



**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ
ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΚΑΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Ανάπτυξη καινοτόμας ενεργής συσκευασίας για την παραγωγή
αλιευμάτων με υψηλή ποιότητα και μακρά διατηρησιμότητα

Ιωάννα Φ. Πλιαμέρη

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια:

Τσιρώνη Θεοφάνια, Επίκουρη Καθηγήτρια ΓΠΑ

**ΑΘΗΝΑ
2022**

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ
ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΚΑΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Ανάπτυξη καινοτόμας ενεργής συσκευασίας για την παραγωγή
αλιευμάτων με υψηλή ποιότητα και μακρά διατηρησιμότητα

“Development of innovative active packaging for the production of
catches with high quality and long shelf life”

Ιωάννα Φ. Πλιαμέρη

Εξεταστική Επιτροπή:

Τσιρώνη Θεοφανία, Επίκουρη Καθηγήτρια ΓΠΑ (Επιβλέπουσα)

Στοφόρος Νικόλαος, Καθηγητής ΓΠΑ

Ευαγγελίου Βασιλική, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΓΠΑ

Ανάπτυξη καινοτόμας ενεργής συσκευασίας για την παραγωγή αλιευμάτων με υψηλή ποιότητα και μακρά διατηρησιμότητα

*ΠΜΣ Επιστήμης & Τεχνολογίας Τροφίμων, Επεξεργασία και Συντήρηση Τροφίμων
Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων & Διατροφή του Ανθρώπου
Εργαστήριο Μηχανικής και Επεξεργασίας Τροφίμων*

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι απαιτήσεις της αγοράς για ποιότητα, ασφάλεια, μεγάλους χρόνους ζωής των τροφίμων και ταυτόχρονη αποφυγή πρόσθετων χημικών ουσιών για τη συντήρησή τους, για προϊόντα έτοιμα προς κατανάλωση, έχουν προσανατολίσει την επιστημονική έρευνα σε εναλλακτικούς τρόπους συντήρησης και συσκευασίας. Αυτή η αυξανόμενη ζήτηση στοχεύει τελικά στην προστασία του περιβάλλοντος.

Η αλλοίωση των νωπών αλιευμάτων οφείλεται κυρίως στην ανάπτυξη αλλοιογόνων μικροοργανισμών. Οι μικροοργανισμοί παράγουν μεταβολίτες οι οποίοι συνεισφέρουν αρνητικά στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (κυρίως οσμή) του αλιεύματος. Επιπλέον, στα καρκινοειδή, εκτός της βακτηριακής αλλοίωσης, η ενζυμική αμαύρωση στον εξωσκελετό συνεισφέρει σημαντικά στη μείωση της αποδοχής τους από τους καταναλωτές.

Ένας τρόπος που θα μπορούσε να συμβάλλει στην επίτευξη των παραπάνω είναι μία εξαιρετικά καινοτόμα μέθοδος, και δεν είναι άλλη από τη δημιουργία έξυπνης και ενεργής συσκευασίας. Μίας συσκευασίας που θα στοχεύει ταυτόχρονα στην παράταση ζωής των προϊόντων και στην μη υποβάθμιση αυτών που είναι έτοιμα προς κατανάλωση.

Έχοντας ως γνώμονα όλα αυτά, προσανατολίσαμε τον σκοπό της παρούσας εργασίας στη μελέτη της γαρίδας *Litopenaeus vannamei* ως παραγόμενο προϊόν στοχεύοντας στην επέκταση του χρόνου ζωής, στην επιβράδυνση της ποιοτικής υποβάθμισης και χρησιμοποιώντας ως μελετώμενη παράμετρο την ενζυμική αμαύρωση για τον καλύτερο συνδυασμό των παραμέτρων, που αναφέρθηκαν.

Επιστημονική περιοχή: Καινοτόμα ενεργή συσκευασία σε γαρίδα

Λέξεις κλειδιά: γαρίδα, *Litopenaeus vannamei*, ενεργή συσκευασία, εδώδιμη μεμβράνη, φιβροΐνη, αλλοίωση γαρίδων, ενζυμική αμαύρωση

Development of innovative active packaging for the production of catches with high quality and long shelf life

MSc Food Science and Technology, Food Processing & Preservation

Department of Food Science and Human Nutrition

Laboratory of Food Process Engineering

ABSTRACT

The demands of the market for quality, safety, shelf-life of food and the simultaneous avoidance of additional chemical additives for their preservation have oriented scientific research to alternative ways of preservation and packaging. This growing demand ultimately aims to protect the environment.

Spoilage of fresh seafood is mainly attributed to microbial activity. Microorganisms produce metabolites that contribute negatively to the organoleptic characteristics (mainly smell and texture) of the products. Furthermore, in crustaceans, in addition to bacterial spoilage, enzymatic browning in the exoskeleton contributes significantly to reducing the consumer acceptability.

One way that could contribute to achieving the above is the application smart and active packaging. A package that will simultaneously aim to extend the life of the products and not to degrade those that are ready for consumption.

All things considered, we oriented the purpose of this work to the study of *Litopenaeus vannamei* shrimp as a manufactured product aiming to extend its shelf life, to slow down the quality degradation and using as a studied parameter the enzymatic browning for the best combination of the parameters mentioned.

Scientific Area: Innovative active packaging of shrimp

Keywords: shrimp, *Litopenaeus vannamei*, active packaging, edible film, fibroin, shrimp spoilage, enzymatic browning

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα μεταπτυχιακή μελέτη εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Μηχανικής και Επεξεργασίας Τροφίμων του Τμήματος Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες σε όλους όσους συνέβαλαν στο να φέρω εις πέρας την παρούσα εργασία. Ιδιαίτερα, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Επίκουρη Καθηγήτρια Τσιρώνη Θεοφανία, για την καθοδήγηση, τις χρήσιμες συμβουλές της και τη διαρκή υποστήριξή της, τόσο κατά τη διεξαγωγή του πειράματος όσο και κατά την συγγραφή της παρούσας εργασίας. Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής, τον Καθηγητή Στοφόρο Νικόλαο και την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ευαγγελίου Βασιλική.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την κα Γεωργιάδου Μαρία για τη συνεργασία, την αδιάλειπτη παρουσία της καθ' όλη την διάρκεια των πειραμάτων. Επίσης, θα ήταν παράλειψη να μη συμπεριλάβω στις ευχαριστίες μου, τα μέλη του Εργαστηρίου Μηχανικής και Επεξεργασίας Τροφίμων καθώς και τους συναδέλφους, προπτυχιακούς, μεταπτυχιακούς και διδακτορικούς, για την άριστη συνεργασία.

Τέλος, οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ στην οικογένειά και τους φίλους μου για την διαρκή στήριξη, την υπομονή, τη αμέριστη βοήθεια και κατανόηση σε κάθε στάδιο της ακαδημαϊκής και προσωπικής μου εξέλιξης και πορείας.

Ιωάννα Φ. Πλιαμέρη

Αθήνα, Δεκέμβριος 2022

«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.....	iii
ABSTRACT.....	iv
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	viii
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ.....	viii
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ.....	ix
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1.....	1
Εισαγωγή.....	1
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2.....	3
Βιβλιογραφική ανασκόπηση.....	3
2.1 Οικονομική και εμπορική σημασία των αλιευμάτων.....	3
2.2 Ποιότητα, ασφάλεια και φρεσκότητα των αλιευμάτων.....	4
2.2.1. Αλλοίωση του τροφίμου.....	4
2.2.2. Παράγοντες που προκαλούν την αλλοίωση των αλιευμάτων.....	4
2.2.3. Ενζυμική δράση.....	5
2.3. Σκοπός της μελέτης.....	7
2.4. Γαρίδα <i>Litopenaeus (Penaeus) vannamei</i>	7
2.4.1. Γενικά – Καρκινοειδή (Μαλακόστρακα)	7
2.4.2. Βιολογική και Θρεπτική αξία Καρκινοειδών.....	8
2.4.3. Γενικά στοιχεία της βιολογίας του είδους <i>Litopenaeus vannamei</i> (<i>Penaeus vannamei</i>).....	9
2.4.4. Αξιολόγηση της ποιότητας του κρέατος της γαρίδας.....	11
2.4.5. Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.....	12
2.4.6. Μικροβιολογικοί παράμετροι.....	12
2.4.7. Βιοχημικοί παράμετροι.....	14
2.5. Συντήρηση.....	15
2.5.1. Εφαρμοζόμενες μέθοδοι συντήρησης γαρίδων.....	16
2.5.2. Συσκευασία - Ορισμός.....	17
2.5.3. Ενεργή Συσκευασία.....	18
2.5.4. Βασικές κατηγορίες ενεργούς συσκευασίας.....	18
2.5.5. Εφαρμογές ενεργούς συσκευασίας.....	20
2.6. Τεχνολογία των εδώδιμων μεμβρανών και επικαλύψεων.....	21
2.6.1. Ιδιότητες εδώδιμων μεμβρανών – Εφαρμογές	22
2.6.2. Πρόσθετες ουσίες των εδώδιμων μεμβρανών.....	23
2.6.3. Πλεονεκτήματα – Μειονεκτήματα εδώδιμων μεμβρανών και επικαλύψεων.....	24
2.6.4. Μέθοδοι εφαρμογής εδώδιμων επικαλύψεων.....	25
2.6.5. Παραδείγματα εφαρμογής εδώδιμων μεμβρανών.....	25
2.7. Φιβροΐνη.....	26
2.7.1. Πλεονεκτήματα επιλογής της φιβροΐνης σε σχέση με άλλα βιοϋλικά...27	
2.7.2. Τρόπος πήξης φιβροΐνης.....	28
2.7.3. Εφαρμογές φιβροΐνης.....	28
2.7.4. Παρασκευή υδρόπηκτων φιβροΐνης.....	28
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3.....	30
Υλικά και Μέθοδοι.....	30
3.1. Υλικά.....	30

3.1.1. Κουκούλια από μεταξοσκώληκα του γένους <i>Bombyx mori</i>	30
3.1.2. Γαρίδες.....	30
3.2. Μέτρηση χρώματος.....	32
3.3. Εκχύλιση φιβροΐνης μεταξιού.....	34
3.4. Εκχύλιση PPO από τους κεφαλοθώρακες γαρίδας <i>Litopenaeus vannamei</i>	40
3.5. Μέτρηση της ενεργότητας της πολυφαινολοξειδάσης (PPO).....	41
3.6. Κωδικοποίηση δειγμάτων.....	41
3.7. Ανάλυση δεδομένων.....	41
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4.....	43
Αποτελέσματα – Συζήτηση.....	43
4.1. Μέτρηση χρώματος.....	43
4.2. Μέτρηση ενεργότητας PPO.....	57
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5.....	63
Συμπεράσματα.....	63
ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	64
ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	69

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

- Πίνακας 2.1. Χημική σύσταση του κρέατος ορισμένων βρώσιμων καρκινοειδών
- Πίνακας 2.2. Συστηματική ταξινόμηση
- Πίνακας 2.3. *Litopenaeus (Penaeus) vannamei*, Boone, 1931 (Πηγή: FAO Fisheries Synopsis (1980) / Proc. Biol. Soc. Wash., 80:94)
- Πίνακας 2.4. Μέθοδοι Συντήρησης Γαρίδων
- Πίνακας 2.5. Παραδείγματα πρακτικών εφαρμογών ενεργούς συσκευασίας σε διάφορα τρόφιμα (Restuccia et al., 2010)
- Πίνακας 4.1. Τιμές ενεργότητας πολυφαινολοξειδάσης (PPO) με και χωρίς φιβροΐνη σε διάρκεια 10 ημερών σε μονάδες units/min
- Πίνακας 4.2. Τιμές της ενεργότητας της πολυφαινολοξειδάσης (PPO) χωρίς παρουσία φιβροΐνης ανά θερμοκρασία σε σχέση με το χρόνο σε ώρες
- Πίνακας 4.3. Συγκεντρωτικά στατιστικά για κάθε θερμοκρασία
- Πίνακας 4.4. Συγκεντρωτικά στατιστικά διακύμανσης για κάθε θερμοκρασία

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

- Εικόνα 2.1. Μελανές κηλίδες που υποδεικνύουν μελάνωση στα διάφορα τμήματα του σώματος γαρίδας. Α. Κοιλιακοί σωμήτες, Β. Τέλος και ουροπόδια. (Πηγή: elgo.gr)
- Εικόνα 2.2. Μορφολογικά χαρακτηριστικά καρκινοειδών
- Εικόνα 2.3. Α) Σχηματική απεικόνιση *Penaeus (Litopenaeus) vannamei*, Boone, 1931 (FAO Fisheries Synopsis, 1980) (Πηγή: <http://www.fao.org/fishery/species>) Β) Προσωπικό αρχείο
- Εικόνα 2.4. Α) Φωτογραφία ενός *Bombyx mori* μεταξοσκώληκα, Β) Μικρογράφημα ηλεκτρονίων ίνας κουκουλιού *B. mori* μεταξοσκώληκα, Γ) Σχηματική απεικόνιση της σύνθετης δομής μιας ίνας κουκουλιού
- Εικόνα 3.1. Κουκούλια από μεταξοσκώληκα του γένους *Bombyx mori* (Πηγή: Προσωπικό αρχείο)
- Εικόνα 3.2. Α) και Β) Γαρίδες αποψυγμένες *Litopenaeus vannamei* (Πηγή: (Α) και (Β) Προσωπικό αρχείο)
- Εικόνα 3.3. Θερμοστατούμενος θάλαμος Sanyo MIR 153, Sanyo Electric, Ora-Gun, Gunma, Ιαπωνία (Πηγή: Προσωπικό αρχείο)
- Εικόνα 3.4. Χρωματόμετρο X-Rite, i1PRO REV E, 1 113 597 (X-Rite Asia Pacific Ltd., Hong Kong, China)
- Εικόνα 3.5. Απεικόνιση της πρώτης φάσης εξαγωγής μεταξιού (Πηγή: Προσωπικό αρχείο)
- Εικόνα 3.6. Απεικόνιση της διάλυσης του μεταξιού με βρωμιούχο λίθιο (LiBr) (Πηγή: Προσωπικό αρχείο)
- Εικόνα 3.7. Διάλυση σε απεσταγμένο νερό για 48 h (Πηγή: Προσωπικό αρχείο)
- Εικόνα 3.8. Απεικόνιση της εκχύλισης της πολυφαινολοξειδάσης PPO (Πηγή: Προσωπικό αρχείο)
- Εικόνα 4.1. Γαρίδες *Penaeus vannamei* με επικάλυψη φιβροΐνης (δεξιά) και χωρίς επικάλυψη φιβροΐνης (αριστερά) σε θερμοκρασία συντήρησης 2 °C με την πάροδο του χρόνου
- Εικόνα 4.2. Γαρίδες *Penaeus vannamei* σε θερμοκρασία συντήρησης 2 °C με την πάροδο του χρόνου

Εικόνα 4.3. Γαρίδες *Penaeus vannamei* σε θερμοκρασία συντήρησης 5 °C με την πάροδο του χρόνου

Εικόνα 4.4. Γαρίδες *Penaeus vannamei* σε θερμοκρασία συντήρησης 10 °C με την πάροδο του χρόνου

Εικόνα 4.5. Γαρίδες *Penaeus vannamei* σε θερμοκρασία συντήρησης 15 °C με την πάροδο του χρόνου

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 3.1. Διάγραμμα ροής της εξαγωγής φιβροΐνης μεταξιού.

Σχήμα 4.1. Γραφική απεικόνιση της παραμέτρου L^* σε συσχέτιση με το χρόνο σε κάθε θερμοκρασία.

Σχήμα 4.2. Γραφική απεικόνιση της παραμέτρου a^* σε συσχέτιση με το χρόνο για κάθε θερμοκρασία

Σχήμα 4.3. Γραφική απεικόνιση της παραμέτρου b^* σε συσχέτιση με το χρόνο για κάθε θερμοκρασία

Σχήμα 4.4. Ενεργότητα PPO σε units/min σε διάρκεια 10 ημερών

Σχήμα 4.5. Ενεργότητα PPO σε units/min σε διάρκεια 36 ωρών σε θερμοκρασίες 5 °C, 10 °C και 15 °C

Κεφάλαιο 1

Εισαγωγή

Κατά την τελευταία δεκαετία υπάρχει ακόμη περισσότερο η ανάγκη για δημιουργία νέας μεθόδου συσκευασίας και μεταποίησης των παραγόμενων προϊόντων. Ένα μείζον ζήτημα, που απασχολεί όλο και περισσότερους και συνδέεται με το περιβάλλον και το μέλλον της ανθρωπότητας, είναι αυτό της σπατάλης τροφίμων. Η τάση για υγιεινή διατροφή και η ευαισθητοποίηση για τον περιβάλλον στρέφει τους παραγωγούς και κατά συνέπεια τον επιστημονικό και ερευνητικό κλάδο στην αναζήτηση έξυπνων και ενεργών συσκευασιών.

Οι καταναλωτές εξαιτίας της διαρκής πληροφόρησης και της αυξανόμενης διαθεσιμότητας πληροφοριών αναζητούν προϊόντα τροφίμων με τις τελευταίες τάσεις της αγοράς. Επιδιώκουν πάντα να συνδυάζουν βέβαια την ποιότητα, τη βιωσιμότητα αλλά και χαμηλό κόστος.

Ειδικότερα, η καινοτόμα δημιουργία συσκευασιών υπακούει με σεβασμό στο περιβάλλον και στην αλλαγή της υποκείμενης νομοθεσίας σχετικά με την χρήση πλαστικών μιας χρήσης, στοχεύοντας στη μείωση της σπατάλης τροφίμων. Ένα μόνο στοιχείο, αρκεί για να αποδείξει το μέγεθος της κατάστασης. Αν και η λύση δεν φαίνεται κοντά στον ορίζοντα, υπάρχουν πολλοί τρόποι να συμβάλει κανείς. Τα προϊόντα «έτοιμα προς κατανάλωση» και «έτοιμα για μαγείρεμα» είναι η κορυφαία επιλογή των καταναλωτών, δεδομένων των σύγχρονων ρυθμών ζωής, της έλλειψης χρόνου και ταυτόχρονα της αυξανόμενης ανάγκης για γρήγορες και έτοιμες λύσεις για φαγητό.

Ένας από τους τρόπους που μπορούν να επιτευχθούν όλα όσα ειπώθηκαν παραπάνω, είναι μία εξαιρετικά καινοτόμα μέθοδος και τάση, και δεν είναι άλλη όπως η έξυπνη και ενεργή συσκευασία, η οποία θα στοχεύει στη παράταση του χρόνου ζωής των προϊόντων.

Η υψηλή προτίμηση των καταναλωτών για ψάρια και θαλασσινά σε νέα μορφή έχει ως αποτέλεσμα την απαίτηση για νέες επεξεργασίες και τεχνικές συντήρησης που διατηρούν τη φρεσκάδα και τη βέλτιστη ποιότητα για μεγάλο χρονικό διάστημα. Παράλληλα, απαιτείται διαρκής έρευνα για την ανάπτυξη φορητών, μη καταστρεπτικών συσκευών χαμηλού κόστους για την ταχεία μέτρηση της φρεσκάδας. Μία τέτοια συσκευή θα είναι χρήσιμη για την έρευνα καθώς και για τη χρήση από το προσωπικό ελέγχου ποιότητας που είναι υπεύθυνο για την επιβολή των σχετικών

κανονισμών και οδηγιών για τα πρότυπα ποιότητας των ιχθυηρών και το μάρκετινγκ (Linus et al., 2007).

Οι ιχθύες και γενικά τα θαλασσινά ανέκαθεν αποτελούσαν βασικό στοιχείο της διατροφής του ανθρώπου. Εξαιτίας της μεγάλης διατροφικής τους αξίας, θεωρούνται τρόφιμα υψηλής ποιότητας. Τα αλιεύματα έχουν υψηλή βιολογική και θρεπτική αξία. Αποτελούν μία εξαιρετική πηγή πρωτεϊνών, ω-3 λιπαρών οξέων και άλλων θρεπτικών συστατικών, όπως ακριβώς συμβαίνει με τα καρκινοειδή και ειδικότερα τις γαρίδες τις οποίες μελετήθηκαν στην παρούσα μελέτη, οι οποίες είναι λευκές γαρίδες *Litopenaeus vannamei* (*P. vannamei*).

Η ανάπτυξη μίας εδώδιμης μεμβράνης από φιβροΐνη, η οποία παράγεται με μία διαδικασία που περιγράφεται στην παρούσα μελέτη αναλυτικά, από τα κουκούλια μεταξοσκώληκα *Bombyx mori* αποτελεί μία συμφέρουσα και καινοτόμα μεμβράνη. Συμφέρει οικονομικά εξαιτίας του χαμηλού κόστους της πρώτης ύλης. Ωστόσο, για να ενισχυθεί ο ισχυρισμός ότι μπορεί να παραταθεί ο χρόνος στο ράφι, δοκιμάστηκαν τα δείγματα και χωρίς επικάλυψη φιβροΐνης σε διαφορετικές θερμοκρασίες 2 °C, 5 °C, 10 °C και 15 °C.

Η αμαύρωση της γαρίδας οφείλεται κυρίως στη δράση ενζύμων. Η πολυφαινολοξειδάση (PPO), η οποία ευθύνεται για την αντίδραση αυτή βρίσκεται στον κεφαλοθώρακα της γαρίδας. Για αυτό το λόγο, η πολυφαινολοξειδάση μετρήθηκε φασματοφωτομετρικά σε γαρίδες με και χωρίς επικάλυψη φιβροΐνης. Αξίζει να τονιστεί ότι η μέτρηση του χρώματος έγινε με δύο μεθόδους, με τη χρήση χρωματόμετρου και με τη χρήση λογισμικού επεξεργασίας εικόνας ImageJ. Η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε και για τα άλλα δείγματα γαρίδας χωρίς επικάλυψη για όλες τις θερμοκρασίες.

Κεφάλαιο 2

Βιβλιογραφική ανασκόπηση

2.1. Οικονομική και εμπορική σημασία των αλιευμάτων

Τα ψάρια και τα άλλα θαλάσσια προϊόντα είναι σημαντικές πηγές τροφίμων σε ολόκληρο το κόσμο και ιδιαίτερα για ένα μεγάλο ποσοστό ατόμων αποτελεί την κύρια πηγή πρωτεϊνών. Η παγκόσμια κατανάλωση ψαριών και θαλασσινών αυξάνεται διαρκώς με σταθερό ρυθμό. Σύμφωνα με τις τρέχουσες εκτιμήσεις, η ζήτηση για ψάρια θα συνεχιστεί, λόγω της συνεχόμενης αύξησης του πληθυσμού και της αύξησης της αγοράς λόγω των οφελών στη διατροφή των ανθρώπων.

Ωστόσο, υπάρχουν σοβαρές ανησυχίες σχετικά με τις οικολογικές επιπτώσεις της βιομηχανοποιημένης αλιείας και την επακόλουθη ταχεία εξάντληση των ιχθυοαποθεμάτων. Η μη συμμόρφωση των αλιευτικών σκαφών στις ισχύουσες νομοθεσίες που καθορίζουν τις περιόδους αλίευσης ανά είδος, καθώς και τις ποσότητες αλίευσης, οδηγούν με δραματικό ρυθμό στην μείωση και την εξάντληση των ειδών. Σε αυτό το σενάριο, ήρθε να προστεθεί η υδατοκαλλιέργεια ως ένας ταχύτατος αναπτυσσόμενος τομέας στην παγκόσμια παραγωγή τροφίμων. Συμβάλλοντας, ταυτόχρονα, στην εξειδίκευση παραγωγής συγκεκριμένων ειδών με μεγάλη ζήτηση σύμφωνα με πρακτικές που θα εναρμονίζονται με τις ισχύουσες νομοθεσίες.

Παρά την αυξανόμενη ζήτηση και τη σημασία των ψαριών και των θαλασσινών για την ανθρώπινη διατροφή, οι απώλειες μετά την αλίευση τους παραμένουν υψηλές. Η μείωση των απωλειών και η διατήρηση της ποιότητάς τους για παραπάνω χρονικό διάστημα θα συμβάλλει στη βελτίωση και την ασφάλεια των προϊόντων, χωρίς παράλληλα να υπάρχει και ανάγκη για πρόσθετα αλιεύματα για την κάλυψη των αυξημένων αναγκών.

Σε αντίθεση, με την κατάσταση για το κόκκινο κρέας και τα πουλερικά, το γεγονός ότι η πλειοψηφία των ψαριών και των θαλασσινών αλιεύονται στους ωκεανούς και τις θάλασσες παρουσιάζει πρόσθετες τεχνικές προκλήσεις για τον επαρκή έλεγχο της υποβάθμισης της ποιότητας και τη διατήρηση των προϊόντων. Συνεπώς, απαιτούνται βελτιωμένες τεχνικές και διαδικασίες συγκομιδής που μειώνουν τη χρονική υστέρηση μεταξύ της αλίευσης και της διάθεσης στη βιομηχανία, ώστε να αποφεύγονται οι αλλοιώσεις της ποιότητας πριν από το χειρισμό και την επεξεργασία (Thilstedt et al. 2016, Bene et al. 2015).

2.2 Ποιότητα, ασφάλεια και φρεσκότητα των αλιευμάτων

2.2.1. Αλλοίωση του τροφίμου

Αλλοίωση ενός τροφίμου γενικότερα εννοούμε τη μείωση της ποιότητας του όσον αφορά κυρίως τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά. Ως αλλοίωση θαλασσινών ορίζεται η αλλαγή στις οργανοληπτικές ιδιότητες (οπτικές, μυρωδιά και σύσταση) των θαλασσινών προϊόντων που τα καθιστά ακατάλληλα για ανθρώπινη κατανάλωση (Gram,1993). Η αλλοίωση μπορεί να προέλθει από μικροβιακή δράση, χημικές αντιδράσεις, δράση ενδογενών ένζυμων του τροφίμου, προσβολή από έντομα ή και τρωκτικά (Huis in't Veld, 1996).

2.2.2 Παράγοντες που προκαλούν την αλλοίωση των αλιευμάτων

Είναι σημαντική η εκτίμηση των αιτιών των αλλοιώσεων που οδηγούν στην τελική τους οργανοληπτικής απόρριψης, προκειμένου να επεκταθεί ο χρόνος ζωής των προϊόντων αλιευμάτων. Είναι αναμφίβολο ότι οι αλλοιώσεις των αλιευμάτων πραγματοποιούνται κατά κύριο λόγο στην μικροβιακή ανάπτυξη. Τα νωπά αλιεύματα ανήκουν κατεξοχήν σε εξαιρετικά ευαλλοίωτα προϊόντα σε σύγκριση με άλλες κατηγορίες τροφίμων. Ωστόσο, στην τελική αξιολόγηση συνεκτιμάται το είδος, ο χρόνος και ο τρόπος συντήρησης και παρατηρούνται παράλληλα και χημικές αλλοιώσεις που επηρεάζουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των αλιευμάτων (Gram et al., 1996).

Οι αλλοιώσεις των ιχθύων οφείλονται στη δράση βακτηριών και ένζυμων ή σε μεγαλύτερο διάστημα οξείδωση. Κύριες αλλοιώσεις που συνήθως παρουσιάζονται στα αλιεύματα είναι η ενζυμική αυτόλυση και η ενζυμική δράση. Αμέσως μετά την αλίευση, χημικές και βιολογικές αλλαγές πραγματοποιούνται στα νεκρά ψάρια λόγω της ενζυμικής διάσπασης σημαντικών μορίων τους. Η ενζυμική αυτόλυση μειώνει την ποιότητα σε επίπεδο υφής κατά τα αρχικά στάδιά της, αλλά δεν παράγει τις χαρακτηριστικές αλλοιώσεις της οσμής και του αρώματος. Αυτό δείχνει ότι η δράση αυτών μπορεί να περιορίσει τη διάρκεια ζωής και την ποιότητα του προϊόντος ακόμη και για οργανισμούς με σχετικά χαμηλά επίπεδα αλλοίωσης. Το συγκεκριμένο είδος αλλοίωσης έχει μεγαλύτερη επίδραση στην παράμετρο της υφής.

Τα πεπτικά ένζυμα προκαλούν εκτεταμένη αυτόλυση η οποία έχει ως αποτέλεσμα το μαλάκωμα του κρέατος, τη ρήξη του τοιχώματος της κοιλίας καθώς και την αποστράγγιση του αίματος το οποίο περιέχει πρωτεΐνη και έλαιο. Ένας σημαντικός

αριθμός πρωτεολυτικών ενζύμων βρίσκεται στους μύες και στα σπλάγχνα των ψαριών μετά την αλίευση τους. Αυτά τα ένζυμα συμβάλλουν στη μεταθανάτια υποβάθμιση των μυών των ψαριών καθώς και των προϊόντων ψαριών κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης και της επεξεργασίας τους. Κατά την ακατάλληλη αποθήκευση αλιευμάτων, η πρωτεόλυση είναι υπεύθυνη για την υποβάθμιση των πρωτεϊνών. Από την άλλη πλευρά, πεπτίδια και ελεύθερα αμινοξέα μπορούν να παραχθούν ως αποτέλεσμα αυτόλυσης των πρωτεϊνών που βρίσκονται στους μύες των ψαριών, κάτι το οποίο οδηγεί στην αλλοίωση του κρέατος των ιχθυηρών λόγω ανάπτυξης μικροβιακού φορτίου και την παραγωγή βιογενών αμινών (Ghaly et al., 2010).

2.2.3 Ενζυμική δράση

Παράλληλα, η δράση των ενζύμων διαδραματίζει σημαντικό ρόλο. Η ύπαρξη διάφορων ενζύμων στη σάρκα των ιχθύων αποτελεί ζωτικής σημασίας παράγοντα για την ποιοτική υποβάθμιση τους. Μετά την αλίευσή των ιχθύων και θαλασσινών, τα ένζυμα εξακολουθούν να είναι ενεργά. Πρώτη ένδειξη αυτής της παρουσίας είναι η πτώση του pH της σάρκας τους από 7,0 στο 6,0 έως 6,5. Ωστόσο, η πτώση βέβαια εξαρτάται από το είδος του ιχθύος και από την κατάσταση στην οποία βρίσκεται (Liston 1982).

