



Αθήνα, Ιούνιος 2023

# ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

Βελτιστοποίηση εδώδιμων  
επικαλύψεων για εφαρμογή σε μούρα

Φάφαλης Χαρίλαος

Τομέας Ανάλυσης, Σχεδιασμού και Ανάπτυξης  
Διεργασιών και Συστημάτων

Εργαστήριο Σχεδιασμού και Ανάλυσης Διεργασιών

Επιβλέπουσα καθηγήτρια: Κροκίδα Μαγδαληνή

Αφιερωμένη στους γονείς μου,  
Δημήτρη και Ελένη  
και στον αδελφό μου, Νίκο

## Πρόλογος

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Σχεδιασμού και Ανάλυσης Διεργασιών της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου, υπό την επίβλεψη της κυρίας Κροκίδας Μαγδαληνής, καθηγήτριας του Ε.Μ.Π.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την κυρία Κροκίδα, για την εμπιστοσύνη της στην ανάθεση του θέματος της παρούσας έρευνας και για την υποστήριξη της καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησής της, ενώ δεν θα μπορούσα να μην ευχαριστήσω την Αλεξάνδρα Μάρη, υποψήφια διδάκτορα του εργαστηρίου, για την πολύτιμη βοήθεια, την επιστημονική καθοδήγηση, την κατανόηση και την υποστήριξη της από την αρχή μέχρι το τέλος της προσπάθειας μου.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες στους Τρύφωνα Κεκέ, Σωκράτη Κοσκινάκη, Χριστόφορο Βασιλείου, Μαργαρίτα Παναγιωτοπούλου, Νάντια Λαϊνά και όλα τα υπόλοιπα μέλη του ερευνητικού προσωπικού και των υποψήφιων διδασκόντων του εργαστηρίου για τη σημαντική βοήθεια, τις χρήσιμες συμβουλές τους, την εμπιστοσύνη τους στο πρόσωπο μου, τις συζητήσεις, την αρωγή, και τη στήριξη τους σε επιστημονικά -και όχι μόνο- ζητήματα.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω την Δήμητρα και την Αγγελική για την στήριξή τους σε όλη μου τη προσπάθεια για την εκπόνηση της διπλωματικής εργασίας αλλά και όλους μου τους φίλους που στιγμάτισαν και έδωσαν νόημα στην ακαδημαϊκή μου πορεία από την πρώτη μέχρι και την τελευταία μέρα της.

## Περίληψη

Τα μύρτιλα είναι ένα φρούτο το οποίο έχει πάρει τα τελευταία χρόνια μια σημαντική θέση στη διατροφή τόσο στην Ελλάδα όσο και στον υπόλοιπο κόσμο. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι έχουν μεγάλη διατροφική αξία λόγω των χημικών ενώσεων που περιέχουν όπως ανθοκυανίνες, ελαγγικό οξύ κ.α. Ιδιαίτερα οι ανθοκυανίνες είναι πολύ σημαντικές για το ανθρώπινο οργανισμό καθώς είναι ισχυρά αντιοξειδωτικά και τα μύρτιλα είναι από τα φρούτα με την μεγαλύτερη συγκέντρωση ανθοκυανινών. Εκτός από την μεγάλη αντιοξειδωτική δράση τα μούρα έχουν και πολλά ακόμα οφέλη για τον ανθρώπινο οργανισμό όπως η βελτίωση και προστασία της όρασης, η προστασία του νευρικού συστήματος, της καρδιάς κτλ. Από την άλλη τα προβλήματα που υπάρχουν με τα μύρτιλα είναι η μεγάλη ευαισθησία που έχουν σε μηχανικές, μικροβιακές και οξειδωτικές αλλοιώσεις.

Η λύση σε αυτά τα προβλήματα μέχρι τα τελευταία χρόνια όπως και στα υπόλοιπα τρόφιμα είναι η πλαστική συσκευασία. Όμως το περιβαλλοντικό αποτύπωμα του πλαστικού έχει επιφέρει σε όλο το κόσμο τη ανάγκη να γίνει απαλλαγή από αυτό. Οπότε η καλύτερη δυνατή λύση στην σύγχρονη συσκευασία των φρούτων και των λαχανικών αλλά και των υπόλοιπων τροφίμων είναι οι εδώδιμες επικαλύψεις, οι οποίες μπορούν να έχουν ακόμα καλύτερο αποτέλεσμα στη χρήση τους από το πλαστικό. Οι εδώδιμες επικαλύψεις δεν είναι μια νέα τεχνολογία καθώς χρησιμοποιείται από τα αρχαία χρόνια, αλλά η χρήση τους τα τελευταία χρόνια περιοριζόταν λόγω του μεγαλύτερου κόστους από το πλαστικό. Η προοπτική, βέβαια, της χρήσης του είναι τεράστια καθώς μπορεί να προσαρμοστεί κάθε φορά στις συνθήκες του τρόφιμου και να βοηθήσει πιο συγκεκριμένα στα προβλήματα που έχει το καθένα.

Η εδώδιμη επικάλυψη μπορεί να δημιουργηθεί από πάρα πολλά υλικά. Οι κύριες κατηγορίες αυτών είναι οι πρωτεΐνες, οι πολυσακχαρίτες και τα λιπίδια διαλυμένα σε νερό. Στη συνέχεια προστίθεται ένας πλαστικοποιητής (συνήθως η γλυκερόλη) και ότι πρόσθετο χρειάζεται η συγκεκριμένη επικάλυψη. Τα πρόσθετα εκτός από ότι είναι βασικά για την δημιουργία της επικάλυψης μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να δώσουν κάποια επιπλέον χαρακτηριστικά στην επικάλυψη όπως αντιμικροβιακή δράση, γεύση, χρώμα κ.α. Οπότε πολλές φορές η χρήση τους γίνεται για βελτιστοποίηση της επικάλυψης για το συγκεκριμένο τρόφιμο.

Για να αποκτηθούν τα βασικά υλικά ή και τα πρόσθετα της επικάλυψης μια καλή ανανεώσιμη πηγή είναι τα μικροφύκη. Έχει γίνει μεγάλη μελέτη τα τελευταία χρόνια για τα μικροφύκη και την αξιοποίησή τους. Η καλλιέργεια τους μπορεί να γίνει είτε σε φυσικό περιβάλλον είτε σε εγκαταστάσεις και αναλόγως τις συνθήκες που

καλλιεργούνται έχουν και διαφορετική χημική σύσταση. Οπότε για κάθε χρήση τους καλλιεργούνται διαφορετικά ώστε να έχουν τη καλύτερη δυνατή απόδοση. Οι χρήσεις τους μπορούν να γίνουν σε πάρα πολλούς τομείς όπως τα τρόφιμα, τα βιοκαύσιμα, τα καλλυντικά κ.α. Περιέχουν πολύ μεγάλο ποσοστό πρωτεϊνών, αμύλου και λιπιδίων τα οποία είναι εύκολα εκχυλίσιμα.

Εκτός από τις εδώδιμες επικαλύψεις, χρησιμοποιήθηκε και η μέθοδος της ωσμωτικής αφυδάτωσης, ως προεπεξεργασία, ώστε να αυξηθεί ο χρόνος ζωής των μύρτιλων. Η ωσμωτική αφυδάτωση είναι ένας πολύ συνήθης τρόπος για ξήρανση φρούτων και λαχανικών για καλύτερη συντήρησή τους. Ο τρόπος και το αποτέλεσμα της αφυδάτωσης ποικίλει και εξαρτάται από πολλές μεταβλητές όπως η θερμοκρασία, το διάλυμα, η συγκέντρωση, ο χρόνος κ.α. Κάθε φορά επιλέγονται οι συνθήκες σύμφωνα με το αποτέλεσμα που επιθυμείτε να υπάρξει στο συγκεκριμένο φρούτο.

Στη παρούσα διπλωματική εργασία χρησιμοποιήθηκε το μικροφύκος *Chlorella vulgaris* ώστε να γίνει εκχύλιση πρωτεϊνών και άμυλου από αυτό και να δημιουργηθούν εδώδιμες επικαλύψεις πάνω σε μύρτιλα. Η εκχύλιση των συστατικών έγινε με τρόπους ώστε τα εκχυλίσματα να είναι εδώδιμα οπότε ακολουθήθηκε πολύ αυστηρή μέθοδος η οποία είχε και χαμηλότερη απόδοση από ότι οι συνήθειες, στις οποίες τα εκχυλίσματα δεν είναι εδώδιμα. Επίσης δημιουργήθηκαν επικαλύψεις από χιτοζάνη και άμυλο εμπορικά αγορασμένα ώστε να γίνει σύγκριση μεταξύ των επικαλύψεων και προφανώς και σύγκριση με τα μύρτιλα χωρίς καμία επεξεργασία. Ο τρόπος εφαρμογής της επικάλυψης που επιλέχθηκε ήταν η εμβύθιση του φρούτου μέσα στο διάλυμα και στη συνέχεια ξήρανση αυτού με αέρα.

Επίσης εξετάστηκε ο συνδυασμός της επικάλυψης με ωσμωτικά αφυδατωμένα μύρτιλα για βελτιστοποίηση των αποτελεσμάτων. Τα διαλύματα της αφυδάτωσης που χρησιμοποιήθηκαν ήταν: διάλυμα γλυκερόλης, σακχαρόζης, χυμού μήλου και γλυκερόλης με χυμό μήλου. Έγινε, λοιπόν, σύγκριση τόσο μεταξύ των ωσμωτικών αφυδατώσεων μεταξύ τους με την ίδια επικάλυψη όσο και για κάθε αφυδάτωση με διαφορετική επικάλυψη ώστε να βρεθεί ο καλύτερος δυνατός συνδυασμός. Ακόμα, εξετάστηκε η προσθήκη κάποιου βιοδραστικού στην επικάλυψη και αξιολογήθηκε και αυτό μαζί με τα υπόλοιπα δείγματα.

Ο τρόπος αξιολόγησης των μύρτιλων έγινε με μέτρηση της απώλειας του βάρους και αλλαγή του χρώματος ανά 3-4 ημέρες για 21 ημέρες σύνολο. Επίσης έγινε μέτρηση της ποσότητας των αντιοξειδωτικών, των ολικών στερεών, της οξύτητας και των μικρόβιων ανά 7 ημέρες πάλι για 21 ημέρες σύνολο. Τέλος, έγινε οργανοληπτικός έλεγχος για σύγκριση της γεύσης, του χρώματος, της υφής κ.α. με

βάση το αρχικό καθώς ο σκοπός είναι η μικρότερη απώλεια αυτών από την ωσμωτική αφυδάτωση και τις επικαλύψεις.

Επιπρόσθετα έγινε αξιολόγηση των εδώδιμων επικαλύψεων ξεχωριστά από τα μύρτιλα, σε μορφή φιλμ. Τα φιλμ εξετάστηκαν για όλες τις βασικές λειτουργίες και χαρακτηριστικά που έχουν δηλαδή το πάχος, η πυκνότητα, ο ρυθμός μεταφοράς των υδρατμών δια μέσου του φιλμ, η διαφάνεια και μετάδοση του φωτός, οι μηχανικές ιδιότητες, η περιεχόμενη υγρασία κ.α.

Συνοπτικά, οι εδώδιμες επικαλύψεις είχαν σημαντική επίδραση στη μείωση της απώλειας βάρους από 16% μέχρι και 3% στον καλύτερο συνδυασμό της επικάλυψης από πρωτεΐνες φυκιών και αφυδατωμένα με διάλυμα χυμού μήλου. Στο χρώμα η διαφορά ήταν μικρή και πρακτικά ασήμαντη. Μεγάλη διαφορά είχε στην αύξηση και διατήρηση των αντιοξειδωτικών ουσιών κατά την διάρκεια των ημερών. Πιο συγκεκριμένα, οι επικαλύψεις που προέρχονται από εκχυλίσματα φυκιών είχαν περισσότερα αντιοξειδωτικά από τα υπόλοιπα δείγματα ενώ συνολικά όλα τα επικαλυμμένα και αφυδατωμένα δείγματα είχαν καλύτερη διατήρηση των αντιοξειδωτικών τους από το control δείγμα. Τα ολικά στερεά και η οξύτητα επηρεάζονται από τις επικαλύψεις και όπως φαίνεται καθυστερείτε η ωρίμανση του φρούτου ιδιαίτερα από την 7η ημέρα και έπειτα. Τέλος, φαίνεται η αντιμικροβιακή δράση όλων των επικαλύψεων καθώς η ανάπτυξη των μικροβίων είναι χαμηλότερη από ότι στο δείγμα που δεν είναι επικαλυμμένο.

Στην αξιολόγηση των εδώδιμων επικαλύψεων παρατηρείται ότι οι επικαλύψεις από άμυλο έχουν σημαντικά καλύτερες μηχανικές ιδιότητες αντίθετα με τις πρωτεΐνες. Από την άλλη οι πρωτεΐνες έχουν την χαμηλότερη διαπερατότητα υδρατμών που εξηγεί και την χαμηλότερη απώλεια βάρους των μύρτιλων που είναι επικαλυμμένα με αυτές. Τέλος, στον οργανοληπτικό έλεγχο των επικαλυμμένων μούρων, τα μύρτιλα είχαν μικρή διαφορά στην εμφάνιση και στην γεύση και δεν υπήρχε αρνητική επιρροή στη γεύση τους εκτός από τα βιοδραστικά που άλλαξαν εντελώς την συνολική γεύση και το άρωμα του δείγματος.

## Abstract

Blueberries are a fruit that has taken an important place in the diet of recent years, both in Greece and in the rest of the world. This is due to the fact that they have great nutritional value because of the chemical compounds they contain such as anthocyanins, ellagic acid etc. Especially anthocyanins are very important for the human body as they are powerful antioxidants and blueberries are one of the fruits with the highest concentration of anthocyanins. In addition to the great antioxidant activity, berries have many other benefits for the human body such as improving and protecting vision, protecting the nervous system, heart, etc. On the other hand, the problems with blueberries are the high susceptibility they have to mechanical, microbial and oxidative deterioration.

The solution to these problems until recent years, as with other foods, is plastic packaging. However, the environmental footprint of plastic has brought about a worldwide need to get rid of it. So, the best possible solution in the modern packaging of fruits and vegetables and other foods is edible coatings, which can have an even better effect on their use than plastic. Edible coatings are not a new technology as they have been used since ancient times but their use has been limited in recent years due to their higher cost than plastic. The potential, of course, for its use is enormous as it can be adapted each time to the conditions of the food and help more specifically to the problems of each.

The edible coating can be created from many materials. The main categories of these are proteins, polysaccharides and lipids dissolved in water. A plasticizer (usually glycerol) and whatever additive is needed for the particular coating is then added. Additives, apart from being essential for the creation of the coating, can be used to give some additional characteristics to the coating such as antimicrobial activity, taste, color, etc. So often they are used to optimise the coating for the specific foodstuff.

To obtain the basic materials and additives for the coating a good renewable source is microalgae. Much research has been done in recent years on microalgae and their utilization. They can be cultivated either in the natural environment or in facilities and depending on the conditions they are cultivated they have different chemical composition. So for each use they are cultivated differently to get the best possible yield. Their uses can be in so many areas such as food, biofuels, cosmetics etc. They contain a very high percentage of proteins, starch and lipids which are easily extractable.

In addition to edible coatings, the method of osmotic dehydration was used to increase the shelf life of blueberries. Osmotic dehydration is a very common way of drying fruits and vegetables for better preservation. The method and effect of dehydration vary and depends on many variables such as temperature, solution, concentration, time, etc. Each time the conditions are chosen according to the desired effect on the particular fruit.

In the present thesis, the microalgae chlorella was used to extract proteins and starch from it and create edible coatings on berries. The extraction of the components was done in ways that the extracts were edible, so a very strict method was followed which had a lower yield than the usual methods in which the extracts are not edible. Coatings of chitosan and commercially purchased starch were also created so that a comparison could be made between the coatings and obviously a comparison with blueberries without any treatment. The method of coating application chosen was immersion of the fruit in the solution and then drying it.

The combination of coating with osmotically dehydrated blueberries was also examined to optimize the results. The dehydration solutions that were used: glycerol, sucrose, apple juice and glycerol with apple juice solution. A comparison was therefore made both between the osmotic dehydrations with the same coating and for each dehydration with a different coating in order to find the best possible combination.

The blueberries were evaluated by measuring weight loss and changing color every 3-4 days for 21 days in total. Also, the amount of antioxidants, total solids, acidity and microbes were measured every 7 days again for 21 days total. Finally, an organoleptic test was done to compare the taste, colour, texture etc. with the original as the aim is to minimize the loss of these from osmotic dehydration and overlays.

In addition, the evaluation of edible coatings separately from blueberries was done in film form. The films were examined for all the basic functions and characteristics i.e. thickness, density, rate of water vapor transfer through the film, transparency and light transmission, mechanical properties, moisture content etc. Also, the addition of a bioactive agent to the coating was examined and evaluated together with the other samples.

In summary, the edible coatings had a significant effect in reducing weight loss from 16% to 3% in the best combination of algal protein and dehydrated algal protein coating with apple juice solution. In color the difference was small and practically insignificant. There was a big difference in the increase and retention of antioxidants during the days. More specifically, the coatings derived from seaweed extracts had



significantly more antioxidants than the other samples, while overall all coated and dehydrated samples had better antioxidant retention. Total solids and acidity were affected by the coatings and as shown delayed ripening of the fruit, especially from day 7 onwards. Finally, the antimicrobial activity of all coatings is better than in the uncoated sample.

In the evaluation of the edible coatings, it is observed that the starch coatings have significantly better mechanical properties in contrast to the protein coatings. On the other hand, proteins have the lowest water vapor permeability which explains the lower weight loss of blueberries coated with them. Finally, in the sensory testing of the coated berries, the blueberries had little difference in appearance and taste and there was no negative influence on their flavor except for the bioactives that completely changed the overall flavor and aroma of the sample.

## Περιεχόμενα

Πρόλογος.....	3
Περίληψη.....	4
Abstract .....	7
1. Μούρα.....	17
1.1 Εισαγωγικά στοιχεία .....	17
1.2 Χημική σύσταση .....	18
1.3 Οφέλη στην υγεία .....	20
2. Μικροάλη .....	24
2.1 Εισαγωγικά στοιχεία .....	24
2.2 Χημική σύσταση .....	25
2.3 Εκχύλιση συστατικών από μικροάλη .....	31
2.4 Εφαρμογές.....	35
2.4.1 Τρόφιμα	36
2.4.2 Βιοκαύσιμα	38
2.4.3 Ζωοτροφές για οικόσιτα ζώα και υδατοκαλλιέργεια	39
2.4.4 Βιολογικός περιορισμός των εκπομπών CO <sub>2</sub> και καθαρισμός λυμάτων	40
2.4.5 Καλλυντικά	42
3. Ξήρανση.....	43
3.1 Εισαγωγή.....	43
3.2 Ωσμωτική αφυδάτωση.....	43
3.3 Παράμετροι διεργασίας .....	44
3.4 Πλεονεκτήματα .....	46
4. Εδώδιμη επικάλυψη.....	47
4.1 Εισαγωγή.....	47
4.2 Ορισμός.....	48
4.3 Γενικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά.....	48
4.4 Σύθεση και πρόσθετα.....	50
4.5 Μηχανισμός σχηματισμού και εφαρμογής της επικάλυψης.....	51
4.5.1 Εμβύθιση	52
4.5.2 Ψεκάσμος	52
	10

4.5.3	Ρευστοποιημένη κλίνη	53
4.5.4	Panning	54
4.6	Σύγχρονα μέσα εδώδιμης επικάλυψης.....	55
5.	Πειραματικός σχεδιασμός.....	56
5.1	Υλικά-χημικά Αντιδραστήρια .....	56
5.2	Ωσμωτική αφυδάτωση μούρων .....	56
5.3	Εκχύλιση από μικροάλγη.....	57
5.3.1	Εκχύλιση πρωτεϊνών	57
5.3.2	Εκχύλιση αμύλου	58
5.4	Εδώδιμη επικάλυψη.....	59
5.5	Αξιολόγηση εδώδιμης επικάλυψης .....	60
5.5.1	Πάχος μεμβράνης και πυκνότητα	61
5.5.2	Περιεχόμενη υγρασία	61
5.5.3	Διαλυτότητα σε νερό	61
5.5.4	Οπτικές ιδιότητες: Χρώμα και διαφάνεια και μετάδοση φωτός	62
5.5.5	Διαπερατότητας υγρού-αερίου	62
5.5.6	Θερμική ανάλυση	63
5.5.7	Μηχανικές ιδιότητες	63
5.6	Αξιολόγηση επικαλυμμένων μούρων .....	64
5.6.1	Μέτρηση διαφοράς βάρους	65
5.6.2	Μέτρηση χρώματος	65
5.6.3	Αποχύμωση των μούρων	66
5.6.4	Μέτρηση των ολικών στερεών	66
5.6.5	Μέτρηση οξύτητας	67
5.6.6	Μέτρηση της αντιοξειδωτικής δράσης	68
5.6.7	Μικροβιολογική ανάλυση	69
5.6.8	Οργανοληπτικός έλεγχος	70
6.	Πειραματικά Αποτελέσματα .....	71
6.1	Εκχύλιση συστατικών από μικροάλγη .....	71
6.2	Αξιολόγηση εδώδιμων επικαλύψεων .....	71
6.2.1	Πάχος επικάλυψης και πυκνότητα	71

6.2.2	Περιεχόμενη υγρασία	72
6.2.3	Διαλυτότητα σε νερό	72
6.2.4	Οπτικές ιδιότητες (χρώμα) και διαφάνεια και μετάδοση φωτός	73
6.2.5	Ρυθμός μεταφοράς υδρατμών δια μέσου της επικάλυψης	73
6.2.6	Θερμική ανάλυση	74
6.2.7	Μηχανικές ιδιότητες	74
6.3	Αξιολόγηση επικαλυμμένων μούρων .....	76
6.3.1	Αξιολόγηση διαφοράς βάρους και χρώματος	76
6.3.2	Αξιολόγηση των ολικών στερεών και της οξύτητας	82
6.3.3	Αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης	87
6.3.4	Μικροβιολογική ανάλυση	91
6.3.5	Οργανοληπτικός έλεγχος	92
7.	Συμπεράσματα .....	95
8.	Προτάσεις για το μέλλον .....	99
	Βιβλιογραφία .....	101

## Περιεχόμενα Πινάκων

Πίνακας 1: Συγκέντρωση ανθοκυανινών σε δημοφιλή φρούτα [6] .....	19
Πίνακας 2: Διατροφική αξία σε μύρτιλο ανά 100 g φρέσκου φρούτου [2].....	19
Πίνακας 3: Διατροφική αξία σε ευρωπαϊκό μύρτιλο ανά 100 g φρέσκου φρούτου [7] .....	20
Πίνακας 4: Σύγκριση των αμινοξέων της <i>Chlorellas vulgaris</i> με τα προτεινόμενα από WHO (g ανά 100 g πρωτεΐνης) [21] .....	27
Πίνακας 5: Σύνθεση πολυσακχαριτών στο κυτταρικό τοίχωμα [21] .....	28
Πίνακας 6: περιεκτικότητα σε μεταλλικά στοιχεία της <i>Chlorella vulgaris</i> .....	29
Πίνακας 7: Ποσότητα βιταμινών στη <i>Chlorells vulgaris</i> .....	30
Πίνακας 8: Περιεκτικότητα χρωστικών στη <i>Chlorella vulgaris</i> [33], [34] .....	31
Πίνακας 9 : Κυριότερα μικροφύκη για διατροφή και τα προϊόντα τους [44], [45] .....	36
Πίνακας 10: Σύγκριση των μικροφυκών με διαφορετικό ποσοστό λιπιδίων [50].....	39
Πίνακας 11: Οι κύριες πρώτες ύλες για την δημιουργία εδώδιμων επικαλύψεων σε φρούτα και λαχανικά [65] .....	50
Πίνακας 12: Περιορισμοί εδώδιμων επικαλύψεων και φιλμ με βάση το βασικό υλικό της σύνθεσης τους [70] .....	51
Πίνακας 13: Πάχος και πυκνότητα επικάλυψης .....	71
Πίνακας 14: Περιεχόμενη υγρασία επικάλυψης .....	72
Πίνακας 15: Διαλυτότητα επικάλυψης στο νερό .....	72
Πίνακας 16: Διαφάνεια και μετάδοση φωτός στην επικάλυψη .....	73
Πίνακας 17: Χρώμα επικάλυψης.....	73
Πίνακας 18: Ρυθμός μεταφοράς υδρατμών .....	74
Πίνακας 19: Οι θερμοκρασίες Tg και οι ΔHg των εδώδιμων επικαλύψεων.....	74
Πίνακας 20: Μηχανικές ιδιότητες των εδώδιμων επικαλύψεων .....	75
Πίνακας 21: τα αποτελέσματα των μικροβιακών τεστ την 14 <sup>η</sup> ημέρα .....	91

## Περιεχόμενο Σχημάτων

Διάγραμμα 1: η % απώλεια βάρους των επικαλυμμένων, με χιτοζάνη, μύρτιλων συναρτήσει των ημερών. ....	76
Διάγραμμα 2 : η διαφορά χρώματος των επικαλυμμένων, με χιτοζάνη, μύρτιλων συναρτήσει των ημερών. ....	77
Διάγραμμα 3: η % απώλεια βάρους των επικαλυμμένων, με άμυλο-πηκτίνη, μύρτιλων συναρτήσει των ημερών. ....	77
Διάγραμμα 4: η διαφορά χρώματος των επικαλυμμένων, με άμυλο-πηκτίνη, μύρτιλων συναρτήσει των ημερών. ....	77
Διάγραμμα 5: η % απώλεια βάρους των επικαλυμμένων, με άμυλο από φύκια-πηκτίνη, μύρτιλων συναρτήσει των ημερών. ....	78
Διάγραμμα 6: η διαφορά χρώματος των επικαλυμμένων, με άμυλο από φύκια-πηκτίνη, μύρτιλων συναρτήσει των ημερών. ....	78
Διάγραμμα 7: η % απώλεια βάρους των επικαλυμμένων, με πρωτεΐνες από φύκια, μύρτιλων συναρτήσει των ημερών. ....	78
Διάγραμμα 8: η διαφορά χρώματος των επικαλυμμένων, με πρωτεΐνες από φύκια, μύρτιλων συναρτήσει των ημερών. ....	79
Διάγραμμα 9: η % απώλεια βάρους των επικαλυμμένων μύρτιλων με προσθήκη βιοδραστικών και των αντίστοιχων χωρίς, συναρτήσει των ημερών.....	79
Διάγραμμα 10: : η διαφορά χρώματος των επικαλυμμένων μύρτιλων με προσθήκη βιοδραστικών και των αντίστοιχων χωρίς, συναρτήσει των ημερών.....	79
Διάγραμμα 11: η % απώλεια των βέλτιστων δειγμάτων σε σύγκριση με το control, συναρτήσει των ημερών. ....	80
Διάγραμμα 12: η διαφορά χρώματος των βέλτιστων δειγμάτων σε σύγκριση με το control, συναρτήσει των ημερών. ....	80
Διάγραμμα 13: Τα ολικά στερεά στα επικαλυμμένα, με χιτοζάνη, μύρτιλα κατά την διάρκεια των ημερών. ....	82
Διάγραμμα 14: Τα ολικά στερεά στα επικαλυμμένα, με άμυλο-πηκτίνη, μύρτιλα κατά την διάρκεια των ημερών.....	83
Διάγραμμα 15: Τα ολικά στερεά στα επικαλυμμένα, με άμυλο από φύκια-πηκτίνη, μύρτιλα κατά την διάρκεια των ημερών.....	83
Διάγραμμα 16: Τα ολικά στερεά στα επικαλυμμένα, με πρωτεΐνες από φύκια, μύρτιλα κατά την διάρκεια των ημερών. ....	83
Διάγραμμα 17: Τα ολικά στερεά στα δείγματα με προσθήκη βιοδραστικών σε σύγκριση με τα αντίστοιχα χωρίς, κατά την διάρκεια των ημερών. ....	84
Διάγραμμα 18: Τα ολικά στερεά στα βέλτιστα δείγματα σε σύγκριση με το control δείγμα κατά την διάρκεια των ημερών.....	84
Διάγραμμα 19: η οξύτητα των επικαλυμμένων, με χιτοζάνη, μύρτιλων κατά την διάρκεια των ημερών. ....	85

Διάγραμμα 20: η οξύτητα των επιακλυμμένων, με άμυλο-πηκτίνη, μύρτιλων κατά την διάρκεια των ημερών.....	85
Διάγραμμα 21: η οξύτητα των επιακλυμμένων, με άμυλο από φύκια-πηκτίνη, μύρτιλων κατά την διάρκεια των ημερών.....	86
Διάγραμμα 22: η οξύτητα των επιακλυμμένων, με πρωτεΐνες από φύκια, μύρτιλων κατά την διάρκεια των ημερών.....	86
Διάγραμμα 23: η οξύτητα των επιακλυμμένων μύρτιλων σε σύγκριση με τα αντίστοιχα αλλά με προσθήκη βιοδραστικών, κατά την διάρκεια των ημερών. ....	86
Διάγραμμα 24: η οξύτητα των βέλτιστων δειγμάτων σε σύγκριση με το control κατά την διάρκεια των ημερών.....	87
Διάγραμμα 25: : Η τιμή του IC50 στα επικαλυμμένα, με χιτοζάνη, μύρτιλα κατά την διάρκεια των ημερών.....	88
Διάγραμμα 26: Η τιμή του IC50 στα επικαλυμμένα, με άμυλο-πηκτίνη, μύρτιλα κατά την διάρκεια των ημερών.....	88
Διάγραμμα 27: Η τιμή του IC50 στα επικαλυμμένα, με άμυλο από φύκια-πηκτίνη, μύρτιλα κατά την διάρκεια των ημερών.....	89
Διάγραμμα 28: Η τιμή του IC50 στα επικαλυμμένα, με πρωτεΐνες από φύκια, μύρτιλα κατά την διάρκεια των ημερών. ....	89
Διάγραμμα 29: Η τιμή του IC50 στα επικαλυμμένα μύρτιλα με τη προσθήκη βιοδραστικών κατά την διάρκεια των ημερών.....	90
Διάγραμμα 30: Η αξιολόγηση της γεύσης των δειγμάτων. ....	92
Διάγραμμα 31: Η αξιολόγηση του αρώματος των δειγμάτων.....	92
Διάγραμμα 32: Η αξιολόγηση της εμφάνισης και της υφής των δειγμάτων. ....	93
Διάγραμμα 33: Η συνολική αποδοχή και μετάγευση των δειγμάτων.....	93

## Περιεχόμενο Εικόνων

Εικόνα 1: Μια εγκάρσια τομή ενός καρπού μύρτιλου που δείχνει τόσο τα εξωτερικά όσο και τα εσωτερικά μέρη του [1].....	17
Εικόνα 2: Οι πιο σημαντικές χημικές ενώσεις των μύρτιλων για τα οφέλη στην υγεία του ανθρώπου. Ανθοκυανίνη (αριστερά), ελλαγικό οξύ (μέση) και προανθοκυανίνη (δεξιά) [4] 18	
Εικόνα 3: Η μορφολογία και τα βασικά μέρη του κυττάρου των μικροφυκών [21] .....	25
Εικόνα 4: Δομή του κυτταρικού τοιχώματος της Chlorellas. AL: στρώμα με βάση την αλγενάνη, FL: ινώδες στρώμα, CM: κυτταρική μεμβράνη [24] .....	26
Εικόνα 5: Η χημική ένωση του DHA [29].....	28
Εικόνα 6: η χημική ένωση της βιταμίνης E (αριστερά) [29] και της Ασταξανθίνης (δεξιά) [27] .....	30
Εικόνα 7: η χημική ένωση της β-καροτίνης [27] .....	31
Εικόνα 8: Οι βασικές εφαρμογές των χημικών ενώσεων των μικροφυκών [35].....	36
Εικόνα 9: Απεικόνιση της διαδικασίας ωσμωτικής αφυδάτωσης [61].....	44
Εικόνα 10: Μέθοδος εφαρμογής rapping για εδώδιμη επικάλυψη [73].....	54
Εικόνα 11: το όργανο Freeze Dryer BK-FD10S. ....	58
Εικόνα 12: Το μηχάνημα Texture Analyzer Zwick Materials Testing Z2.5/TN15 στο οποίο εξετάστηκαν οι μηχανικές ιδιότητες των φιλμ. ....	64
Εικόνα 13: η συσκευή Miniscan ΧΕ για την μέτρηση του χρώματος. ....	66
Εικόνα 14: Το χρώμα του διαλύματος χυμού μούρων με φαινολοφθαλείνη πριν (αριστερά) και μετά (δεξιά) τη τιτλοδότηση. ....	67
Εικόνα 15: Τα δισκία που αναπτύσσονται οι μικροοργανισμοί, για την μέτρηση των Total Counts (Πάνω) και την μέτρηση των E. Coli (κάτω) .....	70
Εικόνα 16: Οι επικαλύψεις από άμυλο από φύκια-πηκτίνη (κάτω) και χιτοζάνη (πάνω) μετά τον εφελκυσμό τους για την αξιολόγηση των μηχανικών ιδιοτήτων τους.....	76



## 1. Μούρα

### 1.1 Εισαγωγικά στοιχεία

Η επιστημονική ή βοτανολογική σημασία της λέξης μούρο διαφέρει από την κοινή χρήση της, η οποία είναι ένα σαρκώδη φρούτο χωρίς κουκούτσι, το οποίο παράγεται από ένα μόνο λουλούδι που περιέχει μια ωθήκη. Σε αυτή τη γενικότερη κατηγορία των μούρων υπάρχουν και πολλά φρούτα τα οποία δεν θεωρούνται μούρα όπως οι τομάτες, τα αγγούρια, οι μπανάνες και οι πιπεριές. Η κατανάλωση τους γίνεται σε όλο τον κόσμο, ενώ χρησιμοποιούνται ευρέως σε μαρμελάδες, πίτες και γλυκά. Τα περισσότερα από αυτά έχουν αρχίσει να καλλιεργούνται όπως οι φράουλες ενώ άλλα υπάρχουν μόνο στη φύση και αυτό εξαρτάται από τις συνθήκες αλλά και την αγορά της κάθε χώρας.

Τα μούρα είναι μικρά και συνήθως φαγώσιμα φρούτα, που είναι γνωστά τόσο για την ωραία γεύση τους όσο και για την θρεπτικότητά τους. Το σχήμα τους είναι συνήθως στρογγυλό, είναι ζουμερά, με έντονα χρώματα, γλυκά ή ξινά και δεν έχουν κουκούτσι στο εσωτερικό τους αν και μπορεί να περιέχουν πολλούς μικρούς σπόρους. Υπάρχουν πολλά διαφορετικά είδη μούρων από τα οποία τα πιο γνωστά είναι: οι φράουλες, τα μύρτιλα, τα βατόμουρα, τα κράνμπερη, οι κόκκινες και οι μαύρες σταφίδες, τα wolfberries και huckleberries. Επίσης παρόμοια με τα μούρα είναι και φρούτα όπως τα καρπούζια και οι κολοκύθες αλλά λόγω του μεγάλου μεγέθους τους διαχωρίζονται σε άλλη κατηγορία. Στις περισσότερες περιπτώσεις είναι φαγώσιμα αλλά υπάρχουν και εξαιρέσεις καθώς μερικά είναι δηλητηριώδη για τους ανθρώπους είτε ολόκληρα είτε μόνο η φλούδα τους.

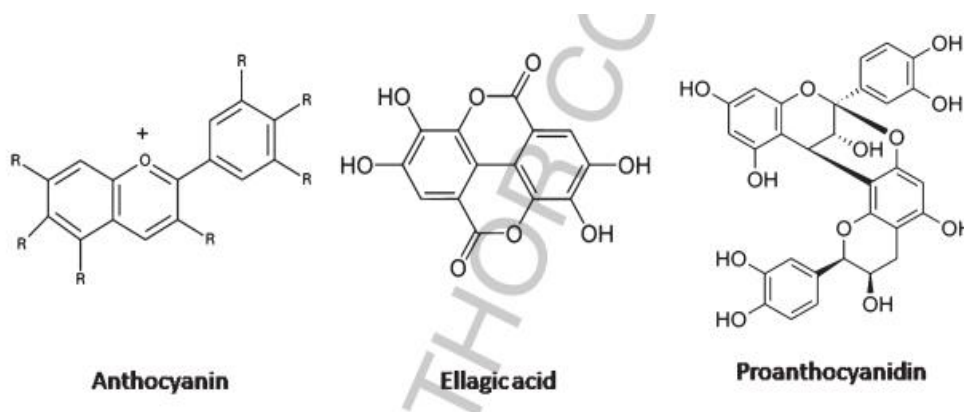
Πιο συγκεκριμένα τα μύρτιλα είναι από τα μούρα που συναντάμε πιο συχνά στην Ελλάδα και θεωρείται ως ένα “super food” καθώς περιέχει μεγάλες ποσότητες από θρεπτικά συστατικά που δύσκολα συναντώνται σε άλλα τρόφιμα. Τα είδη των μυρτίλων με κυρίως εμπορική σημασία είναι τα εξής: υψηλών θάμνων (*Vaccinium corymbosum* L.), χαμηλών θάμνων (*V. angustifolium* Aiton), rabbiteye (*V. virgatum* Aiton) και τα Ευρωπαϊκά (*V. myrtillus* L.) [1], [2].



Εικόνα 1: Μια εγκάρσια τομή ενός καρπού μύρτιλου που δείχνει τόσο τα εξωτερικά όσο και τα εσωτερικά μέρη του [1].

## 1.2 Χημική σύσταση

Τα μούρα είναι γνωστά για την διατροφική τους αξία καθώς αποτελούνται από πολλές φυτικές ίνες, ανθοκυανίνες, προανθοκυανιδίνες, βιταμίνη C, ελλαγικό οξύ, ωμέγα-3 λιπαρά οξέα, καροτενοειδή, τανίνες κ.α. Οι σημαντικότερες από αυτές τις χημικές ενώσεις για τις πολλές υγιεινές ιδιότητες του και για τη δυσκολία εύρεσης τους στα τρόφιμα είναι οι ανθοκυανίνες, οι οποίες είναι χρωστικές που προσδίδουν στα μούρα το χαρακτηριστικό κόκκινο, μπλε ή μωβ χρώμα τους. Κατά την ωρίμανση τους, η ποσότητα των ανθοκυανινών αυξάνεται δραματικά και παρέχει ένα οπτικό σημάδι που διαχωρίζει τα πλήρως ωριμασμένα φρούτα με τα μη. Αυτές είναι γνωστές για την αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση τους, της προστασία της καρδιάς, των νεύρων, της όρασης, του ήπατος και την αντιμικροβιακή τους δράση [3].



Εικόνα 2: Οι πιο σημαντικές χημικές ενώσεις των μύρτιλων για τα οφέλη στην υγεία του ανθρώπου. Ανθοκυανίνη (αριστερά), ελλαγικό οξύ (μέση) και προανθοκυανίνη (δεξιά) [4]

Οι πολυφαινολικές ενώσεις των μύρτιλων αποτελούνται από φλαβονοειδή και μη φλαβονοειδή είδη. Τα φλαβονοειδή της ανθοκυανίνης είναι περίπου το 60% των συνολικών πολυφαινολικών ενώσεων. Μετά την λήψη των ανθοκυανινών από τον ανθρώπινο οργανισμό αυτές μετατρέπονται σε ένα μεγάλο αριθμό προϊόντων, μέσω χημικών αντιδράσεων και ανθρώπινου και μικροβιακού μεταβολισμού. Η απομάκρυνση τους από το ανθρώπινο σώμα διαφέρει ανάλογα με τον μεταβολίτη. Σε έρευνες που έχουν γίνει, σε περίπου 6 ώρες από την κατάποση, τους έχει γίνει πλήρης καταβολισμός αυτών. Βέβαια το μεγαλύτερο μέρος τους παραμένει στο σώμα για περισσότερο από 48 ώρες και ιδιαίτερα οι μεταβολίτες δεύτερης φάσης που συναντιούνται στα ούρα και παραμένουν ακόμα παραπάνω πιθανών λόγω της μεταφοράς τους στη χολή. Τέλος, μπορούν να συναντηθούν στους μυϊκούς ιστούς και

σε αφθονία στο παχύ έντερο όπως και τα υπόλοιπα προϊόντα των φαινολικών οξέων [3], [5].

