (organic agriculture), που επικεντρώνεται στη βιολογική ισορροπία και τη γονιμότητα του εδάφους, για τις οποίες έχει ζωτική σημασία η χρησιμοποίηση λιπασματοποιημένων οργανικών ουσιών (Πολυράκης, 2003). Οι ουσίες αυτές έχουν επίσης ζωτική σημασία για την ανθεκτικότητα των φυτών στα έντομα και τις ασθένειες (Πολυράκης, 2003).

Το τρίτο κίνημα αναπτύχθηκε στην Ελβετία, κατά τη δεκαετία του 1940 με πρωτοβουλία του Hans Peter Rusch και του Hans Muller, οι οποίοι έθεσαν τα θεμέλια της βιολογικής γεωργίας . Οι στόχοι του κινήματος αυτού είναι η όσο το δυνατόν μεγαλύτερη χρησιμοποίηση ανανεώσιμων πόρων, η χρησιμοποίηση επιφανειακής λιπασματοποίησης και ο περιορισμός της εργασίας στο έδαφος, προκειμένου να αποτραπούν οι διαταραχές της μικροχλωρίδας του εδάφους (Πολυράκης, 2003).

Τα πέντε κύρια χαρακτηριστικά ενός συστήματος βιολογικής γεωργίας είναι: ο σεβασμός για το περιβάλλον και τα ζώα, η προώθηση της αειφόρου μεθόδου καλλιέργειας, η χρήση μη χημικών λιπασμάτων και παρασίτων/ασθενειών, η παραγωγή τροφίμων υψηλής ποιότητας και η μη χρήση γενετικά τροποποιημένων καλλιεργειών (Lairon, 2010).

1.3.3 Ολοκληρωμένης Διαχείρισης Καλλιέργεια (Integrated management system, IM)

Το σύστημα ολοκληρωμένης διαχείρισης μπορεί να χαρακτηριστεί ως «ένα ολιστικό πρότυπο χρήσης της γης που ενσωματώνει τις φυσικές διαδικασίες ρύθμισης με τις γεωργικές δραστηριότητες για την επίτευξη μέγιστης αντικατάστασης των εισροών εκτός της γεωργικής εκμετάλλευσης και τη διατήρηση του γεωργικού εισοδήματος» (Pacini et al., 2003).

Το ολοκληρωμένο σύστημα γεωργίας (ή αλλιώς ολοκληρωμένη γεωργία) αναφέρεται σε μια πιο ολιστική προσέγγιση της γεωργίας σε σύγκριση με τις παραδοσιακές μεθόδους μονοκαλλιέργειας (Soni et al., 2014). Περιλαμβάνει συστήματα που συνδυάζουν την κτηνοτροφία με τη φυτική παραγωγή ή ακόμη και την ιχθυοκαλλιέργεια με την κτηνοτροφία, και είναι γνωστά και ως ολοκληρωμένα βιοσυστήματα (Soni et al., 2014). Στο πλαίσιο αυτής της προσέγγισης, αξιοποιούνται οι αλληλεπιδράσεις διαφορετικών κλάδων της γεωργίας, ώστε τα «απόβλητα» μιας δραστηριότητας να αποτελούν πολύτιμους πόρους για μια άλλη, μειώνοντας τα κόστη και βελτιώνοντας τις συνολικές αποδόσεις και το εισόδημα (Soni et al., 2014). Έτσι, το ολοκληρωμένο γεωργικό σύστημα λειτουργεί ως ένα σύστημα που περιλαμβάνει διάφορες συνδεδεμένες δραστηριότητες. Έχοντας ως στόχο τη βιωσιμότητα, εξασφαλίζει ότι τα απόβλητα από μία γεωργική δραστηριότητα μετατρέπονται σε πόρους για μια άλλη, με αποτέλεσμα τη μείωση των αποβλήτων και την αύξηση της συνολικής παραγωγικότητας των γεωργικών συστημάτων (Soni et al., 2014).

Συγκεκριμένα, η ολοκληρωμένης διαχείρισης γεωργία ενδιαφέρεται ολιστικά για όλα τα στάδια της παραγωγικής διαδικασίας από την πρωτογενή παραγωγή μέχρι το τελικό προϊόν, συνδυάζοντας βιολογικές, φυσικές, χημικές και τεχνολογικές μεθόδους (Πολυράκης, 2003). Οι πρωταρχικοί στόχοι της ολοκληρωμένης διαχείρισης είναι η μεγιστοποίηση της απόδοσης των καλλιεργειών με μείωση της χρήσης λιπασμάτων και φυτοφαρμάκων, καθώς και με αποφυγή συσσώρευσης πληθυσμών εχθρών και εντόμων, διατηρώντας τους σε χαμηλό επίπεδο (Gupta and Garg, 2020). Η εφαρμογή της ολοκληρωμένης διαχείρισης στη γεωργική παραγωγή έχει ξεκινήσει από Ευρωπαϊκές χώρες την δεκαετία του 1970 και έπειτα επεκτάθηκε και σε άλλες χώρες (Καρυπίδης et al., 2008). Αποκλειστικός στόχος της αρχικά ήταν να επιτευχθεί μείωση του επιπέδου των φυτοφαρμάκων που χρησιμοποιούνταν στην παραγωγή φρούτων και λαχανικών (Καρυπίδης et al., 2008). Το κράτος με τον πιο ενεργό ρόλο στην έκταση της ολοκληρωμένης γεωργίας στην Ευρωπαϊκή Ένωση είναι η Μεγάλη Βρετάνια, η οποία καταλαμβάνει σχεδόν το 10% της συνολικής καλλιεργούμενης γης, ενώ ακολουθεί η Δανία και η Αυστρία (Δελογιάννης, 2021).

Στη χώρα μας, οι δημόσιες αρχές από την δεκαετία του 1990, λαμβάνοντας υπόψη την δυναμική των μορφών ανταγωνισμού με βάση τις απαιτήσεις ποιότητας που αναπτύσσονταν στις παγκοσμιοποιημένες αγορές των γεωργικών προϊόντων, είχαν ξεκινήσει την προσπάθεια για την ανάπτυξη εθνικών προτύπων για την πιστοποίηση προϊόντων (Καρυπίδης et al., 2008). Σήμερα, τρία είναι τα σημαντικότερα διαθέσιμα πρότυπα Ολοκληρωμένης Διαχείρισης στην Ελλάδα, ως προς την ευρύτητα της απήχησής τους: το «Global G.A.P. Integrated Farm Assurance Standard», το «AGRO 2: Διαχείριση Αγροτικού Περιβάλλοντος-Ολοκληρωμένη Διαχείριση στη Γεωργική Παραγωγή» και η ειδική περίπτωση της πιστοποίησης των προϊόντων βιολογικής παραγωγής σύμφωνα με τον Κανονισμό (ΕΚ) 848/2018 (Καρυπίδης et al., 2008).

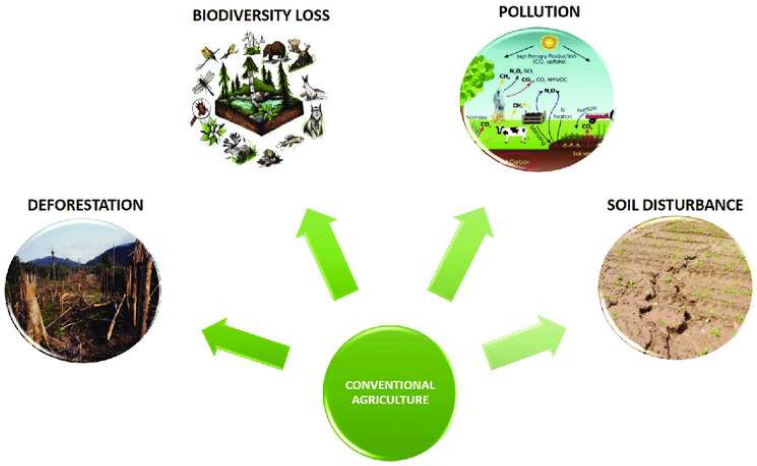
Εν πρώτοις, σύμφωνα με τους (Καρυπίδης et al., 2008), το πρότυπο Global G.AP. είναι το αποτέλεσμα μίας πρωτοβουλίας του ιδιωτικού τομέα, που αρχικά συστάθηκε από μία ομάδα μεγάλων λιανοπωλητών νωπών φρούτων και λαχανικών, κυρίως της βόρειας Ευρώπης, την περίοδο του 1997. Το 2004, οι μεγάλες αλυσίδες λιανεμπορίου της Ευρώπης άρχισαν να δείχνουν ενδιαφέρον, με αποτέλεσμα η Global G.A.P. να αποκτήσει παγκόσμια εμβέλεια (Καρυπίδης et al., 2008). Στόχος αυτής της πρωτοβουλίας ήταν να θέσει προαιρετικές προδιαγραφές επίδοσης με καθορισμένα κριτήρια σχετικά με διάφορες πτυχές της διαδικασίας παραγωγής σε επίπεδο γεωργικής εκμετάλλευσης και την «ανεξάρτητη» πιστοποίηση των γεωργικών προϊόντων (Καρυπίδης et al., 2008). Σήμερα, ο δηλωμένος σκοπός του προτύπου αυτού, είναι η ασφαλής και βιώσιμη γεωργική παραγωγή που θα ωφελεί τους παραγωγούς, τους εμπόρους λιανικής και τους καταναλωτές σε όλο τον κόσμο.

Δευτερευόντως, σύμφωνα με τους ίδιους (Καρυπίδης et al., 2008), το πρότυπο AGRO 2 (2-1, 2-2) εκπονήθηκε το 1999, από τον Οργανισμό Πιστοποίησης & Επίβλεψης Γεωργικών Προϊόντων (ΟΠΕΓΕΠ). Για την καλλιέργεια της ελιάς εφαρμόζεται το πρότυπο AGRO 2.2.3 (Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, ΥΠΑΤ, www.minagric.gr). Το πρότυπο AGRO 2-1 περιλαμβάνει όλες τις γενικές αρχές και απαιτήσεις και προδιαγραφές που πρέπει να τηρεί ένας παραγωγός, για να πιστοποιήσει τα προϊόντα του (Πολυράκης, 2003). Περαιτέρω, το πρότυπο AGRO 2-2 περιλαμβάνει τις τεχνικές και νομικές απαιτήσεις για την

εφαρμογή ενός συστήματος ολοκληρωμένης διαχείρισης. Συγκεκριμένα, περιλαμβάνει μέτρα φιλοπεριβαλλοντικής προστασίας (φυτοπροστασία, λίπανση, άρδευση, συγκομιδή κλπ.) (Καρυπίδης et al., 2008).

1.3.4 Συμβατική Καλλιέργεια (Conventional Cultivation, CN)

Η συνεχής αύξηση του πληθυσμού στον πλανήτη, συνεπάγεται και την αύξηση των απαιτήσεων σε παραγωγή τροφίμων. Η συμβατική καλλιέργεια ήρθε για να επιλύσει το πρόβλημα αυτό. Η συμβατική γεωργία αποτελεί ένα σύστημα, του οποίου ο κύριος σκοπός είναι η μεγιστοποίηση της παραγωγής, για την επίλυση του προβλήματος υποσιτισμού, και κατ' επέκταση η μεγιστοποίηση των κερδών (Sumberg and Giller, 2022).



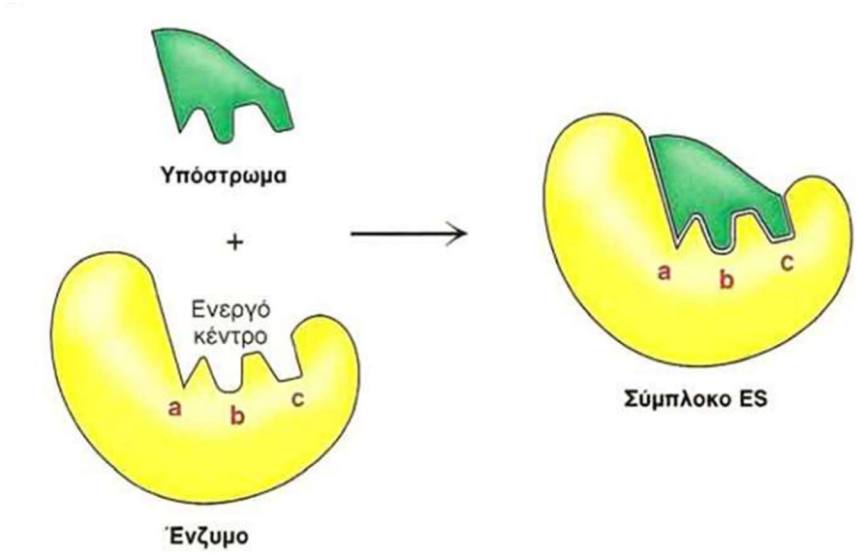
Εικόνα 1.3.4: Αρνητικές επιπτώσεις της συμβατικής καλλιέργειας στο περιβάλλον (Coulibaly et al., 2021). Αυτές αποτελούν η αποψίλωση (deforestation), η μείωση της βιοποικιλότητας (biodiversity loss), η μόλυνση του περιβάλλοντος (pollution) και η διάβρωση του εδάφους (soil disturbance).

Ωστόσο, έχει και σημαντικές επιπτώσεις στο οικοσύστημα. Συγκεκριμένα, παρουσιάζει μεγάλη εξάρτηση από τη χρήση συνθετικών λιπασμάτων και άλλων χημικών (εντομοκτόνων, μυκητοκτόνων κ.ά.), αλλά και από την εντατική εδαφοκατεργασία και την μονοκαλλιέργεια, που αποτελούν ραχοκοκαλιά της συμβατικής γεωργίας (Sumberg and Giller, 2022). Όλα αυτά, όμως, έχουν δυσμενείς

επιπτώσεις στο περιβάλλον και στον άνθρωπο. Αναλυτικότερα, εξαντλεί τους φυσικούς πόρους, λόγω της αλόγιστης χρήσης νερού για άρδευση, προκαλεί διάβρωση του εδάφους, εξαιτίας της συχνής εδαφοκατεργασίας, καθώς και μόλυνση του περιβάλλοντος, των επιφανειακών και υπόγειων υδάτων και της ατμόσφαιρας, λόγω των απορροών των λιπασμάτων και φυτοφαρμάκων (Coulibaly et al., 2021). Ταυτόχρονα, προκαλεί σημαντική μείωση της βιοποικιλότητας, εξαιτίας της θανάτωσης ωφέλιμων μικροοργανισμών (Εικόνα 1.3.4)(Coulibaly et al., 2021). Επιπροσθέτως, η έκθεση σε χημικά ελλοχεύει σοβαρούς κινδύνους και για την υγεία, τόσο των εργαζομένων, όσο και των καταναλωτών (Πολυράκης, 2003). Σημαντικό μειονέκτημα της συμβατικής καλλιέργειας αποτελεί και το υψηλό κόστος για τον παραγωγό.

1.4 Ένζυμα

Τα ένζυμα αποτελούν πρωτεϊνικά μόρια που ενεργούν ως καταλύτες των βιολογικών συστημάτων και μόρια που προσδιορίζουν τον τρόπο των χημικών μετασχηματισμών. Συγκεκριμένα, επιταχύνουν μία συγκεκριμένη χημική αντίδραση, χωρίς να καταναλώνονται τα ίδια (Boyer, 2018).



Εικόνα 1.4: Μοντέλο «κλειδιού-κλειδαριάς» της πρόσδεσης του υποστρώματος πάνω στο ένζυμο. Στο μοντέλο αυτό, το ενεργό κέντρο του μη προσδεδεμένου ενζύμου έχει συμπληρωματικό σχήμα προς εκείνο του υποστρώματος

Τα κυριότερα χαρακτηριστικά των ενζύμων είναι η καταλυτική ισχύς και η εξειδίκευσή τους (Boyer, 2018).Τα υποστρώματα είναι μόρια, τα οποία θα μετατραπούν σε προϊόν, αφότου προσδεθούν σε μια ειδική περιοχή του ενζύμου, όπου λαμβάνει χώρα η κατάλυση και ονομάζεται ενεργό κέντρο. Τα περισσότερα ένζυμα είναι πολύ επιλεκτικά με τα υποστρώματα που προσδένουν (Boyer, 2018). Η εξειδίκευση των ενζύμων οφείλεται στην ακριβή αλληλεπίδραση ενζύμου-υποστρώματος, η οποία με τη σειρά της προάγει τον σχηματισμό της μεταβατικής κατάστασης. Η σχέση ενζύμου-υποστρώματος μπορεί να χαρακτηριστεί ως σχέση «κλειδιού-κλειδαριάς» (Εικόνα 1.4)(Boyer, 2018).

Η πραγματική γραμμομοριακή συγκέντρωση ενός ενζύμου σε ένα εκχύλισμα από κύτταρα ή σε μία καθαρισμένη παρασκευή είναι σπανίως γνωστή (Boyer, 2018). Σύμφωνα με τον ίδιο συγγραφέα, μόνο αν το ένζυμο βρίσκεται σε καθαρή κρυσταλλική μορφή, είναι προσεκτικά ζυγισμένο και διαλυμένο σε διαλύτη μπορεί να προσδιοριστεί η πραγματική γραμμομοριακή συγκέντρωση με ακρίβεια. Όμως, μπορούμε να αναπτύξουμε μία ακριβή και με υψηλή επαναληψιμότητα δοκιμή για την ενζυμική δραστικότητα. Κατά συνέπεια, η ποσότητα ενός συγκεκριμένου ενζύμου που βρίσκεται στο διάλυμα τις περισσότερες φορές εκφράζεται σε μονάδες δραστικότητας (Boyer, 2018). Οι πιο κοινές από αυτές τις μονάδες είναι τρεις, η διεθνής μονάδα (International Unit, IU), η μονάδα katal, καθώς και η ειδική δραστικότητα (specific activity) (Boyer, 2018). Ο οργανισμός International Unit of Biochemistry Commission on Enzymes έχει προτείνει τη χρήση μίας πρότυπης μονάδας, τη διεθνή μονάδα (international unit) ή απλά μονάδα (Unit) ενζυμικής δραστικότητας (Boyer, 2018). Μία μονάδα Unit του ενζύμου αντιστοιχεί στην ποσότητα που καταλύει τη μετατροπή ενός μmole υποστρώματος σε προϊόν ανά λεπτό, υπό συγκεκριμένες συνθήκες pH, θερμοκρασίας, ιοντικής ισχύος και συγκέντρωσης υποστρώματος (Boyer, 2018). Συνεπώς, γίνεται αντιληπτό ότι πρέπει να δίνεται ιδιαίτερη προσοχή σε αυτές τις συνθήκες, κατά τη μελέτη ενός ενζύμου.

1.4.1 Δράση των οξειδωτικών ενζύμων στον καρπό της ελιάς

Είναι γνωστό ότι ένας σημαντικός αριθμός ενζύμων εντοπίζεται στον ελαιόκαρπο (Τζίκα, 2008). Είναι ιδιαίτερα σημαντικό το οξειδωτικό σύστημα, αφενός στην ανάπτυξη του καρπού και αφετέρου στην ποιότητα του παραγόμενου ελαιόλαδου από τους ελαιόκαρπους (Γεωργαλάκη, 1999). Επίσης, η οξείδωση των καρπών της ελιάς έχει άμεσα συνέπειες και στο κόστος της διαδικασίας παραγωγής τους (Liu et al., 2023).

Τα οξειδωτικά ένζυμα εμπλέκονται στους μηχανισμούς εκείνους, οι οποίοι οδηγούν σε προϊόν με δυσάρεστους οργανοληπτικούς χαρακτήρες (Τζίκα, 2008). Αυτό καθιστά απαραίτητη τη διερεύνηση του οξειδωτικού συστήματος στους ελαιόκαρπους, στο οποίο και επικεντρωθήκαμε.

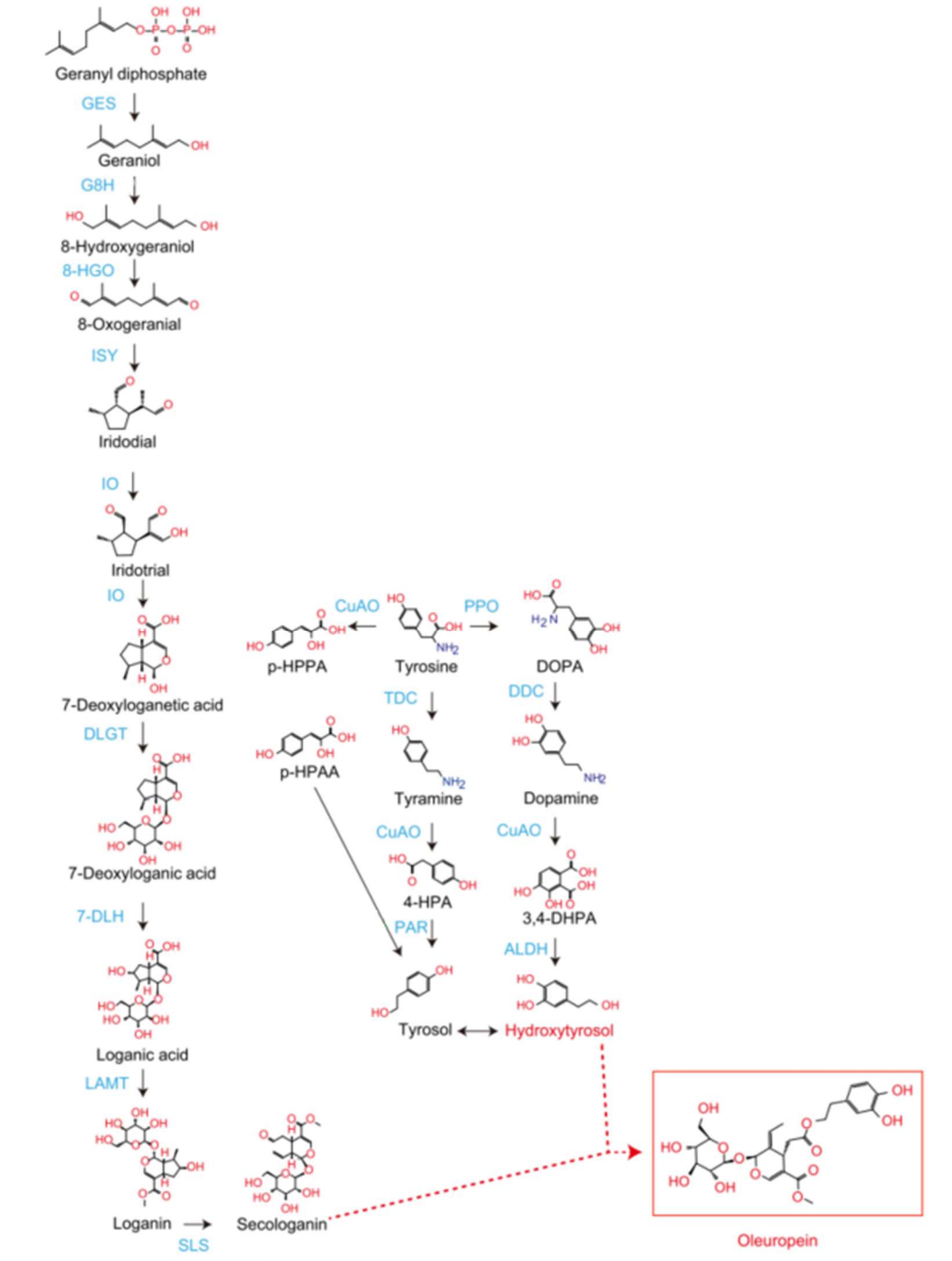
Διαδεδομένο φαινόμενο αποτελεί η αντίδραση καστάνωσης (αμαύρωσης), η οποία προκύπτει από μηχανικό τραυματισμό μετασυλλεκτικά, κατά την αποθήκευση ή μεταποίηση φρούτων και λαχανικών (Martinez and Whitaker, 1995). Από την αντίδραση αυτή προκύπτουν σαν προϊόντα οι κινόνες, οι οποίες στη συνέχεια συμπυκνώνονται και σχηματίζουν σκουρόχρωμες χρωστικές (μελανίνες) (Martinez and Whitaker, 1995).

Τα σημαντικότερα οξειδωτικά ένζυμα, τα οποία καθορίζουν την αντίδραση της ενζυμικής αμαύρωσης και αποικοδομούν τις φαινόλες είναι: η Πολυφαινολοξειδάση (PPO) (Martinez and Whitaker, 1995), καθώς και η Υπεροξειδάση (POD)(García-Rodríguez et al., 2011), σε συνδυασμό με κάποιες σημαντικούς παραμέτρους, όπως το pH, η θερμοκρασία και η διαθεσιμότητα οξυγόνου (Martinez and Whitaker, 1995). Στην παρούσα εργασία λοιπόν, θα ασχοληθούμε με τη μελέτη των δύο αυτών πολύ σημαντικών ενζύμων.

1.4.2 Βιοσυνθετικό μονοπάτι φαινολών της ελιάς

Αρκετές μελέτες έχουν επικεντρωθεί στο ρόλο που διαδραματίζουν τόσο η PPO όσο και η POD στο μεταβολισμό των φαινολικών ενώσεων της ελιάς (García-Rodríguez et al., 2011). Το μονοπάτι βιοσύνθεσης της υδροξυτυροσόλης ξεκινά από την τυροσίνη και στη συνέχεια καταλύεται από την οξειδάση των πολυφαινολών (PPO),

την οξειδάση των πρωτογενών αμινών (που περιέχουν χαλκό) (CuAO) και την αποκαρβοξυλάση της τυροσίνης (TDC) για να σχηματιστούν η διυδροξυφαινυλαλανίνη (DOPA), το p-υδροξυφαινυλοξικό οξύ (p-HPAA) και η τυραμίνη, αντίστοιχα (Rao et al., 2021).



Εικόνα 1.4.2: Μονοπάτι βιοσύνθεσης της υδροξυτυροσόλης και της ελευρωπαΐνης στην ελιά (Rao et al., 2021). Στο μονοπάτι αυτό σημαντικό ρόλο διαδραματίζει η πολυφαινολοξειδάση (PPO), η οποία συμμετέχει στη βιοσύνθεση της υδροξυτυροσόλης

Η DOPA καταλύεται στη συνέχεια από την αποκαρβοξυλάση DOPA (DDC) για την παραγωγή ντοπαμίνης (Εικόνα 1.4.2). Η ντοπαμίνη και η τυραμίνη οξειδώνονται στη συνέχεια από CuAO για να σχηματίσουν 4-hydroxyphenylacetic acid (4-HPA) και 3,4-dihydroxyphthalic acid (3,4-DHPA), αντίστοιχα (Rao et al., 2021). Το 3,4-DHPA παράγει τελικά υδροξυτυροσόλη, μέσω της κατάλυσης 10 αλκοολικών αφυδρογονάσων (ALDHs)(Rao et al., 2021).

Επίσης, έχουν βρεθεί υψηλά επίπεδα δραστηριότητας της POD στον ελαιόκαρπο και έχει αποδειχθεί η συμμετοχή του ενζύμου αυτού στον καθορισμό του φαινολικού προφίλ της ελιάς (García-Rodríguez et al., 2011). Συγκεκριμένα, υπάρχουν ευρήματα ότι η δραστηριότητα της POD και της PPO στον ελαιόκαρπο, στα στάδια ωρίμανσης που επιλέγονται για την εξαγωγή ελαιόλαδου, είναι ικανή να οξειδώσει τόσο τους κύριους φαινολικούς γλυκοζίτες που βρίσκονται στον ελαιόκαρπο, όσο και τις φαινολικές ενώσεις που προκύπτουν κατά τη βιομηχανική διαδικασία για την παραλαβή του ελαιολάδου, ιδίως τα παράγωγα της υδροξυτυροσόλης (García-Rodríguez et al., 2011). Δεδομένου ότι οι ενώσεις που προέρχονται από την υδροξυτυροσόλη διαθέτουν πολύ μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση και αισθητηριακή επίδραση από την ομάδα της τυροσόλης, η διαμόρφωση της POD και PPO της ελιάς, είτε με τροποποίηση των τεχνολογικών συνθηκών είτε μέσω της επιλογής ποικιλίας, θα μπορούσε να έχει μεγάλη επίδραση στη θρεπτική και οργανοληπτική ποιότητα των παρθένων ελαιόλαδων (García-Rodríguez et al., 2011).

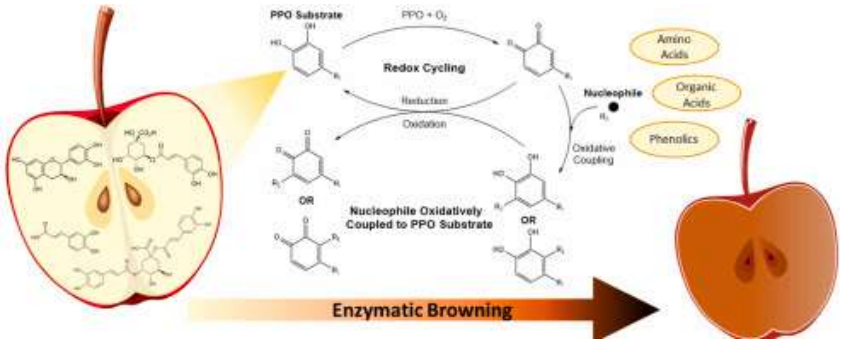
1.4.3 Ένζυμο Πολυφαινολοξειδάση (Polyphenol Oxidase, PPO)

Σύμφωνα με το Ελβετικό Ινστιτούτο Βιοπληροφορικής (EXPASY, https://www.expasy.org/), το ένζυμο της πολυφαινολοξειδάσης (EC 1.10.3.1) μπορεί να αναζητηθεί και με τις εξής εναλλακτικές ονομασίες: οξειδάση της κατεχόλης, τυροσινάση, οξειδάση διφαινόλης, ο-διφαινολάση, καθώς και φαινολάση.

Οι οξειδάσες πολυφαινόλης (PPOs) είναι ένας τύπος μεταλλοενζύμου, που περιέχει ένα κέντρο χαλκού τύπου III (Liu et al., 2023). Βρίσκονται ευρέως σε

αρχαία, βακτήρια, μύκητες, φυτά και ζώα (Boyer, 2018).

Η Πολυφαινολοξειδάση (PPO) αποτελεί το κύριο ένζυμο που εμπλέκεται στην οξείδωση των φαινολών -οι οποίες είναι σημαντικές για την ποιότητα και τη γεύση των ελιών-, τόσο σε φυσιολογικές διεργασίες που σχετίζονται με την ωρίμανση των καρπών, όσο και σε οποιαδήποτε μορφή μετασυλλεκτικού χειρισμού του καρπού που περιλαμβάνει βλάβη ή θραύση ιστού (De Leonardis et al., 2013). Συγκεκριμένα, σε αναπαράσταση φυτικού ιστού (μήλου) παρουσιάζεται η διαδικασία της «ενζυμικής αμαύρωσης» (Εικόνα 1.4.3), η οποία προκαλείται από την οξείδωση των πολυφαινολών, παρουσία μοριακού οξυγόνου, από την PPO, μετατρέποντάς τες σε δραστικά είδη οξυγόνου (ROS) και κινόνες (De Leonardis et al., 2013). Και τα δύο αυτά υφίστανται μη ενζυμικό πολυμερισμό στο νερό, με αποτέλεσμα το σχηματισμό επιφανειακού αποχρωματισμού λόγω σκούρων καφέ και σταθερών πολυμερών, που ονομάζονται μελανίνη (De Leonardis et al., 2013).



Εικόνα 1.4.3: Η διαδικασία της «ενζυμικής αμαύρωσης» σε ιστό μήλου, κατά την οποία η PPO προκαλεί οξείδωση των πολυφαινολών, παρουσία οξυγόνου, με αποτέλεσμα τον σχηματισμό καστανού χρώματος στον ιστό. (Tilley et al., 2023)

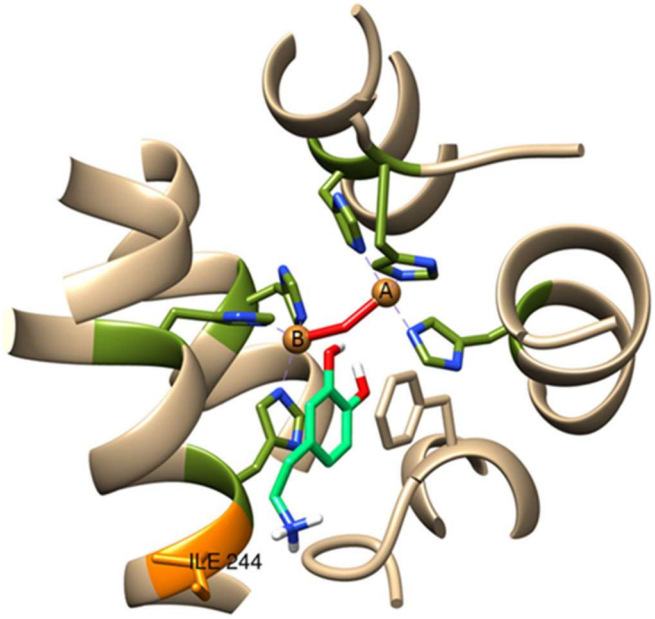
Το συγκεκριμένο ένζυμο έχει μελετηθεί σε καρπούς πάρα πολλών φυτών. Ενδεικτικά, έχει μελετηθεί στα εξής φρούτα: αβοκάντο (Chirinos et al., 2022), ανανάς (Jukanti, 2017), βερίκοκο (Derardja et al., 2017), μύρτιλα (Wei et al., 2022), ροδάκινα (Flurkey and Jen, 1978) σταφύλι (Wang et al., 2022) και στα εξής λαχανικά: αγκινάρα (Aydemir, 2004), γλυκοπατάτα (Almeida et al., 2019), ελιά (Sciancalepore and Longone, 1984) και μελιτζάνα (Todaro et al., 2011).

Το ένζυμο της Πολυφαινολοξειδάσης (PPO), το οποίο εντοπίζεται στο

μεσοκάρπιο του καρπού της ελιάς, επηρεάζει αρνητικά το τελικό φαινολικό προφίλ του ελαιόκαρπου και κατ' επέκταση του ελαιόλαδου (García-Rodríguez et al., 2011). Επιπροσθέτως, η σπουδαιότητα της δράσης της Πολυφαινολοξειδάσης για την ανθεκτικότητα σε ασθένειες πηγάζει πιθανώς από την ιδιότητά της να οξειδώνει φαινολικές ενώσεις προς κινόνες, οι οποίες είναι συχνά πιο τοξικές για τους μικροοργανισμούς, σε σχέση με τις αρχικές φαινόλες (Agrios, 2005). Τα προαναφερθέντα καθιστούν απαραίτητη την εις βάθος μελέτη του μηχανισμού δράσης της στους καρπούς της ελιάς.

1.4.3.1 Μηχανισμός Δράσης του ενζύμου PPO

Οι Πολυφαινολοξειδάσες είναι μεταλλοένζυμα που περιέχουν χαλκό και καταλύουν τις αντιδράσεις που παρέχει το αρχικό υλικό για τη βιοσύνθεση μελανίνης (Pretzler et al., 2015).

