



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

**ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ**

**ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ «ΧΗΜΕΙΑΣ»**

**ΕΙΔΙΚΕΥΣΗ «Χημεία τροφίμων»**

**ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ**

**Τσιπούρα (*Sparus aurata*) που έχει εκτραφεί με  
ελαιοπυρήνα: σύγκριση των οργανοληπτικών και  
καρδιοπροστατευτικών της ιδιοτήτων σε σχέση με τη  
συμβατική τσιπούρα**

**ΣΙΟΡΙΚΗ ΕΛΕΝΗ  
ΧΗΜΙΚΟΣ**

**ΑΘΗΝΑ**

**ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ 2012**



## **ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ**

**Τσιπούρα (*Sparus aurata*) που έχει εκτραφεί με ελαιοπυρήνα: σύγκριση των οργανοληπτικών και καρδιοπροστατευτικών της ιδιοτήτων σε σχέση με τη συμβατική τσιπούρα**

**ΣΙΟΡΙΚΗ ΕΛΕΝΗ**

**A.M:0000051016**

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ:**

**Ζαμπετάκης Ιωάννης, Επίκουρος Καθηγητής ΕΚΠΑ**

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

**Ι. Ζαμπετάκης, Επίκουρος Καθηγητής, ΕΚΠΑ**

**Κ.Α. Δημόπουλος, Καθηγητής, ΕΚΠΑ**

**Ε. Φραγκοπούλου, Επίκουρη Καθηγήτρια, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο**

**ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ 19/10/2012**



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να αξιολογήσει τις οργανοληπτικές ιδιότητες και τη θρεπτική αξία δύο ειδών τσιπούρας ιχθυοκαλλιέργειας (*Sparus Aurata*), όπου η μία έχει εκτραφεί με συμβατική ιχθυοτροφή και η άλλη με υποκατάσταση του ιχθυελαίου από ελαιοπυρήνα κατά το 8%. Επίσης, μελετήθηκαν η επίδραση του ψησίματος στη σύσταση των λιπαρών οξέων, η βιολογική δραστηριότητα κατά τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων και οι οργανοληπτικές ιδιότητες και των δύο ψαριών. Αρχικά εκχυλίστηκαν τα ολικά λιποειδή νωπής και ψημένης τσιπούρας και των δύο τύπων μέσω της εκχύλισης Bligh-Dyer. Κατόπιν, προσδιορίστηκαν και συγκρίθηκαν οι συγκεντρώσεις των λιπαρών οξέων των ολικών λιποειδών όλων των δειγμάτων (ψημένων και νωπών και για τα δύο είδη ψαριών) μέσω αέριας χρωματογραφίας (GC). Με κατανομή κατ' αντιρροή διαχωρίστηκαν τα ολικά λιποειδή σε πολικά και ουδέτερα. Στη συνέχεια, τα πολικά λιποειδή διαχωρίστηκαν περαιτέρω με παρασκευαστική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) σε επιμέρους λιποειδικά κλάσματα και διαπιστώθηκε με βιολογικό προσδιορισμό σε πλυμένα αιμοπετάλια κουνελιού η ικανότητά τους να αναστέλλουν ή όχι την επαγόμενη από τον PAF συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Τέλος, διενεργήθηκε και οργανοληπτική ανάλυση και για τα δύο είδη ψημένης τσιπούρας για να προσδιοριστούν οι διαφορές μεταξύ τους ως προς τη γεύση, το άρωμα και την επίγευση.

Το ψήσιμο και των δύο ψαριών στο grill επηρέασε τα επίπεδα των λιποειδών αυξάνοντας την περιεκτικότητα των λιπαρών οξέων τους. Η ικανότητα των πολικών λιποειδών των ψημένων ψαριών να αναστέλλει τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων βρέθηκε παρόμοια και στα δύο ψάρια. Για τη σύγκριση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, εκπαιδεύτηκαν 10 δοκιμαστές. Η συμβατική τσιπούρα απέδωσε υψηλότερη βαθμολογία στους όρους «θαλασσινή», «άρωμα παραλίας», «ιχθυελαίου», «φρέσκου ψαριού» και «ψημένου ψαριού» για το χαρακτηριστικό της οσμής, «φρέσκο ψάρι», «άρωμα παραλίας», «λιπαρή» και «πλούσια» για το χαρακτηριστικό της γεύσης και στον όρο «ιωδίου» για το χαρακτηριστικό της επίγευσης. Στην δε εμπλουτισμένη τσιπούρα, σημειώθηκε υψηλότερη βαθμολογία στους όρους «στουφή» και «λιπαρή» για το χαρακτηριστικό της γεύσης, «ελαιώδης», «πικρή» και «διαρκείας» για το χαρακτηριστικό της επίγευσης.

**ΘΕΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ:** Επίδραση της θερμικής επεξεργασίας στα λιποειδή, τη βιολογική δραστικότητα και στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά της τσιπούρας.

**ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ:** τσιπούρα, ελαιοπυρήνας, grill, καρδιοπροστατευτικές ιδιότητες, PAF, συσσώρευση αιμοπεταλίων.

## ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate the sensory properties and the nutritional value (biological activity against atheromatosis based on the *in vitro* measurement as inhibition of PAF-induced platelet aggregation) of two types of gilthead sea bream (*Sparus Aurata*): the first was the conventional aqua-cultured sea bream, the latter being an “olive pomace” sea bream (fish fed with fish feed enriched with 8% olive pomace). The effect of grilling on the fatty acid composition, the biological activity against platelet aggregation and the sensory properties of the two fish were studied. Grilling affected the levels of lipids increasing the fatty acid content. The ability of the grilled fish polar lipids to inhibit platelet aggregation has been found similar in both fish. For the organoleptic comparison, twelve assessors have been trained to use specific flavour attributes. Conventional grilled sea bream scored higher for the odour attributes marine, seafood, fish oil, fresh fish and baked fish; also higher for the taste attributes sweet, fresh fish, marine, fatty and rich and also higher for the aftertaste attribute iodine than the “olive pomace” sea bream, which rated higher for the taste attributes astringent and fatty and the aftertaste attributes oily, bitter and lasting.

**SUBJECT AREA:** Effect of grilling in the fatty acid composition, the biological activity and the sensory properties of gilthead sea bream (*Sparus aurata*).

**KEYWORDS:** Gilthead Sea Bream (*Sparus Aurata*), olive pomace, grilling, cardioprotective properties, PAF, platelet aggregation.





*Στους γονείς μου, Γιώργο και Χαρά,  
ως ένδειξη ευγνωμοσύνης για τη στήριξη  
που μου προσέφεραν, κατά τη διάρκεια  
των μεταπτυχιακών μου σπουδών.*



## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα εργασία Μεταπτυχιακής Ειδίκευσης εκπονήθηκε την περίοδο 2010-2012 στο Εργαστήριο Χημείας Τροφίμων του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Αθηνών. Με την περάτωσή της, μου δίνεται η ευκαιρία να ευχαριστήσω ολόψυχα τους ανθρώπους των εργαστηρίων Χημείας Τροφίμων και Βιοχημείας για την εξαιρετική συνεργασία και βοήθεια σε οποιαδήποτε δυσκολία μου. Πρώτα απ' όλα, ευχαριστώ ολόψυχα και εκφράζω τη βαθύτατη εκτίμησή μου στον επιβλέποντα, Επίκουρο Καθηγητή κ. Ιωάννη Ζαμπετάκη. Η επιστημονική του κατάρτιση, ο πολύτιμος και με αμείωτο ενδιαφέρον χρόνος που αφιέρωσε τα δύο αυτά χρόνια, η εμπιστοσύνη και η υπομονή που μου έδειξε, ήταν καθοριστικές συνισταμένες για την πραγματοποίηση και τη συγγραφή του έργου αυτού. Με το ανθρώπινο ενδιαφέρον, την ελπίδα και το κουράγιο που μου μετέδιδε καθημερινά, καταφέραμε μαζί, ως ομάδα και με κοινό γνώμονα τη θέληση για την επιστήμη να ξεπεράσουμε κάθε εμπόδιο.

Επίσης, εκφράζω τις θερμές μου ευχαριστίες στον Καθηγητή κ. Κωνσταντίνο Δημόπουλο, για την στήριξη και την άψογη συνεργασία που βοήθησαν ουσιαστικά στην ολοκλήρωση της εργασίας αυτής.

Τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες εκφράζω στη Μεταδιδακτορική Ερευνήτρια Δρ. Κωνσταντίνα Νασοπούλου για την εξαιρετικά πολύτιμη βοήθεια, τις γνώσεις και τις συμβουλές της καθ' όλη τη διάρκεια της πραγματοποίησης του πειραματικού έργου της παρούσας εργασίας.

Τέλος, ευχαριστώ την οικογένειά μου, τους γονείς μου Γιώργο και Χαρά καθώς και τον αδερφό μου Βασίλη για την ηθική, ψυχολογική και οικονομική στήριξη, για τη δύναμη και την ελπίδα που μου δώσανε για να συνεχίσω να ονειρεύομαι και να πορεύομαι σε αυτό το δύσβατο ανηφόρι που το λένε «ζωή»!



## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....</b>	<b>23</b>
<b>1. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 : Μεσογειακή Διατροφή-Ψάρια και Θαλασσινά.....</b>	<b>25</b>
1.1. Εισαγωγή.....	25
1.2. Ο Ρόλος της Μεσογειακής Δίαιτας στην Πρόληψη Καρδιαγγειακών Νοσημάτων.....	26
1.3. Ο Ρόλος των Ψαριών και των Ιχθυελαίων σε Σχέση με την Αθηρογένεση.....	28
1.4. Χημική Σύσταση και Βιολογική Αξία Ιχθύων.....	29
1.4.1. Πρωτεΐνες.....	29
1.4.2. Υδατάνθρακες.....	30
1.4.3. Λιπαρά Οξέα.....	30
1.4.4. Ανόργανα Συστατικά.....	31
1.4.5. Βιταμίνες.....	31
1.4.6. Αζωτούχες Πτητικές Ενώσεις μη Πρωτεϊνικής Φύσεως.....	32
1.4.7. Νερό.....	33
1.4.8. Πτητικές Ενώσεις που Προσδίδουν Άρωμα στα Ψάρια.....	33
1.5. Η Τσιπούρα (Gilthead Seabream, <i>Sparus Aurata</i> ).....	35
1.5.1. Βασικά Χαρακτηριστικά Τσιπούρας.....	35
1.5.2. Διατροφική Αξία Τσιπούρας.....	37
<b>2. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Αθηροσκλήρωση- ο PAF ως Γενεσιουργό Αίτιο της Αθηρογένεσης.....</b>	<b>39</b>
2.1. Εισαγωγή.....	39
2.2. Επιδημιολογία της Αθηροσκλήρωσης.....	39
2.3. Παράγοντες Κινδύνου της Αθηροσκλήρωσης.....	40
2.4. Φυσιολογικό Τοίχωμα Αρτηρίας.....	41
2.5. Παθοφυσιολογία-Παθογένεια Αθηροσκλήρωσης.....	42
2.6. Θεωρία Οξειδωτικής Τροποποίησης.....	44
2.6.1. Σχηματισμός Αφρωδών Κυττάρων.....	44
2.6.2. Στάδια Οξείδωσης της LDL- Χοληστερόλης.....	45
2.7. Γενικά Στοιχεία για τον PAF.....	47

2.8.	Βιοσύνθεση του PAF.....	47
2.9.	Σχέση του PAF με την Αθηρογένεση.....	49
2.10.	Η Σχέση του PAF με την ox-LDL.....	50
2.11.	Ο Ρόλος της PAF-Ακετυλοϋδρολάσης.....	51
2.12.	Θεωρητικός Μηχανισμός Σχηματισμού Αθηρωματικής Πλάκας.....	51
<b>3.</b>	<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Ιχθυοκαλλιέργειες.....</b>	<b>55</b>
3.1.	Εισαγωγή.....	55
3.2.	Οι Υδατοκαλλιέργειες στην Ελλάδα.....	56
3.3.	Παραγωγικά Στάδια σε μια Τυπική Μονάδα Ιχθυοκαλλιέργειας.....	56
3.4.	Ιχθυοκαλλιέργεια Τσιπούρας.....	60
3.5.	Κύκλος Παραγωγής Τσιπούρας.....	61
3.6.	Ψάρια Ιχθυοτροφείου/Ελεύθερης Αλιείας- Επίδραση στον Ιστό.....	62
3.6.1.	Σύσταση Ιχθυοτροφής Ιχθυοκαλλιεργειών.....	62
3.6.2.	Διαφορές στην Περιεκτικότητα του Λίπους και των Λιπαρών Οξέων.....	63
<b>4.</b>	<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Θερμική Επεξεργασία – Ψήσιμο.....</b>	<b>69</b>
4.1.	Εισαγωγή.....	69
4.2.	Επίδραση του Ψησίματος στην Υφή.....	69
4.3.	Επίδραση του Ψησίματος στη Γεύση και το Άρωμα.....	70
4.4.	Επίδραση του Ψησίματος στη Διατροφική Αξία.....	71
<b>5.</b>	<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: Η θεωρία της Οργανοληπτικής Ανάλυσης.....</b>	<b>75</b>
5.1.	Αντίληψη του Αρώματος και της Γεύσης.....	75
5.2.	Ανάλυση των Οργανοληπτικών Χαρακτηριστικών.....	79
5.3.	Επιλογή και Εκπαίδευση των Συμμετεχόντων στη Διαδικασία της Περιγραφικής Ανάλυσης.....	80
5.4.	Η Επιλογή του Λεξιλογίου.....	82
5.5.	Μέθοδοι Περιγραφικής Οργανοληπτικής Ανάλυσης.....	82
5.6.	Διαφορές Τσιπούρας Ιχθυοτροφείου και Ελεύθερης Αλιείας στα Οργανοληπτικά Χαρακτηριστικά.....	86
<b>6.</b>	<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: Μέθοδοι.....</b>	<b>89</b>
6.1.	Εκχύλιση Λιποειδών κατά Bligh-Dyer.....	89
6.2.	Κατανομή Κατ' αντιρροή.....	90

