



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**Επίδραση της συσκευασίας με μεμβράνες από γλουτένη σίτου
εμπλουτισμένες με αιθέρια έλαια δυόσμου και γαρύφαλλου στον
χρόνο ζωής φρέσκου κιμά κοτόπουλου.**

Ανθομελίδης Μ. Αρσένιος

Χημικός

Ιωάννινα, 2024

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**Επίδραση της συσκευασίας με μεμβράνες από γλουτένη σίτου
εμπλουτισμένες με αιθέρια έλαια δυόσμου και γαρύφαλλου στο
χρόνο ζωής φρέσκου κιμά κοτόπουλου.**

Ανθομελίδης Μ. Αρσένιος (Α.Μ. : 1394)

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια: Μπαδέκα Αναστασία, Καθηγήτρια

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:

Μπαδέκα Αναστασία, Καθηγήτρια Τμήματος Χημείας Π.Ι.

Παπαγεωργίου Γεώργιος, Καθηγητής Τμήματος Χημείας Π.Ι.

Σκάλκος Δημήτριος, Αναπλ. Καθηγητής Τμήματος Χημείας Π.Ι.

Ιωάννινα, 2024

Η παρούσα μεταπτυχιακή ερευνητική διατριβή υλοποιήθηκε στα πλαίσια του χρηματοδοτούμενου ερευνητικού προγράμματος «Ανάπτυξη ερευνητικών υποδομών για τον σχεδιασμό, την παραγωγή και την ανάδειξη των χαρακτηριστικών ποιότητας και ασφάλειας αγροδιατροφικών και βιολειτουργικών προϊόντων» (ΕΥ-ΑΓΡΟΔΙΑΤΡΟΦΗ), Κωδικός Έργου 82864.

«Η έγκριση της μεταπτυχιακής διατριβής από το τμήμα Χημείας της Σχολής Θετικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνωμών του συγγραφέα .5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2».

τὰ ἀγαθὰ κόποις κτῶνται

Αριστοτέλης

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στα πλαίσια του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών «Αναλυτική Χημεία, Χημεία και Τεχνολογία Περιβάλλοντος και Τροφίμων» του Τμήματος Χημείας, στο Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων του Τμήματος Χημείας, του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων υπό την επίβλεψη της Καθηγήτριας Μπαδέκα Αναστασίας, προς την οποία εκφράζω τις θερμές ευχαριστίες μου για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε με την ανάθεση αυτής της εργασίας, τη σωστή και υπεύθυνη καθοδήγηση αλλά και την αδιάκοπη συνεργασία κι ενθάρρυνση καθ' όλη τη διάρκεια διεξαγωγής της παρούσας μελέτης.

Οι ευχαριστίες μου επίσης απευθύνονται στα υπόλοιπα μέλη της τριμελούς επιτροπής, τον Καθηγητή του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Παπαγεωργίου Γεώργιο και τον Αναπλ. Καθηγητή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Σκάλκο Δημήτριο για τις πολύτιμες συμβουλές τους και τη συμμετοχή τους στην επιτροπή. Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Δρ. Αλεξία Γκουρογιάννη, Μεταδιδακτορική Ερευνήτρια, για την εποικοδομητική συνεργασία μας κατά τη διάρκεια εκπόνησης αυτής της έρευνας και την Δρ. Ιωάννα Κοσμά, Μεταδιδακτορική Ερευνήτρια για τη βοήθεια και διαρκή υποστήριξή της.

Τέλος, οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ στην οικογένειά μου και τους ανθρώπους που είναι πάντα δίπλα μου, για την στήριξη και την αμέριστη ηθική και υλική βοήθεια που μου προσφέρουν.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	9
ABSTRACT.....	12
I ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	15
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 : ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ.....	15
1.1 Συσκευασία	15
1.2 Συσκευασία τροφίμων.....	16
1.3 Ενεργή συσκευασία τροφίμων.....	17
1.4 Αντιμικροβιακή συσκευασία τροφίμων.....	23
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 : MEMBRANES.....	25
2.1 Εδώδιμες μεμβράνες.....	25
2.2 Είδη μεμβρανών.....	27
2.3 Τρόποι παρασκευής μεμβρανών κι επικαλύψεων.....	29
2.4 Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα εδώδιμων μεμβρανών κι επικαλύψεων.....	31
2.5 Μembrάνη από γλουτένη σίτου.....	32
2.6 Ενσωμάτωση κι απελευθέρωση αντιμικροβιακών παραγόντων.....	35
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΙΘΕΡΙΑ ΕΛΑΙΑ.....	37
3.1 Αιθέρια Έλαια.....	37
3.2 Χρήσεις αιθέριων ελαίων.....	39
3.3 Νομοθετικά στοιχεία για τη χρήση των αιθέριων ελαίων στα τρόφιμα.....	39
3.4 Αιθέριο έλαιο δυόσμου.....	40
3.5 Αιθέριο έλαιο γαρύφαλλου.....	41
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 : ΚΡΕΑΣ.....	42
4.1 Είδη κρέατος.....	42
4.2 Κοτόπουλο.....	44
4.3 Παράγοντες αλλοίωσης στο κρέας.....	45
4.4 Καινοτόμες μέθοδοι συντήρησης του κρέατος.....	46
ΣΚΟΠΟΣ.....	48
II ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	49
1 Παρασκευή μαμβρανών από γλουτένη σίτου.....	49
2 Μελέτη των παρασκευασθέντων μεμβρανών.....	50
2.1 Προσδιορισμός πάχους μεμβρανών.....	50

2.2 Αντικειμενική μέτρηση χρώματος μεμβρανών.....	51
2.3 Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης των μεμβρανών	51
2.4 Έλεγχος μηχανικών ιδιοτήτων μεμβρανών.....	52
2.5 Ανάλυση φασματοσκοπίας FTIR (Fourier-Transform Infrared Spectroscopy).....	52
3 Προετοιμασίας δειγμάτων.....	53
4 Μικροβιολογικές αναλύσεις.....	54
4.1 Δειγματοληψία.....	55
4.2 Τεχνική επιφανειακής επίστρωσης.....	55
4.3 Τεχνική ενσωμάτωσης.....	56
4.4 Καταμέτρηση αποικιών.....	57
5 Φυσικοχημικές αναλύσεις.....	58
5.1 Προσδιορισμός pH.....	58
5.2 Αντικειμενική μέτρηση χρώματος.....	58
5.3 Προσδιορισμός αρωματικού προφίλ με μικροεκχύλιση στερεάς φάσης υπερκείμενου χώρου σε συνδυασμό με αέρια χρωματογραφία–φασματομετρία μάζας (HS-SPME/GC-MS).....	58
6 Στατιστική επεξεργασία.....	61
III ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	62
1 Μελέτη των παρασκευασθέντων μεμβρανών.....	62
α) Προσδιορισμός πάχους μεμβρανών.....	62
β) Αντικειμενική μέτρηση χρώματος μεμβρανών.....	63
γ) Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης των μεμβρανών	66
δ) Έλεγχος μηχανικών ιδιοτήτων μεμβρανών.....	68
ε) Ανάλυση φασματοσκοπίας FTIR (Fourier-Transform Infrared Spectroscopy).....	70
2 Μικροβιολογικές αναλύσεις.....	73
α) Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (O.M.X.).....	73
β) Ζύμες-Μύκητες.....	77
γ) <i>Brochothrix Thermosphacta</i>	80
δ) Ψευδομονάδες.....	83
ε) Εντεροβακτηριοειδή.....	86
στ) Οξυγαλακτικά Βακτήρια.....	88
2 Φυσικοχημικές αναλύσεις.....	91
α) Προσδιορισμός pH.....	91
β) Αντικειμενική μέτρηση χρώματος.....	94

γ) Ανάλυση πτητικών ενώσεων	98
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	115
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	118

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στη σημερινή εποχή, και ειδικότερα μετά την περίοδο της νόσου Covid-19, οι καταναλωτές αναζητούν προϊόντα υψηλής ποιότητας, ασφαλή, με όσο το δυνατόν λιγότερα συντηρητικά και πρόσθετα. Ακόμη, λόγω του σύγχρονου τρόπου ζωής και της ευαισθητοποίησης των κοινής γνώμης σε ό,τι αφορά την προστασία του περιβάλλοντος και της μετάβασης προς μια πράσινη οικονομία το τρόφιμο προσανατολίζεται στο να έχει εκτεταμένη διάρκεια ζωής και να είναι συσκευασμένο με φιλικότερα προς το περιβάλλον υλικά. Όλα τα παραπάνω οδηγούν τις βιομηχανίες τροφίμων στην έρευνα κι ανάπτυξη εναλλακτικών μορφών συντήρησης και συσκευασίας. Μια υποσχόμενη λύση μπορεί να είναι η συσκευασία εδωδιμων ή/και βιοαποικοδομήσιμων μεμβρανών κι επικαλύψεων, ιδιαίτερα εάν αυτές ενισχυθούν με αντιμικροβιακούς παράγοντες για την αύξηση της αποδοτικότητάς τους.

Σκοπός της παρούσας ερευνητικής μελέτης αποτελεί η ενσωμάτωση φυσικών αντιμικροβιακών και αντιοξειδωτικών παραγόντων σε βιοαποικοδομήσιμες επικαλυπτικές μεμβράνες για χρήση ως υλικά συσκευασίας τροφίμων. Συγκεκριμένα, ως βάση για τις μεμβράνες αυτές χρησιμοποιήθηκε γλουτένη σίτου, ενώ ως αντιμικροβιακοί/αντιοξειδωτικοί παράγοντες χρησιμοποιήθηκαν 2 αιθέρια έλαια, το αιθέριο έλαιο δυόσμου (*Mentha spicata* L.) και το αιθέριο έλαιο γαρύφαλλου (*Syzygium aromaticum* L). Η επιλογή των αιθέριων ελαίων έγινε προκειμένου να αξιολογηθεί η αποτελεσματικότητά τους τόσο στην τεχνολογία των επικαλυπτικών μεμβρανών, όσο και στη δραστηριότητα τους στα τρόφιμα. Το τρόφιμο που μελετήθηκε ήταν νωπός κιμάς κοτόπουλου.

Αναλυτικότερα, παρασκευάστηκαν μεμβράνες γλουτένης σίτου, τόσο απλές όσο κι ενισχυμένες με αιθέριο έλαιο δυόσμου σε ποσοστό 2% v/v και αιθέριο έλαιο γαρύφαλλου σε ποσοστό 2% v/v. Οι μεμβράνες παρασκευάστηκαν με τη μέθοδο της υγρής έγχυσης και χρησιμοποιήθηκαν στη συσκευασία του δείγματος. Έτσι, υπήρχαν 4 διαφορετικά δείγματα: δείγμα χωρίς συσκευασία από μεμβράνη (Control), δείγμα συσκευασμένο με μεμβράνη από γλουτένη σίτου (WGF), δείγμα συσκευασμένο με μεμβράνη από γλουτένη σίτου ενισχυμένο με αιθέριο έλαιο δυόσμου (WGF+2% SPR)

και δείγμα συσκευασμένο με μεμβράνη από γλουτένη σίτου ενισχυμένο με αιθέριο έλαιο γαρύφαλλου (WGF+2% CL). Για κάθε δείγμα χρησιμοποιήθηκαν 2 πανομοιότυπες μεμβράνες κυκλικού σχήματος, τοποθετώντας μία από την πάνω και μία από την κάτω πλευρά του τροφίμου. Μετά τη συσκευασία το δείγμα τοποθετήθηκε σε ψυγείο υπό αερόβιες συνθήκες και ακολούθησε μικροβιολογική και φυσικοχημική μελέτη συναρτήσει του χρόνου.

Αρχικά, έλαβαν χώρα ορισμένες μετρήσεις στις παρασκευασθέντες μεμβράνες. Οι μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν αφορούσαν τον προσδιορισμό του πάχους, της αντιοξειδωτικής δράσης, την αντικειμενική μέτρηση του χρώματος, τη μελέτη των μηχανικών ιδιοτήτων και τη λήψη των φασμάτων FTIR των μεμβρανών. Ακολούθως πραγματοποιήθηκαν μικροβιολογικές και φυσικοχημικές αναλύσεις στα συσκευασμένα τρόφιμα ανά 2 ημέρες (0, 2, 4, 6, 8). Αυτές αφορούσαν τη μικροβιολογική ανάλυση για 6 αλλοιογόνους μικροοργανισμούς (O.M.X., ζύμες-μύκητες, *Pseudomonas spp.*, *B. Thermosphacta*, *Enterobacteriaceae*, LAB), τον προσδιορισμό του pH, της αντικειμενικής μέτρησης του χρώματος και του προσδιορισμού των πτητικών ενώσεων των δειγμάτων.

Σχετικά με το μικροβιακό προφίλ των δειγμάτων φάνηκε ότι η συσκευασία με μεμβράνη από γλουτένη σίτου προσέδωσε αντιμικροβιακή ικανότητα η οποία έδρασε θετικά στον συσκευασμένο κιμά κοτόπουλου. Την υψηλότερη αντιμικροβιακή δράση σημείωσε η μεμβράνη WGF+2% CL στους περισσότερους μικροοργανισμούς, ακολούθως η WGF+2% SPR και τέλος η απλή μεμβράνη WGF. Όλες οι μεμβράνες επέδειξαν αναστολή στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών σε σχέση με το Control για όλους τους μικροοργανισμούς που μελετήθηκαν εκτός από τα οξυγαλακτικά βακτήρια όπου σημειώθηκε το αντίθετο αποτέλεσμα. Στην περίπτωση των οξυγαλακτικών βακτηρίων το Control είχε ίδιες και χαμηλότερες τιμές CFU/g σε σχέση με τα άλλα 3 δείγματα.

Από τη μελέτη των μηχανικών ιδιοτήτων των μεμβρανών, τόσο η προσθήκη αιθέριου ελαίου δυόσμου (SPR) όσο και γαρύφαλλου (CL), είχε ως αποτέλεσμα οι μεμβράνες να γίνουν περισσότερο ελατές κι εύκαμπτες, παρουσιάζοντας καλύτερες μηχανικές ιδιότητες συγκριτικά με τις μεμβράνες ελέγχου (WGF). Συγκεκριμένα, το % ποσοστό

επιμήκυνσης στο όριο θραύσης αυξήθηκε σημαντικά στη μεμβράνη WGF+2% CL σε σχέση με την απλή WGF. Οι ενισχυμένες με τα αιθέρια έλαια μεμβράνες ήταν περισσότερο εύκαμπτες, παρουσιάζοντας μικρότερες τιμές του συντελεστή Young. Αντίθετα, η προσθήκη των αιθέριων ελαίων φαίνεται να επηρεάζει αρνητικά την αντοχή των μεμβρανών καθώς παρατηρήθηκε μείωση της αντοχής στο όριο θραύσης.

Όσο αναφορά το πάχος, η ενισχυμένη μεμβράνη με αιθέριο έλαιο γαρύφαλλου (WGF+2%CL) εμφανίζει μια στατιστικά σημαντική αύξηση σε σχέση με τις άλλες 2. Σχετικά με το χρώμα των μεμβρανών, παρατηρήθηκε ότι οι απλές μεμβράνες γλουτένης σίτου είχαν εμφανώς χαμηλότερες τιμές της παραμέτρου L^* προσδίδοντας ένα πιο σκούρο χρώμα, η παράμετρος a^* ήταν σε παρόμοιες τιμές και για τα 3 είδη μην αλλάζοντας ουσιαστικά την απόχρωση στο πλαίσιο της ερυθρότητας, ενώ για την παράμετρο b^* οι μεμβράνες WGF κυμάνθηκαν σε μεγαλύτερες τιμές δίνοντας μια περισσότερο κίτρινη απόχρωση.

Τα συσκευασμένα δείγματα με μεμβράνη είχαν θετική επίδραση τόσο στο pH όσο και στο χρώμα του τροφίμου. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα συμπεραίνεται πως η συσκευασία του κιμά κοτόπουλου με μεμβράνες από γλουτένη σίτου όχι μόνο δεν επηρέασε αρνητικά το χρώμα των δειγμάτων αφού δεν υπήρξε αποχρωματισμός τους κατά τον χρόνο αποθήκευσης, αλλά σε ορισμένες περιπτώσεις συνέβαλε θετικά σε αυτό προσδίδοντας κόκκινη απόχρωση στο συσκευασμένο προϊόν. Αυτό πιθανότατα οφείλεται στην παρουσία των αιθέριων ελαίων.

Σχετικά με το πτητικό προφίλ των δειγμάτων, όπως είναι αναμενόμενο τα δείγματα συσκευασμένα με μεμβράνη ενισχυμένη με αιθέριο έλαιο είχαν πλουσιότερο αρωματικό προφίλ. Αρκετές ενώσεις οι οποίες προέρχονται κατά κύριο λόγο από τα αιθέρια έλαια ταυτοποιήθηκαν στα δείγματα WGF+2% SPR και WGF+2% CL. Περισσότερες ενώσεις άρχισαν να προσδιορίζονται με το πέρασμα των ημερών καθώς μετανάστευαν σταδιακά από τη μεμβράνη προς το τρόφιμο, ενώ για αυτές που ανιχνεύτηκαν από την 2^η μέρα συντήρησης σε γενικές γραμμές υπήρξε μια αύξηση στην συγκέντρωσή τους (ppb). Πολλές από αυτές τις ενώσεις έχουν αντιμικροβιακές, αντιοξειδωτικές και αντιμυκητιασικές ιδιότητες συμβάλλοντας στην αντιμικροβιακή δράση των μεμβρανών.

ABSTRACT

Nowadays, and especially after the Covid-19 period, consumers are looking for high quality, safe products with as few preservatives and additives as possible. Furthermore, due to modern lifestyle and public awareness of environmental protection and the transition to a green economy, food is geared towards having an extended shelf life and being packaged with more environmentally friendly materials. All this is leading the food industry to research and develop alternative forms of preservation and packaging. One promising solution may be the packaging of edible and/or biodegradable films and coatings, especially if these are enhanced with antimicrobial agents to increase their efficiency.

The aim of the present research study is to incorporate natural antimicrobial and antioxidant agents into biodegradable coating films for use as food packaging materials. Specifically, wheat gluten was used as a base for these films, while 2 essential oils, spearmint essential oil (*Mentha spicata* L.) and clove essential oil (*Syzygium aromaticum* L.), were used as antimicrobial/antioxidant agents. The essential oils were selected in order to evaluate their effectiveness both in coating film technology and their activity in foodstuffs. The food studied was minced chicken meat.

More specifically, wheat gluten membranes were prepared, both untreated and enhanced with spearmint essential oil at 2% v/v and clove essential oil at 2% v/v. The membranes were prepared by the liquid infusion method and used in the sample packaging. Thus, there were 4 different samples: sample without membrane packaging (Control), sample packaged with wheat gluten film (WGF), sample packaged with wheat gluten film enhanced with essential oil of spearmint (WGF+2% SPR) and sample packaged with wheat gluten film enhanced with clove essential oil (WGF+2% CL). Two identical circular-shaped membranes were used for each sample, placing one on the top and one on the bottom of the food. After packaging, the sample was placed in a refrigerator under aerobic conditions and a time-dependent microbiological and physicochemical study was followed.

Initially, some analyses were performed on the prepared films. The analyses carried out involved the determination of thickness, antioxidant activity, objective colour measurement, study of mechanical properties and obtaining FTIR spectra to clarify the chemical structure of the membranes. Subsequently, microbiological and physicochemical analyses were performed on the packaged food products at 2 days intervals (0,2,4,6,8). These included microbiological analysis for 6 allogenic microorganisms (T.V.C., yeast and molds, *Pseudomonas spp.*, *B.Thermosphacta*, *Enterobacteriaceae*, L.A.B.), determination of pH, objective colour measurement and determination of volatile compounds in the food.

From the study of the mechanical properties of the membranes, both the addition of spearmint essential oil (SPR) and clove oil (CL) resulted in the membranes becoming more elastic and flexible, exhibiting better mechanical properties compared to the control film (WGF). In particular, the % elongation at break increased significantly in the WGF+2% CL membrane compared to the WGF. The essential oil reinforced membranes were more flexible, showing lower Young's modulus values. In contrast, the addition of essential oils seems to negatively affect the strength of the membranes as a decrease in the tensile strength was observed.

As far as the thickness is concerned, the clove essential oil reinforced membrane (WGF+2%CL) shows a statistically significant increase compared to the other 2. Regarding the color of the membranes, it was observed that wheat gluten membranes had obviously lower values of the L* parameter giving a darker color, the a* parameter was in similar values for all 3 species not changing substantially the hue in the context of redness, while for the b* parameter the WGF membranes ranged in higher values giving a more yellow hue.

Regarding the microbial profile of the samples, it appeared that the gluten wheat film packaging offered antimicrobial capacity which acted positively on the packaged minced chicken meat. The highest antimicrobial activity was recorded by WGF+2% CL film on most microorganisms, followed by WGF+2% SPR film and finally the untreated WGF film. All films showed inhibition in the growth of microorganisms compared to the control sample for all the microorganisms studied except for the L.A.B. where the

opposite effect was noted. In this case, control sample had equal and lower CFU/g values compared to the other 3 samples.

The film packed samples had a positive effect on both pH and colour value of the food. According to the results, it is concluded that packaging minced chicken meat with wheat gluten film not only did not negatively affect the colour of the samples since there was no discoloration during storage time, but in some cases, it positively contributed to it by imparting a red hue to the packaged product. This is probably due to the presence of essential oils.

Regarding the volatile profile of the samples, as expected, the samples packed with essential oil-reinforced film had a richer aroma profile. Several compounds which are primarily derived from essential oils were identified in the WGF+2% SPR and WGF+2% CL samples. More compounds began to be identified over the days as they gradually migrated from the film to the food, and for those detected from day 2 of preservation there was an increase in concentration (ppb) in general. Many of these compounds have antimicrobial, antioxidant and antifungal properties contributing to the antimicrobial activity of the membranes.

I. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 : ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ

1.1 ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ

Οι τροφιμογενείς ασθένειες ανέκαθεν αποτελούσαν ένα ζήτημα μείζονος σημασίας όσο αναφορά την ασφάλεια των πολιτών για τις περισσότερες κυβερνήσεις ανά τον κόσμο. Το γεγονός αυτό σε συνδυασμό με τις συνεχώς αυξανόμενες απαιτήσεις του καταναλωτικού κοινού ωθούν στην ανάπτυξη νέων προσεγγίσεων και στρατηγικών για τον έλεγχο της διασφάλισης ποιότητας των τροφίμων στις βιομηχανίες τροφίμων και συσκευασίας. Οι αλλαγές στις προτιμήσεις των καταναλωτών τα τελευταία χρόνια, όπως η ανάπτυξη της αγοράς των κατεψυγμένων έτοιμων γευμάτων και η αύξηση της ζήτησης για ελάχιστα επεξεργασμένα και χωρίς συντηρητικά προϊόντα, έχουν επίσης οδηγήσει σε καινοτομίες κι εξελίξεις όσο αναφορά τον τομέα της συσκευασίας. [1]

Βάσει του Νόμου 2939/01 ως συσκευασία (μέσο) νοείται «κάθε προϊόν κατασκευασμένο από οποιοδήποτε είδος υλικού και προοριζόμενο να χρησιμοποιείται για να περιέχει αγαθά. Σκοπός της είναι η προστασία, η διακίνηση, η διάθεση και η παρουσίαση των αγαθών από τον παραγωγό μέχρι τον χρήστη ή τον καταναλωτή» [2] Η συσκευασία διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αλυσίδα διακίνησης τροφίμων και αποτελεί αναπόσπαστο μέρος τόσο των διεργασιών παραγωγής όσο και ολόκληρης της αλυσίδας εφοδιασμού τροφίμων.

Έτσι, έχει αναπτυχθεί – κι εξακολουθεί να αναπτύσσεται – σε μεγάλο βαθμό τα τελευταία χρόνια, κυρίως λόγω των συνεχώς αυξανόμενων απαιτήσεων για την ασφάλεια των προϊόντων, την επιμήκυνση της διάρκειας ζωής σε συνδυασμό με τη διατήρηση της θρεπτικής αξίας και των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, την οικονομική αποδοτικότητα παράλληλα με τον σεβασμό στο περιβάλλον αλλά και τη διευκόλυνση των καταναλωτών [3]. Σε αυτό έρχεται να προστεθεί η στάση των

τελευταίων σε παγκόσμιο επίπεδο στη μετά-Covid εποχή, η οποία προσανατολίζεται σε 6 κύριους άξονες. Αυτοί αφορούν την υγεία του ίδιου του ανθρώπου, την προέλευση του τροφίμου, τη γεύση του, τη βιωσιμότητα που προσφέρει το εν λόγω προϊόν, το περιβαλλοντικό αποτύπωμα που έχει η διαδικασία παραγωγής και απόρριψης της συσκευασίας και την ασφάλεια του περιεχομένου προϊόντος.

1.2 ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Ο τομέας των συσκευασιών αποτελεί μια σημαντική παγκόσμια βιομηχανία, που αντιπροσωπεύει περίπου το 2% του Ακαθάριστου Εθνικού Προϊόντος (ΑΕΠ) των ανεπτυγμένων χωρών. Η αξία της βιομηχανίας που αφορά τη συσκευασία είναι περίπου 345 εκατομμύρια ευρώ παγκοσμίως, εκ των οποίων η Ευρώπη εκπροσωπεί το ένα τρίτο. Το 50% αυτής της αγοράς σχετίζεται με τη συσκευασία τροφίμων. Οι εκτιμήσεις μάλιστα προβλέπουν ότι ο τομέας θα συνεχίσει να αυξάνεται σε μέγεθος και σημασία τα επόμενα χρόνια.

Στη σημερινή ανταγωνιστική και συνεχώς εξελισσόμενη αγορά, η βέλτιστη συσκευασία αποτελεί ισχυρό πλεονέκτημα για τις εταιρίες προκειμένου να πείσουν τους καταναλωτές να αγοράσουν μία συγκεκριμένη εμπορική μάρκα. Στόχος του χημικού και του τεχνολόγου τροφίμων αποτελεί ο σχεδιασμός μιας βελτιστοποιημένης συσκευασίας που να πληροί επαρκώς όλες τις νομοθετικές, εμπορικές και λειτουργικές προδιαγραφές και να ικανοποιεί όσο το δυνατόν περισσότερο τις περιβαλλοντικές, οικονομικές και καταναλωτικές απαιτήσεις.

Η συσκευασία τροφίμων πρέπει να επιτελεί διάφορα καθήκοντα καθώς και να πληροί πολλές απαιτήσεις και προϋποθέσεις. Αναλυτικότερα, θα πρέπει να προστατεύει τα τρόφιμα από τις εξωτερικές περιβαλλοντικές συνθήκες όπως το φως, την υγρασία και τα αέρια του περιβάλλοντος, τις μικροβιακές επιμολύνσεις, τις έντονες θερμοκρασιακές αλλαγές, τα έντομα και τα τρωκτικά, τις μηχανικές καταπονήσεις και τη σκόνη. Άλλες βασικές προϋποθέσεις είναι η διασφάλιση επαρκούς διαθρεπτικής επισήμανσης προς ενημέρωση και παροχή πληροφοριών στον πελάτη, η ευκολία χρήσης για τον καταναλωτή, π.χ. εύκολο άνοιγμα, επανασφραγιζόμενα καπάκια και

κατάλληλος μηχανισμός δοσολογίας. Ακόμη, στοιχεία που αφορούν το marketing και τη διαφήμιση του προϊόντος όπως η λογική τιμή, η ελκυστική εμφάνιση, η χαμηλή περιβαλλοντική επιβάρυνση, η καταλληλότητα για ανακύκλωση ή επαναπλήρωση του περιέκτη και η μηχανική λειτουργικότητα (π.χ. καταλληλότητα για αυτόματες μηχανές συσκευασίας, δυνατότητα σφράγισης κλπ.) θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη κατά τον σχεδιασμό μιας συσκευασίας. Ωστόσο κάποιες φορές, ορισμένες από τις παραπάνω απαιτήσεις είναι αντιφατικές μεταξύ τους, τουλάχιστον έως έναν βαθμό.

Για τους λόγους αυτούς, μια σύγχρονη συσκευασία τροφίμων πρέπει να βελτιστοποιείται και να εναρμονίζεται αποτελεσματικά με τις αλυσίδες εφοδιασμού τροφίμων. Οι αλλαγές στον τρόπο παραγωγής, διανομής, αποθήκευσης και λιανικής πώλησης των τροφίμων θέτουν μεγαλύτερες απαιτήσεις στις επιδόσεις της συσκευασίας τροφίμων. Η τάση λοιπόν για την διασφάλιση της ποιότητας και της ασφάλειας των τροφίμων χωρίς ή τουλάχιστον με λιγότερα πρόσθετα και συντηρητικά καταδεικνύει ότι η συσκευασία διαδραματίζει ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο στο τομέα αυτό, ώστε να μειώνονται τα φαινόμενα τροφικών δηλητηριάσεων και αλλεργιών και να αποφεύγονται φαινόμενα περιβαλλοντικής και οικονομικής αστοχίας [3].

1.3 ΕΝΕΡΓΗ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Μια μεγάλη κατηγορία στον τομέα της συσκευασίας τροφίμων αποτελεί η ενεργή συσκευασία. Η ενεργή συσκευασία είναι μια νέα σχετικά μέθοδος που χρησιμοποιείται για την επιμήκυνση της διάρκειας ζωής των ευαλλοίωτων τροφίμων, τη διατήρηση ή και τη βελτίωση της ποιότητας και της ασφάλειας των συσκευασμένων τροφίμων λόγω της αλληλεπίδρασής της με το περιεχόμενο προϊόν. Επιπλέον, η ενεργή συσκευασία έχει τη δυνατότητα να μειώσει την προσθήκη χημικών συντηρητικών στα τρόφιμα, να περιορίσει τη μετανάστευση ανεπιθύμητων ενώσεων από το υλικό συσκευασίας στο τρόφιμο αλλά και να εντοπίσει τις πιθανές πορείες εισόδου παθογόνων μικροοργανισμών στο περιεχόμενο προϊόν [4]. Σύμφωνα με τον ορισμό του προγράμματος Actipark, για την ενεργή συσκευασία: «Η

ενεργή συσκευασία αλλάζει την κατάσταση του συσκευασμένου τροφίμου για να παρατείνει τη διάρκεια ζωής ή να βελτιώσει την ασφάλεια ή τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, διατηρώντας παράλληλα την ποιότητα του συσκευασμένου τροφίμου».

Η κατάσταση των τροφίμων περιλαμβάνει διάφορες πτυχές που μπορεί να διαδραματίσουν ρόλο στον καθορισμό της διάρκειας ζωής τους, όπως οι φυσιολογικές διεργασίες (π.χ. αναπνοή των φρέσκων φρούτων και λαχανικών), οι χημικές διεργασίες (π.χ. οξείδωση των λιπιδίων), οι φυσικές διεργασίες (π.χ. αμαύρωση του ψωμιού, αφυδάτωση), οι μικροβιολογικές διεργασίες (π.χ. αλλοίωση από μικροοργανισμούς) και οι προσβολές από εξωτερικούς παράγοντες (π.χ. από έντομα). Με την εφαρμογή κατάλληλων ενεργών συστημάτων συσκευασίας οι συνθήκες αυτές μπορούν να ρυθμιστούν με πολλούς τρόπους και, ανάλογα με τις απαιτήσεις του συσκευασμένου τροφίμου, να μειωθεί σημαντικά η αλλοίωσή τους [5].



Εικόνα 1 : Βιοδραστικοί παράγοντες για εφαρμογές ενεργούς συσκευασίας τροφίμων [6]

Οι ενεργές τεχνικές συσκευασίας για τη συντήρηση και τη βελτίωση της ποιότητας και της ασφάλειας των τροφίμων μπορούν να χωριστούν σε τρεις κατηγορίες: Συστήματα απορρόφησης (Πίνακας 1), Συστήματα απελευθέρωσης (Πίνακας 2) και

Άλλα Συστήματα (Πίνακας 3). Τα συστήματα απορρόφησης απομακρύνουν τις ανεπιθύμητες ενώσεις, όπως το οξυγόνο, το διοξείδιο του άνθρακα, το αιθυλένιο, την περίσσεια ύδατος και άλλες πτητικές ενώσεις (Πίνακας 1). Τα συστήματα απελευθέρωσης προσθέτουν ή εκπέμπουν ενώσεις στο συσκευασμένο τρόφιμο ή στον υπερκείμενο χώρο της συσκευασίας, όπως διοξείδιο του άνθρακα, αντιοξειδωτικά και συντηρητικά (Πίνακας 2). Άλλα συστήματα ενεργούς συσκευασίας δύνανται να επιτελούν διάφορα καθήκοντα, όπως η αυτοθέρμανση, η αυτόψυξη και η συντήρηση μέσω αντιμικροβιακών ή και αντιοξειδωτικών μεμβρανών.

Ανάλογα με τη φυσική μορφή των ενεργών συστημάτων συσκευασίας, οι απορροφητές και οι απελευθερωτές μπορεί να είναι σε μορφή φακελίσκου, ετικέτας ή μεμβράνης. Οι φακελίσκοι τοποθετούνται στον υπερκείμενο χώρο της συσκευασίας, οι ετικέτες τοποθετούνται στο καπάκι της συσκευασίας, ενώ η άμεση επαφή με τα τρόφιμα θα πρέπει να αποφεύγεται, διότι αφενός μειώνει τη λειτουργία του συστήματος κι αφετέρου μπορεί να προκαλέσει προβλήματα μετανάστευσης.[3]

Πίνακας 1 : Παραδείγματα ενεργών συστημάτων συσκευασίας σε μορφή φακελίσκου, ετικέτας και μεμβράνης που απορροφούν ουσίες για τη συντήρηση και την παράταση της διάρκειας ζωής των τροφίμων ή τη βελτίωση της ποιότητας και της αξιοποίησής τους από τους καταναλωτές. Οι απορροφητές οξυγόνου, διοξειδίου του άνθρακα, αιθυλενίου και υγρασίας έχουν τη σημαντικότερη εμπορική χρήση, ενώ οι απορροφητές λακτόζης και χοληστερόλης δεν χρησιμοποιούνται ακόμη. [7] [8] [9] [10]

Τύπος Συσκευασίας	Αντιδραστήρια/ Παραδείγματα αρχής λειτουργίας/ μηχανισμοί	Σκοπός	Παραδείγματα πιθανών εφαρμογών
Απορροφητές οξυγόνου (φακελάκια, ετικέτες, μεμβράνες, φελλοί)	Ενώσεις του σιδήρου, ασκορβικό οξύ, μέταλλα, άλατα, γλυκόζη, οξειδάσες, οξειδάση της αλκοόλης	Μείωση / πρόληψη ανάπτυξης μούχλας, ζυμών και αερόβιων βακτηρίων. Πρόληψη της οξείδωσης των λιπών, ελαίων, βιταμινών, χρωστικών Πρόληψη της επιμόλυνσης από σκουλήκια, έντομα και αυγά εντόμων	Τυρί, προϊόντα κρέατος, έτοιμα προς κατανάλωση προϊόντα, προϊόντα αρτοποιίας, καφές, τσάι, ξηροί καρποί, γάλα σε σκόνη
Απορροφητές διοξειδίου του άνθρακα (φακελάκια)	Υδροξείδιο του ασβεστίου και υδροξείδιο του νάτριο ή υδροξείδιο του καλίου. Οξείδιο του ασβεστίου και πηκτή από πυριτία	Απομάκρυνση του διοξειδίου του άνθρακα που σχηματίζεται κατά την αποθήκευση, προκειμένου να αποφευχθεί η κατάρρευση της συσκευασίας	Καβουρδισμένος καφές Μοσχαρίσιος κιμάς Αφυδατωμένα προϊόντα πουλερικών
Απορροφητές αιθυλενίου	Οξείδιο του αλουμινίου και	Πρόληψη της πολύ γρήγορης ωρίμανσης και μαλάκωσης του προϊόντος	Φρούτα όπως μήλα, βερίκοκα, μπανάνες,

(φακελάκια, μεμβράνες)	υπερμαγγανικό κάλιο (φακελάκια) Ενεργός άνθρακας + μεταλλικός καταλύτης (φακελάκι) Ζεόλιθος (μεμβράνες) Άργιλος (μεμβράνες)		μάνγκο, αγγούρια, ντομάτες, αβοκάντο και λαχανικά όπως καρότα, πατάτες και λαχανάκια Βρυξελλών
Απορροφητές υγρασίας (απορροφητικά φύλλα, μεμβράνες, φακελάκια)	Πολυακρυλικά άλατα (φύλλα) Προπυλενογλυκόλ η (φιλμ) Πηκτή από πυριτία (φακελάκι) Άργιλος (φακελάκι)	Έλεγχος της περίσσειας υγρασίας σε συσκευασμένα τρόφιμα Μείωση της ενεργότητας του νερού στην επιφάνεια των τροφίμων προκειμένου να αποτραπεί η ανάπτυξη μούχλας, ζυμών και βακτηρίων	Κρέατα, ψάρια, πουλερικά, προϊόντα αρτοποιίας, τεμάχια φρούτων και λαχανικών

Πίνακας 2 : Παραδείγματα ενεργών συστημάτων συσκευασίας τύπου φακελίσκου και μεμβράνης που απελευθερώνουν δραστικές ουσίες για τη συντήρηση και την παράταση της διάρκειας ζωής των τροφίμων ή τη βελτίωση της ποιότητάς τους. Μέχρι σήμερα, κανένα από αυτά τα συστήματα δεν τυγχάνει ευρείας εμπορικής χρήσης [7][8][10][11]

Τύπος Συσκευασίας	Αντιδραστήρια/ Παραδείγματα αρχής λειτουργίας / μηχανισμοί	Σκοπός	Παραδείγματα πιθανών εφαρμογών
Εκπομποί διοξειδίου του	Ασκορβικό οξύ	Αναστολή ανάπτυξης αρνητικών κατά	Λαχανικά και φρούτα, ψάρια, κρέας, πουλερικά

άνθρακα (φακελάκια)		Gram βακτηρίων και μούχλας	
Εκπομποί αιθανόλης (φακελάκια)	Μείγμα αιθανόλης/νερού απορροφημένο σε διοξείδιο του πυριτίου Παραγωγή σκόνης ατμών αιθανόλης	Αναστολή ανάπτυξης μούχλας και ζυμών	Προϊόντα αρτοποιίας (κατά προτίμηση θερμαινόμενα πριν από την κατανάλωση) Ξηρά ψάρια
Αντιμικροβιακές ουσίες απελευθέρωσης συντηρητικών (φιλμ)	Οργανικά οξέα, π.χ. σορβικό οξύ Ζεόλιθος αργύρου Εκχυλίσματα μπαχαρικών και βοτάνων Αλλυλοθειοκυανικό Ένζυμα, π.χ. λυσοζύμη	Αναστολή ανάπτυξης βακτηρίων αλλοίωσης και παθογόνων βακτηρίων	Κρέας, πουλερικά, ψάρια, ψωμί, τυρί, φρούτα και λαχανικά
Απελευθερωτές αντιοξειδωτικών (ταινίες)	ΒΗΑ, ΒΗΤ, Τοκοφερόλη, πτητικές ενώσεις της αντίδρασης Maillard	Αναστολή της οξείδωσης του λίπους και του ελαίου	Αποξηραμένα τρόφιμα, τρόφιμα που περιέχουν λίπος

Πίνακας 3 : Διάφορα άλλα παραδείγματα ενεργών συστημάτων συσκευασίας [7]

Τύπος Συσκευασίας	Αντιδραστήρια/ Παραδείγματα αρχής λειτουργίας / μηχανισμοί	Σκοπός	Παραδείγματα πιθανών εφαρμογών
Θερμομονωτικά υλικά	Ειδικά πλαστικά με πολλούς πόρους για τον αέρα	Έλεγχος θερμοκρασίας για τον περιορισμό ανάπτυξης μικροβίων	Διάφορα τρόφιμα που πρέπει να αποθηκεύονται στο ψυγείο

Αυτοθέρμανση αλουμινίου ή χαλύβδινα κουτιά και δοχεία	Μείγμα ασβέστη και νερού	Μαγείρεμα ή προετοιμασία τροφίμων μέσω ενσωματωμένου μηχανισμού θέρμανσης	Ροφήματα, καφές, τσάι, έτοιμα γεύματα
Υλικά συσκευασίας τροφίμων με επιφανειακή επεξεργασία	Πλάσμα με βάση το φθόριο	Αναστολή της ανάπτυξης βακτηρίων	Διάφορα

1.4 ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Η αντιμικροβιακή συσκευασία είναι μία από τις πολλές εφαρμογές της ενεργούς συσκευασίας [8]. Αντιμικροβιακή συσκευασία ονομάζεται το σύστημα συσκευασίας που δύναται να θανατώνει ή να αναστέλλει τους αλλοιογόνους και παθογόνους μικροοργανισμούς που προσβάλλουν και μολύνουν τα τρόφιμα. Η αντιμικροβιακή αυτή λειτουργία μπορεί να επιτευχθεί με την προσθήκη αντιμικροβιακών παραγόντων στο σύστημα συσκευασίας ή/και με τη χρήση αντιμικροβιακών πολυμερικών υλικών που ικανοποιούν τις συμβατικές απαιτήσεις μιας συσκευασίας. Όταν το σύστημα αποκτά αντιμικροβιακή δράση, περιορίζει ή αποτρέπει την ανάπτυξη, παρατείνοντας τη φάση υστέρησης στην καμπύλη ανάπτυξης των μικροοργανισμών κι ελαττώνοντας με τον τρόπο αυτό τον ρυθμό ανάπτυξης των ζωντανών μικροοργανισμών [12] [13].

Σε σύγκριση με τους στόχους της συμβατικής συσκευασίας τροφίμων, οι οποίοι είναι (i) η παράταση της διάρκειας ζωής του τροφίμου, (ii) η διατήρηση της ποιότητάς του και (iii) η εγγύηση της ασφάλειας, που θα μπορούσαν να επιτευχθούν με διάφορες μεθόδους, η αντιμικροβιακή συσκευασία είναι ειδικά σχεδιασμένη για τον έλεγχο των μικροοργανισμών που κατά βάση επηρεάζουν αρνητικά τους τρεις παραπάνω

στόχους. Ως εκ τούτου, ορισμένα προϊόντα, τα οποία δεν είναι ευαίσθητα στη μικροβιακή αλλοίωση ή μόλυνση, μπορεί να μην χρήζουν απαραίτητα κατεργασία με ένα αντιμικροβιακό σύστημα. Ωστόσο, τα περισσότερα τρόφιμα είναι ευπαθή κι ευαίσθητα στη μικροβιακή μόλυνση.

Συνεπώς, οι πρωταρχικοί στόχοι ενός αντιμικροβιακού συστήματος συσκευασίας αποτελούν (i) η εγγύηση της ασφάλειας του προϊόντος, (ii) η διατήρηση της ποιότητας και (iii) η επιμήκυνση της διάρκειας ζωής στο ράφι, που είναι και η αντίστροφη σειρά των στόχων για ένα συμβατικό σύστημα συσκευασίας. Σήμερα η ασφάλεια των τροφίμων είναι μείζονος σημασίας και η αντιμικροβιακή συσκευασία θα μπορούσε να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στον έλεγχο της ποιότητας και της ασφάλειας των τροφίμων.

Ο κάθε αντιμικροβιακός παράγοντας έχει διαφορετικές ιδιότητες οι οποίες επηρεάζουν τους μικροοργανισμούς με διαφορετικό τρόπο. Δεν υπάρχει κάποιος συγκεκριμένος αντιμικροβιακός παράγοντας που να δρα αποτελεσματικά έναντι όλων των αλλοιογόνων και παθογόνων μικροοργανισμών. Αυτό οφείλεται στους εκάστοτε αντιμικροβιακούς μηχανισμούς και στη διαφορετική φυσιολογία αυτών. Μια απλή κατηγοριοποίηση των μικροοργανισμών μπορεί να αποδειχθεί πολύ χρήσιμη για την επιλογή συγκεκριμένων αντιμικροβιακών παραγόντων.

Τέτοιες κατηγορίες αποτελούν η απαίτηση σε οξυγόνο (αερόβιοι και αναερόβιοι μικροοργανισμοί), η σύνθεση του κυτταρικού τους τοιχώματος (θετικοί κατά Gram και αρνητικοί κατά Gram), το στάδιο ανάπτυξης (σπόρια και βλαστικά κύτταρα), η βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης (θερμόφιλοι, μεσόφιλοι και ψυχρόφιλοι) και η αντοχή σε όξινα περιβάλλοντα ή στην ώσμωση.