Η ανάπτυξη μαύρων κηλίδων ή μελανώσεων είναι ένα μείζον πρόβλημα που εντοπίζεται στις περισσότερες γαρίδες, τους αστακούς και άλλα καρκινοειδή που μπορεί να επηρεάσουν αρνητικά την εμπορική αξία και την τελική αποδοχή του προϊόντος από τον καταναλωτή. Η δράση των ενζύμων προκαλεί μεταβολές στο άρωμα και στη γεύση των ιχθύων. Το ευχάριστο άρωμα της σάρκας των νωπών ιχθύων οφείλεται κατά κύριο λόγο στη δράση πρωτεολυτικών ενζύμων της σάρκας τους. Η συνεχόμενη δράση των ενζύμων αυτών και το διάστημα της συντήρησης των ιχθύων έχει ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη δυσάρεστων οσμών, οι οποίες καθιστούν το προϊόν μη καταναλώσιμο. Τα ένζυμα, τα οποία είναι υπεύθυνα για την αντίδραση αυτή, είναι γνωστά ως οξειδάσες της πολυφαινόλης (πολυφαινολοξυδάσες ή φαινολάσες). (Aubourg et al, 2007).

Το φαινόμενο της μελάνωσης ή αλλιώς το φαινόμενο των μελανών κηλίδων είναι η εμφάνιση μελανών χρωστικών κυρίως στην περιοχή του κεφαλοθώρακα, του τέλους (ουραίου τμήματος), των αρθρώσεων των βαθιστικών ποδιών και των πλεοποδίων των γαρίδων. Η μελάνωση προκαλείται εξαιτίας της ενζυμικής οξειδωσης

κάποιων φαινολικών ουσιών και ειδικότερα μέσω της οξείδωσης της τυροσίνης όταν το αλίευμα καθώς αφαιρείται από τη θάλασσα έρχεται σε επαφή με τον αέρα (οξυγόνο).



Εικόνα 2.1. Μελανές κηλίδες που υποδεικνύουν μελάνωση στα διάφορα τμήματα του σώματος γαρίδας. **A.** Κοιλιακοί σωμαήτες, **B.** Τέλσο και ουροπόδια. (Πηγή: *elgo.gr*)

Πιο συγκεκριμένα, η μελάνωση ενεργοποιείται από ένα βιοχημικό μηχανισμό με τον οποίο οι φαινόλες οξειδώνονται σε κινόνες από το ένζυμο πολυφαινολοξειδάση (PPO). Η πολυφαινολοξειδάση (PPO) βρίσκεται κυρίως στο κέλυφος του κεφαλοθώρακα των καρκινοειδών. Έπειτα μετατρέπεται σε δραστικό ένζυμο με τη δράση μίας πρωτεάσης της σερίνης που εμφανίζει παρόμοια δραστικότητα με την τρυψίνη. Το ένζυμο παραμένει ενεργό κατά την αποθήκευση σε πάγο και την απόψυξη του καρκινοειδούς. Επομένως, είναι επιτακτική ανάγκη η χρήση μίας εδώδιμης μεμβράνης που θα προστατεύει το προϊόν ακόμη και κατά την απόψυξη.

Η εμφάνιση των φρέσκων οστρακοειδών σε υδατικό διάλυμα όξινου θεικού νατρίου έχει χρησιμοποιηθεί παραδοσιακά για να ελέγχει τις μαύρες κηλίδες στο κέλυφος της γαρίδας. Τις περισσότερες φορές κατά την αλίευσή τους επάνω στο αλιευτικό σκάφος χρησιμοποιούνται αντιοξειδωτικά όπως το μεταδιθειώδες νάτριο και άλλα πρόσθετα. Πρόσφατα, η ασφάλεια των θεικών παραγόντων έχει αμφισβητηθεί σε κλινικές μελέτες όσο και από ομάδες καταναλωτών. Τα υπολείμματα μεταδιθειώδους νατρίου πρέπει να επισημαίνονται για να δηλώνεται η παρουσία της ουσίας, καθώς η παρουσία περίσσειας μεταδιθειώδους νατρίου μπορεί να προκαλέσει αναπνευστικές διαταραχές στους καταναλωτές. Η νομοθεσία υποχρεώνει την επισήμανση αυτών των συστατικών. Ωστόσο, οι έλεγχοι στα αλιευτικά σκάφη που γίνεται κατά κύριο λόγο η χρήση του μεταδιθειώδους νατρίου είναι μηδαμικοί, ιδίως στην Ελλάδα. Σε πολλές περιπτώσεις μάλιστα είναι ανεπαρκής και η επισήμανση στη

χρήση αυτών των συστατικών. Στα καρκινοειδή ένας από τους βασικούς παράγοντες που συμβάλει στη γρήγορη υποβάθμιση της ποιότητάς τους και τα καθιστά οργανοληπτικά απαράδεκτα για κατανάλωση είναι η γρήγορη αμαύρωση του σκελετού που τα περιβάλλει (Λαζαρίδου, 2018; Venugopal, 2006).

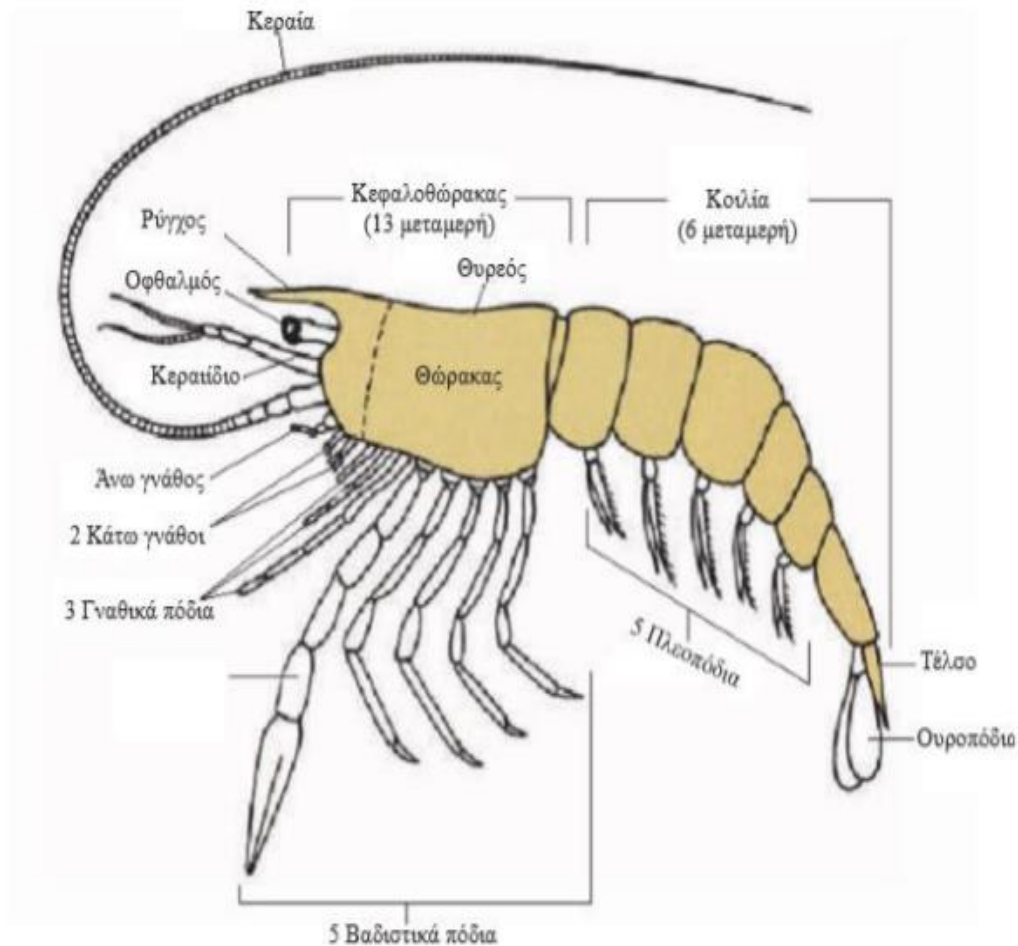
2.3. Σκοπός της μελέτης

Οι απαιτήσεις της αγοράς για ποιότητα, ασφάλεια, μεγάλους χρόνους ζωής των τροφίμων και ταυτόχρονη αποφυγή πρόσθετων χημικών ουσιών για τη συντήρησή τους, για προϊόντα έτοιμα προς κατανάλωση, έχουν προσανατολίσει την επιστημονική έρευνα σε εναλλακτικούς τρόπους συντήρησης και συσκευασίας. Έχοντας ως γνώμονα όλα αυτά, προσανατολίσαμε τον σκοπό της παρούσας εργασίας στη μελέτη της γαρίδας ως παραγόμενο προϊόν στοχεύοντας στην επέκταση του χρόνου ζωής και χρησιμοποιώντας ως μελετώμενη παράμετρο την ενζυμική αμαύρωση για τον καλύτερο συνδυασμό των παραμέτρων, που αναφέρθηκαν με συστηματική μελέτη των συνθηκών ψυκτικής αλυσίδας.

2.4. Γαρίδα *Litopenaeus (Penaeus) vannamei*

2.4.1. Γενικά - Καρκινοειδή (Μαλακόστρακα)

Τα καρκινοειδή ανήκουν στο φύλο των αρθροπόδων. Πρόκειται για υδρόβια κυρίως ζώα που ζουν σε γλυκά, σε υφάλμυρα και σε θαλάσσια ύδατα και είναι βενθικής ή πελαγικής διαβίωσης. Το κυριότερο, ωστόσο, χαρακτηριστικό τους είναι ότι τα καρκινοειδή είναι τα μοναδικά αρθρόποδα με δύο ζεύγη κεραιών, τρία ζεύγη στοματικών μορίων και δισχιδή εξαρτήματα. Το κυριότερο είδος που απαντάται είναι τα Δεκάποδα, όπου περιλαμβάνουν τα Μακρόουρα Κολυμβητικά (γαρίδες), τα Μακρόουρα Βαδιστικά (καραβίδες, αστακοί) και τα Βραχύουρα (καβούρια). Το σώμα των δεκάποδων είναι αμφίπλευρα συμμετρικό και μεταμερισμένο. Αποτελείται από δύο ανατομικά διακριτές περιοχές (τάγματα), τον κεφαλοθώρακα και την κοιλία σε σειρά μεταξύ τους διάταξη και καλύπτεται από εξωσκελετό χιτίνης, εμποτισμένο με άλατα ασβεστίου (Κουμουνδούρος, 2011).



Εικόνα 2.2. Μορφολογικά χαρακτηριστικά καρκινοειδών (Κουμουνδούρος, 2011)

2.4.2. Βιολογική και Θρεπτική αξία Καρκινοειδών

Η βιολογική και θρεπτική αξία των καρκινοειδών και γενικά των ψαριών είναι αδιαμφισβήτητη. Η μεγάλη θρεπτική τους αξία οφείλεται στη χημική σύνθεση της σάρκας τους καθώς είναι παρόμοια με εκείνη των θαλασσινών ψαριών.

Πίνακας 2.1. Χημική σύσταση του κρέατος ορισμένων βρώσιμων καρκινοειδών

Είδος	Βρώσιμο τμήμα	Νερό	Αζωτούχες ουσίες	Λίπη	Τέφρα	Θερμίδες βρώσιμου τμήματος (100gr)	Συγγραφείς
Ποταμίσια καραβίδα	-	72,74	13,63	0,36	13,06	63	Koning (1903)
Ευρωπαϊκός αστακός	-	76,61	18,31	1,17	3,91	91	Hemala (1989)
Αγκαθωτός αστακός	30,38	73,78	23,25	1,34	1,96	115	Carteni e Aloi (1935)
Γαρίδα	43,3	81,16	16,00	0,56	1,35	79	Carteni e Aloi (1935)

Στον Πίνακα 2.1. παρουσιάζεται η χημική σύσταση κάποιων από τα πιο εμπορικά και βρώσιμα καρκινοειδή. Παρατηρούμε λοιπόν ότι το ποσοστό του νερού κυμαίνεται από 80-85%. Η υγρασία στα καρκινοειδή είναι υψηλότερη από αυτή των ψαριών. Τα ανόργανα άλατα αποτελούν το 1-2% (τέφρα). Αξίζει να σημειωθεί ότι το κρέας των καρκινοειδών περιέχει κυρίως ασβέστιο, μαγνήσιο, φωσφόρος και θείο. Όσον αφορά τα λίπη κυμαίνονται σε χαμηλά ποσοστά 1-2%, Βρίσκονται σε πολύ μικρή ποσότητα και γι' αυτό η πεπτικότητα των καρκινοειδών είναι μεγάλη. Στο λίπος τους περιέχει στερόλες (π.χ. χοληστερόλη). Τα ποσοστά των πρωτεϊνών κυμαίνονται μεταξύ 14-23% Ποικίλουν και είναι περισσότερες στα μεγαλόσωμα είδη. Ποιοτικά, οι πρωτεΐνες των καρκινοειδών δεν διαφέρουν από τις πρωτεΐνες των άλλων ζώων. Επιπροσθέτως, περιέχουν ελάχιστη ποσότητα υδατανθράκων που κυμαίνεται από 0.03%-0.90%. Οι βιταμίνες στο κρέας των καρκινοειδών χαρακτηρίζεται από μια σημαντική περιεκτικότητα βιταμινών Β. Μικρές ποσότητες βιταμίνης C όπου βρίσκονται κυρίως στο κρέας των γαρίδων, και αφθονούν σε βιταμίνη Α (Σταμάτης et al., 2011).

Οι γαρίδες είναι τα πιο σημαντικά θαλασσινά που διακινούνται σε παγκόσμια κλίμακα και έχουν μεγάλη εμπορική αξία (Oosterveer, 2006). Μπορούν να προάγουν την υγιεινή διατροφή. Ειδικότερα, οι γαρίδες περιέχουν ω-3 λιπαρά οξέα, τα οποία μπορούν να διαδραματίσουν έναν προστατευτικό ρόλο ενάντια στις φλεγμονές που προκαλούν καρδιακές παθήσεις και αρθρίτιδα. Αν και η γαρίδα περιέχει σημαντικές ποσότητες χοληστερόλης, αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι οι γαρίδες έχουν χαμηλή λιποπερικτικότητα και συνεπώς δεν συμβάλλουν στα αυξημένα επίπεδα «κακής χοληστερόλης» (LDL). Επίσης, έχει ότι η κατανάλωση γαρίδων θα μπορούσε να μειώσει τα τριγλυκερίδια και να αυξήσει την παραγωγή της «καλής χοληστερόλης» γνωστής ως HDL (De Oliveira e Silva 1996, Valdimarsson et al. 1998; Αρβανιτογιάννης & Στρατάκος, 2011).

2.4.3. Γενικά στοιχεία της βιολογίας του είδους *Litopenaeus vannamei* (*Penaeus vannamei*)

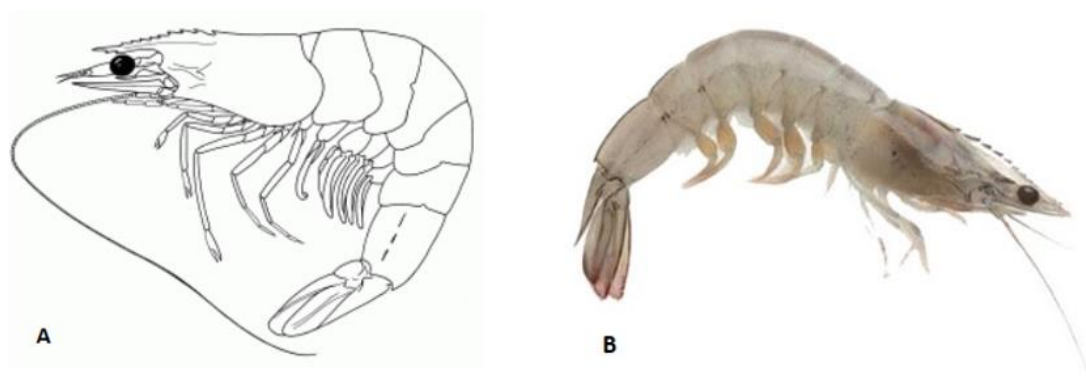
Αξιοσημείωτο είναι ότι οι γαρίδες του γένους *Penaeus* είναι μεταξύ των σπουδαιότερων και των πιο εντατικά εκτρεφόμενων καρκινοειδών του κόσμου με μεγάλες εξαγωγές και ζήτηση στην παγκόσμια αγορά (Shiau, 1998). Στον παρακάτω

Πίνακα 2.2. παρουσιάζεται η συστηματική ταξινόμηση της μελετώμενης γαρίδας *Litopenaeus vannamei* (*Penaeus vannamei*).

Πίνακας 2.2. Συστηματική ταξινόμηση

Βασίλειο:	Ζώα (Animalia)
Συνομοταξία:	Αρθρόποδα (Arthropoda)
Υποσυνομοταξία:	Καρκινοειδή (Crustacea)
Ομοταξία:	Μαλακόστρακα (Malacostraca)
Τάξη:	Δεκάποδα (Decapoda)
Οικογένεια:	<i>Penaeidae</i>
Γένος:	<i>Litopenaeus</i>
Είδος:	<i>Litopenaeus vannamei</i>

Σημαντική απειλή, ωστόσο, αποτελούν οι ασθένειες για την εκτροφή των γαρίδων, η παραγωγή αυτών των εξαιρετικά σημαντικών καρκινοειδών συνεχίζει διαρκώς να αυξάνει, γεγονός που σημαίνει ότι η διαχείριση και η παραγωγή τους πρέπει να γίνεται με τις μικρότερες απώλειες ποσοτικά και ποιοτικά.



Εικόνα 2.3. Α) Σχηματική απεικόνιση *Penaeus* (*Litopenaeus*) *vannamei*, Boone, 1931 (FAO Fisheries Synopsis, 1980) (Πηγή: <http://www.fao.org/fishery/species>) Β) Προσωπικό αρχείο

Στην παραπάνω Εικόνα 2.3. απεικονίζεται σχηματικά το μελετώμενο είδος γαρίδας καθώς και στα δεξιά απεικονίζεται γαρίδα του πειράματος. Στον Πίνακα 2.3. παρουσιάζεται αναλυτικά το είδος με την περιοχή στην οποία κατανέμεται ο πληθυσμός, ο βióτοπος, το μέγιστο μήκος που μπορεί να φτάσει καθώς και το μέγιστο μήκος κελύφους. Τέλος,

επισημαίνεται η μεγάλη εμπορική αξία του πληθυσμού για τις περιοχές στις οποίες συναντάται.

Πίνακας 2.3. *Litopenaeus (Penaeus) vannamei*, Boone, 1931 (Πηγή: *FAO Fisheries Synopsis (1980) / Proc. Biol. Soc. Wash., 80:94*)

Όνομα FAO	Whiteleg shrimp (En)
Κατανομή	Ανατολικός Ειρηνικός: Από Σονόρα, Βόρειο Μεξικό μέσω της Κεντρικής και Νότιας Αμερικής μέχρι το Νότο έως το Περού
Βιότοπος	Βάθος 0 έως 72m. Κάτω λάσπη ή αμμώδης λάσπη. Στις εκβολές προς θάλασσα τα ανήλικα.
Μέγεθος	Μέγιστο συνολικό μήκος 230 mm Μέγιστο μήκος κελύφους 90 mm
Ενδιαφέρον για την αλιεία	Η παράκτια αλιεία αυτού του είδους είναι μείζονος σημασίας στο Μεξικό, ιδιαίτερα στο νότιο τμήμα, εξίσου σημαντική και η αλίευση από τις υπεράκτιες μηχανότρατες. Στη Γουατεμάλα και το Ελ Σαλβαδόρ το <i>P. vannamei</i> είναι το κυρίαρχο είδος, αλλά η σημασία του φαίνεται να μειώνεται πιο νοτιοδυτικά.

2.4.4. Αξιολόγηση της ποιότητας του κρέατος της γαρίδας

Η αξιολόγηση της ποιότητας γενικά των τροφίμων είναι υψίστης σημασίας. Όσον αφορά τις γαρίδες, όπως και σε όλα τα ιχθυηρά, ως ευαλλοίωτα τρόφιμα η αξιολόγηση διαδραματίζει το σημαντικότερο ρόλο για την ποιότητα και την ασφάλεια του προϊόντος. Σε ένα τρόφιμο, το οποίο είναι ποιοτικά υποβαθμισμένο, επέρχονται μεταβολές στα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά που μειώνουν την αποδοχή του από τον καταναλωτή. Συνεπώς μειώνεται η εμπορική του αξία, χωρίς όμως αυτό να συνεπάγεται ότι το τρόφιμο θεωρείται ακατάλληλο για κατανάλωση. Η οργανοληπτική παράμετρος, ωστόσο, είναι μία υποκειμενική παράμετρος που μπορεί να αμφισβητηθεί. Για το λόγο αυτό, πρόσφατα έχουν αναπτυχθεί βιοχημικές μέθοδοι για τη μέτρηση των ποσοτήτων προϊόντων αποικοδόμησης που προέρχονται είτε από βακτηριακή, είτε από ενδογενή ενζυμική δραστηριότητα. Συγκεκριμένα, βιοχημικοί παράγοντες, όπως πτητικά και μη πτητικά επίπεδα αμίνης έχουν χρησιμοποιηθεί για την αξιολόγηση της φρεσκότητας της γαρίδας (Huis in't Veld, 1996).

Ως εκ τούτου, η αξιολόγηση της ποιότητας και της διάρκειας ζωής του κρέατος γαρίδας κατά την αποθήκευση βασίζεται στις αλλαγές στις μικροβιολογικές παραμέτρους και τις βιοχημικές παραμέτρους καθ' όλη την περίοδο αποθήκευσης. Η θερμοκρασία αποθήκευσης καθώς και η μεταβλητότητα καθορίζουν τα ποσοστά μείωσης διάρκειας ζωής στο ράφι και κατ' επέκταση την τελική ποιότητα κατά τη

στιγμή της κατανάλωσης ή της χρήσης (Tsironi et al., 2009). Δεδομένου ότι οι θερμοκρασίες αποθήκευσης για τις γαρίδες στον εμπορικό χειρισμό και διανομή ποικίλλουν (Shamshadet al., 1990), είναι σημαντικό να μπορεί να εκτιμηθεί αξιόπιστα η επίδραση στη διάρκεια ζωής οποιουδήποτε συνόλου μεταβλητών συνθηκών θερμοκρασίας που έχουν ή είναι πιθανό να συμβούν στην πραγματική κατεψυγμένη τροφική αλυσίδα. (Huis in't Veld, 1996; Smith et al., 1996; Zeng et al., 2005)

2.4.5. Οργανοληπτικά Χαρακτηριστικά

Η οργανοληπτική αξιολόγηση είναι ιδιαίτερα σημαντική. Είναι η πιο γρήγορη μέθοδος εκτίμησης της ποιότητας των καρκινοειδών και των ψαριών. Οι γαρίδες όπως και άλλα είδη θαλασσινών και ψαριών, εκτιμώνται γενικά με οργανοληπτικές μεθόδους αξιολόγησης που βασίζονται σε αλλαγές στην εμφάνιση, την οσμή, το χρώμα, τη γεύση και την υφή τους. Τα κύρια πλεονεκτήματα αυτών των μεθόδων είναι η ταχύτητα, η απλότητα και το χαμηλό κόστος. Ωστόσο, οι οργανοληπτικές αναλύσεις δεν είναι γενικά αντικειμενικές, ακόμη και όταν τα μέλη του πάνελ έχουν ιδιαίτερη κατάρτιση και μπορούν να αμφισβητηθούν (Yogyakarta. 2010; Baixas-Nogueras et al., 2002). Βέβαια αποτελεί έναν δείκτη ως τη νωπότητα, τη φρεσκότητα και γενικότερα την υποβάθμιση του προϊόντος.

2.4.6. Μικροβιολογικοί παράμετροι

Ιδιαίτερη έμφαση έχει δοθεί στην εμφάνιση παθογόνων μικροοργανισμών στα καταναλισκόμενα θαλασσινά. Εξαιτίας της διαρκούς αύξησης των απαιτήσεων από τους καταναλωτές για ασφαλέστερα και ποιοτικά καλύτερα θαλασσινά, οι παράγοντες της ασφάλειας και της ποιότητας των θαλασσινών στο εμπόριο έχουν καταστεί ιδιαίτερα σημαντικοί, δεδομένου ότι τα φρέσκα θαλασσινά είναι επιρρεπή και ευαλλοιώτα σε μικροβιολογικές αλλοιώσεις.

Η ανάπτυξη των μικροοργανισμών στη γαρίδα μπορεί να προκαλέσει αλλοίωση λόγω της παραγωγής μεταβολικών προϊόντων. Τα υποπροϊόντα των μικροοργανισμών περιλαμβάνουν πτητικές και μη πτητικές ενώσεις και πιθανώς τοξίνες. Επιπλέον, τα μικρόβια μπορεί να προκαλέσουν διάσπαση των γαρίδων, με αποτέλεσμα την απώλεια της υφής και τον αποχρωματισμό. Η δομική αποικοδόμηση του ιστού της γαρίδας οφείλεται εν μέρει στις δράσεις των μικροβιακών πρωτεολυτικών ενζύμων. Η ανίχνευση του μικροβιακού φορτίου χρησιμοποιείται συνήθως ως μέσο για τον προσδιορισμό της φρεσκότητας ή της ποιότητας της (Ghaly et al., 2010).

Κατά την αλίευση, την επεξεργασία και το χειρισμό οι γαρίδες μπορεί να μολυνθούν από ευρύ φάσμα μικροοργανισμών και από παθογόνους μικροοργανισμούς. Το ίδιο ακριβώς συμβαίνει και κατά τη διανομή και την αποθήκευση, η μόλυνση που οφείλεται σε μικροοργανισμούς μπορεί να αναπτυχθεί γρήγορα και να προκαλέσει σοβαρή αλλοίωση των γαρίδων. Οι γαρίδες πεθαίνουν αμέσως μετά την αλίευση και μπορεί να αναπτύξουν υψηλό μικροβιακό φορτίο μέχρι να μεταφερθούν στη μονάδα επεξεργασίας που βρίσκεται στην ακτή αν δε συντηρηθούν στο ενδεδειγμένο θερμοκρασιακό εύρος (Zeng et al., 2005; Huss et al., 2000).

Η θερμοκρασία αποθήκευσης καθορίζει τον τύπο της μικροχλωρίδας που υπερισχύει και τις προκύπτουσες πτητικές ενώσεις που παράγονται ως μεταβολικά προϊόντα κατά την αλλοίωση. Στο κέλυφος της γαρίδας, τα βακτήρια αποικίζουν κυρίως στις εσοχές των λεπιών, ενώ κατά την αποθήκευση εισβάλλουν στη σάρκα μετακινούμενα μεταξύ των μυϊκών ινών (Thórarinsdóttir and Ólafsdóttir, 2003).

Τα βακτήρια αλλοίωσης, όπως *Salmonella sp.*, *Listeria sp.*, *Escherichia coli* και *Staphylococcus aureus*, εμφανίζονται ενδεχομένως σε μαγειρεμένες γαρίδες και η εμφάνισή τους οφείλεται στις συνθήκες χειρισμού, επεξεργασίας και αποθήκευσης (Huss et al., 2000; Huss, 1997). Αυτές οι τοξίνες συνεχίζουν να αντέχουν στις γαρίδες κατά τη διάρκεια του μαγειρέματος, και έτσι οι μαγειρεμένες γαρίδες μπορεί να προκαλέσουν μεγάλο κίνδυνο. Ο *Staphylococcus aureus* είναι ικανός να μετατρέπει το υπεροξειδίο του υδρογόνου σε νερό και οξυγόνο (Yogyakarta, 2010).

Οι γαρίδες που έχουν υποστεί μαγείρεμα συχνά μολύνονται από *Escherichia coli*, που ανήκουν στην οικογένεια *Enterobacteriaceae*. Το *E. coli* είναι αναερόβιο βακτήριο με βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης 37 °C. Επιπροσθέτως, οι γαρίδες που έχουν μαγειρευτεί συχνά λειτουργούν ως πηγή τροφικής μόλυνσης, όπως η *Listeria monocytogenes*, η οποία προκαλεί λιστερίωση. Η *L. Monocytogenes* μπορεί να αναπτυχθεί υπό αναερόβιες συνθήκες και υπό ευρεία κλίμακα θερμοκρασιών (0- 45 °C) με βέλτιστο εύρος 30-37 °C.

Τέλος, ένα άλλο γένος βακτηρίων που ενδέχεται να μολύνει τις γαρίδες είναι η σαλμονέλα, η οποία ανήκει στην οικογένεια *Enterobacteriaceae*. Πρόκειται για βακτήριο που δεν σχηματίζει σπόρια και το οποίο είναι προαιρετικά αναερόβιο, θετικό στην καταλάση, αρνητικό στην οξειδάση (Huss et al., 2000). Η σαλμονέλα μπορεί να προκαλέσει σαλμονέλωση, μία ευρέως διαδεδομένη διατροφική ασθένεια. Αποτελεί σημαντικό κίνδυνο για τη δημόσια υγεία σε πολλές χώρες. Κρούσματα σαλμονέλωσης ξεσπούν διαρκώς τον τελευταίο καιρό. Είναι γνωστό ότι η τροφική αλυσίδα είναι

γενικά η κύρια πηγή μόλυνσης από τον ιό της σαλμονέλας για τον άνθρωπο (Yogyakarta, 2010). Πολλοί είναι οι παράγοντες που προκαλούν την ασθένεια όπως η ανεπαρκής παροχή καθαρού νερού, τα ανεπαρκή υγειονομικά μέτρα, η έλλειψη υγιεινής των τροφίμων και τα μέτρα ασφάλειας των τροφίμων ευθύνονται για την αύξηση των επιπτώσεων της σαλμονέλλωσης μέσω της τροφής (Miko et al., 2005).

