



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

**ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ
ΑΝΘΡΩΠΟΥ**

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΚΑΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΚΑΙ
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ, ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΚΑΙ
ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΕΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ-ΑΝΑΠΤΥΞΗ
ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ ΒΙΟΟΙΚΟΝΟΜΙΑΣ**

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Μελέτη ανάκτησης πηκτίνης από πούλπα ζαχαρότευτλων με χρήση μη
θερμικού πλάσματος και εφαρμογή της ως ενεργή συσκευασία σε φιλέτο
κοτόπουλου

Αλέξιος Β. Σκούρτης

Επιβλέπουσα καθηγήτρια

Τσιρώνη Θεοφάνια, Επίκουρη Καθηγήτρια ΓΠΑ

ΑΘΗΝΑ 2024

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ
ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΚΑΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Μελέτη ανάκτησης πηκτίνης από πούλπα ζαχαρότευτλων με χρήση μη θερμικού πλάσματος και εφαρμογή της ως ενεργή συσκευασία σε φιλέτο κοτόπουλου

Pectin extraction from sugar beet pulp using non thermal plasma and the application as active packaging in chicken fillets

Αλέξιος Β. Σκούρτης

Εξεταστική επιτροπή:

Τσιρώνη Θεοφανία, Επίκουρη Καθηγήτρια ΓΠΑ (επιβλέπουσα)

Κουτίνας Απόστολος, Καθηγητής ΓΠΑ

Ευαγγελίου Βασιλική, Αναπληρώτρια καθηγήτρια ΓΠΑ

Μελέτη ανάκτησης πηκτίνης από πούλπα ζαχαρότευτλων με χρήση μη θερμικού πλάσματος και εφαρμογή της ως ενεργή συσκευασία σε φιλέτο κοτόπουλου

ΠΜΣ Επιστήμη και Τεχνολογία Τροφίμων: Επεξεργασία, συντήρηση και βιοτεχνολογικές διεργασίες τροφίμων-ανάπτυξη προϊόντων βιο-οικονομίας.

Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής Ανθρώπου

Εργαστήριο Μηχανικής και Επεξεργασίας Τροφίμων

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε η αξιοποίηση πούλπας ζαχαρότευτλου για την ανάκτηση πηκτίνης μέσω της τεχνολογίας ψυχρού πλάσματος και την μετέπειτα παραγωγή εδώδιμων επικαλύψεων πηκτίνης. Οι επικαλύψεις παρασκευάστηκαν και εφαρμόστηκαν σε φιλέτο κοτόπουλο, ενώ μελετήθηκε η αύξηση χρόνου ζωής με χρήση λαυρικού αργινικού εστέρα ως αναστολέας ανάπτυξης αλλοιογόνων και παθογόνων μικροοργανισμών. Πούλπα ζαχαρότευτλου ελεύθερη από σάκχαρα χρησιμοποιήθηκε με σκοπό τη διερεύνηση της χρήσης μη θερμικού πλάσματος στην εκχύλιση της πηκτίνης σε συνδυασμό με νιτρικό οξύ. Μελετήθηκαν διαφορετικές τιμές pH (pH 1,5 και pH 2,0), καθώς και διαφορετικές διατάξεις ψυχρού πλάσματος τόσο για την παραγωγή ενεργοποιημένου νερού (PAW), όσο και για την προεπεξεργασία της πούλπας με χρήση πλάσματος ακίδας-πλάκας (PTP). Η επίδραση των διατάξεων μελετήθηκε ως προς την απόδοση και τις ιδιότητες της πηκτίνης, όσο και ως προς τη σύσταση των υπολειπόμενων στερεών. Η βέλτιστη διαδικασία που επιλέχθηκε ήταν η χρήση ψυχρού πλάσματος για παραγωγή PAW και pH ανάκτησης 1,5, δεδομένου ότι παρείχαν υψηλή απόδοση πηκτίνης (11,5%), χαμηλή κατανάλωση νιτρικού οξέος (45,7 g/100 g παραχθείσας πηκτίνης) και υψηλή περιεκτικότητα σε γαλακτουρονικό οξύ (67,2%). Στη συνέχεια παρασκευάστηκαν επικαλύψεις πηκτίνης, και επικαλύψεις ενισχυμένης πηκτίνης με την προσθήκη τριών διαφορετικών συγκεντρώσεων LAE (0,5%, 1% και 2%). Οι παραχθείσες επικαλύψεις εφαρμόστηκαν σε φιλέτο κοτόπουλο το οποίο αποθηκεύτηκε σε συνθήκες ψύξης με σκοπό την μελέτη της επίδρασής της εδώδιμης επικάλυψης στη διάρκεια ζωής του τροφίμου. Τα αποτελέσματα έδειξαν αύξηση της διάρκειας ζωής κατά 2 ημέρες στα δείγματα με πηκτίνη και στα δείγματα με χαμηλές συγκεντρώσεις LAE

(0,5%, 1%) και κατά 3 ημέρες με υψηλές (2%). Το χρώμα και το pH μετρήθηκαν. Το pH κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης στους 2°C για τα δείγματα (control, πηκτίνη) καθώς και για τις συγκεντρώσεις αντιμικροβιακού (0.5%, 1%, 2% LAE) διαφοροποιήθηκε από την 9^η ημέρα και μετά. Στην συνέχεια επιλέχθηκε η βέλτιστη συγκέντρωση αντιμικροβιακού η οποία ήταν 1% LAE. Η συγκέντρωση αυτή ελέγχθηκε σε εμβολιασμένα δείγματα με παθογόνο βακτήριο *Listeria monocytogenes*. Τα δείγματα αποθηκεύτηκαν για στους 2°C μέχρι την ανάπτυξη πλήρους σιγμοειδούς καμπύλης των μικροβίων όπου και παρατηρήθηκε μείωση πληθυσμού των δειγμάτων κατά 2 logCFU/g.

Επιστημονική περιοχή: Βιοτεχνολογία

Λέξεις κλειδιά: Πλάσμα, Πηκτίνη, Πούλπα ζαχαρότευτλου, *Listeria monocytogenes*, Λαυρικός αργινικός εστέρας (LAE).

Pectin extraction from sugar beet pulp using non thermal plasma and the application as active packaging in chicken fillets

MSc in Food Science and Technology: Processing, Preservation, and Biotechnological Processes of Food –Bioeconomy Products Development
Department of Food Science and Human Nutrition
Laboratory of Food Process Engineering

ABSTRACT

In this study, sugar beet pulp (SBP) was utilized for pectin recovery through cold plasma technology and valorised for subsequent production of edible pectin-based coatings. The coatings were prepared and applied to chicken fillets, while the extension of shelf life was studied using Lauric Arginate Ester (LAE) as a growth inhibitor of spoilage and pathogenic microorganisms. SBP free of sugars was utilized to investigate the effect of non-thermal plasma in pectin extraction in combination with nitric acid. Different pH values (pH 1.5 and pH 2.0), and different cold plasma configurations to produce plasma-activated water (PAW) and to pretreat the pulp (pin-to-plate plasma, PTP) were studied. The effect of these configurations was investigated in terms of pectin yield and properties, as well as on the composition of residual solids. The optimal process was the use of cold plasma to produce PAW and a recovery pH of 1.5, as it provided high pectin yield (11.5%), low nitric acid consumption (45.7 g/100 g of pectin produced), and a high galacturonic acid content (67.2%). Subsequently, pectin coatings were prepared without LAE and with three different concentrations of LAE (0.5%, 1%, and 2%). The produced coatings were applied to chicken fillets stored under refrigeration conditions to study the effect of the edible coating on the chicken shelf life. Increase of the shelf life by 2 days in the samples with pectin and in those with low LAE concentrations (0.5%, 1%), and by 3 days with high LAE concentrations (2%). Color and pH were measured. The pH during storage at 2°C for the samples (control, pectin) as well as for the antimicrobial concentrations (0.5%, 1%, 2% LAE) differed after 9th day. The optimal antimicrobial concentration selected was 1% LAE. This concentration was tested on inoculated samples with the pathogenic bacterium *Listeria monocytogenes*. The samples were stored at 2°C

until the development of a full microbial sigmoid curve, where a population reduction of 2 logCFU/g was observed.

Scientific Area: Biotechnology

Keywords: Plasma, Pectin, Sugar Beet Pulp, *Listeria monocytogenes*, Lauric Arginate Ester (LAE)

Ευχαριστίες

Η παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Μηχανικής και Επεξεργασίας Τροφίμων του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, στο πλαίσιο του Μεταπτυχιακού Προγράμματος "Επιστήμη και Τεχνολογία Τροφίμων και Διατροφή του Ανθρώπου: Επεξεργασία, Συντήρηση και Βιοτεχνολογικές Διεργασίες Τροφίμων – Ανάπτυξη Προϊόντων Βιοοικονομίας". Πρώτα απ' όλα, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην Επιβλέπουσα Επίκουρη Καθηγήτρια μου Θεοφανία Τσιρώνη, καθώς και στον Καθηγητή Απόστολο Κουτίνα για την ανάθεση της διπλωματικής μελέτης, για την καθοδήγηση και συνεργασία τους, καθώς και για την αμέριστη εμπιστοσύνη που μου έδειξαν καθ' όλη τη διάρκεια αυτής της περιόδου. Θα ήθελα επίσης να εκφράσω την εκτίμησή μου στην Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Βασιλική Ευαγγελίου για τη συμμετοχή της στην τριμελή εξεταστική επιτροπή.

Θα ήθελα, επιπλέον, να εκφράσω τις θερμότερες ευχαριστίες μου στην υποψήφια διδάκτορα Μαρία-Βαρβάρα (Μίρβα) Σαραφίδου, και στην υποψήφια διδάκτορα Ευμορφία Αθανασοπούλου οι οποίες συνέβαλαν σημαντικά στην ολοκλήρωση της εργασίας μου και ήταν πάντα πρόθυμες να με βοηθήσουν σε ό,τι χρειάστηκα.

Νιώθω ιδιαίτερη ανάγκη να εκφράσω τις βαθύτερες ευχαριστίες μου σε όλα τα άτομα του εργαστηρίου για την αδιάλειπτη προσοχή και το ενδιαφέρον που μου έδειξαν, ο καθένας ξεχωριστά, καθ' όλη τη διάρκεια συνεργασίας μας στο εργαστήριο Μηχανικής και Επεξεργασίας Τροφίμων.

Τέλος, αφιερώνω τη παρούσα διπλωματική μελέτη στους γονείς μου, στην γιαγιά μου Θεοδώρα και κυρίως σε έναν σημαντικό άνθρωπο. Τους ευχαριστώ για την αγάπη και την υπομονή τους, στηρίζοντας όλα μου τα βήματα στο σύνολο των σπουδών μου. Είμαι ευγνώμων για όλα όσα μου προσέφεραν, δίνοντάς μου δύναμη να συνεχίζω καθημερινά σε οποιαδήποτε απόφαση της ζωής μου.

Περιεχόμενα

1	Εισαγωγή	14
1.1	Υποπροϊόντα βιομηχανίας τροφίμων	14
1.1.2	Πούλπα ζαχαρότευτλου.....	15
1.2	Πηκτίνη.....	16
1.2.1	Χρήση στην βιομηχανία τροφίμων	16
1.2.2	Δομή Πηκτινών.....	17
1.2.4	Ταξινόμηση.....	19
1.2.5	Τρόποι ανάκτησης.....	21
1.2.5.1	Συμβατική ανάκτηση πηκτίνης	21
1.2.5.2	Ανάκτηση με την βοήθεια μικροκυμάτων	22
1.2.5.3	Ανάκτηση υπό την παρουσία ενζύμων	23
1.2.5.4	Ανάκτηση με Υπερήχους.....	23
1.2.5.5	Ανάκτηση με την χρήση πλάσματος εκκένωση διηλεκτρικού φραγμού	24
1.3	Πλάσμα	25
1.3.1	Χημεία πλάσματος και ελεύθερες ρίζες.....	25
1.3.2	Διατάξεις.....	27
1.3.3	Πλάσμα - Ενεργοποιημένο νερό (plasma – activated water, PAW).....	29
1.3.4	Χημικές ιδιότητες του PAW.....	30
1.3.5	Φυσικές ιδιότητες ενεργοποιημένου νερού PAW	33
1.3.6	Βιομηχανικές εφαρμογές μη θερμικού πλάσματος στον τομέα των τροφίμων....	33
1.4	Ενεργή συσκευασία (Active packaging, AP).....	35
1.2.2	Εδώδιμες μεμβράνες και επικαλύψεις με βάση την πηκτίνη	36
1.4.1	Αντιμικροβιακά.....	37
1.4.2	Λαυρικός Αργινικός Εστέρας.....	39
1.4.3	Σύνθεση	39
1.4.4	Μηχανισμός δράσης.....	39
1.4.5	Νομοθεσία	40
1.5	Κοτόπουλο (<i>Gallus gallus domesticus</i>)	41

1.5.1 Συμβατικές συσκευασίες για κοτόπουλο	41
1.5.2 <i>Listeria monocytogenes</i>	42
2. Σκοπός	44
3. Υλικά και Μέθοδοι.....	45
3.1 Πρώτη ύλη	45
3.1.1 Πούλπα ζαχαρότευτλου (SBP)	45
3.1.2 Φιλέτο κοτόπουλο.....	45
3.2 Ανάπτυξη βιοδιωληστηρίου	45
3.3 Τεχνολογία ψυχρού πλάσματος (CP)	45
3.4 Ανάκτηση πηκτίνης.....	47
3.5 Αναλυτικές μέθοδοι.....	50
3.5.1 Προσδιορισμός περιεκτικότητας σε υγρασία	50
3.5.2 Προσδιορισμός τέφρας.....	51
3.5.3 Προσδιορισμός εκχυλίσμων συστατικών.....	51
3.5.4 Προσδιορισμός δομικών πολυσακχαριτών και λιγνίνης.....	52
3.5.5 Προσδιορισμός πρωτεΐνης.....	55
3.6 Χαρακτηρισμός και απόδοση πηκτίνης.....	56
3.6.1 Απόδοση.....	57
3.6.2 Περιεκτικότητα σε d-γαλακτουρονικό οξύ	57
3.6.3 Ισοδύναμο βάρος πηκτίνης.....	58
3.6.4 Περιεκτικότητα της πηκτίνης σε μεθοξυλική ομάδα	59
3.6.5 Περιεκτικότητας σε ανδρογαλακτουρονικό οξύ (AUA).....	59
3.6.6 Βαθμός εστεροποίησης πηκτίνης.....	60
3.7 Προετοιμασία επικάλυψης πηκτίνης	60
3.8 Προετοιμασία και επεξεργασία δειγμάτων κοτόπουλου	61
3.9 Στερεά υποστρώματα.....	61
3.9.1 Μέτρηση Ολικής μικροβιακής χλωρίδας.....	61
3.9.2 Μέτρηση <i>Pseudomonas spp</i>	62
3.9.3 Μέτρηση <i>Listeria monocytogenes</i>	62
3.10 Μικροβιολογική ανάλυση.....	62
3.11 Βιολογικό υλικό και αντιδραστήρια	63

3.12 Μέτρηση χρώματος	64
3.13 Ανάλυση δεδομένων	65
4 Αποτελέσματα.....	66
4.1 Ανάπτυξη βιοδιωλιστηρίου	66
4.1.1 Χημική σύσταση πούλπας ζαχαρότευτλου (sugar beet pulp, SBP)	66
4.1.2 Απόδοση πηκτίνης.....	67
4.1.3 Χαρακτηρισμός πηκτίνης.....	70
4.1.4 Επιλογή βέλτιστης συνθήκης για την εκχύλιση πηκτίνης	73
4.1.5 Υπολειπόμενο στερεό	74
4.2 Συσκευασία κοτόπουλου.....	79
4.2.1 Μικροβιολογική αξιολόγηση	79
4.2.2 Μέτρηση pH.....	81
4.2.3 Μέτρηση χρώματος	83
4.2.4 Μικροβιολογική αξιολόγηση επιμολυσμένων με <i>L.monocytogenes</i> σε φιλέτο κοτόπουλο.....	87
5. Συμπεράσματα	90
Βιβλιογραφία	92

Κατάλογος εικόνων

Εικόνα 1. Ετήσια στοιχεία οικιακών αποβλήτων τροφίμων (Onyeaka et al., 2023)	15
Εικόνα 2. Παρασκευή ζάχαρης από ζαχαρότευτλα (Tomaszewska et al., 2018)	16
Εικόνα 3. Σχηματική δομή της πηκτίνης που δείχνει τις περιοχές ομογαλακτουρονάνης (HG), ξυλογαλακτουρονάνης (XG), απιογαλακτουρονάνης (AG), ραμνογαλακτουρονάνης II (RG-II) και ραμνογαλακτουρονάνης I (RG-I) (Zdunek et al., 2021).....	18
Εικόνα 4. Α) Πηκτίνες χαμηλής μεθυλίωσης και (Β) Πηκτίνες υψηλής μεθυλίωσης (Williams, 2011).	20
Εικόνα 5. Σχηματική απεικόνιση του μηχανισμού αποικοδόμησης της δομής της πηκτίνης με φυσικές επεξεργασίες (Basak and Annappure, 2022).....	24
Εικόνα 6. Διαφορετικές σχηματικές διατάξεις πλάσματος. α) Πίδακας πλάσματος (plasma jets, APPJ), β) εκκένωση διηλεκτρικής σταθεράς (dielectric barrier discharge, DBD), γ) εκκένωση κορώνας (corona discharges, DC), δ) εκκένωση μικροκυμάτων (microwave discharge, MD) (Surowsky et al., 2015).	27
Εικόνα 7. Απεικόνιση εκκένωσης ατμοσφαιρικού αέρα συστήματος ακίδα σε πλάκα (Sally et al., 2021).....	29
Εικόνα 8. Παραγωγή ενεργοποιημένου νερού με πλάσμα (Rahman et al., 2022).....	29
Εικόνα 9. Αλληλεπιδράσεις πλάσματος-νερού από την αέρια στην υγρή φάση κατά την δημιουργία PAW (Zhao et al., 2020).	31
Εικόνα 10. α) Απεικόνιση διάταξης πλάσματος εκκένωσής διηλεκτρικής σταθεράς (dielectric barrier discharge plasma, DBD) β) Μεταφορά μάζας ενεργών ειδών από το αέριο στο υγρό (Mai-Prochnow et al., 2021).....	32
Εικόνα 11. Γραφική αναπαράσταση διαφορετικών τύπων AP (Soltani Firouz et al., 2021)	36
Εικόνα 12. Παρασκευή διαλύματος πηκτίνης και εμφύσηση φιλέτου από κοτόπουλο ...	37
Εικόνα 13. (https://www.virasmart.co/en/what-is-active-packaging/).....	38
Εικόνα 14. Σύνθεση λαυρικού αργινικού εστέρα (Infante et al., 1984).....	39
Εικόνα 15. Μηχανισμός δράσης LAE και παραγωγή δραστικών ειδών οξυγόνου ROS (REF).....	40
Εικόνα 16. Κρούσματα λιστερίωσης σε χώρες της ΕΕ (ECDC, 2022).....	43

Εικόνα 17. Αντιδραστήρας πλάσματος αέρα DBD.....	46
Εικόνα 18. Σύστημα πλάσματος ακίδα πλάκα (Pin To Plate, PTP).....	47
Εικόνα 19. Διαχωρισμός οξινισμένου εναιωρήματος από στερεό SBP.....	49
Εικόνα 20. Διάγραμμα ροής για την ανάκτηση πηκτίνης	50
Εικόνα 21. Απόχρωση του χρώματος με τον αντίστοιχο αριθμό μοιρών.	65
Εικόνα 22. Απόδοση πηκτίνης (%) (Α), ποσότητα ΝΑ (g) /100 g παραχθείσας πηκτίνης (Β).....	67
Εικόνα 23. Μάζα υπολειπόμενων στερεών, ανακτημένης πηκτίνης και απωλειών κατά τη διεργασία ανάκτησης πηκτίνης από SBP.....	75
Εικόνα 24. Επίδραση διαφορετικών συνθηκών ανάκτησης πηκτίνης στην Α) κυτταρίνη (g) και στην Β) ημικυτταρίνη (g) των υπολειπόμενων στερεών ανά 100 g αρχικού SBP.	77
Εικόνα 25. Επίδραση διαφορετικών συνθηκών ανάκτησης πηκτίνης στην Α) κυτταρίνη (g) και στην Β) ημικυτταρίνη (g) των υπολειπόμενων στερεών ανά 100 g αρχικού SBP.	78
Εικόνα 26. Επίδραση πηκτίνης και LAE στην Α) Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα, Β) <i>Pseudomonas</i> spp.	80
Εικόνα 27. Παράμετρος pH σε φιλέτο από κοτόπουλο για τις 4 κατηγορίες δειγμάτων που αποθηκεύτηκαν στους 2°C.....	82
Εικόνα 28. Παράμετρος L* για τις διαφορετικές κατηγορίες δειγμάτων με την πάροδο του χρόνου	83
Εικόνα 29. Παράμετρος ΔΕ για τις διαφορετικές κατηγορίες δειγμάτων με την πάροδο του χρόνου	84
Εικόνα 30. Εξέλιξη του χρώματος στο κοτόπουλο με την πάροδο του χρόνου	85
Εικόνα 31. Παράμετρος χρώματος για τις διαφορετικές κατηγορίες δειγμάτων με την πάροδο του χρόνου.....	85
Εικόνα 32. Παράμετρος δείκτη λευκότητας για τις διαφορετικές κατηγορίες δειγμάτων με την πάροδο του χρόνου.....	86
Εικόνα 33. Επίδραση πηκτίνης και LAE στην Α) Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα, Β) <i>Pseudomonas</i> spp. Γ) <i>L.monocytogenes</i>	88

Κατάλογος πινάκων

Πίνακας 1. Συνθήκες λειτουργίας πλάσματος αέρα DBD	46
Πίνακας 2. Συνθήκες λειτουργίας πλάσματος ακίδα σε πλάκα (PTP).....	47
Πίνακας 3. Ονοματολογία συνθηκών ανάκτησης πηκτίνης που εφαρμόστηκαν στην παρούσα εργασία.....	49
Πίνακας 4. Χημική σύσταση SBP συγκριτικά με την βιβλιογραφία	66
Πίνακας 5. Επίδραση του πλάσματος στο GalA καθώς και στην χημική σύσταση της πηκτίνης από SBP.	71
Πίνακας 6. Απόδοση πηκτίνης, ποσότητα NA (g) που απαιτήθηκε για παραγωγή 100 g πηκτίνης και χημική σύσταση πηκτίνης μέσω της ανάκτησης pH1.5_AW σε διαφορετικούς χρόνους.....	74
Πίνακας 7. Κινητικές παράμετροι μικροβιακής ανάπτυξης (ρυθμός ανάπτυξης, k, μέγιστος πληθυσμός, N_{max}) για <i>Pseudomonas</i> spp. και TVC σε φιλέτα κοτόπουλο	81
Πίνακας 8. Γωνία απόχρωσης (Hue Angle, HA).....	86
Πίνακας 9. Κινητικές παράμετροι μικροβιακής ανάπτυξης (ρυθμός ανάπτυξης, k, μέγιστος πληθυσμός, N_{max}) για <i>Pseudomonas</i> spp. και OMX σε φιλέτα κοτόπουλο με χρήση εμβολίου <i>L.monocytogenes</i>	89

1 Εισαγωγή

1.1 Υποπροϊόντα βιομηχανίας τροφίμων

Τα οργανικά απόβλητα, και ειδικότερα τα απόβλητα τροφίμων, θεωρούνται μία από τις σημαντικότερες ανησυχίες των τελευταίων δύο δεκαετιών (Onyeaka et al., 2023). Ο Οργανισμός Τροφίμων και Γεωργίας (Food and Agriculture Organization, FAO), δημοσίευσε στατιστικά στοιχεία που δείχνουν ότι το ένα τρίτο των τροφίμων που παράγονται για κατανάλωση, σπαταλάται ή δαπανείται, πράγμα που σημαίνει ότι παγκοσμίως τα υποπροϊόντα ανέρχονται σε πάνω από 1 δισεκατομμύριο τόνους ετησίως. (Gaspar and Braga, 2023) (Εικόνα 1). Τα υποπροϊόντα τα οποία προέρχονται από τον αγροδιατροφικό τομέα (φρούτα και λαχανικά), αποτελούν μια σημαντική πηγή φυσικών και βιοδραστικών ενώσεων, πρωτεϊνών, λιπιδίων, υδατανθράκων, μικροθρεπτικών συστατικών και διαιτητικών ινών (Raftu et al., 2023). Αυτά τα υποπροϊόντα είτε χρησιμοποιούνται άμεσα στη διατροφή των ζώων και στην κομποστοποίηση, είτε αξιοποιούνται περαιτέρω για την παραγωγή βιοκαυσίμων και άλλων προϊόντων, όπως βιοαέρο, βιοκαύσιμα ή ακόμα και υλικά για βιομηχανική χρήση (Kibler et al., 2018)

Στα πλαίσια της κυκλικής οικονομίας και της αξιοποίησης των υποπροϊόντων των βιομηχανιών, η ανάπτυξη “βιοδιωλιστήριων” έχει πάρει μεγάλη έκταση. Με τον όρο “βιοδιωλιστήριο” αναφερόμαστε σε μια διαδικασία διύλισης της βιομάζας για την παραγωγή καυσίμων, χημικών ουσιών, πολυμερών, ζωοτροφών και συστατικών προστιθέμενης αξίας. Σύμφωνα με την βιομηχανία ο όρος διύλιση αναφέρεται στην κλασματοποίηση της πρώτης ύλης και στην μετατροπή της σε αξιοποιήσιμα προϊόντα, όπως βιοντίζελ, βιοπολυμερή, εδώδιμες μεμβράνες και επικαλύψεις (Koutinas et al., 2014).



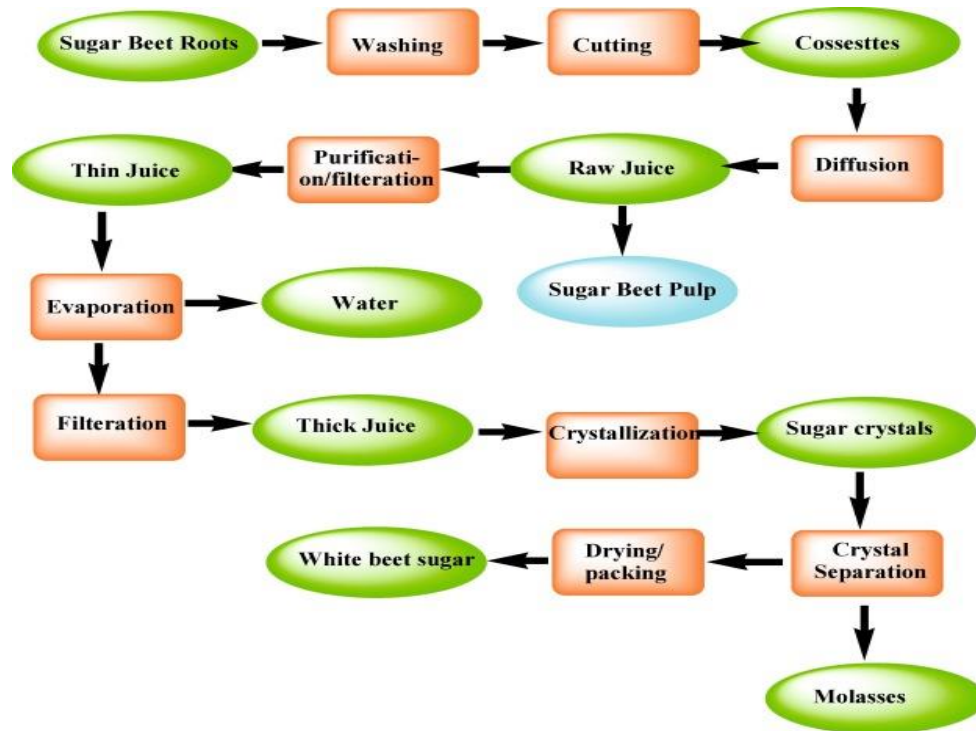
Εικόνα 1. Ετήσια στοιχεία οικιακών αποβλήτων τροφίμων (Onyeaka et al., 2023)

1.1.2 Πούλπα ζαχαρότευτλου

Το ζαχαρότευτλο (sugar beet, SB) επιστημονικά χαρακτηρισμένο ως *Beta vulgaris* ανήκει στην οικογένεια *Amaranthaceae* και στην τάξη *Caryophyllales*. Λόγω του υψηλού ποσοστού σακχαρόζης στις ρίζες του (12-21% επί νωπού), καλλιεργείται για την παραγωγή και εμπορική αξιοποίηση της ζάχαρης σε όλο τον κόσμο από το 1802 (Joanna et al., 2018). Την περίοδο 2016–2017, παρήχθησαν περίπου 170 εκατομμύρια τόνοι ζάχαρης παγκοσμίως με την ΕΕ να είναι ο κορυφαίος παραγωγός ζάχαρης τεύτλων στον κόσμο, αντιπροσωπεύοντας το 50% της συνολικής παραγωγής (Adiletta et al., 2020). Πέραν της σακχαρόζης, οι ρίζες του περιέχουν περίπου 75% νερό και 5% πούλπα (Rana et al., 2022).

Ο πολτός ζαχαρότευτλων (sugar beet pulp, SBP), ο οποίος προέρχεται από την επεξεργασία του SB σύμφωνα με την Εικόνα 2, χρησιμοποιείται κυρίως ως πρόσθετο σιτηρεσίου στην διατροφή ζώων. Περιέχει 75–80% πολυσακχαρίτες, που αποτελούνται από περίπου 14–30% κυτταρίνη, 24–36,6% ημικυτταρίνες, κυρίως αραβινάνες και αραβινο-γαλακτάνες και 13,5–22,8% πηκτίνη (Sarafidou et al., 2024). Υπάρχουν επίσης

μικρές ποσότητες λίπους (1,4%), πρωτεΐνης (10,3%), τέφρας (3,7%) και λιγνίνης (5,9%) (Adiletta et al., 2020; Andlar et al., 2017; Zheng et al., 2013).



Εικόνα 2. Παρασκευή ζάχαρης από ζαχαρότευτλα (Tomaszewska et al., 2018)

1.2 Πηκτίνη

Οι πηκτίνες ανήκουν σε μια οικογένεια σύνθετων πολυσακχαριτών που απαντώνται κυρίως στο πρωτεύων κυτταρικό τοίχωμα των φυτικών κυττάρων, καθώς και στις μεσοκυττάρια περιοχές δικοτυλήδων φυτών με κύριο ρόλο να προσδίδουν ευελιξία και μηχανική αντοχή (Jarvis, 1984). Οι πηκτίνες συντίθενται στο σύμπλεγμα Golgi (Moore et al., 1991) και αποτελούν πρόδρομη ένωση η οποία συμμετέχει στην σύνθεση γλυκοπρωτεϊνών, πρωτεογλυκασών και σύνθετων πολυσακχαριτών (Parsons et al., 2012).

1.2.1 Χρήση στην βιομηχανία τροφίμων

Στις δεκαετίες του 1920 και του 1930, πολλές εταιρείες άρχισαν να εξάγουν την πηκτίνη από φρούτα, πολτούς φρούτων και εσπεριδοειδή τα οποία είχαν απομείνει ως

υποπροϊόντα από τις εκάστοτε βιομηχανίες χυμού και οίνου (May, 1990). Οι πηκτίνες έως και σήμερα χρησιμοποιούνται στις βιομηχανίες καλλυντικών, φαρμάκων και κυρίως στην βιομηχανία τροφίμων λειτουργώντας ως σταθεροποιητές, γαλακτοματοποιητές ή πηκτικοί παράγοντες. Στην Ευρώπη είναι ευρέως γνωστές ως προσθετό τροφίμων με κωδικό E440a για πηκτίνες υψηλού η χαμηλού δείκτη μεθυλίωσης ή E440b για αμιδιωμένη πηκτίνη. Επίσης έχουν γίνει αντικείμενο ιδιαίτερης προσοχής στον τομέα της διατροφής, καθώς χρησιμοποιούνται ως διαιτητικές ίνες και δρουν μέσω της βελτίωσης της ομαλής απορρόφησης διαφορετικών συστατικών (π.χ. γλυκόζη) από τον εντερικό σωλήνα (Olano-Martin et al., 2002). Τέλος, στον τομέα της ιατρικής έχει αποδειχθεί ότι συμβάλουν στην μείωση των επιπέδων χοληστερόλης στο αίμα (Fishman and Jen, 1986) και έχουν αντικαρκινικό ρόλο (Glinsky and Raz, 2009).

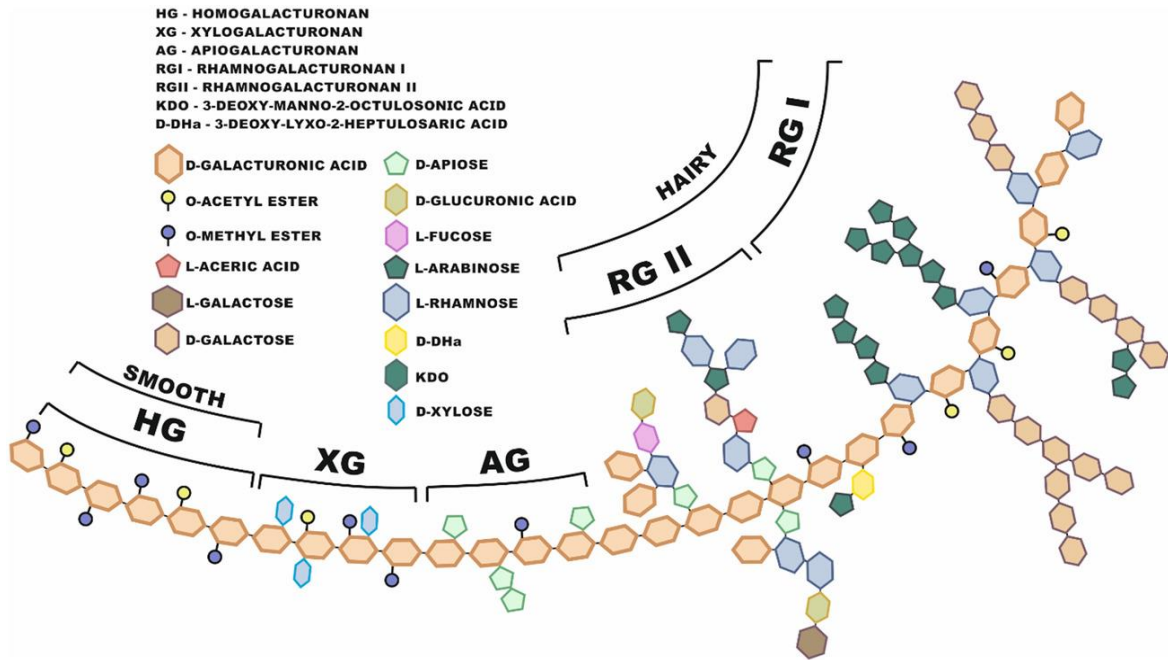
1.2.2 Δομή Πηκτινών

Η πηκτίνη είναι ένα πολύπλοκο πολυμερές που αποτελείται κυρίως από συνεχόμενα μόρια D-γαλακτουρονικού οξέως (galacturonic acid, GalA), συνδεδεμένα μεταξύ τους με α (1-4') γλυκοσιδικούς δεσμούς (70% της συνολικής πηκτίνης) (Mohnen, 2008). Σύμφωνα με την Εικόνα 3 αυτό το πολύπλοκο μόριο χωρίζεται σε πρωτεύοντες περιοχές οι οποίες είναι η ομογαλακτουρονάνη (homogalacturonan, HG) και η ραμνογαλακτουρονάνη I (Rhamnogalacturonan, RG-I) και σε δευτερεύοντες περιοχές που είναι η ραμνογαλακτουρονάνη II (Rhamnogalacturonan II, RG-II), ξυλογαλακτουρονάνη (Xylogalacturonan, XGA), και απιογαλακτουρονάνη (Apiogalacturonan, AGA).

Ομογαλακτουρονάνη (HG)

Η περιοχή της HG αποτελείται αποκλειστικά από μόρια GalA συνδεδεμένα μεταξύ τους με α (1-4') γλυκοζιτικούς δεσμούς. Τα μόρια αυτά είναι μερικώς μεθυλεστεροποιημένα στην θέση C-6, γεγονός που μπορεί να επηρεάσει τις ιδιότητες των πηκτινών (Belkheiri et al., 2021). Η μεθυλεστεροποίηση αυτή αντιστοιχεί κυρίως στα ποσοστά βαθμού εστεροποίησης (degree of esterification, DE) τα οποία θα αναφερθούν σε παρακάτω

κεφάλαιο (Belkheiri et al., 2021). Στις περιπτώσεις των εσπεριδοειδών και των ζαχαρότευτλων οι μονάδες GalA κυμαίνονται από 72-100% (Thibault et al., 1993).



Εικόνα 3. Σχηματική δομή της πηκτίνης που δείχνει τις περιοχές ομογαλακτουρονάνης (HG), ξυλογαλακτουρονάνης (XG), απιογαλακτουρονάνης (AG), ραμνογαλακτουρονάνης II (RG-II) και ραμνογαλακτουρονάνης I (RG-I) (Zdunek et al., 2021).

Ραμνογαλακτουρονάνη I (RGI)

Η RGI είναι μια περιοχή που αποτελεί το 7-14% ποσοστού του συνολικού μορίου της πηκτίνης (Thibault et al., 1993). Δομείται κυρίως από επαναλαμβανόμενες μονάδες GalA στις οποίες ενδιάμεσα παρεμβάλλονται μόρια L-ραμνόζης συνδεδεμένα μεταξύ τους με α (1-2') γλυκοζιτικούς δεσμούς. Στα σημεία παρεμβολής με τη ραμνόζη υπάρχουν διακλαδώσεις με ουδέτερα σάκχαρα σε ποσοστό 10-15%. Τα συνηθέστερα από αυτά είναι η αραβινόζη η γαλακτόζη και η ξυλόζη. Οι πλευρικές αυτές αλυσίδες συνδέονται με τη ραμνόζη στον 4-C, και μπορεί να αποτελούνται, είτε από μια μονάδα σακχάρου για παράδειγμα την αραβινόζη, είτε από τον συνδυασμό τριών διαφορετικών σακχάρων (Zdunek et al., 2021). Στα ζαχαρότευτλά σύμφωνα με τους (Renard et al., 1995) οι επαναλαμβανόμενες μονάδες που δομούν την περιοχή RGI είναι 20.