Οι λειτουργίες που επιτυγχάνονται με την προσθήκη αντιμικροβιακών παραγόντων στο σύστημα συσκευασίας ή με τη χρήση αντιμικροβιακών πολυμερικών μεμβρανών παρουσιάζουν γενικά τρεις τύπους λειτουργίας: (i) απελευθέρωση, (ii) απορρόφηση και (iii) ακινητοποίηση. Η αντιμικροβιακή συσκευασία που υπόκειται στην πρώτη κατηγορία επιτρέπει την ελεγχόμενη μετανάστευση των αντιμικροβιακών παραγόντων στα τρόφιμα ή στον υπερκείμενο χώρο των συσκευασιών και με τον τρόπο αυτό αναστέλλει την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Οι αντιμικροβιακοί

παράγοντες μπορεί να είναι είτε διαλυμένες ουσίες είτε αέρια. Ωστόσο, οι διαλυμένοι αντιμικροβιακοί παράγοντες δεν μπορούν να μεταναστεύσουν μέσω πόρων, διάκενων ή μέσω του υπερκείμενου χώρου τη στιγμή που οι αντιμικροβιακοί παράγοντες σε αέρια μορφή μπορούν να διεισδύσουν μέσα από οποιοδήποτε χώρο.

Η λειτουργία απορρόφησης ενός αντιμικροβιακού συστήματος απομακρύνει τους βασικούς παράγοντες που είναι υπεύθυνοι για την μικροβιακή ανάπτυξη στα συστήματα τροφίμων κι αναστέλλει την ανάπτυξη των μικροοργανισμών.

Τέλος, η τρίτη υποκατηγορία, η οποία περιλαμβάνει τα συστήματα ακινητοποίησης, δεν απελευθερώνει τους αντιμικροβιακούς παράγοντες αλλά καταστέλλει την ανάπτυξη των μικροοργανισμών κυρίως στην επιφάνεια επαφής μεταξύ συσκευασίας και τροφίμου. Αυτή μπορεί να είναι λιγότερο αποτελεσματική στην περίπτωση των στερεών τροφίμων σε σύγκριση με τα υγρά τρόφιμα, επειδή υπάρχει μικρότερη δυνατότητα επαφής μεταξύ της αντιμικροβιακής συσκευασίας και του συνόλου του τροφίμου. Η χημική ακινητοποίηση χρησιμοποιεί την ομοιοπολική σύνδεση των αντιμικροβιακών ενώσεων στις δομές των υλικών συσκευασίας, όταν η νομοθεσία δεν επιτρέπει τη μετανάστευση των εν λόγω παραγόντων στα τρόφιμα.
[14]

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΜΕΜΒΡΑΝΕΣ

2.1 ΕΔΩΔΙΜΕΣ ΜΕΜΒΡΑΝΕΣ

Η τεχνολογία των εδώδιμων μεμβρανών κι επικαλύψεων δεν αποτελεί μία καινούργια μέθοδο συντήρησης για προϊόντα τροφίμων. Από τα προϊστορικά χρόνια, οι άνθρωποι είχαν παρατηρήσει τα ευεργετικά αποτελέσματα των μεμβρανών στη διατήρηση των τροφίμων. Για παράδειγμα, άρχισαν να καλύπτουν τα θηράματα με το δέρμα τους, ενώ πολύ σύντομα ανακάλυψαν το λείο και χωρίς πόρους πηλό, ένα υλικό που έβρισκαν έτοιμο και χωρίς ανάγκη ιδιαίτερης επεξεργασίας για να το χρησιμοποιήσουν ως μέσο συσκευασίας. Αργότερα

ξεκίνησαν να ράβουν τα δέρματα των ζώων, να σχηματοποιούν τον πηλό σε πρόδρομες μορφές ανόπτησης (annealing) κι εφηύραν τις πρώτες λαμιναρισμένες επιφάνειες καλύπτοντας διάφορους περιέκτες με φύλλα μετάλλου ή κηρούς βελτιώνοντας με τον τρόπο αυτό κατά πολύ τις ιδιότητές τους.

Κατά τα Βυζαντινά χρόνια καθιερώθηκε η χρήση διαφόρων φυσικών συστατικών και ουσιών που μπορούσαν να μορφοποιηθούν, προκειμένου να πάρουν το σχήμα του τροφίμου και να μείνουν στην επιφάνειά του. Διάφορα κεριά ή άλλα μελιτώδη υλικά, π.χ. ρετσίνι, επαλείφονταν σε τυριά, κρέατα ή φρούτα αποτρέποντας τον αέρα να εισχωρήσει στο περιεχόμενο. Αυτές είναι και οι πρώτες καταγραφές για ανάπτυξη μεμβρανών (φιλμ) πάνω σε τρόφιμα. [15], [16]

Διάφοροι ορισμοί έχουν δοθεί με το πέρας των χρόνων για τις εδώδιμες μεμβράνες. Σύμφωνα με τους Dehghani et al. [17] οποιοσδήποτε τύπος λεπτού στρώματος υλικού που χρησιμοποιείται για την επικάλυψη ή το τύλιγμα ενός τροφίμου με σκοπό την παράταση της διάρκειας ζωής του προϊόντος που μπορεί να καταναλωθεί μαζί με το φαγητό θεωρείται βρώσιμο επίστρωμα ή μεμβράνη.

Εδώδιμη επικάλυψη ορίζεται ένα λεπτό φύλλο από φυσικά πολυμερή που χρησιμοποιείται για την επικάλυψη των τροφίμων, ενώ εδώδιμη μεμβράνη είναι ένα προσχηματισμένο, λεπτό στρώμα από φυσικά πολυμερή, το οποίο, αφού σχηματιστεί, μπορεί να τοποθετηθεί επάνω ή/και ανάμεσα στα συστατικά ενός τροφίμου. Η βασική διαφορά μεταξύ εδώδιμων μεμβρανών κι επικαλύψεων είναι ότι τα πρώτα αποτελούν ανεξάρτητες δομές που προστίθενται στην επιφάνεια του προϊόντος, ενώ τα δεύτερα είναι λεπτά στρώματα που σχηματίζονται απευθείας στην επιφάνεια του προϊόντος με την εμβάπτιση ή τον ψεκασμό [18].

Μέχρι το 1967, οι εδώδιμες μεμβράνες είχαν ελάχιστα εμπορικά χαρακτηριστικά. Αυτές που κυκλοφορούσαν χρησιμοποιούνταν σαν στρώματα κεριών σε φρούτα. Το 1986 υπήρχαν ελάχιστες εταιρείες που πρόσφεραν τέτοια προϊόντα, ενώ μέχρι το 1996 ο αριθμός είχε αυξηθεί σε 60. Σήμερα, οι βρώσιμες μεμβράνες χρησιμοποιούνται ως ένας οικονομικά αποδοτικός τρόπος για να διατηρηθεί η ποιότητα και η ασφάλεια μιας μεγάλης ποικιλίας τροφίμων. Με τα αυξημένα συστήματα διανομής, μεταφοράς και αποθήκευσης, τα τρόφιμα δεν

καταναλώνονται άμεσα καθώς απαιτείται χρόνος για ένα προϊόν ώστε να φτάσει στο τραπέζι του καταναλωτή. Χωρίς την τεχνολογία των εδώδιμων μεμβρανών τα περισσότερα τρόφιμα δεν θα μπορούσαν να διατηρηθούν [15] [16].

Τα ιδανικά χαρακτηριστικά των εδώδιμων μεμβρανών είναι:

- Μη τοξικά, υποαλλεργικά και εύπεπτα συστατικά
- Παροχή δοκιμής και μηχανικής σταθερότητας, ώστε να αποφευχθεί η φθορά κατά τη μεταφορά και εμπορευματοποίηση του προϊόντος
- Καλή προσκόλληση στην επιφάνεια του τροφίμου
- Έλεγχος της διάχυσης του νερού εντός και εκτός του τροφίμου ώστε να διατηρείται η επιθυμητή υγρασία
- Παροχή ημι- διαπερατότητας για να διατηρήσουν την εσωτερική ισορροπία των αερίων
- Αποτροπή απώλειας των συστατικών που σταθεροποιούν το άρωμα, το χρώμα και όλα τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά που είναι απαραίτητα για την αποδοχή του προϊόντος από τους καταναλωτές
- Παροχή βιοχημικής και μικροβιακής σταθερότητας προστατεύοντας το προϊόν από τη μικροβιακή επιμόλυνση και άλλους τύπους αποσύνθεσης [19]

2.2 ΕΙΔΗ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ

Οι εδώδιμες μεμβράνες κι επικαλύψεις κατηγοριοποιούνται συνήθως σύμφωνα με υλικό από το οποίο παρασκευάζονται. Αυτά μπορούν να χωριστούν σε τρεις μεγάλες κατηγορίες:

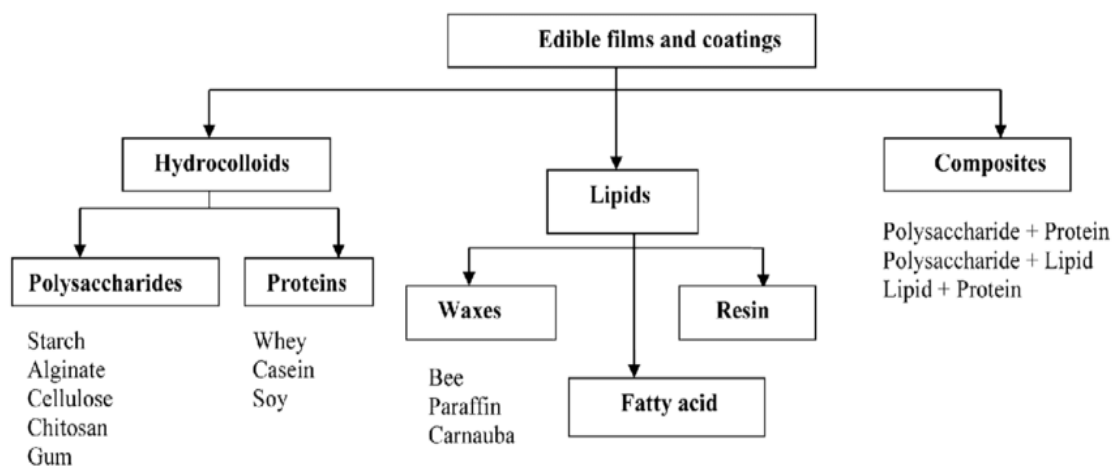
- τα υδροκολλοειδή (πρωτεΐνες και πολυσακχαρίτες)
- τα λιπίδια (κεριά, ακυλογλυκερόλες και λιπαρά οξέα)
- τα σύνθετα υλικά, δηλαδή αυτά που περιέχουν τόσο υδροκολλοειδή όσο και λιπίδια.

Τα υδροκολλοειδή είναι πολυμερή με μακρά ανθρακική αλυσίδα που έχουν την ιδιότητα να αυξάνουν το ιξώδες του διαλύματος. Οι εδώδιμες μεμβράνες από υδροκολλοειδή έχουν καλές ιδιότητες φραγμού στο οξυγόνο, το διοξείδιο του άνθρακα και τα λιπίδια, με την πλειοψηφία αυτών να εμφανίζουν και επιθυμητές μηχανικές ιδιότητες [20]. Οι πρωτεΐνες που χρησιμοποιούνται είναι κυρίως η καζεΐνη, οι πρωτεΐνες σίτου, το κολλαγόνο, οι πρωτεΐνες ορού γάλακτος, οι πρωτεΐνες καλαμποκιού, σόγιας και άλλων προϊόντων [21]. Αντίστοιχα, οι πολυσακχαρίτες που χρησιμοποιούνται είναι το άμυλο και τα παράγωγα κυτταρίνης, καθώς και τα αλγινικά άλατα, οι πηκτίνες, οι καραγεννάνες, η χιτοζάνη, η πουλλουλάνη και η ζελάνη. Για τη βιομηχανία τροφίμων είναι σημαντικό το γεγονός ότι οι πολυσακχαρίτες είναι διαθέσιμοι σε μεγάλες ποσότητες, είναι συνήθως χαμηλού κόστους και δεν είναι τοξικοί [22].

Τα λιπίδια ως βάση σε εδώδιμες επικαλύψεις χρησιμοποιούνται εδώ και αρκετά χρόνια για τη συντήρηση των τροφίμων, προσφέροντας προστασία και λειτουργώντας ως φραγμοί στους υδρατμούς και ως παράγοντες επικάλυψης για την προσθήκη γυαλάδας σε προϊόντα ζαχαροπλαστικής. Η χρήση τους σε καθαρή μορφή είναι περιορισμένη, αφού δεν διαθέτουν επαρκή δομική ακεραιότητα και αντοχή. Στα λιπίδια συμπεριλαμβάνονται οι φυσικοί κηροί, τα μόνο-, δι- και τριγλυκερίδια, ακετυλιωμένα γλυκερίδια, λιπαρά οξέα, αλκοόλες και υλικά με βάση το κακάο. [20]

Η παραγωγή σύνθετων εδώδιμων και βιοδιασπώμενων μεμβρανών συνδυάζοντας πολυσακχαρίτες και πρωτεΐνες με λιπίδια, στηρίζεται στα πλεονεκτήματα των ιδιοτήτων των επιμέρους συστατικών ξεχωριστά καθώς και στη συνεργιστική δράση μεταξύ τους. Οι σύνθετες μεμβράνες είναι λιγότερο αποτελεσματικές ως φράγματα αερίων και υδρατμών σε σχέση με τις πολυστρωματικές, καθώς η επιφάνεια των επικαλυμμένων με σύνθετες μεμβράνες τροφίμων καλύπτεται από ένα μόνο συστατικό σε κάθε σημείο, αφού η επικάλυψη αποτελείται από ένα πλέγμα στο οποίο τα λιπίδια και τα υδροκολλοειδή εναλλάσσονται. Ωστόσο, οι σύνθετες μεμβράνες είναι πιο εύκολες στη χρήση, αφού απαιτούν μόνο ένα στάδιο εφαρμογής ή ξήρανσης, και προσκολλώνται καλύτερα σε μεγαλύτερο αριθμό επιφανειών.

Γενικότερα, τα λίπη χρησιμοποιούνται για τη μείωση της μετάδοσης του νερού, οι πολυσακχαρίτες χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο οξυγόνου και μεταφοράς άλλων αερίων, ενώ οι πρωτεϊνικές μεμβράνες παρέχουν μηχανική σταθερότητα. Αυτά τα υλικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν μεμονωμένα ή συνδυαστικά για τον σχηματισμό εδώδιμων μεμβρανών με την προϋπόθεση ότι δεν αλλοιώνουν τη γεύση και την εμφάνιση των τροφίμων. Βασικός στόχος της προετοιμασίας και παρασκευής εδώδιμων μεμβρανών για πολλά τρόφιμα (π.χ. νωπά φρούτα και λαχανικά) είναι να διασφαλιστεί η δημιουργία φυσικών και χημικών ιδιοτήτων, απαραίτητων για τη διατήρηση και τη μετάδοση διαφόρων αερίων και υγρών με τους ίδιους ρυθμούς που συμβαίνουν στο εσωτερικό του συστήματος. Οι ιδιότητες μιας μεμβράνης εξαρτώνται από τα συστατικά από τα οποία έχει παρασκευαστεί, ενώ η επιλογή των κατάλληλων υλικών για την παρασκευή της εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την επιθυμητή λειτουργία και το περιεχόμενο υπόστρωμα



Εικόνα 2: Κατηγοριοποίηση εδώδιμων μεμβρανών και επικαλύψεων βάσει των συστατικών τους [21] [15] [20]

2.3 ΤΡΟΠΟΙ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗΣ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ ΚΙ ΕΠΙΚΑΛΥΨΕΩΝ

Η παραγωγή των εδώδιμων μεμβρανών γίνεται χρησιμοποιώντας την υγρή διαδικασία (έγχυση διαλύματος) ή την ξηρή διαδικασία (εξώθηση) με την πρώτη μέθοδο να είναι αυτή που χρησιμοποιείται ευρέως. Κατά τη διάρκεια αυτής εξατμίζεται ο διαλύτης με συνέπεια τον σχηματισμό ενός πλέγματος μεταξύ των

αλυσίδων του πολυμερούς. Η δεύτερη μέθοδος (εξώθηση) είναι κατάλληλη για την παραγωγή μεμβρανών σε μεγάλη κλίμακα, δεδομένου ότι απαιτεί πιο σύντομο χρόνο επεξεργασίας και λιγότερο χώρο από τη μέθοδο της έγχυσης.

Οι εδώδιμες επικαλύψεις εφαρμόζονται άμεσα επάνω στα τρόφιμα με βύθιση, ψεκασμό ή επάλειψη. Είναι τεχνικές άμεσης εφαρμογής όπου η μεμβράνη είναι ακόμη στην υγρή της φάση και με επάλειψη, ψεκασμό ή εμβάπτιση και στη συνέχεια αποστράγγιση ή φυγοκέντρηση εφαρμόζεται στο τρόφιμο, όπου λαμβάνει χώρα και η τελική της διαμόρφωση.

Η εμβάπτιση ανήκει στις μεθόδους που το τρόφιμο χρησιμοποιείται για την τελική διαμόρφωση της μεμβράνης. Η τεχνική αυτή έχει ως σκοπό την επικάλυψη και εφαρμόζεται στα περισσότερα τρόφιμα, όπως κρέας, ψάρι, φρούτα, λαχανικά κ.ά.. Πλεονεκτεί ως τεχνική από την άποψη ότι έχει τη δυνατότητα να επικαλύπτει τρόφιμα με ακανόνιστη επιφάνεια.

Ο ψεκασμός πλεονεκτεί έναντι της εμβάπτισης στο ότι δίνεται η δυνατότητα σχηματισμού μεμβράνης λεπτότερου πάχους, υπάρχει η ευχέρεια εφαρμογής στη μία μόνο πλευρά του τροφίμου σε περιπτώσεις που επιθυμούμε την αποφυγή μεταφοράς υγρασίας ή και αρωματικών ουσιών από το ένα υλικό στο άλλο και τέλος με την τεχνική του ψεκασμού μπορεί να δημιουργηθεί και δεύτερο στρώμα μεμβράνης σε ένα τρόφιμο που θα επικάλυπτε το πρώτο για μεγαλύτερη προστασία [21].

Τα βιοπολυμερή σε ξηρή κατάσταση έχουν αρκετά υψηλές θερμοκρασίες υαλώδους μετάπτωσης (T_g) εξαιτίας των ισχυρών διαμοριακών δεσμών υδρογόνου, με αποτέλεσμα συχνά να αποσυντίθεται σε χαμηλότερες θερμοκρασίες πριν την επίτευξη της T_g . Επομένως, η προσθήκη πλαστικοποιητών, όπως είναι η γλυκερόλη και η σορβιτόλη, κατά την παραγωγή των μεμβρανών είναι απαραίτητη στις περισσότερες περιπτώσεις για τη μείωση της θερμοκρασίας υαλώδους μετάπτωσης του βιοπολυμερούς κάτω από τη θερμοκρασία αποσύνθεσής του [23].

2.4 ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΕΔΩΔΙΜΩΝ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ ΚΙ ΕΠΙΚΑΛΥΨΕΩΝ

Όπως προαναφέρθηκε οι εδώδιμες μεμβράνες κι επικαλύψεις παρουσιάζουν πλεονεκτήματα σε σχέση με τις συνθετικές μεμβράνες. Κάποια από τα κυριότερα είναι τα παρακάτω [20] [22]:

- Παράγονται από εδώδιμες, ανανεώσιμες πρώτες ύλες.
- Καταναλώνονται μαζί με το προϊόν με αποτέλεσμα να μην αφήνουν απόβλητα.
- Δε μολύνουν το περιβάλλον, γιατί γρήγορα αποσυντίθεται, αφού είναι πλήρως βιοαποικοδομήσιμα υλικά.
- Είναι δυνατόν να ενσωματωθούν σε αυτά ουσίες που ενισχύουν και βελτιώνουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και την αποδοχή του προϊόντος.
- Μπορούν να ενσωματωθούν αντιμικροβιακές ουσίες και αντιοξειδωτικά, βελτιώνοντας τη διάρκεια συντήρησης του προϊόντος.
- Βελτιώνεται η θρεπτική αξία του προϊόντος με τη χρήση πρωτεϊνών.
- Μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη συσκευασία κι επικάλυψη μεμονωμένων τεμαχίων του προϊόντος (πχ φρούτα και λαχανικά, όπου πρακτικά η εφαρμογή των συνθετικών μεμβρανών δεν είναι εφικτή).
- Σε προϊόντα ζύμης, μπορούν να τοποθετηθούν ανάμεσα στις στρώσεις των διαφόρων συστατικών εμποδίζοντας με τον τρόπο αυτό τη μεταφορά - μετανάστευση ουσιών από τη μία στρώση στην άλλη, γεγονός που ενδεχομένως να υποβάθμιζε την ποιότητα του προϊόντος.
- Μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ενθυλάκωση διαφόρων ουσιών και την ενσωμάτωσή τους σε προϊόντα, με αποτέλεσμα τη σταδιακή και ελεγχόμενη απελευθέρωσή τους στη διάρκεια της παραγωγής ή της συντήρησης των προϊόντων.
- Παρασκευάζονται εύκολα και οικονομικά.

Ωστόσο, βάσει ερευνών έχουν παρατηρηθεί κάποιες δυσκολίες κυρίως κατά την εφαρμογή τους. Έτσι τα κύρια μειονεκτήματα των εδώδιμων μεμβρανών είναι τα εξής [24]:

- Το πάχος της επίστρωσης μπορεί να απαγορεύει την ανταλλαγή οξυγόνου, που προκαλεί ανάπτυξη δύσοσμου αρώματος.
- Οι εδώδιμες επιστρώσεις έχουν καλές ιδιότητες φραγμού αερίων. Αυτό προκαλεί στο τρόφιμο την αναερόβια αναπνοή.
- Ορισμένες εδώδιμες μεμβράνες είναι υγροσκοπικού χαρακτήρα, πράγμα που βοηθά στην αύξηση της μικροβιακής ανάπτυξης.
- Απαιτείται λεπτομερής μελέτη για να βρεθεί ποια επικάλυψη είναι κατάλληλη για ένα τρόφιμο.

2.5 ΜΕΜΒΡΑΝΗ ΑΠΟ ΓΛΟΥΤΕΝΗ ΣΙΤΟΥ

Το σιτάρι είναι μία από τις τρεις σημαντικότερες καλλιέργειες στον κόσμο, μαζί με το καλαμπόκι και το ρύζι με την Ινδία να είναι ο δεύτερος μεγαλύτερος παραγωγός σιταριού στον κόσμο. Οι δύο βασικές δομικές μονάδες του σιταριού είναι το άμυλο και η πρωτεΐνη. Η γλουτένη σίτου είναι ένα μεγάλο εκτεταμένο πολυπεπτιδικό πολυμερές χωρίς σφαιρική δομή και παράγεται όταν η ζύμη σίτου πλένεται για να απομακρυνθούν οι κόκκοι αμύλου και τα υδατοδιαλυτά συστατικά. Στην πράξη, ο όρος «γλουτένη» αναφέρεται στις δομικές μονάδες των πρωτεϊνών που απαντώνται στο σιτάρι, επειδή παίζουν βασικό ρόλο στον καθορισμό της ξεχωριστής ποιότητας ψησίματος του σίτου, προσδίδοντας στη ζύμη ικανότητα απορρόφησης νερού, συνεκτικότητα, ιξώδες κι ελαστικότητα. Η γλουτένη περιέχει εκατοντάδες πρωτεϊνικά συστατικά που υπάρχουν είτε ως μονομερή είτε συνδεδεμένα με δισουλφιδικούς δεσμούς μεταξύ των αλυσίδων ως oligo- και πολυμερή. Είναι μοναδικές όσον αφορά τη σύνθεση των αμινοξέων τους, οι οποίες χαρακτηρίζονται από υψηλή περιεκτικότητα σε γλουταμίνη και προλίνη και από χαμηλή περιεκτικότητα σε αμινοξέα με πολλές πλευρικές ομάδες. Τα μοριακά βάρη των εγγενών πρωτεϊνών κυμαίνονται από περίπου 30 kDa έως και περισσότερα από 1000 kDa.

Παραδοσιακά, οι πρωτεΐνες από γλουτένη κατανέμονται σε περίπου ίσα κλάσματα ανάλογα με τη διαλυτότητά τους σε διαλύματα αλκοόλης-νερού (π.χ. 60% αιθανόλη): τις διαλυτές γλιαδίνες (από το ελληνικό "glia", κόλλα) και τις αδιάλυτες γλουτενίνες (από το λατινικό "*glutinis*", κόλλα). Οι ενυδατωμένες γλιαδίνες έχουν μικρή

ελαστικότητα και είναι λιγότερο συνεκτικές από τις γλουτενίνες. Συμβάλλουν κυρίως στο ιξώδες και την εκτατότητα του συστήματος της ζύμης. Αντίθετα, οι ενυδατωμένες γλουτενίνες είναι τόσο συνεκτικές όσο κι ελαστικές και είναι υπεύθυνες για την αντοχή και την ελαστικότητα της ζύμης. Η ομοιοπολική δομή στο δίκτυο της γλουτένης επικαλύπτεται από μη ομοιοπολικούς δεσμούς όπως είναι οι δεσμοί υδρογόνου, οι ιοντικοί δεσμοί και οι υδρόφοβοι δεσμοί. [25]

Οι γλιαδίνες είναι μονόκλωνες πρωτεΐνες χαμηλού μοριακού βάρους, συμπαγούς και σφαιρικού σχήματος με μοριακό βάρος 20-50 kDa. Οι περισσότερες γλιαδίνες είναι παρούσες ως μονομερή. Αρχικά ταξινομήθηκαν σε τέσσερις ομάδες με βάση την κινητικότητά τους σε χαμηλό pH στην ηλεκτροφόρηση πηκτής (α -, β -, γ -, ω -γλιαδίνες κατά σειρά φθίνουσας κινητικότητας). Οι ω -γλιαδίνες χαρακτηρίζονται από υψηλή περιεκτικότητα σε γλουταμίνη, προλίνη και φαινυλαλανίνη, οι οποίες μαζί αντιπροσωπεύουν περίπου το 80% της συνολικής σύνθεσης. Αν και η κατηγοριοποίηση των συνολικών γλιαδινών μεταξύ των διαφόρων τύπων εξαρτάται έντονα από την ποικιλία σιταριού (γονότυπος) και τις συνθήκες καλλιέργειας (έδαφος, κλίμα, λίπανση), μπορεί να γενικευτεί στο γεγονός ότι οι α/β - και ω -γλιαδίνες αποτελούν τα κύρια συστατικά. Οι α/β - και γ -γλιαδίνες περιέχουν εσωτερικούς δισουλφιδικούς δεσμούς, ενώ η ω -γλιαδίνη στερείται καταλοίπων κυστεΐνης. Τα κατάλοιπα κυστεΐνης εμπλέκονται στον σχηματισμό δισουλφιδικών δεσμών στις γλιαδίνες και τις γλουτενίνες, οι οποίοι διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη δομική διαμόρφωση του δικτύου γλουτένης [26].

Οι γλουτενίνες είναι γραμμικές και έχουν υψηλό μοριακό βάρος, έως και 10^6 . Το κλάσμα της γλουτενίνης περιλαμβάνει συσσωρευμένες πρωτεΐνες που συνδέονται με δισουλφιδικούς δεσμούς μεταξύ των αλυσίδων. Έτσι, ένα μέρος των γλουτενινών ανήκει στις μεγαλύτερες πρωτεΐνες στη φύση. Οι επιμέρους δομικές μονάδες της γλουτενίνης μπορούν να ληφθούν με κατεργασία της γλουτενίνης με κάποιο δισουλφιδικό δραστικό παράγοντα, όπως η μερκαπτοαιθανόλη ή η διθειοθρεϊτόλη. Μετά την αναγωγή των δισουλφιδικών δεσμών, οι προκύπτουσες υπομονάδες γλουτενίνης είναι διαλυτές σε υδατικές αλκοόλες, παρόμοιες με τις γλιαδίνες. Διακρίνονται σε υπομονάδες γλουτενίνης υψηλού μοριακού βάρους και υπομονάδες γλουτενίνης χαμηλού μοριακού βάρους. Σύμφωνα με τους Shewry & Tatham, [25] οι

κυρίαρχοι τύποι πρωτεϊνών είναι οι χαμηλού μοριακού βάρους και το ποσοστό τους ανέρχεται στο 20% των συνολικών πρωτεϊνών γλουτένης. Αυτές σχετίζονται με τις α/β - και γ -γλιαδίνες ως προς το μοριακό βάρος και τη σύνθεση των αμινοξέων.

Μια ενδιαφέρουσα προσέγγιση για την αξιοποίηση αυτής της φτηνής πρωτεΐνης είναι η χρήση της ως πρώτη ύλη για την ανάπτυξη βιοσυσκευασιών. Έχει αποδειχθεί ότι η γλουτένη σιταριού έχει καλές ιδιότητες σχηματισμού μεμβρανών, η οποία μπορεί να δημιουργήσει ημιπερατές μεμβράνες σε μόρια υδρατμών, οξυγόνου και διοξειδίου του άνθρακα. Μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί ως μέσο ενθυλάκωσης αρωματικών ενώσεων όπως το D-Λεμονένιο. Οι μεμβράνες γλουτένης σίτου θα μπορούσαν έτσι να εφαρμοστούν ως επιστρώσεις τροφίμων ή ως βρώσιμες μεμβράνες σε τρόφιμα που περιέχουν φυσικά γλουτένη (π.χ. προϊόντα αρτοποιίας), προκειμένου να επιβραδυνθούν φαινόμενα μεταφοράς μάζας, όπως το νερό και το οξυγόνο, τα οποία είναι γνωστό ότι μειώνουν την ποιότητα των τροφίμων. Η μετανάστευση νερού από διάφορες περιοχές των τροφίμων ή η απορρόφησή του από την περιβάλλουσα ατμόσφαιρα θα μπορούσε να προκαλέσει αλλαγές στη φυσική τους κατάσταση, να αυξήσει τους ρυθμούς των χημικών αντιδράσεων και των φαινομένων αλλοίωσης, όπως η μικροβιακή ανάπτυξη, μειώνοντας έτσι τη διάρκεια ζωής του τροφίμου. Κατά παρόμοιο τρόπο, η μεταφορά οξυγόνου θα μπορούσε να ευνοήσει τις αντιδράσεις οξείδωσης των λιπιδίων ή των χρωστικών ουσιών που περιέχονται στα τρόφιμα με αποτέλεσμα την δημιουργία ανεπιθύμητων γεύσεων και χρωματικών αλλαγών στα προϊόντα [27].

Οι μεμβράνες συσκευασίας με βάση τη γλουτένη σίτου μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν για την ενσωμάτωση λειτουργικών παραγόντων, όπως αντιμικροβιακών, αντιοξειδωτικών, προβιοτικών κ.λπ. σε τρόφιμα. Ωστόσο, παρόλο που υπάρχουν κάποιες έρευνες οι οποίες επικεντρώνονται στις επιδράσεις της θερμοκρασίας μορφοποίησης, του χρόνου ανάμιξης, του τύπου και της περιεκτικότητας των πλαστικοποιητών στις ιδιότητες των μεμβρανών από γλουτένη σιταριού, οι συνθήκες επεξεργασίας που επιλέγονται για τη δημιουργία των φιλμ διαφέρουν σημαντικά σύμφωνα με τη βιβλιογραφία.

Για παράδειγμα, μια ομάδα ερευνητών δημοσίευσε τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την χρήση διαφορετικών περιεκτικοτήτων νερού και γλυκερόλης, οι οποίοι επιλέχθηκαν ως πλαστικοποιητές για την παρασκευή μεμβρανών από γλουτένη σίτου, καθώς και διαφορετικών συνθηκών επεξεργασίας (χρόνος ανάμιξης και θερμοκρασίας) στις φυσικές και μηχανικές ιδιότητες των μεμβρανών. Οι μεμβράνες που προέκυψαν χαρακτηρίστηκαν ως προς την προσρόφηση υγρασίας, τη συνολική διαλυτή ύλη, τη διαπερατότητα σε υδρατμούς, τις μηχανικές ιδιότητες και τις ιδιότητες εφελκυσμού.

Αναλυτικότερα, χρησιμοποιήθηκαν περιεκτικότητες γλυκερόλης (με βάση το συνολικό βάρος του ζυμαριού) που κυμαίνονταν από 25 έως 40% σε θερμοκρασία 90°C ή 130°C, 29,6% σε θερμοκρασία 80°C έως 150°C, 25,9% σε θερμοκρασία 65°C έως 125 °C, 18,6% έως 51,9% σε θερμοκρασία 120°C, 27,1% σε θερμοκρασία 80°C ή 120°C και 34,64% σε θερμοκρασία 25°C. Έπειτα από την επεξεργασία μορφοποίησαν το μείγμα αντίστοιχα προκειμένου να μελετήσουν την επίδραση των διαφορετικών θερμομηχανικών κατεργασιών [28].

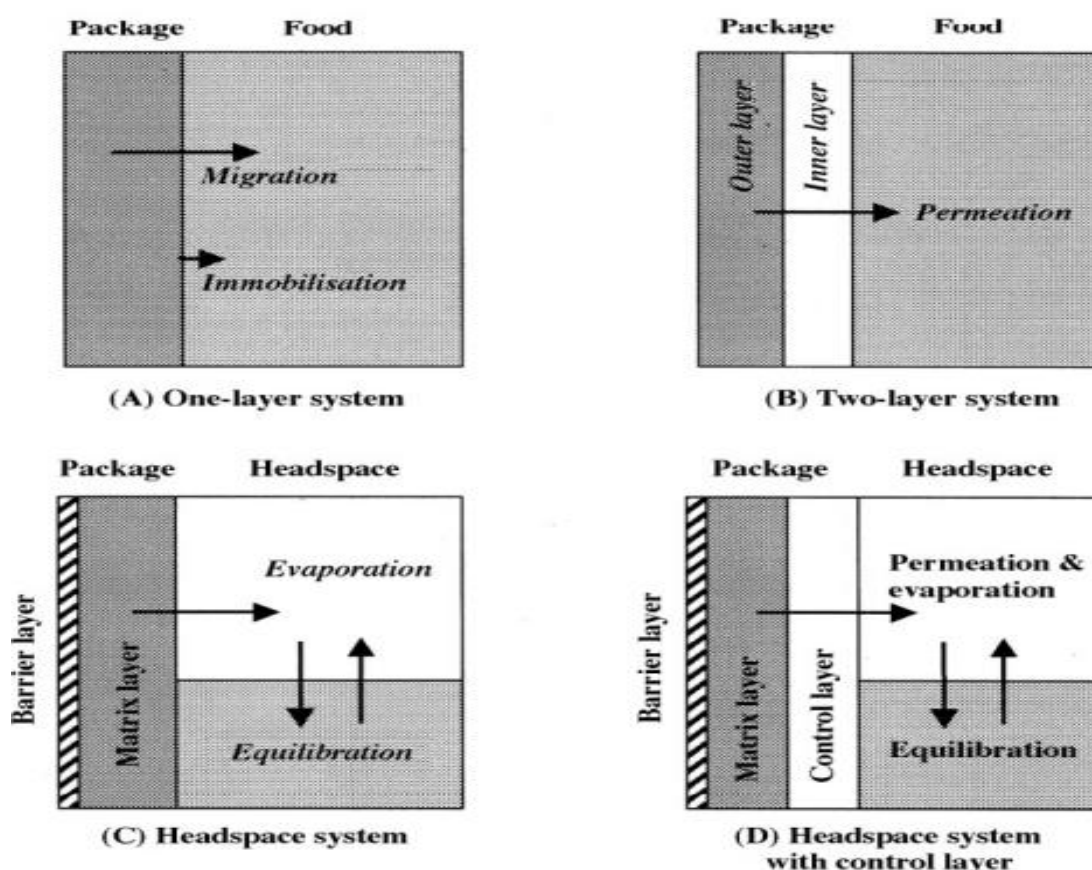
2.6 ΕΝΣΩΜΑΤΩΣΗ ΚΑΙ ΑΠΕΛΕΥΘΕΡΩΣΗ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ

Με τον όρο πρόσθετες ουσίες ή πρόσθετα, χαρακτηρίζονται οι ουσίες που προστίθενται στις εδώδιμες μεμβράνες κι επικαλύψεις, προκειμένου να βελτιώσουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (χρωστικές, αρώματα, πρόσθετα γεύσης, πρόσθετα υφής), τα προστατευτικά (συντηρητικά, αντιοξειδωτικά) και διαθρεπτικά (πρωτεΐνες, λίπη-έλαια, βιταμίνες και ιχνοστοιχεία) συστατικά του προϊόντος.

Στις εδώδιμες μεμβράνες κι επικαλύψεις υπάρχει η δυνατότητα να προστεθούν ουσίες, όπως αντιμικροβιακοί, αντιμυκητιασικοί ή/και αντιοξειδωτικοί παράγοντες, χρωστικές, αρώματα, «ευεργετικοί» μικροοργανισμοί κ.ά. με τη χαμηλότερη δυνατή συγκέντρωση με σκοπό τη διατήρηση της λειτουργικότητας της μεμβράνης, κυρίως στην επιφάνεια του τροφίμου. Στην περίπτωση αυτή η μεμβράνη δρα ως φορέας που

εγκλωβίζει την εκάστοτε ουσία ή τον μικροοργανισμό, δημιουργώντας με τον τρόπο αυτό συνθήκες ελεγχόμενης απελευθέρωσης αυτών [20] [22].

Οι αντιμικροβιακοί παράγοντες μπορούν να ενσωματωθούν σε ένα σύστημα συσκευασίας μέσω απλής ανάμειξης με τα υλικά συσκευασίας, με ακινητοποίηση των παραγόντων αυτών στα υλικά συσκευασίας ή μέσω επικάλυψής τους στην επιφάνεια του πολυμερικού υλικού, ανάλογα με τα χαρακτηριστικά του συστήματος συσκευασίας, του αντιμικροβιακού παράγοντα και του τροφίμου. Οι ενσωματωμένοι αντιμικροβιακοί παράγοντες μπορούν να μεταναστεύσουν από τα υλικά συσκευασίας στα τρόφιμα, ενώ ο ακινητοποιημένος παράγοντας δεν μπορεί. Η επόμενη εικόνα (εικόνα 3) απεικονίζει τα διάφορα είδη αντιμικροβιακά συστήματα και τους τρόπους απελευθέρωσής τους.



Εικόνα 3 : Αντιμικροβιακό Σύστημα Συσκευασίας. (Α) Σύστημα μιας στρώσης, (Β) Σύστημα δύο στρώσεων, (C) Σύστημα υπερκείμενου χώρου, (D) Σύστημα υπερκείμενου χώρου με στρώμα ελέγχου.

Αναλυτικότερα τα συστήματα (Α) και (Β) απελευθερώνουν τους ενσωματωμένους αντιμικροβιακούς παράγοντες μέσω διάχυσης, ενώ τα συστήματα (Γ) και (Δ) απελευθερώνουν πτητικούς αντιμικροβιακούς παράγοντες μέσω εξάτμισης. Στο σύστημα (Α), το οποίο είναι ένα σύστημα μιας στρώσης ο αντιμικροβιακός παράγοντας ενσωματώνεται στο υλικό συσκευασίας ή δεσμεύεται χημικά στο υλικό συσκευασίας με ακινητοποίηση. Στο σύστημα (Β), το οποίο αποτελεί ένα σύστημα δύο στρωμάτων ο αντιμικροβιακός παράγοντας που βρίσκεται στο εξωτερικό στρώμα επικαλύπτεται στο υλικό συσκευασίας (εσωτερικό στρώμα) ή το αντιμικροβιακό στρώμα(εξωτερικό στρώμα) επικαλύπτεται με το «στρώμα ελέγχου» (εσωτερικό στρώμα) για να ελέγχεται επακριβώς ο ρυθμός απελευθέρωσης.

Το σύστημα (Γ) είναι ένα σύστημα υπερκείμενου χώρου. Με βάση τη συγκεκριμένη τεχνική, ο πτητικός αντιμικροβιακός παράγοντας που αρχικά ενσωματώνεται στο πολυμερικό υλικό απελευθερώνεται στον υπερκείμενο χώρο της συσκευασίας. Στη συνέχεια, κατανέμεται μεταξύ του υπερκείμενου χώρου και του τροφίμου όταν επιτευχθεί ισορροπία ισοθέρμου απορρόφησης. Τέλος, το σύστημα (Δ) αποτελεί ένα σύστημα υπερκείμενου χώρου με στρώμα ελέγχου. Το στρώμα αυτό ελέγχει εκλεκτικά τη διαπερατότητα του πτητικού αντιμικροβιακού παράγοντα και διατηρεί τη συγκέντρωσή του σε καθορισμένα όρια [3].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 : ΑΙΘΕΡΙΑ ΕΛΑΙΑ

3.1 ΑΙΘΕΡΙΑ ΕΛΑΙΑ

Τα αιθέρια έλαια είναι οι αρωματικές πτητικές ουσίες, οι οποίες είναι διαλυτές στην αλκοόλη, λιγότερο διαλυτές στο νερό και αποτελούνται από μίγμα εστέρων, αλδεϋδών, κετονών και τερπενίων. Λαμβάνονται κυρίως από φυτικές πρώτες ύλες αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών μετά από απόσταξη με υδρατμούς.

Ο χρησιμοποιούμενος όρος «αιθέριο έλαιο» χρονολογείται τον 16ο αιώνα και αποδίδεται στον Ελβετό ιατρό Paracelsus von Hohenheim, ο οποίος ονόμασε το δραστικό συστατικό ενός φαρμάκου *Quinta essentia* [29]. Σήμερα υπολογίζεται ότι

είναι γνωστά περίπου 3000 διαφορετικά αιθέρια έλαια από τα οποία τα 300 έχουν εμπορική σημασία, χρησιμοποιούμενα κυρίως ως βελτιωτικά γεύσης και στην αρωματοποιία.

Γενικά τα αιθέρια έλαια αποτελούν μίγματα πολλών οργανικών ουσιών των οποίων η ποσοτική και ποιοτική σύσταση εξαρτάται από πολλούς παράγοντες (το γενότυπο του φυτού, το στάδιο ανάπτυξης, τις καλλιεργητικές φροντίδες και τις εδαφολογικές συνθήκες) και υπάρχουν στα φύλλα, στους βλαστούς και στα αναπαραγωγικά όργανα (άνθη, καρπούς κτλ.). Αποθηκεύονται στα εξωτερικά μέρη των φυτών και κυρίως στην επιδερμίδα και στο μεσόφυλλο, έχουν χαμηλό σημείο ζέσεως και μπορούν να εξαχθούν με απόσταξη. Τα τερπενοειδή είναι η πιο σημαντική ομάδα ουσιών που βρίσκονται στα αιθέρια έλαια.

Τα αιθέρια έλαια συνήθως υπάρχουν μέσα στο φυτό και θεωρούνται πιθανές εναλλακτικές λύσεις, καθώς περιέχουν βιοδραστικές ενώσεις με αντιοξειδωτική και αντιμικροβιακή δραστηριότητα έναντι παθογόνων και αλλοιογόνων μικροοργανισμών και βακτηρίων που συναντώνται στα τρόφιμα. Αρκετές μελέτες έχουν διεξαχθεί σχετικά με την εφαρμογή των αιθέριων ελαίων ως αντιμικροβιακές ουσίες κι έχει αποδειχθεί ότι πέραν της χρήσης τους ως αρωματικές ουσίες στα τρόφιμα αυξάνουν την ασφάλεια και τη διάρκεια ζωής των τροφίμων.