Η συγκέντρωση των ανθοκυανινών στα μύρτιλα είναι μεγαλύτερη από όλα τα υπόλοιπα κοινά φρούτα όπως φαίνεται και στον πίνακα:

**Πίνακας 1: Συγκέντρωση ανθοκυανινών σε δημοφιλή φρούτα [6]**

Φρούτο	Περιγραφή	Συνολικές ανθοκυανίνες (mg / 100 g φρέσκο)
Μύρτιλο	Υψηλών θάμνων	387
Μύρτιλο	Χαμηλών θάμνων	487
Βατόμουρο	-	92
Μήλο	Κόκκινη φλούδα	12
Σταφύλι	Μωβ φλούδα	120
Κεράσι	-	122
Νεκταρίνι	Κίτρινη φλούδα	15
Μπανάνα	-	0
Πορτοκάλι	-	0
Φράουλα	-	21
Δαμάσκηνο	Μαύρη φλούδα	116
Καρπούζι	-	0

#### Διατροφική αξία

Η διατροφική αξία των μύρτιλων όπως αναφέρθηκε και παραπάνω είναι μεγάλη και μπορούν να ενταχθούν στην καθημερινή διατροφή κάθε ανθρώπου. Πιο αναλυτικά στους παρακάτω πίνακες αναφέρονται τα κύρια θρεπτικά συστατικά των μύρτιλων και η συγκέντρωσή τους σε αυτά:

**Πίνακας 2: Διατροφική αξία σε μύρτιλο ανά 100 g φρέσκου φρούτου [2]**

Θρεπτικά συστατικά	Ποσότητα (σε gram)	Θρεπτικά συστατικά	Ποσότητα (σε gram)
Ενέργεια	57 kcal	Ενέργεια	240 kJ
Νερό	84.21	Κορεσμένα λιπαρά οξέα	0.028
Υδατάνθρακες	14.49	Συνολικά MUFA	0.047
Πρωτεΐνες	0.74	Συνολικά PUFA	0.146
Συνολικά λιπίδια	0.33	Τέφρα	0.24

Πίνακας 3: Διατροφική αξία σε ευρωπαϊκό μύρτιλο ανά 100 g φρέσκου φρούτου [7]

Θρεπτικά συστατικά	Ποσότητα	Θρεπτικά συστατικά	Ποσότητα
Υδατάνθρακες	(g)	Βιταμίνες	(mg)
Ζάχαρη	14.7	B3	0.4
Ίνες	3.60	B4	0.1
Σουκρόζη	163 mg	B5	0.1
Γλυκόζη	7222 mg	B9	6.0
Φρουκτόζη	7355 mg	A	54 I.U.
Αμινοξέα	(mg)	Ασκορβικό οξύ	9.7
Λευκίνη	44.0	K	19.3
Αργινίνη	37.0	Φώσφορο	12.0
Γλουταμικό οξύ	91.0	Ασβέστιο	6.0
Ασπαρτικό οξύ	57.0	Κάλιο	77.0
Γλυκίνη	31.0	Μαγνήσιο	6.0
Αλανίνη	31.0	Ωμέγα-3	58.0
Προλίνη	28.0	Ωμέγα-6	88.0

### 1.3 Οφέλη στην υγεία

#### Αντιοξειδωτική, αντιφλεγμονώδη και αντιβακτηριδιακή δράση

Τα αντιοξειδωτικά είναι πολύ σημαντικές ενώσεις που χρησιμοποιούνται από τον ανθρώπινο οργανισμό για να προστατευθεί από τις ελεύθερες ρίζες που υπάρχουν και είναι επικίνδυνες για την υγεία. Τα αντιδραστικά είδη οξυγόνου (ROS) και τα αντιδραστικά είδη αζώτου (NOS) καταστρέφουν μόρια όπως το DNA, οι πρωτεΐνες κ.α. και προκαλούν πολύ σοβαρές ασθένειες όπως καρκίνο, διαβήτη, παχυσαρκία και νόσο Αλτσχάϊμερ. Στα τρόφιμα οι ελεύθερες ρίζες προκαλούν υπεροξειδωση στα λιπίδια και στις βιολογικές μεμβράνες και μειώνεται έτσι ο χρόνος ζωής τόσο εμφανισιακά όσο και η θρεπτική αξία του αλλά επίσης είναι και επικίνδυνα για την υγεία.

Ο ανθρώπινος οργανισμός έχει το δικό του μηχανισμό παραγωγής αντιοξειδωτικών για να προστατευθεί από τις ελεύθερες ρίζες. Όμως, όταν οι ελεύθερες ρίζες είναι περισσότερες από τα αντιοξειδωτικά τότε προκαλείται οξειδωτικό στρες το οποίο είναι απειλητικό για την υγεία και πρέπει να προσληφθούν αντιοξειδωτικά από εξωτερική πηγή και συγκεκριμένα από τρόφιμα ή φάρμακα. Τα κυριότερα αντιοξειδωτικά που μπορούν να βρεθούν είναι καροτενοειδή και βιταμίνες όπως το ασκορβικό οξύ και οι τοκοφερόλες. Αυτά τα αντιοξειδωτικά μπορούν να είναι τόσο φυσικής προέλευσης όσο και συνθετικά. Επειδή τα συνθετικά έχουν και κάποιες παρενέργειες προτιμώνται κυρίως τα φυσικά αντιοξειδωτικά. Οι κυριότερες πηγές

φυσικών αντιοξειδωτικών είναι τα φρούτα, τα λαχανικά και τα φαρμακευτικά φυτά όπως τα μικροφύκη .

Οι ανθοκυανίνες των μύρτιλων είναι ισχυρά αντιοξειδωτικά και πολύ αποδοτικές στην δέσμευση των ελεύθερων ριζών οπότε και αυτά θεωρούνται από τα καλύτερα φυσικά αντιοξειδωτικά που υπάρχουν. Εκτός από ισχυρές αντιοξειδωτικές δράσεις, έχει και αντιφλεγμονώδεις και αντιβακτηριακές. Οι ανθοκυανίνες ασκούν την αντιφλεγμονώδη δράση τους αναστέλλοντας την μετατόπιση του NF-κB, ενεργοποιώντας την πρωτεΐνη 1, η οποία είναι πρωτεΐνη δέσμευσης του στοιχείου απόκρισης cAMP και την πρωτεΐνη δέσμευσης του CCAAT. Επίσης, οι ανθοκυανίνες έχουν ισχυρή αντιβακτηριακή δράση ενάντια στο *Staphylococcus aureus*, και μπορεί να αναστείλει την δημιουργία ή την προσκόλληση του βιοφίλμ των *Pseudomonas aeruginosa*, *Bowmanella sp.* και *Kiwi sp.* σε μεγάλο βαθμό [8].

#### Διαχείριση του διαβήτη και της παχυσαρκίας

Η παχυσαρκία είναι ένας από τους μεγαλύτερους κινδύνους της υγείας του ανθρώπου σήμερα, με άμεσες συνέπειες στον οργανισμό και αυξάνει τις πιθανότητες για σοβαρά καρδιολογικά προβλήματα που δύσκολα θεραπεύονται. Η θεραπεία του μέσω φαρμάκων είναι αρκετά δύσκολη, με σοβαρές παρενέργειες και χωρίς μακροχρόνια αποτελέσματα. Μια καινοτόμα και εναλλακτική μέθοδος αντιμετώπισης του είναι τα εκχυλίσματα φυτών και ιδιαίτερα τα μούρα έχουν μελετηθεί αρκετά για αυτό το σκοπό. Τα εκχυλίσματα πλούσια σε ανθοκυανίνες και ανθοκυανιδίνες βελτιώνουν τον μεταβολισμό του λίπους και αναστέλλουν την αποθήκευση του [9]. Πιο συγκεκριμένα, σε πειράματα που έγιναν σε ποντίκια τα οποία είχαν γίνει υπέρβαρα, όταν τους δόθηκαν μούρα ολόκληρα δεν είχαν σημαντική διαφορά στον έλεγχο του βάρους τους ενώ όταν τους δόθηκε ο χυμός τους με ιδιαίτερη έμφαση στη καλή ποιότητα των ανθοκυανινών είχε σημαντική επίδραση στην απώλεια του σωματικού βάρους αλλά και του λίπους [10].

Παρόμοια με την παχυσαρκία ο διαβήτης είναι ένα από τις πιο κοινές ασθένειες που σχετίζονται με τις τροφικές συνήθειες. Πιο συγκεκριμένα ο διαβήτης ανήκει σε μια ομάδα ασθενειών, που χαρακτηριστικό τους είναι τα υψηλά επίπεδα γλυκόζης στο αίμα. Τα εκχυλίσματα πλούσια σε ανθοκυανίνες μειώνουν την ευαισθησία στην ινσουλίνη και την υπεργλυκαιμία και έχει αποδειχθεί ότι βοηθάν στην παραγωγή της γλυκαγόνης, όπως η πεπετίδη-1 (GLP-1), η οποία αλληλοεπιδρά με τα παγκρεατικά κύτταρα που είναι υπεύθυνα για την έκκριση ινσουλίνης [9]. Παρόμοια, σε ποντίκια που έγινε εφαρμογή της τροφής αυτής έδειξε ότι βελτιώνει τον μεταβολισμό της γλυκόζης και την ευαισθησία της ινσουλίνης [11].

## Βελτίωση της όρασης

Έχουν γίνει πολλές μελέτες για την επίδραση των ανθοκυανινών στην ανθρώπινη όραση τόσο προστατευτικά από τις ακτινοβολία όσο και από φλεγμονές και το οξειδωτικό στρες. Αρχικά, έχει μελετηθεί ότι τα κινέζικα μύρτιλα προστατεύουν από την επαγόμενη από το φως βλάβη του αμφιβληστροειδούς σε ποντίκια όπως και σε λαγούς [12]. Επίσης, έχει μελετηθεί και αποδειχτεί η προστασία του αμφιβληστροεικού επιθήλιου από τη γήρανση και την υπεριώδη ακτινοβολία. Ακόμη, σημαντική είναι και η επίδραση στη προστασία και την αναγέννηση της ροδοψίνης, μιας ουσίας που είναι σημαντική για την όραση σε χαμηλή φωτεινότητα [13].

## Αντικαρκινικές ιδιότητες

Οι νέες περιπτώσεις καρκίνου έχουν αυξηθεί πολύ τα τελευταία χρόνια όπως και οι θάνατοι που προκύπτουν από αυτές. Παρόλο που οι χημειοθεραπείες έχουν πολύ καλό αποτέλεσμα στην αντιμετώπιση και τη θεραπεία του, έχουν και πολλές σημαντικές παρενέργειες που επηρεάζουν τον ασθενή και μπορεί να είναι και μόνιμες. Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι υπάρχει συσχετισμός της κατανάλωσης φρούτων και λαχανικών με την πιθανότητα νόσησης από καρκίνο και ιδιαίτερα αυτών που είναι πλούσια σε πολυφαινόλες [8]. Οι ανθοκυανίνες μπορούν να μειώσουν τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων και ιδιαίτερα στο καρκίνο του παχέος εντέρου στον οποίο έχει σημαντικά αποτελέσματα, με μείωση έως και 50% των καρκινικών κυττάρων [14], [15].

## Πρόληψη καρδιαγγειακών παθήσεων

Τα καρδιαγγειακά νοσήματα έχουν αναδειχθεί σε μία από τις κύριες αιτίες θανάτου στις ανεπτυγμένες χώρες, ενώ η διατροφή έχει αναγνωριστεί ως ένα από τα πιθανά μέσα για τη μείωση του κινδύνου εμφάνισης αυτών των παθολογικών καταστάσεων. Τα φρούτα και τα λαχανικά είναι τα βασικά που πρέπει να προστεθούν στη διατροφή και ιδιαίτερα αυτών που περιέχουν πολλά φλαβονοειδή καθώς έχουν συσχετιστεί με βελτιωμένη ροή αίματος και ενδοθηλιακή λειτουργία. Επιπλέον, τα αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα (VEC), των οποίων η βλάβη έχει επίσης συνδεθεί με την ανάπτυξη αγγειακών νόσων, έχουν περιγραφεί ως ικανά να ενσωματώνουν ανθοκυανίνες στη μεμβράνη και το κυτταρόπλασμα τους. Με τη σειρά τους, οι ανθοκυανίνες πιστεύεται ότι βοηθούν στη διατήρηση της λειτουργίας των VEC, είτε βοηθώντας στη σταθεροποίηση της κυτταρικής μεμβράνης είτε συμβάλλοντας στη διατήρηση της οξειδωτικής ισορροπίας. Τα μύρτιλα εκτός από την μεγάλη ποσότητα φλαβονοειδών που περιέχουν έχουν συσχετιστεί και άμεσα, με μελέτη, με την μείωση των καρδιαγγειακών παθήσεων στις γυναίκες [9].

## Προστασία του νευρικού συστήματος

Η δράση των πολυφαινόλων στην προστασία των νεύρων τόσο από την φυσική εκφύλιση όσο και από ασθένειες είναι πολύ σημαντική. Πιο συγκεκριμένα, οι δράσεις τους στο κεντρικό νευρικό σύστημα είναι οι εξής:

- Αντιγηραντική δράση: το *Caenorhabditis elegans* είναι ένα διαφανές παράσιτο, μήκους περίπου 1 mm που ζει σε εύκρατα εδαφικά περιβάλλοντα και χρησιμοποιείται συχνά ως μοντέλο γήρανσης καθώς έχει μικρή διάρκεια ζωής και πολλά χαρακτηριστικά της γήρανσης του είναι ίδια με αυτά του ανθρώπου. Σε έρευνες που έγιναν, οι πολυφαινόλες των μούρων αύξησαν το χρόνο ζωής στο *Caenorhabditis elegans* και επιβράδυνε τα λειτουργικά χαρακτηριστικά που σχετίζονται με τη γήρανση [16].
- Νοητική λειτουργία: τα μύρτιλα βελτίωσαν τις νοητικές λειτουργίες των γερασμένων ποντικών καθιστώντας τα συγκρίσιμα με νεαρά ζώα. Πιο συγκεκριμένα, τα γνωστικά οφέλη των μύρτιλων σε εργασίες που εμπλέκουν τη μνήμη και τη μάθηση είναι τεκμηριωμένα καθώς και η βελτίωση της μακροχρόνιας χωρικής μνήμης. Ακόμα, η σίτιση με μύρτιλα αναφέρεται ότι ρυθμίζει τη νευρογένεση, τη νευροπλαστικότητα, και τον εγκεφαλικό νευροτροφικό παράγοντα. Τέλος, οι γλυκοζίτες ανθοκυανιδίνης του μύρτιλου και οι μεταβολίτες της φάσης 2 μπορούν να διασχίσουν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και ανιχνεύονται σε διάφορους εγκεφαλικούς ιστούς [6].
- Νόσος του Parkinson και του Huntington: εκτός από τη προστασία που προσφέρουν κατά της νόσησης από τις παραπάνω ασθένειες, οι πολυφαινόλες των μούρων έχουν και μια ακόμα λειτουργία στην βοήθεια καταπολέμησης τους. Μια πιθανή θεραπεία των νόσων αυτών είναι η μεταμόσχευση νευρικού ιστού όμως είναι μια διαδικασία πολύ δύσκολη και με μεγάλη πιθανότητα αποτυχίας λόγω της ευαισθησίας του σε φλεγμονές και στο οξειδωτικό στρες. Με την βοήθεια των χημικών ενώσεων των μούρων μπορεί να προστατευτεί καλύτερα το μόσχευμα και να είναι πιο αποτελεσματική η θεραπεία [15].

## 2. Μικροάλγη

### 2.1 Εισαγωγικά στοιχεία

Τα άλγη είναι φωτοσυνθετικοί οργανισμοί που αναπτύσσονται σε υδατικό περιβάλλον όπως ποτάμια, λίμνες, θάλασσα αλλά και στα λύματα. Μπορούν να αναπτυχθούν σε διάφορες θερμοκρασίες, pH, αλλά και σε ιδιαίτερες δυσμενείς συνθήκες όπως έρημους ή σε δεξαμενές. Επίσης, μπορούν να συμβιώσουν με άλλους οργανισμούς αν υπάρχουν αλλά και να μεγαλώσουν μόνο τους. Η γενική κατηγοριοποίηση των αλγών γίνεται τόσο στο χρώμα όσο και στο μέγεθος. Αρχικά με βάση το χρώμα έχουμε 3 βασικές κατηγορίες: τα Rhodofyta ή κόκκινη άλγη, τα Phaeophyta ή καφέ άλγη και τέλος τα Chlorophyta ή πράσινη άλγη. Στη συνέχεια με βάση το μέγεθος υπάρχουν τα μακροφύκη –γνωστά και ως φύκη- που είναι πολυκύτταροι οργανισμοί, μεγάλα σε μέγεθος και ορατά με γυμνό μάτι και τα μικροφύκη που είναι μονοκύτταροι οργανισμοί και μπορεί να είναι ευκαρυωτικά ή προκαρυωτικά [17].

Η βιοποικιλότητα των μικροφυκών είναι τεράστια, καθώς υπολογίζεται ότι υπάρχουν περίπου 200.000-800.000 είδη σε πολλά διαφορετικά γένη, από τα οποία μόνο τα 50.000 έχουν περιγραφεί και στα 15.000 έχει γίνει χημική ανάλυση [18]. Θεωρείται ένας αναξιοποίητος πόρος, καθώς οι δυνατότητες που προκύπτουν από την αξιοποίησή τους είναι πάρα πολλές. Η διάμετρος τους είναι από λίγα έως μερικά εκατοντάδες μικρόμετρα, ανάλογα με το είδος τους, οπότε και αόρατα με γυμνό μάτι και δεν έχουν ρίζες ή φύλλα όπως τα περισσότερα φυτά. Στη θάλασσα σε συνδυασμό με τα κυανοβακτήρια αποκαλούνται φυτοπλακτόν και προσφέρουν στο περιβάλλον περίπου το μισό ατμοσφαιρικό οξυγόνο που υπάρχει, οπότε είναι απαραίτητα για τη ζωή στη γη [19].

Τα μικροάλγη είναι μια πηγή ανανεώσιμη και βιώσιμη, καθώς με κατάλληλες μεθόδους, είναι εύκολη η καλλιέργεια τους και πολύ μεγάλη αλλά, επίσης, με γενετική μηχανική μπορεί να γίνει ακόμα καλύτερη. Λόγω της μεγάλης βιοποικιλότητας τους χρησιμοποιούνται σε πολλούς τομείς, όπως στα βιοκαύσιμα, στη φαρμακευτική, στα καλλυντικά, στα τρόφιμα αλλά και στο έλεγχο και καθαρισμό του αέρα από CO<sub>2</sub> και των λυμάτων. Οπότε, μπορούν να δώσουν λύσεις σε σύγχρονα προβλήματα και να γίνουν μια μελλοντική πηγή ανανεώσιμων βιοπροϊόντων.

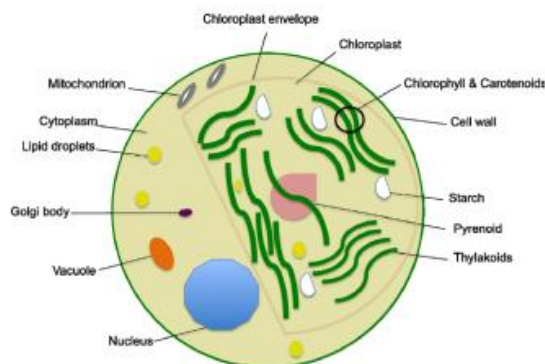


## 2.2 Χημική σύσταση

Στη παρούσα διπλωματική εργασία χρησιμοποιείται το μικροφύκος *Chlorella vulgaris*, το οποίο ανήκει στα πράσινα άλγη. Μπορεί να αναπτυχθεί τόσο σε γλυκό νερό όσο και σε θαλασσινό άλλα και έχει ταχεία ανάπτυξη κάτω από αυτότροφες, ετερότροφες και μεικτές συνθήκες, όπως και υψηλή φωτοσυνθετική ικανότητα. Αυτά τα χαρακτηριστικά το καθιστούν ένα από τα μικροφύκη με την μεγαλύτερη παραγωγή και χρήση αυτή τη στιγμή. Έχει διάμετρο 2-10 μm, είναι σφαιρικό ή ελλειψοειδές, και εμφανίζεται είτε μόνο του ως κύτταρο ή σε αποικίες μέχρι 64 κύτταρα [20].

### Μορφολογία

Στη μορφολογία του έχει πολλά κοινά δομικά στοιχεία με τα φυτά. Αρχικά, έχει κυτταρικό τοίχωμα, που το προστατεύει από το εξωτερικό περιβάλλον και τους άλλους μικροοργανισμούς. Διαφέρει η σύσταση του ανάλογα με τις συνθήκες που μεγαλώνει αλλά και το στάδιο της ανάπτυξης στο οποίο βρίσκεται καθώς στην αρχή είναι αρκετά λεπτό περίπου 2 nm και καταλήγει περίπου 17-21 nm κατά την ωρίμανση. Στη συνέχεια, υπάρχει το κυτόπλασμα, μία ουσία με τη μορφή τζελ που αποτελείται από νερό, διαλυμένες πρωτεΐνες και μέταλλα μέσα στο οποίο υπάρχουν τα όργανα όπως τα μιτοχόνδρια, ένας χλωροπλάστης, ένας μικρός πυρήνας και το σώμα Golgi [21].



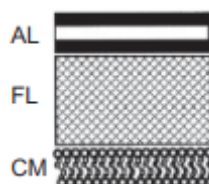
Εικόνα 3: Η μορφολογία και τα βασικά μέρη του κυττάρου των μικροφυκών [21]

### Κυτταρικό τοίχωμα

Το κυτταρικό τοίχωμα των μικροφυκών είναι πολύ σημαντικό καθώς είναι το μεγαλύτερο εμπόδιο για την εκχύλιση συστατικών από αυτά. Η χημική του σύσταση είναι σημαντική παράμετρος για τις εφαρμογές τις οποίες μπορεί να αξιοποιηθεί και για τις μεθόδους με τις οποίες μπορεί να επεξεργαστεί. Πιο συγκεκριμένα το κυτταρικό τοίχος του μικροφύκος *Chlorella vulgaris* επηρεάζεται δραματικά από τις

συνθήκες τις οποίες μεγαλώνει, οπότε είναι πολύ βασική παράμετρος. Μερικά είδη έχουν ένα στρώμα από μικροΐνες, ενώ άλλα έχουν δύο. Το πρώτο στρώμα από μικροΐνες έρχεται σε επαφή με το κυτταρόπλασμα, καθώς υπάρχει και ένα εξωτερικό στρώμα, το TLS. Το TLS αποτελείται από σκληρά τοιχώματα, από γλυκοζαμίνη ή γαλακτόζη και μαννόζη, και από ένα πλέγμα τοιχώματα, που αποτελείται από μια ποικιλία σακχάρων όπως πεντόζη και εξόζη. Η ακριβής περιεκτικότητα των σακχάρων στο τοίχωμα επηρεάζεται από τις περιβαλλοντικές συνθήκες που αναπτύχθηκε. Για παράδειγμα, η συγκέντρωση του CO<sub>2</sub> επηρεάζει σημαντικά την μορφολογία αλλά και το περιεχόμενο λιπιδίων, πρωτεϊνών και αμύλου στο τοίχωμα[22]. Πιο συγκεκριμένα η ανάπτυξη σε πλούσιο σε CO<sub>2</sub> περιβάλλον είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του πάχους έως και 70% και την αύξηση της περιεκτικότητας σε διφωσφορική ουριδίνη (UDP) [23].

Το μικροφύκος *Chlorella vulgaris* όπως και τα περισσότερα μικροφύκη αποτελείται από πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, λιπίδια, χρωστικές, μεταλλικά στοιχεία και βιταμίνες. Αυτά τα συστατικά χωρίζονται σε βασικούς και δευτερεύοντες μεταβολίτες ανάλογα με το αν είναι απαραίτητοι για βασικές λειτουργίες και την ανάπτυξη. Η χημική σύσταση διαφέρει ανάλογα με το είδος και το γένος άλλα και τις συνθήκες του περιβάλλοντος στο οποίο αναπτύσσεται όπως το pH, η θερμοκρασία κ.α.



Εικόνα 4: Δομή του κυτταρικού τοιχώματος της *Chlorellas*. AL: στρώμα με βάση την αλγενάνη, FL: ινώδες στρώμα, CM: κυτταρική μεμβράνη [24]

### Πρωτεΐνες και πεπτίδια

Τα πεπτίδια είναι μια σύντομη αλυσίδα αμινοξέων (συνήθως 2 έως 50) που συνδέονται με χημικούς δεσμούς (που ονομάζονται πεπτιδικό δεσμό). Μια μεγαλύτερη αλυσίδα συνδεδεμένων αμινοξέων (51 ή περισσότερα) είναι ένα πολυπεπίδιο. Οι πρωτεΐνες που κατασκευάζονται στο εσωτερικό των κυττάρων αποτελούνται από ένα ή περισσότερα πολυπεπτίδια. Τόσο τα πεπτίδια όσο και οι πρωτεΐνες των μικροάλγων είναι θρεπτικές και έχουν πολλά οφέλη για την υγεία. Πιο συγκεκριμένα, τα πεπτίδια μικροφυκών μπορούν να παρουσιάσουν αντιυπερτασικές ιδιότητες μέσω της αναστολής του MEA, του κύριου ενζύμου που είναι υπεύθυνο για την αγγειοσύσπαση των φλεβών και των αρτηριών και της ενεργοποίησης της αγγειοδιασταλτικής επίδρασης [25].

Οι πρωτεΐνες είναι από τις βασικότερες χημικές ενώσεις του κυττάρου και αποτελούν το 42-58% του συνολικού βάρους. Περίπου το 20% από αυτές είναι δεσμευμένες στο κυτταρικό τοίχωμα, το 50% βρίσκονται στο εσωτερικό του κυττάρου και το 30% εισέρχονται και εξέρχονται από το κύτταρο. Η διατροφική τους αξία αξιολογείται από τη σύσταση τους σε αμινοξέα και σε όλα σχεδόν τα μικροάλλα είναι εντός των προτεινόμενων από το παγκόσμιο οργανισμό υγείας (WHO) για καθημερινή κατανάλωση.

Πίνακας 4: Σύγκριση των αμινοξέων της *Chlorellas vulgaris* με τα προτεινόμενα από WHO (g ανά 100 g πρωτεΐνης) [21]

Αμινοξέα	Chlorella Vulg. [26]	Προτεινόμενα από WHO	Αμινοξέα	Chlorella Vulg.	Προτεινόμενα από WHO
Ασπαρτικό οξύ	9.80	N/A	Βαλίνη	6.61	5.00
Θρεονίνη	5.15	4.00	Μεθειονίνη	1.24	N/A
Σερίνη	4.32	N/A	Ισολευκίνη	4.44	4.00
Γλουταμινικό οξύ	12.66	N/A	Λευκίνη	9.38	7.00
Γλυκίνη	6.07	N/A	Τυροσίνη	3.14	6.00
Αλανίνη	8.33	N/A	Φαινυλαλανίνη	5.51	N/A
Κυστεΐνη	1.28	3.50	Ιστιδίνη	1.97	N/A
Λυσίνη	6.68	5.50	Αργινίνη	6.22	N/A
Τρυπτοφάνη	2.30	1.00	Προλίνη	4.90	N/A

### Υδατάνθρακες

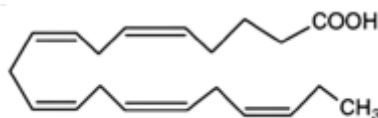
Οι υδατάνθρακες είναι μια ομάδα από σάκχαρα και πολυσακχαρίτες, κυρίως άμυλο και κυτταρίνη. Στη *Chlorella vulgaris* το άμυλο είναι ο μεγαλύτερος σε περιεκτικότητα πολυσακχαρίτης, βρίσκεται στο χλωροπλάστη και αποτελείται αμυλόζη και αμυλοπηκτίνη. Η λειτουργία του είναι να χρησιμοποιείται ως ενεργειακή αποθήκη του κυττάρου μαζί με τα υπόλοιπα σάκχαρα. Από την άλλη, η κυτταρίνη είναι ένας πολυσακχαρίτης, που βρίσκεται στο κυτταρικό τοίχωμα, είναι πολύ ανθεκτικός και ο ρόλος του είναι να δημιουργεί ένα προστατευτικό στρώμα γύρω από το κύτταρο. Οι πολυσακχαρίτες, εκτός από τη βοήθεια στη δομή του κυττάρου, έχουν και έντονη αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δραστηριότητα, οπότε είναι ιδιαίτερα σημαντικοί για το όφελος στην υγεία που προσφέρουν[25]. Εκτός από την κυτταρίνη στο τοίχωμα υπάρχουν και άλλους πολυσακχαρίτες, των οποίων η σύνθεση αναφέρεται στο παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 5: Σύνθεση πολυσακχαριτών στο κυτταρικό τοίχωμα [21]

Σάκχαρα	Ποσοστό %
Ραμνόζη	45-54
Αραβινόζη	2-9
Ξυλόζη	7-19
Μανόζη	2-7
Γαλακτόζη	14-26
Γλυκόζη	1-4

### Λιπίδια

Τα λιπίδια είναι μια ομάδα ενώσεων, που δεν αναγνωρίζονται από τη δομή τους, αλλά από την ιδιότητα τους ότι είναι σχεδόν αδιάλυτα στο νερό και διαλυτά σε μη πολικούς διαλύτες. Το ποσοστό τους κυμαίνεται από 5% έως 40% υπό κανονικές συνθήκες ανάπτυξης και μέχρι και 70% υπό συγκεκριμένες συνθήκες. Τα λιπίδια στα μικροάλγη αποτελούνται κυρίως από γλυκερόλη, σάκχαρα και βάσεις από κορεσμένα ή ακόρεστα λιπαρά οξέα [27]. Τα κυριότερα από τα λιπαρά οξέα είναι τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFAs) τα οποία χωρίζονται σε 2 μεγάλες κατηγορίες τα ωμέγα-3 λιπαρά οξέα και τα ωμέγα-6. Αυτά τα οξέα δεν μπορεί να τα παράγει ο ανθρώπινος οργανισμός οπότε προσλαμβάνονται μόνο από τη διατροφή και έχουν πολλά οφέλη στην υγεία φλεγμονώδεις παθήσεις, καρδιακά προβλήματα, αρθρίτιδα, άσθμα και πονοκέφαλο. Τα κυριότερα λιπαρά οξέα είναι το DHA, το λινολεϊκό οξύ, το εικοσαπεντανοϊκό οξύ, το αραχιδονικό οξύ και το γ-λινολενικό οξύ [28].



Εικόνα 5: Η χημική ένωση του DHA [29]

Ανάλογα με τις συνθήκες τις οποίες αναπτύσσεται το μικροάλγος, έχει διαφορετική ποσότητα και σύνθεση των λιπιδίων του και πιο συγκεκριμένα πολύ σημασία έχει η περίσσεια αζώτου. Οπότε κάθε φορά πρέπει να γίνεται έλεγχος στο είδος των λιπιδίων του προτού χρησιμοποιηθεί για κάποιο σκοπό. Πιο συγκεκριμένα το μικροφύκος *Chlorella vulgaris*, μπορεί να προσδιορίζεται για την ανθρώπινη διατροφή, όταν καλλιεργείται σε ευνοϊκές συνθήκες, καθώς έχει μεγάλη περιεκτικότητα σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα. Ιδιαίτερη χρήση έχει και στη παραγωγή βιοκαυσίμων, αφού μπορεί να φτάσει 60-68% κορεσμένα και μονοακόρεστα λιπαρά οξέα και η καλύτερη χρήση της είναι για παραγωγή βιοκαυσίμων [21].

## Μεταλλικά στοιχεία, βιταμίνες και χρωστικές

Τα μεταλλικά στοιχεία είναι σημαντικά για την λειτουργία του ανθρώπινου οργανισμού και η *Chlorella vulgaris* έχει σημαντική ποσότητα από αυτά. Αρχικά περιέχει κάλλιο το οποίο είναι απαραίτητο για το μεταβολισμό των υδατανθράκων και την σύνθεση των πρωτεϊνών, μαγνήσιο που βοηθάει στη φυσιολογική και συνεχή νευρική δραστηριότητα και ψευδάργυρο που είναι απαραίτητο συστατικό των ενζύμων που συνθέτουν τις πρωτεΐνες, τους υδατάνθρακες και τα λιπίδια στον οργανισμό [20].

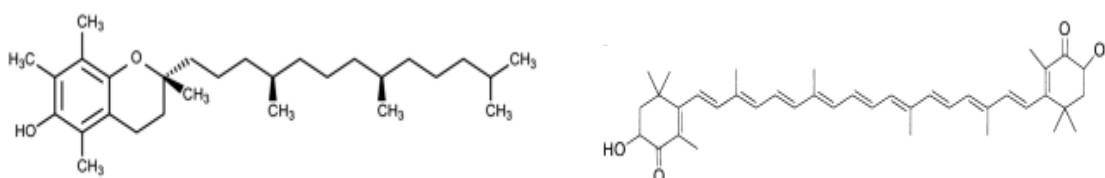
Πίνακας 6: περιεκτικότητα σε μεταλλικά στοιχεία της *Chlorella vulgaris*

Μεταλλικά στοιχεία	Περιεκτικότητα σε μεταλλικά στοιχεία (g 100 g <sup>-1</sup> )	
	Maruyama et al.[30]	Panahi et al.[31]
Na	N/A	N/A
K	1.13	2.15
Ca	0.16	0.27
Mg	0.36	0.44
P	N/A	0.96
Fe	0.20	0.68
Zn	N/A	0.55
Mn	N/A	0.40

Οι βιταμίνες κατηγοριοποιούνται σε υδροδιαλυτές (C και B) και σε λιποδιαλυτές (A, D, E, και K). Η *Chlorella vulgaris* περιέχει πολλές βιταμίνες που είναι σημαντικές για την ανάπτυξη των κυττάρων στον ανθρώπινο οργανισμό (βιταμίνη A) και έχουν σημαντική αντιοξειδωτική δραστηριότητα και προστασία των νεύρων (Βιταμίνες E και C). Επίσης, σημαντική είναι και η ποσότητα της πολύπλοκης βιταμίνης B που είναι η μεγαλύτερη σε ποσότητα που απαιτείται στους ανθρώπινους οργανισμούς και προστατεύει το δέρμα, τις τρίχες, τους μύες, το πάγκρεας και βοηθάει στη παραγωγή των ερυθρών αιμοσφαιρίων και των απαραίτητων ενζύμων για το μεταβολισμό. Η περιεκτικότητα στις βιταμίνες τόσο σε ποσότητα όσο και σε είδος διαφέρει ανάλογα τις συνθήκες ανάπτυξης και οφείλεται κυρίως στην μεγάλη φωτοσυνθετική ικανότητα της *Chlorella* [20].

Πίνακας 7: Ποσότητα βιταμινών στη *Chlorells vulgaris*

Βιταμίνες	Περιεχόμενο (mg 100 g <sup>-1</sup> )	
	Maruyama et al.[30]	Panahi et al.[31]
B1	2.4	1.5
B2	6.0	4.8
B3	N/A	23.8
B5	N/A	1.3
B6	1.0	1.7
B7	N/A	191.6
B9	N/A	26.9
B12	tr	125.9
Βιταμίνες	Maruyama et al.[30]	Yeh et al.[32]
A	N/A	13.2
E	20.0	2787.0
C	100.0	39.0



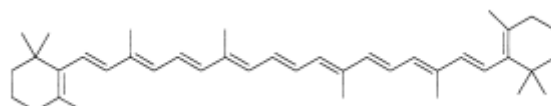
Εικόνα 6: η χημική ένωση της βιταμίνης E (αριστερά) [29] και της Ασταξανθίνης (δεξιά) [27]

Η πιο βασική χρωστική στη *Chlorella vulgaris* είναι η χλωροφύλλη που σε μερικές περιπτώσεις φτάνει μέχρι και το 1-2% του ξηρού βάρους της. Επίσης σημαντική είναι και η ποσότητα των καροτενοειδών που δρουν ως βοηθητικές χρωστικές με τη σύλληψη του φωτός. Πιο συγκεκριμένα, η β-καροτίνη βρίσκεται με τα λιπίδια στον χλωροπλάστη και τα κυρίως καροτενοειδή βρίσκονται με τη χλωροφύλλη και κρατάνε την ενέργεια του φωτός και την μεταφέρουν στο φωτοσύστημα. Τέλος, υπάρχουν και μερικές ακόμα χρωστικές σε μικρότερη ποσότητα που δρουν κυρίως προστατευτικά στα μόρια της χλωροφύλλης από την οξείδωση και το υψηλή ακτινοβολία του φωτός όταν υπάρχει[25].

Οι χρωστικές αυτές έχουν αντιοξειδωτική δράση και μπορούν να έχουν θετικές επιπτώσεις στον ανθρώπινο οργανισμό, όπως προστασία του αμφιβληστροειδούς, έλεγχος της χοληστερίνης, προστασία από χρόνιες ασθένειες και ισχυροποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος. Η εκχύλιση τους γίνεται συνήθως μαζί με τα λιπίδια καθώς είναι λυοφιλικές.

Πίνακας 8: Περιεκτικότητα χρωστικών στη *Chlorella vulgaris* [33], [34]

Χρωστικές	$\mu\text{g g}^{-1}$ (dw)
Χλωροφύλλη-α	250-9630
Χλωροφύλλη-β	72-5770
β-καροτίνη	7-12000
Ασταξανθίνη	550,000
Κανταξανθίνη	362,000



Εικόνα 7: η χημική ένωση της β-καροτίνης [27]

### 2.3 Εκχύλιση συστατικών από μικροάλγη

Για την εκχύλιση συστατικών από τα μικροάλγη υπάρχει μια πληθώρα μεθόδων με διαφορετική απόδοση κάθε φορά ως προς το συστατικό που επιλέγεται να εκχυλιστεί. Από τα μικροάλγη μπορούν να εκχυλιστούν ξεχωριστά όλες οι βασικές χημικές ενώσεις δηλαδή οι πρωτεΐνες, οι πολυσακχαρίτες και τα λιπίδια. Οι υπόλοιπες χημικές ενώσεις, όπως οι βιταμίνες και η χλωροφύλλη είτε εκχυλίζονται και κρατούνται μαζί με τα βασικά συστατικά αν χρειάζονται είτε απορρίπτονται. Για την επιλογή του τρόπου εκχύλισης των συστατικών είναι πολύ βασικό ο σκοπός της χρήσης του εκχυλίσματος. Οπότε είναι πολύ διαφορετικός ο τρόπος που εκχυλίζονται συστατικά για να χρησιμοποιηθεί σε τρόφιμα από το να χρησιμοποιεί σε καύσιμα [35].

Το πιο βασικό κομμάτι στην εκχύλιση των συστατικών είναι η διάσπαση του κυττάρου και πιο συγκεκριμένα η διάσπαση του κυτταρικού τοιχώματος χωρίς να επηρεαστούν οι ενώσεις που χρειάζονται. Όπως έχει αναφερθεί το κυτταρικό τοίχωμα της χλωρέλλας είναι αρκετά σταθερό και με μεγάλες αντοχές σε εξωτερικά φαινόμενα. Οπότε η διάσπαση του είναι μια διεργασία με μεγάλο κόστος και με αρκετή δυσκολία. Οι μέθοδοι αυτοί χωρίζονται σε δύο βασικές κατηγορίες: τις φυσικές και τις βιοχημικές.

