



**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**  
**ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ**  
**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

**Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία**

Ανίχνευση και ταυτοποίηση βακτηρίων που συμμετέχουν στην  
αλλοίωση των εδώδιμων φαιοφυκών *Alaria esculenta* και *Saccharina*  
*latissima* με τη χρήση μοριακών τεχνικών

**Μαρία Κ. Μαυροπούλου**

Επιβλέπων καθηγητής:

Γεώργιος-Ιωάννης Νυχάς, Καθηγητής ΓΠΑ

**ΑΘΗΝΑ**

**2022**

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

**Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία**

Ανίχνευση και ταυτοποίηση βακτηρίων που συμμετέχουν στην αλλοίωση των εδώδιμων φαιοφυκών *Alaria esculenta* και *Saccharina latissima* με τη χρήση μοριακών τεχνικών

“Detection and identification of bacteria involved in the spoilage of the edible algae *Alaria esculenta* and *Saccharina latissima*”

**Μαρία Κ. Μαυροπούλου**

Εξεταστική επιτροπή:

Γεώργιος- Ιωάννης Νυχάς, Καθηγητής ΓΠΑ (επιβλέπων)

Ευστάθιος Πανάγου, Καθηγητής ΓΠΑ

Πολυδεύκης Χατζόπουλος, Καθηγητής ΓΠΑ

## **Ανίχνευση και ταυτοποίηση βακτηρίων που συμμετέχουν στην αλλοίωση των εδώδιμων φαιοφυκών *Alaria esculenta* και *Saccharina latissima* με τη χρήση μοριακών τεχνικών**

ΠΜΣ Επιστήμη & Τεχνολογία Τροφίμων  
Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων & Διατροφής του Ανθρώπου  
Εργαστήριο Μικροβιολογίας & Βιοτεχνολογίας Τροφίμων

### **ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Τα εδώδιμα μακροφύκη αποτελούν ένα καινούργιο προϊόν διατροφής στην αγορά της Ευρώπης, παρόλο που αποτελεί βασικό τρόφιμο στις περιοχές της Ασίας. Η βιβλιογραφία που υπάρχει σε ό,τι αφορά τους μικροοργανισμούς που συμμετέχουν στην αλλοίωση αυτών των προϊόντων ή τους παθογόνους για τον άνθρωπο μικροοργανισμούς που ανευρίσκονται σε αυτά τα προϊόντα είναι περιορισμένη.

Η παρούσα μελέτη χωρίστηκε σε δύο μέρη. Στο πρώτο μέρος, φρεσκοκατεψυγμένα δείγματα φαιοφυκών (*Alaria esculenta* και *Saccharina latissima*) που είχαν συλλεχθεί από πειραματική υδατοκαλλιέργεια που εδράζει στη Σκωτία, χρησιμοποιήθηκαν σε πείραμα αλλοίωσης σε διαφορετικές θερμοκρασίες (5, 15°C). Δείγματα ιστών από την έναρξη, μέση και τέλος των πειραμάτων αλλοίωσης συλλέχθηκαν με σκοπό την απομόνωση βακτηριακού DNA. Ταυτόχρονα, βακτηριακές αποικίες, που αναπτύχθηκαν σε γενικά και ειδικά μικροβιολογικά υποστρώματα, συλλέχθηκαν και απομονώθηκαν στα ίδια χρονικά σημεία με τα προαναφερθέντα. Τα δείγματα από τους ιστούς, αλλά και τα απομονωθέντα βακτήρια υπέστησαν την κατάλληλη διεργασία για την περαιτέρω μοριακή τους ανάλυση.

Επιπλέον, σε δεύτερο μέρος της πειραματικής διαδικασίας, δείγματα φαιοφυκών (και για τα δύο είδη), που συλλέχθηκαν σε διαφορετικές χρονικές περιόδους, αναλύθηκαν με τις κλασικές μικροβιολογικές αναλύσεις και έγινε σύγκριση των μικροβιακών πλυθησμών τους τόσο μεταξύ τους, αλλά όσο και μεταξύ των περιόδων συγκομιδής τους. Από τα αποτελέσματα αυτά προέκυψε πως τους θερινούς μήνες το συνολικό μικροβιακό φορτίο των φαιοφυκών ήταν αυξημένο σε σχέση με τους χειμερινούς μήνες. Ακόμη, ενώ τα δείγματα φαιοφυκών που συλλέχθηκαν βρίσκονταν σε γειτνιάζοντες καλλιέργειες, η μικροβιακή τους χλωρίδα ήταν διαφορετική, εξαιτίας της χημικής τους σύστασης αλλά και της διαφορετικής τους δομής.

**Επιστημονική περιοχή:** Ποιότητα εδωδιμων μακροφυκών

**Λέξεις κλειδιά:** φύκη, τρόφιμο, μικροοργανισμοί, αλλοίωση

**Detection and identification of bacteria involved in the spoilage of the edible *algae Alaria esculenta* and *Saccharina latissimi***

*MSc Food Science and Technology*  
*Department of Food Science and Human Nutrition*  
*Laboratory of Food Microbiology and Biotechnology*

**ABSTRACT**

Edible macroalgae is a new food product on the European market, despite being a staple food in Asian regions. The literature which is available about the microorganisms involved in the spoilage of these products or the human pathogens found in these products is limited.

This study was divided into two parts. The first part introduced fresh-frozen kelp samples (*Alaria esculenta* and *Saccharina latissima*) collected from an experimental aquaculture farm based in Scotland were used in a spoilage experiment at different temperatures (0.5, 10, 15°C). Tissue samples from the beginning, middle and end of the lesion experiments were collected for bacterial DNA isolation. Simultaneously, bacterial colonies, grown on general and specific microbiological substrates, were collected and isolated at the same time points as mentioned above. The samples from the tissues, but also the isolated bacteria underwent the appropriate process for their further molecular analysis.

In addition, as a second part of the experimental procedure, seaweed samples (for both species), collected at different time periods, were analyzed with the classic microbiological analyses and a comparison of their microbial populations was made both among themselves and between harvest periods. From these results it emerged that in the summer months the total microbial load of the brown algae was increased compared to the winter months. Furthermore, while the seaweed samples collected were in neighboring cultures, their microbial flora was different, due to chemical composition and their different structure.

**Scientific area:** Edible algae quality

**Key words:** seaweeds, food, microorganisms, spoilage

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η εκπόνηση της μεταπτυχιακής μου διατριβής έλαβε χώρα στο Εργαστήριο Μικροβιολογίας και Βιοτεχνολογίας Τροφίμων και σηματοδοτεί την ολοκλήρωση των μεταπτυχιακών μου σπουδών στο Τμήμα Επιστήμης Τρόφιμων και Διατροφής του Ανθρώπου του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Κατ' αρχάς, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή κ. Γεώργιο- Ιωάννη Νυχά, Διευθυντή του Εργαστηρίου Μικροβιολογίας και Βιοτεχνολογίας Τροφίμων, για την ανάθεση της συγκεκριμένης μελέτης, αλλά και για την εμπιστοσύνη και την καθοδήγησή του για τη διεκπεραίωση της. Ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλουν να δοθούν και στα υπόλοιπα μέλη της τριμελούς Επιτροπής, στον αναπληρωτή καθηγητή κ. Ευστάθιο Πανάγου και στον καθηγητή κ. Χατζόπουλο Πολυδεύκη.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ στην υποψήφια διδάκτορα Ειρήνη Σχοινά, της οποίας η συμβολή στον σχεδιασμό και την ολοκλήρωση της πειραματικής διαδικασίας, αλλά και στην εκπόνηση της διπλωματικής μου μελέτης ήταν αναντίρρητα εξαιρετικής σημασίας.

Δε θα μπορούσα να μην ευχαριστήσω τις διδάκτορες Λυτού Αναστασία, Σπυρέλλη Ευγενία, Μάνθου Εβίτα και Φέγγου Λένια για την υποστήριξη και τις εύστοχες παρατηρήσεις τους, αλλά και για την εκμάθηση βασικών μικροβιολογικών τεχνικών.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω το οικογενειακό και φιλικό μου περιβάλλον για τη βοήθεια, τις συμβουλές και τη στήριξή τους σε κάθε στάδιο της ακαδημαϊκής μου, και όχι μόνο, πορείας και εξέλιξης.

Με την άδειά μου, η παρούσα εργασία ελέγχθηκε από την Εξεταστική Επιτροπή μέσα από λογισμικό ανίχνευσης λογοκλοπής που διαθέτει το ΓΠΑ και διασταυρώθηκε η εγκυρότητα και η πρωτοτυπία της.

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....	I
ABSTRACT .....	III
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ .....	IV
1. ΓΕΝΙΚΑ.....	1
1.1. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΩΝ ΦΥΚΩΝ.....	2
1.2. ΜΙΚΡΟΦΥΚΗ.....	3
1.2.1. ΧΡΗΣΕΙΣ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΦΥΚΩΝ .....	4
1.3. ΜΑΚΡΟΦΥΚΗ.....	4
1.3.1. ΦΑΙΟΦΥΤΑ.....	5
1.3.2. ΧΛΩΡΟΦΥΤΑ .....	6
1.3.3. ΡΟΔΟΦΥΤΑ .....	6
1.4. ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΩΝ ΦΥΚΩΝ.....	7
1.4.1. ΒΛΑΣΤΙΚΗ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ .....	7
1.4.2. ΑΓΕΝΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ .....	9
1.4.3. ΕΓΓΕΝΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ .....	10
2. ΤΑ ΜΑΚΡΟΦΥΚΗ ΩΣ ΤΡΟΦΙΜΟ.....	10
2.1. ΙΣΤΟΡΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ.....	12
2.2. ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ .....	12
2.3. ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ .....	13
2.4. ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΕΣ/ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΕΣ.....	14
2.5. ΛΙΠΙΔΙΑ .....	16
2.6. ΦΩΤΟΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ ΧΡΩΣΤΙΚΕΣ.....	17
2.6.1. ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΕΣ .....	17
2.6.2. ΚΑΡΟΤΕΝΟΕΙΔΗ .....	18
2.7. ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ.....	18
3. ΤΑ ΦΥΚΗ ΩΣ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΑ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ .....	20
3.1. ΥΔΡΟΚΟΛΛΟΕΙΔΗ ΤΩΝ ΦΥΚΩΝ ΣΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ.....	21
3.1.1. ΑΓΑΡ .....	22
3.1.2. ΚΑΡΑΓΕΝΑΝΗ.....	22
3.1.3. ΑΛΓΙΝΙΚΑ.....	23
3.2. ΖΥΜΟΥΜΕΝΑ ΤΡΟΦΙΜΑ .....	24
3.3. ΠΡΟΙΟΝΤΑ ΑΡΤΟΠΟΙΙΑΣ.....	24
3.4. ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΑ ΠΡΟΙΟΝΤΑ.....	25
3.5. ΠΡΟΙΟΝΤΑ ΚΡΕΑΤΟΣ ΚΑΙ ΠΟΥΛΕΡΙΚΩΝ .....	25

3.6.	ΑΛΛΑ ΠΡΟΙΟΝΤΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ.....	26
4.	ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΩΝ ΦΥΚΩΝ.....	27
4.1.	ΒΑΡΕΑ ΜΕΤΑΛΛΑ.....	27
4.1.1.	ΚΑΔΜΙΟ.....	29
4.1.2.	ΜΟΛΥΒΔΟΣ.....	30
4.1.3.	ΥΔΡΑΡΓΥΡΟΣ.....	31
4.1.4.	ΑΡΣΕΝΙΚΟ.....	31
4.2.	ΙΩΔΙΟ.....	32
4.3.	ΠΑΘΟΓΟΝΟΙ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ.....	33
4.3.1.	BACILLUS SPP.....	34
4.3.2.	VIBRIO SPP.....	35
5.	ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΣΗΜΕΡΑ.....	36
5.1.	ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ.....	37
5.2.	ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ.....	38
5.2.1.	ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΜΑΚΡΟΦΥΚΩΝ ΣΕ ΧΕΡΣΑΙΕΣ ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ.....	39
5.3.	ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΠΟΛΥΤΡΟΦΙΚΗΣ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ.....	40
6.	ΣΚΟΠΟΣ.....	42
7.	ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	42
7.1.	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ (ΜΕΡΟΣ Α).....	42
7.2.	ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΩΝ ΑΠΟΙΚΙΩΝ.....	43
7.3.	ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΙΣΤΩΝ ΦΑΙΟΦΥΚΩΝ.....	44
7.4.	ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΑΠΟΜΟΝΩΘΕΝΤΩΝ ΑΠΟΙΚΙΩΝ ΓΙΑ ΜΟΡΙΑΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	44
8.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	45
9.	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ (ΜΕΡΟΣ Β).....	47
9.1.	ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	49
10.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	51
11.	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	57
12.	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	58



# I. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

## 1. ΓΕΝΙΚΑ

Τα φύκη εμφανίστηκαν στη Γη πριν από τον άνθρωπο, 3,5 δισεκατομμύρια χρόνια πριν, και μάλιστα θεωρούνται ως η πρώτη μορφή ζωής (Margulis, 1981). Αποτελούνται από μια μεγάλη ετερογενή ομάδα οργανισμών με διαφορές σε επίπεδο κυτταρικής δομής, μορφολογίας, φυσιολογίας και φυλογένεσης. Αν και φωτοσυνθέτουν δεν είναι φυτά καθώς δεν έχουν ρίζες, καρπούς, άνθη, σπέρματα, κορμό και αγγειώδη βλαστό. Ο θαλλός αποτελεί το σώμα του εκάστοτε φύκου, είτε αυτό είναι μονοκύτταρο (μονήρες μικροφύκος), είτε πολυκύτταρο (μακροφύκος), είτε κοινόβιο (πολλά μονήρη κύτταρα σε οργανωμένη δομή) (Bykova et al., 2020).

Τα φύκη είναι υδρόβιοι οργανισμοί, απαντώνται σε υδάτινα οικοσυστήματα κάθε είδους, όπως θάλασσες, λίμνες, ποτάμια κλπ. Πρακτικά όμως, μπορούν να αναπτυχθούν οπουδήποτε αρκεί να υπάρχει ελάχιστη υγρασία. Σε εξαιρετικές περιπτώσεις, μπορούν να εντοπιστούν ακόμα και σε χιόνι, πάγο ή θερμές πηγές. Ζουν σαν επιπλέοντες οργανισμοί, αποτελώντας το φυτοπλαγκτό, ή σαν βενθικοί οργανισμοί προσκολλημένοι σε διάφορα υποστρώματα όπως ο θαλάσσιος πυθμένας, τα βράχια κλπ (Dhargalkar & Pereira, 2005).

Οι οργανισμοί αυτοί μπορεί να είναι είτε προκαρυωτικοί (κυανοβακτήρια) είτε ευκαρυωτικοί, μονοκύτταροι (μικροφύκη) έως πολυκύτταροι (μακροφύκη) (Brennan and Owende, 2010). Τα φύκη είναι ως επί το πλείστον αυτότροφοι, φωτοσυνθετικοί οργανισμοί, δηλαδή φωτοσυνθέτουν παρόμοια με τα ανώτερα φυτά και η κύρια φωτοσυνθετική χρωστική τους είναι η χλωροφύλλη *a*. Η διαδικασία αυτή πραγματοποιείται, προσλαμβάνοντας άνθρακα από το διοξείδιο του άνθρακα και ενέργεια από τον ήλιο. Κατά τη φωτοσύνθεση, τα φύκη δεσμεύουν το διοξείδιο του άνθρακα και το ηλιακό φως και τα μετατρέπουν σε οξυγόνο και βιομάζα (Weissman & Tillett, 1992). Η διαδικασία αυτή εμφανίζεται σχεδόν σε όλα τα φύκη και αντιπροσωπεύουν περίπου το 50% της φωτοσύνθεσης που λαμβάνει χώρα στη Γη. Επιπλέον, διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στον παγκόσμιο κύκλο άνθρακα, βοηθώντας στην απομάκρυνση της περίσσειας συγκέντρωσης άνθρακα από το περιβάλλον (Cuellar-Bermudez et al., 2015). Διαθέτουν ένα ευρύ φάσμα χρωστικών (χλωροφύλλες, καροτενοειδή, φυκοβιλίνες) που συμμετέχουν στη διαδικασία της

φωτοσύνθεσης, συλλέγοντας την ηλιακή ενέργεια και δίνοντας στους διαφορετικούς τύπους φυκών το χαρακτηριστικό τους χρώμα (Miao & Wu, 2006).

Τα περισσότερα φύκη είναι αυστηρά φωτοαυτότροφοι οργανισμοί, δηλαδή χρειάζονται φως και διοξείδιο του άνθρακα ως πηγή ενέργειας. Ωστόσο, ορισμένα είδη φυκών είναι ικανά να αναπτύσσονται στο σκοτάδι και να χρησιμοποιούν οργανικούς άνθρακες (όπως π.χ γλυκόζη ή οξικό) ως πηγές ενέργειας και άνθρακα. Αυτοί οι οργανισμοί καλούνται χημειοετερότροφοι (Cuellar-Bermudez et al., 2015).

### **1.1. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΩΝ ΦΥΚΩΝ**

Η ταξινόμηση των φυκών παρουσιάζει δυσκολίες λόγω της ποικιλίας που εμφανίζουν ως προς την μορφολογία, τις χρωστικές και τους τρόπους αναπαραγωγής τους. Η ταξινόμηση των φυκών σε ταξινομικές ομάδες βασίζεται στους ίδιους κανόνες που χρησιμοποιούνται για την ταξινόμηση των χερσαίων φυτών, αλλά η οργάνωσή τους σε ομάδες πάνω από το επίπεδο τάξης έχει αλλάξει ουσιαστικά από το 1960 (Demirbas & Demirbas, 2010). Η διάκριση στις μεγάλες ομάδες γίνεται με βάση τα βιοχημικά κριτήρια (π.χ. χρωστικές) και τα μορφολογικά γνωρίσματα. Για να γίνει περαιτέρω ταξινόμηση σε γένη ή/και είδη χρειαζόμαστε πληροφορίες σχετικά με τα νερά όπου αναπτύσσονται, το μέγεθος, το χρώμα, το μεταβολισμό, τη μορφή, τα κύτταρα, τον τρόπο που κινούνται και αναπαράγονται αλλά και τον κύκλο ζωής τους (Takishita & Uchida, 1999).

Όμως, οι επιστήμονες που ασχολούνται με τη Φυκολογία - επιστήμη που μελετά τα φύκη- χρησιμοποιούν ποικίλα κριτήρια για την σωστή ταξινόμησή τους. Η ανάπτυξη νέων τεχνικών και η χρήση τους οδηγεί στον ακριβέστερο καθορισμό της συγγένειας (ή μη συγγένειας) οργανισμών που φαίνονται να σχετίζονται μεταξύ τους (Massjuk & Lilitska, 2011).

Από το σύστημα του Whittaker του 1969, τα φύκη ταξινομούνται σε επτά διαιρέσεις που κατανέμονται σε δύο διαφορετικά βασίλεια (Πιν. 1) (Prescott et al. 2002).

**Πίνακας 1:** Κλασική ταξινόμηση των φυκών (Prescott et al. 2002)

<b>Διαίρεση (Κοινή ονομασία)</b>	<b>Βασίλειο</b>
<i>Chryshophyta</i> (κίτρινα-πράσινα και καφέ-χρυσά φύκη, διάτομα)	Πρώτιστα (μονοκύτταρα ή αποικιακά, ευκαρυωτικά)
<i>Euglenophyta</i> (φωτοσυνθετικά ευγλενοειδή μαστιγοφόρα)	Πρώτιστα
<i>Pyrrhophyta</i> (δινομαστιγωτά)	Πρώτιστα
<i>Charophyta</i> (stoneworts)	Πρώτιστα
<i>Chlorophyta</i> (πράσινα φύκη)	Πρώτιστα
<i>Phaeophyta</i> (καφέ φύκη)	<i>Plantae</i> (πολυκύτταρα, ευκαρυωτικά)
<i>Rhodophyta</i> (κόκκινα φύκη)	<i>Plantae</i>

\*Σύστημα πέντε βασιλείων

Όσον αφορά το μέγεθός τους διακρίνονται στα μικροφύκη, τα οποία είναι ορατά με τη βοήθεια μικροσκοπίου, με μέγεθος από 0,2μm έως >200μm και τα μακροφύκη, με μήκος λίγων χιλιοστών έως μερικών δεκάδων μέτρων, όπως οι γιγάντιες κέλπιες που φτάνουν τα 60m (Harlin & Darley, 1988). Γενικά, παρουσιάζουν ποικιλία σε μεγέθη, χρώματα και μορφές. Οι μορφές μπορεί να είναι μικροσκοπικές, αποικιακές, μονοκύτταρες, νηματοειδείς, διακλαδισμένες ή όχι. Κάποια μοιάζουν με μικρούς θάμνους, φύλλα, δίχτυ, σωλήνες κλπ. (Barsanti & Gualtieri, 2014).

## 1.2. ΜΙΚΡΟΦΥΚΗ

Τα μικροφύκη είναι μια μεγάλη και ποικίλη ομάδα υδρόβιων οργανισμών που δεν διαθέτουν τις σύνθετες κυτταρικές δομές που βρίσκονται σε ανώτερα φυτά, αλλά ο μηχανισμός φωτοσύνθεσής τους μοιάζει με αυτόν των χερσαίων φυτών. Τα περισσότερα είδη είναι φωτοαυτοτροφικά, μετατρέποντας την ηλιακή ενέργεια σε χημικές μορφές μέσω της φωτοσύνθεσης (Westerhoffa et al., 2010).

Μπορούν να βρεθούν σε ένυδρα και εδάφιντα οικοσυστήματα και εξαιτίας της δομής τους μπορούν να επιβιώνουν σε αντίξοες συνθήκες (Mata et al. 2010).

Το μήκος των μικροφυκών κυμαίνεται από μερικά μικρόμετρα 0.2-50 μm στα μονοκύτταρα έως 100-200 μm στους πολυκύτταρους νηματοειδής σχηματισμούς όπως το *Arthrospira (Spirulina) platensis* ενώ ακόμα, μπορεί να φτάσει έως και κάποιες εκατοντάδες μικρόμετρα σε ορισμένα διάτομα (1-2.000 μm). Η κατηγορία αυτή αποτελείται από Ευκαρυωτικούς αλλά και Προκαρυωτικούς (Κυανοβακτήρια), φωτοσυνθετικούς οργανισμούς μεταξύ των οποίων υπάρχουν διαφορές στη βιολογία, τη φυσιολογία και την οικολογία, ανάλογα με τις οποίες

χωρίζονται σε ομάδες. Αναπτύσσονται μεμονωμένα, σε αλυσίδες σε ομάδες και αποκτούν κοκκοειδείς, μαστιγωτές, ή παλμελοειδείς μορφές και τριχώματα αλλά και μεγάλους αποικιακούς σχηματισμούς με νήματα, μικροθαλλούς ή πιο περίπλοκες συσσωματώσεις (Μάρκου και συν, 2013).

### **1.2.1. ΧΡΗΣΕΙΣ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΦΥΚΩΝ**

Υπάρχουν πολλές ιστορικές αναφορές χρήσης φυκών στην ανθρώπινη διατροφή, με τις πιο παλιές να χρονολογούνται περίπου το 2700 π.Χ. στην Κίνα. Για αιώνες συνέλεγαν και χρησιμοποιούσαν καθημερινά, στην Αφρική, το κυανοβακτήριο σπιρουλίνα (*Arthrospira*), “dihé” όπως το αποκαλούν. Οι Αζτέκοι χρησιμοποιούσαν τον 13ο αι. μ.Χ., το ίδιο είδος που συνέλεγαν από λίμνη του Μεξικό (Do Nascimento et al., 2020).

Με το πέρασμα των χρόνων, η ετήσια κατανάλωση -και επομένως και η ζήτηση- των μικροφυκών όλο και αυξάνεται. Στην δεκαετία του 2000 υπήρξε κινητοποίηση πόρων και επιστημονικών ομάδων για την αξιοποίηση τους (Sprolaore et al., 2006). Με τη καλλιέργειά των μικροφυκών παράγονται πολύτιμες ενώσεις, οι οποίες χρησιμοποιούνται σε διάφορους κλάδους, όπως η κοσμετολογία και η φαρμακευτική. Τέτοιες ενώσεις μπορεί να είναι φαρμακευτικές ουσίες ή χρωστικές (Τσαγκαμίλης, 2009). Επίσης, τα μικροφύκη παράγουν πρωτεΐνες που χρησιμοποιούνται ως πηγή ζωοτροφών, αλλά και ως μέσα λίπανσης και βελτίωσης του εδάφους (Harun et al. 2010; Pulz & Gross 2008).

Άλλος ένας κλάδος που βρίσκουν μεγάλη εφαρμογή τα τελευταία χρόνια, αφορά αυτόν της ενέργειας. Τα μικροφύκη έχουν λάβει μεγάλο ενδιαφέρον ως πιθανή πρώτη ύλη για την ανάπτυξη βιώσιμων μεταφορών (βιοκαύσιμα). Ανάλογα με το είδος και τις συνθήκες καλλιέργειας, μπορούν να παράγουν χρήσιμες ποσότητες πολυσακχαριτών (σάκχαρα) και τριακυλογλυκεριδίων (λίπη). Αυτές είναι οι πρώτες ύλες για την παραγωγή καυσίμων μεταφοράς βιοαιθανόλης και βιοντίζελ (Gouveia and Oliveira, 2009 ; Park et al., 2019).

### **1.3. ΜΑΚΡΟΦΥΚΗ**

Τα μακροφύκη είναι πολυκύτταροι, φωτοσυνθετικοί, ευκαρυωτικοί οργανισμοί. Αναπτύσσονται στη θάλασσα κατά μήκος της ακτής και μπορούν επίσης να βρεθούν

σε οικοσυστήματα γλυκού νερού, όπως ποτάμια και λίμνες. Αποτελούνται από ένα φύλλο και συνήθως από ένα στέλεχος/κοτσάνι και μια ρίζα (Bykova et al., 2020).

Διαφορετικά είδη καταλαμβάνουν διαφορετικά βάθη -από την επιφάνεια έως το βάθος του ωκεανού- όπου το φως γίνεται περιοριστικός παράγοντας για τη φωτοσύνθεση. Μερικά είδη προσαρμόζονται σε πολύ προστατευμένους κόλπους, ενώ άλλα ευδοκιμούν σε εκτεθειμένες περιοχές με πολύ έντονη τη δράση του κύματος (Lähteenmäki-Uutela et al., 2021).

Τα μακροφύκη μπορούν να χωριστούν σε τρεις μεγάλες ομάδες: φαιόφυτα (καφέ), χλωρόφυτα (πράσινα) και ροδόφυτα (κόκκινα), σύμφωνα με τη φωτοσυνθετική χρώση που έχουν (Wang et al., 2015).

Περιέχουν λιπίδια και είναι μια πολύ καλή πηγή πρωτεϊνών, βιταμινών και μετάλλων. Επίσης, περιέχουν ένα μεγάλο αριθμό θρεπτικών συστατικών, συμπεριλαμβανομένων αντιοξειδωτικών και βιοενεργών πολυσακχαριτών όπως η φουκόζη και η λαμιναρίνη. Χρησιμοποιούνται συνήθως για την παραγωγή τροφίμων και την εξαγωγή υδροκολλοειδών, ενώ ιστορικά έχουν χρησιμοποιηθεί ως λιπάσματα στη γεωργία και ως συστατικό στη βιομηχανία γυαλιού (Rioux et al., 2009).

### **1.3.1. ΦΑΙΟΦΥΤΑ**

Αποκαλούνται και καφέ φύκη, λόγω του χαρακτηριστικού τους χρώματος - ελαιοπράσινο ως σκούρο καφέ- που οφείλεται στην επικράτηση της φυκοξανθίνης σε σχέση με την χλωροφύλλη (chl a, chl c). Το κυτταρικό τους τοίχωμα αποτελείται από κυτταρίνη και αλγινικά άλατα. Υπάρχουν σχεδόν 1800 είδη θαλάσσια, τα οποία διαιρούνται σε 256 γένη και 9 κατηγορίες. Καθίστανται εύκολα ορατά, λόγω του ότι βρίσκονται σε μικρό βάθος (Martin, 2015).

Τα μεγάλα φαιόφυτα αποκαλούνται και ως κέλπιες που ανήκουν στις τάξεις Λαμιναριώδη (Laminariales) και Φυκώδη (Fucales). Αναπτύσσονται σε «υποβρύχια δάση» σε ρηχούς ωκεανούς με θερμοκρασίες μεταξύ 6 και 14 ° C και απαιτούν νερό πλούσιο σε θρεπτικά συστατικά. Αποτελούν σημαντικά οικοσυστήματα, καθώς εμφανίζουν μεγάλη παραγωγικότητα και περίπλοκη βιολογική δομή, ενώ φιλοξενούν πολυάριθμα είδη οργανισμών. Ένα και μόνο κελπ μπορεί να συντηρήσει πάνω από ένα εκατομμύριο οργανισμούς (Stratil et al., 2014).



**Εικόνα 1.1** Δάσος κελπ στο Ευοδρείο Monterey Bay (Monterey Bay Aquarium, 2019).

### **1.3.2. ΧΛΩΡΟΦΥΤΑ**

Τα Χλωρόφυτα (πράσινα φύκη) περιλαμβάνουν πάνω από 400 γένη και 6000 είδη (Leliaert et al., 2012). Το χρώμα τους είναι συνήθως πράσινο από την χλωροφύλλη α και β που επικρατούν στις ίδιες συγκεντρώσεις. Περιέχουν, επίσης, και αρκετά καροτενοειδή που μπορούν να συντίθενται και να συσσωρεύονται εκτός του χλωροπλάστη υπό συνθήκες έλλειψης αζώτου (Tomaselli, 2004).

Τα Χλωρόφυτα παρουσιάζουν ιδιαίτερη αφθονία και ποικιλομορφία σε ενδιαιτήματα εσωτερικών υδάτων, αλλά κυρίως είναι φύκη του γλυκού νερού. Ένας μεγάλος αριθμός αναπτύσσεται τόσο στη θάλασσα όσο και στην επιφάνεια της γης. Εμφανίζουν αξιοσημείωτη μορφολογική και οικολογική ποικιλία. Μορφολογικά κυμαίνονται από μικρούς, αυτότροφους ευκαρυώτες, μέχρι μεγάλες σε μέγεθος, πολυκύτταρες μορφές ζωής (Wysor, 2009).

