



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΑΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΓΕΝΙΚΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ

ΘΕΤΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ ΣΤΗ ΓΕΩΠΟΝΙΑ

ΚΛΑΔΟΣ ΙΙΙ: ΜΕΛΕΤΗ ΚΑΙ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

Μεταπτυχιακή Διατριβή με Τίτλο:

**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΦΥΤΟΧΗΜΙΚΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟΥ ΚΑΙ ΤΗΣ
ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΚΑΡΠΩΝ ΚΑΙ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ (ΧΥΜΟΙ) ΠΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΙ
ΑΠΟ ΤΟ ΚΕΡΑΣΙ**

(Prunus avium L.)



ΚΟΓΚΑ ΘΕΟΔΩΡΑ

ΕΠΙΒΛΕΤΩΝ: ΧΑΡΟΥΤΟΥΝΙΑΝ ΣΕΡΚΟ

ΑΘΗΝΑ 2012



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΑΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΓΕΝΙΚΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ

ΘΕΤΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ ΣΤΗ ΓΕΩΠΟΝΙΑ

ΚΛΑΔΟΣ ΙΙΙ: ΜΕΛΕΤΗ ΚΑΙ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

Μεταπτυχιακή διατριβή με τίτλο:

**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΦΥΤΟΧΗΜΙΚΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟΥ ΚΑΙ ΤΗΣ
ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΚΑΡΠΩΝ ΚΑΙ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ (ΧΥΜΟΙ) ΠΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΙ
ΑΠΟ ΤΟ ΚΕΡΑΣΙ**

(*Prunus avium L.*)

Θεοδώρα Π. Κόγκα

Επιστ.Τεχν.Τροφίμων,Γεωπόνος Γ.Π.Α

Επιβλέπων:

Χαρουτουιάν Σέρκο, Καθηγητής Γ.Π.Α

Εξεταστική Επιτροπή:

Κωνσταντίνου Βιολέττα, Καθηγήτρια Γ.Π.Α

Ταραντίλης Πέτρος, Επίκουρος Καθηγητής Γ.Π.Α

Χαρουτουιάν Σέρκο, Καθηγητής Γ.Π.Α.

ΑΘΗΝΑ 2012

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα πτυχιακή μελέτη εκπονήθηκε κατά το χρονικό διάστημα 2010-2012 και πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Χημείας του Γενικού Τμήματος του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών κάτω από την επίβλεψη του καθηγητή Σέρκο Χαρουτουιάν.

Στον κύριο Χαρουτουιάν οφείλω τις θερμές μου ευχαριστίες για την καθοδήγηση και την υποστήριξη του καθ' όλη τη διάρκεια διεκπεραίωσης της παρούσας πτυχιακής.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω στην υποψήφια διδάκτορα Άννα Αποστόλου, χωρίς την βοήθεια της οποίας η ολοκλήρωση αυτής της μελέτης θα ήταν αδύνατη, για το αμείωτο ενδιαφέρον και τη συμπαράσταση της τόσο κατά την εκτέλεση του πειραματικού μέρους όσο και για τη συγγραφή του.

Ευχαριστώ επίσης το Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών για την διάθεση του εργαστηριακού χώρου και την παραχώρηση των οργάνων για την πραγματοποίηση του πειραματικού μέρους, καθώς και όλο το προσωπικό του εργαστηρίου που ήταν πρόθυμο να με βοηθήσει σε ότι πρόβλημα προέκυπτε.

Τέλος ευχαριστώ την Μητέρα μου, τις Αδερφές μου, τον Κωνσταντίνο και φυσικά την Γιαγιά μου Θεοδώρα για την συνεχή συμπαράσταση, την αγάπη και την κατανόηση που έδειξαν όλο αυτό τον καιρό.

ΑΘΗΝΑ 2012

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Έχει παρατηρηθεί μια ολοένα αυξανόμενη τάση των καταναλωτών να υιοθετεί ένα περισσότερο «υγιεινό» τρόπο ζωής ως μέσον πρόληψης ασθενειών όπως η ανεπάρκεια του κυκλοφορικού συστήματος και ο καρκίνος. Για τις ασθένειες αυτές έχει ολοκληρωθεί ένας πολύ μεγάλος αριθμός επιδημιολογικών μελετών που έδειξαν ότι σημαντικός παράγοντας για την εμφάνισή τους θεωρείται ο «δυτικός» τρόπος ζωής και διατροφής του ανθρώπου. Ως επακόλουθο, αυξήθηκε η ζήτηση για διατροφικά προϊόντα, τα οποία εκτός των θρεπτικών ιδιοτήτων τους, έχουν και ευεργετική επίδραση στην υγεία. Η τάση αυτή ενισχύθηκε από μελέτες που δείχνουν ότι η συχνότητα εκδήλωσης των ασθενειών αυτών μειώνεται σημαντικά σε ομάδες ανθρώπων που διατρέφονται κυρίως με φρούτα και λαχανικά.

Παρότι έως σήμερα δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί ποια από τα συστατικά που εμπεριέχονται στα φυτικής προέλευσης τρόφιμα ασκούν προστατευτικό ρόλο στην υγεία του ανθρώπου, εντούτοις υπάρχουν πολλαπλές ενδείξεις/αποδείξεις που αποδίδουν έναν ουσιαστικό ρόλο στην πρόληψη των χρόνιων ασθενειών στην παρουσία ορισμένων φυσικών βιοδραστικών μορίων. Τα φυτά αποτελούν μια ιδιαίτερα πλούσια πηγή των παραπάνω μορίων, αφού παράγουν αρκετά από αυτά ως δευτερογενείς μεταβολίτες για την ικανοποίηση μιας σειράς λειτουργικών τους αναγκών. Οι πολυφαινόλες (φλαβονοειδή, στιλβένια, φαινολικά οξέα κλπ) αποτελούν τη σημαντικότερη κατηγορία των βιοδραστικών μορίων αφού –λόγω της αξιολογής αντιοξειδωτικής τους δράσης– είναι διαπιστωμένο ότι ασκούν μια σαφώς ευεργετική επίδραση στην υγεία του ανθρώπου. Άλλωστε είναι πλέον γνωστό ότι η ανεπαρκής πρόσληψη διαιτητικών αντιοξειδωτικών οδηγεί στην οξειδωτική καταστροφή των πρωτεϊνών, των λιπιδίων και του DNA, με αποτέλεσμα την εκδήλωση πολλών χρόνιων παθήσεων και ασθενειών.

Η διενέργεια της διατριβής αυτής εντάσσεται στην τάση να μελετάται το πολυφαινολικό περιεχόμενο των διατροφικών προϊόντων και των πρώτων υλών με στόχο την αξιολόγηση των ευεργετικών για την υγεία δυνατοτήτων τους. Στόχος ήταν το κεράσι ως νωπό φρούτο αλλά και ως χυμός που καταναλώνεται ευρέως από ανθρώπους όλων των ηλικιών. Η μελέτη εστιάστηκε στις ποικιλίες κερασιάς (γένος *Prunus avium* L.) Τραγανά Εδέσσης και Burlat που χρησιμοποιούνται ευρέως για χυμοποίηση.

Αναλυτικότερα, μελετήθηκαν δείγματα νωπών φρούτων, χυμών και αποβλήτων-υποπροϊόντων από όλα τα στάδια της χυμοποίησης με την πραγματοποίηση των παρακάτω προσδιορισμών με στόχο τη διερεύνηση περιεχομένου τους σε :

- ✓ Ολικά Φαινολικά,
- ✓ Ολικά Φλαβονοειδή,
- ✓ Συγκεντρώσεις των εννέα σημαντικότερων βιοδραστικών πολυφαινόλων επικατεχίνη, κατεχίνη, χλωρογενικό οξύ,ελλαγικό οξύ, κερκετίνη, ρουτίνη, καφεικό οξύ, φερουλικό και π-κουμαρικό οξύ.

Ο προσδιορισμός του ολικού πολυφαινολικού περιεχομένου των δειγμάτων έγινε με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu. Συγκεκριμένα, οι πολυφαινόλες διαχωρίστηκαν με μια διαδικασία εκχύλισης, η οποία επελέγη μετά από σειρά δοκιμαστικών πειραμάτων για την επιλογή του καταλληλότερου συστήματος διαλυτών και της βέλτιστης διαδικασίας. Τα αποτελέσματα των προσδιορισμών έδειξαν ότι οι χυμοί που προέρχονται από την ποικιλία Burlat έχουν περισσότερες ολικές πολυφαινόλες σε σύγκριση με την ποικιλία Τραγανά Εδέσσης. Αντίστοιχα αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και για τις πρώτες τους ύλες (νωπά φρούτα).

Το περιεχόμενο των δειγμάτων σε ολικά φλαβονοειδή προσδιορίστηκε με την εφαρμογή μιας τροποποιημένης εκδοχής της μεθόδου Gunes δείχνοντας ότι τα δείγματα της ποικιλίας Burlat διαθέτουν πολύ μεγαλύτερες συγκεντρώσεις φλαβονοειδών σε σύγκριση με τα αντίστοιχα της ποικιλίας Τραγανά Εδέσσης.

Τέλος, τα πειραματικά αποτελέσματα του ποσοτικού προσδιορισμού του περιεχομένου των επιμέρους βιοδραστικών πολυφαινολών που έγιναν με τη μέθοδο HPLC και τη σύγκριση με καμπύλες αναφοράς από πρότυπες ουσίες, έδειξαν ότι το ξηλώδες μέρος των φρούτων της κερασιάς *Prunus avium L.* εμφανίζει ένα αξιοπρόσεκτο πολυφαινολικό περιεχόμενο, με την ποικιλία Burlat να είναι πλουσιότερη σε σύγκριση με την ποικιλία Τραγανά Εδέσσης. Στη δεύτερη παρατηρήθηκε μια ιδιαίτερα αυξημένη συγκέντρωση της ρουτίνης. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι το ξηλώδες μέρος των φρούτων της κερασιάς παρουσιάζει σημαντικό ερευνητικό ενδιαφέρον και δυνατότητα οικονομικής εκμετάλλευσης. Έως σήμερα, το βιομηχανικό αυτό απόβλητο-υποπροϊόν δεν έχει επαρκώς μελετηθεί-αξιοποιηθεί, αφού στην βιβλιογραφία δεν υπάρχουν αρκετές σχετικές αναφορές.

SUMMARY

It has been a growing tendency of consumers to adopt a more "healthy" lifestyle as a means of preventing diseases such as failure of the circulatory system and cancer. For these diseases has completed a very large number of epidemiological studies have shown that a significant factor in their appearance is considered the "Western" lifestyle and diet of man. As a result, increased demand for food products, which besides the nutritional properties, and have a beneficial effect on health. This trend was reinforced by studies showing that the incidence of these diseases is significantly reduced in groups of people who eat mainly fruits and vegetables.

Although until today it has not been fully clarified which of the ingredients contained in foods of plant origin exercise a protective role in human health, however there are multiple indications / evidence attributing a key role in the prevention of chronic diseases in the presence of natural bioactive molecules. The plants are a particularly rich source of these molecules, since they produce enough of them as secondary metabolites to satisfy a set of operational needs. The polyphenols (flavonoids, stilbenes, phenolic acids, etc.) is the largest class of bioactive molecules, such as the remarkable antioxidant activity, is found to be pursuing a clearly beneficial effect on human health. Besides, it is now known that inadequate intake of dietary antioxidants leads to oxidative damage of proteins, lipids and DNA, resulting in the onset of many chronic diseases and illnesses.

The performance is part of this thesis studied the tendency to the polyphenol content of food products and raw materials in order to evaluate the beneficial health potential. The goal was as fresh cherry fruit and juice as widely used by people of all ages. The study focused on cherry varieties (genus *Prunus avium* L) Tragana Edessis and Burlat commonly used for juice products.

Specifically, we studied samples of fresh fruit, juice and waste-products from all stages of cherry juice by making the following determinations to investigate their contents:

- ✓ Total phenolics,
- ✓ Total Flavonoids,
- ✓ Concentration of nine major bioactive polyphenols epicatechin, catechin, chlorogenic acid, ellagic acid, quercetin, rutin, caffeic acid, ferulic and p-coumaric acid.

The determination of total polyphenol content of the samples by the method of Folin-Ciocalteu. Polyphenols separated by an extraction procedure, which was chosen after a series of pilot experiments to select the most suitable solvent system and the optimal process. The results of the determinations showed that the juice from the variety Burlat have more total polyphenols than Tragana Edessiss. Corresponding results were observed for their own raw materials (fresh fruit).

The content of total flavonoids in the samples was determined by applying a modified version of the method Gunes showing that samples of the variety Burlat have much higher concentrations of flavonoids compared with the corresponding variety of Tragana Edessiss.

Finally, experimental results of quantification of the content of individual bioactive polyphenol made by HPLC and compared with reference curves of standard substances, showed that the wood part of the fruit of cherry *Prunus avium L.* displays a remarkable polyphenol content, the variety Burlat be richer than Tragana Edessiss. In the second there was a particularly high concentration of rutin. These results indicate that the wood part of the cherry fruit is of considerable research interest and potential economic exploitation. So far, this industrial-waste by product has not been adequately studied, used, since in literature there are no several references.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
1.1 ΦΥΣΙΚΑ ΠΡΟΙΟΝΤΑ.....	1
1.2 Η ΚΕΡΑΣΙΑ (<i>Prunus avium L.</i>)	2
1.2.1 Καταγωγή-Εξάπλωση της κερασιάς.....	2
1.2.2 Βοτανικά Χαρακτηριστικά.....	2
1.2.3 Κλιματικές και Εδαφικές Συνθήκες.....	4
1.2.4 Το κεράσι και τα Οφέλη του στην Ανθρώπινη Υγεία.....	4
1.3 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ.....	6
1.3.1 Γενικά.....	6
1.3.2 Αντιοξειδωτικά στα τρόφιμα: Ταξινόμηση και Μηχανισμός Δράσης....	8
1.3.3 Αντιοξειδωτικός Μηχανισμός.....	9
1.4 ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ.....	16
1.4.1 Γενικά.....	16
1.4.2 Πηγές Πολυφαινόλων.....	16
1.4.3 Φαινολικές ουσίες στα κεράσια.....	18
1.5 ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΤΩΝ ΕΙΔΩΝ ΚΕΡΑΣΙΑΣ.....	20
1.5.1 Τραγανά Εδέσσης.....	20
1.5.2 Burlat.....	21
1.6 ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ ΤΗΣ ΚΕΡΑΣΙΑΣ (<i>Prunus avium L.</i>).....	22
1.6.1 Φυσικοχημικά Χαρακτηριστικά του Καρπού.....	22
1.6.2 Μετασυλλεκτικές Μεταχειρίσεις στους καρπούς.....	25
1.7 ΣΚΟΠΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	25

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2.ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

(Υλικά-Μέθοδοι)	28
2.1 ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ-ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ.....	28
2.2 ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΗ ΚΑΙ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΧΥΜΟΥ ΚΕΡΑΣΙΑΣ-ΥΠΟΠΡΟΙΟΝΤΩΝ.....	28
2.3 ΥΛΙΚΑ-ΑΝΑΛΩΣΙΜΑ.....	29
2.4 ΛΥΟΦΙΛΙΩΣΗ.....	29
2.5 ΕΚΧΥΛΙΣΗ.....	31
2.6 ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΕ ΥΓΡΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΥΨΗΛΗΣ ΑΠΟΔΟΣΗΣ (HPLC).....	32
2.6.1 Γενικά για την HPLC.....	32
2.6.2 Παράμετροι που επηρεάζουν την ανάλυση.....	33
2.6.3 Όργανα-Εξαρτήματα.....	35
2.6.4 Πρότυπες Φαινόλες.....	37
2.6.5 Παρασκευή Διαλυμάτων Κινητής Φάσης.....	38
2.6.6 Διαλύματα Παρακαταθήκης Φαινόλων.....	38
2.6.7 Στοιχεία Μεθόδου Ανάλυσης HPLC.....	39
2.6.8 Συνθήκες Ανάλυσης Δεδομένων.....	40
2.7 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΠΑΡΑΛΑΒΗΣ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΩΝ ΓΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΧΥΜΟΥ ΚΕΡΑΣΙΑΣ-ΥΠΟΠΡΟΙΟΝΤΩΝ ΤΟΥ.....	42
2.8 ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΦΑΙΝΟΛΩΝ.....	43
2.8.1 Πειραματική Διαδικασία.....	44
2.9 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΛΙΚΩΝ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ.....	45
2.10 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΙΚΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΧΥΜΟΥ ΚΕΡΑΣΙΑΣ ΚΑΙ ΥΠΟΠΡΟΙΟΝΤΩΝ.....	46

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ- ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	49
3.1 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΝΑΛΥΣΕΩΝ HPLC.....	49
3.2 ΟΛΙΚΟ ΦΑΙΝΟΛΙΚΟ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ.....	58
3.3 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	67
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	68
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ	78
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ	79

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Φυσικά Προϊόντα.

Ετυμολογικά με τον όρο Φυσικά Προϊόντα χαρακτηρίζονται όλες οι ανόργανες και οργανικές χημικές ενώσεις που βρίσκονται στην φύση. Όμως στην πραγματικότητα ο όρος αυτός αντιστοιχεί μόνο στα οργανικά μόρια που απαρτίζουν τους ζωντανούς οργανισμούς ή παράγονται από αυτούς. Στα φυσικά προϊόντα δεν συγκαταλέγονται συστατικά όπως το πετρέλαιο και τα ορυκτά, η δημιουργία των οποίων είναι αποτέλεσμα γεωλογικών φαινομένων ή επίδρασης υψηλών θερμοκρασιών.

Μερικές χαρακτηριστικές κατηγορίες φυσικών προϊόντων που ορίζονται ως προϊόντα πρωτογενούς μεταβολισμού και αποτελούν θεμελιώδη λειτουργικά συστατικά σχεδόν όλων των οργανισμών είναι οι υδατάνθρακες, τα αμινοξέα, οι πρωτεΐνες, τα λίπη, τα νουκλεϊκά οξέα κλπ. Αντίστοιχα, ως φυσικά προϊόντα δευτερογενούς μεταβολισμού χαρακτηρίζονται όσα δεν συμμετέχουν στη βασική λειτουργία των οργανισμών. Ορισμένα χαρακτηριστικά βιοδραστικά μόρια της κατηγορίας αυτής είναι τα φαινολικά παράγωγα, οι ανθοκυάνες, τα φλαβονοειδή, τερπένια, στεροειδή, αλκαλοειδή κλπ. Ο ρόλος των πρωτογενών μεταβολιτών έχει μελετηθεί σε βάθος και είναι όμοιος σε όλους τους οργανισμούς, σε αντίθεση με τους δευτερογενείς μεταβολίτες οι οποίοι έχουν διαφορετικό ρόλο ανάλογα με τον οργανισμό.

Πλέον, με τον όρο φυσικά προϊόντα έχει επικρατήσει να χαρακτηρίζονται κυρίως τα προϊόντα του δευτερογενούς μεταβολισμού που δημιουργούνται στο φυτικό και ζωικό βασίλειο. Επιπλέον, η χημεία των φυσικών προϊόντων έχει και αυτή μετεξελιχθεί, αφού η παραδοσιακά περιγραφική της μορφή έχει αντικατασταθεί από την μελέτη των μηχανισμών προέλευσης των φυσικών προϊόντων και την έρευνα των χημικών μετατροπών που συντελούνται στους οργανισμούς σε συνδυασμό με τη βιολογία και τη βιοχημεία τους. Σήμερα η ανθρωπότητα οφείλει πολλά στην ανάπτυξη της χημείας των φυσικών προϊόντων, αφού πολλά από τα νέα φάρμακα, τους σύγχρονους τρόπους καταπολέμησης ασθενειών των φυτών και των ζώων, των συμπληρωμάτων διατροφής, όπως και η κατανόηση πολλών βιολογικών διαδικασιών είναι άρρηκτα συνδεδεμένα με την εξέλιξη της χημείας των φυσικών προϊόντων.

1.2 Η κερασιά (*Prunus avium* L.).

1.2.1 Καταγωγή – εξάπλωση της κερασιάς.

Η κερασιά κατάγεται από τη ζώνη μεταξύ Κασπίας και Μαύρης Θάλασσας, από όπου οι σπόροι της μεταφέρθηκαν στην Ευρώπη πολύ αυτή πριν κατοικηθεί από τον άνθρωπο (πιθανότατα από αποδημητικά πτηνά). Η κερασιά είναι γνωστό ότι καλλιεργείται στην Ελλάδα από τους προϊστορικούς χρόνους, ενώ η καλλιέργειά της στην Ελλάδα το 300 π.Χ. περιγράφεται από το Θεόφραστο.

Σύμφωνα με τον συγγραφέα Πλίνιο τον πρεσβύτερο, στην Ιταλία τον 1^ο μ.Χ. αιώνα καλλιεργούνταν 8 ποικιλίες κερασιάς. Οι Ρωμαίοι έκαναν γνωστή την καλλιέργειά της στην υπόλοιπη Ευρώπη. Στην Ασία, οι Κινέζοι αγρότες που ζούσαν στη βορειοδυτική Κίνα το 600 π.Χ. θεωρούσαν τα κεράσια ως βασιλικό και πλουσιοπάροχο επιδόρπιο. Στην Ιαπωνία η κερασιά ήταν αντικείμενο θαυμασμού για την εντυπωσιακή της άνθηση, η οποία συμβόλιζε την αγνότητα. Η κερασιά διαδόθηκε στην Αμερική με τους έποικους τον 17^ο αιώνα και αργότερα στην Αυστραλία, με αποτέλεσμα να καλλιεργείται πλέον σε όλες τις Ηπείρους.

Σήμερα, στην Ελλάδα η κερασιά καλλιεργείται κυρίως στη Β. Ελλάδα σε υψόμετρο μέχρι 1200 μέτρα. Η ετήσια παραγωγή στην Ελλάδα ανέρχεται σε 40 χιλιάδες τόνους περίπου (Ε-ΣΥΕ, 2002), ενώ παγκοσμίως σε περίπου 2 εκατομμύρια τόνους.

1.2.2 Βοτανικά χαρακτηριστικά.

Η κερασιά (*P. avium* L.) ανήκει στην οικογένεια Rosaceae, υποοικογένεια Prunoideae, γένος Prunes, υπογένος Cerasus. Διαθέτει διπλοειδείς ποικιλίες με $2n=16$ χρωμοσώματα. Στην ίδια οικογένεια με την κερασιά ανήκει και η βυσσινιά (*P. cerasus* L.), η οποία λέγεται ότι έχει προέλθει από διασταύρωση των ειδών *P. avium* x *P. fruticosa*, ενώ είναι τετραπλοειδής με $4n=32$ χρωμοσώματα.

Μερικά ακόμα σημαντικά είδη είναι τα *P. mahaleb*, *P. tomentosa*, *P. besseyi*, *P. pseudocerasus*, *P. apetala*, *P. emarginata*, *P. pensylvanica*, *P. fruticosa* και το *P. serrulata*, τα οποία χρησιμοποιούνται από τους βελτιωτές σε διασταυρώσεις και ως πηγή γονιδίων.

Προϊόν υβριδισμού αποτελεί και η κερασιά τύπου Δουκίσσης (*P. avium* x *P. cerasus*), η οποία μοιάζει μορφολογικά περισσότερο με την κερασιά αλλά οι ποικιλίες αυτού του τύπου είναι τετραπλοειδείς ($4n=32$). Επίσης, το *P. mahaleb* και τα υβρίδια *P. pseudocerasus* x *P. avium* (Colt) και *P. cerasus* 'Schattenmorelle' x *P. canescens* (Gisela) χρησιμοποιούνται ως υποκείμενα κερασιάς (Lang, 2001).

Η κερασιά είναι δέντρο μεγάλης ανάπτυξης, με πλούσιο ριζικό σύστημα. Η κόμη του δέντρου είναι ευμεγέθης και φτάνει έως 13 μέτρα ύψος. Είναι ευθύκορμο και γι' αυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για παραγωγή ξυλείας. Τα φύλλα είναι μεγάλα, ελλειψοειδή, συνήθως διπλά οδοντωτά και φέρουν χαρακτηριστικά νεκτάρια στους μίσχους. Οι οφθαλμοί είναι βλαστοφόροι ή ανθοφόροι. Οι ανθοφόροι σχηματίζονται κυρίως σε ροζέττες, οι οποίες μαζί με τους μικτούς βλαστούς και τα λεπτοκλάδια αποτελούν τα κυριότερα καρποφόρα όργανα της κερασιάς.

Τα άνθη είναι λευκά με μακρύ ποδίσκο και εμφανίζονται σε ταξιανθίες σκιάδιου λίγο πριν ή ταυτόχρονα με τα φύλλα. Ο κάθε ανθοφόρος οφθαλμός παράγει 1-3 άνθη. Ο καρπός της κερασιάς είναι δρύπη και αποτελείται από 3 στρώματα, το εξωκάρπιο (φλοιός), τη σάρκα και το σκληρό ενδοκάρπιο, το οποίο περικλείει το σπέρμα.

Το χρώμα του καρπού είναι κόκκινο ή κίτρινο. Μετά τη γονιμοποίηση του ωαρίου ο καρπός αρχίζει να αυξάνει σε μέγεθος ενώ τα αγονιμοποίητα άνθη πέφτουν. Η αύξηση των καρπών είναι διπλή σιγμοειδής και χαρακτηρίζεται από τρία στάδια. Το στάδιο I που είναι σχεδόν ίσης διάρκειας για κάθε ποικιλία (πρώιμη ή όψιμη), χαρακτηρίζεται από ταχεία αύξηση του καρπού σε όγκο και ο καρπός αποκτά περίπου το 60% του τελικού του μεγέθους. Το στάδιο II που χαρακτηρίζεται από σκλήρυνση του ενδοκαρπίου, αύξηση του εμβρύου και σχεδόν καθόλου αύξηση του όγκου του καρπού. Τέλος, το στάδιο III που χαρακτηρίζεται από αύξηση του εξωκαρπίου, κυρίως λόγω διόγκωσης των κυττάρων και ο καρπός ωριμάζει. Η διάρκεια του σταδίου III είναι περίπου ίση με αυτή του σταδίου I (Βασιλακάκης και Θεριός, 1990).

1.2.3 Κλιματικές και εδαφικές συνθήκες.

Η κερασιά έχει προσαρμοσθεί να καλλιεργείται στις ψυχρές περιοχές της εύκρατης ζώνης, δηλαδή περιοχές με αρκετές βροχοπτώσεις κατά την χειμερινή περίοδο, δροσερό και ξηρό καλοκαίρι. Οι πλαγιές των βουνών είναι οι καλύτερες περιοχές για την καλλιέργεια της κερασιάς γιατί σε αυτές υπάρχει καλή στράγγιση, υψηλή σχετική υγρασία το καλοκαίρι και τα δένδρα ανθίζουν κάπως αργά με αποτέλεσμα να μην υπάρχει κίνδυνος παγετών. Οι καρποί που παράγονται στις συνθήκες αυτές είναι εξαιρετικής ποιότητας γιατί η μέση θερμοκρασία του καλοκαιριού κυμαίνεται γύρω στους 15° C, θερμοκρασία ιδανική για την ανάπτυξη των δένδρων αυτών.

Ένα ζεστό καλοκαίρι, εκτός του ότι υποβαθμίζει την ποιότητα των καρπών, επηρεάζει και τη διαφοροποίηση των οφθαλμών, με αποτέλεσμα να σχηματίζονται άνθη με διπλό ύπερο που αποδίδουν δίδυμους καρπούς, οι οποίοι είναι ανεπιθύμητοι.

Οι οφθαλμοί για να διακόψουν το λήθαργό τους απαιτούν πολλές ώρες (800-1000) χαμηλών θερμοκρασιών (<7°C). Η κερασιά μπορεί να καλλιεργηθεί σε μεγάλο εύρος εδαφών από τα αμμοπηλώδη ως τα βαριά, αλλά τα ελαφρότερα εδάφη είναι τα καταλληλότερα διότι απαιτεί εδάφη που στραγγίζουν καλά, αλλά ταυτόχρονα συγκρατούν και υγρασία. Το άριστο pH εδάφους κυμαίνεται από 6 έως 8.

Οι βροχές κατά την περίοδο ωρίμανσης των καρπών προκαλούν σχίσσιμο του καρπού και απώλεια της εμπορικής του αξίας. Το σχίσσιμο των κερασιών είναι ωσμωτικό φαινόμενο και οφείλεται στην απορρόφηση νερού μέσω του φλοιού του καρπού. Επίσης, η υγρή άνοιξη ευνοεί την προσβολή της κερασιάς από τη φαιά σήψη (*Sclerotinia sp.*), ασθένεια στην οποία είναι πολύ ευαίσθητη.

1.2.4 Το κεράσι και τα οφέλη του στην ανθρώπινη υγεία.

Τα κεράσια είναι πλούσια σε φυτοστερόλες, που ανήκουν στην ομάδα των στερολών και αποτελούν φυσικά συστατικά των φυτών. Είναι ουσίες που δεν αποδίδουν ενέργεια κι έτσι δεν συνεισφέρουν στη θερμιδική πρόσληψη του οργανισμού.

Πολλές όμως έρευνες έχουν δείξει ότι η πρόσληψη επαρκών ποσοτήτων φυτοστερολών οδηγεί στη μείωση των επιπέδων ολικής χοληστερόλης στο αίμα. Αυτό συμβαίνει είτε με τη

μείωση της εντερικής απορρόφησης της χοληστερόλης που προσλαμβάνεται από την τροφή είτε με αλλαγές στον μεταβολισμό της χοληστερόλης στα εντερικά κύτταρα.

