ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

ΤΟΜΕΑΣ ΙΙ: ΑΝΑΛΥΣΗΣ, ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΥ & ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΩΝ & ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΥ & ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΩΝ

Διπλωματική Εργασία

ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΣ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΣΕ ΚΑΤΑΛΛΗΛΕΣ ΜΗΤΡΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΤΟΥΣ ΣΕ ΕΔΩΔΙΜΕΣ ΕΠΙΚΑΛΥΨΕΙΣ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΣΕ ΜΟΥΡΑ

ΕΡΩΦΙΛΗ ΜΑΝΤΑ

Υπεύθυνη καθηγήτρια

ΚΡΟΚΙΔΑ Μ.

Σεπτέμβριος 2024

Ερωφίλη Μαντά

Διπλωματούχος Χημικός Μηχανικός.

Copyright © Ερωφίλη Μαντά, 2024

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved

Απαγορεύεται η αντιγραφή, αποθήκευση και διανομή της παρούσας εργασίας, εξ ολοκλήρου ή τμήματος αυτής, για εμπορικό σκοπό. Επιτρέπεται η ανατύπωση, αποθήκευση και διανομή για σκοπό μη κερδοσκοπικό, εκπαιδευτικής ή ερευνητικής φύσης, υπό την προϋπόθεση να αναφέρεται η πηγή προέλευσης και να διατηρείται το παρόν μήνυμα. Ερωτήματα που αφορούν τη χρήση της εργασίας για κερδοσκοπικό σκοπό πρέπει να απευθύνονται προς τον συγγραφέα.

Οι απόψεις και τα συμπεράσματα που περιέχονται σε αυτό το έγγραφο εκφράζουν τον συγγραφέα και δεν πρέπει να ερμηνευθεί ότι αντιπροσωπεύουν τις επίσημες θέσεις του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου.

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στην σχολή Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ, στο Εργαστήριο Σχεδιασμού και Ανάλυσης Διεργασιών, στην διάρκεια του ακαδημαϊκού έτους 2023-2024.

Σκοπός της διπλωματικής εργασίας είναι η βελτιστοποίηση του εγκλεισμού βιοδραστικών ενώσεων με την μέθοδο του ηλεκτροψεκασμού και την ενσωμάτωση των εγκλεισμένων δομών σε διαλύματα εδώδιμων επικαλύψεων, τα οποία εφαρμόζονται σε σμέουρα. Η βελτιστοποίηση των συνθηκών της διεργασίας εγκλεισμού πραγματοποιείται με στόχο την μεγαλύτερη απόδοση εγκλεισμού. Οι βέλτιστες εγκλεισμένες δομές προστίθενται σε διαλύματα εδώδιμης επικάλυψης για την εφαρμογή σε σμέουρα, μελετάται η παράταση της ζωής τους και αξιολογείται η διατροφική τους αξία.

Αρχικά, για την ολοκλήρωση της διπλωματικής εργασίας θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα καθηγήτρια μου κα Μαγδαληνή Κροκίδα που με εμπιστεύτηκε με την ανάθεση της εργασίας και την ευκαιρία που μου έδωσε να ανακαλύψω πόσο ενδιαφέρον είναι ο τομέας των διεργασιών, των τροφίμων και των φυσικών βιοδραστικών ουσιών.

Ακόμα, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Αλεξάνδρα Μάρη, υποψήφια διδάκτορα του εργαστηρίου, για την ανεκτίμητη βοήθεια της, την καθοδήγηση της και την συνεχή στήριξη της κατά την διάρκεια της εκπόνησης της διπλωματικής μου. Χωρίς την πολύτιμη επιστημονική συνεισφορά της δεν θα ήταν δυνατή η πραγματοποίηση της εργασίας.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω ακόμη, όλα τα μέλη του εργαστηρίου για την άψογη συνεργασία μας, τις συμβουλές τους και την βοήθεια που μου παρείχαν σε ότι και αν χρειάστηκα. Ιδιαίτερα, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Χριστόφορο Βασιλείου, υποψήφιο διδάκτορα, για την βοήθεια και την επιστημονική συμβολή του στις αναλύσεις μου. Επιπλέον, ευχαριστώ τα κορίτσια του εργαστηρίου που εκπονήσαμε μαζί τις διπλωματικές εργασίες μας για το όμορφο κλίμα και την στήριξη τους.

Τέλος, οφείλω να ευχαριστήσω τους φίλους και την οικογένεια μου, που μες στήριζαν σε όλη την ακαδημαϊκή μου πορεία και μου έδινα την δύναμη να συνεχίσω.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα τελευταία χρόνια έχει παρατηρηθεί συγκέντρωση ερευνητικού ενδιαφέροντος στην ανάπτυξη νέων και βελτιωμένων τεχνικών συντήρησης των τροφίμων. Αυτό οφείλεται στη αυξημένη ζήτηση των καταναλωτών για πιο φυσικά προϊόντα χωρίς συνθετικά συντηρητικά. Εναλλακτική λύση έναντι των κλασσικών συντηρητικών αποτελούν οι βιοδραστικές ουσίες φυτικής προέλευσης οι οποίες έχουν αντιοξειδωτικές και αντιμικροβιακές ιδιότητες που βοηθούν στην διατήρηση της ποιότητας των τροφίμων. Παρόλα αυτά, οι βιοδραστικές ουσίες είναι αρκετά ευαίσθητες και χρειάζονται μια μορφή προστασίας πριν ενταχθούν σε κάποιο σύστημα. Ο εγκλεισμός συνιστά μια αποδοτική τεχνική για την προστασία των συστατικών αυτών από το περιβάλλον προσφέροντας τους μοναδικές ικανότητες όπως η ελεγχόμενη αποδέσμευση τους.

Στην παρούσα διπλωματική εργασία μελετήθηκε η δυνατότητα εγκλεισμού βιοδραστικών ενώσεων μέσω της τεχνικής του ηλεκτροψεκασμού για την προστασία και αξιοποίηση των ιδιοτήτων τους. Πραγματοποιήθηκε η ενσωμάτωση τους σε εδώδιμες επικαλύψεις που εφαρμόστηκαν σε μούρα και μελετήθηκε η ποιότητα τους και η διάρκεια ζωής τους. Τα σμέουρα επιλέχθηκαν καθώς είναι αρκετά ευπαθή και ευάλωτα φρούτα με μικρή διάρκεια ζωής στο ράφι και αυτό οφείλεται στην μεγάλη περιεκτικότητα τους σε νερό.

Η βιοδραστική ουσία που χρησιμοποιήθηκε ήταν υδατικό εκχύλισμα δεντρολίβανου πλούσιο σε ροσμαρινικό οξύ. Για τον εγκλεισμό του χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος του ηλεκτροψεκασμού σε μήτρα ζεΐνης. Συγκεκριμένα, πρώτα έγινε η βελτιστοποίηση της σύστασης του πολυμερικού διαλύματος. Έπειτα από μια σειρά δοκιμών διαπιστώθηκε πως το διάλυμα με αναλογία αιθανόλης και υδατικού εκχυλίσματος 80:20 και με περιεκτικότητα ζεΐνης 10% κ.β πληρούσε τις κατάλληλες προϋποθέσεις για να εισαχθεί στην διάταξη του ηλεκτροστατικού ψεκασμού. Ακόμα, έγινε βελτιστοποίηση των συνθηκών του πειράματος και επιδιώχθηκε αύξηση της **απόδοσης εγκλεισμού στα 83.2%** με μείωση της τάσης και αύξηση της ροής κάνοντας αποδοτικότερη την διεργασία. Αναλυτικότερα, οι βέλτιστες συνθήκες που επιλέχθηκαν είναι:

- Παροχή πολυμερικού διαλύματος: 0.5ml/h
- Τάση: 20 kV
- Απόσταση ακροφυσίου – συλλέκτη: 10cm

Οι εγκλεισμένες σφαιρικές δομές που παράχθηκαν με την τεχνική του ηλεκτροψεκασμού αξιολογήθηκαν με διάφορες μεθόδους. Ειδικότερα, εξετάστηκε με ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (SEM), εγκλεισμένη δομή σκόνης η οποία ήταν φρέσκια καθώς και σκόνη η οποία είχε συντηρηθεί στους 4^{o}C. Η ανάλυση SEM έδειξε πως η μορφολογία των δομών ήταν πράγματι σφαιρική και πως η σκόνη είχε καλή σταθερότητα στον χρόνο. Παράλληλα, φρέσκο δείγμα υποβλήθηκε σε ανάλυση φασματοσκοπία υπερύθρου Fourier (FTIR), και διαπιστώθηκε ο εγκλεισμός του

εκχυλίσματος. Ακόμα, έγινε θερμική ανάλυση (DSC) για δείγματα εγκλεισμένων δομών τα οποία είχαν συντηρηθεί σε διαφορετικές θερμοκρασίες και προσδιορίστηκαν οι θερμοκρασίες υαλώδους μετάπτωσης (Tg).

Οι εδώδιμες επικαλύψεις συμβάλλουν στην διατήρηση της ποιότητας του φρούτου και εμποδίζουν τις διαδικασίες ωρίμανσης του, περιβάλλοντας αποτελεσματικά το τρόφιμο με ένα λεπτό και βρώσιμο στρώμα. Η ανάπτυξη της επικάλυψης πραγματοποιήθηκε με πρωτεΐνη η οποία εκχυλίστηκε από το μικροφύκος *Chlorella vulgaris*, το οποίο αποτελεί μια πιο βιώσιμη επιλογή. Το μικροφύκος αυτό έχει αρκετές εφαρμογές στην βιομηχανία λόγω της μοναδικής του σύνθεσης. Στην συγκεκριμένη διπλωματική επιλέχθηκε λόγω της υψηλής περιεκτικότητας του σε πρωτεΐνη. Παρόλα αυτά, η εκχύλιση πραγματοποιήθηκε με τρόπο ώστε το τελικό προϊόν να παραμένει βρώσιμο και έτσι δεν μπόρεσε να ανακτηθεί η μέγιστη περιεχόμενη ποσότητα πρωτεΐνης. Ακολούθως, αναπτύχθηκαν δύο διαφορετικές εδώδιμες επικαλύψεις για την συντήρηση των σμέουρων. Η πρώτη αποτελούταν από το βασικό διάλυμα της επικάλυψης ενώ στην δεύτερη είχε ενσωματωθεί εγκλεισμένη η βιοδραστική ουσία. Για την εξέταση της αποτελεσματικότητας των επικαλύψεων χρησιμοποιήθηκαν φρέσκα σμέουρα ως δείγματα αναφοράς. Όλα τα δείγματα συντηρήθηκαν στους 4^{o}C για συνολικά 14 ημέρες. Οι μέθοδοι αξιολόγησης που πραγματοποιήθηκαν κατά την διάρκεια της συντήρησης των σμέουρων ήταν η μέτρηση της διαφοράς βάρους, η ολική οξύτητα, τα ολικά διαλυτά στερεά, η αντιοξειδωτική ικανότητα, η μικροβιολογική ανάπτυξη. Ακόμα, έγινε και οργανοληπτικός έλεγχος για την αισθητηριακή εξέταση και την συνολική αποδοχή των επικαλυμμένων. Από τις αναλύσεις παρατηρήθηκε πως το επικαλυμμένο σμέουρο διατήρησε την ποιότητα του έως και την 8^{η} μέρα συντήρησης, ενώ μέχρι τότε το φρέσκο δεν ήταν κατάλληλο για κατανάλωση. **Τα αποτελέσματα των μεθόδων ανέδειξαν την εδώδιμη επικάλυψη με ενσωματωμένη βιοδραστική ουσία ως την πιο αποδοτική τεχνική για την συντήρηση των σμέουρων.**

Λέξεις κλειδιά:

Βιοδραστικά συστατικά, εγκλεισμός, ηλεκτροψεκασμός, απόδοση εγκλεισμού, εδώδιμες επικαλύψεις, σμέουρα, ολική οξύτητα, ολικά διαλυτά στερεά, αντιοξειδωτική ικανότητα, μικροβιολογική ανάλυση.

ABSTRACT

In recent years there has been noticeable interest in the development of new and improved food preservation techniques. This is due to increased consumer demand for more natural products without synthetic preservatives. An alternative to conventional preservatives are bioactive substances of plant origin which have antioxidant and antimicrobial properties that help to maintain food quality. However, bioactive substances are quite sensitive and need some form of protection before they can be incorporated into a system. Encapsulation is an efficient technique to protect these components from the environment by offering them unique capabilities such as controlled release.

In this thesis, the possibility of encapsulation of bioactive compounds through electrospraying technique was studied for the protection and utilization of their properties. Their incorporation in edible coatings applied to raspberries successfully maintained their quality and extended their shelf life. Raspberries were selected as they are quite perishable and vulnerable fruits with short shelf life and this is due to their high water content.

The bioactive substance used was rosemary aqueous extract rich in rosmarinic acid. The method of electrospraying in a gelatin matrix was used for its encapsulation. In particular, first the composition of the polymer solution was optimized. After a series of tests, it was found that the solution with a ratio of ethanol and aqueous extract of 80:20 and a 10% w/w zein content met the appropriate conditions to be introduced into the electrostatic spray device. Furthermore, the conditions of the experiment were optimized and an increase in the **encapsulation efficiency to 83.2%** was sought by reducing the voltage and increasing the flow rate making the process more efficient. In more detail, the optimal conditions selected are:

- Polymer solution flow rate: 0.5 ml/h
- Voltage: 20 kV
- Nozzle - collector distance: 10 cm

The encapsulated spherical structures produced by the electrospraying technique were evaluated by different methods. In particular, scanning electron microscopy (SEM), encapsulated powder structure which was fresh as well as powder which was preserved at 4^{o}C was examined. SEM analysis showed that the morphology of the structures was indeed spherical and that the powder had good stability over time. At the same time, fresh sample was subjected to Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) analysis, and the encapsulation of the extract was established. Still, thermal analysis (DSC) was performed for samples of encapsulated structures which were preserved at different temperatures and glass transition temperatures (Tg) were determined.

Edible coatings help to preserve the quality of the fruit and inhibit the ripening processes, effectively surrounding the food with a thin and edible layer. The

development of the coating was carried out with protein extracted from the microalgae Chlorella vulgaris, which is a more sustainable option. This microalga has several applications in industry due to its unique composition. In this thesis it was chosen due to its high protein content. However, the extraction was carried out in such a way that the final product remained edible and thus the maximum amount of protein content could not be recovered. Subsequently, two different edible coatings were developed for the preservation of raspberries. The first one consisted of the base solution of the coating while the second one had the bioactive substance encapsulated. Fresh raspberries were used as reference samples to test the efficacy of the coatings. All samples were preserved at 4^{o}C for a total of 14 days. The evaluation methods carried out during the preservation of raspberries were weight difference measurement, total acidity, total soluble solids, antioxidant capacity, microbiological growth. Also, organoleptic examination was done for sensory examination and overall acceptability of the coated raspberries. From the analyses it was observed that the coated raspberry retained its quality up to the 8th day of preservation, while until then the fresh raspberry was not suitable for consumption. **The results of the methods indicated edible coating with incorporated bioactive substance as the most efficient technique for preserving raspberries.**

Key words:

Bioactive ingredients, encapsulation, electrospraying, encapsulation efficiency, edible coatings, raspberries, total acidity, total soluble solids, antioxidant capacity, microbiological analysis.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ 3
ΠΕΡΙΛΗΨΗ 4
ABSTRACT 6
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ 8
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ 11
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΠΙΝΑΚΩΝ 11
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΕΙΚΟΝΩΝ 11
1 Εισαγωγή 14
1.1 Εισαγωγικά στοιχεία 14
1.2 Σκοπός διπλωματικής εργασίας – Μεθοδολογική Προσέγγιση 14
2 Εγκλεισμός βιοδραστικών ουσιών 16
2.1 Εισαγωγικά στοιχεία 16
2.2 Βιοδραστικά συστατικά 16
2.2.1 Βιοδραστικές ουσίες φυτικής προέλευσης 16
2.2.2 Δεντρολίβανο 17
2.3 Εγκλεισμός 19
2.3.1 Εισαγωγικά στοιχεία 19
2.3.2 Βασικές μέθοδοι εγκλεισμού 20
2.3.3 Ηλεκροϋδροδυναμική διεργασία 20
2.3.4 Διάταξη ηλεκτροϋδροδυανμικής διεργασίας 21
2.3.5 Υλικά που χρησιμοποιούνται ως μήτρες κατά τον εγκλεισμό 25
2.3.6 Χαρακτηρισμός εγκλεισμένων δομών 31
3 Σμέουρα 34
3.1 Εισαγωγικά στοιχεία 34
3.2 Χημική σύσταση 35
3.3 Οφέλη στην υγεία 37
4 Εδώδιμες επικαλύψεις 38
4.1 Εισαγωγικά στοιχεία 38
4.2 Ορισμός εδώδιμων επικαλύψεων 39
4.3 Ιδιότητες 39
4.4 Πρόσθετα 41

4.5 Μηχανισμοί σχηματισμού εδώδιμων επικαλύψεων 44
4.6 Σύγχρονα μέσα εδώδιμων επικαλύψεων 46
4.6.1 Πρόσφατες εξελίξεις στις εδώδιμες επικαλύψεις 46
4.6.2 Ενεργή συσκευασία και φυσικά συστατικά 47
4.6.3 Εδώδιμες επικαλύψεις από μικροφύκη (*Chlorella Vulgaris*) 47
5 Πειραματικό μέρος 49
5.1 Υλικά 49
5.1.1 Εγκλεισμός βιοδραστικών ουσιών δεντρολίβανου 49
5.1.2 Εδώδιμη επικάλυψη σε σμέουρα 49
5.2 Μεθοδολογία 49
5.2.1 Μελέτη βέλτιστου διαλύτη για χρήση του σε ηλεκτροψεκασμό με μήτρα ζεΐνης 49
5.2.2 Εγκλεισμός βιοδραστικών ουσιών δεντρολίβανου με την διεργασία του ηλεκτροψεκασμού σε μήτρα ζεΐνης 50
5.2.3 Χαρακτηρισμός εγκλεισμένων δομών 51
5.2.4 Εδώδιμες επικαλύψεις και επικάλυψη μούρων 54
5.2.5 Αξιολόγηση επικαλυμμένων σμέουρων 58
6 Αποτελέσματα 65
6.1 Βέλτιστος διαλύτης για χρήση σε ηλεκτροψεκασμό (electrospraying) με μήτρα ζεΐνης 65
6.2 Βέλτιστες συνθήκες λειτουργίας ηλεκτροψεκασμού (electrospraying) 65
6.3 Απόδοση εγκλεισμού 67
6.4 Αξιολόγηση εγκλεισμένων δομών 67
6.4.1 Σάρωση Ηλεκτρονικού Μικροσκοπίου (SEM) 67
6.4.2 Φασματοσκοπία Υπέρυθρης ακτινοβολίας με Μετασχηματισμό Fourier (FTIR) 69
6.4.3 Διαφορική θερμική Ανάλυση 70
6.5 Αξιολόγηση επικαλυμμένων σμέουρων 70
6.5.1 Απώλεια βάρους 70
6.5.2 Μεταβολή χρώματος 71
6.5.3 Ολικά διαλυτά στερεά 73
6.5.4 Ολική οξύτητα 74
6.5.5 Αντιοξειδωτική ικανότητα 74
6.5.6 Μικροβιολογική ανάλυση 75

6.5.7 Οργανοληπτικός έλεγχος 80
6.6 Οπτική παρατήρηση 81
7 Συμπεράσματα – Μελλοντικά βήματα 83
8 Βιβλιογραφία 88

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

Διάγραμμα 1. Φασματοσκοπία υπέρυθρης ακτινοβολίας με μετασχηματισμό Fourier (FTIR) για a. ζεΐνη, b. εκχύλισμα δεντρολίβανου, c. εγκλεισμένη δομή. 69
Διάγραμμα 2. Ποσοστό απώλειας βάρους σμέουρων σε σχέση με τον χρόνο συντήρησης. 71
Διάγραμμα 3. Μεταβολή χρώματος σμέουρων σε σχέση με τον χρόνο συντήρησης με βάση την παράμετρο *L**. 72
Διάγραμμα 4. Μεταβολή του χρώματος των σμέουρων σε σχέση με τον χρόνο συντήρησης με βάση την παράμετρο *a**. 72
Διάγραμμα 5. Μεταβολή χρώματος των σμέουρων σε σχέση με τον χρόνο με βάση την παράμετρο *b**..... 73
Διάγραμμα 6. Μικροβιολογική ανάλυση για τα δείγματα σμέουρων για ανάπτυξη ΥΜ την 5η και την 8η μέρα συντήρησης. 76
Διάγραμμα 7. Μικροβιολογική ανάλυση των δειγμάτων σμέουρου για την ανάπτυξη ΤC την 5η και την 8η μέρα συντήρησης. 76
Διάγραμμα 8. Οργανοληπτικός έλεγχος εμφάνισης δειγμάτων. 80
Διάγραμμα 9. Οργανοληπτικός έλεγχος αρώματος δειγμάτων. 80
Διάγραμμα 10. Οργανοληπτικός έλεγχος γεύσης δειγμάτων. 81
Διάγραμμα 11. Οργανοληπτικός έλεγχος δειγμάτων 81

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1. Δοκιμή βέλτιστων συνθηκών λειτουργίας για διάλυμα αιθανόλη-υδατικό εκχύλισμα δεντρολίβανου αναλογίας 80:20 με περιεκτικότητα ζεΐνης 10% w/v..... 65
Πίνακας 2. Θερμοκρασία υαλώδους μετάβασης (Tg) και σχετική υγρασία (%RH) για την εγκλεισμένη σκόνη..... 70
Πίνακας 3. Ολικά διαλυτά στερεά δειγμάτων μέρα 0 και μέρα 11..... 73
Πίνακας 4. Ολική οξύτητα δειγμάτων μέρα 0 και μέρα 11. 74
Πίνακας 5. Αντιοξειδωτική ικανότητα δειγμάτων μέρα 0 και μέρα 11. 75

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1. Δεντρολίβανο [9]. 17
Εικόνα 2. Χημική δομή ροσμαρινικού οξέος [56]. 18
Εικόνα 3. Σχηματική αναπαράσταση διάταξης ηλεκτροϊνοποίησης (A) και ηλεκτροψεκασμού (B) [1]. 21
Εικόνα 4. Σμέουρα [30]. 34
Εικόνα 5. Χημική σύσταση της ελλαγιτανίνης σανγκουϊνη H-6 [31]. 36
Εικόνα 6. Χημική δομή της ανθοκυανίνης κυανιδίνη-3-γλυκοζίτη [31]. 36
Εικόνα 7. Χημική δομή ελλαγικού οξέος [32]. 36
Εικόνα 8. Σύνθεση εδώδιμων επικαλύψεων. 40
Εικόνα 9. Μέθοδοι εφαρμογής εδώδιμων επικαλύψεων [33]. 44

Εικόνα 10. Διάταξη ηλεκτροψεκασμού για τον εγκλεισμό υδατικού εκχυλίσματος δεντρολίβανου σε μήτρα ζεΐνης. 51
Εικόνα 11. Εναπόθεση εγκλεισμένης σκόνης στην πλάκα συλλογής. 51
Εικόνα 12. Εγκλεισμένη σκόνη ζεΐνης μετά την συλλογή από την πλάκα. 51
Εικόνα 13. Ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM)..... 53
Εικόνα 14. Όργανο διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (DSC) 53
Εικόνα 15. Ρύθμιση pH και ταυτόχρονη μαγνητική ανάδευση. 54
Εικόνα 16. Συλλογή του υπερκείμενου διαλύματος έπειτα την πρώτη φυγοκέντρηση. 55
Εικόνα 17. Προσθήκη θειικού αμμωνίου με ταυτόχρονη ανάδευση. 55
Εικόνα 18. Συλλογή υπερκείμενου υγρού έπειτα από δεύτερη φυγοκέντρηση..... 55
Εικόνα 19. Διάταξη εκχύλισης πρωτεϊνών υπό κενό. 55
Εικόνα 20. Διάταξη οργάνου ξήρανσης υπό κατάψυξης- λυοφιλίωσης (Freeze dryer) 56
Εικόνα 21. Ρύθμιση pH της επικάλυψης. 56
Εικόνα 22. Επικάλυψη μούρων Α.) χωρίς βιοδραστική και Β.) με βιοδραστική ουσία 57
Εικόνα 23. Εμβάπτιση μούρων στα διαλύματα των επικαλύψεων. 57
Εικόνα 24. Συγκεντρωμένη απεικόνιση Α.) φρέσκων φρούτων, Β.) με εδώδιμη επικάλυψη και Γ.) με εδώδιμη επικάλυψη και βιοδραστική ουσία. 57
Εικόνα 25. Εισαγωγή των επικαλυμμένων σμέουρων στον ξηραντήρα αέρα. 58
Εικόνα 26. Διάταξη φωτόμετρου. 59
Εικόνα 27. Πολτοποίηση σμέουρου..... 59
Εικόνα 28. Οργάνου διαθλασίμετρου 60
Εικόνα 29. Αλλαγή χρώματος διαλύματος χυμού σμέουρου με δείκτη φαινολοφθαλεΐνης μετά την ογκομέτρηση. 61
Εικόνα 30. Μικροβιολογικός θάλαμος αναλύσεων. 63
Εικόνα 31. Ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (SEM) εγκλεισμένων δομών ζεΐνης ημέρα 0. 68
Εικόνα 32. Ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (SEM) εγκλεισμένων δομών ζεΐνης ημέρα 30. 68
Εικόνα 33. Ανάπτυξη ΥΜ την 5η μέρα συντήρησης των φρέσκων σμέουρων. 77
Εικόνα 34. Ανάπτυξη ΥΜ την 5η μέρα συντήρησης των σμέουρων με εδώδιμη επικάλυψη. 77
Εικόνα 35. Ανάπτυξη ΥΜ για την 5η μέρα συντήρησης των σμέουρων με εδώδιμη επικάλυψη και βιοδραστική ουσία..... 77
Εικόνα 36. Ανάπτυξη ΤC για την 5η μέρα συντήρησης των Α.) φρέσκων σμέουρων, Β.) με εδώδιμη επικάλυψη και Γ.) εδώδιμη επικάλυψη με βιοδραστική ουσία. 78
Εικόνα 37. Ανάπτυξη ΤC για την 8η μέρα συντήρησης των φρέσκων σμέουρων..... 78
Εικόνα 38. Ανάπτυξη ΤC για την 8η μέρα συντήρησης των σμέουρων με εδώδιμη επικάλυψη. 78
Εικόνα 39. Ανάπτυξη ΤC για την 8η μέρα συντήρησης των σμέουρων με εδώδιμη επικάλυψη και βιοδραστική ουσία. 79
Εικόνα 40. Ανάπτυξη ΥΜ για την 8η μέρα συντήρησης των φρέσκων σμέουρων. .. 79

Εικόνα 41. Ανάπτυξη ΥΜ για την 8η μέρα συντήρησης των σμέουρων με εδώδιμη επικάλυψη. 79
Εικόνα 42. Ανάπτυξη ΥΜ για την 8η μέρα συντήρησης των σμέουρων με εδώδιμη επικάλυψη και βιοδραστική ουσία. 79
Εικόνα 43. Συντήρηση δειγμάτων σμέουρων για την 5η μέρα συντήρησης για Α.) φρέσκα σμέουρα, Β.) με εδώδιμη επικάλυψη, Γ.) εδώδιμη επικάλυψη και βιοδραστική ουσία..... 82
Εικόνα 44. Συντήρηση δειγμάτων σμέουρου για την 10η μέρα συντήρησης για Α.) φρέσκα σμέουρα, Β.) με εδώδιμη επικάλυψη, Γ.) εδώδιμη επικάλυψη και βιοδραστική ουσία..... 82

1 Εισαγωγή

1.1 Εισαγωγικά στοιχεία

Οι σύγχρονες ανάγκες των καταναλωτών για πιο φυσικά προϊόντα με λιγότερα συνθετικά συντηρητικά σε συνδυασμό με την μικρή διάρκεια ζωής των φρούτων ώθησαν την ανάπτυξη καινοτόμων τεχνικών για την συντήρηση τους. Παράλληλα η πληθώρα βιοδραστικών ενώσεων και η ενσωμάτωση τους στα διάφορα συστήματα των τροφίμων λόγω των μοναδικών ιδιοτήτων τους μεγαλώνει όλο και περισσότερο. Ο εγκλεισμός με την μέθοδο του ηλεκτροψεκασμού είναι μια τεχνική η οποία προσφέρει εξαιρετικά χαρακτηριστικά στις βιοδραστικές ουσίες καθώς τις προστατεύει από το εξωτερικό περιβάλλον, συνεισφέρει στην σταθερότητα και την λειτουργικότητα τους και ελέγχει την αποδέσμευση τους χωρίς να επηρεάζει αρνητικά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τροφίμου. Επίσης, μεταβάλλοντας τις συνθήκες στης διεργασίας αλλά και την σύσταση του διαλύματος προς εγκλεισμό μπορεί να μεταβληθεί η μορφολογία και το μέγεθος των παραγόμενων δομών.

Οι εδώδιμες επικαλύψεις συνιστούν μια νέα στρατηγική στο τομέα της συσκευασίας των τροφίμων. Ειδικότερα, αποτελούν μια πιο βιώσιμη εναλλακτική η οποία ταυτόχρονα προστατεύει και βελτιώνει την διάρκεια ζωής του τροφίμου σε σχέση με τις καθιερωμένες πλαστικές συσκευασίες. Ακόμα, έντονο ερευνητικό ενδιαφέρον έχει συγκεντρωθεί στην ενσωμάτωση φυσικών βιοδραστικών ενώσεων στις εδώδιμες επικαλύψεις για την βελτίωση της αποτελεσματικότητας τους. Οι βιοδραστικές ουσίες προσδίδουν αντιμικροβιακές και αντιοξειδωτικές ιδιότητες στις επικαλύψεις και έτσι συμβάλουν επιτυχώς στην παράταση της ζωής του τρόφιμου.

1.2 Σκοπός διπλωματικής εργασίας – Μεθοδολογική Προσέγγιση

Σκοπός της διπλωματικής εργασίας είναι βελτιστοποίηση του εγκλεισμού βιοδραστικών ουσιών με την μέθοδο την μέθοδο του ηλεκτροψεκασμού για η παραγωγή μίκρο- και νάνοδομων και την ενσωμάτωση του σε εδώδιμες επικαλύψεις για την παράταση της διάρκειας ζωής των σμέουρων.

Οι επιμέρους στόχοι της διπλωματικής εργασίας ήταν οι εξής:

- Ανάπτυξη εγκλεισμένων δομών με καινοτόμες μεθόδους ενθυλάκωσης για την ενσωμάτωση τους σε εδώδιμες επικαλύψεις.
- Βελτιστοποίηση των πειραματικών παραμέτρων της διεργασίας του ηλεκτροψεκασμού με στόχο την αύξηση της απόδοσης εγκλεισμού της βιοδραστικής ουσίας.
- Ανάπτυξη εδώδιμων επικαλύψεων με ενσωμάτωση εγκλεισμένης βιοδραστικής ουσίας για την παράταση της διάρκειας ζωής των σμέουρων.

Η μεθοδολογική προσέγγιση ακολουθήθηκε έπειτα από ενδελεχής βιβλιογραφική έρευνα. Αρχικά, διερευνήθηκε η ιδανική αναλογία διαλύτη και εκχυλίσματος βιοδραστικής ουσίας και της περιεκτικότητας σε πολυμερική μήτρα του διαλύματος

προς εγκλεισμό. Έπειτα, βελτιστοποιήθηκαν οι συνθήκες της διεργασίες του ηλεκτροψεκασμού με στόχο την μεγαλύτερη απόδοση εγκλεισμού. Οι παραγόμενες εγκλεισμένες δομές εντάχθηκαν σε διάλυμα εδώδιμης επικάλυψης και εφαρμόστηκαν σε σμέουρα με την τεχνική της εμβάπτισης με στόχο την μεγαλύτερη διάρκεια ζωής τους. Τέλος, πραγματοποιήθηκαν διάφορες τεχνικές για την διαπίστωση της αποτελεσματικής λειτουργίας των επικαλύψεων.

2 Εγκλεισμός βιοδραστικών ουσιών

2.1 Εισαγωγικά στοιχεία

Τα τελευταία χρόνια έχει παρατηρηθεί αυξημένη ζήτηση σε πιο φυσικά τρόφιμα τα οποία έχουν υποστεί μικρή επεξεργασία, έχουν αυξημένη προστιθέμενη αξία και περιέχουν ελάχιστα συνθετικά πρόσθετα [1, 2]. Το μεγάλο εύρος βιοδραστικών ουσιών και η ενσωμάτωση τους σε διάφορα συστήματα τροφίμων έχει προσεγγίσει το ερευνητικό ενδιαφέρον [1]. Για παράδειγμα οι βιταμίνες, τα αντιοξειδωτικά και τα προβιοτικά είναι βιοδραστικές ουσίες ικανές να εμπλουτίσουν τα τρόφιμα και η κατανάλωση τους να έχει θετική επίδραση στην υγεία [2, 3]. Παρόλα αυτά, λόγω της χαμηλής σταθερότητας των δομών τους οι ουσίες αυτές είναι ευάλωτες σε παράγοντες όπως θερμοκρασία, οξείδωση και αλλαγές του pH [2, 3]. Με την τεχνική του εγκλεισμού επιτυγχάνεται προστασία των βιοδραστικών ουσιών από τις περιβαλλοντικές συνθήκες όπως υγρασία, θερμική καταπόνηση, και βελτιώνεται η ελεγχόμενη απελευθέρωση τους [2-4] Ενθυλάκωση ονομάζεται η τεχνική του εγκλεισμού δραστικών ουσιών σε μία ουσία (μήτρα) που λειτουργεί προστατευτικά, εμποδίζει την φυσική και χημική αλλοίωση τους και δημιουργεί μικρο- και νανοδομές [1, 3].

2.2 Βιοδραστικά συστατικά

2.2.1 Βιοδραστικές ουσίες φυτικής προέλευσης

Παγκοσμίως παρατηρείται έντονο ενδιαφέρον για την αντικατάσταση των συνθετικών χημικών συντηρητικών με φυσικές εναλλακτικές λύσεις για την εφαρμογή τους στα τρόφιμα. Αναλυτικότερα, οι καταναλωτές αναζητούν προϊόντα με όσο το δυνατόν λιγότερα τεχνητά συστατικά και προτιμούν φυσικά εκχυλίσματα ως υποκατάστατα των αντίστοιχων συνθετικών πρόσθετων. Κίνητρο για αυτή την αλλαγή αποτέλεσε η ανησυχία των καταναλωτών για την ασφάλεια και την υγεία τους. Γενικά τα φυτικά εκχυλίσματα, τα βότανα και τα μπαχαρικά είναι αναγνωρισμένα ως ασφαλή και έχουν ποικίλες λειτουργικές ιδιότητες. Για αυτό το λόγο είναι ευρέως αποδεκτά και κερδίζουν έδαφος ως φυσικά συντηρητικά τροφίμων. Οι αντιμικροβιακές τους ιδιότητες εμποδίζουν την ανάπτυξη επιβλαβών μικροβίων ενώ παράλληλα οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες αναστέλλουν τις οξειδωτικές αντιδράσεις που μπορούν να αλλοιώσουν τα τρόφιμα [5]. Τα φυσικά εκχυλίσματα βοτάνων από το θυμάρι, το φασκόμηλο και το δεντρολίβανο έχουν μελετηθεί αρκετά λόγω της έντονης αντιοξειδωτικής τους δράσης. Πιο συγκεκριμένα τα εκχυλίσματα δεντρολίβανου διαθέτουν αρκετές βιοδραστικές ιδιότητες όπως ηπατική προστασία, αντιμυκητιακή και εντομοκτόνο δράση καθώς και αντιμικροβιακές και αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Όμως η άμεση εφαρμογή των εκχυλισμάτων στα τρόφιμα ενέχει προκλήσεις λόγω της ισχυρής οσμής, του έντονου χρώματος και της γεύσης που έχουν. Η τεχνική του εγκλεισμού βιοδραστικών ουσιών μπορεί να αντιμετωπίσει αυτές τις προκλήσεις εφόσον επιτρέπει ελεγχόμενη απελευθέρωση των βιοδραστικών

ενώσεων με αποτέλεσμα να μετριάζονται οι αισθητηριακές επιδράσεις των ενώσεων αυτών [5, 6].

