ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΑΝΘΡΩΠΟΥ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ & ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΠΜΣ: ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ, ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΕΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ - ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΒΙΟ-ΟΙΚΟΝΟΜΙΑΣ

Μεταπτυχιακή διατριβή

Διερεύνηση της χρήσης τροποποιημένων ατμοσφαιρών (map) και εδώδιμων μεμβρανών για τη μετασυλλεκτική διαχείριση νωπών λευκών μανιταριών *Agaricus bisporus*

Δήμητρα Ν. Κοψιαύτη

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια:

Βασιλική Ευαγγελίου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Γ.Π.Α

Αθήνα

Σεπτέμβριος 2020

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΑΝΘΡΩΠΟΥ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ & ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΠΜΣ: ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ, ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΕΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ - ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΒΙΟ-ΟΙΚΟΝΟΜΙΑΣ

Μεταπτυχιακή Διατριβή

Διερεύνηση της χρήσης τροποποιημένων ατμοσφαιρών (map) και εδώδιμων μεμβρανών για τη μετασυλλεκτική διαχείριση νωπών λευκών μανιταριών *Agaricus bisporus*

"Investigation of the usage of modified atmosphere packaging (MAP) and edible coatings for post-harvest management of white edible mushrooms Agaricus bisporus"

Δήμητρα Ν. Κοψιαύτη

Τριμελής εξεταστική επιτροπή:

Βασιλική Ευαγγελίου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Γ.Π.Α (επιβλέπουσα)

Παναγιώτα Διαμαντοπούλου, Κύρια Ερευνήτρια ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ

Μιλτιάδης Χριστόπουλος, Εντεταλμένος ερευνητής ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ

Διερεύνηση τροποποιημένων ατμοσφαιρών (map) και εδώδιμων μεμβρανών για την μετασυλλεκτική διαχείριση νωπών λευκών μανιταριών Agaricus bisporus

Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου
Εργαστήριο Χημείας & Ανάλυσης Τροφίμων

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα μανιτάρια του γένους *Agaricus bisporus* αποτελούν την πιο διαδεδομένη ομάδα εδώδιμων μυκήτων με μεγάλη οικονομική σημασία τόσο για τη διατροφική τους αξία, όσο και για τις φαρμακευτικές τους ιδιότητες. Εμφανίζουν μεγάλη ευαισθησία, λόγω της έντονης αναπνευστικής και μεταβολικής τους δραστηριότητας, ενώ ακόμα είναι ευάλωτα σε διάφορες μικροβιακές προσβολές. Υπάρχουν διάφοροι τρόποι συντήρησης μανιταριών, κατά βάση με πλαστικά περιτυλίγματα, όμως στα πλαίσια της σημερινής ενίσχυσης της περιβαλλοντικής συνείδησης κρίνεται απαραίτητο να βρεθούν νέοι εναλλακτικοί τρόποι συντήρησης τους.

Στην παρούσα εργασία συγκρίθηκαν ως μέσα διατήρησης α) δύο ειδών πλαστικές μεμβράνες (πολυαιθυλενίου: PE ελαστική μεμβράνη ευρείας εμπορικής χρήσης για τη συσκευασία των μανιταριών με πάχος 9 μm, πολυαμιδίου-πολυαιθυλενίου: PAPE πάχος μεμβράνης 80 μm (60 μm πολυαιθυλένιο, 20 μm πολυαμίδιο) και β) εδώδιμες μεμβράνες με βάση το αλγινικό οξύ. Τα μανιτάρια εμβαπτίστηκαν στην εδώδιμη μεμβράνη με πυκνότητα 0.5% αλγινικού οξέος (AL), πυκνότητα 1% αλγινικού οξέος (AL 1%) και εν συνεχεία σε εδώδιμη μεμβράνη (0.5%) με προσθήκη εκχυλίσματος από το πράσινο εξωκάρπιο αμυγδάλου με συγκέντρωση 3%. Αποθηκεύτηκαν στους 4°C και σε 80-90% RH για διάστημα μέχρι δώδεκα ημέρες.

Εξετάσθηκε η επίδρασή δύο παραγόντων: η διάρκεια συντήρησης και η επέμβαση στα χαρακτηριστικά των μανιταριών από δυο καλλιέργειες και δύο κύματα ανά καλλιέργεια. Για την τελική σύγκριση των μελετώμενων παραμέτρων τα αποτελέσματα συνοψίστηκαν με βάση τις δύο καλλιέργειες, δηλαδή στα μανιτάρια του 1ου κύματος και στα μανιτάρια του 2ου κύματος. Τα χαρακτηριστικά που μελετήθηκαν ήταν η απώλεια βάρους, η συνεκτικότητα, οι παράμετροι L^*, a^*, b^*, ΔE του χρώματος εσωτερικά και εξωτερικά του καρποσώματος, καθώς αποτελούν τα κύρια οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των *Agaricus bisporus*. Μελετήθηκαν ακόμη τα ολικά φαινολικά (TP), η ολική αντιοξειδωτική δράση (TAC) εκτιμώμενη με τις μεθόδους DPPH και ABTS και το ποσοστό των ενδοπολυσακχαριτών (IPS%).

Η αέρια σύσταση εντός των πλαστικών συσκευασιών έχει σημαντικό ρόλο για την μετέπειτα συντηρησιμότητα του προϊόντος. Στη συσκευασία PAPE η συγκέντρωση

του O_2 είναι μηδενική, ενώ η συγκέντρωση του CO_2 είναι υψηλότερη στη συγκεκριμένη συσκευασία και προσεγγίζει τιμές από 18-24% ν/ν. Εξαίρεση αποτελεί η 18η ημέρα για το 2ο κύμα καλλιέργειας στην οποία παρατηρείται ότι η συγκέντρωση του O_2 είναι σχεδόν 11 % ν/ν. Η συσκευασία PE έχει μεγαλύτερα ποσοστά συγκέντρωσης O_2 και ιδιαίτερα στο 1ο κύμα κατά την τελευταία ημέρα συντήρησης, όπου έχει τιμή 5%ν/ν, ενώ η μεγαλύτερη συγκέντρωση CO_2 για τη συγκεκριμένη συσκευασία παρατηρείται πάλι στο 1ο κύμα την 8η ημέρα με τιμή 12% ν/ν.

Τα αποτελέσματα έδειξαν μια υπεροχή των πλαστικών μεμβρανών και πιο συγκεκριμένα της PAPE (μηδενική απώλεια), έναντι των εδώδιμων και του μάρτυρα στην απώλεια βάρους. Για τον μάρτυρα η απώλεια βάρους τη 12η ημέρα προσέγγισε το 40% στο 1ο κύμα και 50% στο 2ο κύμα, ενώ οι εφαρμογές του αλγινικού κυμάνθηκαν από 38,5%-42%. Σχετικά με τις παραμέτρους του χρώματος η συσκευασία PE φάνηκε να ανήκει στην κατηγορία 2 των καταναλωτικών προτιμήσεων, δηλαδή έχουν πολύ καλή κατάσταση κυρίως ως προς την παράμετρο L^*, όπου κυμαίνεται ≈90, έναντι των εδώδιμων μεμβρανών που οι τιμές κυμαίνονται ≈86 και ανήκουν στην κατηγορία 3 και θεωρούνται πως έχουν καλή κατάσταση. Η ΔE που συνυπολογίζει και τις τρεις παραμέτρους του χρώματος είχε πιο υψηλές τιμές στις εδώδιμες μεμβράνες, με μέσο όρο τιμών 21,5, έναντι του μάρτυρα και των πλαστικών μεμβρανών που έχουν μέσο όρο τιμών 18,5.

Στα μανιτάρια που είχε εφαρμοστεί εδώδιμη μεμβράνη φάνηκε να είναι πιο συνεκτικά, συγκριτικά με αυτά των πλαστικών μεμβρανών. Πιο συγκεκριμένα για το 1ο κύμα η εφαρμογή με το αλγινικό (AL) είχε την μεγαλύτερη τιμή (396g), ενώ για το 2ο κύμα η εφαρμογή με την υψηλότερη τιμή ήταν αυτή με το πιο πυκνό αλγινικό 1% (AL 1%) με τιμή (380 g). Τη χαμηλότερη τιμή για το 1ο κύμα την είχε η συσκευασία PE με 310 g και για το 2ο κύμα ο μάρτυρας με τιμή 347g.

Τα περιορισμένα δεδομένα της βιβλιογραφίας σχετικά με τα TP, TAC, IPS, φαίνεται να συμφωνούν με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας. Σχετικά με τα TP την μεγαλύτερη τιμή την είχε για το 1ο κύμα η εφαρμογή MAL 3% (9 mg GAE/ g ξ.β) την 8η ημέρα, ενώ για το 2ο κύμα καταγράφηκε η υψηλότερη τιμή την ίδια ημέρα στην εφαρμογή του αλγινικού 1% (9,3 mg GAE/ g ξ.β). Η χαμηλότερη τιμή των TP για το 1ο κύμα ήταν στην εφαρμογή MAL 3% τη 12η ημέρα συντήρησης (3,9 mg GAE/ g ξ.β), ενώ για το 2ο κύμα τη 12η ημέρα τη χαμηλότερη τιμή την είχε ο μάρτυρας (4 mg GAE/ g ξ.β.). Στις περισσότερες περιπτώσεις οι πλαστικές μεμβράνες έδειξαν μια τάση υψηλότερων τιμών ως προς τις παραμέτρους που σχετίζονται με τα αντιοξειδωτικά σε σχέση με τις υπόλοιπες επεμβάσεις. Για την μέθοδο DPPH οι συσκευασίες PE, PAPE υπερείχαν των υπολοίπων με μέσες τιμές 28 και 25 μmol Trolox/g ξ.β, έναντι των εδώδιμων μεμβρανών που είχαν κατά μέσο όρο 17 μmol

Trolox/g ξ.β. Παρόμοια τάση επικρατεί και με την μέθοδο ABTS όπου οι πλαστικές μεμβράνες είχαν μέσες τιμές 41 μmol Trolox/g ξ.β, ενώ οι εδώδιμες κατά μέσον όρο και στα δύο κύματα είχαν ≈35 μmol Trolox/g ξ.β.. Το ποσοστό των ενδοπολυσακχαριτών φαίνεται να έχει μεγαλύτερες τιμές τη 12η ημέρα συντήρησης και στα δύο κύματα, ενώ η εφαρμογή PE είχε τις υψηλότερες κατά μέσο όρο τιμές (9,5 %), με εξαίρεση την εφαρμογή του αλγινικού 1% κατά την 8η ημέρα του 2ου κύματος. Οι χαμηλότερες τιμές παρατηρήθηκαν στην εφαρμογή MAL 3% με μέση τιμή 7,5 %.

Συμπερασματικά σύμφωνα με τα παραπάνω η εφαρμογή που ήδη χρησιμοποιείται ευρέως από τις βιομηχανίες (πολυαιθυλενίου PE) είναι και αυτή με τα καλύτερα αποτελέσματα, παρόλα αυτά θα πρέπει να διερευνηθούν περαιτέρω οι εφαρμογές των εδώδιμων μεμβρανών.

Επιστημονική περιοχή: Συσκευασία συντήρησης τροφίμων

Λέξεις κλειδιά: Λευκά μανιτάρια, εδώδιμες μεμβράνες, τροποποιημένες ατμόσφαιρες, ολικά φαινολικά, ολικά αντιοξειδωτικά, ποσοστό ενδοπολυσακχαριτών

Investigation of the usage of modified atmosphere packaging (map) and edible coatings for post-harvest management of white mushrooms Agaricus bisporus

Depatrment of Food Science & Human Nutrition
Laboratory of Chemistry & Food Analysis

ABSTRACT

The *Agaricus bisporus* mushrooms are the most widespread group of edible fungi with great economic importance both for their nutritional value and their medicinal properties. They are very perishable products, due to their intense respiration rates and other metabolic processes. In addition, Agaricus bisporus mushrooms are susceptible to various microbial infections. There are several ways regarding mushrooms' preservation, mainly with plastic wrappers. However, due to increased environmental awareness nowadays, it is crucial to find new alternative ways of preserving mushrooms.

In the present work, different packaging treatments are compared: a) two types of plastic films (polyethylene: PE with 9μm thickness, polyamide-polyethylene: PAPE 80μm thickness (20μm polyamide, 60μm polyethylene) and b) edible coatings based on alginic acid. The examined mushrooms were immersed in an edible coating solution with a concentration of 0.5% alginic acid (AL), 1% alginic acid (AL 1%) as well as in an alginate edible coating solution (0.5%) with the addition of green almond exocarp extracts [extract concentration of 3% (MAL3%)]. The packaged mushrooms were stored at 4°C and 80-90% R.H. for a maximum period of up to 12 days.

The effects of two factors (storage time and package treatment) were investigated on the characteristics of the mushrooms. Two different cultivation cycles and two successive flushes per cultivation were taken into account. The examined sensory attributes concerned the weight loss, texture and the color parameters $L^*, a^*, b^*, \Delta E$ of the inner and outer mushroom's surface. Total phenolics (TP), total antioxidant activity (TAC) were assessed by DPPH and ABTS methods, and the percentage of intracellular endopolysa- ccharides (IPS%) were additionally studied.

The gaseous composition inside the plastic packaging is important for the subsequent shelf life of the product. In the PAPE package, the concentration of O_2 is approximately zero, while the concentration of CO_2 is higher, with values ranging from 18-24% v / v. The 18th day for the 2nd culture flush was considered an exception, because it indicated that the concentration of O_2 is almost 11% v / v. The PE package had higher percentages of O_2 concentration, and especially in the 1st flush on the last day of maintenance, it had a value of 5% v / v. The highest concentration of CO_2

for this package was observed again in the 1st flush on the 8th day reaching a value of 12% v / v.

The results exhibited better behaviour for plastic membranes (especially PAPE) compared to the edible coatings and control regarding the weight loss retention. As far as the color parameters, the PE packaging obtained a desired values mainly in the parameter *L* *, reaching a rate of ≈90, compared to the edible coatings where the values amounted to ≈86. Edible coated mushrooms indicated better texture compared to plastic films. The limited literature data on TP, TAC, IPS, seems to be in accordance to the present results, proving that the simultaneous oxidation and synthesis of antioxidants in mushrooms during the first 8 days of storage. In most cases, the edible coatings exhibited a trend for higher values on antioxidant parameters.

Edible film mushrooms were found to be more cohesive than plastic films. More specifically, for the 1st flush, the application with alginate (AL) had the highest value (396g), while for the 2nd flush the application with the highest value was the one with the densest alginate 1% (AL 1%) with price (380 g). The lowest price for the 1st flush was obtained for the PE package with 310 g and for the 2nd flush the control with the price of 347g.

The limited literature on TP, TAC, IPS of A. bisporus seems to agree with the results of the present work. The highest value for TP's, during the 1st flush, was found in the application of MAL 3% (9 mg GAE / g d.w) on the 8th day, while the highest value during the 2nd flush was recorded the same day in the application of 1% alginate (9.3 mg GAE / g d.w). The lowest value of TP for the 1st flush was in the application of MAL 3% on the 12th day of maintenance (3.9 mg GAE / g d.w), while for the 2nd flush on the 12th day the lowest value was the control (4 mg GAE/ g d.w.). In most cases plastic films indicated a trend of higher values in terms of parameters related to antioxidants, in comparison to other procedures. For the DPPH method, PE, PAPE packages outperformed other methods with mean values of 28 and 25 μmol Trolox / g d.w., in contrast to edible films, having an average value of ≈17 μmol Trolox / g d.w. A similar trend is found with the ABTS method, where the plastic membranes had average values of 41 μmol Trolox / g d.w, while the edible membranes in both flushs had an average value of 35 μmol Trolox / g d.w.. The percentage of intracellular polysaccharides seems to have higher values on the 12th day of maintenance in both flushs, while the application of PE exhibited the highest average values (9.5%), with the exception of the application of 1% alginate on the 8th day of 2nd flush. The lowest values were observed in the application was MAL 3% with an average of 7.5% .

In conclusion, the application which is already widely used by industries (PE) is also the one with the best results. However, the applications of edible membranes should be further investigated.

Scientific area: Food preservation packaging

Keywords: white mushrooms, edible coatings, modified atmosphere, total phenolics, total antioxidant, intracellular polysacharides.

Ευχαριστίες

Η παρούσα μεταπτυχιακή μελέτη εκπονήθηκε στο Ινστιτούτο Τεχνολογίας Αγροτικών Προϊόντων/ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ, στα Εργαστήρια Μετασυλλεκτικής Φυσιολογίας Φρούτων-Λαχανικών και Εδώδιμων Μυκήτων (ΕΕΜ). Τα μανιτάρια που χρησιμοποιήθηκαν ως δείγματα στην παρούσα μελέτη ήταν μια ευγενική προσφορά της εταιρείας παραγωγής λευκών μανιταριών 'Μανιτάρια Ελληνικής Γης' και την ευχαριστώ θερμά για αυτό. Αισθάνομαι την υποχρέωση να ευχαριστήσω και ορισμένους ανθρώπους που γνώρισα, συνεργάστηκα μαζί τους και έπαιξαν πολύ σημαντικό ρόλο στην πραγματοποίηση της παρούσας μελέτης.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Δρ. Διαμαντοπούλου Παναγιώτα, Κύρια Ερευνήτρια ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ και τον Δρ. Χριστόπουλο Μιλτιάδη, Εντεταλμένο Ερευνητή ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ που δέχτηκαν να είναι μέλη της τριμελούς επιτροπής αξιολόγησης της μεταπτυχιακής εργασίας, αλλά και που με φιλοξένησαν και με καθοδήγησαν καθ' όλη την διάρκεια τόσο της εκπόνησης του πειραματικού μέρους όσο και της συγγραφής της μελέτης αυτής. Θα ήθελα να ευχαριστήσω ακόμα όλους εκείνους τους ανθρώπους που εργάζονται στο ινστιτούτο για την αμέριστη βοήθεια και υποστήριξη τους καθ' όλη την διάρκεια της εκπόνησης της μελέτης.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα καθηγήτρια της διπλωματικής εργασίας, κα. Ευαγγελίου Βασιλική για την εκτίμηση που μου έδειξε και τις παρατηρήσεις του κατά την διάρκεια εκπόνησης και της συγγραφής της πτυχιακής μελέτης.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου και τους φίλους μου, που με υπομονή και κουράγιο πρόσφεραν την απαραίτητη ηθική συμπαράσταση για την ολοκλήρωση της μεταπτυχιακής μου εργασίας.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ **i**

ABSTRACT **iv**

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ **xi**

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ **xiii**

1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ **1**
1.1 Γενικά στοιχεία για την καλλιέργεια των μανιταριών 1
1.2 Ταξινόμηση και μορφολογικά χαρακτηριστικά των *Agaricus bisporus* . 2
1.3 Διατροφική αξία και οικονομικά στοιχεία 2
1.4 Καλλιέργεια 5
1.4.1 Σπόρος (spawn) 5
1.4.2 Προετοιμασία Υποστρώματος 6
1.4.3 Σπορά και επώαση-Στάδιο casing 8
1.4.4 Ανάπτυξη καρποφοριών - Συγκομιδή 9
1.4.5 Μετασυλλεκτική διαχείριση και συντήρηση 11
1.5 Παράγοντες που επιδρούν στην ποιότητα των *Agaricus bisporus* . . . 13
1.5.1 Απώλεια Βάρους & Συνεκτικότητας 13
1.5.2 Ενζυμικό καφέτιασμα 13
1.5.3 Αλοιογόνοι μικροοργανισμοί 15
1.5.4 Περιβαλλοντικοί παράγοντες 15
1.6 Μέθοδοι συντήρησης των *Agaricus bisporus* 16
1.6.1 Ψύξη 17
1.6.2 Τροποποιημένη Ατμόσφαιρα (MAP)-Εδώδιμες μεμβράνες 17
1.6.3 Αναστολείς της πολυφαινολικής οξείδωσης 18
1.6.4 Άλλες μέθοδοι 18

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΥΜΒΟΛΩΝ **1**

2 ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΕΣ ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΕΣ & ΕΔΩΔΙΜΕΣ ΜΕΜΒΡΑΝΕΣ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ ΤΡΟΦΙΜΩΝ **20**
2.1 Συσκευασία τροποποιημένων ατμοσφαιρών (MAP) 20
2.1.1 Διαχωρισμός 20
2.1.2 Εφαρμογές στα τρόφιμα 23
2.1.3 Υλικά συσκευασίας 24
2.2 Εδώδιμες μεμβράνες 25
2.2.1 Χαρακτηριστικά 26

2.2.2 Διαχωρισμός των εδώδιμων μεμβρανών 27
2.2.3 Πρόσθετα 28
2.2.4 Τρόποι σχηματισμού και εφαρμογής των μεμβρανών 29
2.2.5 Αλγινικό 30
2.3 Εφαρμογές & επίδραση των παραπάνω στα μανιτάρια 32
2.4 Στόχος μελέτης 34

3 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ 35
3.1 Κύρια Υλικά 35
3.2 Πειραματικό σχέδιο και χαρακτηριστικά των καρπών που αξιολογήθηκαν 35
3.2.1 Παρασκευή εδώδιμης μεμβράνης 36
3.2.2 Παρασκευή εκχυλίσματος αμύγδαλου 37
3.2.3 Συσκευασία-Συντήρηση καρπών 38
3.3 Μετρήσεις ποιοτικών-φυσιολογικών χαρακτηριστικών 39
3.3.1 Προσδιορισμός αέριας σύστασης συσκευασιών 39
3.3.2 Χρώμα καρποσώματος 39
3.3.3 Μέτρηση υφής και συνεκτικότητας 40
3.4 Λυοφιλίωση 41
3.5 Εκτίμηση αντιοξειδωτικών ουσιών καρπών 41
3.5.1 Εκχύλιση αντιοξειδωτικών ουσιών 41
3.5.2 Προσδιορισμός ολικών φαινολικών (TP) 42
3.5.3 Προσδιορισμός ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC) . . . 42
3.5.4 Προσδιορισμός ενδοπολυσακχαριτών 43
3.6 Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων 44

4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ 46
4.1 Περιεκτικότητα αερίων εντός συσκευασίας 46
4.2 Απώλεια βάρους 48
4.3 Ανάλυση χρώματος 50
4.3.1 Παράμετρος L^* εξωτερικής πλευράς 50
4.3.2 Παράμετρο a^* εξωτερικής πλευράς 53
4.3.3 Παράμετρο b^* εξωτερικής πλευράς 55
4.3.4 Παράμετρο ΔE εξωτερικής πλευράς 57
4.3.5 Παράμετρο L^* εσωτερικής πλευράς 59
4.3.6 Παράμετρο a^* εσωτερικής πλευράς 62
4.3.7 Παράμετρο b^* εσωτερικής πλευράς 64
4.3.8 Παράμετρο ΔE εσωτερικής πλευρά 66
4.4 Συνεκτικότητα 68
4.5 Προσδιορισμός συγκέντρωσης φαινολικών συστατικών (Folin-Ciocalteu) 72
4.6 Προσδιορισμός συγκέντρωσης αντιοξειδωτικών ουσιών (DPPH- ABTS) 74

4.6.1 Μέθοδος DPPH 74
4.6.2 Μέθοδος ABTS 76
4.7 Προσδιορισμός συγκέντρωσης ενδοπολυσακχαριτών 78
4.8 Σχέσεις μεταξύ των ποιοτικών παραμέτρων που μελετήθηκαν ανάμεσα στο 1ο και 2ο κύμα 80

5 ΣΥΖΗΤΗΣΗ & Επίλογος 82
5.1 Συζήτηση 82
5.2 Συμπεράσματα & Μελλοντικές προτάσεις διερεύνησης 88

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ 90

A Παράρτημα 91

B Παράρτημα 92

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 98

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

1 Δομή καρποφορίας μανιταριού *Agaricus bisporus* [1] 2
2 Παγκόσμιο μερίδιο αγοράς στην καλλιέργεια μανιταριών[2] 4
3 Εμφάνιση των καρποφοριών στα διάφορα στάδια ανάπτυξης [3] . . . 10
4 Απεικόνιση της καλλιεργητικής διαδικασίας[4] 11
5 Παράγοντες που επηρεάζουν το ενζυμικό καφέτιασμα [5] 14
6 Δομή M μονομερούς 30
7 Δομή G μονομερούς 31
8 Διακύμανση των παραμέτρων χρώματος 40
9 Προσδιορισμός των αερίων (O_2,CO_2 % v/v) εντός των συσκευασιών των πλαστικών μεμβρανών PE, PAPE, για το 1ο κύμα καλλιεργειών που πραγματοποιήθηκαν για 0, 4, 8 , 12 ημέρες και για το 2ο κύμα καλλιέργειας που πραγματοποιήθηκε για 0, 4, 8 , 12, 18 ημέρες . . . 47
10 Σύγκριση της απώλειας βάρους (%) των μανιταριών για όλες τις επεμβάσεις (Control, PE, PAPE, AL, AL1%, MAL3%) , για τα δύο κύματα καλλιεργειών (1ο και 2ο) και για τις ημέρες συντήρησης 0, 4, 8, 12 . . 49
11 Παράμετρος χρώματος *L** εξωτερικής πλευράς των μανιταριών για όλες τις επεμβάσεις (Control, PE, PAPE, AL, AL1%, MAL3%) , για τα δύο κύματα καλλιεργειών (1ο και 2ο) και για τις ημέρες συντήρησης 0, 4, 8, 12 52
12 Παράμετρος χρώματος *a** εξωτερικής πλευράς των μανιταριών για όλες τις επεμβάσεις, για τα δύο κύματα καλλιεργειών (1ο και 2ο) και για τις ημέρες συντήρησης 0, 4, 8, 12 54
13 Παράμετρος χρώματος *b** εξωτερικής πλευράς των μανιταριών για όλες τις επεμβάσεις, για τα δύο κύματα καλλιεργειών (1ο και 2ο) και για τις ημέρες συντήρησης 0, 4, 8, 12 56
14 Παράμετρος χρώματος ΔE εξωτερικής πλευράς των μανιταριών για όλες τις επεμβάσεις, για τα δύο κύματα καλλιεργειών (1ο και 2ο) και για τις ημέρες συντήρησης 0, 4, 8, 12 58
15 Παράμετρος χρώματος *L** εσωτερικής πλευράς των μανιταριών για όλες τις επεμβάσεις(Control, PE, PAPE, AL, AL1%, MAL3%) , για τα δύο κύματα καλλιεργειών (1ο και 2ο) και για τις ημέρες συντήρησης 0, 4, 8, 12 61
16 Παράμετρος χρώματος *a** εσωτερικής πλευράς των μανιταριών για όλες τις επεμβάσεις, για τα δύο κύματα καλλιεργειών (1ο και 2ο) και για τις ημέρες συντήρησης 0, 4, 8, 12 63

17 Παράμετρος χρώματος b^* εσωτερικής πλευράς των μανιταριών για όλες τις επεμβάσεις, (Control, PE, PAPE, AL, AL1%, MAL3%) , για τα δύο κύματα καλλιεργειών (1ο και 2ο) και για τις ημέρες συντήρησης 0, 4, 8, 12 65
18 Παράμετρος χρώματος ΔE εσωτερικής πλευράς των μανιταριών για όλες τις επεμβάσεις, (Control, PE, PAPE, AL, AL1%, MAL3%) , για τα δύο κύματα καλλιεργειών (1ο και 2ο) και για τις ημέρες συντήρησης 0, 4, 8, 12 67
19 Προσδιορισμός της συνεκτικότητας των μανιταριών για όλες τις επεμβάσεις (Control, PE, PAPE, AL, AL1%, MAL3%) , για τα δύο κύματα καλλιεργειών (1ο και 2ο) και για τις ημέρες συντήρησης 0, 4, 8, 12 . 70
20 Προσδιορισμός των ολικών φαινολικών με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu των μανιταριών για όλες τις επεμβάσεις (Control, PE, PAPE, AL, AL1%, MAL3%) , για τα δύο κύματα καλλιεργειών (1ο και 2ο) και για τις ημέρες συντήρησης 0, 4, 8, 12 73
21 Προσδιορισμός των ολικών αντιοξειδωτικών (TAC) με τη μέθοδο DPPH των μανιταριών για όλες τις επεμβάσεις (Control, PE, PAPE, AL, AL1%, MAL3%) , για τα δύο κύματα καλλιεργειών (1ο και 2ο) και για τις ημέρες συντήρησης 0, 4, 8,12 75
22 Προσδιορισμός των ολικών αντιοξειδωτικών (TAC) με τη μέθοδο ABTS των μανιταριών για όλες τις επεμβάσεις (Control, PE, PAPE, AL, AL1%, MAL3%) , για τα δύο κύματα καλλιεργειών (1ο και 2ο) και για τις ημέρες συντήρησης 0, 4, 8,12 77
23 Προσδιορισμός των ολικών ενδοπολυσακχαριτών (IPS% w/w), των μανιταριών για όλες τις επεμβάσεις, για το 1ο και 2ο κύμα καλλιέργειας για τις 0,8,12 ημέρες συντήρησης και για όλες τις επεμβάσεις (Control, PE, PAPE, AL, AL1%, MAL3%) 79
24 PCA και αναλύσεις συσχέτισης δεδομένων 1ης & 2ης καλλιέργειας . . 80
25 Ειδική ενεργότητα των PPO, PAL, POD κάτα τις ημέρες συντήρησης σε μανιτάρια με αιθέρια έλαια [6] 87
26 Πρώτη καλλιέργεια-Πρώτο κύμα (A) 92
28 B-12 day εσωτερική πλευρά 93
29 Πρώτη καλλιέργεια-Δεύτερο κύμα (B) 93
31 C-12 day εσωτερική πλευρά 95
32 Δεύτερη καλλιέργεια-Πρώτο κύμα (C) 95
34 D-12 day εσωτερική πλευρά 97
35 Δεύτερη καλλιέργεια-Δεύτερο κύμα (D) 97
36 Επάνω και κάτω θέση στο ψυγείο 97

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

1 Κατηγοριοποίηση των μανιταριών ανάλογα με την τιμή του *L** [7] . . 12
2 Θερμοκρασιακό καθεστώς και ποσότητα CO_2 αναπνοής [3] 16
3 Προτεινόμενες συνθήκες για MAP σε διάφορα είδη προϊόντων [8] . . 24
4 Συνοπτική παρουσίαση μερικών εδώδιμων μεμβρανών και η δράση τους [9] 28
5 Διάφορα πρόσθετα και μερικές από τις ιδιότητές τους [10] 29
6 Πίνακας πειραμάτων και εφαρμογών 36
7 Επίδραση της ημέρας συντήρησης (P day) με τη μέθοδο (P treatment) και της αλληλεπίδρασής τους στην απώλεια βάρους 50
8 Επίδραση της ημέρας συντήρησης (P day), της μεθόδου (P treatment) και της αλληλεπίδρασής τους (Pday* P treatm) στις παραμέτρους *L**, *a**, *b**, *ΔE* του χρώματος εξωτερικά του μανιταριού, για τα δύο κύματα καλλιεργειών (1ο και 2ο) 59
9 Επίδραση της ημέρας συντήρησης (P day), της μεθόδου (P treatment) και της αλληλεπίδρασής τους (Pday* P treatm) στις παραμέτρους *L**, *a**, *b**, *ΔE* του χρώματος εξωτερικά του μανιταριού, για τα δύο κύματα καλλιεργειών (1ο και 2ο) 68
10 Επίδραση της ημέρας συντήρησης (P day), της μεθόδου (P treatment) και η αλληλεπίδρασή τους στη συνεκτικότητα του μανιταριού 71
11 Επίδραση της ημέρας συντήρησης (P day) με τη μέθοδο (P treatment) και της αλληλεπίδρασής τους στα ολικά αντιοξειδωτικά του μανιταριού 78
12 Πίνακας καλλιεργειών και κυμάτων 91

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΥΜΒΟΛΩΝ

a* Διακύμανση χρώματος μεταξύ κόκκινου, πράσινου

ABTS 2.2-Amino-bis(3-ethylbenz-thiazoline-6-sulfonic acid)

AL Αλγινικό οξύ, alginic acid

ANOVA Ανάλυση διασποράς, analysis of variance

b* Διακύμανση χρώματος μεταξύ κίτρινου, μπλε

DPPH 2,2-diphenyl1-1-picryhydrazyl1 radical scavenging capacity

DW Ξηρό βάρος, dry weight

GHB γ-L-glutaminyl-4-hydroxybenzene

L* Φωτεινότητα, Ligthness

MAP Συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας, modified atmosphere packaging

MeOH Μεθανόλη, methanol

PAL Φαινυλαλανίνη αμμωνία-λυάση, phenylalanine ammonia lyase

PAPE Πολυαιθυλένιο-πολυαμίδιο, polyamide-polyethylene

PCA Ανάλυση κύριων συνιστωσών, Principal components analysis

PE Πολυαιθυλένιο, polyethylene

POD Περοξειδάση, peroxidase

PPO Πολυφαινολοξειδάση, polyphenol oxidase

RH Σχετική υγρασία, relative humidity

TAC Ολική αντιοξειδωτική δράση,Total antioxidant activity

TA Trolox acid

TP Ολικά φαινολικά,Total phenolics

WL Απώλεια βάρους, Weight Loss

IPS % Ποσοστό ενδοκυτταρικών πολυσακχαριτών, Intracellular polysaccharides

1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Γενικά στοιχεία για την καλλιέργεια των μανιταριών

Ως μανιτάρια ορίζονται οι ευμεγέθεις καρποφορίες που σχηματίζουν κάποιες συγκεκριμένες κατηγορίες μυκήτων, κατά τη διάρκεια του βιολογικού τους κύκλου. Η πολύτιμη αξία των μανιταριών ήταν γνωστή από του αρχαίους χρόνους με αναφορές από φιλόσοφους, όπως ο Θεόφραστος (372-227 π.Χ), για την κατανάλωσή τους από τους Έλληνες και Ρωμαίους αυτοκράτορες. Αρχικά δεν υπήρχε παραγωγή μανιταριών και για να τα γευτεί κανείς χρειαζόταν να συλλέξει τα άγρια εδώδιμα είδη που φύονταν στα δάση [11, 12].

Στη μεταγενέστερη εποχή ξεκίνησε η προσπάθεια για τη συστηματική καλλιέργειά τους, αφού γρήγορα οι άνθρωποι κατάλαβαν ότι τα μανιτάρια αποτελούν μια τροφή πλούσια σε απαραίτητα διατροφικά στοιχεία για τον άνθρωπο.

Τα πρώτα επιτυχημένα βήματα καλλιέργειας έγιναν στην Κίνα και την Ιαπωνία με αναφορές από το 300 μ.Χ., ενώ στην Ευρώπη οι πρώτες εμπειρικές καλλιέργειες ξεκίνησαν στα μέσα του 17ου αιώνα με την ανάπτυξη του *Agaricus bisporus*, τον εδώδιμο μύκητα που αφορά και την παρούσα εργασία. Πιο συγκεκριμένα παρατηρήθηκε από γεωργούς ότι υπήρχε ανάπτυξη μανιταριών στη χωνεμένη αλογίσια κοπριά που χρησιμοποιούνταν για τη λίπανση των καλλιεργειών τους. Οι προσπάθειες για την πιο εντατική καλλιέργεια ξεκίνησαν με την παραγωγή τους σε αναχώματα με αλογίσια κοπριά σε υπαίθρια αγροκτήματα, ενώ με το πέρας του χρόνου διαπιστώθηκε ότι καλύτερη ως προς την ποιότητα αλλά και την απόδοση ήταν η καλλιέργεια σε κλειστούς χώρους [4, 11, 12].

Σημαντικό ρόλο για την ανάπτυξη της καλλιέργειας έπαιξε η ανάπτυξη του ενδεδειγμένου πολλαπλασιαστικού υλικού ¨του σπόρου¨ (spawn). Ο σπόρος αυτός αποτελείται από ένα αποστειρωμένο υπόστρωμα πλούσιο σε θρεπτικά συστατικά και απαραίτητα για την ανάπτυξη του μύκητα, όπως είναι τα υπολείμματα σιτηρών, εμβολιασμένο με την καθαρή καλλιέργεια του εδώδιμου μύκητα [4]. Η παραγωγή του σπόρου λαμβάνει χώρα στις μέρες μας σε εξειδικευμένα εργαστήρια και βιομηχανίες.

Η διαθεσιμότητα ενός αξιόπιστου σπόρου καθώς και η ανάπτυξη νέων τεχνικών για την καλλιέργεια, όπως είναι η ανάπτυξη τους σε κλειστές μονάδες με πλήρως ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκρασίας, υγρασίας και αερισμού, αλλά και ο τρόπος αξιοποίησης των χώρων με κάθετες κατασκευές, κατέστησαν τη μανιταροπαραγωγή μια δυναμική και ανταγωνιστική καλλιέργεια με προσοδοφόρα οφέλη [4, 12, 13].

1.2 Ταξινόμηση και μορφολογικά χαρακτηριστικά των *Agaricus bisporus*

Στην παρούσα εργασία εξετάζονται διάφοροι τρόποι συντήρησης του πιο διαδεδομένου μανιταριού, του *Agaricus bisporus*. Ταξινομικά ανήκει στους Βασιδιομύκητες της τάξης των Agaricomycetes, σειρά Agaricales, οικογένεια των Agaricaceae και στο γένος Agaricus [14]. Τα είδη στο γένος των Agaricales αποτελούν τη μεγαλύτερη γνωστή ομάδα εδώδιμων μυκήτων και πολλά από τα γένη αυτά καλλιεργούνται για εμπορική διάθεση είτε απευθείας ως τρόφιμα είτε και για πληθώρα φαρμακευτικών χρήσεων [15].

Τα μανιτάρια αυτά παρουσιάζουν την τυπική ομβρελοειδή μορφή και η δομή όπως φαίνεται και στην παρακάτω εικόνα χαρακτηρίζεται από τα εξής σημεία: τον πίλο (pileus), το στύπο (stipe) και τα ελάσματα (gills), όπου και αποτελούν τα αναπαραγωγικά μέρη του μανιταριού και απελευθερώνουν τα σπόρια. Τα βασιδιοσπόρια επίσης παρέχουν μια σειρά από τα πιο αξιόπιστα χαρακτηριστικά που χρησιμοποιούνται στις ταξινομικές και φυλογενετικές μελέτες των μυκήτων [15]. Στο στύπο διακρίνεται και η βόλβα (velum), η οποία αποτελεί υπόλειμμα του καθολικού πέπλου, μιας μεμβράνης που περιβάλει ολόκληρο το μανιτάρι στα αρχικά στάδια ανάπτυξης [12].

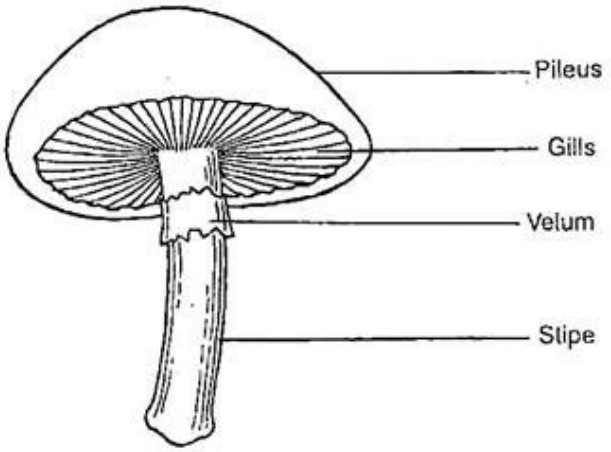


Fig. 4.74 : *Agaricus* : Single fruit body

Σχήμα 1: Δομή καρποφορίας μανιταριού *Agaricus bisporus* [1]

1.3 Διατροφική αξία και οικονομικά στοιχεία

Τα σημερινά πρότυπα διατροφής πλέον ορίζουν τη λιγότερη δυνατή κατανάλωση ζωικής πρωτεΐνης και την αποφυγή των κορεσμένων λιπαρών. Η διατροφική αξία των μανιταριών είναι μεγάλη καθώς είναι πλούσια σε πρωτεΐνες, ωφέλιμα λιπαρά

οξέα, φυτικές ίνες και αμινοξέα. Αποτελούν μια ιδανική λύση για την αντικατάσταση ζωικών σκευασμάτων καθώς συγκριτικά με άλλες φυτικής προέλευσης τροφές, οι πρωτεΐνες που περιέχουν είναι εύκολα αφομοιώσιμες από τον ανθρώπινο οργανισμό [16]. Συγκεκριμένα έχουν αναγνωριστεί από το FAO ως τρόφιμα που συμβάλλουν στην κατανάλωση των πρωτεϊνών σε χώρες που η διατροφή βασίζεται κυρίως στην κατανάλωση δημητριακών [12].

Έχοντας πολύ υψηλή περιεκτικότητα σε υγρασία (90%) αποτελούν μια χαμηλή σε θερμιδική αξία τροφή (25-35 cal/ 100 g νωπού προϊόντος), είναι ιδιαίτερα πλούσια σε φυτικές ίνες (10% ξηρού βάρους) και ταιριάζουν απόλυτα σε μια δίαιτα χαμηλής πρόσληψης σε θερμίδες και νάτριο. Οι εύπεπτοι υδατάνθρακες περιλαμβάνουν μαννιτόλη και γλυκόζη, που συνήθως υπάρχουν σε πολύ μικρές ποσότητες (λιγότερο από 1% ξηρού βάρους), ενώ το γλυκογόνο σε περισσότερες (5-10% ξηρού βάρους). Οι μη εύπεπτοι υδατάνθρακες περιλαμβάνουν ολιγοσακχαρίτες όπως τρεαλόζη και πολυσακχαρίτες χωρίς άμυλο (NSPs) όπως χιτίνη , β-γλυκάνες και μαννάνες, που αποτελούν το μεγαλύτερο μέρος των υδατανθράκων μανιταριών [17, 18]. Χαρακτηρίζονται από την υψηλή περιεκτικότητα υδατανθράκων (50% του ξηρού βάρους) κυρίως σε άμυλο, με σημαντική τη συνεισφορά τους σε χιτίνη. Η χιτίνη είναι ένα πολυμερές της N-ακετυλο γλυκοζαμίνης και αποτελεί δομικό συστατικό των κυτταρικών τοιχωμάτων. Επίσης στα αγαρικά μανιτάρια, τόσο στα λευκά όσο και στα καφέ περιέχονται και β-γλυκάνες και μαννάνη [12, 16].

Η περιεκτικότητα σε κορεσμένο λίπος και χοληστερόλη επίσης είναι σε χαμηλά επίπεδα (<10%), ενώ αντίθετα είναι πλούσια σε απαραίτητα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (75% w/w των ολικών ακόρεστων λιπαρών οξέων) με το κυρίαρχο να είναι το λινολεικό οξύ ($^{\Delta 9,12}$C18:2) σε ποσοστά από 80-90%, ενώ απαντώνται επίσης ελαϊκό, παλμιτικό οξύ, στεαρικό και λινολενικό οξύ σε μικρότερα ποσοστά [19]. Τα παραπάνω λιπαρά οξέα είναι πολύτιμα για την ανθρώπινη υγεία καθώς αποτρέπουν διάφορες καρδιαγγειακές παθήσεις και αυξάνουν τα επίπεδα της HDL χοληστερόλης που μειώνει την αθηροσκλήρωση[17, 20].