### **1.3.3. ΡΟΔΟΦΥΤΑ**

Τα Ροδόφυτα (κόκκινα φύκη) περιλαμβάνουν πολυκύτταρες και νηματοειδείς μορφές ενώ σπανιότερα εμφανίζονται ως μονοκύτταρα είδη. Τα φύκη του συγκεκριμένου φύλου χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη των φωτοσυνθετικών χρωστικών φυκοερυθρίνη και φυκοκυανίνη, όπου σε αυτά οφείλεται το

χαρακτηριστικό τους κόκκινο χρώμα (Woelkerling, 1990). Τα κόκκινα φύκη αποτελούν την πλειοψηφία των φυκών που απαντώνται κυρίως σε εύκρατες και τροπικές περιοχές (Tomaselli, 2004). Αυτά καλύπτουν τις άλλες χρωστικές, χλωροφύλλη α (χωρίς χλωροφύλλη β), βήτα-καροτένιο και μια σειρά από μοναδικές ξανθοφύλλες. Τα κυτταρικά τοιχώματά τους είναι κατασκευασμένα από κυτταρίνη, αγάρ και καραγενάνες.

Μια πολύ σημαντική ομάδα κόκκινων φυκών είναι τα κοράλλια φύκια, τα οποία απασβεστώνονται, δηλαδή εναποθέτουν στο κυτταρικό τους τοίχωμα μεγάλες ποσότητες ανθρακικού ασβεστίου. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να μοιάζουν με κοράλλια, όπως π.χ. το γένος *Corallina*. Τα κοραλλιογενή ροδοφύκη είναι κοινά σε όλους του ωκεανούς και αναπτύσσονται σε σταθερές επιφάνειες, συμβάλλουν στη δημιουργία των κοραλλιογενών υφάλων (Barott et al., 2009).

#### **1.4. ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΩΝ ΦΥΚΩΝ**

Οι μέθοδοι αναπαραγωγής σε κατώτερες ταξινομικές ομάδες είναι απλή και σε ανώτερες σύνθετη. Ορισμένα είδη έχουν πολύπλοκους βιολογικούς κύκλους ζωής. Τα φύκη αναπαράγονται με τους ακόλουθους τρεις τύπους: Βλαστικά, ασεξουαλικά και σεξουαλικά (Gurta & Agrawal, 2007).

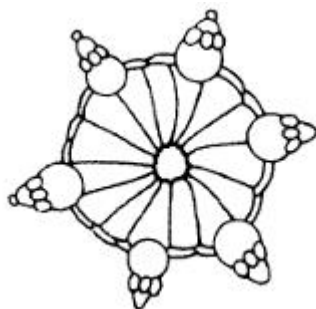
##### **1.4.1. ΒΛΑΣΤΙΚΗ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ**

Η βλαστική αναπαραγωγή λαμβάνει χώρα γενικά κάτω από ευνοϊκές συνθήκες. Οποιοδήποτε τμήμα του σώματος του θαλλού αποσπάται από τον γονέα και εξελίσσεται σε νέο φύκος χωρίς καμία εμφανή αλλαγή στη γενετική του σύσταση (Gurta & Agrawal, 2004a). Γίνεται μέσω:

1. Κυτταρικής διαίρεσης – Είναι η απλούστερη μέθοδος πολλαπλασιασμού και συνήθως συνηθισμένη σε μονοκύτταρες μορφές φυκών π.χ. *Microcystis*, *chlorococcus*. Σε αυτή τη διαδικασία το κύτταρο φυκών διαιρείται μιτωτικά για να σχηματίσει δύο θυγατρικά κύτταρα, όπου το καθένα τελικά αναπτύσσεται σε έναν ανεξάρτητο οργανισμό .
2. Κατακερματισμός - Στα νηματοειδή πολυκύτταρα ευκαρυωτικά φύκη και στα κυανοβακτήρια, ο θαλλός μπορεί να σπάει σε κομμάτια πολυκύτταρων τμημάτων, το καθένα από τα οποία αναπτύσσεται σε νέο θαλλό. Η θραύση μπορεί να είναι είτε τυχαία σε οποιοδήποτε σημείο, είτε σε σημεία μεταξύ

γειτονικών κυττάρων όπου σχηματίζονται διαφράγματα ή δίσκοι διαχωρισμού, είτε λόγω μηχανικής καταπόνησης, είτε λόγω κάποιας κάκωσης σε ορισμένο σημείο. Η κατάτμηση του θαλλού απαντάται συχνότερα στα είδη *Spirogyra*, *Ulothrix*, *Oedogonium*, *Zygnema*, *Cylindrospermopsis* (κυανοβακτήριο).

3. Βλάστηση – Σε διάφορα νηματοειδή μακροφύκη δημιουργούνται εκβλαστήματα από τον νηματοειδή θαλλό τα οποία κατόπιν διαχωριζόμενα από αυτόν δημιουργούν νέο θαλλό. Παραδείγματα: *Stigonema*, *Protosiphon*
4. Ορμογόνια – Τα περισσότερα είδη από τα νηματοειδή κυανοβακτήρια μπορούν να πολλαπλασιαστούν και με τη διαδικασία παραγωγής ορμογόνιων. Τα ορμογόνια είναι κομμάτια του θαλλού (νήματος) τα οποία αποσπώνται με θραύση του νηματοειδούς θαλλού και κατόπιν με πολλαπλασιασμό των κυττάρων του θραύσματος επιμηκύνονται δημιουργώντας νέο κυανοβακτηριακό νημάτιο. Τα σημεία θραύσης του μητρικού θαλλού καθορίζονται από νεκρωμένα κύτταρα (νεκρίδια ή δίσκοι διαχωρισμού).
5. Αστεροειδή αμυλώδη κύτταρα - Στα χαροειδή (Charales) χλωροφύκη (*Chara*, *Nitella*, κ.λπ.) αναπτύσσονται εξογκώματα (βολβίσκοι) ή/και πλούσια σε άμυλο αστεροειδή κύτταρα. Όταν αυτά τα εξωαναπτύγματα αποσπασθούν από το μητρικό θαλλό αναπτύσσονται σε νέο θαλλό.



**Εικόνα 1.2** Σχηματική απεικόνιση ενός αμυλώδους κυττάρου (Χώτος, 2019)



#### 1.4.2. ΑΓΕΝΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ

Η αγενής αναπαραγωγή στα φύκη εμπλέκει το σχηματισμό ορισμένων τύπων σπορίων με ή χωρίς κυτταρικό τοίχωμα. Πρόκειται για μια διαδικασία ανανέωσης του μητρικού πρωτοπλάσματος χωρίς σύντηξη γαμετών. Κάθε σπόριο «βλαστάνει» σε νέο θαλλό και δεν υπάρχει εναλλαγή γενεών. Το κύτταρο που παράγει τα σπόρια ονομάζεται σποράγγιο. Τα σπόρια που υπάρχουν μέσα στα σποραγγεία μπορεί να είναι κινητά ή μη. Έτσι, με βάση τη δομή, τα σπόρια είναι του ακόλουθου τύπου (Gupta & Agrawal, 2004b ; Pang & Lüning, 2004) :

1. Ζωοσπόρια- Τα ζωοσπόρια είναι κινητές, γυμνές δομές με δύο, τέσσερα ή πολλά μαστίγια. Αυτά τα μαστίγια συνήθως εισάγονται εμπρός, αλλά είναι πλευρικά σε ορισμένα καφέ φύκη. Παράγονται στο ζωοσποράγγιο.
2. Απλανοσπόρια - Τα απλανοσπόρια είναι σπόρια χωρίς μαστίγια τα οποία σχηματίζονται είτε ατομικώς από την κατάλληλη μετατροπή του πρωτοπλάσματος ενός βλαστητικού κυττάρου, είτε μαζικώς από πολλαπλές διαιρέσεις ενός βλαστητικού κυττάρου που σχηματίζει ένα σποριάγγιο με πολλά απλανοσπόρια. Τα απλανοσπόρια δημιουργούνται όταν οι συνθήκες του περιβάλλοντος χειροτερεύουν και ιδιαίτερα σε περιόδους ξηρασίας. Αλλωστε η δημιουργία απλανοσπορίων είναι συχνή σε ημι-υδατικά φύκη.
3. Υπνοσπόρια - Απλανοσπόρια με παχυμένο το κυτταρικό τους τοίχωμα και με άφθονα αποθέματα θρεπτικών συστατικών καλούνται υπνοσπόρια. Τα υπνοσπόρια ειδικά σχηματίζονται με το σκοπό να αντέξουν επερχόμενη περίοδο ξηρασίας (αφυδάτωσης). Όταν οι συνθήκες ξαναγίνουν καλές τα υπνοσπόρια είτε «βλαστάνουν» σε νέο θαλλό, είτε ο πρωτοπλάστης τους σχηματίζει ζωοσπόρια. Αντίθετα, στο χιόνι το κόκκινο χρώμα χαρακτηρίζει και τα υπνοσπόρια της *Chlamydomonas rivalis* λόγω μεγάλης συσσώρευσης χρωστικής αίμης στο κυτταρικό τους τοίχωμα.
4. Ακινήτες - Στα νηματοειδή κυανοβακτήρια ορισμένα βλαστητικά κύτταρα του νήματος μεγεθύνονται επιμηκυνόμενα, με πάχυνση του κυτταρικού τους τοιχώματος, αποθήκευση πολλών θρεπτικών ουσιών στο κυτταρόπλασμα και μετατρέπονται έτσι σε ιδιόμορφα σπόρια που μπορούν αδρανοποιώντας το μεταβολισμό τους να μεταπέσουν σε ληθαργική κατάσταση. Αυτά τα κύτταρα ονομάζονται ακινήτες.

5. Εξωσπόρια - Σε ορισμένα νηματοειδή κυανοβακτήρια στις άκρες των νηματίων τους τα εκεί κύτταρα δημιουργούν πρωτοπλασματικά εξογκώματα – εξωσπόρια. Τα εξωσπόρια απελευθερούμενα συναθροίζονται σε ομάδες και δημιουργούν νέες αποικίες θαλλών.
6. Ενδοσπόρια - Άλλα είδη κυανοβακτηρίων κοκκοειδούς τύπου δημιουργούν μικρά σπόρια από τις διαιρέσεις του μητρικού πρωτοπλάσματος. Αυτά καλούνται ενδοσπόρια ή κονίδια ή γονίδια (απλή συνωνυμία με τα γονίδια στο DNA). Μετά τη διάλυση του μητρικού κυτταρικού τοιχώματος ελευθερώνονται και αμέσως αναπτύσσονται σε νέα άτομα

#### **1.4.3. ΕΓΓΕΝΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ**

Συνήθως η εγγενής αναπαραγωγή συμβαίνει σε δυσμενείς συνθήκες. Η αναπαραγωγή αυτή οδηγεί στη δημιουργία νέου συνδυασμού γονιδίων στους απογόνους. Περιλαμβάνει τη σύντηξη δύο εξειδικευμένων αναπαραγωγικών κυττάρων που ονομάζονται γαμέτες. Οι συγχωνευόμενοι γαμέτες μπορεί να είναι από τον ίδιο γονέα ή από δύο διαφορετικούς γονείς. Η διαδικασία σύντηξης γαμετών ονομάζεται γονιμοποίηση και το προϊόν σύντηξης γαμετών ονομάζεται ζυγώτης (διπλοειδής δομή). Η εγγενής αναπαραγωγή περιλαμβάνει τρεις φάσεις (Ghildiyal et al., 2019):

1. Πλασμογαμία: διαδικασία αναστόμωσης δύο κυττάρων (υφών) και η σύντηξη των πρωτοπλαστών τους. Αυτό έχει ως συνέπεια να βρίσκονται δύο πυρήνες αντίθετου φύλου, μέσα στην ίδια υφή
2. Καρυογαμία: ένωση δύο συμβατών απλοειδών πυρήνων και δημιουργία διπλοειδούς πυρήνα
3. Μείωση: μείωση του διπλοειδούς πυρήνα μετά την καρυογαμία και δημιουργία απλοειδών πυρήνων.

Ουσιαστικά, ένα διπλοειδές κύτταρο υφίσταται ανασυνδυασμό του κάθε ζεύγους των γονικών χρωμοσωμάτων και στην συνέχεια δύο στάδια μειωτικής διαίρεσης, με αποτέλεσμα τον σχεδιασμό 4 απλοειδών κυττάρων (γαμετών).

## **2. ΤΑ ΜΑΚΡΟΦΥΚΗ ΩΣ ΤΡΟΦΙΜΟ**

Τα φύκη μπορούν να καταναλωθούν ως τροφή ή ως συστατικά σε παρασκευασμένα τρόφιμα, σε φρέσκια, ζυμωμένα, αποξηραμένα ή κατεψυγμένα μορφή, είτε

ολόκληρα είτε αλεσμένα σε διαφορετικού μεγέθους νιφάδες, κόκκους ή σκόνες (Mouritsen et al., 2019). Τα τρόφιμα με φύκη τυγχάνουν μεγαλύτερης προσοχής καθώς αποτελούν φυσική πηγή μικροθρεπτικών και μακροθρεπτικών συστατικών, καθώς και ιχνοστοιχείων, αυξάνοντας τη θρεπτική και φαρμακολογική τους αξία (Peñalver et al., 2020 ; Spolaore et al., 2006). Η κυκλοφορία προϊόντων παραδοσιακών τροφίμων με συστατικά φυκών, όπως μπισκότα, ζυμαρικά, ψωμί και ποτά, μεταξύ άλλων, αυξάνονται στην Ευρωπαϊκή Αγορά, κατέχοντας μερίδιο 1,34% των νέων ευρωπαϊκών τροφίμων και ποτών που κυκλοφόρησαν το 2017 (Nova et al., 2020 ; Ścieszka et al., 2019).

Επιπλέον, τα φύκη είναι μια βιώσιμη πηγή φυσικών βιοδραστικών ενώσεων υψηλής αξίας, με τη δυνατότητα να παράγουν νέα προϊόντα για τη διατροφή του ανθρώπου (Kumari et al., 2013). Τα λιπίδια, με τη μορφή πολυακόρεστων λιπαρών οξέων ( $\omega$ -3 και  $\omega$ -6) και φυτοστερολών είναι οι κύριες ενώσεις στα φύκη που μπορούν να εφαρμοστούν σε διάφορα πλαίσια, λόγω των ευεργετικών τους ιδιοτήτων για το καρδιαγγειακό σύστημα (Huang Wang, 2004 ; Marik & Varon, 2009). Κερδίζουν, επίσης, ενδιαφέρον στην αγορά, αντικαθιστώντας την παραδοσιακή πρόσληψη αυτών των ενώσεων μέσω της κατανάλωσης ψαριών (Torres-Tiji et al., 2020). Πρωτεϊνογόνα αμινοξέα και πεπτίδια τόσο από μικροφύκη όσο και από τα μακροφύκη μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως αντιοξειδωτικά, αντιυπερτασικά και αντιπηκτικά και ως ανοσοδιεγερτικοί παράγοντες (Koyande et al., 2019 ; Samarakoon & Jeon, 2012). Οι πολυσακχαρίτες, μπορούν επίσης να καταναλωθούν καθώς εμφανίζουν πολυάριθμες ιδιότητες που προάγουν την υγεία, όπως αντικαρκινικές, αντικές και αντιοξειδωτικές δραστηριότητες (Usman et al., 2017 Xu et al., 2017). Τα παράγωγά τους (φυκοκολλοειδή: αλγινικό, καραγενάνη και άγαρ) χρησιμοποιούνται επίσης ευρέως ως παράγοντες ζελατινοποίησης, γαλακτωματοποίησης, σταθεροποίησης και πηκτωματοποίησης στις βιομηχανίες ποτών και τροφίμων (Abe et al., 2018 ; Koyande et al., 2019 ; Shanura et al., 2019). Οι φυσικές χρωστικές ουσίες, όπως οι χλωροφύλλες και τα καροτενοειδή, είναι από τους πιο περιζήτητους, υψηλής αξίας μεταβολίτες που παράγονται από τα φύκη (Pangestuti & Kim, 2011). Τα καροτενοειδή όπως η λουτεΐνη, το  $\beta$ -καροτένιο, το λυκοπένιο και η ασταξανθίνη χρησιμοποιούνται κυρίως ως συμπληρώματα διατροφής, ενισχυτικά τροφίμων και φυσικές χρωστικές για ποτά, καθώς η νέα γενιά καταναλωτών επιλέγει τα φυσικά

από τα συνθετικά προϊόντα (Bogacz-Radomska et al., 2020). Ως εκ τούτου, η βιομάζα φυκών και τα εκχυλίσματά της χρησιμοποιούνται ως συμπληρώματα διατροφής και ως πρόσθετα τροφίμων, όπως ενισχυτικά γεύσης, πρόσθετα χρώματος, συντηρητικά, γαλακτωματοποιητές και αντιοξειδωτικά, μεταξύ άλλων (Boukid & Castellari, 2021 ; Peñalver et al., 2020).

### **2.1. ΙΣΤΟΡΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ**

Τα μακροφύκη έχουν χρησιμοποιηθεί ως βασικό είδος διατροφής στην Ιαπωνία, την Κορέα και την Κίνα από τους προϊστορικούς χρόνους. Περίπου 21 είδη φυκών καταναλώνονται στην Ιαπωνία (6 από αυτά από τον 8ο αιώνα). Τα φύκη αντιπροσώπευαν περισσότερο από το 10% της ιαπωνικής διατροφής. Τα πιο συνηθισμένα είδη στην Ιαπωνία είναι το Nori (είδος *Porphyra*), το Kombu (είδη *Laminaria* και *Saccharina*) και το Wakame (*Undaria pinnatifida*) (Prabhasankar et al., 2009).

Στην Κίνα η χρήση μακροφυκών χρονολογείται τουλάχιστον από τον 5ο αιώνα. Το κύριο είδος που χρησιμοποιείται είναι το *Saccharina japonica* (Laminariales), και επιπλέον άλλα 8-11 είδη που χρησιμοποιούνται και στην Ιαπωνία. Το *S. japonica* (πρώην *Laminaria japonica*) εισήχθη κατά λάθος από την Ιαπωνία στο Νταλιάν στην Κίτρινη Θάλασσα τον 5ο αιώνα (Ohno & Largo, 1998).

Από την άλλη πλευρά, στη Μεσόγειο, κατά τη διάρκεια της ελληνικής και της ρωμαϊκής αυτοκρατορίας, τα φύκη χρησιμοποιούνταν συνήθως ως φάρμακα. Ήδη από το 100 π.Χ., τα αρχαία δείχνουν ότι οι αρχαίοι Έλληνες χρησιμοποίησαν ένα είδος κόκκινων φυκών για τη θεραπεία λοιμώξεων από παρασιτικά σκουλήκια (Stein & Borden, 1984). Το μόνο φύκος που έχει καταγραφεί ιστορικά τον 10ο αιώνα μ.Χ. ότι καταναλωνόταν στην Ευρώπη και συγκεκριμένα στην Ισλανδία, είναι ένα κόκκινο φύκος, το *Palmaria palmata* -γνωστό και ως dulce- (Indergaard, 1991).

### **2.2. ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ**

Η χημική σύσταση των μακροφυκών ποικίλλει σημαντικά είτε λόγω των περιβαλλοντικών συνθηκών (ένταση φωτός, ενδιαίτημα ανάπτυξης, αλατότητα θαλασσινού νερού, θερμοκρασία), είτε γενετικών διαφορών μεταξύ των ειδών (Skrovankova, 2011).

Τα μακροφύκη έχουν περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες που μπορεί να κυμαίνεται από 7 έως 31% του ξηρού βάρους και περιεκτικότητα σε λιπίδια που κυμαίνεται από 2 έως 13% του ξηρού βάρους (Mæhre et al., 2014). Μια σημαντική ποσότητα υδατανθράκων μπορεί επίσης να βρεθεί σε μακροφύκη (έως 32–60% του ξηρού βάρους) (Kazir et al., 2019).

Όσον αφορά την περιεκτικότητά τους σε μικροθρεπτικά συστατικά, τα μακροφύκη αποτελούν καλή πηγή βιταμινών, ιδιαίτερα αυτών της ομάδας Β (δηλαδή Β1, Β12), καθώς και των λιπόφιλων βιταμινών Α και Ε (τοκοφερόλη) (Hamid et al., 2015 ; Wells et al., 2017). Η υψηλή περιεκτικότητά σε βιταμίνη Β12 ωθεί τα προϊόντα με βάση τα μακροφύκη ως συμπληρώματα διατροφής για έναν vegan τρόπο ζωής, που θεωρείται ότι κινδυνεύει από ανεπάρκεια βιταμίνης Β12 (Rizzo et al., 2016). Τα πιο σημαντικά μέταλλα που υπάρχουν στα φύκη είναι συνήθως κάλιο, νάτριο, μαγνήσιο και ασβέστιο, που αντιπροσωπεύουν περισσότερο από το 97% της συνολικής περιεκτικότητας σε μεταλλικά στοιχεία. Άλλα μικροστοιχεία όπως ο χαλκός, ο σίδηρος, το μαγγάνιο και ο ψευδάργυρος βρίσκονται σε μικρές ποσότητες (που κυμαίνονται από 0,001 έως 0,094% του ξηρού βάρους φυκιών) (Holdt & Kraan, 2011).

### **2.3. ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ**

Οι πρωτεΐνες είναι μια κύρια κατηγορία ενώσεων, απαραίτητες για τη διατροφή του ανθρώπου. Για προϊόντα διατροφής, η ποσότητα πρωτεΐνης θεωρείται ποιοτική παράμετρος, αλλά εξίσου σημαντική για την ανθρώπινη υγεία είναι η ποιότητα της πρωτεΐνης (π.χ. η πρωτεϊνική σύνθεση σε αμινοξέα, η αναλογία των απαραίτητων αμινοξέων, την πεπτικότητα και τη βιοδιαθεσιμότητά τους) (Skronavkova, 2011). Είναι γνωστό ότι τα φύκη μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πηγή θρεπτικών συστατικών, ιδιαίτερα στις αναπτυσσόμενες χώρες. Υπό αυτή την έννοια, τα μακροφύκη θεωρούνται βιώσιμο θρεπτικό συστατικό εναλλακτική πηγή, κυρίως λόγω πρωτεϊνών υψηλής αξίας (Rodrigues et al., 2015).

Εννέα από τα εικοσιένα αμινοξέα θεωρούνται απαραίτητα για τον άνθρωπο, και συγκεκριμένα αυτά είναι: ιστιδίνη, ισολευκίνη, λευκίνη, λυσίνη, μεθειονίνη, φαινυλαλανίνη, θρεονίνη, τρυπτοφάνη και βαλίνη (Rizzo et al., 2016). Η πηγή πρωτεϊνών ζωικής παραγωγής έχει χημική βαθμολογία 1.0, που σημαίνει ότι οι ζωικές πρωτεΐνες περιέχουν όλα τα απαραίτητα αμινοξέα σε μια ελάχιστη αναλογία

απαραίτητη για τον ανθρώπινο οργανισμό. Αντίθετα, η χημική βαθμολογία για τις πρωτεΐνες φυτικής παραγωγής κανονικά κυμαίνεται από 0,4 έως 0,6, ενώ αυτή για τις πρωτεΐνες φυκών κυμαίνεται από 0,75 έως 1,0 που δείχνει ότι η πρωτεϊνική ποιότητα των φυκών είναι ανώτερη από τα περισσότερα χερσαία φυτά. Ως εκ τούτου, τα μακροφύκη είναι σε θέση να καλύπτουν τις ανθρώπινες απαιτήσεις για απαραίτητα αμινοξέα (Kazir et al., 2019 ; Mæhre et al., 2014).

Σύμφωνα με αποτελέσματα ερευνών , έχει παρατηρηθεί ότι οι πρωτεΐνες στα μακροφύκη κυμαίνεται κατά μέση τιμή στο 18 % του ξηρού βάρους του δείγματος. Η τιμή αυτή μπορεί να επηρεαστεί από την εποχή συλλογής των φυκών. Δηλαδή, την περίοδο μεταξύ χειμώνα και άνοιξης, η τιμή αυτή μπορεί να φτάσει έως και το 22% , ενώ την περίοδο μεταξύ καλοκαιριού και φθινοπώρου μειώνεται μέχρι το 11% του ξηρού βάρους τους (Galland-Irmouli et.al, 1999). Επίσης, η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες διαφέρει ανάλογα με το είδος των μακροφυκών. Αν και η περιεκτικότητα πρωτεΐνης είναι γενικά χαμηλή στα φαιοφύκη (3–15% ξηρού βάρους (DW)) και μέτρια στα χλωροφύκη (9–26% DW), στα ροδοφύκη η περιεκτικότητα μπορεί να φτάσει το 47% του ξηρού βάρους τους (Fleurence et al., 2018).

#### **2.4. ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΕΣ/ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΕΣ**

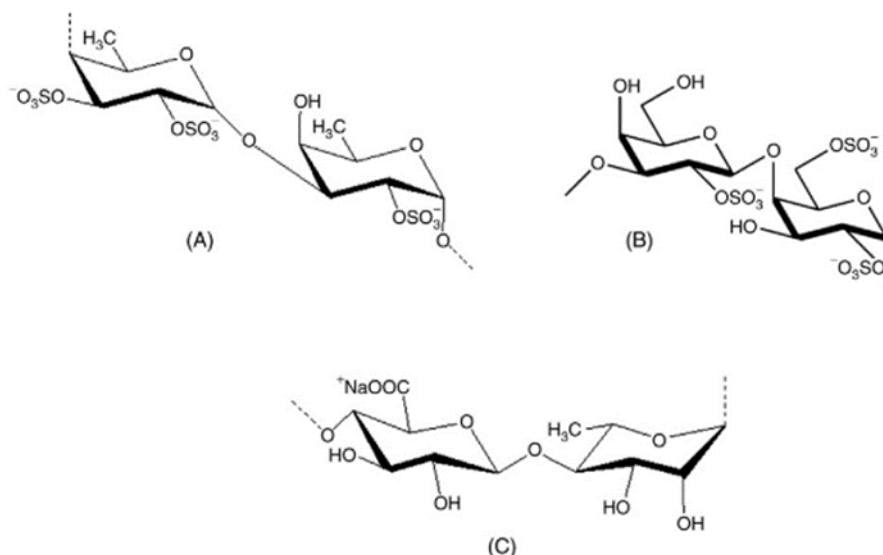
Οι υδατάνθρακες, οι οποίοι περιλαμβάνουν τους μονο-, ολιγο- και πολυσακχαρίτες, θεωρούνται σημαντικοί και αναντικατάστατη πηγή ενέργειας, απαραίτητη για την υποστήριξη διαφορετικών λειτουργιών του ανθρώπινου σώματος και τη φυσική του δραστηριότητα (Kalman et al., 2008). Από αυτούς, οι πολυσακχαρίτες είναι το πιο άφθονο συστατικό στα φύκη, με την περιεκτικότητά τους να φτάνει έως και 76%, ενώ συνήθως κυμαίνεται στο 50% κατά μέσο όρο (Hennequant et al., 2004).

Το κυτταρικό τοίχωμα των φυκών αποτελείται κυρίως από πολυσακχαρίτες και αντιπροσωπεύει περίπου το 50% του ξηρού τους βάρους (Stiger-Pounreau et al., 2016). Η βιοχημική σύνθεση αυτών των πολυσακχαριτών ποικίλλει ανάλογα με την κατηγορία των φυκών και επηρεάζεται από διάφορους βιολογικούς, φυσικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες (Rioux & Turgeon, 2015). Για παραδείγμα, περίοδος συγκομιδής, είδος φύκους και πρωτόκολλα εκχύλισης έχουν σημαντικό αντίκτυπο στις λειτουργικές ιδιότητες των πολυσακχαριτών, όπως και τα δομικά χαρακτηριστικά (μοριακό βάρος, φύση δομικών μονάδων, περιεκτικότητα σε θεικές

ομάδες, τη θέση τους, τον τύπο του γλυκοσιδικού δεσμού και τη γεωμετρία του μορίου) (Patel & Goyal, 2011; Xu et al., 2015).

Σύμφωνα με τα βιβλιογραφικά δεδομένα, οι θειούχοι πολυσακχαρίτες αντιπροσωπεύουν ένα από τα κύρια συστατικά των φυκών (Ullah et al., 2019). Η υψηλότερη περιεκτικότητα αυτών βρίσκεται σε γένη όπως *Ascophyllum*, *Porphyra* και *Palmaria*. Επιπροσθέτως, τα είδη *Karraphycus alvarezii* και *Eucheuma spinosum* παρουσιάζουν περιεκτικότητα σε πολυσακχαρίτες έως 56 και 40%, αντίστοιχα (Bouanati et al., 2020). Οι καραγενάνες είναι ένα από τα κύρια συστατικά των κυτταρικών τοιχωμάτων των ροδοφυκών που αντιπροσωπεύει το 30 έως 75% του ξηρού βάρους τους. Στα χλωροφύκη, τα ιλβανς αποτελούν τα κύρια συστατικά των κυτταρικών τοιχωμάτων που αντιπροσωπεύουν το 8 έως 29% του ξηρού βάρους τους. Ενώ, στα φαιοφύκη τα αλγινικά και οι φουκάνες είναι τα κύρια συστατικά των κυτταρικών τους τοιχωμάτων που αντιπροσωπεύουν το 17 με 45% και 5 με 20%, αντίστοιχα, του ξηρού τους βάρους. Επιπλέον, τα φαιοφύκη περιέχουν λαμιναρίνη έως και 35% του ξηρού βάρους τους (Vera et al., 2011).

Λαμβάνοντας υπόψη τη δυνατότητα εφαρμογής στη βιομηχανία τροφίμων, οι πολυσακχαρίτες φυκών όπως το άγαρ, τα αλγινικά και οι καραγενάνες είναι τα πιο σημαντικά και οικονομικά εφικτά προϊόντα που λαμβάνονται λόγω των πηκτωματικών και πυκνωτικών ιδιοτήτων τους (Chojnacka et al., 2012). Ακόμη, βρέθηκαν να παρουσιάζουν ένα ευρύ φάσμα βιολογικών δράσεων, μεταξύ των οποίων οι αντιοξειδωτικές, αντιθρομβωτικές, αντιφλεγμονώδεις και νευροπροστατευτικές δραστηριότητες είναι οι πιο μελετημένες (Praveen et al., 2019).



**Εικόνα 2.1** Μονομερείς μονάδες ορισμένων θειικών πολυσακχαριτών από φύκη (Smidsrød and Moe, 1995)

(A) Φουκάνες (B) Καραγενάνες και (C) Ulvan (Wijesekara and Karunarathna, 2017).