2.2.2 Δεντρολίβανο

Το δεντρολίβανο (Salvia rosmarinus, Rosmarinus officinalis) είναι ένας αειθαλής θάμνος με χαρακτηριστική ευχάριστη μυρωδιά που κατάγεται από τη Μεσόγειο και έχει διεθνή αναγνώριση λόγω των πιθανών οφελών που έχει στην υγεία. Παρά την αρχική του προέλευση, η καλλιέργεια του έχει εξαπλωθεί παγκοσμίως λόγω των πολύτιμων ιδιοτήτων του. Το δεντρολίβανο πέρα από την χρήση του ως μαγειρικό μπαχαρικό που ενισχύει την γεύση του φαγητού, μπορεί να χρησιμοποιηθεί και ως φυσικό συντηρητικό καθώς συμβάλει στην παράταση της διάρκειας ζωής των τροφίμων, ενώ προσφέρει και σημαντικά οφέλη στην ανθρώπινη υγεία.

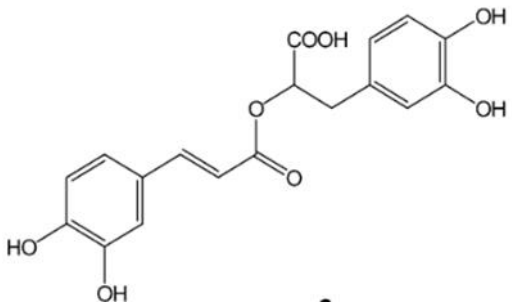
Αποτελεί πλούσια πηγή διαφόρων φυτοχημικών ουσιών με ξεχωριστή βιολογική δράση. Συγκεκριμένα, περιέχει ποικιλία βιοδραστικών ενώσεων οι οποίες ανήκουν στην κατηγορία των φυτοχημικών ουσιών και είναι γνωστές για τις αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες τους. Οι βιοδραστικές ενώσεις αυτές το καθιστούν φυτό με υποσχόμενα οφέλη στην υγεία με ηπατοπροστατευτικές ιδιότητες, θεραπευτικές δυνατότητες στην νόσο του Alzheimer αλλά και αντικαρκινικές ιδιότητες [7, 8].

Εικόνα 1. Δεντρολίβανο [9].

Η αυξανόμενη ζήτηση των καταναλωτών για τρόφιμα χωρίς πρόσθετα έχει οδηγήσει σε αύξηση του ενδιαφέροντος για φυσικές εναλλακτικές λύσεις. Τα εκχυλίσματα του δεντρολίβανου παρουσιάζονται ως πιθανή λύση στην νέα ανάγκη των αγοραστών, λόγω των εγγενών ιδιοτήτων τους που οφείλονται στην υψηλή περιεκτικότητα του φυτού σε φαινόλες. Οι φαινολικές ουσίες προσδίδουν στα εκχυλίσματα αντιοξειδωτική δράση, αντιβακτηριακές και αντιμυκητιασικές ιδιότητες. Το σημαντικό οικονομικό πλεονέκτημα και η ευρεία εμπορική διαθεσιμότητα των εκχυλισμάτων του δεντρολίβανου έγκειται στην εύκολη προσβασιμότητα του φυτού που αποτελεί φυσική πηγή αντιοξειδωτικών [10]. Αναλυτικότερα, τα αντιοξειδωτικά

έχουν σημαντικό ρόλο στην διατήρηση των τροφίμων και χρησιμοποιούνται ευρέως στην βιομηχανία των τροφίμων για την πρόληψη της αλλοίωσης τους. Ταυτόχρονα, βρίσκουν εφαρμογές στην πρόληψη ασθενειών και στην γήρανση διότι αναστέλλουν την οξείδωση και εμποδίζουν τις αλυσιδωτές αντιδράσεις των ελεύθερων ριζών [11].

Το εκχύλισμα του δεντρολίβανου είναι πλούσιο σε διάφορες κατηγορίες βιοδραστικών ενώσεων, συμπεριλαμβανομένων των φλαβονοειδών, των πολυφαινολών, των τερπενοειδών και των πτητικών ελαίων με αποδεδειγμένες αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Συγκεκριμένα, μπορεί να περιέχει μια πληθώρα βιοδραστικών ενώσεων με κυρίαρχες το ροσμαρινικό οξύ, την καρνοσόλη και το καρσονικό οξύ. Ο μηχανισμός της αντιοξειδωτικής τους δράσης βασίζεται στην δυνατότητα των ενώσεων αυτών να παρεμβαίνουν στην οξείδωση των λιπιδίων προσφέροντας άτομα υδρογόνου σε ελεύθερες ρίζες μέσα στα μόρια των λιπιδίων [7, 8]. Ακόμα, οι ενώσεις αυτές είναι και οι πιο εκτενώς μελετημένες και χαρακτηρισμένες φυτοχημικές ουσίες στο εκχύλισμα. Ωστόσο, ο διαλύτης αλλά και η μέθοδος εκχύλισης επιδρούν στη σύνθεση του τελικού προϊόντος. Ως αποτέλεσμα, η επιλεγμένη τεχνική και ο κατάλληλος διαλύτης διαμορφώνουν το προφίλ των χημικών ουσιών καθορίζοντας την φυτοχημική του σύνθεση. Κατά συνέπεια, όσον αφορά στο δεντρολίβανο οι υδατικοί διαλύτες είναι ικανοί να απομονώσουν το ροσμαρινικό οξύ με μεγάλη επιτυχία [7]. Παράλληλα, το δεντρολίβανο έχει εφαρμογές στον τομέα της συντήρησης των τροφίμων λόγω της αντιμικροβιακής του δράσης. Οι ανασταλτικές του ιδιότητες οφείλονται σε ένα συνδυασμό βιοδραστικών ενώσεων οι οποίες περιλαμβάνουν το ροσμαρινικό οξύ, τη ροσμαριδιφαινόλη, την καρνοσόλη, την ηπιροσμανόλη, το καρνοσικό οξύ, τη ροσμανόλη και την ισοροσμανόλη. Η αντιμικροβιακή δράση αποδίδεται στην ικανότητα των ουσιών αυτών να αλληλεπιδρούν με την κυτταρική μεμβράνη και να προκαλούν αλλαγές στο γενετικό υλικό και το θρεπτικά συστατικά. Έτσι, μπορούν να μεταβάλουν την μεταφορά ηλεκτρονίων, τη διαρροή κυτταρικών συστατικών αλλά και να επηρεάσουν την παραγωγή λιπαρών οξέων [6].



Εικόνα 2. Χημική δομή ροσμαρινικού οξέος [56].

Το εκχύλισμα του δεντρολίβανου έχει αναδειχθεί ως μια φυσική και εναλλακτική λύση για τα συνθετικά αντιοξειδωτικά που ήδη χρησιμοποιούνται στην βιομηχανία των τροφίμων, λόγω της ικανότητας του να αποτρέπει την οξείδωση και να δυσκολεύει την μικροβιακή μόλυνση. Η στροφή του ενδιαφέροντος στα φυσικά πρόσθετα οφείλεται στην προτίμηση των καταναλωτών για λιγότερο επεξεργασμένα

τρόφιμα. Έτσι, η Ευρωπαική Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA) αξιολόγησε την ασφάλεια το εκχυλίσματος για την εφαρμογή του στα τρόφιμα και την ανθρώπινη κατανάλωση. Έπειτα από εκτεταμένες έρευνες το εκχύλισμα κρίθηκε κατάλληλο για πρόσληψη από τον άνθρωπο με τα επιτρεπόμενα επίπεδα κατανάλωσης να είναι έως και 400mg/kg σε συνολική ποσότητα καρνοσόλης και καρνοσικού οξέος [7].

2.3 Εγκλεισμός

2.3.1 Εισαγωγικά στοιχεία

Εγκλεισμός είναι η διαδικασία κατά την οποία δραστικές ουσίες παγιδεύονται σε μία πολυμερική μήτρα η οποία λειτουργεί ως προστατευτική ασπίδα και τις απομονώνει από το εξωτερικό περιβάλλον. Με αυτό τον τρόπο εξασφαλίζεται η σταθερότητα των δομών, παραμένουν ασφαλείς από υγρασία, οξυγόνο, φως και θερμότητα, διατηρούν την βιολογική τους δραστηριότητα και η απελευθέρωση τους είναι μπορεί να είναι σταδιακή υπό ελεγχόμενες συνθήκες [4]. Επιπλέον, η ενθυλάκωση προσφέρει τη δυνατότητα αύξησης της διατροφικής ποιότητας των τροφίμων και μπορεί να καλύψει ανεπιθύμητες γεύσεις χωρίς να θέτει σε κίνδυνο τα αισθητηριακά χαρακτηριστικά (γεύση, άρωμα, υφή) του προϊόντος. Τελικά, η ενθυλάκωση αποτελεί ένα πολύτιμο εργαλείο για την παράταση της διάρκειας ζωής και τη διατήρηση της ακεραιότητας των δραστικών συστατικών [1]. Αναλυτικότερα, ο εγκλεισμός περιλαμβάνει την περιβολή μια δραστικής ένωσης με ένα προστατευτικό κέλυφος ή υλικό φορέα. Οι τρείς κύριοι στόχοι που επιτυγχάνονται με τον εγκλεισμό στον τομέα των τροφίμων είναι:

- Ελεγχόμενη ή καθυστερημένη απελευθέρωση: διαχείριση της απελευθέρωσης της εγκλεισμένης βιοδραστικής ουσίας (πτητικές ενώσεις, μικροοργανισμοί, ένζυμα).
- Προστασία και σταθεροποίηση: ο εγκλεισμός προστατεύει την βιοδραστική ουσία από τους περιβαλλοντικούς παράγοντες οι οποίοι είναι ικανοί να υποβαθμίσουν ή και να απενεργοποιήσουν την βιοδραστική ένωση (οξυγόνο, φως, θερμοκρασία, pH). Επίσης αποτρέπει ανεπιθύμητες αλληλεπιδράσεις με ουσίες όπως φυτοφάρμακα, σκληρά καθαριστικά και ένζυμα.
- Στοχευμένη ή παρατεταμένη απελευθέρωση: Η απελευθέρωση του εγκλεισμένου υλικού γίνεται σε συγκεκριμένη χρονική στιγμή και θέση στο τρόφιμο και μπορεί να συμβεί με διάχυση, επανυδάτωση, εκφυλισμό ή υπό συγκεκριμένες συνθήκες όπως αλλαγή θερμοκρασίας, του pH και της ιοντικής ισχύος.
- Δομή και λειτουργικότητα: με τον εγκλεισμό μπορεί να τροποποιηθεί η φυσική κατάσταση των δραστικών συστατικών καθώς επιτρέπει την μετατροπή των υγρών ή αέριων συστατικών (πτητικές ενώσεις) σε στερεά σωματίδια. Επίσης, καλύπτει τα αισθητηριακά χαρακτηριστικά όπως

ανεπιθύμητα αρώματα, γεύσεις και χρώματα και κάνει το προϊόν περισσότερο ελκυστικό στους καταναλωτές [12].

2.3.2 Βασικές μέθοδοι εγκλεισμού

Ο εγκλεισμός βιοδραστικών ουσιών αποτελεί μια πολύτιμη τεχνική στην προστασία και την ελεγχόμενη απελευθέρωση βιοδραστικών ουσιών. Υπάρχουν διάφορες τεχνικές για την παραγωγή πολυμερικών μίκρο- και νάνο- δομών οι οποίες εγκλείουν βιοδραστικά συστατικά και αρκετές βασίζονται στην ξήρανση [2, 13].

Η ξήρανση με ψεκασμό (spray drying) είναι μια καθιερωμένη και ευρέως χρησιμοποιούμενη τεχνική εγκλεισμού στην βιομηχανία των τροφίμων. Συγκεκριμένα, είναι οικονομική, ευέλικτη, η τεχνολογία του εξοπλισμού που χρειάζεται είναι εύκολα διαθέσιμη και παράγει σωματίδια σε σκόνη καλής ποιότητας. Παρόλα αυτά οι υψηλές θερμοκρασίες που χρησιμοποιούνται κατά την διάρκεια της ξήρανσης ενδέχεται να οδηγήσουν σε θερμική υποβάθμιση του ευαίσθητων βιοδραστικών συστατικών υποβαθμίζοντας έτσι την σταθερότητα και την λειτουργικότητα τους [1]. Ακόμα εγκλεισμός μπορεί να πραγματοποιηθεί και με την τεχνική της επίστρωσης με εξώθηση και εφαρμόζεται στα τρόφιμα για τον εγκλεισμό αρωμάτων, καρυκευμάτων και βιταμινών [14]. Ωστόσο, οι τεχνικές αυτές εμφανίζουν προκλήσεις στην διατήρηση της λειτουργικότητας και της σταθερότητας των βιοδραστικών ενώσεων. Αυτό συμβαίνει λόγω των σκληρών συνθηκών επεξεργασίας οι οποίες μπορεί να είναι επιζήμιες για τα δραστικά συστατικά. Ειδικότερα, κατά την διάρκεια της ξήρανσης η έκθεση σε υψηλές θερμοκρασίες μπορεί να οδηγήσει σε θερμική αποικοδόμηση των ουσιών, ενώ η χρήση οργανικών διαλυτών ενδέχεται να επηρεάσει τα θρεπτικά συστατικά [2].

Συγκριτικά με τις καθιερωμένες τεχνικές εγκλεισμού η ηλεκτροινοποίηση προσφέρει ένα σημαντικό πλεονέκτημα για τις ευαίσθητες στην θερμότητα και πτητικές ενώσεις. Αυτό προκύπτει από την απουσία υψηλής θερμοκρασίας κατά την ξήρανση καθώς η εξάτμιση του διαλύτη γίνεται με την εφαρμογή υψηλής τάσης καθώς το διάλυμα ταξιδεύει προς έναν συλλέκτη. Έτσι, η τεχνική αυτή είναι ιδανική για θερμοευαίσθητες και πτητικές ενώσεις, διατηρώντας επιτυχώς την δομή τους και εξασφαλίζοντας υψηλή απόδοση εγκλεισμού [15].

2.3.3 Ηλεκροϋδροδυναμική διεργασία

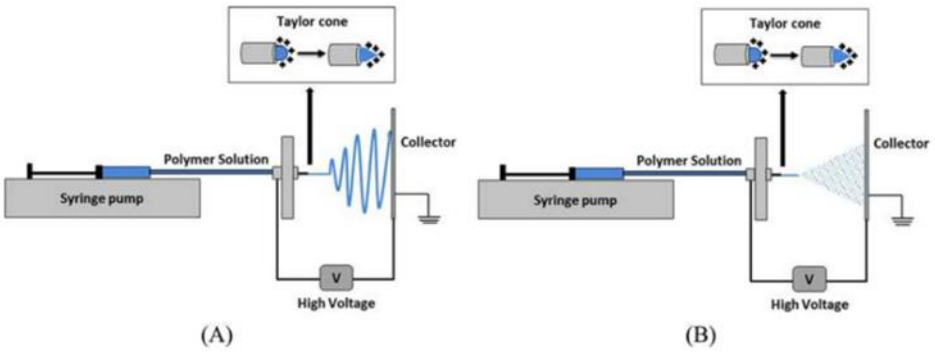
Η ηλεκτροϋδροδυναμική διαδικασία μπορεί να θεωρηθεί ως μία υποσχόμενη τεχνική σε σύγκριση με τις υπόλοιπες συμβατικές μεθόδους ενθυλάκωσης με αρκετές εφαρμογές στο σχεδιασμό λειτουργικών τροφίμων. Παράλληλα, συνδυάζει φυσικο-μηχανικές ιδιότητες, είναι οικονομική και έχει την δυνατότητα κλιμάκωσης μεγέθους. Με την τεχνολογία αυτή παράγονται ξηρές μίκρο- ή νανοδομές σε ήπιες θερμοκρασιακές συνθήκες με αποτέλεσμα να αποφεύγεται η θερμική υποβάθμιση των θερμοκρασιακά ευαίσθητων βιοδραστικών ουσιών [4, 16]. Επιπλέον, επιτυγχάνεται υψηλή απόδοση ενθυλάκωσης με απουσία θερμότητας το οποίο αποτελεί σημαντικό πλεονέκτημα συγκριτικά με τις υπόλοιπες μεθόδους εγκλεισμού

[1]. Στην μέθοδο αυτή ιξωδοελαστικό πολυμερές διάλυμα ρέει μέσω ενός τριχοειδούς αγωγού και υποβάλλεται σε ηλεκτρικό πεδίο υψηλής τάσης με αποτέλεσμα να δημιουργείται ένα φορτισμένος πίδακας ο οποίος εκτοξεύεται στο απέναντι ηλεκτρόδιο που είναι τοποθετημένος ο συλλέκτης. Κατά την διάρκεια του ψεκασμού του πολυμερούς ο πίδακας επιμηκύνεται και ο διαλύτης εξατμίζεται με αποτέλεσμα την παραγωγή ξηρών υπέρλεπτων δομών (διαδικασία ηλεκτροϊνοποίησης) ή λεπτών σωματιδίων (διαδικασία ηλεκτροψεκασμού) ανάλογα τον κατακερματισμό του πίδακα. Επομένως, η διεργασία αυτή παρέχει ευελιξία στην επιθυμητή μορφολογία των ενθυλακωμένων δομών [1, 16].

2.3.4 Διάταξη ηλεκτροϋδροδυανμικής διεργασίας

Η βασική διαμόρφωση ενός συστήματος ηλεκτροϊνοποίησης/ηλεκτροψεκασμού περιλαμβάνει τα εξής βασικά στοιχεία:

- Αντλία σύριγγας η οποία χρησιμεύει για να ελέγχει την ροή του διαλύματος προς ψεκασμό.
- Σύριγγα μέσα στην οποία βρίσκεται το διάλυμα το οποίο θα μετασχηματιστεί σε σωματίδια ή ίνες.
- Μεταλλική βελόνα η οποία δρα ως ακροφύσιο και αποτελεί το σημείο εξόδου του διαλύματος κατά την διάρκεια του ηλεκτροϋδροδυναμικού φαινομένου.
- Πηγή ισχύος υψηλής τάσης ώστε να προκληθεί ο σχηματισμός του φορτισμένου πίδακα.
- Γειωμένος συλλέκτης στον οποίο εναποτίθενται τα σωματίδια ή οι ίνες που δημιουργούνται στην διεργασία [17].



Εικόνα 3. Σχηματική αναπαράσταση διάταξης ηλεκτροϊνοποίησης (A) και ηλεκτροψεκασμού (B) [1].

2.3.4.1 Αρχή λειτουργίας ηλεκτροϋδροδυναμικής διεργασίας

Η αρχή λειτουργίας της ηλεκτροϋδροδυναμικής τεχνολογίας βασίζεται στην εφαρμογή ισχυρών ηλεκτροστατικών δυνάμεων που ασκούνται από μια πηγή υψηλής τάσης (0-30 kV). Η τάση αυτή εφαρμόζεται μεταξύ της σταγόνας του πολυμερούς διαλύματος το οποίο συγκρατείται στην άκρη του τριχοειδούς ακροφυσίου και ενός γειωμένου συλλέκτη. Με σταδιακή αύξηση της έντασης του ηλεκτροστατικού πεδίου

πραγματοποιείται παραμόρφωση του σχήματος της σταγόνας η οποία επιμηκύνεται και στην κρίσιμη τάση όπου οι ηλεκτροστατικές δυνάμεις αντισταθμίσουν την επιφανειακή τάση σχηματίζεται μία κωνική δομή η οποία ονομάζεται κώνος Taylor. Στην περίπτωση που ασκείται τάση μεγαλύτερη της κρίσιμης είναι δυνατόν να συμβούν δύο διαφορετικές διαδικασίες:

- Ηλεκτροϊνοποίηση, όπου ο υγρός πίδακας είναι συνεχόμενος και εκτοξεύεται από τη άκρη του ακροφυσίου. Συνήθως παρατηρείται σε διαλύματα πολυμερών υψηλότερης συγκέντρωσης ή ιξώδους.
- Ηλεκτροψεκασμός, όπου εμφανίζεται όταν το διάλυμα έχει χαμηλότερες τιμές συγκέντρωσης ή ιξώδους και ο πίδακας διασπάται λεπτά φορτισμένα σταγονίδια

Στην πορεία της διαδρομής από το ακροφύσιο στον συλλέκτη πραγματοποιείται η εξάτμιση του διαλύτη με αποτέλεσμα τον σχηματισμό είτε στερεών μίκρο-, νάνοϊνών είτε σωματιδίων. Τα μικροσταγονίδια που προκύπτουν την περίπτωση του ηλεκτροψεκασμού αποκτούν φορτίο εντός του ηλεκτρικού πεδίου, επιτρέποντας τους να αυτοδιασκορπιστούν. Ταυτόχρονα, το φορτίο αυτό συμβάλλει σε αμοιβαία απώθηση μεταξύ των σταγονιδίων εμποδίζοντας το φαινόμενο της συσσωμάτωσης τους. Οι κύριες παράμετροι που μπορούν να επηρεάσουν την διεργασία είναι η εφαρμοσμένη τάση, ο ρυθμός ροής, η απόσταση ακροφυσίου και συλλέκτη και τέλος η συγκέντρωση του διαλύματος και το ιξώδες [3, 4].

2.3.4.2 Επίδραση των παραμέτρων στην ηλεκτροϋδροδυναμική διεργασία και στην μορφολογία των σωματιδίων

Η ηλεκτροϋδροδυναμική διεργασία έχει κεντρίσει το ενδιαφέρον λόγω της ικανότητας της να παράγει πολυμερείς ίνες ή σωματίδια των οποίων η διάμετρος κυμαίνεται από μικρόμετρα έως και νανόμετρα. Σημαντικό πλεονέκτημα της διεργασίας αυτής είναι η δυνατότητα ελέγχου με ακρίβεια της μορφολογία αλλά και του μεγέθους των σχηματιζόμενων δομών ρυθμίζοντας συγκεκριμένες παραμέτρους όπως τις συνθήκες της διεργασίας, τις εγγενείς ιδιότητες του διαλύματος πολυμερούς καθώς και τις περιβαλλοντικές συνθήκες [1, 18]. Κατά την διάρκεια της ηλεκτροϋδροδυναμικής διαδικασίας τα χαρακτηριστικά των παραγόμενων δομών μπορούν να επηρεαστούν από τις παρακάτω κατηγορίες παραγόντων:

- Συνθήκες ηλεκτροϋδροδυναμικής διεργασίας όπως περιβαλλοντικές παράμετροι (π.χ. θερμοκρασία, υγρασία).
- Παράμετροι διεργασίας (π.χ. ένταση ηλεκτρικού πεδίου, απόσταση μεταξύ σύριγγας και συλλέκτη, εφαρμοζόμενος ρυθμός ροή).
- Χαρακτηριστικά διαλύματος (π.χ. συγκέντρωση, ιξώδες, επιφανειακή τάση, αγωγιμότητα) [18].

Μήτρα

Το πολυμερές που επιλέγεται ως μήτρα είναι μια παράμετρος από την οποία εξαρτάται η δομή και τα χαρακτηριστικά των σωματιδίων που προκύπτουν από ηλεκτροψεκασμό. Συγκεκριμένα, η δομή επηρεάζεται από τον τύπο του πολυμερούς, το μοριακό του βάρος και την συγκέντρωση του στο διάλυμα. Οι παράγοντες αυτοί είναι κρίσιμης σημασίας γιατί καθορίζουν το ιξώδες και την επιφανειακή τάση του διαλύματος, τα οποία με την σειρά τους επηρεάζουν την σταθερότητα του πίδακα ηλεκτροψεκασμού και την τελική μορφολογία των σωματιδίων [2]. Οι ιδιότητες και το μοριακό βάρος του πολυμερούς είναι, επίσης σημαντικοί παράγοντες καθώς επηρεάζουν τον βαθμό εμπλοκής των αλυσίδων στο διάλυμα του πολυμερούς καθορίζοντας το αποτέλεσμα της ηλεκτροδυναμικής διαδικασίας. Ουσιαστικά, ορίζει αν η διαδικασία θα αποδώσει ηλεκτροψεκασμό (παραγωγή σφαιρικών δομών) ή ηλεκτροϊνοποίηση (παραγωγή ινών). Παράλληλα, οι ρεολογικές ιδιότητες του πολυμερούς και συγκεκριμένα το ιξώδες έχει καθοριστικό ρόλο στην μορφολογία των σωματιδίων και των ινών. Όσο μειώνεται η τιμή του ιξώδους αλλά και οι ιξωδοελαστικές δυνάμεις ευνοείται η παραγωγή σφαιρικών σωματιδίων [19].

Διαλύτης

Στην διαδικασία του ηλεκτροψεκασμού κρίσιμος παράγοντας για την διαμόρφωση και την κατασκευή των σωματιδίων και των τελικών τους χαρακτηριστικών είναι ο διαλύτης. Οι δύο βασικές ιδιότητες του διαλύτη που διέπουν τον σχηματισμό των σωματιδίων είναι η διαλυτότητα της διαλυμένης ουσίας και η ικανότητα ξήρανσης. Η πρώτη ιδιότητα αφορά την ικανότητα του διαλύτη να διαλύει το πολυμερές ή και άλλες ουσίες. Αντίστοιχα, η δεύτερη έχει να κάνει με τον ρυθμό με τον οποίο εξατμίζεται ο διαλύτης από τα σταγονίδια. Γενικότερα, βραδύτεροι ρυθμοί εξάτμισης οδηγούν στο σχηματισμό πιο σφαιρικών σωματιδίων και οφείλεται στον παρατεταμένο χρόνο ξήρανσης που διευκολύνει την ομοιόμορφη απομάκρυνση του διαλύτη από το σταγονίδιο και εμποδίζει φαινόμενα που παραμορφώνουν το σχήμα όπως επιφανειακή τάση. Αντίθετα, η ταχεία εξάτμιση του διαλύτη συντελεί στην δημιουργία λιγότερο σφαιρικών σωματιδίων [2].

Τάση

Ένας ακόμα κρίσιμος παράγοντας στο ηλεκτροψεκασμό είναι η εφαρμογή υψηλής τάσης στο διάλυμα του πολυμερούς. Η τάση που εφαρμόζεται είναι υπεύθυνη για την ένταση του ηλεκτρικού πεδίου που δημιουργείται ανάμεσα στο ακροφύσιο και την πλάκα συλλογής και επομένως ελέγχει την δύναμη με την οποία έλκεται το διάλυμα. Αναλυτικότερα, η διαδικασία του ηλεκτροψεκασμού αρχίζει με την εφαρμογή τάσης και συγκεκριμένα όταν οι ηλεκτροστατικές δυνάμεις υπερβούν την επιφανειακή τάση του διαλύματος [2]. Η επιφανειακή τάση είναι η κύρια δύναμη που αντισταθμίζεται στο ηλεκτρικό πεδίο και αποτελεί σημαντικό παράγοντα στην ηλεκτροϊνοποίηση. Επίσης, εξαρτάται άμεσα από την σύνθεση του διαλύματος αλλά και την θερμοκρασία [1]. Τυπικά, ισχύει πως όταν η τάση ξεπεράσει τα 6 kV είναι ικανή να

παραμορφώσει το σταγονίδιο στην άκρη του ακροφυσίου στον χαρακτηριστικό κώνο Taylor και στην συνέχεια να διαμορφωθεί ο πίδακας. Παρόλα αυτά, η διαδικασία του ηλεκτροψεκασμού θα είναι επιτυχής μόνο σε ένα συγκεκριμένο εύρος εφαρμοζόμενων τάσεων [2]. Η μορφολογία των δομών καθορίζεται από την τάση και σε υψηλότερες τιμές της τείνουν να σχηματίζονται σφαιρικα σωματίδια. Το φαινόμενο αυτό μπορεί να αποδοθεί στην αυξημένη αστάθεια του πίδακα, οδηγώντας τελικά στην δημιουργία σφαιριδίων [18].

Ρυθμός ροής

Κύρια παράμετρος στον ηλεκτροψεκασμό είναι και ο ρυθμός ροής του διαλύματος πολυμερούς, καθώς είναι υπεύθυνος για την ποσότητα του διαλύματος που είναι διαθέσιμη στην άκρη της βελόνας. Η διατήρηση σταθερού κώνου Taylor κατά την διάρκεια της διαδικασίας εξασφαλίζεται από την εφαρμογή δεδομένης τάσης για συγκεκριμένο ρυθμό ροής. Παράλληλα, ρυθμίζοντας τον ρυθμό ροής διαμορφώνεται αναλόγως το μέγεθος των παραγόμενων σωματιδίων στην επιθυμητή τιμή. Αντίθετα, η κωνική δέσμη ενδέχεται να είναι ασταθής στην περίπτωση δυσανάλογου ρυθμού ροής και τάσης. Ταυτόχρονα, ο κώνος διαταράσσεται και σε υπερβολικά υψηλές τιμές τάσης. Αναφορικά με το μέγεθος των σωματιδίων ισχύει πως σε υψηλότερες τάσεις δημιουργούνται μεγαλύτερα σωματίδια. Αυτό οφείλεται στην αδυναμία της ολοκληρωτικής εξάτμισης του διαλύτη λόγω του αυξημένου ρυθμού ροής του διαλύματος στο άκρο της βελόνας [2].

Απόσταση βελόνας - συλλέκτη

Ένας άλλος παράγοντας που επηρεάζει την μορφολογία και το μέγεθος των τελικών δομών είναι η απόσταση μεταξύ ακροφυσίου ηλεκτροψεκασμού και της πλάκας του συλλέκτη. Τα φορτισμένα σωματίδια κατά την διάρκεια του ηλεκτροψεκασμού αποσπώνται από τον πίδακα και προωθούνται στην πλάκα συλλογής λόγω του ηλεκτρικού πεδίου. Η απόσταση ανάμεσα στο ακροφύσιο και τον συλλέκτη μπορεί να συντελέσει στη διαμόρφωση των σωματιδίων που προκύπτουν αλλά και στην κατανομή του μεγέθους τους. Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί πως η αύξηση της απόστασης οδηγεί σε μείωση του μέσου μεγέθους των σωματιδίων, το οποίο οφείλεται στον παρατεταμένο χρόνο πτήσης που διανύουν το σωματίδια εντός του ηλεκτρικού πεδίου, λόγω της μεγαλύτερης διαδρομής. Ακόμα, η αυξημένη διάρκεια πτήσης βοηθάει στην ανάπτυξη σφαιρικών δομών καθώς οι πολυμερικές αλυσίδες έχουν την δυνατότητα να διαλυθούν και να διατεθούν πιο ομοιόμορφα και να υπάρχει μικρότερη διακύμανση του μεγέθους. Παρόλα αυτά, η αύξηση της απόστασης πάνω από ένα συγκεκριμένο όριο διαταράσσει τη διαδικασία επειδή το ηλεκτρικό πεδίο γίνεται ασθενές και επηρεάζεται ο επιτυχής κατακερματισμός του πίδακα σε σταγονίδια [1]. Αντιθέτως, όταν η απόσταση είναι πολύ μικρή δεν υπάρχει ο απαιτούμενος χρόνος για να εξατμιστεί ο διαλύτης και έτσι σχηματίζονται μεγαλύτερα και πιο ασταθή σωματίδια [2].

Ηλεκτρική αγωγιμότητα

Σημαντική παράμετρο για την βελτιστοποίηση του ηλεκτροψεκασμού είναι και η ηλεκτρική αγωγιμότητα του διαλύτη και του πολυμερούς καθώς καθορίζει την ηλεκτροστατική έλξη των φορτισμένων σωματιδίων. Η υψηλότερη ηλεκτρική αγωγιμότητα οδηγεί σε πιο ισχυρές απωστικές δυνάμεις Coulomb μέσα στο διάλυμα. Συγκεκριμένα, οι δυνάμεις απώθησης ανταγωνίζονται τις ιξωδοελαστικές δυνάμεις οι οποίες συγκρατούν τις πολυμερικές αλυσίδες μεταξύ τους. Αυτό έχει ως συνέπεια την αποδιάταξη των πολυμερικών αλυσίδων κατά την διάρκεια του ηλεκτροψεκασμού και την δημιουργία μικρότερων σωματιδίων. Στην υποθετική περίπτωση που η ηλεκτρική αγωγιμότητα θα ήταν ο μόνος παράγοντας που επηρεάζει το μέγεθος των σωματιδίων τότε σε πολύ μεγάλες τιμές αγωγιμότητας η κατανομή των σωματιδίων θα ήταν ευρύτερη. Το γεγονός αυτό οφείλεται στις ισχυρές δυνάμεις Coulomb που θα μπορούσαν να ξεπεράσουν σε μεγάλο βαθμό τις δυνάμεις εμπλοκής της αλυσίδας και να οδηγήσουν στην εκτίναξη δευτερογενών σταγονιδίων από τα πρωτογενή σταγονίδια, προκαλώντας έτσι ένα ευρύτερο φάσμα στο μέγεθος των σωματιδίων [1].

Περιβαλλοντικές συνθήκες

Οι περιβαλλοντικές συνθήκες, ιδίως η θερμοκρασία και η υγρασία, μπορούν να έχουν σημαντική επίδραση στην ηλκεκτροϋδροδυναμική διαδιακασία. Αναλυτικότερα, οι περιβαλλοντικές παράμετροι επηρεάζουν την μορφή και την δομή των σωματιδίων που ψεκάζονται από τον ηλεκτροψεκασμό. Παράλληλα, καθορίζεται η παραγωγικότητα και η αποδοτικότητα της διεργασίας. Αυτό προκύπτει λόγω της επίδρασης της θερμοκρασίας στην εξάτμιση του διαλύτη και στην αγωγιμότητα. Οι υψηλότερες θερμοκρασίες επιταχύνουν την εξάτμιση του διαλύτη από τα σταγονίδια, επηρεάζοντας με αυτόν τον τρόπο την τελική τους μορφή. Αντίστοιχα, η ηλεκτρική αγωγιμότητα του διαλύματός παρουσιάζει ευαισθησία στην θερμοκρασία ασκώντας επίδραση την σταθερότητα της διεργασίας. Επιπλέον, η υγρασία ενδέχεται να επηρεάσει την διαμόρφωση των σωματιδίων καθώς σε πολύ υψηλές τιμές εμποδίζεται η εξάτμιση του διαλύτη. Σημαντικό πλεονέκτημα της διεργασίας αποτελούν οι συνθήκες λειτουργίας της. Η ηλεκτροϋδροδυανμική διαδικασία πραγματοποιείται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και σε ατμοσφαιρική πίεση. Για αυτό τον λόγο είναι μία ήπια τεχνική η οποία ενδείκνυται για θερμοευαίσθητες ουσίες που αποδομούνται σε υψηλές θερμοκρασίες [2].