Ραμνογαλακτουρονάνη II (RGII)

Η περιοχή αυτή αντιπροσωπεύει το 10-11% της πηκτίνης, εμφανίζοντας μια σύνθετη και πολύπλοκη δομή (Jackson et al., 2007). Περιλαμβάνει μια αλυσίδα μονάδων, τουλάχιστον 8, GalA τα οποία συνδέονται μεταξύ τους με α (1-4') γλυκοζιτικούς δεσμούς. Αυτή η αλυσίδα φέρει διακλαδώσεις στις θέσεις 2-C και 3-C οι οποίες περιλαμβάνουν μόρια/σάκχαρα όπως αραβινόζη, απιόζη, φουκόζη, γαλακτόζη, ραμνόζη, οξικό οξύ, γλυκουρονικό οξύ, GalA, ξυλόζη καθώς και άλλα ασυνήθιστα σάκχαρα όπως 3-δεοξυ-D-λυξο-2-επτουλοσαρικό οξύ (3-deoxy-D-lyxo-2-heptulosaric acid, Dha) και κετοδεοξυοκτανοϊκό οξύ (ketodeoxyoctonic acid, Kdo). Τέλος σε μικρότερο βαθμό υπάρχουν και μεθυλιωμένα σάκχαρα 2-O-μεθυλιωμένη ξυλόζη και 2-O-μεθυλιωμένη φουκόζη (Ridley et al., 2001). Όλες οι παραπάνω μονάδες συνδέονται με ομοιοπολικούς δεσμούς και δεν μπορούν εύκολα να διαχωριστούν χωρίς παράγοντες διάσπασης όπως για παράδειγμα ένζυμα ή χημικούς διαλύτες (Coenen et al., 2007).

Ξυλογαλακτουρονάνη (XGA)

Η XGA έχει παρόμοια δομή με την HG με την μονή διαφορά να εντοπίζεται στις πλευρικές αλυσίδες που εκφύονται στη θέση C3. Οι αλυσίδες αυτές μπορεί να περιέχουν είτε μονομερή μόρια ξυλόζης, είτε διμερή τα οποία συνδέονται μεταξύ τους με α (1-4') γλυκοζιτικούς δεσμούς (Ropartz and Ralet, 2020). Επίσης έχουν αναγνωριστεί και μονάδες ξυλόζης συνδεδεμένες με α (1-2') ή α (1-3') δεσμούς (Nakamura et al., 2002).

Απιογαλακτουρονάνη (AGA)

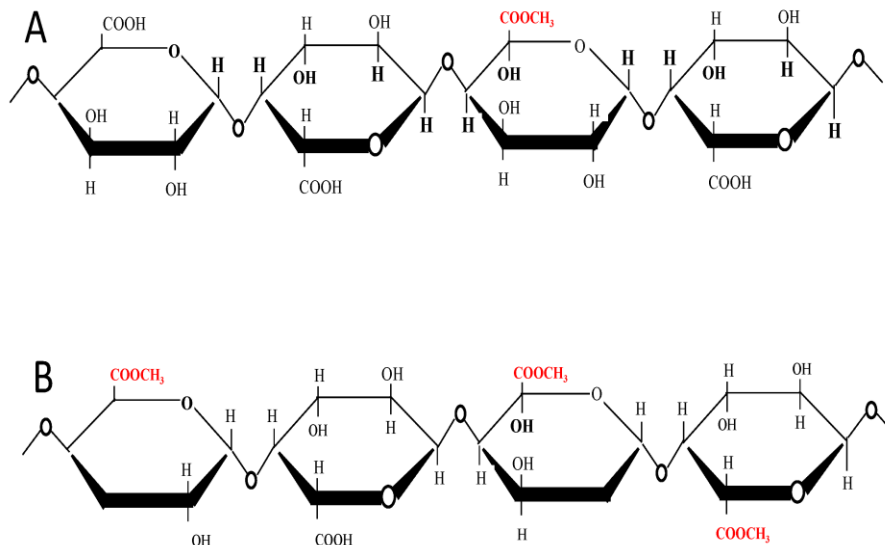
Αντίστοιχα, η AGA όπως και η XGA αποτελούν λιγότερο πολύπλοκες περιοχές. Την AGA κυρίως την συναντάμε σε υδρόβια φυτά όπως για παράδειγμα το Lemnoideae ή το Zosteraceae (Avcı et al., 2018; Gloaguen et al., 2010). Δομείται κυρίως από GalA και φέρει διακλαδώσεις στους C-2 και C-3 μονομερών η διμερών μονάδων απιόζης (Ropartz and Ralet, 2020).

1.2.4 Ταξινόμηση

Βαθμός μεθυλίωσης

Οι πηκτίνες μπορεί να διαχωριστούν ανάλογα με τον βαθμό μεθυλίωσης (degree of methylation, DM) (Marić et al., 2018). Ο βαθμός μεθυλίωσης εκφράζει το ποσοστό το οποίο αντιστοιχεί στον αριθμό των μεθυλιωμένων καρβοξυλικών άκρων ανά 100 μονάδες GalA. Ανάλογα με το DM, οι πηκτίνες διακρίνονται σε:

- i. Πηκτίνες υψηλής μεθυλίωσης (high methoxyl pectin, HMP), με $DM > 50\%$. (Εικόνα 4B)
- ii. Πηκτίνες χαμηλής μεθυλίωσης (low methoxyl pectin, LMP), με $DM < 50\%$. (Εικόνα 4B) (Belkheiri et al., 2021).



Εικόνα 4. A) Πηκτίνες χαμηλής μεθυλίωσης και (B) Πηκτίνες υψηλής μεθυλίωσης (Williams, 2011).

Οι HMPs και οι LMPs έχουν διαφορετικές φυσικοχημικές ιδιότητες, πάνω στις οποίες βασίζονται οι εφαρμογές τους. Οι LMPs σχηματίζουν πηκτώματα παρουσία ιόντων ασβεστίου ενώ οι HMP σχηματίζουν πήκτωμα με την χρήση διαφορετικών σακχάρων όπως για παράδειγμα τη σακχαρόζη, υπό όξινες συνθήκες (Rosenbohm et al., 2003).

Βαθμός ακετυλίωσης

Ο βαθμός ακετυλίωσης (degree of acetylation, DAC), ορίζεται ως το ποσοστό των μονάδων GalA που έχουν εστεροποιηθεί με ακέτυλο ομάδα. Η αντίδραση αυτή λαμβάνει χώρα στην ομάδα υδροξυλίου όπως φαίνεται και στην Εικόνα 4. Η παρουσία πολλαπλών

ομάδων ακετυλίου σε πηκτίνες οι οποίες εξάγονται από ζαχαρότευτλά παρουσιάζουν αυξημένη γαλακτοματοποιητική ικανότητα λόγω επιφανειοδραστικής συμπεριφοράς (surfactant behavior) (Garti and Leser, 2001). Παρόλα αυτά όταν ο βαθμός ακετυλίωσης ξεπερνά το 25%, μειώνεται η ικανότητα σχηματισμού πηκτής (Chen et al., 2020).

Βαθμός αμιδίωσης

Οι αμιδιωμένες πηκτίνες συντίθενται με αντίδραση που πραγματοποιείται μεταξύ της ομάδας καρβόξυ-μεθύλιου (-COOCH₃) και της αμμωνίας (Chen et al., 2020). Ο βαθμός αμιδίωσης (degree of amidation, DA), ορίζεται ως το ποσοστό καρβοξυλικών ομάδων στην αμιδική τους μορφή (Chen et al., 2020).

1.2.5 Τρόποι ανάκτησης

Η ανάκτηση της πηκτίνης, διεκπεραιώνεται, κυρίως από την μεταφορά μάζας στους διαλύτες εκχύλισης. Η καταλληλότητα της μεθόδου εκτιμάται από την απόδοση και την ποιότητα της πηκτίνης που ανακτήθηκε (Picot-Allain et al., 2022). Πέραν της συμβατικής μεθόδου εκχύλισης πηκτίνης με χρήση θερμότητας παρουσία οξέος, έχουν χρησιμοποιηθεί καινοτόμες τεχνικές που περιλαμβάνουν τη χρήση υπερήχων, ενζύμων και μικροκυμάτων. Ως εκ τούτου, έχει γίνει μια στροφή της βιομηχανίας στην χρήση πράσινων μεθόδων, φιλικών προς το περιβάλλον, χωρίς την περίσσια χρήση ενέργειας και ισχυρών οξέων.

1.2.5.1 Συμβατική ανάκτηση πηκτίνης

Η συμβατική μέθοδος ανάκτησης της πηκτίνης είναι μέσω διαλυτοποίησης της σε όξινο υδατικό διάλυμα (pH 1,5-3) σε θερμοκρασία 75-100°C για 1 έως 3 ώρες. Διαφορετικοί παράγοντες, όπως η θερμοκρασία εκχύλισης, η αναλογία στερεού-υγρού, το pH, το μέγεθος των σωματιδίων και ο χρόνος εκχύλισης, επηρεάζουν την απόδοση και την ποιότητα της εκχυλισμένης πηκτίνης. Η χρήση ανόργανων οξέων όπως θειικό, υδροχλωρικό και νιτρικό έχει συσχετιστεί με περιβαλλοντικά ζητήματα και αυξημένο κόστος. Όσον αφορά, την αναδυόμενη έννοια της «πράσινης» χημείας και

τεχνολογίας, καθώς και κυκλικής οικονομίας, πραγματοποιείται έρευνα στη χρήση οργανικών οξέων, τα οποία μπορούν να προέλθουν από υποπροϊόντα τροφίμων (Picot-Allain et al., 2022). Το οξικό και το κιτρικό οξύ έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως για τη μελέτη εκχύλισης της πηκτίνης. Οι Cho et al. (2019) σύγκριναν τη χρήση υδροχλωρικού οξέος με τη χρήση οργανικών οξέων (τρυγικό, μηλικό και κιτρικό) με σκοπό την ανάκτηση πηκτίνης από εξωτερικό περίβλημα μήλου. Η χρήση οργανικών οξέων έδειξε παρόμοια αποτελέσματα ως προς την απόδοση της ανακτώμενης πηκτίνης, ενώ οι συγγραφείς ανέφεραν αύξηση μοριακού βάρους, με τον μεγαλύτερο να παρατηρείται στην πηκτίνη που εκχυλίστηκε με κιτρικό οξύ.

Η εκχύλιση της πηκτίνης με όξινη επεξεργασία, και υψηλή θερμότητα επιτρέπει την αύξηση της απόδοσης και τη διαλυτοποίηση της. Η εφαρμογή θερμότητας διασπά το φυτικό κυτταρικό τοίχωμα διευκολύνοντας έτσι τη διάχυση του διαλύτη. Ωστόσο, η αυξημένη θερμότητα, έχει συσχετιστεί με την υδρόλυση της πηκτίνης σε μόρια βραχείας αλυσίδας που δεν καταβυθίζονται σε αιθανόλη, επηρεάζοντας έτσι την απόδοση (Hamidon N.H. and Zaidel D.N.A., 2017).

1.2.5.2 Ανάκτηση με την βοήθεια μικροκυμάτων

Η ανάκτηση με τη βοήθεια μικροκυμάτων (Microwave-assisted extraction, MAE), αποτελεί μια αναδύομενη μέθοδο, φιλική προς το περιβάλλον, στην οποία χρησιμοποιείται ηλεκτρομαγνητική ενέργεια. Τα ηλεκτρομαγνητικά κύματα διαπερνούν το υλικό και αλληλοεπιδρούν με τα μόρια, τα οποία απορροφούν την ενέργεια και τη μετατρέπουν σε θερμότητα. Οι δύο κυρίαρχοι μηχανισμοί για τη μετατροπή της ενέργειας μικροκυμάτων σε θερμότητα στα διηλεκτρικά υλικά είναι η διπολική περιστροφή και η ιοντική αγωγιμότητα. Σε γενικές γραμμές, τα περισσότερα υλικά βιομάζας και οι υδάτινοι διαλύτες (όπως στην εκχύλιση πηκτίνης) περιέχουν τόσο διπολικά όσο και ιοντικά μόρια. Επομένως, η διπολική περιστροφή και η ιοντική αγωγιμότητα συμβαίνουν ταυτόχρονα, με αποτέλεσμα σχεδόν άμεση θέρμανση του υλικού (Mao et al., 2023). Η αρχή της θέρμανσης βασίζεται στην αντίσταση του διαλύτη, στη ροή ιόντων, όπου οδηγεί σε τριβή και συνεπώς αύξηση της θερμότητας (Sparr Eskilsson and Björklund, 2000). Έχει αναφερθεί συχνά ότι, σε σύγκριση με τη συμβατική

μέθοδο ανάκτησης με οξέα, που χρησιμοποιείται στη βιομηχανία, το MAE μπορεί να παρέχει υψηλότερες αποδόσεις σε μικρότερους χρόνους εκχύλισης, απαιτεί λιγότερη ενέργεια και λιγότερο διαλύτη και είναι σε θέση να εκχυλίσει την πηκτίνη χωρίς την έκθεση σε όξινες συνθήκες.

1.2.5.3 Ανάκτηση υπό την παρουσία ενζύμων

Τα ένζυμα χρησιμοποιούνται για τη βελτίωση της διαδικασίας εκχύλισης, μέσω της υδρόλυσης του φυτικού κυτταρικού τοιχώματος. Αυτές οι αντιδράσεις αποσυνθέτουν το κυτταρικό τοίχωμα με αποτέλεσμα την αύξηση της διαπερατότητας των κυττάρων. Η ενζυμική εκχύλιση εξαρτάται από τη συγκέντρωση του ενζύμου, τη θερμοκρασία αντίδρασης, το χρόνο, το μέγεθος των σωματιδίων του φυτικού υλικού και τον τύπο του ενζύμου (Poojary et al., 2017). Τα ένζυμα που χρησιμοποιούνται είναι εστεράσες (μεθυλεστεράση πηκτίνης), ενδο- και εξω-πολυγαλακτουρονάσες και λυάση (λυάσες πηκτίνης) τα οποία ανήκουν σε μια ευρύτερη κατηγορία ενζύμων που ονομάζονται πηκτινάσες. Η μέθοδος αυτή διασπά τους γλυκοζιτικούς δεσμούς της πηκτίνης εξασφαλίζοντας έτσι την θραύση των μορίων. Κύρια πλεονεκτήματα σε σχέση με τις προηγούμενες μεθόδους είναι ότι είναι λιγότερο ρυπογόνος, όμως μπορεί να οδηγήσει σε υποβάθμιση της πηκτίνης και απώλεια των ιδιοτήτων της (Belkheiri et al., 2021).

1.2.5.4 Ανάκτηση με Υπερήχους

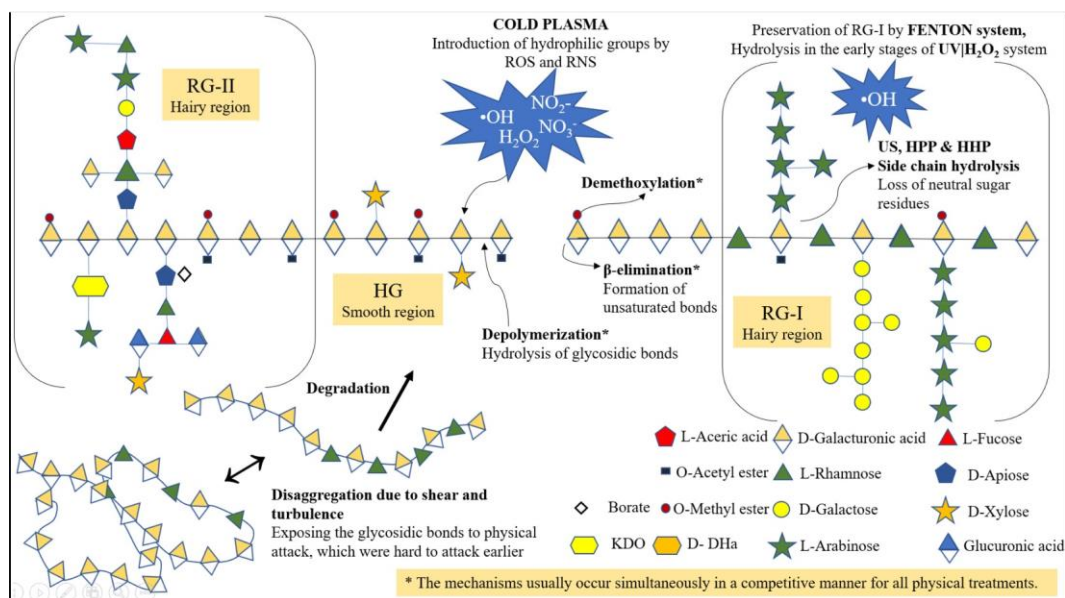
Οι υπέρηχοι (Ultrasounds, Us) έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως στη βιομηχανία τροφίμων για τις χημικές και φυσικές τους ιδιότητες. Θεωρείται μια γρήγορη μέθοδος, με μικρό μέγεθος εξοπλισμού, καθώς και χαμηλής κατανάλωσης ενέργειας.

Οι Us παρουσιάζουν πληθώρα εφαρμογών στη βιομηχανία τροφίμων ενισχύοντας είδη υπάρχουσες τεχνολογίες όπως εκχύλιση, κατάψυξη, απόψυξη, οξείδωση, διήθηση και ξήρανση/αφυδάτωση (Gallo et al., 2018; Guo et al., 2014). Σε αυτή τη μέθοδο, τα ηχητικά κύματα, περνούν μέσα από ένα υδάτινο μέσο, δημιουργώντας συμπίεση και διαστολή. Αυτή η διαδικασία οδηγεί σε σπηλαίωση, δηλαδή στην παραγωγή και ανάπτυξη φυσαλίδων (Azmir et al., 2013), που έχουν υψηλές θερμοκρασίες και πιέσεις.

Η σπηλαίωση λαμβάνει χώρα κοντά στην επιφάνεια του υλικού με αποτέλεσμα να επιτρέπει την καλύτερη διείσδυση των διαλυτών (Wang et al., 2015).

1.2.5.5 Ανάκτηση με την χρήση πλάσματος εκκένωση διηλεκτρικού φραγμού

Η χρήση πλάσματος εκκένωσης διηλεκτρικού φραγμού (Dielectric barrier discharge, DBD) αποτελεί μια νέα τεχνολογία επεξεργασίας που παρουσιάζει εφαρμογή στη βιομηχανία τροφίμων, παρουσιάζοντας περισσότερα πλεονεκτήματα από τις συμβατικές τεχνικές εκχύλισης (Umair et al., 2019). Το DBD μπορεί να τροποποιήσει τις πλευρικές αλυσίδες του μορίων μέσω της δράσης των χημικά ενεργών ειδών ή να διασπάσει συγκεκριμένους δεσμούς για την καταστροφή της δευτερογενούς δομής (Misra et al., 2018). Το DBD μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για την αποικοδόμηση βιοπολυμερών, συμπεριλαμβανομένων των πρωτεϊνών και των πολυσακχαριτών.



Εικόνα 5. Σχηματική απεικόνιση του μηχανισμού αποικοδόμησης της δομής της πηκτίνης με φυσικές επεξεργασίες (Basak and Annappure, 2022).

Σύμφωνα με την Εικόνα 5, οι ελεύθερες ρίζες υδροξυλίου που παράγονται από ηλεκτρόνια υψηλής ενέργειας από τη διαδικασία DBD επιτίθενται στις αλυσίδες πηκτίνης και τις διασπούν σε μικρότερα μόρια (Mao et al., 2019; Basak and Annappure,

2022). Παρόλα αυτά στον τομέα των τροφίμων υπάρχει ελλιπής έρευνα ως προς την ανάκτηση της πηκτίνης με την χρήση μη θερμικού πλάσματος καθώς και την επίδραση στην δομή της.

1.3 Πλάσμα

Το πλάσμα θεωρείται ως η τέταρτη κατάσταση της ύλης, η οποία παράγεται με την εφαρμογή διαφόρων μορφών ενέργειας όπως για παράδειγμα η ηλεκτρική ενέργεια, η θερμότητα και τα ηλεκτρομαγνητικά κύματα (ραδιοσυχνότητες και μικροκύματα). Κυρίως προκαλεί τον ιονισμό ενός ουδέτερου αερίου (ήλιο, αργό, άζωτο, οξυγόνο, ατμοσφαιρικός αέρας) δημιουργώντας έτσι δραστικές ρίζες οξυγόνου (reactive oxygen species, ROS), δραστικές ρίζες αζώτου (reactive nitrogen species, RNS), ελεύθερες ρίζες, φορτισμένα σωματίδια και ακτινοβολία UV (Sharma and Singh, 2020). Με βάση την θερμοδυναμική ισορροπία και συνεπώς τη θερμοκρασία του αερίου, το πλάσμα χαρακτηρίζεται ως θερμικό πλάσμα (thermal plasma, TP) ή ψυχρό πλάσμα (non thermal - cold plasma, CP) (Pankaj et al., 2018). Στο TP η θερμοκρασία όλων των σωματιδίων (ηλεκτρόνια, ιόντα και ελεύθερες ρίζες) είναι ίδια, δηλαδή υπάρχει θερμοδυναμική ισορροπία μεταξύ ηλεκτρονίων και άλλων ριζών (thermodynamic equilibrium). Σε αντίθεση, στο CP παρατηρείτε θερμοδυναμική ισορροπία σε συγκεκριμένες περιοχές, με αποτέλεσμα η θερμοκρασία των παραγόμενων ριζών να είναι ίδιες μόνο μεταξύ των περιοχών αυτών (local thermodynamic equilibrium) (Misra et al., 2016).

1.3.1 Χημεία πλάσματος και ελεύθερες ρίζες

Κατά την εφαρμογή του CP, παράγεται μια τεράστια ποικιλία φορτισμένων σωματιδίων που πραγματοποιείτε σε δύο στάδια. Στο πρώτο στάδιο πραγματοποιούνται οι συγκρούσεις μεταξύ των ηλεκτρονίων, οι οποίες αναφέρονται και ως πρωτογενείς διεργασίες πλάσματος (primary plasma processes – collisions of electrons). Αυτό το στάδιο μπορεί να χαρακτηριστεί από διάφορες φυσικές διεργασίες που πραγματοποιούνται λόγω της σύγκρουσης των ηλεκτρονίων με άτομα ή/και μόρια (π.χ. ιονισμός, διασπαστικός ιονισμός, διέγερση, διασπαστική διέγερση, προσάρτηση ηλεκτρονίων, διασπαστική προσάρτηση ηλεκτρονίων, διάσπαση). Το δεύτερο στάδιο η

αλλιώς δευτερογενείς διεργασίες (secondary plasma processes – collisions of heavy particles), αναφέρεται στις συγκρούσεις βαρέων σωματιδίων, όπου κυριαρχεί ο σχηματισμός οξειδίων του αζώτου καθώς και ο σχηματισμός της ρίζας $\text{OH}\cdot$ (Whitehead, 2016).

Η έκταση της επίδρασης αυτών των παραγόντων εξαρτάται κυρίως από τις παραμέτρους λειτουργίας που είναι η ισχύς, η συχνότητα, ο τύπος αερίου, καθώς και ο ρυθμός ροής του (Cheng et al., 2014). Πιο συγκεκριμένα κυρίαρχες ελεύθερες ρίζες ROS, στο πλάσμα ατμοσφαιρικού αέρα είναι η ρίζα υδροξυλίου ($\text{OH}\cdot$), το όζον (O_3), το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), το ατομικό οξυγόνο ($\text{O}\cdot$) και το υπερόξυ-νιτρώδες (ONOO^-). Το ατομικό οξυγόνο είναι ένα από τα πιο σημαντικά ROS και σχηματίζεται συνήθως από κρούσεις μεταξύ ηλεκτρονίων του μοριακού οξυγόνου (Chang et al., 1991).

- i. $\text{O}_2 + e^- \rightarrow \text{O}^+ + \text{O}\cdot + 2e^-$
- ii. $\text{O}_2 + e^- \rightarrow \text{O}\cdot + \text{O}\cdot + e^-$
- iii. $\text{O}_2 + e^- \rightarrow \text{O}^- + e^-$

Οι ρίζες υδροξυλίου ($\text{OH}\cdot$) σχηματίζονται κυρίως από μόρια νερού λόγω ύπαρξης υγρασίας στο χώρο που πραγματοποιούνται οι αντιδράσεις.

- i. $\text{H}_2\text{O} + e^- \rightarrow \text{H}\cdot + \text{OH}\cdot + e^-$
- ii. $\text{H}_3\text{O}^+ + e^- \rightarrow \text{OH}\cdot + \text{H}_2$

Ως συνέπεια εμφάνισης του ατομικού οξυγόνου σχηματίζονται περαιτέρω ROS όπως το όζον (O_3), καθώς επίσης υπό την παρουσία νερού δημιουργείται το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) και οι ρίζες ανιόντων υπεροξειδίου (O_2^-) (Ikawa et al., 2010).

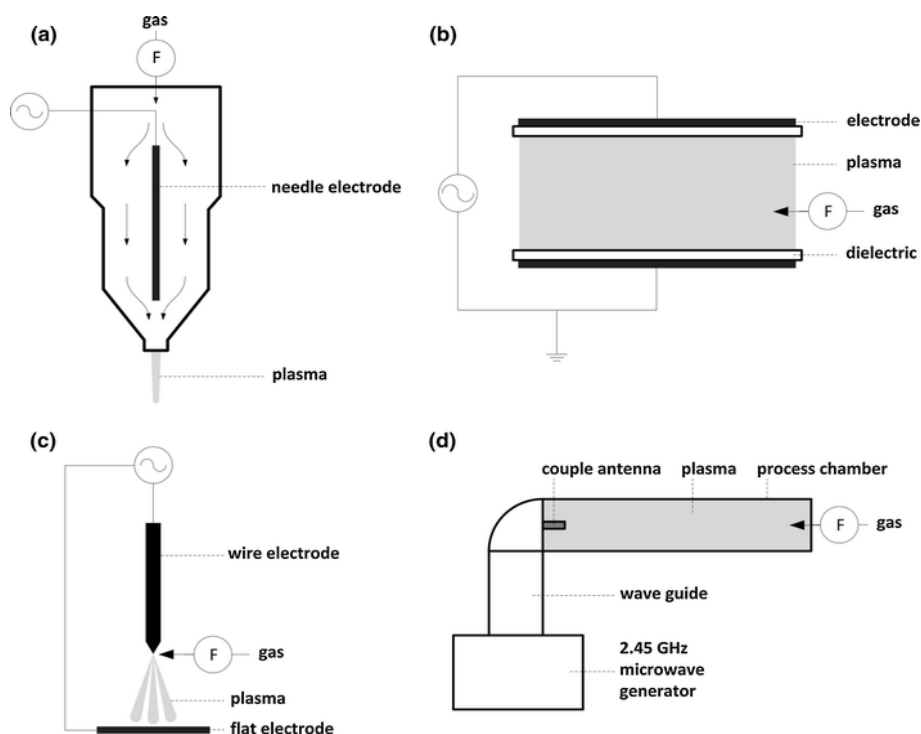
- i. $\text{O} + \text{O}_2 + \text{O} \rightarrow \text{O}_3 + \text{O}_2$

Εκτός από τα ROS, τα RNS μπορούν να σχηματιστούν είτε αν χρησιμοποιείται το άζωτο ως αέριο διεργασίας, είτε αν το πλάσμα παράγεται στον αέρα του περιβάλλοντος. Τα RNS αναφέρονται κυρίως στο μονοξείδιο του αζώτου (NO), στο διοξείδιο του αζώτου (NO_2), και στο νιτρικό ανιόν (NO_3^-). Παρόλα αυτά το μονοξείδιο του αζώτου (NO) δεν μπορεί να συνυπάρχει με το όζον ή το ατομικό οξυγόνο, γεγονός που οδηγεί στις ακόλουθες αντιδράσεις οξειδώσεις (Surowsky et al., 2015).

- i. $\text{NO} + \text{O}_3 \rightarrow \text{O}_2 + \text{NO}_2$
- ii. $\text{NO}_2 + \text{O}_3 \rightarrow \text{O}_2 + \text{NO}_3$
- iii. $\text{NO} + \text{O}\cdot \rightarrow \text{NO}_2$
- iv. $\text{NO}_2 + \text{O}\cdot \rightarrow \text{NO}_3$

1.3.2 Διατάξεις

Πιο συγκεκριμένα, συνήθεις πηγές πλάσματος εντός της κατηγορίας του CP, υπό συνθήκες ατμοσφαιρικής πίεσης, είναι οι πίδακες πλάσματος (plasma jets, APPJ), οι εκκενώσεις διηλεκτρικής σταθεράς (dielectric barrier discharge, DBD), εκκενώσεις κορώνας (corona discharges, DC), και οι εκκενώσεις μικροκυμάτων (microwave discharge, MD) (Surowsky et al., 2015).



Εικόνα 6. Διαφορετικές σχηματικές διατάξεις πλάσματος. α) Πίδακας πλάσματος (plasma jets, APPJ), β) εκκένωση διηλεκτρικής σταθεράς (dielectric barrier discharge, DBD), γ) εκκένωση κορώνας (corona discharges, DC), δ) εκκένωση μικροκυμάτων (microwave discharge, MD) (Surowsky et al., 2015).

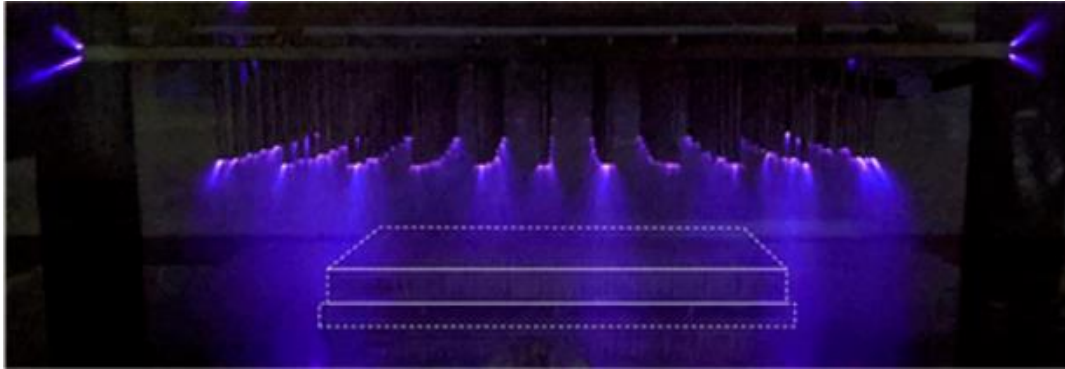
Από τις διαφορετικές πηγές σχηματισμού πλάσματος, το APPJ καθώς και το DBD χρησιμοποιούνται συχνότερα σε επίπεδο έρευνας στην βιομηχανία των τροφίμων, διαθέτοντας πολλά πλεονεκτήματα όπως για παράδειγμα η απλή κατασκευή και η εμπορική διαθεσιμότητα (Sharma and Singh, 2020).

Το APPJ (Εικόνα 6α) παράγει μια σταθερή, ομοιογενή και ομοιόμορφη εκκένωση υπό συνθήκες ατμοσφαιρικής πίεσης (Laroque et al., 2022). Αποτελείται από δύο ομόκεντρα ηλεκτρόδια στα οποία το αέριο (ευγενές αέριο ή μίγμα) ρέει κατά μήκος αυτών. Το εξωτερικό ηλεκτρόδιο είναι γειωμένο, ενώ το εσωτερικό είναι συνδεδεμένο με μια ισχύ υψηλής συχνότητας (RF) προκαλώντας έτσι τον ιονισμό του αερίου. Στο APPJ, το πλάσμα που δημιουργείτε προβάλλεται υπό την μορφή πίδακα (Nishime et al., 2017).

Το DBD (Εικόνα 6β) ως προς το επίπεδο διάταξης αποτελείται από δύο μεταλλικά ηλεκτρόδια στα οποία εφαρμόζεται υψηλή τάση (ένα ηλεκτρόδιο με τροφοδοσία και ένα ηλεκτρόδιο γείωσης). Το ένα εκ των δύο ηλεκτροδίων ή και τα δύο καλύπτεται από ένα διηλεκτρικό υλικό όπως για παράδειγμα γυαλί, χαλαζία, κεραμικό ή κάποιο πολυμερές. Για να διασφαλιστεί η σταθερή λειτουργία του συστήματος, καθορίζεται μια συγκεκριμένη απόσταση μεταξύ των δύο ηλεκτροδίων η οποία κυμαίνεται σε μερικά εκατοστά, καθώς επίσης και μεταξύ του διηλεκτρικού υλικού που περιβάλλει το ηλεκτρόδιο. Το αέριο που χρησιμοποιείται κινείται κατά μήκος αυτής της απόστασης και η εκκένωση ξεκινά χρησιμοποιώντας μια ημιτονοειδή ή παλμική πηγή ισχύος. Οι συνθήκες εκφόρτωσης εξαρτώνται από παράγοντες όπως η σύνθεση του αερίου, η συχνότητα και η ισχύς. Σε αυτό το σύστημα η εκκένωση μπορεί να λάβει δύο μορφές: νηματώδη ή μορφή λάμψης. (Tendero et al., 2006).

Η εστίαση των ερευνητών στον σχεδιασμό και στην βελτίωση ηλεκτροδίων, καθώς και συστημάτων εκκένωσης (plasma), επέτρεψε την δημιουργία ευέλικτων και αποτελεσματικών συστημάτων CP, τα οποία θα χρησιμοποιούνται σε επίπεδες επιφάνειες (Brandenburg, 2017). Ένα από τα σχέδια που έχει αναπτυχθεί και διερευνηθεί είναι η διάταξη ακίδα-πλάκα (Pin To Plate, PTP) (Εικόνα7). Η διάταξη PTP αποτελείται από μια σειρά πολλαπλών ακίδων συνδεδεμένες με μια πηγή υψηλής τάσης και ένα ηλεκτρόδιο σε σχήμα πλάκας που λειτουργεί ως γείωση. Στον ενδιάμεσο χώρο

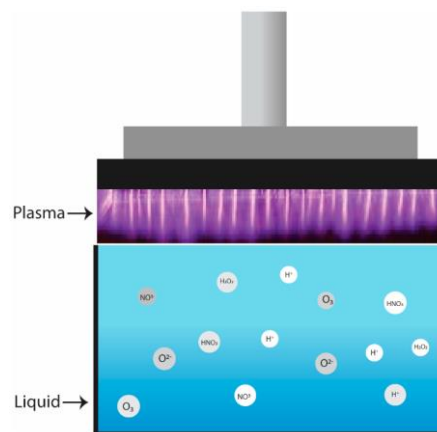
δημιουργείτε ένα περιβάλλον στο οποίο πραγματοποιούνται αλληλεπιδράσεις μεταξύ αντιδρώντων ειδών και της επίπεδης επιφάνειας ενός δείγματος (Scally et al., 2021).



Εικόνα 7. Απεικόνιση εκκένωσης ατμοσφαιρικού αέρα συστήματος ακίδα σε πλάκα (Scally et al., 2021).

1.3.3 Πλάσμα - Ενεργοποιημένο νερό (plasma – activated water, PAW)

Η τεχνολογία του CP που περιεγράφηκε στην προηγούμενη ενότητα χρησιμοποιείται με σκοπό την παραγωγή ενεργοποιημένου νερού (plasma - activated water, PAW). Το PAW έχει αποκτήσει μεγάλη σημασία λόγω των ιδιοτήτων του, όπως της αποτελεσματικότητας του έναντι μικροοργανισμών, βρίσκοντας εφαρμογές σε τομείς όπως η ιατρική και η γεωργία (Zhao et al., 2020). Το PAW παράγεται από αλληλεπιδράσεις νερού και φορτισμένων σωματιδίων τα οποία σχηματίζονται με την χρήση πλάσματος (π.χ. με DBD) (Εικόνα 8) (Rahman et al., 2022).



Εικόνα 8. Παραγωγή ενεργοποιημένου νερού με πλάσμα (Rahman et al., 2022).

Κατά την διάρκεια παραγωγής PAW πραγματοποιείται μια σειρά χημικών αντιδράσεων έχοντας ως αποτέλεσμα την παραγωγή πρωτογενών και δευτερογενών σωματιδίων που διαλύονται στο υγρό (Khlyustova et al., 2019). Τα παραγόμενα σωματίδια είναι εκείνα που ευθύνονται τόσο για τις χημικές, όσο και για τις βιολογικές επιδράσεις του PAW.

1.3.4 Χημικές ιδιότητες του PAW

Καθώς το πλάσμα έρχεται σε επαφή με το νερό, παράγονται διάφορα ROS και RNS στο σημείο επαφής αέρα και υγρού (Chandana et al., 2018) (Εικόνα 9). Τα παραγόμενα δραστικά είδη μπορούν να διαχωριστούν σε δύο κατηγορίες :

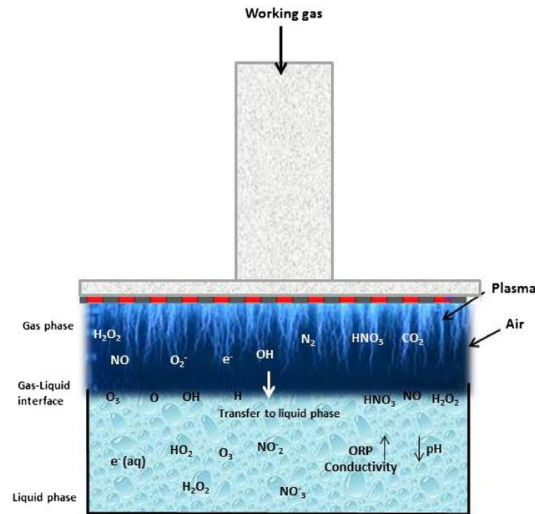
- 1) Μεγάλης διάρκειας ζωής όπως για παράδειγμα το H_2O_2 , O_3 , τα νιτρώδη (NO_2^-), και τα νιτρικά (NO_3^-), τα οποία τυπικά έχουν χρόνο ημιζωής από λεπτά έως ημέρες (Lukes et al., 2014).
- 2) Μικρής διάρκειας ζωής όπως $\text{OH}\cdot$, NO , και ONOO^- , που συνήθως έχουν χρόνο ημιζωής από ένα νανοδευτερόλεπτο έως αρκετά δευτερόλεπτα. Αξίζει να σημειωθεί πως στην κατηγορία αυτή οι αντιδράσεις πραγματοποιούνται πολύ γρήγορα με σκοπό να δημιουργηθούν νέα πιο σταθερά είδη (Wong et al., 2023).