## 2.5. ΛΙΠΙΔΙΑ

Η περιεκτικότητα σε λιπίδια είναι σχετικά χαμηλή στα είδη μακροφυκών, με τιμές μικρότερες από 5% του ξηρού βάρους τους. Η ποικιλία στο προφίλ των λιπαρών οξέων, μπορεί να οφείλεται τόσο στο περιβάλλον (ένταση φωτός, αλατότητα, θερμοκρασία), αλλά τόσο και στις γενετικές διαφορές μεταξύ των ειδών. Γενικά έχει παρατηρηθεί ότι φαιοφύκη έχουν υψηλότερη περιεκτικότητα σε λιπίδια σε σύγκριση με τα χλωροφύκη (Biancarosa et al., 2018 ; Jeon et al., 2010).

Όσον αφορά τις περιβαλλοντικές συνθήκες είναι μια σειρά παραγόντων που επηρεάζουν, όπως το επίπεδο φωτός και αλατότητας, η εποχή του έτους, η περιβαλλοντική ρύπανση από βαρέα μέταλλα και ζιζανιοκτόνα, το επίπεδο αζώτου στο θαλασσινό νερό (χαμηλότερη περιεκτικότητα λιπιδίων έχει αναφερθεί από ανεπάρκεια αζώτου), καθώς και η επάρκεια μαγγανίου στην υδατοκαλλιέργεια. Ακόμα, έχουν αναφερθεί διαφορές στη σύνθεση λιπιδίων μεταξύ φυκών από φυσικά αποθέματα και εκείνων από υδατοκαλλιέργειες (Mišurcová et al., 2011). Σημαντικός παράγοντας είναι και η θερμοκρασία, καθώς τα φύκη συσσωρεύουν πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFAs) σε χαμηλότερες θερμοκρασίες και έτσι τα είδη που βρίσκονται σε ψυχρές περιοχές εμφανίζουν υψηλότερη περιεκτικότητα σε σχέση με εκείνα των μέτριων ή υψηλών θερμοκρασιών (Devina et al., 2021).



Ωστόσο, σχεδόν τα μισά λιπίδια αποτελούνται από πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA), όπως το εικοσαπεντανοϊκό οξύ (EPA) και το αραχιδονικό οξύ (AA). Τα ροδοφύκη και τα φαιοφύκη είναι πλούσια σε EPA και AA, ενώ τα χλωροφύκη σε λινελαϊκό οξύ ( $\omega$ -6) και το  $\alpha$ -λινολενικό οξύ ( $\omega$ -3). Επιπλέον, η αναλογία μεταξύ  $\omega$ -6 και  $\omega$ -3 και η αναλογία μεταξύ PUFA και SFA (κορεσμένα λιπαρά οξέα) που βρίσκονται στο ροδοφύκη και στα φαιοφύκη είναι πιο ευνοϊκά για την ανθρώπινη υγεία από αυτά που βρίσκονται στα χλωροφύκη (Kellogg et al., 2015).

Εκτός από τα λιπαρά οξέα, το λιπιδικό κλάσμα των μακροφυκών περιέχει γλυκολιπίδια και φωσφολιπίδια. Τα γλυκολιπίδια είναι υδατάνθρακες (μονο- ή ολιγοσακχαρίτης) που συνδέονται με ένα λιπίδιο (μέσω ενός γλυκοσιδικού δεσμού), και είναι βασικά συστατικά της κυτταρικής μεμβράνης. Διεξήχθησαν αρκετές μελέτες για διαφορετικά γλυκολιπίδια φυκών, όπου αποδεδειγμένα παρουσιάζονταν οι αντιφλεγμονώδεις και αντιοξειδωτικές τους δράσεις (Tsai and Sun Pan, 2012).

## **2.6. ΦΩΤΟΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ ΧΡΩΣΤΙΚΕΣ**

Τα μακροφύκη, ως φωτοσυνθετικοί οργανισμοί, χρησιμοποιούν το φως ως πηγή ενέργειας και οι χρωστικές ουσίες κατέχουν βασικό ρόλο στη δέσμευση ηλιακής ενέργειας. Αυτές οι χρωστικές απορροφούν φως από το ορατό φάσμα (Dumay & Morançais, 2016).

Οι δυο σημαντικότεροι τύποι χρωστικών ουσιών των φυκών είναι τα καροτενοειδή και οι χλωροφύλλες. Τα καροτενοειδή απορροφούν ηλιακή ενέργεια και στη συνέχεια τη μεταφέρουν στη χλωροφύλλη, κατέχοντας επομένως δευτερεύοντα ρόλο στη φωτοσύνθεση (Aryee et al., 2018). Όσον αφορά την περιεκτικότητα τους στα φύκη, υπάρχει μια μεταβολή ανάλογα με τα επίπεδα υπεριώδους ακτινοβολίας (UV) καθ' όλη τη διάρκεια του έτους (Koyande et al., 2019).

### **2.6.1. ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΕΣ**

Οι χλωροφύλλες (χλωροφύλλη-a, -b, -c & -d) είναι χρωστικές ουσίες που το μόριο τους αποτελείται από ένα δακτύλιο πορφυρίνης, στο κέντρο του οποίου υπάρχει ένα άτομο μαγνησίου (Mg) και από μια μακρά αλυσίδα υδρογονανθράκων (φυτόλιο). Κατέχουν πρωτεύων λειτουργικό ρόλο στη διαδικασία φωτοσύνθεσης των φυκών, αλλά και προστατευτικό ρόλο διασφαλίζοντας τους ακεραιότητα έναντι του οξειδωτικού στρες που μπορεί να είναι η υπερβολική υπεριώδη ακτινοβολία

(Koutsaviti et al., 2018). Στα φαιοφύκη κυριαρχεί η χλωροφύλλη *a*, ενώ η χλωροφύλλη *b* σχετίζεται κυρίως με τα χλωροφύκη. Επιπλέον, τα φαιοφύκη θεωρούνται η κύρια πηγή χλωροφύλλης *c*, ενώ η χλωροφύλλη *d* ανευρίσκεται στα ροδοφύκη (Pereira et al., 2014).

Η χλωροφύλλη μετατρέπεται σε φαιοφυτίνη, πυροφαιοφυτίνη και φαιοφορβίδιο στα επεξεργασμένα φυτικά τρόφιμα, ανάλογα της θερμικής επεξεργασίας που υπόκεινται. Αυτά τα παράγωγα παρουσιάζουν αντιοξειδωτική και αντιμεταλλαξιογόνο δράση και μπορούν να διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο στην πρόληψη του καρκίνου (Pereira et al., 2014). Εκτός από τις βιολογικές δραστηριότητες και τις επιπτώσεις στην υγεία από τους διαφορετικούς καταβολίτες χλωροφύλλης, τα φύκη μπορούν επίσης να θεωρηθούν ως εναλλακτική λύση για αντικατάσταση των συνθετικών χρωστικών που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων (Aryee et al., 2018).

### **2.6.2. ΚΑΡΟΤΕΝΟΕΙΔΗ**

Τα καροτενοειδή είναι τερπενοειδή χρωστικές ουσίες ευρέως διαδεδομένες και χωρίζονται σε δύο κύριες ομάδες: στα καροτένια (ακόρεστοι υδρογονάνθρακες) και στις ξανθοφύλλες (οξυγονωμένα παράγωγα καροτενίων) (Pangestuti & Kim, 2015).

Τα καροτενοειδή υπάρχουν σε όλα τα φωτοσυνθετικά κύτταρα αλλά σε διαφορετικές αναλογίες ανάλογα το είδος του οργανισμού. Το χρώμα τους είναι σε διάφορες αποχρώσεις του κίτρινου, πορτοκαλί και κόκκινου ενώ συχνά επικαλύπτεται από αυτό της χλωροφύλλης (Sandmann, 2019). Τα τελευταία χρόνια τα καροτενοειδή έχουν τραβήξει το ενδιαφέρον λόγω του αντιοξειδωτικού τους χαρακτήρα, μιας και εξουδετερώνουν τις ελεύθερες ρίζες που είναι τοξικές για τον οργανισμό (Koutsaviti et al., 2018).

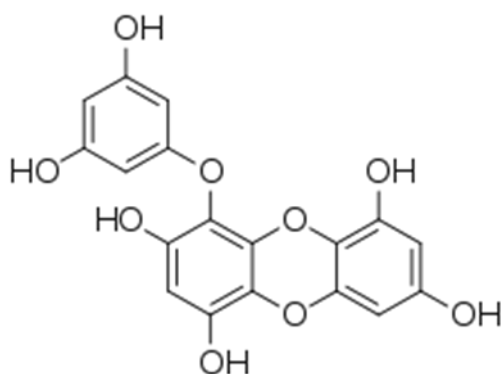
Στα φύκη οι πιο αντιπροσωπευτικές ξανθοφύλλες είναι η φουκοξανθίνη, η ασταξανθίνη, η λουτεΐνη και η ζεαξανθίνη. Το β-καροτένιο είναι ο κύριος ακόρεστος υδρογονάνθρακας στα φαιοφύκη και χλωροφύκη (Pangestuti & Kim, 2015).

### **2.7. ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ**

Ανάμεσα στα τρέχοντα ενδιαφέροντα της επιστημονικής κοινότητας είναι η εύρεση μιας βιώσιμης πηγής βιοδραστικών μορίων προκειμένου να μειωθεί η χρήση συνθετικών ενώσεων. Με αυτή την έννοια, οι φαινολικές ενώσεις των μακροφυκών

έχουν κερδίσει ιδιαίτερη προσοχή λόγω της βιοδραστικότητάς τους και των πλεονεκτημάτων τους να προάγουν την υγεία, συμπεριλαμβανομένων αντιοξειδωτικών, αντιμικροβιακών, αντιαλλεργικών, αντιδιαβητικών και νευροπροστατευτικών ιδιοτήτων (Gurta et al., 2010 ; Murray et al., 2018). Παρόμοια με τα χερσαία φυτά, αυτοί οι δευτερογενείς μεταβολίτες είναι απαραίτητοι για τη φυσιολογική ανάπτυξη των μακροφυκών, υποστηρίζοντας το φυσικό αμυντικό τους σύστημα έναντι διαφόρων παραγόντων όπως ασθένειες, τραυματισμοί και περιβαλλοντική αντιξοότητα (Santos et al., 2019).

Οι φαινολικές ενώσεις που υπάρχουν στα μακροφύκη ποικίλλουν από τα πιο απλά μόρια, όπως τα φαινολικά και κινναμωμικά οξέα ή флаβονοειδή, στις πιο πολύπλοκες πολυμερείς δομές, τις φλωροταννίνες. Η συγκέντρωσή τους εξαρτάται στενά από έναν αριθμό εγγενών και εξωγενών παραγόντων, π.χ είδη φυκών, εποχιακές μεταβολές και περιβαλλοντικές συνθήκες (Santos et al., 2019). Από όλες τις φαινολικές ενώσεις των φυκών, η κύρια προσοχή έχει επικεντρωθεί στις φλωροταννίνες που εντοπίστηκαν σε σημαντικές ποσότητες στα είδη *Ecklonia* (Leandro et al., 2020). Άλλες ενώσεις όπως παράγωγα υδροξυβενζοϊκού οξέος (π-υδροξυβενζοϊκού, βανιλλικού και συριγγικό οξέος), υδροξυκινναμικού οξέος (καφεϊκό, φερουλικό, σιναπικό και π-κουμαρικό οξύ) και флаβονοειδή (επικατεχίνη, επιγαλλοκατεχίνη, ρουτίνη, εσπεριδίνη, κερσετίνη) εντοπίστηκαν σε μεταβλητές συγκεντρώσεις και στα τρία είδη φυκών (Holdt & Kraan, 2011 ; Leandro et al., 2020).



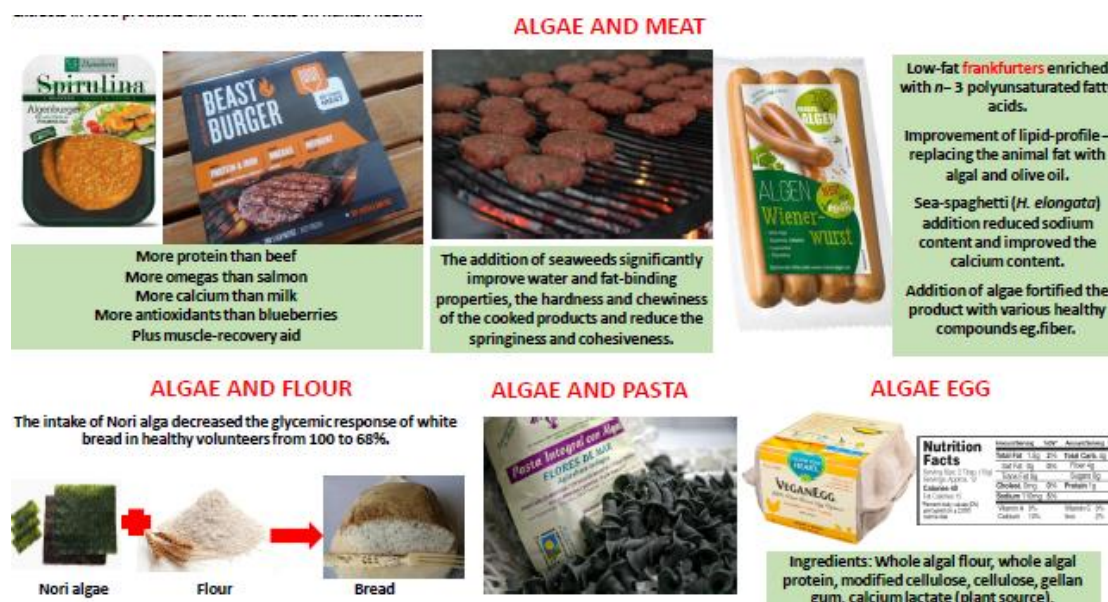
**Εικόνα 2.2** Χημική δομή φλωροταννίνης (Moon et al., 2008)

### 3. ΤΑ ΦΥΚΗ ΩΣ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΑ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

Η κατανάλωση θαλάσσιων προϊόντων κερδίζει όλο και περισσότερο την προσοχή, καθώς οι άνθρωποι συνειδητοποιούν περισσότερο τη σχέση μεταξύ διατροφής και υγείας. Σήμερα, πολλά νέα θαλάσσια προϊόντα έχουν αναπτυχθεί και διατίθενται στην αγορά, προσφέροντας ενισχυμένα οφέλη για την υγεία και τη δυνατότητα μείωσης του κινδύνου ασθενειών. Η πώληση τέτοιων «λειτουργικών τροφίμων» έχει αυξηθεί σημαντικά στην Ευρώπη και σε άλλα μέρη του κόσμου (Annunziata & Vecchio, 2011). Εξάλλου, τα θαλάσσια τρόφιμα και τα συστατικά τους όπως ιχθυέλαια, πρωτεΐνες ψαριών, βιοενεργά πεπτίδια, φύκη μπορούν να προστεθούν σε διάφορα τρόφιμα όπως το κρέας, γαλακτοκομικά, ψάρια ή προϊόντα με βάση τα λαχανικά για να γίνουν πιο «λειτουργικά» (Jimenez-Colmenero, 2007).

Μεταξύ των καλλιεργούμενων θαλάσσιων οργανισμών, τα βρώσιμα φύκη ή αλλιώς μακροφύκη είναι μια από τα πλουσιότερες πηγές φυσικών αντιοξειδωτικών και αντιμικροβιακών, που καταναλώνονται παραδοσιακά από τον άνθρωπο ως τροφή (Gurta & Abu-Ghannam, 2011). Αρκετές μελέτες έχουν αναφέρει την αντιοξειδωτική και αντιμικροβιακή επίδραση ακατέργαστων εκχυλισμάτων φυκών χρησιμοποιώντας απλό και γρήγορο *in vitro* προσδιορισμό (Cox et al., 2010 ; Rajauria et al., 2010). Η δυνατότητα χρήσης σκόνης και εκχυλισμάτων φυκών ενάντια της οξειδωσης των λιπιδίων στα τρόφιμα και του οξειδωτικού στρες στους ιστούς στόχους έχει μελετηθεί ευρέως. Επιπλέον, η βιομηχανία τροφίμων εξακολουθεί να είναι η κύρια αγορά για τα υδροκολλοειδή φυκών, όπου χρησιμοποιούνται ως παράγοντες υφής και ως σταθεροποιητές (Bixler & Porse, 2011). Οι πολυσακχαρίτες φυκών είναι πιθανή πηγή διαλυτών και αδιάλυτων διαιτητικών ινών. Αυτές οι ενώσεις παρουσιάζουν υψηλότερη ικανότητα συγκράτησης νερού από τις κυτταρινικές (αδιάλυτες) ίνες. Οι διαλυτές διαιτητικές ίνες έχουν την ικανότητα να αυξάνουν το ιξώδες, να σχηματίζουν γέλες και/ή να ενεργούν ως γαλακτωματοποιητές (Elleuch et al., 2011). Εκτός από την τεράστια γκάμα λειτουργικών ιδιοτήτων (διατροφικές, φυσικοχημικές, ιδιότητες υφής) που προσδίδουν τα φύκη στα τρόφιμα, πολλές μελέτες απέδειξαν τα οφέλη που έχουν για την υγεία, είτε όταν καταναλώνονται απευθείας, είτε μετά από μικρή προεπεξεργασία ως συμπληρώματα διατροφής (Mikami & Hosokawa, 2013; Yende et al., 2014). Για παράδειγμα, οι γαλακτάνες και τα αλγινικά (προϊόντα υδρόλυσης φυκών) έδειξαν αντιπηκτική, αντικαρκινική και υπερχοληστερολαιμική

δράση (Lordan et al., 2011). Από την άλλη, η επίδραση των ενώσεων αυτών στο ανθρώπινο σώμα μπορεί να είναι πολύ μικρή και όχι σταθερή για μεγάλη περίοδο. Ωστόσο, πιστεύεται ότι τα βιοενεργά συστατικά των φυκών μπορούν να αυξήσουν σημαντικά την κατάσταση της υγείας εάν καταναλώνονται καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής ως μέρος της καθημερινής διατροφής (Biesalski et al., 2009).



**Εικόνα 3.1:** Εφαρμογή των φυκών σε προϊόντα διατροφής και οι επιπτώσεις τους στην ανθρώπινη υγεία (Bogacz-Radomska & Harasym, 2017)

### 3.1. ΥΔΡΟΚΟΛΛΟΙΔΗ ΤΩΝ ΦΥΚΩΝ ΣΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ

Τα υδροκολλοειδή χρησιμοποιούνται γενικά για τις φυσικοχημικές τους λειτουργίες όπως την σταθεροποίηση γαλακτωμάτων, την ζελατινοποίηση, τη δημιουργία εναιωρημάτων και αφρών καθώς και τον έλεγχο ανάπτυξης κρυστάλλων. Το ιξώδες εξαρτάται σημαντικά από τη μέθοδο παρασκευής τους. Η υψηλή θερμοκρασία είναι ιδιαίτερα δυσμενής παράγοντας, και το pH πρέπει να είναι μεταξύ 6 και 7 (Charman, 2012). Τα φύκη παρέχουν πολυάριθμη ποικιλία υδροκολλοειδών στις βιομηχανίες τροφίμων ή φαρμάκων (Evans & Critchley, 2014). Η περιεκτικότητα των υδροκολλοειδών στα φύκη επηρεάζεται από διάφορους βιολογικούς, φυσικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες (δηλαδή περίοδος συγκομιδής, είδος, μέθοδος εκχύλισης), που θα μπορούσαν να έχουν σημαντική επίδραση στις λειτουργικές ιδιότητες των πολυσακχαριτών. Τα περισσότερα από τα υδροκολλοειδή των φυκών

βρίσκονται στο κυτταρικό τους τοίχωμα. Τα πιο σημαντικά είναι το άγαρ, τα αλγινικά και η καραγενάνη (Rioux & Turgeon, 2015).

### **3.1.1. ΑΓΑΡ**

Οι εφαρμογές του άγαρ σε τρόφιμα βασίζονται στην υψηλή του ικανότητα πηκτωματοποίησης, την υψηλή υστέρηση και την τέλεια αναστρεψιμότητα γέλης. Το άγαρ χρησιμοποιείται σε μεγάλο βαθμό στη βιομηχανία αρτοποιίας λόγω της ικανότητας του να αντέχει σε υψηλές θερμοκρασίες, σε αντίθεση με την καραγενάνη, και είναι αποτελεσματική στην επιβράδυνση του μπαγιάσματος των κέικ και του ψωμιού. Το άγαρ είναι επίσης σημαντικό σε ζαχαρωτά με ζελέ φρούτων, λόγω της ικανότητάς του να δημιουργεί γέλη χωρίς υψηλές συγκεντρώσεις σακχάρων. Στη βιομηχανία κρέατος, το άγαρ χρησιμοποιείται σε συγκέντρωση από 0,5% έως 2,0% ως δομικός παράγοντας σε κονσερβοποιημένα με ζελέ προϊόντα κρέατος, ψάρια, πουλερικά και βραστά λουκάνικα (Stanley et al., 2006).

### **3.1.2. ΚΑΡΑΓΕΝΑΝΗ**

Η καραγενάνη χρησιμοποιείται κυρίως ως πηκτωματοποιητής, πυκνωτικό και σταθεροποιητής σε συγκεντρώσεις μεταξύ 0,005% και 2,0% w/w. Η καραγενάνη είναι ασθενέστερος παράγοντας πηκτωματοποίησης από το άγαρ, ωστόσο, η ικανότητά τους να παράγουν γέλες με μεγάλη ποικιλία υφών εκτιμάται ιδιαίτερα. Οι εφαρμογές της καραγενάνης εξαρτώνται από το εάν προστίθεται σε γαλακτοκομικά ή υδατικά συστήματα (π.χ., πηκτώματα επιδορπίων με βάση το νερό). Όλες οι μορφές καραγενάνης χρησιμοποιούνται σε συγκεντρώσεις <0,3% σε γαλακτοκομικά σκευάσματα (Anderson et al., 2002; Langendorff et al., 1999). Η καραγενάνη αλληλεπιδρά με τις πρωτεΐνες του γάλακτος και σχηματίζει ένα δίκτυο που εμποδίζει τον διαχωρισμό και τη συσώρευση ορού γάλακτος και σταθεροποιεί σωματίδια, όπως εναιωρήματα κακάο στο γάλα σοκολάτας. Οι συνεργιστικές αλληλεπιδράσεις της καραγενάνης με τις γαλακτομαννάνες χρησιμοποιούνται επίσης ευρέως στην παραγωγή σορμπέ φρούτων και προϊόντων κρέατος. Η θιξοτροπική φύση των γελών ι-καραγενάνης εφαρμόζονται σε σκευάσματα ντρέσινγκ για σαλάτες για να σταθεροποιήσουν τα αιωρούμενα βότανα και τα φυτικά σωματίδια. Στη βιομηχανία ποτών, χρησιμοποιούνται σε χαμηλές συγκεντρώσεις (0,2%) για τη σταθεροποίηση εναιωρημάτων (π.χ. χυμοί φρούτων) και κολλοειδών συστημάτων (π.χ. αναψυκτικά)

ή για να αυξήσουν το ιξώδες τους (Piculell et al., 2006). Τέλος, η καραγενάνη διερευνάται επίσης στη βιομηχανία παρασκευής ψωμιού με ιδιαίτερο ενδιαφέρον τη βελτίωση των χαρακτηριστικών διόγκωσης της ζύμης και τη σύνθεση χωρίς γλουτένη ψωμιού (Rosell et al., 2001; Sciarini et al., 2010).

### **3.1.3. ΑΛΓΙΝΙΚΑ**

Τα αλγινικά χρησιμοποιούνται ως πυκνωτικά, πηκτωματοποιητές και σταθεροποιητές υδατικών μιγμάτων, διασπορών και γαλακτωμάτων. Τα αλγινικά είναι πολυηλεκτρολύτες και επομένως μπορούν να αλληλεπιδράσουν ηλεκτροστατικά με πρωτεΐνες σε μικτά συστήματα με αποτέλεσμα την αύξηση του ιξώδους τους (Costa et al., 2016). Αυτοί οι τύποι αλληλεπιδράσεων μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να σταθεροποιήσουν και να ενισχύσουν τις μηχανικές ιδιότητες των πηκτωμάτων σε ορισμένα αναδομημένα προϊόντα τροφίμων. Η διαδικασία αναδιάρθρωσης των τροφίμων βασίζεται στη σύνδεση μεταξύ των κομμένων, τεμαχισμένων ή αλεσμένων συστατικών τροφίμων (π.χ. τεμάχια κρέατος με υψηλή περιεκτικότητα σε συνδετικό ιστό ή ομογενοποιημένα φρούτα και λαχανικά) για να μοιάζουν με το πρωτότυπο ή να δημιουργηθούν νέα προϊόντα διατροφής (Draget et al., 2006). Η ζελατινοποίηση των αλγινικών είναι ανεξάρτητη από τη θερμοκρασία και επομένως μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε αναδιάρθρωση τροφίμων που μπορεί να καταστραφούν ή να οξειδωθούν σε υψηλές θερμοκρασίες (π.χ. προϊόντα κρέατος, φρούτα και λαχανικά) (Draget et al., 2006 ; Manjunatha & Gurta, 2006). Συνεργιστικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ αλγινικών και πηκτινών με υψηλό βαθμό εστεροποίησης έχουν ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό θερμοαναστρέψιμων πηκτωμάτων που χρησιμοποιούνται συνήθως στην παραγωγή μαρμελάδων (Walkenström et al., 2003). Το πλεονέκτημα των πηκτωμάτων αλγινικού-πηκτινής είναι ότι είναι ανεξάρτητα από το περιεχόμενο ζάχαρης και επομένως μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε προϊόντα διατροφής με λίγες θερμίδες. Το PGA είναι το πιο κοινό αλγινικό παράγωγο που χρησιμοποιείται σε σκευάσματα τροφίμων που δρα ταυτόχρονα ως επιφανειοδραστικός παράγοντας και πηκτωματοποιητής και βρίσκει εφαρμογές σε αφρούς (π.χ. επιδόρπια, αφρός μπύρας) και γαλακτώματα (Nilsen-Nygaard et al., 2016). Το PGA έχει επίσης υψηλή αντοχή στα ιόντα ασβεστίου και στο χαμηλό pH και είναι κατάλληλο για εφαρμογές σε προϊόντα με βάση το γάλα που έχουν υποστεί ζύμωση, αλλά και σε σάλτσες για σαλάτες. Στη βιομηχανία τροφίμων, αλγινικές

μήτρες (π.χ. αλγινικά, αλγινικά με κόμμα ξανθάνης, χιτοζάνη ή πηκτίνη) μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθούν για την ενθυλάκωση και την παροχή ζωντανών κυττάρων (προβιοτικών) στο παχύ έντερο και το κόλον και στην ακινητοποίηση αντιδραστικών ή πτητικών μορίων (π.χ. ένζυμα, γεύσεις κ.λπ.) (Cook et al., 2012 ; Desai & Park, 2005). Τα αλγινικά έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί ως βρώσιμα επιχρίσματα σε προϊόντα κρέατος και σε ορισμένα φρέσκα φρούτα και λαχανικά όπου αυτή η επίστρωση διατηρεί την υφή, μειώνει τον ρυθμό αμαύρωσης, αναστέλλει την ανάπτυξη μούχλας, μειώνει την απώλεια βάρους και παρέχει διατήρηση χρώματος και υγρασίας (Azarakhsh et al., 2014; Jiang et al., 2013).

### **3.2. ΖΥΜΟΥΜΕΝΑ ΤΡΟΦΙΜΑ**

Η περιεκτικότητα σε νερό που υπάρχει στα φύκη είναι σχετικά μεγαλύτερη από αυτή των χερσαίων φυτών, γεγονός που τα καθιστά καλύτερη πηγή για μικροβιακή ζύμωση (Huesemann et al., 2012). Η χρήση των φυκών στη διαδικασία ζυθοποιίας στην Κίνα χρονολογείται από το 2700 π.Χ. Ερευνητικές εργασίες πραγματοποιούνται με ζύμωση φυκών με βακτήρια γαλακτικού οξέος για τον σχεδιασμό λειτουργικών προϊόντων διατροφής (Kraan, 2016). Είδη φυκών όπως το *Saccharina latissima* και το *Laminaria digitata* (Phaeophyceae) λειτουργούν ως η μοναδική πηγή διατροφής για τη ζύμωση του προβιοτικού βακτηρίου *Lactobacillus rhamnosus* για την ανάπτυξη ενός προϊόντος με ιδιότητες προαγωγής της υγείας. Το ποτό από φύκη είναι γνωστό ότι έχει παρόμοια γεύση με του ξινού κρασιού. Αν και τα φύκη αποτελούν πιθανή πηγή ζύμωσης γαλακτικού οξέος, δεν έχουν διερευνηθεί εμπορικά (Ojha et al., 2016). Φύκη όπως το bladderwrack, το dulce και το sea tangle χρησιμοποιούνται για την παρασκευή ενός τύπου φυτικού τσαγιού από φύκη. Σε χώρες όπως η Ιαπωνία, το εκχύλισμα φυκών που λαμβάνεται με ατμό ή βράσιμο εγχέεται στο τσάι ως γευστικό παράγοντα αντί για άμεση ενσωμάτωση φυκών (Mouritsen et al., 2018).

### **3.3. ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΑΡΤΟΠΟΙΙΑΣ**

Τα προϊόντα αρτοποιίας και ζύμης καταναλώνονται ευρέως σε όλο τον κόσμο. Η ενσωμάτωση σκόνης φυκών στο ψωμί βοηθά στη βελτίωση των θρεπτικών ιδιοτήτων του (Gurta et al., 2011). Με τη χρήση φυκών στα νουντλς, αυξάνονται οι ιδιότητες της υφής, όπως η σταθερότητα, η ελαστικότητα, η αντοχή στην απώλεια μαγειρέματος, η απορρόφηση νερού και η απόδοση μαγειρέματος. Ωστόσο, η



υπερβολική προσθήκη φυκών έχει αντίθετο αποτέλεσμα στις ιδιότητες της υφής (Roohinejad et al., 2017). Η προσθήκη φυκών στα ζυμαρικά είναι μια καλή επιλογή καθώς είναι δημοφιλής στους καταναλωτές. Επιπλέον, ενισχύουν το σχηματισμό ενός δικτύου γλουτένης και των θρεπτικών ιδιοτήτων τους, συμπεριλαμβανομένων των πρωτεϊνών και των διαιτητικών ινών (Kadam & Prabhasankar, 2010).