Βασικός παράγοντας στην επίδραση που έχουν τα αιθέρια έλαια αποτελεί η σύνθεσή τους. Τα συστατικά των αιθέριων ελαίων χωρίζονται σε δύο κατηγορίες. Στα οξυγονούχα (αλκοόλες, αλδεΐδες, κετόνες, φαινόλες, οξέα και εστέρες) και στα μη οξυγονούχα (υδρογονάνθρακες, μονοκυκλικά και δικυκλικά τερπένια). Τα κυριότερα από τα οξυγονούχα συστατικά είναι τα παρακάτω:

- Αλκοόλες (λιναλοόλη, γερανιόλη, κιτρονελλόλη, νερόλη, τερπινεόλη, πουλεγόλη, μενθόλη, πιπεριτόλη, καρβεόλη, βορνεόλη κ.α.)
- Αλδεΐδες (κιτράλη, κιτρονελλάλη, φεκκανδράλη, μυρτενάλη, σαφρανάλη)
- Κετόνες (μενθόνη, πουλεγόννη, καρβόνη, πιπερόνη, καμφορά)
- Φαινόλες (θυμόλη, καρβακρόλη, ανηθόλη, ευγενόλη)

- Οξέα (διάφορα οργανικά οξέα ενωμένα συνήθως με αλκοόλες σε εστέρες)
- Εστέρες (οξικός γερανυλεστέρας, οξικός λιναλυλεστέρας, οξικός κιτρίνελλυλεστέρας, οξικός μενθυλεστέρας) [30]

3.2 ΧΡΗΣΕΙΣ ΑΙΘΕΡΙΩΝ ΕΛΑΙΩΝ

Πολλές είναι οι εφαρμογές και οι χρήσεις των αιθέριων ελαίων, τόσο ως πρόσθετα στα τρόφιμα (βελτιωτικά γεύσης), όσο και στην αρωματοποιία και στην παρασκευή φαρμάκων. Η χρήση τους ως αντιοξειδωτικά και αντιμικροβιακά πρόσθετα για τη συντήρηση των τροφίμων διαρκώς αυξάνεται. Πιο συγκεκριμένα, η εφαρμογή τους στον τομέα των τροφίμων, μπορεί να γίνει είτε προσθέτοντάς τα απευθείας στο τρόφιμο για ενίσχυση των ιδιοτήτων του είτε ενσωματώνοντάς τα σε υλικά συσκευασίας που περιβάλλουν το τρόφιμο [31].

3.3 ΝΟΜΟΘΕΤΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ ΑΙΘΕΡΙΩΝ ΕΛΑΙΩΝ ΣΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ

Αρκετά από τα συστατικά των αιθέριων ελαίων μπορούν να θεωρηθούν ασφαλή για την υγεία των καταναλωτών, αφού έχουν εγκριθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση για χρήση σε τρόφιμα. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται η καρβακρόλη (κύριο συστατικό της ρίγανης), η θυμόλη (κύριο συστατικό του θυμαριού), η μενθόλη, το κυμένιο, η ευγενόλη, το ζιγγεβερένιο ή η τζιντζερόλη (κύρια συστατικά του τζίντζερ) (EC/113/2002). Όλες οι εγκεκριμένες από την Ε.Ε. ουσίες, διαθέτουν άδεια για χρήση στα τρόφιμα. Αυτές μπορούν να χρησιμοποιηθούν και στις Η.Π.Α. Οι ουσίες αυτές είναι γενικά αναγνωρισμένες ως ασφαλείς (Generally Regarded As Safe, GRAS) από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων των Η.Π.Α. (Food and Drug Administration, FDA) και περιλαμβάνονται στη λίστα “Everything Added to Food in the US”. Για την έγκριση νέων ουσιών στην κατηγορία αυτή χρειάζονται πλήρεις φαρμακολογικές και

τοξικολογικές μελέτες, μια διαδικασία που είναι ιδιαίτερα χρονοβόρα και δαπανηρή [32].

3.4 ΑΙΘΕΡΙΟ ΕΛΑΙΟ ΔΥΟΣΜΟΥ

Ο δυόσμος (*Mentha spicata* L.) είναι ένα φυτικό είδος που ανήκει στο γένος *Mentha* της οικογένειας *Lamiaceae*. Το γένος *Mentha* περιλαμβάνει ορισμένα είδη που καλλιεργούνται στο εμπόριο, όπως η καλαμποκοειδή/ιαπωνική μέντα (*Mentha arvensis*), η μέντα (*Mentha piperita*), η μέντα περγαμόντου (*Mentha citrate*) και ο δυόσμος (*Mentha spicata*). Ο δυόσμος καλλιεργείται για τα αιθέρια έλαιά του (EOs), τα οποία χρησιμοποιούνται σε διάφορες βιομηχανίες, συμπεριλαμβανομένων των αρωμάτων, των τροφίμων και των ποτών, και για τις ευεργετικές για την υγεία ιδιότητές του (αντιοξειδωτικές, αντιφλεγμονώδεις και αντιμικροβιακές) [33].

Το αιθέριο έλαιο του αυτοφυούς δυόσμου είναι άφθονο σε τερπένια και άλλες χημικές ενώσεις [34]. Οι κύριες ενώσεις στα αιθέρια έλαια του δυόσμου είναι η μονοτερπενοειδής καρβόνη και το μονοτερπενικό λεμονένιο [33]. Έτσι, χρησιμοποιείται - εκτός των άλλων - ως πηγή αντιμικροβιακού, αντιοξειδωτικού, εντομοκτόνου ακόμη και μεταλλαξιογόνου παράγοντα για την καταπολέμηση εντόμων και βακτηρίων στα φρούτα. Το αιθέριο έλαιο δυόσμου χρησιμοποιείται επίσης συχνά για τον έλεγχο των ακάρεων, τα οποία αποτελούν σημαντικό εχθρό των αποικιών των μελισσών παγκοσμίως [34].

Σε εφαρμογές τροφίμων, όπως στις τσίχλες και στα γλυκίσματα, χρησιμοποιούνται τα εκχυλίσματα των αιθέριων ελαίων. Στα παραδοσιακά τρόφιμα, τα φύλλα (νωπά ή αποξηραμένα) προστίθενται ως αρωματικός παράγοντας π.χ. σε σούπες, ψωμιά, σαλάτες, τυριά και ρόφημα από βότανα. Εκτός από τις αισθητηριακές εφαρμογές, παρουσιάζουν επίσης αντιμικροβιακές και αντιοξειδωτικές επιδράσεις και πειραματίζονται ως φυσική αντιμικροβιακή μη θερμική επεξεργασία για ζωικά και φυτικά τρόφιμα [33].

Επιπλέον, το αιθέριο έλαιο δυόσμου έχει δείξει αντιμικροβιακές και αντιοξειδωτικές ιδιότητες που αξίζει να μελετηθούν σε μία βρώσιμο βιομεμβράνες. Η ενσωμάτωσή

του σε πολυμερείς βρώσιμες μεμβράνες μπορεί να είναι χρήσιμη για την ανάπτυξη βιολογικά ενεργών μεμβρανών. Ακόμη, η άφθονη διαθεσιμότητά του το καθιστά εξαιρετικό υποψήφιο παράγοντα για την ανάπτυξη ενός βιώσιμου, οικονομικά αποδοτικού και φιλικού προς το περιβάλλον υλικού συσκευασίας τροφίμων [35].

3.5 ΑΙΘΕΡΙΟ ΕΛΑΙΟ ΓΑΡΥΦΑΛΛΟΥ

Ως ένα από τα πολυτιμότερα μπαχαρικά που χρησιμοποιούνται εδώ και αιώνες, οι άνθρωποι φυτεύουν, καλλιεργούν κι εμπορεύονται τα μπουμπούκια του γαρύφαλλου ως το κύριο συστατικό των καρπών του [36]. Το γαρύφαλλο (*Syzygium aromaticum* L.) είναι ένα αειθαλές δέντρο που αναπτύσσεται έως και 8 μέτρα σε ύψος, με μεγάλα φύλλα και βυσσινί άνθη ομαδοποιημένα σε τερματικές συστάδες. Τα μπουμπούκια των λουλουδιών του έχουν αρχικά μια ωχρή απόχρωση, σταδιακά γίνονται πράσινα και στη συνέχεια μεταπίπτουν σε ένα έντονο κόκκινο χρώμα όταν είναι έτοιμα για συγκομιδή. Τα γαρύφαλλα συγκομίζονται σε μήκος 1,5 μέτρου και αποτελούνται από έναν μακρύ κάλυκα που καταλήγει σε τέσσερα απλωμένα σέπαλα και τέσσερα μη ανοιγμένα πέταλα που σχηματίζουν μια μικρή κεντρική μπάλα [37]. Κάθε γαρυφαλλόδεντρο μπορεί να παράγει κατά μέσο όρο 0,45-0,88 κιλά ξηρών φύλλων σε μια εβδομάδα. Τα ξηρά φύλλα του γαρύφαλλου αποτελούν πολύτιμη και δυνητική πηγή αιθέριου ελαίου [36].

Τα κύρια χημικά συστατικά του αιθέριου ελαίου γαρύφαλλου με ανασταλτική επίδραση είναι η ευγενόλη, το β-καρυοφυλλένιο και η ακετυλοευγενόλη [38]. Τυπικά, η περιεκτικότητα σε ευγενόλη ανέρχεται σε ποσοστό 70-80%. Η ευγενόλη και το β-καρυοφυλλένιο αναφέρεται ότι έχουν ποικίλες φαρμακολογικές ιδιότητες, όπως αντιοξειδωτικές, αντιμυκητιασικές, αντιφλεγμονώδεις, αναλγητικές και αναισθητικές, οι οποίες ως εκ τούτου προωθούν την ευρεία εφαρμογή του αιθέριου ελαίου. Το γαρυφαλλέλαιο χρησιμοποιείται κυρίως στις βιομηχανίες αρωμάτων, στα συμπυκνώματα αρωμάτων και στις φαρμακευτικές βιομηχανίες, ενώ πλέον προστίθενται σε διάφορα συστήματα ως ισχυρός αντιμικροβιακός παράγοντας. Το

ευρύ φάσμα εφαρμογών του ελαίου έχει επίσης αυξήσει την οικονομική του αξία. Αναφέρεται ότι η τιμή του γαρυφαλλέλαιου είναι 31,5 \$/kg [36].

Σε γενικές γραμμές, τα ενεργά συστατικά του αιθέριου ελαίου αναστέλλουν τους μικροοργανισμούς διασπώντας τις κυτταροπλασματικές τους μεμβράνες. Με τον τρόπο αυτό διαταράσσουν την κινητήρια δύναμη των πρωτονίων, τη ροή των ηλεκτρονίων, την ενεργό μεταφορά θρεπτικών συστατικών κι αναστέλλουν τη σύνθεση των πρωτεϊνών [38].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΚΡΕΑΣ

4.1 : ΚΡΕΑΣ ΚΑΙ ΕΙΔΗ ΚΡΕΑΤΟΣ

Ποικίλοι ορισμοί έχουν δοθεί για το κρέας και τα προϊόντα του. Πριν το 1900, ως κρέας ορίζονταν τα βρώσιμα μέρη των θηλαστικών και των πτηνών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην ανθρώπινη διατροφή. Με τη Συνθήκη της Γενεύης, περίπου το 1908, αποφασίστηκε να ορίζεται ως νωπό κρέας όλα τα εδώδιμα μέρη του ζώου που μπορούν να καταναλωθούν από τον άνθρωπο και δεν έχουν υποστεί καμία επεξεργασία πλην της ψύξης. Σύμφωνα με τον Ευρωπαϊκό Κανονισμό (ΕΚ) αριθμ.853/2004, ως κρέας ορίζονται τα εδώδιμα μέρη ζώων όπως τα οικόσιτα βοοειδή (συμπεριλαμβανομένου του βούβαλου και βίσωνα), οι χοίροι, τα αιγοπρόβατα, τα εκτρεφόμενα πτηνά, τα κουνέλια, οι λαγοί καθώς και τα άγρια και εκτρεφόμενα θηράματα. Ειδικότερα, ως «νωπό κρέας» ορίζεται το κρέας το οποίο δεν έχει υποστεί καμία επεξεργασία συντήρησης εκτός της ψύξης, κατάψυξης ή βαθιάς κατάψυξης, συμπεριλαμβανομένου του κρέατος που είναι συσκευασμένο σε κενό αέρος ή σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα [32].

Σε πιο πρόσφατες αναφορές, ως «κρέας» ορίζεται η σάρκα των θερμόαιμων ζώων και πτηνών που αποτελείται κυρίως από μυϊκό ιστό και η οποία μετά τη σφαγή του ζώου/πτηνού έχει υποστεί μεταθανάτιες βιοχημικές μεταβολές που την καθιστούν τρυφερή και εύγευστη. Επιπλέον, με την ευρεία έννοια του όρου, ως κρέας ορίζεται το σύνολο των ζωικών ιστών που είναι κατάλληλοι για ανθρώπινη κατανάλωση [39].

Σύμφωνα με τον Κώδικα Τροφίμων και Ποτών (Κ.Τ.Π.), ως κρέας χαρακτηρίζονται τα αυτοτελή σώματα ή τμήματα σωμάτων των θερμόαιμων ζώων ή πτηνών κατάλληλα προς διατροφή του ανθρώπου και διατιθέμενα στην κατανάλωση ως έχουν, χωρίς καμία επεξεργασία εκτός της ψύξης.

Τα κρέατα ανάλογα με την ποσότητα της μυοσφαιρίνης που περιέχεται στους ιστούς τους, χωρίζονται σε δυο μεγάλες κατηγορίες, τα κόκκινα (βοδινό, το χοιρινό και το αιγοπρόβειο) και τα λευκά κρέατα (πουλερικών και του κουνελιού) [39].

Βοδινό κρέας

Προέρχεται από μοσχάρι ή από νεαρό βοοειδές. Ως μοσχάρι ορίζεται το νεαρό βοδινό και των δυο φύλων που δεν έχει φτάσει την αναπαραγωγική ηλικία κι έχει μέγιστο βάρος 342 κιλά. Το κρέας των βοοειδών χωρίζεται ανάλογα με την ηλικία του ζώου σε τρεις κατηγορίες: α) μόσχος γάλακτος (4 μηνών-1 έτους), β) μόσχος στάβλου (1 έτους-2 ετών) και γ) δαμάλι (2-3 ετών).

Χοιρινό κρέας

Προέρχεται από νεαρά ζώα, ηλικίας 6-7 μηνών των οποίων το βάρος κυμαίνεται από 80 έως 110 κιλά και τα οποία μπορεί να είναι αγριόχοιροι ή κατοικίδια. Το μεγαλύτερο μέρος του χοιρινού κρέατος επεξεργάζεται και παράγεται ζαμπόν, μπέικον και λουκάνικο.

Αρνίσιο κρέας

Το αρνίσιο κρέας προέρχεται κυρίως από πρόβατα ηλικίας 7-8 μηνών, έχει βάρος 55 περίπου κιλά το οποίο αντιστοιχεί σε 27-35 κιλά κρέατος (οστά και λίπος). Υπάρχει και μεγαλύτερης ηλικίας αρνίσιο κρέας το οποίο όμως είναι λιγότερο τρυφερό.

Κρέας κουνελιού

Υπάρχουν δυο είδη κουνελιού, το νεαρό και το ώριμο. Με τον όρο «νεαρό» εννοείται το κουνέλι ηλικίας 12 εβδομάδων το οποίο ζυγίζει περίπου από 700 γραμμάρια έως 1,6 κιλά. Έχει σάρκα απαλή, χρώματος ανοιχτού ροζ και μαλακή υφή. Το «ώριμο» κουνέλι έχει βάρος περίπου 2 κιλά με ηλικία μεγαλύτερη των 8 μηνών. Η σάρκα του είναι σκληρή, σφικτή και σκούρου χρώματος [40].

Κρέας πουλερικών

Το κρέας των πουλερικών μπορεί να προέρχεται από κοτόπουλα, κότες, κόκορες ή καπόνια. Οι κόκορες είναι ώριμα αρσενικά με σκληρό και σκούρο κρέας. Οι κότες έχουν ηλικία δέκα μηνών έως 1,5 χρόνων με σκληρότερο κρέας από αυτό των κοτόπουλων. Τα κοτόπουλα ζυγίζουν μέχρι 2 κιλά κι έχουν ανοιχτό χρώμα κρέατος.

4.2: ΚΟΤΟΠΟΥΛΟ

Τα προϊόντα πουλερικών έχουν ζήτηση σε όλα τα μέρη του κόσμου. Όταν δεν υπάρχουν θρησκευτικοί ή πολιτιστικοί φραγμοί, το εν λόγω κρέας προηγείται στις προτιμήσεις των καταναλωτών. Το κρέας πουλερικών απολαμβάνει επίσης δημοτικότητα στις ανεπτυγμένες αγορές, λόγω της τιμής του και των αντιληπτών πλεονεκτημάτων όσο αναφορά την ασφάλεια και την υγεία σε σύγκριση με άλλες πηγές κρέατος. Τα πουλερικά είναι οικονομικά, εύκολα και γρήγορα στην προετοιμασία και το σερβίρισμα. Έχουν επίσης μια σειρά από επιθυμητές διατροφικές ιδιότητες.

Σε παγκόσμιο επίπεδο, η παραγωγή κρέατος πουλερικών πλησίασε τους 70 εκατομμύρια τόνους το 2000, με μέσο ετήσιο ρυθμό αύξησης 5,3% κατά τις 4 τελευταίες δεκαετίες. Επί του παρόντος, οι Ηνωμένες Πολιτείες, η Κίνα, η Ευρωπαϊκή Ένωση και η Βραζιλία είναι οι κύριοι παραγωγοί πουλερικών, με παραγωγή που έφτασε το 65% της συνολικής παραγωγής κρέατος πουλερικών το 2000.

Παγκοσμίως, το κοτόπουλο (κυρίως τα κοτόπουλα εκτροφής, αλλά και οι όρνιθες εκτροφής και τα αρσενικά, καθώς και τα αυγά) εξακολουθεί να είναι το πιο δημοφιλές κρέας πουλερικών, αντιπροσωπεύοντας περίπου το 85% της συνολικής

παραγωγής πουλερικών. Αποτελεί μια πολύ δημοφιλή και υγιεινή τροφή, καθώς μπορεί να παρασκευαστεί με ποικίλους τρόπους. Από το τηγανητό κοτόπουλο μέχρι το κοτόπουλο στα κάρβουνα και το κοτόπουλο ταντούρι ή τη σπιτική κοτόσουπα, το συγκεκριμένο τρόφιμο εκτιμάται από ανθρώπους όλων των ηλικιών, καθώς και από διαφορετικές πολιτιστικές γαστρονομικές κουλτούρες.

Το κοτόπουλο παρέχει βιταμίνες όπως η B6 και η B12 και διάφορα μέταλλα απαραίτητα για τον ανθρώπινο οργανισμό όπως ο Σίδηρος, ο Ψευδάργυρος και ο Φώσφορος. Είναι σημαντική πηγή πρωτεΐνης, η οποία είναι πλούσια πηγή όλων των απαραίτητων αμινοξέων, κι έχει χαμηλή περιεκτικότητα σε λίπος, το οποίο είναι λιγότερο κορεσμένο από το λίπος του βοείου κρέατος. Ωστόσο, η κατανάλωση κοτόπουλου με την πέτσα διπλασιάζει την ποσότητα λίπους και κορεσμένων λιπαρών οξέων. Για τον λόγο αυτό, συστήνεται να ξεφλουδίζεται πριν από το μαγείρεμα. Ακόμη, για να μειωθεί το λίπος στα μαγειρεμένα πουλερικά, έχουν προταθεί μέθοδοι μαγειρέματος όπως το ψήσιμο στο φούρνο, το βράσιμο, το σιγοβράσιμο ή και το μαγείρεμα στο φούρνο μικροκυμάτων [41].

4.3: ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΑΛΛΟΙΩΣΗΣ ΣΤΟ ΚΡΕΑΣ

Στη λιανική διανομή προϊόντων κρέατος και πουλερικών, οι συμβατικές μέθοδοι συντήρησης όπως η ψύξη, δεν επαρκούν για την επιβράδυνση της αλλοίωσης κατά την επεξεργασία και την αποθήκευση των τροφίμων. Οι τρεις κύριοι μηχανισμοί αλλοίωσης του κρέατος και των πουλερικών είναι η μικροβιακή αλλοίωση, η οξείδωση των λιπιδίων και οι ενζυμικές αντιδράσεις, όπως τα πρωτεολυτικά και λιπολυτικά ένζυμα που παρατηρούνται μετά τη σφαγή αλλά και τα ένζυμα που παράγονται από τους μικροοργανισμούς κατά την αποθήκευση του τροφίμου. Συγκεκριμένα, το κρέας από κοτόπουλο, είναι πολύ ευαίσθητο στην αλλοίωση λόγω της εγγενούς μικροχλωρίδας του.

Ως εκ τούτου μετά τη σφαγή, η εγγενής μικροχλωρίδα τους μπορεί να συμβάλει στην αλλοίωση των προϊόντων πουλερικών, εάν το κρέας δεν αποθηκευτεί ή δεν χειριστεί σωστά. Ορισμένα βακτήρια, όπως οι *Pseudomonas* spp., ο *Brochothrix thermosphacta*,

τα οξυγαλακτικά βακτήρια (L.A.B.) και τα *Enterobacteriaceae* συνδέονται ιδιαίτερα με την αλλοίωση του τροφίμου. Ευνοϊκοί εγγενείς παράγοντες όπως η υψηλή υγρασία, το υψηλό pH, οι χημικές αντιδράσεις μετά τη σφαγή και η ενζυμική δραστηριότητα, ο κακός χειρισμός και οι δυσμενείς συνθήκες κατεργασίας (π.χ. επεξεργασμένα τεμάχια, κυμαινόμενες θερμοκρασίες και διασταυρούμενη επιμόλυνση) μπορούν να επιταχύνουν αυτές τις αλλοιώσεις. Λόγω των παραγόντων αυτών, τα προϊόντα πουλερικών έχουν σύντομη διάρκεια ζωής που κυμαίνεται μεταξύ 5-8 ημερών σε θερμοκρασίες ψύξης στους 4-8 °C.

Εκτός από την υποβάθμιση που προκαλείται από την αλλοίωση, τα προϊόντα πουλερικών αποτελούν κατάλληλο μέσο και για τους παθογόνους μικροοργανισμούς των τροφίμων όταν επικρατούν ευνοϊκές συνθήκες (υψηλή περιεκτικότητα σε υγρασία, βέλτιστο pH, διαθέσιμα θρεπτικά συστατικά, διαδικασίες χειρισμού).

Τα παθογόνα κι αλλοιογόνα βακτήρια προκαλούν κάθε χρόνο σοβαρές οικονομικές απώλειες στη βιομηχανία των πουλερικών και σημαντικές επιπτώσεις στην υγεία των πελατών. Όσο αναφορά τους μικροοργανισμούς, το 70% των κρουσμάτων τροφιμογενών ασθενειών στις Ηνωμένες Πολιτείες αποδίδεται στη *Salmonella Typhimurium* και στη *Listeria monocytogenes*. Όσο αναφορά την Ευρώπη, σύμφωνα με την έκθεση του Ευρωπαϊκού Κέντρου Πρόληψης κι Ελέγχου Ασθενειών (ECDC), ο συνολικός αριθμός των δηλωθέντων κρουσμάτων σαλμονέλλωσης και λιστερίωσης που καταγράφηκαν το 2021 ήταν 10.657 και 2.243, αντίστοιχα. Η ηλικιακή ομάδα που επηρεάστηκε περισσότερο από τη λιστερίωση ήταν οι ηλικιωμένοι (65+ ετών), ενώ οι κάτω των 50 ετών επηρεάστηκαν περισσότερο από η σαλμονέλλωση [42].

4.4 : ΚΑΙΝΟΤΟΜΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ ΤΟΥ ΚΡΕΑΤΟΣ

Το κρέας είναι μια από τις κύριες πηγές παθογόνων μικροοργανισμών που προκαλούν τροφιμογενείς ασθένειες στον άνθρωπο. Τα βακτηριακά εντερικά παθογόνα συμβάλλουν σημαντικά στην ανησυχία των υπεύθυνων φορέων ανά τον κόσμο για την ασφάλεια των τροφίμων. Τα ζώα που παράγουν τρόφιμα (βοοειδή, χοίροι, κοτόπουλα και γαλοπούλες) θεωρούνται ως οι κύριες πηγές για πολλά από

αυτά τα παθογόνα. Τα προϊόντα κρέατος αποτελούν, ειδικότερα, σημαντική πηγή της *L.monocytogenes*. Φαίνεται ότι αυτό το στέλεχος είναι το παθογόνο που προκαλεί μεγάλη ανησυχία στα προϊόντα πουλερικών και στα έτοιμα προς κατανάλωση προϊόντα κρέατος. Πιθανότητα επιμόλυνσης με παθογόνους μικροοργανισμούς υπάρχει σε κάθε στάδιο της τροφικής αλυσίδας [1]. Στο κρέας και τα προϊόντα κρέατος πρέπει επίσης να αποφεύγεται η απώλεια υγρασίας κατά τη συσκευασία τους, να μειώνεται ο ρυθμός οξειδωσης, να διατηρούνται οι ζωμοί του φρεσκοκομμένου κρέατος και να ελαττώνεται η απώλεια πτητικών αρωματικών ενώσεων αλλά και η πρόσληψη ανεπιθύμητων οσμών [43].

Οι στρατηγικές παρέμβασης για την αντιμετώπιση των μικροοργανισμών αυτών στο κρέας μπορούν να ταξινομηθούν στη μείωση των μικροοργανισμών στα ζώα πριν από τη συλλογή και σε απολύμανση τόσο των σφαγίων όσο και του κρέατος μετά τη συλλογή. Οι τελευταίες περιλαμβάνουν διάφορες φυσικές και χημικές μεθόδους ή και συνδυασμό αυτών [1]. Ωστόσο, τα τελευταία χρόνια έχει εμφανιστεί μία καινοτόμος μέθοδος - έστω και σε ερευνητικό ακόμη επίπεδο - που αφορά την συντήρηση προϊόντων κρέατος. Αυτή αφορά τη συσκευασία των προϊόντων με βρώσιμες/βιοαποικοδομήσιμες μεμβράνες και επικαλύψεις ενισχυμένες με διάφορους αντιμικροβιακούς ή και αντιοξειδωτικούς παράγοντες.

Η ανάπτυξη βρώσιμων μεμβρανών και επικαλύψεων για τη συσκευασία τροφίμων κερδίζει ολοένα και περισσότερο το ερευνητικό ενδιαφέρον για τη διατήρηση της ποιότητας, την παράταση της διάρκειας ζωής του προϊόντος και τη φιλικότητα προς το περιβάλλον. Οι βρώσιμες μεμβράνες κι επικαλύψεις μπορούν να λειτουργήσουν ως φραγμός στην υγρασία, τα αέρια (Οξυγόνο, Διοξείδιο του Άνθρακα κλπ.) αποτρέποντας την απώλεια υγρασίας και αρώματος από τα τρόφιμα, να συμβάλλουν στην προστασία των λιπιδίων και να αποτελέσουν ιδανικά υποκατάστατα των πολυμερών που προέρχονται από το πετρέλαιο. Επιπλέον, μπορούν να λειτουργήσουν ως φορείς αντιμικροβιακών και αντιοξειδωτικών παραγόντων ή και βιταμινών, προβιοτικών και μετάλλων. Ακόμη, μπορούν να ελέγξουν το ρυθμό διάχυσης των συντηρητικών στο εσωτερικό του τροφίμου αποτελώντας μέρος μιας πολυστρωματικής συσκευασίας μαζί με μη βρώσιμες μεμβράνες [43].

ΣΚΟΠΟΣ

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στα Εργαστήρια Χημείας Τροφίμων και Μικροβιολογίας Τροφίμων του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Αντικείμενο της παρούσας εργασίας αποτέλεσε η παρασκευή βιοαποικοδομήσιμων μεμβρανών από γλουτένη σίτου, η μελέτη αυτών και κατόπιν η εφαρμογή τους ως υλικά συσκευασίας τροφίμων σε μπιφτέκια από νωπό κιμά κοτόπουλο. Στη συνέχεια έλαβαν χώρα φυσικοχημικές και μικροβιολογικές αναλύσεις στο συσκευασμένο τρόφιμο σε προκαθορισμένα χρονικά διαστήματα.

Αναλυτικότερα, στο πρώτο μέρος παρασκευάστηκαν μεμβράνες από γλουτένη σίτου, τόσο απλές, όσο κι ενισχυμένες με την προσθήκη κατάλληλης ποσότητας αιθέριων ελαίων δυόσμου και γαρύφαλλου. Ακολούθησε η μελέτη των μηχανικών τους ιδιοτήτων, η αντικειμενική μέτρηση του χρώματος, η μέτρηση του πάχους και της αντιοξειδωτικής δράσης των παρασκευασθέντων μεμβρανών. Ακόμη λήφθηκαν φάσματα FTIR ώστε να αποσαφηνιστεί η χημική τους δομή.

Στο δεύτερο μέρος της παρούσας μελέτης οι μεμβράνες αυτές χρησιμοποιήθηκαν για να επικαλύψουν δείγματα κιμά κοτόπουλου τα οποία στη συνέχεια μελετήθηκαν φυσικοχημικά, προσδιορίζοντας το pH, το χρώμα και το πτητικό προφίλ αλλά και μικροβιολογικά, αναλύοντας το τρόφιμο για την παρουσία συγκεκριμένων μικροοργανισμών που απαντώνται συχνά σε αυτό (Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα, Ζύμες-Μύκητες, *Brochothrix Thermosphacta*, *Pseudomonas spp.*, *Enterobacteriaceae*, Οξυγαλακτικά Βακτήρια- *Lactic Acid Bacteria*).

II. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ ΑΠΟ ΓΛΟΥΤΕΝΗ ΣΙΤΟΥ

Για την παρασκευή μεμβρανών από γλουτένη σίτου, απλών κι ενισχυμένων με αιθέρια έλαια, προηγήθηκε βιβλιογραφική ανασκόπηση και στη συνέχεια αρκετές πειραματικές προσπάθειες για τη βελτιστοποίηση των συνθηκών μαζικής παρασκευής τους. Τα είδη των μεμβρανών ήταν τρία. Μεμβράνες από γλουτένη σίτου (Wheat Gluten Films, WGF), μεμβράνες από γλουτένη σίτου με την προσθήκη αιθέριου ελαίου δυόσμου (spearmint) σε ποσοστό 2% επί του τελικού όγκου (WGF + 2% SPR) και μεμβράνες από γλουτένη σίτου με την προσθήκη αιθέριου ελαίου γαρύφαλλου (clove) σε ποσοστό 2% επί του τελικού όγκου (WGF + 2% CL).

Αναλυτικότερα, 15g γλουτένης σίτου σε μορφή σκόνης («Όλα Βιο», ΒΙΟΥΓΕΙΑ Ε.Π.Ε., Άγιος Στέφανος) διαλύθηκαν σε 72 mL Αιθανόλης (Merck kGaA, Darmstadt, Germany) κι αναδεύτηκαν για 10 λεπτά. Στη συνέχεια προστέθηκαν 5mL γλυκερόλης (Glycerol >=99%, Fisher Chemical, Loughborough, UK) η οποία δρα ως πλαστικοποιητής και η ανάδευση συνεχίστηκε σε θερμοκρασία δωματίου έως ότου το διάλυμα ομογενοποιηθεί πλήρως. Ακολούθως το διάλυμα θερμάνθηκε υπό συνεχή ανάδευση σε μαγνητικό αναδευτήρα (VELP SCIENTIFICA, AREX Heating Magnetic Stirrer) και πραγματοποιήθηκε αργή προσθήκη αρχικά 48 mL d.H₂O και 10 λεπτά αργότερα 12 mL NH₄(OH) (Ammonia Solution 25%, Merck kGaA, Darmstadt, Germany) για ρύθμιση του pH στο 10,50 προκειμένου να λάβει χώρα η μετουσίωση των πρωτεϊνών της γλουτένης. Η τιμή του pH καταγραφόταν συνεχώς κατά τη διάρκεια της προσθήκης NH₄(OH) με ηλεκτρονικό pH-μετρο (pH-Z-METER, HD 3456.2, Delta OHM, Padova, Italy) έως ότου φτάσει στην επιθυμητή τιμή. Η θέρμανση υπό ανάδευση συνεχίστηκε έως ότου η τελική θερμοκρασία του διαλύματος φτάσει στους 75°C ± 1°C. Η τιμή της θερμοκρασίας καταγραφόταν καθόλη τη διάρκεια της πειραματικής πορείας με θερμόμετρο εμβαπτισμένο στη κύρια μάζα του διαλύματος.

Στην περίπτωση των ενισχυμένων μεμβρανών με αιθέριο έλαιο, μετά τη ρύθμιση του pH του διαλύματος προστέθηκε με αυτόματη πιπέτα κατάλληλη ποσότητα από το

αντίστοιχο αιθέριο έλαιο (δυόσμου ή γαρύφαλλου) στο διάλυμα έτσι ώστε η τελική συγκέντρωσή του να είναι 2% v/v.

Κατάλληλη ποσότητα από το διάλυμα που αντιστοιχεί σε 25mL επιστρώθηκαν σε πλαστικά κυκλικά τρυβλία με διάμετρο $d=14,7$ cm, ενώ ποσότητα που αντιστοιχεί σε 90 mL επιστρώθηκε σε πλαστικά ορθογώνια τρυβλία για τη μελέτη των μηχανικών ιδιοτήτων των μεμβρανών. Τα τρυβλία τοποθετήθηκαν σε θάλαμο (WTB BINDER, Labortechnik GmbH, Tuttlingen Germany) στους 32°C για 48-72h προκειμένου να ξηραθούν πλήρως. Αφού αποκολλήθηκαν από τα τρυβλία με καθαρή μεταλλική λαβίδα οι μεμβράνες συλλέχθηκαν σε διηθητικά χαρτιά και τοποθετήθηκαν σε ντουλάπια στους 25°C για 48 h για περαιτέρω χρήση. Οι παραπάνω συνθήκες αποτελούν αποτέλεσμα βελτιστοποίησης.



Εικόνα 4 : Κυκλική μεμβράνη από γλουτένη σίτου τοποθετημένη σε διηθητικό χαρτί

2. ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΠΑΡΑΣΚΕΥΑΣΘΕΝΤΩΝ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ

2.1 ΜΕΤΡΗΣΗ ΠΑΧΟΥΣ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ

Η μέτρηση του πάχους των μεμβρανών πραγματοποιήθηκε με φορητό ψηφιακό μικρόμετρο (Electronic Outside Micrometer, IS 13109 INSIZE CO., LTD, Japan). Οι μεμβράνες μετρήθηκαν σε 5 διαφορετικά, τυχαία σημεία της επιφάνειάς τους. Για

τον προσδιορισμό χρησιμοποιήθηκαν 3 μεμβράνες από το κάθε είδος. Οι μετρήσεις καταγράφηκαν και υπολογίστηκε ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση.

2.2 ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΙΚΗ ΜΕΤΡΗΣΗ ΧΡΩΜΑΤΟΣ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ

Η μέτρηση του χρώματος των μεμβρανών έγινε με χρωματόμετρο Hunter Lab (μοντέλο DP-9000, D25 L Optical Sensor Colorimeter, Reston Virginia, USA) και ελήφθησαν διαφορετικές τιμές για τις παραμέτρους L^* (φωτεινότητα), a^* (ερυθρότητα) και b^* (ωχρότητα). Πριν από οποιαδήποτε μέτρηση πραγματοποιήθηκε βαθμονόμηση του οργάνου με λευκό πλακίδιο και μαύρο υάλιο σύμφωνα με τις οδηγίες του οργάνου. Στη συνέχεια, κυκλικές μεμβράνες από κάθε είδος τοποθετήθηκαν μέσα σε ειδικές υάλινες πλάκες και η εκάστοτε μεμβράνη μετρήθηκε 4 φορές, στρέφοντας κάθε φορά την πλάκα κατά 90° . Χρησιμοποιήθηκαν 3 μεμβράνες από το κάθε είδος. Οι μετρήσεις καταγράφηκαν και υπολογίστηκε ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση.

2.3 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ

Για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης των μεμβρανών 50mg κάθε μεμβράνης διαλύθηκαν σε 10mL διαλύματος μεθανόλης. Ακολούθησε ανάδευση σε μαγνητικό αναδευτήρα για 1h και επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για άλλη 1h. Στη συνέχεια τα διαλύματα φυγοκεντρήθηκαν για 10min προκειμένου να διαχωριστούν τα αδιάλυτα στερεά από το υπόλοιπο διάλυμα. Έπειτα, 1mL από το προηγούμενο διάλυμα προστέθηκε σε 4mL διαλύματος DPPH (διάλυμα DPPH σε μεθανόλη τελικής συγκέντρωσης 0,1mM), ακολούθησε ανάμιξη και το τελικό διάλυμα τοποθετήθηκε σε σκοτεινό περιβάλλον για 30 min. Με το πέρας των 30min ποσότητα διαλύματος φωτομετρήθηκε στα 517nm έναντι τυφλού διαλύματος μεθανόλης με χρήση φασματοφωτομέτρου Tecan, Infinite M Nano (Tecan Austria GmbH). Για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης των μεμβρανών χρησιμοποιήθηκε ο ακόλουθος τύπος: $\% AA = \frac{(A_o - A_s)}{A_o} * 100$, όπου A_o η απορρόφηση του διαλύματος DPPH και A_s η απορρόφηση του διαλύματος της μεμβράνης. Για τον προσδιορισμό χρησιμοποιήθηκαν 3 μεμβράνες από το κάθε

είδος. Οι μετρήσεις καταγράφηκαν και υπολογίστηκε ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση.

2.4. ΜΕΤΡΗΣΗ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ

Για τη μελέτη των μηχανικών ιδιοτήτων των μεμβρανών κόπηκαν δοκίμια πλάτους 1,5cm και μήκους 10cm (1,5cm × 10cm). Ο αριθμός των δοκιμών για την κάθε μέτρηση ήταν τουλάχιστον 10 καθώς απαιτείται ένας ικανοποιητικός αριθμός δοκιμών για τη λήψη πιο ασφαλών αποτελεσμάτων. Τα δοκίμια τοποθετήθηκαν μεταξύ των μεγγενών και η μέτρηση έλαβε χώρα στο όργανο Instron (Buckinghamshire HP12 3SY, England). Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με τη μέθοδο D882 της Αμερικανικής Εταιρείας Δοκιμών και Υλικού (ASTM), ενώ διεξήχθησαν σε θερμοκρασία 25 °C, με ταχύτητα εγκάρσιας κεφαλής 500 mm/min και απόσταση μεγγενών 5 cm.

Από τις μετρήσεις εφελκυσμού και τα διαγράμματα τάσης – παραμόρφωσης λήφθηκαν οι τιμές για τις εξής παραμέτρους: Αντοχή στο όριο θραύσης, % επιμήκυνση στο όριο θραύσης και συντελεστής Young (συντελεστής ελαστικότητας). Χρησιμοποιήθηκαν 2 ορθογώνιες μεμβράνες από το κάθε είδος. Από τις ορθογώνιες μεμβράνες με χρήση κατάλληλης καθαρής λεπίδας κόπηκαν τα δοκίμια των επιθυμητών διαστάσεων. Οι μετρήσεις καταγράφηκαν και υπολογίστηκε ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση.

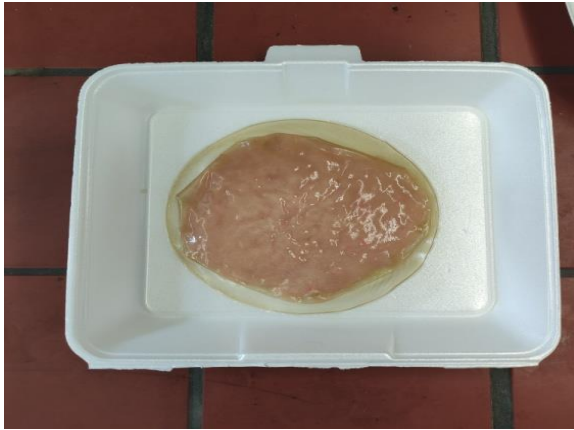
2.5 ΑΝΑΛΥΣΗ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ FT-IR (FOURIER-TRANSFORM INFRARED SPECTROSCOPY)

Για την ανάλυση της χημικής δομής των μεμβρανών χρησιμοποιήθηκε η φασματοσκοπία FT-IR με εξασθενημένη ολική ανάκλαση [Attenuated Total Reflectance – Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR)], με μοντέλο Cary 630 (Agilent, Santa Clara, CA, USA). Κάθε μεμβράνη υποβλήθηκε σε 16 σαρώσεις στα 4 cm⁻¹ από 4000 έως 400 cm⁻¹ σε θερμοκρασία δωματίου.

3. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Φρέσκος κιμάς κοτόπουλο, ο οποίος τεμαχίστηκε και συσκευάστηκε την ίδια ημέρα, προμηθεύτηκε από τη βιομηχανία «ΠΙΝΔΟΣ Α.Ε.» που εδρεύει στην περιοχή των Ιωαννίνων και σε χρονικό διάστημα μισής ώρας μεταφέρθηκε στο Εργαστήριο Χημείας Τροφίμων του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων σε ψυγεία πολυστυρολίου (PS) με προσθήκη πάγου τα οποία τοποθετήθηκαν σε ισοθερμικό σακίδιο. Ακολούθως όλα τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε καθαρή και στεγνή πλαστική λεκάνη όπου και αναμείχθηκαν φορώντας γάντια και τηρώντας όλα τα υγειονομικά πρωτοκόλλα.

Στη συνέχεια σχηματίστηκαν μερίδες των 90g από κιμά κοτόπουλο σε σχήμα μπιφτεκιού. Υπήρχαν 4 είδη δειγμάτων. Το πρώτο είδος δεν καλύφθηκε με καμία μεμβράνη και αποτέλεσε το δείγμα αναφοράς (Control), το δεύτερο είδος καλύφθηκε από 2 μεμβράνες γλουτένης σίτου, μία από την πάνω πλευρά και μία από την κάτω πλευρά του τροφίμου (WGF), το τρίτο είδος καλύφθηκε από 2 μεμβράνες γλουτένης σίτου ενισχυμένες με 2% αιθέριο έλαιο δυόσμου, μία από την πάνω πλευρά και μία από την κάτω πλευρά του τροφίμου (WGF + 2% SPR) και το τέταρτο είδος καλύφθηκε από 2 μεμβράνες γλουτένης σίτου ενισχυμένες με 2% αιθέριο έλαιο γαρύφαλλου, μία από την πάνω πλευρά και μία από την κάτω πλευρά του τροφίμου (WGF + 2% CL). Αφού επικαλύφθηκαν με τις παρασκευασθέντες μεμβράνες, όλα τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε δίσκους από πολυστυρόλιο και περιτυλίχθηκαν με διάφανη μεμβράνη χαμηλής πυκνότητας πολυαιθυλενίου (LDPE). Κατόπιν, τοποθετήθηκαν σε ψυκτικό θάλαμο ($4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$) για 8 ημέρες. Ο βασικός στόχος της παραπάνω διαδικασίας ήταν η προσομοίωση των συσκευασμένων μερίδων κιμά κοτόπουλου με τις αντίστοιχες που είναι διαθέσιμες στα καταστήματα λιανικής πώλησης. Οι δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν τις εξής ημέρες: 0, 2, 4, 6, 8. Ως εκ τούτου για το κάθε είδος συσκευασίας δημιουργήθηκαν 4 πανομοιότυπα δείγματα, ένα για την κάθε ημέρα δειγματοληψίας (2, 4, 6, 8). Το πείραμα επαναλήφθηκε 2 φορές.



Εικόνα 5: Κιμάς κοτόπουλο συσκευασμένος σε μεμβράνες από γλουτένη σίτου τοποθετημένος σε δίσκο από πολυστυρόλιο (PS)



Εικόνα 6: Κιμάς κοτόπουλο συσκευασμένος σε μεμβράνες από γλουτένη σίτου τοποθετημένος σε δίσκο από πολυστυρόλιο (PS) και περιτυλιγμένος με μεμβράνη χαμηλής πυκνότητας πολυαιθυλενίου (LDPE)

4. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ

Η μικροβιολογική ανάλυση των δειγμάτων έγινε βάσει των επισήμων μεθόδων ανάλυσης της American Public Health Association.[32] Στη διάρκεια του πειράματος πραγματοποιήθηκαν 6 μικροβιολογικές αναλύσεις που αφορούν μικροοργανισμούς οι οποίοι απαντώνται συχνά σε προϊόντα κρέατος και συγκεκριμένα σε κοτόπουλο. Αναλυτικότερα, μελετήθηκαν τα ακόλουθα είδη:

α) Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (Ο.Μ.Χ.)