2.3.5 Υλικά που χρησιμοποιούνται ως μήτρες κατά τον εγκλεισμό

2.3.5.1 Κριτήρια επιλογής μήτρας εγκλεισμού

Για την σχεδίαση του κελύφους της ενθυλάκωσης χρειάζονται υλικά τα οποία είναι κατάλληλα για τρόφιμα και βιοδιασπώμενα, ενώ ταυτόχρονα έχουν την δυνατότητα να προστατεύουν την δραστική ουσία από το περιβάλλον. Παρά το διευρυμένο εύρος τέτοιων ενώσεων υπάρχουν αυστηροί κανονισμοί οι οποίοι διέπουν την χρήση πρόσθετων στα τρόφιμα. Τα υλικά αυτά οφείλουν να υποβάλλονται σε αξιολόγηση ώστε να πιστοποιηθούν και να αναγνωριστούν ως ασφαλή. Ακόμα, η πορεία

επεξεργασίας των τροφίμων πρέπει να συμμορφώνεται με τα θεσπισμένα πρότυπα των ρυθμιστικών φορέων όπως η Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA) και η Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) των Ηνωμένων Πολιτειών [20]. Παράλληλα, υπάρχουν κρίσιμες παράμετροι που πρέπει να αξιολογηθούν πριν την επιλογή του κατάλληλου υλικού για την ενθυλάκωση. Οι παράμετροι αυτές είναι οι λειτουργικές ιδιότητες που επιθυμούνται να έχει το τελικό προϊόν, ο τρόπος της απελευθέρωσης της δραστικής ουσίας και η απαιτούμενη σταθερότητα που χρειάζεται. Η διαδικασία επιλογής καθοδηγείται επίσης από παράγοντες όπως το κόστος, την ευκολία κατασκευής, την μορφολογία, τις διαστάσεις των μικροδομών καθώς και την περιβαλλοντική τους σταθερότητα [2, 20]. Ακόμα, τα υλικά που χρησιμοποιούνται για ενθυλάκωση εμφανίζουν ορισμένες ικανότητες όπως δυνατότητα σχηματισμού φιλμ, είναι εύκαμπτα και δεν παρουσιάζουν οσμή και γεύση. Η εύρεση της κατάλληλης μήτρας εγκλεισμού είναι επομένως μια σύνθετη διαδικασία η οποία εξαρτάται από μία πληθώρα παραγόντων. Στους παράγοντες αυτούς συγκαταλέγονται και οι φυσικές και χημικές τους ιδιότητες, η συμβατότητα της μήτρας με την προβλεπόμενη εφαρμογή και η αισθητική επίδραση που θα έχει στο τελικό προϊόν [21]. Η κυρίαρχη κατηγορία υλικών που χρησιμοποιούνται στην ενθυλάκωση είναι τα βιοπολυμερή όπως πρωτεΐνες, υδατάνθρακες και λιπίδια. Αναλυτικότερα, τα υλικά αυτά είναι προτιμότερο να προέρχονται από φυσικές πηγές και να διατηρούν την λειτουργικότητα των δραστικών ουσιών [20].

2.3.5.2 Μήτρες εγκλεισμού με βάση τους πολυσακχαρίτες

Τα εγγενή χαρακτηριστικά των υδατανθράκων όπως η βιοσυμβατότητα και η βιοαποικοδομησιμότητα τα καθιστούν κατάλληλα για εφαρμογές ενθυλάκωσης. Οι μήτρες αυτές εμφανίζουν ευελιξία λόγω των λειτουργικών τους ομάδων και έχουν την δυνατότητα να αλληλεπιδράσουν με ποικιλία βιοδραστικών ενώσεων με αποτέλεσμα να μπορούν εγκλωβίζουν αρκετές υδρόφιλες και υδρόφοβες ενώσεις. Ταυτόχρονα, είναι ιδανικά υλικά ενθυλάκωσης όταν απαιτούνται θερμικές διεργασίες καθώς παρουσιάζουν υψηλή θερμική αντοχή σε σχέση με τα λιπίδια και της πρωτεΐνες [2]. Οι υδατάνθρακες ακόμα αποτελούν ελκυστικές μήτρες καθώς πέρα από την οικονομική τους αποδοτικότητα έχουν την ικανότητα να σχηματίζουν δομές με ευρύ φάσμα μεγεθών και διαθέτουν καλές φυσικοχημικές ιδιότητες με σημαντικότερες την διαλυτότητα και την τήξη [20].

Κυτταρίνη

Η κυτταρίνη ανήκει στα βιοπολυμερή και αποτελείται από επαναλαμβανόμενες μονάδες D-γλυκόζης οι οποίες είναι συνδεδεμένες με β-1,4 γλυκοζιτικούς δεσμούς. Αναλυτικότερα, η δομή της ένωσης ακολουθείται από την εναλλασσόμενη ένωση υδροξυμεθυλομάδων από τα κατάλοιπα ανυδρογλυκόζης πάνω και κάτω αντίστοιχα από το επίπεδο της πολυμερικής αλυσίδας. Η κυτταρίνη δεν διαλύεται στο νερό λόγω του τρόπου με τον οποίο είναι δομημένη αλλά και εξαιτίας της υψηλής κρυσταλλικής της δομής. Η διάλυση της κυτταρίνης στο νερό μπορεί να βελτιωθεί με την επεξεργασία της με αλκάλια ώστε να προκληθεί διόγκωση και να αντιδράσει

ευκολότερα με ενώσεις όπως χλωροοξικό οξύ, το χλωριούχο μεθύλιο και οξείδιο του προπυλενίου. Αποτέλεσμα των αντιδράσεων αυτών είναι η παραγωγή καρβοξυμεθυλοκυτταρίνης (CMC), μεθυλοκυτταρίνης (MC), υδροξυπροπυλοκυτταρίνης (HPMC) και υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνη (HPC). Συγκεκριμένα, οι παραπάνω ενώσεις σχηματίζουν αποδεκτές μεμβράνες οι οποίες συνήθως δεν έχουν οσμή και γεύση, διαθέτουν καλή ευκαμπτότητα και μέτρια αντοχή με καλή αντίσταση στα έλαια και λίπη. Επιπλέον, είναι σχετικά ανθεκτικές στην μεταφορά οξυγόνου και υγρασίας [21]. Από τα παράγωγα της κυτταρίνης η μεθυλοκυτταρίνη εμφανίζει την μεγαλύτερη ανθεκτικότητα στο νερό ενώ παράλληλα είναι έχει την λιγότερη υδροφιλική συμπεριφορά. Ωστόσο, υψηλή αντίσταση στους υδρατμούς συνεχίζουν να έχουν οι μεμβράνες που παράγονται από αιθέρα και κυτταρίνη [21].

Χιτίνη-Χιτοζάνη

Η χιτίνη είναι ένα βιοπολυμερές το οποίο είναι άφθονο στο φυσικό περιβάλλον και συναντάται σε διάφορα βιολογικά υλικά όπως στον εξωσκελετό των καρκινοειδών και στο κυτταρικό τοίχωμα των μυκήτων [21]. Η χιτοζάνη παράγεται με αλκαλική αποακετυλίωση της χιτίνης και επομένως είναι ένα συμπολυμερές που αποτελείται από N-ακετυλο-D-γλυκοζαμίνη και D-γλυκοζαμίνης [2, 21]. Επιπλέον, ο βαθμός της αποακετυλίωσης που έχει υποστεί η χιτοζάνη συνδέεται με την αποδοτικότητα στις διάφορες εφαρμογές της [22]. Η χιτοζάνη είναι ένας φυσικός πολυσακχαρίτης, μη τοξικός με καλές βιολογικές ιδιότητες. Συγκεκριμένα της έχει δοθεί ιδιαίτερη σημασία λόγω των μοναδικών χαρακτηριστικών που διαθέτει όπως της βιοσυμαβότητας, της βιοαποδομησιμότητας και των αντιμικροβιακής της δράσης που εξαρτάται από παράγοντες όπως το pH, το μοριακό βάρος, το είδος μικροοργανισμού, και την πηγή προέλευσης της χιτοζάνης [22, 23]. Τα εξαιρετικά χαρακτηριστικά και οι ιδιότητες της χιτοζάνης την καθιστούν ως ένα αρκετά αποδοτικό υλικό για την ενθυλάκωση βιοδραστικών ενώσεων. Το βιοπολυμερές έχει ένα ευρύ φάσμα εφαρμογών σε τομείς όπως τα τρόφιμα, τα φαρμακευτικά προϊόντα, η γεωργία, η βιοϊατρική, η περιβαλλοντική επιστήμη, ακόμη και η βιομηχανία. Μερικά από τα συστατικά που είναι κατάλληλα να εγκλειστούν σε χιτοζάνη είναι τα αιθέρια έλαια, τα λιπίδια, τα συστατικά τροφίμων, οι βιταμίνες και τα φάρμακα [22]. Η χιτοζάνη έχει και δυνατότητα εφαρμογών στην βιο-φαρμακευτική και στην χορήγηση φαρμακευτικών ενώσεων λόγω της ικανότητας της να προσκολλάται στις επιφάνειες του βλεννογόνου [2].

Άμυλο

Το άμυλο είναι μία πολυμερική ένωση η οποία υπάρχει σε αφθονία στην φύση και συναντάται σε τρόφιμα όπως δημητριακά, καλαμπόκι, πατάτες και ρύζι. Είναι ένας πολυμερής υδατάνθρακας που αποτελείται από μονομερή γλυκόζης και περιέχει αμυλόζη και αμυλοπηκτίνη [22, 23]. Το άμυλο είναι ένα φυσικό πολυμερές το οποίο λειτουργεί ως αποθεματικός πολυσακχαρίτης στους φωτοσυνθετικούς φυτικούς ιστούς. Πέρα από τα φύλλα επεκτείνεται και σε άλλα μέρη των φυτών όπως στους

σπόρους, στους καρπούς, στους κόνδυλους και στις ρίζες. Ακόμα, η μοριακή δομή του αμύλου εξαρτάται από την βοτανική του προέλευση και συνεπώς καθορίζει τα χαρακτηριστικά και τις ιδιότητες του επηρεάζοντας το μέγεθος, το σχήμα και τη σύνθεση των κόκκων του [22]. Έχει διαπιστωθεί πως άμυλα με αυξημένη συγκέντρωση αμυλόζης παρουσιάζουν ανώτερες ικανότητες σχηματισμού σχηματισμού. Αυτό συμβαίνει καθώς έχουν αυξημένη μηχανική αντοχή, επιμήκυνση και καλύτερη δυνατότητα φραγμού των αερίων [24].

Αλγινικό οξύ

Το αλγινικό οξύ είναι ένα υδρόφιλο πολυμερές που συναντάται στην φύση και προέρχεται από καφέ φύκια [22, 23]. Η χημική σύσταση του πολυσακχαρίτη περιλαμβάνει μη διακλαδισμένα, γραμμικά δυαδικά συμπολυμερή του β-D-μαννουρονικού οξέος και του α-L-γουλουρονικού οξέος τα οποία συνδέονται με 1-4 γλυκοζιτικούς δεσμούς [24]. Μπορεί να θεωρηθεί πολύτιμο υλικό για την βιομηχανία τροφίμων λόγω της ικανότητας σχηματισμού φιλμ, της πύκνωσης, της σταθεροποίησης, της ικανότητας πάχυνσης και της παραγωγής γέλης.[21, 22] Επομένως, οι εγγενείς ιδιότητες του αλγινικού άλατος που προαναφέρθηκαν μαζί με την αντιμικροβιακή του δράση και την δυνατότητα απορρόφησης της υγρασίας συμβάλλουν στην εφαρμογή του και σε τομείς όπως τα φαρμακευτικά προϊόντα, καλλυντικά, τρόφιμα και την βιοϊατρική βιομηχανία. Η ευελιξία του ευρέως φάσματος εφαρμογών οφείλεται και στην ικανότητα σχηματισμού μικροσφαιριδίων, ινών και καψουλών [22].

Πηκτίνη

Η πηκτίνη είναι μια ομάδα όξινων δομικών πολυσακχαριτών που συναντάται φυσικά στα φρούτα και στα λαχανικά και απομονώνεται κυρίως από πηγές όπως φλούδες εσπεριδοειδών και πυρήνες μήλου. Η χημική της δομή συνίσταται από α-1,4 συνδεδεμένα κατάλοιπα D-γαλακτουρονικού οξέος ενώ οι ομάδες καρβοξυλικού οξέος στις μονάδες των σακχάρων γίνεται να εστεροποιηθούν με ομάδες μεθυλίου (CH3) σε διάφορους βαθμούς. Η πηκτίνη περιέχει ακόμα και άλλα σάκχαρα όπως την αραβινόζη, την γαλακτόζη και την ραμνόζη τα οποία συνεισφέρουν στην δομή και την λειτουργικότητα της [21, 22]. Ανάλογα με τον βαθμό μεθυλίωσης επηρεάζονται οι ιδιότητες και η συμπεριφορά της πηκτίνης κατά την επεξεργασία της. Αναλυτικότερα, υπάρχει πηκτίνη υψηλού μεθοξυλίου όπου ο βαθμός μεθυλίωσης ξεπερνά το 50% και πηκτίνη χαμηλού μεθοξυλίου με βαθμό μεθυλίωσης κάτω από 50%. Η πηκτίνη είναι ένα ωφέλιμο υλικό για την βιομηχανία των τροφίμων λόγω των χρήσιμων λειτουργιών της. Η πηκτίνη συμβάλλει στην ασφάλεια των τροφίμων, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πηκτικός παράγοντας και σταθεροποιητής γαλακτωμάτων. Παράλληλα, δεν διασπάται στο έντερο, είναι βλεννοσυγκολλητική και έχει αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες [22].

Κόμμεα

Τα κόμμεα ανήκουν στην ομάδα των πολυσακχαριτών, έχουν ως βάση μόρια σακχάρων πέραν της γλυκόζης και λόγω των ιδιοτήτων τους χρησιμοποιούνται για την δημιουργία βρώσιμων μεμβρανών. Ανάλογα με την προέλευση τους τα κόμμεα μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε τρεις διαφορετικές ομάδες οι οποίες είναι τα εξιδρωματικά κόμμεα, τα εκχυλιστικά κόμμεα και τα κόμμεα μικροβιακής ζύμωσης. Τα πρώτα εκκρίνονται φυσικά από τα φυτά με διαδεδομένο παράδειγμα το αραβικό κόμμι, ενώ τα εκχυλιστικά κόμμεα παραλαμβάνονται από φυτικά υλικά όπως το κόμμι γκουάρ. Η τελευταία κατηγορία κόμμεων παράγεται με διαδικασία ζύμωσης μικροοργανισμών με πιο γνωστό παράδειγμα το κόμμι ξανθάνης [21]. Ειδικότερα, η αραβική κόμμι έχει πολλαπλές λειτουργικές εφαρμογές λόγω των μοναδικών ιδιοτήτων της. Περιέχει μεταλλικά άλατα όπως κάλιο, μαγνήσιο και ασβέστιο ενώ είναι πλούσια σε φυτικές ίνες και υδατάνθρακες. Ο ετεροπολυσακχαρίτης αυτός είναι ιδανικός για την δημιουργία επικαλύψεων καθώς συγκρατεί τις πτητικές ενώσεις. Παράλληλα, χρησιμεύει και ως γαλακτωματοποίητής, έχει χαμηλό ιξώδες και υψηλή διαλυτότητα, είναι οικονομικά προσιτός και ταυτόχρονα αποτρέπει τις οξειδωτικές αντιδράσεις. Το κόμμι ξανθάνης από την άλλη, είναι ένα βιοπολυμερές που παράγεται από το βακτήριο Xanthomonas campestris και ανήκει στους πολυσακχαρίτες. Η χημική του σύνθεση αποτελείται από τρεις μονάδες σακχάρων την γλυκόζη, μανόζη και διγλυκουρονικό οξύ. Η παραγωγή του είναι οικονομική και τα υλικά που χρησιμοποιούνται είναι η σακχαρόζη, η μελάσα ζαχαροκάλαμου και ο ορός γάλακτος [22].

2.3.5.3 Μήτρες εγκλεισμού με βάση τις πρωτεΐνες

Οι πρωτεΐνες χρησιμοποιούνται συνήθως στην βιομηχανία των τροφίμων με στόχο την ενίσχυση της υφής και των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών. Παρόλα αυτά, έχουν την δυνατότητα να χρησιμοποιηθούν και ως μήτρες εγκλεισμού βιοδραστικών ενώσεων. Στην κατηγορία των πρωτεϊνικών μητρών εγκλεισμού για την δημιουργία μίκρο- και νανοσωματιδίων ανήκουν η απομονωμένη πρωτεΐνη ορού γάλακτος (WPI), η συμπυκνωμένη πρωτεΐνη ορού γάλακτος, η απομονωμένη πρωτεΐνη σόγιας, τα λευκώματα αυγών, το κολλαγόνο, η ζελατίνη, η ζεινη, η γλουτένη σιταριού και η καζεΐνη. Μεταξύ αυτών, η ζεΐνη είναι μια πρωτεΐνη καλαμποκιού πλούσια σε υδρόφοβα αμινοξέα όπως γλουταμίνη, προλίνη, λευκίνη και αλανίνη. Το πλεονέκτημα της ζεΐνης οφείλεται στην περιορισμένη υδατοδιαλυτότητα καθώς δεν χρειάζεται περαιτέρω διασύνδεση στις πολυμερικές αλυσίδες για να σχηματίσει σταθερές κάψουλες. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα της απλοποίηση της διαδικασίας του εγκλεισμού και ενδεχομένως την αποφυγή χρήσης χημικών πρόσθετων [2].

Ζεΐνη

Η ζεΐνη είναι μια πρωτεΐνη που προέρχεται από το καλαμπόκι, ανήκει στην κατηγορία των προλαμινών και έχει αρκετές εφαρμογές στην επιστήμη τροφίμων. Είναι μια μη τοξική ουσία, βιοσυμβατή και βιοδιασπώμενη η οποία διαλύεται σε ένα

συγκεκριμένο εύρος συγκεντρώσεων αιθανόλης (70-80%). Η ζεΐνη παρουσιάζει υδροφοβικότητα καθώς είναι σχετικά αδιάλυτη στο νερό λόγω της πληθώρας μη πολικών αμινοξέων. Αυτή η ιδιότητα της έχει καθοριστικό ρόλο στην ικανότητα της να σχηματίζει φιλμ. Επίσης, από την ζεΐνη μπορούν να κατασκευαστούν βιοδιασπώμενες μεμβράνες μέσω της ανάπτυξης υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων των μορίων της ζεΐνης (ελκυσμοί πολικών περιοχών των μορίων), ασθενέστερων δεσμών υδρογόνου και δισουλφιδικών δεσμών θείου με συγκεκριμένα αμινοξέα. Ακόμα, μπορεί να εγκλείσει μια ποικιλία βιοδραστικών ενώσεων και να τις προστατεύσει από την αποικοδόμηση ελέγχοντας την απελευθέρωση τους με αποτέλεσμα την συνεχόμενη δράση της πρόσθετης ουσίας σε όλη την διάρκεια ζωής του τροφίμου [2, 21].

Ζελατίνη

Η ζελατίνη είναι ένα πρωτεϊνικό προϊόν που παράγεται μέσω ελεγχόμενης υδρόλυσης και προέρχεται από το κολλαγόνο, μία ινώδη πρωτεΐνη που βρίσκεται σε αφθονία στην φύση. Παράλληλα, το κολλαγόνο είναι το κύριο συστατικό του δέρματος, των οστών αλλά και των συνδετικών ιστών. Η μοναδική σύνθεση της ζελατίνης σε αμινοξέα με κυριότερα την γλυκίνη, προλίνη και υδροξυπρολίνη συμβάλλει στην υδρόφιλη φύση της [21]. Επιπλέον, η ζελατίνη λόγω των εξαιρετικών ιδιοτήτων της αποτελεί ένα πολλά υποσχόμενο υλικό στην ελεγχόμενη χορήγηση φαρμάκων. Συγκεκριμένα, είναι μια ουσία που αποικοδομείται φυσικά στο σώμα, έχει μοναδικά χαρακτηριστικά ζελατινοποίησης και είναι ένα εύκολα διαθέσιμο και οικονομικά προσιτό υλικό [2].

Πρωτεΐνες γάλακτος

Η σύσταση των πρωτεϊνών του γάλακτος περιλαμβάνει δύο ουσίες, την καζεΐνη που είναι η υψηλής ποιότητας πρωτεΐνη του γάλακτος και την πρωτεΐνη του ορού γάλακτος. Η πρώτη βρίσκεται σε μεγαλύτερη ποσότητα αφού της ανήκει σχεδόν το 80% της συνολικής περιεκτικότητας του γάλακτος σε πρωτεΐνη, ενώ αντίστοιχα η δεύτερη κατέχει το υπόλοιπο 20% και συνήθως λαμβάνεται ως παραπροϊόν στην παραγωγή τυριού. Η ευελιξία των πρωτεϊνών αυτών βασίζεται στις δομικές και λειτουργικές ιδιότητες τους με την βοήθεια των οποίων είναι ικανές να διαμορφώσουν δομές από την μάκρο έως την νάνο κλίμακα. Το μεγαλύτερο ενδιαφέρον μεταξύ των λειτουργικών ιδιοτήτων των πρωτεϊνών του γάλακτος συγκεντρώνεται στις γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες και τις ιδιότητες αφρισμού [22]. Ακόμα, ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι πρωτεΐνες του ορού γάλακτος, και συγκεκριμένα το συμπύκνωμα πρωτεΐνης ορού γάλακτος το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως υλικό για τον εγκλεισμό προβιοτικών ουσιών. Παράλληλα, το συμπύκνωμα είναι μια βιοσυμβατή ουσία ενδεδειγμένη για χρήσεις σε τρόφιμα και φάρμακα με χαμηλό κόστος λόγω της άμεσης διαθεσιμότητας του [2].

2.3.5.4 Μήτρες εγκλεισμού με βάση τα λιπίδια

Τα τελευταία χρόνια έχει παρατηρηθεί αύξηση του ενδιαφέροντος στην αναζήτηση νέων μητρών εγκλεισμού υλικών για την διατήρηση της ποιότητας των τροφίμων έτσι ώστε να είναι ανθεκτικά σε διάφορες καταπονήσεις. Τα λιπίδια είναι ικανά να ενσωματωθούν σε γαλάκτωμα και να δημιουργήσουν είτε ένα φιλμ είτε μία μήτρα γύρω από το βιοδραστικό συστατικό. Ορισμένες λιπιδικές ενώσεις μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως προστατευτικές επιστρώσεις λόγω των φυσικών ιδιοτήτων τους και αποτελούνται από ακετυλιωμένα μονογλυκερίδια, φυσικό κερί και επιφανειοδραστικές ουσίες. Οι πιο συνηθισμένες επικαλύψεις με βάση τα λιπίδια είναι το κερί παραφίνης και το κερί μέλισσας. Ο τρόπος λειτουργίας των λιπιδικών επικαλύψεων είναι ο εμποδισμός μεταφοράς της υγρασίας και οφείλεται στην σχετικά χαμηλή πολικότητα τους. Παράλληλα, σημαντική επίδραση στις ιδιότητες της επικάλυψης έχει και η υδροφοβικότητα των ενώσεων αυτών. Παρά την αντοχή στην υγρασία η ιδιότητα αυτή μπορεί να οδηγήσει στο σχηματισμό παχύτερων και περισσότερο εύθραυστων μεμβρανών [21].

Γομαλάκα- Σέλακ (shellac)

Η ρητίνη σέλακ είναι ένα φυσικό προϊόν που εκκρίνεται από το έντομο lac (Laccifer lacca) και η χημική του σύσταση αποτελείται από ένα μείγμα αλειφατικών και αλκυλικών πολυμερών υδροξυλικού οξέος τα οποία προσδίδουν μοναδικές ιδιότητες στο υλικό. Η ουσία αυτή διαλύεται με ευκολία σε αλκοόλες και αλκαλικά διαλύματα και χρησιμοποιείται κυρίως στην φαρμακευτική βιομηχανία [21]. Παρόλα αυτά βρίσκει εφαρμογές και στο τομέα των τροφίμων και της ελεγχόμενης απελευθέρωσης ουσιών συνθέτοντας βιοδιασπώμενες μεμβράνες, επικαλύψεις, μικροκάψουλες και νανοδωματίδια. Έρευνες έχουν δείξει πως ο συνδυασμός σέλακ με άλλες ουσίες μπορεί να βελτιώσει την αποτελεσματικότητα των συστημάτων χορήγησης των βιοδραστικών ενώσεων ενισχύοντας έτσι την λειτουργικότητα τους. Συγκεκριμένα, παρατείνεται η διάρκεια ζωής του τροφίμου και διατηρείται η συνολική του ποιότητα [22].

2.3.6 Χαρακτηρισμός εγκλεισμένων δομών

Ο εγκλεισμός ουσιών στην μίκρο- και νανοκλίμακα συγκεντρώνει όλο και περισσότερο ερευνητικό ενδιαφέρον κυρίως λόγω του μεγάλου εύρους εφαρμογών και των μοναδικών ιδιοτήτων τους. Για τη διαλεύκανση των δομικών χαρακτηριστικών και των αλληλεπιδράσεων εντός των εγκλεισμένων συστημάτων, χρησιμοποιείται μια σειρά αναλυτικών τεχνικών. Συγκεκριμένα, η φασματοσκοπία υπερύθρου μετασχηματισμού Fourier (FTIR) και η διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης (DSC) έχουν καθοριστικό ρόλο στον χαρακτηρισμό των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των βιοπολυμερών και των εγκλεισμένων βιοδραστικών ενώσεων. Αναλυτικότερα, η ανάλυση FTIR προσφέρει πληροφορίες που αφορούν τον σχηματισμό των πολύπλοκων δομών και την φύση των διαμοριακών αλληλεπιδράσεων, ενώ η DSC αξιολογεί την θερμική σταθερότητα και τις ιδιότητες

των εγκλεισμένων δομών. Ακόμα, για τον ποσοτικό προσδιορισμό και την αποτελεσματικότητα του εγκλεισμού των βιοδραστικών ενώσεων χρησιμοποιείται υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC).

Ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (SEM)

Η ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (SEM) είναι μια εξελιγμένη αναλυτική μέθοδος η οποία χρησιμοποιείται για την εξέταση της μικροδομής διαφόρων υλικών. Σε αντίθεση με τα συμβατικά οπτικά μικροσκόπια, το SEM χρησιμοποιεί μια εστιασμένη δέσμη ηλεκτρονίων υψηλής ενέργειας για να αλληλοεπιδράσει με την επιφάνεια του δείγματος. Με την αλληλοεπίδραση αυτή παρέχονται πολύτιμες πληροφορίες σχετικά με την μορφολογία, την σύνθεση και την κατανομή του δείγματος και οφείλονται στα δευτερογενή ηλεκτρόνια, στα οπισθοσκεδαζόμενα ηλεκτρόνια και στις ακτίνες Χ. Τα δευτερογενή και τα οπισθοσκεδαζόμενα ηλεκτρόνια, που εκπέμπονται ως αποτέλεσμα των αλληλεπιδράσεων δέσμης ηλεκτρονίων-δείγματος, παρέχουν εικόνες υψηλής ανάλυσης της επιφάνειας του δείγματος. Η μορφολογία της επιφάνειας αλλά και τα διακριτά χαρακτηριστικά της είναι δυνατόν να χαρακτηριστούν αναλύοντας τις μεταβολές έντασης των εκπεμπόμενων ηλεκτονίων. Ακόμα, με αυτή την μέθοδο είναι δυνατή η ημιποσοτική στοιχειακή ανάλυση, μέσω της ανίχνευσης εκπομπών των ακτινών-Χ [25].

Διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης (DSC)

Η διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης (DSC) είναι μια τεχνική θερμικής ανάλυσης η οποία ποσοτικοποιεί την ενέργεια που απελευθερώνεται ή απορροφάται από ένα δείγμα το οποίο υφίσταται θερμική επεξεργασία. Η λειτουργία της μεθόδου έγκειται στην σύγκριση των ροών θερμότητας ενός δείγματος με ένα υλικό αναφοράς, και έτσι μπορεί με ακρίβεια να προσδιορίσει τις θερμικές μεταβάσεις που σχετίζονται με διάφορες φυσικές διεργασίες. Οι μεταβάσεις όπως η τήξη, η κρυστάλλωση και η υαλώδης μετάβαση αναπαρίστανται ως χαρακτηριστικές κορυφές στο θερμογράφημα του DSC. Ακόμα, η ευρεία εφαρμογή της μεθόδου στην βιομηχανία οφείλεται στην αποτελεσματική αξιολόγηση της καθαρότητας των δειγμάτων, στην μελέτη της σκλήρυνσης των πολυμερών καθώς και στην κατανόηση της συμπεριφοράς των υλικών σε διαφορετικές θερμοκρασιακές συνθήκες [26].

Εξασθενημένη ολική ανάκλαση και φασματοσκοπία υπερύθρου (ATR-FTIR)

Η εξασθενημένη ολική ανάκλαση και η φασματοσκοπία μετασχηματισμού Fourier στο υπέρυθρο αποτελεί μια ευρέως χρησιμοποιούμενη αναλυτική μέθοδο για την εξέταση της μοριακή σύνθεσης των υλικών. Η τεχνική βασίζεται στην αρχή της ολικής εσωτερικής ανάκλασης κατά την οποία η υπέρυθρη ακτινοβολία περνά μέσα από κρύσταλλο με υψηλό δείκτη διάθλασης και καταλήγει στο δείγμα. Το κύμα διαφυγής που διεισδύει σε μικρή απόσταση στο δείγμα και αλληλοεπιδρά με αυτό με αποτέλεσμα να παρέχει πληροφορίες σχετικά με την μοριακή δομή κα την σύνθεση. Η τεχνική αυτή έχει εφαρμογές σε διάφορους τομείς καθώς είναι μια μη

καταστρεπτική μέθοδος και έχει την ικανότητα να αναλύει ευρύ φάσμα τύπων δείγματος χωρίς αυτό να χρειάζεται πρότερη προετοιμασία [27].

Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC-DAD)

Η υγρή χρωματογραφία υψηλής ανάλυσης σε συνδυασμό με ανίχνευση με διάταξη διοδίων (HPLC-DAD) είναι μια αποδοτική αναλυτική τεχνική και έχει ποικιλία εφαρμογών λόγω του χαρακτηρισμού και του ποσοτικού προσδιορισμού πολύπλοκων μειγμάτων. Για να προσδιοριστεί η ακριβής σύνθεση του μείγματος, η μέθοδος χρησιμοποιεί τα συμπληρωματικά πλεονεκτήματα του χρωματογραφικού διαχωρισμού και της φασματοφωτομετρικής ανίχνευσης. Γενικά, η μέθοδος HPLC διαχωρίζει τα συστατικά του δείγματος με βάση διαφορικές αλληλεπιδράσεις τους με μια σταθερή φάση. Όσες ενώσεις εκλούονται περνούν στον ανιχνευτή συστοιχίας διοδίων και απορροφούν μια σειρά μηκών κύματος. Με βάση την απορρόφηση κάθε ένωσης στα διάφορα μήκη κύματος, ο συνδυασμός των μεθόδων HPLC-DAD, επιτρέπει τόσο την ποιοτική όσο και την ποσοτική ανάλυση. Η μέθοδος αυτή είναι αρκετά πολύτιμη για διάφορους τομείς όπως για τα φαρμακευτικά προϊόντα και την επιστήμη τροφίμων κυρίως γιατί προσφέρει ακρίβεια, ευαισθησία και ευελιξία [28].

3 Σμέουρα

3.1 Εισαγωγικά στοιχεία

Τα σμέουρα (*Rubus idaeus*) είναι φρούτα που καλλιεργούνται στην Ευρώπη και ανήκουν στο γένος *Rubus*, το οποίο περιλαμβάνει συνολικά σχεδόν 740 είδη τα οποία χωρίζονται σε 15 υπογένη. Για την ακρίβεια τα σμέουρα κατατάσσονται στο υπογένος *Idaeobatus*. Τα μοναδικά χαρακτηριστικά τους όπως η ελκυστική γεύση τους, το κόκκινο χρώμα που οφείλεται στις χρωστικές ανθοκυανίνες και τα πιθανά οφέλη στην υγεία εγείρουν το ενδιαφέρον για μελέτες και εφαρμογές σε διάφορους τομείς. Συγκεκριμένα, μπορούν να φανούν χρήσιμα στα φαρμακευτικά προϊόντα, στα καλλυντικά, στην γεωργία και στην βιομηχανία των τροφίμων[29].

Εικόνα 4. Σμέουρα [30].

Τα σμέουρα έχουν σημαντική διατροφική αξία καθώς παρέχουν βασικές βιταμίνες, μέταλλα, λιπαρά οξέα, πρωτεΐνες, υδατάνθρακες και φυτικές ίνες, με αποτέλεσμα να είναι ιδιαίτερα ωφέλημα για την υγεία του ανθρώπου αλλά και των ζώων. Παράλληλα, τα φρούτα αυτά είναι γνωστά για το μοναδικό προφίλ των πολυφαινολικών ενώσεων οι οποίες είναι συνδεδεμένες με την θεραπεία και την πρόληψη κάποιων χρόνιων εκφυλιστικών ασθενειών [29]. Παγκοσμίως, οι διατροφικές οδηγίες δίνουν έμφαση στην κατανάλωση φρούτων και λαχανικών καθώς είναι πλούσιες πηγές φυτικών ινών, βιταμινών, μετάλλων και άλλων φυτοχημικών ενώσεων. Αναλυτικότερα, τα μούρα συμπεριλαμβανομένων των σμέουρων, έχουν υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα και συμβάλλουν στην προστασία των κυττάρων από βλάβες μειώνοντας τον κίνδυνο χρόνιων ασθενειών [31]. Η αντιοξειδωτική ικανότητα των σμέουρων αποδίδεται κυρίως στις ανθοκυανίνες και τις ελλαγιτανίνες. Οι δύο αυτές ουσίες συγκεντρώνουν το 75% της αντιοξειδωτική δράσης των σμέουρων. Παράλληλα, η βιταμίνη C συνεισφέρει στο υπόλοιπο 20% της αντιοξειδωτικής ικανότητας ενώ το υπόλοιπο 5% αποδίδεται σε άλλες ενώσεις που περιέχονται στο φρούτο [29].

3.2 Χημική σύσταση

Τα σμέουρα είναι πολύτιμη πηγή ποικίλων ενώσεων που προάγουν την υγεία όπως λιπαρά οξέα, βιταμίνες και φυτικές ίνες. Ακόμα, περιέχουν αφθονία πολυφαινολικών ενώσεων που έχουν πιθανά οφέλη στην υγεία. Οι ενώσεις αυτές κατηγοριοποιούνται στα φλαβονοειδή, στα φαινολικά οξέα, στις λιγνανες και στις ταννίνες [31].