Επακόλουθες αντιδράσεις μεταξύ ιόντων υδροξυλίου (OH^-) και ηλεκτρονίων, πραγματοποιούνται για να σχηματίσουν πιο σταθερά είδη συμπεριλαμβανομένων του σουπεροξειδίου (O_2^-), του O_3 και H_2O_2 . Οι αντιδράσεις είναι οι εξής :

- i. $\text{H}_2\text{O} + \text{e}^- \rightarrow \text{OH}\cdot + \text{H}\cdot + \text{e}^-$
- ii. $\text{OH}\cdot + \text{OH}\cdot \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2$
- iii. $\text{O}_2^- + \text{H}^+ \leftrightarrow \text{OOH}$
- iv. $\text{O}_2 + \text{O}\cdot \rightarrow \text{O}_3$
- v. $\text{H}\cdot + \text{O}_2 \rightarrow \text{HO}_2$

Οι $\text{OH}\cdot$ ανήκουν στα βραχύβια δραστικά είδη που διαθέτουν υψηλό δυναμικό οξειδοαναγωγής (Ayala et al., 2014).

Το H₂O₂ είναι ένα σχετικά σταθερό είδος το οποίο θα μπορούσε να μετατραπεί σε O₂⁻ ή υπεροξειδία ανάλογα με το υγρό περιβάλλον έκθεσής του. Είναι ένας, ενεργός, βιολογικά παράγοντας γνωστός για της σημαντικές αντιμικροβιακές ιδιότητες σε υγρά που ενεργοποιούνται με πλάσμα. Οι (Niquet et al., 2018), χρησιμοποιώντας το DBD, έδειξαν ότι οι συγκεντρώσεις H₂O₂ στο PAW αυξήθηκαν με τον χρόνο επεξεργασίας και παρέμειναν σταθερές για μια ευρεία χρονική περίοδο αποθήκευσης.



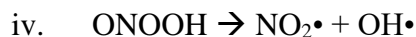
Εικόνα 9. Αλληλεπιδράσεις πλάσματος-νερού από την αέρια στην υγρή φάση κατά την δημιουργία PAW (Zhao et al., 2020).

Εκτός από ROS, το PAW περιλαμβάνει επίσης νιτρικό οξύ (HNO₃), νιτρώδες οξύ (HNO₂), υπερό-ξυνιτρικό (ONOOH), ONOO⁻, καθώς και ρίζες διοξειδίου του αζώτου (NO₂[•]). Παρουσία αέρα, το άζωτο και το οξυγόνο διασπώνται και σχηματίζουν NO το οποίο, εν συνεχεία αντιδρά με το νερό και σχηματίζει οξέα.

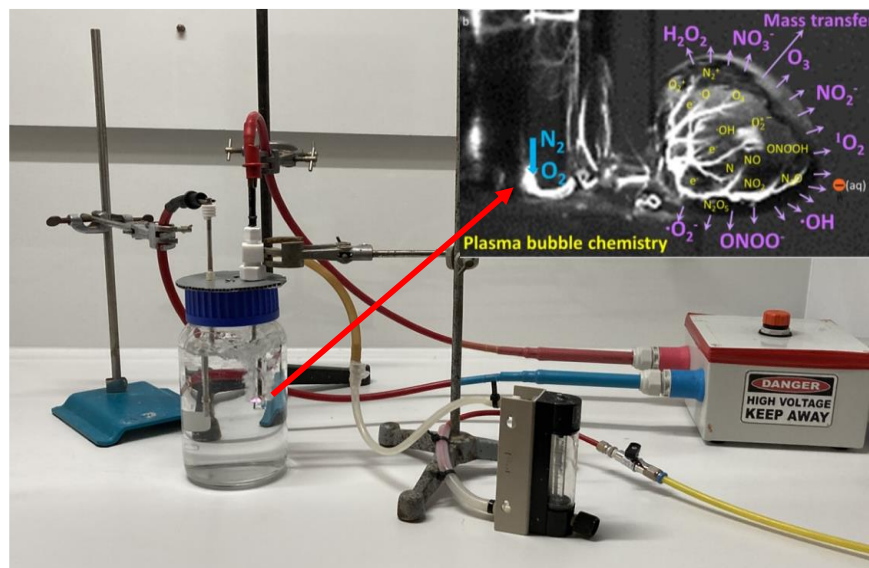
- i. $\text{NO}_2^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{HNO}_2$
- ii. $\text{NO}_2^\bullet + \text{OH}^\bullet \rightarrow \text{HNO}_3$

Τα NO₂⁻, και NO₃⁻ ανήκουν στα είδη με μεγάλη διάρκεια ζωής. Σχηματίζονται κυρίως είτε από δέσμευση ηλεκτρονίων από (NO₂), είτε από οξείδωση (NO) (Zhao et al., 2020). Σε συνθήκες χαμηλού pH τα νιτρώδη πρωτονιώνονται σε H₂O₂ και σχηματίζουν ONOO⁻, (Wong et al., 2023) ή αποικοδομούνται σε νιτρικά οξέα.

- i. $3\text{NO}_2^- + 3\text{H}^+ \rightarrow 2\text{NO} + \text{NO}_3^- + \text{H}_3\text{O}^+$
- ii. $2\text{NO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- + 2\text{H}^+$



Για την προώθηση της μεταφοράς μάζας όλων αυτών των ειδών που παράγονται μεταξύ αερίου και υγρού κατά την παραγωγή ενεργοποιημένου νερού από πλάσμα (PAW) χρησιμοποιούνται πολυφασικά πλάσματα. Με τον όρο αυτό, αναφερόμαστε, στο πλάσμα (ιονισμένο αέριο) που δημιουργείται υπό την μορφή φυσαλίδων, αναφλέγεται και αναμιγνύεται με το νερό.



Εικόνα 10. α) Απεικόνιση διάταξης πλάσματος εκκένωσης διηλεκτρικής σταθεράς (dielectric barrier discharge plasma, DBD) β) Μεταφορά μάζας ενεργών ειδών από το αέριο στο υγρό (Mai-Prochnow et al., 2021).

Πιο συγκεκριμένα στο DBD πραγματοποιείται ανάφλεξη του αερίου ροής μέσα σε μια φυσαλίδα αυτού, η οποία στην συνέχεια διαδίδεται μέσα σε έναν όγκο υγρού (Εικόνα 10). Αυτές οι φυσαλίδες λειτουργούν ως ένα μέσο μεταφοράς μάζας μεγάλης ποσότητας RONS από το πλάσμα στο υγρό οδηγώντας σε μεγαλύτερη ενεργοποίηση του PAW. Οι (Wright et al., 2019) μοντελοποίησαν την ροή των φυσαλίδων, την διεπιφανειακή μεταφορά μάζας, και τις χημικές αντιδράσεις σε αντιδραστήρα πλάσματος DBD-φυσαλίδων παρουσιάζοντας πως η ενισχυμένη μεταφορά μάζας προκάλεσε ταχεία αύξηση και υψηλότερες τελικές συγκεντρώσεις ελεύθερων ριζών.

1.3.5 Φυσικές ιδιότητες ενεργοποιημένου νερού PAW

Όταν το υγρό, το οποίο χρησιμοποιείται, υποβάλλεται σε επεξεργασία με πλάσμα, τα ιόντα και οι ελεύθερες ρίζες που σχηματίζονται οδηγούν σε μείωση του pH. Αυτό συμβαίνει λόγω επακόλουθης παραγωγής NO_2^- και NO_3^- (Anderson et al., 2016). Ωστόσο, μετά από μια ορισμένη περίοδο επεξεργασίας, το pH φτάνει σε μια σταθερή κατάσταση και παραμένει σταθερό (Zhao et al., 2020).

Εκτός από το pH, η επεξεργασία με πλάσμα οδηγεί ομοίως σε μεταβολές της ηλεκτρικής αγωγιμότητας του νερού. Η ηλεκτρική αγωγιμότητα έχει αναφερθεί ότι συνδέεται άμεσα με το pH, υποδεικνύοντας μια αντίστροφη συσχέτιση. Καθώς το pH μειώνεται, η ηλεκτρική αγωγιμότητα του διαλύματος αυξάνεται γεγονός που οφείλεται στην αυξημένη κινητικότητα H^+ με τα ανιόντα OH^- (Lukes et al., 2008).

1.3.6 Βιομηχανικές εφαρμογές μη θερμικού πλάσματος στον τομέα των τροφίμων

Την τελευταία δεκαετία, το CP έχει κερδίσει σημαντικό ενδιαφέρον στην βιομηχανία των τροφίμων. Η καινοτομία αυτής της τεχνολογίας βασίζεται στην οικονομική, ευέλικτη και φιλική προς το περιβάλλον φύση της (Pankaj et al., 2018). Οι εφαρμογές του CP σχετίζονται κυρίως με την εξυγίανση των τροφίμων, την αδρανοποίηση ενζύμων, την τροποποίηση επιφανειών συσκευασίας, την αφαίρεση τοξινών και την επεξεργασία λυμάτων. Ένα από τα βασικά πλεονεκτήματα του είναι η ελάχιστη επίδραση στα θρεπτικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά των συστατικών των τροφίμων. Ωστόσο, αξίζει να αναφερθεί ότι τα σωματίδια που σχηματίζονται επιδρούν στα συστατικά των τροφίμων όπως στους υδατάνθρακες, τις πρωτεΐνες και τα λιπαρά οξέα.

Πρωτεΐνες/ Ένζυμα

Σε αυτό το εξαιρετικά ενεργό περιβάλλον πλούσιο σε οξυγόνο και άζωτο το CP προκαλεί αλλαγές στην τρισδιάστατη δομή των πρωτεϊνών. Πιο συγκεκριμένα, μπορούν να διασπαστούν οι πεπτιδικοί δεσμοί, να οξειδωθούν οι πλευρικές αλυσίδες των αμινοξέων, καθώς και να προκληθεί σχηματισμός σταυροδεσμών (cross-link) μεταξύ

πολυπεπτιδικών αλυσίδων (Sharma and Singh, 2020). Η οξειδωση μπορεί να εξηγηθεί ως η ομοιοπολική τροποποίηση η οποία οδηγεί στο ξεδίπλωμα των πρωτεϊνών αυξάνοντας την υδροφοβικότητα στην επιφάνεια της πρωτεΐνης προκαλώντας συσσωμάτωση και πολυμερισμό λόγω παρουσίας δισουλφιδικών δεσμών και άλλων διαμοριακών γεφυρών.

Το ψυχρό πλάσμα έχει αναφερθεί ότι αδρανοποιεί μια σειρά ενζύμων όπως η λυσοζύμη, (Takai et al., 2012), η πολυφαινολοξειδάση (PPO) και η υπεροξειδάση (POD), με τα δυο τελευταία να απαντώνται κυρίως σε φρούτα και λαχανικά. Σύμφωνα με την βιβλιογραφία οι διαφορές ως προς τα επίπεδα αδρανοποίησης ενζύμων οφείλονται κυρίως στη φύση των ενζύμων, και στις συνθήκες επεξεργασίας με χρήση πλάσματος (π.χ. ισχύς, τάση, όγκος). Οι Pankaj et al. (2013), αναφέρουν πως ότι ο χρόνος επεξεργασίας και η τάση που χρησιμοποιήθηκε είχαν σημαντικές επιπτώσεις στα επίπεδα αδρανοποίησης γεγονός που αποδίδεται στις αντιδράσεις πλευρικών αλυσίδων της πρωτεΐνης με ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και αζώτου. Αντίστοιχα σε μελέτη των Surowsky et al. (2015), η χρήση CP με διαφορετικά μίγματα αερίων, υπό την μορφή πίδακα έφερε την αδρανοποίηση των POD και PPO. Οι ερευνητές συσχέτισαν την απώλεια της ενζυμικής ενεργότητας με το μειωμένο ποσοστό α -έλικας (decrease in the amount of α -helices). Τέλος, αξίζει να σημειωθεί ότι, ενώ η πλειοψηφία των μελετών έχει αναφερθεί στην αδρανοποίηση των ενζύμων μέσω CP, στη βιβλιογραφία αναφέρεται και αύξηση των ενζυμικών ενεργοτήτων με χρήση πλάσματος (π.χ. λιπάση και α -αμυλάσης) (Chen et al., 2016; Li et al., 2011). Επομένως, τόσο η ικανότητα των κυττάρων να ανταπεξέλθουν στις συνθήκες που δημιουργεί το πλάσμα, όσο και ο βαθμός έκθεσης στα παραγόμενα σωματίδια λειτουργούν ως βασικοί παράγοντες αδρανοποίησης ή ενεργοποίησης των ενζύμων. Πιο συγκεκριμένα αν το κύτταρο συνεχίσει να εξουδετερώνει παραγόμενα σωματίδια που προκαλούν στρες, η ενεργότητα των ενζύμων θα αυξηθεί ενώ αν το κύτταρο δεν μπορέσει να ανταποκριθεί επαρκώς, τα ένζυμα θα απενεργοποιηθούν (Misra et al., 2016).

Πολυσακχαρίτες

Η υπεριώδης ακτινοβολία, η θερμότητα και ο σχηματισμός ηλεκτρικού πεδίου καθώς και οι παραγόμενες ελεύθερες ρίζες οξυγόνου-αζώτου (RONS) που προκύπτουν από την επεξεργασία πλάσματος, αλληλοεπιδρούν με τους πολυσακχαρίτες αλλάζοντας τη δομή

και τις ιδιότητές τους (Li et al., 2021). Η $\text{OH}\cdot$ έχει αναφερθεί ως ένα από τα πιο δραστικά είδη ROS. Μπορεί να αφαιρέσει άτομα υδρογόνου σε δεσμούς C-H (δακτυλίου αλδοζών, ουρονικών οξέων) (Hawkins and Davies, 1996) αφαιρώντας το άτομο υδρογόνου και αφήνοντας τον άνθρακα με ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο. Αυτό καθιστά το άτομο άνθρακα εξαιρετικά αντιδραστικό, ικανό να συμμετέχει σε διάφορες χημικές αντιδράσεις, όπως η β-κοπή (Duan and Kasper, 2011). Οι Prajapat et al. (2016) αναφέρουν πως τα υποπροϊόντα αμύλου μανιόκας, τα οποία περιέχουν άμυλο και κυτταρίνη είναι δυνατόν να αποικοδομηθούν μέσω διεργασίας με πλάσμα σε αναγωγικά σάκχαρα και γλυκόζη, εύρημα που αποδίδεται στην ρίζα υδροξυλίου.

1.4 Ενεργή συσκευασία (Active packaging, AP)

Η ενεργή συσκευασία είναι ένα καινοτόμο σύστημα συσκευασίας που επιτρέπει την αλληλεπίδραση προϊόντος με το περιβάλλον με σκοπό να παραταθεί η διάρκεια ζωής του προϊόντος και να διασφαλιστεί η προστασία του τροφίμου από μικροοργανισμούς, διατηρώντας παράλληλα την ποιότητα του (Ahvenainen and Hurme, 1997). Επιπλέον διαθέτει και μια πρόσθετη λειτουργία απορρόφησης ή απελευθέρωσης χημικών ουσιών (συντηρητικά, αντιοξειδωτικά, αρωματικές ουσίες) από το τρόφιμο ή το περιβάλλον του. Οι κύριες κατηγορίες συσκευασίας AP που εφαρμόζονται στην βιομηχανία τροφίμων είναι οι αντιμικροβιακές, οι αντιοξειδωτικές, συστήματα που συλλέγουν οξυγόνο ή απορροφούν αιθυλένιο, συσκευασίες που εκπέμπουν/παράγουν διοξείδιο του άνθρακα, συστήματα απελευθέρωσης/απορρόφησης αντιοξειδωτικών-γεύσης καθώς και ελέγχου-διατήρησης υγρασίας σε συγκεκριμένα επίπεδα (Εικόνα 11) (Soltani Firouz et al., 2021).

Σκοπός της χρήσης της AP είναι να μειώσουν, να καθυστερήσουν ή ακόμα και να αναστείλουν την ανάπτυξη αλλοιογόνων και παθογόνων μικροοργανισμών (Appendini and Hotchkiss, 2002; Coma, 2008) όπως *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum* και *Escherichia coli* O157:H7.

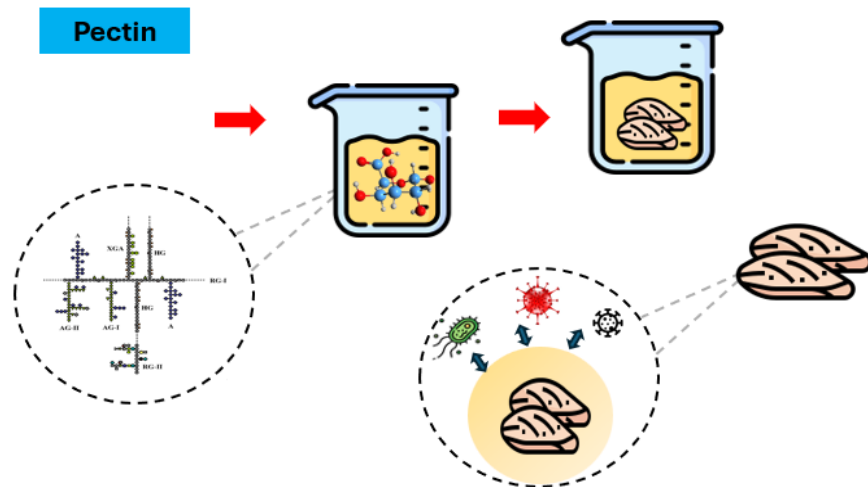


Εικόνα 11. Γραφική αναπαράσταση διαφορετικών τύπων AP (Soltani Firouz et al., 2021)

1.2.2 Εδώδιμες μεμβράνες και επικαλύψεις με βάση την πηκτίνη

Οι εδώδιμες μεμβράνες και επικαλύψεις ορίζονται ως λεπτές στρώσεις από φυσικά πολυμερή, που χρησιμοποιούνται για την επικάλυψη και προστασία των τροφίμων. Έχουν ποικίλες εφαρμογές που θα μπορούσαν να βοηθήσουν την βιομηχανία των τροφίμων ώστε να βελτιώσει την ασφάλεια και την ποιότητα των τροφίμων καθώς και να αυξήσει την διάρκεια ζωής των προϊόντων. Επίσης συχνά μελετάται η προσθήκη αρωμάτων, αντιμικροβιακών παραγόντων, αντιοξειδωτικών, χρωστικών και βιταμινών ώστε να παραχθούν ενεργές εδώδιμες συσκευασίας με επιπλέον προστατευτική δράση για το τρόφιμο (Moura-Alves et al., 2023). Τα κύρια χαρακτηριστικά τους περιλαμβάνουν την προστασία τροφίμου (πίεση, κραδασμούς και άλλους μηχανικούς παράγοντες), την πρόληψη και τον έλεγχο της μεταφοράς μάζας (λειτουργίες φραγμού π.χ. φράγμα υδρατμών, φράγμα οξυγόνου, φράγμα υπεριώδους φωτός), τη βελτίωση των αισθητηριακών ιδιοτήτων, την επέκταση της διάρκειας ζωής του συσκευασμένου τροφίμου, τη διατήρηση της ποιότητας, και τέλος την ικανότητα βρώσης και αποικοδόμησης στο περιβάλλον χωρίς να προκαλούν επιπτώσεις σε αυτό (Díaz-Montes and Castro-Muñoz, 2021; Han, 2014). Τα τελευταία χρόνια, πολλοί ερευνητές έχουν

εστιάζει την προσοχή τους σε υποπροϊόντα τροφίμων με δυνατότητες χρήσης ως συστατικά για βιοαποικοδομήσιμες και εδώδιμες μεμβράνες (Umaraw et al., 2020). Συγκεκριμένα, φυτικά υποπροϊόντα όπως το περίβλημα, οι σπόροι και οι φλοιοί που είναι πλούσια σε πολυμερή, όπως οι πολυσακχαρίτες και οι πρωτεΐνες, αποτελούν βασικές πρώτες ύλες για την παραγωγή εδώδιμων επικαλύψεων (Santhosh et al., 2021). Οι εδώδιμες μεμβράνες και επικαλύψεις που προέρχονται από πηκτίνη μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως υλικά συσκευασίας, καθώς και να καταναλωθούν μετά την εφαρμογή τους στα τρόφιμα (Otoni et al., 2017). Σύμφωνα με την Εικόνα 12 παρασκευάζονται με ομογενοποίηση υδατικού διαλύματος πηκτίνης και παρουσία πλαστικοποιητών, εφαρμόζονται στα τρόφιμα και δημιουργούν ένα σύστημα συσκευασίας που είναι ικανό να παρατείνει την διάρκεια ζωής (Nastasi et al., 2022).



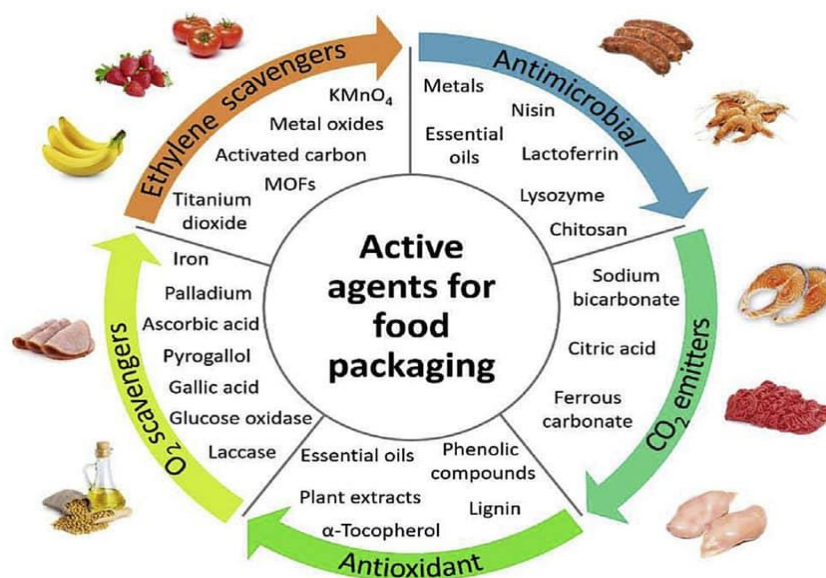
Εικόνα 12. Παρασκευή διαλύματος πηκτίνης και εμφάνιση φιλέτου από κοτόπουλο

1.4.1 Αντιμικροβιακά

Η χρήση αντιμικροβιακών παραγόντων σε συσκευασίες τροφίμων, ειδικά αυτών που στοχεύουν τα Gram θετικά βακτήρια, αποτελεί σοβαρό ζήτημα στη βιομηχανία τροφίμων, καθώς τα βακτήρια αυτά μπορούν να αναπτύξουν ανθεκτικότητα με την πάροδο του χρόνου. Αυτή η αντίσταση μειώνει την αποτελεσματικότητα των αντιμικροβιακών και δημιουργεί ανησυχίες σχετικά με τη μακροπρόθεσμη ασφάλεια και ποιότητα των προϊόντων. Οι αντιμικροβιακοί παράγοντες μπορούν να αναστείλουν τη μικροβιακή ανάπτυξη μέσω μιας σειράς διαφορετικών παραγόντων όπως:

- i. αλλαγή στη δομή των πρωτεϊνών των μικροοργανισμών μέσω αλλοίωσης ή μετουσίωσης (μόνιμες ή/και προσωρινές επιδράσεις).
- ii. αλλαγή των πρωτεϊνών της κυτταρικής μεμβράνης ή των λιπιδίων της μεμβράνης.
- iii. παρεμπόδιση της σύνθεσης των συστατικών του κυτταρικού τοιχώματος.
- iv. αποτροπή αντιγραφής, μεταγραφής και μετάφρασης νουκλεϊκών οξέων.
- v. διαταραχή του κυτταρικού μεταβολισμού (Muñoz-Bonilla et al., 2013)

Ως εκ τούτου, η εφαρμογή νέων αντιμικροβιακών παραγόντων σε συνδυασμό με αποτελεσματικές τεχνικές AP έχει γίνει όλο και πιο δημοφιλής στις μέρες μας (Mousavi Khaneghah et al., 2018).



Εικόνα 13. (<https://www.virasmart.co/en/what-is-active-packaging/>)

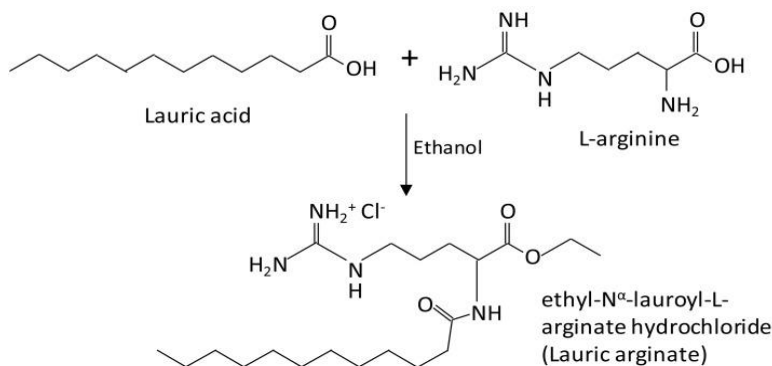
Όπως παρατηρείται στην Εικόνα 13 υπάρχει ένας μεγάλος αριθμός αντιμικροβιακών παραγόντων, όπως η αιθανόλη, το διοξείδιο του άνθρακα, τα ιόντα αργύρου, το διοξείδιο του χλωρίου, τα αντιβιοτικά, οι βακτηριοσίνες, τα οργανικά οξέα, τα αιθέρια έλαια και τα μπαχαρικά τα οποία έχουν δοκιμαστεί με σκοπό την αναστολή της ανάπτυξης μικροοργανισμών στα τρόφιμα (Suprakul et al., 2003). Μεταξύ αυτών ως αντιμικροβιακά μέσα έχουν χρησιμοποιηθεί και φυτικά εκχυλίσματα π.χ. εκχύλισμα δεντρολίβανου, ρίγανης, πράσινου τσαγιού καθώς επίσης πεπτίδια και νισίνη (Arvanitoyannis and Stratakos, 2012).

1.4.2 Λαυρικός Αργινικός Εστέρας

Ο λαυρικός αργινικός εστέρας (N-lauroyl-L-arginine ethyl ester monohydrochloride, LAE), είναι ένα κατιονικό επιφανειοδραστικό, το οποίο συντίθεται από λαυρικό οξύ (C12:0), L-αργινίνη και αιθανόλη (Sadekuzzaman et al., 2017). Στον τομέα των τροφίμων θεωρείται ως ένας αντιμικροβιακός παράγοντας ιδανικός για χρήση ως πρόσθετο τροφίμων με τα εξής ακόλουθα χαρακτηριστικά: είναι άχρωμο, άοσμο, σταθερό κατά την θέρμανση και έχει άμεση επίδραση σε παθογόνα βακτήρια.

1.4.3 Σύνθεση

Η σύνθεση επιφανειοδραστικών ουσιών με αντιμικροβιακές ιδιότητες από λιπαρά οξέα και υδρόφιλα κατιονικά αμινοξέα καταγράφεται ήδη από τη δεκαετία του 1930. Η αντίδραση συμπύκνωσης (Εκόνα 14) μεταξύ της καρβοξυλικής ομάδας του λαυρικού οξέος και της αμινομάδας της L-αργινίνης σχηματίζει έναν αμιδικό δεσμό, όπου με την παρουσία αιθανόλης, η καρβοξυλική ομάδα της L-αργινίνης, αντιδρά, και σχηματίζει αιθυλομάδα (Ruckman et al., 2004). Η αντίδραση αυτή προσδίδει ένα κατιονικό χαρακτήρα στο μόριο του LAE, η οποία είναι υπεύθυνη για τις αντιμικροβιακές ιδιότητες (Infante et al., 1984).

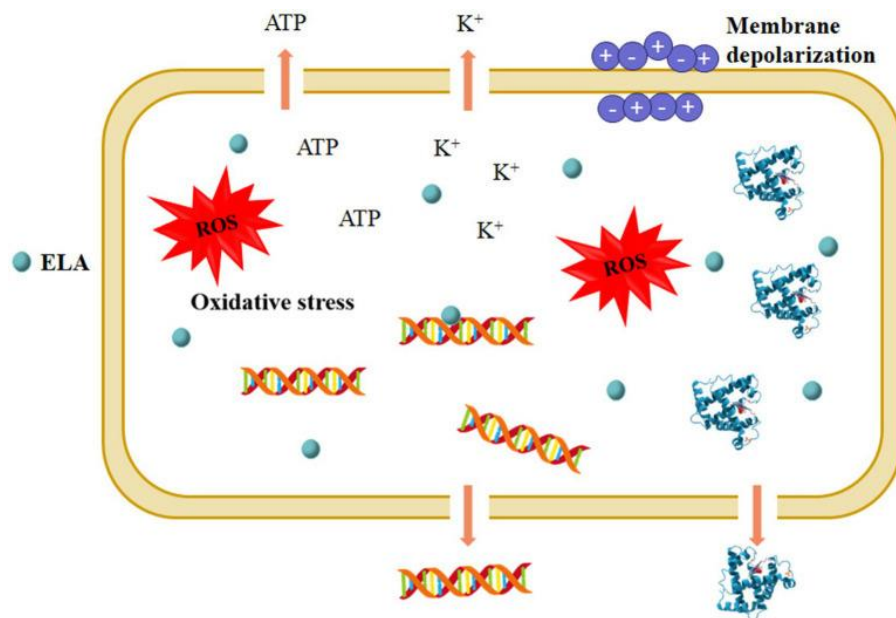


Εικόνα 14. Σύνθεση λαυρικού αργινικού εστέρα (Infante et al., 1984)

1.4.4 Μηχανισμός δράσης

Σύμφωνα με την βιβλιογραφία ο λαυρικός αργινικός εστέρας (LAE), είναι δραστικός έναντι διαφόρων αλλοιογόνων και παθογόνων μικροοργανισμών όπως *Staphylococcus aureus*, *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *Salmonella Enteritidis* (Ma et al.,

2023). Ο αντιμικροβιακός μηχανισμός δράσης του LAE σχετίζεται κυρίως με τη διάσπαση των κυτταρικών μεμβρανών και το οξειδωτικό στρες. Πιο συγκεκριμένα το LAE ως ένα κατιονικό επιφανειοδραστικό, μπορεί να προκαλέσει βλάβες στην κυτταρική μεμβράνη των μικροοργανισμών, με αποτέλεσμα την διάσπαση τους, την απώλεια διαφοράς δυναμικού και εν τέλει την διαρροή ενδοκυτταρικών συστατικών, όπως κάλιο (Coronel-León et al., 2016; Rodriguez et al., 2004), πρωτεΐνες (Xu et al., 2018), νουκλεϊκά οξέα (Yang et al., 2019) και ATP (Ma et al., 2016), οδηγώντας έτσι στον κυτταρικό θάνατο (Εικόνα 15).



Εικόνα 15. Μηχανισμός δράσης LAE και παραγωγή δραστικών ειδών οξυγόνου ROS (REF)

Σύμφωνα με την Εικόνα 15 στην αντιμικροβιακή δράση του LAE εμπλέκεται και η δημιουργία ROS, που προκαλεί μη αναστρέψιμες οξειδωτικές βλάβες σε κυτταρικά συστατικά (όπως το DNA, πρωτεΐνες και λιπίδια) οδηγώντας στην διακοπή των φυσιολογικών λειτουργιών του κυττάρου (Ma et al., 2023).

1.4.5 Νομοθεσία

Σύμφωνα με τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (Food and Drug Administration, FDA), καθώς και τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Ασφάλειας Τροφίμων (European Food Safety Authority, EFSA), αναγνωρίζουν το LAE ως ασφαλές (Generally Recognized As

Safe, GRAS), και χρησιμοποιείται ως αντιμικροβικός παράγοντας σε διάφορους τύπους τροφίμων έως και 200 ppm (mg/L) (Shapira and Nadler, 1975). Στην Ευρωπαϊκή ένωση, το LAE, αξιολογήθηκε από την EFSA ως προς την ασφάλεια του το 2007, δίνοντας του τον αριθμό E243 ως πρόσθετο τροφίμων, καθώς έχει εγκριθεί και σε άλλες χώρες παγκοσμίως όπως για παράδειγμα Αυστραλία, Νέα Ζηλανδία, το Μεξικό, η Κολομβία, και η Τουρκία, σε μέγιστη συγκέντρωση 200 ppm (mg/L) (Motta et al., 2020).

1.5 Κοτόπουλο (*Gallus gallus domesticus*)

Ο παγκόσμιος πληθυσμός αυξάνεται συνεχώς και σύμφωνα με τον Οργανισμό Ηνωμένων Εθνών (ΟΗΕ) εκτιμάται ότι θα φτάσει σε πάνω από 9 δισεκατομμύρια κατοίκους παγκοσμίως έως το 2050, με αποτέλεσμα η πρόκληση κάλυψης των αναγκών να αποτελεί ένα μείζον ζήτημα (Gononi et al., 2021). Το κρέας πουλερικών είναι από τα πιο κοινά ζωικά προϊόντα που καταναλώνονται παγκοσμίως. Έχει υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και θρεπτικά συστατικά. (Mottet and Tempio, 2017). Σύμφωνα με τον FAO, το 2020, σφαγιάστηκαν 6,4 δισεκατομμύρια κοτόπουλα στην ΕΕ, παράγοντας περίπου 11 εκατομμύρια τόνους κρέατος. Η Πολωνία αναδείχθηκε ως ο μεγαλύτερος παραγωγός στην ΕΕ, αντιπροσωπεύοντας περίπου το ένα πέμπτο της συνολικής παραγωγής κρέατος κοτόπουλου. Σύμφωνα με τους Alexandratos (2012) η παγκόσμια ζήτηση για τρόφιμα ζωικής προέλευσης θα μπορούσε να αυξηθεί κατά 70% μεταξύ 2005 και 2050. Έτσι, το κρέας πουλερικών αναμένεται να έχει τη μεγαλύτερη ανάπτυξη που φτάνει έως και τα 121%.

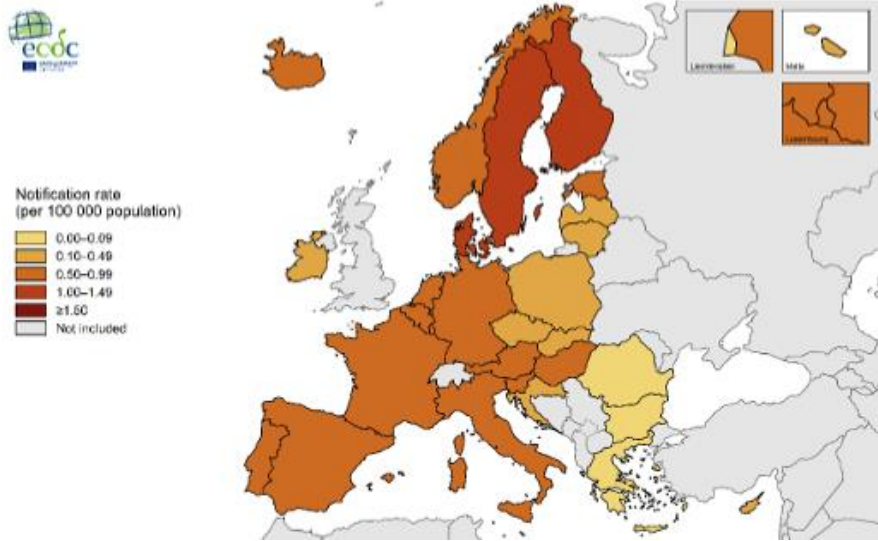
1.5.1 Συμβατικές συσκευασίες για κοτόπουλο

Η αλλοίωση των νωπών προϊόντων που προέρχονται από πουλερικά, αποτελεί μια σημαντική οικονομική επιβάρυνση για τους παραγωγούς, καθώς σε πολλές περιπτώσεις μπορεί να παρουσιάσει κίνδυνο για την υγεία των καταναλωτών, μιας και το κρέας πουλερικών μπορεί να φιλοξενήσει πληθώρα παθογόνων μικροοργανισμών (Geornaras et al., 1998). Έχουν διερευνηθεί πολλές προσεγγίσεις διατήρησης ασφάλειας/ποιότητας, με την πιο κοινή μέθοδο να παραμένει η χρήση δίσκων πολυστυρενίου (Polystyrene, EPS) οι οποίοι περιβάλλονται από στρώσεις πολυβινυλοχλωριδίου (polyvinyl chloride, PVC).

Τα κύρια πλεονεκτήματα είναι το χαμηλό κόστος των υλικών της συσκευασίας, η ευχέρεια χρήσης και η ευκολία διανομής στους καταναλωτές. Αναπτυσσόμενη μέθοδος συσκευασίας για προϊόντα κρέατος αποτελεί και η τροποποιημένη ατμόσφαιρα (Modified atmosphere packaging MAP). Η σωστή επιλογή αερίων (συνήθως ένας συνδυασμός O₂, CO₂, N₂), αποτελεί ένα αποτελεσματικό παράγοντα για τον περιορισμό της ανάπτυξης αλλοιογόνων και παθογόνων μικροοργανισμών. Τέλος, οι εδώδιμες μεμβράνες και επικαλύψεις παρουσιάζουν πολλά οφέλη ως προς την συντήρηση τροφίμων και προϊόντων κρέατος (Moura-Alves et al., 2023). Η πρόληψη της υγρασίας, οι αισθητηριακές αλλαγές στην υφή, τη γεύση, την οσμή, το χρώμα και η χαμηλή διαπερατότητα οξυγόνου είναι μερικά από τα πλεονεκτήματα τα οποία μπορούν να προσφέρουν οι εδώδιμες μεμβράνες και επικαλύψεις (Sánchez-Ortega et al., 2014).