6.3.	Αέρια Χρωματογραφία (G.C) Λιπαρών Οξέων Ψαριών.....	91
6.3.1.	Μέθοδος Εστεροποίησης Λιπαρών Οξέων.....	91
6.3.2.	Ποσοτικός Προσδιορισμός των Μεθυλεστέρων των Λιπαρών Οξέων από Τσιπούρα με Αέρια Χρωματογραφία (G.C).....	92
6.4.	Χρωματογραφία Λεπτής Στιβάδας (TLC) Λιποειδών.....	94
6.5.	Βιολογική Δοκιμασία Συσσώρευσης Πλυμένων Αιμοπεταλίων Κουνελιού.....	96
6.6.	Οργανοληπτική Αξιολόγηση.....	102
6.7.	Στατιστική Ανάλυση των Αποτελεσμάτων.....	102
<b>7.</b>	<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: Αποτελέσματα της Ποιοτικής και Ποσοτικής Μελέτης των TL των Δειγμάτων με Αέρια Χρωματογραφία (GC).....</b>	<b>103</b>
7.1.	Δειγματοληψία Ψαριών.....	103
7.2.	Πειραματική Πορεία Απομόνωσης Λιποειδικών Κλασμάτων.....	103
7.3.	Αποτελέσματα Ζυγίσεων των TL, PL, NL.....	105
7.4.	Αποτελέσματα της Ποιοτικής και Ποσοτικοποίησης Μελέτης των TL των Δειγμάτων με Αέρια Χρωματογραφία.....	105
<b>8.</b>	<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8: Αποτελέσματα Βιολογικής Δοκιμασίας Συσσώρευσης Πλυμένων Αιμοπεταλίων.....</b>	<b>115</b>
8.1.	Βιολογική Δραστικότητα των Ολικών Λιποειδών της Τσιπούρας.....	115
8.2.	Βιολογική Δράση των Πολικών Λιποειδικών Κλασμάτων της Τσιπούρας.....	116
<b>9.</b>	<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9: Οργανοληπτική Ανάλυση Ψαριών.....</b>	<b>121</b>
9.1	Μέθοδος Οργανοληπτικής Ανάλυσης.....	121
9.2	Οργανοληπτικές Διαφορές μεταξύ Ψημένης Συμβατικής και Εμπλουτισμένης Τσιπούρας.....	123
<b>10.</b>	<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10: Επίλογος.....</b>	<b>127</b>
<b>11.</b>	<b>ΠΙΝΑΚΑΣ ΟΡΟΛΟΓΙΑΣ.....</b>	<b>131</b>
<b>12.</b>	<b>ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ-ΑΡΤΙΚΟΛΕΞΑ-ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ.....</b>	<b>132</b>
<b>13.</b>	<b>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α.....</b>	<b>133</b>
<b>14.</b>	<b>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β.....</b>	<b>135</b>
<b>15.</b>	<b>ΑΝΑΦΟΡΕΣ.....</b>	<b>137</b>





## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1.1: Εξωτερική μορφολογία οστείχθους (τσιπούρα) (Παπαναστασίου, 1990).....	36
Σχήμα 2.1: Η χημική δομή του PAF.....	47
Σχήμα 2.2: Βιοσυνθετική πορεία του PAF.....	48
Σχήμα 2.3: Πιθανός μηχανισμός σχηματισμού αθηρωματικής πλάκας με τον PAF ως γενεσιουργό αίτιο.....	52
Σχήμα 3.1: Ελληνική Ιχθυοκαλλιέργεια: Πρωταθλήτρια Μεσογείου 2007.....	60
Σχήμα 6.1: Τρανσεστεροποίηση των τριαλογλυκερολών καταλυόμενη από βάση.....	91
Σχήμα 6.2: Ενεργοποίηση και συσώρευση των αιμοπεταλίων από τον PAF και απόδοση της καταγραφόμενης καμπύλης ως αύξησης της διαπερατότητας με το χρόνο.....	99
Σχήμα 7.1: Σχηματική αναπαράσταση της πειραματικής πορείας που ακολουθήθηκε.....	104
Σχήμα 7.2: Συγκεντρώσεις σε ppm, των λιπαρών οξέων που περιέχονται στα λιποειδικά κλάσματα των TL των δειγμάτων ΤΝΣ και ΤΨΣ αντίστοιχα.....	108
Σχήμα 7.3: Συγκεντρώσεις σε ppm, των λιπαρών οξέων που περιέχονται στα λιποειδικά κλάσματα των TL των δειγμάτων ΤΝΕ και ΤΨΕ αντίστοιχα.....	112
Σχήμα 7.4: Συγκεντρώσεις σε ppm, των λιπαρών οξέων που περιέχονται στα λιποειδικά κλάσματα των TL των δειγμάτων ΤΝΣ και ΤΝΕ αντίστοιχα.....	113
Σχήμα 7.5: Συγκεντρώσεις σε ppm, των λιπαρών οξέων που περιέχονται στα λιποειδικά κλάσματα των TL των δειγμάτων ΤΨΣ και ΤΨΕ αντίστοιχα.....	114
Σχήμα 8.1: Πολικά λιποειδικά κλάσματα ψημένης συμβατικής και εμπλουτισμένης τσιπούρας μετά από διαχωρισμό με TLC.....	117



## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1.1: Πυραμίδα της Μεσογειακής Διατροφής.....	26
Εικόνα 1.2: Τσιπούρα ( <i>Sparus Aurata</i> ).....	36
Εικόνα 2.1: Εγκάρσια και επιμήκης τομή μιας φυσιολογικής αρτηρίας.....	41
Εικόνα 2.2: Σχηματική απόδοση της υπεροξειδωσης των λιποειδών.....	45
Εικόνα 3.1: Πλωτοί ιχθυοκλωβοί εκτροφής.....	57
Εικόνα 3.2: Ο κύκλος παραγωγής της τσιπούρας ιχθυοτροφείου.....	61
Εικόνα 5.1: Η ανθρώπινη γλώσσα μπορεί να ανιχνεύσει τέσσερις διαφορετικές γεύσεις, πικρή, ξινή, γλυκιά, αλμυρή από τους αντίστοιχους γευστικούς κάλυκες που βρίσκονται σε συγκεκριμένα σημεία της γλώσσας.....	77
Εικόνα 5.2: Η αντίληψη της όσφρησης. Το κύριο οσφρητικό επιθήλιο. Εκτείνεται στην κορυφή της ρινικής κοιλότητας ενώ περιέχει περίπου ένα εκατομμύριο νευρώνες. Νευρικές ώσεις, δημιουργούμενες από οσμογόνα μόρια που δεσμεύονται σε υποδοχείς κροσσών, ταξιδεύουν προς τους αισθητικούς νευρώνες στον οσφρητικό βολβό.....	79
Εικόνα 9.1: Οργανοληπτικές διαφορές μεταξύ ψημένης συμβατικής και εμπλουτισμένης τσιπούρας. Α) Διαφορές ως προς την οσμή Β) Διαφορές ως προς τη γεύση Γ) Διαφορές ως προς την επίγευση.....	125
Εικόνα A1: Χρωματογράφημα των TL του δείγματος ΤΝΣ.....	133
Εικόνα A2: Χρωματογράφημα των TL του δείγματος ΤΨΣ.....	133
Εικόνα A3: Χρωματογράφημα των TL του δείγματος ΤΝΕ.....	134
Εικόνα A4: Χρωματογράφημα των TL του δείγματος ΤΨΕ.....	134



## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1.1: Περιεκτικότητα σε ανόργανα στοιχεία του βρώσιμου* τμήματος των ιχθύων. (Παπαναστασίου 1990).....	31
Πίνακας 1.2: Περιεκτικότητα σε βιταμίνες του βρώσιμου* τμήματος των ιχθύων (Παπαναστασίου 1990).....	32
Πίνακας 1.3: Πτητικές ενώσεις που συνεισφέρουν στο άρωμα της τσιπούρας ελεύθερης αλιείας.....	34
Πίνακας 1.4: Συστηματική κατάταξη τσιπούρας.....	35
Πίνακας 3.1. Τυπική χημική σύσταση ζωοτροφών-πρώτων υλών (g/kg ΞΟ) που χρησιμοποιούνται κατά την κατάρτιση σιτηρεσιών κυρίως σαρκοφάγων εκτρεφόμενων ιχθύων.....	58
Πίνακας 3.2. Μέσοι όροι επιπέδων (~% των ολικών λιπών) των σημαντικότερων λιπαρών οξέων διαφόρων ελαίων φυτικής προελεύσεως.....	59
Πίνακας 3.3: Παραγωγή τσιπούρας/λαβρακίου μεσογειακών χωρών (τόνοι).....	61
Πίνακας 3.4. Συνήθης σύσταση ξηρών ιχθυοτροφών για την τσιπούρα σε σχέση με τη διάμετρο του κόκκου της τροφής.....	63
Πίνακας 3.5: Παράδειγμα πίνακα διατροφής για ιχθύδια τσιπούρας. Ημερήσιοι ρυθμοί διατροφής σε σχέση με το βάρος και τη θερμοκρασία.....	63
Πίνακας 3.6: Σύσταση των λιπαρών οξέων τροφής τσιπούρας ιχθυοτροφείου και ελεύθερης αλιείας, εκφρασμένη σε εκατοστιαίο ποσοστό ολικών λιποειδών.....	64
Πίνακας 3.7: Χημική σύσταση ιστού από τσιπούρα ελεύθερης αλιείας και ιχθυοκαλλιέργειας ως προς τα βασικά συστατικά.....	66
Πίνακας 4.1: Αρώματα που παράγονται κατά το ψήσιμο (Andrian, 1982).....	71
Πίνακας 4.2: Απώλεια θειαμίνης κατά τη διάρκεια του ψησίματος (Farren 1955).....	72
Πίνακας 5.1: Πτητικές ενώσεις που προσδίδουν το άρωμα στην τσιπούρα ιχθυοτροφείου και ελεύθερης αλιείας.....	86
Πίνακας 6.2: Συγκέντρωση των λιπαρών οξέων 17:0 και 21:0 στα πρότυπα διαλύματα.....	93

Πίνακας 7.1: Ποσότητες TL, PL και NL που απομονώθηκαν από φιλέτο ιστού τσιπούρας.....	105
Πίνακας 7.2: Ποσοτικός προσδιορισμός των λιπαρών οξέων των TL του δείγματος ΤΝΣ.....	106
Πίνακας 7.3: Ποσοτικός προσδιορισμός των λιπαρών οξέων των TL του δείγματος ΤΨΣ.....	107
Πίνακας 7.4: Ποσοτικός προσδιορισμός των λιπαρών οξέων των TL του δείγματος ΤΝΕ.....	110
Πίνακας 7.5: Ποσοτικός προσδιορισμός των λιπαρών οξέων των TL του δείγματος ΤΨΕ.....	111
Πίνακας 8.1: <i>In vitro</i> βιολογικές δραστηριότητες των ολικών πολικών λιποειδών ψημένης συμβατικής και εμπλουτισμένης τσιπούρας.....	116
Πίνακας 8.2: <i>In vitro</i> βιολογικές δραστηριότητες των πολικών λιποειδών κλασμάτων ψημένης συμβατικής και εμπλουτισμένης τσιπούρας μετά από παρασκευαστική TLC.....	118
Πίνακας 9.1: Λεξιλόγιο ιδιοτήτων ψημένης συμβατικής και εμπλουτισμένης τσιπούρας.....	123
Πίνακας Β1: Ταυτοποίηση των κορυφών των TL του δείγματος ΤΝΣ σύμφωνα με τους χρόνους έκλουσης.....	135
Πίνακας Β2: Ταυτοποίηση των κορυφών των TL του δείγματος ΤΨΣ σύμφωνα με τους χρόνους έκλουσης.....	135
Πίνακας Β3: Ταυτοποίηση των κορυφών των TL του δείγματος ΤΝΕ σύμφωνα με τους χρόνους έκλουσης.....	136
Πίνακας Β4: Ταυτοποίηση των κορυφών των TL του δείγματος ΤΨΕ σύμφωνα με τους χρόνους έκλουσης.....	136