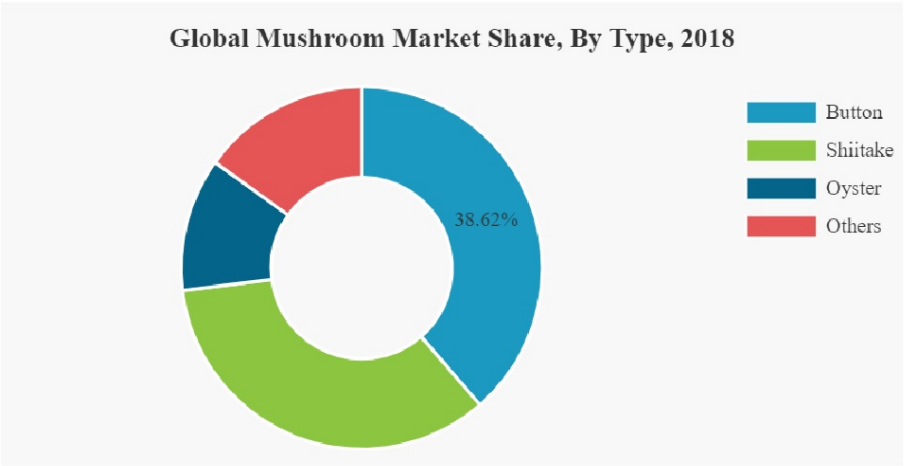
Συγκριτικά με τις πρωτεΐνες των υπόλοιπων λαχανικών, αυτές των μανιταριών είναι ποιοτικά ανώτερες, καθώς περιέχουν όλα τα απαραίτητα αμινοξέα που απαντώνται και στις ζωικές τροφές, όπως το γλουταμινικό οξύ (12.6%-24%), ασπαρτικό οξύ (9%-12.1%), αργινίνη, μεθειονίνη , λυσίνη, φαινυλανανίνη, προλίνη και άλλα[17].

Τα μανιτάρια προσλαμβάνουν πληθώρα ιχνοστοιχείων από το περιβάλλον που καλλιεργούνται. Τα κυριότερα από αυτά που απαντώνται είναι K, P, Ca, Mg, Fe, Zn, Cu, Se, Mn, ενώ τα επίπεδα Na είναι πολύ χαμηλά. Αποτελούν ακόμη καλή πηγή νιασίνης και ριβοφλαβίνης βιταμίνης D και αυτών του συμπλέγματος B και κυρίως

φολικού οξέος και B1, B2, B12 [12, 17, 18].

Οι ανατολικές χώρες στην κουλτούρα τους χρησιμοποιούν τα μανιτάρια για τις φαρμακευτικές και θεραπευτικές τους ιδιότητες εδώ και αιώνες, ενώ πλέον χρησιμοποιούνται και στο σύγχρονο δυτικό κόσμο. Στα Agaricus bisporus αποδίδονται αρκετές από αυτές τις ιδιότητες και έχουν αρχίσει να απομονώνονται βιοδραστικές ουσίες από αυτά για την παραγωγή παραφαρμακευτικών προϊόντων και λειτουργικών τροφίμων. Τα μανιτάρια αυτά περιέχουν διάφορες αντιοξειδωτικές, αντικαρκινικές, και αντιφλεγμονώδεις ουσίες. Προάγουν την υγεία των ανθρώπων και προστατεύουν από διάφορες καρδιαγγειακές ασθένειες, διαβήτη, έχουν αντιβακτηριακές και αντιικές ιδιότητες και μελέτες έχουν δείξει πως βοηθούν σε ορισμένες περιπτώσεις την αντιμετώπιση του καρκίνου αλλά και του ιού HIV [18].

Όπως διαπιστώνεται λοιπόν η αξία των μανιταριών είναι μεγάλη όχι μόνο από διατροφικής άποψης, αλλά και από οικονομικής. Η παραγωγή και η κατανάλωση των λευκών μανιταριών αποτελούν το μεγαλύτερο μερίδιο στην αγορά συγκριτικά με άλλα είδη, καθώς καταλαμβάνουν τη θέση με τη μεγαλύτερη ζήτηση [13, 21]. Καλλιεργούνται σε περισσότερες από 70 χώρες με την κυρίαρχη να είναι η Κίνα, ενώ στην Ευρώπη τα πρωτεία κατέχουν η Ολλανδία, Πολωνία και Γερμανία [2, 22]. Μονάδες παραγωγής υπάρχουν και στην Ελλάδα και έχουν σημειώσει μεγάλη πρόοδο, αλλά σε καμία περίπτωση δεν είναι σε θέση να ανταγωνιστούν σε απόδοση και τεχνογνωσία τις προαναφερθείσες χώρες. Η καλλιέργεια του *Agaricus bisporus* μπορεί να φτάσει έως και τους 4-5.000.000 τόνους το χρόνο παγκοσμίως, με τις ανάγκες για κάλυψη να αυξάνεται συνεχώς [22].



Σχήμα 2: Παγκόσμιο μερίδιο αγοράς στην καλλιέργεια μανιταριών[2]

1.4 Καλλιέργεια

1.4.1 Σπόρος (spawn)

Στη φύση ο παλλαπλασιασμός των μανιταριών συμβαίνει μέσω των σπορίων που απελευθερώνονται. Σε μια βιομηχανική μονάδα παραγωγής όμως, επειδή χρειάζεται η καλλιέργεια να είναι αποδοτική με τις λιγότερες δυνατές εκροές, χρησιμοποιείται εμπορικό συγκεκριμένο μυκήλιο που έχει αναπτυχθεί και αποικίσει σε αποστειρωμένους σπόρους σιτηρών (spawn). Αν ο σπόρος δεν είναι από κατάλληλη γενετικά καλλιέργεια ή είναι πολύ παλιός, τότε η απόδοση και η ποιότητα θα είναι πολύ χαμηλή [15].

Η παραγωγή του σπόρου είναι μια αρκετά περίπλοκη διαδικασία την οποία την αναλαμβάνουν βιομηχανίες με καταρτισμένο προσωπικό. Οι εταιρείες αυτές δεν αναλαμβάνουν μόνο την ανάπτυξη του μυκηλίου, αλλά ασχολούνται ακόμα και με τη γενετική βελτιστοποίηση των ποικιλιών. Σε αυτές οφείλεται η επέκταση της εμπορική καλλιέργειας των εδώδιμων μυκήτων και η μεγάλη ζήτησή του [12].

Συνοπτικά η διαδικασία που ακολουθείται για τη δημιουργία του σπόρου έχει ως εξής: η απαλλαγμένη από κάθε άλλον μικροοργανισμό καθαρή καλλιέργεια του επιθυμητού μύκητα αφήνεται να αναπτυχθεί σε θρεπτικό μέσο. Το θρεπτικό μέσο αποτελείται από αποστειρωμένους σπόρους σιτηρών, όπως είναι το ρύζι, το σόργο, το κεχρί, το σιτάρι και η σίκαλη, οι οποίοι για να γίνουν μαλακοί θα εμβαπτιστούν σε βρασμένο νερό. Εν συνεχεία τεμάχια του μυκηλίου μεταφέρονται ασηπτικά σε δοχεία ή σε σακούλες με συγκεκριμένες προδιαγραφές που περιέχουν τους σπόρους των σιτηρών. Τελικώς λαμβάνει χώρα η επώαση και αφού ολοκληρωθεί ο αποικισμός συσκευάζεται κατάλληλα και είναι έτοιμο για εμπορική διάθεση [12, 15, 23].

Όπως σε κάθε καλλιέργεια, έτσι και στην περίπτωση της μανιταροκαλλιέργειας η επιλογή των στελεχών των ποικιλιών γίνεται κυρίως με την εμπορική διάθεση και τις απαιτήσεις της αγοράς, ενώ κατά κύριο λόγω κρίνεται με βάση το σχήμα, το χρώμα, την υφή των καρπών, τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, την απόδοση και την πρωιμότητα της παραγωγής καθώς και σε άλλους δευτερεύοντες παράγοντες, όπως είναι οι κλιματικές συνθήκες η ευαισθησία σε εχθρούς και ασθένειες [12]. Οι διαδεδομένες εμπορικές ποικιλίες των *Agaricus bisporus* είναι κυρίως δύο λευκόσαρκες (button, champignion de Paris) και οι εξίσου διάσημες καφέ ποικιλίες με το μικρό Crimini και μεγαλύτερο σε μέγεθος Portobello. Η απόδοση και η ποιότητα των καλλιεργούμενων αυτών ποικιλιών εξαρτάται από το στέλεχος που επιλέχθηκε και για το λόγο αυτό συνεχώς γίνεται προσπάθεια βελτιστοποίησης αυτών [13].

1.4.2 Προετοιμασία Υποστρώματος

Το *Agaricus bisporus* καλλιεργείται σε ένα θρεπτικό μέσο (κομπόστ), το οποίο είναι ένα οργανικό υπόστρωμα που προηγουμένως έχει υποστεί μια ελεγχόμενη μικροβιακή ζύμωση. Η δημιουργία ενός επιλεκτικού μέσου, απαλλαγμένο από άλλους ανταγωνιστικούς μικροοργανισμούς, αποτελεί το πιο σημαντικό βήμα για την αποτελεσματική ανάπτυξη της καλλιέργειας και για το λόγο αυτό πρέπει να ακολουθούνται προσεχτικοί χειρισμοί [12].

Το υπόστρωμα που χρησιμοποιείται για την καλλιέργεια των *Agaricus bisporus* περιέχει κυρίως λιγνοκυτταρινούχα υπολείμματα καλλιεργειών, όπως είναι τα άχυρα των δημητριακών και καλώς χωνεμένη κοπριά οικόσιτων ζώων και πιο συγκεκριμένα πουλερικών. Γενικά η χρήση των αποβλήτων διαφόρων καλλιεργειών και βιομηχανιών, μετατρέπει την μανιταροπαραγωγή σε μια καλλιέργεια που ακολουθεί την κυκλική οικονομία. Αυτό προσφέρει πολλά οφέλη σε οικονομικό αλλά και περιβαλλοντικό επίπεδο, διότι μετατρέπονται σε υψηλής διατροφικής αξίας προϊόντα, μη αξιοποιήσιμα παράπλευρα υπολείμματα άλλων καλλιεργειών [24]. Διάφορα άλλα παραδείγματα που χρησιμοποιούνται για την ανάπτυξη καλλιεργούμενων υποστρωμάτων για διάφορες καλλιέργειες μανιταριών είναι τα στάχυα αραβόσιτου, στελέχη βαμβακιού, κλαδέματα από αμπέλι και ελιά, φλοιούς ρυζιού και διάφορων σπόρων, πολτό από καφέ, μελάσα και άλλα [11, 25].

Η δημιουργία του κατάλληλου υποστρώματος αποσκοπεί κυρίως:

1. στο να δημιουργηθεί ένα **εκλεκτικό υπόστρωμα** που να αποτελείται από σύνθετες πηγές άνθρακα που χρησιμεύουν ως θρεπτικά μέσα για τον μύκητα, όπως είναι η κυταρρίνη και η λιγνίνη. Τα είδη των *Agaricus bisporus* εν αντιθέσει με τους υπόλοιπους μικροοργανισμούς του υποστρώματος εκκρίνουν εξειδικευμένα εξωκυταρρικά ένζυμα που υδρολύουν τα μακρομόρια της κυτταρίνης και της λιγνίνης.

2. στο να αποκτήσει το υπόστρωμα ορισμένες **φυσικοχημικές ιδιότητε**ς που θα ευνοούν την ανάπτυξη του λευκού μανιταριού. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι το ποσοστό αμμωνίας που παράγεται κατά τη ζύμωση του υποστρώματος και δεν πρέπει η τιμή του να ξεπεράσει το 0.1% γιατί μπορεί να αποβεί τοξικό προς τον μύκητα.

3. στο να παραχθούν από τους μικροοργανισμούς του υποστρώματος **αυξητικοί παράγοντες**, όπως είναι απαραίτητα αμινοξέα και βιταμίνες, που ο ίδιος ο μύκητας δεν είναι σε θέση να συνθέσει.

Σημαντικό βήμα για την ανάπτυξη του λευκού μανιταριού, πέραν από την πηγή άνθρακα που παρέχεται από την κυταρρίνη και τη λιγνίνη, είναι επίσης να καλυφθούν οι ανάγκες σε άζωτο. Στο άχυρο του υποστρώματος βρίσκονται σε ποσοστό περίπου 40% C και 0.5% N (C/N=80). Λόγω του χαμηλού ποσοστού σε άζωτο προστίθεται η κοπριά ή οποιαδήποτε άλλο οργανικό υπόλειμμα , ώστε το τελικό μείγμα του υποστρώματος να έχει αναλογία C/N= 16, με το άζωτο να είναι περί το 2%, και τα υπόλοιπα θρεπτικά συστατικά να P_2O_5=1% K_2O=2.5%. Οι ιδανικές τιμές του pH κυμαίνονται 7-7.5 καθώς έτσι δεν αναστέλλεται η ανάπτυξη του μυκηλίου [15, 21].

Η προετοιμασία του υποστρώματος περνά από δύο διαδοχικές φάσεις [11, 12, 15].

- **Πρώτη Φάση**

Η φάση αυτή λαμβάνει χώρα σε εξωτερικό χώρο και διαρκεί από 8-10 μέρες. Το άχυρο αρχικά απλώνεται σε ύψος περίπου μισού μέτρου όπου και ξεκινά η διαβροχή του με αναδευόμενο φορτωτή μέχρι η υγρασία να φτάσει περίπου το 70%. Στη συνέχεια στοιβάζονται σε σωρούς, όπου με ειδικά μηχανήματα μπορούν να αναδεύονται καθ' όλη τη διάρκεια της ζύμωσης. Η διαδικασία της ανάδευσης είναι σημαντική, καθώς λόγω της έντονης μικροβιακής δραστηριότητας, η θερμοκρασία στη σωρό ανεβαίνει αρκετά γρήγορα και δεν είναι ομοιόμορφη σε όλη την επιφάνεια. Για να επιτευχθεί η σωστή κομποστοποίηση επιβάλλεται να γίνει ανάδευση γύρω στις τρεις φορές και εδώ δημιουργούνται οι απαιτούμενες συνθήκες του υποστρώματος.

- **Δεύτερη Φάση**

Το κομποστοποιημένο υπόστρωμα εισέρχεται σε ειδικούς θαλάμους με παροχή ατμού με θερμοκρασίες που κυμαίνονται από 60 – 65°C, ώστε να επιτευχθεί η παστερίωση και να θανατωθούν οι ανεπιθύμητοι μικροοργανισμοί, αλλά και στο να εξαλειφθεί η εναπομένουσα αμμωνία. Αφού ολοκληρωθεί αυτό το στάδιο η θερμοκρασία πέφτει γύρω στους 48 – 50°C. Μέσα στο θάλαμο εξασφαλίζονται ικανοποιητικές συνθήκες θερμοκρασίας και ανακύκλωσης του αέρα και επικρατούν ορισμένοι θερμόφιλοι μικροοργανισμοί, οι οποίοι και ολοκληρώνουν τη διαδικασία της ζύμωσης. Οι συγκεκριμένοι όμως δρουν ανταγωνιστικά με τους μύκητες του είδους Agaricus, αφού και αυτοί είναι καταναλωτές της λιγνίνης και της κυτταρίνης, και έτσι η θερμοκρασία χρειάζεται να μειωθεί περαιτέρω για να ανασταλεί η δράση τους.

Στις βιομηχανίες μετά την πρώτη φάση το υπόστρωμα μπορεί είτε να τοποθετηθεί κατευθείαν στις κλίνες (ράφια, ή ξύλινα τελάρα) εντός των θαλάμων επώασης, είτε όπως αναφέρθηκε παραπάνω να γίνει η παστερίωση στους θαλάμους που

επικρατούν ειδικές συνθήκες. Το πλεονέκτημα της πρώτης περίπτωσης είναι ότι η παστερίωση, η ωρίμανση, η σπορά, η ανάπτυξη του μυκηλίου και ο σχηματισμός των καρποφοριών συμβαίνουν σε έναν και μοναδικό θάλαμο, ενώ στη δεύτερη περίπτωση χρειάζονται παραπάνω. Παρόλα αυτά οι περισσότερες βιομηχανίες τείνουν στο δεύτερο τρόπο, καθώς εν τέλει εξασφαλίζονται πιο ευνοϊκές και ελεγχόμενες συνθήκες για την μανιταροκαλλιέργεια με αποτέλεσμα να μειώνεται το κόστος από μια ενδεχόμενη αποτυχία στα διάφορα στάδια.

1.4.3 Σπορά και επώαση-Στάδιο casing

Όταν το υπόστρωμα είναι έτοιμο θα γίνει ο εμβολιασμός με τον σπόρο του Agaricus μηχανικά ή με τα χέρια. Συνήθως εφαρμόζεται σπόρος σε ποσοστό 1-2% ανάλογα με την καλλιεργητική περίοδο και οι θερμοκρασίες των χειρισμών αυτού δε θα πρέπει να ξεπερνούν τους 30°C. Η υγρασία του υποστρώματος κυμαίνεται στο 66-68% και η θερμοκρασία στους 25 – 27°C. Πλέον στις βιομηχανίες ευρέως διαδεδομένη είναι η χρήση μεταλλικών ραφιών και ξύλινων κιβωτίων, εν αντιθέσει με τους σάκους, τα οποία εύκολα τοποθετούνται το ένα επάνω από το άλλο, με αποτέλεσμα να εξοικονομείται περισσότερος χώρος και να μεγιστοποιείται η παραγωγή [4, 15, 17].

Οι θάλαμοι διαθέτουν εξοπλισμό απαραίτητο για να ελέγχονται οι συνθήκες αερισμού, θερμοκρασίας και υγρασίας. Η θερμοκρασία του αέρα πρέπει να είναι γύρω στους 20–22°C, ενώ του υποστρώματος 25–27°C. Η περιεκτικότητα σε CO_2 κυμαίνεται από 2000-3000 ppm, ενώ η σχετική υγρασία πρέπει να υπερβαίνει το 90%. Ο θάλαμος πρέπει να είναι σκοτεινός και γίνεται επικάλυψη με πλαστικό φύλλο, ώστε να διατηρείται ενυδατωμένος ο σπόρος και να συγκρατούνται τυχόν επιβλαβή σπόρια άλλων μικροοργανισμών που μπορεί να βλάψουν την καλλιέργεια [4, 15, 17].

Μόλις αναπτυχθεί το μυκήλιο και αρχίσει να αποικεί στο υπόστρωμα, ο μύκητας θα περάσει στη φάση της αναπαραγωγής του περίπου 12-14 ημέρες μετά τον εμβολιασμό. Τότε το υπόστρωμα θα αρχίσει να αλλάζει χρώμα και από σκούρο καφέ θα αποκτήσει κιτρινωπή απόχρωση με έντονη μυρωδιά μανιταριού [4, 15].

Απαραίτητο βήμα για την παραγωγή των *Agaricus bisporus* είναι το στάδιο της επιχωμάτωσης (casing). Λόγω αυτού το μυκήλιο περνά από το βλαστικό στο αναπαραγωγικό στάδιο. Για την αύξηση και την πρωιμότητα της παραγωγής χρειάζεται να γίνει επικάλυψη με ένα στρώμα από οργανικά υλικά, συνήθως μείγματος τύρφης και ασβεστολίθου με αναλογία 2:1. Το στρώμα αυτό χρειάζεται πριν την εφαρμογή του να βραχεί και να απολυμανθεί επαρκώς με ατμό στους 60°C/ 3 h. Τα χαρακτηριστικά του casing είναι η μεγάλη υδατοχωρητικότητα και το pH 6,5-8. Ένα ακόμη πλεονέκτημα που εμφανίζεται από την εφαρμογή του είναι ότι δε σχηματίζονται

πυκνές καρποφορίες και έτσι δε χρειάζεται να γίνεται αραίωμα, με αποτέλεσμα το μέγεθος του καρπού να είναι εμπορικά αποδεκτό και να μειώνονται σημαντικά τα εργατικά κόστη. Μια πιο σύντομη μέθοδος της επιχωμάτωσης, αποτελεί το CACing, όπου γίνεται ταυτόχρονη πλήρωση των κλινών με σπόρο και το υλικό του casing. Θετικό της μεθόδου αυτής είναι ότι η διαδικασία είναι μικρότερης διάρκειας, καθώς επιτυγχάνεται πιο γρήγορη ολοκλήρωση του καλλιεργητικού κύκλου με υψηλών προδιαγραφών προϊόντων, όμως σε περίπτωση αποτυχίας του σπόρου δε γίνεται γρήγορα αντιληπτό και μπορεί να αποβεί οικονομικά ασύμφορο [4, 12, 15].

Η υγρασία βοηθά στο να δημιουργηθούν λίγα μανιτάρια αλλά με μεγαλύτερο μέγεθος, για αυτό και χρειάζεται να εφαρμόζονται ομοιόμορφα ποτίσματα, ώστε να διατηρείται στα κατάλληλα επίπεδα. Στην παρούσα φάση μελέτες έχουν αποδείξει ότι στο νερό άρδευσης της καλλιέργειας μπορεί να γίνει εφαρμογή $CaCl_2$ σε ορισμένες συγκεντρώσεις. Αυτό προσδίδει αρκετά πλεονεκτήματα ως προς την ποιότητα, το χρώμα τη συνεκτικότητα, αλλά και τη διατηρησιμότητα [4, 19].

1.4.4 Ανάπτυξη καρποφοριών - Συγκομιδή

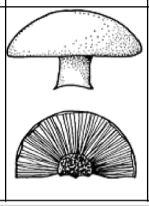
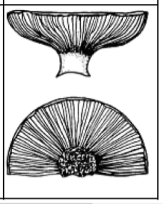
Μετά την επιχωμάτωση ξεκινά η δεύτερη και τελική φάση της επώασης (περί τις 8 μέρες αργότερα). Οι συνθήκες στους θαλάμους σε αυτή τη φάση διαμορφώνονται με τέτοιο τρόπο ώστε να αρχίσει ο σχηματισμός των καταβολών. Μειώνεται σταδιακά η θερμοκρασία του θαλάμου στους 16 – 18°C, ενώ η συγκέντρωση του CO_2<800 ppm. Η σχετική υγρασία προσεγγίζει το 85% και εμφανίζονται μετά από διάστημα 4-5 ημερών οι πρώτες καταβολές μεγέθους 5-6mm [15].

Μετά από μια εβδομάδα περίπου το πρώτο κύμα παραγωγής των μανιταριών είναι έτοιμο για τη συγκομιδή. Ύστερα και μετά από κάθε 7-10 μέρες ακολουθούν τα επόμενα δύο κύματα αντίστοιχα. Σημαντικό είναι μετά από κάθε φορά που γίνεται η συγκομιδή να εφαρμόζεται άρδευση για να πληρωθούν οι ανάγκες σε νερό και των επόμενων κυμάτων. Υπολογίζεται ότι η κατανάλωση νερού για έναν τόνο παραγωγής μανιταριών, φτάνει τον έναν τόνο νερού [11].

Γενικά οι βιομηχανίες συγκομίζουν μέχρι τρεις φορές από την ίδια καλλιέργεια, καθώς η απόδοση όσο τα κύματα διαδέχονται το ένα το άλλο μειώνεται, επειδή εξαντλούνται τα θρεπτικά συστατικά του υποστρώματος, συσσωρεύονται άλατα από τα ποτίσματα και αναπτύσσονται άλλοι ανταγωνιστικοί και παθογόνοι μικροοργανισμοί [11, 15].

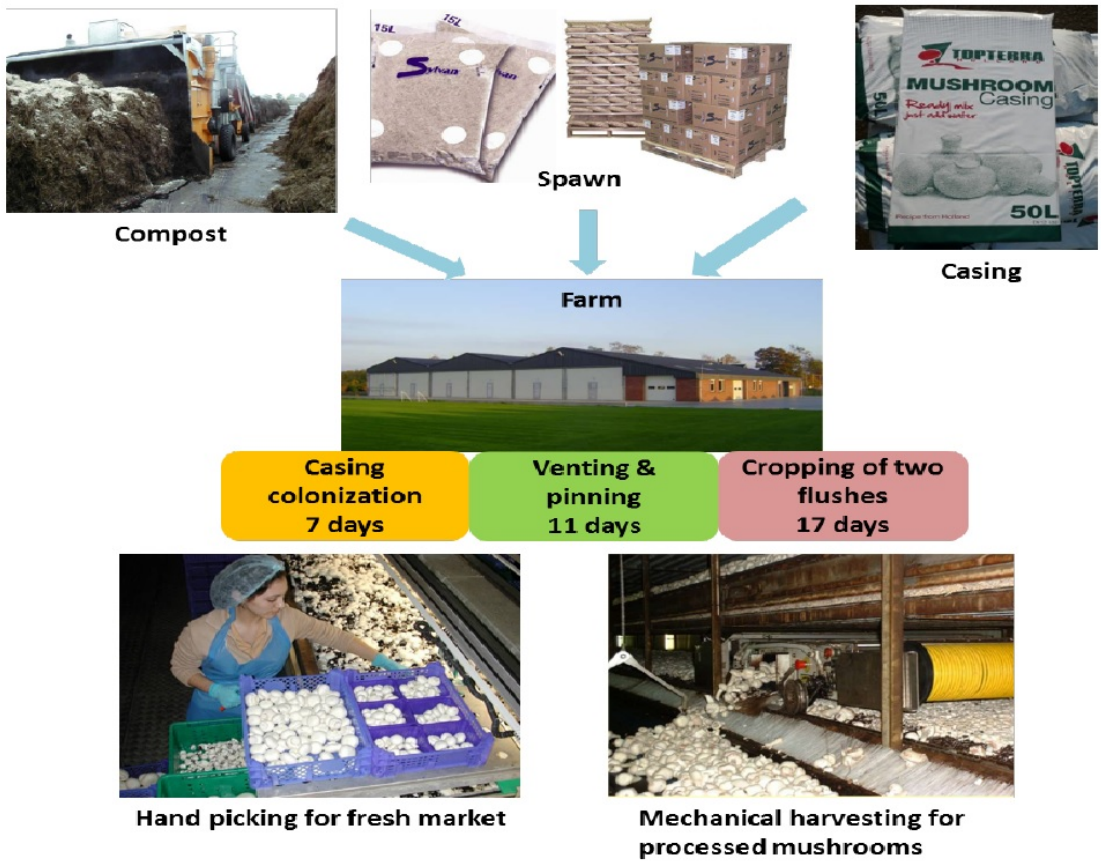
Τα μανιτάρια που προορίζονται για νωπή κατανάλωση πρέπει να συγκομίζονται

προσεχτικά με τα χέρια, με περιστροφική και ανοδική κίνηση, ώστε να μειωθεί ο κίνδυνος τραυματισμών που μπορεί να καταστήσουν το προϊόν μη εμπορικά αποδεκτό. Το κάτω μέρος του στίπου πρέπει να κόβεται ομοιόμορφα και σε περίπτωση που φέρουν υπολείμματα του οργανικού υποστρώματος ή του υλικού επιχωμάτωσης, να απομακρύνονται με ένα βουρτσάκι. Στο γενικό κανόνα για τη συγκομιδή είναι ότι ενδιαφέρει περισσότερο το στάδιο ωριμότητας και όχι το μέγεθος. Τα μικρότερα μανιτάρια που προορίζονται για κονσερβοποίηση ή άλλου είδους διάθεση συλλέγονται μηχανικά [11, 15]. Οι Hammond και Nichols (1976) περιέγραψαν σε επτά στάδια την ανάπτυξη των καρποφοριών, σύμφωνα με το μέγεθος του πίλου, ενώ ο Guthrie αναφέρθηκε στην μετασυλλεκτική ανάπτυξη του καρποσώματος, σύμφωνα με το στάδιο ωριμότητας και της αύξησης του πίλου, αλλά και την έκθεση των ελασμάτων, όπως φαίνεται στο παρακάτω Σχήμα (3) [3, 26].

Stage	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**
Description of Sporophore	Veil intact (tight)	Veil intact (stretched)	Veil partially broken (less than half)	Veil partially broken (greater than half)	Veil completely broken	Cap open, gills well exposed	Cap open, gill surface flat
							

Σχήμα 3: Εμφάνιση των καρποφοριών στα διάφορα στάδια ανάπτυξης [3]

Οι παραγωγοί φροντίζουν να ξεκινήσει η συγκομιδή όσο ακόμα η βόλβα είναι κλειστή, δηλαδή στο δεύτερο στάδιο. Για την έναρξη της επόμενης καλλιέργειας οι θάλαμοι αδειάζουν από το υπόστρωμα και απολυμαίνονται σχολαστικά. Το ίδιο γίνεται σε όλα τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν για την καλλιέργεια, όπως τα τελάρα ή τα ράφια και διάφορα εργαλεία ακόμη και ρούχα. Το υπόστρωμα που απομακρύνθηκε διανέμεται ως ζωοτροφή ή ως εδαφοβελτιωτικό [11, 15].



Σχήμα 4: Απεικόνιση της καλλιεργητικής διαδικασίας[4]

1.4.5 Μετασυλλεκτική διαχείριση και συντήρηση

Η ποιότητα του τελικού προϊόντος παίζει καθοριστικό ρόλο για την μετέπειτα εμπορική του διάθεση και επηρεάζεται ενδεικτικά από παράγοντες όπως το καλλιεργούμενο υβρίδιο, τις περιβαλλοντικές συνθήκες εντός του θαλάμου, τους καλλιεργητικούς χειρισμούς, την εφαρμογή των αρδεύσεων, την αποτελεσματική καταπολέμηση των εχθρών και ασθενειών, καθώς και από το πόσο ήταν προσεχτικοί οι χειρισμοί κατά τη συγκομιδή και την μετέπειτα διαχείριση [11, 13].

Οι καταναλωτικές προτιμήσεις έχουν υποδείξει ότι τα μανιτάρια που σα χαρακτηριστικά έχουν λευκό χρώμα, κλειστό πίλο, τόσο ώστε να μην διακρίνονται τα ελάσματα, μικρό στύπο και συνεκτική υφή είναι ευρέως αποδεκτά [27]. Σύμφωνα με έρευνα που πραγματοποιήθηκε οι αποδεκτές τιμές του L^* για τους καταναλωτές αναφέρονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 1: Κατηγοριοποίηση των μανιταριών ανάλογα με την τιμή του L^* [7]

Κατηγορία	**Τιμή L^* Hunter**	**Κλίμακα αποδοχής**
1	>93	Εξαιρετική
2	90-93	Πολύ καλή
3	86-89	Καλή
4	80-85	Αποδεκτή
5	69-79	Φτωχή
6	<69	Πολύ φτωχή

Τα λευκά μανιτάρια παρουσιάζουν μεγάλη ευαισθησία και δεν είναι δυνατόν να συντηρηθούν για μεγάλη χρονική περίοδο, λόγω της έντονης αναπνευστικής τους δραστηριότητας. Με το πέρας του χρόνου μορφολογικά αλλάζει χάνοντας το λευκό του χρώμα, όπου και αρχίζει και εμφανίζει μια καφέ απόχρωση. Ο πίλος ανοίγει σταδιακά κατά το πέρας των ημερών συντήρησης, με τα ελάσματα να γίνονται εμφανή. Παρατηρείτε ακόμα σοβαρή απώλεια βάρους και μείωση της συνεκτικότητας των μανιταριών [4].

Ο στίπος συνεχίζει και μεγαλώνει μετά τη συγκομιδή, κάτι το οποίο δεν αποδεκτό από τους καταναλωτές. Επίσης σε μελέτη που έχει γίνει έχει αποδειχθεί ότι η χιτίνη που παράγεται κατά την αύξηση του στίπου οδηγεί σε καφέτιασμα αλλά και στην αύξηση του μανιταριού, για το λόγο αυτό προτείνεται να αφαιρείται μέρος αυτού για να αποκτά μεγαλύτερη διαρκεια ζωής το μανιτάρι και να έχουν μεγαλύτερη κερδοφορία οι παραγωγοί [17].

Τα μεγαλύτερα προβλήματα με την ποιότητα των μανιταριών κατά το πρώτο κύμα καλλιέργειας εντοπίζονται την πρώτη ημέρα συγκομιδής όπου ενδεχομένως να έχουν γκρίζο χρώμα και κηλίδες από νερό και κατά την τελευταία ημέρα συγκομιδής με τα ελάσματα να γίνονται εμφανή, να μακραίνει ο στίπος και εναλλαγή στο χρώμα στις άκρες του πίλου. Στη δεύτερο κύμα καλλιέργειας τα περισσότερα προβλήματα εμφανίζονται στην τελευταία ημέρα συγκομιδής και κατά το τρίτο κύμα τα περισσότερα προβλήματα σχετίζονται με το χρώμα του μανιταριού και το μέγεθος. Διάφορες εφαρμογές άρδευσης, που περιλαμβάνουν την προσθήκη υπεροξειδίου του υδρογόνου και χλωριούχου ασβεστίου και εφαρμόζονται σε όλη τη διάρκεια ανάπτυξης της μανιταροκαλλιέργειας, έχουν δείξει ότι μειώνουν τους βακτηριακούς πληθυσμούς και βελτιώνουν την αρχική ποιότητα και τη διάρκεια ζωής μετά τη συγκομιδή των μανιταριών. Όλα τα παραπάνω πρέπει να αντιμετωπιστούν αποτελεσματικά, καθώς υποβιβάζεται η εμπορική αξία του προϊόντος και η εκάστοτε βιομηχανία παρουσιάζει μεγάλες απώλειες από τα κέρδη.

1.5 Παράγοντες που επιδρούν στην ποιότητα των *Agaricus bisporus*

Η ποιότητα και η διατηρησιμότητα των νωπών λευκών μανιταριών επηρεάζεται από περιβαλλοντικούς και από βιολογικούς παράγοντες.

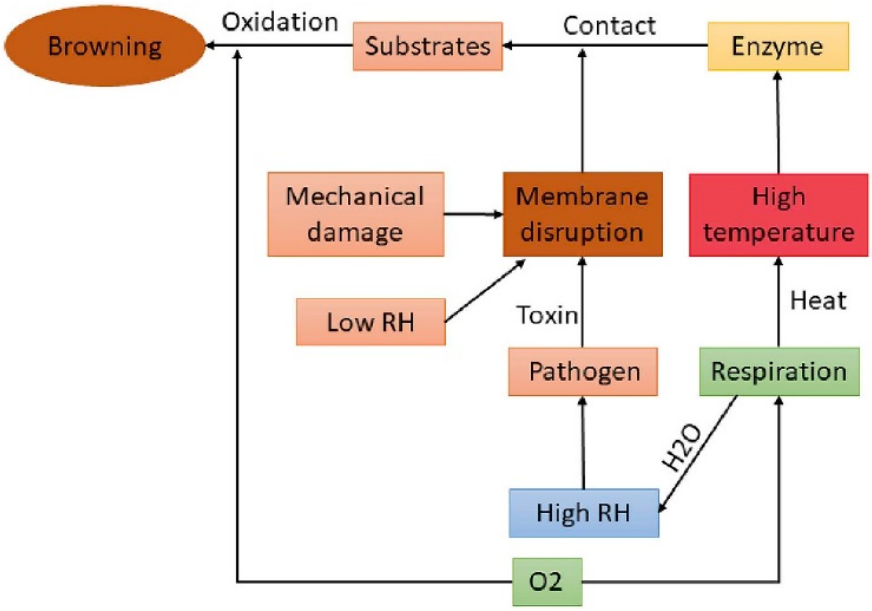
1.5.1 Απώλεια Βάρους & Συνεκτικότητας

Τα μανιτάρια δε φέρουν προστατευτική επιδερμίδα, όπως τα υπόλοιπα φρούτα και λαχανικά, και αυτό τα καθιστά ευάλωτα στην απώλεια υγρασίας. Λόγω της έντονης αναπνευστικής τους δραστηριότητας αποβάλλουν μεγάλες ποσότητες νερού, χάνουν τη συνεκτικότητά τους, με αποτέλεσμα να υποβαθμίζεται η ποιότητά και υφή τους και δημιουργεί προβλήματα στους πωλητές καθώς μειώνεται σημαντικά το βάρος τους με σημαντικές οικονομικές απώλειες.

Η απώλεια βάρους είναι πιο έντονη σε μανιτάρια με ανοιχτό πίλο και τυχόν χτυπήματα στην επιφάνειά τους και ιδιαίτερα όταν οι θερμοκρασία περιβάλλοντος είναι υψηλή και η υγρασία στο θάλαμο αποθήκευσης χαμηλή.

1.5.2 Ενζυμικό καφέτιασμα

Τα αγαρικά μανιτάρια επηρεάζονται τόσο από εξωτερικούς όσο και από εσωτερικούς παράγοντες. Ο κυριότερος μηχανισμός που επηρεάζει την υποβάθμισή τους, είναι η ενζυμική αμαύρωση. Όπως φαίνεται και στο παρακάτω Σχήμα (5) το υπόστρωμα καταλύεται από ένζυμα και οδηγείται στην παραγωγή μελανίνης, όπου προκαλεί και την αλλοίωση στο χρώμα της σάρκας των μανιταριών.



Σχήμα 5: Παράγοντες που επηρεάζουν το ενζυμικό καφέτιασμα [5]

Στα μανιτάρια περιέχονται οξυγενάσες χαλκού, που αλλιώς ονομάζονται πολυφαινολικές οξειδάσες (PPO) και είναι κυρίως οι λακκάσες, οι τυροσινάσες και οι υπεροξειδάσες. Το κύριο ένζυμο που είναι υπεύθυνο για το καφέτιασμα και καταλύει την πολυφαινολική οξείδωση, είναι η τυροσινάση και δευτερευόντως η λακκάση. Η τυροσινάση καταλύει σε πολλά στάδια και με τέσσερις μηχανισμούς αντίδρασης τις διάφορες φαινολικές ενώσεις του υποστρώματος του μανιταριού και είναι το κρίσιμο ένζυμο στο αρχικό βήμα της βιοσύνθεσης της μελανίνης, η οποία ευθύνεται για την αλλαγή του χρώματος [28].

Το ενζυμικό καφέτιασμα στα λευκά μανιτάρια διέπεται από πολλούς παράγοντες όπως είναι η συγκέντρωση του ενζύμου, η ενεργοποίηση της λανθάνουσας μορφής του, το περιεχόμενο και οι τύποι των φαινολικών ενώσεων του υποστρώματος και κατά πόσο αυτά είναι προσβάσιμα για την ενεργοποίηση του ενζύμου. Όλοι αυτοί οι παράγοντες διαφέρουν ανάμεσα στους ιστούς, αλλά και κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης της καρποφορίας, κατά τη συγκομιδή και κατά την αποθήκευση [5, 28].

Το υπόστρωμα της τυροσινάσης είναι κυρίως η τυροσίνη και η γ-L-glutaminyl-4-hydroxybenzene (GHB), όπως επίσης και τα προϊόντα οξείδωσης και υδρόλυσής τους. Η δραστικότητα της τυροσινάσης και η κυριότερη συμβολή της στην ενζυμική αμαύρωση οφείλεται στη σταθερότητα των μορίων της τυροσίνης και του GHB. Η περιεκτικότητα των ολικών φαινολικών και του GHB βρίσκονται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στα ελάσματα των μανιταριών και λιγότερο στους άλλους ιστούς, με τη χαμηλότερη συγκέντρωση να βρίσκεται στον πίλο [5, 27].

1.5.3 Αλοιογόνοι μικροοργανισμοί

Όπως και στην καλλιέργεια, έτσι και μετασυλλεκτικά υπάρχει μεγάλη πιθανότητα προσβολής των μανιταριών από αλλοιογόνους μικροοργανισμούς, αν δεν υπάρξουν προσεχτικοί χειρισμοί. Παρόλο που τα μανιτάρια μετά τη συγκομιδή μπορεί να δείχνουν υγιή, μπορεί να αναπτύξουν αρχικά στίγματα καφέ χρώματος (1-4 mm) στην επιφάνεια του πίλου, τα οποία με τον καιρό μετατρέπονται σε πιο σκουρόχρωμα και εκτείνονται σε όλη την επιφάνεια του.

Αυτές οι κιλιδώσεις οφείλονται στο βακτήριο *Pseudomonas tolaasii* και κυρίως στην τοξίνη που παράγει. Η τολασίνη είναι μια εξωκυτταρική τοξίνη που παράγεται από τα βακτήρια αυτά όταν επικρατούν συνθήκες υψηλής σχετικής υγρασίας και χαμηλής θερμοκρασίας [27]. Η συμμετοχή της στο καφέτιασμα οφείλεται στο γεγονός ότι αυτή διαταράσσει την μεμβράνη της επιφάνειας των μανιταριών, με αποτέλεσμα να επιτρέπεται η επαφή των τυροσινασών με τα υποστρώματά της [5].

Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε από τους Soler-Rivas κ.α. (1997) δύο ευαίσθητα στελέχη και ένα ανθεκτικό στέλεχος σε βακτηριακές κηλίδες μολύνθηκαν με το παθογόνο *P. tolaasii* ή με τολασίνη, αποδείχθηκε ότι τα επίπεδα της τιροσινάσης αυξήθηκαν με την αύξηση της συγκέντρωσης βακτηρίων ή της τοξίνης στο ευαίσθητο στελέχος και παρέμεινε αμετάβλητο στο ανθεκτικό στέλεχος [29]. Για το λόγο αυτό σημαντικό ρόλο παίζει και η επιλογή τους στελέχους πριν την καλλιέργεια.

Άλλοι παθογόνοι μικροοργανισμοί που μπορεί να επηρεάσουν τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των μανιταριών μετασυλλεκτικά είναι το *P. reactans P.gingeri* , οι οποίοι και αυτοί με τη σειρά τους επηρεάζουν το χρώμα [30].

1.5.4 Περιβαλλοντικοί παράγοντες

Διάφοροι εξωγενείς συνθήκες μπορούν να επηρεάσουν την εμφάνιση των μανιταριών και την μετέπειτα εμπορική τους αξία. Στίγματα μπορούν να προκληθούν από τη διαλογή τους κυρίως με μηχανικά μέσα, όπως αναφέρθηκε στην προηγούμενη ενότητα. Αυτό οφείλεται στη διαρραγή της κυτταρικής μεμβράνης, όπου διευκολύνεται και σε αυτή την περίπτωση η επαφή της τυροσίνης με το φαινολικό υπόστρωμα και το O_2 [4, 5].

Η θερμοκρασία αποτελεί έναν από τους πιο σημαντικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες κατά τη συντήρηση. Εάν αποθηκευτούν τα μανιτάρια σε υψηλότερη

θερμοκρασίας από την επιτρεπτή, ενεργοποιούνται οι μηχανισμοί της τυροσινάσης αλλά και της μικροβιακής ανάπτυξης που οδηγούν στο καφέτιασμα [5].

Η σχετική υγρασία του περιβάλλοντος επίσης επηρεάζει το λευκό χρώμα των μανιταριών. Εάν είναι χαμηλή, σημαντική ποσότητα υγρασίας χάνεται από το μανιτάρι και οδηγεί σε αλλοίωση της υφής και ενεργοποίησης των ενζύμων με αποτέλεσμα την επιτάχυνση της αμαύρωσης[5]. Από την άλλη αν η υγρασία ξεπερνά τα επιτρεπτά επίπεδα, τότε υδρατμοί επικάθονται στην επιφάνεια και τα μανιτάρια γίνονται ευάλωτα σε προσβολές μικροοργανισμών, όπως *P.tolaasii* και μυκήτων όπως το *Verticillium fungicola, Trichoderma harzianum* και άλλων[27].