1.5.2 *Listeria monocytogenes*

Η *L. monocytogenes* είναι ένα gram-θετικό, προαιρετικά αναερόβιο βακτήριο, το οποίο είναι υπεύθυνο για τροφιμογενείς λοιμώξεις όπως η λιστερίωση. Τρόφιμα ζωικής προέλευσης όπως το τυρί, το κοτόπουλο, το ψάρι και το γάλα έχουν αναφερθεί ως κύριοι οδοί μετάδοσης του βακτηρίου *L. monocytogenes* για τον άνθρωπο (Moura et al., 2019). Στις Ηνωμένες Πολιτείες, περίπου 48 εκατομμύρια άνθρωποι νοσούν λόγω της κατανάλωσης μολυσμένων τροφίμων, η οποία προκαλεί ακόμη και 3.000 θανάτους ετησίως. Από αυτό το σύνολο, οι 260 θάνατοι μπορούν να αποδοθούν στη λιστερίωση (Moura et al., 2019). Σύμφωνα με την ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control) (Εικόνα 16), το 2022 στην ΕΕ, αναφέρθηκαν πάνω 2.770 κρούσματα (ECDC, 2022). Η Γερμανία, η Γαλλία και η Ισπανία είχαν τον μεγαλύτερο αριθμό κρουσμάτων, που αντιστοιχούν στο 51,8% όλων των κρουσμάτων στην ΕΕ. Δεδομένου αυτού, οι βιομηχανίες θα πρέπει να δώσουν μεγάλη προσοχή ως προς τις υγειονομικές ιδιότητες του κρέατος, που σχετίζονται με παθογόνα βακτήρια χρησιμοποιώντας μεθόδους που θα αναστείλουν την ανάπτυξη τους. Η Διεθνής Επιτροπή Μικροβιολογικών Προδιαγραφών στα Τρόφιμα (1994), έθεσε το όριο ασφάλειας στα 100 CFU/g (Auvolat and Besse, 2016).



Εικόνα 16. Κρούσματα λιστερίωσης σε χώρες της ΕΕ (ECDC, 2022).

2. Σκοπός

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η αξιοποίηση των παραπροϊόντων της βιομηχανίας ζάχαρης (sugar beet pulp, SBP), μέσω της ανάπτυξης ενός βιοδιυλιστηρίου, για την εκχύλιση της πηκτίνης, με σκοπό την παραγωγή εδώδιμης συσκευασίας, εστιάζοντας στις εφαρμογές της στην βιομηχανία τροφίμων. Παρασκευάστηκαν επικαλύψεις πηκτίνης και στην συνέχεια εφαρμόστηκαν σε φιλέτο κοτόπουλο .

Αρχικά, πραγματοποιήθηκε εκχύλιση ελεύθερων σακχάρων στον αρχικό στερεό. Στην συνέχεια διερευνήθηκε η επίδραση μη θερμικού πλάσματος (cold plasma), τόσο στο υπολειπόμενο στερεό, όσο και στην απομονωθείσα πηκτίνη. Επιλέχθηκε η βέλτιστη διεργασία, σε μεγάλη κλίμακα, προκειμένου να παραχθεί μια σημαντική ποσότητα πηκτίνης. Στο στερεό το οποίο προέκυψε μετά την εκχύλιση της πηκτίνης πραγματοποιήθηκε χημική σύσταση.

Οι επικαλύψεις πηκτίνης, παρασκευάστηκαν με την προσθήκη διαφορετικών συγκεντρώσεων λαυρικού αργινικού εστέρα (LAE) και στην συνέχεια εφαρμόστηκαν σε φιλέτο από κοτόπουλο με σκοπό την επίδραση στην διάρκεια ζωής, μέσω φυσικοχημικών και μικροβιολογικών αναλύσεων (μέτρηση χρώματος, καταμέτρηση αποικιών ολικής μικροβιακής χλωρίδας, ψευδομονάδας και *Listeria monocytogenes*).

3. Υλικά και Μέθοδοι

3.1 Πρώτη ύλη

3.1.1 Πούλπα ζαχαρότευτλου (SBP)

Το SBP προμηθευτικέ από την βιομηχανία Δημητριάκη Α.Ε. (Θεσσαλονίκη, Ελλάδα), υπό την μορφή pellet τα οποία κονιορτοποιήθηκαν με την χρήση οικιακού μπλέντερ. Το SBP στη συνέχεια πέρασε από κόσνικο διαμέτρου 1,8 mm και παρέμεινε σε θερμοκρασία δωματίου τη διάρκεια των πειραμάτων.

3.1.2 Φιλέτο κοτόπουλο

Το φιλέτο-στήθος κοτόπουλο (μείζον θωρακικός μυς) προμηθεύτηκε από την βιομηχανία Αγγελάκης Α.Ε (Χαλκίδα, Ελλάδα). Αποθηκεύτηκε σε θερμοκρασία 2°C.

3.2 Ανάπτυξη βιοδιωληστηρίου

Η εκχύλιση των ελευθέρων σακχάρων πραγματοποιήθηκε με αναλογία στερεού SBP προς νερό 1:20 (w/v). Το εναιώρημα παρέμεινε στους 40°C σε θερμαινόμενη πλάκα για δύο ώρες, υπό ανάδευση σε 180 rpm. Η διεργασία αυτή, επαναλήφθηκε 3 φορές με σκοπό μεγιστοποίηση της εκχύλισης και στη συνέχεια, το μείγμα διαχωρίστηκε με την χρήση διηθητικού χαρτιού Watman N°1. Τα υπολειπόμενα στερεά ξηράθηκαν στους 80 °C με σκοπό τον προσδιορισμό της χημικής τους σύστασης.

3.3 Τεχνολογία ψυχρού πλάσματος (CP)

Στη συγκεκριμένη μελέτη πραγματοποιήθηκε η χρήση CP ατμοσφαιρικού αέρα με σκοπό την επεξεργασία της βιομάζας. Στα πλαίσια αυτού ένας αντιδραστήρας πλάσματος αέρα DBD και ένα σύστημα πλάσματος ακίδα-πλάκα (PTP), χρησιμοποιήθηκαν για την προεπεξεργασία των στερεών (Leap100, PlasmaLeap Technologies, Σίδνεϊ, Αυστραλία).



Εικόνα 17. Αντιδραστήρας πλάσματος αέρα DBD

Η λειτουργία του DBD (Εικόνα 17) βασίζεται στην χρήση δύο μεταλλικών ηλεκτροδίων τα οποία βρισκόταν βυθισμένα στον αντιδραστήρα ο οποίος περιείχε 1000 mL απιονισμένου νερού με σκοπό την ενεργοποίησή του. Οι συνθήκες οι οποίες χρησιμοποιήθηκαν για την λειτουργία παραθέτονται στον πίνακα 1. Το ένα εκ των δύο ηλεκτροδίων καλύπτεται από ένα διηλεκτρικό υλικό. Για να διασφαλιστεί η σταθερή λειτουργία του συστήματος, καθορίζεται μια συγκεκριμένη απόσταση μεταξύ των δύο ηλεκτροδίων.

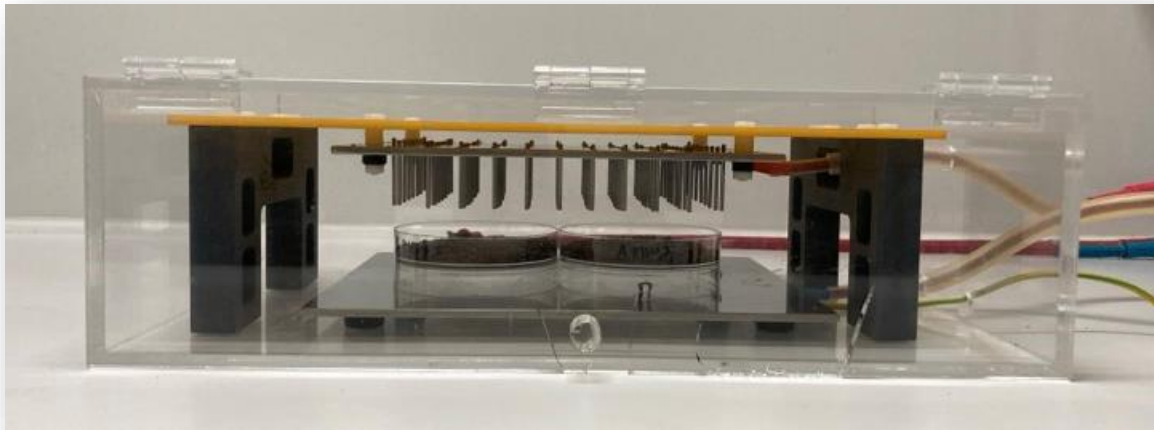
Πίνακας 1. Συνθήκες λειτουργίας πλάσματος αέρα DBD

Παράμετροι	Συνθήκες
Τάση (V)	250
Duty Cycle (%)	0,116
Συχνότητα (Hz)	1220
Παροχή αέρα (vvm)	3,3
Χρόνο (h)	1

Ως προς την επεξεργασία του στερεού SBP χρησιμοποιήθηκε επίσης συσκευή ψυχρού πλάσματος PTP (Εικόνα 18) (Leap100, PlasmaLeap Technologies, Σίδνεϊ, Αυστραλία). 8 g SBP τα οποία ενυδατώθηκαν με 15 mL απιονισμένου νερού τοποθετήθηκαν μέσα στα δύο ορθογώνια ηλεκτρόδια της διηλεκτρικής διάταξης πλάσματος. Οι συνθήκες για την λειτουργία παραθέτονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 2):

Πίνακας 2. Συνθήκες λειτουργίας πλάσματος ακίδα σε πλάκα (PTP)

Παράμετροι	Συνθήκες
Τάση (V)	200
Duty Cycle (%)	0,116
Συχνότητα (Hz)	1000
Παροχή αέρα (vvm)	-
Χρόνο (h)	1



Εικόνα 18. Σύστημα πλάσματος ακίδα πλάκα (Pin To Plate, PTP)

3.4 Ανάκτηση πηκτίνης

Η ανάκτηση της πηκτίνης από SBP, πραγματοποιήθηκε με ψυχρό πλάσμα CP. Εξετάστηκαν τρεις διαφορετικοί τρόποι, με σκοπό τον εντοπισμό της βέλτιστης συνθήκης διεργασίας.

- Το SBP εναιωρήθηκε σε αναλογία στερεού προς ενεργοποιημένο νερό 1:20 (w/v). Το ενεργοποιημένο νερό παρηχθήσε με DBD, σε συνθήκες 250V, Duty Cycle 0,116, Συχνότητα 1220 Hz παροχή αέρα: 3,3 vnm χρόνος 1 ώρα.
- Ποσότητα SBP (8 g) ενυδατώθηκε με ποσότητα απεσταγμένου νερού (15 ml) και στην συνέχεια έγινε επεξεργασία με πλάσμα PTP σε συνθήκες 200 V, Duty Cycle 0,116, συχνότητα 1000 Hz, χρόνος 1 ώρα. Στην συνέχεια εναιωρήθηκε σε αναλογία στερεού προς απεσταγμένο νερό 1:20 (w/v).
- Ποσότητα SBP (8 g) ενυδατώθηκε με ποσότητα απεσταγμένου νερού (15 ml) και στην συνέχεια έγινε επεξεργασία με πλάσμα PTP σε συνθήκες 200 V, Duty Cycle 0,116, συχνότητα 1000 Hz, χρόνος 1 ώρα. Στην συνέχεια εναιωρήθηκε σε αναλογία στερεού προς ενεργοποιημένο νερό 1:20 (w/v). Το ενεργοποιημένο νερό παραχθήσε με πλάσμα DBD, σε συνθήκες 250V, Duty Cycle 0,116, Συχνότητα 1220 Hz παροχή αέρα: 3,3 vnm χρόνος 1 ώρα.

Και στις τρεις περιπτώσεις η θερμοκρασία η οποία χρησιμοποιήθηκε ήταν 80 °C, για χρόνο από 1 έως 3 ώρες υπό ανάδευση. Για την επίτευξη βέλτιστων συνθηκών ανάκτησης χρησιμοποιήθηκε HNO₃ συγκέντρωσης 5M, με σκοπό την ρύθμιση του pH σε διαφορετικές συνθήκες 1,5 και 2. Όταν το οξινοποιημένο εναιώρημα φτάσει σε θερμοκρασία δωματίου, διαχωρίζεται μέσω διήθησης με την χρήση διηθητικού χαρτιού Watman (Εικόνα 19).

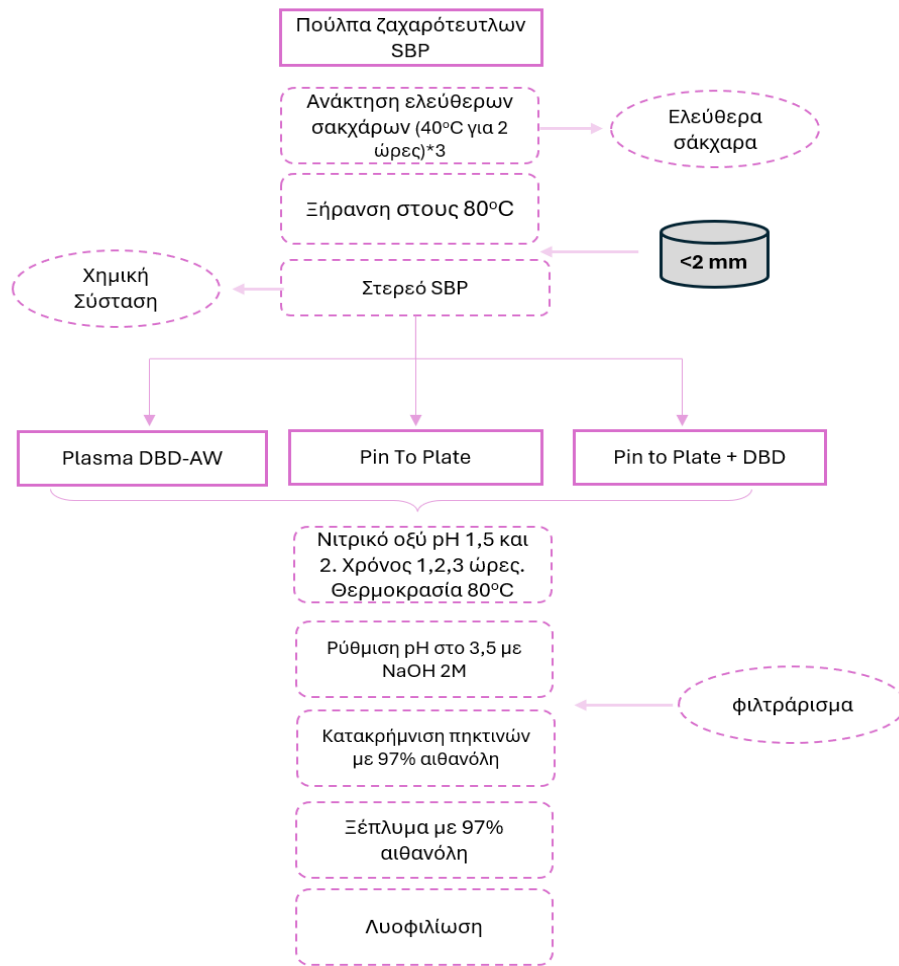
Το pH του υγρού ρυθμίστηκε στο 3,5 με την χρήση καυστικού οξέος (NaOH) συγκέντρωσης 2M. Η παραγόμενη πηκτίνη καταβυθίστηκε με την προσθήκη διπλάσιου όγκου αιθανόλης 97% (v/v). Το ίζημα συλλέχθηκε μέσω διήθησης, ξεπλύθηκε με 97% (v/v) αιθανόλης και λυοφιλοποιήθηκε. Η διαδικασία ανάκτησης πηκτίνης παρουσιάζεται συνοπτικά στην Εικόνα 20. Στο εναπομείναν στερεό, μετά την απομάκρυνση σακχάρων και πηκτίνης πραγματοποιήθηκε χημική σύσταση.



Εικόνα 19. Διαχωρισμός οξινισμένου εναιωρήματος από στερεό SBP

Πίνακας 3. Ονοματολογία συνθηκών ανάκτησης πηκτίνης που εφαρμόστηκαν στην παρούσα εργασία.

Ονομασία δείγματος	Διάταξη πλάσματος	Συνθήκες ανάκτησης πηκτίνης
pH1,5_Control	-	pH 1,5, NA
pH1,5_PAW	DBD πλάσμα για παραγωγή PAW	pH 1,5, PAW και NA
pH1,5_PTP	PTP DBD πλάσμα για επεξεργασία SBP	pH 1,5, NA
pH1,5_PTP&PAW	PTP DBD πλάσμα για επεξεργασία SBP και DBD πλάσμα για παραγωγή PAW	pH 1,5, PAW και NA
pH2,0_Control	-	pH 2,0, NA
pH2,0_PAW	DBD πλάσμα για παραγωγή PAW	pH 2,0, PAW και NA
pH2,0_PTP	PTP DBD πλάσμα για επεξεργασία SBP	pH 2,0, NA
pH2,0_PTP&PAW	PTP DBD πλάσμα για επεξεργασία SBP και DBD πλάσμα για παραγωγή PAW	pH 2,0, PAW και NA



Εικόνα 20. Διάγραμμα ροής για την ανάκτηση πηκτίνης

3.5 Αναλυτικές μεθόδους

3.5.1 Προσδιορισμός περιεκτικότητας σε υγρασία

Για τον υπολογισμό του ποσοστού περιεκτικότητας σε υγρασία, μια ποσότητα SBP-FS τοποθετείται σε προζυγισμένη κάψα πορσελάνης και τοποθετείται στο φούρνο στους 105 °C για 24 ώρες. Το δείγμα στην συνέχεια μεταφέρεται στον ξηραντήρα και ζυγίζεται. Το ποσοστό της υγρασίας υπολογίζεται σύμφωνα με την παρακάτω εξίσωση (1).

$$\text{Ποσοστό υγρασίας}\% = \frac{\text{Αρχικό βάρος} - \text{Βάρος στερεού}}{\text{Αρχικό βάρος}} * 100 \quad (1)$$

3.5.2 Προσδιορισμός τέφρας

Για τον προσδιορισμό της τέφρας, δείγμα SBP-FS τοποθετήθηκε σε προζυγισμένες κάψες πορσελάνης και μεταφέρθηκε σε φούρνο στους 80°C μέχρι την πλήρη απομάκρυνση της υγρασίας. Αφού τα δείγματα ζυγιστούν τοποθετούνται σε κλίβανο στους 575°C, για τουλάχιστον 6 ώρες. Οι κάψες πορσελάνης μεταφέρονται σε ξηραντήρα και ζυγίζονται, αφότου έλθουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Το ποσοστό της τέφρας υπολογίζεται από το βάρος της, διαιρούμενο με το βάρος του δείγματος ύστερα από την αφαίρεση της υγρασίας., σύμφωνα με την ακόλουθη εξίσωση (2).

$$\text{Τέφρα}\% = \left(\frac{(\text{Βάρος κάψουλας} + \text{Τέφρα})(g) - \text{Βάρος κάψουλας}(g)}{(\text{Βάρος κάψουλας} + \text{Στερεό})(g) - \text{Βάρος κάψουλας}(g)} \right) \times 100 \quad (2)$$

3.5.3 Προσδιορισμός εκχυλίσμων συστατικών

Η εκχύλιση των συστατικών από SBP-FS πραγματοποιήθηκε με την συσκευή απόσταξης Soxhlet. Η εφαρμογή περιλαμβάνει ζύγιση του δείγματος το οποίο τοποθετείται σε ειδικό πορώδες υλικό (κουκούλι) και μεταφέρεται σε διαμορφωμένο θάλαμο της συσκευής. Μια σφαιρική γυάλινη φιάλη που περιέχει τον διαλύτη, για την εκχύλιση των συστατικών, τοποθετείται στον πυθμένα της Soxhlet. Ο διαλύτης θερμαίνεται με θερμαντικό μανδύα. Ο ατμός του διαλύτη φτάνει στο θάλαμο εξαγωγής μέσω ενός πλευρικού σωλήνα, συμπυκνώνεται και διαβρέχει το θάλαμο που βρίσκεται το στερεό υλικό. Όταν ο διαλύτης φτάσει σε ένα συγκεκριμένο ύψος στο θάλαμο της Soxhlet σιφωνίζεται μαζί με τα εκχυλισμένα συστατικά και επιστρέφει στην σφαιρική φιάλη. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται μέχρι να εκχυλιστούν όλα τα συστατικά του στερεού από τον διαλύτη. Η συσκευή απόσταξης Soxhlet φέρει ορισμένα σημαντικά πλεονεκτήματα. Το δείγμα έρχεται πολλές φορές σε επαφή με τον διαλύτη συνεπώς ο συντελεστής μεταφοράς μάζας αλλάζει συνεχώς. Το δείγμα δεν έρχεται σε άμεση επαφή με την θερμότητα πράγμα που σημαίνει ότι δεν υπάρχει κίνδυνος καύσης του (Luque De Castro and Priego-Capote, 2010).

Η διαδικασία εκχύλισης πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τους Sluiter et al. (2005). Αρχικά το πορώδες υλικό (κουκούλι) ζυγίζεται και στην συνέχεια τοποθετείται το ξηρό δείγμα SBP-FS μέσα σε αυτό. Με την χρήση βαμβακιού σφραγίζεται η επιφάνεια του και ζυγίζεται ξανά. Ανάλογα με το συστατικό το οποίο περιέχει γίνεται και η επιλογή κατάλληλου διαλύτη. Για παράδειγμα στην εκχύλιση λιπαρών οξέων ο διαλύτης είναι το εξάνιο ενώ σε υδατοδιαλυτά συστατικά το νερό. Όπως προαναφέραμε ο διαλύτης τοποθετείται σε μια σφαιρική γυάλινη φιάλη και θερμαίνεται μέσω ενός θερμαντικού μανδύα. Η θερμοκρασία του μανδύα ρυθμίζεται με τέτοιο τρόπο ώστε μέσα σε 24 ώρες να πραγματοποιούνται 4-5 σιφωνισμοί της συσκευής. Εάν ο διαλύτης είναι το νερό το εκχύλισμα τοποθετείται σε ογκομετρική φιάλη, συμπληρώνεται μέχρι τα 200 mL και αναλύεται με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC). Με την ολοκλήρωση της εκχύλισης, αφαιρείται το πορώδες υλικό, γίνεται λυοφιλοποίηση και στη συνέχεια ζυγίζεται. Η περιεκτικότητα του δείγματος σε εκχυλίσιμη ύλη εκφράζεται ως εξής (3):

$$\text{εκχυλισμένα συστατικά}\% = \frac{\text{ξηρό δείγμα πριν την εκχύλιση (g)} - \text{ξηρό δείγμα μετά την εκχύλιση (g)}}{\text{ξηρό δείγμα πριν την εκχύλιση (g)}} 100 \quad (3)$$

3.5.4 Προσδιορισμός δομικών πολυσακχαριτών και λιγνίνης

Η μέθοδος η οποία χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό δομικών πολυσακχαριτών και λιγνίνης παρέχεται από το Εθνικό Εργαστήριο Ανανεώσιμων Πηγών Ενέργειας (National Renewable Energy Laboratory "NREL") σύμφωνα με τους Sluiter et al. (2008). Το δείγμα SBP το οποίο χρησιμοποιείται θα πρέπει να είναι απαλλαγμένο από εκχύλισμα συστατικά, για αυτό τον λόγο θα υποβληθεί σε εκχύλιση των συστατικών με την συσκευή απόσταξης Soxhlet.

Στην συνέχεια 300 mg SBP-FS, ζυγίζονται και υποβάλλονται σε όξινη υδρόλυση δύο σταδίων. Συγκεκριμένα τα δείγματα τοποθετούνται σε γυάλινα παχύτοιχα φιαλίδια υψηλής πίεσης στα οποία προστίθενται 3 mL 72% (v/v) θειικού οξέος (H₂SO₄), παραμένοντας για μια ώρα με μαγνητικό αναδευτήρα στους 30 °C. Με το πέρας του χρόνου το εναιώρημα αραιώθηκε σε τελική συγκέντρωση 4% (v/v) με την προθήκη 84 mL απεσταγμένου νερού, με τελικό όγκο διαλύματος 86,73 mL. Το δεύτερο στάδιο της

υδρόλυσης περιλαμβάνει την τοποθέτηση των γυάλινων παχύτοιχων φιαλιδίων υψηλής πίεσης στο αυτόκλειστο για 60 λεπτά στους 121,1 °C. Παράλληλα η όλη διαδικασία διεξάγεται επίσης και για ένα πρότυπο διάλυμα σακχάρων γνωστής συγκέντρωσης (Calibration Verification Standard-CVS), για τον υπολογισμό του ποσοστού των σακχάρων που αφαιρέθηκαν κατά την όξινη υδρόλυση (πρότυπα ανάκτησης σακχάρου-SRS). Μετά από μια ώρα και μόλις τα δείγματα ήλθαν σε θερμοκρασία δωματίου διηθήθηκαν με την χρήση αντλίας κενού και ειδικά προ ζυγισμένα φίλτρα (Glass fibers). Τα φίλτρα μαζί με την εναπομείναν ποσότητα στερεού μεταφέρονται σε προζυγισμένες κάψες πορσελάνης και τοποθετούνται σε φούρνο στους 80 °C για 24 h για την πλήρη απομάκρυνση της υγρασίας. Στην συνέχεια μεταφέρονται σε ξηραντήρα μέχρι να επανέλθουν σε θερμοκρασία δωματίου και επαναζυγίζονται. Τέλος τοποθετούνται σε κλίβανο στους 575 °C για 6 ώρες και επαναζυγίζονται. Η διαφορά των δύο μετρήσεων, χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό της ποσότητας της αδιάλυτης λιγνίνης (AIL, %).

Το υδρόλυμα που απομονώθηκε κατά τη διήθηση, ογκομετρήθηκε και μετρήθηκε φωτομετρικά με φασματοσκοπία UV-Vis (Shimadzu UV – 1900i) στα 280 nm. Ο υπολογισμός της περιεκτικότητας σε διαλυτή λιγνίνη (ASL, %) του δείγματος πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με την εξίσωση (4):

$$ASL(\%) = \left(abs * V * \frac{Dil}{\epsilon} * M * pathlength \right) * 100 \quad (4)$$

Όπου:

abs: Απορρόφηση του δείγματος,

V: Όγκος του φιλτραρισμένου δείγματος,

Dil: Αραίωση = $\frac{\text{Όγκος δείγματος} + \text{Όγκος αραιωμένου διαλύτη}}{\text{Όγκος δείγματος}}$

ϵ : Απορρόφηση του δείγματος στο μήκος κύματος που έχουμε ορίσει,

M: Μάζα στερεού δείγματος στο αρχικό στάδιο

Pathlength: Πάχος UV-V κύτταρο.

Η συνολική ποσότητα λιγνίνης σε δείγμα το οποίο είναι απαλλαγμένο από εκχυλίσημα συστατικά υπολογίζεται σύμφωνα με την εξίσωση (5):

$$Lignin_{ext.free} \% = AIL\% + ASL\% \quad (5)$$

Για τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό των δομικών υδατανθράκων του δείγματος χρησιμοποιήθηκε HPLC, εξοπλισμένη με στήλη Shodex SP0810 στους 60 °C και ταχύτητα ροής 0,8 mL/min με απεσταγμένο νερό ως κινητή φάση. Αναλυτικότερα, 10 mL διηθήματος από κάθε δείγμα, απομονώθηκαν και εξουδετερώθηκαν με την χρήση ανθρακικού ασβεστίου (CaCO₃), έως ότου το pH να φτάσει την τιμή των ορίων 5-5,5 με σκοπό να αποφευχθεί η καθίζηση των σακχάρων σε υψηλότερες τιμές pH. Το εξουδετερωμένο διάλυμα φυγοκεντρήθηκε (10 λεπτά, 9000 rpm, 4 °C) και το υπερκείμενο διηθήθηκε με σκοπό τον προσδιορισμό σακχάρων με χρήση HPLC.

Για να υπολογίσουμε την συγκέντρωση των σακχάρων, πρώτα θα πρέπει να υπολογιστεί ο ρυθμός ανάκτησης τους, διαιρώντας την προσδιορισμένη με HPLC συγκέντρωση διαλύματος ζάχαρης πριν την επεξεργασία σε αυτόκλειστο, με την παρατηρούμενη συγκέντρωση μετά την επεξεργασία (πρότυπα ανάκτησης ζάχαρης - SRS) σύμφωνα με την εξίσωση (6):

$$R_{sugar} \% = \frac{\text{Προσδιορισμένη συγκέντρωση με HPLC } (\frac{mg}{L})}{\text{Πρότυπη συγκέντρωση σακχάρων πριν την υδρόλυση } (\frac{mg}{L})} * 100 \quad (6)$$

Ο ρυθμός ανάκτησης σακχάρου, χρησιμοποιείται με σκοπό την διόρθωση της συγκέντρωσης κάθε σακχάρου ανά δείγμα σύμφωνα με την εξίσωση (7), λαμβάνοντας υπόψιν και την πιθανή αραίωση.

$$\text{Συγκέντρωση σακχάρων}_{\text{υδρολυμένο δείγμα}} = \frac{\text{Συγκέντρωση σακχάρων}_{\text{HPLC}} * \text{Αραίωση}}{\frac{\% R_{sugar}}{100}} \quad (7)$$

Στην συνέχεια για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης των πολυμερών των σακχάρων πριν την υδρόλυση, χρησιμοποιείται ένας διορθωτικός παράγοντας ώστε να ληφθεί υπόψιν η απώλεια ενός μορίου νερού προς σχηματισμό ενός γλυκοσιδικού δεσμού. Ο συντελεστής αυτός είναι ίσος με 0,88 (132/150) για σάκχαρα με 5 άτομα άνθρακα (ξυλόζη, αραβινόζη) και 0,9 (162/180) για σάκχαρα με 6 άτομα άνθρακα (γλυκόζη, γαλακτόζη και μαννόζη). Αυτό δίνει τη συγκέντρωση κάθε πολυσακχαρίτη σε g/L. Η συγκέντρωση της γλυκόζης, που υπολογίζεται όπως περιγράφεται παραπάνω,

χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης της κυτταρίνης, ενώ το άθροισμα των συγκεντρώσεων των άλλων πολυσακχαριτών αποτελεί την ημικυτταρίνη.

3.5.5 Προσδιορισμός πρωτεΐνης

Η ποσότητα του δείγματος σε πρωτεΐνη προσδιοριστική με την μέθοδο Kjeldahl η οποία αποτελείται από τρία στάδια τα οποία περιλαμβάνουν την χώνευση, την απόσταξη και την τιτλοδότηση. Το οργανικό υλικό χωνεύεται με την χρήση πυκνού θειικού οξέος (H_2SO_4), υψηλή θερμοκρασία και πυκνό θειικό νάτριο (Na_2SO_4), με σκοπό την αύξηση του σημείου βρασμού και έναν καταλύτη για να επιταχύνει την αντίδραση. Αυτή η διαδικασία μετατρέπει όλο το άζωτο στο δείγμα σε θειικό αμμώνιο $(NH_4)_2SO_4$. Το υπόλειμμα εξουδετερώνεται με την εισαγωγή $NaOH$, το οποίο μετατρέπει το $(NH_4)_2SO_4$ σε αμμωνία (NH_4). Στο δεύτερο στάδιο πραγματοποιείται απόσταξη της (NH_4) η οποία συλλέγεται σε φιάλη που περιέχει περίσσεια βορικού οξέος, με αποτέλεσμα το σχηματισμό βορικού αμμωνίου. Τα παραγόμενα ανιόντα βορικού οξέος τιτλοδοτούνται με κατάλληλο δείκτη για το προσδιορισμό της συνολικής ποσότητας αζώτου στο δείγμα. Για τον προσδιορισμό της συνολικής πρωτεΐνης του δείγματος απαιτείται η μετατροπή του συνολικού αζώτου σε πρωτεΐνη. Δεδομένου ότι η πλειονότητα των πρωτεϊνών περιέχει 16% άζωτο, ο συντελεστής μετατροπής που χρησιμοποιείται είναι 6,25 (Jiang et al., 2014).

Για την ποσοτικοποίηση της πρωτεΐνης, χρησιμοποιήθηκε μονάδα απόσταξης Kjeltak TM 8100 (Foss, Δανία). Το ξηρό δείγμα ζυγίστηκε σε ρυζόχαρτο και τοποθετήθηκε σε ειδικό σωλήνα πέψης. Στην συνέχεια εισήχθησαν 25 mL θειικού οξέος και ένα δισκίο Kjeldahl χημικής σύστασης Na_2SO_4 96,5%, $CuSO_4$ 1,5% και Se 2,0%. Η πέψη διεξήχθη στους 430 °C για 1 ώρα. Μόλις οι σωλήνες επήλθαν σε θερμοκρασία δωματίου, ακολούθησε η διαδικασία της απόσταξης. Σε αυτό το στάδιο προστίθενται 30 mL H_2O και 100 mL $NaOH$ (40%, w/v). Το υγρό που προκύπτει μετά την απόσταξη συλλέγεται σε κωνική φιάλη όπου έχουν προηγουμένως προστεθεί 50 mL διαλύματος βορικού οξέος που περιέχει 40 g βορικού οξέος, 7 mL δείκτη ερυθρού του μεθυλίου (0,1%) και 10 mL πράσινου δείκτη βρωμοκρεσόλης (0,1%) για ένα λίτρο διαλύματος. Τέλος, τα βορικά ανιόντα τιτλοδοτήθηκαν με ένα πρότυπο διάλυμα HCl 0,1 N. Ο όγκος του τυπικού

διαλύματος HCl που καταναλώνεται κατά την τιτλοδότηση μεταφράζεται σε ολικό άζωτο σύμφωνα με την εξίσωση (8):

$$\text{Άζωτο}\% = \frac{(\text{mL Δείγματος} - \text{mL τυφλού}) * N * 1.4007}{\text{mg ξηρό δείγμα}} * 100 \quad (8)$$

Όπου:

N: Κανονικότητα διαλύματος HCL,
mL από 0.1 N HCl χρησιμοποιούνται στην τιτλοδότηση του
mL δείγματος: δείγματος,
mL τυφλού: mL of 0.1 N HCl χρησιμοποιούνται στην τιτλοδότηση του τυφλού
διαλύματος.

Το ποσοστό της πρωτεΐνης που περιέχεται στο δείγμα υπολογίζεται σύμφωνα με την εξίσωση (9):

$$\text{Πρωτεΐνη}\% = \text{Άζωτο}\% * 6.25 \quad (9)$$

Όπου:

6.25 συντελεστής μετατροπής οργανικού αζώτου σε πρωτεΐνες

3.6 Χαρακτηρισμός και απόδοση πηκτίνης

Ο χαρακτηρισμός των πηκτινών ως προς το ισοδύναμο βάρος (equivalent weight, EW), την περιεκτικότητα σε μεθοξύλιο (methoxyl content, MeO), την περιεκτικότητα σε ολικό ανυδροουρονικό οξύ (total anhydrouronic acid content, AUA) και τον βαθμό εστεροποίησης (Degree of esterification, DE) διεξήχθη σύμφωνα με τη διαδικασία που περιγράφεται από τους Nguyen και Pirak (2019).

