



**ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ**

**ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ**

**ΤΟΜΕΑΣ ΙV: ΣΥΝΘΕΣΗΣ & ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ  
ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ**

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**



**ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΚΛΑΣΜΑΤΟΣ ΑΚΕΜΑΝΝΑΝΗΣ ΑΠΟ A.VERA  
ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΘΕΡΜΙΚΩΝ ΚΑΙ ΚΑΙΝΟΤΟΜΩΝ  
ΚΑΤΕΡΓΑΣΙΩΝ: ΕΝΣΩΜΑΤΩΣΗ ΑΚΕΜΑΝΝΑΝΗΣ ΣΕ  
ΕΔΩΔΙΜΕΣ ΕΠΙΚΑΛΥΠΤΙΚΕΣ ΜΕΜΒΡΑΝΕΣ ΓΙΑ  
ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΣΕ ΦΡΟΥΤΑ**

**ΜΗΤΡΟΠΟΥΛΟΥ ΓΕΩΡΓΙΑ**

**ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ  
ΤΖΙΑ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΑ**

**ΑΘΗΝΑ, 2022**

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Ινστιτούτο Τεχνολογίας Αγροτικών Προϊόντων του Ελληνικού Γεωργικού Οργανισμού «Δήμητρα», υπό την επίβλεψη της καθηγήτριας του ΕΜΠ κυρίας Κωνσταντίνας Τζιά.

Πρωτίστως, οφείλω τις θερμές μου ευχαριστίες στην κυρία Τζιά για την ανάθεση του θέματος, αλλά κυρίως για την επιστημονική υποστήριξη, την καθοδήγηση και την αμέριστη κατανόηση που επέδειξε σε όλα τα στάδια προς την ολοκλήρωση της διπλωματικής αυτής εργασίας.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω το επιστημονικό προσωπικό στο Ινστιτούτο Τεχνολογίας Αγροτικών Προϊόντων και ιδιαίτερα τον κύριο Κατσαρό Γεώργιο, την κυρία Χανιώτη Σοφία και την κυρία Στεργίου Παναγιώτα, για την βοήθεια που μου προσέφεραν, τόσο παραχωρώντας μου τον κατάλληλο εργαστηριακό εξοπλισμό όσο και για τη συνολική υποστήριξη κατά την υλοποίηση του πειραματικού μέρους της εργασίας.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου και τους φίλους μου για τη διαρκή συμπαράσταση και βοήθεια που μου προσέφεραν απλόχερα σε όλη τη διάρκεια των σπουδών μου και φυσικά κατά την εκπόνηση της παρούσας διπλωματικής εργασίας.

Αθήνα, Σεπτέμβριος 2022

Μητροπούλου Γεωργία.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα διπλωματική εργασία έχει ως αντικείμενο την παραλαβή του κλάσματος πολυσακχαριτών και ειδικά της ακεμαννάνης από το παρέγχυμα φύλλων *Aloe Vera*. Η εφαρμοζόμενη μέθοδος βασίζεται στην παραλαβή ομογενοποιημένου παρεγχύματος απαλλαγμένο από φυτικές ίνες (με χρήση φίλτρου ή φυγοκέντρησης) και καταβύθιση αυτού με οργανικό διαλύτη (αιθανόλη ή μεθανόλη). Περιλαμβάνεται καθαρισμός του ιζήματος με επαναδιαλυτοποίηση σε νερό, διήθηση και λυοφιλίωση, προς παραλαβή ξηρού κλάσματος ακετυλομαννανών. Παράλληλα, μελετάται η επίδραση της κατεργασίας χυμού με ομογενοποίηση υψηλής ταχύτητας, εφαρμογή υπερήχων και υπερυψηλής πίεσης (200 και 400 MPa) όπως και με εφαρμογή ήπιας θερμικής μεθόδου που εφαρμόζεται μεμονωμένα ή συνδυαστικά με τις υπόλοιπες κατεργασίες. Αρχικά, μετρώνται οι φυσικοχημικές ιδιότητες του παρεγχύματος που περιλαμβάνουν τα διαλυτά στερεά, το pH, το δείκτη διάθλασης, το ιξώδες, την ενεργότητα νερού, την υγρασία, την τέφρα, την περιεκτικότητα σε βιταμίνη C, την οξύτητα (%), το χρώμα και την υφή. Για τη σύγκριση των μεθόδων παραλαβής πολυσακχαριτών, προσδιορίζεται η απόδοση σε μάζα ιζήματος από την καταβύθιση ως προς το χυμό. Στον επεξεργασμένο χυμό προσδιορίζονται (ως προς ξηρό βάρος) οι ολικοί πολυσακχαρίτες όπως και στο τελικό κλάσμα ακεμαννάνης, όπου επίσης προσδιορίζεται συγκριμένα η ακεμαννάνη με HPLC-UV-Vis.

Μέσω σύγκρισης των αποτελεσμάτων, επιλέγεται ως διαλύτης καταβύθισης η καθαρή αιθανόλη και η χρήση φίλτρου για διαχωρισμό των ινών. Βάσει αυτών, πραγματοποιείται στη συνέχεια η κύρια σειρά δειγμάτων, όπου μελετάται η επίδραση των κατεργασιών (εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης, υπερήχων, ομογενοποίησης υψηλής ταχύτητας), της θερμοκρασίας (25 ή 40°C) και της κατάστασης των φυτών κατά τη συγκομιδή (1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> συγκομιδή) στην παραλαβή του κλάσματος πολυσακχαριτών. Από τα αποτελέσματα και τη στατιστική επεξεργασία αυτών, προκύπτει σημαντική βελτίωση στην παραλαβή ακεμαννάνης για τις περιπτώσεις όπου πραγματοποιείται κατεργασία χυμού με ομογενοποίηση υψηλής ταχύτητας και με εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης (400 MPa), ενώ ως προς τη θερμοκρασία, η θέρμανση ως τους 40°C έχει επίσης θετική επίδραση. Στα αποτελέσματα αποδόσεων μάζας ιζήματος ως προς το ξηρό βάρος χυμού (ξ.β. *A.Vera*), τα δείγματα με τις αναφερόμενες κατεργασίες παρουσιάζουν σημαντικά αυξημένες τιμές, συγκριτικά με το δείγμα ελέγχου.

Το ίδιο μοτίβο παρατηρείται και για το περιεχόμενο ολικών πολυσακχαριτών στα δείγματα χυμών και στα τελικά ξηρά κλάσματα πολυσακχαριτών. Για το χυμό, η περιεκτικότητα στο δείγμα ελέγχου προκύπτει 0,293 mg γλυκόζης/mg ξ.β. *A.Vera* και μετά από κατεργασία με ομογενοποίηση υψηλής ταχύτητας και με εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης 400 MPa στους 40°C, οι περιεκτικότητες αυξάνονται κατά 34% και 39% (0,391 και 0,407 mg γλυκόζης/mg ξ.β. *A.Vera*, αντίστοιχα). Στο ξηρό προϊόν ακεμαννάνης, η συγκέντρωση πολυσακχαριτών του δείγματος ελέγχου σημειώνεται 0,184 mg γλυκόζης/mg ξ.β. προϊόντος, ενώ για εφαρμογή ομογενοποίησης υψηλής

ταχύτητας και υπερυψηλής πίεσης 400MPa στους 40°C, οι τιμές φτάνουν στα 0,315 και 0,331 mg γλυκόζης/mg ξηρού προϊόντος (αύξηση κατά 71% και 80% αντίστοιχα).

Τα ίδια προκύπτουν και ως προς το περιεχόμενο ακεμαννάνης στο τελικό προϊόν. Σημαντικά μεγαλύτερο περιεχόμενο κατά 62,93% και 67,65% συγκριτικά με το δείγμα ελέγχου, παρατηρείται στην περίπτωση της ομογενοποίησης υψηλής ταχύτητας και της εφαρμογής υπερυψηλής πίεσης (400 MPa) αντίστοιχα, για τους 40°C.

Όλες οι μετρήσεις αναφορικά με τη δεύτερη συγκομιδή προκύπτουν σημαντικά χαμηλότερες από την πρώτη. Οι αλλαγές στην καλλιέργεια και συγκεκριμένα η αλλαγή χώματος και η αύξηση της συχνότητας ποτίσματος επηρεάζουν αρνητικά τα αποτελέσματα.

Μετά την παραλαβή των ξηρών κλασμάτων ακετυλομαννανών, επιπλέον στόχος είναι η μελέτη εφαρμογής τους σε εδώδιμες επικαλυπτικές μεμβράνες για ευπαθές φρούτο, τη φράουλα. Η ενσωμάτωση γίνεται σε χαμηλές συγκεντρώσεις, σε διάλυμα αλγινικού νατρίου. Εξετάζονται δύο μεμβράνες, για δύο συγκεντρώσεις πολυσακχαριτών αλόης σε διάλυμα με αλγινικό νάτριο. Διαλύματα αλγινικού νατρίου 2% w/v και ακεμαννάνης 0,7% w/v, αναμιγνύονται σε αναλογίες όγκων 50:50 και 30:70 για να προκύψουν οι υπό εξέταση μεμβράνες. Φράουλες με τις επικαλύψεις αυτές, με επικάλυψη μόνο αλγινικού νατρίου και χωρίς επικάλυψη, συντηρούνται για 15 ημέρες υπό ψύξη (4°C). Αξιολογείται η επίδραση των μεμβρανών στη διατήρηση του φρούτου, μέσω προσδιορισμού μεγεθών σχετικών με την ποιότητα της φράουλας, μετά από δειγματοληψία την 1<sup>η</sup>, 4<sup>η</sup>, 8<sup>η</sup>, 12<sup>η</sup> και 15<sup>η</sup> ημέρα. Συγκεκριμένα, στα φρούτα προσδιορίζεται η απώλεια βάρους, η σκληρότητα, τα ολικά διαλυτά στερεά, το pH, η οξύτητα, ο δείκτης αμαύρωσης, το χρώμα, τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, το περιεχόμενο βιταμίνης C, αντιοξειδωτικών συστατικών, ανθοκυανινών και φαινολικών συστατικών, η ενεργότητα πεκτινομεθυλεστεράσης, πολυφαινολικής οξειδάσης και β-γλυκοζιδάσης όπως και το μικροβιακό φορτίο της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας και των ζυμών-μυκήτων.

Οι μεμβράνες αλγινικού με ενσωμάτωση κλάσματος ακεμαννάνης στη μέγιστη συγκέντρωση, παρουσιάζουν σημαντικά θετική επίδραση στη διατηρησιμότητα του φρούτου, σε σύγκριση με φρούτα χωρίς επικάλυψη. Ειδικότερα, συνδέονται με περιορισμό της απώλειας βάρους των φρούτων κατά τη συντήρηση, με διατήρηση του pH και της οξύτητας κοντά στα αρχικά επίπεδα, με βελτιωμένο χρώμα φρούτου και με διατήρηση των ευχάριστων οργανοληπτικών χαρακτηριστικών (χρώμα, γεύση, άρωμα, αρέσκεια) για 15 ημέρες. Επιπλέον, οι μεμβράνες αυτές συνδέονται με βελτίωση και διατήρηση στο χρόνο του περιεχομένου βιταμίνης C της φράουλας, με αύξηση της ικανότητας των αντιοξειδωτικών συστατικών και με αυξημένα επίπεδα φαινολικών συστατικών συγκριτικά με τα δείγματα ελέγχου. Όσον αφορά την ενζυμική ανάλυση, με ενσωμάτωση των πολυσακχαριτών αλόης σε μεμβράνες επιτυγχάνεται περιορισμός της ενεργότητας πολυφαινολοξειδάσης και αυξημένη ενεργότητα β-γλυκοζιδάσης κατά τη συντήρηση. Τέλος, για την ολική μεσόφιλη χλωρίδα, στα φρούτα με επικάλυψη με πολυσακχαρίτες αλόης στη μεγαλύτερη

συγκέντρωση υπό εξέταση, παρατηρείται ο μικρότερος ρυθμός αύξησης του μικροβιακού φορτίου.

Λέξεις-φράσεις κλειδιά: *Aloe Vera*, πολυσακχαρίτες, ακεμαννάνη, παραλαβή καταβύθιση, θερμική μέθοδος, ομογενοποίηση υψηλής ταχύτητας, υπέρηχοι, υπερυψηλή πίεση, εδώδιμες μεμβράνες, αλγινικό νάτριο, διατηρησιμότητα

# Extraction of the acemannan fraction of *A.Vera* with the assistance of thermal and innovative treatments: Incorporation of acemannan in edible coatings for fruits application

Mitropoulou Georgia, Diploma Thesis

National Technical University of Athens, School of Chemical Engineering, Laboratory of Food Chemistry and Technology

## ABSTRACT

The subject of this study is the extraction of the polysaccharide fraction and especially acemannan, from the *A.Vera* leaf parenchyma. The applied method is based on the methanolic or ethanolic precipitation using homogenized *A.Vera* parenchyma whose plant fibers have been separated (by filtration or centrifugation). A purification step is included, in which the precipitate is dissolved in deionized water, filtrated under vacuum and lyophilized, in order to obtain a dry acemannan fraction. The effect of juice treatment using technologies such as high shear homogenization, ultrasound and high pressure (200 and 400 MPa) processing, as well as a mild thermal method applied individually or in combination with the previous treatments, is also being evaluated in parallel. Initially, the physicochemical properties of the leaf parenchyma are measured, including total soluble solids, pH, refractive index, viscosity, water activity, moisture, ash, vitamin C content, acidity (%), color and texture. In order to compare the methods of obtaining aloe polysaccharides, the mass yield of the precipitate in relation to the aloe juice is determined. The polysaccharide content (in terms of dry weight), is also measured for the processed juice and the final polysaccharide fraction while, in the latter, acemannan in particular is determined by HPLC-UV-Vis.

Following the comparison of results, pure ethanol is chosen as precipitant and the use of a filter is preferred for fiber separation. These findings are taken into account for the preparation of the main series samples, where the effect of treatments (high pressure processing, ultrasound processing, high shear homogenization), temperature (25 or 40°C) and condition of plants at harvest (1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> harvest) is studied. A statistical analysis is conducted as well. The results show a significant improvement in the overall process for the samples where juice treatment was carried out by high shear homogenization and application of high pressure (400 MPa), while in terms of temperature, heating up to 40°C also has a positive effect. Regarding the results of precipitate mass yields in terms of dry weight of juice (d.w. *A.Vera*), the samples with the mentioned treatments show significantly increased values, compared to the control sample.

The same pattern occurs for the total polysaccharide content of the treated juice samples and the final dry polysaccharide fractions. The polysaccharide content of the control juice sample, (untreated) is found to be 0.293 mg glucose/mg d.w. A.Vera and after treatment with high shear homogenization and high pressure processing (400 MPa) at 40°C, the contents in these juices increase by 34% and 39% (0,391 and 0,407 mg glucose/mg d.w. A.Vera respectively). Concerning the dry acemannan product, the polysaccharide concentration of the control sample is measured at 0,184 mg glucose/mg d.w., whereas the values for samples treated with high shear homogenization and high pressure processing at 40°C, reach 0,315 and 0,331 mg glucose/mg d.w. (contents increase by 71% and 80% respectively).

The determination of acemannan content of the final products leads to corresponding results. A significantly higher content by 62,93% and 67,65% compared to the control sample is observed in the case of high shear homogenization and high pressure processing (400 MPa) respectively, at 40°C.

All measurements regarding the second harvest, are found to be significantly lower than the first. Changes in plant cultivation, including the use of different soil and an increased irrigation, affect the results.

Upon receiving the dry fractions of acetylmannans, an additional objective is to study their application in edible coatings for a perishable fruit, the strawberry. The incorporation takes place at low concentrations, in a sodium alginate solution. Two coatings are examined, which correspond to two concentrations of aloe polysaccharides in the alginate solution. Sodium alginate solutions 2% w/v and acemannan solutions 0,7% w/v are mixed with volume ratios of 50:50 και 30:70, in order to prepare the films used in further examination. Strawberry samples with these coatings, others coated only with sodium alginate and samples without coating, are preserved for 15 days in cold storage (4°C). The effect of the films on prolonging the storage life of strawberry is evaluated, by determining properties related to the quality of the fruit, after sampling on the 1<sup>st</sup>, 4<sup>th</sup>, 8<sup>th</sup>, 12<sup>th</sup> and 15<sup>th</sup> day. In particular, weight loss, firmness, total soluble solids, pH, acidity, browning index, color, organoleptic characteristics, the contents of vitamin C, antioxidant compounds, anthocyanins and phenolic compounds, the activities of pectin methylesterase, polyphenol oxidase and β-glucosidase as well as the microbial load of total mesophilic flora and molds- yeasts are measured in every strawberry sample.

Edible alginate films with the incorporation of acemannan at the highest examined concentration, show a significant positive effect on fruit storability, compared to uncoated fruits. These coatings are associated with limiting fruit weight loss during storage, maintaining pH and acidity close to the initial levels, improved fruit color and also maintaining pleasant organoleptic characteristics (color, taste, aroma, overall liking) for 15 days. In addition, an improvement of the vitamin C content of strawberries which is maintained during storage, an increase in the scavenging capacity of antioxidant components and increased levels of phenolic components (compared to control samples), are attributed to these coatings. Regarding the

enzymatic analysis, by incorporating aloe polysaccharides into edible coatings, a limitation of polyphenol oxidase activity and an increased  $\beta$ -glucosidase activity during storage are achieved. Finally, for the total mesophilic flora, fruits coated with aloe polysaccharides at the highest concentration tested, show the lowest rate of increase of the microbial load.



## Περιεχόμενα

ΠΡΟΛΟΓΟΣ .....	1
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	2
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	12
1. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	14
1.1 ΦΥΤΟ <i>A.VERA</i> .....	14
1.1.1 ΟΝΟΜΑΣΙΑ-ΒΟΤΑΝΟΛΟΓΙΚΗ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ .....	14
1.1.2 ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΦΥΤΟΥ .....	14
1.1.3 ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΚΑΙ ΣΥΣΤΑΣΗ ΦΥΛΛΟΥ .....	17
1.2 ΠΑΡΕΓΧΥΜΑ <i>A.VERA</i> .....	18
1.2.1 ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ .....	18
1.2.2 ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ.....	19
1.2.3 ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ- ΧΡΗΣΕΙΣ ΠΑΡΕΓΧΥΜΑΤΟΣ ΑΛΟΗΣ .....	22
1.3 ΑΚΕΜΑΝΝΑΝΗ ΑΠΟ ΤΟ ΦΥΤΟ <i>A.VERA</i> .....	24
1.3.1 ΧΗΜΕΙΑ- ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ.....	24
1.3.2 ΒΙΟΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΑΚΕΜΑΝΝΑΝΗΣ - ΠΙΘΑΝΕΣ ΧΡΗΣΕΙΣ .....	25
1.4 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗ ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΤΙΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΗΣ ΑΚΕΜΑΝΝΑΝΗΣ .....	28
1.5 ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΑΡΑΛΑΒΗΣ ΑΚΕΜΑΝΝΑΝΗΣ ΑΠΟ <i>A.VERA</i> .....	31
1.5.1 ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΩΝ (Alcohol Insoluble Residues- AIRS).....	32
1.5.2 ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΣ ΚΛΑΣΜΑΤΟΣ ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΩΝ- ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΑΚΕΜΑΝΝΑΝΗΣ.....	33
1.6 ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΚΕΜΑΝΝΑΝΗΣ- ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΚΑΘΑΡΟΤΗΤΑΣ.....	39
1.6.1 ΧΡΩΜΑΤΟΜΕΤΡΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	39
1.6.2 ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ .....	40
1.6.3 ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ .....	43
1.7 ΑΠΟΔΟΣΗ ΤΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΠΑΡΑΛΑΒΗΣ ΑΚΕΜΑΝΝΑΝΗΣ .....	44
1.8 ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΕΣ ΒΕΛΤΙΩΣΗΣ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΑΚΕΜΑΝΑΝΝΗΣ .....	45
1.8.1 ΥΠΕΡΥΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ .....	45
1.8.2 ΥΠΕΡΗΧΟΙ.....	48
1.8.3 ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΣΗ ΥΨΗΛΗΣ ΤΑΧΥΤΗΤΑΣ .....	50
1.9 ΕΔΩΔΙΜΕΣ ΕΠΙΚΑΛΥΠΤΙΚΕΣ ΜΕΜΒΡΑΝΕΣ.....	51

1.9.1	ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	51
1.9.2	ΑΝΑΓΚΗ ΓΙΑ ΕΠΙΚΑΛΥΠΤΙΚΕΣ ΜΕΜΒΡΑΝΕΣ ΣΤΑ ΦΡΟΥΤΑ ΚΑΙ ΛΑΧΑΝΙΚΑ 51	
1.9.3	ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΕΠΙΚΑΛΥΠΤΙΚΩΝ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ.....	52
1.9.4	ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ.....	53
1.9.5	ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΕΔΩΔΙΜΩΝ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ	55
1.9.6	ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΣΤΙΣ ΕΔΩΔΙΜΕΣ ΜΕΜΒΡΑΝΕΣ .....	57
1.9.7	ΧΡΗΣΗ A.VERA ΣΕ ΕΔΩΔΙΜΕΣ ΕΠΙΚΑΛΥΠΤΙΚΕΣ ΜΕΜΒΡΑΝΕΣ.....	64
2.	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .....	66
2.1.1	ΣΚΟΠΟΣ.....	66
2.2	ΥΛΙΚΑ-ΟΡΓΑΝΑ .....	67
2.2.1	ΠΡΩΤΕΣ ΥΛΕΣ.....	67
2.2.2	ΧΗΜΙΚΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ .....	67
2.2.3	ΣΥΣΚΕΥΕΣ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΑ .....	68
2.3	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ .....	70
2.3.1	ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΧΥΜΟΥ <i>A.Vera</i> .....	70
2.3.2	ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΧΥΜΟΥ <i>A.Vera</i> - ΚΑΤΑΒΥΘΙΣΗ ΚΛΑΣΜΑΤΟΣ ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΩΝ.....	71
2.3.3	ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΚΛΑΣΜΑΤΟΣ ΑΚΕΜΑΝΝΑΝΗΣ .....	76
2.3.4	ΜΕΛΕΤΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΩΝ ΑΛΟΗΣ ΣΕ ΕΔΩΔΙΜΕΣ ΕΠΙΚΑΛΥΠΤΙΚΕΣ ΜΕΜΒΡΑΝΕΣ .....	77
2.4	ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ-ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ .....	79
2.4.1	ΜΕΤΡΗΣΗ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΧΥΜΟΥ <i>A.VERA</i> .....	79
2.4.2	ΜΕΤΡΗΣΗ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΣΤΟ ΙΖΗΜΑ ΚΑΙ ΣΤΟ ΚΛΑΣΜΑ ΑΚΕΜΑΝΝΑΝΗΣ ΑΠΟ ΧΥΜΟ <i>A.VERA</i> .....	86
2.4.3	ΜΕΛΕΤΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΩΝ ΑΛΟΗΣ ΣΕ ΕΔΩΔΙΜΕΣ ΕΠΙΚΑΛΥΠΤΙΚΕΣ ΜΕΜΒΡΑΝΕΣ - ΜΕΤΡΗΣΗ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΦΡΑΟΥΛΑΣ ΣΤΟ ΧΡΟΝΟ	88
2.5	ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ .....	101
2.5.1	ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΧΥΜΟΥ <i>A.Vera</i> - ΚΑΤΑΒΥΘΙΣΗ ΚΛΑΣΜΑΤΟΣ ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΩΝ .....	101
2.5.2	ΜΕΛΕΤΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΩΝ ΑΛΟΗΣ ΣΕ ΕΔΩΔΙΜΕΣ ΕΠΙΚΑΛΥΠΤΙΚΕΣ ΜΕΜΒΡΑΝΕΣ .....	104
2.6	ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ .....	106
3.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	107
3.1.	Παραλαβή χυμού <i>A.Vera</i> - Προσδιορισμός ιδιοτήτων.....	107

3.2	Αποτελέσματα 1 <sup>ης</sup> σειράς: Επιλογή διαλύτη καταβύθισης .....	109
3.3	Αποτελέσματα 2 <sup>ης</sup> σειράς: Διαχωρισμός ινών με διήθηση ή φυγοκέντρηση-Καταβύθιση με αιθανόλη .....	109
3.4	Αποτελέσματα 3 <sup>ης</sup> σειράς: Κατεργασία χυμού με θερμικές και εναλλακτικές μεθόδους- Καταβύθιση με αιθανόλη .....	111
3.5	Αποτελέσματα κύριας σειράς: Κατεργασία χυμού σε επιλεγμένες συνθήκες με θερμικές και καινοτόμες μεθόδους- Καταβύθιση με αιθανόλη .....	113
3.6	Αποτελέσματα: Μελέτη εφαρμογής κλάσματος πολυσακχαριτών A.Vera σε εδώδιμες επικαλυπτικές μεμβράνες για νωπό φρούτο .....	122
3.6.1	Απώλεια βάρους .....	123
3.6.2	Σκληρότητα .....	124
3.6.3	°BRIX.....	125
3.6.4	pH.....	126
3.6.5	Οξύτητα % (Titratable acidity) .....	127
3.6.6	Browning Index .....	128
3.6.7	Μέτρηση Χρώματος με χρωματόμετρο Minolta .....	129
3.6.8	Αξιολόγηση με βάση τα Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά .....	131
3.6.9	Βιταμίνη C .....	136
3.6.10	Αντιοξειδωτικά συστατικά .....	138
3.6.11	Περιεχόμενο Ανθοκυανινών .....	139
3.6.12	Περιεχόμενο σε φαινολικά συστατικά .....	140
3.6.13	Ενζυμική ανάλυση .....	142
3.6.14	Μικροβιολογικός Έλεγχος.....	146
4.	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ- ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ .....	149
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	153
	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ.....	166
	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι- ΓΡΑΜΜΕΣ ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗΣ .....	166
	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ- ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ.....	167



## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το φυτό της *A. Vera* αποτελεί αντικείμενο ενδιαφέροντος τα τελευταία έτη, εξαιτίας των λειτουργικών και θεραπευτικών του ιδιοτήτων, της υψηλής περιεκτικότητάς του σε νερό και λόγω των θρεπτικών του συστατικών. Η γνώση της ευεργετικής του δράσης είναι γνωστή ήδη από τους αρχαίους Αιγύπτιους. Από όταν ξεκίνησε η εμπορική χρήση της πηκτής από φύλλα *A.Vera* και βρέθηκε η πρώτη μέθοδος σταθεροποίησης αυτής χωρίς απώλεια των ιδιοτήτων της, τη δεκαετία του '60, η ζήτηση για το φυτό αυξήθηκε κατακόρυφα και πλέον, λαμβάνοντας υπόψιν και τη στρόφη της ζήτησης της αγοράς προς προϊόντα φυτικής προέλευσης, το παρέγχυμα των φύλλων βρίσκει εφαρμογή σε πλήθος φαρμακευτικών και καλλυντικών σκευασμάτων, αλλά και στα τρόφιμα.

Στις ευεργετικές ιδιότητες του παρεγχύματος περιλαμβάνονται η επουλωτική, η ενυδατική και η αναπλαστική δράση στην επιδερμίδα. Επίσης το παρέγχυμα έχει μεταξύ άλλων αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες, αντιοξειδωτική και αντιμικροβιακή δράση. Σημαντικό μέρος των ιδιοτήτων αυτών αποδίδεται στον κύριο αποθηκευτικό πολυσακχαρίτη του φυτού με χαρακτηριστική δομή, την ακεμαννάνη. Στο πολυμερές αυτό οφείλονται και λειτουργικές ιδιότητες του φυτού, καθώς παίζει ρόλο στη μορφή πηκτής του παρεγχύματος. Η παρουσία του στα προϊόντα αλόης κρίνεται τόσο σημαντική, ώστε η περιεκτικότητα αυτών σε ακεμαννάνη χρησιμοποιείται ως ποιοτικός δείκτης.

Η ζήτηση για εμπορική χρήση ακεμαννάνης αυξάνεται σταδιακά τα τελευταία έτη, με την πραγματοποίηση ερευνών οι οποίες αναφέρουν μεταξύ άλλων πιθανές εφαρμογές του πολυσακχαρίτη. Ενδεικτικά, αναφέρεται πως προτείνεται για εφαρμογές στην αντιμετώπιση παθήσεων όπως η περιοδοντίτιδα, για προσθήκη σε φαρμακευτικά σκευάσματα ή τρόφιμα για διαβητικούς ασθενείς, ενώ προτείνεται ακόμα και για χρήση σε αντικαρκινική θεραπεία.

Παρόλο που οι λειτουργικές και βιολογικές ιδιότητες της ακεμαννάνης είναι αδιαμφισβήτητες και το πεδίο εφαρμογών της σημαντικό, σημειώνεται πως η αγορά ακεμαννάνης είναι περιορισμένη. Αυτό σχετίζεται άμεσα με το γεγονός πως η παραλαβή του κλάσματος ακεμαννάνης από το φυτό *A.Vera* αποτελεί πρόκληση, καθώς το πολυμερές, διασπάται και αλλάζει δομή ήδη από τη συγκομιδή των φύλλων, λόγω ενζυμικών και μικροβιακών δράσεων. Επιπλέον, οι θερμικές κατεργασίες που εφαρμόζονται κατά την βιομηχανική επεξεργασία του παρεγχύματος, όπως η παστερίωση, οδηγούν σε αλλαγή της δομής των πολυμερών. Παράλληλα, οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται συνήθως για παραλαβή του κλάσματος ακετυλομαννανών σε ξηρή μορφή έχουν το μειονέκτημα των περιορισμένων αποδόσεων σε μάζα τελικού προϊόντος, ενώ ο καθαρισμός του κλάσματος ώστε τελικά να παραλαμβάνεται προϊόν με υψηλή περιεκτικότητα σε ακεμαννάνη, σε πολλές περιπτώσεις δεν είναι αποτελεσματικός.

Για τους λόγους αυτούς, είναι σημαντική η συνέχιση των ερευνών, για την εύρεση νέων τεχνολογιών, η εφαρμογή των οποίων συνδυαστικά με τις υπάρχουσες

μεθόδους παραλαβής και καθαρισμού ακεμαννάνης, είναι δυνατόν να οδηγήσουν σε αυξημένες αποδόσεις, τόσο στην ποσότητα τελικού προϊόντος που παραλαμβάνεται, αλλά και ως προς την καθαρότητα του ζητούμενου πολυσακχαρίτη. Τέτοιες μέθοδοι εφαρμόζονται ήδη με επιτυχία για την παραλαβή πολυσακχαριτών άλλης προέλευσης, επομένως αξίζει να μελετηθεί η επίδρασή τους στην απομόνωση των ακετυλομαννανών από αλόη.

Εκτός από τη βελτίωση των μεθόδων παραλαβής του κλάσματος πολυσακχαριτών αλόης, η αναζήτηση νέων εφαρμογών για την αξιοποίηση του προϊόντος αυτού παραμένει εξίσου σημαντική. Όσον αφορά τον τομέα των τροφίμων, μια ενδιαφέρουσα πιθανή εφαρμογή ενός πολυσακχαρίτη με τις ιδιότητες της ακεμαννάνης, είναι η ενσωμάτωση σε εδώδιμες επικαλυπτικές μεμβράνες για τρόφιμα και ειδικά για φρούτα ή λαχανικά. Οι εδώδιμες μεμβράνες τοποθετούνται σε τρόφιμα με περιορισμένη διάρκεια ζωής προκειμένου να αυξήσουν τη διατηρησιμότητά τους. Στα πλεονεκτήματά τους σημειώνεται πως παράγονται από ανανεώσιμες πρώτες ύλες, είναι βιοδιασπώμενες ενώ, ανάλογα με τις ουσίες που ενσωματώνονται στις μεμβράνες, μπορούν να βελτιώσουν τη θρεπτική αξία του προϊόντος. Η ακεμαννάνη, λόγω της φυτικής της προέλευσης, της πολύπλοκης δομής της που ευνοεί το σχηματισμό πηκτής και λόγω των ιδιοτήτων της, όπως η αντιμικροβιακή και αντιοξειδωτική δράση, αποτελεί εξαιρετικό υποψήφιο για εφαρμογή σε επικαλυπτικές μεμβράνες συνεπώς αξίζει περαιτέρω διερεύνηση της πρότασης αυτής.

## 1. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### 1.1 ΦΥΤΟ A.VERA

#### 1.1.1 ΟΝΟΜΑΣΙΑ-ΒΟΤΑΝΟΛΟΓΙΚΗ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Η ονομασία «Aloe Vera» προέρχεται από την αραβική λέξη «alloe», που σημαίνει «πικρή λαμπερή ουσία», ενώ το «vera» είναι λατινικής προέλευσης και σημαίνει «γνήσια» ή «αληθής». Σύμφωνα με τον Διεθνή Κώδικα Βοτανικής Ονοματολογίας, η επιστημονική ονομασία του φυτού έχει καταχωρηθεί ως *Aloe barbadensis* Miller, με τον μεσαίο όρο να αποτελεί αναφορά στο νησί Barbados, καθώς το φυτό είναι γνωστό και ως Barbados Aloe. Συναντάται και με ονομασίες όπως *A.vulgaris* Lam., *A.chinensis* Baker, *A.elongata* Murray, *A.indica* Royale, *A.perfoliata* και *A.rubenscens* DC (Sánchez-Machado et al., 2017).

Σε όρους βοτανολογίας, το γένος *Aloe* L. στο οποίο συγκαταλέγεται το είδος του φυτού αυτού, ανήκει στην οικογένεια *Aloaceae*, στα μονοκοτυλήδονα φυτά της συνομοταξίας των *Spermatophyta* (σπερματόφυτα) του βασιλείου των φυτών (Integrated Taxonomic Information System). Σημειώνεται πως το γένος περιλαμβάνει πάνω από 350 είδη αλόης. Η *Aloe Vera* είναι το πιο διαδεδομένο είδος, μαζί με την *Aloe arborescens* και την *Aloe ferox*. (Eshun & He, 2004; Sánchez-Machado et al., 2017)

#### 1.1.2 ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΦΥΤΟΥ

Η *A.Vera* πρόκειται για ένα πολυετές παχύφυτο, με χρόνο ζωής τα 12 έτη κατά προσέγγιση. Το φυτό της *A.Vera* ευδοκμεί σε ποικιλία κλιμάτων, κυρίως σε ζεστά, ημιτροπικά. Παρά την αντοχή του σε συνθήκες χαμηλής υγρασίας, αναφέρεται πως η σωστή άρδευση και η ποιότητα χώματος είναι μείζονος σημασίας για τη βέλτιστη παραγωγή του φυτού, ενώ η ιδανική θερμοκρασία ανάπτυξης κυμαίνεται στους 20-25°C. Σε θερμοκρασίες υπό του μηδενός το φυτό δεν μπορεί να επιβιώσει για παρατεταμένο χρονικό διάστημα και αυτό συνδέεται με τα υψηλά ποσοστά νερού που περιέχει. Η αντοχή του εξαρτάται και από την κατάσταση του ριζικού του συστήματος. Το καταλληλότερο έδαφος για την ανάπτυξή του είναι το αμμώδες ή το πηλώδες, που δεν συγκρατεί λιμνάζοντα νερά, ενώ σημαντική είναι και η ύπαρξη άφθονης οργανικής ουσίας στο χώμα (Manvitha et al., 2014a).



Εικόνα 1: Καλλιέργεια φυτών *A.Vera*

Ο κεντρικός βλαστός της *A.Vera* -αν υπάρχει- είναι μικρός ως προς το μήκος, ενώ τα φύλλα του, 12 έως 20 σε αριθμό, αναπτύσσονται όρθια, απευθείας από τη βάση, σε διάταξη πυκνής ροζέτας. Πρόκειται για φύλλα πλατιά και λογχοειδή, ταυτόχρονα όμως παχιά και σαρκώδη, οδοντωτά σε όλη την περιφέρεια. Το πάχος τους κινείται περί τα 5cm, ενώ το μήκος μπορεί να ξεπεράσει τα 50 cm και το πλάτος τα 8 cm. Συνήθως το βάρος τους δεν ξεπερνά το 1,5 kg. Τα φύλλα σε πολύ νεαρά φυτά όπως και οι παραφυάδες εμφανίζουν έντονο πράσινο χρώμα με λευκά στίγματα διάσπαρτα στην επιφάνειά τους. Όσο το φυτό ωριμάζει, τα στίγματα χάνονται και το χρώμα των φύλλων γίνεται πιο θαμπό πράσινο, προς το γκρι (Eshun & He, 2004). Τα άνθη του φυτού αναπτύσσονται στο άκρο βλαστού 60-90 cm, είναι τριμερή και σε αποχρώσεις του κίτρινου, του πορτοκαλί ή του κόκκινου. Η άνθιση συμβαίνει από τον Οκτώβριο έως τον Ιανουάριο και από εκεί τελικά αναπτύσσονται οι καρποί της αλόης, από τον Φεβρουάριο έως τον Απρίλιο. Βέβαια, τα φυτά δεν συνηθίζεται να πολλαπλασιάζονται μέσω των σπόρων, αλλά ακολουθείται η οδός του αγενή πολλαπλασιασμού. Παρότι η αλόη είναι εξαιρετικά παραγωγική ως προς τη δημιουργία παραφυάδων, έχει βραδεία ανάπτυξη (Ahlawat & Khatkar, 2011; Manvitha et al., 2014b; Sánchez-Machado et al., 2017).





Εικόνα 2: Φυτό A.Vera με τα φύλλα του σε διάταξη ροζέττας (*Kumar Verma & Moghaddasi, 2011*)

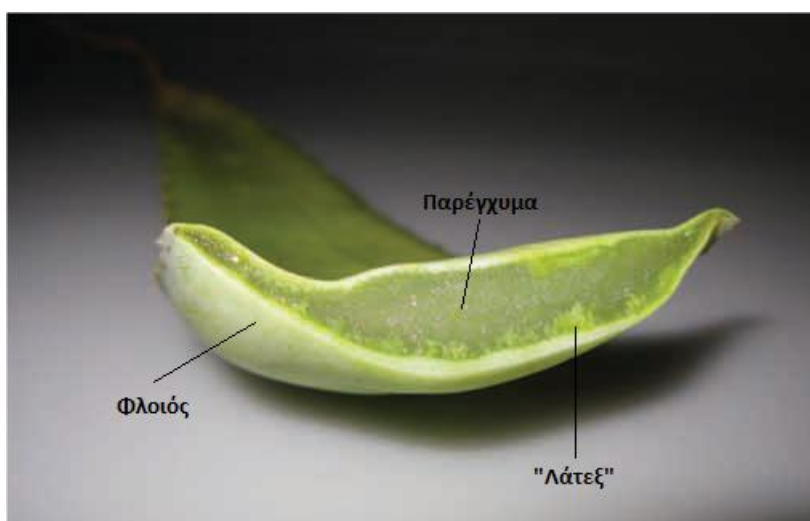
Η A.Vera δεν έχει σημαντικές ανάγκες για νερό κι έτσι η καλλιέργεια είναι ελκυστική σε περιοχές με προβλήματα ξηρασίας. Βέβαια, η συγκομιδή χρειάζεται προσοχή και είναι εργασία κοπιώδης. Μπορεί να ξεκινήσει 7-8 μήνες μετά τη φύτευση, οι μεγαλύτερες αποδόσεις όμως αφορούν φυτά διετίας έως πενταετίας. Από τα εξωτερικά φύλλα που είναι τα ωριμότερα, γίνεται διαλογή και τρία με τέσσερα φύλλα μπορούν να κοπούν από τη βάση του φυτού κάθε 6-8 εβδομάδες, με προσοχή ώστε να αποφευχθεί τραυματισμός και επιμόλυνση του φυτού. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιείται κοφτερό μαχαίρι και το φύλλο απομακρύνεται από το φυτό ολόκληρο, μαζί με τη λευκή του βάση. (*Sánchez-Machado et al., 2017*)



Εικόνα 3: Φυτά A.Vera με άνθος (*Upton & American Herbal Pharmacopoeia., 2012*)

### 1.1.3 ANATOMIA ΚΑΙ ΣΥΣΤΑΣΗ ΦΥΛΛΟΥ

Τα φύλλα της αλόης αποτελούνται από τρία βασικά μέρη, τον φλοιό, τον υποφλοιώδη χιτώνα και το παρέγχυμα. Ο φλοιός είναι σκληρός και κηρώδης, με χρώμα που μεταβάλλεται αναλόγως με την ωριμότητα από έντονο ανοιχτό πράσινο σε λιγότερο ζωντανές αποχρώσεις. Συνήθως αφαιρείται κατά την επεξεργασία του φύλλου, ανάλογα με την τελική χρήση. Λειτουργεί ως προστασία του φυτού και εκεί συντίθενται διάφοροι υδατάνθρακες και πρωτεΐνες. Ο υποφλοιώδης χιτώνας συνίσταται από ένα εξίδρωμα που παράγεται από περικυκλικά κύτταρα κάτω από το φλοιό του φύλλου. Ονομάζεται «λάτεξ» και είναι ένα κίτρινο υγρό με πικρή γεύση και καθαρικές ιδιότητες, καθώς είναι πλούσιο σε ανθρακινόνες (παράγωγα και γλυκοζίτες της 1,8-διυδροξυανθρακινόνης) και ανθρόνες, με σημαντικότερη την αλοΐνη. Παίζει ρόλο στην προστασία του φυτού από έντομα, τρωκτικά ή φίδια. Το κεντρικό και μεγαλύτερο μέρος του φυτού, το παρέγχυμα, είναι μία διαφανής βλεννώδης πηκτή, με ουδέτερη γεύση και οσμή. Το παρέγχυμα εξυπηρετεί το φυτό αποθηκεύοντας το νερό και τα θρεπτικά συστατικά του. Σε αυτό το μέρος αποδίδονται οι περισσότερες ευεργετικές ιδιότητες της *A.Vera*. Χρησιμοποιείται ευρέως για ανακούφιση δερματικών προβλημάτων με απευθείας εφαρμογή στο δέρμα. Το παρέγχυμα της *A.Vera* έχει χαμηλή θερμιδική αξία, η οποία αποδίδεται στο υψηλό ποσοστό νερού που περιέχει. Ειδικότερα, μία μερίδα των 200mL αντιστοιχεί σε μόλις 5kcal. Διακυμάνσεις στη θρεπτική αξία προκύπτουν ανάλογα με τις συνθήκες καλλιέργειας και τις μεθόδους επεξεργασίας που εφαρμόζονται (Boudreau & Beland, 2006; Grindlay & Reynolds, 1986; Reynolds, 2004; Sahu et al., 2013; Sánchez-Machado et al., 2017).



Εικόνα 4: Βασικά μέρη του φύλλου *A.Vera*

## 1.2 ΠΑΡΕΓΧΥΜΑ *A.VERA*

### 1.2.1 ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Το παρέγχυμα της αλόης, που έχει τη μορφή πηκτής, αντιστοιχεί σε περισσότερο από 70% του βάρους ενός φύλλου, ενώ το υπόλοιπο 20-30% περιλαμβάνει κυρίως το φλοιό. Η πηκτή αυτή, αποτελείται κατά κύριο λόγο από νερό, σε ποσοστό από 98,5 έως 99,5%. Τα στερεά στο παρέγχυμα δεν αναφέρονται λιγότερα από 0,46% w/w (Ahlawat & Khatkar, 2011; Chandegara & Kumar Varshney, 2012a; Maan et al., 2018; Sánchez-Machado et al., 2017).

Όσον αφορά το pH του παρεγχύματος, συνήθως βρίσκεται περί το 4,5, όμως αναλόγως με τα φυτά, περιλαμβάνει τιμές από 3,5 έως 4,7. Η οξύτητα του παρεγχύματος μετρείται συνήθως ως προς μαλικό οξύ και κυμαίνεται από 0,03- 0,08 % (g οξέος/100 g χυμού *A.Vera*) (Chandegara & Kumar Varshney, 2012a; Miranda et al., 2009).

Η ενεργότητα νερού προσδιορίζεται συνήθως σε τιμές 0,98-0,99 και τα ποσοστά τέφρας αναφέρονται σε επίπεδα από 16-24% σε βάση ξηρού βάρους ή 0,16% ως προς νωπό βάρος παρεγχύματος (Chandegara & Kumar Varshney, 2012a; Sánchez-Machado et al., 2017; Scala et al., 2013).

Το ομογενοποιημένο παρέγχυμα της *A.Vera*, αναφέρεται συχνά ως χυμός *A.Vera*. Τόσο ο χυμός όσο και η πηκτή της αλόης είναι διάφανα κι αν παρατηρείται χρώμα, αυτό είναι είτε υποκίτρινο είτε προς αποχρώσεις ελαφρώς πράσινες. Ως αξιοσημείωτη ιδιότητα αναφέρεται και η απορρόφηση στα 400 nm, η οποία δεν ξεπερνά την τιμή 0,500 (Chandegara & Kumar Varshney, 2012a).

Ακόμη, ο ακατέργαστος χυμός αλόης χαρακτηρίζεται ως προς τον δείκτη διάθλασης με τιμές σε εύρη από 1,3340 έως 1,3440. Ενδεικτικά αναφέρονται μετρήσεις από δύο εταιρείες επεξεργασίας *A.Vera*, την AloeCorp και την M/S Delta International, των οποίων οι τιμές δείκτη διάθλασης είναι 1,3340-1,3355 και 1,33789-1,34390 αντίστοιχα (Chandegara & Kumar Varshney, 2012a).

Από τις ίδιες πηγές προκύπτουν δεδομένα και για το ειδικό βάρος, για το οποίο η AloeCorp αναφέρει τιμές 1,0030-1,0070 ενώ η M/S Delta International 1,0221-1,0339 (Chandegara & Kumar Varshney, 2012a).

Η ρεολογική συμπεριφορά του παρεγχύματος *A.Vera* αναφέρεται ως μη νευτωνική. Ειδικότερα, κυρίως οι πολυσακχαρίτες και δη οι ακετυλομάδες που μπορεί να περιέχουν, επηρεάζουν τη ρεολογική συμπεριφορά, που προσδιορίζεται ως ψευδοπλαστική. Όταν ο ρυθμός διάτμησης που εφαρμόζεται στην πηκτή αυξάνεται, το ιξώδες αυτής μειώνεται. Λαμβάνοντας υπόψιν τον νόμο Oswald-de Waele για μη νευτωνικά ρευστά, προσδιορίστηκε ο δείκτης ρεολογικής συμπεριφοράς ( $n$ ) για την πηκτή από *A.Vera* σε τιμές από 0,48-0,55, από 10-50°C (Minjares-Fuentes et al., 2018). Επιπλέον, ενζυμικές και μικροβιακές δράσεις προκαλούν διασπάσεις και απακετυλιώσεις των πολυσακχαριτών, όπως και οξειδώσεις, με αποτέλεσμα να

επηρεάζεται η ρεολογία του παρεγχύματος. Μετά από σημαντική διάσπαση των πολυσακχαριτών, παρατηρείται τελικά νευτωνική συμπεριφορά του ρευστού. Σε αυτήν την περίπτωση όμως, η αλλαγή αυτή αποτελεί δείκτη ποιοτικής υποβάθμισης. Το ιξώδες, όπως και όλα τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά εξαρτώνται τόσο από τις συνθήκες καλλιέργειας και ανάπτυξης του φυτού, όσο και από τις συνθήκες επεξεργασίας μετά τη συγκομιδή (Sonawane et al., 2021).

Εφόσον το 98,5-99,5% του παρεγχύματος αποτελείται από νερό, το υπόλοιπο 0,5-1,5 % του βάρους, αφορά συστατικά όπως πολυσακχαρίτες (γλυκομαννάνες), αμινοξέα, λιπίδια, ένζυμα, στερόλες, βιταμίνες και υδατοδιαλυτά μέταλλα. Συγκεκριμένα, με βάση την ξηρή μάζα του παρεγχύματος, το 55% αποτελείται από πολυσακχαρίτες. Τα διαλυτά σάκχαρα (με βασικότερο τη γλυκόζη) κυμαίνονται από 17 έως 26,8% του ξηρού βάρους. Τα λιπίδια αντιστοιχούν σε ποσοστά 4-5%, οι πρωτεΐνες σε ποσοστά 7-9%, ενώ το 16% αφορά τα ανόργανα συστατικά. 1% του ξηρού βάρους αποδίδεται σε φαινολικές ενώσεις και βιταμίνες. Ακολουθεί μία συνοπτική ανάλυση των κυριότερων μορίων που συναντώνται στο κύριο μέρος των φύλλων *A. Vera* (Femenia et al., 1999; Maan et al., 2018).

## 1.2.2 ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ

### 1.2.2.1 ΒΙΤΑΜΙΝΕΣ

Το παρέγχυμα της *A.Vera* περιέχει ποικιλία βιταμινών, όπως η βιταμίνη Α (β-καροτένιο), C (ασκορβικό οξύ), E (α-τοκοφερόλη), οι οποίες παρουσιάζουν αντιοξειδωτική δράση, δεσμεύοντας ελεύθερες ρίζες. Σε αυτές προστίθενται οι βιταμίνες B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, η νιασίνη, η χολίνη και το φολικό οξύ (Sharma, 2014).

### 1.2.2.2 ΑΜΙΝΟΞΕΑ- ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ- ΕΝΖΥΜΑ

Η αλόη είναι πηγή αμινοξέων σημαντικών στην ανάπλαση και ανάπτυξη ιστών. Από τα 22 αμινοξέα η αλόη περιλαμβάνει τα 20, όμως σημαντικότερο είναι πως περιέχει 7 από τα 8 απαραίτητα αμινοξέα που δεν παράγονται από τον ανθρώπινο οργανισμό και προσλαμβάνονται με την τροφή (λυσίνη, μεθειονίνη, θρεονίνη, βαλίνη, λευκίνη, ισολευκίνη και φαινυλαλανίνη) (Kumar & Yadav, 2014; Shelton, 1991).

Όσον αφορά τις πρωτεΐνες, στο παρέγχυμα συναντώνται κυρίως ορισμένες λεκτίνες και ουσίες όμοιες με λεκτίνες, οι οποίες έχουν απομονωθεί και φαίνεται να παρουσιάζουν βιολογική δράση (αλοκτίνες Α και Β, με 12 και 50% κλάσματα υδατανθράκων και μοριακά βάρη 18 και 24 kDa αντίστοιχα). Επιπλέον, περιέχονται και ορισμένες γλυκοπρωτεΐνες (Rodríguez et al., 2010).

Επιπρόσθετα, υπάρχουν και κάποια αξιοσημείωτα ένζυμα, όπως η αλκαλική φωσφατάση, η αμυλάση, η καρβοξυπεπτιδάση, η καταλάση, η βραδυκινάση, η λιπάση, η κυτταρινάση, η υπεροξειδάση, η οξειδάση. Ο ρόλος τους έγκειται κυρίως

στη διάσπαση σακχάρων και λιπών, ενώ η βραδυκινάση έχει μελετηθεί περαιτέρω λόγω της συμβολής της στη μείωση των ερεθισμών του δέρματος με τοπική εφαρμογή (Sharma, 2014).

### 1.2.2.3 ΑΝΟΡΓΑΝΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, τα στοιχεία αυτά αντιστοιχούν στο 16% του ξηρού βάρους του παρεγχύματος αλόης. Τα σημαντικότερα είναι τα: K, Ca, Mg, Na, Cl, P, Fe, Cu, Zn, Cr, Se και Mn. Κάποια από τα στοιχεία είναι απαραίτητα για τη λειτουργία των ενζύμων σε διάφορα μεταβολικά μονοπάτια, ενώ μερικά, όπως το σελήνιο (Se), έχουν αντιοξειδωτική δράση (Kumar & Yadav, 2014; Sharma, 2014).

### 1.2.2.4 ΣΑΚΧΑΡΑ- ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΕΣ

Στο κυριότερο τμήμα του φυτού A.Vera, περιέχονται αρκετά διαλυτά σάκχαρα, με κυριότερα τη μαννόζη και την ελεύθερη γλυκόζη. Σε μικρότερες περιεκτικότητες περιέχονται η φρουκτόζη και η γαλακτόζη.

Τα συστατικά όμως που συναντώνται σε μεγαλύτερη αφθονία στο εσωτερικό των φύλλων, είναι οι πολυσακχαρίτες, στους οποίους το φυτό οφείλει και το μεγαλύτερο ποσοστό των ιδιοτήτων του. Αυτοί χωρίζονται σε δύο βασικές κατηγορίες, ανάλογα με τη λειτουργία τους, στους πολυσακχαρίτες κυτταρικών τοιχωμάτων και στους αποθηκευτικούς, που αποτελούν πηγή ενέργειας για το φυτό και βοηθούν στην αποθήκευση νερού.

Στην πρώτη κατηγορία εμπίπτουν πηκτικές ουσίες πλούσιες σε γαλακτουρονικό οξύ, κυτταρίνη και σε μικρό ποσοστό ημικυτταρικά πολυμερή. Οι πηκτίνες, που είναι οι κυριότερες εκ των πολυμερών αυτών, βρίσκονται στα κυτταρικά τοιχώματα των κυττάρων του παρεγχύματος. Αποτελούνται κατά κύριο λόγο από επαναλαμβανόμενες μονάδες (1→4) $\alpha$ -D-γαλακτουρονικού οξέος, σε μορφή οξέος ή μεθυλεστέρων με ορισμένο βαθμό υποκατάστασης (2-20%). Στις μονάδες αυτές, ανά διαστήματα συνδέονται κλάσματα ραμνόζης που λειτουργούν ως σημεία διακλάδωσης για ένωση σακχάρων ως πλευρικές αλυσίδες. Στην περίπτωση των υποκατεστημένων μεθυλεστέρων, ο βαθμός υποκατάστασης επηρεάζει την ικανότητα δημιουργίας πηκτής παρουσία ιόντων όπως  $\text{Ca}^{2+}$ . Οι μονάδες γαλακτουρονικού αντιστοιχούν σε ποσοστό μεγαλύτερου του 95% του μορίου. Τα μοριακά βάρη των πηκτινών κυμαίνονται από 200-523kDa, παρότι γίνονται αναφορές και για μικρότερα μόρια. Οι πηκτίνες της αλόης θεωρούνται ιδιαίτερες, καθώς σχηματίζουν πηκτή αποτελεσματικότερα σε χαμηλές συγκεντρώσεις πολυμερούς (0,2%) και  $\text{Ca}^{2+}$  (<10mM), συγκριτικά με πηκτίνες άλλης προέλευσης. Γίνεται λόγος και για παρουσία γλυκομαννανών, που απελευθερώνονται από τα κυτταρικά τοιχώματα μετά την επεξεργασία. Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνεται και η κυτταρίνη, γλυκάνη με  $\beta$ -(1→4) δεσμούς που βρίσκεται στις πλασματικές

μεμβράνες. Τα μόρια δημιουργούνται μέσω ενζυμικής σύνθεσης και αντιστοιχούν σε 12-15% των κυτταρικών τοιχωμάτων. Τέλος, η μαννάνη και η ξυλογλυκάνη αποτελούν τις σημαντικότερες ημικυτταρίνες στους ιστούς του παρεγχύματος, ενώ υπάρχουν αναφορές και για μικρές ποσότητες ξυλάνης, περισσότερο όμως στον φλοιό του φυτού, που επηρεάζουν την υφή του (Minjares-Fuentes et al., 2018; Shelton, 1991).

Οι ημικυτταρικοί πολυσακχαρίτες (μαννάνες, γαλακτάνες, αραβινάνες) μπορούν να λειτουργήσουν και ως αποθήκες ενέργειας. Πέραν αυτών βέβαια, υπάρχει πλήθος και άλλων μαννανών εντός των κυττάρων που εξυπηρετούν το σκοπό αυτό. Ειδικότερα, ένα πολυμερές μοναδικό, λόγω των πλευρικών του αλυσίδων και της ακετυλίωσής του, χαρακτηριστικό του φυτού της αλόης, λειτουργεί ως αποθηκευτικός πολυσακχαρίτης και σε αυτόν αποδίδονται τα υψηλά ποσοστά νερού που συγκρατεί στους ιστούς του. Οι πολυσακχαρίτες με αυτά τα χαρακτηριστικά είναι ακετυλομαννάνες. Βέβαια, για τα μόρια αυτά έχει επικρατήσει η ονομασία «ακεμαννάνη» (Minjares-Fuentes et al., 2018).

Οι γραμμικοί πολυσακχαρίτες μακράς αλυσίδας διασφαλίζουν τη συνεκτικότητα του παρεγχύματος. Η υδρόλυσή τους συνοδεύεται από μείωση του ιξώδους της πηκτής A.Vera. Το μοριακό βάρος των μορίων αυτών, οι διακλαδώσεις και ο βαθμός ακετυλίωσης συνδέονται άμεσα με τη δραστηριότητα του παρεγχύματος. Η δομή τους εξαρτάται τόσο από τις συνθήκες καλλιέργειας όσο και από την ανάπτυξη του φυτού, ενώ υπάρχουν και εποχικές μεταβολές. Επιπλέον, μείζονος σημασίας είναι η επεξεργασία του φυτού κατόπιν της συγκομιδής, καθώς μπορεί να επιφέρει μεταβολές μη αναστρέψιμες στους πολυσακχαρίτες και να επηρεάσει σημαντικά τις ιδιότητες στο τελικό προϊόν αλόης.

#### 1.2.2.5 ΛΟΙΠΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ

Είναι πιθανό στο παρέγχυμα να υπάρχουν ποσότητες φαινολικών ουσιών και συγκεκριμένα, ανθρακινονών. Οι ανθρακινόνες είναι το κύριο συστατικό του κίτρινου εξιδρώματος που ονομάζεται «λάτεξ». Παρότι στο παρέγχυμα κανονικά δεν περιέχονται, εφόσον τα δύο μέρη του φύλλου έρχονται σε άμεση επαφή, μέρος του εξιδρώματος παραμένει στην πηκτή της αλόης. Οι κυριότερες ανθρακινόνες είναι η αλοΐνη Α και Β και η αλόη-εμοδίνη. Τα συστατικά αυτά παρουσιάζουν αντιβακτηριδιακές ιδιότητες. Όμως, όταν καταναλώνονται ακόμη και σε μικρές ποσότητες, δημιουργούν γαστρεντερικά προβλήματα και έχουν υπακτική δράση. Γι' αυτόν το λόγο, έχει οριστεί ανώτατο όριο στην περιεκτικότητα αλοΐνης σε προϊόντα αλόης. Όπως αναφέρεται στις προδιαγραφές από το IASC (International Aloe Science Council), στα προϊόντα που περιέχουν σε διάλυμα 0,5% στερεά από A.Vera και προορίζονται για κατανάλωση από το στόμα, η συγκέντρωση αλοΐνης δεν επιτρέπεται να ξεπερνά τα 10ppm. Οι Ευρωπαϊκές προδιαγραφές είναι ακόμη αυστηρότερες, κάνοντας λόγο για ανώτατα όρια αλοΐνης 0,1 ppm για τρόφιμα και ποτά, με εξαίρεση τα αλκοολούχα ποτά όπου το όριο είναι στα 50 ppm.

Επιπρόσθετα, στο παρέγχυμα αλόης περιέχονται φυτοστερόλες όπως η χοληστερόλη, η καμπεστερόλη, η β-σιτοστερόλη και η λουπεόλη. Αυτές έχουν αντιφλεγμονώδη, αντισηπτική και αναλγητική δράση. Αναφέρεται ακόμη η ύπαρξη ορισμένων σαπωνινών με αντισηπτικές ιδιότητες. Τέλος, ορισμένα οξέα είναι αξιοσημείωτα, όπως το σαλικιλικό οξύ, με αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες, το μηλικό και το γαλακτικό οξύ (Rodríguez et al., 2010; Sharma, 2014; Shelton, 1991).

### 1.2.3 ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ- ΧΡΗΣΕΙΣ ΠΑΡΕΓΧΥΜΑΤΟΣ ΑΛΟΗΣ

#### 1.2.3.1 ΚΑΛΛΥΝΤΙΚΗ ΚΑΙ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ

Η A.Vera χρησιμοποιείται ευρέως στον κλάδο των καλλυντικών, σε προϊόντα όπου περιέχεται σε συγκεντρώσεις από 1 μέχρι και 98%. Το παρέγχυμα του φυτού είναι διαδεδομένο λόγω της ικανότητάς του να συγκρατεί την υγρασία όσο και για τις ανακουφιστικές του ιδιότητες. Συνεπώς, βρίσκει ποικίλες εφαρμογές σε σκευάσματα όπως ενυδατικές και αντηλιακές κρέμες, καθαριστικά της επιδερμίδας, οδοντόκρεμες και στοματικά διαλύματα, κρέμες και αφροί ξυρίσματος, αποσμητικά, σαμπουάν κ.α.(Christaki, 2010).

Επιπλέον, θεωρείται φαρμακευτικό φυτό, με σχετικές αναφορές να ξεκινούν από την αρχαία Αίγυπτο, όπου είχε ήδη παρατηρηθεί η αντιφλεγμονώδης και ανακουφιστική δράση της. Στο παρέγχυμα του φύλλου περιέχονται πολυσακχαρίτες και πιο συγκεκριμένα μυκοπολυσακχαρίτες, οι οποίοι αποτελούν ενυδατικούς παράγοντες. Αυτοί, σε συνδυασμό με αυξητικές φυτικές ορμόνες, τις γιβεριλίνες, προάγουν την αύξηση και διατήρηση του κολλαγόνου και της ελαστίνης στο δέρμα. Ακόμη, η δράση των αμινοξέων του φυτού μαζί με διάφορα ένζυμα, βοηθούν στην ανάπλαση των κατώτερων στρωμάτων της επιδερμίδας. Όλα αυτά, πέραν της βελτίωσης του ρυτίδων και σημαδιών γήρανσης, συμβάλλουν στην επούλωση πληγών και αποκατάσταση του ουλώδους ιστού. Το ίδιο μέρος του φυτού έχει θετική επίδραση στην επούλωση εγκαυμάτων πρώτου και δεύτερου βαθμού. Παρότι ο ακριβής μηχανισμός δράσης δεν έχει προσδιοριστεί, έχει συσχετιστεί με την παρουσία πρωτεϊνών, των λεκτινών. Η πηκτή αλόης επιδρά θετικά στην αντιμετώπιση του γαστρικού έλκους και του έλκους του δέρματος. Βοηθά επίσης σε παθήσεις όπως η ψωρίαση και σε μόλυνση από έρπη. Η ύπαρξη πολυσακχαριτών και σαλικιλικού οξέος στο παρέγχυμα, συνδέεται με αναλγητικές και αντιφλεγμονώδεις δράσεις. Πέραν της χρήσης της αλόης για επιδερμικές βλάβες, φαίνεται να συμβάλλει και στην ανακούφιση συμπτωμάτων παθήσεων των αρθρώσεων (Christaki, 2010; Sánchez-Machado et al., 2017).

Μία ακόμη χρήση του παρεγχύματος αφορά την κατανάλωσή του από άτομα με αυξημένα επίπεδα σακχάρου στο αίμα ή και χοληστερόλης. Λόγω ορισμένων ανόργανων στοιχείων που το φυτό περιέχει, αλλά κυρίως λόγω της ιδιαιτερότητας των πολυσακχαριτών του, δείχνει να βοηθά στη μείωση των επιπέδων σακχάρου

στους διαβητικούς και στη μείωση των λιπιδίων σε υπερλιπιδικούς ασθενείς (Sánchez-Machado et al., 2017; Sharma, 2014).

Η A.Vera βρίσκει εφαρμογές στη φαρμακευτική λόγω και της αντιοξειδωτικής της δράσης, που είναι παρόμοια με τα α-τοκοφερόλης. Ακόμη, αναφέρεται αντικαρκινική δράση και δράση ενάντια στους ιούς. Αποδίδεται στις ανθρακινόνες, που είναι το κύριο συστατικό του «λάτεξ» και όχι του παρεγγύματος του φύλλου, όμως υπάρχει και έμμεση δράση που μπορεί να συνδεθεί με το παρέγγυμα και σχετίζεται με τη διέγερση του ανοσοποιητικού συστήματος. Βάσει αυτών, πραγματοποιούνται ενθαρρυντικές κλινικές μελέτες που αφορούν πιθανή χρήση της A.Vera στη θεραπεία του καρκίνου και του HIV-AIDS. Αναφέρεται επίσης πως η αντιμικροβιακή δράση του παρεγγύματος αφορά τόσο τους ιούς, όσο και βακτήρια και μύκητες (Boudreau & Beland, 2006; Kumar & Yadav, 2014; Kumar Verma & Moghaddasi, 2011).

### 1.2.3.2 ΧΡΗΣΗ ΣΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ

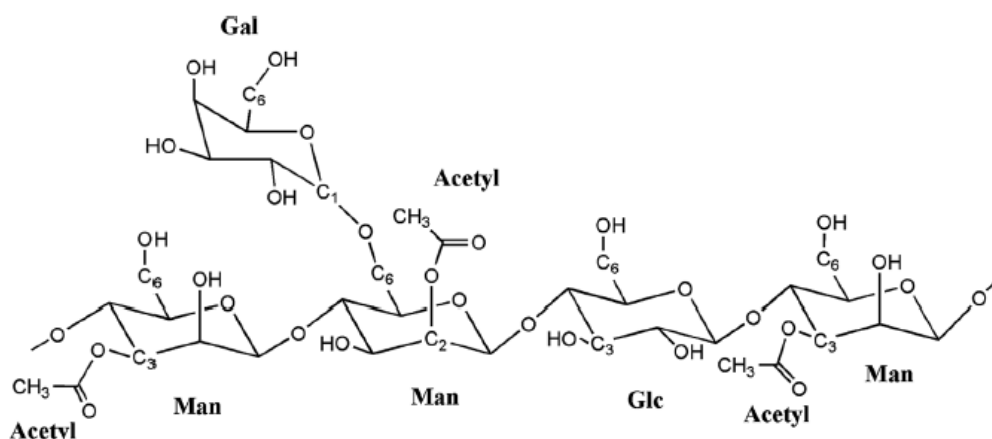
Ευρεία είναι η χρήση του παρεγγύματος στα τρόφιμα. Χρησιμοποιείται στην παρασκευή γιαουρτιού λόγω των λειτουργικών του ιδιοτήτων. Επιπλέον, προστίθεται σε ποτά και ροφήματα, όπως το τσάι, αλλά διατίθεται και σε μορφή χυμού, όπου είναι το κύριο συστατικό ή προστίθεται μαζί με άλλα φρούτα. Σημαντική εφαρμογή βρίσκει επίσης και στον τομέα της συντήρησης των τροφίμων. Η πηκτή της A.vera δεν επηρεάζει την όψη και τη γεύση των τροφίμων. Επιπλέον, παρουσιάζει την ικανότητα περιορισμού της ανάπτυξης μικροοργανισμών που ευθύνονται για την αλλοίωση των τροφίμων, όπως είναι τα θετικά κατά Gram βακτήρια. Προσθέτοντας επίσης πως πρόκειται για ένα ασφαλές, φυσικό προϊόν, αποτελεί μία ελκυστική εναλλακτική στα συμβατικά συντηρητικά. Ακόμη, συνυπολογίζοντας και την ικανότητα της πηκτής να σχηματίζει μεμβράνη με περιορισμένη διαπερατότητα στην υγρασία και το οξυγόνο, δικαιολογείται η επιτυχής χρήση της σε εδώδιμες επικαλυπτικές μεμβράνες που στοχεύουν στη βελτίωση της διατηρησιμότητας φρούτων υπό συντήρηση, όπως οι ντομάτες, τα κεράσια, οι φράουλες, τα σταφύλια κ.α. Η χρήση της ως προσθετικό τροφίμων έχει εγκριθεί από τον FDA (Food and Drugs Administration) ήδη από το 2003 (Chandegara et al., 2013; Christaki, 2010; Maan et al., 2021).



## 1.3 ΑΚΕΜΑΝΝΑΝΗ ΑΠΟ ΤΟ ΦΥΤΟ *A. VERA*

### 1.3.1 ΧΗΜΕΙΑ- ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Η ακεμαννάνη είναι ο κυριότερος αποθηκευτικός πολυσακχαρίτης που βρίσκεται στους πρωτοπλάστες των παρεγχυματικών κυττάρων της *Aloe Vera*. Πρόκειται για μία ακετυλομαννάνη, με ιδιαίτερη δομή που δεν συναντάται σε άλλα φυτά. Ειδικότερα, η ακεμαννάνη είναι γραμμικός πολυσακχαρίτης, με τη βασική του αλυσίδα να απαρτίζεται από μερικώς ακετυλιωμένες β-(1→4)-μαννόζες σε ποσοστό μεγαλύτερο από 60% και από β-(1→4)-γλυκόζες σε ποσοστό 20%. Στη θέση C-6 της μαννόζης, εκτείνονται πλευρικές αλυσίδες α-(1→6)-γαλακτόζης, που αποτελούν το 10% του μορίου. Τα ποσοστά αυτά σημειώνονται προσεγγιστικά, καθώς έχουν παρατηρηθεί μόρια παρόμοιας δομής με αναλογίες γλυκόζης- μαννόζης 1:3, 1:6, 1:15 ή και 1:22. Σημαντικό ρόλο στη δομή του πολυμερούς αυτού παίζουν οι συνθήκες καλλιέργειας και επεξεργασίας του φυτού. Η χημική δομή του μορίου έχει προσδιοριστεί (Εικόνα 5) μέσω ενζυμικής διάσπασης του πολυμερούς και εξέτασης των μονομερών με C-13 NMR. Στους C-2, C-3, C-6 της μαννόζης μπορεί να συμβεί ακετυλίωση σε αναλογίες ακετυλίου-μαννόζης μεγαλύτερες από 1:1 (Minjares-Fuentes et al., 2018).

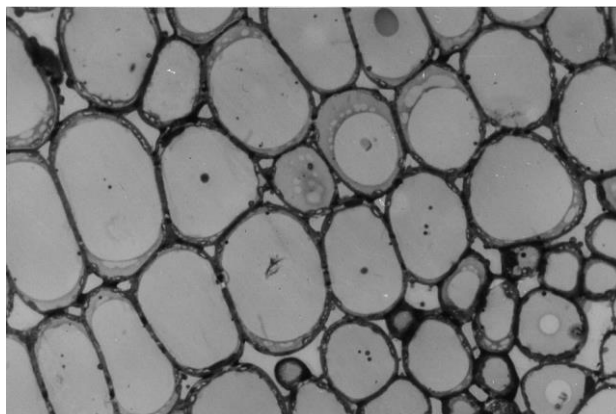


Εικόνα 5 Χημική δομή ακεμαννάνης όπως προσδιορίστηκε από τους Chokboribal et al., (2015a)

Όσον αφορά τα μοριακά βάρη των ακετυλομαννανών, αυτά ποικίλουν, καθώς σημειώνονται εύρη από 30-45 kDa αλλά και τιμές υψηλότερες από 200 kDa. Πάντως, συνήθως δεν γίνεται λόγος για μόρια πολύ μεγαλύτερα των 1000 kDa (Hamman, 2008).

Η ακεμαννάνη ευθύνεται κατά μεγάλο ποσοστό για την εμφάνιση πηκτής του παρεγχύματος. Πρόκειται για ένα μεγαλομόριο που συγκρατεί ικανές ποσότητες νερού. Παίζει πρωτεύοντα ρόλο στην ψευδοπλαστική ρεολογική συμπεριφορά του παρεγχύματος. Όταν η ακεμαννάνη χάνει τις ακετυλομάδες της ή διασπάται σε μόρια μικρότερου μοριακού βάρους, το ιξώδες του πηγματος της αλόης μειώνεται και από

μη Νευτωνική, η ρεολογική συμπεριφορά πλησιάζει τελικά αυτή ενός νευτωνικού ρευστού (Sonawane et al., 2021).



Εικόνα 6: Παρεγχυματικά κύτταρα A.Vera όπου περιέχεται η ακεμαννάνη (Femenia et al., 1999)

### 1.3.2 ΒΙΟΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΑΚΕΜΑΝΝΑΝΗΣ - ΠΙΘΑΝΕΣ ΧΡΗΣΕΙΣ

Η δράση της αλόης οφείλεται σε μια σειρά συστατικών τα οποία λειτουργούν συνεργιστικά. Εντούτοις, έρευνες στοχευμένες στην ακεμαννάνη καταλήγουν πως σε αυτήν αποδίδονται πολλές από τις ιδιότητες του παρεγχύματος. Το μόριο αυτό παρουσιάζει πληθώρα βιολογικών ιδιοτήτων, όπως η ανοσορρυθμιστική και αντιμικροβιακή δράση. Επίσης, επιδρά και στην αποτελεσματικότερη επούλωση πληγών. Παρακάτω συνοψίζονται οι κυριότερες βιολειτουργικές ιδιότητες του μορίου.

#### 1.3.2.1 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Αρχικά, υπάρχουν αναφορές μέσα από τις οποίες αποδίδονται στους πολυσακχαρίτες αλόης -συμπεριλαμβανομένης της ακεμαννάνης- αντιοξειδωτική δράση. Η ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών των μορίων αυτών μπορεί να συγκριθεί με αυτήν ενός συνθετικού αντιοξειδωτικού, του βουτυλιωμένου υδροξυτολουόλιου (BHT). Επίσης, από δοκιμές in vivo, η χορήγηση πολυσακχαριτών A.Vera δείχνει να περιορίζει την αύξηση της συγκέντρωσης ουσιών που αντιδρούν με θειοβαρβιτουρικό οξύ, σε ζώα στα οποία έχει επίσης χορηγηθεί δοξορουβικίνη (αντικαρκινικό φάρμακο). Η παραγωγή των ουσιών αυτών είναι δείκτης της υπεροξειδωσης των λιπιδίων, την οποία επιφέρουν ελεύθερες ρίζες που παράγονται από το εν λόγω φάρμακο και τους μεταβολίτες του. Συνεπώς, οι πολυσακχαρίτες αλόης φαίνεται πως αποτρέπουν την ανεπιθύμητη αυτή αντίδραση μέσω δέσμευσης των ελεύθερων ριζών (Liu et al., 2019a; Rafael Minjares-Fuentes & Femenia, 2017).

### 1.3.2.2 ΑΚΕΜΑΝΝΑΝΗ ΣΤΗΝ ΑΝΤΙΔΙΑΒΗΤΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Επιπρόσθετα, αξίζει να σημειωθεί πως τα μόρια ακεμαννάνης υψηλού μοριακού βάρους συνδέονται με μειώσεις της αρτηριακής πίεσης και των επιπέδων γλυκόζης σε διαβητικούς ασθενείς. Αυτό συμβαίνει καθώς η διάσπαση των μορίων αυτών από τη μικροχλωρίδα του εντέρου προς ολιγοσακχαρίτες, εμποδίζει την απορρόφηση της γλυκόζης. Άλλες αναφορές υποστηρίζουν πως η ακεμαννάνη μπορεί να μειώσει τη συσσώρευση ηπατικού λίπους, μέσω της ενίσχυσης της δράσης της ινσουλίνης στο λιπώδη ιστό (Boudreau & Beland, 2006; Minjares-Fuentes et al., 2018; Sierra-García et al., 2014a).

### 1.3.2.3 ΕΠΟΥΛΩΣΗ ΤΡΑΥΜΑΤΩΝ

Οι ακετυλομαννάνες εντάσσονται στους μυκοπολυσακχαρίτες, που αποτελούν ενυδατικούς παράγοντες, ευεργετικούς για την επιδερμίδα. Όσον αφορά την επούλωση επιφανειακών τραυμάτων, όπως αναφέρεται παραπάνω, η αλόη παρουσιάζει ευεργετική δράση, κυρίως λόγω πρωτεϊνικών μορίων του παρεγχύματος, όπως οι λεκτίνες. Ταυτόχρονα όμως, η ακεμαννάνη έχει αποδειχτεί πως διεγείρει την κυτταρική ανάπτυξη, τον Αγγειακό Ενδοθηλιακό Αυξητικό Παράγοντα (VEGF) και την παραγωγή κολλαγόνου. Σημειώνεται πως ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας ανήκει στις γλυκοπρωτεΐνες, παράγεται από πολλούς τύπους κυττάρων και ιστών του οργανισμού και είναι σημαντικός παράγοντας για την ανάπτυξη των αιμοφόρων αγγείων και στον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων. Επομένως, παίζει ρόλο σε αρκετές φυσιολογικές διεργασίες που σχετίζονται μεταξύ άλλων και με την επούλωση πληγών. Κυρίως οι ακετυλομάδες της ακεμαννάνης είναι εκείνες που επιδρούν στην παραγωγή VEGF και κολλαγόνου, καθώς το απακετυλιωμένο μόριο δεν παρουσιάζει την ίδια δράση. Σημειώνοντας αυτά, μαζί με τη διέγερση των ινοβλαστών στους κοκκιώδεις ιστούς των τραυμάτων, συνοψίζεται η δράση της ακεμαννάνης όσον αφορά την καλύτερη επούλωση τραυματισμών τόσο μαλακού όσο και σκληρού ιστού.