#### **3.4. ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΑ ΠΡΟΙΟΝΤΑ**

Το ασβέστιο στο τυρί υπάρχει στην καζεΐνη, η οποία δεν μπορεί να επαναρροφηθεί από άτομα που δεν έχουν ένζυμα αποικοδόμησης της καζεΐνης. Η προσθήκη φυκών αυξάνει τη συγκέντρωση ασβεστίου (Gupta et al., 2011). Η ενσωμάτωση φυκών σε διάφορα τυριά, όπως καπνιστό τυρί, τυρί cottage, επεξεργασμένο τυρί, τυρί Quarg Fresh και τυρί Appenzeller, είναι γνωστό ότι βελτιώνει τα θρεπτικά και αισθητηριακά χαρακτηριστικά (Gómez-Ordóñez et al., 2010). Το γιαούρτι και τα γαλακτοκομικά προϊόντα που έχουν υποστεί ζύμωση χρησιμοποιούνται συχνά ως μήτρα για την παροχή της λειτουργικότητας των θρεπτικών ουσιών. Η προσθήκη φυκών σε προβιοτικά προϊόντα γιαουρτιού περιέχει σχετικά υψηλότερο ασβέστιο και κάλιο, νάτριο, μαγνήσιο και σίδηρο (Champagne, 2013 ;Cofrades, 2013). Η συμπερίληψη εκχυλισμάτων φυκών σε σκόνη στο πλήρες γάλα σχετίζεται με τη διάρκεια ζωής και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά (O'Sullivan et al., 2014). Η προσθήκη σκόνης φυκών στο παγωτό αυξάνει σημαντικά την ποσότητα πρωτεΐνης και δεν αλλάζει το επίπεδο περιεκτικότητας σε λίπος. Τα φύκη που εγχύονται αυξάνουν το ιξώδες, το σημείο τήξης και την υφή του παγωτού, καθιστώντας το παγωτό πιο κρεμώδες και εύγευστο (Winarni et al., 2016).

#### **3.5. ΠΡΟΙΟΝΤΑ ΚΡΕΑΤΟΣ ΚΑΙ ΠΟΥΛΕΡΙΚΩΝ**

Το κρέας και τα πουλερικά διαδραματίζουν ζωτικό ρόλο στην κατανάλωση fast-food, ειδικά στις ανεπτυγμένες χώρες. Η κατανάλωση κόκκινου κρέατος μειώνεται σταδιακά καθώς το καταναλωτικό πρότυπο των καταναλωτών κινείται προς το επεξεργασμένο κρέας όπως το μπέικον, τα λουκάνικα, τα χάμπουργκερ, το σαλάμι και τις κονσέρβες κρέατος (Gómez-Ordóñez et al., 2010). Η συχνή κατανάλωση κρέατος σχετίζεται με κινδύνους για την υγεία, όπως καρδιαγγειακές διαταραχές και καρκίνο του παχέος εντέρου. Ως εκ τούτου, παράγονται λειτουργικά τρόφιμα με βάση το κρέας για τη μείωση των αρνητικών επιπτώσεων στην υγεία που σχετίζονται με

την κατανάλωση προϊόντων κρέατος και την ενίσχυση της διατροφής. Ένα ευρύ φάσμα συστατικών όπως η σόγια, το καρύδι, τα έλαια, η βρώμη, το ρύζι, το σιτάρι, έχει χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή λειτουργικών προϊόντων με βάση το κρέας. Τα φύκη διαθέτουν ένα αξιοσημείωτο διατροφικό προφίλ που περιλαμβάνει υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες, διαιτητικές ίνες, βιταμίνες, μέταλλα και χαμηλή περιεκτικότητα σε λιπίδια (Roohinejad et al., 2017). Η ενσωμάτωση ολόκληρων φυκών ή εκχυλίσματος φυκών σε προϊόντα κρέατος ενισχύει τις θρεπτικές, αισθητικές και φυσικοχημικές ιδιότητες του κρέατος. Για παράδειγμα, τα φύκη είναι γνωστό ότι βελτιώνουν τις ιδιότητες δέσμευσης νερού και λίπους που ενισχύουν τη σφριγηλότητα της δομής του κρέατος (López-López et al., 2009). Το χρώμα των φυκών που χρησιμοποιείται επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό το χρώμα του τελικού προϊόντος (Cofrades et al., 2017). Λαμβάνοντας υπόψη τα διατροφικά και τεχνολογικά οφέλη από την ενσωμάτωση φυκών στο κρέας, συμπεραίνεται ότι τα φύκια έχουν τη δυνατότητα να μετατρέψουν τις αρνητικές επιπτώσεις του κρέατος και των προϊόντων πουλερικών. Η αυξανόμενη ευαισθητοποίηση σχετικά με τον κίνδυνο που ενέχει η κατανάλωση κρέατος και προϊόντων πουλερικών έχει ανοίξει τον δρόμο για υποκατάστατα κρέατος και λειτουργικά τρόφιμα με βάση το κρέας (Pangestuti & Kim, 2015).

### **3.6. ΑΛΛΑ ΠΡΟΙΟΝΤΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

Σήμερα, όλο και περισσότερο αυξάνεται το ποσοστό των ατόμων που «ακολουθούν» το πρότυπο χορτοφαγικής/βίγκαν διατροφής. Αποτέλεσμα αυτού είναι η αύξηση της ανάγκης για μια εναλλακτική φυτική πηγή πλούσια σε πρωτεΐνες για να εξυπηρετήσει τις καθημερινές ανάγκες των ατόμων αυτών. Τα φύκη είναι μια πιθανή πηγή πρωτεΐνης καθώς και περιέχουν όλα τα απαραίτητα αμινοξέα και μπορούν να καταναλωθούν από χορτοφάγους/βίγκαν άτομα (Bleakley et al., 2017).

Η υπερβολική κατανάλωση αλατιού συνδέεται με κινδύνους για την υγεία όπως η υπέρταση και τα καρδιαγγειακά νοσήματα. Κατά συνέπεια, η βιομηχανία τροφίμων εστιάζει στην παραγωγή προϊόντων χαμηλής περιεκτικότητας σε αλάτι. Έχουν διεξαχθεί αρκετές ερευνητικές εργασίες για την κατανόηση της επίδρασης των φυκών ως υποκατάστατα αλατιού στα προϊόντα κρέατος. Τα αποτελέσματα των μελετών αποκάλυψαν ότι υπάρχει σημαντική μείωση στην απώλεια μαγειρέματος

και βελτίωση των οργανοληπτικών ιδιοτήτων σε σύγκριση με τα κανονικά αλατισμένα προϊόντα κρέατος (Gullon et al., 2020).

#### **4. ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΩΝ ΦΥΚΩΝ**

Η υδατοκαλλιέργεια μακροφυκών είναι 16 φορές μεγαλύτερη από αυτή των ψαριών σε μαζική βάση, καθιστώντας τα μακροφύκη μακράν τη μεγαλύτερη ομάδα προϊόντων υδατοκαλλιέργειας. Ωστόσο, τόσο η αγορά μακροφυκών όσο και η υδατοκαλλιέργεια είναι υπανάπτυκτες σε όλο τον κόσμο, εκτός από την Ασία, ιδίως την Κίνα (Norton et al., 2018). Τα μακροφύκη είναι μια σημαντική πηγή μετάλλων, ιωδίου, βιταμινών και πολυακόρεστων λιπαρών οξέων και αυτά τα θρεπτικά συστατικά είναι σημαντικά για τις ευεργετικές τους επιδράσεις στην ανθρώπινη υγεία (Gamero-Vega et al., 2020).

Ωστόσο, η κατανάλωση τους μπορεί να ελλοχεύει αρκετούς κινδύνους. Αν και τα μακροφύκη δεν παράγουν ενδογενείς τοξίνες, ένα σημαντικό πρόβλημα για την ασφάλεια των τροφίμων που σχετίζεται με τα προϊόντα μακροφυκών είναι η παρουσία τοξικών ρύπων όπως τα βαρέα μέταλλα (κάδμιο, μόλυβδος και υδράργυρος) και αρσενικό που μεταδίδεται στα μακροφύκη από την ανάπτυξή τους περιβάλλον (Suutari et al. 2017). Λόγω της χαρακτηριστικής δομής του κυτταρικού τοιχώματος τους, τα μακροφύκη συσσωρεύουν εύκολα βαρέα μέταλλα από το περιβάλλον νερό (MacArtain et al. 2007). Επιπλέον, η παρουσία πιθανών παθογόνων μικροοργανισμών είναι ένας άλλος σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει την ασφάλεια των εδώδιμων μακροφυκών. (Sanchez-Garcia et al., 2021).

##### **4.1. ΒΑΡΕΑ ΜΕΤΑΛΛΑ**

Τα βαρέα μέταλλα αναφέρονται σε μεταλλικά χημικά στοιχεία που έχουν σχετικά υψηλή πυκνότητα σε σύγκριση με το νερό και είναι τοξικά σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Στα βαρέα μέταλλα περιλαμβάνονται και μεταλλοειδή, όπως το αρσενικό (As), τα οποία είναι επίσης τοξικά σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Στον Πίνακα παρουσιάζονται τα μέγιστα επιτρεπτά όρια των βαρέων μετάλλων στα προϊόντα με βάση τα φύκη που έχουν τεθεί από τη νομοθεσία της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Συγκεκριμένα, το ανόργανο αρσενικό (As), το κάδμιο (Cd), ο μόλυβδος (Pb) και ο υδράργυρος (Hg) διαθέτουν ανώτατα επιτρεπτά όρια στις ζωοτροφές με βάση τα φύκη (Οδηγία 2002/32/EK). Όσον αφορά την αυτούσια κατανάλωση φυκών, δεν έχουν τεθεί ανώτατα όρια για

κάποια από αυτά τα μέταλλα, ενώ για τα συμπληρώματα διατροφής με βάση τα φύκη υπάρχουν όρια για το κάδμιο, τον μόλυβδο και τον υδράργυρο (ΕΚ 1881/2006). Υπάρχουν όμως, κάποιες γαλλικές συστάσεις για ανώτατα επιτρεπτά όρια σε ανόργανο άργυρο, κάδμιο, μόλυβδο και υδράργυρο που αφορούν τα βρώσιμα φύκη (AFSSA, 2009; ANSES, 2018; CEVA, 2014).

Έρευνες έχουν δείξει ότι τα βαρέα μέταλλα μπορεί να υπάρχουν στα φύκη, με τη συγκέντρωσή τους να εξαρτάται από κάποιους παράγοντες όπως η παρουσία τους στο νερό και η ικανότητα πρόσληψης των φυκών (Besada et al., 2009; Ródenas de la Rocha et al., 2009). Για παράδειγμα, βρώσιμα φύκη που διατίθενταν στην αγορά της Κίνας παρουσίαζαν συγκεντρώσεις σε αλουμίνιο (Al), άργυρο (As), κάδμιο (Cd), χρώμιο (Cr), χαλκό (Cu), υδράργυρο (Hg), μαγγάνιο (Mn), νικέλιο (Ni), μόλυβδο (Pb) και σελήνιο (Se), αλλά ήταν διαφορετικές μεταξύ των ειδών και των περιοχών προέλευσης (Chen et al., 2018). Επίσης, μια άλλη μελέτη έδειξε ότι η περιεκτικότητα σε βαρέα μέταλλα του είδους *Saccharina latissima*, που καλλιεργήθηκε σε αστικοποιημένες εκβολές ποταμών, εξαρτώταν από την τοποθεσία της καλλιέργειας (Kim et al., 2019).

**Πίνακας 4.1:** Ανώτερα όρια τοξικών ανόργανων στοιχείων, που έχουν καθοριστεί νομοθετικά από την Ε.Ε. για τα φύκη σε ζωοτροφές, τρόφιμα και συμπληρώματα διατροφής (Banach et al., 2020).

ΑΝΟΡΓΑΝΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ	ΖΩΟΤΡΟΦΕΣ <sup>a</sup>	ΤΡΟΦΙΜΑ <sup>b</sup>	ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΑ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ <sup>b</sup>
ΑΡΣΕΝΙΚΟ	2 mg/kg <sup>c</sup>	ΜΗ ΚΑΘΟΡΙΣΜΕΝΟ ΓΙΑ ΦΥΚΗ	ΜΗ ΚΑΘΟΡΙΣΜΕΝΟ ΓΙΑ ΦΥΚΗ
ΚΑΔΜΙΟ	1 mg/kg <sup>c</sup>	ΜΗ ΚΑΘΟΡΙΣΜΕΝΟ ΓΙΑ ΦΥΚΗ	3.0 mg/kg wet weight (ww)
ΜΟΛΥΒΔΟΣ	10 mg/kg	ΜΗ ΚΑΘΟΡΙΣΜΕΝΟ ΓΙΑ ΦΥΚΗ	3.0 mg/kg ww
ΥΔΡΑΡΓΥΡΟΣ <sup>d</sup>	0.1 mg/kg	ΜΗ ΚΑΘΟΡΙΣΜΕΝΟ ΓΙΑ ΦΥΚΗ	0.10 mg/kg ww

<sup>a</sup>Οδηγία 2002/32/ΕΚ προσδιορίζει τις ανεπιθύμητες ουσίες στις ζωοτροφές. Το μέγιστο επίπεδο αφορά τη ζωοτροφή με περιεκτικότητα σε υγρασία 12%.

<sup>b</sup>Κανονισμός (ΕΚ) 1881/2006 για τον καθορισμό ανώτατων επιπέδων για ορισμένες μολυσματικές ουσίες στα τρόφιμα. "Το μέγιστο επίπεδο ισχύει για τα συμπληρώματα διατροφής όπως πωλούνται."

<sup>c</sup>Οδηγία 2002/32/ΕΚ: «Κατόπιν αιτήματος των αρμόδιων αρχών, ο υπεύθυνος φορέας πρέπει να πραγματοποιήσει ανάλυση για να αποδείξει ότι η περιεκτικότητα σε ανόργανο αρσενικό είναι μικρότερη από 2 ppm. Η ανάλυση αυτή έχει ιδιαίτερη σημασία για το είδος φυκιών *Hizikia fusiforme*.

#### 4.1.1. ΚΑΔΜΙΟ

Το κάδμιο θεωρείται τοξικό μέταλλο και συναντάται ως περιβαλλοντικός ρύπος εξαιτίας ανθρωπογενών δραστηριοτήτων. Η Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA) παρατήρησε υψηλές συγκεντρώσεις καδμίου σε σκευάσματα φυκών, φύκη, καρκινοειδή και μαλάκια. Οι υψηλότερες μέσες συγκεντρώσεις καδμίου σημειώθηκαν στα σκευάσματα φυκών (1,515 mg/kg, n = 314) και των φυκών (1,122 mg/kg, n = 202). Τα δεδομένα αυτά ήταν απροσδιόριστα αναφορικά με το ξηρό βάρος (dw) ή το υγρό βάρος (ww) (EFSA, 2012a). Ο ΕΚ 1881/2006 καθορίζει τα μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα καδμίου, στα συμπληρώματα διατροφής που εμπεριέχουν αποξηραμένα φύκη, στα 3,0 mg/kg ww. Στις Γαλλικές Συστάσεις το μέγιστο επιτρεπτό επίπεδο καδμίου στα βρώσιμα φύκη είναι 0,5 mg/kg dw (ANSES, 2018; CEVA, 2014).

Το κάδμιο έχει βρεθεί σε φύκη που προορίζονταν για ανθρώπινη κατανάλωση. Παρατηρήθηκε ένα εύρος συγκεντρώσεων που κυμαινόταν από το κατώτατο όριο ανίχνευσης των 0,001 μg/ml έως τα 9,8 mg/kg dw (Pérez et al., 2007). Δεν σημειώθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ του καδμίου και των διάφορων ειδών των φυκών (Desideri et al., 2016). Ωστόσο, στα ροδοφύκη έχουν εντοπιστεί υψηλότερες συγκεντρώσεις καδμίου έναντι των φαιοφυκών (Torcuoglu et al., 2001). Επιπλέον, η προέλευση των φυκών και η εποχιακή διακύμανση αποδείχθηκε ότι επηρεάζουν τη συγκέντρωση του καδμίου.

#### 4.1.2. ΜΟΛΥΒΔΟΣ

Ο μόλυβδος είναι ένα βαρέο μέταλλο που βρίσκεται ως περιβαλλοντικός ρύπος είτε λόγω της φυσικής εμφάνισης είτε εξαιτίας προηγούμενης χρήσης του σε χρώματα, βενζίνη κ.λπ. Τα τρόφιμα είναι μια σημαντική πηγή έκθεσης του ανθρώπου στον μόλυβδο. Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε στην Ευρώπη, οι συγκεντρώσεις μόλυβδου που υπερέβησαν τα 0,1 mg/kg βρίσκονταν σε διαιτητικά προϊόντα, φύκη, συμπληρώματα διατροφής, κρέας αγριόχοιρου, θυμάρι, τζίντζερ και ιωδιούχο αλάτι. Τα φύκη που μελετήθηκαν ήταν το wakame (155 mg/kg, n = 1) και το kombu (μέσος όρος 0,405 mg/kg, n = 20, (EFSA, 2012β)). Το ανώτατο επιτρεπτό όριο για το μόλυβδο στα συμπληρώματα διατροφής με βάση τα φύκη είναι 3,0 mg/kg ww, σύμφωνα με τον Κανονισμό ΕΚ 1881/2006. Με βάση τις γαλλικές συστάσεις, το ανώτατο επιτρεπτό όριο στα βρώσιμα φύκη είναι 5 mg/kg dw (ANSES, 2018; CEVA, 2014).

Η επίδραση της εποχικής διακύμανσης και της θέσης της καλλιέργειας φυκών σχετικά με την πρόσληψη μολύβδου έχει μελετηθεί. Συγκεκριμένα, διαπιστώθηκε ότι περιεκτικότητα μολύβδου ήταν υψηλότερη το καλοκαίρι για το είδος *P. Columbina* και το *Ulva spp.* Αυτή η εποχιακή διακύμανση μπορεί να αποδοθεί στην αυξημένη μεταβολική δραστηριότητα καθώς η θερμοκρασία αυξάνεται, που σημαίνει ότι υπάρχουν υψηλότερα ποσοστά φωτοσύνθεσης και αναπνοής, και κατά συνέπεια αυξημένη πρόσληψη ορισμένων βαρέων μετάλλων όπως του μολύβδου (Pérez et al., 2007). Ωστόσο, σε διάφορες μελέτες παρατηρήθηκε ότι δεν υπήρξαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των τύπων φυκών (ροδοφύκη, χλωροφύκη, φαιοφύκη) αναφορικά με την συγκέντρωση του μολύβδου (Desideri et al., 2016; Hwang et al., 2010). Επιπλέον, η επίδραση που είχε η προέλευση των φυκών στη βιοσυσσώρευση του μετάλλου, παρατηρήθηκε περισσότερο αυξημένη σε τοποθεσία που πραγματοποιούνται περισσότερες ανθρωπογενείς δραστηριότητες (Squadrone et al., 2018). Οπότε, οι επιπτώσεις που μπορεί να προκύπτουν από την εποχικότητα και την τοποθεσία της καλλιέργειας φυκών, σχετικά με την πρόσληψη μολύβδου, είναι σημαντικοί παράγοντες που πρέπει να λαμβάνονται υπόψη κατά την καλλιέργεια των φυκών (Pérez et al., 2007 ; Squadrone et al., 2018).

#### **4.1.3. ΥΔΡΑΡΓΥΡΟΣ**

Ο υδράργυρος είναι ένα μέταλλο που απελευθερώνεται στο περιβάλλον ως αποτέλεσμα τόσο φυσικής εμφάνισης όσο και των ανθρωπογενών δραστηριοτήτων. Υπάρχουν αρκετές μορφές υδραργύρου, εκ των οποίων ο μεθυλυδράργυρος είναι μια κοινή μορφή οργανικού υδραργύρου στα τρόφιμα, που βρίσκεται ιδιαίτερα σε ψάρια και θαλασσινά (EFSA, 2004a, 2012d; JECFA, 2019b, 2019c). Με βάση τον ΕΚ 1881/2006 το ανώτατο όριο συγκέντρωσης υδραργύρου στα συμπληρώματα διατροφής που αποτελούνται αποκλειστικά ή κυρίως από αποξηραμένα φύκη ή από προϊόντα που προέρχονται από αυτά είναι 0,10 mg/kg ww. Ο ΕΚ 396/2005 αναφέρει για τα μέγιστα επίπεδα υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων σε τρόφιμα και ζωοτροφές φυτικής και ζωικής προέλευσης. Συγκεκριμένα, το μέγιστο επίπεδο υπολειμμάτων για τα φύκη είναι 0,01 mg/kg και βασίζεται στο άθροισμα των ενώσεων υδραργύρου που εκφράζεται ως υδράργυρος. Η διαφορά αυτή προκύπτει, επειδή στα συμπληρώματα διατροφής τα ανώτατα όρια είναι υψηλότερα από τα αντίστοιχα επίπεδα που ορίζονται για τα τρόφιμα, καθώς η αναμενόμενη ημερήσια πρόσληψη συμπληρωμάτων διατροφής είναι πολύ χαμηλότερη από την ποσότητα της τροφής που καταναλώνεται. Όσον αφορά τις Γαλλικές συστάσεις, το ανώτατο όριο υδραργύρου σε βρώσιμα φύκη είναι 0,1 mg/kg dw (ANSES, 2018; CEVA, 2014).

Ο υδράργυρος έχει ανιχθευθεί σε πολλά βρώσιμα φύκη. Εκτός από τις ποικίλες συγκεντρώσεις ανάλογα με το είδος των φυκών, ο τόπος καλλιέργειας των φυκών βρέθηκε επίσης να παρουσιάζει διαφορές στις συγκεντρώσεις υδραργύρου (Besada et al., 2009). Επίσης, οι συγκεντρώσεις υδραργύρου στα φύκη βρέθηκαν να ποικίλλουν ανάλογα με τον τύπο τους, με ορισμένες μελέτες να αναφέρουν υψηλότερη περιεκτικότητα στα φαιοφύκη από αυτή των ροδοφυκών (Chen et al., 2018).

#### **4.1.4. ΑΡΣΕΝΙΚΟ**

Το αρσενικό είναι ένα μεταλλοειδές που βρίσκεται στο περιβάλλον και προκύπτει τόσο από τη φυσική εμφάνιση (έδαφος, πετρώματα, φυσικά νερά) όσο και από ανθρωπογενείς δραστηριότητες (βιομηχανικές εκπομπές, λιπάσματα, φυτοφάρμακα). Αν και το αρσενικό εμφανίζεται σε διαφορετικές ανόργανες και οργανικές μορφές, οι ανόργανες μορφές είναι πιο τοξικές (EFSA, 2014a). Η EFSA

ανέλυσε περισσότερα από 100.000 αποτελέσματα σχετικά με τις συγκεντρώσεις αρσενικού στα τρόφιμα, διαπιστώνοντας ότι περίπου το 98% των αποτελεσμάτων με τις υψηλότερες συγκεντρώσεις που μετρήθηκαν, βρέθηκαν σε ψάρια και θαλασσινά καθώς και σε προϊόντα διατροφής ή συμπληρώματα με βάση τα φύκη (EFSA, 2009b). Ο Κανονισμός ΕΚ 1881/2006 δεν έχει θέσει ανώτατο όριο για τα φύκη και τα προϊόντα που προέρχονται από αυτά. Με βάση, όμως, τις Γαλλικές συστάσεις, το ανώτατο όριο του ανόργανου αρσενικού στα βρώσιμα φύκη είναι 3 mg/kg dw (AFSSA, 2009; ANSES, 2018; CEVA, 2014).

Οι συγκεντρώσεις ανόργανου αρσενικού είναι διαφορετικές για κάθε είδος φυκών. Τα φαιοφύκη και ειδικά το είδος *hijiki* (*Sargassum fusiforme*), έχουν σημειωθεί με υψηλότερες συγκεντρώσεις ανόργανου αρσενικού. Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν την συγκέντρωση αρσενικού στα φύκη είναι ο τρόπος χειρισμού τους (επεξεργασία, προετοιμασία, αποθήκευση), ο τύπος των φυκών (γένος, είδος), η θέση και το βάθος καλλιέργειας, η εποχιακή μεταβλητότητα, καθώς και η ικανότητα πρόσληψης (Besada et al., 2009 ; Mouritsen et al., 2013).

#### **4.2. ΙΩΔΙΟ**

Το ιώδιο είναι απαραίτητο ιχνοστοιχείο των ορμονών του θυρεοειδούς αδένος, της θυροξίνης (T4) και της τριιωδοθυρονίνης (T3), οι οποίες παίζουν κεντρικό ρόλο στη σωματική ανάπτυξη (EFSA, 2010c, 2013). Τρόφιμα που θεωρούνται καλές πηγές ιωδίου είναι τα θαλάσσια προϊόντα, τα αβγά, το γάλα, καθώς και το ιωδιούχο αλάτι. Προϊόντα πλούσια σε ιώδιο, όπως τα φύκη μπορούν να οδηγήσουν σε υπερβολικές προσλήψεις ιωδίου, όπου έχει αρνητικές επιπτώσεις (EFSA, 2006a; SCF, 2002). Η υπερβολική πρόσληψη ιωδίου έχει αρνητικές επιπτώσεις για την υγεία, και ειδικά για τις ευπαθείς ομάδες, όπως άτομα με δυσλειτουργίες του θυρεοειδούς, έγκυες ή θηλάζουσες γυναίκες (ANSES, 2018, EFSA, 2006a, 2014a). Η Επιστημονική Επιτροπή Τροφίμων (SCF) ανέφερε ένα ανώτερο ανεκτό επίπεδο πρόσληψης (UL) ιωδίου στα 0,6 και 0,2 mg/ημέρα, αντίστοιχα, για ενήλικες και παιδιά (SCF, 2002). Η EFSA έχει ορίσει ως επαρκή επίπεδα πρόσληψης ιωδίου στα 0,15 mg/ημέρα για ενήλικες, 0,07 mg/ημέρα για βρέφη (7 έως 11 μηνών), 0,09 έως 0,13 mg/ημέρα για παιδιά (εξαρτώμενη από την ηλικία), και 0,2 mg/ημέρα για έγκυες και θηλάζουσες γυναίκες (EFSA, 2014b). Με βάση τις Γαλλικές συστάσεις, το ανώτατο όριο συγκέντρωσης



ιωδίου στα βρώσιμα φύκη είναι 2.000 mg/kg dw (AFSSA, 2009; ANSES, 2018; CEVA, 2014).

Αρκετές μελέτες έχουν αναφέρει ότι τα φαιοφύκη και ιδιαίτερα φύκη όπως η *Laminaria* και η *Saccharina*, είναι πλούσια σε ιώδιο (Holdt & Kraan, 2011; Lüning & Mortensen, 2015; Maehre et al., 2014). Τα φαιοφύκη της τάξης Laminariales, τα οποία περιλαμβάνουν είδη όπως *L. digitata*, *L. hyperborea*, *S. latissima*, και *A. Esculenta* έχουν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ιωδίου από τα *Rhodophyta* (ροδοφύκη) και τα *Chlorophyta* (χλωροφύκη) (Nitschke & Stengel, 2016). Επιπλέον, κάποιιοι παράγοντες που επηρεάζουν τα επίπεδα ιωδίου στα φύκη, εκτός από το είδος τους, είναι η εποχή, η περιοχή και η θέση καλλιέργειας, καθώς και η μορφολογία τους. Μεταξύ άλλων, μέθοδοι προετοιμασίας και μαγειρέματος, τεχνικές επεξεργασίας, είναι παράγοντες που επηρεάζουν τις τελικές συγκεντρώσεις ιωδίου στα τρόφιμα (Holdt & Kraan, 2011; Roleda et al., 2018).

#### **4.3. ΠΑΘΟΓΟΝΟΙ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ**

Τα βακτήρια, οι ιοί, οι ζυμομύκητες και οι υφομύκητες μπορεί να αποτελούν πιθανό μικροβιολογικό κίνδυνο στα βρώσιμα φύκη. Όσον αφορά τα βακτήρια, γίνεται διαχωρισμός μεταξύ (i) παθογόνων βακτηρίων που μπορεί να προκαλέσουν τροφική δηλητηρίαση, ακόμη και θάνατο, και (ii) αλλοιογόνων βακτηρίων, τα οποία δεν είναι απαραίτητα επιβλαβή για τον καταναλωτή, αλλά υποβαθμίζουν το προϊόν.

Η μικροβιακή μόλυνση μπορεί να συμβεί κατά την ανάπτυξη, τη συγκομιδή, την επεξεργασία ή την αποθήκευση των μακροφυκών (Choi et al., 2014). Και ενώ μόνο λίγες μελέτες έχουν ασχοληθεί με την πιθανή μικροβιολογική μόλυνση των μακροφυκών, όλες συμφωνούν ότι αυτός ο τύπος μόλυνσης δεν προκαλεί τόση ανησυχία (Wang et al., 2008). Η ανάπτυξη παθογόνων περιορίζεται σε επίπεδα κάτω από 2.0 log CFU /g (Son et al., 2014). Στο πλαίσιο όμως της παραγωγής τροφίμων, αναγκαία είναι η περαιτέρω μελέτη της πιθανής μικροβιακής μόλυνσης των φυκών. Ο Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 2073/2005 αφορά τα μικροβιολογικά κριτήρια για τα τρόφιμα. Το Κεφάλαιο 1 απαριθμεί τα κριτήρια ασφάλειας τροφίμων για διάφορες κατηγορίες τροφίμων, αλλά δεν αναφέρονται τα φύκη ως κατηγορία (EU, 2005a).

Λαμβάνοντας υπ' όψιν το περιβάλλον στο οποίο αναπτύσσονται τα μακροφύκη, πιθανοί παθογόνοι είναι το *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus* (Barberi et

al., 2019), καθώς και βακτήρια του γένους *Vibrio* spp. και *Bacillus* spp. (Besagas, 2018). Πιο σπάνια μπορεί να παρατηρηθεί η ύπαρξη κολοβακτηρίδιων, ειδικά αν το δείγμα προέρχεται από μολυσμένα νερά (Barberi et al., 2019).