Αυξάνουν τη φυσική άμυνα του οργανισμού προς τις ασθένειες ενώ διαθέτουν αντισηπτικές ιδιότητες, ενάντια σε φλεγμονές και λοιμώξεις. Μία έρευνα σχετικά με τη θεραπευτική αξία των κερασιών υποστηρίζει ότι ο χυμός τους αποτελεί ένα ισχυρό αντιβακτηριακό παράγωγα ενάντια στην τερηδόνα των δοντιών. Πλέον συγκεκριμένα, διαπιστώθηκε ότι ο χυμός κερασιών καταστέλλει κατά 89% τη δραστηριότητα των ενζύμων εκείνων που οδηγούν στο σχηματισμό πλάκας, δηλαδή, το αρχικό σύμπτωμα της τερηδόνας.

Άλλη μια σημαντική δράση των κερασιών αναφέρεται στην αισθητή μείωση της πνευματικής κόπωσης, γεγονός ιδιαίτερα χρήσιμο για τους μαθητές σε περιόδους εξετάσεων κατά το τέλος της σχολικής χρονιάς, όταν υπάρχουν σε αφθονία. Αντίστοιχη δράση έχουν και στη σωματική κόπωση κυρίως λόγω της τέφρας των μεταλλικών αλάτων που περιέχουν, αυξάνοντας τα αλκαλικά αποθέματα του οργανισμού .

Τα κεράσια γενικά έχουν γεύση γλυκιά, όξινη και στυφή και έχουν θερμαντική δράση στον οργανισμό. Ενδείκνυνται στην αναιμία, κυρίως λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς τους σε σίδηρο καθώς προάγουν την αιμοποίηση. Επίσης, είναι πολύτιμα και σε αυτούς που παρακολουθούν μια δίαιτα αδυνατίσματος, γιατί οι υδατάνθρακες, που περιέχουν, ικανοποιούν την αίσθηση του γλυκού, χωρίς να προσδίδουν πολλές θερμίδες.

Ταυτόχρονα, δρουν ως αποτοξινωτικά, για το ήπαρ, τη χολή, τους αδένες και γενικότερα τον οργανισμό. Ακόμη, ευνοούν την καλή λειτουργία του ουροποιητικού συστήματος, ενώ είναι διουρητικά και χωνευτικά. Πολλοί μάλιστα συνηθίζουν να κρατάνε τα κοτσάνια των κερασιών και να τα χρησιμοποιούν το χειμώνα για την παρασκευή διουρητικών ροφημάτων.

Επίσης, ευνοούν την καλή λειτουργικότητα του εντέρου, ενώ δρουν ως καθαρτικά και ως υπακτικά, κυρίως λόγω των φυτικών ινών και των οργανικών οξέων, που περιέχουν. Επιπρόσθετα, λόγω των μεταλλικών αλάτων και ιχνοστοιχείων, που περιέχουν, δρουν, ανακουφιστικά, σε ρευματικούς πόνους και την ουρική αρθρίτιδα (J Nutr. 2003).

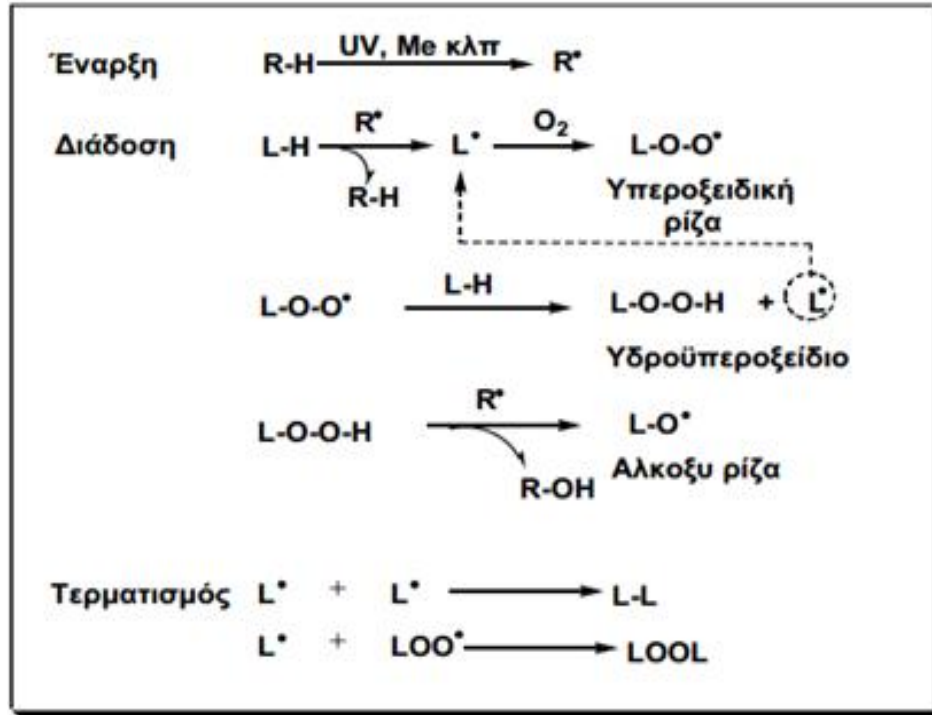
Τέλος, τα κεράσια είναι ιδιαίτερα πλούσια σε κάποιες φυτικές χημικές ουσίες που ονομάζονται ανθοκυανίνες οι οποίες τους δίνουν και το χαρακτηριστικό κόκκινο χρώμα. Μια πρώτη δράση των ανθοκυανιδίων είναι η εξουδετέρωση καρκινογόνων ουσιών.

Επίσης, σε άλλες μελέτες (University of Michigan) βρέθηκε ότι αυξάνουν κατά 50% την παραγωγή ινσουλίνης από τα κύτταρα του παγκρέατος. Επομένως η κατανάλωση κερασιών πιθανόν να βοηθά εκτός από την πρόληψη του καρκίνου και στην πρόληψη του σακχαρώδη διαβήτη. Πιο συγκεκριμένα, οι ανθοκυανίνες, λόγω αυξημένης έκκρισης ινσουλίνης θα μπορούσαν να προδίδουν ένα καλύτερο γλυκαιμικό έλεγχο αποτρέποντας την υπερ- ή υπό-γλυκαιμία και κατά συνέπεια το διαβήτη.

1.3 Αντιοξειδωτικά.

1.3.1 Γενικά.

Πολλά στοιχεία υποστηρίζουν την υπόθεση ότι τα φρούτα και λαχανικά περιέχουν πολλές χημικές ενώσεις που μειώνουν τον κίνδυνο για ασθένειες, όπως ο καρκίνος και οι καρδιαγγειακές παθήσεις (Kaur and Kapoor, 2001). Μια πιθανή αιτία της προστασίας εναντίον αυτών των ασθενειών είναι η παρουσία αντιοξειδωτικών ουσιών στις τροφές αυτές. Ως αντιοξειδωτικά ορίζονται τα μόρια που έχουν την ικανότητα να παρεμποδίζουν τις αντιδράσεις των ελευθέρων ριζών και των δραστικών μορφών του οξυγονου, προστατεύοντας έτσι τον οργανισμό από την επιβλαβή δράση τους (Krause's 11th edition). Οι ελεύθερες ρίζες είναι ασταθείς και ιδιαίτερα δραστικές, με αποτέλεσμα να είναι υπεύθυνες για την οξείδωση συστατικών των τροφίμων, με αποτέλεσμα τις μεταβολές των βασικών παραμέτρων της ποιότητάς τους, όπως το χρώμα, το άρωμα η γεύση και η διατροφική αξία. Μια από τις διαδικασίες οξείδωσης ξεκινά με την



Σχήμα 1.3.1. Μηχανισμός ελευθέρων ριζών μέσω αντιδράσεων (έναρξη-διάδοση-τερματισμός).

αυτοοξειδωση και την παραγωγή υδρο-υπεροξειδίων, τα οποία στη συνέχεια παράγουν νέες ρίζες υπεροξειδίων, άλλα υδρο-υπεροξειδία και νέες ρίζες απο το υδρογονανθρακικό τμήμα του μορίου (διάδοση). Με τον τρόπο αυτό οι αντιδράσεις των ελευθέρων ριζών τείνουν να γίνουν αλυσιδωτές αναγεννώντας συνέχεια νέα άτομα ή ενώσεις με ασύζευκτα ηλεκτρόνια. Η αλυσίδα των αντιδράσεων θα σταματήσει όταν όλες οι ελευθερες ρίζες αντιδράσουν προς προϊόντα που δεν παρέχουν πλέον ελεύθερες ρίζες. (Μπόσκου Δ. 1997). Η αλληλουχία των αντιδράσεων παρουσιάζεται στο Σχήμα 1.3.1.

Οι ενεργές μορφές οξυγόνου είναι το μονήρες οξυγόνο (O_2), το υπεροξείδιο του οξυγόνου ($O_2^{\cdot-}$), το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), η ρίζα υδροξυλίου ($OH^{\cdot-}$), η υπερυδροξυλική ρίζα (O_2H), το όζον (O_3) και το μονοξείδιο του αζώτου (NO).

1.3.2 Αντιοξειδωτικά στα τρόφιμα : Ταξινόμηση και Μηχανισμός δράσης.

Για την οξείδωση των τροφίμων ευθύνονται οι ελεύθερες ρίζες. Έτσι, προστίθενται στα λίπη και τα τρόφιμα που περιέχουν λιπαρές ύλες προστίθενται αντιοξειδωτικά για να επιβραδύνουν την οξείδωσή τους και να τα καταστήσουν εύληπτα για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα.

Οι αντιοξειδωτικές ενώσεις χρησιμοποιούνται για τη συντήρηση των τροφίμων και συγκεκριμένα για την προστασία από την τάγιση και τον αποχρωματισμό που λαμβάνουν χώρα κατά την οξείδωση.

Ένα αντιοξειδωτικό πρέπει να συνδυάζει τις εξής ιδιότητες (Μπόσικου, 1997):

- Να είναι αποτελεσματικό σε πολύ μικρή περιεκτικότητα
- Να μην έχει καμία βλαβερή επίδραση στην υγεία του ανθρώπου
- Να μην προσδίδει στο τρόφιμο δυσάρεστη οσμή και γεύση
- Να είναι έστω και ελάχιστα λιποδιαλυτό
- Να είναι όσο γίνεται σταθερό στα διάφορα στάδια επεξεργασίας του τροφίμου

Τα αντιοξειδωτικά ή παρεμποδιστές οξείδωσης χωρίζονται σε πρωτοταγή και δευτεροταγή αντιοξειδωτικά, ως εξής:

Τα πρωτοταγή αντιοξειδωτικά, στα οποία ανήκουν τα φαινολικά παράγωγα που διακόπτουν τις αντιδράσεις διάδοσης παρέχοντας άτομα υδρογόνου στις ελεύθερες ρίζες. (BHT, BHA, PG, φαινόλες, καφεϊκό οξύ, τοκοφερόλες, ροσμαρινικό οξύ κ.α).

Τα δευτερογενή αντιοξειδωτικά, στα οποία ανήκουν ομάδες αντιοξειδωτικών με διαφορετικές ιδιότητες (π.χ οξέα ή παράγωγά τους, το ασκορβικό οξύ και οι εστέρες του, το β-καροτένιο, τα ένζυμα που λειτουργούν ως αντιοξειδωτικά απομακρύνοντας ενεργά είδη οξυγόνου κ.α).

1.3.3 Αντιοξειδωτικός μηχανισμός.

Ως βιολογικά δραστικό αντιοξειδωτικό μόριο ορίζεται αυτά που έχουν την ικανότητα σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις (σε σχέση με μια ουσία που οξειδώνεται) να περιορίζουν (ή μηδενίζουν) την οξείδωσή της (Halliwell and Gutteridge, 1995). Ως αντιοξειδωτικό μόριο ορίζεται η χημική ένωση που μειώνει το βαθμό οξείδωσης σε ένα συγκεκριμένο περιβάλλον οξειδωτικής αντίδρασης, η οποία αφορά τη μεταφορά ηλεκτρονίων από μια ουσία σε έναν οξειδωτικό παράγοντα.

Τα αντιοξειδωτικά μόρια μπορούν να ουδετεροποιήσουν τις ελεύθερες ρίζες δεχόμενα ή παρέχοντας ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο. Τυπικά, αυτό σημαίνει ότι το αντιοξειδωτικό μόριο μετατρέπεται σε ελεύθερη ρίζα παίρνοντας τη θέση της. Όμως, τα μόρια αυτά είναι πολύ λιγότερο δραστικά σε σχέση με τις ουδετεροποιημένες ελεύθερες ρίζες, γιατί είναι μεγάλου μοριακού βάρους και μπορούν ευκολότερα να ουδετεροποιηθούν από ένα άλλο αντιοξειδωτικό μόριο (Hossain and Asada, 1985).

Η διαρκής ανάγκη αντιμετώπισης μιας πιθανής οξειδωτικής βλάβης στα κυτταρικά συστατικά, υποχρεώνει τα φυτά στην ανάπτυξη ενός αντιοξειδωτικού μηχανισμού που περιλαμβάνει πολλά αντιοξειδωτικά ένζυμα αλλά και μη ενζυμικά μόρια.

Ενζυμικός αντιοξειδωτικός μηχανισμός

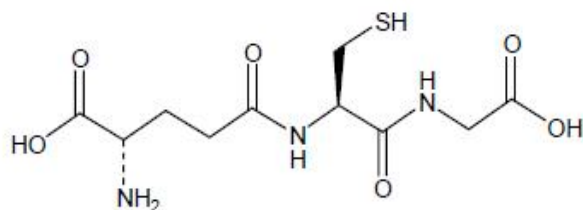
Ο ενζυμικός αντιοξειδωτικός μηχανισμός περιλαμβάνει ένζυμα τα οποία με την δράση τους προστατεύουν το κύτταρο από τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου είτε χρησιμοποιώντας τις ROS ως υπόστρωμα στις αντιδράσεις που καταλύουν, ή παράγοντας με την δράση τους ουσίες με αντιοξειδωτική δράση. Τα ένζυμα που περιλαμβάνονται σε αυτόν τον μηχανισμό είναι η υπεροξειδική δισμουτάση (SOD), η καταλάση (CAT) η αναγωγάση της γλουταθιόνης (GR) (Wang et al., 1996), η ασκορβική υπεροξειδάση (APX) και η αναγωγάση του αφυδρογονομένου ασκορβικού οξέος (DHAR).

Μη ενζυμικός αντιοξειδωτικός μηχανισμός

Ο μη ενζυμικός αντιοξειδωτικός μηχανισμός περιλαμβάνει μια σειρά από τα μόρια της γλουταθειόνης σε ανοιγμένη μορφή (GSH), το ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C), την α-τοκοφερόλη (βιταμίνη E), τις πολυαμίνες, τα φλαβονοειδή, τα καροτενοειδή, τα αλκαλοειδή και άλλα προϊόντα του δευτερογενούς μεταβολισμού (Croteau *et al.*, 2000).

Τα κυριότερα από αυτά αναλύονται παρακάτω:

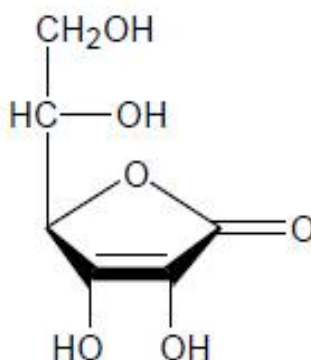
Γλουταθειόνη (Εικόνα 1) η οποία είναι ένα τριπεπτίδιο αποτελούμενο από γλουταμικό οξύ, κυστεΐνη και γλυκίνη. Γενικά, οι θειόλες (μόρια με -SH), όπως οι θειορεδοξίνες, η κυστεΐνη και η γλουταθειόνη, είναι μόρια που μπορούν να μειώσουν τις ελεύθερες ρίζες (Zhang, 2003). Ο κεντρικός ρόλος της γλουταθειόνης στην αντιοξειδωτική δράση είναι η αναγέννηση μίας άλλης ισχυρής αντιοξειδωτικής ουσίας, του ασκορβικού οξέος, με τον κύκλο της γλουταθειόνης - ασκορβικού οξέος (Blokina *et al.*, 2003).



Εικόνα 1. Η γλουταθειόνη

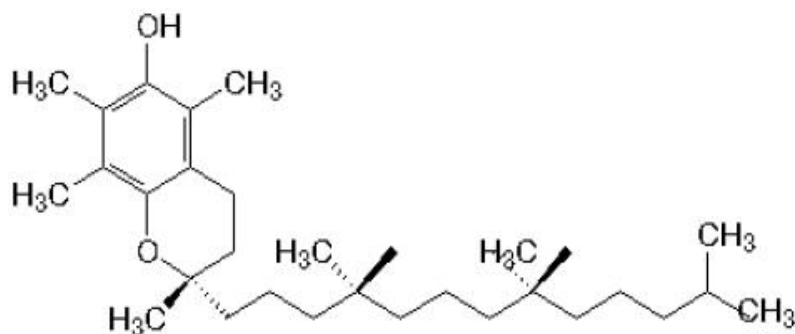
Ασκορβικό οξύ (Εικόνα 2), είναι ισχυρότατο αντιοξειδωτικό που βρίσκεται στην πλειονότητα των φυτικών κυττάρων, σε κυτταρικά όργανα και τον αποπλάστη. Έχει την ιδιότητα να χάνει εύκολα υδρογόνα και μετατρέπεται σε αφυδρογωμένο ασκορβικό οξύ (DHAA) (Foyer, 1993). Το L-εναντιομερές του ασκορβικού οξέος είναι γνωστό ως βιταμίνη C. Η ονομασία του ασκορβικού οξέος προέρχεται από το στερητικό α- και την ασθένεια σκορβούτο, διότι έλλειψη του μορίου αυτού από τον οργανισμό προκαλεί την ασθένεια αυτή. Έρευνες έδειξαν ότι η βιταμίνη C μειώνει τη διάρκεια και τη δριμύτητα του κρυολογήματος, αλλά όχι την συχνότητα (Hemilia, 1996). Έχει θετική βιολογική δράση στο σχηματισμό κολλαγόνου, στην απορρόφηση

του σιδήρου, στη μείωση της χοληστερόλης του αίματος, αποτρέπει το σχηματισμό των νιτροζαμινών ενώ μειώνει τον κίνδυνο της αρτηριοσκλήρωσης, των καρδιαγγειακών παθήσεων και ορισμένων μορφών καρκίνου (Lee and Kader, 2000)



Εικόνα 2. Ασκορβικό Οξύ

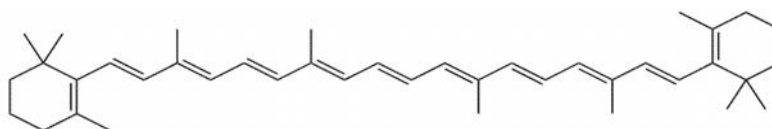
Τοκοφερόλες (Βιταμίνη E) που αποτελούν απαραίτητα συστατικά των κυτταρικών μεμβρανών με αντιοξειδωτική δράση (Kagan, 1989). Οι τοκοφερόλες συντίθενται μόνο από τα φυτά και τα φύκια από όλα τα μέρη τους (Janiszowska and Pennock, 1976). Οι μεμβράνες των χλωροπλαστών των ανώτερων φυτών περιέχουν α-τοκοφερόλη (Εικόνα 3) για να προστατεύονται από τη φωτοοξείδωση (Fryer, 1992). Πρόκειται για σύμπλεγμα βιταμινών από τις οποίες η α-τοκοφερόλη εμφανίζει τη μεγαλύτερη δραστηριότητα ως Βιταμίνη E, ενώ οι υπόλοιπες τοκοφερόλες εμφανίζουν βιολογική δράστηκότητα που κυμαίνεται από 1% έως 50% σε σύγκριση με τη δράση της α-τοκοφερόλης. Η αντιοξειδωτική τους ικανότητα είναι αντρίστροφη με τη βιταμινική, δηλαδή η τοκοφερόλη δ είναι ισχυρότερο αντιοξειδωτικό από την α-τοκοφερόλη.



Εικόνα 3. α-τοκοφερόλη.

Ένωση	R ₁	R ₂	R ₃	Σχετική δραστηριότητα
α-τοκοφερόλη	CH ₃	CH ₃	CH ₃	1
β-τοκοφερόλη	CH ₃	H	CH ₃	0,4
γ-τοκοφερόλη	H	CH ₃	CH ₃	0,1-0,3
δ-τοκοφερόλη	H	H	CH ₃	0,01

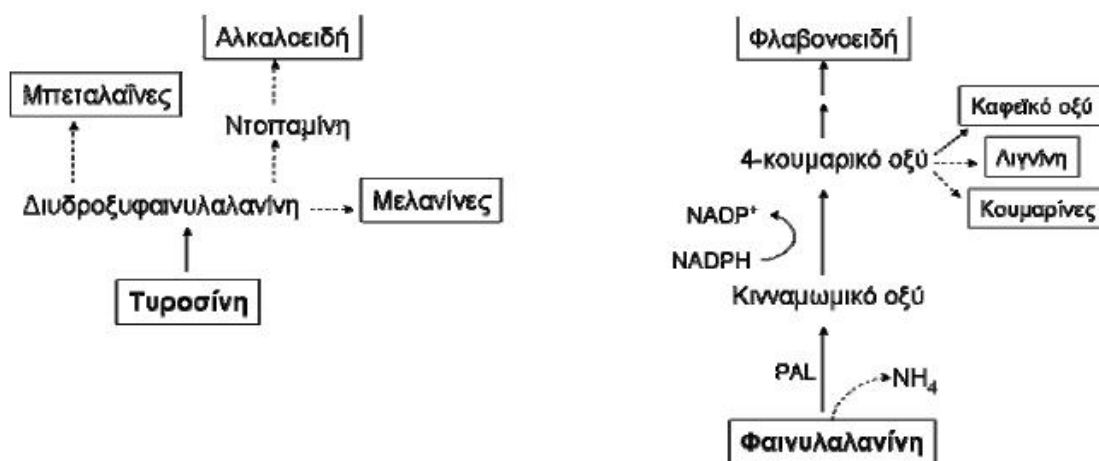
Καροτενοειδή (Εικόνα 4) απαντώνται στα φυτά και άλλους φωτοσυνθετικούς οργανισμούς. Είναι γνωστά περισσότερα από 600 καροτενοειδή, τα οποία χωρίζονται σε **καροτένια** και **ξανθοφύλλες**. Ο ρόλος τους στη φωτοσύνθεση είναι ζωτικής σημασίας αφού συμμετέχουν στη μεταφορά ενέργειας ή προστατεύουν από την αυτοοξειδωση. Σε μη φωτοσυνθετικούς οργανισμούς επιδεικνύουν αντιοξειδωτική δράση.



Εικόνα 4. β-καροτένιο

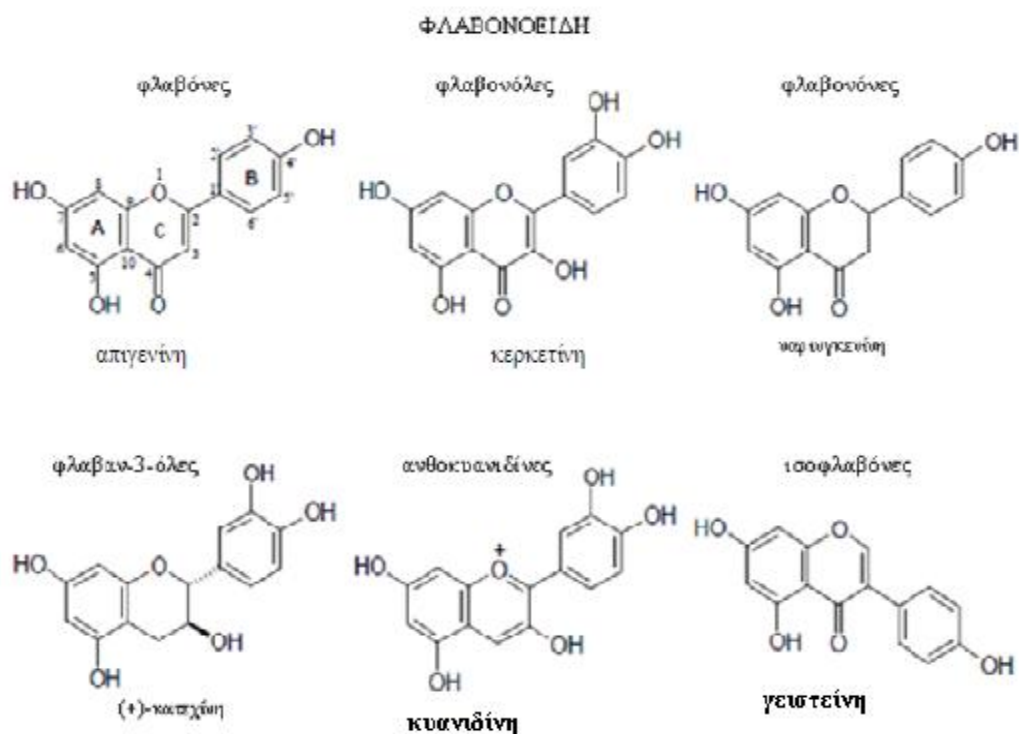
Φαινολικά παράγωγα που ανιχνεύονται σχεδόν σε όλα τα ανώτερα φυτά και πολλούς μικροοργανισμούς, αποτελώντας τα πλέον άφθονα από όλες τα φυτικής προέλευσης μόρια που περιλαμβάνονται στην κατηγορία των δευτερογενών προϊόντων. Τα μόρια αυτά δρουν ως ρυθμιστές της αύξησης, στη διεργασία της φωτοσύνθεσης και στις διαδικασίες οξειδοαναγωγής ως συστατικά των μεμβρανών. Κύριο χαρακτηριστικό των φαινολικών παραγώγων είναι η ύπαρξη ενός αρωματικού δακτυλίου ο οποίος φέρει τουλάχιστον μια υδροξυλική ομάδα.

Πρόδρομα μόρια των δευτερογενών φυτικών φαινολικών παραγώγων είναι τα αμινοξέα φαινυλαλανίνη και τυροσίνη, τα οποία παρουσία του ενζύμου αμμωνιακή λυάση της φαινυλαλανίνης (PAL) μετασηματίζονται στα μόρια αυτά (Εικόνα 5). Τα γνωστότερα φαινολικά παράγωγα είναι η φαινόλη, η κατεχόλη, η υδροκινόνη και η φλωρογλυκινόλη.



Εικόνα 5. Σχηματισμός δευτερογενών φαινολικών προϊόντων.

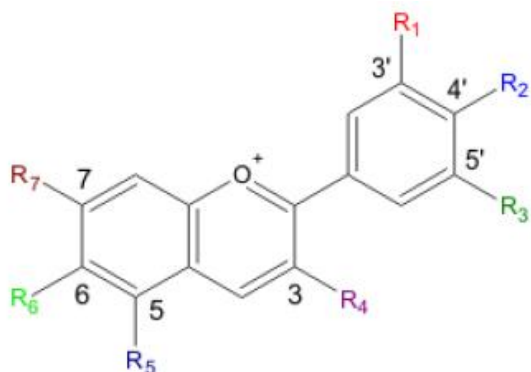
Τα Φλαβονοειδή απαρτίζουν την πολυπληθέστερη κλάση των φυτικών φαινολικών παραγώγων. Ο βασικός ανθρακικός σκελετός ενός φλαβονοειδούς περιέχει 15 άτομα άνθρακα σε μια διάταξη με δύο αρωματικούς δακτύλιους, που συνδέονται με μια γέφυρα τριών ατόμων άνθρακα. Στη φυσιολογία των φυτών οι ανθοκυανίνες, οι φλαβόνες και οι φλαβονόλες είναι οι κατηγορίες των φλαβονοειδών με το μεγαλύτερο ενδιαφέρον (Εικόνα 6).



Εικόνα 6. Κατηγορίες Φλαβονοειδών

Οι Ανθοκυανίνες αποτελούν την πλέον διαδεδομένη ομάδα των φλαβονοειδών χρωστικών. Αυτές είναι υπεύθυνες για πάρα πολλά από τα κόκκινα, ρόζ, ιώδη και μπλέ χρώματα που παρατηρούνται στα διάφορα φυτικά όργανα. Στα έγχρωμα άνθη και καρπούς, οι ανθοκυανίνες είναι ζωτικής σημασίας στην προσέλκυση των ζώων για τη γονιμοποίηση των ανθέων και τη διασπορά των καρπών. Επίσης, προστατεύουν τα κύτταρα κατά την φωτοσύνθεση απορροφώντας ακτινοβολία ενώ έχουν και ισχυρή αντιοξειδωτική δράση.

Η βιοσύνθεση των ανθοκυανινών επηρεάζεται από την έκθεση σε άμεση ακτινοβολία. Οι ανθοκυανίνες είναι γλυκοζίτες με σάκχαρα στη θέση 3. Δίχως τα σάκχαρα τους, οι ανθοκυανίνες ονομάζονται ανθοκυανιδίνες (εικόνα 7).



Εικόνα 7α: Θέσεις υποκατάστατων R1-R7 στο μόριο της ανθοκυανίνης. Ανάλογα με τους υποκαταστάτες προκύπτει διαφορετική ανθοκυανιδίνη

Ανθοκυανιδίνη	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇
Αουρανιτιδίνη	-H	-OH	-H	-OH	-OH	-OH	-OH
Κυανιδίνη	-OH	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OH
Δελφινιδίνη	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-H	-OH
Ευρωπιτιδίνη	-OCH ₃	-OH	-OH	-OH	-OCH ₃	-H	-OH
Λουτεολιτιδίνη	-OH	-OH	-H	-H	-OH	-H	-OH
Πελαργονιδίνη	-H	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OH
Μαλβιδίνη	-OCH ₃	-OH	-OCH ₃	-OH	-OH	-H	-OH
Πεονιδίνη	-OCH ₃	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OH
Πετουτιδίνη	-OH	-OH	-OCH ₃	-OH	-OH	-H	-OH
Ροζιτιδίνη	-OCH ₃	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OCH ₃

Εικόνα 7β. Υποκαταστάτες R1-R7 στο μόριο της ανθοκυανίνης. Ανάλογα με τους υποκαταστάτες προκύπτει διαφορετική ανθοκυανιδίνη.