Σύμφωνα με τις ιδιότητες αυτές και μετά από μελέτες, έχει προταθεί η χρήση της ακεμαννάνης συνδυαστικά με χιτοζάνη, ως βιοϋλικό χρήσιμο στη θεραπεία πληγών. Επίσης, η αναπλαστική δράση της ακεμαννάνης αφορά και τους ιστούς στα κόκκαλα, καθώς αποδεδειγμένα βοηθά στην επούλωση των φατνιακών οστών και στην οστική ανάπλαση (Baruah et al., 2016; Liu et al., 2019a; Reynolds & Dweck, 1999; Sánchez-Machado et al., 2017; Sierra-García et al., 2014a).

#### 1.3.2.4 ANTIMΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ

Επιπλέον, η ακεμαννάνη, συνδυαστικά με άλλα μόρια παρόμοιας ή άλλης δομής, προσδίδει στο παρέγχυμα αντιβακτηριδιακή δράση, όπως και δράση ενάντια σε ιούς. Έρευνες αναφέρουν πως η ακεμαννάνη, μεμονωμένα ή σε συνδυασμό με άλλα συστατικά της αλόης, μπορεί να λειτουργήσει επικουρικά στην αναστολή της ανάπτυξης ιών όπως του έρπητα, ενώ δείχνει να εμποδίζει την προσκόλληση του βακτηρίου *P. aeruginosa* στο επιθήλιο του πνεύμονα. Ακόμα, υπάρχουν ενδείξεις για ευεργετική δράση του πολυμερούς ως προς τον περιορισμό του ιού HIV (Baruah et al., 2016; Boudreau & Beland, 2006; Sahu et al., 2013; Sánchez-Machado et al., 2017; Sierra-García et al., 2014a).

#### 1.3.2.5 ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Υπάρχουν αρκετές αναφορές οι οποίες υποστηρίζουν πως η Aloe Vera παρουσιάζει αντικαρκινικές ιδιότητες. Μέσα από πιο στοχευμένη μελέτη της ακεμαννάνης, προέκυψε πως το μόριο αυτό αποτρέπει τη σύνδεση του βενζοπυρενίου με ηπατοκύτταρα σε ποντίκια, εμποδίζοντας τον σχηματισμό προϊόντος προσθήκης βενζοπυρενίου στο DNA. Το βενζοπυρένιο θεωρείται προ-καρκινογόνος ένωση επομένως η αποτροπή της σύνδεσής του με το DNA είναι χρήσιμη στην αντιμετώπιση του καρκίνου. Άλλη πηγή καταλήγει πως η ακεμαννάνη αποτελεί αρκετά δραστικό αντικαρκινικό παράγοντα, μέσω της διέγερσης που προκαλεί στην παραγωγή του παράγοντα νέκρωσης όγκων-α (TNF-α), ενός κυτταροτοξικού παράγοντα που προκαλεί λύση ορισμένων καρκινικών κυττάρων. Επιπλέον ευνοεί την παραγωγή ιντερλευκινών και ιντεφερονών. Όλα τα μόρια αυτά παράγονται από μακροφάγα του οργανισμού, και δρουν παρεμποδιστικά στα καρκινικά κύτταρα (Boudreau & Beland, 2006; Kumar & Yadav, 2014; Liu et al., 2019a; Sierra-García et al., 2014a).

#### 1.3.2.6 ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΕΙΣ ΚΑΙ ΑΝΟΣΟΡΡΥΘΜΙΣΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Η ακεμαννάνη αποτελεί ένα από τα συστατικά της αλόης που σχετίζονται με τις καταγεγραμμένες αντιφλεγμονώδεις και τις ανοσορρυθμιστικές ιδιότητες του φυτού. Πιο συγκεκριμένα, συμβάλλει στην ενεργοποίηση της παραγωγής μονοξειδίου του αζώτου από μακροφάγα στο στάδιο της μεταγραφής. Ακόμα, ευνοεί την παραγωγή κυτοκινών (ιντερλευκίνες IL-1 και IL-6), ιντεφερονών και TNF-α. Έτσι, το μόριο βελτιώνει την απόκριση των λεμφοκυττάρων στα αλλοαντιγόνα, ενισχύοντας τελικά την ανοσία του οργανισμού.

Έχει προταθεί η χρήση της ακεμαννάνης ως ανοσοενισχυτικό σε εμβόλια που αφορούν ιογενείς ασθένειες στα πτηνά. Αυτό προκύπτει από την ικανότητά της να προωθεί την παραγωγή NO, που με τη σειρά του οδηγεί σε αύξηση της ικανότητας ενεργοποίησης των μακροφάγων κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος.

Επίσης, πρόκειται για αποτελεσματική ουσία και για παθήσεις του στόματος και των δοντιών. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην επούλωση του αφθώδους έλκους, λειτουργεί ως παυσίπονος παράγοντας, ενώ βρίσκει εφαρμογή και στη θεραπεία της πλάκας, της ουλίτιδας και της περιοδοντίτιδας.

Εκτός βέβαια της άμεσης ευεργετικής δράσης που έχει η ακεμαννάνη στον οργανισμό, μπορεί ακόμη να χρησιμοποιηθεί στη βιοϊατρική σε υλικά που λειτουργούν ως μέσο μεταφοράς άλλων δραστικών ουσιών, όπως είναι διάφοροι παράγοντες που προωθούν την κυτταρική ανάπτυξη. Η δομή και το υψηλό μοριακό της βάρος ευνοούν το σκοπό αυτό, ενώ απορροφάται πιο εύκολα από τον οργανισμό σε σχέση με περίπλοκα ανόργανα μόρια κι έτσι συμβάλλει στην καλύτερη πρόσδεση των δραστικών ουσιών ώστε αυτά να αποδώσουν στο μέγιστο (Baruah et al., 2016; Boudreau & Beland, 2006; Kumar & Yadav, 2014; Minjares-Fuentes et al., 2018; Sánchez-Machado et al., 2017; Sharma, 2014; Sierra-García et al., 2014a).

#### 1.4 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗ ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΤΙΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΗΣ ΑΚΕΜΑΝΝΑΝΗΣ

Η ακεμαννάνη δεν αφορά ένα συγκεκριμένο μόριο, αλλά αντιστοιχεί σε μία ομάδα πολυμερών με συναφή χαρακτηριστικά. Το περιεχόμενο των ακετυλομαννανών στα φυτά της αλόης και τα χαρακτηριστικά αυτών, όπως το μοριακό βάρος και ο βαθμός ακετυλίωσης που παρουσιάζουν, εξαρτώνται άμεσα από το φυτό στο οποίο περιέχονται. Ο βαθμός ακετυλίωσης του μορίου επηρεάζει τις λειτουργικές και βιολογικές ιδιότητες της ακεμαννάνης. Γενικά, η απακετυλίωση των ακετυλομαννανών συνοδεύεται από απώλεια των ευεργετικών τους ιδιοτήτων, επομένως, είναι προτιμότερο τα μόρια αυτά να παρουσιάζουν υψηλό βαθμό ακετυλίωσης (Chokboribal et al., 2015a).

Όσον αφορά τους παράγοντες που διαμορφώνουν την ποσότητα και τη δομή της ακεμαννάνης στο φυτό της αλόης, σημειώνεται πρώτα από όλα πως το είδος της αλόης είναι μείζονος σημασίας. Παρότι οι ακετυλομαννάνες συναντώνται σε πολλά είδη, η *A.Vera*, παρουσιάζει μεγαλύτερες περιεκτικότητες σε σχέση με ποικιλίες, όπως η *A.Arborescens* (Liu et al., 2019a; Lucini et al., 2013).

Οι συνθήκες καλλιέργειας επίσης έχουν σημαντική επίδραση, καθώς επηρεάζουν τόσο την περιεκτικότητα ακεμαννάνης όσο και το βαθμό ακετυλίωσης. Ενδεικτικά, αναφέρεται πως με μείωση της ποσότητας νερού που παρέχεται στο φυτό, παρατηρούνται περισσότερα μόρια ακεμαννάνης υψηλού μοριακού βάρους χωρίς ταυτόχρονη απακετυλίωση. Εφόσον το μόριο λειτουργεί ως αποθηκευτικός πολυσακχαρίτης που συγκρατεί νερό στους ιστούς της αλόης, η μεταβολή αυτή στη δομή προκύπτει ως αμυντικός μηχανισμός του φυτού, ώστε να αντισταθμιστεί η μείωση της διαθεσιμότητας νερού (Minjares-Fuentes et al., 2017). Επιπλέον, αναφέρεται πως η μέγιστη περιεκτικότητα ακεμαννάνης στο παρέγχυμα αλόης παρατηρείται σε φυτά τριετίας, ενώ όσον αφορά την περίοδο συγκομιδής, οι

μέγιστες συγκεντρώσεις παρατηρούνται τους καλοκαιρινούς μήνες (Ray & Aswatha, 2013). Επιπλέον, σημειώνεται πως φυτά που καλλιεργούνται σε συνθήκες με μειωμένη παροχή φωτός, παρουσιάζουν χαμηλότερες συγκεντρώσεις πολυσακχαριτών όπως οι ακετυλομαννάνες (Lucini et al., 2013).

Εκτός από τις συνθήκες καλλιέργειας του φυτού, εξίσου σημαντική είναι και η επεξεργασία αυτού μετά τη συγκομιδή των φύλλων. Απαιτείται ιδιαίτερη προσοχή στα στάδια επεξεργασίας, καθώς η ακεμαννάνη, όπως και άλλα συστατικά της αλόης, είναι αρκετά ευαίσθητη, επομένως, χωρίς την απαραίτητη μεία κατά την επεξεργασία, μια πρώτη ύλη με επιθυμητά χαρακτηριστικά μπορεί να υποβαθμιστεί πλήρως. Για την ακεμαννάνη, αυτό συνεπάγεται απακετυλίωση, διάσπαση των μορίων σε κλάσματα μικρού μοριακού βάρους και παραγωγή αιθανικού οξέος (Bozzi et al., 2007). Σχολιάζεται πως η απακετυλίωση ευνοείται σε αλκαλικά pH ενώ στις συνθήκες αυτές τα μόρια, καθιστώνται αδιάλυτα (Chokboribal et al., 2015a; Rafael Minjares-Fuentes & Femenia, 2017). Από εκεί και έπειτα, οι σημαντικότερες παράμετροι που πρέπει να λαμβάνονται υπόψιν για τις διεργασίες επεξεργασίας είναι ο χρόνος, η επαρκής απολύμανση και η θερμοκρασία.

Από τη στιγμή της συγκομιδής A. Vera, δημιουργούνται λόγω των τομών στο φύλλο σημεία επιμόλυνσης από όπου μπορούν να εισέλθουν στο εσωτερικό μικροοργανισμοί. Οι δράσεις των βακτηρίων εντός του παρεγχύματος συνδυαστικά με ενζυμικές δράσεις που λαμβάνουν χώρα αμέσως μετά την κοπή των φύλλων, σημαίνουν την αρχή της αποσταθεροποίησης και υποβάθμισης του παρεγχύματος. Μέσω των διαδικασιών αυτών, η ακεμαννάνη μπορεί να διασπαστεί σε μικρότερες αλυσίδες λόγω των ενζύμων αλλά και μέσω χημικών αντιδράσεων να χάσει τις ακετυλομάδες της ή και να μεταβολιστεί σε άλλα μόρια. Σχετικά με τις βιολογικές δράσεις της αλόης, αναφέρονται απώλειες ακόμα και στις 6 h μετά τη συγκομιδή, ενώ στις 24 h αποθήκευσης των φύλλων σε συνθήκες περιβάλλοντος, οι απώλειες αυτές μπορεί να είναι ολοκληρωτικές. Επομένως, ο χρόνος που μεσολαβεί από τη συγκομιδή έως την παραγωγή ενός σταθερού προϊόντος, είναι εξαιρετικά σημαντικός για τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του τελευταίου, όπως είναι η περιεκτικότητα των ακετυλομαννανών. Σε γενικές γραμμές, συνιστάται ο χρόνος επεξεργασίας να μην ξεπερνά τις 36h από τη στιγμή της κοπής των φύλλων (Chandegara et al., 2013).

Επιπρόσθετα, προκειμένου να περιοριστεί η μικροβιακή ανάπτυξη που ευνοείται κατόπιν της συγκομιδής, είναι απαραίτητη η τήρηση κανόνων υγιεινής και η επαρκής απολύμανση της πρώτης ύλης. Οι κανόνες ξεκινούν από τη συγκομιδή, όπου το φύλλο χωρίζεται από το φυτό με προσοχή ώστε η βάση του να παραμείνει σφραγισμένη και το παρέγχυμα να μην εκτίθεται απευθείας στο περιβάλλον. Ακολουθεί σχολαστικό πλύσιμο στο εξωτερικό των φύλλων και απολύμανση με κατάλληλο απολυμαντικό προτού η διαδικασία επεξεργασίας προχωρήσει στα επόμενα στάδια (Chandegara et al., 2013; Ramachandra & Rao, 2008).

Μία ακόμη παράμετρος που επισημαίνεται καθώς απαιτεί προσοχή σε όλη τη διάρκεια της επεξεργασίας, είναι η θερμοκρασία. Στις περισσότερες περιπτώσεις παραγωγής προϊόντων αλόης, οι θερμικές μέθοδοι είναι αναπόφευκτες,

προκειμένου το τελικό προϊόν να είναι ασφαλές για κατανάλωση και σταθερό ως προς τις ιδιότητες και τα ποιοτικά του χαρακτηριστικά. Η επιλογή των κατάλληλων συνθηκών είναι κρίσιμη, εφόσον ειδικά η ακεμαννάνη, πρόκειται για μόριο του οποίου η δομή μπορεί να μεταβληθεί σημαντικά με την αύξηση της θερμοκρασίας. Μερικές από τις πιο συνηθισμένες θερμικές μεθόδους που εφαρμόζονται βιομηχανικά είναι η παστερίωση, η συμπύκνωση και η ξήρανση χυμού από παρέγχυμα A.Vera.

Σε μελέτες σχετικές με την παστερίωση A.Vera σε θερμοκρασίες από 65-85°C σε διαφορετικούς χρόνους, παρατηρήθηκε πως η αύξηση της θερμοκρασίας παστερίωσης και του χρόνου διεργασίας οδήγησε σε μεταβολές στη δομή των πολυσακχαριτών και στις ιδιότητες του παρεγχύματος. Ειδικά για την ακεμαννάνη, αύξηση του θερμικού φορτίου κατά την παστερίωση οδήγησε σε υψηλότερες συγκεντρώσεις του μορίου, και αύξηση της μαννόζης εντός των μορίων. Όμως, οι μεταβολές στη δομή των ακετυλομαννανών που παρατηρήθηκαν, όπως η απακετυλίωση, επηρεάζουν σημαντικά τις λειτουργικές και βιολογικές ιδιότητες του παρεγχύματος. Προκειμένου να αποφευχθεί η θερμική καταπόνηση κατά την παστερίωση, προτείνεται η εφαρμογή υψηλών θερμοκρασιών (85-95°C), αλλά για πολύ μικρό χρονικό διάστημα, από 1 έως 2 min. Κατόπιν, είναι αναγκαία η άμεση ψύξη του παρεγχύματος στους 5°C ή χαμηλότερα (Ahlawat & Khatkar, 2011; Chandegara et al., 2013; Rodríguez-González et al., 2011).

Το γεγονός ότι το παρέγχυμα αλόης αποτελείται κατά 98-99% νερό δεν αποτελεί τη βέλτιστη συνθήκη βιομηχανικά, λόγω περιορισμών σχετικών με τη διατηρησιμότητα του χυμού αλλά κυρίως λόγω της ανάγκης για μείωση των δαπανών αποθήκευσης και μεταφοράς του προϊόντος. Έτσι, η συμπύκνωση χυμού A.Vera είναι χρήσιμη. Όμως, για να διατηρηθούν αναλλοίωτα τα δραστικά συστατικά όπως η ακεμαννάνη, είναι απαγορευτικές οι υψηλές θερμοκρασίες για παρατεταμένο χρονικό διάστημα. Για το λόγο αυτό προτιμώνται ηπιότερες διεργασίες σε θερμοκρασίες όχι μεγαλύτερες των 50°C, όπως είναι η συμπύκνωση μέσω της εξάχνωσης υπό κενό ή με μεμβράνες (υπερδιήθηση, αντίστροφη όσμωση) (Ahlawat & Khatkar, 2011; Chandegara et al., 2013).

Μία συνήθης πρακτική στην παραγωγή προϊόντων αλόης, είναι η ξήρανση παρεγχύματος (ή ολόκληρου φύλλου μετά από κατεργασία) και εκχυλισμάτων αυτού. Η σκόνη από αλόη βρίσκει ποικίλες εφαρμογές σε συμπληρώματα διατροφής, σε καλλυντικά και φάρμακα ενώ σε αυτήν τη μορφή, αυξάνεται σημαντικά η διατηρησιμότητα και μειώνονται τα κόστη αποθήκευσης και μεταφοράς. Σύμφωνα με τους Femenia et al. (2003), όταν η ξήρανση παρεγχύματος αλόης πραγματοποιείται σε αυξημένες θερμοκρασίες, όπως στην ξήρανση με θερμό αέρα, λαμβάνουν χώρα αλλαγές στη δομή των πολυσακχαριτών, τόσο αυτών που βρίσκονται στα κυτταρικά τοιχώματα όσο και των ακετυλομαννανών. Πιο συγκεκριμένα, μετά από ξήρανση παρεγχύματος σε θερμοκρασίες από 60-80°C, παρατηρήθηκε αύξηση του μοριακού βάρους της ακεμαννάνης. Ταυτόχρονα όμως, υπήρξαν σαφείς ενδείξεις για απώλεια τμημάτων μαννόζης με συνδέσεις στις θέσεις

1,3 και 4 και γαλακτόζης στα πολυμερή ακεμαννάνης. Αυτές οι απώλειες σχετίζονται με μείωση των διακλαδώσεων του πολυσακχαρίτη και με μείωση του βαθμού ακετυλίωσης, καθώς τα ακετύλια συνδέονται στον C3 της μαννόζης. Σε χαμηλότερες θερμοκρασίες ξήρανσης (30, 40 και 50° C) δεν προέκυψαν σημαντικές αλλαγές στη δομή των πολυσακχαριτών. Όσον αφορά την ξήρανση με ψεκασμό, παρότι οι θερμοκρασίες που αναπτύσσονται είναι σημαντικά μεγαλύτερες (π.χ. 150°C), η θερμότητα προσφέρεται στιγμιαία, επομένως είναι δυνατό με τις κατάλληλες συνθήκες να διατηρηθούν ακέραια τα πολυμερή της ακεμαννάνης (Minjares-Fuentes et al., 2016).

Παρότι η ξήρανση με ψεκασμό είναι αποδεκτή για ξήρανση αλόης, η μέθοδος που εξασφαλίζει την ακεραιότητα των συστατικών και τα βέλτιστα οπτικά χαρακτηριστικά είναι η λυοφιλίωση. Σε αυτήν τη μέθοδο, μετά από κατάψυξη, η ύλη προς επεξεργασία τοποθετείται σε επαρκές κενό και με σταδιακή προσφορά θερμότητας πραγματοποιείται εξάχνωση του περιεχόμενου νερού. Οι θερμοκρασίες που αναπτύσσονται στην περίπτωση αυτή είναι από -45 έως 30°C, επομένως οι χημικές μεταβολές της ακεμαννάνης και των λοιπών συστατικών δεν λαμβάνουν χώρα και το προϊόν αλόης διατηρεί κατά μεγάλο βαθμό τις λειτουργικές και βιολογικές ιδιότητες του παρεγχύματος. Η σύγκριση της λυοφιλίωσης με την ξήρανση με αέρα και υπό κενό στους 60°C, δείχνει πως η πρώτη μέθοδος υπερτερεί, καθώς στις τελευταίες παρατηρείται αλλοίωση των πολυσακχαριτών (Chandegara et al., 2013; Krokida et al., 2011).

## 1.5 ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΑΡΑΛΑΒΗΣ ΑΚΕΜΑΝΝΑΝΗΣ ΑΠΟ A.VERA

Η ακεμαννάνη ανήκει στους πολυσακχαρίτες του παρεγχύματος της A.Vera. Συνεπώς, προκειμένου να απομονωθεί, προηγείται η παραλαβή του κλάσματος πολυσακχαριτών που την περιλαμβάνει. Για τη διαδικασία αυτή, συνηθίζεται η χρήση μόνο του παρεγχύματος. Το φύλλο πρέπει να έχει πλυθεί και απολυμανθεί. Απομακρύνεται η κορυφή και η βάση του φύλλου και κατόπιν ο υπόλοιπος φλοιός, με όσο το δυνατόν λιγότερες κινήσεις. Στη βιομηχανία η παραλαβή του παρεγχύματος και η απομάκρυνση του φλοιού μπορεί να γίνει με χρήση μηχανήματος. Το παρέγχυμα πλένεται ή και στραγγίζεται προς απομάκρυνση του «λάτεξ», όπου περιέχεται η αλοΐνη μεταξύ άλλων ανθρακινονών και παραγώγων αυτών. Οι πολυσακχαρίτες προς παραλαβή βρίσκονται εντός των κυττάρων και προκειμένου να απελευθερωθούν, το παρέγχυμα ομογενοποιείται προτού επεξεργαστεί περαιτέρω. Μετά το στάδιο αυτό κι εφόσον απαιτείται περαιτέρω απομάκρυνση της αλοΐνης, μπορεί να γίνει κατεργασία με ενεργό άνθρακα, ο οποίος απομακρύνεται έπειτα με κατάλληλο φίλτρο (Chandegara & Kumar Varshney, 2012b). Το στάδιο διαχωρισμού δεν παραλείπεται, καθώς χρησιμεύει και στην απομάκρυνση των ανεπιθύμητων στερεών όπως οι ίνες του φυτού. Στη βιβλιογραφία γίνεται λόγος για χρήση πτυχωτών φίλτρων, υφασμάτων σίτας και φυγοκέντρωσης (Alonso M, 2012; Chokboribal et al., 2015b). Στην τελευταία περίπτωση συγκρατείται το



υπερκείμενο υγρό, ενώ στις υπόλοιπες το διήθημα. Ο χυμός από παρέγχυμα που προκύπτει χρησιμοποιείται για την παραλαβή του επιθυμητού κλάσματος. Στη συνέχεια παρουσιάζονται οι βασικότερες μέθοδοι που εφαρμόζονται για την παραλαβή του κλάσματος ακετυλομαννανών.

### 1.5.1 ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΩΝ (Alcohol Insoluble Residues-AIRS)

Κύριος γνώμονας στην επιλογή μεθόδου παραλαβής των ζητούμενων πολυσακχαριτών είναι η διατήρηση της δομής και των ιδιοτήτων των μορίων. Πολλές από τις μεθόδους παραλαβής πολυσακχαριτών υψηλού μοριακού βάρους ειδικά από φυσικά προϊόντα, στηρίζονται στη μειωμένη διαλυτότητα που αυτοί παρουσιάζουν σε μέσα διαλυτών. Όταν λοιπόν προστεθεί ο διαλύτης σε κατάλληλη αναλογία και το μίγμα αφεθεί, τα αδιάλυτα συστατικά τελικά καταβυθίζονται και μπορούν να διαχωριστούν από το υπόλοιπο υγρό διάλυμα. Οι αναφορές σχετικά με την αλόη κάνουν συνήθως λόγο για χρήση αλκοολών. Ο κυριότερος διαλύτης που χρησιμοποιείται για την καταβύθιση των πολυσακχαριτών είναι η αιθανόλη, αν και καταγράφονται περιπτώσεις όπου χρησιμοποιείται και η μεθανόλη. Συνήθως προστίθενται σε αναλογίες 1:3 ή 1:4 (χυμός: διαλύτης). Για να είναι η καταβύθιση αποτελεσματική, οι διαλύτες είναι υψηλής καθαρότητας (>95%). Πριν την προσθήκη του οργανικού διαλύτη, υπάρχουν αναφορές που κάνουν λόγο για ρύθμιση του pH του ομογενοποιημένου παρεγχύματος σε 3,2-3,5 με χρήση HCl. Η προσθήκη αυτή εξυπηρετεί στη διάλυση των οξαλικών και γαλακτικών αλάτων του μαγνησίου και ασβεστίου, ώστε να μην περιέχονται στο ίζημα (Badar, 2017a; Eric Moore, 1992). Μετά την ολοκλήρωση της καταβύθισης, ακολουθεί διαχωρισμός του διαλύτη από τα αδιάλυτα συστατικά με ισχυρή φυγοκέντρωση. Το ίζημα είναι αυτό που αντιστοιχεί στο κλάσμα πολυσακχαριτών της A.Vera όπου περιέχεται και η ακεμαννάνη. Μέσω της διαδικασίας αυτής, επιτυγχάνεται η απομάκρυνση των μονοσακχαρών και ολιγοσακχαριτών, των οργανικών οξέων, των ανόργανων αλάτων αλλά και μέρους των ανθρακινονών (Alonso M, 2012; Badar, 2017a; Chokboribal et al., 2015b; Eric Moore, 1992; Liu et al., 2019b; Ni et al., 2004; Sierra-García et al., 2014b).

Σε ορισμένες περιπτώσεις η μέθοδος της αιθανολικής καταβύθισης συνδυάζεται με αυτή της θερμής εκχύλισης. Το ομογενοποιημένο παρέγχυμα αναδεύεται με νερό θερμοκρασίας έως 80-90°C και αφήνεται υπό ανάδευση προς εκχύλιση προτού γίνει διαχωρισμός με φυγοκέντρωση. Το υπερκείμενο υγρό είναι εκείνο που οδηγείται προς αιθανολική καταβύθιση προκειμένου οι πολυσακχαρίτες να παραληφθούν ως ίζημα. Αξίζει βέβαια να σημειωθεί πως η διαδικασία αυτή έχει το μειονέκτημα της ανάπτυξης υψηλών θερμοκρασιών, που οδηγεί σε αλλοίωση της δομής των ακετυλομαννανών (Chang et al., 2011a; Liu et al., 2019b; Rodríguez-González et al., 2011).

Επίσης, για την παραλαβή του κλάσματος πολυσακχαριτών, οι Quezada et al. (2017) προτείνουν την προσθήκη διαλύματος KCl στο παρέγχυμα πριν την ομογενοποίηση,

με το διαλυτό μέρος του παρεγγύματος να απομακρύνεται μαζί με το διάλυμα. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται μαζί με μεθόδους καθαρισμού όπως η προσθήκη του ενεργού άνθρακα και δεν παραλείπεται τελικά η αιθανολική καταβύθιση. Ο ρόλος της προσθήκης του KCl είναι ως ένα επιπλέον στάδιο διαχωρισμού ανεπιθύμητων συστατικών από το τελικό κλάσμα πολυσακχαριτών. Οι πολυσακχαρίτες διαφορετικού μοριακού βάρους παρουσιάζουν και διαφορετική διαλυτότητα σε συγκεκριμένες συγκεντρώσεις διαλυμάτων αλάτων. Επομένως, με την προσθήκη στο παρέγγυμα διαλύματος KCl συγκεκριμένης συγκέντρωσης, εξασφαλίζεται η καταβύθιση κλάσματος πολυσακχαριτών με ορισμένο εύρος μοριακών βαρών (Shi, 2016).

Ακόμη, σε άλλες μελέτες σημειώνεται η ανάμιξη του κλάσματος που περιέχει τους πολυσακχαρίτες με αντιδραστήριο Sevag (διάλυμα 1-βουτανόλης χλωροφόρμιου αναλογίας 1:4 v/v), το οποίο στη συνέχεια απομακρύνεται με φυγοκέντρηση και το υπερκείμενο υγρό συλλέγεται. Σκοπός του βήματος αυτού είναι η απομάκρυνση των πρωτεϊνών από το κλάσμα προς παραλαβή. Ακολουθεί όπως σε όλες τις περιπτώσεις αιθανολική καταβύθιση και παραλαβή του ιζήματος (Chang et al., 2011a; Chun-hui et al., 2007).

### 1.5.2 ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΣ ΚΛΑΣΜΑΤΟΣ ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΩΝ- ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΑΚΕΜΑΝΝΑΝΗΣ

Το κλάσμα που παραλαμβάνεται με τις παραπάνω μεθόδους, περιλαμβάνει κατά κύριο λόγο ακετυλομαννάνες. Βέβαια, μαζί με αυτές περιλαμβάνονται ποσότητες πρωτεϊνών, χρωστικών ουσιών και άλλων μορίων που δεν απομακρύνθηκαν με το υπερκείμενο υγρό μετά την καταβύθιση. Συνεπώς, κρίνεται χρήσιμη η ακολουθία μερικών επιπλέον σταδίων προκειμένου να προκύψει κλάσμα καθαρότερο ως προς την ακεμαννάνη και στα επιθυμητά εύρη μοριακών βαρών. Παρακάτω παρουσιάζονται οι σημαντικότερες τεχνικές διαχωρισμού που εφαρμόζονται για την παραλαβή ακετυλομαννανών και τα βασικά στοιχεία αυτών. Πέραν των τεχνικών που περιγράφονται, υπάρχουν και άλλες όπως η ηλεκτροφόρηση που δεν αναλύονται, καθώς στις περιπτώσεις αυτές το επιθυμητό κλάσμα πολυσακχαριτών δεν ανακτάται για μελλοντική χρήση. Αξίζει να σημειωθεί πως στις περισσότερες περιπτώσεις, όταν ολοκληρωθούν οι διεργασίες καθαρισμού του κλάσματος πολυσακχαριτών, προτιμάται η παραλαβή της ακεμαννάνης σε ξηρή μορφή. Έτσι, ακολουθεί ξήρανση με μέθοδο τέτοια, ώστε να διασφαλίζεται η διατήρηση της δομής του μορίου. Για το λόγο αυτό, το ξηρό προϊόν λαμβάνεται κατά κύριο λόγο μέσω λυοφιλίωσης (Liu et al., 2019a).

### 1.5.2.1 ΔΙΗΘΗΣΗ ΥΠΟ ΚΕΝΟ

Η απλούστερη μέθοδος καθαρισμού του κλάσματος πολυσακχαριτών είναι η διήθηση του υπό κενό με χρήση φίλτρων μικρού πορώδους. Ενδεικτικά, σημειώνεται η χρήση φίλτρων πορώδους 0,22 μm ή 0,45 μm (Badar, 2017b; Tai-Nin Chow et al., 2005). Βέβαια, υπάρχουν αρκετές ακόμη μέθοδοι οι οποίες εξασφαλίζουν αποτελεσματικότερη απομόνωση των ζητούμενων πολυσακχαριτών.

### 1.5.2.2 ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

Ο όρος “χρωματογραφία” αναφέρεται σε ένα πλήθος τεχνικών διαχωρισμού, που βασίζονται στη διαφορετική κατανομή των συστατικών ενός μίγματος μεταξύ μιας κινητής (υγρής ή αέριας) και μίας στατικής (στερεής ή υγρής) φάσης. Οι μέθοδοι αυτές αποτελούν πολύτιμο εργαλείο τόσο στον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό ουσιών σε μίγματα, αλλά και ως τεχνικές διαχωρισμού για τον καθαρισμό δειγμάτων ή την απομόνωση ουσιών υψηλής αξίας, με βιολογική και φαρμακευτική δράση (Παππά, 2004).

#### 1.5.2.2.1 ΒΑΣΙΚΗ ΘΕΩΡΙΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ

Κάθε τεχνική χρωματογραφίας περιλαμβάνει την κινητή φάση, που περιέχει τα υπό διαχωρισμό συστατικά διαλυμένα σε έναν διαλύτη ή σε μίγμα διαλυτών. Αυτή διέρχεται εντός της στατικής φάσης, που αποτελείται από πορώδες στερεό υλικό ή υγρό καθηλωμένο σε στερεό υπόστρωμα. Το κάθε συστατικό παρουσιάζει διαφορετικού βαθμού αλληλεπίδραση με τις δύο φάσεις, λόγω των φυσικοχημικών του ιδιοτήτων (μέγεθος μορίων, πολικότητα, ηλεκτρικά φορτία κ.α.). Έτσι τα συστατικά κινούνται με διαφορετικές ταχύτητες εντός της στατικής φάσης, επομένως σταδιακά διαχωρίζονται και εξέρχονται σε διαφορετικούς χρόνους. Εάν στην έξοδο υπάρχει ανιχνευτής, ταυτόχρονα με το διαχωρισμό πραγματοποιείται ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός των συστατικών (Skoog et al., 2000; Παππά, 2004).

#### 1.5.2.2.2 ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ

Οι χρωματογραφικές τεχνικές μπορούν να ταξινομηθούν ως εξής:

- Με βάση τη φυσική κατάσταση της κινητής και στατικής φάσης:
  1. **Αέρια Χρωματογραφία (GC)**, όπου η κινητή φάση είναι αέρια.
  2. **Υγρή Χρωματογραφία (LC)**, όπου η κινητή φάση είναι υγρή. Αν η στατική φάση είναι περισσότερο πολική από την κινητή η μέθοδος χαρακτηρίζεται ως κανονικής φάσης, διαφορετικά, ως αντίστροφης φάσης.

- 3. Χρωματογραφία Υπερκρίσιμου Ρευστού (SFC), με κινητή φάση αέριο σε υπερκρίσιμες συνθήκες.**
- Με βάση τη διάταξη της στατικής φάσης:
    - 1. Χρωματογραφία στήλης:** Η στατική φάση περιέχεται σε στενή κυλινδρική στήλη από όπου διέρχεται υπό πίεση ή λόγω βαρύτητας η κινητή φάση.
    - 2. Επίπεδη Χρωματογραφία:** Πραγματοποιείται είτε σε χαρτί ή με τη στατική φάση να είναι στοιβάδα στερεού επιστρωμένη σε πλάκα. Η υγρή κινητή φάση διέρχεται μέσω τριχοειδών δυνάμεων ή λόγω βαρύτητας.
  - Με βάση το μηχανισμό διαχωρισμού:
    - 1. Χρωματογραφία προσρόφησης:** Με τη βοήθεια ενός πολικού προσροφητικού υλικού όπως η síλικά ή η αλούμινα, που συνιστά τη στατική φάση, πραγματοποιείται διαχωρισμός των συστατικών στην κινητή φάση λόγω διαφορετικής ροφητικής συγγένειας με το προσροφητικό υλικό.
    - 2. Χρωματογραφία κατανομής:** Τα προς διαχωρισμό συστατικά κατανέμονται μεταξύ της υγρής κινητής φάσης και της στατικής που συνήθως είναι χημικά προσδεδεμένη σε υπόστρωμα.
    - 3. Χρωματογραφία συγγένειας:** Βασίζεται στην απολύτως εκλεκτική αλληλεπίδραση συγκεκριμένων μορίων ακινητοποιημένων στη στατική φάση, με ένα ή περισσότερα συστατικά του δείγματος στην κινητή φάση.
    - 4. Χρωματογραφία αποκλεισμού:** Ο διαχωρισμός βασίζεται στο διαφορετικό μέγεθος των μορίων. Η στατική φάση είναι πορώδης πηκτή, από όπου διέρχονται μόνο όσα μόρια είναι αρκετά μικρά, ώστε να εισέλθουν στους πόρους, οπότε και συγκρατούνται για περισσότερο χρόνο στη στήλη.
    - 5. Χρωματογραφία ιονταναλλαγής:** Η στατική φάση είναι ιονεναλλακτική ρητίνη και ο διαχωρισμός πραγματοποιείται βάσει της διαφορετικής ιονεναλλακτικής ικανότητας των συστατικών με τη ρητίνη (Skoog et al., 2000; Παππά, 2004).

#### 1.5.2.2.3 ΥΓΡΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΥΨΗΛΗΣ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Η HPLC αποτελεί την τεχνολογική εξέλιξη της υγρής χρωματογραφίας στήλης, με σημαντικά μειωμένους χρόνους διαχωρισμού. Η διαφορά έγκειται στο υλικό πλήρωσης της στήλης, το οποίο έχει το λεπτότερο δυνατό διαμερισμό και υψηλή σφαιρική ικανότητα, ώστε να αυξηθεί το ελεύθερο εμβαδό όπου αλληλεπιδρούν η κινητή και η στατική φάση. Έτσι, βελτιώνεται ο διαχωρισμός με ταυτόχρονη μείωση

του μεγέθους της στήλης. Βέβαια, η αύξηση στην αντίσταση στη ροή της κινητής φάσης που δημιουργείται απαιτεί χρήση αντλιών υψηλής πίεσης (έως 6000 psi). Έτσι, οι χρόνοι ανάλυσης κυμαίνονται τελικά μόλις στα 5 με 10 min, ενώ ο μειωμένος όγκος δείγματος επιτρέπει τη σύζευξη της στήλης με ανιχνευτές μικρού νεκρού όγκου. Μία βασική διάταξη HPLC περιλαμβάνει τους περιέκτες των διαλυτών για την κινητή φάση, τον απαερωτή κενού για την κινητή φάση -ώστε η πίεση να βρίσκεται υπό έλεγχο- και την αντλία, που εξασφαλίζει τη ροή της κινητής φάσης. Επιπλέον, περιλαμβάνεται το σύστημα εισαγωγής δείγματος που βρίσκεται πριν τη χρωματογραφική στήλη. Στη στήλη πραγματοποιείται ο διαχωρισμός. Η προσθήκη ανιχνευτή, βοηθά στον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό των συστατικών που εξέρχονται μετά το διαχωρισμό τους από τη στήλη. Χρησιμοποιούνται μεταξύ άλλων ανιχνευτές ορατού υπεριώδους, αγωγιμομετρικοί, παράταξης φωτοδιόδων, δείκτη διάθλασης, φασματογράφοι μάζας, σκεδασμού φωτός κ.α. (Skoog et al., 2000; Παππά, 2004).

#### 1.5.2.2.3.1 ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΙΟΝΤΟΑΝΤΑΛΛΑΓΗΣ

Η χρωματογραφία ιοντοανταλλαγής βασίζεται στην HPLC και διαχωρίζει τα συστατικά ενός δείγματος βάσει των ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων αυτών με τις φορτισμένες ομάδες της στατικής φάσης. Βρίσκει εφαρμογή για ιόντα και ενώσεις που ιονίζονται (οξέα, βάσεις) ή που αντιδρούν με ιοντικές ομάδες (λιπίδια, πρωτεΐνες κ.α.). Ως στατική φάση χρησιμοποιούνται στήλες με ιοντοανταλλακτικές ρητίνες, οι οποίες αν φέρουν θετικά φορτισμένες ομάδες έλκουν ανιόντα κι αν φέρουν αρνητικές ομάδες έλκουν κατιόντα της κινητής φάσης. Τα συστατικά με ουδέτερο ή ομώνυμο φορτίο με τη στατική φάση εκλούνται πρώτα. Όσα συστατικά συγκρατούνται, εκλούνται με διαλύματα αυξανόμενης συγκέντρωσης άλατος. Οι ομάδες που συγκρατούνται ισχυρά εκλούνται τελευταίες, σε υψηλές συγκεντρώσεις άλατος. Οι παράμετροι που καθορίζουν το χρόνο έκλουσης είναι το είδος του φορτίου της δραστικής ομάδας στη στατική φάση, η ιονική ισχύς, το pH, η θερμοκρασία και το είδος των διαλυτών. Μετά το διαχωρισμό χρησιμοποιούνται συχνά στήλες καταστολής ή μεμβράνες όπου με ανταλλαγή ιόντων περιορίζεται η αγωγιμότητα της κινητής φάσης μέσω αντιδράσεων οξέων-βάσεων. Έτσι, τελικά στον ανιχνευτή μετρούνται μόνο τα ιόντα που έχουν διαχωριστεί. Διαφορετικά, χρησιμοποιούνται στήλες μικρής χωρητικότητας με κινητή φάση πολύ χαμηλής αγωγιμότητας ή πραγματοποιείται χημική αντίδραση των ιόντων που διαχωρίστηκαν, ώστε να αποκτήσουν χρωμοφόρες ομάδες και να μετρηθούν φωτομετρικά. Σημειώνεται πως τα δείγματα πρέπει να είναι υδατικά διαλύματα ή υδατοδιαλυτά (Skoog et al., 2000; Παππά, 2004).

Η μέθοδος αυτή είναι από τις πιο διαδεδομένες για τον καθαρισμό κλασμάτων πολυσακχαριτών. Χρησιμεύει για το διαχωρισμό όξινων ή ουδέτερων πολυσακχαριτών αλλά και μυκοπολυσακχαριτών (όπως οι ακετυλομαννάνες) και αυτό διότι πέραν της ανταλλαγής ιόντων στη στήλη, λαμβάνουν χώρα και φαινόμενα

προσρόφησης και εκρόφησης. Όταν το pH βρίσκεται στο 6,0, οι όξινοι πολυσακχαρίτες προσροφώνται σε αντίθεση με τους ουδέτερους. Στη συνέχεια, διαλύματα με ίδιο pH και διαφορετική ιοντική ισχύ χρησιμοποιούνται για την έκλυση των όξινων πολυσακχαριτών. Η ικανότητα προσρόφησης στη στατική φάση είναι μεγαλύτερη για μόρια γραμμικής αλυσίδας, χωρίς διακλαδώσεις, με υψηλό μοριακό βάρος. Επίσης, αυξάνεται όσο περισσότερες είναι οι όξινες ομάδες των μορίων. Οι ουδέτεροι πολυσακχαρίτες μπορούν να προσροφηθούν σχηματίζοντας ένωση με τετραβορικό νάτριο. Οι στήλες που χρησιμοποιούνται συνήθως είναι διαιθυλοαμινοαιθυλο-κυτταρίνης (DEAE-cellulose), DEAE-Sephadex και DEAE-Sepharose. Οι δύο τελευταίες λόγω της τρισδιάστατης δομής τους διαχωρίζουν τα συστατικά και με βάση το μοριακό βάρος (Shi, 2016).

Όσον αφορά τον καθαρισμό του κλάσματος πολυσακχαριτών αλόης ως προς την ακεμαννάνη, η χρωματογραφία ιοντοανταλλαγής βρίσκει εφαρμογή, με χρήση στήλης DEAE-Sephadex A-25. Ξηρό κλάσμα πολυσακχαριτών μετά από διαλυτοποίηση σε απεσταγμένο νερό τροφοδοτείται στη στήλη για να συλληθούν τελικά τα επιθυμητά τμήματα που περιέχουν ακεμαννάνη (Chang et al., 2011b).

#### 1.5.2.2.3.2 ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΜΕ ΔΙΗΘΗΣΗ ΣΕ ΠΗΚΤΗ

Η εν λόγω χρωματογραφική τεχνική πραγματοποιείται επίσης σε σύστημα HPLC και χρησιμοποιείται ευρέως στο διαχωρισμό και καθαρισμό των πολυσακχαριτών. Εάν η κινητή φάση είναι υδατική, η τεχνική ονομάζεται χρωματογραφία διήθησης, ενώ αν χρησιμοποιούνται οργανικοί διαλύτες η μέθοδος καλείται χρωματογραφία διαπερατότητας πηκτής. Σε κάθε περίπτωση, το πληρωτικό υλικό της στήλης αποτελείται από πόρους 4-500 nm. Ο διαχωρισμός πραγματοποιείται επειδή η ταχύτητα των μορίων στη στήλη εξαρτάται από το μέγεθός τους, δηλαδή το μοριακό τους βάρος. Τα μόρια που είναι μεγαλύτερα από τους πόρους εκλούνται πρώτα και τα μικρότερα μόρια τελευταία, καθώς περνούν από όλους τους πόρους. Για την ανάλυση βιολογικών πολυμερών, όπως οι βιταμίνες ή οι πολυσακχαρίτες, οι στατικές φάσεις αποτελούνται συνήθως από υδρόφιλα υλικά και συνδυάζονται με υδατικές κινητές φάσεις (Skoog et al., 2000; Παππά, 2004).

Για την παραλαβή πολυσακχαριτών, συνήθως εφαρμόζεται πρώτα ως στάδιο διαχωρισμού η χρωματογραφία ιοντοανταλλαγής και έπειτα για τον περαιτέρω καθαρισμό η χρωματογραφία αποκλεισμού. Ως στατική φάση προτιμώνται πηκτές όπως η Sephadex, η Sepharose, η Bio-gel, η Superdex και η Sephacryl (Shi, 2016). Στην απομόνωση της ακεμαννάνης αυτή η διαδικασία βρίσκει εφαρμογή, εφόσον, μετά το από χρωματογραφία ιοντοανταλλαγής, μπορεί να ακολουθήσει καθαρισμός μέσω χρωματογραφίας με διήθηση σε πηκτή (gel permeation chromatography) σε στήλη Sepharose 4B (Chang et al., 2011b).

### 1.5.2.3 ΥΠΕΡΔΙΗΘΗΣΗ

Μία τεχνική διαχωρισμού που μπορεί να φανεί χρήσιμη στην απομόνωση ακεμαννάνης από το κλάσμα πολυσακχαριτών, είναι η υπερδιήθηση. Χρησιμοποιείται στη συμπύκνωση χυμού A.Vega, αλλά με την κατάλληλη μεμβράνη, βοηθά και στον διαχωρισμό των ζητούμενων πολυμερών, βάσει μοριακού βάρους (Lee et al., 2001a). Το κλάσμα πολυσακχαριτών που παραλαμβάνεται ως ίζημα από τις αιθανολικές καταβυθίσεις, διαλυτοποιείται σε απεσταγμένο νερό και στη συνέχεια τροφοδοτείται στη συσκευή υπερδιήθησης.

Η υπερδιήθηση πρόκειται για μία τεχνική διαχωρισμού με χρήση μεμβρανών, που τοποθετείται μαζί με την μικροδιήθηση και την αντίστροφη ώσμωση. Πρόκειται για διήθηση εγκάρσιας ροής, όπου η ροή της τροφοδοσίας πραγματοποιείται παράλληλα στις μεμβράνες και είναι κάθετη στη ροή του διηθήματος που διέρχεται από τη μεμβράνη. Έτσι, από το ρεύμα τροφοδοσίας προκύπτει το ρεύμα του διηθήματος και το ρεύμα του συμπυκνώματος ή παρακρατήματος, που μπορεί να ανακυκλώνεται έως την επιθυμητή συγκέντρωση. Οι μεμβράνες που χρησιμοποιούνται είναι πορώδεις και δεν επιτρέπουν τη διέλευση μορίων μεγαλύτερων από 0,002-0,2 μm ή MB 500-300000. Αποτελούνται κυρίως από πολυμερή υλικά και έχουν ασύμμετρους πόρους, οι οποίοι είναι μικρότεροι στην επιφάνεια της μεμβράνης που έρχεται σε επαφή με την τροφοδοσία και μεγαλύτεροι στην πλευρά του διηθήματος. Το πάχος των μεμβρανών είναι 0,5-1,5 μm, οπότε για να αντέχουν τις μηχανικές καταπονήσεις τοποθετούνται σε μικροπορώδες υλικό πάχους 0,1-0,2 mm με μεγαλύτερους πόρους από τη μεμβράνη. Τα κυριότερα πολυμερή που χρησιμοποιούνται στις μεμβράνες είναι το πολυβινυλοχλωρίδιο, οι πολυσουλφόνες, το πολυακρυλονιτρίλιο, το πολυαμίδιο και το πολυιμίδιο. Η υπερδιήθηση εφαρμόζεται για διαχωρισμό μεγαλομορίων από μικρότερα μόρια σε διαλύματα ή κolloειδή αιωρήματα. Για να εξασφαλιστεί η ροή του συστήματος χρειάζεται η εφαρμογή πιέσεων από 0,5 έως 5 bar (Aptel & Clifton, 1986; Ταούκης & Ωραιπούλου, 2009).

Η υπερδιήθηση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για παραλαβή καθαρότερου κλάσματος πολυσακχαριτών, με τα πολυμερή που συλλέγονται να έχουν όμοια μοριακά βάρη και όμοιο σχήμα. Στα μειονεκτήματα της μεθόδου σημειώνεται πως πολλές φορές η μεμβράνη απορροφά μέρος των πολυσακχαριτών, οδηγώντας τελικά σε μειωμένες αποδόσεις. Επίσης, λόγω του ιξώδους των διαλυμάτων πολυσακχαριτών, η ταχύτητα της μεθόδου είναι περιορισμένη και συνεπάγεται αυξημένους χρόνους διεργασίας. Τέλος, στην περίπτωση των γραμμικών πολυσακχαριτών, είναι πιθανό με τον κατάλληλο προσανατολισμό να διέλθουν από τη μεμβράνη πολυμερή που κανονικά είναι εκτός των ορίων που επιτρέπει η μεμβράνη υπερδιήθησης (Shi, 2016).

## 1.6 ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΚΕΜΑΝΝΑΝΗΣ- ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΚΑΘΑΡΟΤΗΤΑΣ

Μετά την παραλαβή του κλάσματος ακετυλομαννανών είναι χρήσιμος ο ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός αυτού. Με αυτόν τον τρόπο αξιολογείται η καθαρότητα του τελικού προϊόντος ως προς την ακεμαννάνη και αναλύονται επιμέρους δομικά χαρακτηριστικά των μορίων που απομονώθηκαν, όπως ο βαθμός ακετυλίωσης και το είδος των ομάδων που απαρτίζουν τα πολυμερή. Στη συνέχεια παρουσιάζονται ορισμένες τεχνικές ανάλυσης που βρίσκουν εφαρμογή στον προσδιορισμό ακετυλομαννανών από *A. Vera*.

### 1.6.1 ΧΡΩΜΑΤΟΜΕΤΡΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

Παρότι στη συνέχεια θα παρουσιαστούν μέθοδοι ακριβείας με περίπλοκη οργανολογία, είναι δυνατόν να πραγματοποιηθεί ποσοτικός προσδιορισμός των ακετυλομαννανών ενός δείγματος με ικανοποιητική ακρίβεια με τη βοήθεια απλούστερων και οικονομικότερων τεχνικών. Αυτές βασίζονται σε χημικές αντιδράσεις χαρακτηριστικών ομάδων των μορίων προς ανάλυση, ώστε να προκύψουν χρωμοφόρες ομάδες, η συγκέντρωση των οποίων μπορεί να μετρηθεί μέσω της απορρόφησης σε φασματοφωτόμετρο UV-Vis, σε καθορισμένο μήκος κύματος.

Μία τέτοια τεχνική περιλαμβάνει τη χρήση **υδροξυλαμίνης**. Ειδικότερα, οι ακετυλομάδες των πολυσακχαριτών αντιδρούν με την υδροξυλαμίνη προς δημιουργία ακετουδροξαμικού οξέος. Η ένωση που προκύπτει αντιδρά στη συνέχεια με μολυσίτη ( $\text{FeCl}_3$ ) σχηματίζοντας ένα σύμπλοκο με κόκκινη απόχρωση. Είναι σημαντική η ρύθμιση του pH σε 1,0-1,4, καθώς σε χαμηλότερες τιμές η ένταση του χρώματος του συμπλόκου φθίνει, ενώ σε μεγαλύτερες παρατηρείται σχηματισμός καφέ ιζήματος. Τελικά, μετρείται η απορρόφηση του συμπλόκου στα 540 nm με τη βοήθεια φασματοφωτόμετρου UV-Vis. Το σύμπλοκο σχηματίζεται εντός 5 min μετά την προσθήκη των αντιδρώντων, ενώ παραμένει σταθερό για 60 min, παρέχοντας αρκετό χρόνο για τις μετρήσεις. Για την καμπύλη βαθμονόμησης χρησιμοποιείται ακετυλοχολίνη ως ουσία αναφοράς (Hestrin, 1949). Δεν ενδείκνυται για προϊόντα αλόης σε μορφή φόρμουλας, καθώς στην περίπτωση αυτή είναι πιθανή η ύπαρξη άλλων ουσιών με ακετυλομάδες που θα επηρεάσουν τις μετρήσεις. Βέβαια, ουσίες όπως η μαλτοδεξτρίνη, το αραβικό κόμμι, το κόμμι χαρουπιού και η καραγενάνη που συναντώνται συχνά σε προϊόντα αλόης, δεν παρουσιάζουν απόκριση κατά τη μέτρηση απορρόφησης (Metcalf, 2019).

Η αξιοποίηση των μετατοπίσεων πρωτονίων των ακετυλομάδων για τον ποσοτικό προσδιορισμό των ακετυλομαννανών μπορεί να είναι προβληματική, καθώς οι ακετυλομάδες είναι ευαίσθητες στις αλλαγές pH, ενώ στους φυτικούς πολυσακχαρίτες οι βαθμοί ακετυλίωσης ποικίλλουν. Υπάρχει μία ακόμη



χρωματομετρική μέθοδος ποσοτικοποίησης των ακετυλομαννανών, η οποία βασίζεται στην αλληλεπίδραση των μορίων με το **Ερυθρό του Κονγκό**. Η ένωση αυτή πρόκειται για το άλας νατρίου του 3,3'-([1,1'-διφαινυλ]-4,4'-διυλ) δι (4-αμινοναφθαλινο-1-σουλφονικού οξέος) και χρησιμοποιείται ως δείκτης στην εκτίμηση ελεύθερων ανόργανων οξέων αλλά και για τη χρώση βιολογικών δειγμάτων. Κατόπιν της αλληλεπίδρασης προκύπτει κόκκινο χρώμα το οποίο είναι ανάλογο της συγκέντρωσης πολυσακχαριτών αλόης. Το χρώμα αυτό είναι σταθερό για 30 min, ενώ με την προσθήκη κατάλληλων σταθεροποιητών διασφαλίζεται σταθερότητα των πολυσακχαριτών και κατά συνέπεια του μετρούμενου χρώματος για μερικές ημέρες. Η απορρόφηση του συμπλόκου που σχηματίζεται μέσω της αλληλεπίδρασης μετρείται στα 540 nm. Ως ουσία αναφοράς μπορεί να χρησιμοποιηθεί λυόφιλο προϊόν πολυσακχαριτών αλόης το οποίο διαλύεται σε γνωστές συγκεντρώσεις και η απορρόφησή του χρησιμοποιείται για την κατασκευή καμπύλης αναφοράς. Η μέθοδος αυτή δεν επηρεάζεται από μικρότερα μόρια που πιθανότατα περιέχονται σε προϊόντα αλόης. Επίσης, ουσίες όπως το αραβικό κόμμι, το κόμμι χαρουπιού και η καραγενάνη δεν παρουσιάζουν απόκριση στην προσθήκη του δείκτη, ενώ μονοσακχαρίτες, αλκοόλες, οργανικά οξέα, η γλυκερόλη και άλλα συστατικά που ίσως έχουν προστεθεί στο προϊόν, δεν επηρεάζουν τη μέθοδο. Βέβαια, αναφέρεται πως παρότι πρόκειται για μια γρήγορη και απλή μέθοδο ποσοτικοποίησης των πολυσακχαριτών σε προϊόντα αλόης, μαζί με τις ακετυλομαννάνες μετρούνται και άλλες γλυκομαννάνες των κυτταρικών τοιχωμάτων (Eberendu, 2005; Minjares-Fuentes et al., 2018).

## 1.6.2 ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

Οι χρωματομετρικές μέθοδοι, ενώ αποτελούν γρήγορες, απλές και οικονομικές λύσεις για τον ποσοτικό προσδιορισμό των πολυσακχαριτών αλόης, εντούτοις έχουν περιορισμένη ευαισθησία και περιλαμβάνουν στις μετρήσεις και μόρια που δεν είναι ακετυλομαννάνες. Έτσι, βρίσκουν εφαρμογή φασματοσκοπικές τεχνικές, με κυριότερες την FTIR και την NMR.

### 1.6.2.1 FTIR

Τα φασματοφωτόμετρα FTIR (IR μετασχηματισμού Fourier) χρησιμοποιούνται στη φασματομετρία υπέρυθρου, όπου μετρείται το ποσοστό απορρόφησης υπέρυθρης ακτινοβολίας (με μήκος κύματος από 2,5-50  $\mu\text{m}$ ) από την υπό εξέταση ουσία. Η απορρόφηση της ακτινοβολίας συνδέεται με αύξηση των δονήσεων των μορίων, οπότε αν από ένα δείγμα περάσουν διαφορετικές συχνότητες υπέρυθρης ακτινοβολίας, στο φάσμα IR θα εμφανιστούν ζώνες απορρόφησης χαρακτηριστικές των δονήσεων. Με αυτόν τον τρόπο, προκύπτουν πληροφορίες σχετικά με τη φύση των ατόμων σε ένα μόριο, τη διάταξή τους στο χώρο και τις χημικές δυνάμεις που τα συνδέουν.

Το όργανο FTIR εμφανίστηκε για πρώτη φορά τη δεκαετία του 1970 ως βελτίωση των συμβατικών οργάνων φασματομετρίας υπέρυθρου. Ονομάζεται έτσι, καθώς για την αποκωδικοποίηση του εξερχόμενου από το όργανο σήμα σε συμβατικό φάσμα IR, χρησιμοποιείται ο μαθηματικός μετασχηματισμός Fourier. Το φάσμα απορρόφησης είναι ένα διάγραμμα με τεταγμένη τη διαπερατότητα του δείγματος επί τοις 100% και τετμημένη τον κυματαριθμό σε  $\text{cm}^{-1}$ . Στα διαγράμματα παρουσιάζονται κορυφές, χαρακτηριστικές των υπό εξέταση μορίων. Ειδικότερα, από 4000-1400  $\text{cm}^{-1}$ , επιτυγχάνεται η ταυτοποίηση χαρακτηριστικών ομάδων του μορίου, καθώς οι δονήσεις τους σε αυτό το εύρος είναι ανεξάρτητες από την επίδραση του υπόλοιπου μορίου. Στην περιοχή από 1400-400  $\text{cm}^{-1}$ , οι ζώνες απορρόφησης αφορούν ολόκληρο το μόριο.

Η μέθοδος FTIR χρησιμοποιείται στον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό συστατικών πολύπλοκων μιγμάτων καθώς παρουσιάζει πολύ καλή διακριτική ικανότητα, μεγάλη ακρίβεια και επαναληψιμότητα, μεγάλο λόγο σήματος προς θόρυβο και υψηλές ταχύτητες σάρωσης. Ταυτόχρονα, απαιτείται μικρή ποσότητα δείγματος ενώ το όριο ανίχνευσης της μεθόδου για ορισμένες ενώσεις είναι της τάξης των 10 ppb. Η ταχύτητα ανάλυσης επιτρέπει τη χρήση των οργάνων FTIR ως ανιχνευτές σε συστήματα χρωματογραφίας (Όξενκιουν- Πετροπούλου, 2012a).

Όσον αφορά τον προσδιορισμό πολυσακχαριτών αλόης, η φασματοσκοπία FTIR εφαρμόζεται ευρέως για την ταυτοποίηση και τον χαρακτηρισμό των μορίων (Krokida et al., 2011). Ειδικότερα, πολλές μελέτες της ακεμαννάνης βασίζονται στην ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των βασικών ομάδων και μορίων του πολυμερούς στο φάσμα IR. Η ταυτοποίηση ζωνών στο εύρος κυματαριθμών 1078-1036  $\text{cm}^{-1}$  συνδέεται με την παρουσία σακχάρων της ακεμαννάνης όπως η γλυκόζη και η μαννόζη. Επιπλέον, το φάσμα διαπερατότητας στις περιοχές γύρω από τα 1740, 1598 και 1248  $\text{cm}^{-1}$  αποδίδεται σε εκτάσεις των δεσμών C-O, COO- και C-O-C των ακετυλομάδων της ακεμαννάνης (Minjares-Fuentes et al., 2018; Nejatizadeh-Barandozi & Enferadi, 2012).

### 1.6.2.2 NMR

Η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) αποτελεί επίσης χρήσιμο εργαλείο στον χαρακτηρισμό και τον ποιοτικό έλεγχο προϊόντων αλόης. Πρόκειται για μία μορφή φασματομετρίας απορρόφησης, όπου το δείγμα βρίσκεται υπό την επίδραση ισχυρού μαγνητικού πεδίου και απορροφά ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία στην περιοχή των ραδιοκυμάτων (4-900 MHz). Η προσδιδόμενη λόγω ακτινοβολίας ενέργεια οδηγεί στο φαινόμενο “**συντονισμού**”. Οι προσανατολισμένοι λόγω πεδίου πυρήνες των ατόμων, απορροφώντας ενέργεια από την ακτινοβολία μεταβαίνουν από την κατάσταση χαμηλότερης σε κατάσταση υψηλότερης ενέργειας με αναστροφή του spin, έτσι ώστε να συντονιστούν με την εφαρμοζόμενη ακτινοβολία. Η συχνότητα συντονισμού εξαρτάται από την ισχύ του μαγνητικού πεδίου και το είδος του πυρήνα. Όλοι οι πυρήνες με περιττό αριθμό πρωτονίων και

νετρονίων εμφανίζουν το φαινόμενο του συντονισμού, αλλά στο NMR χρησιμοποιούνται κυρίως οι πυρήνες  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$  και  $^{31}\text{P}$ .

Γνωρίζοντας τις συχνότητες συντονισμού για τους πυρήνες που αναφέρθηκαν σε ένα πεδίο γνωστής έντασης, μπορεί να προσδιοριστεί η ύπαρξη χαρακτηριστικών ομάδων και η δομή μορίων, εφόσον ληφθεί υπόψιν και το φαινόμενο της **χημικής μετατόπισης**. Οι παρατηρούμενες συχνότητες συντονισμού σε σταθερό μαγνητικό πεδίο, δεν εξαρτώνται μόνο από το είδος του πυρήνα, αλλά κι από το χημικό περιβάλλον όπου το στοιχείο βρίσκεται. Τα άτομα με τα οποία συνδέεται ο υπό εξέταση πυρήνας, τον περιβάλλουν με μια ηλεκτρονιακή πυκνότητα. Με την εφαρμογή μαγνητικού πεδίου, τα ηλεκτρόνια προστατεύουν τον πυρήνα δημιουργώντας μαγνητικό πεδίο αντίθετης φοράς κι έτσι η ένταση πεδίου που εφαρμόζεται στον πυρήνα είναι μικρότερη από αυτή του εξωτερικού μαγνητικού πεδίου. Χημικά μη ισοδύναμοι πυρήνες προστατεύονται σε διαφορετικό ποσοστό από τα ηλεκτρόνιά τους και έτσι συντονίζονται σε διαφορετικές συχνότητες, παράγοντας διαφορετικά σήματα στο φάσμα NMR.

Το φάσμα NMR είναι ένα διάγραμμα έντασης απορρόφησης ακτινοβολίας από τους πυρήνες ως προς τη χημική μετατόπιση (σε ppm), η οποία εκφράζεται ως προς μία πρότυπη ουσία που μετρείται ταυτόχρονα με το δείγμα, ώστε το μέγεθος να προκύπτει ανεξάρτητο από το όργανο μέτρησης. Γνωρίζοντας τις περιοχές στην κλίμακα χημικής μετατόπισης όπου εμφανίζονται κορυφές που αντιστοιχούν σε συγκεκριμένες χαρακτηριστικές ομάδες, είναι δυνατή η ταυτοποίηση περίπλοκων μορίων σε ένα δείγμα. Μέσω της ολοκλήρωσης των απορροφήσεων είναι δυνατή και η ποσοτική ανάλυση μιγμάτων στο NMR. Επίσης, για την ποσοτική μέτρηση ενός μεμονωμένου συστατικού, αξιοποιούνται οι μέθοδοι του εσωτερικού προτύπου ή της προσθήκης και μελετώνται οι αλλαγές στα εμβαδά των παρατηρούμενων κορυφών (Όξενκιουν- Πετροπούλου, 2012b).

Η φασματοσκοπία NMR εφαρμόζεται για τον προσδιορισμό πολλών συστατικών της A.Vera, καθώς δίνει τη δυνατότητα για ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση πολλών μορίων σε ένα φάσμα. Επίσης, είναι τεχνική σύντομη και εκλεκτική, ενώ ο ποσοτικός προσδιορισμός είναι επιτυχής ακόμα και σε περιπτώσεις βιολογικών δειγμάτων όπως η αλόη, που αποτελούν περίπλοκες μήτρες. Η δομή της ακεμαννάνης, του κυριότερου πολυσακχαρίτη της αλόης, έχει οριστεί με τη βοήθεια ανάλυσης NMR ως μία ακετυλιωμένη β-D-γλυκομαννάνη, με τις ακετυλομάδες να συνδέονται στις θέσεις C-2, C-2 και C-3, C-3 ή/και C-6 των τμημάτων μαννόζης. Οι ακετυλομάδες της ακεμαννάνης παράγουν ένα σήμα που αποτελεί δακτυλικό αποτύπωμα για το μόριο, γύρω στα 2,0-2,3 ppm (Diehl & Teichmuller, 1998; Minjares-Fuentes et al., 2018; Monakhova et al., 2016). Οι Monakhova et al., (2016) μέσω της μελέτης τους, προτείνουν τη μέθοδο αυτή για την ανάλυση -εκτός των ακετυλλομαννανών- και άλλων οργανικών και ανόργανων συστατικών της αλόης όπως και για τον προσδιορισμό δεικτών ενζυμικής και μικροβιακής υποβάθμισης. Φαίνεται κατ' αυτόν τον τρόπο πόσο χρήσιμο εργαλείο μπορεί να είναι η NMR ( $^1\text{H}$ -NMR) για τον γρήγορο ποιοτικό έλεγχο σε προϊόντα αλόης (Bozzi et al., 2007; Jiao et al., 2009).

### 1.6.3 ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

Τα βασικά στοιχεία των χρωματογραφικών τεχνικών, αναφέρθηκαν στην Ενότητα 1.5.2.2, όπου περιγράφηκαν ως μέθοδοι διαχωρισμού βασιζόμενες στις αλληλεπιδράσεις των συστατικών υπό μελέτη με δύο φάσεις, μίας στατικής και μίας κινητής. Οι ίδιες τεχνικές χρησιμοποιούνται και για ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό των συστατικών, με προσθήκη στην έξοδο της διάταξης ανιχνευτή κατάλληλου για την εφαρμογή.

Η χρωματογραφία αποτελεί μία ολοκληρωμένη τεχνική που βοηθά στον καθορισμό του περιεχομένου και του είδους των πολυσακχαριτών αλόης. Οι αναφορές κάνουν λόγο για ευρεία χρήση αέριας χρωματογραφίας (GC) και υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC) για τον προσδιορισμό πολυσακχαριτών αλόης όπως οι ακετυλομαννάνες. Συνήθως ως ανιχνευτής χρησιμοποιείται όργανο MS ή UV-Vis (Minjares-Fuentes et al., 2018).

Ειδικότερα, μετά από διάσπαση των πολυμερών με όξινη υδρόλυση τα μονομερή μπορούν να διαχωριστούν και να ταυτοποιηθούν με αέρια ή υγρή χρωματογραφία σε συνδυασμό με ανιχνευτή MS (molecular mass spectroscopy). Τα συστατικά μετά το διαχωρισμό εισέρχονται στο φασματοφωτόμετρο σύμφωνα με τη σειρά έκλουσής τους από τη χρωματογραφική στήλη (Tai-Nin Chow et al., 2005). Μέσω της φασματομετρίας MS, προσδιορίζεται η κατανομή και οι θέσεις των ακετυλομάδων στα μόρια ακεμαννάνης. Οι Channe Gowda et al. (1979) και οι Mandal & Das (1980) κατάφεραν τον προσδιορισμό της δομής των πολυσακχαριτών αλόης εντοπίζοντας την παρουσία ακετυλιωμένων πολυμερών πλούσιων σε μαννόζη με εφαρμογή GC-MS. Επίσης, με την ίδια τεχνική οι Manna & McAnalley (1993) επιβεβαίωσαν τη σύνδεση των ακετυλομάδων της ακεμαννάνης στις θέσεις C-2, C-3 και C-6 των μονάδων μαννόζης. Και από τους Femenia et al. (1999) προκύπτουν παρόμοια πορίσματα, οι οποίοι, βασιζόμενοι στην GC-MS για τον προσδιορισμό των σημαντικότερων συστατικών του φυτού της αλόης, προσδιόρισαν μεταξύ άλλων την ύπαρξη του αποθηκευτικού πολυσακχαρίτη στο παρέγχυμα του φύλλου με τη δομή της ακεμαννάνης. Ακόμη, η GC-MS έχει χρησιμοποιηθεί για παρακολούθηση αλλαγών στη δομή των ακετυλομαννανών λόγω διεργασιών όπως η παστερίωση και για μελέτες αλλαγών στο μοριακό βάρος των πολυμερών. Η τελευταία εκτίμηση βασίστηκε στην αναλογία τμημάτων συνδεδεμένων με (1,4)-, (1,4,6,-), (1,3,4,6,-) δεσμούς σε τερματικά συνδεδεμένες μονάδες μαννόζης.

Τέλος, η HPLC και ειδικότερα η περίπτωση της χρωματογραφίας αποκλεισμού (size exclusion chromatography) χρησιμοποιείται ως μέσο ποιοτικού και ποσοτικού προσδιορισμού ακετυλομαννανών σε προϊόντα αλόης. Εφαρμόζεται και στον προσδιορισμό της αλοΐνης, επομένως αποτελεί εργαλείο ποιοτικού ελέγχου για την αλόη (Bozzi et al., 2007). Ο ανιχνευτής που χρησιμοποιείται μετά το σύστημα χρωματογραφίας, είναι στις περισσότερες περιπτώσεις UV-Vis ή συστοιχίας διόδων (DAD). Μειονέκτημα της μεθόδου είναι πως μπορεί να προσμετρηθούν και άλλα

πολυμερή εκτός των ακετυλομαννανών. Βέβαια, στις περιπτώσεις ελέγχου καθαρότητας σε ακεμαννάνη ενός κλάσματος πολυσακχαριτών, αποτελεί μία εύκολη και αξιόπιστη τεχνική. Το φάσμα που προκύπτει από το δείγμα μπορεί να συγκριθεί με το φάσμα από ανάλυση άλλου σκεύασματος ακεμαννάνης (γνωστής συγκέντρωσης) που λειτουργεί ως ουσία αναφοράς κι έχει προφανώς αναλυθεί στις ίδιες συνθήκες και με ανίχνευση στο ίδιο μήκος κύματος. Με αυτόν τον τρόπο, ο ποιοτικός προσδιορισμός είναι ευκολότερος και μπορεί να πραγματοποιηθεί και ποσοτικός προσδιορισμός, με βάση το σκεύασμα αναφοράς (Badar, 2017b; Liu et al., 2019a).

## 1.7 ΑΠΟΔΟΣΗ ΤΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΠΑΡΑΛΑΒΗΣ ΑΚΕΜΑΝΝΑΝΗΣ

Μέσω παραλαβής και επεξεργασίας του παρεγχύματος με τις μεθόδους που αναλύθηκαν, προκύπτει τελικά καθαρότερο το κλάσμα πολυσακχαριτών σε ξηρή μορφή, το οποίο περιέχει τις ακετυλομαννάνες του φυτού. Αξίζει όμως να γίνει αναφορά στις αποδόσεις σε μάζα ακεμαννάνης ως προς τον αρχικό χυμό από *A. Vera* (ή ως προς το ξηρό βάρος αυτού), όπως προκύπτουν από τη βιβλιογραφία, προκειμένου να σχηματιστεί εικόνα για την αποτελεσματικότητα των εφαρμοζόμενων μεθόδων.

Οι Thunyakitpisal et al. (2017), στη μελέτη τους για βιολογικές δράσεις της ακεμαννάνης, πραγματοποίησαν παραλαβή του κλάσματος πολυσακχαριτών από *A. Vera* με ομογενοποίηση, φυγοκέντρηση και αιθανολική καταβύθιση του παρεγχύματος. Ο διαχωρισμός του κλάσματος, ώστε να εκτιμηθεί η περιεχόμενη ακεμαννάνη, πραγματοποιήθηκε με HPLC και ο προσδιορισμός με <sup>13</sup>C-NMR και <sup>1</sup>H-NMR. Αφού επιβεβαιώθηκε πως ο παραλαμβανόμενος πολυσακχαρίτης είναι ακεμαννάνη με μοριακό βάρος 150-190 kDa, υπολογίστηκε η απόδοση της μεθόδου στο 0,04%.

Με τον ίδιο τρόπο παραλήφθηκε το κλάσμα πολυσακχαριτών από τους Boonagui et al., (2014) και ακολούθησε απομόνωση βάσει μοριακού βάρους, ώστε να απομακρυνθούν πρωτεΐνες και μονοσακχαρίτες. Η απόδοση της παραλαβής ακεμαννάνης ως προς το παρέγχυμα υπολογίστηκε στο 0,2%.

Αντίστοιχα, σε παρόμοια μελέτη των Lee et al. (2001), μετά την παραλαβή του κλάσματος ακολούθησε απομόνωση της ακεμαννάνης με υπερδιήθηση. Ο προσδιορισμός έγινε με HPLC- IR και <sup>1</sup>H-NMR. Τελικά, τα μοριακά βάρη των πολυμερών ήταν μεγαλύτερα από 500 kDa, ενώ η απόδοση ακεμαννάνης επί ξηρού παρεγχύματος προέκυψε περίπου 2%.

Τέλος, οι Quezada et al., (2017), μέσω αρχικής καταβύθισης με δ/μα KCl και παραλαβή του υπερκείμενου υγρού, με μετέπειτα κατεργασία με γη διατόμων και ενεργό άνθρακα και τέλος με αιθανολική καταβύθιση του διαλύματος, παρέλαβαν

ως ίζημα καθαρό κλάσμα ακεμαννάνης από παρέγχυμα *A.Vera*. Η απόδοση σε ακεμαννάνη επί ξηρού βάρους ήταν 9,36 % ( $\pm 0,51$ ) και ως προς το φρέσκο χυμό 0,32 % ( $\pm 0,02$ ). Η ποσοτικοποίηση της ακεμαννάνης πραγματοποιήθηκε με GC-MS και με τη χρωματομετρική μέθοδο με χρήση Ερυθρού του Κονγκό.

Από τις αναφορές αυτές, φαίνεται πως η μέθοδος επεξεργασίας για την παραλαβή του κλάσματος ακεμαννάνης, επηρεάζει την ποσότητα και την καθαρότητα του πολυσακχαρίτη που ανακτάται στο τελικό προϊόν. Βέβαια, ρόλο παίζει τόσο η πρώτη ύλη όσο και η τεχνική προσδιορισμού που επιλέγεται σε κάθε περίπτωση. Παρόλα αυτά, είναι σημαντική η διερεύνηση εναλλακτικών μεθόδων κατεργασίας του παρεγχύματος, οι οποίες, σε συνδυασμό με τις υπάρχουσες μεθόδους, μπορούν να οδηγήσουν σε αυξημένες αποδόσεις όσον αφορά την παραλαβή ακεμαννάνης.

## 1.8 ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΕΣ ΒΕΛΤΙΩΣΗΣ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΑΚΕΜΑΝΑΝΝΗΣ

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, οι πολυσακχαρίτες αλόης βρίσκονται κυρίως εντός των παρεγχυματικών κυττάρων. Για το λόγο αυτό, στις μεθόδους παραλαβής συνήθως περιλαμβάνεται και ένα στάδιο ομογενοποίησης του παρεγχύματος, προκειμένου τα επιθυμητά μόρια να απελευθερωθούν και να αναμιχθούν με το περιεχόμενο νερό, ώστε να γίνει ευκολότερη ύστερα η απομόνωσή τους. Μαζί με την απλή ομογενοποίηση όμως, υπάρχουν κι άλλες μέθοδοι που μπορούν να λειτουργήσουν επικουρικά στην απελευθέρωση των μορίων χωρίς σημαντικές αλλοιώσεις στη δομή τους. Οι τεχνολογίες αυτές στοχεύουν σε μείωση των χρόνων διεργασιών όπως οι εκχυλίσες, προσφέροντας ταυτόχρονα αυξημένες αποδόσεις με τρόπο ασφαλή, οικονομικό και πιο οικολογικό. Επιπλέον, οι περισσότερες από τις μεθόδους αυτές έχουν διττό ρόλο, καθώς συμβάλλουν και στη σταθεροποίηση του προϊόντος, είτε μέσω της αδρανοποίησης ενζύμων, αλλά και αναστέλλοντας τη μικροβιακή ανάπτυξη.

### 1.8.1 ΥΠΕΡΥΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ

Η χρήση υψηλής υδροστατικής πίεσης βρίσκει εφαρμογή στην επεξεργασία τροφίμων, για την μετουσίωση των πρωτεϊνών, αλλά και για την απενεργοποίηση ενζύμων και μικροοργανισμών, λειτουργώντας ως εναλλακτική παστερίωση και συμβάλλοντας έτσι στην επέκταση του χρόνου ζωής των τροφίμων. Ταυτόχρονα, με τη μέθοδο αυτή, το τρόφιμο δεν αλλοιώνεται σημαντικά ως προς τα θρεπτικά του στοιχεία και τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά, όπως θα συνέβαινε μέσω θερμικών μεθόδων. Βέβαια, η υπερυψηλή πίεση μπορεί να εφαρμοστεί και για την εκχύλιση βιοδραστικών συστατικών από φυσικά προϊόντα, οπότε γίνεται λόγος για εκχύλιση υπερυψηλής πίεσης ή υψηλής υδροστατικής πίεσης (High Hydrostatic Pressure Assisted Extraction). Σε αυτήν την περίπτωση οι πιέσεις που αναπτύσσονται

είναι από 100-600 MPa, ενώ η θερμοκρασία συνήθως δεν υπερβαίνει τους 60°C. Στα πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι πως προσφέρει υψηλές αποδόσεις εκχύλισης χωρίς την απαίτηση για μεγάλους όγκους διαλυτών. Επίσης, είναι σύντομη, έχει χαμηλή κατανάλωση ενέργειας και δεν υποβαθμίζει τη δράση και τη δομή των βιοδραστικών συστατικών. Οι σημαντικότερες παράμετροι από τις οποίες εξαρτάται η εν λόγω εκχύλιση είναι ο διαλύτης, η πίεση, η θερμοκρασία, ο χρόνος της διεργασίας και ο αριθμός των κύκλων.