2.4.7. Βιοχημικοί παράμετροι

Η βιοχημική παράμετρος για την ουσιαστική αξιολόγηση της ποιότητας των θαλασσινών είναι η περιεκτικότητα σε βιογενείς αμίνες λόγω των πιθανών τοξικών τους επιπτώσεων. Οι βιογενείς αμίνες είναι μη πτητικές αμίνες και βρίσκονται σε πολύ χαμηλά επίπεδα στις φρέσκιες γαρίδες. Ωστόσο, μπορούν να συσσωρευτούν σε συνδυασμό με τη βακτηριακή αλλοίωση στο κρέας της γαρίδας κατά την αποθήκευση. Συνιστάται γενικότερα η μείωση ή ακόμη και η αποφυγή της κατανάλωσης τροφίμων που περιέχουν βιογενείς αμίνες, ακόμη και σε χαμηλές συγκεντρώσεις (Zhao et al., 2007).

Μία άλλη παράμετρος για την εκτίμηση της φρεσκότητας της γαρίδας είναι η ενεργότητα του νερού (a_w). Η έννοια της ενεργότητας του νερού είναι μία σημαντική ιδιότητα που χρησιμοποιείται για την πρόβλεψη της ποιότητας και της ασφάλειας των τροφίμων σε σχέση με την ανάπτυξη μικροβίων, το ποσοστό των αντιδράσεων αλλοίωσης, τις χημικές και τις φυσικές ιδιότητες. Ο έλεγχος της ενεργότητας του νερού είναι ένας σημαντικός τρόπος για την πρόληψη της αλλοίωσης και για τη διατήρηση της ποιότητας των τροφίμων (Gibbs and Gekas, 1998).

Με την ενεργότητα του νερού περιγράφεται η διαθεσιμότητα ελεύθερου ύδατος στα τρόφιμα και συνεπώς η δυνατότητά του να δρα ως διαλύτης και να συμμετέχει σε χημικές ή βιοχημικές αντιδράσεις και στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών του συστήματος τροφής. Η ενεργότητα του νερού επηρεάζει τόσο τη μικροβιακή αλλοίωση, όσο και τη χημική και ενζυμική αντίδραση καθώς και τη σταθερότητα αποθήκευσης των τροφίμων, καθώς ορισμένες μεσολαβητικές διεργασίες στα τρόφιμα διενεργούνται με το νερό (Rockland and Stewart, 1998; Beuchat and Rockland, 1987).

Η ενεργότητα του νερού έχει άμεση επίπτωση στη μικροβιολογική ασφάλεια και ποιότητα των τροφίμων. Οι μικροοργανισμοί γενικά αναπτύσσονται καλύτερα σε ένα εύρος τιμών a_w 0.95-0.98, ενώ οι περισσότεροι από αυτούς παύουν να αναπτύσσονται σε a_w

2.5 Συντήρηση

Ως συντήρηση τροφίμων νοείται η λήψη μέτρων για την αντιμετώπιση των αιτιών που προκαλούν την ποιοτική υποβάθμιση ή την αλλοίωση των τροφίμων, έτσι ώστε τα τρόφιμα να γίνονται αποδεκτά από τον τελικό κριτή, τον καταναλωτή και να είναι ασφαλή για την υγεία του για καθορισμένο χρονικό διάστημα, όταν διατηρούνται κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες.

Αποτελέσματα της συντήρησης των τροφίμων είναι η επιμήκυνση του χρόνου διατήρησής τους, γεγονός που επιτρέπει τη διάθεση και εμπορία τους σε πλέον απομακρυσμένες περιοχές, η βελτίωση του εισοδήματος, ο εφοδιασμός με τρόφιμα των αστικών περιοχών και των μεγάλων πόλεων, η διάθεση τροφίμων σε όλη τη διάρκεια του έτους, παρά την εποχική παραγωγή ορισμένων από αυτά και τέλος η δυνατότητα διατήρησης αποθεμάτων σε τρόφιμα για την αντιμετώπιση έκτακτων καταστάσεων.

Επειδή οι μικροοργανισμοί είναι δυνατόν να θέσουν σε κίνδυνο την υγεία του καταναλωτή και ταυτόχρονα προκαλούν τις περισσότερες αλλοιώσεις στα τρόφιμα, για αυτό και οι περισσότερες μέθοδοι συντήρησης στηρίζονται στη λήψη μέτρων για την αντιμετώπισή τους. Τα ένζυμα και τα άλλα αίτια που προκαλούν αλλοιώσεις στα τρόφιμα, αν δεν αντιμετωπίζονται με την εφαρμοζόμενη μέθοδο συντήρησης, τότε λαμβάνονται πρόσθετα μέτρα για το σκοπό αυτό.

Η συντήρηση των τροφίμων στηρίζεται στις τρεις βασικές αρχές. Αρχικά, στην καταστροφή των μικροοργανισμών που προκαλούν τη συγκεκριμένη αλλοίωση ενός τροφίμου με την εφαρμογή μεθόδων που διαταράσσουν έντονα έναν ή περισσότερους μηχανισμούς ομοιόστασης σε τέτοια έκταση, ώστε να προκαλούν το θανάτωσή τους. Επιπλέον, στη δημιουργία ενός περιβάλλοντος μέσα στο τρόφιμο που είναι εχθρικό για τους μικροοργανισμούς που απαντούν σε αυτό με αποτέλεσμα να επιβραδύνεται ή και να αναστέλλεται η ανάπτυξή τους, ανάλογα με την έκταση στην οποία διαταράσσεται ο μηχανισμός ομοιόστασης των μικροοργανισμών από το δυσμενές περιβάλλον. Τέλος, στη λήψη πρόσθετων μέτρων για την αντιμετώπιση των άλλων αιτιών αλλοίωσης των τροφίμων.

Η επιλογή της κατάλληλης μεθόδου επεξεργασίας και συντήρησης για ένα συγκεκριμένο προϊόν εξαρτάται από πολλούς παράγοντες. οι σπουδαιότεροι από αυτούς είναι η φύση του προϊόντος και ο επιδιωκόμενος στόχος, ο χρόνος που μπορεί να συντηρηθεί το προϊόν με την συγκεκριμένη μέθοδο, η αποτελεσματικότητα της

μεθόδου να διασφαλίζει την υγεία του καταναλωτή, να διατηρεί τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του προϊόντος και να ελαχιστοποιεί τις απώλειες σε θρεπτικά στοιχεία, οι απαιτήσεις της μεθόδου σε ενέργεια και φυσικούς πόρους (νερό), το κόστος και η δυνατότητα εφαρμογής της μεθόδου και τέλος, οι επιπτώσεις της στο περιβάλλον (Μπλούκας, 2017).

2.5.1. Εφαρμοζόμενες μέθοδοι συντήρησης γαρίδων

Τα τελευταία χρόνια έχουν αναπτυχθεί αξιόπιστες μέθοδοι για την επέκταση της διάρκειας ζωής των γαρίδων και την άμβλυνση των κινδύνων για την υγεία των καταναλωτών (Al-Dagal and Bazaraa, 1999).

Ωστόσο, αυτές οι μέθοδοι έχουν ορισμένους περιορισμούς για τη διατήρηση της γαρίδας. Επιπλέον, η συνηθέστερη μέθοδος συντήρησης που χρησιμοποιείται μέχρι σήμερα για την παράταση της διάρκειας ζωής των γαρίδων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης είναι η κατάψυξη, κυρίως στη βιομηχανία γαρίδας (Huidobro et al., 2002). Εκτός αυτού στον τομέα της αλιείας, οι περισσότερες γαρίδες παγώνουν στο σκάφος μετά την αλίευσή τους και μεταποιοούνται σε εργοστάσια κοντά στην αλιευτική περιοχή εντός 5-7 ημερών από τη στιγμή της αλίευσης (Valdimarson, 1998).

Διάφορες μέθοδοι συντήρησης που εφαρμόζονται μέχρι σήμερα συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα. Αναλυτικότερα, παρουσιάζονται μέθοδοι συντήρησης καθώς και οι περιορισμοί που υπάρχουν από την χρήση αυτών συγκεκριμένα για τις γαρίδες.

Πίνακας 2.4. Μέθοδοι Συντήρησης Γαρίδων

ΜΕΘΟΔΟΙ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ	ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ
Αποθήκευση σε πάγο	Κακή υφή και σχήμα, απώλεια χρώματος, υψηλή κατανάλωση ενέργειας
Τροποποιημένη αποθήκευση σε πάγο	Κακή υφή και απώλεια χρώματος
Cook-chill process	Κακή υφή και χρώμα
Υπερψύξη 0-4°C	Κακή υφή, απώλεια χρώματος, υψηλό ενεργειακό κόστος
Υγρός πάγος	Απώλεια χρώματος, υψηλό ενεργειακό κόστος
Συσκευασίες τροποποιημένης ατμόσφαιρας σε πάγο	Κακή γεύση, κόστος συσκευασίας
γ-ακτινοβολία	Υψηλό ενεργειακό κόστος, κακό σχήμα

Θεραπεία με οργανικές ενώσεις και άλατα αυτών	Μεταβολές στη γεύση, κακή υφή, απώλεια χρώματος
Συνδυασμός μαγειρέματος & ακτινοβολίας	Υψηλό ενεργειακό κόστος, κακή υφή και σχήμα

2.5.2. Συσκευασία - Ορισμός

Σύμφωνα με τον Μπλούκα (2017), είναι απαραίτητη προϋπόθεση για τη σωστή συντήρηση των τροφίμων, με ορισμένες τουλάχιστον μεθόδους, η κατάλληλη συσκευασία. Ο στόχος της συσκευασίας είναι η προστασία των τροφίμων από φυσικούς παράγοντες, στη διευκόλυνση του χειρισμού, στη μεταφορά και την εμπορία τους με το μικρότερο δυνατό κόστος και επιπλέον στοχεύει στην προσέλκυση του καταναλωτή με τελικό σκοπό την προώθηση των πωλήσεων.

Η συσκευασία αποτελεί το τελευταίο στάδιο της επεξεργασίας ενός τροφίμου και επηρεάζει σε πολύ μεγάλο βαθμό τη μικροβιολογική του σταθερότητα και το χρόνο ζωής του. Ακριβώς για αυτόν τον λόγο, αποτελεί ένα κομμάτι υψίστης σημασίας της αγοράς, που απασχολεί όλο και πιο έντονα τις βιομηχανίες τροφίμων (Restuccia et al., 2010). Τα τελευταία χρόνια έντονο ενδιαφέρον συγκεντρώνουν μελέτες που αφορούν συσκευασίες με φυσικές αντιμικροβιακές οποίες μπορούν να επιδράσουν σημαντικά στην ασφάλεια των τροφίμων και να επιμηκύνουν τον χρόνο ζωής τους (Gennadios et al., 1997; Quintavalla and Vicini, 2002; Cagri et al., 2004).

Συσκευασία είναι η επιστήμη, η τέχνη και η τεχνολογία με την οποία επιτυγχάνεται το τύλιγμα και η προστασία των προϊόντων προς κατανάλωση. Είναι ένα σύνολο διεργασιών για την προετοιμασία του προϊόντος για τη διανομή, αποθήκευση, πώληση και χρήση του. Επίσης, με τον όρο συσκευασία εννοούμε τη διαδικασία του σχεδιασμού, την εκτίμηση, και την παραγωγή των συσκευασιών (υλικών). Ανάλογα με τις ανάγκες κάθε προϊόντος παράγεται και η κατάλληλη συσκευασία (Μπλούκας 2004).

Η συσκευασία τροφίμων αφορά σε προϊόντα τροφίμων που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση βραχυπρόθεσμα ή μακροπρόθεσμα. Σε αυτή τη συσκευασία απαιτείται προστασία του τροφίμου, σταθερή θερμοκρασία, και συγκεκριμένες φυσικές, χημικές και βιολογικές μέθοδοι πριν από την τυποποίηση, οι οποίες ποικίλλουν ανάλογα με το τρόφιμο (Μπλούκας 2004).

Η έξυπνη και ενεργή συσκευασία φαίνεται να αποτελούν τα είδη συσκευασιών που είναι ικανά να επιμηκύνουν τη διάρκεια ζωής των τροφίμων και να βελτιώσουν την ποιότητά τους, χωρίς να επιβαρύνουν το προϊόν και την υγεία του καταναλωτή, και

χωρίς να συμβάλλουν στη μόλυνση του περιβάλλοντος (Rhim and Shellhammer, 2005).

2.5.3. Ενεργή συσκευασία

Η κατανάλωση προϊόντων από το ψυγείο, την κατάψυξη ή προϊόντων έτοιμων προς κατανάλωση φαίνεται να αποτελεί τη νέα τάση στην αγορά. Αυτό συμβαίνει εξαιτίας της αλλαγής του τρόπου ζωής και κατ' επέκταση της έλλειψης ελεύθερου χρόνου για μαγείρεμα σε καθημερινή βάση. Οι καταναλωτές επιλέγουν προϊόντα που έχουν ταυτιστεί με την χαμηλότερη δυνατή επεξεργασία, συνδυάζοντας όσο το δυνατόν μεγαλύτερη διάρκεια ζωής, ενώ ταυτόχρονα διατηρούν την θρεπτική τους αξία (Dainelli et al., 2008).

Μία νέα μέθοδος φαίνεται να είναι η ενεργή συσκευασία, η οποία φαίνεται να ικανοποιεί τις διαρκείς απαιτήσεις των καταναλωτών, δρώντας συμπληρωματικά προς την κύρια συσκευασία του προϊόντος. Πιο συγκεκριμένα, αλληλεπιδρά με το τρόφιμο και το εσωτερικό περιβάλλον της συσκευασίας (δηλαδή το περιβάλλον που βρίσκεται μεταξύ του υλικού συσκευασίας και της επιφάνειας του τροφίμου), προκειμένου να διατηρήσει ή να βελτιώσει την ποιότητα και την ασφάλεια αυτού, ή ενδεχομένως να παρατείνει το χρόνο ζωής του τροφίμου (Suppakul et al., 2003; Jofre et al., 2008).

Εφαρμογές της ενεργούς συσκευασίας στοχεύουν στην παράταση του χρόνου ζωής του συσκευασμένου τροφίμου, περιλαμβάνουν τους μηχανισμούς αφαίρεσης ή προσρόφησης οξυγόνου, υγρασίας και οσμών, καθώς και απελευθέρωσης CO₂, αιθανόλης, συντηρητικών και αντιμικροβιακών ουσιών (Suppakul et al., 2003; Kerry et al., 2006). Τα υλικά αποτελούν τους φορείς των συστατικών ενεργούς συσκευασίας είναι πλαστικές εδώδιμες ή μη ύλες, που τοποθετούνται στο εσωτερικό της κύριας συσκευασίας, σε άμεση ή μη επαφή με το τρόφιμο. Οι μηχανισμοί περιγράφονται αναλυτικά παρακάτω.

2.5.4. Βασικές κατηγορίες ενεργούς συσκευασίας

Βασικές κατηγορίες ενεργούς συσκευασίας, είναι η προσρόφηση (δέσμευση), η διάσπαση ή η σταδιακή απελευθέρωση παραγόντων ωρίμανσης, συντήρησης (επιβράδυνσης της αλλοίωσης) και διατήρησης ή/και βελτίωσης των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών στο εσωτερικό της συσκευασίας.

Σε αυτή την κατηγορία συγκαταλέγονται τα παρακάτω συστήματα συσκευασίας (Suppakul et al. 2003, Day 2008, Rooney, 2005):

- **Δέσμευση οξυγόνου.** Η δέσμευση του οξυγόνου (εντός της συσκευασίας ή του εισερχόμενου από το εξωτερικό περιβάλλον) επιβραδύνει φαινόμενα οξειδωσης, όπως είναι η αμαύρωση, τάγγιση, ή/και αποτρέπει την αύξηση μικροοργανισμών (βακτηρίων και μυκήτων). Οι δεσμευτές οξυγόνου (oxygen scavengers) είναι κυρίως ουσίες που αντιδρούν με το οξυγόνο, μειώνοντας τη συγκέντρωσή του.
- **Απορρόφηση ή απελευθέρωση διοξειδίου του άνθρακα (carbon dioxide absorbers and emitters).** Το διοξείδιο του άνθρακα μπορεί να έχει θετική επίδραση στη διατήρηση ενός προϊόντος είτε παρεμποδίζοντας την ανάπτυξη μικροβίων σε ορισμένα προϊόντα όπως το φρέσκο κρέας, πουλερικά, τυρί και ψημένα προϊόντα είτε περιορίζοντας το ρυθμό της αναπνοής σε φρέσκα λαχανικά. Αντιστρόφως, οι υψηλές συγκεντρώσεις διοξειδίου του άνθρακα που προκύπτουν εξαιτίας της σταδιακής αλλοίωσης των προϊόντων επιδρούν αρνητικά στην ποιότητα του προϊόντος.
- **Δέσμευση αιθυλενίου.** Το αιθυλένιο είναι μία φυσική ορμόνη που εκλύεται από φρέσκα οπωροκηπευτικά, το οποίο δρα επιταχύνοντας την αναπνοή και οδηγώντας στην ωρίμανση του καρπού. Η προσρόφηση αυτού συμβάλλει στην καθυστέρηση της ωρίμανσης φυτικών ιστών, με αποτέλεσμα να παρατείνει τον εμπορικό χρόνο έκθεσης των προϊόντων στην αγορά πριν την εμφάνιση συμπτωμάτων υποβάθμισης, συνυφασμένων με την υπερωρίμανση, όπως χαλάρωση ιστών και χρωματικές αλλοιώσεις.
- **Έλεγχος υγρασίας.** Για μία σειρά από προϊόντα είναι σημαντικός ο έλεγχος της υγρασίας. Οι παράγοντες ελέγχου της υγρασίας, οδηγούν σε διατήρησή της στα επιθυμητά επίπεδα, περιορίζοντας την απώλεια της υγρασία και παράλληλα επιβραδύνοντας τη συσσώρευση υγρασίας στο εσωτερικό της συσκευασίας που θα ευνοούσε και την ανάπτυξη μικροοργανισμών.
- **Έλεγχος οσμών.** Ο έλεγχος οσμών γίνεται για την απομάκρυνση ανεπιθύμητων αερίων ενώσεων, όπως ορισμένα πτητικά συστατικά της συσκευασίας, χημικοί μεταβολίτες των τροφίμων, μικροβιακοί μεταβολίτες, αέρια της αναπνοής και δυσάρεστες οσμές σε νωπά προϊόντα.
- **Απελευθέρωση αντιοξειδωτικών.** Εφαρμόζεται συνήθως για να αποτρέψει φαινόμενα οξειδωτικής τάγγισης ή κάποιας άλλης σχετικής υποβάθμισης των τροφίμων, λόγω της αλληλεπίδρασης του οξυγόνου με τα συστατικά του τροφίμου.

- **Απελευθέρωση αντιμικροβιακών ουσιών.** Οι αντιμικροβιακές ουσίες που ενσωματώνονται στα υλικά συσκευασίας και ειδικά στις μεμβράνες, εδωδίες και μη, μπορούν να ελέγχουν την μικροβιακή αύξηση μειώνοντας τον ρυθμό ανάπτυξης και τη μέγιστη αύξηση του πληθυσμού, δίνοντας παράταση στην φάση υστέρησης του μικροοργανισμού στόχου ή αδρανοποιώντας τους μικροοργανισμούς όταν η αντιμικροβιακή ουσία έρχεται σε επαφή μαζί τους. Αξίζει να επισημανθεί ότι η αντιμικροβιακή συσκευασία αποτελεί την πιο σημαντική μορφή ενεργού συσκευασίας (Coma, 2008).

2.5.5. Εφαρμογές ενεργούς συσκευασίας

Στον παρακάτω Πίνακα 2.5. παρουσιάζονται συγκεντρωτικά κάποιες από τις εφαρμογές ενεργούς συσκευασίας που χρησιμοποιούνται σε διάφορα τρόφιμα. Πιο συγκεκριμένα, εμφανίζονται κάποιες εφαρμογές σε κάποια είδη των τροφίμων. Οι προσροφητές οξυγόνου και αιθυλενίου, τα συστήματα απορρόφησης και εκπομπής CO₂, τα συστήματα απορρόφησης υγρασίας, τα συστήματα εκπομπής αλκοόλης, οι μεμβράνες απελευθέρωσης αντιμικροβιακών, αντιοξειδωτικών, απορρόφησης οσμών και απελευθέρωσης οσμών, οι χρωματοφόρες μεμβράνες, οι μεμβράνες παρεμπόδισης δημιουργίας νεφώσεων, οι αντικολλητικές μεμβράνες, οι μεμβράνες περατές σε αέρα και μετασυλλεκτικής συμπεριφοράς φυτικών ιστών καθώς και ο θερμό-μετατροπέας μικροκυμάτων παρουσιάζονται παρακάτω.

Πίνακας 2.5. Παραδείγματα πρακτικών εφαρμογών ενεργού συσκευασίας σε διάφορα τρόφιμα (Restuccia et al., 2010)

α/α	ΕΙΔΟΣ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ	ΤΡΟΦΙΜΟ
1	Συλλέκτες (προσροφητές) οξυγόνου (Oxygen scavengers)	Καφές, πατατάκια, ψωμί και σνακς, καπνιστό κρέας και προϊόντα αλιπάσωσης, ψάρι, τυρί
2	Συστήματα απορρόφησης διοξειδίου του άνθρακα	Αλεσμένος καφές
3	Συστήματα εκπομπής διοξειδίου του άνθρακα	Κρέας, ψάρι
4	Συστήματα απορρόφησης υγρασίας	Ξηρά και αποξηραμένα προϊόντα, κρέας, πουλερικά, ψάρι
5	Συλλέκτες (προσροφητές) αιθυλενίου	Ακτινίδια, Μπανάνα, Αβοκάντο
6	Συστήματα εκπομπής αλκοόλης	Κέικ, Ψωμί, Ψάρια
7	Μεμβράνες απελευθέρωσης αντιμικροβιακών	Αποξηραμένα βερίκοκα και άλλα φρούτα, κρέας

8	Μεμβράνες απελευθέρωσης αντιοξειδωτικών	Δημητριακά
9	Μεμβράνες απορρόφησης οσμών	Χυμοί φρούτων
10	Μεμβράνες απελευθέρωσης οσμών	Αλεσμένος καφές
11	Χρωματοφόρες μεμβράνες	Σουρίμι (καβουρόψιχα και άλλα αντίστοιχα παρασκευάσματα)
12	Μεμβράνες που παρεμποδίζουν τη δημιουργία νέφωσης (Anti-fogging films)	Συσκευασίες φρέσκων φρούτων και λαχανικών
13	Αντικολλητικές μεμβράνες	Μαλακές καραμέλες, τυρί σε φέτες
14	Απορροφητές φωτός	Πίτσα, Γάλα
15	Μεμβράνες περατές σε αέρια αναπνοής και μετασυλλεκτικής συμπεριφοράς φυτικών ιστών	Έτοιμες προς κατανάλωση κομμένες σάλτσες
16	Θερμο-μετατροπέας μικροκυμάτων (για επιφανειακό browning τροφίμων) Microwave susceptors	Έτοιμα προς κατανάλωση γεύματα, επιδέχοντα αναθέρμανσης

2.6. Τεχνολογία των εδώδιμων μεμβρανών και επικαλύψεων

Μία εδώδιμη μεμβράνη νοείται ένα λεπτό συνεχές στρώμα εδώδιμου υλικού, που εσωκλείει το τρόφιμο, ενώ μία εδώδιμη επικάλυψη ορίζεται ως ένα λεπτό στρώμα εδώδιμου υλικού που επικαλύπτει το τρόφιμο.

Οι εδώδιμες επικαλύψεις και μεμβράνες διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες ανάλογα με το βιοπολυμερές από το οποίο παρασκευάζονται: υδροκολλοειδή, λιπίδια και σύνθετα. Σχετικά με τα υδροκολλοειδή, οι εδώδιμες μεμβράνες και επικαλύψεις υδροκολλοειδών μπορούν να εφαρμοστούν σε περιπτώσεις όπου δεν είναι απαραίτητος ο έλεγχος της μεταφοράς υγρασίας (Bonilla et al., 2011). Η διαλυτότητα των μεμβρανών αυτών είναι το μεγάλο πλεονέκτημα στην περίπτωση όπου το τρόφιμο θερμαίνεται πριν από την κατανάλωση. Οι μεμβράνες και επικαλύψεις αυτές είναι διαφανείς, άοσμες, εύκαμπτες και άχρωμες και αποτελούν πολύ καλό εμπόδιο στην μεταφορά οξυγόνου, πτητικών ουσιών και ελαίων (Min and Krochta, 2005).

Η δεύτερη κατηγορία υδροκολλοειδών αποτελούν τα λιπίδια. Οι επικαλύψεις και οι μεμβράνες που παρασκευάζονται από λιπίδια χρησιμοποιούνται για την δημιουργία φραγμού στη μεταφορά υγρασίας, την αντιοξειδωτική τους δράση και την βελτίωση της όψης (Cha και Chinnan 2004).

Τέλος, οι σύνθετες μεμβράνες και επικαλύψεις συνδυάζουν τα πλεονεκτήματα των υδροκολλοειδών και των λιπιδικών και περιορίζουν τα μειονεκτήματά τους. Πιο συγκεκριμένα, τα υδροκολλοειδή, όντας υδρόφιλα, δεν αποτελούν εμπόδιο στην

μεταφορά υγρασίας, μια ιδιότητα που αντισταθμίζεται με την προσθήκη λιπιδίων, που αποτελούν εξαιρετικό εμπόδιο στη μεταφορά υγρασίας.

2.6.1. Ιδιότητες εδώδιμων μεμβρανών - Εφαρμογές

Οι εδώδιμες μεμβράνες και οι επικαλύψεις μπορούν να βοηθήσουν σημαντικά στις προκλήσεις της αγοράς. Ειδικότερα, οι απαιτήσεις της αγοράς διαρκώς αυξάνονται. Η προώθηση των τροφίμων στοχεύει στον συνδυασμό κάποιων λειτουργιών και δεν επικεντρώνεται σε μία μόνο λειτουργία. Πρέπει λοιπόν πέρα από υψηλής θρεπτικής αξίας, να είναι αδιαμφισβήτητα ασφαλή για τον καταναλωτή με υψηλή ποιότητα και ταυτοχρόνως η σχέση ποιότητας και τιμής να είναι όσο το δυνατόν καλύτερη. Όπως προαναφέρθηκε, οι εδώδιμες μεμβράνες και επικαλύψεις αποτελούν εμπόδιο στη μεταφορά του οξυγόνου (O_2) και του διοξειδίου του άνθρακα (CO_2) αλλά και της υγρασίας. Για τον λόγο αυτό τοποθετούνται είτε στην επιφάνεια του τροφίμου, είτε εντός του τροφίμου, όπου διαχωρίζουν συστατικά με διαφορετική ενεργότητα νερού, διότι είναι σημαντικό να διατηρηθεί η υφή του τροφίμου.

Στην πρώτη περίπτωση, ο ρόλος της μεμβράνης είναι να περιορίζει τη μεταφορά υγρασίας από το τρόφιμο στο περιβάλλον ή να περιορίζει τη μεταφορά O_2 που συνεπάγεται επιβράδυνση της αναπνοής (Kester and Fenema, 1986). Στην δεύτερη περίπτωση, η μεμβράνη βοηθά στην εξισορρόπηση της ενεργότητας νερού και στην διατήρηση της υφής των διαφόρων συστατικών. Σύμφωνα με τους Debeaufort et al. (1998), η μόνη συσκευασία που είναι ικανή να παρεμποδίζει αποτελεσματικά τη μετανάστευση συστατικών είναι η συσκευασία με εδώδιμες μεμβράνες.

Οι εδώδιμες μεμβράνες και επικαλύψεις είναι δυνατόν να βελτιώσουν τις μηχανικές ιδιότητες, καθώς και τη σταθερότητα ενός προϊόντος. Οι επικαλύψεις ακόμη μπορούν να βελτιώσουν τη μηχανική αντοχή προϊόντων, τα οποία είναι ευπαθή σε μηχανικές βλάβες, όπως τα φρέσκα φρούτα και τα λαχανικά. φρέσκα φρούτα και λαχανικά.

Πολυάριθμες έρευνες αναφέρουν τις εδώδιμες μεμβράνες και επικαλύψεις ως ιδανικούς φορείς προσθέτων τροφίμων, όπως αρωματικές ύλες, αντιμικροβιακοί παράγοντες, αντιοξειδωτικά και χρωστικές (Valencia-Chamorro et al., 2009; Zinoviadou et al., 2009) κάνοντας έτσι δυνατό τον έλεγχο του σημείου εφαρμογής και του ρυθμού απελευθέρωσης των συστατικών αυτών σε ένα τρόφιμο. Μπορεί να ελεγχθεί το σημείο εφαρμογής της εδώδιμης μεμβράνης ανάλογα με τις εκάστοτε ανάγκες, όπως για παράδειγμα να εφαρμοστεί μόνο στην επιφάνεια του τροφίμου.