β) Ζύμες-Μύκητες

γ) *Brochothrix Thermosphacta*

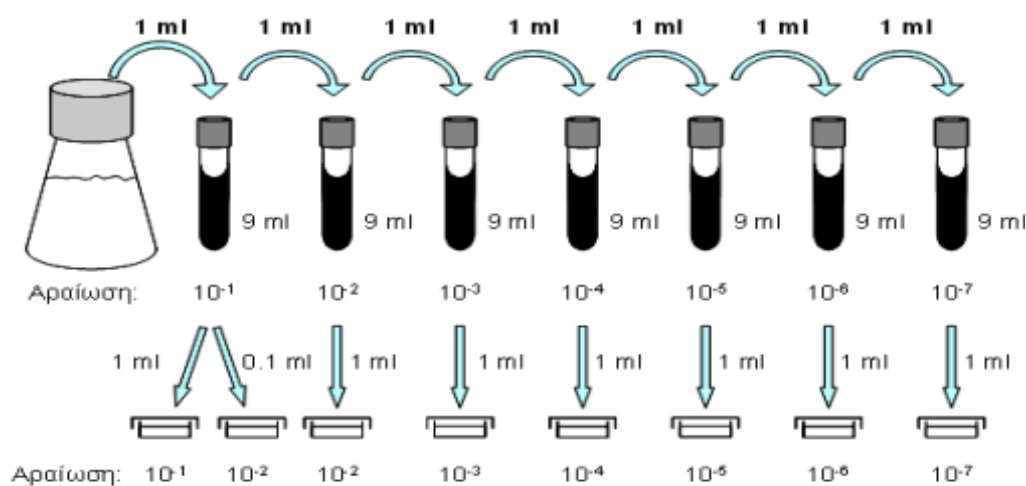
δ) Ψευδομονάδες (*Pseudomonas spp.*)

ε) Εντεροβακτηριοειδή (*Enterobacteriaceae*)

στ) Οξυγαλακτικά Βακτήρια(*Lactic Acid Bacteria, LAB*)

4.1 ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ

Ποσότητα 10g η οποία λήφθηκε από όλη τη μάζα των συσκευασμένων δειγμάτων μεταφέρθηκε υπό ασηπτικές συνθήκες σε σακούλα Stomacher (Seward Medical, Worthing, West Sussex, UK) που περιείχε 90mL αποστειρωμένου πεπτονούχου διαλύματος (peptone water) συγκέντρωσης 0,1% w/v και ομογενοποιήθηκε για 120 sec σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, με τη χρήση Lab Blender Stomacher (Seward Medical, London, UK). Κατόπιν, πραγματοποιήθηκαν κατάλληλες διαδοχικές δεκαδικές αραιώσεις από το αρχικό ομογενοποιημένο διάλυμα σε πεπτονούχο διάλυμα συγκέντρωσης 0,1% w/v (1:10 πεπτονούχο ύδωρ) όπως φαίνεται και στο επόμενο σχήμα.



Εικόνα 7 : Διαδικασία διαδοχικών δεκαδικών αραιώσεων από το αρχικό ομογενοποιημένο δείγμα σε πεπτονούχο διάλυμα συγκέντρωσης 0,1%

4.2 ΤΕΧΝΙΚΗ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΚΗΣ ΕΠΙΣΤΡΩΣΗΣ

Ποσότητα 0,1mL βακτηριακού εναιωρήματος από την κατάλληλη, ανά περίπτωση, δεκαδική αραιώση ενοφθαλμίστηκε κι εξαπλώθηκε ομοιόμορφα στην επιφάνεια στερεού θρεπτικού υποστρώματος με τη βοήθεια υάλινου τριγώνου το οποίο αποστειρωνόταν πριν από τη κάθε επίστρωση. Έπειτα από επώαση σε κατάλληλες θερμοκρασιακές συνθήκες σχηματίστηκαν ευδιάκριτες αποικίες οι οποίες καταμετρήθηκαν με τη βοήθεια του οργάνου για τη μέτρηση αποικιών (Colony

Counter, Gallenkamp). Με την τεχνική της επιφανειακής επίστρωσης προσδιορίστηκαν οι ακόλουθοι μικροοργανισμοί:

α) Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (Ο.Μ.Χ.): Χρησιμοποιήθηκε το μη επιλεκτικό υπόστρωμα Plate Count Agar (PCA, NEOGEN Culture Media, Code NCM0010A, Heywood, UK) και η καταμέτρηση των αποικιών πραγματοποιήθηκε μετά από επώαση στους 30°C για 48-72h.

β) Ζύμες-Μύκητες: Χρησιμοποιήθηκε το μη επιλεκτικό υπόστρωμα Rose Bengal Chloramphenicol Agar Base (RBCA, NEOGEN Culture Media, Code LAB036, Heywood, UK) με την προσθήκη αντιβιοτικού Chloramphenicol (NEOGEN Culture Media, Code NCM4051-0.5, Heywood, UK) και η καταμέτρηση των αποικιών πραγματοποιήθηκε μετά από επώαση στους 30°C για 72-96h.

γ) *Brochothrix Thermosphacta*: Χρησιμοποιήθηκε το επιλεκτικό υπόστρωμα Streptomycin Thallous Acetate- Actidione (STAA) Agar Base (OXOID, Code CM0881, Basingstoke, England) με τη προσθήκη αντιβιοτικού (STA Selective Supplement SR0162E, OXOID, Basing stoke, England) και η καταμέτρηση των αποικιών πραγματοποιήθηκε μετά από επώαση στους 30°C για 48-72h.

δ) Ψευδομονάδες (*Pseudomonas spp.*): Χρησιμοποιήθηκε το επιλεκτικό υπόστρωμα Pseudomonas Agar Base (Oxoid, Code CM0559, Basingstoke, UK), με τη προσθήκη αντιβιοτικού (Pseudomonas C-N Supplement SR0102E, OXOID, Basingstoke, UK) και η καταμέτρηση των αποικιών πραγματοποιήθηκε μετά από επώαση στους 30°C για 48-72 h.

4.3 ΤΕΧΝΙΚΗ ΕΝΣΩΜΑΤΩΣΗΣ

Ποσότητα 1mL βακτηριακού εναιωρήματος από την κατάλληλη, ανά περίπτωση, δεκαδική αραίωση ενοφθαλμίστηκε σε κενό αποστειρωμένο τρυβλίο και στη συνέχεια προστέθηκαν 10-15mL ρευστού θρεπτικού υλικού (45-50°C). Ακολούθησε ήπια ανάδευση με κυκλικές κινήσεις προκειμένου το εναιώρημα να εξαπλωθεί σε όλη την έκταση του τρυβλίου και το μίγμα αφέθηκε να πήξει. Μετά τη στερεοποίηση του

υλικού προστέθηκε ένα επιπλέον στρώμα ρευστού θρεπτικού υλικού (10-15mL) προκειμένου να εξασφαλιστούν αναερόβιες συνθήκες. Έπειτα από επώαση σε κατάλληλες θερμοκρασιακές συνθήκες σχηματίστηκαν ευδιάκριτες αποικίες οι οποίες καταμετρήθηκαν με τη βοήθεια του οργάνου για την μέτρηση αποικιών (Colony Counter, Gallenkamp). Με την τεχνική της επιφανειακής επίστρωσης προσδιορίστηκαν οι ακόλουθοι μικροοργανισμοί :

ε) Εντεροβακτηριοειδή (*Enterobacteriaceae*): Χρησιμοποιήθηκε το επιλεκτικό υπόστρωμα Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA, NEOGEN Culture Media, Code NCM0041A, Heywood, UK). Επώαστηκε σε θερμοκρασία 37° C για 18 έως 24 ώρες και στη συνέχεια καταμετρήθηκαν οι κοκκινωπές αποικίες που περιβάλλονταν από ρόδινο δακτύλιο.

στ) Οξυγαλακτικά Βακτήρια (*LacticAcidBacteria, LAB*): Χρησιμοποιήθηκε το επιλεκτικό υπόστρωμα de Man, Rogosa και Sharpe's (MRS, NEOGEN Culture Media, Code NCM0190A, Heywood, UK) και η καταμέτρηση των αποικιών πραγματοποιήθηκε μετά από επώαση στους 30 ° C για 48-72 h.

4.4 ΚΑΤΑΜΕΤΡΗΣΗ ΑΠΟΙΚΙΩΝ

Σε όλες τις περιπτώσεις η καταμέτρηση των αποικιών για τον προσδιορισμό των πληθυσμών έγινε στα τρυβλία εκείνα που ο αριθμός των αποικιών ήταν μεταξύ 30-300 με ελάχιστες εξαιρέσεις που αφορούν τις πρώτες ημέρες δειγματοληψίας στις οποίες το μικροβιακό φορτίο ήταν πολύ χαμηλό. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε δεκαδικό λογάριθμο των αποικιών ανά γραμμάριο τροφίμου (Colony Forming Units/gram, CFU/g). Οι αναλύσεις έγιναν 4 φορές και υπολογίστηκε ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση αυτών.

5. ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ

5.1 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ pH

Η μέτρηση του pH πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια ηλεκτρονικού pH-μέτρου (pH-Z-METER, HD 3456.2, Delta OHM, Padova, Italy) μέσω εμβάπτισης του ηλεκτροδίου του pH-μέτρου στο εναιώρημα που προέκυψε από την πλήρη ομογενοποίηση 10 g κιμά κοτόπουλου με 80mL αποσταγμένου ύδατος. Οι μετρήσεις έγιναν σε θερμοκρασία δωματίου. Οι αναλύσεις έγιναν εις διπλούν και λήφθηκε ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση αυτών.

5.2 ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΙΚΗ ΜΕΤΡΗΣΗ ΧΡΩΜΑΤΟΣ

Για την εκτίμηση μεταβολής του χρώματος κατά τη διάρκεια συντήρησης των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε το χρωματόμετρο Hunter Lab (μοντέλο DP-9000, D25 L Optical Sensor Colorimeter, Reston Virginia, USA) και ελήφθησαν διαφορετικές τιμές για τις παραμέτρους L^* (φωτεινότητα), a^* (ερυθρότητα) και b^* (ωχρότητα). Περίπου 70g δείγματος τοποθετήθηκαν σε ειδικές υάλινες πλάκες και το εκάστοτε δείγμα μετρήθηκε 4 φορές, στρέφοντας κάθε φορά την πλάκα κατά 90° έτσι ώστε οι παράμετροι του χρώματος να είναι αντιπροσωπευτικές για όλη τη μάζα του τροφίμου. Οι αναλύσεις έγιναν εις διπλούν και υπολογίστηκε ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση αυτών.

5.3 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΡΩΜΑΤΙΚΟΥ ΠΡΟΦΙΛ ΜΕ ΜΙΚΡΟΕΚΧΥΛΙΣΗ ΣΤΕΡΕΑΣ ΦΑΣΗΣ ΥΠΕΡΚΕΙΜΕΝΟΥ ΧΩΡΟΥ ΣΕ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟ ΜΕ ΑΕΡΙΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ – ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΑΖΑΣ (HS-SPME/GC-MS).

Για τον προσδιορισμό του πτητικού προφίλ των δειγμάτων έλαβε χώρα ανάλυση με την τεχνική της Μικροεκχύλισης Στερεάς Φάσης Υπερκείμενου Χώρου σε συνδυασμό με Αέρια Χρωματογραφία-Φασματοσκοπία Μάζας (HS-SPME/GC-MS). Ο συγκεκριμένος προσδιορισμός πραγματοποιήθηκε σε αέριο χρωματογράφο της

εταιρείας Agilent, μοντέλου 7890A (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) συζευγμένο με φασματόμετρο μάζας της εταιρείας Agilent, μοντέλου 5973C. Χρησιμοποιήθηκε τριχοειδής στήλη Agilent DB-5MS (5% Phenyl-methylpolysiloxane, 60m×0.320mm×1.00μm, Agilent Santa Clara, USA), ίνα Divinylbenzene/Carboxen/Polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS) 50/30μm (Supelco, Bellefonte, PA, USA), εσωτερικό πρότυπο 4-μέθυλο-2-πεντανόνη (for analysis, Merck, Germany) και πρότυπο μίγμα αλκανίων C5-C20 (Fluka, Buchs, Switzerland).

Το ήλιο χρησιμοποιήθηκε ως φέρον αέριο με ρυθμό ροής 1,5 mL/min. Η θύρα έγχυσης ήταν εξοπλισμένη με επένδυση 0,75 mm i.d, (Supelco, Bellefonte, PA, USA) κατάλληλο για ανάλυση SPME σε λειτουργία split (λόγος split=2:1) στους 260°C. Η θερμοκρασία του φούρνου διατηρήθηκε τους 40°C για 5 λεπτά, ακολούθησε αύξηση θερμοκρασίας με ένα ρυθμό 4°C/min έως τους 150°C και τέλος αύξηση έως τους 250°C με ρυθμό 30°C/min όπου διατηρήθηκε για 5 λεπτά. Η θερμοκρασία διεπαφής (γραμμή μεταφοράς) ρυθμίστηκε τους 270°C. Το εύρος σάρωσης μαζών ήταν 29–350 m/z. Η θερμοκρασία της πηγής MS και τετραπόλου ήταν 230°C και 150°C αντίστοιχα. Η ταυτοποίηση των πτητικών ενώσεων πραγματοποιήθηκε με τη σύγκριση των χρόνων κατακράτησης των εκλουόμενων ενώσεων με εκείνες της βιβλιοθήκης Wiley Library (Wiley, 7-NIST 05, J. Wiley & Sons Ltd, West Sussex, England) και με τον υπολογισμό των σχετικών δεικτών χρόνου κατακράτησης (RI). Οι RIs υπολογίστηκαν με χρήση προτύπου μίγματος αλκανίων (C8-C20) (Fluka, Buchs, Switzerland). Έγινε ημι-ποσοτικός προσδιορισμός των ενώσεων που ανιχνεύτηκαν με χρήση του πρότυπου διαλύματος γνωστής συγκέντρωσης.

Όσο αναφορά την προετοιμασία των δειγμάτων, σε φιαλίδιο των 20mL τοποθετήθηκαν 2,5g τροφίμου και 10μL εσωτερικού προτύπου (4-μέθυλο-2-πεντανόνη) τελικής συγκέντρωσης 64,16 ppb. Στις περιπτώσεις όπου τα δείγματα είχαν περιτυλιχθεί με μεμβράνες οι οποίες περιείχαν αιθέριο έλαιο στο φιαλίδιο προστέθηκαν 20μL εσωτερικού προτύπου. Κατόπιν, το φιαλίδιο σφραγίστηκε αεροστεγώς με διάτρητο πώμα αλουμινίου το οποίο είχε διάφραγμα πολυ-τετραφθορο-αιθυλένιο (PTFE)/σιλικόνης. Το σφραγισμένο φιαλίδιο τοποθετήθηκε σε θερμοστατούμενο υδατόλουτρο στους 50°C για 15 min ώστε να

επιτευχθεί εξισορρόπηση της θερμοκρασίας και στη συνέχεια εισήχθη η ίνα εντός του φιαλιδίου. Με τη βοήθεια του ειδικού εμβόλου έγινε έκθεση της ίνας στον υπερκείμενο χώρο (headspace) του δείγματος σε σταθερό ύψος μέσα στο φιαλίδιο για άλλα 15 min. Μετά το πέρας των 15min, η ίνα επαναφέρθηκε εντός της σύριγγας, απομακρύνθηκε από το φιαλίδιο κι εισήχθη αμέσως στο θάλαμο εξάερσης (injection port) του αέριου χρωματογράφου, όπου κι εκτέθηκε για τουλάχιστον 10 min στον εγχυτή προκειμένου να εκροφηθούν πλήρως όλες οι πτητικές ενώσεις που είχαν προσροφηθεί από την ίνα. Οι παραπάνω συνθήκες δειγματοληψίας αποτελούν αποτέλεσμα βελτιστοποίησης.

Από τα δεδομένα της χρωματογραφικής ανάλυσης σε συνδυασμό με τα αποτελέσματα από τον φασματογράφο μάζας που προκύπτουν, και κρατώντας μόνο τις ενώσεις για τις οποίες εμφανίζεται ποσοστό συμφωνίας μεγαλύτερο από 75% (Qualification>75) γίνεται ποιοτικός προσδιορισμός των πτητικών ενώσεων του τροφίμου που αναλύθηκε.

Κατά τη διαδικασία αυτή δεν λαμβάνονται υπόψη ενώσεις με ποσοστό συμφωνίας άνω του 75% που περιέχουν σιλάνια, σιλοξάνια και άλλα παράγωγα αυτών καθώς είναι ενώσεις που οφείλονται στο υλικό της ίνας της σύριγγας. Ακόμη, επειδή από την βιβλιοθήκη Wiley του οργάνου ενδέχεται να προκύψουν για την κάθε κορυφή αρκετές πιθανές ενώσεις, κρατείται κάθε φορά η πρώτη ένωση που εμφανίζεται.

Επιπλέον, για την κάθε ένωση που κρατείται υπολογίζεται και ο δείκτης Kovacs βάσει των πειραματικών δεδομένων (KI_{ex} , Kovacs Index experimentally determined data). Αυτός συγκρίνεται με τον δείκτη Kovacs των βιβλιογραφικών δεδομένων (KI_{lit} , Kovacs Index literature data) και κρατούνται οι ενώσεις που διαφέρουν έως 20 το πολύ μονάδες λαμβάνοντας υπόψη τις ίδιες χρωματογραφικές συνθήκες κατά τις οποίες έλαβε χώρα η ανάλυση.

6. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ

Η πειραματική διάταξη (παρασκευή μεμβρανών κι εφαρμογή τους σε δείγματα κιμά κοτόπουλου) επαναλήφθηκε εις διπλούν ($n=2 \times 2=4$). Στη συνέχεια υπολογίστηκαν οι μέσοι όροι και οι τυπικές αποκλίσεις των δεδομένων από τις μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως μέσος όρος $\pm$ τυπική απόκλιση (Mean Value $\pm$ Standard Deviation, MV $\pm$ SD).

Η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια του λογισμικού στατιστικού πακέτου SPSS έκδοση 25.0 Statistics (IBM, Armonk, NY, USA). Η σύγκριση των μέσων όρων των τιμών των παραμέτρων που μελετήθηκαν πραγματοποιήθηκε με μονόδρομη ανάλυση της διακύμανσης (one-way ANOVA) και του τεστ πολλαπλής εμβέλειας Duncan, το οποίο εξετάζει τις διαφορές των μέσων όρων. Βάσει του ελέγχου διακύμανσης (two-way ANOVA) διαπιστώθηκε αν η τιμή p είναι μικρότερη ή μεγαλύτερη του 0,05.

Στην περίπτωση που $p > 0,05$ ισχύει η μηδενική υπόθεση, δηλαδή ότι οι μέσοι όροι είναι όλοι ίσοι μεταξύ τους και κατά συνέπεια δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές, ενώ στην περίπτωση που $p < 0,05$ ισχύει η εναλλακτική υπόθεση, δηλαδή ότι οι μέσοι όροι για τον συγκεκριμένο παράγοντα δεν είναι όλοι ίσοι μεταξύ τους και κατά συνέπεια υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

III. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ

1. ΜΕΛΕΤΗ ΠΑΡΑΣΚΕΥΑΣΘΕΝΤΩΝ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ

α) Μέτρηση Πάχους Μεμβρανών

Τα αποτελέσματα μέτρησης του πάχους των διαφορετικών μεμβρανών παρουσιάζονται στον πίνακα 1:

Πίνακας 1: Τιμές πάχους (μm) για τα 3 διαφορετικά είδη παρασκευασθέντων μεμβρανών

ΕΙΔΟΣ ΜΕΜΒΡΑΝΗΣ	ΠΑΧΟΣ (μm)
WGF	176,0 ± 50,5 ^A
WGF+2%SPR	145,2 ± 19,0 ^A
WGF+2%CL	281,5 ± 37,0 ^B

A,B,C... : Διαφορετικοί εκθέτες υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των 3 μεμβρανών (p < 0,05)

Τα πάχη των μεμβρανών, εκφρασμένα σε μm, είναι μέσα στα επιθυμητά όρια που πρέπει να έχει μια μεμβράνη η οποία προορίζεται για συσκευασία τροφίμων (10-300μm). Όπως προκύπτει και από τον παραπάνω πίνακα η μεμβράνη από γλουτένη σίτου (WGF) και η ενισχυμένη με αιθέριο έλαιο δυόσμου (WGF+2%SPR) έχουν παραπλήσιο πάχος, ενώ η ενισχυμένη με αιθέριο έλαιο γαρύφαλλου (WGF+2%CL) εμφανίζει μια στατιστικά σημαντική αύξηση. Αυτή ενδέχεται να οφείλεται στην προσθήκη του αιθέριου ελαίου το οποίο κατά την ομογενοποίηση του διαλύματος σχημάτισε υδρόφοβα μικροσωματίδια καλύπτοντας κενούς χώρους στο πρωτεϊνικό πλέγμα της γλουτένης αυξάνοντας σε κάποιο βαθμό το πάχος της. Η αύξηση αυτή ωστόσο δεν είναι μεγάλη και σε κάθε περίπτωση δεν ξεπερνούσε το ανώτατο επιθυμητό όριο των 300μm.

Οι Khashayary et al. [44] παρασκεύασαν ένα φιλμ από γλουτένη σίτου με την προσθήκη διαφόρων αντιμικροβιακών παραγόντων όπως βανιλίνης, σαλικυλικού οξέος και άλλων. Το πάχος των δειγμάτων βρέθηκε στις ίδιες τιμές με της παρούσας μελέτης και κυμάνθηκε μεταξύ 180 - 290 μm . Φάνηκε μάλιστα ότι υπήρχαν σημαντικές διαφορές μεταξύ του πάχους των μεμβρανών και σε γενικές γραμμές αυξάνοντας τα % ποσοστά των αντιμικροβιακών παραγόντων αυξάνονταν και το πάχος.

Σε μελέτη των Rivera et al. [45] παρασκευάστηκαν -μεταξύ άλλων- μεμβράνες από γλουτένη σίτου ενισχυμένες με αιθέρια έλαια κουρκουμά και κανέλλας. Τα πάχη των μεμβρανών κυμάνθηκαν από 91 μm έως 111 μm με την πιο λεπτή μεμβράνη να είναι αυτή χωρίς την προσθήκη αιθέριου ελαίου και το πάχος να αυξάνεται όταν προστέθηκαν τα αιθέρια έλαια.

Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρθηκαν και από τους Duan et al. [46], οι οποίοι μελέτησαν τις ιδιότητες βρώσιμων μεμβρανών από ζεΐνη, απομονωμένη πρωτεΐνη σόγιας και γλουτένης σίτου με την προσθήκη κεριού μέλισσας. Όσον αφορά το πάχος των απλών μεμβρανών από γλουτένη σίτου αυτό βρέθηκε ίσο με $110,67 \pm 2,08 \mu\text{m}$, ενώ αυξήθηκε σε $160,33 \pm 1,53 \mu\text{m}$ όταν σε αυτήν προστέθηκε κεριό μέλισσας.

β) Αντικειμενική Μέτρηση Χρώματος Μεμβρανών

Οι τιμές των παραμέτρων L^* , a^* , b^* για τις παρασκευασθείσες μεμβράνες από γλουτένη σίτου παρουσιάζονται στον Πίνακα 2. Για τις μεμβράνες από γλουτένη σίτου (WGF) και τις μεμβράνες από γλουτένη σίτου ενισχυμένες με αιθέριο έλαιο δυόσμου (WGF + 2% SPR) δεν υπήρξαν ουσιαστικές διαφορές για όλες τις χρωματικές παραμέτρους, δηλαδή της φωτεινότητας (L^*), της ερυθρότητας (a^*) και της ωχρότητας (b^*) με τις τιμές αυτών να είναι παραπλήσιες. Αντίθετα διαφορές εμφανίστηκαν στις μεμβράνες από γλουτένη σίτου ενισχυμένες με αιθέριο έλαιο γαρύφαλλου (WGF + 2% CL) και για τα 3 χρωματικά χαρακτηριστικά.

Συγκεκριμένα η τιμή της παραμέτρου L^* για τη μεμβράνη WGF + 2% CL ήταν σχεδόν 3 μονάδες χαμηλότερη σε σχέση με των άλλων 2 δειγμάτων. Λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός ότι υψηλότερες τιμές L^* συνεπάγονται φωτεινότερο χρώμα μπορούμε να

συμπεράνουμε ότι οι μεμβράνες WGF + 2% CL ήταν πιο σκούρες. Αυτό ενδεχομένως να οφείλεται στο χρώμα του αιθέριου ελαίου γαρύφαλλου που προστέθηκε για την παρασκευή τους.

Σχετικά με την παράμετρο a^* κι εδώ παρατηρούνται ομοιότητες των τιμών μεταξύ WGF και WGF + 2% SPR, ενώ στατιστικά σημαντικές διαφορές εμφανίζει η μεμβράνη WGF + 2% CL. Η υψηλότερη τιμή της ($-1,03 \pm 0,90$) σε σχέση με των άλλων 2 δειγμάτων υποδηλώνει μια περισσότερο ερυθρή απόχρωση της μεμβράνης. Και πάλι αυτό πιθανώς να οφείλεται στο πιο σκούρο χρώμα του αιθέριου ελαίου γαρύφαλλου.

Τέλος, η παράμετρος b^* ακολουθεί το μοτίβο των προηγούμενων 2 χαρακτηριστικών. Οι μεμβράνες WGF και WGF + 2% SPR εμφανίζουν παραπλήσιες τιμές ωχρότητας, $13,13 \pm 0,86$ και $13,87 \pm 0,23$ αντίστοιχα, ενώ η μεμβράνη WGF + 2% CL είναι σημαντικά υψηλότερη ($21,29 \pm 1,57$). Αυτό σημαίνει πως η τελευταία έχει μια περισσότερο κιτρινωπή απόχρωση σε σχέση με τις άλλες 2.

Συμπερασματικά η μεμβράνη WGF + 2% CL έχει μια πιο σκούρα και περισσότερο πορτοκαλί απόχρωση σε σχέση με τις άλλες 2 μεμβράνες που έχουν πιο ανοικτά χρώματα και είναι πανομοιότυπες όσον αφορά τα συγκεκριμένα χαρακτηριστικά. Η διαφορά στις χρωματικές παραμέτρους πιθανώς να οφείλεται στο χρώμα του αιθέριου ελαίου γαρύφαλλου, ενώ το γεγονός ότι οι άλλες 2 μεμβράνες δεν παρουσίασαν αλλαγές ενδεχομένως να αποδίδεται στο φυσικό κιτρινωπό χρώμα των μεμβρανών γλουτένης σίτου και της υποκίτρινης απόχρωσης του αιθέριου ελαίου δυόσμου.

Οι Duan et al. [46] μελέτησαν τα χρωματικά χαρακτηριστικά των παρασκευασθέντων μεμβρανών από γλουτένη σίτου. Όσον αφορά την παράμετρο L^* η τιμή της προσδιορίστηκε ίση με $94,90 \pm 0,04$, η παράμετρος a^* $-1,87 \pm 0,05$, ενώ η παράμετρος b^* $6,42 \pm 0,15$. Από τα παραπάνω δεδομένα συμπεραίνουμε ότι οι εν λόγω μεμβράνες είχαν πιο ανοιχτό χρώμα λόγω της υψηλότερης τιμής της παραμέτρου L^* , ελαφρώς μεγαλύτερη ερυθρή απόχρωση λόγω της υψηλότερης τιμής της παραμέτρου a^* και λιγότερο κιτρινωπή απόχρωση εξαιτίας της χαμηλότερης παραμέτρου b^* .

Παρόμοια αποτελέσματα βρήκαν και οι Micard et al. [47] οι οποίοι μελέτησαν τις ιδιότητες των φυσικά και χημικά κατεργασμένων μεμβρανών από γλουτένη σίτου. Συγκεκριμένα, βρήκαν μεγαλύτερες τιμές στις παραμέτρους (L^*) και (a^*) ενώ οριακά μικρότερες στην παράμετρο της ωχρότητας (b^*) στις απλές μεμβράνες. Αναλυτικότερα, η τιμή για την φωτεινότητα (L^*) βρέθηκε $94,73 \pm 0,3$ σε σχέση με $71,90 \pm 0,51$ της παρούσας έρευνας, η τιμή για την ερυθρότητα (a^*) $-0,81 \pm 0,01$ σε σχέση με $-3,26 \pm 0,01$ ενώ η τιμή για την ωχρότητα (b^*) η τιμή ήταν $11,15 \pm 0,53$ σε σχέση με $13,13 \pm 0,86$.

Τέλος ίδιο μοτίβο όσον αφορά το χρώμα των μεμβρανών συναντάται και στην έρευνα των Duan et al. [46] οι οποίοι μελέτησαν τις ιδιότητες των μεμβρανών με βάση τη ζεΐνη, την απομονωμένη πρωτεΐνη σόγιας και την πρωτεΐνη γλουτένης σίτου προσθέτοντας νανοκρυστάλλους κυτταρίνης. Οι τιμές που καταγράφηκαν για την απλή μεμβράνη από γλουτένη σίτου ήταν $95,10 \pm 0,17$ για την παράμετρο L^* , $-1,83 \pm 0,03$ για την παράμετρο a^* και $6,28 \pm 0,10$ για την παράμετρο b^* . Η φωτεινότητα των εν λόγω μεμβρανών είναι μεγαλύτερη σε σχέση με τις μεμβράνες της παρούσας μελέτης, η ερυθρότητα ελαφρώς υψηλότερη και η ωχρότητα μικρότερη.

Από τα παραπάνω για τις απλές μεμβράνες γλουτένης σίτου φαίνεται ότι η παράμετρος L^* είναι εμφανώς χαμηλότερη προσδίδοντας ένα πιο σκούρο χρώμα στη μεμβράνη, η παράμετρος a^* είναι σε παρόμοιες τιμές μην αλλάζοντας ουσιαστικά την απόχρωση της ερυθρότητας, ενώ για την παράμετρο b^* κυμαίνεται σε μεγαλύτερες τιμές δίνοντας μια περισσότερο κίτρινη απόχρωση. Μια πιθανή εξήγηση για το γεγονός αυτό μπορεί να είναι η προέλευση της πρώτης ύλης, δηλαδή της γλουτένης σίτου η οποία επιδρά και στα τελικά χρωματικά χαρακτηριστικά ή και η ποσότητα του $NH_4(OH)$ που όταν προστίθενται αλλάζει αισθητά το χρώμα του διαλύματος.

Πίνακας 2 : Τιμές των παραμέτρων L*,a*,b* για τα 3 διαφορετικά είδη παρασκευασθέντων μεμβρανών

ΜΕΜΒΡΑΝΗ	L*	a*	b*
WGF	71,90 ± 0,51 ^B	-3,26 ± 0,01 ^A	13,13 ± 0,86 ^A
WGF + 2% SPR	71,73 ± 0,03 ^B	-2,92 ± 0,04 ^B	13,87 ± 0,23 ^A
WGF + 2% CL	69,18 ± 1,29 ^A	-1,03 ± 0,90 ^C	21,29 ± 1,57 ^B

A,B,C... : Διαφορετικοί εκθέτες (στη στήλη) υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των 3 μεμβρανών (p< 0,05)

γ) Προσδιορισμός Αντιοξειδωτικής Δράσης (Α.Δ.) Μεμβρανών

Οι τιμές για το % ποσοστό της αντιοξειδωτικής δράσης για κάθε είδος μεμβράνης παρουσιάζονται στον Πίνακα 3. Αρχικά, φαίνεται ότι με την προσθήκη αιθέριων ελαίων αυξάνεται σημαντικά η αντιοξειδωτική δράση των μεμβρανών σε σχέση με την απλή μεμβράνη από γλουτένη σίτου (WGF). Το γεγονός αυτό ερμηνεύεται από τις χημικές ενώσεις που υπάρχουν στα αιθέρια έλαια οι οποίες έχουν ισχυρή αντιοξειδωτική και αντιμικροβιακή δράση. Ακόμη, στατιστικά σημαντική διαφορά υπάρχει και μεταξύ των 2 ενισχυμένων με αιθέρια έλαια μεμβρανών. Η μεμβράνη από γλουτένη σίτου ενισχυμένη με αιθέριο έλαιο δυόσμου (WGF + 2% SPR) εμφάνισε ποσοστό αντιοξειδωτικής δράσης 50,22 ± 11,47 %, ενώ η μεμβράνη από γλουτένη σίτου ενισχυμένη με αιθέριο έλαιο γαρύφαλλου (WGF + 2% CL) 88,76 ± 1,19%. Όπως φαίνεται το ποσοστό της WGF + 2% CL είναι υψηλότερο από τα άλλα 2 είδη μεμβρανών. Η διαφορά στην αντιοξειδωτική δράση σε σχέση με τη μεμβράνη WGF + 2% SPR ίσως να οφείλεται στη διαφορετική ποιοτική και ποσοτική σύσταση των χημικών ενώσεων που εμφανίζονται στο κάθε αιθέριο έλαιο. Προφανώς οι ενώσεις που υπάρχουν στο γαρυφαλλέλαιο έχουν ισχυρότερη αντιοξειδωτική δράση και συναντώνται σε μεγαλύτερες αναλογίες απ' ότι στον δυόσμο. Αναλυτική περιγραφή του χημικού προφίλ κάθε αιθέριου ελαίου θα δοθεί στο κομμάτι της ανάλυσης του αρωματικού τους προφίλ.

Πίνακας 3: % ποσοστό της αντιοξειδωτικής δράσης για τα 3 διαφορετικά είδη παρασκευασθέντων μεμβρανών

MEMBRANE	% A.Δ.
WGF	29,18 ± 3,03 ^A
WGF + 2% SPR	50,22 ± 11,47 ^B
WGF + 2% CL	88,76 ± 1,19 ^C

A,B,C.. : Διαφορετικοί εκθέτες υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των 3 μεμβρανών (p< 0,05)

Οι Haniye et. al. [48] ανέπτυξαν και χαρακτήρισαν αντιμικροβιακές/αντιοξειδωτικές μεμβράνες με βάση τη γλουτένη σίτου τις οποίες ενίσχυσαν με ελεύθερο κι ενθυλακωμένο αιθέριο έλαιο *Origanum majorana* L. Οι μεμβράνες γλουτένης σίτου παρουσίασαν τη χαμηλότερη αντιοξειδωτική δραστηριότητα σε σχέση με τις υπόλοιπες (36,02 %), ωστόσο είχαν παρόμοια τιμή με την παρούσα μελέτη. Η προσθήκη αιθέριου έλαιου *O. majorana* σε ελεύθερη κι ενθυλακωμένη μορφή αύξησε την αντιοξειδωτική δραστηριότητα των μεμβρανών, με τα δείγματα που περιείχαν ελεύθερο Α.Ε. να επιδεικνύουν την υψηλότερη αντιοξειδωτική δραστηριότητα (46,69 ± 0,80%) σε σύγκριση με το ενθυλακωμένο (43,43 ± 0,86%).

Οι Sajed et al. [49] παρασκεύασαν νανοσύνθετες μεμβράνες με βάση τη γλουτένη σίτου, ενισχυμένες με νανοϊνες χιτοζάνης (CHNF), καθώς και συνδυασμένες με νανολιποσώματα με επικάλυψη ινουλίνης με βετανίνη (BET) και καρβόννη (CAR) για εφαρμογή ως υλικά συσκευασίας τροφίμων. Μελετώντας την αντιοξειδωτική τους δραστηριότητα σημείωσαν ότι η καθαρή μεμβράνη από γλουτένη σίτου δεν είχε ανιχνεύσιμη αντιοξειδωτική δράση (<5%). Επίσης, δεν εμφανίστηκε σημαντική διαφορά (p > 0,05) με την ενσωμάτωση CHNF (<5%). Ωστόσο, η προσθήκη των ελεύθερων BET/CAR και των BET/CAR συνδυασμένων με νανολιποσώματα οδήγησε σε σημαντική (p<0,05) ενίσχυση της δραστηριότητας αναστολής της ρίζας DPPH των συγκεκριμένων μεμβρανών. Για την περίπτωση των μεμβρανών με προσθήκη CHNF και BET/CAR 5% η αναστολή βρέθηκε ίση με 12,50%, ενώ με προσθήκη CHNF και

BET/CAR 10% η αναστολή ανήλθε στο 20%. Τέλος, μεμβράνες με CHNF ενισχυμένες με νανολιποσώματα 5% παρουσίασαν αναστολή δραστηριότητας της ρίζας 31% και μεμβράνες με CHNF ενισχυμένες με νανολιποσώματα 10% αύξησαν το ποσοστό αναστολής στο 51%.

δ) Έλεγχος Μηχανικών Ιδιοτήτων Μεμβρανών

Μηχανικές ιδιότητες των υλικών είναι εκείνες οι ιδιότητες που περιγράφουν πώς ένα υλικό αντιδρά στην εφαρμογή δυνάμεων (ιδιαίτερα η συμπεριφορά του σε μηχανικές δυνάμεις). [50] Οι μεμβράνες που προορίζονται για εύκαμπτη συσκευασία τροφίμων θα πρέπει να εμφανίζουν μία ικανοποιητική αντοχή. Μια σημαντική παράμετρος για την ικανότητα μορφοποίησής τους αποτελεί η % επιμήκυνση ή % παραμόρφωση στο όριο θραύσης (strain). Ως όριο θραύσης ορίζεται η στιγμή ακριβώς πριν από την κατάρρευση του υλικού, δηλαδή τα κλάσματα του δευτερολέπτου προτού γίνει ρήξη της μεμβράνης. Μια άλλη σημαντική παράμετρος αποτελεί η τάση, στο όριο θραύσης ή αλλιώς η αντοχή στον εφελκυσμό, εκφρασμένη σε MPa. Όπως προκύπτει, η παράμετρος αυτή εκφράζει την αντοχή που ασκείται στο δοκίμιο μέχρι πριν από την κατάρρευσή του. Τέλος, ο συντελεστής Young ή συντελεστής ελαστικότητας εκφράζεται σε MPa και περιγράφει μια πολύ σημαντική φυσική ιδιότητα των πλαστικών μεμβρανών, την ακαμψία/ελαστικότητα. Υψηλότερες τιμές του συντελεστή Young συνεπάγονται υψηλότερη ακαμψία του υλικού. Στον πίνακα 4 δίνονται οι τιμές για τις 3 παραμέτρους που αφορούν τις μηχανικές ιδιότητες των παρασκευασθέντων μεμβρανών.

Πίνακας 4: Τιμές μηχανικών ιδιοτήτων για τα 3 διαφορετικά είδη παρασκευασθέντων μεμβρανών

MEMBPANH	% strain (%)	Stress (MPa)	Modulus Young (MPa)
WGF	244,17 ± 21,42 ^A	431,95 ± 47,59 ^B	4.107,5 ± 205,77 ^A
WGF + 2% SPR	242,1 ± 30,64 ^A	300,55 ± 14,07 ^A	2.786,67 ± 186,98 ^A
WGF + 2% CL	272,4 ± 24,75 ^A	356,5 ± 87,11 ^A	3.165,5 ± 37,48 ^A

A,B,C.. : Διαφορετικοί εκθέτες (στη στήλη) υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των 3 μεμβρανών ($p < 0,05$)

Σχετικά με την επιμήκυνση στο όριο θραύσης παρατηρούμε ότι οι τιμές για τις μεμβράνες WGF και WGF + 2% SPR είναι παραπλήσιες, ενώ η τιμή για τη μεμβράνη WGF + 2% CL είναι εμφανώς μεγαλύτερη. Φαίνεται ότι η προσθήκη αιθέριου ελαίου γαρυφαλλίου ενισχύει την ελαστικότητα της μεμβράνης καθώς όσο μεγαλύτερο είναι το % ποσοστό παραμόρφωσης τόσο περισσότερο μπορεί να επιμηκυνθεί το υλικό. Η προσθήκη του γαρυφαλλέλαιου δρα ως πλαστικοποιητής προσδίδοντας ελαστικότητα στη μεμβράνη.

Όσο αναφορά την αντοχή στον εφελκυσμό φαίνεται πως την υψηλότερη τιμή ($431,95 \pm 47,59 \text{ MPa}$) καταγράφει η μεμβράνη WGF με σχετική διαφορά από τις άλλες δύο. Ακολουθεί η μεμβράνη WGF + 2% CL ($356,5 \pm 87,11 \text{ MPa}$) και τέλος η WGF + 2% SPR ($300,55 \pm 14,07 \text{ MPa}$). Υψηλότερη τιμή αντοχής στον εφελκυσμό συνεπάγεται μεγαλύτερη αντοχή του υλικού. Η προσθήκη των αιθέριων ελαίων επηρεάζει αρνητικά την αντοχή των μεμβρανών μειώνοντάς την. Αυτό πιθανώς να οφείλεται στο γεγονός ότι με την προσθήκη αιθέριων ελαίων στη μεμβράνη αυξάνεται η ελαστικότητα και σαν αποτέλεσμα μειώνεται η ικανότητά τους να συγκρατήσουν μεγάλο φορτίο μέχρι να καταρρεύσουν.

Στην περίπτωση του συντελεστή Young παρατηρείται μια μεγάλη τιμή ($4.107,5 \pm 205,77 \text{ MPa}$) στη μεμβράνη WGF. Εμφανώς μικρότερη τιμή έχει η μεμβράνη WGF + 2% CL ($3.165,5 \pm 37,48 \text{ MPa}$) και τη μικρότερη από τα 3 είδη μεμβρανών, η WGF + 2% SPR ($2.786,67 \pm 186,98 \text{ MPa}$). Υψηλότερη τιμή του συντελεστή Young συνεπάγεται μεγαλύτερη ακαμψία του υλικού. Έτσι προκύπτει ότι η πιο άκαμπτη μεμβράνη είναι η WGF. Οι ενισχυμένες με τα αιθέρια έλαια μεμβράνες είναι περισσότερο εύκαμπτες και αυτό πιθανότατα οφείλεται στη φύση των ελαίων που δρουν ως πλαστικοποιητές και προσδίδουν μεγαλύτερη ευλυγισία στη πρωτεϊνική δομή των μεμβρανών.

Οι Mojumdar et. al. [51] μελέτησαν βρώσιμες μεμβράνες παρασκευασμένες από πρωτεΐνη γλουτένης σίτου (WGF) τόσο ως προς τις θερμικές όσο και ως προς τις μηχανικές ιδιότητες. Σχετικά με την επιμήκυνση στο όριο θραύσης η τιμή της ήταν

310-331%, με τα δημοσιευμένα ποσοστά στη βιβλιογραφία όσο αναφορά πρωτεϊνικές μεμβράνες να κυμαίνονται από 1 έως 260%.

Σε μελέτη των Magied et. al. [52], οι οποίοι χρησιμοποίησαν παρασκευασθέντα φιλμ κι επικαλύψεις από γλουτένη για να συσκευάσουν καταψυγμένες φράουλες (*fragaria ananassa*), βρήκαν ότι μεμβράνες με ίδια ή παρόμοια ποσοστά σε γλυκερόλη με της παρούσας εργασίας η επιμήκυνση στο όριο θραύσης ήταν 249,37% (ποσοστό γλυκερόλης 40%) και 253,40% (ποσοστό γλυκερόλης 50%). Οι τιμές αυτές είναι σε συμφωνία με τη τιμή για τη μεμβράνη από γλουτένη σίτου της παρούσας μελέτης ($244,17 \pm 21,42\%$).

Οι Rezaei et. al. [53] μελέτησαν τις φωτοκαταλυτικές/αντιμικροβιακές ιδιότητες βιοδιασπώμενων μεμβρανών με βάση γλουτένη σιταριού/ νανοςύνθετα σωματίδια οξειδίου του ψευδαργύρου (WG/ZnO) για χρήση ως υλικά σε μια ενεργή συσκευασία τροφίμων. Μελετώντας τις μηχανικές ιδιότητες των εν λόγω μεμβρανών ανέφεραν ότι η επιμήκυνση στο όριο θραύσης για μεμβράνη παρασκευασμένη με ποσοστό 15% σε γλουτένη ήταν 260%, ενώ για μεμβράνη παρασκευασμένη με ποσοστό 30% σε γλουτένη 285%, τιμές ελαφρώς υψηλότερες από αυτές της παρούσας εργασίας. Αντίθετα, οι τιμές που κατέγραψαν για την αντοχή στον εφελκυσμό ήταν 200 MPa και 100 MPa αντίστοιχα, οι οποίες διαφέρουν σημαντικά από την τιμή $431,95 \pm 47,59$ MPa που προσδιορίστηκε στην παρούσα έρευνα. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι το ποσοστό της γλουτένης στις μεμβράνες διαφέρει μεταξύ των 2 μελετών (10,71%), στον διαφορετικό τρόπο παρασκευής τους ή σε διαφορετικό πρωτόκολλο που ακολουθήθηκε κατά τη μέτρηση των μηχανικών τους ιδιοτήτων.