Η μέθοδος βασίζεται στην αρχή του Le Chatelier, σύμφωνα με την οποία όταν ένα σύστημα σε ισορροπία διαταράσσεται, ανταποκρίνεται έτσι, ώστε να αντισταθμίσει τη διαταραχή. Η αύξηση της πίεσης συνεπάγεται τάση για μείωση του όγκου, αναγκάζοντας έτσι το διαλύτη να διεισδύσει στα κύτταρα.

Ειδικότερα, το πρώτο στάδιο στην επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση είναι η αύξηση της πίεσης από ατμοσφαιρική σε σύντομο χρονικό διάστημα. Υψηλές πιέσεις οδηγούν στη διαταραχή των ιστών, των κυτταρικών τοιχωμάτων και οργανιδίων, πράγμα που ενισχύει τα φαινόμενα μεταφοράς μάζας και την απελευθέρωση των ουσιών προς παραλαβή. Επιπλέον όσο η πίεση αυξάνεται, το ίδιο γίνεται με την ικανότητα διάλυσης. Η πίεση εντός των φυτικών κυττάρων αρχικά είναι πολύ χαμηλή, οπότε η διαφορά πίεσης που αναπτύσσεται με την επεξεργασία αυτή, είτε αναγκάζει τον διαλύτη εξωτερικά λόγω συμπίεσης να διαχυθεί εντός του κυττάρου, είτε είναι ικανή για διάρρηξη κυττάρων, οπότε τα επιθυμητά μόρια απελευθερώνονται στο υγρό μέσο.

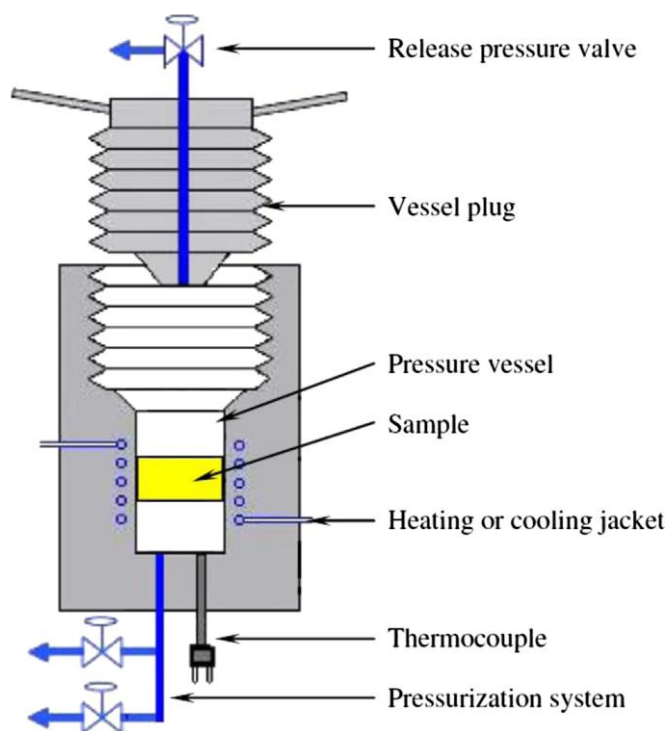
Στο δεύτερο στάδιο η υψηλή πίεση διατηρείται για χρονικό διάστημα ικανό, ώστε να επέλθει ισορροπία πιέσεων εντός και εκτός των κυττάρων. Λαμβάνουν ακόμα χώρα τα φαινόμενα μεταφοράς που περιγράφηκαν, βελτιώνοντας τους χρόνους και τις αποδόσεις σε σχέση με συμβατικές εκχυλίσεις.

Στο τελικό στάδιο, πραγματοποιείται απότομα εκτόνωση της πίεσης έως την ατμοσφαιρική. Εδώ μπορεί να προκληθούν αλλοιώσεις σε δεσμούς όπως οι ιοντικοί, οι δεσμοί υδρογόνου, και στις υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις που ελέγχουν την τρισδιάστατη δομή των πολυμερών. Μέσω αυτών τα κύτταρα διαστέλλονται και γίνονται πιο ευάλωτα σε αλλοιώσεις της δομής τους, με το πορώδες των μεμβρανών να αυξάνεται ή να οδηγούνται σε πλήρη διάρρηξη, αν δεν έχει ήδη επέλθει. Ενώ στο προηγούμενο στάδιο η αύξηση του χρόνου ευνοεί την εκχύλιση, η εκτόνωση είναι επιθυμητό να γίνεται σύντομα, ώστε να αναπτυχθούν εντονότερες δυνάμεις εντός του υγρού προς εκχύλιση.

Μία ακόμη δράση της υψηλής πίεσης είναι πως μπορεί να μειώσει το pH του διαλύτη κατά την εκχύλιση, ενισχύοντας την αποτελεσματικότητα εκχύλισης βιοενεργών συστατικών, τα οποία συνήθως είναι πιο σταθερά σε τιμές pH μικρότερες του 4.

Ως προς τον εξοπλισμό, μία μονάδα υπερυψηλής πίεσης αποτελείται από το θάλαμο πίεσης, το σύστημα σφράγισής του, το σύστημα παραγωγής πίεσης, το σύστημα ελέγχου της θερμοκρασίας και το σύστημα διαχείρισης υλών. Τα υλικά κατασκευής βασίζονται στο χάλυβα όταν οι εφαρμογές δεν υπερβαίνουν τα 600 MPa. Η

Θερμοκρασία ρυθμίζεται με μανδύες γύρω από το θάλαμο όπου κυκλοφορεί ψυκτικό ή θερμαντικό μέσο. Η πίεση μπορεί να εφαρμοστεί στο προϊόν απευθείας με χρήση εμβόλου, όμως συνήθως εφαρμόζεται έμμεση συμπίεση. Στην περίπτωση αυτή, νερό ή γλυκερόλη εισέρχεται σε ερμητικά κλειστό θάλαμο με χρήση ενισχυτή πίεσης (Huang et al., 2013; Χανιώτη, 2019).



Εικόνα 7: Σχηματική απεικόνιση συστήματος υπερυψηλής πίεσης (Xi et al., 2011)

Η υπερυψηλή πίεση έχει εφαρμοστεί με επιτυχία σε πολλά προϊόντα φυτικά, μειώνοντας τους χρόνους εκχύλισης και αυξάνοντας τις αποδόσεις. Παραδείγματα αποτελούν η εκχύλιση με υπερυψηλή πίεση καρτενοειδών από χυμό πορτοκαλιού και πολτό τομάτας, η αυξημένη απόδοση εκχύλισης πολυφαινολών από πράσινο τσάι και κοριλαγίνης, λιγνίνης και πολυσακχαριτών από το φρούτο longan. Ειδικά για το φυτό της αλόης, υπάρχουν αναφορές από τους Scala et al., (2013) οι οποίοι στις μελέτες τους ασχολήθηκαν με το πώς επιδρά η υπερυψηλή πίεση σε χαρακτηριστικά του παρεγχύματος. Οι πρώτοι κατέγραψαν πως μετά από συντήρηση 60 ημερών, στα δείγματα που εφαρμόστηκε υπερυψηλή πίεση παρατηρήθηκε μεγαλύτερη συγκέντρωση σε φαινολικά συστατικά, διατήρηση του αρχικού χρώματος και παρότι παρατηρήθηκε μείωση σκληρότητας, για τα ανεπεξέργαστα δείγματα ήταν σημαντικότερη. Σε παρόμοια μελέτη των Vega-Gálvez et al. (2011), μετά από 35 ημέρες, παρατηρήθηκε μειωμένη ποσότητα βιταμίνης C και E σε υψηλές πιέσεις, αλλά υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα και περιεκτικότητα αλοΐνης, σε σύγκριση με ανεπεξέργαστο δείγμα.

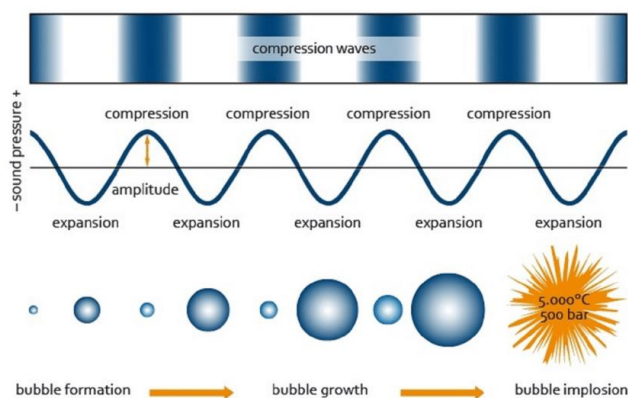


### 1.8.2 ΥΠΕΡΗΧΟΙ

Οι υπέρηχοι είναι μια τεχνολογία πράσινης εκχύλισης που βρίσκει εφαρμογή για παραλαβή μορίων και βιοϋλικών όπως οι πολυσακχαρίτες, τα αιθέρια έλαια, οι πρωτεΐνες, τα πεπτίδια, οι χρωστικές και διάφορες άλλες βιοδραστικές ουσίες. Πλεονεκτεί σε σχέση με άλλες μεθόδους καθώς είναι τεχνολογία φιλική προς το περιβάλλον, απλή και ευέλικτη ως προς τη χρήση, με ποικίλες εφαρμογές και με μικρό μέγεθος εξοπλισμού. Επιπλέον, μπορεί να επιφέρει βελτιωμένα αποτελέσματα σε εκχυλίσεις σε λιγότερο χρόνο, χωρίς την απαίτηση για υψηλά ποσά θερμότητας, με χαμηλότερο κόστος και με περιορισμένη χρήση διαλυτών, οι οποίοι σε ορισμένες περιπτώσεις παρουσιάζουν τοξικότητα.

Οι υπέρηχοι πρόκειται για ηχητικά κύματα που δεν είναι αντιληπτά από το ανθρώπινο αυτί καθώς βρίσκονται σε υψηλότερα εύρη συχνοτήτων σε σχέση με τα ακουστικά κύματα. Συγκεκριμένα, οι υπέρηχοι έχουν συχνότητες μεγαλύτερες των 20 kHz και μικρότερες από 10 MHz, καθώς σε μεγαλύτερες συχνότητες αντιστοιχούν τα μικροκύματα. Προκειμένου τα κύματα των υπερήχων να μεταφερθούν, χρειάζεται η παρουσία υγρού, στερεού ή αέριου μέσου. Τα υπερηχητικά κύματα χωρίζονται σε χαμηλής (<1 W/cm<sup>2</sup>) και υψηλής έντασης (10-1000 W/cm<sup>2</sup>). Τα πρώτα χρησιμοποιούνται στον ποιοτικό έλεγχο διεργασιών και προϊόντων και παρέχουν πληροφορίες για φυσικοχημικές ιδιότητες (σύσταση, περιεκτικότητα σε ορισμένα συστατικά, δομή, σταθερότητα κ.α.). Οι υπέρηχοι υψηλής έντασης βρίσκουν εφαρμογή σε τροποποιήσεις διεργασιών ή προϊόντων μέσω φυσικής διάσπασης των ιστών. Αναφέρεται η εφαρμογή τους σε διεργασίες κρυστάλλωσης, γαλακτωματοποίησης, ξήρανσης, απενεργοποίησης ενζύμων, για τροποποίηση λειτουργικών ιδιοτήτων όπως το ιζώδες αλλά και για αδρανοποίηση μικροβίων. Επίσης, βελτιώνουν τις αποδόσεις μεθόδων όπως η εκχύλιση.

Η αρχή της υπερήχων βασίζεται στο φαινόμενο που ονομάζεται «ακουστική σπηλαιώση». Όταν το υπερηχητικό κύμα διαδίδεται εντός ενός μέσου προκαλεί μία σειρά από συμπιέσεις και αραιώσεις στα μόριά του. Σε υγρό μέσο, λόγω των αραιώσεων δημιουργούνται φυσαλίδες και παράγεται αρνητική πίεση, προτού τελικά οι φυσαλίδες καταρρεύσουν. Ορισμένες φυσαλίδες είναι πιο σταθερές από άλλες, καθώς διατηρούνται για αρκετούς κύκλους συμπίεσης και διαστολής κατά τη διάδοση του κύματος. Τελικά όμως οι περισσότερες, μετά από διαστολή τους σε μέγεθος ασταθές, καταρρέουν βίαια με ταυτόχρονη παραγωγή υψηλής θερμοκρασίας και πίεσης (περίπου 5000 K και 50 Mpa) σε μοριακό επίπεδο. Αυτές οι απότομες αλλαγές πίεσης και θερμοκρασίας μπορούν να προκαλέσουν τη διάτμηση, τη λέπτυνση των κυτταρικών μεμβρανών και τελικά κυτταρική διάρρηξη. Έτσι, διευκολύνεται η διείδυση του διαλύτη στα κύτταρα και η μεταφορά μάζας των επιθυμητών ουσιών προς το διαλύτη. Η αναταραχή που δημιουργείται στα μόρια του μέσου λόγω της ενδόρρηξης των φυσαλίδων, οδηγεί σε σωματιδιακές συγκρούσεις και στροβιλισμό και έτσι επιταχύνεται επίσης η εσωτερική διάχυση.



Εικόνα 8: Φαινόμενο ακουστικής σπηλαιώσης (Johansson et al., 2017)

Η ενέργεια που δημιουργείται από το φαινόμενο της σπηλαιώσης αξιοποιείται για μοριακές τροποποιήσεις σε υγρά, για απαέρωση υγρών και επιφανειών και για απελευθέρωση κυτταρικών συστατικών. Σε εφαρμογές εκχύλισεων, η συχνότητα και ένταση των υπερήχων, οι ιδιότητες του μέσου (π.χ. του διαλύτη και της ουσίας προς εκχύλιση), όπως και οι συνθήκες πίεσης και θερμοκρασίας περιβάλλοντος είναι παράγοντες που επηρεάζουν την κινητική της διεργασίας.

Σε ορισμένες περιπτώσεις υπάρχει η απαίτηση για χαμηλότερες συχνότητες ή για μείωση στη διάρκεια της εκχύλισης με υπερήχους, καθώς η βιαιότητα της σπηλαιώσης επιφέρει αλλαγές στη δομή των επιθυμητών ουσιών, όπως για παράδειγμα η μετουσίωση πρωτεϊνών. Επίσης, κατά την ακουστική σπηλαιώση ευνοείται η παραγωγή χημικών ριζών οι οποίες είναι πιθανό να πυροδοτήσουν χημικές αντιδράσεις που τελικά θα υποβαθμίσουν τα ζητούμενα συστατικά.

Όσον αφορά τον εξοπλισμό για εφαρμογή υπερήχων σε εκχυλίσεις, αναφέρεται η χρήση λουτρών υπερήχων, όπου τα κύματα διαδίδονται πρώτα στο νερό του λουτρού. Επίσης, χρησιμοποιούνται συστήματα με ηχοβολέα υπερήχων (Tiwari, 2015; Χανιώτη, 2019).

Εφαρμογή υπερήχων έχει πραγματοποιηθεί με επιτυχία για την εκχύλιση της αλοΐνης από το παρέγχυμα φύλλων αλόης, καθώς ο ρυθμός της εκχύλισης αυξήθηκε σημαντικά, ενώ η θερμοκρασία εκχύλισης μειώθηκε (Jawade & Chavan, 2013). Επιπλέον, από μελέτη εφαρμογής υπερήχων ως εναλλακτική για θερμικές μεθόδους όπως η παστερίωση, προέκυψε πως οι ακετυλομαννάνες δεν παρουσίασαν σημαντικές αλλαγές στην περιεκτικότητα και τη δομή τους, κάτι που αναπόφευκτα συμβαίνει στην παστερίωση. Ταυτόχρονα παρατηρήθηκε βελτίωση των λειτουργικών ιδιοτήτων των πολυσακχαριτών, όπως η ικανότητα διόγκωσης και προσρόφησης λιπιδίων (Alvarado-Morales et al., 2019). Τέλος, υπάρχουν αναφορές που κάνουν λόγο για εκχύλιση πολυσακχαριτών αλόης με τη βοήθεια υπερήχων (Rafael Minjares-Fuentes & Femenia, 2017). Ειδικότερα, οι Liu et al. (2021), στα πλαίσια μελέτης παραλαβής και ανάλυσης ιδιοτήτων των πολυσακχαριτών αυτών, διερεύνησαν τις

συνθήκες θερμοκρασίας, ισχύος και χρόνου υπερήχων που οδήγησαν στη βέλτιστη απόδοση πολυσακχαριτών. Παρατηρήθηκε πως ξεπερνώντας ένα όριο θερμοκρασίας (70°C), ισχύος (500 W) και χρόνου (60 min), οι αποδόσεις άρχισαν να φθίνουν, γεγονός που συνδέεται με πιθανές υδρολύσεις πολυσακχαριτών που έλαβαν χώρα ταυτόχρονα με τις διαρρήξεις των κυττάρων, εξαιτίας της αύξησης της προσδιδόμενης στο ρευστό ενέργειας.

### 1.8.3 ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΣΗ ΥΨΗΛΗΣ ΤΑΧΥΤΗΤΑΣ

Η ομογενοποίηση υψηλής ταχύτητας είναι μία μέθοδος που τα τελευταία έτη βρίσκει εφαρμογή στην εκχύλιση βιοδραστικών συστατικών από φυτικούς ιστούς. Το πλεονέκτημά της είναι πως επιτυγχάνει την διάρρηξη των κυτταρικών τοιχωμάτων και τη βελτίωση εκχυλίσεων μέσω της ανάμιξης των επιθυμητών στερεών με το διαλύτη χωρίς πίεση και χωρίς να απαιτούνται υψηλές θερμοκρασίες. Παράλληλα τονίζεται πως τα παραπάνω επιτυγχάνονται σε σύντομο χρονικό διάστημα και με χαμηλότερο ενεργειακό κόστος.

Η αρχή της μεθόδου βασίζεται σε ένα περιστρεφόμενο στέλεχος που λειτουργεί ως κόπτης και κινείται με τη βοήθεια κινητήρα υψηλής ταχύτητας. Αποτέλεσμα είναι η παραγωγή μίας ισχυρής δύναμης διάτμησης ανάμεσα στα δύο κοπτικά του στελέχους, η οποία διαταράσσει τα κυτταρικά τοιχώματα και αναμιγνύει τα επιθυμητά στερεά με το διαλύτη. Η μεταφορά μάζας των ζητούμενων ουσιών προς το διαλύτη ευνοείται από τη διαφορά πίεσης μεταξύ των εσωτερικών και εξωτερικών κοιλοτήτων η οποία αναπτύσσεται λόγω της υψηλής ταχύτητας περιστροφής (Guo et al., 2017; Χανιώτη, 2019).

## 1.9 ΕΔΩΔΙΜΕΣ ΕΠΙΚΑΛΥΠΤΙΚΕΣ ΜΕΜΒΡΑΝΕΣ

### 1.9.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η χρήση επικαλύψεων σε φρέσκα προϊόντα, όπως τα φρούτα και τα λαχανικά, είναι μία πρακτική που βρίσκει εφαρμογή εδώ και πολλές δεκαετίες. Κύριος στόχος των τεχνικών αυτών είναι η αποτελεσματικότερη διατήρηση των τροφίμων μέσω επιβράδυνσης των απωλειών σε υγρασία. Ήδη από τον δωδέκατο αιώνα μ.Χ. καταγράφεται η χρήση κεριού μέλισσας ως επικάλυψη για φρέσκα πορτοκάλια και λεμόνια, ενώ από τον δέκατο πέμπτο αιώνα στην Ασία διαδόθηκε η “γυβα”, μία μεμβράνη από πρωτεΐνη σόγιας. Ακόμη, μια γνωστή τεχνική για συντήρηση τροφίμων ήταν η επικάλυψη αυτών με λίπος, το λεγόμενο “λαρδί”, η οποία εφαρμοζόταν από τον δέκατο έκτο αιώνα στο Ηνωμένο Βασίλειο. Αργότερα, από το 1930, ξεκίνησε η αξιοποίηση κεριών παραφίνης για επικάλυψη εσπεριδοειδών, ενώ στις αρχές του 1950 αναπτύχθηκαν μεμβράνες από γαλακτώματα ελαίου σε νερό με καρναουβικό κέρι που βρήκαν εφαρμογή σε φρούτα και λαχανικά. Προς τα τέλη της ίδιας δεκαετίας υπήρξαν οι πρώτες αναφορές για εδώδιμες επικαλύψεις σε κρέατα.

Τα τελευταία 20 χρόνια ο σχηματισμός και ο χαρακτηρισμός νέων επικαλυπτικών μέσων έχει γίνει αντικείμενο επιστημονικής έρευνας. Η ανάγκη για εύρεση μεμβρανών με βελτιωμένες ιδιότητες προκύπτει και από τις απαιτήσεις της αγοράς, καθώς η διατήρηση των φρέσκων προϊόντων για το μέγιστο δυνατό χρονικό διάστημα είναι επιθυμητή, όμως εξίσου απαραίτητη είναι η εύρεση μέσων φιλικότερων προς το περιβάλλον και με χαμηλό κόστος. Στα πλαίσια των ερευνών αυτών, έχει προταθεί μια σειρά από ασφαλείς (GRAS - generally recognized as safe) πολυσακχαρίτες, πρωτεΐνες και λιπίδια που μπορούν να χρησιμοποιηθούν μεμονωμένα ή σε μίγματα, ώστε να προκύψουν σύνθετες επικαλύψεις (Tzia et al., 2016). Ένα από τα προτεινόμενα υλικά για επικαλυπτικές μεμβράνες με εφαρμογή κυρίως σε νωπά λαχανικά και φρούτα, είναι το παρέγχυμα από *A.Vera*. Προκειμένου όμως να διασαφηνιστούν οι λόγοι για τους οποίους η αλόη αποτελεί ελκυστική επιλογή, είναι σημαντική μία επισκόπηση για τις εδώδιμες επικαλυπτικές μεμβράνες.

### 1.9.2 ΑΝΑΓΚΗ ΓΙΑ ΕΠΙΚΑΛΥΠΤΙΚΕΣ ΜΕΜΒΡΑΝΕΣ ΣΤΑ ΦΡΟΥΤΑ ΚΑΙ ΛΑΧΑΝΙΚΑ

Τα φρέσκα φρούτα και λαχανικά αποτελούν καίριο μέρος της ισορροπημένης διατροφής, εφόσον περιέχουν θρεπτικά συστατικά όπως οι βιταμίνες, τα οποία δεν δύναται ο ανθρώπινος οργανισμός να συνθέσει. Βέβαια, θεωρούνται αρκετά ευπαθή, εφόσον διατηρούν ενεργό μεταβολισμό ακόμα και μετά τη συγκομιδή, χωρίς όμως να λαμβάνουν πλέον νέα θρεπτικά συστατικά, έχοντας χάσει τη σύνδεσή τους με το ριζικό σύστημα του φυτού. Έτσι, οι διαδικασίες αναπνοής συνεχίζονται με τα ενδογενή θρεπτικά συστατικά και το οξυγόνο, ενώ ταυτόχρονα, χωρίς περαιτέρω επεξεργασία η δράση των ενζύμων δεν αναστέλλεται. Βραχυπρόθεσμα οι

διαδικασίες αυτές μπορεί να βελτιώσουν το φρέσκο προϊόν ποιοτικά, όμως τελικά η υποβάθμιση είναι αναπόφευκτη. Λαμβάνοντας λοιπόν υπόψιν πως ο χρόνος ζωής των φρούτων και των λαχανικών είναι αρκετά περιορισμένος, έχει μεγάλη αξία η επέκτασή του μέσω της καθυστέρησης ή και απενεργοποίησης φυσιολογικών, παθολογικών και φυσικών διεργασιών υποβάθμισης. Μία υποσχόμενη πρόταση για το σκοπό αυτό, είναι η χρήση εδώδιμων επικαλυπτικών μεμβρανών, οι οποίες παρέχουν έναν ημιπερατό φραγμό για τα αέρια και τους υδρατμούς, περιορίζοντας κατ' αυτόν τον τρόπο την αναπνοή και τις απώλειες υγρασίας (Tzia et al., 2016).

### 1.9.3 ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΕΠΙΚΑΛΥΠΤΙΚΩΝ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ

Αρχικά, προκειμένου μία συσκευασία τροφίμου να χαρακτηριστεί ως εδώδιμη μεμβράνη, είναι προφανώς απαραίτητο να έχει τελικά τη μορφή φιλμ, να είναι βρώσιμη και να αποτελεί αναπόσπαστο κομμάτι του τροφίμου που καταναλώνεται μαζί με αυτό. Οι όροι “εδώδιμη μεμβράνη” και “εδώδιμο φιλμ” χρησιμοποιούνται συχνά ως συνώνυμα. Η μοναδική τους διαφορά έγκειται στο ότι το φιλμ συνήθως σχηματίζεται μεμονωμένα κι έπειτα καλύπτει το εκάστοτε προϊόν, ενώ η μεμβράνη σχηματίζεται απευθείας πάνω στην επιφάνεια του τροφίμου.

Αυτό που καθορίζει τις ιδιότητες των εδώδιμων μεμβρανών δεν είναι τόσο το μοριακό βάρος ή η χημική τους σύσταση, αλλά η μοριακή δομή. Υπάρχουν ορισμένα προαπαιτούμενα για τις εδώδιμες μεμβράνες ή φιλμ τα οποία συνοψίζονται στα εξής:

- Η μεμβράνη χρειάζεται να είναι ανθεκτική στο νερό, προκειμένου να παραμένει άθικτη και να καλύπτει την επιφάνεια του προϊόντος όπου εφαρμόζεται.
- Παρότι τα επικαλυπτικά χρησιμοποιούνται ως φραγμοί στην επιφάνεια του τροφίμου, είναι σημαντικό να παραμένουν ημιπερατοί, έτσι ώστε να μην καταναλώνεται όλο το οξυγόνο ή να συσσωρεύεται υπερβολική ποσότητα διοξειδίου του άνθρακα στο προϊόν από τις διαδικασίες της αναπνοής. Προκειμένου να αποφευχθεί η μετάβαση από αερόβια σε αναερόβια αναπνοή, απαιτείται τουλάχιστον 1-3% οξυγόνο.
- Το φιλμ ή η μεμβράνη πρέπει να είναι αποτελεσματικό στη μείωση της διαπερατότητας των υδρατμών.
- Αναμένεται επίσης να βελτιώνει την εμφάνιση και τις μηχανικές ιδιότητες του τροφίμου, να διατηρεί την ακεραιότητα, να φέρει ενεργούς παράγοντες όπως αντιοξειδωτικά και βιταμίνες, διατηρώντας παράλληλα τις υπάρχουσες πτητικές ουσίες που προσδίδουν γεύση.
- Θα πρέπει να τήκεται πάνω από τους 40°C χωρίς να αποσυντίθεται.

- Χρειάζεται να είναι υλικό που εύκολα γίνεται γαλάκτωμα, να μην είναι κολλώδες και να παρουσιάζει καλή συμπεριφορά στην ξήρανση.
- Οι μεμβράνες δεν πρέπει να επιδρούν στην ποιότητα των φρέσκων φρούτων ή λαχανικών ή να προσδίδουν ανεπιθύμητες ιδιότητες (όπως οσμές ή γεύση).
- Προκειμένου να μην επηρεάζουν την όψη του τροφίμου, είναι προτιμότερο οι μεμβράνες να είναι αδιαφανείς έως ημιδιαφανείς και να παρουσιάζουν αντοχή σε ελαφριές πιέσεις.
- Το ιξώδες τους πρέπει να είναι χαμηλό.
- Τέλος, είναι σημαντικό και το κόστος τους να παραμένει χαμηλό (Dhall, 2013; Gorris & Arvanitoyannis, 1999).

#### 1.9.4 ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ

##### 1.9.4.1 ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ

Οι ουσίες που είναι ικανές για δημιουργία φιλμ καταφέρνουν να σχηματίζουν μία συνεχή δομή διαμέσου μίας φυσικής ή χημικής επεξεργασίας, μέσω διευθέτησης των μοριακών αλληλεπιδράσεων. Η δημιουργία των επικαλύψεων περιλαμβάνει κάποια από τις ακόλουθες διαδικασίες.

Για τα στερεά λίπη, τα κεριά και τις ρητίνες απαιτείται η τήξη και η μετέπειτα στερεοποίησή τους. Σε άλλες περιπτώσεις, προτιμάται η απλή ή η σύνθετη συσσωμάτωση. Στην απλή περίπτωση ένα υδροκολλοειδές διαλύεται σε υδατικό διάλυμα και καταβυθίζεται ή δημιουργεί πηκτή. Αυτό γίνεται μέσω αφαίρεσης του διαλύτη, με προσθήκη μη ηλεκτρολυτικής ουσίας στην οποία το πολυμερές δεν διαλύεται, με προσθήκη ηλεκτρολυτικής ουσίας (εξαλάτωση) ή με αλλαγή στο pH του διαλύματος.

Στη σύνθετη συσσωμάτωση, δύο υδροκολλοειδή διαλύματα με αντίθετα φορτία αναμιγνύονται και μέσω των αλληλεπιδράσεών τους το μίγμα πολυμερούς καταβυθίζεται.

Τέλος, αξιοποιείται ο σχηματισμός πηκτής ή πήγματος με θέρμανση διαλύματος μακρομορίων που περιλαμβάνει μετουσίωση, δημιουργία πηκτής ή πήγματος και καταβύθιση. Επίσης ο σχηματισμός αυτός μπορεί να πραγματοποιηθεί και με ταχεία ψύξη του υδροκολλοειδούς διαλύματος.

#### 1.9.4.2 ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ ΕΠΙΚΑΛΥΠΤΙΚΩΝ

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, οι επικαλυπτικές μεμβράνες διαφέρουν από τα φιλμ κυρίως αφού τα τελευταία συνήθως σχηματίζονται εκ των προτέρων, με τεχνικές όπως η ξήρανση με τύμπανο ή μέσω ψύξης τετηγμένου υλικού και μετά τοποθετούνται στο προϊόν. Οι υπόλοιπες επικαλύψεις συνήθως τοποθετούνται απευθείας στο τρόφιμο με μεθόδους όπως η εμβάπτιση, ο ψεκασμός και η έγχυση.

##### 1.9.4.2.1 ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΜΕ ΕΜΒΑΠΤΙΣΗ

Μία από τις πιο απλές μεθόδους επικάλυψης είναι με εμβάπτιση. Τα τρόφιμα - κυρίως φρούτα ή λαχανικά- πρώτα πλένονται σχολαστικά και στεγνώνονται για να βυθιστούν ύστερα σε δεξαμενή που περιέχει το επικαλυπτικό υλικό. Η διάρκεια της εμβάπτισης δεν παίζει ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο, όμως είναι σημαντικό η βύθιση να είναι πλήρης και να διαρκεί τόσο, ώστε το προϊόν να διαβραχεί εντελώς και να υπάρξει τελικά επαρκής κάλυψη σε όλη την επιφάνειά του. Στη συνέχεια, επιτρέπεται η αποστράγγιση του πλεονάζοντος υλικού επικάλυψης και τελικά τα προϊόντα τοποθετούνται προς ξήρανση ή αφήνονται σε συνθήκες περιβάλλοντος, ώστε να απομακρυνθεί το νερό του επικαλυπτικού μέσου και η μεμβράνη να στερεοποιηθεί. Η μέθοδος αυτή είναι χρήσιμη για προϊόντα που χρειάζονται ομοιόμορφη επίστρωση όμως έχουν ακανόνιστη επιφάνεια. Βασικό μειονέκτημά της είναι πως με διαδοχικές εμβαπτίσεις, εναποτίθενται σταδιακά στη δεξαμενή μικροοργανισμοί, χύμα και άλλα ανεπιθύμητα υλικά από τα φρούτα ή τα λαχανικά. Επιπλέον, το επικαλυπτικό μέσο είναι πιθανό να αραιωθεί αν τα τρόφιμα δεν είναι εντελώς στεγνά πριν βυθιστούν. Επομένως, όταν οι ποσότητες φρούτων και λαχανικών προς επίστρωση είναι σημαντικές, είναι προτιμότερη η επιλογή πιο συμφέρουσας τεχνικής (Tzia et al., 2016).

##### 1.9.4.2.2 ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΜΕ ΨΕΚΑΣΜΟ

Η μέθοδος του ψεκασμού εξασφαλίζει δημιουργία λεπτότερων και πιο ομοιόμορφων μεμβρανών σε σύγκριση με την εμβάπτιση. Επιπλέον, η τεχνική αυτή είναι χρήσιμη όταν απαιτείται η εφαρμογή του φιλμ σε μία μόνο πλευρά του τροφίμου. Ο ψεκασμός επίσης προτιμάται, όταν χρειάζεται η δημιουργία μίας δεύτερης λεπτής επίστρωσης. Μπορεί, αναλόγως με την εφαρμογή, να χρησιμοποιηθεί μεμονωμένα ή σε συνδυασμό με άλλες τεχνικές επίστρωσης. Το ακροφύσιο ψεκασμού παίζει σημαντικό ρόλο στη διαδικασία, ενώ η αποτελεσματικότητα της μεθόδου εξαρτάται από παράγοντες όπως η πίεση, το ιξώδες του ρευστού προς ψεκασμό, η θερμοκρασία και η επιφανειακή τάση του επικαλυπτικού υγρού. Παλιότερα, η χρήση χαμηλών πιέσεων για ψεκασμό οδηγούσε σε περίσσεια επικαλυπτικού υλικού, επομένως χρειαζόταν η συλλογή και ανακύκλωσή του. Όταν οι συσκευές ψεκασμού κατάφεραν την εφαρμογή του υλικού σε πιέσεις 60-80 psi, η κάλυψη των προϊόντων έγινε πιο

ομοιόμορφη με χρήση μικρότερης ποσότητας υλικού, λύνοντας έτσι το ζήτημα της ανακύκλωσης (Grant & Burns, 1994; Tzia et al., 2016).

#### 1.9.4.2.3 ΕΓΧΥΣΗ

Η συγκεκριμένη μέθοδος αρχικά έβρισκε εφαρμογή σε μη εδώδιμες μεμβράνες και δεν ανήκει στις μεθόδους άμεσης εφαρμογής, αλλά αφορά φιλμ που σχηματίζονται πριν τοποθετηθούν στο προϊόν. Η επικάλυψη στην περίπτωση αυτή είναι απλή και το πάχος της μεμβράνης μπορεί να ελεγχθεί με ακρίβεια. Η έγχυση πραγματοποιείται είτε με χρήση καλουπιών είτε με μηχανήμα, όπου το επικαλυπτικό διάλυμα απλώνεται σε οριοθετημένη επιφάνεια και αποκτά το επιθυμητό πάχος, προτού αφεθεί για να στεγνώσει και να στερεοποιηθεί (Tzia et al., 2016).

#### 1.9.4.2.4 ΑΛΛΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

Εκτός των παραπάνω βασικών μεθόδων, υπάρχουν μερικές ακόμα οι οποίες βρίσκουν εφαρμογή στην επίστρωση επικαλυπτικών μεμβρανών. Μία εξ αυτών βασίζεται στην προσθήκη παράγοντα αφρισμού στο διάλυμα επικαλυπτικού και χρήση αέρα για δημιουργία αφρού. Ο αφρός τοποθετείται με βούρτσες στα προϊόντα. Η μέθοδος πλεονεκτεί στο ότι το προϊόν στεγνώνει γρήγορα, όμως η επίστρωση δεν είναι πάντοτε ομοιόμορφη. Επιπλέον, μία παραλλαγή του ψεκασμού είναι η χρήση ψεκαστήρων ή στάγδην ροής επικαλυπτικού μέσου το οποίο πέφτει σε περιστρεφόμενες βούρτσες οι οποίες εν συνεχεία καλύπτουν τα φρούτα ομοιόμορφα (Grant & Burns, 1994).

### 1.9.5 ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΕΔΩΔΙΜΩΝ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ

#### 1.9.5.1 ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ

1. Τα υλικά που χρησιμοποιούνται στις εδώδιμες μεμβράνες είναι βρώσιμα και καταναλώνονται μαζί με το προϊόν, επομένως δεν καταλήγουν ως απόβλητα. Αποτελούν μία πιο οικολογική επιλογή συσκευασίας, ειδικά στις περιπτώσεις όπου μπορούν να αντικαταστήσουν πλήρως τις συμβατικές συσκευασίες που τελικά απορρίπτονται.
2. Ακόμα και αν δεν καταναλώνονται μαζί με το προϊόν, αποτελούνται από βιοδιασπώμενα υλικά, και έτσι δεν οδηγούν σε ρύπανση του περιβάλλοντος.
3. Οι μεμβράνες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για συσκευασία μεμονωμένων προϊόντων.



4. Είναι σαφές πως εφόσον οι μεμβράνες επιλέγονται ως υλικό συσκευασίας, έχουν την ικανότητα να προστατεύσουν το προϊόν από απώλειες υγρασίας και από την υπερωρίμανση μέσω μείωσης του ρυθμού αναπνοής, ενώ επίσης βελτιώνουν την αντοχή του σε διαταραχές κατά τη συντήρηση. Σε πολλές περιπτώσεις, οι εδώδιμες μεμβράνες όχι μόνο διατηρούν την όψη του προϊόντος, αλλά τη βελτιώνουν δίνοντας επιπλέον γυαλάδα.
5. Όταν οι εδώδιμες μεμβράνες τοποθετούνται ανάμεσα σε στρώσεις συστατικών (π.χ. σε πίτες) διατηρούν την ποιότητα του προϊόντος εμποδίζοντας τη μεταφορά ουσιών μεταξύ των στρώσεων.
6. Σε πολλές περιπτώσεις βελτιώνουν τη θρεπτική αξία του προϊόντος, όπως όταν το φιλμ παράγεται από πρωτεΐνες.
7. Ένα πολύ αξιόλογο πλεονέκτημα των επικαλυπτικών μεμβρανών, είναι πως γίνεται να ενσωματωθούν σε αυτές ουσίες που μπορούν να βελτιώσουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του προϊόντος (π.χ. χρώμα, οσμή, γεύση). Σε πολλές περιπτώσεις ενσωματώνονται επίσης ουσίες αντιοξειδωτικές και αντιμικροβιακές προς επέκταση του χρόνου συντήρησης.
8. Οι μεμβράνες αυτές μπορούν να λειτουργήσουν επίσης ως μέσο μεταφοράς ουσιών που απελευθερώνονται τελικά στο προϊόν με τρόπο ελεγχόμενο κατά τη συντήρηση του τροφίμου αλλά και κατά την παραγωγή του (Debeaufort et al., 1998; Dhall, 2013).

#### 1.9.5.2 ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ

1. Εφόσον τα επικαλυπτικά τροποποιούν την εσωτερική ατμόσφαιρα του τροφίμου, υπάρχει κίνδυνος ανάπτυξης παθογόνων μικροοργανισμών. Ακόμη, όσον αφορά τα φρούτα και τα λαχανικά, αν η ανταλλαγή αερίων με το περιβάλλον παρεμποδίζεται εντελώς λόγω της μεμβράνης, τότε λαμβάνει χώρα η αναερόβια αναπνοή, η οποία οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή CO<sub>2</sub>, ακεταλδεϋδών και αιθανόλης και το προϊόν υποβαθμίζεται ως προς την όψη, την οσμή και τη γεύση.
2. Η ιδανική εδώδιμη επικαλυπτική μεμβράνη θα πρέπει να έχει ουδέτερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, διαφορετικά, αυτά θα πρέπει να λειτουργούν αρμονικά με το τρόφιμο. Στην πράξη όμως, πολλές φορές προκύπτουν ανεπιθύμητες οσμές ή γεύση εξαιτίας της μεμβράνης ή πρόσθετων συστατικών που ενσωματώνονται σε αυτήν.
3. Είναι πιθανό να μειωθεί η αποδεκτότητα των προϊόντων με επικάλυψη αν οι καταναλωτές έχουν ανησυχίες για την κατανάλωση αυτών. Η ασφάλεια και η επαρκής ενημέρωση διασφαλίζεται από την ύπαρξη αυστηρών κανονισμών για τα τρόφιμα. Όμως η ενσωμάτωση επιπλέον συστατικών μέσω του φιλμ σε γνωστά τρόφιμα μπορεί να λειτουργήσει αποτρεπτικά σε άτομα με ειδική

διατροφή, όπως οι χορτοφάγοι, αλλά και γενικά σε επιφυλακτικούς καταναλωτές.

4. Πολλές εδώδιμες μεμβράνες προκύπτουν από υλικά που μπορεί να είναι αλλεργιογόνα.
5. Η επιλογή του κατάλληλου επικαλυπτικού υλικού για το κάθε τρόφιμο απαιτεί λεπτομερή έρευνα (Dhall, 2013).

### 1.9.6 ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΣΤΙΣ ΕΔΩΔΙΜΕΣ ΜΕΜΒΡΑΝΕΣ

Τα υλικά που χρησιμοποιούνται για τα εδώδιμα φιλμ και μεμβράνες χωρίζονται σε δύο βασικές κατηγορίες, τα λιπίδια και τα υδροκολλοειδή. Για τις μεμβράνες από λιπίδια χρησιμοποιούνται κηροί, έλαια, ακετογλυκερίδια και ρητίνες. Η δεύτερη κατηγορία περιλαμβάνει μία σειρά πρωτεϊνών και πολυσακχαριτών. Τα υλικά αυτά μπορούν να χρησιμοποιηθούν μεμονωμένα ή σε συνδυασμό, προς σχηματισμό σύνθετων φιλμ, τα οποία περιέχουν τόσο λιπίδια όσο και υδροκολλοειδή, που βρίσκονται είτε σε διαφορετικά στρώματα είτε μαζί, σε διασπορά εντός του φιλμ.

Στις επικαλυπτικές μεμβράνες είναι δυνατόν να προστεθούν επιφανειοδραστικοί παράγοντες ή γαλακτωματοποιητές προκειμένου να βελτιωθεί η ικανότητα συγκράτησης υγρασίας του προϊόντος λόγω του φιλμ. Άλλοι παράγοντες όπως λίπη και έλαια προστίθενται, ώστε να βελτιωθεί η υφή των μεμβρανών. Στα φρούτα και τα λαχανικά είναι ιδιαίτερα ωφέλιμη η ενσωμάτωση συντηρητικών, αντιοξειδωτικών και αντιμικροβιακών ουσιών στις μεμβράνες για βελτίωση της διατηρησιμότητας. Ως αντιοξειδωτικά χρησιμοποιούνται φαινολικές ενώσεις (BHA, BHT), τοκοφερόλες ή οξέα ενώ στα αντιμικροβιακά συμπεριλαμβάνονται το βενζοϊκό οξύ, το βενζοϊκό νάτριο, το σορβικό κάλιο όπως και το σορβικό και το προπιονικό οξύ (Baldwin, 2007; Tzia et al., 2016).

#### 1.9.6.1 ΜΕΜΒΡΑΝΕΣ ΒΑΣΙΖΟΜΕΝΕΣ ΣΤΑ ΛΙΠΙΔΙΑ

Στα λιπίδια περιλαμβάνεται μια σειρά από υδρόφοβες ουσίες που χρησιμοποιούνται ως φραγμός στη μεταφορά υδατμών και αερίων, ενώ προσδίδουν γυαλάδα στο τρόφιμο. Πρόκειται για ουδέτερους εστέρες της γλυκερόλης και λιπαρά οξέα. Σε αυτά προστίθενται οι κηροί, εστέρες μονοϋδρικών αλκοολών και λιπαρά οξέα μακράς αλυσίδας. Καθώς είναι ουσίες εύθραυστες, συνήθως ενσωματώνονται σε δομικές μήτρες μαζί με ουσίες όπως οι πολυσακχαρίτες προκειμένου να σχηματίσουν φιλμ, επομένως συνιστούν συχνά σύνθετες παρά μεμονωμένες μεμβράνες. Για να αποφευχθούν προβλήματα αυξημένης διαπερατότητας των μεμβρανών, προτιμάται οι επικαλύψεις να περιέχουν στερεά λιπιδίων πάνω από 25%, έως και 75%.

### 1.9.6.1.1 ΚΗΡΟΙ ΚΑΙ ΕΛΑΙΑ

#### ΜΕΛΙΣΣΟΚΕΡΙ

Παράγεται από τις μέλισσες για την κατασκευή κυψελών. Παρουσιάζει πλαστικότητα σε θερμοκρασία δωματίου όμως σε χαμηλότερες θερμοκρασίες είναι ψαθυρό. Είναι διαλυτό στα περισσότερα κεριά και έλαια.

#### ΚΕΡΙ CANDELILLA

Προκύπτει ως εξίδρωμα από το ομώνυμο φυτό που καλλιεργείται κυρίως στο Μεξικό και το νότιο Τέξας. Το κερι αυτό καθυστερεί να πήξει, καθώς μπορεί να χρειαστεί έως και μέρες για να σκληρύνει εντελώς.

#### ΚΑΡΝΑΟΥΒΙΚΟ ΚΕΡΙ

Το κερι αυτό είναι εξίδρωμα από το λεγόμενο “δέντρο της ζωής” (*Copernicia cerifera*) που συναντάται στη Βραζιλία. Προστίθεται σε άλλα κεριά για να αυξηθεί το σημείο τήξης, η σκληρότητα και η στιλπνότητά τους.

#### ΚΕΡΙ ΠΑΡΑΦΙΝΗΣ

Το κερι παραφίνης είναι κλάσμα απόσταξης αργού πετρελαίου. Το συνθετικό κερι παραφίνης, του οποίου η χρήση σε τρόφιμα επιτρέπεται στις ΗΠΑ, είναι προϊόν καταλυτικού πολυμερισμού του αιθυλενίου. Χρησιμοποιείται ως επίστρωση σε φρούτα, λαχανικά και τυρί, ως βάση για τσίχλες και για μικροενθυλάκωση αρωμάτων.

#### ΚΗΡΟΣ ΠΟΛΥΑΙΘΥΛΕΝΙΟΥ

Από την ήπια οξείδωση του πολυαιθυλενίου, ενός παραπροϊόντος πετρελαίου, προκύπτει ένας κηρός, το οξειδωμένο πολυαιθυλένιο. Οι κηροί αυτοί, εφόσον ποικίλλουν ως προς τα μοριακά βάρη, δεν έχουν καθορισμένη πυκνότητα και σημεία τήξης. Χρησιμοποιούνται σε επικαλυπτικά από γαλακτώματα. Επιτρέπεται η χρήση του σε φρούτα ή ξηρούς καρπούς όταν η φλούδα ή το κέλυφος δεν καταναλώνεται.

#### ΕΛΑΙΑ

Η χρήση σε επικαλύψεις λευκού ορυκτέλαιου, ενός μίγματος παραφινικών και ναφθενικών υδρογονανθράκων, επιτρέπεται, όταν δεν υπερβαίνει τα πλαίσια που ορίζονται από την ορθή βιομηχανική πρακτική. Άλλα έλαια φυτικής προέλευσης όπως το φοινικέλαιο, το ηλιέλαιο, το καρθαμέλαιο, το καστορέλαιο, το αραχιδέλαιο, το σογιέλαιο και το έλαιο κανόλα προτείνονται επίσης για χρήση σε εδώδιμες μεμβράνες αντί των ορυκτελαίων, αν και τα φιλμ αυτά μπορεί να αντιμετωπίζουν προβλήματα σε ιδιότητες όπως η γεύση.

### 1.9.6.1.2 ΑΚΕΤΥΛΟΓΛΥΚΕΡΙΔΙΑ

Τα ακετυλογλυκερίδια είναι συνθετικά και κατά τη στερεοποίησή τους αποκτούν μορφή κεριού. Είναι πολύ εύκαμπτα στην πολυμορφική τους μορφή, ενώ στην

κρυσταλλική τους παρουσιάζουν καλή σταθερότητα. Με αύξηση του βαθμού ακετυλίωσης βελτιώνεται η ιδιότητά τους να δρουν ως φραγμός.

#### 1.9.6.1.3 ΡΗΤΙΝΕΣ

Η ρητίνη Σιλάκ (**Shellac**) εκκρίνεται από το έντομο *Laccifer lacca* που ζει στην Ινδία και την Ταϊλάνδη. Αποτελείται από ένα περίπλοκο μίγμα πολυμερών αλειφατικών αλεικυκλικών υδροξυοξέων. Είναι διαλυτή σε αλκοόλες και συμβατή με τους περισσότερους κηρούς. Επομένως χρησιμοποιείται όπως και άλλες φυτικές ρητίνες (coral, elemi) σε επικαλύψεις τροφίμων, βελτιώνοντας την ικανότητά τους να δρουν ως φραγμός για την υγρασία και δίνοντας στο τρόφιμο επιπλέον γυαλάδα. Το κολοφώνιο επίσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε μεμβράνες. Πρόκειται για προϊόν απόσταξης της ρητίνης από δέντρα όπως το πεύκο. Μπορεί να τροποποιηθεί μέσω υδρογόνωσης, πολυμερισμού ή ισομερισμού προκειμένου να είναι λιγότερο ευαίσθητο στις οξειδώσεις και να βελτιωθεί η πλαστικότητά του. Τέλος, ρητίνες που προκύπτουν ως παραπροϊόντα επεξεργασίας πετρελαίου έχουν ικανή αντίσταση στα αλκάλια, στα αραιά οξέα και την υγρασία, και έτσι μπορούν να βρουν εφαρμογή σε μεμβράνες (Baldwin, 2007; Bourtoom, 2008; Tzia et al., 2016).

#### 1.9.6.2 ΕΔΩΔΙΜΕΣ ΜΕΜΒΡΑΝΕΣ ΑΠΌ ΥΔΡΟΚΟΛΛΟΙΔΗ

Τα υδροκολλοειδή βρίσκουν εφαρμογή σε φιλμ, όταν δεν είναι κύρια απαίτηση ο έλεγχος της μεταφοράς υγρασίας από το τρόφιμο. Αυτές οι μεμβράνες βέβαια αποτελούν ικανοποιητικό φραγμό για αέρια όπως το οξυγόνο και το διοξείδιο του άνθρακα και για λιπίδια, ενώ λόγω των μηχανικών τους ιδιοτήτων μπορούν να συμβάλλουν στη διατήρηση της ακεραιότητας των προϊόντων. Τα φιλμ αυτά κατηγοριοποιούνται βάσει σύνθεσης, μοριακού βάρους ή υδατοδιαλυτότητας. Με γνώμονα τη σύνθεση των φιλμ, αναφέρονται δύο βασικές κατηγορίες, οι μεμβράνες από υδατάνθρακες και αυτές από πρωτεΐνες. Παρότι τα περισσότερα υδροκολλοειδή λόγω της υδρόφιλης φύσης τους έχουν μειωμένη αντίσταση στους υδρατμούς, υπάρχουν και περιπτώσεις ουσιών με μικρότερη διαλυτότητα σε νερό που εμφανίζουν συνεπώς καλύτερη αντίσταση. Ακόμη, ορισμένοι πολυσακχαρίτες, όταν χρησιμοποιούνται σε επικαλυπτικά προστατεύουν βραχυπρόθεσμα το τρόφιμο από απώλειες υγρασίας, ειδικά όταν είναι σε μορφή πηκτωμάτων υψηλής υγρασίας. Αυτό παρατηρείται καθώς ευνοείται η απώλεια της υγρασίας του φιλμ προτού αρχίσει η απομάκρυνση της εσωτερικής υγρασίας του προϊόντος. Μετά από ορισμένο διάστημα βέβαια, όταν η μεμβράνη χάσει το μεγαλύτερο ποσοστό νερού της, η απώλεια υγρασίας από το τρόφιμο είναι αναπόφευκτη.

### 1.9.6.2.1 ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ

Οι πρωτεΐνες δεν είναι εξίσου διαδεδομένες με τα λιπίδια ή τους πολυσακχαρίτες για τον σχηματισμό εδώδιμων μεμβρανών. Οι επικαλύψεις αυτές είναι συνήθως υδρόφιλες, επομένως, πέραν του ότι δεν περιορίζεται επαρκώς η μεταφορά υγρασίας από το προϊόν, η ακεραιότητα της ίδιας της μεμβράνης εξαρτάται από τις συνθήκες θερμοκρασίας και υγρασίας περιβάλλοντος. Ο σχηματισμός τους προκύπτει συνήθως μετά από εξάτμιση διαλύτη (κυρίως νερό ή/και αιθανόλη) από διαλύματα πρωτεϊνών. Η μετουσίωση των μορίων αυτών που πραγματοποιείται με θέρμανση, οξέα, βάσεις, ή με κατάλληλο διαλύτη, εξασφαλίζει εκτεταμένες δομές οι οποίες ευνοούν τη δημιουργία φιλμ μέσω της ανάπτυξης ιοντικών, ομοιοπολικών, υδροφοβικών δεσμών και δεσμών υδρογόνου. Όσο δυνατότεροι οι δεσμοί αυτοί μεταξύ των πολυμερικών αλυσίδων, τόσο μειώνεται η διαπερατότητα των μεμβρανών σε αέρια όπως το οξυγόνο. Στη συνέχεια καταγράφονται οι πρωτεΐνες που συναντώνται συχνότερα στη δημιουργία επικαλυπτικών φιλμ.

#### **ΖΕΪΝΗ ΑΡΑΒΟΣΙΤΟΥ**

Η ζεΐνη είναι ένα μίγμα πρωτεϊνών που μπορεί να διαχωριστεί σε δύο επιμέρους κλάσματα με βάση τις διαφορετικές τους διαλυτότητες. Το ένα είναι η α-ζεΐνη, διαλυτή σε αιθανόλη 95% και το άλλο η β-ζεΐνη, διαλυτή σε αιθανόλη 60%. Η ζεΐνη έχει υψηλή περιεκτικότητα σε μη πολικά, υδρόφοβα αμινοξέα, γεγονός που την κάνει αδιάλυτη σε νερό και σε άνυδρες αλκοόλες, διαλυτή όμως σε μίγματα των δύο. Με εξάτμιση των υδατικών διαλυμάτων αλκοολών στα οποία διαλύεται ζεΐνη, προκύπτουν ανθεκτικές, γυαλιστερές, σκληρές επικαλύψεις με αντοχή στα λίπη. Τα φιλμ αυτά αποτελούν ικανοποιητικό φραγμό για το οξυγόνο, αλλά προκειμένου να αυξηθεί η πλαστικότητα τους, προστίθενται συχνά πλαστικοποιητές. Εδώδιμες επικαλυπτικές μεμβράνες από ζεΐνη αραβοσίτου συναντώνται κυρίως σε φαρμακευτικά σκευάσματα και προϊόντα ζαχαροπλαστικής.

#### **ΓΛΟΥΤΕΝΗ ΣΙΤΟΥ**

Η γλουτένη συνίσταται από ένα μίγμα πολυπεπτιδίων που θεωρούνται σφαιροπρωτεΐνες. Χωρίζεται σε δύο κλάσματα, τη γλοιαδίνη και τη γλουτενίνη. Η γλουτένη παρουσιάζει σημαντική συνεκτικότητα και ελαστικότητα, και έτσι προσδίδει συνοχή στις ζύμες σίτου και διευκολύνει το σχηματισμό φιλμ. Οι μεμβράνες με βάση τη γλουτένη λειτουργούν ως εμπόδια στη μεταφορά οξυγόνου και διοξειδίου του άνθρακα, ενώ οι μηχανικές τους ιδιότητες είναι εφάμιλλες πολυμερικών φιλμ. Παρόλα αυτά, έχουν υψηλή διαπερατότητα στην υγρασία καθώς η φύση τους είναι υδρόφιλη και απαιτείται η προσθήκη πλαστικοποιητή, προκειμένου να αποφευχθεί η ψαθυρότητα και να αυξηθεί η ευκαμψία της μεμβράνης.

#### **ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΣΟΓΙΑΣ**

Τα συμπυκνώματα και υπερσυμπυκνώματα σόγιας περιέχουν τουλάχιστον 70 και 90% πρωτεΐνη σόγιας (σε ξηρή βάση) αντίστοιχα. Η πρωτεΐνη αυτή έχει ικανότητα

δημιουργίας φιλμ, ικανότητα απορρόφησης νερού και λιπιδίων, είναι γαλακτωματοποιητής, προσδίδει επιθυμητή υφή και έχει επίσης καλή συνεκτικότητα και προσκολλησιμότητα. Στην Ανατολή παρασκευάζονται παραδοσιακά εδώδιμες μεμβράνες στην επιφάνεια θερμού γάλακτος από σόγια για την περιτύλιξη προϊόντων διατροφής. Λόγω της υδρόφιλης φύσης τους, οι μεμβράνες αυτές δεν είναι αποτελεσματικές ως φραγμός στην υγρασία, όμως για το οξυγόνο ισχύει το αντίθετο. Βέβαια, η επαφή τους με τρόφιμα ή με περιβάλλον υψηλής υγρασίας τελικά πλήττει την ακεραιότητα του φιλμ.

### **ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΓΑΛΑΚΤΟΣ**

Τα κυριότερα κλάσματα πρωτεϊνών του γάλακτος είναι η καζεΐνη και η πρωτεΐνη ορού γάλακτος. Ο ορός γάλακτος αποτελεί παραπροϊόν της βιομηχανίας τυριών που δεν βρίσκει εύκολα εφαρμογή. Αυτό, σε συνδυασμό με την υψηλή θρεπτική αξία, τη διαλυτότητά στο νερό και την ικανότητα δημιουργίας γαλακτωμάτων με πρωτεΐνες γάλακτος, δημιουργεί πρόσφορο έδαφος για την εφαρμογή του ορού γάλακτος στο σχηματισμό εδώδιμων φιλμ. Οι καζεΐνες είναι υδατοδιαλυτές και μπορούν να δημιουργήσουν εδώδιμα φιλμ από υδατικά διαλύματα χωρίς περαιτέρω επεξεργασία, λόγω της δομής τους και της ικανότητας δημιουργίας δεσμών υδρογόνου. Τα φιλμ από καζεΐνη είναι διαφανή και άγευστα, είναι εύκαμπτα και επομένως μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε τρόφιμα (Baldwin, 2007; Bourtoom, 2008; Tzia et al., 2016).

#### **1.9.6.2.2 ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΕΣ**

Εδώδιμες επικαλύψεις μπορούν να προκύψουν από διάφορους πολυσακχαρίτες που προέρχονται από οργανισμούς φυτικούς και ζωικούς, που απαντώνται τόσο στην ξηρά όσο και στην θάλασσα. Παρά την υδρόφιλη φύση τους, μπορούν να σχηματίσουν φιλμ μέσω δομών που βραχυπρόθεσμα προστατεύουν την εσωτερική υγρασία του τροφίμου, ενώ εμποδίζουν αποτελεσματικά τη μεταφορά οξυγόνου από το τρόφιμο. Οι κρυσταλλικές ιδιότητες ορισμένων πολυσακχαριτών είναι χρήσιμες για φιλμ που εμποδίζουν τη μεταφορά αερίων, όμως συνδέονται και με προβλήματα κατά την παραγωγή και την εφαρμογή αυτών στα τρόφιμα. Οι κυριότεροι πολυσακχαρίτες που χρησιμοποιούνται στον σχηματισμό μεμβρανών είναι μεταξύ άλλων η κυτταρίνη, η χιτοζάνη και το άμυλο, μόρια που λόγω δομής οδηγούν σε φιλμ εύκαμπτα αλλά ανθεκτικά, διαφανή και με αντοχή στα λίπη και τα έλαια. Ακόμη, συχνή είναι και η αξιοποίηση πηκτινών και εκχυλισμάτων φυκών, όπως τα αλγινικά άλατα και η καραγενάνη.

### **ΚΥΤΤΑΡΙΝΗ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΩΓΑ**

Η κυτταρίνη βρίσκεται σε όλα τα χερσαία φυτά καθώς αποτελεί δομικό συστατικό των κυτταρικών τοιχωμάτων. Αποτελείται από επαναλαμβανόμενες μονάδες γλυκόζης συνδεδεμένες με β-1,4 δεσμούς. Στη φυσική της μορφή είναι ινώδης, η δομή της είναι έντονα κρυσταλλική και δεν διαλύεται σε υδατικά μέσα. Το γεγονός

αυτό περιορίζει τη χρήση της σε επικαλύψεις κι έτσι πραγματοποιούνται διάφορες κατεργασίες προκειμένου να προκύψουν παράγωγα με τροποποιημένη κρυσταλλική δομή και κατ' επέκταση βελτιωμένη διαλυτότητα. Σε αυτά περιλαμβάνονται η καρβοξυμεθυλοκυτταρίνη (CMC), η μεθυλοκυτταρίνη (MC), η υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνη (HPMC) και η υδροξυπροπυλοκυτταρίνη (HPC), που παρουσιάζουν σημαντική ικανότητα ως προς τη δημιουργία φιλμ. Τα CMC και MC θεωρούνται GRAS, ενώ ως πρόσθετα έχουν εγκριθεί τα HPMC και HPC, που χρησιμοποιούνται και ως σταθεροποιητές σε μεμβράνες.

### **ΧΙΤΟΖΑΝΗ**

Το μόριο αυτό πρόκειται για την απακετυλιωμένη μορφή της χιτίνης, ενός φυσικού βιοπολυμερούς της 2-ακεταμιδο-2-δεοξυ-D-γλυκάνης που συναντάται στη μεγαλύτερη αφθονία μετά την κυτταρίνη. Η χιτίνη αποτελεί συστατικό των κυτταρικών τοιχωμάτων των μυκήτων, του εξωσκελετού των οστρακοειδών και του σκελετού εντόμων. Αποτελεί εξαιρετική περίπτωση για εφαρμογή σε μεμβράνες για φρούτα και λαχανικά. Η χιτοζάνη εμφανίζει αντιμυκητιακή δράση και προκαλεί την παραγωγή χιτινάσης, ενός ενζύμου που δρα ως μηχανισμός άμυνας φυτών. Με χρήση χιτοζάνης διαμορφώνονται ημιπερατές μεμβράνες, καθώς παρότι εμφανίζει χαμηλή αντίσταση στη μεταφορά υγρασίας, δημιουργεί τροποποιημένη ατμόσφαιρα στους ιστούς των φρούτων και των λαχανικών καθυστερώντας κατά συνέπεια την ωρίμανση.

### **ΠΗΚΤΙΝΕΣ**

Οι πηκτίνες βρίσκονται στον μεσοκυττάριο χώρο στους φυτικούς ιστούς και συνίστανται κυρίως από πολυμερή γαλακτουρονικού οξέος που έχουν εστεροποιηθεί με ομάδες μεθυλίου. Η κύρια πηγή πηκτινών είναι ο πολτός μήλων και οι φλούδες εσπεριδοειδών και κύρια εφαρμογή τους είναι για την παραγωγή ισχυρών πηκτών. Μέσω χημικής υδρόλυσης των εστέρων προκύπτουν πηκτίνες με λιγότερες μεθοξυ ομάδες που σε υδατικά διαλύματα σχηματίζουν πηκτές παρουσία ιόντων ασβεστίου, τα οποία δημιουργούν γέφυρες για τις ελεύθερες καρβοξυλομάδες των γειτονικών πολυμερών. Οι μεμβράνες από τις πηκτίνες αυτές προσδίδουν στο προϊόν γυαλάδα όμως παρουσιάζουν διαπερατότητα όσον αφορά την υγρασία. Θυσιάζοντας τη δική τους υγρασία μπορούν να προστατεύσουν το προϊόν από απώλειες για κάποιο περιορισμένο διάστημα. Η προσθήκη επικάλυψης λιπιδίων (π.χ. μελισσοκέρι) μπορεί να μετριάσει τη μεταφορά αυτή.

### **ΑΜΥΛΑ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΩΓΑ**

Το άμυλο είναι το πιο διαδεδομένο υδροκολλοειδές με εφαρμογή στα τρόφιμα. Είναι φυτικής προέλευσης, καθώς εξάγεται από ρίζες όπως η πατάτα, από στελέχη φυτών και από δημητριακά. Αποτελείται κυρίως από αμυλόζη -ένα πολυμερές της α-1,4 γλυκόζης- και αμυλοπηκτίνη, η οποία διαφοροποιείται σε σχέση με την αμυλόζη με πλευρικές αλυσίδες α-1,6 γλυκόζης. Η αμυλόζη βρίσκει καλύτερη εφαρμογή στις μεμβράνες, καθώς ο σχηματισμός φιλμ ευνοείται από μόρια ευθείας αλυσίδας. Έτσι, ενώ κανονικά το άμυλο καλαμποκιού περιέχει 25% αμυλόζη και 75% αμυλοπηκτίνη,

αναπτύχθηκαν υβρίδια με έως και 80% αμυλόζη. Βέβαια, σημειώνεται πως και η αμυλοπηκτική προστίθεται σε μεμβράνες συχνά, ως παράγοντας πάχυνσης. Η αμυλόζη, όπως και η κυτταρίνη έχει την τάση να κρυσταλλώνεται και επομένως να μένει αδιάλυτη στο νερό. Κατά συνέπεια, για το σχηματισμό φιλμ απαιτούνται υψηλές θερμοκρασίες ή χημική κατεργασία, ώστε να προκύψει ως παράγωγο το υδροξυπροπύλιο αμυλόζης που έχει καλύτερη υδατοδιαλυτότητα και χαμηλότερη διαπερατότητα στο οξυγόνο, παρά τη μικρή αντίσταση στους υδρατμούς. Φρούτα και λαχανικά επικαλύπτονται με διαλύματα αμυλόζης στα οποία προστίθενται πλαστικοποιητές ή γαλακτωματοποιητές. Επιπρόσθετα, οι δεξτρίνες (υδρολυμένα μόρια αμύλου) βρίσκουν εφαρμογή στις επικαλύψεις φρούτων, καθώς, σε αντίθεση με το άμυλο, παρουσιάζουν χαμηλότερη διαπερατότητα στους υδρατμούς.

### **ΚΑΡΑΓΕΝΑΝΗ**

Η καραγενάνη απομονώνεται από ροδοφύκη και είναι μίγμα πολυσακχαριτών. Εμπορικά διαθέσιμα είναι τρία κλάσματα, το κάπα, το γιώτα και το λάμδα. Κατά την ψύξη θερμών υδατικών διαλυμάτων καραγενάνης προκύπτει πηκτή, η οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως επικαλυπτικό μέσο.

### **ΑΛΓΙΝΙΚΑ ΑΛΑΤΑ**

Πρόκειται για άλατα αλγινικού οξέος, ενός γραμμικού συμπολυμερούς του D-μαννουρικού και του L-γουλουρονικού οξέος. Είναι οι κυριότεροι δομικοί πολυσακχαρίτες των Φαιοφυκών. Η συνηθέστερη μορφή η οποία εξάγεται από τα φύκη και χρησιμοποιείται εμπορικά, είναι αυτή του αλγινικού νατρίου. Έχει εμφάνιση λευκής ή κίτρινης σκόνης. Από τα μόρια αυτά μπορούν να προκύψουν επικαλυπτικές μεμβράνες μέσω εξάτμισης, μέσω προσθήκης κατιόντος για τη σύνδεση γειτονικών αλυσίδων πολυμερών, ή με προσθήκη υδατοδιαλυτού μέσου στο οποίο όμως μένει αδιάλυτο το αλγινικό. Η προσθήκη κατιόντος είναι χρήσιμη στη δημιουργία φιλμ από αλγινικό καθώς οδηγεί σε δημιουργία πηκτής. Τα ιόντα ασβεστίου είναι τα πιο αποτελεσματικά, καθώς με ιοντικές αλληλεπιδράσεις φέρνουν κοντά τις αλυσίδες αλγινικού για να ενωθούν έπειτα με δεσμούς υδρογόνου. Τα τμήματα των αλυσίδων που αποτελούνται από υπολείμματα μαννουρικού και γουλουρονικού οξέος δεν αντιδρούν με το ασβέστιο όμως συνδέουν τα συσσωματώματα που δημιουργούνται, με το αποτέλεσμα να είναι ένα τρισδιάστατο πλέγμα με τη μορφή πηκτής. Κατά το σχηματισμό φιλμ, η αντοχή και η διαπερατότητα της μεμβράνης μπορεί να ρυθμιστεί μέσω της συγκέντρωσης του κατιόντος και του χρόνου επαφής του με το αλγινικό, μέσω της θερμοκρασίας και του pH και με την παρουσία άλλων συστατικών. Ως προς τις ιδιότητες των φιλμ αλγινικού νατρίου, σημειώνεται πως θυσιάζοντας την υγρασία της επικάλυψης προστατεύουν το προϊόν από απώλειες υγρασίας. Επίσης, εμφανίζουν αντοχή σε έλαια και λίπη, καθυστερούν την οξείδωση λιπιδίων στο τρόφιμο, είναι αποτελεσματικοί φραγμοί του οξυγόνου και μπορούν να βελτιώσουν τη γεύση και την υφή του τροφίμου (Baldwin, 2007; Bourtoom, 2008; Tzia et al., 2016).



### 1.9.7 ΧΡΗΣΗ A.VERA ΣΕ ΕΔΩΔΙΜΕΣ ΕΠΙΚΑΛΥΠΤΙΚΕΣ ΜΕΜΒΡΑΝΕΣ

Το παρέγχυμα από τα φύλλα της A.Vera έχει προταθεί για χρήση σε εδώδιμες επικαλυπτικές μεμβράνες καθώς προκύπτουν αρκετές αναφορές που του αποδίδουν επιθυμητή δράση ως προς την επέκταση του χρόνου ζωής φρέσκων προϊόντων. Οι δοκιμές που έχουν πραγματοποιηθεί αφορούν κυρίως νωπά φρούτα και λαχανικά. Το παρέγχυμα της αλόης φαίνεται να μειώνει τις απώλειες σκληρότητας και υγρασίας των προϊόντων κατά τη συντήρηση. Αποτελεί ακόμα ικανοποιητικό φραγμό για τα αέρια και έτσι μπορεί να περιορίσει το ρυθμό αναπνοής και την ωρίμανση μετά τη συγκομιδή σε φρούτα όπως το μήλο, η παπάγια, το ρόδι, η σαπουντίγια, το σύκο, τα σταφύλια, τα νεκταρίνια, τα κεράσια, τα εσπεριδοειδή και η φράουλα. Πέραν αυτών των ιδιοτήτων όμως, το παρέγχυμα αλόης δείχνει να έχει θετική επίδραση και σε ό,τι αφορά το μαύρισμα των φρούτων, τόσο μέσω του περιορισμού της μεταφοράς οξυγόνου, αλλά φαίνεται επίσης να αναστέλλει την ενζυμική δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης (PPO) και περοξειδάσης (POD). Τα ένζυμα αυτά, μαζί με τον πολυμερισμό των ενδογενών φαινολικών συστατικών, είναι υπεύθυνα για το μαύρισμα των φρούτων και περιέχονται σε οργανίδια των κυττάρων που οξειδώνουν τα φαινολικά συστατικά.

Ακόμη, η αλόη έχει μία επιπλέον ιδιότητα που την καθιστά ελκυστική για χρήση σε εδώδιμες μεμβράνες. Τα συστατικά της έχουν αντιμικροβιακή δράση, ενάντια σε μύκητες και βακτήρια. Ως αποτέλεσμα, με την εφαρμογή της ως επικαλυπτικό σε φρούτα όπως οι φράουλες, τα μανταρίνια και το αβοκάντο, φάνηκε πως είναι αποτελεσματική ενάντια στην ανάπτυξη ζυμών και μυκήτων στο τρόφιμο, ενώ υπάρχουν αναφορές που κάνουν λόγο και για αντιβακτηριδιακή δράση ενάντια στους μικροοργανισμούς *Bacillus cereus*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* και *Klebsiella pneumonia*.

Στις έρευνες για την αποτελεσματικότητα της A.Vera ως συστατικό εδώδιμων φιλμ, γίνεται χρήση μεμονωμένα του παρεγχύματος, ή σε συνδυασμό με πρόσθετα συστατικά όπως το κιτρικό οξύ, η γλυκερόλη και το ασκορβικό οξύ. Επίσης, μελετήθηκε η εφαρμογή σε σύνθετα φιλμ μαζί με χιτοζάνη, άμυλο, κόμμι Gellan, αλγινικό νάτριο, με κυτταρίνη από τον *Acetotobacter xylinum*, ρητίνη Shellac και πολυβινυλική αλκοόλη. Στις περισσότερες περιπτώσεις η αλόη προέκυψε συμβατή με τα συστατικά που συνδυάστηκε, ενώ τα σύνθετα φιλμ παρουσίασαν βελτιωμένη δράση ως φραγμοί και ενισχυμένες μηχανικές ιδιότητες (Benítez et al., 2015; Brishti et al., 2013; Chrysargyris et al., 2016; Hazrati et al., 2017; Khatrī et al., 2020; Maan et al., 2021; Nasrin et al., 2017; Parven et al., 2020; Rasouli et al., 2019)

Αρκετές από τις ιδιότητες που καθιστούν την αλόη ελκυστική επιλογή για εφαρμογή σε επικαλυπτικές μεμβράνες, συνδέονται με τους πολυσακχαρίτες του φυτού. Πιο συγκεκριμένα, η ακεμαννάνη κυρίως παίζει βασικό ρόλο στη μορφή πηκτής και στην υψηλή ικανότητα συγκράτησης υγρασίας του παρεγχύματος. Επίσης, συνδέεται με αντιοξειδωτικές και αντιμικροβιακές δράσεις του φυτού. Παρόλα αυτά, εφόσον το παρέγχυμα περιέχει πλήθος συστατικών που μεμονωμένα και συνεργιστικά

ευθύνονται για τις ιδιότητες της αλόης, αξίζει να διερευνηθεί περαιτέρω το κατά πόσο ο χαρακτηριστικός πολυσακχαρίτης του φυτού, η ακεμαννάνη, συμμετέχει λόγω των ιδιοτήτων του στην επιτυχή δημιουργία εδώδιμου φιλμ από *A.Vera*.

## 2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### 2.1.1 ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η μελέτη της παραλαβής του κλάσματος δραστικών πολυσακχαριτών (ειδικά ακεμαννάνης) από το παρέγχυμα A.Vera. Αρχικά, χυμός από παρέγχυμα αλόης χαρακτηρίζεται ως προς βασικές του φυσικοχημικές ιδιότητες (διαλυτά στερεά, pH, δείκτης διάθλασης, ιξώδες, ενεργότητα νερού, υγρασία, τέφρα, βιταμίνη C, οξύτητα, χρώμα και υφή). Για την παραλαβή του επιθυμητού κλάσματος ακεμαννάνης από ομογενοποιημένο παρέγχυμα από το οποίο έχουν διαχωριστεί οι ίνες με διήθηση ή φυγοκέντρηση, ακολουθείται μέθοδος που βασίζεται σε καταβύθιση με χρήση οργανικού διαλύτη (αιθανόλη ή μεθανόλη). Το ίζημα βελτιώνεται ως προς το περιεχόμενο πολυσακχαριτών και ακεμαννάνης με διήθηση. Βάσει της διαδικασίας αυτής, ο σκοπός επεκτείνεται στην εξέταση της επίδρασης εναλλακτικών μεθόδων κατεργασίας του παρεγχύματος που εφαρμόζονται πριν την καταβύθιση.

Συγκεκριμένα, μελετάται η επίδραση της κατεργασίας με χρήση υπερήχων, με ομογενοποίηση υψηλής ταχύτητας ή με υπερυψηλή πίεση (200 και 400 MPa), ενώ αξιολογείται και η επίδραση της ήπιας θέρμανσης (40°C) πριν την καταβύθιση ή συνδυαστικά με τις αναφερόμενες μεθόδους, στα χαρακτηριστικά του κλάσματος ακεμαννάνης μετά την καταβύθιση. Τέλος, εξετάζεται αν η κατάσταση των φυτών κατά τη συγκομιδή επηρεάζει το τελικό προϊόν.

Η αξιολόγηση και σύγκριση των μεθόδων κατεργασίας του παρεγχύματος, γίνεται αφενός μέσω της απόδοσης σε μάζα του ιζήματος μετά την καταβύθιση, ως προς τον αρχικό χυμό. Αφετέρου, γίνεται αξιολόγηση και πιο στοχευμένα, βάσει του περιεχομένου ολικών πολυσακχαριτών στο χυμό κατόπιν των κατεργασιών και στα τελικά προϊόντα ακεμαννάνης, όπως επίσης και βάσει του περιεχομένου συγκεκριμένα της ακεμαννάνης στα τελικά ξηρά προϊόντα.