Αναφέρθηκε προηγουμένως η έντονη αναπνευστική δραστηριότητα των μανιταριών. Ο ρυθμός αναπνοής επηρεάζεται από τις συγκεντρώσεις O_2 και CO_2 στην ατμόσφαιρα συντήρησης των μανιταριών. Όσο μειώνεται η συγκέντρωση του O_2 ή/και αυξάνεται αυτή του CO_2 περιορίζονται τα επίπεδα αναπνοής. Ωστόσο όπως αναφέρουν οι Lin και Sun (2019) η συγκέντρωση του CO_2 πρέπει να βρίσκεται σε ποσοστό μικρότερο του 12%, ώστε να αποφεύγονται φυσιολογικές διαταραχές, ενώ η συγκέντρωση του O_2 πρέπει να είναι μεγαλύτερη του 1% για να αποφευχθούν αναερόβιες συνθήκες [5]. Η θερμοκρασία επηρεάζει επίσης σε μεγάλο βαθμό την αναπνοή και πιο συγκεκριμένα υπάρχει εκθετική ανάπτυξη της εκλυόμενης ποσότητας CO_2, ανάλογα με την αύξηση της θερμοκρασίας. Στον παρακάτω πίνακα διακρίνεται ο ρυθμός αναπνοής ανάλογα στις διάφορες θερμοκρασίες αποθήκευσης.

Πίνακας 2: Θερμοκρασιακό καθεστώς και ποσότητα CO_2 αναπνοής [3]

Θερμοκρασία (^oC)	**mg CO_2/kg h**
0	28-44
5	70
10	97
15	-
20	240-288

1.6 Μέθοδοι συντήρησης των *Agaricus bisporus*

Η απώλεια του βάρους, το καφέ χρώμα των ώριμων ή κατεστραμμένων μανιταριών είναι αποτέλεσμα ακατάλληλου τρόπου συντήρησης και διάφορων βιοχημικών και χημικών αντιδράσεων των φαινολικών ενώσεων, όπως της τυροσινάσης και του οξυγόνου. Οι διάφοροι τρόποι αντιμετώπισης που θα αναλυθούν παρακάτω για να είναι αποτελεσματικοί, θα πρέπει να παρεμποδίζουν τους μηχανισμούς δράσης που οδηγούν στο καφέτιασμα και την απώλεια υγρασίας των μανιταριών.

1.6.1 Ψύξη

Αποτελεί ευρεία αποδεκτή μέθοδο για τη διατήρηση των τροφίμων. Τα λευκά μανιτάρια δεν μπορούν να διατηρηθούν για παραπάνω από 3 ημέρες σε θερμοκρασίες γύρω στους 22°C. Η διαπνοή είναι τρεις φορές πιο έντονη στους 10°C συγκριτικά με τους 0°C, η πρόψυξη ακριβώς μετά τη συγκομιδή είναι μια επιβεβλημένη διαδικασία, για την περαιτέρω διατήρησή τους. Μέσω αυτής μειώνεται ο μεταβολισμός και ο κίνδυνος αλλοίωσης πριν την αποθήκευση και μεταφορά τους και διατηρείται κλειστός ο πίλος [17]. Όσο συντομότερα μετά τη συλλογή τους και όσο μεγαλύτερο είναι το διάστημα όπου τα μανιτάρια παραμένουν σε συνθήκες θερμοκρασίες ≈1°C , τόσο πιο πολύ παραμένει το λευκό χρώμα στη σάρκα τους, ακόμα και αν στη συνέχεια αποθηκευτούν σε υψηλότερες θερμοκρασίες.

Διάφοροι τρόποι ψύξης υπάρχουν, όπως αυτή της ριπής με κρύο αέρα, η υδρόψυξη, η ψύξη υπό κενό ή μέσω εξάτμισης, και άλλες [17]. Η ψύξη υπό κενό είναι η πιο συνήθης τεχνική, λόγω του γρήγορου κι ομοιόμορφου αποτελέσματος. Επιτυγχάνεται με μείωση της πίεσης που επιτρέπει στο νερό να εξατμιστεί σε χαμηλότερη θερμοκρασία, η θερμότητα που απαιτείται για την εξάτμιση του νερού παρέχεται από το ίδιο το προϊόν, επομένως η θερμοκρασία του μανιταριού μειώνεται μέσω της διαδικασίας της εξάτμισης. Για την αποφυγή απώλειας της υγρασίας του τελικού προϊόντος μπορεί να γίνει προσθήκη μικρής ποσότητας νερού πριν ή κατά τη διαδικασία. Σύμφωνα με τους Tao κ.α. (2007) σε όσα μανιτάρια εφαρμόστηκε αυτή η μέθοδος, ως μέθοδος πρόψυξης, πριν την αποθήκευσή τους στους 4°C, έδειξε χαμηλή δράση της PPO, χαμηλή οξείδωση των λιπιδίων και παραγωγή ανιόντων υπεροξειδίου που σχετίζεται με την οξείδωση και γήρανση των λιπιδίων της μεμβράνης [5, 31]

Μετά από τη διαδικασία της πρόψυξης χρειάζεται να αποθηκευτούν σε χαμηλές θερμοκρασίες για να παραταθεί η διάρκεια ζωής του προϊόντος, να μειωθεί η μεταβολική διαδικασία και να καθυστερήσει η εμφάνιση της αλλαγής του χρώματος. Για μακρόχρονη αποθήκευση, τα επίπεδα των ενζύμων που σχετίζονται με το καφέτιασμα είναι ανεξάρτητα της θερμοκρασίας, επομένως η ψύξη πρέπει να συνδυάζεται με άλλες μεθόδους συντήρησης [4, 5, 17].

1.6.2 Τροποποιημένη Ατμόσφαιρα (MAP)-Εδώδιμες μεμβράνες

Η χρήση των τροποποιημένων ατμοσφαιρών είναι διαδεδομένη για την επιμήκυνση του χρόνου ζωής των νωπών φρούτων και λαχανικών. Παρόλο που οι εδώδιμοι μύκητες δεν ανήκουν σε καμία από τις παραπάνω κατηγορίες ανταποκρίνονται στη χρήση των τροποποιημένων ατμοσφαιρών για την επιβράδυνση της αμαύρω-

σής τους.

Αντίστοιχα αποτελέσματα στην ποιότητα επιφέρουν και οι εδώδιμες μεμβράνες που δρουν ως εμπόδιο στην επιφάνεια του μανιταριού και παρεμποδίζουν την επίδραση των περιβαλλοντικών παραγόντων και της ενζυματικής αμαύρωσης.

Εκτεταμένη παρουσίαση αυτών των μεθόδων θα γίνει σε επόμενες ενότητες.

1.6.3 Αναστολείς της πολυφαινολικής οξείδωσης

Καθώς η αμαύρωση των φρέσκων λευκών μανιταριών σχετίζεται με τη φαινολοξειδάση (PPO), ένας τρόπος για να καθυστερήσει η αλλοίωση είναι να μειωθεί η δράση της. Αναφέρθηκε μια μέθοδος για διακρίσεις μεταξύ εναλλακτικών υποστρωμάτων και αναστολέων της τυροσινάσης ή PPO, τα οποία προέρχονται από μη καταλυτικά ενδιάμεσα με σύνδεση στη μετ-τυροσινάση ή οξυ-τυροσινάση. Οι αναστολείς αυτοί μπορούν να βρεθούν σε πληθώρα φυσικών και συνθετικών πηγών, όπως είναι φαρμακευτικά φυτά, αλόη και ο κρόκος κοζάνης, αλλά και από σταφύλια τα οποία είναι άγουρα, ή ακόμα και υποκαπνισμός μανιταριών με αιθέρια έλαια γαρίφαλου, κινναμαλδεΰδη και το θυμάρι έδειξε σημαντική καθυστέρηση αμαύρωσης [5, 6].

1.6.4 Άλλες μέθοδοι

Για τη διατήρηση των χαρακτηριστικών των μανιταριών πέραν των προαναφερθέντων έχουν υπάρξει και άλλες μέθοδοι. Μερικές από αυτές είναι η *ακτινοβόληση* (irradiation), όπου ενισχύει την ασφάλεια των τροφίμων, και παρατείνει τη διάρκεια ζωής του προϊόντος εξαλείφοντας τη μικροβιακή ανάπτυξη και τους παράγοντες που μπορεί να προκαλέσουν τροφική δηλητηρίαση. Άλλη νέα μέθοδος είναι η *plasma-actvated water* (PAW), όπου και αυτή αποσκοπεί στην μικροβιακή εξάλειψη [32]. Το *παλμικό φως* (pulsed light) είναι μια τεχνολογία απολύμανσης εγκεκριμένη από την U.S. Food and Drug Administration (FDA, 2015) και είναι σε θέση να απενεργοποιήσει το PPO. Η υψηλή υγρασία αποτρέπει το άνοιγμα του πίλου και τις αλλαγές στην υφή και συνεκτικότητα του μανιταριού γενικότερα. Για το λόγο αυτό προτείνεται ότι τα νωπά λευκά μανιτάρια θα πρέπει να διατηρούνται σε σχετική υγρασία ≈95%. Όλες οι παραπάνω μέθοδοι παρουσιάζουν μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα αν συνδυαστούν με άλλες [5].

Το πλύσιμο των μανιταριών με διαλύματα, όπως EDTA, υπεροξείδιο του υδρογόνου, διοξείδιο του χλωρίου, ερυθορβικό νάτριο και χλωριούχο ασβέστιο έχει αποδειχθεί

ότι προλαμβάνει στο πέρας του χρόνου την ενζυμική αμαύρωση, τη χρωματική αλλοίωση και την ανάπτυξη μικροοργανισμών στα λευκά μανιτάρια, συγκριτικά με το απλό νερό [3, 32, 33].

Εν κατακλείδι οι ιδανικότερες συνθήκες αποθήκευσης των λευκών μανιταριών, σύμφωνα με τα παραπάνω, είναι στους ≈4°C για 5 ημέρες και αν εφαρμοστεί σχετική υγρασία 85-95% εντός του θαλάμου συντήρησης η εμπορική διάρκεια ζωής του προϊόντος μπορεί να επεκταθεί έως και τις 10 ημέρες. Με την εφαρμογή των παραπάνω και με συνδυασμό μεθόδων αντιμετωπίζεται η αφυδάτωση του μανιταριού που είναι άμεσα συνυφασμένη με τη συρρίκνωση του καρποσώματος, το άνοιγμα του πίλου και γενικότερα την ποιοτική του υποβάθμιση [4, 5, 11, 13, 17].

2 ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΕΣ ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΕΣ & ΕΔΩΔΙΜΕΣ ΜΕΜΒΡΑΝΕΣ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

2.1 Συσκευασία τροποποιημένων ατμοσφαιρών (MAP)

Η αλλαγή στον τρόπο διατροφικών συνηθειών των καταναλωτών και η επιλογή τους για φρέσκα, υγιεινά τρόφιμα με αναλλοίωτη γεύση και ποιότητα, αλλά χωρίς τη χρήση χημικών συντηρητικών, έχουν οδηγήσει στην ανάπτυξη εφαρμογών και διάφορων τεχνολογιών που σαν αποτέλεσμα έχουν την εξασφάλιση της διατήρησης αυτών των χαρακτηριστικών.

Η χρήση των τροποποιημένων ατμοσφαιρών (modified air packaging: MAP) αποτελεί μια εναλλακτική μέθοδο συντήρησης που εξυπηρετεί απόλυτα αυτό τον σκοπό και βρίσκει εφαρμογή πλέον σε διάφορα τρόφιμα. Συγκεκριμένα η μελέτη και η ανάπτυξή τους ξεκίνησε στα τέλη του 1950 με την αποθήκευση κρεατοσκευασμάτων και καφέ, ενώ εντατικοποιήθηκε κατά τις δεκαετίες 1970-1980 όπου και ήταν αυξημένο το ενδιαφέρον για τη τροποποίηση των αερίων εντός της συσκευασίας [34].

Πλέον η χρήση των τροποποιημένων ατμοσφαιρών (MAP) αποτελεί αναπόσπαστο κομμάτι της βιομηχανίας τροφίμων. Οι βασικές αρχές που ακολουθούνται είναι:

- να μειώνουν τις ανεπιθύμητες αλλαγές (χημικές, βιοχημικές κ.α) που συμβαίνουν κατά την αποθήκευση των τροφίμων.
- να ελέγχεται η μικροβιακή ανάπτυξη που μπορεί να οδηγήσει σε αλλοίωση
- και όπως κάθε άλλη τεχνική συσκευασίας να παρέχει προστασία από οποιαδήποτε μόλυνση. [34]

2.1.1 Διαχωρισμός

Οι συσκευασίες διαχωρίζονται σε αυτές που ο αποβάλλεται ο ατμοσφαιρικός αέρας εντελώς **(vacuum packaging)** και σε αυτές που εντός της συσκευασίας υπάρχει μείγμα αερίων που επιλέγεται με βάση τις ανάγκες συντήρησης του εκάστοτε τροφίμου **(gas packaging)** [34, 35].

Στην αρχική περίπτωση τα τρόφιμα προστατεύονται από αλλοιώσεις που ενδέχεται να προκληθούν από τη δραστηριότητα αερόβιων μικροοργανισμών, με αποτέλεσμα να αυξάνεται η περίοδος συντήρησής τους. Τα μειονεκτήματα αυτής της

συσκευασίας είναι ότι χρειάζεται προσοχή, ιδιαίτερα στις θερμοκρασίες συντήρησης, καθώς σε υψηλές θερμοκρασίες μπορεί να αναπτυχθούν επιβλαβείς αναερόβιοι μικροοργανισμοί. Για το λόγο αυτό συνήθως η συσκευασία αυτή αποθηκεύεται σε θαλάμους με ψύξη. Επίσης λόγω του ότι εντός της συσκευασίας η συμπίεση είναι αναπόφευκτη δεν ενδείκνυται για αρκετά ευαίσθητα τρόφιμα [34].

Για να αντιμετωπιστούν τα προβλήματα που προκαλούνται από τη συσκευασία κενού, μελετήθηκε η περίπτωση αλλαγής της σύστασης των αερίων της ατμόσφαιρας εντός της συσκευασίας συντήρησης. Η ατμόσφαιρα μπορεί να διαφοροποιηθεί είτε παθητικά, είτε ενεργά μέσω της έγχυσης επιλεγμένου μείγματος αερίων [34, 35].

Γενικά τα gas packaging διακρίνονται στις ακόλουθες συσκευασίες [36]:

Τροποποιημένη Ατμόσφαιρα (MAP)
Η αντικατάσταση του αέρα εντός της συσκευασίας από διαφορετικό μείγμα αερίων, όπου η αναλογία κάθε συστατικού είναι σταθερή όταν το μείγμα εισέρχεται, αλλά δεν υπάρχει περαιτέρω έλεγχος κατά την αποθήκευση.

Ελεγχόμενη ατμόσφαιρα (CAP)
Στη συγκεκριμένη συσκευασία η σύσταση των αερίων συνεχώς ελέγχεται καθ' όλη τη διάρκεια της αποθήκευσης. Αυτή η τεχνική χρησιμοποιείται πρωτίστως για τη μαζική αποθήκευση προϊόντων και απαιτεί συνεχή παρακολούθηση και ηλεκτρονικό έλεγχο της σύνθεσης του αερίου.

Ισορροπημένης-Τροποποιημένης ατμόσφαιρας (EMAP)
Συνήθως χρησιμοποιείται για φρούτα και λαχανικά. Αυτά συσκευάζονται είτε με ειδικό μείγμα αέρα, είτε με απ' ευθείας σφράγισμα χωρίς τροποποίηση στην ατμόσφαιρα. Η αναπνοή του προϊόντος (κατανάλωση O_2, έκλυση CO_2) σε συνδυασμό με τη διαπερατότητα του υλικού συσκευασίας στα διάφορα αέρια (O_2, CO_2) οδηγούν στην τροποποίηση και εξισορρόπηση της αέριας σύστασης εντός της συσκευασίας.

Ο ρυθμός μεταβολής και η τελική αέρια σύσταση εντός της συσκευασίας εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό τόσο από το ίδιο προϊόν όσο και από τη διαπερατότητα του υλικού συσκευασίας [34]. Τα περισσότερα φρούτα και λαχανικά, συμπεριλαμβανομένων και τα μανιτάρια, συνεχίζουν τις χημικές και βιοχημικές τους διαδικασίες ακόμα και μετά τη συγκομιδή. Για παράδειγμα κατά τη διαδικασία της αναπνοής καταναλώνουν οξυγόνο και απελευθερώνουν διοξείδιο του άνθρακα, ενώ κατά τη συντήρηση συμβαίνουν και διάφορες άλλες οξειδωτικές αντιδράσεις με αποτέλεσμα να παρατηρείται σε μεγάλο βαθμό μείωση του οξυγόνου και αντίστοιχη αύξηση του διοξειδίου του άνθρακα [37].

Η περατότητα της συσκευασίας που επιλέχθηκε και η ικανότητά ανταλλαγής των αερίων με το περιβάλλον, διαμορφώνουν την τελική σύσταση των αερίων εντός της συσκευασίας. Αν γίνει χρήση αδιαπέρατης συσκευασίας, όπως γυάλινης, μεταλλικής ή πιο σκληρής πλαστικής μεμβράνης, η παραγωγή ή η κατανάλωση των αερίων θα διαμορφώσουν την τελική σύσταση, ενώ σε περίπτωση περατής συσκευασίας γίνεται ανταλλαγή αερίων με την ατμόσφαιρα, με αποτέλεσμα η σύνθεση του εντός της συσκευασίας να τροποποιείται περαιτέρω και τελικώς να διαφέρει μεταξύ τους [34, 38].

Το κυριότερο μειονέκτημα της παθητικής ανταλλαγής είναι ότι απαιτείται μεγάλο χρονικό διάστημα ώστε να επιτευχθεί η επιθυμητή ατμόσφαιρα εντός της συσκευασίας και ενδεχομένως να οδηγήσει σε μη επιθυμητά επίπεδα O_2, CO_2, C_2H_4 ή άλλων αερίων, εν αντιθέσει με την προσθήκη επιλεγμένου μείγματος αερίων [34].

Τα κυριότερα αέρια που χρησιμοποιούνται και εφαρμόζονται στην τεχνολογία των MAP είναι O_2, CO_2 και το N_2 και το κάθε ένα από αυτά έχει συγκεκριμένη λειτουργία δράσης.

- **Οξυγόνο (O_2)**

Γενικά το οξυγόνο αποφεύγεται να χρησιμοποιείται σε μεγάλες συγκεντρώσεις σε πληθώρα τροφίμων, καθώς αποτελεί έναυσμα για διάφορες οξειδωτικές αντιδράσεις που επιφέρουν τελικώς την αλλοίωση τους. Επίσης η ύπαρξή του μπορεί να οδηγήσει σε ανάπτυξη διάφορων αερόβιων μικροοργανισμών όπως είναι τα γένη των *Pseudomonas, Psychrobacter, Acinetobacter, Bacillus* , αλλά και στην ανάπτυξη προαιρετικά αερόβιων μικροοργανισμών όπως *Lactobacillus, Corynebacterium, Enterobacter*, όπου άμεσα ή μέσω των μεταβολικών τους προϊόντων μπορούν να προκαλέσουν πέρα από την αλλοίωση των τροφίμων και τροφικές δηλητηριάσεις αν δεν ακολουθηθούν οι κατάλληλες διαδικασίες ελέγχου [38].

Από τη άλλη η παρουσία του είναι απαραίτητη κυρίως για τα φρούτα και τα λαχανικά, όπως προαναφέρθηκε, καθώς αυτά συνεχίζουν τη διαδικασία της αναπνοής, ενώ η απουσία του προκαλεί αναερόβιες αντιδράσεις και επιταχύνει την αλλοίωση των προϊόντων. Επίσης οι αναερόβιοι μικροοργανισμοί *(Clostridium)* που μπορεί να αναπτυχθούν είναι εξίσου επικίνδυνοι [38].

- **Διοξείδιο του άνθρακα (CO_2)**

Το διοξείδιο του άνθρακα επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό τα ζωντανά κύτταρα, καθώς αποτελεί σημαντικό παράγοντα για την ανάπτυξη και την επιβίωσή τους, κάτω

όμως από τις κρίσιμες συγκεντρώσεις για τον κάθε οργανισμό.

Αποτελεί ένα ευδιάλυτο αέριο είτε σε νερό είτε σε λιπαρές ουσίες και η διαλυτότητά του αυξάνεται ανάλογα με την μείωση της θερμοκρασίας. Παρεμποδίζει την ανάπτυξη βακτηρίων και μυκήτων, καθώς και την αναπνοή σε πολλά προϊόντα. Το CO_2 επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό το pH εντός του κυττάρου, αλλά και την κυτταρική μεμβράνη, ενώ αναστέλλει την δράση των ενζυματικά καταλυόμενων αντιδράσεων [36].

Σύμφωνα με τους Jones κ.α (1982) οι συγκεντρώσεις τόσο του CO_2 όσο και του HCO_3^- επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό την καθυστέρηση της ανάπτυξης μικροοργανισμών και κυρίως των ζυμών καθώς και αυτών του γένους *Pseudomonas*, οι οποίοι επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό την ποιότητα και την εμφάνιση των λευκών μανιταριών [39].

- **Άζωτο (N_2)**

Το άζωτο αποτελεί ένα αδρανές και άγευστο αέριο, χωρίς αντιμικροβιακή δράση και είναι σχετικά αδιάλυτο στο νερό. Στη βιομηχανία χρησιμοποιείται κυρίως για να αντικαταστήσει το οξυγόνο εντός της συσκευασίας, ώστε να κρατά τη συσκευασία στην αρχική της φόρμα και να μην "καταρρέει" και αλλοιώνει εμφανισιακά το προϊόν [34].

2.1.2 Εφαρμογές στα τρόφιμα

Η χρήση των συσκευασιών με τροποποίηση των αερίων εφαρμόζεται σχεδόν σε όλα τα τρόφιμα. Υπάρχουν κατάλληλες συσκευασίες και μέθοδοι που σκοπό έχουν να διατηρήσουν τα ποιοτικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά αναλλοίωτα, αλλά και να είναι προσιτά προς το καταναλωτικό κοινό.

Στα κρεατοσκευάσματα, στα τυροκομικά, στα ψάρια και θαλασσινά, στα φρούτα και λαχανικά πλέον γίνεται ευρεία χρήση τους και οι ενδεικτικές τιμές για τη συγκέντρωση του O_2 και του CO_2 φαίνονται συγκεντρωτικά στον παρακάτω Πίνακα 3:

Πίνακας 3: Προτεινόμενες συνθήκες για MAP σε διάφορα είδη προϊόντων [8]

Κατηγορία τροφίμου	Θερμοκρασιακό εύρος(°C)	O_2(%)	CO_2(%)
Τυριά:			
Σκληρά τυριά	1-4	0	100
Μαλακά τυριά	1-4	0	20-40
Φρούτα:			
Μήλο	0-5	2-3	1-5
Μήλο σε φέτες	0-5	10-12	8-11
Μπανάνα	12-15	2-5	2-5
Αβοκάντο	10-15	2-5	3-10
Φράουλα	0-5	10	15-20
Κρέατα:			
Μοσχάρι	-1-2	60-80	20-14
Χοιρινό	-1-2	30	30
Πουλερικά	-1-2	0	25-25
Λαχανικά:			
Ντομάτες	12-20	3-5	0
Μανιτάρια	0-5	21	10-15
Μπρόκολο	0-5	1-2	5-10
Σπανάκι	0-5	21	10-20

2.1.3 Υλικά συσκευασίας

Τα υλικά συσκευασίας που χρησιμοποιούνται συνήθως είναι μεταλλικά και γυάλινα δοχεία και κυρίως πλαστικές μεμβράνες. Οι τύποι αυτοί παρουσιάζουν διαφορετική αντίσταση στην ανταλλαγή των αερίων μεταξύ συσκευασίας και περιβάλλοντος, καθώς και στις διακυμάνσεις της πίεσης και θερμοκρασίας.

Τα μεταλλικά και γυάλινα δοχεία χρησιμοποιούνται για κονσερβοποίηση κυρίως και δεν επιτρέπουν την ανταλλαγή των αερίων της συσκευασίας, παρόλα αυτά δεν αποτελούν την ιδανική λύση για τη βιομηχανία φρέσκων φρούτων και λαχανικών, όπως είναι και τα νωπά λευκά μανιτάρια, λόγω πολλών μειονεκτημάτων που παρουσιάζουν συγκριτικά με τις πλαστικές εύκαμπτες συσκευασίες [40].

Ιδανικότερη λύση αποτελεί η χρήση **εύκαμπτων** πλαστικών μεμβρανών κυρίως από πολυαιθυλένιο, πολυπροπυλένιο, πολυαμίδιο κ.α. Αυτές είτε χρησιμοποιούνται μονοστρωματικά, είτε σε συνδυασμό στρωμάτων, που μέσα από μελέτες έχει αποδειχθεί ότι εξασφαλίζουν τις ιδανικότερες συνθήκες για το εκάστοτε τρόφιμο με το χαμηλότερο δυνατό κόστος [41].

Οι ιδιότητες που πρέπει να παρουσιάζουν οι πλαστικές μεμβράνες που χρησιμοποιούνται κυρίως στα νωπά προϊόντα είναι να εξασφαλίζουν περατότητα του οξυγόνου και του διοξειδίου του άνθρακα εντός της συσκευασίας ώστε να αυξά-

νεται η διάρκεια ζωής τους, στεγανότητα και ευκαμψία [41].

Στην εργασία αυτή διερευνήθηκαν και συγκρίθηκαν δύο διαφορετικά είδη πλαστικών μεμβρανών. Η μία ήταν η εύκαμπτη πλαστική μεμβράνη από πολυαιθυλένιο (PE) και η δεύτερη ήταν πολύ-στρωματική μεμβράνη πολυαμιδίου (PA)-πολυαιθυλενίου (PE) (PAPE). Στη συσκευασία των μανιταριών η μεμβράνη από PE είναι αυτή που χρησιμοποιείται κατά κόρον, καθώς έχει χαμηλότερο κόστος και επιτρέπει την μερική ανταλλαγή των αερίων μεταξύ συσκευασίας και περιβάλλοντος. Από την άλλη η συσκευασία από PAPE είναι υψηλότερου κόστους, αλλά παρουσιάζει περισσότερα πλεονεκτήματα. Μερικά από αυτά είναι η μεγαλύτερη αντοχή της, λόγω των αυξημένων μηχανικών ιδιοτήτων της, η δυνατότητα εξισορρόπησης της υγρασίας και των διάφορων αερίων εντός της συσκευασίας, λόγω του περιορισμού της ανταλλαγής και παρατηρείται ότι αυτή σφραγίζει καλύτερα συγκριτικά με την προηγούμενη, προσφέροντας έτσι μεγαλύτερο έλεγχο και ασφάλεια κατά τη διατήρηση [41].

2.2 Εδώδιμες μεμβράνες

Εναλλακτικός τρόπος συντήρησης των τροφίμων αποτελούν και οι εδώδιμες μεμβράνες, η εφαρμογή των οποίων έχει ως στόχο να προσφέρουν προϊόντα σύμφωνα με τις απαιτήσεις των καταναλωτών, με παράταση της διάρκειας ζωής των τροφίμων και με κύριο γνώμονα την ασφάλεια αλλά και την προστασία του περιβάλλοντος, μειώνοντας αισθητά τον αντίκτυπο που προκαλεί η πλαστική συσκευασία των MAP.

Αναφορές σχετικά με την εφαρμογή των εδώδιμων μεμβρανών φαίνεται να υπάρχουν από το 1800, με πιο εξειδικευμένες πατέντες εφαρμογής τους σε φρούτα, λαχανικά και αργότερα σε κρέατα και θαλασσινά να εμφανίζονται στη δεκαετία του ’50 [10].

Οι εδώδιμες μεμβράνες παράγονται από εδώδιμα πολυμερή και πρόσθετα τροφίμων. Τα πολυμερή μπορεί να είναι πρωτεϊνικής φύσεως, διάφοροι πολυσακχαρίτες και λιπίδια ή και μείγματα αυτών [42]. Για να τροποποιηθούν οι φυσικές ιδιότητες της μεμβράνης συνδυάζονται με διάφορες άλλες ουσίες όπως είναι οι πλαστικοποιητές [43].

Εφαρμόζοντας τις μεμβράνες αυτές στην επιφάνεια των τροφίμων ελέγχονται διάφορες φυσικοχημικές διεργασίες, όπως η αναπνοή, η οξείδωση συστατικών και η μικροβιακή ανάπτυξη που επηρεάζουν αρνητικά διάφορα ποιοτικά χαρακτηριστικά [8].

2.2.1 Χαρακτηριστικά

Για να χρησιμοποιηθούν οι εδώδιμες μεμβράνες πρέπει να εμφανίζουν τις παρακάτω ιδιότητες [44]:

Παρεμπόδισης

Η ποιότητα των περισσότερων προϊόντων διατροφής επιδεινώνεται μέσω φαινομένων μαζικής μεταφοράς, συμπεριλαμβανομένων της απορρόφησης ή απώλειας υγρασίας και ελαίων, της οξείδωσης ορισμένων συστατικών, της απώλειας γεύσης, την απορρόφηση ανεπιθύμητων οσμών και την μετανάστευση συστατικών από τα πλαστικά υλικά συσκευασίας.

Μία από τις λειτουργίες της μεμβράνης είναι να ενεργεί ως εμπόδιο που διαχωρίζει και προστατεύει το προϊόν από την έκθεση του στο περιβάλλον. Με αυτό τον τρόπο δημιουργείται μια προστατευτική επιφάνεια που αποτρέπει την ανάπτυξη διάφορων παθογόνων μικροοργανισμών, την ελάττωση της υγρασίας του προϊόντος και την ανταλλαγή διάφορων συστατικών με το περιβάλλον, όπως είναι το οξυγόνο και άλλα αέρια, λίπη ή έλαια.

Βελτίωσης

Κάνοντας χρήση αυτών των εδώδιμων μεμβρανών δίνεται η δυνατότητα μέσα από την προσθήκη ορισμένων συστατικών να βελτιστοποιηθεί το παραγόμενο προϊόν και να κεντρίσει περισσότερο το καταναλωτικό ενδιαφέρον. Για παράδειγμα η εφαρμογή των μεμβρανών σε διάφορα φρούτα και λαχανικά ελαττώνει τη διαδικασία της αναπνοής τους και αποτρέπει το ενζυμικό τους καφέτιασμα, ενώ στα κρεατοσκευάσματα και στα θαλασσινά αποφεύγεται η οξείδωση. Ακόμη μία εφαρμογή των μεμβρανών είναι η αποφυγή της "μετανάστευσης" ουσιών και υγρασίας από τα διαφορετικά συστατικά που απαρτίζουν ένα έτοιμο προς κατανάλωσή τρόφιμο κυρίως, όπως για παράδειγμα είναι οι πίτες με γέμιση [8]. Στις εδώδιμες μεμβράνες μπορούν να ενσωματωθούν συστατικά με αντιοξειδωτικές και αντιμικροβιακές ιδιότητες, διάφορες χρωστικές και αρωματικές ενώσεις, καθώς και θρεπτικά συστατικά όπως είναι ορισμένες βιταμίνες.

Πλεονέκτημα των εδώδιμων μεμβρανών αποτελεί η ενίσχυση των μηχανικών ιδιοτήτων των ευαίσθητων τροφίμων όπως είναι οι φράουλες, τα κεράσια και τα μανιτάρια κατά την μεταφορά και συντήρησή τους, εξασφαλίζοντας και παρατείνοντας την εμπορική τους διάθεση [8].

Παρόλα αυτά επειδή μια εδώδιμη μεμβράνη κατασκευάζεται για να καταναλώνεται μαζί με το προϊόν η χρήση και η δόση των επιπρόσθετων συστατικών υπόκειται σε κανονισμούς που επιβάλλεται να ακολουθούνται [45].

2.2.2 Διαχωρισμός των εδώδιμων μεμβρανών

Οι μεμβράνες διαχωρίζονται σε τέσσερις κύριες κατηγορίες, ανάλογα με το υλικό που χρησιμοποιείται για την παρασκευή τους [46].

Πρωτεΐνες
Η πιο συνηθισμένη χρησιμοποιούμενη πρωτεΐνη για την παραγωγή εδώδιμων μεμβρανών είναι η ζελατίνη. Επίσης χρησιμοποιούνται πρωτεΐνες όπως η καζεΐνη η γλουτένη, αυτές που προέρχονται από σιτάρι, καλαμπόκι, σόγια και ξηρούς καρπούς.

Οι πρωτεϊνικές μεμβράνες σχηματίζονται γενικά από διαλύματα ή διασπορά της πρωτεΐνης καθώς ο διαλύτης εξατμίζεται. Συνηθισμένος διαλύτης είναι το νερό ή αιθανόλη ή συνδυασμός των δύο. Οι πρωτεΐνες προσδίδουν αντιμικροβιακή δράση στην μεμβράνη και δεν επιτρέπουν την εναλλαγή οξυγόνου, όμως παρουσιάζουν ευαισθησία στην υγρασία.

Λιπίδια
Οι λιπιδικές μεμβράνες μπορούν να λειτουργήσουν αποτελεσματικά ως φράγμα υγρασίας λόγω της σχετικής χαμηλής πολικότητάς τους και της υδρόφοβης φάσης τους. Σχηματίζουν όμως εύθραυστα φιλμ στην επιφάνεια των τροφίμων και για το λόγο αυτό πρέπει να συνδυάζονται και με κάποιον πολυσακχαρίτη, προκειμένου να αποκτήσουν μηχανική αντοχή. Οι κηροί και οι παραφίνες αποτελούν τις πιο ευρείς χρησιμοποιούμενες ομάδες λιπιδικών εδώδιμων φιλμ και συνήθως εφαρμόζονται σε φρέσκα λαχανικά και φρούτα αλλά και σε τυροκομικά είδη.

Υδροκολλοειδή
Τα υδροκολλοειδή είναι μακρομοριακες οργανικές ενώσεις που έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν πολλά μόρια νερού με αποτέλεσμα την αύξηση του ιξώδους στο τρόφιμο. Λόγο αυτής της ιδιότητας πολλές φορές χαρακτηρίζονταν ως πηκτικά, ενώ σε αρκετές περιπτώσεις χρησιμοποιούνται ως σταθεροποιητές σε ορισμένες κατηγορίες τροφίμων.

Αποτελούν την πιο διαδεδομένη ομάδα για τη χρήση των εδώδιμων μεμβρανών και συμπεριλαμβάνονται ουσίες όπως η κυτταρίνες, πηκτίνες, εκχυλίσματα φυκιών, διάφορα κόμμεα και προϊόντα μικροβιακής ζύμωσης. Παρουσιάζουν ικανοποιητικά αποτελέσματα όσον αφορά την μείωση της υγρασίας από τα τρόφιμα, λόγω των υδρόφιλων χαρακτηριστικών τους. Οι δομές που σχηματίζουν οι πολυσακχαρίτες είναι πιο περίπλοκες συγκριτικά με αυτές των πρωτεϊνών και παρουσιάζουν μεγάλη σταθερότητα εξ' αιτίας των δεσμών υδρογόνου που αναπτύσσονται μεταξύ των μορίων [8].

Σύνθετες
Τα εδώδιμα πολυμερή μπορεί να συνδυάζουν τις παραπάνω κατηγορίες. Αυτός ο συνδυασμός ενισχύει τα λειτουργικά χαρακτηριστικά των κατηγοριών και δημιουργούνται με αυτό τον τρόπο ανώτερης ποιότητας μεμβράνες. Αυτές εφαρμόζονται είτε με τη μορφή γαλακτώματος, εναιωρήματος ή διασποράς των μη αναμίξιμων συστατικών, είτε σε διαδοχικές στιβάδες (επικάλυψη πολλών στρώσεων ή μεμβράνες), ή με τη μορφή διαλύματος σε κοινό διαλύτη. Ανάλογα με τη μέθοδο εφαρμογής επηρεάζει τις ιδιότητες φραγμού των λαμβανόμενων μεμβρανών.

Για την παραγωγή των μεμβρανών υπάρχει πληθώρα επιλογών από διάφορα συστατικά. Η επιλογή αυτή βασίζεται κυρίως στις ανάγκες των τροφίμων και για την εφαρμογή τους κρίνεται απαραίτητο να ληφθούν υπόψιν οι ιδιότητες των συστατικών αυτών. Στον παρακάτω πίνακα 4 παρατίθενται ορισμένα από τα υλικά που μπορούν να εφαρμοστούν στην παραγωγή των εδώδιμων φιλμ και τί αυτά επηρεάζουν.

Πίνακας 4: Συνοπτική παρουσίαση μερικών εδώδιμων μεμβρανών και η δράση τους [9]

Δράση	Συστατικό
Αντιμικροβιακή	Σορβικό κάλιο
	Χιτοζάνη
	Ναταμυκίνη με χιτοζάνη
	Σορβικό κάλιο
	Σορβικό οξύ, βενζοϊκό οξύ, βενζοϊκό νάτριο, Νικίνες, πεντικίνη
Επέκταση διάρκειας ζωής	Χιτοζάνη
Διατήρηση σταθερότητας ιστών	Χιτοζάνη
Μείωση του ρυθμού αναπνοής	Χιτοζάνη
Αντιμικροβιακά και αντιοξειδωτικά	Αιθέρια έλαια

2.2.3 Πρόσθετα

Στις περιπτώσεις που οι εδώδιμες μεμβράνες δημιουργούνται από πολυσακχαρίτες και πρωτεΐνες κρίνεται απαραίτητο να προστεθούν και διαφόρων ειδών πλαστικοποιητές. Οι μεμβράνες αυτές είναι συχνά εύθραυστες και άκαμπτες λόγω εκτεταμένων αλληλεπιδράσεων μεταξύ πολυμερών μορίων. Οι πλαστικοποιητές είναι χαμηλού μοριακού βάρους και ενσωματώνονται στην μεμβράνη ώστε να ενισχυθεί η θερμοπλαστικότητα των πολυμερών και να βελτιστοποιηθεί η ευελιξία και η ελαστικότητα κατά την εφαρμογή της στα διάφορων ειδών τρόφιμα. Ακόμα επηρεάζει και την περατότητα των μεμβρανών σχετικά με τους ατμούς και τα αέρια μεταξύ τροφίμου και περιβάλλοντος [8, 43, 47].

Οι πλαστικοποιητές αυξάνουν τον ελεύθερο όγκο των πολυμερικών δομών ή της μοριακής κινητικότητας και παρουσιάζουν υδρόφιλα και υδροσκοπικά χαρακτηριστικά. Σύμφωνα με τους Sothornvit και Krochta (2001) οι πλαστικοποιητές διακρίνονται κυρίως σε δύο κατηγορίες [47]:

1. σε αυτούς που σχηματίζουν δεσμούς που αντιδρούν με τα πολυμερή και διακόπτουν τους δεσμούς τους, ώστε να σχηματίζονται μεγαλύτερες αποστάσεις μεταξύ των πολυμερικών αλυσίδων.

2. παράγοντες που μπορούν να αλληλεπιδρούν με μεγάλες ποσότητες νερού για να συγκρατούν περισσότερο τα μόρια του νερού μπορούν να οδηγήσουν σε υψηλότερη περιεκτικότητα σε υγρασία και μεγαλύτερη υδροδυναμική ακτίνα.

Συγκριτικό πλεονέκτημα αυτών των μεμβρανών από ότι των πλαστικών MAP, είναι ότι μπορούν να προστεθούν σε αυτές συστατικά τα οποία ενισχύουν τα χαρακτηριστικά των προϊόντων. Πρόσθετα όπως τα αντιοξειδωτικά, αντιμικροβικά συστατικά, ενισχυτικά χρώματος και γεύσεως βελτιώνουν και εξασφαλίζουν ποιοτικά και ασφαλή τρόφιμα [8]. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, όλα τα συστατικά που προστίθενται στις μεμβράνες πρέπει να χαρακτηρίζονται ασφαλή για την ανθρώπινη κατανάλωση (GRAS: generaly recognised as safe), μερικά παραδείγματα αυτών και των ιδιοτήτων τους αναφέρονται στον παρακάτω Πίνακα (5).

Πίνακας 5: Διάφορα πρόσθετα και μερικές από τις ιδιότητές τους [10]

Λειτουργικότητα	Πρόσθετο τροφίμων	GRAS/GMP status*
Αντιμικροβιακός παράγοντας	Βενζοικό οξύ	•
	Προπιονικό οξύ	•
	Σορβικό Κάλιο	•
	Βενζοϊκό νάτριο	•
Αντιοξειδωτική	Σορβικό οξύ	•
	Ασκορβικό οξύ	•
	Παλμιτικό ασκορβύλιο	•
	Βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη	•
	Βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο	•
	Κιτρικό οξύ	•
Συστατικά επίστρωσης	Προπυλικός εστέρας	•
	Τοκοφερόλες	•
	Χλωριούχο ασβέστιο (ως ενισχυτής συνεκτικότητας)	•
	Γλυκερόλη (πλαστικοποιητής)	•
	Πολυαιθυλενογλυκόλη (συνδετικό, πλαστικοποιητής)	–
	Προπυλενογλυκόλη (πλαστικοποιητής)	–
	Σιλικόνη (παράγοντας απελευθέρωσης)	–
	Σορβιτόλη (πλαστικοποιητής)	–

*GRAS: Generally Recognised As Safe, GMP: Good Manufacturing Practice

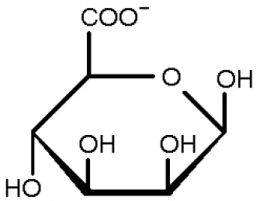
2.2.4 Τρόποι σχηματισμού και εφαρμογής των μεμβρανών

Υπάρχουν δύο διαφορετικοί τρόποι για τη διαδικασία παραγωγής των μεμβρανών. Η μία είναι η "ξηρή" διαδικασία, όπου δε γίνεται χρήση υγρών διαλυτών, όπως είναι το νερό ή αλκοόλη. Σε αυτή την περίπτωση εφαρμόζεται θέρμανση στα υλικά

για την μορφοποίηση της μεμβράνης, σε υψηλότερο σημείο από αυτό του σημείου τήξεως, προκαλώντας έτσι την ρευστοποίησή τους. Για το λόγο αυτό είναι απαραίτητη η γνώση των θερμοπλαστικών ιδιοτήτων του υλικού καθώς και των υπόλοιπων που προστίθενται, ώστε να προσδιορίζεται με ακρίβεια η διαδικασία της εφαρμογής [8].

Από την άλλη στην "υγρή" διαδικασία χρησιμοποιούνται διαλύτες για τη διασπορά των υλικών. Η επιλογή των διαλυτών παίζει σημαντικό ρόλο για την παραγωγή της μεμβράνης, καθώς πρέπει κυρίως να διαλύει τα συστατικά της μεμβράνης και δευτερευόντως να είναι κατάλληλη προς βρώση αλλά και βιοαποικοδομήσιμη. Πέρα από τα πολυμερή και τα πρόσθετα θα πρέπει να διαλύονται και να ομογενοποιούνται επαρκώς στο διαλύτη που έχει επιλεγεί. Η εφαρμογή του γίνεται συνήθως με ψεκαστήρα, ή διασκορπιστή ή κύλινδρο εμβάπτισης και πρέπει η επικάλυψη να είναι ομοιόμορφη σε όλη την επιφάνεια του τροφίμου.