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Έρευνες που έχουν γίνει διεθνώς, χαρακτηρίζουν την Κρήτη ως το καλύτερο και πιο χαρακτηριστικό παράδειγμα μεσογειακής διατροφής. Αφού διαπίστωσαν πως οι κάτοικοι του νησιού, παρά τα υψηλά επίπεδα της χοληστερόλης στο ορό του αίματος τους έχουν το μικρότερο σε παγκόσμια κλίμακα ποσοστό θνησιμότητας από καρδιαγγειακά νοσήματα, οι επιστήμονες άρχισαν να αναζητούν την ταυτότητα της διατροφής που χάριζε και χαρίζει στους Κρητικούς αυτά τα εξαιρετικά ποσοστά καλής υγείας. Τα υποπροϊόντα της ελιάς μπορεί ενδεχομένως να δώσουν κάποιες απαντήσεις. Για το λόγο αυτό η μελέτη αυτή επικεντρώθηκε στον ελαιοπυρήνα και διαπίστωσε ότι τα πολικά λιποειδή του μπορούν να αναστέλλουν την ανάπτυξη της αθηροσκλήρωσης και κατά συνέπεια την εμφάνιση των καρδιαγγειακών παθήσεων. Παρά την πρόληψη, η καρδιαγγειακή νόσος παραμένει η κορυφαία παγκόσμια αιτία θανάτου και εγκεφαλικών επεισοδίων. Συνεπώς, η πρόληψη της αθηροσκλήρωσης, είναι ένας σημαντικός στόχος της σύγχρονης ιατρικής έρευνας και μια πρόκληση τόσο για τους επιστήμονες τροφίμων όσο και για τους διατροφολόγους.

Η αθηροσκλήρωση είναι μια χρόνια φλεγμονώδης πάθηση που προκαλείται από την εναπόθεση χοληστερόλης στον έσω χιτώνα των μεγάλων και μεσαίων αρτηριών που μπορεί να οδηγήσει σε οξείες κλινικές περιπτώσεις όπως θρόμβωση ή και ρήξη της αθηρωματικής πλάκας, στην οποία ο PAF (παράγοντας ενεργοποίησης αιμοπεταλίων) διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο<sup>1</sup>.

Από πολλές μελέτες έχει προκύψει ότι η κατανάλωση ψαριού δύο με τρεις φορές την εβδομάδα μπορεί να συμβάλει στην πρόληψη και να εξασθενίσει σημαντικά τον κίνδυνο των καρδιαγγειακών παθήσεων, του καρκίνου και άλλων αυτοάνοσων νοσημάτων<sup>2</sup>. Τα ευεργετικά οφέλη της συχνής κατανάλωσης ψαριών οδηγούν στη διαρκεί εξάπλωση των υδατοκαλλιεργειών προκειμένου να καλυφθούν οι ανάγκες του ολοένα αυξανόμενου πληθυσμού. Είναι σαφές ότι η ανάπτυξη της υδατοκαλλιέργειας εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη διαθεσιμότητα των ιχθυαλεύρων και του ιχθυελαίου. Ιχθυέλαια, που προέρχονται αποκλειστικά από ψάρια ανοιχτής θαλάσσης, χρησιμοποιούνται παραδοσιακά ως κύρια πηγή λιπιδίων στις ιχθυοτροφές. Αυτό δημιουργεί μια γενικότερη ανησυχία, δεδομένου ότι η ετήσια παραγωγή του ιχθυελαίου είναι αρκετά σταθερή και προέρχεται από μια πεπερασμένη πηγή<sup>3</sup>. Υπάρχει έτσι, μια αυξανόμενη ανάγκη στην βιομηχανία της ιχθυοκαλλιέργειας να βρουν και να

εφαρμόσουν βιώσιμες εναλλακτικές λύσεις τόσο για ιχθυέλαια, όσο και για παγκόσμια διάθεση ψαριών, που είναι η κύρια πηγή των ιχθυαλεύρων και του ιχθυελαίου. Η μεγάλη πρόκληση για την αναζήτηση υποκατάστατων είναι να αντικατασταθούν οι σημερινές πηγές λιπιδίων με άλλες που δεν προέρχονται από ψάρια αλλά ωστόσο παρέχουν τις ίδιες ιδιότητες και θρεπτικά συστατικά των ιχθυαλεύρων και των ιχθυελαίων, λαμβάνοντας ταυτόχρονα υπόψη την ευημερία των ψαριών αλλά και τα οικονομικά οφέλη. Τα τελευταία χρόνια, σημαντικές ερευνητικές προσπάθειες έχουν αφιερωθεί στην εξεύρεση κατάλληλων και βιώσιμων εναλλακτικών λύσεων για την υποκατάσταση του ιχθυελαίου από φυτικά έλαια<sup>4,5</sup>. Αυτή η υποκατάσταση έχει χρησιμοποιηθεί στη νέα γενιά των ιχθυοτροφών με ασήμαντη επίδραση στην απόδοση των ψαριών και την ποιότητα των ζωοτροφών, ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις έχει βελτιώσει τη διατροφική αξία της σάρκας των ψαριών.

Ο ελαιοπυρήνας είναι το κύριο στερεό παραπροϊόν της παραδοσιακής τριφασικής εκχύλισης του ελαιολάδου, ή αλλιώς στο στερεό υπόλειμμα της ελιάς. Αρκετές μελέτες σε λιπίδια ψαριών και τον ελαιοπυρήνα, έχουν δείξει ότι τα ψάρια και ο ελαιοπυρήνας έχουν βιοενεργά συστατικά με ανασταλτικές ιδιότητες κατά τη φλεγμονή που προκαλείται από τον PAF<sup>6</sup>. Οι προσπάθειές μας έχουν επικεντρωθεί πλέον προς την παραγωγή μιας τσιπούρας που έχει εκτραφεί με ιχθυοτροφή εμπλουτισμένη με ελαιοπυρήνα κατά το 8% με σκοπό τη μελέτη της θρεπτικής της αξίας έναντι του PAF, που προκαλείται από τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων και επομένως και της αθηροσκλήρωσης. Η ομάδα μας έχει δείξει ότι η τσιπούρα μπορεί να μεταβολίσει ικανοποιητικά τον ελαιοπυρήνα με αποτέλεσμα τα ψάρια να έχουν αυξημένη βιολογική δραστηριότητα κατά τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων και ως εκ τούτου καλύτερες καρδιοπροστατευτικές ιδιότητες<sup>7</sup>. Στόχος της συγκεκριμένης μελέτης είναι να αξιολογήσει τις οργανοληπτικές ιδιότητες (οσμή, γεύση και επίγευση) και τη θρεπτική αξία της εμπλουτισμένης με ελαιοπυρήνα τσιπούρας, σε αντίθεση με την τσιπούρα που έχει εκτραφεί με τη συμβατική ιχθυοτροφή.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

### Μεσογειακή Διατροφή – Ψάρια και Θαλασσινά

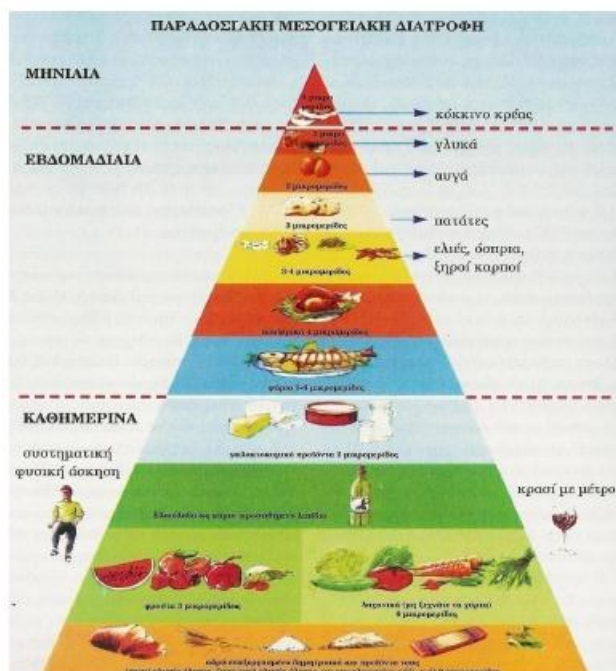
#### 1.1. Εισαγωγή

Η Μεσογειακή διατροφή έχει γίνει αντικείμενο πολλών επιστημονικών μελετών τα τελευταία χρόνια. Ερευνητές συσχετίζουν το συγκεκριμένο τρόπο διατροφής με ευεργετικά αποτελέσματα για την υγεία και την πρόληψη πληθώρας ασθενειών, όπως οι καρδιαγγειακές παθήσεις και ο καρκίνος. Παγκοσμίως, αναφέρεται ως ο 'χρυσός' κανόνας πάνω στον οποίο βασίζεται η υγιεινή διατροφή και έχει σχετιστεί με μειωμένα ποσοστά θνησιμότητας. Θεωρείται ότι ένα τέτοιο μοντέλο διατροφής θωρακίζει την υγεία μας από πολλούς κινδύνους και αποτελεί αναμφισβήτητα βασικό παράγοντα μακροζωίας και ευεξίας<sup>8,9</sup>.

Το Μεσογειακό πρότυπο διατροφής έγινε ευρύτερα γνωστό έπειτα από την παρατήρηση των διατροφικών συνηθειών των κατοίκων της Κρήτης και της Ν. Ιταλίας<sup>9</sup>. Όπως φαίνεται χαρακτηριστικά από την πυραμίδα της Μεσογειακής διατροφής, οι κυριότερες διατροφικές συνήθειες που προσδιορίζουν τη Μεσογειακή διατροφή είναι η συχνή κατανάλωση φρούτων, λαχανικών και δημητριακών, ο περιορισμός της κατανάλωσης κρέατος, η μέτρια κατανάλωση αυγών και γαλακτοκομικών και η είσοδος στο διαίτολόγιο των ψαριών και των θαλασσινών<sup>10</sup> (Εικόνα 1.1).

Το ψάρι είναι μια τροφή με σημαντική διατροφική αξία και είναι στενά συνδεδεμένο με την ελληνική διατροφή και παράδοση. Στην Πυραμίδα της Μεσογειακής διατροφής, το ψάρι έχει σημαντική θέση και καταναλώνεται σε ποσότητα 3-4 μικρομερίδων την εβδομάδα.

Σύμφωνα με στατιστικά στοιχεία ο μέσος Έλληνας καταναλώνει 12 κιλά ψάρι το χρόνο κατέχοντας τη δεύτερη θέση σε πανευρωπαϊκό επίπεδο (όσον αφορά το κόκκινο κρέας, είμαστε στον ευρωπαϊκό μέσο όρο με 88 κιλά ανά έτος). Στην ελληνική αγορά μπορούμε να βρούμε άφθονα ψάρια, από αφρόψαρα (γαύρο, σαρδέλα), σκουμπρί, τόνο, μέχρι θαλασσινά όπως χταπόδια, καλαμάρια σουπιές. Όλα αυτά τα ψάρια και θαλασσινά έχουν μεγάλη διατροφική αξία.



**Εικόνα 1.1** Πυραμίδα της Μεσογειακής Διατροφής. Αναπτύχθηκε από τον οργανισμό “Oldways Preservation and Exchange Trust” και τη σχολή δημόσιας υγείας του Παν/μιου Harvard, με βάση την παραδοσιακή μεσογειακή δίαιτα. Παρουσιάστηκε στα πλαίσια του Διεθνούς συνεδρίου δίαιτες της Μεσογείου (International Conference on the Diet of the Mediterranean), 1993.<sup>11</sup>

## 1.2. Ο Ρόλος της Μεσογειακής Δίαιτας στην Πρόληψη Καρδιαγγειακών Νοσημάτων

Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO) τα καρδιαγγειακά νοσήματα και τα εγκεφαλικά επεισόδια αποτελούν πραγματική μάστιγα σε όλο τον πλανήτη. Ευθύνονται για εκατομμύρια θανάτων κάθε χρόνο. Τα κράτη ξοδεύουν τεράστια ποσά για την θεραπεία των καρδιοπαθειών, ενώ θα μπορούσαν να αποφευχθούν σε ένα μεγάλο βαθμό με την σωστή ενημέρωση των ανθρώπων για ένα πιο υγιεινό τρόπο διατροφής.