Επιπρόσθετος σκοπός της εργασίας είναι η αξιοποίηση των κλασμάτων πολυσακχαριτών αλόης που προκύπτουν. Οι εφαρμογές είναι ποικίλες, όμως επιλέγεται η μελέτη ενσωμάτωσής τους σε εδώδιμες επικαλυπτικές μεμβράνες για ευπαθές φρούτο, τη φράουλα. Η ενσωμάτωση γίνεται σε χαμηλές συγκεντρώσεις, σε διάλυμα αλγινικού νατρίου. Εξετάζονται δύο περιπτώσεις εδώδιμης μεμβράνης που διαφέρουν ως προς τη συγκέντρωση πολυσακχαριτών αλόης. Φράουλες με τις αναφερόμενες μεμβράνες, με μεμβράνη αλγινικού νατρίου και χωρίς μεμβράνη, συντηρούνται για 15 ημέρες υπό ψύξη (4°C). Έτσι, αξιολογείται η επίδραση των μεμβρανών στη διατήρηση του φρούτου, με μέτρηση στο χρόνο μεγεθών σχετικών με την ποιότητα της φράουλας (απώλεια βάρους, σκληρότητα, ολικά διαλυτά στερεά, pH, οξύτητα, δείκτης αμαύρωσης, χρώμα, οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, περιεχόμενο βιταμίνης C, αντιοξειδωτικών συστατικών, ανθοκυανινών και φαινολικών συστατικών, ενεργότητα πηκτινομεθυλεστεράσης, πολυφαινολικής

οξειδάσης και β-γλυκοζιδάσης όπως και μικροβιολογικός έλεγχος (ολική μεσόφιλη χλωρίδα και ζύμες-μύκητες).

## 2.2 ΥΛΙΚΑ-ΟΡΓΑΝΑ

### 2.2.1 ΠΡΩΤΕΣ ΥΛΕΣ

Για την προετοιμασία χυμού A.Vera για όλα τα πειράματα, χρησιμοποιούνται φυτά *Aloe Vera* -τουλάχιστον διετίας-, από όπου γίνονται συγκομιδές των φύλλων.

Για την εφαρμογή του κλάσματος ακεμαννάνης σε εδώδιμες μεμβράνες, χρησιμοποιούνται φράουλες του εμπορίου, μετά από διαλογή με βάση τα οπτικά χαρακτηριστικά.

### 2.2.2 ΧΗΜΙΚΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- Αιθανόλη 95%
- Μεθανόλη
- Μεθανόλη (HPLC grade)
- Πυκνό HCl (37% v/v)
- Αλγινικό νάτριο
- CaCl<sub>2</sub>
- Γλυκόζη
- Πυκνό θειικό οξύ (18,025 M)
- Φαινόλη
- Διάλυμα NaOH 0,1 N
- Δείκτης φαινολοφθαλεΐνη
- HPO<sub>3</sub>
- HOAc
- Ασκορβικό οξύ
- μετά νατρίου άλας της 2,6-διχλωροϊνδοφαινόλης
- NaHCO<sub>3</sub>
- Αντιδραστήριο DPPH

- Trolox
- KCl
- $\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$
- Γλυκοζίτης της κυανιδίνης
- Αντιδραστήριο Folin
- $\text{Na}_2\text{CO}_3$
- Καφεϊκό οξύ
- NaOH 0,2N
- NaCl
- πηκτίνη μήλου βαθμού εστεροποίησης 70-75%.
- $\text{Na}_2\text{HPO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$
- $\text{NaH}_2\text{PO}_4\cdot \text{H}_2\text{O}$
- Κατεχόλη
- PVPP (πολυβινυλοπολυπυρρολιδόνη)
- TritonX-100
- 0,1 M κιτρικό- 0,2 M φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα (pH=4)
- νιτροφαινυλ-γλυκοκυρανόζη
- Ταμπλέτες Ringer
- Plate Count Agar Standard
- Dichloran Rose-Bengal Chloramphenicol Agar
- Απιονισμένο νερό

### 2.2.3 ΣΥΣΚΕΥΕΣ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΑ

- Blender κενού VB8760 (Grundig, Nürnberg, Germany)
- Σίτα διαμέτρου πόρων 0,2 cm
- Συσκευή φυγοκέντρησης Megafuge 16R (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA)
- Συσκευή φυγοκέντρησης Mikro 22R (Hettich GmbH & Co, Germany)
- Θερμαινόμενες μαγνητικές πλάκες

- Συσκευή θερμοκόλλησης συσκευασιών
- Συσκευή Υπερήχων
- Ομογενοποιητής Υψηλής Ταχύτητας
- Μονάδα Υπερυψηλής Πίεσης FPU 1.01 (Resato International BV, Roden, Holland)
- Ζυγός ακρίβειας 2 δεκαδικών ψηφίων
- Αναλυτικός ζυγός ακρίβειας 4 δεκαδικών ψηφίων
- Διαφραγματική αντλία κενού XX5500000 (MilliporeSigma, Massachusetts, USA)
- Κατάψυξη
- Εργαστηριακός Λυοφιλωτής Thermo Savant MODULYOD (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA)
- Ξηραντήρας
- Ψηφιακό διαθλασίμετρο ORF-B (KERN & SOHN GmbH, Germany)
- Όργανο μέτρησης  $a_w$  HP23-AW-A (Rotronic Instruments PTE LTD, Singapore)
- pH-μετρο EA 940 (ORION Scientific, Limena (PD), Italy) με υάλινο ηλεκτρόδιο
- Διαθλασίμετρο ABBE (Atago Co., Ltd. Japan)
- Ιξωδόμετρο Brookfield LVT με τα στελέχη LV-2 και LV-3 (Brookfield Engineering Laboratories Inc, Massachusetts, USA)
- Πυριαντήριο
- Χρωματόμετρο Minolta CR-300 (Minolta Company, Chuo-Ku, Osaka, Japan)
- Αναλυτής υφής HD-Plus (Stable Micro Systems Ltd., UK), με το λογισμικό Texture Expert Exceed
- Φασματοφωτόμετρο (Lovibond XD 7500, Tintometer Ltd, England)
- Φασματοφωτόμετρο SpectraMax 384 Plus Microplate Reader (Molecular Devices LLC, California, USA)
- Σύστημα HPLC-DAD με στήλη C-18 (250 mm x 4,6 mm)
- Vortex mixer SCI-VS (Scilogex LLD, Connecticut, USA)
- Αποστειρωτήρας (SANYO Labo Autoclave)
- Συσκευή ομογενοποίησης (400 Circulator, Seward, West Sussex, United Kingdom)

- Υδατόλουτρο

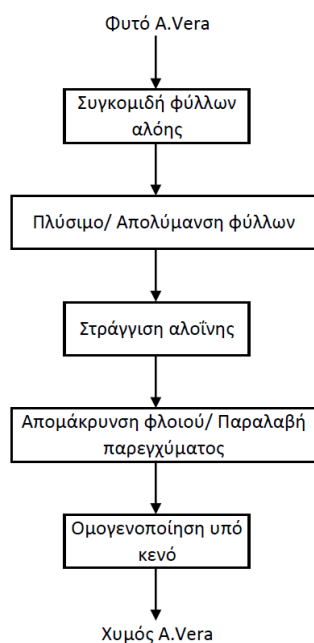
Επιπλέον, γίνεται χρήση γενικού εργαστηριακού εξοπλισμού (υάλινα και πορσελάνινα σκεύη, πιπέττες αυτόματες μέγιστου όγκου 100 και 1000 μL με τα αντίστοιχα tips, τρυβλία και σακούλες αποστείρωσης, καμινέτο γκαζιού κλπ).

## 2.3 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

### 2.3.1 ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΧΥΜΟΥ *A.Vera*

Για την παραλαβή του χυμού, κόβονται τα φύλλα της αλόης από το φυτό, πλένονται και απολυμαίνονται εξωτερικά με διάλυμα αιθανόλης. Στη συνέχεια, απομακρύνεται η κορυφή (τα τελευταία 7-10 cm του φυτού) και η βάση -το λευκό μέρος του φλοιού- του φύλλου. Τα φύλλα αφήνονται για 30 min προς στράγγιση της αλοΐνης. Έπειτα, προσεκτικά κόβονται τα πλαϊνά αγκαθωτά μέρη του φυτού, και αφαιρείται το πάνω και κάτω μέρος του πράσινου φλοιού του φύλλου. Το παρέγχυμα παραλαμβάνεται και ομογενοποιείται με χρήση blender σε συνθήκες κενού, για την αποφυγή της παρατεταμένης επαφής του με την ατμόσφαιρα και για να μετριαστεί ο αφρισμός. Ο χυμός παραλαμβάνεται και μετρούνται διάφορες φυσικοχημικές του ιδιότητες.

Ειδικότερα, γίνεται μέτρηση των ολικών διαλυτών στερεών (%BRIX), του pH, της ενεργότητας νερού  $a_w$ , του δείκτη διάθλασης, του ιξώδους, της βιταμίνης C, της οξύτητας ως προς μηλικό οξύ, της υγρασίας, της τέφρας, του χρώματος ενώ πραγματοποιείται και ανάλυση υφής.



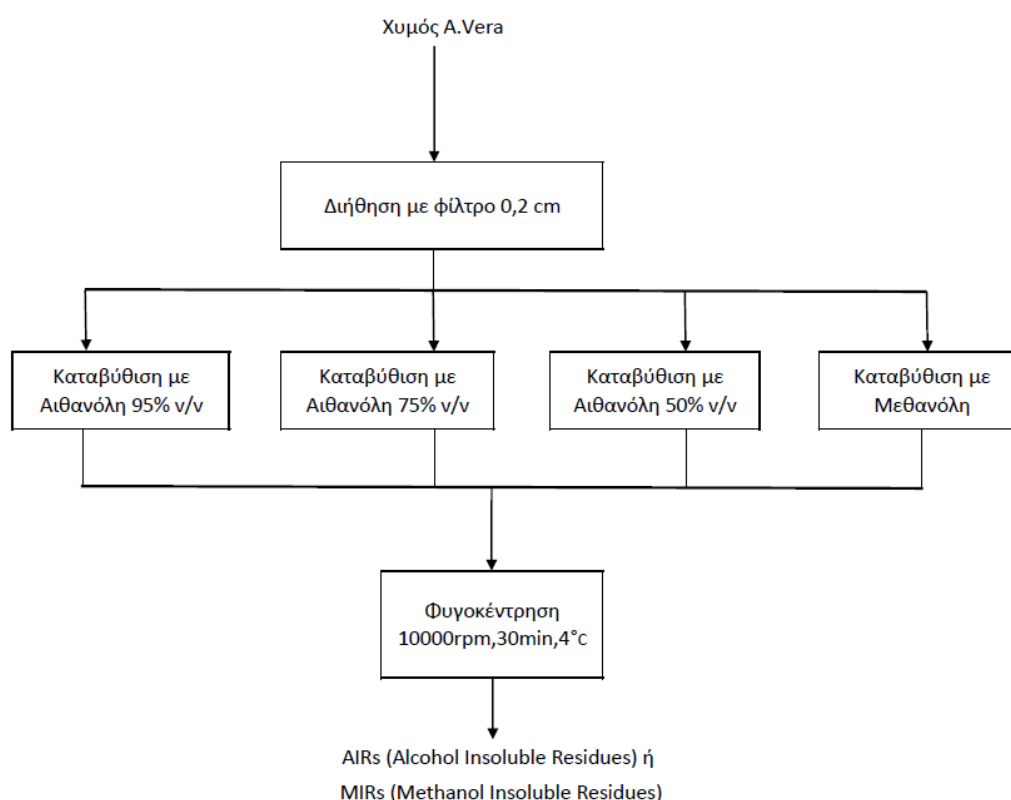
Διάγραμμα 1: Διάγραμμα ροής για την προετοιμασία χυμού *A.Vera*.

## 2.3.2 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΧΥΜΟΥ *A.Vera*- ΚΑΤΑΒΥΘΙΣΗ ΚΛΑΣΜΑΤΟΣ ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΩΝ

### 2.3.2.1 1<sup>η</sup> σειρά: Προετοιμασία χυμού με χρήση φίλτρου - Επιλογή διαλύτη καταβύθισης

Ο χυμός που παραλαμβάνεται από τα φύλλα αλόης φιλτράρεται με σίτα διαμέτρου πόρων 0,2 cm, προκειμένου να απομακρυνθούν οι φυτικές ίνες. Ποσότητα χυμού γύρω στα 25-30 mL ζυγίζεται και η μάζα καταγράφεται. Οι διαλύτες υπό εξέταση είναι η αιθανόλη σε αναλογίες 95%, 75% και 50% w/v και η μεθανόλη. Κάθε δείγμα αναμιγνύεται με έναν από τους 4 αναφερόμενους διαλύτες, σε αναλογία 1:4. Το μίγμα αφήνεται για 6h στους 25°C και κατόπιν στους 4°C μέχρι την επόμενη ημέρα. Το ίζημα παραλαμβάνεται μετά από φυγοκέντρηση σε 10000 rpm για 30 min.

Σε όλες τις περιπτώσεις, μετά την παραλαβή του ιζήματος, η μάζα του -όπως προκύπτει από αναλυτικό ζυγό ακριβείας- καταγράφεται προς υπολογισμό της απόδοσης.

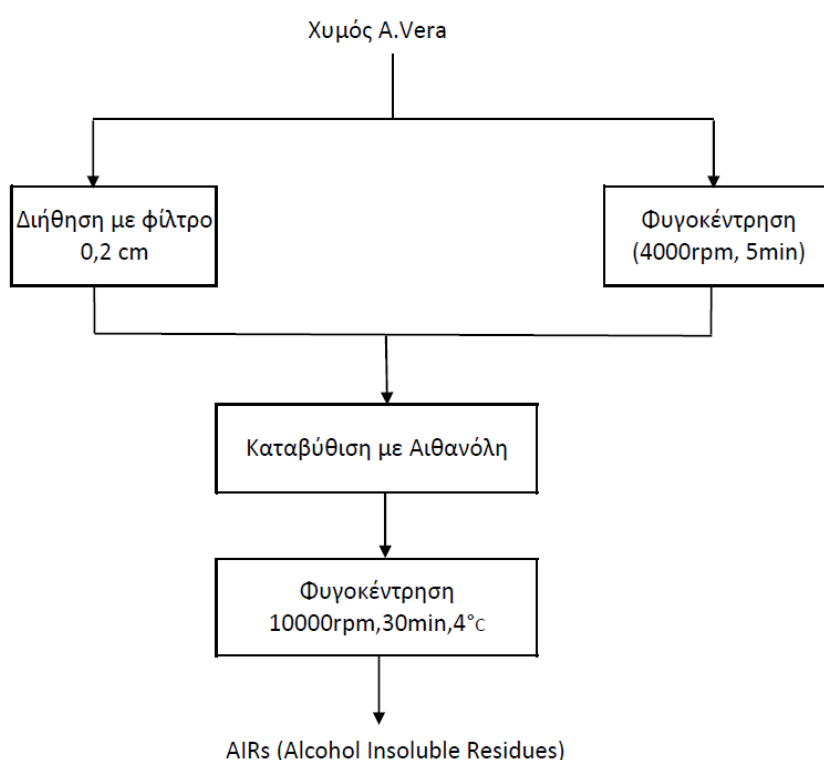


Διάγραμμα 2: Διάγραμμα ροής σειράς δειγμάτων στην οποία επιλέγεται ο κατάλληλος οργανικός διαλύτης.



### 2.3.2.2 2<sup>η</sup> σειρά: Προετοιμασία χυμού- Διαχωρισμός ινών με διήθηση ή φυγοκέντρηση – Καταβύθιση με αιθανόλη

Δείγμα χυμού *A.Vera* φιλτράρεται με χρήση σίτας διαμέτρου πόρων 0,2 cm. Αντίστοιχη ποσότητα χυμού οδηγείται προς φυγοκέντρηση σε 4000 rpm, για 5 min και συλλέγεται το υπερκείμενο υγρό, προκειμένου να διαχωριστούν οι ίνες από το ομογενοποιημένο παράγχυμα. Ένα δείγμα χωρίς διαχωρισμό ινών, κρατείται για σύγκριση. Τα δείγματα, αφού πρώτα ζυγιστούν, οδηγούνται προς καταβύθιση με αιθανόλη (95% v/v), όπως περιγράφεται παραπάνω. Μετά την παραλαβή του ιζήματος, η μάζα του καταγράφεται.



Διάγραμμα 3: Σχηματική απεικόνιση για τη σειρά δειγμάτων στην οποία επιλέγεται η μέθοδος φιλτραρίσματος.

### 2.3.2.3 3<sup>η</sup> σειρά: Κατεργασία χυμού με θερμικές και εναλλακτικές μεθόδους- Καταβύθιση με αιθανόλη

Σε αυτήν τη σειρά πειραμάτων, δείγματα ομογενοποιημένου χυμού υπόκεινται σε διαχωρισμό ινών είτε με χρήση σίτας (διαμέτρου πόρων 0,2 cm) είτε με φυγοκέντρηση (4000 rpm, 5 min), ή το στάδιο παραλείπεται εντελώς. Η επιλογή μεθόδου διαχωρισμού στην περίπτωση αυτή είναι τυχαία. Το κάθε δείγμα χυμού οδηγείται έπειτα προς επιπλέον κατεργασία. Οι κατεργασίες παρουσιάζονται συνοπτικά παρακάτω, μαζί με τις συνθήκες θερμοκρασίας και χρόνου για κάθε περίπτωση.

#### I. ΘΕΡΜΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

- **Θερμή εκχύλιση:** Ο χυμός αραιώνεται με απιονισμένο νερό σε αναλογία 1:5. Ακολουθεί θέρμανση υπό συνεχή ανάδευση στους 80°C, για 2h.
- **Θέρμανση χυμού**
  - a. **40°C:**
    - i. Θέρμανση έως τους 40°C (0 min).
    - ii. Θέρμανση στους 40°C για 15 min.
    - iii. Θέρμανση στους 40°C για 30 min.
  - b. **80°C:**
    - i. Θέρμανση έως τους 80°C (0 min).
    - ii. Θέρμανση στους 80°C για 30 min.

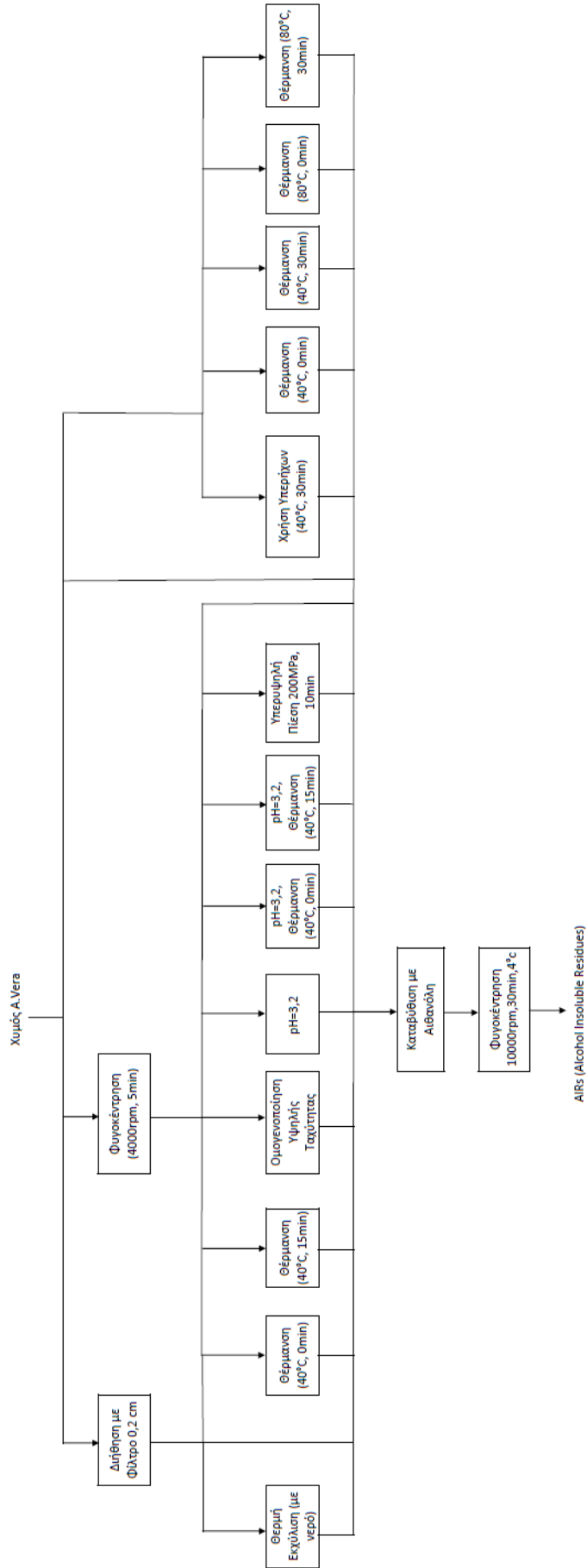
#### II. ΡΥΘΜΙΣΗ pH

- Ρύθμιση pH χυμού στο 3,2 με προσθήκη HCl σε συνθήκες περιβάλλοντος.
- Ρύθμιση pH χυμού στο 3,2 με HCl και θέρμανση έως τους 40°C (0 min).
- Ρύθμιση pH χυμού στο 3,2 με HCl και θέρμανση στους 40°C για 15 min.

#### III. ΚΑΙΝΟΤΟΜΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΤΕΡΓΑΣΙΑΣ

- Εφαρμογή υπερήχων στους 40°C για 30 min.
- Επιβολή υπερυψηλής πίεσης 200 MPa για 10 min.
- Ομογενοποίηση Υψηλής Ταχύτητας σε 10000 rpm για 5 min.

Τα δείγματα που προκύπτουν από τις παραπάνω κατεργασίες (12 περιπτώσεις) οδηγούνται προς καταβύθιση με διαλύτη αιθανόλη (95% v/v). Κατά τα άλλα, η καταβύθιση πραγματοποιείται όπως περιγράφεται στην 1<sup>η</sup> σειρά πειραμάτων. Πριν την καταβύθιση, η μάζα του χυμού καταγράφεται. Το ίζημα παραλαμβάνεται με φυγοκέντρηση σε 10000 rpm για 30 min. Η μάζα του ιζήματος σε κάθε περίπτωση καταγράφεται.



Διάγραμμα 4: Διάγραμμα ροής 3<sup>ης</sup> σειράς, όπου εξετάζονται ορισμένες κατεργασίες σε χυμό A. Vera.

#### 2.3.2.4 ΚΥΡΙΑ ΣΕΙΡΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ: Κατεργασία χυμού σε επιλεγμένες συνθήκες με θερμικές και καινοτόμες μεθόδους- Καταβύθιση με αιθανόλη

Ως πρώτη ύλη χρησιμοποιείται φρέσκος χυμός αλόης που φιλτράρεται με σίτα διαμέτρου πόρων 0,2 cm για απομάκρυνση των φυτικών ινών. Μέρος του χυμού αυτού δεν οδηγείται προς κατεργασία και λειτουργεί ως δείγμα ελέγχου.

Για κάθε δείγμα χρησιμοποιείται ποσότητα χυμού γύρω στα 50 mL. Ο χυμός αυτός οδηγείται προς μια από τις κατεργασίες που αναφέρονται στη συνέχεια.

##### Θέρμανση φρέσκου χυμού

Ποσότητα χυμού περί τα 100 mL θερμαίνεται υπό ανάδευση έως τους 40°C (0 min). Η μισή ποσότητα παραλαμβάνεται ως δείγμα, ενώ το υπόλοιπο αφήνεται προς θέρμανση έως τα 15 min και παραλαμβάνεται ως δεύτερο δείγμα.

##### Ομογενοποίηση Υψηλής Ταχύτητας

Δείγμα χυμού στους 25°C τοποθετείται προς ομογενοποίηση στις 10000 rpm για 5 min. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται για δείγμα θερμοκρασίας 40°C.

##### Χρήση Υπερήχων

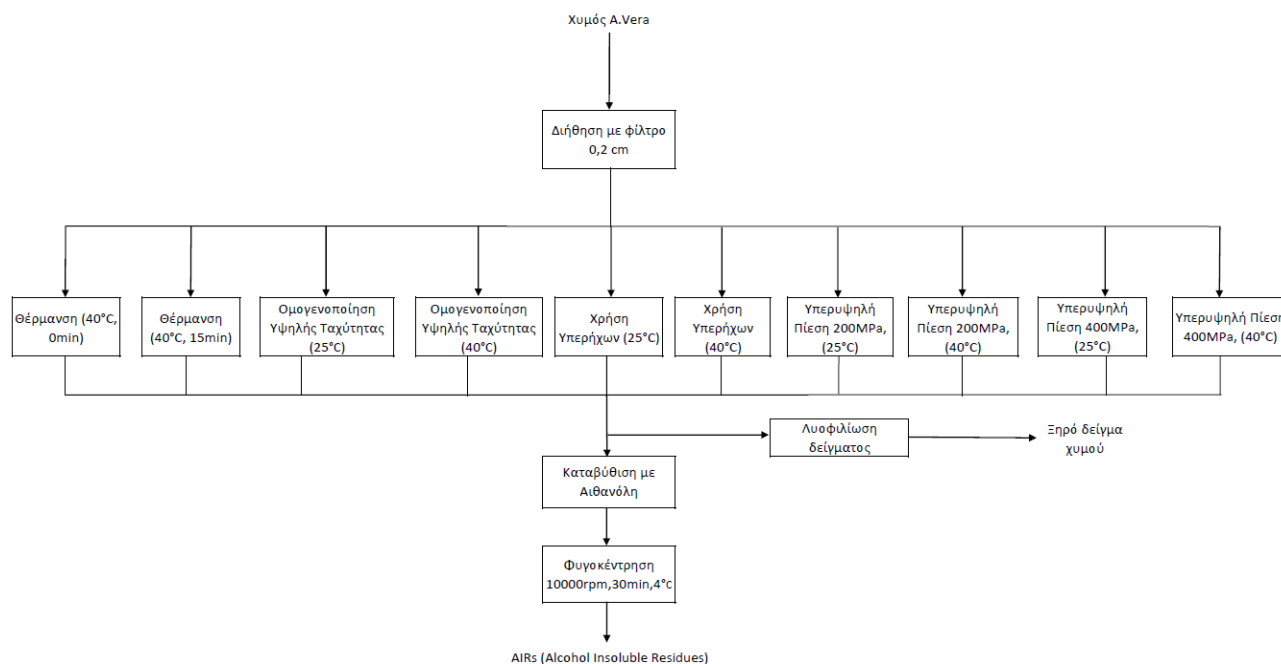
Δείγματα χυμού μεταφέρονται σε λουτρό υπερήχων για 30 min είτε στους 25°C είτε στους 40°C.

##### Υπερυψηλή Πίεση

Χυμός οδηγείται σε μονάδα Υπερυψηλής Πίεσης για 10 min. Εξετάζονται διαφορετικές συνθήκες που αποτελούν συνδυασμό θερμοκρασίας και πίεσεως. Ειδικότερα, προκύπτουν 4 περιπτώσεις δειγμάτων, για εφαρμογή πίεσης 200 MPa στους 25 και 40°C και εφαρμογή 400 MPa στους 25 και 40°C.

Μετά από τις κατεργασίες, μέρος του χυμού ζυγίζεται σε προζυγισμένο τρυβλίο και τοποθετείται προς λυοφιλίωση. Το ξηρό προϊόν ζυγίζεται εκ νέου σε αναλυτικό ζυγό ακριβείας και χρησιμοποιείται στη μέτρηση ολικών πολυσακχαριτών του χυμού πριν την αιθανολική καταβύθιση.

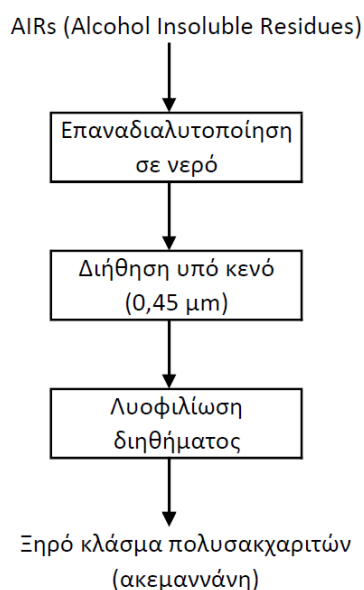
Το υπόλοιπο δείγμα χυμού καταβυθίζεται με χρήση αιθανόλης (95% v/v). Η αναλογία χυμού:EtOH παραμένει όπως παραπάνω, 1:4. Ακολουθεί καταβύθιση για 6h στους 25°C και κατόπιν στους 4°C μέχρι την επόμενη ημέρα. Το ίζημα παραλαμβάνεται μετά από φυγοκέντρηση σε 10000 rpm για 30 min. Η μάζα του καταγράφεται.



Διάγραμμα 5: Διάγραμμα ροής για την κύρια σειρά πειραμάτων. Εφαρμογή κατεργασιών σε χυμό A.Vera πριν την αιθανολική καταβύθιση.

### 2.3.3 ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΚΛΑΣΜΑΤΟΣ ΑΚΕΜΑΝΝΑΝΗΣ

Για κάθε σειρά δειγμάτων που περιεγράφηκε, κατόπιν της καταβύθισης με οργανικό διαλύτη και της φυγοκέντρησης, το ίζημα που παραλαμβάνεται διαλυτοποιείται σε 50-70 mL απιονισμένου νερού και ακολουθεί διήθηση υπό κενό. Γίνεται χρήση αντλίας Millipore για την επίτευξη κενού, και το μίγμα διέρχεται διαδοχικά από τρία φίλτρα, το τελευταίο εξ αυτών πορώδους 0,45 μm. Το διήθημα συλλέγεται σε τρυβλία. Τα τρυβλία καταψύχονται πλήρως προκειμένου να ξηραθούν με λυοφιλίωση. Το ξηρό προϊόν παραλαμβάνεται και μέρος του χρησιμοποιείται για μέτρηση των ολικών πολυσακχαριτών στο τελικό προϊόν. Στην κύρια σειρά πειραμάτων, μία ποσότητα χρησιμοποιείται επίσης για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας του κλάσματος ειδικά σε ακεμαννάνη. Το υπόλοιπο διατηρείται σε ξηραντήρα καθώς το ξηρό προϊόν είναι ιδιαίτερα υγροσκοπικό.



*Διάγραμμα 6: Διάγραμμα ροής για την παραλαβή κλάσματος ακεμαννάνης μετά την καταβύθιση των δειγμάτων.*

### 2.3.4 ΜΕΛΕΤΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΩΝ ΑΛΟΗΣ ΣΕ ΕΔΩΔΙΜΕΣ ΕΠΙΚΑΛΥΠΤΙΚΕΣ ΜΕΜΒΡΑΝΕΣ

Για την αξιοποίηση του κλάσματος πολυσακχαριτών που παραλαμβάνεται, επιλέγεται η ενσωμάτωσή του σε εδώδιμες επικαλυπτικές μεμβράνες σε φρούτο. Επιλέγεται η φράουλα, που έχει αυξημένη ζήτηση αλλά είναι ευαίσθητη σε καταπονήσεις που προκύπτουν από τις συνθήκες μεταφοράς και συντήρησης κατόπιν της συγκομιδής, γεγονός που επηρεάζει τον ήδη σύντομο χρόνο ζωής της.

#### 2.3.4.1 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ ΕΠΙΚΑΛΥΠΤΙΚΩΝ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ

##### Διάλυμα πολυσακχαριτών αλόης 0,7% w/v

Σε 500 mL απιονισμένου νερού προστίθενται 3,5 g ξηρού κλάσματος πολυσακχαριτών αλόης πλούσιο σε ακεμαννάνη. Η προσθήκη γίνεται υπό συνεχή ανάδευση και ήπια θέρμανση έως τους 40°C. Όταν το ξηρό προϊόν διαλυθεί πλήρως, το διάλυμα προορίζεται για ανάμιξη με διάλυμα αλγινικού νατρίου 2% w/v σε δύο διαφορετικές αναλογίες.

##### Διάλυμα CaCl<sub>2</sub> 2% w/v

Σε 500 mL απιονισμένου νερού προστίθενται υπό συνεχή ανάδευση 10 g ένυδρου CaCl<sub>2</sub> μέχρι την πλήρη διάλυση.

#### Αλγινικό νάτριο 2% w/v

Για την παρασκευή 1L διαλύματος, θερμαίνονται 500 mL απιονισμένου νερού και σε αυτά προστίθεται 20g άλατος αλγινικού νατρίου. Υπό συνεχή ανάδευση και θέρμανση, προστίθεται και η υπόλοιπη ποσότητα νερού έως ότου το άλας να διαλυθεί πλήρως.

500 mL προορίζονται για ανάμιξη με το διάλυμα πολυσακχαριτών αλόης 0,7% w/v.

#### Διάλυμα αλγινικού νατρίου- πολυσακχαριτών αλόης (αναλογία όγκων 50:50)

200 mL από το διάλυμα αλγινικού νατρίου 2% w/v αναμιγνύονται υπό συνεχή ανάδευση με 200 mL διαλύματος πολυσακχαριτών αλόης 0,7% w/v.

#### Διάλυμα αλγινικού νατρίου- πολυσακχαριτών αλόης (αναλογία όγκων 30:70)

120 mL διαλύματος αλγινικού νατρίου 2% w/v προστίθενται σε 280 mL διαλύματος πολυσακχαριτών αλόης 0,7% w/v, υπό συνεχή ανάδευση.

### 2.3.4.2 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΦΡΟΥΤΩΝ ΚΑΙ ΕΜΒΑΠΤΙΣΗ

Αρχικά, πραγματοποιείται διαλογή στις φράουλες του εμπορίου. Επιλέγονται 100 φράουλες με παρόμοιο μέγεθος και με τα βέλτιστα οπτικά χαρακτηριστικά. Οι φράουλες χωρίζονται σε δείγματα ανά 5 και κάθε δείγμα ζυγίζεται. Κατόπιν, τα φρούτα πλένονται και απλώνονται σε σχάρα όπου αφήνονται να στεγνώσουν. Σκουπίζονται επιφανειακά με χαρτί για την απομάκρυνση της υγρασίας που έχει απομείνει. Ακολουθεί η εμβάπτιση στα διαλύματα των επικαλυπτικών μεμβρανών υπό εξέταση.

Αρχικά, τα δείγματα ανά πέντε εμβαπτίζονται σε ένα από τα παρακάτω διαλύματα:

- Αλγινικό νάτριο 2% w/v
- Διάλυμα αλγινικού νατρίου- πολυσακχαριτών αλόης σε αναλογία 50:50
- Διάλυμα αλγινικού νατρίου- πολυσακχαριτών αλόης σε αναλογία 30:70

Η εμβάπτιση γίνεται στους 25°C για 4 min. Ακολουθεί εμβάπτιση για 30 s στο διάλυμα CaCl<sub>2</sub> 2% w/v. Καθένα από τα 5 δείγματα που εμβαπτίζονται στο ίδιο διάλυμα επικάλυψης, αντιστοιχεί σε μία ημέρα δειγματοληψίας, ενώ σε κάθε επικαλυπτικό αντιστοιχούν συνολικά 25 φράουλες. Τα φρούτα απλώνονται εκ νέου σε σχάρα για να απομακρυνθεί η περίσσεια CaCl<sub>2</sub> και για να στεγνώσουν. 5 δείγματα (25 φράουλες) δεν εμβαπτίζονται και αποτελούν δείγματα ελέγχου. Οι 4 ομάδες δειγμάτων -βάσει επικαλυπτικού- τοποθετούνται σε 20 προζυγισμένους περιέκτες, ζυγίζονται και η μάζα τους καταγράφεται.

Στη συνέχεια, οι περιέκτες με τα φρούτα οδηγούνται προς συντήρηση στους 4°C, για 15 ημέρες. Στο διάστημα αυτό, πραγματοποιούνται δειγματοληψίες την 1<sup>η</sup>, 4<sup>η</sup>, 8<sup>η</sup>, 12<sup>η</sup>

και 15<sup>η</sup> ημέρα από τα αντίστοιχα δείγματα κάθε ομάδας και μετρούνται οι εξής ιδιότητες: απώλεια βάρους, σκληρότητα, ολικά διαλυτά στερεά (%BRIX), pH, οξύτητα, δείκτης αμαύρωσης, χρώμα, οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, βιταμίνη C, αντιοξειδωτικά συστατικά, περιεχόμενο ανθοκυανινών και φαινολικών συστατικών, ενεργότητα πηκτινομεθυλεστεράσης, πολυφαινολοξειδάσης και β-γλυκοζιδάσης. Πραγματοποιείται επίσης μικροβιολογικός έλεγχος.

## 2.4 ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ-ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ

### 2.4.1 ΜΕΤΡΗΣΗ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΧΥΜΟΥ *A. VERA*

#### 2.4.1.1 Προσδιορισμός ολικών διαλυτών στερεών (TSS)

Για τον συγκεκριμένο προσδιορισμό, χρησιμοποιείται ψηφιακό διαθλασίμετρο ORF-B (KERN & SOHN GmbH, Germany). Ως τυφλό δείγμα, για να μηδενιστεί το όργανο, χρησιμοποιείται απιονισμένο νερό. Κατόπιν, πραγματοποιούνται 4 επαναληπτικές μετρήσεις με λίγες σταγόνες ομογενοποιημένου παρεγχύματος *A. Vera* και τα αποτελέσματα εμφανίζονται σε %BRIX. Οι μετρήσεις γίνονται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος περίπου 25,5°C.

#### 2.4.1.2 Μέτρηση pH

Η μέτρηση γίνεται στους 25,7°C, σε δείγμα χυμού αλόης, με χρήση του pH-μετρου EA 940 (ORION Scientific, Limena (PD), Italy) με υάλινο ηλεκτρόδιο.

#### 2.4.1.3 Προσδιορισμός ενεργότητας νερού

Για τον προσδιορισμό αυτό χρησιμοποιείται το όργανο μέτρησης ενεργότητας νερού HP23-AW-A (Rotronic Instruments PTE LTD, Singapore). Το δοχείο δείγματος για υγρά υλικά γεμίζεται με λίγα mL χυμού αλόης, και το όργανο μετρά εντός μερικών λεπτών τόσο την ενεργότητα νερού  $a_w$  του χυμού, όσο και τη θερμοκρασία.





Εικόνα 9 : Όργανο μέτρησης  $a_w$  HP23-AW-A (Rotronic Instruments PTE LTD, Singapore).

#### 2.4.1.4 Προσδιορισμός δείκτη διάθλασης

Ο δείκτης διάθλασης του χυμού *A.Vera* μετά από ομογενοποίηση του παρεγχύματος, προσδιορίζεται με αναλογικό διαθλασίμετρο ABBE (Atago Co., Ltd. Japan). 3-4 σταγόνες χυμού τοποθετούνται στο πρίσμα και το όργανο ρυθμίζεται κατάλληλα ώστε να γίνει η μέτρηση του δείκτη διάθλασης.

#### 2.4.1.5 Προσδιορισμός ιξώδους

Το ιξώδες του χυμού από παρέγχυμα *A.Vera* προσδιορίζεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος 25,5°C με χρήση ιξωδόμετρου Brookfield LVT (Brookfield Engineering Laboratories Inc, Massachusetts, USA). Γίνονται μετρήσεις σε χυμό που περιέχεται σε ποτήρι ζέσεως 600 mL, με τα στελέχη LV-2 και LV-3, σε ταχύτητες 6 και 30 rpm.

#### 2.4.1.6 Μέτρηση περιεκτικότητας σε βιταμίνη C

Η μέθοδος στηρίζεται στην οξειδωτική ογκομέτρηση του ασκορβικού οξέος (βιταμίνη C) με 2,6-διχλωροϊνδοφαινόλη (DCIP). Το L-ασκορβικό οξύ οξειδώνεται προς δεϋδροασκορβικό οξύ και έπειτα προς δικετογουλονικό οξύ. Το DCIP αντιδρά μόνο με L-ασκορβικό οξύ προς σχηματισμό άχρωμου συμπλόκου. Το τέλος προς αντίδρασης σηματοδοτείται με εμφάνιση ρόδινου χρώματος που παραμένει για τουλάχιστον 5 s και αποδίδεται σε περίσσεια DCIP. Η χρωστική αυτή σε ουδέτερο ή αλκαλικό περιβάλλον είναι κυανού χρώματος, ενώ σε όξινο το χρώμα της είναι ροζ. Ένα μειονέκτημα της μεθόδου είναι πως δεν προσδιορίζει το D-ασκορβικό οξύ που συνήθως συνυπάρχει με το L-ασκορβικό οξύ.

Προκειμένου να προσδιοριστεί το περιεχόμενο των δειγμάτων φράουλας σε ασκορβικό οξύ, προετοιμάζονται τα ακόλουθα διαλύματα.

Προς παρασκευή διαλύματος  $\text{HPO}_3\text{-HOAc}$  (διάλυμα 1), διαλύονται 15 g  $\text{HPO}_3$  σε σφαιρική φιάλη των 500 mL που περιέχει 40 mL  $\text{HOAc}$  και 200 mL  $\text{H}_2\text{O}$ . Ο όγκος συμπληρώνεται έως τα 500 mL με  $\text{H}_2\text{O}$  και ακολουθεί απλή διήθηση. Το εν λόγω διάλυμα χρησιμεύει ως σταθεροποιητικός παράγοντας για την αποφυγή οξείδωσης του ασκορβικού οξέος αλλά και ως ρυθμιστής του pH για την αντίδραση.

Έπειτα, προετοιμάζεται το πρότυπο διάλυμα ασκορβικού οξέος 1 mg/mL (διάλυμα 2). 50 mg ασκορβικού οξέος που ζυγίζονται σε αναλυτικό ζυγό ακριβείας αναμιγνύονται με 50 mL διαλύματος 1.

Τέλος, για τον τιτλοδότη (διάλυμα 3) διαλύονται 50 mg μετά νατρίου 2,6-διχλωροϊνδοφαινόλης (αντ/ριο Tillman) σε 50 mL  $\text{H}_2\text{O}$  που περιέχουν 42 mg  $\text{NaHCO}_3$ . Ακολουθεί ανάμιξη, αραίωση στα 200 mL με νερό και απλή διήθηση.

Πριν την ανάλυση του χυμού αλόης, τιτλοδοτείται το πρότυπο διάλυμα ασκορβικού οξέος. Σε κωνική φιάλη των 50 mL προστίθενται 5 mL διαλύματος 1 και 2 mL διαλύματος 2. Αυτό τιτλοδοτείται γρήγορα με το διάλυμα 3 μέχρι την εμφάνιση ελαφρώς ροζ χρώματος που παραμένει για 5 s.

Για την τιτλοδότηση του χυμού *A. Vera* άγνωστης συγκέντρωσης ως προς τη βιταμίνη C, 2 mL χυμού προστίθενται σε 5 mL διαλύματος 1 και γίνεται τιτλοδότηση με διάλυμα 3 μέχρι την αλλαγή χρώματος. Σημειώνονται οι καταναλισκόμενοι όγκοι διαλύματος DCIP.

Έστω  $\alpha$  τα mL διαλύματος DCIP που καταναλώθηκαν για την τιτλοδότηση του πρότυπου διαλύματος 1mg/mL σε ασκορβικό οξύ. Κατά συνέπεια, τα  $\alpha$  mL αντιστοιχούν σε 2 mg βιταμίνης C. Αν για την τιτλοδότηση απαιτούνται  $\beta$  mL τιτλοδότη, αυτά αντιστοιχούν σε  $2 \cdot \beta / \alpha$  mg βιταμίνης C. Το αποτέλεσμα πολλαπλασιάζεται με τυχόν αραίωση του δείγματος και εκφράζεται ως mg Vit C σε 100 mL χυμού.

#### 2.4.1.7 Προσδιορισμός οξύτητας

10 g χυμού από παρέγχυμα αλόης μεταφέρονται σε κωνική φιάλη μαζί με 90 mL απιονισμένου νερού και 2-3 σταγόνες δείκτη φαινολοφθαλεΐνης. Ακολουθεί ογκομέτρηση με 0,1 N  $\text{NaOH}$  μέχρι την εμφάνιση ροζ χρώματος. Η οξύτητα εκφράζεται ως προς μηλικό οξύ και δίνεται από την παρακάτω σχέση:

$$\text{Οξύτητα (ως προς μηλικό οξύ) \%} = 100 \cdot \frac{V_{\text{NaOH}} \cdot 0,1 \cdot 0,067}{10}$$

Όπου,

$V_{NaOH}$ : Ο καταναλισκόμενος όγκος NaOH κατά την ογκομέτρηση (mL).

#### 2.4.1.8 Προσδιορισμός υγρασίας και τέφρας

7 g χυμού αλόης ζυγίζονται σε αναλυτικό ζυγό ακριβείας ( $m_{a.vera}$ ) ενώ μεταφέρονται σε καθαρό και προζυγισμένο με ίδια ακρίβεια χωνευτήριο πορσελάνης ( $m_{vessel}$ ). Το μικτό βάρος καταγράφεται ( $m_{ολ}$ ). Με αυτόν τον τρόπο προετοιμάζονται 4 δείγματα, 2 για κάθε ανάλυση.

Για τον προσδιορισμό υγρασίας τα δείγματα τοποθετούνται σε πυριαντήριο στους 110°C έως σταθερού βάρους. Αφού τα χωνευτήρια αφαιρεθούν από εκεί, οδηγούνται σε ξηραντήρα για 30 min για να ψυχθούν στη θερμοκρασία περιβάλλοντος. Το μικτό βάρος καταγράφεται εκ νέου μετά την ξήρανση ( $m_{d.w.}$ ).

Αντίστοιχα, για τον προσδιορισμό της τέφρας, τα δείγματα που ζυγίζονται στα χωνευτήρια, μεταφέρονται σε πυριαντήριο στους 500-550°C προς αποτέφρωση. Σημειώνεται πως η τέφρα δεν πρέπει να έχει μαύρο χρώμα καθώς αυτό υποδεικνύει ατελή καύση. Μετά το πέρας της αποτέφρωσης, τα δοχεία τοποθετούνται σε ξηραντήρα για να ψυχθούν και το μικτό βάρος του χωνευτηρίου με την τέφρα καταγράφεται ( $m_{final}$ ).

$$\text{Υγρασία (\%)} = 100 \cdot \frac{m_{ολ} - m_{d.w.}}{m_{a.vera}}$$

$$\text{Τέφρα (\%)} = 100 \cdot \frac{m_{final} - m_{vessel}}{m_{a.vera}}$$

### 2.4.1.9 Μέτρηση χρώματος

Για τη μέτρηση αυτή χρησιμοποιείται το χρωματόμετρο Minolta CR-300 (Minolta Company, Chuo-Ku, Osaka, Japan).



Εικόνα 10: Χρωματόμετρο Minolta CR-300 (Minolta Company, Chuo-Ku, Osaka, Japan)

Το όργανο αυτό ποσοτικοποιεί το χρώμα με βάση το χρωματικό σύστημα CIE Lab, που προτάθηκε το 1976. Πρόκειται για ένα τριορθογώνιο σύστημα με άξονες τα μεγέθη  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ . Τα μεγέθη  $a^*$  και  $b^*$  αντιπροσωπεύουν από ένα ζεύγος χρωμάτων. Αρνητικές τιμές του  $a^*$  αντιστοιχούν σε πράσινο χρώμα και θετικές σε κόκκινο. Αντίστοιχα, αρνητικό  $b^*$  αντιστοιχεί σε μπλε χρώμα και θετικό  $b^*$  σε κίτρινο. Οι δύο άξονες τέμνονται στο ουδέτερο (αχρωματικό) σημείο. Ο άξονας κάθετος στο επίπεδο αυτών των δύο είναι του μεγέθους  $L^*$  και αντιστοιχεί στη φωτεινότητα. Το  $L^*$  παίρνει τιμές από 0 έως 100. Υψηλές τιμές συνδέονται με φωτεινά χρώματα, προς το λευκό ( $L^*=100$ ), ενώ οι αρνητικές δείχνουν χαμηλή φωτεινότητα με το μαύρο χρώμα να έχει  $L^*=0$ .

Ένα χρωματόμετρο, προκειμένου να αποδώσει σε αυτά τα μεγέθη τιμές χαρακτηριστικές για το εκάστοτε δείγμα, συγκρίνει τις μετρήσεις με τις τιμές χρώματος μιας πρότυπης λευκής επιφάνειας την οποία σαρώνει κατά τη διάρκεια της βαθμονόμησης. Οι μετρήσεις γίνονται με προκαθορισμένη φωτεινή πηγή του οργάνου προκειμένου η αξιολόγηση του χρώματος να είναι ανεξάρτητη από τις συνθήκες φωτισμού του περιβάλλοντος.

Σημειώνεται πως ο τρόπος που το ανθρώπινο μάτι αντιλαμβάνεται τα χρώματα βασίζεται στα μεγέθη της φωτεινότητας, της χροιάς και του κορεσμού. Τα δύο τελευταία μπορούν να προκύψουν εύκολα από τα μεγέθη  $a^*$  και  $b^*$ , με μετατροπή από καρτεσιανές σε πολικές συντεταγμένες. Ο κορεσμός προκύπτει από την πολική ακτίνα, σύμφωνα με τον τύπο:

$$chroma \text{ (κορεσμός)} = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}.$$

Η χροιά είναι ίση με τη γωνία που σχηματίζει ο καρτεσιανός άξονας  $a^*$  με την πολική ακτίνα.

$$hue \text{ (χροιά)} = \tan^{-1} \left( \frac{b^*}{a^*} \right), a^* > 0, b^* \geq 0$$

$$hue = 180^\circ + \tan^{-1} \left( \frac{b^*}{a^*} \right), a^* < 0$$

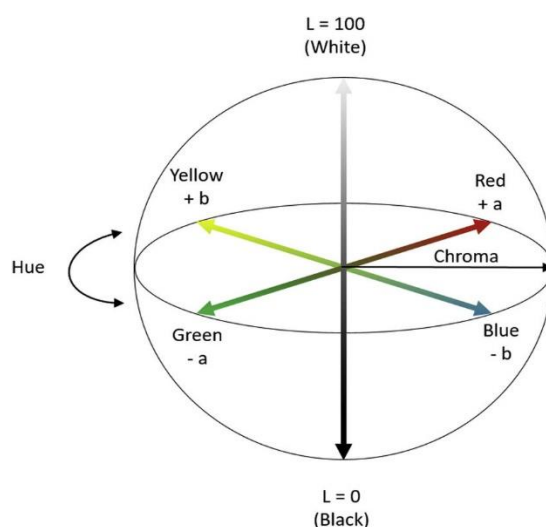
$$hue = 360^\circ + \tan^{-1} \left( \frac{b^*}{a^*} \right), a^* > 0, b^* < 0$$

$$hue = 0^\circ, a^* = 0 \text{ και } b^* = 0$$

$$hue = 90^\circ, a^* = 0 \text{ και } b^* > 0$$

$$hue = 270^\circ, a^* = 0 \text{ και } b^* < 0$$

Για τη μέτρηση τοποθετούνται 30mL χυμού σε διαφανές τρυβλίο. Προσοχή χρειάζεται ώστε ο χυμός να βρίσκεται σε λευκό φόντο (χρήση λευκού χαρτιού), προκειμένου να μην επηρεαστεί η μέτρηση από τον περιβάλλοντα χώρο. Λαμβάνονται 5 επαναληπτικές μετρήσεις από το δείγμα.



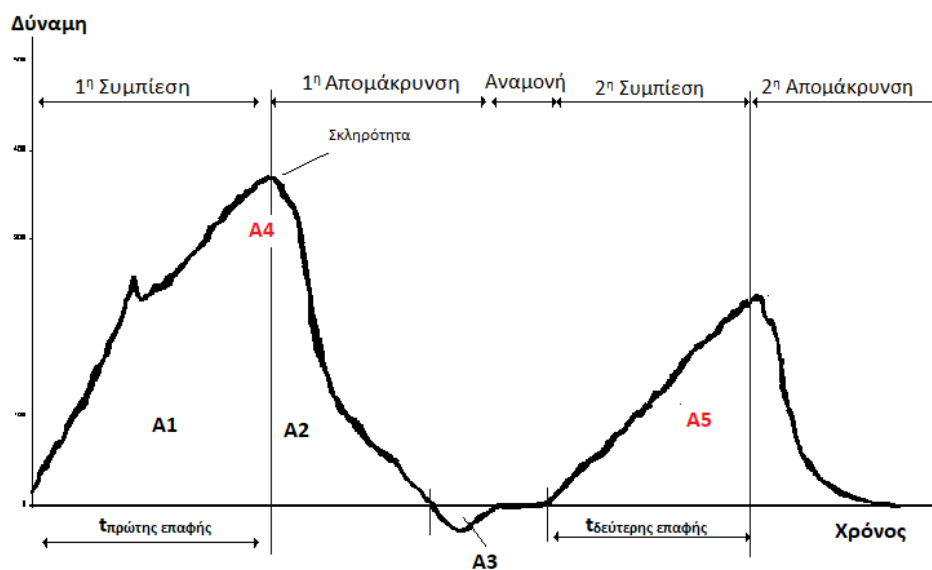
Εικόνα 11: Απεικόνιση του χρωματικού χώρου CIE Lab.

#### 2.4.1.10 Ανάλυση υφής

Η ανάλυση υφής του χυμού *A.Vera* γίνεται σε αναλυτή υφής HD-Plus (Stable Micro Systems Ltd., UK) και με το λογισμικό Texture Expert Exceed. Το αισθητήριο υφής είναι ορθογώνιου σχήματος, με διαστάσεις 50×75 mm, και εισέρχεται στο δείγμα με ταχύτητα 0,5 mm/s και σε βάθος 1 mm. Το δείγμα χυμού τοποθετείται σε δοχείο διαστάσεων 60×100×10 mm, ώστε το αισθητήριο να καλύπτει κατά τη μέτρηση το μεγαλύτερο μέρος της ελεύθερης επιφάνειας του ρευστού. Η θερμοκρασία περιβάλλοντος κατά τις μετρήσεις βρίσκεται στους 25-26°C. Το αισθητήριο σε μία ανάλυση υφής πραγματοποιεί κατακόρυφη συμπίεση δύο κύκλων. Η δύναμη συμπίεσης καταγράφεται συναρτήσει του χρόνου. Με τη βοήθεια του διαγράμματος αυτού, υπολογίζονται η σκληρότητα, η προσκολλησιμότητα, η ελαστικότητα, η συνεκτικότητα, η πλαστικότητα, το κομμιώδες και η μασητικότητα. Λαμβάνονται 2

επαναληπτικές μετρήσεις για το δείγμα χυμού και παρουσιάζονται τελικά οι αριθμητικοί μέσοι όροι.

Η σκληρότητα αντιστοιχεί στη μέγιστη τιμή δύναμης κατά τη πρώτη συμπίεση. Η προσκολλησιμότητα, ορίζεται ως το έργο που απαιτείται για την απομάκρυνση του υπό εξέταση δείγματος από μία επιφάνεια. Υπολογίζεται από το διάγραμμα ως το εμβαδό της πρώτης αρνητικής κορυφής ( $A_3$ ). Η ελαστικότητα, που δείχνει κατά πόσο επανέρχεται το δείγμα στο αρχικό του σχήμα μετά τη συμπίεση, προκύπτει μέσω του λόγου της απόστασης του εμβόλου στον χρόνο πρώτης επαφής και της απόστασης στον χρόνο δεύτερης επαφής. Η συνεκτικότητα σχετίζεται με την ισχύ των εσωτερικών δεσμών στο τρόφιμο. Προσδιορίζεται από το διάγραμμα δύναμης στο χρόνο ως ο λόγος του εμβαδού κορυφής στο δεύτερο κύκλο συμπίεσης προς το αντίστοιχο εμβαδό του πρώτου κύκλου ( $A_5/A_4$ ). Όσον αφορά την πλαστικότητα, από την επιφάνεια της πρώτης κορυφής προκύπτουν δύο επιμέρους εμβαδά, αυτό έως το χρόνο που εμφανίζεται το μέγιστο ( $A_1$ ) και το εμβαδό που απομένει ( $A_2$ ). Η πλαστικότητα είναι ο λόγος  $A_2/A_1$ . Τέλος, το κομμιώδες είναι το γινόμενο της σκληρότητας και της συνεκτικότητας, ενώ η μασητικότητα το γινόμενο του κομμιώδους με την ελαστικότητα (Yusof et al., 2019; Χημεία, Μικροβιολογία Και Αρχές Συντήρησης Τροφίμων, Εργ. Ασκήσεις, 2019).



Εικόνα 12: Τυπικό διάγραμμα δύναμης στο χρόνο για κατακόρυφη συμπίεση δύο κύκλων

## 2.4.2 ΜΕΤΡΗΣΗ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΣΤΟ ΙΖΗΜΑ ΚΑΙ ΣΤΟ ΚΛΑΣΜΑ ΑΚΕΜΑΝΝΑΝΗΣ ΑΠΟ ΧΥΜΟ *A. VERA*.

### 2.4.2.1 Μέτρηση αποδόσεων καταβύθισης AIRs

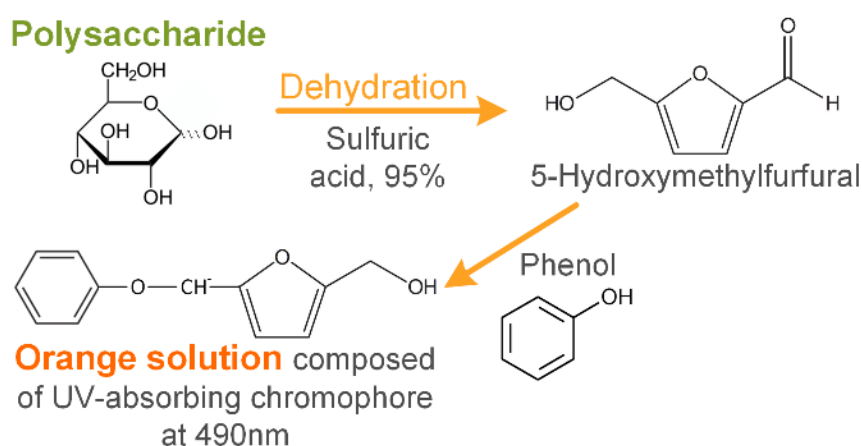
Σε όλες τις σειρές πειραμάτων, μετά την καταβύθιση, ζυγίζεται το ίζημα που παραλαμβάνεται από τη φυγοκέντρηση σε αναλυτικό ζυγό ακριβείας ( $m_{\text{ιζημα}}$ ).

Η απόδοση υπολογίζεται ως προς το ξηρό βάρος του χυμού *A. Vera* ( $m_{\text{ξ.β. aloe}}$ ).

$$\text{Απόδοση εκχύλισης (\%)} = 100 \cdot \frac{m_{\text{ιζημα}}}{m_{\text{ξ.β. aloe}}}$$

### 2.4.2.2 Μέτρηση περιεχομένου ολικών πολυσακχαριτών

Ο προσδιορισμός των πολυσακχαριτών γίνεται με τη μέθοδο DuBois et al., (1956). Πρόκειται για φασματοφωτομετρική μέθοδο υπολογισμού περιεκτικότητας δείγματος σε πολυσακχαρίτες, εκφρασμένης ως γλυκόζη. Βασίζεται στην υδρόλυση πολυσακχαριτών σε μονομερή -όπως η γλυκόζη, μαννόζη και γαλακτόζη- με θειικό οξύ και στην αντίδραση φαινόλης και θειικού οξέος παρουσία των μονομερών αυτών. Η τελευταία αντίδραση συνοδεύεται με εμφάνιση πορτοκαλί χρώματος. Η συγκέντρωση μονομερών ποσοτικοποιείται μέσω της μέτρησης απορρόφησης στα 485nm. Εκτός από πολυσακχαρίτες, με τη μέθοδο αυτή προσδιορίζονται και απλά σάκχαρα, ολιγοσακχαρίτες και παράγωγα αυτών.



Εικόνα 13: Σχηματική απεικόνιση αντίδρασης στην οποία βασίζεται η μέθοδος Dubois (Viel et al., 2018).

Πριν την επεξεργασία των δειγμάτων, είναι απαραίτητη η δημιουργία της γραμμής βαθμονόμησης γλυκόζης. Για το λόγο αυτό, προετοιμάζονται διαλύματα γλυκόζης σε απιονισμένο νερό με συγκεντρώσεις 0, 0,02, 0,04, 0,06, 0,08 και 0,1 mg/mL. Σε δοκιμαστικούς σωλήνες μεταφέρεται 1 mL από κάθε διάλυμα. Προστίθενται 2,5 mL

πυκνού  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (18,025 M) και απευθείας 0,5 mL δ/τος φαινόλης 5% w/v. Τα δείγματα αφήνονται να ψυχθούν για 30 min και ακολουθεί τελικά φωτομέτρηση στα 485 nm. Από τη συσχέτιση των γνωστών συγκεντρώσεων γλυκόζης με τις αντίστοιχες απορροφήσεις στα 485 nm, προκύπτει η γραμμή βαθμονόμησης, που περιγράφεται από τη σχέση:

$$C_{\text{γλυκόζης}}(\text{mg/mL}) = 0,1245 \cdot A_{485} + 0,0035 \quad (\text{A})$$

Όσον αφορά τα δείγματα προς ανάλυση, αυτά βρίσκονται σε ξηρή μορφή, έπειτα από λυοφιλίωση. Αρχικά σε καθαρό και στεγνό δοκιμαστικό σωλήνα ζυγίζονται 5 mg ( $\pm 10\%$ ) ξηρού δείγματος σε αναλυτικό ζυγό ακριβείας και η μάζα καταγράφεται. Κατόπιν προσθήκης 2mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1M, το δείγμα θερμαίνεται σε υδατόλουτρο στους  $90^\circ\text{C}$  για 1h ώστε να πραγματοποιηθεί η υδρόλυση σύνθετων πολυσακχαριτών. Μαζί τοποθετείται και το τυφλό δείγμα, που περιέχει μόνο 2mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1M. Ακολουθεί φυγοκέντρηση σε δοχεία erpendorf για 10 min σε 5000 rpm. Από το υπερκείμενο υγρό, 100  $\mu\text{L}$  αναμιγνύονται σε δοκιμαστικό σωλήνα με 900  $\mu\text{L}$  απιονισμένο νερό. Σε αυτά προστίθενται 2.5 mL πυκνού  $\text{H}_2\text{SO}_4$  και απευθείας 0,5 mL δ/τος φαινόλης 5% w/v. Αφού τα δείγματα ψυχθούν για 30 min, μετρείται η απορρόφηση στα 485nm.

Από την γραμμή βαθμονόμησης (σχέση A) υπολογίζεται μέσω της απορρόφησης  $A_{485}$  η συγκέντρωση πολυσακχαριτών εκφρασμένη ως ισοδύναμη συγκέντρωση γλυκόζης (mg/mL). Αυτή αφορά το διάλυμα με 100  $\mu\text{L}$  υπερκείμενο αραιωμένο σε 900  $\mu\text{L}$  νερό (1:10 αραιώση). Η συγκέντρωση ως προς το ξηρό δείγμα που χρησιμοποιήθηκε προκύπτει ως εξής:

$$C_{\text{δείγματος}}(\text{mg γλυκόζης/mg ξ. β. δείγματος}) = \frac{C_{\text{τελ}} \cdot 10 \cdot V_0}{m_{\text{δείγμα}}},$$

Όπου,

$C_{\text{τελ}}$  (mg γλυκόζης/mL) η συγκέντρωση που προκύπτει από την απορρόφηση για το αραιωμένο δείγμα,

$V_0 = 2$  mL, ο όγκος στον οποίο διαλύεται το ξηρό δείγμα προς ανάλυση και

$m_{\text{δείγμα}}$  (mg) η μάζα ξηρού δείγματος προς ανάλυση.

Η μέθοδος αυτή εφαρμόζεται για τον προσδιορισμό του περιεχομένου ολικών πολυσακχαριτών σε δείγμα χυμού αλόης που παραλαμβάνεται και οδηγείται προς ξήρανση πριν το στάδιο της αιθανολικής καταβύθισης.

Επιπλέον, από το τελικό κλάσμα ακεμαννάνης (μετά την καταβύθιση, το διαχωρισμό, τη διήθηση και ξήρανση) λαμβάνονται 5 mg προς μέτρηση της περιεκτικότητας σε πολυσακχαρίτες με τη μέθοδο αυτή.



### 2.4.2.3 Προσδιορισμός ακεμαννάνης

Το τελικό ξηρό κλάσμα πολυσακχαριτών που παραλαμβάνεται κρίνεται ως προς το περιεχόμενό του σε ακεμαννάνη, τον σημαντικότερο από τους πολυσακχαρίτες του φυτού της αλόης. Ο προσδιορισμός αυτός πραγματοποιείται με χρήση υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC). Η μέθοδος που ακολουθείται είναι αυτή των Badar et al (2017), με ορισμένες τροποποιήσεις. Πριν την εν λόγω ανάλυση, το δείγμα προετοιμάζεται ως ακολούθως. 5mg ξηρού κλάσματος πολυσακχαριτών μετά τη λυοφιλίωση διαλυτοποιείται πλήρως σε 2 mL απιονισμένο νερό. 1 g από το δείγμα αυτό αραιώνεται σε 50 mL MeOH:H<sub>2</sub>O (20:80) και στη συνέχεια οδηγείται σε λουτρό υπερήχων για 15 min. Μετά το πέρας των υπερήχων, το δείγμα αναδεύεται σε vortex και φιλτράρεται με φίλτρο 0,45 μm (Chromafil PVDF-45/25, Macherey-Nagel, Germany). Η στήλη που χρησιμοποιείται είναι η C-18 (250 mm x 4,6 mm) σε θερμοκρασία 37°C. Η κινητή φάση αποτελείται από 20% μεθανόλη και 80% νερό ενώ προτού μεταφερθεί στο σύστημα HPLC τοποθετείται σε υπερήχους για 20 min προς απομάκρυνση φυσαλίδων αέρα που μπορεί να υπάρχουν. Η ανάλυση πραγματοποιείται με ισοκρατική έκκλουση με ροή 1,0 mL/min και όγκο ένεσης 20 μL. Η διάρκεια ολικής ανάλυσης κάθε δείγματος είναι 10 min και ακολουθεί πλύση με 100% μεθανόλη για 5 min. Η ανίχνευση γίνεται στα 210 nm και ο χρόνος κατακράτησης αναμένεται στα 2,1 min (Badar, 2017a).

Τελικά, τα χρωματογραφήματα που λαμβάνονται για κάθε δείγμα συγκρίνονται ως προς τα εμβαδά χαρακτηριστικής κορυφής της ακεμαννάνης.

Ο προσδιορισμός της ακεμαννάνης αφορά τα δείγματα που προκύπτουν από την κύρια σειρά πειραμάτων.

## 2.4.3 ΜΕΛΕΤΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΩΝ ΑΛΟΗΣ ΣΕ ΕΔΩΔΙΜΕΣ ΕΠΙΚΑΛΥΠΤΙΚΕΣ ΜΕΜΒΡΑΝΕΣ - ΜΕΤΡΗΣΗ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΦΡΑΟΥΛΑΣ ΣΤΟ ΧΡΟΝΟ

Όλες οι παρακάτω μετρήσεις γίνονται μετά από δειγματοληψία στις φράουλες από κάθε ομάδα δειγμάτων την 1<sup>η</sup>, 4<sup>η</sup>, 8<sup>η</sup>, 12<sup>η</sup> και 15<sup>η</sup> ημέρα συντήρησης.

### 2.4.3.1 Προσδιορισμός απώλειας βάρους

Κάθε ομάδα δειγμάτων ζυγίζεται σε κάθε δειγματοληψία και το καθαρό βάρος καταγράφεται. Η απώλεια βάρους για κάθε δείγμα υπολογίζεται ως εξής:

$$\text{Απώλεια βάρους \%} = 100 \cdot \frac{m_i - m_1}{m_1}$$

Όπου

$m_i$ : Το καθαρό βάρος κάθε ομάδας φρούτων την ημέρα  $i$  (1<sup>η</sup>, 4<sup>η</sup>, 8<sup>η</sup>, 12<sup>η</sup>, 15<sup>η</sup>) σε g.

$m_1$ : Το καθαρό βάρος κάθε ομάδας φρούτων την 1<sup>η</sup> ημέρα σε g.

### 2.4.3.2 Μέτρηση σκληρότητας φράουλας

Η μέτρηση σκληρότητας των φρούτων γίνεται σε αναλυτή υφής HD-Plus (Stable Micro Systems Ltd., UK) και με χρήση του λογισμικού Texture Expert Exceed για τον καθορισμό της σκληρότητας. Το αισθητήριο υφής έχει διάμετρο 2 mm, εισέρχεται στο φρούτο με ταχύτητα 0,5 mm/s και σε βάθος 7 mm. Όλες οι μετρήσεις γίνονται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, κοντά στους 25°C. 2 φράουλες από κάθε ομάδα δειγμάτων τοποθετούνται σε οριζόντια θέση στον αναλυτή υφής. Από κάθε φράουλα λαμβάνονται 2 μετρήσεις από το κεντρικό μέρος του φρούτου. Η δεύτερη μέτρηση γίνεται επίσης σε οριζόντια θέση, έπειτα από περιστροφή της φράουλας κατά 90°. Η σκληρότητα αντιστοιχεί στο μέγιστο κατά τη συμπίεση και καταγράφεται σε N όπως προκύπτει από το λογισμικό που αφορά τον αναλυτή υφής.

### 2.4.3.3 Μέτρηση ολικών διαλυτών στερεών (%BRIX)

Ο προσδιορισμός πραγματοποιείται με λίγες σταγόνες ομογενοποιημένης φράουλας από κάθε ομάδα δειγμάτων, σε ψηφιακό διαθλασίμετρο ORF-B (KERN & SOHN GmbH, Germany). Οι μετρήσεις γίνονται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος περίπου 25°C.

### 2.4.3.4 Μέτρηση pH

Ο προσδιορισμός του pH γίνεται με το pH-μετρο EA 940 (ORION Scientific, Limena (PD), Italy) και χρήση υάλινου ηλεκτροδίου. Η μέτρηση γίνεται μετά από ομογενοποίηση φράουλας της ομάδας δειγμάτων υπό εξέταση προς παραλαβή χυμού.

### 2.4.3.5 Μέτρηση οξύτητας

Σε αυτήν την περίπτωση, η οξύτητα υπολογίζεται ως προς κιτρικό οξύ. Σε 5 g χυμού φράουλας προστίθενται 45 mL απιονισμένο νερό και 2-3 σταγόνες δείκτη φαινολοφθαλεΐνης. Ακολουθεί ογκομέτρηση με 0,1 N NaOH μέχρι αλλαγής χρώματος.

$$\text{Οξύτητα \%} = 100 \cdot \frac{V_{\text{NaOH}} \cdot 0,1 \cdot 0,064}{5}$$

Όπου,

$V_{\text{NaOH}}$ : Ο καταναλισκόμενος όγκος NaOH κατά την ογκομέτρηση (mL).

#### 2.4.3.6 Μέτρηση δείκτη αμαύρωσης (BI)

Προκειμένου να μελετηθεί η επίδραση των επικαλυπτικών μεμβρανών στο χρόνο ζωής της φράουλας, παρακολουθείται μεταξύ άλλων το ενζυμικό μαύρισμα που συμβαίνει στα φρούτα κατά τη διάρκεια συντήρησης. Σε κάθε δειγματοληψία, φράουλα από κάθε ομάδα δειγμάτων εξετάζεται ως προς το δείκτη αμαύρωσης, σύμφωνα με τη μέθοδο των Saxena et al., (2012). 0,5 g ομογενοποιημένης φράουλας ζυγίζονται και προστίθενται 5 mL αιθανόλης 67% v/v. Το μίγμα αφήνεται προς εκχύλιση για 1 h. Επόμενο στάδιο είναι η διήθηση με διηθητικό χαρτί Whatman No. 1. Το διήθημα μεταφέρεται σε κυψελίδα και μετρείται -ως δείκτης αμαύρωσης- η απορρόφηση στα 420 nm ( $A_{420}$ ). Ως τυφλό δείγμα χρησιμοποιείται αιθανόλη 67% v/v.

#### 2.4.3.7 Μέτρηση χρώματος με χρωματόμετρο

Το όργανο που χρησιμοποιείται είναι το χρωματόμετρο Minolta CR-300 (Minolta Company, Chuo-Ku, Osaka, Japan). Από κάθε ομάδα δειγμάτων χρησιμοποιούνται 3 φράουλες και γίνεται διπλή φωτοβόληση στην καθεμιά, από κεντρικά σημεία των φρούτων. Τα αποτελέσματα προκύπτουν από τους μέσους όρους των μετρήσεων.

#### 2.4.3.8 Οργανοληπτικός έλεγχος

Σε κάθε δειγματοληψία (1<sup>η</sup>, 4<sup>η</sup>, 8<sup>η</sup>, 12<sup>η</sup> και 15<sup>η</sup> ημέρα) πραγματοποιείται οργανοληπτική αξιολόγηση σε φράουλες από κάθε ομάδα δειγμάτων, για να εξεταστεί η επίδραση των εδώδιμων επικαλυπτικών μεμβρανών που χρησιμοποιήθηκαν στα φρούτα. Τα χαρακτηριστικά που αξιολογούνται είναι το χρώμα, η γυαλάδα, η οσμή, η γεύση, η υφή στο στόμα, το άρωμα και η ωρίμανση. Επίσης, γίνεται εκτίμηση ως προς τη συνολική αρέσκεια. Η ομάδα δοκιμαστών αποτελείται από 3 άτομα και η κλίμακα αξιολόγησης κυμαίνεται από 1: λιγότερο έντονο χαρακτηριστικό (ή ανεπιθύμητο) έως 10: περισσότερο έντονο (ή απόλυτα αρεστό). Ως όριο αποδοχής ορίζεται η τιμή 5. Παρουσιάζεται πίνακας με τα κριτήρια βαθμολόγησης για κάθε χαρακτηριστικό.

Πίνακας 1: Κριτήρια αξιολόγησης οργανοληπτικών χαρακτηριστικών

**ΒΑΘΜΟΛΟΓΙΑ**

	$4 \geq \chi \geq 1$	$6 \geq \chi \geq 5$	$8 \geq \chi \geq 7$	$10 \geq \chi \geq 9$
<b>ΧΡΩΜΑ</b>	Φρούτα με 40-100% της επιφάνειάς τους γεμάτη με σκούρες κηλίδες.	Όχι περισσότερο από 40% της επιφάνειάς τους με ανεπιθύμητη απόκλιση από το έντονο κόκκινο χρώμα	Ελάχιστη απόκλιση από το επιθυμητό κόκκινο χρώμα.	Φρούτα με το βέλτιστο χρώμα (έντονο, ζωηρό και ομοιόμορφο κόκκινο χρώμα χωρίς σκούρες περιοχές)
<b>ΥΦΗ</b>	Φράουλα απορριπτέα, εντελώς μαλακή, με την επιδερμίδα να υποχωρεί στο άγγιγμα.	Φράουλα οριακά αποδεκτή, παρουσιάζει μειωμένη σκληρότητα.	Ικανοποιητική υφή ως προς την αντίσταση στο δάγκωμα, χωρίς να παρατηρείται τραγανότητα.	Βέλτιστη υφή της φράουλας. Αναμενόμενη σκληρότητα χωρίς να παρατηρείται τραγανότητα.
<b>ΓΥΑΛΑΔΑ</b>	Φρούτο απορριπτέο, καμία γυαλάδα (συνδυασμός με χειρίστο χρώμα).	Φρούτο οριακά αποδεκτό.	Φρούτο που ικανοποιείται.	Βέλτιστη γυαλάδα που συνδυάζεται με τη φρεσκάδα του φρούτου.
<b>ΟΣΜΗ</b>	Κυριαρχεί η οσμή χαλασμένου φρούτου.	Οριακά αποδεκτή οσμή. Πιθανή ύπαρξη οσμών μη χαρακτηριστικών για φράουλα.	Οσμή ικανοποιητική και αναμενόμενη.	Βέλτιστη οσμή, χαρακτηριστική της φράουλας.
<b>ΓΕΥΣΗ</b>	Γεύση ανεπιθύμητη που συνδέεται με χαλασμένο φρούτο.	Οριακά αποδεκτό φρούτο, ξεκινά η ανάπτυξη ανεπιθύμητης γεύσης.	Γεύση ικανοποιητική.	Βέλτιστη γεύση, φρουτένια και γλυκιά, χαρακτηριστική της φρέσκιας φράουλας.
<b>ΑΡΩΜΑ</b>	Απορριπτέο άρωμα, με έντονες μυρωδιές που δεν συνδέονται με το φρούτο υπό εξέταση ή/ και συνδυάζονται με χαλασμένο φρούτο.	Αποδεκτό ή οριακά αποδεκτό άρωμα.	Ικανοποιητικό άρωμα, αναμενόμενο για τη φράουλα.	Βέλτιστο άρωμα χαρακτηριστικό της φράουλας (γλυκό, φρουτένιο, με νότες καραμέλας και άρωμα πράσινων φύλλων (Schieberle & Hofmann, 1997)
<b>ΣΥΝΟΛΙΚΗ ΑΡΕΣΚΕΙΑ</b>	Η φράουλα δεν είναι καθόλου αρεστή.	Το φρούτο είναι αποδεκτό.	Το φρούτο είναι αρεστό.	Το φρούτο θεωρείται στη βέλτιστή του κατάσταση και είναι απολύτως αρεστό.