3.6.1 Απόδοση

Το βάρος της παραγόμενης πηκτίνης προς την αρχική ποσότητα στερεού αντιπροσωπεύει την απόδοση της πηκτίνης σύμφωνα με την παρακάτω εξίσωση (10):

$$\text{Απόδοση}\% = \frac{\text{Μάζα παραγόμενης πηκτίνης (g)}}{\text{Μάζα αρχικής ποσότητας στερεού SBP (g)}} * 100 \quad (10)$$

Επιπλέον, η απόδοση ανάκτησης της πηκτίνης που εκφράζεται σε ισοδύναμα γαλακτουρονικού οξέος από το αρχικό στερεό SBP και από το στερεό SBP-FS, υπολογίστηκε σύμφωνα με τις ακόλουθες εξισώσεις (11) και (12):

$$\text{Απόδοση ανάκτησης}\% = \frac{\text{Μάζα εκχυλισμένης πηκτίνης (g)}^1}{\text{Μάζα πηκτίνης στερεού δείγματος (g)}^1} * 100 \quad (11)$$

$$\text{Συνολική απόδοση ανάκτησης}\% = \frac{\text{Μάζα εκχυλισμένης πηκτίνης (g)}^1}{\text{Μάζα πηκτίνης στο αρχικό στερεό (g)}^1} 100 \quad (12)$$

¹ισοδύναμα γαλακτουρονικού οξέος

3.6.2 Περιεκτικότητα σε d-γαλακτουρονικό οξύ

Η περιεκτικότητα d-γαλακτουρονικού οξέος, τόσο στο αρχικό στερεό όσο και στην εκχυλισμένη πηκτίνη, προσδιοριστικέ σύμφωνα με την μέθοδο των Melton & Smith (2001) η οποία αποτελείται από δυο στάδια, της υδρόλυσης και της φωτομετρικής. Στο πρώτο στάδιο 5 mg από κάθε δείγμα ζυγίζονται σε βόριο-πυριτικούς γυάλινους σωλήνες. Για την δημιουργία ενός τυφλού διαλύματος χρησιμοποιήθηκε ένας σωλήνας που περιείχε 1 mL πυκνού H₂SO₄. Στους σωλήνες που περιέχουν δείγμα επίσης προστέθηκε 1 mL πυκνού H₂SO₄ όπου, στην συνέχεια ασφαλιστήκαν και τοποθετήθηκαν σε λουτρό πάγου. Για την διευκόλυνση της ανάδευσης χρησιμοποιήθηκαν μικροί μαγνητικοί ράβδοι. Όλοι οι σωλήνες τοποθετήθηκαν μέσα σε ένα δοχείο με πάγο, τοποθετημένο πάνω σε έναν μαγνητικό αναδευτήρα. Τα περιεχόμενα αναδεύτηκαν για διάρκεια 5 λεπτών. Επιπλέον 1 mL πυκνού H₂SO₄ εισήχθη σε όλους τους σωλήνες ακολουθούμενο από άλλη μια περίοδο ανάδευσης 5 λεπτών εντός πάγου. Στην συνέχεια, 0,5 mL νερού τοποθετήθηκαν στους σωλήνες και η ανάδευση διατηρήθηκε εντός πάγου για 5 λεπτά. Το βήμα αυτό επαναλήφθηκε άλλη μια φορά. Για να διευκολυνθεί η διαδικασία της

αραιώσης σε όλους τους σωλήνες προστέθηκε νερό με στόχο τον τελικό όγκο των 10 mL σε κάθε ογκομετρική φιάλη. Στο δεύτερο στάδιο, αυτό της φωτομέτρησης, εφαρμόστηκε η ακόλουθη διαδικασία. Για κάθε προϊόν υδρόλυσης δημιουργήθηκε μια διάταξη που περιλαμβάνει τρεις σωλήνες από βοριοπυριτικό γυαλί. Επιπλέον, δύο σωλήνες χρησιμοποιήθηκαν για το τυφλό διάλυμα. Δείγματα 400 μL , τόσο από το υπερκείμενο όσο και από το τυφλό τοποθετούνται στους αντίστοιχους σωλήνες. Ένας όγκος 40 μL διαλύματος συγκέντρωσης 4 M σουλφαμικού οξέος/σουλφαμικού καλίου σε pH 1,6 εισήχθη σε όλους τους σωλήνες. Με το πέρας της διαδικασίας κάθε σωλήνας ξεχωριστά υποβλήθηκε σε στροβιλισμό. Στην συνέχεια τοποθετήθηκαν 2,4 mL ενός διαλύματος τετραβορικού νατρίου σε θειικό οξύ 75 mM με το περιεχόμενο να υποβάλλεται σε έντονο στροβιλισμό. Όλοι οι σωλήνες, τοποθετήθηκαν σε υδατόλουτρο ρυθμισμένο στους 100 °C (βρασμός), για διάρκεια 20 λεπτών. Για την αποτροπή της συμπύκνωσης του δείγματος εισήχθησαν πλαστικά πώματα. Μετά τη θερμική επεξεργασία οι σωλήνες βυθίζονται σε λουτρό πάγου για δέκα λεπτά. Σε κάθε δείγμα δυο από τους τρεις σωλήνες συμπληρώθηκαν με 80 μL διαλύματος m-υδροξυδιφαινυλίου. Ο τρίτος σωλήνας κάθε δείγματος έλαβε μια προσθήκη 80 μL NaOH 0,5% (χρησιμοποιώντας το ως τυφλό δείγμα). Τα περιεχόμενα υποβλήθηκαν σε τρεις κύκλους στροβιλισμού για να εξασφαλιστεί πλήρης ανάμιξη. Σε διάστημα 5-10 λεπτών εμφανίζεται ένα ροζ χρώμα δείχνοντας σταθερότητα για περίπου 1 ώρα. Η απορρόφηση των δειγμάτων μετρείται στα 525 nm μεταξύ 10 λεπτών έως 1 ώρας. Οι τιμές που αντιστοιχούν στα τυφλά δείγματα, αφαιρούνται από τις τιμές των δειγμάτων. Σε κάθε παρτίδα δειγμάτων προετοιμάστηκε και μια πρότυπη καμπύλη, στην οποία βασίστηκε ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης d-γαλακτουρονικού οξέος.

3.6.3 Ισοδύναμο βάρος πηκτίνης

Για τον υπολογισμό του ισοδύναμου βάρους τοποθετήθηκαν 0,5 g πηκτίνης σε μια κωνική φιάλη των 250 mL και διαβρέχθηκαν με 5 mL αιθανόλης. Για την ενίσχυση του τελικού σημείου της αντίδρασης προστέθηκε 1 g χλωριούχου νατρίου (NaCl). Ακολούθως, προστέθηκαν 100 mL απεσταγμένου νερού και 6 σταγόνες νερού μεθυλικού κόκκινου (methyl-red). Η τιτλοδότηση πραγματοποιήθηκε σταδιακά με 0,1 N πρότυπο

NaOH μέχρι ο δείκτης να αποκτήσει ροζ χρώμα (σε pH 7,5) και στη συνέχεια το διάλυμα αφέθηκε να σταθεροποιηθεί για τουλάχιστον 30 δευτερόλεπτα. Το εξουδετερωμένο διάλυμα χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό της μεθοξυλικής περιεκτικότητας. Ο υπολογισμός του ισοδύναμου βάρους (EW) έγινε με την εξίσωση (13):

$$\text{Ισοδύναμο βάρος} = \frac{\text{Βάρος δείγματος (g)} \cdot 1000}{\text{mL αλκαλίου} \cdot \text{κανονικότητα αλκαλίου}} \quad (13)$$

3.6.4 Περιεκτικότητα της πηκτίνης σε μεθοξυλική ομάδα

Η περιεκτικότητα της πηκτίνης SBP σε μεθοξυλική ομάδα προσδιορίστηκε ως εξής: Αρχικά, προστέθηκαν 25 mL διαλύματος NaOH 0,25 N στο διάλυμα που είχε τιτλοδοτηθεί από το πείραμα για το ισοδύναμο βάρος (κεφάλαιο 3.6.3). Το μείγμα ανακινήθηκε καλά και αφέθηκε να παραμείνει για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου μέσα σε κλειστή φιάλη. Στη συνέχεια, προστέθηκαν 25 mL διαλύματος HCl 0,25 N και έγινε τιτλοδότηση μέχρι να εμφανιστεί το ίδιο ροζ χρώμα όπως πριν. Για τον υπολογισμό της περιεκτικότητας σε μεθοξυλική ομάδα, χρησιμοποιήθηκε η εξής εξίσωση (14):

$$\text{MeO}\% = \frac{\text{Ισοδυναμία γραμμοϊόντων NaOH} \cdot 31 \cdot 100}{\text{Βάρος δείγματος (mg)}} \quad (14)$$

Όπου:

31: μοριακό βάρος μεθοξυλικής ομάδας.

3.6.5 Περιεκτικότητας σε ανυδρογαλακτουρονικό οξύ (AUA)

Ο υπολογισμός της περιεκτικότητας σε ανυδρογαλακτουρονικό οξύ (AUA) ήταν ένα κρίσιμο βήμα για την αξιολόγηση της καθαρότητας και του βαθμού εστεροποίησης (DE) χρησιμοποιώντας το ισοδύναμο βάρος (EW) και το μεθοξυλικό περιεχόμενο (MeO). Η συνολική περιεκτικότητα της πηκτίνης σε AUA προσδιορίστηκε με την παρακάτω εξίσωση (15):

$$\text{AUA}\% = \frac{176 \cdot 0,1z \cdot 100}{w \cdot 1000} + \frac{176 \cdot 0,1y \cdot 100}{w \cdot 1000} \quad (15)$$

Όπου:

- 176: μοριακή μονάδα του AUA (1 U) σε g,
- z: mL NaOH από τον προσδιορισμό του ισοδύναμου βάρους,
- y: mL NaOH από τον προσδιορισμό του μεθοξυλικού περιεχομένου,
- w: βάρος του δείγματος.

3.6.6 Βαθμός εστεροποίησης πηκτίνης

Για τον προσδιορισμό του βαθμού εστεροποίησης της πηκτίνης, ακολουθήθηκε η εξής διαδικασία. Αρχικά, 50 mg πηκτίνης σε σκόνη αναμείχθηκαν με ισοπροπανόλη 65% και διαλύθηκαν σε 10 mL απεσταγμένου νερού. Το διάλυμα πηκτίνης που προήλθε υποβλήθηκε σε τιτλοδότηση χρησιμοποιώντας διάλυμα NaOH 0,1 N (a mL) μέχρι να επιτευχθεί το pH 7,5. Στη συνέχεια, στο διάλυμα προστέθηκε 30 mL NaOH 0,1 N και αφέθηκε για 30 λεπτά και μετά προστέθηκαν 30 mL HCl 0,1 N. Ακολούθως, το διάλυμα πηκτίνης υποβλήθηκε σε άλλη τιτλοδότηση με NaOH 0,1 N (b mL) για να επιτευχθεί το pH 7,5. Ο βαθμός εστεροποίησης (DE) της πηκτίνης υπολογίστηκε με τη χρήση της εξής εξίσωσης (16):

$$DE\% = \left(\frac{b}{a} + b\right) * 100 \quad (16)$$

3.7 Προετοιμασία επικάλυψης πηκτίνης

Για την παρασκευή της επικάλυψης πηκτίνης, διαλύθηκαν 3,5% (w/v) πηκτίνη και γλυκερόλης (25% w/w της πηκτίνης) ως πλαστικοποιητής σε απιονισμένο νερό, με συνεχόμενη ανάδευση στους 70°C μέχρι να επιτευχθεί πλήρης ομοιογένεια του διαλύματος. Στη συνέχεια, προστέθηκε λαυρικός αργινικός εστέρας (N-lauroyl-L-arginine ethyl ester monohydrochloride, LAE) στο διάλυμα για να επιτευχθούν τελικές συγκεντρώσεις 0,5%, 1% και 2% (w/v) LAE στην τελική επικάλυψη.

3.8 Προετοιμασία και επεξεργασία δειγμάτων κοτόπουλου

Το κοτόπουλο χωριστικέ σε πέντε ομάδες, οι οποίες περιλάμβαναν την ομάδα ελέγχου (χωρίς επικάλυψη) και τέσσερις επιπλέον ομάδες, οι οποίες επικαλύφθησαν είτε με διάλυμα πηκτίνης (0% LAE) είτε με διάλυμα πηκτίνης ενισχυμένο με διάφορες συγκεντρώσεις λαυρικού αργινικού εστέρα LAE (0,5%, 1% και 2%).

Οι πέντε κατηγορίες δειγμάτων ήταν οι εξής:

- **Control:** Ομάδα ελέγχου, χωρίς επικάλυψη πηκτίνης.
- **Pectin:** 3,5% w/v πηκτίνη και 0,25 g γλυκερόλη/ g πηκτίνης.
- **Pectin + 0,5% LAE:** 3,5% w/v πηκτίνη, 0,25 g γλυκερόλη / g πηκτίνης και 0,5% w/v LAE.
- **Pectin + 1% LAE:** 3,5% w/v πηκτίνη, 0,25 g γλυκερόλη / g πηκτίνης και 1% w/v LAE.
- **Pectin + 2% LAE:** 3,5% w/v πηκτίνη, 0,25 g γλυκερόλη / g πηκτίνης και 2% w/v LAE.

Το κοτόπουλο εμβαπτίζονταν στο διάλυμά επικάλυψης για 15 λεπτά. Τα δείγματα αφήνονταν να στραγγίσουν για 3 ώρες στους 2°C. Στη συνέχεια, τα δείγματα συσκευάζονταν σε αεροστεγή σακούλες και αποθηκεύονταν υπό συνθήκες προσομοίωσης ψυχρής αλυσίδας (2-2,8°C) για περίπου 15 ημέρες. Τα δεδομένα θερμοκρασίας και χρόνου καταγράφηκαν προσεκτικά χρησιμοποιώντας έναν ακριβή καταγραφέα δεδομένων (Elitech RC-5 Temperature Data Logger).

3.9 Στερεά υποστρώματα

3.9.1 Μέτρηση Ολικής μικροβιακής χλωρίδας

Για τον προσδιορισμό της ολικής μικροβιακής χλωρίδας (Total Viable Count, TVC) χρησιμοποιείται στερεό υπόστρωμά το οποίο περιλαμβάνει 1 g/L γλυκόζη, 15 g/L βακτηριακό άγαρ, 2,5 g/L εκχύλισμα ζύμης, 5 g/L ενζυμικό χώνεμα καζεΐνης σε προπαρασκευασμένο μέσο της Condalab-Standard Methods Agar (PCA) ISO/APHA. 23,5 g μέσου αναμείχθηκε με 1000 mL απιονισμένου νερού σε ποτήρι ζέσεως με την

χρήση μαγνητικού αναδευτήρα. Στην συνέχεια το μείγμα αποστειρώθηκε στους 121,1°C για 15 λεπτά. Τέλος αποστειρωμένα άδεια τρυβλία επιστρώθηκαν υπό ασηπτικές συνθήκες.

3.9.2 Μέτρηση *Pseudomonas* spp

Για τον προσδιορισμό και την καταμέτρηση του στελέχους *pseudomonas* spp. στο κοτόπουλο χρησιμοποιήθηκε στερεό υπόστρωμά το οποίο περιλαμβάνει 16 g/L πεπτόνη, 13 g/L βακτηριακό άγαρ, 16 g/L θειικό κάλιο, 10 g/L ενζυμικό χώνεμα καζεΐνης, 1,4 g/L χλωριούχο μαγνήσιο σε προπαρασκευασμένο μέσο της Condalab-Pseudomonas CFC Agar Base ISO. 25,2 g μέσου αναμειχθηκε με 500 mL απιονισμένου νερού και 5 mL γλυκερόλης σε ποτήρι ζέσεως με την χρήση μαγνητικού αναδευτήρα. Στην συνέχεια το μείγμα αποστειρώθηκε στους 121,1°C για 15 λεπτά. Μετά την αποστείρωση, όταν το υπόστρωμά φτάσει στους 44-47°C, εισάγεται αντιβιοτικό CFC Supplement (Cat.6036). Τέλος αποστειρωμένα άδεια τρυβλία επιστρώθηκαν υπό ασηπτικές συνθήκες.

3.9.3 Μέτρηση *Listeria monocytogenes*

Για τον προσδιορισμό της *Listeria monocytogenes* χρησιμοποιείται στερεό υπόστρωμά το οποίο περιλαμβάνει 0,5 g/L γλυκόζη, 10 g/L βακτηριακό άγαρ, 0,8 g/L ασκουλίνη, 0,5 g/L κιτρικό-σίδηρο αμμώνιο, 1 g/L άμυλο καλαμποκιού, 10 g/L μαννιτόλη, 23 g/L πεπτόνη, 0,08 g/L φαινολικό κόκκινο, 5 g/L χλωριούχο νάτριο, 3 g/L εκχύλισμα ζύμης, 15 g/L χλωριούχο λίθιο σε προπαρασκευασμένο μέσο της Condalab-Listeria Agar Base Palcam ISO. 34,4 g μέσου αναμειχθηκε με 500 mL απιονισμένου νερού σε ποτήρι ζέσεως με την χρήση μαγνητικού αναδευτήρα. Στην συνέχεια το μείγμα αποστειρώθηκε στους 121,1°C για 15 λεπτά. Μετά την αποστείρωση, όταν το υπόστρωμά φτάσει στους 44-47°C, εισάγεται αντιβιοτικό *Listeria* selective Supplement (Cat.6004). Τέλος αποστειρωμένα άδεια τρύβλια επιστρώθηκαν υπό ασηπτικές συνθήκες.

3.10 Μικροβιολογική ανάλυση

Δείγματα από κοτόπουλο (10 g) μεταφέρθηκαν ασηπτικά σε αποστειρωμένα Blender Bags BagLight 400 mL (Interscience) με 90 mL αποστειρωμένου διαλύματος Ringer και

ομογενοποιήθηκαν με BagMixer 400 P Interscience Stomaker για 90 δευτερόλεπτα. Για κάθε δείγμα, παρασκευάστηκαν κατάλληλες δεκαδικές αραιώσεις στο διάλυμα Ringer για τις ακόλουθες μετρήσεις μικροοργανισμών: ολική μικροβιακή χλωρίδα και *Pseudomonas* spp, προσδιορίστηκαν χρησιμοποιώντας την τεχνική επιφανειακής επίστρωσης σε γλυκόζη, ζύμη, άγαρ (PCA) και βάση άγαρ για *Pseudomonas* spp. (CFC) αντίστοιχα, με χρόνο επώασης στους 25°C για 72 ώρες. Για τον υπολογισμό των *Pseudomonas* spp. έγινε προθήκη προσθήκη αντιβιοτικού (Κετριμίδη, Φουκιδίνη, Κεφαλοσπορίνη). Για τον προσδιορισμό του μικροοργανισμού *Listeria monocytogenes* χρησιμοποιήθηκε η τεχνική επιφανειακής επίστρωσης σε εκλεκτικό υπόστρωμα με βάση το άγαρ (PALCAM), με προσθήκη αντιβιοτικού (Πολυμυξίνη Β, Κυκλοεξιμίδη, Κεφαζιδίμη, Ναλιδιξικό οξύ) και χρόνο επώασης στους 37°C για 24-48 ώρες. Τα αραιωμένα δείγματα που προαναφέρθηκαν (10 g κοτόπουλο σε 90 mL διαλύματος Ringer), χρησιμοποιήθηκαν και για μέτρηση του pH. Το pH των ομογενοποιημένων δειγμάτων μετρήθηκε απευθείας σε θερμοκρασία δωματίου χρησιμοποιώντας το pH meter edge® HI2002 εξοπλισμένο με ψηφιακό ηλεκτρόδιο pH από γυάλινο σώμα (Hanna Instruments Inc.).

3.11 Βιολογικό υλικό και αντιδραστήρια

Το βιολογικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε για τον εμβολιασμό του κοτόπουλου προήλθε από ένα προπαρασκευασμένο cryovial. Το βακτηριακό στέλεχος *Listeria monocytogenes* παρασχέθηκε από τη συλλογή στελεχών του εργαστηρίου Μηχανικής και Επεξεργασίας Τροφίμων του Τμήματος Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Το στέλεχος αναγεννήθηκε σε υγρό υπόστρωμα L-PALCAM επιλεκτικό ως προς την *Listeria monocytogenes* (5 mg πολυμυξίνη Β, 12 mg κεφαζιδίμη, 2,5 mg ακριφλαβίνη), σύμφωνα με τους VAN NETTEN (2009) και επώαστηκε για 24-48 ώρες στους 37°C μία φορά το μήνα για να διατηρήσει τη βιωσιμότητά του.

Η δράση του LAE σε συγκέντρωση 1% έναντι της *L. monocytogenes* ελέγχθηκε με τεχνητή επιμόλυνση σε φιλέτο από κοτόπουλο. Το φορτίου του μικροοργανισμού *L.*

monocytogenes ήταν 10^7 CFU/g. 1 mL του στελέχους χρησιμοποιήθηκε ως εμβόλιο σε κομμάτια των 10 g. Τα κομμάτια αφέθηκαν για 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου σε θάλαμο κάθετης νηματικής ροής.

3.12 Μέτρηση χρώματος

Κατά τη διάρκεια διατήρησης των δειγμάτων από κοτόπουλο, οι παράμετροι χρώματος (L^* , a^* , b^*) αξιολογήθηκαν με τη χρήση του συστήματος CIELab και μετρήθηκαν με χρωματόμετρο (Eye-one Pro, X-Rite, Michigan, USA). Η βαθμονόμηση του οργάνου πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το λευκό πρότυπο ($L = 99,36$, $a = -0,12$, $b = -0,06$) για να εξασφαλιστεί η ακρίβεια. Ελήφθησαν κατά μέσο όρο 5 μετρήσεις για κάθε ομάδα. Συγκεκριμένα, προσδιορίστηκαν οι παράμετροι a^* , b^* , L^* κάθε δείγματος. Η τιμή L^* χαρακτηρίζει τη φωτεινότητα, την καθαρότητα του χρώματος σε κλίμακα 0-100, όπου το 100 αντιστοιχεί στη μέγιστη φωτεινότητα. Η τιμή a^* χαρακτηρίζει τη διαβάθμιση του χρώματος από πράσινο ($-a^*$) σε κόκκινο ($+a^*$) και η τιμή b^* χαρακτηρίζει τη διαβάθμιση από κίτρινο ($-b^*$) σε μπλε ($+b^*$).

Το ΔE είναι οι χρωματικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων ελέγχου και των επεξεργασμένων δειγμάτων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης. Υπολογίζεται σύμφωνα με την εξίσωση (17):

$$\Delta E = \sqrt{(L - L_0)^2 + (a - a_0)^2 + (b - b_0)^2} \quad (17)$$

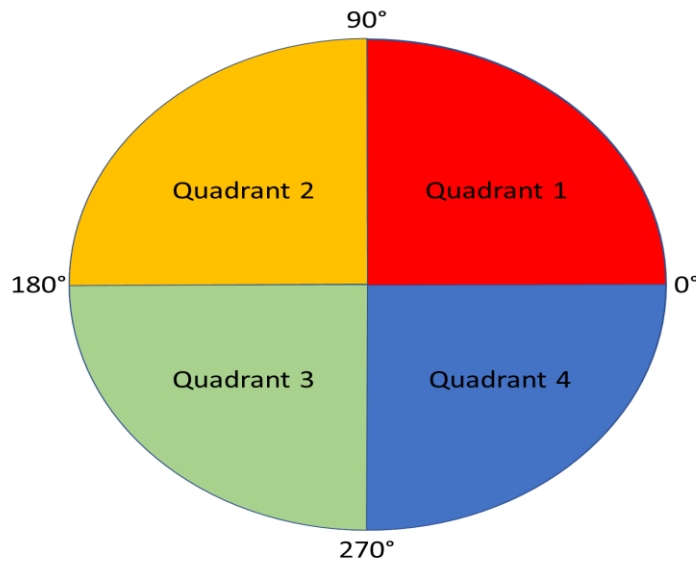
Όπου L , a , b είναι οι τιμές για τα επεξεργασμένα δείγματα και L_0 , a_0 , b_0 είναι οι τιμές για δείγματα ελέγχου.

Το χρώμα ο δείκτης λευκότητας υπολογίστηκαν με βάση τις μέσες τιμές a^* και b^* για σύμφωνα με τις παρακάτω εξισώσεις (18):

$$\text{Χρώμα} = (a^2 + b^2)^{1/2} \quad (18)$$

Η γωνία απόχρωσης υπολογίστηκε σύμφωνα με την εξίσωση (19), και βάση του χρωματικού κύκλου που απεικονίζεται στην Εικόνα 21

$$\text{Γωνία απόχρωσης: } h^\circ = \text{αντίστροφη εφαπτομένη} \times \left(\frac{b^*}{a^*}\right) \times \frac{360}{2 \times 3,14} \quad (19)$$



Εικόνα 21. Απόχρωση του χρώματος με τον αντίστοιχο αριθμό μοιρών.

3.13 Ανάλυση δεδομένων

Η μικροβιακή ανάπτυξη περιεγράφηκε χρησιμοποιώντας το μοντέλο ανάπτυξης Baranyi (Baranyi and Roberts, 1995, 1994). Για την προσαρμογή καμπύλης χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα DMFit. Οι κινητικές παράμετροι, ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης μ_{\max} (ημέρες⁻¹), η φάση λανθάνουσας ανάπτυξης (ημέρες) και η συγκέντρωση κυττάρων N_{\max} (log CFU/g), υπολογίστηκαν από το μοντέλο σε όλες τις συνθήκες που δοκιμάστηκαν.

4 Αποτελέσματα

4.1 Ανάπτυξη βιοδιυλιστηρίου

4.1.1 Χημική σύσταση πούλπας ζαχαρότευτλου (sugar beet pulp, SBP)

Η χημική σύσταση της αρχικής ποσότητας από (SBP), παρουσιάζεται λεπτομερώς στον πίνακα 4, όπως και η σύσταση του SBP που αναφέρεται στη διεθνή βιβλιογραφία. Πιο συγκεκριμένα η ποσότητα της κυτταρίνης ανερχόταν στο 22,3%, ενώ της ημικυτταρίνης στο 23,4%.

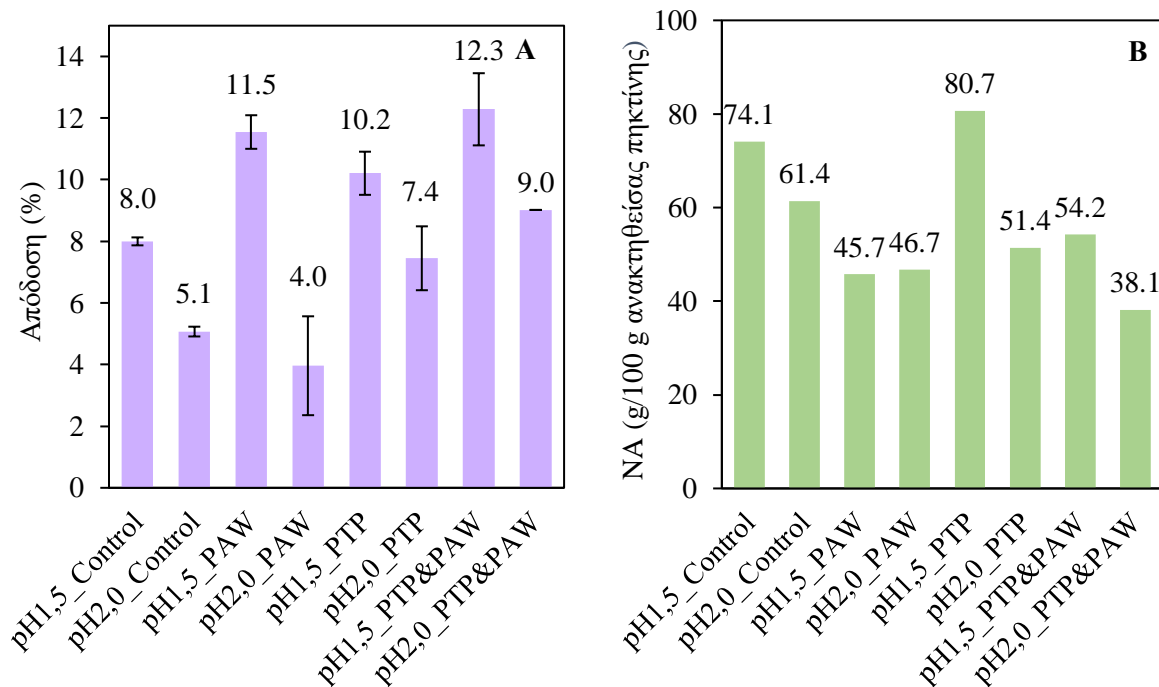
Πίνακας 4. Χημική σύσταση SBP συγκριτικά με την βιβλιογραφία

Συστατικά	Σύσταση (% ξηρή βάση)	Βιβλιογραφία	Πηγές
Πηκτίνη (ισοδύναμα GalA)	28,5 ± 4,3	15,0-25,0	(Bellido et al., 2015; Del Amo-Mateos et al., 2022)
Τέφρα	3,84 ± 0,05	3,0-4,0	(Martínez et al., 2009)
Πρωτεΐνη	9,9 ± 0,04	10,0-15,0	(Alexandri et al., 2019)
Λιγνίνη	4,4 ± 0,3	2,0-3,0	(Alexandri et al., 2019; Bellido et al., 2015)
Κυτταρίνη	22,3 ± 3,1	14,0-30,0	(Sarafidou et al., 2024)
Ημικυτταρίνη	23,4 ± 3,8	24,0-36,0	(Bellido et al., 2015; Sarafidou et al., 2024)
Ξυλάνη	2,8 ± 0,7	1-1,7	(Martínez et al., 2009; Narisetty et al., 2022)
Αραβινάνη	12 ± 1,7	12,0	(Sarafidou et al., 2024)
Γαλακτάνη	6,8 ± 1,0	6,7	(Del Amo-Mateos et al., 2022)
Μαννάνη	1,8 ± 0,4	1,1	(Martínez et al., 2009)

Η ημικυτταρίνη αποτελείται από αραβινάνη (12%), γαλακτάνη (6,8%), ξυλάνη (2,8%) και μαννάνη (1,8%). Η περιεκτικότητα σε λιγνίνη στο SBP είναι σχετικά χαμηλή (4,4%). Τέλος, η πηκτίνη, η οποία προσδιορίζεται ως ισοδύναμα γαλακτουρονικού οξέος κυμάνθηκε στο 28,5%, ενώ η πρωτεΐνη και η τέφρα στο 9,9% και 3,84% αντίστοιχα. Οι Alexandri et al. (2019), αναφέρει ότι το SBP περιέχει χαμηλή ποσότητα σε κυτταρίνη (23%), και ημικυτταρίνη (19,5%). Αντίθετα οι Sarafidou et al. (2024) ανέφεραν υψηλότερη περιεκτικότητα σε ημικυτταρίνη (25%), ακολουθούμενη από αραβινάνη (12%), γαλακτάνη (5,5%), μαννάνη (4,3%) και ξυλάνη (3,1%). Η περιεκτικότητα σε λιγνίνη και πηκτίνη σύμφωνα με τους Bellido et al. (2015) ήταν 2% και 27,3% αντίστοιχα παρόμοια με την παρούσα μελέτη.

4.1.2 Απόδοση πηκτίνης

Η απόδοση της πηκτίνης επηρεάστηκε τόσο από την χρήση πλάσματος όσο και από την ποσότητα NA που χρησιμοποιήθηκε. Στο πλαίσιο της πράσινης χημείας, η μείωση της χρήσης NA είναι ιδιαίτερα σημαντική, καθώς η χρήση NA έχει αρνητικές περιβαλλοντικές επιπτώσεις.



Εικόνα 22. Απόδοση πηκτίνης (%) (A), ποσότητα NA (g) /100 g παραχθείσας πηκτίνης (B)

Αναζητώντας πιο βιώσιμες λύσεις, εξετάζεται η αντικατάστασή του με εναλλακτικές μεθόδους, όπως η χρήση πλάσματος, η οποία μπορεί να προσφέρει υψηλή απόδοση και ποιότητα πηκτίνης με μειωμένη κατανάλωση χημικών και ενέργειας. Με τη μείωση της περιβαλλοντικής επιβάρυνσης και τη διατήρηση της αποτελεσματικότητας, αυτή η προσέγγιση καθιστά τη διαδικασία εκχύλισης πιο φιλική προς το περιβάλλον και σύμφωνη με τις αρχές της πράσινης χημείας. Βάση της Εικόνας 22, οι μεγαλύτερες αποδόσεις κυμάνθηκαν από 11,5 - 12,29% στις περιπτώσεις pH1,5_PAW και pH1,5_PTP&PAW, αντίστοιχα. Στην περίπτωση της χρήσης PAW κατά την ανάκτηση της πηκτίνης, η απόδοση αυξήθηκε κατά 44,4% σε pH 1,5 (pH1,5_Control και pH1,5_PAW), ενώ δεν επηρεάστηκε στο pH 2,0 (pH2,0_Control και pH2,0_PAW). Αύξηση στην απόδοση παρατηρήθηκε και στην περίπτωση της χρήσης PTP. Συγκεκριμένα, η απόδοση έφτασε το 10,2% (αύξηση 27,6%) σε pH ανάκτησης 1,5 και 7,4% (αύξηση 46,9%) σε pH ανάκτησης 2,0. Τέλος, η συνδυαστική χρήση PTP και PAW αύξησε την απόδοση κατά 56,6% σε pH 1,5 (pH1,5_PTP&PAW) και κατά 77,9% (pH2,0_PTP&PAW).

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η χρήση πλάσματος για την ανάκτηση της πηκτίνης εξαρτάται από τον τύπο του διαλύτη και τη διάρκεια της επεξεργασίας (Zielinska et al., 2022). Σε μελέτη των Zielinska et al. (2022), οι αποδόσεις πηκτίνης που έλαβαν από λοβούς μπάμιας με χρήση CP κυμαίνονταν μεταξύ 1,7 και 5,8 mg/100 g με τη διάρκεια επεξεργασίας να είναι από 5 έως και 30 δευτερόλεπτα. Ωστόσο οι Mao et al. (2019) αναφέρουν αποδόσεις πηκτίνης από φλούδα μανταρινιού έως και 27% χρησιμοποιώντας DBD και συνθήκες, 40 V, pH 2,0, χρόνο επεξεργασίας 5,5 λεπτά και αναλογία στερεού υγρού 1:30 (g/mL).

Η χρήση PAW είναι σχετικά μια νέα τεχνολογία με ενδιαφέροντες μηχανισμούς δράσης. Το PAW περιέχει διάφορα ενεργά σωματίδια, όπως ROS, RONS, O₃ και H₂O₂ (Zhou et al., 2020). Αυτά τα σωματίδια μπορούν να αλληλοεπιδράσουν με την πηκτίνη και να προκαλέσουν χημικές τροποποιήσεις, όπως οξειδωση και απομεθυλίωση. Το O₃ και το H₂O₂ μπορούν να οξειδώσουν τις λειτουργικές ομάδες της πηκτίνης, προκαλώντας αποικοδόμηση των γλυκοζιτικών δεσμών και μείωση του μοριακού βάρους της πηκτίνης. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε μεγαλύτερη διαλυτότητα στο νερό και άλλα διαλύματα,

διευκολύνοντας την ανάκτηση της πηκτίνης από φυτικές πηγές (Momeni et al., 2018). Η μελέτη των Chen et al. (2021) αναφέρει ότι η οξείδωση αυξάνει την απόδοση ανάκτησης πηκτίνης λόγω της βελτιωμένης διαλυτότητας των μικρότερων μορίων. Τα ευρήματα της παρούσας μελέτη συμφωνούν με τη βιβλιογραφία, αφού η χρήση PAW αύξησε ή δεν επηρέασε την απόδοση ανάκτησης της πηκτίνης.

Επιπροσθέτως, η διάταξη πλάσματος PTP οδηγεί σε θραύση του μακρομορίου της πηκτίνης, αλλάζοντας την δομή της με τους ακόλουθους τρόπους: α) εισαγωγή πολικών υδρόφιλων ομάδων (όπως ομάδες που περιέχουν οξυγόνο $-COOH$, $-COOCH_3$ και O -ακετυλεστέρα) β) διάσπαση γλυκοσιδικών δεσμών και γ) αφαίρεση ή αντικατάσταση λειτουργικών ομάδων με αποτέλεσμα αύξηση των υδρόφιλων ιδιοτήτων της πηκτίνης (Momeni et al., 2018). Σύμφωνα με τον Misra et al. (2019), το πλάσμα μπορεί να προκαλέσει οξείδωση σε ορισμένα σημεία της πηκτίνης, με αποτέλεσμα αλλαγές στην υδρόφιλη ή υδρόφοβη φύση της. Η οξείδωση των υδροξυλικών ομάδων μπορεί να δημιουργήσει νέες λειτουργικές ομάδες, όπως οι αλδεΐδες ή οι κετόνες, επηρεάζοντας την ικανότητα σχηματισμού γέλης και τη σταθερότητα των διαλυμάτων πηκτίνης.

Όσο αναφορά την χρήση NA, μικρότερη κατανάλωση παρατηρήθηκε στις περιπτώσεις pH2,0_PTP&PAW με 38,1 g/100 g παραχθείσας πηκτίνης και pH1,5_PAW με 45,7 g/100 g παραχθείσας πηκτίνης. Στην περίπτωση της χρήσης PAW κατά την ανάκτηση της πηκτίνης, η χρήση NA μειώθηκε κατά 38,2% σε pH 1,5 (pH1,5_Control και pH1,5_PAW), και κατά 23,8% σε pH 2,0 (pH2,0_Control και pH2,0_PAW). Αύξηση χρήσης NA παρατηρήθηκε στην περίπτωση της χρήσης PTP σε pH ανάκτησης 1,5 (pH1,5_PTP), και συγκεκριμένα έφτασε το 80,7% (αύξηση 9%). Αντιθέτως, σε pH ανάκτησης 2,0 η χρήση NA μειώθηκε κατά 16,2%. Τέλος, η συνδυαστική χρήση PTP και PAW μείωσε την χρήση NA κατά 26,8% σε pH 1,5 (pH1,5_PTP&PAW) και κατά 38% (pH2,0_PTP&PAW). Επομένως, η συνθήκη η οποία επιλέχθηκε στην παρούσα μελέτη είναι η pH1,5_PAW, τόσο λόγω της μεγάλης απόδοσης, όσο και για τη μείωση της ποσότητας του NA. Συνεπώς, η ενσωμάτωση της επεξεργασίας του SBP με πλάσμα και NA βοήθησε στη μείωση της ποσότητας του NA που χρησιμοποιήθηκε και στην αύξηση της απόδοσης της πηκτίνης που εκχυλίστηκε.

Στη βιβλιογραφία αναφέρεται ότι η χρήση NA ή άλλων όξινων παραγόντων μπορεί να βελτιώσει την απόδοση ανάκτησης της πηκτίνης, αλλά η ακριβής ποσότητα εξαρτάται από τις συνθήκες ανάκτησης και την πρώτη ύλη Freitas et al. (2020). Η πηκτίνη σε pH χαμηλότερο του ισοηλεκτρικού της σημείου ($pI=3,5$) βρίσκεται στη μη ιονισμένη μορφή της. Οι περισσότερες καρβοξυλικές ομάδες της πηκτίνης ($-COO^-$) είναι συνδεδεμένες με πρωτόνια (H^+), σχηματίζοντας ουδέτερα καρβοξυλικά οξέα ($-COOH$). Αυτή η μη ιονισμένη μορφή μειώνει την αλληλεπίδραση της πηκτίνης με νερό, λόγω της χαμηλής πολικότητας. Παρόλα αυτά, το όξινο περιβάλλον ευνοεί την ανάκτηση της πηκτίνης, αφού σε αυτές τις συνθήκες διασπώνται οι δεσμοί μεταξύ της πηκτίνης και των υπόλοιπων δομών του φυτικού κυττάρου (π.χ. κυτταρίνη και ημικυτταρίνη), αυξάνοντας την απόδοση ανάκτησης της (Voragen et al., 2009).

4.1.3 Χαρακτηρισμός πηκτίνης

Τα αποτελέσματα σχετικά με την περιεκτικότητα των πηκτινών σε GalA στις διαφορετικές συνθήκες ανάκτησης δείχνουν ότι το GalA είναι υψηλότερο στα δείγματα pH1,5_Control (70,2%) και pH2,0_Control (68,1%) σε σύγκριση με εκείνα που χρησιμοποιήθηκε η τεχνολογία πλάσματος. Όσον αφορά την επίδραση της χρήσης PAW, παρατηρείται μικρή μείωση στην περιεκτικότητα σε GalA, τόσο σε pH 1,5 (από 70,2% σε 67,2%) όσο και σε pH 2,0 (από 68,1% σε 65,7%). Η μείωση που παρατηρείτε είναι πιθανό να οφείλετε στην αλληλεπίδραση των παραγόμενων από το πλάσμα ROS και RNS με το GalA, έχοντας ως αποτέλεσμα την οξείδωση και αποικοδόμηση του (Misra et al., 2019). Η επίδραση του PTP μειώνει τις συγκεντρώσεις σε GalA στο pH1,5_PTP με 63,7% και pH2,0_PTP με 59,2%. Η μείωση του GalA με χρήση PTP έχει αναφερθεί βιβλιογραφικά από τους Zielinska et al. (2022), οι οποίοι μελέτησαν την ανάκτηση της πηκτίνης από λοβούς μπάμιας με χρήση PTP. Η χρήση του PTP μείωσε την ικανότητα ανάκτησης του GalA και αύξησε εκείνη της ραμνόζης (ανάκτηση περιοχής RGI). Τέλος ο συνδυασμός PTP με PAW (pH1,5_PTP&PAW και pH2,0_PTP&PAW) έδειξε ότι υπάρχει περαιτέρω μείωση συγκέντρωσης του GalA σε σύγκριση με τα δείγματα pH1,5_Control (μείωση 13,1%) και pH2,0_Control (μείωση 14,7%).