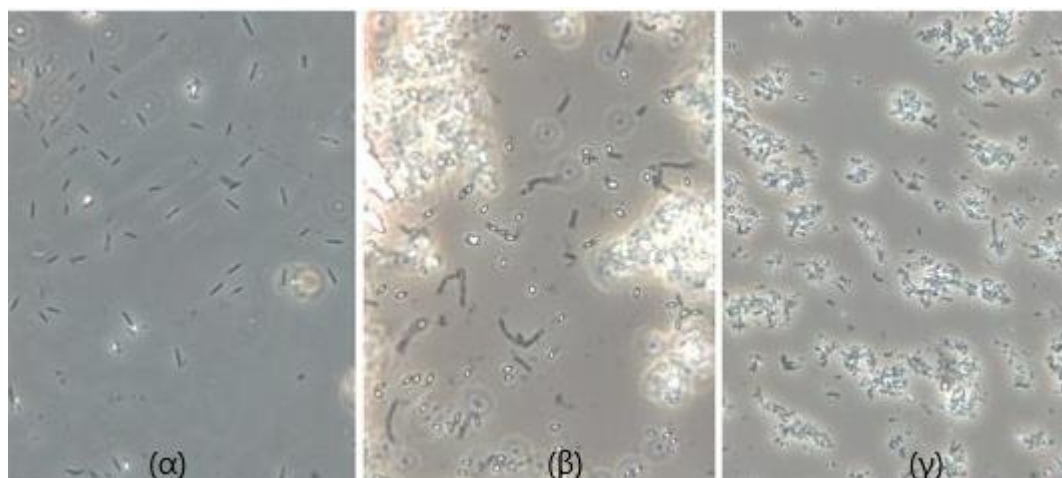
#### 4.3.1. BACILLUS SPP

Περισσότερα από 140 είδη περιλαμβάνονται στο γένος *Bacillus* (Logan et al., 2009) και αυτά περιγράφονται συνήθως ως Gram-θετικά, με σχήμα ράβδου, που εμφανίζονται μεμονωμένα, σε ζεύγη, αλυσίδες ή ως μακριά νήματα. Μερικά από αυτά έχουν την ικανότητα να σχηματίζουν ανθεκτικά ενδοσπόρια σε αντίξοες συνθήκες (From et al., 2007). Τα βακτήρια του γένους *Bacillus* spp. είναι συνήθως αερόβια, αλλά ορισμένα είδη είναι προαιρετικά αναερόβια, και τουλάχιστον δύο είδη έχουν σημειωθεί ως αναερόβια. Αν και η πλειοψηφία των ειδών που ανήκουν στο γένος αυτό παρουσιάζουν ελάχιστο ή καθόλου παθογόνο δυναμικό, ορισμένα είδη είναι γνωστό ότι σχετίζονται με τροφιμογενείς ασθένειες στον άνθρωπο, μέσω της παραγωγής θερμοσταθερών τοξινών. Το *Bacillus cereus* μπορεί να προκαλέσει τροφική δηλητηρίαση και ευκαιριακές λοιμώξεις, ενώ ορισμένα άλλα είδη συμπεριλαμβανομένων των *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus* και *Bacillus licheniformis*, έχουν επίσης συσχετιστεί με τροφικές δηλητηριάσεις και λοιμώξεις ανθρώπων/ζώων (Logan et al., 2009 ; Madslien et al., 2013).

Τα βακτήρια του γένους *Bacillus* spp., μεταξύ άλλων, είναι αποτελεσματικοί παραγωγοί ενώσεων με αντιβακτηριδιακές και ανασταλτικές ιδιότητες, που τα καθιστούν εξαιρετικά επιτυχημένους αποικιστές επιφανειών φυκών και μπορεί να έχουν μια ενδοσυμβιωτική σχέση με τα φύκη (Hollants et al., 2013). Ωστόσο οι τοξίνες του βάκιλλου είναι ο πραγματικός επιβλαβής παράγοντας, και όχι τα ίδια τα βακτήρια, επομένως δεν είναι εύκολο να εξαχθεί μια γενικευμένη μολυσματική δόση με βάση το επίπεδο μόλυνσης. Για τα είδη *B. cereus*, *B. pumilus* και *B. licheniformis*, οι συγκεντρώσεις που απαιτούνται για την παραγωγή αρκετής τοξίνης και για την πρόκληση τροφικής δηλητηρίασης θεωρούνται μεγαλύτερες των 5 log cfu/g (Granum & Braid-Parker, 2000 ; Granum, 2007).

Τα σπόρια του *Bacillus* spp., είναι πολύ ανθεκτικά στους περισσότερους εξωτερικούς παράγοντες και μπορούν να επιβιώσουν σε θερμοκρασίες άνω των 100°C σε συνδυασμό με pH < 3 για πολλά λεπτά (Setlow, 2006), αλλά δεν θα είναι σε θέση να αναπαραχθούν υπό τέτοιες συνθήκες. Όταν το περιβάλλον γίνει ευνοϊκό, μπορούν

τα σπόρια να βλαστήσουν και τελικά να παράγουν τοξίνες που πιθανό να οδηγήσουν σε τροφική δηλητηρίαση, και στο θάνατο στη χειρότερη περίπτωση (Samarundo et al., 2014). Με χαμηλότερες θερμοκρασίες και pH μπορεί να επιτευχθεί η μείωση του ρυθμού αναπτυξής τους, επομένως και η «καθυστέρηση» παραγωγής τοξινών. Έτσι, τα βρώσιμα μπορούν να θεωρηθούν ασφαλή για κατανάλωση εφόσον το pH είναι κάτω από 4,3 και όταν αποθηκεύονται κάτω των  $\leq 4$  °C. Τα είδη *B. licheniformis*, *B. pumilus*, και *B. amyloliquefaciens/subtilis* δεν μπορούν να αναπτυχθούν ή να παράγουν τοξίνες σε θερμοκρασίες ψύξης (Trunet et al., 2015).



Εικόνα 4 Ζωντανές εικόνες μικροσκοπίας αντίθεσης φάσης των (α) *B. licheniformis*, (β) *B. pumilus* και (γ) *B. subtilis* που απομονώθηκαν από το φύκος *Saccharina latissima* και καλλιεργήθηκαν σε Marine agar. Τα σπόρια εμφανίζονται λευκά/λαμπερά και τα βλαστικά κύτταρα σκούρα. Μεγέθυνση: 400x (Løvdal et al., 2021)

#### 4.3.2. VIBRIO SPP

Τα βακτήρια του γένους *Vibrio* spp. είναι αρνητικά κατά Gram, σε σχήμα κυρτή ράβδου και προαιρετικά αναερόβια (Farmer, 2006). Τα μέλη του γένους έχουν ως φυσικό περιβάλλον το θαλασσινό, υφάλμυρο και γλυκό νερό και είναι από τα πιο κοινά βακτήρια που βρίσκονται στα επιφανειακά ύδατα παγκοσμίως (Vezzulli et al., 2013). Λαμβάνοντας υπόψη την εκτεταμένη διασπορά των *Vibrio* σε υδάτινα περιβάλλοντα, δεν αποτελεί έκπληξη το γεγονός ότι τα φύκη αποικίζονται συχνά από μέλη αυτού του γένους (Egan et al., 2013). Υπάρχουν επί του παρόντος πάνω από 140 είδη *Vibrio*, εκ των οποίων τα 12 αναφέρονται ότι σχετίζονται με λοιμώξεις μεταξύ των ανθρώπων (Bonnin-Jusserand et al., 2019 ; Kokashvili et al., 2015). Τα πιο σημαντικά ανθρώπινα παθογόνα είδη είναι το *Vibrio cholerae*, *Vibrio*

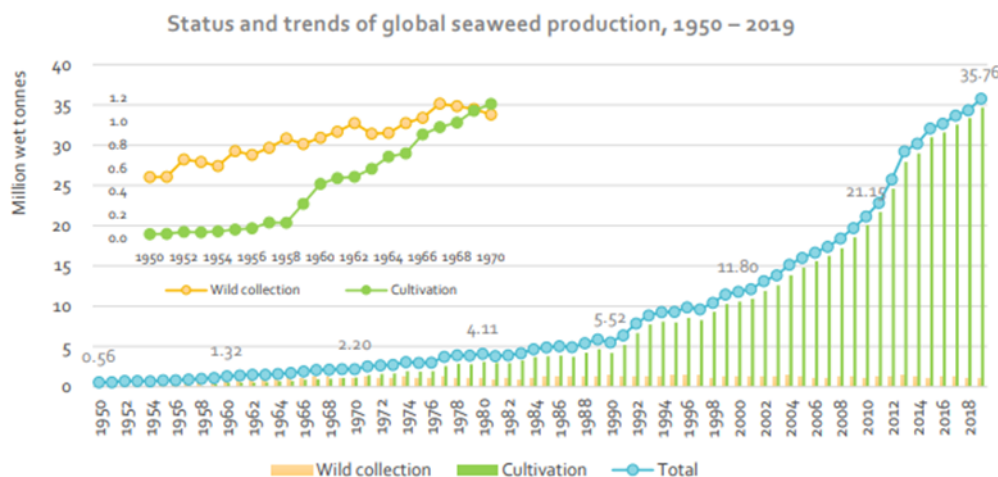
*parahaemolyticus* και *Vibrio vulnificus*, αλλά και αρκετά άλλα είδη *Vibrio*, όπως τα *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio metschnikovii*, *Vibrio fluvialis* και *Vibrio mimicus* μπορεί να προκαλέσουν μόλυνση αλλά με λιγότερο σοβαρά συμπτώματα στον άνθρωπο (Baker-Austin et al., 2018).

Τροφική δηλητηρίαση που προκαλείται από *V. parahaemolyticus* και *V. vulnificus* και σχετίζεται με βρώσιμα φύκη φαίνεται να είναι σπάνια, αλλά υπάρχουν αρκετά τεκμηριωμένα παραδείγματα από άλλα είδη θαλασσινών που είναι γνωστά, π.χ. γαρίδες και στρείδια (Sumner & Ross, 2002). Έχουν σημειωθεί, συγκεντρώσεις *Vibrio* spp. να έχουν κορυφωθεί στα 8.2 log cfu/g σε «άγρια» καλλιέργεια *Gracilaria changii* που συγκομίζεται στη Μαλαισία, υποδεικνύοντας την πιθανή παρουσία παθογόνων που ενδέχεται να θέσουν σε κίνδυνο την ασφάλεια των καταναλωτών (Musa & Wei, 2008). Τα *Vibrio* θεωρούνται ιδιαίτερα ευαίσθητα στην επεξεργασία τροφίμων, ειδικά στη θερμική επεξεργασία, οπότε μειώνεται ο κίνδυνος πρόκλησης τροφιμογενών λοιμώξεων εάν δεν καταναλωθούν ακατέργαστα (Karacalar & Turan, 2008).

## 5. ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΣΗΜΕΡΑ

Εμπορικές καλλιέργειες μακροφυκών υπήρχαν στην Ιαπωνία ήδη από τον 17ο αιώνα (Βουλτσιάδου και συν, 2015). Σήμερα, η Κίνα και η Ινδονησία είναι μακράν οι μεγαλύτεροι παραγωγοί φυκών με πάνω από 23 εκατομμύρια τόνους συνολικής παραγωγής το 2014. Η Κίνα παράγει κυρίως φύκη για φαγητό (δηλαδή *Saccharina japonica* και *Undaria pinnatifida*) και κόκκινα φύκη που ανήκουν στα γένη *Gracilaria* και *Pyropia* (FAO, 2016). Από την άλλη πλευρά, η Ινδονησία παράγει κυρίως τα καραγενόφυτα *Kappaphycus* και *Eucheuma* (FAO, 2016). Συνολικά, αυτά τα κορυφαία πέντε γένη – *Laminaria* (γνωστό ως kombu, 40,1% της παγκόσμιας υδατοκαλλιέργειας) , *Undaria* (wakame, 22,3%), *Porphyra* (nori, 12,4%), *Eucheuma/Kappaphycus* (11,6%) και *Gracilaria* (8,4%)– αντιπροσωπεύουν το 98,4% της παγκόσμιας καλλιεργούμενης παραγωγής φυκών (Pereira & Yarish, 2008 ; Suo & Wang, 1992). Επιπλέον, η Χιλή, η Κίνα και η Νορβηγία πρωτοστατούν στην εκμετάλλευση των «άγριων» αποθεμάτων φυκών, εκ των οποίων τα φύκη είναι τα πιο περιζήτητα (FAO, 2016).

Αξίζει να σημειωθεί ότι το 1969, οι 2,2 εκατομμύρια τόνοι παγκόσμιας παραγωγής φυκών καταμεριζόταν σχεδόν ισάξια από τη συλλογή «άγριων» αποθεμάτων και των υδατοκαλλιεργειών. Μισό αιώνα μετά, ενώ η άγρια παραγωγή παρέμεινε στους 1,1 εκατομμύρια τόνους, οι υδατοκαλλιέργειες αυξήθηκαν σε 35,8 εκατομμύρια τόνους που αντιπροσώπευαν το 97% της παγκόσμιας παραγωγής φυκών το 2019. Δηλαδή, η παγκόσμια καλλιέργεια φυκών αυξήθηκε 1.000 φορές από 34,7 χιλιάδες τόνους σε 34,7 εκατομμύρια τόνους μεταξύ του 1950 και 2019 (FAO, 2021).



**Εικόνα 5.1:** Σύγκριση παγκόσμιας παραγωγής μακροφυκών από το 1950 έως και το 2019 , μέσω συλλογής αγρίου τύπου μακροφυκών και παραγωγής από υδατοκαλλιέργεια (FAO, 2021).

### 5.1. ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Δεκαπέντε εκατομμύρια τόνοι νωπής βιομάζας μακροφυκών παράγονται διεθνώς κάθε χρόνο, αντιπροσωπεύοντας ένα προϊόν αξίας 7,5 δισεκατομμυρίων ευρώ. Η ετήσια αξία των προϊόντων διατροφής υπολογίζεται στα 6 - 6,75 δισεκατομμύρια ευρώ, από τα οποία περισσότερα του 1,5 δισ. αφορούν την καλλιέργεια της *Porphyra* (FAO, 2021). Το μεγαλύτερο μέρος του υπόλοιπου ποσού αφορά προϊόντα της βιομηχανίας φυκοκολλοειδών, ενώ το υπόλοιπο διάφορες χρήσεις ως συμπληρώματα τροφών, ζωοτροφών και λιπάσματα (Bixler & Porse, 2010 ; Mazarrasa et al., 2014).

Όσον αφορά την παγκόσμια εξαγωγή των φυκών και τα παράγωγα αυτών ανέρχεται στα 233 δισεκατομμύρια ευρώ. Από αυτά, περίπου τα 800 εκατομμύρια αφορούν τα

φύκη εξ' ολοκλήρου, ενώ τα 153 δισεκατομμύρια αφορούν τα υδροκολλοειδή των φυκών (FAO,2021).

<b>Seaweeds and seaweed-based hydrocolloids</b>		
<b>Exporter</b>	<b>Million USD</b>	<b>Share of world (%)</b>
1. China	578	21.79
2. Indonesia	329	12.39
3. Rep. of Korea	320	12.08
4. Philippines	252	9.52
5. Chile	209	7.87
6. Spain	145	5.48
7. France	124	4.68
8. USA	102	3.85
9. Germany	82	3.11
10. UK	78	2.93
<i>Rest of the world</i>	<i>432</i>	<i>16.30</i>
<b>World</b>	<b>2 652</b>	<b>100.00</b>

**Εικόνα 5.2:** Κατάταξη των χωρών ανάλογα με το ποσοστό εξαγωγής τους σε φύκη και πόσο αντιστοιχεί σε εκατομμύρια δολάρια (FAO, 2021)

## 5.2. ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ

Τα τελευταία χρόνια, παρατηρείται μια αύξηση ως προς την αυτούσια κατανάλωση των φυκών (Holdt & Kraan, 2011). Εξαιτίας αυτής της αύξησης στην κατανάλωση, αυξάνεται και η ζήτηση οπότε οι φυσικοί πόροι καθίστανται ανεπαρκείς. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να γίνονται προσπάθειες να αυξηθεί η παραγωγή με τεχνικές διαχείρισης πόρων, όπως η βελτίωση των τεχνικών συγκομιδής, η απομάκρυνση των ανταγωνιστικών ειδών, η προσθήκη τεχνητών οικοτόπων και η εκκαθάριση περιοχών. Τέτοιες τεχνικές έχουν αναπτυχθεί περισσότερο στην Ιαπωνία, την Κίνα και τη Νοτιοανατολική Ασία (Radulovich et al., 2015).

Εάν μια τέτοια διαχείριση αποδειχθεί ανεπαρκής, η χρήση χερσαίων εγκαταστάσεων για την καλλιέργεια φυκών καθίσταται αναπόφευκτη. Αυτό συνεπάγεται τη χρήση δεξαμενών (tanks) ή λιμνοδεξαμενών (ponds) στις οποίες αντλείται θαλασσινό νερό και τα φύκη αναπτύσσονται σε πολύ υψηλές πυκνότητες. Αυτό απαιτεί την προσεκτική μελέτη των παραμέτρων ανάπτυξης των εμπλεκόμενων φυκών και της ανάπτυξης ειδικών στελεχών, κατά προτίμηση με υψηλούς ρυθμούς ανάπτυξης, αλλά το πιο σημαντικό, προσαρμοσμένα στις τεχνητές συνθήκες (Wegeberg & Felby, 2010).

Τελευταία, η χρήση των μακροφυκών σε πολυκαλλιέργειες έχει αυξηθεί σημαντικά. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιούνται ως βιολογικά φίλτρα σε απόβλητα πλούσια σε θρεπτικά άλατα, π.χ. απόβλητα ψαριών, με σκοπό την παραγωγή πολύτιμης βιομάζας, αλλά και την προστασία του θαλάσσιου περιβάλλοντος από τον ευτροφισμό (Szeremeta et al., 2010). Πρόκειται για τα συστήματα «ολοκληρωμένης πολυτροφικής υδατοκαλλιέργειας» (Integrated Multitrophic Aquaculture IMTA), όπου στην Κίνα εφαρμοζόντουσαν εδώ και αιώνες, αλλά σε χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης υιοθετήθηκαν τα τελευταία χρόνια περισσότερο (Ορφανίδης, 2009).

### **5.2.1. ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΜΑΚΡΟΦΥΚΩΝ ΣΕ ΧΕΡΣΑΙΕΣ ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ**

Η καλλιέργεια των μακροφυκών λαμβάνει χώρα στις δεξαμενές όταν απαιτείται ή υψηλή ποιότητα προϊόντων ή παραγωγή ζωοτροφών ή για τη βιοαποκατάσταση της εκροής του νερού από υδατοκαλλιέργειες (Titlyanov and Titlyanova 2010).

Τα πλεονεκτήματα της καλλιέργειας μακροφυκών σε χερσαίες εγκαταστάσεις είναι η εν δυνάμει υψηλή απόδοση, η δυνατότητα ελέγχου της καλλιέργειας και η δυνατότητα αξιοποίησης των μακροφυκών ως βιοφίλτρων σε διάφορους τύπους αποβλήτων, π.χ. απόβλητα ψαριών. (Wegeberg & Felby, 2010).

Υπάρχουν διάφοροι παράμετροι που επηρεάζουν την καλλιέργεια των μακροφυκών στις εγκαταστάσεις αυτές (Panayiotidis, 2009). Οι παράμετροι αυτοί εμπίπτουν σε τρεις βασικές κατηγορίες, οι οποίες είναι οι φυσικές, οι χημικές και οι βιολογικές. Στις φυσικές ανήκουν παράμετροι όπως, τα τεχνικά χαρακτηριστικά της δεξαμενής ή της λιμνοδεξαμενής, η κίνηση του νερού εντός των χώρων καλλιέργειας, οι ανταλλαγές νερού με τη θάλασσα, η αλατότητα, η θερμοκρασία, η ακτινοβολία. Στη κατηγορία με τις χημικές παραμέτρους υπάγονται οι συγκεντρώσεις των θρεπτικών αλάτων, συγκεκριμένα του αζώτου, του φωσφόρου και του άνθρακα, αλλά και άλλων ιχνοστοιχείων. Τέλος, στις βιολογικές υπάρχουν παράμετροι όπως, η πυκνότητα της βιομάζας, οι επιμολύνσεις από επίφυτα, οι ασθένειες των φυκών, οι ζημιές από τη βόσκηση ζωικών οργανισμών, η επιλογή του κατάλληλου στελέχους και η αναπαραγωγή των στελεχών κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας (Loureiro et al., 2015 ; Orfanidis et al., 2011).

Το μεγαλύτερο μειονέκτημα των χερσαίων καλλιεργειών είναι το υψηλό κόστος κατασκευής και λειτουργίας αυτών, λαμβάνοντας υπόψη ότι απαιτείται ενέργεια

τόσο στην ανακίνηση ή άντληση του νερού, όσο και στην περίπτωση προσθήκης CO<sub>2</sub> και θρεπτικών αλάτων (Titlyanov & Titlyanova 2010).



**Εικόνα 5.3:** Καλλιέργεια του φύκους *Ulva spp.* σε υπαίθριες δεξαμενές στο κέντρο οστρακοειδών της Δανίας (Wegeberg and Felby, 2010).

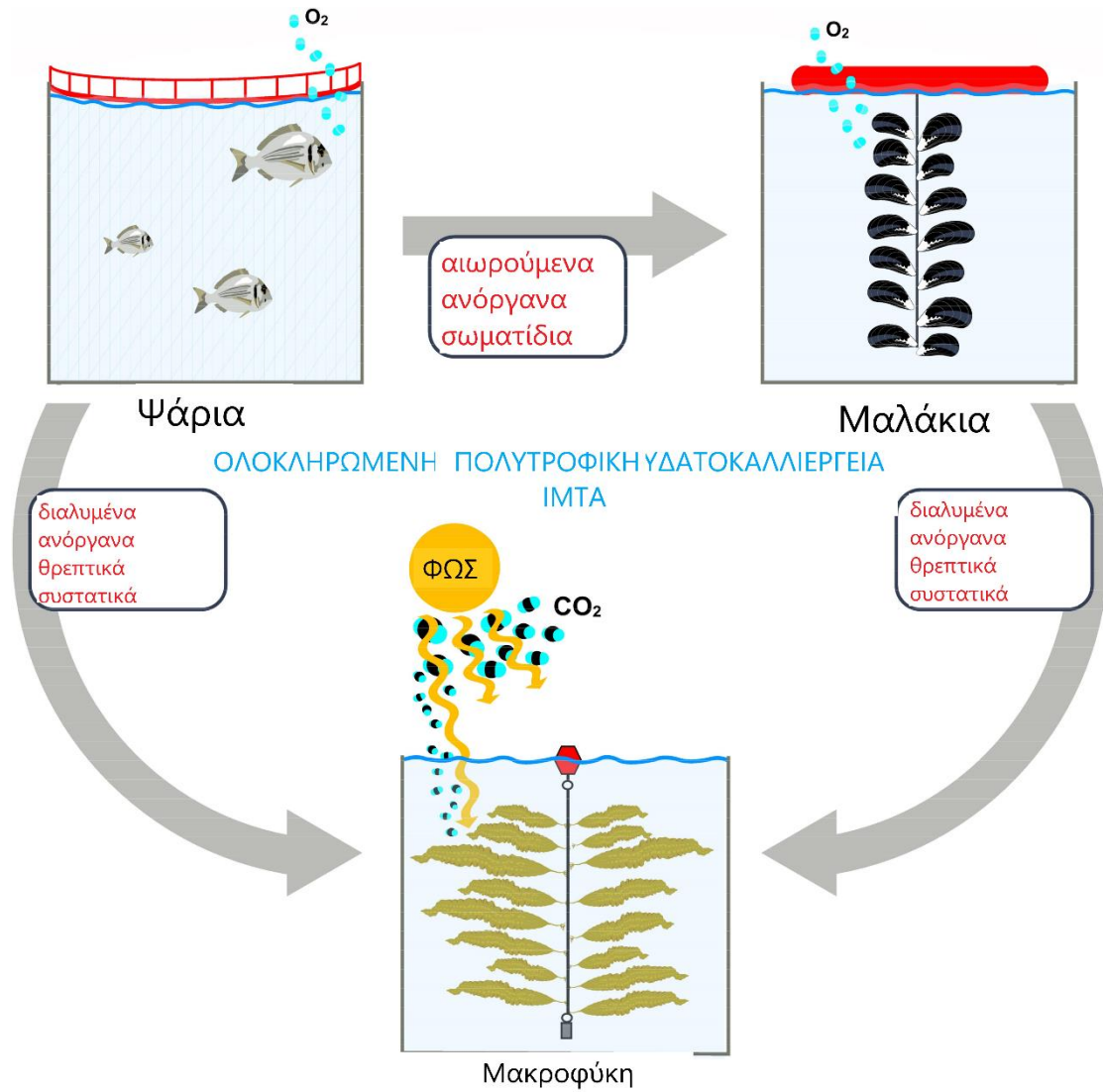
### 5.3. ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΠΟΛΥΤΡΟΦΙΚΗΣ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ

Η Ολοκληρωμένη Πολύ-Τροφική Υδατοκαλλιέργεια (Integrated Multi-Trophic Aquaculture IMTA) περιλαμβάνει οργανισμούς από διαφορετικά τροφικά επίπεδα του οικοσυστήματος (π.χ. ψάρια, οστρακοειδή, φύκη), έτσι ώστε τα υποπροϊόντα του ενός να αποτελούν εισροές του άλλου (Szeremeta et al., 2010). Τέτοια συστήματα ανακυκλώνουν τις θρεπτικές ουσίες που αποτελούν απόβλητα ειδών που βρίσκονται ψηλά στην τροφική αλυσίδα για την εκτροφή άλλων ειδών με εμπορική αξία που βρίσκονται πιο χαμηλά στην τροφική αλυσίδα (Troell et al., 2009). Στις ΟΠΤΥ μειώνονται οι περιβαλλοντικές επιπτώσεις άμεσα με την πρόσληψη των διαλυμένων θρεπτικών συστατικών από τους πρωτογενείς παραγωγούς (π.χ. μακροφύκη), των αιωρούμενων σωματιδίων από τους οργανισμούς που τρέφονται με φιλτράρισμα (π.χ. μύδια) απομακρύνοντας έτσι τα θρεπτικά συστατικά από την περιοχή (Holmer 2010).

Τα συστήματα IMTA μετριάζουν το κόστος της εντατικής καλλιέργειας μακροφυκών, τουλάχιστον ως προς το κόστος λίπανσης με θρεπτικά άλατα δίνοντας νέες προοπτικές στην αξιοποίηση της παραγόμενης βιομάζας. Τα είδη που μπορούν να αξιοποιηθούν σε αυτές τις πρακτικές ανήκουν κατά κύριο λόγο στα γένη *Ulva*,



*Gracilaria*, *Porphyra*, *Cystoseira*, *Sargassum*, *Asparagopsis*, *Chondrocarpus*, *Dictyopterus* κτλ. (Szeremeta et al., 2010).



**Εικόνα 5.4:** Σχηματική περιγραφή της προσέγγισης της Ολοκληρωμένης Πολυτροφικής Υδατοκαλλιέργειας (IMTA) (Araújo et al., 2021)

## II. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟ ΜΕΡΟΣ

### 6. ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής μελέτης ήταν η διερεύνηση της μικροβιολογικής ποιότητας των δύο εδώδιμων μακροφυκών, που ανήκουν στα είδη *Alaria esculenta* και *Saccharina latissima*, τόσο μετά τη συγκομιδή όσο και την αποθήκευση σε διαφορετικές θερμοκρασίες, εστιάζοντας κυρίως στις διαφορές μεταξύ (α) των δύο διαφορετικών ειδών φυκών και (β) των διαφορετικών χρονικών σημείων συγκομιδής. Αρχικά, απομονώθηκαν βακτηριακές αποικίες από τα θρεπτικά μέσα ανάπτυξης, αλλά και απευθείας ιστοί από τα δείγματα φυκών, με σκοπό την ταυτοποίηση των μικροοργανισμών μέσω μοριακών τεχνικών. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκαν μικροβιολογικές αναλύσεις σε δείγματα που είχαν συλλεχθεί σε διαφορετικά χρονικά σημεία, συγκρίνοντας έτσι την μικροβιακή κοινότητα τόσο μεταξύ των δύο ειδών φυκών, όσο και μεταξύ των περιόδων συλλογής για το κάθε είδος.

### 7. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

#### 7.1. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ (ΜΕΡΟΣ Α)

Τα φύκη *Alaria esculenta* και *Saccharina latissima* που χρησιμοποιήθηκαν για το πείραμα, προέρχονταν από πειραματική καλλιέργεια που εδράζει στην Σκωτία και συγκεκριμένα στο Port-a-Bhuiltein. Η συλλογή πραγματοποιήθηκε από τη Σκωτσέζικη Ένωση Επιστήμης της Θάλασσας (SAMS) το έτος 2020. Φύκη και από τα δυο είδη συλλέχθηκαν χειρωνακτικά, με τη χρήση μαχαιριών για την κοπή των στυπών, τοποθετήθηκαν σε καθαρές πλαστικές σακούλες και αποθηκεύτηκαν στους -20°C μέχρι τη μεταφορά τους στο εργαστήριο. Την ημέρα της αποστολής, τοποθετήθηκαν σε κουτιά πολυστυρενίου και παρελύφθησαν από το Εργαστήριο Μικροβιολογίας Τροφίμων και Βιοτεχνολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών μέσα σε 48 ώρες. Τα προϊόντα κατά την άφιξη τους στο Εργαστήριο αποθηκεύτηκαν στους -20°C. Για το πείραμα, εξετάστηκαν δύο δείγματα για κάθε είδος φυκών σε συγκεκριμένες θερμοκρασίες. Συγκεκριμένα, τα δείγματα μοιράστηκαν ασηπτικά σε μερίδες ανά 50g, τοποθετήθηκαν σε δίσκους πολυστυρενίου και αποθηκεύτηκαν σε θαλάμους συντήρησης (MIR-153, Sanyo Electric Co., Osaka, Japan) των 5 και 15 °C. Ο έλεγχος της θερμοκρασίας των θαλάμων γινόταν με τη χρήση ειδικών ηλεκτρονικών

καταγραφικών (COX TRACER®, Cox Technologies Inc., Belmont, NC, USA) που είχαν τοποθετηθεί στο εσωτερικό τους. Τα δείγματα σε κάθε θερμοκρασιακή βαθμίδα χωρίστηκαν ισόποσα σε δυο ομάδες δειγμάτων Α και Β.

Τα δείγματα Α και Β (2 δείγματα από κάθε ομάδα, συνολικός αριθμός δειγμάτων n=4) από κάθε θερμοκρασία χρησιμοποιήθηκαν σε καθημερινή βάση για τις κλασικές μικροβιολογικές αναλύσεις, αλλά παράλληλα προετοιμαζόντουσαν και για τις μοριακές αναλύσεις.