Σε όλα τα χαρακτηριστικά, υψηλές τιμές βαθμολόγησης αντιστοιχούν σε υψηλότερη αρέσκεια. Εξάιρεση αποτελεί η ωρίμανση. Σύμφωνα με τον τρόπο που ορίζεται η κλίμακα βαθμολόγησης, αύξηση της βαθμολογίας αντιστοιχεί σε αύξηση της ωρίμανσης. Τιμές μέχρι 3 αφορούν φρούτα άγουρα, που δεν είναι αρεστά προς

κατανάλωση. Με τιμές από 4 έως οριακά 8 βαθμολογούνται τα φρούτα που είναι ικανοποιητικά ώριμα για κατανάλωση (αύξηση βαθμού αντιστοιχεί σε αυξημένη ωριμότητα). Τέλος, για τιμές μεγαλύτερες από 8, το φρούτο θεωρείται υπερώριμο και απορριπτό ως προς την αρέσκεια.

#### 2.4.3.9 Μέτρηση περιεκτικότητας σε βιταμίνη C

Η μέθοδος πραγματοποιείται όπως περιγράφεται παραπάνω (Ενότητα 2.4.1.6.) Προετοιμάζονται τα διαλύματα  $\text{HPO}_3\text{-HOAc}$ , το πρότυπο διάλυμα ασκορβικού οξέος 1 mg/mL και ο τιτλοδότης, το διάλυμα DCIP.

2 mL πρότυπου διαλύματος προστίθενται σε 5 mL διαλύματος  $\text{HPO}_3\text{-HOAc}$  και τιτλοδοτούνται με το διάλυμα DCIP. Η ίδια διαδικασία ακολουθείται για τις φράουλες από κάθε ομάδα δειγμάτων, με αντικατάσταση των 2 mL πρότυπου διαλύματος, με 2 mL ομογενοποιημένης φράουλας. Σε αυτήν την περίπτωση χρειάζεται προσοχή καθώς το αρχικό διάλυμα, εξαιτίας της φράουλας, δεν είναι άχρωμο όπως στην περίπτωση της τιτλοδότησης του προτύπου.

#### 2.4.3.10 Αντιοξειδωτικά συστατικά

Η μέθοδος που επιλέγεται είναι αυτή των Brand-Williams et al., (1995). Η ουσία της έγκειται στην αξιοποίηση της ικανότητας των αντιοξειδωτικών συστατικών να δεσμεύουν το DPPH. Το DPPH (2,2 – διφαινυλ-1-πικρυλυδραζίλιο), είναι μία σταθερή οργανική ρίζα αζώτου με έντονο ιώδες χρώμα. Όταν αυτή δεσμεύεται από τα αντιοξειδωτικά συστατικά του υπό ανάλυση δείγματος, το αποτέλεσμα είναι αποχρωματισμός από έντονο ιώδες σε υποκίτρινο χρώμα.

Πειραματικά, η διαδικασία έχει ως εξής.

Αρχικά, προετοιμάζεται το εκχύλισμα φράουλας για κάθε ομάδα δειγμάτων. 300 mg πολτοποιημένου δείγματος φράουλας διαλυτοποιούνται σε 75% v/v μεθανόλη, ώστε η αραιώση να είναι 1:10.

3,9 mL αντιδραστηρίου DPPH αναμινύονται με 100  $\mu\text{L}$  εκχυλίσματος και ακολουθεί επώαση στους 25°C για 30 min. Αρχικά προσδιορίζεται η απορρόφηση του DPPH και η αλλαγή χρώματος λόγω δέσμευσής του από τα αντιοξειδωτικά συστατικά αποτυπώνεται ως μείωση της απορρόφησης στο πέρας του χρόνου επώασης. Οι μετρήσεις γίνονται στα 515nm και οι συγκεντρώσεις εκφράζονται αρχικά σε mg/mL Trolox Equivalent, με βάση δηλαδή την ικανότητα δέσμευσης των ελεύθερων ριζών του Trolox.

Η γραμμή βαθμονόμησης δημιουργήθηκε με χρήση Trolox στη θέση του εκχυλίσματος, σε συγκεντρώσεις από 0,08-0,2 mg/mL.

Εξίσωση γραμμής βαθμονόμησης:

$$C_{Trolox} (mg/mL TE) = \frac{A_{510} + 0,0741}{3,3065}$$

Όπου  $C_{Trolox}$  η αντιοξειδωτική ικανότητα ισοδύναμη με Trolox (σε mM) και  $A_{510}$  η απορρόφηση των δειγμάτων στα 515nm.

Τελικά, οι συγκεντρώσεις που αφορούν τα δείγματα φράουλας μετατρέπονται σε mg Trolox/g φράουλας.

#### 2.4.3.11 Μέτρηση περιεχομένου ανθοκυανινών

Η διαδικασία αυτή καλείται «μέθοδος του διαφορικού pH» (Giusti & Wrolstad, 2001) και στηρίζεται σε αναστρέψιμες δομικές μεταβολές που υφίστανται οι χρωστικές της ανθοκυανίνης καθώς μεταβάλλεται το pH, οι οποίες φαίνονται σε διαφορετικά φάσματα απορρόφησης. Βασικό πλεονέκτημα της μεθόδου είναι ο σύντομος και ακριβής προσδιορισμός ακόμη και στην περίπτωση ύπαρξης παρεμποδιστικών ενώσεων, όπως οι πολυμερισμένες αποικοδομημένες χρωστικές.

Κατ' αρχάς προετοιμάζονται τα απαραίτητα διαλύματα για τη μέθοδο.

Για το ρυθμιστικό διάλυμα χλωριούχου καλίου (KCl) pH 1,0 προστίθενται 1,86 g KCl σε 980 mL H<sub>2</sub>O σε σφαιρική φιάλη. Το pH ρυθμίζεται στο 1,0 με HCl και στο διάλυμα προστίθεται νερό έως το 1 L.

Το ρυθμιστικό διάλυμα οξικού νατρίου (CH<sub>3</sub>COONa) pH 4,5, απαιτεί 54,43 g CH<sub>3</sub>COONa\*3H<sub>2</sub>O που διαλύονται σε 960 mL νερού. Ακολουθεί προσαρμογή του pH σε 4,5 με χρήση HCl, μεταφορά του διαλύματος σε σφαιρική φιάλη και συμπλήρωση με νερό ως το 1 L.

Ως πρότυπο διάλυμα χρησιμοποιείται γλυκοζίτης της κυανιδίνης σε 0,1% HCl και 75% μεθανόλη σε συγκεκριμένες συγκεντρώσεις από 20 έως 1000 mg/L.

Επόμενο βήμα είναι η εκχύλιση, που επιτυγχάνεται με διαλυτοποίηση 300mg ξηρού (με λυοφιλίωση) κονιοποιημένου δείγματος φράουλας σε 5 mL 0,1% HCl και 75% μεθανόλη και μεταφορά αυτού σε λουτρό υπερήχων στους 40°C για 1 h. Ακολουθεί φυγοκέντρηση στις 10000 στροφές για 10 min. Το εκχύλισμα ογκομετρείται μετά από παραλαβή του με διήθηση. (Εκχύλισμα A)

1 mL από το εκχύλισμα μεταφέρεται σε ογκομετρική φιάλη των 10 mL προς αραιώση με ρυθμιστικό διάλυμα KCl pH 1,0, ενώ η ίδια αραιώση γίνεται και με ρυθμιστικό διάλυμα οξικού νατρίου pH 4,5. Οι αραιώσεις αφήνονται για 30 min ώστε να ισορροπήσουν προτού μετρηθεί η απορρόφηση τους στα 520 και 700 nm. Σημειώνεται πως μετά το πέρας μιας ώρας από την προετοιμασία των δειγμάτων οι

μετρήσεις που λαμβάνονται τείνουν να αυξάνονται, επομένως προτιμάται η λήψη των απορροφήσεων σε διάστημα 15-60 min μετά την προετοιμασία.

Η απορρόφηση του αραιωμένου δείγματος (A) υπολογίζεται ως εξής:

$$A = (A_{520} - A_{700})_{pH\ 1,0} - (A_{520} - A_{700})_{pH\ 4,5}$$

Η συγκέντρωση μονομερούς ανθοκυανίνης στο αρχικό δείγμα δίνεται από τον τύπο (βάσει του γλυκοζίτη της κυανιδίνης):

$$TAC(mg/L) = \frac{A \cdot MW \cdot DF \cdot 10^3}{\epsilon \cdot l}$$

Όπου,

A: η απορρόφηση του αραιωμένου δείγματος,

MW: 449,2 g/mol (μοριακό βάρος του γλυκοζίτη της κυανιδίνης),

$$DF = \frac{V_f}{V_i} = \frac{\text{όγκος δείγματος} + \text{όγκος διαλύτη}}{\text{όγκος δείγματος}},$$

E = 26900 L/mol·cm για το γλυκοζίτη κυανιδίνης,

l (cm): πλάτος κυψελίδας.

#### 2.4.3.12 Μέτρηση περιεχομένου σε φαινολικά συστατικά

Προκειμένου να κριθεί η αποτελεσματικότητα των εδώδιμων επικαλυπτικών μεμβρανών, προσδιορίζονται σε κάθε δειγματοληψία τα ολικά φαινολικά συστατικά που περιέχουν οι φράουλες, σύμφωνα να τη μέθοδο Follin-Ciocalteau (Waterhouse, 2003) με πρότυπη ουσία το καφεϊκό οξύ.

Αρχικά πραγματοποιείται αραιώση 1:10 300mg πολτοποιημένης φράουλας με απιονισμένο νερό. 100 μL του αραιωμένου δείγματος προστίθενται σε δοκιμαστικούς σωλήνες μαζί με 7,9 mL H<sub>2</sub>O και 500 μL διαλύματος Folin. Απευθείας γίνεται ανάδευση με vortex, εντός 1,5 min προστίθεται 1,5 mL κορεσμένου διαλύματος ανθρακικού νατρίου και επαναλαμβάνεται ανάδευση με vortex. Επόμενο βήμα αποτελεί η θέρμανση των σωλήνων στους 40°C για 30 min, προκειμένου μετά να μετρηθεί η απορρόφηση στα 765 nm. Ως τυφλό χρησιμοποιείται δείγμα με 8 mL απιονισμένου νερού με 500 μL διαλύματος Folin.

Η γραμμή βαθμονόμησης ως προς καφεϊκό οξύ (CA) προετοιμάζεται με χρήση διαλυμάτων οξέος αντί του όγκου δείγματος (100 μL) σε περιεκτικότητες από 0,1-0,8 mg/mL. Η γραμμή που προκύπτει περιγράφεται από τη σχέση:

$$C_{phenols}(mg\ CAE/mL) = \frac{A_{765} - 0,0003}{1,0691}$$

Όπου  $C_{\text{phenols}}$  η συγκέντρωση φαινολικών συστατικών ως προς καφεϊκό οξύ και  $A_{765}$  η απορρόφηση στα 765 nm.

Μέσω της σχέσης αυτής προκύπτουν οι συγκεντρώσεις στα αραιωμένα δείγματα, οι οποίες εκφράζονται ως προς το βάρος του αρχικού χυμού φράουλας, σε μονάδες mg CAE/ g φράουλας.

### 2.4.3.13 Ενζυμική ανάλυση

#### I. Πηκτινομεθυλεστεράση

Η μέτρηση πραγματοποιείται βάσει της μεθόδου των Rouse & Atkins, (1955) . Η δραστικότητα της πηκτινομεθυλεστεράσης (ΠΜΕ) προσδιορίζεται κατά την υδρόλυση της πηκτίνης από την ΠΜΕ σε pH=7,5 και T= 30°C, μέσω τιτλοδότησης των ελεύθερων καρβοξυλικών ομάδων που προκύπτουν από την αντίδραση. Η θερμοκρασία χρειάζεται να διατηρείται σταθερή στους 30°C κι αυτό επιτυγχάνεται με τη βοήθεια δοχείου με διπλά τοιχώματα εντός των οποίων ρέει νερό από υδατόλουτρο στην επιθυμητή θερμοκρασία.

0,13 g ξηρής (με λυοφιλίωση) και κονιοποιημένης φράουλας ζυγίζονται σε ζυγό ακριβείας και διαλύονται ως τα 2mL, ενώ ταυτόχρονα το pH ρυθμίζεται σε 7,5 με χρήση NaOH 0,2 N. Προετοιμάζονται 50 mL διαλύματος πηκτίνης μήλου 1% w/v (βαθμού εστεροποίησης 70-75%) που περιέχει επίσης 0,3 M NaCl και το οποίο είναι επίσης ρυθμισμένο σε pH 7,5 με NaOH 0,2 N στους 30°C. Στο διάλυμα αυτό προστίθενται τα 2 mL δείγματος κι ακολουθεί ανάμιξη.

Προκειμένου να διατηρηθεί σταθερό το pH του αντιδρώντος μίγματος, πραγματοποιείται τιτλοδότηση με διάλυμα NaOH 0,02 N και η τιμή του pH παρακολουθείται καθ' όλη τη διάρκεια της διαδικασίας με ηλεκτρονικό pH- μετρο. Η κατανάλωση του τιτλοδότη καταγράφεται.

Η δραστικότητα ΠΜΕ εκφράζεται σε microequivalents των υδρολυμένων εστέρων ανά min και mL δείγματος (units/mL) στους 30°C και pH 7,5.

$$A \text{ (units/mL)} = \frac{(mLNaOH) \cdot (NNaOH) \cdot 10^3}{(mL\chi\upsilon\mu\acute{o}\upsilon) \cdot (min)} = 10 \cdot \frac{mLNaOH}{min}$$

Όπου A: η δραστικότητα ΠΜΕ σε units/mL στο δείγμα των 2 mL.

Οι όγκοι και η συγκέντρωση του NaOH αφορούν το NaOH 0,02 N που χρησιμοποιήθηκε κατά την τιτλοδότηση.

Η δραστικότητα του αραιωμένου δείγματος προκύπτει μέσω της κλίσης της συνάρτησης κατανάλωσης NaOH 0,02 N ως προς το χρόνο αντίδρασης.



Η δραστικότητα εκφράζεται τελικά όχι ως προς τα mL του δείγματος που προετοιμάστηκε, αλλά ως προς το ξηρό βάρος της φράουλας.

Συνεπώς,  $A_{\tau\epsilon\lambda} (\text{units}/g \text{ dw φράουλας}) = A/m_{dw}$ ,

Όπου  $m_{dw}$  η μάζα ξηρής φράουλας (0,13 g) η οποία ζυγίστηκε προτού διαλυθεί σε τελικό όγκο 2 mL.

## II. Μέτρηση ενεργότητας πολυφαινολικής οξειδάσης (PPO)

Οι φράουλες από κάθε ομάδα δειγμάτων υπόκεινται σε έλεγχο της ενεργότητας PPO σε κάθε δειγματοληψία που πραγματοποιείται σε βάθος 15 ημερών.

Αρχικά, προετοιμάζονται τα απαιτούμενα διαλύματα για την ανάλυση.

Για το υπόστρωμα κατεχόλης 0,07 M σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών αλάτων 0,1 M και pH=5,8, προστίθενται 80 mL απιονισμένου νερού, 2,02 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  και 0,34 g  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  σε σφαιρική φιάλη των 100 mL. Το pH ρυθμίζεται σε 5,4 με HCl 0,1N και συμπληρώνεται απιονισμένο νερό ως τη χαραγή της φιάλης. Κατόπιν, γίνεται προσθήκη 0,77 g κατεχόλης.

Προκειμένου να μελετηθεί η κάθε φράουλα, προετοιμάζεται εκχύλισμα αυτής ως εξής. 16 g πολτοποιημένης φράουλας (χυμός) από κάθε ομάδα δειγμάτων αναδεύονται με 20 mL ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικού νατρίου 0,2 M (pH 7,0) και 4% w/v αδιάλυτου PVPP με 1% v/v triton X-100 και 50  $\mu\text{L}$  NaCl 1 M. Μετά την ομογενοποίηση, το μίγμα μεταφέρεται σε erpendorf των 2 mL (1,5 mL περιέχονται στο δοχείο) και οδηγείται προς φυγοκέντρηση σε 14000 rpm για 30 min. Το υπερκείμενο υγρό που περιέχει το ζητούμενο ένζυμο παραλαμβάνεται ως εκχύλισμα.

30  $\mu\text{L}$  εκχυλίσματος που αντιστοιχούν σε κάθε ομάδα δειγμάτων φράουλας προστίθενται σε microplate μαζί με 300  $\mu\text{L}$  υποστρώματος κατεχόλης 0,07 M σε 0,1 M ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικών αλάτων (pH=5,8).

Για το τυφλό δείγμα, η ποσότητα εκχυλίσματος φράουλας στο microplate αντικαθίσταται με απεσταγμένο νερό.

Η δραστικότητα του ενζύμου PPO εκτιμάται φασματοφωτομετρικά στα 420 nm, μετρώντας την αύξηση της απορρόφησης για 20 min.

Από τα δεδομένα απορρόφησης στη μονάδα του χρόνου, υπολογίζεται η ενεργότητα του ενζύμου με τη βοήθεια του νόμου Lambert-Beer:

$$A (\mu\text{moles}/\text{mL})/\text{min} = 1000 \cdot \frac{r_{Abs}}{\epsilon \cdot l}$$

Όπου A η ενεργότητα PPO στο εκχύλισμα,

$r_{Abs}$ : Η απορρόφηση στα 420 nm, ως προς το χρόνο (Absorbance/min),

$\epsilon$ : συντελεστής απορρόφησης (133,8 στην περίπτωση αυτή)

$l$ : εν προκειμένω πρόκειται για το ύψος της στάθμης του υγρού στις θέσεις του microplate, καθώς αυτή την απόσταση διανύει εντός του υγρού η ακτινοβολία που διαπερνά τα δείγματα.

Τελικά, η ενεργότητα εκφράζεται ως προς το ξηρό βάρος της φράουλας, δηλαδή σε units/g dw φράουλας.

### III. Μέτρηση ενεργότητας β-γλυκοζιδάσης

Η ενεργότητα του ενζύμου β-γλυκοζιδάσης μετρείται με χρήση νιτροφαινυλ-γλυκοπυρανόζης (p-nitrophenyl-β-D-glucopyranoside), που λειτουργεί ως υπόστρωμα της β-γλυκοζιδάσης. Μέσω της ενζυμικής δράσης, απελευθερώνεται η p-νιτροφαινόλη, της οποίας η συγκέντρωση προσδιορίζεται φασματοφωτομετρικά.

Αρχικά, είναι αναγκαία η προετοιμασία εκχυλίσματος φράουλας που αντιστοιχεί σε κάθε ομάδα δειγμάτων για την ημέρα δειγματοληψίας που πραγματοποιείται η ανάλυση. 1 g πολτοποιημένης φράουλας αναμιγνύεται σε vortex με 1 mL 0,1 M κιτρικό- 0,2 M φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα (pH=4). Το διάλυμα οδηγείται προς φυγοκέντρωση σε 8000 rpm, για 20 min, στους 4°C. Το υπερκείμενο υγρό χρησιμοποιείται ως εκχύλισμα.

Για τον προσδιορισμό της ενεργότητας της β-γλυκοζιδάσης, ακολουθείται η εξής πορεία. 100 μL εκχυλίσματος προστίθενται σε 500 μL διαλύματος υποστρώματος 40 mM και σε 400 μL 0,1 M κιτρικού- 0,2 M φωσφορικού ρυθμιστικού διαλύματος (pH=4). Το αντιδρών μίγμα μεταφέρεται προς επώαση στους 40°C για 30 min. Κατόπιν, με προσθήκη 2 mL διαλύματος ανθρακικού νατρίου 3 M, η αντίδραση σταματά.

Η ποσοτικοποίηση της p-νιτροφαινόλης που απελευθερώνεται λόγω της β-γλυκοζιδάσης, γίνεται με μέτρηση της απορρόφησης στα 405 nm. Η συγκέντρωση υπολογίζεται μέσω του συντελεστή απορρόφησης της p-νιτροφαινόλης ( $\epsilon=18,350 \text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ ). 1 unit ορίζεται ως η ποσότητα ενζύμου που απελευθερώνει 1 μmol p-νιτροφαινόλης/min στις παρούσες συνθήκες.

Βάσει του νόμου Lambert-Beer, προκύπτουν τα εξής:

$$C \text{ ((}\mu\text{moles/mL)/min )} = \frac{A_{405}}{\epsilon \cdot l} \cdot 1000.$$

Όπου

$A_{405}$ : η απορρόφηση στα 405 nm

$\epsilon = 18,350 \text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$

$l = 1 \text{ cm}$  (πάχος κυψελίδας).

Η ενεργότητα β-γλυκοζιδάσης εκφράζεται τελικά ως units/g δείγματος φράουλας:

$$\text{Ενεργότητα (units/g φράουλας)} = \frac{2 \cdot C}{m}$$

Όπου C η συγκέντρωση της p-νιτροφαινόλης στο χρόνο όπως αναφέρεται παραπάνω και m (g) η μάζα φράουλας που χρησιμοποιείται για το εκχύλισμα (ζυγίζεται 1 g σε ζυγό ακριβείας).

#### 2.4.3.14 Μικροβιολογικός έλεγχος

Ένας σημαντικός παράγοντας για τη διατηρησιμότητα των τροφίμων είναι το μικροβιακό τους φορτίο. Ανάλογα το είδος των μικροοργανισμών που πολλαπλασιάζονται σταδιακά και με τη συγκέντρωση αυτών, το τρόφιμο μπορεί να επηρεαστεί ποιοτικά, ως προς τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά, ενώ σε άλλες περιπτώσεις δεν θεωρείται ασφαλές για κατανάλωση.

Στα δείγματα φράουλας από κάθε ομάδα δειγμάτων -χωρίς και με τις διαφορετικές επικαλυπτικές μεμβράνες- πραγματοποιείται μικροβιολογικός έλεγχος σε κάθε δειγματοληψία κατά τη διάρκεια των 15 ημερών.

Για τον υπολογισμό του μικροβιακού φορτίου χρησιμοποιείται η μέθοδος μέτρησης ανάπτυξης αποικιών σε τρυβλία. Η μέθοδος αυτή βασίζεται στο ότι κάθε αποικία που τελικά μετρείται, προέρχεται από ένα μικροβιακό κύτταρο. Επομένως, ο αριθμός των αποικιών αντιστοιχεί στον αριθμό των μικροοργανισμών που αρχικά τοποθετήθηκαν στο τρυβλίο.

Όσον αφορά την προετοιμασία του δείγματος, μία φράουλα από κάθε ομάδα δειγμάτων τεμαχίζεται και 9g αυτής, κυρίως μέρη προς το κεντρικό και εσωτερικό μέρος του φρούτου, μεταφέρονται σε αποστειρωμένη σακούλα όπου προστίθενται 91 g αποστειρωμένου ορού Ringer. Η σακούλα αυτή οδηγείται στον ομογενοποιητή (400 Circulator, Seward, West Sussex, United Kingdom) όπου το μίγμα ομογενοποιείται για 2,5 min.

Στη συνέχεια, ακολουθεί η διαδικασία των διαδοχικών αραιώσεων. Σε δοκιμαστικούς σωλήνες προστίθενται 9 mL ορού Ringer και κατόπιν σε αυτά τοποθετείται 1 mL από το κάθε ομογενοποιημένο με ορό δείγμα φράουλας. Απαραίτητη είναι η ανάδευση σε vortex ώστε να εξασφαλιστεί η ομοιογένεια του διαλύματος. Έτσι, προκύπτει αραιώση 1:10 σε σχέση με το αρχικό μίγμα, το οποίο με τη σειρά του είναι ήδη αραιωμένο σε σχέση με το αρχικό φρούτο.

Για επιπλέον αραιώση, 1 mL από το τελευταίο διάλυμα προστίθεται σε δοκιμαστικό σωλήνα με 9 mL ορού Ringer και αναδεύεται με vortex. Κάθε νέο διάλυμα αντιστοιχεί σε αραιώση υποδεκαπλάσια της προηγούμενης. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται έως ότου επιτευχθεί ο προβλεπόμενος για τη δειγματοληψία αριθμός αραιώσεων.

Ο αριθμός αυτός εξαρτάται από τον αριθμό των μικροοργανισμών που αναμένονται στο εκάστοτε δείγμα, καθώς είναι σημαντικό τα μικροβιακά κύτταρα να αναπτυχθούν

σωστά στα τρυβλία. Χωρίς τις απαραίτητες αραιώσεις, το πλήθος των κυττάρων μπορεί να είναι τέτοιο ώστε να οδηγήσει σε πυκνή δημιουργία αποικιών καθιστώντας αδύνατη την ακριβή καταμέτρηση. Αντίθετα, αν το δείγμα αραιωθεί περισσότερο από όσο χρειάζεται, τελικά δεν θα παρατηρηθεί ικανός αριθμός αποικιών και ο συσχετισμός του αριθμού με το αρχικό δείγμα φρούτου θα είναι αβέβαιος.



Εικόνα 14: Ομογενοποιητής (400 Circulator, Seward, West Sussex, United Kingdom)

Στα δείγματα φράουλας γίνονται δύο σειρές μετρήσεων που η καθεμία στοχεύει στον προσδιορισμό διαφορετικής ομάδας μικροοργανισμών. Πιο συγκεκριμένα, οι μετρήσεις αφορούν τον προσδιορισμό της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας και των ζυμών-μυκήτων.

### Ι. Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα

Για την παρασκευή του θρεπτικού υποστρώματος, χρησιμοποιείται το Plate Count Agar Standard (BioKar, Zac de ther, France) και παρασκευάζεται ως εξής. 20,5 g ξηρού μέσου διαλύονται σε 1 L απιονισμένου νερού. Το μίγμα θερμαίνεται σταδιακά έως βρασμού υπό συνεχή ανάδευση. Ακολουθεί αποστείρωση στους 121°C για 15 min. Το θρεπτικό μέσο αφήνεται να ψυχθεί έως τους 44-47°C, όπου και διατηρείται προκειμένου να παραμένει ρευστό μέχρι να χρησιμοποιηθεί.

Η μέθοδος pour-plate (ISO 4833:2002, ISO 15214:1998) προτιμάται στην περίπτωση αυτή, κατά την οποία, σε άδεια τρυβλία τοποθετείται 1 mL δείγματος στην επιθυμητή αραιώση. Εν προκειμένω, οι διαδοχικές αραιώσεις δεν ήταν περισσότερες από 3. Στο τρυβλίο προστίθενται περίπου 15 mL από το θρεπτικό υλικό (PCA) και με κυκλικές κινήσεις διασπείρεται το δείγμα ομοιόμορφα σε όλο το θρεπτικό υπόστρωμα. Τα δοχεία αφήνονται ώστε να σταθεροποιηθούν.

Αφού το περιεχόμενο των τρυβλίων σταθεροποιηθεί, ακολουθεί επώαση στους 30°C για 48 h (2 ημέρες).

## II. Ζύμες- Μύκητες

Στην περίπτωση αυτή, το θρεπτικό υλικό είναι το Dichloran Rose-Bengal Chloramphenicol Agar (Biokar, Zac de ther, France). Σε 1 L απιονισμένου νερού προστίθενται 30,0 g ξηρού μέσου RBC. Υπό συνεχή ανάδευση το μίγμα θερμαίνεται σταδιακά έως το βρασμό και μέχρι την πλήρη διάλυση. Ακολουθεί αποστείρωση στους 121° για 15 min και το μίγμα έπειτα διατηρείται στους 44-47°C.

Σε αυτήν την μέτρηση μικροβιακού φορτίου, προτιμάται η μέθοδος της επιφανειακής επάλειψης στο υπόστρωμα. Επομένως, στα τρυβλία προστίθεται επαρκής ποσότητα θρεπτικού υποστρώματος και αφήνονται μερικώς ανοιχτά μέχρι το υλικό να σταθεροποιηθεί. Στη συνέχεια, μεταφέρονται 0,1 mL δείγματος της επιθυμητής αραιώσης στα τρυβλία και γίνεται προσεκτική επάλειψη στην επιφάνεια του υποστρώματος με τη βοήθεια πλαστικού τριγώνου.

Επόμενο βήμα είναι η επώαση του περιεχομένου των τρυβλίων στους 25°C για 120 h (5 ημέρες).

Τελικά, μετά την επώαση των δειγμάτων με υπόστρωμα PCA και RBC, πραγματοποιείται καταμέτρηση των αποικιών. Συνυπολογίζοντας την αραιώση του δείγματος στο τρυβλίο, το αποτέλεσμα πολλαπλασιάζεται με τον αντίστροφο αριθμό της αραιώσης και υπολογίζεται ο αριθμός μικροοργανισμών που περιέχονται σε 1 g φράουλας (CFU/g φράουλας). Στην επεξεργασία των αποτελεσμάτων, αντί της τιμής αυτής χρησιμοποιείται ο δεκαδικός της λογάριθμος. Έτσι, το συνολικό φορτίο εκφράζεται σε  $\log N$ , όπου N οι μικροοργανισμοί ανά g φράουλας (CFU/g).

## 2.5 ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ

### 2.5.1 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΧΥΜΟΥ *A.Vera*- ΚΑΤΑΒΥΘΙΣΗ ΚΛΑΣΜΑΤΟΣ ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΩΝ

#### 2.5.1.1 1η σειρά: Προετοιμασία χυμού με χρήση σίτας - Επιλογή διαλύτη καταβύθισης

Η 1<sup>η</sup> σειρά πειραμάτων αφορά την επιλογή του καταλληλότερου διαλύτη για την καταβύθιση. Οι διαλύτες υπό εξέταση είναι η αιθανόλη και η μεθανόλη, ενώ στην πρώτη περίπτωση εξετάζεται ακόμα, αν διαλύματα αιθανόλης χαμηλότερης συγκέντρωσης μπορούν να επιφέρουν αποδόσεις παρόμοιες με τους καθαρούς διαλύτες. Έτσι, από χυμό φιλτραρισμένο με σίτα προκύπτουν τέσσερις περιπτώσεις όπως φαίνεται και στον πίνακα, όπου η καταβύθιση πραγματοποιείται κάθε φορά με τον αναφερόμενο διαλύτη, προκειμένου να παραληφθεί το ίζημα που περιέχει την ακεμαννάνη.

Πίνακας 2: Κωδικοποίηση δειγμάτων για την επιλογή διαλύτη για την καταβύθιση

ΔΙΑΛΥΤΗΣ	ΦΙΛΤΡΑΡΙΣΜΑ	ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ
<b>EtOH 95% v/v</b>	Σίτα	E/Σ
<b>EtOH 75% v/v</b>	Σίτα	E75/Σ
<b>EtOH 50% v/v</b>	Σίτα	E50/Σ
<b>MeOH</b>	Σίτα	M/Σ

#### 2.5.1.2 2<sup>η</sup> σειρά: Προετοιμασία χυμού- Διαχωρισμός ινών με σίτα ή φυγοκέντρηση – Καταβύθιση με αιθανόλη

Σε αυτήν την σειρά, εξετάζεται πώς η επιλογή φιλτραρίσματος χυμού αλόης επηρεάζει το τελικό προϊόν μετά την καταβύθιση. Χυμός αλόης υπόκειται σε διαχωρισμό από τις ίνες του με σίτα ή φυγοκέντρηση, από όπου προκύπτουν δύο διαφορετικά δείγματα. Ένα επιπλέον δείγμα δεν φιλτράρεται. Η καταβύθιση στο χυμό γίνεται με αιθανόλη για την παραλαβή τελικά του ξηρού κλάσματος

πολυσακχαριτών. Ακολουθεί πίνακας με τις διαφορετικές συνθήκες που εφαρμόζονται σε κάθε περίπτωση.

Πίνακας 3: Συνθήκες και κωδικοποίηση δειγμάτων για την επιλογή μεθόδου φιλτραρίσματος

ΔΙΑΛΥΤΗΣ	ΦΙΛΤΡΑΡΙΣΜΑ	ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ
<b>EtOH</b>	Σίτα	E/Σ
<b>EtOH</b>	Φυγοκέντρηση	E/Φ
<b>EtOH</b>	-	E/Κ

### 2.5.1.3 3<sup>η</sup> σειρά: Κατεργασία χυμού με θερμικές και εναλλακτικές μεθόδους- Καταβύθιση με αιθανόλη

Στην τρίτη σειρά πειραμάτων, αξιολογείται η πιθανή εφαρμογή κατεργασιών πριν την αιθανολική καταβύθιση, προκειμένου να βελτιωθεί ποσοτικά και ποιοτικά το ξηρό κλάσμα ακεμαννάνης που παραλαμβάνεται τελικά. Συνδυαστικά, σε συνέχεια της δεύτερης σειράς, εξετάζεται περαιτέρω η επίδραση της μεθόδου φιλτραρίσματος του χυμού πριν την προκατεργασία και την καταβύθιση. Στον πίνακα φαίνεται η κωδικοποίηση των δειγμάτων βάσει των συνθηκών που μεταβάλλονται σε κάθε περίπτωση.

Πίνακας 4: Συνθήκες και κωδικοποίηση δειγμάτων για την επιλογή μεθόδων κατεργασίας

ΔΙΑΛΥΤΗΣ	ΦΙΛΤΡΑΡΙΣΜΑ	ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΡΟΚΑΤΕΡΓΑΣΙΑΣ	ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ
<b>EtOH</b>	Σίτα	Θερμή εκχύλιση με H <sub>2</sub> O	E/Σ/HWE(80°C,2h)
<b>EtOH</b>	Σίτα	-	E/Σ
<b>EtOH</b>	Φυγοκέντρηση	Θέρμανση (40°C, 0 min)	E/Φ/HT(40°C,0min)
<b>EtOH</b>	Φυγοκέντρηση	Θέρμανση (40°C, 15 min)	E/Φ/HT(40°C,15min)
<b>EtOH</b>	Φυγοκέντρηση	Ρύθμιση pH	E/Φ/(+)
<b>EtOH</b>	Φυγοκέντρηση	Ρύθμιση pH και θέρμανση	E/Φ/(+)HT(40°C,0min)

		(40°C, 0 min)	
<b>EtOH</b>	Φυγοκέντρηση	Ρύθμιση pH και θέρμανση (40°C, 15 min)	E/Φ/(+)HT(40°C,15min)
<b>EtOH</b>	Φυγοκέντρηση	Ομογενοποίηση Υψηλής Ταχύτητας	E/Φ/HomT(25°C)
<b>EtOH</b>	Φυγοκέντρηση	Υπερυψηλή πίεση (200 MPa, 10 min)	E/Φ/200MPa,10min
<b>EtOH</b>	Φυγοκέντρηση	-	E/Φ
<b>EtOH</b>	-	θέρμανση (40°C, 0 min)	E/K/HT(40°C,0min)
<b>EtOH</b>	-	θέρμανση (40°C, 30 min)	E/K/HT(40°C,30min)
<b>EtOH</b>	-	θέρμανση (80°C, 0 min)	E/K/HT(80°C,0min)
<b>EtOH</b>	-	θέρμανση (80°C, 30 min)	E/K/HT(80°C,30min)
<b>EtOH</b>	-	Χρήση Υπερήχων (40°C, 30 min)	E/K/UT(40°C,30min)
<b>EtOH</b>	-	-	E/K

#### 2.5.1.4 ΚΥΡΙΑ ΣΕΙΡΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ: Κατεργασία χυμού σε επιλεγμένες συνθήκες με θερμικές και καινοτόμες μεθόδους

Σε αυτά τα πειράματα, ο χυμός αλόης φιλτράρεται με χρήση σίτας και επεξεργάζεται με διάφορες μεθόδους σε διαφορετικές θερμοκρασίες προτού πραγματοποιηθεί αιθανολική καταβύθιση. Με αυτόν τον τρόπο αξιολογείται η επίδραση κατεργασιών όπως η χρήση υπερήχων, η ομογενοποίηση υψηλής ταχύτητας και η υπερυψηλή πίεση σε διαφορετικές πιέσεις, στη βελτίωση ποσοτικά ή/και ποιοτικά του ιζήματος από την καταβύθιση που προκύπτει και που εν συνεχεία, με διήθηση και ξήρανση παραλαμβάνεται ως ξηρό κλάσμα πολυσακχαριτών. Επιπλέον, μελετάται ταυτόχρονα η επίδραση της θέρμανσης του χυμού, με ορισμένα δείγματα να θερμαίνονται στους 40°C. Παρακάτω εμφανίζονται οι κωδικοποιήσεις 11 δειγμάτων που προκύπτουν από διαφορετικές περιπτώσεις κατεργασίας χυμού πριν την καταβύθιση. Περιλαμβάνεται το δείγμα ελέγχου που δεν υποβάλλεται σε προκατεργασία.



Πίνακας 5: Συνθήκες και κωδικοποίηση δειγμάτων που αφορούν την εφαρμογή κατεργασιών στην κύρια σειρά πειραμάτων.

ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΡΟΚΑΤΕΡΓΑΣΙΑΣ	ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΠΡΟΚΑΤΕΡΓΑΣΙΑ	ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ
-	25°C	HT/25°C
Θέρμανση ως τους 40°C (t=0min)	40°C	HT/40°C/0min
Θέρμανση για 15 min	40°C	HT/40°C/15 min
Χρήση Υπερήχων	25°C	UT/25°C
Χρήση Υπερήχων	40°C	UT/40°C
Ομογενοποίηση Υψηλής Ταχύτητας	25°C	HomT/25°C
Ομογενοποίηση Υψηλής Ταχύτητας	40°C	HomT/40°C
Υπερυψηλή πίεση 200 MPa	25°C	HP/200MPa/25°C
Υπερυψηλή πίεση 200 MPa	40°C	HP/200MPa/40°C
Υπερυψηλή πίεση 400 MPa	25°C	HP/400MPa/25°C
Υπερυψηλή πίεση 400 MPa	40°C	HP/400MPa/40°C

Οι παραπάνω περιπτώσεις αφορούν δείγματα από χυμό ο οποίος προέρχεται από μια συγκομιδή. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται με χυμό από μια επιπλέον συγκομιδή και βάσει του παραπάνω πίνακα τελικά προκύπτουν άλλα 11 δείγματα που συγκρίνονται με τα πρώτα.

## 2.5.2 ΜΕΛΕΤΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΩΝ ΑΛΟΗΣ ΣΕ ΕΔΩΔΙΜΕΣ ΕΠΙΚΑΛΥΠΤΙΚΕΣ ΜΕΜΒΡΑΝΕΣ

Δείγματα φρούτων εμβαπτίζονται σε τρία διαφορετικά διαλύματα επικαλυπτικών. Κάθε δείγμα αποτελείται από 5 φρούτα. Διάλυμα αλγινικού νατρίου και διάλυμα πολυσακχαριτών αλόης αναμιγνύονται σε αναλογίες όγκων 50:50 και 30:70. Από εμβαπτίσεις φρούτων στα διαλύματα μετά τις αναμίξεις, προκύπτουν δύο ομάδες

δειγμάτων. Κάθε ομάδα αποτελείται από 5 δείγματα, δηλαδή 25 φράουλες. Μία επιπλέον ομάδα εμβαπτίζεται σε δ/μα αλγινικού νατρίου και η τελευταία δεν εμβαπτίζεται (δείγμα ελέγχου). Μελετάται η επίδραση επικαλυπτικών μεμβρανών, με ή χωρίς ενσωμάτωση πολυσακχαριτών αλόης, στη διατηρησιμότητα της φράουλας. Στον ακόλουθο πίνακα παρουσιάζονται οι ομάδες φρούτων που προκύπτουν, με τις κωδικοποιήσεις τους.

Πίνακας 6: Κωδικοποίηση δειγμάτων φράουλας ανάλογα με τη επικάλυψη και τη μέρα δειγματοληψίας

ΗΜΕΡΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ	ΕΔΩΔΙΜΗ ΕΠΙΚΑΛΥΠΤΙΚΗ ΜΕΜΒΡΑΝΗ	ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ (5 φράουλες ανά δείγμα)	ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΟΜΑΔΑΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ
1 <sup>η</sup>	-	C1	<b>C (ή Control)</b>
4 <sup>η</sup>	-	C2	
8 <sup>η</sup>	-	C3	
12 <sup>η</sup>	-	C4	
15 <sup>η</sup>	-	C5	
1 <sup>η</sup>	Δ/μα αλγινικού νατρίου	A1	<b>A</b>
4 <sup>η</sup>	Δ/μα αλγινικού νατρίου	A2	
8 <sup>η</sup>	Δ/μα αλγινικού νατρίου	A3	
12 <sup>η</sup>	Δ/μα αλγινικού νατρίου	A4	
15 <sup>η</sup>	Δ/μα αλγινικού νατρίου	A5	
1 <sup>η</sup>	Δ/μα αλγινικού νατρίου- δ/μα πολυσακχαριτών αλόης, 50:50	A-AV 50:50 1	<b>A-AV 50:50</b>
4 <sup>η</sup>	Δ/μα αλγινικού νατρίου- δ/μα πολυσακχαριτών αλόης, 50:50	A-AV 50:50 2	
8 <sup>η</sup>	Δ/μα αλγινικού νατρίου- δ/μα πολυσακχαριτών αλόης, 50:50	A-AV 50:50 3	
12 <sup>η</sup>	Δ/μα αλγινικού νατρίου- δ/μα πολυσακχαριτών αλόης, 50:50	A-AV 50:50 4	
15 <sup>η</sup>	Δ/μα αλγινικού νατρίου- δ/μα πολυσακχαριτών αλόης, 50:50	A-AV 50:50 5	
1 <sup>η</sup>	Δ/μα αλγινικού νατρίου- δ/μα πολυσακχαριτών αλόης, 30:70	A-AV 30:70 1	<b>A-AV 30:70</b>
4 <sup>η</sup>	Δ/μα αλγινικού νατρίου- δ/μα πολυσακχαριτών αλόης, 30:70	A-AV 30:70 2	
8 <sup>η</sup>	Δ/μα αλγινικού νατρίου- δ/μα πολυσακχαριτών αλόης, 30:70	A-AV 30:70 3	
12 <sup>η</sup>	Δ/μα αλγινικού νατρίου- δ/μα πολυσακχαριτών αλόης, 30:70	A-AV 30:70 4	

15 <sup>η</sup>	Δ/μα αλγινικού νατρίου- δ/μα πολυσακχαριτών αλόης, 30:70	A-AV 30:70 5	
-----------------	--	--------------	--

## 2.6 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων που προκύπτουν από τα πειράματα γίνεται με χρήση του λογισμικού STATISTICA 10.0 (StatSoft, Inc). Τα αποτελέσματα καταχωρούνται σε δύο φύλλα υπολογισμού. Το πρώτο αφορά τα πειράματα όπου εξετάζεται η παραλαβή πολυσακχαριτών από χυμό *A.Vera*. Το δεύτερο αφορά τη μελέτη εφαρμογής πολυσακχαριτών αλόης σε εδώδιμες μεμβράνες.

Στο πρώτο φύλλο υπολογισμού, με χρήση ανάλυσης διακύμανσης ANOVA, εκτιμάται η σημαντικότητα τριών παραγόντων (μέθοδος κατεργασίας, θερμοκρασία χυμού πριν την καταβύθιση και συγκομιδή) στη διαμόρφωση των αποδόσεων σε μάζα, στις περιεκτικότητες πολυσακχαριτών και στα περιεχόμενα ακεμαννάνης.

Στη δεύτερη περίπτωση, αυτή της επικάλυψης φράουλας με εδώδιμες μεμβράνες, με ανάλυση διακύμανσης ANOVA καθορίζεται αν ο χρόνος και το είδος εδώδιμης μεμβράνης είναι παράγοντες που επηρεάζουν σημαντικά τις μετρούμενες ιδιότητες του φρούτου (απώλεια βάρους, σκληρότητα, διαλυτά στερεά, pH, οξύτητα, δείκτης αμαύρωσης, μετρήσεις χρώματος, οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, αντιοξειδωτικά συστατικά, περιεχόμενο ανθοκυανινών και φαινολικών συστατικών, ενεργότητα ΠΜΕ, ΡΡΟ, β-γλυκοζιδάσης και μικροβιακή ανάπτυξη για ΟΜΧ και ζύμες-μύκητες).

Επιπρόσθετα, κάθε φορά που ένας παράγοντας προκύπτει σημαντικός γίνεται χρήση του κριτηρίου διαφοράς (Duncan's test). Έτσι, εκτιμώνται οι σημαντικές διαφορές των μέσων όρων για κάθε περίπτωση του εξεταζόμενου παράγοντα.

Η στατιστική επεξεργασία γίνεται με βαθμό εμπιστοσύνης 95%.

### 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

#### 3.1. Παραλαβή χυμού *A.Vera*- Προσδιορισμός ιδιοτήτων

Ο χυμός που παραλαμβάνεται μετά από ομογενοποίηση παρεγχύματος από φύλλα *A.Vera* οδηγείται προς μέτρηση φυσικοχημικών του ιδιοτήτων. Μετρούνται τα ολικά διαλυτά στερεά, το pH, η ενεργότητα νερού ( $a_w$ ), ο δείκτης διάθλασης, το ιξώδες, η περιεκτικότητα σε βιταμίνη C, η οξύτητα ως προς μηλικό οξύ, η υγρασία και η τέφρα. Ακόμη, πραγματοποιείται μέτρηση χρώματος με χρωματόμετρο Minolta και ανάλυση υφής. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στους Πίνακες 7,8 και 9.

Πίνακας 7: Αποτελέσματα από τις μετρήσεις φυσικοχημικών ιδιοτήτων χυμού *A.Vera*.

<b>BRIX %</b>	<b>1,23 ± 0,04</b>
<b>pH</b>	<b>4,41 ± 0,01</b>
<b><math>a_w</math> (25,72°C)</b>	<b>0,948 ± 0,002</b>
<b>Δείκτης Διάθλασης <math>n_d</math> (25°C)</b>	<b>1,3350 ± 0,0005</b>
<b>Ιξώδες (cP) (Brookfield, spindle N°3, 30rpm) (25°C)</b>	<b>1760</b>
<b>Ιξώδες (cP) (Brookfield, spindle N°2, 6 rpm) (25°C)</b>	<b>3475</b>
<b>Βιταμίνη C (mg/100mL)</b>	<b>1,86</b>
<b>% Οξύτητα ως προς μηλικό οξύ</b>	<b>0,09 ± 0,01</b>
<b>% Υγρασία</b>	<b>99,10 ± 0,05</b>
<b>% Τέφρα</b>	<b>0,16 ± 0,01</b>

Πίνακας 8: Μέτρηση χρώματος φρέσκου χυμού *A.Vera* με χρωματόμετρο Minolta.

<b>L*</b>	<b>a*</b>	<b>b*</b>	<b>chroma</b>	<b>hue</b>
<b>25,43 ± 0,50</b>	<b>-0,47 ± 0,2</b>	<b>-0,70 ± 0,02</b>	<b>0,85 ± 0,11</b>	<b>1,00 ± 0,20</b>

Πίνακας 9: Ανάλυση υφής φρέσκου χυμού *A.Vera*.

<b>ΣΚΛΗΡΟΤΗΤΑ (N)</b>	<b>0,174 ± 0,019</b>
<b>ΜΑΣΗΤΙΚΟΤΗΤΑ (N)</b>	<b>0,124 ± 0,034</b>
<b>ΚΟΜΜΙΩΔΕΣ (N)</b>	<b>0,146 ± 0,020</b>
<b>ΠΡΟΣΚΟΛΛΗΣΙΜΟΤΗΤΑ (N·s)</b>	<b>0,79 ± 0,04</b>
<b>ΣΥΝΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ</b>	<b>0,854 ± 0,206</b>
<b>ΕΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ</b>	<b>0,839 ± 0,121</b>
<b>ΠΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ</b>	<b>0,098 ± 0,010</b>

Σύμφωνα με τις διαθέσιμες αναφορές για το χυμό της αλόης, το pH κυμαίνεται σε τιμές από 3,5 έως 4,7 και η ενεργότητα νερού στο 0,98-0,99. Ο δείκτης διάθλασης αναφέρεται πως συνήθως βρίσκεται εντός του εύρους 1,3340- 1,34390 (στους 25°C). Και πάλι βάσει της βιβλιογραφίας, η υγρασία και η τέφρα αναμένονται σε τιμές 98-99% και κοντά σε 0,16% αντίστοιχα. Συνεπώς, τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις pH, ενεργότητας νερού, δείκτη διάθλασης, υγρασίας και τέφρας που προσδιορίστηκαν πειραματικά στην περίπτωση αυτή, συνάδουν με τις μετρήσεις από άλλες πηγές.

Η οξύτητα ως προς μηλικό οξύ προέκυψε 0,09%. Σε αντίστοιχο προσδιορισμό από τους Scala et al., (2013), η οξύτητα φτάνει το 0,06%, ενώ σε άλλη περίπτωση το 0,5%.

Τα ολικά διαλυτά στερεά (% BRIX) που μετρήθηκαν, εμφανίζουν ελαφρώς μεγαλύτερη τιμή σε σχέση με τις αναφορές, οι οποίες κάνουν λόγο για 0,80 % BRIX. Η απόκλιση αυτή δεν είναι ανησυχητική, καθώς υπάρχουν και αναφορές που κάνουν λόγο και για 1,78 % BRIX. Οι διαφορές αυτές αποδίδονται στο κάθε φυτό, στις συνθήκες καλλιέργειάς του και στην περίοδο συγκομιδής (Ahlawat & Khatkar, 2011; Chandegara et al., 2013; Miranda et al., 2009; Mohamed, 2011; Ramachandra & Rao, 2008; Sánchez-Machado et al., 2017; Scala et al., 2013).

Όσον αφορά το χρώμα που προσδιορίστηκε στον υπό εξέταση χυμό, σχολιάζεται πως η θετική και υψηλή τιμή του L\* δείχνει μέτρηση αυξημένης φωτεινότητας, που αντιστοιχεί σε δείγμα με κυρίαρχους τους τόνους του λευκού ή αρκετά διαυγές. Το α\* είναι αρνητικό, δείχνοντας πως ο χυμός δεν τείνει προς τους τόνους του κόκκινου, αλλά του πράσινου. Και το b\* είναι αρνητικό, που αντιστοιχεί σε χρώματα κοντύτερα στο μπλε παρά στο κίτρινο. Το υψηλό L\* είναι αναμενόμενο όπως και το α\*, αφού το παρέγχυμα της αλόης παρουσιάζει διαύγεια, με τόνους υποκίτρινους ή προς το πράσινο.

### 3.2 Αποτελέσματα 1<sup>ης</sup> σειράς: Επιλογή διαλύτη καταβύθισης

Στη σειρά αυτή, οι ίνες στα δείγματα χυμού διαχωρίζονται με χρήση φίλτρου (διαμέτρου πόρων 0,2 cm), προτού ακολουθήσει καταβύθιση είτε με αιθανόλη 95%, 70% ή 50% v/v, είτε με μεθανόλη. Μετά από 24 h καταβύθιση, το ίζημα παραλαμβάνεται με φυγοκέντρηση και η μάζα του ζυγίζεται προς υπολογισμό της απόδοσης σε μάζα ιζήματος ως προς τον αρχικό χυμό.

Πίνακας 10: Αποτελέσματα 1<sup>ης</sup> σειράς

ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ	ΔΙΑΛΥΤΗΣ	ΑΠΟΔΟΣΗ % ΣΕ ΜΑΖΑ ΙΖΗΜΑΤΟΣ ΩΣ ΠΡΟΣ ΤΟΝ ΧΥΜΟ	ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΟΛΙΚΩΝ ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΩΝ ΣΤΟ ΞΗΡΟ ΚΛΑΣΜΑ ΑΚΕΜΑΝΝΑΝΗΣ (mg γλυκόζης/mg ξηρού προϊόντος)
M/Σ	MeOH	6,04	0,381
E/Σ	EtOH 95% v/v	7,51	0,473
E75/Σ	EtOH 75% v/v	0,20	-
E50/Σ	EtOH 50% v/v	0,09	-

Στην περίπτωση αυτή κατέστη σαφές πως ο διαλύτης που αξίζει περαιτέρω μελέτη είναι η **αιθανόλη (95% v/v)**. Στα δείγματα με μεθανόλη (MΣ), αιθανόλη 50% (E50Σ) και 75% (E75Σ), η απόδοση σε μάζα ιζήματος δεν είναι ικανοποιητική. Ειδικά για τους δύο τελευταίους διαλύτες, η καταβύθιση θεωρείται ανεπιτυχής, εφόσον η ποσότητα που ανακτάται ως ίζημα είναι ελάχιστη σε σχέση με την αρχική ποσότητα χυμού. Για το λόγο αυτό στις περιπτώσεις αυτές δεν έχει αξία ο καθαρισμός του κλάσματος και η μέτρηση πολυσακχαριτών στο τελικό προϊόν ακεμαννάνης. Όσον αφορά τη μεθανόλη, οι αποδόσεις είναι σαφώς καλύτερες, όμως και πάλι, συγκρίνοντας τις αποδόσεις μάζας και τις περιεκτικότητες πολυσακχαριτών στο κλάσμα ακεμαννάνης μετά από διήθηση και ξήρανση του ιζήματος, προκύπτει πως η καταβύθιση με αιθανόλη επιφέρει τα βέλτιστα αποτελέσματα.

### 3.3 Αποτελέσματα 2<sup>ης</sup> σειράς: Διαχωρισμός ινών με διήθηση ή φυγοκέντρηση- Καταβύθιση με αιθανόλη

Στην 2<sup>η</sup> σειρά δειγμάτων, εφόσον έχει αποφασιστεί προηγουμένως πως ο κατάλληλος διαλύτης για τις καταβυθίσεις είναι η αιθανόλη υψηλής καθαρότητας, ακολουθεί η επιλογή της κατάλληλης μεθόδου διαχωρισμού ινών, εφόσον κρίνεται απαραίτητη. Οι μέθοδοι προς εξέταση είναι η χρήση φίλτρου (διαμέτρου πόρων 0,2

cm) ή φυγοκέντρωσης (4000 rpm, 5 min). Η παραλαβή του ιζήματος γίνεται με αιθανολική καταβύθιση. Παρουσιάζονται οι αποδόσεις σε μάζα ιζήματος ως προς τον αρχικό χυμό. Επίσης, παρουσιάζεται το περιεχόμενο ολικών πολυσακχαριτών στο ξηρό κλάσμα ακεμαννάνης, μετά από επαναδιαλυτοποίηση, διήθηση και λυοφιλίωση του ιζήματος.

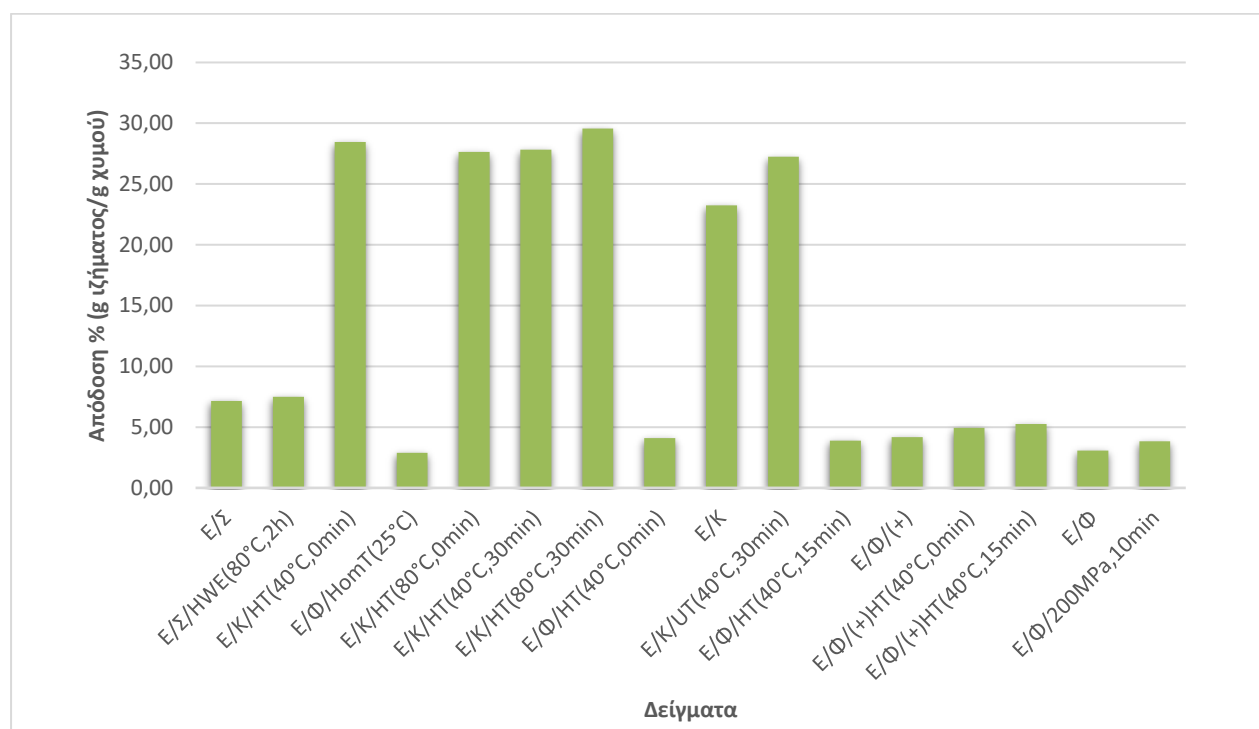
Πίνακας 11: Αποτελέσματα 2<sup>ης</sup> σειράς

ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ	ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ ΙΝΩΝ	ΑΠΟΔΟΣΗ % ΙΖΗΜΑΤΟΣ ΩΣ ΠΡΟΣ ΤΟΝ ΧΥΜΟ	ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΟΛΙΚΩΝ ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΩΝ ΣΤΟ ΞΗΡΟ ΚΛΑΣΜΑ ΑΚΕΜΑΝΝΑΝΗΣ (mg γλυκόζης/mg ξηρού προϊόντος)
Ε/Σ	Διήθηση	7,15	0,426
Ε/Φ	Φυγοκέντρωση	3,08	0,342
Ε/Κ	-	23,26	0,362

Όπως φαίνεται από τις αποδόσεις, η μεγαλύτερη ποσότητα ιζήματος παραλαμβάνεται στην περίπτωση που ο χυμός δεν υπόκειται σε διαχωρισμό. Παρόλα αυτά, το φιλτράρισμα κρίνεται απαραίτητο ώστε στο κλάσμα που παραλαμβάνεται μετά την καταβύθιση να μην περιέχονται υψηλά ποσοστά από τις ίνες (κυτταρίνη) του φυτού, οι οποίες καταβυθίζονται μαζί με τους πολυσακχαρίτες (McAnalley, 1987). Εφόσον οι αποδόσεις στις υπόλοιπες περιπτώσεις είναι σημαντικά μειωμένες, προκύπτει πως σε αυτές τις περιπτώσεις η απομάκρυνση ινών είναι επιτυχής. Το μεγαλύτερο μέρος των ινών αυτών θα απομακρυνθεί ούτως ή άλλως μετά την επαναδιαλυτοποίηση και διήθηση του ιζήματος. Έτσι, στο δείγμα χωρίς διαχωρισμό ινών και όσον αφορά το τελικό ξηρό προϊόν που παραλαμβάνεται μετά τον καθαρισμό, προκύπτουν συγκεντρώσεις πολυσακχαριτών παρόμοιες με τις άλλες περιπτώσεις. Είναι σημαντικό όμως η απομάκρυνση του μεγαλύτερου μέρους των ινών να γίνεται πριν την καταβύθιση, προκειμένου να μην συνυπολογίζονται στις αποδόσεις μάζας ιζήματος. Επίσης, με τον τρόπο αυτό διευκολύνεται ο καθαρισμός του κλάσματος πολυσακχαριτών, ο οποίος γίνεται με φίλτρο χαμηλού πορώδους. Από τα αποτελέσματα που προκύπτουν, προτιμάται η χρήση φίλτρου (πορώδους 0,2 cm) αντί της φυγοκέντρωσης για τον διαχωρισμό των ινών.

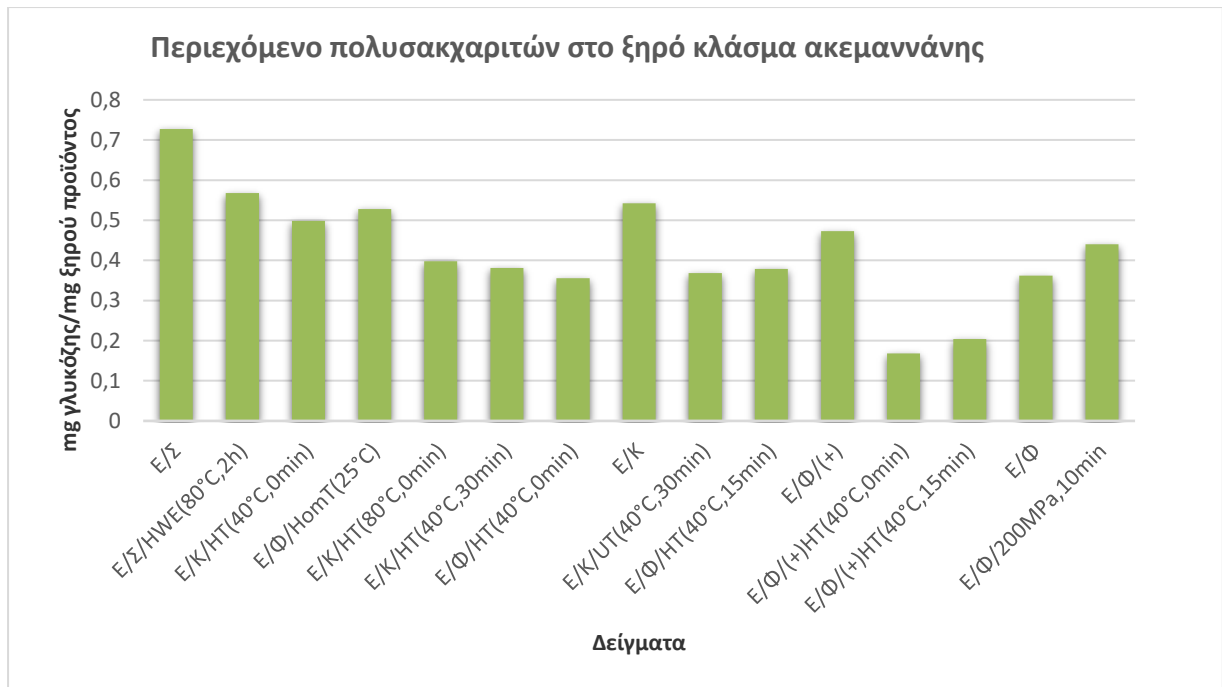
### 3.4 Αποτελέσματα 3<sup>ης</sup> σειράς: Κατεργασία χυμού με θερμικές και εναλλακτικές μεθόδους- Καταβύθιση με αιθανόλη

Σε αυτήν τη σειρά, πέραν των μεθόδων διαχωρισμού ινών, εξετάζεται η εφαρμογή κατεργασιών στο χυμό προ της αιθανολικής καταβύθισης, ώστε να κριθεί τελικά αν η μέθοδος παραλαβής του κλάσματος ακεμαννάης μπορεί να βελτιωθεί με τον τρόπο αυτό. Οι κατεργασίες περιλαμβάνουν εκχύλιση πολυσακχαριτών με χρήση θερμού νερού, θέρμανση του χυμού, ρύθμιση του pH στην τιμή 3,2, ομογενοποίηση υψηλής ταχύτητας, χρήση υπερήχων και εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης. Στη συνέχεια παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των αποδόσεων σε μάζα ιζήματος κάθε δείγματος, ως προς τον χυμό πριν την καταβύθιση. Επίσης, συγκρίνονται τα περιεχόμενα πολυσακχαριτών στο τελικό προϊόν ακεμαννάης μετά από διήθηση υπό κενό και ξήρανση, για τα δείγματα που προκύπτουν από τις διαφορετικές επεξεργασίες του χυμού.



Διάγραμμα 7: Αποδόσεις σε μάζα για κάθε δείγμα: g ιζήματος μετά τη καταβύθιση/ g χυμού μετά από κατεργασία.





**Διάγραμμα 8:** Περιεκτικότητα πολυσακχαριτών εκφρασμένη ως mg γλυκόζης/mg ξηρού προϊόντος για κάθε δείγμα. (Μέθοδος Dubois)

Από τα παραπάνω προκύπτει ένας πρώτος οδηγός για την περαιτέρω εξέλιξη της κύριας σειράς. Για τη θέρμανση στους 80°C για 30 min, σημειώνεται πως παρότι παραλαμβάνεται ικανή ποσότητα στερεού, η παρατεταμένη θέρμανση οδηγεί σε υποβάθμιση του προϊόντος, λόγω οξείδωσης του χυμού. Αυτή ξεκινά ήδη από το κόψιμο του φύλλου, με την επαφή του παρεγχύματος με το οξυγόνο της ατμόσφαιρας, όμως η παρατεταμένη θέρμανση (ακόμα και σε ήπιες θερμοκρασίες κοντά στους 40°C) την επιταχύνει. Ο χυμός φαίνεται πως πλέον έχει υποστεί σημαντική οξείδωση μέσω αλλαγής του χρώματός του σε έντονο ροζ (ή καφέ). Η αλλαγή αυτή συνδέεται εν προκειμένω με την υποβάθμιση του προϊόντος ως προς τους πολυσακχαρίτες, καθώς προκαλείται από έντονη θέρμανση, που οδηγεί επίσης σε απακετυλίωση της ακεμαννάνης (Femenia et al., 2003). Συνεπώς, το χρώμα του χυμού χρησιμοποιείται εδώ ως δείκτης για την αποτελεσματικότητα της κατεργασίας.

Η χρήση HCl δεν επιδρά θετικά στην παρούσα πειραματική μέθοδο. Δοκιμάστηκε ώστε να συμβάλλει στη διαλυτοποίηση του οξαλικών και γαλακτικών αλάτων του μαγνησίου και ασβεστίου (Badar, 2017). Όμως, δεν επέφερε σημαντική αύξηση των αποδόσεων και επηρέασε τη μορφή του ιζήματος που παραλαμβάνεται μετά την καταβύθιση με φυγοκέντρηση, καθιστώντας αδύνατο το διαχωρισμό από το υπερκείμενο υγρό.

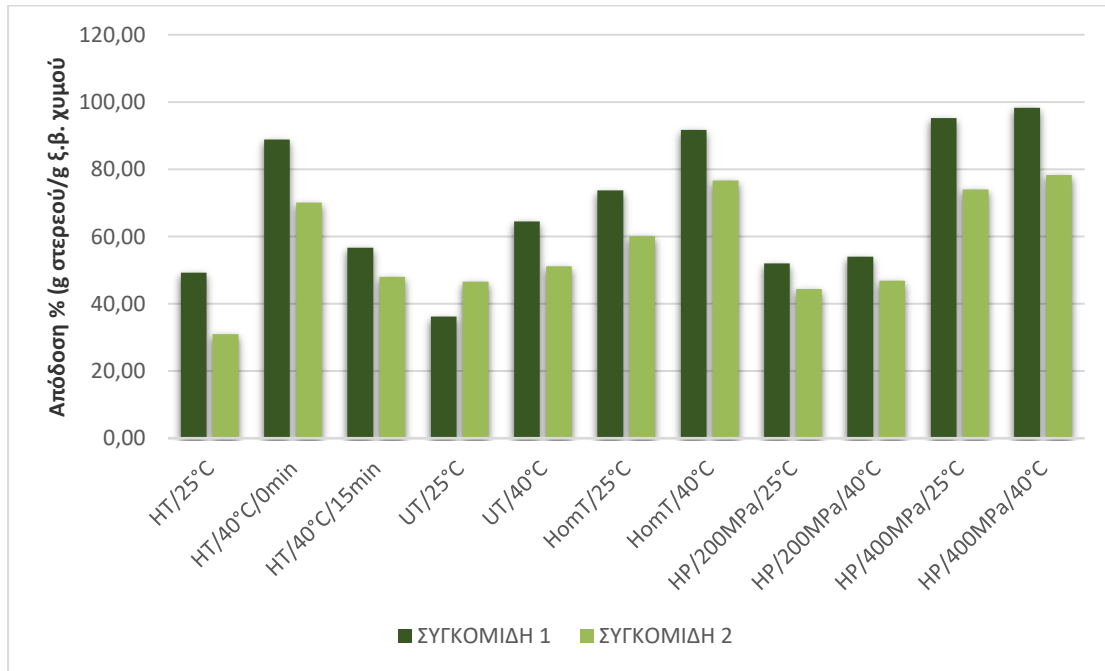
### 3.5 Αποτελέσματα κύριας σειράς: Κατεργασία χυμού σε επιλεγμένες συνθήκες με θερμικές και καινοτόμες μεθόδους- Καταβύθιση με αιθανόλη

Βάσει των παραπάνω σειρών, σχεδιάστηκε η κύρια σειρά δειγμάτων, όπου ο διαχωρισμός των ινών πραγματοποιείται με φίλτρο διαμέτρου πόρων 0,2 cm. Οι κατεργασίες χυμού προς εξέταση περιλαμβάνουν θέρμανση στους 40°C (0 και 15 min), ομογενοποίηση υψηλής ταχύτητας (25 και 40°C), κατεργασία με υπερήχους (25 και 40°C, 30 min) και κατεργασία με υπερυψηλή πίεση 200MPa και 400MPa (25 και 40°C, 10min). Μετά τις κατεργασίες προσδιορίζεται η περιεκτικότητα πολυσακχαριτών στα δείγματα χυμού (ως προς το ξηρό βάρος χυμού).

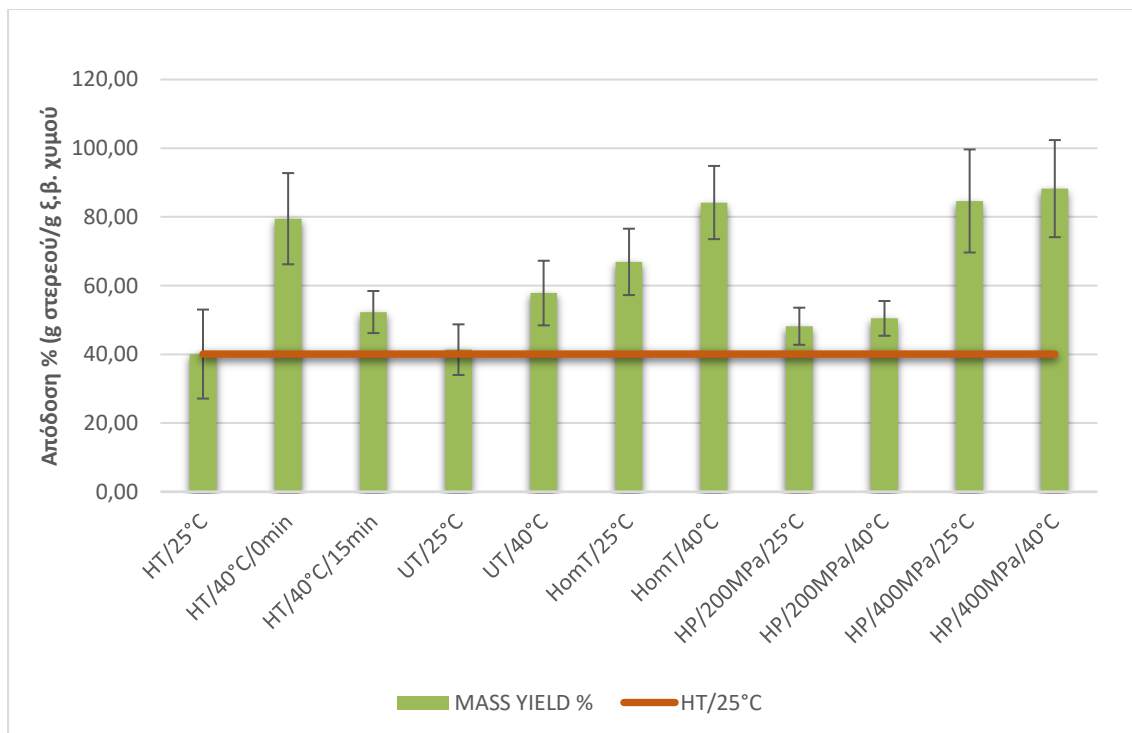
Η καταβύθιση γίνεται με αιθανόλη (95% v/v), το ίζημα παραλαμβάνεται και υπολογίζεται η απόδοση σε μάζα στερεού ως προς το ξηρό βάρος του επεξεργασμένου χυμού. Μετά από καθαρισμό του ιζήματος και λυοφιλίωση, στο τελικό κλάσμα ακεμαννάνης μετρείται η περιεκτικότητα ολικών πολυσακχαριτών και προσδιορίζεται η ακεμαννάνη με HPLC- UV-Vis. Οι περιπτώσεις που έχει εφαρμοστεί κατεργασία, συγκρίνονται με τα δείγματα αναφοράς, αυτά από τη βασική μέθοδο, χωρίς κατεργασία (HT/25°C). Οι διαφορές στις περιεκτικότητες ακεμαννάνης παρουσιάζονται ως ποσοστά ως προς τα δείγματα αναφοράς.

Στη σειρά αυτή επιπλέον περιλαμβάνονται δύο ομάδες δειγμάτων που προκύπτουν από δύο διαφορετικές συγκομιδές. Στη δεύτερη ομάδα, τα δείγματα προέρχονται από φυτά διαφορετικά από εκείνα που χρησιμοποιήθηκαν στα υπόλοιπα πειράματα, όπως επίσης οι διαφορές σχετίζονται και με την περίοδο συγκομιδής. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται παρακάτω.

- Απόδοση: Μάζα ιζήματος/ μάζα ξ.β. χυμού A. Vera



Διάγραμμα 9: Αποδόσεις σε μάζα για κάθε δείγμα: g ιζήματος/ g ξηρού βάρους χυμού μετά από κατεργασία (1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> συγκομιδή).



Διάγραμμα 10: Αποδόσεις μάζας ιζήματος ως προς το ξ.β. χυμού.

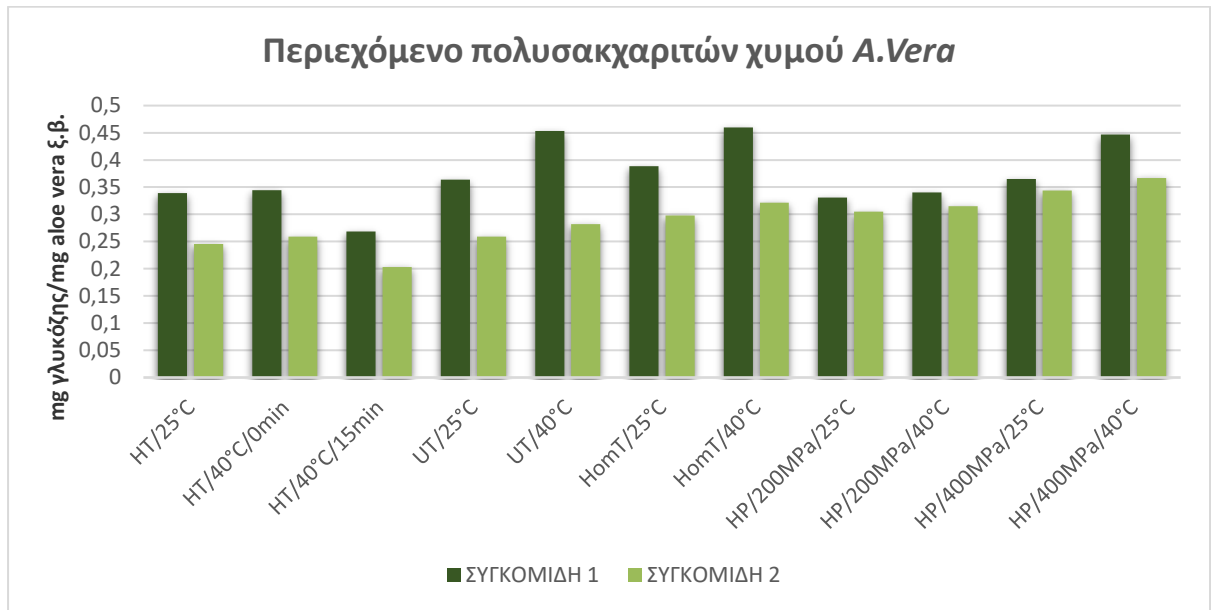
Παρατηρούνται γενικά μειωμένες αποδόσεις στη δεύτερη συγκομιδή, που αποδίδεται στα φυτά που χρησιμοποιήθηκαν στην περίπτωση αυτή. Πέραν αυτού, η κατεργασία με ήπια θέρμανση έως τους 40°C, η ομογενοποίηση υψηλής ταχύτητας και η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης στα 400MPa, φαίνονται να έχουν θετική επίδραση στην ποσότητα που καταβυθίζεται, σε σύγκριση με τα δείγματα χωρίς επιπλέον επεξεργασία (HT/25°C).