1.4 Πολυφαινόλες.

1.4.1 Γενικά.

Ο όρος πολυφαινόλες χρησιμοποιείται για να περιγράψει ένα ετερογενές σύνολο ενώσεων που χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη ενός ή περισσότερων υδροξυλίων απευθείας συνδεδεμένων σε έναν ή περισσότερους αρωματικούς ή ετεροκυκλικούς δακτύλιους. Σήμερα είναι γνωστές περισσότερες από 8.000 πολυφαινόλες, οι οποίες αποτελούν προϊόντα του δευτερογενούς μεταβολισμού των φυτών.

Στην πλειοψηφία τους οι πολυφαινόλες εμφανίζονται σε σύζευξη με σάκχαρα μέσω των υδροξυλίων τους. Οι υδατάνθρακες αυτοί μπορεί να είναι μονοσακχαρίτες, δισακχαρίτες ή ολιγοσακχαρίτες. Παραδείγματα τέτοιων σακχάρων είναι η γαλακτόζη, η ξυλόζη, η αραβινόζη κ.α. με πλέον διαδεδομένη τη γλυκόζη.

1.4.2 Πηγές πολυφαινόλων.

Οι πολυφαινόλες βρίσκονται σε αφθονία σε τρόφιμα φυτικής προέλευσης (φρούτα, λαχανικά όσπρια κλπ.) και ποτά (κρασί, μύρα, τσάι, κακάο). Η συγκέντρωση των πολυφαινόλων στα τρόφιμα είναι συνάρτηση τόσο γενετικών όσο και περιβαλλοντικών παραμέτρων, όπως η έκθεση στο φως, ο βαθμός ωρίμανσης, η ποικιλία, η επεξεργασία και η αποθήκευση. Στον Πίνακα 1.4.2.α. παρουσιάζεται η περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες διαφόρων τροφίμων, ποτών και στο κεράσι που είναι το αντικείμενο της διατριβής.

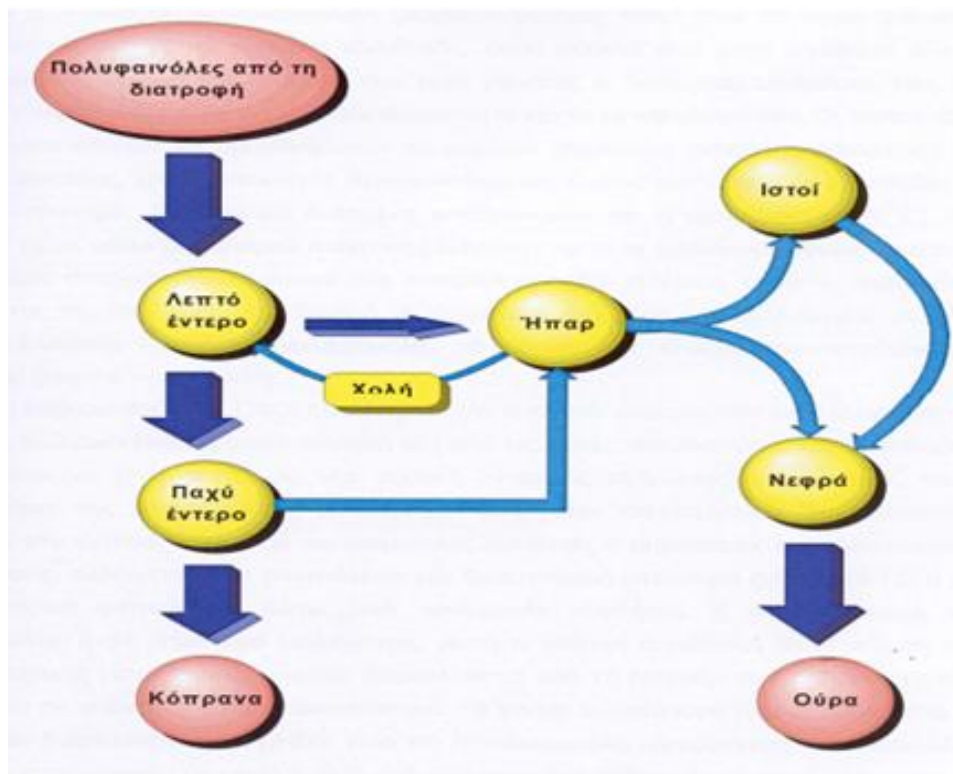
Περιεχόμενο πολυφαινόλων σε διάφορα τρόφιμα και ποτά

Τρόφιμο/ ποτό	Ολικές πολυφαινόλες	Τρόφιμο/ ποτό	Ολικές πολυφαινόλες
<i>Δημητριακά (mg/ 100g dm)</i>		<i>Φρούτα (mg/ 100g fm)</i>	
Βρώμη	8,7	Μήλο	27-298
Καλαμπόκι	30,9	Σταφύλι	50-490
Ρύζι	8,6	Πορτοκάλι	50-100
Σιτάρι	22-40	Βατόμουρο	37-429
<i>Όσπρια (mg/ 100g dm)</i>		Φράουλα	38-218
Ρεβύθια	78-230	Κεράσι	60-90
Αρακάς	440-800	Μαύρη σταφίδα	140-1200
μπιζέλια	380-1710	Κόκκινη σταφίδα	17-20
<i>Ξηροί καρποί (%dm)</i>		<i>Ποτά</i>	
Φυστίκια	0,04	Κρασί (mg/L)	
Pecan nuts	8-14	Λευκό	200-300
<i>Λαχανικά (mg/ 100g fm)</i>		κόκκινο	1000-4000
Λάχανο	25	Μύρα (mg/L)	60-100
Κρεμμύδι	100-2025	Σπόροι κακάο (%dm)	12-18
Μαϊντανός	55-180	Σπόροι καφέ (%dm)	0,2-10
Σέλινο	94	Τσάι φλιτζ. (200 mL)	150-210

*dm:ξηρή ύλη, fm:νωπή ύλη

Πίνακας 1.4.2.α. Περιεκτικότητα τροφίμων σε πολυφαινόλες.

Στο σχήμα 1.4.2.β φαίνεται ακριβώς η πορεία των PP που παραλαμβάνονται από την τροφή, όπου τα φαινολικά οξέα απορροφώνται και απεκκρίνονται στα ούρα ,αφού πρώτα έχουν υποστεί δευτερογενείς αντιδράσεις.



Σχήμα 1.4.2.β. Αναλυτικά η πορεία των PP που παραλαμβάνονται από την τροφή.

1.4.3 Φαινολικές ουσίες στα κεράσια.

Οι ανθοκυανίνες αποτελούν την σπουδαιότερη ομάδα πολυφαινολών στα κεράσια, με κυριότερες τη 3-ρουτινοσιδική κυανιδίνη και τη 3-γλυκοσιδική κυανιδίνη και σε μικρότερο βαθμό τη 3-ρουτινοσιδική πεονιδίνη και την 3-γλυκοσιδική πεονιδίνη. Επίσης, έχει ανιχνευτεί και η 3-ρουτινοσιδική πελαργονιδίνη (Gao and Mazza, 1995). Από τις υπόλοιπες πολυφαινόλες έχουν ανιχνευτεί το καφεΐνο-ταρταρικό οξύ, το 3-π-κουμαροϋλοκιννοϊκό οξύ (Robardset al, 1999) και το νεοχλωρογενικό οξύ (Gao and Mazza, 1995).

Οι Gao and Mazza (1995), μελετώντας 11 ποικιλίες κερασιών προσδιόρισαν με τη μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC) την ολική περιεκτικότητά τους σε ανθοκυάνες. Οι τιμές κυμαίνονταν από 82 έως 297 mg/100 g νωπού βάρους για τις σκουρόχρωμες ποικιλίες και από 2 έως 41 mg/100 g ν.β. για τις ανοιχτόχρωμες ποικιλίες. Η σειρά κατάταξης των ποικιλιών ήταν: Sylvia> Sam> Bing> Lambert> Van> Stella> Summit.

Οι Serrano et al. το 2005 μελέτησαν την μεταβολή των ολικών φαινολικών και την αντιοξειδωτική δράση σε 14 διαφορετικά στάδια ωρίμανσης. Το τελευταίο στάδιο περιείχε τις περισσότερες φαινόλες (99.88 mg γαλλικού οξέος/100 g ν.β.) αλλά και τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα (50.03 mg ασκορβικού οξέος/100 g ν.β.). Ωστόσο, συνυπολογίζοντας και άλλους παράγοντες ποιότητας (χρώμα, υφή, σάκχαρα, οργανικά οξέα) οι ερευνητές προτείνουν ως καλύτερο στάδιο συγκομιδής το στάδιο 12. Οι Remon et al. το 2006 υπολόγισαν τις ανθοκυάνες των κερασιών της ποικιλίας Burlat για 7 διαφορετικά στάδια ωρίμανσης. Οι τιμές κυμάνθηκαν από 0.68 mg/ 100g ν.β. έως 73 mg/ 100g ν.β. Με βάση τις τιμές αυτές και στοιχεία από τη βιβλιογραφία, η ποικιλία *Burlat* μπορεί να χαρακτηριστεί ως μια μέσης περιεκτικότητας σε ανθοκυάνες ποικιλία.

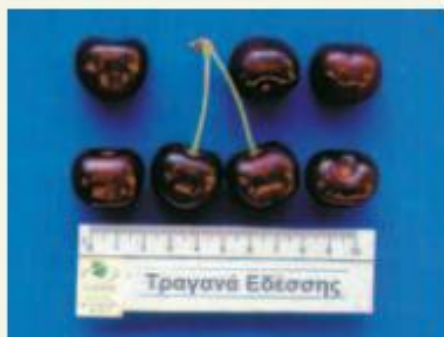
Οι Goncalves et al. (2004) υπολόγισαν με τη μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης τις κυριότερες φαινολικές ενώσεις των ποικιλιών κερασιάς Burlat, Summit, Saco και Van σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε τα έτη 2001 και 2002. Οι φαινόλες μετρήθηκαν σε διάφορα στάδια ωρίμανσης και τρεις διαφορετικές συνθήκες συντήρησης (15±5 και 1-2 °C). Η κατάταξη των ποικιλιών: Saco> Burlat> Summit> Van. Οι τιμές που μετρήθηκαν κυμαίνονταν από 70 έως 280 mg/ 100g ν.β. Οι φαινόλες μειώνονταν με τη συντήρηση στους 1-2 °C και αυξάνονταν με τη διατήρηση στους 15 °C. Αντίστοιχα, οι ανθοκυανίνες αυξάνονταν και στις δύο συνθήκες συντήρησης. Η ποικιλία Van αύξησε τις ανθοκυάνες κατά 5 φορές όταν διατηρήθηκε στους 15 °C. Σε όλες τις ποικιλίες οι φαινόλες ήταν περισσότερες το 2001 σε σύγκριση με το 2002, κάτι που φανερώνει τη σημαντική επιρροή των κλιματικών παραγόντων στις ενώσεις αυτές.

Οι Vinson et al. (2001) κατέταξαν τα κεράσια ως δεύτερα -μεταξύ 20 φρούτων- σε σχέση με την αντιοξειδωτική τους ικανότητα. Πρώτο ήταν η φράουλα. Ως προς τις ολικές φαινόλες ανά διαιτητική μερίδα τα κεράσια είναι πέμπτα, με πρώτα τα κράνμπερρυ.

Οι Vursavus et al. (2006) μελέτησαν τις χημικές και φυσικομηχανικές ιδιότητες των καρπών τριών ποικιλιών κερασιάς. Πλουσιότερη ήταν η ποικιλία Van με ολική περιεκτικότητα σε φαινόλες 115.36 mg γαλλικού οξέος/ l και ανθοκυάνες 165.73 mg/ l.

1.5 Παρουσίαση των ειδών κερασιάς.

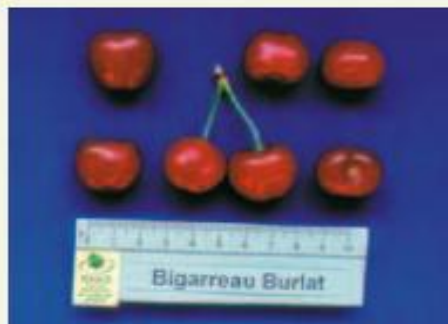
1.5.1 Τραγανά Εδέσσης.



ΤΡΑΓΑΝΑ ΕΔΕΣΣΗΣ

- **Γενικά:** Κόκκινη, τραγανή ποικιλία.
- **Καταγωγή:** Η καλλιέργειά της ξεκίνησε από τα ορεινά της περιοχής Εδέσσης, από όπου θεωρείται και ότι κατάγεται.
- **Δένδρο:** Κανονικού σχήματος, μεγάλου μεγέθους.
- **Παραγωγικότητα:** Μεγάλη.
- **Καρπός:** Νεφροειδής, μεγάλου μεγέθους.
- **Εποχή ωρίμασης:** 20 με 22 ημέρες μετά την Β. Burlat (όψιμη).
- **Ιδιαιτερότητες:** Κατά την πλήρη ωρίμαση και με το πέρας αυτής, αποκόπτεται πολύ εύκολα ο ποδίσκος από τον καρπό.
- **Επιγονιστές:** Μπακιρτζείκα, Germersdorfer, Β. Napoleon, Lambert, Di Mauria, Β. Reverchon, Corniola.
- **Συμπεράσματα:** Η ποικιλία Τραγανά Εδέσσης, με τη ζωηρότητα του δένδρου, τις ικανοποιητικές αποδόσεις και προπαντός με την εξαιρετική ποιότητα καρπού σε γεύση, τραγανότητα και αντοχή, θεωρείται μια από τις καλύτερες ποικιλίες. Επιπλέον είναι εγγληματισμένη στο ελληνικό περιβάλλον. Παλιότερα αποτελούσε τη ναυαρχίδα της ελληνικής κερασοκαλλιέργειας και ο καρπός της απολάμβανε υψηλές τιμές στην ελληνική και διεθνή αγορά. Τελευταία, λόγω του ότι νεότερες ποικιλίες επιτυγχάνουν μεγαλύτερα μεγέθη καρπού, έχει μειωθεί η προτίμησή της από το καταναλωτικό κοινό και λόγω των δυσκολιών που παρουσιάζει η καλλιέργειά της, έχει υποχωρήσει η δυναμική φυτεύσεών της.

1.5.2 Burlat.



BIGARREAU BURLAT

- **Γενικά:** Κόκκινη, ημιτραγανή ποικιλία.
- **Καταγωγή:** Είναι γαλλική ποικιλία από άγνωστους γονείς. Ανακαλύφθηκε το 1915 ως ένα τυχαίο απορόφυτο κοντά στο Lyons της Γαλλίας, από τον Leonard Burlat, δενδροκόμο στο Loire της περιοχής Rhone.
- **Δένδρο:** Κανονικού σχήματος, μεγάλου μεγέθους.
- **Παραγωγικότητα:** Μεγάλη.
- **Καρπός:** Νεφροειδής, πολύ μεγάλου μεγέθους.
- **Εποχή ωρίμασης:** Αρχές του τρίτου δεκαήμερου του Μαΐου (πρώιμη).
- **Ιδιαιτερότητες:** Παρουσιάζει ευαισθησία στο σχίσμο των καρπών.
- **Επικονιαστές:** B. Marmotte, B.S. Hardy Giant, Van, Cuigne Early Rivers (από πειράματα του ΙΦΔ), Durone della Marca, Bing, Larian, Rainier, Sue, Stella, Ulster (από τη βιβλιογραφία).
- **Συμπεράσματα:** Η B. Burlat είναι η πιο πρώιμη αξιόλογη ποικιλία, με ικανοποιητικές και σταθερές καρ' έτος αποδόσεις, με καρπό μεγάλου μεγέθους και ζωντανό δένδρο, όχι πολύ μεγάλου ύψους. Ενδείκνυται η διάδοσή της ως πρώιμη ποικιλία σε πρώιμες περιοχές. Έχει το μειονέκτημα ότι σχίζεται ο καρπός με τις βροχές και προσβάλλεται από μονύλια. Πρέπει να αποφεύγεται η καλλιέργειά της σε περιοχές με βροχερό Μάιο, γιατί είναι δυνατό να εκμηδενίζεται η παραγωγή της.

1.6 Ανασκόπηση της βιβλιογραφίας της κερασιάς (*Prunus avium* L.).

1.6.1 Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του καρπού

Οι Ana Teresa Serra et.al. (2011) χαρακτήρισαν τα κεράσια ως πλούσιες πηγές βιοδραστικών ενώσεων με πιθανά οφέλη για την υγεία του ανθρώπου. Εκτίμησαν την αντιοξειδωτική και αντιπολλαπλασιαστική δράση σε ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα για δύο ποικιλίες της Πορτογαλίας (Saco και Morangão) σε σύγκριση με γλυκές εξωτικές ποικιλίες κερασιών. Στη μελέτη αυτή τα δείγματα ομαδοποιήθηκαν σύμφωνα με τη βιοδραστικότητά τους δείχνοντας ότι η ποικιλία Saco έχει υψηλότερη περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις σε σύγκριση με τις δύο εξωτικές ποικιλίες (Ulster και Lapin), διαθέτει αντιοξειδωτική ικανότητα και ισχυρότερη ανασταλτική ικανότητα σε ανθρώπινες καρκινικές κυτταρικές σειρές του παχέος εντέρου. Παράλληλα, παρατηρήθηκε ότι οι ανθοκυανίνες ήταν οι σημαντικότεροι παράγοντες για την αντιοξειδωτική και αντιπολλαπλασιαστική δράση των κερασιών. Τέλος, τα οξέα (νεοχλωρογενικό, χλωρογενικό και π-κουμαροϋλικό οξύ), η κατεχίνη, η επικατεχίνη και οι φλαβονόλη κερκετίνη και ο ρουτίνιο-3-γλυκοζίτη της παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στην προστασία κατά του οξειδωτικού στρες.

Οι Girard et.al. (1998) προσδιόρισαν τη συγκέντρωση των πτητικών ενώσεων, σακχάρων και οργανικών οξέων σε 12 ποικιλίες κερασιών με τις μεθόδους HPLC και αέρια χρωματογραφία (GC), καθώς και το βάρος του καρπού, τα στερεά διαλυτά συστατικά (Δ.Σ.Σ.), το pH, την οξύτητα (TA) και το χρώμα των καρπών. Το βάρος τους κυμαινόταν από 8.8 έως 14.5 g ανά καρπό, Δ.Σ.Σ. 13.5-24.5 °Brix και ο λόγος Δ.Σ.Σ./TA 18.3-29. Το χρώμα ήταν ο καλύτερος δείκτης από τις μεταβλητές του χρώματος (L^* , a^* , b^* , hue, chroma όπου το L^* ορίζει τη φωτεινότητα ενός χρώματος και κυμαίνεται από 0 για το μαύρο έως 100 για το άσπρο, οι όροι a^* και b^* μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να ορίσουν 1) την απόχρωση και 2) το χρώμα με το πρώτο να κυμαίνεται από ένα αρνητικό αριθμό χρώματος πράσινου έως ένα θετικό αριθμό χρώματος κόκκινου και το δεύτερο να κυμαίνεται από ένα αρνητικό αριθμό χρώματος μπλέ έως ένα θετικό αριθμό χρώματος κίτρινου). Οι κυριότερες μη πτητικές ουσίες που βρέθηκαν στις μελετώμενες ποικιλίες ήταν η γλυκόζη (5.2-8.8 g/100 g v.β.), η φρουκτόζη (4.4-6.4 g/100 g v.β.), η σορβιτόλη, η μανι-

τόλη (2.2-8 g/100 g v.β.) και το μηλικό οξύ (502.7-948.3 mg/100 g v.β.). Οι κυριότερες πτητικές ουσίες ήταν οι (E)-2-εξενόλη, βενζαλδεϋδη, εξανάλη και (E)-2-εξενάλη.

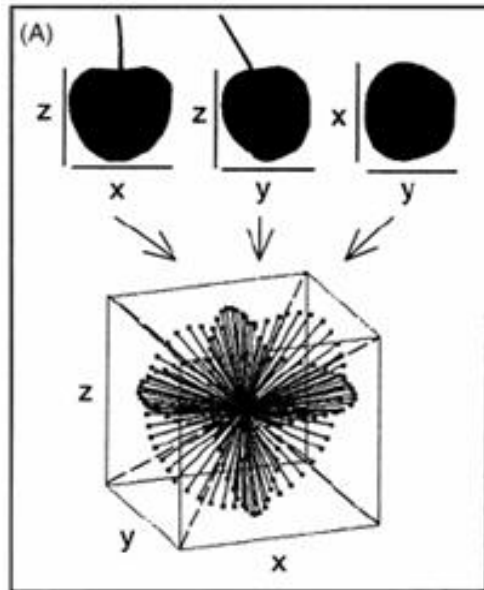
Οι Usenik et al. (2005) ψέκασαν με γιββερελλικό οξύ (GA3) τις ποικιλίες Van και Sunburst κατά την ωρίμανση των καρπών και μελέτησαν τις φυσικοχημικές τους μεταβολές παρατηρώντας ότι η GA3 επιβραδύνει την ωρίμανση του καρπού, ελαττώνει το σχίσιμο του καρπού και αυξάνει το βάρος και τα Δ.Σ.Σ. Η ανταπόκριση της κερασιάς στη GA3 εξαρτάται από την ποικιλία.

Οι Miriam Sanz et.al. (2010) παρατήρησαν ότι το αποξηραμένο ξυλώδες μέρος του κερασιού (κουκούτσι) έχει διαφορετικά αποτελέσματα στη συγκέντρωση των φλαβονοειδών και μη φλαβονοειδών, δεδομένου ότι το ψήσιμο/ξήρανση έχει ως αποτέλεσμα την υποβάθμιση των φλαβονοειδών και το σχηματισμό μη φλαβονοειδών από την υποβάθμιση της λιγνίνης.

Οι D.González-Gómez et.al. (2009) θεωρώντας ότι η μελατονίνη λειτουργεί ως ελεύθερη ρίζα και ελέγχει τη ρύθμιση του κύκλου ύπνου-εγρήγορσης στα θηλαστικά, ενώ η σεροτονίνη είναι το κύριο ενδιάμεσο στη βιοσύνθεση της μελατονίνης, ποσοτικοποίησαν τις ποσότητές τους (για πρώτη φορά) σε οκτώ διαφορετικές ποικιλίες κερασιού με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης και φασματομετρία μάζας. Τα υψηλότερα ποσά μελατονίνης βρέθηκαν σε γλυκά κεράσια Burlat, ενώ οι υψηλότερες περιεκτικότητες σεροτονίνης στην ποικιλία Ambrunés.

Οι Crisosto et al. (2002) σε έρευνά τους μεταξύ 600 καταναλωτών στις Η.Π.Α. προσπάθησαν να προσδιορίσουν την αναλογία των στερεών διαλυτών συστατικών (Δ.Σ.Σ.), των οξέων και του χρώματος στις ποικιλίες Brooks και Bing ερευνώντας το βαθμό αποδοχής τους από τους καταναλωτές. Οξύτητα μεγαλύτερη του 0.6% μείωσε την αποδοχή στην ποικιλία Brooks, με Δ.Σ.Σ <16%, ενώ στην ποικιλία Bing αυτό συνέβη με Δ.Σ.Σ ≤13%. Το μεγαλύτερο ποσοστό των Αμερικανών καταναλωτών θα αγόραζε κεράσια με βαθύ κόκκινο χρώμα, ενώ ποσοστό Δ.Σ.Σ >16% θα ικανοποιούσε την πλειονότητα των καταναλωτών.

Οι Beyer et al. (2002) ανέλυσαν το σχήμα του καρπού κερασιάς ποικιλίας Sam (Εικόνα 8) και διαπίστωσαν συμμετρία του αριστερού και του δεξιού ημικαρπίου στην πρόσοψη, αλλά ασυμμετρία στην πλάγια όψη. Δεν υπήρχε σημαντική διαφορά στο σχήμα καρπών που είχαν συλλεγεί 57 ημέρες μετά την άνθηση, με αυτούς που είχαν συλλεγεί 71 ημέρες μετά την άνθηση. Το πρότυπο αυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί στη μελέτη διαφόρων παραγόντων στο σχήμα του καρπού.



Εικόνα 8. Ανάλυση σχήματος καρπού κερασιάς.

Οι Giovana Bonat Celli et al. (2011) μελέτησαν έναν καλύτερο χαρακτηρισμό φλαβονοειδών και αντιοξειδωτικής δράσης των φρούτων σε βραζιλιάνικο κεράσι. Έδειξαν πως τα φρούτα στο πράσινο στάδιο παρουσίασαν την υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση (μέτρηση με DPPH) και συμπέραναν ότι το βραζιλιάνικο κεράσι είναι πλούσιο σε φυσικά αντιοξειδωτικά που μπορούν να χρησιμοποιούνται ευρύτερα και από τον γενικό πληθυσμό αλλά και τη βιομηχανία τροφίμων ως πηγή βιοδραστικών μορίων.

Οι Valentina Usenik et al. (2008) μελέτησαν τα χαρακτηριστικά και το χημικό περιεχόμενο (σάκχαρα, ανθοκυάνες, αντιοξειδωτικά) 13 ποικλιών κερασιού με διαφορετικά χαρακτηριστικά. Κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το βάρος και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά είναι οι βασικοί παράμετροι που τα κατατάσσουν τα κεράσια σε κατηγορίες με βάση το χρώμα του φρούτου, το μέγεθος του φρούτου κλπ. Επίσης, υπολόγισαν ότι η αντιοξειδωτική δράση είναι μεγαλύτερη στα σκούρα κεράσια, ενώ η ποικιλία Burlat διαθέτει τα μεγαλύτερα ποσοστά ανθοκυανών και την ισχυρότερη αντιοξειδωτική δράση.

Τέλος, οι Berta Goncalves et al. (2004) προσδιόρισαν τις συγκεντρώσεις των φαινολικών σε ποικιλίες της *Prunus valium L.* όπως η Burlat, ποικιλία που μελετάται στη διατριβή. Σύμφωνα με τον τρόπο αποθήκευσης των κερασιών και ανάλογα με την προέλευση των δειγμάτων (χώρα) προχώρησαν στην αποθήκευση δειγμάτων για 3-4 εβδομάδες σε ψυχρό περιβάλλον. Η

θερμοκρασία αποτελέσει τη βασική παράμετρο που επηρεάσει τη σταθερότητα και το χρώμα του φρούτου, αλλά και την ευεργετική για την υγεία του ανθρώπου δράση. Μεταξύ όλων των δειγμάτων που μελετήθηκαν βρέθηκε ότι η ποικιλία Burlat είχε την μικρότερη μείωση των φαινολικών σε συγκεκριμένες συνθήκες αποθήκευσης. Επίσης παρατηρήθηκε πως η ποικιλία αυτή διαθέτει τις περισσότερες ανθοκυάνες. Τέλος, η κερκετίνη (που προσδιορίζεται και στην παρούσα διατριβή) υπάρχει στη βυσσινιά (sour cherry) και όχι στην κερασιά (sweet cherry). Συνοψίζοντας, και στη συγκεκριμένη μελέτη δείχθηκε ότι τα υψηλά επίπεδα φαινόλων εμφανίζονται πάντα σε ώριμα στάδια του κερασιού σε σύγκριση με τα λιγότερο ώριμα κεράσια.

1.6.2 Μετασλλεκτικές μεταχειρίσεις στους καρπούς.

Οι Serrano et al. (2005) μελέτησαν τη χρήση τροποποιημένης ατμόσφαιρας (MAP) στη συσκευασία κερασιών σε συνδυασμό με τη χρήση αιθέριων ελαίων (θυμόλη, μινθόλη, ευκαλυπτόλη, ευγενόλη), με στόχο την άυξηση του χρονικού διαστήματος της εμπορευσιμότητας των καρπών. Μετά από συντήρηση για 16 ημέρες στον 1 °C και 90% σχετική υγρασία και ενώ η ατμόσφαιρα σταθεροποιήθηκε στις 9 ημέρες με συγκέντρωση 2-3% CO₂ και 11-12% O₂, μετρήθηκαν ποιοτικές παράμετροι. Οι μεταχειρίσεις με αιθέρια έλαια βρέθηκαν να έχουν μικρότερες απώλειες βάρους, καθυστέρηση στην αλλαγή του χρώματος αλλά και καλύτερη διατήρηση της σκληρότητας του καρπού, σε σχέση με το μάρτυρα.

Οι Remon et al. (2003) προσδιόρισαν τη χρονική διάρκεια κατά την οποία οι καρποί της ποικιλίας Burlat είναι κατάλληλοι για πώληση και κατανάλωση (shelf life), υπό συνθήκες τροποποιημένης ατμόσφαιρας (MAP). Δοκιμάστηκαν ταινίες πολυπροπυλενίου με διαφορετική διαπερατότητα. Τα κεράσια μεταφέρθηκαν με φορτηγό ψυγείο από την Σαραγόσα (Ισπανία) στο Μιλάνο (Ιταλία) σε 5 ημέρες. Κατόπιν, εκτέθηκαν σε συνθήκες εμπορικής εκμετάλλευσης. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η MAP με ταινία ενδιάμεσης διαπερατότητας (238 ml O₂/m² h atm ή 423 O₂ / m² h atm) επιμηκύνει τη μετασλλεκτική διάρκεια ζωής του καρπού έως 15-20 ημέρες στους 5°C. Κάτω από αυτές τις συνθήκες, η οξύτητα παραμένει υψηλή, η σύνθεση ανθοκυανινών μειώνεται, τα επίπεδα των οξειδωτικών ένζυμων είναι χαμηλότερα και οι ποιοτικοί παράγοντες βελτιώνονται.