Μία από τις πρώτες μελέτες που συσχέτισαν την αυξημένη χοληστερόλη με τη στεφανιαία νόσο διεξήχθη μετά τον Β' Παγκόσμιο Πόλεμο σε μια μικρή πόλη κοντά στην Βοστώνη, στις ΗΠΑ. Η πόλη λεγόταν Φράμιγχαμ και όλοι οι κάτοικοί της εξετάζονταν κάθε λίγα χρόνια, για να διαπιστωθεί αν είχαν αναπτύξει στεφανιαία νόσο ή όχι. Η ισχυρή σχέση μεταξύ αυξημένης χοληστερόλης και στεφανιαίας νόσου έγινε αντιληπτή στις αρχές της μελέτης - όσο υψηλότερη ήταν η χοληστερόλη τόσο μεγαλύτερος ο κίνδυνος αναπτύξεως εμφράγματος. Η μελέτη Φράμιγχαμ κατέδειξε ακόμη τη σημασία άλλων παραγόντων κινδύνου, όπως του καπνίσματος, της υπερέτασσης και του διαβήτη,

και αυτοί οι παράγοντες κινδύνου επιβεβαιώθηκαν κατά τη διάρκεια των 40 ετών που οι ερευνητές παρακολουθούσαν τους εθελοντές τους. Η μελέτη συνεχίζεται ακόμα<sup>12</sup>.

Η μελέτη των 7 χωρών αποτελεί επίσης μια από τις σημαντικότερες έρευνες που συνέβαλλαν στην κατανόηση της επίδρασης της Μεσογειακής διατροφής στην ολική και καρδιαγγειακή θνησιμότητα. Η έρευνα των Επτά Χωρών ξεκίνησε στα τέλη της δεκαετίας του '40 από τις ΗΠΑ - εμπνευστής και δημιουργός της ήταν ο διάσημος καθηγητής Ανσελ Κις, ο «Mr Cholesterol» όπως τον αποκαλούσαν οι Αμερικανοί, καθώς ήταν ο πρώτος εκφραστής της σύνδεσης «διατροφή-καρδιά» αλλά και εκείνης μεταξύ της χοληστερόλης με τη στεφανιαία νόσο. Στη συνέχεια συμπεριέλαβε άλλες χώρες με διαφορετικά χαρακτηριστικά, διαφορετικό τρόπο ζωής. Αποτελεί μια κλασική έρευνα-ορόσημο, τη μεγαλύτερη σε διάρκεια από όλες του είδους της, μαζί με εκείνη του Φράμιγγαμ των ΗΠΑ. Κάλυψε αρχής 12.500 άτομα μεταξύ 40 και 60 ετών. Παρακολουθήθηκε η υγεία των εθελοντών, κυρίως σε ότι αφορούσε τα καρδιαγγειακά νοσήματα αλλά και τις κακοήθειες. Σε μετέπειτα στάδιο, στην έρευνα συμπεριλήφθηκε και η Ελλάδα<sup>13</sup>.

Από την έρευνα αναγνωρίστηκε ο όρος της μεσογειακής δίαιτας και αυτός του παράγοντα κινδύνου. Ο όρος αυτός πρωτοεμφανίστηκε το 1961 συγχρόνως σε δύο έγκριτα αμερικανικά επιστημονικά έντυπα: στο «JAMA» («Journal of the American Medical Association») και στο «Circulation».

Η Αμερικανική καρδιολογική ένωση (AHA-American Heart Association) έχει προτείνει τη μεσογειακή δίαιτα, ως συστατικό της θεραπείας για ασθενείς που διατρέχουν κίνδυνο στεφανιαίων καρδιαγγειακών παθήσεων<sup>14</sup>.

Κυριότερες συνιστώσες της δίαιτας αυτής είναι η μείωση του ποσοστού των διατροφικών θερμίδων προερχόμενες από λίπος και ιδιαίτερα μείωση σε κορεσμένα λίπη και χοληστερόλη. Υπάρχουν επίσης ειδικές συστάσεις για την αύξηση της πρόσληψης φρούτων, λαχανικών, καθώς και δημητριακών.

Σήμερα, επειδή όλο και περισσότερο γίνεται αποδεκτή η άποψη ότι η γενεσιουργός αιτία της αθηρωμάτωσης είναι ο φλεγμονώδης Παράγοντας Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων (PAF-Platelet Activating Factor), αναζητούνται συνεχώς αναστολείς του PAF σε τρόφιμα που συμπεριλαμβάνονται στη μεσογειακή δίαιτα, αφού αυτή παίζει προστατευτικό ρόλο στη δημιουργία της αθηρωμάτωσης<sup>1</sup>.

### 1.3. Ο Ρόλος των Ψαριών και των Ιχθυελαίων σε Σχέση με την Αθηρογένεση

Τα ψάρια είναι μία πολύτιμη πηγή πρωτεϊνών και κατέχουν σημαντική θέση στη διατροφική πυραμίδα της Μεσογειακής δίαιτας.

Επιπρόσθετα, τα ψάρια και τα ιχθυέλαια, βασικά συστατικά της μεσογειακής διατροφής, αποτελούν πλούσια πηγή ω-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFA) και κυρίως του εικοσιδυεξαενοϊκού (DHA, C22:6) και εικοσιπενταενοϊκού οξέος (EPA, C20:5), τα οποία περιέχονται στα λιποειδή των θαλασσινών και μάλιστα σε συγκεντρώσεις 10-100 φορές μεγαλύτερες από ότι σε άλλα τρόφιμα, όπως φρούτα, λαχανικά, καρύδια, λιναρόσπορο κ.α.<sup>15</sup> Σύμφωνα με μελέτες, τα λιποειδή των ψαριών έχουν προστατευτική δράση έναντι των καρδιαγγειακών παθήσεων<sup>16</sup>, της ρευματοειδούς αρθρίτιδας, του καρκίνου, του διαβήτη τύπου II, της κατάθλιψης και της σχιζοφρένειας. Όσον αφορά την καρδιοπροστατευτική τους δράση, μειώνουν σημαντικά τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων στο αίμα, αυξάνουν τα επίπεδα της «καλής» χοληστερόλης HDL και ελαττώνουν τα επίπεδα της «κακής» χοληστερόλης LDL στο αίμα. Επίσης προϊόντα του μεταβολισμού των λιπαρών οξέων έχουν ισχυρή δράση έναντι της αρτηριοσκλήρυνσης και των θρομβώσεων.

Σημαντικός αριθμός μελετών, επιδημιολογικών και κλινικών, έχουν γίνει όσον αφορά στο ρόλο που παίζουν τα ψάρια και τα ιχθυέλαια, ως συστατικά της διατροφής του ανθρώπου, στην αθηρογένεση. Τα ω-3 λιπαρά οξέα έχουν σχετιστεί με μειωμένο κίνδυνο στεφανιαίας νόσου, καθώς και με μείωση στη θνησιμότητα λόγω της ασθένειας<sup>17,18</sup>.

Αποτελέσματα της μελέτης δευτερογενούς πρόσληψης Lyon Diet Heart Study συσχέτισαν την πρόσληψη α- λινολενικού οξέος με μικρότερο αριθμό στεφανιαίων επεισοδίων<sup>19</sup>, ενώ η μελέτη DART<sup>20</sup> (Diet And Reinfraction Trial) στην οποία πήραν μέρος 2033 άντρες με πρόσφατο έμφραγμα του μυοκαρδίου, έδειξε ότι οι ασθενείς που καταλάωναν δύο γεύματα ψαριού την εβδομάδα ή κάψουλες ιχθυελαίου, που αντιστοιχούν σε 1,5 g ψαριού/ ημέρα, εμφάνισαν σχετική μείωση της ολικής θνησιμότητας κατά 29%, η οποία οφειλόταν κυρίως στη μείωση των θανάτων από καρδιαγγειακές παθήσεις.

Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι η διατροφή του ανθρώπου με ιχθυέλαια στην υποτριγλυκεριδαιμία, δηλαδή στην ικανότητα να ελαττώνει τα τριγλυκερίδια στο αίμα, να μειώνει την πίεση του αίματος σε υπερτασικούς καθώς και το ιξώδες του αίματος, προτείνοντας ότι τα ιχθυέλαια έχουν αντιαθηρογενετικές ιδιότητες<sup>21</sup>.

Άλλη *in vivo* μελέτη που βρίσκεται σε συμφωνία με τις προηγούμενες κλινικές μελέτες για τα οφέλη των ιχθυελαίων στην αντιμετώπιση των καρδιαγγειακών νοσημάτων, είναι της Nasoroulou *et al*<sup>6</sup>. Ειδικότερα, κουνέλια τα οποία τρέφονταν για 45 μέρες με αθηρογόνο δίαιτα εμπλουτισμένη με πολικά λιποειδή σπιπούρας, εμφάνισαν σε σημαντικό βαθμό μειωμένο πάχος και έκταση της αθηρωματικής πλάκας, σε σχέση με τα ζωικά πρότυπα που τρέφονταν μόνο με αθηρογόνο δίαιτα, καθώς και αναστολή της ανάπτυξης της αθηρωματικής πλάκας κατά 75% ως προς το πάχος της βλάβης και 73% ως προς την έκταση της βλάβης.

#### **1.4. Χημική Σύσταση και Βιολογική Αξία Ιχθύων**

Η χημική σύσταση της σάρκας των ιχθύων χαρακτηρίζεται από υψηλή περιεκτικότητα πρωτεϊνών, ποικίλλουσα περιεκτικότητα σε λίπος, ασήμαντη ποσότητα υδατανθράκων (κυρίως γλυκογόνο), ανόργανα άλατα, βιταμίνες, ένζυμα και πλήθος ιχνοστοιχείων (κυρίως μαγγάνιο, μολυβδαίνιο, ιώδιο, ψευδάργυρο, χαλκό κοβάλτιο) και επηρεάζεται σημαντικά από το είδος, το φύλο, την ηλικία, το φυσικό περιβάλλον στο οποίο ζουν (βιότοπος), την εποχή αλίευσης, τη διατροφή και το τμήμα του σώματός τους.

##### **1.4.1. Πρωτεΐνες**

Οι πρωτεΐνες των ψαριών και των θαλασσινών είναι υψηλής βιολογικής σημασίας και παρουσιάζουν εξαιρετική ευπεπτότητα. Βρίσκονται σε ποσοστό 18-21% περίπου<sup>22,23,24</sup> και η συγκέντρωσή τους είναι ανεξάρτητη της διατροφής του ψαριού. Η περιεκτικότητα ωστόσο των πρωτεϊνών του ιστού των ψαριών αυξάνεται με το μέγεθος του ψαριού, ενώ μειώνεται κατά την αναπαραγωγική περίοδο<sup>25</sup>. Οι πρωτεΐνες του ιστού των ψαριών αποτελούνται από 20-25 αμινοξέα περίπου, εκ των οποίων τα απαραίτητα αμινοξέα που έχουν ανιχνευθεί είναι η αργινίνη, η ιστοιδίνη, η ισολευκίνη, η λευκίνη, η λυσίνη, η μεθειονίνη, η φαινυλαλανίνη, η θρεονίνη, η θρυπτοφάνη και η βαλίνη, ενώ τα μη απαραίτητα αμινοξέα που έχουν ανιχνευθεί είναι η αλανίνη, η κυστεΐνη, η ασπαραγίνη, το ασπαραγινικό οξύ, η γλουταμίνη, το γλουταμινικό οξύ, η γλυκίνη, η υδροξυπρολίνη, η προλίνη, η σερίνη και η τυροσίνη<sup>26</sup>.

Μερικές από τις πρωτεΐνες που υπάρχουν στον ιστό των ψαριών είναι το κολλαγόνο, η ζελατίνη και η μυοσίνη<sup>27</sup>.

Το κολλαγόνο των ψαριών παρουσιάζει δομικές διαφορές ενώ σε κάποια είδη έχουν απομονωθεί μέχρι και τρεις διαφορετικές αλυσίδες α με παραπλήσιο βέβαια μοριακό βάρος. Επίσης έχει βρεθεί πως εκτός από τις δομικές διαφορές, το κολλαγόνο παρουσιάζει και διαφορές ως προς τη συγκέντρωση των αμινοξέων και συγκεκριμένα

με τα επίπεδα προλίνης και υδροξυπρολίνης να διαφέρουν αισθητά από είδος σε είδος<sup>28</sup>.

Ενδεικτικά, 100 g από οποιοδήποτε σχεδόν ψάρι, προσφέρει περίπου το 1/3 της συνιστώμενης ημερήσιας ποσότητας πρωτεϊνών για έναν υγιή ενήλικα.