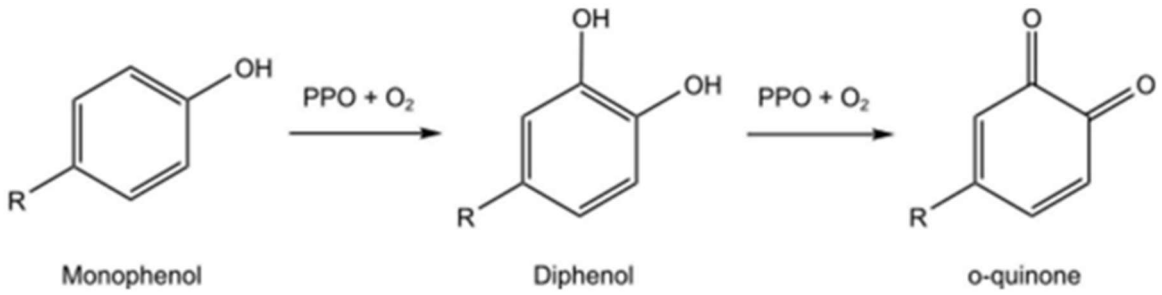


Εικόνα 1.4.3.1.1: Απεικόνιση του μορίου της PPO, το οποίο έχει προσδεθεί με το υπόστρωμα της ντοπαμίνης). Τα άτομα χαλκού Α και Β συντονίζονται από τρία κατάλοιπα ιστιδίνης (σκούρο πράσινο) και δεσμεύουν μαζί ένα μόριο οξυγόνου (κόκκινες ράβδοι) (Prexler et al., 2018)

Οι Πολυφαινολοξειδάσες, οι οποίες προέρχονται από φυτά περιέχουν ένα εξαιρετικά διατηρημένο καταλυτικό κέντρο (Tilley et al., 2023). Αυτό το κέντρο

περιέχει δύο ιόντα χαλκού, που ονομάζονται CuA και CuB, καθένα από το οποίο συντονίζεται από τρία αμινοξικά κατάλοιπα ιστιδίνης (CuA: H_{A1-3}, CuB: H_{B1-3}) (Tilley et al., 2023). Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το μόριο της PPO, το οποίο έχει προσδεθεί με το υπόστρωμα της ντοπαμίνης (Εικόνα 1.4.3.1.1). Τα άτομα χαλκού Α και Β συντονίζονται από τρία κατάλοιπα ιστιδίνης (σκούρο πράσινο) και δεσμεύουν μαζί ένα μόριο οξυγόνου (κόκκινες ράβδοι) (Prexler et al., 2018).

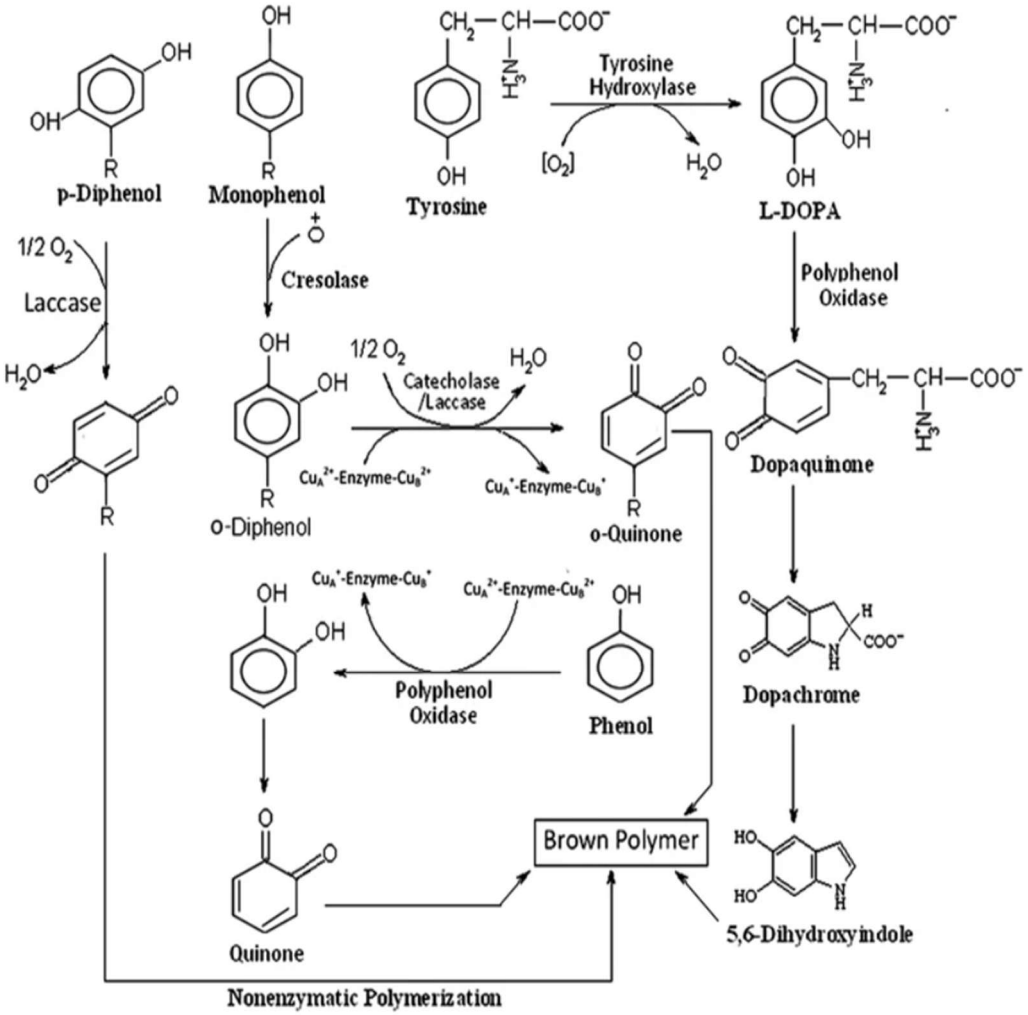
Η Πολυφαινολοξειδάση μπορεί να λειτουργήσει είτε ως τυροσινάση (EC 1.14.18.1) ή ως οξειδάση κατεχόλης (EC 1.10.3.1) (Tilley et al., 2023). Σύμφωνα με τους (Pretzler et al., 2015), καθώς και τους (Tilley et al., 2023), η Πολυφαινολοξειδάση χρησιμοποιεί μοριακό οξυγόνο για την κατάλυση δύο διαδοχικών αντιδράσεων: η μία είναι η ορθο-υδροξυλίωση των μονοφαινολών προς ο-διφαινόλες και η δεύτερη είναι η επακόλουθη οξείδωση των ο-διφαινολών σε ο-κινόνες, με απόσπαση υδρογόνου (Εικόνα 1.4.3.1.2)



Εικόνα 1.4.31.2: Η αντίδραση κατάλυσης των μονοφαινολών σε ο-κινόνη, παρουσία πολυφαινολοξειδάσης και οξυγόνου (Tilley et al., 2023).

Η ικανότητα των πολυφαινολοξειδασών να οξειδώνουν μια μεγάλη ομάδα φαινολικών ή/και πολυφαινολικών συστατικών στις αντίστοιχες μη τοξικές κινόνες τους, έχει κατορθώσει τα ένζυμα αυτά να χρησιμοποιούνται για την απομάκρυνση τοξικών και επικίνδυνων φαινολικών ρύπων από λύματα και απόβλητα, όπως περιγράφεται στην Εικόνα 1.4.3.1.3 (Mukherjee et al., 2013). Ο Klibanov και οι συνεργάτες του εισήγαγαν πρώτοι τη χρήση οξειδοαναγωγικών ενζύμων όπως η πολυφαινολοξειδάση (PPO) ή η υπεροξειδάση (POD) για την απομάκρυνση των φαινολών και έκτοτε αποτελεί ένα σημαντικό ερευνητικό πεδίο

στη βιοτεχνολογία και τη βιοχημική μηχανική (Mukherjee et al., 2013).



Εικόνα 1.4.3.1.3: Η συμμετοχή της PPO στη βιομετασχηματισμό των φαινολικών ενώσεων και στην παρουσία του φαινομένου της καστάνωσης (Mukherjee et al., 2013)

1.4.4 Ένζυμο Υπεροξειδάση (Peroxidase, POD)

Σύμφωνα με το Ελβετικό Ινστιτούτο Βιοπληροφορικής (EXPASY), το ένζυμο της Υπεροξειδάσης (EC 1.11.1.7) μπορεί να αναζητηθεί και με την εξής εναλλακτική ονομασία: γαλακτοϋπεροξειδάση (lactoperoxidase). Η Υπεροξειδάση είναι γλυκοπρωτεΐνη με ευρεία κατανομή στη φύση. Έχει ποικίλες φυσιολογικές λειτουργίες και καταλύει την οξείδωση πολυάριθμων οργανικών ενώσεων, συμπεριλαμβανομένων φαινολών, αρωματικών αμινών, ινδόλων και σουλφονικών αλάτων (Veitch, 2004).

Συγκεκριμένα, η POD αποτελεί ένα ακόμη ένζυμο που έχει ενεργότητα οξειδάσης, τόσο κατά την οξείδωση των φαινολών προς κινόνες, όσο και κατά τη δημιουργία υπεροξειδίου του υδρογόνου (Agrios, 2005). Το τελευταίο, όχι μόνο είναι αντιμικροβιακό από τη φύση του, αλλά και απελευθερώνει ισχυρά αντιδραστικές ελεύθερες ρίζες, με αποτέλεσμα να αυξάνει το ρυθμό πολυμερισμού των φαινολικών ενώσεων σε λιγνινικές ουσίες. Οι ουσίες αυτές εναποτίθενται ακολούθως σε κυτταρικά τοιχώματα και σε θηλές και επηρεάζουν την περαιτέρω αύξηση και ανάπτυξη του παθογόνου, υποδηλώνοντας τη σημαντικότητα των υπεροξειδασών στην αυτοάμυνα του φυτού και στη σταθερότητα των φυτικών κυττάρων, λόγω της αποδόμησης της λιγνίνης (Agrios, 2005).

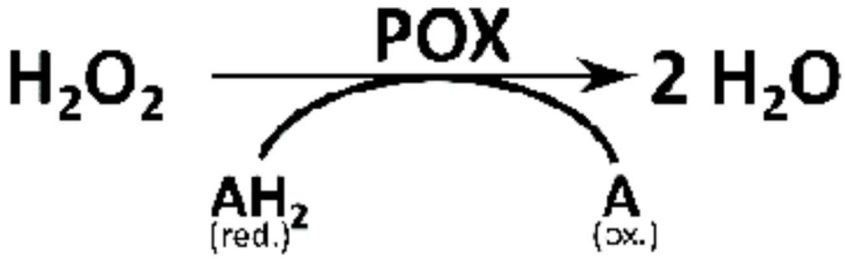
Επιπλέον, η Υπεροξειδάση είναι ένα από τα βασικά οξειδοαναγωγικά ένζυμα που ελέγχουν τη διαφοροποίηση και την ανάπτυξη των φυτών και συμμετέχει στην προστασία των φυτικών ιστών από βλάβες, που προκαλούνται από το οξειδωτικό στρες (Τζίκα, 2008). Ταυτόχρονα, έχει αμυντική δράση κατά της γήρανσης του κυττάρου, καθώς και στην ανθεκτικότητα έναντι του άλατος (Τζίκα, 2008). Επίσης, συνδέεται με την παραγωγή των δευτερευόντων μεταβολιτών, οι οποίοι παρέχουν άμυνα στα φυτά κατά των παθογόνων οργανισμών (Agrios, 2005).

Στα φυτά, οι Υπεροξειδάσες έχουν ανιχνευθεί κυρίως στα κυτταρικά τοιχώματα, στο ενδοπλασματικό δίκτυο, στο σύστημα Golgi και τους χλωροπλάστες και η κατανομή τους συνδέεται πιθανώς με διαφορετικές φυσιολογικές λειτουργίες (Sgherri et al., 2001). Το συγκεκριμένο ένζυμο έχει μελετηθεί σε καρπούς πάρα πολλών φυτών. Ενδεικτικά, έχει μελετηθεί στα εξής φρούτα: αβοκάντο (Chirinos et al., 2022), μπανάνα (dos Santos Silva et al., 2021), ροδάκινο (Flurkey and Jen, 1978), τομάτα (Lee et al., 2021) και στα εξής λαχανικά: γλυκοπατάτα (Almeida et al., 2019), ελιά (García-Rodríguez et al., 2011) και μαρούλι (Yao et al., 2021).

1.4.4.1 *Μηχανισμός Δράσης της POD*

Η Υπεροξειδάση αποτελεί ένα οξειδοαναγωγικό ένζυμο που καταλύει την αντίδραση μεταξύ του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) και των αναγωγικών παραγόντων, σύμφωνα με την παρακάτω αντίδραση (Εικόνα 1.4.4.1)(Hubmann et

al., 2022). Οι Υπεροξειδάσες χρησιμοποιούν μια σειρά μορίων ως αναγωγείς (AH_2), για παράδειγμα, φαινολικές ενώσεις. Με την αναγωγή του H_2O_2 σε H_2O, το AH_2 οξειδώνεται σε A (Hubmann et al., 2022).



Εικόνα 1.4.4.1: Σχηματική αναπαράσταση της αντίδρασης του ενζύμου της Υπεροξειδάσης, κατά την οποία δεσμεύεται το H_2O_2 (Hubmann et al., 2022). Εδώ το ένζυμο ονομάζεται ως POX.

Σύμφωνα με τους (Sellami et al., 2022), το υπεροξείδιο του υδρογόνου είναι επίσης σημαντικό στις καταλυτικές αντιδράσεις που εμπλέκονται οι Υπεροξειδάσες, όπου λειτουργεί ως βασικό συν υπόστρωμα. Εάν όμως δεν πραγματοποιηθεί σωστός χειρισμός του H_2O_2, μπορεί να επηρεάσει τη λειτουργικότητα και τη σταθερότητα των ενζύμων. Πολλές έρευνες έχουν δείξει πως η αδρανοποίηση των ενζύμων μπορεί να συμβεί με δύο τρόπους: πρώτον, λόγω της υπερβολικής ποσότητας H_2O_2 στο μέσο αντίδρασης, και δεύτερον, μέσω επιθέσεων από ρίζες που σχηματίζονται κατά την οξείδωση του υποστρώματος (Sellami et al., 2022).

Ως αποτέλεσμα, είναι απαραίτητο να διατηρούνται οι συγκεντρώσεις του H_2O_2 σε χαμηλά επίπεδα, ώστε να εξασφαλιστεί η σταθερή καταλυτική δραστηριότητα του ενζύμου, κάτι που οδηγεί σε αύξηση του ρυθμού μετασχηματισμού οργανικών ενώσεων (Sellami et al., 2022). Για να επιτευχθεί αυτό, υπάρχουν δύο προσεγγίσεις: η σταδιακή προσθήκη H_2O_2, που ρυθμίζεται με βάση την πρόοδο της αντίδρασης, ή η άμεση παραγωγή H_2O_2 εκείνη τη στιγμή (Sellami et al., 2022). Συνοπτικά, η συγκέντρωση του υπεροξειδίου του υδρογόνου σε μια αντίδραση που καταλύεται από υπεροξειδάσες εξαρτάται από τη φύση του μέσου της αντίδρασης, τη χημική δομή του υποστρώματος και την αρχική του συγκέντρωση (Sellami et al., 2022).

Λόγω του ότι η Υπεροξειδάση είναι σχετικά σταθερή σε υψηλές θερμοκρασίες και η δραστικότητά της μετριέται εύκολα με τη χρήση απλών χρωμογονικών αντιδράσεων, έχει χρησιμοποιηθεί ως ένα πρότυπο ένζυμο για τη μελέτη των ενζυμικών αντιδράσεων και των ενζυμικών λειτουργιών (Τζίκα, 2008).

Αξίζει να σημειωθεί ότι και τα δύο ένζυμα, PPO και POD, φαίνεται να λειτουργούν συνεργατικά. Η πολυφαινολοξειδάση (PPO) παράγει H_2O_2 από την οξείδωση ορισμένων φαινολικών ενώσεων, με αποτέλεσμα τη δημιουργία κινόνων (García-Rodríguez et al., 2011). Στη συνέχεια, η υπεροξειδάση (POD) χρησιμοποιεί αυτές τις δύο ενώσεις ως υποστρώματα για τη δράση της (García-Rodríguez et al., 2011). Η δραστηριότητα των ενζύμων PPO και POD αξιολογείται συνήθως για τον έλεγχο της ποιότητας δειγμάτων τροφίμων και για την κατανόηση των φυσιολογικών αποκρίσεων των φυτών σε διάφορες καταπονήσεις (Lee et al., 2021).

1.5 Σκοποί της Διπλωματικής Εργασίας

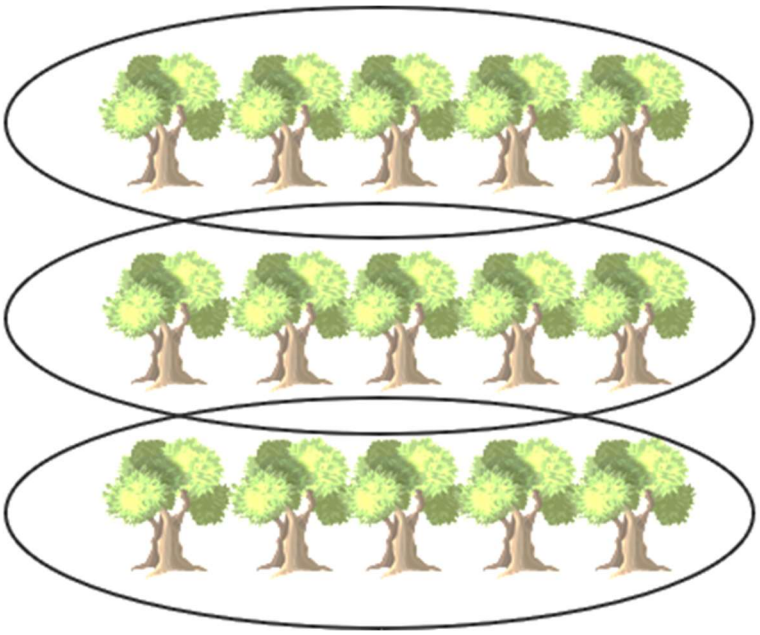
Η παρούσα εργασία επικεντρώνεται γύρω από τους εξής άξονες:

- Τη διερεύνηση της δραστικότητας του ενζύμου της Πολυφαινολοξειδάσης (PPO) στα διαφορετικά στάδια ωρίμανσης των ελαιόκαρπων της Κορωνέικης ποικιλίας.
- Τη διερεύνηση της δραστικότητας του ενζύμου της Υπεροξειδάσης (POD) στα διαφορετικά στάδια ωρίμανσης των ελαιόκαρπων της Κορωνέικης ποικιλίας.
- Τη σύγκριση της ενεργότητας των δύο ενζύμων στα διαφορετικά στάδια ωρίμανσης των καρπών ελιάς, στα τέσσερα διαφορετικά καλλιεργητικά συστήματα:
    - Βιοδυναμική καλλιέργεια
    - Βιολογική καλλιέργεια
    - Ολοκληρωμένης διαχείρισης καλλιέργεια
    - Συμβατική καλλιέργεια
- Τη συσχέτιση των επιπέδων της ενεργότητας των προαναφερθέντων ενζύμων με τα διαφορετικά στάδια ωρίμανσης των ελαιόκαρπων.

2 ΥΛΙΚΑ

2.1 Δείγματα καρπών ελιάς και πειραματικός σχεδιασμός

Τα δείγματα καρπών ελιάς, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα διπλωματική εργασία συλλέχθηκαν κατά τη διάρκεια δειγματοληψιών, που πραγματοποιήθηκαν την καλλιεργητική περίοδο του 2023, από τον Ιούνιο έως τον Δεκέμβριο. Τα δείγματα καρπών ελιάς λήφθηκαν από τέσσερις, διαφορετικού καλλιεργητικού τύπου, ελαιώνες (OR, BD, CN και IM), όπως αναφέρονται στην ενότητα 1.3. Σε κάθε ελαιώνα επιλέχθηκαν και σημάνθηκαν τα ελαιόδεντρα από τα οποία λαμβάνονταν καρπός κάθε μήνα. Συγκεκριμένα, επιλέχθηκαν 15 δέντρα, τα οποία χωρίστηκαν σε 3 συστάδες (=ομάδες των 5 γειτονικών δέντρων). Για κάθε δείγμα, ελήφθησαν καρποί και από τα 5 δέντρα της συστάδας, τα οποία ομαδοποιήθηκαν (pooling δειγμάτων). Μετά τη συγκομιδή, οι καρποί τοποθετήθηκαν αμέσως σε υγρό άζωτο (-198^{o}C) και έπειτα, μετά τη μεταφορά τους στο εργαστήριο, φυλάχθηκαν και διατηρήθηκαν στους -80^{o}C, μέχρι τη ανάλυσή τους (αναλυτικά στην ενότητα 3.1).



Εικόνα 2.1: *Σχηματική αναπαράσταση των ομαδοποιήσεων των ελαιόδεντρων ανά καλλιεργητικό σύστημα. Τα δείγματα ομαδοποιούνται ανά 5 γειτονικά δέντρα, οπότε προκύπτει ένα δείγμα ανά συστάδα δέντρων.*

Συνολικά, εξετάστηκαν 84 δείγματα: 3 δείγματα ανά δειγματοληψία (άρα 3 βιολογικές επαναλήψεις), 7 δειγματοληψίες, από 4 διαφορετικούς ελαιώνες. Για κάθε ένα δείγμα πραγματοποιήθηκαν 3 τεχνικές επαναλήψεις για τον προσδιορισμό της δραστικότητας, για κάθε ένα από τα δύο προς μελέτη ένζυμα (PPO & POD). Συνεπώς, έγιναν 504 πειραματικές δοκιμές, όπως φαίνονται στον Πίνακα 2.1. Στον ίδιο πίνακα αναγράφεται και η κωδικοποίηση των δειγμάτων, πχ. E1 T1-5, όπου το E αναφέρεται στο καλλιεργητικό σύστημα, ενώ το T1-5 αναφέρεται στην πρώτη συστάδα των δέντρων 1 έως 5, η οποία αποτελεί και την πρώτη βιολογική επανάληψη. Για περισσότερες λεπτομέρειες, βλ. Ενότητα 3.2.

Πίνακας 2.1 : Δοκιμές Προσδιορισμού της Πολυφαινολοξειδάσης & Υπεροξειδάσης για τα τέσσερα καλλιεργητικά συστήματα, της καλλιεργητικής περιόδου Ιούνιο-Δεκέμβριο 2023.

	Δειγματοληψίες (Ιούνιος, Ιούλιος, Αύγουστος, Σεπτέμβριος, Οκτώβριος, Νοέμβριος, Δεκέμβριος)			
Ελαιώνας	**Δείγμα (Κωδικο-ποίηση)***	**Δοκιμές PPO**	**Δοκιμές POD**	**Σύνολο Δοκιμών για τις 7 δειγματοληψίες**
1. *Βιολογική Καλλιέργεια (OR)*	E1T1-5	3 επαναλήψεις	3 επαναλήψεις	126
	E1T6-10	3 επαναλήψεις	3 επαναλήψεις	
	E1T11-15	3 επαναλήψεις	3 επαναλήψεις	
2. *Βιοδυναμική Καλλιέργεια (Sellami et al.)*	E2T1-5	3 επαναλήψεις	3 επαναλήψεις	126
	E2T6-10	3 επαναλήψεις	3 επαναλήψεις	
	E2T11-15	3 επαναλήψεις	3 επαναλήψεις	
3. *Συμβατική Καλλιέργεια (CN)*	E3T1-5	3 επαναλήψεις	3 επαναλήψεις	126
	E3T6-10	3 επαναλήψεις	3 επαναλήψεις	
	E3T11-15	3 επαναλήψεις	3 επαναλήψεις	
4. *Ολοκληρωμένης Διαχείρισης Καλλιέργεια (IM)*	E4T1-5	3 επαναλήψεις	3 επαναλήψεις	126
	E4T6-10	3 επαναλήψεις	3 επαναλήψεις	
	E4T11-15	3 επαναλήψεις	3 επαναλήψεις	
				Σύνολο: 504

2.2 Χημικά Αντιδραστήρια- Αναλώσιμα Υλικά

2.2.1 Υπόστρωμα Πολυφαινολοξειδάσης (PPO)

Για υπόστρωμα της αντίδρασης της PPO χρησιμοποιήθηκε η 4-μέθυλο-κατεχόλη (4MC, 4-methylbenzene-1,2-diol) της εταιρείας Thermo Fisher Scientific. Παρασκευαζόταν ημερησίως διάλυμα 4-μέθυλο-κατεχόλης 0.01M.

2.2.2 Υπόστρωμα Υπεροξειδάσης (POD)

Για υπόστρωμα της αντίδρασης της POD χρησιμοποιήθηκε Hydrogen Peroxide Solution (H_2O_2) της εταιρείας Sigma Aldrich. Παρασκευαζόταν ημερησίως διάλυμα υπεροξειδίου του υδρογόνου 0.02M.

2.2.3 Διάλυμα ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid))

Το ABTS (2,2'-αζινο-δις(3-αιθυλοβενζοθειαζολίνη-6-σουλφονικό οξύ)) είναι μια χημική ένωση που χρησιμοποιείται για την παρατήρηση της κινητικής των αντιδράσεων συγκεκριμένων ενζύμων. Σε αυτά τα ένζυμα ανήκει και η Υπεροξειδάση. Παρασκευαζόταν 0.01M ABTS και φυλασσόταν σε δοχείο σκούρου χρώματος, στους 4^oC.

*2.2.4 Διάλυμα EDTA (***Ethylene Diamine Tetraacetic Acid)**

Παρασκευάστηκε διάλυμα 0.001M EDTA και φυλάχθηκε στους 4^oC.

2.3 Ρυθμιστικά Διαλύματα

2.3.1 Ρυθμιστικό Διάλυμα Οξικών/ Acetate Buffer (CH_3COOH/ CH_3COONa) , 50mM, pH=6.0, 0.2L

Για την παρασκευή 200mL ρυθμιστικού διαλύματος οξικών, προστέθηκαν 1.544g οξικού νατρίου και 70.51mg οξικού οξέος σε 160mL απιονισμένου νερού. Ρυθμίστηκε το pH στην επιθυμητή τιμή, με την προσθήκη HCl ή NaOH και

προστέθηκε απιονισμένο νερό, μέχρι τον τελικό όγκο των 200mL. Κάθε δύο ημέρες παρασκευαζόταν νέο ρυθμιστικό.

2.3.2 Ρυθμιστικό Διάλυμα Οξικών/ Acetate Buffer (CH_3COOH/ CH_3COONa) , 50mM, pH=5.5, 0.2L

Για την παρασκευή 200mL ρυθμιστικού διαλύματος οξικών, προστέθηκαν 0.7355g οξικού νατρίου και 62.07mg οξικού οξέος σε 160mL απιονισμένου νερού. Ρυθμίστηκε το pH στην επιθυμητή τιμή, με την προσθήκη HCl ή NaOH και προστέθηκε απιονισμένο νερό, μέχρι τον τελικό όγκο των 200mL. Το ρυθμιστικό διατηρούνταν στο ψυγείο. Κάθε δύο ημέρες παρασκευαζόταν νέο ρυθμιστικό.

2.3.3 Ρυθμιστικό Διάλυμα Οξικών/ Acetate Buffer (CH_3COOH/ CH_3COONa) , 50mM, pH=4.0, 0.2L

Για την παρασκευή 200mL ρυθμιστικού διαλύματος οξικών, προστέθηκε 0.1860g οξικού νατρίου και 464.3mg οξικού οξέος σε 160mL απιονισμένου νερού. Ρυθμίστηκε το pH στην επιθυμητή τιμή, με την προσθήκη HCl ή NaOH και προστέθηκε απιονισμένο νερό, μέχρι τον τελικό όγκο των 200mL. Το ρυθμιστικό διατηρούνταν στο ψυγείο. Κάθε δύο ημέρες παρασκευαζόταν νέο ρυθμιστικό.



Εικόνα 2.4.1: Πεχάμετρο WTW inoLab® Multi 9620 IDS Multiparameter Benchtop Meter του ΕΒΕΦ.

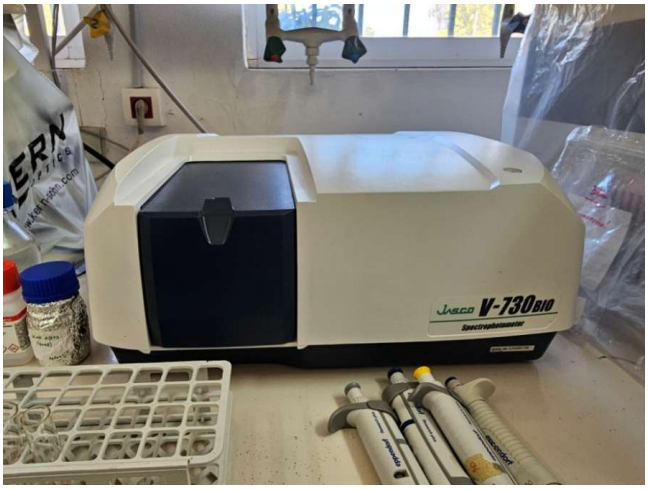
2.4 Όργανα

2.4.1 Πεχάμετρο

Η μέτρηση και ρύθμιση του pH στα ρυθμιστικά διαλύματα έγινε με τη χρήση του πεχάμετρου WTW inoLab® Multi 9620 IDS Multiparameter Benchtop Meter (Εικόνα 2.4.1).

2.4.2 Φασματοφωτόμετρο

Για τη μέτρηση της απορρόφησης των ενζύμων της Πολυφαινολοξειδάσης και Υπεροξειδάσης χρησιμοποιήθηκε το φασματοφωτόμετρο JascoV-730 BIO. (Εικόνα 2.4.1)



Εικόνα 2.4.2:ΦασματοφωτόμετροJascoV-730 BIO του ΕΒΕΦ.

2.4.3 Φυγόκεντρος

Για την φυγοκέντριση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε η φυγόκεντρος High Speed Refrigerated Centrifuge, Model 7780, της εταιρείας KUBOTA (Εικόνα 2.4.3).



Εικόνα 2.4.3: Η φυγόκεντρος της εταιρείας KUBOTA του ΕΒΕΦ.

2.5 Αναλώσιμα Υλικά Εργαστηρίου

Για την υλοποίησή των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκε και ο εξής εξοπλισμός:

- Πιπέτες (Εταιρεία: Eppendorf, Όγκοι: 0.5-10μL, 10-100 μL και 100-1.000 μL)
- Tips
- Πλαστικοί περιέκτες τύπου Falcon , όγκων 50 & 15mL
- Μικροσωληνίσκοι τύπου Eppendorf, όγκου 2mL
- Αποστειρωμένες γάζες
- Τσιμπίδες
- Κυψελίδες πλαστικές, όγκου 3mL
- Γυάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες, όγκου 10mL

3 ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1 Δειγματοληψία Καρπών Ελιάς

Η συλλογή των καρπών έγινε από τέσσερις ελαιώνες, διαφορετικού καλλιεργητικού συστήματος, από την ευρύτερη περιοχή του Αρκαλοχωρίου, Περιφερειακή Ενότητα Ηρακλείου, Κρήτης. Συγκεκριμένα:

- Ελαιώνας 1: Βιολογική Καλλιέργεια (OR), (περιοχή: Αρκαλοχωρίου, Συντεταγμένες: 35°08’23.5’’N 25° 15’34.9’’E)
- Ελαιώνας 2: Βιοδυναμική Καλλιέργεια (BD) (περιοχή: Λευκοχωρίου, Συντεταγμένες: 35°06’46.’’N 25°14’26.8’’E)
- Ελαιώνας 3: Συμβατική Καλλιέργεια (CN) (περιοχή: Λευκοχωρίου, Συντεταγμένες: 35°06’53.5’’N 25°15’07.2’’E)
- Ελαιώνας 4: Ολοκληρωμένης Διαχείρισης Καλλιέργεια (IM) (περιοχή: Κάτω Καστελλιανών, Συντεταγμένες: 35°02’26.3’’N 25° 16’21.7’’E)



Εικόνα 3.1*: Δειγματοληψία Καρπών Ελιάς, κατά την οποία ο καρπός, ο οποίος συλλεγόταν σε δοχεία των 50mL, τεμαχιζόταν και τοποθετούνταν σε δοχεία των 15mL, τα οποία μεταφέρονταν αμέσως σε υγρό άζωτο.*

Η συλλογή των καρπών έγινε με προσοχή και φορώντας γάντια. Οι ελαιόκαρποι συλλέχθηκαν από τα σεσημασμένα δέντρα του κάθε ελαιώνα (15 δέντρα) και περιμετρικά, από όλα τα σημεία τους.

Τα δείγματα τοποθετούνταν μέσα σε falcons των 50mL. Όσο το δυνατόν πιο σύντομα, ξεκίνησε η διαδικασία συλλογής του μεσοκαρπίου. Λαμβάνοντας αποστειρωμένη λεπίδα, αφαιρέθηκε προσεκτικά η σάρκα και τοποθετήθηκε σε falcons των 15mL. Αφότου, γεμίζονταν τα falcons των 15mL, εμβαπτίζονταν σε υγρό άζωτο (-198^{o}C), πιάνοντάς το με λαβίδα, χωρίς το καπάκι. Έπειτα, μόλις πάγωνε το falcon με το δείγμα, τοποθετούνταν το καπάκι και αφηνόταν ολόκληρο το falcon στο υγρό άζωτο. Η διαδικασία αυτή επαναλήφθηκε και για τα 15 δέντρα του κάθε ελαιώνα, για 4 συνολικά ελαιώνες. Τέλος, τα δείγματα μεταφέρθηκαν (μέσα στο υγρό άζωτο) στο εργαστήριο και φυλάχθηκαν στους -80^{o}C.

3.2 Δείγματα καρπών ελιάς

Συνολικά, τα δείγματα καρπών των 4 ελαιώνων συλλέχθηκαν σε 7 δειγματοληψίες που πραγματοποιήθηκαν. Από κάθε ελαιώνα συλλέχθηκαν καρποί από 15 δέντρα. Από αυτά, δημιουργήθηκαν τριπλέτες δειγμάτων ανά συστάδα δέντρων (T1-5, T6-10, T11-15, όπου T = tree (δέντρο) και 1-5, 6-10, 11-15, είναι τα δέντρα που συνθέτουν κάθε συστάδα), οι οποίες αποτέλεσαν 3 βιολογικές επαναλήψεις. Για κάθε μία τριπλέτα, πραγματοποιήθηκαν 3 μετρήσεις της δραστικότητας της PPO και POD αντίστοιχα, οι οποίες αποτέλεσαν τις τεχνικές επαναλήψεις. Επομένως, για κάθε ελαιώνα πραγματοποιήθηκαν 3 βιολογικές επαναλήψεις x 3 επαναληπτικές μετρήσεις x 2 ένζυμα x 7 δειγματοληψίες.

3.3 Παρασκευή Ενζυμικού Εκχυλίσματος της PPO & POD από καρπούς ελιάς

Για την παρασκευή του ενζυμικού εκχυλίσματος της PPO και της POD, 10 γραμμάρια ελιών ομογενοποιήθηκαν σε μπλέντερ, παρουσία 20mL ρυθμιστικού διαλύματος οξικών 50mM, με pH 6.0 (βλ. 2.3.1) και 0,4g PVP, το οποίο χρησιμοποιήθηκε για την απομάκρυνση των φαινολικών ουσιών που συναντώνται

στους ελαιόκαρπους (Τζίκα, 2008). Ο πυρήνας (κουκούτσι) των ελαιόκαρπων απομακρύνθηκε με τη χρήση τσιμπίδας. Έπειτα, το εκχύλισμα διήθηθηκε με τετραπλή γάζα και φυγοκεντρήθηκε για 25 λεπτά στις 8.600 xg, στους 4^{o}C (Τζίκα, 2008). Ακολούθησε η μέτρηση της δραστικότητας της πολυφαινολοξειδάσης και της υπεροξειδάσης, όπως αναφέρονται στην ενότητα 3.4 και 3.5.

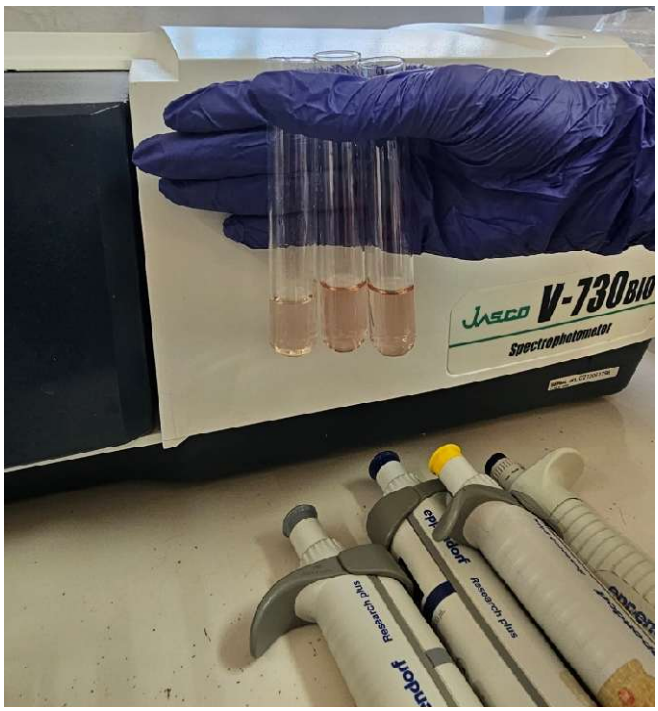
Σημείωση: Η διαδικασία παρασκευής του ενζυμικού εκχυλίσματος πραγματοποιήθηκε μέσα σε πάγο και το ρυθμιστικό διάλυμα βρισκόταν καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος μέσα στον πάγο.