Οι **Mozetic et al.** (2006), ψέκασαν 1-Methylcyclopropene (1-MCP) σε κεράσια ποικιλίας Lambert και Burlat τα οποία και συντηρήθηκαν στο ψυγείο. Μετά από 12 ημέρες μέτρησαν ολικές ανθοκυάνες, παρατηρήθηκε εμφάνιση μυκήτων αλλά και αλλαγές στο χρώμα. Οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι οι ολικές ανθοκυάνες δεν συσχετίζονταν με τη χρωματική συμπεριφορά. Το 1-MCP ελάττωσε την εμφάνιση μυκήτων και παρατηρήθηκε πως η εμφάνιση μυκήτων συσχετίζεται με τη συσσώρευση ανθοκυανινών.

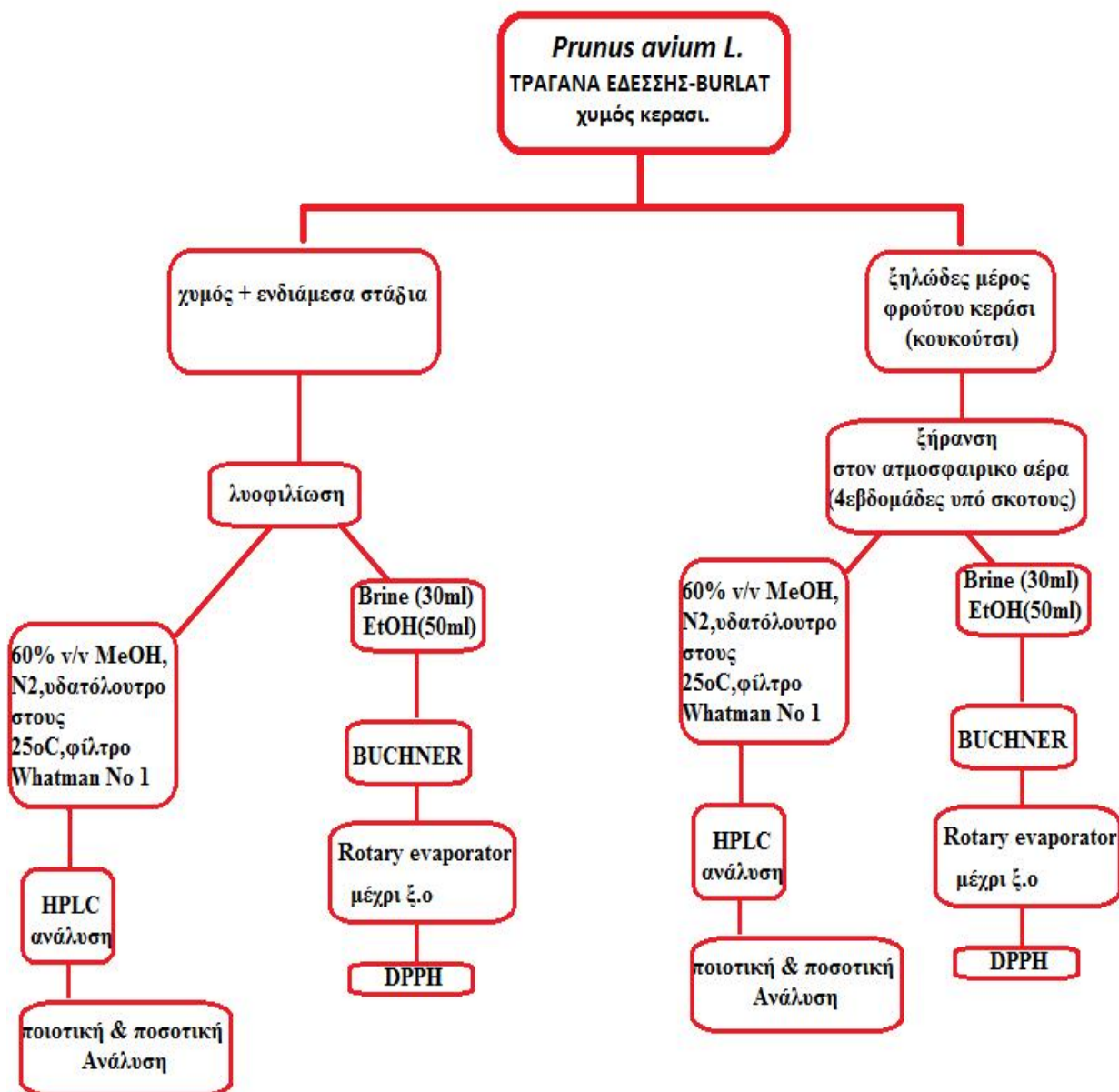
1.7 Σκοπός της μελέτης.

Τα τελευταία χρόνια το ερευνητικό ενδιαφέρον έχει επικεντρωθεί στο φαινολικό περιεχόμενο των φρούτων και λαχανικών, μία κατηγορία ενώσεων για την οποία πολλά στοιχεία υποστηρίζουν σθεναρά ότι παρέχουν ευεργετικές επιδράσεις για τον ανθρώπινο οργανισμό, δώντας κατά των ελευθέρων ριζών.

Στόχος της παρούσας διατριβής είναι ο ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός του νωπού φρούτου του κερασιού, του χυμού που παράγει και των υπολειμμάτων-αποβλήτων που παράγονται κατά τη διαδικασία παραγωγής χυμού. Μελετήθηκαν δείγματα από τις ποικιλίες Τραγανά Εδέσσης και Burlat του φυτού *Prunus valium L.* Όλα τα δείγματα της διατριβής παραχωρήθηκαν από την εταιρεία VITOM (Χριστοδούλου).

Η μελέτη αποσκοπεί στην άντληση πληροφοριών για τη βιοδραστικότητα της πρώτης ύλης, του προϊόντος (χυμού), με στόχο αφενός την πιθανή αναβάθμιση των προϊόντων και αφετέρου τη διερεύνηση της χρήσης των υποπροϊόντων-αποβλήτων ως πρώτης ύλης για την παραγωγή προϊόντων υψηλής προστιθέμενης αξίας.

Το διάγραμμα ροής του πειραματικού μέρους φαίνεται στο ακόλουθο σχήμα:



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ (Υλικά-Μέθοδοι)

2.1 Ποικιλίες – Προέλευση.

Όλα τα δείγματα της διατριβής (φρούτα, χυμοί, υπολείμματα επεξεργασίας) παραχωρήθηκαν από την εταιρεία VITOM (Αφοί Χριστοδούλου). Οι ποικιλίες που μελετήθηκαν ήταν η BURLAT και ΤΡΑΓΑΝΑ ΕΔΕΣΣΗΣ, οι οποίες αναφέρονται γενικότερα ως κερασιές, ένα αγγείοσπερμο δικότυλο φυτό που ανήκει στο γένος *Προύμνη* (*Prunes*), της οικογένειας των Ροδοειδών (*Rosaceae*). Στα πλαίσια της διατριβής μελετήθηκαν δείγματα και από τα τρία στάδια της παραγωγικής διαδικασίας, ξεκινώντας από το στάδιο της τροφοδοσίας (φρούτο) έως το τελικό προϊόν (χυμός κεράσι) με όλα τα ενδιάμεσα προϊόντα και υποπροϊόντα-απόβλητα.

2.2 Μεταχείριση και συντήρηση των δειγμάτων της διατριβής.

Ο χυμός, οι καρποί και το ξυλώδες μέρος του φρούτου αποθηκεύτηκαν σε πλαστικές φιάλες του 1,5L στους -25°C μέχρι την επεξεργασία τους.

Όλη η επεξεργασία των δειγμάτων έγινε απουσία ηλιακού φωτός. Τα ξυλώδη μέρη των φρούτων (κουκούτσια) ξηράνθηκαν επί οκτώ εβδομάδες σε σκοτεινό δωμάτιο και θερμοκρασία περιβάλλοντος.



Εικόνα 2.2. Δείγμα χυμού ποικιλίας Burlat.

2.3 Υλικά- Αναλώσιμα.

Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν σε όλες τις εκχλίσεις ήταν βαθμού αναλυτικής καθαρότητας της εταιρείας SDS. Για τους χρωματογραφικούς προσδιορισμούς χρησιμοποιή-

θηκαν διαλύτες με βαθμό καθαρότητας HPLC της εταιρείας SDS, ενώ το υπερκάθαρο νερό που χρησιμοποιήθηκε στη χρωματογραφία παρήχθη με τη μέθοδο της αντίστροφης όσμωσης με συσκευή Milli-Q Plus. Η ρύθμιση του pH έγινε με ψηφιακή συσκευή της εταιρείας HACH μοντέλο session 3.

2.4 Λυοφιλίωση.

Πριν από την επεξεργασία όλων των υγρών δειγμάτων απομακρύνθηκε το υδατικό τους περιεχόμενο με λυοφιλίωση (Εικόνα 2.4.1) σε λυοφιλιωτή VIRTIS 25 EL FREEMOBILE, USA (Εικόνα 2.4.2). Έτσι, έγινε δυνατή η συντήρηση των δειγμάτων στην κατάψυξη για μεγάλο χρονικό διάστημα. Με την τεχνική αυτή το φυτικό υλικό τοποθετείται σε κατάλληλη συσκευή που λειτουργεί υπό κενό, η επιφάνεια της οποίας διατηρείται σε πολύ χαμηλές θερμοκρασίες (-60 έως -70 °C), μετατρέποντας το νερό από την υγρή φάση σε στερεή. Στην συνέχεια, ο πάγος εξαχνώνεται και οι υδατικοί από το κατεψυγμένο φυτικό υλικό μεταφέρονται γρήγορα στην υγρή επιφάνεια (Ταραντίλης, 2008). Κατά την διαδικασία αυτή 100ml από το δείγμα κεράσι τοποθετούνται στα ειδικά γυάλινα δοχεία της λυοφιλίωσης (Εικόνα 2.4.1). Μετά το πέρας 24ωρών τα δείγματα αφαιρούνται από την συσκευή, τοποθετούνται σε φιαλίδια και στην συνέχεια ζυγίζονται.



Εικόνα 2.4.1. Γυάλινα δοχεία λυοφιλίωσης με δείγμα χυμού κερασιού.



Εικόνα 2.4.2. Λυοφιλιωτής εργαστηρίου (VIRTIS 25 EL FREEMOBILE,USA).

2.5 Εκχύλιση.

Τα φαινολικά παράγωγα εκχυλίστηκαν από τα δείγματα πριν από τη διαδικασία του προσδιορισμού τους, για να απελευθερωθούν από τα κύτταρα και τους ιστούς στους οποίους εμπεριέχονται. Για τη ρήξη των κυτταρικών ιστών και τη μείωση του μεγέθους τους χρησιμοποιήθηκε ομογενοποιητής και στη συνέχεια εκχύλιση με κατάλληλο διαλύτη για την παραλαβή των φαινολικών παραγώγων.

Οι παράγοντες που συνήθως επηρεάζουν την απόδοση στην εκχύλιση των πολυφαινολών είναι:

1. Το **pH** του εκχυλιστικού μέσου, το οποίο επιδρά στην διαλυτότητα των ευδιάλυτων συστατικών και επηρεάζει τη διαλυτοποίηση των υδρολυόμενων φαινολικών παραγώ-

γων. Όσον αφορά την εκχύλιση σε όξινο και αλκαλικό περιβάλλον η μία αποσκοπεί στην υδρόλυση των γλυκοζιτών των φαινόλων και η άλλη αποσκοπεί στην υδρόλυση των εστέρων των φαινόλων και την παράλληλη απελευθέρωση των πολυφαινόλων που βρίσκονται στα κυτταρικά τοιχώματα, αντίστοιχα .

2. **Η θερμοκρασία.** Η εκχύλιση σε μεγάλες θερμοκρασίες εξασφαλίζει καλύτερες αποδόσεις. Η θερμοκρασία όμως τις εκχύλισης δεν πρέπει να ξεπερνά τους 25 °C και αυτό λόγω του ότι οι πολυφαινόλες είναι θερμοευαίσθητα μόρια που διασπώνται σε υψηλές θερμοκρασίες.

3. Ο αριθμός των **διαδοχικών εκχυλίσεων** και ο **όγκος του διαλύτη**. Έχει αποδειχθεί πως ο αριθμός των διαδοχικών εκχυλίσεων αυξάνει την απόδοση της εκχύλισης. Επίσης θεωρούμε δεδομένο πως για συγκεκριμένο όγκο διαλύτη είναι προτιμότερη η πραγματοποίηση πολλαπλών εκχυλίσεων με χρήση μικρότερων όγκων (3-5 διαδοχικές εκχυλίσεις).

Η εκχύλιση των πολυφαινόλων διευκολύνεται όταν έχει προηγηθεί κατάψυξη δειγμάτων, κάτι που ακολουθήσαμε και στην συγκεκριμένη πειραματική διαδικασία λόγω του ότι οι κρύσταλλοι του νερού που σχηματίζονται καταστρέφουν τα κυτταρικά τοιχώματα ευνοώντας την απελευθέρωση του ενδοκυττάριου υλικού.

2.6 Ανάλυση με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC).

2.6.1 Γενικά για την HPLC.

Ιδιαίτερα χρήσιμη για τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό των φαινόλων έχει αποδειχθεί η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) η οποία προσφέρει ευκολία ,εξοικονόμηση χρόνου στον ερευνητή εφόσον η ανάλυση είναι αρκετά σύντομη και τα δείγματα δεν απαιτείται να έχουν υποστεί ιδιαίτερη κατεργασία πριν από την ανάλυση. Για τους λόγους αυτούς, οι εφαρμογές της έχουν επεκταθεί σημαντικά τις τελευταίες δεκαετίες και έχει σχεδόν αντικαταστήσει τις παραδοσιακές χρωματογραφικές τεχνικές όπως τη χρωματογραφία χάρτου (PC) και τη χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC).

Η τεχνική αυτή δεν είναι η ενδεικνυόμενη, αν και σε κάποιες περιπτώσεις έχει χρησιμοποιηθεί υγρή χρωματογραφία κανονικής φάσης για τον διαχωρισμό φαινόλων απο διάφορα

φρούτα και λαχανικά, διότι υπάρχει ο κίνδυνος συστατικά υψηλής πολικότητας να παραμείνουν μόνιμα στην στήλη αλλοιώνοντας τα χαρακτηριστικά και τη διαχωριστική της ικανότητα. Αντίθετα, η υγρή χρωματογραφία αντιστρόφου φάσεως (RP- HPLC) αποτελεί πλέον την πρώτη επιλογή για το διαχωρισμό μίγματος φαινολικών ουσιών με χρήση στηλών C₈ ή C₁₈, καθώς παρουσιάζει αρκετά πλεονεκτήματα σε σχέση με τη χρωματογραφία κανονικής φάσης.

Η χρησιμότητα της RP-HPLC έχει γίνει φανερή στο διαχωρισμό όλων των ομάδων φαινολικών ουσιών αλλά κυρίως των ανθοκυανινών οι οποίες είναι ιδιαίτερα πολικές και ο διαχωρισμός τους δεν ήταν δυνατός με χρωματογραφία κανονικής φάσης.

Υπό τις συνηθισμένες συνθήκες ανάλυσης στην RP-HPLC οι περισσότερο πολικές ουσίες εκλύονται πρώτες. Επομένως οι γλυκοζίτες με περισσότερες μονάδες σακχάρων εκλύονται πρώτες, ακολουθούν οι μονογλυκοζίτες και τέλος τα άγλυκα συστατικά. Επίσης η σειρά έκλυσης των φλαβονοειδών είναι φλαβανόνες < φλαβονόλες < φλαβόνες. Τέλος τα υδροξυβενζοϊκά οξέα είναι περισσότερο πολικά από τα υδροξυκιναμμοϊκά οξέα, με αποτέλεσμα να εκλύονται πρώτα.

2.6.2 Παράμετροι που επηρεάζουν την ανάλυση.

➤ **Εσωτερική διάμετρος**

Η εσωτερική διάμετρος (ID) της στήλης HPLC είναι μια σημαντική παράμετρος που επηρεάζει την ευαισθησία ανίχνευσης και η επιλεκτικότητα του χωρισμού βαθμωτής έκλυσης. Επίσης, καθορίζει την ποσότητα της ουσίας που μπορεί να τοποθετηθεί πάνω στη στήλη. Οι μεγαλύτερες στήλες συνήθως εμφανίζονται σε βιομηχανικές εφαρμογές. Χαμηλή-ID στήλες έχουν βελτιώσει την ευαισθησία και την χαμηλότερη κατανάλωση διαλυτών. Η στήλη των 4,6 mm είναι η πιο διαδεδομένη στήλη, αν και μικρότερες στήλες γίνονται όλο και πιο συχνά γνωστές. Χρησιμοποιούνται στην παραδοσιακή ποσοτική ανάλυση των δειγμάτων και συχνά χρησιμοποιούν ένα UV-Vis ανιχνευτή απορρόφησης. Στενότερη στήλη των 1-

2 mm χρησιμοποιείται όταν υπάρχει μεγαλύτερη ευαισθησία, είτε με ειδικούς UV-VIS ανιχνευτές για ανίχνευση φθορισμού είτε με άλλες μεθόδους ανίχνευσης για υγρά δείγματα. Οι τριχοειδείς στήλες (κάτω από 0,3 χιλιοστά), χρησιμοποιούνται σχεδόν αποκλειστικά στην φασματομετρία μάζας.

Συνήθως είναι κατασκευασμένες από λιωμένο πυρίτιο τριχοειδή αγγεία, παρά το σωλήνα από ανοξείδωτο χάλυβα .

➤ **Μέγεθος σωματιδίων**

Οι περισσότερες παραδοσιακές HPLC εκτελούνται με τη στατική φάση (μικρά σφαιρικά σωματίδια διοξειδίου του πυριτίου σαν πολύ μικρές χάντρες). Αυτά τα σωματίδια έρχονται σε μια ποικιλία μεγεθών με 5m να αποτελεί την πιο διαδεδομένη. Τα μικρότερα σωματίδια γενικά παρέχουν μεγαλύτερη επιφάνεια και καλύτερους διαχωρισμούς, Τα μεγαλύτερα σωματίδια χρησιμοποιούνται σε προπαρασκευαστικές HPLC (για διαμέτρους στήλης 5cm έως > 30cm).

➤ **Πίεση αντλίας**

Οι αντλίες ποικίλουν σε μέγεθος, πίεση αλλά και σε απόδοση η οποία μετριέται από την ικανότητα τους να παράγουν μια σταθερή ταχύτητα ροής. Η πίεση μπορεί να φτάσει τα 40 MPa (6000lbf/in²), ή περίπου 400 ατμόσφαιρες. Τα σύγχρονα συστήματα HPLC έχουν βελτιωθεί ώστε να λειτουργούν σε πολύ υψηλότερες πιέσεις, και ως εκ τούτου είναι σε θέση να χρησιμοποιούν πολύ μικρότερα μεγέθη σωματιδίων στις στήλες (<2 m). Αυτά τα “Ultra Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Απόδοσης” ή συστήματα RSLC/ UHPLCs μπορούν να λειτουργήσουν με ταχύτητα έως 100MPa (15.000lbf/in²) ή περίπου 1000 ατμόσφαιρες. Ο όρος “UPLC” είναι εμπορικό σήμα της Υδάτων Corporation, αλλά μερικές φορές χρησιμοποιείται για να αναφερθεί στην γενικότερη τεχνική.

Γενικά για τις πιο συνηθισμένες συνθήκες ανάλυσης στην HPLC οι περισσότερο πολικές ουσίες εκκλούνται πρώτες. Επομένως οι γλυκοζίτες με περισσότερες μονάδες σακχάρων εκκλούνται πρώτες, ακολουθούν οι μονογλυκοζίτες και τέλος τα άγλυκα συστατικά. Επίσης η σειρά έκλυσης των φλαβονοειδών είναι φλαβανόνες<φλαβονόλες<φλαβόνες. Επιπλέον τα υδροξυβενζοϊκά οξέα είναι περισσότερο πολικά από τα υδροξυκιναμμωνικά οξέα, με αποτέλεσμα να εκκλούνται πρώτα.

Τέλος η ανίχνευση των φαινόλων στην HPLC βασίζεται συνήθως στην μέτρηση της απορρόφησης τους στο UV-Vis σε χαρακτηριστικά μήκη κύματος. Για παράδειγμα οι ανθοκυάνες απορροφούν στα 512-520 nm και οι φλαβανόλες στα 280 nm ενώ η αναγνώριση τους γίνεται με σύγκριση του χρόνου κατακράτησης και του χαρακτηριστικού τους φάσματος απορρόφησης με αυτό των πρότυπων ουσιών πως έχει ήδη αναφερθεί.

2.6.3 Όργανα-Εξαρτήματα.

Η συσκευή HPLC η οποία χρησιμοποιήθηκε είναι Σύστημα Χρωματογραφίας Υψηλής Απόδοσης Hewlet Packard HP1100 με αντλία και θάλαμο ανάμιξης υψηλής πίεσης τεσσάρων καναλιών (P4000), απαερωτή, ανιχνευτή UV-Vis και θάλαμο σταθερής θερμοκρασίας. Το λογισμικό πακέτο που χρησιμοποιήθηκε για την επεξεργασία δεδομένων ήταν το Chemstation.

Τα βασικότερα μέρη της συσκευής αναλυτικά είναι:

1. Οι φιάλες των υγρών διαλυτών της κινητής φάσης, οι οποίες είναι γυάλινες φιάλες αντιδραστηρίων και στις οποίες τοποθετούνται είτε καθαροί οργανικοί διαλύτες ή νερό υψηλής καθαρότητας (HPLC grade) ή ρυθμιστικά διαλύματα , ή μίγματα αυτών.
2. Ο θάλαμος εισαγωγής του δείγματος (injector) όπου και εισάγεται το δείγμα υπό μορφή διαλύματος με ειδική σύριγγα. Το δείγμα παραμένει εκεί μέχρι να το παραλάβουν οι διαλύτες της κινητής φάσης και να το οδηγήσουν προς την στήλη.
3. Η στήλη ανάλυσης του δείγματος όπου αφορά τον ευθύγραμμο κυλινδρικό σωλήνα από ανοξείδωτο ατσάλι μικρού μήκους και διαμέτρου ,που στο εσωτερικό του βρίσκεται ειδικά συσκευασμένο υπό πίεση το προσροφητικό υλικό του οποίου θα γίνει ο διαχωρισμός των συστατικών του δείγματος. Τα συστατικά μεταφέρονται από τους διαλύτες της κινητής φάσης από την στήλη προς τον ανιχνευτή.

4. Οι αντλίες πίεσης για την ροή των διαλυτών με την βαλβίδα ανάμιξης και προγραμματισμού ροής αυτών. Είναι παλινδρομικές αντλίες με τις οποίες παραλαμβάνονται οι διαλύτες από τις φιάλες με πίεση και διέρχονται από τον εγχυτή και οδεύουν προς την στήλη. Κατα την ανάλυση ο αναμικτής-προγραμματιστής ελέγχει την πίεση και την ροή των διαλυτών.
5. Ο ανιχνευτής ή οι ανιχνευτές για την ανίχνευση των διαχωρισμένων συστατικών του δείγματος υποδέχονται το έκλουσμα των διαχωρισμένων συστατικών του δείγματος ,ανιχνεύοντας τα ένα προς ένα ποιοτικά αλλά και ποσοτικά. Το σήμα του ανιχνευτή μεταβιβάζεται στο σύστημα επεξεργασίας δεδομένων.
6. Το σύστημα επεξεργασίας δεδομένων αποτελείται από ολοκληρωτή ή υπολογιστή για την επεξεργασία δεδομένων και από τον καταγραφέα για την καταγραφή του χρωματογραφήματος.

2.6.4 Πρότυπες Φαινόλες.

Οι παρακάτω πρότυπες φαινόλες (Εικόνα 2.6.4) που χρησιμοποιήθηκαν στην συγκεκριμένη μελέτη αγοράσθηκαν από την Sigma-Aldrich:

- επικατεχίνη
- χλωρογενικό οξύ
- ελλαγικό οξύ
- κερκετίνη
- ρουτίνη
- καφεϊκό οξύ
- φερουλικό
- (+) - κατεχίνη

➤ π-κουμαρικό οξύ

Σημείωση: Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν στην μέθοδο αυτή ήταν της εταιρείας SDS καθαρότητας HPLC (μεθανόλη, φωσφορικό οξύ).



Εικόνα 2.6.4. Προετοιμασία Πρότυπων Φαινολών

2.6.5. Παρασκευή διαλυμάτων κινητής φάσης.

Διαλύτης Α: Υδατικό ρυθμιστικό διάλυμα 0,1% φωσφορικό οξύ pH 2,7.

Το διάλυμα αυτό παρασκευάστηκε με διάλυση 20μL φωσφορικού οξέος σε 500mL νερού καθαρότητας nanopure. Το pH του διαλύματος ρυθμίστηκε στα 2,7 με την προσθήκη του φωσφορικού οξέος. Το νερό διηθήθηκε υπό κενό μέσω φίλτρου ώστε να κατακρατηθούν τα στερεά σωματίδια και να γίνει απαέρωση του διαλύματος προκειμένου να μη δημιουργηθούν υπερβολικές φυσαλίδες κατά την ροή διαμέσου της στήλης.

Διαλύτης Β: 100% μεθανόλη, HPLC καθαρότητας.

Ο διαλύτης διηθήθηκε υπό κενό μέσω φίλτρου, πριν χρησιμοποιηθεί για την χρωματογραφική ανάλυση.

2.6.6 Διαλύματα παρακαταθήκης φαινολών.

Για κάθε μια από τις πρότυπες ενώσεις που αναφέρθηκαν στην **Παράγραφο 2.1.4.3** παρασκευάστηκε διάλυμα παρακαταθήκης (stock solutions) συγκέντρωσης 1000ppm σε μεθανόλη. Τα διαλύματα αυτά φυλάχθηκαν στους -25°C απουσία φωτός. Από τα διαλύματα παρακαταθήκης παρασκευάστηκαν με αραιώσεις τέσσερα πολυπρότυπα διαλύματα φαινολών διαφόρων συγκεντρώσεων με σκοπό την δημιουργία πρότυπων καμπύλων αναφοράς.

Οι αραιώσεις έγιναν για τα **1000ppm < 500ppm < 250ppm < 100ppm < 0ppm.**

2.6.7 Στοιχεία της Μεθόδου Ανάλυσης HPLC.

Για τον ακριβή προσδιορισμό των φαινολών μελετήθηκε η εύρεση του χρόνου κατακράτησης και η εύρεση του φάσματος απορρόφησης για την κάθε μία πρότυπη ουσία ξεχωριστά. Η ανάλυση αυτών έγινε σε δύο διαφορετικά μήκη κύματος (280-360nm). Στον πίνακα 2.6.7 αναφέρονται α) τα μήκη κύματος της κάθε πρότυπης ουσίας β) το εύρος της συγκέντρωσης της κάθε πρότυπης ουσίας στα διαλύματα που τέθηκαν προς ανάλυση και γ) η εξίσωση της πρότυπης καμπύλης αναφοράς των ουσιών.

ΠΡΟΤΥΠΗ ΟΥΣΙΑ	ΜΗΚΟΣ ΚΥΜΑΤΟΣ nm	ΕΥΡΟΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ppm	ΕΞΙΣΩΣΗ	R ²
Κατεχίνη	280	50-1000	$y = 0,0036 x - 0,115$	0,98
Χλωρογενικό Οξύ	280	50-1000	$y = 0,0093 x + 0,04$	0,99
Καφεικό Οξύ	280	50-1000	$y = 0,0046 x + 0,451$	0,89
Επικατεχίνη	280	50-1000	$y = 0,0083 x + 0,288$	0,86
Π-κουμαρικό Οξύ	280	50-1000	$y = 0,0391 x + 4,240$	0,96
Φερουλικό Οξύ	280	50-1000	$y = 0,0036 x + 0,3$	0,92
Ελλαγικό Οξύ	360	50-1000	$y = 0,0122 x + 3,858$	0,93
Ρουτίνη	360	50-1000	$y = 0,0842 x + 0,68$	0,92
Κερκετίνη	280	50-1000	$y = 0,024 x + 4,4337$	0,88

Πίνακας 2.6.7. Αναλυτικός Πίνακας για τις Πρότυπες Ουσίες.

2.6.8 Συνθήκες Ανάλυσης Δεδομένων.

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε ήταν αυτή των Tsao&Yang με ορισμένες τροποποιήσεις προκειμένου να επιτευχθεί ο καλύτερος δυνατός διαχωρισμός των μορίων. Το χρονοδιάγραμμα της ανάλυσης παρουσιάζεται στον Πίνακα 2.6.8.

Χρόνος (min)	Διαλύτης A %	Διαλύτης B%	Ροή mL/min
0	95	5	0,8
30	20	80	0,8
33	30	80	0,8
35	95	5	0,8

Πίνακας 2.6.8. Χρονοδιάγραμμα Ανάλυσης.

Ο καθαρός χρόνος της ανάλυσης του κάθε δείγματος είναι 35min, όμως ο συνολικός χρόνος της ανάλυσης είναι περίπου 60min, αφού μετά το πέρας της μεσολαβεί ένα διάστημα 20min στο οποίο περνάει διαδοχικά μεθανόλη από την στήλη και 100% νερό προκειμένου να εκλουσθούν οι τυχόν εναπομείναντες ουσίες. Τέλος, επανέρχεται η αρχική αναλογία διαλυτών (95% A και 5% B) προκειμένου να γίνει εξισορρόπηση της στήλης πριν την επόμενη ανάλυση. Η διοχέτευση του νερού είναι ένα γυάλινο δοχείο (solvent C) το οποίο είναι καθαρότητας HPLC και στο οποίο έχει γίνει διήθηση με φίλτρο πριν τοποθετηθεί στον αναλυτή HPLC.

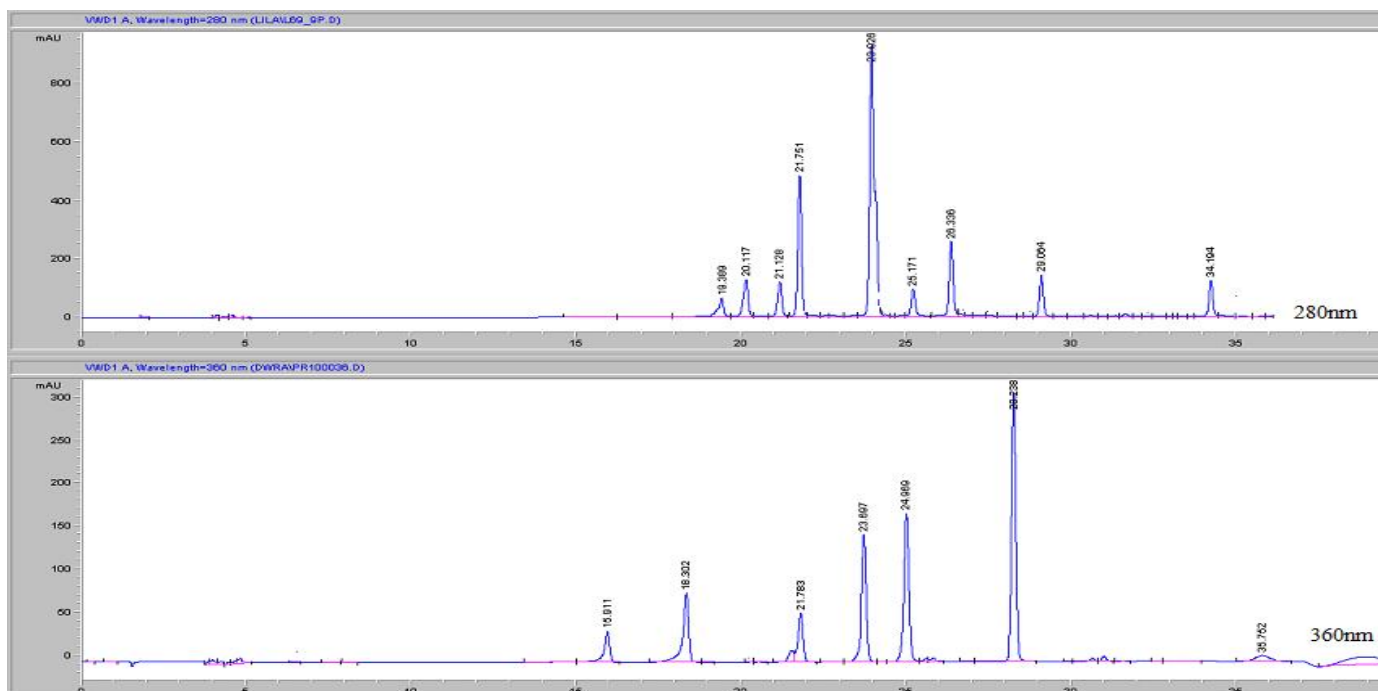
Τα χρωματογραφήματα καταγράφηκαν στα 280nm και τα 360nm για τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό των πρότυπων διαλυμάτων. Για τον εντοπισμό ουσιών έγινε σύγκριση με χρωματογράφημα μεμονωμένου προτύπου των παραπάνω ενώσεων. Το χρωματογράφημα του προτύπου λήφθηκε με τον ίδιο τρόπο των αγνώστων χρησιμοποιώντας τις ίδιες παραμέτρους (χρόνος, συγκεντρώσεις διαλυτών κινητής φάσης).

Τα πρότυπα διαλύματα αναφέρονται στην **Παράγραφο 2.1.4.3** και παρασκευάστηκαν για τον ποσοτικό και ποιοτικό προσδιορισμό των υδατοδιαλυτών συστατικών του τροφίμου-χυμού κερασιού, ετοιμάστηκαν με μεθανόλη και αποθηκεύτηκαν στους -25°C μέχρι την χρήση τους.

Το υλικό που χρησιμοποιήθηκε κατά την χρωματογραφική ανάλυση ήταν λυοφιλιωμένα δείγματα (χυμός-καρπός κερασιού), τα οποία φιλτραρίστηκαν.



Εικόνα 2.6.8. HPLC εργαστηρίου.



Διάγραμμα 2.6.8. Χρωματογραφήματα πρότυπων ουσιών στα 280nm και στα 360nm.

2.7 Διαδικασία παραλαβής πολυφαινόλων για τα δείγματα χυμού κερασιάς- υποπροϊόντων του.

Τα στάδια της πειραματικής διαδικασίας ήταν τα ακόλουθα:

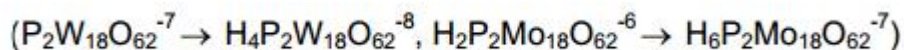
- Ζυγίστηκε το τρόφιμο (5g) σε ζυγό ακριβείας με 3 δεκαδικά ψηφία (0001g) σε δοκιμαστικό σωλήνα με βιδωτό πώμα.
- Προστέθηκε διάλυμα 60%v/v μεθανόλη (50mL)
- Έγινε έκπλυση (flushed) με N₂ με την βοήθεια μπαλονιού και έγινε ομογενοποίηση του μίγματος τροφίμου/διαλύτη σε ομογενοποιητή με υδατόλουτρο (200rpm) στους 25°C. Η διαδικασία κράτησε 10min.
- Τα δείγματα έπειτα φιλτραρίστηκαν σε Whatman No 1 φίλτρο χρησιμοποιώντας αντλία υπό κενό.
- Οι οργανικές φάσεις συλλέχθηκαν σε φιάλη και ο διαλύτης (μεθανόλη) απομακρύνθηκε με εξάτμιση στον περιστροφικό εξατμιστήρα μέχρι μικρού όγκου.

2.8 Ποσοτικός προσδιορισμός ολικών φαινολών.

Οι ολικές υδατοδιαλυτές φαινόλες μετρήθηκαν με το αντιδραστήριο Folin–Ciocalteu σύμφωνα με τη μέθοδο των Slinkard και Singleton (1977). Παρασκευάστηκαν τα διαλύματα: α) διάλυμα 1/10 Folin – Ciocalteu, β) διάλυμα Na₂CO₃, γ) διάλυμα γαλλικού οξέος για να χρησιμοποιηθεί στην κατασκευή πρότυπης καμπύλης.

Η χημική σύσταση του αντιδραστηρίου δεν είναι ακριβές γνωστή, η αντίδραση όμως που λαμβάνει χώρα είναι η αναγωγή του Mo(VI) σε Mo(V) με μεταφορά ενός ηλεκτρονίου.

Η μέθοδος βασίζεται σε χρωματομετρική οξειδοαναγωγική αντίδραση με την οποία προσδιορίζεται το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο του δείγματος, χωρίς διαχωρισμό μεταξύ μονομερών, διμερών και μεγαλύτερων φαινολικών συστατικών. Το αντιδραστήριο FC είναι διάλυμα σύνθετων πολυμερών ιόντων που σχηματίζονται από φωσφο-μολυβδαινικά και φωσφο-βολφραμικά ετεροπολυμερή οξέα. Τα φαινολικά ιόντα οξειδώνονται με ταυτόχρονη αναγωγή των ετεροπολυμερών οξέων:



Το προϊόν είναι σύμπλεγμα μολυβδαινίου-βολφραμίου (Mo-W) χαρακτηριστικής μπλε χρώσης που απορροφά στο ορατό (725nm). Η αλκαλικότητα ρυθμίζεται με κορεσμένο διάλυμα Na₂CO₃ (35%, w/v) που δεν διαταράσσει τη σταθερότητα του FC και του προϊόντος της αντίδρασης αφενός, αφετέρου αποτελεί προϋπόθεση παρουσίας των φαινολικών ιόντων (Balentine et al., 1997). Γενικά, οι φαινόλες που καθορίζονται από τον δείκτη FC εκφράζονται πολύ συχνά σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος (Σουφλερός, 1997).

2.8.1 Πειραματική διαδικασία.

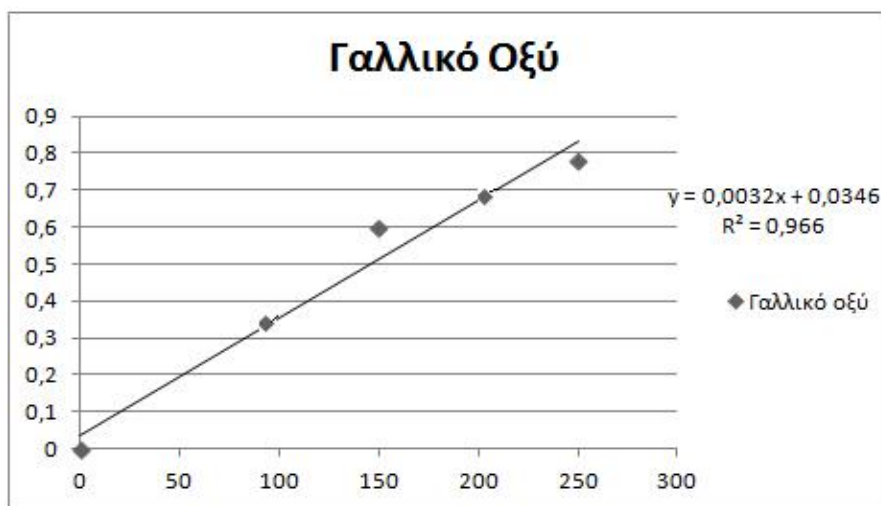
Παρασκευάστηκαν πέντε διαλύματα μετά από κατάλληλες αραιώσεις σε διαλύτη H₂O/EtOH(85:15) με τα διαλύματα παρακαταθήκης των εκχυλισμάτων MeOH συγκέντρωσης 10mg/ml (stock solutions). Από το διάλυμα παρακαταθήκης παρασκευάστηκαν με διαδοχικές αραιώσεις τα πρότυπα διαλύματα γαλλικού οξέος σε περιοχή συγκεντρώσεων μεταξύ 50-500mg/L με σκοπό τη δημιουργία καμπύλης αναφοράς (Γράφημα 2.8.1). Για τα πρότυπα διαλύματα ισχύει ο νόμος του Beer-Lambert.

Σε ογκομετρική φιάλη των 10ml τοποθετήθηκαν 100μl δείγματος (ή πρότυπου για την καμπύλη αναφοράς).

Στην συνέχεια προστέθηκαν 6ml αποσταγμένου νερού και 0,5 ml αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu(2N). Μετά από 8_{1/2} min προστέθηκαν 1,5ml διαλύματος Na₂CO₃, 20% w/v και συμπληρώθηκαν με νερό μέχρι την χαραγή.

Όλες οι ογκομετρικές φιάλες καλύφθηκαν με αλουμινόχαρτο και φυλάχθηκαν σε σκιερό μέρος για 2h σε θερμοκρασία δωματίου για να ολοκληρωθεί η αντίδραση.

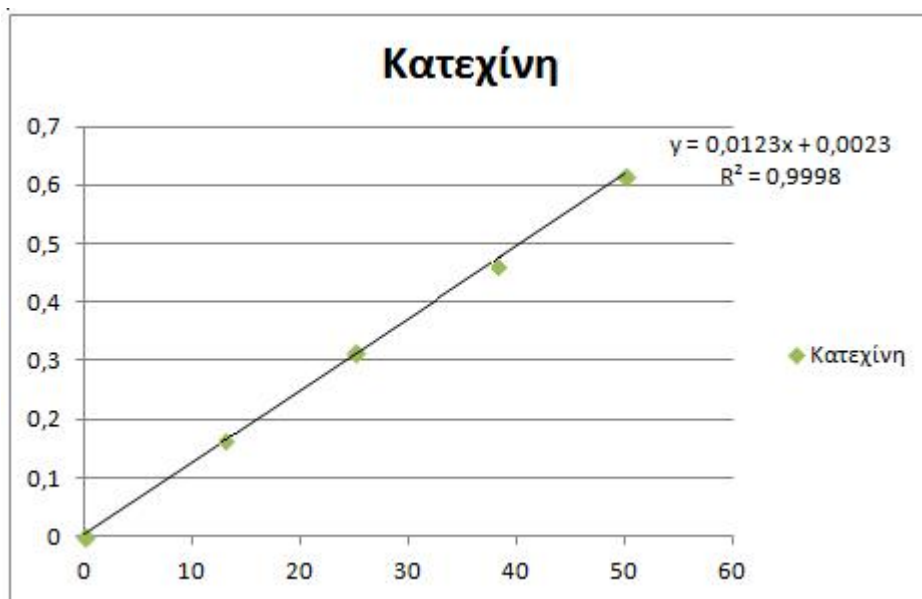
Η απορρόφηση των δειγμάτων καταγράφηκε στα 725nm. Η συγκέντρωση των ολικών πολυφαινόλων προσδιορίστηκε με βάση την καμπύλη αναφοράς σε mg γαλλικού οξέος ανά g ξηρού δείγματος.



Γράφημα 2.8.1. Καμπύλη αναφοράς γαλλικού οξέος mg/g ξ.ο.

2.9 Προσδιορισμός Ολικών Φλαβονοειδών.

Για τον προσδιορισμό των Ολικών Φλαβονοειδών ακολουθήθηκε η μέθοδος Gunes. Δείγμα 1ml κατάλληλα αραιωμένο αναμίχθηκε με 4ml διπλά απεσταγμένου νερού και 0,3ml διαλύματος NaNO_2 2,5%. Με το πέρας των 5min προστέθηκε 0,3ml διαλύματος AlCl_3 , 10%. Μετά το 1min προστέθηκε διάλυμα 2ml NaOH 1M και διπλά απεσταγμένου νερού. Η απορρόφηση μετρήθηκε στα 510nm με την χρήση του φασματοφωτόμετρου και για την παρασκευής πρότυπης καμπύλης (Γράφημα 2.9.1) μετρήθηκαν απορροφήσεις διάφορων συγκεντρώσεων κατεχίνης. Τα αποτελέσματα μετά από πραγματοποίηση αυτών εις διπλούν, εκφράστηκαν σε mg ισοδύναμων κατεχίνης ανά g ξηρού βάρους.



Γράφημα 2.9.1. Καμπύλη αναφοράς κατεχίνης mg/g ξ.ο.

2.10 Προετοιμασία Συμπληρωματικών Δειγμάτων χυμού κερασιάς και των υποπροϊόντων του.

Στην **Παράγραφο 2.7** περιγράφηκε η πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε για την χρωματογραφία HPLC. Ωστόσο, 12 επιπλέον δείγματα (φρούτου κερασιού, χυμού κερασιάς, ξυλώδες μέρος και προϊόντα από την επεξεργασία του χυμού) αλλά με διαφορετική πειραματική επεξεργασία μελετήθηκαν ως προς τα Ολικά Φαινολικά και Ολικά Φλαβονοειδή για συσχέτισμό αποτελεσμάτων.

Τα δείγματα αυτά επεξεργάστηκαν σύμφωνα με την εξής πειραματική πορεία:

Στο κάθε δείγμα ξεχωριστά προστέθηκαν 30mL κορεσμένου υδατικού διαλύματος NaCl και 50mL EtOAc. Τοποθετήθηκαν σε διαχωριστική χοάνη (Εικόνα 2.10.1) και έγινε ανάδευση αυτών μέχρι την τοποθέτηση της χοάνης στο «στατό». Παρατηρήθηκε μέσα στα πρώτα 5min διαφορά φάσεως (επάνω μέρος διαφανές-κάτω μέρος κόκκινο).



Εικόνα 2.10.1. Επεξεργασία Δείγματος.

Η διαδικασία επαναλήφθηκε στην κάτω φάση (επί 3 φορές) ενώ η πάνω φάση τέθηκε προς εκτενέστερη επεξεργασία.

Μετά την ολοκλήρωση αυτής της διαδικασίας (της πάνω φάσης) τοποθετήθηκε το δείγμα σε ποτήρι ζέσεως και προστέθηκε θειικό νάτριο (Εικόνα 2.10.2).



Εικόνα 2.10.2. Επεξεργασία Δείγματος.

Μετά ανακίνησης αυτού επί 10min τοποθετήθηκε το δείγμα στο χωνί Buchner με χάρτινο ηθμό, για διήθηση. Μετά το πέρας της διήθησης, το δείγμα υπέστη εξάτμιση υπό κενό (κάτω των 30°C) για απομάκρυνση της μεθανόλης, μέχρι ξηράς ουσίας του δείγματος (Εικόνα 2.10.3).

Αυτή η διαδικασία ακολούθηθηκε για όλα τα δείγματα.



Εικόνα 2.10.3. Επεξεργασία Δείγματος στο rotary του εργαστηρίου.

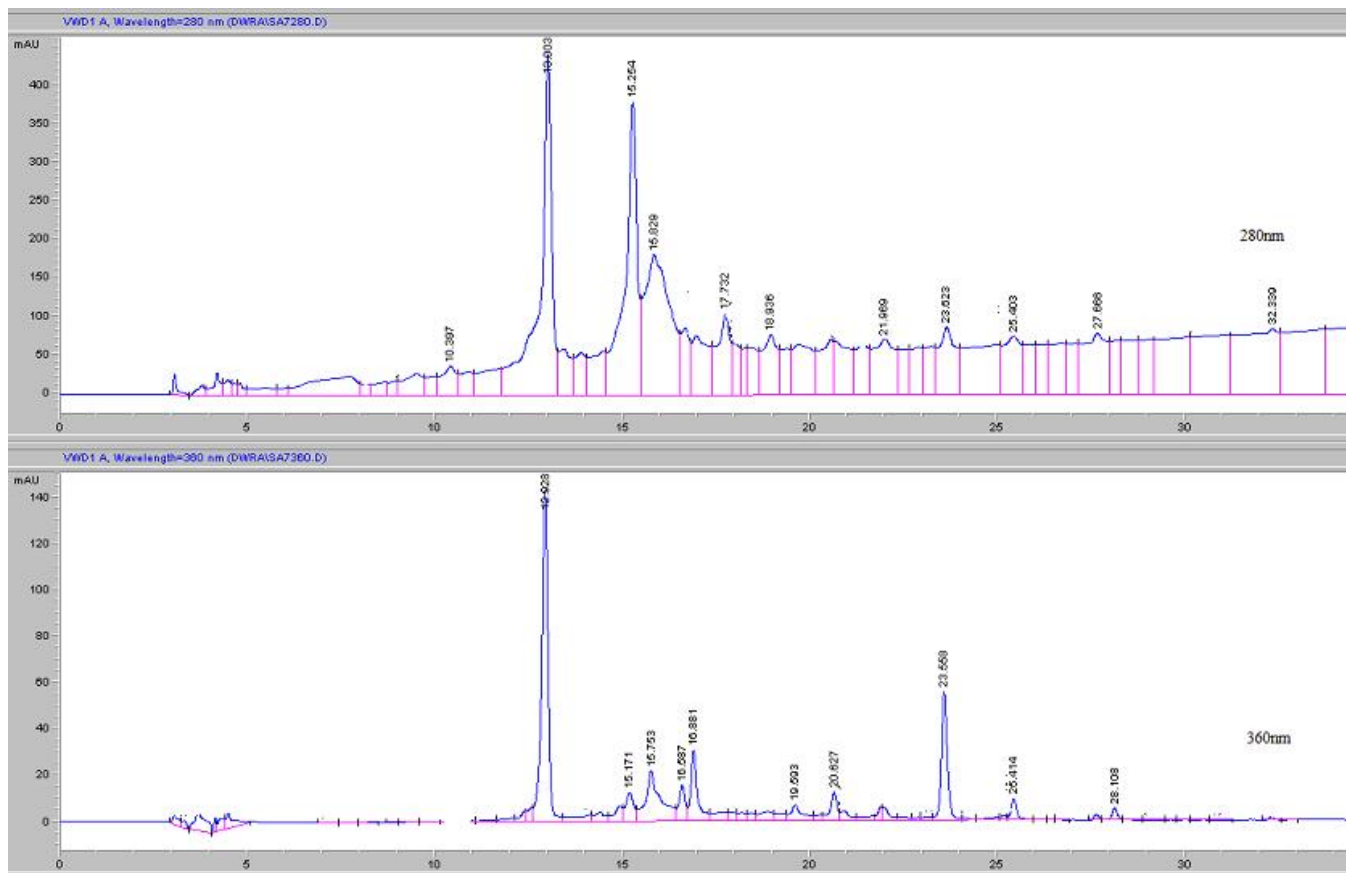
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

3.1 Αποτελέσματα αναλύσεων HPLC.

Τα αποτελέσματα της HPLC μεθόδου παρατίθενται στον παρακάτω Πίνακα 3.1.1. Τα δείγματα διηθήθηκαν με φίλτρα σύριγγος PVDF 0,45μm και το περιεχόμενο αυτού ποσοτικοποιήθηκε με HPLC. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε mg/100g ξηρού δείγματος και παρουσιάζονται στον Πίνακα που ακολουθεί.

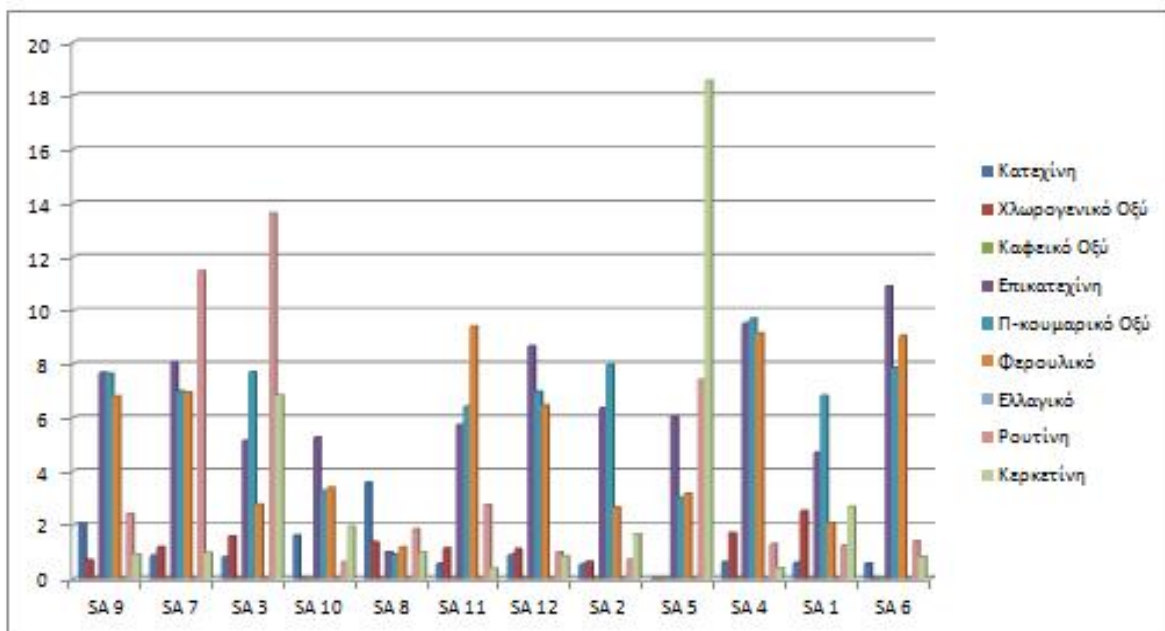
προτυπες ουσίες - δείγματα	SA 9	SA 7	SA 3	SA 10	SA 8	SA 11	SA 12	SA 2	SA 5	SA 4	SA 1	SA 6
Κατεχίνη	2,04	0,87	0,81	1,62	3,59	0,56	0,89	0,54	0	0,64	0,6	0,57
Χλωρογενικό Οξύ	0,69	1,18	1,57	0	1,37	1,13	1,11	0,64	0	1,71	2,53	0
Καφεϊκό Οξύ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Επικατεχίνη	7,69	8,08	5,15	5,27	1	5,74	8,68	6,36	6,05	9,5	4,7	10,89
Π-κουμαρικό Οξύ	7,65	7	7,7	3,28	0,9	6,42	6,97	7,97	3,03	9,7	6,82	7,87
Φερουλικό	6,8	6,95	2,78	3,41	1,18	9,4	6,47	2,66	3,18	9,15	2,08	9,06
Ελλαγικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ρουτίνη	2,42	11,46	13,62	0,61	1,85	2,75	0,98	0,72	7,42	1,3	1,24	1,41
Κερκετίνη	0,91	0,96	6,85	1,96	0,99	0,38	0,84	1,67	18,56	0,41	2,7	0,83

Πίνακα 3.1.1. Αποτελέσματα HPLC εκφρασμένα σε mg/100g ξ.ο σε Ποικιλίες Κερασιάς (*Prunus avium L.*).



Διάγραμμα 3.1.1. Χρωματογράφημα δείγματος χυμού κερασιάς ποικιλίας Τραγανά Εδέσσης (280nm,360nm).

Η ποσοτική εμφάνιση των πολυφαινόλων συγκεντρωτικά για όλα τα δείγματα του φρούτου παρουσιάζεται στο Διάγραμμα 3.1.2.



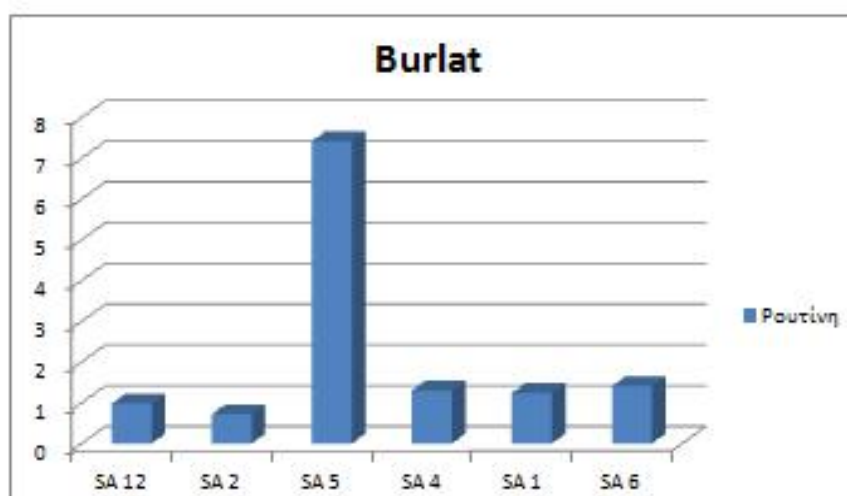
Διάγραμμα 3.1.2. Ποσοτική εμφάνιση φαινολικής σύστασης δείγματος χυμού φρούτου κερασιάς.

Αναλυτικότερα και με βάση το Διάγραμμα 3.1.2 παρατηρήθηκε μεγάλη συγκέντρωση ρουτίνης και συγκεκριμένα μεγαλύτερη εμφάνιση συγκέντρωσης στην ποικιλία Τραγανά Εδέσσης. Το δείγμα SA3 «κεράσι 2 προϊόν από την μηχ. πριν την προθέρμανση» σύμφωνα με το Διάγραμμα 3.1.2 εμφάνισε την μεγαλύτερη συγκέντρωση σε ρουτίνη για τα 360nm. Βέβαια εξίσου σημαντική συγκέντρωση εμφάνισε και το δείγμα SA7 «κεράσι 6, τελικό προϊόν» από την ποικιλία Τραγανά Εδέσσης (Διάγραμμα 3.1.3).

Όσον αφορά την ποικιλία Burlat την μεγαλύτερη συγκέντρωση σύμφωνα με το Διάγραμμα 3.1.2 παρατηρήθηκε στο δείγμα SA5 «κεράσι 3, απόρριμα από μηχανήμα 1» (Διάγραμμα 3.1.4.). Για το φρούτο κερασιάς «κεράσι 1» που αντιστοιχεί στο SA9 για την ποικιλία Τραγανά και στο SA2 για την ποικιλία Burlat οι συγκεντρώσεις πιστοποιήθηκαν στα 2,42 και 0,72 mg/100g ξ.ο, συγκεντρώσεις που επαληθεύονται για τις ποικιλίες «sweet cherry» από τους Ana Teresa Serra et.al., 2011 οι οποίοι πιστοποίησαν την ρουτίνη από 0,78-2,3 mg/100g ξ.ο.



Διάγραμμα 3.1.3. Απεικόνιση δειγμάτων ποικιλίας Τραγανά Εδέσσης σε συγκέντρωση Ρουτίνης, mg/100g ξ.ο (360nm)



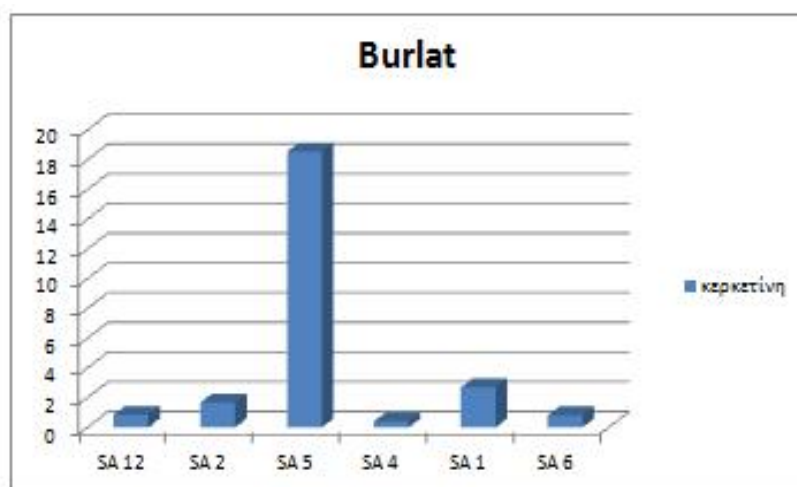
Διάγραμμα 3.1.4. Απεικόνιση δειγμάτων Burlat σε συγκέντρωση Ρουτίνης, mg/100g ξ.ο (360nm).

Όπως επίσης παρατηρήθηκε από τον Πίνακα 3.1.1 και τα Διάγραμμα 3.1.5-3.1.6, για τα δείγματα SA3 και SA5 για την ποικιλία Τραγανά Εδέσσης και Burlat αντίστοιχα, πιστοποιήθηκαν οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις κερκετίνης για $\lambda_{\max} = 360\text{nm}$.

Το κέρασι 2 (SA3) αναφέρετε στο υποπροϊόν από την μηχανή πριν την προθέρμανση για την ποικιλία Τραγανά Εδέσσης και το κέρασι 3 (SA5) αναφέρετε στο απόρριμμα, ξυλώδες μέρος του καρπού το οποίο επιβεβαιώνει πως τα απορρίμματα πιστοποιούν μεγάλες συγκεντρώσεις φαινόλων. Οι συγκεντρώσεις για το είδος *Prunus avium L* κυμαίνονται απο 0,6-5,54mg /100g φ.β το οποίο και συμφωνεί με τις συγκεντρώσεις της παρούσας διατριβής (Ana Teresa Serra et al., David Gonzalez-Gomez et al.).



Διάγραμμα 3.1.5. Απεικόνιση δειγμάτων ποικιλίας Τραγανά Εδέσσης σε συγκέντρωση Κερκετίνης, mg/100g ξ.ο (360nm).

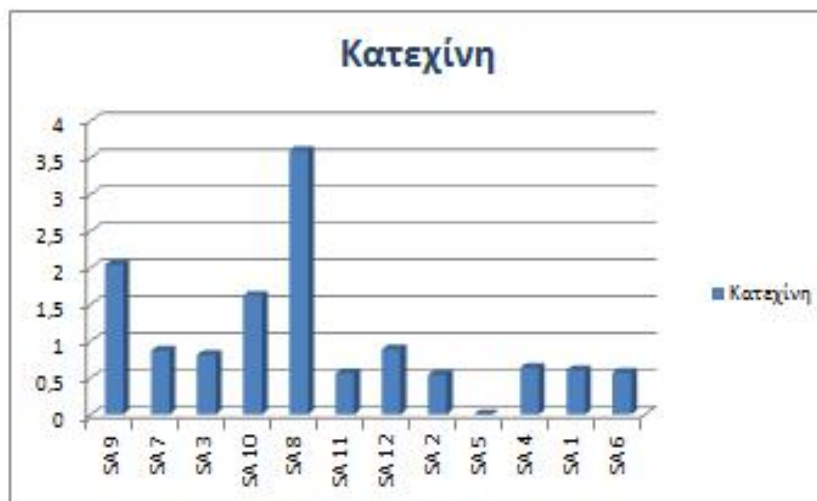


Διάγραμμα 3.1.6. Απεικόνιση δειγμάτων ποικιλίας Burlat σε συγκέντρωση Κερκετίνης, mg/100g ξ.ο (360nm).

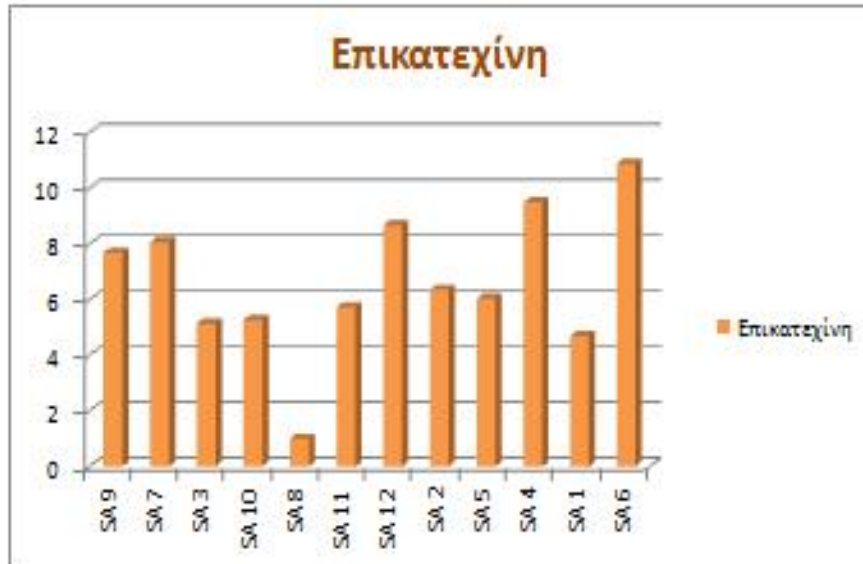
Ιδιαίτερη σημασία έχει η σχέση μεταξύ κατεχίνης και επικατεχίνης. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πίνακα και το Διάγραμμα 3.1.7 τόσο η κατεχίνη (280nm) στα Τραγανά Εδέσσης όσο και στην ποικιλία Burlat πιστοποιείτε σε μικρές συγκεντρώσεις. Για τα Τραγανά Εδέσσης οι συγκεντρώσεις είναι από 0,81-3,59mg/100g και τις ποικιλίας Burlat το εύρος συγκεντρώσεων παρουσιάζεται μεταξύ 0-0,89mg/100g. Η δε επικατεχίνη (Διάγραμμα 3.1.8) εμφανίζεται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις (280nm) για την μεν ποικιλία Τραγανά Εδέσσης (SA9,SA7,SA3,SA10,SA8,SA11) εμφανίζεται από 1-7,69mg/100g για την δε ποικιλία Burlat (SA12,SA2,SA5,SA4,SA1,SA6) εμφανίζεται από 4,70-10,89mg/100g φ.β.

Την μεγαλύτερη συγκέντρωση όσον αφορά το δείγμα της ποικιλίας Τραγανά Εδέσσης την εμφάνισε το SA8 δηλαδή το «κεράσι 5 προπαστερίωσης» ενώ την μεγαλύτερη συγκέντρωση κατεχίνης για το δείγμα ποικιλίας Burlat το εμφάνισε το SA12 «κεράσι 6,τελικό προϊόν» δηλαδή ο χυμός.

Οι φαινολικές συγκεντρώσεις της κατεχίνης απο προηγούμενες μελέτες συμφωνούν, αν και εμφανίζουν χαμηλότερες τιμές τις παρούσης διατριβής, όπως και οι συγκεντρώσεις τις επικατεχίνης, οι οποίες κυμαίνονται απο 2,7-3,8mg/100g φ.β και 3,05-10,6mg/100g φ.β, αντίστοιχα (Ana Teresa Serra et al., Valentina Usenic et al., David Gonzalez-Gomez et al.).



Διάγραμμα 3.1.7. Απεικόνιση δειγμάτων ποικιλίας Τραγανά Εδέσσης και Burlat σε συγκέντρωση κατεχίνης, εκφρασμένο σε mg/100g ξ.ο.

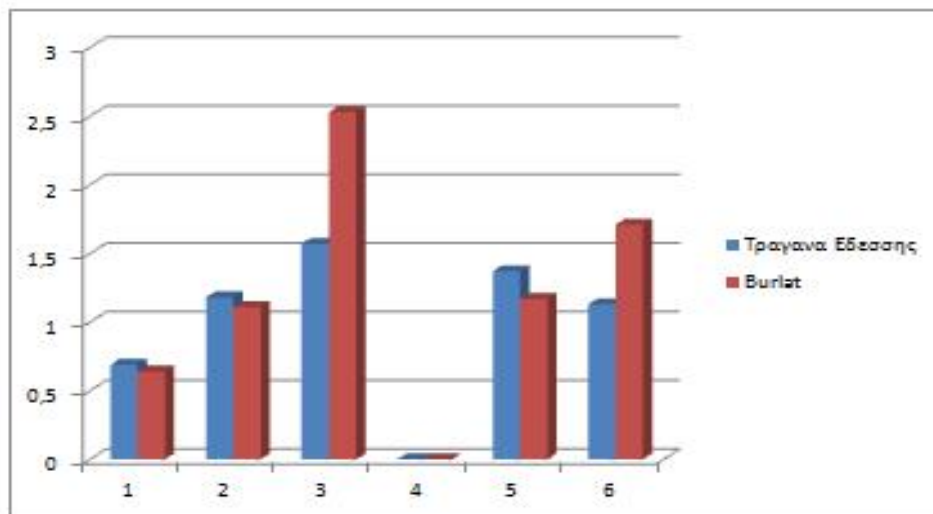


Διάγραμμα 3.1.8. Απεικόνιση δειγμάτων ποικιλίας Τραγανά Εδέσσης και Burlat σε συγκέντρωση επικατεχίνης, mg/100g ξ.ο.

Όσον αφορά την συγκέντρωση καφεϊκού οξέος στα δείγματα μας παρατηρήθηκε πως για τα 280nm και 360nm στις ποικιλίες Burlat και Τραγανά Εδέσσης δεν πιστοποιήθηκε η φαινόλη, ομοίως το Ελλαγικό οξύ. Η μελέτη συμφωνεί και με τους Miriam Sanz et.al.(2010) και τους Lidija Jakobek et.al (2008) για ποικιλίες «sweet cherry».

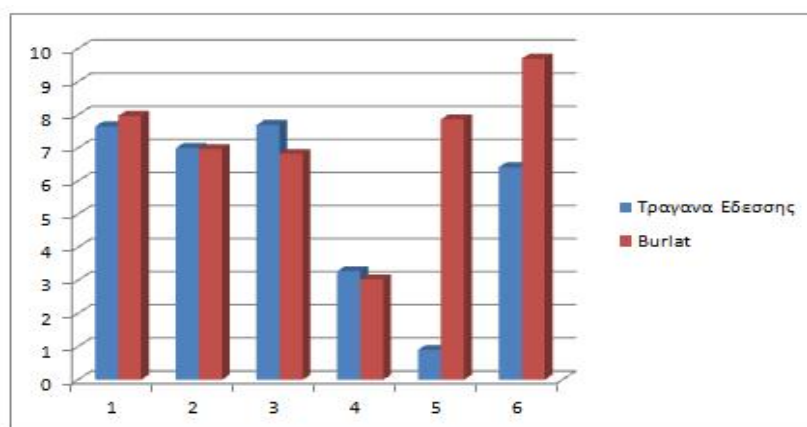
Πιστοποιήθηκε ωστόσο το χλωρογενικό οξύ σε $\lambda_{\max}=280\text{nm}$. Στο Διάγραμμα 3.1.10 εμφανίζεται αναλυτικότερα ο συσχετισμός μεταξύ Τραγανά Εδέσσης και Burlat. Την μεγαλύτερη συγκέντρωση ποσοτικά σε χλωρογενικό οξύ την εμφάνισαν τα δείγματα SA3 και SA1 για τις ποικιλίες Τραγανά Εδέσσης και Burlat αντίστοιχα (κεράσι 2).

Οι συγκεντρώσεις που πιστοποιήθηκε το χλωρογενικό οξύ για την ποικιλία Τραγανά Εδέσσης κυμάνθηκαν μεταξύ 0-1,57mg/100g ενώ για την ποικιλία Burlat από 0-2,53mg/100g ξ.ο. Οι συγκεντρώσεις που μελετήθηκαν σε προηγούμενες έρευνες για το είδος *Prunus avium L.* ως προς το χλωρογενικό οξύ κυμαίνονται από 0,25-5,74mg/100g (David Gonzalez et al., Berta Gonzalez et al.).



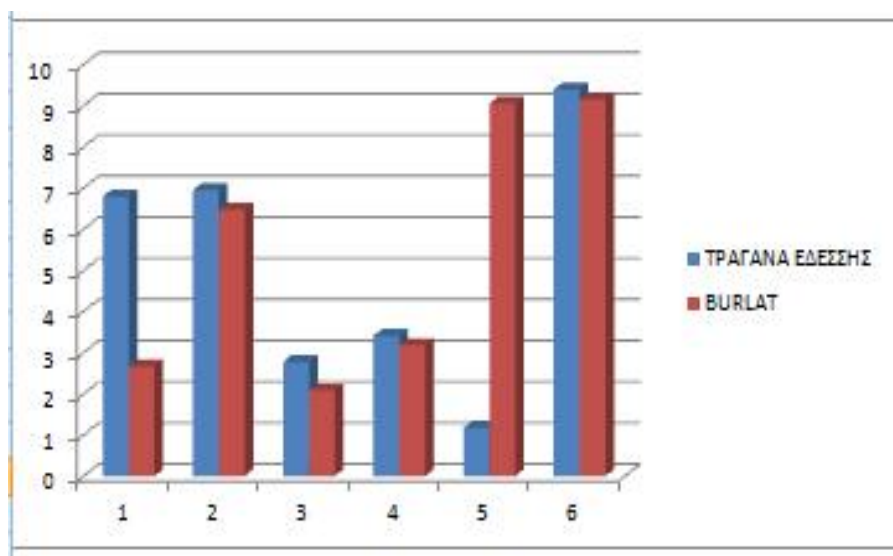
Διάγραμμα 3.1.10. Απεικόνιση δειγμάτων ποικιλίας Τραγανά Εδέσσης και Burlat σε συγκέντρωση Χλωρογενικού Οξέος, mg/100g ξ.ο (280nm).

Το π-κουμαρικό οξύ για $\lambda_{\max}=280\text{nm}$ εμφανίζεται στο Διάγραμμα 3.1.11. Πιστοποιήθηκε για συγκεντρώσεις μέχρι 7,7mg/100g για την ποικιλία Τραγανά Εδέσσης και για συγκεντρώσεις μέχρι 9,70mg/100g για την ποικιλία Burlat. Την μεγαλύτερη συγκέντρωση π-κουμαρικού οξέος στα δείγματα Τραγανά Εδέσσης την εμφάνισε το SA3 «κεράσι 2» και για την ποικιλία Burlat το δείγμα SA4 «κεράσι 4,πυρές κεράσι μετά προθέρμανσης». Για την ποικιλία Burlat, προηγούμενη μελέτη στον καρπό κερασιάς έδειξε συγκέντρωση 6,41mg/100g ξ.ο (Valentina Usenic et.al.,2007)



Διάγραμμα 3.1.11. Απεικόνιση δειγμάτων ποικιλίας Τραγανά Εδέσσης και Burlat σε συγκέντρωση π-κουμαρικού οξέος, mg/100g ξ.ο.

Μεγαλύτερες συγκεντρώσεις π-κουμαρικού οξέος παρατηρήθηκαν στην ποικιλία Burlat όπως επίσης και μεγαλύτερες συγκεντρώσεις φερολικού οξέος συγκριτικά με την ποικιλία Τραγανά Εδέσσης. Το δείγμα SA4 (κεράσι 4,απόρριμα) της ποικιλίας Burlat εμφάνισε την μεγαλύτερη συγκέντρωση φερολικού οξέος. Γενικότερα οι τιμές κυμάνθηκαν για την ποικιλία Burlat από 2,08-9,15mg/100g ενώ αντίστοιχα για την ποικιλία Τραγανά Εδέσσης την μεγαλύτερη συγκέντρωση την εμφάνισε το δείγμα SA11 με όνομα «κεράσι 4 απόρριμα από μηχ.2» τις οποίας ποικιλίας οι τιμές φερολικού οξέος κυμάνθηκαν από 1,18-9,40mg/100g (Διάγραμμα 3.1.12.).



Διάγραμμα 3.1.12. Απεικόνιση δειγμάτων ποικιλίας Τραγανά Εδέσσης και Burlat σε συγκέντρωση Φερολικού Οξέος, mg/100g ξ.ο (280nm).

Γενικότερα το είδος *Prunus avium L.* (sweet cherry) συγκριτικά με το είδος *Prunus cerasus L.* (sour cherry) εμφανίζει μικρότερες συγκεντρώσεις πολυφαινόλων (A. Chaovanalikit, R.E Wrolstad) το οποίο επιβεβαιώνει και την εμφάνιση μικρών συγκεντρώσεων στην παρούσα διατριβή στις ποικιλίες Burlat και Τραγανά Εδέσσης.

Ωστόσο λίγες μόνο μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί για σύγκριση των δυο ειδών «sweet και sour cherry» ωστόσο έχει παρατηρηθεί πως για την παραγωγή χυμών κερασιού χρησιμοποιούνται κυρίως ποικιλίες της *Prunus cerasus L.*(sour cherry), Dae-Ok Kim et.al., 2005.

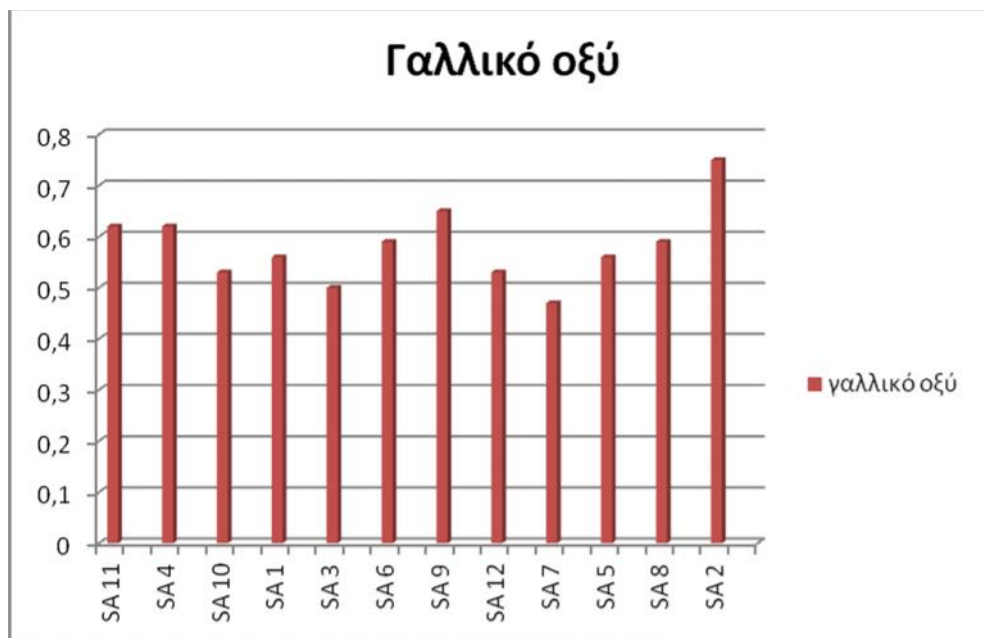
3.2 Ολικό Φαινολικό Περιεχόμενο.

Όπως ήδη αναφέρθηκε στο Κεφάλαιο 2 για τον προσδιορισμό των ολικών φαινολικών χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Folin-Ciocalteu, ενώ για τον προσδιορισμό των ολικών φλαβονοειδών χρησιμοποιήθηκε παραλλαγή της μεθόδου Gunes και των συνεργατών αυτού.

Σύμφωνα με την πρότυπη καμπύλη των δυο μεθόδων αυτών (Κεφάλαιο 2) παρατίθενται παρακάτω τα αποτελέσματα των μετρήσεων. Τα αποτελέσματα έπειτα εκφράστηκαν σε mg γαλλικού οξέος για τα ολικά φαινολικά και κατεχίνης ανά g ξηρού δείγματος (Πίνακας 3.2.1).

ΔΕΙΓΜΑ	ΟΛΙΚΑ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ (mg/g γαλλικού οξέος)	ΟΛΙΚΑ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ (mg/g κατεχίνης)
SA 11	0,62	0,23
SA 4	0,62	0,24
SA 10	0,53	0,21
SA 1	0,56	0,19
SA 3	0,5	0,21
SA 6	0,59	0,23
SA 9	0,65	0,18
SA 12	0,53	0,23
SA 7	0,47	0,22
SA 5	0,56	0,22
SA 8	0,59	0,20
SA 2	0,75	0,21

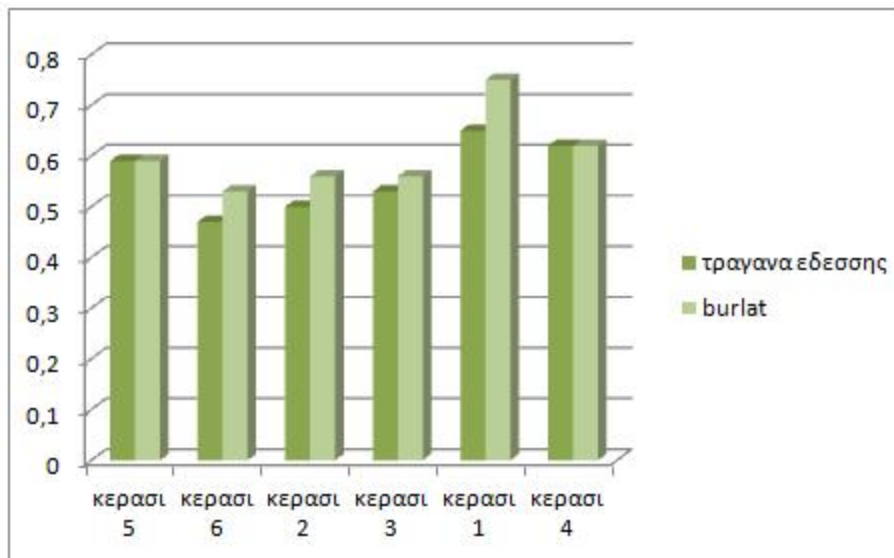
Πίνακας 3.2.1. Δείγματα μετά από λυοφιλίωση και προσθήκη μεθανόλης.



Διάγραμμα 3.2.2. Απεικόνιση δειγμάτων Τραγανά Εδέσσης και Burlat σε συγκέντρωση ολικών φαινολικών, mg/g ξ.ο.

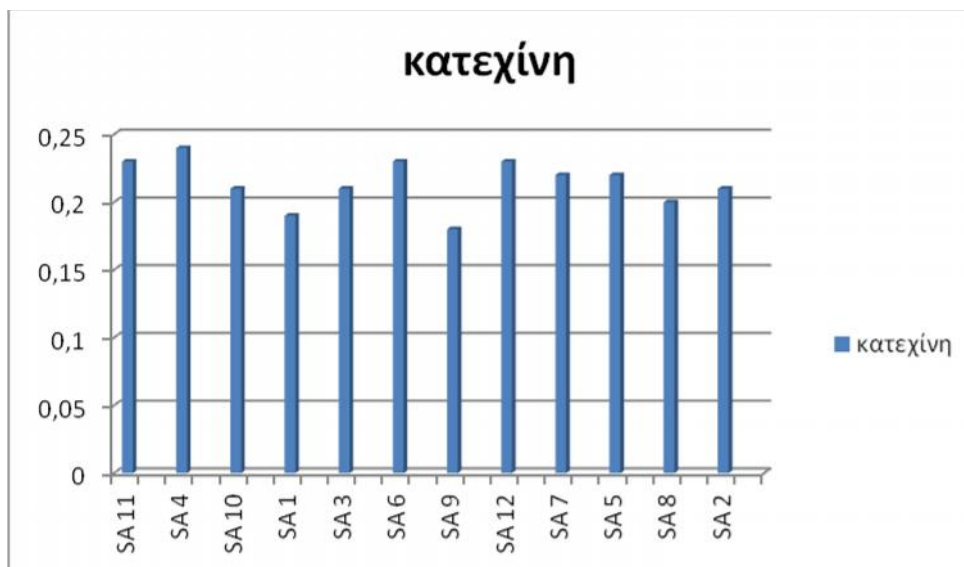
Τα δείγματα της ποικιλίας Burlat εμφάνισαν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ολικών φαινολικών (Διάγραμμα 3.2.2) σε σύγκριση με την ποικιλία Τραγανά Εδέσσης.

Συγκεκριμένα το δείγμα με την μεγαλύτερη συγκέντρωση είναι το SA2 της ποικιλίας Burlat δηλαδή «κεράσι 1, δείγμα φρούτου». Για την ποικιλία Τραγανά Εδέσσης η μεγαλύτερη συγκέντρωση παρατηρήθηκε στο δείγμα SA9 δηλαδή «κεράσι 1, δείγμα φρούτου» (Διάγραμμα 3.2.3). Παρατηρήθηκε πως την μικρότερη συγκέντρωση την έχει για τα δυο δείγματα το κεράσι 6, χυμός κεράσι (τελικό προϊόν).

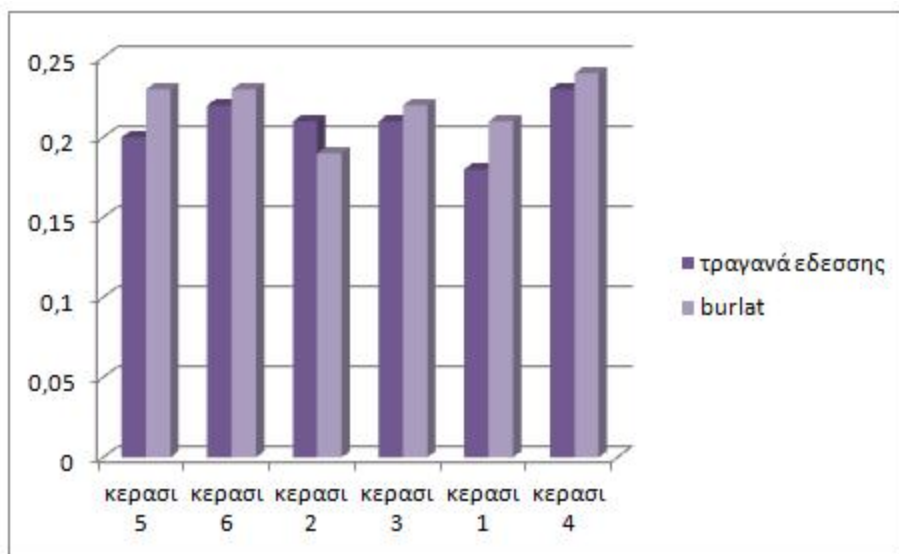


Διάγραμμα 3.2.3. Σύγκριση αποτελεσμάτων μεταξύ Τραγανά Εδέσσης και Burlat ως προς ολικό φαινολικό, mg/g ξ.ο.

Όσον αφορά την συγκέντρωση σε ολικά φλαβονοειδή παρατηρήθηκε στην ποικιλία Burlat η εμφάνιση μεγαλύτερων συγκεντρώσεων. Στο Διάγραμμα 3.2.4 φαίνονται αναλυτικά οι συγκεντρώσεις όπου το δείγμα SA4 «κεράσι 4, πουρές κεράσι από μηχ. 2 προ παστερίωσης, μετά προθέρμανσης» της ποικιλίας Burlat εμφάνισε την μεγαλύτερη συγκέντρωση σε ολικά φλαβονοειδή. Για την ποικιλία Τραγανά Εδέσσης (Διάγραμμα 3.2.5) η μεγαλύτερη συγκέντρωση εμφανίστηκε στο δείγμα SA11 «κεράσι 4, δείγμα απόρριμμα κερασιού από μηχ.2». Συγκριτικά με τα υπόλοιπα στάδια επεξεργασίας του χυμού και υποπροϊόντων χυμός κεράσι (κεράσι 6) εμφάνισε μεγάλες συγκεντρώσεις ολικών φλαβονοειδών (Διάγραμμα 3.2.5).



Διάγραμμα 3.2.4. Απεικόνιση δειγμάτων Τραγανά Εδέσσης και Burlat σε συγκέντρωση ολικών φλαβονοειδών, mg/g ξ.ο.

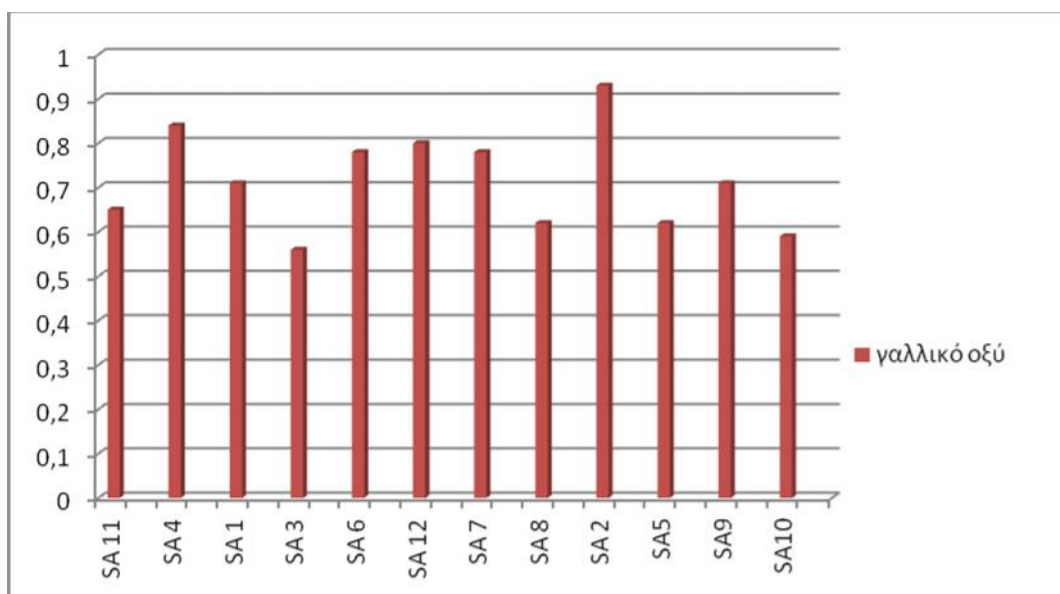


Διάγραμμα 3.2.5. Σύγκριση αποτελεσμάτων μεταξύ Τραγανά Εδέσσης και Burlat ως προς ολικά φλαβονοειδή, mg/g ξ.ο.

Τα παραπάνω ολικά φαινολικά και ολικά φλαβονοειδή εφαρμόστηκαν σε δείγματα που είχαν υποστεί λυοφιλίωση και προσθήκη μεθανόλης. Εφαρμόστηκε η ίδια μέθοδος υπολογισμού ολικών φαινολικών και ολικών φλαβονοειδών για τα ίδια δείγματα αλλά σύμφωνα με την πειραματική πορεία της **Παραγράφου 2.10**. Τα αποτελέσματα παρατίθενται στον Πίνακα 3.2.6.

ΔΕΙΓΜΑ	ΟΛΙΚΑ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ (mg/g γαλλικού οξέος)	ΟΛΙΚΑ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ (mg/κατεχίνης)
SA 11	0,65	0,21
SA 4	0,84	0,24
SA 1	0,71	0,21
SA 3	0,56	0,22
SA 6	0,78	0,24
SA 12	0,8	0,22
SA 7	0,78	0,23
SA 8	0,62	0,21
SA 2	0,93	0,22
SA5	0,62	0,23
SA9	0,71	0,20
SA10	0,59	0,21

Πίνακας 3.2.6. Δείγματα μετά από Πειραματική Επεξεργασία της παραγράφου 2.10.

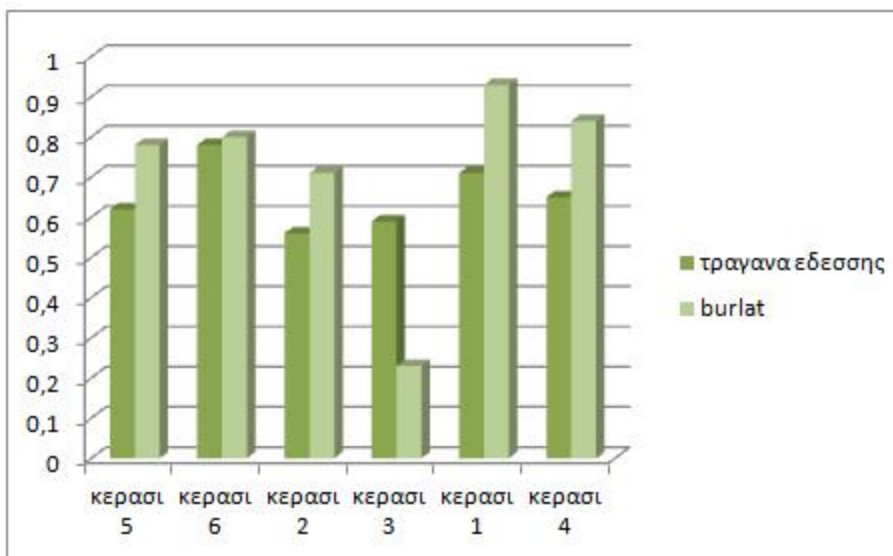


Διάγραμμα 3.2.7. Απεικόνιση δειγμάτων Τραγανά Εδέσσης και Burlat σε συγκέντρωση ολικών φαινολικών, mg/g ξ.ο.

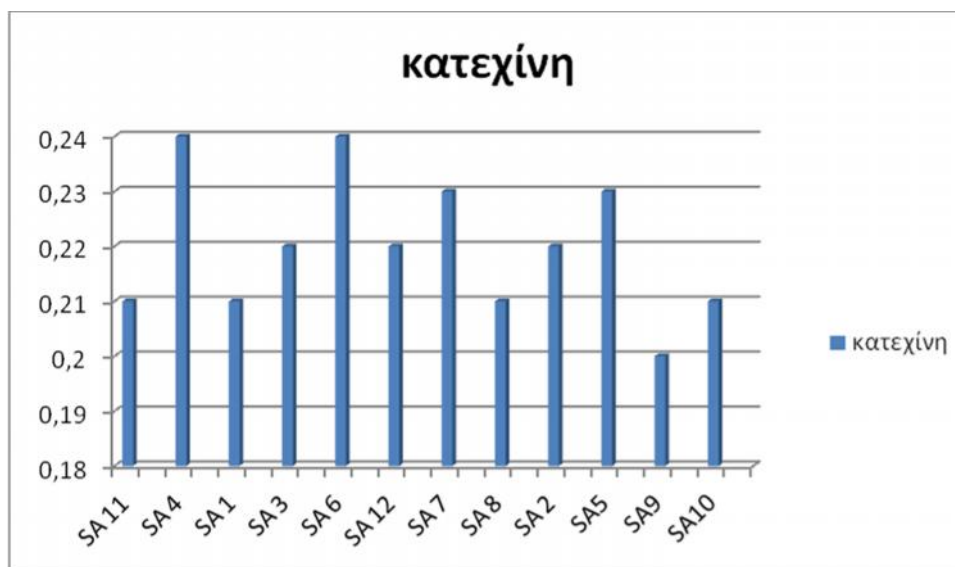
Την μεγαλύτερη συνολικά συγκέντρωση σε ολικά φαινολικά την έχουν τα δείγματα της ποικιλίας Burlat. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα το δείγμα SA2 έχει την μεγαλύτερη συγκέντρωση, το οποίο αφορά το δείγμα «κεράσι 1, δείγμα φρούτου».

Όσον αφορά την ποικιλία Τραγανά Εδέσσης, το δείγμα SA7 εμφανίζει την μεγαλύτερη συγκέντρωση σε ολικά φαινολικά το οποίο αφορά το τελικό προϊόν «κεράσι 6, πουρές κεράσι, τελικό προϊόν».

Αναλυτικότερα οι δύο ποικιλίες δείγματος φρούτου κεράσι ως αποτέλεσμα επεξεργασίας τους προς τα ολικά φαινολικά παρουσιάζονται με το Διάγραμμα 3.2.8.



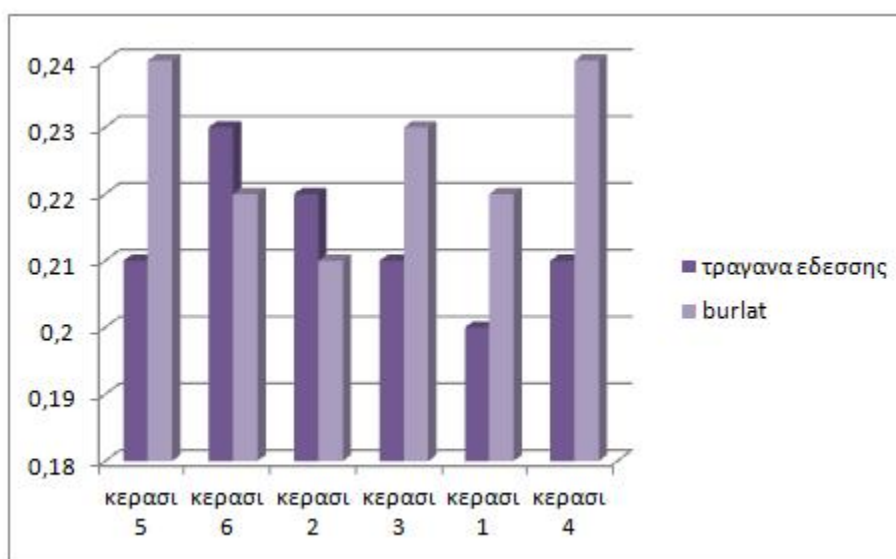
Διάγραμμα 3.2.8. Σύγκριση αποτελεσμάτων μεταξύ Τραγανά Εδέσσης και Burlat ως προς ολικό φαινολικό, mg/g ξ.ο.



Διάγραμμα 3.2.9. Απεικόνιση δειγμάτων Τραγανά Εδέσσης και Burlat σε συγκέντρωση ολικών φλαβονοειδών , mg/g ξ.ο.

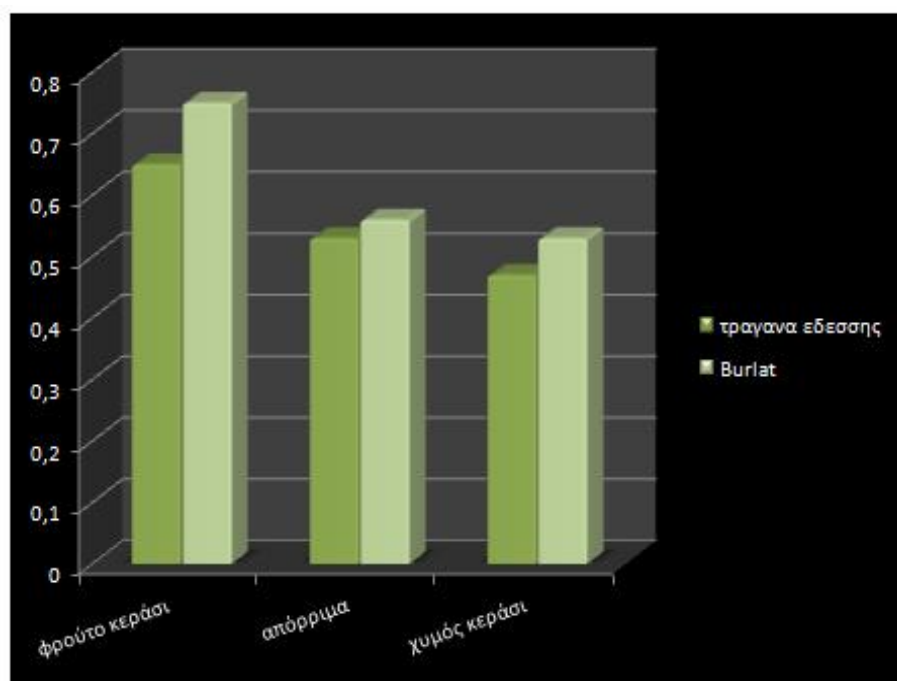
Τα Burlat ,σύμφωνα με το Διάγραμμα 3.2.9, και συγκεκριμένα το δείγμα SA6 που αφορά το δείγμα «κεράσι 5, απόρριμμα από μηχ. 2» εμφάνισε την μεγαλύτερη συγκέντρωση σε ολικά φλαβονοειδή.

Αντίστοιχα για την ποικιλία Τραγανά Εδέσσης μετά από την κατάλληλη επεξεργασία δείγματος με σκοπό τον υπολογισμό των ολικών φλαβονοειδών, παρατηρήθηκε ότι την μεγαλύτερη συγκέντρωση την έχει το δείγμα SA7 «κεράσι 6, τελικό προϊόν». Συγκεντρωτικά όμως την μεγαλύτερη συγκέντρωση ολικών φλαβονοειδών την εμφανίζει η ποικιλία Burlat όπως φαίνεται και στο Διάγραμμα 3.2.10.



Διάγραμμα 3.2.10. Σύγκριση αποτελεσμάτων μεταξύ Τραγανά Εδέσσης και Burlat ως προς ολικά φλαβονοειδή , mg/g ξ.ο.

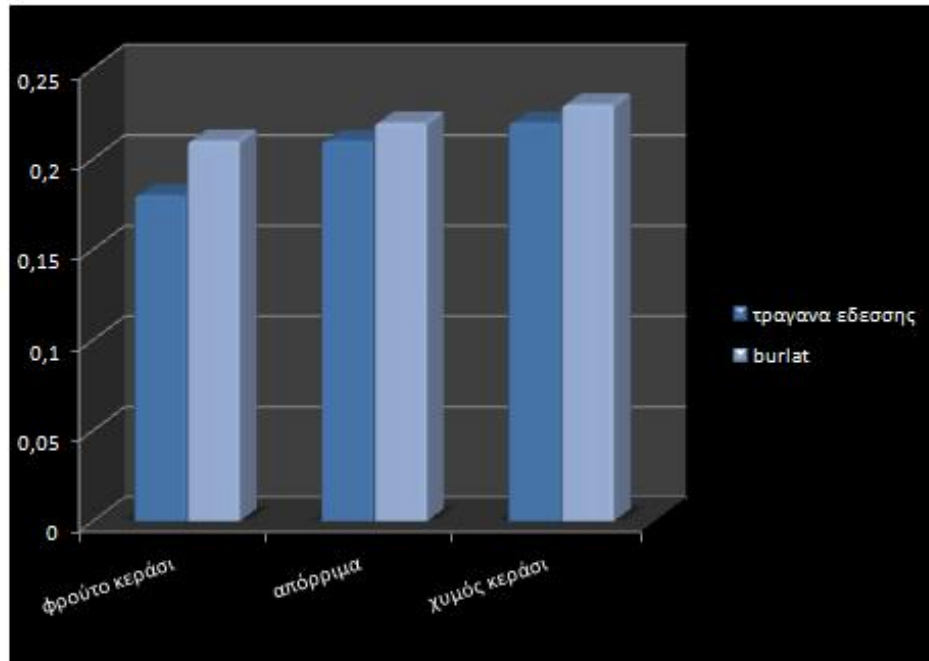
Μελετήθηκε επίσης η σχέση μεταξύ ολικών φαινολικών (Διάγραμμα 3.1.11) και ολικών φλαβονοειδών (Διάγραμμα 3.1.12) συγκριτικά για τις δυο ποικιλίες Τραγανά Εδέσσης και Burlat για τα στάδια 1) του φρούτου κερασιού 2) του απορρίμματος (ξηλώδες μέρος, κουκούτσι) και 3) του χυμού κερασιού, τελικό προϊόν.



Διάγραμμα 3.1.11. Ολικά Φαινολικά (F-C) για τα στάδια 1) του φρούτου κερασιού 2) του απορρίμματος (ξυλώδες μέρος, κουκούτσι) και 3) του χυμού κερασιού, τελικό προϊόν, mg/g ξ.ο.

Παρατηρήθηκε με βάση το Διάγραμμα 3.1.11 ότι η ποικιλία Burlat ως προς τον χυμό κερασιού εμφανίζει μεγαλύτερη συγκέντρωση ολικών φαινολικών. Το ίδιο ισχύει και για το φρούτο κεράσι ενώ για το απόρριμμα του φρούτου (κουκούτσι) η διαφορά είναι πολύ μικρή της συγκέντρωσης αν και εμφανίζει μεγαλύτερη συγκέντρωση η ποικιλία Τραγανά Εδέσσης.

Ομοίως παρατηρήθηκε η συμπεριφορά, για τα τρία στάδια του χυμού κερασιάς, των ολικών φλαβονοειδών στις δυο ποικιλίες στο Διάγραμμα 3.1.12.



Διάγραμμα 3.1.12. Ολικά Φλαβονοειδή για τα στάδια 1) του φρούτου κερασιού 2) του απορρίμματος (ξυλώδες μέρος, κουκούτσι) και 3) του χυμού κερασιού, τελικό προϊόν, mg/g ξ.ο.

Σύμφωνα με το Διάγραμμα 3.1.12 τα ολικά φλαβονοειδή εμφανίζουν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στην ποικιλία Burlat. Η μεγαλύτερη διαφορά ποσοτικοποιήθηκε στο φρούτο κεράσι της ποικιλίας, πριν από την επεξεργασία, ενώ παρατηρήθηκε και σύμφωνα με το Διάγραμμα 3.1.12 ότι το απόρριμμα και ο χυμός δεν παρουσιάζουν μεγάλες διαφορές.

Για τις ποικιλίες Traγανά Εδέσσης και Burlat δεν υπήρξε μεγάλο εύρος αποτελεσμάτων με συγκριτικές μεταξύ τους μελέτες όσον αφορά τα ολικά φαινολικά και ολικά φλαβονοειδή. Αυτό ίσως να οφείλεται στο ότι είναι ελληνικής προέλευσης ποικιλίες. Ωστόσο μελέτες έχουν δείξει πως για την ποικιλία Burlat τα ολικα φαινολικά εμφανίζουν συγκεντρώσεις από 78,8-108 mg/100g φρέσκου βάρους (D. Marinova et.al., 2005, Berta Goncalves et.al., 2004). Για την ποικιλία Burlat ο Δ.Φανασιάδης και οι συνεργάτες του παρατήρησαν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ολικών φαινολικών 212,3 mg/100g ενώ στην μοναδική μελέτη που βρέθηκε για την ποικιλία Traγανά Εδέσσης εμφάνισαν συγκέντρωση ολικών φαινολικών στα 196,5mg/100g φρέσκου βάρους, οι τιμές αυτές βέβαια είναι αρκετά υψηλότερες συγκριτικά με προηγούμενες μελέτες.

Παράλληλα παρατηρήθηκε πως η συγκέντρωση συνολικών φαινολών δεν σημείωσε σημαντικές αλλαγές απο τους ρόδιους στους κόκκινους- ώριμους καρπούς για τις ποικιλίες Burlat και Τραγανά Εδέσσης (Δ. Φανασιάδης). Τέλος, η εμφάνιση μεγαλύτερων συγκεντρώσεων σε ολικά φαινολικά στην ποικιλία Burlat συγκριτικά με την ποικιλία Τραγανά Εδέσσης, συμφωνούν και με την μελέτη αυτή. Γενικότερα όμως οι διαφορές στην εμφάνιση των συγκεντρώσεων είναι φυσιολογικές καθώς η σύγκριση γίνεται σε διαφορετικής προέλευσης δείγματα με πιθανότητα διαφορετικών διαλυτών εκχύλισης αλλά και διαφορετική προέλευση των δειγμάτων (Silvia Melichacova et al.,2010).

Οι Goncalves et.al. παρατήρησαν μεταξύ 9 ποικιλιών του είδους *Prunus avium L.* Ότι η ποικιλία Burlat εμφανίζει απο τις υψηλότερες συγκεντρώσεις σε ολικά φαινολικά (83,8mg/100g φ.β). Έχει ωστόσο παρατηρηθεί πως το είδος *Prunus cerasus L.* (βυσσινιά ή sour cherry) εμφανίζει μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ολικών φαινολικών συγκριτικά με το είδος *Prunus avium L.* (κεράσι ή sweet cherry) (Dae-ok Kim et. al.,2005). Επίσης στην ίδια μελέτη οι συγκεντρώσεις των ολικών φαινολικών κυμάνθηκαν μεταξύ 92,1-104,3mg/100g φ.β.

Προηγούμενη μελέτη των ολικών φλαβονοειδών της ποικιλίας Burlat (*Prunus avium L.*) εμφάνισε συγκέντρωση 19,6mg/100g φ.β., η οποία συγκριτικά με την συγκέντρωση 138,6mg/100g φ.β της ποικιλίας *Prunus cerasus L.*, είναι ελάχιστη (D. Marinova et.al.,2005). Ωστόσο χαμηλή συγκέντρωση ολικών φλαβονοειδών της ποικιλίας Burlat συγκριτικά ακόμα και με άλλες ποικιλίες του είδους *Prunus avium L.* παρατηρήθηκαν και απο τους Dejan Prvulovic et.al. (2011) για συγκεντρώσεις εκφρασμένες σε mg ρουτίνης ανά g ξ.ο. Για τα ολικά φλαβονοειδή παρόμοιες μελέτες δεν βρέθηκαν.

3.3 Συμπεράσματα

Η πολυφαινολική ικανότητα χυμού κερασιάς και υποπροϊόντων των ποικιλιών Τραγανά Εδέσσης και Burlat αποτελεί ένα ανοιχτό πεδίο που συγκεντρώνει έντονο επιστημονικό ενδιαφέρον. Κατά την μελέτη αυτής βρέθηκε ότι η ποικιλία Τραγανά Εδέσσης περιέχει μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ρουτίνης, κερκετίνης, επικατεχίνης και κατεχίνης συγκριτικά με την ποικιλία Burlat. Παρατηρήθηκε επίσης ότι ο χυμός κερασιών (Τραγανά Εδέσσης, Burlat) πιστοποιεί μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σε Ολικά Φαινολικά σε σχέση με τα υποπροϊόντα χυμοποίησης. Ο καρπός των κερασιών των ποικιλιών που μελετήθηκαν πιστοποίησε τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σε Ολικά Φλαβονοειδή. Η σύγκριση των δυο ποικιλιών έδειξε ότι η ποικιλία Burlat είναι πλουσιότερη σε Ολικά Φλαβοπνοειδή και Ολικά Φαινολικά σε σχέση την ποικιλία Τραγανά Εδέσσης. Επίσης τα υποπροϊόντα της διαδικασίας χυμοποίησης εμφανίζουν μεγάλες συγκεντρώσεις σε φαινόλες (χλωρογενικό οξύ, ρουτίνη, επικατεχίνη, φερουλικό οξύ, κερκετίνη, (+)-κατεχίνη και π-κουμαρικό οξύ). Παρατηρήθηκε ότι το Ελλαγικό οξύ και το καφεϊκό οξύ δεν ανιχνεύτηκαν στο είδος *Prunus avium* L. Τέλος βρέθηκε ότι η ποικιλία Burlat περιέχει μεγαλύτερες συγκεντρώσεις επικατεχίνης, χλωρογενικού οξέος, π-κουμαρικού οξέος και φερουλικού οξέος.

Συχνή κατανάλωση φυτικών τροφών πλούσιων σε φλαβονοειδή και σε συγκέντρωση φαινολών, συνδέεται άμεσα με το μειωμένο κίνδυνο χρόνιων ασθενειών, γεγονός που πρέπει να οδηγήσει σε έρευνα περισσότερων Ελληνικών ποικιλιών (LDL), όπως και περισσότερες μελέτες πρέπει να γίνουν για την διερεύνηση των υποπροϊόντων για συμπληρώματα διατροφής και μελέτες των υποπροϊόντων που προέρχονται από την διαδικασία χυμοποίησης.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΔΙΕΘΝΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

A. Chaovanalikit and R.E.Wrolstad, Anthocyanin and polyphenolic composition of fresh and processed cherries.

Amitabh Chandra, Muraleedharan G. Nair,' and Amy Iezzoni. Evaluation and Characterization of the Anthocyanin Pigments in Tart Cherries (*Prunus Cerasus L.*),1992.

Amitabh Chandra, Muraleedharan G. Nair,' and Amy F. Iezzoni, Isolation and Stabilization of Anthocyanins from Tart Cherries (*Prunus cermug L.*),1993.

Ana Teresa Serra **a**, Rui O. Duarte **b**, Maria R. Bronze **a,c,d**, Catarina M.M. Duarte **a,c**,.Identification of bioactive response in traditional cherries from Portugal,2011.

Benvenuti, S., Pellati, F., Melegari, M. & Bertelli, D. (2004). Polyphenols, anthocyanins, ascorbic acid, and radical scavenging activity of Rubus, Ribes, and Aronia. Journal of Food Science, 69,164–169.

Blando, F., Gerardi, C. & Nicoletti, I. (2004). Sour cherry (*Prunus cerasus L*) anthocyanins as ingredients for functional foods. Journal of Biomedicine and Biotechnology, 5, 253–258.

Blando, F., Scardino, A.P., De Bellis, L., Nicoletti, I. & Giovinazzo, G. (2005). Characterization of in vitro anthocyanin-producing sour cheery (*Prunus cerasus L.*) callus cultures. Food Research International,38, 937–942.

Brand Williams, W., Cuvelier, M.E. & Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel-Wissenschaft Und Technology, 28, 25–30.

Berta Gonc, alves,¹ Anne-Katrine Landbo,² Mette Let,² Ana Paula Silva,³ Eduardo Rosa³ and Anne S Meyer. Storage affects the phenolic profiles and Antioxidant activities of cherries (*Prunus avium L*) on human low-densitylipoproteins2004

Berta Goncu Alve, Anne-Katrine Landbo, David Knusden, Ana P. Silva, Josea Moutinho-Pereira, Eduardo Rosa and Anne S. Meyer. Effect of Ripeness and Postharvest Storage on the Phenolic Profiles of Cherries (*Prunus avium* L.), 2004.

Bourne LC and Rice-Evans CA, Urinary detection of hydroxycinnamates and flavonoids in humans after high dietary intake of fruit. *Free Rad Res* **28**:429–438 (1999).

Chiara Fanali¹, Laura Dugo¹, Giovanni D’Orazio², Melania Lirangi¹, Marina Dacha¹, Paola Dugo^{1,3}, Luigi Mondello^{1,3}, Analysis of anthocyanins in commercial fruit juices by using nano-liquid chromatography-electrospray-mass spectrometry and highperformance liquid chromatography with UV-vis detector, 2011.

C.H. Crisosto, G.M. Crisosto, and P. Metheney, “Consumer acceptance of ‘Brooks’ and ‘Bing’ cherries is mainly dependent on fruit SSC and visual skin color”, *Postharvest Biology and Technology*, vol. 28, pp. 159-167, 2003.

Chaovanalikit, and R.E. Wrolstad, “Anthocyanin and polyphenolic composition of fresh and processed cherries”, *Food Chemistry and Toxicology*, vol. 69, pp. 73-83, 2004.

Daniel Bonerz · Kirsten Wörth · Helmut Dietrich · Frank Will .Analytical characterization and the impact of ageing on anthocyanin composition and degradation in juices from five sour cherry cultivars, 2006.

David González-Gómez a,* , Mercedes Lozano a, Mari´a F. Fern´andez-Leo´n a, Mari´a J. Bernalte b, Mari´a C. Ayuso b, Ana B. Rodr´ıguez Sweet cherry phytochemicals: Identification and characterization by HPLC-DAD/ESI-MS in six sweet-cherry cultivars grown in Valle del Jerte (Spain), 2010.

Dejan Prvulovic, Djordje Malencic, Lilan Popovic, et al. (2011). Antioxidant Properties of sweet cherries (*Prunus avium* L.) –role of phenolic compounds. *World Academy of Science ,Engineering and Technology*.

D. Gonz´alez-G´omez · M. Lozano · M. F. Fern´andez-Le´on · M. C. Ayuso · M. J. Bernalte · A. B. Rodr´ıguez. Detection and quantification of melatonin and serotonin in eight Sweet Cherry cultivars (*Prunus avium* L.), 2009.

D. Marinova , F. Ribarova, M. Atanassova, Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables, 2005.

D.-O. Kim, H.J. Heo, Y.J. Kim, H.S. Yang, and C.Y. Lee, “Sweet and sour cherry phenolics and their protective effects on neuronal cells”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 53, pp. 9921-9927, 2005.

Emine Nur Herkena; Salih Guzelb Total Antioxidant Capacity and Total Phenol Contents of Selected Commercial Fruit Juices in Turkey,2011.

E. V. Beketov,¹ V. P. Pakhomov,² and O. V. Nesterova² Improved method of flavonoid extraction from bird cherry fruits. 2005.

Franco, M. R. B., & Janzanti, N. S. (2005). Aroma of minor tropical fruits. *Flavour and Fragrance Journal*, 20, 358-37.

Franco, M. R. B., & Shibamoto, T. (2000). Volatile composition of some Brazilian fruits: Umbu-caja (*Spondias citherea*), Camu-camu (*Myrciaria dubia*), Araça-boi (*Eugeniastipitata*), and Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 1263–1265

F. Cuyckens, and M. Claeys, “Determination of the glycosylation site in flavonoid mono-*O*-glycosides by collision-induced dissociation of electrospray-generated deprotonated and sodiated molecules”, *Journal of Mass Spectrometry*, vol. 40, pp. 364-372, 2005.

Gao L and Mazza G, Characterization, quantification and distribution of anthocyanins and colorless phenolics in sweet cherry. *J Agric Food Chem* **43**:343–346 (1995).

Gianna Ferretti 1,* , Tiziana Bacchetti 1, Alberto Belleggia 2 and Davide Neri Cherry Antioxidants: From Farm to Table,2010.

Giovana Bonat Celli, Aducto Bellarmino Pereira-Netto, Trust Beta, Comparative analysis of total phenolic content, antioxidant activity, and flavonoids profile of fruits from two varieties of Brazilian cherry (*Eugenia uniflora* L.) throughout the fruit developmental stages

G. Mazza, and E. Miniati, “Anthocyanins in fruits, vegetables, and grains”, Boca Raton: CRC Press, 1993.

Goncalves, B., Lando, A. K., Knudsen, D., Silva, A. P., et.al., (2004a) Effect of ripeness and postharvest storage on the phenolic profiles of cherries (*Prunus avium L.*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 523-530.

Hatice K. Yıldırma; Yeşim Elmacı; Gülden Ova; Tomris Altuğ; Ufuk Yücelb Descriptive Analysis of Red Wines From Different Grape Cultivars in Turkey,2011.

Jakobek, L., Šeruga, M., Novak, I. & Medvidović-Kosanović, M.(2007a). Anthocyanin content and antioxidant activity of various red fruit juices. *Deutsche-Lebensmittel-Rundschau*, 2, 58–64.

Jakobek, L., Šeruga, M., Novak, I. & Medvidović-Kosanović, M.2007b). Flavonols, phenolic acids and antioxidant activity of some red fruits. *Deutsche-Lebensmittel-Rundschau*, 8, 359–378.

Kahkonen, M.P. & Heinonen, M. (2003). Antioxidant activity of anthocyanins and their aglycons. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 628–633.

Kim, D.O., Heo, H.J., Kim, Y.J., Yang, H.S. & Lee, C.Y. (2005). Sweet and sour cherry phenolics and their protective effects on neuronal cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 9921–9927.

Knekt, P., Jaśrvinen, R., Seppänen, R. et al. (1997). Dietary flavonoids and the risk of lung cancer and other malignant neoplasms. *American Journal of Epidemiology*, 146, 223–230.

L. Esti., F. Cinquanta, E. Sinesio, E. Moneta, and M. Di Matteo, “Physicochemical and sensory fruit characteristics of two sweet cherry cultivars after cool storage”, *Food Chemistry*, vol. 76, pp. 399-405,2002.

Lidija Jakobek,* Marijan Šeruga, Bernarda Šeruga, Ivana Novak & Martina Medvidović-Kosanović Phenolic compound composition and antioxidant activity of fruits of *Rubus* and *Prunus* species from Croatia,2009.

Maciel, M. I. S., Melo, E. D. A., Lima, V. L. A., da Silva, M. R. F., & da Silva, I. P. (1999). Processing and storage of acerola (*Malpighia* sp.) fruit and its products. *Journal of Food Science and Technology*, 36, 142–146.

MacLeod, G., & Ames, J. M. (1990). Volatile components of starfruit. *Phytochemistry*, 29, 165–172. MacLeod, A. J., & Pieris, N. M. (1981). Volatile flavor components of soursop (*Annona muricata*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 29, 488–490.

Maia, J. G. S., Andrade, E. H. A., & Zoghbi, M. D. B. (2004). Aroma volatiles from two fruit varieties of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.). *Food Chemistry*, 85, 195–197.

Malaman, F. S., Moraes, L. A. B., West, C., Ferreira, N. J., & Oliveira, A. L. (2010). Supercritical fluid extracts from the Brazilian cherry (*Eugenia uniflora* L.): Relationship between the extracted compounds and the characteristic flavor intensity of the fruit. *Food Chemistry*, 124, 85–92.

Marin, R., Apel, M. A., Limberger, R. P., Raseira, M. C. B., Pereira, J. F.M., Zuanazzi, J.A. S., et al. (2008). Volatile components and antioxidant activity from some Myrtaceae fruits cultivated in Southern Brazil. *Latin American Journal of Pharmacy*, 27, 172–177.

Maróstica, M. R., Jr., & Pastore, G. M. (2007). Tropical fruit flavor (Chapter 8). In R. G. Berger (Ed.), *Flavours and fragrances: Chemistry, bioprocessing and sustainability* (pp. 189–201). Berlin: Springer.

Manuela Zude ^a, Michael Pflanz ^a, Lorenzo Spinelli ^b, Carsten Dosche ^c, Alessandro Torricelli Non-destructive analysis of anthocyanins in cherries by means of Lambert–Beer and multivariate regression based on spectroscopy and scatter correction using time-resolved analysis, 2011.

M.B. Petersen & L. Poll The influence of storage on aroma, soluble solids, acid and colour of sour cherries (*Prunus cerasus* L.) cv. Stevnsbær, 1999.

Miriam Sanz, Estrella Cagahi'a, Enrique Esteruelas, Angel Ma Mun-Oz, Brigida Frenandez de Simon, Teresa Herna Ndez and Isabel Estralla. Phenolic Compounds in Cherry (*Prunus avium*) Heartwood with a View to Their Use in Cooperage, 2010.

M. Geibell, D. Treuttert and N. Meier² Characterization of sour cherries by HPLC-analysis of the bark-flavonoids combined with multivariate statistics, 1990.

M.J. Serradilla, M. Lozano, M.J. Bernalte, M.C. Ayuso, M. López-Corrales, and D. González-Gómez, "Physicochemical and bioactive properties evolution during ripening of 'Ambrunés' sweet cherry cultivar", *LTW-Food Science and Technology*, vol. 44, pp. 199-205, 2011.

Monika Kosmala & Joanna Milala & Krzysztof Kołodziejczyk & Jarosław Markowski & Monika Mieszczakowska & Christian Ginies & Catherine M. G. C. Renard Characterization of Cell Wall Polysaccharides of Cherry (*Prunus cerasus* var. *Schattenmorelle*) Fruit and Pomace, 2009

M. Serrano, F. Guillén, D. Martínez-Romero, S. Castillo, and D. Valero, "Chemical constituents and antioxidant activity of sweet cherry at different ripening stages", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 53, pp. 2741-2745, 2005.

Narasimham, P. (1990). Breadfruit and jackfruit. In S. Nagy, P. E. Shaw, & W. F. Wardowski (Eds.), *Fruits of tropical and subtropical origin* (pp. 193–259). : Florida Science Source.

N. Öztürk; M. Tunçel; N. B. Tunçel Determination of Phenolic Acids by a Modified HPLC: Its Application to Various Plant Materials, 2011.

Juliano Lemos Bicas, Gustavo Molina, Ana Paula Dionísio, Francisco Fábio Cavalcante Barros, Roger Wagner, Mário Roberto Maróstica Jr., Gláucia Maria Pastore Volatile constituents of exotic fruits from Brazil.

Oliveira, A. L., Kamimura, E. S., & Rabi, J. A. (2009). Response surface analysis of extract yield and flavor intensity of Brazilian cherry (*Eugenia uniflora* L.) obtained by supercritical carbon dioxide extraction. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10, 189–194.

Oliveira, A. L., Lopes, R. B., Cabral, F. A., & Eberlin, M. N. (2006). Volatile compounds from pitanga fruit (*Eugenia uniflora* L.). *Food Chemistry*, 99, 1–5.

Olsson, M.E., Gustavsson, K.E., Andersson, S., Nilsson, A. & Duan, R.D. (2004). Inhibition of cancer cell proliferation in vitro by fruit and berry extracts and correlations with antioxidant levels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7264–7271

Ong, B. T., Nazimah, S. A. H., Osman, A., Quek, S. Y., Voon, Y. Y., Hashim, D. M., et al.(2006). Chemical and flavor changes in jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.)cultivar J3 during ripening. *Postharvest Biology and Technology*, 40, 279–286.

Ong, B. T., Nazimah, S. A. H., Tan, C. P., Mirhosseini, H., Osman, A., Mat Hashim, D., et al. (2008). Analysis of volatile compounds in five jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*L.) cultivars using solid-phase microextraction (SPME) and gas chromatographytime-of-flight mass spectrometry (GC-TOFMS). *Journal of Food Composition andAnalysis*, 21, 416–422.

Pantelidis, G.E., Vasilakakis, M., Manganaris, G.A. & Diamantidis, G.R. (2007). Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. *Food Chemistry*, 102, 777–783.

Pino, J. (2010). *Annona* fruits (chapter 14). *Handbook of Fruit and Vegetable Flavors*(pp. 231–247). New Jersey: Hoboken.

Pino, J. A., Bello, A., Urquiola, A., Agüero, J., & Marbot, R. (2003). Fruit volatiles of Cayenacherry (*Eugenia uniflora* L.) from Cuba. *Journal of Essential Oil Research*, 15, 70–71.

Pino, J. A., & Marbot, R. (2001). Volatile flavor constituents of acerola (*Malpighiaemarginata* DC.) fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 5880–5882.

Pino, J. A., Marbot, R., & Fuentes, V. (2003). Characterization of volatiles in Bullock’sHeart (*Annona reticulata* L.) fruit cultivars from Cuba. *Journal of Agricultural andFood Chemistry*, 51, 3836–3839

Sass-Kiss a,* , J. Kiss a, P. Milotay b, M.M. Kerek c, M. Toth-Markus Differences in anthocyanin and carotenoid content of fruits and vegetables,2005.

S. de Pascual-Teresa,[†] D. Treutter,[‡] J. C. Rivas-Gonzalo,[†] and C. Santos-Buelga Analysis of Flavanols in Beverages by High-Performance Liquid Chromatography with Chemical Reaction Detection, 1998.

S.F. Hagen, G.I.A. Borge, G.B. Bengtsson, W. Bilger, A. Berge, K. Haffner, and K.A. Solhaug, “Phenolic contents and other health and sensory related properties of apple fruit (*Malus domestica* Borkh., cv. Aroma): Effect of postharvest UV-B irradiation”, *Postharvest Biology and Technology*, vol. 45, pp. 1-10, 2007.

Silvia Melichacova, Maria Timoracka, Judita Bystricka et al., (2010). Relation of total antiradical activity and total polyphenol content of sweet cherries (*Prunus avium* L.) and tart cherries (*Prunus cerasus* L.).

S. Piccolella, A. Fiorentino, S. Pacifico, B. D’Abrosca, P. Uzzo, and P. Monaco, “Antioxidant properties of sour cherries (*Prunus cerasus* L.): Role of colorless phytochemicals from the methanolic extract of ripe fruits”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 56, pp. 1928-1935, 2008.

Valentina Usenik *, Jerneja Fabčič, Franci Štampar Sugars, organic acids, phenolic composition and antioxidant activity of sweet cherry (*Prunus avium* L.), 2008.

V. Usenik, J. Fabčič, and F. Štampar, “Sugars, organic acids, phenolic composition and antioxidant activity of sweet cherry (*Prunus avium* L.)”, *Food Chemistry*, vol. 107, pp. 185-192, 2008.

Wilson, C. W., Shaw, P. E., Knight, R. J., Nagy, S., & Klim, M. (1985). Volatile constituents of carambola. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 33, 199–201.

Winterhalter, P., & Schreier, P. (1995). The generation of norisoprenoid volatiles in starfruit (*Averrhoa carambola* L.): A review. *Food Reviews International*, 11, 237–254.

Wong, K. C., & Khoo, K. H. (1993). Volatile components of Malaysian Annona fruits. *Flavor and Fragrances Journal*, 8, 5–10.

Wong, K. C., Lim, C. L., & Wong, L. L. (1992). Volatile flavor constituents of Chempedak (*Artocarpus polyphema* Pers.) fruit and Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) from Malaysia. *Flavor and Fragrance Journal*, 9, 319–324.

Young, I.S. & Woodside, J.V. (2001). Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology*, 54, 176–186.

Zadernowski, R., Naczek, M. & Nesterowicz, J. (2005). Phenolic acid profiles in some small berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 2118–2124.

Zheng, W. & Wang, S.Y. (2003). Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and lingonberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 502–509.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

μ - -
. Υπηρεσία Δημοσιευμάτων Αριστ. Πανεπ. Θεσ/νίκης, 1990, .

-
μ , . . . , , Εθνικό Ίδρυμα
Αγροτικής Έρευνας.

(1997). μ - . 18,
.116-119, ,

μ , ., & , . (2008). . (6,8,23-85,119-122). -
μ μ .

ΙΣΤΟΤΟΠΟΙ

- <http://www.nagref.gr/journals/ethg/images/41/ethg41p9-15.pdf>
- Wikipedia,Caffeic acid
- Pub Med Caffeic acid

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

ΛΑΙΟΥ 3.

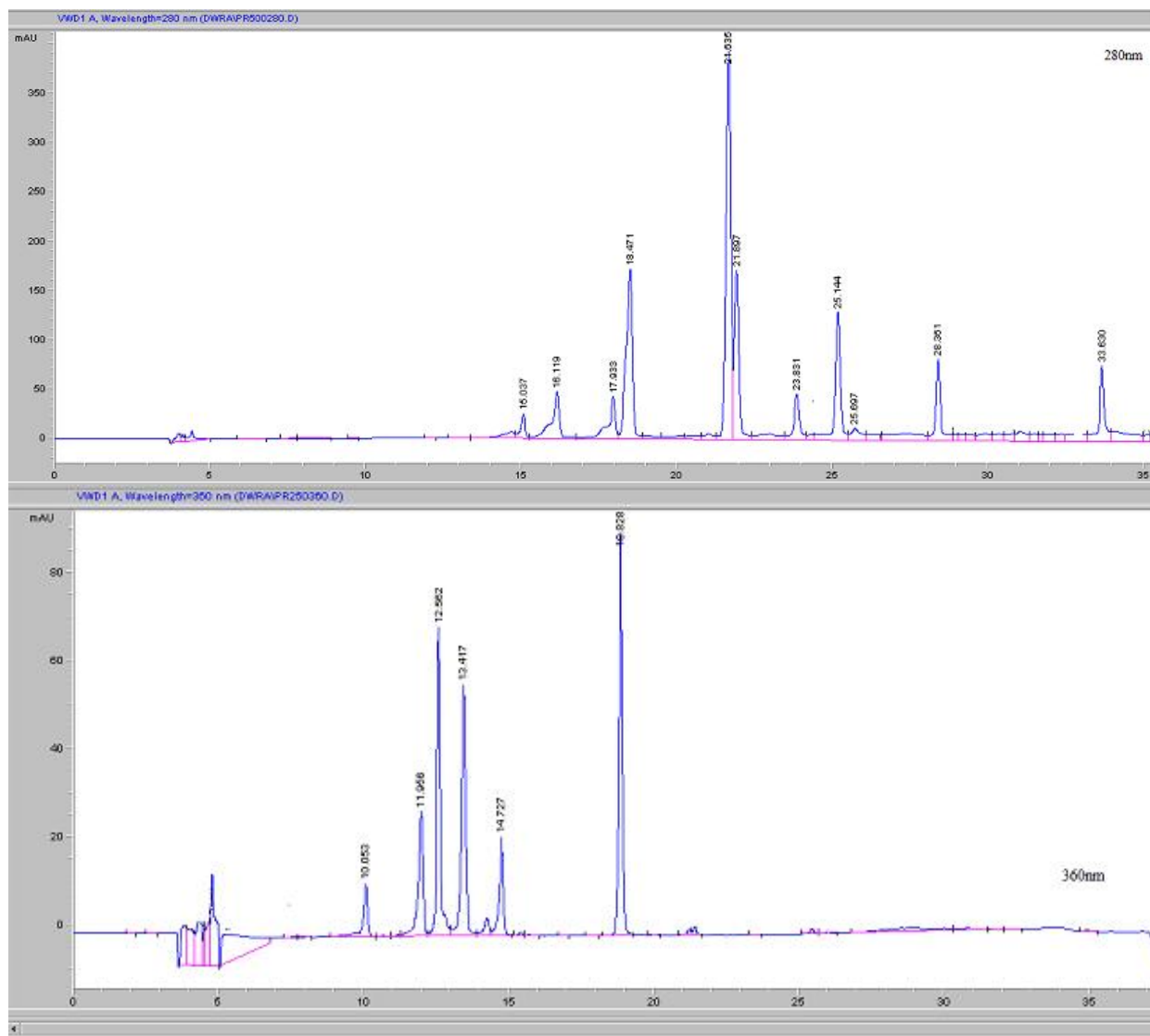
SA 1	κεράσι 2 -24/6/2011 -12:00-πουρές κεράσι απο μηχ.1 πριν προθέρμανση, Burlat.
SA 2	κεράσι 1 -24/6/2011-12:00-δείγμα φρούτου κεράσι, Burlat.
SA 3	κεράσι 2- 6/7/2011- 14:44 -δείγμα απο μηχ. Πριν προθέρμανση κεράσι πουρές, Τραγανά Εδέσσης.
SA 4	κεράσι 4- 24/6/2011- 12:30-πουρές κεράσι απο μηχ.2 προ παστερίωσης μετά προθέρμανση, Burlat.
SA 5	κεράσι 3- 24/6/2011-απόρριμα απο μηχανήμα1 πριν προθέρμανση, Burlat.
SA 6	κεράσι 5-24/6/20122 -12:30 απόρριμα απο μηχ.2, Burlat.
SA 7	κεράσι 6 - 6/7/2011- παστερίωση τελικό πουρές, Τραγανά Εδέσσης.
SA 8	κεράσι 5 -6/7/2011-15:05-δείγμα πουρές κεράσι προπαστερίωση , Τραγανά Εδέσσης.
SA 9	κεράσι 1 -6/7/2011-14:10 -δείγμα φρούτου κεράσι, Τραγανά Εδέσσης.
SA 10	κεράσι 3 -6/7/2011-14:47-απόρριμα μηχανήματος προ παστερίωσης, Τραγανά Εδέσσης.
SA 11	κεράσι 4 -6/7/2011-14:57-δείγμα απόρριμα κερασιού απο μηχ.2, Τραγανά Εδέσσης.
SA 12	κεράσι 6 -24/6/2011-12:30-πουρές κεράσι μετά παστερίωση τελικό προϊόν, Burlat.

3 μ : 3.1.9, 3.1.10., 3.1.11., 3.1.12., 3.1.13., 3.2.3., 3.2.5., 3.2.8., 3.2.10. (.

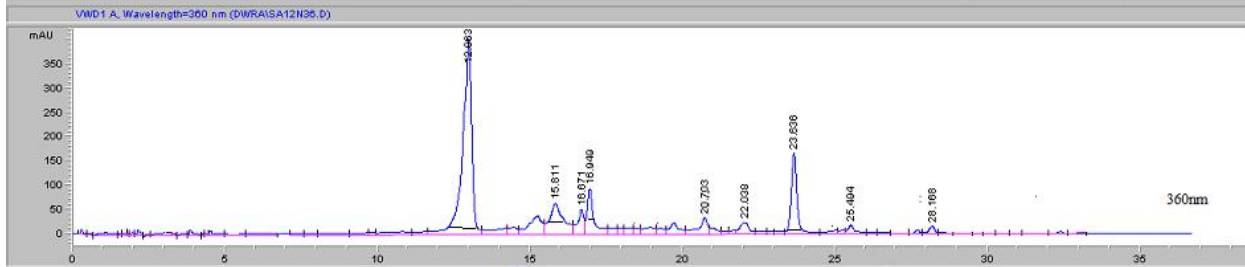
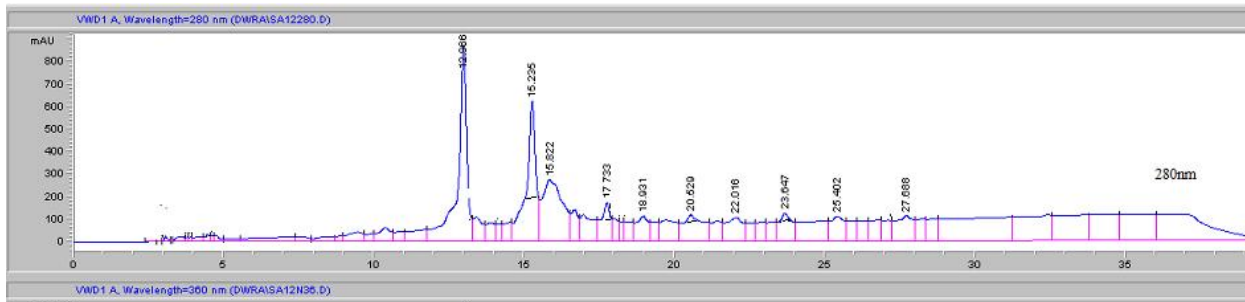
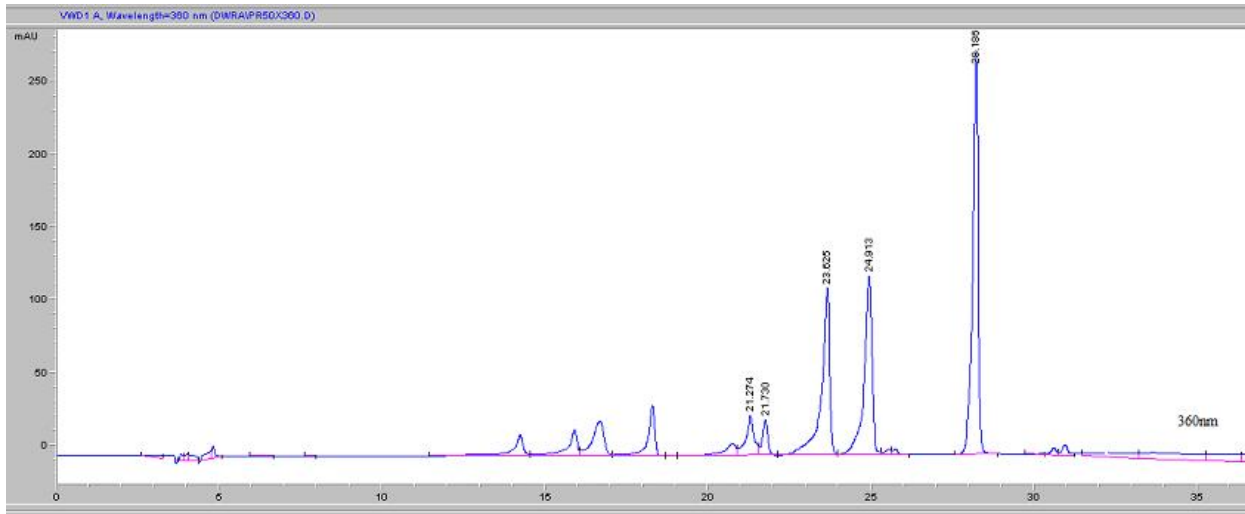
μμ μ «1» « 1» SA2 Burlat.
μ , SA9

1	κεράσι 1	SA9,SA2
2	κεράσι 2	SA1,SA3
3	κεράσι 3	SA10,SA5
4	κεράσι 4	SA4,SA11
5	κεράσι 5	SA6,SA8
6	κεράσι 6	SA12,SA7

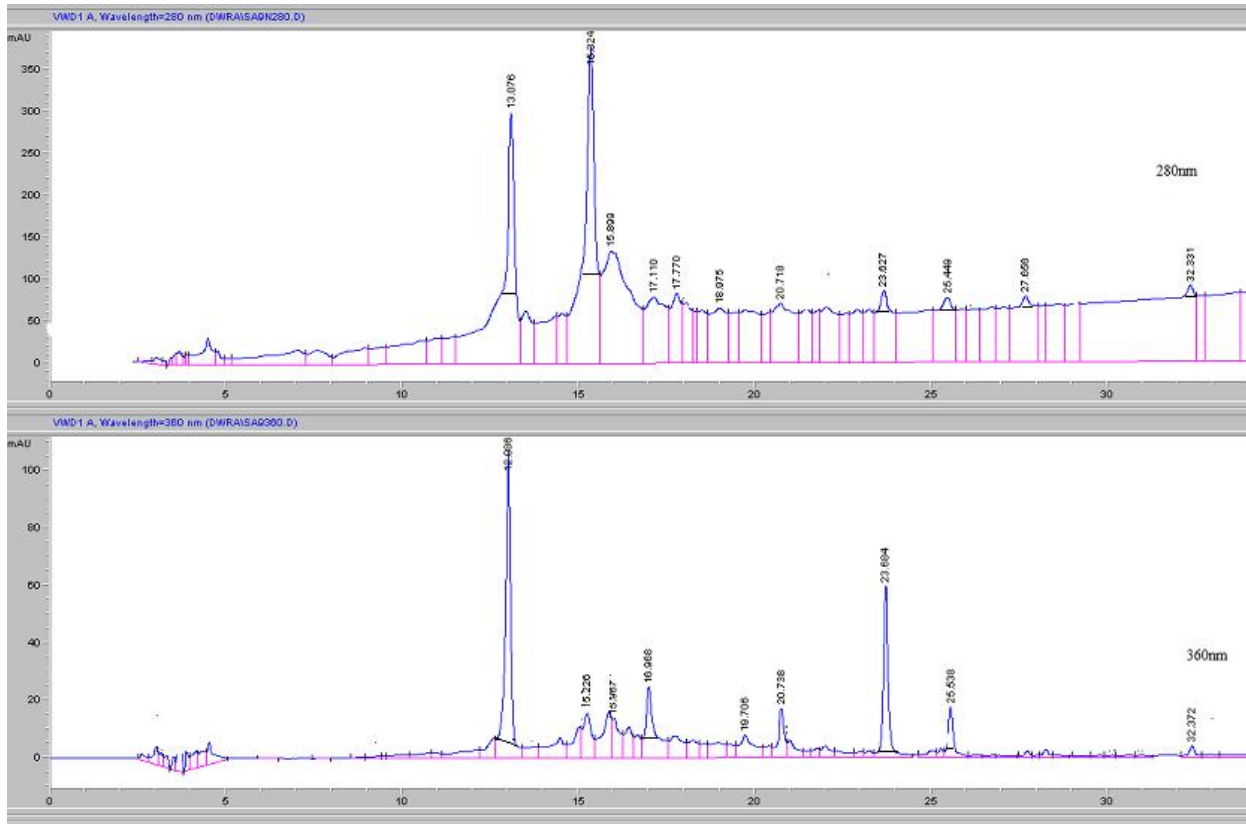
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ



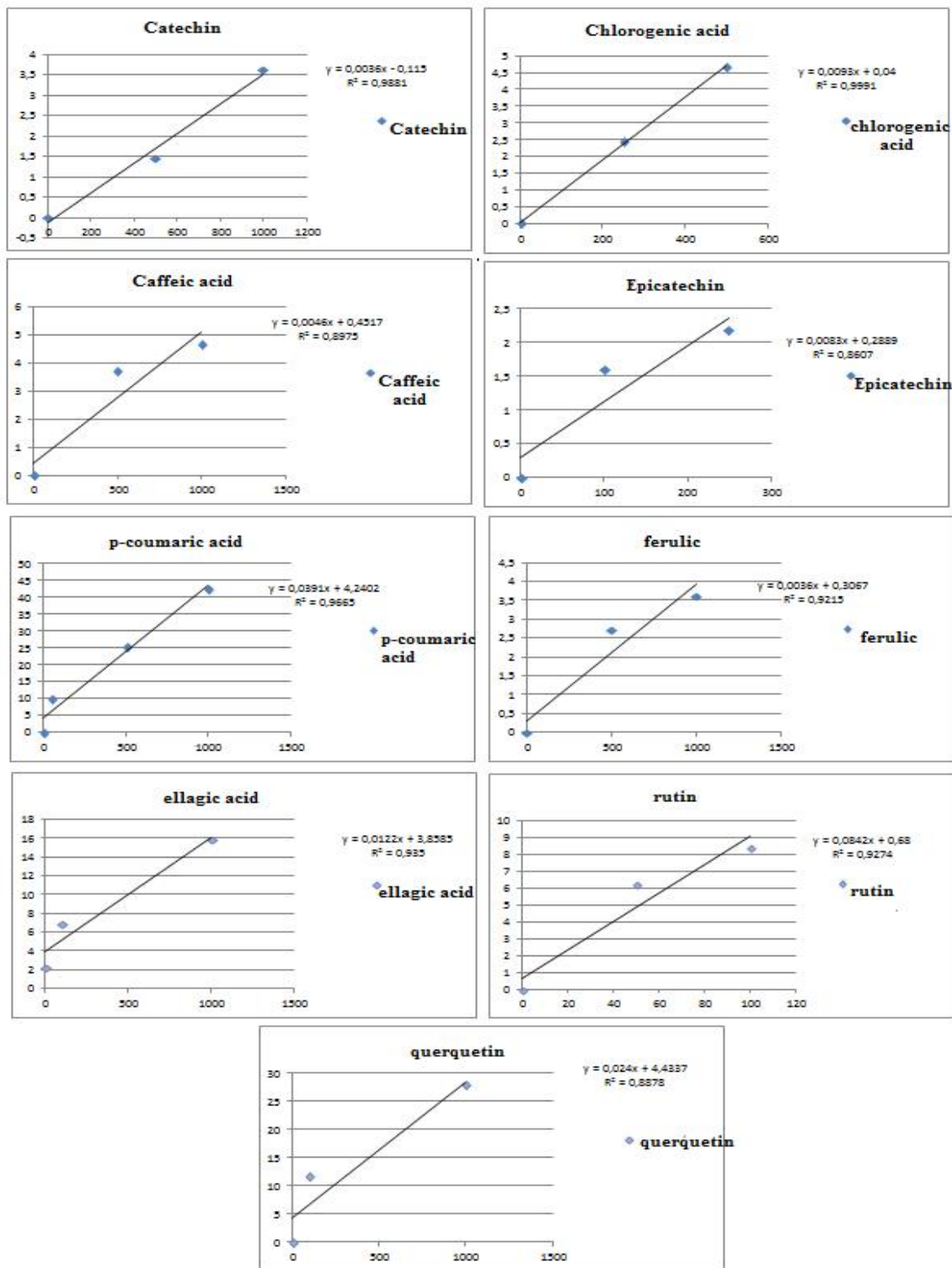
Εικόνα Α. μ μ μ μ
μ 280nm 360nm.



Εικόνα Β. μ μ μ μ
 μ 280nm μ 360nm.



Εικόνα Γ. μ μ 280nm μ 360nm.



Εικόνα Δ. μ

HPLC.

Δείγμα	Απορρόφηση
SA 1	3,64
SA 2	3,7
SA 3	3,62
SA 4	3,66
SA 5	3,64
SA 6	3,65
SA 7	3,72
SA 8	3,65
SA 9	3,67
SA 10	3,63
SA 11	3,66
SA 12	3,63

Εικόνα Ε.α. μ (F-C), μ MeOH μ mg/100g . .

Δείγμα	Απορρόφηση
SA 1	3,69
SA 2	3,76
SA 3	3,64
SA 4	3,73
SA 5	3,66
SA 6	3,71
SA 7	3,71
SA 8	3,66
SA 9	3,69
SA 10	3,65
SA 11	3,67
SA 12	3,72

Εικόνα Ε.β. μ (F-C), μ μ μ μ μ mg/100g . . 2.10, μ

Δείγμα	Απορρόφηση
SA 1	0,47
SA 2	0,5
SA 3	0,5
SA 4	0,53
SA 5	0,51
SA 6	0,52
SA 7	0,51
SA 8	0,48
SA 9	0,46
SA 10	0,49
SA 11	0,52
SA 12	0,52

Εικόνα Ε.γ. μ μ μ (μ μ MeOH, μ mg/100g . .

Δείγμα	Απορρόφηση
SA 1	0,5
SA 2	0,51
SA 3	0,51
SA 4	0,53
SA 5	0,52
SA 6	0,53
SA 7	0,52
SA 8	0,49
SA 9	0,48
SA 10	0,49
SA 11	0,5
SA 12	0,51

Εικόνα Ε.δ. μ μ μ μ μ (μ μ), 2.10, μ mg/100g .