Ολοένα και περισσότερο, σήμερα, αυξάνεται το ενδιαφέρον για την ανάπτυξη εδώδιμης μεμβράνης και επικαλύψεως. Αυτό συμβαίνει εξαιτίας της αυξανόμενης τάσης για την ελάττωση των υλικών συσκευασίας που προέρχονται από μη βιοδιασπώμενα υλικά, όπως τα συνθετικά (Wu et al, 2002). Το μεγαλύτερο πλεονέκτημά τους δεν παύει να είναι η δυνατότητα κατανάλωσής τους μαζί με το τρόφιμο, προσφέροντας επιπρόσθετα θρεπτικά συστατικά, βελτιώνοντας τις οργανοληπτικές ιδιότητες. Δρα επίσης σαν ένα προστατευτικό φιλμ ακόμη και όταν η συσκευασία έχει ανοιχθεί. Τέλος, πολύ συχνά, οι πρώτες ύλες για την παρασκευή των εδώδιμων μεμβρανών αποτελούν υποπροϊόντα και απόβλητα βιομηχανιών τροφίμων, επομένως μπορούμε να πούμε πως είναι οικονομικές και φιλικές προς το περιβάλλον.

2.6.2. Πρόσθετες ουσίες των εδώδιμων μεμβρανών

Ως πρόσθετες ουσίες ή πρόσθετα χαρακτηρίζονται οι ουσίες που προστίθενται στις εδώδιμες μεμβράνες και επικαλύψεις, στοχεύοντας στη βελτίωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, κάποια παραδείγματα αυτών είναι οι χρωστικές, τα αρώματα, τα πρόσθετα γεύσης. Παράλληλα, κάποια άλλα πρόσθετα δρουν με σκοπό την προστασία, για αυτό το λόγο χαρακτηρίζονται ως προστατευτικά, όπως είναι τα αντιοξειδωτικά και τα συντηρητικά. Τέλος, ως διατροφικά νοούνται οι πρόσθετες ουσίες, όπως οι βιταμίνες και τα ιχνοστοιχεία, που επιδρούν στα χαρακτηριστικά τους.

Αξίζει να σημειωθεί ότι μεγάλο ενδιαφέρον συγκεντρώνουν οι πλαστικοποιητές. Πλαστικοποιητές νοούνται οι ουσίες όπως η γλυκερόλη, η σορβιτόλη, η σουκρόζη και οι γλυκόλες, οι οποίες προστίθενται συχνά, με σκοπό την τροποποίηση των μηχανικών ιδιοτήτων των εδώδιμων μεμβρανών και επικαλύψεων. Η προσθήκη πλαστικοποιητών σε διαλύματα εκ των οποίων προκύπτουν οι επικαλύψεις ή μεμβράνες, οδηγεί σε μείωση της ευθραυστότητας, ενώ παράλληλα στην αύξηση της ευλυγισίας και της ευκαμψίας τους. Η προσθήκη αυτή κρίνεται απαραίτητη ιδιαίτερα στην περίπτωση των υδροκολλοειδών, όπως πολυσακχαρίτες και πρωτεΐνες, όπου εξαιτίας των διαμοριακών δυνάμεων (δεσμοί υδρογόνου), οι επικαλύψεις ή μεμβράνες είναι ιδιαίτερα εύθρυπτες. Έτσι, η χρήση πλαστικοποιητή προσδίδει αντοχή και ελαστικότητα στις επικαλύψεις.

Εφαρμογή ενεργούς συσκευασίας αποτελούν οι εδώδιμες μεμβράνες και επικαλύψεις, εφόσον είναι ιδανικοί φορείς αντιμικροβιακών και αντιοξειδωτικών παραγόντων. Η ενσωμάτωση τέτοιων παραγόντων σε επικαλύψεις και μεμβράνες έχει

ως αποτέλεσμα μικρότερους ρυθμούς διάχυσης από το βιοπολυμερές στο προϊόν. Έτσι επιτυγχάνονται μεγάλες συγκεντρώσεις των ενεργών συστατικών εκεί όπου απαιτούνται (Ouattara et al., 2000; Terta et al., 2006; Kristo et al., 2008). Βιοενεργά συστατικά, όπως τα αιθέρια έλαια, μπορούν να προστεθούν σε μεμβράνες ή επικαλύψεις, έτσι ώστε να επιμηκύνουν τη διάρκεια χρόνου ζωής, να επιβραδύνουν τη μικροβιακή ανάπτυξη και ταυτόχρονα να διατηρήσουν τη θρεπτική αξία των τροφίμων (Zinoviadou et al., 2009).

2.6.3. Πλεονεκτήματα και Μειονεκτήματα εδώδιμων μεμβρανών και επικαλύψεων

Οι εδώδιμες μεμβράνες και επικαλύψεις παρουσιάζουν αναμφίβολα πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα. Αρχικά, παράγονται από εδώδιμες, ανανεώσιμες πρώτες ύλες. Ένα ασύγκριτα μεγάλο πλεονέκτημα είναι ότι μπορούν να καταναλωθούν μαζί με το προϊόν, με αποτέλεσμα να έχουν μηδενικό οικολογικό αποτύπωμα. Ακόμη και στην περίπτωση, που δεν καταναλωθούν με το προϊόν, δεν οδηγούν σε μόλυνση του περιβάλλοντος λόγω της γρήγορης αποσύνθεσής τους, αφού πρόκειται για πλήρως βιοδιασπώμενα υλικά. Συνεπώς, με τη χρήση τους προάγεται η περιβαλλοντική ευαισθητοποίηση του καταναλωτικού κοινού.

Παράλληλα, είναι εφικτή η ενσωμάτωση ουσιών στις εδώδιμες μεμβράνες και επικαλύψεις, που στοχεύουν στην ενίσχυση του χρώματος, της οσμής, ακόμη και της γεύσης. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη βελτίωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, καθώς και την τελική αποδοχή του προϊόντος από τους καταναλωτές. Επιπροσθέτως, μπορούν να ενσωματωθούν και αντιμικροβιακές ουσίες και αντιοξειδωτικά, επεκτείνοντας τη διάρκεια συντήρησης του προϊόντος. Επιπλέον, η χρησιμοποίηση πρωτεϊνών για την παραγωγή τους βελτιώνει τη θρεπτική αξία του προϊόντος. Ένα άλλο προτέρημα είναι ότι μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη συσκευασία και επικάλυψη μεμονωμένων τεμαχίων του προϊόντος. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ενθυλάκωση διαφόρων ουσιών και την ενσωμάτωσή τους σε προϊόντα. Επιτυγχάνοντας με αυτόν τον τρόπο τη σταδιακή και ελεγχόμενη απελευθέρωσή τους στη διάρκεια της παραγωγής ή της συντήρησης των προϊόντων.

Ωστόσο, η χρήση τους παρουσιάζει κάποιες αδυναμίες, οι οποίες είναι εξίσου σημαντικές. Πιο συγκεκριμένα, απαιτούνται αναμφίβολα εκτενείς και λεπτομερείς μελέτες μέχρι να βρεθεί ποιο επικαλυπτικό υλικό είναι κατάλληλο για κάθε τρόφιμο. Λόγω της αλλαγής που επιφέρουν στην εσωτερική ατμόσφαιρα του τροφίμου ενδέχεται

να μεταβληθεί το προφίλ των μικροοργανισμών που αναπτύσσονται κατά τη συντήρηση του τροφίμου. Αξίζει να επισημανθεί ότι αν χρησιμοποιηθεί με άλλα τρόφιμα που έχουν διαφορετική ενεργότητα νερού, ίσως λόγω μετανάστευσης της υγρασίας να επηρεαστεί τόσο οργανοληπτικά όσο και ποιοτικά το τρόφιμο. Συμπερασματικά, έχουν αναφερθεί περιπτώσεις σε μελέτες ότι η εφαρμογή μη κατάλληλου επικαλυπτικού υλικού οδήγησε σε υποβάθμιση της ποιότητας του προϊόντος (Lin and Zhao, 2007).

2.6.4. Μέθοδοι εφαρμογής εδώδιμων επικαλύψεων

Οι εδώδιμες επικαλύψεις εφαρμόζονται άμεσα επάνω στα τρόφιμα με εμφάνιση, ψεκασμό ή βούρτσισμα και έγχυση. Πρόκειται για τεχνικές άμεσης εφαρμογής όπου η μεμβράνη είναι ακόμα στην υγρή της φάση και με βούρτσισμα ή ψεκασμό ή εμφάνιση και στη συνέχεια αποστράγγιση ή φυγοκέντριση εφαρμόζεται στο τρόφιμο όπου λαμβάνει χώρα η τελική της διαμόρφωση (Guilbert, 1986).

Η εμφάνιση η οποία εφαρμόζεται στις περισσότερες κατηγορίες τροφίμων, όπως κρέας, ψάρι, φρούτα, λαχανικά κ.α., διαθέτει το πλεονέκτημα της επικάλυψης τροφίμων με ακανόνιστη επιφάνεια και σχήμα. Μετά την εμφάνιση απομακρύνεται το περισσεύον επικαλυπτικό υλικό από την επιφάνεια του προϊόντος και στη συνέχεια πραγματοποιείται ξήρανση του επικαλυμμένου τροφίμου. Ενώ ο χρόνος εμφάνισης δεν αποτελεί σημαντική παράμετρο της μεθόδου αυτής, η ολοκληρωτική βύθιση του τροφίμου στο διάλυμα είναι αναγκαία για τη διαμόρφωση μίας καλής μεμβράνης σε όλη της επιφάνεια του προϊόντος (Γόντικα - Γιαννοπούλου, 2016).

Η έγχυση σε καλούπι η οποία σε αντίθεση με τις προηγούμενες δύο δεν ανήκει στις άμεσες τεχνικές εφαρμογής κατατάσσεται στις μεθόδους ανεξάρτητου σχηματισμού. Επιτυγχάνεται είτε με έγχυση ορισμένης ποσότητας σε καλούπι, είτε με χρήση ειδικού μηχανήματος που απλώνει το διάλυμα της μεμβράνης στο επιθυμητό πάχος πάνω σε μία οριοθετημένη επιφάνεια (Γιαννοπούλου - Γόντικα, 2016).

2.6.5. Παραδείγματα Εφαρμογής εδώδιμων μεμβρανών

Η κατανάλωση θαλασσινών αυξήθηκε τα τελευταία χρόνια, καθώς οι καταναλωτές έχουν καλύτερη πληροφόρηση των διατροφικών οφελών και των προβλημάτων υγείας που συνδέονται με άλλα προϊόντα κρέατος όπως το κοτόπουλο και το βόειο κρέας. Ωστόσο, η σύνθεση της σάρκας των θαλασσινών τα καθιστά άριστο

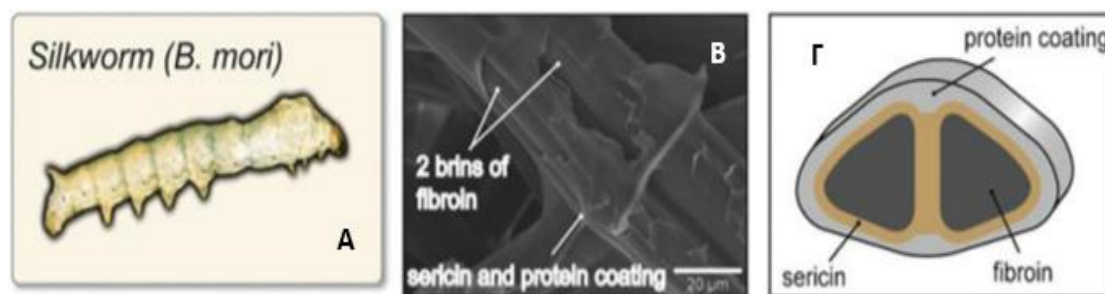
υπόστρωμα για την ταχεία ανάπτυξη και διάδοση των μικροοργανισμών αλλοίωσης και των κοινών παθογόνων που μεταδίδονται από τα τρόφιμα (Dehghani et al., 2018).

Η ποιότητα των ψαριών είναι πολύ υποκειμενική και είναι πολύπλοκη περιλαμβάνοντας τα θρεπτικά μικροβιολογικά, βιοχημικά και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά. Οι εδώδιμες μεμβράνες μπορεί να βρουν εφαρμογή στην πρόληψη των αλλοιώσεων των ιχθυηρών.

2.7. Φιβροΐνη

Ένας αριθμός ζώων γνωστά ως αρθρόποδα έχουν εξελιχθεί να παράγουν από συγκεκριμένες διεργασίες το μετάξι, το οποίο είναι ένα σύνθετο υλικό. Μεγάλη οικονομική σημασία έχει το είδος του μεταξοσκώληκα *Bombyx mori* (*B. mori*) που παράγουν κουκούλια από τις σύνθετες ίνες του μεταξιού για να προστατευτεί από τα αρπακτικά ζώα κατά τη διάρκεια της μεταμόρφωσης τους σε σκώρο. Οι μηχανικές ιδιότητες και η βιοσυμβατότητα των ινών του μεταξιού επέτρεψαν στο ανθρώπινο γένος την χρήση τους για χιλιετίες σε διάφορες εφαρμογές, όπως το νόμισμα, το κυνήγι (χορδές τόξου, τρίχες, πετονιές ή δίχτυα) υφάσματα και επιδέσμους τραυμάτων (Hardly & Scheibel, 2010).

Για πάρα πολλά χρόνια, εκτρέφονται *B. mori* μεταξοσκώληκες (Εικόνα 2.4Α). αυτό έχει ως αποτέλεσμα την διευκόλυνση της κατανόησης της σύνθετης δομής του μεταξιού που αποτελείται από φιβροΐνη, σερικήνη, πεπτίδια και λιπίδια και πρόσφατα έδωσε τη δυνατότητα το μετάξι να χρησιμοποιηθεί για βιοϊατρικές εφαρμογές (Hardly & Scheibel, 2010).



Εικόνα 2.4. Α) Φωτογραφία ενός μεταξοσκώληκα *Bombyx mori*, Β) Μικρογράφημα ηλεκτρονίων ίνας κουκουλιού *B. mori* μεταξοσκώληκα, Γ) Σχηματική απεικόνιση της σύνθετης δομής μιας ίνας κουκουλιού (Hardly & Scheibel, 2010)

Η ίνα του μεταξιού αποτελείται από δύο πρωτεΐνες μικρονηματίων, γνωστά ως Brins, οι οποίες είναι ενσωματωμένες σε μια γλυκοπρωτεΐνη που τις επικαλύπτει σαν κόλλα. Η δομή τους αποτυπώνεται στην Εικόνα 2.4B και 2.4Γ. Ειδικότερα, τα Brins

είναι νημάτια φιβροΐνης που αποτελείται από δέσμες (περίπου 100nm) από νανοϊνίδια (μεμονωμένα περίπου είναι 5nm) τα οποία είναι ευθυγραμμισμένα με τον επιμήκη άξονα της ίνας. Μια πρωτεΐνη γνωστή ως σερικίνη σκεπάζει τη φιβροΐνη σαν παλτό, διασφαλίζοντας τη συνοχή του κουκουλιού (Εικόνα 2.4Γ), έτσι ώστε να κολλήσουν οι ίνες σε νημάτια. Τέλος, αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι οι ίνες περιέχουν και άλλες πρωτεΐνες που προστατεύουν το κουκούλι ενάντια μικροβίων και αρπακτικών (Hardly & Scheibel, 2010).

Οι επιστημονικές πληροφορίες σχετικά με τις κρυσταλλικές και άμορφες περιοχές είναι σημαντικές επειδή οι ιδιότητες εφελκυσμού των ινών μεταξιού εξαρτώνται κυρίως από την κρυσταλλική δομή, ενώ οι φυσικές ιδιότητες, όπως ανάκτηση υγρασίας, χρωστική ικανότητα και χημική αντίσταση εξαρτώνται από την κατάσταση των άμορφων περιοχών (Hajime & Tsukada, 2000).

Με την τεχνική της απομάκρυνσης της σερικίνης, γίνεται εκτεταμένη υδρολυτική αποδόμηση της φιβροΐνης που μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα μία ευρεία κατανομή του μοριακού της βάρους. Η φιβροΐνη μπορεί να τροποποιηθεί και με άλλους τρόπους. Έτσι, εμποδίζονται οι μηχανικές ιδιότητες, επηρεάζεται το ιξώδες, η κρυσταλλικότητα του μορίου, ο βαθμός αποδόμησης, αλλά και η κινητική απελευθέρωσης του φαρμάκου στο αντίστοιχο σύστημα διανομής του (Garcia-Fuentes et al, 2009).

Μία άλλη φυσική ιδιότητα της φιβροΐνης, είναι η κρυσταλλικότητα της και η αδιαλυτότητα στο νερό. Με αυτόν τον τρόπο η πρωτεΐνη γίνεται πιο σταθερή και μειώνεται η υδατοδιαλυτότητα. Άλλωστε η κρυσταλλικότητα είναι η βάση για την σταθερότητα της φιβροΐνης (υπερβολική αύξηση της κρυσταλλικότητας όμως οδηγεί σε μειωμένη ευελιξία και συνεπώς σε πιο εύθραυστη πρώτη ύλη) (Dyakonov et al, 2012). Η φιβροΐνη εξάγεται από το μετάξι του μεταξοσκώληκα και καθαρίζεται με ειδικές τεχνικές. Είναι μία ουσία μη-τοξική και συμβατή με τον ανθρώπινο οργανισμό. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τοπική και όχι σημαντικό μέγεθος φλεγμονώδη απόκριση. Επιπροσθέτως, εμφανίζει καλή διαπερατότητα ύδατος και υδρατμών στους ιστούς (Pal et al, 2009).

2.7.1. Πλεονεκτήματα επιλογής της φιβροΐνης σε σχέση με άλλα βιοϋλικά

Τα χαρακτηριστικά των πρωτεϊνών του μεταξιού από τη πλευρά των βιομηχανικών υλικών μπορούν να συνοψιστούν ως εξής, με σύγκριση άλλων φυσικών βιοπολυμερών. Ειδικότερα, οι ίνες μεταξιού μπορούν να διαλυθούν σε πυκνά ουδέτερα

διαλύματα άλατος όπως χλωριούχο ασβέστιο σε υψηλές θερμοκρασίες χωρίς τη χρήση οποιουδήποτε επιβλαβούς και αναγωγικού μέσου. Επιπροσθέτως, η φιβροΐνη, πρωτεΐνη του μεταξιού που παράγεται από την *Bombyx mori* όπως προαναφέρθηκε είναι ένα από τα πιο άφθονα σε φυσικές ίνες και μπορεί να αποκτηθεί εύκολα και χωρίς μεγάλο κόστος. Ακόμη, μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε διάφορες μορφές όπως σκόνες, πηκτές και φιλμ μεταξιού. Τελευταίο πλεονέκτημα αλλά εξίσου σημαντικό είναι ότι οι πρωτεΐνες μεταξιού γίνονται αδιάλυτες, με εμβάπτιση τους σε διάλυμα αλκοόλης. Γενικά, αυτή η τεχνική είναι ενδιαφέρουσα για την εφαρμογή των υλικών φιβροΐνης ως βιοϋλικά δεδομένου ότι αυτό δεν είναι επιβλαβής στους ζωντανούς ιστούς (Hajime & Tsukada, 2000).

2.7.2. Τρόπος πήξης φιβροΐνης

Οι πηκτές φιβροΐνης είναι ενδιαφέροντα βιοϋλικά εφόσον μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πορώδη κριωμάτα για μηχανική ιστών. Το διάλυμα φιβροΐνης είναι εγγενώς μεταβλητό και μετατρέπεται σε κατάσταση πηκτής υπό ισόθερμες συνθήκες αποθήκευσης. Οι Kim et al. έχουν δείξει ότι πηκτές φιβροΐνης έχουν μακροπορώδη δομή και το μέτρο συμπίεστικότητας τους μπορεί να ρυθμιστεί με την αλλαγή της συγκέντρωσης της πρωτεΐνης. Η πήξη της φιβροΐνης είναι μια αργή διαδικασία και ο ρυθμός της αυξάνει με μείωση του pH (Nagarkar et al., 2008).

Οι Matusmoto et al. μελέτησαν την πήξη διαλύματος φιβροΐνης σε συνάρτηση διαφόρων παραμέτρων, όπως η συγκέντρωση, το pH και η θερμοκρασία. Οι συγγραφείς παρατήρησαν μια ισχυρή εξάρτηση από το pH στο χρόνο πήξης του διαλύματος της φιβροΐνης. Ο χρόνος πήξης αυξάνεται με την αύξηση του pH.

2.7.3. Εφαρμογές φιβροΐνης

Πρόσφατα, η φιβροΐνη συγκέντρωσε μεγάλο ενδιαφέρον εξαιτίας της ελκυστικότητας της για βιοεφαρμογές. Οι ίνες του μεταξιού έχουν χρησιμοποιηθεί ως ράμματα για μεγάλο χρονικό διάστημα στο χειρουργικό πεδίο, λόγω της βιοσυμβατότητας των ινών της φιβροΐνης με τους ανθρώπινους ιστούς, ακόμη χρησιμοποιείται και σε τεχνητά μέλη. Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι η φιβροΐνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως υπόστρωμα για ακινητοποίηση ενζύμου σε βιοαισθητήρες στο αίμα που προς το παρόν είναι υπό δοκιμή με συμβατικά υλικά (Hajime and Tsukada, 2010). Σε νέες μελέτες έχει χρησιμοποιηθεί σε φρούτα όπως φράουλα και μπανάνα με στόχο την επέκταση χρόνου ζωής τους σε συνδυασμό με τη βελτίωση των

οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, καθώς και την καθυστέρηση της ποιοτικής υποβάθμισης με θεαματικά αποτελέσματα.

2.7.4. Παρασκευή υδροπηκτών φιβροΐνης

Οι υδρόπηκτες φιβροΐνης σχηματίζονται υπό παρουσία οξέων, ιόντων, ή άλλων πρόσθετων. Εκτός από αυτά τα πρόσθετα, άλλοι παράγοντες όπως η θερμοκρασία, η συγκέντρωση φιβροΐνης, και pH επηρεάζουν σημαντικά τη διαδικασία της πήξης. Παρακάτω γίνονται αναφορές για τρόπους παρασκευής υδροπηκτών φιβροΐνης. (Wang et al, 2006).

Διάλυμα φιβροΐνης αφήνεται να πήξει μόνο του σε κάποια θερμοκρασία το διατήρησαν στους 37°C για 1-6 ώρες (Zhang et al, 2009), ενώ οι Fini et al το διατήρησαν τη νύχτα στους 50°C, οι Kim et al το διατήρησαν σε θερμοκρασία δωματίου, στους 37°C και στους 60°C, οι Pramanik et al, διατήρησαν το διάλυμα φιβροΐνης σε υγρό περιβάλλον στους 20°C για 3 ημέρες), αφού έχει ομογενοποιηθεί με χρήση υπερήχων (Chao et al (2010), Guziewicz et al (2010), Zhang et al (2009)), ή/και με ελάττωση του pH κάτω από το ισοηλεκτρικό σημείο (pI = 3,8) (Finia et al, 2005, Kim et al, 2004), ή/και με προσθήκη αιθανόλης (Moraes et al, 2009). Οι Liu et al. (2010), ανάδεδυσαν διάλυμα φιβροΐνης σε διάφορους ρυθμούς διάτμησης (150, 240 και 380 r/min) για διαφορετικούς χρόνους (15, 30, 45, 60 και 90 min) αντίστοιχα. Τέλος, οι Hanpanich et al, εφάρμοσαν χρήση ακτινοβολίας 40 και 60 kGy για να επιτευχθεί υδροπηκτική φιβροΐνης.

Κεφάλαιο 3

Υλικά και Μέθοδοι

3.1. Υλικά

3.1.1. Κουκούλια από μεταξοσκώληκα του γένους *Bombyx mori*

Για τη διεξαγωγή του πειράματος χρειάστηκαν για την παραγωγή της φιβροΐνης κουκούλια από μεταξοσκώληκα του γένους *Bombyx mori* (Εικόνα 3.1.). Τα κουκούλια παρασχέθηκαν από το Εργαστήριο Ζωολογίας του Τμήματος Βιολογίας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών. Καθαρίστηκαν από τυχόν υπολείμματα περιττωμάτων από τους μεταξοσκώληκες και αποθηκεύτηκαν.



*Εικόνα 3.1. Κουκούλια από μεταξοσκώληκα του γένους *Bombyx mori* (Πηγή: Προσωπικό αρχείο)*

3.1.2. Γαρίδες

Ολόκληρες κατεψυγμένες γαρίδες *Litopenaeus vannamei* (Εικόνα 3.2.), προέλευσης Έκουαδόρ, προϊόντος υδατοκαλλιέργειας, ζώνης FAO 87, προμηθεύτηκαν από τοπική αγορά. Η απόψυξη των κατεψυγμένων γαρίδων έγινε με ήπιο τρόπο, σε ψυγείο για να αποψυχθεί ομοιόμορφα, ενώ ακολούθησε πλύσιμο με νερό προκειμένου να απομακρυνθεί το μεταθειώδες νάτριο (E223), το οποίο προστίθεται στην εμπορική

μορφή αυτών των προϊόντων. Η θερμοκρασία κατά το χρονικό διάστημα που κρατούνται πριν να υποστούν επεξεργασία παίζει σημαντικό ρόλο. Ο έλεγχος της θερμοκρασίας αλλά και οι συνθήκες υγιεινής θα πρέπει να είναι αυστηροί ώστε να μην λάβουν χώρα καταστρεπτικές βιοχημικές και μικροβιολογικές αλλοιώσεις. Με αυτόν τον τρόπο αποφεύγουμε την υποβάθμιση της ποιότητας των γαρίδων. Η υγιεινή κατάσταση του νερού είναι πολύ σημαντική, γι' αυτό το νερό δεν θα πρέπει να επαναχρησιμοποιηθεί.



Εικόνα 3.2. A) και B) Γαρίδες αποψυγμένες *Litopenaeus vannamei* (Πηγή: (A) και (B) Προσωπικό αρχείο)

Οι γαρίδες Ειρηνικού με μέσο βάρος $18,0 \pm 0,5$ g και μέσο μήκος σώματος $14,0 \pm 0,5$ cm συσκευάστηκαν αερόβια και αποθηκεύτηκαν σε ελεγχόμενες ισοθερμοκρασιακές συνθήκες ($0-15^{\circ}\text{C}$) σε υψηλή ακρίβεια $0,2^{\circ}\text{C}$, σε θερμοκοιτίδες χαμηλής θερμοκρασίας της Εικόνας 3.3. Η θερμοκρασία των θερμοκοιτίδων καταγράφηκε χρησιμοποιώντας ηλεκτρονικά, προγραμματιζόμενα μικροσκοπικά καταγραφικά δεδομένων (Easylog EL-USEB-TC-LCD, Lascar) σε συνδυασμό με θερμοστοιχεία τύπου K.



Εικόνα 3.3. Θερμοστατούμενος θάλαμος Sanyo MIR 153, Sanyo Electric, Ora-Gun, Gunma, Ιαπωνία (Πηγή: Προσωπικό αρχείο)

Η μελάνωση είναι μια διαδικασία που προκαλείται από τη δράση της πολυφαινολοξειδάσης (PPO), η οποία οξειδώνει τις φαινόλες σε άχρωμη κινίνη που στη συνέχεια πολυμερίζεται και δίνει αδιάλυτες μαύρες χρωστικές, τις μελανίνες. Αν και ο αποχρωματισμός φαίνεται να είναι ακίνδυνος για τους καταναλωτές, μειώνει σημαντικά την αγοραία αξία του προϊόντος, οδηγώντας σε οικονομική απώλεια (Montero, Avalos, & Perez-Mateos, 2001). Η μελάνωση στα καρκινοειδή ελέγχεται συνήθως από θειικά παράγωγα. Ωστόσο, αυτά τα παράγωγα είναι γνωστό ότι προκαλούν αλλεργικές αντιδράσεις και σοβαρές διαταραχές σε ασθματικούς ασθενείς. Επομένως, είναι επιτακτική η ανάγκη για την εξεύρεση νέων διεργασιών ή υποκατάστατων θειώδους άλατος είναι πραγματική ανάγκη. Εκτός από τη μελάνωση, η οξείδωση των λιπιδίων είναι μια επιδεινούμενη αντίδραση που αλλάζει την ποιότητα των γαρίδων (Nirmal & Benjakul, 2009).

3.2. Μέτρηση χρώματος

Για την αξιολόγηση του χρώματος των γαρίδων, η μελάνωση των γαρίδων παρακολούθηθηκε κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης με μέτρηση χρώματος οργάνων χρησιμοποιώντας το χρωμόμετρο Eye1 Pro (X-Rite, Michigan, USA), το οποίο χρησιμοποιείται για τη μέτρηση και την ανάλυση του ανακλώμενου φωτός (Εικόνα 3.4.). και κατάλληλη ανάλυση εικόνας χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα επεξεργασίας εικόνας ImageJ (ImageJ 1.52h, Image processing and analysis in Java, National

Institutes of Health, ΗΠΑ). Η δραστηριότητα PPO στον κεφαλοθώρακα γαρίδας αξιολογήθηκε χρησιμοποιώντας μια τροποποίηση της φασματοφωτομετρικής μεθόδου από τους Simpson et al. (1988).



Εικόνα 3.4. Χρωματόμετρο Eye Pro 1, X-Rite, i1PRO REV E, 1 113 597 (X-Rite Asia Pacific Ltd., Hong Kong, China)

Τουλάχιστον 5 δείγματα αξιολογήθηκαν σε κάθε σημείο δειγματοληψίας. Η μελάνωση αξιολογήθηκε στις γαρίδες στο κέλυφος του κεφαλοθώρακα, στην ουραία ζώνη και στην επιδερμίδα της κοιλιάς, κυρίως όπου ενώνονται τα τμήματα της επιδερμίδας και όπου η επιδερμίδα συνδέεται με τα πλεόποδα κεφαλοθώρακα σε προκαθορισμένα διαστήματα κατά την αποθήκευση στο ψυγείο. Κάθε μέτρηση έγινε σε 6 σημεία σε κάθε πλευρά της κάθε γαρίδας.