3.4 Μέθοδος Προσδιορισμού της Δραστικότητας του ενζύμου της Πολυφαινολοξειδάσης (PPO)

Η δραστικότητα της Πολυφαινολοξειδάσης στα εκχυλίσματα ελαιόκαρπων προσδιορίστηκε φασματοφωτομετρικά στα 412nm και στους 25^{o}C με την 4-μέθυλο-κατεχόλη ως υπόστρωμα. Το μίγμα της αντίδρασης (Εικόνα 3.4.1) περιείχε 2,12mL ρυθμιστικού διαλύματος οξικών 0.05M με pH 5.5 (βλ. Ενότητα 2.3.2), 0,80mL διαλύματος υποστρώματος 4-μέθυλο-κατεχόλης 0.01M και 80μL ενζυμικού εκχυλίσματος (βλ. Ενότητα 3.3). Ο τελικός όγκος στην κυψελίδα ήταν 3mL. Η αντίδραση ξεκίνησε με την προσθήκη του ενζυμικού εκχυλίσματος. Το μίγμα αναφοράς (blank) περιείχε τα παραπάνω, αλλά αντί για το ενζυμικό εκχύλισμα, περιείχε ίση ποσότητα απιονισμένου νερού. Το ενζυμικό εκχύλισμα βρισκόταν καθ' όλη τη διάρκεια της διαδικασίας σε παγόλουτρο. Αφότου προστέθηκε και το ενζυμικό εκχύλισμα, έγινε ήπια ανάδευση και μεταφέρθηκε το μίγμα στην κυψελίδα. Η κυψελίδα με τη σειρά της τοποθετήθηκε απευθείας στο φασματοφωτόμετρο και καταγραφόταν η απορρόφηση κάθε 30 δευτερόλεπτα, για 3 λεπτά συνολικά. Πραγματοποιήθηκαν 3 τεχνικές επαναλήψεις για κάθε δείγμα. Ακολούθησε η κατασκευή του γραφήματος της απορρόφησης στα 412nm προς το χρόνο (sec) και υπολογίστηκε το ΔΑ/min.

Ως δραστικότητα της PPO ορίζεται ως η μεταβολή της απορρόφησης ανά λεπτό (Jiang and Penner, 2021). Ένα Unit PPO αντιστοιχεί στην ποσότητα του ενζύμου, η οποία προκαλεί μεταβολή στην απορρόφηση (ΔΑ) κατά 0.05 ανά λεπτό

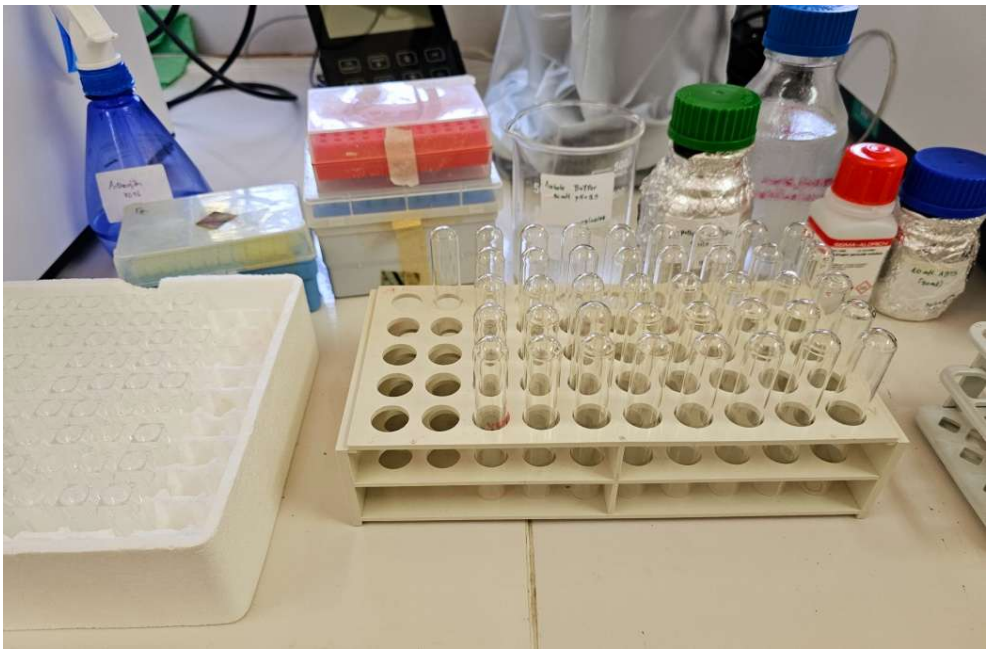
(Sciancalepore and Longone, 1984). Η μεταβολή της απορρόφησης και κατ' επέκταση τα units υπολογίζονται στο γραμμικό τμήμα των γραφημάτων που προκύπτουν (Jiang and Penner, 2021). Στις μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν γραμμικό τμήμα στα γραφήματα παρατηρήθηκε μόνο κατά το πρώτο λεπτό της αντίδρασης.



Εικόνα 3.4.1: *Το μίγμα της αντίδρασης για τον προσδιορισμό της δραστικότητας της Πολυφαινολοξειδάσης (PPO). Το μίγμα της αντίδρασης περιείχε 2,12mL ρυθμιστικού διαλύματος οξικών 0.05M με pH 5.5, 0,80mL διαλύματος υποστρώματος 4-μέθυλο-κατεχόλης 0.01M και 80μL ενζυμικού εκχυλίσματος.*

Σύμφωνα με τους (Sciancalepore and Longone, 1984), η 4 μέθυλο-κατεχόλη αποτελεί το ιδανικό υπόστρωμα, σε σχέση με τα υπόλοιπα τα οποία μπορεί να χρησιμοποιηθούν (όπως η κατεχόλη, η κατεχίνη, η DL-3,4-διϋδροξυ-φαινυλαυλανίνη (DL-DOPA) ή το χλωρογενικό οξύ), καθώς αυτή μπορεί να οξειδωθεί πολύ γρήγορα στις ποικιλίες ελιάς που μελετήθηκαν. Επιπροσθέτως, είναι λιγότερο ευαίσθητη στις επιδράσεις του pH, ενώ η χρήση της μπορεί να περιορίσει την ανάγκη υπολογισμού διορθωτικών συντελεστών (Waite, 1976). Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε με το λογισμικό

Statistical Package for the Social Sciences (SPSS). της εταιρείας IBM.



Εικόνα 3.4.2: *Εργαστηριακός εξοπλισμός και διαλύματα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για την πραγματοποίηση των πειραμάτων.*

Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι σε κάποιες ενζυμικές αντιδράσεις (βλ. Ενότητα 4.1) έγινε αραίωση της συγκέντρωσης του ενζύμου 1:2 ή 1:4, καθώς το ένζυμο έδινε πολύ υψηλές απορροφήσεις, κάτι το οποίο υποδεικνύει τον κορεσμό του. Για την αραίωση 1:2, το μίγμα της αντίδρασης περιείχε: 2.560 μL ρυθμιστικού διαλύματος οξικών 0.05M με pH 5.5, 200μL υποστρώματος 4-μέθυλο-κατεχόλης 0.01M και 40μLενζυμικό εκχύλισμα. Αντίστοιχα, για την αραίωση 1:4, το μίγμα της αντίδρασης περιείχε: 2.880 μL ρυθμιστικού διαλύματος οξικών 0.05M με pH 5.5, 100μL υποστρώματος 4-μέθυλο-κατεχόλης 0.01M και 20μL ενζυμικού εκχυλίσματος. Ο συντελεστής αραίωσης λήφθηκε υπόψη, κατά τον υπολογισμό των Units.

Πραγματοποιήθηκε εκτεταμένη μελέτη της βιβλιογραφίας για τον προσδιορισμό της δραστικότητας της PPO σε καρπούς ελιάς, ωστόσο, στα δείγματα της παρούσας έρευνας, οι περισσότερες αναλογίες των αντιδραστηρίων (ρυθμιστικό διάλυμα, 4-μέθυλο-κατεχόλη, ενζυμικό εκχύλισμα) του μίγματος

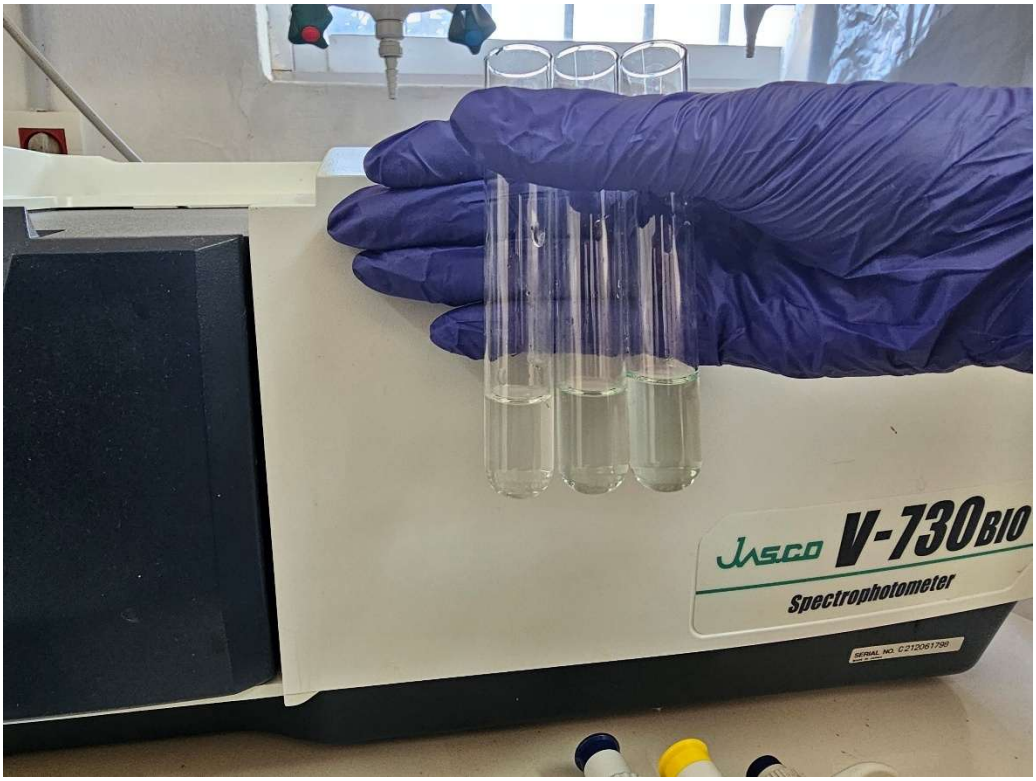
αντίδρασης που αναφέρονταν βιβλιογραφικά δεν έδωσαν αποτελέσματα. Αυτό πιθανώς, αποδίδεται στο γεγονός ότι τα πρωτόκολλα αυτά, εφαρμόζονταν σε διαφορετικές ποικιλίες ελιάς και όχι στην Κορωνέικη. Έπειτα από και πολλές δοκιμές διαφόρων πρωτοκόλλων, οι ανωτέρω ποσότητες του μίγματος αντίδρασης κρίθηκαν οι καταλληλότερες. Επιπρόσθετα, το ρυθμιστικό διάλυμα οξικών για τον προσδιορισμό των ενζύμων PPO και POD είχε pH 5,5 και 4 αντίστοιχα (Τζίκα, 2008). Ένα ρυθμιστικό διάλυμα ρυθμίζεται σε μια συγκεκριμένη περιοχή pH, η οποία εξαρτάται από το pKa του ασθενούς οξέος ή το pKb της ασθενούς βάσης. Η σταθερά pKa του οξικού οξέος είναι 4.75. Επομένως, επιθυμητό pH είναι στο εύρος 4.75 ±1 .

3.5 Μέθοδος Προσδιορισμού της Δραστικότητας του ενζύμου της Υπεροξειδάσης (POD)

Η δραστικότητα της Υπεροξειδάσης στα εκχυλίσματα ελαιόκαρπων προσδιορίστηκε φασματοφωτομετρικά στα 420nm και στους 25^{o}C, με το υπεροξείδιο του υδρογόνου ως υπόστρωμα (Τζίκα, 2008). Το μίγμα της αντίδρασης (Εικόνα 3.5) περιείχε 1,98mL ρυθμιστικού διαλύματος οξικών 0.05M με pH 4, 200μL ABTS 10mM, 240μL EDTA, 500μL H_2O_2 ως υπόστρωμα και 80μL ενζυμικού εκχυλίσματος. Ο τελικός όγκος στην κυψελίδα ήταν 3mL. Η αντίδραση ξεκίνησε με την προσθήκη του υπεροξειδίου του υδρογόνου. Το μίγμα αναφοράς (blank) περιείχε τα παραπάνω, αλλά αντί για το ενζυμικό εκχύλισμα, περιείχε ίση ποσότητα απιονισμένου νερού. Το ενζυμικό εκχύλισμα βρισκόταν καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας σε παγόλουτρο. Αφότου προστέθηκε και το ενζυμικό εκχύλισμα, έγινε ήπια ανάδευση και μεταφέρθηκε το μίγμα στην κυψελίδα. Η κυψελίδα με τη σειρά της τοποθετήθηκε απευθείας στο φασματοφωτόμετρο, όπου καταγραφόταν η απορρόφηση κάθε 30 δευτερόλεπτα, για 3 λεπτά. Πραγματοποιήθηκαν 3 τεχνικές επαναλήψεις για κάθε δείγμα. Ακολούθησε η δημιουργία του γραφήματος της απορρόφησης στα 420nm προς το χρόνο (sec) και υπολογίστηκε το ΔΑ/min.

Ένα Unit POD αντιστοιχεί στην ποσότητα του ενζύμου, η οποία προκαλεί μεταβολή στην απορρόφηση (ΔΑ) κατά 0.001 ανά λεπτό (García-Rodríguez et al.,

2011). Η μεταβολή της απορρόφησης και κατ' επέκταση τα units υπολογίζονται στο γραμμικό τμήμα των γραφημάτων που προκύπτουν (Jiang and Penner, 2021). Και σε αυτή την περίπτωση, γραμμικό τμήμα στο γράφημα της απορρόφησης προς το χρόνο παρατηρούνταν κατά το πρώτο λεπτό της αντίδρασης.



Εικόνα 3.5: *Το μίγμα της αντίδρασης για τον προσδιορισμό της δραστικότητας της Υπεροξειδάσης (POD). Περιείχε 1,98mL ρυθμιστικού διαλύματος οξικών 0.05M με pH 4, 200μL ABTS 10mM, 240μL EDTA, 500μL H2O2 ως υπόστρωμα και 80μL ενζυμικού εκχυλίσματος.*

Και για την περίπτωση της POD, πρέπει να σημειωθεί ότι σε κάποιες ενζυμικές αντιδράσεις (βλ. Ενότητα 4.1) έγινε αραίωση της συγκέντρωσης του ενζύμου 1:2 ή 1:4, καθώς το ένζυμο έδινε πολύ υψηλές απορροφήσεις, κάτι το οποίο υποδεικνύει τον κορεσμό του. Για την αραίωση 1:2, το μίγμα της αντίδρασης περιείχε: 2,49mL ρυθμιστικού διαλύματος οξικών 0.05M με pH 4, 100μL ABTS 10mM, 120μL EDTA, 250μL H_2O_2 ως υπόστρωμα και 40μL ενζυμικού εκχυλίσματος. Αντίστοιχα, για την αραίωση 1:4, το μίγμα της αντίδρασης περιείχε: 2,665μL ρυθμιστικού διαλύματος οξικών 0.05M με pH 4, 50μL ABTS 10mM, 120μL EDTA, 125μL H_2O_2 ως υπόστρωμα και 20μL του παραπάνω ενζυμικού εκχυλίσματος. Ο συντελεστής αραίωσης

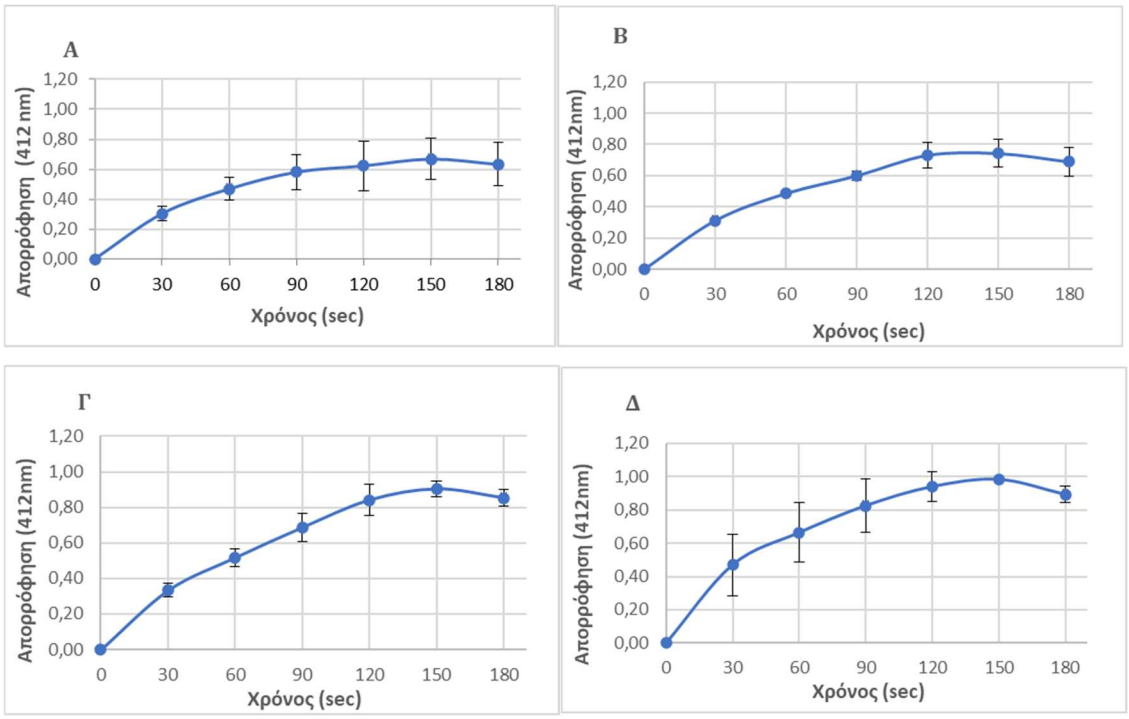
λήφθηκε υπόψη κατά τον υπολογισμό των Units. Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε με το λογισμικό Statistical Package for the Social Sciences (SPSS). της εταιρείας IBM.

Και πάλι, πραγματοποιήθηκε μελέτη των πρωτοκόλλων προσδιορισμού της δραστικότητας της υπεροξειδάσης, σε καρπούς ελιάς, ωστόσο στα δείγματα μας οι αναλογίες των ουσιών (ρυθμιστικό διάλυμα, ABTS, EDTA, H_2O_2, ενζυμικό εκχύλισμα) του μίγματος αντίδρασης που προτείνονται δεν έδωσαν αποτελέσματα. Αυτό πιθανώς, αποδίδεται στο γεγονός ότι τα πρωτόκολλα αυτά εφαρμόζονταν σε διαφορετικές ποικιλίες ελιάς, κι όχι στην Κορωνέικη. Και πάλι, πραγματοποιήθηκε πλήθος δοκιμών έως ότου οι ποσότητες του μίγματος αντίδρασης που αναγράφονται προηγουμένως κριθούν οι κατάλληλες. Το ρυθμιστικό διάλυμα οξικών (acetate buffer) που χρησιμοποιήθηκε είχε pH 4. Σύμφωνα με δοκιμές εξάρτησης της δραστικότητας της υπεροξειδάσης εκχυλίσματος καρπών ελιάς από το pH, γίνεται αποδεκτό το pH 3,5-4, όπου καταγράφεται το μεγαλύτερο ποσοστό δραστικότητας της υπεροξειδάσης (Τζίκα, 2008). Σύμφωνα με την ίδια, η ενζυμική δραστικότητα της υπεροξειδάσης χάνεται τελείως, όταν το pH υπερβεί την τιμή του 5. Αυτά αποτελούν και τους λόγους που οδήγησαν στην επιλογή ρυθμιστικού διαλύματος σε αυτή την τιμή pH.

4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1 Προσδιορισμός της Δραστικότητας του ενζύμου της Πολυφαινολοξειδάσης (PPO)

Τα αποτελέσματα των απορροφήσεων για τον υπολογισμό της δραστικότητας της PPO, δίνονται σε πίνακες (βλ. Παράρτημα). Σημειώνεται ότι τα δείγματα της 1ης δειγματοληψίας (Ιούνιος 2023) δεν επαρκούσαν ώστε να πραγματοποιηθούν 3 βιολογικές επαναλήψεις. Παρασκευάστηκε ένα ενζυμικό εκχύλισμα, από κάθε ελαιώνα, από το σύνολο των 15 δέντρων. Ομοίως, ακολουθούν οι πίνακες και τα γραφήματα των μετρούμενων απορροφήσεων για το ένζυμο της Πολυφαινολοξειδάσης (PPO), για όλες τις δειγματοληψίες (Ιούλιος έως Δεκέμβριος 2023).

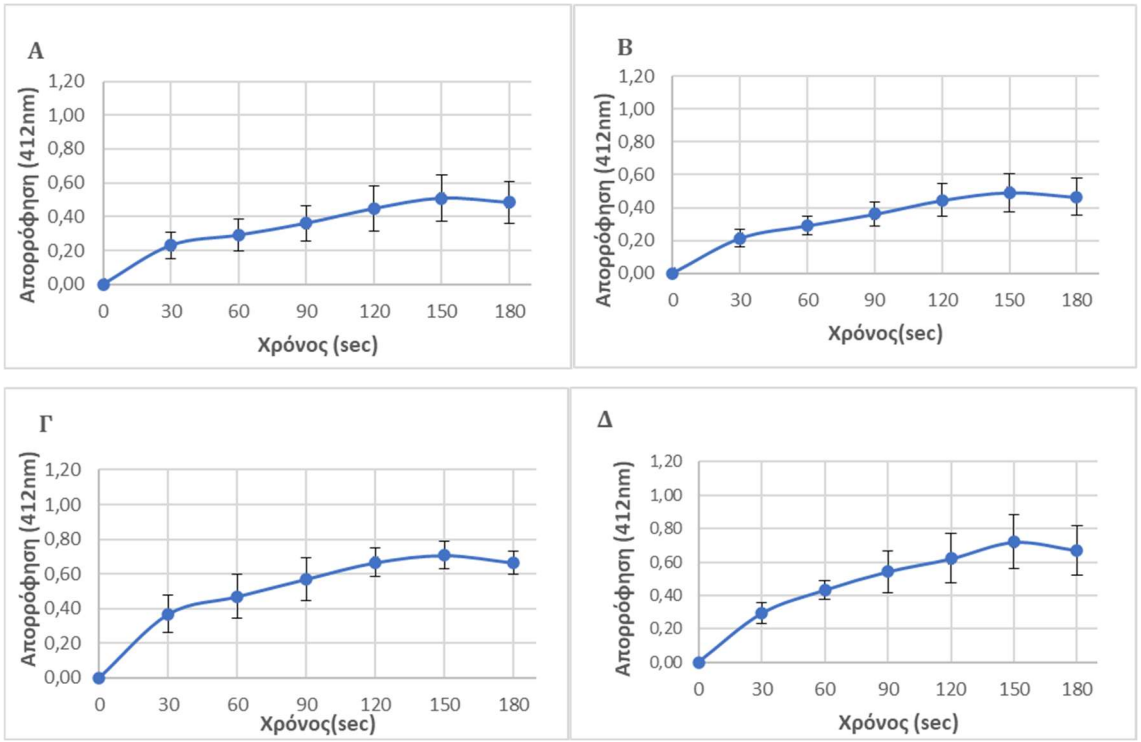


Εικόνα 4.1.1: *Η μέση απορρόφηση στα 412nm σε συνάρτηση με το χρόνο, για το ένζυμο Πολυφαινολοξειδάση (PPO), για το μήνα Ιούνιο. (Α: Βιολογική Καλλιέργεια, Β: Βιοδυναμική Καλλιέργεια, Γ: Συμβατική Καλλιέργεια, Δ: Ολοκληρωμένης Διαχείρισης Καλλιέργεια)*

Κατόπιν, υπολογίστηκε ο μέσος όρος των απορροφήσεων των τριών τεχνικών επαναλήψεων της κάθε βιολογικής επανάληψης, για το μήνα Ιούνιο και προέκυψαν τα παρακάτω γραφήματα (Εικόνα 4.1.1). Στα γραφήματα αυτά αναπαρίσταται η απορρόφηση που προκύπτει από τον μέσο όρο των τριών επαναλήψεων που έγιναν ανά δείγμα, για τα τρία συνολικά δείγματα του κάθε ελαιώνα, σε συνάρτηση με το χρόνο (sec). Οι μετρήσεις λαμβάνονταν κάθε 30 δευτερόλεπτα για τρία συνολικά λεπτά.

Αντίστοιχα, υπολογίστηκε ο μέσος όρος των απορροφήσεων των τριών τεχνικών επαναλήψεων της κάθε βιολογικής επανάληψης, για το μήνα Ιούλιο και προέκυψαν τα παρακάτω γραφήματα (Εικόνα 4.1.2).

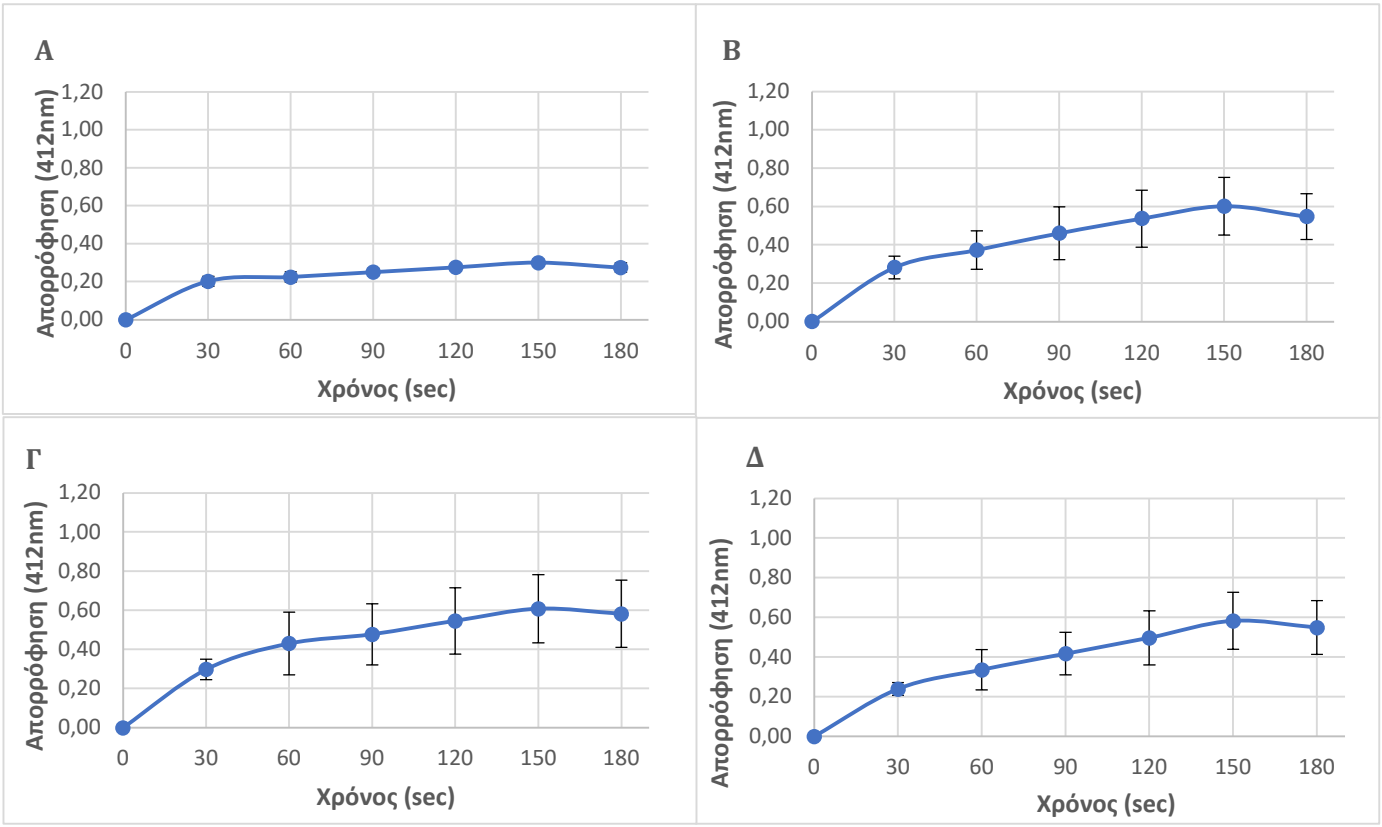
Στα γραφήματα αυτά αναπαρίσταται η απορρόφηση που προκύπτει από τον μέσο όρο των τριών επαναλήψεων που έγιναν ανά δείγμα, για τα τρία συνολικά δείγματα του κάθε ελαιώνα, σε συνάρτηση με το χρόνο (sec). Οι μετρήσεις λαμβάνονταν κάθε 30 δευτερόλεπτα για τρία συνολικά λεπτά.



Εικόνα 4.1.2: *Η μέση απορρόφηση στα 412nm σε συνάρτηση με το χρόνο, για το ένζυμο Πολυφαινολοξειδάση (PPO), για το μήνα Ιούλιο. (Α: Βιολογική Καλλιέργεια, Β: Βιοδυναμική Καλλιέργεια, Γ: Συμβατική Καλλιέργεια, Δ: Ολοκληρωμένης Διαχείρισης Καλλιέργεια)*

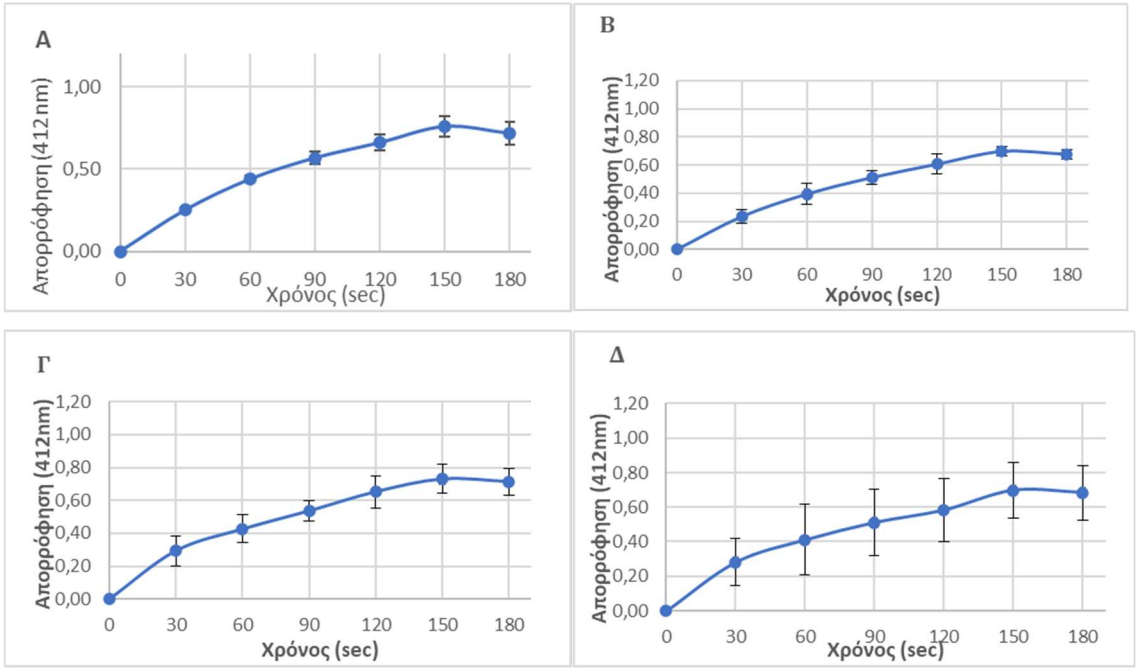
Έπειτα, υπολογίστηκε ο μέσος όρος των απορροφήσεων των τριών τεχνικών επαναλήψεων της κάθε βιολογικής επανάληψης, για το μήνα Αύγουστο και προέκυψαν τα παρακάτω γραφήματα (Εικόνα 4.1.3).

Στα γραφήματα αυτά αναπαρίσταται η απορρόφηση που προκύπτει από τον μέσο όρο των τριών επαναλήψεων που έγιναν ανά δείγμα, για τα τρία συνολικά δείγματα του κάθε ελαιώνα, σε συνάρτηση με το χρόνο (sec). Οι μετρήσεις λαμβάνονταν κάθε 30 δευτερόλεπτα για τρία συνολικά λεπτά.



Εικόνα 4.1.3: *Η μέση απορρόφηση στα 412nm σε συνάρτηση με το χρόνο, για το ένζυμο Πολυφαινολοξειδάση (PPO), για το μήνα Αύγουστο. (Α: Βιολογική Καλλιέργεια, Β: Βιοδυναμική Καλλιέργεια, Γ: Συμβατική Καλλιέργεια, Δ: Ολοκληρωμένης Διαχείρισης Καλλιέργεια)*

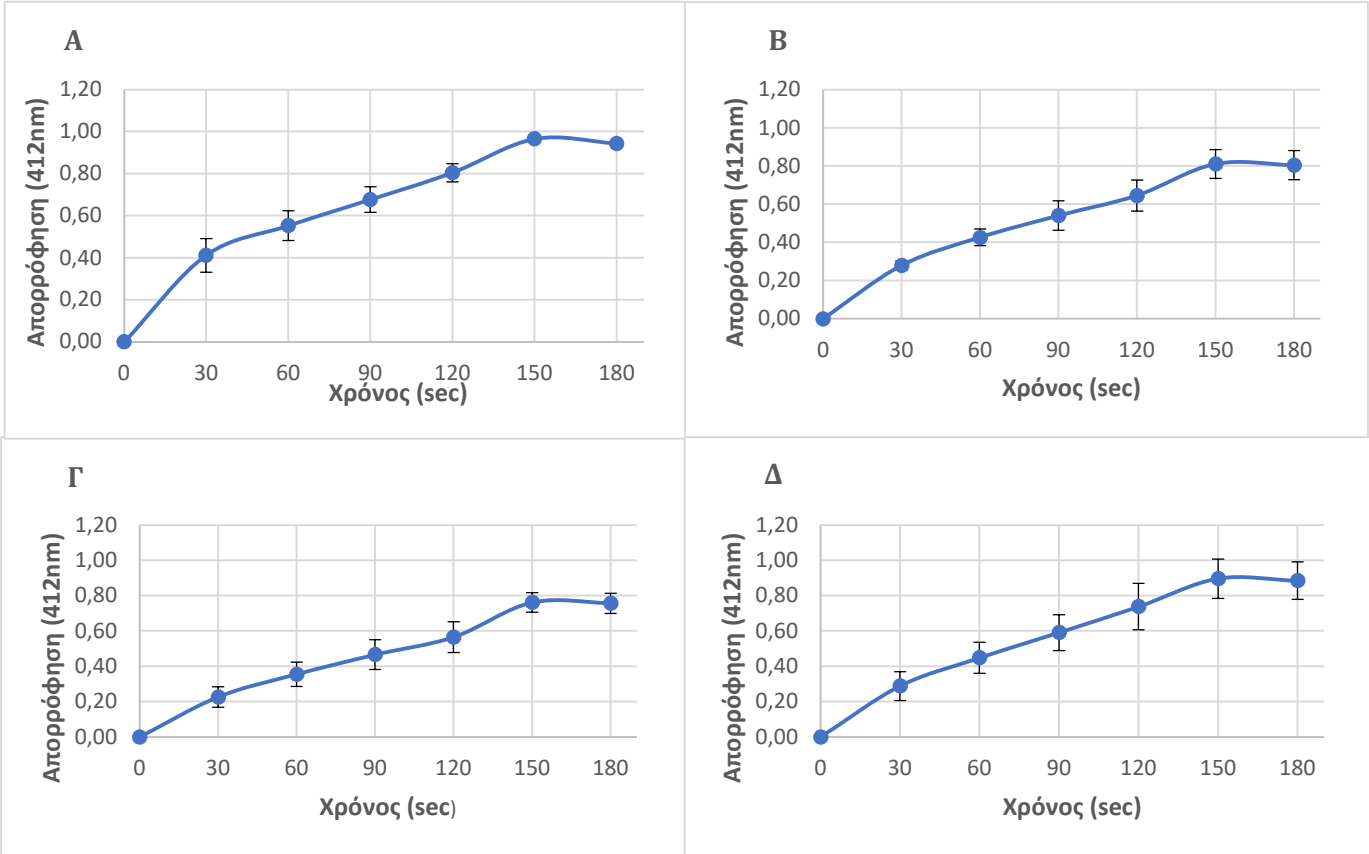
Ομοίως, υπολογίστηκε ο μέσος όρος των απορροφήσεων των τριών τεχνικών επαναλήψεων της κάθε βιολογικής επανάληψης, για το μήνα Σεπτέμβριο και προέκυψαν τα παρακάτω γραφήματα (Εικόνα 4.1.4). Στα γραφήματα αυτά αναπαρίσταται η απορρόφηση που προκύπτει από τον μέσο όρο των τριών επαναλήψεων που έγιναν ανά δείγμα, για τα τρία συνολικά δείγματα του κάθε ελαιώνα, σε συνάρτηση με το χρόνο (sec). Οι μετρήσεις λαμβάνονταν κάθε 30 δευτερόλεπτα για τρία συνολικά λεπτά.