ε) Ανάλυση φασματοσκοπίας FT-IR (Fourier-Transform Infrared Spectroscopy)

Για την ανάλυση της χημικής δομής των μεμβρανών χρησιμοποιήθηκε η φασματοσκοπία απορρόφησης υπερύθρου μετασχηματισμού Fourier με εξασθενημένη ολική ανάκλαση [Attenuated Total Reflectance – Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR)]. Η φασματοσκοπία υπερύθρου στηρίζεται στην αλληλεπίδραση της ύλης με το υπέρυθρο φως. Η αλληλεπίδραση αυτή προκαλεί αλλαγές στη

διπολική ροπή του μορίου που μελετάται δημιουργώντας δονήσεις. Οι δονήσεις αυτές, που εμφανίζονται σε ένα φάσμα υπερύθρου, μπορούν να δώσουν την ταυτότητα των χημικών ειδών που υπάρχουν στο δείγμα.

Στην εικόνα 8 φαίνονται τα 3 διαφορετικά φάσματα που λήφθηκαν για τους 3 τύπους μεμβρανών, WGF (μπλε γραμμή), WGF+2%SPR (κίτρινη γραμμή) και WGF+2%CL (πορτοκαλί γραμμή). Από τα φάσματα FTIR-ATR προκύπτει ότι οι 3 γραμμές συμπίπτουν σε όλο το εύρος των κυματάριθμων ($400-4.000\text{cm}^{-1}$). Αυτό σημαίνει ότι η χημική δομή των μεμβρανών δεν άλλαξε με την προσθήκη των αιθέριων ελαίων αλλά παρέμεινε η ίδια. Συνεπώς τα αιθέρια έλαια δεν αντέδρασαν με τη γλουτένη σίτου και ως εκ τούτου δεν σχηματίστηκαν νέοι χημικοί δεσμοί. Ωστόσο φαίνεται να έδρασαν ως πλαστικοποιητές καλύπτοντας κενούς χώρους στο πρωτεϊνικό πλέγμα της γλουτένης.

Οι κύριες ζώνες απορρόφησης εντοπίζονται στα $3.500 - 3.000\text{ cm}^{-1}$ με μια ευρεία κορυφή, στα 2.940 cm^{-1} και 2.880 cm^{-1} με 2 μικρότερες κορυφές, στα 1620 cm^{-1} με μια κορυφή πολύ μεγάλης απορρόφησης, στα 1540 cm^{-1} με μια επίσης μεγάλης απορρόφησης κορυφή και στα 1450cm^{-1} με μια μικρότερη. Ακόμη, στην περιοχή των δακτυλικών αποτυπωμάτων (fingerprint region) εντοπίζεται μια κορυφή στα 1250cm^{-1} , μια ακόμη περίπου στα 1110cm^{-1} , μια σημαντική κορυφή στα 1040cm^{-1} και τέλος μια χαμηλής έντασης κορυφή περί τα 920 cm^{-1} .

Η πρώτη μεγάλη κι ευρεία κορυφή στα $3.500 - 3.000\text{ cm}^{-1}$ αντιστοιχεί σε δονήσεις επιμήκυνσης (stretching vibration) των δεσμών O-H των αλκοολών και στις ασύμμετρες και συμμετρικές δονήσεις των δεσμών N-H των αμινομάδων, ενώ οι κορυφές στα 2.940cm^{-1} και 2.880cm^{-1} αποδίδονται σε δονήσεις επιμήκυνσης των δεσμών C-H των αλκανίων. Οι κύριες ζώνες απορρόφησης των πρωτεϊνών της γλουτένης σίτου ήταν οι πεπτιδικοί δεσμοί του αμιδίου I, II και III κι εντοπίστηκαν περίπου στα 1.620 cm^{-1} , 1.540 cm^{-1} και 1.450 cm^{-1} αντίστοιχα. Η περιοχή του αμιδίου I σχετίζεται με τις δονήσεις τάσεις (tensile vibration) των δεσμών C=O και C-N, του αμιδίου II με τις δονήσεις κάμψης (bending vibration) του δεσμού N-H και τις δονήσεις τάσεις του δεσμού C-N, ενώ του αμιδίου III με τις δονήσεις επιμήκυνσης των N-H and C-N. Όσο αναφορά την περιοχή των δακτυλικών αποτυπωμάτων, η

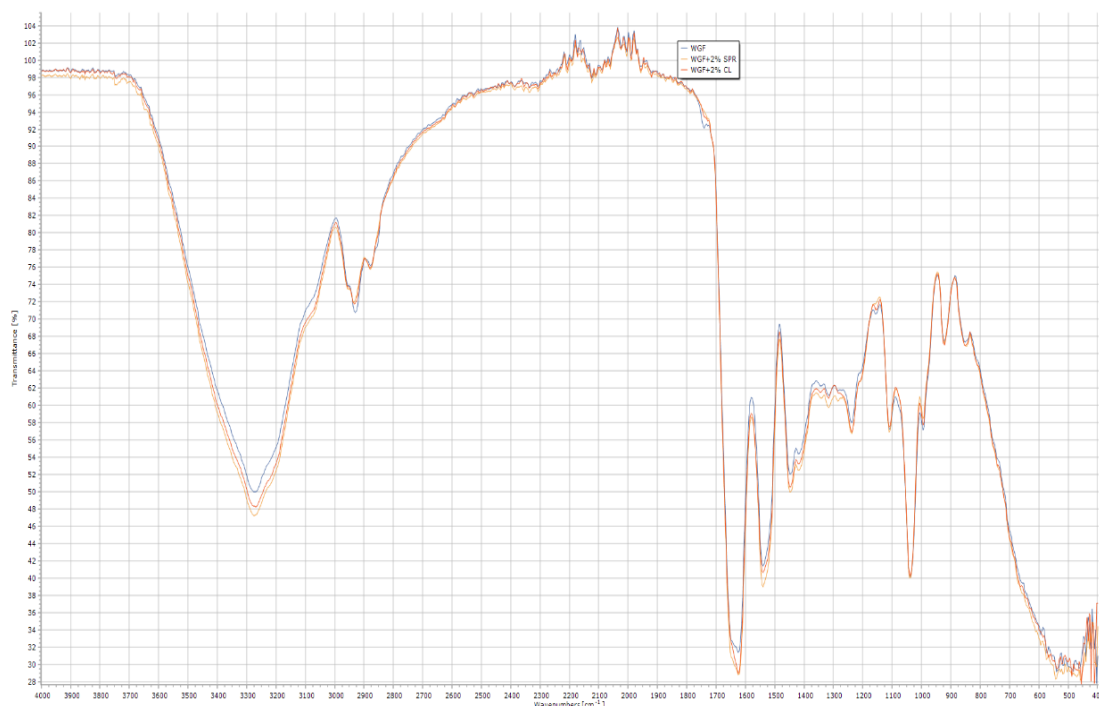
μέτριας έντασης απορρόφηση στα 1100 cm^{-1} και η ισχυρή ζώνη απορρόφησης στα 1040 cm^{-1} αποδίδονται στις δονήσεις τάσης του δεσμού C-O των ομάδων C-O-H και C-O-C του δακτυλίου της γλυκόζης. Τέλος η χαμηλής έντασης κορυφή περίπου στα 921 cm^{-1} αποδίδεται στον χημικό δεσμό της ομάδος Si-O-Si.

Τα παραπάνω αποτελέσματα έρχονται σε συμφωνία με τους Jing Wang et al. [26] οι οποίοι μελέτησαν τη δομή, τις ρεολογικές ιδιότητες και την αποτελεσματικότητα των μεμβρανών από αλεύρι σίτου και το συνέκριναν με μείγμα αμύλου σίτου και γλουτένης. Σύμφωνα με αυτούς η ζώνη απορρόφησης που βρίσκεται στην περιοχή $3.100\text{-}3.700\text{ cm}^{-1}$ αποδίδεται στις κύριες δονήσεις επιμήκυνσης της ομάδος -OH, η οποία προέρχεται από τα μόρια των πολυσακχαριτών στο άμυλο σίτου και ορισμένων αμινοξέων στις πρωτεΐνες. Γενικά, ο σχηματισμός δεσμών υδρογόνου μετατοπίζει την συγκεκριμένη χαρακτηριστική κορυφή σε χαμηλότερους κυματάριθμους. Η κορυφή στα $2.800\text{-}3.000\text{ cm}^{-1}$ αποδίδεται στις δονήσεις επιμήκυνσης της ομάδας -C-H (CH_2) της πρωτεΐνης, ενώ οι κορυφές απορρόφησης που βρίσκονται στα 1.550 cm^{-1} και 1.650 cm^{-1} αντιστοιχούν στις ομάδες C=O και C=N της πρωτεΐνης, αντίστοιχα. Η ξεκάθαρη κορυφή στα 1.000 cm^{-1} είναι η χαρακτηριστική κορυφή απορρόφησης των μορίων των πολυσακχαριτών, συμπεριλαμβανομένης της δόνησης τάσης C-O και της δόνησης τάσης C-C.

Επίσης, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έρχονται σε πλήρη συμφωνία με τους Yian Chen et al. [54] οι οποίοι παρασκεύασαν υβριδικές μεμβράνες συσκευασίας καθώς και υβριδικές επικαλύψεις από νανοΐνες λιγνοκυτταρίνης (lignocellulose nanofibers-LCNF) και γλουτένης σιταριού (WG) στην επιφάνεια των φρούτων και τις εφάρμοσαν σε 6 είδη φρούτων με διαφορετικό αναπνευστικό μεταβολισμό. Κατά τη διάρκεια παρασκευής τους έλαβαν τα φάσματα τόσο της υβριδικής μεμβράνης (LCNF-WG) όσο και των απλών (LCNF, WG) για τη μελέτη της χημικής τους δομής. Το φάσμα της μεμβράνης από γλουτένη σίτου ταυτίζεται με αυτό της παρούσας έρευνας καθώς συναντάται ο ίδιος αριθμός κορυφών και μάλιστα με την ίδια ή παρόμοια ένταση.

Τέλος, οι Khashayary et al. [44] παρασκεύασαν ένα φιλμ από γλουτένη σίτου με την προσθήκη διαφόρων αντιμικροβιακών παραγόντων όπως βανιλίνης, σαλικυλικού

οξέος και άλλων. Στο πλαίσιο διαφόρων μελετών που έλαβαν χώρα προσδιορίστηκε και η χημική δομή των μεμβρανών μέσω φασματοσκοπίας FTIR. Οι κορυφές και σε



αυτή την περίπτωση ταυτίζονται με αυτές της μεμβράνης που παρασκευάστηκε και αναλύθηκε στην παρούσα έρευνα.

Εικόνα 8: Φάσματα FTIR-ATR μεμβρανών WGF (μπλε γραμμή), WGF+2% SPR (κίτρινη γραμμή) και WGF+2% CL (πορτοκαλί γραμμή).

2. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ

α) Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (Ο.Μ.Χ.)

Η μέτρηση της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας αναφέρεται στο συνολικό αριθμό βακτηρίων που έχουν την ικανότητα να σχηματίζουν ορατές αποικίες σε θρεπτικό υπόστρωμα σε συγκεκριμένη θερμοκρασία και σύμφωνα με τις οδηγίες της ICMSF χρησιμοποιείται ως δείκτης αποδοχής της ποιότητας των τροφίμων με το ανώτατο όριο τις 7 log CFU/g. [32]

Ο αρχικός πληθυσμός της Ο.Μ.Χ. στον κιμά κοτόπουλου, δηλαδή ο πληθυσμός την ημέρα που μεταφέρθηκε από το εργοστάσιο στο εργαστήριο (ημέρα 0) ήταν $4,90 \pm$

0,24 log CFU/g. Η παρατήρηση αυτή έρχεται σε συμφωνία με τις εργασίες της Gertzou et al. [55] και των Chouliara et al. [56] οι οποίοι ανέφεραν ότι ο αρχικός πληθυσμός της Ο.Μ.Χ. σε νωπό κοτόπουλο βρέθηκε 4,65 log CFU/g και 4,28 log CFU/g αντίστοιχα. Όπως αναμένεται, με την πάροδο των ημερών το μικροβιακό φορτίο όλων των δειγμάτων αυξήθηκε. Συνεπώς, αυξήθηκε και η τιμή της Ο.Μ.Χ. κάθε επόμενη ημέρα δειγματοληψίας, δηλαδή από την ημέρα 0 στην 2^η ημέρα, από την 2^η στην 4^η ημέρα κοκ. φτάνοντας μέχρι την 8^η και τελευταία ημέρα.

Όπως φαίνεται τόσο στον πίνακα 5 όσο και στο σχήμα 1 στο οποίο απεικονίζεται η εξέλιξη της Ο.Μ.Χ. ανά ημέρα δειγματοληψίας για τους 4 διαφορετικούς τύπους συσκευασίας που μελετήθηκαν, η ολική μεσόφιλη χλωρίδα έφτασε το όριο των 7 log CFU/g την 4^η ημέρα για το δείγμα που δεν επικαλύφτηκε με καμία μεμβράνη (Control), περίπου την 5^η ημέρα (μεταξύ 4^{ης} και 6^{ης} ημέρας) για το δείγμα που επικαλύφτηκε με μεμβράνη από γλουτένη σίτου (WGF) αλλά και για το δείγμα που επικαλύφτηκε με μεμβράνη από γλουτένη σίτου ενισχυμένη με 2% v/v Α.Ε. δυόσμου (WGF + 2%SPR), ενώ για το δείγμα που επικαλύφτηκε με μεμβράνη από γλουτένη σίτου ενισχυμένη με 2% v/v Α.Ε. γαρύφαλλου (WGF + 2%CL) το όριο των 7 log CFU/g ξεπεράστηκε την 6^η ημέρα δειγματοληψίας. Αυτό καταδεικνύει τη συνεισφορά των βιοαποικοδομήσιμων μεμβρανών από γλουτένη σίτου στην αναστολή ανάπτυξης των μικροοργανισμών που κυριαρχούν στο τρόφιμο και συνεπώς στην επιμήκυνση του χρόνου ζωής του.

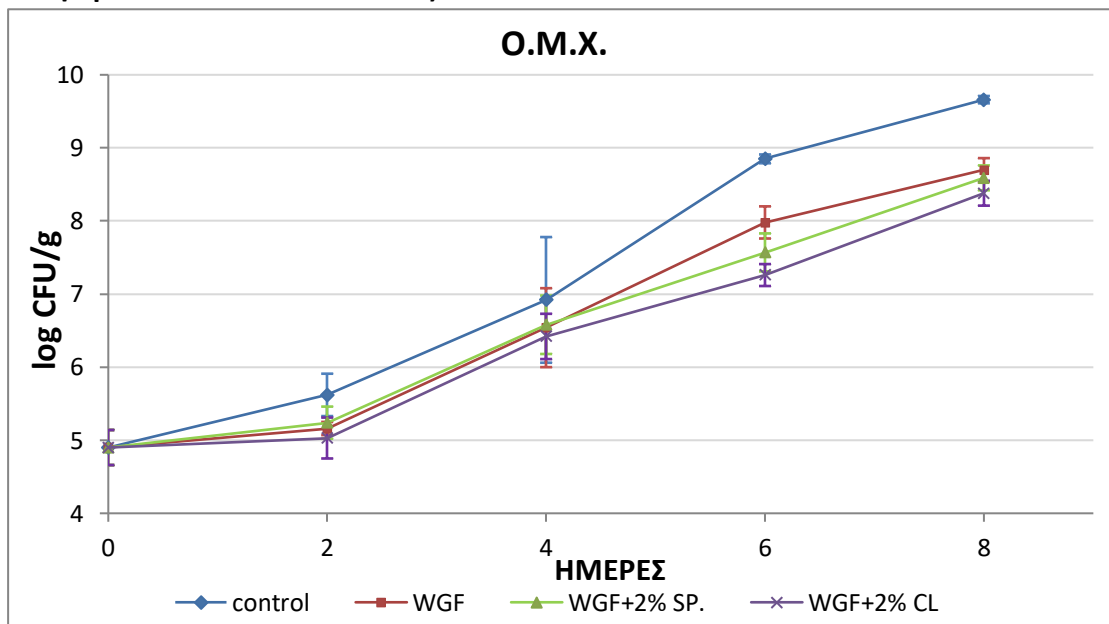
Ένα ακόμη στοιχείο είναι ότι την 6^η ημέρα αρχίζει και η μείωση στον αριθμό των βακτηρίων μεταξύ της απλής μεμβράνης WGF και των μεμβρανών που περιέχουν αιθέρια έλαια (WGF + 2% SPR και WGF + 2%CL). Το γεγονός αυτό υποδηλώνει την αντιμικροβιακή δράση των αιθέριων που αποτρέπουν σε κάποιο βαθμό την ανάπτυξη των βακτηρίων. Ως αποτέλεσμα της αναστολής αυτής, ο μικροβιολογικός χρόνος ζωής του τροφίμου στα δείγματα WGF και WGF + 2% SPR αυξήθηκε κατά 1 ημέρα, ενώ στο δείγμα WGF + 2% CL κατά 2 ημέρες σε σχέση με το Control.

ΤΥΠΟΣ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ / ΗΜΕΡΕΣ	0	2	4	6	8
CONTROL	4,90 ± 0,24 ^a	5,62 ± 0,29 ^{b,A}	6,92 ± 0,86 ^{c,A}	8,85 ± 0,06 ^{d,C}	9,66 ± 0,05 ^{e,B}
WGF	4,90 ± 0,24 ^a	5,16 ± 0,09 ^{a,B}	6,54 ± 0,54 ^{b,A}	7,98 ± 0,22 ^{c,B}	8,70 ± 0,16 ^{d,A}
SPR	4,90 ± 0,24 ^a	5,24 ± 0,22 ^{a,B}	6,58 ± 0,40 ^{b,A}	7,57 ± 0,26 ^{c,A}	8,59 ± 0,17 ^{d,A}
CL	4,90 ± 0,24 ^a	5,03 ± 0,28 ^{a,B}	6,42 ± 0,31 ^{b,A}	7,26 ± 0,15 ^{c,A}	8,38 ± 0,17 ^{d,A}

A,B,C.. : Διαφορετικοί εκθέτες (σε κάθε στήλη) υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές για μία συγκεκριμένη ημέρα μεταξύ των τύπων συσκευασιών ($p < 0,05$)

a,b,c,... : Διαφορετικοί εκθέτες (σε κάθε σειρά) υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ημερών για ένα συγκεκριμένο τύπο συσκευασίας ($p < 0,05$)

Πίνακας 5: Μεταβολή των τιμών της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας (log CFU/g) συναρτήσει του χρόνου (ημέρες) σε δείγματα κιμά κοτόπουλου αποθηκευμένα με διαφορετικό τύπο συσκευασίας



Σχήμα 1 : Μεταβολή της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας κατά τη διάρκεια συντήρησης σε δείγματα κιμά κοτόπουλου αποθηκευμένα με διαφορετικό τύπο συσκευασίας

Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται σε συμφωνία με τους Raeisi et al. [57] οι οποίοι μελέτησαν την επίδραση επικαλυπτικών μεμβρανών αλγινικού νατρίου ενσωματώνοντας αντιμικροβιακούς παράγοντες (νισίνη) και αιθέρια έλαια (κανέλλα και δενδρολίβανο) στη μικροβιακή ποιότητα κοτόπουλου. Οι τιμές της Ο.Μ.Χ. όλων των δειγμάτων αυξήθηκαν κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης στους 4°C. Τα δείγμα που δεν επικαλύφθηκε με καμία μεμβράνη κι αυτό που επικαλύφθηκε με αλγινικό νάτριο είχαν το υψηλότερο ποσοστό ανάπτυξης μικροοργανισμών κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης, ενώ το χαμηλότερο ποσοστό παρατηρήθηκε στις συσκευασίες μεμβρανών αλγινικού νατρίου με ταυτόχρονη προσθήκη αιθέριων ελαίων κανέλας και δενδρολίβανου (CEO+REO), δενδρολίβανου και νισίνης (REO+N), κανέλας και νισίνης (CEO+N). Το μέγιστο αποδεκτό όριο για το C έφτασε την ημέρα 9, για το ALG την ημέρα 12, ενώ για τα δείγματα CEO+REO, REO+N και CEO+N διατηρήθηκε κάτω από το όριο μέχρι και το τέλος του πειράματος.

Σε μελέτη των Aykut et al. [42] παρασκευάστηκε μια βρώσιμη επικάλυψη με βάση τη γλουτένη σίτου, ρητίνη από το δέντρο *Pistacia vera* L. (PVR) και το αιθέριο έλαιο αυτού για να εφαρμοστεί σε φιλέτα στήθους κοτόπουλου με τη μέθοδο της εμβάπτισης για την αναστολή της ανάπτυξης της μικροβιακής χλωρίδας. Η εφαρμογή των επικαλυπτικών μεμβρανών στο κοτόπουλο με διάφορες συγκεντρώσεις αιθέριων ελαίων ρητίνης ανέστειλε σημαντικά την ανάπτυξη της Ο.Μ.Χ. κατά τη διάρκεια της περιόδου αποθήκευσης. Η διαφορά στις τιμές ήταν εμφανής ήδη από την πρώτη ημέρα αποθήκευσης μεταξύ του δείγματος χωρίς επικάλυψη (C1) και όλων των υπολοίπων, ενώ στο τέλος της 12^{ης} ημέρας αποθήκευσης, όλα τα δείγματα επικαλυπτόμενα με μεμβράνη ενισχυμένη με αιθέριο έλαιο είχαν σημαντικά μειωμένο επίπεδο σε σύγκριση με το δείγμα C1.

Οι Yian et al. [54] παρασκεύασαν φιλμ από γλουτένη σιταριού (WG) ενισχυμένα με νανοΐνες λιγνοκυτταρίνης (LCNF) και μεταξύ άλλων μελέτησαν τις αντιμικροβιακές τους ιδιότητες. Αφού τα φιλμ κατεργάστηκαν με ποσότητα αραιωμένης βακτηριακής καλλιέργειας και καλύφθηκαν με αποστειρωμένο κάλυμμα κατέληξαν στο γεγονός ότι οι βακτηριακοί δείκτες μειώθηκαν στο μηδέν μετά από ολονύκτια επώαση με τη μεμβράνη LCNF-WG, γεγονός που υποδηλώνει ότι ανέστειλαν αποτελεσματικά την

ανάπτυξη βακτηρίων. Αντίθετα, οι βακτηριακοί δείκτες αυξήθηκαν σε μεγάλο βαθμό μετά από την ολονύκτια επώαση με παραφίλμ που χρησιμοποιήθηκε ως μάρτυρας.

β) Ζύμες-Μύκητες

Οι ζύμες ανήκουν σε μια κατηγορία μικροοργανισμών που ενδέχεται να προκαλέσουν αλλοίωση στην επιφάνεια του κοτόπουλου που συντηρείται σε αερόβιες συνθήκες.[58] Ο αρχικός πληθυσμός των ζυμών-μυκήτων στον κιμά κοτόπουλου, δηλαδή ο πληθυσμός τους την ημέρα 0 ήταν $2,46 \pm 0,18 \log \text{CFU/g}$, τιμή η οποία θεωρείται σχετικά χαμηλή. Οι Raeisi et al. [57] ανέφεραν ακόμη μικρότερο αρχικό πληθυσμό ζυμομυκήτων, της τάξης των $2.0 \log \text{CFU/g}$. Αντίθετα, η Gertzou et al. [55] ανέφεραν αρχικό πληθυσμό ζυμομυκήτων σε κοτόπουλο $3,95 \log \text{CFU/g}$, ενώ οι Sallam et al. [59] βρήκαν $3,5 \log \text{CFU/g}$ σε φρέσκο φιλέτο κοτόπουλου.

Όπως και στην περίπτωση της Ο.Μ.Χ., με την πάροδο των ημερών παρατηρείται αύξηση στις τιμές των ζυμομυκήτων σε όλους τους τύπους συσκευασίας με μόνη εξαίρεση την 2^η ημέρα κατά την οποία οι τιμές είναι παραπλήσιες με της ημέρας 0. Αυτό πιθανώς να οφείλεται στο γεγονός ότι την 2^η ημέρα βρισκόμαστε στη λανθάνουσα φάση στην καμπύλη ανάπτυξης βακτηρίων και ο πληθυσμός των ζυμομυκήτων είναι ακόμη χαμηλός και σταθερός. Από εκεί και μετά παρατηρείται αύξηση στις τιμές των συγκεκριμένων μικροοργανισμών μέχρι και την 8^η ημέρα δειγματοληψίας. Την 8^η ημέρα του πειράματος οι πληθυσμοί των ζυμών-μυκήτων για τα δείγματα Control, WGF, WGF + 2% SPR και WGF + 2% CL ήταν $6,73 \pm 0,08$, $5,22 \pm 0,44$, $4,41 \pm 0,33$ και $3,95 \pm 0,18$ αντίστοιχα.

Παρατηρώντας λοιπόν τον Πίνακα 6 αλλά και το Σχήμα 2 που απεικονίζουν την εξέλιξη των ζυμομυκήτων κατά τις ημέρες συντήρησης εμφανίζονται μεγάλες διαφορές μεταξύ των δειγμάτων τόσο στην 8^η ημέρα όσο και στην 6^η. Πρώτον, οι διαφορές εντοπίζονται και πάλι μεταξύ του Control και των άλλων 3 δειγμάτων που επικαλύφθηκαν με μεμβράνες κι έχουν σημαντικά χαμηλότερο μικροβιακό φορτίο σε σχέση με το δείγμα αναφοράς, επιβεβαιώνοντας την αντιμικροβιακή δράση των παρασκευασθέντων μεμβρανών. Δεύτερον, παρατηρείται μια επιπλέον αναστολή στα δείγματα που έχουν συσκευαστεί σε μεμβράνες ενισχυμένες με αιθέρια έλαια

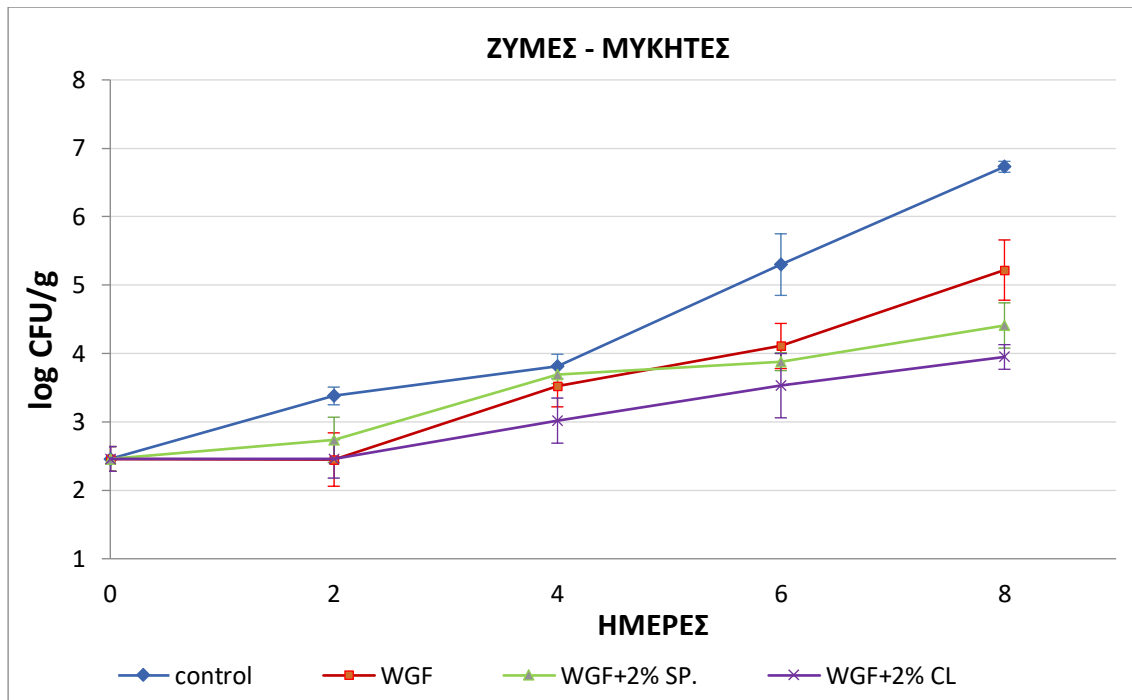
(WGF + 2% SPR, WGF + 2% CL) σε σύγκριση με την απλή μεμβράνη WGF. Τέλος η μεμβράνη WGF + 2% CL φαίνεται να έχει την ισχυρότερη αντιμικροβιακή δράση καθώς τα δείγματα που συσκευάστηκαν με αυτήν είχαν τις μικρότερες τιμές όσο αναφορά τους ζυμομύκητες (log CFU/g) καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος.

Πίνακας 6: Μεταβολή των τιμών των ζυμομυκήτων (log CFU/g) συναρτήσει του χρόνου (ημέρες) σε δείγματα κιμά κοτόπουλου αποθηκευμένα με διαφορετικό τύπο συσκευασίας

ΤΥΠΟΣ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑΣ / ΗΜΕΡΕΣ	0	2	4	6	8
CONTROL	2,46 ± 0,18 ^a	3,38 ± 0,13 ^{b,A}	3,81 ± 0,18 ^{c,A}	5,30 ± 0,45 ^{d,C}	6,73 ± 0,08 ^{e,C}
WGF	2,46 ± 0,18 ^a	2,45 ± 0,39 ^{a,A}	3,52 ± 0,30 ^{b,A}	4,11 ± 0,33 ^{b,B}	5,22 ± 0,44 ^{c,B}
SPR	2,46 ± 0,18 ^a	2,74 ± 0,33 ^{a,A}	3,69 ± 0,13 ^{b,A}	3,88 ± 0,13 ^{b,A}	4,41 ± 0,33 ^{c,A}
CL	2,46 ± 0,18 ^a	2,46 ± 0,38 ^{a,A}	3,02 ± 0,33 ^{b,A}	3,53 ± 0,47 ^{b,A}	3,95 ± 0,18 ^{c,A}

A,B,C... : Διαφορετικοί εκθέτες (σε κάθε στήλη) υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές για μία συγκεκριμένη ημέρα μεταξύ των τύπων συσκευασιών (p< 0,05)

a,b,c,... : Διαφορετικοί εκθέτες (σε κάθε γραμμή) υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ημερών για ένα συγκεκριμένο τύπο συσκευασίας (p< 0,05)



Σχήμα 2 : Μεταβολή των ζυμομυκήτων κατά τη διάρκεια συντήρησης σε δείγματα κιμά κοτόπουλου αποθηκευμένα με διαφορετικό τύπο συσκευασίας

Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται σε συμφωνία με τους Raeisi et. al. [57] οι οποίοι μελέτησαν την επίδραση επικαλυπτικών μεμβρανών αλγινικού νατρίου ενσωματώνοντας αντιμικροβιακούς παράγοντες κι αιθέρια έλαια (νισίνη, κανέλλα και δενδρολίβανο) στη μικροβιακή ποιότητα κοτόπουλου. Ο αριθμός των ζυμομυκήτων αυξήθηκε κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης με τελικό πληθυσμό τους 6,7 και 6,5 log CFU/g για το δείγμα χωρίς καμία επικάλυψη και για το δείγμα επικαλυμμένο με μεμβράνη αλγινικού νατρίου αντίστοιχα. Για τα δείγματα συσκευασμένα σε μεμβράνες με Α.Ε. κανέλλας και νισίνη, Α.Ε. δενδρολίβανου και νισίνη, Α.Ε. κανέλλας και Α.Ε. δενδρολίβανου οι τιμές που καταγράφηκαν ήταν 5,1, 5,5 και 5,9 log CFU/g, εμφανώς χαμηλότερες σε σχέση με τις 2 προηγούμενες επεξεργασίες.

Οι Zahra et. al. [60] παρασκεύασαν μια νέα βρώσιμη επικάλυψη από σπόρους φασκόμηλου και Α.Ε. μοσχοκάρυδου με στόχο τη βελτίωση της ποιότητας και της διάρκειας ζωής φιλέτων βοδινού κρέατος. Σύμφωνα με τα αποτελέσματά τους τα δείγματα που είχαν το μεγαλύτερο μικροβιακό φορτίο καθ' όλες τις ημέρες

δειγματοληψίας (2, 4, 6) ήταν εκείνα χωρίς καμία επικάλυψη και εκείνα που συσκευάστηκαν με τη μεμβράνη χωρίς προσθήκη αιθέριου ελαίου. Όσον αφορά τα υπόλοιπα δείγματα, έδειξαν αναστολή στην ανάπτυξη των ζυμομυκήτων ανάλογη του ποσοστού του Α.Ε. μοσχοκάρυδου που περιείχαν οι μεμβράνες με τις οποίες καλύφθηκαν. Ως εκ τούτου την καλύτερη αντιμικροβιακή δράση έδειξε η συσκευασία με 2% Α.Ε., έπειτα αυτή με 1,5% και ακολούθησαν οι κατεργασίες με 1% και 0,5%.

Σε μελέτη που διεξήχθη από τους Behrooz et. al. [61] όπου εξετάστηκε η αντιμικροβιακή ικανότητα μιας βρώσιμης επικάλυψης από σπόρους *Lepidium perfoliatum* (*Lepidium perfoliatum* seed mucilage, LPSM) ενισχυμένης με αιθέριο έλαιο ραδικιού σε φιλέτα βοδινού κρέατος βρέθηκαν ανάλογα αποτελέσματα με της παρούσας εργασίας. Πιο συγκεκριμένα, σε ότι αφορά τους πληθυσμούς των ζυμομυκήτων οι υψηλότερες τιμές για όλες τις ημέρες δειγματοληψίας (1, 3, 5, 7) καταγράφηκαν για το δείγμα χωρίς καμία επικάλυψη, έπειτα για το δείγμα επικαλυπτόμενο με απλή μεμβράνη (LPSM), ενώ σημαντική αναστολή στον αριθμό των αποικιών έδειξαν τα δείγματα που επικαλύφθηκαν με μεμβράνες ενισχυμένες με Α.Ε ραδικιού. Μάλιστα, η αναστολή ήταν μεγαλύτερη όσο αυξανόταν το % ποσοστό του Α.Ε. στην παρασκευασθείσα μεμβράνη.

γ) *Brochothrix thermosphacta*

Ο *Brochothrix Thermosphacta* είναι προαιρετικά αναερόβιος μικροοργανισμός και θεωρείται από κοινού με τις ψευδομονάδες ως ειδικός μικροοργανισμός αλλοίωσης στα κρέατα που συσκευάζονται σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα [62]. Αντιπροσωπεύει επίσης, ένα σημαντικό μέρος της μικροβιακής χλωρίδας του κρέατος που αποθηκεύεται αερόβια, αλλά και υπό κενό [63].

Ο αρχικός πληθυσμός του *Brochothrix Thermosphacta* στον κιμά κοτόπουλου, δηλαδή ο πληθυσμός που υπήρχε την ημέρα 0 ήταν $3,63 \pm 0,33 \log \text{CFU/g}$ και είναι σύμφωνος με την μελέτη των Chouliara et al. [56] οι οποίοι ανέφεραν αρχικό πληθυσμό του συγκεκριμένου μικροοργανισμού $3,04 \pm 0,21 \log \text{CFU/g}$. Όπως είναι αναμενόμενο, με την πάροδο των ημερών το μικροβιακό φορτίο όλων των δειγμάτων

αυξάνεται. Συνεπώς, αυξάνεται και ο πληθυσμός του *Brochothrix Thermosphacta* κάθε επόμενη ημέρα δειγματοληψίας. Την 8^η ημέρα του πειράματος οι τιμές που καταγράφηκαν για τον συγκεκριμένο μικροοργανισμό για τα δείγματα Control, WGF, WGF + 2% SPR και WGF + 2% CL ήταν $8,28 \pm 0,27$, $7,90 \pm 0,06$, $7,70 \pm 0,08$ και $7,46 \pm 0,23$, αντίστοιχα.

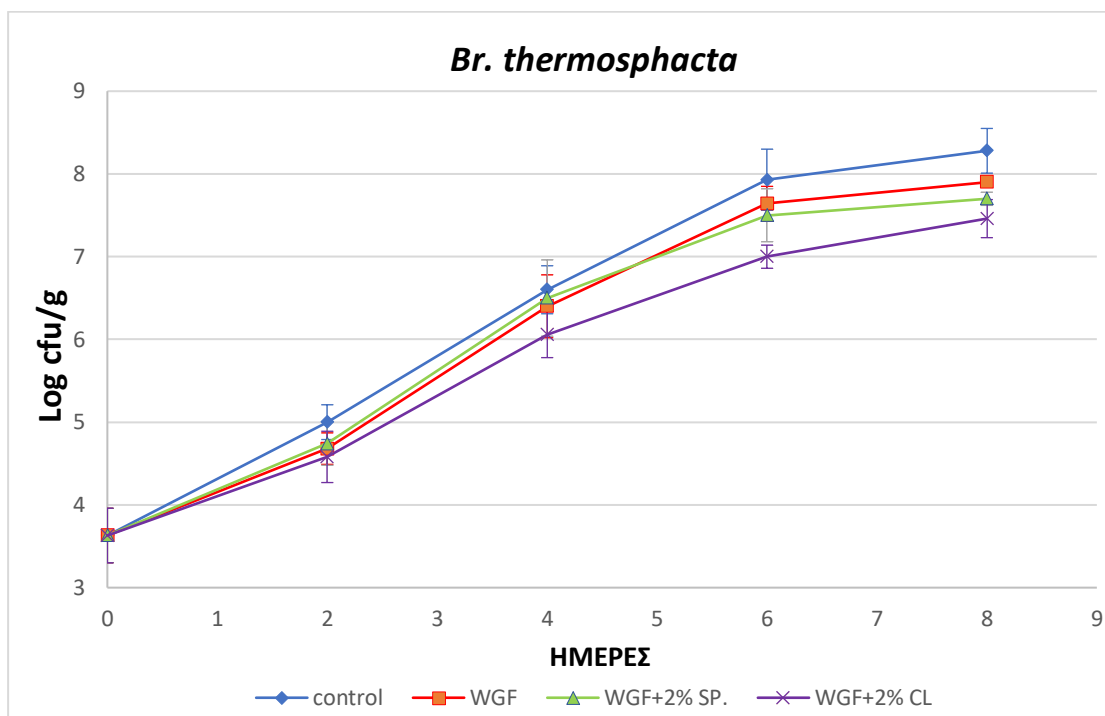
Τα αποτελέσματα από την εξέλιξη του συγκεκριμένου μικροοργανισμού κατά τις ημέρες του πειράματος δίνονται στον Πίνακα 7 και στο Σχήμα 3. Παρατηρείται ότι από την 4^η ημέρα κι έπειτα το συσκευασμένο σε WGF + 2% CL δείγμα εμφανίζει μικρότερες λογαριθμικές τιμές σε σχέση με τα υπόλοιπα 3 είδη συσκευασίας. Μάλιστα η διαφορά μεταξύ του Control και του WGF + 2% CL την 8^η ημέρα είναι σχεδόν 1 log CFU/g, δηλαδή περίπου 1 τάξη μεγέθους χαμηλότερη. Η παρατήρηση αυτή μπορεί να σημαίνει ότι ο συγκεκριμένος μικροοργανισμός επηρεάζεται αρνητικά από την παρουσία του αιθέριου ελαίου γαρύφαλλου και συνεπώς εμποδίζεται η ανάπτυξή του. Στη συγκεκριμένη περίπτωση οι άλλοι 2 τύποι συσκευασίας (WGF, WGF + 2% SPR) δεν είχαν αξιοσημείωτες διαφορές σε σχέση με το Control.

Πίνακας 7: Μεταβολή των τιμών του *Br.thermosphacta* (log CFU/g) συναρτήσει του χρόνου (ημέρες) σε δείγματα κιμά κοτόπουλου αποθηκευμένα με διαφορετικό τύπο συσκευασίας

ΤΥΠΟΣ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑΣ / ΗΜΕΡΕΣ	0	2	4	6	8
CONTROL	$3,63 \pm 0,33^a$	$5 \pm 0,21^{b,A}$	$6,60 \pm 0,29^{c,A}$	$7,93 \pm 0,37^{d,B}$	$8,28 \pm 0,27^{d,C}$
WGF	$3,63 \pm 0,33^a$	$4,68 \pm 0,19^{b,A}$	$6,40 \pm 0,38^{c,A}$	$7,64 \pm 0,21^{d,B}$	$7,90 \pm 0,06^{d,B}$
SPR	$3,63 \pm 0,33^a$	$4,74 \pm 0,26^{b,A}$	$6,50 \pm 0,46^{c,A}$	$7,50 \pm 0,32^{d,B}$	$7,70 \pm 0,08^{d,A}$
CL	$3,63 \pm 0,33^a$	$4,58 \pm 0,31^{b,A}$	$6,06 \pm 0,28^{c,A}$	$7,00 \pm 0,14^{d,A}$	$7,46 \pm 0,23^{e,A}$

A,B,C... : Διαφορετικοί εκθέτες (σε κάθε στήλη) υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές για μία συγκεκριμένη ημέρα μεταξύ των τύπων συσκευασιών ($p < 0,05$)

a,b,c,... : Διαφορετικοί εκθέτες (σε κάθε γραμμή) υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ημερών για ένα συγκεκριμένο τύπο συσκευασίας ($p < 0,05$)



Σχήμα 3 : Μεταβολή του *Br. thermosphacta* κατά τη διάρκεια συντήρησης σε δείγματα κιμά κοτόπουλου αποθηκευμένα με διαφορετικό τύπο συσκευασίας

Σε μελέτη των Tsironi et al. [43] όπου μελέτησαν την επίδραση μεμβρανών από ορό γάλακτος ενισχυμένων με Α.Ε. πιπερόριζας και δενδρολίβανου σε κιμά αρνιού η αρχική τιμή του *Br. thermosphacta* ήταν 3,28 log CFU/g και έφτασε στο μέγιστο την 11^η ημέρα για τα φιλμ από ορό γάλακτος (Control) (8,01 log CFU/g). Την 2^η ημέρα παρατηρήθηκε μείωση για τα δείγματα συσκευασμένα με μεμβράνη ορού γάλακτος + 1% Α.Ε. πιπερόριζας (3,22 log CFU/g) και με μεμβράνη ορού γάλακτος + Α.Ε. δενδρολίβανου (3,14 log CFU/g για 0,5% Α.Ε. και 3,05 log CFU/g για 1% Α.Ε.). Επιπλέον, την 8^η ημέρα παρατηρήθηκε πως η προσθήκη των αιθέριων ελαίων συμβάλλει θετικά στην αναστολή ανάπτυξης του *Br. thermosphacta*, καθώς οι τιμές τους παραμένουν κάτω από 7,15 log CFU/g που παρουσιάζει η μεμβράνη από ορό γάλακτος (Control).

δ) Ψευδομονάδες (*Pseudomonas spp.*)

Οι ψευδομονάδες είναι μια κατηγορία αυστηρά αερόβιων μικροοργανισμών, που θεωρούνται αλλοιογόνοι για το κόκκινο κρέας και το κοτόπουλο. Η ανάπτυξή τους σχετίζεται με τη δημιουργία δύσσομων ενώσεων και τη εμφάνιση γλοιώδους στρώματος στην επιφάνεια του κοτόπουλου [64]. Ο αρχικός πληθυσμός των ψευδομονάδων στον κιμά κοτόπουλου, βρέθηκε να είναι $3,24 \pm 0,28 \log \text{CFU/g}$ και κατέγραψε αυξητική τάση κατά τη διάρκεια του πειράματος με την μέγιστη τιμή να έχει το Control την 8^η ημέρα συντήρησης με $8,19 \pm 0,17 \log \text{CFU/g}$. Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται σε συμφωνία με τους Chouliara et al. [56] οι οποίοι κατέγραψαν την τιμή $3,38 \pm 0,18 \log \text{CFU/g}$ την ημέρα 0 σε κοτόπουλο και με τους Raeisi et al. [57] που ανέφεραν την τιμή $3,60 \log \text{CFU/g}$ ως αρχικό πληθυσμό ψευδομονάδων σε κοτόπουλο.