Οι πιο βασικές από τις φυσικές μεθόδους διάσπασης του κελιού είναι οι εξής [22], [24], [35]–[37]:

- Με μηχανική επεξεργασία: Ο πιο συχνός τρόπος μηχανικής επεξεργασίας είναι με πολύ μικρά σφαιρίδια (περίπου 0,5 mm), συνήθως γυάλινα ή κεραμικά, που τοποθετούνται στο διάλυμα της βιομάζας και τους δίνεται κίνηση. Αυτές χτυπάνε τα κύτταρα και τους προκαλούν απευθείας ζημιά στο κυτταρικό τους τοίχωμα. Ακόμα, ένας άλλος τρόπος είναι με ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας στον οποίο δημιουργούνται στο διάλυμα μεγάλες δυνάμεις δίνοντας του κίνηση σε υψηλά rpm. Τέλος, συχνή είναι και η χρήση της μεθόδου του ομογενοποιητή υψηλής πίεσης κατά την οποία το διάλυμα εισάγεται σε μια βαλβίδα υψηλής πίεσης (138 - 400 MPa) και στην συνέχεια εκτονώνεται σε θάλαμος χαμηλής πίεσης.
- Με θερμική επεξεργασία: Στη θερμική επεξεργασία τα κύτταρα διαταράσσονται με την χρήση θερμότητας ή παγετού και μπορεί να χωριστεί σε 3 υποκατηγορίες, τις μεθόδους υψηλής (>100 °C) θερμοκρασίας, ήπιας (50-100 °C) και κατάψυξης. Τα πλεονεκτήματα των μεθόδων αυτών είναι ότι δεν γίνεται χρήση χημικών, είναι οικονομικά και ευρέως διαθέσιμος όλος ο απαραίτητος εξοπλισμός.

Οι πιο κοινές από τις μεθόδους με θερμοκρασία κατάψυξης είναι η ψύξη-απόψυξη και η ξήρανση υπό ψύξη (λυοφιλίωση). Στην πρώτη μέθοδο περιλαμβάνεται ένας κύκλος ψύξης-απόψυξης και η διάσπαση του κυττάρου προκύπτει από την σχηματισμό κρυστάλλων πάγου και την διαστολή του κυττάρου από την απότομη απόψυξη. Στην δεύτερη μέθοδο, εφαρμόζεται πίεση 1 kPa και θερμοκρασία μικρότερη από - 40 °C σε δείγματα που έχουν καταψυχθεί αργά και έχει γίνει το κυτταρικό τους τοίχωμα πιο πορώδες λόγω των μεγάλων κρυστάλλων πάγου που έχουν σχηματιστεί και στη συνέχεια αυτοί οι κρύσταλλοι φεύγουν μέσω της διαδικασίας της λυοφιλίωσης.

Οι μέθοδοι ήπιας και ιδιαίτερα της υψηλής θερμοκρασίας χρησιμοποιούνται κυρίως για την παραγωγή βιοαερίου και βιοκαυσίμων. Κατά την διάρκεια αυτής της επεξεργασίας χρησιμοποιείται ατμός υψηλής θερμοκρασίας και διασπώνται οι δεσμοί υδρογόνου προκαλώντας αλλαγές στη δομή του κυττάρου. Πολλές αντιδράσεις προκύπτουν όπως ο αποπολυμερισμός των πολυσακχαριτών σε μονοσακχαρίτες και των πρωτεϊνών σε οξέα, αμίδια και αμμωνία. Κυρίως προτιμώνται θερμοκρασίες πάνω από 300 °C καθώς έτσι τα λιπίδια απελευθερώνουν τα λιπαρά οξέα από τα οποία παράγονται υδρογονάνθρακες.



- Με συνδυασμό πίεσης και θερμότητας: Σε αυτή την περίπτωση υπάρχουν δύο βασικές μέθοδοι, η υδροθερμική επεξεργασία και η έκρηξη ατμού. Με την υδροθερμική επεξεργασία έχουμε θερμοκρασία 200-400 °C και πίεση 6-15 MPa και έτσι η υγρή βιομάζα μετατρέπεται σε βιοκαύσιμο χωρίς το στάδιο της ξήρανσης. Μοιάζει πολύ με την πυρόλυση ή την αεριοποίηση αλλά σε χαμηλές θερμοκρασίες. Στην έκρηξη ατμού έχουμε υψηλή πίεση και θερμοκρασία για αρκετή ώρα και στη συνέχεια απότομη μείωση της πίεσης με αποτέλεσμα την διάσπαση του κυττάρου.
- Με βοήθεια υπερήχων: οι υπέρηχοι είναι μια εναλλακτική τεχνική για την διάσπαση του κυτταρικού τοιχώματος. Είναι από τις πιο διαδεδομένες τεχνικές για την εκχύλιση συστατικών από μικροοργανισμούς και είναι αρκετά οικονομική και φιλική προς το περιβάλλον. Σε αυτή, υπάρχει εναλλαγή κύκλων χαμηλής πίεσης κατά την διάρκεια των οποίων δημιουργούνται μικρές φυσαλίδες οι οποίες εκρήγνυται κατά την διάρκεια των υψηλών πιέσεων δημιουργώντας ωστικά κύματα που διασπάνε το τοίχος. Η απόδοση της επηρεάζεται από είδος του κυττάρου (σχήμα, μέγεθος, δομή) καθώς και από τις συνθήκες λειτουργίας όπως θερμοκρασία, χρόνος, συχνότητα των υπερήχων αλλά και τη συγκέντρωση της βιομάζας. Επίσης έχει καλύτερα αποτελέσματα στην εκχύλιση των λιπιδίων καθώς πολλές πρωτεΐνες καταστρέφονται από τους υπέρηχους.
- Με βοήθεια μικροκυμάτων: Τα μικροκύματα είναι μια κοινώς χρησιμοποιούμενη μέθοδος για τη θερμική επεξεργασία της βιομάζας από μικροάλγη. Ο μηχανισμός λειτουργίας βασίζεται στην αλληλεπίδραση των ηλεκτρομαγνητικών κυμάτων με πολικά ή διηλεκτρικά μόρια με αποτέλεσμα την παραγωγή θερμότητας τοπικά λόγω της τριβής από την κίνηση τους και στην συνέχεια την αύξηση της πίεσης. Εκτός από τη διάσπαση του τοίχους, προκαλεί την έξοδο από το κύτταρο ολόκληρων ενώσεων με αποτέλεσμα την καλή ποιότητα των εκχυλισμάτων. Οι κύριες παράμετροι λειτουργίας είναι η συγκέντρωση της βιομάζας, ο χρόνος λειτουργίας και η ένταση των μικροκυμάτων. Είναι μια οικονομική μέθοδος με πολύ καλή απόδοση στην εκχύλιση των συστατικών αλλά και σύντομη σε χρόνο.
- Με χρήση ηλεκτρικό πεδίου: Η βιομάζα τοποθετείται ανάμεσα σε δύο ηλεκτρόδια και εφαρμόζεται ηλεκτρικό πεδίο σε αυτά. Έτσι προκαλείτε ηλεκτροδιάχυση και αυξάνεται η διαπερατότητα του κυτταρικού τοιχώματος και μπορούν να εκχυλιστούν κάποια συστατικά.

Όμως εκτός από τις φυσικές μεθόδους διάσπασης του κυτταρικού τοιχώματος έχουμε και τις χημικές οι οποίες έχουν πλεονεκτήματα σε σχέση με τις μηχανικές

όπως ότι είναι πιο οικονομικές σε ενέργεια, πιο αποτελεσματικές στη διάσπαση του τοιχώματος και πιο εύκολη η κλιμάκωση τους. Οι πιο βασικές είναι οι παρακάτω:

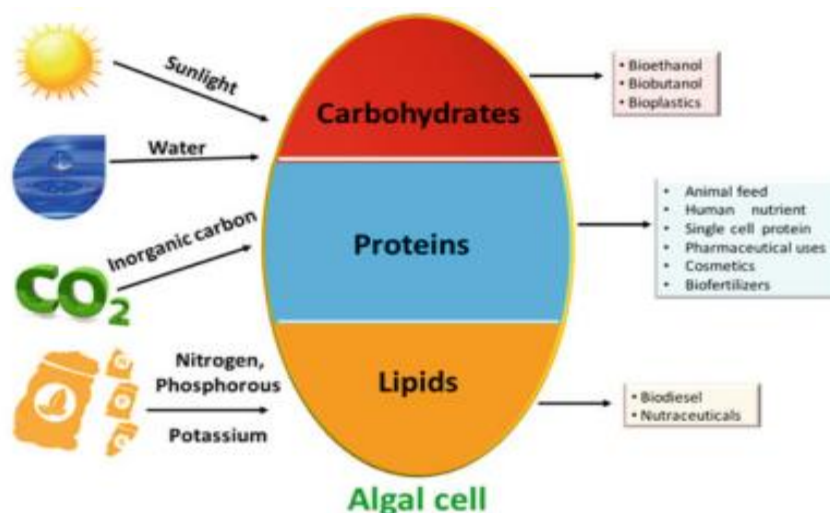
- Με οξικά και αλκαλικά διαλύματα: Τα οξικά και αλκαλικά διαλύματα υδρολύουν τα σάκχαρα στο κυτταρικό τοίχωμα και έτσι το διασπάνε. Τα ισχυρά οξέα είναι και συνήθως χαμηλά σε κόστος, όπως το θειικό οξύ, και πολύ αποτελεσματικά στη διάσπαση του τοιχώματος οπότε και προτιμώνται κυρίως. Πρέπει να σημειωθεί ότι είναι σημαντική η προσεκτική επιλογή των συνθηκών τις διαδικασίας καθώς επηρεάζει την ποιότητα των εκχυλισμάτων αλλά και τις διεργασίες που ακολουθούν και είναι απαραίτητες (π.χ. επεξεργασία αποβλήτων) [22], [36].
- Με ιοντικά υγρά: Τα ιοντικά υγρά είναι άλατα που αποτελούνται από σχετικά μεγάλα ασύμμετρα οργανικά κατιόντα σε συνδυασμό με μικρότερα ανόργανα ή οργανικά ανιόντα, που παραμένουν σε υγρή μορφή μεταξύ των θερμοκρασιών 0 - 140 °C. Τα χαρακτηριστικά αυτών των αλάτων είναι θερμική σταθερότητα, μη εύφλεκτο και υψηλή θερμοχωρητικότητα οπότε αναμένεται να έχουν μεγάλες αποδόσεις στη εκχύλιση από μικροάλγη. Το πρόβλημα της συγκεκριμένης μεθόδου είναι στην εφαρμογή της σε μεγάλη κλίμακα βιοδυστήριου καθώς πρέπει να βρεθεί τρόπος για την παραγωγή μεγάλης ποσότητας ιοντικών υγρών και ανακύκλωσης τους, η οποία δεν υπάρχει αυτή τη στιγμή [22], [38].
- Με υπερκρίσιμα υγρά: η μέθοδος της εκχύλισης με τα υπερκρίσιμα υγρά είναι μια φιλική προς το περιβάλλον μέθοδος αφού χρησιμοποιεί CO<sub>2</sub>. Υπερκρίσιμα υγρά θεωρούνται αυτά που βρίσκονται σε θερμοκρασία και πίεση πάνω από την κρίσιμη τους. Ο καλύτερος διαλύτης ο οποίος εύκολα φτάνει σε συνθήκες υπερκρίσιμου υγρού είναι το CO<sub>2</sub> αφού χρειάζεται θερμοκρασία 31.1 °C και πίεση 7.38 MPa. Η υψηλή πυκνότητα των υπερκρίσιμων ρευστών είναι υπεύθυνη για την υψηλή διαλυτότητα των ενώσεων, ενώ το χαμηλό ιξώδες επιτρέπει τη διείσδυση σε στερεές επιφάνειες. Το υπερκρίσιμο CO<sub>2</sub> είναι ένα καλός διαλύτης για την εκχύλιση λιπιδίων, καθώς εξαλείφει τη χρήση υψηλών θερμοκρασιών και οργανικών διαλυτών για την εκχύλιση [39].
- Με ενζυματική υδρόλυση: μια συχνή μέθοδος είναι η χρήση ενζύμων για τη διευκόλυνση της διάσπασης του κυτταρικού τοιχώματος. Η συγκεκριμένη διαδικασία είναι πολύ γρήγορη και αποτελεσματική αλλά περιορίζεται από το είδος και τη σύσταση των εκχυλισμάτων καθώς μπορεί το ένζυμο να τα επηρεάσει. Τα πιο κοινά ένζυμα που χρησιμοποιούνται είναι η κυτταρινάση

και η λιπάση, λόγω της παρουσίας πολυσακχαριτών, όπως κυτταρίνη και ημικυτταρίνη, στα κυτταρικά τοιχώματα των φυκιών [40].

- Με οξειδωτικούς παράγοντες: Ως μια πιθανή λύση στο πρόβλημα της διάσπασης των κυτταρικών τοιχωμάτων των μικροφυκών, χωρίς ένα στάδιο με μεγάλο κόστος, έχει προταθεί η οξείδωση του διαλύματος αυτών. Πιο συγκεκριμένα, έχει αναφερθεί ότι ο φωτοκαταλύτης  $\text{TiO}_2$  σε συνθήκες υπεριώδους φωτός μπορεί να δημιουργήσει, μέσω της οξείδωσης του νερού, μόρια  $\text{OH}^\cdot$  και αυτά να διασπάσουν το κυτταρικό τοίχωμα [41].
- Με ωσμωτική πίεση: Η ωσμωτική πίεση μπορεί να διασπάσει τα κυτταρικά τοιχώματα των φυκιών όταν η συγκέντρωση αλατιού διαταράσσει την ωσμωτική πίεση μεταξύ των κυττάρων των φυκιών. Υπάρχουν δύο είδη πιέσεων για να διασπαστεί το τοίχωμα, με υπερωσμωτική και υποωσμωτική. Στην υπερωσμωτική πίεση, το κύτταρο συμπιέζεται λόγω της υψηλής συγκέντρωσης του άλατος και το υγρό που υπάρχει εσωτερικά με τη συμπίεση διασπάει το τοίχωμα. Αντίθετα στην υποωσμωτική, η συγκέντρωση του άλατος είναι υψηλή μέσα στο κύτταρο και το υγρό εισέρχεται από εξωτερικά μέσα στο κύτταρο και έτσι μεγαλώνει και διασπάται. Σε χρήση που έχει γίνει με διάλυμα  $\text{CO}_2$  σε *Chlorella* υπήρχε καλή απόδοση σε εκχύλιση λιπιδίων [39], [42], [43].

## 2.4 Εφαρμογές

Τα μικροφύκη έχουν πολλές εφαρμογές σε διάφορους τομείς λόγω των ιδιαίτερων χημικών ενώσεων που περιέχουν αλλά και τις πολλές διαφορετικές συστάσεις αυτών, καθώς η μέθοδος καλλιέργειας τους τα επηρεάζει άμεσα. Οι πολυσακχαρίτες, οι πρωτεΐνες και τα λιπίδια μπορούν να εφαρμοστούν στους τομείς των τροφίμων, των καυσίμων, των καλλυντικών κ.α. Παρακάτω θα αναφερθούν αναλυτικά οι κύριες εφαρμογές τους:



Εικόνα 8: Οι βασικές εφαρμογές των χημικών ενώσεων των μικροφυκών [35].

#### 2.4.1 Τρόφιμα

Τα μικροφύκη χρησιμοποιούνται ως πηγή φαγητού από τα αρχαία χρόνια και ιδιαίτερα τα πράσινα άλγη στις χώρες της Ασίας. Όμως τότε δεν ήταν διαδεδομένη η καλλιέργεια τους από τους ανθρώπους, οπότε η καλλιέργεια τους και συνεπώς η κατανάλωση τους ήταν πιο περιορισμένη. Σήμερα, καταναλώνονται σε όλο το κόσμο είτε ως βασική τροφή είτε ως συμπληρώματα διατροφής. Το πιο γνωστό μικροάλγος που χρησιμοποιείται σαν τρόφιμο είναι η *Spirulina platensis* και θεωρείται ως ένα από τα πιο θρεπτικά τρόφιμα που υπάρχει. Είναι μια εξαιρετική πηγή πρωτεϊνών, πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, χρωστικών και βιταμινών. Εκτός από τη *Spirulina platensis*, πολύ θρεπτική είναι και η *Chlorella vulgaris* για παρόμοιους λόγους με τους παραπάνω με επιπλέον πλεονέκτημα ότι είναι πολύ ευκολότερη η καλλιέργεια της όπως και η *Dunaliella salina*. Ο τρόπος πώλησης τους γίνεται κυρίως με τη μορφή δισκίων, καψουλών και υγρών που χρησιμοποιούνται ως συμπληρώματα διατροφής [27].

Πίνακας 9 : Κυριότερα μικροφύκη για διατροφή και τα προϊόντα τους [44], [45]

Microalgae	Κύριοι παραγωγοί	Προϊόντα	Παγκόσμια παραγωγή (t/year)
Spirulina	Hainan Simai Pharmacy Co. (China)	σκόνη, εκχυλίσματα	3000

	<p>Eartrise Nutritionals (California, USA)</p> <p>Cyanotech Corp. (Hawaii, USA)</p> <p>Myanmar Spirulina factory (Myanmar)</p>	<p>δισκία, σκόνη, εκχυλίσματα</p> <p>δισκία, σκόνη, ροφήματα, εκχυλίσματα</p> <p>δισκία, τσιπς, ζυμαρικά και υγρό εκχύλισμα</p>	
Chlorella	<p>Taiwan Chlorella Manufacturing Co. (Taiwan)</p> <p>Klötze (Germany)</p>	<p>δισκία, σκόνη, νέκταρ, ζυμαρικά</p> <p>σκόνη</p>	2000
Dunaliella salina	Cognis Nutrition and Health (Australia)	Σκόνη, β-καροτένη	1200
Aphanizomenon flos-aquae	<p>Blue Green Foods (USA)</p> <p>Vision (USA)</p>	<p>κάψουλες, κρύσταλλοι</p> <p>σκόνη, κάψουλες, κρύσταλλοι</p>	500

Τα μικροφύκη έχουν πολλά οφέλη στην υγεία λόγω των πολλών βιοδραστικών ουσιών που περιέχουν. Το πιο σημαντικό όφελος που έχουν στην ανθρώπινη υγεία είναι η αντιοξειδωτική, αντιμικροβιακή και αντιφλεγμονώδη δραστηριότητα. Επίσης, είναι πολύ σημαντικά για τον έλεγχο του διαβήτη και της παχυσαρκίας αλλά και στην βελτίωση της όρασης.

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω τα αντιοξειδωτικά είναι πολύ σημαντικά για την υγεία του οργανισμού και είναι απαραίτητη η πρόσληψη τους και από τα τρόφιμα. Τα μικροάλγη είναι μία, από τους πιο οικονομικούς και με μεγάλη δυνατότητα παραγωγής, πηγή φυσικών συστατικών με μεγάλη αντιοξειδωτική δυνατότητα. Η χλωροφύλλη και οι μεταβολίτες της που όπως και οι χρωστικές των μικροφυκών έχουν καλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα από τη β-καροτίνη.

Οι αντιμικροβιακές και αντιφλεγμονώδεις ικανότητες των μικροφυκών είναι σημαντικές. Αρχικά, μπορούν να καταστείλουν σημαντικά την ανάπτυξη των Gram-θετικών και Gram-αρνητικών βακτηρίων όπως και του *Staphylococcus aureus*. Επίσης σημαντική είναι και η επίδραση τους στους μύκητες όπου και εκεί καταστέλλεται σημαντικά η ανάπτυξη τους [46].

Υπάρχουν βέβαια στα μικροφύκη και πολλοί δευτερεύοντες μεταβολίτες που μπορούν να έχουν αρνητική επίδραση στον ανθρώπινο οργανισμό μετά την κατανάλωση τους, οι οποίες ονομάζονται φυκοτοξίνες. Στην Ελλάδα πιο συγκεκριμένα υπάρχουν πολλά παραδείγματα από τοξικά μικροφύκη. Πολλοί κόλποι όπως ο Αμβρακικός και ο Θερμαϊκός έχουν μεγάλη συγκέντρωση από τοξικά μικροφύκη λόγω των λυμάτων που καταλήγουν εκεί και προκαλούν πολλά προβλήματα όπως θνησιμότητα των ψαριών και παλίρροιες με έντονο κόκκινο χρώμα [47]. Υπάρχουν πολλά είδη μικροφυκών που έχουν αναγνωριστεί ως τοξικά και έχει δημιουργηθεί μια ταξινόμηση τους η οποία είναι [48]:

1. Μη τοξικά είδη, αλλά η παραγωγή τους σε μεγάλη ποσότητα αυξάνει τα ποσοστά των τοξικών μεταβολιτών και γίνονται επικίνδυνα για την θαλάσσια πανίδα,
2. Είδη που παράγουν τοξίνες που είναι επικίνδυνες για τον άνθρωπο στην τροφική κατανάλωση τους,
3. Είδη τοξικά στα ψάρια και άλλους θαλάσσιους οργανισμούς μέσω αιμολυτικών τοξινών,
4. Είδη που παράγουν τοξίνες επικίνδυνες για τον άνθρωπο κατά την εισπνοή ή την επαφή με το δέρμα.

#### 2.4.2 Βιοκαύσιμα

Τα μικροφύκη έχουν από καιρό αναγνωριστεί ως καλές πηγές για την παραγωγή βιοκαυσίμων λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς τους σε λιπίδια και της ταχείας παραγωγής βιομάζας. Επίσης παράγουν μεγάλη ποσότητα από πολυσακχαρίτες και τριγλυκερίδια τα οποία είναι τα βασικά συστατικά της βιοαιθανόλης και του βιοντίζελ. Τα τελευταία χρόνια, η χρήση των μικροφυκών ως εναλλακτική πρώτη ύλη βιοντίζελ έχει αποκτήσει ανανεωμένο ενδιαφέρον. Προκειμένου να γίνει όμως αυτό χρειάζεται κάποιες προϋποθέσεις οι οποίες είναι [49]:

- Να είναι ανταγωνιστικά σε κόστος με τα κοινά καύσιμα
- Να έχει θετικό περιβαλλοντικό αποτύπωμα και να μη απαιτεί πολύ μεγάλη έκταση γης
- Να μην απαιτεί μεγάλη ποσότητα νερού
- Να έχει μεγάλη παραγωγικότητα και αποδοτικότητα, μετά από επιλογή των καλύτερων δυνατών μικροφυκών για τη συγκεκριμένη διαδικασία.

Η δυνατότητα για τα παραπάνω υπάρχει και έχει και πολλά πλεονεκτήματα σε σχέση με τα συμβατικά βιοκαύσιμα τα οποία είναι [27]:

- Μπορούν να παράγουν μεγαλύτερη ποσότητα βιοκαυσίμων από ότι οι υπόλοιπες καλλιέργειες,
- Δεσμεύουν CO<sub>2</sub> και το χρησιμοποιούν για να αναπτυχθούν,
- Μπορούν να καλλιεργηθούν σε πολλές διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες ακόμα και σε φωτοβιοαντιδραστήρες σε περιοχές που κανονικά δεν θα μπορούσαν να μεγαλώσουν,
- Τα βιοκαύσιμα που παράγουν είναι πολλά, όπως βιοντίζελ από εστεροποίηση, πράσινο ντίζελ και βενζίνη από καταλυτική υδροθερμική επεξεργασία και καταλυτική αναβάθμιση, βιοαιθανόλη από ζύμωση και μεθάνιο από αναερόβια επεξεργασία.

**Πίνακας 10: Σύγκριση των μικροφυκών με διαφορετικό ποσοστό λιπιδίων [50]**

	Περιεκτικότητα σε λιπαρά %	Χρήση γης (m <sup>2</sup> / kg πετρ.)	Παραγωγή βιοκαυσίμου (kg/year)
Μικροφύκια (χαμηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά)	30	0.2	51927
Μικροφύκια (μεσαία περιεκτικότητα σε λιπαρά)	50	0.1	86515
Μικροφύκια (υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά)	70	0.1	121104

#### 2.4.3 Ζωοτροφές για οικόσιτα ζώα και υδατοκαλλιέργεια

Στις τελευταίες δεκαετίες η αγορά κρέατος έχει αυξηθεί ραγδαία και οι ανάγκες είναι πολύ μεγαλύτερες. Τα μικροάλγη μπορούν να αποτελέσουν εξαιρετικές ζωοτροφές και να προσφέρουν αύξηση τόσο στην ποσότητα των κρεάτων όσο και στην ποιότητα καθώς είναι εξαιρετικά ωφέλιμα για τα ζώα. Πολλές χημικές ενώσεις όπως τα λιπαρά οξέα, οι χρωστικές κ.α. βελτιώνουν τα φυσικά και χημικά χαρακτηριστικά του κρέατος όπως το χρώμα και οι αντιοξειδωτικές τους δραστηριότητες. Κυρίως έχει χρησιμοποιηθεί ως τροφή για αγελάδες, χοίρους και πουλερικά. Επίσης, πολύ μεγάλη είναι και χρήση της μικροάλγης ως ζωοτροφή για υδατοκαλλιέργειες καθώς μπορεί να αυξήσει την διατροφική αξία των ψαριών. Υπολογίζεται ότι περίπου το 30% της παγκόσμιας καλλιέργειας μικροάλγης χρησιμοποιείται για τις ζωοτροφές [51].

Στις αγελάδες τα αποτελέσματα που έχουν αναφερθεί μετά από την κατανάλωση μικροφυκών είναι αύξηση των ωμέγα-3 λιπαρών στο γάλα χωρίς κάποιο αρνητικό αντίκτυπο σε αυτό [52]. Επίσης παρόμοια αποτελέσματα έχουν αναφερθεί και σε γάλα που προέρχεται από πρόβατα αλλά και κατσίκες καθώς βελτιώθηκε επίσης και η φυσιολογία του ζώου. Ακόμα παρατηρήθηκαν μεγαλύτερος ρυθμός αύξησης του σωματικού βάρους και γενικότερα ρυθμού ανάπτυξης. Τέλος, η συνολική ποσότητα της ζωοτροφής που καταναλώθηκε μειώθηκε όταν προστέθηκε σε αυτή συμπλήρωμα μικροφυκών.

Στα πουλερικά και πιο συγκεκριμένα στις κότες η κατανάλωση μικροφυκών έδωσε ένα σκοτεινότερο χρώμα στο κρόκο του αυγού αλλά επίσης μείωσε την χοληστερόλη του περίπου 10%. Ακόμα στα αυγά αυξήθηκε η ποσότητα του DHA και EPA καθώς επίσης μειώθηκε και το λίπος στους μύες και το συκώτι του πουλερικού. Στους χοίρους αύξησε την διατροφική αξία του κρέατος τους και το σωματικό τους βάρος περίπου 10%. Επίσης, και στα δύο αυξήθηκε η απόδοση της τροφής καθώς υπήρχε τόσο μείωση της συνολικής ποσότητας που καταναλώθηκε όσο και μεγαλύτερο ρυθμό αύξησης του σωματικού βάρους [53].

Στα ψάρια η κατανάλωση μικροάλγης είναι πολύ σημαντική στα στάδια της ανάπτυξης του. Για τη χρήση τους στην υδατοκαλλιέργεια, τα μικροφύκη πρέπει να πληρούν ορισμένες παραμέτρους, όπως μη τοξικότητα για τα είδη ιχθύων, υψηλή περιεκτικότητα σε θρεπτικά συστατικά, κατάλληλο μέγεθος, άμεσα διαθέσιμο κυτταρικό τοίχωμα κ.λπ. για εύκολη πέψη κ.α. Η υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες, απαραίτητα λιπαρά οξέα και βιταμίνες είναι επίσης σημαντική παράμετρος για τη χρήση μικροφυκών. Οι βιοδραστικές ενώσεις από μικροφύκη μπορούν να χωριστούν σε τρεις κατηγορίες. Η πρώτη κατηγορία περιλαμβάνει τη χρήση μικροφυκών πλούσιων σε υδατάνθρακες και πρωτεΐνες για την αντικατάσταση της τροφής, η οποία μπορεί να μειώσει το κόστος της υδατοκαλλιέργειας. Στη δεύτερη κατηγορία, τα μικροφύκη πλούσια σε αντιοξειδωτικά χρησιμοποιήθηκαν για την αύξηση της ανοσίας των υδρόβιων οργανισμών και την αντιμετώπιση των παρενεργειών της χρήσης αντιβιοτικών. Η τρίτη κατηγορία χρησιμοποιείται για την ενίσχυση της ανάπτυξης διακοσμητικών ή ειδικών ιχθυοκαλλιεργειών. Μικροφύκη πλούσια σε ασταξανθίνη χρησιμοποιήθηκαν για την αύξηση του χρώματος των ψαριών[54].

#### ***2.4.4 Βιολογικός περιορισμός των εκπομπών CO<sub>2</sub> και καθαρισμός λυμάτων***

Τα μικροάλγη μπορούν να αξιοποιηθούν για τον περιορισμό των εκπομπών του CO<sub>2</sub> το οποίο προέρχεται από δύο πηγές: τον ατμοσφαιρικό αέρα, και τις



βιομηχανικές καμινάδες. Στον ατμοσφαιρικό αέρα η συγκέντρωση του CO<sub>2</sub> είναι αρκετά χαμηλή (360 ppm) ενώ στα εργοστάσια μέχρι και 20% περιεκτικότητα στον αέρα. Η επιλογή των ειδών των μικροφυκών που θα χρησιμοποιηθούν για τη διαδικασία αυτή είναι αρκετά δύσκολη καθώς λίγα μπορούν να αντέξουν τις εξαιρετικά δυσμενείς συνθήκες στις οποίες θα τοποθετηθούν. Το κόστος της διαδικασία αυτής είναι εξαιρετικά μεγάλο αν δεν έχει μεγάλη συγκέντρωση CO<sub>2</sub> στον αέρα και ο μόνος τρόπος να αξιοποιηθεί είναι ως ένα μέρος της παραγωγής βιοκαυσίμων, στην οποία μπορεί να μειώσει το συνολικό κόστος και να δώσει θετικό περιβαλλοντικό αποτύπωμα. Στελέχη μικροφυκών, κατάλληλα για τη διαδικασία αυτή θα πρέπει κατά προτίμηση να έχουν [46]:

- σημαντικούς ρυθμούς ανάπτυξης και δέσμευσης CO<sub>2</sub>,
- ανοχή σε υψηλά επίπεδα NO<sub>x</sub> και SO<sub>x</sub>,
- ικανότητα παραγωγής πολύτιμων βιοπροϊόντων,
- ικανότητα συμβολής στην επεξεργασία υγρών αποβλήτων,
- εύκολη συγκομιδή,
- ανοχή σε αυξημένη θερμοκρασία νερού για τη μείωση του κόστους ψύξης των καυσαερίων.

Η χρήση των μικροαλγών στα αστικά και βιομηχανικά λύματα έχει πολύ καλό αποτέλεσμα καθώς κατακρατάνε μεγάλη ποσότητα φωσφόρου και αμμωνίας. Βέβαια στα αστικά λύματα δεν υπάρχει μεγάλη συγκέντρωση οπότε έχουν μεγάλο οικονομικό κόστος με χαμηλή απόδοση. Στις βιομηχανίες από την άλλη και ιδιαίτερα στην παραγωγή βιοκαυσίμων είναι η πιο αποτελεσματική εμπορική εφαρμογή των μικροφυκών βραχυπρόθεσμα. Το μεγάλο πλεονέκτημα της εφαρμογής αυτής είναι ότι μαζί με το καθαρισμό των λυμάτων, από χημικά και οργανικά υπολείμματα, βαρέα μέταλλα και παθογόνα, παράγεται βιομάζα που είναι κατάλληλη για παραγωγή καυσίμων. Αν τα λύματα έχουν και μεγάλη συγκέντρωση CO<sub>2</sub> τότε διευκολύνουν την παραγωγή με υψηλούς ρυθμούς ανάπτυξης, χωρίς ανάγκη εισαγωγής θρεπτικών ουσιών, μειωμένο κόστος συγκομιδής και αυξημένη περιεκτικότητα σε λιπίδια. Τα σημαντικότερα μειονεκτήματα είναι οι αυξημένες απαιτήσεις των φυτών φυκιών σε γη, στις περιπτώσεις των συστημάτων ανοικτών λιμνών και το αυξημένο κόστος κεφαλαίου, στις περιπτώσεις των συστημάτων φωτοβιοαντιδραστήρων [21], [46]. Σε εφαρμογή που έγινε υπολογίστηκε ότι το μικροφύκος *Chlorella* μπορεί να αφαιρέσει μέχρι και το 100% του αμμωνίου και το 83% του φωσφόρου από λύματα οπότε θεωρείτε ως ένα από τους καλύτερους τρόπους καθαρισμού τους [55].

#### 2.4.5 Καλλυντικά

Τα μικροάλγη χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία των καλλυντικών καθώς μπορούν εύκολα να προσαρμοστούν σε πολλές περιβαλλοντικές συνθήκες και μπορούν τόσο να βοηθήσουν στην προστασία των κυττάρων όσο και περιορίσουν την ανάπτυξη των ελευθέρων ριζών. Η κυριότερη χρήση τους είναι σε προϊόντα όπως σαμπουάν μαλλιών, αντιγηραντικά και προϊόντα για αναγέννηση και προστασία της επιδερμίδας (π.χ. αντιηλιακό κ.α.). Λόγω των πλεονεκτημάτων των τους χρησιμοποιούνται στην βιομηχανία για να αντικαταστήσουν τα παρόντα καλλυντικά που έχουν και αρκετά μειονεκτήματα. Η χρήση τους μπορεί να γίνει τόσο άμεσα όσο και μέσα από τις βιοδραστικές ενώσεις που περιέχουν ή μπορούν να συνθέσουν. [56] Πιο συγκεκριμένα μερικές βιοδραστικές ενώσεις που είναι ιδιαίτερα χρήσιμες στα καλλυντικά είναι οι εξής:

- οι χρωστικές των μικροαλγών όπως τα PUFAs εκχυλίζονται και προστίθενται σε λοσιόν, κρέμες και αλοιφές
- ορισμένα μικροφύκη παράγουν οργανικούς μεταβολίτες, όπως η σποροπολενίνη, η σκυτονεμίνη και αμινοξέα που μοιάζουν με μυκοσπορίνη, τα οποία προστατεύουν από την υπεριώδη ακτινοβολία οπότε χρησιμοποιούνται σε αντιηλιακά και έχουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες [27],

### 3. Ξήρανση

#### 3.1 Εισαγωγή

Η ξήρανση των τροφίμων γίνεται από τα αρχαία χρόνια για να αυξηθεί ο χρόνος ζωής τους. Είναι και σήμερα η πιο διαδεδομένη και η πιο υψηλή σε κόστος ενέργειας τεχνική για την διατήρηση των τροφίμων. Όμως μέχρι και τον 20<sup>ο</sup> αιώνα, όπου η ξήρανση ξεκίνησε να γίνεται με μηχανικά, γινόταν με την βοήθεια του ήλιου και του θερμού αέρα αλλά υπήρχαν πολλά προβλήματα λόγω αυτού καθώς εξαρτιόταν πλήρως στις καιρικές συνθήκες. Επίσης, ήταν δύσκολο να επιτευχθεί ομοιογένεια σε όλα τα προϊόντα και υπήρχε αλλοίωση στη γεύση και τα εμφανισιακά χαρακτηριστικά του τρόφιμου. Όλα αυτά τα προβλήματα έχουν εξαλειφθεί με τις νέες μεθόδους ξήρανσης όπως η ξήρανση με ψεκασμό, η ξήρανση υπό κενό, η ξήρανση υπό ψύξη, ωσμωτική αφυδάτωση κ.α. [57]

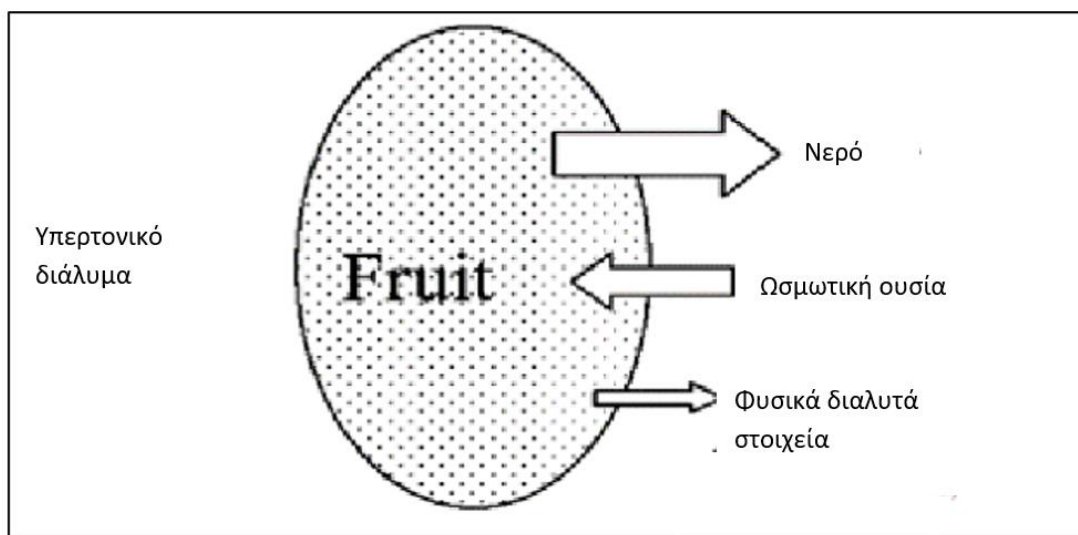
Η αποξήρανση του τρόφιμου είναι μια διεργασία κατά την οποία υπάρχει μεταφορά ενέργειας και μάζας. Οι βασικές μεταβλητές που επηρεάζουν το αποτέλεσμα της ξήρανσης είναι η θερμοκρασία και ο χρόνος για τα οποία συμβαίνει. Η υγρασία του τρόφιμου απομακρύνεται και λόγω αυτού καθυστερεί η ανάπτυξη των μικροοργανισμών, διευκολύνεται η μεταφορά του και η αποθήκευση του αλλά διατηρείτε η γεύση και το άρωμα του σε μεγάλο βαθμό. Η σύγχρονη κοινωνία απαιτεί προϊόντα με υψηλές προδιαγραφές οπότε και η ξήρανση δεν είναι πια μια απλή τεχνική. Κάθε τρόφιμο πρέπει να αποξηραθεί σε συγκεκριμένες συνθήκες για να διατηρήσει υψηλά τα ποιοτικά του χαρακτηριστικά και να βγει στην αγορά.

Η χρήση της ξήρανσης μπορεί να γίνει στα περισσότερα τρόφιμα όμως είναι πιο σημαντική για αυτά με υψηλή διατροφική αξία τα οποία εύκολα αλλοιώνονται μικροβιακά, οξειδωτικά ή μηχανικά. Η αύξηση του χρόνου ζωής μπορεί να είναι πολύ μεγάλη σε συγκεκριμένα τρόφιμα και να μπορούν με αυτό τον τρόπο να υπάρχουν στην αγορά συνεχώς ανεξαρτήτως εποχής, καιρού και συνθηκών. Επίσης η περαιτέρω ανάπτυξη της ξήρανσης θα είναι ένα εργαλείο το οποίο σίγουρα θα βοηθήσει στη μείωση των μεγάλων ποσοτήτων τροφίμων στα απορρίμματα κάθε χρόνο [58], [59].

#### 3.2 Ωσμωτική αφυδάτωση

Η ωσμωτική αφυδάτωση είναι μια διαδικασία κατά την οποία το νερό αφαιρείται από φρέσκα φρούτα και λαχανικά, είτε ολόκληρα είτε κομμάτια αυτών, τοποθετώντας τα σε ένα υπερτονικό διάλυμα. Αφού το διάλυμα έχει μεγαλύτερη

ωσμωτική πίεση από το τρόφιμο που τοποθετείται μέσα, δημιουργείται μια κινητήρια δύναμη η οποία απομακρύνει το νερό από το τρόφιμο. Το κυτταρικό τοίχωμα του τροφίμου θα λειτουργήσει ως ημι-διαπεραστική μεμβράνη η οποία θα επιτρέψει την εναλλαγή του διαλύτη μεταξύ του διαλύματος και του τροφίμου. Οπότε η ωσμωτική αφυδάτωση είναι μια ταυτόχρονη διαδικασία διάχυσης μεταξύ του νερού και του διαλύματος [60].