Εικόνα 4.1.4: *Η μέση απορρόφηση στα 412nm σε συνάρτηση με το χρόνο, για το ένζυμο Πολυφαινολοξειδάση (PPO), για το μήνα Σεπτέμβριο. (Α: Βιολογική Καλλιέργεια, Β: Βιοδυναμική Καλλιέργεια, Γ: Συμβατική Καλλιέργεια, Δ: ολοκληρωμένης Διαχείρισης Καλλιέργεια)*

Υπολογίστηκε ο μέσος όρος των απορροφήσεων των τριών τεχνικών επαναλήψεων της κάθε βιολογικής επανάληψης, για το μήνα Οκτώβριο και προέκυψαν τα παρακάτω γραφήματα (Εικόνα 4.1.5).

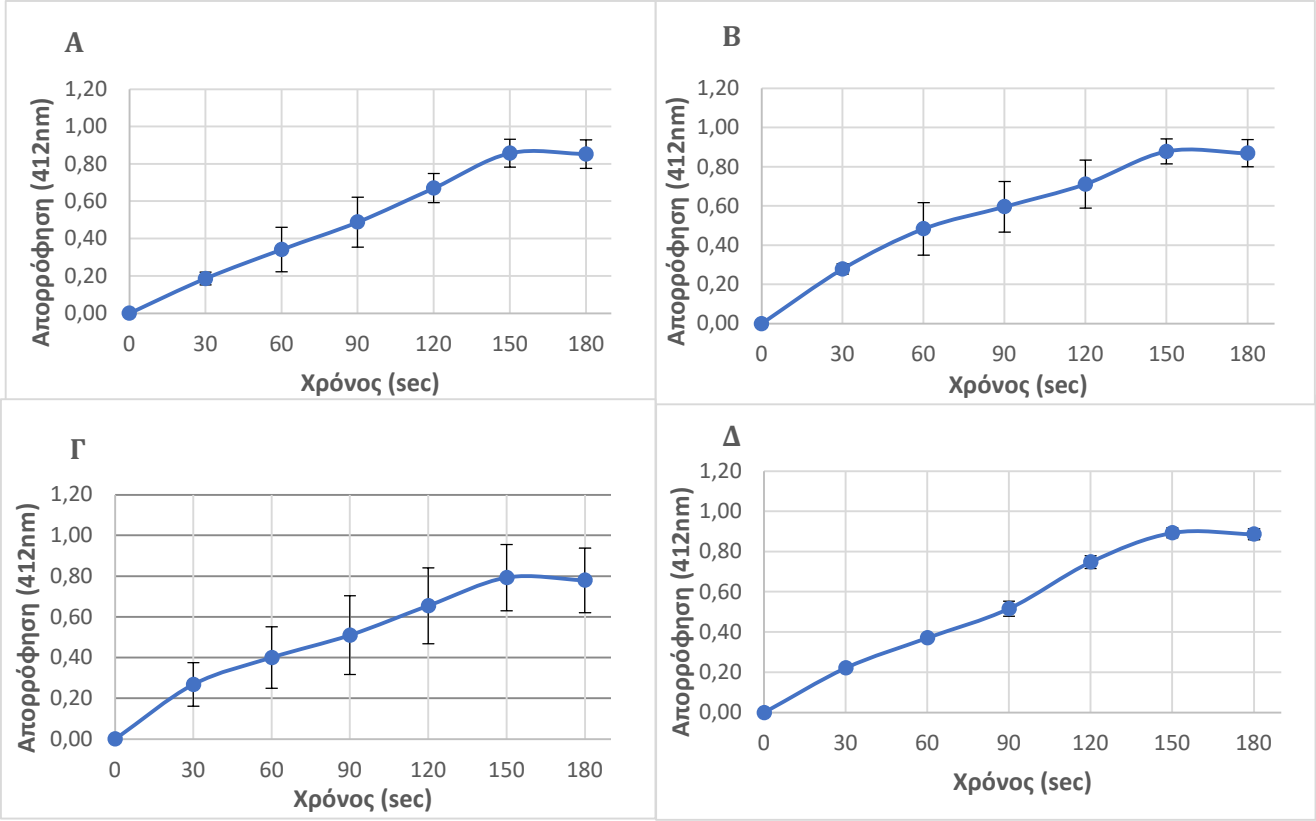
Στα γραφήματα αυτά αναπαρίσταται η απορρόφηση που προκύπτει από τον μέσο όρο των τριών επαναλήψεων που έγιναν ανά δείγμα, για τα τρία συνολικά δείγματα του κάθε ελαιώνα, σε συνάρτηση με το χρόνο (sec). Οι μετρήσεις λαμβάνονταν κάθε 30 δευτερόλεπτα για τρία συνολικά λεπτά.



Εικόνα 4.1.5: *Η μέση απορρόφηση στα 412nm σε συνάρτηση με το χρόνο, για το ένζυμο Πολυφαινολοξειδάση (PPO), για το μήνα Οκτώβριο. (Α: Βιολογική Καλλιέργεια, Β: Βιοδυναμική Καλλιέργεια, Γ: Συμβατική Καλλιέργεια, Δ: Ολοκληρωμένης Διαχείρισης Καλλιέργεια)*

Κατόπιν, υπολογίστηκε ο μέσος όρος των απορροφήσεων των τριών τεχνικών επαναλήψεων της κάθε βιολογικής επανάληψης, για το μήνα Νοέμβριο και προέκυψαν τα παρακάτω γραφήματα (Εικόνα 4.1.6).

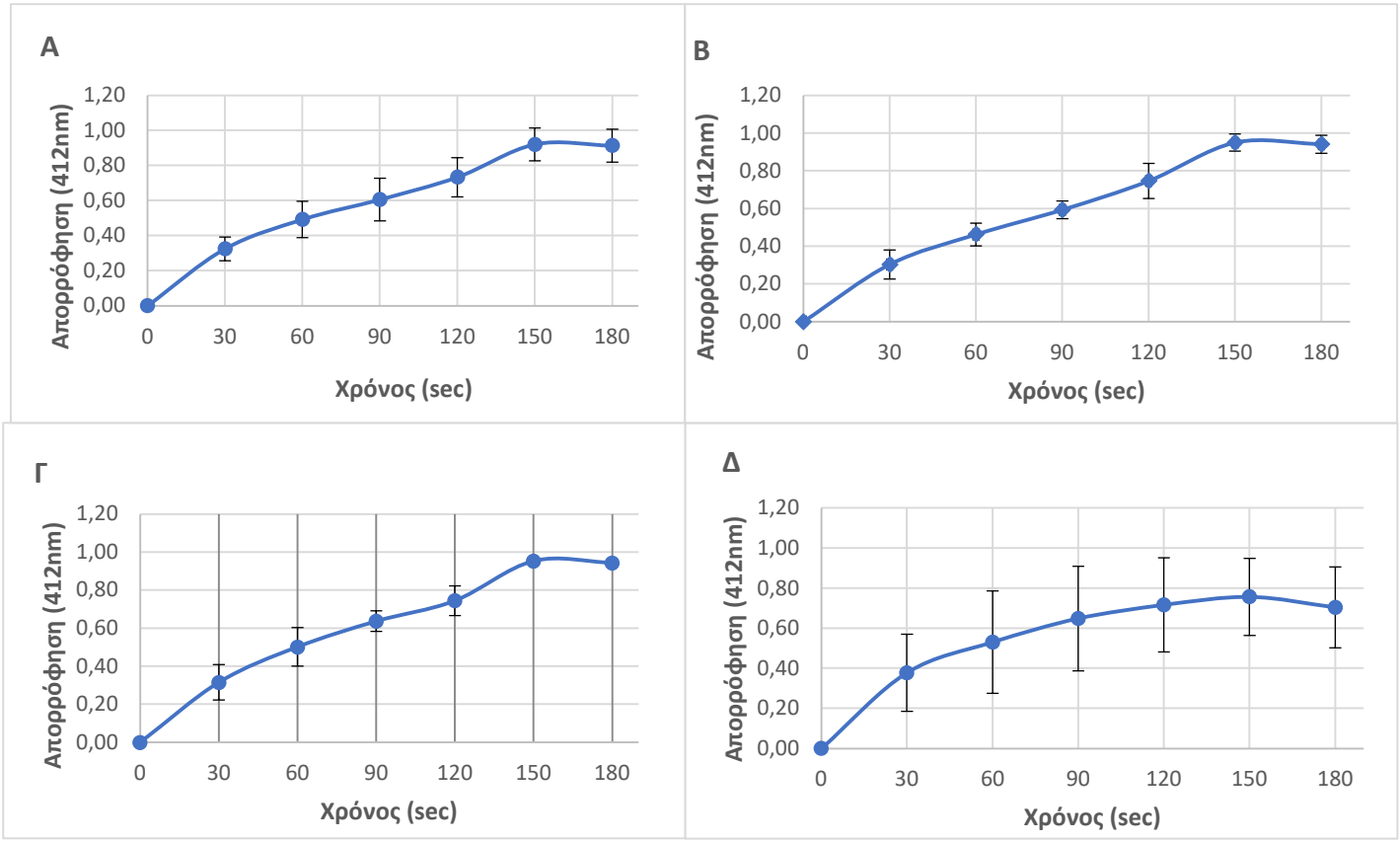
Στα γραφήματα αυτά αναπαρίσταται η απορρόφηση που προκύπτει από τον μέσο όρο των τριών επαναλήψεων που έγιναν ανά δείγμα, για τα τρία συνολικά δείγματα του κάθε ελαιώνα, σε συνάρτηση με το χρόνο (sec). Οι μετρήσεις λαμβάνονταν κάθε 30 δευτερόλεπτα για τρία συνολικά λεπτά.



Εικόνα 4.1.6: *Η μέση απορρόφηση στα 412nm σε συνάρτηση με το χρόνο, για το ένζυμο Πολυφαινολοξειδάση (PPO), για το μήνα Νοέμβριο. (Α: Βιολογική Καλλιέργεια, Β: Βιοδυναμική Καλλιέργεια, Γ: Συμβατική Καλλιέργεια, Δ: Ολοκληρωμένης Διαχείρισης Καλλιέργεια)*

Τέλος, υπολογίστηκε ο μέσος όρος των απορροφήσεων των τριών τεχνικών επαναλήψεων της κάθε βιολογικής επανάληψης, για το μήνα Δεκέμβριο και προέκυψαν τα παρακάτω γραφήματα (Εικόνα 4.1.7).

Στα γραφήματα αυτά αναπαρίσταται η απορρόφηση που προκύπτει από τον μέσο όρο των τριών επαναλήψεων που έγιναν ανά δείγμα, για τα τρία συνολικά δείγματα του κάθε ελαιώνα, σε συνάρτηση με το χρόνο (sec). Οι μετρήσεις λαμβάνονταν κάθε 30 δευτερόλεπτα για τρία συνολικά λεπτά.



Εικόνα 4.1.7: *Η μέση απορρόφηση στα 412nm σε συνάρτηση με το χρόνο, για το ένζυμο Πολυφαινολοξειδάση (PPO), για το μήνα Δεκέμβριο. (Α: Βιολογική Καλλιέργεια, Β: Βιοδυναμική Καλλιέργεια, Γ: Συμβατική Καλλιέργεια, Δ: Ολοκληρωμένης Διαχείρισης Καλλιέργεια)*

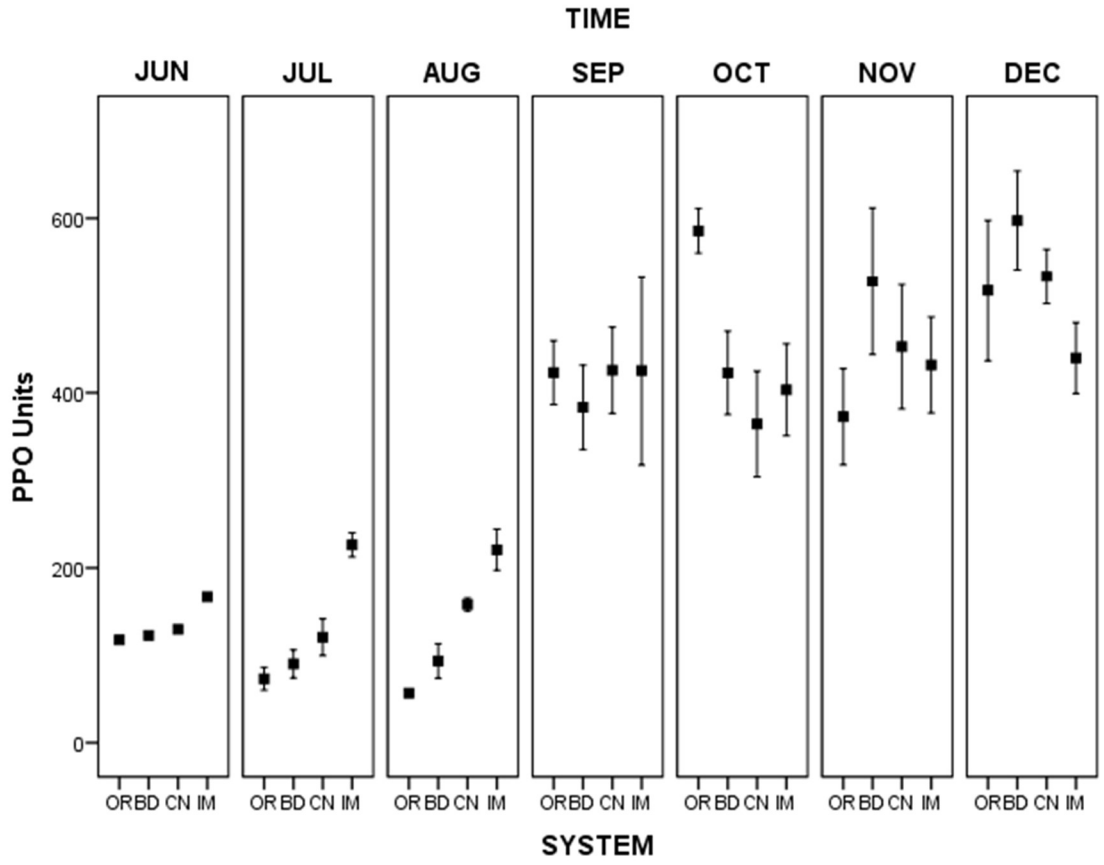
Τέλος, υπολογίστηκαν οι μονάδες units της δραστικότητας για το ένζυμο της PPO. Ένα Unit PPO αντιστοιχεί στην ποσότητα του ενζύμου, η οποία προκαλεί μεταβολή στην απορρόφηση (ΔΑ) κατά 0.05 ανά λεπτό (Sciancalepore and Longone, 1984). Με βάση αυτή τη συσχέτιση υπολογίστηκαν τα units της Πολυφαινολοξειδάσης για κάθε βιολογική επανάληψη. Έπειτα, υπολογίστηκε ο μέσος όρος αυτών και έτσι προέκυψε η τελική ενζυμική δραστικότητα, για κάθε μήνα. Τα Units του ενζύμου παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα και εκφράζονται ανά ml ενζυμικού εκχυλίσματος.

Πίνακας 4.1 : Συγκεντρωτικός πίνακας με τα units του ενζύμου PPO για τα τέσσερα καλλιεργητικά συστήματα, για την καλλιεργητική περίοδο 2023 (Ιούνιος – Δεκέμβριος).

Units PPO/ ml ενζυμικού εκχυλίσματος							
Ελαιώνας	**Ιούνιος**	**Ιούλιος**	**Αύγουστος**	**Σεπτέμβριος**	**Οκτώβριος**	**Νοέμβριος**	**Δεκέμβριος**
Βιολογική Καλλιέργεια (OR)	117	73	56	423	586	373	517
Βιοδυναμική Καλλιέργεια (BD)	122	90	93	383	423	528	597
Συμβατική καλλιέργεια (CN)	129	120	157	426	365	453	534
Ολοκληρωμένης Διαχείρισης Καλλιέργεια (IM)	166	226	221	425	404	432	439

Όπως αναφέρεται στην ενότητα 1.4.3, το ένζυμο της Πολυφαινολοξειδάσης είναι άρρηκτα συνδεδεμένο με τη διαδικασία οξείδωσης των πολυφαινολών, οι οποίες είναι σημαντικές για την ποιότητα και τη γεύση των ελαιόκαρπων. (De Leonardis et al., 2013)Αναμένεται λοιπόν, μία αύξηση της ενεργότητας του ενζύμου κατά τα στάδια πλήρους ωρίμανσης των καρπών ελιάς (Cirilli et al., 2017).Συγκεκριμένα, αυτό καταγράφεται τον μήνα Σεπτέμβριο, όπου συγκριτικά με τον μήνα Αύγουστο παρατηρείται ραγδαία αύξηση των Units της PPO και για τα τέσσερα καλλιεργητικά συστήματα (Εικόνα 4.1.8). Από την άλλη πλευρά, στα αρχικά στάδια ανάπτυξης των καρπών ελιάς αναμένεται χαμηλή ενεργότητα του ενζύμου της Πολυφαινολοξειδάσης (Cirilli et al., 2017).

Αναλυτικότερα, τον μήνα Ιούλιο παρατηρείται μία μικρή πτώση των Units της PPO, συγκριτικά με τον μήνα Ιούνιο για την βιολογική, την βιοδυναμική και τη συμβατική καλλιέργεια αντίστοιχα. Ωστόσο, η ολοκληρωμένης διαχείρισης καλλιέργεια παρουσιάζει μία αύξηση της δραστικότητας. Επιπροσθέτως, τον μήνα Οκτώβριο καταγράφεται μία μείωση της ενεργότητας του ενζύμου στη συμβατική και ολοκληρωμένης διαχείρισης καλλιέργεια. Αυτό πιθανόν να οφείλεται στο γεγονός ότι οι καρποί αρχίζουν να αλλάζουν χρώμα (από πράσινο σε σκούρο πράσινο έως μαύρο) και συνεπώς μεταβάλλεται η σύνθεση των πολυφαινολών.



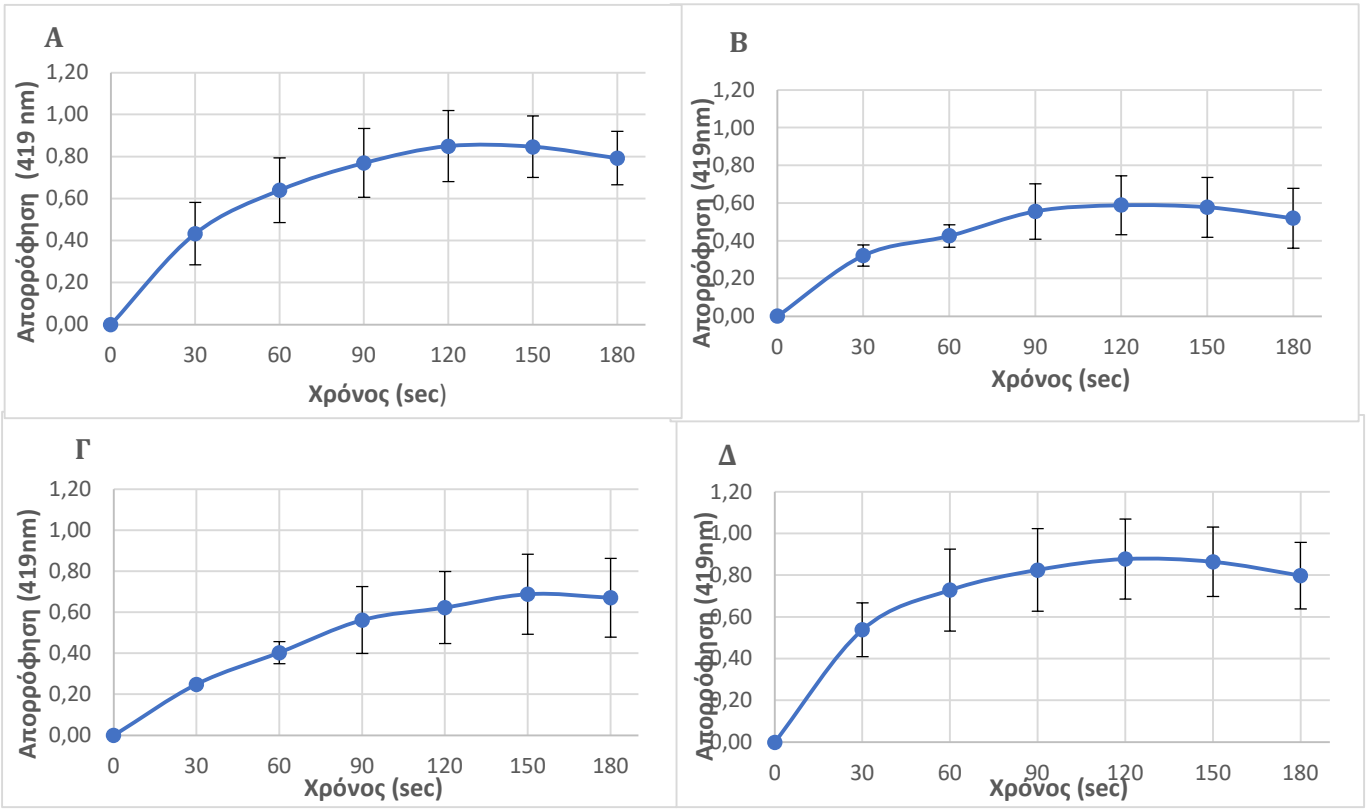
Εικόνα 4.1.8: Ενεργότητα (Units) του ενζύμου PPO συγκριτικά με το χρόνο δειγματοληψίας, για τα 4 καλλιεργητικά συστήματα, όπου παρατηρείται η διακύμανση της δραστηριότητας της PPO. Η στατιστική ανάλυση έγινε με τη χρήσης της μεθόδου Two-way ANNOVA, στο SPSS (βλ. Ενότητα __3.4__). OR: Βιολογική καλλιέργεια, BD: Βιοδυναμική καλλιέργεια, CN: Συμβατική καλλιέργεια, IM: Καλλιέργεια ολοκληρωμένης διαχείρισης.

Τέλος, τον μήνα Δεκέμβριο, όπου οι καρποί βρίσκονται στο τελικό στάδιο ωρίμανσης, παρατηρείται αύξηση της ενεργότητας της PPO και στα τέσσερα καλλιεργητικά συστήματα. Εντούτοις, προκύπτει ότι στα τέσσερα καλλιεργητικά συστήματα είναι σχεδόν όμοιος ο ρυθμός αύξησης και μείωσης της ενεργότητας του ενζύμου της PPO. Από το παραπάνω γράφημα εξακριβώνεται η αρχική υπόθεση που είχε γίνει και επαληθεύονται τα αποτελέσματα των ερευνητών (Cirilli et al., 2017). τα οποία ήταν ότι κατά τα πρώτα στάδια ανάπτυξης και ωρίμανσης των ελαιόκαρπων παρατηρείται χαμηλή ενεργότητα, ενώ, προχωρώντας στα στάδια πλήρης ωρίμανσης, η ενεργότητα του ενζύμου θα αυξάνεται σταδιακά. Συμπερασματικά, παρατηρείται μία παρόμοια τάση και στα τέσσερα καλλιεργητικά συστήματα, στα οποία, κατά τους θερινούς μήνες (Ιούνιος έως Αύγουστος), η

ενεργότητα του ενζύμου PPO παραμένει σε χαμηλά επίπεδα, ενώ στη συνέχεια αυτή αυξάνεται, μετά τον μήνα Σεπτέμβριο. Η ενεργότητα του ενζύμου παραμένει σε υψηλά επίπεδα μέχρι και τον μήνα Δεκέμβριο (Εικόνα 4.1.29).

4.2 Προσδιορισμός της ενεργότητας του ενζύμου της Υπεροξειδάσης (POD)

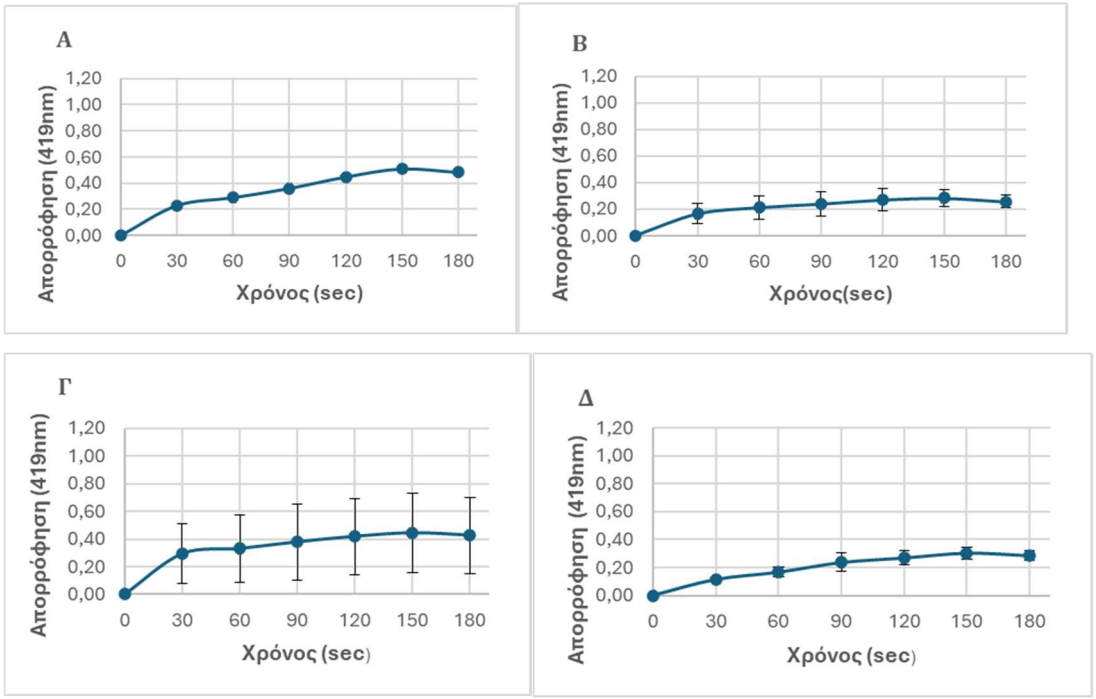
Οι απορροφήσεις των δειγμάτων που παρουσιάζονται σε πίνακες (βλ. Παράρτημα), χρειάστηκαν για τον υπολογισμό της ενεργότητας του ενζύμου της Υπεροξειδάσης (POD).



Εικόνα 4.2.1: *Η μέση απορρόφηση στα 419nm σε συνάρτηση με το χρόνο, για το ένζυμο Υπεροξειδάση (POD), για το μήνα Ιούνιο. (Α: Βιολογική Καλλιέργεια, Β: Βιοδυναμική Καλλιέργεια, Γ: Συμβατική Καλλιέργεια, Δ: Ολοκληρωμένης Διαχείρισης Καλλιέργεια)*

Κάθε πίνακας αντιστοιχεί σε μια δειγματοληψία, ξεκινώντας από την πρώτη,

για τον μήνα Ιούνιο 2023 (Πίνακας 8). Οι μετρήσεις στο φασματοφωτόμετρο πραγματοποιήθηκαν στα 419nm. Και αυτή τη φορά, κατά την πρώτη δειγματοληψία, δεν πραγματοποιήθηκαν 3 βιολογικές επαναλήψεις, αλλά παραλήφθηκε ενζυμικό εκχύλισμα από το σύνολο των δέντρων, ένα για κάθε ελαιώνα (όμοια με Ενότητα 4.1).



Εικόνα 4.2.2: *Η μέση απορρόφηση στα 419nm σε συνάρτηση με το χρόνο, για το ένζυμο Υπεροξειδάση (POD), για το μήνα Ιούλιο. (Α: Βιολογική Καλλιέργεια, Β: Βιοδυναμική Καλλιέργεια, Γ: Συμβατική Καλλιέργεια, Δ: Ολοκληρωμένης Διαχείρισης Καλλιέργεια)*

Και πάλι, υπολογίστηκε ο μέσος όρος των απορροφήσεων των τριών τεχνικών επαναλήψεων της κάθε βιολογικής επανάληψης, για το μήνα Ιούνιο και προέκυψαν τα παρακάτω γραφήματα (Εικόνα 4.2.1).

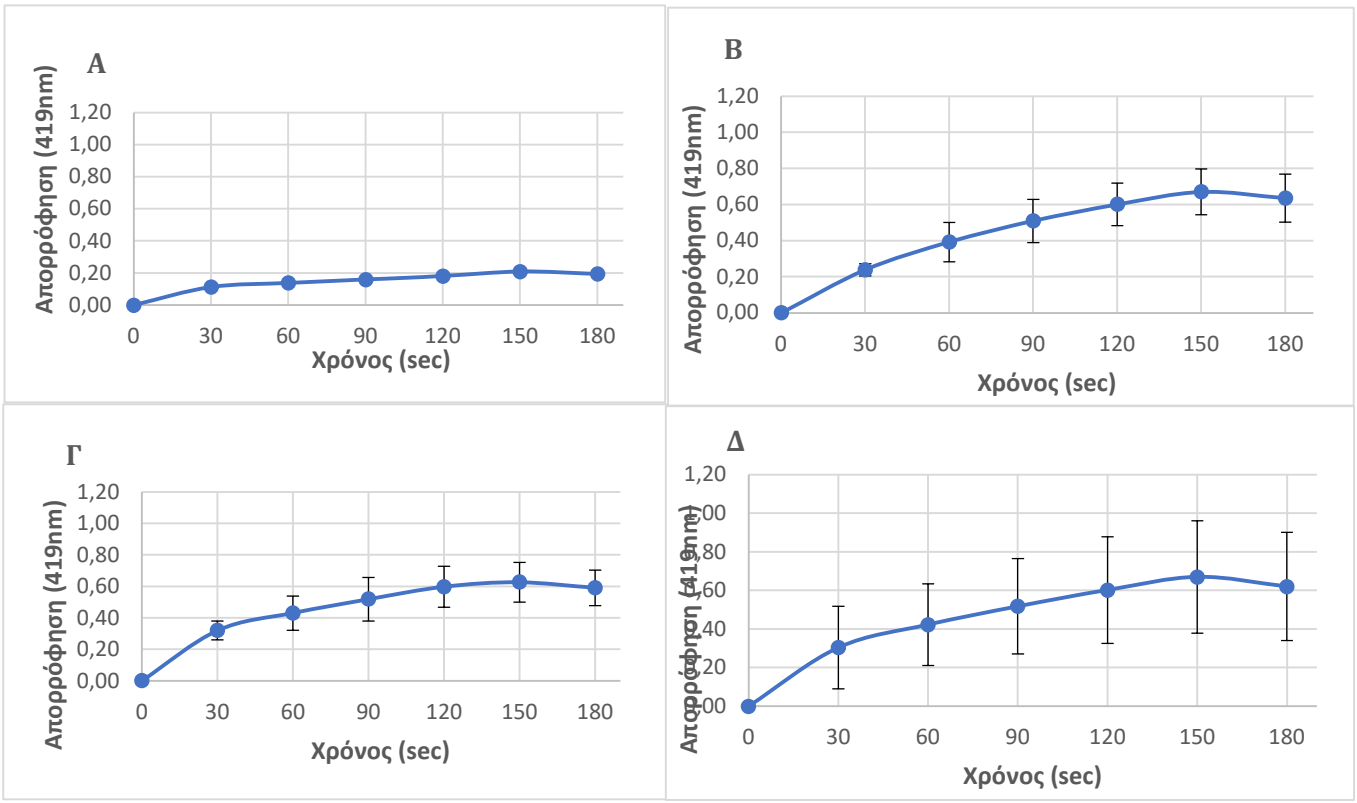
Στα γραφήματα αυτά αναπαρίσταται η απορρόφηση που προκύπτει από τον μέσο όρο των τριών επαναλήψεων που έγιναν ανά δείγμα, για τα τρία συνολικά δείγματα του κάθε ελαιώνα, σε συνάρτηση με το χρόνο (sec). Οι μετρήσεις λαμβάνονταν κάθε 30 δευτερόλεπτα για τρία συνολικά λεπτά.

Υπολογίστηκε ο μέσος όρος των απορροφήσεων των τριών τεχνικών επαναλήψεων της κάθε βιολογικής επανάληψης, για το μήνα Ιούλιο και προέκυψαν τα παρακάτω γραφήματα (Εικόνα 4.2.2).

Στα γραφήματα αυτά αναπαρίσταται η απορρόφηση που προκύπτει από τον μέσο όρο των τριών επαναλήψεων που έγιναν ανά δείγμα, για τα τρία συνολικά δείγματα του κάθε ελαιώνα, σε συνάρτηση με το χρόνο (sec). Οι μετρήσεις λαμβάνονταν κάθε 30 δευτερόλεπτα για τρία συνολικά λεπτά.

Ομοίως, υπολογίστηκε ο μέσος όρος των απορροφήσεων των τριών τεχνικών επαναλήψεων της κάθε βιολογικής επανάληψης, για το μήνα Αύγουστο και προέκυψαν τα παρακάτω γραφήματα (Εικόνα 4.2.3).