Από τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον Πίνακα 8 και στο Σχήμα 4 το όριο των $7 \log \text{CFU/g}$ για το Control ξεπεράστηκε περίπου την 5^η ημέρα (πιο συγκεκριμένα μεταξύ της 4^{ης} και 6^{ης} ημέρας). Αντίθετα τα υπόλοιπα 3 είδη δειγμάτων έφτασαν ή και ξεπέρασαν το όριο των $7 \log \text{CFU/g}$ την 8^η ημέρα. Αναλυτικότερα, το δείγμα συσκευασμένο με γλουτένη σίτου (WGF) την 8^η ημέρα έφτασε τους $7,15 \pm 0,09 \log \text{CFU/g}$, το δείγμα με μεμβράνη από γλουτένη σίτου ενισχυμένη με 2% v/v A.E. δυόσμου (WGF + 2%SPR) την 8^η ημέρα έφτασε τους $6,96 \pm 0,13 \log \text{CFU/g}$ ενώ το δείγμα που επικαλύφτηκε με μεμβράνη από γλουτένη σίτου ενισχυμένη με 2% v/v A.E. γαρύφαλλου (WGF + 2%CL) την 8^η ημέρα έφτασε τους $7,08 \pm 0,04 \log \text{CFU/g}$. Παρατηρείται διαφορά τουλάχιστον 1 λογαριθμικής μονάδας μεταξύ του Control και των συσκευασμένων με μεμβράνες δειγμάτων. Είναι επομένως εμφανής η δραστηριότητα των μεμβρανών, τόσο της απλής όσο και αυτών με την προσθήκη αιθέριων ελαίων στην αναστολή ανάπτυξης των ψευδομονάδων.

Προκύπτει ότι τις υψηλότερες τιμές για όλες τις ημέρες δειγματοληψίας έχει το Control, ενώ αντίθετα τις χαμηλότερες το δείγμα συσκευασμένο σε WGF + 2% CL. Όπως και με μικροοργανισμούς που μελετήθηκαν παραπάνω, η διαφορά στον

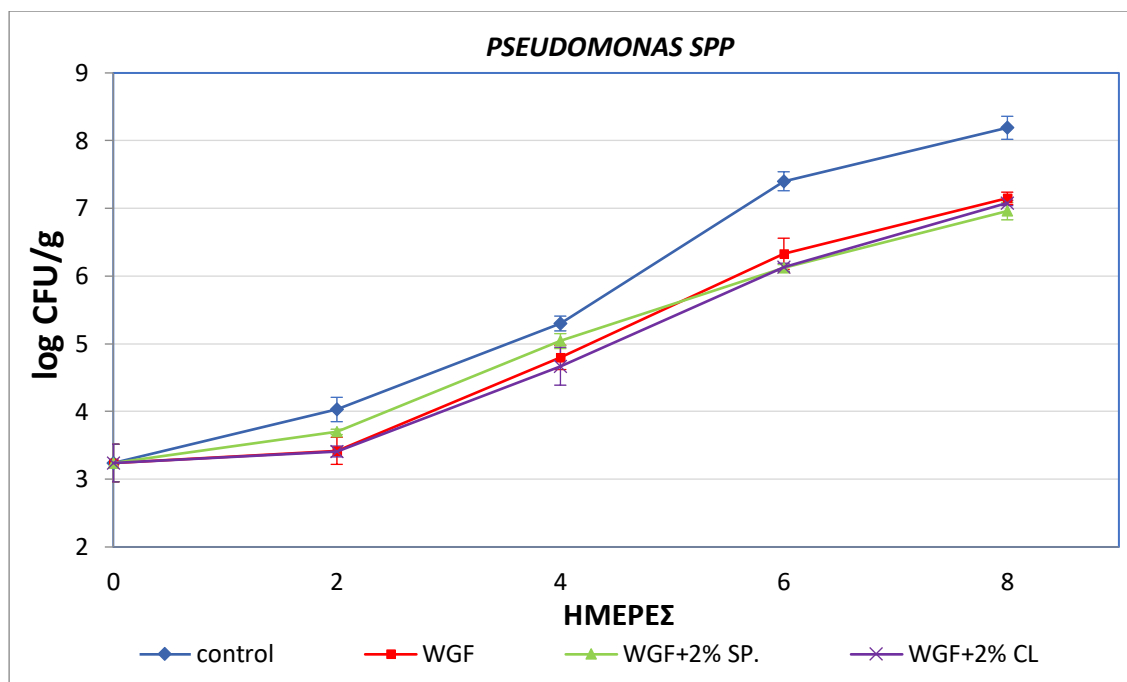
αριθμό των βακτηρίων μεταξύ του Control και των άλλων 3 δειγμάτων γίνεται εντονότερη από την 6^η ημέρα δειγματοληψίας και μετά με τις τιμές να διαφέρουν περισσότερο από 1 log CFU/g. Αυτό καταδεικνύει και πάλι την αποτελεσματικότητα των βιοαποικοδομήσιμων μεμβρανών από γλουτένη σίτου στην αναστολή ανάπτυξης των μικροοργανισμών με τη μεμβράνη από γλουτένη σίτου ενισχυμένη με αιθέριο έλαιο γαρύφαλλου να έχει την ισχυρότερη αντιμικροβιακή δράση.

Πίνακας 8: Μεταβολή των τιμών των *Pseudomonas spp.* (log CFU/g) συναρτήσει του χρόνου (ημέρες) σε δείγματα κιμά κοτόπουλου αποθηκευμένα με διαφορετικό τύπο συσκευασίας

ΤΥΠΟΣ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑΣ / ΗΜΕΡΕΣ	0	2	4	6	8
CONTROL	3,24±0,28 ^a	4,03±0,18 ^{b,A}	5,30±0,11 ^{c,A}	7,40±0,14 ^{d,A}	8,19±0,17 ^{e,A}
WGF	3,24±0,28 ^a	3,42±0,20 ^{a,C}	4,80±0,18 ^{b,B,C}	6,33±0,23 ^{c,B}	7,15±0,09 ^{d,B}
SPR	3,24±0,28 ^a	3,70±0,04 ^{b,B}	5,04±0,11 ^{c,A,B}	6,12±0,05 ^{d,B}	6,96±0,13 ^{e,B}
CL	3,24±0,28 ^a	3,41±0,08 ^{a,C}	4,67±0,28 ^{b,C}	6,13±0,06 ^{c,B}	7,08±0,04 ^{d,B}

A,B,C... : Διαφορετικοί εκθέτες (σε κάθε στήλη) υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές για μία συγκεκριμένη ημέρα μεταξύ των τύπων συσκευασιών (p< 0,05)

a,b,c,... : Διαφορετικοί εκθέτες (σε κάθε γραμμή) υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ημερών για ένα συγκεκριμένο τύπο συσκευασίας (p< 0,05)



Σχήμα 4 : Μεταβολή των *Pseudomonas spp.* κατά τη διάρκεια συντήρησης σε δείγματα κιμά κοτόπουλου αποθηκευμένα με διαφορετικό τύπο συσκευασίας

Οι Raeisi et. al. [57] ανέφεραν ότι ο τελικός πληθυσμός των *Pseudomonas spp.* σε δείγμα από κοτόπουλο ήταν 7,8, 7,2, 7,1 και 7 log CFU/g για τα δείγματα χωρίς συσκευασία, συσκευασμένα με μεμβράνη αλγινικού νατρίου, συσκευασμένα με μεμβράνη αλγινικού νατρίου και νισίνης, συσκευασμένα με μεμβράνη αλγινικού νατρίου και Α.Ε. κανέλλας, αντίστοιχα. Ο τελικός πληθυσμός των ψευδομονάδων για τα συσκευασμένα δείγματα με προσθήκη Α.Ε. δενδρολίβανου, Α.Ε. κανέλλας και νισίνης, Α.Ε. δενδρολίβανου και νισίνης, Α.Ε. δενδρολίβανου σε συνδυασμό με Α.Ε. κανέλλας ήταν 6,5, 6,5, 6,2 και 5,9 log CFU/g αντίστοιχα επιβεβαιώνοντας την αντιμικροβιακή δράση των Α.Ε. και της νισίνης.

Οι Bazargani et al. [65] αξιολόγησαν την επίδραση της επικάλυψης χιτοζάνης (CH) και του χυμού ροδιού (PJ) εμπλουτισμένα με αιθέριο έλαιο *Zataria multiflora* (ZEO) στη διάρκεια ζωής του κρέατος στήθους κοτόπουλου κατά την αποθήκευση στο ψυγείο. Ο αρχικός αριθμός των *Pseudomonas spp.* ήταν 4,04 log CFU/g, δείχνοντας αυξητικές τάσεις κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης για να φθάσει σε τελικό πληθυσμό 8,85 log CFU/g για το δείγμα χωρίς καμία επικάλυψη (C). Οι αντίστοιχοι αριθμοί για τα δείγματα κατεργασμένα με PJ, CH-PJ, CH-PJ-ZEO 1% και CH-PJ-ZEO 2% ήταν περίπου

0,80, 1,76, 2,65 και 2,91 log CFU/g χαμηλότεροι από το δείγμα ελέγχου, αντίστοιχα. Μάλιστα, ο πληθυσμός των *Pseudomonas spp.* για όλες τις κατεργασίες ήταν σημαντικά ($P \leq 0,05$) χαμηλότερος από του (C).

ε) Εντεροβακτηριοειδή (*Enterobacteriaceae*)

Τα εντεροβακτήρια είναι προαιρετικά αναερόβια και αποτελούν δείκτη υγιεινής στη διαδικασία της παραγωγής των διαφόρων προϊόντων κρέατος καθώς είναι ένδειξη των σωστών πρακτικών στον χειρισμό των πρώτων υλών και στην επεξεργασία τους για την παραγωγή των τελικών προϊόντων. Η ανάπτυξή τους σε αερόβιο περιβάλλον είναι εύκολη, ενώ σε αναερόβιο εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη διαθεσιμότητα των ζυμώσιμων σακχάρων.

Ο αρχικός πληθυσμός των Εντεροβακτηρίων στον κιμά κοτόπουλου (ημέρα 0) ήταν $1,91 \pm 0,15$ log CFU/g αποτελώντας ένδειξη καλής μικροβιολογικής ποιότητας. Άλλοι ερευνητές ανέφεραν αρχικούς πληθυσμούς Εντεροβακτηρίων 2,28 log CFU/g (Chouliara et al. [56]), 2.5 log CFU/g (Raeisi et al. [57]) και 2,83 log CFU/g (Gertzou et al. [55]). Καθώς αυξάνονταν οι ημέρες συντήρησης αυξάνονταν και ο πληθυσμός των Εντεροβακτηρίων σε όλα τα δείγματα. Ωστόσο η ανάπτυξή τους έλαβε χώρα με διαφορετικούς ρυθμούς για κάθε δείγμα.

Παρατηρώντας τα δεδομένα του Πίνακα 9 και του Σχήματος 5, τη μεγαλύτερη ανάπτυξη εμφάνισε το Control ακολουθούμενο από το δείγμα που επικαλύφτηκε με μεμβράνη από γλουτένη σίτου (WGF) το οποίο είχε ελαφρώς χαμηλότερες τιμές. Από την 6^η ημέρα δειγματοληψίας κι έπειτα τα δείγματα συσκευασμένα σε μεμβράνες που περιέχουν αιθέρια έλαια έχουν εμφανώς μειωμένο αριθμό βακτηρίων σε σχέση με το Control και την απλή μεμβράνη (WGF), ενώ η διαφορά γίνεται εντονότερη όσο αυξάνονται ο χρόνος φτάνοντας μέχρι και 1,5 log CFU/g την 8^η ημέρα. Αυτό φανερώνει την ισχυρή και αποτελεσματική δράση που έχουν τα αιθέρια έλαια στην αναχαίτιση ανάπτυξης των μικροοργανισμών και συνεπώς στην αποτροπή αλλοίωσης του τροφίμου. Και σε αυτή την κατηγορία μικροοργανισμών η αντιμικροβιακή δράση της μεμβράνης WGF + 2%CL είναι η ισχυρότερη καθώς τα

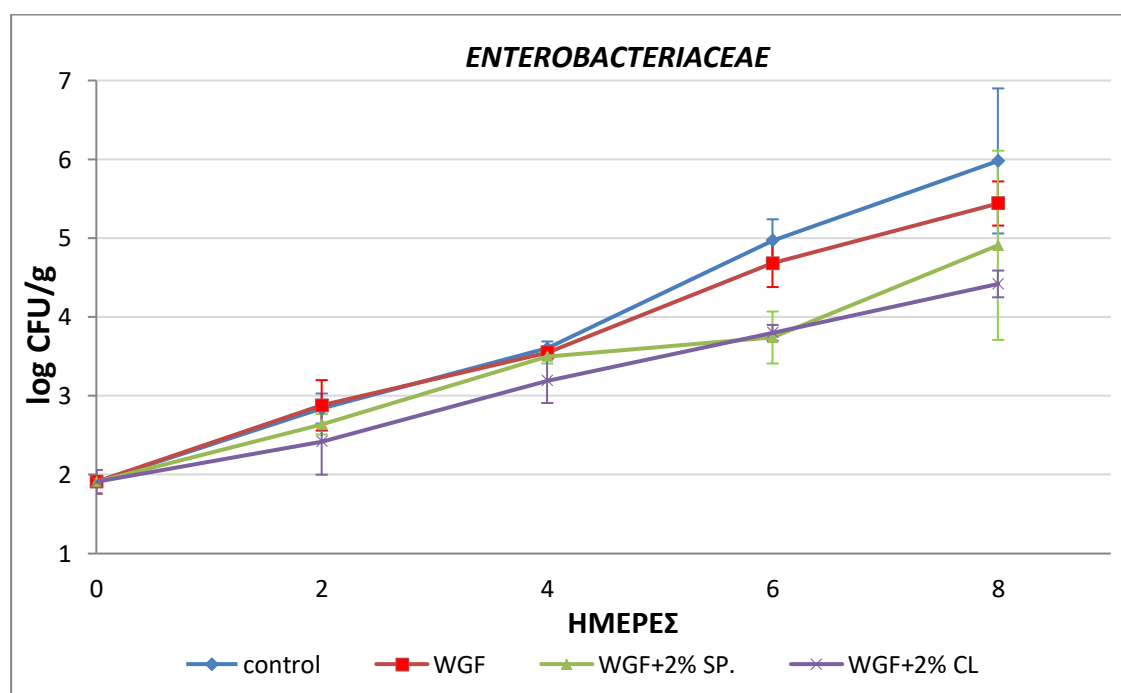
δείγματα που συσκευάστηκαν με αυτήν είχαν τις μικρότερες πληθυσμιακές τιμές όσο αναφορά τα εντεροβακτήρια (log CFU/g) καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος.

Πίνακας 9: Μεταβολή των τιμών των *Enterobacteriaceae* (log CFU/g) συναρτήσει του χρόνου (ημέρες) σε δείγματα κιμά κοτόπουλου αποθηκευμένα με διαφορετικό τύπο συσκευασίας

ΤΥΠΟΣ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑΣ / ΗΜΕΡΕΣ	0	2	4	6	8
CONTROL	1,91±0,15 ^a	2,84±0,19 ^{b,A}	3,60±0,09 ^{b,A}	4,97±0,27 ^{c,A}	5,98±1,12 ^{d,A}
WGF	1,91±0,15 ^a	2,88±0,32 ^{b,A}	3,55±0,12 ^{c,A}	4,68±0,30 ^{d,A}	5,44±0,28 ^{e,A,B}
SPR	1,91±0,15 ^a	2,64±0,13 ^{a,A}	3,50±0,09 ^{b,A}	3,74±0,33 ^{b,B}	4,91±1,20 ^{c,A,B}
CL	1,91±0,15 ^a	2,42±0,42 ^{b,A}	3,19±0,28 ^{c,B}	3,80±0,10 ^{d,B}	4,42±0,17 ^{e,B}

A,B,C... : Διαφορετικοί εκθέτες (σε κάθε στήλη) υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές για μία συγκεκριμένη ημέρα μεταξύ των τύπων συσκευασιών ($p < 0,05$)

a,b,c,... : Διαφορετικοί εκθέτες (σε κάθε γραμμή) υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ημερών για ένα συγκεκριμένο τύπο συσκευασίας ($p < 0,05$)



Σχήμα 5 : Μεταβολή των *Enterobacteriaceae* κατά τη διάρκεια συντήρησης σε δείγματα κιμά κοτόπουλου αποθηκευμένα με διαφορετικό τύπο συσκευασίας

Σε μελέτη των Raeisi et. al. [57] τα δείγματα συσκευασμένα σε μεμβράνη αλγινικού νατρίου, μεμβράνη αλγινικού νατρίου και νισίνης και μεμβράνη αλγινικού νατρίου και Α.Ε. κανέλλας παρήγαγαν σημαντικά χαμηλότερο αριθμό Εντεροβακτηριδίων (περίπου 0,3-0,6 log CFU/g) σε σύγκριση με το μη συσκευασμένο δείγμα κοτόπουλου (C). Τα δείγματα συσκευασμένα με προσθήκη Α.Ε. δενδρολίβανου, Α.Ε. κανέλλας και νισίνης, Α.Ε. δενδρολίβανου και νισίνης και Α.Ε. δενδρολίβανου σε συνδυασμό με Α.Ε. κανέλλας εμφάνισαν πληθυσμούς 1,5-2 log CFU/g χαμηλότερα σε σύγκριση με το C.

Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν από τους Bazargani et al. [65], οι οποίοι ανέφεραν μείωση του αριθμού των Εντεροβακτηριδίων κατά 1-2 λογαριθμικές μονάδες στο τέλος του χρόνου αποθήκευσης στα συσκευασμένα με μεμβράνες χιτοζάνης και αντιμικροβιακούς παράγοντες κρέατα κοτόπουλου σε σχέση με το δείγμα αναφοράς.

Τέλος, οι Tsironi et al. [43] κατέγραψαν ότι η εξέλιξη των Εντεροβακτηριδίων σε αρνίσιο κιμά κυμάνθηκε μεταξύ 0,45 και 5,05 log CFU/g και ότι οι μεμβράνες ορού γάλακτος ενισχυμένες με τα αιθέρια έλαια φαίνεται να αποτρέπουν την εξέλιξη των βακτηρίων. Αν και παρατηρήθηκαν διακυμάνσεις κατά τον χρόνο αποθήκευσης, τα δείγματα συσκευασμένα σε μεμβράνη ορού γάλακτος με προσθήκη 1% Α.Ε. πιπερόριζας και δενδρολίβανου φαίνεται να είναι τα πιο αποτελεσματικά.

στ) Οξυγαλακτικά Βακτήρια (*Lactic Acid Bacteria, LAB*)

Τα γαλακτικά βακτήρια χαρακτηρίζονται ως προαιρετικά αναερόβιοι ζυμωτικοί μικροοργανισμοί και μπορούν να ταξινομηθούν σε ομοζυμωτικά οξυγαλακτικά βακτήρια και σε ετεροζυμωτικά οξυγαλακτικά βακτήρια με βάση τον μεταβολισμό των υδατανθράκων και τα προϊόντα ζύμωσης. Αναγνωρίζονται ως σημαντικοί αλλοιογόνοι μικροοργανισμοί που αναπτύσσονται τόσο στον αέρα όσο και σε συνθήκες τροποποιημένης ατμόσφαιρας και κενού παράγοντας κυρίως όξινες γεύσεις και οσμές βουτύρου οφειλόμενες κυρίως στο παραγόμενο γαλακτικό οξύ.

Στον Πίνακα 10 και το Σχήμα 6 παρουσιάζεται η εξέλιξη των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB) κατά τη διάρκεια συντήρησης των δειγμάτων. Όπως φαίνεται ο αρχικός πληθυσμός των LAB ήταν $3,21 \pm 0,28 \log \text{CFU/g}$. Παρόμοιες τιμές ανέφεραν και οι Chouliara et al. [56] με $3,66 \pm 0,28 \log \text{CFU/g}$, οι Raeisi et al. [57] με $3,80 \log \text{CFU/g}$ και η Gertzou et al. [55] με $2,86 \log \text{CFU/g}$. Όσον αφορά την παρούσα εργασία ο πληθυσμός των LAB έφτασε στο μέγιστο την 8^η ημέρα ($5,95 \pm 0,18 \log \text{CFU/g}$) για το συσκευασμένο δείγμα σε μεμβράνη WGF. Παραπλήσιες τιμές είχαν και τα υπόλοιπα δείγματα την ίδια ημέρα.

Σε αντίθεση με τους προηγούμενους μικροοργανισμούς όπου τα δείγματα που δεν καλύφθηκαν με κάποια μεμβράνη είχαν τους μεγαλύτερους πληθυσμούς βακτηρίων καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος, στην περίπτωση των LAB αυτό συνέβη μόνο τις 2 πρώτες ημέρες δειγματοληψίας. Αναλυτικότερα, την 2^η και 4^η ημέρα πράγματι η τιμή για τα LAB στο Control ήταν μεγαλύτερη από τα υπόλοιπα δείγματα όμως την 6^η και 8^η ημέρα του πειράματος το συσκευασμένο δείγμα σε μεμβράνη από γλουτένη σίτου (WGF) εμφάνισε τις υψηλότερες τιμές $\log \text{CFU/g}$. Τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε μεμβράνες οι οποίες περιείχαν αιθέρια έλαια εμφάνισαν ελαφρώς χαμηλότερες τιμές σε σχέση με το Control και το WGF χωρίς ωστόσο να διαφέρουν σημαντικά από τα 2 τελευταία.

Αυτό πιθανώς να οφείλεται στο γεγονός ότι τα οξυγαλακτικά βακτήρια είναι προαιρετικά αναερόβιοι μικροοργανισμοί που σημαίνει ότι αναπτύσσονται αποτελεσματικότερα απουσία οξυγόνου. Τα δείγματα συσκευασμένα στις μεμβράνες, καθώς είναι περιτυλιγμένα με αυτές, δεν έρχονται σε άμεση επαφή με το οξυγόνο που υπερκείμενου χώρου. Με τον τρόπο αυτό ευνοούνται περισσότερο οι αναερόβιες συνθήκες σε σχέση με τις αερόβιες και συνεπώς η ανάπτυξη των οξυγαλακτικών βακτηρίων.

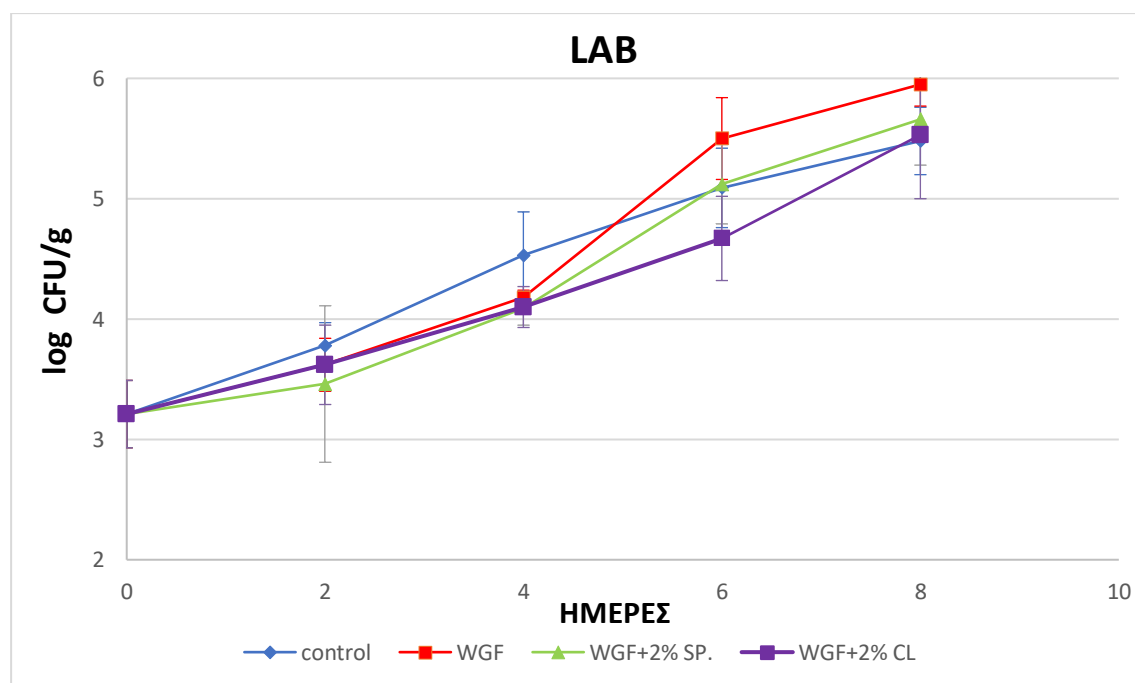
Το γεγονός ωστόσο ότι τα συσκευασμένα δείγματα σε μεμβράνες οι οποίες περιείχαν αιθέρια έλαια εμφάνισαν ελαφρώς χαμηλότερες τιμές συγκριτικά και με το Control και με το WGF ενδεχομένως να οφείλεται στην αντιμικροβιακή δράση των αιθέριων ελαίων προς όλους τους μικροοργανισμούς, ανεξάρτητα από την κατηγορία τους ως προς τις απαιτήσεις σε οξυγόνο.

Πίνακας 10: Μεταβολή των τιμών των LAB (log CFU/g) συναρτήσει του χρόνου (ημέρες) σε δείγματα κιμά κοτόπουλου αποθηκευμένα με διαφορετικό τύπο συσκευασίας

ΤΥΠΟΣ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑΣ / ΗΜΕΡΕΣ	0	2	4	6	8
CONTROL	3,21±0,28 ^a	3,78±0,19 ^{b,A}	4,53±0,36 ^{c,A}	5,09±0,33 ^{d,A} ,B	5,48±0,28 ^{e,A}
WGF	3,21±0,28 ^a	3,62±0,22 ^{b,A}	4,18±0,06 ^{c,B}	5,50±0,34 ^{d,B}	5,95±0,18 ^{e,A}
SPR	3,21±0,28 ^a	3,46±0,65 ^{a,A}	4,09±0,14 ^{b,B}	5,12±0,33 ^{c,A} B	5,66±0,38 ^{c,A}
CL	3,21±0,28 ^a	3,62±0,33 ^{a,b,A}	4,10±0,17 ^{b,B}	4,67±0,35 ^{c,A}	5,53±0,53 ^{d,A}

A,B,C... : Διαφορετικοί εκθέτες (σε κάθε στήλη) υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές για μία συγκεκριμένη ημέρα μεταξύ των τύπων συσκευασιών ($p < 0,05$)

a,b,c,... : Διαφορετικοί εκθέτες (σε κάθε γραμμή) υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ημερών για ένα συγκεκριμένο τύπο συσκευασίας ($p < 0,05$)



Σχήμα 6 : Μεταβολή των LAB κατά τη διάρκεια συντήρησης σε δείγματα κιμά κοτόπουλου αποθηκευμένα με διαφορετικό τύπο συσκευασίας

Σχετικά με άλλους ερευνητές οι Raeisi et al. [57] κατέγραψαν τις χαμηλότερες τιμές για τα LAB σε κοτόπουλο στα συσκευασμένα με μεμβράνη αλγινικού νατρίου δείγματα εμπλουτισμένα με Α.Ε. δενδρολίβανο + νισίνη (7,4 log CFU/g), Α.Ε. κανέλλας + νισίνη (7,4 log CFU/g) και Α.Ε. δενδρολίβανο + Α.Ε. κανέλλας (7,5 log CFU/g). Οι τιμές αυτές κυμάνθηκαν 2 log CFU/g χαμηλότερα σε σύγκριση με το δείγμα αναφοράς ($p < 0,05$).

Σε άλλη μελέτη, αναφέρθηκε μείωση του αριθμού των LAB κατά 1,5 λογαριθμική μονάδα μετά την επικάλυψη με μεμβράνη χιτοζάνης που περιείχε χυμό ροδιού και Α.Ε. *Zataria multiflora* σε συνθήκες ψύξης [65]. Παρόμοια αποτελέσματα όσον αφορά τη μείωση των οξυγαλακτικών βακτηρίων έδειξε και η έρευνα των Kiarsi et. al. [60], οι οποίοι μελέτησαν την επίδραση μεμβρανών πρωτεΐνης ορού γάλακτος με Α.Ε. δενδρολίβανου στη μικροβιακή ποιότητα του κρέατος αρνιού και ανέφεραν την αποτελεσματικότητα των μεμβρανών με 1% ριγανέλαιο στην ανάπτυξη των LAB.

2) ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ

α) pH

Το pH συνδέεται άμεσα με την ύπαρξη και ανάπτυξη μικροοργανισμών, κυρίως λόγω των μεταβολικών ουσιών που παράγονται κατά την ανάπτυξή τους. Π.χ. οι ψευδομονάδες παράγουν διάφορα αμινοξέα τα οποία οδηγούν σε αύξηση του pH, σε αντίθεση με τα γαλακτικά βακτήρια που παράγουν γαλακτικό οξύ προϊόν το οποίο οδηγεί σε μείωση του pH [64].

Η μεταβολή του pH για τα διαφορετικού τύπου συσκευασμένα δείγματα κιμά κοτόπουλου συναρτήσει του χρόνου αποθήκευσης παρουσιάζεται στον Πίνακα 7 και το Σχήμα 7. Η αρχική τιμή pH του δείγματος ήταν $6,06 \pm 0,03$, η οποία βρίσκεται μέσα στο εύρος των φυσιολογικών τιμών για φρέσκο, νωπό κρέας, ενώ η τελική τιμή έφτασε το $6,85 \pm 0$ για το Control. Η αύξηση του pH στο δείγμα ελέγχου (C) μπορεί να οφείλεται στη δράση ενδογενών ή μικροβιακών ενζύμων όπως η πρωτεάση και η λιπάση οι οποίες προκαλούν αύξηση των πτητικών βάσεων (π.χ. αμμωνίας και

τριμεθυλαμίνης) κατά την παρατεταμένη αποθήκευση. Οι Chouliara et al. [56] ανέφεραν το 6,40 ως αρχική τιμή για κρέας από κοτόπουλο ενώ οι Bazargani et al. [65] το 5,90.

Οι τιμές για τις 2 πρώτες ημέρες δειγματοληψίας (2^η και 4^η ημέρα) ήταν παραπλήσιες για όλους τους τύπους συσκευασίας. Από την 6^η ημέρα και μετά φάνηκε μια σημαντική διαφορά μεταξύ του Control και των υπόλοιπων 3 δειγμάτων που εξακολουθούσαν να έχουν παρόμοιες τιμές μέχρι και το τέλος του πειράματος. Πιο συγκεκριμένα την 6^η ημέρα το Control είχε $6,56 \pm 0,02$, ενώ WGF, WGF + 2% SPR και WGF + 2% CL είχαν $6,20 \pm 0,14$, $6,22 \pm 0,17$ και $6,19 \pm 0,21$ αντίστοιχα.

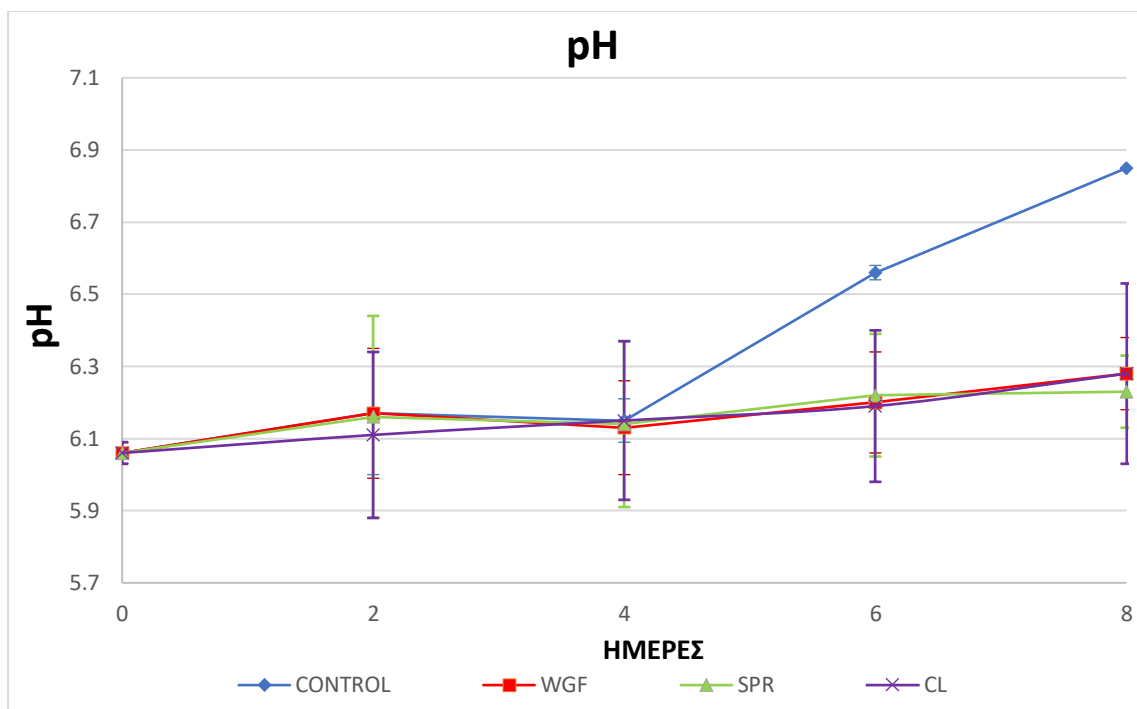
Λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός ότι το pH συνδέεται με την κακή κατάσταση και την αλλοίωση ενός τροφίμου, τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις του pH των δειγμάτων επιβεβαιώνουν τα μικροβιολογικά αποτελέσματα για την αποτροπή αλλοίωσης του συσκευασμένου τροφίμου όταν χρησιμοποιούνται μεμβράνες από γλουτένη σίτου. Το γεγονός αυτό παρατηρείται την 6^η και την 8^η ημέρα του πειράματος όπου υπάρχει αναστολή στην ανάπτυξη μικροοργανισμών και βακτηρίων διατηρώντας τις τιμές του pH των 3 δειγμάτων σε παρόμοια επίπεδα τη στιγμή που το Control αυξάνεται σημαντικά.

Πίνακας 11: Μεταβολή στην τιμή του pH συναρτήσει του χρόνου (ημέρες) σε δείγματα κιμά κοτόπουλου αποθηκευμένα με διαφορετικό τύπο συσκευασίας

ΤΥΠΟΣ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑΣ/ ΗΜΕΡΕΣ	0	2	4	6	8
CONTROL	$6,06 \pm 0,03^a$	$6,17 \pm 0,17^{a,A}$	$6,15 \pm 0,06^{a,A}$	$6,56 \pm 0,02^{b,A}$	$6,85 \pm 0^{c,A}$
WGF	$6,06 \pm 0,03^a$	$6,17 \pm 0,18^{a,A}$	$6,13 \pm 0,13^{a,A}$	$6,20 \pm 0,14^{a,A}$	$6,28 \pm 0,10^{a,B}$
SPR	$6,06 \pm 0,03^a$	$6,16 \pm 0,28^{a,A}$	$6,14 \pm 0,23^{a,A}$	$6,22 \pm 0,17^{a,A}$	$6,23 \pm 0,10^{a,B}$
CL	$6,06 \pm 0,03^a$	$6,11 \pm 0,23^{a,A}$	$6,15 \pm 0,22^{a,A}$	$6,19 \pm 0,21^{a,A}$	$6,28 \pm 0,25^{a,B}$

A,B,C... : Διαφορετικοί εκθέτες (σε κάθε στήλη) υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές για μία συγκεκριμένη ημέρα μεταξύ των τύπων συσκευασιών ($p < 0,05$)

a,b,c,... : Διαφορετικοί εκθέτες (σε κάθε γραμμή) υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ημερών για ένα συγκεκριμένο τύπο συσκευασίας ($p < 0,05$)



Σχήμα 7 : Μεταβολή στο pH κατά τη διάρκεια συντήρησης σε δείγματα κιμά κοτόπουλου αποθηκευμένα με διαφορετικό τύπο συσκευασίας

Σε μελέτη των Behbahani et al. [61] οι οποίοι συσκευάσαν βόειο κρέας με βρώσιμη επίστρωση από σπόρους *Lepidium perfoliatum* ενσωματωμένη με Α.Ε. ραδικιού κατέγραψαν ότι τις μικρότερες μεταβολές στην τιμή του pH εμφάνισαν τα δείγματα συσκευασμένα με την επικάλυψη ενισχυμένη με το Α.Ε. καθ' όλη τη διάρκεια της αποθήκευσης. Όσο υψηλότερη ήταν η συγκέντρωση του Α.Ε. στην εδώδιμη επικάλυψη, τόσο μικρότερη ήταν η αύξηση του pH ($p > 0,05$).

Οι Bazargani et al. [65], οι οποίοι συσκευάσαν κρέας από στήθος κοτόπουλου με επικάλυψη χιτοζάνης, ανέφεραν ότι τιμές του pH στο δείγμα ελέγχου (C) αυξήθηκαν καθ' όλη τη διάρκεια της περιόδου αποθήκευσης. Αντίθετα, για τα υπόλοιπα δείγματα μειώθηκαν ή παρέμειναν στις αρχικές τους τιμές κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης.

β) ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΙΚΗ ΜΕΤΡΗΣΗ ΧΡΩΜΑΤΟΣ

Η μεταβολή του χρώματος κατά τη συντήρηση προϊόντων κρέατος, αλλά και τροφίμων γενικότερα, αποτελεί ένα πολύ σημαντικό παράγοντα για την αποδοχή τους από τους καταναλωτές, καθώς το κριτήριο του χρώματος χρησιμοποιείται συχνά ως ένδειξη φρεσκότητας ενός προϊόντος [66]. Το χρώμα είναι σημαντικό στην ταυτοποίηση των τροφίμων, στην ποιότητά τους και στην πρόκληση απόλαυσης κατά την παρατήρησή τους. Λόγω του γεγονότος ότι το χρώμα είναι συνήθως η πρώτη εντύπωση για τον καταναλωτή, λαμβάνεται σοβαρά υπόψη στη βιομηχανία τροφίμων (συχνά επικρατεί ο Αγγλικός όρος «eating with the eyes» προκειμένου να καταδείξει την εξέχουσα σημασία του).

Στον πίνακα 12 παρουσιάζονται οι τιμές των παραμέτρων L^* (φωτεινότητα), a^* (ερυθρότητα) και b^* (ωχρότητα) για τα 4 διαφορετικά δείγματα για όλες τις ημέρες δειγματοληψίας. Όσον αφορά την παράμετρο L^* παρατηρείται μείωση των τιμών για όλα τα δείγματα από την ημέρα 0 στην 8^η ημέρα. Συγκεκριμένα, κατά την έναρξη του χρόνου συντήρησης (ημέρα 0) η τιμή για την παράμετρο L^* ήταν $59,28 \pm 6,13$, ενώ την 8^η ημέρα $57,30 \pm 2,39$ για το Control, $57,21 \pm 1,77$ για το WGF, $57,02 \pm 1,36$ για το WGF+2% SPR και $58,17 \pm 2,80$ για το WGF+2%CL, δηλαδή για όλα τα δείγματα ήταν χαμηλότερη από την αρχική τιμή. Η σταδιακή ελάττωση της παραμέτρου L^* σχετίζεται με την απώλεια της φωτεινότητας στα δείγματα κιμά κοτόπουλου κυρίως λόγω της μικροβιακής αλλοίωσης που λαμβάνει χώρα με το πέρασμα των ημερών. Η αύξηση των βακτηριακών πληθυσμών ιδιαίτερα στην επιφάνεια του κοτόπουλου είχε σαν αποτέλεσμα τη δημιουργία μιας γλοιώδους επιφάνειας προσδίδοντας θολή όψη και μειώνοντας τη φωτεινότητα του τροφίμου.

Επιπλέον, οι μεταβολές στις τιμές L^* αποδίδονται στις αλλαγές που συμβαίνουν στη δομή του κρέατος κατά τη συντήρηση και ιδιαίτερα στη μετουσίωση των πρωτεϊνών. Μια μικρή διαφορά για την παράμετρο L^* παρατηρείται την 8^η ημέρα στο συσκευασμένο δείγμα σε μεμβράνη από γλουτένη σίτου ενισχυμένη με αιθέριο έλαιο γαρύφαλλου (WGF+2%CL) το οποίο εμφανίζει κατά μία μονάδα υψηλότερη τιμή φωτεινότητας σε σχέση με τα άλλα 3 είδη δειγμάτων.

Σχετικά με την παράμετρο a^* (ερυθρότητα) παρατηρείται το ίδιο μοτίβο και για τα 4 είδη δειγμάτων. Η αρχική τιμή τους που ήταν $10,08 \pm 1,12$, παρέμεινε στα ίδια επίπεδα την 2^η ημέρα, μειώθηκε σημαντικά την 4^η ημέρα και αυξήθηκε εκ νέου την 6^η και 8^η ημέρα ξεπερνώντας την αρχική τιμή, για όλους τους τύπους συσκευασίας. Αυτό το φαινόμενο θα μπορούσε να αποδοθεί στις μεταβολές της μυοσφαιρίνης και στη συσσώρευση της μεταμυοσφαιρίνης με την πάροδο του χρόνου αποθήκευσης των δειγμάτων.

Αναλυτικότερα, από την 6^η στην 8^η ημέρα η τιμή της ερυθρότητας για το Control μειώθηκε ελαφρώς, ενώ για τα υπόλοιπα 3 είδη δειγμάτων αυξήθηκε ελαφρώς. Έτσι, την τελευταία ημέρα δειγματοληψίας τη χαμηλότερη τιμή για την παράμετρο a^* είχε το Control ($11,15 \pm 1,17$) ενώ για τα δείγματα WGF και WGF+2% SPR βρέθηκε $12,32 \pm 1,29$ και $12,43 \pm 1,71$, αντίστοιχα. Η παρατήρηση αυτή υποδηλώνει τη συμβολή των μεμβρανών στην επιθυμητή από τους καταναλωτές κόκκινη απόχρωση των προϊόντων κρέατος καθώς υψηλότερες τιμές της παραμέτρου a^* συνεπάγονται διατήρηση ή/και βελτίωση του ερυθρού χρώματος των δειγμάτων.

Τέλος, όσον αφορά τις τιμές της παραμέτρου b^* (ωχρότητα) αυτές κυμάνθηκαν από $17,2 \pm 1,26$ (ημέρα 0) μέχρι $21,64 \pm 0,98$ (2^η ημέρα για το WGF+2% CL). Η παράμετρος b^* αντιστοιχεί στο κίτρινο χρώμα όταν είναι θετική τιμή και στο μπλε χρώμα όταν είναι αρνητική. Στην περίπτωση της ωχρότητας δεν ακολουθήθηκε κάποιο μοτίβο στην εξέλιξη των τιμών. Ωστόσο οι τελικές τιμές της παραμέτρου b^* ήταν υψηλότερες για όλα τα δείγματα σε σχέση με την ημέρα 0. Για το Control και το WGF+2% SPR οι μέγιστες τιμές καταγράφηκαν την 8^η ημέρα, για το WGF την 6^η ημέρα, ενώ για το WGF+2% CL την 2^η ημέρα. Την τελευταία ημέρα δειγματοληψίας τη μεγαλύτερη τιμή κατέγραψε το Control ($20,08 \pm 0,42$) και τη μικρότερη το WGF+2% CL ($18,74 \pm 0,90$).

Σύμφωνα με τα παραπάνω συμπεραίνεται πως η συσκευασία του κιμά κοτόπουλου με μεμβράνες από γλουτένη σίτου όχι μόνο δεν επηρέασε αρνητικά το χρώμα των δειγμάτων αφού δεν υπήρξε αποχρωματισμός τους κατά τον χρόνο συντήρησης, αλλά σε ορισμένες περιπτώσεις συνέβαλε θετικά σε αυτό. Ως εκ τούτου όλοι οι τύποι μεμβρανών συνεισφέρουν με θετικό τρόπο στο χρώμα του κιμά κοτόπουλου.