Η ίδια ακριβώς διαδικασία ακολουθήθηκε τόσο για τα δείγματα του μακροφύκου *A. esculenta* όσο και για τα δείγματα του φύκου *S. Latissima*.



**Εικόνα 7.1:** Φύκος του είδους *Saccharina latissima*.

## **7.2. ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΩΝ ΑΠΟΙΚΙΩΝ**

Αποικίες (10-20%) που αναπτύχθηκαν στα τρυβλία με το μέσο Marine Agar (Condalab), επιλέχθηκαν τυχαία από τρυβλία, όπου έγινε καταμέτρηση από 10 μέχρι 300 αποικίες, και ενοφθαλμίστηκαν με τη βοήθεια μικροβιολογικού κρίκου στο ίδιο μέσο, με τη μέθοδο παράλληλων γραμμών (streaking). Τα τρυβλία τοποθετήθηκαν στους επωαστικούς κλιβάνους για 48 ώρες σε θερμοκρασία 25°C. Η διαδικασία αυτή πραγματοποιήθηκε εις διπλούν. Σκοπός ήταν η απομόνωση καθαρών βακτηριακών αποικιών και η φύλαξη τους σε cryovial που περιείχαν Marine Broth και 20% γλυκερόλη σε συνθήκες κατάψυξης για μετέπειτα χειρισμό. Συγκεκριμένα, ακολουθήθηκε η εξής διαδικασία μέσα σε θάλαμο νηματικής ροής (Biosafety cabinet

level 2): Με τη βοήθεια του μικροβιολογικού κρίκου ενοφθαλμίστηκαν τα cryovial που περιείχαν Marine Broth με γλυκερόλη, χρησιμοποιώντας κάθε φορά μια ευδιάκριτη και μεμονωμένη αποικία από κάθε τρυβλίο. Συνολικά απομονώθηκαν 88 αποικίες για το είδος *A. esculenta* και 47 αποικίες για τη *S. latissima*. Παράλληλα, οι αποικίες αυτές υποβλήθηκαν σε χρώση κατά Gram, τεστ οξειδάσης και καταλάσης. Η απομόνωση των συνολικών αποικιών από τα τρυβλία με Marine agar πραγματοποιήθηκε την ημέρα της καταμέτρησης αυτών και η διαδικασία πραγματοποιήθηκε ασηπτικά. Αποστειρωμένο διάλυμα MRD με 20% γλυκερόλη χρησιμοποιήθηκε ως μέσο διατήρησης. Σε κάθε τρυβλίο εισήχθη 1 ml του διαλύματος, με απαλές κινήσεις και με αποστειρωμένο μεταλλικό τρίγωνο αποκολλήθηκαν οι αποικίες από το θρεπτικό υπόστρωμα. Προστέθηκε ακόμα 1 ml διαλύματος και το σύνολο του διαλύματος με τις αποικίες μεταφέρθηκε σε αποστειρωμένο cryovial για φύλαξη σε συνθήκες κατάψυξης (-20°C).

### **7.3. ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΙΣΤΩΝ ΦΑΙΟΦΥΚΩΝ**

Για την απομόνωση ιστού των δειγμάτων φαιοφυκών ακολουθήθηκε η εξής διαδικασία: τοποθετήθηκε η σακούλας ομογενοποίησης με το αραιωμένο δείγμα (15g φαιοφύκους σε 135ml Marine Broth) στο Stomacher (Lab Blender 400, Seward Medical, London) για 120 δευτερόλεπτα. Κατόπιν, μεταφέρθηκαν 40ml δείγματος σε πλαστικούς σωλήνες φυγοκέντρησης (falcon των 50 ml) και φυγοκεντρήθηκε για 20 λεπτά, στους 4°C στις 8000g. Έγινε απόχυση του υπερκείμενου, επαναιωρήθηκε το ίζημα σε 20 ml απιονισμένου νερού και φυγοκεντρήθηκε στις ίδιες συνθήκες. Πραγματοποιήθηκε απόχυση υπερκείμενου, επαναιωρήθηκε σε 1,65 ml απιονισμένου νερού, μεταφέρθηκε σε Erpendorf tubes χωρητικότητας 2 ml και φυγοκεντρήθηκε για 10 λεπτά, στους 4°C στις 8000g. Τέλος, το ίζημα φυλάχτηκε στην κατάψυξη στους -20°C.

### **7.4. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΑΠΟΜΟΝΩΘΕΝΤΩΝ ΑΠΟΙΚΙΩΝ ΓΙΑ ΜΟΡΙΑΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ**

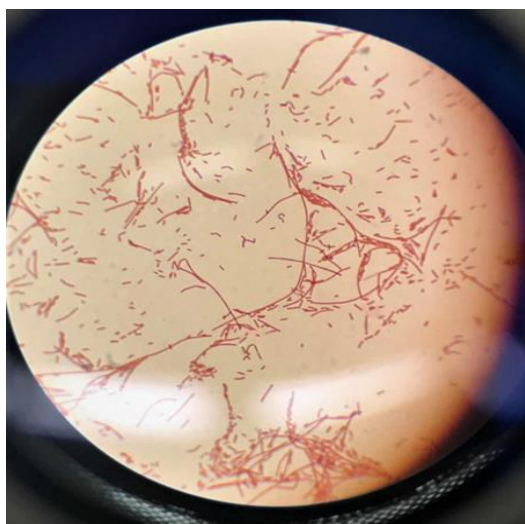
Οι απομονωθέντες αποικίες των ειδών *A. esculenta* και *S. latissima* (135 σύνολο) που συντηρούνταν υπό κατάψυξη υπέστησαν τη διαδικασία ανανέωσης για την μετέπειτα μοριακή ανάλυση τους. Πιο αναλυτικά, πραγματοποιήθηκε μεταφορά 100μl βιομάζας από τα cryovials (-80°C) σε 5 ml υγρού θρεπτικού υποστρώματος (Marine Broth) και επώαση υπό ανάδευση για 48 ώρες στους 25°C για την ανανέωση

των κυττάρων. Στη συνέχεια, έγινε μεταφορά 2ml της υγρής καλλιέργειας σε αποστειρωμένα erpendorf. Ακολούθησε φυγοκέντρηση στα 7000g για 10' λεπτά στους 4°C και απομάκρυνση του υπερκειμένου. Τα κύτταρα επαναδιαλύθηκαν σε 1 ml αραιωτικού μέσου Ringer και ακολούθησε μια δεύτερη φυγοκέντρηση (πλύση). Τέλος, έγινε απομάκρυνση υπερκειμένου και αποθήκευση αυτών στους -20°C.

## 8. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Όπως περιγράφηκε στο Υλικά και Μέθοδοι, τα απομονωθέντα βακτήρια και από τα δυο είδη φυκών υποβλήθηκαν σε χρώση κατα Gram, τεστ οξειδάσης και καταλάσης. Στον πίνακα 3.1 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν για το είδος *S. latissima* και στον πίνακα 3.2 για το είδος *A. esculenta*.

Από τα αποτελέσματα αυτά, συμπεραίνουμε πως οι βακτηριακές κοινότητες που ζουν στην επιφάνεια των φαιοφυκών είναι εξαιρετικά πολύπλοκες, δυναμικές και αποτελούνται από διάφορες ποικιλίες ειδών (Burke et al. 2011a; Satheesh et al. 2016). Τα μακροφύκη συνήθως φιλοξενούν διάφορες βακτηριακές ομάδες με πυκνότητα που κυμαίνεται από  $10^2$  έως  $10^7$  κύτταρα ανά  $cm^2$ , ανάλογα με το είδος των μακροφυκών, το τμήμα του θάλλου και την εποχή (Bengtsson et al., 2010; Egan et al., 2013). Σε προηγούμενες μελέτες έχει αναφερθεί ότι τα φύκη που βρίσκονται στην ίδια οικολογική θέση έχουν μια συγκεκριμένη βακτηριακή κοινότητα για κάθε είδος φυκών. Αντίθετα, τα μακροφύκη, που ανήκουν στο ίδιο είδος, αλλά εμφανίζονται σε διαφορετική γεωγραφική περιοχή, έχουν παρόμοιες βακτηριακές κοινότητες (Nylund et al., 2010). Επιπλέον, αναφέρεται συχνά ότι η μικροχλωρίδα που υπάρχει στα φύκη είναι διαφορετική από αυτή που βρίσκεται στο νερό που αναπτύσσονται (Lachnit et al., 2013). Η σχέση μεταξύ του μικροβιώματος και των μακροφυκών μπορεί να σχετίζεται με τρεις πιθανά αίτια: (α) Τα πολλαπλασιαστικά φύκη μπορούν να μεταφέρουν συγκεκριμένο βιοφίλμ σε άλλες περιοχές, (β) Η χημική άμυνα των φυκών μπορεί επιλεκτικά να αναστείλει την ανάπτυξη συγκεκριμένων μικροοργανισμών (γ) η χημική σύσταση και δομή των φυκών μπορεί να διευκολύνει τον αποικισμό ορισμένων μικροβιακών στελεχών (Lachnit et al., 2009).



**Εικόνα 8.1:** Απεικόνιση Gram<sup>-</sup> βακτηρίων με σχήμα βάκιλλου στο μικροσκόπιο

**Πίνακας 8.1:** Ομαδοποιημένα αποτελέσματα της χρώσης κατά Gram και των τεστ οξειδάσης & καταλάσης των απομονωθέντων αποικιών για το είδος *Saccharina latissima*

κωδικοί (Ημέρα/Θερμοκρασία)	μέγεθος (mm)	χρώμα	οξειδάση	καταλάση	Gram	σχήμα
SSL D0'0	≤1	μπεζ/κίτρινο	-	+	±	κοκκοβάκιλοι/κόκκοι
SSL D2'5	≤1	μπεζ/ροζ	±	±	-	κόκκοι
SSL D3'5	<1	κίτρινο	-	+	±	σταφυλόκοκκοι
SSL D3'15	<0.5	μπεζ	-	+	+	κόκκοι
SSL D6'15	<2	μπεζ	+	+	-	βάκιλλοι
SSL D7'15	<3	μπεζ	+	+	-	κοκκοβάκιλοι
SSL D13'0	≤0.5	μπεζ	-	+	-	κόκκοι
SSL D13'5	<4	μπεζ/πορτοκαλί	+	+	±	βάκιλλοι

**Πίνακας 8.2:** Ομαδοποιημένα αποτελέσματα της χρώσης κατά Gram και των τεστ οξειδάσης & καταλάσης των απομονωθέντων αποικιών για το είδος *Alaria esculenta*

Κωδικοί (Ημέρα/Θερμοκρασία)	Μέγεθος (mm)	Χρώμα	Οξειδάση	Καταλάση	Gram	σχήμα
SAE D3'15	<2	μπεζ/κίτρινες	±	+	±	κόκκοι/κοκκοβάκιλλοι/ σταφυλόκοκκοι/βάκιλλοι
SAE D4'5	≤2	μπεζ	±	+	-	κοκκοβάκιλλοι/βάκιλλοι
SAE D4'15	<2	μπεζ/κίτρινες	±	+	±	κοκκοβάκιλλοι/ σταφυλόκοκκοι/βάκιλλοι
SAE D6'5	<2	μπεζ	±	+	-	κοκκοβάκιλλοι/βάκιλλοι
SAE D6'15	≤1	μπεζ	±	+	-	βάκιλλοι
SAE D7'5	≤4	μπεζ/κίτρινες	±	+	±	κόκκοι/κοκκοβάκιλλοι/ βάκιλλοι
SAE D7'15	≤2	μπεζ/κίτρινες	±	±	±	κοκκοβάκιλλοι/ σταφυλόκοκκοι/βάκιλλοι

### 9. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ (ΜΕΡΟΣ Β)

Όπως προαναφέρθηκε και στο μέρος Α του Πειραματικού Σχεδιασμού, η συλλογή των δειγμάτων μακροφυκών *A. esculenta* και *S. latissima*, έλαβε χώρα στο SAMS (Scottish Association of Marine Sciences) της Σκωτίας (2020). Τα δείγματα αυτά όμως συλλέχθηκαν σε διαφορετικά χρονικά σημεία, δηλαδή και για τα δύο είδη φυκών, υπήρχαν 8 δείγματα με διαφορετική ημερομηνία συλλογής. Στον Πίνακα 4.1 παρουσιάζεται η κωδικοποίηση των δειγμάτων και η αντίστοιχη ημερομηνία συλλογής τους. Τα προϊόντα αποθηκεύτηκαν στους -20°C, ενώ, κατά την άφιξή τους στο εργαστήριο συνέχισαν να φυλάσσονται στους -20°C.

**Πίνακας 9.1:** Κωδικοποίηση των 8 χρονικών σημείων για τα φύκη *Alaria esculenta* και *Saccharina latissima* και οι αντίστοιχες ημερομηνίες συλλογής τους

Ημ/νια συλλογής	Χρονικά σημεία <i>A. esculenta</i>	Χρονικά σημεία <i>S. latissima</i>
20/03/2020	#2 AE	#2 SL
03/04/2020	#3 AE	#3 SL
16/04/2020	#4 AE	#4 SL
30/04/2020	#5 AE	#5 SL
13/05/2020	#6 AE	#6 SL
27/05/2020	#7 AE	#7 SL
15/06/2020	#8 AE	#8 SL
01/07/2020	#9 AE	#9 SL



**Εικόνα 9.1:** Εικόνες των δειγμάτων του πρώτου και του τελευταίου χρονικού σημείου για τα δυο είδη μακροφυκών.



Όσον αφορά την προετοιμασία των δειγμάτων κατά την πειραματική διαδικασία, ακολουθήθηκε παρόμοια διαδικασία με το πρώτο μέρος. Δηλαδή, τα κατεψυγμένα φύκη αποψύχθηκαν στους 0°C , και στην συνέχεια αποθηκεύτηκαν σε θαλάμους συντήρησης (MIR-153, Sanyo Electric Co., Osaka, Japan) των 5°C. Τα δείγματα εξετάστηκαν την ημέρα 0 και μετά από 7 ημέρες συντήρησης (ημέρα 7) με τις κλασσικές μικροβιολογικές αναλύσεις.



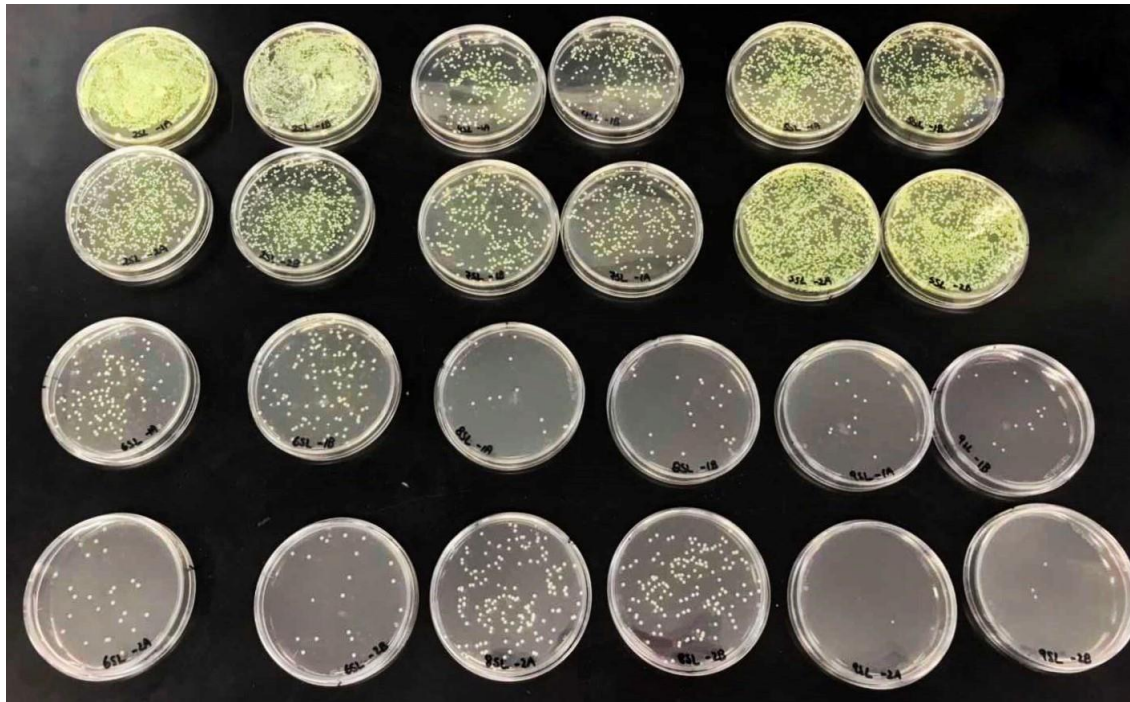
**Εικόνα 9.2:** Μικροβιολογικές αναλύσεις των δειγμάτων των δύο μακροφυκών.

### 9.1. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Παραλαμβάνονται 15 g από κάθε δείγμα φυκών ασηπτικά, τοποθετούνται σε ειδική σακούλα ομογενοποίησης με φίλτρο (BagLight®, INTERSCIENCE, France) και προστίθεντο 135 ml διαλυτικού μέσου MRD ( 8,5 g/L NaCl, 1 g/L Bacteriological Peptone (Lab M) ). Η σακούλα με το αραιωμένο δείγμα τοποθετούταν στο Stomacher (Lab Blender 400, Seward Medical, London) και μετά από 120 δευτερόλεπτα παραλαμβάνονται για να γίνουν στην συνέχεια οι διαδοχικές δεκαδικές αραιώσεις και ο εμβολιασμός των τρυβλίων με τα αποστειρωμένα θρεπτικά μέσα. Όταν επρόκειτο για υλικό επιφανειακής επίστρωσης, εμβόλιο όγκου 0.1 ml μεταφερόταν με μηχανική πιπέτα στην επιφάνεια του θρεπτικού υποστρώματος και εξαπλωνόταν με τη βοήθεια μικροβιολογικού τριγώνου. Αντίστοιχα, όταν επρόκειτο για υλικό ενσωμάτωσης, εμβόλιο όγκου 1 ml μεταφερόταν με μηχανική πιπέτα σε κενό τρυβλίο

Petri και στη συνέχεια τοποθετούνταν διαδοχικά δύο επιστρώσεις από το υγρό θρεπτικό υπόστρωμα. Τα εμβολιασμένα τρυβλία επώζονταν σε κλιβάνους ορισμένης θερμοκρασίας για ορισμένο χρονικό διάστημα, ώστε να αναπτυχθούν οι μικροβιακές αποικίες, ανά υλικό. Σε τελικό στάδιο, πραγματοποιούνταν η παρατήρηση και η καταμέτρηση των αποικιών. Τα θρεπτικά υποστρώματα που χρησιμοποιήθηκαν, οι αντίστοιχοι μικροοργανισμοί καθώς και οι συνθήκες επώασης ήταν τα εξής:

- Marine Agar (Condalab, Madrid, Spain) για την καταμέτρηση του βακτηριακού φορτίου. Η επώαση γινόταν στους 30°C για 48 ώρες.
- Pseudomonas Agar Base (LAB M., Heywood, U.K.) με την προσθήκη του επιλεκτικού αντιβιοτικού Ceftrimide-Fusidin-Cephaloridine (Modified C.F.C. X108, LAB M, UK) για την καταμέτρηση των *Pseudomonas spp.* Η επώαση γινόταν στους 25°C για 48 ώρες.
- Violet Red Bile Glucose Agar (Biolife, Milan, Italy) για την καταμέτρηση της οικογένειας *Enterobacteriaceae*. Η επώαση γινόταν στους 37°C για 24 ώρες.
- Aeromonas Agar (LAB167) με την προσθήκη αντιβιοτικού αμπικιλλίνη, για την απομόνωση του *Aeromonas spp.*
- TCBS Kobayashi Agar (Biolife, Milan, Italy) για την απομόνωση και την απαρίθμηση των ειδών *Vibrio*. Η επώαση γινόταν στους 37°C για 24 ώρες.



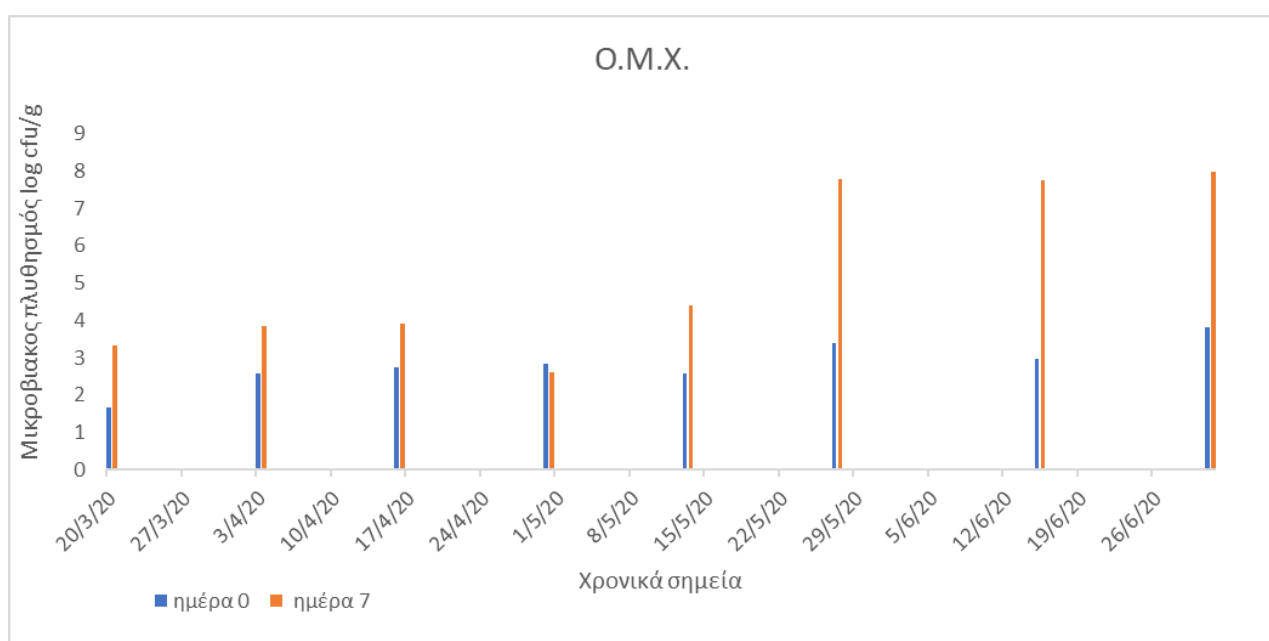
**Εικόνα 9.2:** Ανάπτυξη βακτηριακών αποικιών στο θρεπτικό υπόστρωμα γενικού σκοπού Marine agar.

## 10. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ

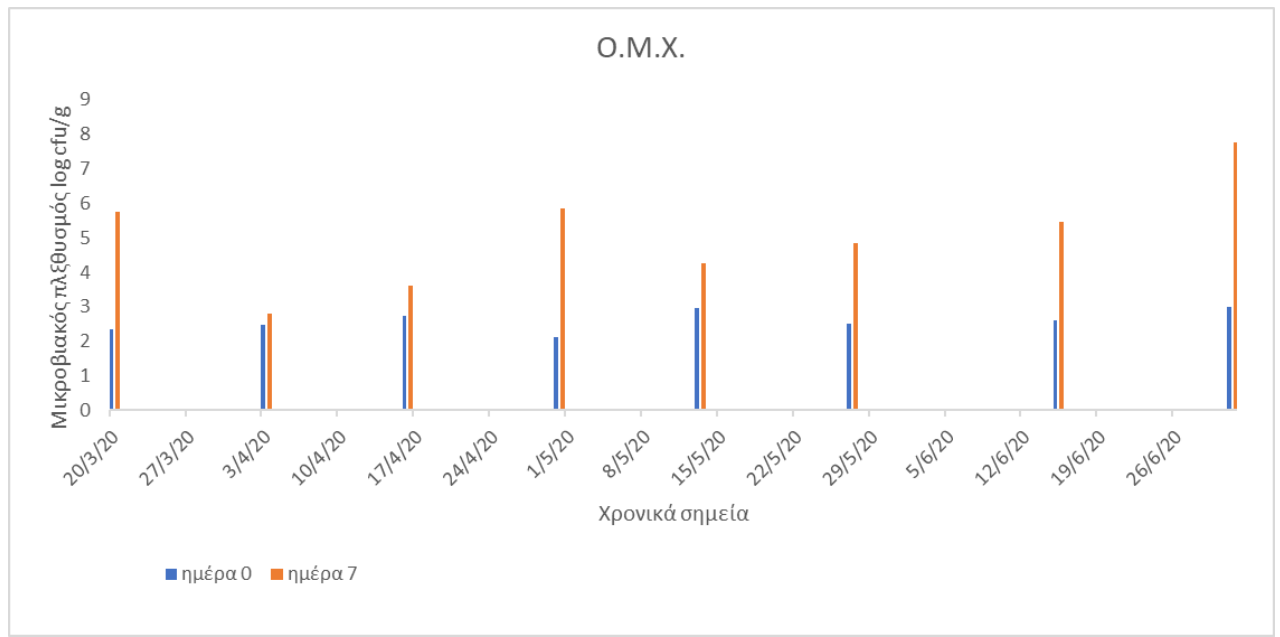
Οι κατηγορίες μικροοργανισμών που μελετήθηκαν ήταν η Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (ΟΜΧ), τα βακτήρια των γενών *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Aeromonas*, αλλά και τα εντεροβακτήρια. Στους παρακάτω πίνακες παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της καταμέτρησης των εξεταζόμενων μικροοργανισμών και στα δύο είδη φυκών για κάθε χρονικό σημείο που συλλέχθηκαν. Η έκφραση των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε σε  $\log_{10}$  CFU/g.

Παρατηρείται γενικά ότι την ημέρα 0, αποτελέσματα εμφανίστηκαν μόνο για την Ολική μεσόφιλη χλωρίδα και στα δύο είδη φυκών. Όπως φαίνεται στο **Γράφημα 10.1** και **10.2**, τα αποτελέσματα την ημέρα 0 και για τα δύο είδη δεν ξεπερνάνε τα 3  $\log$  CFU/g, με εξαίρεση τα τελευταία χρονικά σημεία του φύκους *A. esculenta*, ενώ αντίστοιχα την 7<sup>η</sup> μέρα συντήρησης τα αποτελέσματα είναι μικρότερα από 7.0  $\log$  CFU/g, με εξαίρεση πάλι τα τελευταία χρονικά σημεία του φύκους *A. esculenta*. Το βακτήριο *Aeromonas* (**Πίνακας 10.1**), την ημέρα 0, ανιχνεύθηκε κοντά στο όριο καταμέτρησης (1.0  $\log$  CFU/g) μόνο στο φύκος *S. latissima*, ενώ μετά από 7 ημέρες συντήρησης ανιχνεύθηκε μόνο στο φύκος *A. esculenta*. Γενικά, την 7<sup>η</sup> ημέρα συντήρησης, υπήρξε εμφάνιση ανάπτυξης και των υπόλοιπων μικροοργανισμών, πέραν της Ολικής μεσόφιλης χλωρίδας, αλλά όχι για όλα τα χρονικά σημεία. Τα είδη

του γένους *Pseudomonas* ανιχνεύθηκαν σε περισσότερα χρονικά σημεία της *S. latissima* παρά στο φύκος *A. esculenta* (Πίνακας 10.2). Επίσης, τα βακτήρια του γένους *Vibrio* ανιχνεύθηκαν σε δύο μόνο χρονικά σημεία και για τα δύο είδη φυκών, όπως φαίνεται και στον Πίνακα 10.3. Αξίζει να σημειωθεί ότι υπάρχει αυξημένος μικροβιακός πληθυσμός στα τελευταία χρονικά σημεία, δηλαδή στα δείγματα που συλλέχθηκαν τους καλοκαιρινούς μήνες. Ενώ και τα δύο είδη συλλέχθηκαν από γειτνιαζόντες καλλιέργειες, παρατηρείται ότι τα φύκη του γένους *Saccharina*, παρουσίασαν μικρότερους μικροβιακούς πληθυσμούς από τα αντίστοιχα του γένους *Alaria*, όπως αποδείχθηκε και βιβλιογραφικά (Blikra et al., 2018). Η εξήγηση αυτή μπορεί να αποδοθεί στην ύπαρξη παλυσσακχαριτών και άλλων αντιμικροβιακών ουσιών στην επιφάνεια των φυκών του γένους αυτού (Del Olmo et al, 2018). Τέλος τα βακτήρια της οικογένειας Enterobacteriaceae ανιχνεύθηκαν σε δυο χρονικά σημεία και σε χαμηλές τιμές (Πίνακας 10.4), γεγονός που αποτελεί σημαντική ένδειξη για την μικροβιολογική ποιότητα των δειγμάτων, καθώς θεωρείται δείκτης υγιεινής.