Για την αξιολόγηση του χρώματος των γαρίδων, χρησιμοποιήθηκε το χρωματόμετρο Eye1 Pro, X-Rite. Ειδικότερα, προσδιορίστηκαν οι παράμετροι a^* , b^* , L^* κάθε δείγματος. Η τιμή L^* χαρακτηρίζει την φωτεινότητα, καθαρότητα του χρώματος σε κλίμακα 0-100, όπου το 100 αντιστοιχεί στη μέγιστη φωτεινότητα. Η τιμή a^* χαρακτηρίζει τη διαβάθμιση του χρώματος από πράσινο ($-a^*$) έως κόκκινο ($+a^*$) και η τιμή b^* χαρακτηρίζει τη διαβάθμιση από κίτρινο ($-b^*$) σε μπλε ($+b^*$).

Το πρόγραμμα επεξεργασίας εικόνας ImageJ υπολογίζει το μήκος και τη γωνία γραμμής εάν έχει δημιουργηθεί μια επιλογή γραμμής χρησιμοποιώντας ένα από τα τρία

εργαλεία επιλογής γραμμής. Καταγράφει συντεταγμένες εάν ένα ή περισσότερα σημεία έχουν οριστεί χρησιμοποιώντας το εργαλείο επιλογής σημείων.

Με τις εικόνες RGB, τα αποτελέσματα υπολογίζονται χρησιμοποιώντας τιμές φωτεινότητας. Τα εικονοστοιχεία RGB μετατρέπονται σε τιμές φωτεινότητας χρησιμοποιώντας τον τύπο $V=(R+G+B)/3$ ή $V=0.299R+0.587G+0.114B$. Οι προεπιλεγμένοι συντελεστές στάθμισης είναι αυτοί που χρησιμοποιούνται για τη μετατροπή από RGB σε YUV, το σύστημα έγχρωμης κωδικοποίησης που χρησιμοποιείται για την αναλογική τηλεόραση.

Με τις επιλογές γραμμής, μπορούν να καταγραφούν οι ακόλουθες παράμετροι: μήκος, γωνία (μόνο ευθείες γραμμές), μέση τιμή, τυπική απόκλιση, λειτουργία, ελάχιστο, μέγιστο και οριοθετημένο ορθογώνιο ($v1,341$ ή μεταγενέστερο). Ο μέσος όρος, η τυπική απόκλιση κ.λπ. υπολογίζονται από τις τιμές των εικονοστοιχείων κατά μήκος της γραμμής.

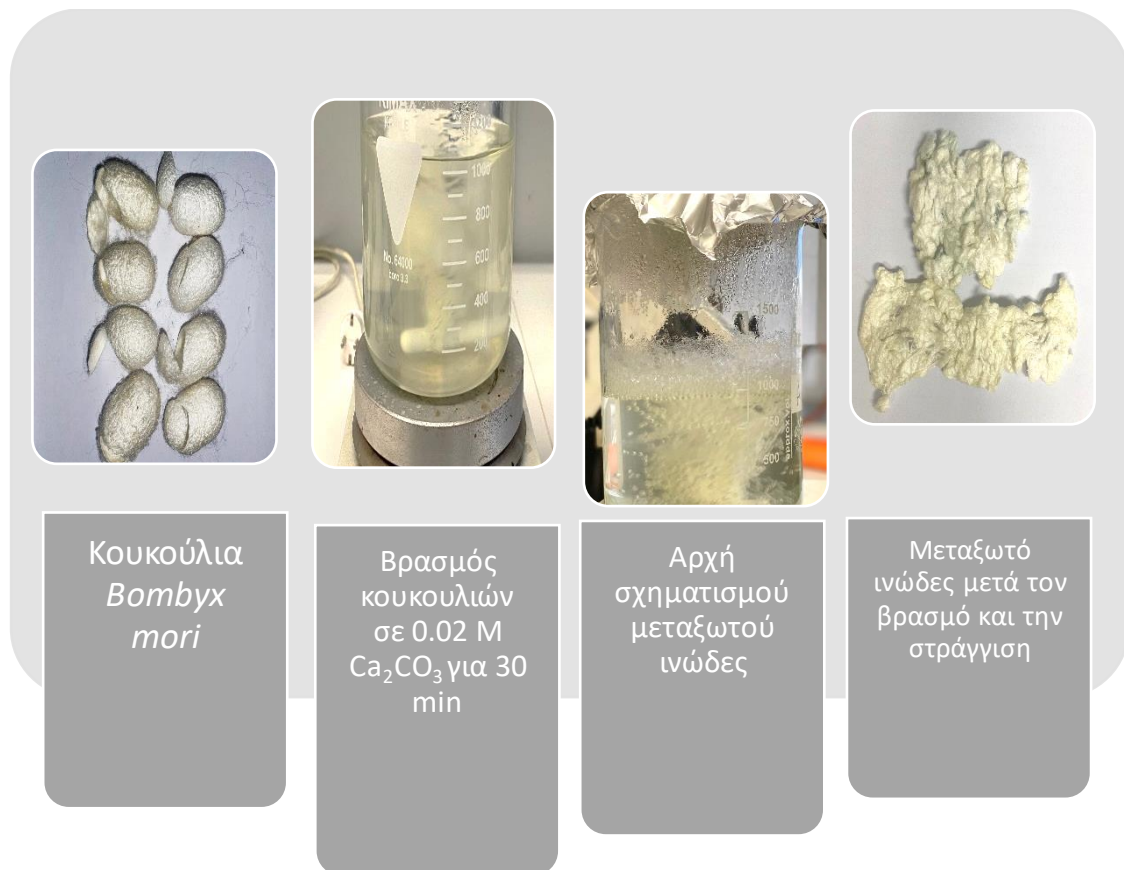
3.3. Εκχύλιση φιβροΐνης μεταξιού

Το πρωτόκολλο που χρησιμοποιήθηκε αναφέρεται σε μία παρτίδα 5 γραμμαρίων από κουκούλια μεταξιού αλλά αν απαιτείται περισσότερο υλικό, οι όγκοι μπορούν να κλιμακωθούν κατάλληλα. Μόνο τα κουκούλια που φαίνονταν άθικτα χρησιμοποιήθηκαν στη διαδικασία.

Τα υλικά και ο εξοπλισμός για τη διαδικασία αποτελούνται από τα κουκούλια μεταξιού, χλωριούχο ασβέστιο (Calcium chloride, Honeywell), ανθρακικό νάτριο (Sodium carbonate, Honeywell), απεσταγμένο νερό, βρωμιούχο λίθιο (Lithium bromide, Sigma-Aldrich), ποτήρια ζέσεως, σακούλες διάλυσης ημι-διαπερατής μεμβράνης (dialysis tubing, benzoylated, Sigma-Aldrich), φούρνος (Bioblock Scientific, France) και φυγόκεντρος (Universal 320R Refrigerated Centrifuge, Hettich).

Η μέθοδος που ακολουθήθηκε των Rockwood et al. 2011 για την εξαγωγή της φιβροΐνης χωρίστηκε σε φάσεις. Αρχικά, πρέπει να ετοιμαστεί το διάλυμα και έπειτα ακολουθεί η ξήρανση. Έγινε προετοιμασία του διαλύματος. Σε ένα ποτήρι ζέσεως προστέθηκαν 2 L απεσταγμένου νερού και ζεσταίνουμε μέχρι να βράσει. Παράλληλα, κόβουμε 5g καθαρά κουκούλια με ψαλίδι τιτανίου σε μικρά κομμάτια και μετράμε. Έπειτα, βάζουμε 4,24 g ανθρακικού νατρίου (Sodium carbonate) και το αφήνουμε μέχρι να διαλυθεί εντελώς (έτσι ώστε να φτιάξουμε διάλυμα 0,02 M Na_2SO_3). μόλις αρχίσει να βράζει το νερό, προσθέτουμε τα κομμάτια από τα κουκούλια και το αφήνουμε για 30 λεπτά. Ανακατεύουμε περιστασιακά έτσι ώστε να επιτευχθεί η καλή

διασπορά του κουκουλιού. Αξίζει να σημειωθεί ότι η αύξηση του χρόνου βρασμού υποβαθμίζει τη φιβροΐνη. Όπως παρατηρούμε στην Εικόνα 3.5, από τα πρώτα κιόλας λεπτά του έντονου βρασμού, σχηματίζεται μία δίνη από τη συνεχή ανάδευση, τα μικρά κομμάτια από τα κουκούλια διασπώνται και οι ίνες του μεταξιού αρχίζουν να σχηματίζουν το μεταξωτό ινώδες. Ο διαχωρισμός του μεταξιού από τη σερικήνη έχει επιτευχθεί. Αφαιρούμε το μεταξωτό ινώδες με μια σπάτουλα και το ψύχουμε ξεπλένοντας το με απεσταγμένο νερό. Το πιέζουμε για να αφαιρεθεί η περίσσεια νερού από το μετάξι. Βάζουμε τη φιβροΐνη σε ένα ποτήρι ζέσεως 1 L γεμάτο με 1 L απεσταγμένο νερό, ξεπλένουμε τη φιβροΐνη σε νερό για 20 λεπτά ενώ ανακατεύουμε απαλά με μια ράβδο ανάδευσης. Επαναλήφθηκε η διαδικασία του ξεπλύματος για 2 φορές ακόμη. Μετά την τρίτη φορά συνολικά, αφαιρούμε το μετάξι, το πιέζουμε καλά και στη συνέχεια, το απλώνουμε σε ένα καθαρό κομμάτι αλουμινοχαρτο. Τέλος, το μεταξωτό ινώδες αφέθηκε για να στεγνώσει στον απαγωγό για όλη τη νύχτα. Η ποσότητα που πήραμε από 5g κουκουλιών μεταξιού ήταν 3,3925g φιβροΐνης. Αξιοσημείωτο είναι ότι σε αυτό το στάδιο, το αποκολλώμενο ινώδες μετάξι, όπου έχει αφαιρεθεί η σερικήνη, μπορεί να αποθηκευτεί επ' αόριστον σε θερμοκρασία δωματίου.

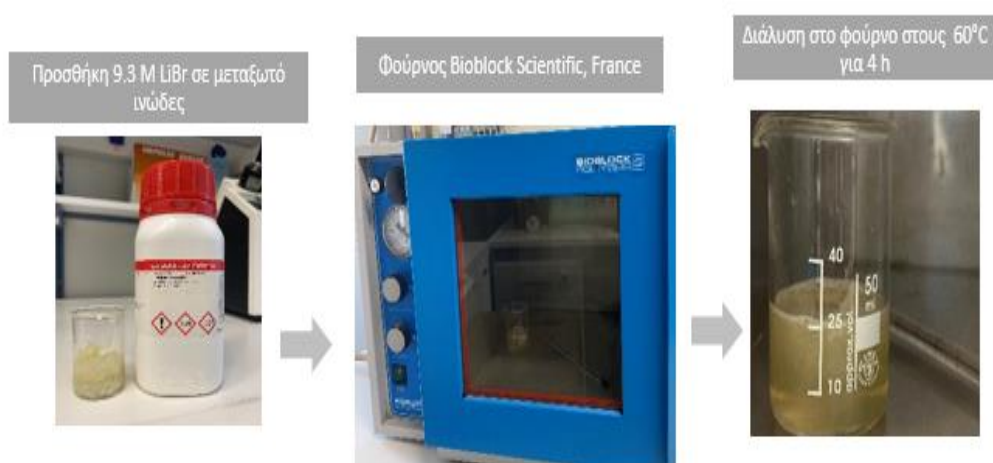


Εικόνα 3.5. Απεικόνιση της πρώτης φάσης εξαγωγής μεταξιού (Πηγή: Προσωπικό αρχείο)

Το επόμενο στάδιο είναι η διάλυση της φιβροΐνη μεταξιού στο βρωμιούχο λίθιο (LiBr). Παρασκευάζουμε διάλυμα συγκέντρωσης 20 w/v% με βάση την διαθέσιμη ποσότητα αποξηραμένης φιβροΐνης με 9,3 M βρωμιούχου λιθίου (LiBr). Δεδομένου ότι το 20% του διαλύματος θα είναι μετάξι, το 80% θα είναι LiBr. Πρόκειται για αναλογία 1 προς 4, μετάξι προς LiBr. Επομένως, πολλαπλασιάζουμε την ποσότητα του αποξηραμένου μεταξιού κατά 4 για να πάρει τον συνολικό όγκο 9,3 M LiBr που απαιτείται ($X=13,57$ ml LiBr). Με βάση τον τύπο που ακολουθεί βρέθηκε η ποσότητα του LiBr που θα χρειαστεί, η οποία ήταν 16,1541 g LiBr.

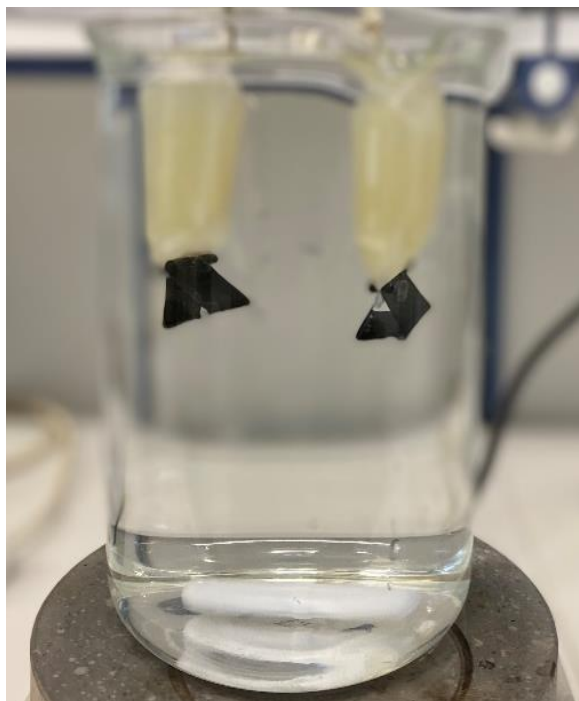
$$\left(86.85 \frac{\text{g}}{\text{mol}}\right) \left(9.3 \frac{\text{mol}}{\text{g}}\right) \left(\frac{1\text{L}}{1000\text{ml}}\right) (X) = \text{g of LiBr}$$

Πιέζουμε σφιχτά το μετάξι σε ένα γυάλινο ποτήρι ζέσεως των 50 ml και προσθέτουμε την απαιτούμενη ποσότητα από το διάλυμα LiBr από πάνω. Αξίζει να επισημανθεί ότι το LiBr πρέπει να προστεθεί στο μετάξι αντί να προστεθεί το μετάξι στο LiBr, έτσι ώστε το μετάξι τελικά να καλυφθεί και να διαλυθεί από το LiBr. Αφήνουμε τη φιβροΐνη μεταξιού να διαλυθεί σε φούρνο στους 60 °C για 4 ώρες. Μόλις η φιβροΐνη μεταξιού διαλυθεί εντελώς, θα έχει κεχριμπαρένιο χρώμα και θα είναι διαφανές. Μαύρα κομμάτια από τον μεταξοσκώληκα μπορεί να είναι ορατά αλλά θα αφαιρεθούν αργότερα. Αυτό το διάλυμα θα έχει πολύ υψηλό ιξώδες αλλά δεν πρέπει να περιέχει καθόλου άθικτες ίνες, όπως προσδιορίσαμε με οπτική αξιολόγηση. Η διαδικασία φαίνεται στην Εικόνα 3.6. που ακολουθεί.



Εικόνα 3.6. Απεικόνιση της διάλυσης του μεταξιού με βρωμιούχο λίθιο (LiBr) (Πηγή: Προσωπικό αρχείο)

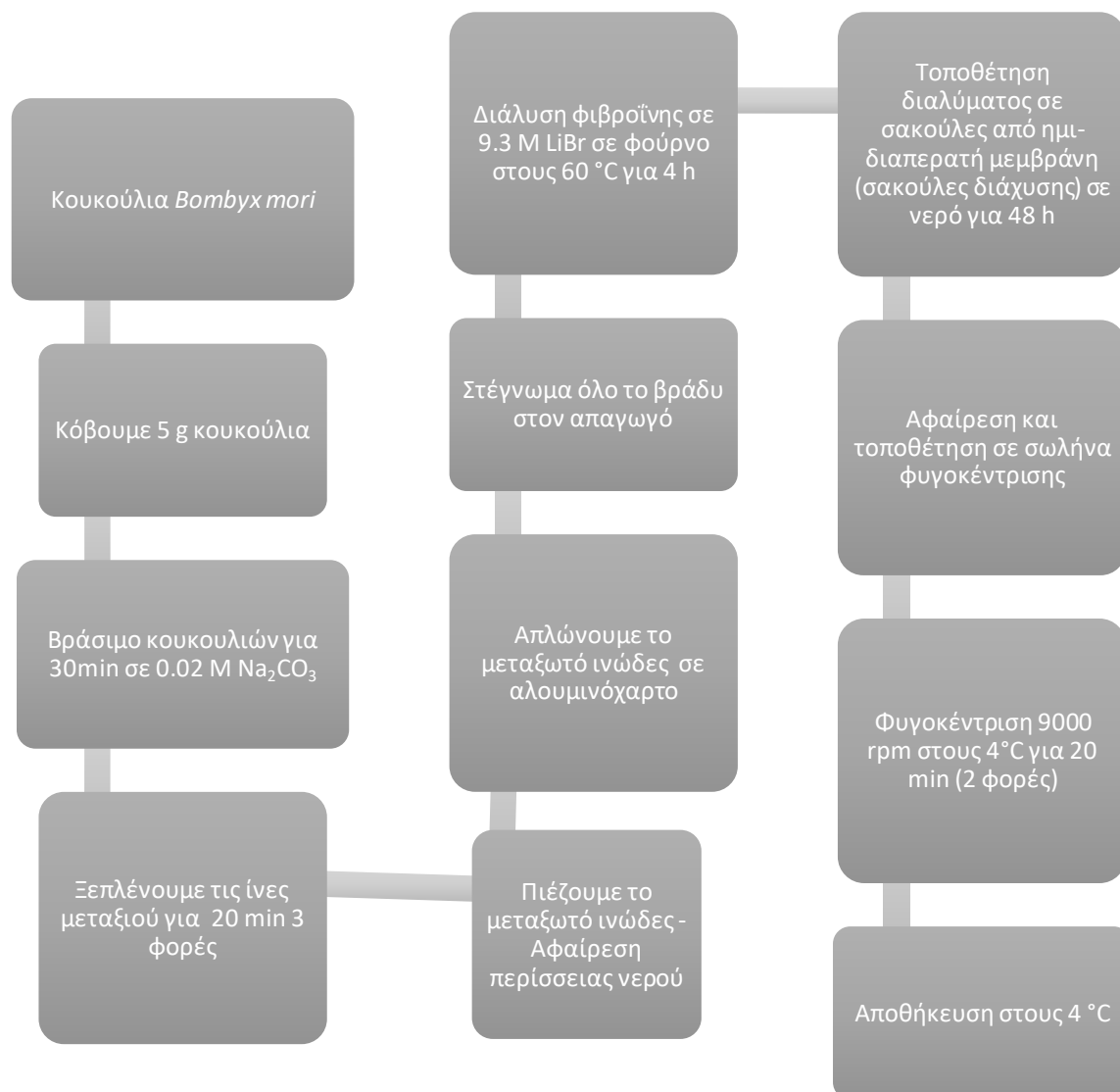
Το τελευταίο στάδιο αποτελεί ο καθαρισμός από το βρωμιούχο λίθιο (LiBr), δηλαδή η διάλυση και η φυγοκέντριση. Ειδικότερα, τοποθετούμε το διάλυμα σε σακούλες φτιαγμένες από ημι-διαπερατή μεμβράνη διάλυσης (dialysis bags, Sigma-Ardlich) και έπειτα σε ποτήρι ζέσεως με απεσταγμένο νερό, υπό συνεχή ανάδευση και συχνή αλλαγή νερού, όπως ακριβώς παρουσιάζεται στην Εικόνα 3.7.



Εικόνα 3.7. Διάλυση σε απεσταγμένο νερό για 48 h (Πηγή: Προσωπικό αρχείο)

Με αυτόν τον τρόπο επιτυγχάνεται η οσμωτική διάχυση διά μέσου της ημι-διαπερατής μεμβράνης. Αυτή η διαδικασία έγινε αντιληπτή, καθώς μόρια νερού εισχωρούσαν μέσω της μεμβράνης, ταυτόχρονα μόρια LiBr απελευθερώθηκαν στο διάλυμα για 48 ώρες. Έπειτα, τοποθετήθηκε το διάλυμα σε σωλήνες φυγοκέντρισης, ακολούθησε φυγοκέντριση στις 9000 rpm για 20 λεπτά στους 4 °C. Προσεκτικά αφαιρέθηκε το διάλυμα έπειτα από τον διαχωρισμό του από τυχόν ιζήματα, τοποθετήθηκε σε άλλο σωλήνα και η φυγοκέντριση επαναλήφθηκε για ακόμη μία φορά. Τέλος, το διάλυμα διαχωρίστηκε εκ νέου και αποθηκεύτηκε στους 4 °C μέχρι το τέλος του πειράματος.

Στο Σχήμα 3.1. που ακολουθεί, παρουσιάζεται ένα διάγραμμα ροής της διαδικασίας εξαγωγής της φιβροΐνης. Το πρώτο στάδιο είναι η παραλαβή της πρώτης ύλης και το τελικό στάδιο είναι η εξαγωγή τελικά της φιβροΐνης.



Σχήμα 3.1. Διάγραμμα ροής της εξαγωγής φιβροΐνης μεταξιού.

3.4. Εκχύλιση PPO από τους κεφαλοθώρακες γαρίδας *Litopenaeus vannamei*

Η πολυφαινολοξειδάση (PPO) εντοπίζεται στο κέλυφος του κεφαλοθώρακα, στην ουρά και στην επιδερμίδα της κοιλιάς, κυρίως όπου τα τμήματα των επιδερμίδων ενώνονται και όπου η επιδερμίδα συνδέεται με τα πλεόποδα (Ogawa, Perdigo, Santiago & Kozima, 1984). Οι κεφαλοθώρακες συγκεντρώθηκαν και κονιορτοποιήθηκαν, όπως στην Εικόνα 3.8. Στη συνέχεια, η απομόνωση της PPO πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τη μέθοδο των Simpson et al. (1987). Η σκόνη αναμίχθηκε με 3 όγκους ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικού νατρίου 0,05 mol/L (pH 7,2, που περιείχε 1,0 mol/L NaCl και 0,2 g/100 mL Triton X-100) και αναδεύτηκε συνεχώς στους 4 °C για 30 λεπτά, ακολουθούμενη από φυγοκέντριση στους 8000 × g στους 4 °C για 30 λεπτά με τη χρήση φυγοκέντρου (Sorval, ΗΠΑ). Στερεό θεικό αμμώνιο προστέθηκε στο υπερκείμενο για να ληφθεί 40 g/100 mL κορεσμού και αφέθηκε να παραμείνει στους 4 °C για 30 λεπτά. Το λαμβανόμενο σφαιρίδιο συλλέχθηκε και διασκορπίστηκε σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού νατρίου 0,05 mol/L, pH=7,2 και υποβλήθηκε σε διαπίδυση με ίδιο ρυθμιστικό διάλυμα στους 4 °C με τρεις αλλαγές ρυθμιστικού διαλύματος. Τα αδιάλυτα υλικά απομακρύνθηκαν με φυγοκέντριση στους 3000 × g στους 4 °C για 30 λεπτά και το υπερκείμενο χρησιμοποιήθηκε ως «ακατέργαστο εκχύλισμα PPO».



Εικόνα 3.8. Απεικόνιση της εκχύλισης της πολυφαινολοξειδάσης PPO (Πηγή: Προσωπικό αρχείο)

3.5. Μέτρηση της ενεργότητας της πολυφαινολοξειδάσης

Για τη μέτρηση της ενεργότητας του ενζύμου πολυφαινολοξειδάση, παραλήφθηκε διάλυμα από τα κελύφη (κεφαλοθώρακας, ουρά, πόδια) της γαρίδας, με τη χρήση ομογενοποιητή. Στη συνέχεια, για να μετρηθεί η ενεργότητα του ενζύμου έγινε ανάμειξη με διάλυμα, το οποίο περιείχε φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα με pH 6,5 (PBS) με Triton-X και προσθήκη χλωριούχου νατρίου (NaCl).

Το μίγμα ομογενοποιήθηκε με τη χρήση ομογενοποιητή Ultra-Turrax για 20 λεπτά. Ακολούθησε φυγοκέντριση του διαλύματος για 30 λεπτά στους 4 °C, ώστε να αποφευχθεί η δράση του ενζύμου και η αμάρωση του διαλύματος. Μετά τη φυγοκέντριση έγινε παραλαβή του υπερκείμενου διαλύματος. Ο προσδιορισμός της ενεργότητας της πολυφαινολοξειδάσης έγινε φασματοφωτομετρικά στα 475 nm με τη χρήση φασματοφωτομέτρου.

Η ενεργότητα του ενζύμου υπολογίστηκε μέσω του ρυθμού αύξησης της απορρόφησης στα 475 nm, λαμβάνοντας μετρήσεις κάθε 5 λεπτά για χρονική διάρκεια 2 ωρών. Η διάρκεια αυτών των ωρών αποτελούσε το γραμμικό μέρος του ρυθμού αύξησης της απορρόφησης. Τέλος, ως μία μονάδα (Unit) ενεργότητας της πολυφαινολοξειδάσης ορίστηκε η αλλαγή στην απορρόφηση κατά 0,001 ανά λεπτό για όγκο δείγματος 1 mL.

Για τη μέτρηση αναμείχθηκαν σε κυψελίδα ενός εκατοστού 0,5 mL διαλύματος και 2,5 mL υποστρώματος, ενώ για το τυφλό αναμείχθηκαν 0,5 mL απεσταγμένου νερού με 2,5 mL υποστρώματος. Η ενεργότητα της PPO προσδιορίστηκε, χρησιμοποιώντας L-3, 4-διδροξυφαινυλαλανίνη (l- DOPA) (Sigma-Aldrich, Saint Louis, USA) ως υπόστρωμα σύμφωνα με τη μέθοδο των Simpson et al. (1987) . Το σύστημα ανάλυσης περιελάμβανε 100 μl ακατέργαστου εκχυλίσματος PPO, 600 μl 15 mmol / L l- DOPA σε απιονισμένο νερό, 400 μl 0,05 mol / L ρυθμιστικού φωσφορικού, pH=6 και 100 μl απιονισμένου νερού. Για να ξεκινήσει η αντίδραση, το μίγμα επώαστηκε στους 45 ° C και η απορρόφηση στα 475 nm καταγράφηκε κάθε 30 s έως 3 λεπτά. Μία μονάδα ενεργότητας PPO ορίστηκε ως αύξηση στην απορρόφηση κατά 0,001 στα 475 nm/min/mL σε pH=6,5 στους 4 °C. Χρησιμοποιήθηκαν επίσης κενά ενζύμου και υποστρώματος.

3.6. Κωδικοποίηση δειγμάτων

Για την κωδικοποίηση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκαν C, στα δείγματα χωρίς φιβροΐνη και F, στα δείγματα παρουσία φιβροΐνης. Επομένως, τα πειράματα με

χωρίς και με παρουσία φιβροΐνης που έγιναν στους 2 °C, χαρακτηρίστηκαν ως 2C και 2 F, αντίστοιχα. Όσον αφορά, τα δείγματα χωρίς την παρουσία φιβροΐνης που έγιναν στις άλλες θερμοκρασίες, αντιστοίχως, επισημάνθηκαν ως 5C, στους 5 °C, ως 10C, αυτά στους 10 °C και ως 15C, τα δείγματα στους 15 °C. Τέλος, ως t_0 χαρακτηρίστηκε ο μάρτυρας, η αρχή του πειράματος και ως t_{1_5C} , t_{2_5C} , t_{3_5C} , t_{4_5C} , t_{5_5C} , t_{6_5C} τα δείγματα που αντιστοιχούν σε κάθε χρονική στιγμή ανά θερμοκρασία, όπως σε αυτό το παράδειγμα στους 5 °C. Αντίστοιχα με την ίδια λογική επισημάνθηκαν τα υπόλοιπα δείγματα για κάθε θερμοκρασία.

3.7. Ανάλυση δεδομένων

Η ανάλυση των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του στατιστικού πακέτου του Excel.

Κεφάλαιο 4

Αποτελέσματα – Συζήτηση

4.1. Μέτρηση χρώματος

Η μέτρηση χρώματος έγινε με δύο μεθόδους, με τη χρήση χρωματόμετρου και με τη χρήση λογισμικού επεξεργασίας εικόνας ImageJ.

Στον Πίνακα 4.1 παρουσιάζονται οι μετρήσεις του χρωματόμετρου για τιμές της παραμέτρου L^* με την πάροδο 10 ημερών. Στην αριστερή στήλη βρίσκεται ο μέσος όρος της παραμέτρου L^* για τα δείγματα χωρίς φιβροΐνη και στη δεξιά στήλη τα δείγματα με επικάλυψη φιβροΐνης. Αξίζει να σημειωθεί ότι τα δείγματα με επικάλυψη φιβροΐνης καταγράφουν υψηλότερες τιμές που αντιστοιχούν σε υψηλή φωτεινότητα.