Πίνακας 12: Μεταβολή χρωματικών χαρακτηριστικών L*(φωτεινότητα), a*(ερυθρότητα) και b*(ωχρότητα) συναρτήσεως του χρόνου (ημέρες) σε δείγματα κιμά κοτόπουλου αποθηκευμένα με διαφορετικό τύπο συσκευασίας

ΧΡΩΜΑΤΙΚΟ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΟ	ΗΜΕΡΑ	CONTROL	WGF	WGF+2% SPR	WGF+2%CL
L*	0	59,28±6,13 ^A	59,28±6,13 ^A	59,28±6,13 ^A	59,28±6,13 ^A
	2	59,64±3,40 ^{a,A}	57,35±1,44 ^{a,A}	57,82±0,57 ^{a,A}	58,47±1,85 ^{a,A}
	4	58,44±6,37 ^{a,A}	57,09±5,05 ^{a,A}	56,36±6,37 ^{a,A}	56,88±5,87 ^{a,A}
	6	57,64±2,06 ^{a,A}	58,14±2,93 ^{a,A}	56,74±1,11 ^{a,A}	58,02±2,00 ^{a,A}
	8	57,30±2,39 ^{a,A}	57,21±1,77 ^{a,A}	57,03±1,36 ^{a,A}	58,17±2,80 ^{a,A}
a*	0	10,08±1,12 ^A	10,08±1,12 ^A	10,08±1,12 ^{A,B}	10,08±1,12 ^A
	2	10,03±1,37 ^{a,A}	10,72±1,28 ^{a,A}	10,62±3,00 ^{a,A,B}	10,75±0,51 ^{a,A}
	4	7,20±0,12 ^{a,A}	6,91±0,07 ^{a,A}	7,49±0,56 ^{a,A}	6,78±0,34 ^{b,a,A}
	6	11,34±1,30 ^{a,A}	12,00±1,62 ^{a,A}	12,17±1,51 ^{a,A,B}	11,08±1,27 ^{a,A}
	8	11,15±1,17 ^{a,A}	12,32±1,29 ^{a,A}	12,43±1,71 ^{a,B}	11,68±0,83 ^{a,A}
b*	0	17,21±1,26 ^A	17,2±1,26 ^A	17,21±1,26 ^A	17,21±1,26 ^A
	2	19,60±2,51 ^{a,A}	19,64±1,44 ^{a,A}	19,76±1,25 ^{a,A}	21,64±0,98 ^{a,A}
	4	17,41±1,27 ^{a,A}	18,78±2,88 ^{a,A}	18,80±1,34 ^{a,A}	19,42±1,66 ^{a,A}
	6	18,95±1,20 ^{a,A}	20,05±0,72 ^{a,A}	19,46±0,88 ^{a,A}	20,58±0,28 ^{a,A}
	8	20,08±0,42 ^{a,A}	19,78±0,43 ^{a,A}	19,80±1,08 ^{a,A}	18,74±0,90 ^{a,A}

a,b,c,... : Διαφορετικοί εκθέτες (σε κάθε σειρά) υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές για μία συγκεκριμένη ημέρα μεταξύ των τύπων συσκευασιών (p< 0,05)

A,B,C... : Διαφορετικοί εκθέτες (σε κάθε γραμμή) υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ημερών για ένα συγκεκριμένο τύπο συσκευασίας (p< 0,05)

Αναφορικά με την παράμετρο L*, η Gertzou et al. [55] κατέγραψε ως αρχική τιμή φωτεινότητας σε δείγμα από κοτόπουλο ίση με 60,55, ενώ οι Chouliara et al. [56] 49,50. Σε μελέτη των Kiarsi et al. [60] βρέθηκε ότι παρόλο που όλα τα δείγματα παρουσίασαν μείωση της παραμέτρου L* καθ' όλη τη διάρκεια της αποθήκευσης, το

δείγμα βόειου κρέατος συσκευασμένο με επικάλυψη από σπόρους φασκόμηλου ενισχυμένη με Α.Ε. μοσχοκάρυδου είχε την υψηλότερη τιμή L^* κατά την 6^η και τελευταία ημέρα αποθήκευσης σε σύγκριση με τα υπόλοιπα δείγματα.

Σχετικά με την παράμετρο a^* οι Chouliara et al. [56] αναφέρουν ως αρχική τιμή ερυθρότητας σε δείγμα από κοτόπουλο το $3,30 \pm 0,19$, ενώ οι Kiarsi et al. [60] κοντά στο 18,00. Η έρευνα των τελευταίων σε αντίθεση με την παρούσα μελέτη κατέγραψε ότι η τιμή για την ερυθρότητα μειώθηκε κατά τη διάρκεια του πειράματος για όλα τα δείγματα. Τα δείγματα συσκευασμένα με επικάλυψη από σπόρους φασκόμηλου ενισχυμένη με Α.Ε. μοσχοκάρυδου παρουσίασαν σημαντική μείωση του δείκτη a^* σε σύγκριση με το μη επικαλυμμένο δείγμα, ενώ το δείγμα η επικάλυψη του οποίου είχε το μεγαλύτερο % ποσοστό σε Α.Ε. είχε τη χαμηλότερη τιμή ερυθρότητας την τελευταία ημέρα αποθήκευσης. Η Tsironi et al. [43] μελετώντας την εξέλιξη των χρωματικών παραμέτρων αρνίσιου κιμά ανέφερε ότι κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης η τιμή της παραμέτρου a^* παρουσίασε μικρή μείωση εκτός από τα συσκευασμένα δείγματα σε μεμβράνη ορού γάλακτος ενσωματωμένη με 1% Α.Ε. πιπερόριζας και 1% δενδρολίβανου αντίστοιχα όπου αυξήθηκε ελαφρώς.

Τέλος, όσον αφορά την παράμετρο b^* η αρχική τιμή που καταγράφηκε από την Gertzou et al. [55] ήταν 9,68, από τους Chouliara et al. [56] ήταν $11,40 \pm 0,70$ και από τους Kiarsi et al. [60] $10,20 \pm 0,50$, όλες σε κρέας από κοτόπουλο και ελαφρώς χαμηλότερες αυτές από της παρούσας μελέτης. Η μελέτη των Tsironi et al. [43] έδειξε αύξηση αντίστοιχη της παρούσας έρευνας κατά την διάρκεια της περιόδου αποθήκευσης για όλους σχεδόν τους τύπους δειγμάτων.

Οι Kiarsi et al. [60] και στην περίπτωση της ωχρότητας κατέγραψαν μείωση στις τιμές της παραμέτρου b^* εκτός από τα συσκευασμένα δείγματα στις βρώσιμες επικαλύψεις ενισχυμένες με 1,5% και 2% Α.Ε. μοσχοκάρυδου. Η τιμή της ωχρότητας για τα δείγματα αυτά εκτός από το γεγονός ότι παρέμεινε στα ίδια επίπεδα, σημείωσε και τις υψηλότερες τιμές b^* , κυρίως λόγω του κιτρινωπού χρώματος των εφαρμοζόμενων βρώσιμων επικαλύψεων.

γ) ΑΝΑΛΥΣΗ ΠΤΗΤΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

Το άρωμα είναι σημαντικό ποιοτικό χαρακτηριστικό γνώρισμα για πολλά είδη τροφίμων. Το πρώτο βήμα για την κατανόηση του ποιες ουσίες χαρακτηρίζουν το άρωμα κάθε τροφίμου είναι η απομόνωση και ταυτοποίηση των πτητικών ενώσεων, οι οποίες δρώντας είτε ξεχωριστά, είτε σε συνδυασμό δημιουργούν το χαρακτηριστικό άρωμα για το κάθε προϊόν. Ενώσεις που συναντώνται σε υψηλές συγκεντρώσεις δεν είναι απαραίτητο να προσδίδουν και άρωμα. Αντιθέτως, πολλές φορές οι σημαντικές για το άρωμα ενώσεις βρίσκονται σε χαμηλά επίπεδα.

Κατά τη διάρκεια της συντήρησης του κρέατος λαμβάνουν χώρα διάφορες βιοχημικές διεργασίες, οι οποίες οδηγούν στην ποιοτική υποβάθμιση. Είναι ευρέως αποδεκτό ότι η οξείδωση των λιπών, η δράση των ενδογενών ενζύμων και η μικροβιακή δραστηριότητα είναι οι σημαντικότερες εξ' αυτών. Τα πτητικά συστατικά είναι υπεύθυνα για τη χαρακτηριστική οσμή του κρέατος σε όλα τα στάδια, από τη σφαγή έως και την κατανάλωση και προϋπάρχουν μέσα στο ωμό κρέας ως πρώτη ύλη.

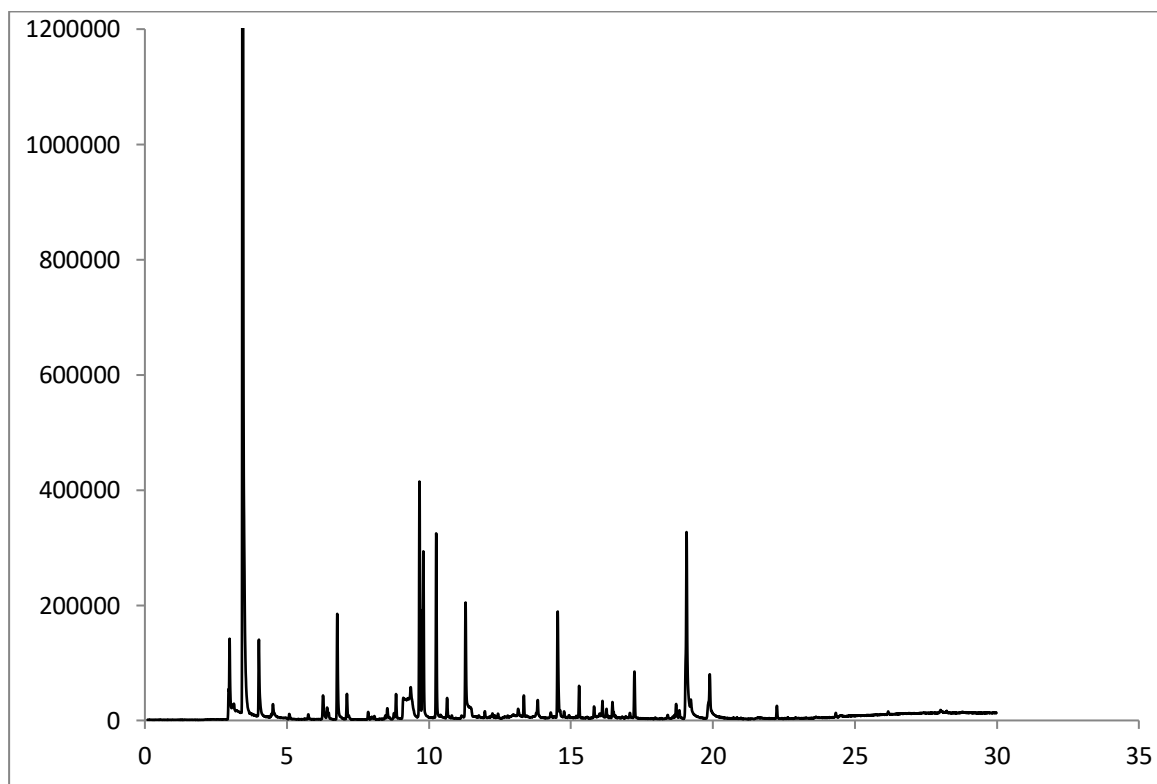
Οι κύριες ομάδες των πτητικών ενώσεων που έχουν βρεθεί κατά τη διάρκεια της αλλοίωσης του κρέατος είναι οι αλκοόλες, οι αλδεΐδες, οι κετόνες, οι υδρογονάνθρακες, τα τερπένια και οι εστέρες ενώ δεν ανιχνεύτηκαν οξέα σε κανένα δείγμα.

Πίνακας 13: Ημιποσοτικός προσδιορισμός των πτητικών ενώσεων (ppb) στο δείγμα χωρίς συσκευασία με μεμβράνη (Control) κατά τις ημέρες συντήρησης.

			ΧΡΟΝΟΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ (ΗΜΕΡΕΣ)				
ΠΤΗΤΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ	RI _{exp}	RI _{lit}	0	2	4	6	8
Υδρογονάνθρακες							
Χλωροφόρμιο	<800	-	4,56 ± 0,24 ^a	6,78 ± 0,55 ^b	6,63 ± 0,10 ^b	8,54 ± 0,69 ^b	3,50 ± 0,12 ^a
Εξάνιο	<800	-	-	16,73 ± 1,12 ^a	-	-	-
Επτάνιο	<800	-	5,64 ± 0,09 ^{a,b}	95,27 ± 6,66 ^d	23,54 ± 1,17 ^c	8,87 ± 0,41 ^b	2,90 ± 0,09 ^a
1-Επτένιο	<800	-	-	-	-	-	3,44 ± 0,33 ^a
Εννεάνιο	900	900	6,39 ± 0,43 ^a	7,60 ± 0,54 ^a	7,92 ± 0,33 ^a	7,01 ± 0,40 ^a	6,30 ± 0,26 ^a
Δεκάνιο	1000	1000	9,44 ± 0,69 ^a	10,99 ± 0,97 ^a	10,74 ± 0,54 ^a	10,66 ± 0,99 ^a	9,47 ± 0,54 ^a
Αλκοόλες							
Αιθανόλη	<800	-	-	12,50 ± 1,02 ^b	10,89 ± 0,73 ^{a,b}	35,14 ± 1,25 ^c	10,25 ± 0,80 ^b
2-μεθυλο-1-βουτανόλη	<800	-	-	-	-	31,09 ± 2,1 ^a	-
2-αιθυλο-1-εξανόλη	1034	1028	-	-	-	-	7,84 ± 0,86 ^a
Κετόνες							
2-Προπανόνη	<800	-	-	9,52 ± 0,77 ^a	-	-	-
2-Βουτανόνη	<800	-	5,64 ± 0,45 ^a	6,52 ± 0,40 ^a	5,70 ± 0,09 ^a	-	-
2,3-Βουτανοδιόνη	<800	-	-	-	-	11,60 ± 1,05 ^a	5,60 ± 0,32 ^b
2-Πεντανόνη	<800	-	-	-	-	3,63 ± 0,30 ^a	5,51 ± 0,23 ^b
3-υδροξυ-2-βουτανόνη	<800	-	-	-	-	20,36 ± 0,55 ^a	28,66 ± 1,78 ^b
Διυδροκαρβόνη	1234	1212	-	41,44 ± 2,76 ^a	29,29 ± 2,34 ^a	108,25 ± 7,78 ^b	223,18 ± 18,69 ^c
Εστέρες							
Οξικός μεθυλεστέρας	<800	-	-	-	-	-	5,63 ± 0,04 ^a
Οξικός αιθυλεστέρας	<800	-	7,36 ± 0,30 ^a	11,06 ± 0,30 ^a	73,38 ± 4,40 ^c	45,95 ± 3,78 ^b	6,16 ± 0,30 ^a
Βουτανικός μεθυλεστέρας	<800	-	3,80 ± 0,11 ^a	-	-	-	-
2-μεθυλο-βουτανικός αιθυλεστέρας	849	848	-	-	-	-	6,37 ± 0,46 ^a
Εξανικός μεθυλεστέρας	923	929	-	-	-	-	8,88 ± 0,36 ^a
2-μέθυλο-2-βουτενικός-(Ε)	849	848	-	-	-	-	14,20 ± 1,16 ^a
Εξανικός αιθυλεστέρας			-	-	-	-	3,15 ± 0,10 ^a

Αλδεΐδες							
2-μέθυλο προπανάλη	<800	-	-	-	-	2,59 ± 0,03 ^a	6,41 ± 0,45 ^b
3-μεθυλο βουτανάλη	<800	-	-	-	-	3,07 ± 0,23 ^a	-
Τερπένια – τερπενοειδή							
Ευκαλυπτόλη	1057	1044	-	-	-	2,50 ± 0,21 ^a	-
dl-Λιμονένιο	1050	1039	7,09 ± 0,66 ^{a,b}	7,26 ± 0,23 ^{a,b}	9,26 ± 0,61 ^b	5,56 ± 0,35 ^a	8,97 ± 0,99 ^b
4-Τερπινεόλη	1208	1196	-	-	-	4,03 ± 0,12 ^a	9,95 ± 0,37 ^b
Ευγενόλη	1379	1375	-	-	-	-	4,35 ± 0,37 ^a

- : Δεν Ανιχνεύτηκε
- *KI_{ex}* : Kovac Index experimentally determined data (Δείκτης Kovac βάσει των πειραματικών δεδομένων)
- *KI_{lit}* : Kovac Index literature data (Δείκτης Kovac βάσει των βιβλιογραφικών δεδομένων) NIST 05., J. Wiley & Sons Ltd., West Sussex, England
- a,b,c... : Διαφορετικοί εκθέτες υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ημερών για ένα συγκεκριμένο τύπο συσκευασίας (p < 0,05)



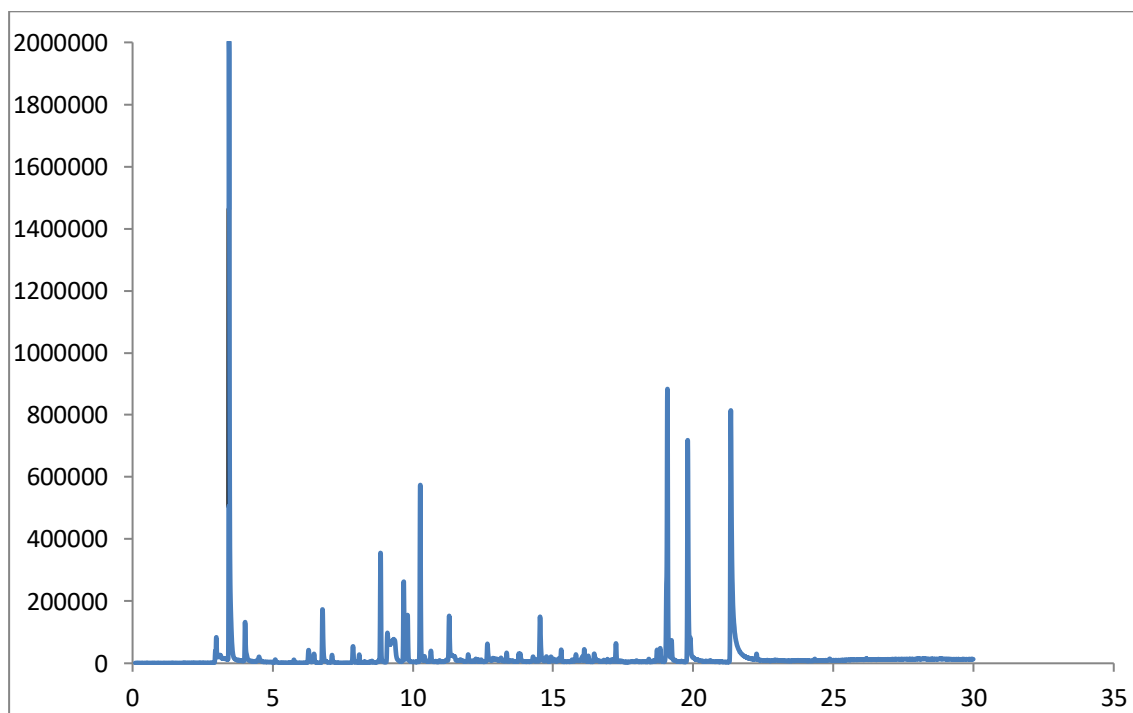
Εικόνα 9 : Χρωματογράφημα Αέριας Χρωματογραφίας-Φασματοσκοπίας Μάζας (SPME/GCMS) από το δείγμα αναφοράς (Control) την ημέρα 6

Πίνακας 14: Ημιποσοτικός προσδιορισμός των πτητικών ενώσεων (ppb) στο δείγμα συσκευασμένο σε μεμβράνη από γλουτένη σίτου (WGF) κατά τις ημέρες συντήρησης.

			ΧΡΟΝΟΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ (ΗΜΕΡΕΣ)				
ΠΤΗΤΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ	RI _{exp}	RI _{lit}	0	2	4	6	8
Υδρογονάνθρακες							
Εξάνιο	<800	-	-	-	11,07 ± 0,71 ^a	-	9,70 ± 0,88 ^b
Χλωροφόρμιο	<800	-	4,56 ± 0,22 ^a	11,45 ± 1,00 ^c	9,56 ± 0,56 ^{b,c}	8,48 ± 0,56 ^{b,c}	6,74 ± 0,44 ^{a,b}
Επτάνιο	<800	-	5,64 ± 0,16 ^a	19,84 ± 0,91 ^a	51,22 ± 4,49 ^b	19,66 ± 1,34 ^a	103,24 ± 8,32 ^c
Εννιάνιο	900	900	6,39 ± 0,44 ^a	7,36 ± 0,33 ^a	7,80 ± 0,33 ^a	7,51 ± 0,56 ^a	7,38 ± 0,66 ^a
Δεκάνιο	1000	1000	9,44 ± 0,67 ^a	11,42 ± 0,68 ^a	12,32 ± 0,88 ^a	11,74 ± 0,95 ^a	12,20 ± 0,88 ^a
dl-Λιμονένιο	1049, 49	1039	7,10 ± 0,98 ^{a,b}	4,70 ± 0,5 ^a	9,82 ± 0,49 ^{b,c}	5,76 ± 0,42 ^a	12,42 ± 0,32 ^c
Αλκοόλες							
Αιθανόλη	<800	-	-	21,42 ± 1,23 ^a	21,25 ± 1,17 ^a	45,36 ± 2,39 ^b	46,55 ± 4,11 ^b
3-μεθυλο-βουτανόλη	<800	-	-	-	-	19,45 ± 1,27 ^a	-
2-Εξανόλη	<800	-	15,10 ± 1,03 ^a	-	123,54 ± 6,78 ^b	95,48 ± 8,97 ^b	169,98 ± 10,65 ^c
1-Βουτανόλη	868,6 6	658	-	-	-	-	24,77 ± 2,10 ^a
Ευκαλυπτόλη	1056, 86	1044	-	-	-	3,40 ± 0,21 ^a	6,23 ± 0,37 ^b
4-Τερπινόλη	1207, 54	1196	-	11,04 ± 0,61 ^{a,b}	8,81 ± 0,79 ^a	11,26 ± 0,78 ^{a,b}	13,95 ± 1,27 ^b
2,3-Βουτανοδιόνη	<800	-	-	-	-	10,75 ± 0,88 ^a	18,82 ± 1,13 ^b
Ευγενόλη	1378, 60	1375	-	709,11 ± 4,56 ^{a,b}	625,66 ± 56,79 ^{a,b}	847,33 ± 67,98 ^b	566,40 ± 45,78 ^a
Κετόνες							
2-Βουτανόνη	<800	-	5,64 ± 0,67 ^a	18,02 ± 1,36 ^b	-	-	- -
3-υδροξυ-2-βουτανόνη	<800	-	-	-	-	22,33 ± 2,12 ^a	86,90 ± 7,65 ^b
Διυδροκαρβόνη	1233, 73	1212	-	40,40 ± 3,12 ^a	131,35 ± 12,20 ^b	200,40 ± 17,72 ^c	326,38 ± 25,68 ^d
d-Καρβόνη (+)	1272, 3	1257	-	425,80 ± 2,29 ^a	377,96 ± 26,86 ^a	435,33 ± 34,43 ^a	252,46 ± 12,12 ^b
Εστέρες							
Οξικός αιθυλεστέρας	<800	-	7,36 ± 0,55 ^a	8,42 ± 0,54 ^a	100,31 ± 9,87 ^b	70,12 ± 4,98 ^c	64,58 ± 5,51 ^c

Μεθυλεστέρας του εξανικού οξέος	<800	-	-	5,84 ± 0,77 ^{a,b}	4,47 ± 0,34 ^a	6,28 ± 0,58 ^{a,b}	7,38 ± 0,36 ^c
Αλδεΐδες							
2-μεθυλο- προπανάλη	<800	-	-	-	21,25 ± 1,18 ^a	1,98 ± 0,08 ^b	-
3-μεθυλο- βουτανάλη	<800	-	-	-	-	-	16,53 ± 1,43 ^a

- : Δεν Ανιχνεύτηκε
- *KI_{ex}* :Kovac Index experimentally determined data (Δείκτης Kovac βάσει των πειραματικών δεδομένων)
- *KI_{lit}* : Kovac Index literature data (Δείκτης Kovacβάσει των βιβλιογραφικών δεδομένων) NIST 05., J. Wiley& Sons Ltd. , West Sussex, England
- a,b,c... : Διαφορετικοί εκθέτες υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ημερών για ένα συγκεκριμένο τύπο συσκευασίας (p< 0,05)



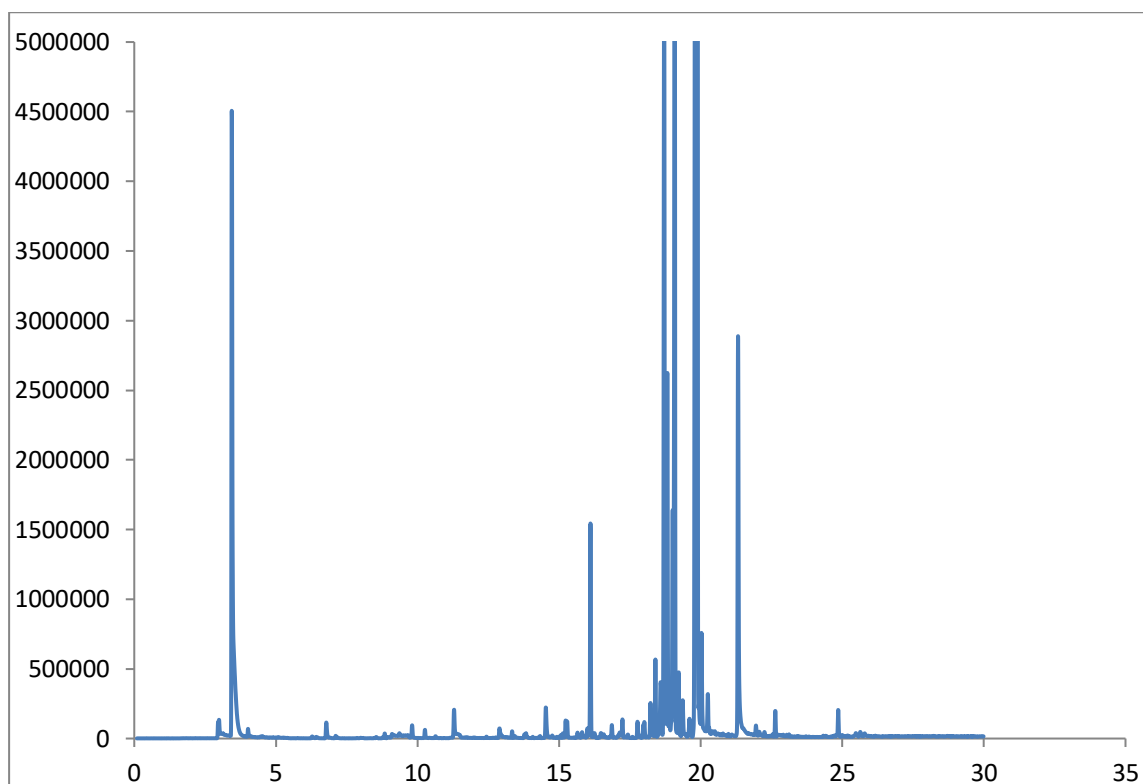
Εικόνα 10 : Χρωματογράφημα Αέριας Χρωματογραφίας-Φασματοσκοπίας Μάζας (SPME/GCMS) από το δείγμα συσκευασμένο σε μεμβράνη από γλουτένη σίτου (WGF) την ημέρα 6

Πίνακας 15: Ημιοσοτικός προσδιορισμός των πτητικών ενώσεων (ppb) στο δείγμα συσκευασμένο σε μεμβράνη από γλουτένη σίτου ενισχυμένη με 2% Α.Ε. δυόσμου (WGF+2% SPR) κατά τις ημέρες συντήρησης.

			ΧΡΟΝΟΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ (ΗΜΕΡΕΣ)				
ΠΤΗΤΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ	RI _{exp}	RI _{lit}	0	2	4	6	8
Υδρογονάνθρακες							
Χλωροφόρμιο	<800	-	4,56 ± 0,23 ^a	-	16,73 ± 0,66 ^b	20,40 ± 1,55 ^c	-
Επτάνιο	<800	-	5,64 ± 0,38 ^a	64,67 ± 6,67 ^b	98,95 ± 8,91 ^c	43,45 ± 1,20 ^b	66,61 ± 2,87 ^b
Εννιάνιο	900	900	6,40 ± 0,55 ^a	54,18 ± 2,22 ^{a,b}	59,44 ± 4,32 ^a	50,22 ± 2,76 ^{a,b}	41,98 ± 0,45 ^b
Στυρόλιο	905	897	-	-	29,83 ± 1,19 ^a	26,61 ± 1,78 ^a	-
Δεκάνιο	1000	1000	9,44 ± 0,79 ^a	148,42 ± 9,95 ^b	161,14 ± 12,89 ^b	156,37 ± 13,78 ^b	97,26 ± 8,32 ^c
dl-Λιμονένιο	1049,	1039	7,09 ± 0,35 ^a	1.623,4 ± 135,7 ^b	1.000,7 ± 54,9 ^c	1.839,3 ± 139,7 ^b	781,70 ± 69,78 ^c
Αλκοόλες							
Αιθανόλη	<800	-	-	93,39 ± 7,43 ^b	57,50± 0,48 ^a	86,16 ± 7,66 ^b	206,07 ± 7,32 ^c
3-Οκτανόλη	997	992	-	144,60 ± 10,45 ^b	192,36 ± 14,68 ^c	150,60 ± 11,24 ^{b,c}	84,07 ± 6,32 ^a
Ευκαλυπτόλη	1057	1044	-	62,52 ± 5,32 ^{a,b}	72,63 ± 5,32 ^a	42,70 ± 1,01 ^b	51,66 ± 4,60 ^b
β-Τερπινόλη	1171	1162	-	257,03 ± 24,21 ^{a,b}	295,35 ± 21,67 ^b	318,10 ± 21,18 ^b	184,05 ± 11,89 ^a
4-Τερπινεόλη	1208	1196	-	2.984,66 ± 258,32 ^a	3.374,88 ± 345,78 ^a	3.357,39 ± 356,77 ^a	2.020,82 ± 165,23 ^a
α-Τερπινόλη	1219	1208	-	2.128,43 ± 169,76 ^a	2247,86 ± 100,53 ^a	2.366,15 ± 210,30 ^a	1.087,58 ± 75,45 ^b
cis-Καρβόλη	1241	1238	-	180,47 ± 13,34 ^a	184,41 ± 14,33 ^a	240,89 ± 12,73 ^b	112,99 ± 10,17 ^c
trans-Καρβόλη	1241	1246	-	343,28 ± 23,96 ^{a,b}	413,72 ± 29,81 ^b	445,01 ± 4,49 ^b	263,23 ± 23,93 ^a
Καρβακρόλη	1312	1304	-	-	86,74 ± 4,67 ^a	108,21 ± 100,34 ^b	-
Ευγενόλη	1379	1375	-	108,46 ± 9,23 ^a	3.657,71 ± 245,89 ^b	4.876,12 ± 345,81 ^c	2.169,25 ± 172,49 ^d
trans-Ισοευγενόλη	1430	1410	-	-	-	64,56 ± 2,12 ^a	-
Κετόνες							
2-Βουτανόνη	<800	-	5,64 ± 0,47 ^a	-	35,68 ± 2,36 ^b	-	-

2,3-Βουτανοδιόνη	<800	-	-	-	-	26,97 ± 3,01 ^a	-
3-υδροξυ-2-βουτανόνη	<800	-	-	125,44 ± 8,43 ^a	-	-	58,08 ± 4,44 ^b
l-Μενθόνη	1182	1166	-	789,95 ± 52,23 ^a	737,31 ± 32,67 ^a	674,09 ± 54,39 ^a	397,71 ± 37,34 ^b
trans-Μενθόνη	1181	1165	-	895,78 ± 13,49 ^a	944,64 ± 79,11 ^a	901,99 ± 33,44 ^a	-
Διυδροκαρβόνη	1234	1212	-	1.412,55 ± 133,76 ^a	2.137,72 ± 170,90 ^a	9.965,10 ± 876,11 ^b	7.154,31 ± 633,28 ^c
Καρβόνη	1272	1257	-	50.164,3 ± 4.578,55 ^a	49.888,7 ± 3.567,98 ^a	50.515,6 ± 4.576,66 ^a	33.386,5 ± 2.520,20 ^a
Εστέρες							
Οξικός αιθυλεστέρας	<800	-	7,36 ± 0,87 ^a	47,34 ± 3,37 ^b	82,73 ± 3,90 ^c	176,95 ± 0,00 ^d	80,37 ± 6,35 ^c
Μεθυλεστέρας του βουτανικού οξέος	<800	-	-	-	27,73 ± 2,12 ^a	-	-
Μεθυλεστέρας του εξανικού οξέος	923	929	-	35,73 ± 2,39 ^a	30,70 ± 0,07 ^a	32,69 ± 2,95 ^a	-
Αλδεϋδες							
2-μεθυλο-προπανάλη	<800	-	-	38,22 ± 2,78 ^a	-	-	-
Τερπένια - τερπενοειδή							
α-Πινένιο	951	943	-	-	-	17,85 ± 1,11 ^a	-
Σαμπονένιο	988	973	-	26,74 ± 2,11 ^a	22,92 ± 0,68 ^a	26,57 ± 2,10 ^a	-
β-Μυρκένιο	992	999	-	28,30 ± 1,87 ^a	19,80 ± 1,27 ^b	37,55 ± 2,36 ^c	-
ο-Κουμένιο			-	96,64 ± 4,56 ^a	61,17 ± 5,67 ^b	-	-
α-Τερπινένιο	1037	1026	-	-	-	30,57 ± 0,98 ^a	-
β-Κυμένιο	1044	1035	-	-	-	96,97 ± 4,44 ^a	47,28 ± 0,55 ^b
γ-Τερπινένιο	1074	1068	-	45,64 ± 2,21 ^a	47,54 ± 2,38 ^a	47,01 ± 3,99 ^a	33,38 ± 2,45 ^b
Trans-υδροξυ-Σαμπινένιο	1089	1074	-	96,31 ± 7,67 ^a	120,84 ± 4,44 ^{a,b}	144,34 ± 11,28 ^b	85,72 ± 6,32 ^a
α-Τερπινολένιο	1104	1099	-	42,70 ± 3,58 ^a	78,25 ± 6,43 ^b	50,50 ± 1,0 ^a	26,36 ± 1,11 ^c
β-Βουρβουνένιο	1429	1407	-	-	-	85,16 ± 3,67 ^a	-

- : Δεν Ανιχνεύτηκε
- KI_{ex} : Kovac Index experimentally determined data (Δείκτης Kovac βάσει των πειραματικών δεδομένων)
- KI_{lit} : Kovac Index literature data (Δείκτης Kovac βάσει των βιβλιογραφικών δεδομένων) NIST 05., J. Wiley & Sons Ltd. , West Sussex, England
- a,b,c,... : Διαφορετικοί εκθέτες υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ημερών για ένα συγκεκριμένο τύπο συσκευασίας ($p < 0,05$)



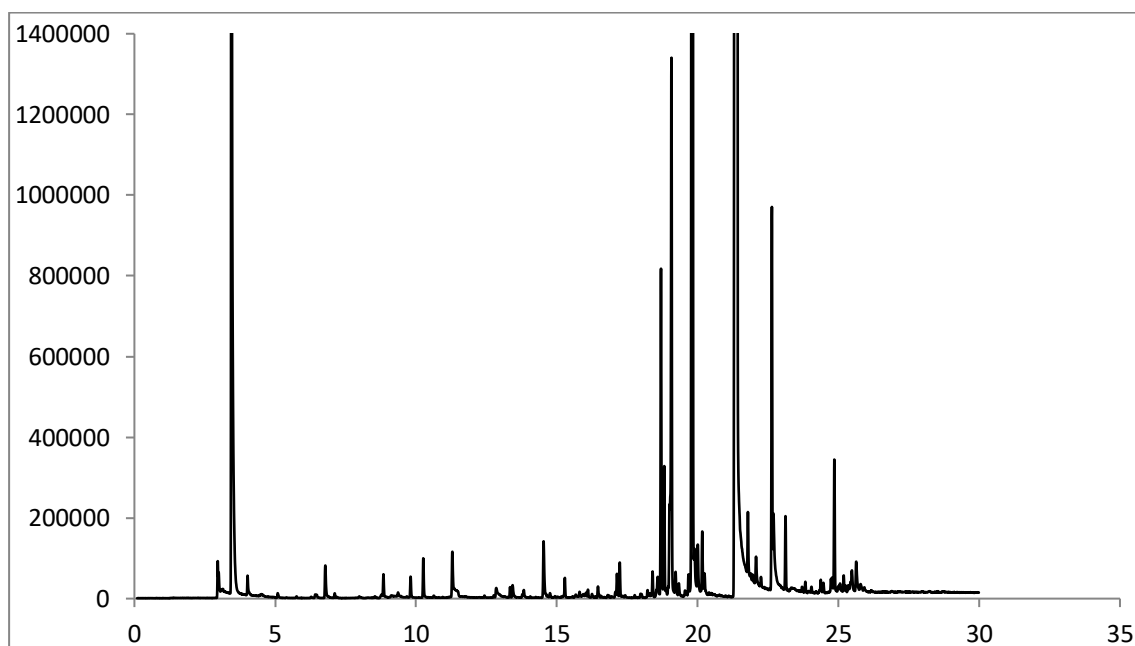
Εικόνα 11 : Χρωματογράφημα Αέριας Χρωματογραφίας-Φασματοσκοπίας Μάζας (SPME/GCMS) από το δείγμα συσκευασμένο σε μεμβράνη από γλουτένη σίτου ενισχυμένη με Α.Ε. δυόσμου (WGF+2% SPR) την ημέρα 6

Πίνακας 16: Ημιποσοτικός προσδιορισμός των πτητικών ενώσεων (ppb) στο δείγμα συσκευασμένο σε μεμβράνη από γλουτένη σίτου ενισχυμένη με 2% Α.Ε. γαρύφαλλου (WGF+2% CL) κατά τις ημέρες συντήρησης.

			ΧΡΟΝΟΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ (ΗΜΕΡΕΣ)				
ΠΤΗΤΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ	R _I exp	R _I lit	0	2	4	6	8
Υδρογονάνθρακες							
Χλωροφόρμιο	<800	-	4,56 ± 0,09 ^a	-	27,47 ± 0,58 ^b	-	-
Επτάνιο	<800	-	5,64 ± 0,45 ^a	110,62 ± 7,88 ^c	97,35 ± 7,24 ^{b,c}	154,11 ± 5,13 ^d	81,08 ± 0,93 ^b
Εννιάνιο	900	900	6,39 ± 0,21 ^a	54,96 ± 4,76 ^b	51,91 ± 4,02 ^b	53,50 ± 3,30 ^b	54,34 ± 3,56 ^b
Στυρόλιο	905,52	897	-	160,60 ± 13,23 ^a	222,86 ± 20,37 ^b	104,34 ± 7,53 ^a	99,74 ± 8,34 ^a
Δεκάνιο	1000	1000	9,44 ± 0,42 ^a	121,8 ± 9,89 ^b	107,05 ± 6,67 ^b	114,55 ± 10,12 ^b	115,54 ± 8,35 ^b
dl-Λιμονένιο	1049,4 9	1039	7,09 ± 0,19 ^a	28,64 ± 1,13 ^b	-	49,13 ± 3,91 ^c	40,9 ± 0,25 ^c
Αλκοόλες							
L-Λιναλοόλη	1104,7 9	1105	-	-	184,64 ± 1,23 ^a	-	100,63 ± 10,10 ^b
β-Τερπινόλη	1170,7 2	1162	-	40,55 ± 3,30 ^a	64,02 ± 5,22 ^b	48,99 ± 2,34 ^a	36,05 ± 2,57 ^a
4-Τερπινόλη	1207,5 4	1196	-	723,5 ± 23,79 ^{a,b}	1.058,60 ± 78,45 ^c	791,24 ± 31,46 ^b	568,89 ± 34,75 ^a
α-Τερπινόλη	1219,4 5	1208	-	828,35 ± 39,45 ^a	-	-	-
Trans-(+)-Καρβόλη	1241,3 5	1246	-	86,34 ± 7,21 ^a	226,59 ± 7,34 ^b	138,68 ± 14,64 ^c	95,27 ± 0,35 ^a
Καβικόλη	1263,2 5	1254	-	125,41 ± 6,66 ^a	466,92 ± 35,65 ^b	-	149,86 ± 12,69 ^a
Ευγενόλη	1378,6	1375	-	379,89 ± 29,88 ^a	11.015,84 ± 567,63 ^a	97.685,10 ± 8.457,23 ^b	271,34 ± 25,47 ^a
Ισοευγενόλη	1429,6 3	1410	-	1.089,80 ± 79,69 ^a	2.172,11 ± 156,78 ^a	1.922,47 ± 100,46 ^a	1.396,2 ± 47,47 ^a
Κετόνες							
2-Βουτανόνη	<800	-	5,64 ± 0,23 ^a	85,66 ± 0,53 ^b	73,47 ± 3,38 ^c	-	-
I-Μενθόνη	1181,7 8	1166	-	147,9 ± 13,87 ^{a,b}	180,1 ± 13,66 ^b	235,65 ± 13,46 ^c	107,85 ± 7,47 ^a
p-Μενθόνη	1181,3 5	1165	-	-	315,28 ± 29,20 ^a	-	-
trans-Διυδροκαρβόνη	1233,7 3	1212	-	531,3 ± 46,37 ^a	1.088,94 ± 78,59 ^b	3.898,1 ± 246,79 ^c	6.550,1 ± 346,82 ^d

d-Καρβόνη	1272,3	1257	-	28.339,46 ± 1.490,81 ^{a,b}	40.433,22 ± 3.999,31 ^a	32.059,48± 3.000,11 ^{a,b}	23.603, 13± 1.270,3 5 ^b
Εστέρες							
Οξικός Αιθυλεστέρας	<800	-	7,36 ± 0,55 ^a	-	96,65 ± 5,45 ^b	236,66 ± 13,66 ^c	64,95 ± 5,46 ^b
Τερπένια - τερπενοειδή							
α-Τερπινολένιο	1104,8	1099	-	136,16 ± 12,27 ^a	-	144,98 ± 13,23 ^a	-

- : Δεν Ανιχνεύτηκε
- *KI_{ex}* :Kovacs Index experimentally determined data (Δείκτης Kovacs βάσει των πειραματικών δεδομένων)
- *KI_{lit}* : Kovacs Index literature data (Δείκτης Kovacsβάσει των βιβλιογραφικών δεδομένων) NIST 05., J. Wiley& Sons Ltd. , West Sussex, England
- a,b,c,... : Διαφορετικοί εκθέτες υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ημερών για ένα συγκεκριμένο τύπο συσκευασίας (p< 0,05)



Εικόνα 12 : Τυπικό χρωματογράφημα Αέριας Χρωματογραφίας-Φασματοσκοπίας Μάζας (SPME/GCMS) από το δείγμα συσκευασμένο σε μεμβράνη από γλουτένη σίτου ενισχυμένη με Α.Ε. γαρύφαλλου(WGF+2% CL) την ημέρα 6

Αλκοόλες

Από την κατηγορία των αλκοολών αυτή που ανιχνεύτηκε σε όλους τους τύπους συσκευασίας ήταν η αιθανόλη. Σε γενικές γραμμές η συγκέντρωσή της κατέγραψε αυξητική τάση όσο περνούσαν οι ημέρες συντήρησης. Άλλες αλκοόλες που ανιχνεύτηκαν ήταν η 2-μεθυλο-1-βουτανόλη, η 3-οκτανόλη, η α-τερπινεόλη, η λιναλοόλη, η ευγενόλη, η ισοευγενόλη, η ευκαλυπτόλη, η trans-καρβεόλη, η καρβακρόλη κ.α..

Η παραγωγή αλκοολών μπορεί να αποδοθεί σε μεταβολισμό της γλυκόζης και των αμινοξέων παρουσία μικροοργανισμών ή και εξαιτίας της οξείδωσης λιπαρών οξέων. Αρνητικά κατά Gram βακτήρια, όπως οι *Pseudomonas*, *Shewanella*, *Moraxella* έχουν βρεθεί ότι παράγουν αιθανόλη. Το βακτήριο *B. thermosphacta* παράγει διαφορετικούς τύπους αλκοολών ανάλογα με τις συνθήκες αποθήκευσης, λόγω της αλλαγής του μεταβολισμού του. Στις αναερόβιες συνθήκες παράγει κυρίως αιθανόλη, ενώ κάτω από αερόβιες συνθήκες παράγει αιθανόλη αλλά και 3-μεθυλο-βουτανόλη.