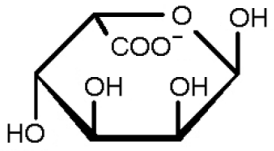
2.2.5 Αλγινικό



β-D-mannuronate (M)

Σχήμα 6: Δομή M μονομερούς

Η παραγωγή εδώδιμης μεμβράνης από αλγινικό αφορά και την παρούσα εργασία. Παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον ως συστατικό επικάλυψης τροφίμων, λόγω κυρίως των μοναδικών ιδιοτήτων του που περιλαμβάνουν την πάχυνση, τη σταθεροποίηση των γαλακτωμάτων, την παραγωγή και το σχηματισμό μεβρανών και γέλης [48]. Επίσης είναι μη τοξικό, βιοαποικοδομήσιμο και έχει χαμηλή τιμή [49]. Λαμβάνοντας υπόψιν τα παραπάνω καθώς και ότι η διαθεσιμότητα του ως φυσικό προϊόν είναι μεγάλη, έχει ενδιαφέρον να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή εδώδιμων μεμβρανών.



α-L-guluronate (G)

Σχήμα 7: Δομή G μονομερούς

Το αλγινικό προέρχεται από τα καφέ φύκια της κλάσης των *Phaephyceae (Laminaria digitata και Ascophyllum nodosum)*, όπου και μπορεί να απομονωθεί από κυτταρικά τοιχώματα που υπάρχουν ως άλατα ασβεστίου, μαγνησίου και νατρίου του αλγινικού οξέος. Το αλγινικό είναι ένας γραμμικός ανιονικός υδατοδιαλυτός πολυσακχαρίτης που αποτελείται από μονομερείς μονάδες (1,4)-β-D-μανουρονικού οξέος (M) and α-L-γλουκορονικού οξέος (G), τα οποία είναι διατεταγμένα σε ομοπολυμερείς περιοχές των M, G μορίων και σε διάσπαρτες περιοχές εναλλασσόμενων MG. Συντίθεται ακόμα σε μικρότετρες ποσότητες από ορισμένους μικροοργανισμούς, όπως *Azotobacter vinelandii* και *Pseudomonas* [49] Στις εικόνες 6,7 διακρίνονται τα μονομερή M,G.

Οι μεμβράνες που δημιουργούνται από την εξάτμιση του νερού από μια λεπτή στρώση αλγινικού διαλύματος, είναι αδιαπέρατες σε έλαια και λίπη και παρουσιάζουν ορισμένη περατότητα σε υδρατμούς [42]. Ως πρόσθετο τροφίμων για την παραγωγή των εδώδιμων μεμβρανών το αλγινικό αναφέρεται ως E400-404. Από βιβλιογραφικές αναφορές είναι διαδεδομένη η χρήση του σε διαφόρων ειδών τρόφιμα. Ενδεικτικά παραδείγματα αποτελούν τα φρούτα και τα λαχανικά όπως είναι το μπρόκολο, τα κομμένα μήλα, ο ανανάς και διάφορα τροπικά φρούτα καθώς και σε διάφορα είδη μανιταριών (*Agaricus, Shiitake*), ενώ ευρεία εφαρμογή έχει σε κρέατα και παρασκευάσματα από αυτά, θαλασσινά και έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα. Σε όλες τις περιπτώσεις αναφέρεται ότι η μεμβράνη αλγινικού επιβράδυνε σε μεγάλο βαθμό την ποιοτική υποβάθμιση του προϊόντος είτε από την μικροβιακή ανάπτυξη, όπως είναι η ανάπτυξη της *Listeria monosytogenes* σε αλλαντικά γαλοπούλας, είτε από τις φυσικοχημικές διεργασίες που λαμβάνουν χώρα, όπως η απώλεια υγρασίας και συνεκτικότητας ή επιβράδυνση του ενζυμικού καφετιάσματος σε φρεσκοκομμένα φρούτα [49].

Κατά την παραγωγή της αλγινικής μεμβράνης δίνεται η δυνατότητα στο χρήστη η προσθήκη συστατικών που θα προσδώσουν επιπλέον χαρακτηριστικά, όπως και προαναφέρθηκε. Αντιμικροβιακές και αντιοξειδωτικές ουσίες όπως είναι διάφορα αιθέρια έλαια και εκχυλίσματα φυτικών ιστών επιλέγονται για την περαιτέρω συντήρηση των τροφίμων. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η προσθήκη εκχυλίσματος από **εξωκάρπιο αμυγδάλου**. Το εξωκάρπιο αποτελεί ένα αγροτικό απόβλητο και μέσω αυτής της δοκιμής θα μπορούσε να αξιοποιηθεί και να βρει εφαρμογή για την ανάπτυξη νέων προϊόντων.

Οι αντιοξειδωτικές ουσίες αποτελούν χρήσιμες ενώσεις, τόσο για τη συντήρηση των τροφίμων, όσο και για τον άνθρωπο. Ως αντιοξειδωτικό θεωρείται κάθε ουσία η οποία σε μικρές ποσότητες είναι ικανή να αποτρέψει ή να καθυστερήσει την οξείδωση ενός ευοξείδωτου υποστρώματος [50]. Τα τρόφιμα διαθέτουν αντιοξειδωτικά συστήματα για την προστασία τους από τη δράση των ελευθέρων ριζών και ενεργών μορφών οξυγόνου (Reactive Oxygen Species: ROS), στα οποία συμπεριλαμβάνονται λιποδιαλυτές αντιοξειδωτικές ενώσεις (τοκοφερόλες, καροτινοειδή), υδατοδιαλυτές αντιοξειδωτικές ενώσεις (γλουταθειόνη, ασκορβικό οξύ, φαινολικές ουσίες), καθώς και διάφορα ένζυμα (υπεροξειδική δισμουτάση, καταλάση, ασκορβική υπεροξειδάση κλπ). Από την άλλη όταν καταναλώνονται από τους ανθρώπους μειώνουν σημαντικά τα επίπεδα της LDL χοληστερόλης και γενικότερα έχουν ευεργετική επίδραση στον οργανισμό προστατεύοντάς τον από διάφορους κινδύνους. Τα αμύγδαλα, αλλά και οι φλοιοί τους βιβλιογραφικά αναφέρεται πως έχουν πληθώρα αντιοξειδωτικών σε μεγάλες ποσότητες, που στα πράσινα κελύφη τους τα TP προσδιορίζονται σε ≈71 mg ισοδύναμα κερκετίνης. Σε παρόμοιες μετρήσεις που πραγματοποίησαν οι Barreira κ.α. (2010) υπολόγισαν την αντιοξειδωτική ικανότητα αποξηραμένων φλοιών αμυγδάλου ≈300-860 mg/g [51]. Δεδομένου ότι η γενικευμένη τάση στις βιομηχανίες για την περαιτέρω συντήρηση των τροφίμων είναι η προσθήκη φυσικών αντιοξειδωτικών και ότι το συγκεκριμένο προϊόν καταλήγει ως απόβλητο, θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σε ευρεία κλίμακα εύκολα και οικονομικά από τις βιομηχανίες προσδίδοντας επιπλέον ποιοτικά χαρακτηριστικά στα μανιτάρια [51, 52].

2.3 Εφαρμογές & επίδραση των παραπάνω στα μανιτάρια

Σχετικά με τη χρήση των MAP υπάρχουν αρκετές βιβλιογραφικές αναφορές. Πιο συγκεκριμένα σύμφωνα με τους Borchert κ.α. (2014), οι οποίοι μελέτησαν τα *Agaricus bisporus* στην εμπορική τους συσκευασία, δηλαδή σε μπλε δίσκο πλαστικό κατάλληλο για τρόφιμα με μέσο επικάλυψης την πλαστική μεμβράνη πολυαιθυλενίου, τα οποία αποθηκεύτηκαν στους 4°C. Διαπίστωσαν ότι επιτεύχθηκε ισορροπία μεταξύ των συγκεντρώσεων των αερίων και πιο συγκεκριμένα O_2 = 11,58% και CO_2 = 10,7% επιτεύχθηκαν μετά από 18,5 και 41,5 ώρες, αντίστοιχα. Η δραστικότητα του ενζύμου PPO φαίνεται να μειώνεται μετά από τη δεύτερη ημέρα, ενώ η συνεκτικότητα άρχισε να μειώνεται μετά την πέμπτη ημέρα. Η απώλεια του βάρους σημείωσε την μεγαλύτερη τιμή της μετά την έβδομη ημέρα και εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη σχετική υγρασία εντός της συσκευασίας. Μικροβιολογικά η μελέτη των 7 ημερών έδειξε ότι οι ολικοί μικροοργανισμοί (TVC) από 5.6 αυξήθηκαν σε 7 cfu/g sample, ενώ αντίστοιχη αύξηση είχαν και *Pseudomonas spp* (5.5–6.9 log cfu/g δείγμα) και τα Κολοβακτηρίδια (2.2–4.5 log cfu/g δείγμα) [53].

Σε αντίστοιχα αποτελέσματα οδηγήθηκαν και οι Roy κ.α. (1995), οι οποίοι αποθήκευσαν διαφορετικές ποσότητες από τα μανιτάρια σε δίσκους πολυστερενίου, επικαλυμμένα με μεμβράνη πολυεθυλενίου, η οποία έκλεινε με θερμοκόλληση. Βρήκαν ότι σημαντικό ρόλο στη διαφοροποίηση της συγκέντρωσης των αερίων εντός της συσκευασίας, έχει η ποσότητα των μανιταριών, καθώς αυτά που υπερείχαν σε αριθμό ήταν και αυτά με τη χαμηλότερη συγκέντρωση O_2 και αντίστοιχα την μεγαλύτερη συγκέντρωση CO_2. Επίσης η ιδανική ποσότητα συγκέντρωσης για την αποφυγή ανάπτυξης του πίλου, αλλά και αναερόβιων μικροοργανισμών (*Clostridium botulinum*) είναι η συγκέντρωση του O_2 να είναι περί ≈5% [54]. Εξετάζοντας διαφορετικό εύρος θερμοκρασιών (4°C και 20°C) οι Tano κ.α. (1999) απέδειξαν ότι η σταθερά χαμηλότερη θερμοκρασία είναι αυτή που έχει καλύτερα αποτελέσματα στη συντήρηση των νωπών συσκευασμένων μανιταριών, ενώ όσα είχαν αποθηκευτεί σε περιβάλλον με αυξομειώσεις στο θερμοκρασιακό καθεστώς, εμφάνιζαν μεγαλύτερη απώλεια βάρους που άγγιζε το 4%, μείωση στη συνεκτικότητα και ταχύτερη εμφάνιση βακτηριακών αλλοιώσεων [55].

Από την άλλη μανιτάρια επικαλυμμένα με 1% και 2% αλγινικό ασβέστιο και αποθηκευμένα στους 4°C, διατηρούσαν σημαντικά υψηλότερες τιμές της παραμέτρου L^* ($P<0,05$) του χρώματος από τις ημέρες 2-6 αποθήκευσης. Μανιτάρια (Agaricus bisporus) επικαλυμμένα με 2% αλγινικό είχαν σημαντικά χαμηλότερη απώλεια βάρους ($P<0,05$) μεταξύ των πρώτων τεσσάρων ημερών της αποθήκευσης στους 20°C. Μανιτάρια επικαλυμμένα με 1% αλγινικό, τα οποία αποθηκεύονται στους 20°C είχαν σημαντικά υψηλότερες τιμές L^* μεταξύ των πρώτων τεσσάρων ημερών της αποθήκευσης. Μετά από 48 ώρες αποθήκευσης στους 4°C και στους 20°C τα επικαλυμμένα μανιτάρια είχαν περισσότερη συνεκτικότητα, συγκριτικά με τον μάρτυρα, χαρακτηριστικά που είναι επιθυμητά στα φρέσκα μανιτάρια [56].

Σημαντικές αναφορές υπάρχουν σχετικά με επικαλύψεις αλγινικού που περιέχουν ενσωματωμένα λιπίδια. Όπως οι Hersko κ.α. (1998) αναφέρουν ότι μειώνουν το καφέτιασμα στο μανιτάρι τις τελευταίες ημέρες αποθήκευσης. Μανιτάρια επικαλυμμένα με 2% αλγινικό, 2% αλγινικό & εργοστερόλη ή 2% αλγινικό & 0,2% εργοστερόλη & πολυσορβικό 80% είχαν ως αποτέλεσμα σημαντικά υψηλότερες τιμές του L^*, δηλαδή λιγότερο καφέτιασμα μεταξύ των ημερών 7-19 της αποθήκευσης (3°C) σε σύγκριση με τα μη επικαλυμμένα μανιτάρια, ή με μανιτάρια με επικάλυψη σκέτου αλγινικού οξέος. Παρατήρησαν ακόμη ότι μανιτάρια επικαλυμμένα με αλγινικό ασβέστιο και αλγινικό ασβέστιο & εργοστερόλη, κατά τη διάρκεια 19 ημερών αποθήκευσης βρέθηκε να χάνουν λιγότερο βάρος σε σύγκριση με τα μη επικαλυμμένα, αλλά δεν βρέθηκε διαφορά μεταξύ των δύο επιχρισμάτων [57].

Εξαιρετικά αποτελέσματα είχε ο συνδυασμός των δύο μεθόδων για τη συντήρηση

των νωπών μανιταριών. Σε έρευνα που έκανε ο Jiang 2012 στα *Agaricus bisporus* με εφαρμογή αλγινικού διαφόρων συγκεντρώσεων (1%, 2% and 3%) αλλά και σε συσκευασία με υψηλή συγκέντρωση O_2, απέδειξε ότι για όλα τα χημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά που έχουν ενδιαφέρον, όπως είναι το χρώμα, η συνεκτικότητα, αλλά και η ενεργότητα των PPO και POD ο καλύτερος συνδυασμός είναι 2% αλγινικό & 100% O_2, καθώς τα μανιτάρια εμφάνιζαν τα καλύτερα χαρακτηριστικά ακόμα και 16 ημέρες αργότερα από τη συγκομιδή [58].

2.4 Στόχος μελέτης

Η παρούσα εργασία έχει σαν αντικείμενο διερεύνησης τη μετασυλλεκτική διαχείριση των νωπών λευκών μανιταριών του είδους *A. bisporus*. Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω είναι σημαντική η διαχείρισή τους για την εμπορική τους αξία. Γνωρίζοντας ότι τα λευκά μανιτάρια του είδους αυτού καταλαμβάνουν το μεγαλύτερο μερίδιο της αγοράς, αλλά είναι ευαίσθητα και ευαλλοίωτα έχουν προταθεί διάφοροι τρόποι συντήρησης τους. Στη συγκεκριμένη μελέτη θα διερευνηθεί η επίδραση της συσκευασίας στη συντηρησιμότητα (απώλεια βάρους και αλλαγή στο χρώμα στην εσωτερική και εξωτερική πλευρά των μανιταριών) και στα διατροφικά χαρακτηριστικά (πολυσακχαρίτες, ολικά αντιοξειδωτικά, ολικά φαινολικά) των λευκών μανιταριών κατά τη διάρκεια στης συντήρησής τους υπό ψύξη για 12 ημέρες .

Συγκεκριμένα, θα αξιολογηθεί η χρήση των τροποποιημένων ατμοσφαιρών (MAP) και εδώδιμων μεμβρανών, τεχνικές που το τελευταίο διάστημα βρίσκουν εφαρμογή σε πληθώρα προϊόντων και δεν υπάρχουν σημαντικές αναφορές σχετικά με τα μανιτάρια. Ακόμα θα μελετηθεί η χρήση της εδώδιμης μεμβράνης ως φορέας επιπλέον αντιοξειδωτικής ουσίας, η οποία στην προκειμένη περίπτωση αποτελεί το εκχύλισμα από το εξωκάρπιο του αμυγδάλου, ένα γεωργικό απόβλητο, το οποίο θα μπορούσε να αξιοποιηθεί για τη συντήρηση των τροφίμων.

Για την ακριβέστερη αξιολόγηση των μεθόδων συντήρησης τα πειράματα θα επαναληφθούν στο πρώτο και στο δεύτερο κύμα καλλιέργειας, για δύο κύκλους καλλιεργειών.

3 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1 Κύρια Υλικά

Τα μανιτάρια που συλλέχθηκαν για την εκπόνηση της παρούσας μελέτης ανήκουν στο είδος Agaricus bisporus, εμπορικό υβρίδιο λευκού χρώματος, με καρποφορίες μεγάλου βάρους και συνεκτικότητας . Η παραγωγή και η συλλογή των μανιταριών έγινε από την εταιρεία «Μανιτάρια Ελληνικής Γης», η οποία αποτελεί την μοναδική ελληνική επιχείρηση παραγωγής μανιταριών Agaricus (λευκών και καφέ) και εδρεύει στη βιομηχανική περιοχή της Αλεξανδρούπολης. Για να υπάρχει η μικρότερη δυνατή επίδραση διαφορετικών σταδίων ωριμότητας στα χαρακτηριστικά των καρποσωμάτων η συγκομιδή έγινε κατά το στάδιο της πλήρους ωριμότητας (στάδιο 3), όπου και η εταιρεία συλλέγει τα μανιτάρια για εμπορική διάθεση. Η συλλογή των μανιταριών έγινε με το χέρι., ενώ για τις ανάγκες της μελέτης δοκιμάστηκαν μανιτάρια από τα δύο πρώτα κύματα παραγωγής. . Τα μανιτάρια μεταφέρθηκαν στο Εργαστήριο Εδώδιμων Μυκήτων του ΕΛΓΟ-Δήμητρα εντός 24 ωρών από τη συγκομιδή τους και καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς ήταν σε συνθήκες 4°C και 90% RH. Στο εργαστήριο έγινε διαλογή τους με βάση το μέγεθος και απορρίφθηκαν όλα όσα δεν είχαν τυπικό μέγεθος ή έφεραν κάποιο μηχανικό τραυματισμό και αλλοιώσεις. Για την κάθε επέμβαση δημιουργήθηκαν δύο διαφορετικά δείγματα.

3.2 Πειραματικό σχέδιο και χαρακτηριστικά των καρπών που αξιολογήθηκαν

Στην παρούσα εργασία σχεδιάστηκε η μελέτη της μετασυλλεκτικής διαχείρισης των νωπών μανιταριών σε 2 κύκλους καλλιέργειας και 2 κύματα συγκομιδής ανά κύκλο (4 πειράματα συνολικά) και τα τελικά αποτελέσματα προέκυψαν από τον μέσο όρο των μετρήσεων για κάθε ένα κύμα ξεχωριστά. Για κάθε επέμβαση δημιουργήθηκαν έξι συσκευασίες συνολικά, οι οποίες τοποθετήθηκαν στις συνθήκες συντήρησης. Σε κάθε δειγματοληψία χρησιμοποιούνταν δύο συσκευασίες κάθε επέμβασης και από αυτές με τυχαία επιλογή διαχωρίζονταν και δημιουργούνταν μια τρίτη επανάληψη. Οι μετρήσεις πραγματοποιούνταν συνολικά σε τέσσερα διαφορετικά μανιτάρια από κάθε επανάληψη. Τα τελικά αποτελέσματα προέκυψαν από τον μέσο όρο των τριών επαναλήψεων.

Σε όλα τα πειράματα εξετάσθηκε η επίδραση της συσκευασίας με πλαστική ή εδώδιμη μεμβράνη. Οι επεμβάσεις που συμπεριλήφθηκαν στα πειράματα φαίνονται στον Πίνακα 6 που παρατίθεται παρακάτω:

- Μάρτυρας: ανοιχτή συσκευασία
- PE: συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας με μεμβράνη πολυαιθυλενίου
- PAPE: συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας με μεμβράνη πολυαμίδιου-πολυαιθυλενίου
- AL: εδώδιμη μεμβράνη αλγινικού οξέος 0,5% (w/v)
- AL 1%: εδώδιμη μεμβράνη αλγινικού οξέος 1% (w/v)
- MAL 3%: εδώδιμη μεμβράνη αλγινικού οξέος 0,5% (w/v) με εκχύλισμα εξωκάρπιου αμυγδάλου 3% (w/v)

Πίνακας 6: Πίνακας πειραμάτων και εφαρμογών

Πειράματα	**1ο κύμα καλλιέργειας**	**2ο κύμα καλλιέργειας**
Εφαρμογές	Control	Control
	PE	PE
	PAPE	PAPE
	AL 0.5%	AL 0.5%
	AL 1%	AL 1%
	MAL 3%	MAL 3%
Ημέρες συντήρησης	0, 4, 8, 12	0, 4, 8, 12, 18
Συνθήκες συντήρησης: 4°C 80-90% RH (RH:relative humidity)		

Σε όλα τα πειράματα η συντήρηση των μανιταριών έγινε στους 4°C και 80-90% RH για διάστημα 12 ημερών.

Εξετάσθηκε η επίδραση δύο παραγόντων στα χαρακτηριστικά των μανιταριών κατά τη συντήρηση τους. Συγκεκριμένα, ο χρόνος συντήρησης (τέσσερα επίπεδα: 0, 4, 8, 12 ημέρες) και ο τρόπος συντήρησης-συσκευασία (έξι επίπεδα που σχετίζονται με τις εφαρμογές). Το πρώτο επίπεδο του παράγοντα χρόνος συντήρησης (0 ημέρα) αντιστοιχεί στα χαρακτηριστικά των καρποσωμάτων κατά την έλευσή τους στο εργαστήριο μετά τη συγκομιδή. Για κάθε συνδυασμό των δύο παραγόντων και των επιπέδων τους χρησιμοποιήθηκαν τρεις επαναλήψεις (n = 3).

3.2.1 Παρασκευή εδώδιμης μεμβράνης

Για τις επεμβάσεις με την εδώδιμη μεμβράνη έγινε χρήση αλγινικού οξέος. Στην ενότητα 2 έγινε εκτεταμένη αναφορά στην εφαρμογή των εδώδιμων μεμβρανών και

του αλγινικού οξέος που επιλέχθηκε για την παρούσα εργασία. Επιλέχθηκε το αλγινικό καθώς δεν επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό το βάρος των νωπών μανιταριών, είναι δυνατόν να φύγει εύκολα με το πλύσιμο, παρόλο που μπορεί να καταναλωθεί άφοβα και είναι βιοδιασπώμενο [56].

Ύστερα από προκαταρκτικά πειράματα που διεξήχθησαν με διάφορες συγκεντρώσεις αλγινικού οξέος (0.5%, 1%, 2%, 3%), επιλέχθηκε να χρησιμοποιηθεί η συγκέντρωση 0.5% για όλα τα πειράματα καθώς και στην επέμβαση με το εκχύλισμα αμυγδάλου και επιπλέον η συγκέντρωση του 1%, όπως και φαίνεται στον Πίνακα 6. Είχε εξεταστεί και εφαρμογή εκχυλίσματος από περικάρπιο καρυδιού αλλά απορρίφθηκε καθώς προσέδιδε έντονο καφέ χρωματισμό στη λευκή σάρκα του μανιταριού.

Για την παρασκευή του χρησιμοποιήθηκε άλας αλγινικού νατρίου της Alfa Aesar εταιρείας, υψηλού ιξώδους. Σε κωνική φιάλη όγκου 1 L, απεσταγμένο νερό ίσου όγκου αφέθηκε να ζεσταθεί στους 70°C. Εν συνεχεία υπό ισχυρή ανάδευση σε εργαστηριακό αναδευτήρα προστέθηκαν 5g αλγινικού. Σε όλα τα διαλύματα αλγικνικού προστέθηκε γλυκερόλη σε ποσοστό 5% για να προσδώσει στην μεμβράνη πλαστικότητα. Για τα πειράματα του δεύτερου κύκλου παρασκευάστηκε το διάλυμα του 1% και από εκεί με τις κατάλληλες αραιώσεις δημιουργήθηκε το 0,5% και το μείγμα αλγινικού-εκχυλίσματος αμυγδάλου.

Τα μανιτάρια αρχικά εμβαπτίστηκαν στο διάλυμα αλγινικού - γλυκερόλης για περίπου 2 min και εν συνεχεία, αφού αφαιρέθηκε η περίσσεια αυτού, προστέθηκαν σε διάλυμα $CaCl_2$ για ακόμη δύο λεπτά. Το διάλυμα $CaCl_2$ παρασκευάστηκε σε συγκέντρωση 5% και χρησιμοποιήθηκε ως πηκτικός παράγοντας της εδώδιμης μεμβράνης. Πριν τοποθετηθούν στα κυτία τα εμβαπτυσμένα μανιτάρια αφέθηκαν να στεγνώσουν για 30 min σε θερμοκρασία δωματίου. Καθ' όλη τη διαδικασία αυτή η θερμοκρασία του εργαστηρίου δεν ξεπερνούσε τους 15°C [58].

3.2.2 Παρασκευή εκχυλίσματος αμύγδαλου

Όπως αναφέρθηκε έγινε δοκιμή προσθήκης επιπλέον αντιοξειδωτικής ουσίας για την παρασκευή εδώδιμης μεμβράνης κατά τη διεξαγωγή του δεύτερου κύκλου των πειραμάτων. Αποφασίστηκε να εξεταστεί το εξωκάρπιο του αμυγδάλου που από βιβλιογραφικές πηγές φαίνεται ότι περιέχει διάφορες αντιοξειδωτικές ουσίες, όπως και αναφέρεται στην ενότητα 2.2.5.

Στην προκειμένη περίπτωση χρησιμοποιήθηκε νωπή φλούδα από το εξωκάρπιο του αμυγδάλου, δηλαδή δεν είχε υποστεί κάποια περαιτέρω επεξεργασία αποξή-

ρανσης ή λυοφιλίωσης. Δεδομένου αυτού θεωρείται ότι η νωπή φλούδα από το αμύγδαλο έχει 80% σε νερό και 20% ξηράς ουσίας και υπολογίστηκαν οι ποσότητες που θα αναφερθούν παρακάτω, ώστε στο τελικό εκχύλισμα η αναλογία να είναι 1g ισοδύναμο ιστού/ 10ml διαλύματος.

Η διαδικασία για την παραλαβή του τελικού εκχυλίσματος από τον μη λυοφιλιωμένο εξωκάρπιο του αμυγδάλου για την προσθήκη του στην εδώδιμη μεμβράνη ήταν η εξής: 50 g εξωκαρπίου ομογενοποιήθηκαν σε οικιακό μπλέντερ με προσθήκη 225 ml απεσταγμένο νερό και ακολούθησε θέρμανση του μίγματος για 20 min με ιδιαίτερη προσοχή, ώστε η θερμοκρασία να μην ξεπεράσει τους 80°C . Εν συνεχεία το μείγμα αυτό φυγοκεντρήθηκε στις 10000 rpm για 10 min και έγινε παραλαβή της υπερκείμενης φάσης η οποία χρησιμοποιήθηκε ως πρόσθετο στο διάλυμα του αλγινικού οξέος.

3.2.3 Συσκευασία-Συντήρηση καρπών

Περίπου 200 g καρπών μανιταριών (6 μανιτάρια) τοποθετήθηκαν στους ειδικά σχεδιασμένους εμπορικούς περιέκτες. Όπως προαναφέρθηκε υπήρξαν τρεις διαφορετικοί τρόποι συσκευασίας.

1. Η πλαστική μεμβράνη πολυαιθυλενίου με κωδική ονομασία PE
2. Η πλαστική σακούλα πολυαμίδιου-πολυαιθυλενίου με κωδική ονομασία PAPE, η οποία σφραγίζει ερμητικά με θερμοκόλληση.
3. Η εδώδιμη μεμβράνη αλγινικού οξέος με κωδική ονομασία AL και στις περιπτώσεις που έχει προστεθεί εκχύλισμα από τον εξωτερικό φλοιό του αμύγδαλου η κωδική ονομασία είναι MAL 1.5% και MAL 3% αντίστοιχα, ανάλογα με τη συγκέντρωσή του.

Η μεμβράνη πολυαιθυλένιου (PE, FOX-45, VAM, Ελλάδα) είχε πάχος 9 mμ και οι πλαστικοί περιέκτες τυλίγονταν με αυτή.

Η μεμβράνη πολυαιθυλένιο-πολυαμιδίου (PAPE, Rovac A, CASFIL, Portugal) είχε τα εξής χαρακτηριστικά: πάχος μεμβράνης 80 μm (60 μm πολυαιθυλένιο, 20 μm πολυαμίδιο), πυκνότητα 76,28 g/m^2 και διαπερατότητα στο οξυγόνο 46 ml/ m^2 day bar. Στη συγκεκριμένη τοποθετούνται ολόκληροι οι πλαστικοί περιέκτες με τα μανιτάρια και η συσκευασία σφαργίζει με θερμοκόλληση.

Τα μανιτάρια τοποθετήθηκαν σε περιέκτες πολυπροπενίου (PP), με διαστάσεις 14×12×7 cm και βάρους περίπου 10g το καθένα. Στους περιέκτες αυτούς τοποθε-

τούνταν περίπου 5-6 μανιτάρια 200g.

Όλες οι συσκευασίες (επαναλήψεις) ζυγίστηκαν σε εργαστηριακό ζυγό με ακρίβεια τριών δεκαδικών ψηφίων και τελικώς τοποθετήθηκαν σε θάλαμο συντήρησης με συνθήκες 5°C, όπου παρέμειναν για χρονικό διάστημα έως και 12 days.

3.3 Μετρήσεις ποιοτικών-φυσιολογικών χαρακτηριστικών

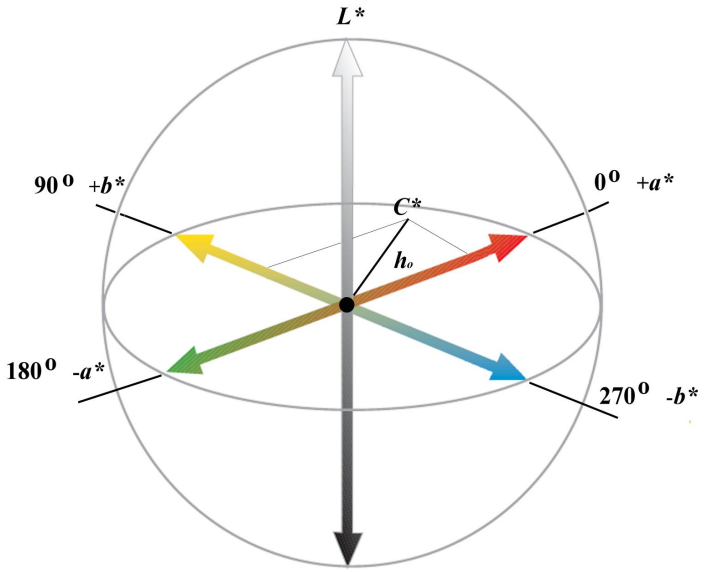
Οι μετρήσεις που έγιναν στη συγκεκριμένη μελέτη αναλύονται παρακάτω με βάση τα βήματα που αυτές εκτελέστηκαν διαδοχικά.

3.3.1 Προσδιορισμός αέριας σύστασης συσκευασιών

Στις συσκευασίες με τις πλαστικές μεμβράνες, σε κάθε δειγματοληψία που πραγματοποιήθηκε, μετά από 4, 8, 12 days αντίστοιχα, γινόταν προσδιορισμός της συγκέντρωσης του O_2 και του CO_2 εντός της συσκευασίας. Η μέτρηση γινόταν με το φορητό μηχάνημα Checkpoint3 της εταιρείας Dnasensor.

3.3.2 Χρώμα καρποσώματος

Για τη μέτρηση του χρώματος του καρποσώματος των μανιταριών χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της χρωματομετρίας και συγκεκριμένα το διαφορικό χρωματόμετρο Minolta CR-300 (Minolta, Germany) όπου μετράει τις CIE (Commission internationale de l'éclairage) συντεταγμένες *L**, *a** και *b**. Η έκφραση του χρώματος έγινε σύμφωνα με τις συντεταγμένες *L**, *a** και *b** όπως προέκυψαν από το χρωματόμετρο. Η τελική τιμή για κάθε παράμετρο υπολογίζεται από το ίδιο το μηχάνημα και προκύπτει από τον μέσο όρο όλων των μετρήσεων των μανιταριών της κάθε επέμβασης και της κάθε δοκιμής αντίστοιχα.



Σχήμα 8: Διακύμανση των παραμέτρων χρώματος

Το L^* αποδίδει τη φωτεινότητα, ενώ οι παράμετροι a^* και b^* εκφράζουν την απόχρωση-ένταση του πράσινου (-a*), κόκκινου (+a*), μπλε (-b*) και κίτρινου (+b*). Υπολογίστηκε ακόμα η διαφορά ΔE σύμφωνα με την εξίσωση 3.1

$$\Delta E = [(L^* - 97)^2 + (\alpha^* - (-2))^2 + b^{*2}]^{1/2} \tag{3.1}$$

Στο παραπάνω χρωματογραφικό διάγραμμα 8 απεικονίζονται οι μεταβολές του χρώματος σε σχέση με τις παραμέτρους L^*, a^*, b^*.

Για την αντικειμενική μέτρηση του χρώματος του μανιταριού λήφθηκε μέτρηση σε δύο σημεία του πίλου αντιδιαμετρικά. Τα σημεία όπου γινόταν η λήψη της μέτρησης προϋπόθεταν να μην φέρουν τυχόν αλλοιώσεις και σημαντικό ήταν επίσης η επιφάνεια των τμημάτων εφαρμογής του φωτοκύτταρου του οργάνου να ήταν ομαλή, για την ακρίβεια της μέτρησης. Στην παρούσα μελέτη, για να εξακριβωθεί η αποτελεσματικότητα της κάθε επέμβασης, κρίθηκε ακόμα απαραίτητο να γίνει μέτρηση χρώματος και εσωτερικά, στην επιφάνεια της σάρκας, όπου τα μανιτάρια κόβονταν στην μέση και γινόταν μέτρηση σε σημείο επάνω από τον στίπο.

3.3.3 Μέτρηση υφής και συνεκτικότητας

Η συνεκτικότητα και η υφή των μανιταριών αποτελούν σημαντικό ποιοτικό παράγοντα όπως και αναφέρθηκε στην ενότητα 1.4.6. Για το λόγο αυτό για να προσδιοριστούν γίνεται χρήση του μηχανήματος TA.HDplus Texture Analyser της εταιρείας

Stable Micro Systems.

Το μηχάνημα φέρει έναν άξονα με κυλινδρική βελόνα διαμέτρου 2 mm. Το κάθε μανιτάρι τοποθετούνταν κάτω από την βελόνα για την οποία είχει προγραμματιστεί καθορισμένη κίνηση. Οι παράμετροι κίνησης ήταν: ταχύτητα 5mm/sec πριν την επαφή με το μανιτάρι, ταχύτητα 1mm/sec κατά την επαφή με το μανιτάρι, και διανυθείσα απόσταση 5mm από τη στιγμή που θα ακουμπήσει την επιφάνεια του πίλου. Η έκφραση των αποτελεσμάτων της υφής έγινε σε g της μέγιστης δύναμης που κατέγραψε το όργανο εντός των 5 mm κίνησης της βελόνας εντός του μανιταριού.

3.4 Λυοφιλίωση

Τα δείγματα μετά τη μέτρηση χώματος και υφής καταψύχονταν (-20°C) μέχρι τη διενέργεια των χημικών αναλύσεων. Τα μανιτάρια αποτελούνται από μεγάλο ποσοστό υγρασίας και το γεγονός αυτό τα καθιστά ευαλλοίωτα, οπότε για την διατηρησιμότητα των δειγμάτων αλλά και για να παραμείνουν τα συστατικά αναλλοίωτα χρειάστηκε να ακολουθηθεί η μέθοδος της λυοφιλίωσης ή αλλιώς κρύας αποξήρανσης πριν τις αναλύσεις.

Η λυοφιλίωση ή αλλιώς κρυοξήρανση αποτελεί μία μέθοδο ξήρανσης, όπου το νερό από τη στερεή φάση απομακρύνεται στην προκειμένη περίπτωση από το τρόφιμο απευθείας μέσω της εξάχνωσης. Για την παρούσα μελέτη επιλέχθηκε αυτή η μέθοδος καθώς παρουσιάζει περισσότερα πλεονεκτήματα συγκριτικά με οποιαδήποτε άλλη μέθοδο ξήρανσης όσον αφορά τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των τελικών δειγμάτων. Με τη μέθοδο αυτή απομακρύνεται παραπάνω από το 95% της υγρασίας που απομακρύνεται με τις πιο συμβατικές μεθόδους ξήρανσης και έτσι δεν υπάρχει αλλοίωση του τρόφιμου από ενζυμική ή μικροβιακή δραστηριότητα [32]. Επίσης στην προκειμένη περίπτωση ήταν σημαντική η αποξήρανση των δειγμάτων για την καλύτερη διαχείριση του όγκου τους. Η διαδικασία πραγματοποιήθηκε με το μηχάνημα ThermoSavant της εταιρείας ModulyoD.

3.5 Εκτίμηση αντιοξειδωτικών ουσιών καρπών

3.5.1 Εκχύλιση αντιοξειδωτικών ουσιών

Η εκχύλιση των αντιοξειδωτικών ουσιών από τα καρποσώματα των μανιταριών πραγματοποιήθηκε με συνδυασμό των μεθόδων Anderson κ.α., (2001); Halvorsen κ.α., (2002); Kornsteiner κ.α., (2006); Shin κ.α., (2007) [59, 60, 61, 62] με ορισμέ-

νες τροποποιήσεις αυτών. Τα λυοφιλιωμένα μανιτάρια, αρχικά ψιλοτεμαχίστηκαν σε οικιακό μπλέντερ για 15 s και κατόπιν ομογενοποιήθηκαν με διάλυμα (20 ml/g ιστού) 80% μεθανόλης (v/v) σε απεσταγμένο νερό (dw). Συγκεκριμένα, σε εργαστηριακούς σωλήνες τύπου falcon ζυγίστηκαν 0.25 g ιστού και προστέθηκε διαλύτης 5 ml. Οι σωλήνες εμβαπτίστηκαν σε λουτρό υπερήχων για 15 min, όπου πριν, κατά τη διάρκεια και στο τέλος της διαδικασίας γινόταν ανάδευση σε κυκλοαναμικτήρα για 10 s. Στη συνέχεια ακολούθησε φυγοκέντριση των δειγμάτων σε 3500 rpm για 5 min. Το υπερκείμενο διάλυμα συλλέχθηκε σε καθαρό σωλήνα και η παραπάνω διαδικασία επαναλήφθηκε για ακόμα δύο φορές. Το τελικό εκχύλισμα για κάθε δείγμα προέκυψε από την ανάμιξη σε ίσες αναλογίες των τριών υπερκείμενων που παρελήφθησαν μετά από κάθε φυγοκέντριση. Μετά το πέρας της διαδικασίας τα δείγματα φυλάσσονται σε κατάψυξη στους –20°C .

3.5.2 Προσδιορισμός ολικών φαινολικών (TP)

Τα ολικά φαινολικά (TP) προσδιορίστηκαν με κάποιες τροποποιήσεις της μεθόδου Folin-Ciocalteu Singleton et al. (1999), σύμφωνα με τους Tsantili κ.α. (2010) [63, 64]. Σε δοκιμαστικό σωλήνα με 2,6 ml dw προστέθηκαν 0,2 ml αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteau και 0,2 ml εκχυλίσματος μανιταριών. Το μείγμα παρέμεινε για 6 min σε θερμοκρασία δωματίου και κατόπιν προστέθηκαν 2 ml ανθρακικού νατρίου (Na_2CO_3) 7% (w/v). Στη συνέχεια το δείγμα επωάστηκε για 90 min σε θερμοκρασία δωματίου στο σκοτάδι και μετρήθηκε στο φασματοφωτόμετρο CARY 50 Conc UV-Visible Specrtophotometer της εταιρείας varian, η απορρόφηση του σε μήκος κύματος 750 nm. Τα μετρούμενα ολικά φαινολικά προσδιορίστηκαν με βάση πρότυπη καμπύλη γαλλικού οξέως (GA) και εκφράστηκαν ως ισοδύναμα mg GA ανά g ξηρού βάρους (DW) μανιταριού (mg GAE g^{-1} DW μανιταριού). Τα TP προσδιορίστηκαν σε τέσσερις δειγματοληψίες 0, 4, 8 και 12 days εις διπλούν για κάθε επανάληψη.

3.5.3 Προσδιορισμός ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC)

Η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC) εκτιμήθηκε με δύο μεθόδους, την DPPH (2,2-diphenyl-1-picryhydrazyl radical scavenging capacity) και την ABTS. Η επιλογή δύο διαφορετικών μεθόδων, σύμφωνα με Prior and Cao, (1999), Prior κ.α., (2005), προτείνεται για την καλύτερη και πιο αντικειμενική αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας, καθώς μόνο μία μέθοδος δεν επαρκεί στο να δώσει μια ολοκληρωμένη εικόνα αυτής [65, 66].

Η μέθοδος DPPH εφαρμόστηκε σύμφωνα με τους (Brand-Williams κ.α., 1995) και

βασίζεται στη μείωση της απορρόφησης της ρίζας DPPH (2,2-diphenyl-1-picryhydrazyl) όταν έρθει σε επαφή με αντιοξειδωτικές ουσίες. Η ρίζα DPPH, σημειώνει το μέγιστο της απορρόφησης της σε μήκος κύματος 515 nm.

Για την εκτέλεση της μεθόδου η διαδικασία πραγματοποιήθηκε ως εξής: σε σφραγιζόμενο δοκιμαστικό σωλήνα που περιείχε 3,9 ml μεθανολικού διαλύματος DPPH συγκέντρωσης 60 mM προστέθηκε 0,1 ml εκχυλίσματος. Έπειτα από 30 min επώαση σε θερμοκρασία δωματίου στο σκοτάδι, μετρήθηκε η μείωση της απορρόφησης στα 515 nm με τη βοήθεια του φασματοφωτομέτρου CARY 50 Conc UV-Visible Specrtophotometer της εταιρείας varian.

Η δεύτερη μέθοδος που επιλέχθηκε ήταν η ABTS (2,2´-azino-bis(3-ethyl benzothiazoline-6-sulphonic acid) με παραγωγή του ριζικού κατιόντος $ABTS^{+}$ με οξείδωση του $ABTS^{2^{-}}$ με υπερθειϊκά ιόντα ($K_2O_8S_2$) και ακολουθήθηκε η παρακάτω διαδικασία. Αρχικά παρασκευάστηκε διάλυμα ABTS 7mM και $K_2O_8S_2$ 2.45 mM σε απιονισμένο νερο και το διάλυμα επωάστηκε στους 25°C για 18 h. Μετά την επώαση γινόταν αραίωση του διαλύματος με αιθανόλη ώστε το αραιωμένο ABTS διάλυμα να έχει απορρόφηση 0,700$\pm$0,005 στα 734 nm. Για τη μέτρηση, σε δοκιμαστικό σωλήνα τοποθετήθηκαν 0.05 ml δείγματος και 2ml του αραιωμένου διαλύματος ABTS και αφού αναδεύτηκαν με τη βοήθεια κυκλοαναμικτήρα εν συνεχεία επωάστηκαν για 6 min στο σκοτάδι. Η τελική μέτρηση έγινε στο φασματοφωτόμετρο CARY 50 Conc UV-Visible Specrtophotometer της εταιρείας varian και η μείωση της απορρόφησης των δειγμάτων μετρήθηκε στα 734 nm.

Στην εκτίμηση της TAC, και για τις δύο μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν, η διάρκεια της επώασης (30 min και 6 min) που επιλέχθηκε αντιστοιχούσε στο χρόνο που απαιτήθηκε ώστε να σταθεροποιηθεί η αντίδραση. Η TAC προσδιορίστηκε με βάση πρότυπη καμπύλη trolox acid (TA,6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) και εκφράστηκε ως ισοδύναμα μmol TA ανά g ξηρού βάρους (DW) μανιταριού (μmol TAE $g^{-}1$ DW μανιταριού). Η TAC με τις μεθόδους DPPH και ABTS προσδιορίστηκε σε τέσσερις δειγματοληψίες 0, 4, 8 και 12 days εις διπλούν για κάθε επανάληψη.