Εικόνα 9: Απεικόνιση της διαδικασίας ωσμωτικής αφυδάτωσης [61]

### 3.3 Παράμετροι διεργασίας

Τα διαλύματα που χρησιμοποιούνται για την ωσμωτική αφυδάτωση πρέπει να έχουν χαμηλό  $a_w$ , να μην είναι τοξικά και να προσδίδουν στο τρόφιμο ευχάριστη ή καθόλου γεύση. Η ποσότητα και ο ρυθμός του νερού που αποβάλλεται εξαρτάται από διάφορες μεταβλητές και παραμέτρους με κύριες, την συγκέντρωση του διαλύματος, την διάρκεια και την θερμοκρασία της διαδικασίας, την αναλογία διαλύματος τροφίμου, την ελάττωση της πίεσης και την επιφάνεια της εναλλαγής. Τα κυριότερα υλικά για την δημιουργία των διαλυμάτων είναι το NaCl, η σουκρόζη, η γλυκόζη, η φρουκτόζη, η λακτόζη και μίγματα υδατανθράκων. Επίσης κοινή είναι και η χρήση σιροπιών και συμπυκνωμένων χυμών για τα διαλύματα καθώς και η μίξη διάφορων από τα παραπάνω υλικά.

Πιο συγκεκριμένα οι παράγοντες και ο τρόπος που επηρεάζουν τον ρυθμό της ωσμωτικής αφυδάτωσης είναι οι εξής [62], [63] :

- Συγκέντρωση του ωσμωτικού διαλύματος:

Το είδος και η συγκέντρωση της ωσμωτικής ουσίας επηρεάζει σημαντικά την κινητική της απώλειας νερού και της απόκτηση στερεών.

- Θερμοκρασία του ωσμωτικού διαλύματος

Όσο αυξάνεται η θερμοκρασία του διαλύματος τόσο αυξάνεται ο ρυθμός της ωσμωτικής αφυδάτωσης. Όμως πάνω από τους 60 °C επηρεάζεται η διαπερατότητα του κυτταρικού τοιχώματος και αυτό επηρεάζει αρνητικά το ρυθμό. Επίσης έχει αναφερθεί ότι πάνω από τους 49 °C επηρεάζεται σε κάποια φρούτα η γεύση και η το φυσικό τους χρώμα.

- Καλή ανάδευση του ωσμωτικού διαλύματος:

Η ανάδευση του διαλύματος κατά τη διάρκεια της διαδικασίας βοηθάει στην ωσμωτική αφυδάτωση των φρούτων καθώς υπάρχει καλύτερη κυκλοφορία γύρω από αυτά και ιδιαίτερα όταν υπάρχει διάλυμα με μεγάλη συγκέντρωση. Πολλές φορές όμως η ανάδευση είναι δύσκολη και μπορεί να βλάψει τα φρούτα όποτε χρειάζεται ιδιαίτερη προσοχή.

- Γεωμετρία του τρόφιμου:

Η γεωμετρία του τρόφιμου είναι πολύ βασική στις αποδόσεις της ωσμωτικής αφυδάτωσης. Όσο μεγαλύτερη είναι η αναλογία της επιφάνειας στην οποία συμβαίνει η εναλλαγή της μάζας προς το πάχος τόσο μεγαλύτερη είναι η απώλεια νερού σε σχήμα σφαιρικό και μικρότερη σε σχήμα κύβου. Αντίθετα η ίδια αναλογία αυξάνει την απόκτηση στερεών σε όλα τα σχήματα.

- Αναλογία του τρόφιμου/ ωσμωτικού διαλύματος:

Είναι σημαντικό να χρησιμοποιείται η βέλτιστη αναλογία τρόφιμου και διαλύματος για οικονομικούς κυρίως λόγους αλλά και για λόγους αποδόσεων. Γενικά όσο αυξάνεται η αναλογία διαλύματος τρόφιμου τόσο αυξάνεται η απώλεια νερού μέχρι ένα όριο και έπειτα αρχίζει να μειώνεται αλλά για κάθε τρόφιμο η βέλτιστη αναλογία είναι διαφορετική.

- Φυσικές και χημικές ιδιότητες του τρόφιμου:

Η χημική σύσταση (πρωτεΐνες, πολυσακχαρίτες, λιπίδια κ.α.) και οι φυσικές ιδιότητες του τρόφιμου (πορώδες, δομή του κυττάρου κ.α.) επηρεάζουν αρκετά την κινητική της διαδικασίας.

- Χρόνος της διαδικασίας:

Γενικά όσο αυξάνεται ο χρόνος της διαδικασίας αυξάνεται και η απώλεια του βάρους του τρόφιμου αλλά μειώνεται ο ρυθμός με τον οποίο συμβαίνει. Επίσης μετά από ένα χρονικό όριο, μαζί με τον νερό υπάρχει και μεγάλη απώλεια διαλυμένων στερεών οπότε ο χρόνος που γίνεται η διαδικασία είναι ανάλογος με το αποτέλεσμα που πρέπει να επιτευχθεί στις απώλειες νερού και στερεών.

### 3.4 Πλεονεκτήματα

Τα πλεονεκτήματα της ωσμωτικής αφυδάτωσης σε σχέση με τις υπόλοιπες μεθόδους για την βελτίωση του χρόνου ζωής των τροφίμων είναι αρκετά. Αρχικά, όχι μόνο δεν υπάρχει απώλεια της φυσικής γεύσης και χρώματος του φρούτου, αλλά υπάρχει ποιοτική βελτίωση στο χρώμα, στη γεύση, στην οσμή όπως και στην αφή. Ακόμα το ενεργειακό κόστος την ξήρανσης είναι πολύ μικρότερο από τους υπόλοιπους τρόπους ξήρανσης. Υπάρχει καθυστέρηση της ενζυματικής αντίδρασης, η οποία έχει ως αποτέλεσμα το καφέ χρώμα που αναπτύσσεται στην επιφάνεια των φρούτων και των λαχανικών. Μετά την ωσμωτική αφυδάτωση το τρόφιμο μπορεί να επεξεργαστεί ή να καταψυχθεί περαιτέρω για ακόμα καλύτερα αποτελέσματα του χρόνου ζωής του. Πιο συγκεκριμένα ο συνδυασμός της ωσμωτικής αφυδάτωσης με ξήρανση αέρα έχει σημαντικά καλύτερα αποτελέσματα από ότι θα είχε η κάθε μια μέθοδος από μόνη της [60], [63].

Εκτός από τα πλεονεκτήματα η ωσμωτική αφυδάτωση έχει και ένα σημαντικό μειονέκτημα, ότι υπάρχει περίπτωση να επηρεάζει την γεύση ως προς την αλμυρότητα και την γλυκύτητα, σε περίπτωση που χρησιμοποιείται διαλύτης υψηλής συγκέντρωσης. . Βέβαια, αυτό μπορεί να περιοριστεί αρκετά άμα βελτιστοποιηθεί η διαδικασία της αφυδάτωσης για το συγκεκριμένο τρόφιμο και βρεθούν οι κατάλληλες συνθήκες. [63].

## 4. Εδώδιμη επικάλυψη

### 4.1 Εισαγωγή

Τα φρούτα και τα λαχανικά αποτελούν βασικά συστατικά της καθημερινής διατροφής και είναι ιδιαίτερα απαιτητικά τα τελευταία χρόνια από το μεγαλύτερο μέρος του πληθυσμού. Αποτελούν δεξαμενή βιταμινών, μετάλλων, αντιοξειδωτικών, φυτικών ινών και αρωματικών ενώσεων που εύκολα υποπίπτουν σε αντιξοότητες. Ακόμα είναι ιδιαίτερα ευπαθή σε μηχανικές αλλοιώσεις και περίπου το 50% των φρέσκων προϊόντων αλλοιώνονται κατά τη συγκομιδή, το χειρισμό, τη μεταφορά και την αποθήκευση. Ιδιαίτερα οι απώλειες των φρούτων και των λαχανικών μετά την συγκομιδή τους είναι πολύ σημαντικό πρόβλημα [64].

Στην αγορά των φρούτων και λαχανικών, τα χαρακτηριστικά που κρίνουν την εμπορευσιμότητα τους είναι η υφή, το χρώμα, η εμφάνιση, η γεύση, η θρεπτική αξία και η μικροβιακή ασφάλεια. Ο καταναλωτής κρίνει μέσω αυτών οπότε αυτά επηρεάζουν σημαντικά την πώληση τους. Η εδώδιμη επικάλυψη μπορεί να λύσει τα μεγαλύτερα προβλήματα που αναφέρθηκαν παραπάνω και να αυξήσει τον χρόνο ζωής των φρούτων και των λαχανικών [64].

Η εδώδιμη επικάλυψη είναι μια φιλική για το περιβάλλον συσκευασία, η οποία αντικαθιστά το πλαστικό ή το συνθετικό υλικό. Για αυτό έχει και μεγάλη ανάπτυξη η δημοτικότητα της καθώς υπάρχει μεγάλη αναζήτηση, στη βιομηχανία τροφίμων, τρόπων συσκευασίας για αντικατάσταση του πλαστικού και ταυτόχρονα καλύτερα αποτελέσματα. Υπάρχει διαφοροποίηση μεταξύ της εδώδιμης επικάλυψης και του εδώδιμου φιλμ παρόλο που τρόπος παρασκευής τους είναι ίδιος. Η εδώδιμη επικάλυψη μπορεί να εφαρμοστεί απευθείας πάνω στο τρόφιμο και να πάρει την μορφή της πάνω σε αυτό, ενώ το φιλμ χρησιμοποιείται ως περιτύλιγμα αφού έχει σχηματιστεί.

Η τεχνολογία των εδώδιμων επικαλύψεων φαίνεται να είναι νέα δηλαδή τα τελευταία 50 χρόνια, όμως στην πραγματικότητα χρησιμοποιήθηκαν πρώτη φορά τον 12<sup>ο</sup>-13<sup>ο</sup> αιώνα στην Κίνα και την Ιαπωνία όπως και τους επόμενους αιώνες σε ακόμα περισσότερες χώρες. Μερικά παραδείγματα χρήσης των εδώδιμων επικαλύψεων είναι η επικάλυψη με κεριά σε φρούτα στη Κίνα και από πρωτεΐνες από γάλα σόγιας στη Ιαπωνία ώστε να μειωθεί η απώλεια υγρασίας κατά την μεταφορά και την αποθήκευση. Πρώτη σύγχρονη εμπορική χρήση τους έγινε στην Αμερική τον 19<sup>ο</sup> αιώνα κατά την οποία χρησιμοποιήθηκαν φιλμ ζελατίνης για να διατηρηθούν διάφορα προϊόντα κρέατος. Σήμερα παρόλο που υπάρχουν πολλοί τρόποι για να

συντηρηθούν τα τρόφιμα, οι εδώδιμες επικαλύψεις παραμένει ένα φθηνός και αποτελεσματικός τρόπος ο οποίος συνεχίζει και αναπτύσσεται [65].

## 4.2 Ορισμός

Οι εδώδιμες επικαλύψεις και τα φιλμ ορίζονται ως οποιοδήποτε λεπτό υλικό χρησιμοποιείτε για περιτύλιγμα ή επικάλυψη τροφίμων και φαρμάκων, για να αυξήσει το χρόνο ζωής των προϊόντων και μπορεί να καταναλωθεί μαζί με αυτό είτε να αφαιρεθεί πριν την κατανάλωση. Ο όρος εδώδιμη επικάλυψη έχει δύο κύριες σημασίες. Αρχικά ο όρος εδώδιμη σημαίνει ότι η επικάλυψη μπορεί να καταναλωθεί μαζί με το τρόφιμο με το οποίο είναι σε επαφή, οπότε πρέπει να καλύπτει όλες τις ιδιότητες των ασφαλών προς κατανάλωση υλικών σύμφωνα με την FDA και να είναι αναγνωρισμένη ως ασφαλής για κατανάλωση (GRAS). Δεύτερον, ο όρος επικάλυψη ή φιλμ, σημαίνει ότι πρέπει να έχει ιδιότητες συσκευασίας που να προστατεύει το εσωτερικό μέρος από το εξωτερικό περιβάλλον και να μειώνει την μεταφορά υγρασίας μεταξύ του τροφίμου και του εξωτερικού. Τέλος, δεν θα πρέπει γενικά να επηρεάζει την εμφάνιση, την γεύση και την οσμή του τροφίμου [66].

Λόγω αυτών των ποιοτικών χαρακτηριστικών, το φιλμ θα πρέπει να είναι όσο το δυνατόν πιο λεπτό έχοντας κρατήσει όμως επαρκής μηχανικές ιδιότητες για να προστατεύσει το τρόφιμο. Αρχικά, οι εδώδιμες επικαλύψεις χρησιμοποιούταν για να προστατεύσουν το τρόφιμο και να το θωρακίσουν από την εναλλαγή αερίων και υγρασίας με το περιβάλλον, Όμως, τώρα πια χρησιμοποιούνται με περισσότερα λειτουργικά χαρακτηριστικά όπως να κρατήσουν ή και να δώσουν γεύση και άρωμα, να ανεβάσουν την διατροφική αξία του τροφίμου σε βιταμίνες και αντιοξειδωτικά και να ενισχύσουν αντιμικροβιακά το τρόφιμο. Τέλος, ενισχύουν την ποιότητα των τροφίμων προστατεύοντας τα από φυσικές, χημικές και μικροβιακές αλλοιώσεις όπως η απώλεια υγρασίας, η μικροβιακή φθορά και η οξείδωση των λιπιδίων και των ενζύμων με την οποία έρχεται και η αλλοίωση του φυσικού χρώματος των τροφίμων [66].

## 4.3 Γενικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά

Οι εδώδιμες επικαλύψεις για να θεωρούνται επιτυχημένες για το σκοπό τους πρέπει να έχουν κάποια βασικά χαρακτηριστικά τα οποία κάθε φορά είναι διαφέρουν ανάλογα με το αποτέλεσμα που πρέπει να επιτευχθεί και το τύπο του τροφίμου που επικαλύπτεται. Τα βασικά από αυτά τα χαρακτηριστικά που θα πρέπει να έχει μια ιδανική εδώδιμη επικάλυψη είναι τα εξής [65], [67]:



- Να μην περιέχουν τοξικά, αλλεργικά και δύσκολα στη πέψη υλικά
- Να παρέχουν προστασία και να αποτρέπουν μηχανικές ζημιές κατά την μεταφορά, την αποθήκευση και τον χειρισμό τους
- Να έχει καλή και ομοιόμορφη κάλυψη στην επιφάνεια του τροφίμου
- Να ελέγχει την μεταφορά υγρασίας προς τα μέσα και προς τα έξω ώστε να διατηρείτε το επιθυμητό επίπεδο
- Να παρέχει την επιθυμητή διαπερατότητα των αερίων που χρειάζονται για την αερόβια και αναερόβια αναπνοή, ώστε να καθυστερεί η γήρανση του προϊόντος
- Αποτρέπει την απώλεια ή την πρόσληψη συστατικών που προσδίδουν γεύση, άρωμα, και γενικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά που είναι απαραίτητα για την αποδοχή από τον πελάτη καθώς επίσης και δεν αλλοιώνει αυτά τα χαρακτηριστικά
- Διατηρεί ή να ενισχύει τα αισθητικά χαρακτηριστικά του προϊόντος
- Να χρησιμοποιείτε ως φορέας για επιθυμητά πρόσθετα, όπως αρώματα, θρεπτικά συστατικά κ.α.
- Να αποτρέπει την μικροβιακή ανάπτυξη τόσο στην επικάλυψη όσο και εσωτερικά του τροφίμου
- Τέλος, να είναι οικονομική και να κατασκευάζεται εύκολα.

Για την αξιολόγηση της εδώδιμης επικάλυψης προκειμένου να επιτευχθούν τα καλύτερα δυνατά αποτελέσματα ελέγχονται κάποιοι ποιοτικοί παράμετροι. Μερικές από αυτές τις παραμέτρους είναι οι εξής [65]:

- Διαπερατότητα υδρατμών ή ταχύτητα μετάδοσης υδρατμών
- Διαπερατότητα οξυγόνου ή ταχύτητα μετάδοσης οξυγόνου
- Απορρόφηση υγρασίας κατά την αποθήκευση
- Μηχανικές ιδιότητες: ελαστικότητα, αντοχή σε εφελκυσμό κ.α.
- Χημικές ιδιότητες: διαλυτότητα σε νερό και σε άλλα διαλύματα κ.α.
- Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά: γεύση, οσμή, εμφάνιση και αφή
- Φυσικές ιδιότητες: διαφάνεια και μετάδοση φωτός κ.α.

- Αντιμικροβιακές ιδιότητες

#### 4.4 Σύνθεση και πρόσθετα

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω οι εδώδιμες επικαλύψεις χρησιμοποιούνται σε πολλά διαφορετικά τρόφιμα, από φρούτα και λαχανικά μέχρι κρέατα, ψάρια κτλ. Οπότε η σύνθεση τους κάθε φορά διαφέρει αρκετά ώστε να καταφέρνει να έχει το καλύτερο δυνατό αποτέλεσμα για το κάθε τρόφιμο. Η σύνθεση των τυπικών εδώδιμων επικαλύψεων αποτελείται από τρία βασικά μέρη: το βασικό υλικό της σύνθεσης του φιλμ, ο πλαστικοποιητής και τα πρόσθετα. Τα βασικά υλικά της σύνθεσης του φιλμ είναι πρωτεΐνες, πολυσακχαρίτες και λιπίδια είτε μόνα τους είτε σε συνδυασμό μεταξύ τους. Λόγω των ειδών των βασικών υλικών για την εύκολη φυσική διάλυση τους επιλέγονται για διαλύτες κυρίως το νερό, οι αλκοόλες και οι υδατικές αλκοόλες.

Μετά από τα βασικά υλικά και την δημιουργία των διαλυμάτων εισάγεται ο πλαστικοποιητής και τα πρόσθετα. Ο πλαστικοποιητής είναι κυρίως η γλυκερόλη αλλά χρησιμοποιούνται επίσης και άλλα υλικά και στόχος του είναι να βοηθήσει στην δημιουργία της επικάλυψης και στις υψηλές μηχανικές ιδιότητες του. Βέβαια το αρνητικό του είναι ότι όσο περισσότερο πλαστικοποιητής χρησιμοποιείται και αυξάνονται οι μηχανικές ιδιότητες τόσο πιο παχύ γίνεται το φιλμ. Τέλος τα πρόσθετα χρησιμοποιούνται για να προσδώσουν στο φιλμ κάποιες προστατευτικές ιδιότητες, αλλαγές στην αφή και την όψη και διατροφική αξία και μπορεί να είναι αντιμικροβιακοί παράγοντες, βιταμίνες, αντιοξειδωτικά, χρωστικές κτλ [68], [69]. Στον παρακάτω πίνακα αναφέρονται τα βασικά υλικά της σύνθεσης μαζί με κάποια παραδείγματα:

**Πίνακας 11: Οι κύριες πρώτες ύλες για την δημιουργία εδώδιμων επικαλύψεων σε φρούτα και λαχανικά [65]**

Βασικά υλικά της σύνθεσης	Ζωικές πρωτεΐνες	Κολλαγόνο, ζελατίνη, καζεΐνη, πρωτεΐνη από ασπράδι αυγού, πρωτεΐνη ορού γάλακτος, κερατίνη
	Φυτικές πρωτεΐνες	Πρωτεΐνη σόγιας, μπιζελιού, φιστικιού, πίτουρο ρυζιού, πρωτεΐνη από μικροφύκος, ζεΐνη καλαμποκιού
	Πολυσακχαρίτες	Χιτοζάνη, Πηκτίνη, μικροκρυσταλλική κυτταρίνη, ινουλίνη, πολλουλάνη μεθυλοκυτταρίνη, αλγινικό νάτριο, καραγενάνη
	Λιπίδια	Κεριά ( παραφίνη, κεριό μέλισσας, κεριό

		καντηλιών, κεριά από πίτουρο ριζιού )
	Ρητίνες	Shellac, terpene, asafoetida, benjoin, chicle, guarana, myrrhe, oporonax, sandaraque, styrax
Πλαστικοποιητές	Πολυόλες κ.α	Γλυκερόλη, σιρόπι καλαμποκιού, νερό, προπυλενογλυκόλη
Πρόσθετα	Άρωμα και χρώμα	Χρωστικές, μέντα, έλαιο με άρωμα, κανέλλα, ρίγανη, βανίλια
	Αντιμικροβιακά και αντιοξειδωτικά	Οργανικά οξέα (ακετικό, βενζοϊκό κ.α.), πολυπεπτίδια, νιτρικά και θειώδη, χιτοζάνη, ασκορβικό οξύ, κιτρικό οξύ, aloe vera gel
	Θρεπτικά συστατικά	Βιταμίνη Ε, ασβέστιο

Κάθε εδώδιμη επικάλυψη έχει και κάποιους περιορισμούς οι οποίοι καθορίζονται σε μεγάλο βαθμό από τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν για τη σύνθεση του. Συνοπτικά παρουσιάζονται στο παρακάτω πίνακα αυτοί οι περιορισμοί:

Πίνακας 12: Περιορισμοί εδώδιμων επικαλύψεων και φιλμ με βάση το βασικό υλικό της σύνθεσης τους [70]

Τύπος εδώδιμης επικάλυψης και φιλμ	Περιορισμοί
Με βάση πρωτεΐνες	Χαμηλές μηχανικές ιδιότητες όπως η αντοχή στον εφελκυσμό, η θραύση κατά την επιμήκυνση, η αντοχή σε διάτρηση κ.λπ.
Με βάση πολυσακχαρίτες	Μικρή ικανότητα φραγμού της υγρασίας λόγω υδρόφιλης φύσης των συστατικών
Με βάση λιπίδια	α) Μικρή ικανότητα φραγμού του οξυγόνου η οποία καθιστά τα τρόφιμα επιρρεπή σε οξειδωτικές αλλοιώσεις β) Επηρεάζουν αρνητικά τις αισθητικές ιδιότητες των τροφίμων.

#### 4.5 Μηχανισμός σχηματισμού και εφαρμογής της επικάλυψης

Η απόδοση της εδώδιμης επικάλυψης είναι άμεσα εξαρτώμενη από τον τρόπο εφαρμογής της πάνω στο τρόφιμο. Ο τρόπος εφαρμογής που επιλέγεται κάθε φορά εξαρτάται από τη φύση του τροφίμου, τις ιδιότητες της επιφάνειας και τα χαρακτηριστικά που πρέπει να έχει το τελικό προϊόν. Το στάδιο στο οποίο η επικάλυψη είναι ακόμα υγρή είναι πολύ σημαντικό καθώς υπάρχει διάχυση ουσιών από και προς το τρόφιμο και επηρεάζει την δομή της επικάλυψης. Οι μέθοδοι αυτές εξαρτώνται από τις ιδιότητες των τροφίμων και τους φυσικούς χαρακτηρισμούς, όπως

η επιφανειακή τάση, η πυκνότητα και το ιξώδες των υλικών επικάλυψης. Οι φυσικές παράμετροι των προϊόντων τροφίμων, όπως το σχήμα και το μέγεθος, το επιθυμητό πάχος επικάλυψης, επηρεάζουν την επιλογή της μεθόδου και της συσκευής επικάλυψης. Οι προσαρμογές των στρωμάτων κάλυψης στην επιφάνεια των προϊόντων τροφίμων έγιναν με τη χρήση της διαδικασίας ξήρανσης, θέρμανσης, ψύξης και πήξης. Οι πιο κλασσικές μέθοδοι επικάλυψης είναι: με εμβάπτιση, με ψεκασμό, με ρευστοποιημένη κλίνη και με rapping αλλά υπάρχουν και πολλές ακόμα πιο σύγχρονες [71], [72].

#### 4.5.1 Εμβύθιση

Η εμβύθιση είναι η πιο κοινή μέθοδος για την εφαρμογή της εδώδιμης επικάλυψης πάνω στο τρόφιμο. Έχει αποδειχθεί ότι το πάχος των επικαλύψεων εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά του διαλύματος, όπως η πυκνότητα, το ιξώδες, η επιφανειακή τάση, καθώς και ο ρυθμός απορρόφησης της επιφάνειας. Η διαδικασία που ακολουθείται είναι [73]:

1. Αρχικά βύθιση του προϊόντος μέσα στο διάλυμα και παραμονή εκεί για κάποιο χρονικό διάστημα ώστε να υπάρχει αλληλεπίδραση μεταξύ του διαλύματος και της επιφάνειας του τροφίμου και να καλυφθεί πλήρως αυτό,
2. Στη συνέχεια απομάκρυνση από το διάλυμα και απομάκρυνση της περίσσειας του διαλύματος ώστε να σχηματιστεί ένα λεπτό στρώμα από αυτό και
3. Τελικά η εξάτμιση του διαλύτη και της υγρασίας είτε με ξήρανση είτε με θερμότητα σε κάποιο μηχάνημα ή σε συνθήκες περιβάλλοντος μέχρι να σχηματιστεί το επιθυμητό φιλμ.

Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι ότι καταφέρνει να καλύψει πλήρως όλη την επιφάνεια, έχει χαμηλό κόστος και πολύ απλή στη χρήση. Επίσης έχει πολύ καλά αποτελέσματα σε τραχείς και σύνθετες μορφολογικά επιφάνειες. Από την άλλη, συνήθως το πάχος είναι πιο μεγάλο από ότι επιθυμείτε και παρουσιάζει δυσκολίες τόσο στη αποθήκευση όσο και στις ιδιότητες της. Ακόμα, προκύπτουν διάφορα ζητήματα, όπως η συσσώρευση αποβλήτων ή βρωμιάς και η ανάπτυξη μικροβίων στο διάλυμα. Επιπλέον, μειονέκτημα της μεθόδου εμβύθισης είναι η αραίωση του εξωτερικού στρώματος και υποβάθμιση της λειτουργικότητάς του [74], [75].

#### 4.5.2 Ψεκασμός

Ο ψεκασμός είναι από τις πιο κοινές μεθόδους για την επικάλυψη τροφίμων. Αυξάνει την επιφάνεια του υγρού μέσω του σχηματισμού σταγονιδίων και τα

διανέμει στην επιφάνεια του τρόφιμου. Υπάρχουν τρεις τεχνικές ψεκασμού για την εφαρμογή των εδώδιμων επικαλύψεων σε τρόφιμα [73]:

1. Ψεκασμός με αέρα: Σε αυτήν την τεχνική ο αέρας σε μεγάλη ταχύτητα περικλείει το διάλυμα που ρέει σε χαμηλή ταχύτητα και η τριβή μεταξύ τους διαταράσσει τη ροή του και δημιουργεί σταγόνες. Στη συνέχεια, αυτές οι σταγόνες με ακροφύσιο καταλήγει πάνω στο τρόφιμο.
2. Ψεκασμός χωρίς αέρα: Σε αυτή τη μέθοδο η μεγάλη διαφορά είναι ότι ο διαχωρισμός του υγρού σε μικρά σωματίδια γίνεται με ακροφύσιο και στη συνέχεια ακολουθείτε παρόμοιά διαδικασία. Το πλεονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι όταν υπάρχουν διαλύματα με μεγάλη περιεκτικότητα σε στερεά και όταν είναι αναγκαία μεγάλη ταχύτητα.
3. Ψεκασμός υπό πίεση: Σε αυτήν την μέθοδο πάλι δεν χρησιμοποιείται αέρας όπως στην δεύτερη αλλά η διαφορά είναι ότι η εφαρμογή της επικάλυψης πάνω στο τρόφιμο γίνεται με χρήση μεγάλης πίεσης που αυξάνει την επιφανειακή τάση του διαλύματος και γίνεται καλύτερα η εφαρμογή.

Οι παράμετροι που επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα του ψεκασμού είναι η πίεση, το ιξώδες, η επιφανειακή θερμοκρασία και η τάση του διαλύματος επικάλυψης, καθώς και το σχήμα και ο σχεδιασμός του ακροφυσίου ψεκασμού. Η πίεση ψεκασμού είναι πρέπει να είναι κάτω από 3,5 bar αλλιώς θα επηρεαστεί ο σωστός σχηματισμός του φιλμ. Ο ρυθμός ροής, το μέγεθος των σταγονιδίων, η απόσταση, η γωνία και ο ρυθμός επικάλυψης, επηρεάζονται από το σχήμα του ακροφυσίου. Το κλασσικό μέγεθος της σταγόνας είναι 20 μm αλλά μπορεί να μικρύνει περαιτέρω με συγκεκριμένα όργανα. Τέλος, παράμετροι όπως χρόνοι ξήρανσης, θερμοκρασίες ξήρανσης, διαδικασία ξήρανσης κ.λπ, είναι σημαντικοί για τη επικάλυψη με ψεκασμό [74], [76].

#### **4.5.3 Ρευστοποιημένη κλίνη**

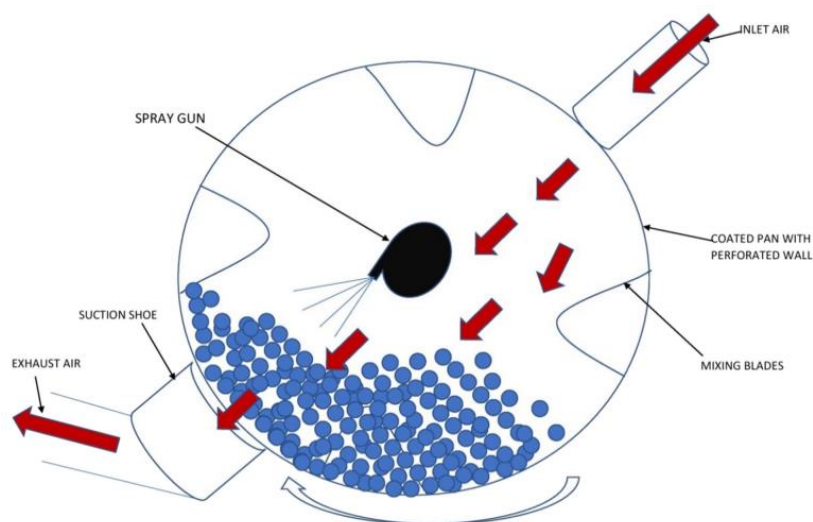
Η μέθοδος της ρευστοποιημένης κλίνης χρησιμοποιείται για την εφαρμογή λεπτών στρώσεων υλικού επικάλυψης σε ξηρά σωματίδια εξαιρετικά χαμηλής πυκνότητας ή/και μικρού μεγέθους [77]. Η διαδικασία της ρευστοποίησης λαμβάνει χώρα όταν μια ροή υγρού κινείται προς τα πάνω μέσω μιας κλίνης σωματιδίων που επιτυγχάνουν επαρκή ταχύτητα για να βοηθήσουν τα σωματίδια χωρίς να τα εκτρέψουν στη ροή του υγρού. Η μέθοδος της ρευστοποιημένης κλίνης ταξινομείται σε τρεις κατηγορίες: ψεκασμός κορυφής, ψεκασμός πυθμένα και περιστροφικός ψεκασμός ωστόσο στη βιομηχανία χρησιμοποιείτε κυρίως η μέθοδος του ψεκασμού κορυφής που είναι πιο αποτελεσματική [78]. Επίσης λύνει το μεγαλύτερο πρόβλημα που προκύπτει από τη

μέθοδο του panning δηλαδή το σχηματισμό συμπλοκών και έχει μικρό χρόνο λειτουργίας.

Η μέθοδος αυτή απορρίφθηκε από τη βιομηχανία τροφίμων, ιδίως λόγω των υψηλών δαπανών, καθώς σε σύγκριση με άλλες μεθόδους επικάλυψης, η ρευστοποιημένη κλίνη απαιτεί μεγαλύτερη ποσότητα διαλύματος επικάλυψης λόγω της απώλειας στο τοίχωμα της στήλης κατά τον ψεκασμό. Επίσης λόγω της πρόωρης εξάτμισης του διαλύματος μπορεί να δημιουργηθούν ατέλειες στην επικάλυψη [79].

#### 4.5.4 Panning

Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά στην αρχαία Ελλάδα για την εφαρμογή φαρμάκων και η διαδικασία που ακολουθείται ξεκινάει τοποθετώντας το τρόφιμο σε μεγάλα περιστρεφόμενα δοχεία σε σχήμα τηγανιού. Στη συνέχεια, στο δοχείο αυτό προστίθεται το διάλυμα με το οποίο θα γίνει η επικάλυψη και έτσι κατανέμεται ομοιόμορφα στη επιφάνεια του τροφίμου. Ταυτόχρονα στα δοχεία αυτά υπάρχει και παροχή αέρα, η οποία χρησιμοποιείται για να στεγνώσει η επικάλυψη και να πάρει τη μορφή της. Η μέθοδος αυτή παράγει μια διαφανή εδώδιμη επικάλυψη με εξαιρετική ευελιξία. Άλλα πλεονεκτήματα αυτής της μεθόδου περιλαμβάνουν τη δυνατότητα επικάλυψης προϊόντων διαφορετικών σχημάτων. Κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας, το νερό πρέπει να εξατμίζεται περιοδικά ώστε να αποτρέπεται η προσκόλληση τροφίμων και να αποφεύγεται η μεγάλη ποσότητα διαλύματος σε σχέση με το τρόφιμο. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα η διαδικασία να έχει μεγάλη διάρκεια και να είναι οικονομικά ασύμφορη [80].



Εικόνα 10: Μέθοδος εφαρμογής panning για εδώδιμη επικάλυψη [73]

#### 4.6 Σύγχρονα μέσα εδώδιμης επικάλυψης

Η πρόοδος στις διαδικασίες που χρησιμοποιούνται κατά την ανάπτυξη των επικαλύψεων έχει οδηγήσει στην εισαγωγή πολλαπλών τεχνικών, όπως οι νανοεπικαλύψεις (επικαλύψεις με πάχος σε νανόμετρα), πρόσθετες ενώσεις (μείγμα υδροκολλοειδών και λιπιδίων), διαφορετικοί διαλύτες εκχύλισης (αλκοόλη, νερό ή οξέα) και πολυστρωματικό σύστημα στο οποίο η εφαρμογή της επικάλυψης τροποποιείται από ένα στρώμα δραστικών ουσιών, όπως αντιμικροβιακά, αρωματικά και αντιοξειδωτικά. Επίσης έχουν προστεθεί στη βιομηχανία των εδώδιμων επικαλύψεων και νέα υλικά όπως το *Aloe vera* τζελ, εκχυλίσματα από σπόρους *Cajanus cajan* και *Opuntia ficus-indica* κ.α [81].

Αρχικά η μείωση του μεγέθους στην κλίμακα νανομέτρων ( $10^{-9}$  nm) μπορεί να τροποποιήσει θεμελιωδώς τις φυσικές, χημικές και βιολογικές ιδιότητες των ενώσεων με αποτέλεσμα σε νέες δυνατότητες εφαρμογής. Τα οφέλη των νανοϋλικών στη βιομηχανία τροφίμων είναι τεράστια και καλύπτουν πολλές πτυχές, όπως η ασφάλεια των τροφίμων, τα συστήματα παροχής θρεπτικών ουσιών, η βιοδιαθεσιμότητα, τα νέα υλικά για την ανίχνευση παθογόνων και τα υλικά συσκευασίας.

Το νανογαλάκτωμα χρησιμοποιείται στον τομέα των τροφίμων, κυρίως ως μέθοδος διασποράς λιπόφιλων δραστικών συστατικών σε υδατικά μέσα. Παρουσιάζουν μοναδικά φυσικοχημικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά όπως κινητική σταθερότητα και διαυγής ή ημιδιαφανής εμφάνιση που τα καθιστούν χρήσιμα ακόμα και σε ποτά και ροφήματα. Οι πιο συνήθεις δραστικοί παράγοντες που χρησιμοποιούνται στο νανογαλάκτωμα είναι έλαια, τα οποία αυξάνουν την αντιμικροβιακή ικανότητα της επικάλυψης.

Η δυνατότητα βελτίωσης των επιδόσεων των πολυμερών για τη συσκευασία τροφίμων με την προσθήκη νανοσωματιδίων οδήγησε στην ανάπτυξη μιας ποικιλίας πολυμερών νανοϋλικών. Οι επικαλύψεις με νανοσωματίδια βελτιώνουν τις φυσικές, οπτικές και μηχανικές ιδιότητες των επικαλύψεων όπως επίσης γίνεται ευκολότερη η προσθήκη δραστικών παραγόντων. Οι σύγχρονες βελτιωμένες εδώδιμες επικαλύψεις περιέχουν έως και 5% κατά βάρος νανοσωματίδια.

Η τεχνική των πολυστρωματικών εδώδιμων επικαλύψεων είναι ιδιαίτερα πολύτιμη λόγω των ικανοτήτων της να ελέγχει και να χειρίζεται τις ιδιότητες του υλικού και την ενσωμάτωση ενός ευρέος φάσματος λειτουργικών χαρακτηριστικών χωρίς ουσιαστική απώλεια των βιολογικών τους λειτουργιών. Λόγω της κλίμακας των νανομέτρων στη δομή, η τεχνική διευκολύνει την δημιουργία μια ακριβής, σε χαρακτηριστικά, επικάλυψης που επιθυμείτε [82].

## 5. Πειραματικός σχεδιασμός

### 5.1 Υλικά-χημικά Αντιδραστήρια

Στη παρούσα διπλωματική εργασία ως βασικές πρώτες ύλες χρησιμοποιούνται φρέσκα μούρα (μύρτιλα) και τα υλικά για τη δημιουργία των εδώδιμων επικαλύψεων και για την ωσμωτική αφυδάτωση των μύρτιλων. Τα μούρα αγοράστηκαν από καταστήματα, φρέσκα και χρησιμοποιούνταν κατευθείαν ώστε να έχουν διατηρήσει όσο το δυνατόν περισσότερα θρεπτικά συστατικά όταν ξεκινήσει η πειραματική επεξεργασία τους.

Για την ωσμωτική αφυδάτωση χρησιμοποιήθηκαν διαλύματα από απιονισμένο νερό και γλυκερόλη, χυμό μήλου και σακχαρόζη. Για τις εδώδιμες επικαλύψεις χρησιμοποιήθηκε άμυλο από πατάτα, χιτοζάνη και πηκτίνη ως βασικά υλικά των επικαλύψεων. Για πρόσθετα χρησιμοποιήθηκαν Tween, γλυκερόλη και οξικό οξύ. Όλα τα προηγούμενα αγοράστηκαν από καταστήματα εμπορίου και προμηθευτές εργαστηριακού εξοπλισμού και αντιδραστηρίων.

Για την εκχύλιση των συστατικών χρησιμοποιήθηκε μικροφύκος *Chlorella vulgaris*, διάλυμα NaOH, θειικό αμμώνιο, και αιθανόλη. Το μικροφύκος *Chlorella vulgaris* αγοράστηκε σε μορφή ξηρής σκόνης και επεξεργασμένο ώστε να είναι εδώδιμο και να μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή εδώδιμων επικαλύψεων. Τα υπόλοιπα αγοράστηκαν από καταστήματα εμπορίου και προμηθευτές εργαστηριακού εξοπλισμού και αντιδραστηρίων.

### 5.2 Ωσμωτική αφυδάτωση μούρων

Τα μούρα έχουν πολύ καλή απόδοση στην αύξηση του χρόνου ζωής τους με την μέθοδο της ωσμωτικής αφυδάτωσης. Έγινε βιβλιογραφική έρευνα και βρέθηκαν ποικίλα διαλύματα για την χρήση τους στην ωσμωτική αφυδάτωση και από αυτά επιλέχθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν τέσσερα:

1. Ωσμωτική αφυδάτωση με διάλυμα 50% w/w γλυκερόλη σε νερό
2. Ωσμωτική αφυδάτωση με διάλυμα 50% w/w ζάχαρη σε νερό
3. Ωσμωτική αφυδάτωση με διάλυμα 50° Brix χυμό μήλου
4. Ωσμωτική αφυδάτωση με διάλυμα 25:25° Brix γλυκερόλη, χυμός μήλου.