Στα αποτελέσματα γίνεται στατιστική επεξεργασία, προκειμένου να κριθεί αν η επίδραση των διαφορετικών θερμοκρασιών και λοιπών κατεργασιών που εφαρμόστηκαν πριν την καταβύθιση είναι σημαντική. Πραγματοποιείται ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) για τις αποδόσεις μετά την καταβύθιση με ανεξάρτητες μεταβλητές τη θερμοκρασία (25 ή 40°C) και το είδος της κατεργασίας (θέρμανση, ομογενοποίηση υψηλής ταχύτητας, εφαρμογή υπερήχων, υπερυψηλή πίεση 200 και 400MPa). Σε αυτές προστίθεται και η συγκομιδή (1<sup>η</sup> ή 2<sup>η</sup>), καθώς υπήρξαν διαφορές στα φυτά και τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Οι αποδόσεις (%) σε μάζα ως προς την αρχική ποσότητα χυμού (ξ.β.), είναι σημαντικά μικρότερες κατά μέσο όρο για τη δεύτερη συγκομιδή σε σχέση με την πρώτη ( $p < 0,05$ ). Η ήπια θέρμανση έως τους 40°C έχει θετική επίδραση στην ποσότητα ιζήματος που συλλέγεται και η διαφορά με τους 25°C είναι στατιστικά σημαντική ( $p < 0,05$ ). Σχετικά με τις εφαρμοζόμενες κατεργασίες, παρατηρούνται επίσης σημαντικές διαφορές για τα δείγματα της κάθε περίπτωσης ( $p < 0,05$ ). Η διενέργεια Duncan's test δείχνει πως οι επεξεργασίες με ομογενοποίηση υψηλής ταχύτητας και με υπερυψηλή πίεση 400MPa, συνδέονται με σημαντικά αυξημένες αποδόσεις σε σχέση με το δείγμα αναφοράς, αλλά και με τις υπόλοιπες μεθόδους κατεργασίας.

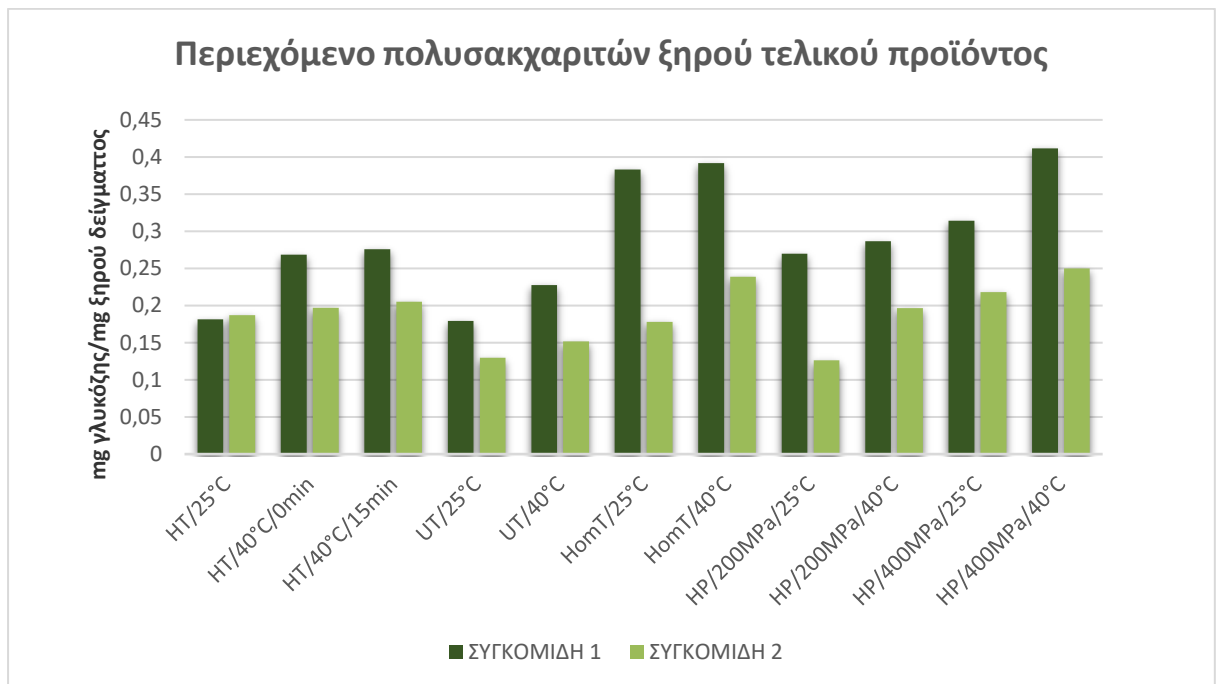
Οι πολυσακχαρίτες της αλόης μπορεί να αποτελούν έως και το 55% του ξ.β. του παρεγχύματος. Στις αποδόσεις μάζας που παρουσιάζονται, πολλά ποσοστά είναι αρκετά μεγαλύτερα. Αυτό αποδίδεται σε συστατικά (όπως οι φυτικές ίνες) μη επιθυμητά που δεν έχουν συγκρατηθεί από το φίλτρο και καταβυθίζονται μαζί με τους πολυσακχαρίτες. Η διήθηση υπό κενό που γίνεται μετά την επαναδιαλυτοποίηση του ιζήματος συμβάλλει στην απομάκρυνσή τους.

- **Ολικό Περιεχόμενο Πολυσακχαριτών στα δείγματα χυμού και στα τελικά ξηρά κλάσματα ακεμαννάνης**

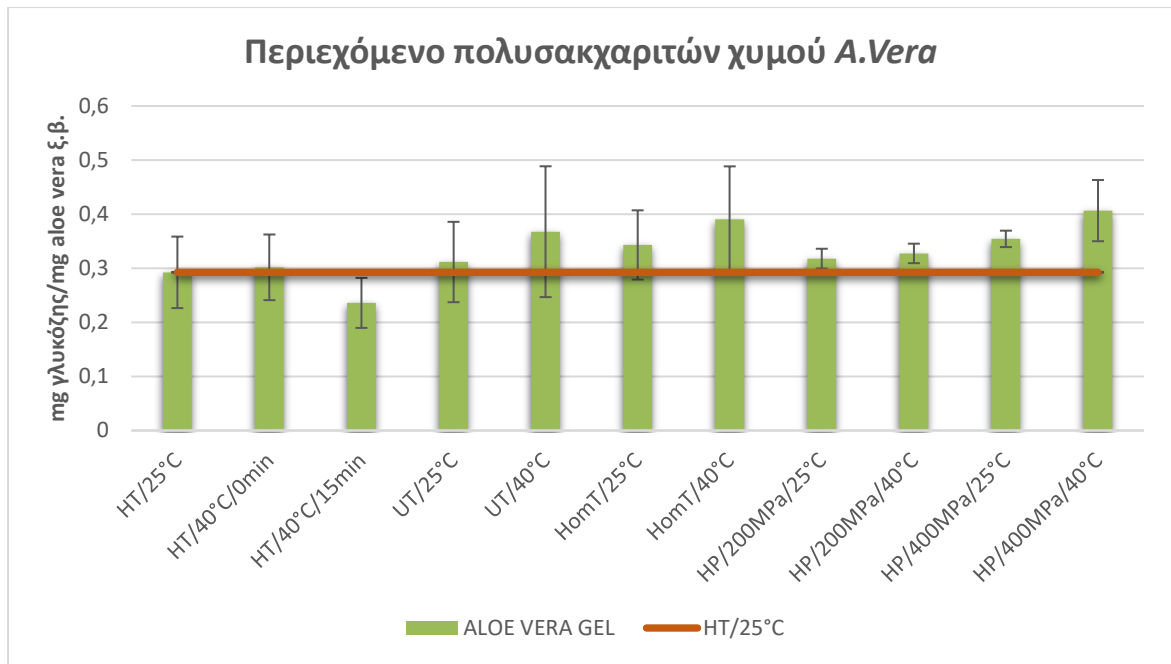
Πριν τη μέτρηση που αφορά ειδικά την ακεμαννάνη, είναι σκόπιμη η εκτίμηση του περιεχομένου ολικών πολυσακχαριτών. Άλλωστε, η περιεκτικότητα αυτή εμφανίζεται ορισμένες φορές αντί της ακεμαννάνης ως ποιοτικός δείκτης των προϊόντων αλόης. Από τον προσδιορισμό ολικών πολυσακχαριτών με τη μέθοδο Dubois στο χυμό πριν την καταβύθιση και μετά την παραλαβή του τελικού προϊόντος, προκύπτουν τα εξής.



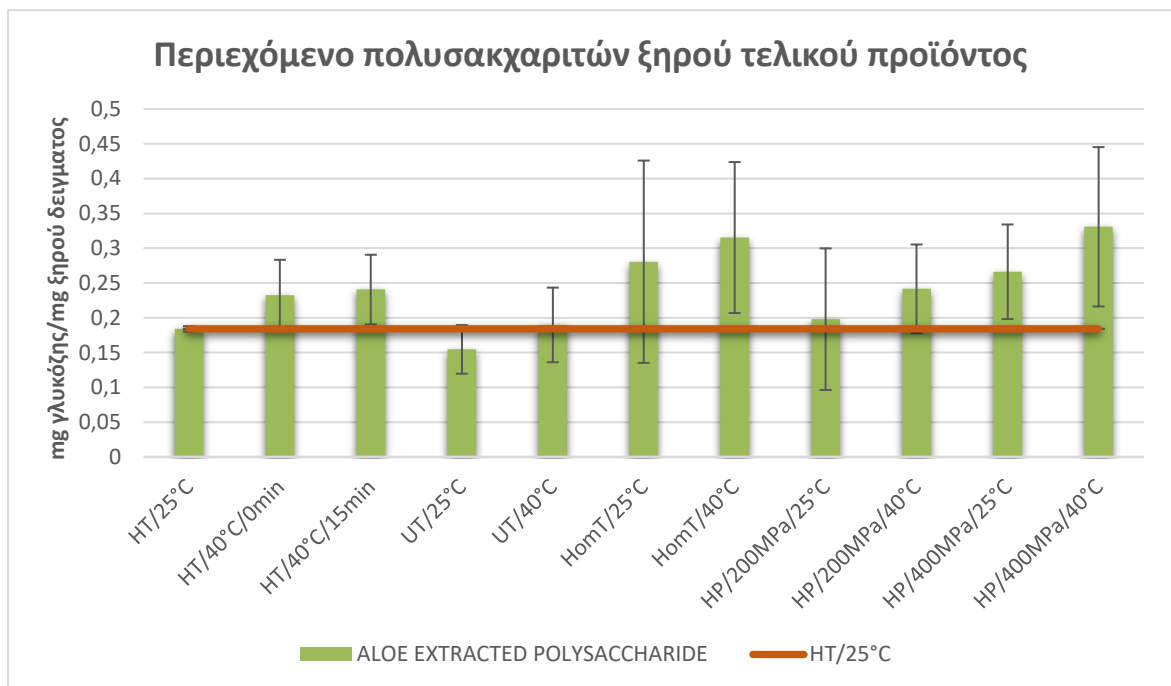
Διάγραμμα 11: Μέτρηση ολικών πολυσακχαριτών σε δείγματα χυμού πριν την καταβύθιση. (1η και 2η συγκομιδή)



Διάγραμμα 12: Μέτρηση ολικών πολυσακχαριτών στα τελικά ξηρά κλάσματα ακεμαννάνης. (1η και 2η συγκομιδή)



Διάγραμμα 13: Μέτρηση ολικών πολυσακχαριτών σε χυμό *A.Vera* πριν την καταβύθιση.



Διάγραμμα 14: Μέτρηση ολικών πολυσακχαριτών στα τελικά ξηρά κλάσματα ακεμαννάνης.

Οι περιεκτικότητες ολικών πολυσακχαριτών προκύπτουν μειωμένες για τη δεύτερη συγκομιδή, σε σχέση με την πρώτη. Από τη σύγκριση στα διαγράμματα προκύπτει πως η ομογενοποίηση υψηλής ταχύτητας όπως και η υπερυψηλή πίεση 400MPa,

κυρίως στους 40°C, επιφέρουν σημαντικές αυξήσεις (71 και 80%) στα ποσοστά πολυσακχαριτών στο τελικό κλάσμα πολυσακχαριτών, με περιεκτικότητες στα 0,315 και 0,331 mg γλυκόζης/mg ξηρού προϊόντος, όταν χωρίς κατεργασία καταγράφονται 0,184 mg γλυκόζης/mg ξηρού προϊόντος (HT/25°C).

Παρόμοιες τάσεις προκύπτουν και για τα δείγματα επεξεργασμένου χυμού πριν την καταβύθιση, για την ομογενοποίηση και την υπερυψηλή πίεση στα 400MPa, 40°C. Πιο συγκεκριμένα, σημειώνεται πως στο δείγμα αναφοράς (HT/25°C) η περιεκτικότητα είναι 0,293 mg γλυκόζης/mg ξ.β. A.Vera και με προσθήκη των αναφερόμενων κατεργασιών οι περιεκτικότητες αυξάνονται κατά 34-40%, στα 0,391 και 0,407 mg γλυκόζης/mg ξ.β. A.Vera (HomT/40°C και HP/400MPa/40°C).

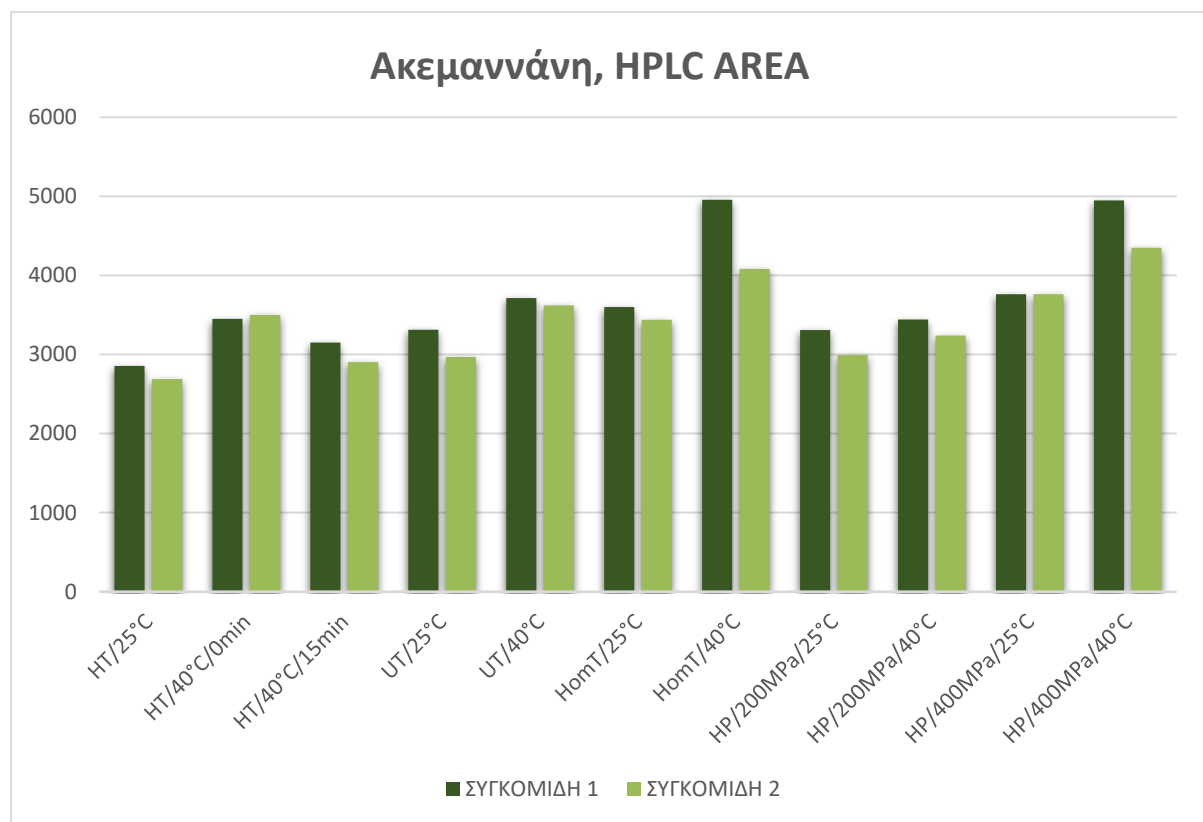
Από τη στατιστική επεξεργασία, επιβεβαιώνονται τα παραπάνω. Όσον αφορά τη συγκέντρωση ολικών πολυσακχαριτών σε δείγματα ξηρού χυμού αναφέρονται τα εξής. Οι διαφορές για τις δύο συγκομιδές είναι στατιστικά σημαντικές ( $p < 0,05$ ), με τη δεύτερη να συνδέεται με μικρότερες συγκεντρώσεις. Η ύπαρξη κατεργασιών πριν την καταβύθιση έχει επίσης σημαντική επίδραση στην περιεκτικότητα πολυσακχαριτών ( $p < 0,05$ ). Μετά από Duncan's test είναι πιο σαφές ότι ενώ η ήπια θέρμανση έως τους 40°C δείχνει ευνοϊκή (HT/40°C/0min), όταν παρατείνεται για επιπλέον 15 min (HT/40°C/15min), οι συγκεντρώσεις προκύπτουν σημαντικά μειωμένες. Αυτό ισχύει συγκριτικά με τα δείγματα χυμού που υποβλήθηκαν στις υπόλοιπες κατεργασίες, αλλά κυρίως με βάση το δείγμα αναφοράς (HT/25°C). Η ομογενοποίηση υψηλής ταχύτητας και η υπερυψηλή πίεση στα 400MPa οδηγούν σε σημαντικά αυξημένες συγκεντρώσεις στα δείγματα χυμού, σε σχέση με τα δείγματα ελέγχου.

Για τη συγκέντρωση ολικών πολυσακχαριτών στο τελικό προϊόν ακεμαννάνης, προκύπτουν παρόμοια συμπεράσματα από την ανάλυση διακύμανσης. Ειδικότερα, στη δεύτερη συγκομιδή οι συγκεντρώσεις είναι σημαντικά χαμηλότερες ( $p < 0,05$ ). Επιπρόσθετα, η θέρμανση έως τους 40°C έχει θετική επίδραση στη συγκέντρωση πολυσακχαριτών στο τελικό προϊόν ( $p < 0,05$ ). Τέλος, η ομογενοποίηση και η υπερυψηλή πίεση δίνουν σημαντικά καλύτερα αποτελέσματα σε σχέση με το δείγμα ελέγχου (χωρίς κατεργασία). Η εφαρμογή υπερήχων συνδέεται με τα χειρότερα κατά μέσο όρο αποτελέσματα, χωρίς βέβαια η διαφορά να κρίνεται στατιστικά υπολογίσιμη σε σχέση με το δείγμα ελέγχου.

Το περιεχόμενο πολυσακχαριτών στο τελικό προϊόν παρουσιάζεται χαμηλότερο σε σχέση με αυτό στο χυμό πριν την καταβύθιση. Πολλά από τα σάκχαρα τα οποία μετρούνται αρχικά, απομακρύνονται με την καταβύθιση, τη φυγοκέντρηση, την επαναδιαλυτοποίηση και διήθηση υπό κενό, προς επικράτηση των πολυσακχαριτών που είναι πλησιέστερα στη μορφή και το μέγεθος της ακεμαννάνης. Εντούτοις, οι συγκεντρώσεις αυτές δείχνουν την παρουσία συστατικών εκτός των πολυσακχαριτών και υποδεικνύουν την ανάγκη για επιπλέον στάδια διαχωρισμού προκειμένου να αυξηθεί η καθαρότητα του τελικού προϊόντος.

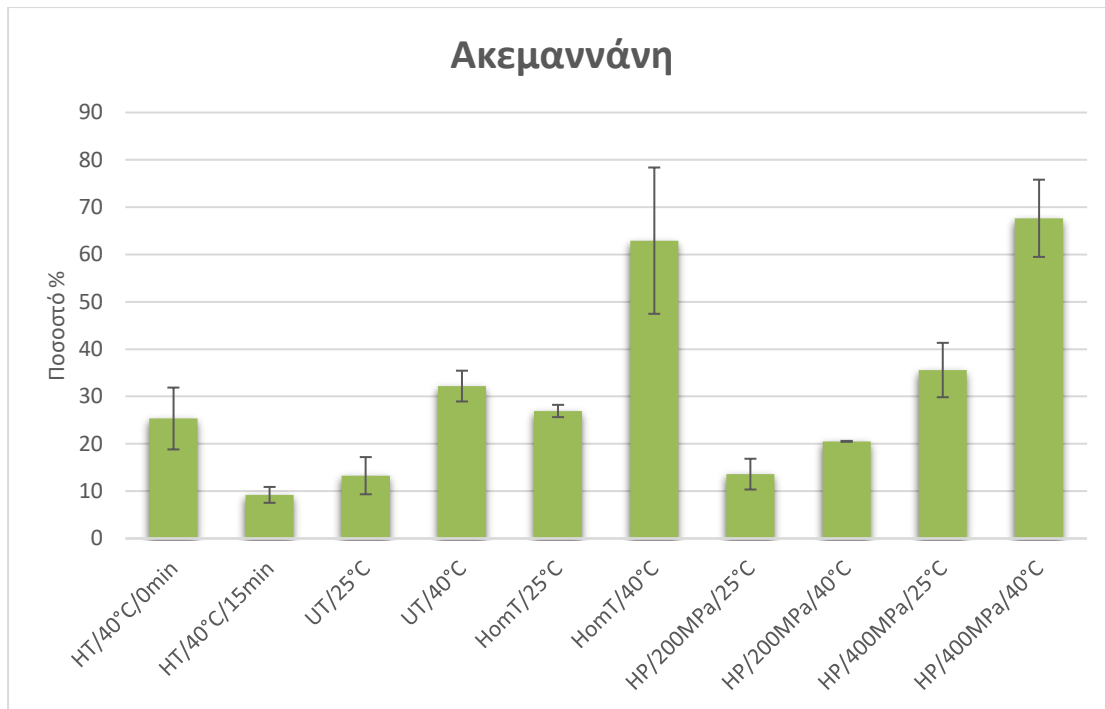
- Μέτρηση ακεμαννάνης στο τελικό κλάσμα πολυσακχαριτών με HPLC- Σύγκριση μεθόδων κατεργασίας χυμού A.Vera

Ο πιο κρίσιμος δείκτης για την αποτελεσματικότητα των επιπλέον κατεργασιών στην παραλαβή του κλάσματος πολυσακχαριτών είναι η ακεμαννάνη. Πρόκειται για τον πιο χαρακτηριστικό πολυσακχαρίτη του φυτού, που προσδίδει υψηλή αξία στο τελικό προϊόν. Η περιεκτικότητα ακεμαννάνης συμπεριλαμβάνεται επίσης στις προδιαγραφές για προϊόντα αλόης που θέτει το IASC (International Aloe Science Council). Στόχος είναι η παραλαβή κλάσματος πλούσιου στο εν λόγω συστατικό. Ακολουθούν τα αποτελέσματα από τον προσδιορισμό ακεμαννάνης στα τελικά προϊόντα με HPLC.



Διάγραμμα 15: Εμβαδό κορυφής χαρακτηριστικό της ακεμαννάνης, όπως προκύπτει από την ανάλυση με HPLC για κάθε δείγμα. (1η και 2η συγκομιδή)





Διάγραμμα 16: Διαφορές στη συγκέντρωση ακεμαννάνης στα τελικά ξηρά κλάσματα, εκφρασμένες ως ποσοστό ως προς την αντίστοιχη συγκέντρωση του δείγματος αναφοράς (χωρίς πρόσθετη κατεργασία).

Στη δεύτερη συγκομιδή, όπως και στις υπόλοιπες μετρήσεις, τα ποσοστά ακεμαννάνης είναι μειωμένα σε σχέση με την πρώτη. Το παραπάνω διάγραμμα παρουσιάζει τις διαφορές στις συγκεντρώσεις ακεμαννάνης για τα δείγματα που έχουν υποστεί κατεργασίες, σε σχέση με το δείγμα ελέγχου (HT/25°C). Όπως φαίνεται εκ πρώτης όψης, όλες οι κατεργασίες έχουν θετική επίδραση στις τελικές συγκεντρώσεις ακεμαννάνης, καθώς τα ποσοστά είναι θετικά. Βέβαια, όπως και παραπάνω, η ομογενοποίηση υψηλής ταχύτητας και η υπερυψηλή πίεση 400MPa στους 40°C έχουν τις πιο αξιολογικές διαφορές, με ποσοστά 62,93 και 67,65%.

Μετά από ανάλυση διακύμανσης, ακολουθείται το ίδιο μοτίβο με τις άλλες μετρήσεις. Η συγκομιδή επηρεάζει σημαντικά τις συγκεντρώσεις ακεμαννάνης, με βάση τα εμβαδά κορυφών που προέκυψαν, χαρακτηριστικά της ουσίας ( $p < 0,05$ ). Όσον αφορά τις κατεργασίες που εξετάστηκαν, λαμβάνονται υπόψιν και τα συγκριτικά αποτελέσματα ως προς το δείγμα ελέγχου, από το Διάγραμμα 16. Ως προς την θερμοκρασία επεξεργασίας, στους 40°C η αύξηση στις τιμές της ακεμαννάνης κατά μέσο όρο, είναι στατιστικά σημαντική ( $p < 0,05$ ). Σημειώνεται πως γενικά η παρατεταμένη αύξηση της θερμοκρασίας οδηγεί σε υποβάθμιση της πρώτης ύλης, όμως σε αυτήν την περίπτωση η θέρμανση είναι ήπια και για μικρό χρονικό διάστημα. Οι κατεργασίες του χυμού δείχνουν επίσης στατιστικά σημαντικές διαφορές ως προς τις συγκεντρώσεις ακεμαννάνης ( $p < 0,05$ ), με την ομογενοποίηση και την υπερυψηλή πίεση στα 400MPa να οδηγούν κατά μέσο όρο σε αυξημένες περιεκτικότητες στο τελικό ξηρό προϊόν, όπως φαίνεται από τα Duncan's tests.

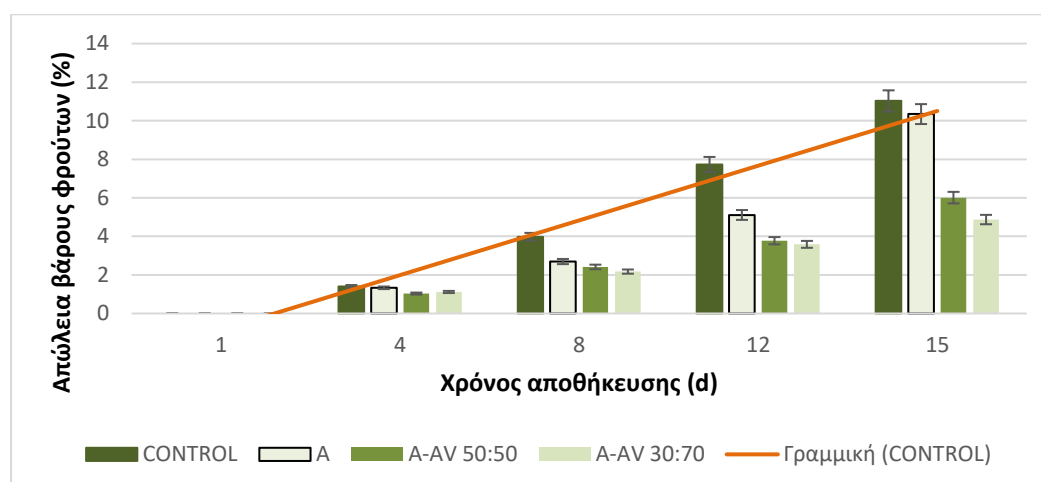
Τα συμπεράσματα από τη στατιστική επεξεργασία συμφωνούν με αυτά των υπολοίπων μετρήσεων, από τη μέθοδο Dubois και το βάρος των ιζημάτων μετά την καταβύθιση. Συνεπώς, ενισχύεται η πρόταση πως η ομογενοποίηση υψηλής ταχύτητας και η υπερυψηλή πίεση στα 400MPa για 10min -ειδικά συνδυαστικά με ήπια θέρμανση ως τους 40°C- βελτιώνουν ποσοτικά και ποιοτικά (ως προς την ακεμαννάνη) το κλάσμα πολυσακχαριτών που παραλαμβάνεται από χυμό A.Vera.

Αναφορικά με τις δύο περιπτώσεις συγκομιδών, σχολιάζεται πως οι διαφορές στα μετρούμενα μεγέθη ήταν αναμενόμενες. Η κατάσταση των φυτών στη δεύτερη συγκομιδή που πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια της κύριας σειράς δειγμάτων, δεν ήταν εξίσου καλή με την πρώτη, πιθανότατα λόγω των συνθηκών καλλιέργειας. Πραγματοποιήθηκε αλλαγή στο χώμα και αυξήθηκε για μικρό χρονικό διάστημα η συχνότητα ποτίσματος. Συνεπώς είναι πιθανό να προέκυψαν αλλαγές στη σύσταση των φύλλων στην προσπάθεια του φυτού να προσαρμοστεί στις νέες συνθήκες. Επιπλέον, οι υψηλές θερμοκρασίες περιβάλλοντος -αφού και η δεύτερη συγκομιδή πραγματοποιήθηκε τον Ιούλιο- μπορεί να επηρέασαν τη διαδικασία μετά το κόψιμο των φύλλων, καθώς παρατηρείτο συχνά οξείδωση των δειγμάτων (μεταβολή χρώματος χυμού από υποκίτρινο σε ροζ). Αναφέρεται από τον (McAnalley, 1987) πως οι χρόνοι καταβύθισης για την παραλαβή ικανής ποσότητας επιθυμητού κλάσματος πολυσακχαριτών, μπορεί να είναι από 4 έως 24 h. Όμως, καταγράφεται πως εκτός από το χρόνο και τον διαλύτη, παίζει ρόλο και η θερμοκρασία περιβάλλοντος, που μπορεί να επιταχύνει την υποβάθμιση των επιθυμητών συστατικών. Παρόλα αυτά, τα αποτελέσματα από τις δύο συγκομιδές μπορούν να συσχετιστούν εφόσον οι μετρούμενες τιμές δεν απέχουν απαγορευτικά και οι αλλαγές στην επεξεργασία του παρεγχύματος για κάθε δείγμα, επηρεάζουν τα αποτελέσματα με παρόμοιο τρόπο.

### 3.6 Αποτελέσματα: Μελέτη εφαρμογής κλάσματος πολυσακχαριτών A.Vera σε εδώδιμες επικαλυπτικές μεμβράνες για νωπό φρούτο

Η πειραματική διαδικασία αυτή εξετάζει την επίδραση επικαλυπτικών μεμβρανών στη διατήρηση φράουλας υπό ψύξη (4-5 °C). Σε βάθος 15 ημερών προσδιορίζονται μεγέθη σχετικά με τη διατηρησιμότητα των φρούτων, σε φράουλες χωρίς επικάλυψη (Control) και σε φράουλες με επικαλυπτικά τα εξής: αλγινικό νάτριο 2% (A), μίγμα διαλυμάτων αλγινικού νατρίου 2% w/v και πολυσακχαριτών αλόης 0,7% w/v σε αναλογία 50:50 και 30: 70 (A-AV 50:50 και A-AV 30:70 αντίστοιχα). Οι επιλογές αυτές πραγματοποιήθηκαν μετά από δοκιμές, όπου εξετάστηκε η δυνατότητα δημιουργίας λεπτού φιλμ σε τρυβλίο από διαλύματα αλγινικού νατρίου και κλάσματος πολυσακχαριτών αλόης. Οι μετρήσεις πραγματοποιούνται την 1<sup>η</sup>, 4<sup>η</sup>, 8<sup>η</sup>, 12<sup>η</sup> και 15<sup>η</sup> ημέρα. Τα μεγέθη τα οποία προσδιορίζονται στα δείγματα φράουλας είναι η απώλεια βάρους (%) των φρούτων όπως και η σκληρότητα, τα ολικά διαλυτά στερεά, το pH, η οξύτητα (%), ο δείκτης αμαύρωσης, το χρώμα (με χρωματόμετρο) και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά αυτών. Επίσης υπολογίζεται η περιεκτικότητα των δειγμάτων σε βιταμίνη C, αντιοξειδωτικά συστατικά, ανθοκυανίνες και φαινολικά συστατικά. Επιπρόσθετα, πραγματοποιείται ενζυμική ανάλυση, όπου προσδιορίζεται στα φρούτα η ενεργότητα της πηκτινομεθυλεστεράσης, της πολυφαινολοξειδάσης και της β-γλυκοζιδάσης. Τέλος, πραγματοποιείται μέτρηση του μικροβιακού φορτίου της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας και των ζυμών-μυκήτων. Στη συνέχεια παρουσιάζονται αναλυτικά τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις.

### 3.6.1 Απώλεια βάρους.



Διάγραμμα 17: Ποσοστό απώλειας βάρους δειγμάτων φράουλας στην πάροδο του χρόνου.

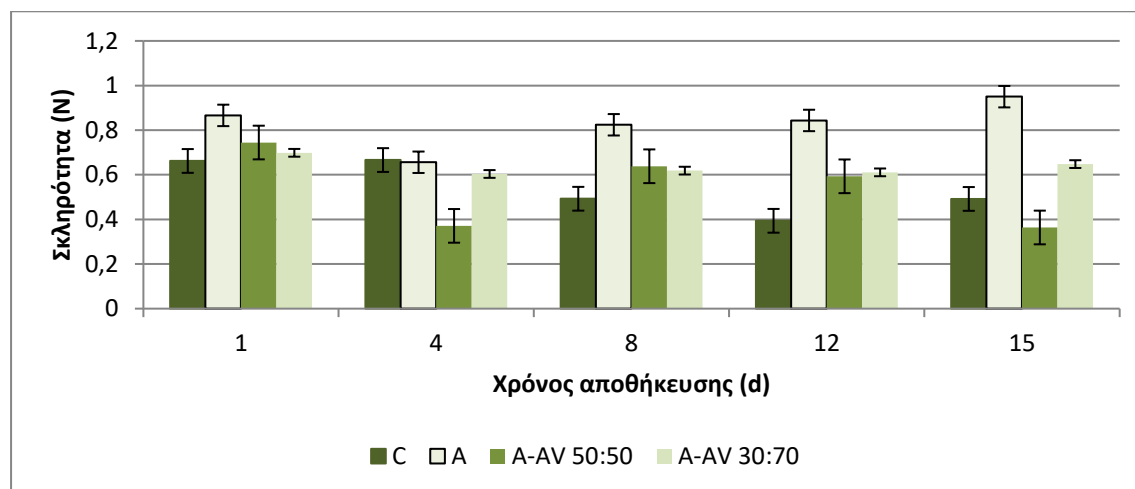
Αναμένεται απώλεια βάρους με την πάροδο του χρόνου λόγω απομάκρυνσης της περιεχόμενης υγρασίας μέσω διαπνοής και μέσω της αναπνοής (Giannoglou et al., 2021; Sogvar et al., 2016). Η επικαλυπτική μεμβράνη μπορεί να περιορίσει τις μεταφορές υγρασίας και να προστατέψει το φρούτο από τραυματισμούς.

Μέχρι τις 4 ημέρες αλλά και τις 8 ημέρες, οι απώλειες δεν είναι μεγάλες, καθώς η αποθήκευση υπό ψύξη παίζει το ρόλο της. Οι μεγαλύτερες απώλειες παρατηρούνται στις 12 και ειδικά στις 15 ημέρες. Το αλγινικό νάτριο ως επικαλυπτικό δεν φαίνεται να είχε ουδεμία θετική επίδραση. Αντίθετα, οι μεμβράνες με πολυσακχαρίτες αλόης περιορίζουν τις απώλειες βάρους των φρούτων, με τη μεμβράνη από διαλύματα αλγινικού - πολυσακχαριτών αλόης σε αναλογία 30:70 να δίνει τα πιο ενθαρρυντικά αποτελέσματα.

Τα παραπάνω ενισχύονται από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) με κύριες μεταβλητές το χρόνο και τα είδη επικαλυπτικών μέσων. Η επίδραση των δύο παραγόντων στην ποσοστιαία μεταβολή βάρους των φρούτων κρίνεται σημαντική ( $p < 0,05$ ), ενώ οι πολυσακχαρίτες αλόης, όπως φαίνεται με περαιτέρω ανάλυση, είναι αυτοί που επιφέρουν σημαντικούς περιορισμούς στις απώλειες (A-AV 50:50, A-AV 30:70), σε σύγκριση με τα φρούτα χωρίς επικάλυψη (Control).

Τα αποτελέσματα συμφωνούν με περιπτώσεις στη βιβλιογραφία όπου γίνεται χρήση παρεγχύματος *A. Vera* ως επικαλυπτική μεμβράνη σε φράουλες (Qamar et al., 2018; Sogvar et al., 2016), σε σταφύλια (Valverde et al., 2005), νεκταρίνια (Ahmed et al., 2009), παπάγια (Magrudi et al., 2011) και πορτοκάλια (Arowora et al., 2013).

### 3.6.2 Σκληρότητα

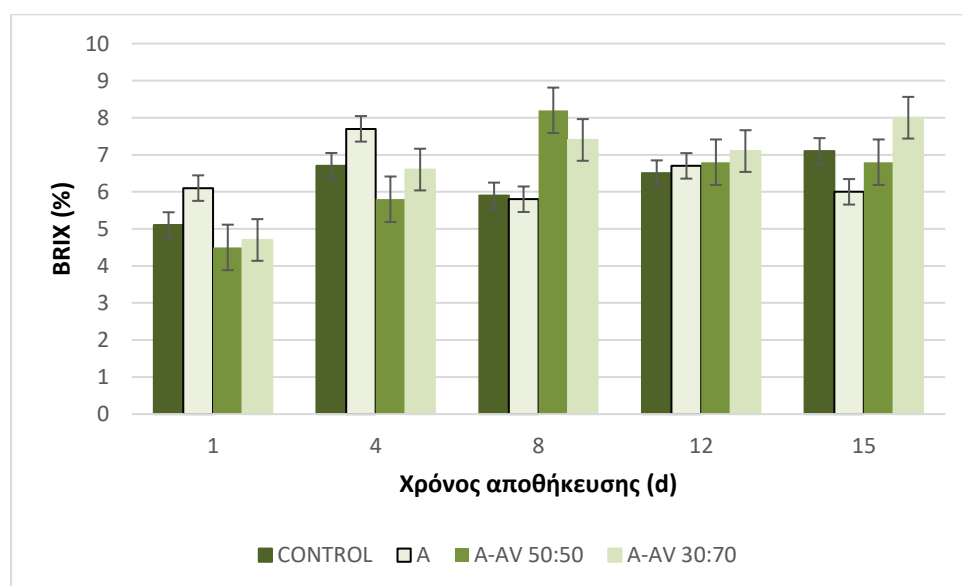


Διάγραμμα 18: Αποτελέσματα μετρήσεων σκληρότητας στα δείγματα φράουλας στην πάροδο του χρόνου.

Η αλλαγή στη σκληρότητα ενός φρούτου στο χρόνο, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως παράγοντας αξιολόγησης της ποιότητάς του, εφόσον επηρεάζει τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του και το καθιστά πιο ευάλωτο σε μικροβιακές επιμολύνσεις. Συνήθως επέρχεται μείωση σκληρότητας στο χρόνο η οποία οφείλεται σε απώλειες υγρασίας αλλά και σε μεταβολικές αλλαγές στα κυτταρικά τοιχώματα των ιστών. Για τις φράουλες που εξετάστηκαν δεν παρατηρήθηκε σημαντική τάση μείωσης στο χρόνο σε καμία περίπτωση. Η σκληρότητα διατηρείται σε γενικές γραμμές σε παρόμοια επίπεδα, πράγμα που πιθανώς σχετίζεται με τη βραδύτερη ωρίμανση του φρούτου υπό ψύξη. Παρόλο που οι διαφορές δεν είναι σημαντικές, τις τελευταίες ημέρες (12<sup>η</sup> και 15<sup>η</sup>) παρατηρείται πτώση της σκληρότητας ειδικά για τα δείγματα ελέγχου. Πιθανόν, αν συνεχιζόταν η δειγματοληψία, οι διαφορές να γίνονταν αξιοσημείωτες, όπως φαίνεται σε άλλες περιπτώσεις κατά την αποθήκευση (στον 1°C ή στους 6°C) στις οποίες οι απώλειες είναι σημαντικές μετά τις 15 ημέρες (Giannoglou et al., 2021). Παρόλα αυτά, από την ανάλυση διακύμανσης προκύπτει σημαντική επίδραση των επικαλυπτικών μέσων ( $p < 0,05$ ) και αφορά τις αυξημένες κατά μέσο όρο τιμές σκληρότητας για τις φράουλες με επικαλυπτικό δ/τος αλγινικού νατρίου (A) και μίγματος αυτού με διάλυμα πολυσακχαριτών σε αναλογία 3:7 (A-AV 30:70), οι οποίες δεν παρουσιάζουν ιδιαίτερες διακυμάνσεις στο χρόνο.

Σύμφωνα με άλλες έρευνες, μέσω εφαρμογής μεμβρανών αλγινικού νατρίου ή πηκτής *A. Vera* σε φράουλες (Fan et al., 2009; Qamar et al., 2018; Sogvar et al., 2016), σταφύλια (Valverde et al., 2005), νεκταρίνια (Ahmed et al., 2009), πορτοκάλια (Arowora et al., 2013) και κεράσια (Martínez-Romero et al., 2006) σημειώνεται σημαντική διατήρηση της σκληρότητας κατά τη συντήρηση μετά τη συγκομιδή.

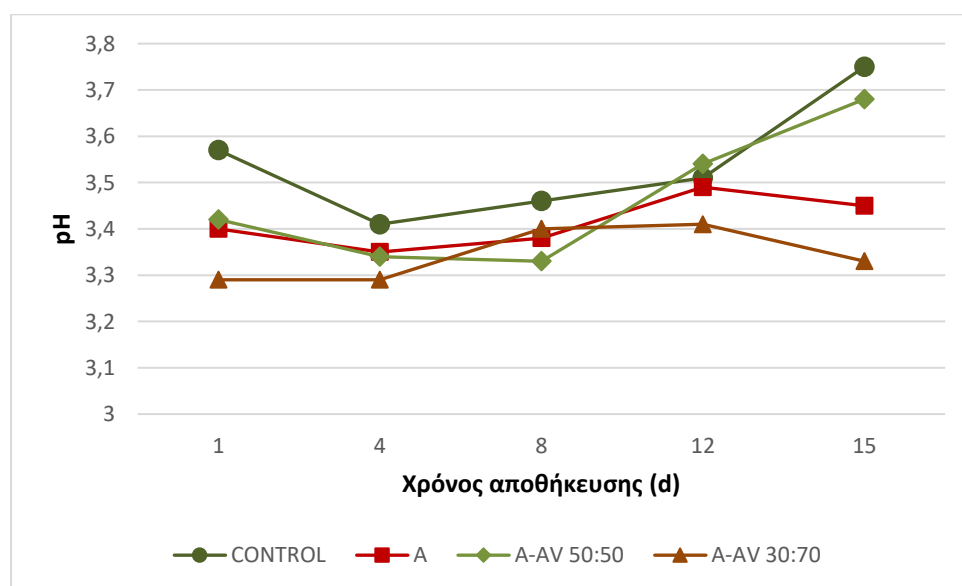
### 3.6.3 °BRIX



Διάγραμμα 19: Παρουσίαση μετρήσεων ολικών διαλυτών στερεών στις φράουλες, κατά την περίοδο συντήρησής τους.

Οι μετρήσεις για τα ολικά διαλυτά στερεά (Total Soluble Solids- TSS) για τις φράουλες βρίσκονται κοντά στις αναμενόμενες για το φρούτο τιμές. Με την πάροδο του χρόνου κατά την αποθήκευση του φρούτου, οι °BRIX παρουσιάζουν συνήθως αυξανόμενη τάση, που συνδέεται με την απώλεια υγρασίας. Για τα δείγματα υπό εξέταση, παρατηρείται πράγματι αύξηση των °BRIX ως προς τον χρόνο, που οριακά δεν προκύπτει στατιστικά σημαντική. Όσον αφορά τις διαφοροποιήσεις ως προς τη χρήση επικαλυπτικής μεμβράνης, σημειώνεται πως μεταξύ των δειγμάτων -με και χωρίς επικάλυψη- οι διαφορές δεν είναι σημαντικές.

### 3.6.4 pH

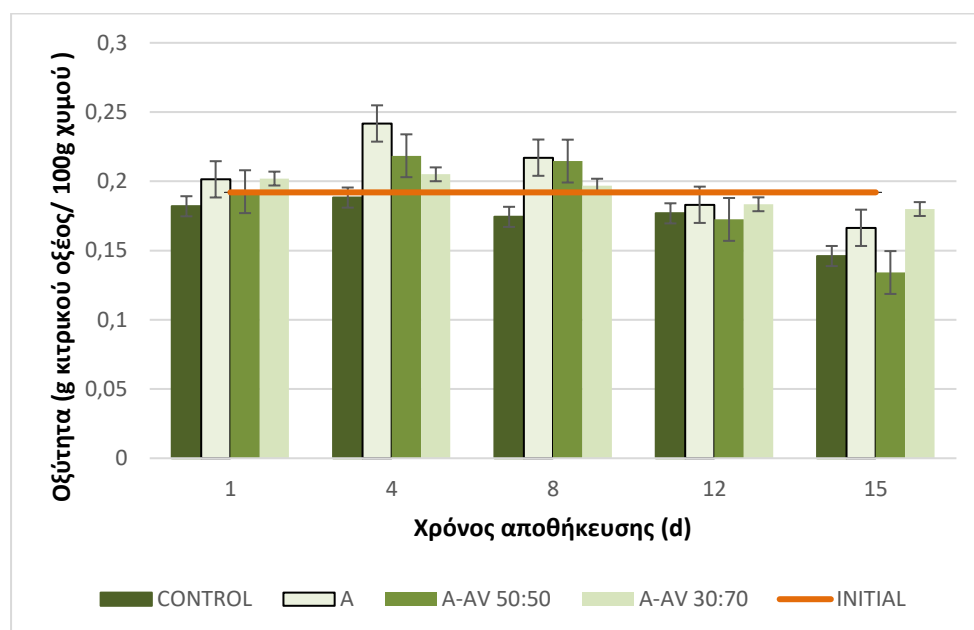


Διάγραμμα 20: pH δειγμάτων φράουλας ως προς το χρόνο αποθήκευσης.

Στο διάγραμμα παρατηρείται αύξηση του pH με τον χρόνο από την 12<sup>η</sup> ημέρα. Η επίδραση αυτή είναι στατιστικά σημαντική ( $p < 0,05$ ), ειδικά για την τελευταία ημέρα δειγματοληψίας και αποτυπώνεται ξεκάθαρα στα δείγματα ελέγχου (Control). Μία επιθυμητή δράση της εδώδιμης μεμβράνης στα φρούτα είναι η σταθεροποίηση του pH ως προς τον χρόνο κοντά στα αρχικά επίπεδα. Στις φράουλες με μεμβράνες αλγινικού νατρίου 2% (A) και με ενσωμάτωση εκχυλίσματος αλόης (A-AV 30:70) παρατηρούνται χαμηλότερες τιμές pH -συγκριτικά με το δείγμα ελέγχου- ήδη από την 1<sup>η</sup> ημέρα. Ακόμη, είναι αξιοσημείωτο πως τα ποσοστά αύξησης στις 15 ημέρες για τις δύο περιπτώσεις αυτές είναι μόλις 1,47 και 1,22% (A και A-AV 30:70 αντίστοιχα), ενώ στο δείγμα ελέγχου το ποσοστό βρίσκεται στο 5,04%. Η διαφορά αυτή λόγω χρήσης επικαλυπτικού είναι στατιστικά σημαντική ( $p < 0,05$ ).

### 3.6.5 Οξύτητα % (Titratable acidity)

Το pH φρούτων αυξάνεται τελικά με το χρόνο, επομένως αναμένεται τάση μείωσης για την οξύτητα των φρούτων. Οι αλλαγές αυτές προκαλούνται λόγω μείωσης των οργανικών οξέων της φράουλας, εξαιτίας μεταβολικών αλλαγών μετά τη συγκομιδή, κατά τη διατήρηση. Μία εδώδιμη επικαλυπτική μεμβράνη μπορεί να περιορίσει τις μεταβολές αυτές, πράγμα που καταγράφεται σε αναφορές όπου φρούτα επικαλύπτονται με μεμβράνες που περιέχουν *A.Vera* (Benítez et al., 2015; Ergun & Satici, 2012; Guillén et al., 2013; Sogvar et al., 2016; Valverde et al., 2005; Vieira et al., 2016).



Διάγραμμα 21: Μετρήσεις οξύτητας δειγμάτων φράουλας κατά το χρόνο αποθήκευσης.

Πράγματι, σε όλα τα δείγματα φράουλας, παρατηρείται αρχικά μία μικρή αύξηση της οξύτητας, ενώ έπειτα αρχίζει πτώση σε τιμές χαμηλότερες των αρχικών (της 1<sup>ης</sup> ημέρας). Η επίδραση του χρόνου είναι σαφής μετά την 8<sup>η</sup> ημέρα και στατιστικά σημαντική ( $p < 0,05$ ).

Παρατηρείται πως η οξύτητα στα φρούτα που εμβαπτίστηκαν στο διάλυμα με την υψηλότερη συγκέντρωση πολυσακχαριτών (A-AV 30:70) δεν μεταβάλλεται ως προς τον χρόνο τόσο όσο στις υπόλοιπες φράουλες (μείωση 11% σε 15 ημέρες σε σχέση με το Control όπου η μείωση είναι 20%). Η τιμή της οξύτητας κατά μέσο όρο στην περίπτωση αυτή είναι μεγαλύτερη από το μέσο όρο για τα δείγματα ελέγχου.

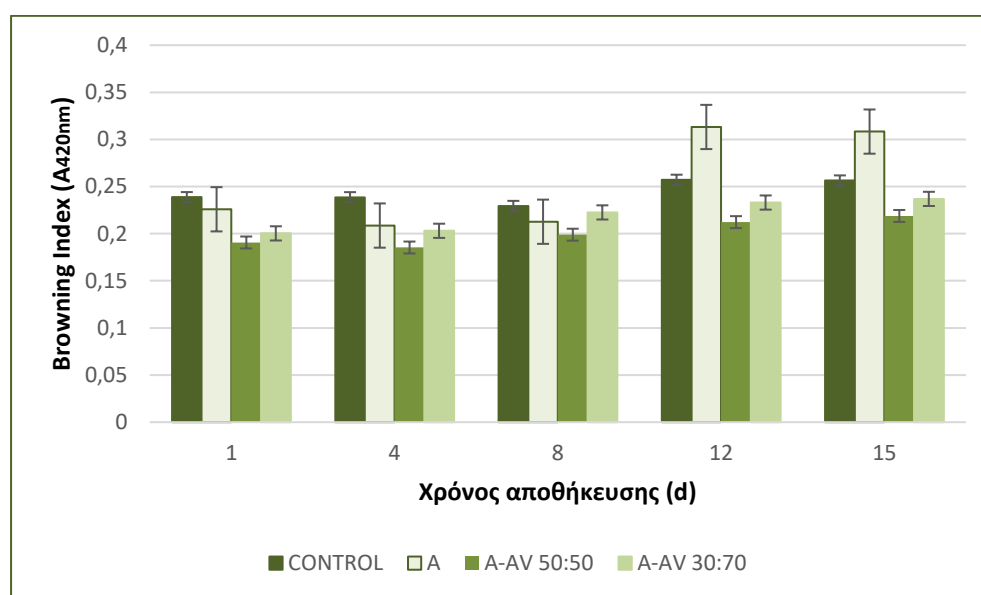
Επιπλέον, τα δείγματα με επικαλυπτικό μόνο το αλγινικό νάτριο εμφανίζουν υψηλότερες τιμές σε σχέση με τα υπόλοιπα, με μέσο όρο από τις δειγματοληψίες τα



0,202 g κιτρικού οξέος/100g χυμού. Από την ανάλυση διακύμανσης προκύπτει πως η χρήση επικαλυπτικού επηρεάζει την οξύτητα του φρούτου ( $p < 0,05$ ). Το αλγινικό νάτριο (A) και το μίγμα με πολυσακχαρίτες αλόης στη μεγαλύτερη αναλογία (A-AV 30:70) βοηθούν στη διατήρηση της οξύτητας (όπως και του pH).

### 3.6.6 Browning Index

Ο δείκτης αμαύρωσης, όπως υπολογίζεται στην παρούσα μέθοδο, παίρνει τιμές απορρόφησης στα 420nm. Αυξημένες τιμές απορρόφησης αντιστοιχούν σε πιο έντονη παρουσία μαυρίσματος -ενζυμικού εν προκειμένω- στα δείγματα φράουλας.

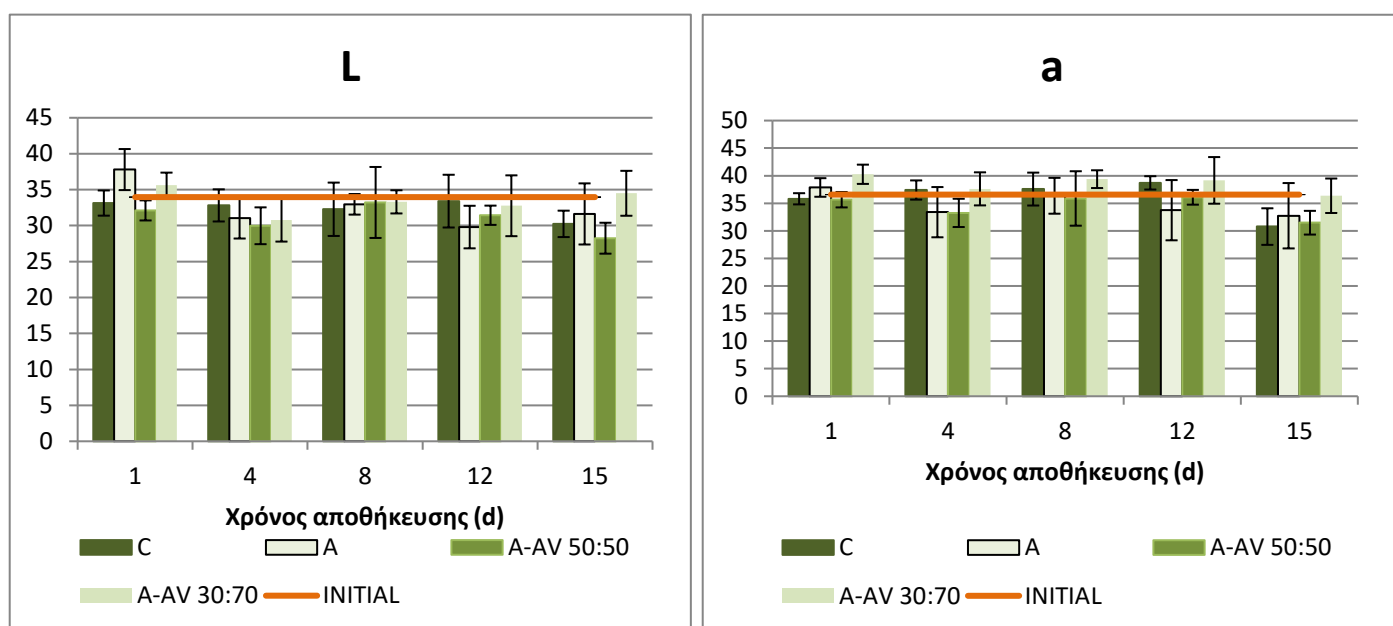


Διάγραμμα 22: Μετρήσεις δείκτη αμαύρωσης των δειγμάτων φράουλας κατά τη συντήρησή τους.

Παρατηρείται αύξηση του δείκτη αμαύρωσης στο χρόνο σε όλες τις περιπτώσεις, η οποία κρίνεται στατιστικά σημαντική ( $p < 0,05$ ). Μάλιστα, οι σημαντικές αυξήσεις παρατηρούνται μετά τις 8 ημέρες (Duncan's test). Οι πολυσακχαρίτες αλόης φαίνεται να κρατούν σε χαμηλότερα επίπεδα το μαύρισμα των φρούτων (A-AV 50:50, A-AV 30:70) σε αντίθεση με το αλγινικό νάτριο (A). Πάντως, σχολιάζεται πως μέσω ανάλυσης διακύμανσης (ANOVA), σημαντικά μειωμένο μέσο όρο σε σχέση με το δείγμα αναφοράς παρουσιάζει το επικαλυπτικό που αποτελείται κατά το ήμισυ από δ/μα πολυσακχαριτών αλόης (A-AV 50:50). Οι Qamar et al., (2018) αναφέρουν βελτιώσεις στις φράουλες ως προς το δείκτη αμαύρωσης, σε φρούτα με επικαλυπτικές μεμβράνες αλγινικού νατρίου και παρεγχύματος *A. Vera*.

### 3.6.7 Μέτρηση Χρώματος με χρωματόμετρο Minolta

Από τα  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  που μετρήθηκαν με το χρωματόμετρο, προσδιορίστηκαν το chroma (μέγεθος σχετικό του κορεσμού) και το hue (τόνος). Το  $L^*$  αντιστοιχεί στη φωτεινότητα των χρωμάτων, επομένως αναμένεται μείωσή του με τον χρόνο. Αυτή πράγματι ως ένα βαθμό παρατηρείται, αλλά δεν κρίνεται στατιστικά σημαντική. Το  $a^*$  χρησιμοποιείται για μέτρηση του κόκκινου χρώματος (χαρακτηριστικό της φρέσκιας φράουλας), με το τελευταίο να είναι εντονότερο για θετικές και αυξανόμενες τιμές του  $a^*$ . Στο χρόνο παρατηρείται σημαντική μείωση της παραμέτρου αυτής ( $p < 0,05$ ), που συνδέεται με την ποιοτική υποβάθμιση του φρούτου. Σχετικά με τις πρωτογενείς μετρήσεις χρώματος στις φράουλες, σημειώνεται βελτίωση των οπτικών χαρακτηριστικών των δειγμάτων που έχουν ως επικαλυπτικό το μίγμα με τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε πολυσακχαρίτες αλόης (A-AV 30:70). Αυτή αποτυπώνεται από τις υψηλότερες τιμές  $a^*$  στις φράουλες αυτής της ομάδας δειγμάτων. Η επίδραση επικαλυπτικού αξιολογείται ως σημαντική ( $p < 0,05$ ) και αποδίδεται στο αναφερόμενο είδος επικάλυψης, όπως επιβεβαιώνεται από Duncan's test. Οι φράουλες έχουν λόγω της φύσης του φρούτου παρόμοια ένταση κόκκινο χρώμα, οπότε η διαφορά με τη χρήση του επικαλυπτικού δεν είναι εξ αρχής σαφής, όμως εν τέλει κρίνεται σημαντική.



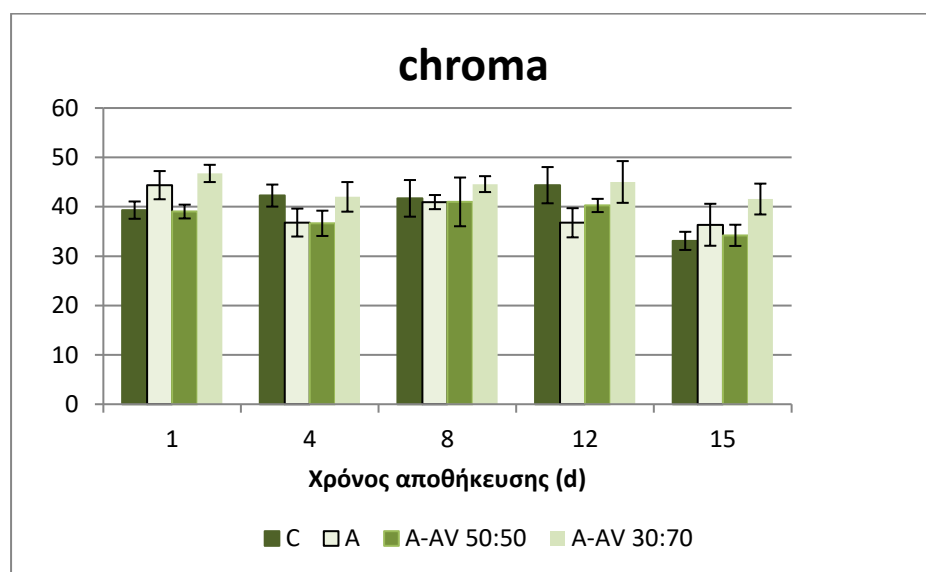
Διαγράμματα 23,24: Μετρήσεις των μεγεθών  $L^*$  και  $a^*$  με χρωματόμετρο, σε δείγματα φράουλας κατά τη διάρκεια της συντήρησής τους.

Η παράμετρος  $b^*$  από μόνη της δεν φαίνεται να παρουσιάζει κάποια τάση αλλαγής ως προς τον χρόνο ή τη χρήση επικαλυπτικής μεμβράνης για τα δείγματα φράουλας που εξετάστηκαν.

Το chroma αποτελεί δείκτη κορεσμού των δειγμάτων και υπολογίζεται ως εξής:

$$chroma = \sqrt{a^2 + b^2}.$$

Δείχνει πόσο «ζωντανό» είναι το χρώμα του φρούτου, επομένως, ειδικά στη φράουλα που έχει έντονο κόκκινο χρώμα, μπορεί να δείξει πώς το φρούτο διατηρεί τα επιθυμητά οπτικά του χαρακτηριστικά στο χρόνο.

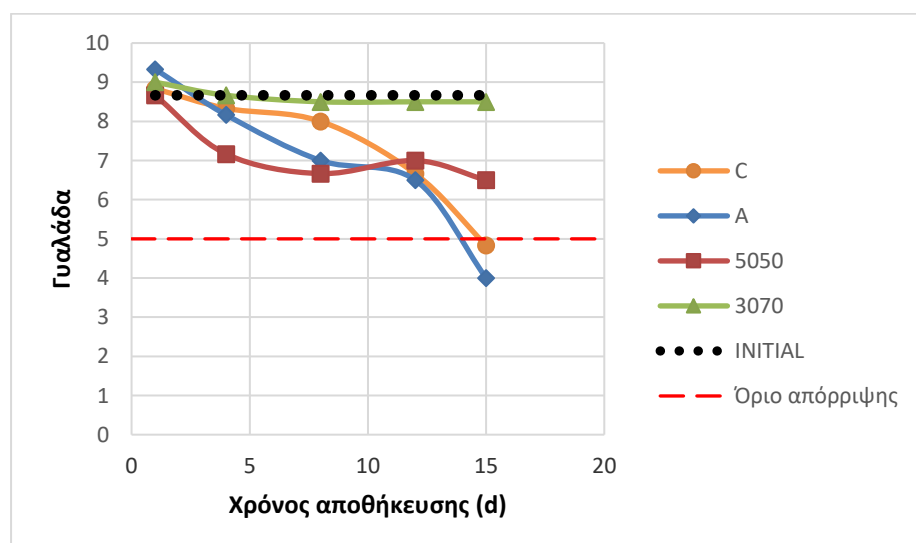
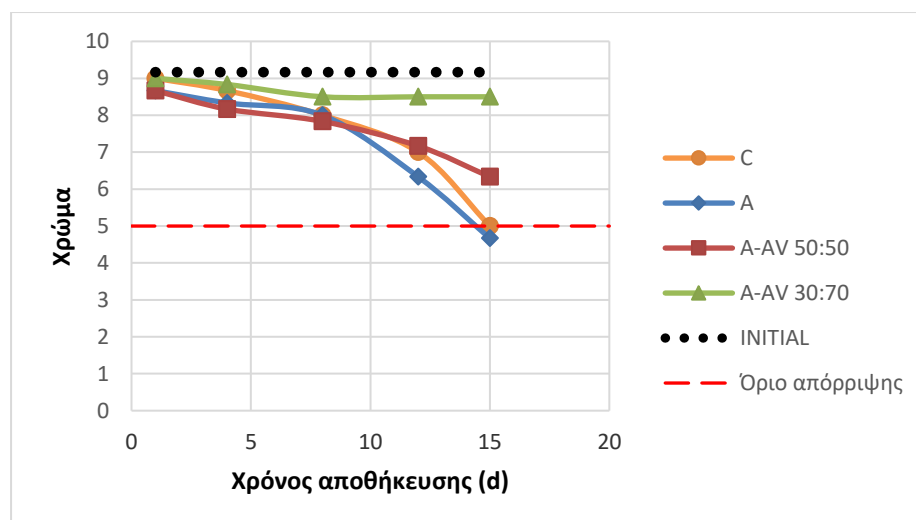


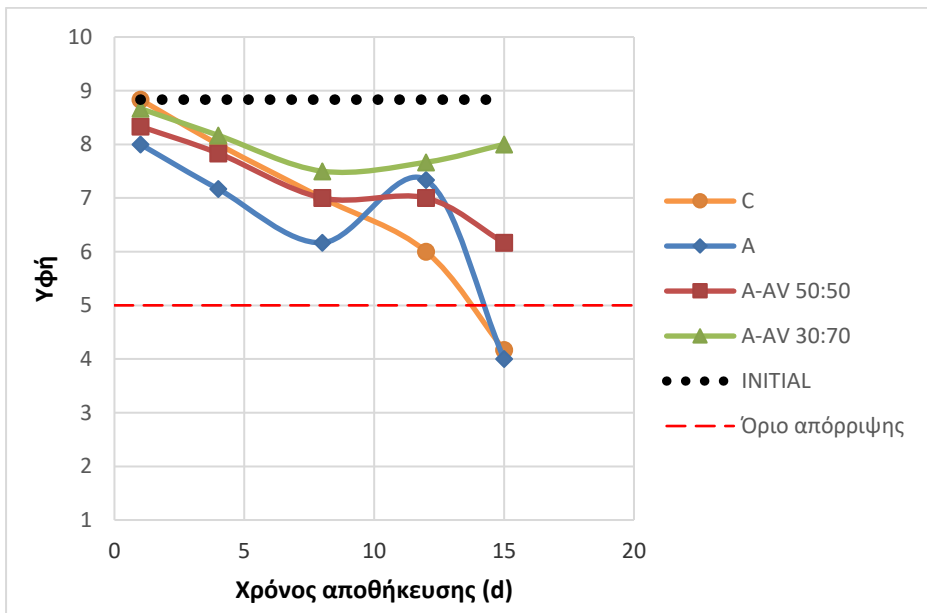
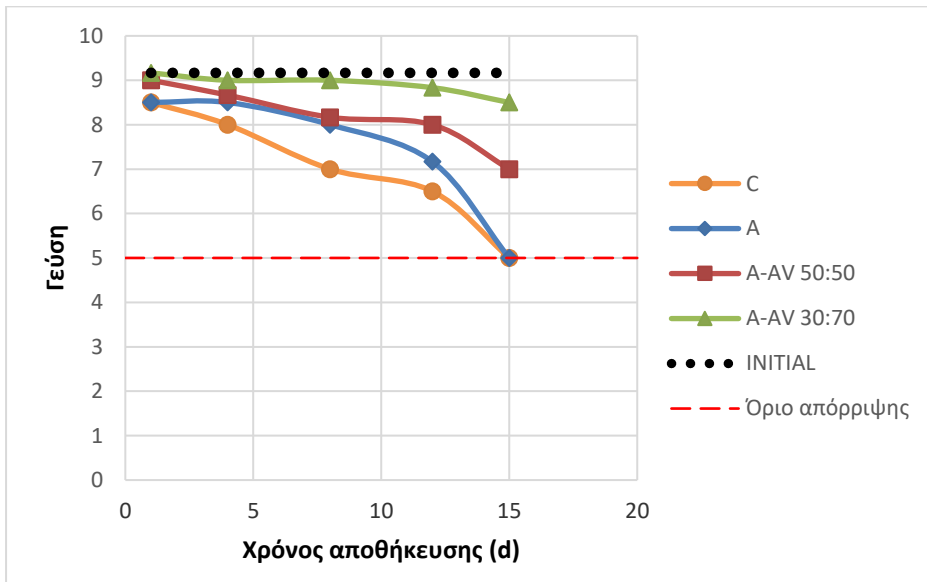
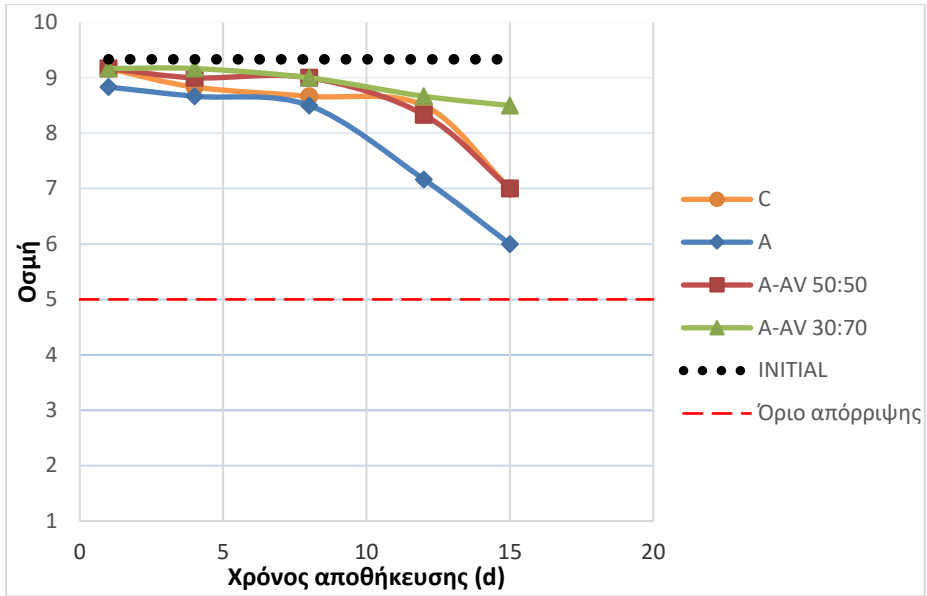
Διάγραμμα 25: Δείκτης κορεσμού (chroma) για τα δείγματα φράουλας.

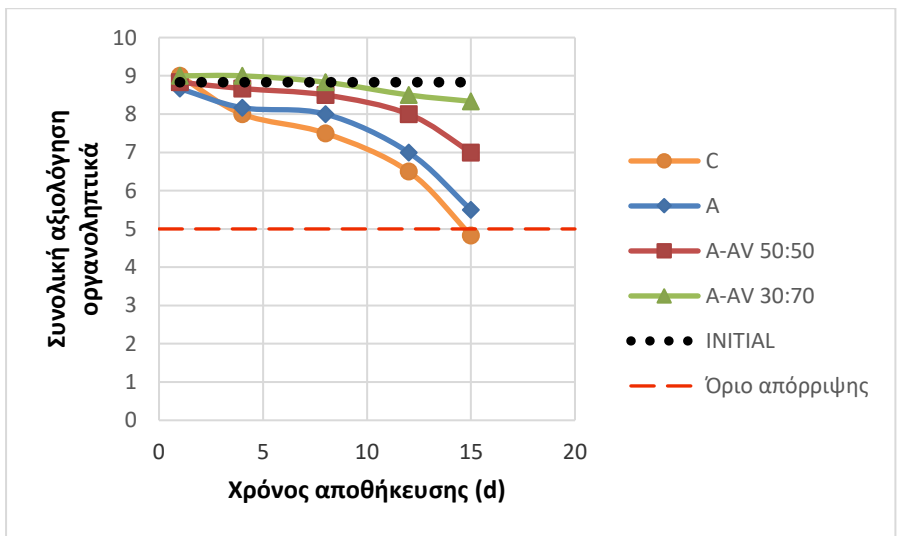
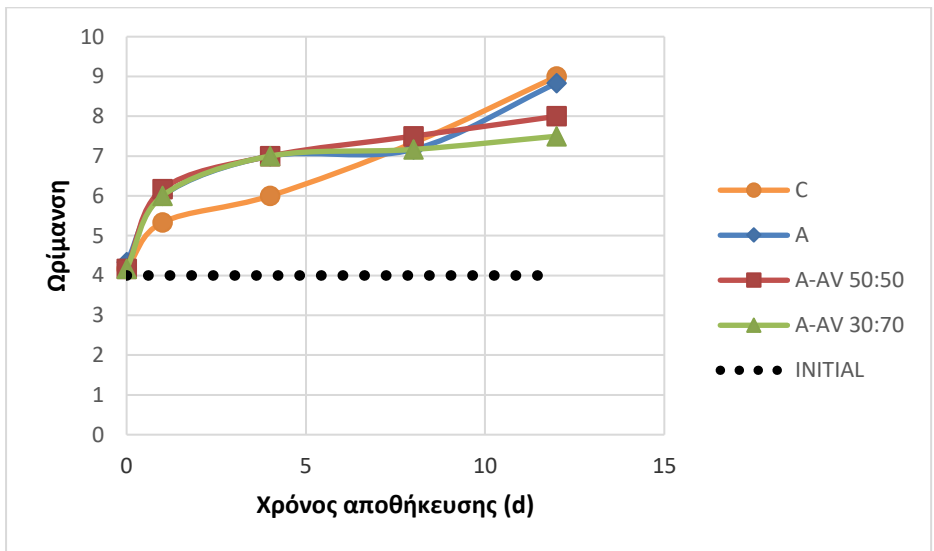
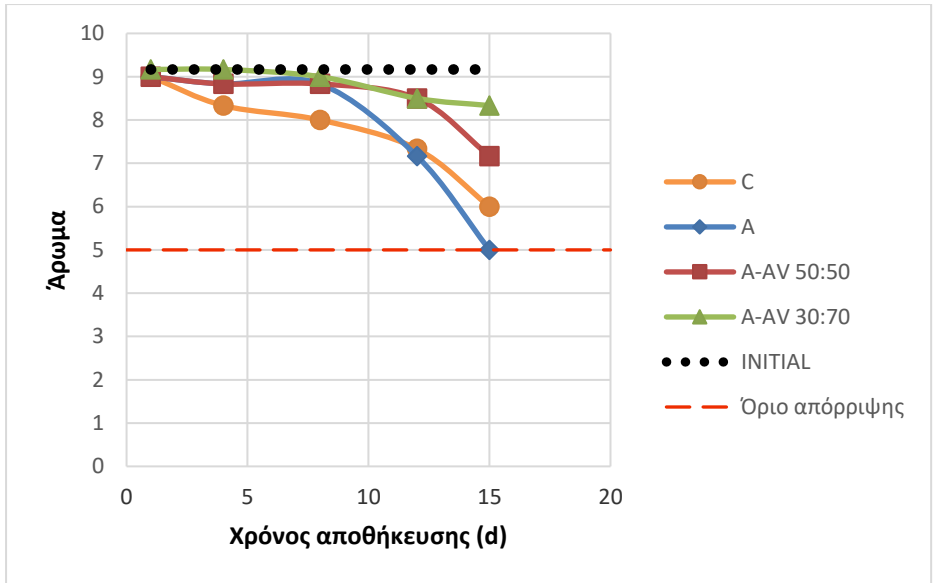
Παρατηρείται γενική μείωση με την πάροδο του χρόνου, η οποία είναι περισσότερο αισθητή την 15<sup>η</sup> ημέρα. Ο χρόνος είναι καθοριστικός παράγοντας για τον κορεσμό, όπως επιβεβαιώνει η σχετική ανάλυση διακύμανσης. Εκτός αυτού όμως, καθοριστικό ρόλο στην διαμόρφωση του δείκτη παίζει και η χρήση επικαλυπτικού ( $p < 0,05$ ). Πιο συγκεκριμένα, επαληθεύεται μέσω των στατιστικών αναλύσεων πως το επικαλυπτικό με τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα πολυσακχαριτών αλόης (A-AV 30:70) επηρεάζει τον κορεσμό του φρούτου, διατηρώντας τον σε υψηλότερα επίπεδα συγκριτικά με τις φράουλες αναφοράς, σε βάθος 15 ημερών. Η επίδραση της αλόης στη διατήρηση του χρώματος της φράουλας αναφέρεται ήδη από τους Qamar et al., (2018). Αντίστοιχη επίδραση αναφέρεται και για φρούτα όπως το κεράσι (Martínez-Romero et al., 2006).