**Γράφημα 10.1 :** Ανάπτυξης της OMX των διάφορων χρονικών σημείων του φύκους *Alaria esculenta* την ημέρα 0 και μετά από 7 ημέρες συντήρησης στους 5°C



**Γράφημα 10.2 :** Ανάπτυξης της OMX των διάφορων χρονικών σημείων του φύκους *Saccharina latissima* την ημέρα 0 και μετά από 7 ημέρες συντήρησης στους 5°C

**Πίνακας 10.1:** Αποτελέσματα ανάπτυξης του βακτηρίου *Aeromonas* για τα διάφορα χρονικά σημεία του φύκους *S. latissima* την ημέρα 0 και του φύκους *A. esculenta* την ημέρα 7

Χρονικά σημεία <i>A. esculenta</i>	log (cfu/g) ημέρα 7	Χρονικά σημεία <i>S. latissima</i>	log (cfu/g) ημέρα 0
#2 ΑΕ	-	#2 SL	1
#3 ΑΕ	2	#3 SL	1
#4 ΑΕ	2.3	#4 SL	-
#5 ΑΕ	-	#5 SL	1
#6 ΑΕ	-	#6 SL	-
#7 ΑΕ	-	#7 SL	1.69
#8 ΑΕ	2.87	#8 SL	1.48
#9 ΑΕ	-	#9 SL	2.3

**Πίνακας 10.2:** Αποτελέσματα ανάπτυξης του βακτηρίου *Pseudomonas* για τα διάφορα χρονικά σημεία των φυκών *A. esculenta* και *S. latissima* την ημέρα 7

Χρονικά σημεία <i>A. esculenta</i>	log(cfu/g) ημέρα 7	Χρονικά σημεία <i>S. latissima</i>	log(cfu/g) ημέρα 7
#2 ΑΕ	-	#2 SL	
#3 ΑΕ	-	#3 SL	-
#4 ΑΕ	-	#4 SL	-
#5 ΑΕ	-	#5 SL	
#6 ΑΕ	5.52	#6 SL	4.35
#7 ΑΕ	-	#7 SL	-
#8 ΑΕ	-	#8 SL	4.23
#9 ΑΕ	3	#9 SL	3.3

**Πίνακας 10.3:** Αποτελέσματα ανάπτυξης των ειδών *Vibrio* για τα διάφορα χρονικά σημεία των φυκών *A. esculenta* και *S. latissima* την ημέρα 7

Χρονικά σημεία <i>A. esculenta</i>	log(cfu/g) ημέρα 7	Χρονικά σημεία <i>S. latissima</i>	log(cfu/g) ημέρα 7
#2 ΑΕ	-	#2 SL	
#3 ΑΕ	-	#3 SL	-
#4 ΑΕ	-	#4 SL	2
#5 ΑΕ	-	#5 SL	2
#6 ΑΕ	4.47	#6 SL	-
#7 ΑΕ	-	#7 SL	-
#8 ΑΕ	-	#8 SL	-
#9 ΑΕ	2	#9 SL	-

**Πίνακας 10.4:** Αποτελέσματα ανάπτυξης των εντεροβακτηρίων για τα διάφορα χρονικά σημεία των φυκών *A. esculenta* και *S. latissima* την ημέρα 7

Χρονικά σημεία <i>A. esculenta</i>	log(cfu/g) ημέρα 7	Χρονικά σημεία <i>S. latissima</i>	log(cfu/g) ημέρα 7
#2 ΑΕ	-	#2 SL	-
#3 ΑΕ	-	#3 SL	-
#4 ΑΕ	2	#4 SL	-
#5 ΑΕ	-	#5 SL	2.3
#6 ΑΕ	-	#6 SL	-
#7 ΑΕ	-	#7 SL	-
#8 ΑΕ	-	#8 SL	-
#9 ΑΕ	2.3	#9 SL	2

**Πίνακας 10.5:** Ομαδοποιημένα αποτελέσματα της χρώσης κατά Gram και των τεστ οξειδάσης & καταλάσης των διάφορων χρονικών σημείων για το είδος *A. esculenta*

Χρονικά σημεία <i>A. esculenta</i>	μέγεθος (mm)	χρώμα	οξειδάση	καταλάση	Gram	σχήμα
#2 ΑΕ	<3	μπεζ	-	+	-	βάκιλλοι
#3 ΑΕ	<1	μπεζ	-	+	-	βάκιλλοι
#4 ΑΕ	<4	μπεζ/πορτοκαλί/ροζ	-	+	±	κοκκοβάκιλοι/βάκιλλοι
#5 ΑΕ	<2	μπεζ	±	+	±	κόκκοι/βάκιλλοι
#6 ΑΕ	<3	μπεζ	-	+	-	βάκιλλοι
#7 ΑΕ	<1	μπεζ	-	+	-	βάκιλλοι
#8 ΑΕ	<3	μπεζ/κίτρινο	±	+	±	κοκκοβάκιλοι/βάκιλλοι
#9 ΑΕ	<1	μπεζ/κίτρινο/πορτοκαλί	-	+	±	κοκκοβάκιλοι/βάκιλλοι

**Πίνακας 10.6:** Ομαδοποιημένα αποτελέσματα της χρώσης κατά Gram και των τεστ οξειδάσης & καταλάσης των διάφορων χρονικών σημείων για το είδος *S. latissima*

Χρονικά σημεία <i>S. latissima</i>	μέγεθος (mm)	χρώμα	οξειδάση	καταλάση	Gram	σχήμα
#2 SL	<1	μπεζ	±	+	±	βάκιλλοι
#3 SL	<2	μπεζ/πορτοκαλί	-	+	-	βάκιλλοι
#4 SL	<1	πεζ	-	+	±	βάκιλλοι
#5 SL	2	μπεζ	-	+	+	βάκιλλοι
#6 SL	<2	μπεζ	+	+	-	βάκιλλοι
#7 SL	1	μπεζ/κίτρινο	±	+	±	κοκκοβάκιλοι/βάκιλλοι
#8 SL	<3	μπεζ/κίτρινο/πορτοκαλί	±	+	±	κοκκοβάκιλοι/βάκιλλοι
#9 SL	<3	μπεζ/πορτοκαλί	±	+	±	κοκκοβάκιλοι/βάκιλλοι



## 11. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η αντιμετώπιση θεμάτων ασφάλειας που σχετίζονται με την ανθρώπινη κατανάλωση φυκών απαιτείται για την ευρεία χρήση τους σε εφαρμογές τροφίμων. Βιώσιμες στρατηγικές μετριασμού πολλαπλών στόχων έναντι μικροβιολογικών και χημικών κινδύνων (παθογόνοι μικροοργανισμοί, βαρέα μέταλλα, αλλεργιογόνα) οδηγούν στη βελτίωση της ασφάλειας των τροφίμων των φυκών και των παράγωγων προϊόντων (Brown et al., 2014). Υπάρχουν ελάχιστες μελέτες διερεύνησης της μικροβιακής ποικιλομορφίας και εκτίμησης της μικροβιακής ανάπτυξης για τον προσδιορισμό της διάρκειας ζωής των εδώδιμων μακροφυκών. Όμως, τα φύκη λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς τους σε υγρασία και θρεπτικών συστατικών, μπορούν να θεωρηθούν ως ευαλλοιώτα τρόφιμα (Singh & Reddy, 2014). Η ταχεία φθορά των φυκών μετά τη συγκομιδή μπορεί να αποφευχθεί μέσω τεχνικών σταθεροποίησης, για παράδειγμα μέσω λύσεων προσωρινής αποθήκευσης πριν από την τελική επεξεργασία, άμεσης χρήσης σε τρόφιμα και συντήρηση σε χαμηλές θερμοκρασίες. Οι καινοτόμες στρατηγικές ξήρανσης και εναλλακτικής επεξεργασίας μπορούν να μειώσουν την κατανάλωση ενέργειας και τον χρόνο επεξεργασίας, ενώ ταυτόχρονα βελτιώνουν την ασφάλεια καθώς και τις θρεπτικές και αισθητηριακές ιδιότητες του προϊόντος (Lyttou et al., 2021 ; Tello-Ireland et al., 2011).

Λαμβάνοντας υπόψη την ανάγκη για συνεχή καινοτομία και για την ικανοποίηση των μεταβαλλόμενων προτιμήσεων των καταναλωτών, τα φύκη προσφέρουν μερικές ενδιαφέρουσες δυνατότητες για τη δημιουργία νέων προϊόντων διατροφής (Hollants et al., 2013). Μελέτες σχετικά με τη χρήση των φυκών ως συστατικά τροφίμων θα ανοίξουν νέους ορίζοντες για τη βιομηχανία τροφίμων, προσφέροντας οφέλη διατροφής και υγείας με βάση τη χρήση αυτού του άφθονου, αλλά επί του παρόντος υποτιμημένου, φυσικού πόρου (Kumar et al., 2008). Παρά την αυξανόμενη δημοτικότητα της ασιατικής κουζίνας και την αντίληψη των δυτικών καταναλωτών για τα φύκη ως «υγιεινή υπερτροφή», η κατανόηση της συμπεριφοράς των καταναλωτών σε σχέση με νέα τρόφιμα και η διευκόλυνση των αποφάσεων που βασίζονται στην πληροφόρηση θα μπορούσε να μειώσει τον δυνητικό σκεπτικισμό των καταναλωτών (Ibañez & Cifuentes, 2013).

## 12. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Abe, J.-I., Kotla, S., Yu, J., Baker, A.B., Patil, N.P., Le, V., Sligar, A.D, Mei, L., Chavarria, D., Yang, E.Y., 2018. Algal Polysaccharides as Therapeutic Agents for Atherosclerosis. *Front. Cardiovasc. Med.*, 5, 153.

AFSSA. (2009). Opinion of the French Food Safety Agency on the recommended maximum inorganic arsenic content of laminaria and consumption of these seaweeds in light of their high iodine content. Maisons-Alfort, France: AFSSA

Anderson, A.D., Daubert, C.R., Farkas, B.E., 2002. Rheological characteristics of skim milk stabilized with carrageenan at high temperatures. *J. Food Sci.* 67, 649

Annunziata, A., & Vecchio, R. 2011. Functional foods development in the European market: A consumer perspective. *Journal of Functional Foods*, 3(3), 223-228

ANSES. (2018). Opinion of the French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety on the risk of excess iodine intake from the consumption of seaweed in foodstuffs. MaisonsAlfort, France: ANSES

Aryee AN, A., Agyei, D., Akanbi, T.O., 2018 Recovery and Utilization of Seaweed Pigments in Food Processing. *Curr. Opin. Food Sci.*, 19, 113–119.

Azarakhsh, N., Osman, A., Ghazali, H.M., Tan, C.P., Mohd Adzahan, N., 2014. Lemongrass essential oil incorporated into alginate-based edible coating for shelf-life extension and quality retention of fresh-cut pineapple. *Postharvest Biol. Technol.* 88, 1–7

Baker-Austin, C., Oliver, J.D., Alam, M., Ali, A., Waldor, M.K., Qadri, F., Martinez-Urtaza, J., 2018. *Vibrio* spp. infections. *Nat. Rev. Dis. Primers*, 4, 1–19.

Barberi, O.N., Byron, C.J., Kristin M. Burkholder<sup>2</sup> & Adam T. St. Gelais<sup>1,3</sup> & Alicia K. Williams<sup>1</sup>, 2020. Assessment of bacterial pathogens on edible macroalgae in coastal waters. *Journal of Applied Phycology* 32:683–690

Barott, K., Smith, J., Dinsdale, E., Hatay, M., Sandin, S., Rohwer, F., 2009. 'Hyperspectral and Physiological Analyses of Coral-Algal Interactions', *PLoS ONE*, 4(11), p. 8043.

Barsanti, L., Gualtieri, P., 2014. *Algae Anatomy, Biochemistry and Biotechnology*, CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2014

Bengtsson MM, Sjøtun K, Øvreås L (2010) Seasonal dynamics of bacterial biofilms on kelp (*Laminaria hyperborea*). *Aquat Microb Ecol* 60:71–83

Besada, V., J. M. Andrade, F. Schultze, and J. J. Gonzalez. 2009. Heavy metals in edible seaweeds commercialised for human consumption. *Journal of Marine Systems* 75 (1-2):305–13.

Besagas R.L., 2018. Microbiological profile of cultured seaweeds *kappaphycus alvarezii*. *International Journal of Biosciences (IJB)*,140-145

Biancarosa, I., Belghit, I., Bruckner, C.G., Liland, N.S., Waagbo, R., Amlund, H., Heesch, S., Lock, E.J., 2018. Chemical characterization of 21 species of marine macroalgae common in Norwegian waters: Benefits of and limitations to their potential use in food and feed. *J. Sci. Food Agric.*, 98, 2035–2042.

Biesalski, H.-K., Dragsted, L. O., Elmadfa, I., Grossklaus, R., Müller, M., Schrenk, D., Weber, P. 2009. Bioactive compounds: Safety and efficacy. *Nutrition*, 25(11), 1206-1211.

Bixler, H. J., H. Porse., 2010. A decade of change in the seaweed hydrocolloids industry. *Journal of Applied Phycology*: DOI 10.1007/s10811-010-9529-3

Bixler, H., & Porse, H. 2011. A decade of change in the seaweed hydrocolloids industry. *Journal of Applied Phycology*, 23(3), 321-335.

Bleakley, S., Hayes, M., 2017. Algal Proteins: Extraction, Application, and Challenges Concerning Production. *Foods* 6.

Blikra, M.J., Løvdal, T.a, Vaka, M. R., Roiha, I. S., Lunestad, B. T., Lindseth, C. Skipnes, D., 2018., Assessment of food quality parameters for brown macroalgae (*Alaria esculenta* and *Saccharina latissima*). Institute of Marine Research.

Blikra, M. J., Løvdal, T., Vaka, M. R., Roiha, I. S., Lunestad, B. T., Lindseth, C., Skipnes, D., 2019., Assessment of food quality and microbial safety of brown macroalgae (*Alaria esculenta* and *Saccharina latissima*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(3), 1198–1206.

Bogacz-Radomska, L., Harasym, J., Piwowar, A., 2020. Commercialization aspects of carotenoids. In *Carotenoids: Properties, Processing and Applications*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, pp. 327–357

Bonnin-Jusserand, M., Copin, S., Le Bris, C.; Brauge, T., Gay, M.; Brisabois, A., Grard, T., Midelet-Bourdin, G., 2019. *Vibrio* species involved in seafood-borne outbreaks (*Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus* and *V. vulnificus*): Review of microbiological versus recent molecular detection methods in seafood products. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 59, 597–610.

Bouanati, T., Colson, E., Moins, S., Cabrera, J.C., Eeckhaut, I., Raquez, J.M., Gerbaux, P., 2020. Microwave-assisted depolymerization of carrageenans from *Kappaphycus alvarezii* and *Eucheuma spinosum*: Controlled and green production of oligosaccharides from the algae biomass. *Algal. Res.*, 51, 102054.

- Boukid, F., Castellari, M., 2021. Food and Beverages Containing Algae and Derived Ingredients Launched in the Market from 2015 to 2019: A Front-of-Pack Labeling Perspective with a Special Focus on Spain. *Foods*, 10, 173
- Brennan, L., Owende, P., 2010. 'Biofuels from microalgae — A review of technologies for production , processing , and extractions of biofuels and co-products', 14, pp. 557–577. doi: 10.1016/j.rser.2009.10.009.
- Brown, E.M., Allsopp, P.J., Magee, P.J., Gill, C.I., Nitecki, S., Strain, C.R., et al., 2014. Seaweed and human health. *Nutr. Rev.* 72 (3), 205–216.
- Burke C, Thomas T, Lewis M, Steinberg P, Kjelleberg S (2011a) Composition, uniqueness and variability of the epiphytic bacterial community of the green alga *Ulva australis*. *ISME J* 5:590–600
- Bykova, N., LoDuca S.T., Ye, Q., Marusin, V.V., Grazhdankin, D.V., Xiao, S., 2020. 'Seaweeds through time: Morphological and ecological analysis of Proterozoic and early Paleozoic benthic macroalgae', *Precambrian Research*, 350, p. 105875
- CEVA. (2014). Edible seaweed and French regulation - Synthesis made by CEVA (31/03/2014). Pleubian, France: CEVA
- Champagne, C.P., 2013. Algal Hydrocolloids for the Production and Delivery of Probiotic Bacteria. *Functional Ingredients from Algae for Foods and Nutraceuticals*. Elsevier Science, United Kingdom pp. 671–693
- Chapman, V., 2012. *Seaweeds and their uses*: Springer Science & Business Media
- Chen, Q., Pan, X. D., Huang, B. F., & Han, J. L., 2018. Distribution of metals and metalloids in dried seaweeds and health risk to population in southeastern China. *Scientific Reports*, 8(1), 3578
- Choi, E. S., Kim, N. H., Kim, H. W., Kim, S. A., Jo, J. I., Kim, S. H., ... Rhee, M. S., 2014. Microbiological quality of seasoned roasted laver and potential hazard control in a real processing line. *Journal of Food Protection*, 77(12), 2069–2075.
- Chojnacka Katarzyna, Saeid Agnieszka, Witkowska Zuzanna and Tuhy Łukasz 2012. Biologically Active Compounds in Seaweed Extracts - the Prospects for the Application, *The Open Conference Proceedings Journal*, 3: 20-28.
- Cofrades, S., 2013. Design of Healthier Foods and Beverages Containing Whole Algae. *Functional Ingredients from Algae for Foods and Nutraceuticals*. Elsevier Science, United Kingdom, pp. 609–633.
- Cofrades, S., Benedí, J., Garcimartin, A., Sánchez-Muniz, F.J., Jimenez-Colmenero, F., 2017. A comprehensive approach to formulation of seaweed-enriched meat products: From technological development to assessment of healthy properties. *Food Res. Int.* 99, 1084–1094

- Cook, M.T., Tzortzis, G., Charalampopoulos, D., Khutoryanskiy, V.V., 2012. Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. *J. Control Release* 162, 56–67.
- Costa, D. S., Araujo, T. S., Sousa, N. A., Souza, L. K., Pacifico, D. M., Sousa, F., Medeiros, J. V. R., 2016. Sulphated polysaccharide isolated from the seaweed *Gracilaria caudata* exerts an antidiarrhoeal effect in rodents. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 118(6), 440–448.
- Cox, S., Abu-Ghannam, N., & Gupta, S., 2010. An assessment of the antioxidant and antimicrobial activity of six species of edible Irish seaweeds. *International Food Research Journal* 17, 205-220
- Cuellar-Bermudez, S.P., Garcia-Perez, J.S., Rittmann, B.E., Parra-Saldívar, R., 2015. Photosynthetic bioenergy utilizing CO<sub>2</sub>: An approach on flue gases utilization for third generation biofuels. *J. Clean. Prod.* 98.
- Del Olmo, A.; Picon, A.; Nuñez, M. The microbiota of eight species of dehydrated edible seaweeds from North West Spain. *Food Microbiol.* 2018, 70, 224–231.
- Demirbas A., Demirbas M.F., 2010. *Algae Energy*. Springer London Dordrecht Heidelberg New York p. 76-77.
- Desai, K.G.H., Park, H.J., 2005. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Dry. Technol.* 23, 1361–1394.
- Desideri, D., Cantaluppi, C., Ceccotto, F., Meli, M. A., Roselli, C., & Feduzi, L. (2016). Essential and toxic elements in seaweeds for human consumption. *Journal of Toxicology and Environmental Health A*, 79(3), 112–122.
- Devina Lobine, Kannan R. R. Rengasamy & Mohamad Fawzi Mahomoodally 2021. Functional foods and bioactive ingredients harnessed from the ocean: current status and future perspectives.
- Dhargalkar, V. K., & Pereira, N., 2005. Seaweed: Promising plant of the millennium. *Science and Culture*, 71(3-4), 60–66.
- Do Nascimento, C.T., Nass, P.P., Fernandes, S.A., Vieira, R.K., Wagner, R., Jacob-Lopes, E., Zepka, Q.L., 2020. Exploratory data of the microalgae compounds for food purposes. *Data in Brief*, 29, 1-9. DOI. 10.1016/j.dib.2020.105182
- Draget, K.I., Moe, S.T., Skjåk-Bræk, G., Smidsrød, O., 2006. Alginates. In: Stephen, A.M., Phillips, G.O. (Eds.), *Food Polysaccharides and Their Applications*. CRC Press, pp. 239–287.
- Dumay, J., Morançais, M., 2016. Proteins and Pigments. In *Seaweed in Health and Disease Prevention*, 1st ed.; Fleurence, J., Levine, I., Eds.; Academic Press: London, UK, pp. 275–318.

EFSA. (2004a). Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the Commission related to mercury and methylmercury in food. The EFSA Journal, 34, 1–14.

EFSA. (2006a). Statement on a request from the Commission related to iodine in seaweed. The EFSA Journal, 4(10), 2. [https://doi.org/ 10.2903/j.efsa.2006.1046](https://doi.org/10.2903/j.efsa.2006.1046)

EFSA. (2009b). Scientific opinion on arsenic in food. The EFSA Journal, 7(10), 199.

EFSA. (2010c). Scientific opinion on the substantiation of health claims related to iodine and contribution to normal cognitive and neurological function (ID 273), contribution to normal energy-yielding metabolism (ID 402), and contribution to normal thyroid function and production of thyroid hormones (ID 1237) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. The EFSA Journal, 8(10), 15.

EFSA. (2012a). Cadmium dietary exposure in the European population. The EFSA Journal, 10(1), 37. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2551>

EFSA. (2012b). Lead dietary exposure in the European population. The EFSA Journal, 10(7), 59. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2831>

EFSA. (2013). Scientific opinion on the safety and efficacy of iodine compounds (E2) as feed additives for all animal species: Calcium iodate anhydrous, based on a dossier submitted by Calibre Europe SPRL/BVBA. The EFSA Journal, 11(2), 35. [https://doi.org/ 10.2903/j.efsa.2013.3100](https://doi.org/10.2903/j.efsa.2013.3100)

EFSA. (2014a). Dietary exposure to inorganic arsenic in the European population. The EFSA Journal, 12(3), 68.

EFSA. (2014b). Scientific opinion on dietary reference values for iodine. The EFSA Journal, 12(5), 57.

Egan S, Harder T, Burke C, Steinberg P, Kjelleberg S, Thomas T (2013) The seaweed holobiont: understanding seaweed–bacteria interactions. *FEMS Microbiol Rev* 37:462–476

Egan, S., Harder, T., Burke, C., Steinberg, P., Kjelleberg, S., Thomas, T., 2013. The seaweed holobiont: Understanding seaweed-bacteria interactions. *FEMS Microbiol. Rev.*, 37, 462–476.

Elleuch, M., Bedigian, D., Roiseux, O., Besbes, S., Blecker, C., & Attia, H. 2011. Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. *Food Chemistry*, 124(2), 411-421

European Union (EU). (2002). Directive 2002/32/EC of the European Parliament and of the Council of 7 May 2002 on undesirable substances in animal feed. *Official Journal of the European Communities*, 45(L 140), 10–21

- European Union (EU). (2005a). Commission Regulation (EC) No 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs. Official Journal of the European Union, 48(L 338), 1–26.
- European Union (EU). (2005b). Regulation (EC) No 396/2005 of the European Parliament and of the Council of 23 February 2005 on maximum residue levels of pesticides in or on food and feed of plant and animal origin and amending Council Directive 91/414/EEC. Official Journal of the European Union, 56(L 70), 1–17.
- European Union (EU). (2006). Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal of the European Union, 49(L 364), 5–24
- Evans, F., & Critchley, A. 2014. Seaweeds for animal production use. *Journal of applied phycology*, 26(2), 891-899.
- FAO (2016). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2016 (SOFIA)*.
- FAO (2021). *Global status of seaweed production, trade and utilization*
- Farmer, J.J.. 2006. The family Vibrionaceae. In *The Prokaryotes: Volume 6: Proteobacteria: Gamma Subclass*; Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H., Stackebrandt, E., Eds.; Springer: New York, NY, USA,
- Fleurence, J., Moranchais, M. Dumay, J., 2018. Seaweed proteins. In *Proteins in Food Processing*, 2nd ed.; Yada, R.Y., Ed.; Woodhead Publishing: Cambridge, UK, pp. 245–262
- From, C.; Hormazabal, V.; Granum, P.E., 2007. Food poisoning associated with pumilacidin-producing *Bacillus pumilus* in rice. *Int. J. Food Microbiol.*, 115, 319–324.
- Gamero-Vega G., Palacios-Palacios M., Quitral V., 2020. Nutritional Composition and Bioactive Compounds of Red Seaweed, 2020, A Mini-Review. *J. Food Nutr. Res.*;8:431–440.
- Ghildiyal., J. C., Rajwar, G.S., Tewari, Lalit., Juyal, Pooja, Kandpal, Hemant, 2019. *Phycology and Bryology*, Uttarakhand Open University
- Gómez-ordóñez, E, Jiménez-escrig, A, & Rupérez, P., 2010. Dietary fibre and physicochemical properties of several edible seaweeds from the northwestern Spanish coast. *Food Research International*, 43, 2289-2294.
- Gouveia L, Oliveira A.C., 2009. Microalgae as a raw material for biofuels production. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 36:269–74.
- Granum, P.E., 2007. *Bacillus cereus*. In *Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers*; Doyle, M.P., Beuchat, L.R., Eds.; ASM Press: Washington, DC, USA, pp. 445–455.

Granum, P.E.; Braid-Parker, T.C. *Bacillus* species. In *The Microbiological Safety and Quality of Food*; Lund, B.M., Braid-Parker, T.C., Gould, G.W., 2000. Eds.; Aspen Publishers: Gaithersburg, MD, USA, Volume II, pp. 1029–1039.

Gullon, P., Astray, G., Gullón, B., Franco, D., Campagnol, P.C.B., Lorenzo, J.M, 2020. Inclusion of seaweeds as healthy approach to formulate new low-salt meat products. *Curr. Opin. Food Sci.* 40, 20–25

Gupta S, Agrawal SC., 2004a Vegetative survival and reproduction under submerged and air-exposed conditions and vegetative survival as affected by salts, pesticides, and metals in aerial green alga *Trentepohlia aurea*. *Folia Microbiol* 49:37–40

Gupta S, Agrawal SC., 2004b. Zoosporangia survival, dehiscence and zoospore formation, and motility in the green alga *Rhizoclonium hieroglyphicum* as affected by different factors. *Folia Microbiol* 49:549–556

Gupta S, Agrawal SC., 2007. Survival and reproduction in some algae under stress conditions. *Folia Microbiol* 52:603–617

Gupta, S., & Abu-Ghannam, N., 2011. Recent developments in the application of seaweeds or seaweed extracts as a means for enhancing the safety and quality attributes of foods. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 12(4), 600-609.

Gupta, S., Cox, S., Rajauria, G., Abu-Ghannam, N., Jaiswal, A.K., 2010 Growth inhibition of common food spoilage and pathogenic microorganisms in the presence of brown seaweed extracts. *Food Bioproc. Tech.*, 5, 1–10

Hamid, N., Ma, Q., Boulom, S., Liu, T., Zheng, Z., Balbas, J., Robertson, J., 2015. Seaweed minor constituents. In *Seaweed Sustainability*, 1st ed.; Tiwari, B.K., Troy, D.J., Eds.; Academic Press: London, UK, pp. 193–242.

Harlin, M.M., Darley W.M., 1988. The algae: an overview. In: *Algae and Human Affairs* (Lembi CA and RA Waaland, eds), pp 3-27, Cambridge University Press, Cambridge.

Harun R., Singh M., Forde G. M., Danquah M. K., 2010 "Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products". *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(3): 1037-1047

Hennequant, F., Elaine O' Connel, Spence J., Tuohy M.G., 2004. Brown macro-algae, *Aqua Feeds: Formulation and Beyond*, 1: 14-17.

Holdt, S. L., Kraan, S., 2011. Bioactive compounds in seaweed: Functional food applications and legislation. *Journal of Applied Phycology*, 23(3), 543–597.

Hollants, J.; Leliaert, F.; De Clerck, O.; Willems, A. What we can learn from sushi: A review on seaweed-bacterial associations. *FEMS Microbiol. Ecol.* 2013, 83, 1–16. [CrossRef] [PubMed]



- Hollants, J.; Leliaert, F.; De Clerck, O.; Willems, A., 2013 What we can learn from sushi: A review on seaweed-bacterial associations. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 83, 1–16.
- Holmer, M., 2010. Environmental issues of fish farming in offshore waters: perspectives, concerns and research needs. *Aquaculture Environmental Interactions*. Vol. 1: 57–70.
- Huang, H.-L., Wang, B.-G., 2004. Antioxidant Capacity and Lipophilic Content of Seaweeds Collected from the Qingdao Coastline. *J. Agric. Food Chem.*, 52, 4993–4997
- Huesemann, M. H, Kuo, G, Urquhart, A, Gill, G. A, & Roesijadi, G., 2012. Acetonebutanol fermentation of marine macroalgae. *Bioresource Technology*, 108, 305
- Hwang, Y. O., Park, S. G., Park, G. Y., Choi, S. M., & Kim, M. Y., 2010. Total arsenic, mercury, lead, and cadmium contents in edible dried seaweed in Korea. *Food Additives & Contaminants Part B-Surveillance*, 3(1), 7–13.
- Ibañez, E., Cifuentes, A., 2013. Benefits of using algae as natural sources of functional ingredients. *J. Sci. Food Agric.* 93, 703-709
- Indergaard, M., Minsaas, J., 1991. 2 “Animal and human nutrition.” in Guiry, M.D. and Blunden, G. 1991. *Seaweed Resources in Europe: Uses and Potential*. John Wiley & Sons. ISBN 0-471-92947-6
- Jassby A., 1988. "Spirulina: a model of microalgae as human food". In: C. Lembi and J. R. Waaland eds. *Algae and Human Affairs*, Cambridge, p. 149-179
- JECFA. (2019b). Mercury. Retrieved from <http://apps.who.int/foodadditives-contaminants-jecfa-database/chemical.aspx?chemID=1806>
- JECFA. (2019c). Methylmercury. Retrieved from <http://apps.who.int/food-additives-contaminants-jecfa-database/chemical.aspx?chemID=3083>
- Jeon, S.-M., Kim, H.-J., Woo, M.-N., Lee, M.-K., Chul Shin, Y., Bok Park, Y., Choi, M.-S., 2010. Fucoxanthin-rich seaweed extract suppresses body weight gain and improves lipid metabolism in high-fat-fed C57BL/6J mice. *Biotechnol. J.*, 5, 961–969.
- Jiang, T., Feng, L., Wang, Y., 2013. Effect of alginate/nano-Ag coating on microbial and physicochemical characteristics of shiitake mushroom (*Lentinus edodes*) during cold storage. *Food Chem.* 141, 954–960.
- Jiménez-Colmenero, F., 2007. Healthier lipid formulation approaches in meat-based functional foods. Technological options for replacement of meat fats by non-meat fats. *Trends in Food Science & Technology*, 18(11), 567-578.
- Journal, B. P., Brawley, S. H., Johnson, L. E., 2007. ‘Gametogenesis, gametes and zygotes: An ecological perspective on sexual reproduction in the algae’

- Kadam, S.U., Prabhasankar, P., 2010. Marine foods as functional ingredients in bakery and pasta products. *Food Res. Int.* 43, 1975–1980.
- Kalman, D., Stout, J.R., Greenwood, M., Willoughby, D.S., Haff, G.G., 2008, Eds.; Humana Press: Totowa, NJ, USA, pp. 237–249.
- Karacalar, U., Turan, G., 2008. Microbiological assays on edible seaweed *Ulva lactuca* (L.) cultured in outdoor tanks. *J. Appl. Biol. Sci.*, 2, 27–30
- Kazir, M., Abuhassira, Y., Robin, A., Nahor, O., Luo, J., Israel, A., Golberg, A., Livney, Y.D., 2019. Extraction of proteins from two marine macroalgae, *Ulva* sp. And *Gracilaria* sp., for food application, and evaluating digestibility, amino acid composition and antioxidant properties of the protein concentrates. *Food Hydrocol.*, 87, 197–203
- Kellogg, J., Esposito, D., Grace, M.H., Komarnytsky, S., Lila, M.A., 2015 Alaskan seaweeds lower inflammation in RAW 264.7 macrophages and decrease lipid accumulation in 3T3-L1 adipocytes. *J. Func. Foods*, 15, 396–407.
- Kim, J. K., Kraemer, G., & Yarish, C., 2019. Evaluation of the metal content of farm grown *Gracilaria tikvahiae* and *Saccharina latissima* from Long Island Sound and New York Estuaries. *Algal Research*, 40, 101484.
- Kokashvili, T., Whitehouse, C.A., Tskhvediani, A., Grim, C.J., Elbakidze, T., Mitaishvili, N., Janelidze, N., Jaiani, E., Haley, B.J., Lashkhi, N., 2015. Occurrence and diversity of clinically important *Vibrio* species in the aquatic environment of Georgia. *Front. Public Health* 2015, 3.
- Koutsaviti, A., Ioannou, E., Roussis, V., 2018. Bioactive seaweed substances. In *Bioactive Seaweeds for Food Applications*, 1st ed.; Quin, Y., Ed.; Academic Press: London, UK, pp. 25–52.
- Koyande, A.K., Chew, K.W., Rambabu, K., Tao, Y., Chu, D.-T., Show, P.-L., 2019. Microalgae: A potential alternative to health supplementation for humans. *Food Sci. Hum. Wellness*, 8, 16–24.
- Koyande, A.K., Show, P.L., Guo, R., Tang, B., Ogino, C., Chang, J.S., 2019. Bio-processing of algal bio-refinery: A review on current advances and future perspectives. *Bioengineered*, 10, 574–592.
- Kraan, S., 2016. Seaweed and Alcohol. *Seaweed in Health and Disease Prevention*. Elsevier Science, Netherlands pp. 169–184
- Kumar, C.S., Ganesan, P., Suresh, P.V., Bhaskar, N., 2008. Seaweeds as a source of nutritionally beneficial compounds - a review. *J. Food Sci. Technol. - Mysore* 45, 1-13
- Kumari, P., Kumar, M., Reddy, C.R.K., Jha, B., 2013. Algal lipids, fatty acids and sterols. In *Functional Ingredients from Algae for Foods and Nutraceuticals*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, pp. 87–134.