Οι τιμές GalA της παρούσας μελέτης συμφωνούν με εκείνα της βιβλιογραφίας. Πιο συγκεκριμένα, οι Ma et al., (2013) ανακτήθηκαν δείγματα πηκτίνης με τιμές GalA που κυμαίνονται από 60,2% έως 77,8% και οι Huang et al., (2017) μεταξύ 35,2% και 76,3%. Παρόλα αυτά, η πηκτίνη θεωρείται κατάλληλη για τα τρόφιμα, όταν το περιεχόμενο γαλακτουρονικού οξέος πρέπει να φτάνει ή να ξεπερνά το 65% σύμφωνα με τον Κανονισμό της ΕΕ αριθ. 231/2012 (Frosi et al., 2023). Επομένως, οι πηκτίνες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για περαιτέρω μελέτη της χρήσης τους σε τρόφιμα είναι οι pH1,5_Control, pH1,5_PAW, pH2,0_Control και pH2,0_PAW.

Πίνακας 5. Επίδραση του πλάσματος στο GalA καθώς και στην χημική σύσταση της πηκτίνης από SBP.

Διάταξη πλάσμα	GalA (%)	DE (%)	MeO (%)	AUA (%)
pH1,5_Control	70,2±3,5	91,1	36,4	95,4
pH1,5_PAW	67,2 ± 3,2	92,8	43,8	94,9
pH1,5_PTP	63,7 ± 2,7	93,4	41,9	93,8
pH1,5_PTP&PAW	59,9 ± 6,2	87,9	42,3	93,3
pH2,0_Control	68,1 ± 2,1	94,1	54,6	93,8
pH2,0_PAW	65,7 ± 2,6	97,2	54,3	94,1
pH2,0_PTP	59,2 ± 1,4	93,0	47,2	92,2
pH2,0_PTP&PAW	59,3±2,1	93,4	40,1	92,8

Οι DE των δειγμάτων που δεν έχουν υποστεί επεξεργασία με πλάσμα (pH1,5_Control και pH2,0_Control) είναι ίσοι με 91,1% και 94,1% πράγμα που τις χαρακτηρίζει ως πηκτίνες υψηλής μεθυλίωσης (HMP) (Chandel et al., 2022). Στη βιβλιογραφία αναφέρεται ότι σε λιγότερο όξινες συνθήκες (στην παρούσα μελέτη pH 2,0 έναντι pH 1,5), οι εστερικοί δεσμοί δεν διασπώνται εύκολα, με αποτέλεσμα να παρατηρείτε μεγαλύτερο ποσοστό εστεροποίησης (Knox et al., 1990). Τα αποτελέσματά της παρούσας μελέτης δείχνουν ότι με τη χρήση PAW το DE αυξάνει από 91,1% (pH1,5_Control) σε 92,8% (pH1,5_PAW), και από 94,1% (pH2,0_Control) σε 97,2% (pH2,0_PAW). Σε pH ανάκτησης 1,5, ο συνδυασμός PTP και PAW (pH1,5_PTP&PAW) έδωσε τον χαμηλότερο DE (87,9%), έναντι του δείγματος μόνο με πλάσμα (pH1,5_PTP: 93,4%). Η μείωση του DE μπορεί εύκολα να συσχετιστεί με την αύξηση της

περιεκτικότητας σε GalA πηκτίνης. Η τιμή DE αναφέρεται στην αναλογία των εστεροποιημένων μονάδων GalA προς τις συνολικές μονάδες GalA της πηκτίνης. Καθώς το DE μειώνεται, τα μη εστεροποιημένα υπολείμματα GalA αυξάνονται, κάτι που αντανακλάται στην περιεκτικότητα σε GalA της πηκτίνης (Basak and Annappure, 2022a). Οι Basak and Annappure, (2022b) και Momeni et al., (2018) αναφέρουν μείωση του DE της πηκτίνης με χρήση CP λόγω επίδρασης των παραγόμενων ROS και RNS στα εστεροποιημένα υπολείμματα GalA. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την απομεθυλίωση των GalA και τον ιονισμό της πηκτίνης, κάνοντάς την πιο υδατοδιαλυτή (Szymańska-Chargot et al., 2013). Παρόμοια αποτελέσματά αναφέρουν οι Momeni et al. (2018), όπου η επεξεργασία πηκτίνης με πλάσμα αζώτου προκάλεσε μείωση στον DE, από 73,43% σε 65,32%, επιβεβαιώνοντας ότι το πλάσμα οδηγεί σε απομεθυλίωση, δηλαδή μείωση των εστερικών ομάδων.

Οι διακυμάνσεις στις τιμές των MeO δείχνουν ότι τόσο το pH όσο και οι συνθήκες επεξεργασίας (PTP και PAW) έχουν σημαντική επίδραση στον βαθμό μεθυλίωσης της ανακτημένης πηκτίνης. Στο pH 1,5, η περιεκτικότητα σε MeO αυξάνεται από 36,4% (pH1,5_Control) σε 43,8% με χρήση PAW (pH1,5_PAW), ενώ για το ίδιο pH οι τιμές που προκύπτουν από το PTP και τον συνδυασμό PTP και PAW είναι ίσες με 41,9% και 42,3%, αντίστοιχα. Στο pH2,0_Control, η περιεκτικότητα σε MeO είναι υψηλότερη και ίση με 54,6%, παραμένει σταθερή με τη χρήση PAW (54,3%), ενώ μειώνεται με τη χρήση του PTP και συνδυασμό PTP και PAW με τιμές 47,2% και 40,1%, αντίστοιχα. Οι Su & Hughes (1998) αναφέρουν ότι η ανάκτηση πηκτίνης σε pH 1,5 και 85 °C αποδίδει MeO ίσο με 77,51% (Sun and Hughes, 1998). Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρονται από τους Geering, 1975, όπου η ανάκτηση πηκτίνης σε όξινες συνθήκες δίνει MeO έως και 77,68%. Οι πιο πρόσφατες μελέτες όπως αυτή των Chen et al. (2015) δείχνουν ότι οι φυσικοχημικές τροποποιήσεις της πηκτίνης υπό συνθήκες πλάσματος μπορεί να οδηγήσουν σε μεταβολές στις λειτουργικές ομάδες (π.χ. μεθοξυλομάδες) (Chen et al., 2015). Τέλος αξίζει να σημειωθεί η σχέση μεταξύ MeO και GalA, όπου η μείωση του MeO συνοδεύεται συνήθως από αύξηση της περιεκτικότητας σε GalA, καθώς οι μεθοξυλομάδες μετατρέπονται σε ελεύθερες καρβοξυλομάδες (Rombouts and Thibault, 1986). Όπως παρατηρούμε στον πίνακα 5, ο MeO των pH1,5_PAW, pH1,5_PTP, pH1,5_PTP&PAW, αυξήθηκε σε σχέση με το pH1,5_Control.

Η περιεκτικότητα σε AUA αντιπροσωπεύει την καθαρότητα της πηκτίνης, και η τιμή του δεν πρέπει να είναι κάτω από 65%. Ένα χαμηλό ποσοστό AUA υποδηλώνει ότι η εκχυλισμένη πηκτίνη μπορεί να περιέχει υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, άμυλο και σάκχαρα στις καθιζήσεις πηκτίνης (W. Elizabeth Devi., et al 2014). Σύμφωνα με τους Jong et al., (2023), η πηκτίνη μεγαλύτερης καθαρότητας (AUA >65%) εκχυλίζεται αποτελεσματικά με τη χρήση ανόργανων οξέων. Όπως φαίνεται στον Πίνακα 5, οι τιμές του AUA% κυμαίνονταν πάνω από 90% γεγονός που σημαίνει ότι, ανεξαρτήτως των συνθηκών εκχύλισης των πηκτινών, οι παραγόμενες πηκτίνες ήταν υψηλής καθαρότητας.

4.1.4 Επιλογή βέλτιστης συνθήκης για την εκχύλιση πηκτίνης

Η βέλτιστη συνθήκη η οποία επιλέχθηκε για την ανάπτυξη βιοδυστηρίου με σκοπό την εκχύλιση της πηκτίνης ήταν pH1,5_PAW. Συγκεκριμένα, η επιλογή των συνθηκών ανάκτησης βασίστηκε στην απόδοση της πηκτίνης την περιεκτικότητα σε GalA καθώς και την ποσότητα NA που απαιτείται για τη διεργασία.

Η απόδοση της πηκτίνης (Πίνακας 6) παρουσίασε μικρές διακυμάνσεις, με την υψηλότερη απόδοση να εμφανίζεται κατά την πρώτη ώρα ανάκτησης (11,5%), ενώ παρατηρήθηκε μια σταδιακή μείωση στις επόμενες ώρες 11,39% (2 h) και 10,38% (3 h), χωρίς να είναι σημαντικές. Η περιεκτικότητα σε GalA παρουσίασε μείωση με την πάροδο του χρόνου, από 62,3% την πρώτη ώρα σε 45,9% (2 h) και 25,5% (3 h). Η μείωση της περιεκτικότητας σε GalA θεωρείται ότι οφείλεται στην αποδόμηση της πηκτίνης κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας (Chen and Lahaye, 2021). Το DE δεν επηρεάστηκε με την αύξηση του χρόνου ανάκτησης της πηκτίνης και κυμαινόταν από 87,5% έως 92,8%. Τέλος, η περιεκτικότητα σε MeO και AUA παρουσίασαν σταθερές τιμές που κυμαίνονταν μεταξύ 43,8-48,2% και 94,9-96,9%. Οι Momeni et al. (2018) αναφέρουν ότι η τεχνολογία πλάσματος έχει ελάχιστη επίδραση στην περιεκτικότητα MeO, γεγονός που επιβεβαιώνει τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης. Συμπερασματικά, η διεργασία ανάκτησης πηκτίνης με χρήση PAW μπορεί να πραγματοποιηθεί για 1 ώρα, με σκοπό να μην επηρεάζονται αρνητικά η απόδοση και ιδιότητες της, ενώ ταυτόχρονα να μπορεί να χρησιμοποιηθεί περαιτέρω για την χρήση της σε τρόφιμα.

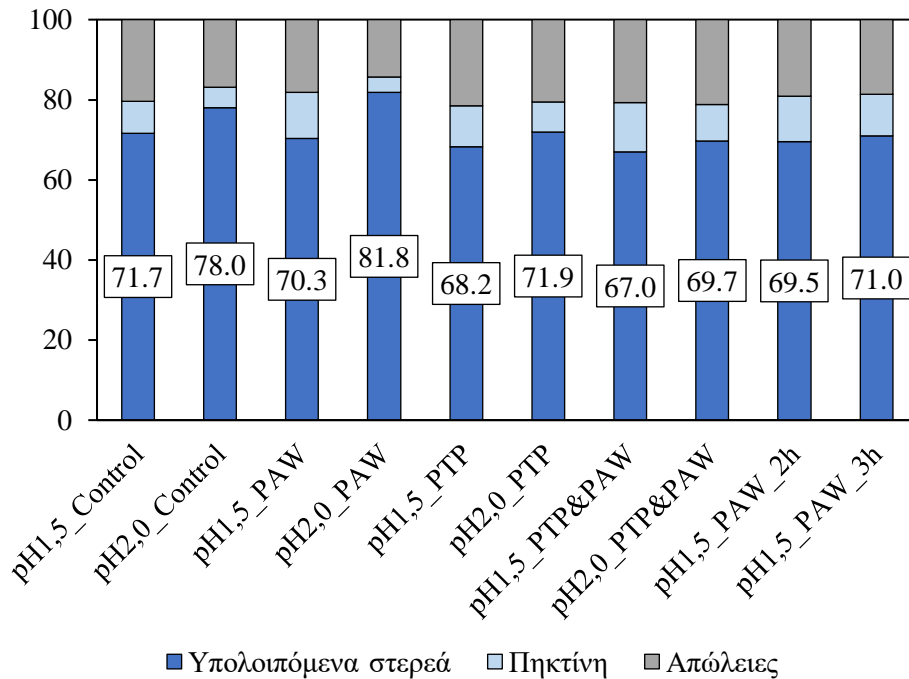
Πίνακας 6. Απόδοση πηκτίνης, ποσότητα NA (g) που απαιτήθηκε για παραγωγή 100 g πηκτίνης και χημική σύσταση πηκτίνης μέσω της ανάκτησης pH1.5_AW σε διαφορετικούς χρόνους.

Διάταξη πλάσμα	Χρόνος (ώρες)	Απόδοση (%)	g NA/ 100 g ανακτηθείσας πηκτίνης	GalA (%)	DE (%)	MeO (%)	AUA (%)
pH1,5_PAW	1	11,5±0.54	45,74	67,2	92,8	43,8	94,9
	2	11,39±1,2	50,36	45,9	87,5	48,2	96,9
	3	10,38±1,8	45,12	25,5	90,4	43,4	95,9

4.1.5 Υπολειπόμενο στερεό

Η χημική σύσταση των υπολειπόμενων στερεών που προέκυψαν μετά την ανάκτηση των πηκτινών προσδιορίστηκε με σκοπό τη μελέτη της επίδρασης της διεργασίας στο SBP στα πλαίσια ανάπτυξης βιοδυλιστηρίου. Σύμφωνα με την Εικόνα 23, όταν η ανάκτηση της πηκτίνης πραγματοποιήθηκε σε pH 2,0, η μάζα των υπολειπόμενων στερεών ήταν μεγαλύτερη σε σύγκριση με το pH ανάκτησης 1,5. Με τη χρήση PAW, και στις δύο υπό μελέτη τιμές pH, υπήρξε μια μικρή διαφορά στις μάζες των υπολειπόμενων στερεών, η οποία ενδεχομένως δεν είναι στατιστικά σημαντική. Πιο συγκεκριμένα, η συνθήκη pH1,5_PAW έδωσε 70,3 g στερεών (από 71,7 g με τη συνθήκη pH1,5_Control) και η pH2,0_PAW έδωσε 81,8 g στερεών (από 78,0 g με τη συνθήκη pH2,0_Control). Μείωση παρατηρήθηκε όταν το SBP επεξεργάστηκε με PTP με μετέπειτα ανάκτηση της πηκτίνης σε pH 2,0, με τα υπολειπόμενα στερεά να φτάνουν τα 71,9 g (pH2,0_PTP), ενώ δεν παρατηρήθηκε σημαντική μείωση σε pH ανάκτησης 1,5 (68,2 g, pH1,5_PTP). Τέλος, στην περίπτωση χρήσης PTP και PAW, η μάζα των υπολειπόμενων στερεών μειώθηκε περαιτέρω, ανεξαρτήτως του pH ανάκτησης και έφτασε τα 67,0 g (pH1,5_PTP&PAW) και 69,7 g (pH2,0_PTP&PAW). Στην περίπτωση επέκτασης του χρόνου ανάκτησης της πηκτίνης με τη συνθήκη pH1,5_PAW, η μάζα των υπολειπόμενων στερεών παρέμεινε σταθερή σε εύρος 69,5-71,0 g. Οι απώλειες που αποτυπώνονται στην Εικόνα 23 προκύπτουν τόσο από το ξέπλυμα του στερεού μετά τον διαχωρισμό του (απομάκρυνση NA), όσο και από το στάδιο κατακρήμνισης του κλάσματος της πηκτίνης με τη χρήση αιθανόλης. Οι απώλειες αυτές κυμαίνονται στο εύρος 14,3-21,6%, ανάλογα τη μέθοδο της ανάκτησης της πηκτίνης. Μεγαλύτερες απώλειες παρατηρούνται όταν η ανάκτηση

της πηκτικής πραγματοποιήθηκε σε pH 1,5 έναντι σε pH 2,0, αφού οι συνθήκες είναι πιο έντονες και ευνοείται η διάσπαση των πολυμερών (κυτταρίνη, ημικυτταρίνη, πηκτίνη).



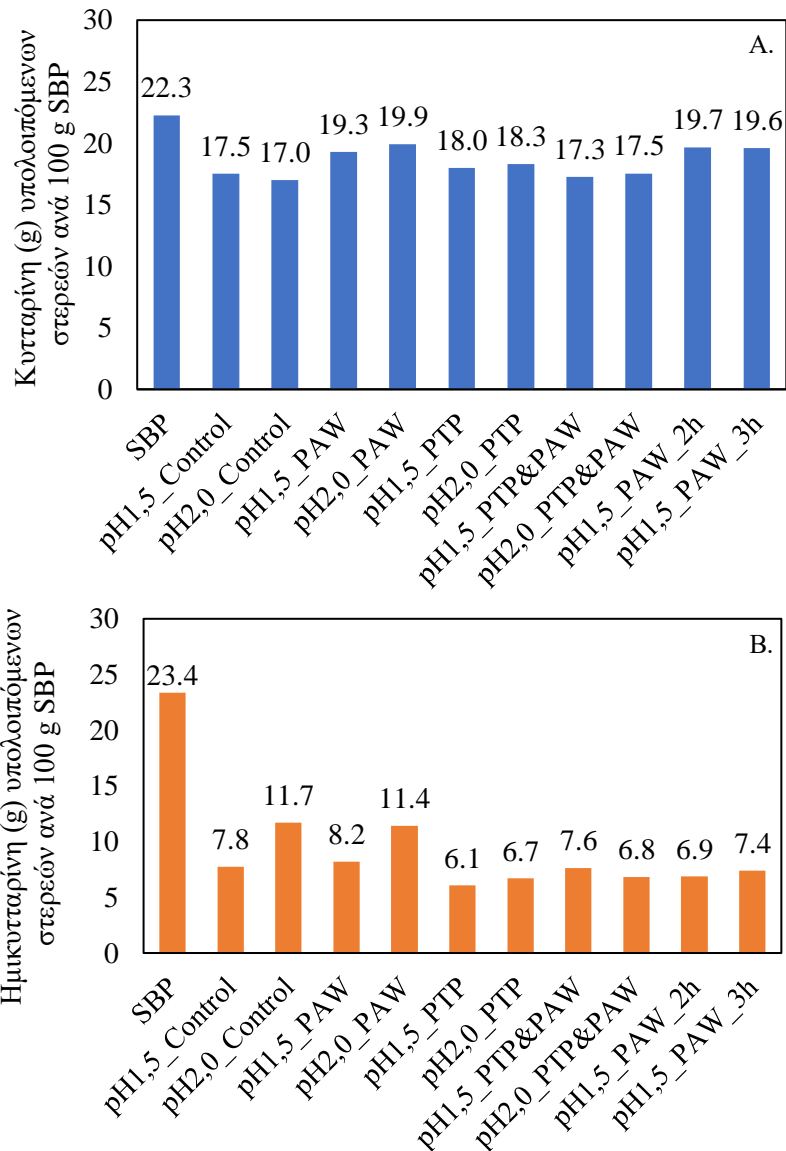
Εικόνα 23. Μάζα υπολειπόμενων στερεών, ανακτημένης πηκτίνης και απωλειών κατά τη διεργασία ανάκτησης πηκτίνης από SBP.

Στην Εικόνα 24Α φαίνεται η ποσότητα κυτταρίνης (g) του αρχικού SBP, καθώς και των υπολοιπόμενων στερεών μετά την ανάκτηση της πηκτίνης. Στις διαφορετικές επεξεργασίες που μελετήθηκαν, ο παράγοντας pH ανάκτησης δεν έδειξε να επηρέασε την κυτταρίνη των υπολειπόμενων στερεών. Αντιθέτως, ο παράγοντας μέθοδος επεξεργασίας (Control, PAW, PTP και PTP&PAW) επηρέασε την περιεκτικότητα της κυτταρίνης. Συγκεκριμένα, η μείωση της κυτταρίνης έφτασε έως και 23,6 στις συνθήκες pH1,5_Control και pH2,0_Control. Με την χρήση PAW, και στις δύο συνθήκες ανάκτησης pH 1,5 και 2,0 η κυτταρίνη μειώθηκε κατά 13,3% (pH1,5_PAW) και 10,4% (pH2,0_PAW) αντίστοιχα. Μείωση της κυτταρίνης παρατηρήθηκε όταν το SBP επεξεργάστηκε με PTP με ποσοστό μείωσης 19,2% σε pH ανάκτησης 1,5 (pH1,5_PTP) και 17,7% σε pH ανάκτησης 2,0 (pH2,0_PTP). Με την συνδυαστική μέθοδο PTP και PAW, η κυτταρίνη μειώθηκε περαιτέρω, και πιο συγκεκριμένα κατά 22,3%

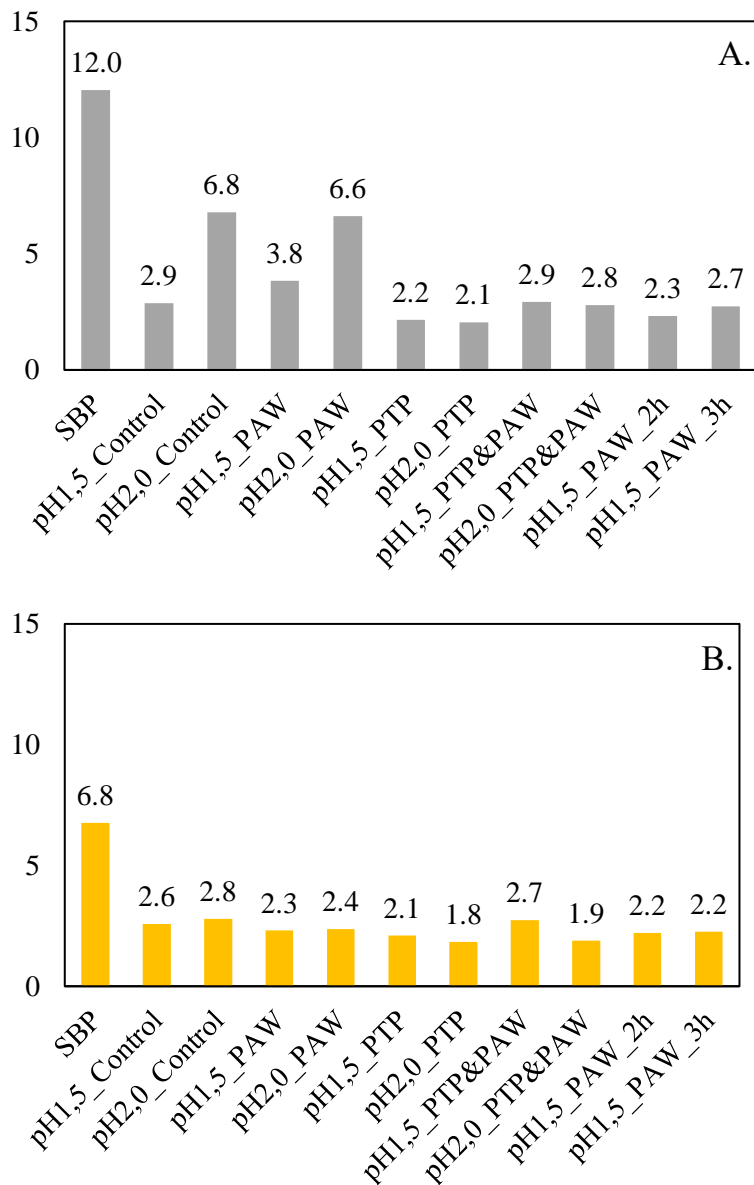
(pH1,5_PTP&PAW) και 21,2% (pH2,0_PTP&PAW). Στην περίπτωση επέκτασης του χρόνου ανάκτησης της πηκτίνης με τη συνθήκη pH1,5_PAW στις 2 και 3 ώρες, η μείωση της κυτταρίνης στα υπολειπόμενα στερεά ανέρχεται στο 11,7% και 11,9%, αντίστοιχα.

Αντίστοιχα, στην Εικόνα 24B φαίνεται η ποσότητα ημικυτταρίνης (g) του αρχικού SBP και των υπολειπόμενων στερεών. Η ημικυτταρίνη μειώνεται σημαντικά ανεξαρτήτως της συνθήκης ανάκτησης σε εύρος 49,8-69,4%. Η χρήση PAW σε σχέση με την αμιγώς χρήση NA φαίνεται να μην επηρεάζει σημαντικά τα γραμμάρια ημικυτταρίνης των υπολειπόμενων σε σταθερό pH. Πιο συγκεκριμένα, η συνθήκη pH1,5_Control και pH1,5_PAW έδωσαν 7,8 g και 8,2 g ημικυτταρίνης ανά 100 g αρχικού SBP, ενώ οι συνθήκες pH2,0_Control και pH2,0_PAW έδωσαν 11,7 g και 11,4 g ημικυτταρίνης αντίστοιχα. Αντιθέτως, η επεξεργασία του SBP με PTP έδωσε σημαντική μείωση (>71%) στην ποσότητα της ημικυτταρίνης στα υπολειπόμενα στερεά, όπως και η συνδυαστική μέθοδος ανάκτησης PTP&PAW (μείωση έως και 70,8%). Επιπλέον, όταν πραγματοποιήθηκε επέκταση του χρόνου ανάκτησης της πηκτίνης με τη συνθήκη pH1,5_PAW στις 2 και 3 ώρες, η ποσότητα της ημικυτταρίνης μειώθηκε χωρίς ιδιαίτερα σημαντικές διαφορές. Στη βιβλιογραφία έχει ήδη αναφερθεί η υδρόλυση της ημικυτταρίνης σε όξινες συνθήκες, όπως εκείνες της ανάκτησης της πηκτίνης (Sarafidou et al., 2024). Τόσο η ημικυτταρίνη, όσο και η κυτταρίνη βρίσκονται στο κυτταρικό τοίχωμα του SBP και είναι συνδεδεμένες με την πηκτίνη. Με την παρουσία όξινων συνθηκών, οι δεσμοί μεταξύ των μονομερών της ημικυτταρίνης υδρολύονται, αφήνοντας τα υπολειπόμενα στερεά με μικρότερη περιεκτικότητα σε ημικυτταρίνη. Η επίδραση των μεθόδων προεπεξεργασίας (π.χ. PTP) της φυτικής βιομάζας στους δεσμούς μεταξύ κυτταρίνης και ημικυτταρίνης έχει ευρέως μελετηθεί (Alexandri et al., 2019; Mankar et al., 2021). Το PTP αποτελεί μέθοδο προεπεξεργασίας και με αυτό τον τρόπο μειώνει περεταίρω την περιεκτικότητα των υπολειπόμενων στερεών σε ημικυτταρίνη. Σύμφωνα με την μελέτη των Ge et al. (2022), η χρήση πλάσματος στη φυτική βιομάζα δημιούργησε μικρές ρωγμές και πόρους στο κυτταρικό τοίχωμα λόγω της επίδρασης των παραγόμενων από το πλάσμα σωματιδίων, οι οποίες ανιχνεύτηκαν μέσω SEM. Στην παρούσα μελέτη, η μείωση της ημικυτταρίνης είναι πιθανό να οφείλεται σε αντίστοιχες ρωγμές στη βιομάζα του SBP, καθώς το πλάσμα μπορεί να προκαλεί μικρές δομικές

βλάβες, διευκολύνοντας έτσι την εισχώρηση του διαλύτη και επιταχύνοντας την υδρόλυση. Αυτό συμφωνεί με την έρευνα των Forouhar et al. (2024), που αποδίδουν τη διάσπαση των κυτταρικών τοιχωμάτων στα δραστικά είδη που παράγονται από το DBD.



Εικόνα 24. Επίδραση διαφορετικών συνθηκών ανάκτησης πηκτίνης στην Α) κυτταρίνη (g) και στην Β) ημικυτταρίνη (g) των υπολειπόμενων στερεών ανά 100 g αρχικού SBP.



Εικόνα 25. Επίδραση διαφορετικών συνθηκών ανάκτησης πηκτίνης στην Α) αραβινάνη (g) και στην Β) γαλακτάνη (g) των υπολειπόμενων στερεών ανά 100 g αρχικού SBP.

Στην Εικόνα 25 φαίνεται η ποσότητα αραβινάνης (Α) και γαλακτάνης (Β) σε γραμμάρια του αρχικού SBP. Η χρήση PAW έναντι της χρήσης NA δεν επηρέασε σημαντικά την ποσότητα της αραβινάνης των υπολειπόμενων σε σταθερό pH. Η συνθήκη pH1,5_Control και pH1,5_PAW έδωσαν 2,9 g και 6,8 g αραβινάνης ανά 100 g αρχικού SBP, ενώ οι συνθήκες pH2,0_Control και pH2,0_PAW έδωσαν 6,8 g και 6,6 g ημικυτταρίνης αντίστοιχα. Αντιθέτως, η επεξεργασία του SBP με PTP έδωσε σημαντική

μείωση (>82%) στην ποσότητα της αραβινάνης στα υπολειπόμενα στερεά, όπως και η συνδυαστική μέθοδος ανάκτησης PTP&PAW (μείωση έως και 67%). Επιπλέον, με την επέκταση του χρόνου ανάκτησης της πηκτίνης με τη συνθήκη pH1,5_PAW στις 2 και 3 ώρες, η ποσότητα της αραβινάνης μειώθηκε στα 2,3 και 2,7 g αραβινάνης ανά 100 g αρχικού SBP αντίστοιχα

Στην περίπτωση της γαλακτάνης, η μέθοδος επεξεργασία δεν είχε μεγάλη επίπτωση στην μείωση της ποσότητας της στα υπολειπόμενα στερεά. Πιο συγκεκριμένα, η μείωση κυμαινόταν μεταξύ 58,9% και 72,9%. Οι πολυσακχαρίτες που επηρεάζονται κυρίως κατά την ανάκτηση της πηκτίνης είναι οι αραβινόζη και γαλακτόζη (Sarafidou et al., 2024), κάτι που επιβεβαιώνεται και στην παρούσα μελέτη μέσω της μείωσης της συγκέντρωσης τους στα υπολειπόμενα στερεά (Εικόνα 24A και 24B). Αυτό πιθανόν οφείλεται στο γεγονός ότι στις "τριχωτές περιοχές" των πηκτινών (RGI και RGII) υπάρχουν πλευρικές αλυσίδες που περιέχουν μεγάλες ποσότητες αραβινόζης και αραβινογαλακτόζης, οι οποίες εξάγονται μαζί με τις πηκτίνες (Ma et al., 2013).

4.2 Συσκευασία κοτόπουλου

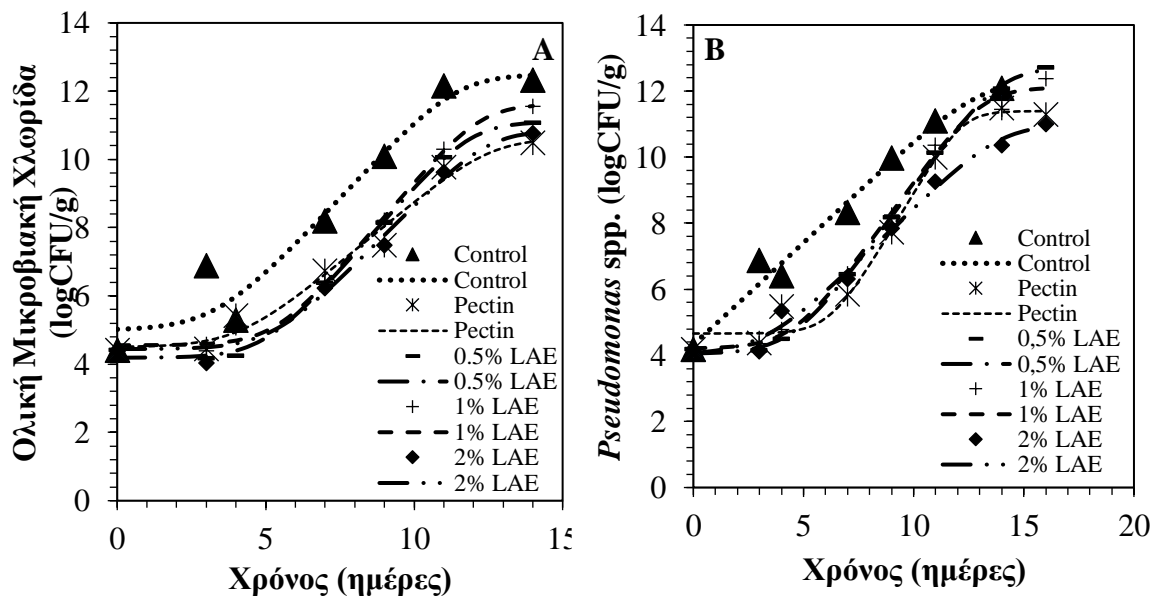
4.2.1 Μικροβιολογική αξιολόγηση

Σύμφωνα με την Εικόνα 26 παρουσιάζονται τα μικροβιολογικά αποτελέσματα φιλέτων κοτόπουλου που συντηρήθηκαν στους 2°C. Οι πληθυσμοί των μικροοργανισμών αυξήθηκαν με τον χρόνο αποθήκευσης με σημαντικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων χωρίς την εφαρμογή εδώδιμης επικάλυψης (Control) σε σχέση με την πηκτίνη καθώς και τις διαφορετικές συγκεντρώσεις αντιμικροβιακού (0,5%, 1%, 2% LAE). Σύμφωνα με την Διεθνή Επιτροπή Μικροβιολογικών Προδιαγραφών για Τρόφιμα (International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) and Swanson, 2011) το τρόφιμο θεωρείται ακατάλληλο προς κατανάλωση όταν η ολική μικροβιακή χλωρίδα φτάσει περίπου τα 10^7 - 10^8 CFU/g. Η χρήση επικάλυψης πηκτίνης και διαφορετικών συγκεντρώσεων LAE έδωσαν επέκταση του χρόνου ζωής κατά 2 ημέρες όταν η συγκέντρωση LAE ήταν 0%, 0,5% και 1% και 3 ημέρες όταν η συγκέντρωση LAE ήταν 2%, δεχόμενοι ως όριο αποδοχής τους 7 logCFU/g. Ο χρόνος ζωής των φιλέτων χωρίς επικάλυψη (control) ήταν 5,6 ημέρες, των φιλέτων με επικάλυψη πηκτίνης και με

επικάλυψη πηκτίνης ενισχυμένη με 0,5% και 1% LAE ήταν 7,7 ημέρες. Τέλος, ο χρόνος ζωής των φιλέτων με επικάλυψη πηκτίνης ενισχυμένη με 2% LAE ήταν 8,4 ημέρες.

Στην 14^η ημέρα η μικροβιακή αύξηση του πληθυσμού της OMX για το Control ήταν 12,50 logCFU/g ενώ για την πηκτίνη ήταν 10,63 logCFU/g και για τις διαφορετικές συγκεντρώσεις 0,5, 1, και 2% αντιμικροβιακού ήταν 11,10, 11,62, και 10,85 logCFU/g αντίστοιχα (Πίνακας 7).

Αντίστοιχα, η μικροβιακή αύξηση για *Pseudomonas* spp. Εικόνα 26B έδειξε ότι η πηκτίνη και οι διαφορετικές συγκεντρώσεις LAE περιορίζουν την ανάπτυξη του μικροοργανισμού. Στην 14^η ημέρα το Control ήταν 12,43±1,05 logCFU/g ενώ για την πηκτίνη και τις διαφορετικές συγκεντρώσεις αντιμικροβιακού ήταν από 11,01±0,46 μέχρι 12,73±0,14 logCFU/g (Πίνακας 7).



Εικόνα 26. Επίδραση πηκτίνης και LAE στην Α) Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα, Β) *Pseudomonas* spp.

Σύμφωνα με τους Raeisi et al. (2016) κρίσιμα όρια για *Pseudomonas* spp. ανέρχονται στους 7-8 logCFU/g. Οι Abdel-Naeem et al., (2021), αναφέρουν πως η χρήση LAE σε συγκεντρώσεις 200 ή 400 mg/kg είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση κατά 1,3 και 2,3 logCFU/g αντίστοιχα σε αερόβιους και ψυχρότροφους μικροοργανισμούς. Ο μηχανισμός

της αντιμικροβιακής δράσης του LAE εξηγήθηκε από την ηλεκτροστατική αλληλεπίδραση μεταξύ της θετικά φορτισμένης αργινίνης του μορίου LAE με το αρνητικό φορτίο στην επιφάνεια της εξωτερικής μεμβράνης βακτηρίων ή μυκήτων, η οποία έχει ως αποτέλεσμα την απώλεια της διαπερατότητας της κυτταρικής μεμβράνης και ως εκ τούτου τη διαρροή πρωτεΐνης και νουκλεϊκό οξύ (Xu et al., 2018).