Μετά την δημιουργία των διαλυμάτων και την καλή ανάδευση τους τοποθετούνται σε γυάλινα βάζα μαζί με μια ποσότητα μούρων, σε αναλογία 1:4. Στη συνέχεια, τα βάζα σφραγίζονται με το καπάκι τους, και τοποθετούνται σε θεرمόλουτρο στους 45°C και παραμένουν εκεί για 16 ώρες. Μετά το πέρας των 16 ωρών, τα μούρα βγαίνουν από το διάλυμα και αφήνονται να στεγνώσουν για λίγη ώρα ώστε να μετρηθεί σωστά η απώλεια βάρους και για να γίνει αποτελεσματικά η περαιτέρω επεξεργασία τους.

### 5.3 Εκχύλιση από μικροάλγη

Στη παρούσα διπλωματική εργασία έγινε εκχύλιση των πρωτεϊνών και του αμύλου από τη *Chlorella vulgaris* με ξεχωριστή πειραματική διαδικασία στο καθένα. Σκοπός ήταν να παραληφθεί πρωτεΐνη όσο το δυνατόν πιο καθαρή και αντίστοιχα και άμυλο αλλά με διαδικασία που επιτρέπει στη συνέχεια να καταναλωθούν οπότε υπήρχε μεγάλος περιορισμός στις μεθόδους επεξεργασίας της.

#### 5.3.1 Εκχύλιση πρωτεϊνών

Για την εκχύλιση των πρωτεϊνών χρησιμοποιήθηκε η τροποποιημένη υδατική εκχύλιση με χρήση άλατος ammonium sulfate:

1. Αρχικά σε 18 mL διαλύεται 1 g *Chlorella vulgaris* και αναδεύεται καλά έως την πλήρη ομογενοποίηση. Αφού ολοκληρωθεί το στάδιο αυτό προστίθενται σταγόνες διαλύματος NaOH με συγκέντρωση 1 M μέχρι το pH να φτάσει την τιμή 11. Ακολουθεί ήπια ανάδευση με μαγνητικό αναδευτήρα για 30 min και ελέγχεται καθ' όλη την διάρκεια το pH για διόρθωση σε περίπτωση μείωσης του.
2. Στη συνέχεια το διάλυμα φυγοκεντρείται για 10 min στις 2550 rpm και κρατείται το υπερκείμενο υγρό για περαιτέρω επεξεργασία.
3. Στο υπερκείμενο υγρό προστίθεται σταδιακά το άλας θειικό αμμώνιο μέχρι τη συγκέντρωση κορεσμού του, που είναι περίπου 74 g/100 mL, με ταυτόχρονη ανάδευση του για 3 ώρες. Μετά το πέρας της ανάδευσης του μίγματος, αυτό αφήνεται στο ψυγείο για τουλάχιστον 8 ώρες.
4. Έπειτα φυγοκεντρείται ξανά στις ίδιες συνθήκες και κρατείται πάλι το υπερκείμενο υγρό με τη βοήθεια πιπέτας που στη συνέχεια διηθείται υπό κενό.

5. Τέλος, μετά την εκχύλιση των πρωτεϊνών, παραλαμβάνονται υπό τη μορφή τζελ από το διηθητικό χαρτί οι πρωτεΐνες και ακολουθεί λυοφιλίωση, ώστε να πάρουν τη μορφή σκόνης. Για να επιτευχθεί αυτό πρέπει πρώτα να καταψυχθούν στους  $-30^{\circ}\text{C}$  για 48 ώρες και στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκε το όργανο Freeze dryer Tabletop Freeze Dryer BK-FD10S προκειμένου να γίνει ξήρανση των δειγμάτων υπό ελαττωμένη πίεση.



Εικόνα 11: το όργανο Freeze Dryer BK-FD10S.

### 5.3.2 Εκχύλιση αμύλου

Μέθοδος φυσικοχημικής διάσπασης κυττάρου:

1. Αρχικά σε 5 mL NaOH συγκέντρωσης 1 M διαλύονται 1,2 g σκόνη ξηρή *Chlorella vulgaris*. Το διάλυμα τοποθετείται σε υδατόλουτρο στους  $90^{\circ}\text{C}$  για 10 min και στη συνέχεια αφήνεται να κρυώσει σε θερμοκρασία δωματίου προτού επεξεργαστεί περαιτέρω.

2. Στη συνέχεια ακολουθεί ο διαχωρισμός του αμύλου. Το διάλυμα αφού φτάσει σε θερμοκρασία δωματίου φυγοκεντρείται στις 3500 rpm για 10 λεπτά και το υπερκείμενο υγρό απορρίπτεται.
3. Στο άμυλο που έχει μείνει ως ίζημα από τη φυγοκέντριση προστίθεται περίπου 30 mL αιθανόλη και τοποθετείται στο θερμολουτρό για 10 λεπτά στους 80°C. Το διάλυμα φυγοκεντρείται και το ίζημα κρατείται και ξανά γίνεται η ίδια διαδικασία μέχρι το ίζημα να έχει αρκετά λευκό χρώμα. Με αυτό τον τρόπο απομακρύνονται από το άμυλο η χλωροφύλλη και κάποια υπολείμματα από άλλες χημικές ενώσεις που έχουν απομείνει.
4. Τέλος, όταν έχουμε λευκό χρώμα στο ίζημα, προστίθεται 25 mL απιονισμένο νερό και φυγοκεντρείται. Το υπερκείμενο υγρό απορρίπτεται και το βήμα αυτό επαναλαμβάνεται άλλη 1 φορά και στη συνέχεια ακολουθεί ξήρανση στους 50°C.

#### 5.4 Εδώδιμη επικάλυψη

Οι εδώδιμες επικαλύψεις που χρησιμοποιήθηκαν στην διπλωματική εργασία δημιουργήθηκαν τόσο από βιβλιογραφική έρευνα από αντίστοιχες επικαλύψεις σε διάφορα φρούτα άλλα και από διάφορες αλλαγές σε αυτές ώστε να μπορέσουν να έχουν σωστή προσαρμογή πάνω στα μούρα και όλα τα χαρακτηριστικά της σωστής επικάλυψης. Ο τρόπος παρασκευής των διαλυμάτων των τεσσάρων διαφορετικών επικαλύψεων είναι ο εξής:

1. Εδώδιμη επικάλυψη με βασικό υλικό το πολυσακχαρίτη χιτοζάνη:

Προστίθεται 1% v/v οξικό οξύ απιονισμένο νερό και στη συνέχεια 2% w/v χιτοζάνη. Ακολουθεί πολύ καλή ανάδευση του μίγματος με μαγνήτη και η προσθήκη 50% γλυκερίνη w/(w χιτοζάνης) ως πλαστικοποιητή και 0,2% w/v Tween 20 ώστε να μπορέσει σχηματιστεί η μεμβράνη πάνω στο μούρο.

2. Εδώδιμη επικάλυψη με βασικά υλικά το πολυσακχαρίτη άμυλο και την πηκτίνη:

Αρχικά, σε απιονισμένο νερό προστίθεται 2% w/v άμυλο και αναδεύεται για 3 h στους 90°C. Στη συνέχεια, σε ζεστό νερό προστίθεται 4% w/v πηκτίνη με 25% γλυκερίνη w/(w πηκτίνης), ως πλαστικοποιητή, και δίνεται ιδιαίτερη προσοχή να διαλυθεί πλήρως η πηκτίνη. Τέλος, αναμιγνύονται τα δύο διαλύματα και αναδεύονται έως ότου χρησιμοποιηθούν.

3. Εδώδιμη επικάλυψη με βασικό υλικό το πολυσακχαρίτη άμυλο που έχει και εκχυλιστεί από την *Chlorella vulgaris* και πηκτίνη:

Η διαδικασία που ακολουθείται είναι ίδια με παραπάνω (2).

4. Εδώδιμη επικάλυψη με βασικό υλικό τη πρωτεΐνη που έχει εκχυλιστεί από τη *Chlorella vulgaris*:

Αρχικά σε απιονισμένο νερό διαλύονται 6% w/v πρωτεΐνη υπό συνεχή ανάδευση με 50% w/(w πρωτεΐνης) γλυκερίνη και προστίθεται και 0,4 w/v Tween 20. Στη συνέχεια, ακολουθεί η ρύθμιση του pH στην τιμή  $11 \pm 0,1$  με διάλυμα 1 N NaOH και ζεσταίνεται στους 70°C για 20 min μέσα σε θερμόλουτρο.

5. Εδώδιμη επικάλυψη με προσθήκη βιοδραστικού συστατικού:

Η προσθήκη του βιοδραστικού συστατικού γίνεται στις μεμβράνες των πρωτεϊνών και του αμύλου από τη *Chlorella vulgaris*. Η διαδικασία που ακολουθείται για τη δημιουργία τους είναι η ίδια με αυτή που αναφέρθηκε παραπάνω και στη συνέχεια προστίθεται 2.5% v/v έλαιο δεντρολίβανου και αναδεύεται μέχρι να ομογενοποιηθεί πλήρως.

## 5.5 Αξιολόγηση εδώδιμης επικάλυψης

Για την αξιολόγηση της εδώδιμης επικάλυψης αρχικά δημιουργήθηκαν τα διαλύματα των επικαλύψεων και απλώθηκαν σε γυάλινα πιάτα διαμέτρου 6 cm. Αυτά τα πιάτα ξηράθηκαν σε θερμοκρασία 30°C και σχετική υγρασία  $50 \pm 2\%$  για 24 ώρες. Στη συνέχεια αποθηκεύτηκαν σε σακούλες με αεροστεγές κλείσιμο σε ψυχρό και ξηρό κλίμα μέχρι την περαιτέρω ανάλυση.



Εικόνα 12: Τμήματα των τεσσάρων εδώδιμων φιλμ, στα οποία γίνεται η αξιολόγηση τους.

### 5.5.1 Πάχος μεμβράνης και πυκνότητα

Οι φυσικές και μηχανικές ιδιότητες των μεμβρανών επηρεάζονται από το πάχος τους. Η μέτρηση του πάχους γίνεται με ηλεκτρονικό ψηφιακό, παχύμετρο, με ελάχιστη μέτρηση το 0,001 mm, με μέτρηση σε διάφορα σημεία και υπολογισμού του μέσου όρου. Στη συνέχεια αυτό το πάχος χρησιμοποιήθηκε για να προσδιοριστούν ανάλογα και οι υπόλοιπες μετρήσεις της αξιολόγησης της εδωδιμης επικάλυψης. Στη συνέχεια η πυκνότητα της μεμβράνης προσδιορίστηκε από το βάρος και τον όγκο της. Ο όγκος υπολογίστηκε σύμφωνα με την περιοχή και το πάχος του φιλμ.

### 5.5.2 Περιεχόμενη υγρασία

Ο προσδιορισμός της περιεχόμενης περιεκτικότητας υγρασίας των φιλμ των επικαλύψεων πραγματοποιείται με θερμοβαρυνμετρική ανάλυση. Οι μεμβράνες εισέρχονται σε φούρνο με ελαττωμένη πίεση στους 100°C για περίπου 2 ώρες. Το βάρος τους ζυγίζεται πριν και μετά την θέρμανση και η περιεκτικότητα σε υγρασία (Y) εντός των μεμβρανών υπολογίζεται με την εξίσωση [83]:

$$Y(\%) = \frac{m_1 - m_2}{m_1} * 100 \quad (\text{Εξ. 1})$$

Όπου  $m_1$  και  $m_2$  είναι το αρχικό και το τελικό βάρος των δειγμάτων, αντίστοιχα.

### 5.5.3 Διαλυτότητα σε νερό

Δείγματα των φιλμ (20 mg) ζυγίστηκαν και προστίθεται 20 mL νερό σε σωλήνες φυγοκέντρησης 50 mL. Τα φιλμ διατηρήθηκαν σε νερό για 48 h σε θερμοκρασία δωματίου και στη συνέχεια φυγοκεντρήθηκαν στις 3500 rpm για 10 min και τα υπερκείμενα απορρίφθηκαν. Το υπόλειμμα στο σωλήνα φυγοκέντρησης ξηράθηκε στους 60°C και το βάρος του μετρήθηκε. Η διαλυτότητα σε νερό υπολογίστηκε ως εκατοστιαία μείωση του βάρους με την εξίσωση [83]:

$$\text{Διαλυτότητα}(\%) = \frac{m_1 - m_2}{m_1} * 100 \quad (\text{Εξ. 2})$$

Όπου:  $m_1$  και  $m_2$  είναι το αρχικό και το τελικό βάρος των δειγμάτων, αντίστοιχα.

#### 5.5.4 Οπτικές ιδιότητες: Χρώμα και διαφάνεια και μετάδοση φωτός

Η μέτρηση του χρώματος γίνεται με το φωτόμετρο Miniscan XE (Hunter Associates Laboratory Inc, Virginia), με διάφραγμα κεφαλής μέτρησης διαμέτρου 4 mm. Οι τιμές υπολογίζονται με βάση το σύστημα μέτρησης χρώματος CIELAB, με την παράμετρο L να προσδιορίζεται από την φωτεινότητα, την παράμετρο a από τις αποκλίσεις του κόκκινου και του πράσινου και την παράμετρο b από τις αποκλίσεις του κίτρινου και του μπλε. Σε ένα κομμάτι του φιλμ τοποθετείται η κεφαλή του φωτόμετρου και γίνονται τέσσερις μετρήσεις σε διαφορετικά σημεία από τις οποίες κρατείτε ο μέσος όρος και το σχετικό σφάλμα τους.

Για την διαφάνεια και την μετάδοση του φωτός χρησιμοποιείται φασματοφωτόμετρο UV-Vis (UV-Vis Spectrophotometer UV-M51, BEL PHOTONICS). Σε κυψελίδες τοποθετούνται οι επικαλύψεις με τέτοιο τρόπο ώστε να καλύπτεται όλη η επιφάνεια τους και η συχνότητα ορίζεται 600 nm. Οι κυψελίδες τοποθετούνται μέσα και υπολογίζεται η τιμή A600 [84].

#### 5.5.5 Διαπερατότητας υγρού-αερίου

Ο δείκτης διαπερατότητας των δειγμάτων αξιολογήθηκε βαρυμετρικά με μικρές τροποποιήσεις στο πρωτόκολλο. Σε ένα γυάλινο βάζο τοποθετείται silica gel και στη συνέχεια σφραγίζεται με επικάλυψη διαμέτρου 6 cm όσο δηλαδή η διάμετρος του βάζου. Η μεμβράνη κολλάται σε αυτό με παραφίλμ και τοποθετείται το βάζο σε περιβάλλον με 90% σχετική υγρασία στους 20°C. Μετά από κάθε 24 ώρες, το βάζο ζυγίζεται μέχρι να επιτευχθεί σταθερή αύξηση του βάρους [85]. Τέλος, ο δείκτης διαπερατότητας υπολογίζεται από την εξίσωση:

$$WVTR \left( \frac{g*s}{m^2} \right) = \frac{\Delta B}{\Delta t * A} \text{ (Εξ. 3)}$$

Όπου:

$\Delta B$ : η διαφορά του βάρους όταν έχει επιτευχθεί σταθερή μείωση

$\Delta t$ : η χρονική διάρκεια

A: η επιφάνεια της επικάλυψης

### 5.5.6 Θερμική ανάλυση

Η θερμική ανάλυση γίνεται με Διαφορική θερμιδομετρία μάζας (DSC). Αρχικά ζυγίζεται το δείγμα, περίπου 0.05 g ενώ ταυτόχρονα ετοιμάζεται και ένα δείγμα αναφοράς κενό. Όλα αυτά γίνονται με ιδιαίτερη προσοχή καθώς δεν πρέπει να έρθει σε επαφή με αντικείμενα με μεγάλη υγρασία ή με το δέρμα καθώς θα επηρεαστεί η μέτρηση. Στη συνέχεια τοποθετούνται στις ειδικές θέσεις στο όργανο και ξεκινάει η διαδικασία.

Πραγματοποιείται ένας κύκλος θέρμανσης με θερμοκρασία έναρξης τους 0°C, θερμοκρασία λήξης τους 250°C και βήμα 5°C και ταυτόχρονα λαμβάνεται η ροή θερμότητας. Για κάθε επικάλυψη επιλέχθηκε διαφορετικό εύρος θερμοκρασίας για την διεξαγωγή των μετρήσεων που επιλέχθηκε από βιβλιογραφική έρευνα ώστε να περιλαμβάνεται η βασική ένωση σε αυτές τις θερμοκρασίες. Πιο συγκεκριμένα:

- Για την χιτοζάνη επιλέχθηκε το εύρος 0 με 160°C,
- Για το άμυλο-πηκτίνη το εύρος 0 με 250°C,
- Για το άμυλο από φύκια-πηκτίνη το εύρος 0 με 250°C
- Για τις πρωτεΐνες από φύκια το εύρος 0 με 220°C.

Στη συνέχεια με τη δημιουργία του διαγράμματος θερμοροής-θερμοκρασίας βρίσκεται η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης Tg, και η μεταβολή της ενθαλπίας της υαλώδους μετάπτωσης ΔH<sub>g</sub> [84], [86].

### 5.5.7 Μηχανικές ιδιότητες

Η μεθοδολογία για τον υπολογισμό των μηχανικών ιδιοτήτων των εδώδιμων επικαλύψεων είναι η εξής:

Οι δοκιμές έγιναν στο Texture Analyzer Zwick Materials Testing Z2.5/TN15 όπου φαίνεται στην εικόνα 13. Τα δοκίμια ήταν μεγέθους 15 mm x 50 mm. Επίσης το αρχικό grip to grip ήταν 40 mm και η ταχύτητα ήταν στα 2 mm/min. Οι ιδιότητες που επιλέχθηκαν να μετρηθούν είναι η τάση και το μέτρο ελαστικότητας καθώς είναι από τα πιο βασικά για τη λειτουργία των εδώδιμων επικαλύψεων [84].

- Υπολογίστηκε η τάση σ σύμφωνα με την εξίσωση:

$$\sigma = \frac{F}{A} \quad (\text{Εξ. 4})$$

Όπου:

F: η δύναμη (N)

A: η διατομή (mm<sup>2</sup>)

- Υπολογίστηκε το μέτρο ελαστικότητας σύμφωνα με τον νόμο του Hooke:

$$E = \frac{\sigma}{\varepsilon} \quad (\text{Εξ. 5})$$

Όπου:

σ: η τάση (Pa)

ε: η παραμόρφωση (%)



Εικόνα 12: Το μηχάνημα Texture Analyzer Zwick Materials Testing Z2.5/TN15 στο οποίο εξετάστηκαν οι μηχανικές ιδιότητες των φιλμ.

## 5.6 Αξιολόγηση επικαλυμμένων μούρων

Για την επικάλυψη των μούρων χρησιμοποιούνται όλες οι μεμβράνες. Και στις έξι επικαλύψεις τα μούρα μπαίνουν ολόκληρα μέσα στο διάλυμα και παραμένουν εκεί για 2 λεπτά. Στη συνέχεια, παραμένουν για 1 λεπτό έξω από το διάλυμα να στεγνώσουν, και τέλος εισάγονται σε ξηραντήρα με ρεύμα αέρα, όπου παραμένουν για περίπου μία ώρα. Όταν έχει στεγνώσει τελείως η επικάλυψη και έχει σχηματιστεί το φιλμ συσκευάζονται και τοποθετούνται στο ψυγείο.

Στα επικαλυμμένα μούρα έγινε αξιολόγηση τόσο στα εμφανισιακά τους χαρακτηριστικά όσο και στα ποιοτικά τους. Έγινε η προσπάθεια να μετρηθεί ακριβώς η διαφορά που είχαν μέσα στις μέρες τα φρέσκα και ωσμωμένα μούρα με τις



διαφορετικές επικαλύψεις. Ο χρόνος που επιλέχθηκε για τις μετρήσεις είναι οι 21 μέρες καθώς έπειτα από αυτό το σημείο δεν θα μπορούσαν να καταναλωθούν άρα και η αξιολόγηση τους δεν θα είχε νόημα. Η αποθήκευση τους στο διάστημα των 21 ημερών γινόταν στους 0 – 4°C και κλειστά σε συσκευασίες με αεροστεγές κλείσιμο.

### 5.6.1 Μέτρηση διαφοράς βάρους

Μια ποσότητα περίπου 10-15 g μούρα φρέσκα και ωσσωμένα επικαλύπτονται και στην συνέχεια ζυγίζεται το ακριβές τους βάρος με ζυγαριά ακριβείας 4 δεκαδικών ψηφίων. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται 2 φορές την εβδομάδα μέχρι τις 21 ημέρες και υπολογίζεται το ποσοστό βάρους που χάθηκε με βάση την αρχική ημέρα. Αυτό το ποσοστό συγκρίνεται με το αντίστοιχο του φρέσκου μούρου και των ωσσωμένων χωρίς επικάλυψη.

### 5.6.2 Μέτρηση χρώματος

Παρόμοια με την μέτρηση του χρώματος στα φιλμ χρησιμοποιείται πάλι το φωτόμετρο Miniscan XE (Hunter Associates Laboratory Inc, Virginia) και υπολογίζονται οι ίδιες παράμετροι L, a και b. Η συχνότητα των μετρήσεων είναι ίδια με αυτή του βάρους δηλαδή κάθε 3 μέρες μέχρι τις 21 ημέρες. Για να υπολογιστεί η μέτρηση της μεταβολή του χρώματος ΔE μεταξύ των ημερών χρησιμοποιείται η παρακάτω εξίσωση (Demirhan and Ozbek, 2009):

$$\Delta E = [(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2]^{1/2} \quad (\text{Εξ. 6})$$

Όπου:

ΔE: η μεταβολή του χρώματος

ΔL: η μεταβολή της παραμέτρου L μεταξύ του δείγματος και του δείγματος αναφοράς

Δa: η μεταβολή της παραμέτρου a μεταξύ του δείγματος και του δείγματος αναφοράς

Δb: η μεταβολή της παραμέτρου b μεταξύ του δείγματος και του δείγματος αναφοράς



Εικόνα 13: η συσκευή Miniscan XE για την μέτρηση του χρώματος.

### 5.6.3 Αποχύμωση των μούρων

Για τις μετρήσεις που ακολουθούν απαραίτητο είναι πρώτα να γίνει κάποια προεπεξεργασία. Μια μικρή ποσότητα μούρων περίπου 4-5 g πολτοποιείται μέσα σε φυγόκεντρο σωλήνα και στη συνέχεια φυγοκεντρείται για 10 min στις 3500 rpm προκειμένου να διαχωριστεί ο χυμός των μούρων από το υπόλοιπο στερεό. Αυτό παραλαμβάνεται με πιπέτα για περαιτέρω επεξεργασία.

### 5.6.4 Μέτρηση των ολικών στερεών

Τα σάκχαρα είναι αυτά που αποτελούν το μεγαλύτερο μέρος των ολικών διαλυτών στερεών στην πλειοψηφία των φρούτων και λαχανικών, επομένως, χρησιμοποιούνται σαν δείκτης του ποσοστού διαλυτών στερεών στο τρόφιμο. Τα ολικά διαλυτά στερεά (TSS) μετρώνται μέσω της γλυκότητας του τροφίμου, που φανερώνει το βαθμό ωρίμανσης του φρούτου και μετριέται σε βαθμούς Brix.

Για την μέτρηση των ολικών διαλυμένων στερεών (TSS) γίνεται χρήση διαθλασίμετρου. Τοποθετείται στην ειδική επιφάνεια μια μικρή ποσότητα χυμού μούρων και απλώνεται καλά σε όλη την επιφάνεια. Στη συνέχεια επιλέγεται η

μέθοδος Brix και μετριέται το ποσοστό των διαλυμένων στερεών. Οι μετρήσεις επαναλαμβάνονται κάθε 7 ημέρες ώστε να μελετηθεί η ωρίμανση του φρούτου.

### 5.6.5 Μέτρηση οξύτητας

Η ολική οξύτητα των τροφίμων είναι επίσης σημαντικός δείκτης ωρίμανσης. Για την μέτρηση της ολικής οξύτητας χρησιμοποιείται η μέθοδος της τιτλοδότησης. Πιο συγκεκριμένα περίπου χυμός μούρων αραιώθηκε σε απιονισμένο νερό με αναλογία 1:10 v/v και τιτλοδοτείται με καυστικό νάτριο NaOH με συγκέντρωση 0.1 N αφού έχει προστεθεί και μια μικρή ποσότητα δείκτη φαινολοφθαλεΐνης. Τέλος, προσδιορίζεται η ολική οξύτητας μέσω της παρακάτω εξίσωσης, εκφρασμένη ως % κιτρικού οξέος.

$$\text{Οξύτητα (\%)} = \frac{V_{\text{NaOH}} * C_{\text{NaOH}} * \text{Παράγοντα οξύτητας}}{V_{\text{δείγματος}}} \quad (\text{Εξ. 7})$$

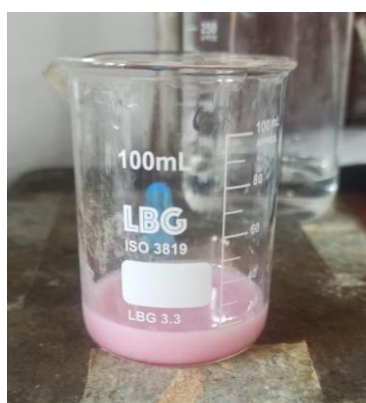
Όπου:

$V_{\text{NaOH}}$ : ο όγκος του καυστικού νατρίου που καταναλώθηκε (ml)

$C_{\text{NaOH}}$ : η συγκέντρωση του καυστικού νατρίου (N)

Παράγοντας οξύτητας: 0,064 για το κιτρικό οξύ

$V_{\text{δείγματος}}$ : όγκος του δείγματος (ml)



Εικόνα 14: Το χρώμα του διαλύματος χυμού μούρων με φαινολοφθαλεΐνη πριν (αριστερά) και μετά (δεξιά) τη τιτλοδότηση.

### 5.6.6 Μέτρηση της αντιοξειδωτικής δράσης

Ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής δράσης έγινε με τη μέθοδο DPPH των Brand-Williams et al. (1995) [87]. Αρχικά παρασκευάζεται ένα διάλυμα DPPH για το οποίο 2,9 mg της δραστικής ουσίας διαλύονται σε 100 mL μεθανόλης. Το διάλυμα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 45 min με απουσία φωτός. Στη συνέχεια, 3,9 mL του διαλύματος DPPH και 0,1 mL του εξεταζόμενου δείγματος προστίθενται σε κυψελίδα. Η απορρόφηση μετρείται σε UV-Vis φασματοφωτόμετρο (UV-Vis Spectrophotometer UV-M51, BEL PHOTONICS) σε συχνότητα 515 nm για 20 min. Κατά την αντίδραση αναγωγής το βαθύ μωβ μεθανολικό διάλυμα αποχρωματίζεται και η απορρόφηση φωτός παρακολουθείται. Η μικρή απορρόφηση είναι δείγμα μεγάλου αποχρωματισμού και συνεπώς μεγάλης απενεργοποίησης των ελεύθερων ριζών.

Η ικανότητα απενεργοποίησης των ελεύθερων ριζών %RSA προσδιορίζεται μέσω του παρακάτω τύπου:

$$\%RSA = 100 * \left(1 - \frac{AE}{AD}\right) \text{ (Εξ. 8)}$$

Όπου

AE: η απορρόφηση του αντιοξειδωτικού διαλύματος

AD: η απορρόφηση του δείγματος DPPH

Διαλύματα συγκεντρώσεων 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 mL δείγματος : mL διαλύτη φωτομετρώνται προκειμένου να δημιουργηθεί μια καμπύλη βαθμονόμησης για κάθε διάλυμα η οποία συσχετίζει τη συγκέντρωση με την εναπομένουσα ποσότητα DPPH. Η εναπομένουσα ποσότητα DPPH (DPPHrem) υπολογίζεται μέσω του εξής τύπου:

$$DPPHrem \% = \frac{[DPPH]_t}{[DPPH]_{t=0}} * 100 \text{ (Εξ. 9)}$$

Μέσω της καμπύλης βαθμονόμησης εντοπίζεται η συγκέντρωση διαλύματος στην οποία καταστρέφεται το 50% του DPPH. Η συγκέντρωση αυτή αποτελεί την τιμή IC50 (InhibitionConcentration 50%). Όσο μικρότερη είναι η τιμή αυτή, τόσο μικρότερη ποσότητα εκχυλίσματος απαιτείτε για την εξουδετέρωση των ελεύθερων ριζών και άρα τόσο μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα έχει το δείγμα.

### 5.6.7 Μικροβιολογική ανάλυση

Για την πραγματοποίηση των μικροβιολογικών τεστ επιλέχθηκαν τα δείγματα που είχαν τα καλύτερα αποτελέσματα συνολικά και τα όρια που επιλέχθηκαν για το έλεγχο της επικινδυνότητας τους είναι από την Ευρωπαϊκή Επιτροπή του 2012. Η μέτρηση πραγματοποιήθηκε την 14<sup>η</sup> ημέρα. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε είναι η εξής:

1. Τοποθετήθηκαν 3 g μύρτιλων από τα επιλεγμένα δείγματα σε αποστειρωμένες σακούλες με φίλτρο,
2. Στη συνέχεια προστίθεται διάλυμα Ringer σε αναλογία 1:10 κ.β. και ακολουθεί η παραλαβή χυμού μέσω της εκχύλισης με Stomacher,
3. Επίσης δημιουργούνται άλλη μια αραιώση σε αναλογία 1:100 κ.β. για πιο σίγουρα αποτελέσματα αναλόγως τη ποσότητα των μικροοργανισμών που μετρήθηκε,
4. Για την μέτρηση του Total Count προστίθεται 1 mL χυμού στο κέντρο του υποστρώματος και επωάζεται στους 35°C για 48 h και το όριο του είναι 10<sup>5</sup> CFU/mL,
5. Για την μέτρηση του βακτηρίου *E. Coli* προστίθεται 1 mL χυμού στο κέντρο του υποστρώματος και επωάζεται στους 35°C για 24 h και το όριο του είναι 100 CFU/mL.

Για τον υπολογισμό τους μετρήθηκαν οι αποικίες που αναπτύχθηκαν στα δισκία που φαίνονται στην παρακάτω εικόνα και στην συνέχεια έγινε ο υπολογισμός του με την εξίσωση:

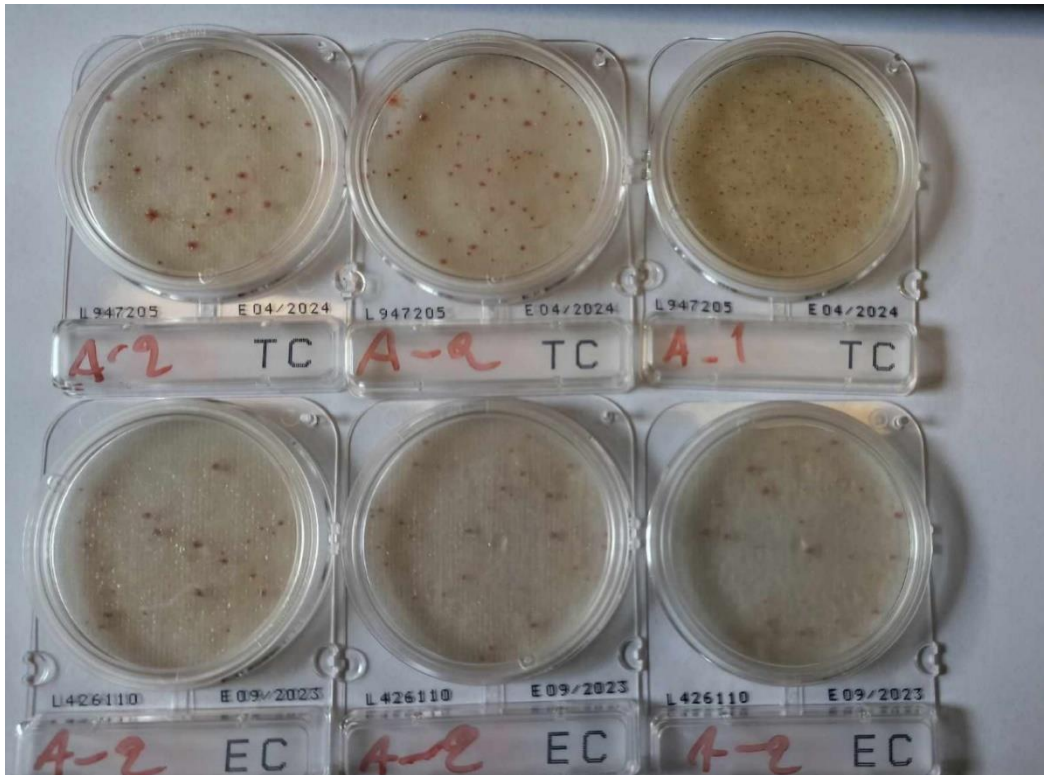
$$\frac{\text{CFU}}{\text{mL}} = \frac{\text{CFU} * \text{βαθμός αραιώσης}}{V} \text{ (Εξ. 10)}$$

Όπου:

CFU: αριθμός αποικιών στα υποστρώματα

βαθμός αραιώσης: 10<sup>n</sup>, n=1 για πρώτη αραιώση, n=2 για δεύτερη κτλ.

V: όγκος που τοποθετήθηκε στο υπόστρωμα (mL)



Εικόνα 15: Τα δισκία που αναπτύσσονται οι μικροοργανισμοί, για την μέτρηση των Total Counts (Πάνω) και την μέτρηση των E. Coli (κάτω)

### 5.6.8 Οργανοληπτικός έλεγχος

Για τον οργανοληπτικό έλεγχο επιλέχθηκαν δείγματα με συνδυασμό αφυδάτωσης και εδώδιμης επικάλυψης καθώς και δείγματα με βιοδραστική ουσία. Πιο συγκεκριμένα επιλέχθηκε για την επικάλυψη χιτοζάνη και άμυλο-πηκτίνη η αφυδάτωση με διάλυμα γλυκερόλης 50% w/w, για τις επικαλύψεις άμυλο και πρωτεΐνες από φύκια, η αφυδάτωση με χυμό μήλου ενώ για τα βιοδραστικά δεν έγινε ωσμωτική αφυδάτωση στα μύρτιλα και επιλέχθηκαν οι επικαλύψεις από άμυλο και πρωτεΐνες φυκιών.

Επιλέχθηκαν 10 δοκιμαστές και τους δόθηκαν τα δείγματα χωρίς να γνωρίζουν τι περιείχε το καθένα. Ζητήθηκε στη συνέχεια να συμπληρωθεί ερωτηματολόγιο στο οποίο βαθμολογούταν από 1 έως το 9 η ένταση του εκάστοτε χαρακτηριστικού. Τα χαρακτηριστικά που ελέγχθηκαν είναι το χρώμα, η σκληρότητα, η στυφή, η γλυκιά, ξινή, πικρή γεύση και η ένταση του αρώματος. Τέλος βαθμολογούταν από το 1 έως το 9 η αποδοχή του δείγματος στα χαρακτηριστικά: άρωμα, χρώμα, μετάγευση και συνολική αποδοχή.

## 6. Πειραματικά Αποτελέσματα

### 6.1 Εκχύλιση συστατικών από μικροάλγη

Το μικροφύκος *Chlorella vulgaris* περιέχει περίπου 60% w/w πρωτεΐνες και 10-15% w/w πολυσακχαρίτες. Σύμφωνα με βιβλιογραφικές πηγές με τις κλασσικές μεθόδους εκχύλισης θα μπορούσε να εκχυλιστεί μέχρι και το 50% των συνολικών πρωτεϊνών και πολυσακχαριτών, χωρίς αυτές να είναι εδώδιμες καθώς χρησιμοποιούνται χημικά ή μέθοδοι απαγορευμένοι στη βιομηχανία τροφίμων, αλλά τελικά με τις μεθόδους που επιλέγονται εκχυλίζεται πολύ μικρότερο ποσοστό δηλαδή 35% το μέγιστο για τις πρωτεΐνες και το άμυλο. Δεν έχει γίνει αναλυτική μέτρηση της απόδοσης εκχύλισης, καθώς δεν αφορά το θέμα της διπλωματικής εργασίας.

### 6.2 Αξιολόγηση εδώδιμων επικαλύψεων

#### 6.2.1 Πάχος επικάλυψης και πυκνότητα

Στον πίνακα 13 παρουσιάζεται το πάχος και η πυκνότητα της κάθε επικάλυψης. Παρατηρείται ότι οι επικαλύψεις από τα εκχυλίσματα των μικροφυκών έχουν μεγαλύτερη πυκνότητα από ότι οι άλλες και ιδιαίτερα η επικάλυψη από πρωτεΐνες. Στο πάχος βέβαια η επικάλυψη από άμυλο φυκιών είναι σαφώς λεπτότερη με σημαντική διαφορά από τις άλλες τρεις που κυμαίνονται στο ίδιο επίπεδο. Επίσης στην επικάλυψη από άμυλο-πηκτίνη παρατηρείται η μεγαλύτερη τυπική απόκλιση των μετρήσεων οπότε είναι η λιγότερο ομοιόμορφη σε πάχος. Επομένως, η προσθήκη συστατικών από μικροφύκη δημιουργεί δομές πιο πυκνές, ενώ το πάχος δεν φαίνεται να επηρεάζεται από τα συστατικά των μεμβρανών, αλλά από τον τρόπο δημιουργίας τους.

Πίνακας 13: Πάχος και πυκνότητα επικάλυψης

Επικάλυψη	Πάχος (mm)	Πυκνότητα $g/cm^3$
Χιτοζάνη	$0.15 \pm 0.0187$	$0.5059 \pm 0.011$
Άμυλο Πηκτίνη	$0.1325 \pm 0.0376$	$0.4973 \pm 0.011$
Άμυλο φύκια	$0.0875 \pm 0.0177$	$0.7681 \pm 0.017$
Πρωτεΐνες φύκια	$0.1425 \pm 0.0286$	$1.1229 \pm 0.025$

### 6.2.2 Περιεχόμενη υγρασία

Στον πίνακα 14 παρουσιάζεται η περιεχόμενη υγρασία της εδώδιμης επικάλυψης. Στις επικαλύψεις από άμυλο - πηκτίνη παρατηρείται η λιγότερη περιεχόμενη υγρασία και ιδιαίτερα σε αυτή από άμυλο πατάτας. Από την άλλη, η επικάλυψη της χιτοζάνης περιέχει την περισσότερη υγρασία καθώς έχει από την δημιουργία της, το μεγαλύτερο ποσοστό νερού το οποίο και επηρεάζει τη συνολική υγρασία που έχει εγκλωβιστεί κατά την ξήρανση της επικάλυψης. Παρατηρείται ότι το άμυλο δημιουργεί πιο στεγνές μεμβράνες, με αποτέλεσμα να είναι λιγότερο επιρρεπείς στην ανάπτυξη μικροβίων, αφού η ενεργότητα νερού θα είναι χαμηλότερη.

Πίνακας 14: Περιεχόμενη υγρασία επικάλυψης

Επικάλυψη	Υγρασία (% κ.β).
Χιτοζάνη	0.2763 ± 0.013
Άμυλο Πηκτίνη	0.0166 ± 0.001
Άμυλο φύκια	0.0446 ± 0.0035
Πρωτεΐνες φύκια	0.1149 ± 0.0015

### 6.2.3 Διαλυτότητα σε νερό

Στον πίνακα 15 παρουσιάζεται η διαλυτότητα στο νερό της κάθε επικάλυψης. Όλες οι επικαλύψεις διαλύονται αρκετά στο νερό αν παραμείνουν σε αυτό αρκετή ώρα εκτός από την χιτοζάνη της οποίας η διαλυτότητα είναι πολύ μικρότερη. Αυτό είναι λογικό καθώς η χιτοζάνη είναι πρακτικά διαλυτή σε διαλύματα με pH μικρότερο από 6,6 δηλαδή σε αραιά όξινα διαλύματα. Σε καθαρό νερό που μελετήθηκε στη συγκεκριμένη περίπτωση, που το pH είναι μεγαλύτερο από 6,6 η χιτοζάνη δεν διαλύθηκε. Αντίθετα τα περισσότερα από τα υπόλοιπα συστατικά της επικάλυψης διαλύθηκαν οπότε στο υπόλειμμα που υπάρχει αδιάλυτο υπάρχει κυρίως χιτοζάνη. Η χιτοζάνη επομένως, δημιουργεί μεμβράνες πιο ανθεκτικές στην υγρασία.