Πίνακας 4.1. Τιμές της παραμέτρου L^ με την πάροδο 10 ημερών.*

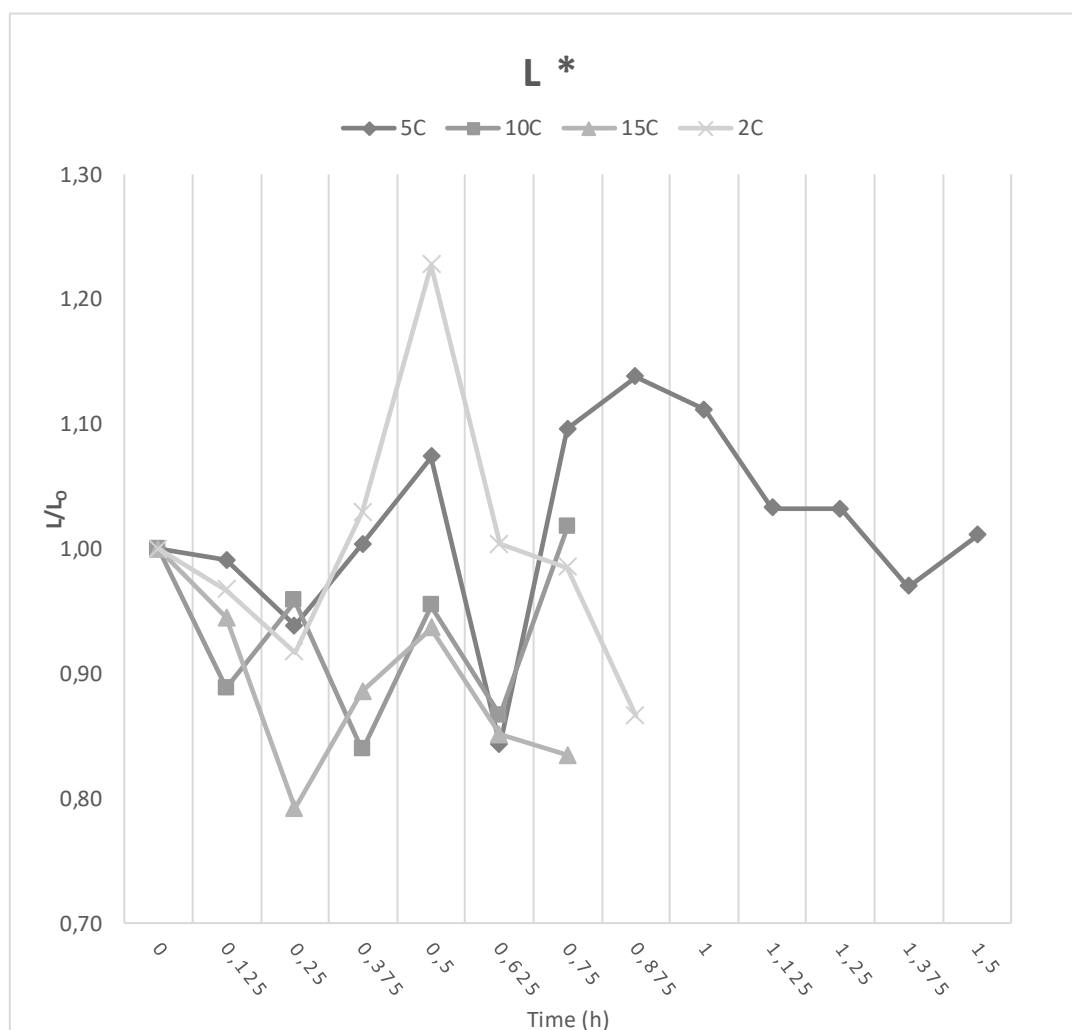
L^* Χρόνος (ημέρες)	CONTROL			FIBROIN COATED SHRIMPS		
	AVG	STDEV	%RSD	AVG	STDEV	%RSD
0	34,40	5,33	15,49	34,40	5,33	15,49
3	35,05	5,84	16,67	38,01	5,11	13,43
6	29,48	4,86	16,47	31,00	5,15	16,61
8	31,04	6,13	19,74	37,87	5,85	15,46
10	28,48	5,38	18,90	37,45	4,81	12,85

Σε μηδενικό χρόνο αποθήκευσης, οι γαρίδες είχαν ημιδιαφανές και γυαλιστερό σώμα και κέλυφος. Τα δείγματα που αποθηκεύτηκαν σε υψηλότερες θερμοκρασίες (10 - 15°C) ανέπτυξαν σοβαρό μαύρισμα στις περιοχές της κεφαλής και των βραγχίων μετά από λιγότερο από 1 ημέρα αποθήκευσης και κατά συνέπεια είχαν κακή εμφάνιση και ήταν απαράδεκτα. Η τιμή L^* έδειξε έντονη μείωση κατά την αποθήκευση, περιγράφεται επαρκώς από γραμμές μηδενικής τάξης και ήταν ένας καλός δείκτης για την πρόοδο της μελάνωσης. Η αισθητηριακή απόρριψη της γαρίδας συνέπεσε με το L -value_{limit}=30 σε όλες τις δοκιμασμένες θερμοκρασίες αποθήκευσης. Η ευαισθησία θερμοκρασίας του ρυθμού μείωσης της τιμής L^* εκφράστηκε με τιμή ενέργειας ενεργοποίησης ίση με 122 kJ/mol.

Στα παρακάτω σχήματα 4.1., 4.2., 4.3. παρουσιάζονται συγκεντρωτικά για κάθε θερμοκρασία οι μεταβολές των τιμών L^* , a^* και b^* ανά μονάδα χρόνου για τις

θερμοκρασίες 2 °C, 5 °C, 10 °C και 15 °C. Παρατηρείται ότι οι τιμές της φωτεινότητας L^* παρουσιάζει μικρές διακυμάνσεις με την πάροδο του χρόνου και στις χαμηλές θερμοκρασίες. Οι τιμές της παραμέτρου a^* και της παραμέτρου b^* έχουν πτωτική τάση.

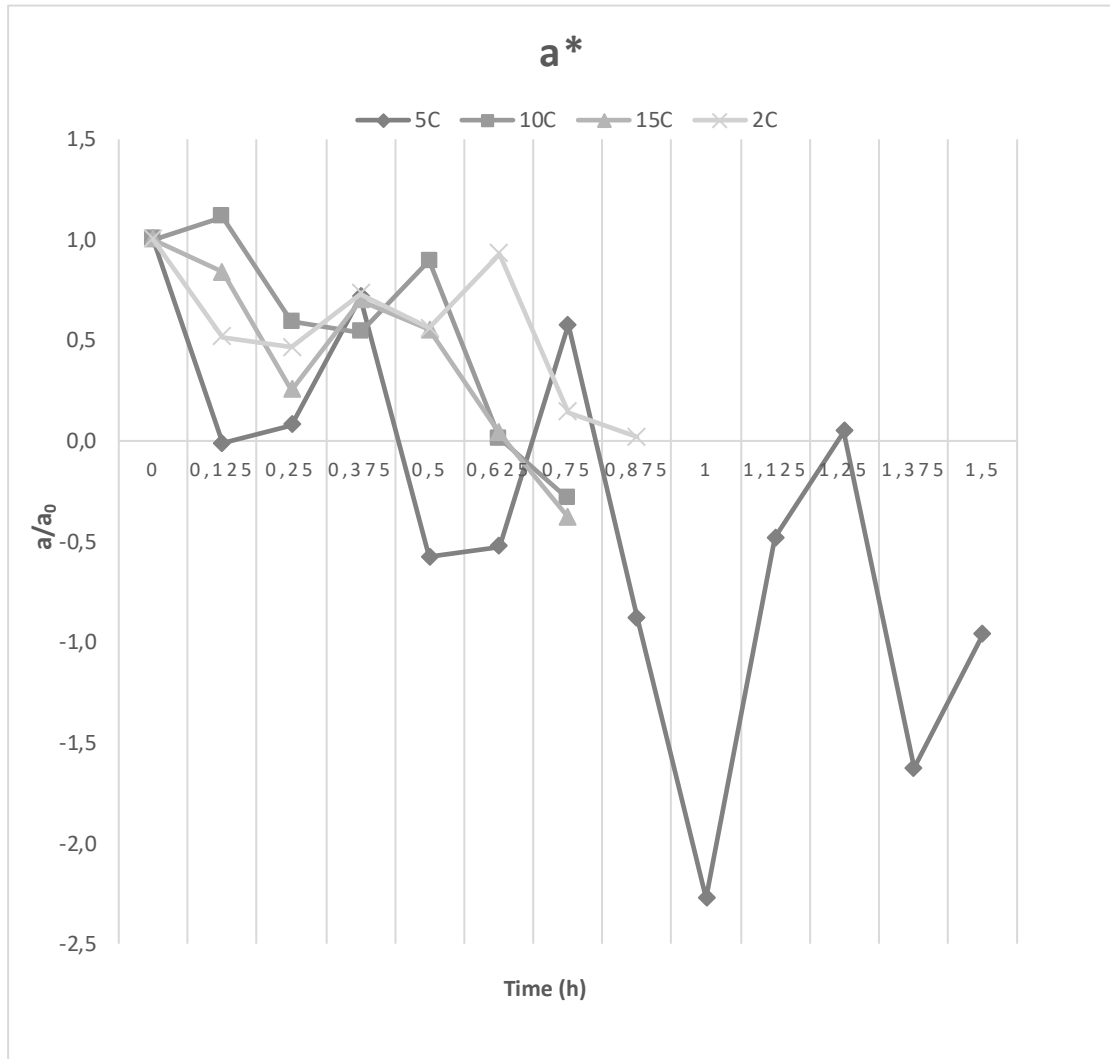
Στο Σχήμα 4.1. παρουσιάζονται οι τιμές της παραμέτρου L^* σε δείγματα γαρίδας χωρίς επικάλυψη φιβροΐνης για κάθε θερμοκρασία. Παρατηρούμε ότι αυξημένη τιμή της L^* καταγράφεται στη θερμοκρασία 2 °C, γεγονός που ήταν αναμενόμενο, καθώς η θερμοκρασία 2 °C είναι η μικρότερη του πειράματος. Συνεπώς περιμένουμε την μικρότερη υποβάθμιση σε σχέση με το χρόνο.



Σχήμα 4.1. Γραφική απεικόνιση της παραμέτρου L^* σε συσχέτιση με το χρόνο για κάθε θερμοκρασία.

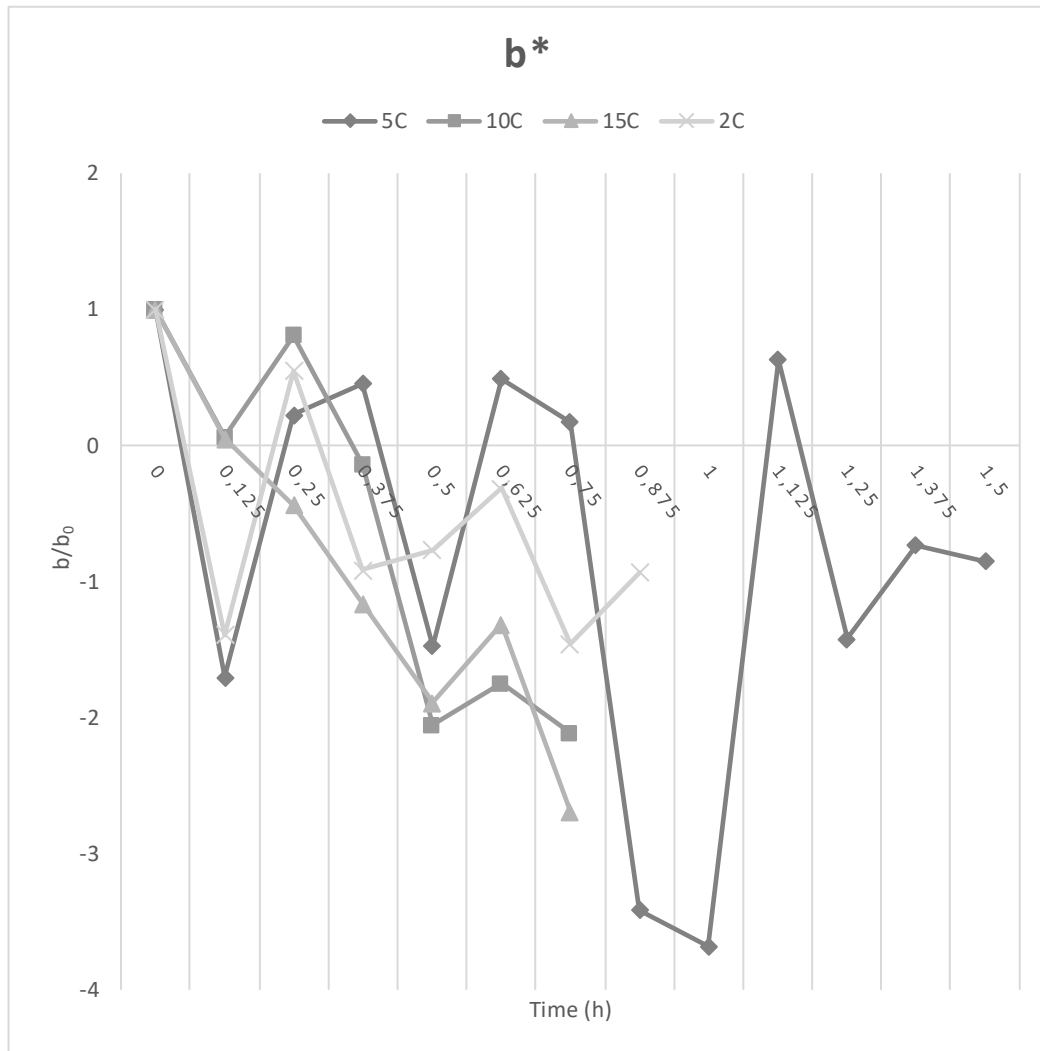
Στο Σχήμα 4.2. παρουσιάζονται οι τιμές της παραμέτρου a^* σε δείγματα γαρίδας χωρίς επικάλυψη φιβροΐνης για κάθε θερμοκρασία. Παρατηρούμε ότι η

χαμηλότερη τιμή της παραμέτρου a^* καταγράφεται στους 5 °C. Επίσης παρατηρείτε γενικά καθοδική τάση για όλες τι θερμοκρασίες.



Σχήμα 4.2. Γραφική απεικόνιση της παραμέτρου a^* σε συσχέτιση με το χρόνο για κάθε θερμοκρασία.

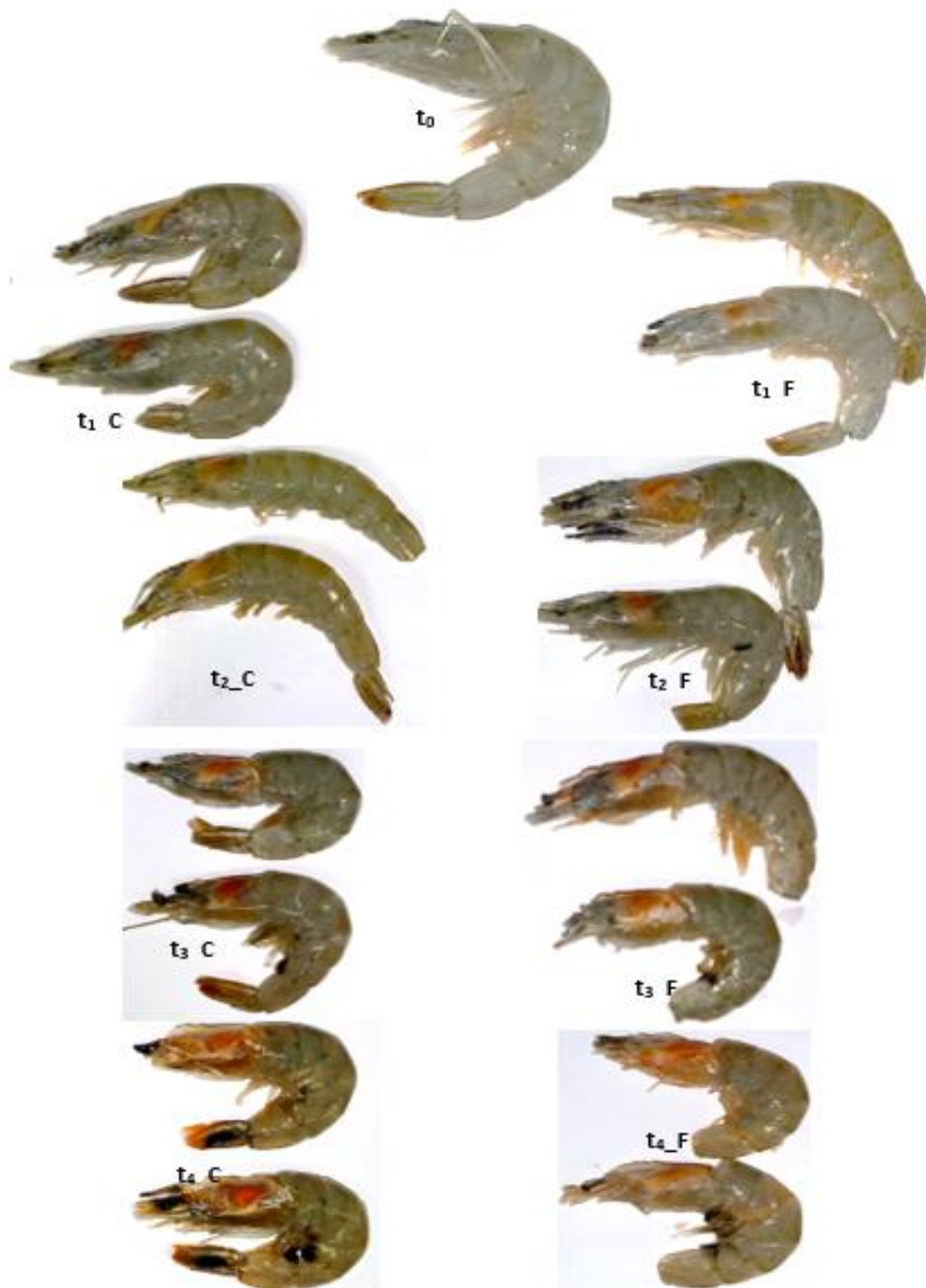
Στο Σχήμα 4.3. παρουσιάζονται οι τιμές της παραμέτρου b^* σε δείγματα γαρίδας χωρίς επικάλυψη φιβροΐνης για κάθε θερμοκρασία. Παρατηρούμε ότι η χαμηλότερη τιμή της παραμέτρου b^* καταγράφεται στους 5 °C. Επίσης παρατηρείτε γενικά καθοδική τάση για όλες τι θερμοκρασίες.



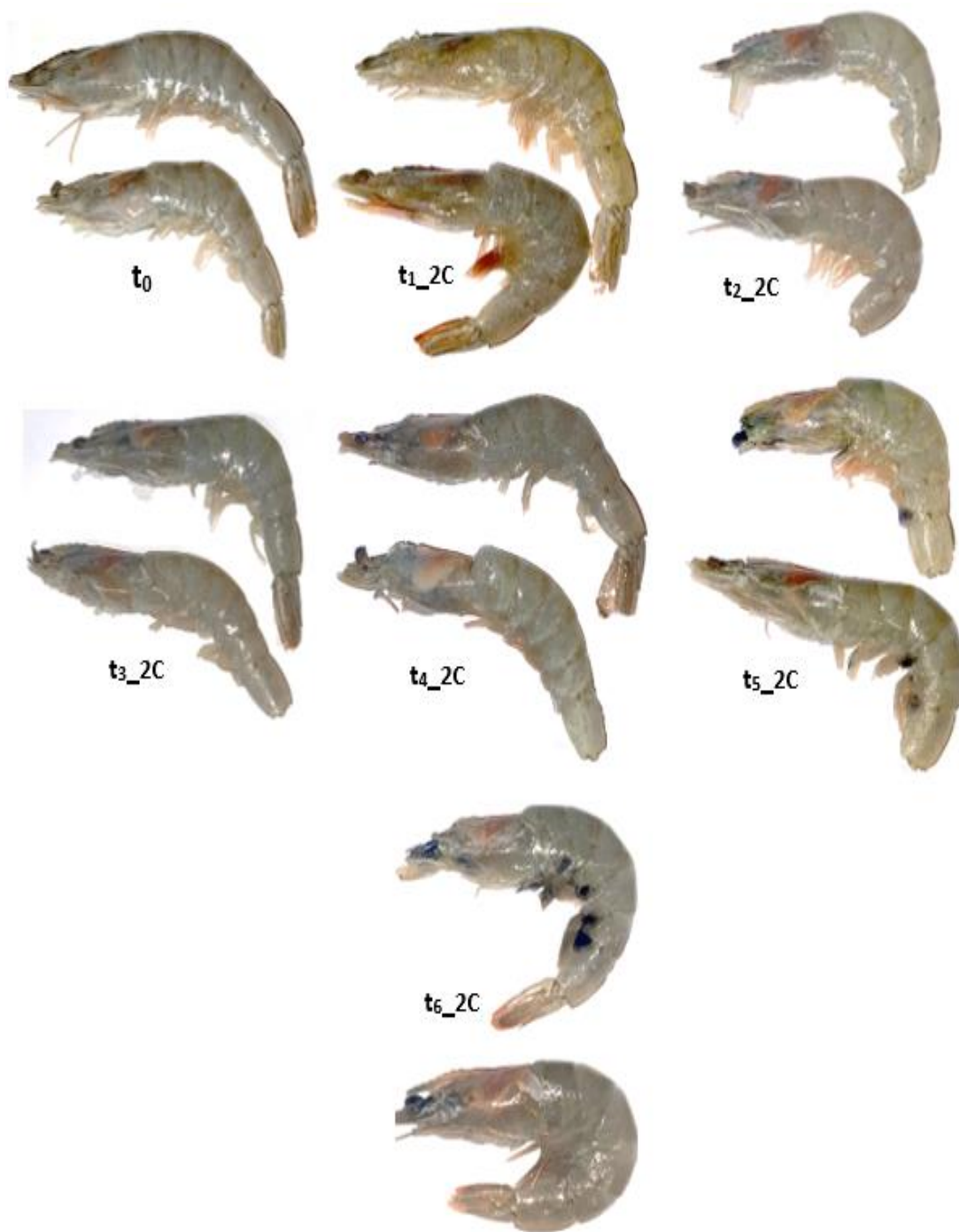
Σχήμα 4.3. Γραφική απεικόνιση της παραμέτρου b^* σε συσχέτιση με το χρόνο για κάθε θερμοκρασία.

Έπειτα, για τη μέτρηση χρώματος χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό ImageJ. Το συγκεκριμένο λογισμικό έχει τη δυνατότητα να μπορεί να αναλύσει όλη την επιλεγμένη φωτογραφία με ανάλυση των εικονοστοιχείων. Οι φωτογραφίες από τις οποίες διεξήχθη η ανάλυση στο πρόγραμμα παρουσιάζονται συγκεντρωτικά στις Εικόνες 4.1., 4.2., 4.3., 4.4. και 4.5.

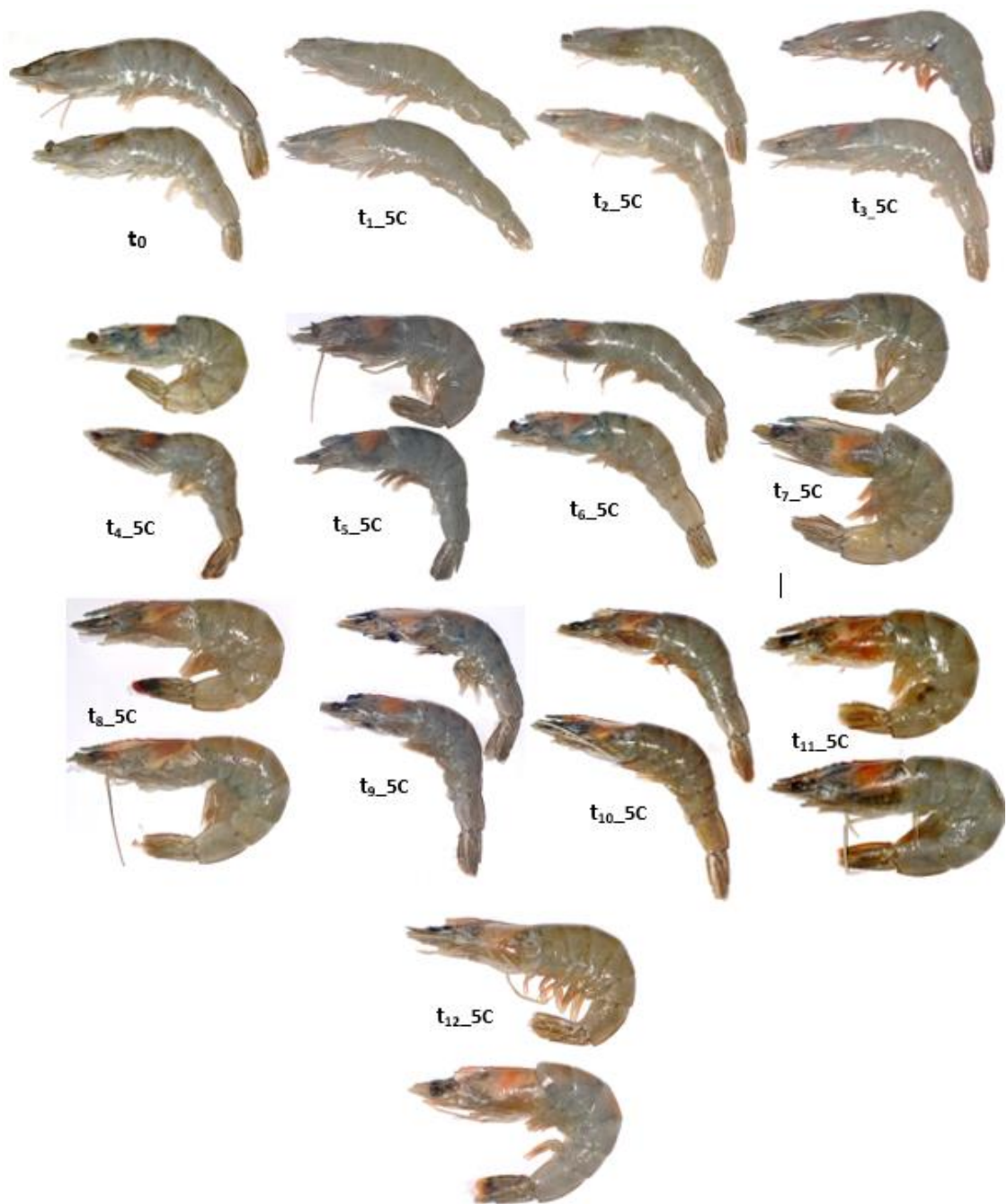
Στην Εικόνα 4.1. παρουσιάζονται στην αριστερή πλευρά οι γαρίδες χωρίς επικάλυψη φιβροΐνης και στην δεξιά πλευρά, οι γαρίδες με φιβροΐνη. Σε κάθε μέτρηση παρατηρούμε καλύτερη εικόνα μακροσκοπικά και ποιοτικά. Την 10^η ημέρα παρατηρείται εμφάνιση μαύρων στιγμάτων στις γαρίδες με επικάλυψη φιβροΐνης σε αντίθεση με τις γαρίδες χωρίς φιβροΐνη που παρουσίασαν έντονα μαύρα στίγματα νωρίτερα. Επιπροσθέτως, οι γαρίδες χωρίς φιβροΐνη συγκριτικά με αυτές με φιβροΐνη είναι πιο θαμπές, πιο μαλακές και το κρέας του χαρακτηρίζεται ως μαλακό με εμφανή σημάδια αλλοίωσης. Στις εικόνες αυτές παρατηρείται και μακροσκοπικά ότι με την πάροδο του χρόνου, οι γαρίδες εμφάνισαν μαύρα στίγματα. Έντονα μαύρα στίγματα, έντονη εικόνα αλλοίωσης σε μη αποδεκτό αποτέλεσμα και λόγω της υφής παρουσίασαν οι γαρίδες που αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία συντήρησης 10 °C και 15 °C.