Πίνακας 7. Κινητικές παράμετροι μικροβιακής ανάπτυξης (ρυθμός ανάπτυξης, k , μέγιστος πληθυσμός, N_{max}) για *Pseudomonas* spp. και TVC σε φιλέτα κοτόπουλο

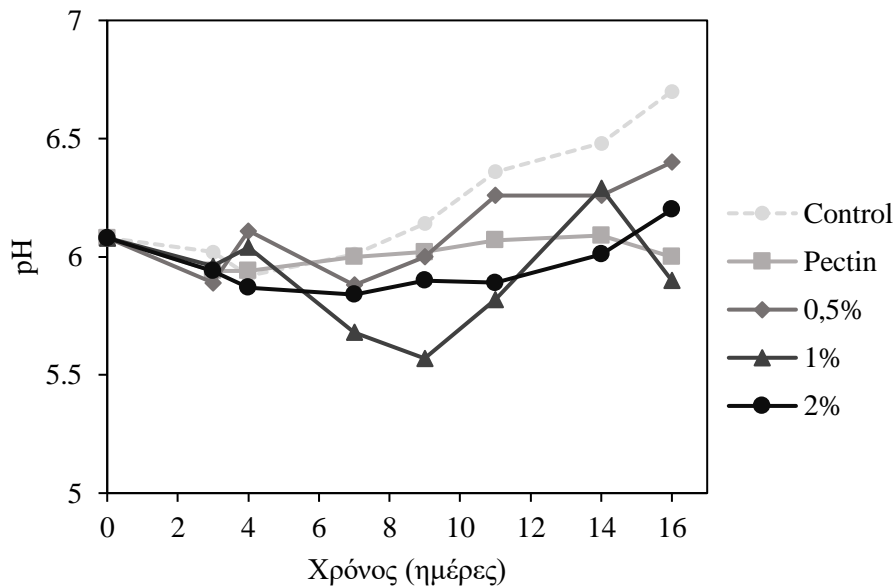
Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα				
	k (day^{-1})	λ (lag)	N_{max} (logCFU/g)	R^2
Control	0,92±0,42 ^{a,b}	0,05±2,90 ^a	12,50±1,10 ^c	0,90
Pectin	0,72±0,21 ^a	4,09±1,71 ^b	10,63±0,69 ^a	0,96
0.5% LAE	0,98±0,08 ^b	4,91±0,39 ^b	11,10±0,19 ^{a,b}	0,99
1% LAE	1,02±0,13 ^b	5,31±0,56 ^b	11,62±0,31 ^b	0,99
2% LAE	0,88±0,22 ^{a,b}	5,20±1,14 ^b	10,85±0,57 ^{a,b}	0,97
<i>Pseudomonas</i> spp.				
Control	0,62±0,14 ^a	0,05±2,21 ^a	12,43±1,05 ^c	0,97
Pectin	1,12±0,27 ^c	6,19±0,92 ^c	11,39±0,36 ^a	0,97
0.5% LAE	0,92±0,04 ^b	4,51±0,27 ^b	12,73±0,14 ^c	0,99
1% LAE	0,92±0,13 ^b	4,55±0,56 ^b	12,11±0,29 ^b	0,99
2% LAE	0,65±0,12 ^a	3,21±1,37 ^b	11,01±0,46 ^a	0,98

a-c διαφορετικοί εκθέτες στην ίδια στήλη υποδηλώνουν στατιστικά σημαντική διαφορά

4.2.2 Μέτρηση pH

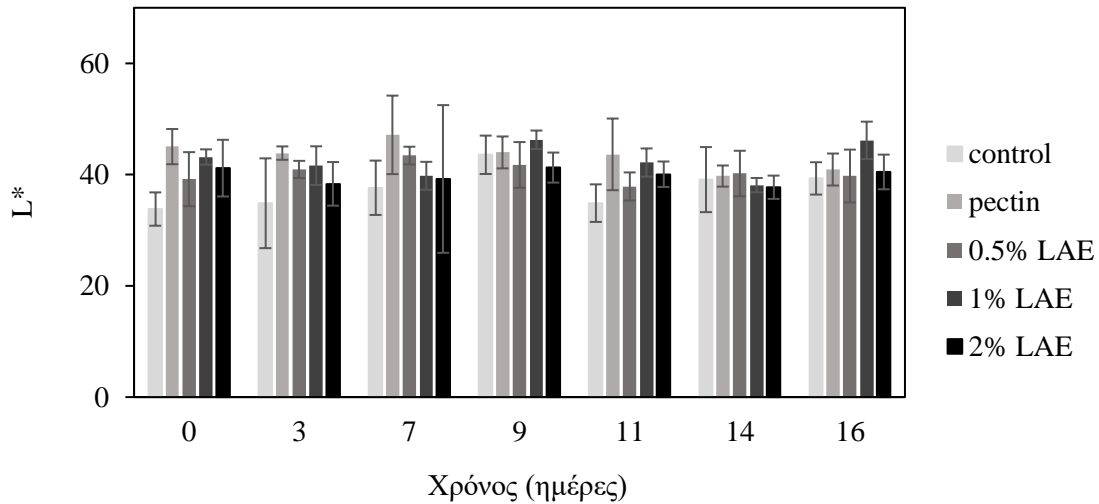
Σύμφωνα με την Εικόνα 27, παρατηρούνται διακυμάνσεις στο pH κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης στους 2°C για τα δείγματα (control, πηκτίνη) καθώς και για τις συγκεντρώσεις αντιμικροβιακού (0.5%, 1%, 2% LAE). Από την 3η έως την 9η ημέρα, σημειώνεται μια ελαφρά μείωση του pH, κυρίως στις συγκεντρώσεις του

αντιμικροβιακού παράγοντα και στα δείγματα με πηκτίνη. Αυτό πιθανότατα οφείλεται στο χαμηλό pH (περίπου 4) του διαλύματος παρασκευής, στο οποίο εμβαπτίστηκαν τα φιλέτα. Ωστόσο, από την 9η έως την 16η ημέρα, το pH αυξάνεται σταδιακά, ιδιαίτερα στα δείγματα του control και της πηκτίνης. Η αύξηση αυτή μπορεί να αποδοθεί στην παραγωγή αλκαλικών ή πτητικών ενώσεων, όπως η αμμωνία και η τριμεθυλαμίνη, οι οποίες παράγονται είτε μέσω μικροβιακών διεργασιών είτε από ενδογενή ένζυμα (Abdou et al., 2018). Επιπλέον, σύμφωνα με τη μελέτη των Morgan et al. (2022), η πηκτίνη, όταν χρησιμοποιείται σε αντιμικροβιακές επικαλύψεις, έχει τη δυνατότητα να ρυθμίζει την έκλυση άλλων χημικών ουσιών και μπορεί να μεταβάλει το pH ανάλογα με την αποσύνθεσή της και την αλληλεπίδραση με άλλα πρόσθετα.



Εικόνα 27. Παράμετρος pH σε φιλέτο από κοτόπουλο για τις 4 κατηγορίες δειγμάτων που αποθηκεύτηκαν στους 2°C

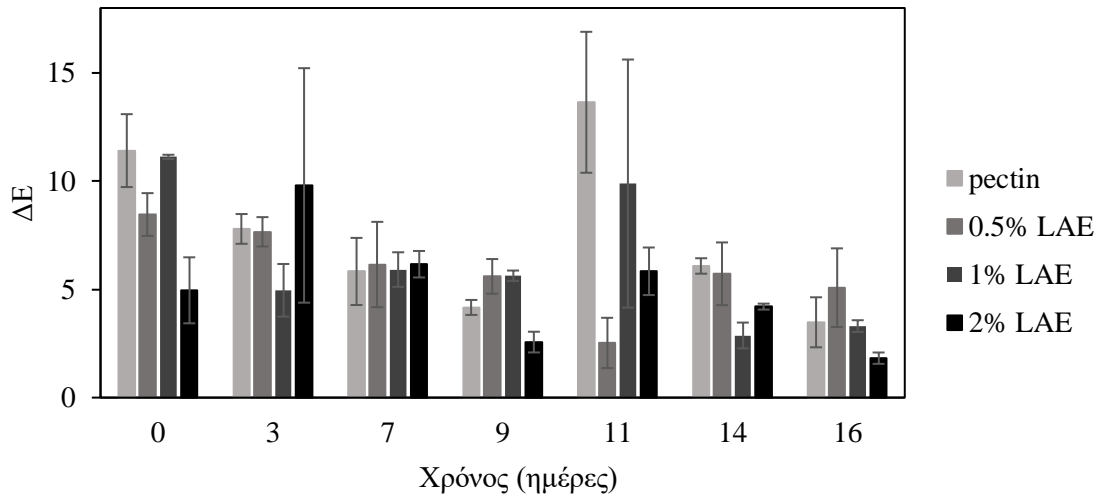
4.2.3 Μέτρηση χρώματος



Εικόνα 28. Παράμετρος L^* για τις διαφορετικές κατηγορίες δειγμάτων με την πάροδο του χρόνου

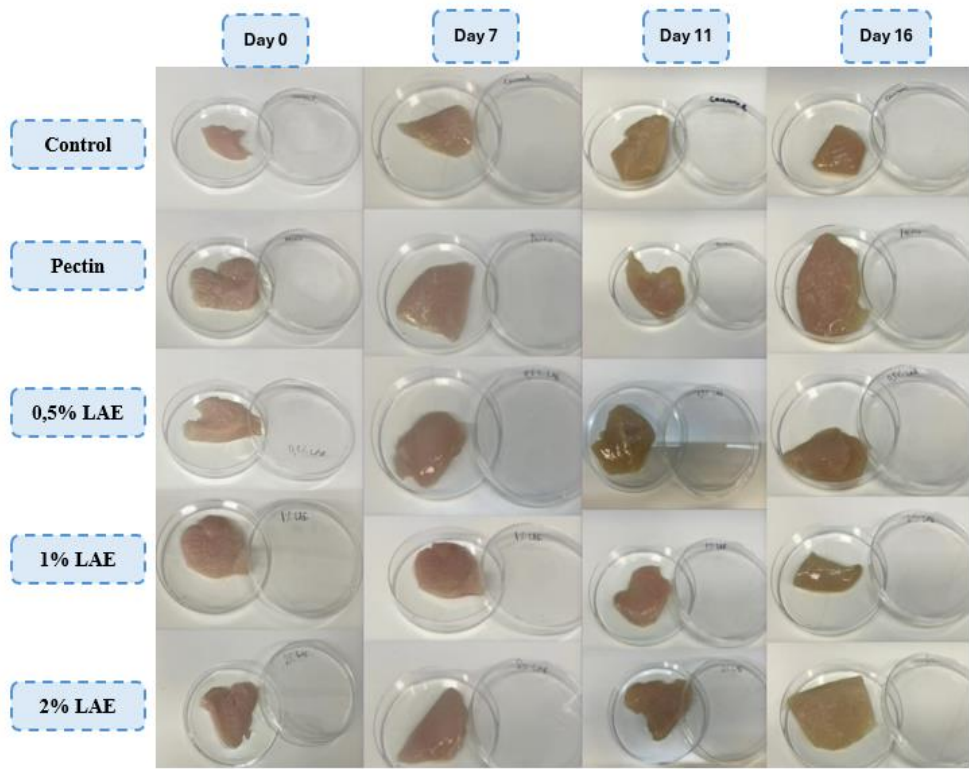
Η παράμετρος L^* αντιπροσωπεύει τη φωτεινότητα, υποδεικνύοντας πόσο φωτεινό ή σκοτεινό φαίνεται ένα χρώμα. Η τιμή L κυμαίνεται από 0 (που αντιπροσωπεύει το μαύρο ή την απουσία φωτός) έως 100 (που αντιπροσωπεύει το λευκό ή τη μέγιστη ποσότητα φωτός). Μια τιμή 50 αντιστοιχεί σε ένα μέσο γκρι χρώμα, ούτε πολύ σκοτεινό ούτε πολύ φωτεινό. Η Εικόνα 28 εμφανίζει τη μέση τιμή L^* για κάθε δείγμα κατά τις ημέρες των μετρήσεων. Οι τιμές L^* για το control ξεκινούν από 33,81 την 1η ημέρα, ενώ για τις άλλες επεξεργασίες, οι τιμές κυμαίνονται μεταξύ 39,19 και 45,04. Σύμφωνα με την βιβλιογραφία το pH και η επεξεργασία των δειγμάτων μπορεί να επηρεάσουν την φωτεινότητα, όπως αποδεικνύεται και στην παρούσα έρευνα καθώς το control που ήταν το λιγότερο φωτεινό δείγμα έχει το υψηλότερο pH (6,7). Στη μελέτη των Yang και Chen (1993), βρέθηκε ότι το αυξημένο pH σχετίζεται με μείωση της φωτεινότητας, ειδικά μετά την αποθήκευση. Από την 7^η ημέρα παρατηρείται μια αύξηση στη φωτεινότητα για το control, φτάνοντας έως το 43,57 την 9η ημέρα, αλλά μειώνεται ξανά στις ημέρες 14 και 16 ημέρες αντίστοιχα. Η αποθήκευση συνήθως οδηγεί σε μείωση της φωτεινότητας λόγω μικροβιακής δραστηριότητας ή οξείδωσης λιπιδίων, ειδικά για δείγματα χωρίς συντηρητικά ή επιπλέον επεξεργασία. Τέλος η χρήση αντιμικροβιακού σε συγκεντρώσεις 1% και 2% LAE φαίνεται να παρουσιάζουν τις πιο σταθερές τιμές φωτεινότητας (L^*)

κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης. Η μέση τιμή παραμένει σχετικά υψηλή σε σχέση με το control και τα δείγματα πηκτίνης. Αυτό πιθανώς οφείλεται στην αντιμικροβιακή δράση του LAE, που επιβραδύνει τις οξειδωτικές διεργασίες και την αποδόμηση του χρώματος (Mohamed et al., 2022).

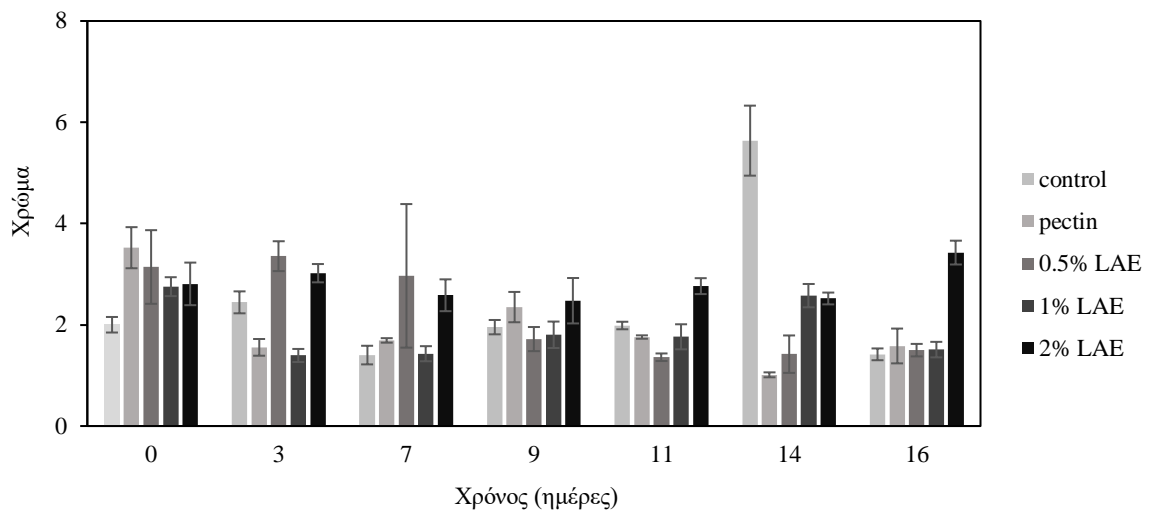


Εικόνα 29. Παράμετρος ΔΕ για τις διαφορετικές κατηγορίες δειγμάτων με την πάροδο του χρόνου

Το ΔΕ Εικόνα (29) αντιπροσωπεύει τις διαφορές χρώματος μεταξύ των δειγμάτων control και των δειγμάτων πηκτίνης και αντιμικροβιακού. Παρατηρούμε ότι οι τιμές ΔΕ είναι υψηλότερες για την πηκτίνη (11,41) και του δείγματος με 1% LAE (11,12), υποδηλώνοντας αισθητές διαφορές χρώματος μεταξύ τους. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, τιμές ΔΕ μεταξύ 2-10 είναι οπτικά ανιχνεύσιμες, ενώ όταν υπερβαίνουν το 10, η διαφορά χρώματος είναι άμεσα εμφανής (Tomasevic et al., 2019). Μετά την 7η ημέρα, οι τιμές ΔΕ για την πηκτίνη και την επεξεργασία με 0,5% LAE μειώνονται με την πάροδο του χρόνου, κάτι που δείχνει μικρότερη διαφοροποίηση στο χρώμα. Ωστόσο, για τα δείγματα με 1% και 2% LAE παραμένουν σχετικά σταθερές, υποδεικνύοντας μεγαλύτερη χρωματική σταθερότητα. Μέχρι την 16η ημέρα, παρατηρείται μια σταθεροποίηση, με το 0,5% LAE να έχει τιμή 3,48 και το 2% LAE να φτάνει στο 1,82, υποδεικνύοντας ότι οι διαφορές χρώματος σε σχέση με τη πηκτίνη είναι πλέον λιγότερο αισθητές. Αυτό δείχνει ότι οι συγκεκριμένες επεξεργασίες έχουν θετική επίδραση στη διατήρηση του χρώματος των δειγμάτων σε μακροχρόνια αποθήκευση Εικόνα 30 .

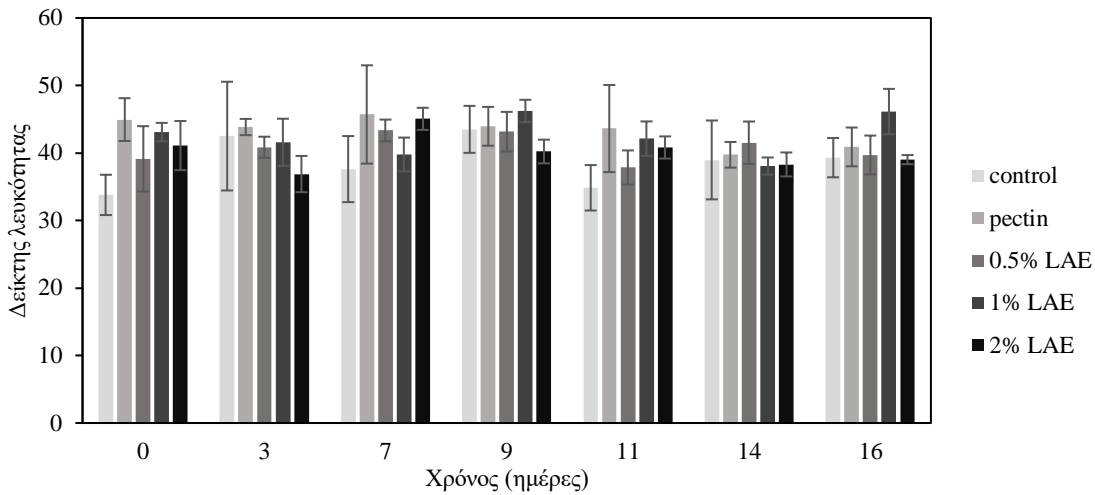


Εικόνα 30. Εξέλιξη του χρώματος στο κοτόπουλο με την πάροδο του χρόνου



Εικόνα 31. Παράμετρος χρώματος για τις διαφορετικές κατηγορίες δειγμάτων με την πάροδο του χρόνου

Σύμφωνα με την Εικόνα (31) η ένταση του χρώματος στο Control στην πηκτίνη καθώς και στα δείγματα με συγκέντρωση αντιμικροβιακού LAE 0,5%, μειωνόταν σταδιακά με την πάροδο του χρόνου. Τα δείγματα με LAE φαίνεται να διατηρούν πιο σταθερές τιμές Chroma, ειδικά το 2% LAE, το οποίο παρουσιάζει την πιο έντονη σταθερότητα του χρώματος, κάτι που πιθανώς οφείλεται στις αντιμικροβιακές ιδιότητες του.



Εικόνα 32. Παράμετρος δείκτη λευκότητας για τις διαφορετικές κατηγορίες δειγμάτων με την πάροδο του χρόνου

Πίνακας 8. Γωνία απόχρωσης (Hue Angle, HA)

Ημέρες	Control	Pectin	0,5% LAE	1% LAE	2% LAE
0	232,58±7,41 ^e	226,77±4,36 ^c	222,82±1,14 ^c	229,11±7,01 ^d	242,35±4,59 ^e
3	228,97±0,85 ^d	226,20±0,40 ^b	233,95±2,66 ^d	228,85±1,91 ^d	233,75±0,97 ^c
7	168,0.2±4,19 ^a	233,77±3,05 ^d	233,99±3,88 ^d	197,95±13,98 ^a	241,97±4,14 ^e
9	231,66±2,69 ^e	232,36±2,83 ^d	139,88±9,14 ^a	198,22±13,30 ^a	234,30±6,48 ^{c,d}
11	221,94±3,87 ^c	227,21±0,55 ^c	217,02±1,20 ^b	214,59±0,57 ^b	228,40±0,55 ^a
14	239,46±9,81 ^f	216,14±4,78 ^a	216,18±5,62 ^b	225,99±3,33 ^d	226,50±2,78 ^a
16	210,05±0,72 ^b	226,19±1,34 ^{b,c}	223,97±4,34 ^c	195,37±5,39 ^a	238,38±2,46 ^d

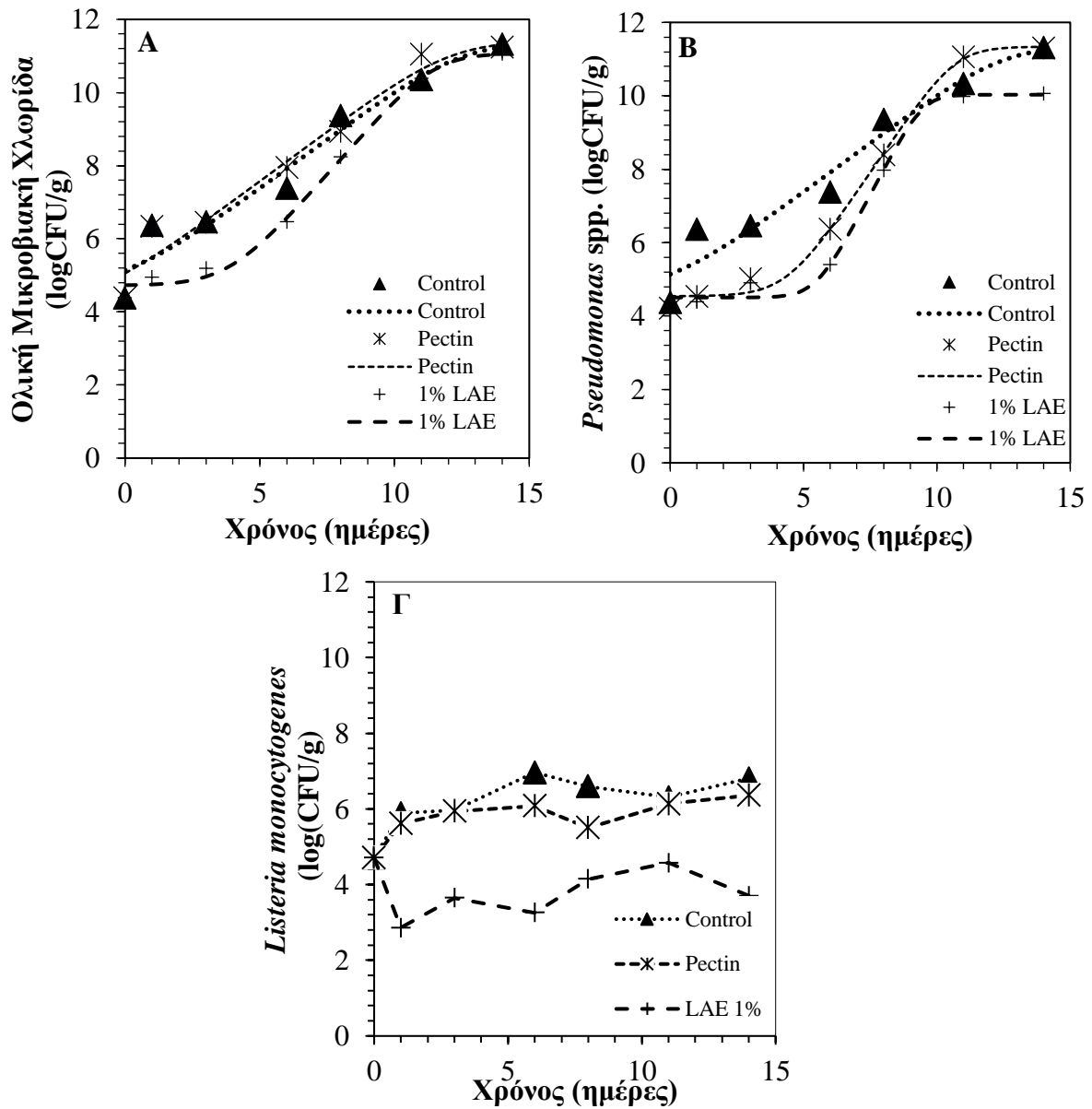
a-f διαφορετικοί εκθέτες στην ίδια στήλη υποδηλώνουν στατιστικά σημαντική διαφορά

Ένας δείκτης που χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση της λευκότητας ενός δείγματος είναι ο Whiteness Index (WI). Όπως παρατηρούμε στην Εικόνα (32) το δείγμα με πηκτίνη και τα δείγματα με τις διαφορετικές συγκεντρώσεις LAE εμφάνισαν υψηλές τιμές σε σχέση με το Control τις πρώτες 7 ημέρες. Με την πάροδο του χρόνου το Control μειώνεται ελαφρώς έως την 16η ημέρα σε σχέση με την πηκτίνη. Το 1% και 2% LAE δείχνουν επίσης σταθερότητα κατά την διάρκεια συντήρησης στο WI, ειδικά το 1% LAE, που φτάνει τη μέγιστη τιμή του (46,14) την 16η ημέρα. Τέλος η συγκέντρωση 0,5% LAE αυξάνεται σταθερά μέχρι την 7^η ημέρα όμως από την ημέρα 11-16 παρατηρείται μείωση.

Η μελέτη των τιμών για το HA (Πίνακας 8), για τις διαφορετικές συνθήκες (Control, Pectin, 0,5% LAE, 1% LAE, 2% LAE) έδειξε ότι η ομάδα Control και η ομάδα με 0,5% LAE παρουσίασαν τις μεγαλύτερες αποκλίσεις, με τις χαμηλότερες τιμές να εντοπίζονται στην πορτοκαλί απόχρωση, 7^η και 9^η ημέρα συντήρησης αντίστοιχα (δεύτερο τεταρτημόριο στον κύκλο των χρωμάτων όπως προσδιορίζεται μέσω της γωνίας, (Εικόνα 21), υποδηλώνοντας αστάθεια στο χρώμα. Αντίθετα, η προσθήκη πηκτίνης και οι συγκεντρώσεις LAE 1% και 2% οδήγησαν σε πιο σταθερές τιμές, κυρίως στο τεταρτημόριο 3 (πράσινη απόχρωση) (Εικόνα 21), με την ομάδα 2% LAE να εμφανίζει τη μεγαλύτερη σταθερότητα.

4.2.4 Μικροβιολογική αξιολόγηση επιμολυσμένων με *L.monocytogenes* σε φιλέτο κοτόπουλο

Από τις διαφορετικές συγκεντρώσεις LAE που μελετήθηκαν (0,5%, 1%, 2%), επιλέχθηκε για την μικροβιακή αξιολόγηση των φιλέτων κοτόπουλο επιμολυσμένο με *L.monocytogenes* η συγκέντρωση 1% LAE. Η επιλογή αυτή βασίστηκε στην καθυστέρηση προσαρμογής του πληθυσμού της OMX και της *Pseudomonas* spp., όπως υποδηλώνεται από τις υψηλότερες τιμές του δείκτη της λανθάνουσας φάσης ($5,31\pm 0,56$ και $4,55\pm 0,56$, αντίστοιχα) (Πίνακας 9). Επιπλέον, η επεξεργασία με 1% LAE πιο σταθερές τιμές φωτεινότητας (L^*) (Εικόνα 28).



Εικόνα 33. Επίδραση πηκτίνης και LAE στην Α) Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα, Β) *Pseudomonas* spp. Γ) *L.monocytogenes*

Όπως παρατηρούμε στην Εικόνα 33Α και Εικόνα 33Β οι OMX και *Pseudomonas* spp. ακολουθούν την ίδια τάση σύμφωνα και με την Εικόνα 26. Οι καμπύλες ανάπτυξης του πληθυσμού της OMX και *Pseudomonas* spp. ακολουθούν σιγμοειδή καμπύλη ενώ η

ανάπτυξη *L.monocytogenes* φαίνεται να είναι πιο σταθερή κατά τη διάρκεια συντήρησης. Στην Εικόνα 33Γ, που απεικονίζει την ανάπτυξη της *L.monocytogenes* παρατηρούμε σημαντική μείωση πληθυσμού των δειγμάτων με χρήση αντιμικροβιακού 1% LAE σε σχέση με το control αλλά και με την πηκτίνη. Παρόμοια μείωση δύο έως τέσσερις λογαριθμούς αναφέρονται και από τους Morgan et al. (2022) οι οποίοι χρησιμοποίησαν αντιμικροβιακή επικάλυψη νισίνης-πηκτίνης σε κρέας γαλοπούλας. Η μείωση αυτή πιθανόν να οφείλεται, στην μεγάλη ευαισθησία των Gram θετικών βακτηρίων στο LAE λόγω της δομής του κυτταρικού τοιχώματος οι (Sadekuzzaman et al., 2017). Τα θετικά κατά Gram βακτήρια διαθέτουν σχετικά πορώδες υδρόφιλο κυτταρικό τοίχωμα που επιτρέπει στα περισσότερα αντιμικροβιακά να διασχίζουν ελεύθερα το κυτταρικό τοίχωμα (Sadekuzzaman et al., 2017). Στην ημέρα 4 αλλά και 5 σύμφωνα με τον |εικόνα 26Γ παρατηρούμε μια σταθερότητα του πληθυσμού *L.monocytogenes*, στα δείγματα τα οποία περιείχαν πηκτίνη.

Πίνακας 9. Κινητικές παράμετροι μικροβιακής ανάπτυξης (ρυθμός ανάπτυξης, k, μέγιστος πληθυσμός, N_{max}) για *Pseudomonas* spp. και OMX σε φιλέτα κοτόπουλο με χρήση εμβολίου *L.monocytogenes*

Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα				
	k (day⁻¹)	λ (lag)	N_{max} (logCFU/g)	R²
Control	0,54±0,29a,b	0,88±4,25 ^a	11,39±1,25 ^b	0,90
Pectin	0,54±0,24a	0,41±3,68 ^a	11,43±0,98 ^b	0,93
1% LAE	0,83±0,12b	3,86±0,71 ^a	11,07±0,29 ^a	0,99
<i>Pseudomonas</i> spp.				
Control	0,65±0,12a	3,21±3,20 ^{a,b}	11,01±0,46 ^b	0,98
Pectin	1,1±0,18b	4,36±0,61 ^a	11,34±0,36 ^b	0,99
1% LAE	1,38±0,32b	5,47±0,54 ^b	10,03±0,21 ^a	0,99

a-c διαφορετικοί εκθέτες στην ίδια στήλη υποδηλώνουν στατιστικά σημαντική διαφορά

5. Συμπεράσματα

Στην παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε η αξιοποίηση SBP μέσω της ανάπτυξης ενός βιοδυλιστηρίου για την παραγωγή εδώδιμων επικαλύψεων πηκτίνης. Οι επικαλύψεις αυτές παρασκευάστηκαν και στη συνέχεια εφαρμόστηκαν σε φιλέτο κοτόπουλο, με χρήση LAE ως αναστολέας ανάπτυξης αλλοιογόνων και παθογόνων μικροοργανισμών με σκοπό την αύξηση χρόνου ζωής.

Τα πιο σημαντικές συμπεράσματα που προέκυψαν από αυτή τη μελέτη ήταν τα εξής:

- Η απόδοση των πηκτινών κυμάνθηκε από 4,0% έως 12,3% (w/w), με τις μεγαλύτερες αποδόσεις να παρατηρούνται στις περιπτώσεις pH1,5_PAW και pH1,5_PTP&PAW.
- Η χρήση NA μειώθηκε με τη μικρότερη κατανάλωση να παρατηρείται στις περιπτώσεις pH2,0_PTP&PAW και pH1,5_PAW. Η απαιτούμενη ποσότητα NA ανέρχεται σε 38,1 g/100 g και 45,7 g/100 g παραχθείσας πηκτίνης, αντίστοιχα.
- Η περιεκτικότητα σε GalA των πηκτινών που ανακτήθηκαν κυμάνθηκε από 59,3% έως 70,2% ανάλογα με το pH και την διεργασία εκχύλισης πηκτίνης. Οι πηκτίνες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για περαιτέρω μελέτη της χρήσης τους σε τρόφιμα είναι οι pH1,5_Control, pH1,5_PAW, pH2,0_Control και pH2,0_PAW, με περιεκτικότητα σε GalA > 65%.
- Όλες οι πηκτίνες που ανακτήθηκαν ήταν υψηλού βαθμού μεθυλίωσης (HM) με DE > 90%.
- Οι διακυμάνσεις στις τιμές των MeO δείχνουν ότι τόσο το pH όσο και οι συνθήκες επεξεργασίας (PTP και PAW) έχουν σημαντική επίδραση στον βαθμό μεθυλίωσης της ανακτημένης πηκτίνης.
- Οι τιμές του AUA% κυμαίνονταν πάνω από 90% γεγονός που σημαίνει ότι, ανεξαρτήτως των συνθηκών εκχύλισης των πηκτινών, οι παραγόμενες πηκτίνες ήταν υψηλής καθαρότητας.
- Η βέλτιστη συνθήκη η οποία επιλέχθηκε για την ανάπτυξη βιοδυλιστηρίου με σκοπό την εκχύλιση της πηκτίνης για την εφαρμογή της σε ενεργή συσκευασία ήταν η pH1,5_PAW. Η επιλογή βασίστηκε στην απόδοση, την περιεκτικότητα σε GalA, καθώς και την ποσότητα NA που απαιτείται για τη διεργασία.

- Όταν η ανάκτηση της πηκτίνης πραγματοποιήθηκε σε pH 2,0, η μάζα των υπολειπόμενων στερεών ήταν μεγαλύτερη σε σύγκριση με το pH ανάκτησης 1,5, με τις απώλειες να είναι μικρότερες σε pH 2,0. Στην επιλεγμένη συνθήκη (pH1,5_PAW) τα υπολειπόμενα στερεά ανήλθαν σε 70,3 g.
- Ο παράγοντας μέθοδος επεξεργασίας επηρέασε την περιεκτικότητα της κυτταρίνης στα υπολειπόμενα στερεά, με τη μείωση να φτάνει έως και 23,6%. Αντιθέτως, η ημικυτταρίνη μειώθηκε σημαντικά, ανεξαρτήτως της συνθήκης ανάκτησης (μείωση 49,8-69,4%).
- Η μικροβιακή αύξηση για την Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα και *Pseudomonas* spp. έδειξε ότι η πηκτίνη και οι διαφορετικές συγκεντρώσεις LAE (0,5%, 1% και 2%) αυξάνουν την διάρκεια ζωής κατά 2 ημέρες στις χαμηλές συγκεντρώσεις και κατά 3 ημέρες στις υψηλές.
- Το pH κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης στους 2°C για τα δείγματα (control, πηκτίνη) καθώς και για τις συγκεντρώσεις αντιμικροβιακού (0.5%, 1%, 2% LAE) διαφοροποιήθηκε από την 9^η ημέρα και μετά.
- Η χρήση αντιμικροβιακού σε συγκεντρώσεις 1% και 2% LAE φαίνεται να παρουσιάζουν τις πιο σταθερές τιμές φωτεινότητας (L*) κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης.
- Το ΔΕ, είναι υψηλό για τα δείγματα με 1% LAE (11,12), υποδηλώνοντας αισθητές διαφορές χρώματος μεταξύ των δειγμάτων με 1% LAE και των δειγμάτων control.
- Η ένταση του χρώματος στο control, στην πηκτίνη καθώς και στα δείγματα με συγκέντρωση αντιμικροβιακού LAE 0,5%, μειωνόταν σταδιακά με την πάροδο του χρόνου. Σταθερότητα του χρώματος παρουσιάζει το 2% LAE.
- Ο WI των δειγμάτων control μειώνεται με την πάροδο του χρόνου σε σχέση με την πηκτίνη. Το 1% και 2% LAE δείχνουν επίσης σταθερότητα κατά την διάρκεια συντήρησης. Αύξηση παρατηρήθηκε στο 0,5% LAE μέχρι την 7^η ημέρα.
- Όλες οι τιμές του HA κατά την διάρκεια συντήρησης των φιλέτων κοτόπουλου αντανακλούν στην πράσινη απόχρωση ανεξαρτήτου επεξεργασίας.
- Όσο αναφορά την *L.monocytogenes* παρατηρήθηκε σημαντική μείωση πληθυσμού των δειγμάτων με χρήση αντιμικροβιακού 1% LAE σε σχέση με το control κατά 2 logCFU/g.

Βιβλιογραφία

- Abdel-Naeem, H.H.S., Zayed, N.E.R., Mansour, H.A., 2021. Effect of chitosan and lauric arginate edible coating on bacteriological quality, deterioration criteria, and sensory attributes of frozen stored chicken meat. *LWT* 150, 111928. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111928>
- Adiletta, G., Brachi, P., Riianova, E., Crescitelli, A., Miccio, M., Kostryukova, N., 2020. A Simplified Biorefinery Concept for the Valorization of Sugar Beet Pulp: Ecofriendly Isolation of Pectin as a Step Preceding Torrefaction. *Waste Biomass Valor* 11, 2721–2733. <https://doi.org/10.1007/s12649-019-00582-4>
- Ahvenainen, R., Hurme, E., 1997. Active and smart packaging for meeting consumer demands for quality and safety. *Food Additives and Contaminants* 14, 753–763. <https://doi.org/10.1080/02652039709374586>
- Alexandri, M., Schneider, R., Papapostolou, H., Ladakis, D., Koutinas, A., Venus, J., 2019. Restructuring the Conventional Sugar Beet Industry into a Novel Biorefinery: Fractionation and Bioconversion of Sugar Beet Pulp into Succinic Acid and Value-Added Coproducts. *ACS Sustainable Chem. Eng.* 7, 6569–6579. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.8b04874>
- Anderson, C.E., Cha, N.R., Lindsay, A.D., Clark, D.S., Graves, D.B., 2016. The Role of Interfacial Reactions in Determining Plasma–Liquid Chemistry. *Plasma Chem Plasma Process* 36, 1393–1415. <https://doi.org/10.1007/s11090-016-9742-1>
- Andlar, M., Rezić, I., Oros, D., Kracher, D., Ludwig, R., Rezić, T., Šantek, B., 2017. Optimization of enzymatic sugar beet hydrolysis in a horizontal rotating tubular bioreactor: Enzymatic sugar beet hydrolysis in a horizontal rotating tubular bioreactor. *J. Chem. Technol. Biotechnol* 92, 623–632. <https://doi.org/10.1002/jctb.5043>
- Appendini, P., Hotchkiss, J.H., 2002. Review of antimicrobial food packaging. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 3, 113–126. [https://doi.org/10.1016/S1466-8564\(02\)00012-7](https://doi.org/10.1016/S1466-8564(02)00012-7)
- Arvanitoyannis, I.S., Stratakos, A.Ch., 2012. Application of Modified Atmosphere Packaging and Active/Smart Technologies to Red Meat and Poultry: A Review.