3.5.4 Προσδιορισμός ενδοπολυσακχαριτών

Για τον προσδιορισμό των ενδοπολυσακχαριτών (IPS %, w/w DW) αρχικά δημιουργήθηκε το κατάλληλο εκχύλισμα των μανιταριών, όπου παρελήφθησαν 0.1 g της ξηρού δείγματος και τοποθετήθηκαν σε κωνική φιάλη 100 ml. Εν συνεχεία προστέθηκαν 20 ml HCl (2.5 N) και ακολουθεί υδρόλυση του δείγματος, όπου παραμένει σε νερό 100°C για 30 min. Αφού παρέλθει το διάστημα αυτό προστίθενται αντι-

στοίχως 20 ml NaOH (2.5 N) για να γίνει η εξουδετέρωση του δείγματος και τελική ογομέτρησή του στα 100 ml σε ογκομετρικό κύλινδρο προσθέτοντας απιονισμένο νερό. Μετά από αυτό το στάδιο για να απομακρυνθούν τα στερεά υπολείμματα των μανιταριών, το δείγμα παραλαμβάνεται ύστερα από διήθηση.

Ο τελικός ποσοτικός προσδιορισμός των ενδοπολυσακχαριτών έγινε με βάση το πρωτόκολλο των Liang κ.α. (2010) [67] και των Diamantopoulou κ.α (2014) [68] και με τη μέθοδο 3,5-δινιτριλοσαλικυλικού οξέος (DNS), όπως προτάθηκε από τον Miller (1959) [69]. Αρχικά σε δοκιμαστικούς σωλήνες τοποθετήθηκαν 0.5 ml DNS και άλλα 0.5 ml από το δείγμα, όπου και αναδεύονται σε κυκλοαναμικτήρα. Εν συνεχεία παραμένουν σε υδατόλουτρο 100°C για 5 min και με την πάροδο αυτού του χρονικού διαστήματος, αφού κρυώσουν τα δείγματα, σε κάθε σωλήνα προστίθενται 5 ml απιονισμένου νερού. Πραγματοποιείται τελική ανάδευση του δείγματος και ακολουθεί μέτρησή της απορρόφησής τους με τη βοήθεια του Hitachi U-2000 Spectrophotometer, όπου είναι ένα φασματοφωτόμετρο UV-Vis διπλής θέσεως (Jasco, V-530 UV/Vis Spectrophotometer, Japan) και η μέτρηση πραγματοποιήθηκε σε μήκος κύματος 540 nm.

Η μέθοδος προσδιορισμού των ενδοπολυσακχαριτών πραγματοποιήθηκε για τις 0, 8 day και η 12 day, όπου και σε αυτή την περίπτωση υπήρξε διπλή επανάληψη της μέτρησης για κάθε δείγμα. Η ανάλυση των αποτελεσμάτων για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των αναγόντων σακχάρων έγινε με βάση πρότυπη καμπύλη αναφοράς και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε ισοδύναμα γλυκόζης (%w/w) για τους ενδοπολυσακχαρίτες.

3.6 Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων

Η επίδραση των τεσσάρων παραγόντων επί των χαρακτηριστικών που εξετάσθηκαν εκτιμήθηκε με δι-παραγοντικές (ημέρα συντήρησης × επέμβαση) αναλύσεις της διασποράς (ANOVA). Οι συγκρίσεις των μέσων έγιναν με βάση τη μέθοδο Student.

Οι αναλύσεις συσχέτισης και κυρίων συνιστωσών (PCA, Principal Component Analysis), εφαρμόστηκαν με σκοπό να γίνει γενική εκτίμηση της παραλλακτικότητας, και να διερευνηθούν οι σχέσεις μεταξύ των μεταβλητών. Η ερμηνεία των αποτελεσμάτων της PCA έγινε με βάση την eigenvalue και το ποσοστό της διακύμανσης που εξηγείται από κάθε συνιστώσα αλλά και συνολικά.

Από το γράφημα της θέσης των τιμών των κυρίων συνιστωσών (score plot) έγινε η ερμηνεία της ομαδοποίησης των δειγμάτων. Από το γράφημα των συντελεστών των κυρίων συνιστωσών (loading plot) έγινε η ερμηνεία των σχέσεων μεταξύ των

μεταβλητών. Συγκεκριμένα, εξετάζεται η γωνία που ορίζεται από τη θέση δυο μεταβλητών με βάση το κέντρο του loading plot, αλλά και η θέση τους ως προς της ακραίες τιμές (-1 έως 1) των αξόνων x, y. Ισχυρή θετική συσχέτιση μεταξύ των μεταβλητών υποστηρίζεται όταν η γωνίες μεταξύ τους τείνουν στην τιμή 0° και η θέση τους είναι εγγύς στην ακραία τιμή ενός από τους άξονες x, y. Αντίστροφα, ισχυρή αρνητική συσχέτιση υποστηρίζεται όταν η γωνία τείνει στις 180°. Οι σχέσεις μεταξύ των μεταβλητών εξετάσθηκαν, επίσης, με βάση την πιθανότητα (P) και το συντελεστή συσχέτισης (r^2) που προέκυψε από την ανάλυση συσχέτισης.

Όλες οι στατιστικές αναλύσεις έγιναν με το λογισμικό JMP 7.0.1 (SAS Institute, Cary, NC, USA).

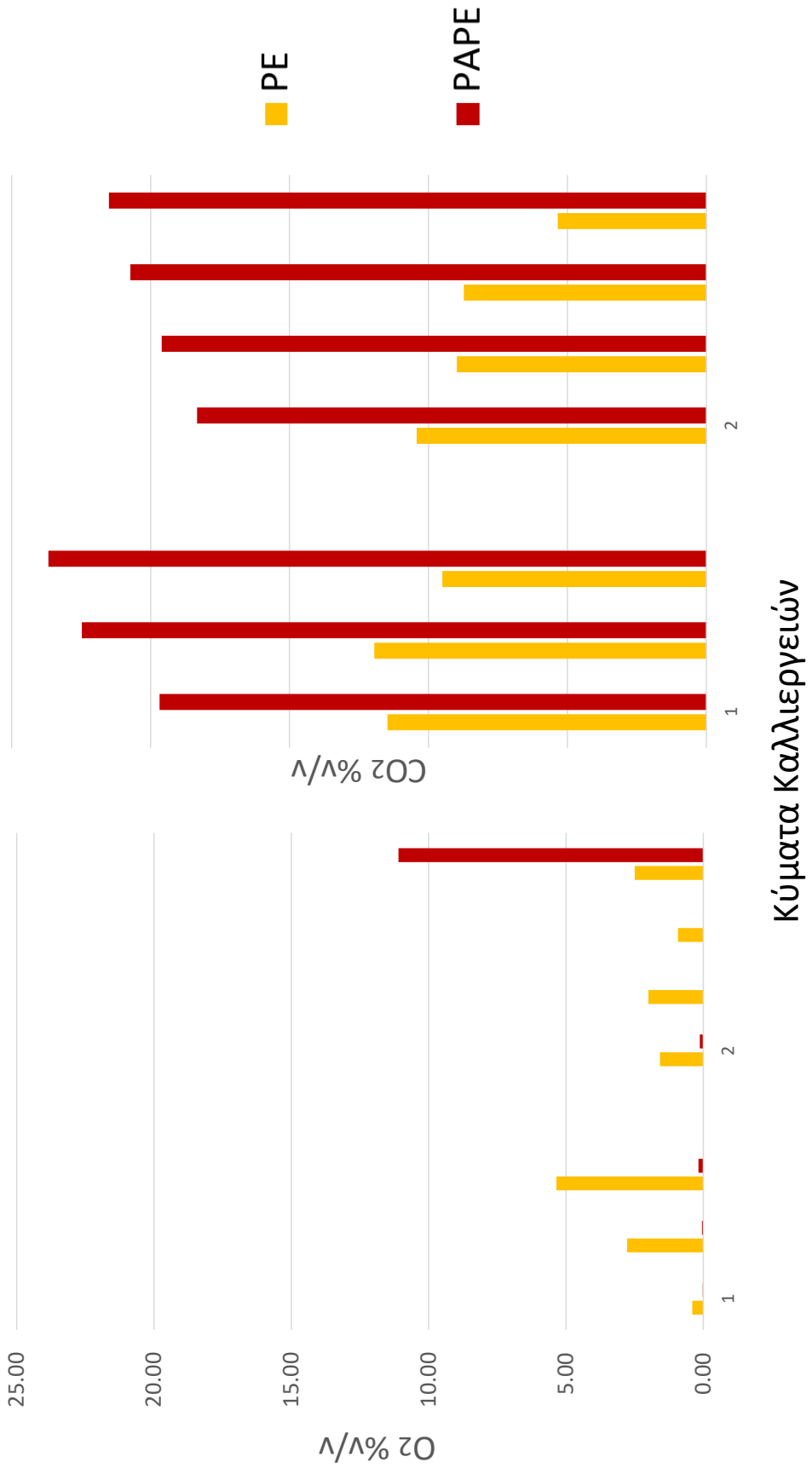
4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1 Περιεκτικότητα αερίων εντός συσκευασίας

Η μέτρηση των αερίων πραγματοποιήθηκε σε όλες τις συσκευασίες των MAP, όλων των πειραμάτων, με τη διαφορά ότι στο δεύτερο πείραμα εξετάστηκε επιπλέον η 18η ημέρα συντήρησης των μανιταριών, ώστε να διαπιστωθεί η μεταβολή των αερίων της συσκευασίας περαιτέρω.

Στο σχήμα 9 παρουσιάζονται οι διαφορές των συγκεντρώσεων των αερίων εντός των συσκευασιών PE και PAPE στις διάφορες ημέρες συντήρησης για τα δύο κύματα καλλιεργειών. Η συγκέντρωση του O_2 είναι μηδενική στη συσκευασία PAPE καθώς οι τιμές της κυμαίνονται από (0-0,1% ν/ν) για τις ημέρες 4-12, εν αντιθέσει με αυτή του CO_2 που παρουσιάζει τα μεγαλύτερα ποσοστά στη συγκεκριμένη συσκευασία με τις τιμές να κυμαίνονται 18,3-23% ν/ν , αυξανόμενες ανάλογα με το πέρας των αντίστοιχων ημερών συντήρησης. Συγκρίνοντας τα δύο κύματα για τη συγκεκριμένη συσκευασία και για τις κοινές ημέρες συντήρησης παρατηρείται ότι για το μεν O_2 οι τιμές στο πρώτο κύμα απέκτησαν την μέγιστη τιμή τη 12η ημέρα συντήρησης με μέγιστη τιμή 0,18%, ενώ στο δεύτερο η μέγιστη τιμή εντοπίστηκε την τέταρτη ημέρα συντήρησης 0.12%. Εξαίρεση αποτελεί η 18η ημέρα του δεύτερου κύματος που μελετήθηκε επιπλέον και φαίνεται πως εν τέλει παρουσιάζει τη μέγιστη τιμή 11% για το O_2.

Στη συσκευασία PE από την άλλη φαίνεται να υπάρχει μεγαλύτερη ανταλλαγή αερίων, αφού για το O_2 οι τιμές που καταγράφηκαν είναι από 0,4-5% για το πρώτο κύμα, ενώ για το δεύτερο από 1-2,5%, συνεπώς η μέγιστη τιμή παρουσιάστηκε στο 1ο κύμα καλλιέργειας. Σχετικά με το CO_2 η PE συσκευασία παρουσίαζε παρόμοιες τιμές και στα δύο κύματα με τις τιμές να κυμαίνονται από 5.3%-10,5%, με την μέγιστη να εντοπίζεται από το σχήμα 9 την 8η ημέρα του 1ου κύματος.



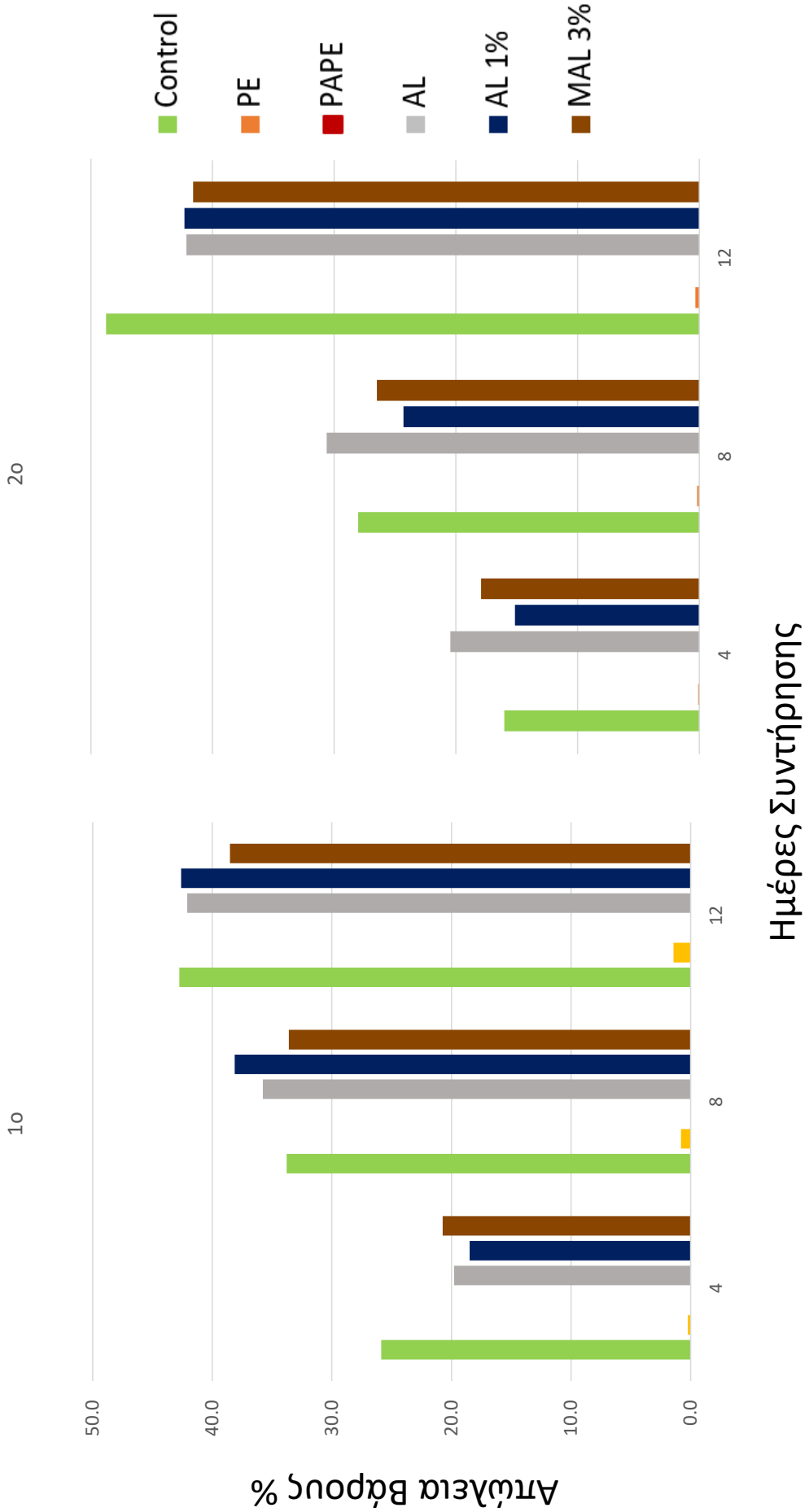
Σχήμα 9: Προσδιορισμός των αερίων (O_2,CO_2 % v/v) εντός των συσκευασιών των πλαστικών μεμβρανών PE, PAPE, για το 1ο κύμα καλλιεργειών που πραγματοποιήθηκαν για 0, 4, 8 , 12 ημέρες και για το 2ο κύμα καλλιέργειας που πραγματοποιήθηκε για 0, 4, 8 , 12, 18 ημέρες

4.2 Απώλεια βάρους

Παρατηρώντας το σχήμα 10 φαίνεται η ποσοστιαία απώλεια βάρους των μανιταριών κατά τις ημέρες συντήρησης της παρούσας μελέτης. Πιο συγκεκριμένα όσο οι ημέρες συντήρησης αυξάνονται, ανάλογα αυξάνεται η απώλεια βάρους, καθώς εμφανίζει ανοδική τάση. Οι πλαστικές μεμβράνες φαίνεται πως εξασφαλίζουν την μικρότερη απώλεια σε βάρος των μανιταριών και μάλιστα για την PAPE φαίνεται μηδενική απώλεια (0,0003%), ενώ για το PE παρατηρείται μια μικρή μείωση του βάρους με το μέγιστο ποσοστό να σημειώνεται τη 12η ημέρα του 1ου κύματος και να καταγράφει τιμή (1,4%).

Οι επεμβάσεις με την μεγαλύτερη απώλεια σε βάρος ήταν αυτές του μάρτυρα (control) και του Αλγινικού με μέγιστες τιμές 33%, τη 12η ημέρα συντήρησης για το 1ο κύμα, ενώ για το 2ο 32,5%. Στη συνέχεια ακολουθούν οι επεμβάσεις MAL3% και AL1% με την μέγιστη τιμή απώλειας βάρους που σημείωσαν τα μανιτάρια να είναι 28% για το 1ο κύμα και η μέγιστη τιμή για το 2ο 23%, που εντοπίζεται πάλι για τη 12η ημέρα.

Παρατηρώντας ξεχωριστά τα δύο κύματα φαίνεται ότι το 1ο κύμα κατά μέσον όρο παρουσιάζει μεγαλύτερες τιμές σε όλες τις επεμβάσεις, έναντι του 2ου κύματος.



Σχήμα 10: Σύγκριση της απώλειας βάρους (%) των μανιταριών για όλες τις επεμβάσεις (Control, PE, PAPE, AL, AL1%, MAL3%) , για τα δύο κύματα καλλιεργειών (1ο και 2ο) και για τις ημέρες συντήρησης 0, 4, 8, 12

Η διάρκεια συντήρησης αλλά και οι επεμβάσεις διαπιστώθηκε πως έχουν σημαντική επίδραση (P<0.001) και στα δύο κύματα, ενώ η αλληλεπίδρασή των παραγόντων ήταν σημαντική.

Πίνακας 7: Επίδραση της ημέρας συντήρησης (P day) με τη μέθοδο (P treatment) και της αλληλεπίδρασής τους στην απώλεια βάρους

Απώλεια Βάρους		
	1ο	2ο
P day	***	***
P treatment	***	***
P day* P treatment	**	**

*** σημαντικό P<0,001, ** σημαντικό P<0,01,
* σημαντικό P<0,05, NS μη σημαντικό

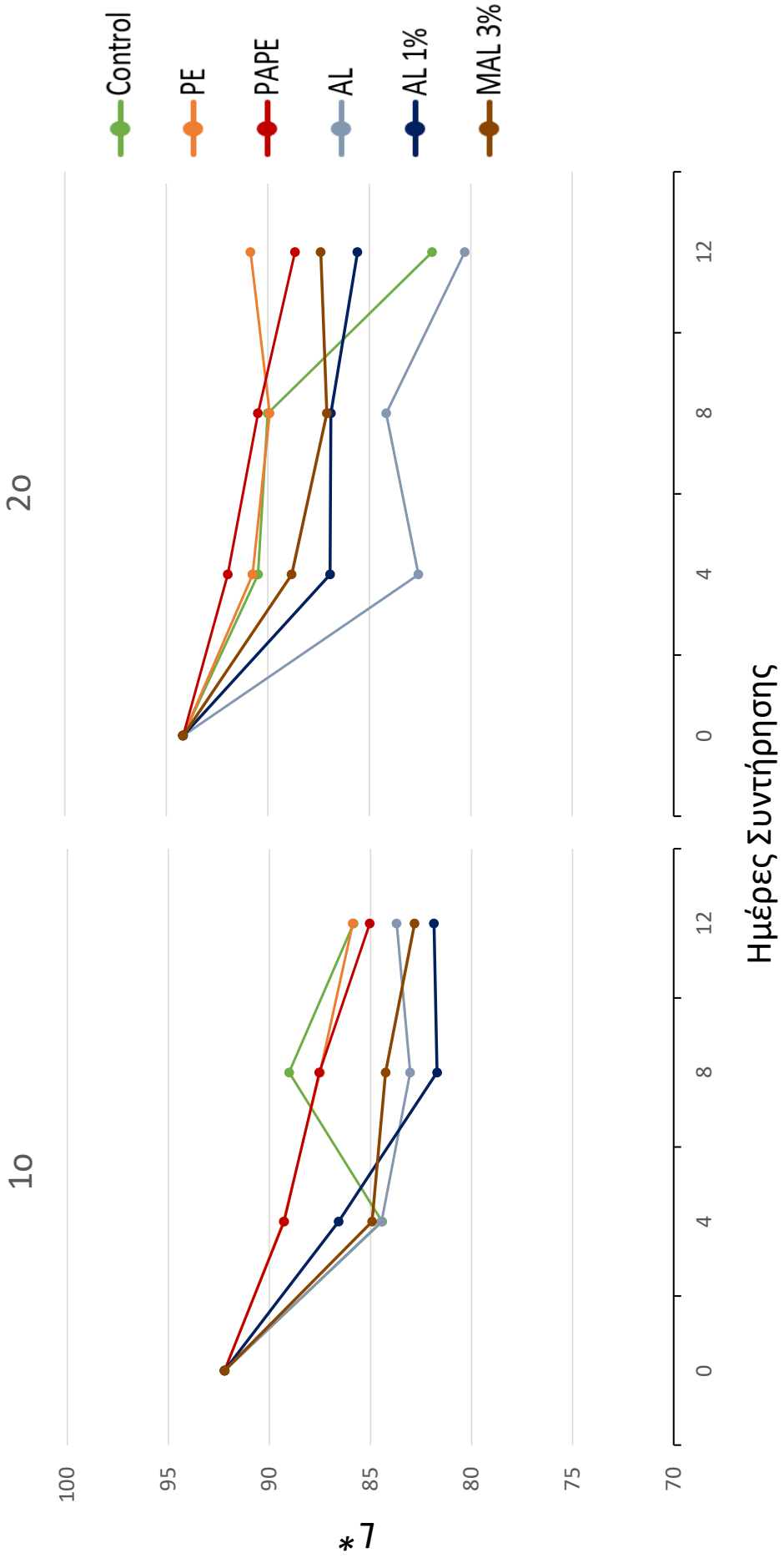
4.3 Ανάλυση χρώματος

Η ανάλυση χρώματος πραγματοποιήθηκε στην εξωτερική και εσωτερική πλευρά, όπως προαναφέρθηκε. Πρώτα αναφέρονται οι παράμετροι L^*,a^*,b^*, ΔE, που μετρήθηκαν στην εξωτερική πλευρά των μανιταριών για κάθε μία από αυτές τις εφαρμογές για όλους τους κύκλους των πειραμάτων.

4.3.1 Παράμετρος L^* εξωτερικής πλευράς

Από τα διαγράμματα που παρατίθενται στο σχήμα 11 η τιμή της παραμέτρου L^* για την εξωτερική πλευρά των μανιταριών εμφανίζει καθοδική τάση με το πέρας των ημερών συντήρησης. Παρατηρώντας το 1ο κύμα καλλιέργειας φαίνεται πάλι μια υπεροχή των πλαστικών μεμβρανών (PE, PAPE) και του μάρτυρα, καθώς καταγράφουν τις μεγαλύτερες μέσες τιμές (L^*= 88). Οι τιμές ξεκινούν από το L^*= 92 της πρώτης ημέρας και την 4η και την 8η η μέγιστη τιμή είναι L^*=90 και παρατηρείται στη συσκευασία PAPE και στον μάρτυρα αντίστοιχα. Τη 12η ημέρα η μέγιστη τιμή της παραμέτρου παρατηρείται στον μάρτυρα και στα μανιτάρια της συσκευασίας PE. Η ελάχιστη τιμή του πρώτου κύματος καταγράφηκε την 8η ημέρα για την εφαρμογή της μεμβράνης του αλγινικού (AL) με L^*= 84. Γενικά οι εδώδιμες μεμβράνες εμφανίζουν τις πιο χαμηλές τιμές και κυμαίνονται από L^*= 84-87. Για τη 12η ημέρα συντήρησης την μικρότερη τιμή την κατέγραψε η συσκευασία αλγινικού 1% με τιμή L^*= 81.5.

Σχετικά με το 2ο κύμα φαίνεται ότι κατά μέσον όρο έχει τη μεγαλύτερη τιμή της παραμέτρου η συσκευασία PAPE και ο μάρτυρας, όπου κατέγραψαν μ.ο. L^*=90. Τα μανιτάρια που συσκευάστηκαν με PE εμφάνισαν κατά μέσο όρο τη χαμηλότερη τιμή L^*=88. Οι τιμές στο συγκεκριμένο κύμα ξεκίνησαν από L^*=94 την πρώτη ημέρα, την 4η και την 8η είχαν L^*=88 και τη 12η L^*=87. Γενικά διακρίνεται πως στο κύμα αυτό η επέμβαση που είχε καθ' όλη τη διάρκεια της συντήρησης τις χαμηλότερες τιμές για την παράμετρο L^* ήταν αυτή του αλγινικού. Η χαμηλότερη μέση τιμή που κατέγραψε ήταν τη 12η ημέρα L^*=85, ενώ για εκείνη την ημέρα η εφαρμογή με τη χαμηλότερη τιμή ήταν της εδώδιμης μεμβράνης αλγινικού L^*=80, εν αντιθέσει με τη PE που είχε την μεγαλύτερη τιμή L^*=91.



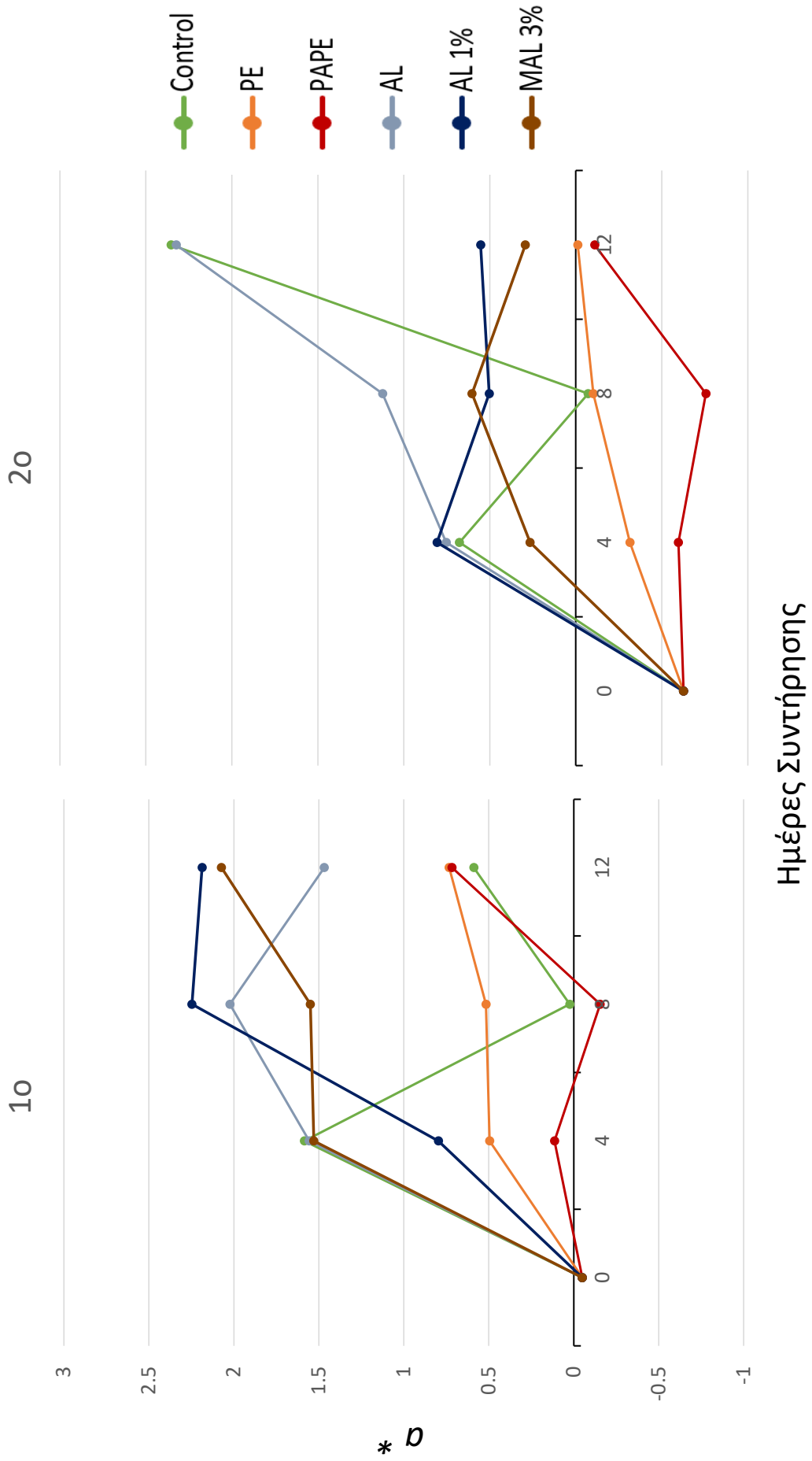
Σχήμα 11: Παράμετρος χρώματος L^* εξωτερικής πλευράς των μανιταριών για όλες τις επεμβάσεις (Control, PE, PAPE, AL, AL1%, MAL3%) , για τα δύο κύματα καλλιεργειών (1ο και 2ο) και για τις ημέρες συντήρησης 0, 4, 8, 12

4.3.2 Παράμετρο *a** εξωτερικής πλευράς

Στο σχήμα 12 διακρίνονται οι τιμές που αφορούν την παράμετρο*a** του χρώματος της εξωτερικής πλευράς των αποθηκευμένων για 12 ημέρες μανιταριών. Πιο συγκεκριμένα τις υψηλότερες τιμές κατά μέσο όρο στο 1ο κύμα τις έφεραν οι εφαρμογές με την εδώδιμη μεμβράνη (AL, AL1%, MAL 3%) *a**= 1.2. Στη συνέχεια ακολούθησαν τα μανιτάρια του μάρτυρα με τιμή της παραμέτρου *a**= 0,5 και τέλος των πλαστικών μεμβρανών με την τιμή για το PE να είναι *a**= 0,3 και για το PAPE *a**= 0,15. Κατά τη 12η ημέρα εμφανίζεται η μέγιστη τιμή για την παράμετρο *a**= 2,2 και την εμφανίζει η μεμβράνη με το αλγινικό 1%. Τη χαμηλότερη τιμή από την άλλη τη φέρει η εφαρμογή PAPE *a** =-0,15. Παρατηρείται πως οι εφαρμογές των εδώδιμων μεμβρανών εμφανίζουν μια ανοδική τάση σχεδόν καθ΄ όλη τη διάρκεια των ημερών συντήρησης , ενώ ο μάρτυρας εμφανίζει μια απότομη καθοδική τάση μόνο την 8η ημέρα. Τη 12η ημέρα, δηλαδή στο τέλος της συντήρησης την μικρότερη τιμή της παραμέτρου την έχει η εφαρμογή του μάρτυρα με τιμή *a**=0,6.

Σχετικά με το 2ο κύμα κατά μέσον όρο την μεγαλύτερη καταγεγραμμένη τιμή για την παράμετρο *a** την έχουν οι εφαρμογές AL, AL1%, MAL 3% και PE με τιμή της παραμέτρου *a** =0,5. Την κατά μέσο όρο μικρότερη τιμή τη φέρει η PAPE εφαρμογή. Όπως και στο 1ο κύμα, έτσι και εδώ , η 12η ημέρα είναι αυτή με την μεγαλύτερη τιμή της παραμέτρου να είναι *a** =0,9. Η 8η και 4η ημέρα έχουν τιμές *a** =0,3. Στο τέλος των ημερών συντήρησης η τιμή που καταγράφει την υψηλότερη τιμή ήταν το αλγινικό με τιμή *a**=2,3, ενώ η μικρότερη που καταγράφηκε την ίδια ημέρα ήταν της συσκευασίας PAPE με τιμή *a**=-0,11.

Ανάμεσα στα δύο κύματα παρατηρείται μεγάλη διαφορά κατά την πρώτη ημέρα καταγραφής των τιμών της παραμέτρου, όπου για το μεν 1ο κύμα οι τιμές ξεκινούν *a** =-0,14, ενώ για το 2ο *a** =-0,7.

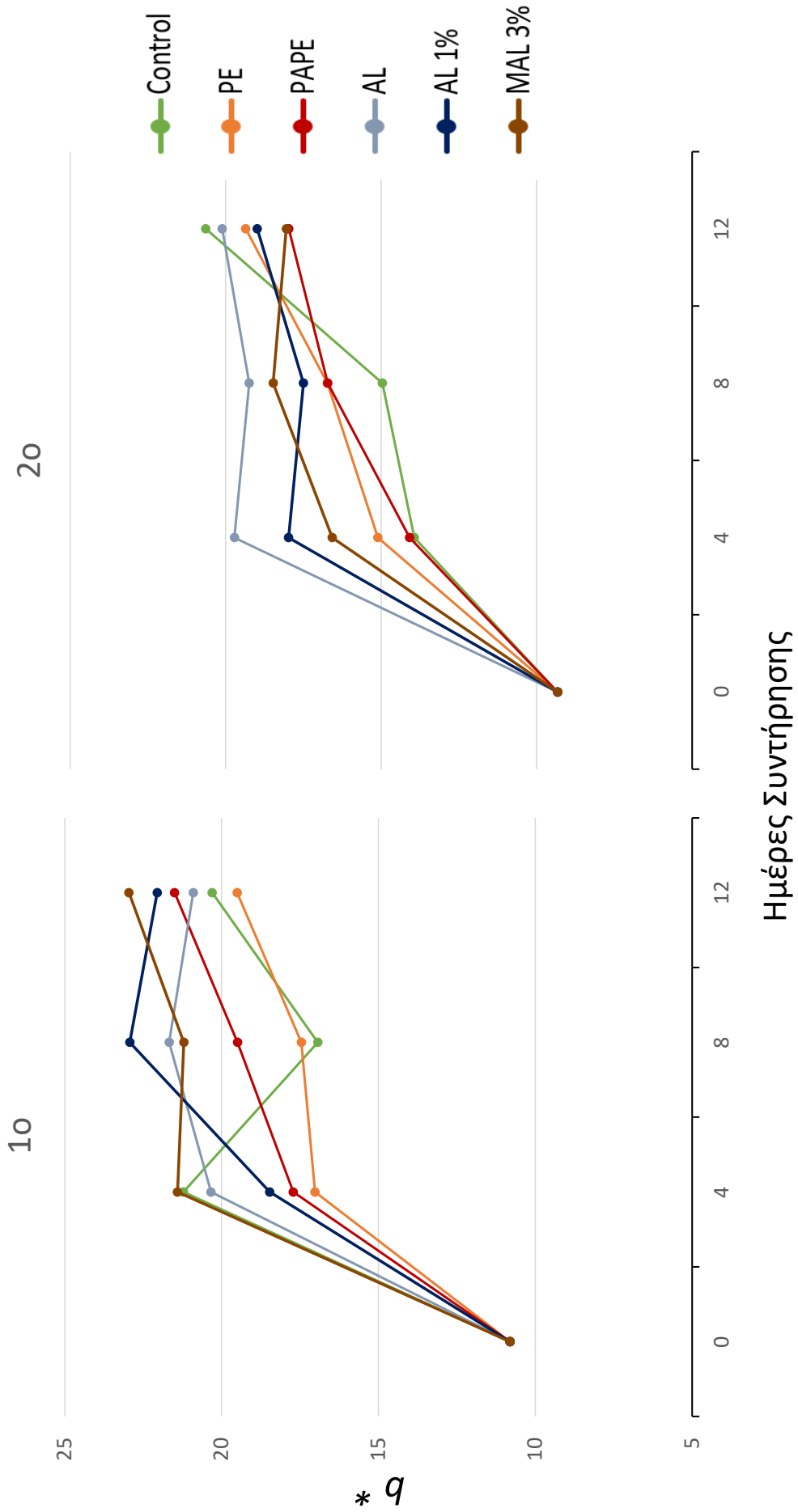


Σχήμα 12: Παράμετρος χρώματος *a** εξωτερικής πλευράς των μανιταριών για όλες τις επεμβάσεις, για τα δύο κύματα καλλιεργειών (1ο και 2ο) και για τις ημέρες συντήρησης 0, 4, 8, 12

4.3.3 Παράμετρο *b** εξωτερικής πλευράς

Στο παραπάνω σχήμα 13 φαίνονται οι καταγεγραμμένες τιμές της παραμέτρου *b** που σχετίζεται με το χρώμα της εξωτερικής πλευράς του μανιταριού. Τα μανιτάρια του 1ου κύματος που έφεραν την επικάλυψη των εδώδιμων μεμβρανών (AL, AL1%, MAL 3%) εμφάνισαν και σε αυτή την περίπτωση τις κατά μέσον όρο τις μεγαλύτερες τιμές της παραμέτρου *b**=18,5. Στη συνέχεια ακολούθησε η συσκευασία PAPE και ο μάρτυρας με μέσες τιμές καθ΄ όλη τη διάρκεια της συντήρησης *b**=17 και τέλος για τη συσκευασία PE η κατά μέσο όρο τιμή της παραμέτρου είναι *b**=16. Τη 12η ημέρα καταγράφηκε μέση τιμή της παραμέτρου *b**=21, ενώ κατά την 4η και την 8η η τιμή ήταν *b**≈19. Την μικρότερη τιμή στο τέλος της συντήρησης την έχει η συσκευασία PE *b**=19, ενώ την υψηλότερη η επέμβαση του αλγινικού με το εκχύλισμα *b**≈23.

Κατά το 2ο κύμα δεν εμφανίστηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των μέσων τιμών των διάφορων εφαρμογών. Πιο συγκεκριμένα οι εφαρμογές των εδώδιμων μεμβρανών και της συσκευασίας PE καταγράφουν κατά μέσον όρο τιμή της παραμέτρου *b** που κυμαίνεται από 15-16 καθ΄ όλη τη διάρκεια της συντήρησης. Από την άλλη η συσκευασία PAPE και ο μάρτυρας έχουν ως μέση τιμή της παραμέτρου *b**=14. Τη 12η ημέρα εμφανίζεται η κατά μέσον όρο μεγαλύτερη τιμή *b**≈19, ενώ τις υπόλοιπες ημέρες συντήρησης έχει χαμηλότερη τιμή *b**≈17 και *b**≈16 για την 8η και 4η ημέρα αντίστοιχα. Την υψηλότερη τιμή την έχει η εφαρμογή του αλγινικού με τιμή *b**≈20 και την μικρότερη την ίδια ημέρα την είχε η εφαρμογή PAPE με τιμή *b**≈18. Η αρχική τιμή που κατέγραψαν τα μανιτάρια του πρώτου κύματος ήταν *b**≈11, ενώ τα μανιτάρια του 2ου κύματος *b**≈9.

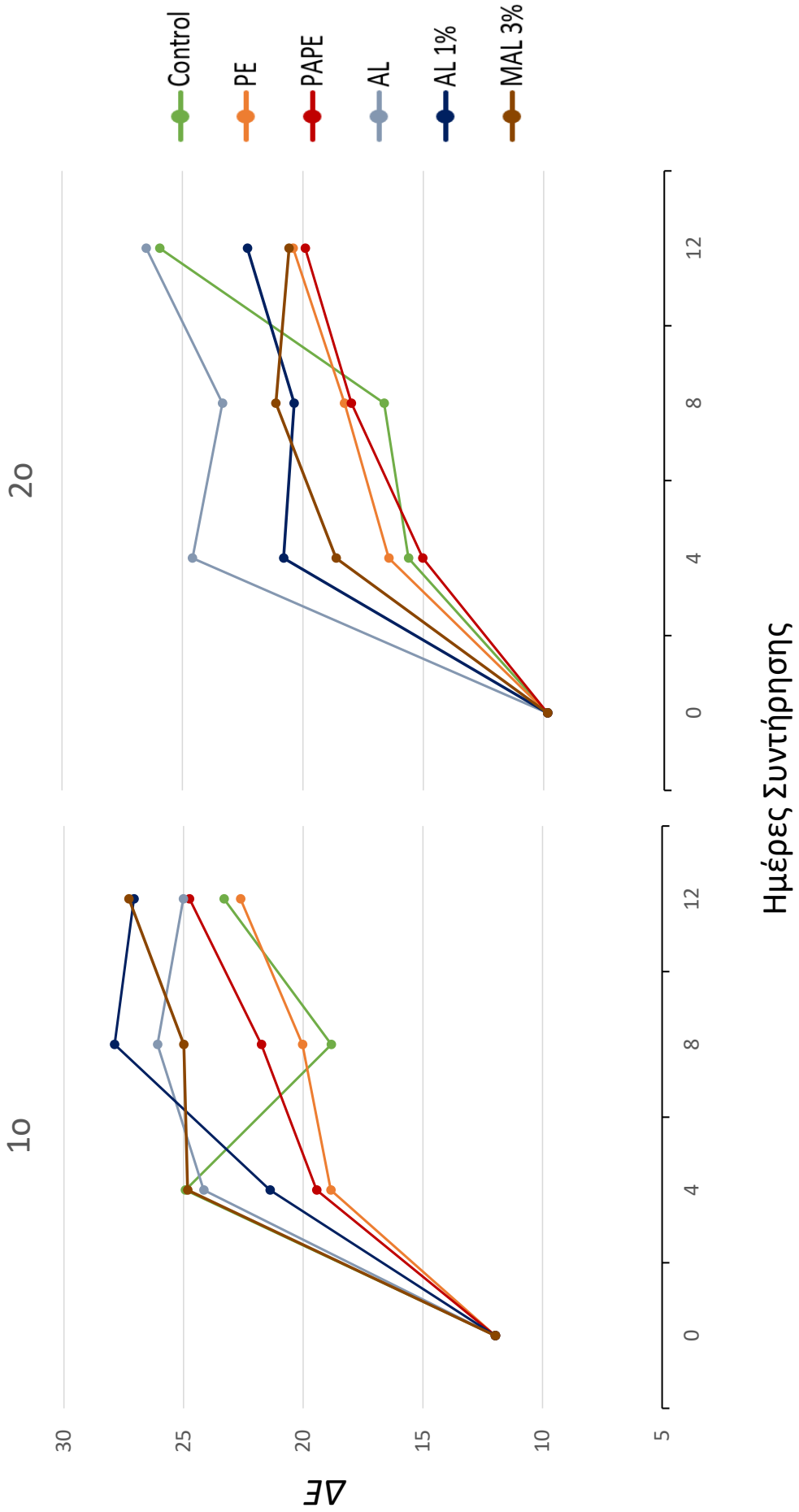


Σχήμα 13: Παράμετρος χρώματος b^* εξωτερικής πλευράς των μανιταριών για όλες τις επεμβάσεις, για τα δύο κύματα καλλιεργειών (1ο και 2ο) και για τις ημέρες συντήρησης 0, 4, 8, 12

4.3.4 Παράμετρο ΔE εξωτερικής πλευράς

Για την εξωτερική επιφάνεια των μανιταριών υπολογίστηκε και η παράμετρος ΔE, σύμφωνα με την εξίσωση 1 της προηγούμενης ενότητας και οι τιμές της φαίνονται αναλυτικά στα διαγράμματα του σχήματος 18.
Παρατηρώντας το διάγραμμα φαίνεται πως τις υψηλότερες μέσες τιμές τις φέρουν οι επεμβάσεις με την εδώδιμη μεμβράνη (AL, AL1%, MAL 3%), έχοντας ΔE=22. Τα μανιτάρια του μάρτυρα και των πλαστικών μεμβρανών (PE, PAPE) φέρουν μέση τιμή της παραμέτρου ΔE=18.5. Όπως με τις παραμέτρους *a**, *b**, έτσι και εδώ αυξημένη μέση τιμή καταγράφεται κατά τη 12η ημέρα συντήρησης και έχει τιμή ΔE=24, ενώ κατά την 8η και 4η ημέρα η τιμή είναι ΔE=23 και ΔE=22 αντίστοιχα. Η αρχική τιμή της παραμέτρου αυτής ξεκινά ΔE=12 και τη 12η ημέρα τη χαμηλότερη τιμή την έχει η εφαρμογή PE με τιμή ΔE=23, ενώ την υψηλότερη τιμή την έχουν τα μανιτάρια με αλγινικό σε συνδυασμό με το εκχύλισμα (MAL 3%) και η τιμή είναι ΔE=28.