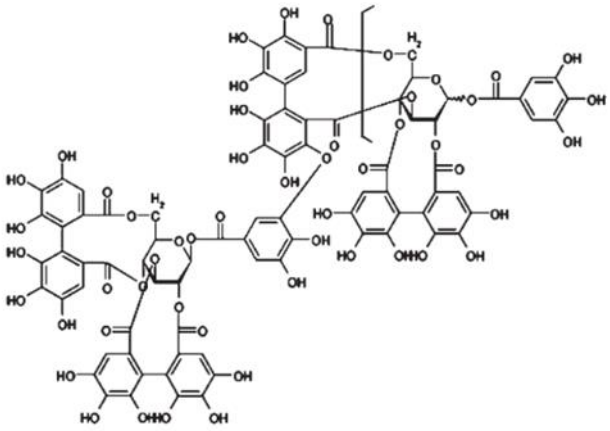
Διατροφική αξία

Τα σμέουρα διαθέτουν ένα μοναδικό θρεπτικό προφίλ το οποίο τα καθιστά υγιεινή διατροφική επιλογή. Πιο συγκεκριμένα έχουν:

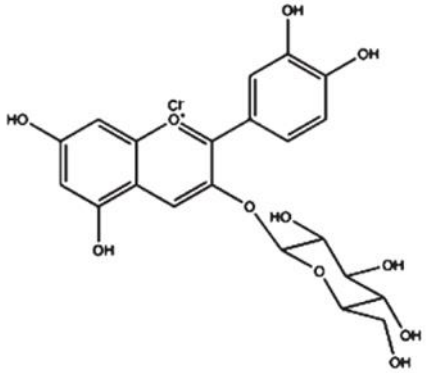
- Χαμηλή περιεκτικότητα σε θερμίδες: σε 100 g περιέχονται μόνο 52 kcal.
- Ρύθμιση σακχάρου στο αίμα: η υψηλή περιεκτικότητα σε φυτικές ίνες (6.5 g/100 g) και η φρουκτόζη μπορούν να βοηθήσουν ρύθμιση του σακχάρου στο αίμα επιβραδύνοντας την πέψη και δημιουργώντας την αίσθηση του κορεσμού.
- Υγιεινά λιπαρά: Τα λιπαρά που περιέχονται στους σπόρους του σμέουρου είναι 97,8% ακόρεστα λιπαρά οξέα.
- Βιταμίνες: στα σμέουρα περιέχονται λιποδιαλυτές βιταμίνες στους σπόρους αλλά και μεγάλη ποσότητα υδατοδιαλυτής βιταμίνης C (26 mg/100g κ.β.) στο φρούτο [31].

Φυτοχημική σύσταση σμέουρων

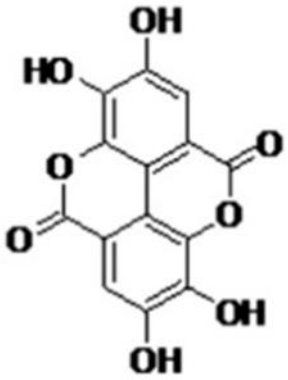
Φυτοχημικά ορίζονται οι δευτερογενείς μεταβολίτες των φυτών και είναι μη απαραίτητα θρεπτικά συστατικά τα οποία διαθέτουν σημαντική βιολογική δραστηριότητα. Πιο συγκεκριμένα, οι πολυφαινόλες ανήκουν στην κατηγορία των φυτοχημικών και είναι υπεύθυνες για αρκετές λειτουργίες μέσα στο φυτό, ενώ παράλληλα εάν καταναλωθούν διαθέτουν σημαντικά πιθανά οφέλη στην υγεία. Επίσης, παρουσιάζουν αρκετή ποικιλομορφία στην δομή καθώς περιλαμβάνουν απλά φαινολικά οξέα έως και σύνθετα μόρια όπως υδρολύσιμες και συμπυκνωμένες τανίνες. Τα έντονα χρώματα αλλά και η γεύσεις πολλών φρούτων και λαχανικών οφείλονται στην παρουσία αυτών των ενώσεων [32].



Εικόνα 5. Χημική σύσταση της ελλαγιτανίνης σανγκουϊνη Η-6 [31].



Εικόνα 6. Χημική δομή της ανθοκυανίνης κυανιδίνη-3-γλυκοζίτη [31].



Εικόνα 7. Χημική δομή ελλαγικού οξεός [32].

Τα είδη των μούρων εμφανίζουν αρκετές διαφοροποιήσεις στο φαινολικό τους προφίλ με αποτέλεσμα να διαφοροποιούνται και οι βιολογικές τους δραστηριότητες. Η φαινολική σύνθεση των σμέουρων αποτελείται κυρίως από ανθοκυανίνες και υδρολύσιμες τανίνες. Ειδικότερα, τα σμέουρα είναι πλούσια πηγή γλυκοζιτών κυανιδίνης, που αποτελεί τύπο ανθοκυανίνης και έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε ελλαγιτανίνες. Κατά την υδρόλυση τον ελλαγιτανινών απελευθερώνεται ελλαγικό οξύ το οποίο είναι μια δυνητικά ευεργετική ένωση [31]. Οι ανθοκυανίνες ανήκουν στις φλαβονοειδείς ενώσεις και προσδίδουν το έντονο κόκκινο χρώμα στα σμέουρα [32]. Σε υψηλότερες συγκεντρώσεις περιέχονται η κυανιδίνη-3-Ο-σοφοροσίδη ,που συναντάται μονάχα στα σμέουρα, η κυανιδίνη-3-Ο-γλυκοσυλρουτινοσίδη και η κυανιδίνη-3-Ο-γλυκοσίδη [29, 32]. Μια άλλη κατηγορία πολυφαινολών που βρίσκεται στα σμέουρα είναι οι ελλαγιταννίνες. Οι πολυφαινόλες αυτές είναι εστέρες που ανήκουν στην κατηγορία των υδρολύσιμων ταννινών και έχουν εντοπιστεί σε φράουλες, βατόμουρα, ρόδια και σε μερικούς ξηρούς καρπούς. Η κυρίαρχη ελλαγιτανίνη που διαρκίνεται σε υψηλή ποσότητα στα είναι η σανγκουΐνη Η-6 ενώ σε μικρότερη ποσότητα βρίσκεται η λαμπερτιανίνη C. Πέρα από τις ανθοκυανίνες και

τις ελλαγιτανίνες , που είναι τα κυρίαρχα φαινολικά συστατικά των σμέουρων, υπάρχουν και άλλες φαινολικές ενώσεις σε πιο μικρές ποσότητες. Τέτοιες ουσίες είναι τα υδροξυκινναμωμικά οξέα, τα υδροξυβενζοϊκά οξέα, οι φλαβονόλες και οι συμπυκνωμένες τανίνες [32].

3.3 Οφέλη στην υγεία

Αρκετές μελέτες έχουν δείξει πως μια διατροφή πλούσια σε φρούτα και λαχανικά ενδέχεται να αποτρέψει την εμφάνιση διαφόρων ασθενειών που σχετίζονται με την γήρανση και τον τρόπο ζωής. Σε αυτές τις ασθένειες ανήκουν τα καρδιαγγειακά νοσήματα, ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου, η νόσος του Alzheimer και ο καρκίνος. Η μείωση του κινδύνου πιστεύεται ότι ευθύνεται στην διατήρηση ή την αποκατάσταση της φυσιολογικής λειτουργίας των κυττάρων και των ιστών. Πιο συγκεκριμένα, τα συστατικά ορισμένων φρούτων πιθανολογείται ότι επηρεάζουν τις κυτταρικές διεργασίες που σχετίζονται με την εμφάνιση τέτοιων κινδύνων, περιορίζοντας έτσι την πιθανότητα εμφάνισης χρόνιων ασθενειών. Σημαντικό ερευνητικό ενδιαφέρον υπάρχει στην διερεύνηση των θετικών επιδράσεων που έχουν στην υγεία συγκεκριμένες βιοδραστικές ενώσεις που βρίσκονται στα φρούτα και τα λαχανικά. Κάποιες από τις ενώσεις που περιλαμβάνονται σε αυτή την κατηγορία είναι οι πολυφαινόλες, τα καροτενοειδή και άλλα φυτοχημικά με διαπιστωμένη βιολογική δράση [32]. Σημαντική επίδραση στην ανάπτυξη χρόνιων ασθενειών έχει το οξειδωτικό στρες το οποίο προκαλείται από αντιδραστικά είδη οξυγόνου (ROS) που παράγονται κατά την διάρκεια του φυσιολογικού κυτταρικού μεταβολισμού και μπορεί να γίνει εντονότερο από τον τρόπο ζωής. Τα αντιοξειδωτικά που περιέχονται στις τροφές έχουν την δυνατότητα να μετριάσουν τις επιβλαβείς επιδράσεις των ROS στα κυτταρικά συστατικά, όπως τα λιπίδια, τις πρωτεΐνες και το DNA. Με την αντιστάθμιση επομένως του οξειδωτικού στρες τα αντιοξειδωτικά συνεισφέρουν στην μείωση του κινδύνου εμφάνισης χρόνιων ασθενειών [31]. Επιπρόσθετα, όταν μεταβολίζονται οι ανθοκυανίνες και το γαλλικό οξύ διαθέτουν αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Ειδικότερα, οι αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες των φαινολικών ενώσεων προκύπτουν από την ικανότητα τους να ρυθμίζουν την σηματοδότηση του οξειδωτικό στρες και την προφλεγμονώδη μεταγωγή σημάτων [29].

4 Εδώδιμες επικαλύψεις

4.1 Εισαγωγικά στοιχεία

Τα φρούτα αποτελούν κρίσιμο συστατικό για την ανθρώπινη διατροφή καθώς περιέχουν βασικά θρεπτικά συστατικά, φυτικές ίνες και φυτοχημικές ουσίες. Ο ρόλος τους στην προαγωγή της συνολικής υγείας και στον περιορισμό του κινδύνου χρόνιων ασθενειών τα καθιστά αναγκαία διατροφικά προϊόντα. Παρόλα αυτά, τα φρούτα είναι ευάλωτα στην γρήγορη υποβάθμιση μετά την συγκομιδή τους λόγω της υψηλής περιεκτικότητα τους σε νερό. Αυτό έχει ως συνέπεια την ύπαρξη σημαντικών απωλειών κατά την διάρκεια της παραγωγής, της διανομής και της πώλησης τους. Για αυτό το λόγω η ελαχιστοποίηση της σπατάλης και η διασφάλιση της ποιότητας των φρούτων μπορεί να πραγματοποιηθεί με την ανάπτυξη και την εφαρμογή αποτελεσματικών τεχνολογιών μετασυλλεκτικής διαχείρισης.

Οι καρποί μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε δύο ομάδες με βάση τον μηχανισμό ωρίμασης, στους κλιμακτηριακούς και στους μη κλιμακτηριακούς. Στην δεύτερη ομάδα οι καρποί σταματούν την ωρίμανση αμέσως μετά την συγκομιδή. Αντίθετα στην πρώτη, οι καρποί συνεχίζουν την ωρίμανση και μετά την συγκομιδή με αποτέλεσμα να είναι ευάλωτοι σε αλλοιώσεις και μικροβιακές μολύνσεις. Συνεπώς, τα κλιμακτηριακά φρούτα ωριμάζουν μέσω βιοχημικών αντιδράσεων και είναι κατάλληλα για κατανάλωση για περιορισμένο χρονικό διάστημα. Ένας τρόπος για τον έλεγχο της διαδικασίας αυτής είναι η εφαρμογή χαμηλής θερμοκρασίας συντήρησης για την αναστολή των χημικών και των ενζυμικών αντιδράσεων. Ωστόσο, αυτός ο τρόπος αποθήκευσης των φρούτων μπορεί να επιφέρει τραυματισμούς από την ψύξη [33]. Ειδικότερα, τα φρέσκα φρούτα εμφανίζουν σημαντικά περιορισμένη διάρκεια ζωής μετά την συγκομιδή και αυτό οφείλεται στις συνεχιζόμενες φυσιολογικές και βιοχημικές διεργασίες που λαμβάνουν χώρα εντός του ζωντανού ιστού. Αυτές οι διαρκείς αλλαγές είναι υπεύθυνες για την τελική αλλοίωση των φρούτων. Ακόμα, οι μηχανικές ζημιές κατά τον χειρισμό και την μεταφορά του φρούτου επιδεινώνουν το πρόβλημα και προκαλούν μεγάλες οικονομικές απώλειες [24].

Μια διαφορετική προσέγγιση στην συσκευασία τροφίμων είναι οι εδώδιμες επικαλύψεις οι οποίες αναφέρονται στο βρώσιμο υλικό το οποίο περιτυλίγεται γύρω από το τρόφιμο. Οι εδώδιμες επικαλύψεις προσδίδουν σημαντικές ιδιότητες στο τρόφιμο όπως προστασία από τις μηχανικές καταπονήσεις, το φως και τις επιμολύνσεις. Ποικιλία υλικών μπορεί να χρησιμοποιηθούν ως βάση για τις εδώδιμες επικαλύψεις. Ακόμα, το υλικό της επικάλυψης επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό τις ιδιότητες της και συγκεκριμένα:

- Επικαλύψεις με βάση το λίπος είναι αποτελεσματικές στην ελάττωση της μεταφοράς υδρατμών.
- Επικαλύψεις με βάση τους πολυσακχαρίτες έχουν ελάχιστη διαπερατότητα οξυγόνου και διοξειδίου του άνθρακα.

- Επικαλύψεις με βάση τις πρωτεΐνες έχουν ανώτερες μηχανικές ιδιότητες.

Οι εδώδιμες επικαλύψεις έχουν τον ρόλο του προστατευτικού φραγμού ελέγχοντας την ανταλλαγή αερίων (O_2, CO_2), υγρασίας, πτητικών αρωματικών ενώσεων, λιπιδίων και άλλων ουσιών μεταξύ του τρόφιμου και του περιβάλλοντος του. Αυτό συμβάλει στην μείωση του ρυθμού αναπνοής και της απώλειας βάρους με αποτέλεσμα να επεκτείνεται η διάρκεια ζωής του προϊόντος [33].

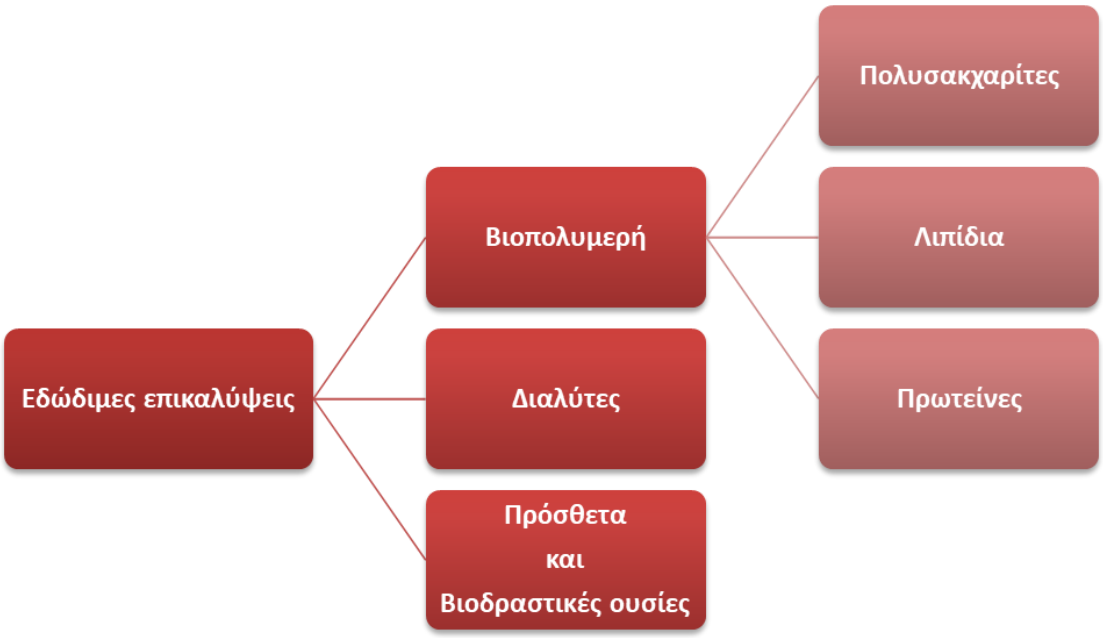
4.2 Ορισμός εδώδιμων επικαλύψεων

Οι εδώδιμες επικαλύψεις είναι λεπτά στρώματα, κατάλληλα για κατανάλωση, τα οποία εφαρμόζονται στην επιφάνεια των τροφίμων και λειτουργούν ως προστατευτικά εμπόδια. Η κύρια λειτουργία τους είναι η ρύθμισης της μεταφοράς ουσιών όπως της υγρασίας, του οξυγόνου, του διοξειδίου του άνθρακα, των αρωμάτων, των λιπιδίων και άλλων διαλυμένων ουσιών που βρίσκονται στην επιφάνεια του τρόφιμου [34]. Αυτή η λειτουργία φραγμού συμβάλλει στην παράταση της διάρκειας ζωής του προϊόντος καθώς αναστέλλει την ωρίμανση και μειώνει την απώλεια βάρους του προϊόντος. Παρά την ύπαρξη διάφορων ορισμών για τις εδώδιμες επικαλύψεις η βασική έννοια παραμένει σταθερή και ορίζει ένα λεπτό αναλώσιμο στρώμα το οποίο προστατεύει το τρόφιμο [35].

Οι εδώδιμες επικαλύψεις αποτελούνται κυρίως από λιπίδια, πολυσακχαρίτες και πρωτεΐνες. Παρόλα αυτά, συχνά ενσωματώνονται πρόσθετα υλικά όπως ρητίνες διαλύτες και πλαστικοποιητές, με στόχο τις καλύτερες λειτουργικές ιδιότητες. Αναλυτικότερα, η προσθήκη πλαστικοποιητών προσδίδει ευελιξία και ευκαμψία στην επικάλυψη ενώ οι διαλύτες συμβάλλουν στο σχηματισμό της επικάλυψης διευκολύνοντας την διασπορά των πολυμερών. Παράλληλα, οι ρητίνες ενισχύουν τις ιδιότητες φραγμού της επικάλυψης και κυρίως την διαπερατότητα των υδρατμών. Επομένως, με τον κατάλληλο συνδυασμό των παραπάνω συστατικών οι ιδιότητες των επικαλύψεων μπορούν να προσαρμοστούν στις απαιτούμενες εφαρμογές [33].

4.3 Ιδιότητες

Οι εδώδιμες επικαλύψεις έχουν αναδειχθεί ως εναλλακτικές λύσεις στη συνθετική πλαστική συσκευασία για την παράταση διάρκειας ζωής των φρέσκων προϊόντων. Οι επικαλύψεις αυτές συνήθως αποτελούνται από πολυσακχαρίτες φυτικής ή οστρακοειδούς προέλευσης, όπως άμυλα, πηκτίνη, αλγινικό άλας καρβοξυμεθυλοκυτταρίνη και χιτοζάνη. Ο μηχανισμός δράσης οφείλεται στον σχηματισμό ενός προστατευτικού φράγματος και έτσι επιτυγχάνεται αποτελεσματική καθυστέρηση της ωρίμανσης και αποτρέποντας την απώλειας υγρασίας εμποδίζουν την φθορά της επιδερμίδας του φρούτου. Η βελτίωση των ιδιοτήτων της επικάλυψης γίνεται με την εισαγωγή πρόσθετων συστατικών όπως πλαστικοποιητές, γαλακτωματοποιητές, επιφανειοδραστικές ουσίες, υδρόφοβα υλικά ανόργανοι άργιλοι έως και νανοσωματίδια [24].



Εικόνα 8. Σύνθεση εδώδιμων επικαλύψεων.

Οι εδώδιμες επικαλύψεις αποτελούν μια πιο βιώσιμη εναλλακτική λύση σε σχέση με τα καθιερωμένα συνθετικά υλικά συσκευασίας, προσφέροντας αρκετά πλεονεκτήματα για την συντήρηση των φρέσκων τροφίμων. Για την σύνθεση τους χρησιμοποιούνται βιολογικές ή χημικές ουσίες και η εφαρμογή τους γίνεται ως λεπτά στρώματα που περιβάλλουν την επιφάνεια του προϊόντος. Όπως έχει αναφερθεί και προηγουμένως, λειτουργούν ως φραγμός στην ανταλλαγή αερίων, παρεμβαίνοντας στην απώλεια υγρασίας και σε άλλους περιβαλλοντικούς παράγοντες και έτσι παρατείνουν την διάρκεια ζωής του τρόφιμου. Παράλληλα, οι εδώδιμες επικαλύψεις συντηρούν αποτελεσματικά τα φυτοθρεπτικά συστατικά που περιέχονται στα φρούτα όπως τις αντιοξειδωτικές και τις χρωστικές ουσίες. Η προστατευτική τους δράση σε συνδυασμό με την θρεπτική τους αξία τονίζει την σημασία των εδώδιμων επικαλύψεων ως αποδοτικότερη πρακτική συντήρησης τροφίμων [33].

Οι εδώδιμες επικαλύψεις είναι απαραίτητες για την διατήρηση της ποιότητας και την επέκταση της διάρκειας ζωής των τροφίμων. Ωστόσο, χρειάζεται να πληρούν κάποια κρίσιμα κριτήρια, όπως τα υλικά να μην είναι τοξικά και να είναι κατάλληλα για ανθρώπινη κατανάλωση. Επίσης η επικάλυψη χρειάζεται να έχει καλές ιδιότητες φραγμού και να αποτρέπει αποτελεσματικά την μεταφορά αερίων, υγρασίας και πτητικών ενώσεων διασφαλίζοντας την ακεραιότητα του προϊόντος. Παράλληλα, η αισθητηριακή ποιότητα του προϊόντος χρειάζεται να παραμένει σταθερή και έτσι τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά δεν θα πρέπει να επηρεάζονται. Ακόμα, σημαντική είναι και η ρύθμιση της μεταφοράς αερίων για να αποφευχθεί η αλλοίωση του προϊόντος [33].

Η επιλογή του κατάλληλου πολυμερούς επικάλυψης είναι κρίσιμης σημασίας καθώς έχει άμεση επίδραση στην αποδοτικότητα και τα χαρακτηριστικά τις επικάλυψης. Συγκεκριμένα, οι πρωτεΐνες και οι πολυσακχαρίτες λόγω των ισχυρών μοριακών αλληλεπιδράσεων εμφανίζουν βελτιωμένες μηχανικές ιδιότητες και ιδιότητες φραγμού. Οι κυριότερες ουσίες που χρησιμοποιούνται ως εδώδιμες επικαλύψεις και ανήκουν στην κατηγορία των πολυσακχαριτών είναι η κυτταρίνη και τα παράγωγα της όπως πηκτίνη, χιτοζάνη και κόμμεα. Παρόλα αυτά, οι εδώδιμες επικαλύψεις με βάση τους πολυσακχαρίτες εμφανίζουν χαμηλή αντοχή στην απώλεια υγρασίας, ενώ οι πρωτεΐνες ενδέχεται να έχουν περιορισμένη εφαρμογή λόγω των αλλεργιογόνων παραγόντων. Οι προκλήσεις αυτές αντιμετωπίζονται με την προσθήκη λιπιδίων στην σύνθεση της επικάλυψης για την βελτίωση της αντίστασης της υγρασίας λόγω της υδροφοβικής φύσης τους. Το μειονέκτημα των λιπιδικών επικαλύψεων είναι οι αδύναμες μηχανικές ιδιότητες τους και η ευθραυστότητα τους που οφείλεται στην χαμηλή συνεκτικότητας και η έλλειψη δομικής ακεραιότητας. Συνδυάζοντας επομένως διάφορα πολυμερή και με την ενσωμάτωση πρόσθετων επιτυγχάνεται η δημιουργία σύνθετων επικαλύψεων με ανώτερες μηχανικές ιδιότητες και ιδιότητες φραγμού [33].

4.4 Πρόσθετα

Οι εδώδιμες επικαλύψεις προσφέρουν μια αποτελεσματική λύση για την βελτίωση των λειτουργικών και αισθητηριακών ιδιοτήτων των τροφίμων κατά την συντήρηση τους. Με την ενσωμάτωση πρόσθετων όπως πλαστικοποιητών, επιφανειοδραστικών ουσιών και διασυνδετικών ουσιών είναι δυνατή η βελτίωση των βασικών λειτουργιών των επικαλύψεων. Ακόμα, οι μηχανικές ιδιότητες των επικαλύψεων όπως ηα ντοχή σε εφελκυσμό και επιμήκυνση κατά την θραύση μπορούν να γίνουν ανώτερες με τη χρήση πλαστικοποιητών, γαλακτωματοποιητών και ενισχυτικών παραγόντων. Παράλληλα, η βελτίωση της ασφάλειας του τρόφιμου μπορεί να πραγματοποιηθεί με την ενσωμάτωση αντιμικροβιακών παραγόντων, αντιοξειδωτικών ή άλλων βιοδραστικών ενώσεων. Με αυτόν τον τρόπο η συσκευασία ονομάζεται ενεργή [36].

Η ενίσχυση της λειτουργικότητας των εδώδιμων επικαλύψεων μέσω πρόσθετων ουσιών έχει προσελκύσει αρκετό ερευνητικό ενδιαφέρον. Οι ουσίες αυτές είναι σχεδιασμένες για να ξεπεράσουν προκλήσεις που εμφάνιζαν οι απλές επικαλύψεις και να βελτιώσουν την συνολική τους απόδοση. Οι κυρίαρχες λειτουργικές ουσίες που θεωρούνται πρόσθετα είναι οι εξής:

- Πλαστικοποιητές: ο ρόλος του είναι να αυξάνουν την ευελιξία και να διασφαλίζουν την αποφυγή δημιουργίας φουσκαλών και ρωγμών στις επικαλύψεις. Οι πιο συχνές ενώσεις που χρησιμοποιούνται είναι η γλυκερόλη, σορβιτόλη, σακχαρόζη, μαννιτόλη, ακετυλιωμένο, μονογλυκερίδιο, πολυαιθυλενογλυκόλη και ξυλιτόλη.
- Γαλακτωματοποιητές όπως η λεκιθίνη σόγιας, το στεατικό οξύ και Tween, και επιφανειοδραστικές ουσίες με στόχο την βελτίωση της πρόσφυσης της επικάλυψης.

- Αντιμικροβιακοί παράγοντες όπως νισίνη, ναταμυκίνη, φαινολικές ενώσεις, φυσικά εκχυλίσματα σπόρων και αιθέρια έλαια, όπως κανναμαλδεΰδη, ευγενόλη για την αναστολή της μικροβιακής ανάπτυξης και την παράταση της διάρκειας ζωής του τρόφιμου.
- Τα αντιοξειδωτικά προστίθενται στις επικαλύψεις και αποτρέπουν την οξειδωτική δράση και την αποικοδόμηση. Μερικές από τις ουσίες αυτής της κατηγορίας είναι το ασκορβικό οξύ, το κιτρικό οξύ και η α-τοκοφερόλη.
- Νανο-ενώσεις όπως τα οξείδια των μετάλλων ZnO, TiO2.

Ο προσεκτικά μελετημένος συνδυασμός αυτών των πρόσθετων στοχεύει στην ανάπτυξη εδώδιμων επικαλύψεων οι οποίες παρατείνουν αποτελεσματικά την διάρκεια συντήρησης των φρούτων και των λαχανικών διατηρώντας την ποιότητα τους κατά την διανομή και την αποθήκευση [35].

Πλαστικοποιητές

Ο ρόλος των πλαστικοποιητών στις εδώδιμες επικαλύψεις είναι η ενίσχυση της ευκαμψίας εμποδίζοντας την δημιουργία ρωγμών και βελτιώνοντας την ευθραυστότητα. Οι πλαστικοποιητές που συναντώνται συχνότερα είναι η γλυκερόλη, τη σορβιτόλη και η μαννιτόλη. Παρόλα αυτά, μπορούν να χρησιμοποιηθούν και άλλες ενώσεις όπως σάκχαρα, πολυόλες και λιπίδια. Η λειτουργική δράση των πρόσθετων οφείλεται στην ενσωμάτωση επιπλέον μορίων νερού στην πολυμερική μήτρα με αποτέλεσμα να μειώνονται οι διαμοριακές δυνάμεις και να αυξάνεται η ευκαμψία στην επικάλυψη. Όμως, η εύρεση της ιδανικής περιεκτικότητας πλαστικοποιητή έχει σημαντική επίδραση στην λειτουργικές ιδιότητες της επικάλυψης. Συγκεκριμένα, όταν η περιεκτικότητα υπερβεί κάποια όρια επιδρά αρνητικά στις ιδιότητες φραγμού της επικάλυψης και έτσι αυξάνεται η διαπερατότητα της υγρασίας και των αερίων. Ακόμα, η προσθήκη υδρόφιλων πολυολών, όπως για παράδειγμα η γλυκερόλη και η σορβιτόλη, ενισχύει την διαπερατότητα υδρατμών και την ικανότητα επιμήκυνσης της εδώδιμης επικάλυψης. Γενικά, όσο αυξάνεται η συγκέντρωση του πλαστικοποιητή βελτιώνεται η επιμήκυνση αλλά κινδυνεύει η αντοχή στην διατήρηση και το συνολικό χρώμα. Ειδικότερα, η γλυκερόλη τείνει να έχει εντονότερη επίδραση στις μηχανικές ιδιότητες της επικάλυψης σε σχέση με την σορβιτόλη. Αντίθετα, οι επικαλύψεις με βάση την σορβιτόλη εμφανίζουν καλύτερες ιδιότητες φραγμού υδρατμών. Συνεπώς, είναι σημαντική η επιλογή του κατάλληλου πλαστικοποιητή ενώ παράλληλα η προσθήκη της βέλτιστης ποσότητας πλαστικοποιητή προσδίδει επαρκής ευελιξία στην επικάλυψης χωρίς να μειώνονται οι λειτουργίες φραγμού [33].

Επιφανειοδραστικές Ουσίες

Σημαντικός παράγοντας για την αποδοτική λειτουργία των εδώδιμων επικαλύψεων είναι η ομοιόμορφη εφαρμογή τους. Οι κρίσιμοι παράγοντες που ευθύνονται για την ομοιομορφία της επικάλυψης είναι η επιφανειακή ενέργεια του προϊόντος, η επιφανειακή τάση της επικάλυψης και ο συντελεστής εξάπλωσης. Η χρήση και η

ενσωμάτωση επιφανειοδραστικών ουσιών στην σύνθεση της επικάλυψης μπορεί να βοηθήσει στην καλύτερη διαβρεξιμότητα και την πρόσφυση στην επιφάνεια του τρόφιμου. Παράλληλα, έτσι εμποδίζεται ο σχηματισμός τραχιών επιφανειών και οι εδώδιμες επικαλύψεις γίνονται πιο ομοιόμορφες [36].

Διασυνδετικές Ουσίες

Ακόμα μια δυνατότητα για την δημιουργία ισχυρότερων επικαλύψεων με καλύτερες ικανότητες φραγμού είναι η προσθήκη διασυνδετικών ουσιών. Η μείωση της κινητικότητας του πολυμερούς επιτυγχάνεται με την ανάπτυξη ομοιοπολικών δεσμών μεταξύ των πολυμερικών αλυσίδων με αποτέλεσμα μια πιο άκαμπτη δομή. Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την δημιουργία διασύνδεσης όπως, θερμική επεξεργασία, όξινη ή αλκαλική κατεργασία, προσθήκη αλδεϋδών, γλυοξάλης, φαινολικών ενώσεων αλλά και ενζύμων. Ακόμα, η χρήση ακτινοβολίας και κατεργασίας με υπερήχους ή μικροκύματα μπορεί να επιφέρει διασύνδεση. Δύο τυπικές ενώσεις που χρησιμοποιούνται για αυτό τον σκοπό είναι το τετραααιθοξυσιλάνιο και η γλουταραλδεΰδη [36].

Αντιμικροβιακές Ουσίες

Μια πρόκληση της σύγχρονης εποχής είναι οι μεγάλες οικονομικές απώλειες σε λόγω της αλλοίωσης των τροφίμων από μικροβιακή μόλυνση. Η αλλοίωση εμφανίζεται όταν παρατηρούνται αλλαγές στο χρώμα, την υφή, την θρεπτική αξία, και την γενικότερη ποιότητα του φρούτου. Ταυτόχρονα, τα τρόφιμα κρίνονται ακατάλληλα προς κατανάλωση όταν η μικροβιακή ανάπτυξη μικροοργανισμών όπως βακτηρίων και ζυμομυκητών ξεπερνά τα επιτρεπτά όρια. Ακόμα, οι περιβαλλοντικοί παράγοντες που καθορίζουν τον ρυθμό ανάπτυξης και τελικά την αλλοίωση είναι η διαθεσιμότητα νερού, τα επίπεδα οξυγόνου, η θερμοκρασία και το pH. Ένας καθιερωμένος τρόπος της αντιμετώπισης αυτού του προβλήματος είναι η χρήση συνθετικών χημικών συντηρητικών. Ωστόσο, υπάρχουν αρκετές ανησυχίες για τις αρνητικές επιπτώσεις που έχουν στην ανθρώπινη υγεία. Μια πολλά υποσχόμενη μέθοδος είναι η ενσωμάτωση αντιμικροβιακών παραγόντων στις συσκευασίες των τροφίμων, η οποία ανστέλει την ανάπτυξη μικροβίων, συμβάλει στην παράταση ζωής στο ράφι και στην διατήρηση της ποιότητας του προϊόντος. Τέτοιες ουσίες μπορεί να είναι οργανικά οξέα, αιθέρια έλαια και ένζυμα [37].

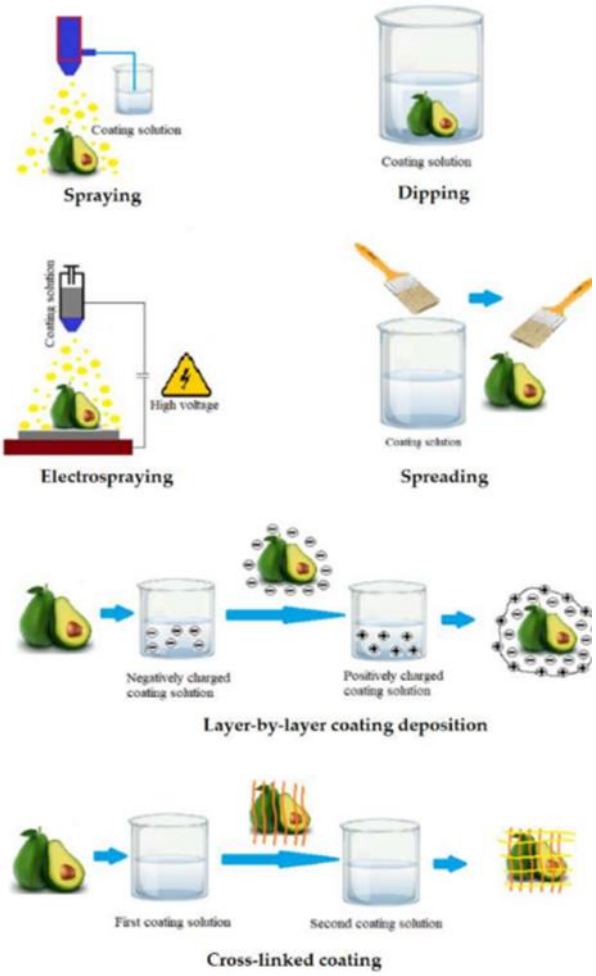
Αντιοξειδωτικές Ουσίες

Η προσθήκη αντιοξειδωτικών σε εδώδιμες επικαλύψεις είναι μια αποτελεσματική στρατηγική για την παράταση της διάρκειας ζωής των φρέσκων τροφίμων. Οι επικαλύψεις έχουν ρόλο προστατευτικού φραγμού, και εμποδίζουν την οξειδωτική υποβάθμιση και την μικροβιακή ανάπτυξη. Ειδικότερα, τα αντιοξειδωτικά μπορούν να προσφέρουν ηλεκτρόνια για την σταθεροποίηση των δραστικών ειδών οξυγόνου και με αυτό τον τόπο διατηρούν την ποιότητα του τρόφιμου. Επιπρόσθετα, αντιοξειδωτικά φυσικής προέλευσης βρίσκονται κυρίως σε σπόρους, βότανα και φρούτα. Ακόμα, τα αντιοξειδωτικά έχουν την ικανότητα να καθυστερούν το ενζυμικό

μαύρισμα στα φρεσκοκομμένα φρούτα γεγονός που τα καθιστά πολύτιμα στην αποδοχή του καταναλωτή [37].