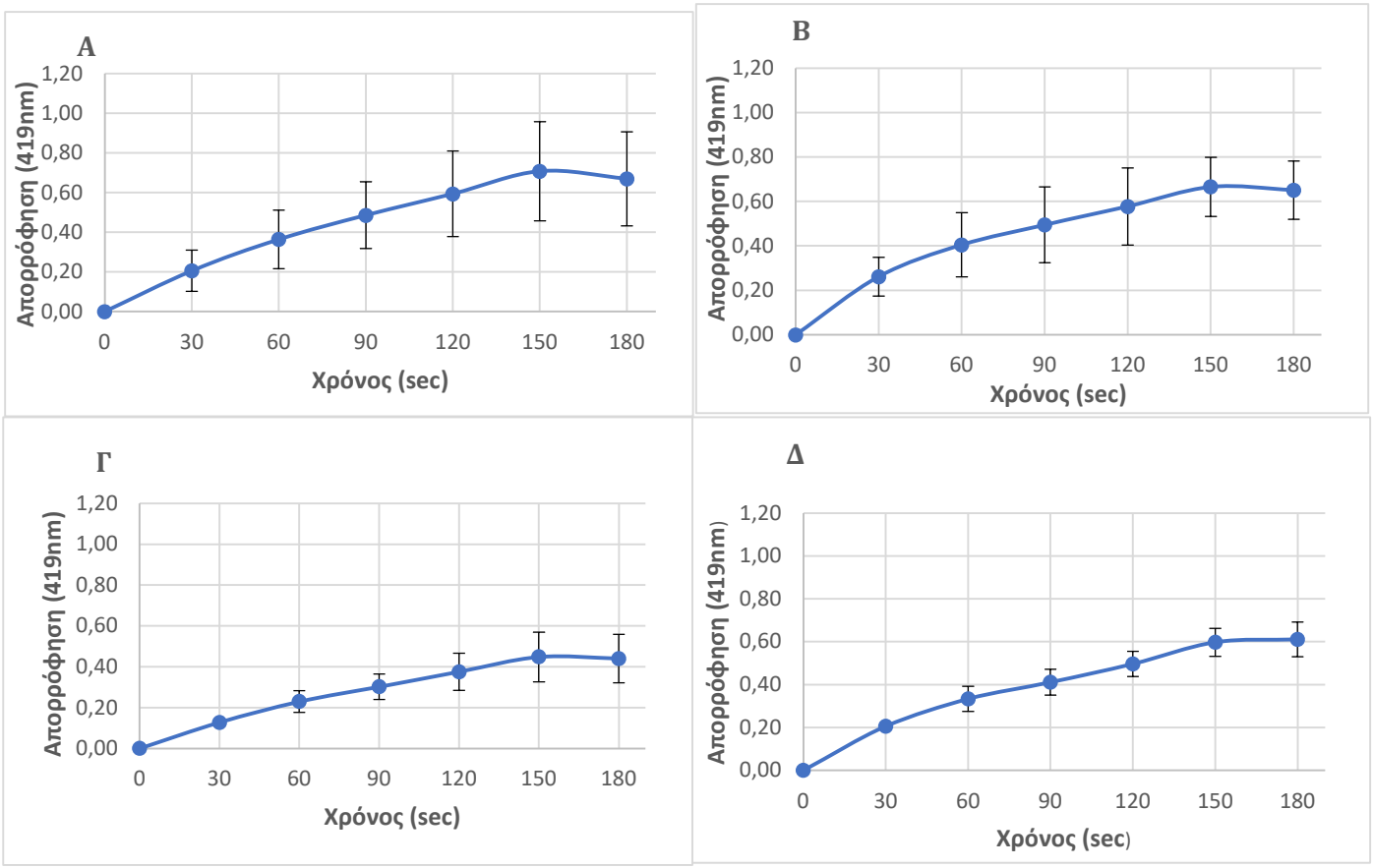
Στα γραφήματα αυτά αναπαρίσταται η απορρόφηση που προκύπτει από τον μέσο όρο των τριών επαναλήψεων που έγιναν ανά δείγμα, για τα τρία συνολικά δείγματα του κάθε ελαιώνα, σε συνάρτηση με το χρόνο (sec). Οι μετρήσεις λαμβάνονταν κάθε 30 δευτερόλεπτα για τρία συνολικά λεπτά



Εικόνα 4.2.3: *Η μέση απορρόφηση στα 419nm σε συνάρτηση με το χρόνο, για το ένζυμο Υπεροξειδάση (POD), για το μήνα Αύγουστο. (Α: Βιολογική Καλλιέργεια, Β: Βιοδυναμική Καλλιέργεια, Γ: Συμβατική Καλλιέργεια, Δ: Ολοκληρωμένης Διαχείρισης Καλλιέργεια)*

Αντίστοιχα, υπολογίστηκε ο μέσος όρος των απορροφήσεων των τριών τεχνικών επαναλήψεων της κάθε βιολογικής επανάληψης, για το μήνα Σεπτέμβριο και προέκυψαν τα παρακάτω γραφήματα (Εικόνα 4.2.4).

Στα γραφήματα αυτά αναπαρίσταται η απορρόφηση που προκύπτει από τον μέσο όρο των τριών επαναλήψεων που έγιναν ανά δείγμα, για τα τρία συνολικά δείγματα του κάθε ελαιώνα, σε συνάρτηση με το χρόνο (sec). Οι μετρήσεις λαμβάνονταν κάθε 30 δευτερόλεπτα για τρία συνολικά λεπτά

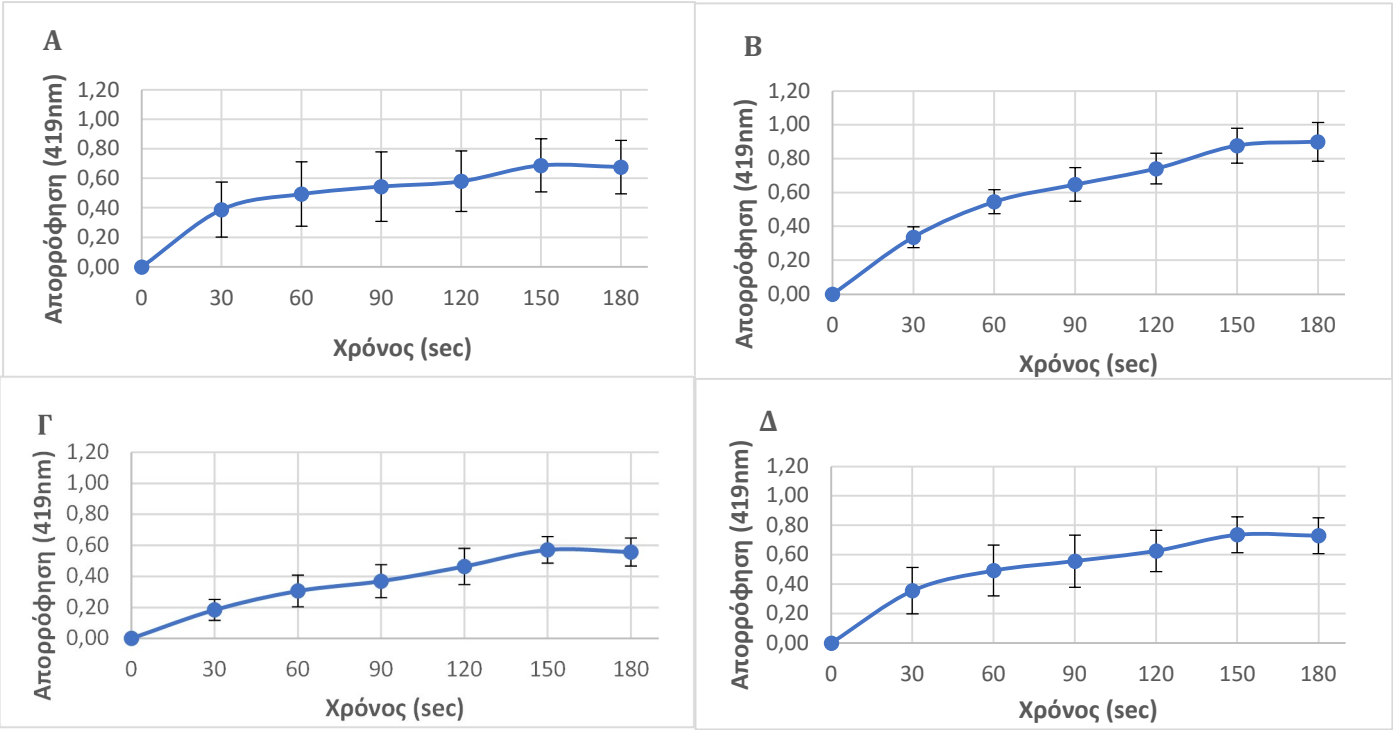


Εικόνα 4.2.4: *Η μέση απορρόφηση στα 419nm σε συνάρτηση με το χρόνο, για το ένζυμο Υπεροξειδάση (POD), για το μήνα Σεπτέμβριο. (Α: Βιολογική Καλλιέργεια, Β: Βιοδυναμική Καλλιέργεια, Γ: Συμβατική Καλλιέργεια, Δ: Ολοκληρωμένης Διαχείρισης Καλλιέργεια)*

Υπολογίστηκε ο μέσος όρος των απορροφήσεων των τριών τεχνικών επαναλήψεων της κάθε βιολογικής επανάληψης, για το μήνα Αύγουστο και προέκυψαν τα παρακάτω γραφήματα (Εικόνα 4.2.5).

Στα γραφήματα αυτά αναπαρίσταται η απορρόφηση που προκύπτει από τον μέσο

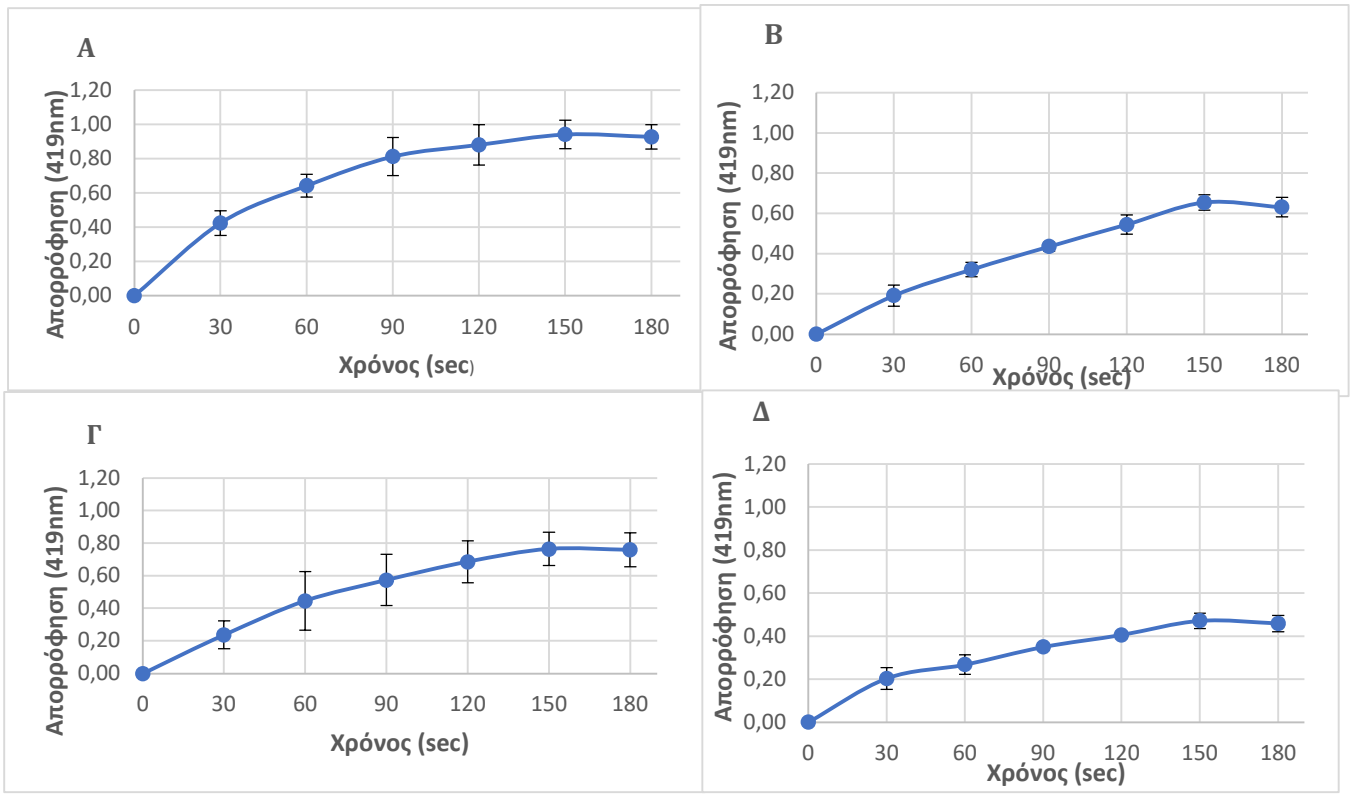
όρο των τριών επαναλήψεων που έγιναν ανά δείγμα, για τα τρία συνολικά δείγματα του κάθε ελαιώνα, σε συνάρτηση με το χρόνο (sec). Οι μετρήσεις λαμβάνονταν κάθε 30 δευτερόλεπτα για τρία συνολικά λεπτά



Εικόνα 4.2.5: *Η μέση απορρόφηση στα 419nm σε συνάρτηση με το χρόνο, για το ένζυμο Υπεροξειδάση (POD), για το μήνα Οκτώβριο. (Α: Βιολογική Καλλιέργεια, Β: Βιοδυναμική Καλλιέργεια, Γ: Συμβατική Καλλιέργεια, Δ: Ολοκληρωμένης Διαχείρισης Καλλιέργεια)*

Υπολογίστηκε ο μέσος όρος των απορροφήσεων των τριών τεχνικών επαναλήψεων της κάθε βιολογικής επανάληψης, για το μήνα Νοέμβριο και προέκυψαν τα παρακάτω γραφήματα (Εικόνα 4.2.6).

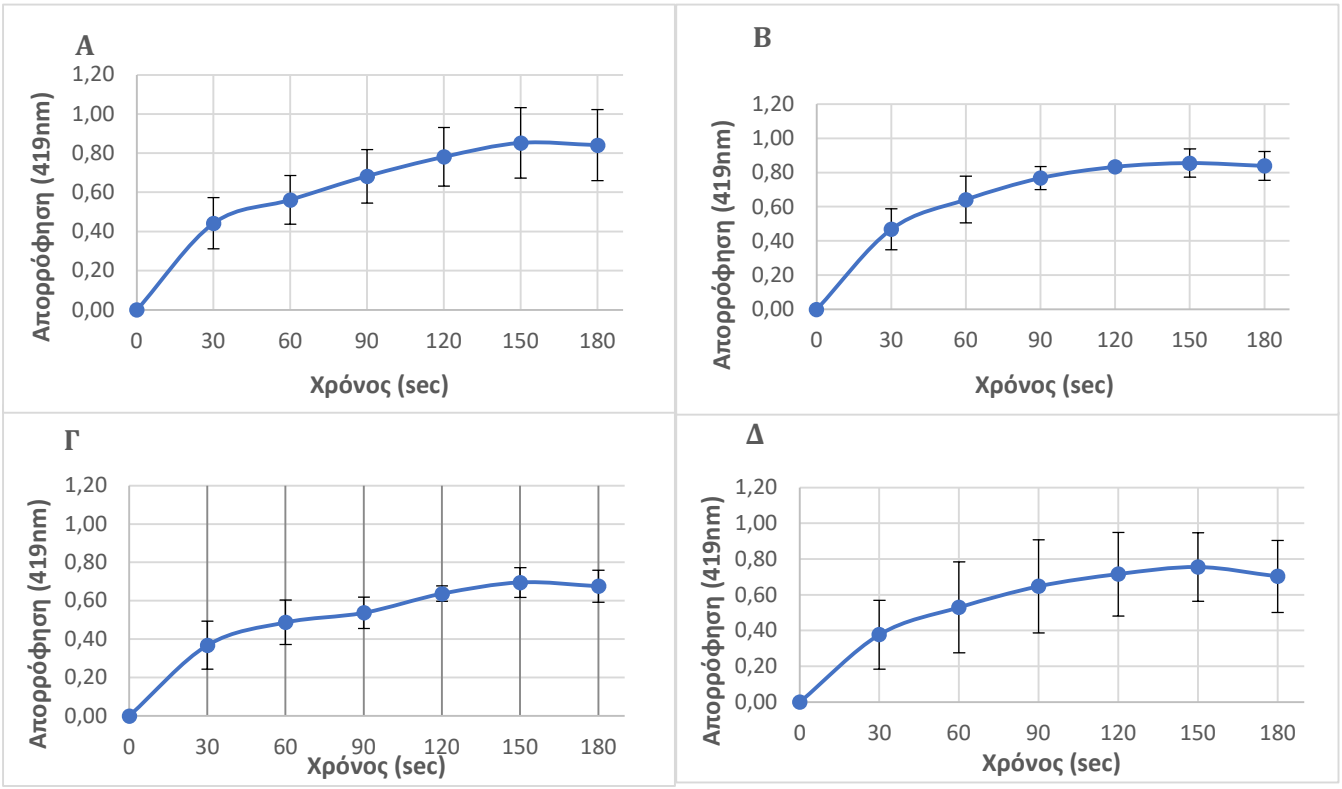
Στα γραφήματα αυτά αναπαρίσταται η απορρόφηση που προκύπτει από τον μέσο όρο των τριών επαναλήψεων που έγιναν ανά δείγμα, για τα τρία συνολικά δείγματα του κάθε ελαιώνα, σε συνάρτηση με το χρόνο (sec). Οι μετρήσεις λαμβάνονταν κάθε 30 δευτερόλεπτα για τρία συνολικά λεπτά



Εικόνα 4.2.6: *Η μέση απορρόφηση στα 419nm σε συνάρτηση με το χρόνο, για το ένζυμο Υπεροξειδάση (POD), για το μήνα Νοέμβριο. (Α: Βιολογική Καλλιέργεια, Β: Βιοδυναμική Καλλιέργεια, Γ: Συμβατική Καλλιέργεια, Δ: Ολοκληρωμένης Διαχείρισης Καλλιέργεια)*

Υπολογίστηκε ο μέσος όρος των απορροφήσεων των τριών τεχνικών επαναλήψεων της κάθε βιολογικής επανάληψης, για το μήνα Δεκέμβριο και προέκυψαν τα παρακάτω γραφήματα (Εικόνα 4.2.7).

Στα γραφήματα αυτά αναπαρίσταται η απορρόφηση που προκύπτει από τον μέσο όρο των τριών επαναλήψεων που έγιναν ανά δείγμα, για τα τρία συνολικά δείγματα του κάθε ελαιώνα, σε συνάρτηση με το χρόνο (sec). Οι μετρήσεις λαμβάνονταν κάθε 30 δευτερόλεπτα για τρία συνολικά λεπτά



Εικόνα 4.2.7: *Η μέση απορρόφηση στα 419nm σε συνάρτηση με το χρόνο, για το ένζυμο Υπεροξειδάση (POD), για το μήνα Δεκέμβριο. (Α: Βιολογική Καλλιέργεια, Β: Βιοδυναμική Καλλιέργεια, Γ: Συμβατική Καλλιέργεια, Δ: Ολοκληρωμένης Διαχείρισης Καλλιέργεια)*

Τέλος, υπολογίστηκαν οι μονάδες Units της ενζυμικής δραστικότητας. Ένα Unit POD αντιστοιχεί στην ποσότητα του ενζύμου, η οποία προκαλεί μεταβολή στην απορρόφηση (ΔΑ) κατά 0.001 ανά λεπτό (García-Rodríguez et al., 2011). Επομένως, με βάση αυτή τη συσχέτιση, υπολογίστηκαν τα units της Υπεροξειδάσης για τους τέσσερις ελαιώνες, για την καλλιεργητική περίοδο Ιουνίου – Δεκεμβρίου 2023. Τα Units του ενζύμου παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα.

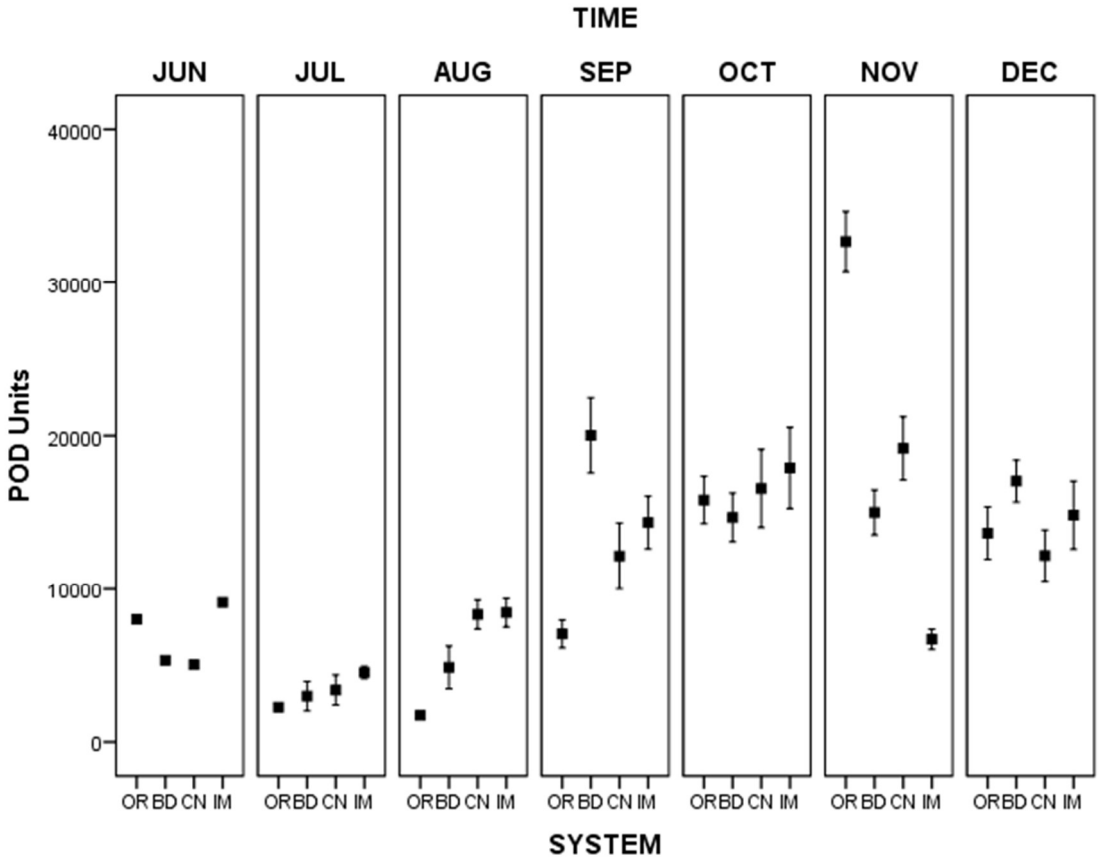
Πίνακας 4.2: Συγκεντρωτικός πίνακας των units του ενζύμου της Υπεροξειδάσης (POD) για τα τέσσερα καλλιεργητικά συστήματα, κατά την καλλιεργητική περίοδο Ιουνίου – Δεκεμβρίου 2023.

Units POD/ ml ενζυμικού εκχυλίσματος							
Ελαιώνας	**Ιούνιος**	**Ιούλιος**	**Αύγουστος**	**Σεπτέμβριος**	**Οκτώβριος**	**Νοέμβριος**	**Δεκέμβριος**
Βιολογική Καλλιέργεια (OR)	8001	2266	1738	7048	15818	32684	13657
Βιοδυναμική Καλλιέργεια (BD)	5325	2991	4866	20021	14683	15011	17049
Συμβατική καλλιέργεια (CN)	5043	3385	8319	12171	16565	19176	12198
Ολοκληρωμένης Διαχείρισης Καλλιέργεια (IM)	9113	4533	8445	14352	17905	6699	14833

Όπως αναφέρεται στην ενότητα 1.4.4, η Υπεροξειδάση (POD) αποτελεί ένα ένζυμο το οποίο εμπλέκεται στη διαδικασία των οξειδωτικών αντιδράσεων και έχει σημαντικό ρόλο στην προστασία των φυτών από το οξειδωτικό στρες. Αναμένεται λοιπόν, η δραστηριότητα της Υπεροξειδάσης να διατηρείται σε χαμηλά επίπεδα κατά τα αρχικά στάδια ανάπτυξης των καρπών (García-Rodríguez et al., 2011).Σύμφωνα με την Εικόνα 4.2, είναι προφανές ότι, στα πρώιμα στάδια ανάπτυξης των καρπών, καταγράφεται χαμηλή ενεργότητα της POD. Επίσης, καταγράφονται πολύ υψηλές τιμές ενεργότητας (Πίνακας 4.2) στα διαφορετικά στάδια ανάπτυξης του καρπού (Oulbi et al., 2021).

Συγκεκριμένα, τον μήνα Ιούλιο, παρατηρείται μείωση της ενεργότητας του ενζύμου, σε σύγκριση με το μήνα Ιούνιο, και για τα τέσσερα καλλιεργητικά συστήματα (Εικόνα 4.2.8). Για την Βιολογική καλλιέργεια, η πτώση αυτή συνεχίζεται και τον μήνα Αύγουστο. Από την άλλη πλευρά, τον ίδιο μήνα, στην Βιοδυναμική, τη Συμβατική και την Ολοκληρωμένης διαχείρισης καλλιέργεια, η ενεργότητα αυξάνεται. Έπειτα, το Σεπτέμβριο καταγράφεται σημαντική αύξηση της ενεργότητας και στα τέσσερα καλλιεργητικά συστήματα. Η μεγαλύτερη αύξηση παρατηρείται στη Βιοδυναμική καλλιέργεια (20.021 Units POD/ml ενζυμικού εκχυλίσματος). Τον μήνα Οκτώβριο καταγράφεται αύξηση της ενεργότητας του ενζύμου, σε όλα τα συστήματα με εξαίρεση τη Βιοδυναμική καλλιέργεια, στην οποία μειώνεται. Αυτό πιθανώς να σχετίζεται με τη μεταβολή του χρώματος, η οποία

συμβαίνει στους καρπούς της ελιάς (από πράσινο σε σκούρο πράσινο έως μαύρο χρώμα) και είναι μία φυσιολογική μεταβολή, στην οποία η POD διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο.



Εικόνα 4.2.8: Ενεργότητα (Units) του ενζύμου POD συγκριτικά με το χρόνο δειγματοληψίας, για τα 4 καλλιεργητικά συστήματα, όπου παρατηρείται η διακύμανση της δραστηριότητας της POD. Η στατιστική ανάλυση έγινε με τη χρήσης της μεθόδου Two-way ANNOVA, στο SPSS (βλ. Ενότητα 3.4). OR: Βιολογική καλλιέργεια, BD: Βιοδυναμική καλλιέργεια, CN: Συμβατική καλλιέργεια, IM: Καλλιέργεια ολοκληρωμένης διαχείρισης.

Στα στάδια πλήρους ωρίμανσης των καρπών - τους μήνες Νοέμβριο και Δεκέμβριο - παρατηρείται σταθεροποίηση της ενεργότητας, με κάποιες εξαιρέσεις. Οι εξαιρέσεις αυτές για τον Νοέμβριο είναι η Καλλιέργεια ολοκληρωμένης διαχείρισης, στην οποία υπάρχει μείωση της ενεργότητας, ενώ στην Βιολογική καλλιέργεια υπάρχει αύξηση. Επίσης, στη Συμβατική καλλιέργεια τον μήνα Δεκέμβριο παρατηρείται μείωση της ενεργότητας, ενώ η Βιολογική «επιστρέφει» σε τιμές ενεργότητας παραπλήσιες με τα υπόλοιπα καλλιεργητικά συστήματα.

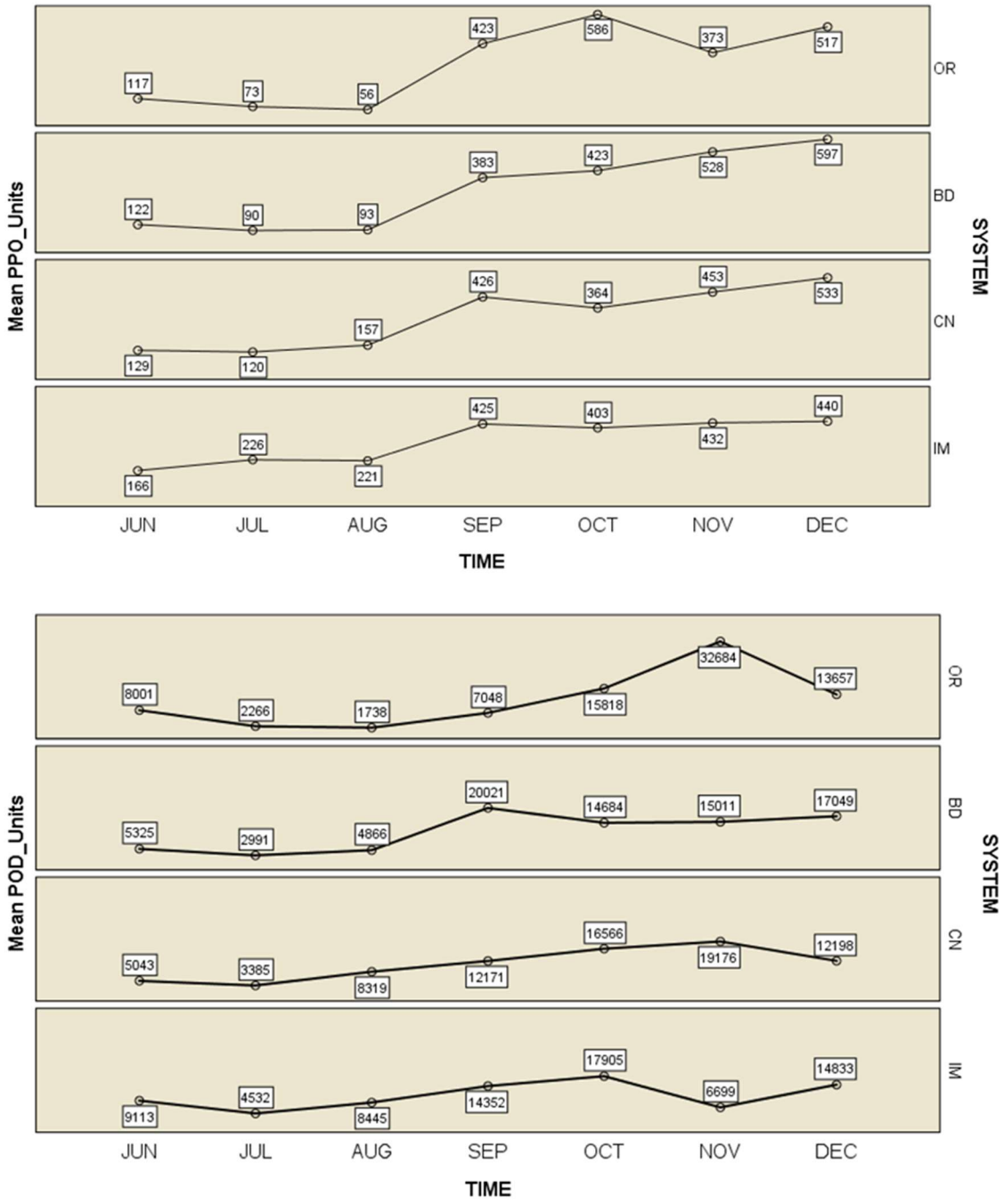
Συνεπώς, στην παρούσα εργασία φαίνεται να επιβεβαιώνεται ο τρόπος δράσης του ενζύμου της Υπεροξειδάσης (Cirilli et al., 2017), (García-Rodríguez et al., 2011), το οποίο, όπως αναφέρεται, εμφανίζει χαμηλή ενεργότητα στα πρώτα στάδια ανάπτυξης των καρπών της ελιάς, ενώ στα στάδια πλήρους ωρίμανσης αυξάνεται. Και στην περίπτωση της POD, η αύξηση της ενεργότητας καταγράφεται κατά τον μήνα Σεπτέμβριο και για τα τέσσερα καλλιεργητικά συστήματα.

4.3 Σύγκριση PPO- POD

Όπως φαίνεται και στην Εικόνα 4.3.1, από την σύγκριση της δραστικότητας των δύο ενζύμων, PPO και POD, στην πάροδο του χρόνου (Ιούνιος – Δεκέμβριος 2023) προκύπτουν τα εξής συμπεράσματα:

1. Στα πρώτα στάδια ανάπτυξης των καρπών της ελιάς (Ιούνιος έως Αύγουστος) καταγράφονται χαμηλές τιμές Units και για τα δύο ένζυμα.
2. Και τα δύο ένζυμα παρουσιάζουν τη σημαντικότερη αύξηση της ενεργότητάς τους κατά τον μήνα Σεπτέμβριο.
3. Η ενεργότητα των δύο ενζύμων αυξάνεται σταδιακά στα στάδια πλήρους ωρίμανσης των καρπών ελιάς (Οκτώβριο έως Δεκέμβριο) , με κάποιες εξαιρέσεις.
4. Στο ένζυμο της PPO δεν παρατηρούνται σημαντικές διαφοροποιήσεις μεταξύ των καλλιεργητικών συστημάτων. Και στους 4 τρόπους καλλιέργειας της ελιάς, παρατηρείται παρόμοιο προφίλ αυξομείωσης της ενεργότητας του ενζύμου. Φαίνεται το ένζυμο της Πολυφαινολοξειδάσης στους καρπούς να μην επηρεάζεται από τον τρόπο καλλιέργειας του δέντρου.
5. Στο ένζυμο της POD απαντώνται μεγαλύτερες διαφοροποιήσεις σε κάθε καλλιεργητικό σύστημα. Αυτό υποδεικνύει ενδεχόμενη συσχέτιση του τρόπου καλλιέργειας του δέντρου με τα επίπεδα ενεργότητας του ενζύμου της Υπεροξειδάσης.
6. Και στις δύο περιπτώσεις ενζύμων (PPO & POD), η μεταβλητή του καλλιεργητικού συστήματος φαίνεται να μην επηρεάζει την ενεργότητα των ενζύμων, καθώς οι διαφορές της ενζυμικής δραστικότητας μεταξύ των ελαιώνων είναι στατιστικά μη σημαντικές. Αυτό το οποίο επηρεάζει με σημαντικό

στατιστικά τρόπο είναι ο χρόνος, άρα το στάδιο ανάπτυξης στο οποίο βρίσκεται ο καρπός.



Εικόνα *4.3.1.:* *Γράφημα της ενεργότητας και των δυο ενζύμων (PPO & POD), ανά καλλιεργητικό σύστημα, καθ' όλη τη διάρκεια ανάπτυξης του καρπού (Ιούνιος – Δεκέμβριος).*

5 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Είναι σαφές ότι η μελέτη της ενεργότητας των ενζύμων πολυφαινολοξειδάσης (PPO) και υπεροξειδάσης (POD) σε καρπούς ελιάς κατά την περίοδο ανάπτυξής τους (Ιούνιος-Δεκέμβριος) είναι σημαντική, καθώς αυτά τα ένζυμα διαδραματίζουν καθοριστικό και κρίσιμο ρόλο στη διαδικασία ωρίμανσης και στην ποιότητα του καρπού.

Συνήθως, η ενεργότητα της πολυφαινολοξειδάσης αυξάνεται καθώς οι καρποί ωριμάζουν, αλλά μπορεί να υπάρχουν περίοδοι μείωσης της δραστικότητάς της, ιδίως όταν οι καρποί είναι νεαροί και η παραγωγή φαινολικών ενώσεων είναι περιορισμένη. Αντίστοιχα, η ενεργότητα της υπεροξειδάσης αυξάνεται καθώς οι καρποί προχωρούν στην ωρίμανση, αλλά μπορεί επίσης να παρατηρηθεί μία μείωση λόγω πτώσης του κυτταρικού μεταβολισμού ή άλλων φυσιολογικών διαδικασιών.

Από τα ευρήματα της παρούσας εργασίας προκύπτει ότι για το ένζυμο της πολυφαινολοξειδάσης παρατηρείται μία παρόμοια τάση και στα τέσσερα καλλιεργητικά συστήματα, στα οποία, κατά τους θερινούς μήνες (Ιούνιος έως Αύγουστος), η ενεργότητα του ενζύμου PPO παραμένει σε χαμηλά επίπεδα, ενώ στη συνέχεια αυτή αυξάνεται, μετά τον μήνα Σεπτέμβριο. Η ενεργότητα του ενζύμου παραμένει σε υψηλά επίπεδα μέχρι και τον μήνα Δεκέμβριο (Γράφημα 4.1.29). Επιπροσθέτως, η έκφραση των γονιδίων της PPO επηρεάζεται, εκτός από τα στάδια ανάπτυξης του ελαιόκαρπου και από την κατάσταση του νερού του φυτού. Ακριβέστερα, τα επίπεδα έκφρασης των γονιδίων της PPO είναι υψηλότερα στα αρδευόμενα δέντρα κατά τη διάρκεια των προχωρημένων σταδίων ωρίμανσης των καρπών, αλλά η έκφραση και η δραστηριότητα των γονιδίων δεν συσχετίζονται με την ποσότητα των φαινολικών (Cirilli et al., 2017).