- Food Bioprocess Technol 5, 1423–1446. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0803-z>
- Auvolat, A., Besse, N.G., 2016. The challenge of enumerating *Listeria monocytogenes* in food. *Food Microbiology* 53, 135–149. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.09.003>
- Avci, U., Peña, M.J., O’Neill, M.A., 2018. Changes in the abundance of cell wall apiogalacturonan and xylogalacturonan and conservation of rhamnogalacturonan II structure during the diversification of the Lemnoideae. *Planta* 247, 953–971. <https://doi.org/10.1007/s00425-017-2837-y>
- Ayala, A., Muñoz, M.F., Argüelles, S., 2014. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2014, 1–31. <https://doi.org/10.1155/2014/360438>
- Azmir, J., Zaidul, I.S.M., Rahman, M.M., Sharif, K.M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M.H.A., Ghafoor, K., Norulaini, N.A.N., Omar, A.K.M., 2013. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering* 117, 426–436. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>
- Baranyi, J., Roberts, T.A., 1995. Mathematics of predictive food microbiology. *International Journal of Food Microbiology* 26, 199–218. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(94\)00121-L](https://doi.org/10.1016/0168-1605(94)00121-L)
- Baranyi, J., Roberts, T.A., 1994. A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. *International Journal of Food Microbiology* 23, 277–294. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(94\)90157-0](https://doi.org/10.1016/0168-1605(94)90157-0)
- Basak, S., Annapure, U.S., 2022a. Trends in “green” and novel methods of pectin modification - A review. *Carbohydrate Polymers* 278, 118967. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118967>
- Basak, S., Annapure, U.S., 2022b. Atmospheric pressure pin-to-plate cold plasma modification of high methoxyl apple pectin: Impact on functional properties. *Journal of Agriculture and Food Research* 9, 100356. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100356>

- Belkheiri, A., Forouhar, A., Ursu, A.V., Dubessay, P., Pierre, G., Delattre, C., Djelveh, G., Abdelkafi, S., Hamdami, N., Michaud, P., 2021. Extraction, Characterization, and Applications of Pectins from Plant By-Products. *Applied Sciences* 11, 6596. <https://doi.org/10.3390/app11146596>
- Bellido, C., Infante, C., Coca, M., González-Benito, G., Lucas, S., García-Cubero, M.T., 2015. Efficient acetone–butanol–ethanol production by *Clostridium beijerinckii* from sugar beet pulp. *Bioresource Technology* 190, 332–338. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.04.082>
- Brandenburg, R., 2017. Dielectric barrier discharges: progress on plasma sources and on the understanding of regimes and single filaments. *Plasma Sources Sci. Technol.* 26, 053001. <https://doi.org/10.1088/1361-6595/aa6426>
- Chandana, L., Sangeetha, C.J., Shashidhar, T., Subrahmanyam, Ch., 2018. Non-thermal atmospheric pressure plasma jet for the bacterial inactivation in an aqueous medium. *Science of The Total Environment* 640–641, 493–500. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.342>
- Chandel, V., Biswas, D., Roy, S., Vaidya, D., Verma, A., Gupta, A., 2022. Current Advancements in Pectin: Extraction, Properties and Multifunctional Applications. *Foods* 11, 2683. <https://doi.org/10.3390/foods11172683>
- Chang, J.-S., Lawless, P.A., Yamamoto, T., 1991. Corona discharge processes. *IEEE Trans. Plasma Sci.* 19, 1152–1166. <https://doi.org/10.1109/27.125038>
- Chen, H., Fu, X., Abbasi, A.M., Luo, Z., 2015. Preparation of environment-friendly pectin from sugar beet pulp and assessment of its emulsifying capacity. *Int J of Food Sci Tech* 50, 1324–1330. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12779>
- Chen, H.H., Chang, H.C., Chen, Y.K., Hung, C.L., Lin, S.Y., Chen, Y.S., 2016. An improved process for high nutrition of germinated brown rice production: Low-pressure plasma. *Food Chemistry* 191, 120–127. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.083>
- Chen, J., Niu, X., Dai, T., Hua, H., Feng, S., Liu, C., McClements, D.J., Liang, R., 2020. Amino acid-amidated pectin: Preparation and characterization. *Food Chemistry* 309, 125768. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125768>

- Chen, M., Lahaye, M., 2021. Natural deep eutectic solvents pretreatment as an aid for pectin extraction from apple pomace. *Food Hydrocolloids* 115, 106601. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106601>
- Cheng, X., Sherman, J., Murphy, W., Ratovitski, E., Canady, J., Keidar, M., 2014. The Effect of Tuning Cold Plasma Composition on Glioblastoma Cell Viability. *PLoS ONE* 9, e98652. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098652>
- Cho, E.-H., Jung, H.-T., Lee, B.-H., Kim, H.-S., Rhee, J.-K., Yoo, S.-H., 2019. Green process development for apple-peel pectin production by organic acid extraction. *Carbohydrate Polymers* 204, 97–103. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.09.086>
- Coenen, G.J., Bakx, E.J., Verhoef, R.P., Schols, H.A., Voragen, A.G.J., 2007. Identification of the connecting linkage between homo- or xylogalacturonan and rhamnogalacturonan type I. *Carbohydrate Polymers* 70, 224–235. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.04.007>
- Coma, V., 2008. Bioactive packaging technologies for extended shelf life of meat-based products. *Meat Science* 78, 90–103. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.07.035>
- Coronel-León, J., López, A., Espuny, M.J., Beltran, M.T., Molinos-Gómez, A., Rocabayera, X., Manresa, A., 2016. Assessment of antimicrobial activity of N α -lauroyl arginate ethylester (LAE®) against *Yersinia enterocolitica* and *Lactobacillus plantarum* by flow cytometry and transmission electron microscopy. *Food Control* 63, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.10.050>
- Del Amo-Mateos, E., López-Linares, J.C., García-Cubero, M.T., Lucas, S., Coca, M., 2022. Green biorefinery for sugar beet pulp valorisation: Microwave hydrothermal processing for pectooligosaccharides recovery and biobutanol production. *Industrial Crops and Products* 184, 115060. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115060>
- Díaz-Montes, E., Castro-Muñoz, R., 2021. Edible Films and Coatings as Food-Quality Preservers: An Overview. *Foods* 10, 249. <https://doi.org/10.3390/foods10020249>
- Duan, J., Kasper, D.L., 2011. Oxidative depolymerization of polysaccharides by reactive oxygen/nitrogen species. *Glycobiology* 21, 401–409. <https://doi.org/10.1093/glycob/cwq171>

- ECDC, 2022. European Centre for Disease Prevention and Control [WWW Document]. URL https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/LIST_AER_2022_Report.pdf.
- Fishman, M.L., Jen, J.J. (Eds.), 1986. Chemistry and Function of Pectins, ACS Symposium Series. American Chemical Society, Washington, DC. <https://doi.org/10.1021/bk-1986-0310>
- Forouhar, A., Hamdami, N., Djelveh, G., Lecerf, D., Rihouey, C., Gardarin, C., Pierre, G., Ursu, A.V., Michaud, P., 2024. Effects of high voltage dielectric barrier discharge on the extraction and properties of pectins from watermelon rinds. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 91, 103558. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2023.103558>
- Freitas, C.M.P., Sousa, R.C.S., Dias, M.M.S., Coimbra, J.S.R., 2020. Extraction of Pectin from Passion Fruit Peel. *Food Eng Rev* 12, 460–472. <https://doi.org/10.1007/s12393-020-09254-9>
- Frosi, I., Balduzzi, A., Moretto, G., Colombo, R., Papetti, A., 2023. Towards Valorization of Food-Waste-Derived Pectin: Recent Advances on Their Characterization and Application. *Molecules* 28, 6390. <https://doi.org/10.3390/molecules28176390>
- Gallo, M., Ferrara, L., Naviglio, D., 2018. Application of Ultrasound in Food Science and Technology: A Perspective. *Foods* 7, 164. <https://doi.org/10.3390/foods7100164>
- Garti, N., Leser, M.E., 2001. Emulsification properties of hydrocolloids. *Polym. Adv. Technol.* 12, 123–135. [https://doi.org/10.1002/1099-1581\(200101/02\)12:1/2<123::AID-PAT105>3.0.CO;2-0](https://doi.org/10.1002/1099-1581(200101/02)12:1/2<123::AID-PAT105>3.0.CO;2-0)
- Gaspar, M.C., Braga, M.E.M., 2023. Edible films and coatings based on agrifood residues: a new trend in the food packaging research. *Current Opinion in Food Science* 50, 101006. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2023.101006>
- Ge, X., Shen, H., Sun, X., Liang, W., Zhang, X., Sun, Z., Lu, Y., Li, W., 2022. Insight into the improving effect on multi-scale structure, physicochemical and rheology properties of granular cold water soluble rice starch by dielectric barrier discharge cold plasma processing. *Food Hydrocolloids* 130, 107732. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107732>

- Geornaras, I., De Jesus, A.E., Von Holy, A., 1998. Bacterial Populations Associated with the Dirty Area of a South African Poultry Abattoir. *Journal of Food Protection* 61, 700–703. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-61.6.700>
- Glinsky, V.V., Raz, A., 2009. Modified citrus pectin anti-metastatic properties: one bullet, multiple targets. *Carbohydrate Research* 344, 1788–1791. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2008.08.038>
- Gloaguen, V., Brudieux, V., Closs, B., Barbat, A., Krausz, P., Sainte-Catherine, O., Kraemer, M., Maes, E., Guerardel, Y., 2010. Structural Characterization and Cytotoxic Properties of an Apiose-Rich Pectic Polysaccharide Obtained from the Cell Wall of the Marine Phanerogam *Zostera marina*. *J. Nat. Prod.* 73, 1087–1092. <https://doi.org/10.1021/np100092c>
- Govoni, C., Chiarelli, D.D., Luciano, A., Ottoboni, M., Perpelek, S.N., Pinotti, L., Rulli, M.C., 2021. Global assessment of natural resources for chicken production. *Advances in Water Resources* 154, 103987. <https://doi.org/10.1016/j.advwatres.2021.103987>
- Guo, X., Ye, X., Sun, Y., Wu, D., Wu, N., Hu, Y., Chen, S., 2014. Ultrasound Effects on the Degradation Kinetics, Structure, and Antioxidant Activity of Sea Cucumber Fucoidan. *J. Agric. Food Chem.* 62, 1088–1095. <https://doi.org/10.1021/jf404717y>
- Hamidon N.H., Zaidel D.N.A., 2017. Effect of extraction conditions on pectin yield extracted from sweet potato peels residues using hydrochloric acid. *Chemical Engineering Transactions* 56, 979–984. <https://doi.org/10.3303/CET1756164>
- Han, J.H., 2014. Edible Films and Coatings, in: *Innovations in Food Packaging*. Elsevier, pp. 213–255. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394601-0.00009-6>
- Hawkins, C.L., Davies, M.J., 1996. Direct detection and identification of radicals generated during the hydroxyl radical-induced degradation of hyaluronic acid and related materials. *Free Radical Biology and Medicine* 21, 275–290. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(96\)00042-1](https://doi.org/10.1016/0891-5849(96)00042-1)
- Huang, X., Li, D., Wang, L., 2017. Characterization of pectin extracted from sugar beet pulp under different drying conditions. *Journal of Food Engineering* 211, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.04.022>

- Ikawa, S., Kitano, K., Hamaguchi, S., 2010. Effects of pH on Bacterial Inactivation in Aqueous Solutions due to Low-Temperature Atmospheric Pressure Plasma Application. *Plasma Processes & Polymers* 7, 33–42. <https://doi.org/10.1002/ppap.200900090>
- Infante, R., Dominguez, J.G., Erra, P., Julia, R., Prats, M., 1984. Surface active molecules: preparation and properties of long chain n^{α} -acyl- L- α -amino- ω -guanidine alkyl acid derivatives. *Intern J of Cosmetic Sci* 6, 275–282. <https://doi.org/10.1111/j.1467-2494.1984.tb00385.x>
- International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF), Swanson, K.M., 2011. Poultry Products, in: *Microorganisms in Foods 8*. Springer US, Boston, MA, pp. 95–106. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9374-8_9
- Jackson, C.L., Dreaden, T.M., Theobald, L.K., Tran, N.M., Beal, T.L., Eid, M., Gao, M.Y., Shirley, R.B., Stoffel, M.T., Kumar, M.V., Mohnen, D., 2007. Pectin induces apoptosis in human prostate cancer cells: correlation of apoptotic function with pectin structure. *Glycobiology* 17, 805–819. <https://doi.org/10.1093/glycob/cwm054>
- Jarvis, M.C., 1984. Structure and properties of pectin gels in plant cell walls. *Plant Cell & Environment* 7, 153–164. <https://doi.org/10.1111/1365-3040.ep11614586>
- Joanna, B., Michal, B., Piotr, D., Agnieszka, W., Dorota, K., Izabela, W., 2018. Sugar Beet Pulp as a Source of Valuable Biotechnological Products, in: *Advances in Biotechnology for Food Industry*. Elsevier, pp. 359–392. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811443-8.00013-X>
- Khlyustova, A., Labay, C., Machala, Z., Ginebra, M.-P., Canal, C., 2019. Important parameters in plasma jets for the production of RONS in liquids for plasma medicine: A brief review. *Front. Chem. Sci. Eng.* 13, 238–252. <https://doi.org/10.1007/s11705-019-1801-8>
- Kibler, K.M., Reinhart, D., Hawkins, C., Motlagh, A.M., Wright, J., 2018. Food waste and the food-energy-water nexus: A review of food waste management alternatives. *Waste Management* 74, 52–62. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.01.014>

- Knox, J.P., Linstead, Paul J., King, J., Cooper, C., Roberts, K., 1990. Pectin esterification is spatially regulated both within cell walls and between developing tissues of root apices. *Planta* 181. <https://doi.org/10.1007/BF00193004>
- Koutinas, A.A., Vlysidis, A., Pleissner, D., Kopsahelis, N., Lopez Garcia, I., Kookos, I.K., Papanikolaou, S., Kwan, T.H., Lin, C.S.K., 2014. Valorization of industrial waste and by-product streams via fermentation for the production of chemicals and biopolymers. *Chem. Soc. Rev.* 43, 2587. <https://doi.org/10.1039/c3cs60293a>
- Laroque, D.A., Seó, S.T., Valencia, G.A., Laurindo, J.B., Carciofi, B.A.M., 2022. Cold plasma in food processing: Design, mechanisms, and application. *Journal of Food Engineering* 312, 110748. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2021.110748>
- Li, H., Wang, L., Li, G., Jin, L., Le, P., Zhao, H., Xing, X., Bao, C., 2011. Manipulation of Lipase Activity by the Helium Radio-Frequency, Atmospheric-Pressure Glow Discharge Plasma Jet. *Plasma Processes & Polymers* 8, 224–229. <https://doi.org/10.1002/ppap.201000035>
- Li, X., Zhang, Z., Qi, X., Li, L., Zhu, J., Brennan, C.S., Yan, J., 2021. Application of nonthermal processing technologies in extracting and modifying polysaccharides: A critical review. *Comp Rev Food Sci Food Safe* 20, 4367–4389. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12820>
- Lukes, P., Clupek, M., Babicky, V., Sunka, P., 2008. Ultraviolet radiation from the pulsed corona discharge in water. *Plasma Sources Sci. Technol.* 17, 024012. <https://doi.org/10.1088/0963-0252/17/2/024012>
- Lukes, P., Dolezalova, E., Sisrova, I., Clupek, M., 2014. Aqueous-phase chemistry and bactericidal effects from an air discharge plasma in contact with water: evidence for the formation of peroxyxynitrite through a pseudo-second-order post-discharge reaction of H₂O₂ and HNO₂. *Plasma Sources Sci. Technol.* 23, 015019. <https://doi.org/10.1088/0963-0252/23/1/015019>
- Luque De Castro, M.D., Priego-Capote, F., 2010. Soxhlet extraction: Past and present panacea. *Journal of Chromatography A* 1217, 2383–2389. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.11.027>
- Ma, Q., Zhang, Y., Critzer, F., Davidson, P.M., Zhong, Q., 2016. Quality attributes and microbial survival on whole cantaloupes with antimicrobial coatings containing

- chitosan, lauric arginate, cinnamon oil and ethylenediaminetetraacetic acid. *International Journal of Food Microbiology* 235, 103–108. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.07.030>
- Ma, S., Yu, S., Zheng, X., Wang, X., Bao, Q., Guo, X., 2013. Extraction, characterization and spontaneous emulsifying properties of pectin from sugar beet pulp. *Carbohydrate Polymers* 98, 750–753. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.06.042>
- Ma, Yunfang, Ma, Yanqing, Chi, L., Wang, S., Zhang, D., Xiang, Q., 2023. Ethyl lauroyl arginate: An update on the antimicrobial potential and application in the food systems: a review. *Front. Microbiol.* 14, 1125808. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1125808>
- Mankar, A.R., Pandey, A., Modak, A., Pant, K.K., 2021. Pretreatment of lignocellulosic biomass: A review on recent advances. *Bioresource Technology* 334, 125235. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125235>
- Mao, G., Wu, D., Wei, C., Tao, W., Ye, X., Linhardt, R.J., Orfila, C., Chen, S., 2019. Reconsidering conventional and innovative methods for pectin extraction from fruit and vegetable waste: Targeting rhamnogalacturonan I. *Trends in Food Science & Technology* 94, 65–78. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.11.001>
- Mao, Y., Robinson, J.P., Binner, E.R., 2023. Current status of microwave-assisted extraction of pectin. *Chemical Engineering Journal* 473, 145261. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2023.145261>
- Marić, M., Grassino, A.N., Zhu, Z., Barba, F.J., Brnčić, M., Rimac Brnčić, S., 2018. An overview of the traditional and innovative approaches for pectin extraction from plant food wastes and by-products: Ultrasound-, microwaves-, and enzyme-assisted extraction. *Trends in Food Science & Technology* 76, 28–37. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.03.022>
- Martínez, M., Gullón, B., Schols, H.A., Alonso, J.L., Parajó, J.C., 2009. Assessment of the Production of Oligomeric Compounds from Sugar Beet Pulp. *Ind. Eng. Chem. Res.* 48, 4681–4687. <https://doi.org/10.1021/ie8017753>
- May, C.D., 1990. Industrial pectins: Sources, production and applications. *Carbohydrate Polymers* 12, 79–99. [https://doi.org/10.1016/0144-8617\(90\)90105-2](https://doi.org/10.1016/0144-8617(90)90105-2)

- Misra, N.N., Martynenko, A., Chemat, F., Paniwnyk, L., Barba, F.J., Jambrak, A.R., 2018. Thermodynamics, transport phenomena, and electrochemistry of external field-assisted nonthermal food technologies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 58, 1832–1863. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1287660>
- Misra, N.N., Pankaj, S.K., Segat, A., Ishikawa, K., 2016. Cold plasma interactions with enzymes in foods and model systems. *Trends in Food Science & Technology* 55, 39–47. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.07.001>
- Mohamed, A., El Galiou, O., Zantar, S., Arakrak, A., Laglaoui, A., Zerrouk, M.H., 2022. Edible Films and Coatings: Major Challenges and Potential Applications in Food Packaging. A Review, in: Shukla, A.K. (Ed.), *Food Packaging: The Smarter Way*. Springer Nature Singapore, Singapore, pp. 187–224. https://doi.org/10.1007/978-981-16-7196-8_8
- Mohnen, D., 2008. Pectin structure and biosynthesis. *Current Opinion in Plant Biology* 11, 266–277. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2008.03.006>
- Momeni, M., Tabibiazar, M., Khorram, S., Zakerhamidi, M., Mohammadifar, M., Valizadeh, H., Ghorbani, M., 2018. Pectin modification assisted by nitrogen glow discharge plasma. *International Journal of Biological Macromolecules* 120, 2572–2578. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.09.033>
- Moore, P.J., Swords, K.M., Lynch, M.A., Staehelin, L.A., 1991. Spatial organization of the assembly pathways of glycoproteins and complex polysaccharides in the Golgi apparatus of plants. *The Journal of cell biology* 112, 589–602. <https://doi.org/10.1083/jcb.112.4.589>
- Morgan, A., Darby, D., Bruce, T., Romero, A., Cooksey, K., 2022. Development of an antimicrobial coating containing nisin and pectin for deli meat turkey bologna. *LWT* 159, 113210. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113210>
- Motta, J.F.G., Ribeiro-Santos, R., Guimarães, M.C., Moura, L.D.A.G., Vitorazi, L., Melo, N.R.D., 2020. N α -lauroyl-L-arginine ethyl ester monohydrochloride, an antimicrobial agent and its use: a review. *RSD* 9, e6059108996. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i10.8996>

- Mottet, A., Tempio, G., 2017. Global poultry production: current state and future outlook and challenges. *World's Poultry Science Journal* 73, 245–256. <https://doi.org/10.1017/S0043933917000071>
- Moura, GreikaF., Tomborelli, PatriciaM., Carvalho, R.C.T., Sigarini, CleiseO., Carvalho, FernandaT., Vieira, BrunoS., Figueiredo, E.E.S., 2019. *Listeria monocytogenes* and Other Species as Persistent Contaminants in the Processing of Chicken Meat. *Journal of Applied Poultry Research* 28, 470–478. <https://doi.org/10.3382/japr/pfy071>
- Moura-Alves, M., Esteves, A., Ciríaco, M., Silva, J.A., Saraiva, C., 2023. Antimicrobial and Antioxidant Edible Films and Coatings in the Shelf-Life Improvement of Chicken Meat. *Foods* 12, 2308. <https://doi.org/10.3390/foods12122308>
- Mousavi Khaneghah, A., Hashemi, S.M.B., Limbo, S., 2018. Antimicrobial agents and packaging systems in antimicrobial active food packaging: An overview of approaches and interactions. *Food and Bioprocess Technology* 111, 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.05.001>
- Muñoz-Bonilla, A., Cerrada, M.L., Fernández-García, M., 2013. CHAPTER 1. Introduction to Antimicrobial Polymeric Materials, in: Muñoz-Bonilla, A., Cerrada, M., Fernández-García, M. (Eds.), *Polymer Chemistry Series*. Royal Society of Chemistry, Cambridge, pp. 1–21. <https://doi.org/10.1039/9781782624998-00001>
- Nakamura, A., Furuta, H., Maeda, H., Takao, T., Nagamatsu, Y., 2002. Structural Studies by Stepwise Enzymatic Degradation of the Main Backbone of Soybean Soluble Polysaccharides Consisting of Galacturonan and Rhamnogalacturonan. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 66, 1301–1313. <https://doi.org/10.1271/bbb.66.1301>
- Narisetty, V., Narisetty, S., Jacob, S., Kumar, D., Leeke, G.A., Chandel, A.K., Singh, V., Srivastava, V.C., Kumar, V., 2022. Biological production and recovery of 2,3-butanediol using arabinose from sugar beet pulp by *Enterobacter ludwigii*. *Renewable Energy* 191, 394–404. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2022.04.024>
- Nastasi, J.R., Kontogiorgos, V., Daygon, V.D., Fitzgerald, M.A., 2022. Pectin-based films and coatings with plant extracts as natural preservatives: A systematic

- review. *Trends in Food Science & Technology* 120, 193–211.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.01.014>
- Niquet, R., Boehm, D., Schnabel, U., Cullen, P., Bourke, P., Ehlbeck, J., 2018. Characterising the impact of post-treatment storage on chemistry and antimicrobial properties of plasma treated water derived from microwave and DBD sources. *Plasma Processes & Polymers* 15, 1700127.
<https://doi.org/10.1002/ppap.201700127>
- Nishime, T.M.C., Borges, A.C., Koga-Ito, C.Y., Machida, M., Hein, L.R.O., Kostov, K.G., 2017. Non-thermal atmospheric pressure plasma jet applied to inactivation of different microorganisms. *Surface and Coatings Technology* 312, 19–24.
<https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2016.07.076>
- Olano-Martin, E., Gibson, G.R., Rastall, R.A., 2002. Comparison of the in vitro bifidogenic properties of pectins and pectic-oligosaccharides. *J Appl Microbiol* 93, 505–511. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2002.01719.x>
- Onyeaka, H., Tamasiga, P., Nwauzoma, U.M., Miri, T., Juliet, U.C., Nwaiwu, O., Akinsemolu, A.A., 2023. Using Artificial Intelligence to Tackle Food Waste and Enhance the Circular Economy: Maximising Resource Efficiency and Minimising Environmental Impact: A Review. *Sustainability* 15, 10482.
<https://doi.org/10.3390/su151310482>
- Otoni, C.G., Avena-Bustillos, R.J., Azeredo, H.M.C., Lorevice, M.V., Moura, M.R., Mattoso, L.H.C., McHugh, T.H., 2017. Recent Advances on Edible Films Based on Fruits and Vegetables—A Review. *Comp Rev Food Sci Food Safe* 16, 1151–1169. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12281>
- Pankaj, S., Wan, Z., Keener, K., 2018. Effects of Cold Plasma on Food Quality: A Review. *Foods* 7, 4. <https://doi.org/10.3390/foods7010004>
- Pankaj, S.K., Misra, N.N., Cullen, P.J., 2013. Kinetics of tomato peroxidase inactivation by atmospheric pressure cold plasma based on dielectric barrier discharge. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 19, 153–157.
<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2013.03.001>
- Parsons, H.T., Christiansen, K., Knierim, B., Carroll, A., Ito, J., Batth, T.S., Smith-Moritz, A.M., Morrison, S., McInerney, P., Hadi, M.Z., Auer, M.,

- Mukhopadhyay, A., Petzold, C.J., Scheller, H.V., Loqué, D., Heazlewood, J.L., 2012. Isolation and Proteomic Characterization of the Arabidopsis Golgi Defines Functional and Novel Components Involved in Plant Cell Wall Biosynthesis. *Plant Physiology* 159, 12–26. <https://doi.org/10.1104/pp.111.193151>
- Picot-Allain, M.C.N., Ramasawmy, B., Emmambux, M.N., 2022. Extraction, Characterisation, and Application of Pectin from Tropical and Sub-Tropical Fruits: A Review. *Food Reviews International* 38, 282–312. <https://doi.org/10.1080/87559129.2020.1733008>
- Poojary, M.M., Orlie, V., Passamonti, P., Olsen, K., 2017. Enzyme-assisted extraction enhancing the umami taste amino acids recovery from several cultivated mushrooms. *Food Chemistry* 234, 236–244. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.157>
- Prajapat, A.L., Das, P., Gogate, P.R., 2016. A novel approach for intensification of enzymatic depolymerization of carboxymethyl cellulose using ultrasonic and ultraviolet irradiations. *Chemical Engineering Journal* 290, 391–399. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.01.074>
- Raeisi, M., Tabaraei, A., Hashemi, M., Behnampour, N., 2016. Effect of sodium alginate coating incorporated with nisin, *Cinnamomum zeylanicum*, and rosemary essential oils on microbial quality of chicken meat and fate of *Listeria monocytogenes* during refrigeration. *International Journal of Food Microbiology* 238, 139–145. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.08.042>
- Rahman, M., Hasan, Md.S., Islam, R., Rana, R., Sayem, A., Sad, Md.A.A., Matin, A., Raposo, A., Zandonadi, R.P., Han, H., Ariza-Montes, A., Vega-Muñoz, A., Sunny, A.R., 2022. Plasma-Activated Water for Food Safety and Quality: A Review of Recent Developments. *IJERPH* 19, 6630. <https://doi.org/10.3390/ijerph19116630>
- Rana, A.K., Gupta, V.K., Newbold, J., Roberts, D., Rees, R.M., Krishnamurthy, S., Thakur, V.K., 2022. Sugar beet pulp: Resurgence and trailblazing journey towards a circular bioeconomy. *Fuel* 312, 122953. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.122953>

- Rațu, R.N., Veleșcu, I.D., Stoica, F., Usturoi, A., Arsenoiaia, V.N., Crivei, I.C., Postolache, A.N., Lipșa, F.D., Filipov, F., Florea, A.M., Chițea, M.A., Brumă, I.S., 2023. Application of Agri-Food By-Products in the Food Industry. *Agriculture* 13, 1559. <https://doi.org/10.3390/agriculture13081559>
- Renard, C.M.G.C., Crépeau, M.-J., Thibault, J.-F., 1995. Structure of the repeating units in the rhamnogalacturonic backbone of apple, beet and citrus pectins. *Carbohydrate Research* 275, 155–165. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(95\)00140-O](https://doi.org/10.1016/0008-6215(95)00140-O)
- Ridley, B.L., O’Neill, M.A., Mohnen, D., 2001. Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling. *Phytochemistry* 57, 929–967. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(01\)00113-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00113-3)
- Rodriguez, E., Seguer, J., Rocabayera, X., Manresa, A., 2004. Cellular effects of monohydrochloride of l-arginine, Nalpha-lauroyl ethylester (LAE) on exposure to *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus*. *J Appl Microbiol* 96, 903–912. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02207.x>
- Rombouts, F.M., Thibault, J.-F., 1986. Feruloylated pectic substances from sugar-beet pulp. *Carbohydrate Research* 154, 177–187. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)90031-4](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)90031-4)
- Ropartz, D., Ralet, M.-C., 2020. Pectin Structure, in: Kontogiorgos, V. (Ed.), *Pectin: Technological and Physiological Properties*. Springer International Publishing, Cham, pp. 17–36. https://doi.org/10.1007/978-3-030-53421-9_2
- Rosenbohm, C., Lundt, I., Christensen, ToveM.I.E., Young, NiallW.G., 2003. Chemically methylated and reduced pectins: preparation, characterisation by ¹H NMR spectroscopy, enzymatic degradation, and gelling properties. *Carbohydrate Research* 338, 637–649. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(02\)00440-8](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(02)00440-8)
- Ruckman, S.A., Rocabayera, X., Borzelleca, J.F., Sandusky, C.B., 2004. Toxicological and metabolic investigations of the safety of N-α-Lauroyl-l-arginine ethyl ester monohydrochloride (LAE). *Food and Chemical Toxicology* 42, 245–259. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2003.08.022>
- Sadekuzzaman, M., Yang, S., Kim, H., Mizan, Md.F.R., Ha, S., 2017. Evaluation of a novel antimicrobial (lauric arginate ester) substance against biofilm of

- Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella* spp. Int J of Food Sci Tech 52, 2058–2067. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13484>
- Sánchez-Ortega, I., García-Almendárez, B.E., Santos-López, E.M., Amaro-Reyes, A., Barboza-Corona, J.E., Regalado, C., 2014. Antimicrobial Edible Films and Coatings for Meat and Meat Products Preservation. The Scientific World Journal 2014, 1–18. <https://doi.org/10.1155/2014/248935>
- Sarafidou, M., Vittou, O., Psaki, O., Filippi, K., Tsouko, E., Vardaxi, A., Pispas, S., Koutinas, A., Stylianou, E., 2024. Evaluation of alternative sugar beet pulp refining strategies for efficient pectin extraction and poly(3-hydroxybutyrate) production. Biochemical Engineering Journal 208, 109368. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2024.109368>
- Scally, L., Behan, S., Aguiar De Carvalho, A.M., Sarangapani, C., Tiwari, B., Malone, R., Byrne, H.J., Curtin, J., Cullen, P.J., 2021. Diagnostics of a large volume pin-to-plate atmospheric plasma source for the study of plasma species interactions with cancer cell cultures. Plasma Processes & Polymers 18, 2000250. <https://doi.org/10.1002/ppap.202000250>
- Shapira, E., Nadler, H.L., 1975. Problems associated with the determination of arylsulfatase A and B using nitrocatechol sulfate substrate. Clin Chim Acta 65, 1–4. [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(75\)90327-7](https://doi.org/10.1016/0009-8981(75)90327-7)
- Sharma, S., Singh, R.K., 2020. Cold plasma treatment of dairy proteins in relation to functionality enhancement. Trends in Food Science & Technology 102, 30–36. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.05.013>
- Soltani Firouz, M., Mohi-Alden, K., Omid, M., 2021. A critical review on intelligent and active packaging in the food industry: Research and development. Food Research International 141, 110113. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110113>
- Sparr Eskilsson, C., Björklund, E., 2000. Analytical-scale microwave-assisted extraction. Journal of Chromatography A 902, 227–250. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00921-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00921-3)
- Sun, R., Hughes, S., 1998. Extraction and Physico-Chemical Characterization of Pectins from Sugar Beet Pulp. Polym J 30, 671–677. <https://doi.org/10.1295/polymj.30.671>

- Surowsky, B., Schlüter, O., Knorr, D., 2015. Interactions of Non-Thermal Atmospheric Pressure Plasma with Solid and Liquid Food Systems: A Review. *Food Eng Rev* 7, 82–108. <https://doi.org/10.1007/s12393-014-9088-5>
- Takai, E., Kitano, K., Kuwabara, J., Shiraki, K., 2012. Protein Inactivation by Low-temperature Atmospheric Pressure Plasma in Aqueous Solution. *Plasma Processes & Polymers* 9, 77–82. <https://doi.org/10.1002/ppap.201100063>
- Tendero, C., Tixier, C., Tristant, P., Desmaison, J., Leprince, P., 2006. Atmospheric pressure plasmas: A review. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 61, 2–30. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2005.10.003>
- Thibault, J.-F., Renard, C.M.G.C., Axelos, M.A.V., Roger, P., Crépeau, M.-J., 1993. Studies of the length of homogalacturonic regions in pectins by acid hydrolysis. *Carbohydrate Research* 238, 271–286. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(93\)87019-O](https://doi.org/10.1016/0008-6215(93)87019-O)
- Umair, M., Jabbar, S., Nasiru, M., Sultana, T., Senan, A., Awad, F., Hong, Z., Zhang, J., 2019. Exploring the Potential of High-Voltage Electric Field Cold Plasma (HVCP) Using a Dielectric Barrier Discharge (DBD) as a Plasma Source on the Quality Parameters of Carrot Juice. *Antibiotics* 8, 235. <https://doi.org/10.3390/antibiotics8040235>
- Voragen, A.G.J., Coenen, G.-J., Verhoef, R.P., Schols, H.A., 2009. Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls. *Struct Chem* 20, 263–275. <https://doi.org/10.1007/s11224-009-9442-z>
- W. Elizabeth Devi, 5/52014. Extraction of Pectin from Citrus Fruit Peel and Its Utilization in Preparation of Jelly.
- Wang, W., Ma, X., Xu, Y., Cao, Y., Jiang, Z., Ding, T., Ye, X., Liu, D., 2015. Ultrasound-assisted heating extraction of pectin from grapefruit peel: Optimization and comparison with the conventional method. *Food Chemistry* 178, 106–114. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.080>
- Whitehead, J.C., 2016. The Chemistry of Cold Plasma, in: *Cold Plasma in Food and Agriculture*. Elsevier, pp. 53–81. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801365-6.00003-2>

- Wong, K.S., Chew, N.S.L., Low, M., Tan, M.K., 2023. Plasma-Activated Water: Physicochemical Properties, Generation Techniques, and Applications. *Processes* 11, 2213. <https://doi.org/10.3390/pr11072213>
- Wright, A., Taglioli, M., Montazersadgh, F., Shaw, A., Iza, F., Bandulasena, H.C.H., 2019. Microbubble-enhanced DBD plasma reactor: Design, characterisation and modelling. *Chemical Engineering Research and Design* 144, 159–173. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2019.01.030>
- Xu, X.-H., Jiang, Z.-L., Feng, F.-Q., Lu, R.-R., 2018. Mechanisms of N α -lauroyl arginate ethyl ester against *Penicillium digitatum* and *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*. *J Food Sci Technol* 55, 3675–3682. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3296-6>
- Yang, X., Rai, R., Huu, C.N., Nitin, N., 2019. Synergistic Antimicrobial Activity by Light or Thermal Treatment and Lauric Arginate: Membrane Damage and Oxidative Stress. *Appl Environ Microbiol* 85, e01033-19. <https://doi.org/10.1128/AEM.01033-19>
- Zdunek, A., Pieczywek, P.M., Cybulska, J., 2021. The primary, secondary, and structures of higher levels of pectin polysaccharides. *Comp Rev Food Sci Food Safe* 20, 1101–1117. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12689>
- Zhao, Y., Patange, A., Sun, D., Tiwari, B., 2020. Plasma-activated water: Physicochemical properties, microbial inactivation mechanisms, factors influencing antimicrobial effectiveness, and applications in the food industry. *Comp Rev Food Sci Food Safe* 19, 3951–3979. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12644>
- Zheng, Y., Lee, C., Yu, C., Cheng, Y.-S., Zhang, R., Jenkins, B.M., VanderGheynst, J.S., 2013. Dilute acid pretreatment and fermentation of sugar beet pulp to ethanol. *Applied Energy* 105, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.11.070>
- Zhou, Renwu, Zhou, Rusen, Wang, P., Xian, Y., Mai-Prochnow, A., Lu, X., Cullen, P.J., Ostrikov, K. (Ken), Bazaka, K., 2020. Plasma-activated water: generation, origin of reactive species and biological applications. *J. Phys. D: Appl. Phys.* 53, 303001. <https://doi.org/10.1088/1361-6463/ab81cf>

Zielinska, S., Cybulska, J., Pieczywek, P., Zdunek, A., Kurzyna-Szklarek, M., Staniszewska, I., Liu, Z.-L., Pan, Z., Xiao, H.-W., Zielinska, M., 2022. Structural Morphology and Rheological Properties of Pectin Fractions Extracted from Okra Pods Subjected to Cold Plasma Treatment. *Food Bioprocess Technol* 15, 1168–1181. <https://doi.org/10.1007/s11947-022-02798-0>