4.5 Μηχανισμοί σχηματισμού εδώδιμων επικαλύψεων

Οι εδώδιμες επικαλύψεις εφαρμόζονται κυρίως σε τρόφιμα με στόχο να παρατείνουν τη διάρκεια ζωής τους και να διατηρήσουν την ποιότητα τους. Η κάθε μέθοδος εφαρμογής της επικάλυψης επηρεάζεται αντίστοιχα από διάφορους παράγοντες. Συγκεκριμένα, καθοριστικό ρόλο έχουν τα χαρακτηριστικά της επιφάνειας του τρόφιμου, όπως η υδροφοβικότητα και η τραχύτητα, καθώς και η επιφανειακή τάση, το ιξώδες, η πυκνότητα και η σταθερότητα του διαλύματος επικάλυψης. Οι βασικές τεχνικές για την εφαρμογή εδώδιμων επικαλύψεων είναι η εμβάπτιση, ο ψεκασμός, ο ηλεκτροψεκασμός, η επάλειψη, το βούρτσισμα και η εναπόθεση πολλαπλών στρωμάτων. Η κάθε τεχνική προσφέρει διαφορετικά πλεονεκτήματα και εφαρμόζεται ανάλογα το φρούτο και την σύνθεση της επικάλυψης [24].



Εικόνα 9. Μέθοδοι εφαρμογής εδώδιμων επικαλύψεων [33].

Εμβάπτιση

Η επιλογή της μεθόδου εφαρμογής της εδώδιμης επικάλυψης είναι αρκετά σημαντική καθώς επηρεάζει την αποτελεσματικότητα της. Η εμβάπτιση αποτελεί μια κοινή τεχνική η οποία περιλαμβάνει την εμβάπτιση του τρόφιμου στο διάλυμα της επικάλυψης για μικρή χρονική διάρκεια. Ακολουθείται ο σχηματισμός του στρώματος της επικάλυψης μέσω εξάτμισης του διαλύτη και ξήρανσης. Οι παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν την ποιότητα της επικάλυψης είναι ο χρόνος εμβάπτισης, ο αριθμός των κύκλων εμβάπτισης, οι ιδιότητες του διαλύματος της επικάλυψης, τα χαρακτηριστικά της επιφάνειας του τρόφιμου και οι συνθήκες ξήρανσης [33].

Επάλειψη

Η τεχνική της επάλειψης γίνεται χειροκίνητα με αποστειρωμένο πινέλο για να εφαρμοστεί η εδώδιμη επικάλυψη στην επιφάνεια του τρόφιμου. Η μέθοδος αυτή είναι ιδανική για την εφαρμογή παχύρευστων διαλυμάτων με υψηλό ιξώδες. Διάφοροι παράγοντες είναι κρίσιμοι και επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα της μεθόδου, συμπεριλαμβανομένων των ιδιοτήτων διαβροχής του διαλύματος επικάλυψης, των χαρακτηριστικών της επιφάνειας του φρούτου καθώς και της ικανότητας του χειριστή. Ακόμα, η ομοιομορφία της επικάλυψης και η αποτελεσματική εφαρμογή της επιτυγχάνονται με τον έλεγχο του ιξώδους της επικάλυψης, της επιφανειακής τάσης και της συνθήκες που πραγματοποιείται η ξήρανση. Ο βαθμός με τον οποίο απλώνεται η επικάλυψη επηρεάζεται και από την τραχύτητα της επιφάνειας του τρόφιμου. Παράλληλα, η κατάλληλη γωνία επαφής συμβάλει σημαντικά στην διαβρεξιμότητα της επιφάνειας του φρούτου από το διάλυμα [24].

Ψεκασμός

Η μέθοδος της επικάλυψης με ψεκασμό περιλαμβάνει την εφαρμογή ενός ομοιόμορφου στρώματος σταγονιδίων στην επιφάνεια του τροφίμου χρησιμοποιώντας ένα σύστημα με ακροφύσια. Με την τεχνική αυτή είναι δυνατή η εφαρμογή πολλαπλών στρωμάτων επικάλυψης. Επίσης, συγκριτικά με την εμβάπτιση, ο ψεκασμός επιτυγχάνει μεγαλύτερο πάχος επίστρωσης και οφείλεται στο χαμηλότερο ιξώδες του διαλύματος ψεκασμού [33].

Ηλεκτροψεκασμός

Ο ηλεκτροψεκασμός είναι μια καινοτόμα μέθοδος επικάλυψης κατά την οποία το υλικό επικάλυψης ψεκάζεται με την εφαρμογή ηλεκτρικού πεδίου υψηλής έντασης. Αναλυτικότερα, σχηματίζονται μικροσκοπικά φορτισμένα σταγονίδια με μικρή κατανομή μεγέθους τα οποία εναποτίθενται στην επιφάνεια του τρόφιμου. Στην άκρη του ακροφυσίου σχηματίζεται κώνος Taylor ο οποίος αποσταθεροποιείται και δημιουργείται ένα σύμπλεγμα φορτισμένων σταγονιδίων. Συγκεκριμένα, το μέγεθος των σταγονιδίων, ο ρυθμός εναπόθεσης και το πάχος της επικάλυψης επηρεάζονται άμεσα από την αγωγιμότητα, τον ρυθμός ροής και το ιξώδες του διαλύματος. Σε

σύγκριση με τον συμβατικό ψεκασμό, ο ηλετροψεκασμός προάγει την αποδοτική πρόσφυση των σταγονιδίων στην επιφάνεια των τρόφιμων [24].

Πολυστρωματική Εναπόθεση

Η μέθοδος των πολυστρωματικών επικαλύψεων είναι μια εξελιγμένη μορφή για την ενίσχυση των προστατευτικών ιδιοτήτων των εδώδιμων επικαλύψεων. Ο μηχανισμός της μεθόδου βασίζεται στην διαδοχική εφαρμογή πολλαπλών στρωμάτων αντίθετα φορτισμένων πολυηλεκτρολυτών με αποτέλεσμα τον σχηματισμό μιας συμπαγής επικάλυψης. Ειδικότερα, η τεχνική χρησιμοποιεί τις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των στρωμάτων, προωθώντας την ισχυρή πρόσφυση στην επιφάνεια του φρούτου το οποίο συντελεί σε καλύτερη ικανότητα φραγμού των αερίων. Οι παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν την μέθοδο είναι η ιοντική ισχύς, το pH και η πυκνότητα φορτίου των διαλυμάτων επικάλυψης. Η μέθοδος αυτή εγγυάται την παράταση της διάρκειας ζωής των τρόφιμων μετά την συγκομιδή, ελαττώνοντας τους ρυθμούς αναπνοής και εμποδίζοντας την απώλεια υγρασίας [24].

Διασύνδεση Επικαλύψεων

Μια ακόμα τεχνική είναι η διασύνδεση και είναι μια διαδικασία που πραγματοποιείται μετά την επικάλυψη για να βελτιώσει τις ιδιότητες φραγμού των εδώδιμων επικαλύψεων. Η προσθήκη ομοιοπολικών και μη ομοιοπολικών δεσμών μεταξύ των πολυμερικών αλυσίδων συντελεί σε μια σταθερή δομή επικάλυψης. Η μέθοδος αυτή προϋποθέτει την εφαρμογή ενός παράγοντα διασύνδεσης στο επικαλυμμένο τρόφιμο. Πιο συχνά, ως παράγοντες διασύνδεσης χρησιμοποιούνται οι πρωτεΐνες από τους πολυσακχαρίτες λόγω των περισσότερων λειτουργικών ομάδων που διαθέτουν. Οι διασυνδεδεμένες επικαλύψεις εμφανίζουν πλεονεκτήματα έναντι των συμβατικών επικαλύψεων όπως βελτιωμένες μηχανικές ιδιότητες, θερμική σταθερότητα και μειωμένη μοριακή μετανάστευση [33].

4.6 Σύγχρονα μέσα εδώδιμων επικαλύψεων

4.6.1 Πρόσφατες εξελίξεις στις εδώδιμες επικαλύψεις

Οι βιοδραστικές ενώσεις βρίσκονται σε μικρές ποσότητες στα τρόφιμα και είναι αναγνωρισμένες για τις θετικές επιδράσεις που έχουν στην ανθρώπινη υγεία. Οι ενώσεις αυτές και ειδικότερα τα φλαβονοειδή έχουν μια σειρά ευεργετικών επιδράσεων όπως αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση και αντικαρκινικές ιδιότητες. Ως αποτέλεσμα, αρκετές ερευνητικές προσπάθειες έχουν πραγματοποιηθεί για την αποδοτική ενσωμάτωση των ενώσεων αυτών στις εδώδιμες επικαλύψεις. Με αυτό τον τρόπο επιτυγχάνεται ανώτερη λειτουργία των επικαλύψεων και προσφέρονται παράλληλα πρόσθετα οφέλη στους καταναλωτές. Η αντιοξειδωτική ικανότητα των εδώδιμων επικαλύψεων μπορεί να αυξηθεί με την προσθήκη φαινολικών ενώσεων. Παράλληλα, δυνατή είναι και η ενσωμάτωση και άλλων βιοδραστικών ενώσεων όπως οργανικά οξέα, πεπτίδια και ένζυμα και αιθέρια έλαια τα οποία προσίδουν αντιμικροβική και αντιμυκητιακή δράση [38].

Όπως έχει ήδη αναφερθεί οι εδώδιμες επικαλύψεις χρησιμεύουν ως προστατευτικοί φραγμοί και ελέγχουν την μεταφορά αερίων, υγρασίας και άλλων ουσιών που βρίσκονται στην επιφάνεια του φρούτου. Πέραν αυτού του ρόλου, έχουν την δυνατότητα να δρουν ως μήτρες για τον εγκλεισμό των βιοδραστικών ενώσεων. Αυτή την καινοτόμα μέθοδος έχει συνεργατική δράση καθώς συνδυάζει την προστασία των βιοδραστικών ουσιών και των ιδιοτήτων τους μαζί με τις προστατευτικές ιδιότητες των εδώδιμων επικαλύψεων. Πιο συγκεκριμένα, οι εδώδιμες επικαλύψεις χρησιμεύουν και ως μήτρες εγκλεισμού για της βιοδραστικές ενώσεις δημιουργώντας έναν φραγμό για τους περιβαλλοντικούς [34].

4.6.2 Ενεργή συσκευασία και φυσικά συστατικά

Η συσκευασία διαθέτει κρίσιμο ρόλο στην βιομηχανία των τροφίμων καθώς εκπληρώνει τόσο λειτουργικούς όσο και καταναλωτικούς σκοπούς. Η παραδοσιακή συσκευασία είναι επικεντρωμένη στην συγκράτηση και προστασία του προϊόντος. Παρόλα αυτά, οι προτιμήσεις των καταναλωτών και οι απαιτήσεις της βιομηχανίες έχουν στραφεί στην ανάπτυξη προηγμένων συστημάτων για την προστασία και την συντήρηση των προϊόντων με βελτιωμένες. Οι εδώδιμες μεμβράνες και επικαλύψεις εμφανίζονται ως αποδοτικές λύσεις συσκευασίας ικανές να ενσωματώσουν ένα ευρύ φάσμα λειτουργικών ενώσεων όπως χρωστικές ουσίες, αρώματα, θρεπτικά συστατικά, αντιμικροβιακές και αντιξειδωτικές ενώσεις. Η τεχνολογία αυτή ονομάζεται ενεργή συσκευασία και εκτός της προστασίας των τροφίμων, βελτιώνει την ποιότητα των προϊόντων και τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά κατά την συντήρηση, παρατείνει την διάρκεια ζωής και προσδίδει στο τρόφιμο επιπλέον διατροφική αξία. Παράλληλα, οι εδώδιμες επικαλύψεις επιτρέπουν την ελεγχόμενη απελευθέρωση των λειτουργικών ενώσεων στο τρόφιμο. Αυτή η τεχνική εξασφαλίζει την ακεραιότητα των λειτουργικών ενώσεων αλλά και ελέγχει την αποδέσμευση τους και έτσι βελτιώνει την απόδοση διατήρησης του προϊόντος και ικανοποιεί τις επιθυμίες των καταναλωτών. Η ενσωμάτωση φυσικών ενώσεων σε εδώδιμες επικαλύψεις έχει αναδειχθεί ως μια πολλά υποσχόμενη μέθοδος για την διατήρηση της ασφάλειας και της ποιότητας των τροφίμων χωρίς να έχει κάποια αρνητική επίπτωση στο περιβάλλον. Γενικά, οι βιοδραστικές ενώσεις απομονώνονται από φυτικές πηγές όπως σπόρους, βότανα και φρούτα. Παράδειγμα αποτελεί το β-κατοτένιο, ένα φυσικό κατοτονοειδές που συναντάται σε λαχανικά και φρούτα, το οποίο ενσωματώθηκες σε εδώδιμη επικάλυψη χιτοζάνης με στόχο την βελτίωση της αντιοξειδωτικής ικανότητας. Ακόμα, χρήσιμες ουσίες με αρκετές θεραπευτικές ιδιότητες είναι οι πολυφαινόλες. Μετά την εξαγωγή τους οι φαινολικές ενώσεις μπορούν να βρίσκονται σε διάφορες μορφές όπως αιθέρια έλαια, ελαιορητίνες και εκχυλίσματα και έπειτα να ενσωματωθούν στις εδώδιμες επικαλύψεις [36].

4.6.3 Εδώδιμες επικαλύψεις από μικροφύκη (*Chlorella Vulgaris*)

Η συσκευασία έχει καθοριστικό ρόλο στην διασφάλιση της ποιότητας, της ασφάλειας και της ικανοποίησης των καταναλωτών. Αν και τα καθιερωμένα υλικά συσκευασίας στοχεύουν κυρίως στη συγκράτηση και την προστασία, οι εξελισσόμενες απαιτήσεις

των καταναλωτών και της βιομηχανίας ώθησαν την ανάπτυξη καινοτόμων λύσεων για την συσκευασία. Οι εδώδιμες επικαλύψεις έχουν αναδειχθεί ως μια πολλά υποσχόμενη εναλλακτική λύση έναντι στη συμβατική συσκευασία. Ακόμα, με την ενσωμάτωση λειτουργικών ενώσεων ενισχύεται περισσότερο η διατροφική αξία του προϊόντος [39].

Τα μικροφύκη έχουν αναδειχθεί ως ένας υποσχόμενος και βιώσιμος πόρος με ποικίλες εφαρμογές στην βιομηχανία. Η ικανότητα τους να αναπαράγονται σε διάφορα περιβάλλοντα, όπως σε αλμυρό και γλυκό νερό καθώς και οι γρήγοροι ρυθμοί ανάπτυξης τους, τα καθιστούν ιδανική πρώτη ύλη για την παραγωγή πολύτιμων προϊόντων όπως βιοκαυσίμων και άλλων χημικών ουσιών. Συγκεκριμένα, τα μικροφύκη έχουν την δυνατότητα για την παραγωγή βιοντίζελ μέσω των λιπιδίων τους. Επιπλέον, είναι χρήσιμα για την βιομηχανία των τροφίμων λόγω της πλούσιας θρεπτικής τους σύνθεση που αποτελείται κυρίως από πρωτεΐνες και υδατάνθρακες [40].

Η *Chlorella vulgaris* είναι μικροφύκη το οποίο είναι πλούσιο σε άμυλο και πρωτεΐνες, συστατικά που αποτελούν την βάση για την δημιουργία εδώδιμων επικαλύψεων. Αυτό το μικροφύκη έχει επεκτεταμένη εφαρμογή στην βιομηχανία τροφίμων ως φυσικό συντηρητικό λόγω των αντιοξειδωτικών και αντιμικροβιακών ιδιοτήτων του. Μελέτες έχουν αναδείξει την αποτελεσματικότητα των επικαλύψεων με βάση τη *Chlorella vulgaris* στην παράταση της διάρκειας ζωής διαφόρων τροφίμων, συμπεριλαμβανομένου του κρέατος και των ειδών αρτοποιίας, αναστέλλοντας τη μικροβιακή ανάπτυξη και την οξειδωτική φθορά [39].

Χημική σύνθεση

Τα μικροφύκη αποτελούν ένα ευέλικτο και βιώσιμο φυσικό πόρο και έχουν εφαρμογές σε διάφορους επιστημονικούς τομείς. Η ικανότητα παραγωγής τους σε μεγάλη κλίμακα σε συνδυασμό και δυνατότητα γενετικής τροποποίησης τα καθιστά πολύτιμα για την παραγωγή ενός ευρέος φάσματος χρήσιμων προϊόντων όπως βιοκάυσιμων και φαρμακευτικών προϊόντων. Λόγω των ιδιοτήτων τους έχουν προσελκύσει ιδιαίτερη προσοχή ως μια πιο βιώσιμη εναλλακτική [39].

Η βασική σύνθεση του μικροφύκη *Chlorella vulgaris* αποτελείται από:

- Πρωτεΐνες: Το συνολικό πρωτεϊνικό περιεχόμενο στην *Chlorella vulgaris* κυμαίνεται μεταξύ 42-58% του ξυρού βάρους της βιομάζας που παράγεται.
- Λιπίδια: Τα λιπίδια συνθέτουν το 5-40% του ξηρού βάρους της βιομάζας και αποτελούνται κυρίως από γλυκολιπίδια, κεριά, φωσφολιπίδια, και λιπαρά οξέα.
- Υδατάνθρακες: Οι υδατάνθρακες εμπεριέχονται με την μορφή του αμύλου και κυτταρίνης αλλά και με μερικά αναγωγικά σάκχαρα.
- Χρωστικές: Το μικροφύκος *Chlorella vulgaris* περιέχει χρωστικές ενώσεις με πιο γνωστή την χλωροφύλλη, η ποσότητα της οποίας κυμαίνεται από 1-2% του ξηρού βάρους της βιομάζας [40].

5 Πειραματικό μέρος

5.1 Υλικά

5.1.1 Εγκλεισμός βιοδραστικών ουσιών δεντρολίβανου

Τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν για την ενθυλάκωση των βιοδραστικών ουσιών σε πολυμερικές μήτρες είναι:

- Ζεΐνη
- Υδατικό εκχύλισμα δεντρολίβανου
- Αιθανόλη (καθαρότητας 99%)

Η αιθανόλη επιλέχθηκε ως διαλύτης με βάση τον Παγκόσμιο Οργανισμό Ελέγχου Τροφίμων και Φαρμάκων (Food and Drug Administration-FDA). Συγκεκριμένα, θεωρείται ως ένας οικολογικός, μη τοξικός και άρα ασφαλής για κατανάλωση διαλύτης, με αποτέλεσμα το εκχύλισμα που προκύπτει να είναι κατάλληλο να χρησιμοποιηθεί στη συνέχεια για τρόφιμα [41].

5.1.2 Εδώδιμη επικάλυψη σε σμέουρα

Στην παρούσα διπλωματική εργασία οι εδώδιμες επικαλύψεις εφαρμόστηκαν σε φρέσκα σμέουρα. Τα μούρα αυτά αγοράστηκαν από τοπικά καταστήματα και οι επικαλύψεις εφαρμόστηκαν την ημέρα της αγοράς για να διατηρηθεί όσο περισσότερο γίνεται η ποιότητα και η φρεσκάδα του φρούτου. Για την εκχύλιση των πρωτεϊνών από το μικροφύκος *Chlorella vulgaris* χρησιμοποιήθηκε διάλυμα NaOH, και θειικό αμμώνιο. Το μικροφύκος ήταν σε μορφή ξηρής σκόνης επεξεργασμένη έτσι ώστε να είναι εδώδιμη.

Η ανάπτυξη της εδώδιμης επικάλυψης γίνεται με τα εξής υλικά:

- Πρωτεΐνη που εκχυλίστηκε από *Chlorella vulgaris*
- Γλυκερίνη
- Tween 20
- Διάλυμα NaOH 1N

5.2 Μεθοδολογία

5.2.1 Μελέτη βέλτιστου διαλύτη για χρήση του σε ηλεκτροψεκασμό με μήτρα ζεΐνης

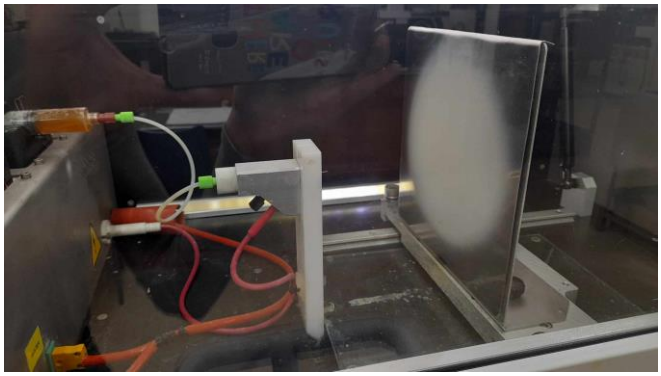
Για την εύρεση της ιδανικής αναλογίας αιθανόλης-υδατικού εκχυλίσματος παράχθηκαν τρία διαφορετικά διαλύματα και ελέγχθηκε η διαλυτότητα της ζεΐνης και η συμπεριφορά των διαλυμάτων κατά την διάρκεια του ηλεκτροψεκασμού. Η συγκέντρωση της ζεΐνης έμεινε σταθερή 10%w/v και στα τρία διαλύματα. Οι αναλογίες αυτών των διαλυμάτων σε αιθανόλη-νερό ήταν 70:30, 75:25 και 80:20.

5.2.2 Εγκλεισμός βιοδραστικών ουσιών δεντρολίβανου με την διεργασία του ηλεκτροψεκασμού σε μήτρα ζεΐνης

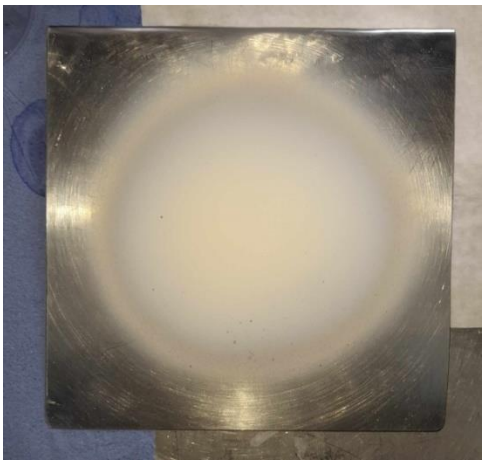
Η παραγωγή μίκρο- και νάνο- σωματιδίων ζεΐνης με εγκλεισμένες βιοδραστικές ουσίες δεντρολίβανου μέσω της διεργασίας ηλεκτροψεκασμού έγινε με βάση την παρακάτω διαδικασία:

1. Αρχικά το διάλυμα έχει περιεκτικότητα σε ζεΐνης 10%w/v και αναλογία 80:20 αιθανόλη-νερό, το οποίο προκύπτει από την παραπάνω μελέτη. Συγκεκριμένα, η υδατική φάση είναι το υδατικό εκχύλισμα δεντρολίβανου το οποίο περιέχει τις βιοδραστικές ουσίες. Τα πειράματα πραγματοποιούνται σε θερμοκρασία δωματίου (20-25oC) και κάθε φορά παρασκευάζονται συνολικά 0,025 L διαλύματος. Επομένως, χρειάζονται (25×10)/100=2,5 g ζείνης, 0,020 L αιθανόλης και 0,005 L υδατικού εκχυλίσματος δεντρολίβανου.
2. Η μέτρηση του όγκου έγινε με ογκομετρικό κύλινδρο των 25 ml και έπειτα τα διαλύματα εισήχθησαν σε ποτήρι ζέσεως των 50 ml.
3. Ζυγίστηκαν 2,5 g ζεΐνης σε αναλυτικό ζυγό ακριβείας 4 δεκαδικών (μοντέλο) και προστέθηκαν στο ποτήρι ζέσεως το οποίο περιείχε ήδη το υδατικό εκχύλισμα και την αιθανόλη. Στο ποτήρι ζέσεως επίσης προστέθηκε μαγνήτης και σφραγίστηκε με parafilm και αλουμινόχαρτο.
4. Το διάλυμα αναδεύτηκε για 15 min σε μαγνητικό αναδευτήρα (μοντέλο) έως ότου διαλυθεί η στερεή ζεΐνη. Για να επιτευχθεί καλύτερη διάλυση το μείγμα μεταφέρθηκε σε falcon και εισήχθη σε λουτρό υπερήχων ,XO-SM50 Ultrasonic Microwave Reaction System (Nanjing Xianou Instruments Manufacture co., Ltd., Nanjing City, China),
5. για 10 min. Με αυτό τον τρόπο βελτιώνεται η διαύγεια του διαλύματος και η δεν υπάρχει στερεή φάση ζεΐνης. Παρόλα αυτά, παρατηρήθηκε πως το διάλυμα δεν γίνεται τελείως διαυγές.
6. Σε σύριγγα των 20 ml αντλούνταν κάθε φορά περίπου 10 ml διαλύματος και τοποθετούνται στην διάταξη του ηλεκτροστατικού μίκρο- και νάνο-εγκλεισμού (FLUIDNATEK LE-10, Biolnicia). Αφότου ανοίξει το όργανο ορίζονται στην οθόνη οι συνθήκες λειτουργίας του πειράματος. Συγκεκριμένα, ορίζεται η τάση που θα εφαρμοστεί και η ροή του διαλύματος. Επίσης, προσαρμόζεται χειροκίνητα η απόσταση της βελόνας από την πλάκα συλλογής. Από την στιγμή που τεθεί σε λειτουργία το όργανο χρειάζονται μερικά λεπτά για να αποκτήσει μόνιμες συνθήκες. Δοκιμάστηκαν διάφορες τιμές ροής, ισχύος και απόστασης της βελόνας προκειμένου να βρεθούν οι βέλτιστες συνθήκες λειτουργίας που θα οδηγήσουν στη μέγιστη απόδοση εγκλεισμού.

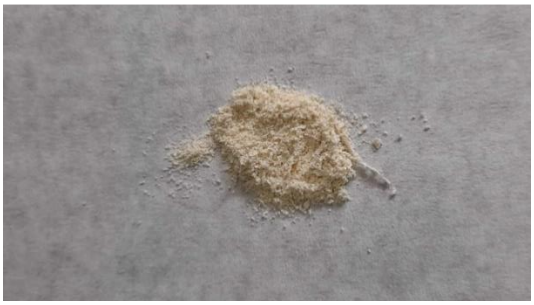
Τα σωματίδια κατά την διάρκεια του πειράματος συλλέγονταν σε ειδική πλάκα και είχαν την μορφή σκόνης. Μετά το πέρας του πειράματος με ειδική σπάτουλα αφαιρούνταν η σκόνη, αποθηκεύονταν σε falcon και έπειτα ζυγίζονταν. Η σκόνη συντηρούνταν σε ξηραντήρα στους 4^{o}C, μέχρι την περεταίρω επεξεργασία της.



Εικόνα 10. Διάταξη ηλεκτροψεκασμού για τον εγκλεισμό υδατικού εκχυλίσματος δεντρολίβανου σε μήτρα ζεΐνης.



Εικόνα 11. Εναπόθεση εγκλεισμένης σκόνης στην πλάκα συλλογής.



Εικόνα 12. Εγκλεισμένη σκόνη ζεΐνης μετά την συλλογή από την πλάκα.

5.2.3 Χαρακτηρισμός εγκλεισμένων δομών

Για την αξιολόγηση της μεθόδου του ηλεκτροψεκασμού και της παραγωγής μίκρο- και νάνο-σωματιδίων ζεΐνης με εγκλεισμένη βιοδραστική ουσία υδατικού εκχυλίσματος δεντρολίβανου πραγματοποιήθηκαν μια σειρά μετρήσεων. Αναγκαίος ήταν ο έλεγχος των εγκλεισμένων δομών την εύρεση της αποτελεσματικότητας αλλά και της αποδοτικότητας της μεθόδου.

5.2.3.1 Απόδοση εγκλεισμού

Ο υπολογισμός της απόδοσης εγκλεισμού (Encapsulation Efficiency, EE) έγινε με την χρήση της παρακάτω σχέσης:

$$EE\ (\%) = \left(\frac{C_{πραγματικό}}{C_{προστιθέμενο}}\right) x100\ , \qquad (Εξ.1)$$

Όπου,

$C_{πραγματικό}$: το περιεχόμενο ροσμαρινικό οξύ στις εγκλεισμένες δομές

$C_{προστιθέμενο}$: το περιεχόμενο ροσμαρινικό οξύ στο διάλυμα τροφοδοσίας του ηλεκτροψεκασμού.

Η ποσότητα του ροσμαρινικού οξέος που περιέχεται στις εγκλεισμένες δομές προσδιορίστηκε με την χρήση υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) με την συσκευή HPLC Shimandzu HP 1100 Series (USA) η οποία διαθέτει ανιχνευτή συστοιχίας διοδίων αλλά και αυτόματο δειγματολήπτη Agilent 1200 Series.

Αρχικά, χρειάστηκε να γίνει η προετοιμασία του δείγματος που θα αναλυθεί πριν εισαχθεί στο όργανο. Δημιουργήθηκε διάλυμα σε αναλογία 1:4 εγκλεισμένης σκόνης προς διάλυμα αιθανόλης-νερού αναλογία 80:20 και αφέθηκε υπό ανάδευση για 24 h. Έπειτα, εάν το δείγμα ήταν παχύρευστο τότε αραιωνόταν περαιτέρω με παρόμοιο διάλυμα αιθανόλης-νερού. Στη συνέχεια το διάλυμα φιλτράρονταν με ειδικό φίλτρο μέσω σύριγγας και συλλέγονταν σε φιαλίδιο για την τελική ανάλυση στο όργανο του HPLC.

5.2.3.2 Ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης-Scanning Electron Microscopy (SEM)

Για να είναι δυνατή η μέτρηση της σκόνης με ηλεκτρονική μικροσκοπία (SEM) τα δείγματα υπέστησαν μια προετοιμασία. Αρχικά, τοποθετήθηκε μια μικρή ποσότητα σκόνης στον ειδικό δειγματοφορέα του SEM, η οποία κάλυπτε όλη την επιφάνεια του και στην συνέχεια το δείγμα μεταφέρθηκε στο όργανο επιχρύσωσης (SC7620 Mini Sputter Coater, Quorom Technologies) ώστε να δημιουργηθεί ένα στρώμα χρρυσού στο δείγμα και η δέσμη ηλεκτρονίων του SEM να μπορεί να σαρώσει την επιφάνεια. Στη συνέχεια, έγινε η απεικόνιση των δειγμάτων σε διάφορες μεγεθύνσεις με την βοήθεια του ηλεκτρονικού μικροσκόπιο σάρωσης (Quanta 200 FEI (2004), 0R, USA) με ανιχνευτή ευρέως πεδίου σάρωσης σε δυναμικό 20 kv και με μεγέθυνση 3000x.

Εικόνα 13. Ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM)

5.2.3.3 Διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης – Differential Scanning Calolimetry (DSC)

Ο προσδιορισμός την θερμοκρασίας υαλώδους μετάπτωσης των εγκλεισμένων δομών πραγματοποιήθηκε με το όργανο διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (DSC), (Perkin Elmer DSC 6, CT, USA) σε συνδυασμό με την χρήση του λογισμικού Pyris 6 (Software, Perkin Elmer). Η προετοιμασία των δειγμάτων απαιτεί την δημιουργία ειδικών καψυλίων αλουμινίου τα οποία περιέχουν μερικά mg της εγκλεισμένης σκόνης και είναι καλά σφραγισμένα. Ακόμα, χρησιμοποιείται ταυτόχρονα και ένα κενό καψύλιο ως δείγμα αναφοράς. Για την εύρεση της θερμοκρασίας υαλώδους μετάπτωσης τα δείγματα υποβλήθηκαν σε θερμοκρασιακό πρόγραμμα από 0 έως 200^{o}C το οποίο τα θέρμαινε με σταθερό ρυθμό 5^{o}C /min.

Εικόνα 14. Όργανο διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (DSC)

5.2.3.4 ATR-FTIR

Η μελέτη της μοριακής διάταξης των εγκλεισμένων δομών ζεΐνης που παρήχθησαν με ηλεκτροψεκασμό έγινε με το όργανο φασματοσκοπίας σάρωσης (FT/IR-4200,

JASCO International Co., Ltd. Japan) το οποίο περιέχει και μονάδα μειωμένης ολικής ανάκλασης (ATR PRO-410-S, JASCO International Co., Ltd. Japan). Τα δείγματα σαρώθηκαν σε μήκη κύματος μεταξύ 4000 και 700 cm^{-1}. Κάθε μέτρηση αποτελούνταν από 32 μετρήσεις σε ανάλυση 4 cm^{-1}. Ειδικότερα, αναλύθηκαν ένα φρέσκο δείγμα εγκλεισμένης σκόνης και ένα το οποίο είχε συντηρηθεί στο ψυγείο για 30 μέρες.

5.2.4 Εδώδιμες επικαλύψεις και επικάλυψη μούρων

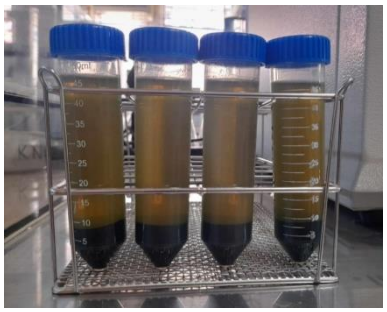
5.2.4.1 Εκχύλιση πρωτεϊνών από *Chlorella vulgaris*

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

Αρχικά σε 18 mL διαλύθηκε 1 g *Chlorella vulgaris* και αναδεύτηκε καλά έως την πλήρη ομογενοποίηση του διαλύματος. Αφού ολοκληρώθηκε το στάδιο αυτό προστέθηκαν σταγόνες διαλύματος NaOH με συγκέντρωση 1 M μέχρι το pH να φτάσει την τιμή 11.

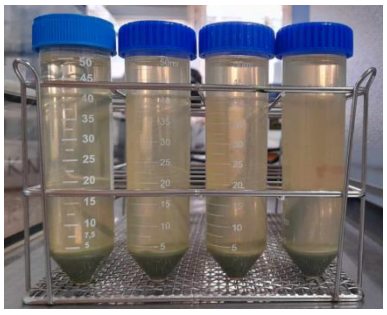
Εικόνα 15. Ρύθμιση pH και ταυτόχρονη μαγνητική ανάδευση.

Ακολούθησε ήπια ανάδευση με μαγνητικό αναδευτήρα για 30 min και ελέγχονταν καθ' όλη την διάρκεια το pH για διόρθωση σε περίπτωση μείωσης του. Στη συνέχεια το διάλυμα φυγοκεντρήθηκε για 10 min στις 2550 rpm και κρατήθηκε το υπερκείμενο υγρό για περαιτέρω επεξεργασία. Στο υπερκείμενο υγρό προστέθηκε 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 αφέθηκε στο ψυγείο για τουλάχιστον 8 ώρες. Έπειτα φυγοκεντρήθηκε ξανά στις ίδιες συνθήκες και κρατήθηκε πάλι το υπερκείμενο υγρό με τη βοήθεια πιπέτας που στη συνέχεια διηθήθηκε υπό κενό [42].



Εικόνα 16. Συλλογή του υπερκείμενου διαλύματος έπειτα την πρώτη φυγοκέντρηση.