Πίνακας 15: Διαλυτότητα επικάλυψης στο νερό

Επικάλυψη	% που διαλύθηκε
Χιτοζάνη	40
Άμυλο Πηκτίνη	75
Άμυλο φύκια	65
Πρωτεΐνες φύκια	70



#### 6.2.4 Οπτικές ιδιότητες (χρώμα) και διαφάνεια και μετάδοση φωτός

Στους πίνακες 16 και 17 παρουσιάζεται η διαφάνεια και μετάδοση του φωτός και το χρώμα της κάθε επικάλυψης αντίστοιχα. Η διαφάνεια και μετάδοση του φωτός ελέγχθηκε και όπως φαίνεται στο πίνακα η επικάλυψη από πρωτεΐνες έχει μεγάλη διαφορά σε σχέση με τις υπόλοιπες. Το σφάλμα είναι χαμηλότερο στις επικαλύψεις από τα εκχυλίσματα φυκιών που σημαίνει ότι υπάρχει μεγάλη ομοιογένεια σε όλο το μήκος της επικάλυψης.

Το χρώμα έχει μετρηθεί και παρουσιάζονται στο πίνακα οι τιμές των L a b οι οποίες αντιστοιχούν στο χρώμα των επικαλύψεων. Πιο συγκεκριμένα η επικάλυψη από χιτοζάνη είναι ελάχιστα κίτρινη λόγω του χρώματος της χιτοζάνης, η επικάλυψη από άμυλο-πηκτίνη άσπρη λόγω του αμύλου, η επικάλυψη από άμυλο από φύκια-πηκτίνη είναι λίγο πράσινη λόγω κάποιων χρωστικών που έχουν παραμείνει από το μικροφύκος μετά τη εκχύλιση και η επικάλυψη από πρωτεΐνες είναι σχετικά διάφανη για αυτό και η τόσο μεγάλη διαφορά στις τιμές των L a b.

Πίνακας 16: Διαφάνεια και μετάδοση φωτός στην επικάλυψη

Επικάλυψη	Πάχος	A600
Χιτοζάνη	0.15	0.386 ± 0.0594
Άμυλο Πηκτίνη	0.1325	0.536 ± 0.0520
Άμυλο φύκια	0.0875	0.521 ± 0.0307
Πρωτεΐνες φύκια	0.1425	-0.184 ± 0.0323

Πίνακας 17: Χρώμα επικάλυψης

Επικάλυψη	L	a	b
Χιτοζάνη	68.70± 4.07	1.485±1.11	17.295±4.87
Άμυλο Πηκτίνη	73.77± 1.26	0.8±0.41	5.98±0.57
Άμυλο φύκια	42.83± 1.74	-0.79±0.7	17.69±0.3
Πρωτεΐνες φύκια	62.82± 1.54	-1.43±0.28	6.12±1.4

#### 6.2.5 Ρυθμός μεταφοράς υδρατμών δια μέσου της επικάλυψης

Στον πίνακα 18 παρουσιάζεται ο ρυθμός μεταφοράς των υδρατμών της κάθε επικάλυψης. Παρατηρείται ότι στις επικαλύψεις από χιτοζάνη και πρωτεΐνες φυκιών η ρυθμός είναι πολύ χαμηλότερος των άλλων δύο και σε κοντινή τιμή. Αυτό συμβαίνει λόγω της υδρόφιλης φύσης του αμύλου και της πηκτίνης, η οποία δεν επιτρέπει το φραγμό του τρόφιμου από την είσοδο και έξοδο υδρατμών.

Πίνακας 18: Ρυθμός μεταφοράς υδρατμών

Επικάλυψη	WVTR ( $\frac{g}{s \cdot m^2}$ )
Χιτοζάνη	0.00244 ± 7,95E-05
Άμυλο Πηκτίνη	0.00405 ± 1,32E-04
Άμυλο φύκια	0.00388 ± 1,51E-04
Πρωτεΐνες φύκια	0.00231 ± 8,98E-05

### 6.2.6 Θερμική ανάλυση

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι θερμοκρασίες υαλώδους μετάπτωσης και οι διαφορές ενθαλπίας της για κάθε επικάλυψη. Παρατηρείται ότι η επικάλυψη από πρωτεΐνες φυκιών έχει και μεγαλύτερη θερμοκρασία Tg όσο και ΔHg. Στις επικαλύψεις από άμυλο-πηκτίνη και άμυλο φυκιών-πηκτίνη παρόλο που έχουν αρκετά κοινή σύνθεση παρατηρείται διαφορετική θερμοκρασία και ενθαλπία. Αυτό οφείλεται στις προσμίξεις του αμύλου που έχουν απομείνει από την εκχύλιση των φυκιών. Τέλος, συνολικά οι θερμοκρασίες υαλώδους μετάπτωσης όλων των επικαλύψεων είναι αρκετά υψηλές ώστε χωρίς θερμική επεξεργασία να είναι σταθερές και να μην χάνουν τη δομή τους.

Πίνακας 19: Οι θερμοκρασίες Tg και οι ΔHg των εδωδιμων επικαλύψεων

Επικάλυψη	Tg (°C)	ΔHg (J/g)
Χιτοζάνη	95.39	0.155
Άμυλο Πηκτίνη	93.27	0.715
Άμυλο φύκια	85.43	0.512
Πρωτεΐνες φύκια	131.0	1.050

### 6.2.7 Μηχανικές ιδιότητες

Στον πίνακα 20 παρατηρείται ότι οι επικαλύψεις από το άμυλο έχουν καλύτερες μηχανικές ιδιότητες συνολικά από ότι οι επικαλύψεις από χιτοζάνη και πρωτεΐνες. Όπως βρέθηκε και βιβλιογραφικά, από τα μεγαλύτερα μειονεκτήματα των εδωδιμων επικαλύψεων από πρωτεΐνες είναι οι χαμηλές μηχανικές αντοχές. Η διαφορά μεταξύ των επικαλύψεων άμυλο-πηκτίνη και άμυλο από φύκια-πηκτίνη είναι πιθανό να προκύπτει λόγω των προσμίξεων που είχαν απομείνει στο άμυλο από την εκχύλιση των μικροφυκών και αυτές να μείωσαν τις μηχανικές ιδιότητες. Παρατηρείτε επίσης, ότι παρόλο που οι επικαλύψεις χιτοζάνη και πρωτεΐνες από φύκια-πηκτίνη έχουν ίδια τιμή περίπου στην τάση, υπάρχει μεγάλη διαφορά στην ελαστικότητα.

Πολύ σημαντικό ρόλο στην εξήγηση των μηχανικών ιδιοτήτων των επικαλύψεων έχει το πάχος και η ποσότητα του πλαστικοποιητή. Με αύξηση του πλαστικοποιητή θα υπάρχει και αύξηση της τάσης και/ή της ελαστικότητας. Η επικάλυψη από πρωτεΐνες έχει τη μικρότερη αντοχή σε τάση αλλά το μεγαλύτερο μέτρο ελαστικότητας E λόγω του μεγάλου ποσοστού γλυκερόλης που έχει. Τέλος, η αύξηση των μηχανικών ιδιοτήτων των εδωδιμων επικαλύψεων μπορεί να γίνει με απομάκρυνση του αέρα από το διάλυμα καθώς αυτό δημιουργεί φυσαλίδες, οι οποίες μειώνουν τη συνοχή της επικάλυψης.

**Πίνακας 20: Μηχανικές ιδιότητες των εδωδιμων επικαλύψεων**

Εδωδιμο φιλμ	Τάση $\sigma$ (MPa)	Μέτρο ελαστικότητας E (MPa)
Χιτοζάνη	$13.01 \pm 1.45$	$2874 \pm 25.78$
Άμυλο Πηκτίνη	$72.65 \pm 6.14$	$2408 \pm 33.59$
Άμυλο φύκια	$39.29 \pm 3.45$	$1268 \pm 32.87$
Πρωτεΐνες φύκια	$10.43 \pm 1.34$	$4960 \pm 45.06$

Επίσης από τις παρακάτω εικόνες παρατηρείται ότι η διάτμηση των δοκιμίων των επικαλύψεων έγινε κάθετα στην επιμήκυνση σε ευθεία γραμμή άρα δεν υπήρχαν μικρές ρωγμές σε αυτές. Αυτό αποδεικνύει ότι οι επικαλύψεις ήταν ομογενοποιημένες και κατά τον σχηματισμό τους δεν υπάρχουν κενά ενδιάμεσα σε αυτές. Παρόμοια συμπεριφέρθηκαν και οι υπόλοιπες επικαλύψεις.



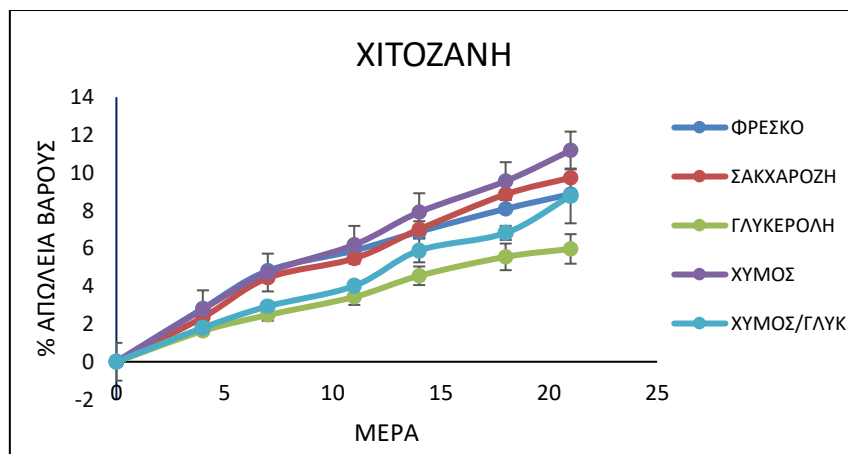


Εικόνα 16: Οι επικαλύψεις από άμυλο από φύκια-πηκτίνη (κάτω) και χιτοζάνη (πάνω) μετά τον εφελκυσμό τους για την αξιολόγηση των μηχανικών ιδιοτήτων τους.

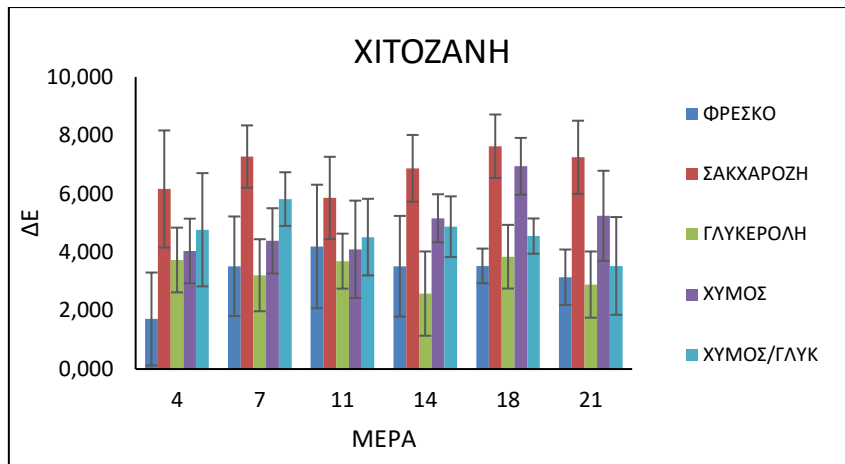
### 6.3 Αξιολόγηση επικαλυμμένων μούρων

#### 6.3.1 Αξιολόγηση διαφοράς βάρους και χρώματος

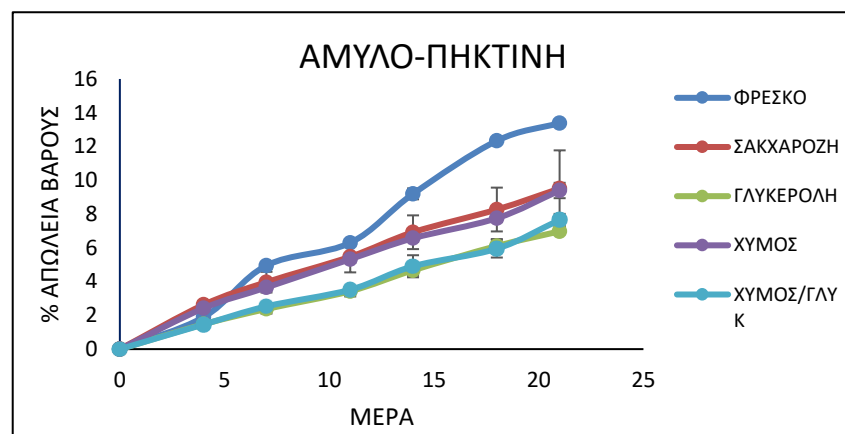
Στα διαγράμματα που ακολουθούν παρουσιάζεται η απώλεια χρώματος και η διαφορά χρώματος για τις μεμβράνες που μελετήθηκαν.



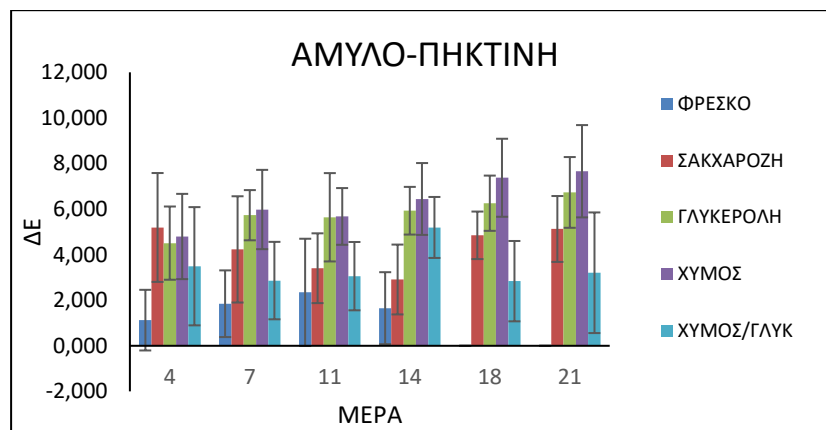
Διάγραμμα 1: η % απώλεια βάρους των επικαλυμμένων, με χιτοζάνη, μύρτιλων συναρτήσσει των ημερών.



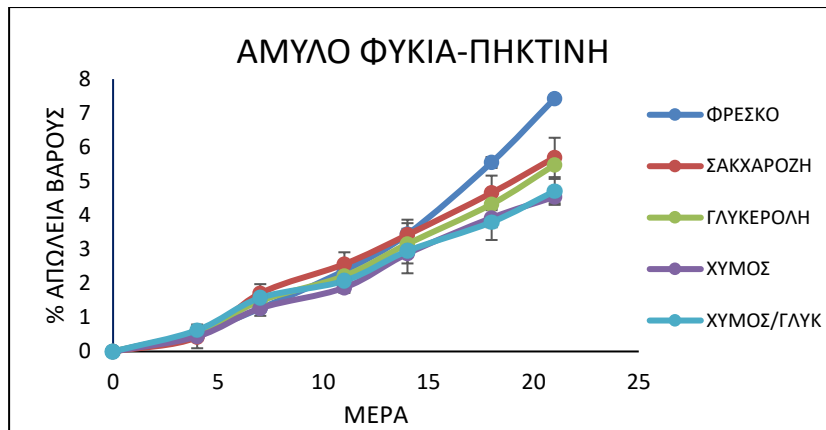
Διάγραμμα 2 : η διαφορά χρώματος των επικαλυμμένων, με χιτοζάνη, μύρτιλων συναρτήσει των ημερών.



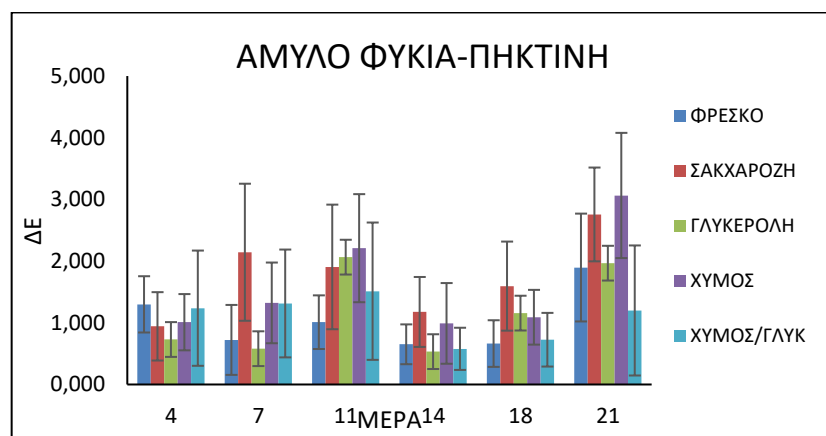
Διάγραμμα 3: η % απώλεια βάρους των επικαλυμμένων, με άμυλο-πηκτίνη, μύρτιλων συναρτήσει των ημερών.



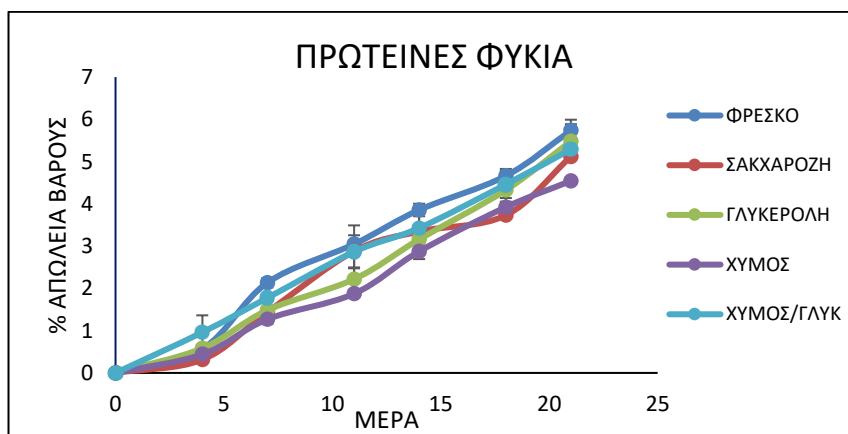
Διάγραμμα 4: η διαφορά χρώματος των επικαλυμμένων, με άμυλο-πηκτίνη, μύρτιλων συναρτήσει των ημερών.



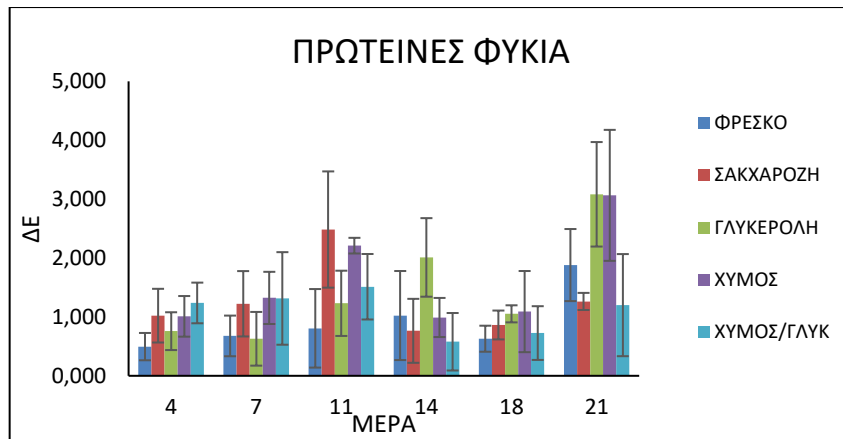
Διάγραμμα 5: η % απώλεια βάρους των επικαλυμμένων, με άμυλο από φύκια-πηκτίνη, μύρτιλων συναρτήσε των ημερών.



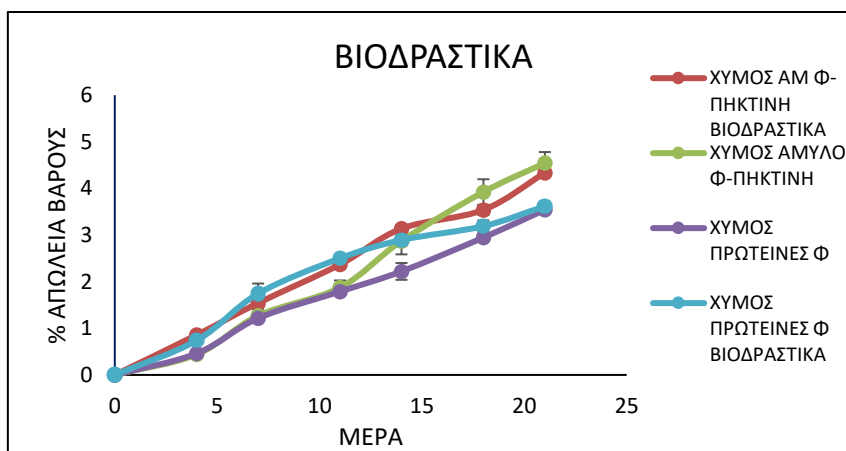
Διάγραμμα 6: η διαφορά χρώματος των επικαλυμμένων, με άμυλο από φύκια-πηκτίνη, μύρτιλων συναρτήσε των ημερών.



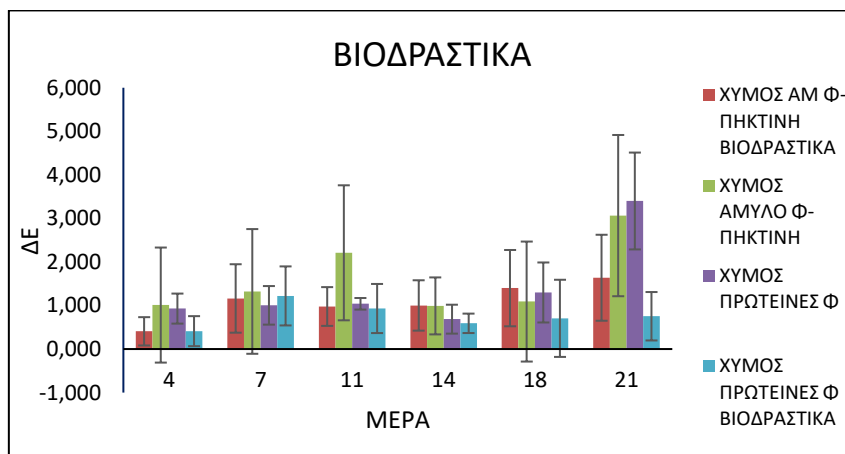
Διάγραμμα 7: η % απώλεια βάρους των επικαλυμμένων, με πρωτεΐνες από φύκια, μύρτιλων συναρτήσε των ημερών.



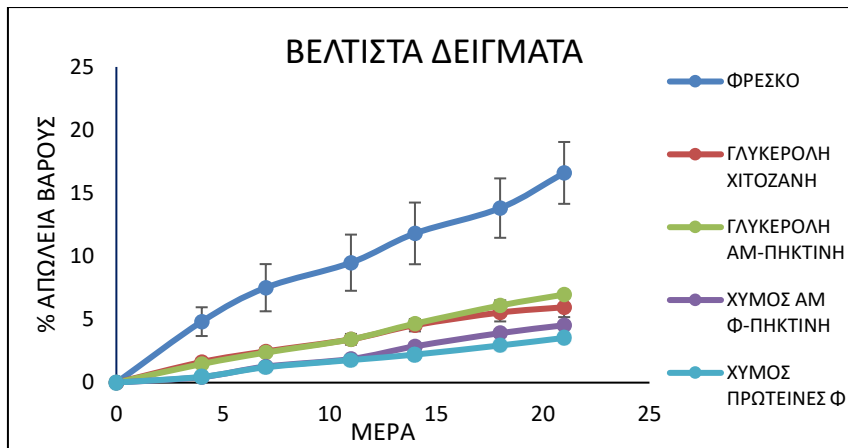
Διάγραμμα 8: η διαφορά χρώματος των επικαλυμμένων, με πρωτεΐνες από φύκια, μύρτιλων συναρτήσε των ημερών.



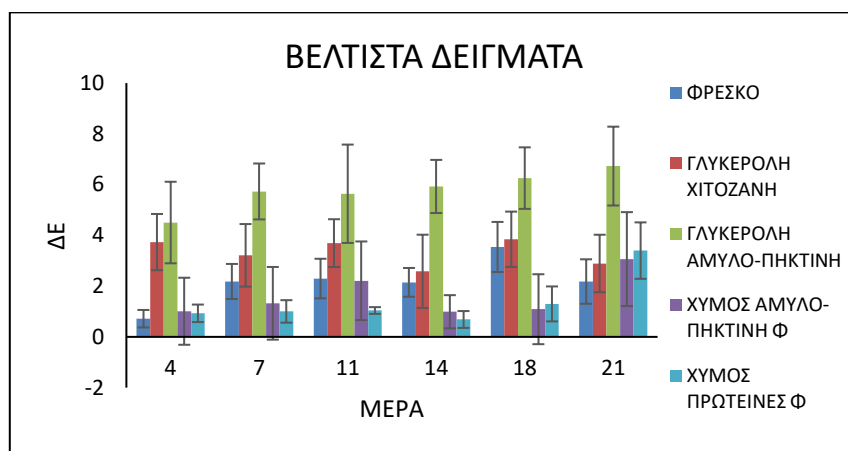
Διάγραμμα 9: η % απώλεια βάρους των επικαλυμμένων μύρτιλων με προσθήκη βιοδραστικών και των αντίστοιχων χωρίς, συναρτήσε των ημερών.



Διάγραμμα 10: η διαφορά χρώματος των επικαλυμμένων μύρτιλων με προσθήκη βιοδραστικών και των αντίστοιχων χωρίς, συναρτήσε των ημερών.



Διάγραμμα 11: η % απώλεια των βέλτιστων δειγμάτων σε σύγκριση με το control, συναρτήσει των ημερών.



Διάγραμμα 12: η διαφορά χρώματος των βέλτιστων δειγμάτων σε σύγκριση με το control, συναρτήσει των ημερών.

### Σχολιασμός διαγραμμάτων

Στα διαγράμματα 1 και 2 παρουσιάζεται η % απώλεια βάρους των επικαλυμμένων μύρτιλων με επικάλυψη χιτοζάνης και η αλλαγή στο χρώμα τους κατά την διάρκεια 21 ημερών. Τη μικρότερη απώλεια βάρους στη διάρκεια των 21 ημερών την έχει το δείγμα που έχει αφυδατωθεί με διάλυμα γλυκερόλης. Στο χρώμα δεν παρατηρείτε κάποια σημαντική διαφορά κατά την διάρκεια των ημερών και μεταξύ των δειγμάτων. Επίσης στα δείγματα αυτά παρατηρείται ότι τα μύρτιλα αφυδατωμένα με χυμό μήλου και σακχαρόζη έχουν μεγαλύτερη απώλεια βάρους από ότι χωρίς αφυδάτωση και αυτό συμβαίνει ενδεχομένως γιατί επηρεάζεται η επικάλυψη της χιτοζάνης από τα διαλύματα και δεν εφαρμόζεται καλά πάνω στην επιφάνεια των μύρτιλων.



Στα διαγράμματα 3 και 4 παρουσιάζεται η % απώλεια βάρους των επικαλυμμένων μύρτιλων με επικάλυψη από άμυλο-πηκτίνη και η αλλαγή στο χρώμα τους κατά την διάρκεια 21 ημερών. Τη μικρότερη απώλεια βάρους κατά την διάρκεια 21 ημερών την έχει το δείγμα που έχει αφυδατωθεί με διάλυμα γλυκερόλης. Στο χρώμα δεν παρατηρείτε κάποια σημαντική διαφορά κατά την διάρκεια των ημερών και μεταξύ των δειγμάτων.

Στα διαγράμματα 5 και 6 παρουσιάζεται η % απώλεια βάρους των επικαλυμμένων μύρτιλων με επικάλυψη από άμυλο φυκιών-πηκτίνης και η αλλαγή στο χρώμα τους κατά την διάρκεια 21 ημερών. Τη μικρότερη απώλεια βάρους στις 21 ημέρες την έχει το δείγμα που έχει αφυδατωθεί με διάλυμα χυμού μήλου. Στο χρώμα δεν παρατηρείτε κάποια σημαντική διαφορά κατά την διάρκεια των ημερών και μεταξύ των δειγμάτων.

Στα διαγράμματα 7 και 8 παρουσιάζεται η % απώλεια βάρους των επικαλυμμένων μύρτιλων με επικάλυψη από πρωτεΐνες φυκιών και η αλλαγή στο χρώμα τους κατά την διάρκεια 21 ημερών. Τη μικρότερη απώλεια βάρους έχει το δείγμα που έχει αφυδατωθεί με τη χρήση διαλύματος χυμού μήλου. Στο χρώμα δεν παρατηρείτε κάποια σημαντική διαφορά κατά την διάρκεια των ημερών και μεταξύ των δειγμάτων.

Στα διαγράμματα 9 και 10 τοποθετήθηκαν τα καλύτερα δείγματα από κάθε επικάλυψη και τα μύρτιλα χωρίς καμία επεξεργασία ώστε να συγκριθούν και μεταξύ τους οι επικαλύψεις αλλά και να αξιολογηθεί η απόδοση των επικαλύψεων στη σύγκριση τους με τα απλά.

Παρατηρείται ξεκάθαρα η μικρότερη απώλεια βάρους των δειγμάτων με εδώδιμες επικαλύψεις και με πολύ μεγάλη διαφορά καθώς τα απλά μύρτιλα έχασαν το 16% του συνολικού βάρους ενώ τα υπόλοιπα από 3,5 έως 6%. Μεταξύ των επικαλύψεων υπάρχει μικρή διαφορά στη συνολική απώλεια βάρους με τις επικαλύψεις από φύκια να έχουν καλύτερα αποτελέσματα. Πιο συγκεκριμένα ο συνδυασμός οσμωτικής αφυδάτωσης με χυμό μήλου και εδώδιμη επικάλυψη από πρωτεΐνες φυκιών έχει μείωση του βάρους 3,56% που είναι η μικρότερη από όλα τα δείγματα. Στη διαφορά του χρώματος δεν παρατηρείτε κάποια μεγάλη αλλαγή εκτός από το δείγμα της επικάλυψης από άμυλο-πηκτίνη που η διαφορά χρώματος είναι υψηλότερη από τα υπόλοιπα.

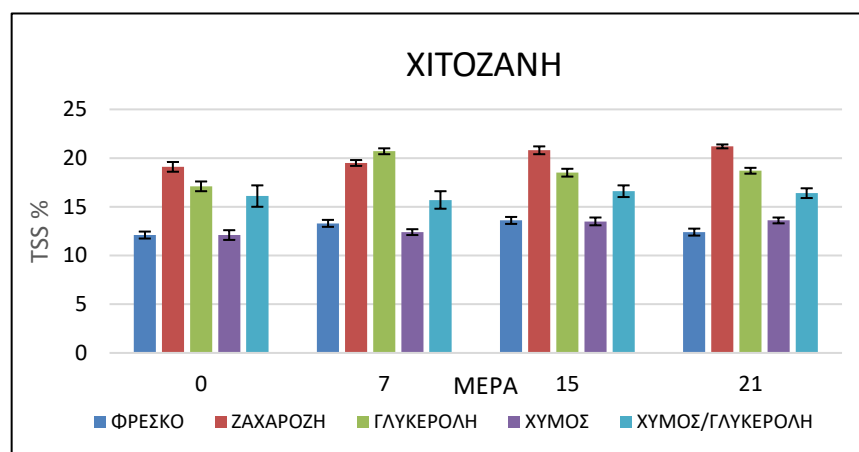
Στα διαγράμματα 11 και 12 παρουσιάζεται η % απώλεια βάρους των επικαλυμμένων μύρτιλων με επικάλυψη που περιέχουν πρόσθετα βιοδραστικά και η αλλαγή στο χρώμα τους κατά την διάρκεια 21 ημερών. Με την προσθήκη βιοδραστικών παρατηρείτε ότι στην επικάλυψη από άμυλο φυκιών υπάρχει μικρότερη

απώλεια βάρους κατά την διάρκεια της αποθήκευσης ενώ αντίθετα στις πρωτεΐνες δεν προσδίδει κάποια βελτίωση και η απώλεια βάρους παραμένει σχεδόν ίδια. Στη διαφορά χρώματος δεν φαίνεται να υπάρχει επιρροή των βιοδραστικών καθώς οι τιμές παραμένουν στα ίδια επίπεδα.

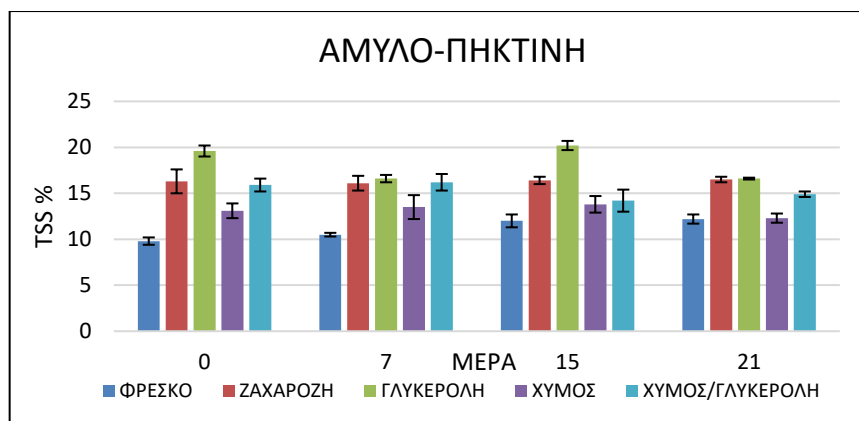
### 6.3.2 Αξιολόγηση των ολικών στερεών και της οξύτητας

#### Ολικά διαλυτά στερεά (TSS)

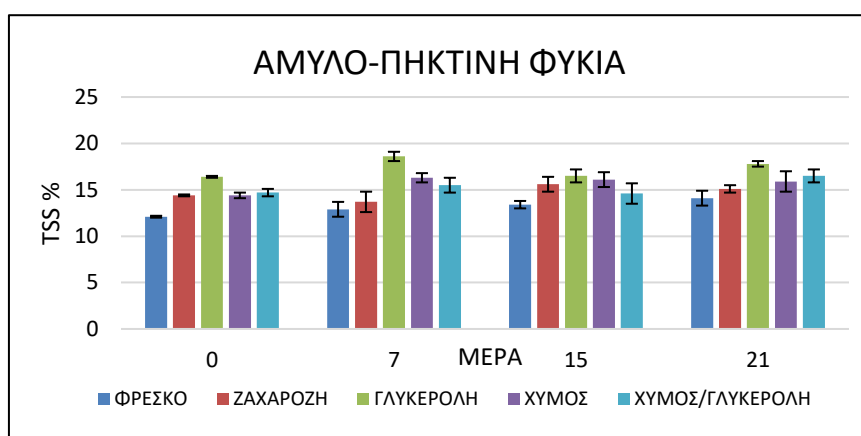
Τα ολικά στερεά είναι δείκτης για την ωριμότητα του φρούτου οπότε όσο μικρότερη είναι η αύξηση των τιμών τόσο καθυστερεί η ωρίμανση και έχει καλύτερο αποτέλεσμα η ωσμωτική αφυδάτωση και η εδώδιμη επικάλυψη. Στα παρακάτω διαγράμματα παρουσιάζεται αναλυτικά η μέτρηση των ολικών διαλυτών στερεών για όλες τις επικαλύψεις και τα ωσμωτικά διαλύματα.



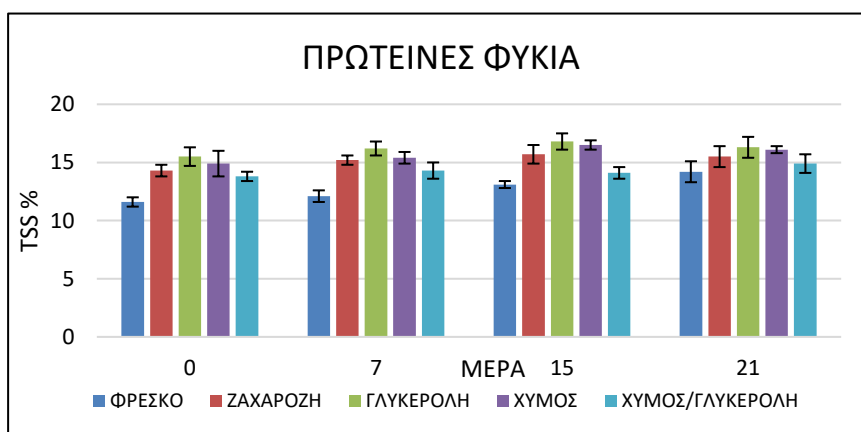
Διάγραμμα 13: Τα ολικά στερεά στα επικαλυμμένα, με χιτοζάνη, μύρτιλα κατά την διάρκεια των ημερών.



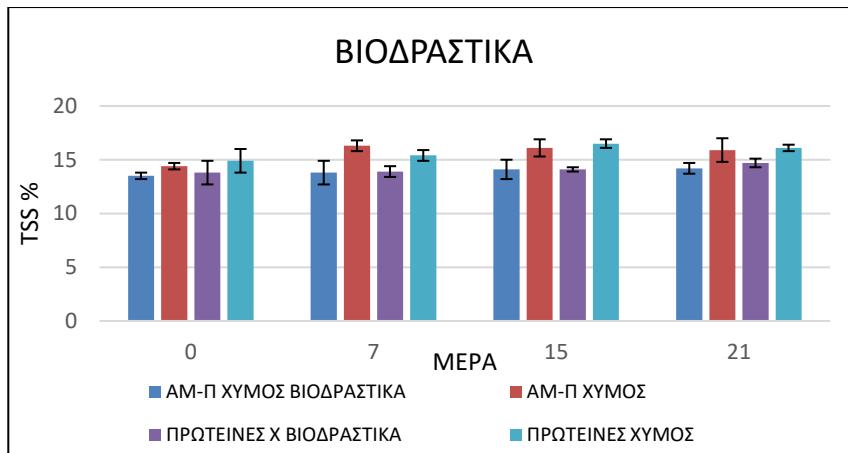
Διάγραμμα 14: Τα ολικά στερεά στα επικαλυμμένα, με άμυλο-πηκτίνη, μύρtila κατά την διάρκεια των ημερών.



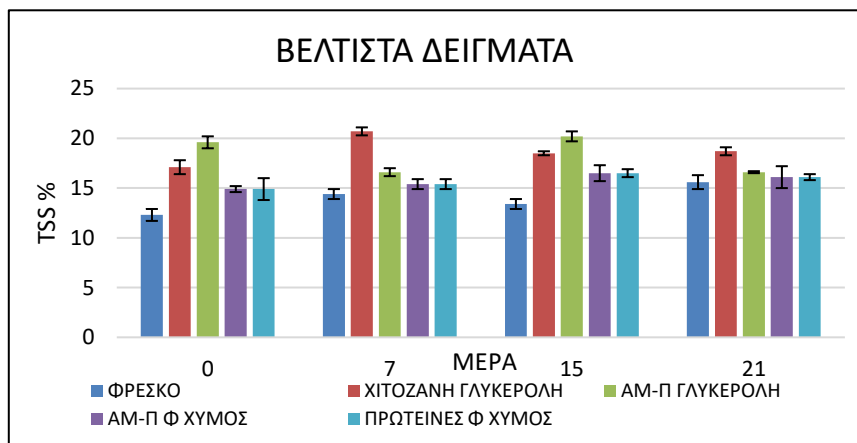
Διάγραμμα 15: Τα ολικά στερεά στα επικαλυμμένα, με άμυλο από φύκια-πηκτίνη, μύρtila κατά την διάρκεια των ημερών.



Διάγραμμα 16: Τα ολικά στερεά στα επικαλυμμένα, με πρωτεΐνες από φύκια, μύρtila κατά την διάρκεια των ημερών.