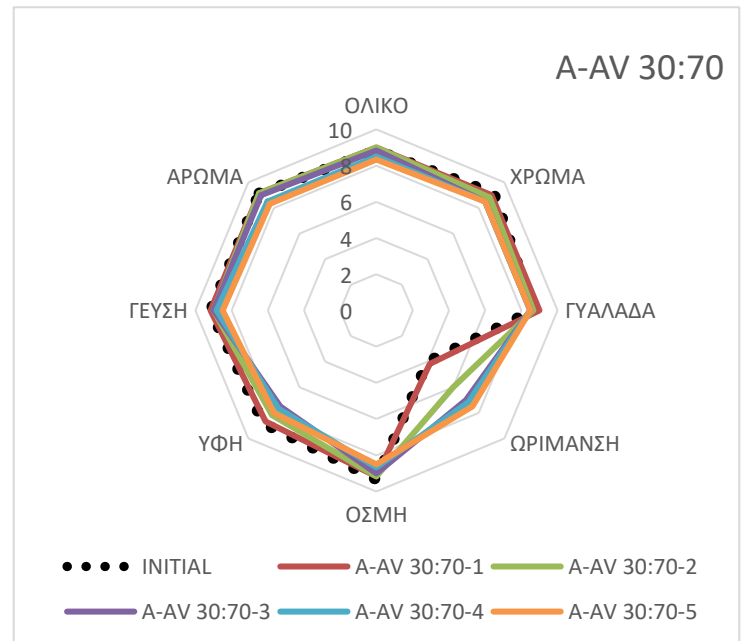
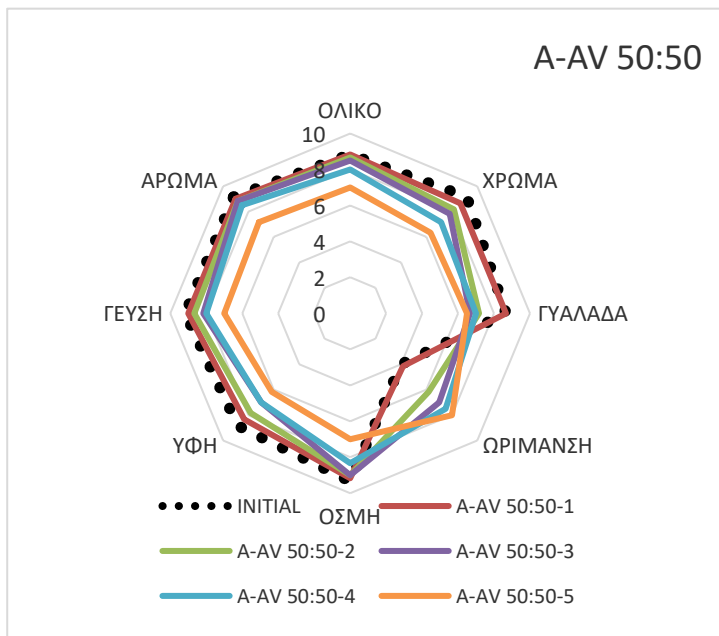
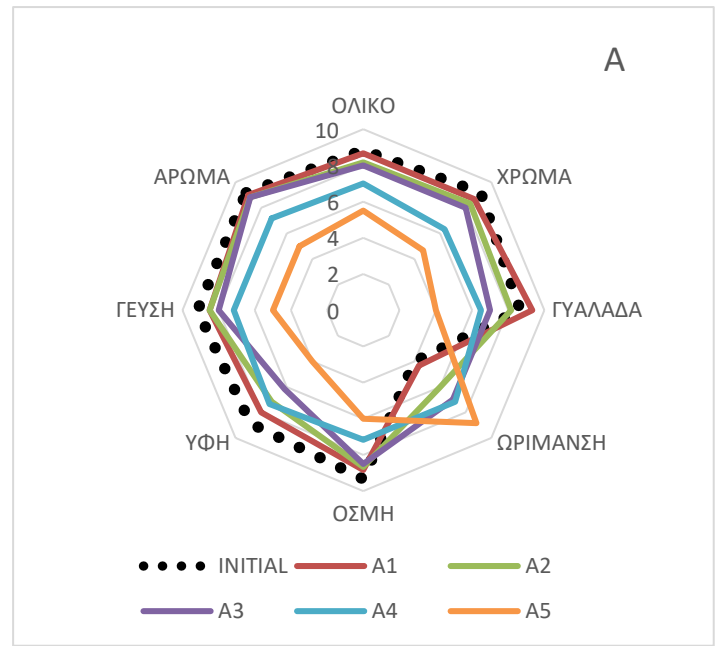
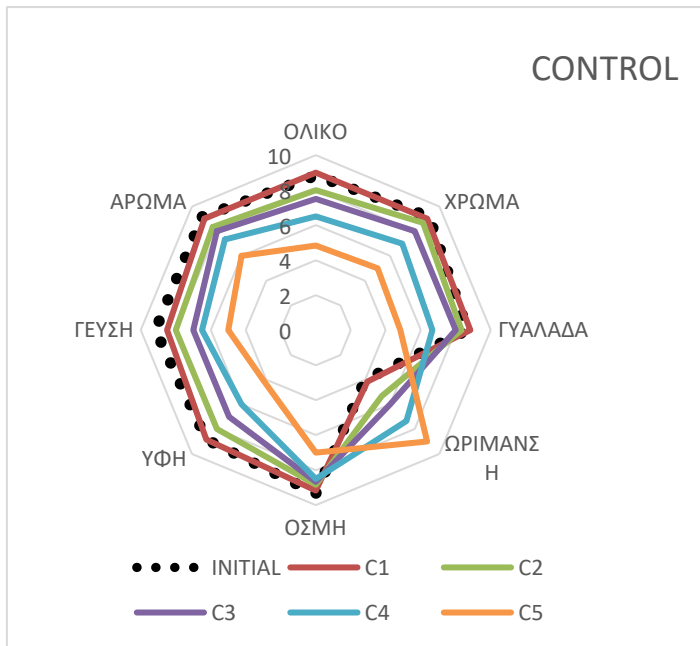
### 3.6.8 Αξιολόγηση με βάση τα Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά

Τα δείγματα αποθηκεύονται υπό ψύξη (4°C) για 15 ημέρες και ανά διαστήματα γίνεται οργανοληπτικός έλεγχος από ομάδα δοκιμαστών. Η δειγματοληψία γίνεται την 1<sup>η</sup>, 4<sup>η</sup>, 8<sup>η</sup>, 12<sup>η</sup> και 15<sup>η</sup> ημέρα. Παρακάτω φαίνονται οι μέσοι όροι των αποτελεσμάτων για το χρώμα, τη γυαλάδα, την οσμή, τη γεύση, την υφή, το άρωμα, την ωρίμανση και την ολική αρέσκεια. Ενώ σε όλα τα χαρακτηριστικά η μείωση του βαθμού συνεπάγεται μειωμένη αρέσκεια, για την ωρίμανση ισχύει το αντίθετο, λαμβάνοντας υπόψιν πως η αρχική ωριμότητα των φρούτων είναι αποδεκτή για την διάθεσή τους στην αγορά. Τα διαλύματα επικαλυπτικών υπενθυμίζεται πως προκύπτουν από τα εξής αρχικά διαλύματα: αλγινικό νάτριο 2%, δ/μα πολυσακχαριτών αλόης 0,7%. Στην ενσωμάτωση των πολυσακχαριτών, γίνεται ανάμιξη των δύο διαλυμάτων σε αναλογίες 50:50 και 30:70.

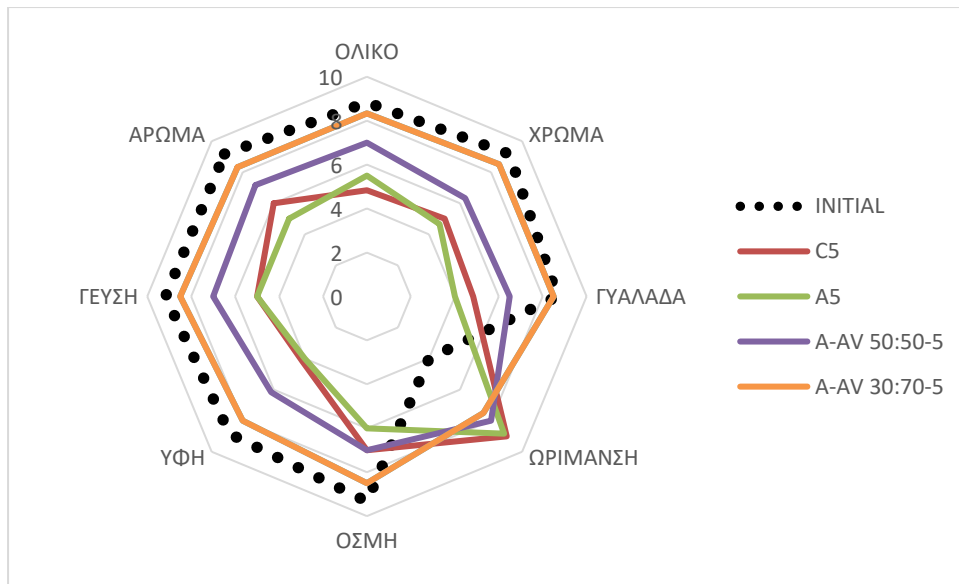








Διαγράμματα 26-37: Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά δειγμάτων φράουλας με ή χωρίς επικάλυψη ως προς το χρόνο.



Διάγραμμα 38: Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά δειγμάτων χωρίς επικάλυψη και με τις διαφορετικές επικαλύψεις υπό εξέταση, την 15<sup>η</sup> ημέρα. Σύγκριση με το αρχικό δείγμα την ημέρα 1, χωρίς επικάλυψη (INITIAL).

Στα διαγράμματα παρατηρείται έντονη μείωση όλων των χαρακτηριστικών στο χρόνο για τις φράουλες με ή χωρίς επικάλυψη. Εξάιρεση αποτελούν οι φράουλες με επικαλυπτικό από δ/μα αλγινικού νατρίου και δ/μα πολυσακχαριτών αλόης σε αναλογία 30:70 (A-AV 30:70). Αυτές διατηρούν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους στο χρόνο σε αποδεκτά επίπεδα και κοντά σε αυτά της πρώτης δοκιμής (Ημέρα 1). Αντίθετα, για τις άλλες περιπτώσεις, στις 15 ημέρες οι φράουλες βρίσκονται πολύ κοντά ή και χαμηλότερα από το όριο απόρριψης. Στη σύγκριση των χαρακτηριστικών των ομάδων δειγμάτων στο Διάγραμμα 38, για τη 15<sup>η</sup> ημέρα, είναι έκδηλη η διατήρηση της αρέσκειας στο χρόνο, για τα δείγματα που έχουν στην επικάλυψη σημαντική ποσότητα πολυσακχαριτών αλόης (A-AV 30:70). Θετική επίδραση υπάρχει σε πρώτη ανάγνωση και για το επικαλυπτικό με αναλογία 50:50 (A-AV 50:50), αλλά δεν είναι εξίσου εμφανής.

Από την ανάλυση διακύμανσης για τις μετρήσεις αυτές προκύπτει ότι το χρώμα, η γεύση, το άρωμα και η ολική αρέσκεια είναι εκείνα που επηρεάστηκαν σημαντικά από την εφαρμογή επικαλυπτικής μεμβράνης ( $p < 0,05$  σε όλες τις περιπτώσεις). Ειδικότερα, από τα Duncan's tests φαίνεται πως η θετική επίδραση αποδίδεται στο επικαλυπτικό αλγινικού-πολυσακχαριτών αλόης αναλογίας 30:70 (A-AV 30:70). Και η οσμή επηρεάστηκε σημαντικά από τη χρήση επικαλυπτικού, αλλά σε αυτήν την περίπτωση η επίδραση είναι αρνητική και αποδίδεται στη χρήση μόνο αλγινικού νατρίου στη μεμβράνη των φραουλών (Δείγματα A). Όσον αφορά τον χρόνο ως παράγοντα που μεταβάλλει τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, σε όλες τις μετρήσεις η επίδραση συμπεραίνεται πως είναι στατιστικά σημαντική ( $p < 0,05$ ).



Οι Martínez-Romero et al., (2006) σημειώνουν διατήρηση σε επιθυμητά επίπεδα του χρώματος, της γυαλάδας και της γεύσης, μετά από 16 ημέρες, σε κεράσια με μεμβράνη από αλόη. Παρόμοιες παρατηρήσεις γίνονται για την παπάγια (Brishti et al., 2013), τα σταφύλια (Valverde et al., 2005), το ακτινίδιο (Benítez et al., 2015) και τις φράουλες (Qamar et al., 2018; Singh et al., 2011). Σε όλες τις περιπτώσεις τα φρούτα με επικάλυψη δεν είναι απορριπτέα στο τέλος της περιόδου δειγματοληψιών και προτιμώνται από τους δοκιμαστές σε σύγκριση με άλλες εξεταζόμενες επικαλύψεις.



Εικόνα 15: Αρχικό δείγμα (INITIAL-0 days) και δείγματα ελέγχου (Control- 1,4,8,12,15 days).

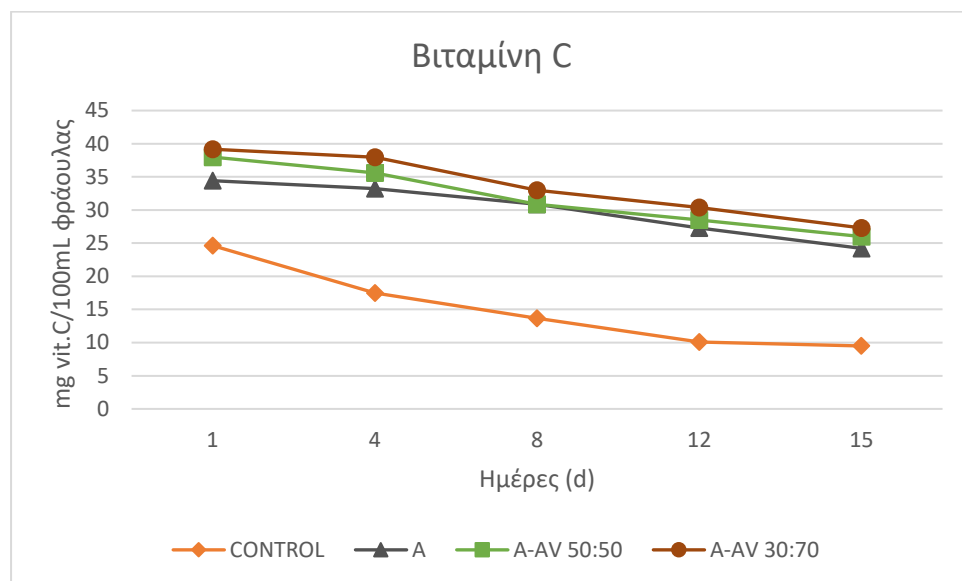


Εικόνα 16: Τα δείγματα φρούτων την 15<sup>η</sup> ημέρα. Από αριστερά προς τα δεξιά: CONTROL, A, A-AV 50:50, A-AV 30:70.

### 3.6.9 Βιταμίνη C

Αναμένεται μείωση της βιταμίνης C της φράουλας ως προς το χρόνο, λόγω οξείδωσής της όταν έρχεται σε επαφή με το οξυγόνο της ατμόσφαιρας. Οι επικαλυπτικές μεμβράνες μπορούν να επηρεάσουν την απώλεια αυτή, θέτοντας εμπόδιο στη

διαπερατότητα του οξυγόνου και περιορίζοντας τελικά την οξείδωση της βιταμίνης C.



Διάγραμμα 39: Αποτελέσματα περιεκτικότητας βιταμίνης C στα δείγματα φράουλας σε βάθος 15 ημερών.

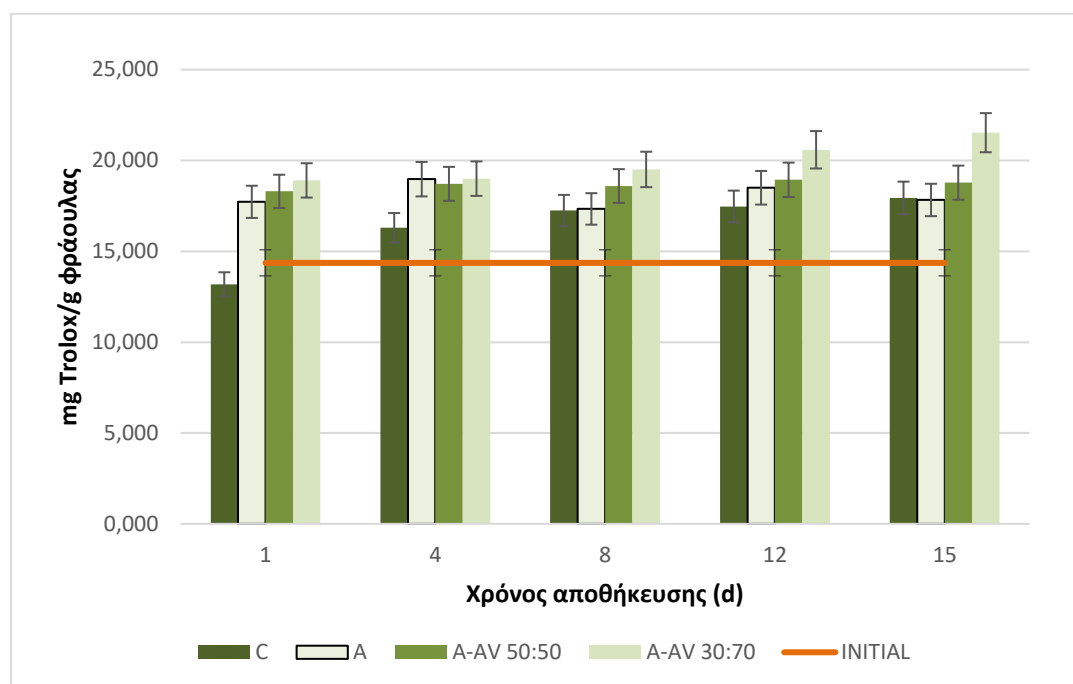
Πίνακας 12: Μείωση % στην περιεκτικότητα βιταμίνης C μετά από 15 ημέρες.

CONTROL	A	A-AV 50:50	A-AV 30:70
61,45 %	29,66 %	31,56 %	30,30 %

Οι φράουλες με επικάλυψη διαλύματος αλγινικού με δ/μα πολυσακχαριτών αλόης σε αναλογία 30:70 (A-AV 30:70), παρουσίασαν συνολικά τις μεγαλύτερες περιεκτικότητες σε βιταμίνη C. Η διαφορά αυτή λόγω επικάλυψης κρίνεται στατιστικά σημαντική σε σχέση με τις φράουλες αναφοράς (Control) και αυτές με επικαλυπτικό το αλγινικό 2%. Οι πολυσακχαρίτες αλόης εμφανίζουν παρόμοια δράση με τη χρήση παρεγχύματος *A.Vera* σε επικαλυπτικές μεμβράνες -με ή χωρίς προσθήκη άλλου παράγοντα- καθώς υπάρχουν αναφορές για διατήρηση ή βελτίωση του περιεχομένου των φρούτων σε ασκορβικό οξύ με τις επικαλύψεις αυτές (Arowora et al., 2013; Qamar et al., 2018; Sogvar et al., 2016). Ως προς το ρυθμό απώλειας της βιταμίνης C, όλα τα επικαλυπτικά φαίνεται να είχαν την επιθυμητή επίδραση, καθώς μετά από 15 ημέρες οι απώλειες βιταμίνης στα δείγματα χωρίς επικαλυπτικό είναι 61,45%, ενώ στις υπόλοιπες περιπτώσεις μόλις 30,30%.

### 3.6.10 Αντιοξειδωτικά συστατικά

Η φράουλα περιέχει αντιοξειδωτικές ουσίες, των οποίων η ικανότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών μετρήθηκε μέσω της δέσμευσης της σταθερής οργανικής ρίζας αζώτου DPPH. Το αποτέλεσμα εκφράζεται με βάση της ικανότητα δέσμευσης ριζών του Trolox.



Διάγραμμα 40: Προσδιορισμός αντιοξειδωτικών συστατικών στα δείγματα φράουλας, εκφρασμένων σε ισοδύναμη ποσότητα Trolox.

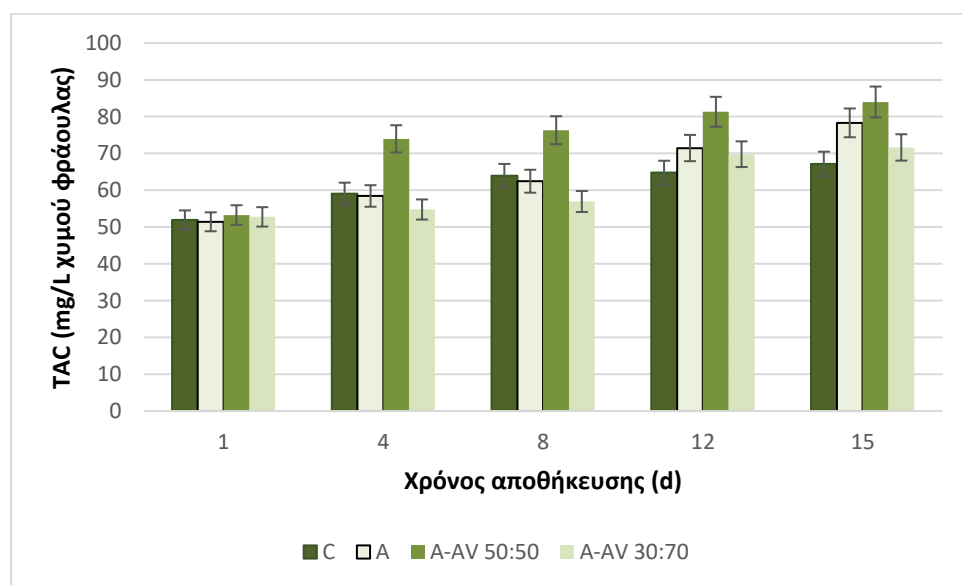
Παρατηρείται μικρή αύξηση των μετρούμενων τιμών με τον χρόνο, πράγμα που συμφωνεί με τις αναφορές των Kalt et al., (1999), Ayala-Zavala et al., (2004) που αφορούν στη διατήρηση της φράουλας στο χρόνο. Πέραν της βιταμίνης C, στη φράουλα αντιοξειδωτική ικανότητα εμφανίζουν και φαινολικά συστατικά όπως οι ανθοκυανίνες. Βέβαια, παρότι αποτυπώνεται στο διάγραμμα, η αύξηση αυτή με το χρόνο δεν είναι σημαντική. Πιθανή αιτία γι' αυτό μπορεί να είναι η αποθήκευση υπό ψύξη, που συνολικά βελτιώνει τη διατηρησιμότητα των φρούτων, πάντως ειδικά για τα αντιοξειδωτικά συστατικά, η μείωση της θερμοκρασίας συντήρησης αναστέλλει και την αύξηση της συγκέντρωσής τους (Ayala-Zavala et al., 2004).

Μία ενδιαφέρουσα παρατήρηση, αφορά τη δράση των επικαλυπτικών μεμβρανών. Η χρήση τους οδηγεί σε σημαντική αύξηση της ικανότητας των αντιοξειδωτικών συστατικών της φράουλας η οποία διατηρείται ως προς το χρόνο. Η δράση των επικαλυπτικών κρίνεται στατιστικά σημαντική για κάθε είδος μεμβράνης. Σημειώνεται πως η μεγαλύτερη αύξηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας

παρατηρείται στα φρούτα με την υψηλότερη περιεκτικότητα πολυσακχαριτών αλόης στην επικάλυψή τους (A-AV 30:70). Οι Qamar et al., (2018) αναφέρουν διατήρηση της ικανότητας δέσμευσης ελευθέρων ριζών στη φράουλα με τη χρήση αλόης ως επικάλυψη.

### 3.6.11 Περιεχόμενο Ανθοκυανινών

Όπως φαίνεται και στο παρακάτω διάγραμμα, στα δείγματα φράουλας που εξετάστηκαν, παρατηρείται σαφής αύξηση της συγκέντρωσης ανθοκυανινών ως προς τον χρόνο, σε όλες τις περιπτώσεις, τάση που παρατηρείται και σε άλλες έρευνες από τους (Gol et al., 2013; Qamar et al., 2018; Sogvar et al., 2016). Αυτή μπορεί να αποδοθεί σε διαδικασίες βιοσύνθεσης που συνεχίζονται μετά τη συγκομιδή. Η αύξηση της συγκέντρωσης ανθοκυανινών είναι μέχρι ένα σημείο επιθυμητή καθώς οι ουσίες αυτές ευθύνονται για το κόκκινο χρώμα στις φράουλες. Εντούτοις, πέραν του σημείου αυτού, ή και με ταυτόχρονη επίδραση άλλων παραγόντων -όπως σημαντική αύξηση του pH- οι ανθοκυανίνες θα μπορούσαν πλέον να μην συμβάλλουν θετικά στο τελικό χρώμα της επιφάνειας του φρούτου, με τις αποχρώσεις του κόκκινου να εμφανίζονται πιο σκούρες και λιγότερο έντονες. Κατόπιν ανάλυσης διακύμανσης, ο χρόνος κρίνεται καθοριστικός παράγοντας στην εξέλιξη της συγκέντρωσης ανθοκυανινών στις φράουλες.



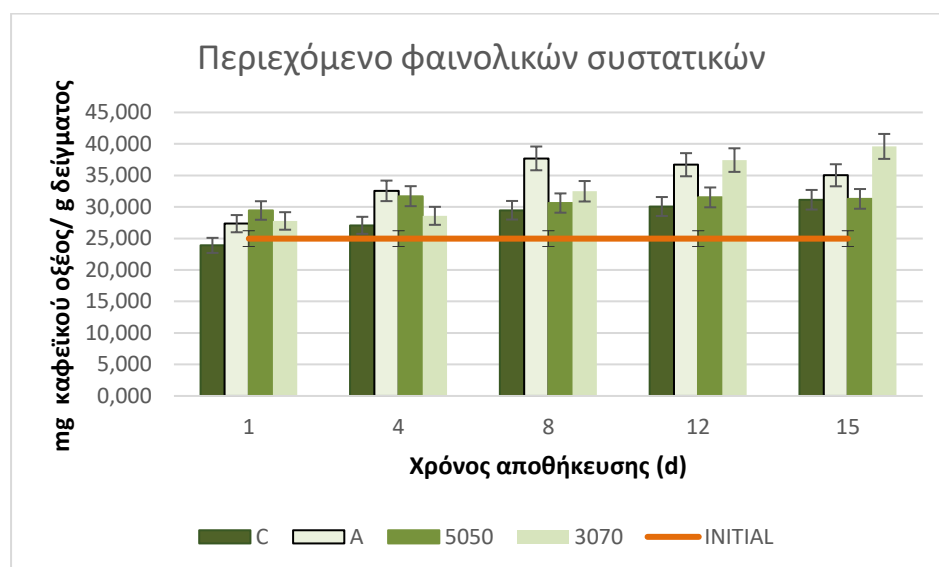
Διάγραμμα 41: Περιεχόμενο ανθοκυανινών των δειγμάτων φράουλας κατά τη συντήρησή τους υπό ψύξη.

Όσον αφορά τη χρήση επικαλυπτικού παράγοντα, φαίνεται πως υπάρχει αρχικά επίδραση των επικαλυπτικών στα φρούτα, εφόσον οι φράουλες δείχνουν υψηλότερα ποσοστά ανθοκυανινών συγκριτικά με τα δείγματα αναφοράς. Οι διαφορές είναι σημαντικές μόνο για το επικαλυπτικό με πολυσακχαρίτη αλόης στο μικρότερο ποσοστό (A-AV 50:50).

### 3.6.12 Περιεχόμενο σε φαινολικά συστατικά

Οι ανθοκυανίνες που προαναφέρθηκαν, είναι από τα βασικότερα φαινολικά συστατικά της φράουλας. Πέραν αυτών όμως, σημειώνονται αρκετά ακόμη, όπως οι προανθοκυανιδίνες, βενζοϊκά οξέα, υδροξυκινναμικό οξύ, οι φλαβονόλες κ.α. Τα φαινολικά συστατικά αποτελούν μηχανισμό άμυνας του φρούτου σε τραυματισμούς του πριν και μετά τη συγκομιδή, έχουν αντιοξειδωτική δράση και επιδρούν στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (Klorotek et al., 2005).

Έχει σχολιαστεί ήδη παραπάνω πως κατά τη διάρκεια του χρόνου αποθήκευσης υπό ψύξη, παρατηρείται αύξηση τόσο των συστατικών με αντιοξειδωτική ικανότητα, όσο και των ανθοκυανινών στα δείγματα φρούτων υπό εξέταση. Ορμώμενοι από εκεί, μία αύξηση του συνολικού περιεχομένου σε φαινολικά συστατικά ως προς τον χρόνο είναι αναμενόμενη. Πράγματι, αυτή η τάση παρατηρείται στο διάγραμμα και ο χρόνος κρίνεται καθοριστικός παράγοντας εξέλιξης της συγκέντρωσης φαινολικών συστατικών ( $p < 0,05$ ). Σημειώνεται πως το αποτέλεσμα εκφράζεται σε ισοδύναμη συγκέντρωση καφεϊκού οξέος (mg/g δείγματος).



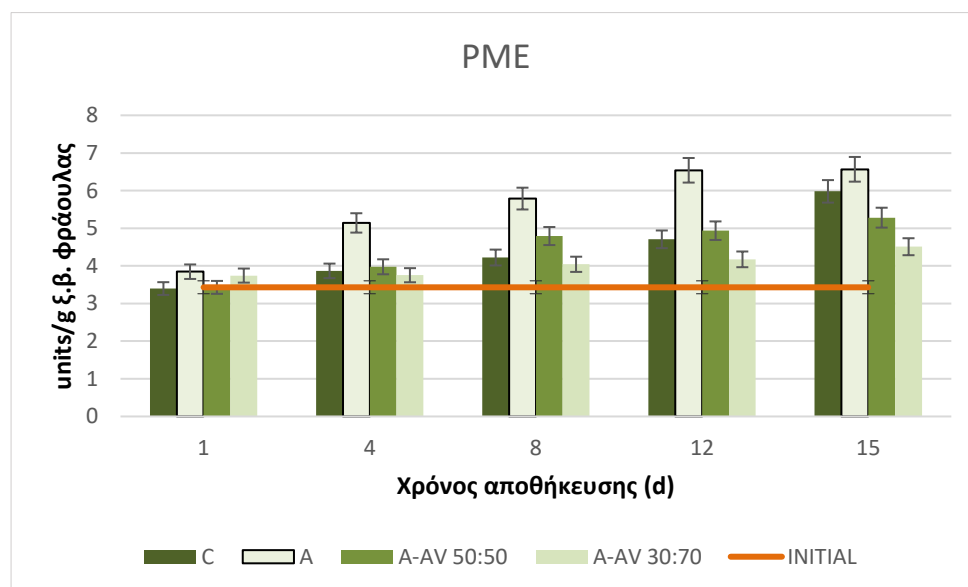
Διάγραμμα 42: Περιεχόμενο φαινολικών συστατικών στα δείγματα φράουλας ως προς το χρόνο συντήρησης.

Η χρήση επικαλυπτικών στις φράουλες επιφέρει σημαντικές βελτιώσεις του περιεχομένου, συγκριτικά με το δείγμα ελέγχου (C) ( $p < 0,05$ ). Τα καλύτερα αποτελέσματα βέβαια, προκύπτουν για τα φρούτα με το επικαλυπτικό που περιέχει πολυσακχαρίτες αλόης στη μεγαλύτερη αναλογία (A-AV 30:70) και τα δείγματα με αλγινικό νάτριο (A). Αυτό που αξίζει επίσης να σημειωθεί, είναι πως τα φρούτα με την εν λόγω επικάλυψη, παρουσιάζουν ήδη από την πρώτη ημέρα μεγαλύτερες περιεκτικότητες σε φαινολικά συστατικά σε σχέση με τα δείγματα αναφοράς, όμως οι αυξήσεις γίνονται σημαντικές μετά την 8<sup>η</sup> ημέρα. Η χρήση *A. Vera* σε επικαλυπτική μεμβράνη συμβάλλει στη βελτίωση του περιεχομένου σε φαινολικά συστατικά της φράουλας (Qamar et al., 2018; Sogvar et al., 2016).

### 3.6.13 Ενζυμική ανάλυση

#### ι. Πηκτινομεθυλεστεράση (PME)

Η πηκτινομεθυλεστεράση δρα στις πηκτίνες του φρούτου που συναντώνται στα κυτταρικά τοιχώματα, προκαλώντας συνεπώς σημαντικές αλλοιώσεις στα τελευταία. Στην πράξη, μπορεί να επηρεάσει χαρακτηριστικά του φρούτου όπως η σκληρότητα. Έτσι, είναι χρήσιμη μια επέμβαση στα φρούτα για τον περιορισμό της δράσης του ενζύμου κατά την αποθήκευση μετά τη συγκομιδή. Η ενεργότητα του ενζύμου στις φράουλες σημειώνει αυξητική τάση στο χρόνο, όπως φαίνεται στο διάγραμμα. Το τελευταίο είναι σαφές από την 8<sup>η</sup> ημέρα στα δείγματα ελέγχου, πράγμα που συνάδει και με άλλες αναφορές (Giannoglou et al., 2021). Η χρήση πολυσακχαριτών αλόης φαίνεται να έχει ικανοποιητικά αποτελέσματα όσον αφορά τον περιορισμό της τάσης αυτής. Παρότι την 1<sup>η</sup> ημέρα η ενεργότητα PME στις φράουλες βρίσκεται σε παρόμοια επίπεδα για όλες τις περιπτώσεις, τελικά, στις φράουλες όπου υπάρχει επικαλυπτικό με πολυσακχαρίτες αλόης στη μεγαλύτερη αναλογία, η ενεργότητα διατηρείται κοντά στα αρχικά επίπεδα κατά τη διάρκεια των δύο εβδομάδων αποθήκευσης. Σημειώνεται πάντως πως η χρήση μόνο αλγινικού νατρίου 2% ως επικάλυψη, φαίνεται να συμβάλλει στην αύξηση της ενεργότητας.



Διάγραμμα 43: Ενεργότητα PME στα δείγματα φράουλας κατά την περίοδο αποθήκευσης.

Στατιστικά, μετά από ανάλυση διακύμανσης τόσο ο χρόνος όσο και η χρήση επικάλυψης στα φρούτα είναι καθοριστικοί παράγοντες στην πορεία της ενεργότητας της πηκτινομεθυλεστεράσης στη φράουλα ( $p < 0,05$ ). Μπορεί τα επικαλυπτικά με πολυσακχαρίτες αλόης να μην σημειώνουν στατιστικά σημαντική μείωση σε σχέση με το δείγμα ελέγχου αλλά μόνο συγκριτικά με τη χρήση αλγινικού, όμως φαίνεται πως παίζει ρόλο σε αυτό και η αναλογία που χρησιμοποιήθηκε.

Ειδικότερα, λαμβάνοντας το μέσο όρο των δειγματοληψιών για κάθε σειρά δειγμάτων, σχολιάζεται το εξής. Φαίνεται πως οι τιμές κατά μέσο όρο προκύπτουν όλο και μικρότερες με την ενσωμάτωση περισσότερων πολυσακχαριτών στη μεμβράνη (Μέσοι όροι 15 ημερών: 4,483 units/g ξ.β και 4,044 units/g ξ.β. στα δείγματα A-AV 50:50 και A-AV 30:70 αντίστοιχα). Τη 15<sup>η</sup> ημέρα η ενεργότητα στις φράουλες A-AV 50:50 και A-AV 30:70 είναι 5,281 και 4,510 units/g ξ.β. αντίστοιχα. Συνεπώς, μία σημαντικότερη αύξηση της περιεκτικότητας των τελευταίων στη μεμβράνη, θα μπορούσε να οδηγήσει σε εμφανέστερα αποτελέσματα ως προς τον περιορισμό της PME.

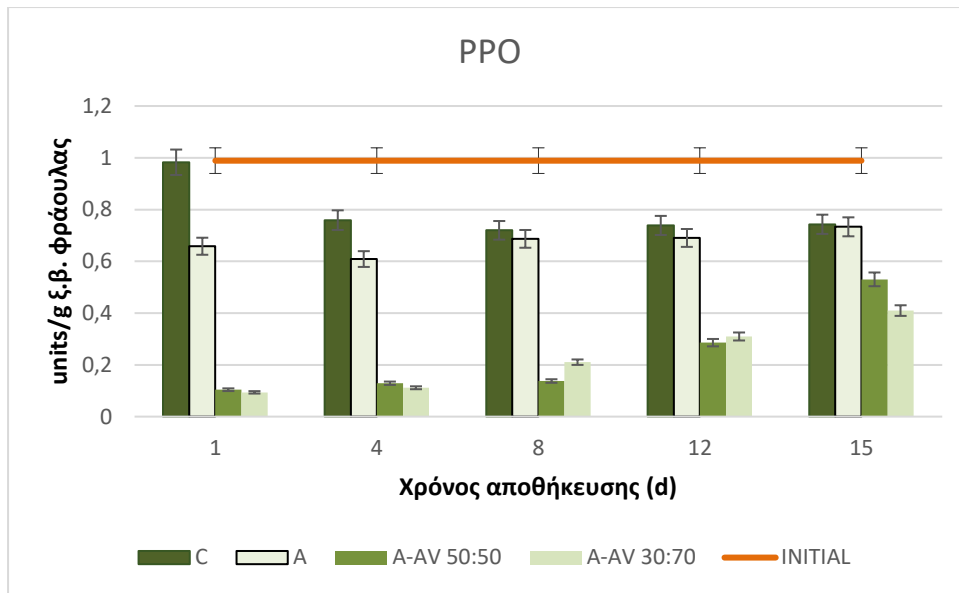
Υπάρχουν αναφορές για περιορισμό της ενεργότητας με μεμβράνες πολυσακχαριτών όπως η χιτοζάνη. Οι πολυσακχαρίτες συνδέονται δυνητικά με τις πηκτίνες, εμποδίζοντας την πρόσβαση του ενζύμου σε αυτές. Παρόμοια δράση πιθανό να μπορούσε να σημειωθεί και με πολυσακχαρίτες *A.Vera* (Gol et al., 2013; González-Aguilar et al., 2009; Misir et al., 2014).

## ii. Πολυφαινολική Οξειδάση (PPO)

Ως προς την ενεργότητα της πολυφαινολοξειδάσης, με τον χρόνο προβλέπεται αύξησή της όπως και παρατηρείται στα δείγματα σε βάθος 15 ημερών αποθήκευσης. Παράλληλα, επιθυμητή δράση μιας επικαλυπτικής μεμβράνης θα ήταν η διατήρηση της ενεργότητας σε χαμηλότερα επίπεδα κατά τη διάρκεια του χρόνου αποθήκευσης. Η δράση του ενζύμου παίζει ρόλο στο ενζυμικό μαύρισμα μέσω κατάλυσης της οξείδωσης φαινολών και ο-κινονων. Ως αποτέλεσμα, παράγονται μελανίνες που επηρεάζουν αρνητικά τα οπτικά χαρακτηριστικά του φρούτου.

Στο δείγμα αναφοράς, σημειώνεται μία αρχική πτώση έως την 8<sup>η</sup> ημέρα και ακολουθεί ελαφρά αύξηση της ενεργότητας του ενζύμου. Εξαιρώντας την 1<sup>η</sup> ημέρα, οι διαφορές στις τιμές δεν είναι μεγάλες. Για τη χρήση αλγινικού νατρίου ως επικάλυψη και πάλι εξαιρώντας την 1<sup>η</sup> ημέρα, παρατηρείται μια μικρή μείωση σε σχέση με το δείγμα ελέγχου, όχι όμως σημαντική. Στις περιπτώσεις ενσωμάτωσης στη μεμβράνη πολυσακχαριτών αλόης, τα αποτελέσματα είναι διαφορετικά. Οι τιμές της ενεργότητας είναι σημαντικά χαμηλότερες ήδη από την 1<sup>η</sup> ημέρα και ενώ σε αυτές τις περιπτώσεις η τάση αύξησης στο χρόνο είναι έκδηλη, σε καμία περίπτωση οι μετρούμενες τιμές δεν προσεγγίζουν αυτές των δειγμάτων αναφοράς και εκείνων με επικάλυψη αλγινικού νατρίου. Συνεπώς, παρατηρείται η επιθυμητή δράση της επικαλυπτικής μεμβράνης στις φράουλες, όταν εκεί υπάρχουν οι πολυσακχαρίτες αλόης (η μεγαλύτερη αναλογία δίνει και το βέλτιστο αποτέλεσμα τη 15<sup>η</sup> ημέρα).



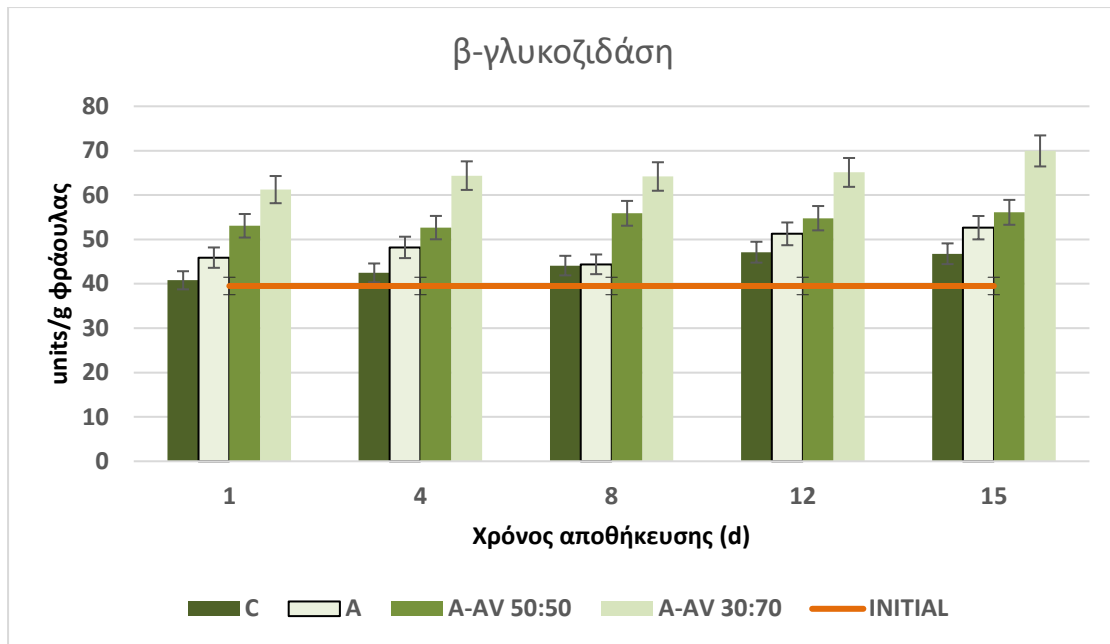


Διάγραμμα 44: Ενεργότητα PPO στα δείγματα φράουλας κατά την περίοδο αποθήκευσης.

Όσον αφορά τη στατιστική ανάλυση, ο χρόνος δεν δείχνει να επιφέρει σημαντικές αλλαγές στην ενεργότητα του ενζύμου. Οι διαφορές όμως που οφείλονται στη χρήση επικαλυπτικού είναι στατιστικά σημαντικές ( $p < 0,05$ ) και αποδίδονται στις μεμβράνες εμπλουτισμένες με πολυσακχαρίτες αλόης.

### iii. β- γλυκοζιδάση

Η β- γλυκοζιδάση είναι ένζυμο υπεύθυνο για την απελευθέρωση φουρανονών και εστέρων που αρχικά βρίσκονται στο φρούτο σε μορφή γλυκοζιτών. Μία αύξηση της ενεργότητας είναι επιθυμητή, καθώς οι ουσίες που αναφέρθηκαν σχετίζονται άμεσα με τη γεύση και τα αρώματα στα φρούτα (Rogorzelski & Wilkowska, 2007). Ακολουθεί διάγραμμα με τις τιμές ενεργότητας β-γλυκοζιδάσης (units/ g φράουλας) ως προς τον χρόνο (1-15 days) για κάθε σειρά δειγμάτων, με ή χωρίς επικάλυψη.



Διάγραμμα 45: Ενεργότητα β-γλυκοζιδάσης στα δείγματα φράουλας κατά την αποθήκευση.

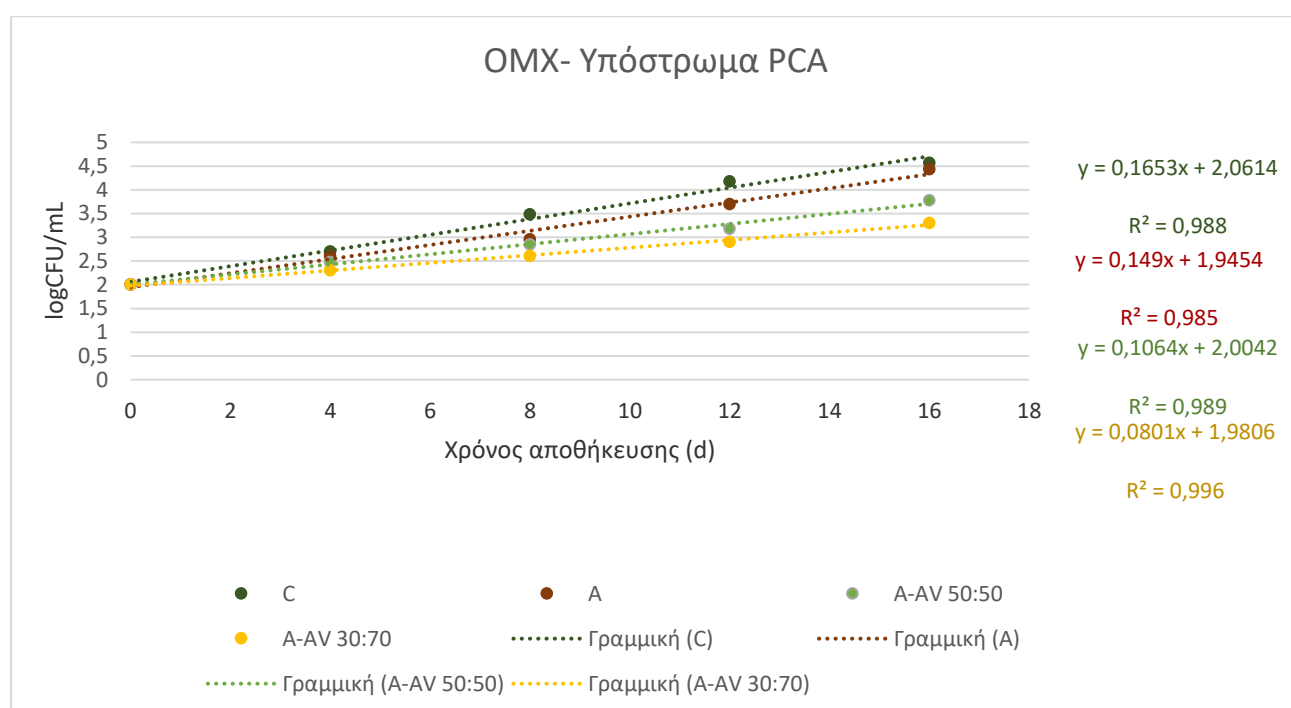
Ο χρόνος είναι παράγοντας που επιδρά θετικά στη δράση του ενζύμου, αν και έπειτα από παρατεταμένη αποθήκευση, μπορεί να επέλθει σταδιακή μείωση. Σε όλα τα δείγματα που εξετάζονται, η ενεργότητα της β-γλυκοζιδάσης αυξάνεται με τον χρόνο, πράγμα που είναι εμφανέστερο από την 8<sup>η</sup> ημέρα και έπειτα. Οι διαφορές αυτές στο χρόνο την 8<sup>η</sup> και 15<sup>η</sup> ημέρα, κατόπιν της ανάλυσης διακύμανσης, είναι στατιστικά σημαντικές.

Σχετικά με την εμφάνιση της φράουλας σε επικαλυπτική μεμβράνη αλγινικού νατρίου με ή χωρίς εμπλουτισμό με πολυσακχαρίτες αλόης, σχολιάζονται τα παρακάτω. Κάθε είδος επικάλυψης συνδέεται με σημαντικές αυξήσεις της ενεργότητας του ενζύμου ήδη από την 1<sup>η</sup> ημέρα ( $p < 0,05$ ). Οι πολυσακχαρίτες αλόης που περιέχονται στο διάλυμα επικαλυπτικού φαίνεται επίσης να έπαιξαν ρόλο στην αύξηση και διατήρηση της δράσης του ενζύμου. Το διάλυμα με πολυσακχαρίτες στη μεγαλύτερη περιεκτικότητα (A-AV 30:70), χρησιμοποιήθηκε στις φράουλες με τις υψηλότερες ενεργότητες από την 1<sup>η</sup> ημέρα, ενώ η ανοδική πορεία διατηρήθηκε μέχρι και την τελευταία δειγματοληψία (15<sup>η</sup> ημέρα). Οι υψηλές τιμές για τα δείγματα αυτά, σχετίζονται με τη διατήρηση του αρώματος κοντά στα αρχικά επίπεδα ακόμη και μετά από 15 ημέρες, όπως προέκυψε από τον οργανοληπτικό έλεγχο.

### 3.6.14 Μικροβιολογικός Έλεγχος

#### ι. Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (ΟΜΧ)- Υπόστρωμα Plate Count Agar (PCA).

Ο έλεγχος για την ΟΜΧ αναφέρεται σε αερόβιους μικροοργανισμούς. Το μικροβιακό φορτίο των φρούτων υπό εξέταση αναμένεται να είναι αυξανόμενο στο χρόνο. Μία θετική επίδραση των επικαλυπτικών μεμβρανών -αν υπάρχει- θα αντιστοιχεί σε μείωση του ρυθμού ανάπτυξης των μικροοργανισμών αυτών. Αυτό αναμένεται καθώς οι επικαλυπτικές μεμβράνες περιορίζουν τη διαπερατότητα του οξυγόνου από και προς το φρούτο, δημιουργώντας εντός του τροφίμου συνθήκες μη ευνοϊκές για την ανάπτυξη των αερόβιων μικροοργανισμών.

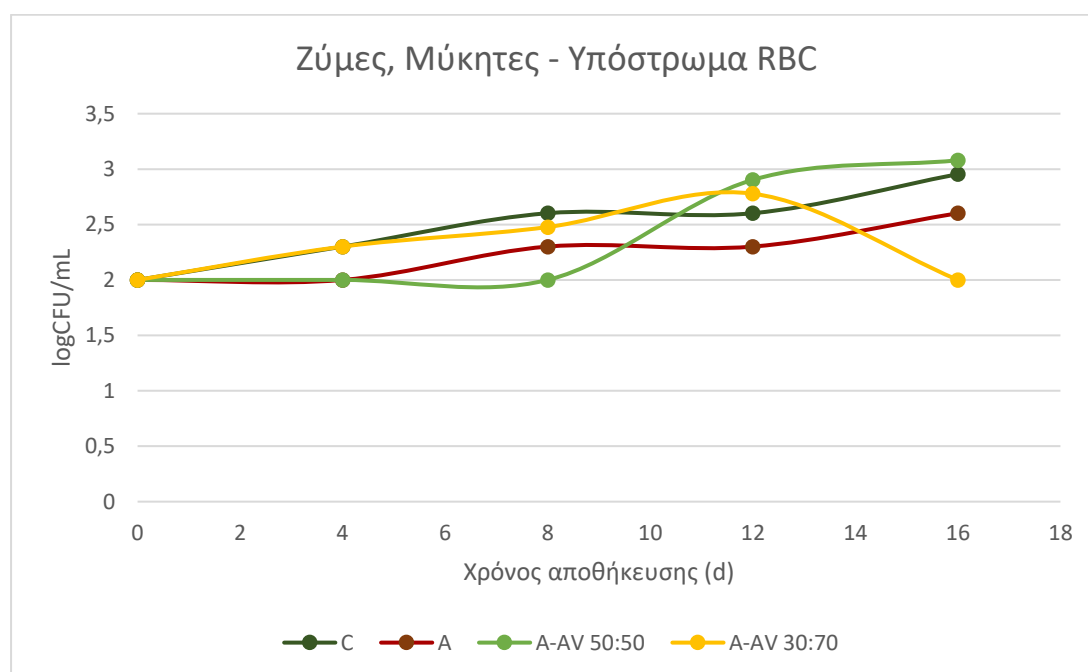


Διάγραμμα 46: Αποτελέσματα προσδιορισμού Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας στα δείγματα φράουλας κατά την περίοδο αποθήκευσης.

Ενώ το μικροβιακό φορτίο ξεκινά από τα ίδια επίπεδα για όλα τα δείγματα, όπως φαίνεται στο διάγραμμα, η αύξησή του με το χρόνο είναι μεγαλύτερη για τις φράουλες χωρίς επικάλυψη (Control- C). Ο ρυθμός αύξησης του φορτίου είναι μικρότερος για τα επικαλυπτικά που περιέχουν δ/μα αλγινικού 2% και δ/μα πολυσακχαριτών αλόης 0,7% σε αναλογία 50:50 και 30:70 (A-AV 50:50, A-AV 30:70). Το τελευταίο μάλιστα φαίνεται να έχει την καλύτερη επίδραση στον περιορισμό της μικροβιακής ανάπτυξης. Η επίδραση των επικαλυπτικών στο μικροβιακό φορτίο είναι στατιστικά σημαντική ( $p < 0,05$ ) ενώ όπως προκύπτει από το Duncan's test, αποδίδεται στα επικαλυπτικά με πολυσακχαρίτες αλόης (A-AV 50:50 και A-AV 30:70).

## ii. Ζύμες, Μύκητες – Υπόστρωμα Rose-Bengal Chloramphenicol Agar (RBC)

Και σε αυτήν την περίπτωση αναμένεται αύξηση του μικροβιακού φορτίου στο χρόνο, η οποία πράγματι αποτυπώνεται στο παρακάτω διάγραμμα. Αντίθετα με τη μεσόφιλη χλωρίδα, η χρήση επικαλυπτικής μεμβράνης δεν φαίνεται να επηρεάζει τους μικροοργανισμούς αυτούς. Μετά από ανάλυση διακύμανσης, φαίνεται η σημαντική επίδραση του χρόνου στην ανάπτυξη των ζυμών και μυκήτων ( $p < 0,05$ ), ενώ επιβεβαιώνεται η απουσία σημαντικής επίδρασης της επικάλυψης στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών αυτών στα φρούτα.



Διάγραμμα 47: Αποτελέσματα προσδιορισμού ζυμών και μυκήτων στα δείγματα φράουλας κατά την περίοδο αποθήκευσης.

Ως προς τον μικροβιολογικό έλεγχο, αναφέρεται στη βιβλιογραφία η χρήση επικαλυπτικών με *A. Vera* για περιορισμό της αύξησης του μικροβιακού φορτίου και επομένως για βελτίωση του χρόνου ζωής του φρούτου (Qamar et al., 2018; Sogvar et al., 2016). Σε άλλες περιπτώσεις, το μικροβιακό φορτίο μειώνεται σε επίπεδα χαμηλότερα των αρχικών (Martínez-Romero et al., 2006; Valverde et al., 2005). Σημειώνεται πως οι πολυσακχαρίτες αλόης που χρησιμοποιήθηκαν παίζουν σημαντικό ρόλο στις δράσεις αυτές, καθώς θεωρούνται -ειδικά η ακεμαννάνη- αντιβακτηριακοί παράγοντες. Είναι πιθανό ο περιορισμός της αύξησης της OMX να σχετίζεται με αυτήν την ιδιότητα. Επιπλέον, υπάρχει αντιμυκητιακή δράση της αλόης, που αποδίδεται σε ουσίες όπως η αλοΐνη. Στην περίπτωση υπό μελέτη βέβαια το συγκεκριμένο δεν είναι εμφανές, όμως υπενθυμίζεται πως γίνεται χρήση κλάσματος που δεν περιέχει όλες τις δραστικές ουσίες του παρεγχύματος της αλόης.

Συνολικά, από όλες τις μετρήσεις προκύπτει μία αξιόλογη παρατήρηση. Η χρήση αλγινικού νατρίου ως επικαλυπτικό δεν είχε κάποια σημαντική επίδραση σε πολλά από τα μετρούμενα μεγέθη για τις φράουλες, ενώ υπήρξαν και περιπτώσεις που η επίδραση ήταν αρνητική. Συνεπώς, το αλγινικό νάτριο δεν δείχνει κατάλληλο για εφαρμογή ως επικαλυπτικό σε φράουλες, χωρίς την προσθήκη σε αυτό κάποιου άλλου συστατικού που θα προσδώσει ιδιότητες επιθυμητές για τη βελτίωση της διατηρησιμότητας (Moayednia et al., 2010). Όμως, αυτό το γεγονός τονίζει τη θετική επίδραση των πολυσακχαριτών αλόης στην επικάλυψη, καθώς με την ενσωμάτωσή τους ακόμα και σε μικρά ποσοστά, παρατηρήθηκαν σημαντικές βελτιώσεις σε μεγέθη σχετικά με τη διατήρηση του φρούτου. Αξίζει να σημειωθεί πως η χρήση του κλάσματος πολυσακχαριτών αλόης σε μεμβράνες δεν αναφέρεται στη βιβλιογραφία, όμως υπάρχουν αρκετές αναφορές για τη χρήση χυμού *A. Vera*. Τα αποτελέσματα που καταγράφονται στις πηγές αυτές είναι ενθαρρυντικά. Ένας από τους παράγοντες που καθιστά την αλόη αποτελεσματική σε τέτοιες εφαρμογές, είναι το περιεχόμενο των πολυσακχαριτών της (Misir et al., 2014). Αυτό επιβεβαιώνεται και στην παρούσα έρευνα.

## 4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ- ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ

### ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Πριν τη μελέτη παραλαβής πολυσακχαριτών από A.Vera, κρίθηκε σκόπιμος ο χαρακτηρισμός του χυμού αλόης που θα χρησιμοποιούνταν στη συνέχεια, ως προς τις φυσικοχημικές του ιδιότητες. Τα αποτελέσματα προέκυψαν κοντά στις τιμές που αναφέρονται στην υπάρχουσα βιβλιογραφία.

Στα πλαίσια της μελέτης παραλαβής κλάσματος πολυσακχαριτών και ειδικά ακεμαννάνης από χυμό A.Vera με διαχωρισμό των ινών στο χυμό, καταβύθιση με οργανικό διαλύτη (μεθανόλη ή αιθανόλη), παραλαβή ιζήματος με φυγοκέντρηση, επαναδιαλυτοποίηση αυτού σε νερό, διήθηση και ξήρανση, προκύπτει ως συμπέρασμα πως ο καταλληλότερος διαλύτης για την αποτελεσματική καταβύθιση, είναι η αιθανόλη (95% v/v), καθώς οι αποδόσεις μάζας ιζήματος ως προς το χυμό και το περιεχόμενο πολυσακχαριτών στο τελικό προϊόν είχαν τις υψηλότερες τιμές στην περίπτωση αυτή. Η καταβύθιση με χρήση αιθανόλης χαμηλότερων συγκεντρώσεων κρίθηκε αναποτελεσματική, εφόσον η ποσότητα ιζήματος που προέκυψε ήταν ελάχιστη.

Με βάση τα παραπάνω, πραγματοποιήθηκε μελέτη της επίδρασης κατεργασιών του χυμού στο τελικό προϊόν ακεμαννάνης που παραλαμβάνεται. Ειδικότερα εφαρμόστηκε ομογενοποίηση υψηλής ταχύτητας, υπέρηχοι και υπερυψηλή πίεση (200 και 400 MPa) στα δείγματα χυμού, ενώ μελετήθηκε και ήπια θερμική μέθοδος (40°C) που εφαρμόστηκε μεμονωμένα ή συνδυαστικά με τις υπόλοιπες κατεργασίες. Έτσι, εξετάστηκε και η επίδραση της θερμοκρασίας.

Από τις μετρήσεις αποδόσεων μάζας ιζήματος ως προς το ξηρό βάρος χυμού, από τα περιεχόμενα πολυσακχαριτών στο χυμό μετά τις κατεργασίες και στο τελικό κλάσμα πολυσακχαριτών και τέλος, από τον προσδιορισμό ακεμαννάνης στο τελικό προϊόν, προκύπτει το συμπέρασμα πως η ομογενοποίηση υψηλής ταχύτητας και η εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης 400 MPa, ειδικά όταν πραγματοποιούνται σε θερμοκρασία 40°C, μπορούν να βελτιώσουν σημαντικά τη μέθοδο παραλαβής πολυσακχαριτών από χυμό A.Vera. Η βελτίωση αυτή αφορά τόσο την ποσότητα που παραλαμβάνεται και το περιεχόμενο ολικών πολυσακχαριτών, αλλά και την καθαρότητα ως προς ακεμαννάνη στο τελικό προϊόν, εφόσον οι κατεργασίες αυτές συνδέονται με τις υψηλότερες τιμές σε όλες τις μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν.

Μια ακόμη παράμετρος που κρίθηκε σκόπιμο να ληφθεί υπόψιν είναι η συγκομιδή, λόγω αλλαγών στις συνθήκες καλλιέργειας των φυτών που πραγματοποιήθηκαν πριν το κόψιμο φύλλων για τη δεύτερη ομάδα δειγμάτων. Εν τέλει, σε όλες τις μετρήσεις στα δείγματα της δεύτερης συγκομιδής καταγράφηκαν μικρότερες τιμές σε σχέση με την πρώτη. Επομένως, εξάγεται το συμπέρασμα πως εκτός της μεθόδου που εφαρμόζεται, οι συνθήκες καλλιέργειας παίζουν σημαντικό ρόλο στην παραλαβή του κλάσματος ακεμαννάνης, καθώς επηρεάζουν τα χαρακτηριστικά της πρώτης ύλης.

Μετά την παραλαβή των κλασμάτων ακεμαννάνης, μελετήθηκε η εφαρμογή τους σε εδώδιμες επικαλυπτικές μεμβράνες για φράουλα. Η ενσωμάτωση του κλάσματος σε μεμβράνες, έγινε για δύο χαμηλές συγκεντρώσεις πολυσακχαριτών αλόης εντός διαλύματος αλγινικού νατρίου. Σε μια ομάδα φρούτων χρησιμοποιήθηκε μεμβράνη μόνο αλγινικού, για σύγκριση. Κατά τη διάρκεια συντήρησης υπό ψύξη για 15 ημέρες, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις μεγεθών σχετικών με τη διατηρησιμότητα των φρούτων. Από αυτές, προέκυψαν τα ακόλουθα συμπεράσματα.

Όσον αφορά την % απώλεια βάρους των φρούτων κατά την αποθήκευση, ενώ το αλγινικό νάτριο δεν αποτέλεσε ικανοποιητικό φραγμό ώστε να μειωθεί η απώλεια βάρους, σε συνδυασμό με τους πολυσακχαρίτες αλόης οι απώλειες περιορίστηκαν σημαντικά.

Για το pH και την οξύτητα, μια επιθυμητή δράση της επικαλυπτικής μεμβράνης είναι η διατήρηση των τιμών σε σταθερά επίπεδα κατά την αποθήκευση. Τόσο η επικάλυψη αλγινικού αλλά κυρίως η επικάλυψη στην οποία περιέχονται πολυσακχαρίτες αλόης, οδήγησαν σε διατήρηση των τιμών αυτών πλησιέστερα στις αυτές της 1<sup>ης</sup> ημέρας, συγκριτικά με το δείγμα ελέγχου.

Με βάση το δείκτη αμαύρωσης, προκύπτει πως ενώ το αλγινικό δεν προστατεύει καθόλου το φρούτο από το μαύρισμα που παρατηρείται κατά τη συντήρησή του, συνδυαστικά με πολυσακχαρίτες αλόης τα αποτελέσματα μπορεί να είναι καλύτερα. Βέβαια, επειδή αυτό προκύπτει μόνο για την περίπτωση της χαμηλότερης εξεταζόμενης συγκέντρωσης πολυσακχαριτών στην επικάλυψη, το συμπέρασμα δεν εξάγεται με βεβαιότητα.

Ός προς το χρώμα των φρούτων που μετρήθηκε με χρωματόμετρο Minolta, φαίνεται πως το επικαλυπτικό που περιέχει πολυσακχαρίτες αλόης στη μεγαλύτερη συγκέντρωση, εφαρμόστηκε στις φράουλες οι οποίες κατά τη διάρκεια συντήρησης διατήρησαν το πιο «ζωντανό» κόκκινο χρώμα. Αυτό συμπεραίνεται από τις συγκριτικά υψηλότερες τιμές φωτεινότητας ( $L^*$ ), κόκκινου χρώματος (θετικό  $a^*$ ) και κορεσμού.

Η ίδια εδώδιμη μεμβράνη φαίνεται πως έχει επιθυμητή δράση και στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των φρούτων, καθώς η αξιολόγηση ειδικά του χρώματος, της γεύσης, του αρώματος αλλά και της συνολικής αρέσκειας, έδειξε πως οι φράουλες με την επικάλυψη αυτή διατήρησαν ακόμη και μετά τις 15 ημέρες τα χαρακτηριστικά αυτά σε επιθυμητά επίπεδα, κοντά στα αρχικά.

Σχετικά με την εξέλιξη του περιεχομένου της βιταμίνης C της φράουλας ως προς το χρόνο, συμπεραίνεται πως η χρήση όλων των εξεταζόμενων επικαλυπτικών οδήγησε σε διατήρηση των τιμών σε υψηλότερα επίπεδα συγκριτικά με το δείγμα ελέγχου. Όμως, τα καλύτερα αποτελέσματα σχετίζονται με τη χρήση μεμβράνης αλγινικού με πολυσακχαρίτες αλόης στη μεγαλύτερη εξεταζόμενη συγκέντρωση. Τα ίδια συμπεράσματα προκύπτουν και για την ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών των αντιοξειδωτικών συστατικών της φράουλας αλλά και για το περιεχόμενο φαινολικών συστατικών των φρούτων.

Επιπρόσθετα, πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός της ενεργότητας ορισμένων ενζύμων που περιέχονται στη φράουλα. Αξιοσημείωτα αποτελέσματα προέκυψαν από τις μετρήσεις πολυφαινολοξειδάσης και β-γλυκοζιδάσης. Για την πολυφαινολοξειδάση είναι επιθυμητός ο περιορισμός της ενεργότητας κατά τη συντήρηση της φράουλας. Αυτός πράγματι καταγράφηκε και συνδέεται με τις επικαλύψεις που περιέχουν πολυσακχαρίτες αλόης. Όσον αφορά την β-γλυκοζιδάση, από την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων σχολιάζεται πως οι εν λόγω επικαλύψεις συνδέονται με αυξημένη ενεργότητα στα φρούτα κατά την αποθήκευση.

Τέλος, από μικροβιολογικό έλεγχο στα δείγματα φράουλας κατά τη διάρκεια των 15 ημερών συντήρησης, μετρήθηκε η ανάπτυξη της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας (ΟΜΧ) και των ζυμών και μυκήτων. Η ύπαρξη επικάλυψης στις φράουλες δεν επηρέασε την εξέλιξη του μικροβιακού φορτίου για τις ζύμες και τους μύκητες. Όμως, δεν ισχύει το ίδιο για την ολική μεσόφιλη χλωρίδα. Συμπεραίνεται πως η ενσωμάτωση πολυσακχαριτών αλόης σε εδώδιμες επικαλύψεις μπορεί να προσδίδει σε αυτές αντιμικροβιακή δράση. Στην περίπτωση της ΟΜΧ, παρατηρήθηκε μείωση του ρυθμού αύξησης του μικροβιακού φορτίου (συγκριτικά με το δείγμα ελέγχου) για φράουλες επικαλυμμένες με μεμβράνες που περιείχαν πολυσακχαρίτες αλόης.

Με βάση τα παραπάνω πορίσματα από τα αποτελέσματα, σχολιάζεται ως κατακλείδα πως η εφαρμογή του κλάσματος ακετυλομαννανών σε εδώδιμες επικαλυπτικές μεμβράνες για φρούτο, οδηγεί σε βελτίωση της διατηρησιμότητας, τουλάχιστον στην περίπτωση της συντήρησης φράουλας υπό ψύξη. Επιπλέον, η επίδραση αυτή σημαντική ακόμα και σε χαμηλές περιεκτικότητες των πολυσακχαριτών αυτών εντός του διαλύματος επικαλυπτικού.

## ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΟ ΜΕΛΛΟΝ

Το φυτό της αλόης παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον κι αποτελεί αντικείμενο συνεχούς έρευνας, καθώς περιέχει μια σειρά από συστατικά, τα οποία μεμονωμένα και συνεργιστικά προσδίδουν στο φυτό πλήθος χρήσιμων ιδιοτήτων. Πολλές από τις λειτουργικές ή βιολογικές ιδιότητες αυτές, συνδέονται άμεσα με τις ακετυλομαννάνες, τον χαρακτηριστικό πολυσακχαρίτη του φυτού. Η παραλαβή του πολυμερούς αυτού από το φυτό είναι εξίσου ενδιαφέρουσα, καθώς η ακεμαννάνη μπορεί να βρει εφαρμογή σε σκευάσματα φαρμακευτικά, σε καλλυντικά αλλά και στα τρόφιμα, οδηγώντας σε προϊόντα υψηλής αξίας. Επιπλέον, το γεγονός πως πρόκειται για πολυσακχαρίτη φυτικής προέλευσης τον κάνει περισσότερο ελκυστικό στην αγορά σε σύγκριση με συνθετικά μόρια παρόμοιας δράσης. Για τους λόγους αυτούς, είναι σημαντική η διερεύνηση της παραλαβής του κλάσματος πολυσακχαριτών αλόης, με μεθόδους τέτοιες ώστε να διασφαλίζεται η ακεραιότητα των μορίων και η διατήρηση του υψηλού βαθμού ακετυλίωσης. Ταυτόχρονα όμως, είναι μείζονος σημασίας η εφαρμογή τεχνικών που μπορούν να οδηγήσουν σε αυξημένες αποδόσεις σε μάζα ξηρού κλάσματος και σε υψηλή καθαρότητα ως προς τις ακετυλομαννάνες. Με βάση τη μελέτη παραλαβής του κλάσματος ακεμαννάνης από



χυμό A.Vera που πραγματοποιήθηκε στην παρούσα διπλωματική εργασία, προτείνονται τα εξής για μελλοντική έρευνα:

Αρχικά, μετά την κοπή του φύλλου συνεχίζονται πολλές ενζυμικές και μικροβιολογικές δράσεις οι οποίες μπορούν να οδηγήσουν σε ποιοτική υποβάθμιση του χυμού και να επηρεάσουν φυσικά τις αποδόσεις σε παραλαμβανόμενους πολυσακχαρίτες. Έτσι, προτείνεται η εφαρμογή επιπλέον διεργασιών σταθεροποίησης του χυμού πριν την περαιτέρω επεξεργασία του. Οι διεργασίες αυτές μπορεί να περιλαμβάνουν μεταξύ άλλων ενζυμικές κατεργασίες του χυμού, ρύθμιση της οξύτητας με προσθήκη ουσιών όπως το κιτρικό οξύ ή με προσθήκη ουσιών με αντιοξειδωτική δράση, όπως το ασκορβικό οξύ.

Επιπλέον, προς βελτίωση της καθαρότητας του τελικού προϊόντος σε ακεμαννάνη, μπορούν να εξεταστούν κι άλλες μέθοδοι απομάκρυνσης ινών, πρωτεϊνών και ανθρακινονών, συνδυαστικά με τον καθαρισμό του κλάσματος με διήθηση, ή να μελετηθούν άλλες μέθοδοι απομόνωσης του επιθυμητού κλάσματος, όπως η υπερδιήθηση.

Στην παρούσα εργασία εξετάστηκε η επίδραση θερμικής κατεργασίας αλλά και εναλλακτικών κατεργασιών, με εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης, υπερήχων και με ομογενοποίηση υψηλής ταχύτητας. Σε μελλοντική έρευνα, μπορεί να αναλυθεί η επίδραση αυτή για μεγαλύτερα εύρη συνθηκών θερμοκρασίας, πίεσης, συχνότητας υπερήχων, ταχύτητας περιστροφής στελέχους ομογενοποιητή και χρόνου. Επίσης, μπορεί να εξεταστεί η κατεργασία και με άλλες τεχνικές, όπως είναι η χρήση μικροκυμάτων ή η χρήση ευτηκτικών διαλυτών, για την παραλαβή των επιθυμητών πολυσακχαριτών.

Εκτός από την παραλαβή των ακετυλομαννανών από αλόη, πραγματοποιήθηκε και ενσωμάτωσή τους σε εδώδιμες επικαλυπτικές μεμβράνες σε φράουλα προκειμένου να αξιολογηθεί η αποτελεσματικότητά τους σε αυτήν την εφαρμογή. Με βάση τα αποτελέσματα που προέκυψαν, προτείνονται τα εξής.

Εφόσον η χρήση μόνο πολυσακχαριτών αλόης σε μεμβράνες ίσως είναι ασύμφορη και επειδή η ενσωμάτωσή τους ακόμα και σε μικρές ποσότητες είναι αποτελεσματική, μπορεί να μελετηθεί η χρήση άλλου επικαλυπτικού μέσου εκτός των αλγινικών αλάτων, που θα οδηγήσει συνδυαστικά με τις ακετυλομαννάνες σε σημαντικές βελτιώσεις στη διατηρησιμότητα νωπών φρούτων ή λαχανικών, όπως για παράδειγμα οι πηκτίνες ή η χιτοζάνη. Αναφορικά με την τελευταία, υπάρχουν πηγές που αναφέρουν την εφαρμογή της σε μεμβράνες για φρούτα μαζί με παρέγχυμα από A.Vera.

Επίσης προτείνεται η ενσωμάτωση πολυσακχαριτών αλόης σε διαλύματα επικαλυπτικών σε άλλες, μεγαλύτερες συγκεντρώσεις.

Τέλος, η χρήση του κλάσματος ακεμαννάνης σε εδώδιμες μεμβράνες μπορεί να αξιολογηθεί και σε άλλα νωπά φρούτα ή λαχανικά όπως και για διαφορετικές συνθήκες συντήρησης του τροφίμου.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Ahlawat, K. S., & Khatkar, B. S. (2011). Processing, food applications and safety of aloe vera products: A review. In *Journal of Food Science and Technology* (Vol. 48, Issue 5, pp. 525–533). <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0229-z>
- Ahmed, M. J., Singh, Z., & Khan, A. S. (2009). Postharvest Aloe vera gel coating modulates fruit ripening and quality of ‘Arctic Snow’ nectarine kept in ambient and cold storage. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(5), 1024–1033. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2008.01873.x>
- Alonso M, T. Y. L. M. et al. (2012). On the isolation of immunostimulatory active acemannan from Aloe barbadensis. *Biotechnol Apl*, 29(2), 87–101.
- Alvarado-Morales, G., Minjares-Fuentes, R., Contreras-Esquivel, J. C., Montañez, J., Meza-Velázquez, J. A., & Femenia, A. (2019). Application of thermosonication for Aloe vera (Aloe barbadensis Miller) juice processing: Impact on the functional properties and the main bioactive polysaccharides. *Ultrasonics Sonochemistry*, 56, 125–133. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.03.030>
- Aptel, P., & Clifton, M. (1986). Ultrafiltration. In *Synthetic Membranes: Science, Engineering and Applications* (pp. 249–305). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-009-4712-2\\_10](https://doi.org/10.1007/978-94-009-4712-2_10)
- Arowora, K. A., Williams, J. O., Adetunji, C. O., Afolayan, S. S., Olaleye, O. O., Ogundele, B. A., Fawole, O. B., & Adetunji, J. B. (2013). Effects of Aloe Vera Coatings on Quality Characteristics of Oranges Stored Under Cold Storage. *Greener Journal of Agricultural Sciences*, 3(1), 039–047. <https://doi.org/10.15580/GJAS.2013.1.110112192>
- Ayala-Zavala, J. F., Wang, S. Y., Wang, C. Y., & González-Aguilar, G. A. (2004). Effect of storage temperatures on antioxidant capacity and aroma compounds in strawberry fruit. *LWT - Food Science and Technology*, 37(7), 687–695. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.03.002>
- Badar, Z. (2017a). Enhanced Production of Aloe Mannan Using Plant Biotechnology. *International Journal of Biotechnology and Bioengineering*, 3(9), 298–316. <https://doi.org/10.25141/2475-3432-2017-9.0298>
- Badar, Z. (2017b). Enhanced Production of Aloe Mannan Using Plant Biotechnology. *International Journal of Biotechnology and Bioengineering*, 3(9), 298–316. <https://doi.org/10.25141/2475-3432-2017-9.0298>
- Baldwin, E. A. (2007). Surface Treatments and Edible Coatings in Food Preservation. In M. S. Rahman (Ed.), *Handbook of Food Preservation* (2nd ed., pp. 477–498). CRC Press.