Εικόνα 17. Προσθήκη θειικού αμμωνίου με ταυτόχρονη ανάδευση.



Εικόνα 18. Συλλογή υπερκείμενου υγρού έπειτα από δεύτερη φυγοκέντρηση.

Εικόνα 19. Διάταξη εκχύλισης πρωτεϊνών υπό κενό.

Τέλος, μετά την εκχύλιση των πρωτεϊνών, παραλήφθηκαν υπό τη μορφή τζελ από το διηθητικό χαρτί οι πρωτεΐνες και ακολούθησε λυοφιλίωση, ώστε να παραληφθούν σε μορφή σκόνης. Για να επιτευχθεί αυτό έπρεπε πρώτα να καταψυχθούν στους -30oC για 48 ώρες και στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε λυοφιλίωση των δειγμάτων με το όργανο Freeze dryer Tabletop Freeze Dryer BK-FD10S προκειμένου να γίνει ξήρανση των δειγμάτων υπό ελαττωμένη πίεση.

Εικόνα 20. Διάταξη οργάνου ξήρανσης υπό κατάψυξης- λυοφιλίωσης (Freeze dryer)

5.2.4.2 Ανάπτυξη εδώδιμης επικάλυψης

Αρχικά σε απιονισμένο νερό διαλύθηκαν 6% w/v πρωτεΐνη υπό συνεχή ανάδευση με 50% w/(w πρωτεΐνης) γλυκερίνη και προστέθηκαν και 0,4 w/v Tween 20. Στη συνέχεια, ακολούθησε η ρύθμιση του pH στην τιμή 11 ± 0,1 με διάλυμα 1 N NaOH και θερμάνθηκε στους 70oC για 20 min μέσα σε θερμόλουτρο [43]. Για την παραγωγή της εδώδιμης επικάλυψης με βιοδραστικά συστατικά προστέθηκαν 6 g εγκλεισμένων δομών που έχουν παραχθεί με τη μέθοδο της ηλεκτροψεκασμού ανά 1 L επικάλυψης, προκειμένου να επιτευχθεί συγκέντρωση 5 g ροσμαρινικού/L επικάλυψης, το οποίο ποσοστό προέκυψε μετά από βιβλιογραφική ανασκόπηση. Οι δομές είναι εγκλεισμένες σε ζείνη, η οποία όπως έχει αναφερθεί δεν είναι υδατοδιαλυτή. Ωστόσο, η ρύθμιση του διαλύματος σε pH 11 ευνοεί τη διάλυση τους στο υδατικό διάλυμα της εδώδιμης επικάλυψης.

Εικόνα 21. Ρύθμιση pH της επικάλυψης.

Εικόνα 22. Επικάλυψη μούρων Α.) χωρίς βιοδραστική και Β.) με βιοδραστική ουσία

5.2.4.3 Επικάλυψη μούρων

Για την επικάλυψη των μούρων, αυτά βυθίστηκαν ολόκληρα μέσα στο διάλυμα της εδώδιμης επικάλυψης και παρέμειναν εκεί για 2 min. Στη συνέχεια, παρέμειναν για 1 min έξω από το διάλυμα να στεγνώσουν, και τέλος εισήχθησαν σε ξηραντήρα με ρεύμα αέρα, όπου παρέμειναν για περίπου μία ώρα. Όταν στέγνωσε τελείως η επικάλυψη και σχηματίστηκε το φιλμ συσκευάστηκαν και τοποθετήθηκαν στο ψυγείο, μέχρι την περαιτέρω ανάλυση τους.

Εικόνα 23. Εμβάπτιση μούρων στα διαλύματα των επικαλύψεων.

Εικόνα 24. Συγκεντρωμένη απεικόνιση Α.) φρέσκων φρούτων, Β.) με εδώδιμη επικάλυψη και Γ.) με εδώδιμη επικάλυψη και βιοδραστική ουσία.

Εικόνα 25. Εισαγωγή των επικαλυμμένων σμέουρων στον ξηραντήρα αέρα.

5.2.5 Αξιολόγηση επικαλυμμένων σμέουρων

Τα τελικά δείγματα που αξιολογήθηκαν είναι ένα δείγμα φρέσκων μούρων (Fresh), ένα δείγμα με εδώδιμη επικάλυψη (EC) και ένα δείγμα με εδώδιμη επικάλυψη εμπλουτισμένη με βιοδραστικά συστατικά (EC/Bio) Η αξιολόγηση των τελικών προϊόντων βασίστηκε στην ανάλυση της διαφοράς βάρους, χρώματος, της μέτρησης ολικών διαλυτών στερεών, ολικής οξύτητας και αντιοξειδωτικής ικανότητας και σε μικροβιολογική ανάλυση που πραγματοποιήθηκαν σε βάθος 14 ημερών. Επίσης, πραγματοποιήθηκε οργανοληπτικός έλεγχος, προκειμένου να κριθεί αν τα παραγόμενα προϊόντα είναι αποδεκτά από τους καταναλωτές.

5.2.5.1 Διαφορά βάρους

Για την μέτρηση της διαφοράς βάρους επιλέχθηκαν δυο δείγματα φρέσκων σμέουρων, δύο με εδώδιμη επικάλυψη και δύο με εδώδιμη επικάλυψη και βιοδραστική ουσία και έπειτα ζυγίστηκαν σε ζυγαριά ακριβείας 4 δεκαδικών ψηφίων. Η διαδικασία αυτή επαναλήθφηκε την $4^{η}$, την $7^{η}$, την $11^{η}$ και την $14^{η}$ μέρα συντήρησης των σμέουρων. Η κάθε μέτρηση συγκρίνεται με την αρχική που είχε πραγματοποιηθεί την μέρα 0. Με αυτόν τον τρόπο υπολογίζεται το ποσοστό απώλειας βάρους για καθένα από τα σμέουρα των τριών κατηγοριών.

Η απώλεια βάρους υπολογίστηκε από την παρακάτω εξίσωση:

$$Απώλεια\ βάρους\ (\%) = (m_{αρχ} - m_{τελ})/m_{αρχ} \qquad (Εξ.\ 2)$$

Όπου mαρχ είναι το αρχικό βάρος του επικαλυμμένου τροφίμου και mτελ είναι το τελικό βάρος του επικαλυμμένου τρόφιμου.

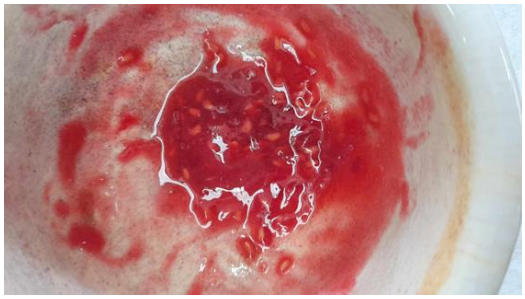
5.2.5.2 Ανάλυση χρώματος

Οι μετρήσεις για την ανάλυση χρώματος των σμέουρων πραγματοποιήθηκαν με το φωτόμετρο Miniscan XE (Hunter Associates Laboratory Inc, Virginia) για τον προσδιορισμό των παραμέτρων L*, a* και b*. Η βαθμονόμηση του οργάνου έγινε με την χρήση πρότυπου λευκού πλακιδίου και μαύρου πλακιδίου. Ο υπολογισμός της

κάθε παραμέτρου έγινε με πραγματοποίηση τεσσάρων μετρήσεων από διαφορετικά σημεία της επιφάνειας των σμέουρων. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν την μέρα 0 και ξανά την $4^{η}$, την $7^{η}$, την $11^{η}$ και την $14^{η}$ μέρα συντήρησης. Με βάση τα αποτελέσματα των μετρήσεων προέκυψε το συμπέρασμα για το εάν η μεταβολή χρώματος είναι συγκρίσιμη ανάμεσα στα φρέσκα σμέουρα, σε αυτά με εδώδιμη επικάλυψη και σε εκείνα με εδώδιμη επικάλυψη και βιοδραστική ουσία.

Εικόνα 26. Διάταξη φωτόμετρου.

Για την μέτρηση των υπόλοιπων ιδιοτήτων των διαφορετικών σμέουρων κατά την διάρκεια της συντήρησης τους χρειάστηκε πρώτα η παραλαβή του χυμού τους. Η διαδικασία αυτή πραγματοποιήθηκε με την πολτοποίηση των σμέουρων και έπειτα την φυγοκέντηση του πολτού τους για 10 min και 3500 rpm. Το υπερκείμενο υγρό φιλτραρίστηκε και συλλέχθηκε με πιπέτα για τις μετρήσεις.



Εικόνα 27. Πολτοποίηση σμέουρου

5.2.5.3 Ολικά διαλυτά στερεά

Τα ολικά διαλυτά στερεά (TSS) αποτελούν μέτρο ωρίμανσης του σμέουρου και η μέτρηση του γίνεται με διαθλασίμετρο και μετριέται σε βαθμούς Brix. Στη συνέχεια, με την πιπέτα παραλήφθηκε μικρή ποσότητα του χυμού η οποία τοποθετήθηκε και απλώθηκε σε συγκεκριμένο σημείο του οργάνου και επιλέγεται η μέτρηση σε Brix. Η πρώτη μέτρηση έγινε την μέρα 0 και επαναλήφθηκε την $4^{η}$ μέρα συντήρησης.

Εικόνα 28. Οργάνου διαθλασίμετρου

5.2.5.4 Ολική οξύτητα

Ένας ακόμα παράγοντας που δηλώνει την ωρίμανση του φρούτου είναι και η ολική οξύτητα. Η ολική οξύτητα προσδιορίστηκε με την μέθοδο της ογκομέτρησης και συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκε μια μικρή ποσότητα χυμού σμέουρων και προστέθηκε απιονισμένο νερό έως ότου επιτευχθεί αραίωση 1:10 v/v. Η ογκομέτρηση πραγματοποιήθηκε με καυστικό νάτριο NaOH 0,1 N και χρησιμοποιήθηκε δείκτης φαινολοφθαλεΐνης. Για τον υπολογισμό της ολική οξύτητας χρησιμοποιήθηκε η παρακάτω εξίσωση, η οποία είναι εκφρασμένη ως % κιτρικού οξέος.

$$Οξύτητα\ (\%) = (\frac{V_{NaOH} * C_{NaOH} * Παράγοντας\ οξύτητας}{V_{δείγματος}}) \quad (Εξ.\ 3)$$

Όπου:

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

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

Παράγοντας οξύτητας: 0,064 για το κιτρικό οξύ

$V_{δείγματος}$: ο όγκος του δείγματος (ml)

Εικόνα 29. Αλλαγή χρώματος διαλύματος χυμού σμέουρου με δείκτη φαινολοφθαλεΐνης μετά την ογκομέτρηση.

5.2.5.5 Αντιοξειδωτική ικανότητα

Η μέτρηση της αντιοξειδωτική ικανότητας έγινε με την μέθοδο DPPH, με βάση τους Brand-Williams (1995) [44]. Για την Παρασκευή του διαλύματος DPPH χρειάστηκε να διαλυθούν 2,9 mg της δραστικής ουσίας σε 100 ml μεθανόλης. Στην συνέχεια, έγινε ανάδευση του διαλύματος για 45 min με απουσία φωτός. Μετά το πέρας της ανάδευσης, παραλήφθηκαν 3,9 ml διαλύματος DPPH και 0,1 ml του προς εξέταση διαλύματος και προστέθηκαν σε ειδική κυψελίδα. Η μέτρηση της απορρόφησης έγινε σε UV-Vis φασματοφωτόμετρο (UV-Vis Spectrophotometer UV-M51, BEL PHOTONICS) σε συχνότητα 515 nm για 20 min. Ο αποχρωματισμός του έντονου μωβ μεθανολικού διαλύματος οφείλεται στην αντίδραση αναγωγής και παρακολουθείται η απορρόφηση φωτός. Μικρή απορρόφηση δηλώνει μεγάλο αποχρωματισμό και έτσι μεγάλη απενεργοποίηση ελευθέρων ριζών.

Για την ικανότητα απενεργοποίησης των ελευθέρων ριζών %RSA χρησιμοποιήθηκε η παρακάτω εξίσωση:

$$\%RSA = 100 * \left(1 - \frac{AE}{AD}\right), \quad (E\xi.4)$$

Όπου

AE: απορρόφηση του αντιοξειδωτικού διαλύματος

AD: απορρόφηση του δείγματος DPPH

Παρασκευάστηκαν διαλύματα με αραιώσεις 1:2, 1:4, 1:8 και 1:16 , ml δείγματος : ml διαλύτη (νερό), τα οποία φωτομετρήθηκαν προκειμένου να δημιουργηθεί καμπύλη βαθμονόμησης για κάθε διάλυμα η οποία συσχετίζεται με την ποσότητα του DPPH που παραμένει. Η εναπομένουσα ποσότητα του DPPH (DPPHrem) υπολογίστηκε από τον εξής τύπο:

$$DPPHrem\% = \frac{[DPPH]_t}{[DPPH]_{t=0}} * 100, \quad (E\xi.5)$$

Από την καμπύλη βαθμονόμησης βρέθηκε η συγκέντρωση του διαλύματος στην οποία καταστρέφεται το 50% του DPPH. Αυτή η συγκέντρωση ορίζεται ως η τιμή του IC50 (Inhibition Concentration 50%). Όσο πιο μικρή είναι η τιμή σημαίνει πως απαιτείται μικρότερη ποσότητα εκχυλίσματος για την εξουδετέρωση των ελεύθερων ριζών και επομένως μεγαλώνει η αντιοξειδωτική ικανότητα που έχει το δείγμα.

5.2.5.6 Μικροβιολογική ανάλυση

Η μικροβιολογική ανάλυση για τα τρία δείγματα σμέουρων (φρέσκα, με εδώδιμη επικάλυψη, εδώδιμη επικάλυψη και βιοδραστική ουσία) πραγματοποιήθηκε την 5η και την 8η ημέρα συντήρησης τους.

Αρχικά, παράχθηκε αποστειρωμένο διάλυμα Ringer με το οποίο αραιώθηκαν στην συνέχεια οι χυμοί των σμέουρων. Για την αποστείρωση του διαλύματος και των εργαλείων χρειάστηκαν:

- Κωνική φιάλη των 500 ml
- 1 παστίλια Ringer
- Βαμβάκι και αλουμινόχαρτο

Αναλυτικότερα, η κωνική φιάλη γεμίστηκε μέχρι την χαραγή με απιονισμένο νερό και στην συνέχεια προστέθηκε η παστίλια Ringer. Έπειτα, στο στόμιο της κωνική τοποθετήθηκε βαμβάκι και κλείστικε με αλουμινόχαρτο. Η συσκευή αποστείρωσης γεμίστικε έως την σήμανση με απιονισμένο νερό και μέσα της τοποθετήθηκαν το διάλυμα Ringer και τα εργαλεία που χρειάστηκαν για την πραγματοποίηση της μικροβιολογικής ανάλυσης (λαβίδα, tips για πιπέτες, falkons).

Όταν τελείωσε η διαδικασία της αποστείρωσης, αφαιρέθηκε το διάλυμα και αφέθηκε να κρυώσει έως ότου φτάσει σε θερμοκρασία δωματίου. Γι την μικροβιολογική ανάλυση ακολουθήθηκαν τα παρακάτω βήματα, τα οποία πραγματοποιήθηκαν για κάθε δείγμα σμέουρου:

1.) Ζυγίστηκαν 1-2 g σμέουρου σε ειδική αποστειρωμένη σακούλα που περιέχει φίλτρο.
2.) Προστέθηκε διάλυμα Ringer σε αναλογία 1:10 κ.β. και η σακούλα τοποθετήθηκε στην συσκευή εκχύλισης Stomacher για την παραλαβή του αραιωμένου χυμού.
3.) Για την διευκόλυνση της μέτρησης των αποικιών πραγματοποιήθηκαν 3-4 αραιώσεις. Η κάθε αραίωση έγινε με παραλαβή 1 ml από το δείγμα της προηγούμενης αραίωσης με προσθήκη διάλυμα Ringer σε αναλογία 1:10.

4.) Για την μέτρηση των Total Count, Yeast and mould και E. Coli χρησιμοποιήθηκαν τρυβλία με έτοιμα υποστρώματα. Σε κάθε τρυβλίο τοποθετήθηκε 1 mL από αραιωμένου διαλύματος.

Όλες οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν σε ειδικά σχεδιασμένο θάλαμο με κάθετη ροή αέρα για μικροβιολογικές αναλύσεις.

Εικόνα 30. Μικροβιολογικός θάλαμος αναλύσεων.

Η επώαση των Total Count έγινε στους 37°C για 48 h, των Yeast and Mould έγινε στους 25-30°C για 3-7 d και των E.Coli στους 35°C για 24 h.

Μετά την επώαση μετρήθηκαν οι αποικίες που αναπτύχθηκαν στα τρυβλία και υπολογίστηκαν με βάση την παρακάτω εξίσωση:

$$\frac{CFU}{mL} = \frac{CFU * \beta\alpha\theta\mu\acute{o}\ \alpha\rho\alpha\acute{\iota}\omega\sigma\eta\varsigma}{V}, \qquad (E\xi.6)$$

Όπου:

CFU: αριθμός των αποικιών που αναπτύχθηκαν

Βαθμός αραίωσης: 10^n και n=1 για την $1^η$ αραίωση

V: όγκος που τοποθετήθηκε στο υπόστρωμα (1 mL)

5.2.5.7 Οργανοληπτικός έλεγχος

Ο οργανοληπτικός έλεγχος πραγματοποιήθηκε την ημέρα 0 της παραγωγής και της συντήρησης των φρέσκων σμέουρων, αυτών με εδώδιμη επικάλυψη και με εδώδιμη επικάλυψη και βιοδραστική ουσία. Τα δείγματα αξιολογήθηκαν από δεκαμελή ομάδα εξεταστών. Αφότου δοκίμασαν, τους ζητήθηκε να συμπληρώσουν ένα ερωτηματολόγιο το οποίο αξιολογούταν από το 1 έως το 9 στην ένταση του κάθε χαρακτηριστικού. Συγκεκριμένα, τους ζητούταν να βαθμολογήσουν την αποδοχή χρώματος, την αίσθηση στο στόμα, το άρωμα την μετάγευση και την συνολική αποδοχή.

Για να προσδιοριστεί η επίδραση των ωσμωτικών μέσων και της επικάλυψης στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων, πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση διασποράς (ANOVA) στο λογισμικό Statistica (Statistica Release 7, Statsoft Inc, Tulsa, OK, USA). Οι διαφορές θεωρήθηκαν σημαντικές όταν $p<0,05$, όπου και σε αυτή την περίπτωση συμβολίστηκαν με διαφορετικό γράμμα.

6 Αποτελέσματα

6.1 Βέλτιστος διαλύτης για χρήση σε ηλεκτροψεκασμό (electrospraying) με μήτρα ζεΐνης

Η ζεΐνη είναι μια πρωτεΐνη που διαλύεται κυρίως σε οργανικούς διαλύτες, όπως η αιθανόλη, ενώ είναι λιγότερο διαλυτή στο νερό. Στο πλαίσιο του πειράματος της ηλεκτροϊνοποίησης, η αναλογία αιθανόλης-νερού στο διάλυμα παίζει σημαντικό ρόλο στη διάλυση και στη συμπεριφορά της ζεΐνης κατά τη διάρκεια του πειράματος.

Κατά την παρασκευή των διαλυμάτων ζεΐνης με διαφορετικές αναλογίες αιθανόλης-νερού, διαπιστώθηκε ότι όλα τα διαλύματα διαλύουν τη ζεΐνη επαρκώς. Ωστόσο, η αποτελεσματικότητα της διάλυσης και η συμπεριφορά του διαλύματος κατά την ηλεκτροϊνοποίηση εξαρτώνται σημαντικά από την αναλογία των διαλυτών.

Η καλύτερη συμπεριφορά του διαλύματος ζεΐνης παρατηρήθηκε με τη διάλυση της σε αναλογία αιθανόλης-νερού 80:20, όπου παρατηρήθηκε και η πιο αποτελεσματική και γρήγορη διάλυση της ζεΐνης. Η υψηλότερη συγκέντρωση αιθανόλης διευκολύνει τη διάλυση της πρωτεΐνης και εξασφαλίζει καλύτερη ομοιομορφία και σταθερότητα κατά την παραγωγή των ινών. Αντίθετα, η αυξημένη υδατική φάση στις αναλογίες 70:30 και 75:25 απαιτεί περισσότερο χρόνο ανάδευσης και μπορεί να οδηγήσει σε λιγότερο σταθερή διαδικασία ηλεκτροϊνοποίησης και χαμηλότερη ποιότητα ινών.

Επομένως, το διάλυμα που επιλέχθηκε για τη διάλυση της ζείνης κατά την ηλεκτροϊνοποίηση ήταν το μείγμα αιθανόλης-νερού 80:20.

6.2 Βέλτιστες συνθήκες λειτουργίας ηλεκτροψεκασμού (electrospraying)

Οι βέλτιστες συνθήκες λειτουργίας του ηλεκτροψεκασμού προσδιορίστηκαν με προκαταρκτικούς ελέγχους στους οποίους ορίστηκε η τάση που εφαρμόζεται, η ροή του διαλύματος καθώς και η απόσταση της βελόνας από την πλάκα συλλογής. Στον παρακάτω πίνακα αναγράφονται αναλυτικά όλες οι διαφορετικές δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν, καθώς και τα αποτελέσματα που παρατηρήθηκαν.

Πίνακας 1. Δοκιμή βέλτιστων συνθηκών λειτουργίας για διάλυμα αιθανόλη-υδατικό εκχύλισμα δεντρολίβανου αναλογίας 80:20 με περιεκτικότητα ζεΐνης 10% w/v.

Τάση (kv)	Ροή διαλύματος ml/h)	Απόσταση (cm)	Παρατηρήσεις
23	0,3	10	Αρχικά ψεκασμός σταγονιδίων, μη σταθεροποίηση ροής στη βελόνα, αργή παραγωγή σκόνης, δεν παρατηρείται κώνος Taylor, αποτυχία συλλογής σκόνης

22,2	0,3	10	Ψεκασμός σταγονιδίων, μη σταθεροποίηση ροής στη βελόνα, σχηματισμός στερεού στην άκρη της βελόνας με αποτέλεσμα να εμποδίζεται η ροή
22	0,3	8	Αρχικά ψεκασμός σταγονιδίων, αργή παραγωγή σκόνης λόγω μικρής ροής
21	0,3	8	Ψεκασμός σταγονιδίων και αποτυχία εξάτμισης τους διαλύτη
22	0,3	10	Αρχικά ψεκασμός σταγονιδίων, αργή παραγωγή σκόνης, όταν σταθεροποιηθεί η ροή παρατηρείται κώνος Taylor, συλλογή ποσότητας σκόνης
20-20,8	0,5	10	Ψεκασμός σταγονιδίων και αποτυχία εξάτμισης διαλύτη, δημιουργία στερεού στην άκρη της βελόνας και εμποδισμός της ροής
20,4-20,7	0,5	10	Ψεκασμός ελάχιστων σταγονιδίων έως ότου σταθεροποιηθεί η ροή, παρατήρηση κώνου Taylor, συλλογή αρκετής ποσότητας σκόνης
20-22	0,5	10	Αρχικά ψεκασμός σταγονιδίων, μετά από 2 ώρες δημιουργία στερεού στην άκρη της βελόνας, συλλογή σκόνης
20-20,4	0,5	10	Ψεκασμός ελάχιστων σταγονιδίων έως ότου σταθεροποιηθεί η ροή, παρατήρηση κώνου Taylor, επιτυχής συλλογή μεγάλης ποσότητας σκόνης
20	0,6	10	ψεκασμός σταγονιδίων, αδυναμία εξάτμισης διαλύτη

Οι ιδανικές συνθήκες λειτουργίας του ηλεκτροψεκασμού για διάλυμα αιθανόλης-υδατικού εκχυλίσματος δεντρολίβανου αναλογίας 80:20 με περιεκτικότητα σε ζεΐνη 10%w/v είναι οι εξής:

- Ροή: 0,5 ml/h
- Τάση: 20-20,4 kv
- Απόσταση: 10 cm

Οι παραπάνω συνθήκες κρίθηκαν ιδανικές καθώς παρατηρούταν ελάχιστη έκκριση σταγονιδίων και στερεοποίησης του διαλύματος στην άκρη του ακροφυσίου κατά την διάρκεια του πειράματος. Επιπλέον, παραγόταν μεγαλύτερη ποσότητα σκόνης λόγω της αυξημένης ροής.

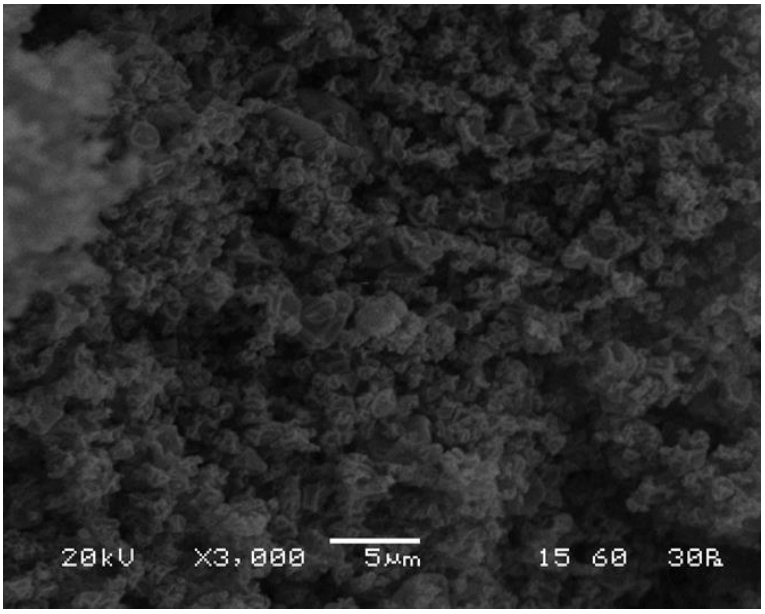
6.3 Απόδοση εγκλεισμού

Η ζεΐνη διαλύθηκε πλήρως και ομοιόμορφα στο διάλυμα και εγκλείστηκε αποτελεσματικά στις σφαιρικές δομές κατά τη διαδικασία του ηλεκτροψεκασμού. Οι δομές παρουσίασαν καλή κατανομή της ζεΐνης, χωρίς σημαντικές διαφοροποιήσεις στη σύσταση κατά μήκος τους. Η ανάλυση σε HPLC οδήγησε στο συμπέρασμα ότι επιτεύχθηκε υψηλή αποδοτικότητα εγκλεισμού (83.2%), που υποδεικνύει ότι η αναλογία αιθανόλης-νερού 80:20 ήταν η πλέον κατάλληλη για τη διαδικασία. Η τελική περιεκτικότητα ροσμαρινικού οξέος στην τελική σκόνη που προκύπτει είναι 0.83 mg/g.

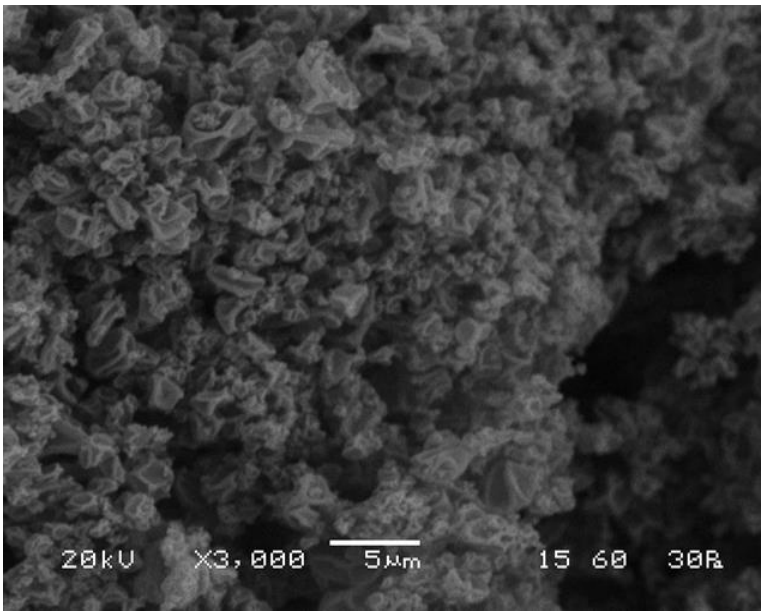
6.4 Αξιολόγηση εγκλεισμένων δομών

6.4.1 Σάρωση Ηλεκτρονικού Μικροσκοπίου (SEM)

Στις εικόνες 31 και 32 παρουσιάζεται η μορφολογία των εγκλεισμένων δομών χρησιμοποιώντας ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM). Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε για ένα φρέσκο δείγμα και για ένα το οποίο είχε συντηρηθεί στους 4ºC για 30 μέρες. Ακόμα, και για τα δύο δείγματα ισχύει πως το πολυμερικό διάλυμα το οποίο χρησιμοποιήθηκε για την ηλεκτροϊνοποίηση είχε συγκέντρωση 10% w/v ζεΐνης με την αναλογία αιθανόλης και υδατικό εκχυλίσματος δεντρολίβανου να είναι 80:20. Παράλληλα οι συνθήκες ηλεκτροψεκασμού ήταν ίδιες και συγκεκριμένα η απόσταση βελόνας και πλάκας συλλογής ήταν 10cm, η ροή ήταν 0,5 ml/h και η τάση που εφαρμόστηκε κυμαινόταν στα 20 kV.



Εικόνα 31. Ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (SEM) εγκλεισμένων δομών ζεΐνης ημέρα 0.



Εικόνα 32. Ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (SEM) εγκλεισμένων δομών ζεΐνης ημέρα 30.

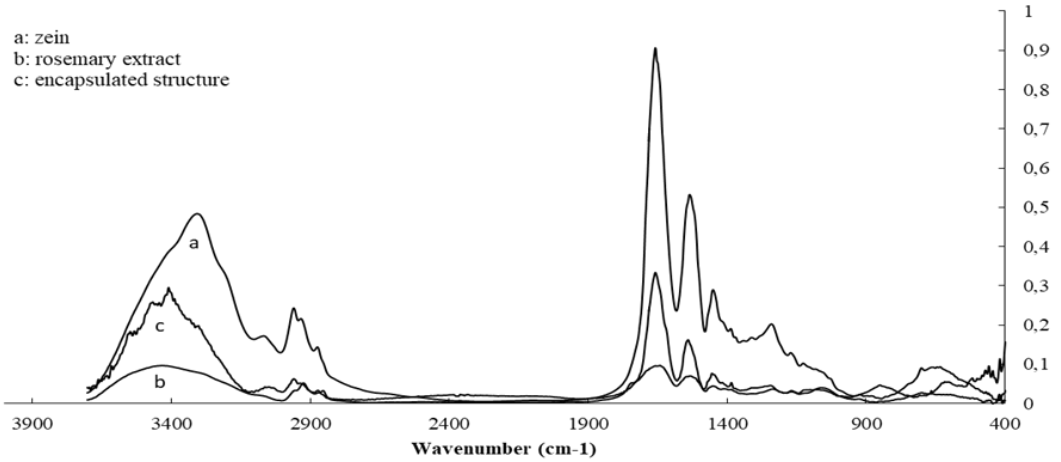
Παρατηρείται πως οι δομές που παράγονται είναι σφαιρικές με απουσία ινών και παρουσιάζουν ομοιομορφία στο σχήμα και το μέγεθος τους. Καθοριστικό παράγοντα για την μορφολογία των σωματίδια αποτελεί η τιμή της συγκέντρωσης ζεΐνης στο διάλυμα. Επομένως, για 10% w/v συγκέντρωση ζεΐνης αλλά και για αυτές τις συνθήκες ηλεκτροινοποίησης παράγονται ομοιόμορφα σφαιρίδια χωρίς την δημιουργία ινών, το οποίο βρίσκεται σε συμφωνία με άλλες αντίστοιχες έρευνες [16, 45, 46].

Στη συνέχεια, συγκρίνεται η μορφολογία των δύο δειγμάτων. Η δομή των σωματιδίων του φρέσκου δείγματος και εκείνου που συντηρήθηκε 30 μέρες στους 4^{o}C δεν έχει σημαντικές διαφορές στο σχήμα. Το σφαιρικό σχήμα διατηρείται,

ωστόσο μετά τις 30 ημέρες παρατηρείται μια ελαφριά συρρίκνωση των δομών που οφείλεται στη μείωση υγρασίας που έχει υποστεί το δείγμα σε αυτό το διάστημα. Αυτό υποδηλώνει την καλή σταθερότητα των δομών στο χρόνο. Η καλή σταθερότητα των δομών οφείλεται στην μορφολογία τους αλλά και στο μικρό τους μέγεθος. Αναλυτικότερα, όσο μικραίνει το μέγεθος των σφαιρικών κάψουλων τόσο αυξάνεται η διάρκεια ζωής τους [47].

6.4.2 Φασματοσκοπία Υπέρυθρης ακτινοβολίας με Μετασχηματισμό Fourier (FTIR)

Στο Διάγραμμα 1 παρουσιάζεται η ανάλυση της φασματοσκοπίας υπέρυθρης ακτινοβολίας FTIR για την ζεΐνη, το ροσμαρινικό οξύ του εκχυλίσματος δεντρολίβανου και την εγκλεισμένη δομή. Αναλυτικότερα, στην καμπύλη της εγκλεισμένης δομής εμφανίζονται οι χαρακτηριστικές κορυφές της ζεινης αλλά και του εκχυλίσματος δεντρολίβανου με αποτέλεσμα να επιβεβαιώνεται η ύπαρξη και των δύο ενώσεων. Ορισμένες χαρακτηριστικές κορυφές του δεντρολίβανου και της ζεΐνης αλληλεπικαλύπτονται. Συγκεκριμένα, η χαρακτηριστική κορυφή της ζεινης η οποία είναι και η πιο έντονη εμφανίζεται στα ~1650 cm-1 και οφείλεται στο κομμάτι της α-έλικας της δευτερεύουσας δομής. Παράλληλα, η ζεινη έχει δύο ακόμα χαρακτηριστικές κορυφές οι οποίες βρίσκονται στα ~1530 cm-1 και ~1515 cm-1 [48, 49]. Η τυπική περιοχή απορρόφησης των δεσμών του ροσμαρινικού βρίσκεται μεταξύ των 1800 και 700 cm-1. Παρατηρούνται τρεις κορυφές στα ~1605, 1520, 1445 cm-1 λόγω της ύπαρξης αρωματικών δακτυλίων στο μόριο [50]. Επομένως, ο εγκλεισμός χαρακτηρίζεται επιτυχής καθώς στην καμπύλη της εγκλεισμένης δομής εμφανίζονται οι χαρακτηριστικές κορυφές και των δύο ουσιών.



Διάγραμμα 1. Φασματοσκοπία υπέρυθρης ακτινοβολίας με μετασχηματισμό Fourier (FTIR) για a. ζεΐνη, b. εκχύλισμα δεντρολίβανου, c. εγκλεισμένη δομή.