Σχετικά με το 2ο κύμα φαίνεται πως τις υψηλότερες μέσες τιμές τις φέρουν οι εφαρμογές PE, AL, AL1%, MAL 3% με τιμή ΔE 18. Ακολουθούν τα μανιτάρια στη συσκευασία PAPE, (ΔE=17) και αυτά του μάρτυρα με ΔΕ=16. Η 12η ημέρα είναι και η ημέρα με την μεγαλύτερη μέση τιμή (ΔE=22) που καταγράφεται καθ' όλη τη διάρκεια και έπονται η 8η (ΔE=19) και η 4η (ΔE=18). Η αρχική τιμή καταγραφής της παραμέτρου για το συγκεκριμένο κύμα καλλιέργειας είναι ΔE=10. Στο τέλος της συντήρησης (12η ημέρα) τη χαμηλότερη τιμή την έχει η εφαρμογή PAPE με τιμή ΔE=20, ενώ την υψηλότερη τιμή την έχουν τα μανιτάρια με αλγινικό και η τιμή είναι ΔE=26.5.



Σχήμα 14: Παράμετρος χρώματος ΔE εξωτερικής πλευράς των μανιταριών για όλες τις επεμβάσεις, για τα δύο κύματα καλλιεργειών (1ο και 2ο) και για τις ημέρες συντήρησης 0, 4, 8, 12

Πίνακας 8: Επίδραση της ημέρας συντήρησης (P day), της μεθόδου (P treatment) και της αλληλεπίδρασής τους (Pday* P treatm) στις παραμέτρους *L*, a*, b*, ΔE* του χρώματος εξωτερικά του μανιταριού, για τα δύο κύματα καλλιεργειών (1ο και 2ο)

	L out*		*a* out*		*b * out*		*ΔE*	
	1ο	2ο	1ο	2ο	1ο	2ο	1ο	2ο
P day	***	***	***	***	***	***	***	***
P treatment	***	*	***	**	***	**	**	*
P day * P treatment	**	**	***	**	**	**	**	**

*** σημαντικό P<0.001, ** σημαντικό P<0.01,
* σημαντικό P<0.05, NS μη σημαντικό

Όπως φαίνεται στο χρωματογραφικό διάγραμμα του σχήματος 8 της προηγούμενης ενότητας οι μέσες τιμές της παραμέτρου *L**, για την εξωτερική πλευρά των μανιταριών που είναι συσκευασμένα με πλαστική μεμβράνη και αυτά του μάρτυρα, κυμαίνονται και για τα δύο κύματα από 87-90 και κατατάσσονται στην 3η κατηγορία προτίμησης, σύμφωνα με τον πίνακα 1. Από την άλλη τα μανιτάρια με την επικάλυψη των εδώδιμων μεμβρανών κατατάσσονται στην κατηγορία 4, καθώς οι τιμές τους κυμαίνονται κατά μέσο όρο και στα δύο κύματα από 86-80. Οι τιμές των δύο άλλων παραμέτρων *a*, b**, για να πληρούν τα καταναλωτικά πρότυπα θα πρέπει να βρίσκονται όσο πιο κοντά γίνεται στην αρχή των αξόνων.

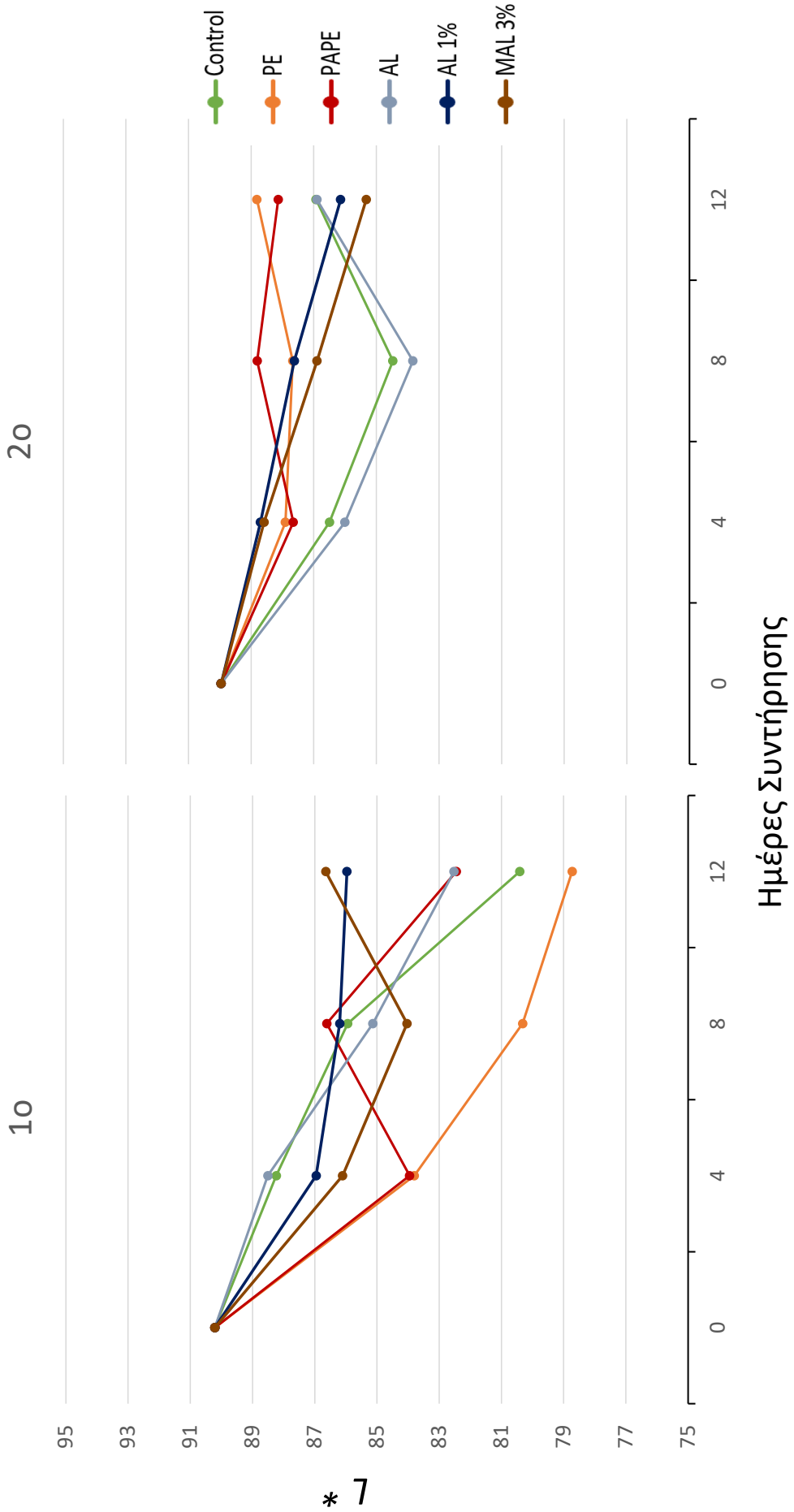
Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε σημαντική επίδραση των ημερών συντήρησης (P<0,001) στους δύο κύκλους πειραμάτων, ενώ σημαντική ήταν η επίδραση στις παραμέτρους του χρώματος στην εξωτερική πλευρά των μανιταριών από τις διάφορες επεμβάσεις, στα περισσότερα πειράματα. Η αλληλεπίδραση αυτών των δύο παραγόντων ήταν σημαντική στις περισσότερες περιπτώσεις.

4.3.5 Παράμετρο *L** εσωτερικής πλευράς

Η παράμετρος *L** που μετρήθηκε στην εσωτερική πλευρά έχει παρόμοια καθοδική τάση όσο διαδέχονται οι ημέρες συντήρησης η μία την άλλη, όπως συνέβη και στην εξωτερική. Οι μέσες τιμές για το 1ο κύμα ξεκινούν από *L**=87 και εντοπίζονται στις εφαρμογές με την εδώδιμη μεμβράνη (AL, AL1%, MAL 3%), ενώ ακολουθούν οι πλαστικές μεμβράνες με τιμή *L**=83 και τέλος ο μάρτυρας που έχει τη χαμηλότερη μέση τιμή *L**=78. Αναμενόμενο είναι να ξεκινούν οι τιμές την πρώτη ημέρα συντήρησης με *L**=90 αλλά να μειώνονται και τη 12η ημέρα η τιμή προσεγγίζει την τιμή 77. Παρατηρώντας το διάγραμμα φαίνεται μια συνεχή πτωτική τάση της τιμής στη συσκευασία PE από την 4η ημέρα μέχρι και το τέλος της συντήρησης.

Στο τέλος της συντήρησης η εφαρμογή με την υψηλότερη τιμή είναι η εφαρμογή της εδώδιμης μεμβράνης με το εκχύλισμα αμυγδάλου (L^*=87), ενώ την μικρότερη τιμή την είχε η PE (L^*=78).

Σχετικά με το 2ο κύμα διαπιστώνεται παρόμοια καθοδική τάση. Από το διάγραμμα φαίνεται πως κατά τη διάρκεια συντήρησης τη χαμηλότερη τιμή την προσεγγίζει την 8η ημέρα η συσκευασία AL με τιμή L^*=84, ενώ για τη 12η ημέρα την είχαν τα μανιτάρια με εδώδιμη μεμβράνη και εκχύλισμα και η τιμή ήταν L^*=85. Την 8η ημέρα πάλι διαπιστώνεται η υψηλότερη τιμή που καταγράφηκε στο κύμα αυτό και ήταν στα μανιτάρια της PAPE συσκευασίας L^*=89. Τη 12η ημέρα την υψηλότερη τιμή την είχε η συσκευασία PE (L^*=88).

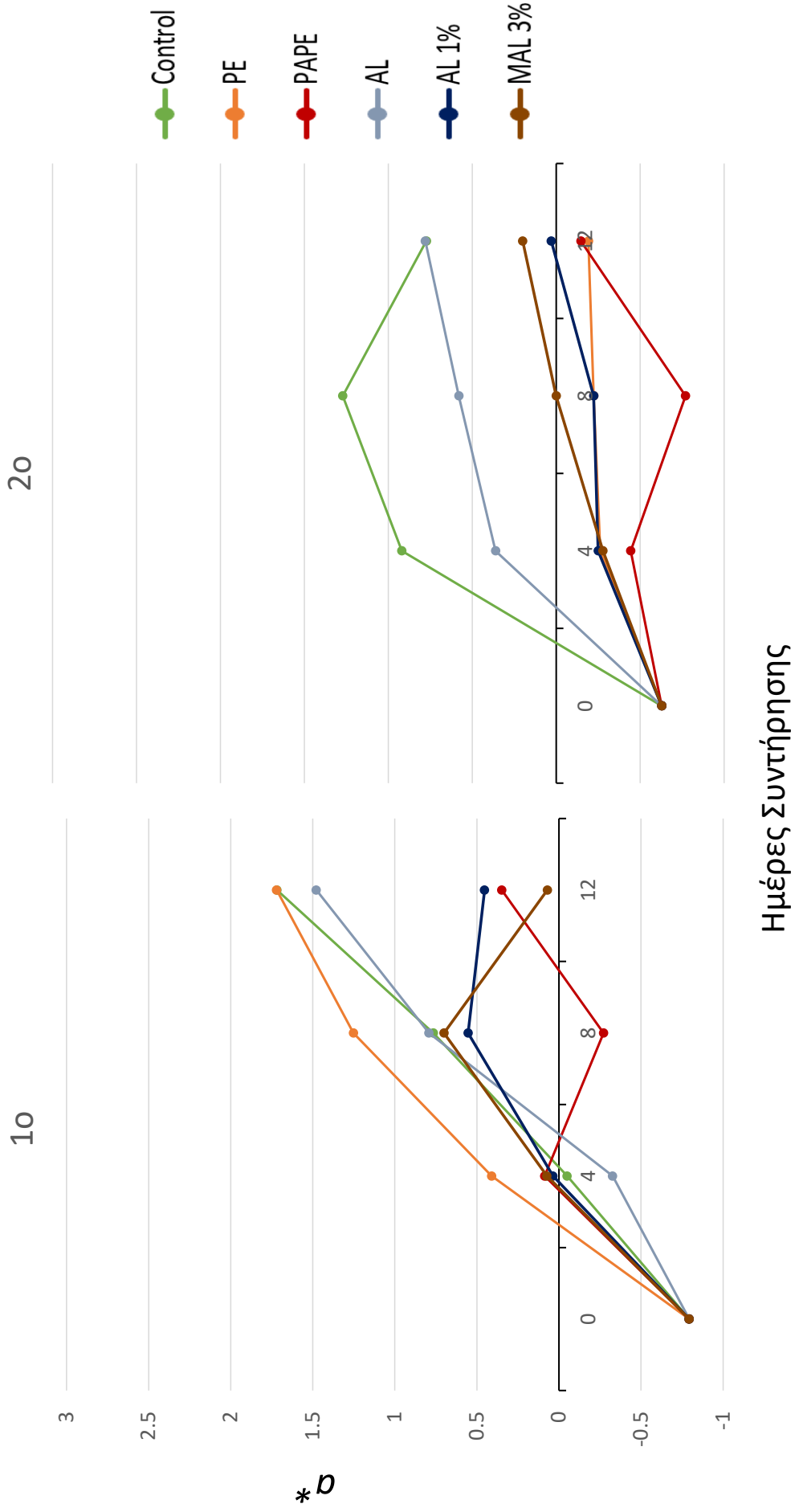


Σχήμα 15: Παράμετρος χρώματος L^* εσωτερικής πλευράς των μανιταριών για όλες τις επεμβάσεις(Control, PE, PAPE, AL, AL1%, MAL3%) , για τα δύο κύματα καλλιεργειών (1ο και 2ο) και για τις ημέρες συντήρησης 0, 4, 8, 12

4.3.6 Παράμετρο *a** εσωτερικής πλευράς

Για την παράμετρο *a** παρατηρείται ότι τα μανιτάρια με συσκευασία PE είχαν υψηλότερη μέση τιμή*a**=0,64 , ενώ ακολουθεί ο μάρτυρας με τιμή *a**=0,4. Τα μανιτάρια με τις εδώδιμες μεμβράνες είχαν τιμή από 0,3, 0,05, 0,01 (AL, AL1%, MAL 3% αντίστοιχα). Τη χαμηλότερη καταγεγραμμένη τιμή της παραμέτρου την είχαν τα μανιτάρια στη συσκευασία PAPE όπου ήταν *a**=-0,15. Τη 12η ημέρα τα μανιτάρια εσωτερικά κατέγραψαν την μεγαλύτερη μέση τιμή α*=0,96 ακολουθούν η 8η και 4η ημέρα με *a**=0,6 και *a**=0,04 αντίστοιχα. Η αρχική τιμή ήταν -0,8.

Οι τιμές του 2ου κύματος εμφανίζουν αποκλίσεις με αυτές του 1ου. Συγκεκριμένα την υψηλότερη τιμή την έχει ο μάρτυρας με *a**= 1,3 και εντοπίζεται την 8η ημέρα συντήρησης. Εν συνεχεία ακολουθούν οι υπόλοιπες μέθοδοι συντήρησης με τις μέσες τιμές για τις πλαστικές μεμβράνες να είναι *a**=-0,2. Σχετικά με τις εδώδιμες μεμβράνες οι μέσες τιμές που καταγράφηκαν είναι *a** =-0,3. Στο κύμα αυτό, όπως και στο προηγούμενο, η χαμηλότερη τιμή εντοπίζεται την 8η ημέρα συντήρησης στη συσκευασία PAPE με τιμή -0,8. Η αρχική τιμή ήταν -0,6. Ο μάρτυρας είχε τη 12η ημέρα συντήρησης τη μέγιστη τιμή, η οποία ήταν *a**=0,8, ενώ την μικρότερη τιμή την είχε η συσκευασία PE με *a**=-0,2.

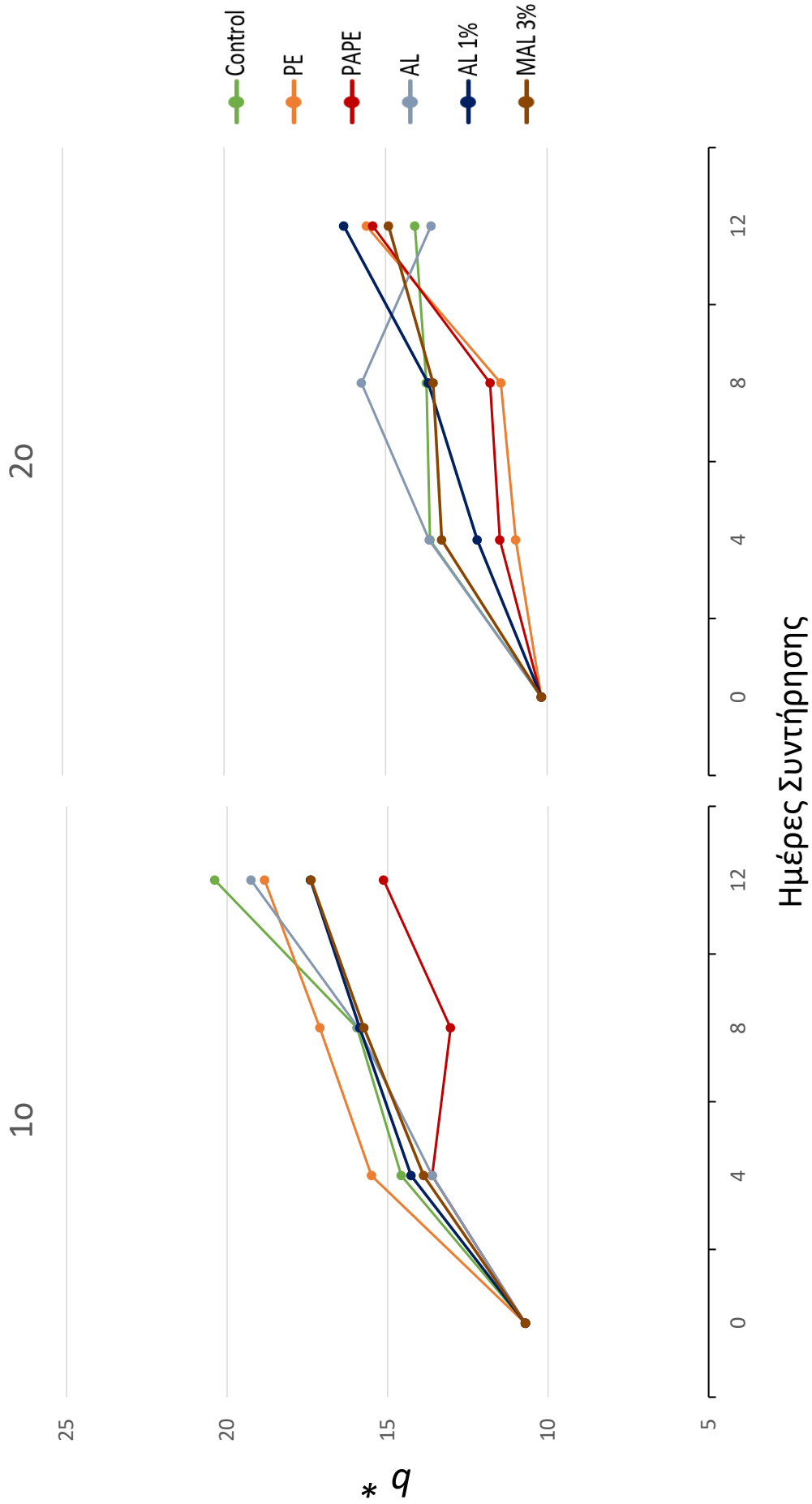


Σχήμα 16: Παράμετρος χρώματος *a** εσωτερικής πλευράς των μανιταριών για όλες τις επεμβάσεις, για τα δύο κύματα καλλιεργειών (1ο και 2ο) και για τις ημέρες συντήρησης 0, 4, 8, 12

4.3.7 Παράμετρο *b** εσωτερικής πλευράς

Τα αποτελέσματα της παραμέτρου *b** για τις μετρήσεις εσωτερικά της επιφάνειας διακρίνονται στο σχήμα 16. Ακολουθούν παρόμοια ανοδική τάση όπως και οι τιμές της εξωτερικής πλευράς. Η αρχική τιμή της παραμέτρου αυτής για το 1ο κύμα ήταν *b**=10. Κατά την πορεία της συντήρησης οι τιμές ακολουθούσαν αυξητική τάση και πιο συγκεκριμένα την 4η ημέρα η μέση υψηλότερη τιμή ήταν *b**=14, την 8η *b**=15 και τη 12η *b**=18. Οι επεμβάσεις του μάρτυρα και της μεμβράνης PE είχαν τις υψηλότερες μέσες τιμές που μετρήθηκαν εσωτερικά του μανιταριού (*b**=15), ακολουθούν οι εδώδιμες μεμβράνες με τιμή *b**=14 και τέλος τα μανιτάρια με συσκευασία PAPE *b**=13. Τη 12η ημέρα ο μάρτυρας είχε την μεγαλύτερη τιμή (*b**=20) και η συσκευασία PAPE την μικρότερη *b**=15.

Στο 2ο κύμα η αρχική τιμή της παραμέτρου ήταν *b**=10 και ακολούθησε ανοδική τάση όσο οι ημέρες συντήρησης περνούσαν. Την 4η ημέρα η υψηλότερη μέση τιμή ήταν *b**=12 και την 8η *b**=13. Την τελευταία ημέρα συντήρησης η υψηλότερη μέση τιμή ήταν *b**=15. Αντίθετα με το προηγούμενο κύμα , σε αυτό τις υψηλότερες μέσες τιμές τις έχουν οι εφαρμογές με την εδώδιμη μεμβράνη *b**=13 καθ΄ όλη τη διάρκεια της συντήρησης. Ακολουθούν ο μάρτυρας και τέλος οι συσκευασίες PE, PAPE με μέση τιμή *b**=12. Στο τέλος της συντήρησης η εφαρμογή με την μεγαλύτερη τιμή ήταν το αλγινικό (AL)(*b**=16), ενώ την μικρότερη την είχε το αλγινικό με τιμή *b**=13,6.

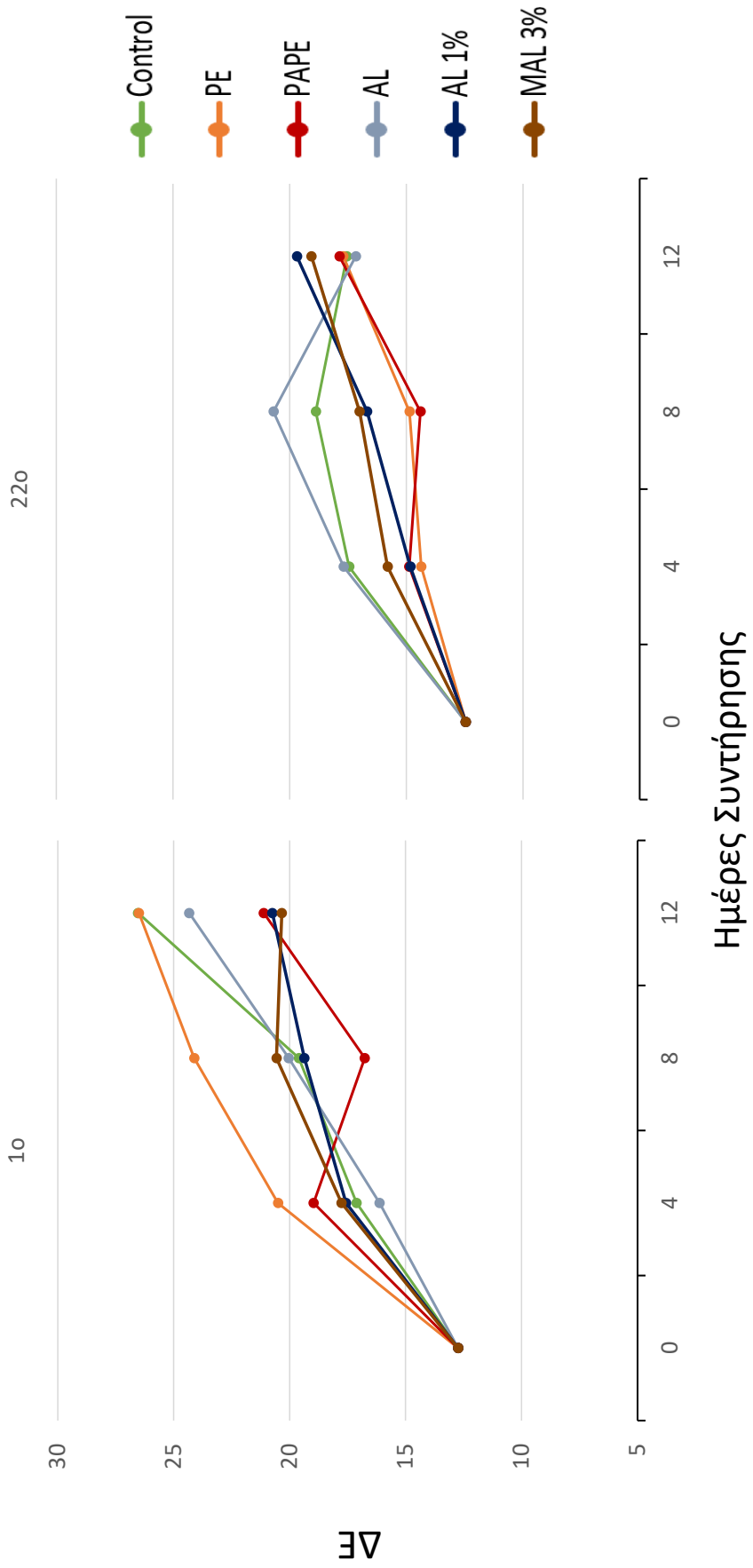


Σχήμα 17: Παράμετρος χρώματος b^* εσωτερικής πλευράς των μανιταριών για όλες τις επεμβάσεις, (Control, PE, PAPE, AL, AL1%, MAL3%) , για τα δύο κύματα καλλιεργειών (1ο και 2ο) και για τις ημέρες συντήρησης 0, 4, 8, 12

4.3.8 Παράμετρο ΔE εσωτερικής πλευρά

Η παράμετρος ΔΕ ακολουθεί ανοδική τάση καθ΄ όλη τη διάρκεια συντήρησης των μανιταριών. Στο 1ο κύμα φαίνεται ότι τις μεγαλύτερες μέσες τιμές τις έχει η πλαστική συσκευασία PE με ΔE=20, όπως και ο μάρτυρας. Ακολουθούν οι εδώδιμες μεμβράνες με μέση τιμή ΔE=17, όπως και την ίδια τιμή φέρει και η πλαστική μεμβράνη PAPE. Η αρχική τιμή της παραμέτρου ήταν ΔE=12, ενώ την 4η ημέρα η μέση τιμή ήταν ΔE=18, την 8η η μέση τιμή έφτασε ΔE=20, ενώ τη 12η ημέρα ήταν αρκετά αυξημένη με την τιμή της να προσεγγίζει ΔE=27. Η πλαστική συσκευασία PE σε όλο το 1ο κύμα φαίνεται να έχει τις υψηλότερες τιμές συγκριτικά με τις υπόλοιπες εφαρμογές και τη 12η ημέρα η τιμή της είναι η μέγιστη (ΔE=26,5).

Το 2ο κύμα διαφέρει με το 1ο, καθώς παρατηρείται πως τις μέγιστες μέσες τιμές τις έχει η εφαρμογή του μάρτυρα με τιμή ΔE=20. Οι υπόλοιπες δε διαφέρουν τόσο μεταξύ τους, καθώς οι μέγιστη μέση τιμή για κάθε μία από τις υπόλοιπες εφαρμογές κυμαίνεται από 15-16. Τη 12η ημέρα την μεγαλύτερη τιμή την έχει η εφαρμογή με το αλγινικό 1% και έχει τιμή 20. Η αρχική τιμή ήταν ΔE=12,5, ενώ οι μέσες τιμές των υπόλοιπων ημερών ήταν για τη μεν 4η ημέρα ήταν ΔE=15, ενώ για την 8η και τη 12η ήταν παρόμοια $\Delta E \approx$18.



Σχήμα 18: Παράμετρος χρώματος ΔE εσωτερικής πλευράς των μανιταριών για όλες τις επεμβάσεις, (Control, PE, PAPE, AL, AL1%, MAL3%) , για τα δύο κύματα καλλιεργειών (1ο και 2ο) και για τις ημέρες συντήρησης 0, 4, 8, 12

Παρατηρώντας τον πίνακα της στατιστικής ανάλυσης 9 με τις παραμέτρους του χρώματος εσωτερικά, φάνηκε ότι στην πλειοψηφία των πειραμάτων υπήρχε σημαντική επίδραση των ημερών συντήρησης (P<0.001). Σημαντική ήταν και η επίδραση των επεμβάσεων αλλά όχι τόσο όσο των ημερών (μικρότερα P), ενώ για την παράμετρο *a**-flesh δεν υπήρξε καμία σημαντικά στατιστική διαφορά. Σημαντική αλληλεπίδραση των ημερών συντήρησης και επεμβάσεων βρέθηκε μόνο στο 1ο.

Πίνακας 9: Επίδραση της ημέρας συντήρησης (P day), της μεθόδου (P treatment) και της αλληλεπίδρασής τους (Pday* P treatm) στις παραμέτρους *L**, *a**, *b**, *ΔE* του χρώματος εξωτερικά του μανιταριού, για τα δύο κύματα καλλιεργειών (1ο και 2ο)

	L flesh*		*a* flesh*		*b* flesh*		*ΔE flesh*	
	1ο	2ο	1ο	2ο	1ο	2ο	1ο	2ο
P day	***	***	***	NS	***	***	***	***
P treatment	***	**	***	NS	***	NS	***	*
P day* P treatment	***	***	**	NS	*	*	***	*

*** σημαντικό P<0.001, ** σημαντικό P<0.01,
*σημαντικό P <0.05, NS μη σημαντικό

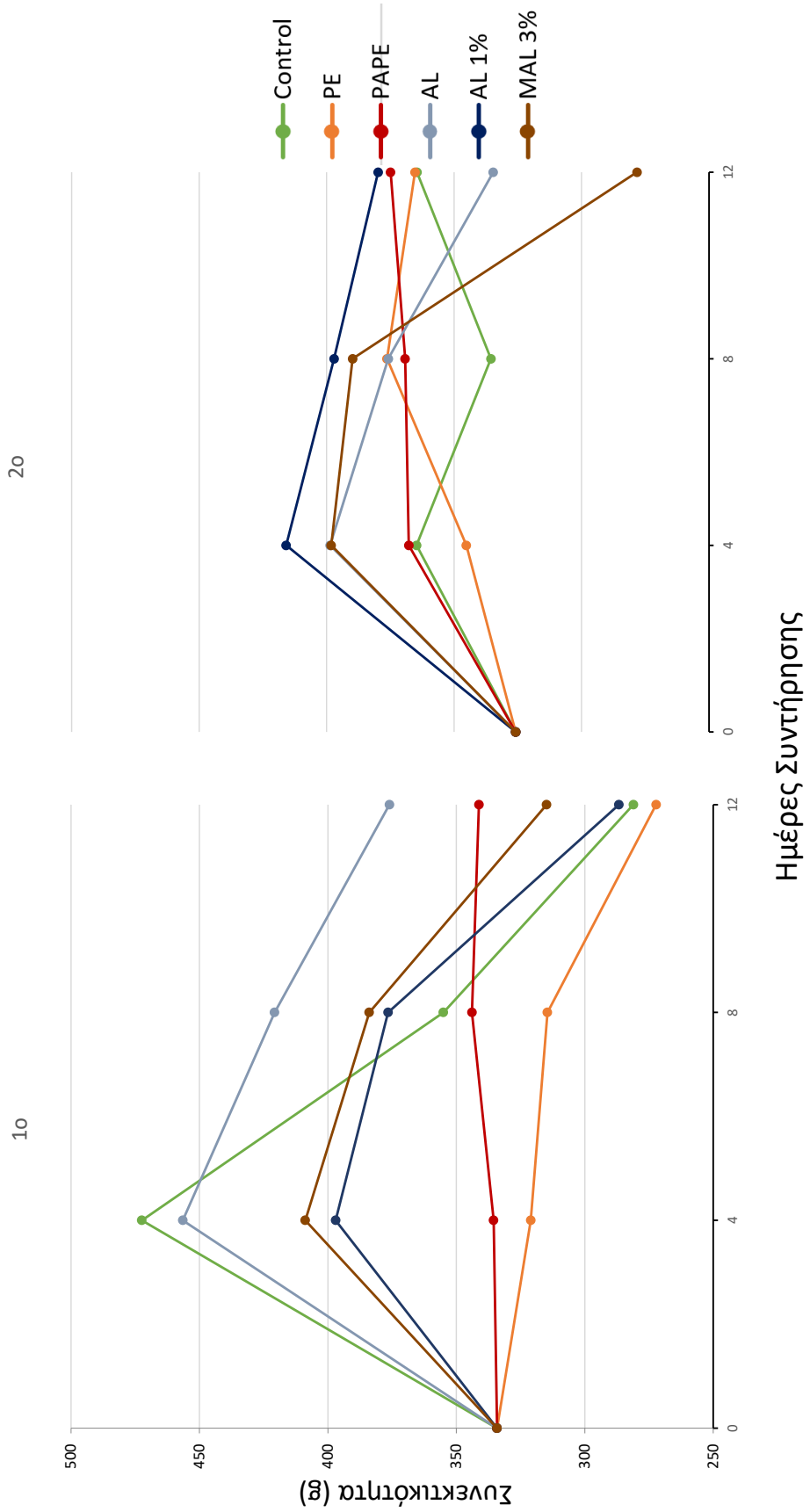
4.4 Συνεκτικότητα

Η συνεκτικότητα και γενικότερα η υφή φάνηκε να επηρεάστηκαν από τη διάρκεια των ημερών συντήρησης και πιο συγκεκριμένα εμφάνισαν πτωτική τάση ιδιαίτερα μετά την τέταρτη ημέρα συντήρησης. Η μέση τιμή της συνεκτικότητας για την εφαρμογή του αλγινικού κυμάνθηκε ≈396g, όπου ήταν και η υψηλότερη τιμή για το 1ο κύμα, ακολουθούν οι υπόλοιπες εδώδιμες μεμβράνες και ο μάρτυρας με μέσες τιμές από 370-360g. Οι πλαστικές μεμβράνες έχουν μέσες τιμές 310 g. Παρατηρώντας το διάγραμμα η 4η ημέρα έχει τις υψηλότερες τιμές για τις περισσότερες εφαρμογές με μέση τιμή 420 g. Τη 12η ημέρα η εφαρμογή με την υψηλότερη τιμή είναι αυτή με το αλγινικό, ενώ τη χαμηλότερη τιμή την έχουν τα μανιτάρια στη συσκευασία PE με τιμή 272g.

Κατά το 2ο κύμα τα μανιτάρια του μάρτυρα δεν παρουσιάζουν παρόμοια εικόνα με του 1ου, καθώς έχουν τη χαμηλότερη μέση τιμή 344g. Οι εδώδιμες μεμβράνες με το αλγινικό 1% υπερισχύουν σε μέσες τιμές καθ΄ όλη τη διάρκεια της συντήρησης με μέση τιμή 394g. Ακολουθούν τα μανιτάρια στη συσκευασία PE με μέση τιμή 366 και τέλος οι υπόλοιπες εφαρμογές με μέσες τιμές που κυμαίνονται ≈355g. Από το διάγραμμα προκύπτει ότι οι υψηλότερες τιμές εμφανίζονται την 4η και 8η ημέρα συντήρησης με μέση τιμή 383g. Την 4η ημέρα η επέμβαση του αλγινικού 1%

με τιμή 415g ήταν και αυτή με την μέγιστη τιμή καθ΄όλη τη διάρκεια του κύματος αυτού. Κατά την 12η ημέρα καταγράφεται η χαμηλότερη τιμή από την εφαρμογή της εδώδιμης μεμβράνης με το εκχύλισμα του αμυγδάλου με τιμή ≈280g, ενώ την υψηλότερη τη φέρει η εφαρμογή με το αλγινικό 1% (404g).

Η αρχική τιμή του 1ου κύματος ήταν 334g, ενώ για το 2ο κύμα ήταν 325g.



Σχήμα 19: Προσδιορισμός της συνεκτικότητας των μανιταριών για όλες τις επεμβάσεις (Control, PE, PAPE, AL, AL1%, MAL3%) , για τα δύο κύματα καλλιεργειών (1ο και 2ο) και για τις ημέρες συντήρησης 0, 4, 8, 12

Οι ημέρες συντήρησης και όχι τόσο οι επεμβάσεις είχαν σημαντικό ρόλο στα αποτελέσματα. Από τον πίνακα 11 διαπιστώθηκε ότι σημαντική επίδραση είχαν οι ημέρες συντήρησης σε όλα τα πειράματα, ενώ οι επεμβάσεις μόνο στο πρώτο. Σημαντική ήταν και η αλληλεπίδραση ημερών και επεμβάσεων στο πρώτο πείραμα.

Πίνακας 10: Επίδραση της ημέρας συντήρησης (P day), της μεθόδου (P treatment) και η αλληλεπίδρασή τους στη συνεκτικότητα του μανιταριού

Συνεκτικότητα		
	1ο	2ο
P day	***	**
P treatment	**	*
P day * P treatment	NS	**
*** σημαντικό P<0.001, ** σημαντικό P<0.01, * σημαντικό P<0.05, NS μη σημαντικό		

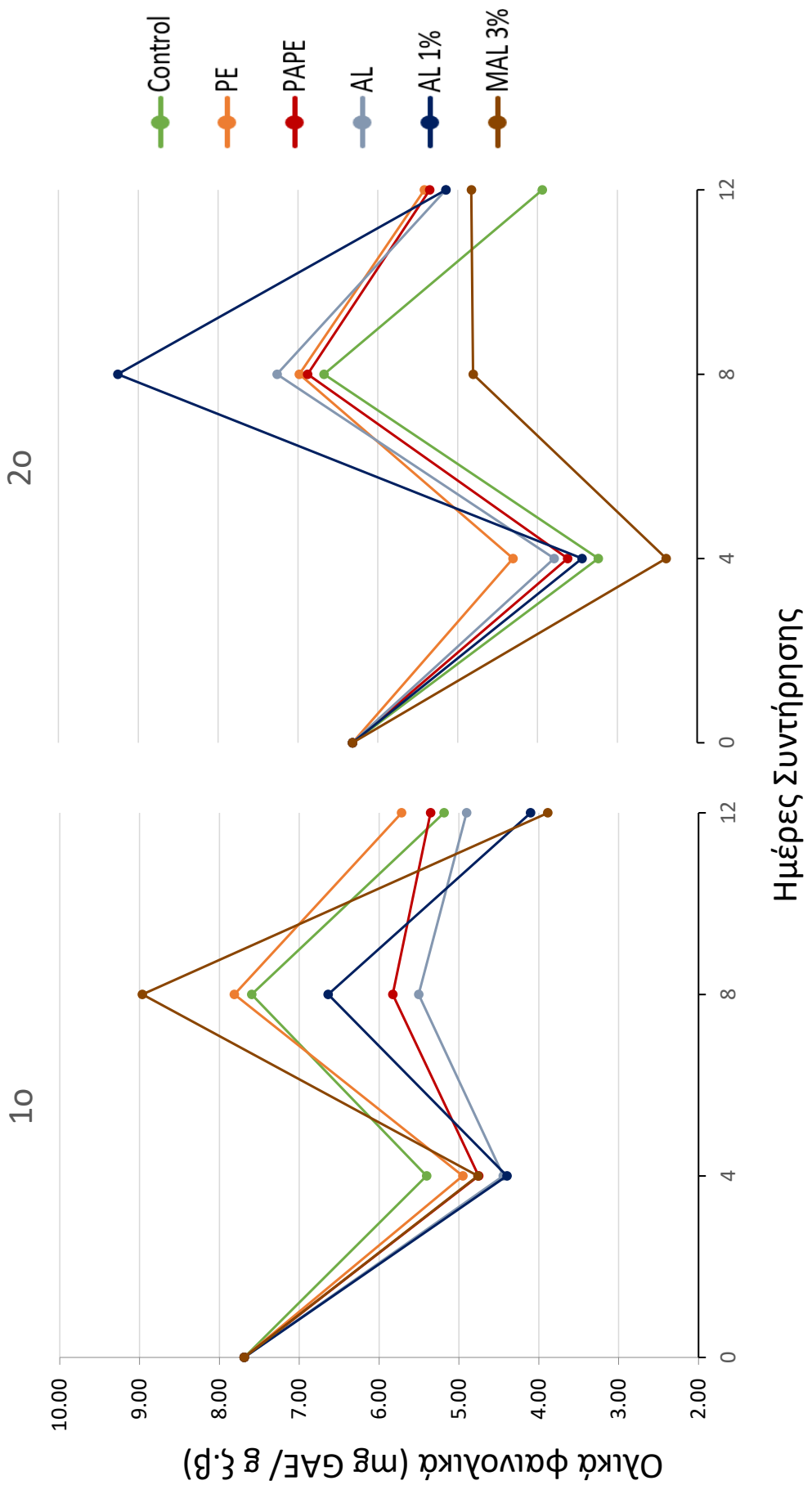
Στο παράρτημα παρατίθενται φωτογραφίες των δειγματοληψιών που είναι ευδιάκριτα τα χαρακτηριστικά του χρώματος για όλα τα πειράματα.