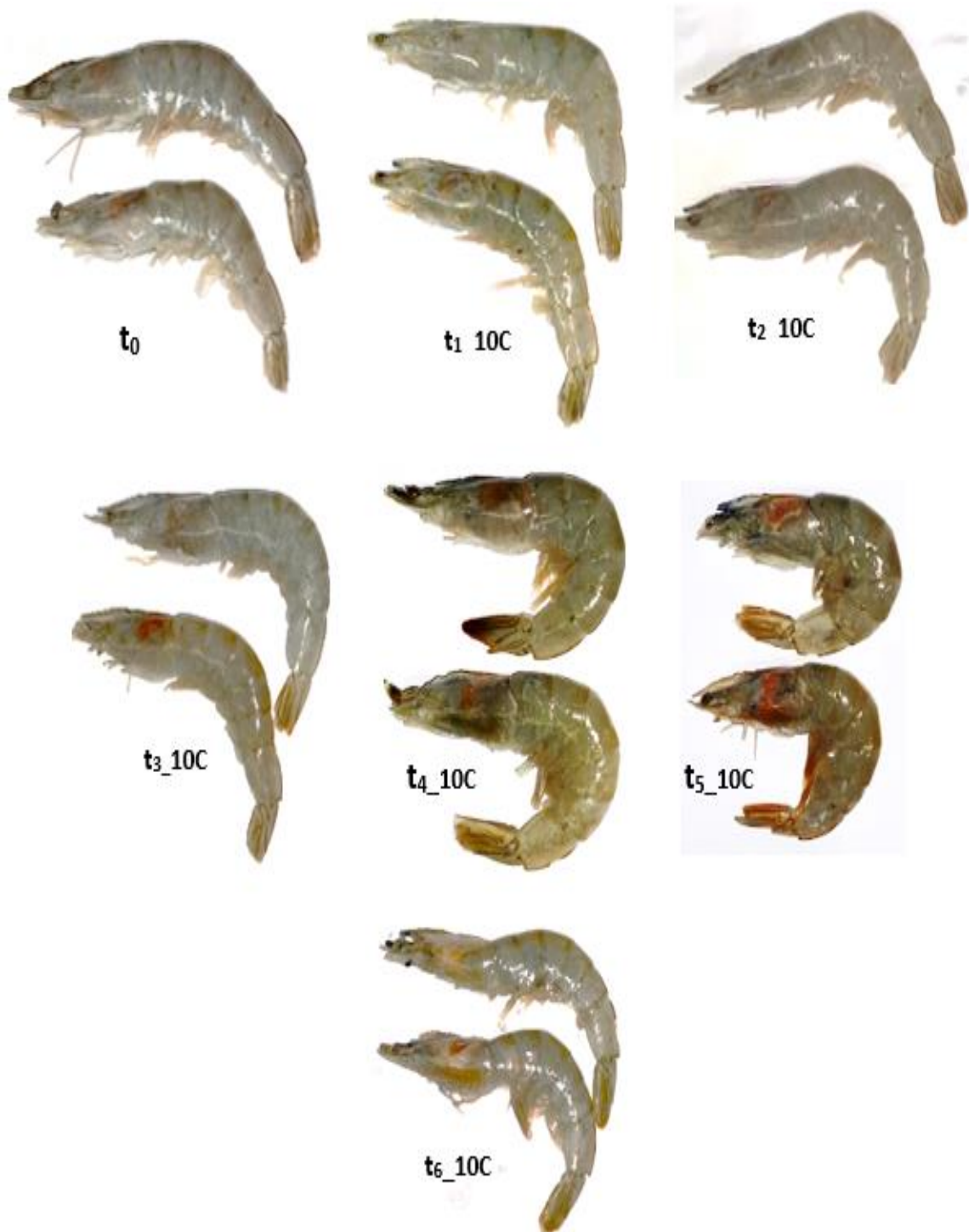
Εικόνα 4.1. Γαρίδες *Penaeus vannamei* με επικάλυψη φιβροΐνης (δεξιά) και χωρίς επικάλυψη φιβροΐνης (αριστερά) σε θερμοκρασία συντήρησης 2 °C με την πάροδο του χρόνου



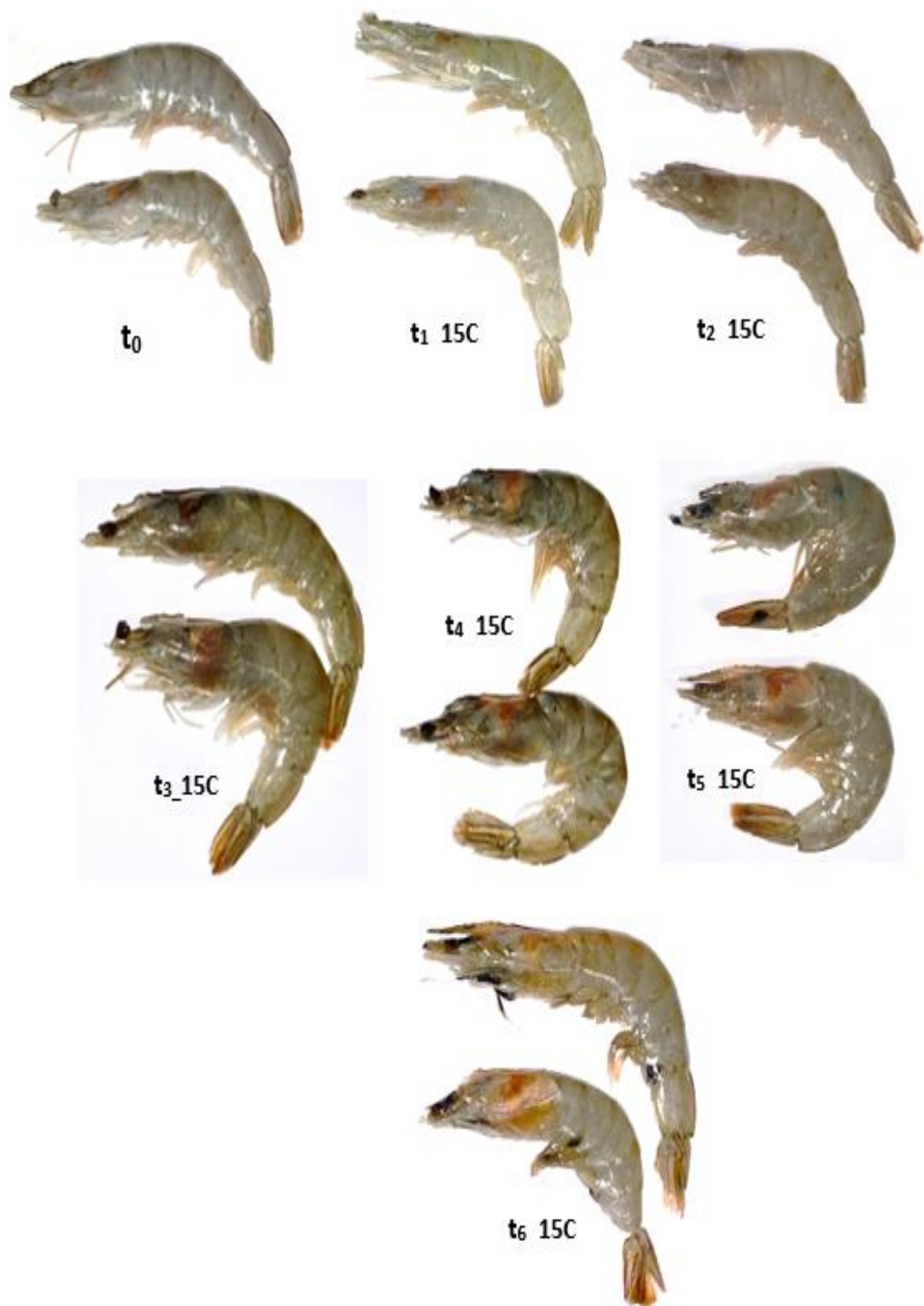
Εικόνα 4.2. Γαρίδες Penaeus vannamei σε θερμοκρασία συντήρησης 2 °C με την πάροδο του χρόνου



Εικόνα 4.3. Γαρίδες *Penaeus vannamei* σε θερμοκρασία συντήρησης 5 °C με την πάροδο του χρόνου



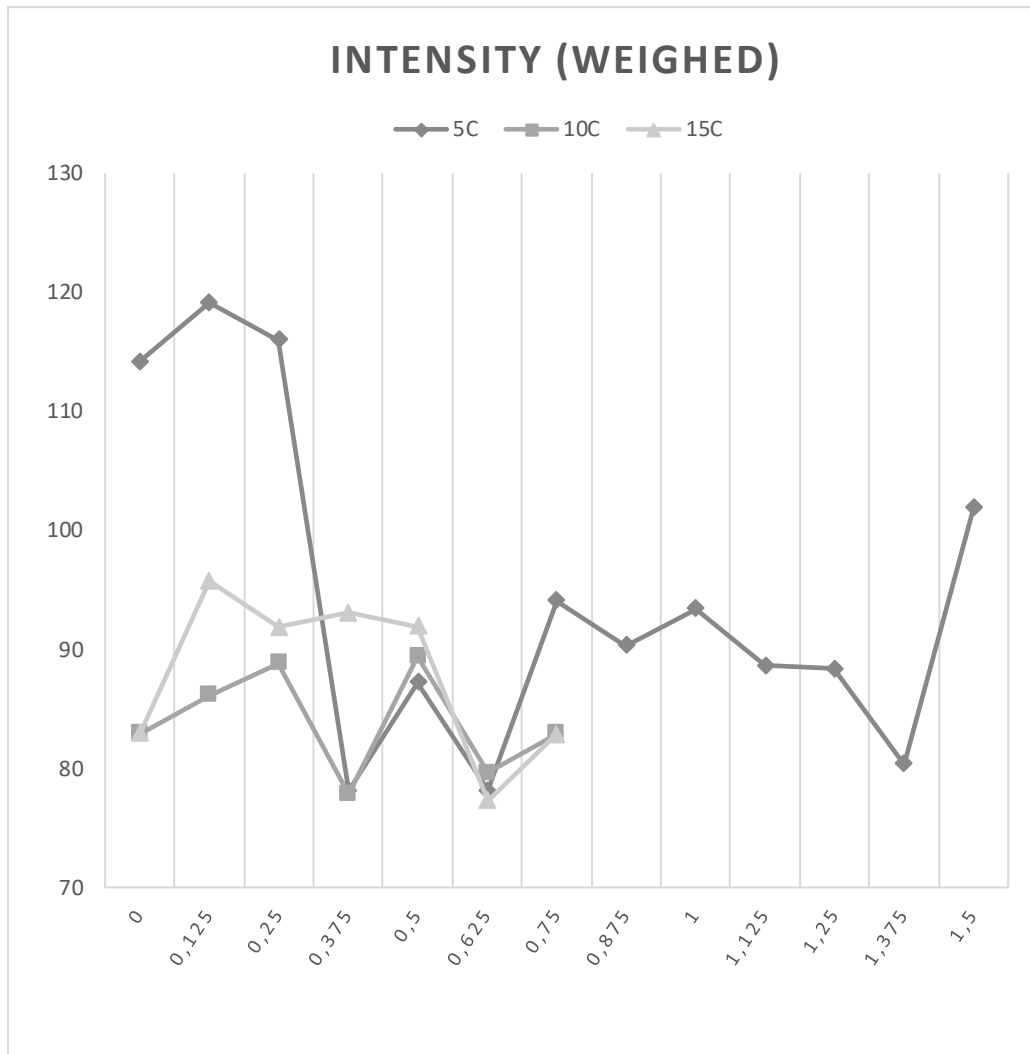
Εικόνα 4.4. Γαρίδες Penaeus vannamei σε θερμοκρασία συντήρησης 10 °C με την πάροδο του χρόνου



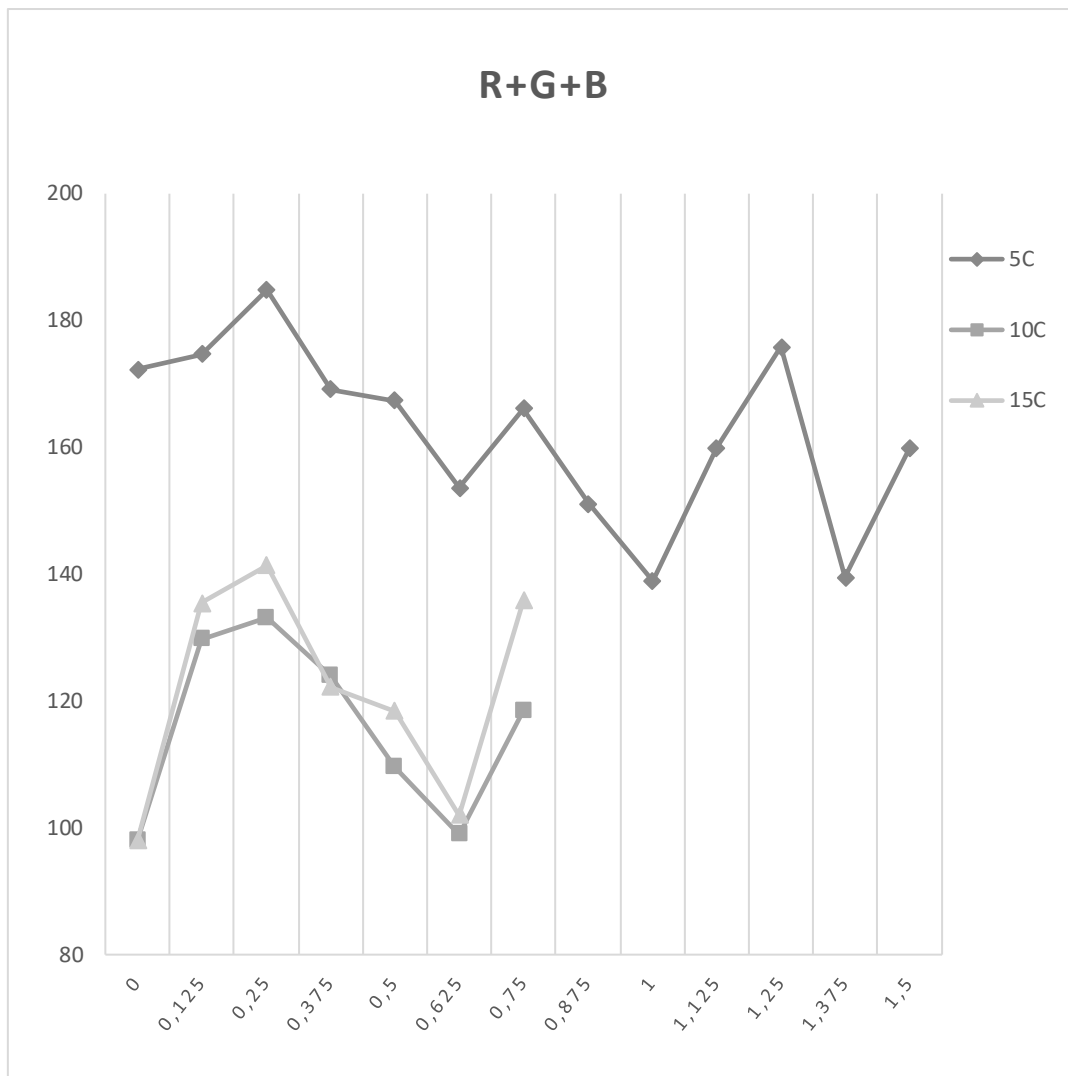
Εικόνα 4.5. Γαρίδες Penaeus vannamei σε θερμοκρασία συντήρησης 15 °C με την πάροδο του χρόνου

Στα παρακάτω Σχήματα 4.4., 4.5., 4.6., 4.7. και 4.8. απεικονίζονται γραφικά τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα των θερμοκρασιών 5 °C, 10 °C και 15 °C που εξήχθησαν από το λογισμικό ImageJ.

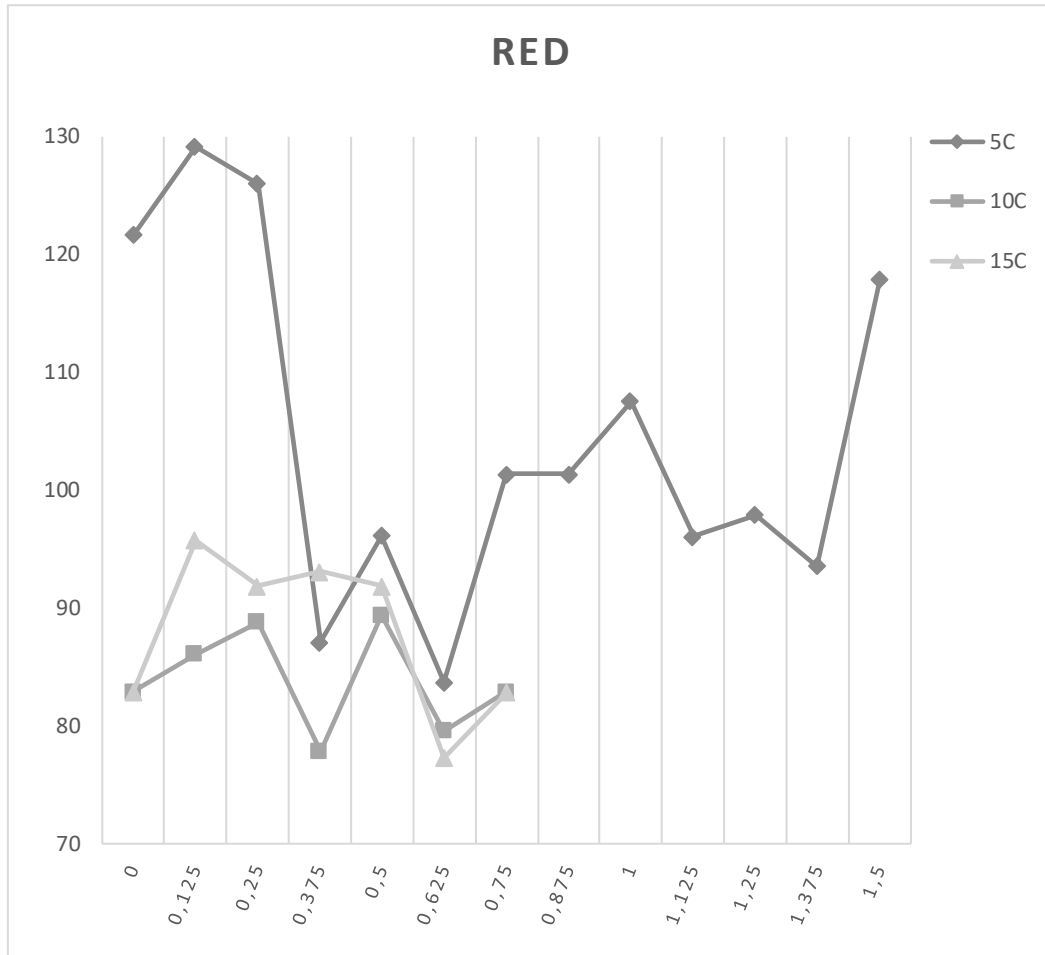
Στο Σχήμα 4.4. παρατηρούμε τις τιμές της έντασης φωτεινότητας Intensity (weighed). Παρατηρούμε ότι η υψηλότερη τιμή καταγράφεται στη θερμοκρασία 5 °C.



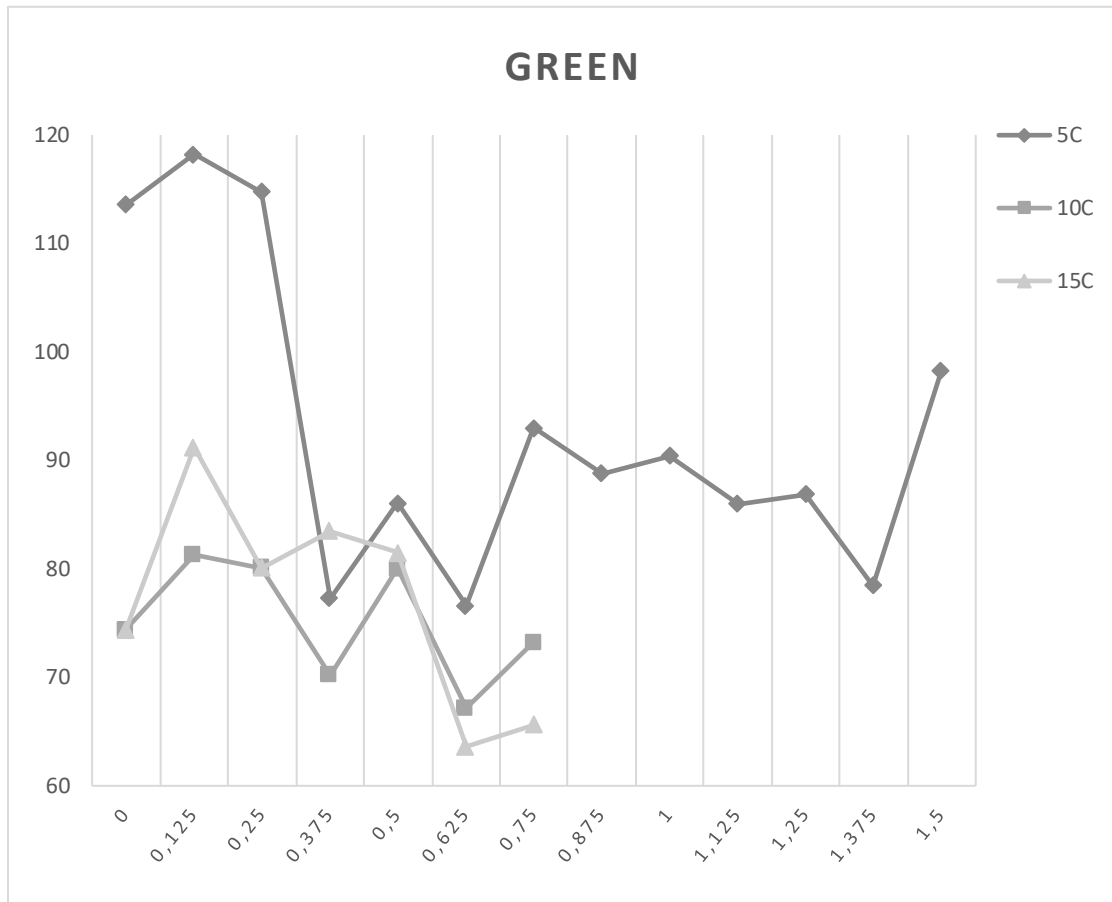
Σχήμα 4.4. Γραφική απεικόνιση της έντασης της φωτεινότητας Intensity (weighed)



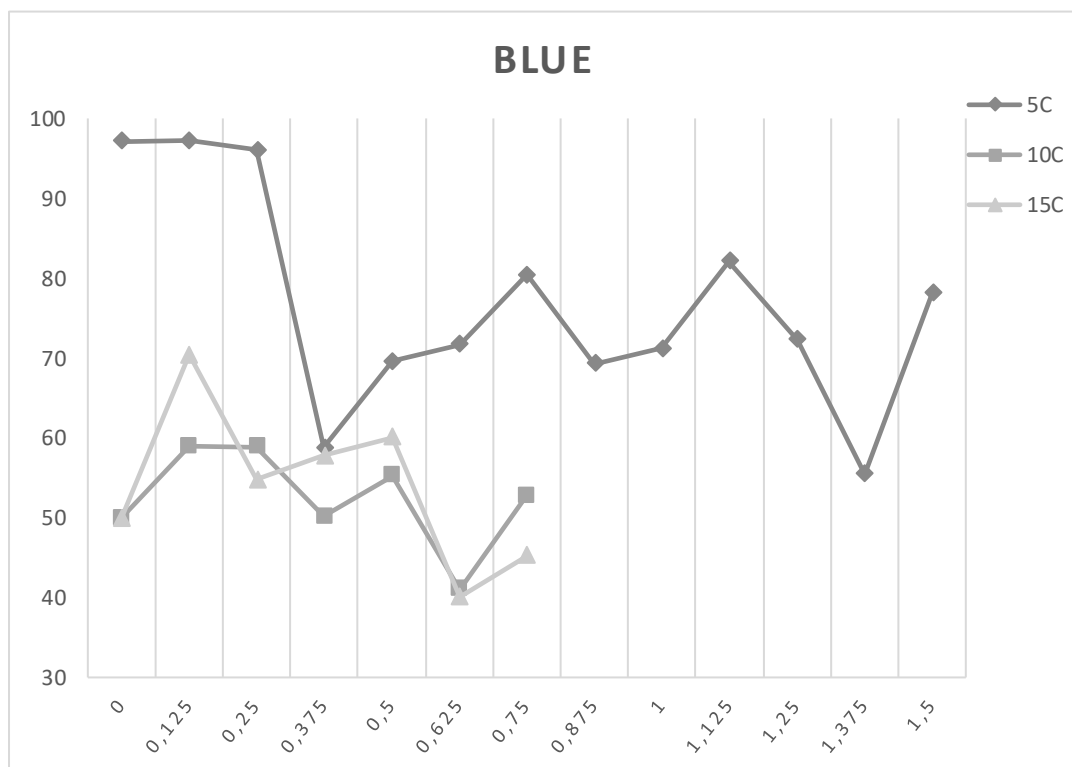
Σχήμα 4.5. Γραφική απεικόνιση RGB



Σχήμα 4.6. Γραφική απεικόνιση της διαβάθμισης σε κόκκινο



Σχήμα 4.7. Γραφική απεικόνιση της διαβάθμισης σε πράσινο



Σχήμα 4.8. Γραφική απεικόνιση της διαβάθμισης σε μπλε

4.2. Μέτρηση ενεργότητας PPO

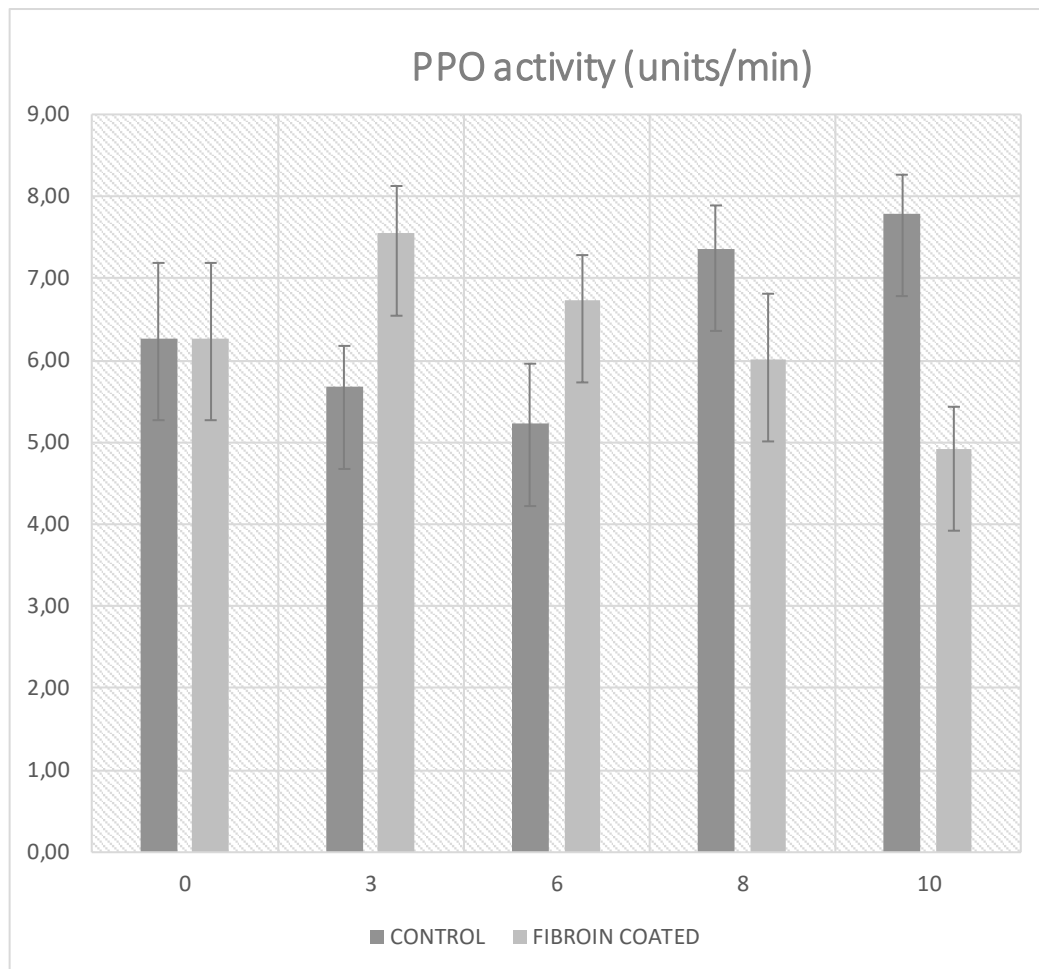
Ακολούθησε η ανάλυση δεδομένων, αρχικά για τις τιμές των δειγμάτων γαρίδας, οι οποίες είχαν επικαλυφθεί με φιβροΐνη σε συσχέτιση με τις γαρίδες που δεν είχαν επικάλυψη φιβροΐνης. Τα δύο πειράματα έγιναν παράλληλα έτσι ώστε να υπάρχει σύγκριση των δεδομένων για παρατήρηση τυχόν διαφορών.

Στον Πίνακα 4.2. παρουσιάζονται ο μέσος όρος των τιμών ενεργότητας της πολυφαινολοξειδάσης (PPO) με τυπική απόκλιση των τιμών. Στη αριστερή στήλη καταγράφηκαν οι τιμές των δειγμάτων γαρίδας χωρίς φιβροΐνη και χαρακτηρίστηκαν ως Control και στη δεξιά στήλη καταγράφηκαν οι τιμές των δειγμάτων με παρουσία φιβροΐνης, οι οποίες χαρακτηρίστηκαν Fibroin Coated Shrimps.

Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι οι αρχικές τιμές μέχρι και την 3^η ημέρα στην στις γαρίδες με επικάλυψη φιβροΐνης αυξάνονται σε αντίθεση με αυτές που δεν έχουν. Ωστόσο, παρατηρείται μετά το πέρας αυτών των ημερών καθοδική πτώση τιμών της δράσης του ενζύμου συγκριτικά με τις γαρίδες χωρίς επικάλυψη που αυξάνονται σημαντικά. Το ίδιο παρατηρείται και στο Σχήμα 4.4.