- Baruah, A., Bordoloi, M., & Deka Baruah, H. P. (2016). Aloe vera: A multipurpose industrial crop. *Industrial Crops and Products*, *94*, 951–963. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.08.034>
- Benítez, S., Achaerandio, I., Pujolà, M., & Sepulcre, F. (2015). Aloe vera as an alternative to traditional edible coatings used in fresh-cut fruits: A case of study with kiwifruit slices. *LWT - Food Science and Technology*, *61*(1), 184–193. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.11.036>
- Boonyagul, S., Banlunara, W., Sangvanich, P., & Thunyakitpisal, P. (2014). Effect of acemannan, an extracted polysaccharide from Aloe vera, on BMSCs proliferation, differentiation, extracellular matrix synthesis, mineralization, and bone formation in a tooth extraction model. *Odontology*, *102*(2), 310–317. <https://doi.org/10.1007/s10266-012-0101-2>
- Boudreau, M. D., & Beland, F. A. (2006). An Evaluation of the Biological and Toxicological Properties of Aloe Barbadosensis (Miller). *Journal of Environmental Science and Health, Part C*, *24*(1), 103–154. <https://doi.org/10.1080/10590500600614303>
- Bourtoom, T. (2008). Edible films and coatings: characteristics and properties. *International Food Research Journal*, *15*(3), 237–248.
- Bozzi, A., Perrin, C., Austin, S., & Arce Vera, F. (2007). Quality and authenticity of commercial aloe vera gel powders. *Food Chemistry*, *103*(1), 22–30. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.05.061>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, *28*(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Brishti, F. H., Misir, J., & Sarker, A. (2013). Effect of Biopreservatives on Storage Life of Papaya (*Carica papaya* L.). *International Journal of Food Studies*, *2*(1). <https://doi.org/10.7455/ijfs/2.1.2013.a10>
- Chandegara, V., & Kumar Varshney, A. (2012a). *Aloe vera: Development of gel extraction process for Aloe vera leaves*. <https://www.researchgate.net/publication/274315362>
- Chandegara, V., & Kumar Varshney, A. (2012b). *Aloe vera: Development of gel extraction process for Aloe vera leaves*. <https://www.researchgate.net/publication/274315362>
- Chandegara, V., Kumar Varshney, A., Chandegara, V. K., & Varshney, A. K. (2013). Aloe vera L. processing and products : A review. In *Int. J. Med. Arom. Plants* (Vol. 3, Issue 4). <http://www.openaccessscience.com>
- Chang, X. L., Chen, B. Y., & Feng, Y. M. (2011a). Water-soluble polysaccharides isolated from skin juice, gel juice and flower of Aloe vera Miller. *Journal of the Taiwan*

- Institute of Chemical Engineers*, 42(2), 197–203.  
<https://doi.org/10.1016/j.jtice.2010.07.007>
- Chang, X. L., Chen, B. Y., & Feng, Y. M. (2011b). Water-soluble polysaccharides isolated from skin juice, gel juice and flower of Aloe vera Miller. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 42(2), 197–203.  
<https://doi.org/10.1016/j.jtice.2010.07.007>
- Channe Gowda, D., Neelisiddaiah, B., & Anjaneyalu, Y. v. (1979). Structural studies of polysaccharides from aloe vera. *Carbohydrate Research*, 72, 201–205.  
[https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)83936-1](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)83936-1)
- Chokboribal, J., Tachaboonyakiat, W., Sangvanich, P., Ruangpornvisuti, V., Jettanacheawchankit, S., & Thunyakitpisal, P. (2015a). Deacetylation affects the physical properties and bioactivity of acemannan, an extracted polysaccharide from Aloe vera. *Carbohydrate Polymers*, 133, 556–566.  
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.07.039>
- Chokboribal, J., Tachaboonyakiat, W., Sangvanich, P., Ruangpornvisuti, V., Jettanacheawchankit, S., & Thunyakitpisal, P. (2015b). Deacetylation affects the physical properties and bioactivity of acemannan, an extracted polysaccharide from Aloe vera. *Carbohydrate Polymers*, 133, 556–566.  
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.07.039>
- Christaki, E. & F.-P. P. (2010). Aloe vera: A plant for many uses . *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 8.
- Chrysargyris, A., Nikou, A., & Tzortzakis, N. (2016). Effectiveness of Aloe vera gel coating for maintaining tomato fruit quality. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 44(3), 203–217.  
<https://doi.org/10.1080/01140671.2016.1181661>
- Chun-hui, L., Chang-hai, W., Zhi-liang, X., & Yi, W. (2007). Isolation, chemical characterization and antioxidant activities of two polysaccharides from the gel and the skin of Aloe barbadensis Miller irrigated with sea water. *Process Biochemistry*, 42(6), 961–970. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2007.03.004>
- Debeaufort, F., Quezada-Gallo, J.-A., & Voilley, A. (1998). Edible Films and Coatings: Tomorrow's Packagings: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38(4), 299–313. <https://doi.org/10.1080/10408699891274219>
- Dhall, R. K. (2013). Advances in Edible Coatings for Fresh Fruits and Vegetables: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(5), 435–450.  
<https://doi.org/10.1080/10408398.2010.541568>
- Diehl, B., & Teichmuller, E. E. (1998). Aloe vera, quality inspection and identification. *Agro Food Industry Hi-Tech*, 9(1).

- DuBois, Michel., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, Fred. (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- Eberendu, A. R. , L. G. , E. J. A. , M. B. H. , D. B. , R. S. and H. C. R. (2005). Quantitative Colorimetric Analysis of Aloe Polysaccharides as a Measure of Aloe vera Quantity in Commercial Products. *Journal of AOAC International*, 88, 684–691.
- Ergun, M., & Satici, F. (2012). Use of Aloe Vera gel as biopreservative for “Granny Smith” and “Red Chief” apples. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 22(2).
- Eric Moore, D. (1992). United States Patent (19). Drink containing mucilaginous polysaccharides and its preparation. In *which is a division of Ser. No* (Vol. 583, Issue 864).
- Eshun, K., & He, Q. (2004). Aloe Vera: A Valuable Ingredient for the Food, Pharmaceutical and Cosmetic Industries-A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(2), 91–96. <https://doi.org/10.1080/10408690490424694>
- Fan, Y., Xu, Y., Wang, D., Zhang, L., Sun, J., Sun, L., & Zhang, B. (2009). Effect of alginate coating combined with yeast antagonist on strawberry (*Fragaria x ananassa*) preservation quality. *Postharvest Biology and Technology*, 53(1–2), 84–90. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2009.03.002>
- Femenia, A., García-Pascual, P., Simal, S., & Rosselló, C. (2003). Effects of heat treatment and dehydration on bioactive polysaccharide acemannan and cell wall polymers from *Aloe barbadensis* Miller. *Carbohydrate Polymers*, 51(4), 397–405. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(02\)00209-6](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(02)00209-6)
- Femenia, A., Sánchez, E. S., Simal, S., & Rosselló, C. (1999). *Compositional features of polysaccharides from Aloe vera (Aloe barbadensis Miller) plant tissues*. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(98\)00163-5](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0144-8617(98)00163-5)
- Giannoglou, M., Xanthou, Z.-M., Chanioti, S., Stergiou, P., Christopoulos, M., Dimitrakellis, P., Efthimiadou, A., Gogolides, E., & Katsaros, G. (2021). Effect of cold atmospheric plasma and pulsed electromagnetic fields on strawberry quality and shelf-life. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 68, 102631. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102631>
- Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 00(1). <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00>
- Gol, N. B., Patel, P. R., & Rao, T. V. R. (2013). Improvement of quality and shelf-life of strawberries with edible coatings enriched with chitosan. *Postharvest Biology and Technology*, 85, 185–195. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.06.008>

- González-Aguilar, G. A., Valenzuela-Soto, E., Lizardi-Mendoza, J., Goycoolea, F., Martínez-Téllez, M. A., Villegas-Ochoa, M. A., Monroy-García, I. N., & Ayala-Zavala, J. F. (2009). Effect of chitosan coating in preventing deterioration and preserving the quality of fresh-cut papaya 'Maradol.' *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *89*(1), 15–23. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3405>
- Gorris, L., & Arvanitoyannis, I. (1999). *Edible and biodegradable polymeric materials for food packaging or coating*. <https://doi.org/10.1201/9781420049008.ch21>
- Grant, L. A., & Burns, J. (1994). Application of coatings. In J. M. Krochta, E. A. Baldwin, & M. O. Nisperos-Carriedo (Eds.), *Edible Coating and Films to Improve Food Quality* (pp. 189–200). Technomic Publishing Company.
- Grindlay, D., & Reynolds, T. (1986). The Aloe vera phenomenon: A review of the properties and modern uses of the leaf parenchyma gel. *Journal of Ethnopharmacology*, *16*(2–3), 117–151. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(86\)90085-1](https://doi.org/10.1016/0378-8741(86)90085-1)
- Guillén, F., Díaz-Mula, H. M., Zapata, P. J., Valero, D., Serrano, M., Castillo, S., & Martínez-Romero, D. (2013). Aloe arborescens and Aloe vera gels as coatings in delaying postharvest ripening in peach and plum fruit. *Postharvest Biology and Technology*, *83*, 54–57. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.03.011>
- Guo, X., Zhao, W., Liao, X., Hu, X., Wu, J., & Wang, X. (2017). Extraction of pectin from the peels of pomelo by high-speed shearing homogenization and its characteristics. *LWT - Food Science and Technology*, *79*, 640–646. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.12.001>
- Hamman, J. H. (2008). Composition and applications of Aloe vera leaf gel. In *Molecules* (Vol. 13, Issue 8, pp. 1599–1616). <https://doi.org/10.3390/molecules13081599>
- Hazrati, S., Beyraghdar Kashkooli, A., Habibzadeh, F., Tahmasebi-Sarvestani, Z., & Sadeghi, A. R. (2017). Evaluation of Aloe vera Gel as an Alternative Edible Coating for Peach Fruits During Cold Storage Period. *Gesunde Pflanzen*, *69*(3), 131–137. <https://doi.org/10.1007/s10343-017-0397-5>
- Hestrin, S. (1949). *The reaction of acetylcholine and other carboxylic acid derivatives with hydroxylamine, and its analytical application*. <http://www.jbc.org/>
- Huang, H.-W., Hsu, C.-P., Yang, B. B., & Wang, C.-Y. (2013). Advances in the extraction of natural ingredients by high pressure extraction technology. *Trends in Food Science & Technology*, *33*(1), 54–62. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.07.001>
- Jawade, N. R., & Chavan, A. R. (2013). Ultrasonic-Assisted Extraction of Aloin from Aloe Vera Gel. *Procedia Engineering*, *51*, 487–493. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2013.01.069>

- Jiao, P., Weaver, S., Milligan, G., & Jia, Q. (2009). <sup>1</sup>H-NMR Method Validation for Quantitative Analysis of Aloe Products. *Planta Medica*, 75(04). <https://doi.org/10.1055/s-2009-1216498>
- Johansson, Ö., Pamidi, T., Khoshkhoo, M., & Sandström, Å. (2017). *Sustainable and energy efficient leaching of tungsten (W) by ultrasound controlled cavitation*. .
- Kalt, W., Forney, C. F., Martin, A., & Prior, R. L. (1999). Antioxidant Capacity, Vitamin C, Phenolics, and Anthocyanins after Fresh Storage of Small Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(11), 4638–4644. <https://doi.org/10.1021/jf990266t>
- Khatri, D., Panigrahi, J., Prajapati, A., & Bariya, H. (2020). Attributes of Aloe vera gel and chitosan treatments on the quality and biochemical traits of post-harvest tomatoes. *Scientia Horticulturae*, 259, 108837. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108837>
- Klopotek, Y., Otto, K., & Böhm, V. (2005). Processing Strawberries to Different Products Alters Contents of Vitamin C, Total Phenolics, Total Anthocyanins, and Antioxidant Capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(14), 5640–5646. <https://doi.org/10.1021/jf047947v>
- Krokida, M., Pappa, A., & Agaloti, M. (2011). Effect of drying on Aloe's functional components. *Procedia Food Science*, 1, 1523–1527. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.225>
- Kumar, S., & Yadav, J. P. (2014). Ethnobotanical and pharmacological properties of Aloe vera: A review. *Journal of Medicinal Plants Research*, 8(48), 1387–1398. <https://doi.org/10.5897/JMPR2014.5336X>
- Kumar Verma, S., & Moghaddasi, S. (2011). Aloe vera their chemicals composition and applications: A review. In *International Journal of Biological & Medical Research Int J Biol Med Res* (Vol. 2, Issue 1). <https://www.researchgate.net/publication/48347118>
- Lee, J. K., Lee, M. K., Yun, Y.-P., Kim, Y., Kim, J. S., Kim, Y. S., Kim, K., Han, S. S., & Lee, C.-K. (2001a). Acemannan purified from Aloe vera induces phenotypic and functional maturation of immature dendritic cells. *International Immunopharmacology*, 1(7), 1275–1284. [https://doi.org/10.1016/S1567-5769\(01\)00052-2](https://doi.org/10.1016/S1567-5769(01)00052-2)
- Lee, J. K., Lee, M. K., Yun, Y.-P., Kim, Y., Kim, J. S., Kim, Y. S., Kim, K., Han, S. S., & Lee, C.-K. (2001b). Acemannan purified from Aloe vera induces phenotypic and functional maturation of immature dendritic cells. *International Immunopharmacology*, 1(7), 1275–1284. [https://doi.org/10.1016/S1567-5769\(01\)00052-2](https://doi.org/10.1016/S1567-5769(01)00052-2)
- Liu, C., Cui, Y., Pi, F., Cheng, Y., Guo, Y., & Qian, H. (2019a). Extraction, purification, structural characteristics, biological activities and pharmacological applications

- of acemannan, a polysaccharide from aloe vera: A review. In *Molecules* (Vol. 24, Issue 8). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/molecules24081554>
- Liu, C., Cui, Y., Pi, F., Cheng, Y., Guo, Y., & Qian, H. (2019b). Extraction, purification, structural characteristics, biological activities and pharmacological applications of acemannan, a polysaccharide from aloe vera: A review. In *Molecules* (Vol. 24, Issue 8). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/molecules24081554>
- Liu, C., Du, P., Guo, Y., Xie, Y., Yu, H., Yao, W., Cheng, Y., & Qian, H. (2021). Extraction, characterization of aloe polysaccharides and the in-depth analysis of its prebiotic effects on mice gut microbiota. *Carbohydrate Polymers*, 261, 117874. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.117874>
- Lucini, L., Pellizzoni, M., & Molinari, G. (2013). Anthraquinones and  $\beta$ -polysaccharides content and distribution in Aloe plants grown under different light intensities. *Biochemical Systematics and Ecology*, 51, 264–268. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2013.09.007>
- Maan, A. A., Nazir, A., Khan, M. K. I., Ahmad, T., Zia, R., Murid, M., & Abrar, M. (2018). The therapeutic properties and applications of Aloe vera: A review. In *Journal of Herbal Medicine* (Vol. 12, pp. 1–10). Elsevier GmbH. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2018.01.002>
- Maan, A. A., Reiad Ahmed, Z. F., Iqbal Khan, M. K., Riaz, A., & Nazir, A. (2021). Aloe vera gel, an excellent base material for edible films and coatings. *Trends in Food Science & Technology*, 116, 329–341. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.07.035>
- Mandal, G., & Das, A. (1980). Structure of the glucomannan isolated from the leaves of Aloe barbadensis miller. *Carbohydrate Research*, 87(2), 249–256. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)85211-8](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)85211-8)
- Manna, S., & McAnalley, B. H. (1993). Determination of the position of the O-acetyl group in a  $\beta$ -(1  $\rightarrow$  4)-mannan (acemannan) from Aloe barbardensis Miller. *Carbohydrate Research*, 241, 317–319. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(93\)80122-U](https://doi.org/10.1016/0008-6215(93)80122-U)
- Manvitha, K., Bidya, B., & Karkala Manvitha, C. (2014a). Aloe vera: a wonder plant its history, cultivation and medicinal uses. ~ 85 ~ *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(5), 85–88.
- Manvitha, K., Bidya, B., & Karkala Manvitha, C. (2014b). Aloe vera: a wonder plant its history, cultivation and medicinal uses. ~ 85 ~ *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(5), 85–88.
- Marpudi, S. L., Abirami, L. S. S., & Srividya, N. (2011). Enhancement of storage life and quality maintenance of papaya fruits using Aloe vera based antimicrobial coating. *Indian Journal of Biotechnology*, 10(1), 83–89.



- Martínez-Romero, D., Albuquerque, N., Valverde, J. M., Guillén, F., Castillo, S., Valero, D., & Serrano, M. (2006). Postharvest sweet cherry quality and safety maintenance by Aloe vera treatment: A new edible coating. *Postharvest Biology and Technology*, 39(1), 93–100. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2005.09.006>
- McAnalley, B. (1987). *Processes for preparation of aloe products, products produced thereby and compositions thereof*.
- Metcalfe, C. (2019). Quantitation of Aloe Vera Polysaccharides by O-Acetyl and UV-Vis Spectrophotometry. *Journal of AOAC International*, 102(4), 1091–1094. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.18-0400>
- Minjares-Fuentes, R., Femenia, A., Comas-Serra, F., & Rodríguez-González, V. M. (2018). Compositional and structural features of the main bioactive polysaccharides present in the aloe vera plant. *Journal of AOAC International*, 101(6), 1711–1719. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.18-0119>
- Minjares-Fuentes, R., Femenia, A., Comas-Serra, F., Rosselló, C., Rodríguez-González, V. M., González-Laredo, R. F., Gallegos-Infante, J. A., & Medina-Torres, L. (2016). Effect of different drying procedures on physicochemical properties and flow behavior of Aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) gel. *LWT*, 74, 378–386. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.07.060>
- Minjares-Fuentes, R., Medina-Torres, L., González-Laredo, R. F., Rodríguez-González, V. M., Eim, V., & Femenia, A. (2017). Influence of water deficit on the main polysaccharides and the rheological properties of Aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) mucilage. *Industrial Crops and Products*, 109, 644–653. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.09.016>
- Miranda, M., Maureira, H., Rodríguez, K., & Vega-Gálvez, A. (2009). Influence of temperature on the drying kinetics, physicochemical properties, and antioxidant capacity of Aloe Vera (*Aloe Barbadensis* Miller) gel. *Journal of Food Engineering*, 91(2), 297–304. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.09.007>
- Misir, J., H. Brishti, F., & M. Hoque, M. (2014). Aloe vera gel as a Novel Edible Coating for Fresh Fruits: A Review. *American Journal of Food Science and Technology*, 2(3), 93–97. <https://doi.org/10.12691/ajfst-2-3-3>
- Moayednia, N., Ehsani, M. R., M. M. A. F. M., Emamdjomeh, Z., Mazaheri Asadi, M., Mizani, M., & Mazaheri, A. F. (2010). A note on the effect of calcium alginate coating on quality of refrigerated strawberries. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, 49, 165–170.
- Mohamed, E. A. K. (2011). Antidiabetic, antihypercholestermic and antioxidative effect of Aloe vera gel extract in alloxan induced diabetic rats. *Australian Journal of Basic Applied Sciences*, 5(11), 1321–1327.

- Monakhova, Y. B., Randel, G., & Diehl, B. W. K. (2016). Automated Control of the Organic and Inorganic Composition of Aloe vera Extracts Using <sup>1</sup>H NMR Spectroscopy. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 99(5), 1213–1218. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.16-0020>
- Nasrin, T. A. A., Rahman, M. A., Hossain, M. A., Islam, M. N., & Arfin, M. S. (2017). Postharvest quality response of strawberries with aloe vera coating during refrigerated storage. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 92(6), 598–605. <https://doi.org/10.1080/14620316.2017.1324326>
- Nejatzadeh-Barandozi, F., & Enferadi, S. (2012). FT-IR study of the polysaccharides isolated from the skin juice, gel juice, and flower of Aloe vera tissues affected by fertilizer treatment. *Organic and Medicinal Chemistry Letters*, 2(1), 33. <https://doi.org/10.1186/2191-2858-2-33>
- Ni, Y., Turner, D., Yates, K. M., & Tizard, I. (2004). Isolation and characterization of structural components of Aloe vera L. leaf pulp. *International Immunopharmacology*, 4(14), 1745–1755. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2004.07.006>
- Parven, A., Sarker, Md. R., Megharaj, M., & Md. Meftaul, I. (2020). Prolonging the shelf life of Papaya (*Carica papaya* L.) using Aloe vera gel at ambient temperature. *Scientia Horticulturae*, 265, 109228. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109228>
- Pogorzelski, E., & Wilkowska, A. (2007). Flavour enhancement through the enzymatic hydrolysis of glycosidic aroma precursors in juices and wine beverages: a review. *Flavour and Fragrance Journal*, 22(4), 251–254. <https://doi.org/10.1002/ffj.1784>
- Qamar, J., Ejaz, S., Anjum, M. A., Nawaz, A., Hussain, S., Ali, S., & Saleem, S. (2018). Effect of Aloe vera Gel, Chitosan and Sodium Alginate Based Edible Coatings on Postharvest Quality of Refrigerated Strawberry Fruits of cv. Chandler. In *Journal of Horticultural Science and Technology* (Vol. 1, Issue 1). <http://www.pshsciences.org>
- Quezada, M. P., Salinas, C., Gotteland, M., & Cardemil, L. (2017). Acemannan and Fructans from Aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) Plants as Novel Prebiotics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(46), 10029–10039. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b04100>
- Rafael Minjares-Fuentes, J., & Femenia, A. (2017). *Effect of Processing on the Bioactive Polysaccharides and Phenolic Compounds from Aloe vera (Aloe barbadensis Miller)*.
- Ramachandr, C. T., & Rao, P. S. (2008). Processing of Aloe Vera Leaf Gel: A Review. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 3(2), 502–510. <https://doi.org/10.3844/ajabssp.2008.502.510>

- Ramachandra, C. T., & Rao, P. S. (2008). Processing of Aloe Vera Leaf Gel: A Review. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 3(2), 502–510. <https://doi.org/10.3844/ajabssp.2008.502.510>
- Rasouli, M., Koushesh Saba, M., & Ramezani, A. (2019). Inhibitory effect of salicylic acid and Aloe vera gel edible coating on microbial load and chilling injury of orange fruit. *Scientia Horticulturae*, 247, 27–34. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.12.004>
- Ray, A., & Aswatha, S. M. (2013). An analysis of the influence of growth periods on physical appearance, and acemannan and elemental distribution of Aloe vera L. gel. *Industrial Crops and Products*, 48, 36–42. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.03.024>
- Reynolds, T. (2004). *Aloes: The genus Aloe* (T. Reynolds, Ed.). CRC Press.
- Reynolds, T., & Dweck, A. C. (1999). Aloe vera leaf gel: a review update. *Journal of Ethnopharmacology*, 68(1–3), 3–37. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(99\)00085-9](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(99)00085-9)
- Rodríguez, E. R., Martín, J. D., & Romero, C. D. (2010). Aloe vera as a Functional Ingredient in Foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(4), 305–326. <https://doi.org/10.1080/10408390802544454>
- Rodríguez-González, V. M., Femenia, A., González-Laredo, R. F., Rocha-Guzmán, N. E., Gallegos-Infante, J. A., Candelas-Cadillo, M. G., Ramírez-Baca, P., Simal, S., & Rosselló, C. (2011). Effects of pasteurization on bioactive polysaccharide acemannan and cell wall polymers from Aloe barbadensis Miller. *Carbohydrate Polymers*, 86(4), 1675–1683. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.06.084>
- Rouse, A. H., & Atkins, C. D. (1955). *Pectinesterase and pectin in commercial citrus juices as determined by methods used at the Citrus Experiment Station*.
- Sahu, P. K., Giri, D. D., Singh, R., Pandey, P., Gupta, S., Shrivastava, A. K., Kumar, A., & Pandey, K. D. (2013). Therapeutic and Medicinal Uses of Aloe vera: A Review. *Pharmacology & Pharmacy*, 04(08), 599–610. <https://doi.org/10.4236/pp.2013.48086>
- Sánchez-Machado, D. I., López-Cervantes, J., Sendón, R., & Sanches-Silva, A. (2017). Aloe vera: Ancient knowledge with new frontiers. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 61, pp. 94–102). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.12.005>
- Saxena, A., Bawa, A. S., & Raju, P. S. (2012). Effect of Minimal Processing on Quality of Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* L.) Bulbs Using Response Surface Methodology. *Food and Bioprocess Technology*, 5(1), 348–358. <https://doi.org/10.1007/s11947-009-0276-x>

- Scala, K. di, Vega-Gálvez, A., Ah-Hen, K., Nuñez-Mancilla, Y., Tabilo-Munizaga, G., Pérez-Won, M., & Giovagnoli, C. (2013). Chemical and physical properties of aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) gel stored after high hydrostatic pressure processing. *Food Science and Technology*, 33(1), 52–59. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612013005000002>
- Schieberle, P., & Hofmann, T. (1997). Evaluation of the Character Impact Odorants in Fresh Strawberry Juice by Quantitative Measurements and Sensory Studies on Model Mixtures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(1), 227–232. <https://doi.org/10.1021/jf960366o>
- Sharma, P. (2014). *A Review on Pharmacological Properties of Aloe vera*. [www.globalresearchonline.net](http://www.globalresearchonline.net)
- Shelton, R. M. (1991). Aloe Vera. Its chemical and therapeutic properties. *International Journal of Dermatology*, 30(10), 679–683. <https://doi.org/10.1111/j.1365-4362.1991.tb02607.x>
- Shi, L. (2016). Bioactivities, isolation and purification methods of polysaccharides from natural products: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 92, 37–48. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.06.100>
- Sierra-García, G. D., Castro-Ríos, R., González-Horta, A., Lara-Arias, J., & Chávez-Montes, A. (2014a). Acemannan, an Extracted Polysaccharide from Aloe vera : A Literature Review. *Natural Product Communications*, 9(8), 1934578X1400900. <https://doi.org/10.1177/1934578X1400900836>
- Sierra-García, G. D., Castro-Ríos, R., González-Horta, A., Lara-Arias, J., & Chávez-Montes, A. (2014b). Acemannan, an Extracted Polysaccharide from Aloe vera: A Literature Review. *Natural Product Communications*, 9(8), 1934578X1400900. <https://doi.org/10.1177/1934578X1400900836>
- Singh, D. B., Singh, R., Ambrose, K., & Sharma, R. R. (2011). Effect of Aloe vera coatings on fruit quality and storability of strawberry (*Fragaria × ananassa*). *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 81, 407–412.
- Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2000). *Analytical Chemistry: An Introduction* (7th ed.). Saunders College Pub.
- Sogvar, O. B., Koushesh Saba, M., & Emamifar, A. (2016). Aloe vera and ascorbic acid coatings maintain postharvest quality and reduce microbial load of strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 114, 29–35. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.11.019>
- Sonawane, S. K., Gokhale, J. S., Mulla, M. Z., Kandur, V. R., & Patil, S. (2021). A comprehensive overview of functional and rheological properties of aloe vera and its application in foods. *Journal of Food Science and Technology*, 58(4), 1217–1226. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04661-6>

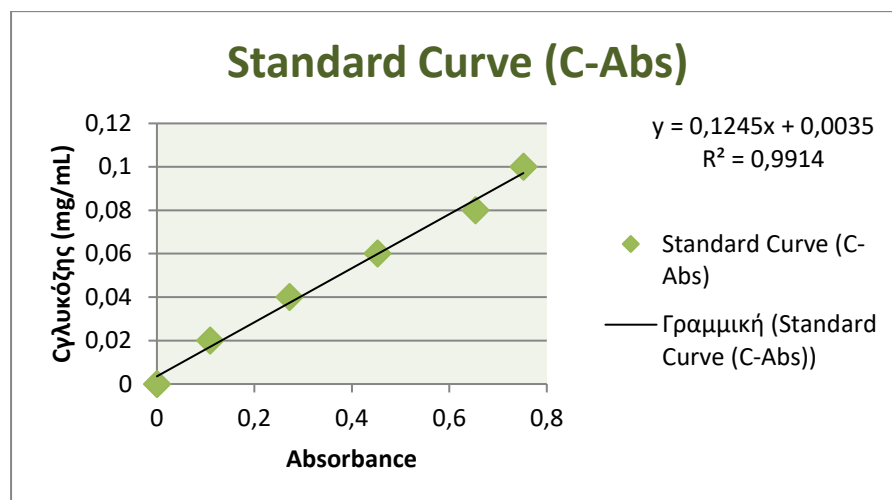
- Tai-Nin Chow, J., Williamson, D. A., Yates, K. M., & Goux, W. J. (2005). Chemical characterization of the immunomodulating polysaccharide of Aloe vera L. *Carbohydrate Research*, *340*(6), 1131–1142. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2005.02.016>
- Thunyakitpaisal, P., Ruangpornvisuti, V., Kengkwasing, P., Chokboribal, J., & Sangvanich, P. (2017). Acemannan increases NF- $\kappa$ B/DNA binding and IL-6/-8 expression by selectively binding Toll-like receptor-5 in human gingival fibroblasts. *Carbohydrate Polymers*, *161*, 149–157. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.12.034>
- Tiwari, B. K. (2015). Ultrasound: A clean, green extraction technology. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *71*, 100–109. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.04.013>
- Tzia, C., Tasios, L., Spiliotaki, T., Chanioti, C., & Giannou, V. (2016). Edible Coatings and Films to Preserve Quality of Fresh Fruits and Vegetables. In *Handbook of Food Processing: Food Preservation*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/b19397-17>
- Upton, Roy., & American Herbal Pharmacopoeia. (2012). *Aloe vera leaf, aloe vera leaf juice, aloe vera inner leaf juice, aloe vera (L.) burm. f. : standards of identity, analysis, and quality control*. American Herbal Pharmacopoeia.
- Valverde, J. M., Valero, D., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Castillo, S., & Serrano, M. (2005). Novel Edible Coating Based on Aloe vera Gel To Maintain Table Grape Quality and Safety. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *53*(20), 7807–7813. <https://doi.org/10.1021/jf050962v>
- Vega-Gálvez, A., Miranda, M., Aranda, M., Henriquez, K., Vergara, J., Tabilo-Munizaga, G., & Pérez-Won, M. (2011). Effect of high hydrostatic pressure on functional properties and quality characteristics of Aloe vera gel (*Aloe barbadensis* Miller). *Food Chemistry*, *129*(3), 1060–1065. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.074>
- Vieira, J. M., Flores-López, M. L., de Rodríguez, D. J., Sousa, M. C., Vicente, A. A., & Martins, J. T. (2016). Effect of chitosan–Aloe vera coating on postharvest quality of blueberry (*Vaccinium corymbosum*) fruit. *Postharvest Biology and Technology*, *116*, 88–97. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.01.011>
- Viel, M., Collet, F., & Lanos, C. (2018). Chemical and multi-physical characterization of agro-resources' by-product as a possible raw building material. *Industrial Crops and Products*, *120*, 214–237. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.04.025>
- Waterhouse, A. L. (2003). Determination of Total Phenolics. In *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/0471142913.fai0101s06>
- Xi, J., Shen, D., Li, Y., & Zhang, R. (2011). Ultrahigh pressure extraction as a tool to improve the antioxidant activities of green tea extracts. *Food Research International*, *44*(9), 2783–2787. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.06.001>

- Yusof, N., Jaswir, I., Jamal, P., & Jami, M. S. (2019). Texture Profile Analysis (TPA) of the jelly dessert prepared from halal gelatin extracted using High Pressure Processing (HPP). *Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 15(4), 604–608. <https://doi.org/10.11113/mjfas.v15n4.1583>
- Όξενκιουν- Πετροπούλου, Μ. (2012a). *Φασματομετρικές Μέθοδοι* (3rd ed.). Συμμετρία.
- Όξενκιουν- Πετροπούλου, Μ. (2012b). *ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ* (3rd ed.). Συμμετρία.
- Παππά, Α. (2004). *Φυσικές Μέθοδοι Ανάλυσης*. ΕΜΠ.
- Ταούκης, Π., & Ωραιοπούλου, Β. (2009). *Επιστήμη και Μηχανική Διεργασιών Τροφίμων*. Ε.Μ.Π.
- Χανιώτη, Σ. (2019). *Εναλλακτικές μέθοδοι εκχύλισης φυτικών λιπαρών και βιοδραστικών συστατικών τους* [Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο (ΕΜΠ), Σχολή Χημικών Μηχανικών, Τομέας IV: Σύνοψη και Ανάπτυξη Βιομηχανικών Διαδικασιών (IV)]. <https://doi.org/10.12681/eadd/46086>
- Χημεία, Μικροβιολογία και Αρχές Συντήρησης Τροφίμων, Εργ. Ασκήσεις*. (2019). ΕΜΠ.

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ

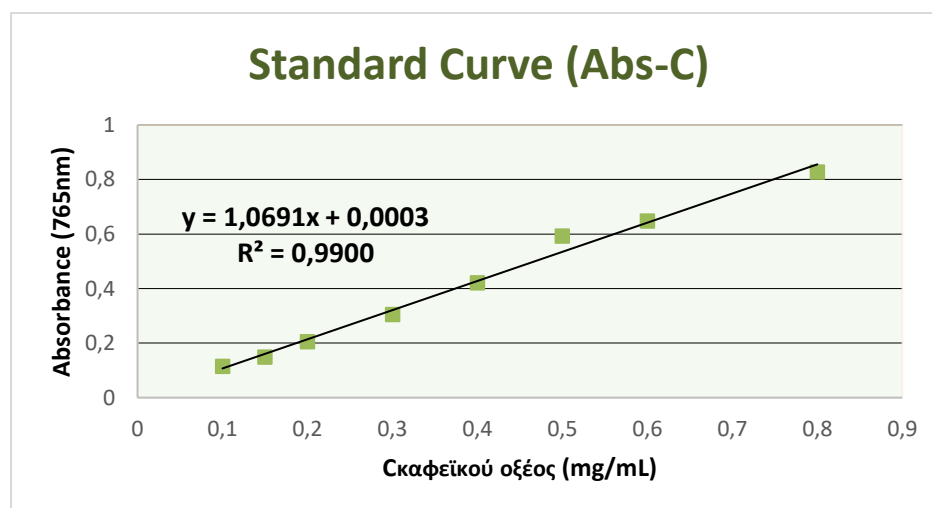
### ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι- ΓΡΑΜΜΕΣ ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗΣ

- Γραμμή βαθμονόμησης γλυκόζης- Μέθοδος Dubois



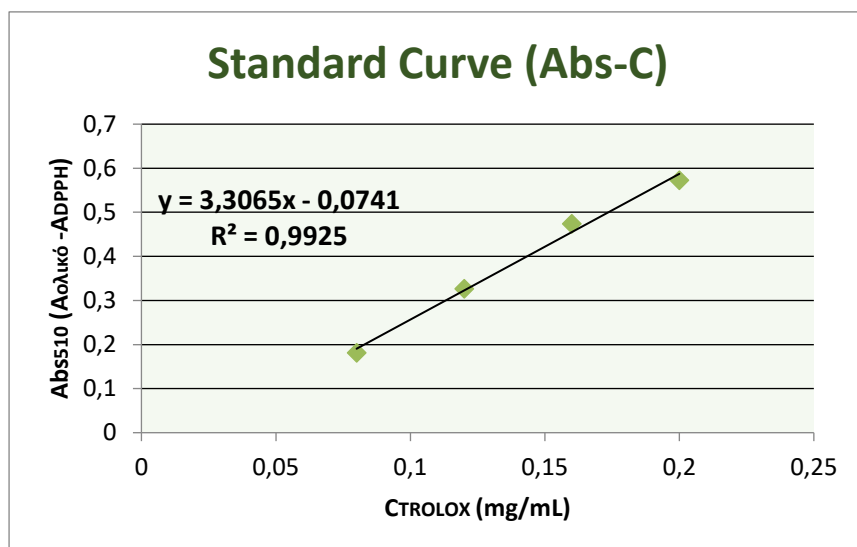
Διάγραμμα Α: Γραμμή βαθμονόμησης γλυκόζης

- Περιεχόμενο φαινολικών οξέων- Γραμμή βαθμονόμησης για το καφεϊκό οξύ



Διάγραμμα Β: Γραμμή βαθμονόμησης για το καφεϊκό οξύ.

- Αντιοξειδωτική ικανότητα – Γραμμή βαθμονόμησης για το Trolox



Διάγραμμα Γ: Γραμμή βαθμονόμησης για το Trolox

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ- ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ

### Κύρια σειρά δειγμάτων:

-Απόδοση σε μάζα ιζήματος μετά την καταβύθιση ως προς το ξ.β. χυμού.

- Ανάλυση διακύμανσης (main effects ANOVA) για την απόδοση σε μάζα ιζήματος μετά την αιθανολική καταβύθιση ως προς το ξ.β. χυμού, ως προς τη συγκομιδή, τη θερμοκρασία και την εφαρμογή κατεργασίας.

Univariate Tests of Significance for YIELD (YIELD_DUBOIS)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	74061,35	1	74061,35	801,1368	0,000000
SYGKOMIDH	808,16	1	808,16	8,7420	0,010407
TEMP	1249,15	1	1249,15	13,5123	0,002494
ΠΡΟΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ	4958,23	5	991,65	10,7268	0,000215
Error	1294,23	14	92,45		

- Duncan's Test για την απόδοση σε μάζα, ως προς τη συγκομιδή.



Duncan test; variable YIELD (YIELD_DUBOIS) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 92,445, df = 14,000			
Cell No.		{1}	{2}
		69,126	57,005
1	1		0,010567
2	2	0,010567	

- Duncan's Test για την απόδοση σε μάζα, ως προς τη θερμοκρασία.

Duncan test; variable YIELD (YIELD_DUBOIS) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 92,445, df = 14,000			
Cell No.	TEMP	{1}	{2}
		56,237	68,756
1	1		0,008973
2	2	0,008973	

- Duncan's Test για την απόδοση σε μάζα, ως προς την κατεργασία.

Duncan test; variable YIELD (YIELD_DUBOIS) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 92,445, df = 14,000							
Cell No.	ΠΡΟΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}
		59,783	52,320	49,602	75,550	49,322	86,443
1	1		0,326908	0,209002	0,049908	0,209318	0,003667
2	2	0,326908		0,717008	0,008982	0,704863	0,000675
3	3	0,209002	0,717008		0,005213	0,970263	0,000399
4	4	0,049908	0,008982	0,005213		0,005471	0,160304
5	5	0,209318	0,704863	0,970263	0,005471		0,000410
6	6	0,003667	0,000675	0,000399	0,160304	0,000410	

-Συγκέντρωση ολικών πολυσακχαριτών (σε mg γλυκόζης/mg ξηρού δείγματος) σε δείγματα χυμού.

- Ανάλυση διακύμανσης (main effects ANOVA) για την συγκέντρωση πολυσακχαριτών στα δείγματα χυμού, ως προς τη συγκομιδή, τη θερμοκρασία και το είδος κατεργασίας.

Univariate Tests of Significance for Dubois χυμος (YIELD_D Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	2,058926	1	2,058926	2172,212	0,000000
SYGKOMIDH	0,037046	1	0,037046	39,085	0,000021
TEMP	0,006102	1	0,006102	6,438	0,023695
ΠΡΟΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ	0,043117	5	0,008623	9,098	0,000504
Error	0,013270	14	0,000948		

- Duncan's Test για την συγκέντρωση πολυσακχαριτών στα δείγματα χυμού, ως προς τη συγκομιδή.

Duncan test; variable Dubois χυμος (YIELD_DUBOIS) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = ,00095, df = 14,000			
Cell No.	SYGKOMIDH	{1}	{2}
1	1	,37278	0,000191
2	2	0,000191	

- Duncan's Test για την συγκέντρωση πολυσακχαριτών στα δείγματα χυμού, ως προς τη θερμοκρασία.

Duncan test; variable Dubois χυμος (YIELD_DUBOIS) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = ,00095, df = 14,000			
Cell No.	TEMP	{1}	{2}
1	1	,32386	0,291219
2	2	0,291219	

- Duncan's Test για την συγκέντρωση πολυσακχαριτών στο χυμό, ως προς την κατεργασία.

Duncan test; variable Dubois χυμος (YIELD_DUBOIS) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = ,00095, df = 14,000							
Cell No.	ΠΡΟΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}
1	1	,29710	0,021128	0,107485	0,015208	0,296387	0,005738
2	2	0,021128		0,001029	0,000172	0,003307	0,000085
3	3	0,107485	0,001029		0,265977	0,482478	0,120168
4	4	0,015208	0,000172	0,265977		0,094944	0,571143
5	5	0,296387	0,003307	0,482478	0,094944		0,038350
6	6	0,005738	0,000085	0,120168	0,571143	0,038350	

-Συγκέντρωση ολικών πολυσακχαριτών (σε mg γλυκόζης/mg ξηρού δείγματος) στο τελικό ξηρό κλάσμα πολυσακχαριτών-ακεμαννάνης.

- Ανάλυση διακύμανσης (main effects ANOVA) για την συγκέντρωση πολυσακχαριτών στο προϊόν, ως προς τη συγκομιδή, τη θερμοκρασία και την κατεργασία πριν την αιθανολική καταβύθιση.

Univariate Tests of Significance for Dubois κλάσμα πολυσακχαριτων (YIELD_ Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1,111659	1	1,111659	841,6005	0,000000
SYGKOMIDH	0,056319	1	0,056319	42,6376	0,000013
TEMP	0,010261	1	0,010261	7,7679	0,014545
ΠΡΟΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ	0,051885	5	0,010377	7,8560	0,001041
Error	0,018492	14	0,001321		

- Duncan's Test για την συγκέντρωση πολυσακχαριτών στο τελικό προϊόν, ως προς τη συγκομιδή.

Duncan test; variable Dubois κλάσμα πολυσακχαριτων ( Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = ,00132, df = 14,000			
Cell No.	SYGKOMIDH	{1}	{2}
1	1	,29004	,18885
2	2	0,000185	

- Duncan's Test για την συγκέντρωση πολυσακχαριτών στο τελικό προϊόν, ως προς τη θερμοκρασία.

Duncan test; variable Dubois κλάσμα πολυσακχαριτων ( Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = ,00132, df = 14,000			
Cell No.	TEMP	{1}	{2}
1	1	,21668	,25841
2	2	0,018042	

- Duncan's Test για την συγκέντρωση πολυσακχαριτών στο τελικό προϊόν, ως προς την κατεργασία.

Duncan test; variable Dubois κλάσμα πολυσακχαριτων (YIELD_DUBOIS) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = ,00132, df = 14,000							
Cell No.	ΠΡΟΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}
1	1	,20836	,24057	,17215	,29793	,21977	,29843
2	2	0,289318	0,289318	0,213254	0,009317	0,687440	0,010061
3	3	0,213254	0,038099	0,057957	0,466252	0,066850	
4	4	0,009317	0,057957	0,009300	0,009300	0,124935	0,00994
5	5	0,687440	0,466252	0,124935	0,017464	0,985915	0,019441
6	6	0,010061	0,066850	0,00994	0,985915	0,019441	

-Περιεχόμενο ακεμανάνης στο τελικό ξηρό κλάσμα πολυσακχαριτών-ακεμανάνης- Εμβαδά κορυφών από HPLC-UV-Vis

- Ανάλυση διακύμανσης (main effects ANOVA) για τα εμβαδά κορυφών ακεμαννάνης, ως προς τη συγκομιδή, τη θερμοκρασία και την κατεργασία πριν την αιθανολική καταβύθιση.

Univariate Tests of Significance for HPLC- AREA (HPLC_SEIRA1_2) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	237941912	1	237941912	4362,621	0,000000
ΣΥΓΚΟΜΙΔΗ	396373	1	396373	7,267	0,017399
TEMP	2187250	1	2187250	40,103	0,000019
PROKATERGASIA	5079139	5	1015828	18,625	0,000010
Error	763575	14	54541		

- Duncan's Test για τα εμβαδά κορυφών ακεμαννάνης, ως προς τη συγκομιδή.

Duncan test; variable HPLC- AREA (HPLC_SEIRA1_2) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 54541,, df = 14,000			
Cell No.	ΣΥΓΚΟΜΙΔΗ	{1}	{2}
1	1	3681,8	0,017557
2	2	0,017557	3413,4

- Duncan's Test για τα εμβαδά κορυφών ακεμαννάνης, ως προς τη θερμοκρασία.

Duncan test; variable HPLC- AREA (HPLC_SEIRA1_2) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 54541,, df = 14,000			
Cell No.	TEMP	{1}	{2}
1	1	3268,8	0,000316
2	2	0,000316	3779,9

- Duncan's Test για τα εμβαδά κορυφών ακεμαννάνης, ως προς την κατεργασία.

Duncan test; variable HPLC- AREA (HPLC_SEIRA1_2) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 54541,, df = 14,000							
Cell No.	PROKATERGASIA	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}
1	1	3124,5	0,599025	0,159133	0,000370	0,507045	0,000093
2	2	0,599025	3028,5	0,071674	0,000175	0,266364	0,000055
3	3	0,159133	0,071674	3403,5	0,004056	0,392335	0,000753
4	4	0,000370	0,000175	0,004056	4019,0	0,000994	0,316113
5	5	0,507045	0,266364	0,392335	0,000994	3246,0	0,000223
6	6	0,000093	0,000055	0,000753	0,316113	0,000223	4204,5

**Μελέτη περίπτωσης: Εδώδιμες επικαλυπτικές μεμβράνες με εκχύλισμα πολυσακχαριτών αλόης- Εφαρμογή σε φράουλες.**

### -Απώλειες βάρους φράουλας στο χρόνο

- Ανάλυση διακύμανσης (main effects ANOVA) για τη μελέτη της επίδρασης του χρόνου και της χρήσης επικαλυπτικής μεμβράνης στις απώλειες βάρους των φρούτων.

Univariate Tests of Significance for ΑΠΩΛΕΙΑ ΒΑΡΟΥΣ % (Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	235,3891	1	235,3891	130,6724	0,000000
επικαλυπτικά	19,7889	3	6,5963	3,6618	0,044065
χρονος	164,4687	4	41,1172	22,8255	0,000015
Error	21,6164	12	1,8014		

- Duncan's Test για τις απώλειες βάρους των φρούτων, ως προς το χρόνο.

Duncan test; variable ΑΠΩΛΕΙΑ ΒΑΡΟΥΣ % (Επικαλυπτικά_Aloe) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 1,8014, df = 12,000						
Cell No.	χρονος	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}
		0,0000				
1	1		0,222361	0,014870	0,000354	0,000040
2	4	0,222361		0,118990	0,002243	0,000081
3	8	0,014870	0,118990		0,036418	0,000258
4	12	0,000354	0,002243	0,036418		0,008195
5	15	0,000040	0,000081	0,000258	0,008195	

- Duncan's Test για τις απώλειες βάρους των φρούτων, ως προς τη χρήση εδώδιμης επικάλυψης.

Duncan test; variable ΑΠΩΛΕΙΑ ΒΑΡΟΥΣ % (Επικαλυπτικά_Aloe) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 1,8014, df = 12,000					
Cell No.	επικαλυπτικά	{1}	{2}	{3}	{4}
		4,8297			
1	1		0,293354	0,030082	0,018454
2	2	0,293354		0,166687	0,107917
3	3	0,030082	0,166687		0,732972
4	4	0,018454	0,107917	0,732972	

### -Σκληρότητα

- Ανάλυση διακύμανσης (main effects ANOVA) για τη μελέτη της επίδρασης του χρόνου και της χρήσης επικαλυπτικής μεμβράνης στη σκληρότητα των φρούτων.

Univariate Tests of Significance for ΣΚΛΗΡΟΤΗΤΑ AVG (epikalyptika) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	8,110627	1	8,110627	619,9622	0,000000
επικαλυπτικά	0,273183	3	0,091061	6,9606	0,005740
χρονος	0,065756	4	0,016439	1,2566	0,339661
Error	0,156989	12	0,013082		

- Duncan's Test για τη σκληρότητα των φρούτων, ως προς τη χρήση εδώδιμης επικάλυψης.

Duncan test; variable ΣΚΛΗΡΟΤΗΤΑ AVG (epikalyptika) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = ,01308, df = 12,000					
Cell No.	επικαλυπτικά	{1}	{2}	{3}	{4}
1	1	,54124	,82797	,54216	,63589
2	2		0,002984	0,990138	0,236816
3	3		0,002984	0,002601	0,021138
4	4	0,990138	0,002601		0,219600
		0,236816	0,021138	0,219600	

### -pH

- Ανάλυση διακύμανσης (main effects ANOVA) για το pH των φρούτων, ως προς το χρόνο και τη χρήση επικαλυπτικής μεμβράνης.

Univariate Tests of Significance for PH (Επικαλυπτικά_Aloe) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	236,6720	1	236,6720	36216,07	0,000000
επικαλυπτικά	0,1019	3	0,0340	5,20	0,015709
χρονος	0,1045	4	0,0261	4,00	0,027490
Error	0,0784	12	0,0065		

- Duncan's Test για το pH, ως προς τη χρήση εδώδιμης επικάλυψης.

Duncan test; variable PH (Επικαλυπτικά_Aloe) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = ,00654, df = 12,000					
Cell No.	επικαλυπτικά	{1}	{2}	{3}	{4}
1	1	3,5400	3,4140	3,4620	3,3440
2	2		0,036355	0,153176	0,003733
3	3		0,036355	0,366530	0,196177
4	4	0,153176	0,366530		0,047745
		0,003733	0,196177	0,047745	

- Duncan's multiple range test ως προς το χρόνο.

Duncan test; variable PH (Επικαλυπτικά_Aloe) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = ,00654, df = 12,000						
Cell No.	χρονος	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}
		3,4200	3,3475	3,3925	3,4875	3,5525
1	1		0,250695	0,639262	0,260672	<b>0,046926</b>
2	4	0,250695		0,446596	<b>0,041766</b>	<b>0,006403</b>
3	8	0,639262	0,446596		0,139283	<b>0,022850</b>
4	12	0,260672	<b>0,041766</b>	0,139283		0,277814
5	15	<b>0,046926</b>	<b>0,006403</b>	<b>0,022850</b>	0,277814	

### -Οξύτητα ως προς κιτρικό οξύ

- Ανάλυση διακύμανσης (main effects ANOVA) για την οξύτητα των φρούτων, ως προς το χρόνο και τη χρήση επικαλυπτικής μεμβράνης.

Univariate Tests of Significance for ΟΞΥΤΗΤΑ (Επικαλυπτικά_Aloe) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	<b>0,713056</b>	1	<b>0,713056</b>	4001,116	<b>0,000000</b>
επικαλυπτικά	<b>0,002172</b>	3	<b>0,000724</b>	4,062	<b>0,033129</b>
χρονος	<b>0,007637</b>	4	<b>0,001909</b>	10,714	<b>0,000623</b>
Error	0,002139	12	0,000178		

- Duncan's Test για την οξύτητα, ως προς τη χρήση εδώδιμης επικάλυψης.

Duncan test; variable ΟΞΥΤΗΤΑ (Επικαλυπτικά_Aloe) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = ,00018, df = 12,000						
Cell No.	επικαλυπτικά	{1}	{2}	{3}	{4}	
		,17348	,20193	,18643	,19344	
1	1		<b>0,008395</b>	0,151311	<b>0,043311</b>	
2	2	<b>0,008395</b>		0,105450	0,334598	
3	3	0,151311	0,105450		0,422402	
4	4	<b>0,043311</b>	0,334598	0,422402		

- Duncan's multiple range test ως προς το χρόνο.

Duncan test; variable ΟΞΥΤΗΤΑ (Επικαλυπτικά_Aloe) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = ,00018, df = 12,000						
Cell No.	χρονος	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}
		,19446	,21337	,20070	,17894	,15663
1	1		0,080191	0,521549	0,126137	<b>0,002356</b>
2	4	0,080191		0,204447	<b>0,005157</b>	<b>0,000148</b>
3	8	0,521549	0,204447		<b>0,047979</b>	<b>0,000927</b>
4	12	0,126137	<b>0,005157</b>	<b>0,047979</b>		<b>0,035996</b>
5	15	<b>0,002356</b>	<b>0,000148</b>	<b>0,000927</b>	<b>0,035996</b>	

### -Browning Index

- Ανάλυση διακύμανσης (main effects ANOVA) για τη μελέτη της επίδρασης του χρόνου και της χρήσης επικαλυπτικής μεμβράνης στον δείκτη μαυρίσματος (BI) των φρούτων.

Univariate Tests of Significance for A420NM/ BROWNING (Επικαλυπτικά_Aloe) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1,053716	1	1,053716	2466,395	0,000000
επικαλυπτικά	0,008531	3	0,002844	6,656	0,006752
χρονος	0,008420	4	0,002105	4,927	0,013896
Error	0,005127	12	0,000427		

- Duncan's multiple range test ως προς το χρόνο.

Duncan test; variable A420NM/ BROWNING (Επικαλυπτικά_Aloe) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = ,00043, df = 12,000						
Cell No.	χρονος	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}
		,21389	,20890	,21587	,25390	,25510
1	1		0,738493	0,894773	0,022428	0,022043
2	4	0,738493		0,658393	0,013994	0,013348
3	8	0,894773	0,658393		0,023296	0,024646
4	12	0,022428	0,013994	0,023296		0,935926
5	15	0,022043	0,013348	0,024646	0,935926	

- Duncan's multiple range test ως προς τη χρήση εδώδιμης επικάλυψης.

Duncan test; variable A420NM/ BROWNING (Επικαλυπτικά_Aloe) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = ,00043, df = 12,000					
Cell No.	επικαλυπτικά	{1}	{2}	{3}	{4}
		,24403	,25374	,20120	,21917
1	1		0,471949	0,008543	0,081645
2	2	0,471949		0,002715	0,026462
3	3	0,008543	0,002715		0,194536
4	4	0,081645	0,026462	0,194536	

### -Μετρήσεις Χρώματος

- a\*
  - Ανάλυση διακύμανσης (main effects ANOVA) για τη μελέτη της επίδρασης του χρόνου και της χρήσης επικαλυπτικής μεμβράνης στον δείκτη μέτρησης χρώματος a\*.



Univariate Tests of Significance for minolta/a (Επικαλυπτικά_Aloe) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	25884,25	1	25884,25	12394,30	0,000000
επικαλυπτικά	51,28	3	17,09	8,19	0,003109
χρονος	59,26	4	14,82	7,09	0,003594
Error	25,06	12	2,09		

- Duncan's multiple range test ως προς το χρόνο.

Duncan test; variable minolta/a (Επικαλυπτικά_Aloe) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 2,0884, df = 12,000						
Cell No.	χρονος	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}
1	1	37,399	35,416	37,298	36,923	32,840
2	4		0,096774	0,923149	0,666066	0,001448
3	8	0,096774		0,104623	0,166265	0,027010
4	12	0,923149	0,104623		0,720160	0,001519
5	15	0,666066	0,166265	0,720160		0,002408
		0,001448	0,027010	0,001519	0,002408	

- Duncan's multiple range test ως προς τη χρήση εδώδιμης επικάλυψης.

Duncan test; variable minolta/a (Επικαλυπτικά_Aloe) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 2,0884, df = 12,000					
Cell No.	επικαλυπτικά	{1}	{2}	{3}	{4}
1	1	36,055	34,821	34,470	38,555
2	2		0,202251	0,124357	0,018247
3	3	0,202251		0,707549	0,002067
4	4	0,124357	0,707549		0,001275
		0,018247	0,002067	0,001275	

b. chroma\*

- Ανάλυση διακύμανσης (main effects ANOVA) για τη μελέτη της επίδρασης του χρόνου και της χρήσης επικαλυπτικής μεμβράνης στον δείκτη μέτρησης κορεσμού chroma.

Univariate Tests of Significance for chroma (Επικαλυπτικά_Aloe) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	32565,67	1	32565,67	5456,178	0,000000
επικαλυπτικά	97,36	3	32,45	5,438	0,013554
χρονος	103,15	4	25,79	4,321	0,021510
Error	71,62	12	5,97		

- Duncan's multiple range test ως προς το χρόνο.

Duncan test; variable chroma (Επικαλυπτικά_Aloe) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 5,9686, df = 12,000						
Cell No.	χρονος	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}
		42,368	39,429	42,057	41,604	36,302
1	1		0,140408	0,860149	0,681711	0,007291
2	4	0,140408		0,173116	0,232218	0,095512
3	8	0,860149	0,173116		0,797732	0,008987
4	12	0,681711	0,232218	0,797732		0,012386
5	15	0,007291	0,095512	0,008987	0,012386	

- Duncan's multiple range test ως προς τη χρήση εδώδιμης επικάλυψης.

Duncan test; variable chroma (Επικαλυπτικά_Aloe) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 5,9686, df = 12,000					
Cell No.	επικαλυπτικά	{1}	{2}	{3}	{4}
		40,149	39,046	38,226	43,986
1	1		0,489406	0,259399	0,028915
2	2	0,489406		0,605493	0,009840
3	3	0,259399	0,605493		0,004484
4	4	0,028915	0,009840	0,004484	

### -Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά

#### a. Χρώμα

- Ανάλυση διακύμανσης (main effects ANOVA) για την αξιολόγηση του χρώματος των φρούτων, ως προς το χρόνο και τη χρήση επικαλυπτικής μεμβράνης.

Univariate Tests of Significance for ORGANOLHPTIKOS/XRWMA(επικαλυπτικά) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1203,835	1	1203,835	2340,489	0,000000
επικαλυπτικά	6,015	3	2,005	3,898	0,037167
χρονος	18,950	4	4,738	9,211	0,001215
Error	6,172	12	0,514		

- Duncan's Test για την αξιολόγηση του χρώματος των φρούτων, ως προς τη χρήση επικαλυπτικού (1: CONTROL, 2: A, 3: A-AV 50:50, 4: A-AV 30:70).

Duncan test; variable ORGANOLHPTIKOS/XRWMA(epikalyptika) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = ,51435, df = 12,000					
Cell No.	επικαλυπτικά	{1}	{2}	{3}	{4}
		7,5333	7,2000	7,6333	8,6667
1	1		0,47670€	0,829342	0,034240
2	2	0,47670€		0,381518	0,010668
3	3	0,829342	0,381518		0,041966
4	4	0,034240	0,010668	0,041966	

b. Γυαλάδα

- Ανάλυση διακύμανσης (main effects ANOVA) για την αξιολόγηση της γυαλάδας των φρούτων, ως προς το χρόνο και τη χρήση επικαλυπτικής μεμβράνης.

Univariate Tests of Significance for ORGANOLHPTIKOS/GUALADA(e Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1137,535	1	1137,535	1391,716	0,000000
επικαλυπτικά	8,226	3	2,742	3,355	0,055343
χρονος	19,792	4	4,948	6,054	0,006635
Error	9,808	12	0,817		

c. Οσμή

- Ανάλυση διακύμανσης (main effects ANOVA) για την αξιολόγηση της οσμής των φρούτων, ως προς το χρόνο και τη χρήση επικαλυπτικής μεμβράνης.

Univariate Tests of Significance for ORGANOLHPTIKOS/OSMH(epikalypti Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1416,806	1	1416,806	8171,696	0,000000
επικαλυπτικά	2,906	3	0,969	5,586	0,012397
χρονος	10,264	4	2,566	14,800	0,000137
Error	2,081	12	0,173		

- Duncan's Test για την αξιολόγηση της οσμής των φρούτων, ως προς τη χρήση επικαλυπτικού (1: CONTROL, 2: A, 3: A-AV 50:50, 4: A-AV 30:70).

Duncan test; variable ORGANOLHPTIKOS/OSMH(epikalyptika) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = ,17338, df = 12,000					
Cell No.	επικαλυπτικά	{1}	{2}	{3}	{4}
		8,4333	7,8333	8,5000	8,9000
1	1		0,041950	0,804573	0,116999
2	2	0,041950		0,032315	0,002574
3	3	0,804573	0,032315		0,154836
4	4	0,116999	0,002574	0,154836	

d. Γεύση

- Ανάλυση διακύμανσης (main effects ANOVA) για την αξιολόγηση της γεύσης των φρούτων, ως προς το χρόνο και τη χρήση επικαλυπτικής μεμβράνης.

Univariate Tests of Significance for ORGANOLHPTIKOS/ GEYSH (epika Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1240,313	1	1240,313	3562,600	0,000000
επικαλυπτικά	10,482	3	3,494	10,036	0,001365
χρονος	14,500	4	3,625	10,412	0,000709
Error	4,178	12	0,348		

- Duncan's Test για την αξιολόγηση της γεύσης των φρούτων, ως προς τη χρήση επικαλυπτικού (1: CONTROL, 2: A, 3: A-AV 50:50, 4: A-AV 30:70).

Duncan test; variable ORGANOLHPTIKOS/ GEYSH (epikalyptika) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = ,34815, df = 12,000					
Cell No.	επικαλυπτικά	{1} 7,0000	{2} 7,4333	{3} 8,1667	{4} 8,9000
1	1		0,268267	0,011172	0,000489
2	2	0,268267		0,073124	0,002695
3	3	0,011172	0,073124		0,073124
4	4	0,000489	0,002695	0,073124	

e. Υφή

- Ανάλυση διακύμανσης (main effects ANOVA) για την αξιολόγηση της υφής των φρούτων, ως προς το χρόνο και τη χρήση επικαλυπτικής μεμβράνης.

Univariate Tests of Significance for ORGANOLHPTIKOS/ YFH (epikalyptika) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1022,450	1	1022,450	1541,705	0,000000
επικαλυπτικά	6,194	3	2,065	3,113	0,066588
χρονος	18,619	4	4,655	7,019	0,003751
Error	7,958	12	0,663		

f. Άρωμα

- Ανάλυση διακύμανσης (main effects ANOVA) για την αξιολόγηση του αρώματος των φρούτων, ως προς το χρόνο και τη χρήση επικαλυπτικής μεμβράνης.

Univariate Tests of Significance for ORGANOLHPTIKOS/ AROMA (epi Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1344,800	1	1344,800	3653,796	0,000000
επικαλυπτικά	4,389	3	1,463	3,975	0,035208
χρονος	15,450	4	3,862	10,494	0,000684
Error	4,417	12	0,368		

- Duncan's Test για την αξιολόγηση του αρώματος των φρούτων, ως προς τη χρήση επικαλυπτικού (1: CONTROL, 2: A, 3: A-AV 50:50, 4: A-AV 30:70).

Duncan test; variable ORGANOLHPTIKOS/ AROMA (epikalypatika) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = ,36806, df = 12,000					
Cell No.	επικαλυπτικά	{1}	{2}	{3}	{4}
		7,7333	7,7667	8,4667	8,8333
1	1		0,932314	0,093327	0,020302
2	2	0,932314		0,093221	0,020786
3	3	0,093327	0,093221		0,358303
4	4	0,020302	0,020786	0,358303	

g. Ωρίμανση

- Ανάλυση διακύμανσης (main effects ANOVA) για την αξιολόγηση της ωρίμανσης των φρούτων, ως προς το χρόνο και τη χρήση επικαλυπτικής μεμβράνης.

Univariate Tests of Significance for ORGANOLHPTIKOS/ WRIMANSH Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	842,8347	1	842,8347	4180,305	0,000000
επικαλυπτικά	0,3375	3	0,1125	0,558	0,652735
χρονος	38,7694	4	9,6924	48,072	0,000000
Error	2,4194	12	0,2016		

h. Συνολική αρέσκεια

- Ανάλυση διακύμανσης (main effects ANOVA) για την αξιολόγηση της συνολικής αρέσκειας των φρούτων, ως προς το χρόνο και τη χρήση επικαλυπτικής μεμβράνης.

Univariate Tests of Significance for ORGANOLHPTIKOS/ OLIKO(epika Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1245,568	1	1245,568	3698,181	0,000000
επικαλυπτικά	7,549	3	2,516	7,471	0,004413
χρονος	14,869	4	3,717	11,037	0,000545
Error	4,042	12	0,337		

- Duncan's Test για την αξιολόγηση της συνολικής αρέσκειας των φρούτων, ως προς τη χρήση επικαλυπτικού (1: CONTROL, 2: A, 3: A-AV 50:50, 4: A-AV 30:70).

Duncan test; variable ORGANOLHPTIKOS/OLIKO(epikalyptika) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = ,33681, df = 12,000					
Cell No.	επικαλυπτικά	{1}	{2}	{3}	{4}
		7,1667	7,4667	8,2000	8,7333
1	1		0,429854	0,019518	0,001778
2	2	0,429854		0,069054	0,006250
3	3	0,019518	0,069054		0,172008
4	4	0,001778	0,006250	0,172008	

### -Περιεχόμενο σε Βιταμίνη C

- Ανάλυση διακύμανσης (main effects ANOVA) για την περιεκτικότητα των φρούτων σε βιταμίνη C, ως προς το χρόνο και τη χρήση επικαλυπτικής μεμβράνης.

Univariate Tests of Significance for βιταμινη C (epikalyptika) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	15244,37	1	15244,37	8019,060	0,000000
επικαλυπτικά	1079,06	3	359,69	189,208	0,000000
χρονος	402,82	4	100,71	52,975	0,000000
Error	22,81	12	1,90		

- Duncan's Test για τη βιταμίνη C, ως προς τη χρήση εδώδιμης επικάλυψης.

Duncan test; variable βιταμινη C (epikalyptika) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 1,9010, df = 12,000					
Cell No.	επικαλυπτικά	{1}	{2}	{3}	{4}
		15,074	30,006	31,786	33,567
1	1		0,000172	0,000095	0,000066
2	2	0,000172		0,063936	0,002071
3	3	0,000095	0,063936		0,063936
4	4	0,000066	0,002071	0,063936	

- Duncan's multiple range test ως προς το χρόνο.

Duncan test; variable βιταμίνη C (epikalyptika) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 1,9010, df = 12,000						
Cell No.	χρονος	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}
		34,050	31,083	27,092	24,065	21,751
1	1		0,010374	0,000109	0,000066	0,000038
2	4	0,010374		0,001635	0,000108	0,000067
3	8	0,000109	0,001635		0,009271	0,000272
4	12	0,000066	0,000108	0,009271		0,035289
5	15	0,000038	0,000067	0,000272	0,035289	

### -Αντιοξειδωτικά συστατικά

- Ανάλυση διακύμανσης (main effects ANOVA) για την αντιοξειδωτική ικανότητα, ως προς το χρόνο και τη χρήση επικαλυπτικής μεμβράνης.

Univariate Tests of Significance for DPPH (mg Trolox/g δειγματος) (Επικαλυπτικά) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	6673,374	1	6673,374	6855,176	0,000000
επικαλυπτικά	31,349	3	10,450	10,734	0,001028
χρονος	9,893	4	2,473	2,541	0,094524
Error	11,682	12	0,973		

- Duncan's multiple range test ως προς τη χρήση εδώδιμης επικάλυψης.

Duncan test; variable DPPH (mg Trolox/g δειγματος) (Επικαλυπτικά_Aloe) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = ,97348, df = 12,000						
Cell No.	επικαλυπτικά	{1}	{2}	{3}	{4}	
		16,426	18,070	18,664	19,906	
1	1		0,021970	0,004921	0,000257	
2	2	0,021970		0,360263	0,015564	
3	3	0,004921	0,360263		0,070015	
4	4	0,000257	0,015564	0,070015		

### -Περιεχόμενο ανθοκυανινών

- Ανάλυση διακύμανσης (main effects ANOVA) για την περιεκτικότητα των φρούτων σε ανθοκυανίνες, ως προς το χρόνο και τη χρήση επικαλυπτικής μεμβράνης.

Univariate Tests of Significance for ANΘOKYANINEΣ TAC(mg/L)(Επικαλυτ Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	85001,10	1	85001,10	5022,369	0,000000
επικαλυπτικά	524,10	3	174,70	10,322	0,001213
χρονος	1295,57	4	323,89	19,138	0,000038
Error	203,09	12	16,92		

- Duncan's multiple range test ως προς τη χρήση εδώδιμης επικάλυψης.

Duncan test; variable ANΘOKYANINEΣ TAC(mg/L)(Επικαλυπτικά_Aloe) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 16,925, df = 12,000					
Cell No.	επικαλυπτικά	{1}	{2}	{3}	{4}
1	1	61,385	64,424	73,776	61,185
2	2	0,265593	0,265593	0,000693	0,939985
3	3	0,000693	0,003841	0,003841	0,259031
4	4	0,939985	0,259031	0,000710	0,000710

- Duncan's multiple range test ως προς το χρόνο.

Duncan test; variable ANΘOKYANINEΣ TAC(mg/L)(Επικαλυπτικά_Aloe) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 16,925, df = 12,000						
Cell No.	χρονος	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}
1	1	52,351	61,577	64,917	71,847	75,270
2	4	0,008207	0,008207	0,001399	0,000097	0,000045
3	8	0,001399	0,273435	0,273435	0,005428	0,000871
4	12	0,000097	0,005428	0,034766	0,034766	0,005159
5	15	0,000045	0,000871	0,005159	0,262230	0,262230

### -Περιεχόμενο σε φαινολικά συστατικά

- Ανάλυση διακύμανσης (main effects ANOVA) για την περιεχόμενο των φρούτων σε φαινολικά συστατικά, ως προς το χρόνο και τη χρήση επικαλυπτικής μεμβράνης.

Univariate Tests of Significance for TPC (mg CA/g δείγματος) (Επικαλυπτικά_... Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	19939,04	1	19939,04	3390,733	0,000000
επικαλυπτικά	93,86	3	31,29	5,320	0,014558
χρονος	144,83	4	36,21	6,157	0,006224
Error	70,57	12	5,88		

- Duncan's multiple range test ως προς τη χρήση εδώδιμης επικάλυψης.



Duncan test; variable TPC (mg CA/g δείγματος) (Επικαλυπτικά_Aloe) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 5,8805, df = 12,000					
Cell No.	επικαλυπτικά	{1} 28,335	{2} 33,868	{3} 30,913	{4} 33,181
1	1		0,005531	0,118743	0,010523
2	2	0,005531		0,091019	0,662511
3	3	0,118743	0,091019		0,165115
4	4	0,010523	0,662511	0,165115	

- Duncan's multiple range test ως προς το χρόνο.

Duncan test; variable TPC (mg CA/g δείγματος) (Επικαλυπτικά_Aloe) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 5,8805, df = 12,000						
Cell No.	χρονος	{1} 27,115	{2} 29,986	{3} 32,574	{4} 33,933	{5} 34,265
1	1		0,120080	0,010089	0,002923	0,002356
2	4	0,120080		0,157319	0,048265	0,038592
3	8	0,010089	0,157319		0,443526	0,366611
4	12	0,002923	0,048265	0,443526		0,849610
5	15	0,002356	0,038592	0,366611	0,849610	

### -Ενζυμική ανάλυση

- PME
  - Ανάλυση διακύμανσης (main effects ANOVA) για την ενεργότητα PME των φρούτων, ως προς το χρόνο και τη χρήση επικαλυπτικής μεμβράνης.

Univariate Tests of Significance for ΠΗΚΤΙΝΟΜΕΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣΗ (units/g dw) (Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	429,6179	1	429,6179	2302,129	0,000000
επικαλυπτικά	6,4933	3	2,1644	11,598	0,000736
χρονος	9,5174	4	2,3793	12,750	0,000280
Error	2,2394	12	0,1866		

- Duncan's Test για την ενεργότητα PME, ως προς τη χρήση εδώδιμης επικάλυψης.

Duncan test; variable ΠΗΚΤΙΝΟΜΕΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣΗ ( units/g dw) (epikalypatika)					
Approximate Probabilities for Post Hoc Tests					
Error: Between MS = ,18662, df = 12,000					
Cell No.	επικαλυπτικά	{1}	{2}	{3}	{4}
		4,4349	5,5766	4,4833	4,0442
1	1		0,001765	0,862482	0,178377
2	2	0,001765		0,001900	0,000247
3	3	0,862482	0,001900		0,151679
4	4	0,178377	0,000247	0,151679	

- Duncan's multiple range test ως προς το χρόνο.

Duncan test; variable ΠΗΚΤΙΝΟΜΕΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣΗ ( units/g dw) (epikalypatika)						
Approximate Probabilities for Post Hoc Tests						
Error: Between MS = ,18662, df = 12,000						
Cell No.	χρονος	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}
		3,6040	4,1846	4,7116	5,0889	5,5846
1	1		0,081788	0,004581	0,000687	0,000091
2	4	0,081788		0,110218	0,015044	0,001061
3	8	0,004581	0,110218		0,240552	0,018088
4	12	0,000687	0,015044	0,240552		0,130812
5	15	0,000091	0,001061	0,018088	0,130812	

b. PPO

- Ανάλυση διακύμανσης (main effects ANOVA) για την ενεργότητα ΠΜΕ των φρούτων, ως προς το χρόνο και τη χρήση επικαλυπτικής μεμβράνης.

Univariate Tests of Significance for PPO (units/g dw strawberry) (epikalypatika)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	4,648401	1	4,648401	351,8886	0,000000
επικαλυπτικά	1,281762	3	0,427254	32,3435	0,000005
χρονος	0,097014	4	0,024253	1,8360	0,186811
Error	0,158518	12	0,013210		

- Duncan's Test για την ενεργότητα PPO, ως προς τη χρήση εδώδιμης επικάλυψης.

Duncan test; variable PPO (units/g dw strawberry) (epikalypatika)					
Approximate Probabilities for Post Hoc Tests					
Error: Between MS = ,01321, df = 12,000					
Cell No.	επικαλυπτικά	{1}	{2}	{3}	{4}
		,78862	,67548	,23731	,22699
1	1		0,145708	0,000100	0,000072
2	2	0,145708		0,000218	0,000151
3	3	0,000100	0,000218		0,889571
4	4	0,000072	0,000151	0,889571	

c. β-γλυκοζιδάση

- Ανάλυση διακύμανσης (main effects ANOVA) για την ενεργότητα β-γλυκοζιδάσης των φρούτων, ως προς το χρόνο και τη χρήση επικαλυπτικής μεμβράνης.

Univariate Tests of Significance for b-glucosidase (units/g δείγμα) (epikal					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	56285,49	1	56285,49	19252,10	0,000000
επικαλυπτικά	1212,52	3	404,17	138,25	0,000000
χρονος	93,02	4	23,25	7,95	0,002261
Error	35,08	12	2,92		

- Duncan's Test για την ενεργότητα PPO, ως προς τη χρήση εδώδιμης επικάλυψης.

Duncan test; variable b-glucosidase (units/g δείγμα) (epikalypatika)					
Approximate Probabilities for Post Hoc Tests					
Error: Between MS = 2,9236, df = 12,000					
Cell No.	επικαλυπτικά	{1}	{2}	{3}	{4}
		44,249	48,479	54,503	64,968
1	1		0,002209	0,000095	0,000066
2	2	0,002209		0,000275	0,000095
3	3	0,000095	0,000275		0,000172
4	4	0,000066	0,000095	0,000172	

- Duncan's multiple range test ως προς το χρόνο.

Duncan test; variable b-glucosidase (units/g δείγμα) (epikalypatika)						
Approximate Probabilities for Post Hoc Tests						
Error: Between MS = 2,9236, df = 12,000						
Cell No.	χρονος	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}
		50,247	51,926	52,140	54,567	56,367
1	1		0,190316	0,161769	0,005873	0,000554
2	4	0,190316		0,862839	0,059035	0,004931
3	8	0,161769	0,862839		0,067867	0,005763
4	12	0,005873	0,059035	0,067867		0,162500
5	15	0,000554	0,004931	0,005763	0,162500	

**-Μικροβιολογικός Έλεγχος:**

- Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (υπόστρωμα PCA)
- Ανάλυση διακύμανσης (main effects ANOVA) για το μικροβιακό φορτίο OMX της φράουλας, ως προς το χρόνο και τη χρήση επικαλυπτικής μεμβράνης.

Univariate Tests of Significance for PCA (epikalyptika) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	179,9442	1	179,9442	2551,222	0,000000
επικαλυπτικά	1,6531	3	0,5510	7,812	0,003723
χρονος	10,0399	4	2,5100	35,586	0,000001
Error	0,8464	12	0,0705		

- Duncan's Test για το μικροβιακό φορτίο OMX των φρούτων, ως προς τη χρήση επικαλυπτικού (1: CONTROL, 2: A, 3: A-AV 50:50, 4: A-AV 30:70).

Duncan test; variable PCA (epikalyptika) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = ,07053, df = 12,000					
Cell No.	επικαλυπτικά	{1}	{2}	{3}	{4}
		3,3841	3,1373	2,8553	2,6214
1	1		0,167700	0,010743	0,001136
2	2	0,167700		0,119103	0,012329
3	3	0,010743	0,119103		0,189256
4	4	0,001136	0,012329	0,189256	

- Duncan's multiple range test ως προς το χρόνο.

Duncan test; variable PCA (epikalyptika) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = ,07053, df = 12,000						
Cell No.	χρονος	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}
		2,0000	2,5198	2,9696	3,4886	4,0197
1	1		0,017189	0,000394	0,000070	0,000038
2	4	0,017189		0,033951	0,000396	0,000070
3	8	0,000394	0,033951		0,017335	0,000239
4	12	0,000070	0,000396	0,017335		0,015381
5	15	0,000038	0,000070	0,000239	0,015381	

b. Ζύμες, Μύκητες (υπόστρωμα RBC)

- Ανάλυση διακύμανσης (main effects ANOVA) για το μικροβιακό φορτίο ως προς το χρόνο και τη χρήση επικαλυπτικής μεμβράνης.

Univariate Tests of Significance for RBC (epikalyptika) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	111,4018	1	111,4018	1305,038	0,000000
επικαλυπτικά	0,1765	3	0,0588	0,689	0,575859
χρονος	1,3795	4	0,3449	4,040	0,026604
Error	1,0244	12	0,0854		

- Duncan's multiple range test ως προς το χρόνο.

Duncan test; variable RBC (epikalyptika)						
Approximate Probabilities for Post Hoc Tests						
Error: Between MS = ,08536, df = 12,000						
Cell No.	χρονος	{1} 2,0000	{2} 2,1505	{3} 2,3451	{4} 2,6461	{5} 2,6589
1	1		0,480431	0,137494	0,012864	0,012726
2	4	0,480431		0,365127	0,040783	0,040959
3	8	0,137494	0,365127		0,170906	0,173604
4	12	0,012864	0,040783	0,170906		0,951767
5	15	0,012726	0,040959	0,173604	0,951767	