Διάγραμμα 17: Τα ολικά στερεά στα δείγματα με προσθήκη βιοδραστικών σε σύγκριση με τα αντίστοιχα χωρίς, κατά την διάρκεια των ημερών.



Διάγραμμα 18: Τα ολικά στερεά στα βέλτιστα δείγματα σε σύγκριση με το control δείγμα κατά την διάρκεια των ημερών.

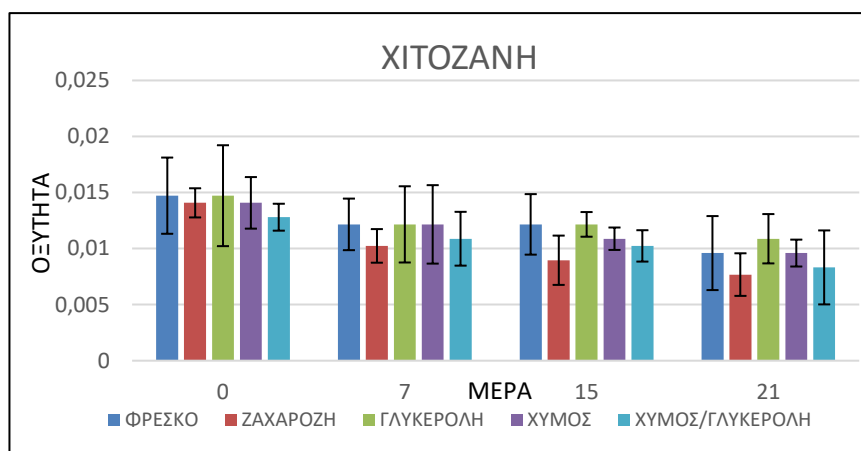
Το συνολικό ύψος των τιμών όπως φαίνεται και στα παρακάτω διαγράμματα έχει επηρεαστεί από την ωσμωτική αφυδάτωση καθώς σε όλα τα δείγματα που έχει γίνει η αφυδάτωση έχουμε περισσότερα ολικά στερεά από ότι σε αυτά που δεν έγινε. Πιο συγκεκριμένα στα δείγματα που έγινε ωσμωτική αφυδάτωση με γλυκερόλη και σακχαρόζη έχουμε τις υψηλότερες τιμές και στη συνέχεια με το μίγμα χυμού/γλυκερόλης οπότε και το διάλυμα στο οποίο έγινε η ωσμωτική αφυδάτωση επηρέασε πολύ τα διαλυμένα στερεά. Αυτό είναι λογικό καθώς η ίδια διαδικασία της ωσμωτικής αφυδάτωσης είναι μια εναλλαγή διαλυτών στερεών και νερού μεταξύ δείγματος και διαλύματος.

Μεταξύ των δειγμάτων η μικρότερη αύξηση παρατηρείτε σε αυτά με την εδώδιμη επικάλυψη από πρωτεΐνες και άμυλο από φύκια σε όλες τις ωσμωτικές αφυδατώσεις και τη μικρότερη εξ' αυτών στο συνδυασμό επικάλυψης από πρωτεΐνες και ωσμωτική

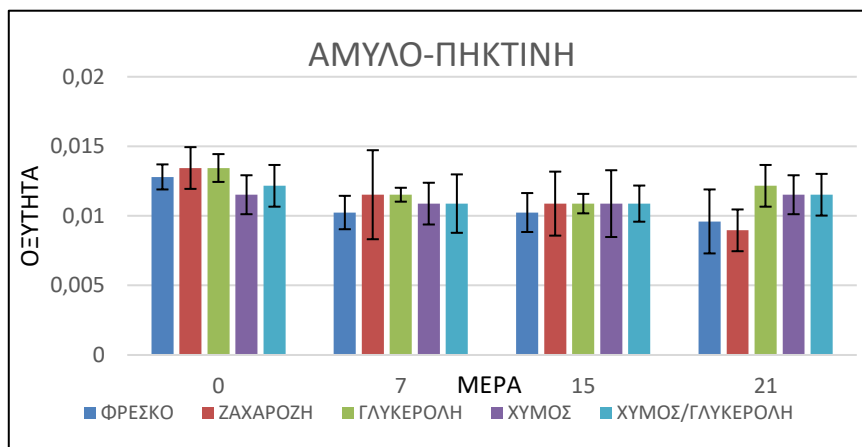
αφυδάτωση με χυμό μήλου. Επίσης σε όλα τα δείγματα που έχουν εδώδιμη επικάλυψη υπάρχει μικρότερη αύξηση των ολικών στερεών από αυτά που δεν έχουν που αποδεικνύει την αποτελεσματικότητα των επικαλύψεων στην αναστολή της ωρίμανσης των μύρτιλων. Τέλος, μεταξύ της 14<sup>ης</sup> μέρας και της 21<sup>ης</sup> η αύξηση είναι η μικρότερη σχεδόν σε όλα τα δείγματα.

### Ολική οξύτητα

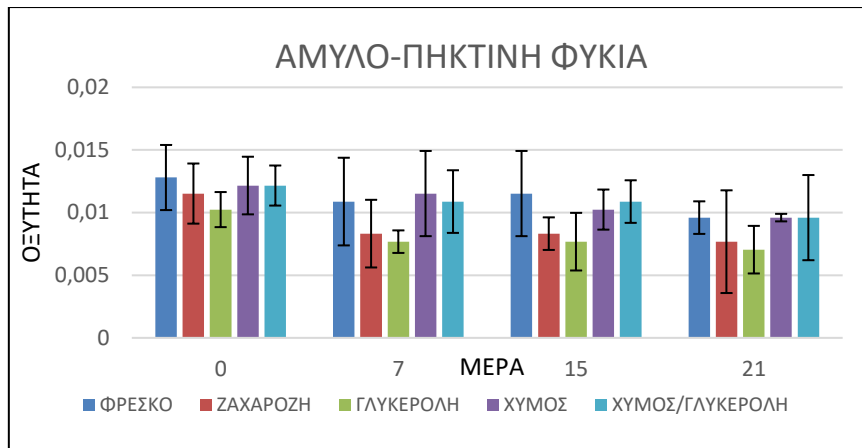
Η μείωση της οξύτητας μπορεί να αποδοθεί στη χρήση των οργανικών οξέων ως αναπνευστικά υποστρώματα και ως σκελετό άνθρακα για τη σύνθεση νέων ενώσεων κατά την ωρίμανση. Οπότε όσο μικρότερη είναι μείωση της οξύτητας τόσο καλύτερο αποτέλεσμα έχει η εδώδιμη επικάλυψη και η οσμωτική αφυδάτωση.



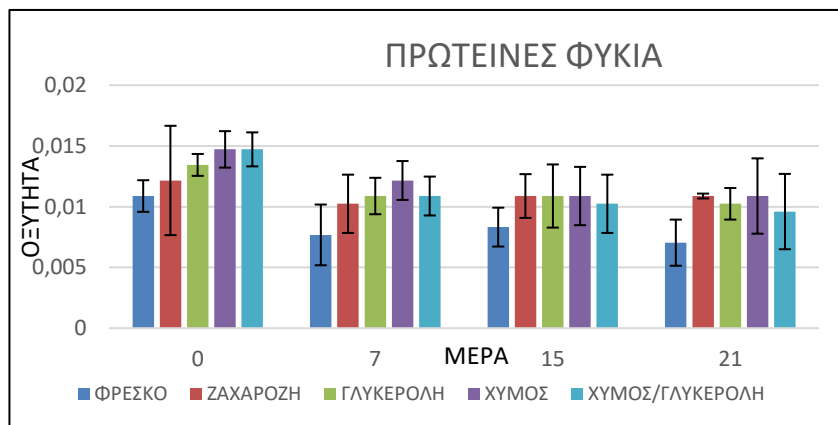
Διάγραμμα 19: η οξύτητα των επικαλυμμένων, με χιτοζάνη, μύρτιλων κατά την διάρκεια των ημερών.



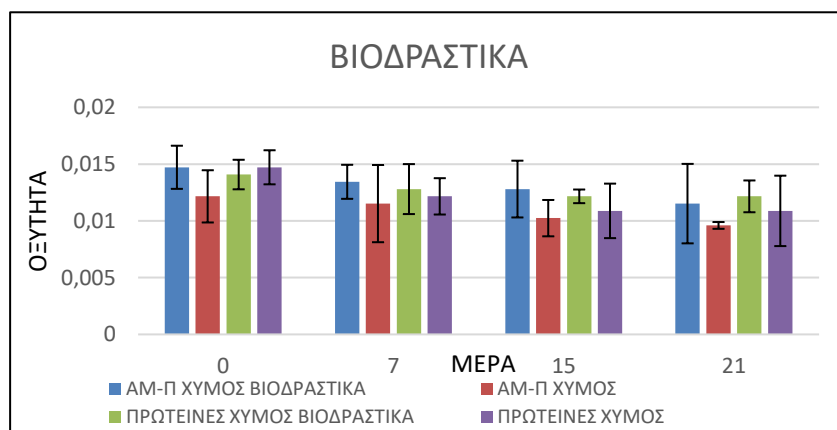
Διάγραμμα 20: η οξύτητα των επικαλυμμένων, με άμυλο-πηκτίνη, μύρτιλων κατά την διάρκεια των ημερών.



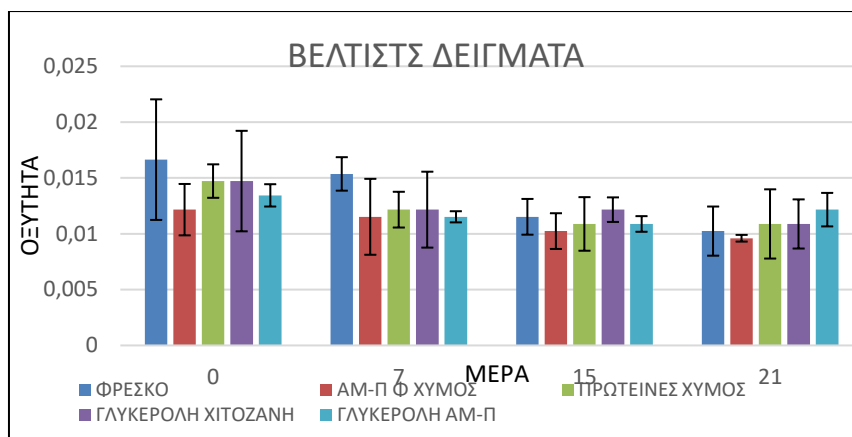
Διάγραμμα 21: η οξύτητα των επακλυμμένων, με άμυλο από φύκια-πηκτίνη, μόντιλων κατά την διάρκεια των ημερών.



Διάγραμμα 22: η οξύτητα των επακλυμμένων, με πρωτεΐνες από φύκια, μόντιλων κατά την διάρκεια των ημερών.



Διάγραμμα 23: η οξύτητα των επακλυμμένων μόντιλων σε σύγκριση με τα αντίστοιχα αλλά με προσθήκη βιοδραστικών, κατά την διάρκεια των ημερών.



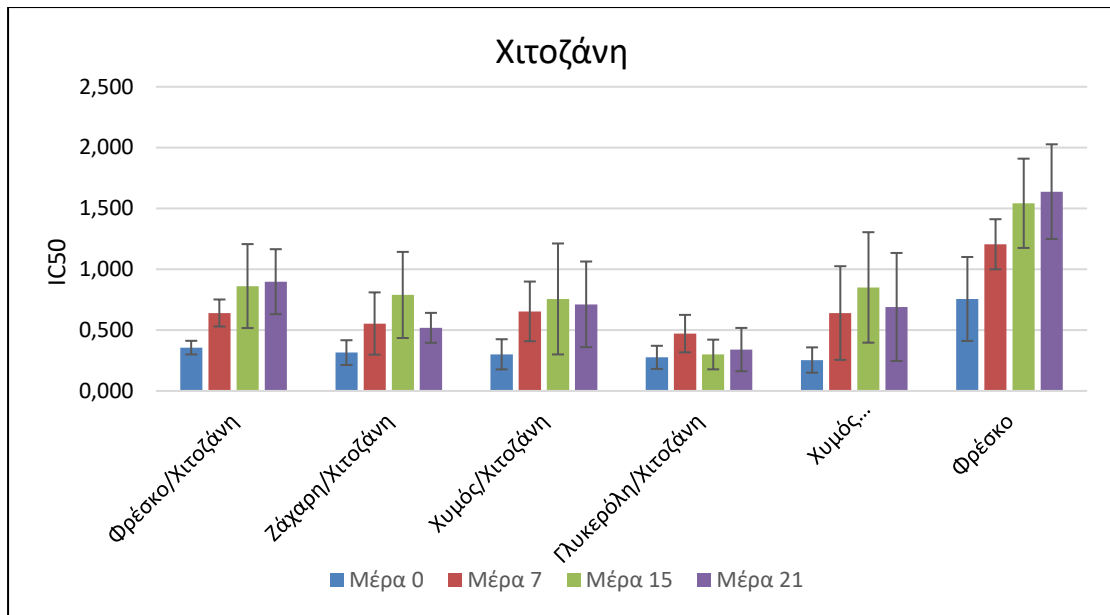
Διάγραμμα 24: η οξύτητα των βέλτιστων δειγμάτων σε σύγκριση με το control κατά την διάρκεια των ημερών.

Στα παραπάνω διαγράμματα παρατηρείται πως για όλα τα δείγματα η ολική οξύτητα μειώνεται την 7<sup>η</sup> ημέρα. Μετά από την 7<sup>η</sup> ημέρα υπάρχει μείωση αλλά μικρότερη από ότι το πρώτο διάστημα. Πιο συγκεκριμένα την 15<sup>η</sup> ημέρα η οξύτητα σχεδόν σε όλα τα δείγματα είναι παρόμοια ή ελάχιστα λιγότερη από ότι τη 7<sup>η</sup>. Στην 21<sup>η</sup> ημέρα η μείωση είναι μεγαλύτερη αλλά και πάλι όχι όσο την 7<sup>η</sup> ημέρα. Στα δείγματα με βιοδραστικά παρατηρείται επίσης ότι η μείωση της οξύτητας είναι μικρότερη από τα αντίστοιχα δείγματα χωρίς βιοδραστικά.

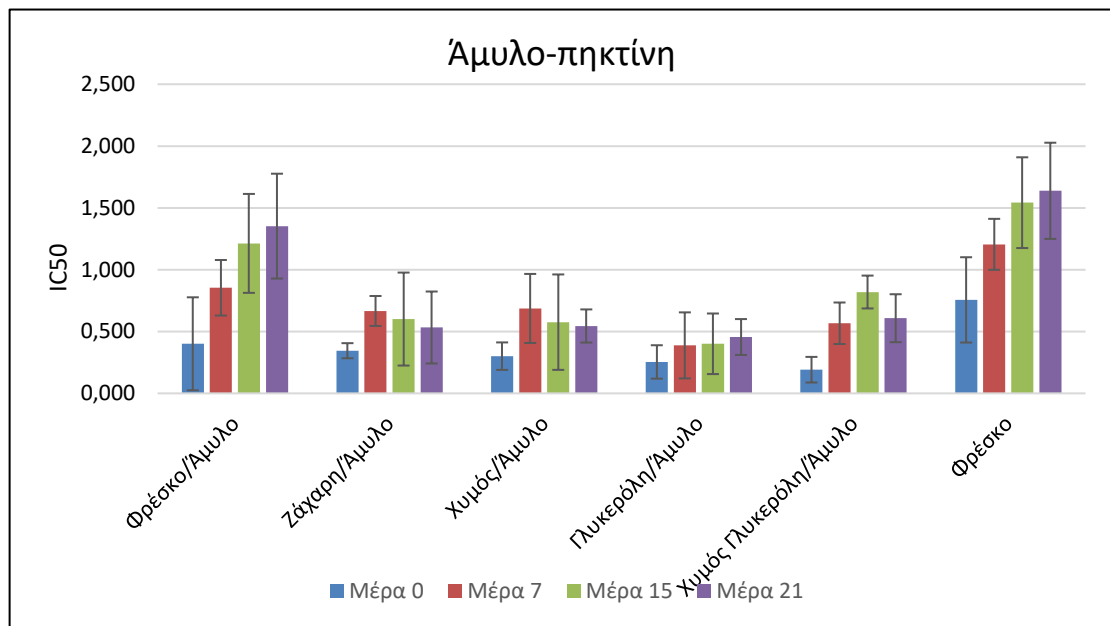
Συνολικά, όλα τα δείγματα με επικαλύψεις έχουν καλύτερες επιδόσεις στην μείωση της οξύτητας από ότι το control όπως φαίνεται στο διάγραμμα 21. Επίσης παρατηρείται ότι μετά την ωσμωτική αφυδάτωση ανεξάρτητα του διαλύματος, υπάρχει μείωση της ολικής οξύτητας αλλά αυτό είναι λογικό καθώς η διεργασία της ωσμωτικής αφυδάτωσης (υψηλή θερμοκρασία κ.α.) βοηθάει στην αντίδραση των οργανικών οξέων, όπως το κιτρικό οξύ και την μετατροπή τους σε σάκχαρα.

### 6.3.3 Αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης

Η διατήρηση των αντιοξειδωτικών λόγω των επικαλύψεων προκύπτει από την παρεμπόδιση του οξυγόνου και του διοξειδίου του άνθρακα να εισέλθει και να εξέλθει από το μύρτιλο. Ως συνέπεια αυτού τα αντιοξειδωτικά του μύρτιλου, όπως το ασκορβικό οξύ, οι ανθοκυανίνες κ.α. δεν οξειδώνονται και η δράση τους παραμένει ισχυρή.

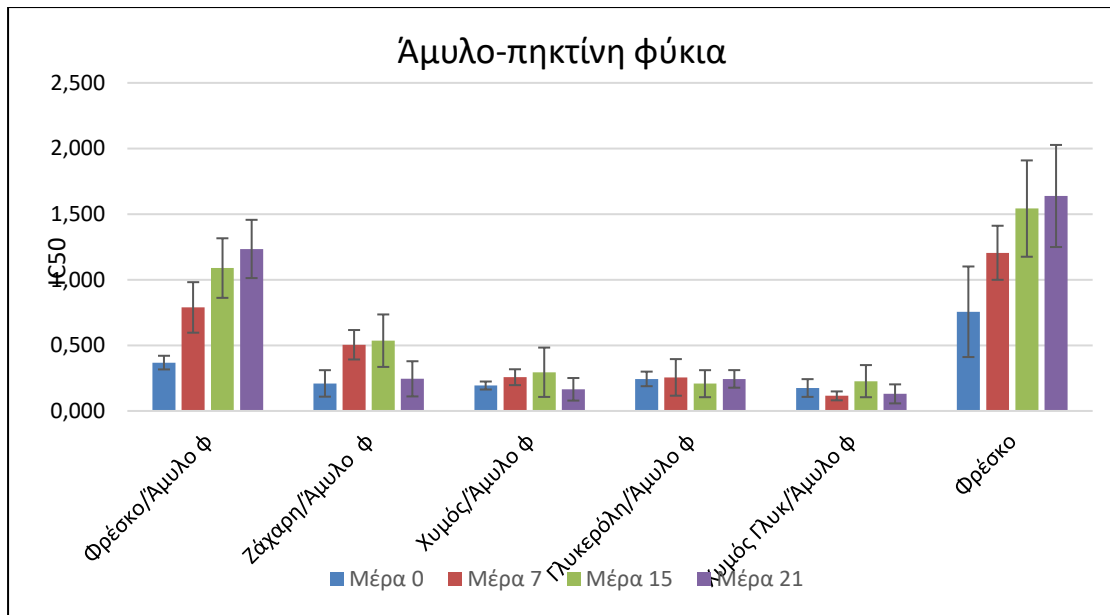


Διάγραμμα 25: : Η τιμή του IC50 στα επικαλυμμένα, με χιτοζάνη, μύρτιλα κατά την διάρκεια των ημερών.

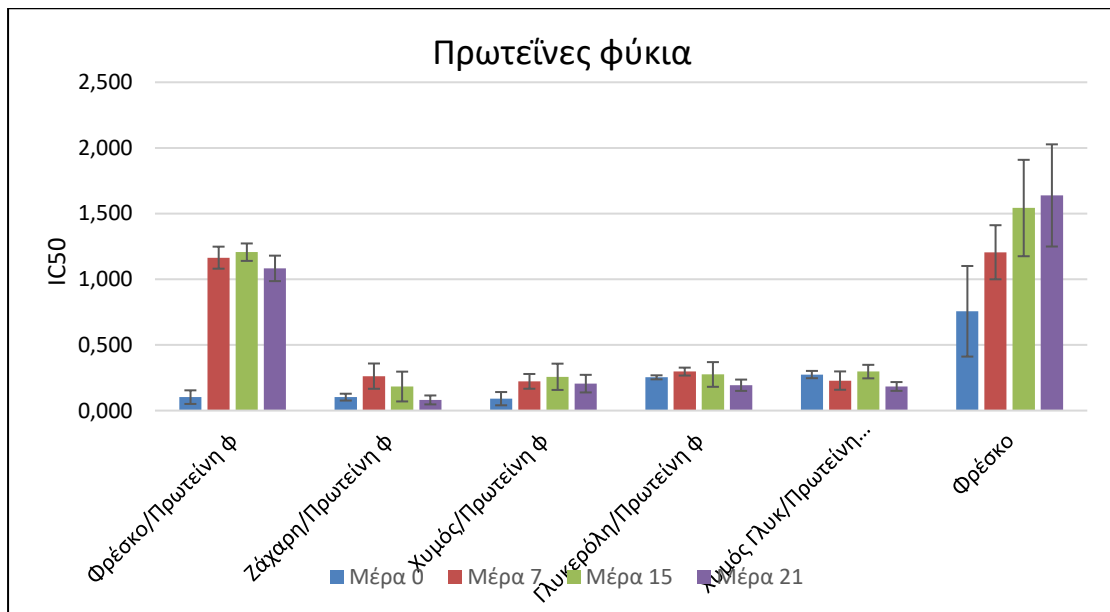


Διάγραμμα 26: Η τιμή του IC50 στα επικαλυμμένα, με άμυλο-πηκτίνη, μύρτιλα κατά την διάρκεια των ημερών.

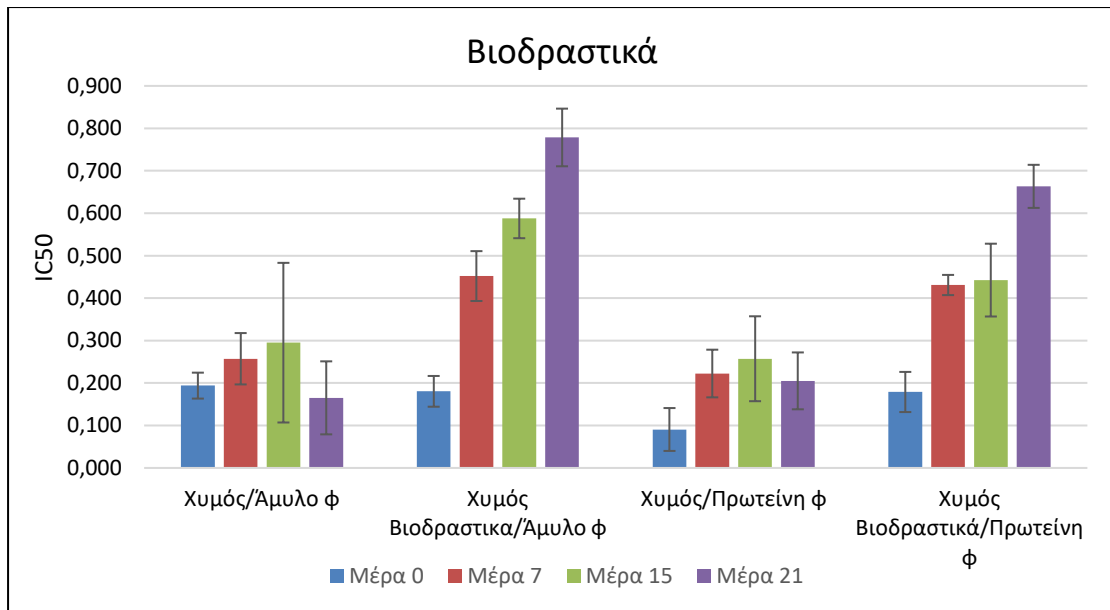




Διάγραμμα 27: Η τιμή του IC50 στα επικαλυμμένα, με άμυλο από φύκια-πηκτική, μύρtila κατά την διάρκεια των ημερών.



Διάγραμμα 28: Η τιμή του IC50 στα επικαλυμμένα, με πρωτεΐνες από φύκια, μύρtila κατά την διάρκεια των ημερών.



**Διάγραμμα 29:** Η τιμή του IC50 στα επικαλυμμένα μύρτιλα με τη προσθήκη βιοδραστικών κατά την διάρκεια των ημερών.

Όπως παρατηρείται από τα παραπάνω διαγράμματα οι επικαλύψεις έχουν θετική επίδραση στη διατήρηση των αντιοξειδωτικών κατά την διάρκεια των ημερών. Στις επικαλύψεις από εκχυλίσματα φυκιών υπάρχει σαφώς μεγαλύτερη ποσότητα αντιοξειδωτικών από την πρώτη μέρα που οφείλεται σε επιπλέον αντιοξειδωτικά που περιέχονται στα εκχυλίσματα και τα οποία συνεισφέρουν στο συνολική δράση. Στις επικαλύψεις με χιτοζάνη και άμυλο-πηκτίνη τα αντιοξειδωτικά είναι σαφώς λιγότερα αλλά κα πάλι υπάρχει διατήρηση από την 7<sup>η</sup> ημέρα και μετά.

Επίσης, παρατηρείται ότι η ωσμωτική αφυδάτωση βελτιστοποιεί ακόμα περισσότερο την διατήρηση των αντιοξειδωτικών καθώς από την 7<sup>η</sup> ημέρα και μετά παραμένει σχεδόν σταθερή η ποσότητα τους αντίθετα με το δείγμα χωρίς επεξεργασία που σε κάθε μέτρηση υπάρχει και απώλεια αντιοξειδωτικών.

Στο διάγραμμα 22 παρατηρείτε ότι με τη χρήση βιοδραστικών μειώνεται η απόδοση των επικαλύψεων στην διατήρηση των αντιοξειδωτικών σε σύγκριση με τα αντίστοιχα δείγματα χωρίς βιοδραστικά. Παρατηρείται επίσης, μια αύξηση την 21<sup>η</sup> ημέρα που δεν είχαμε στα υπόλοιπα δείγματα. Βέβαια, και πάλι η συνολική ποσότητα των αντιοξειδωτικών είναι περισσότερη από ότι στα υπόλοιπα δείγματα δηλαδή η απώλεια δεν είναι τόσο μεγάλη ώστε να θεωρηθεί ότι επιδρά πολύ αρνητικά.

### 6.3.4 Μικροβιολογική ανάλυση

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των μικροβιακών τεστ. Παρατηρείτε ότι όπως και στα Total Counts έτσι και στο E. coli υπάρχει μεγάλη διαφορά στη ποσότητα των μικροοργανισμών που αναπτύχθηκαν ανάλογα με την επικάλυψη. Παρατηρείτε ότι η χιτοζάνη, που είναι γνωστή η αντιμικροβιακή δράση της, δεν ανιχνεύεται κάποια ποσότητα μικροοργανισμών ενώ αντίθετα στις επικαλύψεις με τα εκχυλίσματα φυκιών η δράση τους είναι πολύ μικρή στα Total Counts και λίγο μεγαλύτερη στο E. Coli σε σχέση με το Control δείγμα. Αυτό μπορεί να οφείλεται σε μια ποσότητα μικροοργανισμών που μπορεί να περιέχουν τα μικροφύκη είτε πριν την εκχύλιση είτε να αποκτούν κατά αυτή και έτσι να μεγαλώνει το συνολικό φορτίο και λόγω τις μικρότερης ανάπτυξης αυτών καταλήγει την 14<sup>η</sup> ημέρα να βρίσκεται στα ίδια επίπεδα. Για να δοθεί σαφή εξήγηση απαιτείτε ο αναλυτική μικροβιακή μελέτη ώστε να βρεθεί ο ρυθμός ανάπτυξης των μικροβίων.

Πολύ μεγάλη διαφορά βλέπουμε στη χρήση βιοδραστικών καθώς οι επικαλύψεις με τα βιοδραστικά έχουν μη ανιχνεύσιμο φορτίο. Άρα παρατηρείτε ότι οι ίδιες επικαλύψεις απλά με τη προσθήκη μια μικρής ποσότητας βιοδραστικών αποκτά πολύ μεγάλες αντιμικροβιακές ιδιότητες. Οπότε η χρήση του παρόλο που δεν είχε ιδιαίτερη σημασία στα υπόλοιπα χαρακτηριστικά του μύρτιλου εδώ αποκτά μεγάλη.

Στα όρια που έχουν βρεθεί βιβλιογραφικά για τη ποσότητα των μικροβίων παρατηρείτε ότι στα Total Counts όπου το όριο είναι  $5 \log_{10}\text{CFU/mL}$  όλα τα δείγματα είναι εντός ορίων την 14<sup>η</sup> ημέρα. Αντίθετα στο E. Coli όπου το όριο είναι  $2 \log_{10}\text{CFU/mL}$  παρατηρείτε ότι όπως το Control έτσι και τα δείγματα από εκχυλίσματα φυκιών και άμυλο-πηκτίνη είναι πάνω από το όριο που τα κάνει μη εδώδιμα. Εδώ παρατηρείτε ότι τα βιοδραστικά μπορεί να αυξήσουν το χρόνο ζωής των τροφίμων κατά πολύ.

Πίνακας 21: τα αποτελέσματα των μικροβιακών τεστ την 14<sup>η</sup> ημέρα

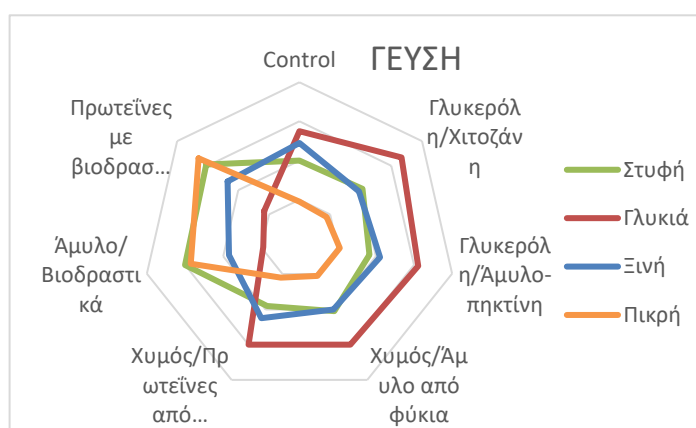
Δείγμα	Ολικό μικροβιακό φορτίο (Total Counts) ( $\log_{10}\text{CFU/mL}$ )	E. Coli ( $\log_{10}\text{CFU/mL}$ )
Control	$4.158 \pm 0.066$	$3.444 \pm 0.086$
Χιτοζάνη	Μη ανιχνεύσιμο	Μη ανιχνεύσιμο
Άμυλο-πηκτίνη	$3.87 \pm 0.151$	$3.415 \pm 0.1$
Άμυλο φυκιών-πηκτίνη	$4.127 \pm 0.034$	$2.436 \pm 0.0723$
Άμυλο φυκιών-πηκτίνη Βιοδρ	Μη ανιχνεύσιμο	Μη ανιχνεύσιμο

Πρωτεΐνες φυκιών	4.179 ± 0.021	2.146 ± 0.178
Πρωτεΐνες φυκιών Βιοδρ	Μη ανιχνεύσιμο	Μη ανιχνεύσιμο

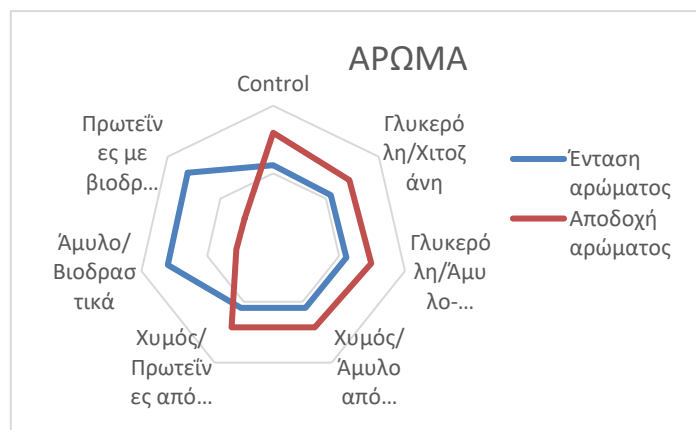
Όπου: μη ανιχνεύσιμο σημαίνει ότι  $\log_{10}\text{CFU/mL} < 1$

### 6.3.5 Οργανοληπτικός έλεγχος

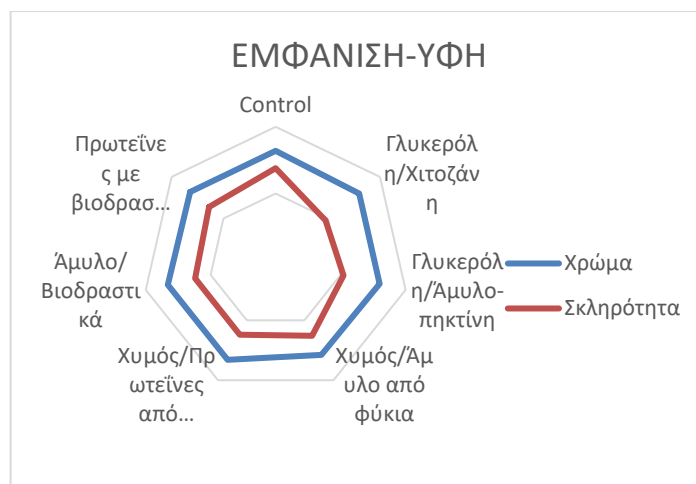
Μετά την δοκιμή και τη συμπλήρωση του ερωτηματολογίου, υπολογίστηκε ο μέσος όρος κάθε χαρακτηριστικού για κάθε δείγμα, οι οποίοι παρουσιάζονται στα παρακάτω διαγράμματα.



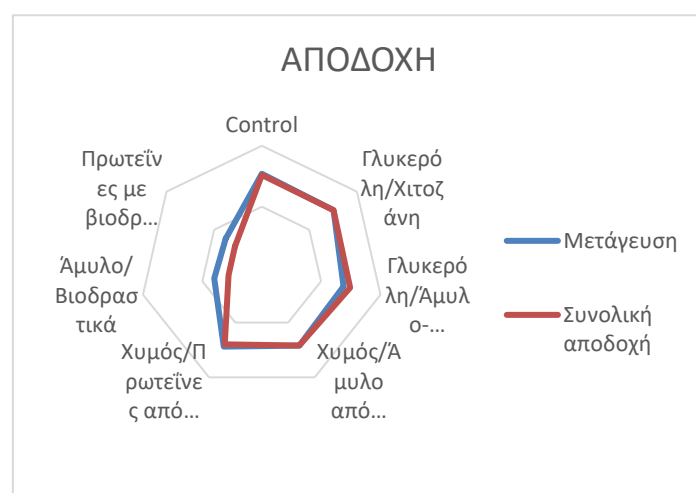
Διάγραμμα 30: Η αξιολόγηση της γεύσης των δειγμάτων.



Διάγραμμα 31: Η αξιολόγηση του αρώματος των δειγμάτων.



Διάγραμμα 32: Η αξιολόγηση της εμφάνισης και της υφής των δειγμάτων.



Διάγραμμα 33: Η συνολική αποδοχή και μετάγευση των δειγμάτων.

Από τα παραπάνω διαγράμματα παρατηρείται αρχικά ότι η γεύση των δειγμάτων είναι πιο γλυκιά από ότι το control με τις επικαλύψεις και τις ωσμωτικές επικαλύψεις αλλά αρκετά κοντά σε αυτό. Από την άλλη με την προσθήκη βιοδραστικών η γεύση είναι στυφή και πικρή και δεν μοιάζει καθόλου με τη γεύση του μύρτιλου. Επίσης σε όλα τα δείγματα υπάρχει μια μέτρια σε ένταση ξινή γεύση. Η ένταση του αρώματος είναι ίδια στα δείγματα χωρίς βιοδραστικά και στα ίδια επίπεδα με το control όπως και η αποδοχή του αρώματος. Αντίθετα στα βιοδραστικά η ένταση του αρώματος είναι πολύ μεγαλύτερη και καθόλου αποδεκτή στους δοκιμαστές. Το χρώμα και η σκληρότητα των δειγμάτων είναι ίδια σχεδόν σε όλα με πολύ μικρές διαφορές στα μύρτιλα επικαλυμμένα με χιτοζάνη και άμυλο πηκτίνη. Ακόμα η μετάγευση και η συνολική αποδοχή των δειγμάτων με βιοδραστικά είναι πολύ μικρή αντίθετα από τα υπόλοιπα δείγματα που προτιμώνται περισσότερο και από τα απλά μύρτιλα.

Συμπερασματικά, η ωσμωτική αφυδάτωση και η εδώδιμη επικάλυψη επιδρά λίγο στην γεύση των μύρτιλων αλλά αυτή η επίδραση είναι θετική συνολικά και προτιμάται από το control δείγμα. Τα βιοδραστικά έχουν πολύ αρνητική επίδραση στη συνολική γεύση των δειγμάτων και δεν τα κάνει καθόλου επιθυμητά τόσο στη γεύση όσο και στο άρωμα. Από την άλλη, η εμφάνιση των δειγμάτων δεν επηρεάζεται καθόλου από τις διεργασίες που γίνονται και δεν φαίνεται καμία διαφορά μεταξύ των δειγμάτων και του control.

## 7. Συμπεράσματα

Οι εδώδιμες επικαλύψεις είναι μια τεχνική που χρησιμοποιείται σε αρκετές χώρες τα τελευταία χρόνια καθώς θεωρείται μια εναλλακτική μέθοδος για τη συντήρηση των τροφίμων με μικρό περιβαλλοντικό αποτύπωμα. Ωστόσο δεν έχουν όλες οι επικαλύψεις θετικά αποτελέσματα σε κάθε τρόφιμο οπότε πρέπει κάθε φορά να γίνεται έλεγχος ώστε να επιλέγεται η επικάλυψη με τα καλύτερα αποτελέσματα.

Αρχικά, μελετήθηκε αν εκτός από τις επικαλύψεις των μύρτιλων θα έπρεπε να πραγματοποιηθεί και κάποια μέθοδος ξήρανσης και αν θα μπορούσαν οι δύο αυτές μέθοδοι να συνυπάρξουν και να προσφέρουν συνολικά στο τρόφιμο. Από βιβλιογραφική έρευνα και εργαστηριακές δοκιμές επιλέχθηκε να πραγματοποιηθεί ωσμωτική αφυδάτωση με 4 διαφορετικά διαλύματα: διάλυμα γλυκερόλης, χυμού μήλου, σακχαρόζης και χυμού μήλου/γλυκερόλης. Αυτά διατηρούσαν σε πολύ μεγάλο βαθμό τα ποιοτικά, εμφανισιακά και γευστικά χαρακτηριστικά του μύρτιλου και έφευγε από αυτά αρκετή υγρασία, περίπου 15-20% ώστε να αυξήσει το χρόνο ζωής τους. Επίσης ελέγχθηκε ότι μετά την ωσμωτική αφυδάτωση θα μπορούσαν να εφαρμοστούν στην επιφάνεια των μύρτιλων οι εδώδιμες επικαλύψεις χωρίς να υπάρχει πρόβλημα στην λειτουργία τους.

Όπως οι εδώδιμες επικαλύψεις, έτσι και τα μικροφύκη είναι μια καινοτόμα και «πράσινη» πηγή, από την οποία μπορούν να εκχυλιστούν οι χημικές ενώσεις του με μεγάλη αποδοτικότητα και χαμηλό κόστος. Επιλέχθηκε λοιπόν, να εκχυλιστούν από μικροφύκη πρωτεΐνες και πολυσακχαρίτες και να χρησιμοποιηθούν αυτά για την δημιουργία των εδώδιμων επικαλύψεων ώστε να δώσουν στις επικαλύψεις μια καινοτομία και μια εναλλακτική μέθοδο δημιουργίας τους. Το μικροφύκος που επιλέχθηκε είναι η *Chlorella vulgaris*, από τα πιο χρησιμοποιούμενα, σε όλους τους τομείς, μικροφύκη και με μεγάλη βιβλιογραφική έρευνα.