#### **1.4.2. Υδατάνθρακες**

Οι ιχθύες έχουν πολύ μικρή περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες (0,04-1,69%), δεδομένου ότι ο οργανισμός τους επενδύει ενεργειακά κυρίως στα λίπη και κατά δεύτερο λόγο στις πρωτεΐνες. Η περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες ποικίλει ανάλογα το είδος, την ηλικία, και τη διατροφή του ψαριού. Το γλυκογόνο είναι ο κυριότερος υδατάνθρακας που ανιχνεύεται στα ψάρια<sup>29</sup>.

#### **1.4.3. Λιπαρά Οξέα**

Η περιεκτικότητα των ψαριών σε λίπη παρουσιάζει σημαντικές διακυμάνσεις, ανάλογα με το είδος και την εποχή του έτους. Έτσι τα ψάρια, ανάλογα με την περιεκτικότητά τους σε λίπος διακρίνονται σε λιπαρά, ημιλιπαρά και άπαχα. Έχουμε ψάρια με υψηλή περιεκτικότητα λίπους με ποσοστό >15% με κύριους αντιπρόσωπους τη σαρδέλα, την πέστροφα και τα χέλια, ψάρια με μέτρια περιεκτικότητα λίπους με ποσοστό 5-15% με κύριους αντιπρόσωπους το σολομό, το σκουμπρί τον κέφαλο και τη ρέγγα και με χαμηλή περιεκτικότητα λίπους με ποσοστό <5% με κύριους αντιπρόσωπους τον τόνο, τον μπακαλιάρο, την πέρκα, τη γλώσσα και τη τσιπούρα.

Το λίπος των ψαριών αποτελείται από τριγλυκερίδια, ελεύθερα λιπαρά οξέα (f-FA), χοληστερόλη καθώς και από φωσφολιποειδή, όπως φωσφατιδυλοχολίνη (PC), φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη (PE), φωσφατιδυλοϊνositόλη (PI), φωσφατιδυλοσερίνη (PS), σφιγγομυελίνη (SM), φωσφατιδικό οξύ και καρδιολιπίνη (CARD)<sup>26</sup>.

Τα λιπαρά ψάρια και θαλασσινά περιέχουν μια από τις δύο οικογένειες λιπαρών οξέων που ο οργανισμός αδυνατεί να παραγάγει μόνος του, την ομάδα των ωμέγα-3. Τα ω-3 είναι πολυακόρεστα λιπαρά οξέα που προστατεύουν και συμβάλλουν στην πρόληψη και ρύθμιση ασθενειών όπως η στεφανιαία νόσος, το εγκεφαλικό επεισόδιο, οι ανωμαλίες του ανοσοποιητικού και του πεπτικού συστήματος, ο καρκίνος του μαστού, ο προστάτης κτο. Παράλληλα, συμβάλλουν στην ανάπτυξη, στην καλή λειτουργία του εγκεφάλου και γενικότερα του νευρικού συστήματος και στην καλύτερη υφή και προστασία του δέρματος<sup>29</sup>.

#### 1.4.4. Ανόργανα Συστατικά

Η κατανάλωση ψαριών ενισχύει τον ανθρώπινο οργανισμό με ουσιώδη μικροστοιχεία. Τα ψάρια αποτελούν καλή πηγή ασβεστίου, φωσφόρου, ιωδίου, απαραίτητο για την ομαλή λειτουργία του θυρεοειδούς αδένος, σιδήρου απαραίτητο για τη σύνθεση της αιμοσφαιρίνης, μαγνησίου, ψευδαργύρου που είναι συστατικό πολλών ενζύμων, μαγγανίου, που συμμετέχει σε πολλές μεταβολικές αντιδράσεις, καλίου που είναι απαραίτητο για τη λειτουργία του μυϊκού και νευρικού συστήματος καθώς και σεληνίου που έχει έντονη αντιοξειδωτική δράση<sup>29</sup> (Πίνακας 1.1 ).

**Πίνακας 1.1. Περιεκτικότητα σε ανόργανα στοιχεία του βρώσιμου\* τμήματος των ιχθύων (Παπαναστασίου 1990)**

Ανόργανα άλατα	Μέση περιεκτικότητα (mg/100g)
Κάλιο	300
Χλώριο	200
Φώσφορος	200
Θείο	200
Νάτριο	63
Μαγνήσιο	25
Ασβέστιο	15
Σίδηρος	1,5
Μαγγάνιο	1,0
Ψευδάργυρος	1,0
Φθόριο	0,5
Αρσενικό	0,4
Χαλκός	0,1
Ιώδιο	0,1

\*Ως βρώσιμο τμήμα των ιχθύων νοείται το ελεύθερο δέρματος και οστών κρέας.

#### 1.4.5. Βιταμίνες

Τα ψάρια αποτελούν σημαντική πηγή λιποδιαλυτών βιταμινών, κυρίως βιταμίνης Α (π.χ. σολομός, ξιφίας), που έχει άμεση σχέση με την όραση αφού συμβάλλει στη φυσιολογική λειτουργία των ματιών, βιταμίνης D, υπεύθυνη για την αύξηση και τον εμπλουτισμό των οστών και των δοντιών αλλά και της απορρόφησης ασβεστίου και φωσφόρου. Οι βιταμίνες Α και D βρίσκονται κυρίως στα λιπαρά ψάρια και στο ήπαρ άλλων ψαριών όπου υπάρχουν και μικρές ποσότητες βιταμίνης Ε. Παρέχουν επίσης βιταμίνες του συμπλέγματος Β (Β1, Β2, νιασίνη, Β12), σημαντικές για το μεταβολισμό των υδατανθράκων, την υγεία των ερυθρών αιμοσφαιρίων και τη σωστή λειτουργία και ανάπτυξη του νευρικού συστήματος. Εξέχουσα θέση κατέχει η βιταμίνη Β6, η οποία είναι απαραίτητη για τη σύνθεση αμινοξέων και την παραγωγή ενέργειας. Ο μυϊκός ιστός των ψαριών δεν περιέχει βιταμίνη C, ωστόσο το συκώτι τους και τα αυγά τους

περιέχουν περίπου 20mg/100 g, ποσότητα επαρκής για την θρεπτική κάλυψη πληθυσμιακών ομάδων όπως οι Εσκιμώοι που κατά βάση τρέφονται με ψάρια<sup>29</sup> (Πίνακας 1.2).

**Πίνακας 1.2. Περιεκτικότητα σε βιταμίνες του βρώσιμου\* τμήματος των ιχθύων (Παπαναστασίου 1990)**

Βιταμίνες	Μέση περιεκτικότητα (μg/100g)
Βιταμίνη Α <sup>(1)</sup>	25
Βιταμίνη Β1 (θειαμίνη)	50
Βιταμίνη Β2 (ριβοφλαβίνη)	120
Νικοτινικό οξύ	3
Βιταμίνη Β12	1
Παντοθενικό οξύ	0,5
Πυριδοξίνη	500
Βιοτίνη	5
Φολικό οξύ	80
Βιταμίνη C	3
Βιταμίνη D <sup>(1)</sup>	15
Βιταμίνη Ε <sup>(1)</sup>	12

\*Ως βρώσιμο τμήμα των ιχθύων νοείται το ελεύθερο δέρματος και οστών κρέας

<sup>(1)</sup> για ιχθύες με μέση ή υψηλή λιποπεριεκτικότητα

#### **1.4.6. Αζωτούχες Ενώσεις μη Πρωτεϊνικής Φύσεως**

Οι πτητικές αζωτούχες ενώσεις αντιπροσωπεύονται κυρίως από την αμμωνία (NH<sub>3</sub>), τη διμεθυλαμίνη (dimethylamine, DMA) και την τριμεθυλαμίνη (trimethylamine, TMA). Η διμεθυλαμίνη και η τριμεθυλαμίνη αποτελούν προϊόντα διάσπασης του οξειδίου της τριμεθυλαμίνης (trimethylamine oxide TMAO), ενός βασικού συστατικού των ψαριών με ωσμωροθμιστική δράση. Η διμεθυλαμίνη παράγεται κυρίως από ενδογενή ένζυμα, ενώ η τριμεθυλαμίνη από βακτηριακά ένζυμα. Οι συνολικές πτητικές αζωτούχες βάσεις (total volatile basic nitrogen, TVB-N), αντιπροσωπεύουν το περιεχόμενο σε αμμωνία, διμεθυλαμίνη, τριμεθυλαμίνη, οξείδιο τη τριμεθυλαμίνης και άλλα βασικά αζωτούχα συστατικά, όπως την ουρία, την κρεατίνη, την κρατινίνη και τα ελεύθερα αμινοξέα. Η ποσότητα των ενώσεων αυτών ποικίλει από είδος σε είδος και κάποιες από αυτές είναι παράγωγα άλλων μεταβολικών αντιδράσεων<sup>27</sup>. Επίσης δύναται να παράγονται μετά τον θάνατο των ψαριών ή η ποσότητα αυτών να αυξάνεται κατά την αποθήκευση όπως για παράδειγμα συμβαίνει με την ουρία. Η ουρία, όντας μία δύσοσμη ένωση και ξέροντας εκ των προτέρων ότι η περιεκτικότητά της αυξάνεται σταδιακά με το χρόνο αποθήκευσης, αποτελεί καλό δείκτη φρεσκάδας για τα ψάρια.



#### 1.4.7. Νερό

Το νερό είναι το στοιχείο με τη μεγαλύτερη αφθονία στον ιστό των ψαριών και των θαλασσινών. Η περιεκτικότητά του είναι αντιστρόφως ανάλογη προς την ποσότητα του λίπους, δηλαδή περισσότερο νερό, λιγότερο λίπος και το αντίστροφο. Το περιεχόμενο νερό συνήθως κυμαίνεται σε ποσοστά της τάξεως του 70-80%. Η μεγάλη περιεκτικότητα του νερού στα ψάρια επηρεάζει σημαντικά τα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά. Συγκεκριμένα καθιστά τον ιστό τους πιο ζουμερό λόγω του ότι το νερό δεσμεύεται από τις πρωτεΐνες. Ειδικότερα, η τριχοειδής σύνδεση του νερού επηρεάζει τις οργανοληπτικές ιδιότητες καθώς το χαλαρά δεσμευμένο νερό συγκεντρώνεται στους μεγάλους πόρους της σάρκας του ψαριού και συνεισφέρει στην απελευθέρωση της αίσθησης του «ζουμερού». Η αίσθηση αυτή σχετίζεται με την εντύπωση της ροής του νερού από τους πόρους της σάρκας του ψαριού καθώς αυτή πιέζεται από τα δόντια <sup>27</sup>.

Η χημική σύσταση των ψαριών διαφέρει από είδος σε είδος αλλά και σε άτομα του ίδιου είδους, γεγονός που οφείλεται στην εποχή <sup>15,30-32</sup>, τη θερμοκρασία των υδάτων <sup>30</sup>, την ηλικία, το φύλο, τη φάση του αναπαραγωγικού κύκλου στην οποία βρίσκονται και μεγάλο ρόλο έχει η γεωγραφική τοποθεσία <sup>15,31,32</sup>. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρούμε αυξημένα ποσά πρωτεΐνης και λίπους σε ιστούς ψαριών μεγαλύτερου μεγέθους και μεγαλύτερα ποσά λίπους να συσσωρεύονται σε ψάρια που ευδοκιμούν σε ύδατα με υψηλές θερμοκρασίες έναντι αυτών που ευδοκιμούν σε ύδατα χαμηλότερων θερμοκρασιών. Επίσης, κάποια είδη, όπως ο σολομός, διακόπτουν την πρόσληψη τροφής κατά την αναπαραγωγική περίοδο με αποτέλεσμα να μειώνεται η αποθήκευση λίπους μιας και δεν υπάρχει πρόσληψη, και το ήδη υπάρχον λίπος χρησιμοποιείται για την παραγωγή ενέργειας. Ταυτόχρονη μείωση έχουμε και στις πρωτεΐνες στους ιστούς του σολομού για τον ίδιο ακριβώς λόγο.