4.5 Προσδιορισμός συγκέντρωσης φαινολικών συστατικών (Folin-Ciocalteu)

Στο σχήμα 20 που ακολουθεί διαπιστώνεται ότι στον πρώτο κύκλο πειραμάτων (A,B) λείπουν ορισμένες μετρήσεις. Για το μεν A δεν υπάρχουν μετρήσεις της 12ης ημέρας, ενώ για το B της 1ης και 4ης.
Στα διαγράμματα του σχήματος 20 παρατηρείται μια πτώση των τιμών μέχρι την 4η ημέρα με μέση τιμή για το 1ο κύμα με την τιμή να είναι ≈4,5 mg GAE/g ξ.β , ενώ την 8η η τιμή των TP αυξάνεται και αποκτά τη μέση μέγιστη τιμή του κύματος αυτού (9 mg GAE/g ξ.β). Κατά τη διάρκεια της συντήρησης των μανιταριών τη μέγιστη τιμή των TP την κατέγραψαν τα μανιτάρια του μάρτυρα με μέση τιμή ≈7 mg GAE/g ξ.β και ακολουθούν τα μανιτάρια που ήταν στις πλαστικές συσκευασίες με μέση τιμή 6,5 mg GAE/g ξ.β. Τα μανιτάρια των εδώδιμων μεμβρανών κατέγραψαν τις χαμηλότερες μέσες τιμές κατά τη συντήρησή τους 5,5 mg GAE/g ξ.β . Σχετικά με το κύμα αυτό διαπιστώνεται ότι η μέγιστη τιμή καταγράφεται την 8η ημέρα από τα μανιτάρια με την εδώδιμη μεμβράνη και το εκχύλισμα αμυγδάλου (≈9 mg GAE/g ξ.β), ενώ την 12η ημέρα την μέγιστη τιμή την είχε η εφαρμογή PE με τιμή ≈6 mg GAE/g ξ.β και την μικρότερη τιμή την είχε η επέμβαση με της εδώδιμης σε συνδυασμό με το εκχύλισμα αμυγδάλου (MAL 3%) με τιμή ≈4 mg GAE/g ξ.β.

Στο 2ο κύμα όπως φαίνεται από το σχήμα 19 υπάρχει παρόμοια ανοδική και καθοδική τάση μεταξύ των ημερών συντήρησης. Πιο συγκεκριμένα την 4η ημέρα παρατηρείται μείωση των τιμών με αυτές να κυμαίνονται ≈3,5 mg GAE/g ξ.β, την 8η ημέρα υπάρχει αύξηση των μέσων τιμών που προσεγγίζουν τα ≈7 mg GAE/g ξ.β, ενώ τη 12η μειώνονται στα ≈5 mg GAE/g ξ.β. Οι εφαρμογές με τις μεγαλύτερες μέγιστες τιμές ήταν η εδώδιμη μεμβράνη με το πυκνό αλγινικό 1% (AL%) και οι συσκευασίες PE, PAPE με μέση τιμή ≈5,5 mg GAE/g ξ.β, ενώ ακολουθούν οι υπόλοιπες με τελευταία την εφαρμογή MAL 3%, όπου και κατέγραψε τις χαμηλότερες μέσες τιμές (≈4,5 mg GAE/g ξ.β) καθ΄ όλη τη διάρκεια της συντήρησης. Η εφαρμογή με την μέγιστη τιμή του κύματος αυτού ήταν του αλγινικού 1% την 8η ημέρα (≈9 mg GAE/g ξ.β), ενώ η χαμηλότερη ήταν του MAL 3% την 4η ημέρα(≈2,4 mg GAE/g ξ.β). Κατά τη 12η ημέρα η εφαρμογή που είχε τα περισσότερα TP ήταν PE με τιμή ≈5,5 mg GAE/g ξ.β, ενώ τη χαμηλότερη τιμή την είχε ο μάρτυρας με τιμή ≈4 mg GAE/g ξ.β.

Η αρχική τιμή του 1ου κύματος ήταν ≈7.7 mg GAE/g ξ.β., ενώ του 2ου τιμή ≈6,4 mg GAE/g ξ.β.



Σχήμα 20: Προσδιορισμός των ολικών φαινολικών με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu των μανιταριών για όλες τις επεμβάσεις (Control, PE, PAPE, AL, AL1%, MAL3%) , για τα δύο κύματα καλλιεργειών (1ο και 2ο) και για τις ημέρες συντήρησης 0, 4, 8, 12

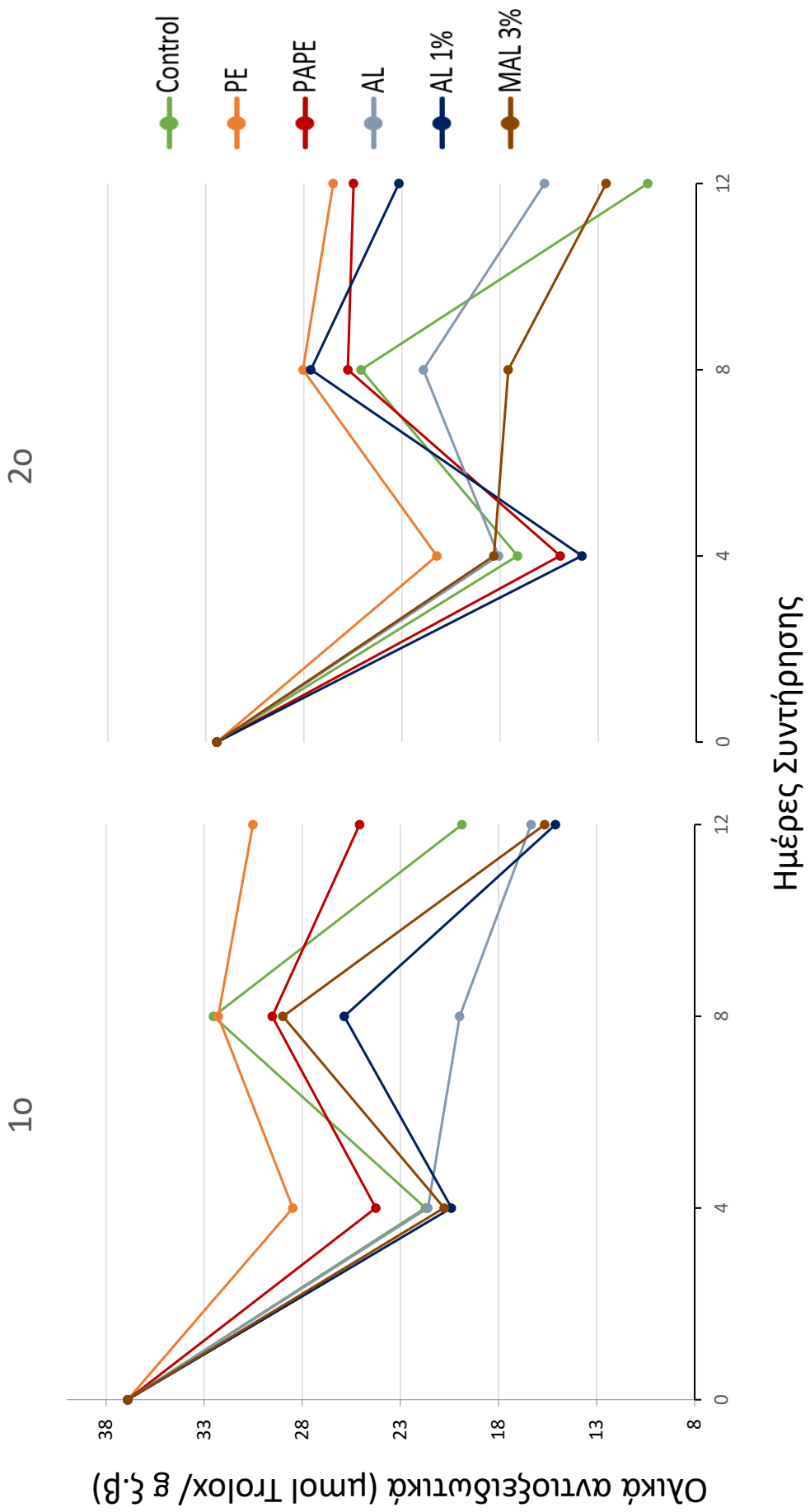
4.6 Προσδιορισμός συγκέντρωσης αντιοξειδωτικών ουσιών (DPPH-ABTS)

4.6.1 Μέθοδος DPPH

Από το διάγραμμα του σχήματος 21 διακρίνονται οι τιμές των TAC της μεθόδου για τα δύο κύματα καλλιεργειών. Στο 1ο κύμα φαίνεται ότι η ημέρα συντήρησης με τις μεγαλύτερες μέσες τιμές ήταν η 8η, όπου και είχε τιμή 28 μmol Trolox /g ξ.β., ενώ οι υπόλοιπες ημέρες συντήρησης είχαν μέσο όρο τιμών 21 μmol Trolox /g ξ.β. Η εφαρμογή με τις υψηλότερες μέσες τιμές TAC ήταν η PE (32 μmol Trolox /g ξ.β), ενώ ακολουθούν η PAPE και ο μάρτυρας με μέσες τιμές 29 μmol Trolox /g ξ.β. Οι εδώδιμες μεμβράνες είχαν ως μέσες τιμές καθ΄ όλη τη διάρκεια της συντήρησης 23.5 μmol Trolox /g ξ.β.. Η μέγιστη τιμή παρατηρήθηκε από τον μάρτυρα και τη συσκευασία PE την 8η ημέρα 32 μmol/ Trolox g ξ.β, ενώ η χαμηλότερη από την AL 1% τη 12η ημέρα (15 μmol Trolox /g ξ.β). Την τελευταία ημέρα συντήρησης την μεγαλύτερη τιμή την είχε πάλι η συσκευασία PE (30,5 μmol Trolox /g ξ.β).

Στο 2ο κύμα παρατηρείται παρόμοια εικόνα με το 1ο σχετικά με τις ημέρες συντήρησης, όπου πάλι η 8η ημέρα είναι αυτή με την μεγαλύτερη μέση τιμή (24 μmol Trolox /g ξ.β). Η εφαρμογή PE πάλι κατέχει τις υψηλότερες τιμές των TAC με μέση τιμή κατά τη διάρκεια της συντήρησης 26 μmol Trolox /g ξ.β. Στη συνέχεια ακολουθεί η εφαρμογή AL1% με τιμή 24 μmol Trolox /g ξ.β, ενώ η εφαρμογή με το εκχύλισμα MAL 3% έχει τις χαμηλότερες μέσες τιμές καθ΄ όλη τη διάρκεια της συντήρησης με μέσες τιμές 20 μmol Trolox /g ξ.β. Στο κύμα αυτό φαίνεται πως την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα την τελευταία μέρα συντήρησης την έχει η εφαρμογή PE με τιμή 26.5 μmol Trolox /g ξ.β., ενώ τη χαμηλότερη την έχει ο μάρτυρας με τιμή 10,5 μmol Trolox /g ξ.β.

Στο 1ο κύμα η αρχική τιμή ήταν ≈37 μmol Trolox /g ξ.β, ενώ στο 2ο κύμα 32 μmol Trolox /g ξ.β

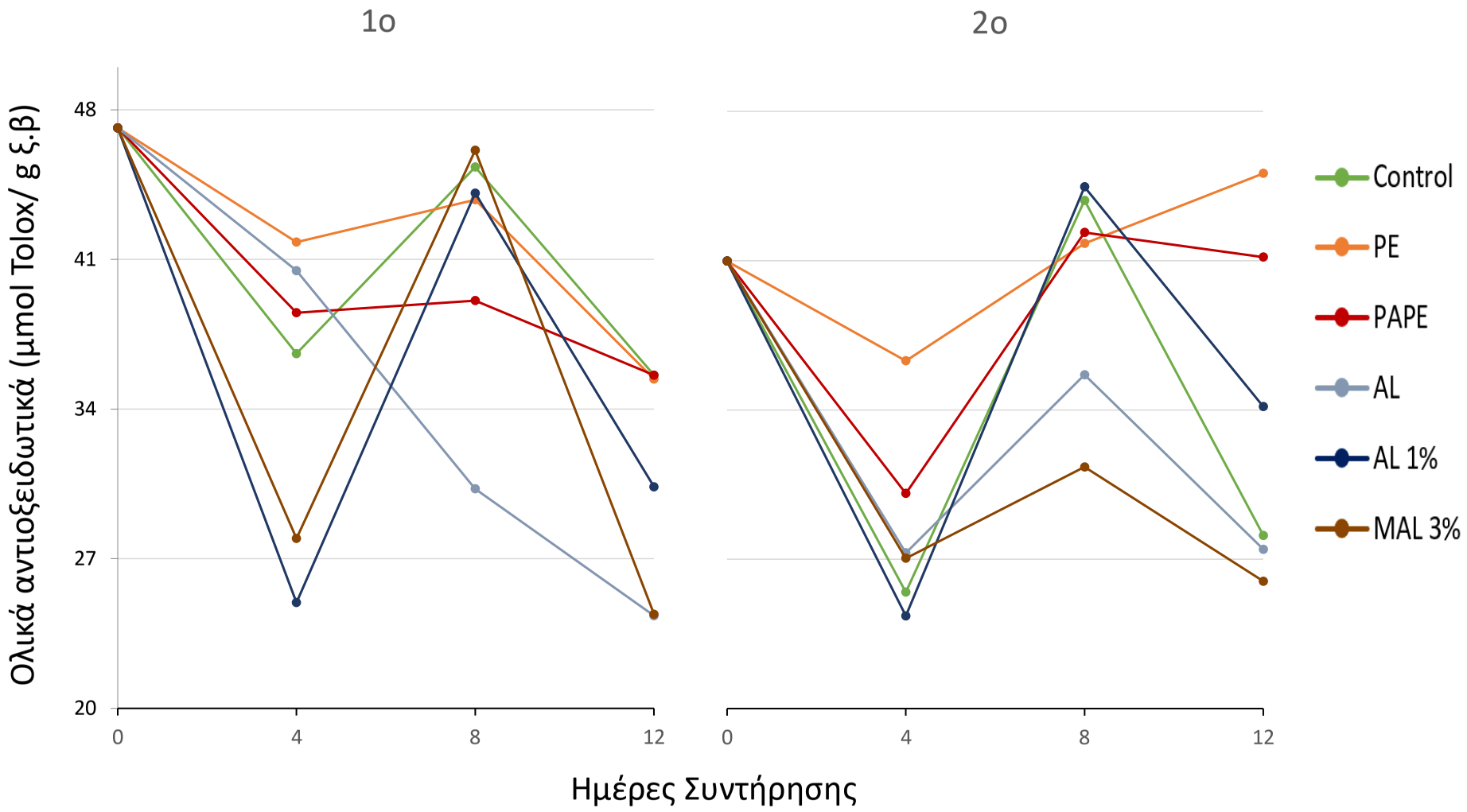


Σχήμα 21: Προσδιορισμός των ολικών αντιοξειδωτικών (TAC) με τη μέθοδο DPPH των μανιταριών για όλες τις επεμβάσεις (Control, PE, PAPE, AL, AL1%, MAL3%) , για τα δύο κύματα καλλιεργειών (1ο και 2ο) και για τις ημέρες συντήρησης 0, 4, 8,12

4.6.2 Μέθοδος ABTS

Η δεύτερη μέθοδος προσδιορισμού των αντιοξειδωτικών ήταν η ABTS. Κατά το 1ο κύμα η ημέρα με τις υψηλότερες τιμές κατά μέσον όρο ήταν η 8η με τιμή 41 μmol Trolox /g ξ.β., ενώ η 4η ημέρα είχε κατά μέσο όρο τιμές γύρω στο 35 μmol Trolox /g ξ.β. και η 12η η οποία είχε εμφανώς τις μικρότερες μέσες τιμές 30 μmol Trolox /g ξ.β.. Οι εφαρμογές με τις υψηλότερες τιμές ήταν αυτές των πλαστικών μεμβρανών και του μάρτυρα με τις μέσες τιμές να κυμαίνονται 40-42 μmol Trolox /g ξ.β.. Ακολουθούν οι εδώδιμες μεμβράνες με τις μέσες τιμές να κυμαίνονται 35 μmol Trolox /g ξ.β.. Στο διάγραμμα του 1ου κύματος φαίνεται πως η εφαρμογή του αλγινικού έχει μια καθοδική πορεία καθ΄όλη τη διάρκεια της συντήρησης και μαζί με την επέμβαση MAL 3% σημειώνουν τη 12η ημέρα την χαμηλότερη τιμή (24,5 μmol Trolox /g ξ.β.). Την υψηλότερη τιμή στο τέλος της συντήρησης την έχουν οι εφαρμογές του μάρτυρα και PE, PAPE (≈35 μmol Trolox /g ξ.β.).

Στο 2ο κύμα διακρίνεται από το διάγραμμα πάλι η υπεροχή των συσκευασιών PE, PAPE με τη μέση τιμή να κυμαίνεται ≈38,5 μmol Trolox /g ξ.β. Ακολουθούν οι υπόλοιπες συσκευασίες με μέση τιμή (≈34.5 μmol Trolox /g ξ.β). Η 8η ημέρα και εδώ έχει τις μεγαλύτερες μέσες τιμές που κυμαίνεται γύρω στο 39 μmol Trolox /g ξ.β , ενώ η 4η είναι αυτή που φέρει τις χαμηλότερες μέσες τιμές (30 μmol Trolox /g ξ.). Τη 12η ημέρα η συσκευασία PE έχει την μεγαλύτερη τιμή η οποία είναι 45 μmol Trolox /g ξ.β και η MAL 3% έχει τη χαμηλότερη με τιμή 26 μmol Trolox /g ξ.β. Η αρχική τιμή του 1ου κύματος ήταν 47 μmol Trolox /g ξ.β, ενώ για το 2ο κύμα οι τιμές της πρώτης ημέρας ήταν 40 μmol Trolox /g ξ.β.



h

Σχήμα 22: Προσδιορισμός των ολικών αντιοξειδωτικών (TAC) με τη μέθοδο ABTS των μανιταριών για όλες τις επεμβάσεις (Control, PE, PAPE, AL, AL1%, MAL3%) , για τα δύο κύματα καλλιεργειών (1ο και 2ο) και για τις ημέρες συντήρησης 0, 4, 8,12

Παρατηρώντας τον Πίνακα 11, διαπιστώνεται ότι η επίδραση της ημέρας είναι σημαντική για τα TP και TAC και για τα δύο κύματα. Η επίδραση των εφαρμογών επίσης η΄ταν σημαντική, με εξαίρεση το 2ο κύμα στις δύο μεθόδους προσδιορισμού των TAC, ενώ σημαντική ήταν και η αλληλεπίδρασή τους με εξαίρεση το 1ο κύμα κατά τον προσδιορισμό των TAC.

Πίνακας 11: Επίδραση της ημέρας συντήρησης (P day) με τη μέθοδο (P treatment) και της αλληλεπίδρασής τους στα ολικά αντιοξειδωτικά του μανιταριού

	TP		**TAC (DPPH)**		**TAC (ABTS)**	
	1ο	2ο	1ο	2ο	1ο	2ο
P day	***	***	***	***	***	***
P treatment	**	**	***	NS	***	NS
P day* P treatment	**	*	NS	**	***	**

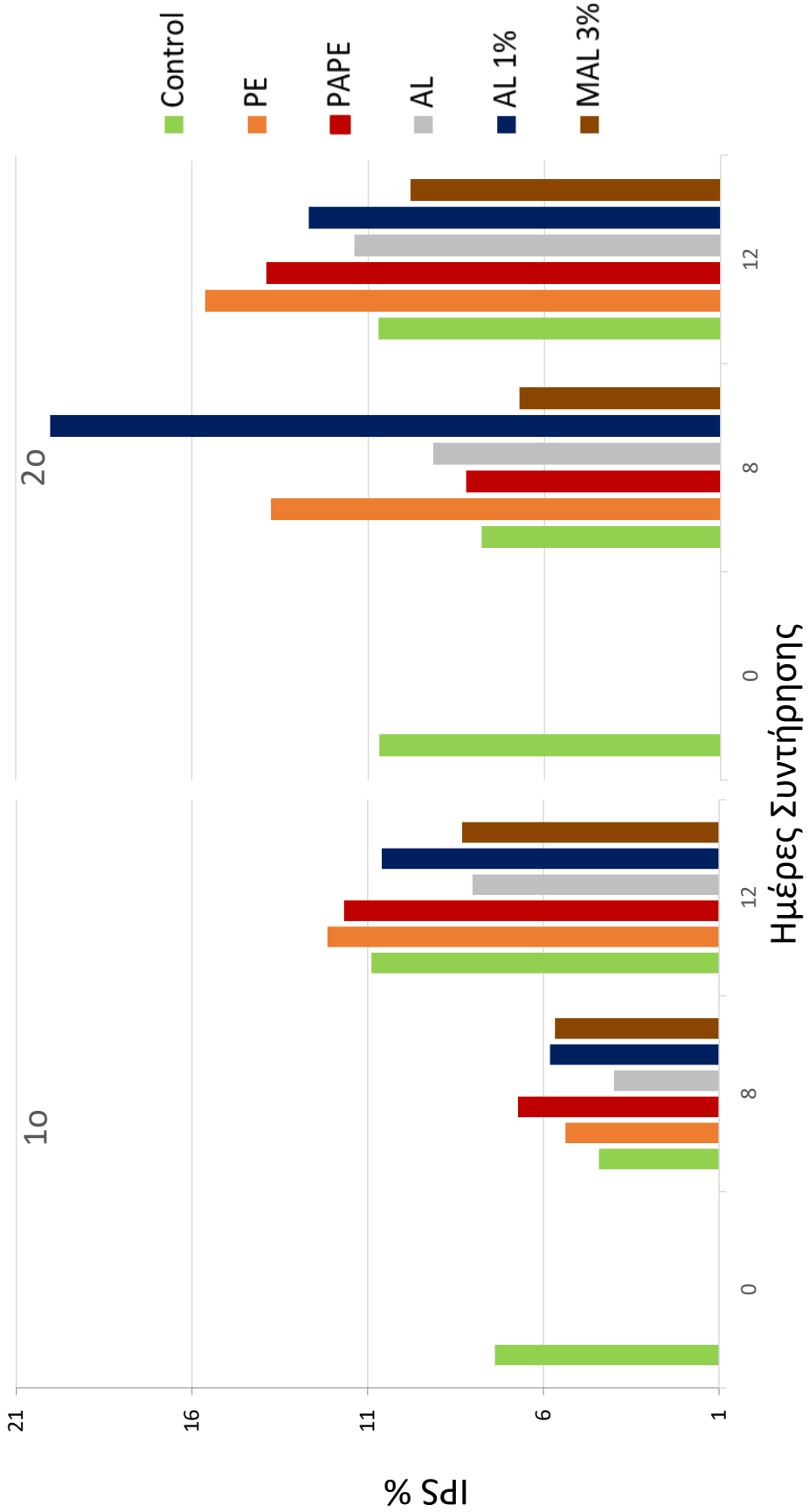
*** σημαντικόP<0.001, **σημαντικό ,
* σημαντικό P<0.05, NS μη σημαντικόP<0.01,

4.7 Προσδιορισμός συγκέντρωσης ενδοπολυσακχαριτών

Στην παρούσα μελέτη ο προσδιορισμός των ενδοπολυσακχαριτών (IPS %) πραγματοποιήθηκε σε όλα τα δείγματα της πρώτης ημέρας, της όγδοης και της δωδέκατης για τα 2 κύματα καλλιέργειας. Διαπιστώνεται από το σχήμα 22 ότι για το 1ο κύμα η αρχική τιμή ήταν 7,5 % και για το 2ο κύμα 11% w/w. Τα δείγματα της 12ης ημέρας σημείωσαν μεγαλύτερες τιμές συγκριτικά με αυτά της 8ης. Πιο συγκεκριμένα τα μανιτάρια της 12ης ημέρας του 1ου κύματος είχαν μέση τιμή 10,5% w/w, ενώ της 8ης 5,5% w/w, ενώ για το 2ο κύμα 12% w/w και 11 % w/w για τις αντίστοιχες ημέρες.

Κατά την 8η ημέρα το 1ου κύματος η εφαρμογή PAPE είναι αυτή με την μεγαλύτερη τιμή 7% w/w, ενώ τη χαμηλότερη τιμή την έχει η επέμβαση με AL (4 % w/w), ενώ κατά τη 12η ημέρα την υψηλότερη τιμή την είχε η εφαρμογή PE (12%) και τη χαμηλότερη την έχει η εφαρμογή του αλγινικού (AL) με τιμή 8%.

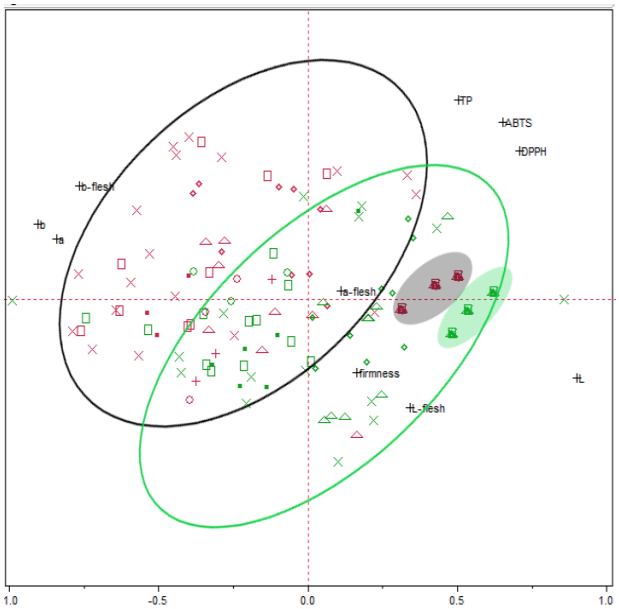
Στο 2ο κύμα κατά την 8η ημέρα η εφαρμογή με το αλγινικό 1% υπερέχει κατά πολύ από τις υπόλοιπες εφαρμογές καθώς η τιμή της προσεγγίζει 20% w/w. Την ίδια ημέρα η εφαρμογή MAL 3% έχει τη χαμηλότερη τιμή (6,7% w/w). Η εφαρμογή με το υψηλότερο ποσοστό των ενδοπολυσακχαριτών τη 12η ημέρα είναι η PE με τιμή 15,5% w/w, ενώ η εφαρμογή με την εδώδιμη μεμβράνη και το εκχύλισμα MAL 3% με τιμή 9,8% w/w είναι η αυτή με το μικρότερο ποσοστό ενδοπολυσακχαριτών.



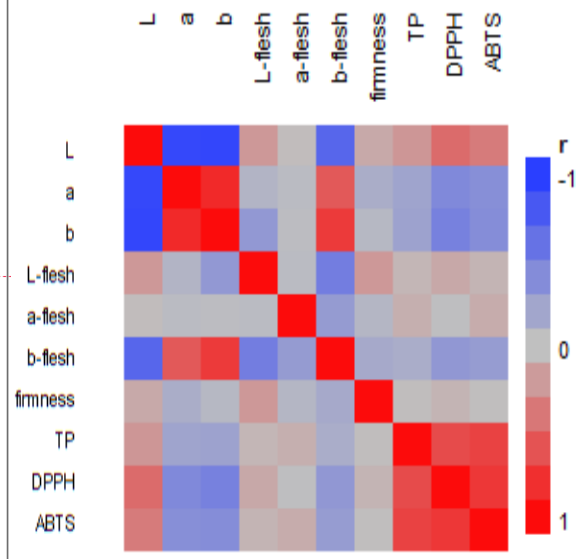
Σχήμα 23: Προσδιορισμός των ολικών ενδοπολυσακχαριτών (IPS% w/w), των μανιταριών για όλες τις επεμβάσεις, για το 1ο και 2ο κύμα καλλιέργειας για τις 0,8,12 ημέρες συντήρησης και για όλες τις επεμβάσεις (Control, PE, PAPE, AL, AL1%, MAL3%)

4.8 Σχέσεις μεταξύ των ποιοτικών παραμέτρων που μελετήθηκαν ανάμεσα στο 1ο και 2ο κύμα

Η PCA έδειξε ότι οι δύο πρώτες ερμηνεύσιμες συνιστώσες εξήγησαν συνολικά το 60,0% της συνολικής διακύμανσης των παραμέτρων του χρώματος *L**, *a**, *b**, *L*-flesh*, *a*-flesh*, *b-flesh**, της συνεκτικότητας (firmness) και των TP, DPPH, ABTS δείχνοντας επίσης ορισμένες στενές σχέσεις μεταξύ των παραμέτρων αυτών (Σχήμα 24).



(α) Ανάλυση PCA (Συνδυασμός score και loading plot))



(β) Συσχέτιση

Σχήμα 24: PCA και αναλύσεις συσχέτισης δεδομένων 1ης & 2ης καλλιέργειας

Από την PCA, οι στενότερες σχέσεις μεταξύ των χαρακτηριστικών, παρατηρήθηκαν ανάμεσα στις τρεις αντιοξειδωτικές παραμέτρους (TP, FRAP, DPPH), οι οποίες υποστηρίχθηκαν και από την ανάλυση συσχέτισης έχοντας ανά ζεύγη συντελεστές r^2 άνω του 0,90 (Σχήμα 22(β)). Ωστόσο δεν παρατηρήθηκαν στενές σχέσεις μεταξύ των αντιοξειδωτικών παραμέτρων και αυτών του χρώματος εξετάζοντας την PCA. Τα δύο κύματα διαχωρίστηκαν με βάση το score plot (Σχήμα 22 (α)), όπου τα σημεία του πρώτου κύματος περικλείονται εντός του μαύρου κύκλου, ενώ τα σημεία του δεύτερου κύματος στον πράσινο. Αντίστοιχα φαίνονται και οι τιμές της ημέρας 0, όπου εμφανίζονται στο σκιασμένο κύκλο με τα χρώματα να αντιστοιχούν όπως και προηγουμένως. Η διασπορά των σημείων του κάθε κύματος στο score plot ήταν παρόμοια μεταξύ τους με τα σημεία του πρώτου κύματος να εμφανίζουν μεγαλύτερη διασπορά συγκριτικά με του δεύτερου. Επίσης οι τιμές των 0 ημερών υποδηλώνουν την ανωτερότητα του δεύτερου κύματος συγκριτικά με του πρώτου κυρίως ως προς την παράμετρο *L** του χρώματος και της συνεκτικότητας.

Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω, η μελέτη των σχέσεων μεταξύ όλων των παραμέτρων μπορεί να ερμηνευθεί με βάση τις πολυμεταβλητές αναλύσεις για κάθε κύμα ξεχωριστά. Συγκεκριμένα, η PCA για κάθε κύμα έδειξε τη στενή σχέση μεταξύ των αντιοξειδωτικών παραμέτρων, χωρίς όμως να εμφανίζονται συσχετίσεις μεταξύ των αντιοξειδωτικών παραμέτρων και των τριών παραμέτρων του χρώματος εξωτερικά και εσωτερικά του καρποσώματος.

5 ΣΥΖΗΤΗΣΗ & Επίλογος

5.1 Συζήτηση

Το περιβάλλον όπου αποθηκεύονται μετασυλλεκτικά τα μανιτάρια, διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο για την μετέπειτα διατήρησή τους και κατ΄επέκταση τη διαθεσή τους στην αγορά και το καταναλωτικό κοινό.

Στην παρούσα μελέτη όλα τα μανιτάρια, όλων των πειραμάτων συντηρήθηκαν σε ψυγείο όπου η θερμοκρασία ήταν $\approx 4^{o}$C και σχετικής υγρασίας 80-90%. Η σύσταση του αέρα στο περιβάλλον ήταν δυνατόν να μετρηθεί μόνο στις συσκευασίες PE, PAPE, όπου μεταβάλλεται παθητικά με το πέρας των ημερών συντήρησης. Λόγω της αναπνοής των μανιταριών και της περατότητας της μεμβράνης, η περιεκτικότητα του CO_2 αυξανόταν και μάλιστα περισσότερο στη συσκευασία PAPE, καθώς αυτή έχει μικρότερη περατότητα στο CO_2 συγκριτικά με τη PE. Η παρουσία του CO_2 στην ατμόσφαιρα καθυστερεί σημαντικά το άνοιγμα του πίλου, την ανάπτυξη του στίπου αλλά και αποτρέπει την ανάπτυξη μικροοργανισμών στην επιφάνεια [17]. Από την άλλη η συσκευασία PE έχει μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε O_2, καθώς η περατότητα της είναι μεγαλύτερη και επιτρέπεται έτσι η είσοδος τους οξυγόνου από το περιβάλλον. Ο μέσος όρος της συγκέντρωσης του O_2 κυμαίνεται $\approx$2% v/v και όποια μεγαλύτερη απόκλιση από την τιμή αυτή, οφείλεται στο μη κατάλληλο κλείσιμο της συσκευασίας, επιτρέποντας την είσοδο του. Τη 18η ημέρα φαίνεται επίσης αυξημένη τιμή της συγκέντρωσης του O_2 στη συσκευασία PAPE που πιθανά οφείλεται στη μείωση της διαδικασίας αναπνοής του μανιταριού, με αποτέλεσμα να εισέρχεται ποσότητα οξυγόνου από το περιβάλλον η οποία καταναλώνεται με μικρότερο ρυθμό σε σχέση με την περατότητα του PAPE στο O_2.

Η αέρια σύσταση εντός των συσκευασιών χρειάζεται να ελέγχεται για να αντιμετωπίζονται διάφορες καταστάσεις. Η ύπαρξη O_2 αποτρέπει την εμφάνιση παθογόνων αναερόβιων οργανισμών, όπως το *Clostridium botulinum* κ.α. Στη συσκευασία PE ακολουθείται η ίδια μείωση της συγκέντρωσης του O_2 με αυτή που καταγράφηκε από τους López Briones κ.α. (1992), οι οποίοι και πρότειναν ότι η ιδανική συγκέντρωση των αερίων εντός της συσκευασίας ήταν 5-10% O_2 και 2.5-5% CO_2 για θερμοκρασία συντήρησης [70]. Στην PAPE συσκευασία παρατηρήθηκαν πολύ χαμηλά ποσοστά του O_2 και χρειάζεται περισσότερη διερεύνηση για τον εντοπισμό ή όχι παθογόνων μικροοργανισμών. Σχετικά με το CO_2 φαίνεται ότι έχει ξεπεραστεί η προτεινόμενη συγκέντρωση καθώς σημειώνονται τιμές από 5-12% για την PE συσκευασία και για την PAPE από 18-22%. Αυτό συνήθως παρεμποδίζει την αναπνοή, όμως μπορεί να προκαλέσει άλλα προβλήματα, όπως την ανάπτυξη κάποιων ανεπιθύμητων οσμών.

Η απώλεια βάρους είναι επίσης σημαντική παράμετρος για την εμπορία των μανιταριών και οφείλεται κυρίως στην απώλεια υγρασίας, η οποία οδηγεί στην υποβάθμιση του τελικού προϊόντος, επηρεάζοντας τη συνεκτικότητά και την υφή του. Στην εργασία αυτή την μεγαλύτερη απώλεια βάρους την παρουσιάζουν οι επεμβάσεις της εδώδιμης μεμβράνης, εν αντιθέσει με πείραμα που πραγματοποίησαν οι Hershko και Nussinovitch (1998). Αυτοί παρατήρησαν πως η επικάλυψη της εδώδιμης μεμβράνης βοήθησε στη συντήρηση των μανιταριών και απέτρεψε σε μεγάλο βαθμό την απώλεια υγρασίας, όμως η εδώδιμη μεμβράνη που παρασκεύασαν περιείχε 2% άλας αλγινικού οξέος, ενώ στη συνεχεία τα μανιτάρια εμβαπτίστηκαν μόνο για 30s στο διάλυμα 2% $CaCl_2$. Ο χρόνος αυτός επιλέχθηκε ώστε να είναι επαρκώς καλυμμένα τα μανιτάρια και ομοιόμορφα, χωρίς να προκληθεί διασταυρούμενη αντίδραση, μεταξύ της επιφάνειας και του υλικού επικάλυψης.

Αποτελεσματικές στην αντιμετώπιση της απώλειας υγρασίας αποδείχτηκαν οι πλαστικές μεμβράνες των PE, PAPE εφαρμογών που τα αποτελέσματα συμπίπτουν με αυτά της βιβλιογραφίας [54], χωρίς όμως να έχουν τα ίδια θετικά αποτελέσματα στη συνεκτικότητα των μανιταριών. Όπως φαίνεται και στα διαγράμματα την υψηλότερη συνεκτικότητα τη φέρουν οι εφαρμογές με το αλγινικό και όχι οι υπόλοιπες. Αυτό οφείλεται κυρίως στο ότι οι μεμβράνες των MAP εγκλωβίζουν την υγρασία, η οποία επικάθεται στην επιφάνεια των μανιταριών και τα καθιστά λιγότερο συνεκτικά, εν αντιθέσει με τις μεμβράνες αλγινικού που δημιουργούν μια σκληρή επιφάνεια επικάλυψης στα μανιτάρια. Επίσης από μελέτες έχει αποδειχθεί ότι η υφή επηρεάζεται από την παραγωγή χιτίνης, τα επίπεδα της οποίας αυξάνονται περί την 6η ημέρα συντήρησης και για το λόγο αυτό φαίνεται μια αύξηση περί την 4η και 8η ημέρα συντήρησης στις περισσότερες εφαρμογές [57]. Τέλος όσο μεγαλύτερα είναι τα επίπεδα του CO_2, τόσο μειώνεται η απώλεια υφής και για αυτό οι συσκευασίες PAPE εμφανίζουν μεγαλύτερες τιμές στη συνεκτικότητα συγκριτικά με τις συσκευασίες PE [53].

Σε πείραμα που εκτέλεσαν οι Zivanovic κ.α. (2000) [71], φαίνεται πως η συνεκτικότητα των μανιταριών «ταυτόχρονα» αυξάνεται και μειώνεται. Η συγκέντρωση των πρωτεϊνών και των ολικών σακχάρων μειώνεται με το πέρας των ημερών, όμως η παραγωγή χιτίνης αυξάνεται, η οποία παράγεται μέχρι την 6η ημέρα συντήρησης σύμφωνα με το πείραμα. Αυτό εξηγεί τα αποτελέσματα, συνεκτικότητας που εμφανίζονται στο μάρτυρα και στις εφαρμογές του αλγινικού κατά την 4η ημέρα συντήρησης, κατά την οποία υπάρχει η μέγιστη παραγωγή χιτίνης από τα μανιτάρια, ενώ ταυτόχρονα ξεκινά η μείωση των πρωτεϊνών, των πολυσακχαριτών.

Στις πλαστικές συσκευασίες ήταν εμφανές ότι εντοπίστηκε στην επιφάνεια των

μανιταριών υγρασία, κάτι το οποίο πρέπει να αποφεύγεται. Η εμφάνιση της υγρασίας καθορίζει τη φρεσκάδα και τη διατήρηση των μανιταριών. Η υγρασία εντός της συσκευασίας προτείνεται να κυμαίνεται 87-90% και να μην υπερβαίνει το 96% για τη διατήρηση του χρώματος και την αποτροπή ανάπτυξης μικροοργανισμών στην επιφάνεια των μανιταριών [17].

Η διασφάλιση του χρώματος μέσα από τη διαδικασία μετασυλλεκτικής διαχείρισης των νωπών λευκών μανιταριών είναι εξαιρετικά σημαντική, ώστε να είναι εμπορικά αποδεκτά από τους καταναλωτές. Οι ιδανικές τιμές του L^* αναφέρονται στον πίνακα 1 του 1ου κεφαλαίου και πιο συγκεκριμένα τα μανιτάρια που προορίζονται για νωπή διάθεση και κατανάλωση θα πρέπει να ανήκουν στις κατηγορίες 1-3, καθώς σε χαμηλότερες από αυτές κατηγορίες δεν πληρούν τα εμπορικά και καταναλωτικά πρότυπα [7].

Οι μετρήσεις της παραμέτρου L^* της πρώτης ημέρας κατέγραφαν τιμές ≈92 και τα μανιτάρια ανήκαν στη δεύτερη κατηγορία σύμφωνα με τον Πίνακα 1 του πρώτου κεφαλαίου, ενώ με το πέρασμα του χρόνου και ανάλογα με την επέμβαση ανήκαν σε χαμηλότερες κατηγορίες. Η μείωση του χρώματος οφείλεται στη φυσιολογική, σταδιακή, ποιοτική υποβάθμιση του τροφίμου λόγω των μεταβολικών διαδικασιών που λαμβάνουν χώρα, όπως είναι η ενζυμική δραστηριότητα των PPO, διάφοροι τραυματισμοί στην επιφάνεια κ.α. Οι πιο χαμηλές τιμές κατεγράφησαν στις επεμβάσεις με το αλγινικό, παρόλο που στη βιβλιογραφία φέρεται τις χαμηλότερες τιμές να τις έχει ο μάρτυρας. Αυτό ενδεχομένως οφείλεται στην μη ομοιογενή κάλυψη των μανιταριών και στο λανθασμένο χειρισμό που μπορεί να προκάλεσε μικροτραυματισμούς στην επιφάνεια και ιδιαίτερα στην περιοχή που καλύπτεται από τα ελάσματα, με αποτέλεσμα να μην εφαρμόζει σωστά η μεμβράνη και να έχει σαν επίπτωση την απώλεια βάρους και την μη διατήρηση του λευκού χρώματος. Επίσης σε σχέση με άλλα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν ο χρόνος εμβάπτισης στο διάλυμα $CaCl_2$ ήταν μεγαλύτερος και υπάρχει περίπτωση να υπήρξε αντίδραση με το υλικό επικάλυψης [56, 57].

Οι τιμές που κατέγραφε ο Jiang (2013) [58] σε αντίστοιχο πείραμα που εκτέλεσε για την παράμετρο L^* για τις 12 ημέρες συντήρησης κυμαίνονταν από ≈91-88 με την υψηλότερη τιμή να καταγράφεται στα μανιτάρια με συγκέντρωση αλγινικού 2%, η διαφορά όμως ήταν πως υπήρχε συνεχής παροχή O_2 . Οι τιμές για τις παραμέτρους L^*, a^*,b^* σε πείραμα των Nussinovitch και Kampf (1993)[56] ήταν πιο κοντά στα επιθυμητά επίπεδα συγκριτικά με της παρούσας εργασίας, όμως πριν τη διεξαγωγή των μετρήσεων έβγαζαν την επιφάνεια με το αλγινικό και τοποθετούσαν τα μανιτάρια κάτω υπό ισχυρό φωτισμό.

Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας συμφωνούν με αυτά του πειράματος που εκτελέστηκε από τους Kim κ.α. (2005)[72]. Απέδειξαν επίσης πως τα μανιτάρια επικαλυμμένα με εδώδιμη μεμβράνη είχαν απόκλιση από τις θεμιτές τιμές των καταναλωτών, δηλαδή άνηκαν σε κατηγορίες χαμηλότερες από τη 2 και 3 σύμφωνα με τον πίνακα 1, είτε ήταν ολόκληρα είτε κομμένα σε φέτες.

Αντίθετα οι συσκευασίες PE, PAPE συμπίπτουν και έχουν τα καλύτερα αποτελέσματα αποδεδειγμένα σύμφωνα και με άλλες μελέτες. όπως αναφέρθηκε σχετικά και με την απώλεια υγρασίας τα υψηλά επίπεδα CO_2 και αντίστοιχα τα χαμηλά επίπεδα O_2 παρεμποδίζουν τη δράση των PPO και την περαιτέρω ανάπτυξη των μικροοργανισμών *P.tolaassi* που σε ορισμένα μανιτάρια ήταν εμφανής η προσβολή όπως φαίνεται στις φωτογραφίες του παραρτήματος A [54, 72].