- Lachnit T, Blumel M, Imhoff JF, Wahl M (2009) Specific epibacterial communities on macroalgae: phylogeny matters more than habitat. *Aquat Biol* 5:181–186
- Lachnit T, Fischer M, Kunzel S, Baines JF, Harder T (2013) Compounds associated with algal surfaces mediate epiphytic colonization of the marine macroalga *Fucus vesiculosus*. *FEMS Microbiol Ecol* 84: 411–420
- Lähteenmäki-Uutela, A., Rahikainen, M., Camarena-Gómez, M.T., Piiparinen, J., Spilling, K., Yang, B., 2021. 'European Union legislation on macroalgae products', *Aquaculture International*, 29(2), pp. 487–509
- Langendorff, V., Cuvelier, G., Launay, B., et al., 1999. Casein micelle/iota carrageenan interactions in milk: influence of temperature. *Food Hydrocoll.* 13, 211–218.
- Leandro, A., Pacheco, D., Cotas, J., Marques, J.C., Pereira, L., Gonçalves, A., 2020. Seaweed's bioactive candidate compounds to food industry and global food security. *Life (Basel)*, 10, 140.
- Leliaert, F., Smith, D. R., Moreau, H., Herron, M. D., Verbruggen, H., Delwiche, C. F., & De Clerck, O., 2012. Phylogeny and molecular evolution of the green algae. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 31(1), 1-46.
- Logan, N.A.; De Vos, P.; Genus, I. *Bacillus*. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*; De Vos, P., Garrity, G.M., Jones, D., Krieg, N.R., Ludwig, W., Rainey, F.A., Schleifer, K., Whitman, W.B., 2009. Eds.; Springer: New York, NY, USA, Volume 3, pp. 21–128.
- López-lópez, I, Bastida, S, Ruiz-capillas, C, Bravo, L, Larrea, M, Sánchez-muniz, F, Cofrades, S, & Jiménez-colmenero, F., 2009. Composition and antioxidant capacity of low-salt meat emulsion model systems containing edible seaweeds. *Meat Science*, 83, 492-498.
- Lordan, S., Ross, R. P., & Stanton, C., 2011. Marine bioactives as functional food ingredients: potential to reduce the incidence of chronic diseases. *Marine drugs*, 9(6), 1056-1100
- Loureiro, R., CMM Gachon, C. Rebours., 2015. Seaweed cultivation: potential and challenges of crop domestication at an unprecedented pace. *New Phytologist*, [www.newphytologist.com](http://www.newphytologist.com).
- Lüning K, Wagner A, Buchholz C., 2000. Evidence for inhibitors of sporangium formation in *Laminaria digitata* (Phaeophyceae) during the season of rapid growth. *J Phycol* 36:1129–1134
- Lüning, K., & Mortensen, L., 2015. European aquaculture of sugar kelp (*Saccharina latissima*) for food industries: Iodine content and epiphytic animals as major problems. *Botanica Marina*, 58(6), 449–455.

- Lytou, A.E.; Schoina, E.; Liu, Y.; Michalek, K.; Stanley, M.S.; Panagou, E.Z.; Nychas, G.J.E. Quality and safety assessment of edible seaweeds *Alaria esculenta* and *Saccharina latissima* cultivated in Scotland. *Foods* 2021, 10, 2210.
- MacArtain P, Gill CIR, Brooks M, Campbell R, Rowland IR (2007) Nutritional value of edible seaweeds. *Nutr Rev* 65:535–543
- Madslie, E.H.; Ronning, H.T.; Lindback, T.; Hassel, B.; Andersson, M.A.; Granum, P.E., 2013. Lichenysin is produced by most *Bacillus licheniformis* strains. *J. Appl. Microbiol.*, 115, 1068–1080. [
- Maehre, H. K., Malde, M. K., Eilertsen, K. E., & Elvevoll, E. O., 2014. Characterization of protein, lipid and mineral contents in common Norwegian seaweeds and evaluation of their potential as food and feed. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(15), 3281– 3290
- Manjunatha, S.S., Gupta, D.K.D., 2006. Instrumental textural characteristics of restructured carrot cubes. *Int. J. Food Prop.* 9, 453–462.
- Margulis L., 1981. *Symbiosis in Cell Evolution*, W.H. Freeman and Co, San Francisco 419 pp.
- Marik, P.E., Varon, J., 2009. Omega-3 Dietary Supplements and the Risk of Cardiovascular Events: A Systematic Review. *Clin. Cardiol.*, 32, 365–372.
- Marshal H., 2007. Micro-algae as a superfood source: Phytoplankton for future nutrition, *Vegeterian Issues* (Jun): 1-2
- Martin, M., Barbeyron, T., Martin, R., Portetelle, D., Michel, G., and Vandenberg, M. 2015. The cultivable surface microbiota of the brown alga *Ascophyllum nodosum* is enriched in macroalgal-polysaccharide-degrading bacteria. *Front. Microbiol.* 6:1487.
- Massjuk, N.P. & Lilitka, G.G., 2011. Prasinophyceae. In: *Algae of Ukraine: diversity, nomenclature, taxonomy, ecology and geography*. Volume 3: Chlorophyta. (Tsarenko, P.M., Wasser, S.P. & Nevo, E. Eds), pp. 17-20. Ruggell: A.R.A. Gantner Verlag K.-G.
- Mata M. Teresa, António A. Martins, Nidia. S. Caetano 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Volume 14, Issue 1, Pages 217–232
- Mazarrasa, Y. S., Olsen, E., Mayol, N., Marbà, C. M., Duarte, 2014. Global unbalance in seaweed production, research effort and biotechnology markets. *Biotech Adv Mar Biol* 32, 1028
- Miao X.L., Wu Q.Y., 2004. High yield bio-oil production from fast pyrolysis by metabolic controlling of *Chlorella protothecoides*. *J Biotechnol* 110, 85-93.

- Mikami, K., & Hosokawa, M., 2013. Biosynthetic pathway and health benefits of fucoxanthin, an algae-specific xanthophyll in brown seaweeds. *International journal of molecular sciences*, 14(7), 13763-13781.
- Mišurcová, L., Ambrožová, J., Samek, D., 2011. Seaweed Lipids as Nutraceuticals. *Advances in Food and Nutrition Research*, 339–355.
- Moore R., Clark D.W., Stern K.R., Vodopich D., 1996. Classification of algae, *Botany: Plant Diversity*, 5: 47-66.
- Mouritsen, G., Rhatigan, P., Pérez, L., José, L., 2018. The rise of seaweed gastronomy: phycogastronomy. *Bot. Mar.* 62, 195–209
- Mouritsen, O. G., Dawczynski, C., Duelund, L., Jahreis, G., Vetter, W., & Schroder, M. (2013). On the human consumption of the red seaweed dulse (*Palmaria palmata* (L.) Weber & Mohr). *Journal of Applied Phycology*, 25(6), 1777–1791.
- Mouritsen, O.G.; Rhatigan, P.; Pérez-Lloréns, J.L., 2019. The rise of seaweed gastronomy: Phycogastronomy. *Bot. Mar.*, 62, 195–209.
- Murray, M., Dordevic, A.L., Ryan, L., Bonham, M.P., 2018. An emerging trend in functional foods for the prevention of cardiovascular disease and diabetes: Marine algal polyphenols. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 58, 1342–1358.
- Musa, N., Wei, L.S., 2008. Bacteria attached on cultured seaweed *Gracilaria changii* at Mengabang Telipot, Terengganu. *Acad. J. Plant Sci.*, 1, 1–4.
- Nilsen-Nygaard, J., Hattrem, M.N., Draget, K.I., 2016. Propylene glycol alginate (PGA) gelled foams: a systematic study of surface activity and gelling properties as a function of degree of esterification. *Food Hydrocoll.* 57, 80–91.
- Nitschke, U., & Stengel, D. B. 2016. Quantification of iodine loss in edible Irish seaweeds during processing. *Journal of Applied Phycology*, 28(6), 3527–3533.
- Nova, P., Martins, A.P., Teixeira, C., Abreu, H., Silva, J.G., Silva, A.M., Freitas, A.C. Gomes, A.M., 2020. Foods with microalgae and seaweeds fostering consumers health: A review on scientific and market innovations. *J. Appl. Phycol.*, 32, 1789–1802.
- Nylund GM, Persson F, Lindegarth M, Cervin G, Hermansson M, Pavia H (2010) The red alga *Bonnemaisonia asparagoides* regulates epiphytic bacterial abundance and community composition by chemical defence. *FEMS Microbiol Ecol* 71:84–93
- O’Sullivan, A.M., O’Callaghan, Y.C., O’Grady, M.N., Waldron, D.S., Smyth, T.J., O’Brien, N.M., Kerry, J.P., 2014. An examination of the potential of seaweed extracts as functional ingredients in milk. *Int. J Dairy Technol.* 67, 182–193
- Ohno, M., Largo, D.B., 1998. The seaweed resources of Japan. In *Seaweed resources of the world*. (Critchley, A. T., Ohno, M., Largo, D. B. & Gillespie, R. D., editors), 1-14. Japan International Cooperation Agency, Yokosuka, Japan.

- Ojha, K., Shikha, T., Brijesh, K., 2016. Novel Fermented Marine-Based Products. Novel Food Fermentation Technologies. Springer International Publishing, Germany pp. 235-262
- Orfanidis, S., Panayotidis, P., Uglund, K.I., 2011. Ecological Evaluation Index continuous formula (EEI-c) application: a step forward for functional groups, the formula and reference condition values. *Med. Mar. Sci.*, 12 (1), 199-231
- Owens T.G., Gallagher J.C., Alberte R.S., 1987. Photosynthetic light-harvesting function of violaxanthin in *Nannochloropsis* spp. (Eustimatophyceae). *J. Phycol.* 23,79-85.
- Panayotidis, P., Montesanto, B., Orfanidis, S., 2004 Use of low budget monitoring of macroalgae to implement the European Water Framework Directive. *J. Appl. Phycol.* 16, 49–59
- Pang SJ, Lüning K., 2004. Breaking seasonal limitation: year-round sporogenesis in the brown alga *Laminaria saccharina* by blocking the transport of putative sporulation inhibitors. *Aquaculture* 240:531–541
- Pangestuti, R., Kim, S., 2015. Seaweed proteins, peptides, and amino acids. *Seaweed Sustainability Food and Non-Food Applications*. Elsevier Science, Netherlands pp. 125–140
- Pangestuti, R., Kim, S.-K., 2011. Biological activities and health benefit effects of natural pigments derived from marine algae. *J. Funct. Foods*, 3, 255–266.
- Pangestuti, R., Kim, S.K., 2015. Carotenoids, bioactive metabolites derived from seaweeds. In *Springer Handbook of Marine Biotechnology*; Kim, S.K., Ed.; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, pp. 815–821.
- Park, S., Ahn, Y., Pandi, K., Ji, M.K., Yun, H.-S., Choi, J.-Y., 2019. Microalgae Cultivation in Pilot Scale for Biomass Production Using Exhaust Gas from Thermal Power Plants. In: João Fernando Pereira Gomes (ed.) *Optimization of Biodiesel, Methanol and Methane Production and Air Quality Improvement*. MDPI Energies, 12, 3497, 14-23
- Patel, S., Goyal, A., 2011. Functional oligosaccharides: Production, properties and applications. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 27, 1119–1128.
- Peñalver, R., Lorenzo, J.M., Ros, G.; Amarowicz, R., Pateiro, M., Nieto, G., 2020. Seaweeds as a functional ingredient for a healthy diet. *Marine Drugs*. *Mar. Drugs*, 18, 301
- Peñalver, R.; Lorenzo, J.M.; Ros, G.; Amarowicz, R.; Pateiro, M.; Nieto, G., 2020. Seaweeds as a functional ingredient for a healthy diet. *Marine Drugs*. *Mar. Drugs*, 18, 301.
- Pereira, D.M., Valentão, P., Andrade, P.B., 2014. Marine natural pigments: Chemistry, distribution and analysis. *Dye Pigment.*, 111, 124–134.

- Pereira, R., Yarish, C. 2008. Mass production of marine macroalgae. In Ecological Engineering, Vol. 3 of Encyclopedia of Ecology (Jørgensen, S.E. & Fath, B.D., editors), 2236–2247. Elsevier, Oxford.
- Pérez, A. A., Farías, S. S., Strobl, A. M., Pérez, L. B., López, C. M., Piñeiro, A., ... Fajardo, M. A., 2007. Levels of essential and toxic elements in *Porphyra columbina* and *Ulva* sp from San Jorge Gulf, Patagonia Argentina. *Science of the Total Environment*, 376(1–3), 51–59.
- Piculell, L., 2006. Gelling carrageenans. In: Stephen, A.M., Phillips, G.O. (Eds.), *Food Polysaccharides and Their Applications*. pp. 239–287 CRC Press
- Prabhasankar, P., Ganesan, P., Bhaskar, N., Hirose, A., Stephen, N., Gowda, L. R., et al., 2009b. Edible Japanese seaweed, wakame (*Undaria pinnatifida*) as an ingredient in pasta: Chemical, functional and structural evaluation. *Food*, 115, 501–508
- Praveen, M.A., Karthika Parvathy, K.R., Balasubramanian, P., Jayabalan, R., 2019. An overview of extraction and purification techniques of seaweed dietary fibers for immunomodulation on gut microbiota. *Trends Food Sci. Technol.*, 92, 46–64.
- Prescott MI, Harle JD, Klein DA., 2002. *Microbiology of Food*. 5th ed. McGraw-Hill Ltd, New York, USA. pp. 964-976.
- Pulz O., Scheibenbogen K., Groß W., 2008. "Biotechnology with Cyanobacteria and Microalgae". In: eds. *Biotechnology Set*, p. 105-136
- Radulovich, R., Umanzor, S., Cabrera, R., Mata, R., 2015. Tropical seaweeds for human food, their cultivation and its effect on biodiversity enrichment. *Aquaculture*, 436, 40–46.
- Rajauria, G., Jaiswal, A. K., Abu-Ghannam, N., & Gupta, S., 2010. Effect of hydrothermal processing on colour, antioxidant and free radical scavenging capacities of edible Irish brown seaweeds. *International Journal of Food Science & Technology*, 45(12), 2485- 2493
- Rioux L.E., Turgeon S.L., Beaulieu M., 2009. Effect of season on the composition of bioactive polysaccharides from the brown seaweed *Saccharina longicuris*, *Phytochemistry*, 70: 1069-1075.
- Rioux, L.-E., Turgeon, S.L., 2015. Seaweed carbohydrates. In: Tiwari, B.K., Troy, D. (Eds.), *Seaweed Sustainability*. Elsevier, San Diego, pp. 141–192.
- Rizzo, G., Laganà, A.S., Chiara Rapisarda, A.M., Grazia La Ferrera, G.M., Buscema, M., Rossetti, P., Nigro, A., Muscia, V., Valenti, G., Sapia, F., 2016. Vitamin B12 among vegetarians: Status, assessment and supplementation. *Nutrients*, 8, 767.
- Ródenas de la Rocha, S., Sánchez-Muniz, F. J., Gómez-Juaristi, M., & Marín, M. T. L., 2009. Trace elements determination in edible seaweeds by an optimized and validated ICP-MS method. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(4), 330–336.

- Rodrigues, D., Freitas, A.C., Pereira, L., Rocha-Santos TA, P., Vasconcelos, M.W., Roriz, M., Rodriguez-Alcala, L.M., Gomes AM, P., Duarte, A.C., 2015. Chemical composition of red, brown and green macroalgae from Buarcos bay in Central West Coast of Portugal. *Food Chem.*, 183, 197–207
- Roleda, M. Y., Skjermo, J., Marfaing, H., Jónsdóttir, R., Rebours, C., Gietl, A., ... Nitschke, U., 2018. Iodine content in bulk biomass of wild-harvested and cultivated edible seaweeds: Inherent variations determine species-specific daily allowable consumption. *Food Chemistry*, 254, 333–339.
- Roohinejad, S., Koubàa, M., Barba, F.J, Saljoughian, S., Amid, M., Greiner, R., 2017. Application of seaweeds to develop new food products with enhanced shelf-life, quality and health-related beneficial properties. *Food Res. Int.* 99, 1066–1083
- Rosell, C.M., Rojas, J.A., Benedito de Barber, C., 2001. Influence of hydrocolloids on dough rheology and bread quality. *Food Hydrocoll.* 15, 75–81
- Samapundo, S.; Heyndrickx, M.; Xhaferi, R.; de Baenst, I.; Devlieghere, F., 2014 The combined effect of pasteurization intensity, water activity, pH and incubation temperature on the survival and outgrowth of spores of *Bacillus cereus* and *Bacillus pumilus* in artificial media and food products. *Int. J. Food Microbiol.*, 181, 10–18.
- Samarakoon, K., Jeon, Y.-J., 2012 Bio-functionalities of proteins derived from marine algae—A review. *Food Res. Int.*, 48, 948–960
- Sanchez-Garcia, F.; Hernandez, I.; Palacios, V.M.; Roldan, A.M., 2021. Freshness Quality and Shelf Life Evaluation of the Seaweed *Ulvarigida* through Physical, Chemical, Microbiological, and Sensory Methods. *Foods*, 10, 181
- Sandmann G., 2019. Antioxidant protection from UV- and light-stress related to carotenoid structures, *Antioxidants* 8 E219,
- Santos, S., Félix, R., Pais, A., Rocha, S.M., Silvestre, A., 2019. The quest for phenolic compounds from macroalgae: A review of extraction and identification methodologies. *Biomolecules*, 9, 847.
- Satheesh S, Ba-akdah MA, Al-Sofyani AA (2016) Natural antifouling compound production by microbes associated with marine macroorganisms—a review. *Electron J Biotechnol* 21:26–35
- Sciarini, L.S., Ribotta, P.D., León, A.E., Pérez, G.T., 2010. Effect of hydrocolloids on gluten-free batter properties and bread quality. *Int. J. Food Sci. Technol.* 45, 2306–2312
- Scientific Committee on Food (SCF). (2002). Opinion of the Scientific Committee on Food on the tolerable upper intake level of iodine. Brussels, Belgium: SCF.
- Ścieszka, S., Klewicka, E., 2019. Algae in food: A general review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 59, 3538–3547.



- Setlow, P., 2006. Spores of *Bacillus subtilis*: Their resistance to and killing by radiation, heat and chemicals. *J. Appl. Microbiol.*, 101, 514–525.
- Shanura Fernando, I.P., Kim, K.-N., Kim, D., Jeon, Y.-J., 2019. Algal polysaccharides: Potential bioactive substances for cosmeceutical applications. *Crit. Rev. Biotechnol.*, 39, 99–113.
- Singh, R.P., Reddy, C.R.K., 2014. Seaweed–microbial interactions: key functions of seaweed associated bacteria. *FEMS Microbiol. Ecol.* 88, 213–230.
- Skrovankova, S., 2011. Seaweed vitamins as nutraceuticals, Ed. *Adv. Food Nutr. Res.*, 64, 357–369
- Son K.W., Lach, T., Jung, Y., Kang, S.K., Eom, S.H., Lee, D.S., Lee, M.S., Kim, Y.M., 2014. Food Hazard Analysis During Dried-laver Processing. *Fish and Aquatic Science* 17(2), 197-201,
- Spolaore P., Joannis-Cassan C., Duran E. and Isambert A., 2006. "Commercial applications of microalgae". *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 101(2): 87- 96
- Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E., Isambert, A., 2006. Commercial applications of microalgae. *J. Biosci. Bioeng.*, 101, 87–96.
- Squadrone, S., Brizio, P., Battuello, M., Nurra, N., Sartor, R. M., Riva, A., ... Abete, M. C., 2018. Trace metal occurrence in Mediterranean seaweeds. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(10), 9708–9721.
- Stanley, N.F., 2006. Agars. In: Stephen, A.M., Phillips, G.O. (Eds.), *Food Polysaccharides and Their Applications*. CRC Press, pp. 217–230.
- Stein, J.R. & Borden, C.A., 1984., Causative and beneficial algae in human disease conditions: a review. *Phycologia*, 23: 485-501.
- Stiger-Pouvreau, V., Bourgougnon, N., Deslandes, E., 2016. Seaweed in Health and Disease Prevention. *Seaweed in Health and Disease Prevention*. Elsevier, San Diego.
- Stratil, S. B., Neulinger, S. C., Knecht, H., Friedrichs, A. K. & Wahl, M., 2014. Salinity affects compositional traits of epibacterial communities on the brown macroalga *Fucus vesiculosus*. *FEMS Microbiol. Ecol.* 88, 1–9 .
- Sumner, J., Ross, T., 2002. A semi-quantitative seafood safety risk assessment. *Int. J. Food Microbiol.*, 77, 55–59.
- Suo, R., Wang, Q., 1992. Laminaria culture in china. *INFOFISH International*, 1: 40–42
- Suutari M, Leskinen E, Spilling K, Kostamo K, Seppälä J (2017) Nutrient removal by biomass accumulation on artificial substrata in the northern Baltic Sea. *J Appl Phycol* 29:1707–1720

- Szeremeta, A., Winkler, L., Blake, F., Lembo, P., 2010. Organic aquaculture. EERegulations (EC) 834/2007, (EC) 889/2008, (EC) 710/2009 - Background, Assessment, Interpretation. IFOAM EEGroup / CIHEAM - IAMB Bari.
- Takishita K., Uchida A., 1999. Molecular cloning and nucleotide sequence analysis of psbA from the dinoflagellates: Origin of the dinoflagellate plastid. *Phycological Research*. 47, 207-216
- Tello-Ireland, C., Lemus-Mondaca, R., Vega-Gálvez, A., López, J., Di Scala, K., 2011., Influence of hot-air temperature on drying kinetics, functional properties, colour, phycobiliproteins, antioxidant capacity, texture and agar yield of alga *Gracilaria chilensis*. *LWT - Food Sci. Technol.* 44, 2112-2118
- Titlyanov E.A., Titlyanova T.V., 2010. Seaweed cultivation: Methods and Problems, ISSN 1063-0740, *Russian Journal of Marine Biology*, Vol. 36, No. 4, pp. 227-242
- Tomaselli, L., 2004. The Microalgal Cell. In: *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. Blackwell Science Ltd. Oxford. UK.
- Topcuoglu, S., Güven, K. C., Kirbaşo ğ lu, Ç., Güngör, N., Ünlü, S., & Yilmaz, Y. Z. (2001). Heavy metals in marine algae from ş ile in the Black Sea, 1994–1997. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 67(2), 288–294.
- Torres-Tiji, Y., Fields, F.J., Mayfield, S.P., 2020. Microalgae as a future food source. *Biotechnol. Adv.*, 41, 107536.
- Troell, M., Joyce, A., Chopin, T., Neori, A., Buschmann, A.H., Fang, J.G., 2009. Ecological engineering in aquaculture - Potential for integrated multi-trophic aquaculture (IMTA) in marine offshore systems. *Aquaculture* 297
- Trunet, C.; Mtimet, N.; Mathot, A.G.; Postollec, F.; Leguerinel, I.; Sohier, D.; Couvert, O.; Carlin, F.; Coroller, L., 2015. Modeling the Recovery of Heat-Treated *Bacillus licheniformis* Ad978 and *Bacillus weihenstephanensis* KBAB4 Spores at Suboptimal Temperature and pH Using Growth Limits. *Appl. Environ. Microbiol.*, 81, 562–568.
- Tsai, C.-J., Sun Pan, B.A., 2012. Identification of sulfoglycolipid bioactivities and characteristic fatty acids of marine macroalgae. *J. Agric. Food Chem.*, 60, 8404–8410.
- Ullah, S., Khalil, A.A., Shaukat, F., Song, Y., 2019. Sources, extraction and biomedical properties of polysaccharides. *Foods*, 8, 304.
- Usman, A., Khalid, S., Usman, A., Hussain, Z., Wang, Y., 2017. Algal Polysaccharides, Novel Application, and Outlook. In *Algae Based Polymers, Blends, and Composites: Chemistry, Biotechnology and Materials Science*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, pp. 115–153. ISBN 9780128123607. [Google Scholar]
- Vera, J., Castro, J., Gonzalez, A., Moenne, A., 2011 Seaweed polysaccharides and derived oligosaccharides stimulate defense responses and protection against pathogens in plants. *Mar. Drugs*, 9, 2514–2525.

- Vezzulli, L., Colwell, R.R., Pruzzo, C., 2013. Ocean Warming and Spread of Pathogenic Vibrios in the Aquatic Environment. *Microb. Ecol.*, 65, 817–825.
- Walkenström, P., Kidman, S., Hermansson, A.M., Rasmussen, P.B., Hoegh, L., 2003. Microstructure and rheological behaviour of alginate/pectin mixed gels. *Food Hydrocoll.* 17,593–603.
- Wang L., Yecong L., Chen P., Min M., Chen Y., Zhu J., 2010. Anaerobic digested dairy manure as a nutrient supplement for cultivation of oil-rich green microalgae *Chlorella* sp. *Bioresour Technol.* 101, 2623-8
- Wang, D. Z., 2008. Neurotoxins from marine dinoflagellates: A brief review. *Marine Drugs*, 6(2), 349–371.
- Wegeberg S., Felby C., 2010. Algae Biomass for Bioenergy in Denmark: Biological/Technical challenges and opportunities
- Weissman J.C., Tillett D.T., 1992. In Aquatic Species Project Report, FY 1989-1990, pp.32-56, NREL, Golden Co., NREL/MP232-4174
- Wells, M.L., Potin, P., Craigie, J.S., Raven, J.A., Merchant, S.S., Helliwell, K.E., Smith, A.G., Camire, M.E., Brawley, S.H., 2017. Algae as nutritional and functional food sources: Revisiting our understanding. *J. Appl. Phycol.*, 29, 949–982.
- Westerhoffa P., Hub Q., Esparza-Sotoc M., Vermaasd W., 2010. Growth parameters of microalgae tolerant to high levels of carbon dioxide in batch and continuous-flow photobioreactors. *Environ. Technol.* 31, 523-532.
- Winarni, A.T., Ma'ruf, W.F., Widayat, W., Suzery, M., Hadiyanto, H., Benjakul, S., 2016. Application of spirulinaplantensis on ice cream and soft cheese with respect to their nutritional and sensory perspectives. *J. Teknol.* 78, 245–251.
- Woelkerling, W.J., 1990. An introduction. Pages 1-6 in *Biology of the red algae* (K.M. Cole and R.G. Sheath, eds.). Cambridge University Press, Cambridge
- Wysor B., Ph.D., 2009. General introduction and Characterization of the Green Algae. Roger Williams University.
- Xu, J., Xu, L.-L., Zhou, Q.-W., Hao, S.-X., Zhou, T., Xie, H.-J., 2015. Isolation, purification, and antioxidant activities of degraded polysaccharides from *Enteromorpha prolifera*. *Int. J. Biol. Macromol.*, 81, 1026–1030
- Xu, S.-Y., Huang, X., Cheong, K.-L., 2017. Recent Advances in Marine Algae Polysaccharides: Isolation, Structure, and Activities. *Mar. Drugs*, 15, 388.
- Yende, S. R., Harle, U. N., & Chaugule, B. B., 2014. Therapeutic potential and health benefits of *Sargassum* species. *Pharmacognosy reviews*, 8(15), 1.
- Βουλτσιάδου, Ε., Αμπατζόπουλος, Θ., Αντωνοπούλου, Ε., Γκάνιας, Κ., Γκέλης, Σ., Στάικου, Α., Τριανταφυλλίδης, Α., 2015. Υδατοκαλλιέργειες. Τμήμα Βιολογίας. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Μάρκου, Γ., Τζοβενής, Ι., Νερατζής, Η., 2013. Μικροφύκη: Καλλιέργεια και Βιομηχανικές Εφαρμογές. e-Περιοδικό Επιστήμης και Τεχνολογίας. 8: 9-22.

Ορφανίδης, Σ., 2009. Προοπτικές υδατοκαλλιέργειας μακροφυκών στην Ελλάδα . Εθνικό ίδρυμα αγροτικής έρευνας .

Τσαγκαμίλης Π., 2009. Χρήση φυκών ως βιοφίλτρων για την απομάκρυνση ανόργανων θρεπτικών από αστικά απόβλητα βιολογικών καθαρισμών. Διδακτορική Διατριβή, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, 181 σελ.

Χώτος, Γ., 2009. Φυκολογία- Αναπαραγωγή των φυκών, Research Gate