#### 1.4.8. Πτητικές Ενώσεις που Προσδίδουν Άρωμα στα Ψάρια

Τα ωμά ψάρια έχουν γενικά ασθενή οσμή και χαρακτηρίζονται από γλυκές, μαλακές, πράσινες νότες φυτού και μεταλλικό άρωμα ψαριού <sup>33,34</sup>. Μερικές από τις πτητικές ενώσεις που συνεισφέρουν στο άρωμα, προέρχονται από ενζυμική οξειδωση ή αυτοοξειδωση των λιποειδών <sup>26,27,28</sup>. Για παράδειγμα, οι καρβονυλικές ενώσεις με 5, 6, 8, 9, και 11 άτομα άνθρακα προέρχονται από ενζυμική οξειδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, ενώ η αυτοοξειδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, παράγει καρβονυλικές ενώσεις με 6, 7, 8, και 10 άτομα άνθρακα <sup>33,34,35</sup>. Επιπλέοντα ω-3 και ω-6 PUFA παράγουν διαφορετικές πτητικές ενώσεις που καθορίζουν το άρωμα <sup>36,37</sup>. Εκτός από τις παραπάνω ενώσεις στο άρωμα των ψαριών συνεισφέρουν και αρωματικές

ενώσεις καθώς και τερπένια<sup>24</sup>. Σε τσιπούρα ελεύθερης αλιείας έχουν ανιχνευτεί τέτοιες πτητικές ενώσεις, οι οποίες αναφέρονται αναλυτικά στον παρακάτω πίνακα<sup>24</sup>.

**Πίνακας 1.3. Πτητικές ενώσεις που συνεισφέρουν στο άρωμα της τσιπούρας ελεύθερης αλιείας<sup>24</sup>**

Αλκοόλες		
Βουταν-1-όλη	1-Πεντεν-3-όλη	Επταν-1-όλη
3-μεθυλοβουταν-1-όλη	Εξαν-1-όλη	1-Οκτεν-3-όλη
Πενταν-1-όλη	2-αιθυλεξαν-1-όλη	Εννεα-1-όλη
2-Πεντεν-1-όλη		
Αλδεΐδες		
2-μεθυλοβουταν-1-άλη	2,4-επταδιεν-1-άλη	2-εννεα-1-άλη
3-μεθυλοβουταν-1-άλη	Εννεα-1-άλη	Βενζαλδεΐδη
Εξαν-1-άλη	οκταν-1-άλη	
Κετόνες		
Προπαν-2-όνη	6-μεθυλο-5-επτεν-2-όνη	Εννεα-2-όνη
Βουταν-2,3-διόνη	Οκταν-2-όνη	Δεκαν-2-όνη
Επταν-2-όνη	3,5-οκταδιεν-2-όνη	Εντεκαν-2-όνη
Αρωματικές Ενώσεις		
Τολουόλιο	ο-ξυλόλιο	1,3,5-τριμέθυλοβενζόλιο
Αιθυλοβενζόλιο	1-αιθυλ-2-μεθυλοβενζόλιο	1,4-διχλωροβενζόλιο
Προπυλοβενζόλιο	1-αιθυλ-3-μεθυλοβενζόλιο	Ναφθαλίνιο
p-ξυλόλιο	1-αιθυλ-2,4-διμεθυλοβενζόλιο	Στυρένιο
m-ξυλόλιο	1,2,4-τριμεθυλοβενζόλιο	
Τερπένια		
α-πινένιο (τερεβινθέλαιο)	Μυρκένιο (αιθέριο έλαιο της δάφνης)	Καμφορά
β-πινένιο	Λεμονένιο (αιθέριο έλαιο των εσπεριδοειδών)	

Οι πτητικές αλκοόλες προσδίδουν ευχάριστο άρωμα και συγκεκριμένα εκείνες με εννέα άτομα άνθρακα προσδίδουν άρωμα πεπτονιού ή αγγουριού στα θαλασσινά<sup>24</sup>, ενώ οι κετόνες, όπως οι μεθυλοκετόνες και συγκεκριμένα η 2-επτανόνη και η 2-οκτανόνη έχουν έντονο άρωμα φρούτου και δίνουν όλο και πιο λουλουδιασμένο χαρακτήρα, όσο αυξάνει το μήκος της ανθρακικής αλυσίδας. Γενικά οι καρβονυλικές ενώσεις (αλδεΐδες, κετόνες) συνεισφέρουν περισσότερο στο συνολικό άρωμα φρεσκάδας από ότι οι αλκοόλες, λόγω του χαμηλότερου ορίου ανίχνευσης<sup>35</sup>.

Στην τσιπούρα ανιχνεύτηκαν επιπλέον 12 αρωματικές ενώσεις<sup>24</sup>. Η προέλευση των ενώσεων αυτών δεν είναι σαφής, αλλά φαίνεται να προέρχονται από το περιβάλλον. Κατά συνέπεια μπορεί να θεωρηθεί ότι οι ενώσεις αυτές υπάρχουν στον ιστό του

ψαριού μέσω της διατροφής του. Κάποιοι ερευνητές θεωρούν ότι το διμεθυλοβενζόλιο, τριμεθυλοβενζόλιο, αιθυλοβενζόλιο και τολουόλιο μπορούν να προκύψουν από θερμική αποικοδόμηση των σακχάρων ή των αμινοξέων, ενώ άλλοι ερευνητές προτείνουν τα καρτενοειδή ως πρόδρομες ενώσεις.

Επιπλέον, στην τσιπούρα ελεύθερης αλιείας ανιχνεύτηκαν και επτά τερπένια<sup>24</sup>. Οι ενώσεις αυτές αναφέρονται ότι παράγονται φυσικά και περιέχονται σε αιθέρια έλαια προσδίδοντας άρωμα πεύκου, άρωμα κωνοφόρων, άρωμα αγγουριού και γλυκό άρωμα λεμονιού<sup>24</sup>.

Τέλος, οι πτητικές θειούχες ενώσεις συνδέονται κυρίως με την αλλοίωση των ψαριών και έχουν πολύ ισχυρή επίδραση στο συνολικό άρωμα, ακόμα και αν βρίσκονται σε πολύ μικρή συγκέντρωση, λόγω του χαμηλού ορίου ανίχνευσης.

### 1.5. Η Τσιπούρα (Gilthead Sea Bream, *Sparus Aurata*)

Η συστηματική κατάταξη της τσιπούρας είναι η εξής:

Πίνακας 1.4. Συστηματική κατάταξη τσιπούρας

<b>ΟΜΟΤΑΞΙΑ</b>	<i>OSTEICHTHYES</i>
<b>ΥΠΕΡΤΑΞΗ</b>	<i>TELEOSTEAN</i>
<b>ΤΑΞΗ</b>	<i>PERCIFORMES</i>
<b>ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ</b>	<i>SPARIDAE</i>
<b>ΓΕΝΟΣ</b>	<i>SPARUS</i>
<b>ΕΙΔΟΣ</b>	<i>AURATA</i>

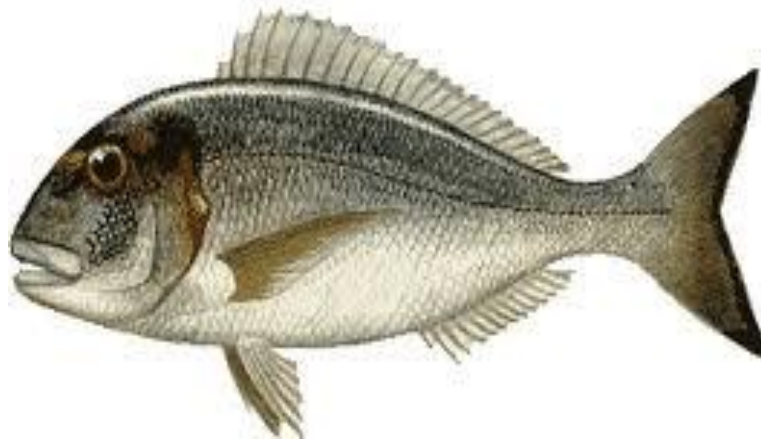
Πρόκειται πιθανότατα για εκείνο το είδος ιχθύος, στο οποίο έχει εφαρμοστεί, με απόλυτη επιτυχία η εντατική ελεγχόμενη μαζική εκτροφή και μάλιστα στον ελληνικό χώρο καθιστώντας έτσι την Ελλάδα την πρώτη χώρα σε παραγωγή τσιπούρας στη Μεσόγειο αλλά και σε όλη την Ευρώπη<sup>38</sup>.

#### 1.5.1. Βασικά Χαρακτηριστικά Τσιπούρας

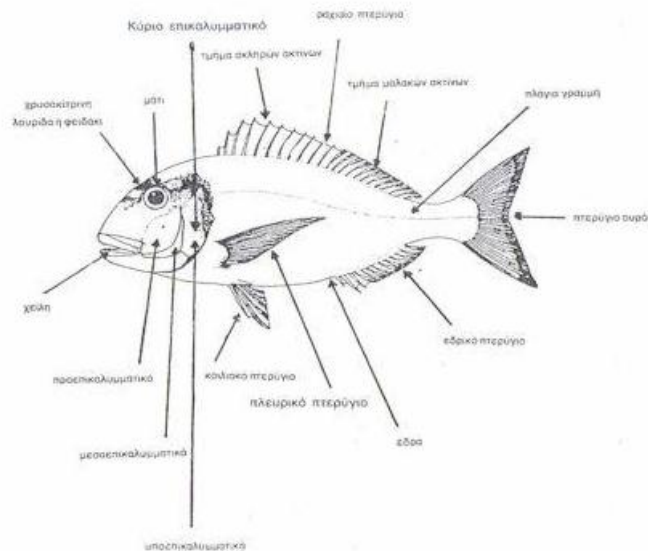
Είναι ιχθύς ασημόγκριζος και διακρίνεται από μια σκουρόχρωμη κηλίδα πίσω από τα βραγχιακά επικαλύμματα και μία χρυσοκίτρινη ταινία, που ενώνει τα μάτια. Το τελευταίο χαρακτηριστικό της αποδίδει και τον όρο χρυσόφρυς ( *Chrysophrys auratus*), δηλαδή χρυσά φρύδια. Το σώμα της είναι πεπεισμένο πλευρικά, με ψηλή ράχη, λεπτή βάση ουράς και καλύπτεται από κτενοειδή λέπια. Το ραχιαίο πτερύγιο είναι ενιαίο και

αποτελείται εν μέρει από ακανθώδης ακτίνες στο ύψος του θώρακα και από το ουραίο διχαλωτό πτερύγιο. Η πλευρική γραμμή στο σώμα της τσιπούρας είναι διακριτή. Τα μάτια της είναι μικρά, τα ρουθούνια εμφανή και το στόμα της ημιτελικό με σταυρό επάνω. Διαθέτει επίσης λεπτά χείλη<sup>26,38,39</sup>.

Στην εικόνα 1.2 και στο σχήμα 1.1 που ακολουθούν δίνεται η εξωτερική και η εσωτερική μορφολογία των οσείχθυσών.



**Εικόνα 1.2. Τσιπούρα (*Sparus Aurata*)**



**Σχήμα 1.1. Εξωτερική μορφολογία ενός οσείχθυσού (τσιπούρα) (Παπαναστασίου, 1990)**

Η τσιπούρα συνήθως συναντάται στη Μεσόγειο. Πρόκειται για ευρύθερμο και ευρύαλο είδος ιχθύος που ζει συχνότερα σε αμμώδης ή ιλοαμμώδης ακτές, σε βάθος από 5-30 m τα νεαρά άτομα και 150 m τα ενήλικα. Μερικά δε είδη της οικογένειας αυτής διαβιούν μέσα στις λιμνοθάλασσες για μια περίοδο της ζωής τους<sup>3,26,39</sup>.

Οι διατροφικές του συνήθειες στο φυσικό του περιβάλλον εξαρτώνται από το μέγεθός του. Τα μικρά μεγέθους ιχθύδια τρέφονται με ζωοπλαγκτό, ενώ τα μεγαλύτερα άτομα προτιμούν τα μαλάκια, κυρίως μύδια και γαστερόποδα, καρκινοειδή και μικρού μεγέθους ιχθύες. Τα παραπάνω φαίνεται να εξηγούν και τη μορφολογία των οδόντων της τσιπούρας. Συγκεκριμένα, διαθέτει πολυάριθμα μυτερά δόντια και στις δύο γνάθους και πολυάριθμες σειρές χονδρών τραπεζιτών, κάτι που διευκολύνει τη σύνθλιψη των οστράκων. Επιπλέον το έντερό τους είναι κοντό, είναι ανθεκτικό στα σχισίματα που τυχόν προκαλούνται από τα κελύφη<sup>38,39</sup>.

Στην τσιπούρα έχει αποδειχτεί η ύπαρξη ενός πρωτανδρικού ερμαφροδιτισμού. Σύμφωνα με αυτόν όλος ο πληθυσμός μέχρι το τέλος του 2<sup>ου</sup> έτους λειτουργεί σαν ένα σύνολο αρσενικών ατόμων, μετά λαμβάνει χώρα αλλαγή του φύλου και αρχίζουν να εμφανίζονται θηλυκά άτομα στο τέλος του 2<sup>ου</sup> και αρχή του 3<sup>ου</sup> έτους. Παρόλα αυτά, η σεξουαλική αναστροφή δε φαίνεται να επηρεάζει το σύνολο των ατόμων αφού μερικά από αυτά παραμένουν αρσενικά σε όλη τη διάρκεια της ζωής τους. Οι παράγοντες οι οποίοι καθορίζουν ή απλώς συμβάλλουν στην αλλαγή αυτή δεν έχουν εξακριβωθεί με σαφήνεια. Υποστηρίζεται ότι εκτός από την ηλικία είναι πιθανό το βάρος των ψαριών και η διατροφή τους να επηρεάζει αυτό το φαινόμενο<sup>33,35</sup>.