Συμπληρωματικά, από τα ευρήματα της παρούσας εργασίας προκύπτει ότι το ένζυμο της υπεροξειδάσης εμφανίζει χαμηλή ενεργότητα στα πρώτα στάδια ανάπτυξης των καρπών της ελιάς, ενώ στα στάδια πλήρης ωρίμανσης αυξάνεται, όπως έχει ήδη προταθεί από τους (García-Rodríguez et al., 2011) . Και στην

περίπτωση της POD, η αύξηση της ενεργότητας καταγράφεται κατά τον μήνα Σεπτέμβριο και για τα τέσσερα καλλιεργητικά συστήματα.

Είναι αδιαμφισβήτητα φανερό, ότι οι αλλαγές αυτές στην ενεργότητα των ενζύμων οφείλονται στην κινητική των βιοχημικών διεργασιών που μεσολαβούν μεταξύ της ανάπτυξης και της ωρίμανσης των καρπών, καθώς και στις προσαρμογές των φυτών σε περιβαλλοντικούς παράγοντες και καταπονήσεις (στρες).

6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ

6.1 Συμπεράσματα

Η ελιά (*Olea europaea L.*) είναι ένα ευρέως διαδεδομένο φυτό που προέρχεται από την περιοχή της Μεσογείου και αποτελεί ένα από τα αρχαιότερα καλλιεργούμενα δέντρα στον κόσμο. Η εξάπλωση του πολύτιμου δέντρου της ελιάς, καθώς και οι εξελίξεις στην παραγωγή ελαιόλαδου, συνδέονται στενά με ένα ανώτερο πολιτισμικό επίπεδο. Στη σύγχρονη εποχή, η ελιά έχει εξαπλωθεί σε όλο τον κόσμο και έχει καλλιεργηθεί με επιτυχία σε πολλές περιοχές, που προηγουμένως δεν ήταν γνωστό ότι υπήρχαν ελαιόδεντρα. Ωστόσο, η λεκάνη της Μεσογείου, η οποία ήταν η αρχαία πατρίδα της, έχει τον μεγαλύτερο αριθμό ελαιόδεντρων και εξακολουθεί να αποτελεί την κύρια πηγή ελαιολάδου στον κόσμο.

Είναι γνωστό ότι ένας σημαντικός αριθμός ενζύμων εντοπίζεται στον ελαιόκαρπο. Είναι ιδιαίτερα σημαντικό το οξειδωτικό σύστημα, αφενός στην ανάπτυξη του καρπού και αφετέρου στην ποιότητα του παραγόμενου ελαιόλαδου από τους ελαιόκαρπους. Τα οξειδωτικά ένζυμα εμπλέκονται στους μηχανισμούς εκείνους, οι οποίοι οδηγούν σε προϊόν με δυσάρεστους οργανοληπτικούς χαρακτήρες. Αυτό καθιστά απαραίτητη τη διερεύνηση του οξειδωτικού συστήματος στους ελαιόκαρπους, στο οποίο και επικεντρωθήκαμε. Τα σημαντικότερα οξειδωτικά ένζυμα που έχουν μελετηθεί είναι η λιποξυγονάση (LOX), η πολυφαινολοξειδάση (PPO) και η υπεροξειδάση (POD). Έτσι, κρίθηκε σημαντικό, να μελετηθεί στην παρούσα εργασία η δράση των ενζύμων της πολυφαινολοξειδάσης και υπεροξειδάσης, σε όλα τα στάδια ανάπτυξης των καρπών ελιάς ποικιλίας Κορωνέικης, από τέσσερα διαφορετικά καλλιεργητικά συστήματα κα να γίνει σύγκριση μεταξύ αυτών. Τα καλλιεργητικά αυτά συστήματα είναι: βιολογικό καλλιεργητικό σύστημα, βιοδυναμικό καλλιεργητικό σύστημα,

συμβατικό καλλιεργητικό σύστημα και καλλιεργητικό σύστημα ολοκληρωμένης διαχείρισης.

Πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός της δραστικότητας των ενζύμων πολυφαινολοξειδάσης και υπεροξειδάσης, σε ελαιόκαρπους ποικιλίας Κορωνέικης και τα αποτελέσματα από τον προσδιορισμό είναι τα εξής:

1. Πολυφαινολοξειδάση

- Στα πρώιμα στάδια ανάπτυξης των καρπών καταγράφηκε χαμηλή ενεργότητα του ενζύμου της πολυφαινολοξειδάσης.
- Κατά τη διάρκεια των μηνών Σεπτέμβριο με Οκτώβριο σημειώθηκε μία ραγδαία αύξηση της ενεργότητας του ενζύμου, γεγονός που αποδίδεται στην αλλαγή χρώματος των καρπών (από πράσινο σε μαύρο) και συνεπώς στη μεταβολή σύνθεσης των πολυφαινολών.
- Στα στάδια πλήρης ωρίμανσης του καρπού παρατηρήθηκε και στα τέσσερα καλλιεργητικά συστήματα παραγωγής, αύξηση της ενεργότητας του ενζύμου της πολυφαινολοξειδάσης.
- Τα αποτελέσματα που λήφθηκαν ήταν τα αναμενόμενα, καθώς αναμφίβολα αναμέναμε όσο ωριμάζουν οι καρποί, η ενεργότητα του ενζύμου να αυξάνεται, λόγω του ρόλου του να οξειδώνει της πολυφαινόλες, οι οποίες συσσωρεύονται όλο και περισσότερο, καθώς οι καρποί προχωρούν στην ωρίμανση.

2. Υπεροξειδάση

- Στα πρώιμα στάδια ανάπτυξης των καρπών καταγράφηκε χαμηλή ενεργότητα του ενζύμου της υπεροξειδάσης.
- Κατά τη διάρκεια των μηνών Σεπτεμβρίου με Οκτωβρίου σημειώθηκε αύξηση της ενεργότητας του ενζύμου. Αυτό μπορεί να σχετίζεται με τις αντιδράσεις του φυτού για την προστασία του από βλαβερές

περιβαλλοντικές συνθήκες ή από παράσιτα, κατά τη διάρκεια εκείνης της φάσης ανάπτυξης.

- Τον μήνα Νοέμβριο, σημειώνεται αύξηση της ενεργότητας του ενζύμου στη βιολογική και βιοδυναμική καλλιέργεια και σημαντική μείωση της ενεργότητας στη συμβατική και ολοκληρωμένης διαχείρισης καλλιέργεια.
- Κατά την πλήρη ωρίμανση, παρατηρείται μείωση της ενεργότητας, σε όλους τους ελαιώνες.
- Τα αποτελέσματα που λήφθηκαν ήταν τα αναμενόμενα, καθώς αναμένεται μία διακύμανση της δραστηριότητα της υπεροξειδάσης στα διάφορα στάδια ανάπτυξης και ωρίμανσης των καρπών ελιάς.

Από τα άνωθι αποτελέσματα, προκύπτει ότι τα δύο ένζυμα δρουν συνεργατικά στον καρπό της ελιάς, λόγω της συμμετοχής τους σε μεταβολικές διεργασίες, που σχετίζονται με την ωρίμανση και την αντίσταση σε παθογόνους παράγοντες. Η ενεργότητα των ενζύμων που μελετήθηκαν δεν επηρεάζεται από τον τρόπο με τον οποίο καλλιεργείται το ελαιόδεντρο, αλλά επηρεάζεται σημαντικά από το στάδιο ανάπτυξης του καρπού. Καθολικά, κρίνεται σημαντική η μελέτη των ενζύμων της πολυφαινολοξειδάσης και υπεροξειδάσης για την ποιότητα και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των καρπών ελιάς, και κατ' επέκταση και του ελαιολάδου.

6.2 Στόχος για μελλοντική έρευνα – Επόμενα βήματα

Όπως αναφέρεται στην ενότητα 1.4, η πραγματική γραμμομοριακή συγκέντρωση ενός ενζύμου σε ένα εκχύλισμα από κύτταρα ή σε μία καθαρισμένη παρασκευή είναι σπανίως γνωστή (Boyer, 2018). Σύμφωνα με τον ίδιο συγγραφέα, μόνο αν το ένζυμο βρίσκεται σε καθαρή κρυσταλλική μορφή, είναι προσεκτικά ζυγισμένο και διαλυμένο σε διαλύτη μπορεί να προσδιοριστεί η πραγματική γραμμομοριακή συγκέντρωση με ακρίβεια. Όμως, μπορούμε να αναπτύξουμε μία ακριβή και με υψηλή επαναληψιμότητα δοκιμή για την ενζυμική δραστικότητα. Κατά συνέπεια, η ποσότητα ενός συγκεκριμένου ενζύμου που βρίσκεται στο διάλυμα τις περισσότερες φορές εκφράζεται σε μονάδες δραστικότητας units

(Boyer, 2018). Έτσι, στην παρούσα διατριβή η δραστικότητα των ενζύμων Πολυφαινολοξειδάσης και Υπεροξειδάσης εκφράστηκε σε μονάδες Units.

Εν τούτοις, στόχος για μελλοντική έρευνα θα μπορούσε να αποτελεί ο καθαρισμός των ενζύμων αυτών, προκειμένου να προσδιοριστεί με πλήρη ακρίβεια η συγκέντρωσή τους και κατ' επέκταση η δραστικότητά τους, μέσω των γραφημάτων κινητικής Michaelis-Menten και Lineweaver-Burk στους καρπούς. Μέσω του ακριβούς προσδιορισμού της συγκέντρωσής τους, καθώς και των προαναφερθέντων γραφημάτων, θα μπορεί να γίνει προσδιορισμός της V_{max} και της K_m, δύο πολύ σημαντικών σταθερών, που χαρακτηρίζουν την ενζυμική αντίδραση. Επιπλέον, θα παρουσίαζε ιδιαίτερο ενδιαφέρον και η συσχέτιση των αποτελεσμάτων της παρούσας εργασίας με το φαινότυπο του ελαιόκαρπου κάθε καλλιέργειας. Με τον τρόπο αυτό, πιθανόν να προκύψει ένα πολύτιμο εργαλείο εκτίμησης της ενεργότητας των προαναφερθέντων ενζύμων, βάσει των φαινοτυπικών χαρακτηριστικών του ελαιόκαρπου. Τέλος, καθώς η ενεργότητα των ενζύμων εξαρτάται από την παρουσία αναστολέων (Boyer, 2018), ιδιαίτερο ενδιαφέρον θα είχε και η εφαρμογή ενζυμικών αναστολέων (παρεμποδιστών), ώστε να γίνει σύγκριση της δράσης των ενζύμων με και χωρίς παρεμποδιστή.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Πίνακας 1: Οι μετρούμενες απορροφήσεις στα 412nm για το σύνολο των δειγμάτων του Ιούνιο 2023, για το ένζυμο Πολυφαινολοξειδάση (PPO).

Δείγμα (Κωδικοποίηση)*	Απορροφήσεις για την PPO						
	1η Δειγματοληψία: Ιούνιος 2023						
	0sec	30sec	60sec	90sec	120sec	150sec	180sec
E1T1-15 (1η επανάληψη)	0,0000	0,3195	0,4351	0,4787	0,4864	0,5786	0,5469
E1T1-15 (2η επανάληψη)	0,0000	0,2505	0,4148	0,5565	0,5753	0,5974	0,5530
E1T1-15 (3η επανάληψη)	0,0000	0,3393	0,5567	0,7088	0,8079	0,8290	0,7995
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,3031±0,0466**	**0,4689±0,0767**	**0,5814±0,1170**	**0,6232±0,1660**	**0,6683±0,1395**	**0,6331±0,1441**
E2T1-15 (1η επανάληψη)	0,0000	0,3039	0,4827	0,6308	0,8229	0,7900	0,6804
E2T1-15 (2η επανάληψη)	0,0000	0,3090	0,4867	0,5762	0,6623	0,6420	0,6029
E2T1-15 (3η επανάληψη)	0,0000	0,3250	0,4918	0,5939	0,7100	0,7965	0,7842
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,3126±0,0110**	**0,4871±0,0045**	**0,6003±0,0279**	**0,7317±0,0825**	**0,7429±0,0874**	**0,6892±0,0909**
E3T1-15 (1η επανάληψη)	0,0000	0,3046	0,4709	0,6023	0,7620	0,8615	0,8482
E3T1-15 (2η επανάληψη)	0,0000	0,3770	0,5722	0,7635	0,9357	0,9526	0,9019
E3T1-15 (3η επανάληψη)	0,0000	0,3156	0,5073	0,6941	0,8244	0,8948	0,8076
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,3324±0,0390**	**0,5168±0,0514**	**0,6866±0,0809**	**0,8407±0,0880**	**0,9029±0,0461**	**0,8526±0,0473**
E4T1-15 (1η επανάληψη)	0,0000	0,5117	0,6881	0,8417	0,9209	0,9799	0,9016
E4T1-15 (2η επανάληψη)	0,0000	0,6315	0,8292	0,9799	1,0336	0,9934	0,8383
E4T1-15 (3η επανάληψη)	0,0000	0,2674	0,4740	0,6549	0,8627	0,9768	0,9385
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,4702±0,1856**	**0,6638±0,1788**	**0,8255±0,1631**	**0,9398±0,0880**	**0,9834±0,0088**	**0,8928±0,0507**

Πίνακας 2: Οι μετρούμενες απορροφήσεις στα 412nm για το σύνολο των δειγμάτων του Ιούλιο 2023, για το ένζυμο Πολυφαινολοξειδάση (PPO). (* : στα δείγματα αυτά πραγματοποιήθηκε αραίωση 1:2, ** : στα δείγματα αυτά πραγματοποιήθηκε αραίωση 1:4)

Δείγμα (Κωδικοποίηση)*	Απορροφήσεις για την PPO						
	2η Δειγματοληψία: Ιούλιος 2023						
	0sec	30sec	60sec	90sec	120sec	150sec	180sec
E1T1-5 (1η επανάληψη)	0,0000	0,1994	0,2554	0,3038	0,3650	0,4286	0,4080
E1T1-5 (2η επανάληψη)	0,0000	0,2557	0,3021	0,3667	0,4370	0,5122	0,5076
E1T1-5 (3η επανάληψη)	0,0000	0,2332	0,2920	0,3672	0,4227	0,4508	0,4435
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2294±0, 0284**	**0,2832± 0,0246**	**0,3459± 0,0365**	**0,4082± 0,0381**	**0,4639± 0,0433**	**0,4531± 0,0505**
E1T6-10 (1η επανάληψη)	0,0000	0,1126	0,1510	0,2191	0,2630	0,3776	0,3254
E1T6-10 (2η επανάληψη)	0,0000	0,1628	0,2115	0,2676	0,3513	0,4034	0, 3972
E1T6-10 (3η επανάληψη)	0,0000	0,1759	0,2439	0,3042	0,3934	0,4252	0,4094
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1504±0, 0334**	**0,2021± 0,0471**	**0,2636± 0,0427**	**0,3359± 0,0666**	**0,4021± 0,0238**	**0,3774± 0,0454**
E1T11-15 (1η επανάληψη)	0,0000	0,3739	0,4596	0,5582	0,6749	0,7518	0,7048
E1T11-15 (2η επανάληψη)	0,0000	0,2779	0,3386	0,4270	0,5085	0,6004	0,5485
E1T11-15 (3η επανάληψη)	0,0000	0,2759	0,3587	0,4286	0,6086	0,6317	0,6060
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,3093±0, 0560**	**0,3856± 0,0649**	**0,4713± 0,0753**	**0,5973± 0,0838**	**0,6613± 0,0799**	**0,6198± 0,0791**
E2T1-5 (1η επανάληψη)	0,0000	0,1604	0,2538	0,3672	0,4768	0,5098	0,5252
E2T1-5 (2η επανάληψη)	0,0000	0,1437	0,2244	0,3471	0,3817	0,4162	0,3482
E2T1-5 (3η επανάληψη)	0,0000	0,1225	0,2307	0,3082	0,3993	0,4011	0,4142
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1422±0, 0190**	**0,2363± 0,0155**	**0,3408± 0,0300**	**0,4193± 0,0506**	**0,4423± 0,0589**	**0,4292± 0,0894**
E2T6-10 (1η επανάληψη)	0,0000	0,1597	0,2268	0,2737	0,3389	0,3980	0,3670
E2T6-10 (2η επανάληψη)	0,0000	0,1710	0,2228	0,2647	0,3197	0,3819	0,3465
E2T6-10 (3η επανάληψη)	0,0000	0,2537	0,3068	0,3616	0,4202	0,4520	0,4039
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1948±0, 0513**	**0,2521± 0,0474**	**0,3000± 0,0536**	**0,3596± 0,0534**	**0,4107± 0,0367**	**0,3725± 0,0291**
E2T11-15 (1η επανάληψη)	0,0000	0,2906	0,3646	0,4387	0,5192	0,5810	0,5087
E2T11-15 (2η επανάληψη)	0,0000	0,2618	0,3484	0,4482	0,6186	0,6905	0,6662
E2T11-15 (3η επανάληψη)	0,0000	0,2753	0,3417	0,4356	0,5310	0,6063	0,5954

Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2759±0,0144**	**0,3515±0,0117**	**0,4408±0,0066**	**0,5563±0,0543**	**0,6260±0,0573**	**0,5901±0,0789**
E3T1-5 (1η επανάληψη)	0,0000	0,3094	0,4273	0,5322	0,6614	0,6900	0,6363
E3T1-5 (2η επανάληψη)	0,0000	0,3163	0,4200	0,5717	0,7224	0,7541	0,6617
E3T1-5 (3η επανάληψη)	0,0000	0,3238	0,4280	0,5806	0,7336	0,8081	0,7657
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,3165±0,0072**	**0,4251±0,0044**	**0,5615±0,0258**	**0,7058±0,0389**	**0,7507±0,0591**	**0,6879±0,0686**
E3T6-10 (1η επανάληψη)	0,0000	0,3106	0,3887	0,4696	0,5854	0,6427	0,6072
E3T6-10 (2η επανάληψη)	0,0000	0,2897	0,3699	0,4511	0,5495	0,5963	0,5607
E3T6-10 (3η επανάληψη)	0,0000	0,2840	0,3574	0,4410	0,5803	0,6189	0,6094
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2948±0,0140**	**0,3720±0,0157**	**0,4539±0,0145**	**0,5717±0,0194**	**0,6193±0,0232**	**0,5924±0,0275**
E3T11-15 (1η επανάληψη)	0,0000	0,3451	0,6388	0,6983	0,7441	0,7858	0,7388
E3T11-15 (2η επανάληψη)	0,0000	0,5951	0,6483	0,7263	0,7866	0,8633	0,8032
E3T11-15 (3η επανάληψη)	0,0000	0,5399	0,6495	0,6703	0,6395	0,6165	0,6069
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,4934±0,1313**	**0,6455±0,0058**	**0,6983±0,0280**	**0,7234±0,0757**	**0,7552±0,1262**	**0,7163±0,1001**
E4T1-5 * (1η επανάληψη)	0,0000	0,1724	0,4523	0,5627	0,7711	0,8724	0,7966
E4T1-5 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,3982	0,4823	0,7164	0,7743	0,8564	0,7805
E4T1-5 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,3742	0,4789	0,7789	0,8332	0,9849	0,9449
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,3149±0,1240**	**0,4712±0,0164**	**0,6860±0,1113**	**0,7929±0,0350**	**0,9045±0,0700**	**0,8406±0,0906**
E4T6-10 * (1η επανάληψη)	0,0000	0,1714	0,3717	0,4615	0,5522	0,6628	0,6075
E4T6-10 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,2344	0,3448	0,4017	0,4792	0,6079	0,5166
E4T6-10 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,2576	0,3988	0,4725	0,5757	0,7025	0,6988
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2211±0,0446**	**0,3718±0,0270**	**0,4452±0,0381**	**0,5357±0,0503**	**0,6578±0,0475**	**0,6076±0,0911**
E4T11-15 * (1η επανάληψη)	0,0000	0,2812	0,4607	0,3985	0,4547	0,6063	0,5306
E4T11-15 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,4221	0,5495	0,5730	0,5761	0,6017	0,5937
E4T11-15 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,3249	0,4558	0,5261	0,5751	0,5879	0,5686
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,3427±0,0721**	**0,4887±0,0527**	**0,4992±0,0903**	**0,5353±0,0698**	**0,5986±0,0096**	**0,5643±0,0318**

Πίνακας 3: Οι μετρούμενες απορροφήσεις στα 412nm για το σύνολο των δειγμάτων του Αυγούστου 2023, για το ένζυμο Πολυφαινολοξειδάση (PPO). (* : στα δείγματα αυτά πραγματοποιήθηκε αραίωση 1:2, ** : στα δείγματα αυτά πραγματοποιήθηκε αραίωση 1:4)

Δείγμα (Κωδικοποίηση)*	Απορροφήσεις για την PPO						
	3η Δειγματοληψία: Αύγουστος 2023						
	0sec	30sec	60sec	90sec	120sec	150sec	180sec
E1T1-5 (1η επανάληψη)	0,0000	0,1751	0,1982	0,2005	0,2238	0,2260	0,2064
E1T1-5 (2η επανάληψη)	0,0000	0,2268	0,2339	0,2523	0,2748	0,2919	0,2413
E1T1-5 (3η επανάληψη)	0,0000	0,1803	0,2378	0,2925	0,3187	0,3515	0,3001
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1941±0,0285**	**0,2233±0,0218**	**0,2484±0,0461**	**0,2724±0,0475**	**0,2898±0,0628**	**0,2493±0,0474**
E1T6-10 (1η επανάληψη)	0,0000	0,1653	0,1879	0,1969	0,2325	0,2589	0,2408
E1T6-10 (2η επανάληψη)	0,0000	0,1946	0,2112	0,2531	0,2830	0,3059	0,3020
E1T6-10 (3η επανάληψη)	0,0000	0,1872	0,200	0,2481	0,2751	0,3056	0,2879
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1824±0,0152**	**0,1997±0,0117**	**0,2327±0,0311**	**0,2635±0,0272**	**0,2901±0,0270**	**0,2769±0,0320**
E1T11-15 (1η επανάληψη)	0,0000	0,2373	0,2697	0,2888	0,3046	0,3365	0,3306
E1T11-15 (2η επανάληψη)	0,0000	0,1852	0,1935	0,2193	0,2493	0,2843	0,2608
E1T11-15 (3η επανάληψη)	0,0000	0,2738	0,2940	0,3078	0,3238	0,3415	0,3022
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2321±0,0445**	**0,2524±0,0524**	**0,2720±0,0466**	**0,2925±0,0387**	**0,3208±0,0317**	**0,2979±0,0351**
E2T1-5 (1η επανάληψη)	0,0000	0,2266	0,2322	0,2413	0,2621	0,3362	0,3050
E2T1-5 (2η επανάληψη)	0,0000	0,2197	0,2320	0,3433	0,4814	0,5031	0,4998
E2T1-5 (3η επανάληψη)	0,0000	0,2056	0,2215	0,3428	0,3934	0,4672	0,4248
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2173±0,0107**	**0,2286±0,0061**	**0,3091±0,0588**	**0,3790±0,1104**	**0,4355±0,0879**	**0,4098±0,0983**
E2T6-10 (1η επανάληψη)	0,0000	0,3148	0,3426	0,4000	0,4320	0,4998	0,4656
E2T6-10 (2η επανάληψη)	0,0000	0,3728	0,4119	0,4681	0,5276	0,6164	0,5926
E2T6-10 (3η επανάληψη)	0,0000	0,3102	0,4156	0,6102	0,7187	0,8037	0,7929
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,3326±0,0349**	**0,3900±0,0411**	**0,4928±0,1073**	**0,5594±0,1460**	**0,6399±0,1534**	**0,6170±0,1650**
E2T11-15 (1η επανάληψη)	0,0000	0,2541	0,4741	0,6861	0,7375	0,8675	0,8558
E2T11-15 (2η επανάληψη)	0,0000	0,2570	0,4868	0,7685	0,7899	0,8749	0,7128
E2T11-15 (3η επανάληψη)	0,0000	0,3981	0,5260	0,6824	0,8894	0,9438	0,8058

Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,3031±0,0823**	**0,4956±0,0270**	**0,7123±0,0484**	**0,8056±0,0772**	**0,8954±0,0421**	**0,7915±0,0726**
E3T1-5 (1η επανάληψη)	0,0000	0,3270	0,5282	0,5645	0,6255	0,7202	0,7066
E3T1-5 (2η επανάληψη)	0,0000	0,3948	0,6019	0,7549	0,8579	0,9377	0,9002
E3T1-5 (3η επανάληψη)	0,0000	0,3165	0,6161	0,6541	0,7360	0,7586	0,7252
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,3461±0,0425**	**0,5821±0,0472**	**0,6578±0,0953**	**0,7398±0,1162**	**0,8055±0,1161**	**0,7773±0,1068**
E3T6-10 * (1η επανάληψη)	0,0000	0,3305	0,3581	0,3938	0,4232	0,4591	0,4353
E3T6-10 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,2710	0,2898	0,3519	0,4272	0,4898	0,4593
E3T6-10 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,3137	0,3802	0,3947	0,4285	0,4854	0,4574
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,3051±0,0307**	**0,3427±0,0471**	**0,3802±0,0244**	**0,4263±0,0028**	**0,4781±0,0166**	**0,4507±0,0134**
E3T11-15 * (1η επανάληψη)	0,0000	0,2517	0,2944	0,3187	0,3417	0,3848	0,3699
E3T11-15 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,2407	0,3087	0,4407	0,5087	0,6066	0,5808
E3T11-15 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,2378	0,3281	0,4238	0,5684	0,6323	0,6087
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2434±0,0073**	**0,3104±0,0169**	**0,3944±0,0661**	**0,4729±0,1175**	**0,5412±0,1361**	**0,5198±0,1306**
E4T1-5 * (1η επανάληψη)	0,0000	0,1957	0,4799	0,4995	0,6399	0,6640	0,5770
E4T1-5 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,2366	0,4848	0,5269	0,6285	0,6848	0,5990
E4T1-5 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,2426	0,4750	0,5395	0,6050	0,6952	0,5569
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2250±0,0255**	**0,4799±0,0049**	**0,5220±0,0205**	**0,6245±0,0178**	**0,6814±0,0159**	**0,5777±0,0211**
E4T6-10 * (1η επανάληψη)	0,0000	0,3327	0,5143	0,6952	0,7790	0,7726	0,7065
E4T6-10 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,1561	0,4933	0,6320	0,7133	0,7620	0,6075
E4T6-10 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,3374	0,4778	0,5247	0,6471	0,7885	0,7194
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2754±0,1034**	**0,4951±0,0183**	**0,6173±0,0862**	**0,7131±0,0659**	**0,7744±0,0133**	**0,6778±0,0612**
E4T11-15 * (1η επανάληψη)	0,0000	0,1759	0,3761	0,4798	0,5498	0,5975	0,5587
E4T11-15 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,1929	0,2962	0,3862	0,4567	0,5702	0,5215
E4T11-15 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,2826	0,3724	0,4823	0,5124	0,6024	0,6009
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2171±0,0573**	**0,3483±0,0451**	**0,4494±0,0547**	**0,5063±0,0468**	**0,5900±0,0174**	**0,5604±0,0397**

Πίνακας 4: Οι μετρούμενες απορροφήσεις στα 412nm για το σύνολο των δειγμάτων του Σεπτεμβρίου 2023, για το ένζυμο Πολυφαινολοξειδάση (PPO). (* : στα δείγματα αυτά πραγματοποιήθηκε αραίωση 1:2, ** : στα δείγματα αυτά πραγματοποιήθηκε αραίωση 1:4)

Δείγμα (Κωδικοποίηση)*	Απορροφήσεις για την PPO						
	4η Δειγματοληψία: Σεπτέμβριος 2023						
	0sec	30sec	60sec	90sec	120sec	150sec	180sec
E1T1-5 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,2362	0,3588	0,5072	0,6080	0,6568	0,7156
E1T1-5 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,2353	0,3411	0,5353	0,6307	0,7107	0,7020
E1T1-5 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,1125	0,3498	0,4013	0,5213	0,6548	0,6065
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1947±0,0712**	**0,3499±0,0088**	**0,4813±0,0707**	**0,5867±0,0577**	**0,6741±0,0317**	**0,6747±0,0595**
E1T6-10 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,4063	0,5461	0,6690	0,7461	0,8676	0,8527
E1T6-10 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,1998	0,4658	0,6644	0,8413	0,9011	0,8511
E1T6-10 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,2041	0,3717	0,4598	0,5197	0,7011	0,6457
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2701±0,1180**	**0,4612±0,0873**	**0,5977±0,1195**	**0,7023±0,1625**	**0,8233±0,1071**	**0,7832±0,1191**
E1T11-15 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,3426	0,4517	0,6895	0,7358	0,7895	0,7358
E1T11-15 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,3019	0,4719	0,5567	0,5883	0,6622	0,6049
E1T11-15 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,3349	0,4506	0,5349	0,6360	0,6960	0,6430
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,3265±0,0216**	**0,4581±0,0120**	**0,5937±0,0837**	**0,6534±0,0753**	**0,7159±0,0659**	**0,6612±0,0673**
E2T1-5 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,3345	0,5814	0,6631	0,7040	0,7163	0,7065
E2T1-5 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,2554	0,3822	0,4157	0,5828	0,6210	0,6154
E2T1-5 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,2731	0,4746	0,6281	0,7740	0,8368	0,8240
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2877±0,0415**	**0,4794±0,0997**	**0,5690±0,1339**	**0,6869±0,0968**	**0,7247±0,1082**	**0,7153±0,1046**
E2T6-10 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,1264	0,2954	0,3794	0,4269	0,5794	0,5579
E2T6-10 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,1966	0,3582	0,4659	0,5355	0,6832	0,6324
E2T6-10 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,2541	0,3795	0,5716	0,7728	0,8650	0,8037
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1924±0,0640**	**0,3444±0,0437**	**0,4723±0,0963**	**0,5784±0,1769**	**0,7092±0,1446**	**0,6647±0,1260**
E2T11-15 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,2198	0,3250	0,4250	0,5361	0,6949	0,6495
E2T11-15 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,1956	0,3016	0,4501	0,5142	0,5712	0,6044
E2T11-15 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,2562	0,3534	0,6095	0,6190	0,7170	0,7062

Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2239±0,0305**	**0,3267±0,0260**	**0,4948±0,1001**	**0,5564±0,0553**	**0,6610±0,0786**	**0,6534±0,0510**
E3T1-5 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,5211	0,6203	0,7501	0,8203	0,9501	0,9476
E3T1-5 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,2591	0,3591	0,4111	0,5445	0,6945	0,6525
E3T1-5 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,4170	0,5818	0,6227	0,7757	0,8432	0,8216
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,3990±0,1319**	**0,5204±0,1410**	**0,5946±0,1713**	**0,7135±0,1480**	**0,8293±0,1284**	**0,8073±0,1481**
E3T6-10 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,2965	0,3565	0,4828	0,5369	0,7069	0,6968
E3T6-10 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,2669	0,3466	0,4340	0,5340	0,6903	0,6877
E3T6-10 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,2911	0,3596	0,4568	0,5568	0,6675	0,6567
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2848±0,0157**	**0,3542±0,0068**	**0,4579±0,0244**	**0,5425±0,0124**	**0,6882±0,0198**	**0,6804±0,0210**
E3T11-15 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,2497	0,3861	0,4196	0,4652	0,6143	0,5943
E3T11-15 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,2151	0,4151	0,5433	0,6306	0,7761	0,7461
E3T11-15 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,2279	0,4090	0,4406	0,5205	0,6205	0,6175
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2309±0,0175**	**0,4034±0,0153**	**0,4678±0,0662**	**0,5388±0,0842**	**0,6703±0,0917**	**0,6526±0,0818**
E4T1-5 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,2547	0,3655	0,5694	0,6012	0,8046	0,8021
E4T1-5 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,1901	0,2911	0,3596	0,4766	0,6576	0,6076
E4T1-5 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,2434	0,4231	0,4987	0,5625	0,7345	0,7245
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2294±0,0345**	**0,3599±0,0662**	**0,4759±0,1067**	**0,5468±0,0638**	**0,7322±0,0735**	**0,7114±0,0979**
E4T6-10 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,1751	0,2581	0,2677	0,3421	0,5164	0,5044
E4T6-10 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,2338	0,2985	0,3816	0,4498	0,5086	0,4986
E4T6-10 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,1380	0,2842	0,3678	0,4689	0,5386	0,5381
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1823±0,0483**	**0,2802±0,0205**	**0,3390±0,0621**	**0,4202±0,0683**	**0,5212±0,0156**	**0,5137±0,0213**
E4T11-15 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,4351	0,6276	0,7352	0,8469	0,8902	0,8802
E4T11-15 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,3999	0,6417	0,7313	0,7913	0,8172	0,8061
E4T11-15 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,4671	0,6376	0,6896	0,7069	0,8084	0,7958
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,4340±0,0336**	**0,6356±0,0072**	**0,7187±0,0253**	**0,7817±0,0705**	**0,8386±0,0449**	**0,8274±0,0460**

Πίνακας 5: Οι μετρούμενες απορροφήσεις στα 412nm για το σύνολο των δειγμάτων του Οκτωβρίου 2023, για το ένζυμο Πολυφαινολοξειδάση (PPO). (* : στα δείγματα αυτά πραγματοποιήθηκε αραίωση 1:2, ** : στα δείγματα αυτά πραγματοποιήθηκε αραίωση 1:4)

Δείγμα (Κωδικοποίηση)*	Απορροφήσεις για την PPO						
	5η Δειγματοληψία: Οκτώβριος 2023						
	0sec	30sec	60sec	90sec	120sec	150sec	180sec
E1T1-5 * (1η επανάληψη)	0,0000	0,3733	0,5575	0,7358	0,7889	0,9435	0,9101
E1T1-5 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,3885	0,5582	0,6404	0,7367	0,9310	0,9240
E1T1-5 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,3128	0,5252	0,5592	0,7392	0,9884	0,9705
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,3582±0,0401**	**0,5470±0,0189**	**0,6451±0,0884**	**0,7549±0,0294**	**0,9543±0,0301**	**0,9349±0,0316**
E1T6-10 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,2966	0,5570	0,7002	0,7467	0,9467	0,9367
E1T6-10 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,3965	0,5772	0,7248	0,8954	0,9840	0,9640
E1T6-10 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,4269	0,5963	0,7012	0,8501	0,9925	0,9225
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,3734±0,0682**	**0,5768±0,0196**	**0,7088±0,0139**	**0,8307±0,0762**	**0,9744±0,0244**	**0,9411±0,0211**
E1T11-15 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,4826	0,6366	0,7269	0,7963	0,9941	0,9741
E1T11-15 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,5105	0,6292	0,7367	0,8537	0,9183	0,9013
E1T11-15 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,5159	0,6330	0,7764	0,8330	0,9913	0,9846
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,5030±0,0179**	**0,6329±0,0037**	**0,7467±0,0262**	**0,8277±0,0291**	**0,9679±0,0430**	**0,9533±0,0454**
E2T1-5 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,3261	0,4612	0,5496	0,6505	0,7974	0,7896
E2T1-5 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,2335	0,3729	0,4435	0,4633	0,6672	0,6572
E2T1-5 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,3267	0,3940	0,5057	0, 5548	0,6077	0,6477
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2954±0,0536**	**0,4094±0,0461**	**0,4996±0,0533**	**0,5562±0,0936**	**0,6908±0,0970**	**0,6982±0,0793**
E2T6-10 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,3132	0,3828	0,5521	0,6785	0,8023	0,7992
E2T6-10 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,2270	0,3490	0,4165	0,5702	0,8505	0,8500
E2T6-10 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,2151	0,3120	0,4376	0,5122	0,6841	0,6741
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2518±0,0535**	**0,3479±0,0354**	**0,4687±0,0730**	**0,5870±0,0844**	**0,7790±0,0856**	**0,7744±0,0905**
E2T11-15 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,3674	0,5391	0,7447	0,8482	0,9391	0,9351
E2T11-15 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,2040	0,4946	0,6040	0,7963	0,9150	0,9090
E2T11-15 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,3050	0,4995	0,7167	0,8063	0,9631	0,9523

Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2922±0,0825**	**0,5111±0,0244**	**0,6885±0,0745**	**0,8169±0,0276**	**0,9391±0,0241**	**0,9321±0,0218**
E3T1-5 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,2158	0,3921	0,4605	0,6133	0,7313	0,7034
E3T1-5 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,2720	0,3935	0,4347	0,5433	0,7155	0,7095
E3T1-5 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,2630	0,4127	0,4628	0,5794	0,7946	0,7918
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2503±0,0302**	**0,3994±0,0115**	**0,4527±0,0156**	**0,5787±0,0350**	**0,7472±0,0419**	**0,7349±0,0494**
E3T6-10 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,1820	0,2315	0,3637	0,4198	0,7824	0,7796
E3T6-10 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,1473	0,2302	0,3869	0,4005	0,7181	0,7092
E3T6-10 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,1534	0,2808	0,3674	0,4374	0,7745	0,7699
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1609±0,0185**	**0,2475±0,0288**	**0,3727±0,0125**	**0,4192±0,0185**	**0,7583±0,0350**	**0,759±0,0382**
E3T11-15 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,2732	0,4531	0,5964	0,6936	0,7604	0,7590
E3T11-15 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,3151	0,4547	0,5974	0,6815	0,8518	0,8492
E3T11-15 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,2174	0,4345	0,4932	0,6174	0,8446	0,8395
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2686±0,0490**	**0,4474±0,0113**	**0,5623±0,0599**	**0,6642±0,0410**	**0,8190±0,0508**	**0,8159±0,0495**
E4T1-5 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,2160	0,3671	0,4671	0,6299	0,7793	0,7093
E4T1-5 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,2394	0,3945	0,4635	0,6818	0,7346	0,7035
E4T1-5 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,2417	0,3047	0,4588	0,5047	0,7468	0,6847
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2323±0,0142**	**0,3554±0,0461**	**0,4631±0,0042**	**0,6055±0,0911**	**0,7536±0,0231**	**0,6991±0,0128**
E4T6-10 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,3476	0,4759	0,6593	0,8603	0,9970	0,9870
E4T6-10 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,4459	0,5616	0,6593	0,7616	0,8454	0,8405
E4T6-10 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,3253	0,4869	0,6475	0,7325	0,9475	0,9397
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,3729±0,0642**	**0,5081±0,0466**	**0,6553±0,0068**	**0,7848±0,0670**	**0,9300±0,0773**	**0,9224±0,0748**
E4T11-15 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,2129	0,3427	0,4151	0,5673	0,7729	0,7713
E4T11-15 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,2466	0,3853	0,5047	0,5471	0,7644	0,7036
E4T11-15 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,1698	0,3138	0,5028	0,5628	0,7770	0,7697
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2098±0,0385**	**0,3473±0,0360**	**0,4742±0,0512**	**0,5591±0,0106**	**0,7714±0,0064**	**0,7482±0,0386**

Πίνακας 6: Οι μετρούμενες απορροφήσεις στα 412nm για το σύνολο των δειγμάτων του Νοεμβρίου 2023, για το ένζυμο Πολυφαινολοξειδάση (PPO). (* : στα δείγματα αυτά πραγματοποιήθηκε αραίωση 1:2, ** : στα δείγματα αυτά πραγματοποιήθηκε αραίωση 1:4)

Δείγμα (Κωδικοποίηση)*	Απορροφήσεις για την PPO						
	6η Δειγματοληψία: Νοέμβριος 2023						
	0sec	30sec	60sec	90sec	120sec	150sec	180sec
E1T1-5 * (1η επανάληψη)	0,0000	0,1587	0,2821	0,3815	0,5282	0,8282	0,7682
E1T1-5 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,1839	0,2983	0,3825	0,5325	0,7749	0,7649
E1T1-5 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,1888	0,3064	0,4206	0,5465	0,7902	0,7818
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1771±0,0162**	**0,2956±0,0124**	**0,3949±0,0223**	**0,5357±0,0096**	**0,7978±0,0274**	**0,7717±0,0089**
E1T6-10 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,1662	0,3458	0,4426	0,6742	0,7954	0,7915
E1T6-10 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,1467	0,3412	0,4478	0,6478	0,8047	0,7975
E1T6-10 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,1597	0,3412	0,3974	0,6397	0,7935	0,7893
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1575±0,0099**	**0,3427±0,0026**	**0,4292±0,0277**	**0,6539±0,0180**	**0,7979±0,0060**	**0,7928±0,0042**
E1T11-15 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,2068	0,4846	0,6586	0,7797	0,9276	0,9266
E1T11-15 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,2104	0,4893	0,6092	0,7318	0,9708	0,9696
E1T11-15 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,2534	0,4554	0,6579	0,7571	0,9250	0,9180
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2235±0,0259**	**0,4794±0,0219**	**0,6419±0,0283**	**0,7562±0,0240**	**0,9411±0,0257**	**0,9381±0,0277**
E2T1-5 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,3491	0,6737	0,7372	0,8721	0,9352	0,9305
E2T1-5 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,3169	0,6487	0,7517	0,8487	0,9237	0,9108
E2T1-5 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,2559	0,6537	0,7711	0,8971	0,9371	0,9101
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,3073±0,0473**	**0,6587±0,0132**	**0,7533±0,0170**	**0,8726±0,0242**	**0,9320±0,0072**	**0,9171±0,0116**
E2T6-10 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,2698	0,3974	0,5244	0,6377	0,7821	0,7745
E2T6-10 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,2761	0,3702	0,4342	0,6136	0,8369	0,8197
E2T6-10 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,2197	0,3467	0,5448	0,6232	0,7948	0,7723
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2552±0,0309**	**0,3714±0,0254**	**0,5011±0,0589**	**0,6248±0,0121**	**0,8046±0,0287**	**0,7888±0,0267**
E2T11-15 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,3139	0,5781	0,7687	0,8537	0,8908	0,8870
E2T11-15 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,2961	0,5091	0,6358	0,8267	0,9267	0,9217
E2T11-15 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,2141	0,5732	0,6652	0,7921	0,9214	0,9194

Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2747±0,0532**	**0,5535±0,0385**	**0,6899±0,0698**	**0,8242±0,0309**	**0,9130±0,0194**	**0,9094±0,0194**
E3T1-5 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,1805	0,4488	0,5594	0,7335	0,7935	0,7235
E3T1-5 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,1977	0,4935	0,5998	0,7065	0,7649	0,6965
E3T1-5 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,2146	0,4206	0,5643	0,7512	0,7912	0,7351
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1976±0,0170**	**0,4543±0,0368**	**0,5745±0,0221**	**0,7304±0,0225**	**0,7832±0,0159**	**0,7184±0,0198**
E3T6-10 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,2315	0,3306	0,4190	0,5182	0,6643	0,6378
E3T6-10 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,2125	0,3112	0,4042	0,5241	0,6573	0,6627
E3T6-10 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,2043	0,3459	0,3895	0,5219	0,6929	0,6829
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2161±0,0140**	**0,3292±0,0174**	**0,4042±0,0148**	**0,5214±0,0030**	**0,6715±0,0189**	**0,6611±0,0226**
E3T11-15 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,4796	0,6997	0,8570	0,9246	0,9866	0,9545
E3T11-15 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,3614	0,6034	0,7229	0,8286	0,9778	0,9675
E3T11-15 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,3321	0,4213	0,6213	0,8011	0,9698	0,9584
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,3911±0,0781**	**0,5748±0,1414**	**0,7337±0,1182**	**0,8514±0,0648**	**0,9781±0,0084**	**0,9601±0,0067**
E4T1-5 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,1927	0,3712	0,4578	0,5921	0,8279	0,7921
E4T1-5 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,2214	0,3738	0,4957	0,5881	0,8108	0,7905
E4T1-5 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,2201	0,3958	0,4037	0,5742	0,8617	0,7397
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2114±0,0162**	**0,3803±0,0135**	**0,4524±0,0462**	**0,5848±0,0094**	**0,8335±0,0259**	**0,7741±0,0298**
E4T6-10 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,2531	0,5710	0,6510	0,7165	0,8947	0,8047
E4T6-10 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,2234	0,5532	0,6532	0,7008	0,8708	0,8081
E4T6-10 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,2219	0,4990	0,6990	0,7581	0,9058	0,8044
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2328±0,0176**	**0,5410±0,0375**	**0,6677±0,0271**	**0,7251±0,0296**	**0,8904±0,0179**	**0,8057±0,0021**
E4T11-15 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,2474	0,3726	0,5281	0,7726	0,9264	0,9256
E4T11-15 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,1619	0,3919	0,5658	0,7094	0,9349	0,9329
E4T11-15 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,2524	0,3564	0,5126	0,6564	0,8961	0,8861
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2206±0,0509**	**0,3736±0,0178**	**0,5355±0,0274**	**0,7128±0,0582**	**0,9191±0,0204**	**0,9149±0,0252**

Πίνακας 7: Οι μετρούμενες απορροφήσεις στα 412nm για το σύνολο των δειγμάτων του Δεκεμβρίου 2023, για το ένζυμο Πολυφαινολοξειδάση (PPO). (* : στα δείγματα αυτά πραγματοποιήθηκε αραίωση 1:2, ** : στα δείγματα αυτά πραγματοποιήθηκε αραίωση 1:4)

Δείγμα (Κωδικοποίηση)*	Απορροφήσεις για την PPO						
	7η Δειγματοληψία: Δεκέμβριος 2023						
	0sec	30sec	60sec	90sec	120sec	150sec	180sec
E1T1-5 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,2905	0,3566	0,4905	0,6566	0,8299	0,8188
E1T1-5 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,2397	0,3489	0,4489	0,6324	0,8102	0,8101
E1T1-5 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,2735	0,4248	0,4753	0,5878	0,8035	0,7935
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2206±0,0509**	**0,3736±0,0178**	**0,5355±0,0274**	**0,7128±0,0582**	**0,9191±0,0204**	**0,9149±0,0252**
E1T6-10 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,5163	0,6073	0,6649	0,7073	0,9425	0,9362
E1T6-10 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,5050	0,7101	0,7945	0,8453	0,9601	0,9559
E1T6-10 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,4519	0,6510	0,7452	0,7962	0,9665	0,9634
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2206±0,0509**	**0,3736±0,0178**	**0,5355±0,0274**	**0,7128±0,0582**	**0,9191±0,0204**	**0,9149±0,0252**
E1T11-15 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,2835	0,4895	0,6327	0,7868	0,9845	0,9804
E1T11-15 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,2504	0,5580	0,6841	0,8504	0,9944	0,9844
E1T11-15 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,2863	0,5063	0,6981	0,7911	0,9921	0,9821
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2206±0,0509**	**0,3736±0,0178**	**0,5355±0,0274**	**0,7128±0,0582**	**0,9191±0,0204**	**0,9149±0,0252**
E2T1-5 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,3077	0,6969	0,7040	0,7457	0,8863	0,8786
E2T1-5 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,2946	0,6899	0,7425	0,8167	0,9571	0,9416
E2T1-5 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,3684	0,6908	0,7414	0,7616	0,8491	0,8409
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2206±0,0509**	**0,3736±0,0178**	**0,5355±0,0274**	**0,7128±0,0582**	**0,9191±0,0204**	**0,9149±0,0252**
E2T6-10 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,3474	0,5474	0,6488	0,8948	0,9359	0,9461
E2T6-10 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,3263	0,4917	0,5352	0,6209	0,9986	0,9899
E2T6-10 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,3093	0,4554	0,5336	0,6076	0,9686	0,9586
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2206±0,0509**	**0,3736±0,0178**	**0,5355±0,0274**	**0,7128±0,0582**	**0,9191±0,0204**	**0,9149±0,0252**
E2T11-15 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,3452	0,6088	0,6383	0,8198	0,9465	0,9347
E2T11-15 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,3683	0,5971	0,6466	0,8684	0,9954	0,9904
E2T11-15 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,3831	0,5964	0,6576	0,8705	0,9907	0,9908

Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2206±0,0509**	**0,3736±0,0178**	**0,5355±0,0274**	**0,7128±0,0582**	**0,9191±0,0204**	**0,9149±0,0252**
E3T1-5 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,2849	0,4849	0,7837	0,8255	0,9619	0,9592
E3T1-5 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,2475	0,4832	0,4954	0,6185	0,9636	0,9604
E3T1-5 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,1587	0,4941	0,5425	0,6405	0,9627	0,9612
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2206±0,0509**	**0,3736±0,0178**	**0,5355±0,0274**	**0,7128±0,0582**	**0,9191±0,0204**	**0,9149±0,0252**
E3T6-10 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,2903	0,5029	0,6317	0,7413	0,9714	0,9694
E3T6-10 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,2755	0,5633	0,6372	0,7264	0,9014	0,8843
E3T6-10 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,3443	0,4944	0,5425	0,6443	0,9426	0,9301
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2206±0,0509**	**0,3736±0,0178**	**0,5355±0,0274**	**0,7128±0,0582**	**0,9191±0,0204**	**0,9149±0,0252**
E3T11-15 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,3055	0,6031	0,7089	0,8420	0,9975	0,9775
E3T11-15 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,4724	0,6698	0,7434	0,8589	0,9270	0,9170
E3T11-15 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,4642	0,5064	0,6455	0,8042	0,9498	0,9320
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2206±0,0509**	**0,3736±0,0178**	**0,5355±0,0274**	**0,7128±0,0582**	**0,9191±0,0204**	**0,9149±0,0252**
E4T1-5 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,3821	0,4350	0,5880	0,6649	0,7880	0,7745
E4T1-5 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,1327	0,3327	0,4785	0,5299	0,7651	0,7109
E4T1-5 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,3437	0,4852	0,6437	0,6814	0,7904	0,7810
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2206±0,0509**	**0,3736±0,0178**	**0,5355±0,0274**	**0,7128±0,0582**	**0,9191±0,0204**	**0,9149±0,0252**
E4T6-10 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,2417	0,5072	0,5672	0,7319	0,8382	0,8008
E4T6-10 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,2948	0,5413	0,5913	0,7058	0,8482	0,8346
E4T6-10 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,2074	0,5044	0,5844	0,6873	0,8455	0,8279
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2206±0,0509**	**0,3736±0,0178**	**0,5355±0,0274**	**0,7128±0,0582**	**0,9191±0,0204**	**0,9149±0,0252**
E4T11-15 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,1888	0,3588	0,5235	0,6905	0,9743	0,9704
E4T11-15 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,2090	0,3899	0,5595	0,7012	0,9660	0,9527
E4T11-15 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,2478	0,4002	0,5833	0,7002	0,9853	0,9729
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2206±0,0509**	**0,3736±0,0178**	**0,5355±0,0274**	**0,7128±0,0582**	**0,9191±0,0204**	**0,9149±0,0252**

Πίνακας 8: Οι μετρούμενες απορροφήσεις στα 419nm για το σύνολο των δειγμάτων του Ιουνίου 2023, για το ένζυμο Υπεροξειδάση (POD).

Δείγμα (Κωδικοποίηση)*	Απορροφήσεις για την POD						
	1η Δειγματοληψία: Ιούνιος 2023						
	0sec	30sec	60sec	90sec	120sec	150sec	180sec
E1T1-15 (1η επανάληψη)	0,0000	0,3539	0,5296	0,6239	0,6785	0,6831	0,6593
E1T1-15 (2η επανάληψη)	0,0000	0,3411	0,5746	0,7397	0,8570	0,8934	0,8069
E1T1-15 (3η επανάληψη)	0,0000	0,6046	0,8160	0,9468	1,0155	0,9469	0,9128
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,4332±0,01485**	**0,6401±0,1540**	**0,7701±0,1636**	**0,8504±0,1686**	**0,8471±0,1465**	**0,7930±0,1274**
E2T1-15 (1η επανάληψη)	0,0000	0,2576	0,3585	0,4206	0,4419	0,4237	0,3712
E2T1-15 (2η επανάληψη)	0,0000	0,3482	0,4482	0,7116	0,7529	0,7411	0,6866
E2T1-15 (3η επανάληψη)	0,0000	0,3599	0,4713	0,5358	0,5724	0,5921	0,5014
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,3219±0,0560**	**0,4260±0,0596**	**0,5560±0,1465**	**0,5891±0,1562**	**0,5780±0,1589**	**0,5197±0,1585**
E3T1-15 (1η επανάληψη)	0,0000	0,2465	0,3570	0,4400	0,4909	0,5423	0,5270
E3T1-15 (2η επανάληψη)	0,0000	0,2436	0,4622	0,7477	0,8219	0,9102	0,8894
E3T1-15 (3η επανάληψη)	0,0000	0,2584	0,3912	0,4990	0,5563	0,6137	0,5964
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2495±0,0078**	**0,4034±0,0537**	**0,5623±0,1633**	**0,6231±0,1753**	**0,6887±0,1950**	**0,6710±0,1924**
E4T1-15 (1η επανάληψη)	0,0000	0,6719	0,9318	1,0118	1,0334	0,9660	0,8425
E4T1-15 (2η επανάληψη)	0,0000	0,5311	0,7155	0,8463	0,9359	0,9559	0,9310
E4T1-15 (3η επανάληψη)	0,0000	0,4146	0,5399	0,6174	0,6643	0,6720	0,6215
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,5392±0,1289**	**0,7291±0,1963**	**0,8252±0,1981**	**0,8779±0,1913**	**0,8646±0,1669**	**0,7984±0,1594**

Πίνακας 9: Οι μετρούμενες απορροφήσεις στα 419nm για το σύνολο των δειγμάτων του Ιουλίου 2023, για το ένζυμο Υπεροξειδάση (POD). (* : στα δείγματα αυτά πραγματοποιήθηκε αραίωση 1:2, ** : στα δείγματα αυτά πραγματοποιήθηκε αραίωση 1:4)

Δείγμα (Κωδικοποίηση)*	Απορροφήσεις για την POD						
	2η Δειγματοληψία: Ιούλιος 2023						
	0sec	30sec	60sec	90sec	120sec	150sec	180sec
E1T1-5 (1η επανάληψη)	0,0000	0,1357	0,1572	0,1651	0,2395	0,2264	0,2026
E1T1-5 (2η επανάληψη)	0,0000	0,1399	0,1607	0,1840	0,2305	0,2175	0,2140
E1T1-5 (3η επανάληψη)	0,0000	0,1263	0,1765	0,1837	0,2085	0,2126	0,2037

Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1340±0,0070**	**0,1648±0,0103**	**0,1776±0,0108**	**0,2262±0,0159**	**0,2188±0,0070**	**0,2068±0,0063**
E1T6-10 (1η επανάληψη)	0,0000	0,1643	0,1894	0,2101	0,2157	0,2345	0,2170
E1T6-10 (2η επανάληψη)	0,0000	0,1362	0,1492	0,1619	0,1897	0,2399	0,1991
E1T6-10 (3η επανάληψη)	0,0000	0,1475	0,1639	0,1866	0,2286	0,2386	0,2439
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1493±0,0141**	**0,1675±0,0203**	**0,1862±0,0241**	**0,2113±0,0198**	**0,2377±0,0028**	**0,2200±0,0225**
E1T11-15 (1η επανάληψη)	0,0000	0,1696	0,1871	0,1956	0,2109	0,2407	0,2307
E1T11-15 (2η επανάληψη)	0,0000	0,1384	0,1534	0,1735	0,2414	0,2412	0,2346
E1T11-15 (3η επανάληψη)	0,0000	0,1655	0,1904	0,2159	0,2404	0,2596	0,2301
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1578±0,0170**	**0,1770±0,0205**	**0,1950±0,0212**	**0,2309±0,0173**	**0,2472±0,0108**	**0,2318±0,0025**
E2T1-5 (1η επανάληψη)	0,0000	0,1141	0,1398	0,1741	0,2064	0,2304	0,2174
E2T1-5 (2η επανάληψη)	0,0000	0,1108	0,1574	0,1877	0,2168	0,2419	0,2237
E2T1-5 (3η επανάληψη)	0,0000	0,1339	0,1650	0,1759	0,2059	0,2276	0,2050
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1196±0,0125**	**0,1541±0,0129**	**0,1792±0,0074**	**0,2097±0,0062**	**0,2333±0,0076**	**0,2154±0,0095**
E2T6-10 (1η επανάληψη)	0,0000	0,2715	0,3593	0,4434	0,5370	0,5049	0,3924
E2T6-10 (2η επανάληψη)	0,0000	0,2078	0,3922	0,4391	0,5198	0,5038	0,4863
E2T6-10 (3η επανάληψη)	0,0000	0,3755	0,4251	0,5256	0,5326	0,4959	0,4081
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2849±0,0846**	**0,3922±0,0329**	**0,4693±0,0487**	**0,5298±0,0089**	**0,5015±0,0050**	**0,4290±0,0503**
E2T11-15 (1η επανάληψη)	0,0000	0,1127	0,1664	0,2114	0,2627	0,2714	0,2611
E2T11-15 (2η επανάληψη)	0,0000	0,1243	0,1630	0,1771	0,2076	0,2507	0,2268
E2T11-15 (3η επανάληψη)	0,0000	0,1331	0,1850	0,2082	0,2453	0,2762	0,2508
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1234±0,0102**	**0,1715±0,0119**	**0,1989±0,0189**	**0,2386±0,0282**	**0,2661±0,0136**	**0,2462±0,0176**
E3T1-5 (1η επανάληψη)	0,0000	0,1818	0,2182	0,2646	0,3135	0,3979	0,3526
E3T1-5 (2η επανάληψη)	0,0000	0,1772	0,2013	0,2219	0,2997	0,3146	0,3013
E3T1-5 (3η επανάληψη)	0,0000	0,1652	0,2175	0,2805	0,3097	0,3317	0,3281
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1747±0,0086**	**0,2123±0,0096**	**0,2557±0,0303**	**0,3076±0,0071**	**0,3348±0,0218**	**0,3273±0,0257**
E3T6-10 (1η επανάληψη)	0,0000	0,1776	0,1875	0,1916	0,2387	0,2348	0,2299
E3T6-10 (2η επανάληψη)	0,0000	0,1411	0,1520	0,1835	0,1918	0,2156	0,2011

E3T6-10 (3η επανάληψη)	0,0000	0,1764	0,1827	0,2214	0,2263	0,2314	0,2063
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1594±0,0207**	**0,1697±0,0193**	**0,1876±0,0199**	**0,2152±0,0243**	**0,2252±0,0103**	**0,2155±0,0154**
E3T11-15 (1η επανάληψη)	0,0000	0,2549	0,4449	0,5480	0,6549	0,7480	0,7023
E3T11-15 (2η επανάληψη)	0,0000	0,2588	0,4588	0,5011	0,5428	0,6411	0,6028
E3T11-15 (3η επανάληψη)	0,0000	0,2185	0,3740	0,5185	0,6740	0,7888	0,7655
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2441±0,0222**	**0,4259±0,0455**	**0,5226±0,0237**	**0,6239±0,0709**	**0,7260±0,0763**	**0,6902±0,0820**
E4T1-5 * (1η επανάληψη)	0,0000	0,1112	0,1975	0,2126	0,2711	0,3011	0,2511
E4T1-5 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,1040	0,1731	0,2033	0,2334	0,2731	0,2465
E4T1-5 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,1383	0,1869	0,2775	0,3076	0,3268	0,3043
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1178±0,0181**	**0,1858±0,0122**	**0,2311±0,0404**	**0,2707±0,0371**	**0,3003±0,0268**	**0,2673±0,0321**
E4T6-10 * (1η επανάληψη)	0,0000	0,1054	0,1982	0,3330	0,3407	0,3796	0,3592
E4T6-10 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,1375	0,2418	0,3126	0,3477	0,3312	0,3179
E4T6-10 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,1114	0,1782	0,2921	0,2937	0,3479	0,3012
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1181±0,0171**	**0,2060±0,0325**	**0,3126±0,0204**	**0,3274±0,0294**	**0,3529±0,0246**	**0,3261±0,0299**
E4T11-15 * (1η επανάληψη)	0,0000	0,1574	0,1724	0,1943	0,2327	0,2807	0,2816
E4T11-15 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,1057	0,1472	0,2094	0,2433	0,2647	0,2576
E4T11-15 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,1042	0,1364	0,1943	0,2327	0,2685	0,2398
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1224±0,0303**	**0,1520±0,0184**	**0,1994±0,0087**	**0,2362±0,0061**	**0,2713±0,0084**	**0,2596±0,0210**

<u>Πίνακας 10:</u> Οι μετρούμενες απορροφήσεις στα 419nm για το σύνολο των δειγμάτων του Αυγούστου 2023, για το ένζυμο Υπεροξειδάση (POD). (* : στα δείγματα αυτά πραγματοποιήθηκε αραίωση 1:2, ** : στα δείγματα αυτά πραγματοποιήθηκε αραίωση 1:4)

Δείγμα (Κωδικοποίηση)*	**Απορροφήσεις για την POD**						
	3η Δειγματοληψία: Αύγουστος 2023						
	0sec	**30sec**	**60sec**	**90sec**	**120sec**	**150sec**	**180sec**
E1T1-5 (1η επανάληψη)	0,0000	0,1038	0,1315	0,1423	0,1644	0,2086	0,2018
E1T1-5 (2η επανάληψη)	0,0000	0,1177	0,1364	0,1537	0,1611	0,2107	0,2031
E1T1-5 (3η επανάληψη)	0,0000	0,1039	0,1462	0,1694	0,1940	0,2094	0,2021
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1084±0,0080**	**0,1380±0,0075**	**0,1551±0,0136**	**0,1732±0,0181**	**0,2096±0,0011**	**0,2024±0,0007**

E1T6-10 (1η επανάληψη)	0,0000	0,1041	0,1246	0,1582	0,1743	0,2032	0,1824
E1T6-10 (2η επανάληψη)	0,0000	0,1082	0,1411	0,1614	0,1816	0,2029	0,1901
E1T6-10 (3η επανάληψη)	0,0000	0,1121	0,1321	0,1549	0,1827	0,1997	0,2072
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1081±0,0040**	**0,1326±0,0082**	**0,1582±0,0032**	**0,1795±0,0046**	**0,2019±0,0019**	**0,1933±0,0127**
E1T11-15 (1η επανάληψη)	0,0000	0,1220	0,1479	0,1606	0,1943	0,2161	0,1861
E1T11-15 (2η επανάληψη)	0,0000	0,1223	0,1315	0,1515	0,1853	0,2171	0,1954
E1T11-15 (3η επανάληψη)	0,0000	0,1272	0,1601	0,1914	0,1962	0,2191	0,1896
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1238±0,0029**	**0,1465±0,0144**	**0,1678±0,0209**	**0,1919±0,0058**	**0,2174±0,0016**	**0,1903±0,0047**
E2T1-5 (1η επανάληψη)	0,0000	0,1516	0,2620	0,3927	0,5264	0,5836	0,5409
E2T1-5 (2η επανάληψη)	0,0000	0,2083	0,2461	0,3937	0,4400	0,4958	0,4806
E2T1-5 (3η επανάληψη)	0,0000	0,2098	0,2568	0,3398	0,4350	0,5797	0,5279
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1899±0,0332**	**0,2549±0,0081**	**0,3754±0,0309**	**0,4671±0,0514**	**0,5530±0,0496**	**0,5165±0,0318**
E2T6-10 (1η επανάληψη)	0,0000	0,1467	0,2299	0,2840	0,3630	0,4468	0,4399
4399E2T6-10 (2η επανάληψη)	0,0000	0,2370	0,2905	0,3769	0,4593	0,5593	0,4944
E2T6-10 (3η επανάληψη)	0,0000	0,2390	0,3900	0,5391	0,6906	0,7088	0,6515
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2075±0,0527**	**0,3035±0,0809**	**0,4000±0,1291**	**0,5043±0,1684**	**0,5717±0,1315**	**0,5286±0,1099**
E2T11-15 (1η επανάληψη)	0,0000	0,2095	0,6111	0,7210	0,8417	0,8817	0,8203
E2T11-15 (2η επανάληψη)	0,0000	0,3047	0,6760	0,7134	0,8134	0,8962	0,8550
E2T11-15 (3η επανάληψη)	0,0000	0,3120	0,5409	0,5876	0,6617	0,7046	0,6952
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2754±0,0572**	**0,6094±0,0676**	**0,6740±0,0749**	**0,7723±0,0968**	**0,8275±0,1067**	**0,7902±0,0840**
E3T1-5 * (1η επανάληψη)	0,0000	0,2285	0,2567	0,4445	0,6306	0,6446	0,6009
E3T1-5 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,2206	0,2582	0,3464	0,4262	0,4662	0,4278
E3T1-5 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,2068	0,2563	0,4462	0,5242	0,7452	0,7069
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2186±0,0110**	**0,2571±0,0010**	**0,4124±0,0572**	**0,5270±0,1023**	**0,6187±0,1413**	**0,5785±0,1409**
E3T6-10 * (1η επανάληψη)	0,0000	0,3222	0,4222	0,4245	0,5345	0,6116	0,6044
E3T6-10 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,3193	0,3605	0,4401	0,4943	0,5163	0,5070
E3T6-10 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,3467	0,3497	0,3532	0,3794	0,3860	0,3433

Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,3294±0,0151**	**0,3775±0,0391**	**0,4059±0,0463**	**0,4694±0,0805**	**0,5046±0,1133**	**0,4849±0,1320**
E3T11-15 * (1η επανάληψη)	0,0000	0,2569	0,3699	0,5478	0,6942	0,7642	0,7119
E3T11-15 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,2840	0,3609	0,5925	0,7013	0,7661	0,7582
E3T11-15 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,2859	0,3606	0,5775	0,7013	0,7461	0,7386
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2756±0,0162**	**0,3638±0,0053**	**0,5726±0,0228**	**0,6989±0,0041**	**0,7588±0,0110**	**0,7362±0,0232**
E4T1-5 * (1η επανάληψη)	0,0000	0,2385	0,3385	0,5256	0,6256	0,8015	0,7256
E4T1-5 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,2533	0,3493	0,5529	0,6282	0,8274	0,7736
E4T1-5 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,2964	0,3787	0,5044	0,6238	0,8265	0,7501
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2627±0,0301**	**0,35555±0,0208**	**0,5276±0,0243**	**0,6259±0,0022**	**0,8184±0,0147**	**0,7948±0,0240**
E4T6-10 * (1η επανάληψη)	0,0000	0,2490	0,3829	0,4134	0,4811	0,7019	0,6902
E4T6-10 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,2844	0,4013	0,5363	0,6443	0,9263	0,8036
E4T6-10 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,3508	0,3908	0,4631	0,6508	0,9431	0,8717
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2947±0,0517**	**0,3917±0,0092**	**0,4709±0,0618**	**0,5920±0,0962**	**0,8571±0,1346**	**0,7885±0,0917**
E4T11-15 * (1η επανάληψη)	0,0000	0,1192	0,2492	0,3047	0,3492	0,3847	0,3647
E4T11-15 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,1382	0,2800	0,2932	0,3324	0,3665	0,3538
E4T11-15 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,0984	0,2694	0,3361	0,3694	0,3861	0,3409
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1186±0,0199**	**0,2662±0,0156**	**0,3113±0,0222**	**0,3504±0,0185**	**0,3791±0,0109**	**0,3541±0,0133**

<u>Πίνακας 11:</u> Οι μετρούμενες απορροφήσεις στα 419nm για το σύνολο των δειγμάτων του Σεπτεμβρίου 2023, για το ένζυμο Υπεροξειδάση (POD).

(* : στα δείγματα αυτά πραγματοποιήθηκε αραίωση 1:2, ** : στα δείγματα αυτά πραγματοποιήθηκε αραίωση 1:4)

Δείγμα (Κωδικοποίηση)*	**Απορροφήσεις για την POD**						
	4η Δειγματοληψία: Σεπτέμβριος 2023						
	0sec	**30sec**	**60sec**	**90sec**	**120sec**	**150sec**	**180sec**
E1T1-5* (1η επανάληψη)	0,0000	0,0436	0,2136	0,2952	0,3353	0,4159	0,3823
E1T1-5 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,2036	0,2548	0,3906	0,4262	0,4524	0,4392
E1T1-5 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,0122	0,1998	0,2435	0,2887	0,4116	0,3916
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,0865±0,1026**	**0,2228±0,0286**	**0,3098±0,0746**	**0,3500±0,0699**	**0,4266±0,0224**	**0,4044±0,0306**

E1T6-10 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,2037	0,3469	0,4973	0,6348	0,8746	0,7948
E1T6-10 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,2724	0,3497	0,5374	0,6724	0,7520	0,7235
E1T6-10 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,2992	0,3505	0,4749	0,6992	0,7481	0,7105
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2584±0, 0492**	**0,3490± 0,0019**	**0,5032± 0,0317**	**0,6688± 0,0324**	**0,7916± 0,0720**	**0,7430± 0,0454**
E1T11-15 (1η επανάληψη)	0,0000	0,2986	0,5292	0,6701	0,7951	0,9135	0,8535
E1T11-15 (2η επανάληψη)	0,0000	0,2648	0,5820	0,6325	0,7467	0,8918	0,8821
E1T11-15 (3η επανάληψη)	0,0000	0,2532	0,5323	0,6304	0,7467	0,9113	0,8513
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2722±0, 0236**	**0,5478± 0,0297**	**0,6444± 0,0224**	**0,7628± 0,0279**	**0,9055± 0,0119**	**0,8623± 0,0172**
E2T1-5 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,2903	0,3873	0,4487	0,5611	0,6790	0,6587
E2T1-5 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,2441	0,3909	0,4720	0,5909	0,6899	0,6699
E2T1-5 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,2808	0,3807	0,5670	0,6912	0,7782	0,7482
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2717±0, 0244**	**0,3863± 0,0052**	**0,4959± 0,0627**	**0,6144± 0,0681**	**0,7157± 0,0544**	**0,6923± 0,0488**
E2T6-10 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,2448	0,3874	0,3918	0,4380	0,4926	0,4813
E2T6-10 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,1630	0,2941	0,3158	0,4557	0,5998	0,5828
E2T6-10 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,1933	0,2893	0,3263	0,4721	0,5421	0,5091
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2004±0, 0414**	**0,3236± 0,0553**	**0,3446± 0,0412**	**0,4553± 0,0170**	**0,5448± 0,0536**	**0,5244± 0,0525**
E2T11-15 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,3368	0,5005	0,6724	0,7257	0,7341	0,7291
E2T11-15 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,2577	0,4672	0,5768	0,6589	0,7297	0,7167
E2T11-15 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,4348	0,5064	0,7477	0,8061	0,8383	0,8255
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,3431±0, 0887**	**0,4913± 0,0211**	**0,6656± 0,0857**	**0,7302± 0,0737**	**0,7673± 0,0615**	**0,7571± 0,0595**
E3T1-5 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,1395	0,1705	0,2147	0,2475	0,3150	0,3105
E3T1-5 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,1024	0,1693	0,2394	0,2912	0,3169	0,3094
E3T1-5 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,1114	0,1969	0,2467	0,2721	0,2931	0,2911
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1178±0, 0193**	**0,1789± 0,0156**	**0,2336± 0,0168**	**0,2703± 0,0219**	**0,3084± 0,0132**	**0,3037± 0,0109**
E3T6-10 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,1142	0,3016	0,3910	0,4601	0,4934	0,4850
E3T6-10 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,1440	0,3031	0,3763	0,4059	0,4968	0,4924
E3T6-10 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,1526	0,3716	0,4648	0,4771	0,5246	0,5206

Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1369±0,0202**	**0,3254±0,0400**	**0,4107±0,0474**	**0,4477±0,0372**	**0,5049±0,0171**	**0,4994±0,0188**
E3T11-15 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,1161	0,2387	0,3097	0,4302	0,5418	0,5302
E3T11-15 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,1320	0,1749	0,2420	0,3942	0,5409	0,5209
E3T11-15 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,1373	0,2642	0,3995	0,4613	0,5141	0,5041
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1284±0,0110**	**0,2259±0,0460**	**0,3171±0,0790**	**0,4286±0,0336**	**0,5323±0,0158**	**0,5184±0,0133**
E4T1-5 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,1555	0,2964	0,3677	0,4394	0,5939	0,5839
E4T1-5 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,2005	0,3019	0,3340	0,4001	0,5958	0,4858
E4T1-5 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,1748	0,2264	0,2827	0,3827	0,5217	0,5024
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1769±0,0026**	**0,2749±0,0421**	**0,3281±0,0428**	**0,4074±0,0290**	**0,5705±0,0423**	**0,5241±0,0525**
E4T6-10 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,1988	0,3468	0,4391	0,4776	0,5857	0,6430
E4T6-10 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,2198	0,3305	0,3908	0,4530	0,5689	0,6233
E4T6-10 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,2377	0,3772	0,4440	0,5816	0,6688	0,7440
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2188±0,0195**	**0,3515±0,0237**	**0,4246±0,0294**	**0,5041±0,0682**	**0,6078±0,0535**	**0,6701±0,0647**
E4T11-15 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,1879	0,2528	0,2920	0,3201	0,4906	0,4014
E4T11-15 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,2200	0,2129	0,2523	0,3099	0,4493	0,4023
E4T11-15 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,1546	0,2383	0,3018	0,3839	0,4686	0,4302
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1875±0,0327**	**0,2347±0,0202**	**0,2820±0,0262**	**0,3380±0,0401**	**0,4695±0,0207**	**0,4113±0,0164**

Πίνακας 12: Οι μετρούμενες απορροφήσεις στα 419nm για το σύνολο των δειγμάτων του Οκτωβρίου 2023, για το ένζυμο Υπεροξειδάση (POD).