6.4.3 Διαφορική θερμική Ανάλυση

Η θερμοκρασία υαλώδους μετάβασης είναι κρίσιμος παράγοντας για την σταθερότητα των εγκλεισμένων δομών. Αυτή η θερμοκρασιακή τιμή καθορίζει τη μετάβαση του υλικού από μια εύθραυστη, υαλώδη κατάσταση σε μια πιο ελαστική. Η περιεκτικότητα σε υγρασία επηρεάζει σημαντικά την Tg, καθώς το νερό δρα ως πλαστικοποιητής, μειώνοντας την θερμοκρασία μετάβασης [51]. Γενικά, η σχετική υγρασία στην οποία αποθηκεύεται η εγκλεισμένη σκόνη επηρεάζει σημαντική την τιμή της Tg. Συγκεκριμένα, όσο μεγαλώνει η σχετική υγρασία τόσο μειώνεται η τιμή της Tg [52]. Αυτό φαίνεται και στα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα 2 καθώς η τιμή του Tg στο φρέσκο δείγμα σε σύγκριση με το δείγμα που έχει συντηρηθεί στους 22°C, αυξάνεται όταν μειώνεται η σχετική υγρασία.

Στον Πίνακα 2 παρουσιάζονται οι τιμές της θερμοκρασίας υαλώδους μετάπτωσης που υπολογίστηκαν με διαφορική θερμική ανάλυση (DSC) μαζί με την τιμή της σχετικής υγρασίας σε σχέση με την θερμοκρασία στην οποία συντηρήθηκε το κάθε δείγμα. Παρατηρείται πως οι συνθήκες συντήρησης της εγκλεισμένης δομής έχουν καθοριστική ρόλο στην Tg. Όσο η θερμοκρασία συντήρησης είναι ίδια με την θερμοκρασία περιβάλλοντος τότε δεν ανιχνεύεται σημαντική αλλαγή στην Tg.

Πίνακας 2. Θερμοκρασία υαλώδους μετάβασης (Tg) και σχετική υγρασία (%RH) για την εγκλεισμένη σκόνη.

Δείγμα	Συνθήκες αποθήκευσης	Θερμοκρασία Υαλώδους Μετάπτωσης, Tg (°C)	Σχετική Υγρασία (RH%)
Φρέσκο	Μέρα 0	$47,67 \pm 3,09^{b}$	$15,0 \pm 0,50^{a,b}$
A_40	Μέρα 30 Θερμοκρασία 40°C	$86,36 \pm 1,21^{a}$	$16,1 \pm 1,20^{a}$
B_22	Μέρα 30 Θερμοκρασία 22°C	$51,19 \pm 2,39^{b}$	$13,2 \pm 1,35^{a,b}$
Γ_4	Μέρα 30 Θερμοκρασία 4°C	$20,48 \pm 0,44^{c}$	$12,5 \pm 1,54^{b}$

*Μέση τιμή ± τυπική απόκλιση

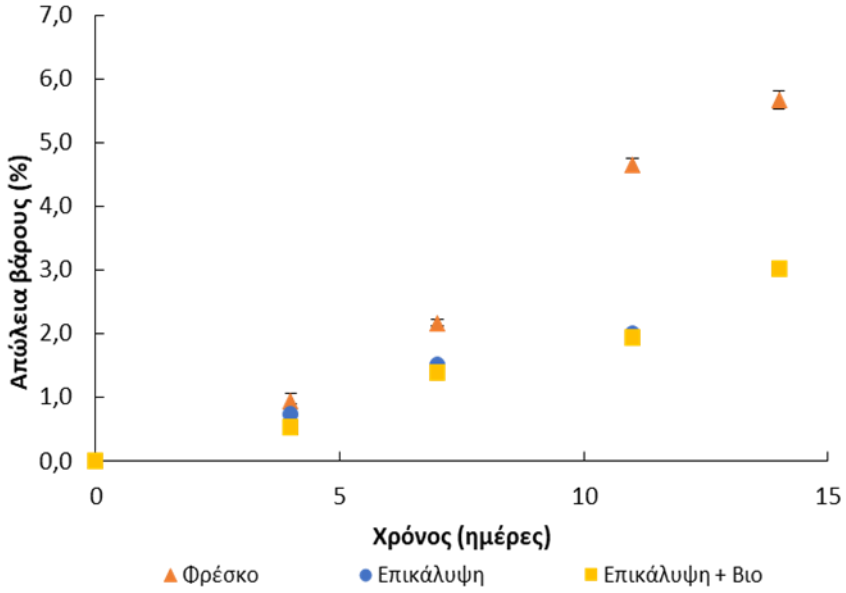
** Οι τιμές στην ίδια στήλη με διαφορετικά αλφαβητικά γράμματα διαφέρουν σημαντικά ($p<0,05$).

6.5 Αξιολόγηση επικαλυμμένων σμέουρων

6.5.1 Απώλεια βάρους

Ένας από τους ποιοτικούς δείκτες που χρησιμοποιείται για τη μελέτη της διάρκειας ζωής των φρούτων είναι η απώλεια βάρους. Τα φρούτα υφίστανται απώλεια βάρους κατά την διάρκεια της συντήρησης ακόμα και όταν αυτή γίνεται σε ιδανικές συνθήκες και μειώνει την γενικότερη ποιότητα του φρούτου. Οι δύο φυσιολογικές διεργασίες που συμβάλουν στην απώλεια βάρους είναι η αναπνοή και η διαπνοή [53]. Επιπλέον, η ύπαρξη επικάλυψης συντελεί στην μικρότερη απώλεια βάρους κατά την διάρκεια της συντήρησης [54].

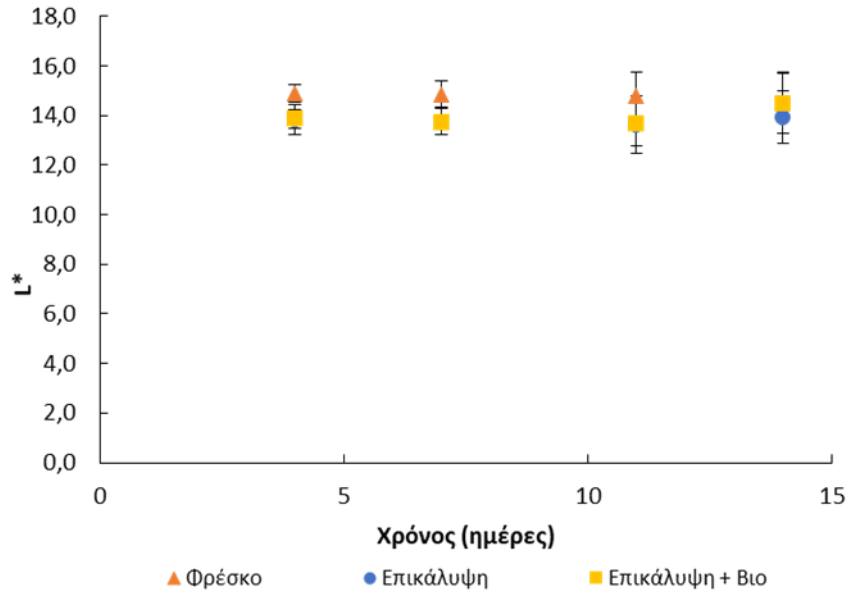
Στο Διάγραμμα 2 παριστάνεται η σχέση της απώλειας βάρους των σμέουρων σε σχέση με τον χρόνο συντήρησης τους. Συγκεκριμένα, φαίνεται ότι στα φρέσκα μούρα χωρίς επικάλυψη η απώλεια βάρους αυξάνεται σημαντικά όσο μεγαλώνει ο χρόνος συντήρησης. Αντίθετα, στα μούρα που έχουν επικάλυψη με ή χωρίς βιοδραστική ουσία η απώλεια βάρους με το πέρας του χρόνου είναι αρκετά μικρότερη. Ειδικότερα, δεν παρατηρείται ιδιαίτερη διαφορά ανάμεσα στα μούρα με επικάλυψη και σε αυτά που έχουν επικάλυψη με βιοδραστική ουσία. Επομένως, η επεξεργασία που υπέστη το σμέουρο συνέβαλε στην καλύτερη συντήρηση του και την αύξηση της διάρκειας ζωής του. Ακόμα, οι επικαλύψεις με πρωτεΐνες που προέρχονται από φύκια έχουν επιδείξει ανώτερες επιδόσεις στην διατήρηση της ποιότητας των μούρων συγκριτικά με άλλα υλικά επικάλυψης. Αυτό οφείλεται κυρίως στην υδρόφιλη φύση των πρωτεινών των φυκιών η οποία διευκολύνει τον σχηματισμό ισχυρών φραγμών, επιβραδύνοντας με επιτυχία την απώλεια υγρασίας, παρατείνοντας έτσι την διάρκεια ζωής του φρούτου στο ράφι [43].



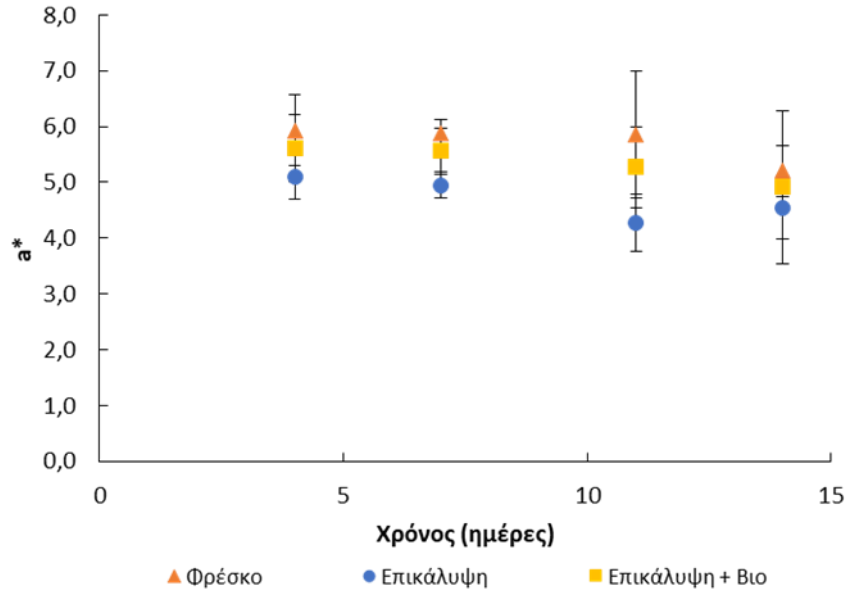
Διάγραμμα 2. Ποσοστό απώλειας βάρους σμέουρων σε σχέση με τον χρόνο συντήρησης.

6.5.2 Μεταβολή χρώματος

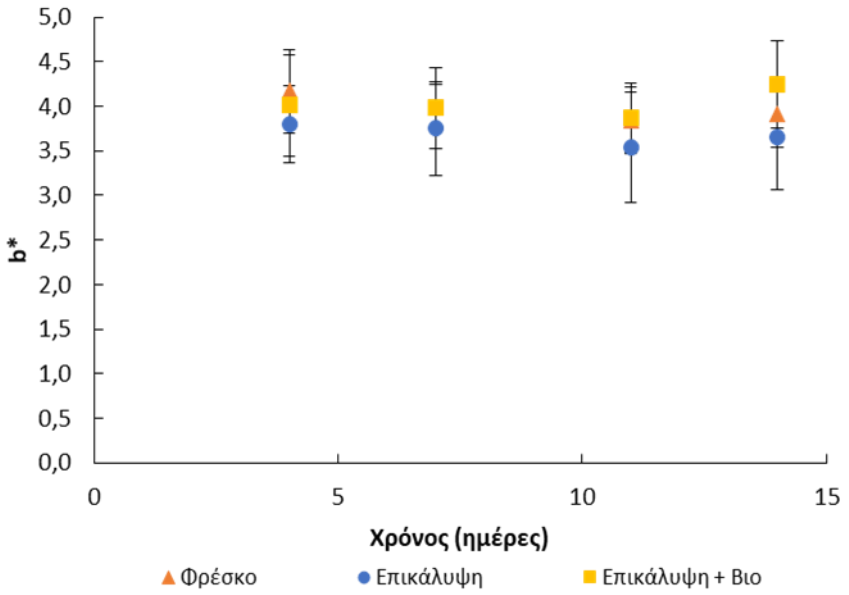
Το χρώμα αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για την φρεσκάδα του προϊόντος αλλά και για την αποδοχή των καταναλωτών καθώς υποδηλώνει την φάση της ωρίμανσης που βρίσκεται το φρούτο. Στα Διαγράμματα 3,4 και 5 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα για την μεταβολή χρώματος, με βάση τους δείκτες L^*, a^*, b^*, των φρέσκων σμέουρων, των σμέουρων με εδώδιμη επικάλυψη και τέλος εκείνων με εδώδιμη επικάλυψη και βιοδραστική ουσία.



Διάγραμμα 3. Μεταβολή χρώματος σμέουρων σε σχέση με τον χρόνο συντήρησης με βάση την παράμετρο *L.**



Διάγραμμα 4. Μεταβολή του χρώματος των σμέουρων σε σχέση με τον χρόνο συντήρησης με βάση την παράμετρο *a.**



Διάγραμμα 5. Μεταβολή χρώματος των σμέουρων σε σχέση με τον χρόνο με βάση την παράμετρο *b.**

Στο Διάγραμμα 3 παρουσιάζεται η μεταβολή χρώματος των σμέουρων έως την 14η μέρα συντήρησης με βάση την παράμετρο *L**. Φαίνεται πως οι τιμές δεν εμφανίζουν μεγάλες αλλαγές όμως παρατηρείται μια μικρή τάση μείωσης. Επίσης, από το Διάγραμμα 4 διακρίνεται μία μικρή μείωση των τιμών της παραμέτρου *a** κατά την διάρκεια του χρόνου συντήρησης για όλα τα σμέουρα και ειδικότερα για αυτό με την επικάλυψη και την επικάλυψη με βιοδραστική ουσία. Παράλληλα, στο Διάγραμμα 5 η παράμετρος *b** μέχρι την 11η μέρα τείνει να μειωθεί και την 14η μια ελάχιστη αύξηση. Από το Διαγράμματα 3, 4 και 5 συμπεραίνεται πως τα σμέουρα καθώς ωριμάζουν γίνονται λιγότερο κόκκινα και περισσότερο μπλε και μειώνεται ελαφρώς η φωτεινότητα τους [55].

6.5.3 Ολικά διαλυτά στερεά

Η τιμή των ολικών διαλυμένων στερεών (TSS) επηρεάζει την γεύση και με την πάροδο του χρόνου αυξάνεται καθώς το φρούτο ωριμάζει και η περιεκτικότητα του σε σάκχαρα αυξάνεται. Η μεταβολή των ολικών διαλυτών στερεών για τα τρία δείγματα σμέουρων φαίνεται στον Πίνακα 3.

Πίνακας 3. Ολικά διαλυτά στερεά δειγμάτων μέρα 0 και μέρα 11.

	Μέρα	TSS
Φρέσκο	0	10.3 ± 0,2
	11	8.3 ± 0,1
Εδώδιμη	0	7.2 ± 0,2
	11	8.1 ± 0,2
Εδώδιμη + Βιοδραστικό	0	7.6 ± 0,1
	11	8.5 ± 0,1

*Μέση τιμή ± τυπική απόκλιση

Στα μούρα με εδώδιμη επικάλυψη και επικάλυψη με βιοδραστική ουσία παρατηρείται μικρή αύξηση της τιμής την 11η μέρα συντήρησης, το οποίο έρχεται σε συμφωνία με αντίστοιχες έρευνες [53, 56]. Όμως, στο φρέσκο μούρο διακρίνεται μείωση της τιμής των TSS για την 11η μέρα συντήρησης. Αυτό μπορεί να οφείλεται στην μεταβολική διαδικασία αναπνοής του μούρου που έχει ως αποτέλεσμα την μείωση των ολικών διαλυμένων στερεών. Αναλυτικότερα, κατά την αναπνοή καταναλώνονται οξυγόνο και διαλυτά στερεά όπως σάκχαρα για την παραγωγή ενέργειας με συνέπεια την συνολική μείωση των TSS του φρούτου [57]. Επομένως, η ελάττωση της τιμής του TSS για το φρέσκο φρούτο την 11η μέρα συντήρησης εξηγείται από τον υψηλό βαθμό μεταβολισμού του φρούτου μετά την συγκομιδή και την έναρξη της διαδικασίας γύρνασης [58].

6.5.4 Ολική οξύτητα

Η ολική οξύτητα τυπικά μειώνεται όσο αυξάνονται οι μέρες συντήρησης [56]. Η ολική οξύτητα των σμέουρων παρουσιάζεται στον Πίνακα 4.

Πίνακας 4. Ολική οξύτητα δειγμάτων μέρα 0 και μέρα 11.

	Μέρα	Ολική οξύτητα
Φρέσκο	0	0,224 ± 0,012
	11	0,109 ± 0,014
Εδώδιμη	0	0,192 ± 0,021
	11	0,109 ± 0,013
Εδώδιμη + Βιοδραστικό	0	0,256 ± 0,025
	11	0,237 ± 0,023

*Μέση τιμή ± τυπική απόκλιση

Γενικότερα, η μείωση της οξύτητας κατά την διάρκεια της ωρίμανσης των σμέουρων αποδίδεται στην χρήση των οργανικών οξέων ως υποστρώματα κατά την αναπνοή και ως ανθρακικό σκελετό για την σύνθεση νέων ενώσεων [53, 58]. Μεγαλύτερη μείωση εμφανίζουν τα φρέσκα μούρα με την τιμή της ΤΑ να μεταβάλλεται από 0,224 ± 0,012 στο 0,109 ± 0,014 και αμέσως μετά τα μούρα με εδώδιμη επικάλυψη από 0,192 ± 0,021 στο 0,109 ± 0,013. Ακόμα, η ολική οξύτητα των μούρων με εδώδιμη επικάλυψη και βιοδραστική ουσία είχε την μικρότερη ελάττωση και η τιμή της ΤΑ μένει σχεδόν σταθερή έως την 11η μέρα. Ακόμα, οι εδώδιμες επικαλύψεις με πρωτεΐνες από το μικροφύκος *Chlorella Vulgaris* έχουν κριθεί αποδοτικές στην διατήρηση της ολική οξύτητας των μούρων [43]. Επομένως, η ύπαρξη εδώδιμης επικάλυψης και ειδικότερα επικάλυψης με βιοδραστική ουσία συμβάλει στην ελάχιστη αλλαγή της ΤΑ και στην καλύτερη διατήρηση του μούρου.

6.5.5 Αντιοξειδωτική ικανότητα

Η αντιοξειδωτική ικανότητα των σμέουρων μπορεί να εκφραστεί με μια παράμετρο που ονομάζεται IC_{50} και δηλώνει την συγκέντρωση του εκχυλίσματος που απαιτείται για την δέσμευση του 50% των ελεύθερων ριζών. Αναλυτικότερα, η τιμή του IC_{50} συνδέεται με την αντιοξειδωτική ικανότητα του φρούτου και όσο μικρότερες τιμές

παίρνει τόσο αυξάνεται η αντιοξειδωτική ικανότητα [59]. Στο Πίνακα 5 παρουσιάζονται οι τιμές του IC_{50} για όλα τα δείγματα την μέρα 0 καθώς και την 14η μέρα συντήρησης.

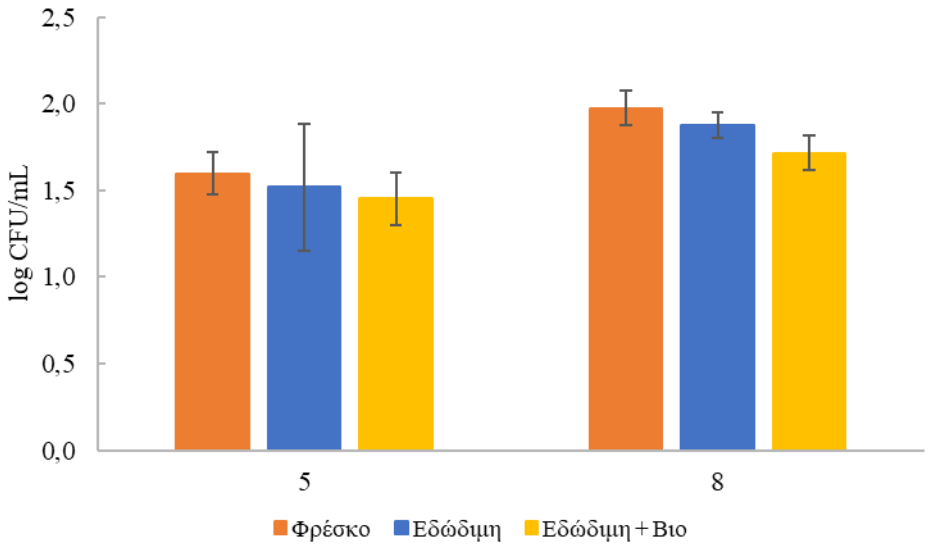
Πίνακας 5. Αντιοξειδωτική ικανότητα δειγμάτων μέρα 0 και μέρα 11.

	Μέρα	IC50
Φρέσκο	0	1,580
	11	1,590
Εδώδιμη	0	1,410
	11	1,380
Εδώδιμη + Βιοδραστικό	0	0,967
	11	0,790

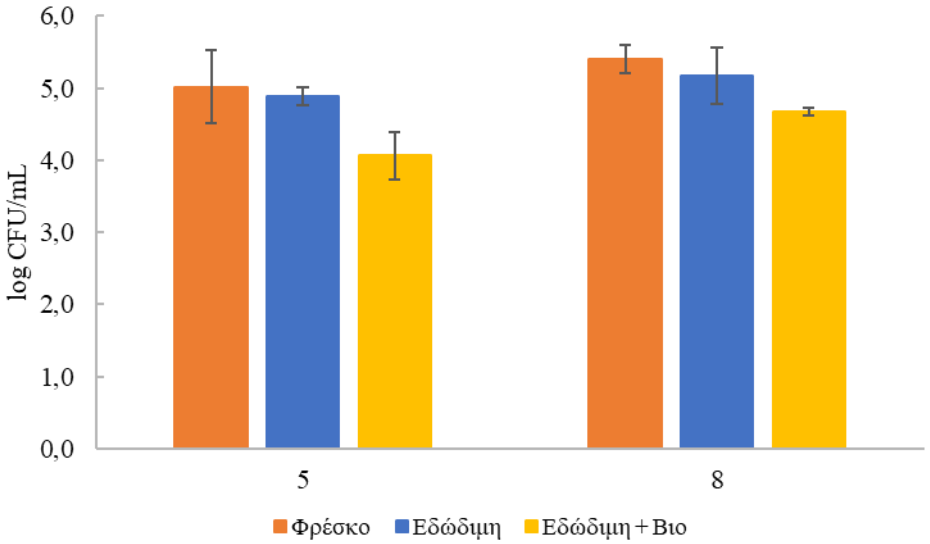
Όπως φαίνεται και στον Πίνακα 5 για το φρέσκο μούρο η αλλαγή της τιμής θεωρείται αμελητέα. Αντίθετα, για το σμέουρο με επικάλυψη και βιοδραστική ουσία διακρίνεται σημαντική μείωση την 11η μέρα με αποτέλεσμα να αυξάνεται η αντιοξειδωτική του ικανότητα. Από τα αποτελέσματα συμπεραίνεται πως η ύπαρξη εδώδιμης επικάλυψης αλλά και βιοδραστικής ουσίας επιφέρει αύξηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του σμέουρου. Παρόμοια αποτελέσματα εμφάνισαν και έρευνες για σμέουρα και μαύρα μούρα επικαλυμμένα με τζελ Aloe Vera [54, 58]. Παράλληλα, τα εκχυλίσματα φυκιών είναι πλούσια σε φυσικά αντιοξειδωτικά, τα οποία ενισχύουν σημαντικά τις αντιοξειδωτικές ικανότητες των επικαλύψεων που προκύπτουν [43].

6.5.6 Μικροβιολογική ανάλυση

Πραγματοποιήθηκε μικροβιολογική ανάλυση και στα τρία δείγματα σμέουρων και μελετήθηκε η ανάπτυξη μυκήτων και μούχλας (Yeast and mould, YM), Escherichia Coli (E.Coli) και μικροοργανισμών (Total count, TC). Στα διαγράμματα παρουσιάζεται η ανάπτυξη τους την 5η μέρα συντήρησης και την 8η μέρα συντήρησης.



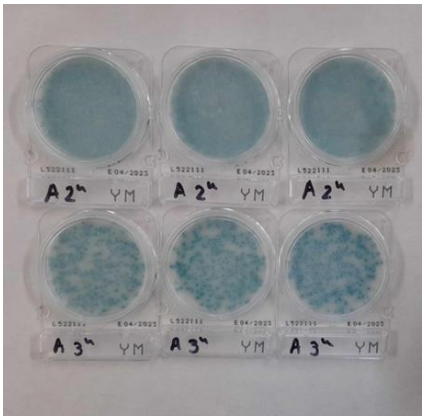
Διάγραμμα 6. Μικροβιολογική ανάλυση για τα δείγματα σμέουρων για ανάπτυξη ΥΜ την 5η και την 8η μέρα συντήρησης.



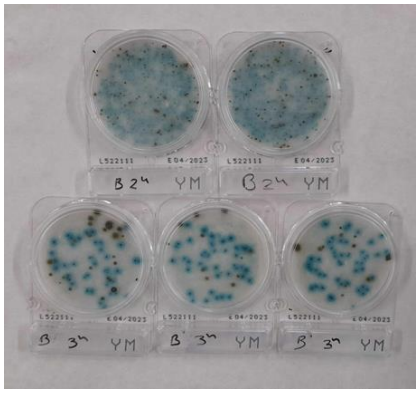
Διάγραμμα 7. Μικροβιολογική ανάλυση των δειγμάτων σμέουρου για την ανάπτυξη ΤC την 5η και την 8η μέρα συντήρησης.

Τα αποδεκτό όριο ανάπτυξης από την βιλιογραφία για το οποίο είναι ασφαλής η κατανάλωση είναι το 5 log CFU/mL για τα ΤC ενώ για τα ΥΜ είναι 3 log CFU/ml και όποτε η τιμή ξεπερνά το όριο τότε το σμέουρο δεν είναι κατάλληλο για βρώση [60]. Η μικροβιολογική ανάλυση έδειξε μηδενική ανάπτυξη ΕC και για τα τρία δείγματα σμέουρου για όλες τις μέρες συντήρησης. Επιπλέον, από το Διάγραμμα 6 φαίνεται πως οι τιμές ανάπτυξης των ΥΜ και για τα τρία δείγματα ήταν κάτω του ορίου. Παρόλα αυτά, το σμέουρο που είχε εδώδιμη επικάλυψη και βιοδραστική ουσία έδειξε την μικρότερη ανάπτυξη. Ακόμα, από το Διάγραμμα 7 συμπεραίνεται πως για το φρέσκο σμέουρο και εκείνο με εδώδιμη επικάλυψη οι τιμές ξεπερνούν το όριο την 5η και την 9η μέρα συντήρησης για την ανάπτυξη των ΤC. Αντίθετα, η ανάπτυξη για το σμέουρο με εδώδιμη επικάλυψη και βιοδραστική ουσία βρίσκεται κάτω του ορίου. Με βάση τα παραπάνω αποτελέσματα η επικάλυψη με βιοδραστική

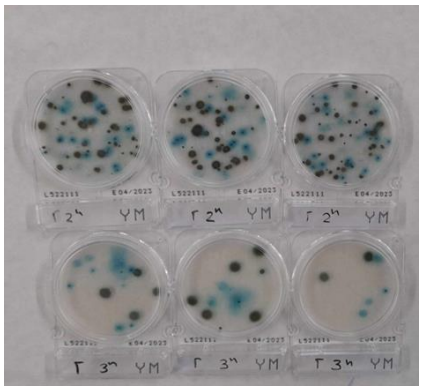
ουσία κρίνεται επιτυχής στην αναστολή ανάπτυξης ΤC αλλά και ΥΜ άνω του επιτρεπτού ορίου. Καταλήγοντας, η ύπαρξη βιοδραστικής ουσίας και συγκεκριμένα ροσμαρινικού οξέος βελτίωσε σημαντικά την αντιμικροβιακή ικανότητα των επικαλύψεων [61].



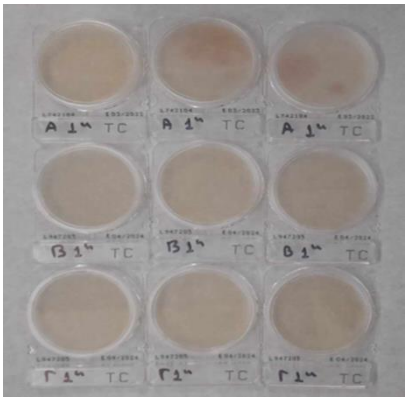
Εικόνα 33. Ανάπτυξη ΥΜ την 5η μέρα συντήρησης των φρέσκων σμέουρων.



Εικόνα 34. Ανάπτυξη ΥΜ την 5η μέρα συντήρησης των σμέουρων με εδώδιμη επικάλυψη.

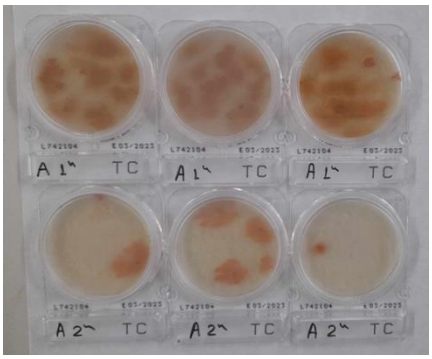


Εικόνα 35. Ανάπτυξη ΥΜ για την 5η μέρα συντήρησης των σμέουρων με εδώδιμη επικάλυψη και βιοδραστική ουσία

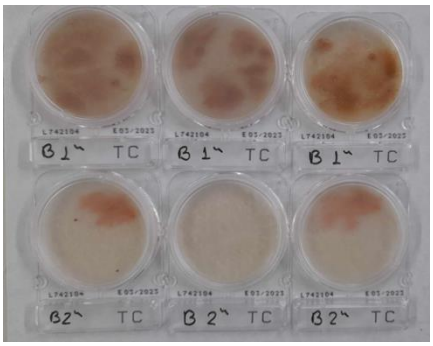


Εικόνα 36. Ανάπτυξη ΤC για την 5η μέρα συντήρησης των Α.) φρέσκων σμέουρων, Β.) με εδώδιμη επικάλυψη και Γ.) εδώδιμη επικάλυψη με βιοδραστική ουσία.

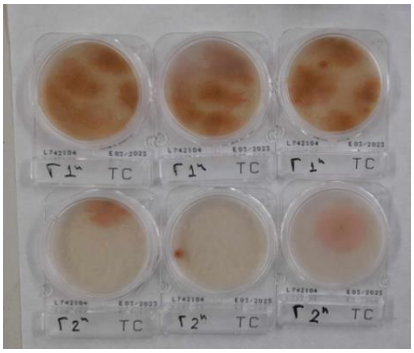
Στις εικόνες 33 έως 36 παρουσιάζεται η ανάπτυξη των μικροβιολογικών οργανισμών ΤC και ΥΜ για την 5η μέρα συντήρησης των σμέουρων. Παρατηρείται ότι στην εικόνα 33 η ανάπτυξη των ΥΜ για τα φρέσκα σμέουρα είναι πολύ μεγάλη και για να είναι δυνατή η καταμέτρηση των αποικιών έγιναν 2 αραιώσεις στον χυμό του σμέουρου. Παράλληλα, από την εικόνα 34 φαίνεται πως και για τα σμέουρα με εδώδιμη επικάλυψη η ανάπτυξη των ΥΜ είναι μεγάλη, ενώ στην εικόνα 35 η ανάπτυξη των ΥΜ για τα σμέουρων με εδώδιμη επικάλυψη και βιοδραστική ουσία είναι εμφανώς μικρότερη και οι αποικίες των οργανισμών είναι εύκολα μετρήσιμες. Ακόμα στην εικόνα 36 φαίνεται η ανάπτυξη των ΤC και για τα τρία σμέουρα και διακρίνεται ανάπτυξη αποικιών μόνο στο φρέσκο σμέουρο.



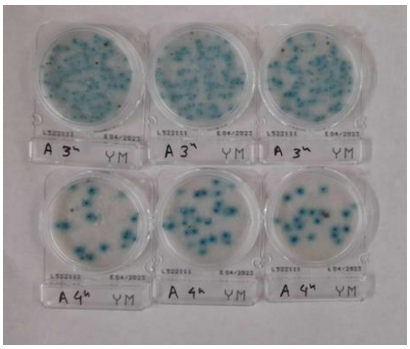
Εικόνα 37. Ανάπτυξη ΤC για την 8η μέρα συντήρησης των φρέσκων σμέουρων



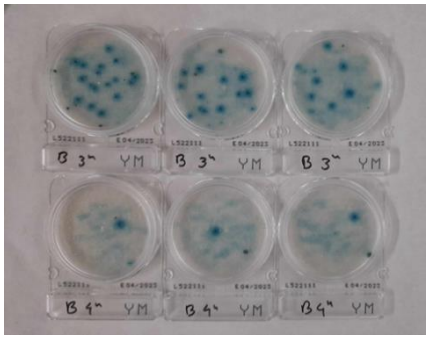
Εικόνα 38. Ανάπτυξη ΤC για την 8η μέρα συντήρησης των σμέουρων με εδώδιμη επικάλυψη.



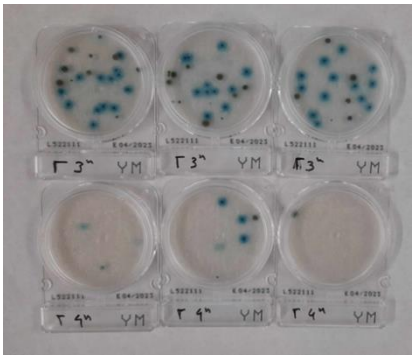
Εικόνα 39. Ανάπτυξη ΤC για την 8η μέρα συντήρησης των σμέουρων με εδώδιμη επικάλυψη και βιοδραστική ουσία.



Εικόνα 40. Ανάπτυξη ΥΜ για την 8η μέρα συντήρησης των φρέσκων σμέουρων.



Εικόνα 41. Ανάπτυξη ΥΜ για την 8η μέρα συντήρησης των σμέουρων με εδώδιμη επικάλυψη.



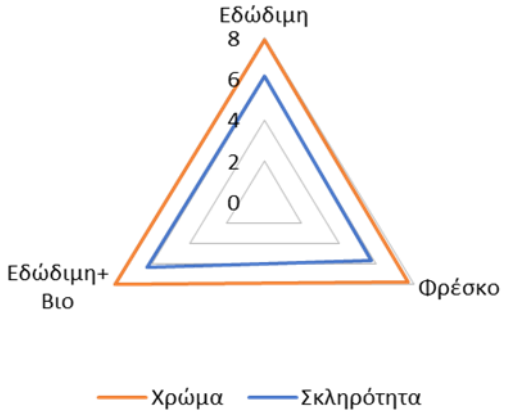
Εικόνα 42. Ανάπτυξη ΥΜ για την 8η μέρα συντήρησης των σμέουρων με εδώδιμη επικάλυψη και βιοδραστική ουσία.