Όσον αφορά το βάρος, άτομα μέχρι 200 gr είναι συνήθως αρσενικά και μετά αλλάζουν φύλλο<sup>39</sup>. Αναφέρεται πως το μέγιστο βάρος σώματος της τσιπούρας μπορεί να φτάσει τα 16 με 18 κιλά, με μήκος σώματος που φτάνει τα 60-70cm, ενώ είναι δυνατόν να φτάσει μέχρι την ηλικία των 10-15 ετών<sup>38</sup>.

### **1.5.2. Διατροφική Αξία Τσιπούρας**

Η Τσιπούρα ανήκει από πλευράς εμφάνισης, οργανοληπτικών χαρακτηριστικών και κυρίως θρεπτικής αξίας, ανάμεσα στα πλέον πολύτιμα αλιεύματα της Μεσογείου. Περιέχει υψηλό ποσοστό πρωτεΐνης, ανά 100g προϊόντος, εφάμιλλο των άλλων ζωικών προϊόντων, με λιγότερα όμως λιπαρά από τα περισσότερα από αυτά, υψηλή περιεκτικότητα από τα μοναδικά απαραίτητα ω-3 λιπαρά οξέα, εξαιρετική πηγή όλων των απαραίτητων αμινοξέων (δηλαδή μη παραγόμενων από τον οργανισμό μας) για το «χτίσιμο» του σώματος, υψηλή πεπτικότητα των θρεπτικών του στοιχείων που υπερβαίνει το 95%, θαυμάσια πηγή απαραίτητων Βιταμινών και ιχνοστοιχείων, λιποδιαλυτών βιταμινών Α και D, υδατοδιαλυτών βιταμινών Β1, Β2, Β3 και Β12, και βασικών μετάλλων και ιχνοστοιχείων όπως το ασβέστιο, ο φωσφόρος, ο ψευδάργυρος και το ιώδιο.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

### Αθηροσκλήρωση – Ο ΡΑΦ ως Γενεσιουργό Αίτιο της Αθηρογένεσης

#### 2.1. Εισαγωγή

Η αθηροσκλήρωση ανήκει στην ευρύτερη ομάδα παθήσεων των αρτηριών, την αρτηριοσκλήρυνση, η οποία αναφέρεται σε ομάδα παθήσεων που χαρακτηρίζεται από πάχυνση και απώλεια ελαστικότητας των αρτηριακών τοιχωμάτων, με αποτέλεσμα την αύξηση της αρτηριακής πίεσης. Η ανάπτυξη αθηρωμάτων, δηλαδή η συσσώρευση λιπιδίων στον έσω χιτώνα μεσαίου και μεγάλου μεγέθους αρτηριών έχει σαν αποτέλεσμα τη δημιουργία στενώσεων που περιορίζουν σε μεγάλο βαθμό τη ροή του αίματος και προκαλούν χαρακτηριστικές κλινικές εκδηλώσεις ανάλογα τα αγγεία που προσβάλλει η νόσος. Η στεφανιαία νόσος, δηλαδή η αθηροσκλήρωση των στεφανιαίων αρτηριών προκαλεί ισχαιμικά καρδιακά επεισόδια (σταθερή ή ασταθή στηθάγχη, οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου και αιφνίδιο θάνατο). Σε περίπτωση προσβολής των εγκεφαλικών αγγείων είναι δυνατό να προκληθούν ισχαιμική εγκεφαλοπάθεια και εγκεφαλικά επεισόδια. Στην περιφερειακή κοιλότητα των κάτω άκρων δημιουργεί διαλείπουσα χλωρότητα και γάγγραινα, ενώ στην σπλαχνική κυκλοφορία προκαλεί κοιλιάγχη, ισχαιμία και έμφρακτο του εντέρου. Τα αθηροσκληρωματικά ανευρύσματα της αορτής είναι η πιο συχνή εκδήλωση στην περίπτωση που η νόσος προκαλέσει διάταση αντί για στένωση των αγγείων.

Οι όροι αθήρωμα και αθηροσκλήρωση είναι ελληνικοί. Προέρχονται από τις λέξεις *αθήρη* που σημαίνει χυλός από αλεσμένο σιτάρι (μπλιγούρι) και *όμα* που σημαίνει μάζα και σκληρός. Ο Έλληνας ιατρός Κλαύδιος Γαληνός (130-201 μ.Χ.) από την Πέργαμο της Μικράς Ασίας χρησιμοποίησε για πρώτη φορά τη λέξη αθήρωμα<sup>40</sup>.

Η αθηρογένεση αναφέρεται στη διαδικασία έναρξης του σχηματισμού αθηρωματοδών βλαβών στα αρτηριακά τοιχώματα. Οι βλάβες αυτές χαρακτηρίζονται από συσσώρευση λιποειδών, κυττάρων και συστατικά της εξωκυττάριας ύλης.

#### 2.2. Επιδημιολογία της Αθηροσκλήρωσης

Τα καρδιαγγειακά νοσήματα είναι η σημαντικότερη αιτία νοσηρότητας και θνησιμότητας κυρίως στο δυτικό κόσμο. Κοστίζουν κάθε χρόνο περισσότερες ζωές από ότι κοστίζουν συνολικά οι υπόλοιπες κύριες αιτίες θανάτου. Περίπου το 1/6 των ανθρώπων που

χάνουν τη ζωή τους από καρδιαγγειακές παθήσεις είναι κάτω των 65 ετών. Βάση ηλικίας τα ποσοστά εξάπλωσης των καρδιαγγειακών παθήσεων κυμαίνονται στα 30% για τους άνδρες και 24% για τις γυναίκες ενώ στο μαύρο πληθυσμό ο αριθμός αυξάνεται στα 41% για τους άνδρες και 40% για τις γυναίκες. Στις χώρες της Αμερικής τα χρηματικά ποσά που επενδύονται είναι εξαιρετικά υψηλά. Βάση των οικονομικών δαπανών των Ηνωμένων Πολιτειών ξοδεύονται πάνω από 20 εκατομμύρια δολάρια για τις άμεσες ανάγκες για υγειονομική περίθαλψη που σχετίζονται με τις καρδιαγγειακές παθήσεις<sup>41</sup>.

Οι επιδημιολογικές μελέτες δείχνουν ότι τα πρώιμα στάδια της αθηροσκλήρωσης μπορούν να επιστρεφθούν από διάφορες κλινικές καταστάσεις όπως τα υπερβολικά αυξημένα επίπεδα χοληστερόλης (LDL), ο σακχαρώδης διαβήτης, η υπέρταση και το κάπνισμα, οι οποίες θα πρέπει να ληφθούν υπόψη σε συνδυασμό με άλλους παράγοντες όπως ο τρόπος ζωής και οι συνήθειες του ατόμου, η σωματική άσκηση, η κατανάλωση οινοπνεύματος και το ψυχοκοινωνικό άγχος προκειμένου να είναι αποτελεσματικές οι στρατηγικές πρόληψης<sup>42</sup>.

### **2.3. Παράγοντες Κινδύνου της Αθηροσκλήρωσης**

Η αιτιολογία της στεφανιαίας νόσου αλλά και γενικότερα της ανάπτυξης της αθηροσκλήρωσης είναι πολυπαραγοντική και θα πρέπει να συνεκτιμώνται οι παράγοντες που προδιαθέτουν την εμφάνισή της. Οι παράγοντες αυτοί, που καλούνται παράγοντες κινδύνου, καθορίζουν το εύρος του κινδύνου που διατρέχει ένα άτομο για την εμφάνιση της νόσου και οι αξιολόγησή τους ενδεχομένως να αποτελέσει μέρος πρόληψης και θεραπείας.

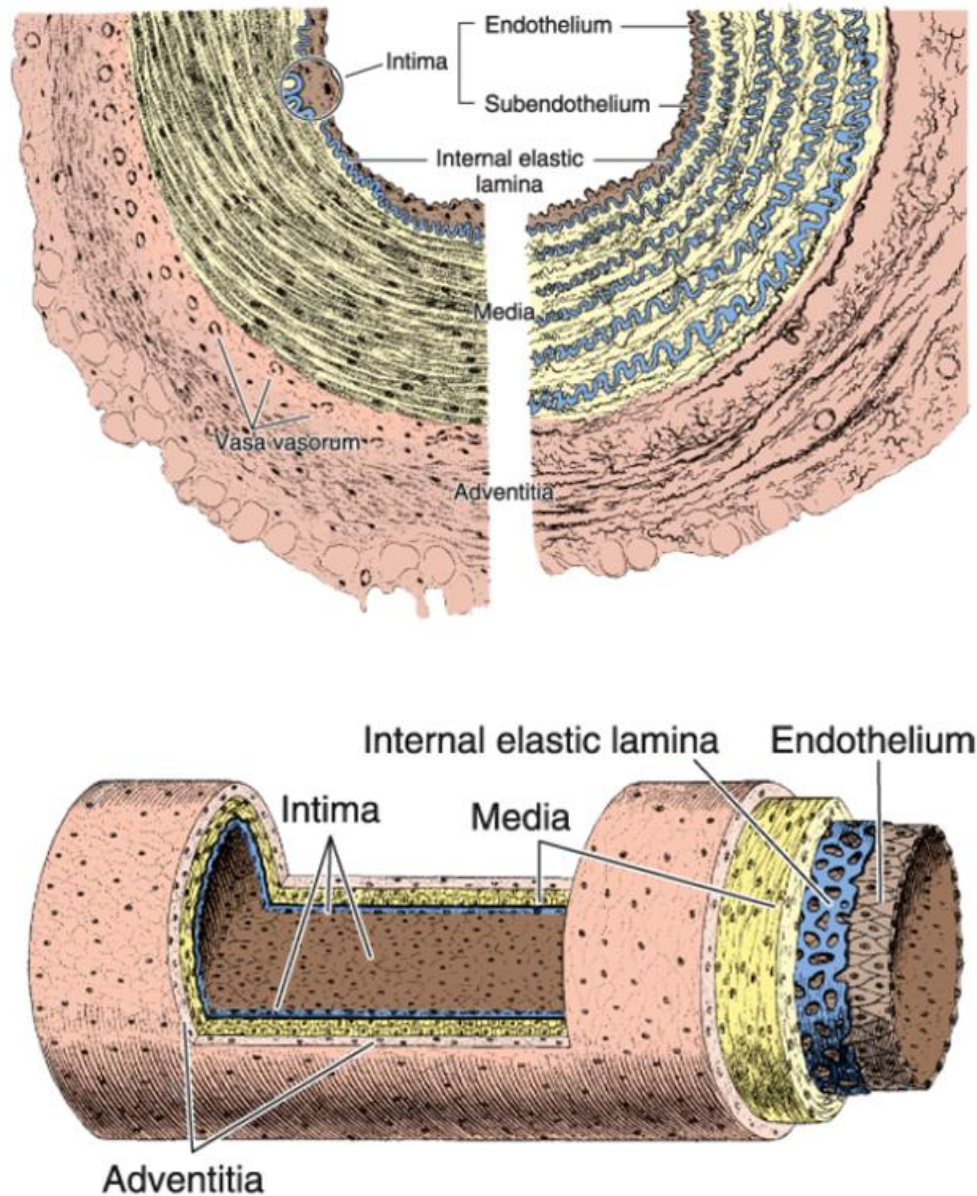
Οι κυριότεροι και συνηθέστεροι παράγοντες κινδύνου της αθηροσκλήρωσης είναι η δισλιπιδαιμία, η υπέρταση, το κάπνισμα και ο σακχαρώδης διαβήτης. Παράγοντες κινδύνου θεωρούνται επίσης η μειωμένη σωματική άσκηση, η παχυσαρκία, η κληρονομικότητα, το άρρεν φύλλο, η ηλικία, η εμμηνόπαυση, η ομοκυστεϊναιμία και ψυχολογικοί παράγοντες<sup>43</sup>.

Οι παράγοντες κινδύνου διακρίνονται σε τροποποιήσιμους και σε μη τροποποιήσιμους. Στους τροποποιήσιμους παράγοντες, δηλαδή στους παράγοντες που μπορούμε να επηρεάσουμε κατατάσσονται η υπέρταση, ο σακχαρώδης διαβήτης, το κάπνισμα, η αυξημένη LDL, η ελαττωμένη LDL, η έλλειψη φυσικής δραστηριότητας, η παχυσαρκία και η μετεμμηνοπαυσιακή κατάσταση στις γυναίκες. Στους μη τροποποιήσιμους παράγοντες ανήκουν η ηλικία, το άρρεν φύλλο και η κληρονομικότητα.