(* : στα δείγματα αυτά πραγματοποιήθηκε αραίωση 1:2, ** : στα δείγματα αυτά πραγματοποιήθηκε αραίωση 1:4)

Δείγμα (Κωδικοποίηση)*	**Απορροφήσεις για την POD**						
	5η Δειγματοληψία: Οκτώβριος 2023						
	0sec	**30sec**	**60sec**	**90sec**	**120sec**	**150sec**	**180sec**
E1T1-5 * (1η επανάληψη)	0,0000	0,1793	0,2607	0,3383	0,4585	0,6391	0,6184
E1T1-5 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,1640	0,2842	0,3329	0,4434	0,6333	0,6289
E1T1-5 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,1631	0,2517	0,3427	0,4900	0,6490	0,6140
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1688±0,0091**	**0,2655±0,0167**	**0,3380±0,0049**	**0,4640±0,0238**	**0,6405±0,0079**	**0,6204±0,0076**

E1T6-10 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,2540	0,3052	0,3561	0,4030	0,5654	0,5554
E1T6-10 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,2563	0,3166	0,3980	0,4205	0,5681	0,5572
E1T6-10 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,2587	0,3145	0,3923	0,4587	0,5145	0,5023
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2563±0,0024**	**0,3121±0,0061**	**0,3821±0,0227**	**0,4274±0,0285**	**0,5493±0,0302**	**0,5383±0,0312**
E1T11-15 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,6555	0,7501	0,8832	0,8891	0,9414	0,9349
E1T11-15 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,5284	0,7121	0,7932	0,8550	0,9299	0,9111
E1T11-15 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,6209	0,7669	0,8432	0,8477	0,9381	0,9282
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,6016±0,0657**	**0,7430±0,0281**	**0,8399±0,0451**	**0,8639±0,0221**	**0,9365±0,0059**	**0,9247±0,0123**
E2T1-5* (1η επανάληψη)	0,0000	0,2111	0,5193	0,6113	0,6514	0,7714	0,7561
E2T1-5 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,4236	0,5628	0,6280	0,6513	0,7809	0,7802
E2T1-5 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,4601	0,6037	0,6841	0,7384	0,8631	0,8913
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,3649±0,1345**	**0,5619±0,0422**	**0,6412±0,0382**	**0,6804±0,0503**	**0,8052±0,0504**	**0,8092±0,0721**
E2T6-10 * (1η επανάληψη)	0,0000	0,2873	0,6873	0,7590	0,8406	0,9119	0,9089
E2T6-10 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,3987	0,7868	0,9549	0,9944	1,0597	1,0644
E2T6-10 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,4537	0,6474	0,7415	0,8474	0,9999	0,9903
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,3799±0,0848**	**0,7072±0,0718**	**0,8185±0,1185**	**0,8942±0,0869**	**0,9905±0,0744**	**0,9879±0,0778**
E2T11-15 * (1η επανάληψη)	0,0000	0,2520	0,4845	0,5511	0,6911	0,8911	0,8995
E2T11-15 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,2556	0,4976	0,5822	0,6724	0,9024	0,9743
E2T11-15 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,2917	0,4966	0,6466	0,7844	0,9081	0,9480
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2664±0,0220**	**0,4929±0,0073**	**0,5933±0,0487**	**0,7160±0,0600**	**0,9006±0,0086**	**0,9406±0,0379**
E3T1-5 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,1222	0,2619	0,2919	0,3420	0,4712	0,4620
E3T1-5 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,1464	0,2796	0,2936	0,3634	0,4993	0,4840
E3T1-5 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,1525	0,2470	0,2501	0,3499	0,4992	0,4733
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1403±0,0160**	**0,2629±0,0163**	**0,2786±0,0246**	**0,3518±0,0108**	**0,4899±0,0162**	**0,4731±0,0110**
E3T6-10 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,2335	0,4008	0,4725	0,5963	0,6345	0,6253
E3T6-10 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,3459	0,4827	0,5441	0,5639	0,6512	0,6431
E3T6-10 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,2053	0,4077	0,4260	0,5925	0,6955	0,6894

Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2616±0,0744**	**0,4304±0,0454**	**0,4809±0,0595**	**0,5843±0,0177**	**0,6604±0,0315**	**0,6526±0,0331**
E3T11-15 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,1689	0,2932	0,3416	0,4576	0,5394	0,5218
E3T11-15 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,1740	0,3277	0,3984	0,4360	0,5499	0,5397
E3T11-15 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,1065	0,2810	0,3345	0,4754	0,5979	0,5754
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1498±0,0376**	**0,3006±0,0242**	**0,3582±0,0350**	**0,4563±0,0197**	**0,5624±0,0312**	**0,5456±0,0273**
E4T1-5 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,2081	0,4424	0,7855	0,8018	0,7378	0,7155
E4T1-5 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,2095	0,4567	0,7092	0,7604	0,7416	0,7142
E4T1-5 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,2914	0,4914	0,7643	0,8397	0,8093	0,7904
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2363±0,0477**	**0,4635±0,0252**	**0,7530±0,0394**	**0,8006±0,0396**	**0,7629±0,0402**	**0,7400±0,0436**
E4T6-10 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,1682	0,2499	0,2616	0,4017	0,5517	0,5046
E4T6-10 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,2536	0,3417	0,3811	0,5148	0,5648	0,5047
E4T6-10 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,2073	0,3299	0,3840	0,4960	0,5910	0,5481
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2097±0,0427**	**0,3071±0,0500**	**0,3422±0,0698**	**0,4708±0,0606**	**0,5692±0,0200**	**0,5192±0,0251**
E4T11-15 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,1583	0,2708	0,3826	0,4511	0,6082	0,5818
E4T11-15 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,2082	0,3082	0,3493	0,4796	0,6152	0,6095
E4T11-15 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,2032	0,3321	0,3912	0,4497	0,5764	0,5522
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1899±0,0275**	**0,3037±0,0309**	**0,3743±0,0221**	**0,4601±0,0169**	**0,5999±0,0207**	**0,5811±0,0287**

Πίνακας 13: Οι μετρούμενες απορροφήσεις στα 419nm για το σύνολο των δειγμάτων του Νοεμβρίου 2023, για το ένζυμο Υπεροξειδάση (POD). (* : στα δείγματα αυτά πραγματοποιήθηκε αραίωση 1:2, ** : στα δείγματα αυτά πραγματοποιήθηκε αραίωση 1:4)

Δείγμα (Κωδικοποίηση)*	**Απορροφήσεις για την POD**						
	6η Δειγματοληψία: Νοέμβριος 2023						
	0sec	**30sec**	**60sec**	**90sec**	**120sec**	**150sec**	**180sec**
E1T1-5 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,4812	0,6812	0,8885	0,9819	0,9980	0,9975
E1T1-5 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,5445	0,7621	0,9600	1,0312	1,0421	0,9977
E1T1-5 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,4783	0,6826	0,9536	1,0181	1,0307	0,9843
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,5013±0,0374**	**0,7086±0,0463**	**0,9340±0,0396**	**1,0104±0,0255**	**1,0236±0,0229**	**0,9932±0,0077**
E1T6-10 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,3548	0,5292	0,8194	0,8748	0,8978	0,8900

E1T6-10 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,4863	0,5689	0,7003	0,8388	0,9912	0,9863
E1T6-10 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,3907	0,6353	0,8399	0,8442	0,9432	0,9363
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,4106±0,0680**	**0,5778±0,0536**	**0,7865±0,0754**	**0,8526±0,0194**	**0,9440±0,0467**	**0,9375±0,0482**
E1T11-15 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,1854	0,6600	0,7359	0,8291	0,8586	0,8485
E1T11-15 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,4353	0,6799	0,7848	0,8027	0,8532	0,8465
E1T11-15 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,4616	0,6839	0,8069	0,8532	0,8605	0,8590
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,3608±0,1524**	**0,6746±0,0128**	**0,7759±0,0364**	**0,8283±0,0252**	**0,8574±0,0038**	**0,8514±0,0067**
E2T1-5** (1η επανάληψη)	0,0000	0,1951	0,2514	0,3736	0,4522	0,6034	0,5966
E2T1-5 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,1091	0,2579	0,3084	0,4091	0,5608	0,5519
E2T1-5 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,2140	0,2795	0,3469	0,4094	0,6204	0,6104
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1728±0,0559**	**0,2629±0,0147**	**0,3430±0,0328**	**0,4236±0,0248**	**0,5949±0,0307**	**0,5863±0,0306**
E2T6-10 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,1257	0,2801	0,4257	0,5357	0,6477	0,6301
E2T6-10 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,1568	0,3045	0,4568	0,5569	0,6589	0,6335
E2T6-10 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,1123	0,2543	0,4617	0,5962	0,6454	0,6123
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1316±0,0228**	**0,2796±0,0251**	**0,4481±0,0195**	**0,5629±0,0307**	**0,6507±0,0072**	**0,6253±0,0114**
E2T11-15 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,1402	0,3521	0,4521	0,5537	0,7233	0,7137
E2T11-15 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,1604	0,3604	0,5262	0,6210	0,6687	0,6431
E2T11-15 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,1577	0,3618	0,4750	0,5232	0,6592	0,6417
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1528±0,0110**	**0,3581±0,0052**	**0,4844±0,0379**	**0,5660±0,0500**	**0,6837±0,0346**	**0,6662±0,0412**
E3T1-5 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,1276	0,3289	0,5436	0,6436	0,7436	0,7414
E3T1-5 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,1908	0,3618	0,5422	0,6427	0,7422	0,7421
E3T1-5 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,1825	0,3904	0,5613	0,6797	0,7191	0,7105
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1670±0,0344**	**0,3604±0,0308**	**0,5490±0,0106**	**0,7218±0,0365**	**0,7350±0,0137**	**0,7313±0,0180**
E3T6-10 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,2004	0,4346	0,5200	0,7036	0,7416	0,6900
E3T6-10 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,2042	0,4455	0,5351	0,6822	0,7122	0,6719
E3T6-10 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,2376	0,4801	0,5651	0,6601	0,6910	0,6575
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2141±0,0205**	**0,4634±0,0174**	**0,5401±0,0230**	**0,6820±0,0218**	**0,7149±0,0254**	**0,6731±0,0163**

E3T11-15 ** (1η επανάληψη)	0,0000	0,3144	0,6283	0,7340	0,7893	0,8544	0,8493
E3T11-15 ** (2η επανάληψη)	0,0000	0,3321	0,6397	0,7505	0,7906	0,8906	0,8891
E3T11-15 ** (3η επανάληψη)	0,0000	0,3501	0,6925	0,7426	0,7717	0,8917	0,8892
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,3322±0, 0178**	**0,6535± 0,0342**	**0,7424± 0,0083**	**0,7839± 0,0106**	**0,8789± 0,0212**	**0,8758± 0,0230**
E4T1-5 * (1η επανάληψη)	0,0000	0,1557	0,2499	0,3156	0,3999	0,4156	0,4059
E4T1-5 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,1476	0,2476	0,3352	0,4076	0,4352	0,4238
E4T1-5 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,1882	0,2429	0,3459	0,3829	0,4643	0,4475
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1638±0, 0215**	**0,2468± 0,0036**	**0,3322± 0,0154**	**0,3968± 0,0127**	**0,4384± 0,0245**	**0,4257± 0,0209**
E4T6-10 * (1η επανάληψη)	0,0000	0,2551	0,3088	0,3586	0,4206	0,4586	0,4406
E4T6-10 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,2788	0,3498	0,3698	0,4108	0,4698	0,4508
E4T6-10 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,2477	0,3022	0,3477	0,4040	0,4767	0,4640
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2605±0, 0163**	**0,3203± 0,0258**	**0,3587± 0,0111**	**0,4118± 0,0083**	**0,4684± 0,0091**	**0,4518± 0,0118**
E4T11-15 * (1η επανάληψη)	0,0000	0,1907	0,2295	0,3509	0,3997	0,4609	0,4509
E4T11-15 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,2098	0,2226	0,3622	0,4218	0,4822	0,4711
E4T11-15 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,1572	0,2582	0,3638	0,4059	0,5838	0,5079
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1859±0, 0266**	**0,2368± 0,0189**	**0,3590± 0,0071**	**0,4091± 0,0114**	**0,5090± 0,0657**	**0,4766± 0,0289**

Πίνακας 14: Οι μετρούμενες απορροφήσεις στα 419nm για το σύνολο των δειγμάτων του Δεκεμβρίου 2023, για το ένζυμο Υπεροξειδάση (POD). (* : στα δείγματα αυτά πραγματοποιήθηκε αραίωση 1:2, ** : στα δείγματα αυτά πραγματοποιήθηκε αραίωση 1:4)

Δείγμα (Κωδικοποίηση)*	**Απορροφήσεις για την POD**						
	7η Δειγματοληψία: Δεκέμβριος 2023						
	0sec	**30sec**	**60sec**	**90sec**	**120sec**	**150sec**	**180sec**
E1T1-5 * (1η επανάληψη)	0,0000	0,3144	0,4307	0,5382	0,6062	0,6471	0,6356
E1T1-5* (2η επανάληψη)	0,0000	0,2778	0,3869	0,4925	0,6292	0,6480	0,6302
E1T1-5* (3η επανάληψη)	0,0000	0,2869	0,4456	0,5456	0,5921	0,6433	0,6312
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2930±0, 0190**	**0,4211± 0,0305**	**0,5254± 0,0288**	**0,6092± 0,0187**	**0,6461± 0,0025**	**0,6323± 0,0029**
E1T6-10 * (1η επανάληψη)	0,0000	0,5559	0,6695	0,7372	0,8680	0,8937	0,8859
E1T6-10* (2η επανάληψη)	0,0000	0,4372	0,6241	0,7909	0,8909	0,9269	0,9137

E1T6-10 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,4926	0,6741	0,7487	0,8491	0,9906	0,9826
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,4952±0, 0594**	**0,6559± 0,0276**	**0,7589± 0,0283**	**0,8693± 0,0209**	**0,9371± 0,0492**	**0,9274± 0,0498**
E1T11-15 * (1η επανάληψη)	0,0000	0,4587	0,5871	0,7417	0,8866	0,9588	0,9490
E1T11-15 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,4674	0,5247	0,7643	0,8644	0,9659	0,9554
E1T11-15* (3η επανάληψη)	0,0000	0,5585	0,5739	0,7866	0,8467	0,9988	0,9871
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,4949±0, 0553**	**0,5619± 0,0329**	**0,7642± 0,0224**	**0,8659± 0,0200**	**0,9745± 0,0214**	**0,9638± 0,0204**
E2T1-5* (1η επανάληψη)	0,0000	0,3945	0,5981	0,6269	0,7461	0,7667	0,7567
E2T1-5 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,4918	0,5852	0,6918	0,8852	0,8600	0,8548
E2T1-5 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,4936	0,6661	0,7576	0,7865	0,7427	0,7326
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,4600±0, 0567**	**0,6165± 0,0435**	**0,6921± 0,0654**	**0,8060± 0,0716**	**0,7898± 0,0620**	**0,7813± 0,0647**
E2T6-10 * (1η επανάληψη)	0,0000	0,4823	0,6442	0,6317	0,7314	0,8374	0,7931
E2T6-10 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,6613	0,8622	0,9153	0,8988	0,7517	0,7193
E2T6-10 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,6383	0,8639	0,9128	0,9227	0,9013	0,8933
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,5940±0, 0974**	**0,7901± 0,1264**	**0,8199± 0,1630**	**0,8510± 0,1043**	**0,8301± 0,0751**	**0,8019± 0,0873**
E2T11-15 * (1η επανάληψη)	0,0000	0,3443	0,6128	0,7743	0,8418	0,9601	0,9516
E2T11-15 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,3895	0,6545	0,7911	0,8316	0,9301	0,9162
E2T11-15 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,3296	0,6505	0,8157	0,8636	0,9355	0,9402
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,3545±0, 0312**	**0,6393± 0,0230**	**0,7937± 0,0208**	**0,8457± 0,0164**	**0,9486± 0,0161**	**0,9360± 0,0181**
E3T1-5 * (1η επανάληψη)	0,0000	0,1946	0,3169	0,4262	0,5600	0,6206	0,6124
E3T1-5 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,2464	0,3742	0,4641	0,6197	0,6575	0,6042
E3T1-5 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,2833	0,3890	0,4452	0,5930	0,6665	0,6485
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,2414±0, 0446**	**0,3600± 0,0381**	**0,4451± 0,0190**	**0,5909± 0,0299**	**0,6482± 0,0243**	**0,6217± 0,0236**
E3T6-10 * (1η επανάληψη)	0,0000	0,5410	0,6389	0,6137	0,6407	0,6452	0,6394
E3T6-10 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,5156	0,6205	0,6347	0,6844	0,6432	0,6344
E3T6-10 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,4174	0,5004	0,5397	0,6499	0,6735	0,6300
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,4913±0, 0653**	**0,5866± 0,0752**	**0,5960± 0,0499**	**0,6583± 0,0231**	**0,6540± 0,0170**	**0,6346± 0,0047**
E3T11-15 * (1η επανάληψη)	0,0000	0,3140	0,5483	0,5500	0,6456	0,7548	0,7228

E3T11-15 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,3483	0,5050	0,5671	0,6940	0,8153	0,8152
E3T11-15 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,4563	0,4983	0,5998	0,6468	0,7875	0,7800
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,3729±0, 0743**	**0,5172± 0,0272**	**0,5723± 0,0253**	**0,6621± 0,0276**	**0,7858± 0,0303**	**0,7727± 0,0466**
E4T1-5 * (1η επανάληψη)	0,0000	0,5249	0,6397	0,7073	0,7110	0,8247	0,7679
E4T1-5 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,2687	0,4203	0,5192	0,7192	0,8203	0,8164
E4T1-5 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,4513	0,7344	0,9143	0,9834	0,8738	0,8622
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,4149±0, 1319**	**0,5982± 0,1611**	**0,7136± 0,1976**	**0,8045± 0,1549**	**0,8396± 0,0297**	**0,8155± 0,0471**
E4T6-10 * (1η επανάληψη)	0,0000	0,7325	0,8902	0,9570	0,9876	0,7939	0,7852
E4T6-10 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,4107	0,6090	0,7178	0,7533	0,8956	0,7915
E4T6-10 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,5034	0,7349	0,9336	0,9396	0,9881	0,8971
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,5488±0, 1656**	**0,7447± 0,1409**	**0,8695± 0,1319**	**0,8935± 0,1238**	**0,8925± 0,0971**	**0,8246± 0,0629**
E4T11-15 * (1η επανάληψη)	0,0000	0,1643	0,4144	0,5789	0,6144	0,5833	0,5089
E4T11-15 * (2η επανάληψη)	0,0000	0,1524	0,4459	0,5258	0,6459	0,5744	0,4986
E4T11-15 * (3η επανάληψη)	0,0000	0,1910	0,4510	0,5379	0,6510	0,5717	0,4944
Μέσος Όρος± STDEV	**0,0000±0**	**0,1692±0, 0198**	**0,4371± 0,0198**	**0,5475± 0,0278**	**0,6371± 0,0198**	**0,5765± 0,0060**	**0,5006± 0,0075**

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

IOC, International Olive Council, 2011. Guide for the determination of the characteristics of Oil-Olives.

AGRIOS, G. N. 2005. *Plant pathology*, Elsevier.

ALMEIDA, S. L. D., MORAIS, M. A. D. S., ALBUQUERQUE, J. R. T. D., BARROS JUNIOR, A. P., SIMÕES, A., NASCIMENTO, D. & FONSECA, K. S. 2019. Polyphenol oxidase and peroxidase enzyme assays in sweet potato cultivars harvested at different times. *Revista Caatinga,* 32**,** 537-542.

AYDEMIR, T. 2004. Partial purification and characterization of polyphenol oxidase from artichoke (Cynara scolymus L.) heads. *Food Chemistry,* 87**,** 59-67.

BERG, H., MANEAS, G. & SALGUERO ENGSTRÖM, A. 2018. A Comparison between Organic and Conventional Olive Farming in Messenia, Greece. *Horticulturae* [Online], 4.

BOYER, R. 2018. *Σύγχρονη Πειραματική Βιοχημεία*, Εκδόσεις Κωσταράκη.

CHIRINOS, R., RAMON, K., MENDOZA, M., FIGUEROA-MERMA, A., PACHECO-ÁVALOS, A., CAMPOS, D. & PEDRESCHI, R. 2022. Effect of Prolonged Cold Storage on the Dynamics of the Enzymatic and Non-Enzymatic Antioxidant System in the Mesocarp of Avocado (Persea americana) cv. Hass: Relationship with Oxidative Processes. *Horticulturae* [Online], 8.

CIRILLI, M., CARUSO, G., GENNAI, C., URBANI, S., FRIONI, E., RUZZI, M., SERVILI, M., GUCCI, R., POERIO, E. & MULEO, R. 2017. The Role of Polyphenoloxidase, Peroxidase, and β-Glucosidase in Phenolics Accumulation in Olea europaea L. Fruits under Different Water Regimes. *Frontiers in Plant Science,* 8.

COULIBALY, T. P., DU, J. & DIAKITÉ, D. 2021. Sustainable agricultural practices adoption. *Agriculture (Pol'nohospodárstvo),* 67**,** 166-176.

COUNCIL, I. O. 2011. Guide for the determination of the characteristics of Oil-Olives *International Olive Council*.

DE LEONARDIS, A., ANGELICO, R., MACCIOLA, V. & CEGLIE, A. 2013. Effects of polyphenol enzymatic-oxidation on the oxidative stability of virgin olive oil. *Food Research International,* 54**,** 2001-2007.

DERARDJA, A. E., PRETZLER, M., KAMPATSIKAS, I., BARKAT, M. & ROMPEL, A. 2017. Purification and Characterization of Latent Polyphenol Oxidase from Apricot (Prunus armeniaca L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 65**,** 8203-8212.

DONAHUE, J. F. 2016. Culinary and Medicinal Uses of Wine and Olive Oil. *A Companion to Science, Technology, and Medicine in Ancient Greece and Rome.*

DOS SANTOS SILVA, M., DA HORA GÓES, N., DOS SANTOS-SEREJO, J. A., FERREIRA, C. F. & AMORIM, E. P. 2021. Phenolic Compounds and Oxidative Enzymes Involved in Female Fertility in Banana Plants of the Cavendish Subgroup. *Plants* [Online], 10.

EICHBERGER, C., SIGL, M. & R¼HFEL, H. 2007. Trees and shrubs on classical Greek vases. *Bocconea,* 21**,** 117-130.

FITCH, J. G. 2022. *On Simples, Attributed to Dioscorides: Introduction, Translation,*

Concordances, Brill.
FLURKEY, W. H. & JEN, J. J. 1978. Peroxidase and Polyphenol Oxidase Activities in developing peaches *Journal of Food Science,* 43**,** 1826-1828.
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**,** 629-635.
GUO, Z., JIA, X., ZHENG, Z., LU, X., ZHENG, Y., ZHENG, B. & XIAO, J. 2018. Chemical composition and nutritional function of olive (Olea europaea L.): a review. *Phytochemistry Reviews,* 17**,** 1091-1110.
GUPTA, D. & GARG, A. 2020. Sustainable development and carbon neutrality: Integrated assessment of transport transitions in India. *Transportation Research Part D: Transport and Environment,* 85**,** 102474.
HUBMANN, A. M., JAMMER, A. & MONSCHEIN, S. 2022. Activities of H2O2-Converting Enzymes in Apple Leaf Buds during Dormancy Release in Consideration of the Ratio Change between Bud Scales and Physiologically Active Tissues. *Horticulturae* [Online], 8.
IOC 2011. Guide for the determination of the characteristics of Oil-Olives *International Olive Council*.
IVANCIC, T., JAKOPIC, J., VEBERIC, R., VESEL, V. & HUDINA, M. 2022. Effect of Ripening on the Phenolic and Sugar Contents in the Meso- and Epicarp of Olive Fruits (Olea europaea L.) Cultivar 'Leccino'. *Agriculture* [Online], 12.
JAEGER, S. R., HARKER, F. R. & ARES, G. 2023. Consumer insights about sustainable and 'beyond organic' agriculture: A study of biodynamics in the United Kingdom, Australia, Singapore, and Germany. *Journal of Cleaner Production,* 401**,** 136744.
JIANG, S. & PENNER, M. H. 2021. Role of Ascorbic Acid in the Extraction and Quantification of Potato Polyphenol Oxidase Activity. *Foods,* 10**,** 2486.
JUKANTI, A. 2017. *Polyphenol oxidases (PPOs) in plants*, Springer.
KIRITSAKIS, A. & SAKELLAROPOULOS, N. 2017. Olive fruit harvest and processing and their effects on oil functional compounds. *Olives and Olive Oil as Functional Foods: Bioactivity, Chemistry and Processing***,** 127-146.
KIRITSAKIS, A. & SHAHIDI, F. 2017. Olives and olive oil as functional foods. *UK: John Wiley & Sons*.
KOSTELENOS, G. & KIRITSAKIS, A. 2017. Olive Tree History and Evolution. *Olives and Olive Oil as Functional Foods.*
LAIRON, D. 2010. Nutritional quality and safety of organic food. A review. *Agronomy for Sustainable Development,* 30**,** 33-41.
LEE, J. H., KASOTE, D. M., JAYAPRAKASHA, G. K., AVILA, C. A., CROSBY, K. M. & PATIL, B. S. 2021. Effect of production system and inhibitory potential of aroma volatiles on polyphenol oxidase and peroxidase activity in tomatoes. *Journal of the Science of Food and Agriculture,* 101**,** 307-314.
LITTERICK, A. & WATSON, C. 2003. Production Systems and Agronomy| Organic Farming.
LIU, Q., WANG, C., CUI, Q., FAN, Y., ZHANG, J. & RAO, G. 2023. Genome-Wide Analysis of the Polyphenol Oxidase Gene Family in Olea europaea Provides Insights into the Mechanism of Enzymatic Browning in Olive Fruit. *Antioxidants* [Online], 12.
MARTINEZ, M. V. & WHITAKER, J. R. 1995. The biochemistry and control of enzymatic browning. *Trends in Food Science & Technology,* 6**,** 195-200.

MOUGIOU, N., TRIKKA, F., TRANTAS, E., VERVERIDIS, F., MAKRIS, A., ARGIRIOU, A. & VLACHONASIOS, K. E. 2018. Expression of hydroxytyrosol and oleuropein biosynthetic genes are correlated with metabolite accumulation during fruit development in olive, Olea europaea, cv. Koroneiki. *Plant Physiology and Biochemistry,* 128**,** 41-49.

MUHIE, S. H. 2022. Novel approaches and practices to sustainable agriculture. *Journal of Agriculture and Food Research,* 10**,** 100446.

MUKHERJEE, S., BASAK, B., BHUNIA, B., DEY, A. & MONDAL, B. 2013. Potential use of polyphenol oxidases (PPO) in the bioremediation of phenolic contaminants containing industrial wastewater. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology,* 12**,** 61-73.

OULBI, S., KOHAICH, K., BAAZIZ, M., BELKOURA, I. & LOUTFI, K. 2021. Peroxidase Enzyme Fractions as Markers of Somatic Embryogenesis Capacities in Olive (Olea europaea L.). *Plants* [Online], 10.

PACINI, C., WOSSINK, A., GIESEN, G., VAZZANA, C. & HUIRNE, R. 2003. Evaluation of sustainability of organic, integrated and conventional farming systems: a farm and field-scale analysis. *Agriculture, Ecosystems & Environment,* 95**,** 273-288.

PAULL, J. & HENNIG, B. 2020. A world map of biodynamic agriculture. *Agricultural and Biological Sciences Journal,* 6**,** 114-119.

PRETZLER, M., BIJELIC, A. & ROMPEL, A. 2015. Fungal Tyrosinases: Why Mushrooms Turn Brown. *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering.* Elsevier.

PREXLER, S. M., SINGH, R., MOERSCHBACHER, B. M. & DIRKS-HOFMEISTER, M. E. 2018. A specific amino acid residue in the catalytic site of dandelion polyphenol oxidases acts as 'selector' for substrate specificity. *Plant Mol Biol,* 96**,** 151-164.

RAIMONDO, M., CARACCIOLO, F., NAZZARO, C. & MAROTTA, G. 2021. Organic Farming Increases the Technical Efficiency of Olive Farms in Italy. *Agriculture* [Online], 11.

RAO, G., ZHANG, J., LIU, X., LIN, C., XIN, H., XUE, L. & WANG, C. 2021. De novo assembly of a new Olea europaea genome accession using nanopore sequencing. *Horticulture Research,* 8**,** 64.

RHIZOPOULOU, S. 2004. Symbolic plant(s) of the Olympic Games. *Journal of Experimental Botany,* 55**,** 1601-1606.

RODRÍGUEZ, G., LAMA, A., RODRÍGUEZ, R., JIMÉNEZ, A., GUILLÉN, R. & FERNÁNDEZ-BOLAÑOS, J. 2008. Olive stone an attractive source of bioactive and valuable compounds. *Bioresource Technology,* 99**,** 5261-5269.

SANTONI, M., FERRETTI, L., MIGLIORINI, P., VAZZANA, C. & PACINI, G. C. 2022. A review of scientific research on biodynamic agriculture. *Organic Agriculture,* 12**,** 373-396.

SCIANCALEPORE, V. & LONGONE, V. 1984. Polyphenol oxidase activity and browning in green olives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 32**,** 320-321.

SELLAMI, K., COUVERT, A., NASRALLAH, N., MAACHI, R., ABOUSEOUD, M. & AMRANE, A. 2022. Peroxidase enzymes as green catalysts for bioremediation and biotechnological applications: A review. *Science of The Total Environment,* 806**,** 150500.

SGHERRI, C., MILONE, M. T. A., CLIJSTERS, H. & NAVARI-IZZO, F. 2001. Antioxidative enzymes in two wheat cultivars, differently sensitive to drought and subjected to subsymptomatic copper doses. *Journal of Plant Physiology,* 158**,** 1439-1447.

SKODRA, C., TITELI, V. S., MICHAILIDIS, M., BAZAKOS, C., GANOPOULOS, I., MOLASSIOTIS, A. & TANOU, G. 2021. Olive Fruit Development and Ripening: Break on through to the "-Omics" Side. *International Journal of Molecular Sciences* [Online], 22.

SONI, R. P., KATOCH, M. & LADOHIA, R. 2014. Integrated farming systems-a review. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science,* 7**,** 36-42.

SUMBERG, J. & GILLER, K. E. 2022. What is 'conventional' agriculture? *Global Food Security,* 32**,** 100617.

TILLEY, A., MCHENRY, M. P., MCHENRY, J. A., SOLAH, V. & BAYLISS, K. 2023. Enzymatic browning: The role of substrates in polyphenol oxidase mediated browning. *Current Research in Food Science,* 7**,** 100623.

TODARO, A., CAVALLARO, R., ARGENTO, S., BRANCA, F. & SPAGNA, G. 2011. Study and Characterization of Polyphenol Oxidase from Eggplant (Solanum melongena L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 59**,** 11244-11248.

TOUS, J. 2017. The influence of growing region and cultivar on olives and olive oil characteristics and on their functional constituents. *Olives and Olive Oil as Functional Foods.*

TSANTILI, E., EVANGELOU, E. & KIRITSAKIS, A. 2017. Botanical characteristics of olive trees: cultivation and growth conditions – defense mechanisms to various stressors and effects on olive growth and functional compounds. *Olives and Olive Oil as Functional Foods.*

TSIMIDOU, M., BLEKAS, G. & BOSKOU, D. 2003. Olive oil. *Encyclopedia of food science, food technology and nutrition***,** 4252-4260.

TZIKA, E. D., SOTIROUDIS, T. G., PAPADIMITRIOU, V. & XENAKIS, A. 2009. Partial purification and characterization of peroxidase from olives (Olea europaea cv. Koroneiki). *European Food Research and Technology,* 228**,** 487-495.

VALVEZ, S., MACEIRAS, A., SANTOS, P. & REIS, P. N. B. 2021. Olive Stones as Filler for Polymer-Based Composites: A Review. *Materials,* 14**,** 845.

VEITCH, N. C. 2004. Horseradish peroxidase: a modern view of a classic enzyme. *Phytochemistry,* 65**,** 249-259.

VICARIO, G., CANTINI, C., FRANCINI, A., RAFFAELLI, A., CIFELLI, M., DOMENICI, V. & SEBASTIANI, L. 2023. Olive Fruit Ripening Degree and Water Content Relationships with Phenolic Acids and Alcohols, Secoiridoids, Flavonoids and Pigments in Fruit and Oil. *Molecules* [Online], 28.

VLAHOV, G. & SOLINAS, M. 1993. Anthocyanin polymerization in black table olives.

WAITE, J. H. 1976. Calculating extinction coefficients for enzymatically produced o-quinones. *Analytical Biochemistry,* 75**,** 211-218.

WANG, Z., YUAN, J., YANG, J., DONG, Z., YAN, X., YUAN, C. & REN, Y. 2022. Effects of Guankou grape polyphenol oxidase on enzymatic browning. *Journal of Food Processing and Preservation,* 46**,** e16127.

WEI, Y., YU, N., ZHU, Y., JIA, C., XIAO, Y., ZHAO, Y., CAI, P., ZHAO, W., JU, M., WU, T., GAN, Z. & SUN, A. 2022. Characterization of blueberry (Vaccinium corymbosum L.) catechol oxidases III binding mechanism in response to selected substrates and inhibitors. *LWT,* 158**,** 113142.

YAO, Y., SUN, Y., CUI, B., FU, H., CHEN, X. & WANG, Y. 2021. Radio frequency energy inactivates peroxidase in stem lettuce at different heating rates and associate changes in physiochemical properties and cell morphology. *Food Chemistry,* 342**,** 128360.

ΓΕΩΡΓΑΛΆΚΗ, Μ. 1999. *Ενζυμικές Δράσεις στις Ελιές και το Ελαιόλαδο.* Διδακτορική Διατριβή, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

ΔΕΛΟΓΙΆΝΝΗς, Φ. 2021. *Συστήματα ολοκληρωμένης διαχείρισης καλλιεργειών σύμφωνα με τα εθνικά, ευρωπαϊκά και διεθνή πρότυπα.* Πτυχιακή Εργασία, Πανεπιστήμιο Πατρών.

ΚΑΡΥΠΙΔΗς, ΑΧΙΛΛΈΑς ΚΟΝΤΟΓΕΩΡΓΌς & ΤΣΕΛΈΜΠΗς, Δ. 2008. *Διαχείριση Ποιότητας στις Επιχειρήσεις Γεωργίας, Τροφίμων & Ποτών,* Θεσσαλονίκη, Εκδόσεις Ζήτη.

ΠΟΛΥΡΆΚΗς, Γ. 2003. *Περιβαλλοντική Γεωργία,* Αθήνα, Εκδόσεις Ψυχάλου.

ΤΖΙΚΑ, Ε. 2008. *Οξειδωτικά Ένζυμα Ελιάς και Ελαιολάδου: αλληλεπίδραση με αντιοξειδωτικά.* Διδακτορική Διατριβή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών