



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΕΣ
ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΕΜΠΟΡΙΚΩΝ ΧΥΜΩΝ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΟ ΡΟΔΙ



ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ ΣΤΗΝ
ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΖΩΓΡΑΦΟΥ ΕΛΕΝΗ
ΓΕΩΠΙΟΝΟΣ

Ιωάννινα 2016

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ
που εκπονήθηκε στο τμήμα Χημείας
του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

της
ΖΩΓΡΑΦΟΥ ΕΛΕΝΗΣ
ΓΕΩΠΟΝΟΥ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Καθηγητής Δεμερτζής Παναγιώτης -Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων-
Επιβλέπων Καθηγητής
Αναπλ. Καθηγήτρια Ακρίδα-Δεμερτζή Κωνσταντούλα-Πανεπιστήμιο
Ιωαννίνων- Μέλος της εξεταστικής επιτροπής
Καθηγητής Κανδρέλης Σωτήριος -ΤΕΙ Ηπείρου-
Μέλος της εξεταστικής επιτροπής

Η έγκριση της Διατριβής Μεταπτυχιακής Ειδίκευσης από το τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει την αποδοχή των γνωμών της συγγραφέα.

(Ν. 5343/1932, άρθρο 202)

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η ερευνητική αυτή εργασία πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων με σκοπό την απόκτηση Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης, στο διάστημα 2009-2016.

Πρώτα απ' όλα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή μου κ. Δεμερτζή Παναγιώτη, Καθηγητή Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, για την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ με ένα τόσο ενδιαφέρον αντικείμενο, την καθοδήγηση καθώς και την τελική επιμέλεια της διατριβής μου.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω την κα. Ακρίδα-Δεμερτζή Κωνσταντούλα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, για την επιστημονική συνεργασία και τις συμβουλές που μου παρείχε.

Ειδικές ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω στον κ. Καλλιμάνη Αριστείδη, Υπάλληλο ΙΔΑΧ του τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, για την πολύτιμη βοήθειά του καθ' όλη τη διάρκεια της συνεργασίας μας.

Ευχαριστώ επίσης τη Δρ. Σιούτα Γεωργία για τις συμβουλές και τις σωστές παρατηρήσεις της.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της οικογένειάς μου για την αμέριστη υποστήριξη και αγάπη τους.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	1
1. Προέλευση της ροδιάς.....	2
2. Συμβολισμοί και παραδόσεις αναφορικά με τον καρπό της ροδιάς.....	2
3. Καλλιέργεια της ροδιάς.....	4
3.1 Κλίμα – Έδαφος.....	4
3.2 Πολλαπλασιασμός.....	4
3.3 Φύτευση.....	5
3.4 Καλλιεργητικές φροντίδες.....	5
3.4.1 Λίπανση.....	5
3.4.2 Άρδευση.....	6
3.4.3 Κλάδεμα.....	6
3.4.4 Αντιμετώπιση των ζιζανίων.....	8
3.4.5 Αραίωμα των ανθέων και των καρπών.....	8
4. Μορφολογία της ροδιάς.....	9
5. Οι ποικιλίες της ροδιάς.....	12
5.1 Εγχώριες ποικιλίες.....	13
6. Παγκόσμια και εγχώρια παραγωγή ροδιάς.....	16
7. Παράγωγα προϊόντα ροδιού.....	17
8. Παραγωγή χυμού ροδιού.....	18
8.1 Παρασκευή φυσικού χυμού ροδιού.....	18
8.2. Παρασκευή συμπυκνωμένου χυμού ροδιού.....	20
9. Σύσταση χυμού ροδιού.....	21
9.1 Φαινολικές ουσίες.....	21
9.1.1 Φλαβονοειδή.....	22
9.1.1.1 Ανθοκυανίνες.....	22
9.1.1.2 Φλαβονόλες.....	24
9.1.1.3 Φλαβανόλες.....	25
9.1.2 Τανίνες.....	26
9.1.3 Φαινολικά οξέα.....	29
9.1.4 Λιγνάνες.....	31
9.2 Οργανικά οξέα.....	34
9.3 Σάκχαρα.....	35

9.4	Βιταμίνη C.....	36
9.5	Αμινοξέα.....	36
9.6	Ανόργανα συστατικά	37
10	Ευεργετικές ιδιότητες του χυμού ροδιού.....	38
10.1	Αντιοξειδωτική δράση.....	39
10.2	Αντιβακτηριακή δράση.....	40
10.3	Καρδιαγγειακές παθήσεις.....	40
10.4	Αντιφλεγμονώδης δράση.....	41
10.5	Αντικαρκινική δράση.....	41
10.6	Αντιδιαβητική δράση.....	41
11	Προσδιορισμός ολικών φαινολών - Μέθοδος Folin-Ciocalteu.....	42
12	Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης - Μέθοδος DPPH ⁺	43
13	Εκχύλιση πτητικών συστατικών - Μέθοδος μικροεκχύλισης στερεάς φάσης.....	44
14	Ταυτοποίηση πτητικών συστατικών με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας (GC-MS).....	47
15	Παθογόνοι μικροοργανισμοί.....	50
15.1	<i>Escherichia coli</i>	50
15.2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	51
15.3	<i>Staphylococcus aureus</i>	52
15.4	<i>Listeria monocytogenes</i>	53
	ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ.....	55
	B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	56
1.	Υλικά.....	57
2.	Μέθοδοι.....	58
2.1	Προσδιορισμός ολικών φαινολικών ουσιών.....	58
2.2	Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης.....	59
2.3	Προσδιορισμός αντιβακτηριακής ιδιότητας.....	59
2.4	Ταυτοποίηση και ημιποσοτικός προσδιορισμός πτητικών ουσιών.....	60
	Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	62
	Δ. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	89
	Ε. ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	91
	ΣΤ. ABSTRACT.....	92
	Z. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	93

A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Προέλευση της ροδιάς

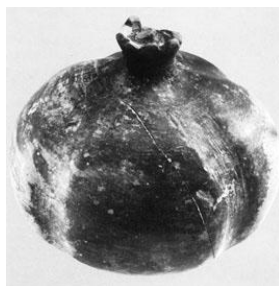
Η ροδιά θεωρείται ότι προέρχεται από την περιοχή που εκτείνεται από το Ιράν μέχρι τη βόρεια Ινδία (Stover and Mercure 2007). Από εκεί η καλλιέργειά της εξαπλώθηκε και σε άλλα μέρη καθώς ο άνθρωπος ταξίδευε από τα προϊστορικά ακόμη χρόνια. Ως συνέπεια η ροδιά προσαρμόστηκε σε εδάφη με διαφορετικές κλιματολογικές συνθήκες αφού τώρα μπορεί να καλλιεργηθεί σε τροπικά, υποτροπικά, εύκρατα κλίματα καθώς επίσης και σε λοφώδη και ορεινά μέρη με 1800 μέτρα υψόμετρα (Jalikor 2010). Για του λόγου το αληθές εμπορικοί οπωρώνες ροδιάς εντοπίζονται σε χώρες της Μεσογείου (Ελλάδα, Ιταλία, Ισπανία, Λίβανος, Συρία, Ισραήλ και Αίγυπτος), της Ασίας (Τουρκία, Ιράν, Ιράκ, Τουρκμενιστάν, Γεωργία, Ινδία, Κίνα και Ταϊλάνδη), στις ΗΠΑ (Καλιφόρνια και Αριζόνα), στην Αργεντινή, στη Βραζιλία, στην Αυστραλία καθώς και στη Νότια Αφρική (Schwartz et al. 2009).

2. Συμβολισμοί και παραδόσεις αναφορικά με τον καρπό της ροδιάς

Καθώς το ρόδι γινόταν γνωστό στους διάφορους πολιτισμούς, απέκτησε διάφορες ονομασίες και συμβολισμούς κυρίως λόγω της μορφολογίας του. Η σημερινή επιστημονική ονομασία της ροδιάς είναι *Punica granatum*. Η λατινική λέξη Punica είναι το θηλυκό όνομα της λέξης runic (πληθυσμιακό τμήμα των Φοινίκων που ανέπτυξαν τον πρώτο πολιτισμό στην Καρχηδόνα της Τυνησίας) ενώ η λατινική λέξη granatum δηλώνει φρούτο με πολλά σπόρια. Το όνομα αυτό προήλθε από το Malum punicum δηλαδή “μήλο της Καρχηδόνας” που είναι η ονομασία που απέδιδαν οι αρχαίοι Ρωμαίοι στο ρόδι. Στην εβραϊκή και στην αραβική γλώσσα το ρόδι ονομαζόταν rimmon και rumman αντίστοιχα και σήμαινε “φρούτο του παραδείσου” (Stover and Mercure 2007). Κατά την εβραϊκή παράδοση σπόρια ροδιού στόλιζαν τα άμφια των ιερέων συμβολίζοντας τον αριθμό των αρετών που πρέπει να κατέχει ο άνθρωπος. Οι Βαβυλώνιοι θεωρούσαν τα σπόρια του ροδιού ως παράγοντα νεκρανάστασης και οι αρχαίοι Κινέζοι ως παράγοντα μακροζωίας και αθανασίας (Lansky 2000). Ομοίως οι Πέρσες πίστευαν ότι τα σπόρια του ροδιού θα τους καθιστούσαν αήττητους στις μάχες και για το λόγο αυτό ο βασιλιάς Ξέρξης το 480 π.Χ. κατά τη διάρκεια της εκστρατείας εναντίον της Ελλάδος διέταξε να στολιστούν οι

ξιφολόγες των στρατιωτών του με σπόρια ροδιού (Stover and Mercure 2007). Στη Μέση Ανατολή, την Κεντρική Ασία και την Ινδία ονόμαζαν το ρόδι *anar* και στην Αίγυπτο *arhumani* και συμβόλιζε την ευημερία (Mars 2000).

Στην Ελλάδα υπάρχουν αναφορές σχετικές με το ρόδι από την αρχαιότητα. Συγκεκριμένα σε αρχαία ελληνικά κείμενα, η ροδιά αναφέρεται ως ρόα ή ροία ενώ ο Όμηρος την αναφέρει ως *αγλαόκαρπο* που σημαίνει το δένδρο που κάνει *αγλαούς*, δηλαδή στιλπνούς, ωραίους καρπούς, εύγευστους και θρεπτικούς (Γάτσιος 2010). Στην ελληνική μυθολογία αλλά και αυτή άλλων λαών, το ρόδι συνδέεται με τη γονιμότητα εξαιτίας της πληθώρας των σπόρων του (Horowitz 2006). Στη γιορτή των Θεσμοφορίων προς τιμή της θεάς Δήμητρας, οι γυναίκες έτρωγαν σπόρους ροδιού για να έχουν γονιμότητα. Για το λόγο αυτό οι αρχαίοι Έλληνες συνέδεσαν αυτό τον καρπό με τη θεά Δήμητρα (θεά της γονιμότητας) αλλά και τη θεά Ήρα (θεά του γάμου) που είχε ως σύμβολό της το ρόδι (Εικόνα 1). Ακόμη ως σύμβολο αφθονίας παρατηρούνταν σε τάφους της άρχουσας τάξης αφιερώματα ομοιωμάτων ροδιού.



Εικόνα 1. Σάμος, Ηραίο (ναός προς τιμή της θεάς Ήρας), πήλινο ομοίωμα ροδιού, τέλη 8ου αιώνα π.Χ. (www.archaiologia.gr)

Μια ακόμη θεότητα που συνδέεται με το ρόδι είναι και η θεά Αφροδίτη αφού λέγεται ότι αυτή φύτεψε την πρώτη ροδιά στην Κύπρο (Γάτσιος 2010). Το ρόδι συνδέονταν κατά μία έννοια και με το θάνατο αφού θεωρούταν το φρούτο των νεκρών. Μάλιστα κατά την ελληνική μυθολογία ο θεός Άδης ξεγέλασε την Περσεφόνη αναγκάζοντάς τη να παραμείνει στον κάτω κόσμο για έξι μήνες δίνοντάς της να φάει έξι σπόρους ροδιού (Stover and Mercure 2007).

Στη σύγχρονη εποχή το ρόδι εξακολουθεί να έχει σημαίνουσα έννοια για τους Έλληνες συμβάλλοντας στη λαϊκή παράδοση ως σύμβολο καλοτυχίας, ευημερίας αλλά και στη μνημόνευση των νεκρών. Την Πρωτοχρονιά αλλά και σε γάμους σπάμε ένα ρόδι προσμένοντας καλοτυχία, ευημερία και αφθονία. Επιπλέον το ρόδι είναι συστατικό στα κόλλυβα και συμβολίζει την αναγέννηση του ανθρώπου.

3. Καλλιέργεια της ροδιάς

3.1 Κλίμα - Έδαφος

Η ροδιά έχει μοναδική ικανότητα προσαρμογής και ανάπτυξης σε περιοχές με διαφορετικά μικροκλίματα, γεγονός που σχετίζεται με το ότι αντέχει σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες από 40°C και χαμηλές μέχρι -12°C.

Το ιδανικό κλίμα για την καλλιέργεια της ροδιάς είναι το μεσογειακό κλίμα. Η ροδιά ευδοκίμει σε περιοχές με χαρακτηριστικά τον ήπιο χειμώνα και το μακρύ, ζεστό και ξηρό καλοκαίρι (Schwartz et al. 2009). Οι υψηλές θερμοκρασίες του καλοκαιριού ευνοούν την ωρίμανση των καρπών της και το σχηματισμό καλών ποιοτικών χαρακτηριστικών. Ωστόσο η μεγάλη ηλιοφάνεια μπορεί να οδηγήσει σε σκλήρυνση και νέκρωση της φλούδας (μαύρισμα) του καρπού. Το πρόβλημα αντιμετωπίζεται με δέσιμο των κλαδιών της ροδιάς με τέτοιο τρόπο ώστε να σκιάζονται οι καρποί (Κώστα 2013).

Όσον αφορά το έδαφος η ροδιά παρουσιάζει μεγάλη ανεκτικότητα, όμως καλύτερες αποδόσεις παρατηρούνται σε εδάφη μέσης σύστασης (πηλώδη, αμμοπηλώδη και ελαφρά αργιλοπηλώδη) βαθιά, γόνιμα, αρδευόμενα και με ικανοποιητική ποσότητα σε οργανικά συστατικά όπου το pH κυμαίνεται μεταξύ 5.5-7.0 (Γάτσιος 2010). Σε ελαφρά αμμώδη εδάφη η παραγωγή της ροδιάς είναι μικρή, ενώ σε βαριά πηλώδη εδάφη ο καρπός δεν χρωματίζεται ικανοποιητικά (Δρογούδη 2007).

3.2 Πολλαπλασιασμός

Η ροδιά μπορεί να πολλαπλασιαστεί εγγενώς και αγενώς. Στον πρώτο τρόπο πολλαπλασιασμού χρησιμοποιούνται σπόροι που προέρχονται από καλοσχηματισμένους καρπούς ροδιάς που έχουν ωριμάσει πλήρως. Ωστόσο τα φυτά που προκύπτουν, διαφέρουν ως προς τα χαρακτηριστικά τους σε σχέση με τα μητρικά, γι' αυτό και εμβολιάζονται με την κατάλληλη ποικιλία. Το φαινόμενο αυτό δεν παρατηρείται στον αγενή πολλαπλασιασμό. Η μέθοδος αυτή θεωρείται η πιο διαδεδομένη και πραγματοποιείται με τη χρήση ξυλοποιημένων μοσχευμάτων ή παραφυάδων το χειμώνα ή με φυλλώδη μοσχεύματα το καλοκαίρι (Γάτσιος 2010).

3.3 Φύτευση

Πριν τη φύτευση των δενδρυλλίων προηγείται το όργωμα, η βασική λίπανση, η σήμανση των θέσεων φύτευσης και το άνοιγμα των λάκκων. Η καλύτερη εποχή για τη φύτευση των νέων δενδρυλλίων είναι το διάστημα μεταξύ του τέλους του χειμώνα και αρχές της άνοιξης. Όμως αυτή μπορεί να μεταβληθεί ανάλογα αν τα φυτά προέρχονται από ξυλοποιημένα ή φυλλώδη μοσχεύματα. Στην πρώτη περίπτωση η κατάλληλη εποχή είναι το φθινόπωρο ή τέλος χειμώνα-αρχές της άνοιξης και χρησιμοποιούνται γυμνόριζα φυτά ενώ στη δεύτερη περίπτωση η φύτευση γίνεται κατά το Νοέμβριο ή στις αρχές της άνοιξης με δενδρύλλια με μπάλα χώματος (Κώστα 2013). Σε κάθε περίπτωση συνιστάται τα δενδρύλλια να έχουν ηλικία δύο ετών γιατί τότε παρατηρούνται καλύτερα αποτελέσματα ανάπτυξης.

Η φύτευση μπορεί να γίνει ακολουθώντας το σχήμα τετραγώνου ή το ορθογώνιο σχήμα. Οι αποστάσεις φύτευσης μεταξύ των δενδρυλλίων εξαρτώνται από την περιοχή, τον τύπο του εδάφους και τον τρόπο καλλιέργειας και ποικίλλει ανάλογα από το αν θα αναπτυχθούν ως θάμνοι ή δέντρα και από το σύστημα φύτευσης (Γάτσιος 2010). Συγκεκριμένα για θάμνο οι αποστάσεις φύτευσης μεταξύ των δενδρυλλίων είναι 3x4 ή 4x4 μέτρα ενώ για δέντρο 4x5 μέτρα (Κώστα 2013).

3.4 Καλλιεργητικές φροντίδες

Για τη διατήρηση της υγιεινής κατάστασης του οπωρώνα σε ικανοποιητικά επίπεδα ακολουθούνται ορισμένες πρακτικές όπως η λίπανση, η άρδευση, το κλάδεμα, η αντιμετώπιση των ζιζανίων και το αραίωμα των καρπών.

3.4.1 Λίπανση

Πριν τη φύτευση των δενδρυλλίων καθοριστική σημασία για τις ανάγκες των φυτών σε θρεπτικά συστατικά έχει η χημική ανάλυση του εδάφους. Αυτή καθορίζει την κοκκομετρική δομή του εδάφους και την περιεκτικότητά του σε θρεπτικά συστατικά ώστε να οριστεί η ανάγκη για λίπανση. Η λίπανση της ροδιάς γίνεται με τη χρήση αζώτου, φωσφόρου και καλίου αλλά και ιχνοστοιχείων όπως ο σίδηρος, ο ψευδάργυρος, το θείο, ο χαλκός, το μαγνήσιο, το ασβέστιο, το μαγγάνιο κ.α.

Το άζωτο αποτελεί βασικό συστατικό στη λίπανση της ροδιάς. Όμως υπερβολική ποσότητα αζώτου προκαλεί αυξημένη βλάστηση και μπορεί να καθυστερήσει την καρποφορία του φυτού, να παρατηρηθεί σκίσιμο των καρπών ή και καρπόπτωση. Αρνητικά αποτελέσματα προκαλεί και η έλλειψη του αζώτου. Ο φωσφόρος συμβάλλει

στην ανάπτυξη και στην ωρίμανση των καρπών και το κάλιο ευνοεί την καλή ποιότητά τους (Γάτσιος 2010).

Τα νεαρά φυτά ανάλογα με την ηλικία τους και μέχρι να έρθουν σε παραγωγή (από τον 4^ο χρόνο και μετά) πρέπει να λιπαίνονται με 80-150 g αζώτου ανά έτος. Τον πρώτο χρόνο η λίπανση πρέπει να γίνεται σε 3-4 δόσεις μαζί με τα ποτίσματα, ενώ τα επόμενα 2 χρόνια η λίπανση πρέπει να γίνεται σε 2-3 δόσεις. Τα παραγωγικά δένδρα μετά το 5^ο έτος χρειάζονται 200-400 g αζώτου ανά έτος. Η λίπανση με κάλιο και φωσφόρο καλύτερα να γίνεται κάθε 2-3 χρόνια με 150-200 g ανά δέντρο (Δρογούδη 2007).

3.4.2 Άρδευση

Η ροδιά για να αναπτυχθεί και να έχει καλές αποδόσεις πρέπει να αρδεύεται σε κανονικά χρονικά διαστήματα, ειδικότερα την περίοδο του καλοκαιριού. Αν και επιδεικνύει καλή αντοχή στις υψηλές θερμοκρασίες, για να αποφευχθεί πιθανή ποιοτική υποβάθμιση των καρπών, καλά είναι οι αρδεύσεις να γίνονται ομοιόμορφα κυρίως κατά την περίοδο της άνθησης και της ωρίμανσης των καρπών.

Αρνητικές επιδράσεις στην ποιότητα των καρπών έχει μια βροχόπτωση ή το πότισμα του οπωρώνα μετά από περίοδο ξηρασίας γιατί παρατηρείται έντονη διαπνοή των φύλλων τα οποία απορροφούν νερό από τους καρπούς (Κώστα 2013).

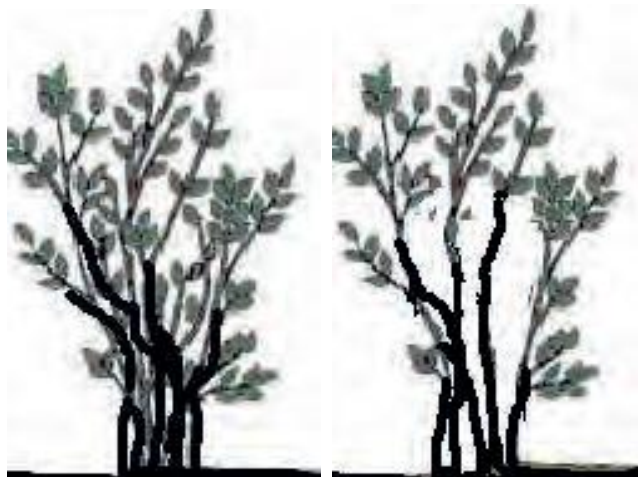
Οι ανάγκες της ροδιάς σε νερό εξαρτώνται από το έδαφος, το κλίμα της περιοχής, την ποικιλία της ροδιάς κ.α.

3.4.3 Κλάδεμα

Η ροδιά καθώς αναπτύσσεται τείνει να παίρνει τη μορφή του θάμνου. Όμως αν κλαδευτεί σωστά μπορεί να διαμορφωθεί και σε δέντρο. Υπάρχουν δύο είδη κλαδέματος, το κλάδεμα σχηματισμού που εφαρμόζεται σε νεαρά φυτά και το κλάδεμα καρποφορίας που εφαρμόζεται σε παραγωγικά φυτά.

Το κλάδεμα σχηματισμού στοχεύει στην παρεμπόδιση της ανεξέλεκτης ανάπτυξης της ροδιάς που θα οδηγούσε σε αρνητικές συνέπειες για την καρποφορία και δίνει σχήμα στο φυτό. Πραγματοποιείται το χειμώνα του πρώτου ή δεύτερου έτους φύτευσης και συνίσταται στην απομάκρυνση των παραφυάδων, των “λαίμαργων” βλαστών, των βλαστών που δεν έχουν σωστή θέση, παλιών βλασταριών καθώς και κλαδιών που είναι ξηρά ή μη εύρωστα. Η μορφή του θάμνου (Εικόνα 2) είναι η πιο συνηθισμένη σε συστηματικές καλλιέργειες ροδιάς. Πλεονεκτεί συγκριτικά με το δέντρο γιατί καρποφορεί γρηγορότερα και εξοικονομείται χρόνος από το κλάδεμα. Όμως δυσχεραίνονται

ορισμένες καλλιεργητικές εργασίες όπως η κοπή των παραφυάδων γιατί τα φυτά τείνουν να αναπτύσσουν πολλούς βλαστούς στην εσωτερική πλευρά. Ωστόσο η καλλιέργεια της ροδιάς σε μορφή θάμνου εμφανίζει μικρότερο κόστος παραγωγής. Για το σχηματισμό του επιλέγονται από το νεαρό φυτό 3-5 βραχίονες με ομοιόμορφη κλίση που θα αποτελούν τη βάση παίρνοντας τη μορφή του “κυπέλλου”.



Εικόνα 2. Εικόνα δενδρυλλίου ροδιάς πριν (αριστερά) και μετά (δεξιά) το κλάδεμα για το μελλοντικό σχηματισμό του σε θάμνο (www.e-rodigr).

Η διαμόρφωση των δενδρυλλίων της ροδιάς σε δέντρο έχει μεγαλύτερο κόστος παραγωγής λόγω περισσότερης εργασίας στο κλάδεμα και τη συγκομιδή των καρπών. Αντίθετα, στο δέντρο διευκολύνεται η απομάκρυνση των παραφυάδων και η αντιμετώπιση των ζιζανίων. Σε αυτή την περίπτωση χρησιμοποιούνται 1-2 κορμοί που στο δεύτερο χρόνο κλαδεύονται με τρόπο ώστε να διατηρηθούν πάνω σε αυτούς 3-5 βραχίονες παίρνοντας τη μορφή του “βάζου” (Γάτσιος 2010, Δρογούδη και συν. 2012, Κώστα 2013).

Το κλάδεμα καρποφορίας στοχεύει στον καλύτερο φωτισμό και αερισμό του φυτού, στη διατήρηση του σχήματος του φυτού και στην απομάκρυνση των παλιών βλαστών ώστε να αναπτυχθούν νέοι καρποφόροι βλαστοί. Πραγματοποιείται κάθε χρόνο κατά τη χειμερινή περίοδο όπου απομακρύνονται οι “λαίμαργοι” βλαστοί και οι παραφυάδες, τα εσωτερικά πολύ πυκνά κλαδιά, τα ξερά κλαδιά και οι βλαστοί καθώς επίσης κλαδεύονται και τα πολύ μακριά κλαδιά (Κώστα 2013).

3.4.4 Αντιμετώπιση των ζιζανίων

Τα πρώτα χρόνια φύτευσης, τα ζιζάνια ανταγωνίζονται τις καλλιέργειες της ροδιάς για το χώρο, το νερό και τα θρεπτικά στοιχεία του εδάφους. Αντιμετωπίζονται πριν τη φύτευση των δενδρυλλίων με εδαφοκάλυψη, μηχανικά μέσα ή χρήση ζιζανιοκτόνων (Γάτσιος 2010). Στη χώρα μας δεν κυκλοφορούν εγκεκριμένα ζιζανιοκτόνα για τις καλλιέργειες της ροδιάς.

3.4.5 Αραιώμα των ανθέων και των καρπών

Τα άνθη καλό είναι να αφαιρούνται κατά τη διάρκεια των πρώτων δύο ετών της ανάπτυξης των δένδρων.

Οι καρποί συστήνεται να αραιώνονται όταν ακουμπούν μεταξύ τους, ενώ επιδιώκεται η καλή διασπορά τους στο φυτό. Εάν τα φρούτα αγγίζουν το ένα το άλλο, στο σημείο της επαφής δημιουργούνται ευνοϊκές συνθήκες για την ανάπτυξη εντόμων. Μικρά κλαδιά που θα μπορούσαν να τραυματίσουν τους καρπούς θα πρέπει να αφαιρούνται. Τέλος οι καρποί που προέρχονται από πολύ όψιμα άνθη καλό είναι να αφαιρούνται γιατί γίνονται μικρότεροι σε μέγεθος ή δεν προλαβαίνουν να ωριμάσουν (Δρογούδη και συν. 2012).

4. Μορφολογία της ροδιάς

Η ροδιά (*Punica granatum*) ανήκει στην οικογένεια των Πουνικιδών (*Punicaceae*) και στην τάξη Μυρτώδη (*Myrtales*) (Stover and Mercure 2007).



Η ροδιά αναπτύσσεται ως θάμνος ή μικρό δέντρο και μπορεί να φθάσει σε ύψος τα 4-6 μέτρα (Stover and Mercure 2007). Ο κορμός καλύπτεται από έναν κοκκινωπό φλοιό, ο οποίος αργότερα γίνεται γκρίζος. Αρχίζει να καρποφορεί από τον 3^ο-4^ο χρόνο, η μέγιστη παραγωγή επιτυγχάνεται στον 7ο χρόνο και η παραγωγική ζωή της διαρκεί 40 έως 50 χρόνια (Δρογούδη και συν. 2012).

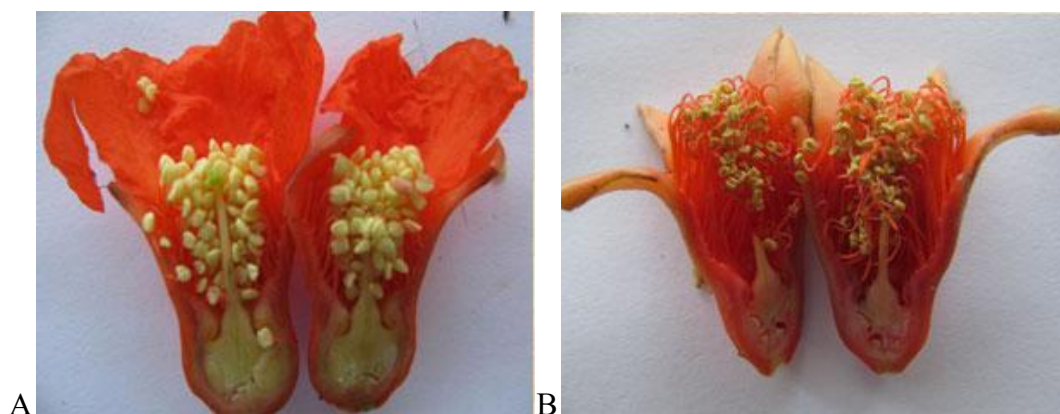
Τα **φύλλα** της ροδιάς είναι μικρά, λεία και έχουν λογχοειδές σχήμα. Το χρώμα τους είναι σκούρο πράσινο και έχουν αντίθετη διάταξη (Γάτσιος 2010). Οι περισσότερες ποικιλίες ροδιάς είναι φυλλοβόλες, υπάρχουν όμως και αείφυλλες (Δρογούδη και συν. 2012).



Η ανθοφορία της ροδιάς παρατηρείται την περίοδο μεταξύ Μαρτίου-Απριλίου και Ιουλίου-Αυγούστου και διαρκεί για 10-12 εβδομάδες ανάλογα με την ποικιλία και τις γεωγραφικές συνθήκες (Mars 2000).

Η ροδιά έχει τρία είδη **ανθέων**, τα αρσενικά, τα ερμαφρόδιτα και έναν ενδιάμεσο τύπο. Τα ερμαφρόδιτα άνθη είναι μεγάλου μεγέθους, κυλινδρικά στη βάση τους, έχουν κανονική ωθήκη και μπορούν να γονιμοποιηθούν και να δώσουν καρπό. Τα αρσενικά άνθη είναι μικρότερου μεγέθους, κωνικά στη βάση τους με βραχείς στύλους, έχουν ατροφικές ωθήκες και είναι άγονα (Εικόνα 3). Ο ενδιάμεσος τύπος ανθέων έχει μικρότερο ποσοστό καρπόδεσης σε σύγκριση με τα ερμαφρόδιτα.

Στη ροδιά αναπτύσσονται και άγονα και γόνιμα άνθη, με τον αριθμό των άγονων να υπερτερούν έναντι των γόνιμων ανθέων. Το ύψος της παραγωγής καθορίζεται από την αναλογία ερμαφρόδιτων προς αρσενικά άνθη. Η αναλογία αυτή διαφοροποιείται ανάλογα με την ποικιλία αλλά και από χρονιά σε χρονιά (Δρογούδη και συν. 2012).



Εικόνα 3. Γόνιμα (A) και άγονα (B) άνθη ροδιάς (www.e-rodigr).

Το χρώμα των ανθέων εξαρτάται από την ποικιλία και μπορεί να είναι λευκό, κόκκινο ή κίτρινο-άσπρο. (Δρογούδη και συν. 2012). Το πιο συνηθισμένο χρώμα είναι το κόκκινο ή το κόκκινο-πορτοκαλί (Stover and Mercure 2007).

Ο **καρπός** της ροδιάς (Εικόνα 4) αναπτύσσεται από την ωθήκη του άνθους και είναι σαρκώδης ράγα. Το σχήμα του είναι σφαιρικό ή εξαγωνικό με υπερυψωμένο κάλυκα (κορώνα). Το βάρος του κυμαίνεται μεταξύ 150 και 800 g, διαμέτρου 7-12 cm. Η φλούδα (rind) του ροδιού είναι δερματώδης και το πάχος της εξαρτάται από την ποικιλία του ροδιού. Εσωτερικά της φλούδας βρίσκεται το μεσοκάρπιο (albedo) που είναι σπογγώδης λεπτός ιστός πάνω στον οποίο προσφύονται τα σπέρματα (Δρογούδη και συν. 2012). Τα σπέρματα περικλείονται σε σπόρους (arils) και είναι σκληρά ή ημισκληρά ανάλογα την

ποικιλία. Οι σπόροι περιέχουν χυμό ερυθρού, ρόδινου ή λευκοκίτρινου χρώματος με γλυκιά, υπόξινη ή στυφή γεύση. Οι σπόροι χωρίζονται σε ομάδες με λεπτές μεμβράνες λευκού ή υποκίτρινου χρώματος. Το εδώδιμο μέρος του καρπού είναι οι σπόροι ενώ οι εσωτερικές μεμβράνες και η φλούδα δεν καταναλώνονται λόγω της στυφής τους γεύσης που δικαιολογείται από τη μεγάλη περιεκτικότητα σε τανίνες (Γάτσιος 2010). Ο χυμός αποτελεί περίπου το 30-40% του συνολικού βάρους του ροδιού (Medjakovic and Jungbauer 2013). Βέβαια το ποσοστό αυτό εξαρτάται από την ποικιλία της ροδιάς και τις γεωγραφικές συνθήκες καλλιέργειας του φυτού.



Εικόνα 4. Τα μέρη του ροδιού (www.pomwonderful.com).

5. Οι ποικιλίες της ροδιάς

Οι ποικιλίες της ροδιάς διακρίνονται σε εδώδιμες ποικιλίες που προορίζονται για την παραγωγή καρπών και σε καλλωπιστικές ποικιλίες με σκοπό την παραγωγή ανθέων. Με τη σειρά τους οι εδώδιμες ποικιλίες χωρίζονται σε γλυκές, ημίγλυκες και ξινές ποικιλίες ανάλογα με την περιεκτικότητά τους σε οξέα. Στις γλυκές ποικιλίες η περιεκτικότητα σε οξέα είναι μικρότερη του 0,9%, στις ημίγλυκες κυμαίνεται μεταξύ 0,9-1,8% ενώ στις ξινές ποικιλίες ξεπερνά το 1,8% (Γάτσιος 2010). Άλλη διάκριση μεταξύ των ποικιλιών είναι σε πρώιμες, ενδιάμεσες και όψιμες ποικιλίες, σε ποικιλίες με μαλακό και σκληρό σπέρμα και σε ποικιλίες που προορίζονται για χυμοποίηση ή επιτραπέζια χρήση (Mars 2000).

Παγκοσμίως έχουν αναγνωριστεί και ονομαστεί περισσότερες από 500 ποικιλίες ροδιάς. Είναι πιθανόν η ίδια ποικιλία να έχει διαφορετικό όνομα σε διαφορετικές περιοχές λαμβάνοντας υπόψη την πιθανή αλλαγή των χαρακτηριστικών κάτω από διαφορετικές κλιματολογικές συνθήκες καλλιέργειας (Stover and Mercure 2007). Συνήθως το όνομα προκύπτει από το όνομα της περιοχής στην οποία καλλιεργείται ή από το χρώμα του καρπού (Mars 2000).

Οι περισσότερες ποικιλίες ροδιάς που καλλιεργούνται σήμερα παγκοσμίως έχουν προέλθει από τυχαία σπορόφυτα ή μεταλλάξεις και σε μερικές μόνο περιπτώσεις από διασταυρώσεις (π.χ. Ισραήλ, Ινδία, Ισπανία). Οι επιλογές των τοπικών ποικιλιών μέχρι τώρα γίνονταν με βάση τις προτιμήσεις των τοπικών πληθυσμών, ωστόσο η μεγάλη ανάγκη προώθησης των εξαγωγών οδήγησε τους παραγωγούς στην αναθεώρηση των κριτηρίων σχετικά με τα επιθυμητά χαρακτηριστικά των ποικιλιών ροδιάς που καλλιεργούνται. Για παράδειγμα στην Ελλάδα ενώ οι περισσότερες ντόπιες ποικιλίες ροδιάς είναι γλυκές, σήμερα καλλιεργούνται σε μεγάλες εκτάσεις γλυκόξινες ποικιλίες που προορίζονται για εξαγωγή και παραγωγή εξαιρετικής ποιότητας χυμού. Οι ελληνικές ποικιλίες ροδιάς προέρχονται από σπορόφυτα που έχουν επιλεγεί από διάφορες περιοχές και είναι κυρίως γλυκές ποικιλίες με πιο γνωστή την ποικιλία Ερμιόνης, ενώ τελευταία εισήχθησαν και καλλιεργούνται κυρίως οι γλυκόξινες ποικιλίες Wonderful και Hicaznar, και λιγότερο οι γλυκές ποικιλίες Acco και Mollar de Elche (Δρογούδη και συν. 2012). Σε πολλές χώρες έχουν δημιουργηθεί συλλογές σπόρων ροδιάς για τη διατήρηση των τοπικών “άγριων” ποικιλιών.

Οι χαρακτηριστικές ιδιότητες του καρπού που παίζουν ρόλο στην ταυτοποίηση μιας ποικιλίας, στην προτίμηση των καταναλωτών και στην επιλογή της μετέπειτα χρήση τους είναι το μέγεθος και το χρώμα του καρπού, το χρώμα των σπόρων, η σκληρότητα των σπερμάτων, η περιεκτικότητα σε χυμό, ο βαθμός ωρίμανσης, η οξύτητα και η γλυκιά γεύση (Mars 2000).

Επιθυμητά χαρακτηριστικά στη ροδιά είναι (Δρογούδη και συν. 2012):

- Υψηλή απόδοση
- Πρωιμότητα
- Οψιμότητα, για να αυξηθεί η διάρκεια διάθεσης των καρπών
- Έντονο χρώμα στο φλοιό
- Έντονο χρώμα στο σπόρο, ιδιαίτερα όταν προορίζονται για χυμοποίηση
- Μεσαίο-μεγάλο μέγεθος καρπού
- Μεγάλο μέγεθος σπόρων
- Μαλακά σπέρματα (για τις επιτραπέζιες ποικιλίες).
- Υπόξινη ή γλυκιά γεύση, ανάλογα με τις προτιμήσεις των καταναλωτών
- Μεγάλη δυνατότητα συντήρησης
- Μεγάλη αντοχή στο σχίσιμο του καρπού, σε εχθρούς και ασθένειες, στον παγετό κ.ά.

5.1 Εγγώριες ποικιλίες

ΓΛΥΚΕΣ ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ

Πολίτικη: Ο καρπός της είναι μεγάλου μεγέθους με βάρος που κυμαίνεται μεταξύ 600-900 g. Η φλούδα του ροδιού είναι λεπτή, πρασινωπή ή ελαφρώς κιτρινωπή. Οι σπόροι είναι κόκκινοι, σαρκώδεις με ιδιαίτερα γλυκιά γεύση. Πρόκειται για ποικιλία με ποιοτικούς καρπούς που δυστυχώς δεν έχουν μεγάλη μετασυλλεκτική διάρκεια ζωής.

Καραβέλος: Ο καρπός είναι μεγάλου μεγέθους με βάρος που κυμαίνεται μεταξύ 600-900 g. Η φλούδα είναι πρασινωπή προς ρόδινη, οι σπόροι είναι μεγάλοι σαρκώδεις με ανοιχτό πορφυρό χρώμα και γλυκιά γεύση. Ένα σημαντικό πλεονέκτημα της ποικιλίας αυτής είναι η μεγάλη μετασυλλεκτική διάρκεια ζωής.

ΞΙΝΕΣ ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ

Τα **λειφάνια:** Η ποικιλία αυτή χαρακτηρίζεται από πολύ μεγάλους καρπούς, με φλούδα πολύ λεπτή, ερυθρορόδινου χρωματισμού και σπόρους μετρίου μεγέθους. Έχει το μειονέκτημα ότι οι καρποί της δεν μπορούν να συντηρηθούν για μεγάλο χρονικό διάστημα.

Τα **τσιπορόδια**: Οι καρποί αυτής της ποικιλίας είναι μετρίου μεγέθους. Η φλούδα τους είναι λεπτή με βαθύ κόκκινο χρώμα. Οι σπόροι των ροδιών της είναι ογκώδεις, με ξανθό χρώμα και με την πάροδο της ωρίμανσης αποκτούν ελαφρά γλυκιά γεύση.

Τα **χονδρορόδια**: Οι καρποί της είναι πολύ μεγάλοι με χονδρή κόκκινη φλούδα ενώ οι σπόροι της είναι μετρίου μεγέθους και έχουν γλυκόξινη γεύση.

Τα **κρασορόδια**: Ποικιλία ροδιάς που σχίζεται εύκολα. Οι καρποί της έχουν μικρό έως μέτριο μέγεθος, λεπτή κόκκινη φλούδα και οι σπόροι της είναι κόκκινοι. Οι καρποί δεν διατηρούνται για μεγάλο χρονικό διάστημα.

Οι **γούνες**: Οι καρποί της έχουν μικρό έως μέτριο μέγεθος, χαρακτηρίζονται από χονδρή και μαλακή φλούδα έντονου κόκκινου χρώματος. Οι σπόροι των καρπών της έχουν επίσης πολύ κόκκινο χρώμα.

Τα **ξινορόδια**: Οι καρποί της ποικιλίας αυτής είναι μικροί με χονδρή και πολύ κόκκινη φλούδα.

Ανάλογα με την περιοχή προέλευσης:

Ερμιόνης: Ποικιλία με μεγάλο καρπό, με έντονο κόκκινο χρώμα και γλυκιά γεύση. Αξιόλογη ποικιλία που καλλιεργείται εδώ και πολλά χρόνια στην περιοχή της Ερμιόνης αλλά και αλλού.

Γλυκιά Πατρών: Η ποικιλία αυτή ωριμάζει κατά τους μήνες Αύγουστο με Σεπτέμβριο. Οι καρποί της είναι πολύ ογκώδεις και περιέχουν μικρούς σπόρους με γλυκιά γεύση.

Ξινή Πατρών: Ωριμάζει τον Οκτώβριο. Οι καρποί της είναι πολύ ογκώδεις, με λεπτή και σκληρή φλούδα. Οι σπόροι της είναι πολύ κόκκινοι και ο χυμός τους έχει ξινή γεύση. Η ποικιλία αυτή είναι κατάλληλη για παραγωγή χυμού.

Τανάγρας: Ωριμάζει τον Οκτώβριο. Έχει καρπούς ογκώδεις, με χονδρή φλούδα. Οι σπόροι της είναι κόκκινοι. Η ποικιλία αυτή θεωρείται πολύ παραγωγική και προσαρμόζεται σε περιοχές με διαφορετικές κλιματολογικές συνθήκες.

Χίου: Η ποικιλία ωριμάζει τον Οκτώβριο. Έχει καρπούς ογκώδεις και οι σπόροι της είναι μικροί, κόκκινοι και χυμώδεις. Θεωρείται μία πολύ καλή εμπορική ποικιλία.





Πέλλας: Ο καρπός είναι μεγάλου μεγέθους με βαθύ κόκκινο χρώμα και ωριμάζει το Σεπτέμβριο-Οκτώβριο. Οι σπόροι της είναι μαλακοί, έχουν βαθύ κόκκινο χρώμα και πολύ γλυκιά γεύση ενώ η φλούδα είναι χονδρή και σκληρή.

Αταλάντης: Ο καρπός είναι μετρίου μεγέθους με ανοιχτό κόκκινο χρώμα και χονδρή, μέτριας σκληρότητας φλούδα. Ωριμάζει το Σεπτέμβριο-Οκτώβριο. Οι σπόροι έχουν βαθύ κόκκινο χρώμα και γλυκιά γεύση ενώ είναι μέτριας σκληρότητας.

Πηγές: Γάτσιος 2010, www.rodonas.gr

Στον πίνακα 1 παρουσιάζονται ορισμένες ξένες ποικιλίες ροδιάς που καλλιεργούνται στην Ελλάδα.

Πίνακας 1. Ξένες ποικιλίες ροδιάς που καλλιεργούνται στην Ελλάδα (Δρογούδη και συν. 2012).

ΠΟΙΚΙΛΙΑ	ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΕΣ
Wonderful	<p>Αμερικανική ποικιλία. Έχει μεγάλο μέγεθος καρπού, ομοιόμορφο κόκκινο χρώμα φλούδας, βαθύ κόκκινο χρώμα σπόρων, ημίσκληρα σπέρματα και γλυκόξινη γεύση.</p>	
Acco	<p>Ισραηλινή ποικιλία. Πρώιμη ποικιλία με μικρο-μεσαίο μέγεθος καρπού (300-400 g), εντυπωσιακό κόκκινο χρώμα φλούδας και σπόρων, μαλακό σπέρμα και γλυκιά γεύση.</p>	
Hicaznar ή Hicaz	<p>Τούρκικη ποικιλία. Έχει παρόμοια χαρακτηριστικά με τη Wonderful, μόνο που ο καρπός της έχει λιγότερο έντονο χρώμα εξωτερικά και η συγκομιδή γίνεται 7-10 ημέρες νωρίτερα.</p>	
Mollar de Elche	<p>Ισπανική ποικιλία. Έχει μεγάλο μέγεθος καρπού, πράσινο-ροζ χρώμα φλούδας, ροζ χρώμα σπόρων και μαλακό σπέρμα. Ακατάλληλη για χυμοποίηση.</p>	

6. Παγκόσμια και εγχώρια παραγωγή ροδιάς

Σύμφωνα με εκτιμήσεις του ΕΘΙΑΓΕ (2010), υπολογίζεται ότι η συνολική παγκόσμια παραγωγή ροδιών ανέρχεται σε 3 εκατομμύρια τόνους ανά έτος και οι καλλιεργούμενες εκτάσεις σε περισσότερα από 3 εκατομμύρια στρέμματα, από τα οποία ποσοστό μεγαλύτερο από 76% βρίσκονται σε πέντε χώρες (Ινδία, Ιράν, Κίνα, Τουρκία και ΗΠΑ). Η μεγαλύτερη χώρα παραγωγής ροδιών παγκοσμίως είναι η Ινδία ενώ στην Ευρώπη κυριαρχεί η Ισπανία, με παραγωγή περίπου 45.000 τόνους εκ των οποίων περισσότερο από 55% της παραγωγής εξάγεται. Στην Ελλάδα στοιχεία της Εθνικής Στατιστικής Υπηρεσίας αναφέρουν ότι το 2007 υπήρχαν 2.000 στρέμματα με ροδιές που βρίσκονταν κυρίως στην Πελοπόννησο, ενώ τα τελευταία χρόνια δημοσίευτες πληροφορίες αναφέρουν ότι τα στρέμματα πιθανόν να έχουν φτάσει τις 15.000 (Δρογούδη και συν. 2012). Εμπορικοί οπωρώνες ροδιάς υπάρχουν σε πολλές περιοχές της Ελλάδας (Ξάνθη, Σέρρες, Δράμα, Κιλκίς, Πέλλα, Λαμία, Άργος, Λάρισα και άλλες), μερικές από τις οποίες όμως δεν είναι και τόσο κατάλληλες από άποψη κλιματολογικών συνθηκών και πολύ πιθανόν η καλλιέργεια να αντιμετωπίσει προβλήματα στο εγγύς ή στο απώτερο μέλλον.

Ως συνέπεια της αύξησης του ενδιαφέροντος των παραγωγών και των καταναλωτών για το ρόδι, πολλές βιομηχανίες δραστηριοποιούνται κυρίως με την επεξεργασία του ροδιού (π.χ. Ελληνική Αγορά Α.Ε., HCS Α.Ε., Koukounaras S.A. κ.α.). Πολλοί αγροτικοί συνεταιρισμοί ασχολούνται με την καλλιέργεια και την πώληση ροδιών για επιτραπέζια χρήση τους καθώς και με την παραγωγή χυμού από ρόδια π.χ. ο Αγροτικός Συνεταιρισμός Παραγωγών Ροδιού Ν. Αιτωλοακαρνανίας, ο Αγροτικός Συνεταιρισμός Παραγωγών Οπωροκηπευτικών Αγίου Αθανασίου Δράμας, η Ένωση Αγροτικών Συνεταιρισμών Αργολίδας, η εταιρεία ΡΟΔΩΝΑΣ Α.Ε. κ.α.

7. Παράγωγα προϊόντα ροδιού

Το ρόδι ως παραδοσιακό προϊόν χρησιμοποιούταν ανέκαθεν από τις νοικοκυρές και ειδικότερα στις περιοχές που η ροδιά καλλιεργούνταν συστηματικά ή απλά υπήρχε στα χωράφια και στις αυλές των σπιτιών τους. Το φθινόπωρο, ξέχωρα από τα ρόδια που θα κατανάλωναν, χρησιμοποιούσαν ορισμένα για την παρασκευή λικέρ. Βέβαια τα τελευταία χρόνια η ζήτηση των ροδιών έχει αυξηθεί κατακόρυφα εξαιτίας της δημοσιοποίησης πολυάριθμων ερευνών τα αποτελέσματα των οποίων δείχνουν τις ευεργετικές του ιδιότητες για την ανθρώπινη υγεία. Οι βιομηχανίες τροφίμων θέλοντας να εκμεταλλευτούν το ενδιαφέρον των καταναλωτών στράφηκαν στην παραγωγή πολυάριθμων προϊόντων με βάση το ρόδι ή προϊόντων όπου το ρόδι λειτουργεί ως ενισχυτικό γεύσης και χρώματος.

Ως αποτέλεσμα σήμερα στη αγορά κυκλοφορούν χυμοί, αναψυκτικά, τσάι, αλκοολούχα ποτά, μαρμελάδες, γλυκίσματα, επιδόρπια γιαουρτιού, ξύδι, το σιρόπι γρεναδίνη, σάλτσες αλλά και συσκευασίες σπόρων ροδιού νωπών ή κατεψυγμένων ή ακόμη και σε μορφή σκόνης για χρήση στη μαγειρική και τη ζαχαροπλαστική. Εκτός από προϊόν κατανάλωσης, το ρόδι χρησιμοποιείται και σε άλλους τομείς π.χ. στη φαρμακολογία, σε συμπληρώματα διατροφής και σε διάφορα καλλυντικά προϊόντα π.χ. βαφές μαλλιών, σαμπουάν, κρέμες προσώπου, στην παραδοσιακή ιατρική πολλών λαών αλλά και για τη βαφή μάλλινων και μεταξωτών νημάτων.

8. Παραγωγή χυμού ροδιού

Το ρόδι ανήκει στους μη κλημακτηρικούς καρπούς, δηλαδή η ωρίμανσή του γίνεται πάνω στο δέντρο και όχι κατά την αποθήκευσή του (Δρογούδη και συν. 2012). Συνεπώς η συγκομιδή των καρπών θα πρέπει να πραγματοποιείται μόλις τα ρόδια έχουν αποκτήσει τα κατάλληλα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (σχεδόν πλήρης ωρίμανση) και όχι αργότερα διότι θα είναι πιο ευαίσθητα (Swartz et al. 2009). Η συγκομιδή γίνεται με χρήση ψαλιδιού και όχι με το χέρι γιατί μπορεί να τραυματιστούν οι καρποί. Μετά τη συγκομιδή συλλέγονται σε κλούβες ή σάκους και μεταφέρονται στο χώρο επεξεργασίας.

Στην αγορά κυκλοφορούν διάφοροι τύποι χυμών ροδιού όπως φυσικοί χυμοί ροδιού, συμπυκνωμένοι χυμοί ροδιού, χυμοί ροδιού από συμπύκνωση ή ως μίγμα με άλλους χυμούς φρούτων.

8.1 Παρασκευή φυσικού χυμού ροδιού

Αρχικά τα ρόδια πλένονται ώστε να απομακρυνθούν οι ακαθαρσίες και οι μικροοργανισμοί που βρίσκονται στην επιδερμίδα τους και στη συνέχεια ακολουθεί η διαλογή των κατάλληλων καρπών. Οι καρποί με βαθιά σχισίματα (αν δηλαδή φαίνονται οι σπόροι) καλό είναι να μη χυμοποιούνται γιατί συνήθως προσβάλλονται από μύκητες, που παράγουν μυκοτοξίνες, που είναι πολύ επικίνδυνες για τον άνθρωπο (Δρογούδη και συν. 2012).

Το επόμενο στάδιο είναι η εκχύμωση και επιτυγχάνεται είτε με την πίεση ολόκληρου του φρούτου είτε μόνο των σπόρων. Στην πρώτη περίπτωση ακολουθείται το σπάσιμο των ροδιών και η έκθλιψή τους. Από ορισμένους συγγραφείς μάλιστα προτείνεται το ρόδι να υφίσταται ζεμάτισμα πριν την πίεσή του ώστε να αδρανοποιηθούν τα ένζυμα που είναι υπεύθυνα για την υποβάθμιση των φαινολικών ουσιών. Στη δεύτερη περίπτωση γίνεται η αποσπύρωση των ροδιών δηλαδή ο διαχωρισμός των σπόρων από τα υπόλοιπα στερεά μέρη του καρπού και στη συνέχεια η εκχύμωση. Στόχος της αποσπύρωσης είναι η συγκέντρωση των σπόρων των ροδιών και η ελαχιστοποίηση της παρουσίας τμημάτων της φλούδας ή μεμβρανών των καρπών ώστε να μην επιβαρυνθεί ο χυμός από φαινολικές ουσίες που επηρεάζουν αρνητικά τη γεύση και την εμφάνιση του χυμού. Ανεξάρτητα από τη μέθοδο, η διαδικασία της εκχύμωσης είναι ήπια ώστε να μην συνθλιβούν τα σπέρματα και απελευθερωθούν στο χυμό ανεπιθύμητες φαινολικές ουσίες, όπως για παράδειγμα οι τανίνες που του προσδίδουν στυφή γεύση (Mena et al. 2014). Να σημειωθεί ότι η

μέθοδος εκχύμωσης επηρεάζει την απόδοση σε χυμό με τη μέθοδο πίεσης ολόκληρου του ροδιού να μειονεκτεί σημαντικά (σχεδόν κατά το ήμισυ) συγκριτικά με την πίεση μόνο των σπόρων. Ακολουθεί ο διαχωρισμός του χυμού από τα στερεά μέρη.

Επόμενο στάδιο είναι η διαύγαση του χυμού με σκοπό την απομάκρυνση των φαινολικών ουσιών (τανίνες) που ευθύνονται για την εμφάνιση θολώματος κατά τη συμπύκνωση και αποθήκευση του χυμού καθώς και την επικράτηση στυφής γεύσης στο χυμό. Η θολρότητα θεωρείται ότι προκαλείται από αλληλεπιδράσεις μεταξύ πολυφαινολών και πρωτεϊνών σχηματίζοντας αδιάλυτα σύμπλοκα που συγκεντρώνονται στον πυθμένα των συσκευασιών κατά την αποθήκευση του χυμού. Επιπλέον και στην περίπτωση του φρεσκοστυμμένου χυμού παρουσιάζεται η θολή εμφάνιση που οφείλεται στην παρουσία των αιωρούμενων πηκτινών και άλλων ουσιών. Παρόλο που ο χυμός ροδιού περιέχει αμελητέα ποσότητα πηκτίνης η διαύγαση επιβάλλεται για την πρόληψη της ποιοτικής υποβάθμισης κατά την αποθήκευση (Alper et al. 2010, Dhumal et al. 2014). Η διαύγαση συντελείται με φυσικές τεχνικές, με μηχανικές τεχνικές ή με συνδυασμό τους. Οι φυσικές τεχνικές περιλαμβάνουν την προσθήκη διαυγαστικών μέσων [μπεντονίτης, ζελατίνη, πολυβινυλοπολυπυρολιδόνη (PVPP) κ.α.] των οποίων η δράση βασίζεται στην επιφανειακή τους ενεργότητα και το ηλεκτρικό τους φορτίο, αλληλεπιδρώντας με τις πολυφαινόλες ή τις πρωτεΐνες των συμπλόκων και σχηματίζοντας ιζήματα τα οποία στη συνέχεια απομακρύνονται με μηχανικά μέσα. Η δεύτερη μέθοδος διαύγασης αφορά τη χρήση της υπερδιήθησης κατά την οποία φαινολικές ουσίες, πρωτεΐνες, πηκτίνες και άλλα μακρομόρια συγκρατούνται στην επιφάνεια της μεμβράνης αφού δεν μπορούν να περάσουν από τους πόρους της (Horvath-Kerkai 2006, Mena et al. 2014). Όμως αυτό αποτελεί και το μειονέκτημα της μεθόδου αυτής καθώς οι πηκτίνες και τα αδιάλυτα σύμπλοκα πρωτεϊνών-πολυφαινολών εμποδίζουν τις υπόλοιπες ουσίες (βιταμίνες, σάκχαρα, ελεύθερες φαινολικές ουσίες κ.α.) να διαπεράσουν, φράσσοντας τους πόρους της μεμβράνης. Το πρόβλημα αντιμετωπίζεται με τη χρήση ενζύμων, πριν τη διαύγαση και τη διήθηση, που αποδομούν τις κολλοειδείς ουσίες του χυμού (πηκτίνες, πολυφαινόλες κ.α), οι οποίες συνεισφέρουν στο θόλωμα, αυξάνοντας έτσι τη ροή διαμέσου των μεμβρανών (Baklouti et al. 2012).

Στη συνέχεια ο χυμός ροδιού παστεριώνεται ώστε να αδρανοποιηθούν τα ενδογενή ένζυμα και να καταστραφούν οι βλαστικές μορφές των μικροοργανισμών. Η θερμική επεξεργασία εφαρμόζεται μετά τη διαύγαση γιατί σε αντίθετη περίπτωση σταθεροποιείται η θολότητα του χυμού (Dhumal et al. 2014). Ωστόσο μπορεί να παρατηρηθεί μεταβολή στο χρώμα του χυμού λόγω αποδόμησης των ανθοκυανινών και παραγωγής καστανών

χρωστικών ουσιών. Ακόμη παρατηρείται μείωση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του χυμού. Εναλλακτικά μπορεί να εφαρμοστεί ωμική θέρμανση ή μη θερμικές μέθοδοι π.χ. υπεριώδης ακτινοβολία, υψηλή υδροστατική πίεση, τεχνολογία παλμικού ηλεκτρικού πεδίου κ.α. (Pala and Toklucu 2011, Mena et al. 2014).

Ο χυμός ροδιού συσκευάζεται σε γυάλινους ή χάρτινους περιέκτες με επικάλυψη από χαμηλής πυκνότητας πολυαιθυλένιο και διατηρείται υπό ψύξη ή σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

8.2 Παρασκευή συμπυκνωμένου χυμού ροδιού

Η διαδικασία παρασκευής του συμπυκνωμένου χυμού ροδιού ακολουθεί τα ίδια στάδια με αυτά του φρέσκου χυμού με τη διαφορά ότι μετά το στάδιο της διαύγασης πραγματοποιείται η συμπύκνωση. Η συμπύκνωση αποσκοπεί στην επιμύκνωση της διάρκειας ζωής του προϊόντος και επιτυγχάνεται με τη μερική απομάκρυνση του νερού χωρίς να παρατηρηθούν μεταβολές στη σύσταση των στερεών συστατικών. Πραγματοποιείται με τη μέθοδο της εξάτμισης ώστε τα διαλυτά στερεά του συμπυκνωμένου χυμού να κυμαίνονται μεταξύ 65-70°Brix. Μειονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι η υποβάθμιση του χρώματος του χυμού εξαιτίας της μη ενζυμικής αμαύρωσης και η απώλεια των πτητικών συστατικών που συμβάλλουν στο άρωμα του προϊόντος. Για το λόγο αυτό η βιομηχανία διαθέτει ειδικές στήλες στις οποίες πραγματοποιείται ανάκτηση των αρωματικών ενώσεων από τους ατμούς και προσθήκη αυτών πίσω στο χυμό. Ωστόσο διάφορες μελέτες προτείνουν τη χρήση εναλλακτικών μεθόδων συμπύκνωσης π.χ. της ωμικής θέρμανσης, των μικροκυμάτων, της εξάτμισης υπό ατμοσφαιρική πίεση, της αντίστροφης όσμωσης κ.α. (Maskan 2006). Στη συνέχεια ο χυμός αποστειρώνεται, ψύχεται, συσκευάζεται ασηπτικά και διατηρείται σε θερμοκρασία μεταξύ -18°C και -5°C.

Στην περίπτωση του **χυμού ροδιού από συμπύκνωση** απαιτείται η προσθήκη νερού στο συμπυκνωμένο χυμό για την ανασύστασή του. Στη συνέχεια υφίσταται θερμική επεξεργασία, συσκευάζεται και μπορεί να διατηρηθεί υπό ψύξη ή σε θερμοκρασία περιβάλλοντος ανάλογα με τη μέθοδο θερμικής επεξεργασίας (Caswell 2009).

9. Σύσταση χυμού ροδιού

Η χημική σύσταση του ροδιού και συνεπακόλουθα του χυμού του ποικίλλει ανάλογα την ποικιλία της ροδιάς, την περιοχή καλλιέργειας, την ωριμότητα του καρπού, την καλλιεργητική πρακτική, τη μέθοδο επεξεργασίας παραγωγής χυμού, το είδος της συσκευασίας και τις συνθήκες αποθήκευσης. Γενικά ο χυμός ροδιού περιέχει νερό, πολυφαινόλες, σάκχαρα, οργανικά οξέα, βιταμίνη C, ανόργανα συστατικά, αμινοξέα κ.α. (Viuda-Martos et al. 2010, Mena et al. 2014).

9.1 Φαινολικές ουσίες

Οι φαινολικές ουσίες ή πολυφαινόλες είναι δευτερογενείς μεταβολίτες των φυτών που συνεισφέρουν σημαντικά στη φυσιολογία τους αφού παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη, στην αναπαραγωγή, στο χρωματισμό και στην άμυνα των φυτών απέναντι σε παθογόνους μικροοργανισμούς (Martin and Appel 2010).

Οι φαινολικές ενώσεις είναι παράγωγα του βενζολίου με ένα ή περισσότερα υποκατεστημένα υδροξύλια (Morton et al. 2000). Αυτές ανάλογα με τη βασική δομή τους διακρίνονται σε 16 κατηγορίες: απλές φαινόλες, βενζοκινόνες, ακετοφαινόλες, φαινυλοξικά οξέα, φαινολικά οξέα, φαινυλοπροπένια, κουμαρίνες, χρωμόνες, ναφθοκινόνες, ξανθόνες, στυλβένια, τανίνες, ανθρακινόνες, φλαβονοειδή, λιγνάνες και λιγνίνες. Ανάλογα με την κατανομή τους στη φύση χωρίζονται σε μικρής έκτασης πολυφαινόλες (απλές φαινόλες, υδροκινόνη, ρεσορκινόλη κ.α.), σε μεγάλης έκτασης πολυφαινόλες (φλαβονοειδή, φαινολικά οξέα, κουμαρίνες) και στα πολυμερή (τανίνες, λιγνίνες). Τέλος ανάλογα με τη θέση τους στο φυτό και τη χημική δομή χωρίζονται σε διαλυτές (απλές φαινόλες, φλαβονοειδή και τανίνες μικρού και μεσαίου MB, όχι συνδεδεμένες με ουσίες της κυτταρικής μεμβράνης) και αδιάλυτες φαινολικές ουσίες (φαινολικά οξέα, συμπυκνωμένες τανίνες και άλλες φαινολικές ενώσεις χαμηλού MB συνδεδεμένες με πολυσακχαρίτες ή πρωτεΐνες του κυτταρικού τοιχώματος) (Reis- Giada 2013).

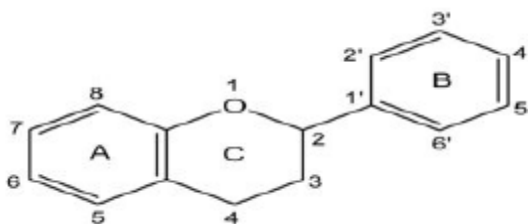
Συνήθως βρίσκονται στη συζευγμένη τους μορφή, είτε μεθυλιωμένες είτε ως γλυκοζίτες. Μέχρι σήμερα έχουν αναγνωριστεί περισσότερες από 8000 φαινολικές ενώσεις ενώ οι κυριότερες ανήκουν στα φλαβονοειδή και τα φαινολικά οξέα.

Ο ρόλος των φαινολικών ουσιών στα φρούτα είναι πολλαπλός. Αυτές ευθύνονται για το χρώμα και την πικρή ή στυφή τους γεύση. Επιπλέον πολλές μελέτες αποδίδουν τις

ευεργετικές ιδιότητες για την ανθρώπινη υγεία λόγω κατανάλωσης φρούτων και λαχανικών στα φαινολικά συστατικά τους (Es-Safi 2012). Στην περίπτωση του χυμού ροδιού οι φαινολικές ουσίες του ροδιού ευθύνονται για το χρώμα, την πικρή γεύση και τις λειτουργικές ιδιότητες του χυμού του. Ο χυμός ροδιού περιέχει ανθοκυανίνες, ελλαγιτανίνες, φαινολικά οξέα, φλαβονόλες, φλαβανόλες και λιγνάνες.

9.1.1 Φλαβονοειδή

Τα φλαβονοειδή είναι η μεγαλύτερη κατηγορία φαινολικών ουσιών. Αποτελούνται από δύο βενζολικούς πυρήνες και έναν ετεροκυκλικό δακτύλιο που περιέχει οξυγόνο (Εικόνα 5). Τα φλαβονοειδή κατατάσσονται σε διάφορες κατηγορίες ανάλογα με τις διαφορές που παρουσιάζουν στον ετεροκυκλικό δακτύλιο. Έτσι χωρίζονται σε ανθοκυανιδίνες, φλαβόνες, φλαβονόλες, φλαβανόνες, φλαβανόλες, φλαβαν-3,4-διόλες, ισοφλαβονοειδή, χαλκονοειδή, κουμαρίνες, διυδρο-χαλκόνες και αουρόνες. Στη φύση υπάρχουν με τη μορφή αγλυκόνης, ως γλυκοσίδια ή ως μεθυλιωμένα παράγωγα (Tapas et al. 2008, Crozier et al. 2009).

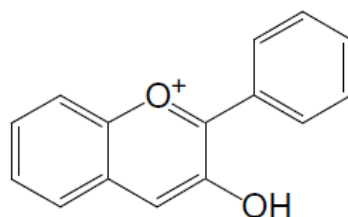


Εικόνα 5. Γενικός χημικός τύπος των φλαβονοειδών (Saxena et al. 2012).

Τα φλαβονοειδή ευθύνονται για το χρώμα των ανθέων και των φύλλων των φυτών αλλά πιστεύεται ότι συμβάλλουν επίσης στην προστασία των φυτών από την υπερϊώδη ακτινοβολία και από μύκητες, ενώ βοηθούν και σε εσωτερικές λειτουργίες, όπως για παράδειγμα στη φωτοσύνθεση, στον έλεγχο της αναπνοής κ.α. (Saxena et al. 2012).

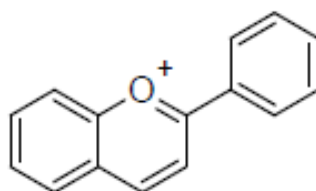
9.1.1.1 Ανθοκυανίνες

Προκύπτουν από τη γλυκοζυλίωση των ανθοκυανιδινών (Εικόνα 6) (κατηγορία των φλαβονοειδών) με σάκχαρα. Οι ανθοκυανιδίνες είναι παράγωγα του κατιόντος του φλαβυλίου (Εικόνα 7) με υποκατεστημένα υδροξύλια και μεθοξύλια. Στη φύση έχουν βρεθεί 17 ανθοκυανιδίνες από τις οποίες η κυανιδίνη, η πελαργονιδίνη, η δελφινιδίνη, η πετουνιδίνη, η πεονιδίνη και η μαλβιδίνη είναι οι πιο διαδεδομένες και έχει αποδειχτεί η ευεργετική δράση τους στην υγεία.



Εικόνα 6. Γενικός χημικός τύπος των ανθοκυανιδινών (Miguel 2011).

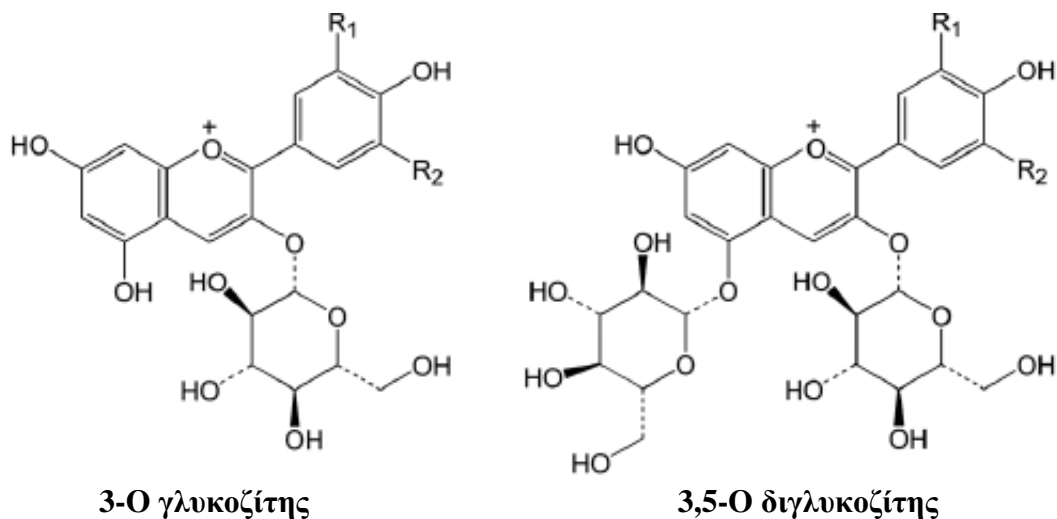
Τα πιο συνηθισμένα σάκχαρα των ανθοκυανινών είναι η γλυκόζη, η γαλακτόζη, η ραμνόζη και η αραβινόζη και συνδέονται στον 3^ο άνθρακα του ετεροκυκλικού δακτυλίου ή στον 5^ο άνθρακα του δακτυλίου Α της εικόνας 5 (Miguel 2011).



Εικόνα 7. Κατιόν του φλαβυλίου (Miguel 2011).

Οι ανθοκυανίνες είναι υδατοδιαλυτές χρωστικές που ευθύνονται για το ροζ, κόκκινο, μπλε ή μωβ χρώμα και εντοπίζονται στο χυμοτόπιο των επιδερμικών ιστών των ανθέων και του καρπού του φυτού. Οι ανθοκυανιδίνες είναι ασταθείς στο φως, στο οξυγόνο και στις μεταβολές του pH αλλά σταθεροποιούνται όταν συνδέονται με σάκχαρα (γλυκοζυλίωση), όταν εστεροποιούνται με φαινολικά ή οργανικά οξέα και όταν σχηματίζουν σύμπλοκα με άλλα φλαβονοειδή (Manach et al. 2004).

Οι ανθοκυανίνες αποτελούν τη μεγαλύτερη και σημαντικότερη κατηγορία των φλαβονοειδών που εντοπίζονται στους σπόρους του ροδιού και είναι υπεύθυνες για το κόκκινο χρώμα του χυμού. Ο χυμός ροδιού περιέχει κυρίως τους 3-O γλυκοζίτες και τους 3,5-O διγλυκοζίτες της κυανιδίνης, της δελφινιδίνης και της πελαργονιδίνης (Εικόνα 8) (Viuda-Martos et al. 2010).

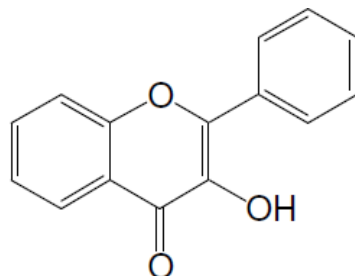


	<u>R1</u>	<u>R2</u>
κυανιδίνη-3-O γλυκοζίτης	OH	H
κυανιδίνη-3,5-O διγλυκοζίτης	OH	H
δελφινιδίνη-3-O γλυκοζίτης	OH	OH
δελφινιδίνη-3,5-O διγλυκοζίτης	OH	OH
πελαργονιδίνη-3-O γλυκοζίτης	H	H
πελαργονιδίνη-3,5-O διγλυκοζίτης	H	H

Εικόνα 8. Χημική δομή των ανθοκυανινών που περιέχονται στο χυμό ροδιού (Medjacovic and Jungbauer 2013).

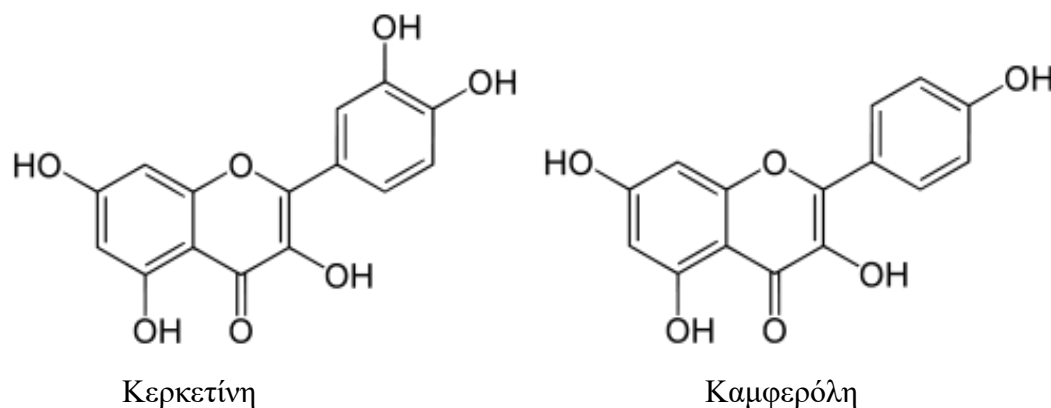
9.1.1.2 Φλαβονόλες

Η χημική δομή τους μοιάζει με αυτή των φλαβονών επειδή αμφότερες έχουν διπλό δεσμό ανάμεσα στο 2^ο και 3^ο άνθρακα του ετεροκυκλικού δακτυλίου. Η διαφορά τους έγκειται στην ύπαρξη μιας υδροξυλομάδας στον 3^ο άνθρακα του ίδιου δακτυλίου (Εικόνα 9).



Εικόνα 9. Γενικός χημικός τύπος των φλαβονολών (Tapas et al. 2008).

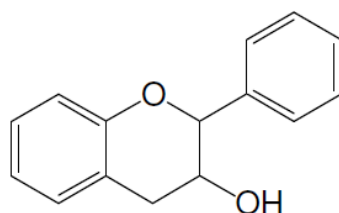
Στα φυτά έχουν ταυτοποιηθεί 200 φλαβονόλες ελεύθερες ή γλυκοζυλιωμένες. Η γλυκοζυλίωση των φλαβονολών ενεργοποιείται με το ηλιακό φώς και γι' αυτό εκείνες οι φλαβονόλες εντοπίζονται στα φύλλα του φυτού και στη φλούδα του καρπού. Ο χυμός ροδιού περιέχει κερκετίνη και καμφερόλη (Εικόνα 10) (Shahidi and Naczk 2006, Mena et al. 2014).



Εικόνα 10. Χημική δομή των φλαβονολών που ανιχνεύονται στο χυμό ροδιού (www.wikipedia.org).

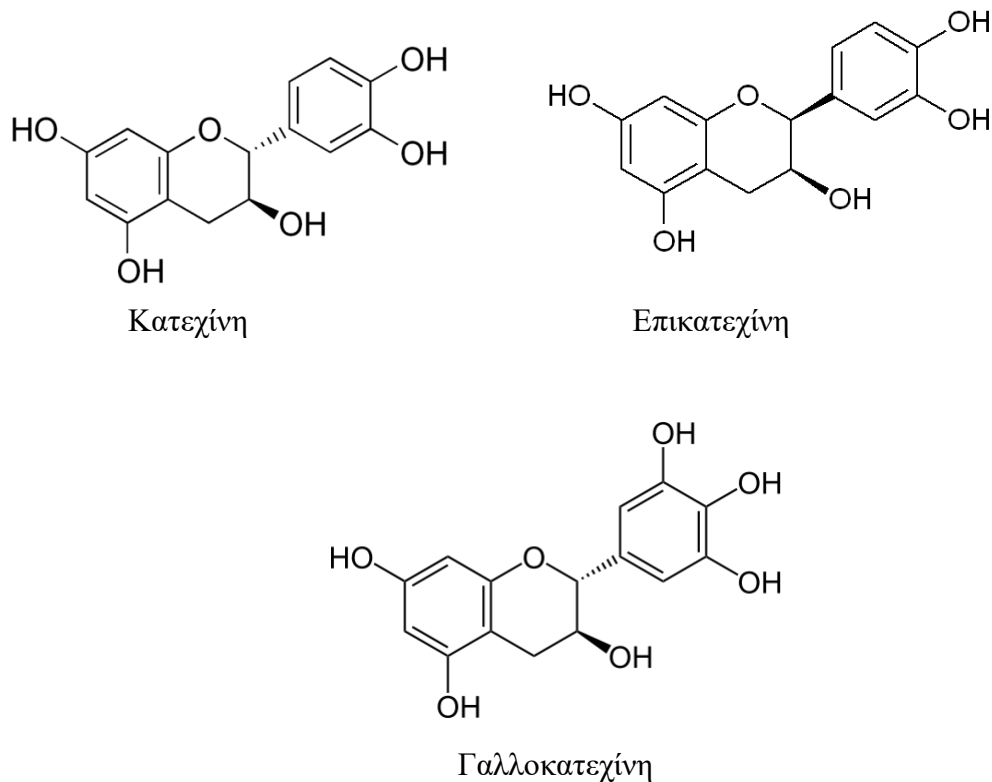
9.1.1.3 Φλαβανόλες

Αποτελούν κατηγορία των φλαβονοειδών και δομικά έχουν ένα υδροξύλιο στον 3^ο άνθρακα του ετεροκυκλικού δακτυλίου (Εικόνα 11). Οι φλαβανόλες υπάρχουν στα τρόφιμα είτε ως μονομερή (κατεχίνες κ.α.) είτε ως ολιγομερή. Πολυμερή των φλαβανολών σχηματίζουν τις συμπυκνωμένες τανίνες. Συνήθως εντοπίζονται σε πολυμερισμένη μορφή και ως αγλυκόνες (de Pascual-Teresa et al. 2010).



Εικόνα 11. Γενικός χημικός τύπος των φλαβανολών (Tapas et al. 2008).

Ο χυμός ροδιού περιέχει κατεχίνη, γαλλοκατεχίνη και επικατεχίνη (Εικόνα 12) (Mena et al. 2012).

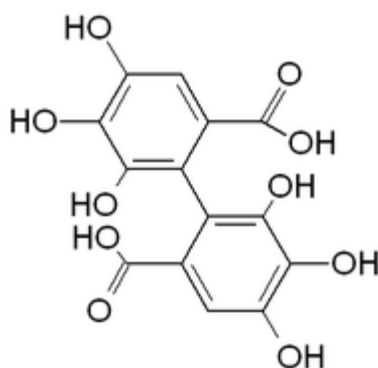


Εικόνα 12. Χημική δομή των φλαβανολών που ανιχνεύονται στο χυμό ροδιού (www.wikipedia.org).

9.1.2 Τανίνες

Οι τανίνες είναι φαινολικές ενώσεις με μεσαίο έως πολύ υψηλό MB. Ανάλογα με τη χημική τους σύσταση χωρίζονται σε τέσσερις κατηγορίες: στις υδρολυόμενες τανίνες, στις συμπυκνωμένες τανίνες, στις σύνθετες τανίνες και στις φλωροτανίνες.

Οι υδρολυόμενες τανίνες προκύπτουν από την εστεροποίηση σακχάρων ή πολυόλης με το γαλλικό οξύ ή το 3,4,5,3',4',5'-εξαϋδροξυ-διφαινικό οξύ (HHDP) (Εικόνα 13) σχηματίζοντας τις γαλλοτανίνες και τις ελλαγιτανίνες αντίστοιχα. Το επικρατέστερο σάκχαρο είναι η γλυκόζη, ωστόσο έχουν βρεθεί υδρολυόμενες τανίνες που περιέχουν φρουκτόζη, ξυλόζη, σακχαρόζη κ.α. Το όνομά τους προκύπτει από την ιδιότητά τους να υδρολύονται εύκολα στα σάκχαρα και στο γαλλικό ή ελλαγικό οξύ με τη δράση οξέων, βάσεων ή ενζύμων (Serrano et al. 2009, Reis-Giada 2013).



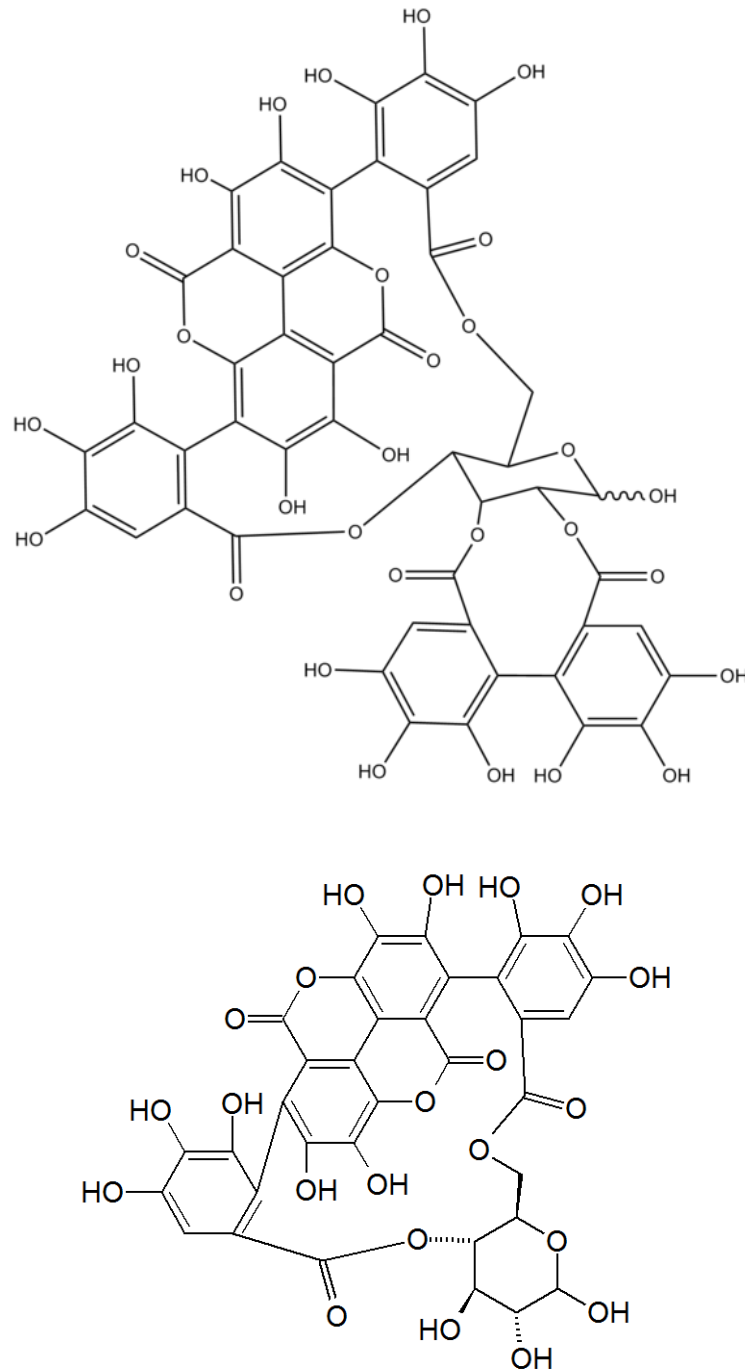
Εικόνα 13. Χημική δομή του HHDP (www.wikipedia.org).

Οι συμπυκνωμένες τανίνες είναι oligομερή και πολυμερή των φλαβανολών (κατεχινών, γαλλοκατεχινών κ.α.). Αυτές συνδέονται μέσω του 4^{ου} άνθρακα του ενός μονομερούς και του 6^{ου} ή 8^{ου} άνθρακα του άλλου. Ονομάζονται και προανθοκυανιδίνες γιατί παράγονται ανθοκυανιδίνες λόγω αποπολυμερισμού με διάλυμα οξέος. Οι σύνθετες τανίνες αποτελούν συνδυασμό των υδρολυόμενων και των συμπυκνωμένων τανινών αφού σχηματίζονται όταν μόρια κατεχινών συνδέονται με ελλαγιτανίνες ή γαλλοτανίνες με γλυκοζιτικό δεσμό. Τέλος η τελευταία κατηγορία τανινών, οι φλωροτανίνες εντοπίζονται σε θαλάσσια φαιοφύκη (Khanbabaee and Ree 2001, Serrano et al. 2009, Hassanpour et al. 2011).

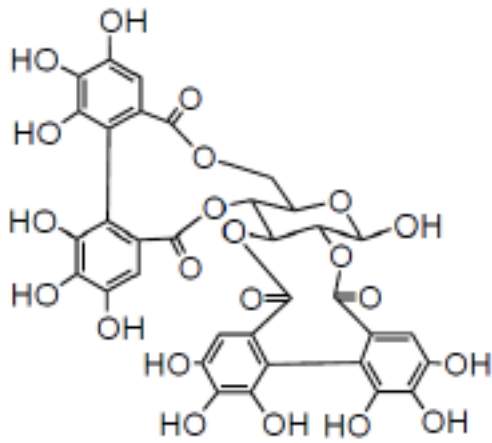
Οι τανίνες οφείλουν το όνομά τους στη λέξη tanning και αναφέρεται στη δεψική τους ιδιότητα κατά την κατεργασία των δερμάτων καθιστώντας τα ανθεκτικά έναντι των μικροβίων και της υγρασίας. Μια ακόμη ιδιότητά τους είναι η ικανότητα να σχηματίζουν σύμπλοκα με πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, νουκλεϊκά οξέα, αλκαλοειδή κ.α. Εξαιτίας των συμπλόκων ενώσεων, οι τανίνες που περιέχονται στο χυμό ροδιού ευθύνονται για τη θολή εμφάνιση και την πικρή γεύση του που αντιμετωπίζεται με διαύγαση (Βαφοπούλου-Μαστρογιαννάκη 2003, Vardin and Fenercioglu 2003, Shahidi and Naczk 2006).

Στη φύση οι τανίνες εντοπίζονται σε πολλά φυτά (όσπρια, λαχανικά, φρούτα και θάμνοι) στα φύλλα, στους καρπούς, στις ρίζες καθώς και στο φλοιό και στο ξύλο των δέντρων. Ο χυμός ροδιού είναι πλούσια πηγή ελλαγιτανινών που εντοπίζονται κυρίως στη φλούδα του ροδιού. Για το λόγο αυτό οι χυμοί ροδιού που προκύπτουν από την έκθλιψη ολόκληρου του καρπού διαθέτουν σημαντικές ποσότητες ελλαγιτανινών συγκριτικά με τους χυμούς που προκύπτουν μόνο από τους σπόρους. Οι κυριότερες ελλαγιτανίνες είναι η πουνικαλαγίνη, η πουνικαλίνη (Εικόνα 14) καθώς και η γρανατίνη Α και Β, η πεντουνκουλαγίνη (pedunculagin) και η λαγκερστανίνη (Εικόνα 15). Από αυτές η

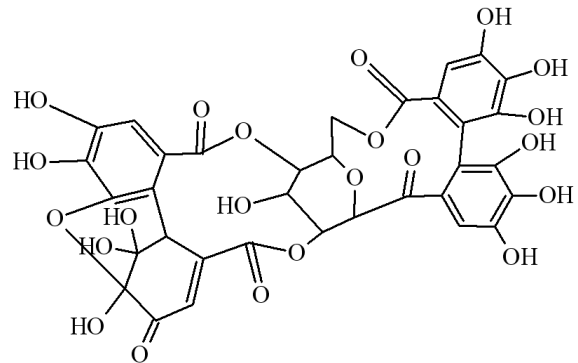
πουνικαλαγίνη και η πουνικαλίνη αποτελούνται από ελλαγικό και γαλλαγικό οξύ ή αντίστοιχα γαλλαγικό οξύ συνδεδεμένα με ένα μόριο γλυκόζης (Cowan 1999, Heber 2010, Hassanpour et al. 2011, Medjakovic and Jungbauer 2013).



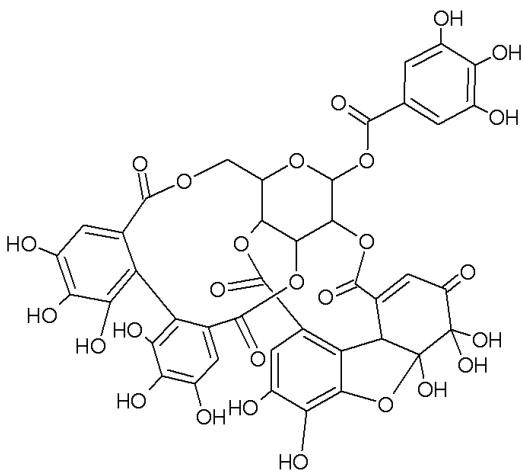
Εικόνα 14. Χημική δομή της πουνικαλαγίνης (επάνω) και της πουνικαλίνης (κάτω) (www.wikipedia.org).



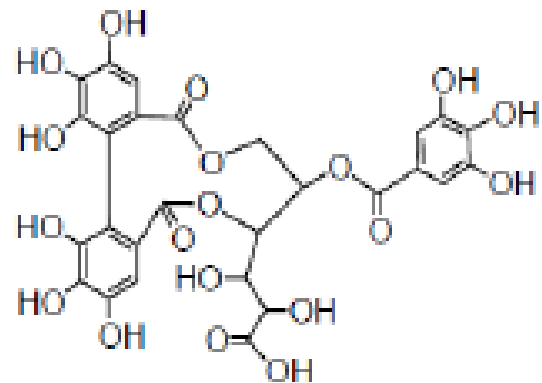
Πεντουνκουλαγίνη (Pedunculagin)



Γρανατίνη Α



Γρανατίνη Β

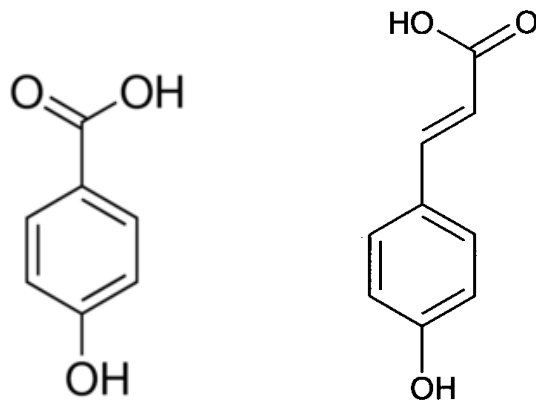


Λαγκερστανίνη

Εικόνα 15. Χημική δομή ορισμένων ελλαγιτανινών που περιέχονται στο χυμό ροδιού (www.wikipedia.org, Mena et al. 2012).

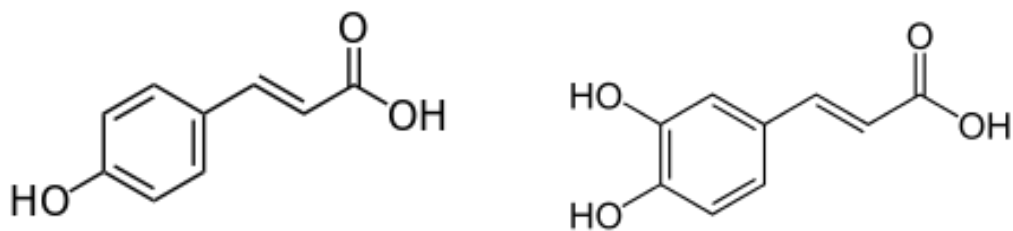
9.1.3 Φαινολικά οξέα

Γενικά τα φαινολικά οξέα χαρακτηρίζονται από ένα βενζοϊκό δακτύλιο, μια καρβοξυλομάδα και από μια ή περισσότερες υδροξυλικές ή μεθοξυλικές ομάδες. Τα φαινολικά οξέα χωρίζονται σε δύο κατηγορίες: στα υδροξυβενζοϊκά οξέα και στα υδροξυκιναμικά οξέα (Εικόνα 16). Τα υδροξυβενζοϊκά οξέα έχουν διάταξη C6-C1 και είναι οι απλούστερες μορφές φαινολικών οξέων. Μάλιστα ορισμένα είναι συστατικά των υδρολυόμενων τανινών. Τα υδροξυκιναμικά οξέα έχουν διάταξη C6-C3 και σπάνια υπάρχουν σε ελεύθερη μορφή γιατί συνήθως εντοπίζονται υπό μορφή εστέρων ή ως γλυκοζυλιωμένα παράγωγα (Manach et al. 2004, Reis-Giada 2013).



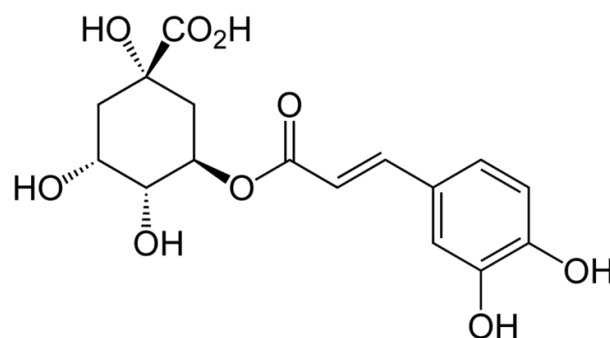
Εικόνα 16. Γενικός χημικός τύπος των υδροξυβενζοϊκών (αριστερά) και υδροξυκινναμικών (δεξιά) οξέων (www.wikipedia.org).

Τα φαινολικά οξέα συμβάλλουν μαζί με τα οργανικά οξέα στη γεύση και την οξύτητα του χυμού ροδιού. Ανάμεσά τους είναι το ελλαγικό και το γαλλικό οξύ (υδροξυβενζοϊκά οξέα) αλλά και το κουμαρικό, το χλωρογενικό και το καφεϊκό οξύ (υδροξυκινναμικά οξέα) (Εικόνες 17 και 18) (Viuda-Martos et al. 2010, Medjakovic and Jungbauer 2013).



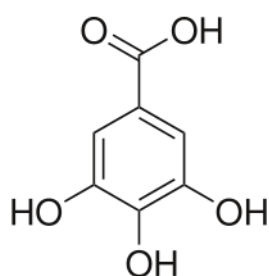
Κουμαρικό οξύ

Καφεϊκό οξύ

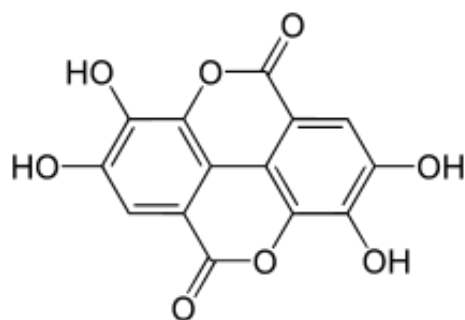


Χλωρογενικό οξύ

Εικόνα 17. Χημική δομή των υδροξυκινναμικών οξέων που ανιχνεύονται στο χυμό ροδιού (www.wikipedia.org).



Γαλλικό οξύ

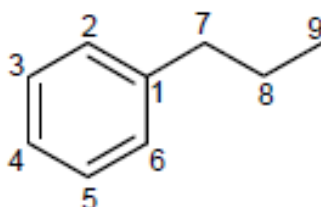


Ελλαγικό οξύ

Εικόνα 18. Χημική δομή των υδροξυβενζοϊκών οξέων που ανιχνεύονται στο χυμό ροδιού (www.wikipedia.org).

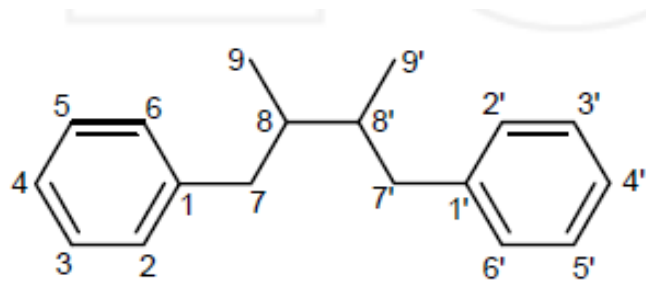
9.1.4 Λιγνάνες

Ο Horowitz το 1936 όρισε τις λιγνάνες ως το σύνολο των διμερών φαινυλοπροπανοειδών που συνδέονται στον 8^ο άνθρακα της πλευρικής αλυσίδας (Εικόνα 19). Επιπλέον, σύμφωνα με τον Gottlieb το 1972, νεολιγνάνες ονομάστηκαν οι ουσίες των οποίων τα φαινυλοπροπανοειδή συνδέονται διαφορετικά από αυτά των λιγνανών. Αργότερα υπήρξαν και άλλοι ορισμοί ωστόσο η Διεθνής Ένωση Θεωρητικής και Εφαρμοσμένης Χημείας (IUPAC) υιοθέτησε τους παραπάνω ορισμούς (Umezawa 2003).



Εικόνα 19. Γενικός χημικός τύπος των φαινυλοπροπανοειδών (Cunha et al. 2012).

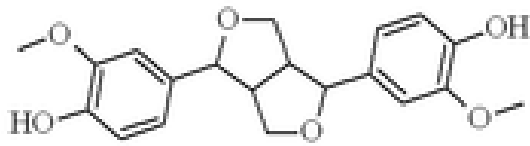
Οι λιγνάνες μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε δύο κατηγορίες ανάλογα με την οξειδωτική κατάσταση στις θέσεις 9 και 9', σε λιγνάνες με οξυγόνο στις θέσεις 9 και 9' των φαινυλοπροπανοειδών και σε λιγνάνες χωρίς οξυγόνο στις συγκεκριμένες θέσεις (Εικόνα 20) (Cunha et al. 2012).



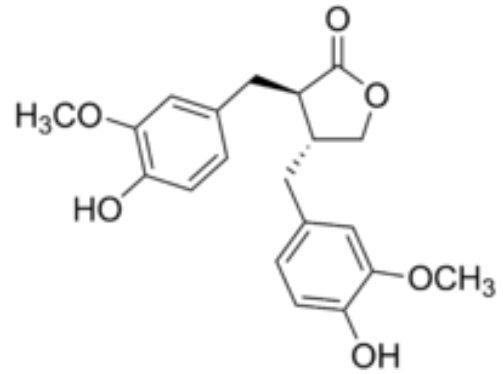
Εικόνα 20. Γενικός χημικός τύπος των λιγνάνων (Cunha et al. 2012).

Γενικά οι λιγνάνες ανήκουν στις διφαινυλικές ενώσεις που προέρχονται από το αμινοξύ φαινυλαλανίνη μέσω οξειδωτικού διμερισμού των υποκατεστημένων κινναμικών αλκοολών. Τα εδώδιμα φυτά περιέχουν λιγνάνες σε ελεύθερη μορφή ή ενωμένα με σάκχαρα. Κυριότερες πηγές λιγνάνων αποτελούν τα σπορέλαια, τα δημητριακά ολικής άλεσης, τα όσπρια καθώς και ορισμένα λαχανικά και φρούτα (κυρίως τα μούρα) (Durazzo et al. 2013, Mercy et al. 2014).

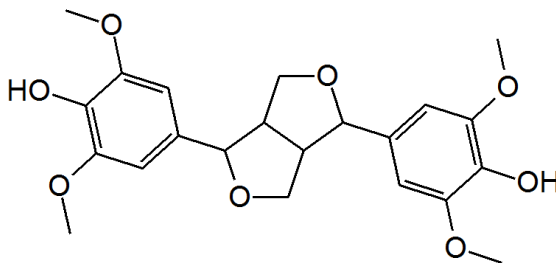
Ο χυμός ροδιού περιέχει λιγνάνες όπως η πινορεσινόλη, η ματαιρεσινόλη, η σεκοϊσολαρικεσινόλη, η μεδιορεσινόλη, η συριγκαρεσινόλη και η ισολαρισιρεσινόλη (Εικόνα 21) (Bonzanini et al. 2009).



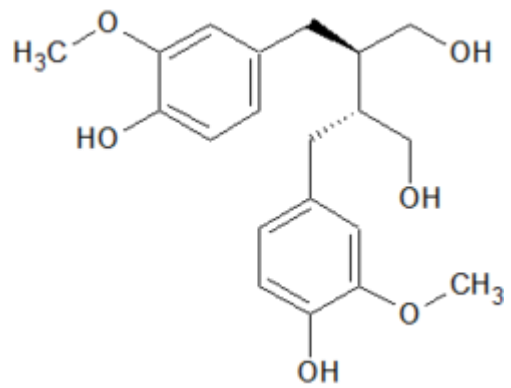
Πινορεσινόλη



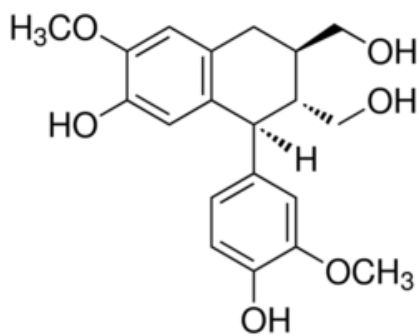
Ματαϊρεσινόλη



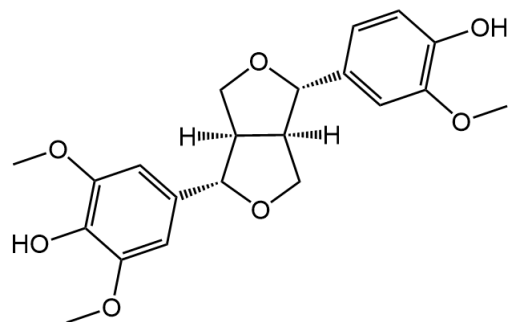
Συριγκαρεσινόλη



Σεκοϊσολαρικρεσινόλη



Ισολαρισρεσινόλη



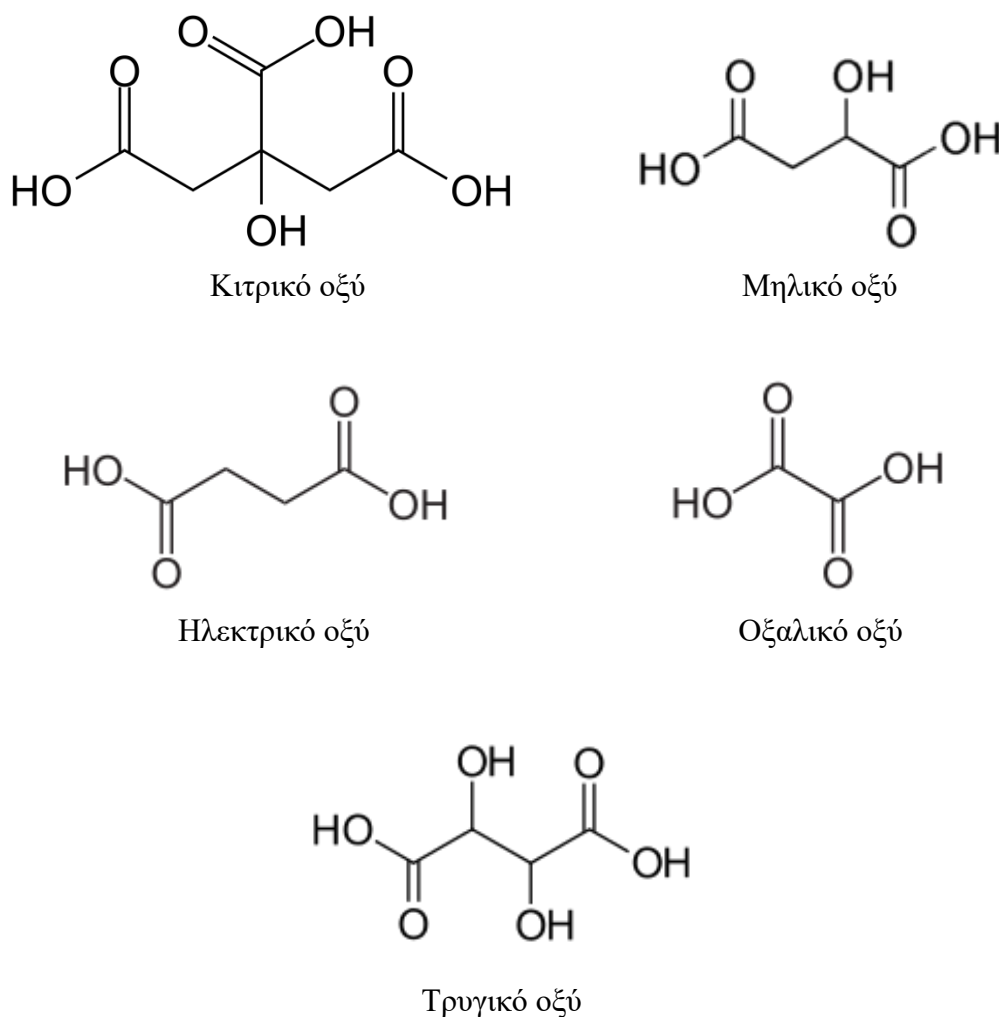
Μεδιορεσινόλη

Εικόνα 21. Χημική δομή των λιγνανών που ανιχνεύονται στο χυμό ροδιού (www.wikipedia.org).

9.2 Οργανικά οξέα

Τα οργανικά οξέα των φρουτοχυμών επηρεάζουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (γεύση, άρωμα) των χυμών καθώς και τη σταθερότητά τους εξαιτίας της παρεμπόδισης από μικροβιακή αλλοίωση. Επιπλέον αποτελούν δείκτες ελέγχου της νοθείας των χυμών (Mato et al. 2005, Ehling and Cole 2011).

Στο χυμό ροδιού έχουν βρεθεί τα εξής οργανικά οξέα: κιτρικό, μηλικό, ηλεκτρικό, οξαλικό, ασκορβικό και τρυγικό οξύ (Εικόνα 22). Κυρίαρχα οξέα είναι το μηλικό και κιτρικό οξύ (Poyrazoglu et al. 2002, Krueger 2012, Medjakovic and Jungbauer 2013).



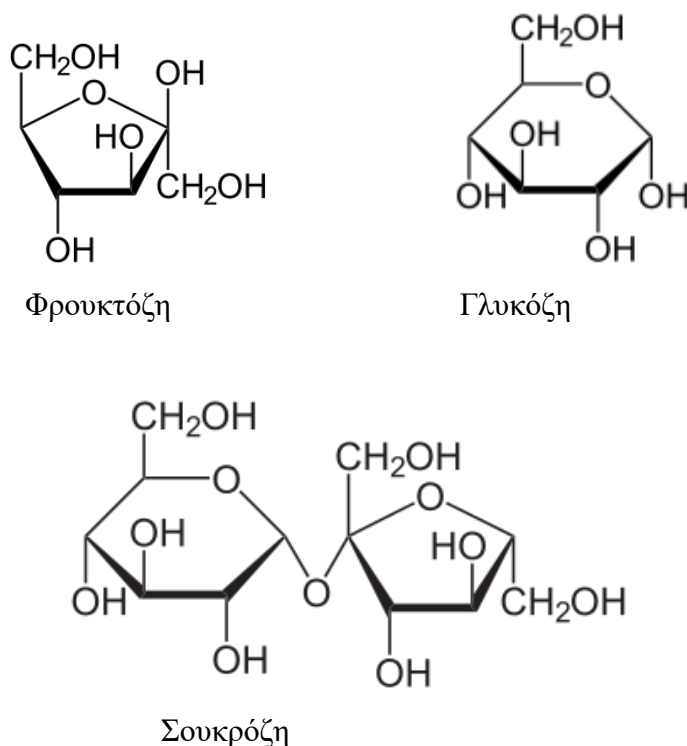
Εικόνα 22. Χημική δομή των οργανικών οξέων που ανιχνεύονται στο χυμό ροδιού (Medjakovic and Jungbauer 2013, www.wikipedia.org).

9.3 Σάκχαρα

Οι υδατάνθρακες αποτελούν την πιο πολυάριθμη και ευρέως διαδεδομένη κατηγορία συστατικών προερχόμενων από τα φυτά. Τα φρούτα αποτελούν μια καλή πηγή υδατανθράκων, η περιεκτικότητα των οποίων ποικίλλει μεταξύ 10 και 25% ανάλογα με το είδος του φρούτου. Από τα σάκχαρα των φρούτων κυριαρχούν η φρουκτόζη, η γλυκόζη και η σουκρόζη. Μάλιστα η περιεκτικότητά τους επηρεάζει τη γεύση του φρούτου αφού η φρουκτόζη είναι γλυκύτερη της σουκρόζης και η σουκρόζη είναι γλυκύτερη της γλυκόζης (Kader and Barrett 2004).

Τα σάκχαρα και τα οργανικά οξέα αποτελούν δείκτη ποιότητας των φρούτων αφού συμβάλουν στην αξιολόγηση του βαθμού ωρίμανσης των καρπών, των συνθηκών αποθήκευσής τους και στο διαχωρισμό μεταξύ των ποικιλιών (Cam et al. 2009).

Το ρόδι συγκαταλέγεται ανάμεσα στα φρούτα με μεγάλη περιεκτικότητα σε σάκχαρα. Αντίστοιχα και ο χυμός του έχει μεγάλη περιεκτικότητα σε σάκχαρα (Serpen 2012). Μελέτες έχουν δείξει ότι ο χυμός ροδιού περιέχει φρουκτόζη, γλυκόζη και σουκρόζη (Εικόνα 23) (Ozgen et al. 2008, Hasnaoui et al. 2011).

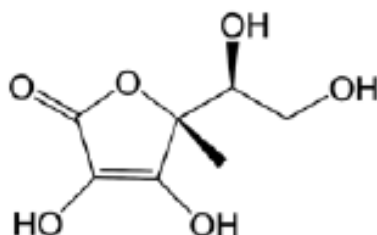


Εικόνα 23. Χημική δομή των σακχάρων που περιέχονται στο χυμό ροδιού (www.wikipedia.org).

9.4 Βιταμίνη C

Οι βιταμίνες είναι θρεπτικές ουσίες απαραίτητες για τις λειτουργίες του ανθρώπινου σώματος. Όμως ο άνθρωπος δεν μπορεί να τις συνθέσει ο ίδιος γι' αυτό τις προσλαμβάνει μέσω των τροφών. Οι βιταμίνες χωρίζονται σε υδατοδιαλυτές και λιποδιαλυτές. Η βιταμίνη C είναι υδατοδιαλυτή βιταμίνη που απομονώθηκε πρώτη φορά το 1928 από τον Szent Gyor-Gyi (Ούγγρος νομπελίστας). Τα πράσινα λαχανικά, οι πιπεριές, οι ντομάτες, τα εσπεριδοειδή, τα ακτινίδια και οι φράουλες είναι πλούσιες πηγές βιταμίνης C. Όμως παρουσιάζει μεγάλη αστάθεια παρουσία οξυγόνου ή κατά τη θερμική επεξεργασία (Iqbal et al. 2004, Βαφοπούλου-Μαστρογιαννάκη 2006).

Ο χυμός ροδιού όπως αναφέρθηκε προηγούμενα είναι πηγή ασκορβικού οξέος (-10-20mg ανά 100 g χυμού) (Εικόνα 24) που ποικίλλει ανάλογα με την ποικιλία του ροδιού και την επεξεργασία που υφίσταται. Μάλιστα η κατανάλωση ενός ποτηριού χυμού ροδιού καλύπτει το 40% της συνιστώμενης ημερήσιας ποσότητας σε βιταμίνη C (Gil et al. 2000, Mahdavi et al. 2010, Akpınar-Bayizit et al. 2012, Medjakovic and Jungbauer 2013).

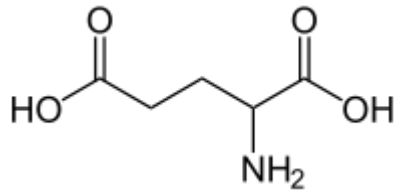


Εικόνα 24. Χημική δομή του ασκορβικού οξέος (Medjakovic and Jungbauer 2013).

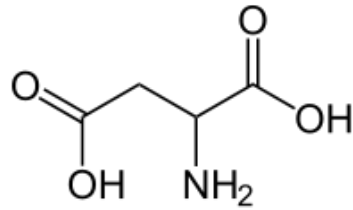
9.5 Αμινοξέα

Τα αμινοξέα είναι δομικά στοιχεία των πρωτεϊνών που επηρεάζουν τα ποιοτικά χαρακτηριστικά (γεύση, άρωμα, χρώμα) των τροφίμων. Επιπλέον αποτελούν δείκτη νοθείας των χυμών φρούτων (Fabiani et al. 2002).

Ο χυμός ροδιού περιέχει γλουταμινικό και ασπαραγινικό οξύ (Εικόνα 25) (Aviram et al. 2000).



Γλουταμινικό οξύ



Ασπαραγινικό οξύ

Εικόνα 25. Χημική δομή των αμινοξέων που περιέχονται στο χυμό ροδιού (www.wikipedia.org).

9.6 Ανόργανα συστατικά

Τα ανόργανα στοιχεία είναι ουσίες απαραίτητες για τη διατήρηση της φυσικής υγείας του ανθρώπου. Τα περισσότερα ανόργανα στοιχεία υπάρχουν στο ανθρώπινο σώμα ωστόσο 15 από αυτά προσλαμβάνονται μέσω τροφών και θεωρούνται απαραίτητα. Κατατάσσονται σε δύο κατηγορίες ανάλογα την αναγκαιότητα της ποσότητας πρόσληψης. Μακροστοιχεία είναι εκείνα τα στοιχεία που απαιτούνται σε μεγάλες ποσότητες (μεγαλύτερες των 100 mg την ημέρα) και είναι το μαγνήσιο, το κάλιο, το νάτριο, το ασβέστιο, ο φωσφόρος, το χλώριο και το θείο. Αντίθετα τα ιχνοστοιχεία απαιτούνται σε μικρές ποσότητες (μέχρι λίγων mg την ημέρα) και σε αυτά συγκαταλέγονται ο χαλκός, ο σίδηρος, το μαγγάνιο, ο ψευδάργυρος, το ιώδιο, το φθόριο, το χρώμιο και το κοβάλτιο (Ζερφυρίδης 1998).

Ο χυμός ροδιού περιέχει κάλιο, νάτριο, φωσφόρο, ασβέστιο και μαγνήσιο (Eksi and Ozhamamci 2009, Viuda-Martos et al. 2010).

10. Ευεργετικές ιδιότητες του χυμού ροδιού

Η ιδέα των λειτουργικών τροφίμων ξεκίνησε στην Ιαπωνία στις αρχές της δεκαετίας του 1980, όταν η τότε κυβέρνηση χρηματοδότησε την έρευνα προγραμμάτων σχετικά με τη μελέτη και την ανάπτυξη λειτουργικών τροφίμων. Στις ΗΠΑ ήδη από το 1990 επιτράπη η χρήση μηνυμάτων ή απεικονίσεων όπου δήλωναν ή υπονοούσαν ότι κάποια τρόφιμα διέθεταν συγκεκριμένα χαρακτηριστικά ευεργετικά για την υγεία. Βέβαια η χρήση τους έπρεπε να γίνει αποδεκτή από τον αμερικανικό Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA). Αλλά και η Ε.Ε. το 2006 εξέδωσε κανονισμό σύμφωνα με τον οποίο απαιτείται έγκριση πριν γνωστοποιηθεί στο ευρύ κοινό (Pravst 2012).

Μέχρι σήμερα έχουν δοθεί διάφοροι ορισμοί των λειτουργικών τροφίμων. Το 1999 η Ε.Ε. όρισε ως *λειτουργικό τρόφιμο εκείνο το τρόφιμο που έχει αποδειχθεί ικανοποιητικά ότι επηρεάζει ευεργετικά μια ή περισσότερες σωματικές λειτουργίες, πέρα από επαρκείς θρεπτικές επιδράσεις, με τρόπο ώστε να βελτιώνει την κατάσταση της υγείας του ανθρώπου ή να περιορίζει τον κίνδυνο εμφάνισης ασθενειών* (Viuda-Martos 2010).

Γενικά το λειτουργικό τρόφιμο είναι τρόφιμο και όχι κάποιο χάπι ή οτιδήποτε άλλο που έχει ευεργετικές ιδιότητες για την υγεία. Επιπλέον μπορεί να είναι σε ανεπεξέργαστη μορφή ή να έχουν προστεθεί, αφαιρεθεί, αντικατασταθεί ή τροποποιηθεί με χημικά ή μηχανικά μέσα ένα ή περισσότερα συστατικά του (Pravst 2012).

Το ρόδι μπορεί να θεωρηθεί λειτουργικό τρόφιμο καθώς διαθέτει φαινολικά συστατικά (ελλαγιτανίνες, ανθοκυανίνες, παράγωγα ελλαγικού οξέος κ.α.) σε διάφορα μέρη του, στα οποία αποδίδονται οι λειτουργικές και θεραπευτικές επιδράσεις του στην υγεία. Συγκεκριμένα διάφορες μελέτες καταγράφουν την αντιοξειδωτική, αντιμικροβιακή, αντιϊική, αντιφλεγμονώδη, αντικαρκινική και αντιδιαβητική του δράση. Επιπλέον φαίνεται ότι η κατανάλωση του ροδιού επιδρά στις καρδιαγγειακές παθήσεις, στην υπατοτοξικότητα αλλά και βελτιώνει τη στοματική και δερματική υγεία. Ωστόσο χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση καθώς έχουν ολοκληρωθεί λίγες κλινικές μελέτες και τα αποτελέσματά τους δεν έχουν διασταυρωθεί πλήρως (Cam et al. 2009, Alper et al. 2010, Viuda-Martos 2010).

Ο χυμός ροδιού, λόγω της περιεκτικότητάς του σε πολυφαινόλες παρουσιάζει παρόμοιες ευεργετικές επιδράσεις στην υγεία του ανθρώπου με αυτές του ροδιού. Με άλλα λόγια, στο χυμό ροδιού έχει αποδοθεί αντιοξειδωτική και αντιμικροβιακή δράση, ικανότητα μείωσης της πίεσης του αίματος και της οξείδωσης της “κακής” χοληστερόλης,

αντι-αθηροσκληρωτική, αντικαρκινική και αντιφλεγμονώδης δράση καθώς και προληπτική δράση έναντι καρδιαγγειακών παθήσεων κ.α. (Tzulker et al. 2007, Alper et al. 2010, Pala and Toklucu 2011).

10.1 Αντιοξειδωτική δράση

Οι ελεύθερες ρίζες σχηματίζονται ενδογενώς στο ανθρώπινο σώμα ως αποτέλεσμα των οξειδωτικών μεταβολικών αντιδράσεων. Αυτές μπορούν να αντιδράσουν και να μεταβάλλουν τη δομή και τη λειτουργία πολλών κυτταρικών συστατικών (DNA, RNA, πρωτεΐνες, υδατάνθρακες κ.α.) οδηγώντας σε πιθανή εκδήλωση ασθενειών (καρδιαγγειακές παθήσεις, καρκίνος, φλεγμονές, εμφάνιση καταρράκτη και νευρολογικές διαταραχές). Τα αντιοξειδωτικά συστατικά των τροφίμων (ένζυμα, βιταμίνες, φαινολικά συστατικά) παρεμποδίζουν το σχηματισμό ελεύθερων ριζών, απομακρύνουν τις ελεύθερες ρίζες, επιδιορθώνουν τη ζημία στα προσβαλλόμενα κύτταρα και εμποδίζουν τις μεταλλάξεις (Lampe 1999).

Μελέτες έδειξαν ότι ο εμπορικός χυμός ροδιού έχει τριπλάσια αντιοξειδωτική δράση σε σχέση με το κόκκινο κρασί και το πράσινο τσάι. Επιπλέον συγκριτικά με άλλους χυμούς φρούτων (χυμός από σταφύλι, κράνμπερι (οξύκοκκο), γκρέιπφρουτ, πορτοκάλι, μήλο, κεράσι και μύρτιλο), ο χυμός ροδιού υπερτερεί σημαντικά (Viuda-Martos et al. 2010).

Η αντιοξειδωτική δράση του χυμού ροδιού βασίζεται στην υψηλή περιεκτικότητά του σε φαινολικές ουσίες κυρίως στην πουνικαλαγίνη (ελλαγιτανίνη) και λιγότερο στις ανθοκυανίνες και στα παράγωγα του ελλαγικού οξέος (Gil et al. 2000, Tzulker et al. 2007). Μάλιστα ορισμένες μελέτες υποστηρίζουν ότι η αντιοξειδωτική δράση των φρούτων και λαχανικών μεταβάλλεται ανάλογα με την περιεκτικότητά τους σε φαινολικά συστατικά (Rapisarda et al. 1999, Gil et al. 2000, Tzulker et al. 2007).

Η φαινολική σύσταση του χυμού ροδιού και κατά συνέπεια η αντιοξειδωτική του δράση μεταβάλλεται ανάλογα με την ποικιλία του ροδιού, την περιοχή της καλλιέργειας, το κλίμα, τις καλλιεργητικές πρακτικές αλλά και την επεξεργασία που υφίσταται κατά τη χυμοποίηση. Για παράδειγμα χυμοί ροδιού που προκύπτουν από την έκθλιψη ολόκληρου του καρπού παρουσιάζουν μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση, συγκριτικά με χυμούς μετά από έκθλιψη μόνο των σπόρων, λόγω της απελευθέρωσης των ελλαγιτανινών που βρίσκονται στη φλούδα (Gil et al. 2000, Cam et al. 2009).

10.2 Αντιβακτηριακή δράση

Η αντιβακτηριακή δράση του χυμού ροδιού αποδίδεται στα φαινολικά συστατικά του (γαλλικό οξύ, ελλαγικό οξύ, γαλλαγικό οξύ, πουνικαλαγίνη, πουνικαλίνη, κερκετίνη, ανθοκυανίνες) (Naz et al. 2007, Mena et al. 2013).

Ο μηχανισμός δράσης των αντιμικροβιακών ουσιών και οι στόχοι δεν είναι γνωστοί και καθορισμένοι με σαφήνεια. Θεωρείται ότι οι αντιμικροβιακές ουσίες αντιδρούν με τις σουλφιδριλικές ομάδες των πρωτεϊνών ή εμποδίζουν την πρόσβαση των μικροοργανισμών σε υποστρώματα. Πιθανοί στόχοι στο βακτηριακό κύτταρο είναι πολυπεπίδια του κυτταρικού τοιχώματος και ένζυμα της κυτταρικής μεμβράνης (Naz et al. 2007).

Ο χυμός ροδιού είναι δραστικός τόσο σε Gram⁺ όσο και σε Gram⁻ βακτήρια. Έρευνα έδειξε ότι η κατανάλωση χυμού ροδιού επιδρά αρνητικά έναντι παθογόνων μικροοργανισμών (*E. coli* και *Bacillus subtilis*) που μπορούν να δημιουργήσουν μολύνσεις και άλλες επικίνδυνες καταστάσεις στο στομάχι (Bhowmik et al. 2013). Άλλη μελέτη έδειξε αξιόλογη αντιβακτηριακή δράση των φαινολικών ουσιών του χυμού (ελλαγικό οξύ, γαλλαγικό οξύ, πουνικαλίνη και πουνικαλαγίνη) έναντι της *E. coli*, του *P. aeruginosa*, του *S. aureus* κ.α. μικροοργανισμών (Reddy et al. 2007).

10.3 Καρδιαγγειακές παθήσεις

Η αθηροσκλήρωση είναι πάθηση των αρτηριών που περιλαμβάνει μια σειρά από φλεγμονές και οξειδωτικές αλλαγές στο τοίχωμα των αρτηριών. Η πρωταρχική ανωμαλία είναι η συγκράτηση και οξείδωση της χαμηλής πυκνότητας χοληστερόλης (LDL) που φυσιολογικά διέρχεται μέσα στο αρτηριακό τοίχωμα και απομακρύνεται.

Η οξείδωση της LDL ενεργοποιεί την αθηρογένεση και συμβάλλει στην αθηροσκλήρωση και σε εμφάνιση καρδιαγγειακής πάθησης. Η δυσλιπιδαιμία αποτελεί σημαντικό παράγοντα ανάπτυξης της καρδιαγγειακής νόσου και χαρακτηρίζεται από αυξημένα επίπεδα χαμηλής πυκνότητας χοληστερόλης (LDL) και από μειωμένα επίπεδα υψηλής πυκνότητας χοληστερόλης (HDL) (Viuda-Martos 2010).

Αποτελέσματα ερευνών που έγιναν τόσο εργαστηριακά όσο και κλινικές δοκιμές σε ανθρώπους και πειραματόζωα έδειξαν ότι η κατανάλωση χυμού ροδιού παρέχει θετικά αποτελέσματα έναντι της αθηροσκλήρωσης (Aviram et al. 2000, Kaplan et al. 2001, Aviram et al. 2004, Esmailzadeh et al. 2004, Sumner et al. 2005, De Nigris et al. 2006, Rock et al. 2008).

10.4 Αντιφλεγμονώδης δράση

Η φλεγμονή προστατεύει το ανθρώπινο σώμα από τραυματισμούς που προκαλούνται από πληγές, μολύνσεις κ.α. Εμφανίζεται ως φυσιολογική αντίδραση του ανοσοποιητικού συστήματος και οδηγεί σε επιδιόρθωση και αναγέννηση του τραυματισμένου ιστού. Διακρίνεται σε βραχυχρόνια φλεγμονή και μακροχρόνια φλεγμονή που μπορεί να οδηγήσει σε σοβαρές ασθένειες (καρκίνος, καρδιοπάθειες κ.α.) (Medjakovic and Jungbauer 2013).

Έρευνες έδειξαν ότι ο χυμός του ροδιού έχει αντιφλεγμονώδη δράση (Adams et al. 2006, Colombo et al. 2013).

10.5 Αντικαρκινική δράση

Πολλά συστατικά των φρούτων και των λαχανικών έχουν αντικαρκινική δράση. Η δράση τους συνίσταται στην παρεμπόδιση της γρήγορης εξάπλωσης και στην απόπτωση των καρκινικών κυττάρων (Akrinar-Bayizit et al. 2012).

Οι ανθοκυανίνες, οι φλαβονόλες, το ελλαγικό οξύ και η πουνικαλαγίνη φαίνεται να ασκούν αντικαρκινική δράση (Viuda-Martos et al. 2010).

Επιπλέον διάφορες μελέτες έδειξαν ότι ο χυμός ροδιού δρά ευνοϊκά έναντι της λευχαιμίας, του καρκίνου στο στήθος, στο έντερο και στον προστάτη (Kim et al. 2002, Kawaii and Lansky 2004, Seeram et al. 2005, Adams et al. 2006, Pantuck et al. 2006, Hong et al. 2008).

10.6 Αντιδιαβητική δράση

Ο διαβήτης είναι μια μεταβολική ασθένεια που χαρακτηρίζεται από υπεργλυκαιμία (αυξημένη συγκέντρωση σακχάρου στο αίμα) και διαταραχές στο μεταβολισμό των υδατανθράκων, του λίπους και των πρωτεϊνών. Αυτές οι διαταραχές προκαλούνται από κάποιο ελάττωμα είτε στην έκκριση της ινσουλίνης είτε στη δράση της ινσουλίνης είτε και στα δύο. Η χρόνια υπεργλυκαιμία συνδέεται με βλάβη, δυσλειτουργία και κατάρρευση διαφόρων οργάνων (μάτια, καρδιά, νεύρα και αιμοφόρα αγγεία) (American Diabetes Association 2013).

Έρευνες έδειξαν ότι ο χυμός ροδιού έχει υπογλυκαιμική δράση (Katz et al. 2007, Betanzos-Cabrera et al. 2011).

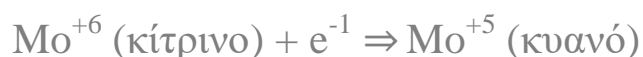
11. Προσδιορισμός ολικών φαινολών – Μέθοδος Folin-Ciocalteu

Έχουν αναπτυχθεί πολλές μέθοδοι για τη μελέτη των φαινολικών ουσιών με πιο σημαντική μέθοδο αναγνώρισης και ποσοτικού προσδιορισμού τη χρωματογραφική μέθοδο. Ωστόσο στα περισσότερα εργαστήρια εφαρμόζονται οι χρωματομετρικές μέθοδοι λόγω εύκολης προσβασιμότητας.

Η μέθοδος **Folin-Ciocalteu** αποτελεί τη συνηθέστερη μέθοδο που χρησιμοποιείται για τη μέτρηση των φαινολικών ουσιών των τροφίμων. Είναι μια εξελιγμένη μορφή της μεθόδου Folin-Denis που αναπτύχθηκε τον 19^ο αιώνα για τον προσδιορισμό της τυροσίνης στις πρωτεΐνες (Agbor et al. 2014).

Η μέθοδος βασίζεται στην οξείδωση των φαινολικών ουσιών σε αλκαλικό περιβάλλον από το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu που είναι μίγμα φωσφοροβολφραμικού οξέος ($H_3PW_{12}O_{40}$) και φωσφορομολυβδενικού οξέος ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Ενώ οι φαινολικές ουσίες οξειδώνονται, τα οξέα ανάγονται σε μίγμα κυανών οξειδίων του βολφραμίου και του μολυβδενίου. Ο κυανούς χρωματισμός μετρείται φασματοφωτομετρικά και παρουσιάζει μέγιστη απορρόφηση στα 700-760 nm (Σουφλερός 2000).

Ο ακριβής μηχανισμός της μεθόδου Folin-Ciocalteu είναι άγνωστος ωστόσο θεωρείται ότι ακολουθείται μια σειρά από αναγωγικές αντιδράσεις του μολύβδου με πρόσληψη ενός ή δύο ηλεκτρονίων από τις φαινολικές ουσίες (Ainsworth and Gillespie 2007) (Εικόνα 26).

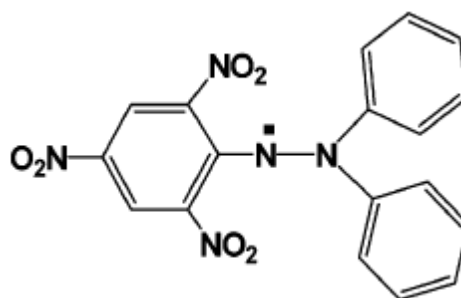


Εικόνα 26. Πιθανός μηχανισμός δράσης της μεθόδου Folin-Ciocalteu (Agbor 2014).

Για τον υπολογισμό της περιεκτικότητας του προϊόντος σε φαινολικές ουσίες κατασκευάζονται πρότυπες καμπύλες γαλλικού, καφεϊκού, χλωρογενικού, βανιλικού, φερουλικού οξέος κ.α. ενώ τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ισοδύναμα των αντίστοιχων οξέων (Prior et al. 2005).

12. Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης – Μέθοδος DPPH⁺

Οι τεχνικές μέτρησης της αντιοξειδωτικής δράσης ενός προϊόντος χωρίζονται σε δυο κατηγορίες. Στην πρώτη μετράται η ικανότητα των αντιοξειδωτικών ουσιών να αδρανοποιούν τις ελεύθερες ρίζες δίνοντας υδρογόνα ενώ στη δεύτερη υπολογίζεται η ικανότητα των αντιοξειδωτικών ουσιών να ανάγουν ελεύθερες ρίζες, μέταλλα ή καρβονύλια (Prior et al. 2005).



Εικόνα 27. Χημική δομή της ρίζας DPPH⁺ (2,2-διφαινυλ-1-πικρυλδραζύλιο) (Prior et al. 2005).

Η μέθοδος DPPH⁺ είναι φασματοφωτομετρική τεχνική για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης. Η ρίζα DPPH⁺ (Εικόνα 27) είναι μια σταθερή ρίζα μωβ χρώματος που παρουσιάζει μέγιστη απορρόφηση στα 515-528 nm.

Ο μηχανισμός δράσης της μεθόδου βασίζεται στην αναγωγή της ρίζας DPPH⁺ από τις αντιοξειδωτικές ουσίες (Εικόνα 28). Συγκεκριμένα καθώς αντιδρά με τις αντιοξειδωτικές ουσίες η απορρόφηση της ρίζας μειώνεται και αποχρωματίζεται σταδιακά έως ότου η απορρόφηση σταθεροποιηθεί (Karadag et al. 2009).



Εικόνα 28. Μηχανισμός δράσης της μεθόδου DPPH⁺ (Brand-Williams et al. 1995).

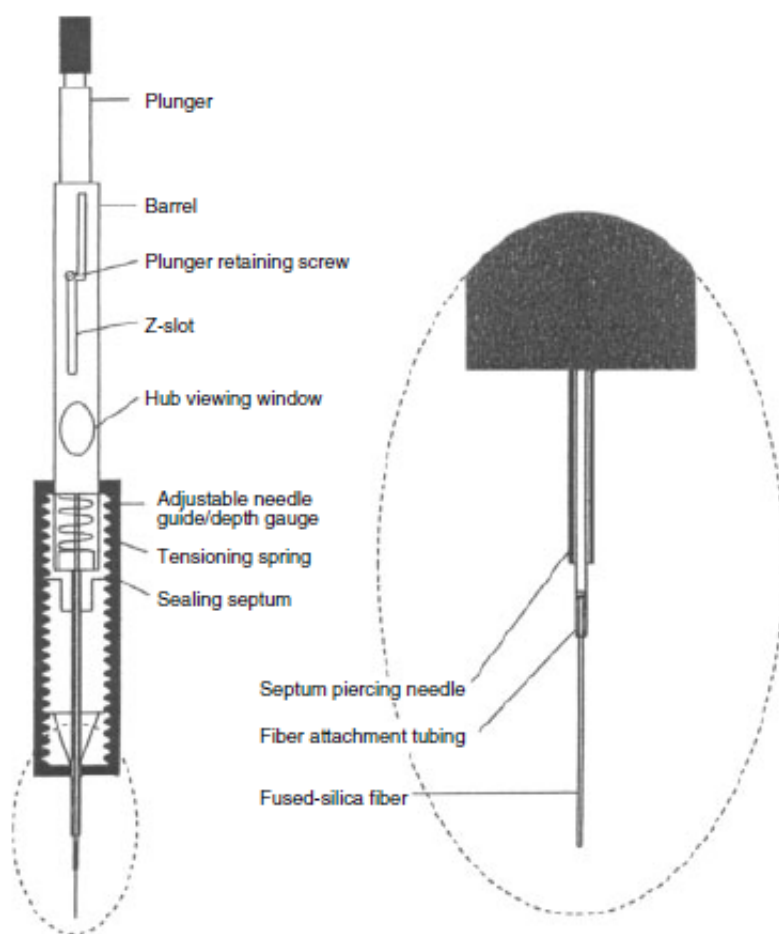
Η αντιοξειδωτική ιδιότητα εκφράζεται ως ποσοστό δέσμευσης ελεύθερων ριζών DPPH⁺ σύμφωνα με τον ακόλουθο τύπο (Siger et al. 2008):

$$\% \text{ DPPH} = (\text{A}_{\text{μάρτυρα}} - \text{A}_{\text{δείγματος}}) / \text{A}_{\text{μάρτυρα}}$$

13. Εκχύλιση πτητικών συστατικών – Μέθοδος μικροεκχύλισης στερεάς φάσης

Η μέθοδος μικροεκχύλισης στερεάς φάσης (SPME) αποτελεί τεχνική προετοιμασίας ενός δείγματος για περαιτέρω ανάλυση. Η μέθοδος SPME βασίζεται στην έκθεση ίνας πυριτίου (fused-silica fiber) επιστρωμένης με στατική φάση (fiber attachment tubing) μέσα στο δείγμα ή στον υπερκείμενο χώρο πάνω από το δείγμα για καθορισμένο χρονικό διάστημα, μέχρι να επέλθει ισορροπία της συγκέντρωσης των ουσιών μεταξύ του δείγματος και της ίνας (Μπαδέκα 2009).

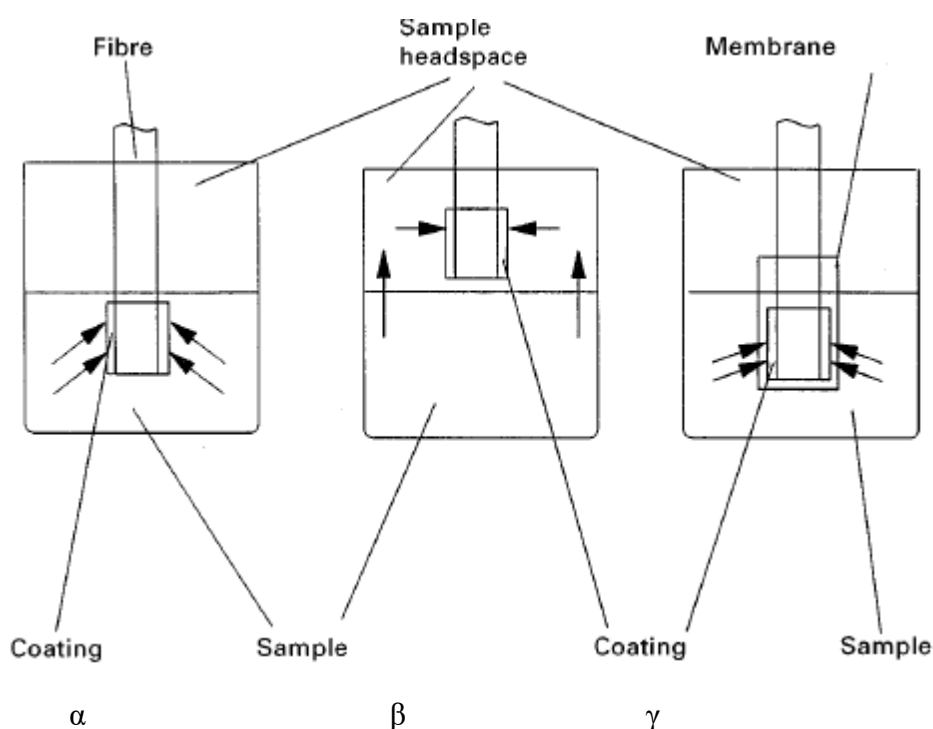
Στη συνέχεια συνδυάζεται με αέρια ή υγρή χρωματογραφία για τον προσδιορισμό των προς ανάλυση ουσιών. Η SPME/GC-MS χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό πτητικών ή ημιπτητικών οργανικών ουσιών ενώ η SPME/HPLC χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό ελαφρά ή μη πτητικών ουσιών ή θερμικά ασταθών ουσιών.



Εικόνα 29. Συσκευή μεθόδου SPME (Vas and Vekey 2004).

Η συσκευή που χρησιμοποιείται μοιάζει με σύρριγγα και αποτελείται από την ίνα μήκους 1-2 cm και το στήριγμά της (Εικόνα 29). Η βελόνα που βρίσκεται στο κάτω άκρο της συσκευής προστατεύει την ίνα η οποία εκτείνεται στο περιβάλλον όταν βρεθεί στην κατάλληλη θέση. Στο σημείο αυτό η επίστρωση της ίνας λειτουργεί «σαν σφουγγάρι» προσροφώντας τις προς ανάλυση ουσίες (Vas and Vekey 2004).

Υπάρχουν τρεις τρόποι δειγματοληψίας, η άμεση προσρόφηση, η προσρόφηση στον υπερκείμενο χώρο και η προσρόφηση με προστασία μεμβράνης της ίνας (Εικόνα 30).



Εικόνα 30. Μέθοδοι δειγματοληψίας SPME α) άμεση προσρόφηση, β) προσρόφηση στον υπερκείμενο χώρο και γ) προσρόφηση με προστασία μεμβράνης της ίνας (Pawliszyn 2000).

Στην άμεση προσρόφηση, η ίνα βυθίζεται στο δείγμα και οι αναλύτες μεταφέρονται απ' ευθείας στην ίνα. Η δεύτερη μέθοδος δειγματοληψίας προϋποθέτει προηγουμένως την ύπαρξη ισορροπίας των προς ανάλυση ουσιών μεταξύ του δείγματος και του υπερκείμενου χώρου. Η ίνα δεν έρχεται σε άμεση επαφή με το δείγμα και προστατεύεται από μη πτητικές ενώσεις και μεγάλου MB ουσίες αυτού. Συγκριτικά με την πρώτη μέθοδο, έχουν την ίδια ευαισθησία όμως προσροφούνται γρηγορότερα οι πτητικές ουσίες. Τέλος στην τρίτη μέθοδο, η ίνα καλυμμένη από μια μεμβράνη βυθίζεται στο δείγμα για να προστατευτεί από μεγάλου MB ουσίες όταν αναλύονται δείγματα με πολλές ακαθαρσίες. Συγκριτικά με την πρώτη μέθοδο, η προσρόφηση των ουσιών είναι

βραδύτερη ενώ συγκριτικά με τη δεύτερη μέθοδο ευνοείται η προσρόφηση λιγότερο πτητικών ουσιών (Pawliszyn 2000).

Οι παράγοντες που επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα της μεθόδου είναι η φύση της στατικής φάσης, ο χρόνος προσρόφησης, η θερμοκρασία και το pH του δείγματος, η υγρασία του αέρα και η προσθήκη διαλυτού άλατος (Μπαδέκα 2009).

Υπάρχουν διάφοροι τύποι ιών, ορισμένοι από τους οποίους είναι (www.sigmaaldrich.com):

- Πολυδιμεθυλοσιλοξάνιο (PDMS) με πάχος 100, 30, 7 μm
- Πολυακρυλικός εστέρας (PA) με πάχος 85 μm
- Πολυδιμεθυλοσιλοξάνιο/ διβινυλοβενζόλιο (PDMS/DVB) με πάχος 65 μm
- Carboxen/ Πολυδιμεθυλοσιλοξάνιο (CAR/PDMS) με πάχος 75 μm
- Carbowax/ διβινυλοβενζόλιο (CW/DVB) με πάχος 65 μm
- Carbowax/ επιστρωμένη ρητίνη (CW/TPR) με πάχος 50 μm
- Διβινυλοβενζόλιο/ Carboxen/ Πολυδιμεθυλοσιλοξάνιο (DVB/CAR/PDMS) με πάχος 50/30 μm
- Carbowax με πάχος 60 μm

14. Ταυτοποίηση πτητικών συστατικών με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας (GC-MS)

Σύμφωνα με τη Διεθνή Ένωση Θεωρητικής και Εφαρμοσμένης Χημείας (IUPAC 1993), *Χρωματογραφία είναι μια φυσική μέθοδος διαχωρισμού στην οποία τα συστατικά ενός μίγματος κατανέμονται μεταξύ δύο φάσεων, μια εκ των οποίων είναι η στατική ενώ η άλλη (κινητή φάση) κινείται σε συγκεκριμένη κατεύθυνση.*

“Πατέρας της χρωματογραφίας” θεωρείται ο Tswett αφού αυτός εφεύρε την ονομασία χρωματογραφία (από τις ελληνικές λέξεις χρώμα και γράφω) και περιέγραψε την διαδικασία όταν το 1906 διαχώρισε φυτικές χρωστικές με τη βοήθεια της υγρής χρωματογραφίας (McNair and Miller 1997).

Οι χρωματογραφικές μέθοδοι χωρίζονται σε διάφορους τύπους με βάση το μηχανισμό διαχωρισμού των συστατικών (χρωματογραφία προσρόφησης, κατανομής, ιοντοανταλλαγής) τη μορφή της στατικής φάσης (χρωματογραφία στήλης, πηκτής, χαρτιού και λεπτής στοιβάδας) και τη μορφή της κινητής φάσης (αέρια και υγρή χρωματογραφία).

Η **αέρια χρωματογραφία** (Gas Chromatography) είναι χρωματογραφία στήλης όπου η κινητή φάση είναι αέρια ενώ η στατική φάση είναι στερεά ή υγρή. Χωρίζεται σε χρωματογραφία αερίου-υγρού (GLC) και σε χρωματογραφία αερίου-στερεού (GSC).

Στην αέρια χρωματογραφία αερίου-υγρού ο διαχωρισμός γίνεται με κατανομή των ουσιών ανάμεσα στην κινητή φάση και σε μια λεπτή στοιβάδα μη πτητικού υγρού που είναι προσροφημένη στην επιφάνεια ενός αδρανούς στερεού φορέα. Το υγρό μπορεί να είναι παραφινέλαιο, σιλικόνη, πολυγλυκόλες, αλκοόλες μεγάλου MB κ.α. ενώ η στερεά φάση είναι γη διατόμων. Στην αέρια χρωματογραφία αερίου-στερεού τα διάφορα συστατικά χωρίζονται μεταξύ της αέριας κινητής και της στερεάς στατικής φάσης. Σε αυτή την περίπτωση η στατική φάση μπορεί να είναι γη διατόμων, ενεργός άνθρακας, ξηροπηκτική οξειδίου του πυριτίου κ.α. Η κινητή φάση είναι αδρανές αέριο (ήλιο, υδρογόνο, άζωτο, αργό) εξαιρετικής καθαρότητας (Πολυχρονιάδου-Αληχανίδου 1996).

Παρακάτω αναφέρονται τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα της αέριας χρωματογραφίας (McNair and Miller 1997, Conder 2000) καθώς και τα πεδία χρήσης της σε πολλούς τομείς της καθημερινής ζωής.

Πλεονεκτήματα αέριας χρωματογραφίας

1. Γρήγορη τεχνική
2. Απλή και αξιόπιστη μέθοδος
3. Μεγάλη αποτελεσματικότητα (υψηλή διαχωριστική ικανότητα)
4. Μεγάλη ευαισθησία (ανίχνευση σε ppm και ppb)
5. Μικρές ποσότητες δείγματος
6. Απομάκρυνση ακαθαρσιών
7. Μεγάλο εύρος θερμοκρασίας και πίεσης

Μειονεκτήματα αέριας χρωματογραφίας

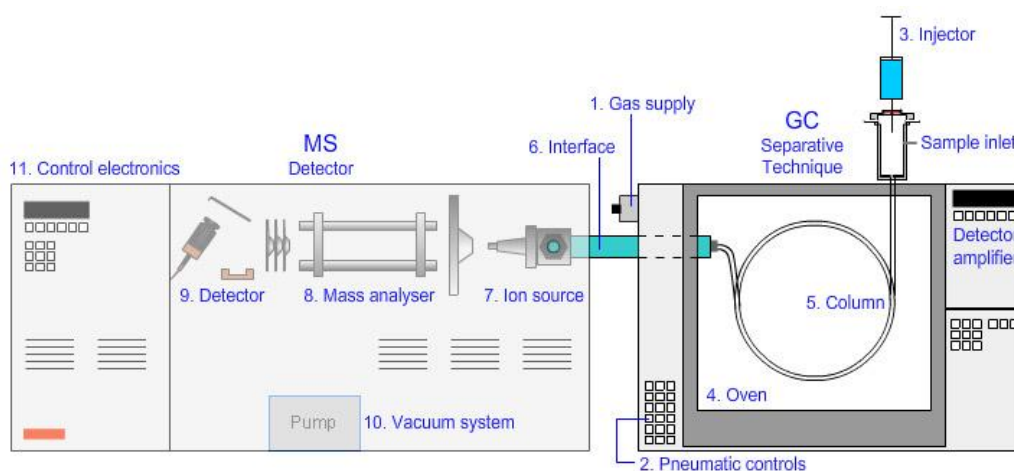
1. Περιορίζεται σε μίγματα πτητικών ενώσεων
2. Μη κατάλληλη για τα θερμικά ασταθή δείγματα
3. Αρκετά δύσκολη για τα μεγάλα παρασκευαστικά δείγματα
4. Απαιτεί φασματομετρία συνήθως φασματομετρία μάζας για την ταυτοποίηση των αναλυτών
5. Αλληλεπίδραση με το φέρον αέριο (κινητή φάση)
6. Αλληλεπίδραση με τη στατική φάση στην αέρια χρωματογραφία αερίου-υγρού

Εφαρμογές αέριας χρωματογραφίας

- Ανίχνευση υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων σε τρόφιμα
- Ποσοτική/ποιοτική ανάλυση τροφίμων
- Ανίχνευση υπολειμμάτων οργανικών διαλυτών σε υλικά συσκευασίας
- Ανίχνευση επιμολυντών σε πόσιμο νερό
- Μέτρηση ρύπων στην ατμόσφαιρα
- Προσδιορισμός χημικών ουσιών σε φάρμακα και καλλυντικά
- Προσδιορισμός αιθέριων ελαίων σε αρώματα
- Μέτρηση περιεκτικότητας αλκοόλης στο αίμα
- Ανίχνευση ναρκωτικών ουσιών στο αίμα
- Ανίχνευση υπολειμμάτων επιταχυντών σε περιπτώσεις εμπρησμού

Τεχνική της αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας (Εικόνα 31)

Αρχικά το δείγμα εισάγεται στην είσοδο του συστήματος (sample inlet) μέσω σύριγγας (injector) που τρυπά το λαστιχένιο πώμα (septum) το οποίο καλύπτει την είσοδο. Σε εκείνο το σημείο η θερμοκρασία είναι υψηλότερη κατά 50°C περίπου από το λιγότερο πτητικό συστατικό του δείγματος, με αποτέλεσμα το δείγμα να θερμαίνεται γρήγορα και να εξατμίζεται. Στη συνέχεια η κινητή φάση (αδρανές αέριο) μεταφέρει το εξαερωμένο δείγμα κατά μήκος της στήλης (column) που περιέχει τη στατική φάση. Η στήλη είναι γυάλινη ή μεταλλική με τη μορφή σπείρας. Τα συστατικά του μίγματος κατανέμονται μεταξύ των δύο φάσεων και εξέρχονται από την άλλη άκρη της στήλης. Κατά τη διάρκεια του διαχωρισμού η θερμοκρασία παραμένει σταθερή ή μεταβάλλεται σταδιακά σύμφωνα με πρόγραμμα για τον καλύτερο διαχωρισμό των συστατικών. Στη συνέχεια οι διαχωριζόμενες ουσίες εισάγονται στον φασματόμετρο μάζας (MS). Εκεί μια δέσμη ηλεκτρονίων πέφτει στα μόρια της κάθε ουσίας και τα μετατρέπει σε ιόντα (ion source). Με την εφαρμογή ηλεκτρικών πεδίων τα μοριακά ιόντα ευθυγραμμίζονται σε δέσμη και επιταχύνονται. Στη συνέχεια τα επιταχυνόμενα ιόντα διέρχονται μέσα από τον αναλυτή μαζών (mass analyser) όπου υπάρχει μαγνητικό πεδίο στο οποίο τα ιόντα κινούνται σε κυκλική τροχιά ανάλογα με το λόγο m/z (μάζα/φορτίο). Μόνο τα ιόντα συγκεκριμένης μάζας θα περάσουν από τον αναλυτή μαζών. Τέλος το ηλεκτρικό ρεύμα που παράγεται στον ανιχνευτή (detector) με διαφορετικό λόγο m/z ενισχύεται και καταγράφεται υπό μορφή καμπύλης. Το χρωματογράφημα που προκύπτει δείχνει την αφθονία του ιόντος ως συνάρτηση του χρόνου και δίνει πληροφορίες σχετικά με το χρόνο κατακράτησης, το εμβαδό και την εκατοστιαία σύσταση του δείγματος (Πολυχρονιάδου-Αληχανίδου 1996, Μπαδέκα 2009).



Εικόνα 31. Διάταξη GC-MS (www.chromacademy.com).

15. Παθογόνοι μικροοργανισμοί

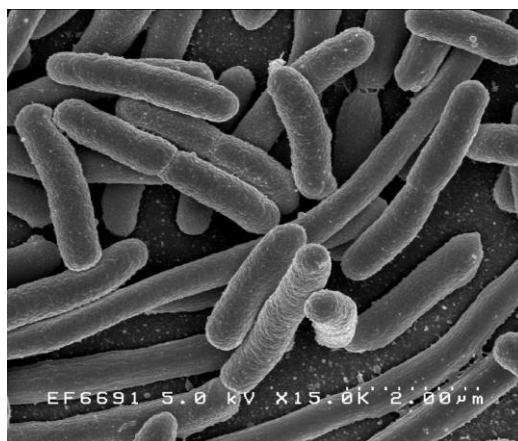
Το ανθρώπινο σώμα έχει περίπου 10^{14} κύτταρα βακτηρίων, ιών, μυκήτων και πρωτόζωων τα οποία αποτελούν τη φυσιολογική μικροχλωρίδα του και εντοπίζονται σε συγκεκριμένα μέρη του σώματος (δέρμα, παχύ έντερο κ.α). Αυτοί οι μικροοργανισμοί δεν αποτελούν απειλή για την υγεία του ανθρώπου παρά μόνο σε περιπτώσεις όπου το ανοσοποιητικό σύστημα είναι εξασθενημένο (Alberts et al. 2002). Συνήθως αυτοί οι μικροοργανισμοί είναι μη παθογόνοι ή δυνητικά παθογόνοι.

Παθογόνοι μικροοργανισμοί είναι αυτοί που προκαλούν ασθένειες στον άνθρωπο ενώ δυνητικά παθογόνοι μικροοργανισμοί είναι εκείνοι που άλλοτε λειτουργούν ως παθογόνοι και άλλοτε ως μη παθογόνοι.

Παρακάτω αναλύονται ορισμένοι παθογόνοι μικροοργανισμοί που είτε ανήκουν στη φυσιολογική μικροχλωρίδα του ανθρώπου είτε μεταδίδονται σε αυτόν μέσω άλλων μολυσμένων πηγών.

15.1 *Escherichia coli*

Η *Escherichia coli* ανήκει στην οικογένεια *Enterobacteriaceae* και στο γένος *Escherichia*. Είναι Gram⁻ βακτήριο και από μορφολογικής άποψης αποτελείται από ευθύγραμμο ραβδία κινητά με περίτριχα μαστίγια ή ακίνητα (Εικόνα 32). Είναι αερόβιος ή προαιρετικά αναερόβιος μικροοργανισμός και αναπτύσσεται σε θερμοκρασίες από 5°C έως 46°C (Λιτοπούλου-Τζανετάκη 2010).



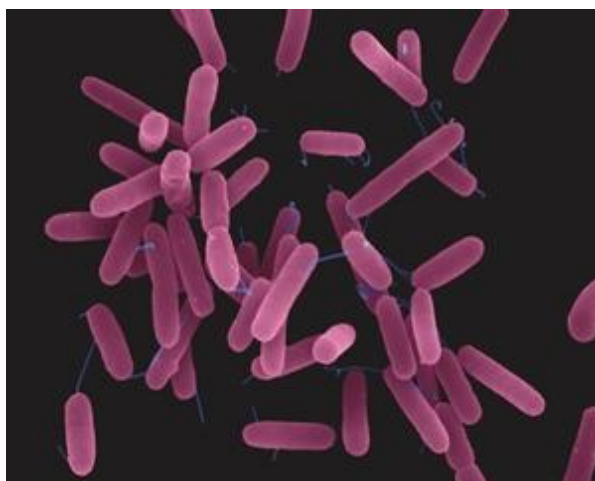
Εικόνα 32. Μορφολογία του βακτηρίου *Escherichia coli* (www.wikipedia.org).

Η *Escherichia coli* είναι μέρος της μικροβιακής χλωρίδας του εντέρου των ανθρώπων και των ζώων. Μάλιστα στα νεογνά εγκαθίσταται στο έντερο λίγες ώρες μετά τη γέννησή τους. Συνήθως δεν προκαλούν ασθένειες στον ξενιστή εκτός από περιπτώσεις ρήξης του τοιχώματος των εντέρων ή ανοσοκαταστολής. Όμως εκτός από τα κόπρανα, η *E. coli* μπορεί να βρεθεί στο δέρμα, στα χέρια, στο νερό, στον αέρα και στα τρόφιμα. Μάλιστα αποτελεί δείκτη εντερικής μόλυνσης των τροφίμων και ευθύνεται για ουρολοιμώξεις, πυώδεις φλεγμονές και γαντρεντερίτιδα στον άνθρωπο ενώ στα ζώα προκαλεί μαστίτιδα, εντερικές παθήσεις και σηψαιμία (Kaper et al. 2004, Λιτοπούλου-Τζανετάκη 2010).

Τα στελέχη της *E. coli* κατατάσσονται σε έξι κατηγορίες: τα εντεροπαθογόνα (*E. coli* EPEC), τα εντεροδιεισδυτικά (*E. coli* EIEC), τα εντεροτοξινογενή (*E. coli* ETEC), τα εντεροαιμορραγικά (*E. coli* EHEC), τα εντεροαθροιστικά (*E. coli* EAEC) και τα εντεροπροσκολλητικά διαχεόμενης προσκόλλησης (*E. coli* DAEC) (Kaper et al. 2004). Ένα από τα γνωστότερα και πιο επικίνδυνα στελέχη είναι το *E. coli* O157:H7 και ανήκει στα εντεροαιμορραγικά στελέχη.

15.2 *Pseudomonas aeruginosa*

Το βακτήριο *P. aeruginosa* ανήκει στην οικογένεια *Pseudomonadaceae* και στο γένος *Pseudomonas*. Είναι Gram⁻ βακτήριο, αερόβιο ενώ η κίνησή του διευκολύνεται με την ύπαρξη ενός και σπανιότερα δύο ή περισσότερων μαστιγίων (Εικόνα 33). Αναπτύσσεται σε θερμοκρασίες από 5°C έως 41°C (βέλτιστη: 37°C) (Λιτοπούλου-Τζανετάκη 2010).



Εικόνα 33. Μορφολογία του βακτηρίου *Pseudomonas aeruginosa* (www.ehp.niehs.nih.gov).

Ο *P. aeruginosa* θεωρείται ενδονοσοκομειακό μικρόβιο αφού προκαλεί σοβαρές και επικίνδυνες λοιμώξεις στους ιστούς όταν ο ανθρώπινος οργανισμός είναι σε ανοσοκαταστολή ή εξασθενημένος. Έτσι μπορεί να δράσει στον αναπνευστικό σωλήνα και να προκαλέσει πνευμονία ή πνευμονική λοίμωξη σε ασθενείς με κυστική ίνωση. Επιπλέον θεωρείται η τρίτη αιτία για νοσοκομειακές λοιμώξεις στο ουροποιητικό σύστημα ενώ ευθύνεται και σε περιπτώσεις εμφάνισης εξωτερικής ωτίτιδας σε κολυμβητές ή κακοήθους εξωτερικής ωτίτιδας σε διαβητικούς. Λιγότερο συχνά προκαλεί μολύνσεις στον κερατοειδή του ματιού, μηνυγγίτιδα και λοιμώξεις στο δέρμα και στα κόκκαλα (Mesaros et al. 2007).

Τα στελέχη του *P. aeruginosa* βρίσκονται στο έδαφος και στο νερό ενώ μπορεί να αναπτυχθούν και σε φυτικούς και ζωικούς ιστούς. Στα ζώα προκαλούν πνευμονίες, εντερίτιδες, μαστίτιδες και σηψαιμίες ενώ θεωρείται παθογόνος μικροοργανισμός και για τα φυτά.

15.3 *Staphylococcus aureus*

Το βακτήριο *S. aureus* ανήκει στην οικογένεια *Micrococcaceae* και στο γένος *Staphylococcus*. Πρόκειται για Gram⁺ βακτήριο, προαιρετικά αναερόβιο και ακίνητο. Το σχήμα του είναι σφαιρικό χρώματος λευκού, κίτρινου ή πορτοκαλί ανάλογα με το στέλεχος και τις συνθήκες ανάπτυξης. Ανιχνεύεται είτε μεμονωμένα, είτε ως ζεύγη ή σχηματίζει συσσωματώματα (Εικόνα 34). Αναπτύσσεται σε θερμοκρασίες από 6,5°C έως 46°C (βέλτιστη: 30-37°C) (Λιτοπούλου-Τζανετάκη 2010).



Εικόνα 34. Μορφολογία του βακτηρίου *Staphylococcus aureus* (www.medicine.uiowa.edu).

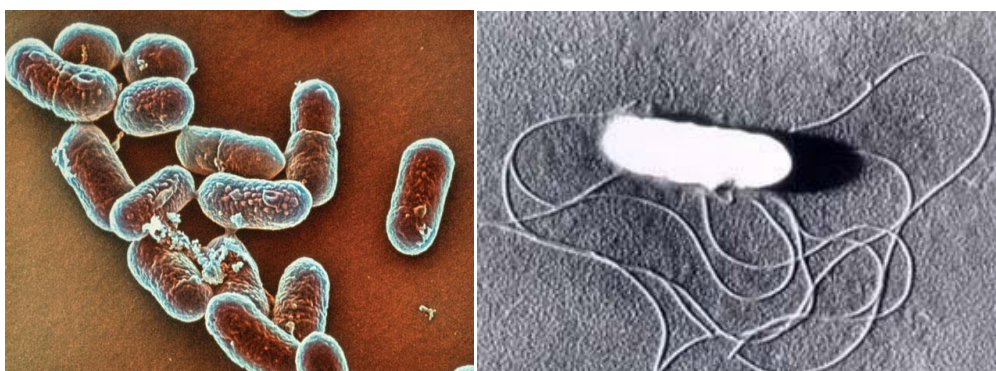
Ο *S. aureus* εντοπίζεται στο δέρμα και τους βλεννογόνους του ανθρώπου και ορισμένων ζώων. Τα ρουθούνια της μύτης θεωρούνται ο κυριότερος φορέας του βακτηρίου. Μάλιστα το 50% των ενήλικων ανθρώπων είναι φορείς του *S. aureus* στους βλεννογόνους της μύτης μόνιμα ή περιστασιακά, ενώ σε ποσοστό μεγαλύτερο του 70% των εμβρύων εντοπίζεται τουλάχιστον μια καλλιέργεια θετική στο βακτήριο. Άλλες περιοχές του ανθρώπινου σώματος που έχει απομονωθεί είναι το δέρμα, ο φάρρυγγας και το περίνεο ενώ λιγότερο συχνά εντοπίζεται στο έντερο, στη μασχάλη και στον κόλπο (Wertheim et al. 2005).

Γενικά ο *S. aureus* θεωρείται παθογόνο βακτήριο που δεν προκαλεί κάποια ασθένεια παρά μόνο όταν εισέλθει στον οργανισμό μέσω ενός τραυματισμού ή ενός χειρουργείου. Δημιουργεί τοπικές λοιμώξεις (αποστήματα, διαπυήσεις τραυμάτων) στο δέρμα, στη μύτη, στο έντερο και στα γεννητικά όργανα που δεν είναι επικίνδυνες για την υγεία. Όμως αν εισέλθει στο αίμα μπορεί να προκαλέσει σηψαιμία (Harris et al. 2002).

Τέλος το συγκεκριμένο βακτήριο μπορεί να μεταφερθεί και στα τρόφιμα μέσω μολυσμένου κρέατος και γάλακτος. Ο μικροοργανισμός θα αναπτυχθεί στο τρόφιμο χωρίς να το αλλοιώσει αλλά θα προκαλέσει τροφική δηλητηρίαση λόγω παραγωγής εντεροτοξινών (Κοτζεκίδου-Ρουκά 2004).

15.4 *Listeria monocytogenes*

Το βακτήριο *L. monocytogenes* είναι Gram⁺ βακτήριο, προαιρετικά αναερόβιο με σχήμα ραβδιού. Για τη μετακίνησή του χρησιμοποιεί περίτριχα μαστίγια όταν αναπτύσσεται στους 20-25°C (Εικόνα 35). Αναπτύσσεται σε θερμοκρασίες από 1°C έως 45°C (βέλτιστη: 30-37°C) (Λιτοπούλου-Τζανετάκη 2010).



Εικόνα 35. Μορφολογία του βακτηρίου *Listeria monocytogenes* (www.nature.com, www.web.mst.edu).

Πηγές της *L. monocytogenes* είναι το έδαφος, το νερό, τα φυτά, οι αποχετεύσεις, τα ανθρώπινα και ζωικά περιττώματα και οι ενσιρώμενες ζωοτροφές. Επιπλέον έχει εντοπιστεί στο γάλα υγιών αγελάδων αλλά και σε εκείνων που πάσχουν από μαστίτιδα, σε πουλερικά, κατσίκες, πρόβατα και βοοειδή (Farber and Peterkin 1991).

Η κατανάλωση μολυσμένων τροφίμων με *L. monocytogenes* συνεπάγεται την εκδήλωση ασθένειας, γνωστή και ως λιστερίωση. Κατηγορίες ευπαθών ομάδων ικανών να προσβληθούν από λιστερίωση αποτελούν οι ηλικιωμένοι, τα έμβρυα, οι εγκυμονούσες γυναίκες, τα άτομα σε ανοσοκαταστολή, οι διαβητικοί, οι καρδιοπαθείς, οι φορείς του AIDS και τα άτομα που έχουν υποβληθεί σε μεταμόσχευση. Η λιστερίωση εκδηλώνεται ως γαστρεντερίτιδα, εγκεφαλίτιδα, μηνυγγίτιδα, σηψαιμία ή λοίμωξη που μεταφέρεται από τη μητέρα στο νεογνό. Τα θανατηφόρα περιστατικά κυμαίνονται μεταξύ 25-30% των περιπτώσεων (Κοτζεκίδου-Ρουκά 2004, Hamon et al. 2006).

Αντικείμενο μεταπτυχιακής διατριβής

Το ρόδι, φρούτο γνωστό από την αρχαιότητα, αποτελεί τα τελευταία χρόνια αντικείμενο έρευνας από τους επιστήμονες λόγω της διαπίστωσης ύπαρξης σημαντικών ωφελειών από την κατανάλωσή του για την υγεία του ανθρώπου. Εκτός από το εδώδιμο τμήμα του ροδιού έχουν μελετηθεί και άλλα μέρη του καρπού όπως η φλούδα, τα σπέρματα αλλά και του δέντρου π.χ. τα άνθη, τα φύλλα κ.α. Ωστόσο μολονότι υπάρχουν πολυάριθμες έρευνες για το φρεσκοστιμμένο χυμό ροδιού, για τους εμπορικούς χυμούς ροδιού η βιβλιογραφία είναι περιορισμένη.

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η ανάλυση πέντε εμπορικών χυμών ροδιού, τρεις από τους οποίους είναι μίγματα χυμού ροδιού με χυμούς άλλων φρούτων. Συγκεκριμένα προσδιορίστηκε η περιεκτικότητά τους σε φαινολικά συστατικά καθώς επίσης και η αντιοξειδωτική και αντιμικροβιακή δράση τους. Ακόμη ταυτοποιήθηκαν και ποσοτικοποιήθηκαν με χρήση GC-MS οι πτητικές ενώσεις που συμβάλουν στο άρωμα των χυμών. Τέλος έγινε σύγκριση των αποτελεσμάτων των χυμών ροδιού με αυτά των χυμών που προέκυψαν ύστερα από ανάμειξη και ερευνήθηκε η πιθανή συνεργιστική τους δράση.

B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Υλικά

Δείγματα

Τα δείγματα προήλθαν από ελληνικές εταιρείες. Πρόκειται για χυμό ροδιού 100% και ροδιού-σταφυλιού (50-50%) από συμπυκνωμένους χυμούς καθώς και φυσικό χυμό ροδιού 100%, ροδιού-βατόμουρου και ροδιού-φράουλας (50-50%). Όλοι οι χυμοί αγοράστηκαν από καταστήματα τροφίμων στα Ιωάννινα. Οι χυμοί συντηρήθηκαν υπό ψύξη τόσο πριν όσο και μετά το άνοιγμα της συσκευασίας. Τέλος η ανάλυση των δειγμάτων έγινε σε διάστημα μέχρι τριών ημερών από την ημέρα ανοίγματος της συσκευασίας.

Αντιδραστήρια

Για τις αναλυτικές μεθόδους που ακολουθήθηκαν χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω αντιδραστήρια:

Προσδιορισμός ολικών φαινολικών ουσιών

- Αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu από Sigma Aldrich
- Άνυδρο ανθρακικό νάτριο (Na_2CO_3) από Sigma Aldrich
- Διάλυμα γαλλικού οξέος από Sigma Aldrich
- Μεθανόλη από Sigma Aldrich

Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης

- DPPH [2,2-διφαινυλ-1-πικρυλυδραζύλιο] από Sigma Aldrich
- Μεθανόλη από Sigma Aldrich

Προσδιορισμός αντιμικροβιακής δράσης

- Tryptic soya broth από Biolife Italiana
- PBS (phosphate buffered saline) από Sigma Aldrich
- Άγαρ από Carl Roth

Όργανα μέτρησης

- Φασματοφωτόμετρο υπεριώδους-ορατού της Secoman Anthelie
- Αέριος χρωματογράφος HP-6890 (Hewlett-Packard, Wilmington, DE, ΗΠΑ), εφοδιασμένος με φασματογράφο μάζας HP-5973

2. Μέθοδοι

2.1 Προσδιορισμός ολικών φαινολικών ουσιών

Προετοιμασία αντιδραστηρίων

1. Το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu αραιώθηκε σε αναλογία 1:10 με απιονισμένο νερό.
2. Το άνυδρο ανθρακικό νάτριο διαλύθηκε σε απιονισμένο νερό με αναλογία 7,5 g Na_2CO_3 /100 ml νερό.
3. Το διάλυμα γαλλικού οξέος παρασκευάστηκε προσθέτοντας 0,005 g γαλλικού οξέος ξηράς μορφής σε ογκομετρική φιάλη των 50 ml και συμπληρώθηκε με νερό.

Τα δείγματα από συμπυκνωμένους χυμούς αραιώθηκαν σε αναλογία 1:80 με διάλυμα μεθανόλης-νερού (6:4) ενώ οι υπόλοιποι χυμοί αραιώθηκαν με αναλογία 1:20 κατά τον ίδιο τρόπο.

Μέθοδος Folin-Ciocalteu

0,3 ml του αραιωμένου χυμού αναμίχθηκε με 1,5 ml του αραιωμένου διαλύματος Folin-Ciocalteu και με 1,2 ml του διαλύματος ανθρακικού νατρίου. Το μίγμα παρέμεινε για 90 λεπτά σε σκοτεινό μέρος σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Τέλος ακολούθησε μέτρηση της απορρόφησης με τη βοήθεια φασματοφωτομέτρου στα 760 nm. Ο μηδενισμός του οργάνου έγινε με τυφλό δείγμα το οποίο παρασκευάστηκε με τον ίδιο ακριβώς τρόπο που περιγράφηκε παραπάνω με τη μόνη διαφορά ότι στη θέση του δείγματος προστέθηκε ίδια ποσότητα απιονισμένου νερού (Tezcan et al. 2009).

Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως ισοδύναμα γαλλικού οξέος ανά λίτρο χυμού (mg GAE/L)

2.2 Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης

Προετοιμασία αντιδραστηρίων

Το διάλυμα DPPH παρασκευάστηκε προσθέτοντας 0,0039 g DPPH σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml και συμπληρώνοντας με μεθανόλη μέχρι τη χαραγή. Η τελική του συγκέντρωση ήταν 0,1 mmol/L.

Όλοι οι χυμοί αραιώθηκαν σε αναλογία 1:2 με διάλυμα μεθανόλης-νερού (6:4).

Μέθοδος DPPH⁺

0,1 ml του αραιωμένου χυμού αναμίχθηκε με 2 ml από το διάλυμα DPPH. Το μίγμα τοποθετήθηκε σε σκοτεινό μέρος θερμοκρασίας περιβάλλοντος για 5 min. Στη συνέχεια μετρήθηκε η τιμή της απορρόφησής του στα 517 nm. Ο μηδενισμός του οργάνου έγινε με καθαρή μεθανόλη (τροποποιημένη μέθοδος των Tezcan et al. 2009).

Η αντιοξειδωτική δράση εκφράστηκε ως ποσοστό δέσμευσης των ελεύθερων ριζών του DPPH από το χυμό σύμφωνα με τον τύπο:

$$\% DPPH = (A_{control} - A_{sample}) / A_{control}$$

όπου $A_{control}$ είναι η απορρόφηση του μάρτυρα όπου αντί για το δείγμα υπάρχει μεθανόλη και A_{sample} είναι η απορρόφηση του δείγματος στα 5 min.

2.3 Προσδιορισμός αντιβακτηριακής δράσης

Για την παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκαν τα εξής στελέχη βακτηρίων:

E. coli ATCC 35218

S. aureus ATCC 29213

L. monocytogenes Scott Ant (strain 0001)

L. monocytogenes (απομόνωση σε νοσοκομείο)

P. aeruginosa PAO

Προετοιμασία βακτηριακών καλλιιεργειών

1. Αναβίωση βακτηριακών στελεχών από τους -80°C σε τρυβλία.
2. Ανακαλλιέργεια σε υγρό θρεπτικό υλικό και επώαση σε ανακινούμενο επωαστικό κλίβανο στους 37°C την προηγούμενη ημέρα της δειγματοληψίας. Παραμονή για μια νύχτα.
3. Την επόμενη ημέρα, ανακαλλιέργεια (0,1 ml) σε 3 ml φρέσκου υγρού θρεπτικού υποστρώματος για λήψη κυττάρων στην εκθετική φάση.
4. Παραμονή σε ανακινούμενο επωαστικό κλίβανο για 1 ώρα για την *E. coli* και 1,5 ώρα για τα υπόλοιπα βακτήρια.

Προετοιμασία χυμού

Αρχικά ρύθμιση του pH των χυμών στο 7.0. Μετά τη διήθηση κάτω από ασηπτικές συνθήκες, 10 ml των χυμών εμβολιάστηκαν με καθένα βακτήριο ώστε η τελική συγκέντρωση να είναι 10^3 CFU/ml. Ως μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν 10 ml PBS εμβολιασμένα με καθένα βακτήριο ώστε η τελική συγκέντρωση να είναι 10^3 CFU/ml. Οι εμβολιασμένοι χυμοί και οι μάρτυρες μεταφέρθηκαν σε ανακινούμενο επωαστικό κλίβανο στους 37°C για 5 ώρες ενώ δείγματα ελήφθησαν σε 0, 1, 2 και 5 ώρες τα οποία στρώθηκαν σε τρυβλία που περιείχαν TSA (tryptic soya agar). Τα τρυβλία επώαστηκαν για 24 ώρες στους 37°C . Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως CFU/ml (τροποποιημένη μέθοδος των Cote et al. 2011).

2.4 Ταυτοποίηση και ημιποσοτικός προσδιορισμός πτητικών ουσιών

Χρησιμοποιούμενες ίνες

Για την εξέταση των πτητικών ουσιών των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε η ίνα Carboxen/Πολυδιμεθυλοσιλοξάνιο (CAR/PDMS) με πάχος $75\mu\text{m}$. Η ίνα πριν από τη χρήση της στον υπερκείμενο χώρο των προς ανάλυση δειγμάτων καθαρίζονταν (blank analysis), για την πλήρη απομάκρυνση των προσροφημένων ουσιών με την τοποθέτησή της για 15 min στον αέριο χρωματογράφο και χρήση της κατάλληλης μεθόδου. Η διαδικασία του καθαρισμού της ίνας επαναλαμβάνονταν έως ότου στα χρωματογραφήματα που λαμβάνονταν να μην εμφανίζονται κορυφές που να οφείλονται σε προσροφημένες ουσίες.

Προετοιμασία εσωτερικού προτύπου

Ο ημιποσοτικός προσδιορισμός των πτητικών ουσιών των δειγμάτων έγινε με χρήση εσωτερικού προτύπου και συγκεκριμένα της 4-μεθυλ-2-πεντανόλης (διάλυμα της 4-μεθυλ-2-πεντανόλης σε αιθανόλη). Σε κάθε δείγμα προστέθηκαν 0,1 ml πρότυπου διαλύματος ώστε η τελική του συγκέντρωση στο δείγμα να είναι 4 ppm.

Προετοιμασία δειγμάτων

2 ml από κάθε δείγμα και 0,1 ml εσωτερικού προτύπου τοποθετήθηκαν σε φιαλίδια των 10 ml και πωματίστηκαν με μεταλλική σφράγιση με septum σιλικόνης. Στη συνέχεια τα γυάλινα φιαλίδια τοποθετήθηκαν σε υδατόλουτρο στους 40°C για 10 min. Ακολούθως η συσκευή SPME (Εικόνα 29) που περιείχε την ίνα Carboxen/Πολυδιμεθυλοσιλοξάνιο (CAR/PDMS) τρύπησε το septum σιλικόνης και παρέμεινε με την ίνα εκτεθειμένη για ακόμη 30 min στους 40°C.

Μέθοδος GC-MS

Για την ανάλυση χρησιμοποιήθηκε η μη πολική τριχοειδής στήλη DB5-MS, (ME Siloxane, μήκους 60m, εσωτερικής διαμέτρου 320 μm, με πάχος μεμβράνης 1 μm).

Αεριοχρωματογραφικές συνθήκες για τη στήλη DB5-MS

- Θερμοκρασία εισαγωγέα: 250°C.
- Τρόπος έγχυσης: splitless
- Θερμοκρασιακό πρόγραμμα: αρχική θερμοκρασία 40°C, παραμονή για 1 min, αύξηση θερμοκρασίας με ρυθμό 10°C/min μέχρι τους 140°C, αύξηση θερμοκρασίας με ρυθμό 8°C/min μέχρι τους 260°C
- Φέρον αέριο: ήλιο με ρυθμό ροής 1 ml/min.
- Μάζες σάρωσης: 29-400.

Οι πτητικές ουσίες ταυτοποιήθηκαν με τη βοήθεια της βιβλιοθήκης φασμάτων μάζας Wiley 275 L.

Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

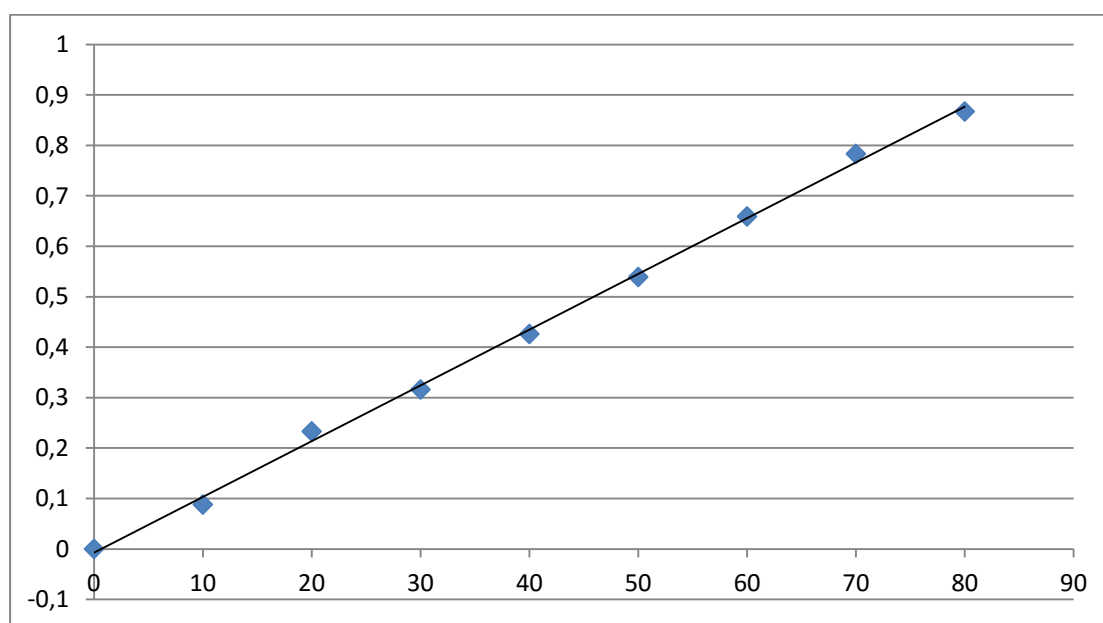
Προσδιορισμός ολικών φαινολών

Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης μετρήθηκαν οι απορροφήσεις ορισμένων διαλυμάτων γαλλικού οξέος συγκέντρωσης 10-80 mg/L στα 760 nm με τη βοήθεια φασματοφωτόμετρου. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 2.

Πίνακας 2. Οι απορροφήσεις των διαλυμάτων γαλλικού οξέος συγκέντρωσης 10-80 mg/L στα 760 nm.

ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΓΑΛΛΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ (mg/L)	ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ (760 nm)
10	0,088
20	0,233
30	0,316
40	0,426
50	0,539
60	0,659
70	0,783
80	0,867

Σύμφωνα με τις τιμές του πίνακα 2 κατασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη με άξονα x τη συγκέντρωση του γαλλικού οξέος και άξονα y τις απορροφήσεις στα 760 nm.



Σχήμα 1. Πρότυπη καμπύλη γαλλικού οξέος για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης φαινολικών ουσιών με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu.

Η πρότυπη καμπύλη υπακούει στην εξίσωση $y = 0,011x - 0,0073$ με $R^2 = 0,9983$

Στον πίνακα 3 παρουσιάζονται οι τιμές της απορρόφησης των χυμών ροδιού σύμφωνα με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu.

Πίνακας 3. Οι απορροφήσεις όλων των δειγμάτων χυμού στα 760 nm.

ΧΥΜΟΣ	ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ
Φυσικός χυμός ροδιού	0,541
Φυσικός χυμός ροδιού-βατόμουρου	0,763
Φυσικός χυμός ροδιού-φράουλας	0,638
Χυμός ροδιού (από συμπυκνωμένο χυμό)	0,707
Χυμός ροδιού-σταφυλιού (από συμπυκνωμένο χυμό)	0,571

Ύστερα από ανάλυση των αποτελεσμάτων και λαμβάνοντας υπόψη τις αρχικές αραιώσεις των δειγμάτων, η περιεκτικότητα των χυμών σε φαινολικά συστατικά έχει ως εξής:

Φυσικός χυμός ροδιού → 997 mg GAE/L

Φυσικός χυμός ροδιού-βατόμουρου → 1401 mg GAE/L

Φυσικός χυμός ροδιού-φράουλας → 1173 mg GAE/L

Χυμός ροδιού (από συμπυκνωμένο χυμό) → 5195 mg GAE/L

Χυμός ροδιού-σταφυλιού (από συμπυκνωμένο χυμό) → 4206 mg GAE/L

Η εξέταση των ολικών φαινολικών συστατικών των χυμών έδειξε ότι ο χυμός ροδιού από συμπύκνωση περιέχει τις περισσότερες φαινολικές ουσίες με 5195 mg GAE/L. Ακολουθεί ο χυμός ροδιού-σταφυλιού (4206 mg GAE/L), ο χυμός ροδιού-βατόμουρου (1401 mg GAE/L), ο χυμός ροδιού-φράουλας (1173 mg GAE/L) και τέλος ο φυσικός χυμός ροδιού (997 mg GAE/L). Βέβαια εφόσον δεν είναι γνωστές οι ποικιλίες των φρούτων που χρησιμοποιήθηκαν, οι συνθήκες επεξεργασίας κατά τη χυμοποίηση και άλλοι παράγοντες που επιδρούν στη σύσταση, τα μόνα ασφαλή συμπεράσματα που μπορούν να εξαχθούν είναι από τη σύγκριση των χυμών κάθε εταιρείας. Με βάση τα παραπάνω αποτελέσματα προκύπτει ότι ο φυσικός χυμός ροδιού υστερεί στην ποσότητα των πολυφαινολών σε σχέση με τους υπόλοιπους φυσικούς χυμούς ενώ αντίθετα ο χυμός ροδιού από συμπύκνωση υπερτερεί συγκριτικά με το χυμό σταφυλιού.

Μεγάλες διακυμάνσεις στην περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά εμπορικών χυμών ροδιού έδειξαν και άλλες έρευνες, όπως για παράδειγμα 2602-10086 mg GAE/L (Tezcan et al. 2009), 1193-2630 mg GAE/L (Arjmand et al. 2012), 2566 mg GAE/L (Gil et al. 2000) και 1751-3519 mg GAE/L (Borges et al. 2010).

Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης

Στον πίνακα 4 παρουσιάζονται οι τιμές της απορρόφησης των χυμών ροδιού σύμφωνα με τη μέθοδο DPPH⁺.

Πίνακας 4. Οι απορροφήσεις όλων των δειγμάτων χυμού στα 517 nm ύστερα από 5 min.

ΧΥΜΟΣ	ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ
Φυσικός χυμός ροδιού	0,294
Φυσικός χυμός ροδιού-βατόμουρου	0,194
Φυσικός χυμός ροδιού-φράουλας	0,215
Χυμός ροδιού (από συμπυκνωμένο χυμό)	0,088
Χυμός ροδιού-σταφυλιού (από συμπυκνωμένο χυμό)	0,109

Η αντιοξειδωτική δράση υπολογίζεται από τον τύπο:

$$\% DPPH = (A_{control} - A_{sample}) / A_{control}$$

A_{control} είναι η απορρόφηση του μάρτυρα

A_{sample} είναι η απορρόφηση του δείγματος στα 5 min.

Η απορρόφηση του μάρτυρα υπολογίστηκε ότι είναι 0,991. Συνεπώς η αντιοξειδωτική δράση των χυμών ροδιού εκφρασμένη ως ποσοστό δέσμευσης των ελεύθερων ριζών DPPH είναι:

Φυσικός χυμός ροδιού → 70,33%

Φυσικός χυμός ροδιού-βατόμουρου → 80,42%

Φυσικός χυμός ροδιού-φράουλας → 78,30%

Χυμός ροδιού (από συμπυκνωμένο χυμό) → 91,12%

Χυμός ροδιού-σταφυλιού (από συμπυκνωμένο χυμό) → 89,00%

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι όλοι οι χυμοί εμφανίζουν μεγάλη αντιοξειδωτική ικανότητα, καθότι καταφέρνουν να δεσμεύσουν τη ρίζα DPPH⁺ σε μεγάλο ποσοστό (70,33-91,12%). Άλλες μελέτες έδειξαν παρόμοια αποτελέσματα για την αντιοξειδωτική δράση του χυμού ροδιού, όπως για παράδειγμα δέσμευση των ελεύθερων ριζών του DPPH σε ποσοστό 63,1-73,6% (Radunic et al. 2015) και 67-72% (Alighourchi et al. 2014). Διαφορετικά αποτελέσματα έδειξε η μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης

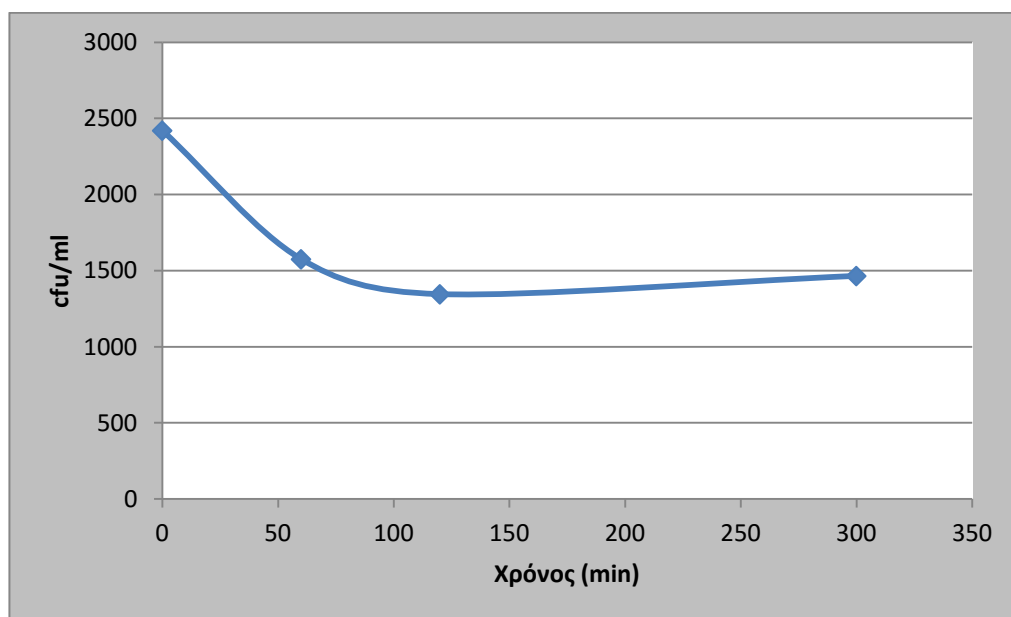
εμπορικών χυμών ροδιού αφού εμφάνισαν ποσοστά δέσμεσης του DPPH που κυμάνθηκαν μεταξύ 25,19-67,46% (Tezcan et al. 2009).

Επίσης η αντιοξειδωτική δράση των χυμών που εξετάστηκαν ακολουθεί την ίδια σειρά με αυτή των χυμών ως προς την περιεκτικότητά τους σε φαινολικά συστατικά. Δηλαδή ο χυμός ροδιού από συμπύκνωση δεσμεύει τη ρίζα DPPH⁺ σε ποσοστό 91,12%, ακολουθεί ο χυμός ροδιού-σταφυλιού με ποσοστό 89%, ο χυμός ροδιού-βατόμουρου με ποσοστό 80,42%, ο χυμός ροδιού-φράουλας με ποσοστό 78,30% και τέλος ο φυσικός χυμός ροδιού με ποσοστό 70,33%. Αυτό υποδηλώνει ότι η αντιοξειδωτική δράση των χυμών σχετίζεται άμεσα με την περιεκτικότητά τους σε φαινολικές ενώσεις. Στο ίδιο συμπέρασμα έχουν καταλήξει και άλλοι ερευνητές (Gil et al. 2000, Tzulker et al. 2007, Mousavinejad et al. 2009, Swartz et al. 2009).

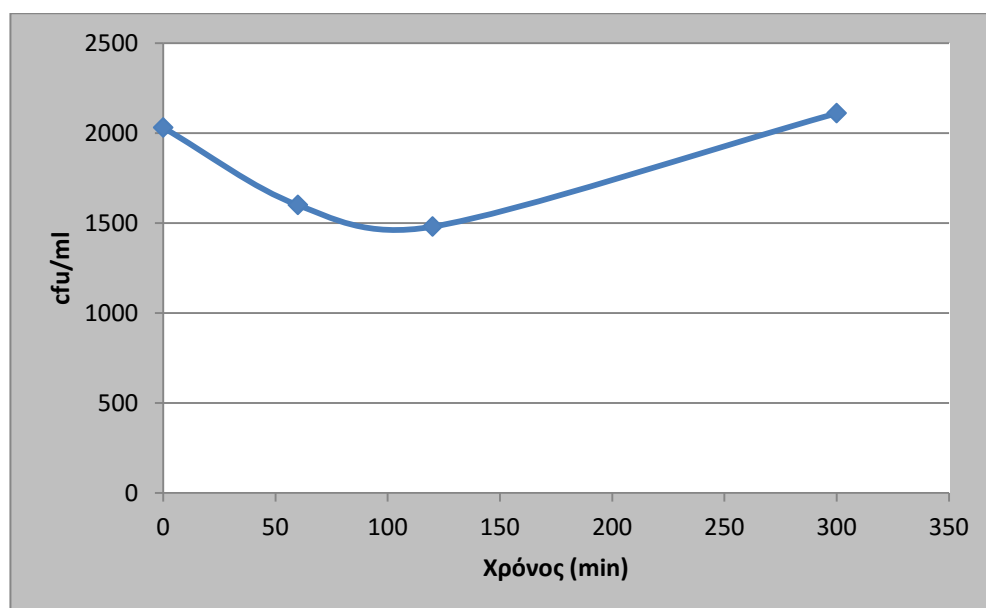
Προσδιορισμός αντιβακτηριακής δράσης

Η επίδραση των χυμών στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών απεικονίζεται σε διαγράμματα εκφραζόμενη ως συνάρτηση του αριθμού των βακτηριακών κυττάρων ανα ml χυμού με το χρόνο.

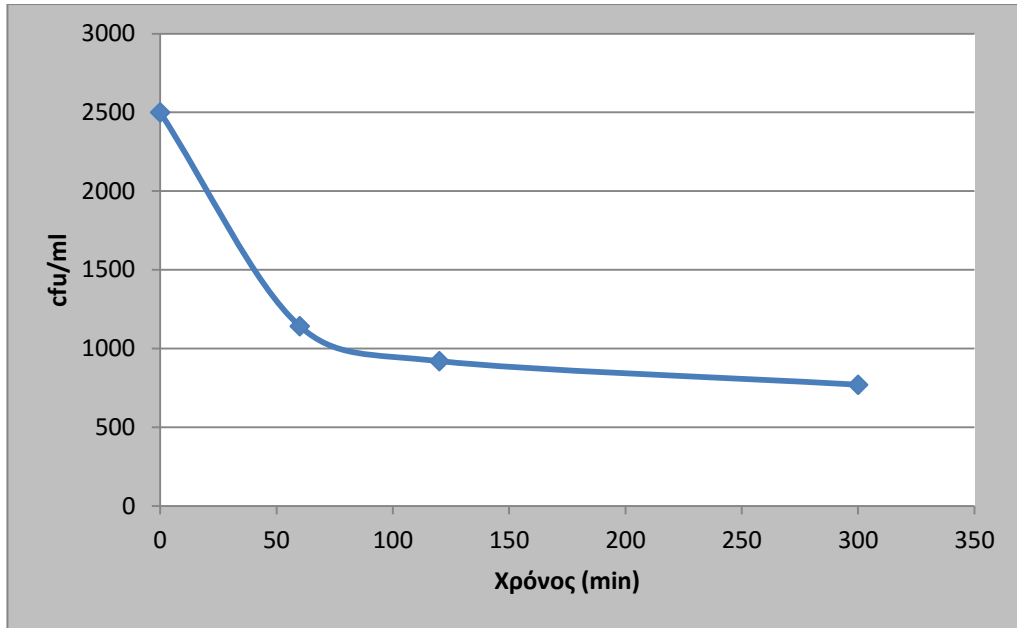
Η αντιβακτηριακή δράση του φυσικού χυμού ροδιού έναντι των μικροοργανισμών που μελετήθηκαν φαίνεται στα σχήματα 2-6.



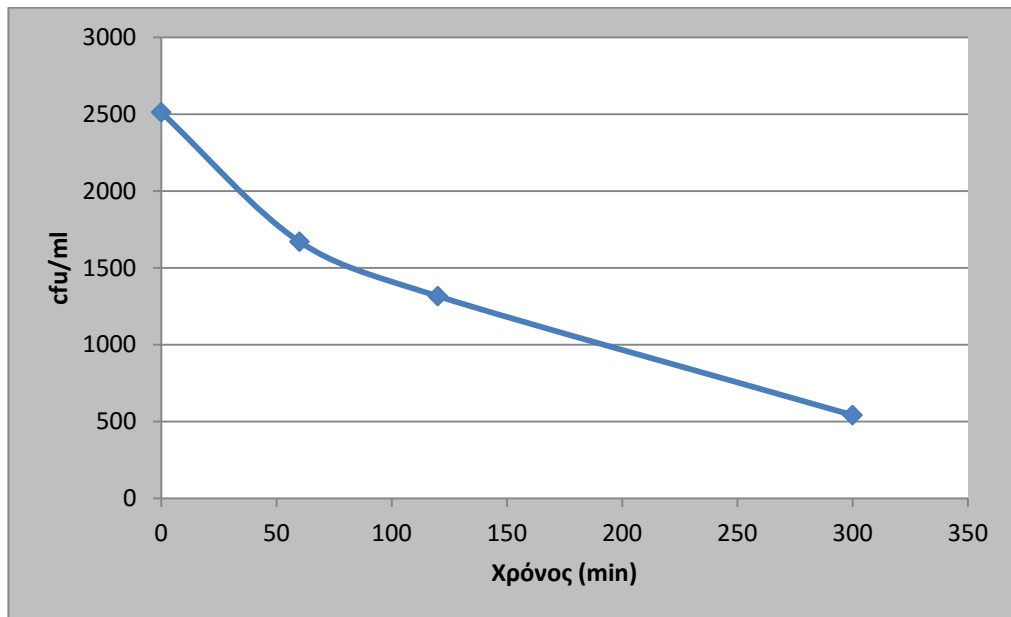
Σχήμα 2. Αντιβακτηριακή δράση του φυσικού χυμού ροδιού στην ανάπτυξη του *S. aureus*.



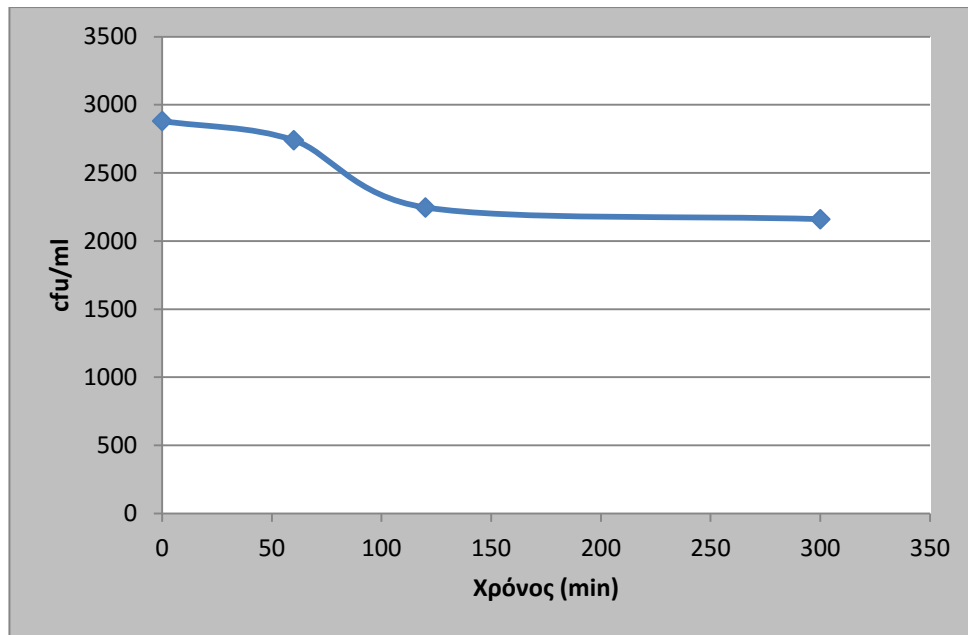
Σχήμα 3. Αντιβακτηριακή δράση του φυσικού χυμού ροδιού στην ανάπτυξη της *L. monocytogenes* (νοσοκομειακό στέλεχος).



Σχήμα 4. Αντιβακτηριακή δράση του φυσικού χυμού ροδιού στην ανάπτυξη της *E. coli*.

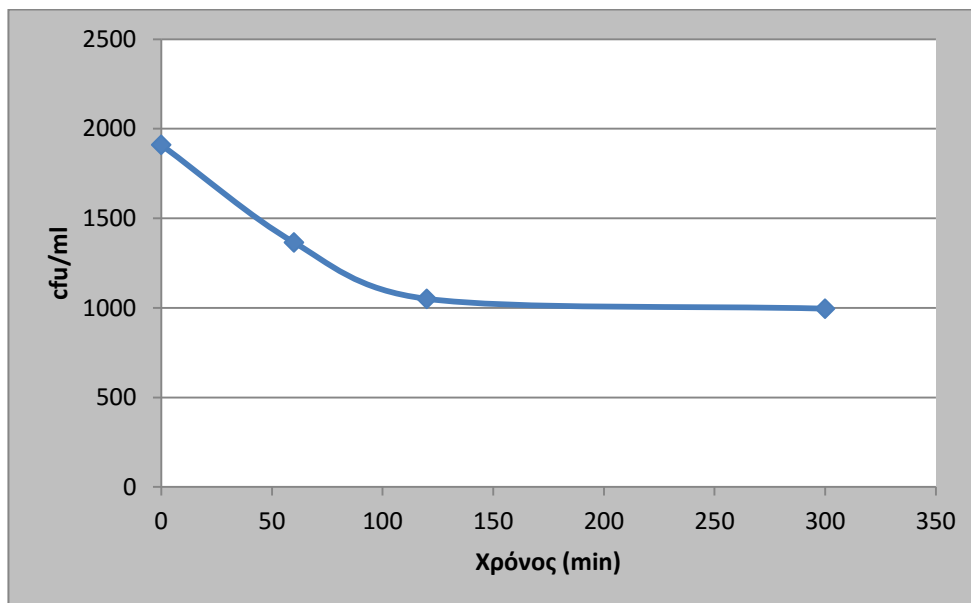


Σχήμα 5. Αντιβακτηριακή δράση του φυσικού χυμού ροδιού στην ανάπτυξη του *P. aeruginosa*.

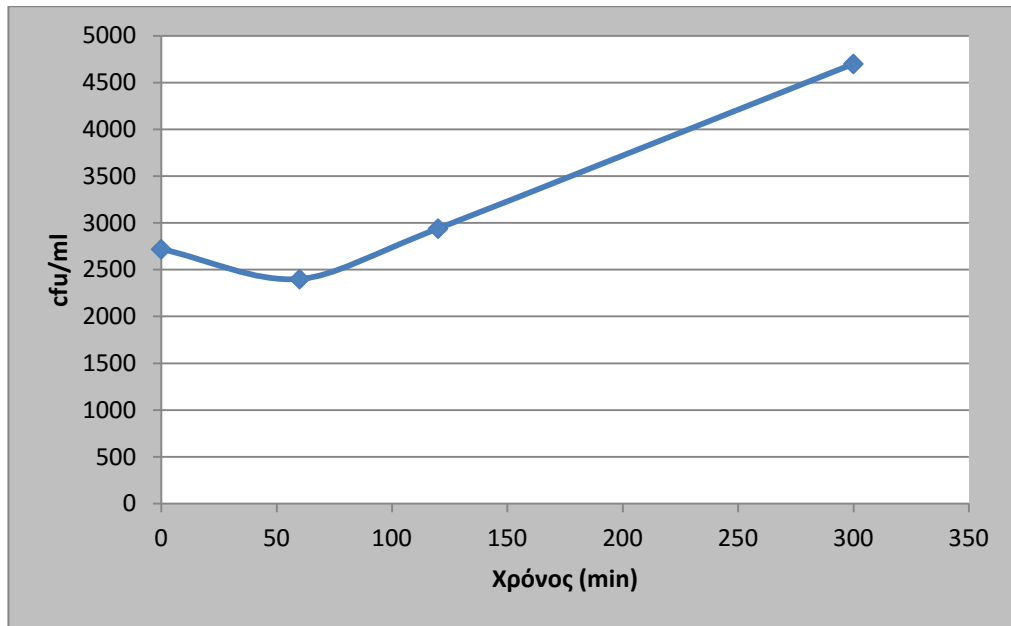


Σχήμα 6. Αντιβακτηριακή δράση του φυσικού χυμού ροδιού στην ανάπτυξη της *L. monocytogenes*.

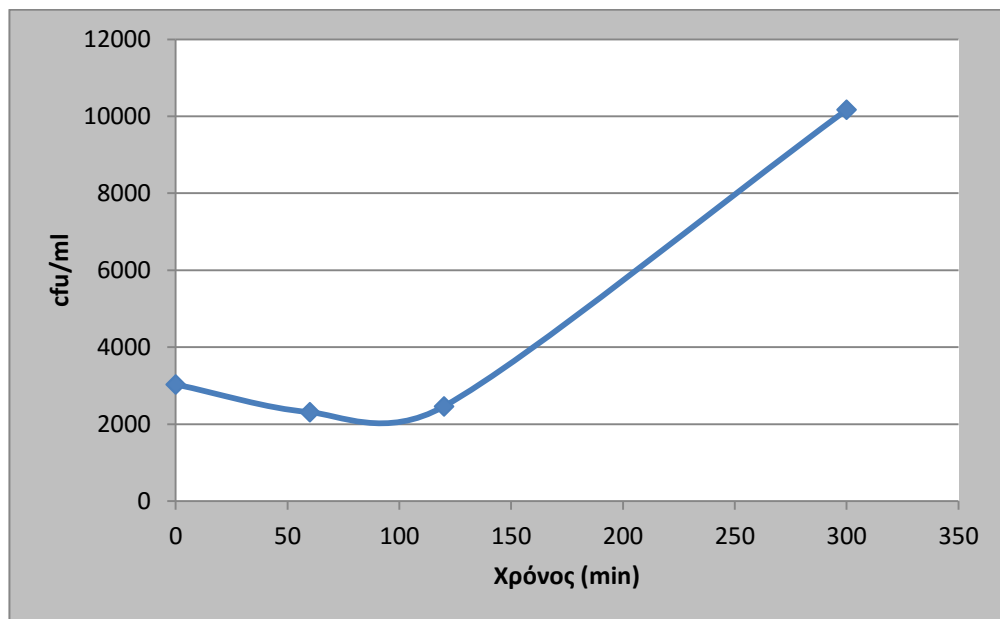
Στα σχήματα 7-11 φαίνεται η αντιβακτηριακή δράση του χυμού ροδιού-βατόμουρου έναντι των μικροοργανισμών που μελετήθηκαν.



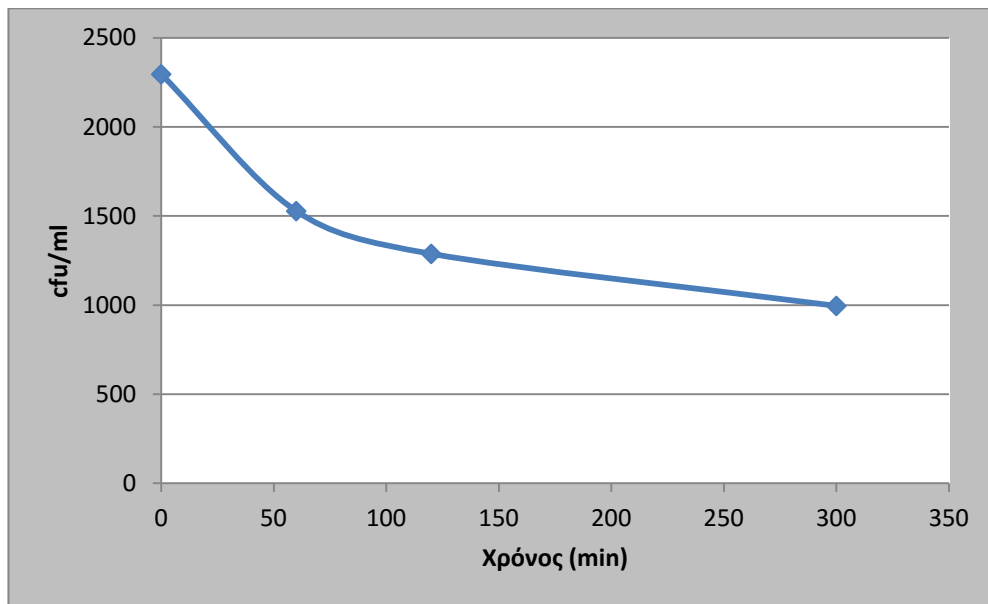
Σχήμα 7. Αντιβακτηριακή δράση του φυσικού χυμού ροδιού-βατόμουρου στην ανάπτυξη του *S. aureus*.



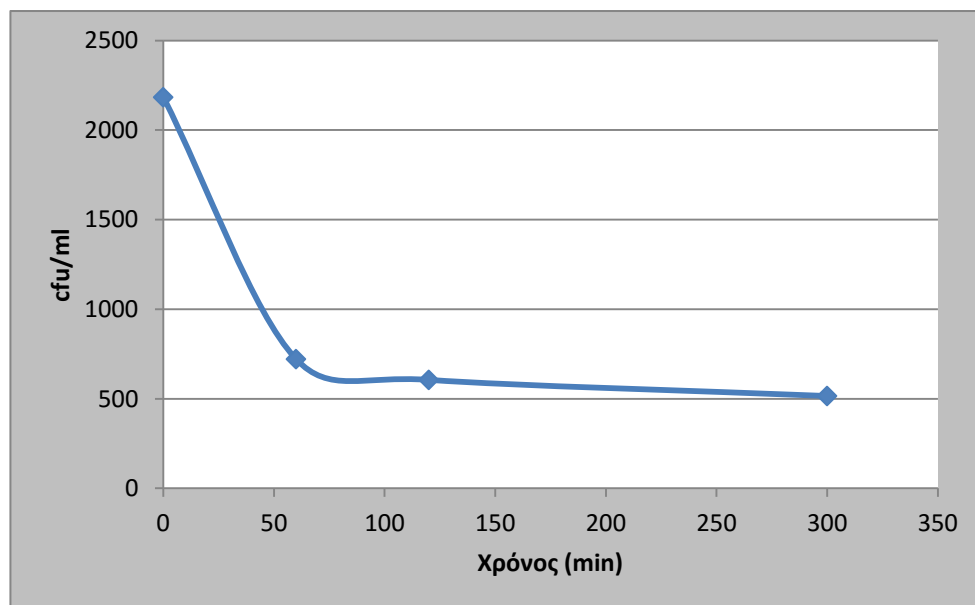
Σχήμα 8. Αντιβακτηριακή δράση του φυσικού χυμού ροδιού-βατόμουρου στην ανάπτυξη της *L. monocytogenes* (νοσοκομειακό στέλεχος).



Σχήμα 9. Αντιβακτηριακή δράση του φυσικού χυμού ροδιού-βατόμουρου στην ανάπτυξη της *E. coli*.

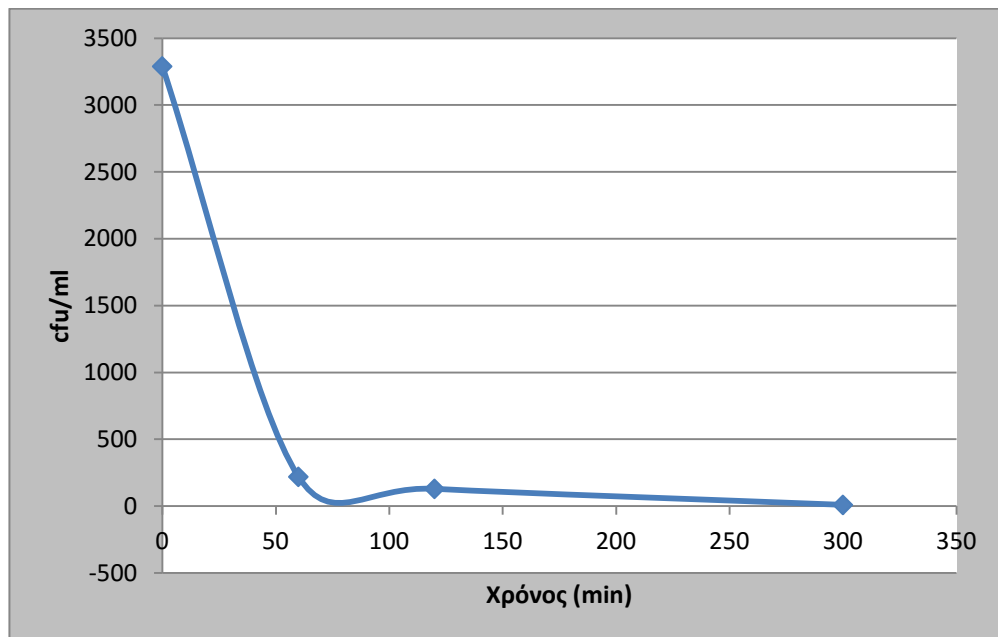


Σχήμα 10. Αντιβακτηριακή δράση του φυσικού χυμού ροδιού-βατόμουρου στην ανάπτυξη του *P. aeruginosa*.

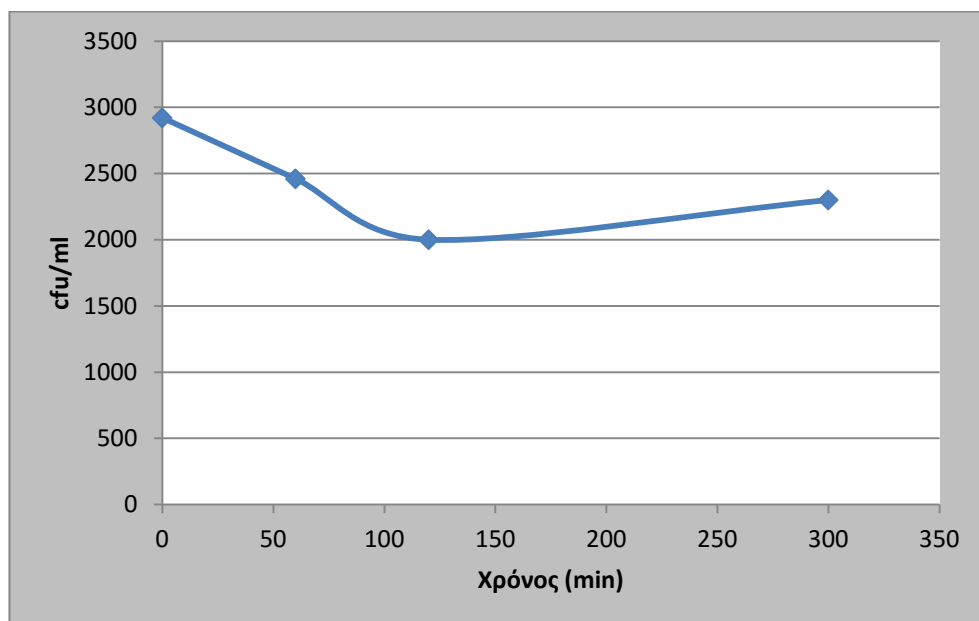


Σχήμα 11. Αντιβακτηριακή δράση του φυσικού χυμού ροδιού-βατόμουρου στην ανάπτυξη της *L. monocytogenes*.

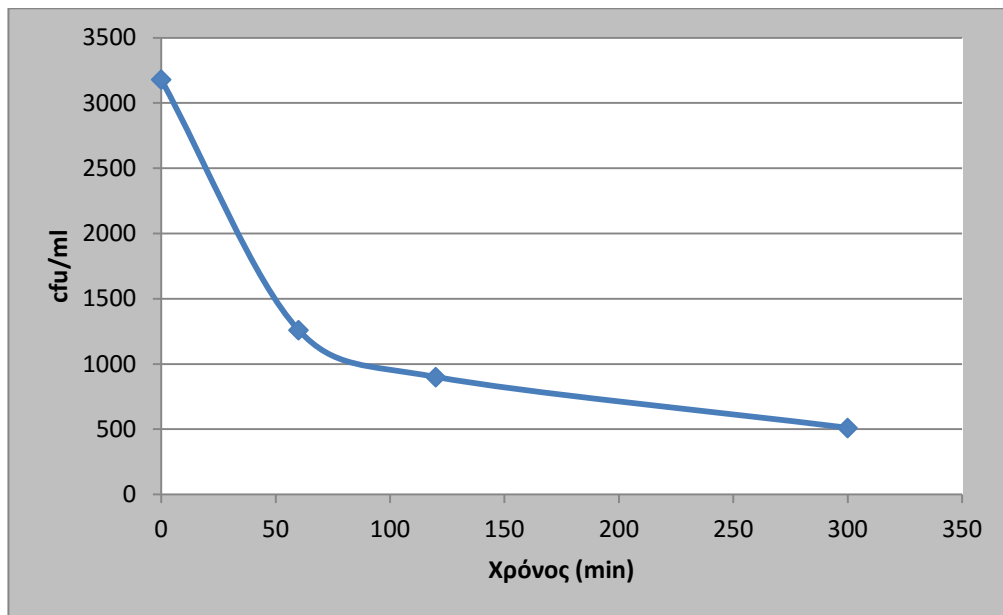
Στα σχήματα 12-16 φαίνεται η αντιβακτηριακή δράση του χυμού ροδιού-φράουλας έναντι των μικροοργανισμών που μελετήθηκαν.



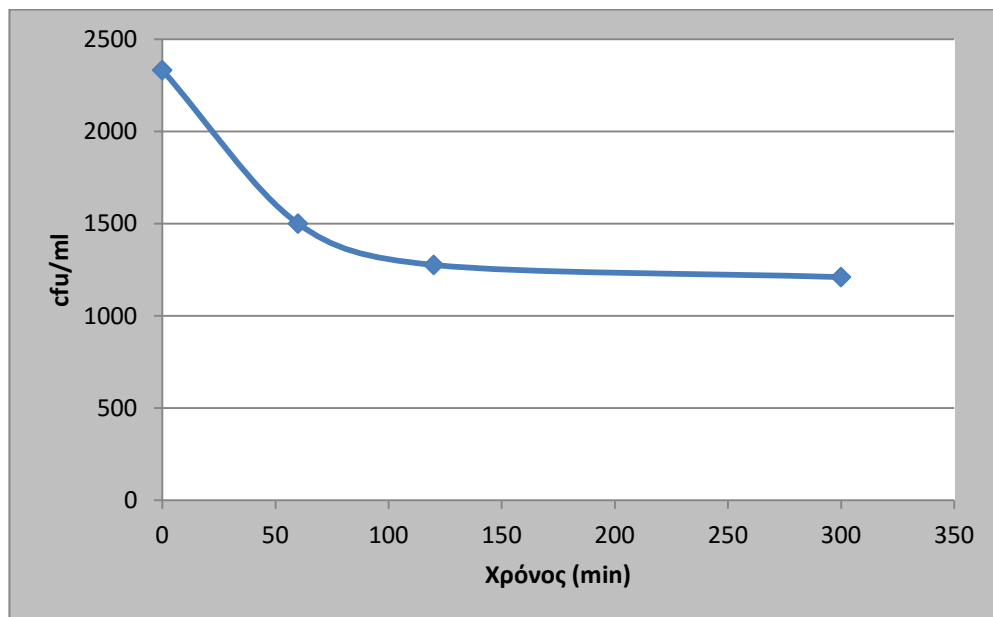
Σχήμα 12. Αντιβακτηριακή δράση του φυσικού χυμού ροδιού-φράουλας στην ανάπτυξη του *S. aureus*.



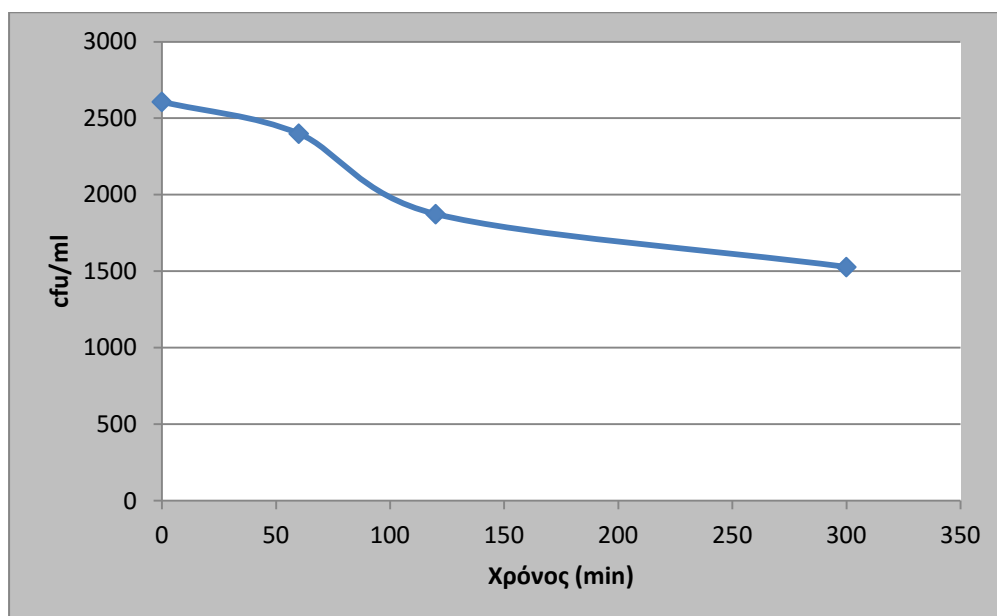
Σχήμα 13. Αντιβακτηριακή δράση του φυσικού χυμού ροδιού-φράουλας στην ανάπτυξη της *L. monocytogenes* (νοσοκομειακό στέλεχος).



Σχήμα 14. Αντιβακτηριακή δράση του φυσικού χυμού ροδιού-φράουλας στην ανάπτυξη της *E. coli*.

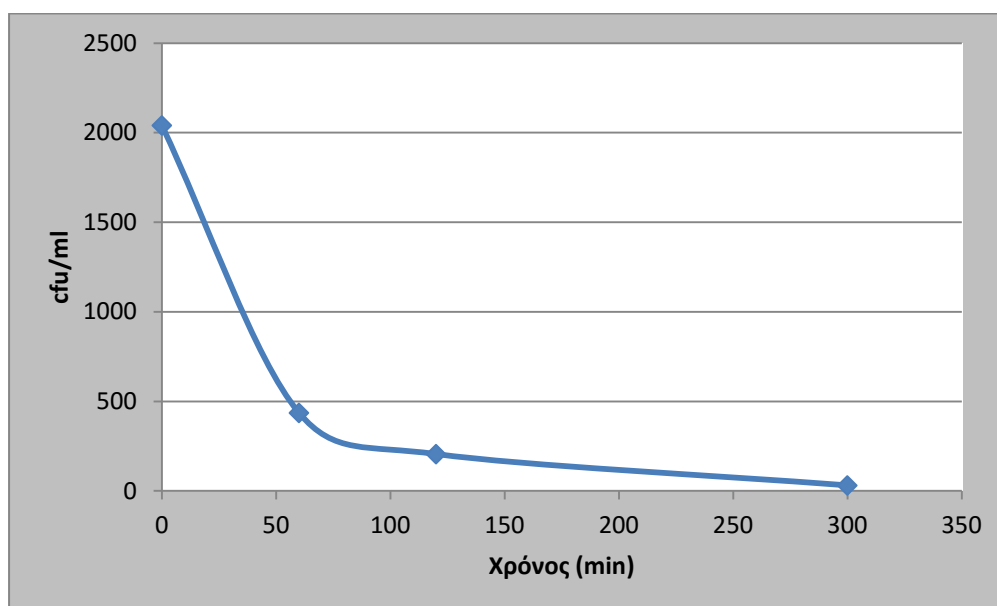


Σχήμα 15. Αντιβακτηριακή δράση του φυσικού χυμού ροδιού-φράουλας στην ανάπτυξη του *P. aeruginosa*.

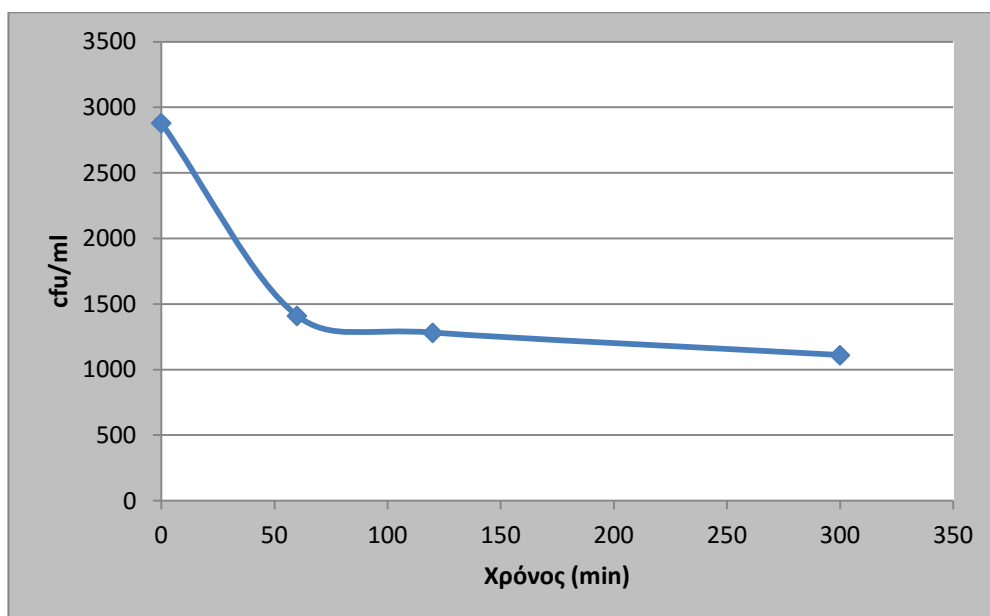


Σχήμα 16. Αντιβακτηριακή δράση του φυσικού χυμού ροδιού-φράουλας στην ανάπτυξη της *L. monocytogenes*.

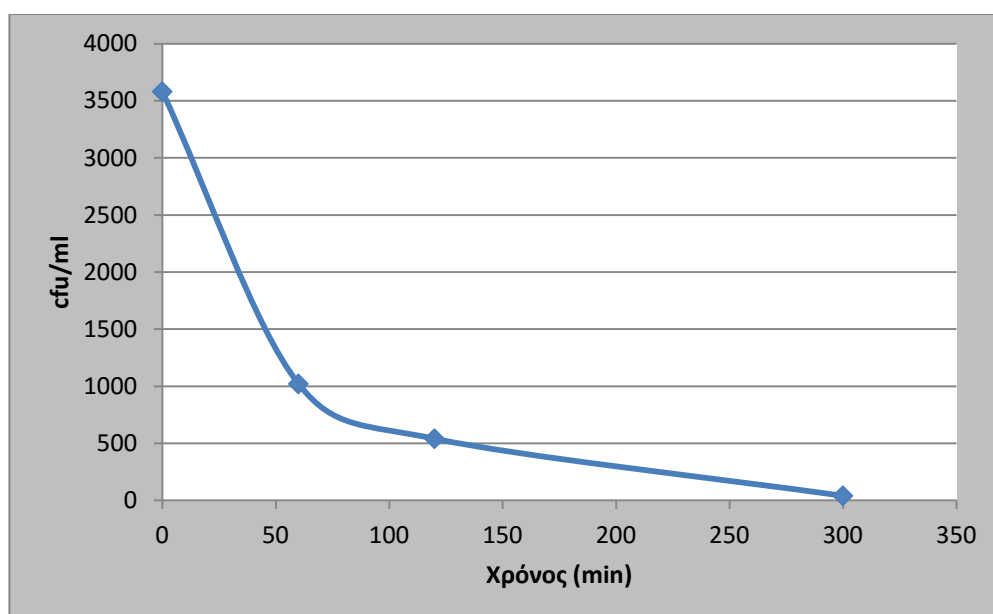
Η αντιβακτηριακή δράση του χυμού ροδιού (από συμπυκνωμένο χυμό) έναντι των μικροοργανισμών που μελετήθηκαν φαίνεται στα σχήματα 17-21.



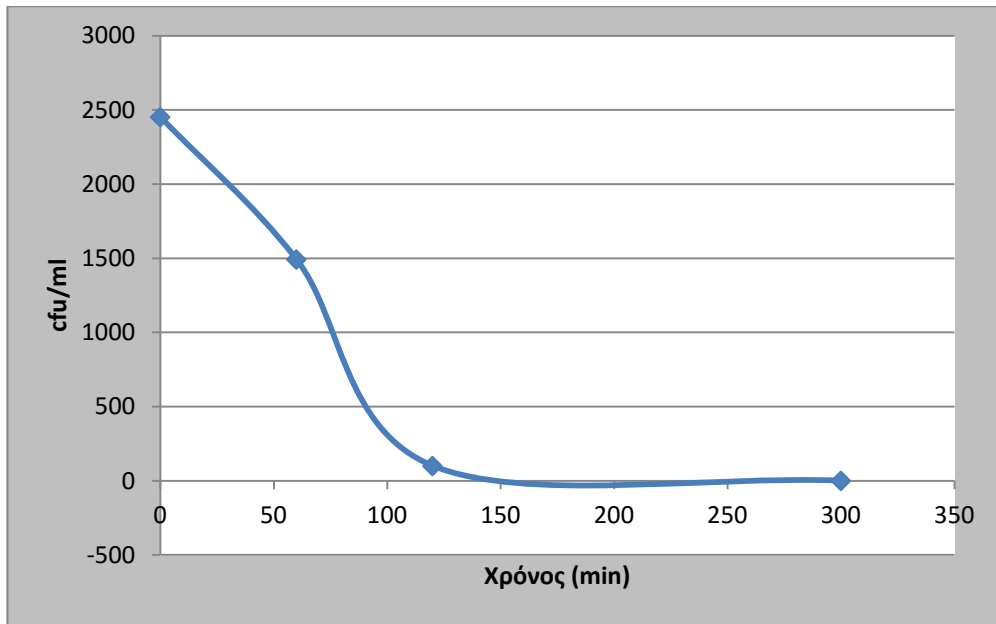
Σχήμα 17. Αντιβακτηριακή δράση του χυμού ροδιού (από συμπυκνωμένο χυμό) στην ανάπτυξη του *S. aureus*.



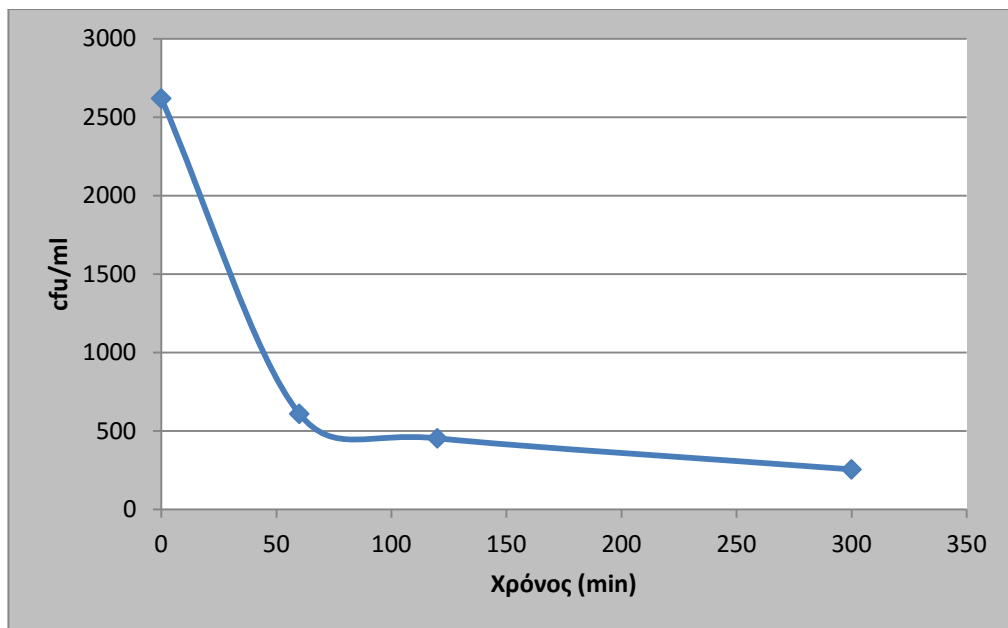
Σχήμα 18. Αντιβακτηριακή δράση του χυμού ροδιού (από συμπυκνωμένο χυμό) στην ανάπτυξη της *L. monocytogenes* (νοσοκομειακό στέλεχος).



Σχήμα 19. Αντιβακτηριακή δράση του χυμού ροδιού (από συμπυκνωμένο χυμό) στην ανάπτυξη της *E. coli*.

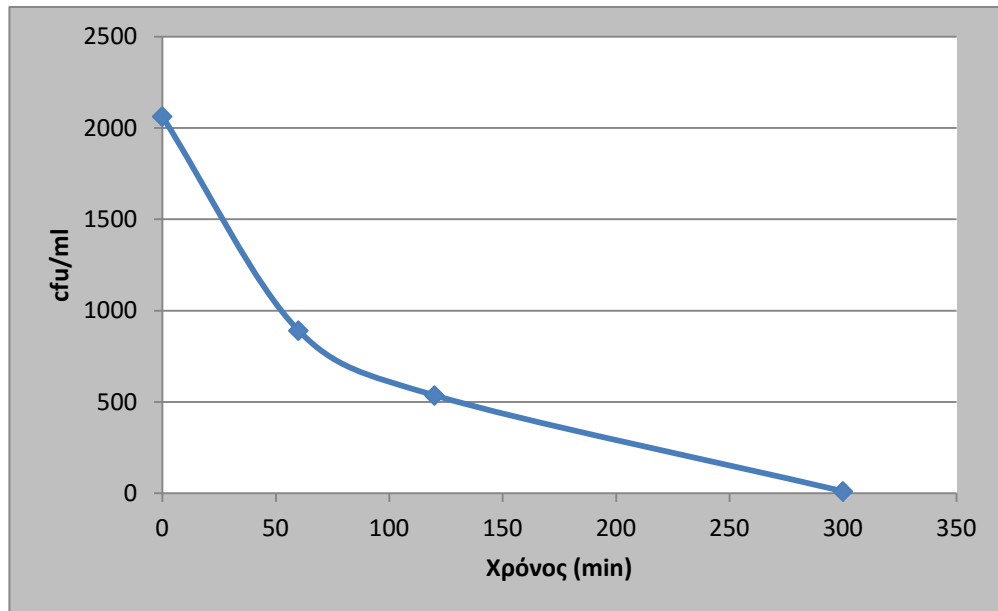


Σχήμα 20. Αντιβακτηριακή δράση του χυμού ροδιού (από συμπυκνωμένο χυμό) στην ανάπτυξη της *L. monocytogenes*.

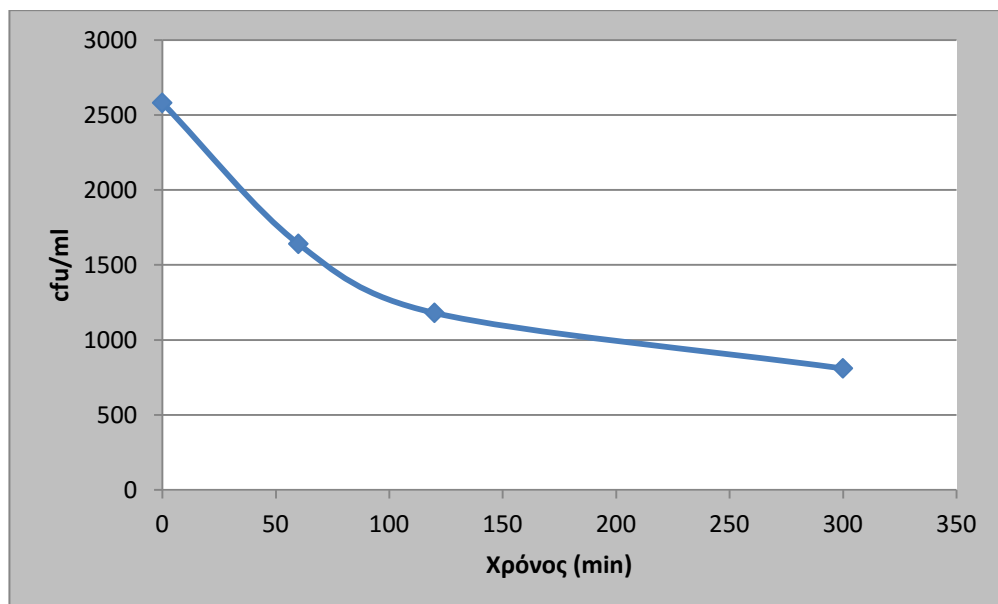


Σχήμα 21. Αντιβακτηριακή δράση του χυμού ροδιού (από συμπυκνωμένο χυμό) στην ανάπτυξη του *P. aeruginosa*.

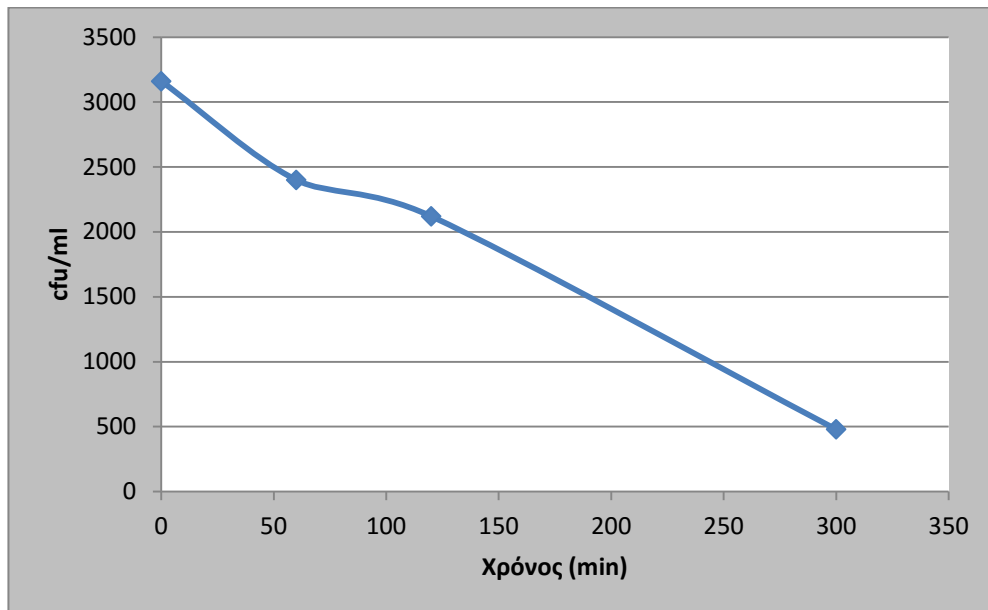
Τέλος στα σχήματα 22-26 φαίνεται η αντιβακτηριακή δράση του χυμού ροδιού-σταφυλιού (από συμπυκνωμένους χυμούς) έναντι των μικροοργανισμών που μελετήθηκαν.



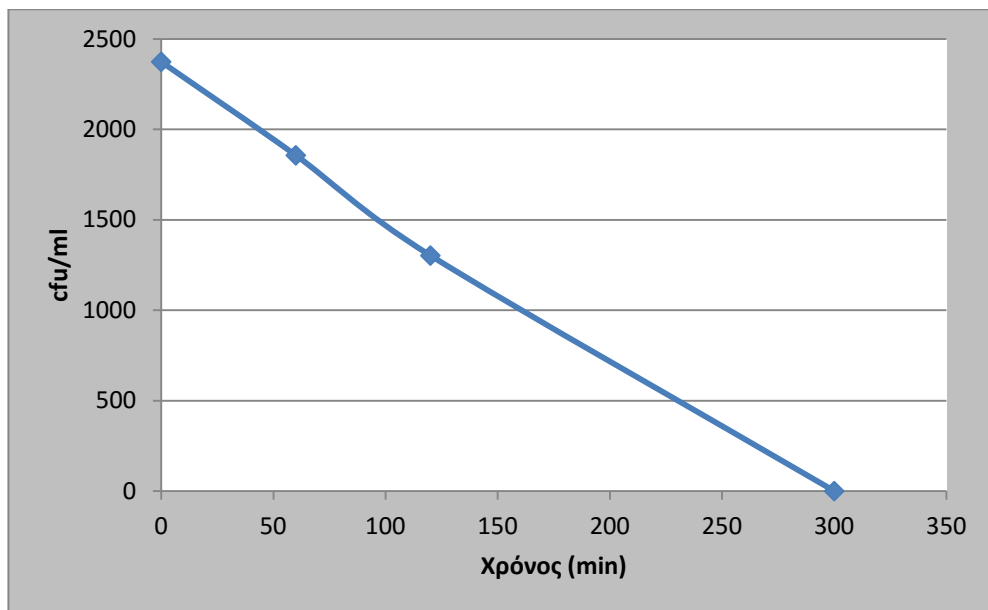
Σχήμα 22. Αντιβακτηριακή δράση του χυμού ροδιού-σταφυλιού (από συμπυκνωμένους χυμούς) στην ανάπτυξη του *S. aureus*.



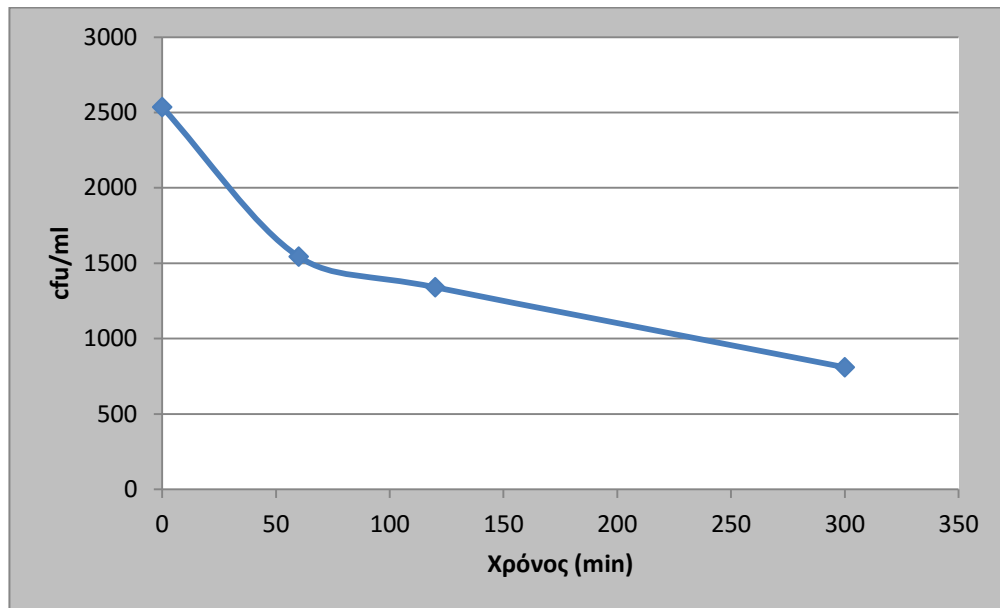
Σχήμα 23. Αντιβακτηριακή δράση του χυμού ροδιού-σταφυλιού (από συμπυκνωμένους χυμούς) στην ανάπτυξη της *L. monocytogenes* (νοσοκομειακό στέλεχος).



Σχήμα 24. Αντιβακτηριακή δράση του χυμού ροδιού-σταφυλιού (από συμπυκνωμένους χυμούς) στην ανάπτυξη της *E. coli*.

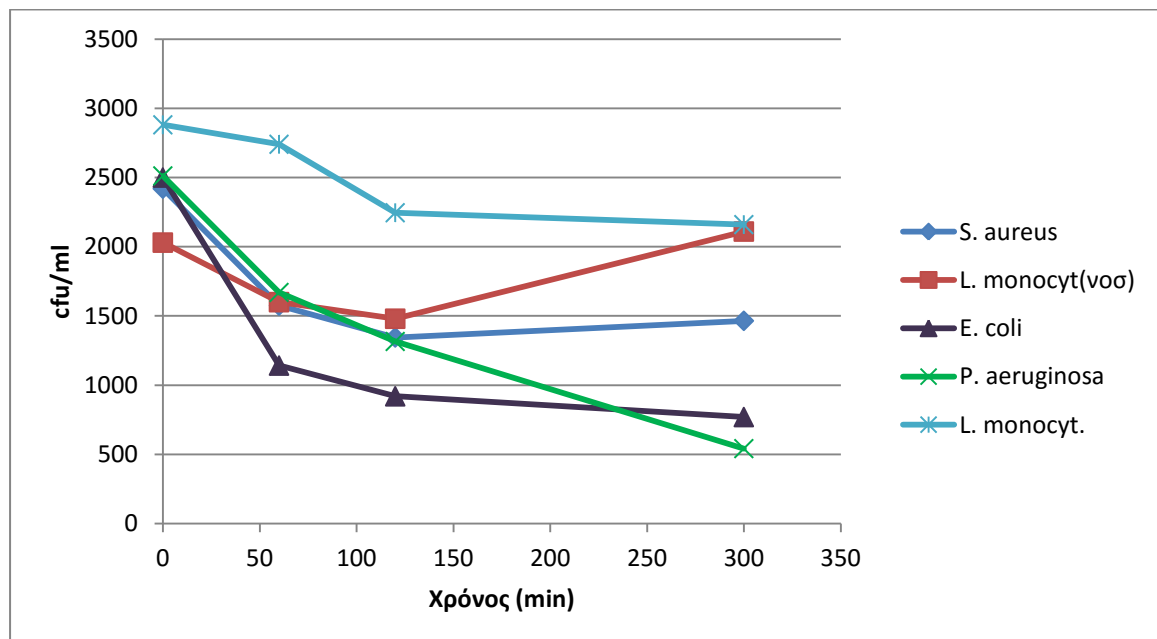


Σχήμα 25. Αντιβακτηριακή δράση του χυμού ροδιού-σταφυλιού (από συμπυκνωμένους χυμούς) στην ανάπτυξη της *L. monocytogenes*.

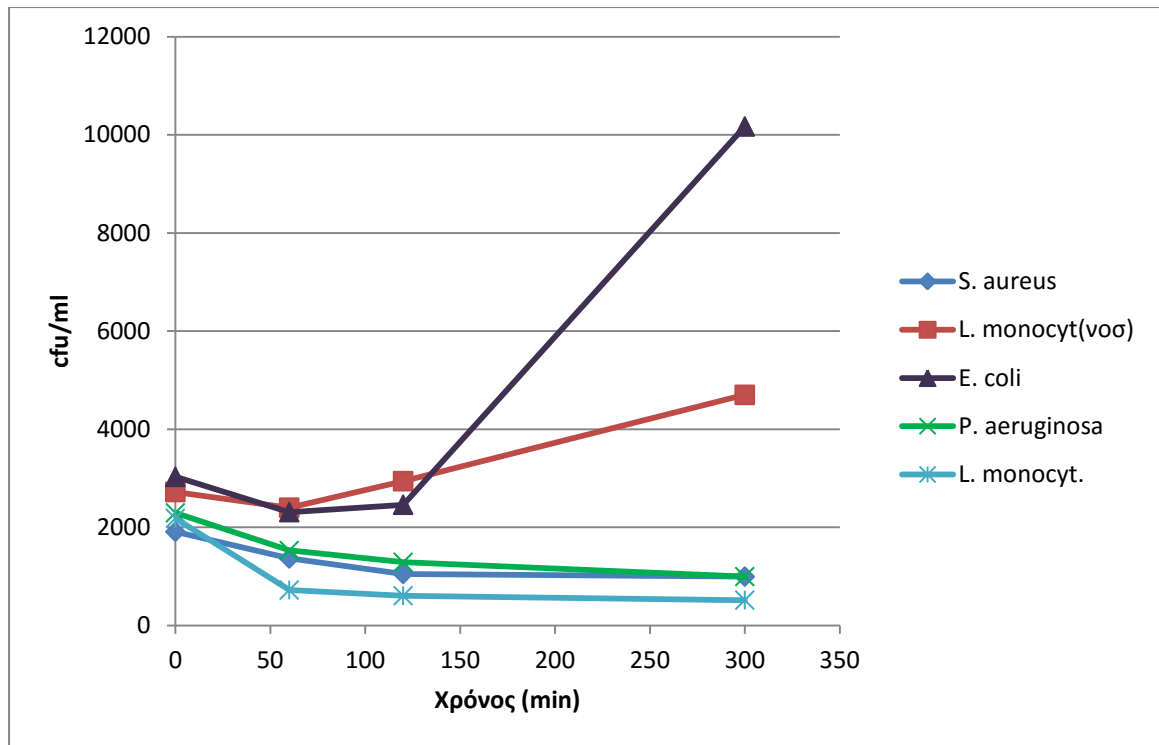


Σχήμα 26. Αντιβακτηριακή δράση του χυμού ροδιού-σταφυλιού (από συμπυκνωμένους χυμούς) στην ανάπτυξη του *P. aeruginosa*.

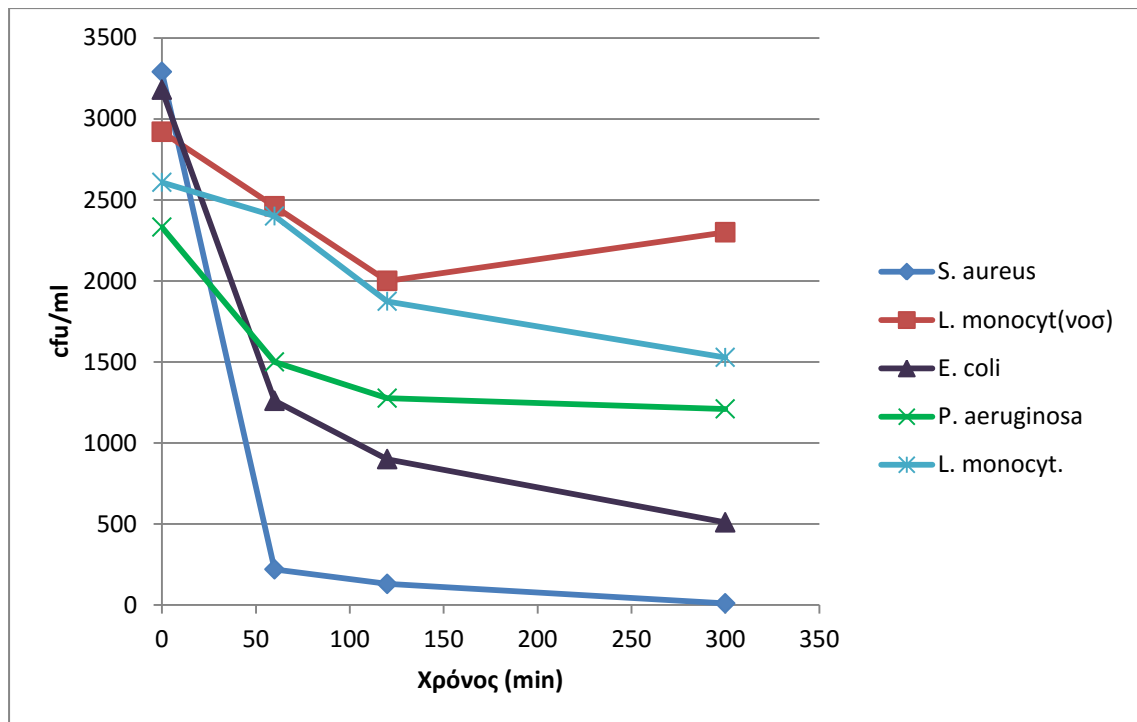
Τέλος στα σχήματα 27-31 παρουσιάζονται τα συγκεντρωτικά διαγράμματα κάθε χυμού αναφορικά με την επίδρασή τους έναντι όλων των μικροοργανισμών που μελετήθηκαν.



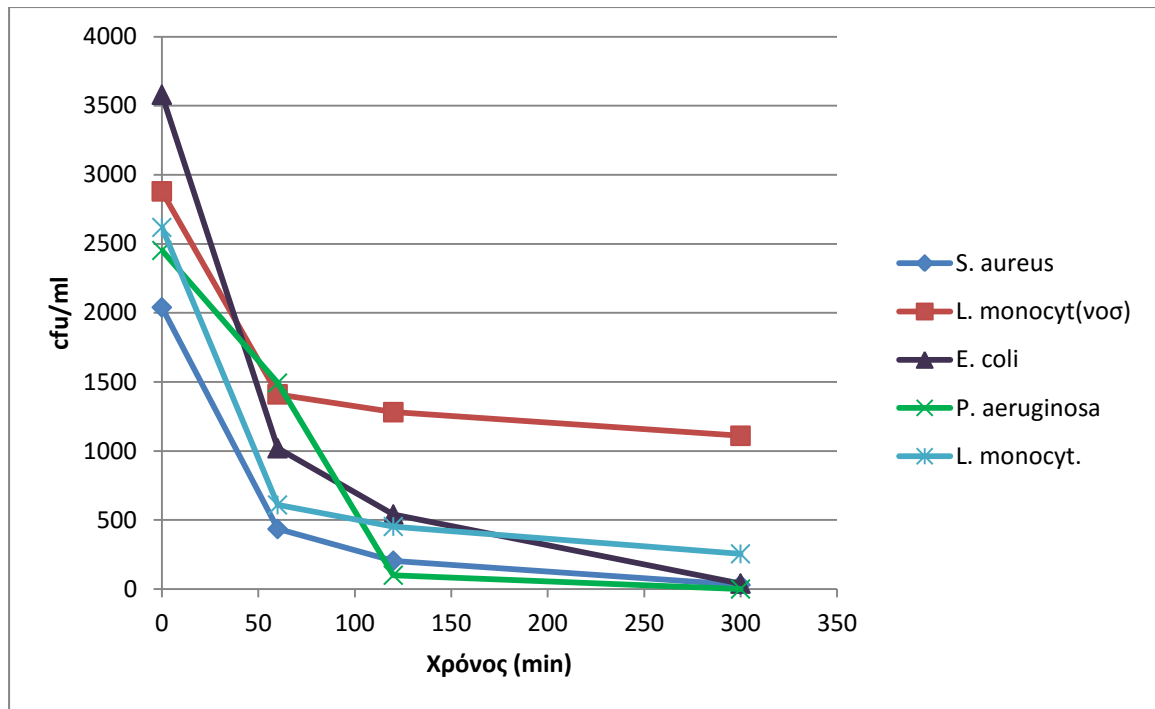
Σχήμα 27. Αντιβακτηριακή δράση του φυσικού χυμού ροδιού στην ανάπτυξη του συνόλου των παθογόνων μικροοργανισμών.



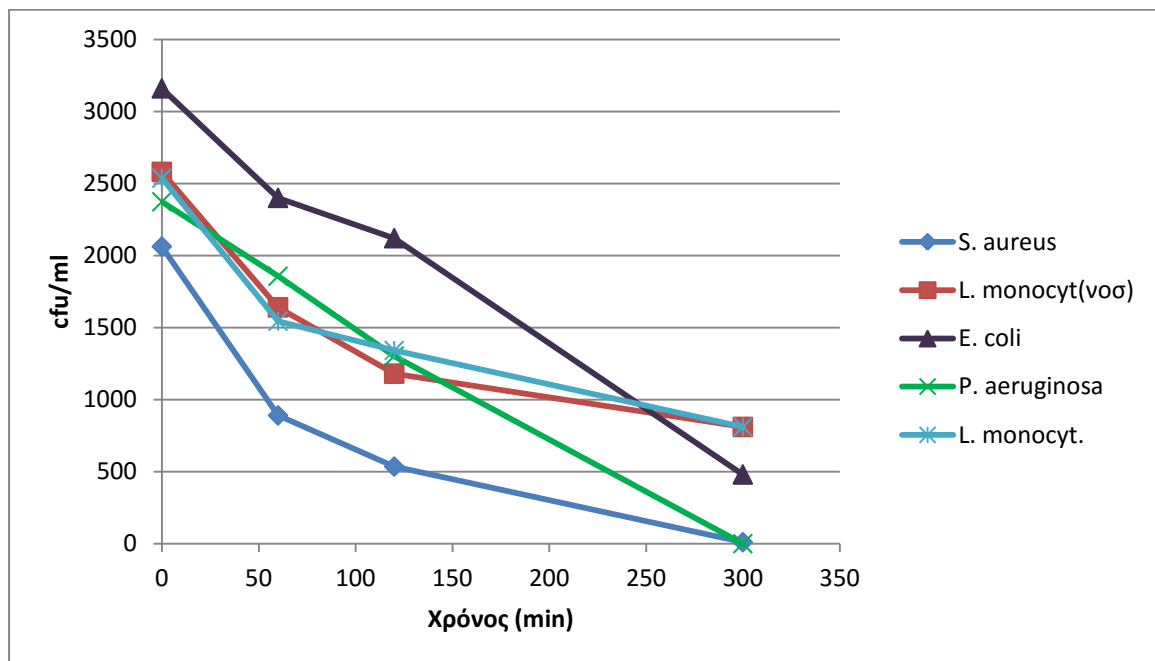
Σχήμα 28. Αντιβακτηριακή δράση του φυσικού χυμού ροδιού-βατόμουρου στην ανάπτυξη του συνόλου των παθογόνων μικροοργανισμών.



Σχήμα 29. Αντιβακτηριακή δράση του φυσικού χυμού ροδιού-φράουλας στην ανάπτυξη του συνόλου των παθογόνων μικροοργανισμών.



Σχήμα 30. Αντιβακτηριακή δράση του χυμού ροδιού (από συμπυκνωμένο χυμό) στην ανάπτυξη του συνόλου των παθογόνων μικροοργανισμών.



Σχήμα 31. Αντιβακτηριακή δράση του χυμού ροδιού-σταφυλιού (από συμπυκνωμένους χυμούς) στην ανάπτυξη του συνόλου των παθογόνων μικροοργανισμών.

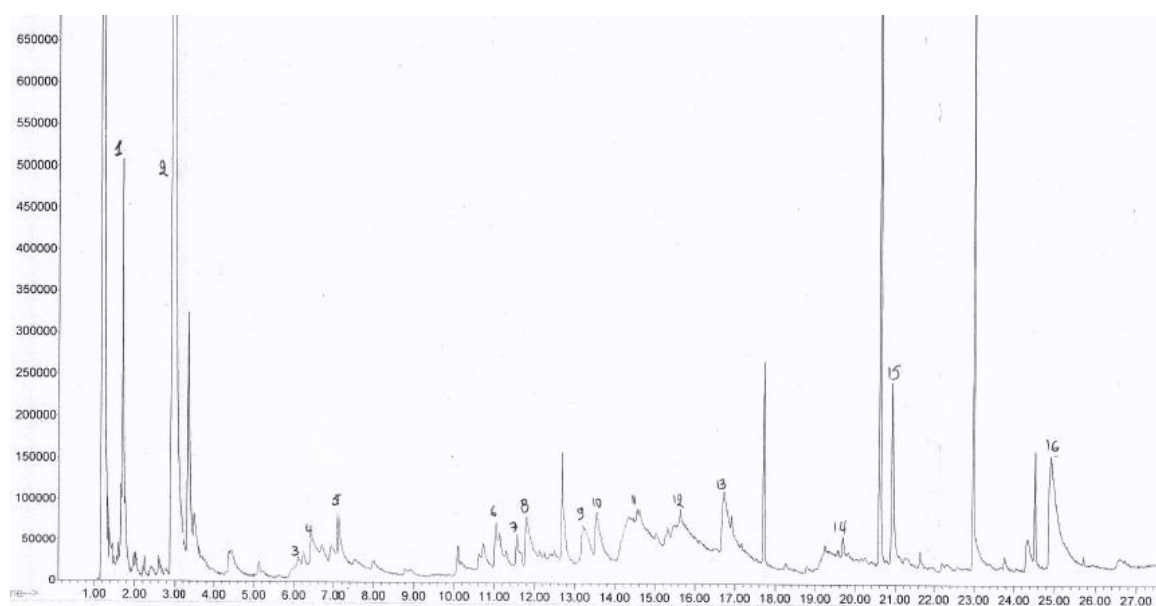
Τα αποτελέσματα της επίδρασης των συστατικών των χυμών στην ανάπτυξη των παθογόνων μικροοργανισμών είναι πολύ ενθαρρυντικά. Γενικά όλοι οι μικροοργανισμοί πλην του στελέχους της *L. monocytogenes* που απομονώθηκε σε νοσοκομείο, στους φυσικούς χυμούς ροδιού και ροδιού-βατόμουρου και της *E. coli* στο χυμό ροδιού-βατόμουρου, παρουσίασαν μείωση στον πληθυσμό τους και σε ορισμένες περιπτώσεις παρατηρήθηκε η θανάτωση του πληθυσμού τους. Επιπλέον από τους μικροοργανισμούς που μελετήθηκαν σε όλα τα δείγματα των χυμών, η *L. monocytogenes* που απομονώθηκε σε νοσοκομείο εμφανίζεται ως ο πιο ανθεκτικός μικροοργανισμός. Συνολικά οι χυμοί που έχουν υποστεί συμπύκνωση εμφάνισαν τη μεγαλύτερη αντιβακτηριακή δράση με πιο δραστικό το χυμό ροδιού. Ο φυσικός χυμός ροδιού ήταν πιο δραστικός έναντι της *E. coli* και του *P. aeruginosa* και λιγότερο προς τους άλλους μικροοργανισμούς ενώ ο φυσικός χυμός ροδιού-βατόμουρου ήταν πιο δραστικός έναντι της *L. monocytogenes*. Τέλος ο φυσικός χυμός ροδιού-φράουλας παρεμπόδισε περισσότερο την ανάπτυξη της *E. coli* και του *S. aureus*.

Παρόμοιες μελέτες σε χυμούς και εκχυλίσματα ροδιού έδειξαν ότι η ανάπτυξη τόσο των Gram⁺ όσο και των Gram⁻ βακτηρίων επηρεάστηκε από την αντιβακτηριακή δράση του χυμού ροδιού. Για παράδειγμα δείγματα χυμού από σπόρους ροδιού εμπόδισαν την ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών όπως η *E. coli*, ο *P. aeruginosa* και ο *S. aureus* (Duman et al. 2009, Abdullah et al. 2014).

Ταυτοποίηση και ημιποσοτικός προσδιορισμός πηκτικών ουσιών

Το ρόδι δεν χαρακτηρίζεται για το έντονο άρωμά του και εξαιτίας της επεξεργασίας που υφίσταται, οι εμπορικοί χυμοί ροδιού διαφέρουν ως προς τα πτητικά συστατικά τους με αυτά του φρέσκου χυμού ροδιού. Από αυτά οι κυριότερες κατηγορίες είναι αλκοόλες, αλδεΐδες, εστέρες, κετόνες, φουράνια, τερπένια και παράγωγα βενζολίου.

Στα σχήματα 32-36 παρουσιάζονται τα χρωματογράφημα των χυμών που αναλύθηκαν. Επίσης στους πίνακες 5-9 δίνονται οι πτητικές ενώσεις που ανιχνεύθηκαν στα δείγματα των χυμών με τους αντίστοιχους χρόνους κατακράτησης (t_R), τα % ποσοστά τους σε σχέση με το σύνολο των πτητικών ουσιών και τις συγκεντρώσεις των πτητικών ουσιών.

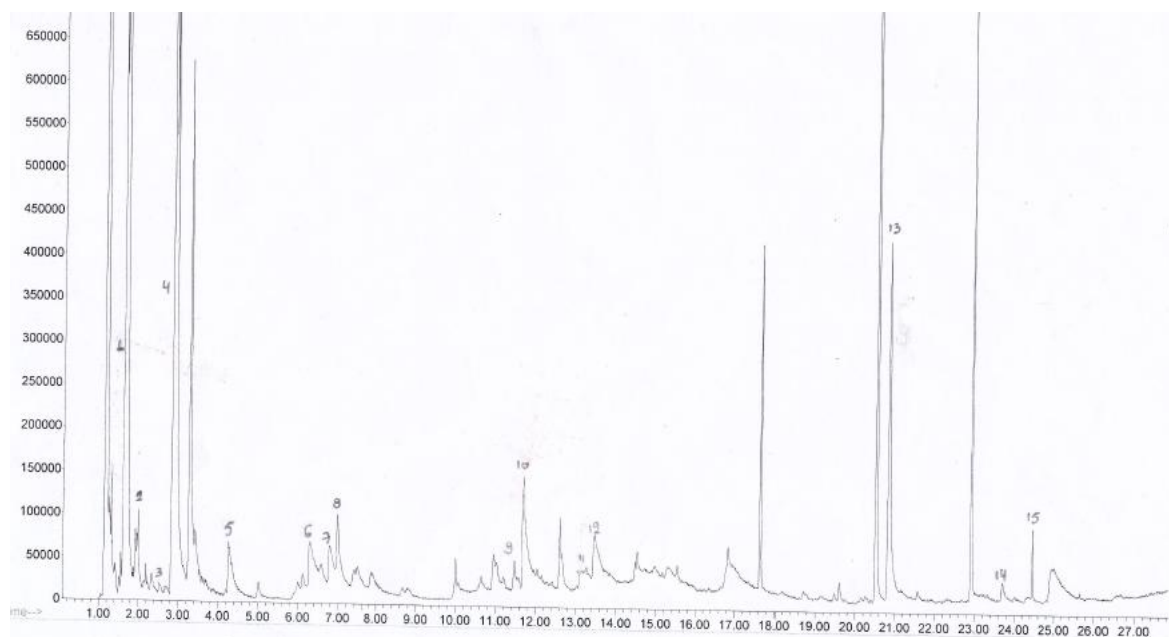


Σχήμα 32. Χρωματογράφημα του φυσικού χυμού ροδιού.

1) οξικός αιθυλεστέρας, 2) 2-μεθυλο-1-βουτανόλη, 3) φουρφουράλη, 4) cis-3-εξενόλη, 5) οξικός 3-μεθυλ-βουτυλεστέρας, 6) εξανοϊκός αιθυλεστέρας, 7) ο-κυμένιο, 8) 2-αιθυλο-1-εξανόλη, 9) π-αλφα-διμέθυλο στυρένιο, 10) εννεανάλη, 11) 2-φαινυλο-αιθανόλη, 12) καπρυλικό οξύ, 13) προπανικός 2-φαινυλ-αιθυλεστέρας, 14) καπρικό οξύ, 15) BHT, 16) καπρυλικός 2-φαινυλ-αιθυλεστέρας

Πίνακας 5. Χρόνοι κατακράτησης πτητικών ουσιών, συγκεντρώσεις και τα % ποσοστά τους επί του συνόλου των ουσιών στο φυσικό χυμό ροδιού.

Πτητικές Ουσίες	Χρόνος κατακράτησης	% ποσοστό του συνόλου	ppm
Οξικός αιθυλεστέρας	1,69	3,30	0,95
2-μέθυλο-1-βουτανόλη	2,99	9,16	2,63
Φουρφουράλη	6,11	0,57	0,16
cis-3-εξενόλη	6,46	0,92	0,27
Οξικός 3-μεθυλ-βουτυλεστέρας	7,11	1,42	0,24
Εξανοϊκός αιθυλεστέρας	11,04	0,55	0,16
ο-κυμένιο	11,56	0,33	0,19
2-αιθυλο-1-εξανόλη	11,80	1,29	0,37
π-αλφα-διμέθυλο στυρένιο	13,20	1,16	0,03
Εννεανάλη	13,55	1,13	0,32
2-φαινυλο-αιθανόλη	14,61	0,93	0,07
Καπρυλικό οξύ	15,74	0,20	0,06
Προπανικός 2-φαινυλ-αιθυλεστέρας	16,73	1,36	0,39
Καπρικό οξύ	19,69	0,17	0,05
BHT	20,91	1,74	0,69
Καπρυλικός 2-φαινυλ-αιθυλεστέρας	24,90	4,21	1,21

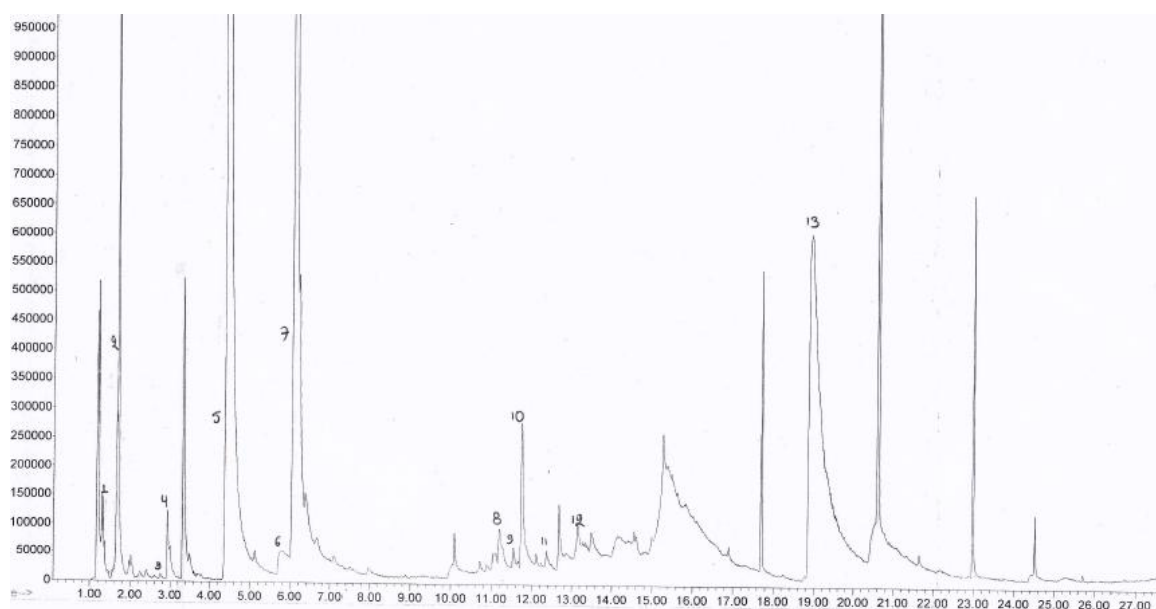


Σχήμα 33. Χρωματογράφημα του φυσικού χυμού ροδιού-βατόμουρου.

1) οξικός αιθυλεστέρας, 2) 2-μεθυλο-1-βουτανόλη, 3) βουτανοϊκός μεθυλεστέρας, 4) 2-μεθυλο-1-βουτανόλη, 5) εξανόλη, 6) Cis-3-εξενόλη, 7) 1-εξανόλη, 8) οξικός 3-μεθυλ-βουτυλεστέρας, 9) ο-κυμένιο, 10) 2-αιθυλ-εξανόλη, 11) π-αλφα-διμέθυλο στυρένιο, 12) εννεανάλη, 13) BHT, 14) α-κεδρένιο, 15) καπρυλικός 2-αιθυλ-αιθυλεστέρας.

Πίνακας 6. Χρόνοι κατακράτησης πτητικών ουσιών, συγκεντρώσεις και τα % ποσοστά τους επί του συνόλου των ουσιών στο φυσικό χυμό ροδιού-βατόμουρου.

Πτητικές ουσίες	Χρόνος κατακράτησης	% ποσοστό του συνόλου	Rpm
οξικός αιθυλεστέρας	1,64	18,66	1,20
2-μεθυλο-1-βουτανόλη	2,00	0,96	0,17
Βουτανοϊκός μεθυλεστέρας	2,69	0,10	0,02
2-μεθυλο-1-βουτανόλη	2,86	9,05	1,58
Εξανόλη	4,26	1,31	0,23
cis-3-εξενόλη	6,30	1,59	0,27
1-εξανόλη	6,80	1,05	0,18
Οξικός 3-μεθυλ-βουτυλεστέρας	6,99	1,44	0,25
ο-κυμένιο	11,47	0,39	0,05
2-αιθυλ-εξανόλη	11,69	2,43	0,42
π-αλφα-διμέθυλο στυρένιο	13,21	0,15	0,01
Εννεανόλη	13,46	1,84	0,32
BHT	20,82	4,05	0,70
α-κεδρένιο	23,69	0,16	0,08
Καπρυλικός 2-αιθυλ-αιθυλεστέρας	25,00	1,37	0,24

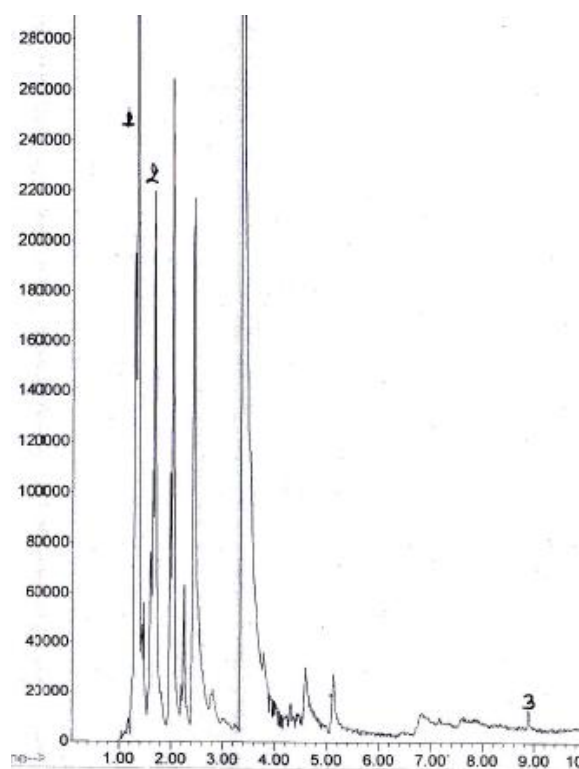


Σχήμα 34. Χρωματογράφημα του φυσικού χυμού ροδιού-φράουλας.

1) διμέθυλο σουλφώδιο, 2) οξικός αιθυλεστέρας, 3) βουτανοϊκός μεθυλεστέρας, 4) 3-μέθυλο-1-βουτανόλη, 5) βουτανοϊκός αιθυλεστέρας, 6) φουρφουράλη, 7) βουτανοϊκός 2-μεθυλ-αιθυλεστέρας, 8) μυρμηκικός cis-3-εξενυλ-εστέρας, 9) π-κυμένιο, 10) 2-αιθυλο-εξανόλη, 11) βουτανοϊκός 2-μεθυλ-βουτυλεστέρας, 12) π-αλφα-διμέθυλο στυρένιο, 13) κινναμικός μεθυλεστέρας.

Πίνακας 7. Χρόνοι κατακράτησης πτητικών ουσιών, συγκεντρώσεις και τα % ποσοστά τους επί του συνόλου των ουσιών στο φυσικό χυμό ροδιού-φράουλας.

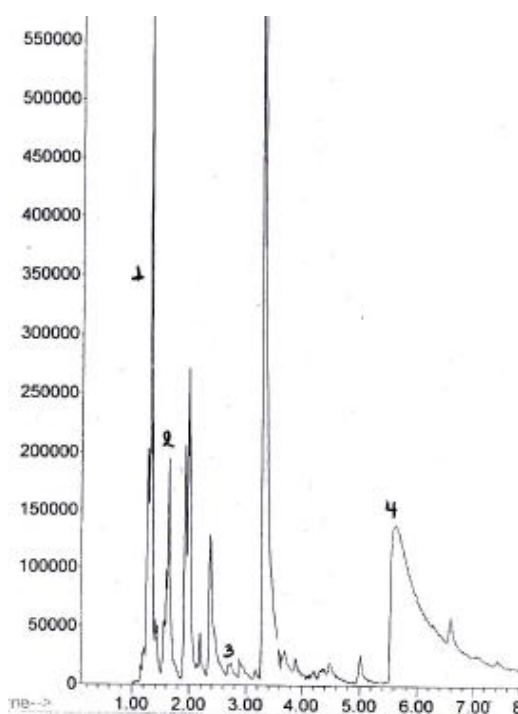
Πτητικές ουσίες	Χρόνος κατακράτησης	% ποσοστό του συνόλου	R _{pm}
Διμέθυλο σουλφύδιο	1,34	0,40	0,21
Οξικός αιθυλεστέρας	1,69	2,89	1,53
Βουτανοϊκός μεθυλεστέρας	2,75	0,03	0,01
3-μεθυλο-1-βουτανόλη	2,92	0,30	0,16
Βουτανοϊκός αιθυλεστέρας	4,44	26,96	14,3
Φουρφουράλη	5,77	0,44	0,23
Βουτανοϊκός 2-μεθυλ-αιθυλεστέρας	6,11	21,88	11,6
Μυρμηκικός cis-3-εξενυλ-εστέρας	11,20	0,69	0,26
π-κυμένιο	11,55	0,20	0,11
2-αιθυλο-εξανόλη	11,75	1,49	0,79
Βουτανοϊκός 2-μεθυλ-βουτυλεστέρας	12,37	0,24	0,08
π-αλφα-διμέθυλο στυρένιο	13,28	0,15	0,18
Κιναμικός μεθυλεστέρας	18,92	10,44	5,54



**Σχήμα 35. Χρωματογράφημα του χυμού ροδιού (από συμπυκνωμένο χυμό).
1) Διμέθυλο σουλφύδιο, 2) 2-μεθυλ-3-βουτεν-2-όλη, 3) α-πινένιο**

Πίνακας 8. Χρόνοι κατακράτησης πτητικών ουσιών, συγκεντρώσεις και τα % ποσοστά τους επί του συνόλου των ουσιών στο χυμό ροδιού (από συμπυκνωμένο χυμό).

Πτητικές ουσίες	Χρόνος κατακράτησης	% ποσοστό του συνόλου	Rpm
Διμέθυλο σουλφύδιο	1,34	8,26	0,25
2-μεθυλ-3-βουτεν-2-όλη	1,67	5,07	0,12
α-πινένιο	8,88	0,15	0,005



Σχήμα 36. Χρωματογράφημα του χυμού ροδιού-σταφυλιού (από συμπυκνωμένους χυμούς). 1) Διμέθυλο σουλφύδιο, 2) 2-μεθυλ-3-βουτεν-2-όλη, 3) βουτανοϊκός μεθυλεστέρας, 4) φουρφουράλη.

Πίνακας 9. Χρόνοι κατακράτησης πτητικών ουσιών, συγκεντρώσεις και τα % ποσοστά τους επί του συνόλου των ουσιών στο χυμό ροδιού-σταφυλιού (από συμπυκνωμένους χυμούς).

Πτητικές ουσίες	Χρόνος κατακράτησης	% ποσοστό του συνόλου	Rpm
Διμέθυλο σουλφύδιο	1,31	6,50	0,25
2-μεθυλ-3-βουτεν-2-όλη	1,64	3,74	0,15
Βουτανοϊκός μεθυλεστέρας	2,71	0,24	0,06
Φουρφουράλη	5,63	15,77	0,63

Στα δείγματα των χυμών ταυτοποιήθηκαν ενώσεις όπως αλκοόλες, εστέρες, αλδεΐδες, οξέα, τερπένια και φουράνια. Στους χυμούς ροδιού 100% από αυτές τις ενώσεις, η εννεανάλη, η *cis*-3-εξενόλη, η φουρφουράλη, το α -πινένιο, το κεδρένιο, η 2-μεθυλ-3-βουτεν-2-όλη, το καπρικό οξύ, το καπρυλικό οξύ, ο οξικός αιθυλεστέρας και ο εξανοϊκός αιθυλεστέρας έχουν ταυτοποιηθεί και σε άλλες μελέτες (Vazquez-Araujo et al. 2010, Calin-Sanchez et al. 2011, Melgarejo et al. 2011, Caleb et al. 2015) ως συστατικά του ροδιού. Στα μίγματα χυμών πολλά πτητικά συστατικά είναι κοινά ενώ άλλα προέρχονται από το ένα φρούτο. Για παράδειγμα στο χυμό ροδιού-βατόμουρου η 2-μεθυλο-1-βουτανάλη, η εξανάλη και ο βουτανοϊκός μεθυλεστέρας αποτελούν συστατικά του βατόμουρου (Qian and Wang 2005, Du et al. 2010) ενώ αντίστοιχα στο χυμό ροδιού-φράουλας, η 3-μεθυλο-1-βουτανόλη, ο βουτανοϊκός μεθυλεστέρας, ο βουτανοϊκός αιθυλεστέρας και ο μυρμηκικός *cis*-3-εξενυλ-εστέρας προέρχονται από τη φράουλα (Hakala et al. 2002). Ακόμη θα πρέπει να αναφερθεί η ανίχνευση στους φυσικούς χυμούς ροδιού και ροδιού-βατόμουρου του βουτυλιωμένου υδροξυτολουολίου (BHT), ενός πρόσθετου αντιοξειδωτικού των τροφίμων. Τέλος στο χυμό ροδιού-φράουλας και στους χυμούς από συμπύκνωση βρέθηκε διμέθυλο σουλφύδιο, η ύπαρξη του οποίου στη φράουλα επιβεβαιώνεται και από άλλες μελέτη (Du et al. 2011).

Δ. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

1. Οι χυμοί που προέρχονται από συμπυκνωμένους χυμούς (χυμός ροδιού και χυμός ροδιού-σταφυλιού) περιείχαν περισσότερα φαινολικά συστατικά και εμφάνισαν μεγαλύτερη αντιμικροβιακή δράση συγκριτικά με τους φυσικούς χυμούς.
2. Όλοι οι χυμοί παρουσίασαν σημαντική αντιμικροβιακή δράση και επιβεβαιώθηκε η σχέση μεταξύ των φαινολικών ουσιών και της αντιοξειδωτικής δράσης.
3. Το νοσοκομειακό στέλεχος της *L. monocytogenes* ήταν το πιο ανθεκτικό βακτήριο συγκριτικά με τους υπόλοιπους μικροοργανισμούς που μελετήθηκαν.
4. Οι χυμοί με βάση το ρόδι παρουσιάζουν γενικά χαμηλό αρωματικό δυναμικό.

Ε. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η ροδιά (*Punica granatum*) καλλιεργείται από την αρχαιότητα και ο καρπός της συνδέεται με πλήθος παραδόσεων και συμβολισμών πολλών λαών. Τα τελευταία χρόνια η καλλιέργειά της στον ελλαδικό χώρο αυξήθηκε σημαντικά λόγω της εγκατάλειψης παραδοσιακών καλλιεργειών και λόγω ιδιωτικής πρωτοβουλίας πολλών παραγωγών. Παράλληλα πολλές έρευνες μαρτυρούν τις ευεργετικές ιδιότητες του ροδιού που οφείλονται κυρίως στα φαινολικά συστατικά του. Από τα προϊόντα του ροδιού, ο χυμός ροδιού που είναι το κυριότερο παράγωγο προϊόν, αρχίζει να κατακτά την ελληνική αγορά.

Σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν η μελέτη ορισμένων ποιοτικών χαρακτηριστικών πέντε εμπορικών χυμών με βάση το ρόδι. Συγκεκριμένα προσδιορίστηκε η περιεκτικότητά τους σε φαινολικά συστατικά και η αντιοξειδωτική τους ικανότητα με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu και DPPH αντίστοιχα. Ακόμη ερευνήθηκε η αντιβακτηριακή τους δράση έναντι των παθογόνων μικροοργανισμών *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* και *L. monocytogenes*. Τέλος ταυτοποιήθηκαν τα πτητικά συστατικά τους και έγινε ποσοτικός προσδιορισμός τους με χρήση SPME-GC/MS.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο χυμός ροδιού περιέχει περισσότερα φαινολικά συστατικά από το χυμό σταφυλιού και λιγότερα από τους χυμούς βατόμουρου και φράουλας. Φαίνεται ότι οι χυμοί από συμπύκνωση υπερτερούν έναντι των φυσικών χυμών ενώ επιβεβαιώθηκε και η σχέση μεταξύ φαινολικών ουσιών και αντιοξειδωτικής δράσης.

Όλοι οι χυμοί παρουσίασαν αξιόλογη αντιβακτηριακή δράση πλύν ελαχίστων περιπτώσεων με τους χυμούς από συμπύκνωση να δίνουν καλύτερα αποτελέσματα σε σχέση με τους υπολοίπους.

Τέλος ταυτοποιήθηκαν περισσότερες πτητικές ουσίες στους φυσικούς χυμούς ενώ ανιχνεύτηκε BHT σε δύο από αυτούς.

ΣΤ. ABSTRACT

Pomegranate (*Punica granatum*) has been cultivated since antiquity and its fruit is connected with multiple traditions and symbolisms of many peoples. Over the last few years, the pomegranate cultivation in Greece has raised extremely due to the relinquishment of traditional cultivations as well as the private initiative of many producers. At the same time, many surveys reveal the pomegranate's beneficial health properties, mainly due to its phenolic components. One of the main products of pomegranate, its juice, begins to conquer the Greek market and has become the subject of several investigations.

The aim of this study was the description of some quality characteristics of five commercial pomegranate based juices. Specifically the total phenolic content and the antioxidant capacity were determined using the Folin-Ciocalteu method and the DPPH method respectively as well as the antibacterial activity of the juices against pathogens e.g. *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* and *L. monocytogenes*. Furthermore the volatile constituents of the juices were identified. The identification and semi-quantification were carried out by means of headspace solid-phase micro-extraction (HS-SPME) coupled to gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS).

The results showed that pomegranate juice contains more phenolics than blackberry and strawberry juice and less than grape juice. It seems that juices from concentrate had a higher phenolic content than the natural juices. All juices showed high antioxidant capacity and the correlation between antioxidant activity and total phenolic content was confirmed.

The majority of the juices induced a remarkable growth inhibition of the pathogens and namely those from concentrate exhibited the strongest antibacterial activity.

Concerning the volatile compounds, commercial pomegranate juices had low aromatic intensity whereas BHT was detected in two of them.

Z. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ηλεκτρονική βιβλιογραφία

www.archaiologia.gr

www.e-rodι.gr

www.chromacademy.com

www.pomwonderful.com

www.rodonas.gr

www.wikipedia.org

www.sigmaaldrich.com

www.ehp.niehs.nih.gov

www.medicine.uiowa.edu

www.nature.com

www.web.mst.edu

Ελληνική βιβλιογραφία

- 1) Βαφοπούλου-Μαστρογιαννάκη Α. (2003). Βιοχημεία τροφίμων. Εκδόσεις Ζήτη και ΣΙΑ Ο.Ε.
- 2) Γάτσιος Κ. (2010). Η ροδιά. Εκδόσεις Αγρότυπος Α.Ε.
- 3) Δρογούδη Π., Τσιπουρίδης Κ. και Πανταζής Σ. (2007). Η καλλιέργεια της ροδιάς. *Γεωργία-Κτηνοτροφία, τόμος 1, 2007*.
- 4) Δρογούδη Π., Βασιλακάκης Μ., Θωμίδης Θ., Ναβροζίδης Ε. και Παντελίδης Γ. (2012). Εγχειρίδιο για την καλλιέργεια της ροδιάς.
- 5) Ζερφυρίδης Γ. (1998). Διατροφή του ανθρώπου. Εκδόσεις Γιαχούδη.
- 6) Κοτζεκίδου-Ρουκά Π. (2004). Μικροβιολογία τροφίμων. Εκδόσεις Υπηρεσία Δημοσιευμάτων ΑΠΘ.
- 7) Κώστα Χ. (2013). Η καλλιέργεια της ροδιάς. Εκδόσεις Κλάδος Γεωργικών Εφαρμογών-Τμήμα Γεωργίας (Υπουργείο Γεωργίας, Φυσικών Πόρων και Περιβάλλοντος Κύπρου).
- 8) Λιτοπούλου-Τζαντάκη Ε. (2010). Μικροβιολογία γάλακτος. Εκδόσεις Αϊβάζη.

- 9) Μπαδέκα Α. (2009). Ταυτοποίηση αρωματικών πτητικών ενώσεων με χρήση μικροεκχύλισης στερεάς φάσης (SPME) με συνδυασμό αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρία μάζας (GC/MS). *Εργαστηριακές σημειώσεις μεταπτυχιακού προγράμματος σπουδών τμήματος Χημείας*.
- 10) Πολυχρονιάδου-Αληχανίδου Α. (1996). Ανάλυση τροφίμων. Εκδόσεις Γαρταγάνη.
- 11) Σουφλερός Ε. (2000). Οίνος και αποστάγματα. Εκδόσεις Σταμούλης.

Ξένη βιβλιογραφία

- 1) Adams L. S., Seeram N. P., Aggarwal B. B., Takada Y., Sand D. and Heber D., Pomegranate juice, total pomegranate ellagitannins, and punicalagin suppress inflammatory cell signaling in colon cancer cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, **54**, 980–985.
- 2) Agbor G. A., Joe A Vinson J. A. and Donnelly P. E., Folin-Ciocalteu Reagent for Polyphenolic Assay. *International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics*, 2014, **3**, 147-156.
- 3) Ainsworth E. A. and Gillespie K. M., Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. *Nature Protocols*, 2007, **2**, 875-877.
- 4) Akpınar-Bayızit A., Özcan T. and Yılmaz-Ersan L. (2012). The Therapeutic Potential of Pomegranate and its Products for Prevention of Cancer. In Georgakilas A. G. (ed), Cancer Prevention – From Mechanisms to Translational Benefits. InTech.
- 5) Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K. and Walter P. (2002). *Molecular Biology of the Cell*, Fourth Edition. Garland Science.
- 6) Alighourchi H. R., Barzegar M., Sahari M. A. and Abbasi S., Effect of sonication on anthocyanins, total phenolic content, and antioxidant capacity of pomegranate juices. *International Food Research Journal*, 2013, **20**, 1703-1709.
- 7) Alper N., Onsekizoglu P. and Acar J., Effects of various clarification treatments on phenolic compounds and organic acid compositions of pomegranate (*punica granatum* l.) juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2010, **35**, 313-319.
- 8) American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care*, 2013, **36**, 11-66.

- 9) Arjmand A., Shamsi K., Shah N.P. and Sherkat F. (2012). Probiotic and antioxidant properties of synbiotic yoghurt supplemented with Australian-grown ‘Wonderful’ pomegranate (*Punica granatum* L.) juice. In Melgarejo P. (ed) and Valero D. (ed), II International Symposium on the Pomegranate. Options Méditerranéennes: Série A. Séminaires Méditerranéens.
- 10) Aviram M., Dornfeld L., Rosenblat M., Volkova N., Kaplan M., Coleman R., Hayek T., Presser D. and Fuhrman B., Pomegranate juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modifications to LDL, and platelet aggregation: studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2000, **71**, 1062-1076.
- 11) Aviram M., Rosenblat M., Gaitini D., Nitecki S., Hoffman A., Dornfeld L., Volkova N., Presser D., Attias J., Liker H. and Hayek T., Pomegranate juice consumption for 3 years by patients with carotic artery stenosis reduces common carotid intima-media thickness, blood pressure and LDL oxidation, *Clinical Nutrition*, 2004, **23**, 423–433.
- 12) Baklouti S., Ellouze-Ghorbel R., Mokni A. and Chabouni S., Clarification of pomegranate juice by ultrafiltration: study of juice quality and of the fouling mechanism, *Fruits*, 2012, **67**, 215-252.
- 13) Betanzos-Cabrera G., Guerrero-Solano A. J., Martínez-Pérez M. M., Calderón-Ramos Z. G., Belefant-Miller H., Cancino-Diaz J. C., Pomegranate juice increases levels of paraoxonase1 (PON1) expression and enzymatic activity in streptozotocin-induced diabetic mice fed with a high-fat diet, *Food Research International*, 2011, **44**, 1381-1385.
- 14) Bhowmik D., Gopinath H., Pragati Kumar B., Duraivel S., Aravind. G., Sampath Kumar K. P., Medicinal Uses of *Punica granatum* and Its Health Benefits, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2013, **1**, 28-35.
- 15) Bonzanini F., Bruni R., Palla G., Serlataite N., Caligiani A., Identification and distribution of lignans in *Punica granatum* L. fruit endocarp, pulp, seeds, wood knots and commercial juices by GC–MS, *Food Chemistry*, 2009, **117**, 745-749.
- 16) Borges G., Mullen W. and Crozier A., Comparison of the polyphenolic composition and antioxidant activity of European commercial fruit juices, *Food & Function*, 2010, **1**, 73-83.
- 17) Brand-Williams W., Cuvelier M.E. and Berset C., Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *Food Science and Technology*, 1995, **28**, 25-30.

- 18) Caleb O. J., Fawole O. A., Mphahlele R. R., Opara U. L., Impact of preharvest and postharvest factors on changes in volatile compounds of pomegranate fruit and minimally processed arils- Review, *Scientia Horticulturae*, 2015, **188**, 106-114.
- 19) Calin-Sanchez A., Martinez J. J., b Vazquez-Araujo L., Burlo F., Melgarejo P. and Carbonell-Barrachina A. A., Volatile composition and sensory quality of Spanish pomegranates (*Punica granatum L.*), *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2011, **91**, 586-592.
- 20) Cam M., Hisil Y. and Durmaz G., Classification of eight pomegranate juices based on antioxidant capacity measured by four methods, *Food Chemistry*, 2009, 112, 721-726.
- 21) Caswell H., The role of fruit juice in the diet: an overview, *Nutrition Bulletin*, 2009, **34**, 273-288.
- 22) Crozier A., Jaganath I. B. and Clifford M. N., Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health, *Natural Product Reports*, 2009, **26**, 965-1096.
- 23) Colombo E., Sangiovanni E., Dell'Agli M., A review on the anti-inflammatory activity of pomegranate in the gastrointestinal track, *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 1-11.
- 24) Conder J. R. (2000). Physicochemical measurements: Gas chromatography. In Wilson I. D. (ed). *Encyclopedia of separation science*. Elsevier Ltd.
- 25) Cote J., Caillet S., Doyon G., Dussault D., Sylvain J. F. and Lacroix M., Antimicrobial effect of cranberry juice and extracts, *Food Control*, 2011, **22**, 1413-1418.
- 26) Cowan M. M., Plant products as antimicrobial agents, *Clinical Microbiology Reviews*, 1999, **12**, 564-582.
- 27) Cunha W. R., Silva M. E., Veneziani R. C., Ambrosio S. R. and Bastos J. K. (2012) Lignans: chemical and biological properties. In Rao W. (ed). *Phytochemicals – A global perspective of their role in nutrition and health*. InTech.
- 28) De Nigris F., Williams-Ignarro S., Botti C., Sica V., Ignarro L. J. and Napoli C., Pomegranate juice reduces oxidized low-density lipoprotein downregulation of endothelial nitric oxide synthase in human coronary endothelial cells, *Nitric Oxide*, 2006, **15**, 259-263.
- 29) Dhumal S. S., Karale A. R., Jadhav S. B. and Kad V. P., Recent advances and the developments in the pomegranate processing and utilization: A review, *Journal of Agriculture and Crop Science*, 2014, **1**, 1-17.

- 30) Du X. F., Kurnianta A., McDaniel M., Finn C. E., Qian M. C., Flavour profiling of Marion and thornless blackberries by instrumental and sensory analysis, *Food Chemistry*, 2010, **121**, 1080-1088.
- 31) Du X., Song M. and Rouseff R., Identification of new strawberry sulfur volatiles and changes during maturation, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, **59**, 1293-1300.
- 32) Duman A. D., Ozgen M., Dayisoğlu K. S., Erbil N. and Durgac C., Antimicrobial activity of six pomegranate (*Punica granatum L.*) varieties and their relation to some of their pomological and phytonutrient characteristics, *Molecules*, 2009, **14**, 1808-1817.
- 33) Durazzo A., Zaccaria M., Polito A., Maiani G. and Carcea M., Lignan content in cereals, buckwheat and derived foods, *Foods*, 2013, **2**, 53-63.
- 34) Ehling, S. and Cole S., Analysis of Organic Acids in Fruit Juices by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry: An Enhanced Tool for Authenticity Testing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, **59**, 2229–2234.
- 35) Eksi A. and Ozhamamci O., Chemical composition and guide values of pomegranate juice, *Gida*, 2009, **34**, 265-270.
- 36) Esmailzadeh A., Tahbaz F., Gaieni I., Alavi-Majd H. and Azadbakht L., Concentrated pomegranate juice improves lipid profiles in diabetic patients with hyperlipidemia, *Journal of Medicinal Food*, 2004, **7**, 305–308.
- 37) Es-Safi N. E. (2012). Plant polyphenols: Extraction, structural characterization hemisynthesis and antioxidant properties. In Rao V. (ed.) *Phytochemicals as Nutraceuticals—Global Approaches to Their Role in Nutrition and Health*. InTech.
- 38) Fabiani A., Versari A., Parpinello G. P., Castellari M. and Galassi S., High-performance liquid chromatographic analysis of free amino acids in fruit juices using derivatisation with 9-fluorenylmethyl-chloroformate, *Journal of Chromatographic Science*, 2002, **40**, 14-18.
- 39) Farber J. M. and Peterkin P. I., *Listeria monocytogenes*: A food-borne pathogen, *Microbiological reviews*, 1991, **55**, 476-511.
- 40) Gil M. I., Tomas-Barbera F. A., Hess-Pierce B., Holcroft D. M. and Kader A. A., Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000, **48**, 4581-4589.

- 41) Hakala M. A., Lapvetelainen A. T. and Kallio H. P., Volatile compounds of selected strawberry varieties analysed by purge and trap headspace GCMS, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, **50**, 1133-1142.
- 42) Hamon M., Bierne H. and Cossart P., *Listeria monocytogenes*: a multifaceted model, *Nature Reviews*, 2006, **4**, 423-434.
- 43) Harris L.G., Foster S. J. and Richards R. G., An introduction to *Staphylococcus aureus*, and techniques for identifying and quantifying *S. aureus* adhesins in relation to adhesion to biomaterials: Review, *European Cells and Materials*, 2002, **4**, 39-60.
- 44) Hasnaoui N., Jbir R., Mars M., Trifi M., Kamal-Eldin A., Melgarejo P. and Hernandez F., Organic acids, sugars and anthocyanins contents in juices of Tynisian pomegranate fruits, *International Journal of Food Properties*, 2011, **14**, 741-757.
- 45) Hassanpour S., Maheri-Sis N., Eshratkhah B. and Mehmandar F. B., Plants and secondary metabolites (Tannins): A Review, *International Journal of Forest, Soil and Erosion*, 2011, **1**, 47-53.
- 46) Heber D. (2010). Pomegranate. In Milner J. A. and Romagnolo D. F. (ed). *Nutrition and health: Bioactive compounds and cancer*. Springer Science and Business Media.
- 47) Hong M. Y., Seeram N. P. and Heber D., Pomegranate polyphenols down-regulate expression of androgen-synthesizing genes in human prostate cancer cells over-expressing the androgen receptor, *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2008, **19**, 848-855.
- 48) Horowitz S., The power of the pomegranate: Biblical fruit with medicinal properties, *Journal of the alternative and complementary therapies*, 2006, **12**, 121-126.
- 49) Horvath-Kerkai E. (2006). Manufacturing fruit beverages. In Hui Y. H. (ed). *Handbook of fruits and fruit processing*. Blackwell publishing.
- 50) Iqbal K., Khan A. and Khattak M. A., Biological significance of ascorbic acid (Vitamin C) in human health- A review, *Pakistan Journal of Nutrition*, 2004, **3**, 5-13.
- 51) Jalikop S. J., Pomegranate breeding, *Fruit, vegetable and cereal science and biotechnology*, 2010, **4**, 26-34.
- 52) Kader A. A. and Barrett D. M. (2004). Classification, composition of fruits and postharvest maintenance of quality. In Barrett D. M., Somogyi L. P. and Ramaswamy H. S. (ed). *Processing fruits: Science and technology*. CRC Press.
- 53) Khanbabaee K. and Van Ree T., Tannins: Classification and definition, *Natural Product Reports*, 2001, **18**, 641-649.

- 54) Kaper J.B., Nataro J. P and Tobley H. L., Pathogenic Escherichia coli, *Nature Reviews*, 2004, **2**, 123-140.
- 55) Kaplan M., Hayek T., Raz A., Coleman R., Dornfeld L., Vaya J. and Aviram M., Pomegranate juice supplementation to atherosclerotic mice reduces macrophage lipid peroxidation, cellular cholesterol accumulation and development of atherosclerosis, *Journal of Nutrition*, 2001, **131**, 2082-2089.
- 56) Karadag A., Ozcelik B. and Saner S., Review of methods to determine antioxidant capacities, *Food Analytical Methods*, 2009, **2**, 41-60.
- 57) Katz S. R., Newman R. A. and Lansky E. P., Punica granatum: heuristic treatment for diabetes mellitus. *Journal of Medicinal Food*, 2007, **10**, 213-217.
- 58) Kawaii S. and Lansky E. P., Differentiation-promoting activity of pomegranate (Punica granatum) fruit extracts in HL-60 human promyelocytic leukemia cells, *Journal of Medicinal Food*, 2004, **7**, 13-18.
- 59) Kim N. D., Mehta R., Yu W., Neeman I., Livney T., Amichay A., Poirier D., Nicholls P., Kirby A., Jiang W., Mansel R., Ramachandran C., Rabi T., Kaplan B. and Lansky E., Chemopreventive and adjuvant therapeutic potential of pomegranate (Punica granatum) for human breast cancer, *Breast Cancer Research and Treatment*, 2002, **71**, 203-217.
- 60) Krueger D. A., Composition of pomegranate juice, *Journal of AOAC International*, 2012, **95**, 163-168.
- 61) Lampe J. W., Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies, *American Journal of Clinical Nutrition*, 1999, **70**, 475-490.
- 62) Lansky E., Shubert S. and Neeman I. (2000). Pharmacological and therapeutic properties of pomegranate. In Melgarejo P., Martínez-Nicolás J. J. and Martínez-Tomé J. (ed.). Production, processing and marketing of pomegranate in the Mediterranean region: Advances in research and technology. CIHEAM.
- 63) Mahdavi R., Nikniaz Z., Rafrat M. and Jouyban A., Determination and comparison of total polyphenol and vitamin C contents of natural fresh and commercial fruit juices, *Pakistan Journal of Nutrition*, 2010, **9**, 968-972.
- 64) Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C. and Jimenez L., Polyphenols: food sources and bioavailability, *American Journal of Clinical Nutrition*, 2004, **79**, 727-747.

- 65) Martin K. R. And Appel C. L., Polyphenols as dietary supplements: A double-edged sword, *Nutrition and Dietary Supplements*, 2010, **2**, 1-12.
- 66) Mars M. (2000). Pomegranate plant material: Genetic resources and breeding, a review. In Melgarejo P., Martínez-Nicolás J. J. and Martínez-Tomé J. (ed.). Production, processing and marketing of pomegranate in the Mediterranean region: Advances in research and technology. CIHEAM.
- 67) Maskan M., Production of pomegranate (*Punica granatum* L.) juice concentrate by various heating methods: colour degradation and kinetics, *Journal of Food Engineering*, 2006, **72**, 218-224.
- 68) Mato I., Suarez-Luque S. and Huidobro J. F., A review of the analytical methods to determine organic acids in grape juices and wines, *Food Research International*, 2005, **38**, 1175-1188.
- 69) Mc-Nair H. and Miller J. M. (1997). Basic Gas Chromatography. John Wiley and Sons Inc.
- 70) Medjakovic S. and Jungbauer A., Pomegranate: A fruit that ameliorates metabolic syndrome, *Food and Function*, 2013, **4**, 19-39.
- 71) Melgarejo P., Calin-Sanchez A., Vazquez-Araujo L., Hernandez F., Martinez J. J., Legua P. and Carbonell-Barrachina A. A., Volatile composition of pomegranates from 9 Spanish cultivars using headspace solid phase microextraction, *Journal of Food Science*, 2011, **76**, 114-120.
- 72) Mena P., Calani L., Dall'Asta C., Galaverna G., García-Viguera C., Bruni R., Crozier A. and Del Rio D., Rapid and comprehensive evaluation of (poly)phenolic compounds in pomegranate (*Punica granatum* L.) juice by UHPLC-MS, *Molecules*, 2012, **17**, 14821-14840.
- 73) Mena P., Vegara S., Marti N., Garcia-Viguera C., Saura D. and Valero M., Changes on indigenous microbiota, colour, bioactive compounds and antioxidant activity of pasteurised pomegranate juice, *Food Chemistry*, 2013, **141**, 2122-2129.
- 74) Mena P., Marti N. and García-Viguera C. (2014). The impact of processing and storage on the (poly)phenolic fraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) juices. In Preedy V. R. (ed). Processing and impact on antioxidants in beverages. Elsevier Inc.
- 75) Mercy O. A., Simeon O. O., Saheed A., Ayokunle O. and Temitope A. E., Analysis of phenolic compounds, phytosterols, lignans and stilbenoids in garlic and ginger oil by gas chromatography, *Journal of Food Chemistry and Nutrition*, 2014, **2**, 53-60.

- 76) Mesaros N., Nordmann P., Plesiat P., Roussel-Delvallez M., Van Eldere J., Glupczynski Y., Van Laethem Y., Jacobs F., Lebecque P., Malfroot A., Tulkens P. M. and Van Bambeke F., *Pseudomonas aeruginosa*: resistance and therapeutic options at the turn of the new millennium, *Clinical Microbiology and Infection*, 2007, **13**, 560-578.
- 77) Miguel M. G., Anthocyanins: Antioxidant and/or anti-inflammatory activities, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2011, **1**, 7-15.
- 78) Morton L. W., Cacceta R. A. A., Puddey I. B., and Croft, K. D., Chemistry and biological effects of dietary phenolic compounds: relevance to cardiovascular disease. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 2000, **27**, 152-159.
- 79) Naz S., Siddiqi R., Ahmad S., Rasool S. and Sayeed S., Antibacterial activity directed isolation of compounds from *Punica granatum*. *Journal of Food Science*, 2007, **72**, 341-345.
- 80) Pala C. U. and Toklucu A. K., Effect of UV-C light on anthocyanin content and other quality parameters of pomegranate juice, *Journal of Food Composition and Analysis*, 2011, **24**, 790-795.
- 81) Pantuck A. J., Leppert J. T., Zomorodian N., Aronson W., Hong J., Barnard R. J., Seeram N., Liker H., Wang H., Elashoff R., Heber D., Aviram M., Ignarro L. and Belldegrun A., Phase II Study of pomegranate juice for men with rising prostate-specific antigen following surgery or radiation for prostate cancer. *Clinical Cancer Research*, 2006, **12**, 4018-4026.
- 82) Pascual-Teresa S., Moreno D. A. and Garcia-viguera C., Flavanols and anthocyanins in cardiovascular health: A review of current evidence, *International Journal of Molecular Sciences*, 2010, **11**, 1679-1703.
- 83) Pawliszyn J. (2000). Extraction: Solid phase microextraction. In Wilson I. D. (ed). Encyclopedia of separation science. Elsevier Science Ltd.
- 84) Poyrazoglu E., Gokmen V. and Artik N., Organic acids and phenolic compounds in pomegranates (*Punica granatum* L.) grown in Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2002, **15**, 567-575.
- 85) Pravst I. (2012). Functional foods in Europe: A focus on health claims. In Valdez B. (ed). Scientific, Health and Social Aspects of the Food Industry. InTech.
- 86) Prior R. L., Wu X. and Schaich K., Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, **53**, 4290-4302.

- 87) Qian M. C. and Wang Y., Seasonal variation of volatile composition and odor activity value of “Marion” (*Rubus* spp. hyb) and “Thornless Evergreen” (*R. laciniatus* L.) blackberries, *Journal of Food Science*, 2005, **70**, 13-20.
- 88) Radunic' M., Špika M. J., Ban S. G., Gadž'e J., Diaz-Perez J. C. and MacLean D., Physical and chemical properties of pomegranate fruit accessions from Croatia, *Food Chemistry*, 2015, **177**, 53-60.
- 89) Rapisarda P., Tomaino A., Lo Cascio R., Bonina F., De Pasquale A. and Saija A., Antioxidant effectiveness as influenced by phenolic content of fresh orange juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1999, **47**, 4718-4723.
- 90) Reddy M. K., Gupta S. K., Jacob M. R., Khan S. I. and Ferrira D., Antioxidant, antimalarial and antimicrobial activities on tannin-rich fractions, ellagitannins and phenolic acids from *Punica granatum* L., *Planta Medicine*, 2007, **73**, 461-467.
- 91) Reis Giada M. L. (2013). Food phenolic compounds: Main classes, sources and their antioxidant power. In Morales-Gonzalez J. A. (ed). Oxidative stress and chronic degenerative diseases. A role for antioxidants. InTech.
- 92) Rock W., Rosenblat M., Miller-Lotan R., Levy A. P., Elias, M., and Aviram, M., Consumption of wonderful variety pomegranate juice and extract by diabetic patients increases paraoxonase 1 association with high-density lipoprotein and stimulates its catalytic activities, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, **56**, 8704-8713.
- 93) Saxena M., Saxena J. and Pradhan A., Flavonoids and phenolic acid as antioxidants in plants and human health, *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 2012, **16**, 130-134.
- 94) Schwartz E., Tzulker R., Glazer I., Bar-Ya'akov I., Wiesman Z., Tripler E., Bar-Ilan I., Fromm H., Borochoy-neori H., Holland D. and Amir R., Environmental conditions affect the color, taste, and antioxidant capacity of 11 pomegranate accessions' fruits, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, **57**, 9197-9209.
- 95) Seeram N. P., Adams L. S., Henning S. M., Niu Y., Zhang Y., Nair M. G. and Heber D., In vitro antiproliferative, apoptotic and antioxidant activities of punicalagin, ellagic acid and a total pomegranate tannin extract are enhanced in combination with other polyphenols as found in pomegranate juice, *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2005, **16**, 360-367.
- 96) Serpen J. Y., Comparison of sugar content in bottled 100% fruit juice versus extracted juice of fresh fruit, *Food of Nutrition Sciences*, 2012, **3**, 1509-1513.

- 97) Serrano J., Puupponen-Pimi R., Dauer A., Aura A. M. and Saura-Calixto F., Tannins: Current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects, *Molecular Nutrition and Food Research*, 2009, **53**, 310-329.
- 98) Shahidi F. and Naczk M. (2006). Phenolics in food and nutraceuticals. CRC Press.
- 99) Siger A., Nogala-Kalucka M. and Lampart-Szczara E., The content and antioxidant activity of phenolic compounds in cold-pressed plant oils, *Journal of Food Lipids*, 2008, **15**, 137-149.
- 100) Stover E. and Mercure E. W., The pomegranate: A new look at the fruit of paradise, *HortScience*, 2007, **42**, 1088-1092.
- 101) Sumner M. D., Elliott-Eller M., Weidner G., Daubenmier J. J., Chew M. H., Marlin R., Raisin C. J. and Ornish D., Effects of pomegranate juice consumption on myocardial perfusion in patients with coronary heart disease. *The American Journal of Cardiology*, 2005, **96**, 810-814.
- 102) Tapas A. R., Sakarkar D. M. and Kakde R. B., Flavonoids as nutraceuticals: A review, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 2008, **7**, 1089-1099.
- 103) Tezcan F., Gultekin-Ozguven M., Diken T., Ozelik B. and Erim F. B., Antioxidant activity and total phenolic, organic acid and sugar content in commercial pomegranate juices, *Food Chemistry*, 2009, **115**, 873-877.
- 104) Tzulker R., Glazer I., Bar-Ilan I., Holland D., Aviram M. and Amir R., Antioxidant activity, polyphenol content and related compounds in different fruit juices and homogenates prepared from 29 different pomegranate accessions, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, **55**, 9559-9570.
- 105) Umezawa T., Diversity in lignin biosynthesis, *Phytochemistry Reviews*, 2003, **2**, 371-390.
- 106) Vardin H., and Fenercioglu H., Study on the development of pomegranate juice processing technology: Clarification of pomegranate juice, *Food/Nahrung*, 2003, **47**, 300-303.
- 107) Vas G. and Vekey K., Solid-phase microextraction: a powerful sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis, *Journal of Mass Spectrometry*, 2004, **39**, 233-254.
- 108) Vazquez-Araujo L., Koppel K., Chambers E., Adhikaria K. and Carbonell-Barrachina A. A., Instrumental and sensory aroma profile of pomegranate juices from the USA: differences between fresh and commercial juice, *Flavour and Fragrance Journal*, 2010, **26**, 129-138.

- 109) Viuda-Martos M., Fernandez-Lopez J. and Perez-Alvarez J. A., Pomegranate and its many functional components as related to human health: A review, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2010, **9**, 635-654.
- 110) Wertheim H. F., Melles D. C., Vos M. C., van Leeuwen W., van Belkum A., Verbrugh H. A. and Nouwen J. L., The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections, *Lancet Infectious Diseases*, 2005, **5**, 571-762.