Στα δείγματα συσκευασμένα με μεμβράνες οι οποίες είχαν ενισχυθεί με αιθέρια έλαια βρέθηκαν ενώσεις που δεν υπήρχαν στα άλλα 2 είδη δειγμάτων. Μερικές από αυτές ήταν η λιναλοόλη, η α-τερπινεόλη, η β-τερπινεόλη η trans-καρβεόλη και η καρβακρόλη. Αναλυτικότερα, στον επόμενο Πίνακα παρουσιάζονται οι ενώσεις που προσδιορίστηκαν στα αιθέρια έλαια δυόσμου και γαρύφαλλου.

Πίνακας 17 : Ενώσεις που εντοπίστηκαν στο αιθέριο έλαιο δυόσμου κατά την ανάλυση με HS-SPME/GC-MS.

ΕΝΩΣΗ	% ΠΟΣΟΣΤΟ
(-)-α-Πινένιο	0,6
β-Πινένιο	0,73
dI-Λιμονένιο	9,97
Ευκαλυπτόλη	0,68
Μενθόνη	1,48
Μενθόλη	3,64
4-Τερπινόλη	1,58

α-Τερπινόλη	0,71
Διυδροκαρβόνη	0,63
D-(+)-Καρβόνη	77,72
Πιπεριτόνη	0,32
Καρυοφυλλενιο	1,2
(-)-Οξειδιο του Καρυοφυλλενιου	0,74

Πίνακας 18 : Ενώσεις που εντοπίστηκαν στο αιθέριο έλαιο γαρύφαλλου κατά την ανάλυση με HS-SPME/GC-MS.

ΕΝΩΣΗ	% ΠΟΣΟΣΤΟ
Ευγενόλη	75,62
Καρυοφυλλενιο	6,58
α-Καρυοφυλλενιο	0,92
Οξική ευγενόλη	16,10
(-)-Οξειδιο του Καρυοφυλλενιου	0,78

Η λιναλοόλη έχει χαρακτηριστική έντονη ανθική μυρωδιά με ελαφρώς πικάντικες νότες. Αυτό το τερπένιο δύναται να προκαλεί χαλάρωση και ηρεμία και ως εκ τούτου χρησιμοποιείται συχνά σε θεραπείες κατά της νευρικής και του άγχους. Φημίζεται πως έχει αναλγητικές και αντιεπιληπτικές ιδιότητες.

Η α-τερπινεόλη ($C_{10}H_{18}O$) είναι μια μονοκυκλική τριτοταγής μονοτερπενοειδής αλκοόλη που αναφέρεται ότι διαθέτει αντισπασμωδικές, ηρεμιστικές, αντινοσητικές, αντικαρκινικές, ισchioπρεστικές, γαστροπροστατευτικές, αντιμυκητιασικές δραστηριότητες και υποκαπνιστική τοξικότητα κατά των ενηλίκων. [67]

Καρβονυλικές ενώσεις

Η ομάδα των καρβονυλικών ενώσεων που ανιχνεύθηκαν περιείχε αλδεΐδες και κετόνες, κατά τη συντήρηση των δειγμάτων κιμά κοτόπουλου.

Αλδεΐδες

Οι αλδεΐδες, όπως και οι αλκοόλες, μπορούν να παραχθούν με μεταβολισμό της γλυκόζης, των αμινοξέων και της οξείδωσης των λιπαρών οξέων. Οι γραμμικές κορεσμένες και ακόρεστες αλδεΐδες με περισσότερα από πέντε άτομα άνθρακα οφείλονται στην οξειδωτική αποικοδόμηση των λιπαρών οξέων, ενώ οι αλδεΐδες με μεθύλιο και οι φαινυλαλδεΐδες σχετίζονται περισσότερο με την αποικοδόμηση των αμινοξέων. Σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες, υπό αερόβιες συνθήκες συντήρησης το βακτήριο *B. thermosphacta*, συσχετίζεται με την παραγωγή αλδευδών, όπως για παράδειγμα η 3-μεθυλο-βουτανάλη.

Μερικές από τις σημαντικότερες αλδεΐδες που ανιχνεύτηκαν ήταν η 2-μέθυλο-προπανάλη και η 3-μεθυλο-βουτανάλη. Όπως προκύπτει και από τους Πίνακες 1-4, οι αλδεΐδες ανιχνεύονται κυρίως την 6^η και 8^η ημέρα συντήρησης στα δείγματα C και WGF, στο δείγμα WGF+2% SPR συναντάται μόνο η 2-μέθυλο-προπανάλη την ημέρα 2 και μάλιστα σε μικρή σχετικά συγκέντρωση, ενώ στο δείγμα WGF+2%CL δεν ανιχνεύτηκε καμία ένωση αυτής της κατηγορίας κατά τη διάρκεια της ανάλυσης.

Κετόνες

Οι κετόνες που ανιχνεύθηκαν παρουσίασαν μεικτό προφίλ σε κάθε περίπτωση τύπου συσκευασίας και χρόνου συντήρησης. Από προηγούμενες μελέτες, είναι γνωστό ότι το βακτήριο *B. thermosphacta* παράγει ακετοΐνη η οποία αποτελεί πρόδρομο μόριο της αλανίνης, της γλυκόζης και του διακετυλίου σε αερόβιες συνθήκες. Επίσης, κάποια αρνητικά κατά Gram βακτήρια καθώς και ομοζυμωτικά γαλακτικά βακτήρια έχουν βρεθεί ότι παράγουν ακετοΐνη και διακετύλιο [68]. Οι κετόνες που ανιχνεύθηκαν στον κιμά κοτόπουλο είναι πιθανό να προέρχονται από την οξείδωση των λιπαρών οξέων, τόσο λόγω αυτοοξείδωσης όσο κι ενζυμικής οξείδωσης. Μερικές από τις σημαντικότερες κετόνες που ανιχνεύτηκαν ήταν η 2-βουτανόνη, η 2,3-βουτανοδιόνη, η 2-πεντανόνη και η 3-υδροξυ-2-βουτανόνη.

Εστέρες

Η ομάδα των εστέρων που ανιχνεύθηκε περιείχε ενώσεις, οι οποίες ενδεχομένως παράγονται έπειτα από εστεροποίηση διαφόρων αλκοολών και καρβοξυλικών οξέων τα οποία υπάρχουν στο δείγμα. Συνεπώς, εξαιτίας της δραστηριότητας της μικροβιακής εστεράσης σχηματίζονται αιθυλεστέρες μέσω της εστεροποίησης των αλκοολών και των καρβοξυλικών οξέων. Επιπλέον, οι μικροοργανισμοί των γενών *Pseudomonas*, *Shewanella*, *Moraxella* είναι ικανοί να παράγουν μεθυλ- και αιθυλ-εστέρες.

Οι σημαντικότεροι εστέρες που ανιχνεύτηκαν ήταν ο οξικός μεθυλεστέρας, ο οξικός αιθυλεστέρας, ο μεθυλεστέρας του εξανικού οξέος και ο μεθυλεστέρας του βουτανικού οξέος. Από τους παραπάνω ο οξικός αιθυλεστέρας κατέγραψε αυξητική τάση σε όλους τους τύπους δειγμάτων και σχεδόν για όλες τις ημέρες ανάλυσης.

Πολλοί καρβοξυλικοί εστέρες έχουν χαρακτηριστικές φρουτώδεις οσμές. Αρκετοί από αυτούς μάλιστα υπάρχουν φυσικά σε αιθέρια έλαια φυτών. Αυτό έχει οδηγήσει στο να συνηθίζεται η χρήση τους ως τεχνητά αρωματικά και ως αρώματα, όπου οι οσμές στοχεύουν στο να μιμηθούν τη φύση. Ο οξικός αιθυλεστέρας έχει ιδιαίτερα ευχάριστη οσμή καθώς προστίθενται σε γλυκά, αρώματα και φρούτα.

Στα δείγματα προσδιορίστηκαν και ενώσεις μεθυλεστέρων, με κυριότερες τον μεθυλεστέρα του βουτανικού οξέος και τον μεθυλεστέρα του εξανικού οξέος. Μάλιστα ο μεθυλεστέρας του εξανικού οξέος ανιχνεύτηκε σε όλα τα δείγματα εκτός από το WGF+2%CL. Ο μεθυλεστέρας του βουτανικού οξέος σε καμία περίπτωση δεν θεωρείται επιμολυντής τροφίμων ωστόσο προερχόμενος από φυσικές διεργασίες κατά την παραγωγική διαδικασία ή από άλλες πηγές αποτελεί δείκτη ήπιας απόσμησης ενός τροφίμου, και γενικότερα η παρουσία του είναι ανεπιθύμητη.

Τερπένια

Όλα τα τερπένια που ανιχνεύθηκαν έδωσαν μεικτό προφίλ για τα δείγματα του κιμά κοτόπουλου. Όπως αναμενόταν οι συγκεντρώσεις αυτών σε γενικές γραμμές είχαν αυξητική τάση κατά τη διάρκεια των ημερών αποθήκευσης.

Όπως και στις περιπτώσεις άλλων κατηγοριών ενώσεων τα δείγματα που συσκευάστηκαν σε ενισχυμένες με αιθέρια έλαια μεμβράνες είχαν στη μάζα τους ενώσεις που πιθανότατα προέρχονται από αυτά. Τέτοια παραδείγματα ενώσεων είναι η Ι-μενθόνη, το λεμονένιο, η d-Καρβόνη, η trans-διυδροκαρβόνη, η ευγενόλη, η ισοευγενόλη και η ευκαλυπτόλη οι οποίες ανιχνεύτηκαν στα δείγματα WGF+2%SPR και WGF+2%CL και μάλιστα σε όλες τις ημέρες ανάλυσης. Συγκεκριμένα, η trans-διυδροκαρβόνη κατέγραψε αυξητικές τιμές όσο αναφορά τη συγκέντρωσή της και στα 2 είδη δειγμάτων μέχρι και την 8^η ημέρα. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει την αντιμικροβιακή δράση που προσδίδουν οι παραπάνω μεμβράνες.

Τα οξυγονωμένα μονοτερπένια της καρβόνης και της διυδροκαρβόνης είναι δυνητικοί αναστολείς της ανάπτυξης βακτηρίων, μυκήτων, καθώς και υποψήφια εντομοαπωθητικά. Έχουν επιδείξει εντομοκτόνο δράση έναντι του σκώληκα ρυζιού *Sitophilus oryzae* (L), ενός από τα πιο διαδεδομένα παράσιτα των αποθηκευμένων δημητριακών κι αρτοσκευασμάτων. [69]

Το λεμονένιο είναι μια υγρή οργανική χημική ένωση, ένας υδρογονάνθρακας που ανήκει στα κυκλικά μονοτερπένια και αποτελεί το κυριότερο συστατικό στο αιθέριο έλαιο που περιέχει ο φλοιός των περισσότερων καρπών εσπεριδοειδών. Πράγματι, το δεξιόστροφο ισομερές της ουσίας, που είναι κύριο συστατικό των αρωματικών ελαίων και ρητινών που διαθέτουν πολλά είδη κωνοφόρων και άλλων δέντρων, είναι η ουσία που δίνει την ευωδιά τους στα πορτοκάλια και χρησιμεύει ως αρωματική ουσία στη βιομηχανία τροφίμων και ποτών για ενίσχυση της γεύσης. Το λιγότερο συνηθισμένο στη φύση αριστερόστροφο ισομερές περιέχεται στα αιθέρια έλαια της μέντας μαζί με τη μενθόλη κι έχει οσμή που πλησιάζει εκείνες του πεύκου και του τερεβινθέλαιου. Είναι διάσημο για τις αντιμυκητιασικές και αντιβακτηριδιακές του ιδιότητες. Διαπερνά εύκολα τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και συμβάλλει στην αύξηση της συγκέντρωσης και της προσοχής αναζωπυρώνοντας το αίσθημα

γενικευμένης ευεξίας. Ορισμένα προϊόντα για τη θεραπεία της κατάθλιψης και του άγχους που κυκλοφορούν στην αγορά περιέχουν λεμονένιο.

Η ευκαλυπτόλη (1,8 κινεόλη) είναι ένας κυκλικός αιθέρας κι ένα μονοτερπένιο. Αποτελεί το κύριο συστατικό που βρίσκεται στο έλαιο του ευκαλύπτου και προέρχεται από όλα τα φυτά ευκαλύπτου. Είναι ένα φυσικό οργανικό μόριο και είναι άχρωμο υγρό. [70]

Σε μελέτη που έλαβε χώρα από τους Marçal et al. [71] χαρακτηρίστηκε και αξιολογήθηκε το προφίλ των πτητικών ενώσεων που βρίσκονται στο κρέας κοτόπουλων τα οποία εκτρέφονται σε σύστημα ελευθέρας βοσκής ως συνάρτηση του φύλου και της σεξουαλικής τους ωριμότητας. 17 ενώσεις που ανήκουν στην ομάδα των αλδεϋδών και 25 αλκοόλες εντοπίστηκαν στα δείγματα από στήθος και μπούτι κοτόπουλου. Η εξανάλη ήταν η κύρια αλδεϋδή, ενώ η εξανόλη και η 1-οκτεν-3-όλη είχαν τους υψηλότερους μέσους όρους των αλκοολών και στις 2 κοπές.

Βρέθηκαν αρκετές κοινές ενώσεις με τα δείγματα της παρούσας έρευνας, με τις περισσότερες να ανήκουν στην κατηγορία των εστέρων. Για παράδειγμα ο αιθυλεστέρας του 2-μεθυλ-βουτανικού οξέος, ο αιθυλεστέρας του 2-μεθυλ-2-βουτενικού οξέος και ο αιθυλεστέρας του εξανικού οξέος είναι ενώσεις που εντοπίστηκαν τόσο στα δείγματα από στήθος και μπούτι κοτόπουλου όσο και στα περισσότερα δείγματα της παρούσας ερευνητικής μελέτης. Άλλες κοινές ενώσεις αποτελούν το εννιάνιο και η 2-αιθυλ-1-εξανόλη. [71]

Σε μελέτη των Dewi et al. [72] προσδιορίστηκε η σύνθεση πτητικών ενώσεων σε ζωμό κρέατος και οστών από 5 διαφορετικά είδη, δηλαδή αγελάδος (μοσχάρι), χοίρου (χοιρινό), κατσικιού, αρνιού και κοτόπουλου με σκοπό την κατηγοριοποίηση της τροφής σε επιτρεπτή (Halal) ή μη επιτρεπτή (non-Halal) από τον Ισλαμικό νόμο. Η ανάλυση έλαβε χώρα με την τεχνική HS-SPME/GC-MS.

Οι ενώσεις που ανήκουν στην κατηγορία των αλδεϋδών κατείχαν τα υψηλότερα ποσοστά και περιλαμβάνουν την εξανάλη, την εννεανάλη, την οκτανάλη και την επτανάλη. Ακόμη, η 1-οκτεν-3-όλη, η 1-δωδεκανόλη, η 1-πεντανόλη και η 1-επτανόλη ήταν οι ενώσεις με το υψηλότερο ποσοστό στον ζωμό κοτόπουλου. Η κύρια

προέλευση του σχηματισμού ομάδων αλκοόλης σε πτητικές ενώσεις είναι οι οξειδωτικές αντιδράσεις αποσύνθεσης του λίπους. Μία ένωση που ανιχνεύτηκε στη παρούσα έρευνα και εντοπίστηκε στα 3 από τα 4 είδη δειγμάτων της συγκεκριμένης μελέτης είναι η 3-υδροξυ-2-βουτανόνη. [72]

Τέλος, οι Liu et al. [73] διερεύνησαν τις επιδράσεις συμπληρωμάτων διατροφής με τον μικροβιακό παράγοντα *Brevibacillus laterosporus* S62-9 στην ποιότητα του κρέατος, στα αμινοξέα και στις πτητικές ενώσεις του κοτόπουλου. Στο δείγμα που δεν είχε προστεθεί ποσότητα αντιμικροβιακού παράγοντα (δείγμα αναφοράς), ανιχνεύτηκαν αλδεΐδες, αλκοόλες, μερικά οργανικά οξέα και ορισμένες κετόνες. Η 2-αιθυλ-3-εξανόλη ήταν μια ένωση που ανιχνεύτηκε τόσο στο δείγμα αναφοράς όσο και στα δείγματα της παρούσας εργασίας.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Οι βιοαποικοδομήσιμες μεμβράνες κι επικαλύψεις υπόκεινται στην κατηγορία της ενεργής συσκευασίας τροφίμων κατά την οποία η ίδια η συσκευασία συμβάλλει στην επιμήκυνση της διάρκειας ζωής των συσκευασμένων τροφίμων. Ο συγκεκριμένος τύπος συσκευασίας αποτελεί έναν εξαιρετικό και πολλά υποσχόμενο τρόπο συντήρησης τροφίμων ο οποίος θα μπορούσε να αντικαταστήσει σε σημαντικό βαθμό την ανάγκη για χρήση πλαστικών μεμβρανών κι επικαλύψεων.

Οι μεμβράνες από γλουτένη σίτου, τόσο απλές όσο κι ενισχυμένες με αιθέρια έλαια δυόσμου και γαρύφαλλου, που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία εντάσσονται στην υποκατηγορία της αντιμικροβιακής συσκευασίας τροφίμων. Από τα αποτελέσματα που προέκυψαν κατά την πειραματική διαδικασία εξήχθησαν τα εξής συμπεράσματα:

- Σχετικά με το μικροβιακό προφίλ των δειγμάτων φάνηκε ότι η συσκευασία με μεμβράνη από γλουτένη σίτου προσέδωσε αντιμικροβιακή ικανότητα η οποία έδρασε θετικά στον συσκευασμένο κιμά κοτόπουλου. Την υψηλότερη αντιμικροβιακή δράση σημείωσε η μεμβράνη WGF+2% CL, ακολούθως η WGF+2% SPR και τέλος η απλή μεμβράνη WGF. Όλες οι μεμβράνες επέδειξαν αναστολή στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών σε σχέση με το Control για όλους τους μικροοργανισμούς που μελετήθηκαν εκτός από τα οξυγαλακτικά βακτήρια όπου σημειώθηκε το αντίθετο αποτέλεσμα. Αυτό πιθανώς να οφείλεται στο γεγονός ότι τα οξυγαλακτικά βακτήρια είναι προαιρετικά αναερόβιοι μικροοργανισμοί. Τα δείγματα συσκευασμένα στις μεμβράνες, καθώς είναι περιτυλιγμένα με αυτές, δεν έρχονται σε άμεση επαφή με το οξυγόνο που υπερκείμενου χώρου και με τον τρόπο αυτό ευνοούνται περισσότερο οι αναερόβιες συνθήκες σε σχέση με τις αερόβιες. Συνεπώς ενδεχομένως να ευνοείται και η ανάπτυξη των οξυγαλακτικών βακτηρίων.
- Τα συσκευασμένα δείγματα με μεμβράνη είχαν θετική επίδραση τόσο στο pH όσο και στο χρώμα του τροφίμου. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα συμπεραίνεται πως η συσκευασία του κιμά κοτόπουλου με μεμβράνες από γλουτένη σίτου όχι μόνο δεν επηρέασε αρνητικά το χρώμα των δειγμάτων αφού δεν υπήρξε

αποχρωματισμός τους κατά το χρόνο αποθήκευσης, αλλά σε ορισμένες περιπτώσεις συνέβαλε θετικά σε αυτό προσδίδοντας κόκκινη απόχρωση στο συσκευασμένο προϊόν. Αυτό πιθανότατα οφείλεται στην παρουσία των αιθέριων ελαίων.

- Σχετικά με το πτητικό προφίλ των δειγμάτων, όπως είναι αναμενόμενο τα δείγματα συσκευασμένα με μεμβράνη ενισχυμένη με αιθέριο έλαιο είχαν πλουσιότερο αρωματικό προφίλ. Αρκετές ενώσεις οι οποίες προέρχονται κατά κύριο λόγο από τα αιθέρια έλαια ταυτοποιήθηκαν στα δείγματα WGF+2% SPR και WGF+2% CL. Περισσότερες ενώσεις άρχισαν να προσδιορίζονται με το πέρασμα των ημερών καθώς μετανάστευαν από τη μεμβράνη προς το τρόφιμο, ενώ για αυτές που ανιχνεύτηκαν από την 2^η μέρα συντήρησης σε γενικές γραμμές υπήρξε μια αύξηση στην συγκέντρωσή τους (ppb).
- Από τη μελέτη των μηχανικών ιδιοτήτων των μεμβρανών, τόσο η προσθήκη αιθέριου ελαίου δυόσμου (SPR) όσο και γαρύφαλλου (CL), είχε ως αποτέλεσμα οι μεμβράνες να γίνουν περισσότερο ελατές κι εύκαμπτες, παρουσιάζοντας καλύτερες μηχανικές ιδιότητες συγκριτικά με τις μεμβράνες ελέγχου (WGF). Συγκεκριμένα, το % ποσοστό στο όριο θραύσης αυξήθηκε σημαντικά στη μεμβράνη WGF+2% CL σε σχέση με την απλή WGF. Οι ενισχυμένες με τα αιθέρια έλαια μεμβράνες ήταν περισσότερο εύκαμπτες κι αυτό πιθανότατα οφείλεται στην φύση των ελαίων που δρουν ως πλαστικοποιητές και προσδίδουν μεγαλύτερη ευλυγισία στη πρωτεϊνική δομή των μεμβρανών. Αντίθετα, η προσθήκη των αιθέριων ελαίων φαίνεται να επηρεάζει αρνητικά την αντοχή των μεμβρανών καθώς παρατηρήθηκε μείωση της αντοχής στο όριο θραύσης.

Συνοψίζοντας, από την παρούσα μελέτη προέκυψε ότι οι βιοαποικοδομήσιμες μεμβράνες από γλουτένη σίτου, είτε απλές είτε ενσωματωμένες με αιθέρια έλαια, έχουν αξιοσημείωτη αντιμικροβιακή δράση, ικανοποιητικές μηχανικές ιδιότητες και χαρακτηριστικά σύμφωνα με τα οποία θα μπορούσαν να αποτελέσουν υλικά συσκευασίας τροφίμων αντικαθιστώντας τα «παραδοσιακά» πλαστικά πολυμερή. Σαφώς υπάρχει χώρος και ανάγκη για εκτενέστερη μελέτη σχετικά με τις μορφές ενσωμάτωσης των αντιμικροβιακών παραγόντων στο υλικό συσκευασίας, τον τρόπο απελευθέρωσής τους, ενδεχόμενο συνδυασμό 2 ή και περισσότερων παραγόντων,

και περαιτέρω βελτίωση των χαρακτηριστικών των συγκεκριμένων παρασκευασθέντων μεμβρανών. Τέλος, μια ακόμη πρόταση για περαιτέρω επιστημονική μελέτη στο συγκεκριμένο ερευνητικό αντικείμενο θα ήταν η αντικατάσταση της μεμβράνης LDPE με απλή μεμβράνη από γλουτένη σίτου (WGF) για το περιτύλιγμα του περιεχομένου στο δίσκο πολυστυρολίου (PS) όπου τοποθετήθηκε το υπό εξέταση τρόφιμο με σκοπό να μειωθεί η χρήση πλαστικών πολυμερών στην συσκευασία τροφίμων.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ :

- [1] V. **Coma**, *Antimicrobial and antioxidant active packaging for meat and poultry*. Woodhead Publishing Limited, 2012. doi: 10.1533/9780857095718.4.477.
- [2] Σ. Ε. **Παπαδάκης**, “Συσκευασία Τροφίμων,” *Εκδόσεις Τζιόλα*, vol. 2, pp. 0 – 738, 2018.
- [3] R. **Ahvenainen**, *Novel food packaging techniques*. 2000.
- [4] S. **Sharma**, S. Barkauskaite, B. Duffy, A. K. Jaiswal, and S. Jaiswal, “Characterization and Antimicrobial Activity of Biodegradable Active Packaging Enriched with,” *Foods*, vol. 9, no. 1117, p. 16, 2020.
- [5] B. **De Kruijf**, N., Van Beest, M., Rijk, R., S ipila” Inen-Malm, T., Paseiro I. and De Meulenaer, “Active and intelligent packaging: applications and regulatory aspects,” *Food Addit. Contam.*, vol. 19, pp. 144 – 62., 2002.
- [6] M. **Asgher**, S. A. Qamar, M. Bilal, and H. M. N. Iqbal, “Bio-based active food packaging materials: Sustainable alternative to conventional petrochemical-based packaging materials,” *Food Res. Int.*, vol. 137, 2020, doi: 10.1016/j.foodres.2020.109625.
- [7] T. **Hurme**, E., S ipila” Inen-Malm, T., Ahvenainen, R. and Nielsen, “Active and intelligent packaging. In: Minimal Processing Technologies in the Food Industry,” *Woodhead Publ. Limited, Cambridge, Engl.*, pp. 87 – 123, 2002.
- [8] **Floros**, J.D., Dock, “Active packaging technologies and applications,” *Food, Cosmet. Drug Packag.*, vol. 20, no. 1, pp. 10–17, 1997, [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cirp.2016.06.001%0Ahttp://dx.doi.org/10.1016/j.powtec.2016.12.055%0Ahttps://doi.org/10.1016/j.ijfatigue.2019.02.006%0Ahttps://doi.org/10.1016/j.matlet.2019.04.024%0Ahttps://doi.org/10.1016/j.matlet.2019.127252%0Ahttp://dx.doi.org/10.1016/j.cirp.2016.06.001>
- [9] V. **Fabech** et al., “Active and intelligent food packaging. A Nordic report on the legislative aspects,” *TemaNord 2000584. Copenhagen Nord. Counc. Minist.*, p. 84, 2000.

- [10] M. L. **Rooney**, "Development of active and intelligent packaging systems. In: New Shelf-life Technologies and Safety Assessments," *VTT Symp*, pp. 75–83, 1995.
- [11] V. **Fabech**, B., Hellstrøm, T., Henrysdotter, G., Hjulmand-Lassen, M., Nilsson, J., Ru" Dinger, I., Sipila" Inen-Malm, T., Solli, E., Svensson, K., Thorkelsson, A´ .E. and Tuomaala, "Active and intelligent food packaging. A Nordic report on the legislative aspects," *TemaNord 2000584. Copenhagen Nord. Counc. Minist.*, p. pp 84, 2000, [Online]. Available:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jsames.2011.03.003%0Ahttps://doi.org/10.1016/j.gr.2017.08.001%0Ahttp://dx.doi.org/10.1016/j.precamres.2014.12.018%0Ahttp://dx.doi.org/10.1016/j.precamres.2011.08.005%0Ahttp://dx.doi.org/10.1080/00206814.2014.902757%0Ahttp://dx>.
- [12] **H. J. H**, "Antimicrobial food packing." *Food Technology*, pp. 56–65, 2000.
- [13] **H. J. H**, "Antimicrobial food packing," *Food Technol*, vol. 54(3). pp. 56–65, 2000.
- [14] **Appendini P** and **H. J. H.**, "Immobilization of lysozyme on food contact polymers as potential antimicrobial films," *Packag. Technol Sci*, vol. 10(5), p. pp 271–9, 1997, [Online]. Available:
https://www.researchgate.net/publication/269107473_What_is_governance/link/548173090cf22525dcb61443/download%0Ahttp://www.econ.upf.edu/~reyenal/Civil_wars_12December2010.pdf%0Ahttps://think-asia.org/handle/11540/8282%0Ahttps://www.jstor.org/stable/41857625
- [15] **Milda E.** and **K. C. H. Embuscado**, "Edible films and coatings for food applications," *New York, NY, USA Springer*, vol. 9, 2009.
- [16] Π. Ε. **Ευάγγελος**, "Εφαρμογή εδώδιμων επικαλύψεων και ενσωμάτωση φυσικών αντιμικροβιακών σε φρεσκοτεμαχισμένα αχλάδια και κυδώνια," p. 0, 2020, doi: 10.21608/mkmgmt.2020.194089.
- [17] **Dehghani et al.**, "Edible films and coatings in seafood preservation: A review," *Food Chem.*, vol. 240, pp. 505–513, 2018.

- [18] T. H. **McHugh**, “Protein-lipid interactions in edible films and coatings,” *Food/Nahrung*, vol. 44, no. 3, pp. 148–151, 2000.
- [19] **Kong** Ming et al., “Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: a state of the art review,” *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 144, no. 1, pp. 51–63, 2010.
- [20] K. **Miller** et. al. “Oxygen and aroma barrier properties of edible films: A review,” *Mod. large Cult. Dimens. Glob.*, vol. 8, no. 7, pp. 228–237, 1997, [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cirp.2016.06.001><http://dx.doi.org/10.1016/j.powtec.2016.12.055><https://doi.org/10.1016/j.ijfatigue.2019.02.006><https://doi.org/10.1016/j.matlet.2019.04.024><https://doi.org/10.1016/j.matlet.2019.127252><http://dx.doi.org/10.1016/j.cirp.2016.06.001>
- [21] **Μοδίτση**, “Μελέτη μεμβρανών από πρωτεΐνες γάλακτος ως συστήματα μεταφοράς και ελεγχόμενης απελευθέρωσης αντιμυκητιακών ουσιών.”, 2012.
- [22] O. **Fennema**, I. G. Donhowe, and J. J. Kester, “Lipid type and location of the relative humidity gradient influence on the barrier properties of lipids to water vapor,” *J. Food Eng.*, vol. 22, no. 1–4, pp. 225–239, 1994, doi: 10.1016/0260-8774(94)90032-9.
- [23] **Orliac** Olivier et al. “Effects of various plasticizers on the mechanical properties, water resistance and aging of thermo-moulded films made from sunflower proteins,” *Ind. Crops Prod.*, vol. 18, no. 2, pp. 91–100, 2003.
- [24] C. W. **Park** and L. F. L., Mothersbaugh D., “Consumer Knowledge Assessment,” *J. Consum. Res.*, vol. 21, no. 1, pp. 71–82, 1994, doi: 10.1086/209383.
- [25] N. **Patni**, P. Yadava, A. Agarwal, and V. Maroo, “An overview on the role of wheat gluten as a viable substitute for biodegradable plastics,” *Rev. Chem. Eng.*, vol. 30, no. 4, pp. 421–430, 2014, doi: 10.1515/revce-2013-0039.
- [26] J. **Wang** et al., “Wheat Flour-Based Edible Films: Effect of Gluten on the Rheological Properties, Structure, and Film Characteristics,” *Int. J. Mol. Sci.*,

- vol. 23, no. 19, 2022, doi: 10.3390/ijms231911668.
- [27] J. R. **Rocca-Smith** *et al.*, “Effect of lipid incorporation on functional properties of wheat gluten based edible films,” *J. Cereal Sci.*, vol. 69, no. April, pp. 275–282, 2016, doi: 10.1016/j.jcs.2016.04.001.
 - [28] F. **Zubeldía**, M. R. Ansorena, and N. E. Marcovich, “Wheat gluten films obtained by compression molding,” *Polym. Test.*, vol. 43, pp. 68–77, 2015, doi: 10.1016/j.polymertesting.2015.02.001.
 - [29] **Guenther** E., “The essential oils,” *New York van Nostrand*, vol. 1, p. 1948, 1948.
 - [30] **Δόρδας** X., “Αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά,” no. 1, 2012.
 - [31] L. G. **Van de Braak** SAAJ, “Essential Oils and Oleoresins: A survey in the Netherlands and other major Markets in the European Union,” *CBI, Cent. Promot. Imports from Dev. Ctries.*, p. 166, 1999.
 - [32] **European Comission**, “Commission Regulation (EC) No 1565/2000 of 18 July 2000 laying down the measures necessary for the adoption of an evaluation programme in application of Regulation (EC) No 2232/96 of the European Parliament and of the Council (Text with EEA relevance),” *Off. J. L 180*, pp. 0008–0016, 2000.
 - [33] S. **Van Haute**, A. Nikkhah, D. Malavi, and S. Kiani, “Prediction of essential oil content in spearmint (*Mentha spicata*) via near-infrared hyperspectral imaging and chemometrics,” *Sci. Rep.*, vol. 13, no. 1, pp. 1–14, 2023, doi: 10.1038/s41598-023-31517-8.
 - [34] A. S. **Alhasan**, A. A. Khadim, D. T. Al-Ameri, O. S. Saleh, F. H. J. Al-Alwash, and H. R. Kadkim, “Effect of Applying Different Levels of Nitrogen Fertilizer on Growth and Essential Oil of Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.),” *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, vol. 1060, no. 1, 2022, doi: 10.1088/1755-1315/1060/1/012102.
 - [35] S. **Bhatia** *et al.*, “A Comparative Study of the Properties of Gelatin (Porcine

- and Bovine)-Based Edible Films Loaded with Spearmint Essential Oil,” *Biomimetics*, vol. 8, no. 2, 2023, doi: 10.3390/biomimetics8020172.
- [36] N. **Caroko** and I. Hartati, “Assessment of Production Rate and Quality Analysis of Essential Oil of Clove Oil Obtained from Hydro-Distillation of Clove Leaves,” *E3S Web Conf.*, vol. 425, 2023, doi: 10.1051/e3sconf/202342504007.
- [37] “[https://www.gbif.org/species/113634137.](https://www.gbif.org/species/113634137)”
- [38] H. **Alves de Figueiredo Sousa et al.**, “Active film incorporated with clove essential oil on storage of banana varieties,” *Nutr. Food Sci.*, vol. 49, no. 5, pp. 911–924, 2019, doi: 10.1108/NFS-09-2018-0262.
- [39] Ι. Γ. **Μπλούκας**, “Τεχνολογία κρέατος.” Αθήνα, ρ. Εκδόσεις Σταμούλη ΑΕ, 2007.
- [40] **Βαρελτζής Κ**, Γεωργάκης Σ. “Τεχνολογία τροφίμων ζωικής προελεύσης,” *Σύγχρονη Παιδεία*, pp. 1–585, 2002.
- [41] J. **Soriano-Santos**, “Chemical Composition and Nutritional Content of Raw Poultry Meat,” *Handb. Poult. Sci. Technol.*, vol. 1, no. March, pp. 467–489, 2010, doi: 10.1002/9780470504451.ch25.
- [42] A. Ö. **Barazi**, A. Ç. Mehmetoglu, and O. Erkmén, “A Novel Edible Coating Produced from a Wheat Gluten, Pistacia vera L. Resin, and Essential Oil Blend: Antimicrobial Effects and Sensory Properties on Chicken Breast Fillets,” *Foods*, vol. 12, no. 12, 2023, doi: 10.3390/foods12122276.
- [43] M. **Tsironi**, I. S. Kosma, and A. V. Badeka, “The Effect of Whey Protein Films with Ginger and Rosemary Essential Oils on Microbiological Quality and Physicochemical Properties of Minced Lamb Meat,” *Sustain.*, vol. 14, no. 6, 2022, doi: 10.3390/su14063434.
- [44] S. **Khashayary** and A. Aarabi, “Evaluation of Physico-mechanical and Antifungal Properties Of Gluten-based Film Incorporated with Vanillin, Salicylic Acid, and Montmorillonite (Cloisite 15A),” *Food Bioprocess Technol.*, vol. 14, no. 4, pp. 665–678, 2021, doi: 10.1007/s11947-021-02598-y.

- [45] A. F. **Rivera Leiva**, J. Hernández-Fernández, and R. Ortega Toro, “Active Films Based on Starch and Wheat Gluten (*Triticum vulgare*) for Shelf-Life Extension of Carrots,” *Polymers (Basel)*, vol. 14, no. 23, pp. 1–16, 2022, doi: 10.3390/polym14235077.
- [46] J. **Duan et al.**, “Research on Properties of Edible Films Prepared from Zein, Soy Protein Isolate, Wheat Gluten Protein by Adding Beeswax,” *Food Bioprocess Technol.*, vol. 16, no. 11, pp. 2443–2454, 2023, doi: 10.1007/s11947-023-03077-2.
- [47] V. **Micard**, R. Belamri, M. H. Morel, and S. Guilbert, “Properties of chemically and physically treated wheat gluten films,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 48, no. 7, pp. 2948–2953, 2000, doi: 10.1021/jf0001785.
- [48] H. **Mohammadi**, S. H. Hosseini Ghaboos, and H. Almasi, “Development and characterization of wheat gluten-based antibacterial/antioxidant films activated by free and encapsulated *Origanum majorana* L. essential oil,” *Polym. Bull.*, no. 0123456789, 2023, doi: 10.1007/s00289-023-05047-2.
- [49] S. **Amjadi**, H. Almasi, H. Hamishehkar, M. A. Khaledabad, L. T. Lim, and S. Gholizadeh, “Gluten/chitosan Nanofiber-based Films Activated by Cationic Inulin-coated Betanin and Carvone Co-loaded Nanoliposomes: Preparation and Characterization,” *Food Biophys.*, 2023, doi: 10.1007/s11483-023-09820-8.
- [50] A. **Μπαδέκα**, “Μηχανικές Ιδιότητες Υλικών Συσκευασίας,” *Προχωρημένο Εργαστήριο Τροφίμων, Εργαστηριακή Άσκηση 5. Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων*, pp. 01–04, 2021.
- [51] S. C. **Mojumdar**, C. Moresoli, L. C. Simon, and R. L. Legge, “Edible wheat gluten (WG) protein films : Preparation, thermal, mechanical and spectral properties,” *J. Therm. Anal. Calorim.*, vol. 104, no. 3, pp. 929–936, 2011, doi: 10.1007/s10973-011-1491-z.
- [52] N. A. **Salama**, K. S. N. * and M. R. A. M. M. Abd El Magied, “PACKAGING OF REFRIGERATED STRAWBERRY (*Fragaria ananassa*) USING PREPARED EDIBLE

- WHEAT GLUTEN FILMS AND COATINGS," *Bull. Fac. Agric., Cairo Univ.*, vol. 60, pp. 168–177, 2009.
- [53] M. **Rezaei**, S. Pirsai, and S. Chavoshizadeh, "Photocatalytic/Antimicrobial Active Film Based on Wheat Gluten/ZnO Nanoparticles," *J. Inorg. Organomet. Polym. Mater.*, vol. 30, no. 7, pp. 2654–2665, 2020, doi: 10.1007/s10904-019-01407-6.
- [54] Y. **Chen**, Y. Li, S. Qin, S. Han, and H. Qi, "Antimicrobial, UV blocking, water-resistant and degradable coatings and packaging films based on wheat gluten and lignocellulose for food preservation," *Compos. Part B Eng.*, vol. 238, no. April, p. 109868, 2022, doi: 10.1016/j.compositesb.2022.109868.
- [55] **Gertzou N. Ioanna**, "Επίδραση της συνδυαστικής χρήσης οξονισμού και φυσικών αντιμικροβιακών παραγόντων (χιτοζάνης και αιθέριων ελαίων) στην αύξηση του χρόνου ζωής νωπού κοτόπουλου συσκευασμένου σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, υπό κενό και συντηρούμενο υπό ψύξη," *Διδακτορική Διατριβή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων*, 2018.
- [56] E. **Chouliara**, A. Karatapanis, I. N. Savvaidis, and M. G. Kontominas, "Combined effect of oregano essential oil and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of fresh chicken breast meat, stored at 4 °C," *Food Microbiol.*, vol. 24, no. 6, pp. 607–617, 2007, doi: 10.1016/j.fm.2006.12.005.
- [57] M. **Raeisi**, A. Tabaraei, M. Hashemi, and N. Behnampour, "Effect of sodium alginate coating incorporated with nisin, Cinnamomum zeylanicum, and rosemary essential oils on microbial quality of chicken meat and fate of *Listeria monocytogenes* during refrigeration," *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 238, pp. 139–145, 2016, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.08.042.
- [58] **D. V. M.**, "Yeasts and moulds with meat and meat products.," *Microbiol. meat Poult.*, pp. 85–117, 1998.
- [59] **Sallam K. I.** and Samejima K., "Effect of trisodium phosphate and sodium chloride dipping on the microbial quality and self life of refrigerated tray-packaged chicken breasts.," *Food Sci. Biotechnol.*, vol. 13, no. 4, pp. 425–429,

- 2004.
- [60] Z. **Kiarsi**, M. Hojjati, B. A. Behbahani, and M. Noshad, "In vitro antimicrobial effects of *Myristica fragrans* essential oil on foodborne pathogens and its influence on beef quality during refrigerated storage," *J. Food Saf.*, vol. 40, no. 3, 2020, doi: 10.1111/jfs.12782.
 - [61] B. **Alizadeh Behbahani**, F. Falah, A. Vasiee, and F. Tabatabaee Yazdi, "Control of microbial growth and lipid oxidation in beef using a *Lepidium perfoliatum* seed mucilage edible coating incorporated with chicory essential oil," *Food Sci. Nutr.*, vol. 9, no. 5, pp. 2458–2467, 2021, doi: 10.1002/fsn3.2186.
 - [62] **Remenant B.** et al., "Bacterial spoilers of food: behavior, fitness and functional properties," *Food Microbiol.*, vol. 45, pp. 45–53, 2015.
 - [63] Iva B. **Borch E.**, Marie-Louise Kant-Muermans, "Bacterial spoilage of meat and cured meat products," *Int. J. food Microbiol. 33.1*, vol. 33, no. 1, pp. 103–120, 1996.
 - [64] **J. J. M.**, "Microbial spoilage indicators and metabolites. In: Foodborne Microorganisms and their toxins. Developing methodology Pierson MD and Stern A. (eds) Marcel Dekker Inc. Basel pp. 213-240.," *Marcel Dekker Inc. Basel*, pp. 213–240, 1986.
 - [65] B. **Bazargani**-Gilani, J. Aliakbarlu, and H. Tajik, "Effect of pomegranate juice dipping and chitosan coating enriched with *Zataria multiflora* Boiss essential oil on the shelf-life of chicken meat during refrigerated storage," *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, vol. 29, pp. 280–287, 2015, doi: 10.1016/j.ifset.2015.04.007.
 - [66] R. A. **Mancini** and M. C. Hunt, "Current research in meat color," *Meat Science*, vol. 71, no. 1. pp. 100–121, 2005. doi: 10.1016/j.meatsci.2005.03.003.
 - [67] G. N. and B. T. **Hepsibha**, "Chemical COMPOSITION OF EXTRACTS OF ARTEMISIA PALLENS AERIAL PARTS AND INSECTICIDAL ACTIVITY EVALUATION OF A- TERPINEOL AGAINST SPODOPTERA LITURA PEST BY IN SILICO APPROACH," *Chennai - 600 008*, vol. 51, no. 2, p. 6, 2021.

- [68] S. P. **Nychas** G.-J.E., "Fresh meat spoilage and modified atmosphere packaging (MAP) In Improving the Safety of Fresh Meat.," *CRC/Woodhead Publ. Limited; Cambridge, UK*, pp. 461–502, 2005.
- [69] C. **Porto et al.**, "(R)-(-)-carvone and (1R, 4R)-trans-(+)-dihydrocarvone from *Poiretia latifolia* vogel," *J. Braz. Chem. Soc.*, vol. 21, no. 5, pp. 782–786, 2010, doi: 10.1590/S0103-50532010000500003.
- [70] S. **Dev** and I. Kaur, "Bioactive molecules from eucalyptus essential oil as potential inhibitors of COVID 19 corona virus infection by molecular docking studies," *Kragujev. J. Sci.*, no. 42, pp. 29–43, 2020, doi: 10.5937/kgjsci2042029d.
- [71] J. O. **Marçal et al.**, "The volatile compound profile in the meat of chickens raised in a free-range system varies with sexual maturity," *Food Chem. Adv.*, vol. 1, no. September, 2022, doi: 10.1016/j.focha.2022.100098.
- [72] D. Candra **Dewi**, C. Mahdi, H. Sulistyarti, and A. Aulani`am, "Identification of volatile compounds in several meat and bone broth using Solid Phase Micro Extraction-Gas Chromatography Mass Spectrometry (SPME-GCMS) for initial detection of Halal and Non-Halal Food," *J. Pure Appl. Chem. Res.*, vol. 12, no. 2, pp. 65–79, 2023, doi: 10.21776/ub.jpacr.2023.012.02.3308.
- [73] X. **Liu et al.**, "Dietary Effect of *Brevibacillus laterosporus* S62-9 on Chicken Meat Quality, Amino Acid Profile, and Volatile Compounds," *Foods*, vol. 12, no. 2, 2023, doi: 10.3390/foods12020288.