Στις εικόνες 37 έως 42 παρουσιάζεται η ανάπτυξη μικροοργανισμών ΥΜ και ΤC που παρατηρήθηκε για τα τρία δείγματα σμέουρων την 8η μέρα συντήρησης. Για την

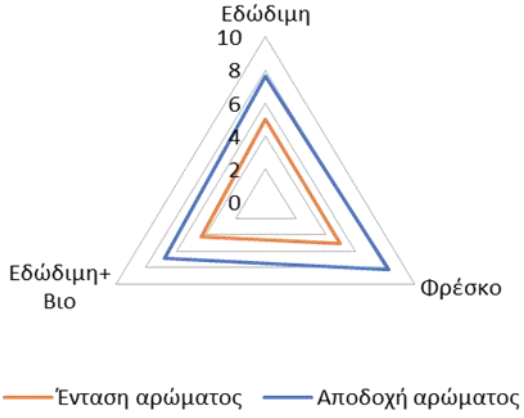
ανάπτυξη των TC και YM συγκριτικά με τα φρέσκα σμέουρα και εκείνα με εδώδιμη επικάλυψη και επικάλυψη με βιοδραστική ουσία συμπεραίνεται πως το φρέσκο είναι πολύ ποιο ευάλωτο στην ανάπτυξη μικροοργανισμών. Συγκεκριμένα, από τις εικόνες 37 έως 42 φαίνεται πως οι περισσότερες αποικίες TC και YM αναπτύχθηκαν στα φρέσκα μούρα. Σχετικά μεγάλη ανάπτυξη παρατηρήθηκε και στα σμέουρα με εδώδιμη επικάλυψη. Η μικρότερη ανάπτυξη αποικιών TC και YM διακρίνεται στα σμέουρα με εδώδιμη επικάλυψη και βιοδραστική ουσία με αποτέλεσμα να φαίνεται η αντιμικροβιακή δράση και η αναστολή στην ανάπτυξη μικροοργανισμών της βιοδραστικής ουσίας.

6.5.7 Οργανοληπτικός έλεγχος

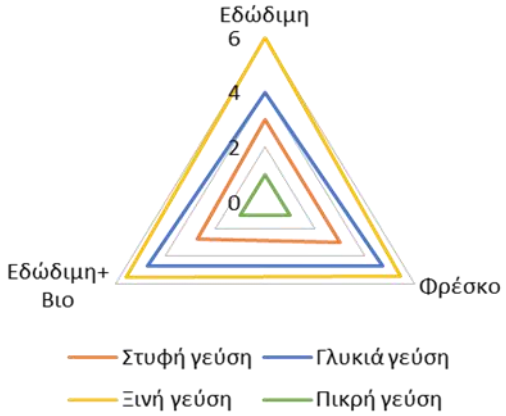
Στα Διαγράμματα 8, 9, 10 και 11 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του οργανοληπτικού ελέγχου που έγινε για τα φρέσκα σμέουρα, τα σμέουρα με επικάλυψη και επικάλυψη και βιοδραστική ουσία.



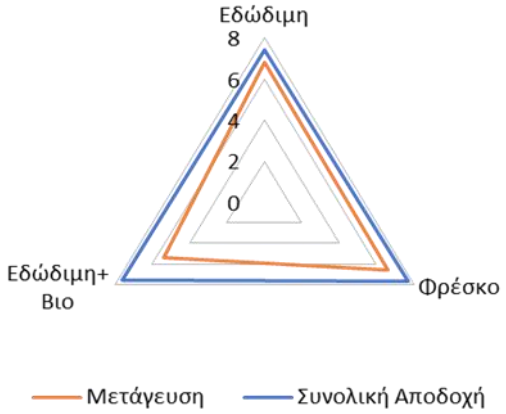
Διάγραμμα 8. Οργανοληπτικός έλεγχος εμφάνισης δειγμάτων.



Διάγραμμα 9. Οργανοληπτικός έλεγχος αρώματος δειγμάτων.



Διάγραμμα 10. Οργανοληπτικός έλεγχος γεύσης δειγμάτων.



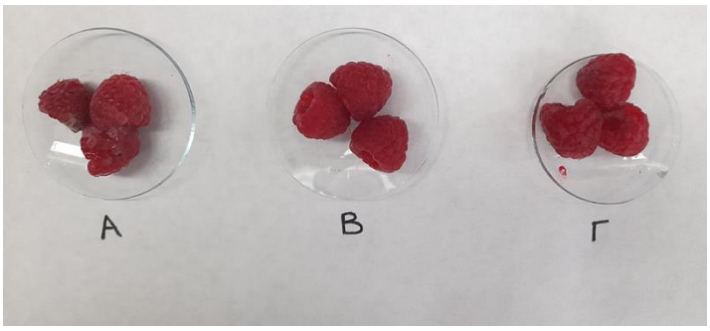
Διάγραμμα 11. Οργανοληπτικός έλεγχος δειγμάτων

Η ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε πως δεν υπάρχουν σημαντικές στατιστικές διαφορές ανάμεσα στα τρία δείγματα σμέουρων επομένως η ύπαρξη επικάλυψης αλλά και βιοδραστικής ουσίας δεν επηρέασε σημαντικά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του σμέουρου. Ακόμα, η συνολική αποδοχή των μούρων δεν μεταβλήθηκε και δεν υπήρχε σημαντική διάκριση ανάμεσα στα τρία δείγματα.

6.6 Οπτική παρατήρηση

Στις εικόνες 43 και 44 παρουσιάζεται η οπτική αλλαγή των τριών δειγμάτων σμέουρων.

Εικόνα 43. Συντήρηση δειγμάτων σμέουρων για την 5η μέρα συντήρησης για Α.) φρέσκα σμέουρα, Β.) με εδώδιμη επικάλυψη, Γ.) εδώδιμη επικάλυψη και βιοδραστική ουσία.



Εικόνα 44. Συντήρηση δειγμάτων σμέουρου για την 10η μέρα συντήρησης για Α.) φρέσκα σμέουρα, Β.) με εδώδιμη επικάλυψη, Γ.) εδώδιμη επικάλυψη και βιοδραστική ουσία.

Στην εικόνα 43 παρατηρείται πως το φρέσκο μούρο την 5η μέρα συντήρησης έχει χάσει την σφριγηλότητα του και φαίνεται λιγότερο φρέσκο. Αντίθετα, τα σμέουρα με εδώδιμη επικάλυψη και επικάλυψη με βιοδραστική ουσία έχουν κρατήσει την σφριγηλότητα τους και δεν φαίνεται κάποια σημαντική οπτική αλλαγή στα μούρα. Παράλληλα, με βάση την εικόνα 44 διακρίνεται πως το φρέσκο σμέουρο έχει γίνει πιο μαλακό και έχει αναπτυχθεί μούχλα σε σχέση με τα επικαλυμμένα μούρα τα οποία έχουν διατήρηση σε καλύτερο βαθμό την φρεσκάδα τους.

Από τα παραπάνω αποτελέσματα συμπεραίνεται πως η ύπαρξη εδώδιμης επικάλυψης και ιδιαίτερα επικάλυψης με βιοδραστική ουσία παρατείνει την διάρκεια ζωής των σμέουρων. Ειδικότερα, το ροσμαρινικό οξύ προσδίδει καλύτερες αντιμικροβιακές ιδιότητες και διατηρεί για περισσότερο καιρό την φρεσκάδα, και την ποιότητα του σμέουρου. Συνεπώς, η εδώδιμη επικάλυψη με εγκλεισμένη βιοδραστική ουσία παρουσίασε τις καλύτερες ιδιότητες στην διατήρησης του σμέουρου.

7 Συμπεράσματα – Μελλοντικά βήματα

Τα τελευταία χρόνια έχει παρατηρηθεί έντονο ερευνητικό ενδιαφέρον στο τομέα των τροφίμων για την ανάπτυξη καινοτόμων και αποτελεσματικών τεχνολογιών για την καλύτερη συντήρηση των φρέσκων φρούτων. Ειδικότερα, οι νέες καταναλωτικές ανάγκες και οι προτιμήσεις για πιο φυσικά προϊόντα χωρίς την χρήση πρόσθετων χημικών συντηρητικών τονίζουν την αναγκαιότητα καθιέρωσης νέων στρατηγικών στην διατήρηση της ποιότητας των φρούτων. Οι εδώδιμες επικαλύψεις με πρόσθετες βιοδραστικές ουσίες παρουσιάζονται ως αποτελεσματική λύση στο πρόβλημα των συντήρησης των ευπαθών φρούτων. Παράλληλα, οι βιοδραστικές λόγω της ευαισθησίας που παρουσιάζουν σε διάφορους εξωτερικούς παράγοντες χρειάζονται μια μορφή προστασίας. Την απάντηση δίνει η μέθοδος του εγκλεισμού η οποία έχει ευρύ φάσμα εφαρμογών και παρέχει την ελεγχόμενη αποδέσμευση των βιοδραστικών ουσιών, την προστασία τους από το περιβάλλον καθώς και την αποδοτικότερη δράση τους.

Στην παρούσα διπλωματική εργασία μελετάται η ανάπτυξη εδώδιμων επικαλύψεων οι οποίες περιέχουν εγκλεισμένες βιοδραστικές ουσίες φυτικής προέλευσης με στόχο την εφαρμογή τους σε σμέουρα για την παράταση της διάρκειας ζωής τους. Η χρήση βιοδραστικών ουσιών από βότανα προσδίδει στην επικάλυψη αντιμικροβιακή δράση, αναστέλλοντας την ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών, αλλά και αντιοξειδωτική δράση. Συγκεκριμένα, ως βιοδραστική ουσία επιλέχθηκε υδατικό εκχύλισμα δεντρολίβανου το οποίο είναι πλούσιο σε ροσμαρινικό οξύ. Έπειτα, το υδατικό εκχύλισμα εγκλείστηκε σε πολυμερική μήτρα ζεΐνης μέσω ηλεκτροϋδροδυναμικής διεργασίας και πιο συγκεκριμένα με την τεχνική του ηλεκτροψεκασμού. Παράλληλα, ελέγχθηκε η κατάλληλη αναλογία αιθανόλης και υδατικού εκχυλίσματος δεντρολίβανου για την πλήρη διάλυση ζεΐνης σε περιεκτικότητα 10% w/v και το ιδανικότερο διάλυμα προχώρησε προς εγκλεισμό. Η τελική μορφή της νανοεγκλεισμένης σκόνης αναλύθηκε ως προς την μορφολογία της και την απόδοση του εγκλεισμού της βιοδραστικής ουσίας.

Η μελέτη της τεχνικής του ηλεκτροψεκασμού για τον εγκλεισμό βιοδραστικής ουσίας (ροσμαρινικού οξέος) σε μήτρα ζεΐνης με διαλύτη αιθανόλη απέδωσε τα παρακάτω αποτελέσματα:

- Η ιδανική αναλογία του πολυμερικού διαλύματος σε αιθανόλης-νερό για την πλήρη διάλυση της ζεΐνης ήταν 80:20. Μικρότερη ποσότητα αιθανόλης δημιουργούσε θολότητα στο διάλυμα και χρειαζόταν περισσότερη ανάδευση για μην υπάρχουν ίχνη στερεής ζεΐνης.
- Η βέλτιστη περιεκτικότητα ζεΐνης του πολυμερικού διαλύματος προς ηλεκτροψεκασμό ήταν 10% w/v για την αποτελεσματική δημιουργία σφαιρικών σωματιδίων και την απουσία δημιουργίας ινών. Η μορφολογία των δομών ελέγχθηκε με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) με το οποίο επιβεβαιώθηκε το αποτέλεσμα.

- Οι βέλτιστες συνθήκες λειτουργίας του ηλεκτροψεκασμού στις οποίες ελαχιστοποιήθηκε η παραγωγή σταγονιδίων, με σταθερό Taylor cone και αποτελεσματική δημιουργία σκόνης ήταν τάση 20 kV, ροή 0,5 ml/h και απόσταση βελόνας-συλλέκτη 10 cm.
- Η σταθερότητα της παραλαμβανόμενης εγκλεισμένης σκόνης ελέγχθηκε μετά από ένα μήνα συντήρησης με ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης. Η δομή της μορφολογίας των σωματιδίων ζεΐνης παρέμεινε σχεδόν απαράλλακτη κατά την διάρκεια του χρόνου συντήρησης.
- Η απόδοση εγκλεισμού της βιοδραστικής ουσίας ροσμαρινικού οξέος σε μήτρα ζεινης ήταν η μέγιστη με τις βέλτιστες συνθήκες ηλεκτροψεκασμού. Συγκεκριμένα, η απόδοση έφτασε την τιμή του 83,2% με την εφαρμογή των βέλτιστων συνθηκών ροής, απόσταση βελόνας-συλλέκτη και τάσης.

Γενικά, οι ηλεκτροϋδροδυναμικές μέθοδοι και συγκεκριμένα ο ηλεκτροψεκασμός προσφέρει πολλά σημαντικά πλεονεκτήματα σε σύγκριση με τις υπόλοιπες τεχνικές εγκλεισμού. Παρόλα αυτά, χρειάζεται να γίνουν περισσότερες μελέτες και η υπάρχουσα τεχνολογία να αναπτυχθεί για να μπορέσει ο εγκλεισμός να εισαχθεί ως πάγια τακτική στον τομέα των τροφίμων. Η ανάπτυξη των βέλτιστων συνθηκών εγκλεισμού στον ηλεκτροψεκασμό απαιτεί πλήρη κατανόηση της διαδικασίας καθώς και των ιδιοτήτων των δομών που προκύπτουν. Αναλυτικότερα, στον ηλεκτροψεκασμό η απόδοση αλλά και η μορφολογία των δομών που προκύπτουν επηρεάζονται σημαντικά από τις πειραματικές συνθήκες και τα χαρακτηριστικά του εκάστοτε πολυμερούς και έτσι είναι δύσκολη η ανάπτυξη κάποιας γενικευμένης μεθοδολογίας. Οι κατάλληλες συνθήκες λειτουργίας βρίσκονται μόνο με πολλαπλούς πειραματικούς ελέγχους και με βιβλιογραφική έρευνα προηγούμενων μελετών. Ένα σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει το πειραματικό αποτέλεσμα είναι και η εμπειρία του χειριστή καθώς το όργανο παρουσιάζει μεγάλη ευαισθησία έως ότου φτάσει στην μόνιμη κατάσταση. Ακόμα, πρόκληση αποτελεί η παραγωγικότητα της μεθόδου καθώς είναι αρκετά χαμηλή γεγονός που δυσχεραίνει την κλιμάκωση μεγέθους και την εφαρμογή της για μαζική παραγωγή στην βιομηχανία.

Οι εδώδιμες επικαλύψεις λειτουργούν αποτρεπτικά στην υποβάθμιση της ποιότητας του προϊόντος κατά την ωρίμανση του δρώντας ως προστατευτικό στρώμα το οποίο περιβάλει το τρόφιμο και εμποδίζει την οξείδωση, την μεταφορά υγρασία και πτητικών ενώσεων. Ταυτόχρονα οι επιτυχημένη δράση των εδώδιμων επικαλύψεων οφείλεται στο γεγονός ότι μπορούν να λειτουργήσουν αποτελεσματικά ως φορείς βιοδραστικών ενώσεων.

Αρχικά, μελετήθηκε η εκχύλιση πρωτεϊνών από μικροφύκη για την χρήση τους ως μήτρα για την εδώδιμη επικάλυψη. Συγκεκριμένα επιλέχθηκε το μικροφύκος *Chlorella vulgaris*. Η εκχύλιση πραγματοποιήθηκε με τρόπο ώστε το τελικό προϊόν να παραμένει ασφαλές προς κατανάλωση. Το μικορφύκος αυτό έχει υψηλή περιεκτικότατα σε πρωτεΐνη και αποτελεί εναλλακτική πηγή πρωτεΐνης για την ανάπτυξη εδώδιμης επικάλυψης. Για να είναι όμως βρώσιμο το παραγόμενο προϊόν η

μέθοδος εκχύλισης που χρησιμοποιήθηκε δεν μπορεί να ανακτήσει το μεγαλύτερο δυνατό ποσοστό πρωτεΐνης από το μικροφύκος.

Αναπτύχθηκαν δύο εδώδιμες επικαλύψεις με βάση τις πρωτεΐνες που εκχυλίστηκαν. Η βασική σύνθεση των δύο επικαλύψεων είναι η ίδια. Η διαφορά στην μια επικάλυψη έγκειται στην ενσωμάτωση εγκλεισμένης βιοδραστικής ουσίας ροσμαρινικού οξέος κατά την παραγωγή της που αναπτύχθηκε παραπάνω με συγκέντρωση 5 g ροσμαρινικού/ L επικάλυψης .

Μελετήθηκε η δράση και η αποτελεσματικότητα δύο διαφορετικών επικαλύψεων για την παράταση ζωής των σμέουρων. Εκτός, από τα επικαλυμμένα σμέουρα χρησιμοποιήθηκαν και φρέσκα ως δείγμα αναφοράς ώστε να είναι δυνατή η σύγκριση της αποτελεσματικότητας των επικαλύψεων. Η αξιολόγηση των επικαλυμμένων σμέουρων έγινε με τον προσδιορισμό των βασικών παραμέτρων που υποδηλώνουν την μείωση της ποιότητας και την ωρίμανση του φρούτου κατά την συντήρηση του. Αναλυτικότερα, προσδιορίστηκαν η διαφορά βάρους, η αλλαγή χρώματος, τα ολικά στερεά, η οξύτητα, η αντιοξειδωτική ικανότητα, η μικροβιολογική ανάπτυξη και οι οργανοληπτικές διαφορές ανάμεσα στα δείγματα. Ο χρόνος συντήρησης των δειγμάτων στον οποίο πραγματοποιήθηκαν οι μετρήσεις ήταν συνολικά 14 ημέρες.

Η μελέτη της δράσης των επικαλύψεων στην παράταση του χρόνου ζωής των σμέουρων απέδωσε τα παρακάτω αποτελέσματα:

- Παρατηρήθηκε πως η ύπαρξη επικάλυψης είχε θετική επίδραση στην μείωση της απώλειας βάρους του φρούτου κατά την διάρκεια της συντήρησης του. Συγκεκριμένα, τα σμέουρα με επικάλυψη και με επικάλυψη με βιοδραστική ουσία εμφάνισαν απώλεια βάρους σχεδόν 3% στις 14 ημέρες συντήρησης ενώ τα φρέσκα σμέουρα αναφοράς είχαν περίπου την διπλάσια απώλεια το ίδιο χρονικό διάστημα.
- Κατά την ωρίμανση του φρούτου αυξάνεται η τιμή των ολικών διαλυτών στερεών (TSS). Για τα σμέουρα με εδώδιμη επικάλυψη παρατηρήθηκε μικρή αύξηση των TSS ενώ αντίθετα στα φρέσκα σμέουρα διαπιστώθηκε μείωση η οποία μπορεί να οφείλεται στην υψηλή μεταβολική διαδικασία του φρούτα κατά την ωρίμανση του.
- Η ολική οξύτητα (TA) έχει μειωτική τάση κατά την ωρίμανση του φρούτου. Μικρότερη μείωση στην TA παρουσίασε η εδώδιμη επικάλυψη με βιοδραστική ουσία. Ωστόσο, την μεγαλύτερη μείωση παρουσίασαν τα φρέσκα σμέουρα αναφοράς το οποίο και υποδηλώνει την γρηγορότερη ωρίμανση τους.
- Ακόμα, τα σμέουρα με εδώδιμη επικάλυψη και βιοδραστική ουσία εμφάνισαν αυξημένη αντιοξειδωτική ικανότητα την $11^{η}$ μέρα συντήρησης σε σχέση με εκείνα με απλή εδώδιμη επικάλυψη και με τα φρέσκα.
- Η μικροβιολογική ανάλυση που πραγματοποιήθηκε έδειξε πως τα φρέσκα σμέουρα ήταν πολύ ευάλωτα σε μικροβιακή ανάπτυξη με αποτέλεσμα μετά από 8 ημέρες συντήρησης να μην είναι ασφαλή για κατανάλωση. Αντίθετα,

την καλύτερη αποτελεσματική δράση ενάντια στην ανάπτυξη μικροοργανισμών παρουσίασαν τα σμέουρα με εδώδιμη επικάλυψη και βιοδραστική ουσία και παρέμεναν κατάλληλα προς κατανάλωση έως και την $8^{η}$ μέρα συντήρησης τους. Επομένως, η αντιμικροβιακή δράση της βιοδραστικής ουσίας είχε καθοριστικό ρόλο στην επέκταση της διάρκειας ζωής του φρούτου.

- Τέλος, από τον οργανοληπτικό έλεγχο που πραγματοποιήθηκε δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές στατιστικές διαφορές ανάμεσα στα δείγματα των σμέουρων με εδώδιμες επικαλύψεις και των φρέσκων σμέουρων. Ακόμα, η προσθήκη εδώδιμης επικάλυψης με βιοδραστική ουσία δεν είχε σημαντική επίδραση στην συνολική αποδοχή του φρούτου. Συνεπώς, η ύπαρξη εδώδιμης επικάλυψης και ειδικότερα επικάλυψης με βιοδραστική ουσία δεν επηρέασε αρνητικά τα αισθητηριακά χαρακτηριστικά του σμέουρου.

Καταλήγοντας, από τα ευρήματα της πειραματικής έρευνας διαπιστώθηκε πως η ενσωμάτωση εγκλεισμένης βιοδραστικής ουσίας είχε καταλυτικό ρόλο στην παράταση της διάρκειας ζωής του σμέουρου. Πιο συγκεκριμένα, το ροσμαρινικό οξύ συνέβαλε στην αναστολή της μικροβιακής ανάπτυξης και στην αύξηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του σμέουρου.

Στην παρούσα διπλωματική εργασία αναλύεται η δράση και η αποτελεσματικότητα της εφαρμογής εδώδιμων επικαλύψεων σε σμέουρα με εγκλεισμένες βιοδραστικές ουσίες. Παρόλο που η δράση της εδώδιμης επικάλυψης με βιοδραστική αποδείχθηκε αποδοτική στην διατήρηση της ποιότητας του φρούτου και στην παράταση της διάρκειας της ζωής του, η ύπαρξη σκέτης επικάλυψης ήταν λιγότερο αποτελεσματική. Επομένως, χρειάζεται αναλυτικότερη έρευνα στην δράση των εδώδιμων επικαλύψεων με πρόσθετες βιοδραστικές ενώσεις για την χρήση τους σε μελλοντικές εφαρμογές. Επίσης, χρειάζεται να γίνουν αναλυτικότερες έρευνες για την αναστολή της μικροβιακής ανάπτυξης σε εδώδιμες επικαλύψεις από πρωτεΐνες φυκιών σε φρούτα.

Ακόμα, οι μέθοδος σχηματισμού και εφαρμογής της εδώδιμης επικάλυψης στο σμέουρο έγινε με την τεχνική της εμβάπτισης. Αυτή η τεχνική εάν και αρκετά απλή στην εκτέλεση της, αλλά εμφανίζει δυσκολία στον έλεγχο των χαρακτηριστικών της επικάλυψης. Σημαντική θα ήταν και η ανάπτυξη καινοτόμων τεχνολογιών για την βελτίωση της εφαρμογής των εδώδιμων επικαλύψεων σε βιομηχανικό επίπεδο στον τομέα των τροφίμων.

Εξίσου σημαντική είναι και η επέκταση της μελλοντικής ανάπτυξης επικαλύψεων οι οποίες εφαρμόζονται σε φρούτα και έχουν ως βάση συστατικά φυτικής προέλευσης. Με αυτό τον τρόπο παραμένει το τρόφιμο κατάλληλο για όλες τις διατροφικές προτιμήσεις και δεν αποκλείονται άτομα που ακολουθούν ειδική διατροφή όπως οι χορτοφάγοι.

Παράλληλα, τα σμέουρα είναι αρκετά ευπαθή φρούτα και η αλλοίωση της ποιότητας τους ξεκινά αμέσως μετά την συγκομιδή τους, και το φρούτο κακοποιείται κατά την

αποθήκευση και την μεταφορά του. Στην μελέτη που πραγματοποιήθηκε θεωρήθηκε ως ημέρα 0, η μέρα όπου αγοράστηκαν τα φρούτα. Παρόλα αυτά, η θεώρηση αυτή δεν είναι σωστή καθώς τα σμέουρα είχαν συλλεχθεί μέρες πριν γίνει η εφαρμογή των επικαλύψεων. Άρα έπεται πως όσο πιο νωρίς μετά την συγκομιδή επικαλύπτονται τα σμέουρα τόσο πιο αποτελεσματική θα είναι και η δράση της επικάλυψης καθώς θα εμποδιστούν οι μεταβολικές διεργασίες που λαμβάνουν χώρα στην ωρίμανση.

8 Βιβλιογραφία

1. Drosou, C.G., M.K. Krokida, and C.G. Biliaderis, *Encapsulation of bioactive compounds through electrospinning/electrospraying and spray drying: A comparative assessment of food-related applications.* Drying Technology, 2017. **35**(2): p. 139-162.
2. Alehosseini, A., et al., *Principles of electrospraying: A new approach in protection of bioactive compounds in foods.* Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2018. **58**(14): p. 2346-2363.
3. Dhiman, A., et al., *Mechanistic understanding and potential application of electrospraying in food processing: a review.* Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2022. **62**(30): p. 8288-8306.
4. Panagiotopoulou, M., S. Papadaki, and M. Krokida, *Formation and characterization of zein electrosprayed nanoparticles containing bioactive compounds.* South African Journal of Chemical Engineering, 2022. **40**: p. 32-47.
5. Nieto, G., et al., *Applications of Plant Bioactive Compounds as Replacers of Synthetic Additives in the Food Industry.* Foods, 2024. **13**(1): p. 47.
6. Nieto, G., G. Ros, and J. Castillo *Antioxidant and Antimicrobial Properties of Rosemary (Rosmarinus officinalis, L.): A Review.* Medicines, 2018. **5**, DOI: 10.3390/medicines5030098.
7. Veenstra, J.P. and J.J. Johnson, *Rosemary (Salvia rosmarinus): Health-promoting benefits and food preservative properties.* International journal of nutrition, 2021. **6**(4): p. 1.
8. Senanayake, S.N., *Rosemary extract as a natural source of bioactive compounds.* Journal of Food Bioactives, 2018. **2**: p. 51–57-51–57.
9. Britannica. *rosemarry*.
10. Aziz, E., et al., *Rosemary species: a review of phytochemicals, bioactivities and industrial applications.* South African Journal of Botany, 2022. **151**: p. 3-18.
11. Moreno, S., et al., *Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition.* Free Radical Research, 2006. **40**(2): p. 223-231.
12. Chaudhary, V., et al., *Application of Encapsulation Technology in Edible Films: Carrier of Bioactive Compounds.* Frontiers in Sustainable Food Systems, 2021. **5**.
13. Nedovic, V., et al., *An overview of encapsulation technologies for food applications.* Procedia food science, 2011. **1**: p. 1806-1815.
14. Timilsena, Y.P., M.A. Haque, and B. Adhikari, *Encapsulation in the Food Industry: A Brief Historical Overview to Recent Developments.* Food and Nutrition Sciences, 2020. **11**(06): p. 481-508.
15. Munteanu, B.S. and C. Vasile, *Encapsulation of Natural Bioactive Compounds by Electrospinning—Applications in Food Storage and Safety.* Polymers, 2021. **13**(21): p. 3771.
16. Alehosseini, A., et al., *Stabilization of a saffron extract through its encapsulation within electrospun/electrosprayed zein structures.* LWT, 2019. **113**: p. 108280.

17. Xie, J., et al., *Electrohydrodynamic atomization: A two-decade effort to produce and process micro-/nanoparticulate materials.* Chemical Engineering Science, 2015. **125**: p. 32-57.
18. Angammana, C.J. and S.H. Jayaram, *Fundamentals of electrospinning and processing technologies.* Particulate Science and Technology, 2016. **34**(1): p. 72-82.
19. Rostamabadi, H., et al., *Electrospinning approach for nanoencapsulation of bioactive compounds; recent advances and innovations.* Trends in Food Science & Technology, 2020. **100**: p. 190-209.
20. Nedović, V., et al., *Encapsulation systems in the food industry.* Advances in food process engineering research and applications, 2013: p. 229-253.
21. Khanvilkar, A., D.R. Ranveer, and A. Sahoo, *Carrier Materials for Encapsulation of Bio-active Components of Food.* International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, 2016. **40**: p. 62-73.
22. Zabot, G.L., et al., *Encapsulation of Bioactive Compounds for Food and Agricultural Applications.* Polymers, 2022. **14**(19): p. 4194.
23. Wen, P., et al., *Encapsulation of Bioactive Compound in Electrospun Fibers and Its Potential Application.* Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017. **65**(42): p. 9161-9179.
24. Shiekh, K.A., K. Ngiwngam, and W. Tongdeesoontorn, *Polysaccharide-Based Active Coatings Incorporated with Bioactive Compounds for Reducing Postharvest Losses of Fresh Fruits.* Coatings, 2022. **12**(1): p. 8.
25. Skoog, D.A., F.J. Holler, and T.A. Nieman, *Principles of Instrumental Analysis*. 1998: Saunders College Pub.
26. Dean, J.A., *Analytical chemistry handbook*. 1995, New York: McGraw-Hill.
27. Zahra Monsef, K., *Reflectance IR Spectroscopy*, in *Infrared Spectroscopy*, T. Theophile, Editor. 2012, IntechOpen: Rijeka. p. Ch. 11.
28. Bélanger, J.M.R., J.R. Jocelyn Paré, and M. Sigouin, *Chapter 2 High performance liquid chromatography (HPLC): Principles and applications*, in *Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry*, J.R.J. Paré and J.M.R. Bélanger, Editors. 1997, Elsevier. p. 37-59.
29. Lopez-Corona, A.V., et al., *Antioxidant, Anti-Inflammatory and Cytotoxic Activity of Phenolic Compound Family Extracted from Raspberries (Rubus idaeus): A General Review.* Antioxidants, 2022. **11**(6): p. 1192.
30. Britannica. *raspberry* Encyclopedia Britannica [cited 2024 5 August]; Available from: https://www.britannica.com/plant/raspberry.
31. Rao, A.V. and D.M. Snyder, *Raspberries and human health: a review.* Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010. **58**(7): p. 3871-3883.
32. Burton-Freeman, B.M., A.K. Sandhu, and I. Edirisinghe, *Red raspberries and their bioactive polyphenols: cardiometabolic and neuronal health links.* Advances in Nutrition, 2016. **7**(1): p. 44-65.
33. Pham, T.T., et al., *Application of Edible Coating in Extension of Fruit Shelf Life: Review.* AgriEngineering, 2023. **5**(1): p. 520-536.
34. Quirós-Sauceda, A.E., et al., *Edible coatings as encapsulating matrices for bioactive compounds: a review.* Journal of food science and technology, 2014. **51**: p. 1674-1685.
35. Miteluț, A.C., et al., *Latest Developments in Edible Coatings on Minimally Processed Fruits and Vegetables: A Review.* Foods, 2021. **10**(11): p. 2821.

36. Ribeiro, A.M., B.N. Estevinho, and F. Rocha, *Preparation and Incorporation of Functional Ingredients in Edible Films and Coatings.* Food and Bioprocess Technology, 2021. **14**(2): p. 209-231.
37. Kumar, L., et al., *Edible films and coatings for food packaging applications: a review.* Environmental Chemistry Letters, 2022. **20**(1): p. 875-900.
38. Díaz-Montes, E. and R. Castro-Muñoz, *Edible Films and Coatings as Food-Quality Preservers: An Overview.* Foods, 2021. **10**(2): p. 249.
39. Mari, A., C. Fafalis, and M. Krokida, *Evaluation of Edible Coatings from Components from Chlorella vulgaris and Comparison with Conventional Coatings.* Coatings, 2024. **14**(5): p. 621.
40. Coronado-Reyes, J.A., et al., *Chlorella vulgaris, a microalgae important to be used in Biotechnology: a review.* Food Science and Technology, 2022. **42**.
41. EPA, U.S.E.P.A. *Ethanol added to food / beverages and Tier II reporting (i.e., EPCRA Section 312)*. Available from: https://www.epa.gov/epcra/ethanol-added-food-beverages-and-tier-ii-reporting-ie-epcra-section-312.
42. Corrêa, P.S., et al., *Microalgae biomolecules: Extraction, separation and purification methods.* Processes, 2020. **9**(1): p. 10.
43. Mari, A., C. Fafalis, and M. Krokida, *Extension of Blueberry Shelf-Life with Edible Coatings from Chlorella Vulgaris.* Chemical Engineering Transactions, 2024. **110**: p. 79-84.
44. Brand-Williams, W., M.E. Cuvelier, and C. Berset, *Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity*. LWT - Food Science and Technology, 1995. **28**(1): p. 25-30.
45. López de Dicastillo, C., et al., *Enhancing Thermal Stability and Bioaccesibility of Açaí Fruit Polyphenols through Electrohydrodynamic Encapsulation into Zein Electrosprayed Particles.* Antioxidants, 2019. **8**(10): p. 464.
46. Miyoshi, T., K. Toyohara, and H. Minematsu, *Preparation of ultrafine fibrous zein membranes via electrospinning.* Polymer international, 2005. **54**(8): p. 1187-1190.
47. Torres-Giner, S., et al., *Stabilization of a nutraceutical omega-3 fatty acid by encapsulation in ultrathin electrosprayed zein prolamine.* Journal of food science, 2010. **75**(6): p. N69-N79.
48. Sessa, D. and K. Woods, *Purity assessment of commercial zein products after purification.* Journal of the American Oil Chemists' Society, 2011. **88**(7): p. 1037-1043.
49. Turasan, H. and J.L. Kokini, *Advances in Understanding the Molecular Structures and Functionalities of Biodegradable Zein-Based Materials Using Spectroscopic Techniques: A Review.* Biomacromolecules, 2017. **18**(2): p. 331-354.
50. Stehfest, K., et al., *Fourier transform infrared spectroscopy as a new tool to determine rosmarinic acid in situ.* Journal of plant physiology, 2004. **161**(2): p. 151-156.
51. Drosou, C., M. Krokida, and C.G. Biliaderis, *Encapsulation of β-carotene into food-grade nanofibers via coaxial electrospinning of hydrocolloids: Enhancement of oxidative stability and photoprotection.* Food Hydrocolloids, 2022. **133**: p. 107949.

52. Humeau, C., et al., *Influence of water on the short and long term mechanical behaviour of polyamide 6 (nylon) fibres and yarns.* Multiscale and Multidisciplinary Modeling, Experiments and Design, 2018. **1**.
53. Guimarães, I.C., et al., *Physicochemical and microbiological quality of raspberries (Rubus idaeus) treated with different doses of gamma irradiation.* Food Science and Technology, 2013. **33**.
54. Arrubla Vélez, J.P., et al., *Aloe Vera Gel Edible Coating for Shelf Life and Antioxidant Proprieties Preservation of Andean Blackberry.* Processes, 2021. **9**(6): p. 999.
55. Kruger, E., et al., *Effects of ripening stage and storage time on quality parameters of red raspberry fruit.* European Journal of Horticultural Science, 2003. **68**(4): p. 176-182.
56. Briano, R., et al., *Biodegradable and compostable film and modified atmosphere packaging in postharvest supply chain of raspberry fruits (cv. G randeur).* Journal of Food Processing and Preservation, 2015. **39**(6): p. 2061-2073.
57. Turmanidze, T., et al., *Potential antioxidant retention and quality maintenance in raspberries and strawberries treated with calcium chloride and stored under refrigeration.* Brazilian Journal of Food Technology, 2017. **20**: p. e2016089.
58. Hassanpour, H., *Effect of Aloe vera gel coating on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activities and decay in raspberry fruit.* LWT - Food Science and Technology, 2015. **60**(1): p. 495-501.
59. Wu, H.-Y., K.-M. Yang, and P.-Y. Chiang, *Roselle Anthocyanins: Antioxidant Properties and Stability to Heat and pH.* Molecules, 2018. **23**(6): p. 1357.
60. Control, E.C.W.D.o.M.C.L.f.M.P. and P.P. in.
61. Kahya, N., et al., *Antioxidant and antimicrobial chitosan films enriched with aqueous sage and rosemary extracts as food coating materials: Characterization of the films and detection of rosmarinic acid release.* International Journal of Biological Macromolecules, 2022. **217**: p. 470-480.