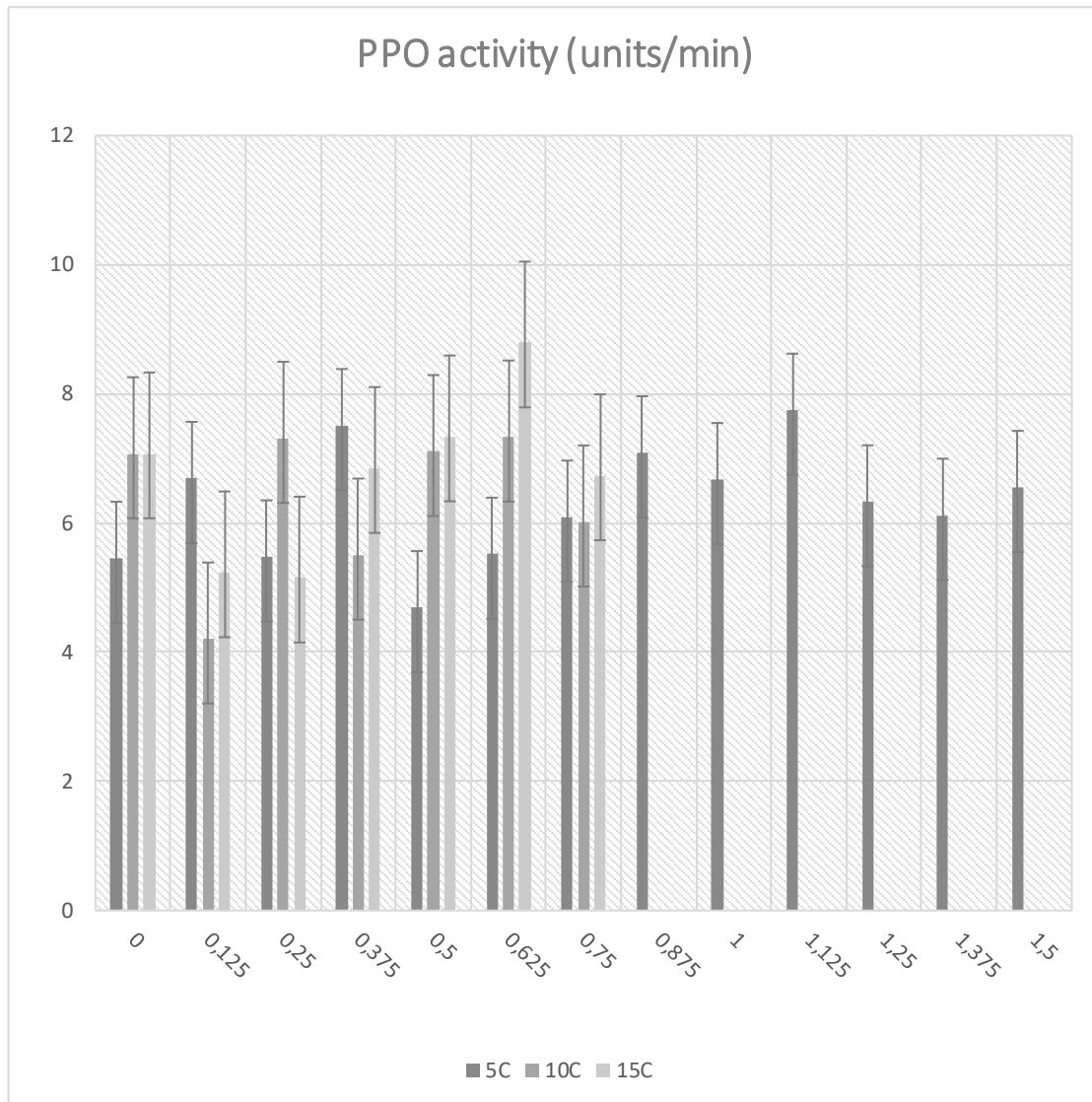
Πίνακας 4.2. Τιμές ενεργότητας πολυφαινολοξειδάσης (PPO) με και χωρίς φιβροΐνη σε διάρκεια 10 ημερών σε μονάδες *units/min*.

Χρόνος (ημέρες)	Control			Fibroin Coated Shrimps		
	AVG	STDEV	%RSD	AVG	STDEV	%RSD
0	6,27	0,92	14,66	6,27	0,92	14,66
3	5,68	0,50	8,83	7,54	0,58	7,72
6	5,22	0,74	14,12	6,73	0,55	8,22
8	7,36	0,53	7,21	6,01	0,80	13,34
10	7,78	0,48	6,18	4,92	0,51	10,40



Σχήμα 4.4. Ενεργότητα PPO σε units/min σε διάρκεια 10 ημερών

Στο παρακάτω Σχήμα 4.5. παρουσιάζονται οι τιμές της ενεργότητας της PPO σε units/min κατά τη διάρκεια 36 ωρών. Οι γαρίδες που χρησιμοποιήθηκαν σε αυτή τη φάση είναι χωρίς επικάλυψη φιβροΐνης. Αυτό έγινε και για επιπλέον επικύρωση των αποτελεσμάτων της ενεργότητας του ενζύμου της πρώτης φάσης της πειραματικής διαδικασίας με και χωρίς παρουσία φιβροΐνης. Στο Σχήμα 4.5. καταγράφεται ότι η υψηλότερη τιμή είναι στους 15 °C. Αυτό σημαίνει ότι η δραστηριότητα του ενζύμου αντιστοιχεί στους 15 °C.



Σχήμα 4.5.. Ενεργότητα PPO σε units/min σε διάρκεια 36 ωρών σε θερμοκρασίες 5 °C, 10 °C και 15 °C

Πίνακας 4.3. Συγκεντρωτικά στατιστικά για κάθε θερμοκρασία

Στατιστικά παλινδρόμησης PPO				
	2C	5C	10C	15C
Πολλαπλό R	0,494519796	0,327279314	0,187582423	0,508403067
R Τετράγωνο	0,244549829	0,107111749	0,035187165	0,258473679
Προσαρμοσμένο R Τετράγωνο	0,118641467	0,02594009	0,157775402	0,110168414
Τυπικό σφάλμα (SE)	1,151479774	0,864443068	1,274215152	1,186077844
Μέγεθος δείγματος	8	13	7	7
Στατιστικά παλινδρόμησης L*, a*, b*				
2C				
	L*	a*	b*	
Πολλαπλό R	0,24438551	0,738750112	0,525156432	
R Τετράγωνο	0,059724277	0,545751728	0,275789278	
Προσαρμοσμένο R Τετράγωνο	0,096988343	0,470043682	0,155087491	
Τυπικό σφάλμα (SE)	3,649448061	0,244052548	1,25423501	
Μέγεθος δείγματος	8	8	8	
5C				
	L*	a*	b*	
Πολλαπλό R	0,217277483	0,629584877	0,2925133	
R Τετράγωνο	0,047209505	0,396377118	0,08556403	
Προσαρμοσμένο R Τετράγωνο	0,039407813	0,34150231	0,00243349	
Τυπικό σφάλμα (SE)	2,622241053	0,731735685	2,31665304	
Μέγεθος δείγματος	13	13	13	
10C				
	L*	a*	b*	
Πολλαπλό R	0,006983571	0,852786457	0,904791622	
R Τετράγωνο	0,0000488	0,727244741	0,818647878	
Προσαρμοσμένο R Τετράγωνο	0,199941476	0,67269369	0,782377454	
Τυπικό σφάλμα (SE)	2,898048383	0,474173183	0,602197224	
Μέγεθος δείγματος	7	7	7	
15C				
	L*	a*	b*	
Πολλαπλό R	0,575980094	0,863201301	0,953089514	
R Τετράγωνο	0,331753068	0,745116487	0,908379621	
Προσαρμοσμένο R Τετράγωνο	0,198103682	0,694139784	0,890055545	
Τυπικό σφάλμα (SE)	2,504032164	0,426873328	0,391274354	
Μέγεθος δείγματος	7	7	7	

Πίνακας 4.4. Συγκεντρωτικά στατιστικά διακύμανσης για κάθε θερμοκρασία

<i>PPO</i>	<i>βαθμοί ελευθερίας</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Σημαντικότητα F</i>
2C					
Παλινδρόμηση	1	2,575285708	2,575285708	1,942284256	0,212853333
Υπόλοιπο	6	7,95543402	1,32590567		
Σύνολο	7	10,53071973			
5C					
Παλινδρόμηση	1	0,986064856	0,986064856	1,31957078	0,275035314
Υπόλοιπο	11	8,219879993	0,747261818		
Σύνολο	12	9,205944849			
10C					
Παλινδρόμηση	1	0,296071595	0,296071595	0,182352286	0,687123165
Υπόλοιπο	5	8,11812127	1,623624254		
Σύνολο	6	8,414192865			
15C					
Παλινδρόμηση	1	2,451806225	2,451806225	1,74284898	0,243982437
Υπόλοιπο	5	7,033903262	1,406780652		
Σύνολο	6	9,485709487			
L*, a*, b*					
2CL*					
Παλινδρόμηση	1	5,075762655	5,075762655	0,381107	0,559694959
Υπόλοιπο	6	79,91082691	13,31847115		
Σύνολο	7	84,98658956			
2Ca*					
Παλινδρόμηση	1	0,429358215	0,429358215	7,208636	0,036298857
Υπόλοιπο	6	0,357369876	0,059561646		
Σύνολο	7	0,786728091			
2Cb*					
Παλινδρόμηση	1	3,594359541	3,594359541	2,284881	0,181393611
Υπόλοιπο	6	9,438632765	1,573105461		
Σύνολο	7	13,03299231			
5CL*					
Παλινδρόμηση	1	3,747744184	3,74774418	0,545035405	0,47580959
Υπόλοιπο	11	75,63762956	6,87614814		
Σύνολο	12	79,38537375			
5Ca*					
Παλινδρόμηση	1	3,867622124	3,86762212	7,223298552	0,02111877
Υπόλοιπο	11	5,889808245	0,53543711		
Σύνολο	12	9,757430369			
5Cb*					
Παλινδρόμηση	1	5,523986573	5,52398657	1,029273106	0,33212522
Υπόλοιπο	11	59,03569417	5,36688129		
Σύνολο	12	64,55968074			
10CL*					
Παλινδρόμηση	1	0,00204813	0,00204813	0,000244	0,988145
Υπόλοιπο	5	41,99342215	8,39868443		
Σύνολο	6	41,99547028			
10Ca*					

Παλινδρόμηση	1	2,997446484	2,997446484	13,33145	0,014729
Υπόλοιπο	5	1,124201035	0,224840207		
Σύνολο	6	4,12164752			
10C b*					
Παλινδρόμηση	1	8,185062556	8,185062556	22,57067	0,005101
Υπόλοιπο	5	1,813207484	0,362641497		
Σύνολο	6	9,99827004			
15C L*					
Παλινδρόμηση	1	15,56423522	15,56423522	2,482264	0,175956
Υπόλοιπο	5	31,3508854	6,27017708		
Σύνολο	6	46,91512062			
15C a*					
Παλινδρόμηση	1	2,663486334	2,663486334	14,6168	0,012333
Υπόλοιπο	5	0,911104191	0,182220838		
Σύνολο	6	3,574590526			
15C b*					
Παλινδρόμηση	1	7,589410938	7,589410938	49,57301	0,000893
Υπόλοιπο	5	0,7654781	0,15309562		
Σύνολο	6	8,354889038			

Το τυπικό σφάλμα SE στην περίπτωση της θερμοκρασίας 2 °C είναι μεγαλύτερο από αυτό της θερμοκρασίας 15 °C σε επίπεδο σημαντικότητας 95% της PPO. Λαμβάνοντας υπόψη ότι το τυπικό σφάλμα SE αποτελεί μέτρο της διασποράς της μέσης τιμής από το πληθυσμιακό δείγμα, συμπεραίνουμε ότι στην περίπτωση της θερμοκρασίας 2 °C, η διασπορά αυτή είναι πολύ μικρότερη. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η τιμή του χρωματικού παράγοντα προκύπτει από πολύ μεγάλο αριθμό τιμών, αφού κάθε μέτρηση αντιστοιχεί στη μέση τιμή των αριθμητικών τιμών του L* από κάθε pixel της ψηφιακής εικόνας των δειγμάτων. Αυτό έχει ως πρακτικό αποτέλεσμα, η μέση τιμή να προσδιορίζεται με καλύτερη προσέγγιση και μεγαλύτερη αξιοπιστία λόγω του πολλαπλάσιου αριθμού μετρήσεων ανά δείγμα (McDonald, 2009). Έτσι μπορεί τελικά να ειπωθεί ότι η L* λόγω της μικρότερης τιμής του τυπικού σφάλματος παρουσιάζει αυξημένη εμπιστοσύνη στα αποτελέσματά της.

Κεφάλαιο 5

Συμπεράσματα

Στην παρούσα διατριβή μελετήθηκαν συστηματικά οι συνθήκες της ψυκτικής αλυσίδας στοχεύοντας στην επιβράδυνση της ποιοτικής υποβάθμισης της γαρίδας, καθώς και η διεύρυνση εναλλακτικών υλικών συσκευασίας.

Η μέτρηση χρώματος στην παρούσα μελέτη ενισχύεται με τις δύο μεθόδους που χρησιμοποιούνται. Πέρα από τη χρήση χρωματόμετρου, γίνεται χρήση λογισμικού προγράμματος ImageJ, το οποίο έχει την ικανότητα μέτρησης χρώματος στο σύνολο της επιφάνειας των δειγμάτων έναντι του χρωματόμετρου που αξιολογεί το 10-15% της επιφάνειας.

Με την προσθήκη επικάλυψης με φιβροΐνη σε γαρίδες επιτεύχθηκε η αποτελεσματικότερη διατήρηση ποιότητας και συγκεκριμένα η διατήρηση του χρώματος για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα και η διατήρηση της συνεκτικότητας και υφής. Αξίζει να τονιστεί ότι με αυτή τη μέθοδο μπορεί παράλληλα να επιτευχθεί η χρήση εναλλακτικών υλικών συσκευασίας, η μείωση απώλειας της ποιοτικής υποβάθμισης, τόσο μικροβιολογικά όσο και μακροσκοπικά, η μείωση της ύπαρξης αποβλήτων καθώς και η προστασία του περιβάλλοντος

Προτείνεται μελλοντικά η διερεύνηση της μεθόδου τόσο της σύστασης της εδώδιμης επικάλυψης, στοχεύοντας στον εντοπισμό τόσο της βέλτιστης εμβάπτισης στο διάλυμα της φιβροΐνης, όσο της μεθόδου για την εξαγωγή της φιβροΐνης.

Αναφορικά με την μέτρηση του χρώματος μέσω χρωματόμετρου, μπορούν να χρησιμοποιηθούν περισσότερα σημεία στοχεύοντας στην καλύτερη κάλυψη της επιφάνειας των δειγμάτων. Παράλληλα, μπορεί να χρησιμοποιηθεί το λογισμικό και εξίσου σημαντική θα είναι η δημιουργία ερωτηματολογίου για οργανοληπτική αξιολόγηση, στοχεύοντας στην ανθρώπινη αντίληψη της αλλαγής του χρώματος σε ένα ευρύ φάσμα κριτών. Μπορεί με αυτόν τον τρόπο να αυξηθεί η ευαισθησία της μεθόδου, ωστόσο, θα υπάρχει μια σφαιρική εικόνα της αλλαγής.

ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Aubourg S.P., Losada V., Prado M., Miranda J.M. & Barros - Velazquez J. (2007) Improvement of the commercial quality of chilled Norway lobster (*Nephrops norvegicus*) stored in slurry ice: Effects of a preliminary treatment with an antimelanogenic agent on enzymatic browning. *Food Chemistry*, 103: 741-748.
- Al-Dagal M. M. and Bazaraa A. W. (1999) Extension of Shelf Life of Whole and Peeled Shrimp with Organic Acid Salts and Bifidobacteria. *Journal of Food Protection*, vol. 62, no. 1, pp. 51-56
- Baixas - Nogueras S., Bover-Cid T., Nogues V. and Vidal-Carou C. M. (2002) Chemical and Sensory changes in Mediterranean hake (*Merluccius merluccius*) under refrigeration (6-8 °C) and stored in Ice. *J Agric Food Chem*, vol. 50, pp. 6504 - 6510
- Basiri S, Shekarforoush S. S., Aminlari M., Akbari S. (2015) *LWT - Food Science and Technology*, Volume 60, Issue 2, Part 1, March 2015, Pages 1025-1033 <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.10.043>
- Béné C., Barange M., Subasinghe R., Pinstrip - Andersen P., Merino G., Hemre G.I., Williams M. (2015). Feeding 9 billion by 2050 – putting fish back on the menu. *Food Secur.* 7, 261–274.
- Beuchat L. and Rockland L. (1987) *Theory and Applications to food*, New York: Marcel Dekker Inc., pp. 287-294
- Cagri A, Ustunol Z, & Ryser E. T. (2004). Antimicrobial edible films and coatings. *Journal of Food Protection*, 67(4), 833-848.
- Cha D. S., Choi J. H., Chinnan M. S. and Park H. J. (2002). Antimicrobial Films Based on Na-alginate and kappa-carrageenan. *Lebensm-Wiss. u.-Technol.*, 35, 715-719.
- Dainelli D., Gontard N., Spyropoulos D et al. (2008). Active and intelligent food packaging: legal aspects and safety concerns. *Trends in Food Science & Technology* 19 (2008) S103-S112.
- Day B. 2008, *Active packaging of food*.
- De Oliveira e Silva, E. R., Seidman C. E., Tian J. J., Hudgins L. S., Sacks F. M., and Breslow J.L. (1996) Effects of shrimp consumption on plasma lipoproteins. *American Journal Clinical Nutrition*, 64: 712-717.
- Debeaufort, F., Quezada-Gallo, J A Valley, A. 1998. Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a review. *Critical Review in Food Science* 38 (4), 299-313.
- Dehghani S., Hosseini V. S. and Regenstein J. (2018) Edible films and coatings in seafood preservation: A review. *Food Chemistry*, vol. 240, pp. 505-513
- FAO Fisheries Synopsis (1980) *FAO SPECIES CATALOGUE Vol.1- SHRIMPS AND PRAWNS OF THE WORLD*, An Annotated Catalogue of Species of Interest to Fisheries Prepared by L.B. Holthuis Rijksmuseum van Natuurlijke Historie

- FDA (2001) Fish and Fisheries Products Hazards and Controls Guidance, Third Edition. Washington D.C.
- Finia M., Mottab A., Torricellia P., Giavaresia G., Aldinia N., Tschona M., Giardinoa R. & Migliaresib C. (2005) The healing of confined critical size cancellous defects in the presence of silk fibroin hydrogel, *Biomaterials*, 26, 3527-3536
- Ghaly A., Dave D., Budge S. and Brooks M., (2010) "Fish Spoilage Mechanisms and Preservation Techniques: Review," *American Journal of Applied Science*, vol. 7, pp. 859-877
- Gibbs P. and Gekas V. (1998) "Water activity and microbiological aspects of foods a knowledge base," *Leatherhead Food Research Association*, pp. 1-6
- Ghaly E. A., Dave D., Budge S. and Brooks S. M. (2010) "Fish Spoilage Mechanisms and Preservation Techniques: Review," *American Journal of Applied Science*, vol. 7, pp. 859-877
- Guilbert S. (1986) *Technology and Application of edible protective films in Food Packaging and preservation: theory and practice*, New York, Elsevier Applied Science Publishers, pp. 371-394.
- Guziewicz N., Best A., Perez-Ramirez B. & Kaplan D. (2011) Lyophilized silk fibroin hydrogels for the sustained local delivery of therapeutic monoclonal antibodies, *Biomaterials*, 32, 2642-2650
- Gram L., (1993). Inhibition effect against pathogenic and spoilage bacteria of *Pseudomonas* strains isolated from spoiled and fresh fish. *Applied Environmental Microbiology*, 16: 25-39.
- Gram L. and Huss H. H. (1996) "Microbiological spoilage of fish and fish products," *International Journal of Food Microbiology*, vol. 33, no. 1, pp. 121-137
- Hajime M & Tsukada M. (2010) New silk protein: modification of silk protein by gene engineering for production of biomaterials, *Molecular Biotechnology*, 74: 95-103
- Hanpanich B., Oonkhanond B., Vichai Srimuninnimit V., Visuthikosol V. & Prasert Sophon P. (2011) De novo method of developing silk fibroin hydrogel aim for using as a dermal scaffold by gamma irradiation. *International Journal of applied biomedical engineering*, 1(4): 14-18
- Hildebrand K.S. (1997) Brand Shrimp Company HAACP Plan Cooked and Peeled Shrimp. (<http://seafood.ucdavis.edu/haacp/plans/shrimp.htm>).
- Huidobro A., Lopez-Caballero E. M. and Mendes R. (2002) "Onboard processing of deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*) with liquid ice: Effect on quality," *Eur Food Res Technol*, vol. 214, pp. 469-475

- Huis in't Veld H. J. (1996) Microbial and biochemical spoilage of foods: an overview. *International Journal of Food Microbiology*, vol. 33, pp. 1-18
- Huss H. H. (1997) Control of indigenous pathogenic bacteria in seafood. *Food Control*, vol. 8, no. 2, pp. 91-98
- Huss H. H., Reilly A. and Karim Ben Embarek P. (2000) "Prevention and control of hazards in seafood," *Food Control*, vol. 11, pp. 149-156
- Jiang Z., Neetoo H., & Chen H. (2011). Efficacy of freezing, frozen storage and edible antimicrobial coatings used in combination for control of *Listeria monocytogenes* on roasted turkey stored at chiller temperatures. *Food microbiology*, 28 (7), 1394-401.
- Jofre A., Aymerich T., Garriga M. (2008). Assessment of the effectiveness of antimicrobial packaging combined with high pressure to control *Salmonella* sp. in cooked ham, *Food Control* 19: 634-638.
- Kerry J.P., O' Grady, M. N., Hogan S. A. (2008). Past, current and potential utilisation of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products: A review, *Meat Science* 74: 113-130.
- Kester J. and Fennema O. (1986). Edible films and coatings: A review. *Food Technology*, 40 (12), 47-59.
- Kristo E., Koutsoumanis K. P., & Biliadens C. G. (2008). Thermal, mechanical and water vapor barrier properties of sodium caseinate films containing antimicrobials and their inhibitory action on *Listeria monocytogenes*. *Food Hydrocolloids*. 22, 373-386.
- Lee J. S. and Hildebrand K. S. Jr. (1992) Hazard Analysis & Critical Control Point Applications to the Seafood Industry. Oregon Sea Grant, ORESU-H-92-001.
- Lin D. and Zhao Y. (2007) Innovations in the development and Application of Edible Coatings for Fresh and Minimally Processed Fruits and Vegetables. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, vol. 6, no. 3, pp. 60-75
- Linus U. O., Al-Jufaili M. S. and Rahman S. M. (2007) Postharvest Handling and Preservation of Fresh Fish and Seafood. *Handbook of Food Preservation*, pp. 152-170.
- Liu Y., Cheng Y., Xiong S., Li P., Wei Y. & Zhong Li M. (2010) The Effect of Shearing Force that Influences Structural Transitions in Silk Fibroin, *Journal of Fiber Bioengineering and Informatics*, 3, 174-180
- Liston, J. (1982). Recent Advances in the Chemistry of Iced Fish Spoilage. In: *Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products*. Martin, R. E., Flick, J. G. and Hebard, E. C.(eds). AVI Publishing Co., Connecticut 27-38
- Madigan T. Michael, Martinko M. John. Parker Jack, (2005). *Brock Biology of Microorganism*, Tenth Edition.

- Miko A., Pries K., Schroeter A. and Helmuth R. (2005) Molecular mechanisms of resistance in multidrug-resistant serovars of *Salmonella enterica* isolated from foods in Germany. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 56, pp. 1025-1033
- Moraes M., Silva M., Nogueira G. & Beppu M. (2013) Silk fibroin hydrogels formed by addition of ethanol DOI: 10.1002 / app.38139
- Nagarkar S., Lele A., Chassenieux C., Nicolai T., Durand D. (2008) Gelation of regenerated fibroin solution <https://doi.org/10.1063/1.2964769>
- Nirmal N.P., Benjakul S. (1987) Effect of ferulic acid on inhibition of polyphenoloxidase and quality changes of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during iced storage. *Food Chemistry*, 116, pp. 323-331
- Ogawa M., Perdigao N.B., Santiago M.E., Kozima T.T. (1984) On physiological aspects of blackspot appearance in shrimp, *Nippon Suisan Gakkaishi*, 50, pp. 1763-1769
- Olafsdóttir G., Martinsdóttir E., Oehlenschläger J., Dalgaard P., Jensen B., Undeland I., Mackie I., Henehan G., Nielsen J. and Nilsen H. (1997) Methods to evaluate fish freshness in research and industry. *Trends in Food Science and Technology*, vol. 8, no. 8, pp. 258-265
- Oosterveer P. (2006) Globalization and sustainable consumption of shrimp: consumers and governance in the global space of flows, *International Journal of Consumer Studies*, 30 (5), pp. 465-476
- Ouattara B., Simard, R.E., Piette, G., Begin, A., Holley R.A. (2000) Diffusion of acetic and propionic acids from chitosan-based antimicrobial packaging films. *Journal of Food Science* 65, 768-773.
- Quintavalla S., Vicini L. (2002) Antimicrobial food packaging in meat industry. *Meat Science* 62, 373-380.
- Restuccia D., Spizzim U. G. (2010). New EU regulation aspects and global market of active and intelligent packaging for food industry applications, *Food Control* 21, 1425-1435.
- Rhim J. W. and Shellhammer T. H. (2005). Lipid-based edible films and coatings, 362-383.
- Rockland L. and Stewart G. (1998) *Water activity: Influences on Food Quality*, New York: Academic Press, pp. 1-61
- Rockwood N. D., Preda C. R., Yücel T., Wang X., Lovett L. M. and Kaplan L. D. (2011) Materials Fabrication from *Bombyx mori* Silk Fibroin. *Nat Protoc.* 6 (10): 10.1038/nprot.2011.379
- Shamshad S.I., Kher-Un-Nisa M., Riaz M., Zuberi R., Qadri R.B. (1990) Shelf life of shrimp (*Penaeus merguensis*) stored at different temperatures. *Journal of Food Science*, 55 (5), pp. 169-175

- Simpson B.K., Marshall M.R., Otwell W.S. (1987) Phenoloxidase from shrimp (*Penaeus setiferus*): purification and some properties, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 35, pp. 918-921
- Simpson B., Gagné N., Ashie I. and Noroozi E. (1997) Utilization of chitosan for preservation of raw shrimp. *J. Food Biochem*, vol. 12, pp. 205-210
- Smith J., Ashie I. and Simpson B. (1996) Spoilage and shelflife extension of fresh fish and shellfish. *Crit Rev Food Sci Nutr*, vol. 36, pp. 87-121
- Shiau, S.-Y. (1998). Nutrient requirements of penaeid shrimps. *Aquaculture*, 164: 77-93.
- Terta M., Blekas G., Paraskevopoulou A. (2006). Retention of selected aroma compounds by polysaccharide solutions: A thermodynamic and kinetic approach. *Food Hydrocolloids*, 20 (6), 863-871.
- Thilstedt, S.H., Thorne-Lyman A., Webb P., Bogard J.R., Subasinghe R., Philips M.J., Allison E.H. (2016). Sustaining healthy diets: The role of capture fisheries and aquaculture for improving nutrition in the post-2015 era. *Food Policy*, Vol 61, 126–131
- Thórarinsdóttir A. K. and Ólafsdóttir G. (2003) Quality Indicators of Northern Shrimp (*Pandalus borealis*) Stored under Different Cooling Conditions. Fisheries Training Programme, Iceland
- Tsironi T., Dermesonlouoglou E., Giannakourou M., Taoukis P., (2009) Shelflife modelling of frozen shrimp at variable temperature conditions. *LWT - Food Science and Technology*, Volume 42, Issue 2, 664-671.
- Valdimarson G., Einarson H., Gudbjornsdottir B. and Magnusson H. (1998) Microbiological quality of Icelandic cooked-peeled shrimp (*Pandalus borealis*). *International Journal of Food Microbiology*, vol. 45, pp. 157-161
- Valencia-Chamorro, S. a., Pérez-Gago, M. B., Del Rio, M. Á. & Palou. L. (2009). Effect of antifungal hydroxypropyl methylcellulose (HPMC)—lipid edible composite coatings on postharvest decay development and quality attributes of cold-stored "Valencia" oranges. *Postharvest Biology and Technology*. 54(2), 72-79.
- Venugopal V., (2016) Postharvest Quality Changes and Safety Hazards," in *Seafood Processing Adding Value Through Quick Freezing Retortable Packaging and CookChilling*. CRC Press, pp. 23-60.
- Wu. Y., Weller, C. L., Hamouz F., Cuppett S. L., Schnepf, M. (2002). Development and application of multicomponent edible coatings and films: a review. *Advances in food and nutrition research*, 44, 348-394.
- Yogyakarta E. T. (2010) Potency of Chitosan as a Bioactive Edible Coating for Preservation of Meat of Common Shrimps (*Crangon crangon*). Hamburg

- Zeng Z. Q., Thórarinsdóttir A. K. and Olafsdottir G. (2005) Quality Changes of Shrimp (*Pandalus Borealis*) Stored Under Different Cooling Conditions. *Journal of Food Science*, vol. 70, pp. 459-466
- Zhang Q., Yan S. & Mingzhong Li M. (2009), Silk Fibroin Based Porous Materials, *Materials*, 2, 2276-2295
- Zhao Qing-Xi, Xu Jie, Xue Chang-Hu, Sheng Wen-Jing, Gao Rui-Chang, Xue Yong and Li Zhao-Jie (2007) Determination of Biogenic Amines in Squid and White Prawn by High Performance Liquid Chromatography with Post column Derivatization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 55, pp. 3083-3088
- Zinoviadou K. G., Koutsoumanis K. P., & Biliaderis C. G. (2009). Physicochemical properties of whey protein isolate films containing oregano oil and their antimicrobial action against spoilage flora of fresh beef. *Meat science*, 82(3), 338-45.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Αρβανιτογιάννης Σ. Ι. και Στρατάκος Χ. Α. (2011) Τεχνολογίες επεξεργασίας και συσκευασιών τροφίμων, UNIVERSITY PRESS STUDIO, 481-482
- Γόντικα-Γιαννοπούλου Μ. (2016) "Χρήση εδώδιμων επικαλυπτικών μεμβρανών σε τηγανισμένα προϊόντα φρούτων και λαχανικών και διατήρησης τους σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας," Αθήνα
- Κουμουνδούρος, Γ. (2011). ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ & ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΔΕΚΑΠΟΔΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΕΙΔΟΥΣ. Εκδοτικό κέντρο Πανεπιστημίου Κρήτης
- Λαζαρίδου Σοφία, "Επικάλυψη τροφίμων και ενσωμάτωση φυσικών αντιμικροβιακών: εφαρμογή σε φρέσκιες γαρίδες", Αθήνα 2018
- Μπλούκας, Ι., (2004) Συσκευασία τροφίμων, Εκδόσεις Αθ. Σταμούλη
- Μπλούκας, Ι., (2011) Επεξεργασία & Συντήρηση Τροφίμων, Εκδόσεις Αθ. Σταμούλη, 31-34
- Σταμάτης, Ν., Στεργίου. Δ., Πηγαδά. Π., Μόνιος Γ.(2011). Ποιοτικά χαρακτηριστικά και διατροφική αξία των αλιευμάτων των λιμνοθαλασσών ΑΜΘ. Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας - Ινστιτούτο Αλιευτικής Έρευνας , Τα αλιευτικά προϊόντα των λιμνοθαλασσών Α.Μ.Θ. Καβάλα: Ελλάδα 29/9/2011.