Για την εύρεση των εδώδιμων επικαλύψεων που χρησιμοποιήθηκαν βρέθηκαν βιβλιογραφικά τα βασικά χαρακτηριστικά των επικαλύψεων από κάθε υλικό σύνθεσης και κάθε πρόσθετο και επιλέχθηκαν οι επικαλύψεις: από χιτοζάνη, από άμυλο-πηκτίνη, από άμυλο φυκιών-πηκτίνη και από πρωτεΐνες φυκιών. Ο σκοπός της επιλογής τους αυτής ήταν να μελετηθούν αρκετοί τομείς των αποτελεσμάτων τους καθώς κάθε μία έχει διαφορετικά πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα. Η δημιουργία τους έγινε σύμφωνα με τη βασική μεθοδολογία δηλαδή διαλυμένα τα βασικά υλικά σε νερό και προσθήκη κάποιου πλαστικοποιητή. Τα επιπλέον πρόσθετα (π.χ. Tween, βιοδραστικά) επιλέχθηκαν αναλόγως την ανάγκη τους σε κάθε περίπτωση και σύμφωνα με βιβλιογραφικά δεδομένα.

Η εκχύλιση των συστατικών από τα μικροφύκη έγινε με τρόπο ώστε να μπορούν αυτά να είναι εδώδιμα και όσο το δυνατόν με λιγότερες χρωστικές για να μην επηρεαστεί πολύ η εδώδιμη επικάλυψη από αυτές. Το μικροφύκος *Chlorella vulgaris* περιέχει περίπου 60% w/w πρωτεΐνες και 10-15% w/w πολυσακχαρίτες. Σύμφωνα με βιβλιογραφικές πηγές με τις κλασσικές μεθόδους εκχύλισης θα μπορούσε να εκχυλιστεί μέχρι και το 50% των συνολικών πρωτεϊνών και πολυσακχαριτών, χωρίς αυτές να είναι εδώδιμες καθώς χρησιμοποιούνται χημικά ή μέθοδοι απαγορευμένοι στη βιομηχανία τροφίμων, αλλά τελικά με τις μεθόδους που επιλέγονται εκχυλίζεται πολύ μικρότερο ποσοστό δηλαδή 35% το μέγιστο για τις πρωτεΐνες και το άμυλο.

Στη συνέχεια ακολουθεί η αξιολόγηση των επικαλύψεων τόσο μόνες τους όσο και στην εφαρμογή τους στα μύρτιλα. Αρχικά, στην αξιολόγηση των επικαλύψεων, χωρίς την εφαρμογή τους στα μύρτιλα, επιλέχθηκαν όλες οι βασικές ιδιότητες και χαρακτηριστικά: πάχος μεμβράνης και πυκνότητα, περιεχόμενη υγρασία, διαλυτότητα σε νερό, οπτικές ιδιότητες: χρώμα και διαφάνεια και μετάδοση φωτός, διαπερατότητα υγρού-αερίου, θερμική ανάλυση και μηχανικές ιδιότητες.

Στην αξιολόγηση των επικαλύψεων παρατηρείτε ότι η επικάλυψη από τις πρωτεΐνες έχουν τα καλύτερα χαρακτηριστικά για το ρόλο τις εδώδιμης επικάλυψης σε φρούτα δηλαδή μικρό πάχος, μικρή διαπερατότητα υγρού αερίου, είναι σχεδόν διάφανες καθώς και χαμηλή περιεχόμενη υγρασία. Βέβαια το μεγάλο μειονέκτημα τους είναι οι μηχανικές ιδιότητες, οι οποίες είναι οι χαμηλότερες από όλες τις επικαλύψεις, άρα δεν μπορούν να βοηθήσουν αν υπάρχουν αρκετές μηχανικές καταπονήσεις στο φρούτο. Οπότε αναλόγως ποιο είναι το επιθυμητό φρούτο, ποιες οι συνθήκες μετακίνησης και αποθήκευσης του αλλά και το αποτέλεσμα που πρέπει να επιτευχθεί, είναι κατάλληλη και διαφορετική επικάλυψη.

Στην αξιολόγηση των επικαλυμμένων μούρων επιλέχθηκαν όλοι οι βασικοί τομείς που επηρεάζουν το χρόνο ζωής και την ποιότητα του των μύρτιλων και πιο συγκεκριμένα αξιολογήθηκε η επιρροή των επικαλύψεων σε αυτούς, δηλαδή: η απώλεια βάρους, η αλλαγή χρώματος, τα ολικά στερεά, η οξύτητα, τα αντιοξειδωτικά, τα μικροβιακά και ο οργανοληπτικός έλεγχος. Επίσης εκτός από τα φρέσκα μούρα, έγιναν και δείγματα με αφυδατωμένα μούρα ώστε να αξιολογηθεί αν έχει, και κατά πόσο, καλύτερα αποτελέσματα η συνύπαρξη των μεθόδων. Τέλος, οι ημέρες που γίνονται οι μετρήσεις είναι 21 ημέρες σε όλες τις κατηγορίες με συχνότητα ανάλογη του είδους του ελέγχου που γίνεται.

Ένα σημαντικό συμπέρασμα των παραπάνω μετρήσεων είναι ότι η εδώδιμη επικάλυψη με την αφυδάτωση των μύρτιλων μπορεί να αποφέρει εξαιρετικά αποτελέσματα. Όλα τα αφυδατωμένα μύρτιλα με τις επικαλύψεις έχουν καλύτερες



επιδόσεις τόσο στη διατήρηση του βάρους όσο και στα αντιοξειδωτικά,, αλλά και στην καθυστέρηση της ωρίμανσης τους όπως φαίνεται από την οξύτητα και τα ολικά στερεά.

Από τα επικαλυμμένα μούρα συμπεραίνεται ότι οι επικαλύψεις από τα εκχυλίσματα φυκιών έχουν τα καλύτερα αποτελέσματα σχεδόν σε όλους τους τομείς. Πιο συγκεκριμένα, οι επικαλύψεις από πρωτεΐνες φυκιών και αφυδατωμένα με χυμό μήλου έχουν την μικρότερη απώλεια βάρους περίπου 3% ενώ το control δείγμα περίπου 15% σε διάρκεια 21 ημερών και ακολουθεί το δείγμα με επικάλυψη αμύλου φυκιών-πηκτίνη και αφυδατωμένο με χυμό μήλου με ποσοστό 4%. Παρόμοια αποτελέσματα με αυτά είχαν και τα δείγματα με τη προσθήκη βιοδραστικών. Στην ωρίμανση του μύρτιλου δηλαδή στα ολικά στερεά και στη οξύτητα παρατηρείτε μια αύξηση λόγω της ωσμωτικής αφυδάτωσης την μέρα 0 η οποία συμβαίνει λόγω της διεργασίας αλλά στη συνέχεια υπάρχει μεγάλη καθυστέρηση αυτής σε σχέση με το control σε όλα τα δείγματα. Ακόμη, υπάρχει μεγάλη διαφορά στη διατήρηση των αντιοξειδωτικών αλλά και στην αύξηση τους στα επεξεργασμένα μύρτιλα καθώς στην διάρκεια των 21 ημερών τα αφυδατωμένα δείγματα από πρωτεΐνες και άμυλο φυκιών έχουν μια πολύ μικρή μείωση των αντιοξειδωτικών αντίθετα με το control και τα δείγματα με τις επικαλύψεις χιτοζάνης και άμυλου-πηκτίνης.

Από την αντιμικροβιακή μελέτη που έγινε συμπεραίνεται ότι η χρήση των βιοδραστικών σε επικαλύψεις αλλά και επικαλύψεις χωρίς αυτά, έχουν μεγάλα αποτελέσματα. Πιο συγκεκριμένα η χρήση τους μείωσε δραστικά τη ποσότητα των μικροβίων που αναπτύχθηκαν και κατέστησε μέχρι και εδώδιμα τα δείγματα τα οποία χωρίς αυτά δεν ήταν. Οπότε μια στοχευμένη, για αντιμικροβιακή δράση, επικάλυψη θα μπορούσε να αποφέρει εξαιρετικά αποτελέσματα και να αυξήσει το χρόνο ζωής του τρόφιμου κατά πολύ.

Επίσης από τον οργανοληπτικό έλεγχο που έγινε συνολική αποδοχή των επικαλυμμένων μύρτιλων ήταν μεγαλύτερη από ότι του control οπότε η συνεισφορά της επικάλυψης στα λειτουργικά χαρακτηριστικά όχι μόνο δεν κόστισε σε γεύση, άρωμα και εμφανισιακά χαρακτηριστικά αλλά πρόσφερε σε αυτά. Αντίθετα, τα δείγματα με τα βιοδραστικά παρόλο τις καλές αποδόσεις σε διατήρηση βάρους και ιδιαίτερα στη αντιμικροβιακή δραστηριότητα, είχε πολύ αρνητικά αποτελέσματα στη γεύση και το άρωμα τους. Είχαν την ελάχιστη δυνατή συνολική αποδοχή και δεν ήταν καθόλου ευχάριστα για κατανάλωση. Οπότε η προσθήκη βιοδραστικών ουσιών μπορεί να προσφέρει ακόμα πιο θετικά αποτελέσματα στις επικαλύψεις αλλά σίγουρα στη συγκεκριμένη περίπτωση είναι πολύ αρνητικά.

Μέσω αυτών των αξιολογήσεων συμπεραίνεται επίσης ότι πολλές από τις ιδιότητες των επικαλύψεων αποδεικνύονται και στην εφαρμογή τους αλλά άλλες όχι και τόσο καθώς όπως προαναφέρθηκε κάθε επικάλυψη έχει διαφορετικά αποτελέσματα σε κάθε τρόφιμο. Ένα παράδειγμα αυτού είναι ότι η επικάλυψη από άμυλο φυκιών-πηκτίνη παρόλο που βρέθηκε να έχει μεγαλύτερη διαπερατότητα υδρατμών από ότι η χιτοζάνη, έχει καλύτερα αποτελέσματα στη διατήρηση του βάρους των μύρτιλων. Αυτό συμβαίνει πιθανώς γιατί η εφαρμογή της πάνω στο μύρτιλο γίνεται με καλύτερο τρόπο από ότι της χιτοζάνης και έτσι έχει μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα.

Συνολικά, η σημασία της εδωδιμης επικάλυψης και της αφυδάτωσης στη διατήρηση των μύρτιλων είναι πολύ μεγάλη καθώς προσφέρει σε αυτό μεγάλη αύξηση του χρόνου ζωής του και στη διατήρηση των ποιοτικών του χαρακτηριστικών.

## 8. Προτάσεις για το μέλλον

Η παρούσα εργασία εστιάζει στην βελτιστοποίηση των εδώδιμων επικαλύψεων στα μύρτιλα και στη δημιουργία εδώδιμων επικαλύψεων από εκχυλίσματα μικροφυκών. Σε αυτό το μήκος κύματος, θα μπορούσε να δοκιμαστεί η συνεργεία μεταξύ πολλών στρώσεων πολύ λεπτών επικαλύψεων ή επιπλέον πρόσθετων σε αυτές που μπορεί να προέρχονται είτε από τα φύκια είτε από οπουδήποτε αλλού ώστε να αυξηθεί η αποδοτικότητα τους.

Επιπρόσθετα, η εφαρμογή των εδώδιμων επικαλύψεων στα μούρα αμέσως μετά τη περισυλλογή τους θα αύξανε την αποτελεσματικότητά τους τόσο στην διατήρηση των αντιοξειδωτικών παραγόντων όσο και στην αντιμικροβιακή δράση. Οπότε σημαντική θα ήταν η δυνατότητα δοκιμής των επικαλύψεων στο τόπο της παραγωγής των μούρων για να συγκριθεί η αποτελεσματικότητά τους αν γίνει η χρήση τους από την αρχή του χρόνου ζωής του προϊόντος.

Επίσης, ο έλεγχος των συνθηκών τόσο μεταφοράς όσο και αποθήκευσης των μύρτιλων μετά την περισυλλογή τους θα έδινε μια εικόνα των δυσκολιών και των κινδύνων που υπάρχουν για αυτά. Οι κίνδυνοι αυτοί μπορεί να είναι είτε μηχανικοί είτε μικροβιακοί οπότε θα μπορούσαν να προσαρμοστούν κατάλληλα και οι επικαλύψεις στις συνθήκες αυτές.

Ακόμη, η εκχύλιση συστατικών και από άλλα μικροφύκη, όπως *Spirulina platensis* και *Dunaliella salina* που είναι αρκετά μελετημένα ερευνητικά, θα ήταν χρήσιμο. Είτε πρόκειται για την εκχύλιση των ίδιων συστατικών είτε για την εκχύλιση διαφορετικών (καθώς κάθε μικροφύκος έχει διαφορετικές χημικές ενώσεις συνολικά) με την παρούσα εργασία θα είχε διαφορετικά αποτελέσματα στις επικαλύψεις και ενδεχόμενος θα μπορούσε να συνδυαστούν τα συστατικά για την βελτιστοποίηση τους.

Είναι αξιοσημείωτη επίσης η αντιμικροβιακή δράση των εδώδιμων επικαλύψεων και ιδιαίτερα της επικάλυψης από χιτοζάνη που έχει εξαιρετικά αποτελέσματα σύμφωνα με έρευνες πάνω σε αυτή. Μια αναλυτική μικροβιακή μελέτη των εδώδιμων επικαλύψεων από μικροφύκη θα μπορούσε να έχει σημαντικά αποτελέσματα λόγω των ισχυρών αντιμικροβιακών ενώσεων που περιέχεται σε αυτά. Επίσης με αυτή τη μελέτη θα υπάρχει μια γενική γνώση του ρυθμού ανάπτυξης των μικροβίων στα προϊόντα και της χρονικής στιγμής που ξεπερνάει τα αποδεκτά όρια για κατανάλωση ώστε να προσαρμοστούν κατάλληλα οι επικαλύψεις στις συνθήκες αυτές.

Σημαντικό θα ήταν επίσης η μελέτη διαφορετικής μεθόδου εφαρμογής των εδώδιμων επικαλύψεων. Μέθοδοι όπως η ξήρανση με ψεκασμό έχει σημαντική επίδραση στην αποτελεσματικότητα της επικάλυψης σύμφωνα με την βιβλιογραφία. Βέβαια, αυτό προϋποθέτει περισσότερο και μεγαλύτερο εξοπλισμό οπότε αυξάνεται το συνολικό κόστος της διεργασίας. Οπότε μια εφαρμογή σε βιομηχανία θα ήταν πιο αποδοτική καθώς η ποσότητα των προϊόντων θα κάλυπτε τα επιπλέον κόστη.

Ως αποτέλεσμα των παραπάνω θα ήταν το συνολικό οικονομικό αποτύπωμα που θα είχαν οι εδώδιμες επικαλύψεις στην βιομηχανική τους εφαρμογή και η βελτιστοποίηση των χαρακτηριστικών τους τόσο πάνω σε μύρτιλα όσο και για χρήση σε άλλα μούρα και τρόφιμα. Επίσης θα δινόταν με τα παραπάνω ένας σίγουρος χρόνος ζωής του προϊόντος με επικυρωμένη ασφάλεια για την κατανάλωση του. Συμπερασματικά, οι εδώδιμες επικαλύψεις έχουν σημαντικό αποτέλεσμα κατά την χρήση τους πάνω στα μύρτιλα αλλά μπορούν να βελτιστοποιηθούν περαιτέρω τόσο με πρόσθετα όσο και με σύγχρονες μεθόδους. Η συνέχεια της παρούσας εργασίας σε μια πιο αναλυτική έρευνα σίγουρα θα αύξανε την αποδοτικότητάς τους.

## Βιβλιογραφία

- [1] A. Rashidinejad, "Blueberries," in *Nutritional Composition and Antioxidant Properties of Fruits and Vegetables*, Elsevier, 2020, pp. 467–482. doi: 10.1016/B978-0-12-812780-3.00029-5.
- [2] Swapan Banerjee, Gulzar Ahmad Nayik, Jasmeet Kour, and Nowsheen Nazir, "Antioxidants in Fruits: Properties and Health Benefits," in *Antioxidants in Fruits: Properties and Health Benefits*, Springer Singapore, 2020, pp. 593–614. doi: 10.1007/978-981-15-7285-2.
- [3] G. Tobar-Bolaños, N. Casas-Forero, P. Orellana-Palma, and G. Petzold, "Blueberry juice: Bioactive compounds, health impact, and concentration technologies—A review," *Journal of Food Science*, vol. 86, no. 12. John Wiley and Sons Inc, pp. 5062–5077, Dec. 01, 2021. doi: 10.1111/1750-3841.15944.
- [4] S. Patel, "Blueberry as functional food and dietary supplement: The natural way to ensure holistic health," *Med J Nutrition Metab*, vol. 7, no. 2, pp. 133–143, 2014, doi: 10.3233/MNM-140013.
- [5] W. Kalt *et al.*, "Recent Research on the Health Benefits of Blueberries and Their Anthocyanins," *Advances in Nutrition*, vol. 11, no. 2. Oxford University Press, pp. 224–236, Mar. 01, 2020. doi: 10.1093/advances/nmz065.
- [6] W. Kalt *et al.*, "Recent Research on the Health Benefits of Blueberries and Their Anthocyanins," *Advances in Nutrition*, vol. 11, no. 2, pp. 224–236, Mar. 2020, doi: 10.1093/advances/nmz065.
- [7] C. PROESTOS, "Superfoods: Recent Data on their Role in the Prevention of Diseases," *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*, vol. 6, no. 3, pp. 576–593, Dec. 2018, doi: 10.12944/CRNFSJ.6.3.02.
- [8] W. Yang *et al.*, "Structure and function of blueberry anthocyanins: A review of recent advances," *Journal of Functional Foods*, vol. 88. Elsevier Ltd, Jan. 01, 2022. doi: 10.1016/j.jff.2021.104864.
- [9] S. Silva, E. M. Costa, M. Veiga, R. M. Morais, C. Calhau, and M. Pintado, "Health promoting properties of blueberries: a review," *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 60, no. 2. Taylor and Francis Inc., pp. 181–200, Jan. 19, 2020. doi: 10.1080/10408398.2018.1518895.
- [10] R. L. Prior, S. E. Wilkes, T. R. Rogers, R. C. Khanal, X. Wu, and L. R. Howard, "Purified Blueberry Anthocyanins and Blueberry Juice Alter Development of Obesity in Mice

- Fed an Obesogenic High-Fat Diet," *J Agric Food Chem*, vol. 58, no. 7, pp. 3970–3976, Apr. 2010, doi: 10.1021/jf902852d.
- [11] C. M. Elks, J. D. Terrebonne, D. K. Ingram, and J. M. Stephens, "Blueberries improve glucose tolerance without altering body composition in obese postmenopausal mice," *Obesity*, vol. 23, no. 3, pp. 573–580, Mar. 2015, doi: 10.1002/oby.20926.
- [12] J. Liu *et al.*, "Anthocyanins-rich extract of wild Chinese blueberry protects glucolipototoxicity-induced INS832/13  $\beta$ -cell against dysfunction and death," *J Food Sci Technol*, vol. 52, no. 5, pp. 3022–3029, May 2015, doi: 10.1007/s13197-014-1379-6.
- [13] H. Matsumoto, Y. Nakamura, S. Tachibanaki, S. Kawamura, and M. Hirayama, "Stimulatory Effect of Cyanidin 3-Glycosides on the Regeneration of Rhodopsin," *J Agric Food Chem*, vol. 51, no. 12, pp. 3560–3563, Jun. 2003, doi: 10.1021/jf034132y.
- [14] W. Yi, J. Fischer, G. Krewer, and C. C. Akoh, "Phenolic Compounds from Blueberries Can Inhibit Colon Cancer Cell Proliferation and Induce Apoptosis," *J Agric Food Chem*, vol. 53, no. 18, pp. 7320–7329, Sep. 2005, doi: 10.1021/jf051333o.
- [15] C. M. Elks, J. Francis, A. J. Stull, W. T. Cefalu, B. Shukitt-Hale, and D. K. Ingram, "Overview of the Health Properties of Blueberries," in *Bioactives in Fruit*, John Wiley & Sons, Ltd, 2013, pp. 251–271. doi: 10.1002/9781118635551.ch11.
- [16] M. A. Wilson, B. Shukitt-Hale, W. Kalt, D. K. Ingram, J. A. Joseph, and C. A. Wolkow, "Blueberry polyphenols increase lifespan and thermotolerance in *Caenorhabditis elegans*," *Aging Cell*, vol. 5, no. 1, pp. 59–68, Feb. 2006, doi: 10.1111/j.1474-9726.2006.00192.x.
- [17] R. H. Stewart, "Introduction To Physical Oceanography," 2006.
- [18] K. H. M. Cardozo *et al.*, "Metabolites from algae with economical impact," *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, vol. 146, no. 1–2, pp. 60–78, Jul. 2007, doi: 10.1016/j.cbpc.2006.05.007.
- [19] M. S. Parker, T. Mock, and E. V. Armbrust, "Genomic Insights into Marine Microalgae," *Annu Rev Genet*, vol. 42, no. 1, pp. 619–645, Dec. 2008, doi: 10.1146/annurev.genet.42.110807.091417.
- [20] I. T. K. Ru, Y. Y. Sung, M. Jusoh, M. E. A. Wahid, and T. Nagappan, "Chlorella vulgaris: a perspective on its potential for combining high biomass with high value bioproducts," *Applied Phycology*, vol. 1, no. 1. Informa UK Ltd, pp. 2–11, 2020. doi: 10.1080/26388081.2020.1715256.

- [21] C. Safi, B. Zebib, O. Merah, P. Y. Pontalier, and C. Vaca-Garcia, "Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 35. Elsevier Ltd, pp. 265–278, 2014. doi: 10.1016/j.rser.2014.04.007.
- [22] S. Y. Lee, J. M. Cho, Y. K. Chang, and Y. K. Oh, "Cell disruption and lipid extraction for microalgal biorefineries: A review," *Bioresource Technology*, vol. 244. Elsevier Ltd, pp. 1317–1328, 2017. doi: 10.1016/j.biortech.2017.06.038.
- [23] D. M. Gibeaut, G. R. Cramer, and J. R. Seemann, "Growth, cell walls, and UDP-Glc dehydrogenase activity of *Arabidopsis thaliana* grown in elevated carbon dioxide," *J Plant Physiol*, vol. 158, no. 5, pp. 569–576, Jan. 2001, doi: 10.1078/0176-1617-00229.
- [24] E. D'Hondt *et al.*, "Cell disruption technologies," in *Microalgae-Based Biofuels and Bioproducts: From Feedstock Cultivation to End-Products*, Elsevier Inc., 2017, pp. 133–154. doi: 10.1016/B978-0-08-101023-5.00006-6.
- [25] J. Ampofo and Lord Abbey, "Microalgae: Bioactive Composition, Health Benefits, Safety and Prospects as Potential High-Value Ingredients for the Functional Food Industry," *Foods*, vol. 11, no. 12. MDPI, Jun. 01, 2022. doi: 10.3390/foods11121744.
- [26] S. N. Naik, V. V. Goud, P. K. Rout, and A. K. Dalai, "Production of first and second generation biofuels: A comprehensive review," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 14, no. 2, pp. 578–597, Feb. 2010, doi: 10.1016/j.rser.2009.10.003.
- [27] I. Priyadarshani and B. Rath, "Commercial and industrial applications of micro algae-A review," *Research Article J. Algal Biomass Utiln*, vol. 2012, no. 4, pp. 2229–6905.
- [28] M. I. Khan, J. H. Shin, and J. D. Kim, "The promising future of microalgae: Current status, challenges, and optimization of a sustainable and renewable industry for biofuels, feed, and other products," *Microbial Cell Factories*, vol. 17, no. 1. BioMed Central Ltd., Mar. 05, 2018. doi: 10.1186/s12934-018-0879-x.
- [29] M. I. Khan, J. H. Shin, and J. D. Kim, "The promising future of microalgae: Current status, challenges, and optimization of a sustainable and renewable industry for biofuels, feed, and other products," *Microbial Cell Factories*, vol. 17, no. 1. BioMed Central Ltd., Mar. 05, 2018. doi: 10.1186/s12934-018-0879-x.
- [30] I. Maruyama, T. Nakao, I. Shigeno, Y. Ando, and K. Hirayama, "Application of unicellular algae *Chlorella vulgaris* for the mass-culture of marine rotifer *Brachionus*," in *Live Food in Aquaculture*, Dordrecht: Springer Netherlands, 1997, pp. 133–138. doi: 10.1007/978-94-017-2097-7\_20.

- [31] Y. PANAHI *et al.*, "Investigation of the effects of *Chlorella vulgaris* as an adjunctive therapy for dyslipidemia: Results of a randomised open-label clinical trial," *Nutrition & Dietetics*, vol. 69, no. 1, pp. 13–19, Mar. 2012, doi: 10.1111/j.1747-0080.2011.01569.x.
- [32] K.-L. Yeh and J.-S. Chang, "Nitrogen starvation strategies and photobioreactor design for enhancing lipid content and lipid production of a newly isolated microalga *Chlorella vulgaris* ESP-31: Implications for biofuels," *Biotechnol J*, vol. 6, no. 11, pp. 1358–1366, Nov. 2011, doi: 10.1002/biot.201000433.
- [33] L. E. Gonzalez and Y. Bashan, "Increased Growth of the Microalga *Chlorella vulgaris* when Coimmobilized and Cocultured in Alginate Beads with the Plant-Growth-Promoting Bacterium *Azospirillum brasilense*," *Appl Environ Microbiol*, vol. 66, no. 4, pp. 1527–1531, Apr. 2000, doi: 10.1128/AEM.66.4.1527-1531.2000.
- [34] J. Singh and S. Gu, "Commercialization potential of microalgae for biofuels production," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 14, no. 9, pp. 2596–2610, Dec. 2010, doi: 10.1016/j.rser.2010.06.014.
- [35] V. Kumar, N. Arora, M. Nanda, and V. Pruthi, "Different Cell Disruption and Lipid Extraction Methods from Microalgae for Biodiesel Production," in *Microalgae Biotechnology for Development of Biofuel and Wastewater Treatment*, Singapore: Springer Singapore, 2019, pp. 265–292. doi: 10.1007/978-981-13-2264-8\_12.
- [36] C. Safi *et al.*, "Understanding the effect of cell disruption methods on the diffusion of *Chlorella vulgaris* proteins and pigments in the aqueous phase," *Algal Res*, vol. 8, pp. 61–68, Mar. 2015, doi: 10.1016/j.algal.2015.01.002.
- [37] R. R. Kumar, P. H. Rao, and M. Arumugam, "Lipid extraction methods from microalgae: A comprehensive review," *Frontiers in Energy Research*, vol. 3, no. JAN. Frontiers Media S.A., 2015. doi: 10.3389/fenrg.2014.00061.
- [38] R. Praveenkumar, K. Lee, J. Lee, and Y.-K. Oh, "Breaking dormancy: an energy-efficient means of recovering astaxanthin from microalgae," *Green Chemistry*, vol. 17, no. 2, pp. 1226–1234, 2015, doi: 10.1039/C4GC01413H.
- [39] M. A. Alam and Z. Wang, *Microalgae biotechnology for development of biofuel and wastewater treatment*. Springer Singapore, 2019. doi: 10.1007/978-981-13-2264-8.
- [40] H. G. Gerken, B. Donohoe, and E. P. Knoshaug, "Enzymatic cell wall degradation of *Chlorella vulgaris* and other microalgae for biofuels production," *Planta*, vol. 237, no. 1, pp. 239–253, Jan. 2013, doi: 10.1007/s00425-012-1765-0.



- [41] Y.-C. Lee *et al.*, "Aminoclay-conjugated TiO<sub>2</sub> synthesis for simultaneous harvesting and wet-disruption of oleaginous *Chlorella* sp.," *Chemical Engineering Journal*, vol. 245, pp. 143–149, Jun. 2014, doi: 10.1016/j.cej.2014.02.009.
- [42] J.-Y. Lee, C. Yoo, S.-Y. Jun, C.-Y. Ahn, and H.-M. Oh, "Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae," *Bioresour Technol*, vol. 101, no. 1, pp. S75–S77, Jan. 2010, doi: 10.1016/j.biortech.2009.03.058.
- [43] Fd. John and Sk. Kumar, "EXTRACTION OF ALGAL OIL FROM CHLORELLA SP. USING COMBINED OSMOTIC SHOCK AND ULTRA-SONICATION," 2015. [Online]. Available: <https://www.researchgate.net/publication/305411697>
- [44] A. Transgenics and B. A. Hallmann, "Transgenic Plant Journal ©2007 Global Science Books."
- [45] O. Pulz and W. Gross, "Valuable products from biotechnology of microalgae," *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 65, no. 6, pp. 635–648, Nov. 2004. doi: 10.1007/s00253-004-1647-x.
- [46] M. Georgakopoulou, "The use of microalgae in biotechnological applications: Case Studies," 2018.
- [47] L. Ignatiades and O. Gotsis-Skretas, "A Review on Toxic and Harmful Algae in Greek Coastal Waters (E. Mediterranean Sea)," *Toxins (Basel)*, vol. 2, no. 5, pp. 1019–1037, May 2010, doi: 10.3390/toxins2051019.
- [48] A. M. N. Caruana and Z. Amzil, "Microalgae and Toxins," in *Microalgae in Health and Disease Prevention*, Elsevier, 2018, pp. 263–305. doi: 10.1016/B978-0-12-811405-6.00013-X.
- [49] L. Brennan and P. Owende, "Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 14, no. 2, pp. 557–577, Feb. 2010, doi: 10.1016/j.rser.2009.10.009.
- [50] T. M. Mata, A. A. Martins, and Nidia. S. Caetano, "Microalgae for biodiesel production and other applications: A review," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 14, no. 1, pp. 217–232, Jan. 2010, doi: 10.1016/j.rser.2009.07.020.
- [51] E. W. Becker, "Micro-algae as a source of protein," *Biotechnol Adv*, vol. 25, no. 2, pp. 207–210, Mar. 2007, doi: 10.1016/j.biotechadv.2006.11.002.

- [52] J. A. Stamey, D. M. Shepherd, M. J. de Veth, and B. A. Corl, "Use of algae or algal oil rich in n-3 fatty acids as a feed supplement for dairy cattle," *J Dairy Sci*, vol. 95, no. 9, pp. 5269–5275, Sep. 2012, doi: 10.3168/jds.2012-5412.
- [53] R. Ekmay, S. Gatrell, K. Lum, J. Kim, and X. G. Lei, "Nutritional and Metabolic Impacts of a Defatted Green Marine Microalgal (*Desmodesmus* sp.) Biomass in Diets for Weanling Pigs and Broiler Chickens," *J Agric Food Chem*, vol. 62, no. 40, pp. 9783–9791, Oct. 2014, doi: 10.1021/jf501155n.
- [54] P. Spolaore, C. Joannis-Cassan, E. Duran, and A. Isambert, "Commercial applications of microalgae," *J Biosci Bioeng*, vol. 101, no. 2, pp. 87–96, Feb. 2006, doi: 10.1263/jbb.101.87.
- [55] L. E. González, R. O. Cañizares, and S. Baena, "Efficiency of ammonia and phosphorus removal from a colombian agroindustrial wastewater by the microalgae *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus dimorphus*," *Bioresour Technol*, vol. 60, no. 3, pp. 259–262, Jun. 1997, doi: 10.1016/S0960-8524(97)00029-1.
- [56] A. Udayan, A. K. Pandey, P. Sharma, N. Sreekumar, and S. Kumar, "Emerging industrial applications of microalgae: challenges and future perspectives," *Systems Microbiology and Biomanufacturing*, vol. 1, no. 4. Springer, pp. 411–431, Oct. 01, 2021. doi: 10.1007/s43393-021-00038-8.
- [57] M. S. Rahman, "Dried food properties: Challenges ahead," *Drying Technology*, vol. 23, no. 4, pp. 695–715, 2005, doi: 10.1081/DRT-200054176.
- [58] H. Hayashi, "Drying Technologies of Foods - Their History and Future," *Drying Technology*, vol. 7, no. 2, pp. 315–369, Jun. 1989, doi: 10.1080/07373938908916590.
- [59] C. Ratti, "Hot air and freeze-drying of high-value foods: a review." [Online]. Available: [www.elsevier.com/locate/jfoodeng](http://www.elsevier.com/locate/jfoodeng)
- [60] J. Cohen and T. C. S. Yang, "SURVIVABILITY-SUSTAINABILITY ■ MOBILITY SCIENCE AND TECHNOLOGY SOLDIER SYSTEM INTEGRATION OSMOTIC DEHYDRATION AND ITS APPLICATIONS IN NUTRIENT INFUSION OF VARIOUS FOODS," 1995.
- [61] Y. V. Shete, S. M. Chavan, P. S. Champawat, and S. K. Jain, "Reviews on osmotic dehydration of fruits and vegetables," *J Pharmacogn Phytochem*, vol. 7, no. 2, pp. 1964–1969, 1964.
- [62] V. Ramya and N. K. Jain, "A Review on Osmotic Dehydration of Fruits and Vegetables: An Integrated Approach," *J Food Process Eng*, vol. 40, no. 3, p. e12440, Jun. 2017, doi: 10.1111/jfpe.12440.

- [63] V. Ramya and N. K. Jain, "A Review on Osmotic Dehydration of Fruits and Vegetables: An Integrated Approach," *Journal of Food Process Engineering*, vol. 40, no. 3. Blackwell Publishing Inc., Jun. 01, 2017. doi: 10.1111/jfpe.12440.
- [64] N. Agarwal and M. Saini, "EDIBLE COATING OF FRUITS AND VEGETABLES: A REVIEW," 2016. [Online]. Available: <https://www.researchgate.net/publication/331298687>
- [65] O. Erkmén and A. O. Barazi, "General Characteristics of Edible Films," 2018. [Online]. Available: <http://www.imedpub.com/journal-food-biotechnology-research/>
- [66] A. E. Pavlath and W. Orts, "Edible Films and Coatings: Why, What, and How?," in *Edible Films and Coatings for Food Applications*, New York, NY: Springer New York, 2009, pp. 1–23. doi: 10.1007/978-0-387-92824-1\_1.
- [67] K. Aayush *et al.*, "Innovations in the development and application of edible coatings for fresh and minimally processed Apple," *Food Control*, vol. 141. Elsevier Ltd, Nov. 01, 2022. doi: 10.1016/j.foodcont.2022.109188.
- [68] B. H. ULUSOY, F. K. YILDIRIM, and C. HECER, "Edible Films and Coatings: A Good Idea From Past to Future Technology," *Journal of Food Technology Research*, vol. 5, no. 1, pp. 28–33, 2018, doi: 10.18488/journal.58.2018.51.28.33.
- [69] A. Kocira, K. Kozłowicz, K. Panasiewicz, M. Staniak, E. Szpunar-Krok, and P. Horthyńska, "Polysaccharides as edible films and coatings: Characteristics and influence on fruit and vegetable quality—a review," *Agronomy*, vol. 11, no. 5. MDPI AG, 2021. doi: 10.3390/agronomy11050813.
- [70] G. I. I. Olivas and G. Barbosa-Cánovas, "Edible Films and Coatings for Fruits and Vegetables," in *Edible Films and Coatings for Food Applications*, New York, NY: Springer New York, 2009, pp. 211–244. doi: 10.1007/978-0-387-92824-1\_7.
- [71] Yanyun Zhao, *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*. CRC Press, 2011. doi: 10.1201/b11082.
- [72] R. D. Andrade, O. Skurtys, and F. A. Osorio, "Atomizing Spray Systems for Application of Edible Coatings," *Compr Rev Food Sci Food Saf*, vol. 11, no. 3, pp. 323–337, May 2012, doi: 10.1111/j.1541-4337.2012.00186.x.
- [73] R. Suhag, N. Kumar, A. T. Petkoska, and A. Upadhyay, "Film formation and deposition methods of edible coating on food products: A review," *Food Research International*, vol. 136. Elsevier Ltd, Oct. 01, 2020. doi: 10.1016/j.foodres.2020.109582.

- [74] R. D. Andrade, O. Skurtys, and F. A. Osorio, "Atomizing Spray Systems for Application of Edible Coatings," *Compr Rev Food Sci Food Saf*, vol. 11, no. 3, pp. 323–337, May 2012, doi: 10.1111/j.1541-4337.2012.00186.x.
- [75] F. Lu, Y. Ding, X. Ye, and D. Liu, "Cinnamon and nisin in alginate–calcium coating maintain quality of fresh northern snakehead fish fillets," *LWT - Food Science and Technology*, vol. 43, no. 9, pp. 1331–1335, Nov. 2010, doi: 10.1016/j.lwt.2010.05.003.
- [76] V. Bergeron, D. Bonn, J. Y. Martin, and L. Vovelle, "Controlling droplet deposition with polymer additives," *Nature*, vol. 405, no. 6788, pp. 772–775, Jun. 2000, doi: 10.1038/35015525.
- [77] D. Solís-Morales, C. M. Sáenz-Hernández, and E. Ortega-Rivas, "Attrition reduction and quality improvement of coated puffed wheat by fluidised bed technology," *J Food Eng*, vol. 93, no. 2, pp. 236–241, Jul. 2009, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2009.01.020.
- [78] M. Jacquot and M. Perneti, "Spray Coating and Drying Processes," 2004, pp. 343–356. doi: 10.1007/978-94-017-1638-3\_19.
- [79] J. Zank, M. Kind, and E.-U. Schlünder, "Particle growth and droplet deposition in fluidised bed granulation," *Powder Technol*, vol. 120, no. 1–2, pp. 76–81, Oct. 2001, doi: 10.1016/S0032-5910(01)00350-3.
- [80] P. M. Pandey, N. Venkata Reddy, and S. G. Dhande, "Part deposition orientation studies in layered manufacturing," *J Mater Process Technol*, vol. 185, no. 1–3, pp. 125–131, Apr. 2007, doi: 10.1016/j.jmatprotec.2006.03.120.
- [81] L. Sharma, A. Saxena, and T. Maity, "Trends in the Manufacture of Coatings in the Postharvest Conservation of Fruits and Vegetables," in *Polymers for Agri-Food Applications*, Cham: Springer International Publishing, 2019, pp. 355–375. doi: 10.1007/978-3-030-19416-1\_18.
- [82] T. J. Gutiérrez, M. R. Ansorena, and A. G. Ponce, "Polymers for Agri-Food Applications," 2019, pp. 345–360.
- [83] T. Cardoso, L. F. Fabro, B. C. Bolanho, I. M. Demiate, and E. D. G. Danesi, "Development of edible coating with spirulina platensis and by-products of cassava and orange," *Carpathian Journal of Food Science and Technology*, vol. 12, no. 1, pp. 16–26, 2020, doi: 10.34302/crpjfst/2020.12.1.2.
- [84] S. P. Bangar *et al.*, "Process parameter optimization and characterization for an edible film: Flaxseed concern," *Coatings*, vol. 11, no. 9, Sep. 2021, doi: 10.3390/coatings11091106.

- [85] P. Cazón, E. Morales-Sanchez, G. Velazquez, and M. Vázquez, "Measurement of the Water Vapor Permeability of Chitosan Films: A Laboratory Experiment on Food Packaging Materials," *J Chem Educ*, vol. 99, no. 6, pp. 2403–2408, Jun. 2022, doi: 10.1021/acs.jchemed.2c00449.
- [86] M. Jridi, O. Abdelhedi, A. Salem, H. Kechaou, M. Nasri, and Y. Menchari, "Physicochemical, antioxidant and antibacterial properties of fish gelatin-based edible films enriched with orange peel pectin: Wrapping application," *Food Hydrocoll*, vol. 103, Jun. 2020, doi: 10.1016/j.foodhyd.2020.105688.
- [87] W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier, and C. Berset, "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity," *LWT - Food Science and Technology*, vol. 28, no. 1, pp. 25–30, 1995, doi: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5.