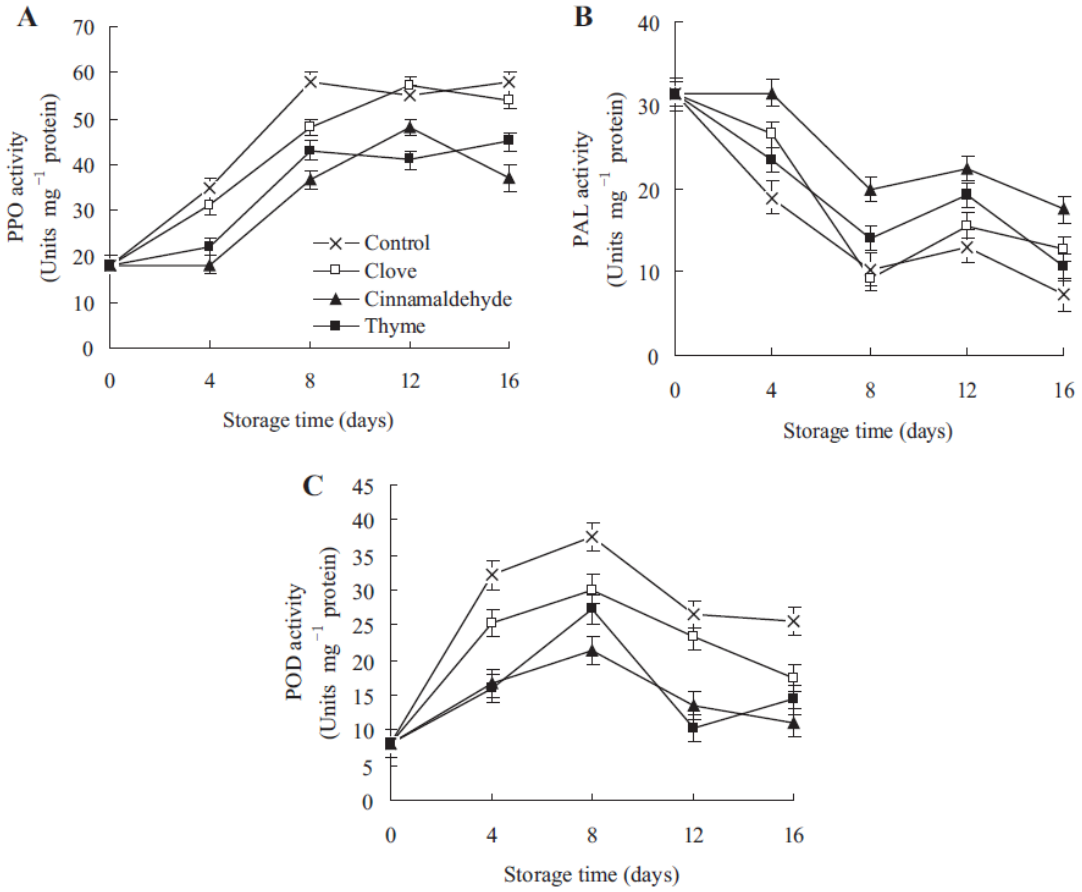
Σημασία στο χρώμα είχε και η θέση που ήταν τοποθετημένα στο ψυγείο τα κυτία. Όσα ήταν τοποθετημένα στην επάνω πλευρά καλύπτοντας μερικώς τα υπόλοιπα, παρατηρήθηκε πως είχαν μεγαλύτερη μεταβολή του χρώματος αλλά και στην απώλεια υγρασίας. Αυτό οφείλεται στο ότι ήταν τοποθετημένα στο σημείο του ψυγείου όπου ήταν πιο έντονη η ροή του ψυχρού αέρα (ανεμιστήρας ψυκτικού στοιχείου), σαν αποτέλεσμα να τα αφυδάτωνε με πιο γρήγορο ρυθμό όπως φαίνεται στην εικόνα 36 του παραρτήματος A.

Στη βιβλιογραφία δεν υπάρχουν αρκετές αναφορές σχετικά με τα TP, TAC, ωστόσο σε πειράματα που εκτελέστηκαν από τους Lin κ.α. (2017), φαίνεται ότι η τάση των αντιοξειδωτικών είναι παρόμοια με αυτή της παρούσας εργασίας. Πιο συγκεκριμένα μέτρησαν την αντιοξειδωτική ικανότητα των μανιταριών *A. bisporus* τα οποία ήταν αποθηκευμένα σε συσκευασία με υψηλή συγκέντρωση CO_2 ($\approx$95%) και μεμβράνη PE, με τις μεθόδους ABTS και FRAP και απέδειξαν ότι υπάρχει τάση μείωσης ειδικά τις πρώτες ώρες συντήρησης, αλλά στη συνέχεια αυξάνεται. Αυτό επιβεβαιώνεται από τις μετρήσεις της μελέτης αυτής, όπου στην πλειοψηφία των επεμβάσεων με τις πλαστικές μεμβράνες υπάρχει αυξητική τάση των TAC μετά την 8η ημέρα συντήρησης, ιδιαίτερα στο δεύτερο κύμα της καλλιέργειας [73].

Την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα αλλά και τη συγκέντρωση των φαινολικών την μέτρησαν σε πείραμα που εκτέλεσαν οι Lin κ.α. (2017)[73]. Τα μανιτάρια τα σφράγισαν με μεμβράνη PE πάχους 4μm και τα αποθήκευσαν σε ίδιες συνθήκες θερμοκρασίας και υγρασίας με τη δεδομένη μελέτη. Σε κάθε συσκευασία δημιουργήθηκαν 4 οπές, μία σε κάθε γωνία και γινόταν παροχή αερίου CO_2. Απέδειξαν πως κατά τη συντήρηση δεκαέξι ημερών, η συγκέντρωση των TP, TAC μειωνόταν μετά το πέρας της 8ης ημέρας η οποία είχε σαν αποτέλεσμα που συμπίπτει με τα δεδομένα της παρούσας εργασίας. Συγκεκριμένα απέδειξαν πως τα μανιτάρια τα

οποία είχαν συντηρηθεί για διάστημα μεγαλύτερο των δώδεκα ωρών σε υψηλή συγκέντρωση CO_2 (95%-100%) είχαν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σε TP, TAC, κάτι το οποίο συμφωνεί με την παρούσα μελέτη, αφού φάνηκε υπεροχή της μεμβράνης PE σε σχέση με αυτές των εδώδιμων μεμβρανών, λόγω της αύξησης της συγκέντρωσης του CO_2 , κυρίως την 8η ημέρα που και στις δύο μελέτες είναι η ημέρα με την υψηλότερη τιμή καταγραφής.

Σχετικά με τα TP οι Gao κ.α. (2013) [6] τα προσδιόρισαν στον πίλο των *A. bisporus*, αφού πρώτα εφάρμοσαν διαφόρων ειδών αιθέρια έλαια. Προέκυψε ότι η συγκέντρωση των TP κατά τη διάρκεια των ημερών συντήρησης παρέμενε σχεδόν σταθερή, αλλά τα αποτελέσματά τους δεν τα είχαν ανάγει επί ξηρού βάρους, όπως εδώ. Παρόλα αυτά στη συγκεκριμένη εργασία γίνεται αναφορά σχετικά με τη δράση των ενζύμων PPO, POD και PAL. Παρατηρώντας τη δραστηριότητα των ενζύμων αυτών έμμεσα μπορούν να βγουν κάποια συμπεράσματα σχετικά με τα TP, TAC. Η PPO και η POD αποκτούν τη μέγιστη τιμή τους κατά την 8η ημέρα και ύστερα η μεν πρώτη σταθεροποιείτε, ενώ η δεύτερη αποκτά πτωτική τάση. Η συγκέντρωση του PAL φαίνεται να ξεκινά υψηλή και μέχρι την 8η ημέρα να μειώνεται, ενώ αποκτά πάλι σχετικά υψηλή τιμή τη 12η ημέρα, όπου κατά την τελική ημέρα μετρήσεων αποκτά τη χαμηλότερη, όπως φαίνεται στο σχήμα 25.



Σχήμα 25: Ειδική ενεργότητα των PPO, PAL, POD κάτα τις ημέρες συντήρησης σε μανιτάρια με αιθέρια έλαια [6]

Τα παραπάνω υποδηλώνουν ότι η αρχική μείωση των TP, TAC, δηλαδή κατά τις τέσσερις πρώτες ημέρες συντήρησης συνέβαινε παράλληλα με τη σύνθεση και αποδόμηση φαινολικών. Για αυτό και φαίνεται από τις μετρήσεις της παρούσας εργασίας ότι κατά τη διάρκεια των ημερών συντήρησης οι τιμές TP, TAC είναι αυξημένες όταν μειώνονται οι τιμές των PAL, η οποία αποτελεί το ένζυμο κλειδί στη σύνθεση των φαινολικών ουσιών. Τα επίπεδα TP που προσδιορίστηκαν σε κάθε δειγματοληψία κατά τη συντήρηση ήταν το τελικό αποτέλεσμα των δύο φαινομένων (βιοσύνθεση και οξείδωση) και μειωμένες τιμές καταγράφηκαν όταν η ένταση οξείδωσης τους ήταν μεγαλύτερη από την ένταση βιοσύνθεσής τους.

Σχετικά με τους ενδοπολυσακχαρίτες οι συσκευασίες των PE, PAPE είχαν ικανοποιητικότερα αποτελέσματα συγκριτικά με τις εδώδιμες μεμβράνες. Εξαίρεση αποτελεί η 8η ημέρα του 2ου κύματος, κατά την οποία η εφαρμογή του AL1% παρουσιάζει με διαφορά την μεγαλύτερη τιμή. Αυτό μπορεί να οφείλεται σε πλεονάζουσα εναπόθεση του υλικού κάλυψης της εδώδιμης μεμβράνης. Ακόμα η περιεκτικότητα των μανιταριών σε ενδοπολυσακχαρίτες φαίνεται να είναι μεγαλύτερη κατά τη 12η ημέρα συντήρησης, κάτι που επιβεβαιώνεται από τη μελέτη του Jiang (2013), όπου

η συγκέντρωση φαίνεται να έχει μια μικρή αύξηση των ολικών σακχάρων κατά την 8η-12η ημέρα συντήρησης και μειώνεται ξανά από τη 12η-16η ημέρα συντήρησης, ανεξάρτητα από τον τρόπο και τις συνθήκες συντήρησης [58]. Από βιβλιογραφικές αναφορές αναφέρεται ότι η γλυκερόλη εντοπίζεται μετασυλλεκτικά μόνο στα ελάσματα των μανιταριών, όμως μετά την αποθήκευση 5 ημερών σε θερμοκρασία 10^oC εμφανίζεται στους υπόλοιπους ιστούς, ενώ η κατανάλωση της μαννιτόλης ξεκινά την 8η ημέρα συντήρησης, επιβεβαιώνοντας την αύξηση του ποσοστού τη 12η ημέρα [74, 75].

5.2 Συμπεράσματα & Μελλοντικές προτάσεις διερεύνησης

Καταληκτικά παρατηρώντας την ευαισθησία των μανιταριών κατά την μετασυλλεκτική διαχείριση και συντήρησή τους, αλλά και γνωρίζοντας ότι αποτελούν μεγάλης οικονομικής σημασίας γεωργικά προϊόντα, η εύρεση επιπρόσθετων καινοτόμων τρόπων για την εξασφάλιση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, αλλά και των υπόλοιπων συστατικών τους κρίνεται απαραίτητη. Στην παρούσα εργασία δοκιμάστηκαν οι εδώδιμες μεμβράνες αλγινικού οξέος σε διάφορες πυκνότητες και με την προσθήκη εκχυλίσματος από το πράσινο εξωκάρπιο αμυγδάλου, αλλά και οι πλαστικές μεμβράνες PE, PAPE.

Τα καλύτερα και επιθυμητά αποτελέσματα σχετικά με τις παραμέτρους του χρώματος έδειξε να έχουν οι πλαστικές μεμβράνες των PE, αφού οι τιμές των περισσότερων μετρήσεων κυμαίνονταν στα καταναλωτικά αποδεκτά όρια, τόσο ως προς το χρώμα με τις τιμές του L^* ≈90 να κατατάσσουν τα μανιτάρια στην κατηγορία 2, ακόμα και την τελευταία ημέρα συντήρησης.

Αντίθετα σχετικά με τη συνεκτικότητα φάνηκε πιο αποδοτικές να είναι οι εδώδιμες μεμβράνες, καθώς καθ΄ όλη τη διάρκεια συντήρησης είχαν τις μεγαλύτερες τιμές με μέσες τιμές ≈370 g, όπως και τις μεγαλύτερες τιμές κατέγραψαν και στα TP. Αντίθετα σχετικά με τα TAC και IPS% φάνηκε ότι στην πλειοψηφία των επεμβάσεων τις μεγαλύτερες τιμές τις είχε η συσκευασία PE.

Η PE συσκευασία φαίνεται να είναι αποτελεσματική τόσο στη συντήρηση όσο και στη διατήρηση των περισσότερων οργανοληπτικών και υπόλοιπων ποιοτικών και φυσιολογικών χαρακτηριστικών και για το λόγο αυτό χρησιμοποιείται ευρέως από τις βιομηχανίες παραγωγής και διάθεσης των μανιταριών.

Παρόλα αυτά τα μανιτάρια *A. bisporus* με την επικάλυψη της εδώδιμης μεμβράνης θα πρέπει να διερευνηθούν περαιτέρω, καθώς σε άλλες μελέτες έχει αποδειχτεί η αποτελεσματικότητά τους και αποτελούν μια οικολογική εναλλακτική έναντι των

πλαστικών μεμβρανών, οι οποίες κατά πλειοψηφία επιβαρύνουν το περιβάλλον. Από την παρούσα μελέτη φαίνεται ότι η μη ικανοποιητική δράση της εδώδιμης μεμβράνης πιθανά να οφείλεται σε τεχνικούς περιορισμούς κατά την εφαρμογή της (τραυματισμοί μανιταριών, ανομοιομορφία κάλυψης μεμβράνης κτλ). Μια εναλλακτική που θα μπορούσε να διερευνηθεί για τις εδώδιμες μεμβράνες θα ήταν η εφαρμογή με σπρέι, ώστε να αποτρέπονται οι τραυματισμοί στην επιφάνεια που προκαλούν αλλοιώσεις. Επίσης πριν την εφαρμογή της μεμβράνης προτείνεται να δοκιμαστεί να πλυθούν ή να εμβαπτιστούν τα μανιτάρια σε κάποια αντιοξειδωτική ουσία ή σε κάποιον αντιμικροβιακό παράγοντα, όπως το κιτρικό, το ασκορβικό, σορβικό οξύ κ.α., ώστε να εξασφαλιστεί το χρώμα, πέρα από την εφαρμογή των εκχυλισμάτων στην μεμβράνη.

Τέλος χρειάζεται να προσδιοριστεί η ασφάλεια των μανιταριών ως προς το μικροβιακό φορτίο και την αποτελεσματικότητα της μεμβράνης είτε αυτή αποτελείται από αλγινικό είτε είναι κάποια από τις πλαστικές, καθώς επίσης και η διάρκεια ζωής (self life) ολόκληρων και τεμαχισμένων μανιταριών.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ

Α Παράρτημα

Στο παράρτημα παρατίθενται φωτογραφίες των μανιταριών, όπως αυτά εξετάσθηκαν στην παρούσα μελέτη, για τα διάφορα κύματα των δύο διαφορετικών καλλιεργειών.

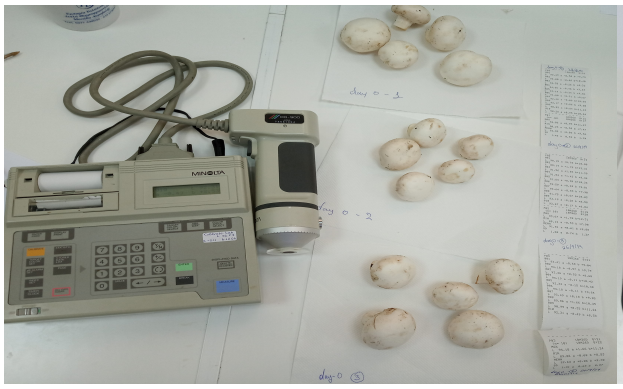
Συγκεκριμένα στον πίνακα δίνονται πληροφορίες σχετικά με τα πειράματα.

Πίνακας 12: Πίνακας καλλιεργειών και κυμάτων

Πειράματα	**Καλλιέργεια**	**Κύμα**
A	1η	1ο
B	1η	2ο
C	2η	1ο
D	2η	2ο

Για την ανάλυση των αποτελεσμάτων τα πειράματα ομαδοποιήθηκαν με βάση τα κύματα των καλλιεργειών, όπως αναφέρθηκε στην ενότητα 3. Το πείραμα A, C ως πρώτο κύμα και το B, D ως δεύτερο.

Β Παράρτημα

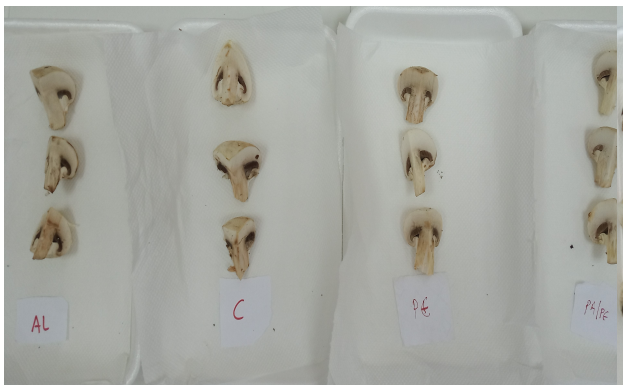


(α) A-day 0

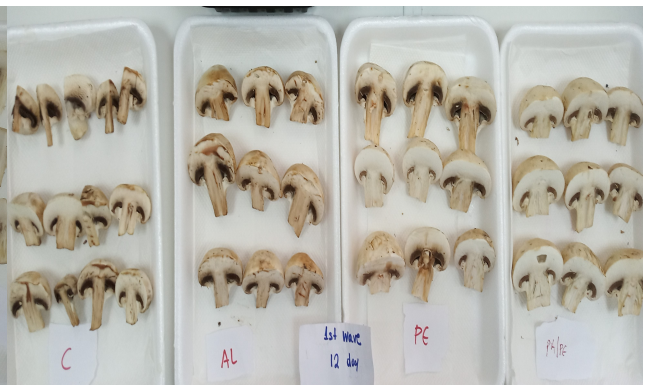
(β) A-day 4

(γ) A-day 8

(δ) A-day 12



(ε) A-day 8 εσωτερική πλευρά

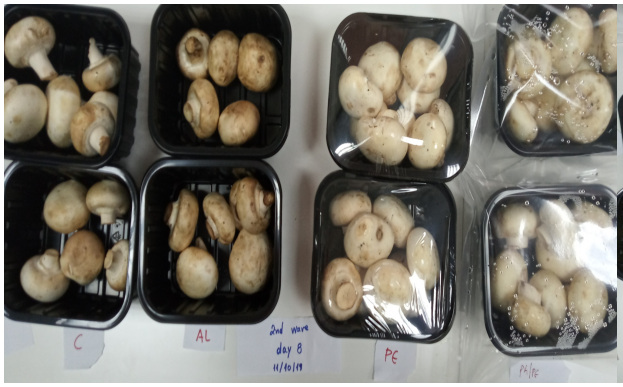


(ς) A-day 12 εσωτερική πλευρά

Σχήμα 26: Πρώτη καλλιέργεια-Πρώτο κύμα (Α)

(α) Β-day 0

(β) Β-day 4



(γ) Β-day 8

(δ) Β-day 12

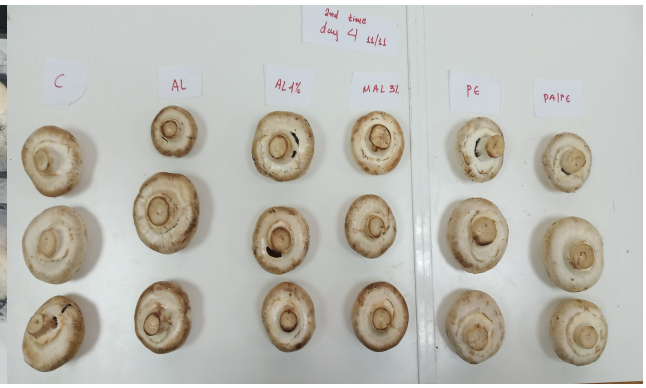
(ε) Β-day 4 εσωτερική πλευρά

(ς) Β-day 8 εσωτερική πλευρά

Σχήμα 28: Β-12 day εσωτερική πλευρά

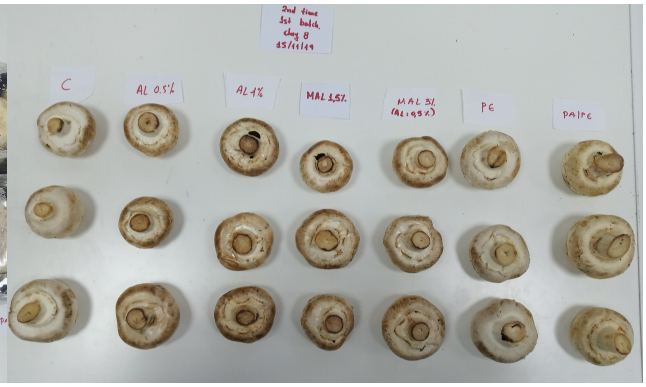
Σχήμα 29: Πρώτη καλλιέργεια-Δεύτερο κύμα (Β)

(α) C-day 4



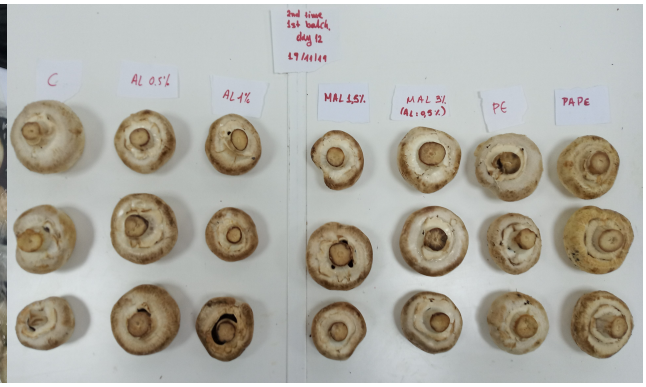
(β) C-day 4 πίσω όψη

(γ) C-day 8



(δ) C-day 8 πίσω όψη

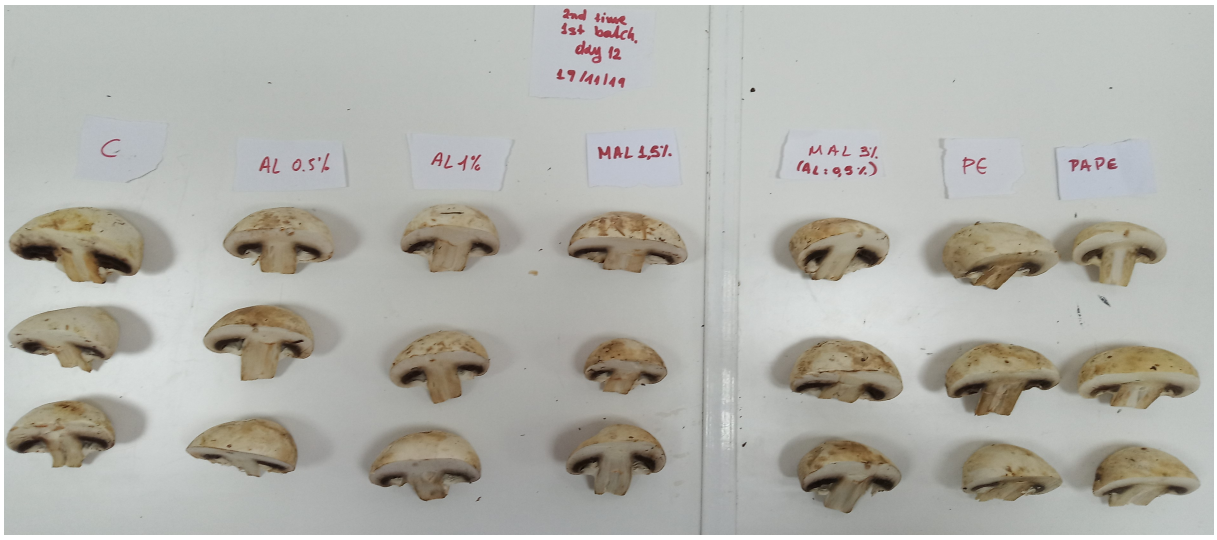
(ε) C-day 12



(ς) C-day 12 πίσω όψη

(ζ) C-day 4 εσωτερική πλευρά

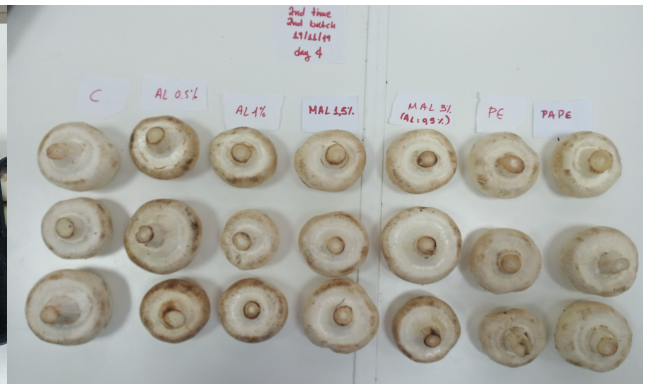
(η) C-day 8 εσωτερική πλευρά



Σχήμα 31: C-12 day εσωτερική πλευρά

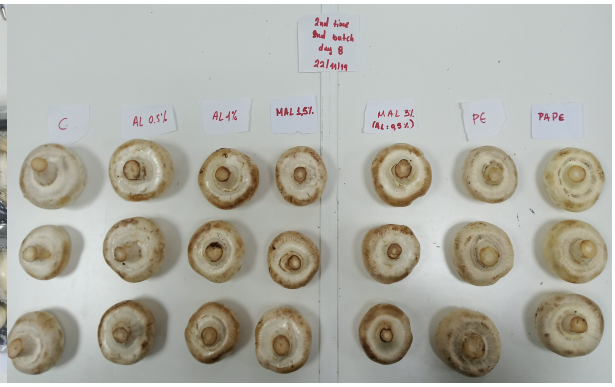
Σχήμα 32: Δεύτερη καλλιέργεια-Πρώτο κύμα (C)

(α) D-day 4



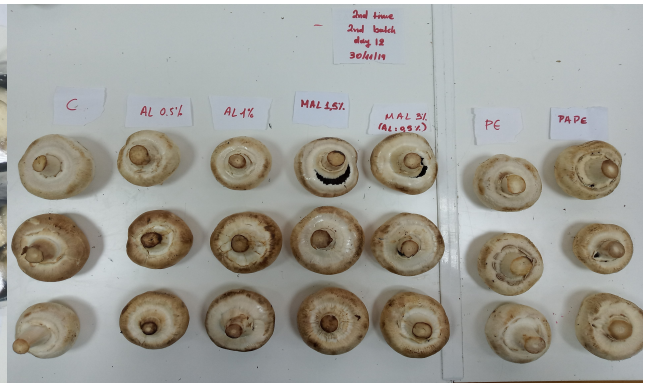
(β) D-day 4 πίσω όψη

(γ) D-day 8



(δ) D-day 8 πίσω όψη

(ε) D-day 12



(ς) D-day 12 πίσω όψη

(ζ) D-day 4 εσωτερική πλευρά

(η) D-day 8 εσωτερική πλευρά

Σχήμα 34: D-12 day εσωτερική πλευρά

Σχήμα 35: Δεύτερη καλλιέργεια-Δεύτερο κύμα (D)

Σχήμα 36: Επάνω και κάτω θέση στο ψυγείο

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

[1] N. T, "Agaricus: Introduction, vegetative body and reproduction." https://tinyurl.com/wm8sez4, 2019.

[2] "Mushroom market size, share & industry analysis by type (button mushroom, shiitake mushroom, oyster mushroom and others) form(fresh, frozen, dried and canned mushroom) and regional forecast 2019-20126." https://tinyurl.com/tx8jdvq, 2019.

[3] A. Luttmann, "Optimization of an alginate based edible coating with beeswax, nisin and edta to maximize shelf life of fresh mushrooms (agaricus bisporus)," 2011.

[4] W. Gao, *Breeding for quality of button mushrooms: genetically dissecting bruising sensitivity and quality-related traits of Agaricus bisporus*. Wageningen University, 2014.

[5] X. Lin and D.-W. Sun, "Research advances in browning of button mushroom (*Agaricus bisporus*): Affecting factors and controlling methods," *Trends in Food Science & Technology*, 2019.

[6] M. Gao, L. Feng, and T. Jiang, "Browning inhibition and quality preservation of button mushroom (*Agaricus bisporus*) by essential oils fumigation treatment," *Food Chemistry*, vol. 149, pp. 107–113, 2014.

[7] R. Gormley, "Chill storage of mushrooms," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 26, no. 4, pp. 401–411, 1975.

[8] J. H. Han, "Edible films and coatings: a review," in *Innovations in food packaging*, pp. 213–255, Elsevier, 2014.

[9] V. Falguera, J. P. Quintero, A. Jiménez, J. A. Muñoz, and A. Ibarz, "Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use," *Trends in Food Science & Technology*, vol. 22, no. 6, pp. 292–303, 2011.

[10] S. Guilbert, N. Gontard, and L. G. Gorris, "Prolongation of the shelf-life of perishable food products using biodegradable films and coatings," *LWT-food science and technology*, vol. 29, no. 1-2, pp. 10–17, 1996.

[11] P. Stamets, "Ganoderma lucidum (wm, curtis: Fries) karsten," *Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms. Ten Speed Press, Berkeley, CA*, pp. 355–369, 1993.

[12] D. K. Arora, "Fungal biotechnology in agricultural, food, and enviromental application," 2004.

[13] E. Manolopoulou, A. Philippoussis, G. Lambrinos, and P. Diamantopoulou, "Evaluation of productivity and postharvest quality during storage of five*Agaricus bisporus*," *Journal of food quality*, vol. 30, no. 5, pp. 646–663, 2007.

[14] A. Sonnenberg and L. van Griensven, "Genetics and breeding of *Agaricus bisporus*," *Mushroom Sci*, vol. 15, no. 1, pp. 25–39, 2000.

[15] S.-t. Chang and W. A. Hayes, *The biology and cultivation of edible mushrooms*. Academic press, 2013.

[16] J. M. Hess, Q. Wang, C. Kraft, and J. L. Slavin, "Impact of *Agaricus bisporus* mushroom consumption on satiety and food intake," *Appetite*, vol. 117, pp. 179–185, 2017.

[17] P. Diamantopoulou and A. Philippoussis, "Cultivated mushrooms: preservation and processing," *Handbook of vegetable preservation and processing*, pp. 495–525, 2015.

[18] F. Atila, M. N. Owaid, and M. A. Shariati, "The nutritional and medical benefits of *Agaricus bisporus*: a review," *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, vol. 2019, pp. 281–286, 2019.

[19] P. Diamantopoulou and A. Philippoussis, "Production attributes of *Agaricus bisporus* white and off-white strains and the effect of calcium chloride irrigation on productivity and quality," *Scientia horticulturae*, vol. 91, no. 3-4, pp. 379–391, 2001.

[20] P. Manzi, A. Aguzzi, and L. Pizzoferrato, "Nutritional value of mushrooms widely consumed in italy," *Food chemistry*, vol. 73, no. 3, pp. 321–325, 2001.

[21] A. S. Sonnenberg, J. J. Baars, W. Gao, and R. G. Visser, "Developments in breeding of *Agaricus bisporus var. bisporus*: progress made and technical and legal hurdles to take," *Applied microbiology and biotechnology*, vol. 101, no. 5, pp. 1819–1829, 2017.

[22] G. Wakchaure, "Production and marketing of mushrooms: global and national scenario," *Mushrooms: cultivation, marketing and consumption. Directorate of Mushroom Research (Indian Council of Agricultural Research), Chambaghat, Solan, India*, pp. 15–22, 2011.

[23] G. R. Di, "Mushroom spawn," June 18 1935. US Patent 2,005,365.

[24] A. Philippoussis, G. Zervakis, and P. Diamantopoulou, "Bioconversion of agricultural lignocellulosic wastes through the cultivation of the edible

mushrooms *Agrocybe aegerita, Volvariella volvacea and Pleurotus spp.*," *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 17, no. 2, pp. 191–200, 2001.

[25] A. Philippoussis, P. Diamantopoulou, *et al.*, "Agro-food industry wastes and agricultural residues conversion into high value products by mushroom cultivation," in *Proceedings of the 7th international conference on mushroom biology and mushroom products (ICMBMP7), France*, pp. 4–7, 2011.

[26] J. Hammond and R. Nichols, "Carbohydrate metabolism in *Agaricus bisporus* (lange) sing.: changes in soluble carbohydrates during growth of mycelium and sporophore," *Microbiology*, vol. 93, no. 2, pp. 309–320, 1976.

[27] C. Soler-Rivas, S. Jolivet, N. Arpin, J. Olivier, and H. Wichers, "Biochemical and physiological aspects of brown blotch disease of *Agaricus bisporus*," *FEMS Microbiology Reviews*, vol. 23, no. 5, pp. 591–614, 1999.

[28] S. Jolivet, N. Arpin, H. J. Wichers, and G. Pellon, "*Agaricus bisporus* browning: a review," *Mycological Research*, vol. 102, no. 12, pp. 1459–1483, 1998.

[29] C. Soler-Rivas, N. Arpin, J. Olivier, and H. Wichers, "Activation of tyrosinase in *Agaricus bisporus* strains following infection by pseudomonas tolaasii or treatment with a tolaasin-containing preparation," *Mycological Research*, vol. 101, no. 3, pp. 375–382, 1997.

[30] J. Wells, G. Sapers, W. Fett, J. Butterfield, J. Jones, H. Bouzar, and F. Miller, "Postharvest discoloration of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus* caused by *Pseudomonas tolaasii, P.'reactans', and P.'gingeri'*," *Phytopathology*, vol. 86, no. 10, pp. 1098–1104, 1996.

[31] F. Tao, M. Zhang, Y. Hangqing, and S. Jincai, "Retracted: Effects of different storage conditions on chemical and physical properties of white mushrooms after vacuum cooling," 2006.

[32] K. Zhang, Y.-Y. Pu, and D.-W. Sun, "Recent advances in quality preservation of postharvest mushrooms (*Agaricus bisporus*): A review," *Trends in Food Science & Technology*, vol. 78, pp. 72–82, 2018.

[33] N. Sedaghat and Y. Zahedi, "Application of edible coating and acidic washing for extending the storage life of mushrooms (*Agaricus bisporus*)," *Food science and technology international*, vol. 18, no. 6, pp. 523–530, 2012.

[34] J. H. Han, *Innovations in food packaging*. Elsevier, 2005.

[35] I. J. Church and A. L. Parsons, "Modified atmosphere packaging technology: a review," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 67, no. 2, pp. 143–152, 1995.

[36] N. J. Russell and G. W. Gould, *Food preservatives*. Springer Science & Business Media, 2003.

[37] K. Burton, C. E. Frost, and R. Nichols, "A combination plastic permeable film system for controlling post-harvest mushroom quality," *Biotechnology Letters*, vol. 9, no. 8, pp. 529–534, 1987.

[38] B. Lund, A. C. Baird-Parker, T. C. Baird-Parker, G. W. Gould, and G. W. Gould, *Microbiological safety and quality of food*, vol. 1. Springer Science & Business Media, 2000.

[39] R. P. Jones and P. F. Greenfield, "Effect of carbon dioxide on yeast growth and fermentation," *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 4, no. 4, pp. 210–223, 1982.

[40] C. N. Cutter, "Microbial control by packaging: a review," *Critical reviews in food science and nutrition*, vol. 42, no. 2, pp. 151–161, 2002.

[41] S. Ebnesajjad, *Plastic films in food packaging: materials, technology and applications*. William Andrew, 2012.

[42] A. Gennadios, M. A. Hanna, and L. B. Kurth, "Application of edible coatings on meats, poultry and seafoods: a review," *LWT-Food Science and Technology*, vol. 30, no. 4, pp. 337–350, 1997.

[43] A. Al-Hassan and M. Norziah, "Starch–gelatin edible films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizers," *Food hydrocolloids*, vol. 26, no. 1, pp. 108–117, 2012.

[44] M. A. Pascall and S.-J. Lin, "The application of edible polymeric films and coatings in the food industry," *J. Food. Process. Technol*, vol. 4, no. 2, 2013.

[45] D. Restuccia, U. G. Spizzirri, O. I. Parisi, G. Cirillo, M. Curcio, F. Iemma, F. Puoci, G. Vinci, and N. Picci, "New *EU* regulation aspects and global market of active and intelligent packaging for food industry applications," *Food control*, vol. 21, no. 11, pp. 1425–1435, 2010.

[46] T. Bourtoom, "Edible films and coatings: characteristics and properties," *International food research journal*, vol. 15, no. 3, pp. 237–248, 2008.

[47] R. Sothornvit and J. M. Krochta, "Plasticizer effect on mechanical properties of β-lactoglobulin films," *Journal of Food Engineering*, vol. 50, no. 3, pp. 149–155, 2001.

[48] J.-W. Rhim, "Physical and mechanical properties of water resistant sodium alginate films," *LWT-Food science and technology*, vol. 37, no. 3, pp. 323–330, 2004.

[49] E. Tavassoli-Kafrani, H. Shekarchizadeh, and M. Masoudpour-Behabadi, "Development of edible films and coatings from alginates and carrageenans," *Carbohydrate polymers*, vol. 137, pp. 360–374, 2016.

[50] B. Halliwell, "How to characterize a biological antioxidant," *Free radical research communications*, vol. 9, no. 1, pp. 1–32, 1990.

[51] J. Barreira, I. C. Ferreira, M. B. P. Oliveira, and J. Pereira, "Antioxidant potential of chestnut (*Castanea sativa L.*) and almond (*Prunus dulcis L.*) by-products," *Food science and technology international*, vol. 16, no. 3, pp. 209–216, 2010.

[52] S. S. Wijeratne, R. Amarowicz, and F. Shahidi, "Antioxidant activity of almonds and their by-products in food model systems," *Journal of the American Oil Chemists' Society*, vol. 83, no. 3, pp. 223–230, 2006.

[53] N. B. Borchert, M. C. Cruz-Romero, P. V. Mahajan, M. Ren, D. B. Papkovsky, and J. P. Kerry, "Application of gas sensing technologies for non-destructive monitoring of headspace gases (O_2 *and* CO_2) during chilled storage of packaged mushrooms (*Agaricus bisporus*) and their correlation with product quality parameters," *Food Packaging and Shelf Life*, vol. 2, no. 1, pp. 17–29, 2014.

[54] S. Roy, R. C. Anantheswaran, and R. Beelman, "Fresh mushroom quality as affected by modified atmosphere packaging," *Journal of Food Science*, vol. 60, no. 2, pp. 334–340, 1995.

[55] K. Tano, J. Arul, G. Doyon, and F. Castaigne, "Atmospheric composition and quality of fresh mushrooms in modified atmosphere packages as affected by storage temperature abuse," *Journal of Food Science*, vol. 64, no. 6, pp. 1073–1077, 1999.

[56] A. Nussinovitch and N. Kampf, "Shelf-life extension and conserved texture of alginate-coated mushrooms (*Agaricus bisporus*)," *LWT-Food Science and Technology*, vol. 26, no. 5, pp. 469–475, 1993.

[57] V. Hershko and A. Nussinovitch, "Relationships between hydrocolloid coating and mushroom structure," *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 46, no. 8, pp. 2988–2997, 1998.

[58] T. Jiang, "Effect of alginate coating on physicochemical and sensory qualities of button mushrooms (*Agaricus bisporus*) under a high oxygen modified atmosphere," *Postharvest biology and technology*, vol. 76, pp. 91–97, 2013.

[59] K. J. Anderson, S. S. Teuber, A. Gobeille, P. Cremin, A. L. Waterhouse, and F. M. Steinberg, "Walnut polyphenolics inhibit in vitro human plasma and ldl oxidation," *The Journal of nutrition*, vol. 131, no. 11, pp. 2837–2842, 2001.

[60] B. L. Halvorsen, K. Holte, M. C. Myhrstad, I. Barikmo, E. Hvattum, S. F. Remberg, A.-B. Wold, K. Haffner, H. Baugerød, L. F. Andersen, *et al.*, "A systematic screening of total antioxidants in dietary plants," *The Journal of nutrition*, vol. 132, no. 3, pp. 461–471, 2002.

[61] M. Kornsteiner, K.-H. Wagner, and I. Elmadfa, "Tocopherols and total phenolics in 10 different nut types," *Food chemistry*, vol. 98, no. 2, pp. 381–387, 2006.

[62] Y. Shin, R. H. Liu, J. F. Nock, D. Holliday, and C. B. Watkins, "Temperature and relative humidity effects on quality, total ascorbic acid, phenolics and flavonoid concentrations, and antioxidant activity of strawberry," *Postharvest Biology and Technology*, vol. 45, no. 3, pp. 349–357, 2007.

[63] V. L. Singleton, R. Orthofer, and R. M. Lamuela-Raventós, "[14] analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent," in *Methods in enzymology*, vol. 299, pp. 152–178, Elsevier, 1999.

[64] E. Tsantili, Y. Shin, J. F. Nock, and C. B. Watkins, "Antioxidant concentrations during chilling injury development in peaches," *Postharvest Biology and Technology*, vol. 57, no. 1, pp. 27–34, 2010.

[65] R. L. Prior and G. Cao, "In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods1," *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 27, no. 11-12, pp. 1173–1181, 1999.

[66] R. L. Prior, X. Wu, and K. Schaich, "Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements," *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 53, no. 10, pp. 4290–4302, 2005.

[67] Y. Liang, N. Sarkany, Y. Cui, and J. W. Blackburn, "Batch stage study of lipid production from crude glycerol derived from yellow grease or animal fats through microalgal fermentation," *Bioresource technology*, vol. 101, no. 17, pp. 6745–6750, 2010.

[68] P. Diamantopoulou, S. Papanikolaou, M. Komaitis, G. Aggelis, and A. Philippoussis, "Patterns of major metabolites biosynthesis by different mushroom fungi grown on glucose-based submerged cultures," *Bioprocess and biosystems engineering*, vol. 37, no. 7, pp. 1385–1400, 2014.

[69] G. L. Miller, "Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar," *Analytical chemistry*, vol. 31, no. 3, pp. 426–428, 1959.

[70] G. L. Briones, P. Varoquaux, Y. Chambroy, J. Bouquant, G. Bureau, and B. Pascat, "Storage of common mushroom under controlled atmospheres," *International journal of food science & technology*, vol. 27, no. 5, pp. 493–505, 1992.

[71] S. Zivanovic, R. Busher, and K. Kim, "Textural changes in mushrooms (*Agaricus bisporus*) associated with tissue ultrastructure and composition," *Journal of Food Science*, vol. 65, no. 8, pp. 1404–1408, 2000.

[72] K. M. Kim, J. A. Ko, J. S. Lee, H. J. Park, and M. A. Hanna, "Effect of modified atmosphere packaging on the shelf-life of coated, whole and sliced mushrooms," *LWT-Food Science and Technology*, vol. 39, no. 4, pp. 365–372, 2006.

[73] Q. Lin, Y. Lu, J. Zhang, W. Liu, W. Guan, and Z. Wang, "Effects of high co_2 in-package treatment on flavor, quality and antioxidant activity of button mushroom (*Agaricus bisporus*) during postharvest storage," *Postharvest Biology and Technology*, vol. 123, pp. 112–118, 2017.

[74] P. Varoquaux, B. Gouble, C. Barron, and F. Yildiz, "Respiratory parameters and sugar catabolism of mushroom (*Agaricus bisporus* lange)," *Postharvest Biology and Technology*, vol. 16, no. 1, pp. 51–61, 1999.

[75] T. M. Beecher, N. Magan, and K. S. Burton, "Water potentials and soluble carbohydrate concentrations in tissues of freshly harvested and stored mushrooms (*Agaricus bisporus*)," *Postharvest biology and technology*, vol. 22, no. 2, pp. 121–131, 2001.