## 2.4. Φυσιολογικό Τοίχωμα Αρτηρίας

Το τοίχωμα μιας φυσιολογικής αρτηρίας αποτελείται από τρεις χιτώνες: τον **έσω (intima)**, το **μέσο (media)** και τον **έξω (adventitia)** (Εικόνα 2.1).



Εικόνα 2.1. Εγκάρσια και επιμήκης τομή μιας φυσιολογικής αρτηρίας<sup>44</sup>

Ο έσω χιτώνας αποτελείται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα που είναι διατεταγμένα κατά μήκος της αρτηρίας και την υποενδοθηλιακή στιβάδα η οποία εξωκυτάρια ύλη. Ακολουθεί μια περιοχή από συνδετικό ιστό (internal elastic lamina) και κάποια διάσπαρτα λεμφοκύτταρα, μακροφάγα και άλλα φλεγμονώδη κύτταρα. Το ενδοθήλιο αποτελεί τον κυριότερο φραγμό ανάμεσα στα στοιχεία του αίματος και το τοίχωμα της αρτηρίας. Στην πραγματικότητα αποτελεί έναν υψηλής εκλεκτικότητας διαπερατό

φραγμό, ο οποίος επιτρέπει την ανταλλαγή ουσιών μεταξύ του αίματος και του αρτηριακού τοιχώματος. Ο έσω χιτώνας και ειδικότερα η υπενδοθηλιακή στιβάδα αποτελούν το «θέατρο των επιχειρήσεων» κατά τη διαδικασία της αθηροσκλήρωσης.

Ο μέσος χιτώνας είναι ο χιτώνας μεγαλύτερου πάχους αποτελεί το κύριο σώμα της αρτηρίας. Η στιβάδα αυτή αποτελείται από λεία μυϊκά κύτταρα που διατάσσονται κυκλικά. Στο εξωτερικό τμήμα της στιβάδας αυτής υπάρχουν αγγειοκινητικές ελαστικές νευρικές ίνες του αυτόνομου νευρικού συστήματος. Οι νευρικές αυτές ίνες μαζί με τα λεία μυϊκά κύτταρα ρυθμίζουν τη συστηματική κυκλοφορία του αίματος. Όταν αναπτύσσεται αθηρωματική πλάκα υπενδοθηλιακά, το πάχος του μέσου χιτώνα μειώνεται στα 100μm και σε πολύ σοβαρές βλάβες η πλάκα καταλαμβάνει πλήρως το χώρο του μέσου χιτώνα.

Ο έξω χιτώνας (εξωτερικό στρώμα της αρτηρίας), αποτελείται από μια χαλαρή ύλη με μικρό ποσό ινών ελαστίνης, λεία μυϊκά κύτταρα, ινοβλάστες και κολλαγόνο. Το μεγαλύτερο μέρος των αγγειοκινητικών νευρικών ινών του αυτόνομου νευρικού συστήματος στα αγγεία του αίματος διαπερνά αυτόν τον χιτώνα. Όπως και με τα ενδοθηλιακά κύτταρα, ο έξω χιτώνας είχε και αυτός θεωρηθεί ότι έχει παθητικό ρόλο και είναι ανενεργός.

Αυτά τα τρία στρώματα οριοθετούνται από τα ομόκεντρα στρώματα της ελαστίνης, γνωστά ως έσω ελαστικό πέταλο (internal elastic lamina) το οποίο χωρίζει τον έσω από τον μέσο χιτώνα, και έξω ελαστικό πέταλο (external elastic lamina) το οποίο χωρίζει τον μέσο από τον έξω χιτώνα. Η επιφάνεια του αυλού, που αποτελεί την εσωτερική κοιλότητα των αρτηριών, καλύπτεται από ένα ενιαίο στρώμα ενδοθηλιακών κυττάρων που συνδέονται το ένα με το άλλο με μια σειρά κυτταρικών συνδέσμων (junctional complexes). Τα ενδοθηλιακά κύτταρα δημιουργούν ένα εμπόδιο μεταξύ της εσωτερικής επιφάνειας του αυλού της αρτηρίας και του υποενδοθηλιακού χώρου του αρτηριακού τοιχώματος<sup>45</sup>.

## **2.5. Παθοφυσιολογία-Παθογένεια της Αθηροσκλήρωσης**

Ο μηχανισμός της αθηρογένεσης δεν έχει διευκρινιστεί, λόγω της εξαιρετικής πολυπλοκότητας της πολυπαραγοντικής αυτής νόσου. Κατά καιρούς διατυπώθηκαν διάφορες υποθέσεις για την εξέλιξη της αθηρωματικής πλάκας κυριότερες των οποίων είναι:

- α. Η «υπόθεση της φλεγμονώδους διήθησης» που διατυπώθηκε από τον R. Virchow το 1858<sup>46</sup>.

β. Η «υπόθεση της τοιχωματικής θρόμβωσης» που διατυπώθηκε από τον Κ. Rokitansky το 1946.

γ. Η «μονοκλωνική υπόθεση» που διατυπώθηκε από τους Ε. Benditt και J. Benditt το 1973<sup>47</sup>.

δ. Η «υπόθεση της απάντησης στη βλάβη του ενδοθηλίου» που διατυπώθηκε από τους R. Ross και J. Glomset το 1976. R<sup>48,49</sup>.

ε. Η «οξειδωτική υπόθεση» που διατυπώθηκε από τον J. Witztum το 1994<sup>50</sup>.

Από τις παραπάνω υποθέσεις αυτή που επικράτησε, ως θεωρία πλέον, είναι η «θεωρία της απάντησης στη βλάβη του ενδοθηλίου» των R. Ross και J. Glomset που διατυπώθηκε αρχικά το 1976<sup>49,50</sup>, υφίσταται βελτιώσεις και προσθήκες συνεχώς μέχρι σήμερα. Στο μοντέλο αυτό, το στάδιο έναρξης είναι η φλεγμονή που προκαλείται από βλάβη του ενδοθηλίου από τραυματισμό ή από άλλους παράγοντες όπως, η LDL-C, ιδιαίτερα οι οξειδωμένες LDL μορφές, προϊόντα καπνίσματος, ανοσολογικοί και λοιμώδεις παράγοντες, ενδοτοξίνες, ιοί, κ.α, που έχουν ως αποτέλεσμα την δυσλειτουργία του ενδοθηλίου και τη διαταραχή των ομοιοστατικών μηχανισμών. Αυτό οδηγεί σε: α) αύξηση της έκφρασης των μορίων προσκόλλησης και αύξηση της προσκόλλησης των λευκοκυττάρων και των αιμοπεταλίων στο ενδοθήλιο, β) προσέλκυση των μονοκυττάρων/μακροφάγων και πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών κυττάρων που μεταναστεύουν στην περιοχή της φλεγμονής, γ) αύξηση της διαπερατότητας του ενδοθηλίου για τις τροποποιημένες μορφές LDL, πρόσληψη των σωματιδίων αυτών από τα μακροφάγα μέσω των υποδοχέων εκκαθαριστών και σχηματισμός αφρωδών κυττάρων. Η θεωρία της απόκρισης στον τραυματισμό βασίστηκε αρχικά στην απογύμνωση του ενδοθηλίου ως κύριο στάδιο για την έναρξη της αθηροσκλήρωσης. Σε μια πρόσφατη βελτίωση της αρχικής υπόθεσής του, ο Ross πρότεινε ότι η δυσλειτουργία των ενδοθηλιακών κυττάρων είναι επαρκής για την έναρξη της αθηρογένεσης μέσω της αυξημένης διαπερατότητας του ενδοθηλίου από τις αθηρογόνες λιποπρωτεΐνες. Οι κύριοι κυτταρικοί μεσολαβητές αυτής της πρώιμης φλεγμονώδους απόκρισης είναι τα αιμοπετάλια, τα μακροφάγα κύτταρα, τα T-λεμφοκύτταρα και τα λεία μυϊκά κύτταρα. Μέσα στο εντοπισμένο αυτό τραύμα η φλεγμονή, που συνεχίζεται, μπορεί να οδηγήσει στη νέκρωση των κυττάρων και την περαιτέρω προσκόλληση των μονοκυττάρων και των λεμφοκυττάρων με μια συνακόλουθη απελευθέρωση κυτταροκινών, αυξητικών παραγόντων και πρωτεολυτικών ενζύμων. Αυτό μπορεί να αποτελέσει την έναρξη για νέκρωση μέσα στο τραύμα, και μπορεί να προκαλέσει την αυτοκαταλυτική επέκταση του τραύματος.

Συνοπτικά, σειρά των γεγονότων που διέπουν το σχηματισμό της αθηρωματικής πλάκας σύμφωνα με τα μέχρι τώρα δεδομένα είναι η εξής:

1. Δυσλειτουργία του ενδοθηλίου
2. Μετανάστευση μονοκυττάρων υπενδοθηλιακά και διαφοροποίησή τους σε μακροφάγα
3. Κατακράτηση LDL υπενδοθηλιακά, οξείδωση, φαγοκυττάρωση της LDL από τα μακροφάγα και σχηματισμός αφρωδών κυττάρων
4. Μετανάστευση λείων μυϊκών κυττάρων υπενδοθηλιακά
5. Νέκρωση υπερκορεσμένων αφρωδών κυττάρων, ελευθέρωση οξειδωμένης LDL, βλάβη ενδοθηλίου, προσκόλληση και συσσώρευση

## **2.6. Θεωρία Οξειδωτικής Τροποποίησης**

Σύμφωνα με τη θεωρία της «απόκρισης στον τραυματισμό» ο σχηματισμός των αφρωδών κυττάρων αποτελεί το χαρακτηριστικό γνώρισμα της αθηροσκλήρωσης. Η θεωρία της «οξειδωτικής τροποποίησης» προέκυψε από τη θεωρία της «απόκρισης στον τραυματισμό» ως αποτέλεσμα της εντατικής έρευνας όσον αφορά τους μηχανισμούς σχηματισμού των αφρωδών κυττάρων. Η θεωρία της οξειδωτικής τροποποίησης δηλώνει ότι οι LDL οξειδώνονται στο αρτηριακό τοίχωμα όπου στη συνέχεια προσλαμβάνονται από τα κύτταρα για το σχηματισμό των αφρωδών κυττάρων.

### **2.6.1. Σχηματισμός Αφρωδών Κυττάρων**

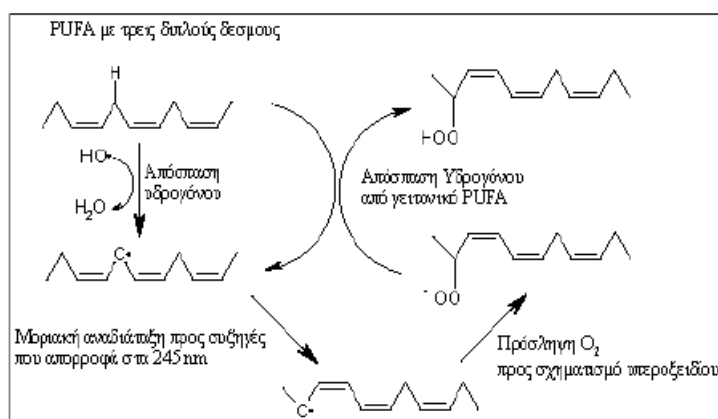
Στην έρευνά τους για εναλλακτικούς υποδοχείς των LDL, οι Brown και Goldstein<sup>51</sup> παρατήρησαν ότι η χημική τροποποίηση των LDL με ακετυλίωση οδηγεί στο σχηματισμό αφρωδών κυττάρων όταν επωάζεται με τα μακροφάγα. Η πρόσληψη αυτής της χημικά τροποποιημένης LDL αποδείχθηκε ότι γινόταν μέσω ενός ειδικού υποδοχέα που αργότερα ονομάστηκε «ακετυλο-LDL υποδοχέας». Αυτός ο υποδοχέας αποτελεί σήμερα έναν από τους πολλούς υποδοχείς, οι οποίοι ονομάζονται «εκκαθαριστές υποδοχείς» (“scavenger receptors”, SR) οι οποίοι υπάρχουν στα μακροφάγα και σε άλλους τύπους κυττάρων. Οι εκκαθαριστές υποδοχείς, επομένως, φαίνεται να διαδραματίζουν έναν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της αθηροσκλήρωσης στο στάδιο του σχηματισμού των αφρωδών κυττάρων.

Η τρέχουσα θεωρία της υπόθεσης της οξειδωτικής τροποποίησης δηλώνει ότι οι LDL οξειδώνονται στο αρτηριακό τοίχωμα όπου στη συνέχεια προσλαμβάνονται από τα κύτταρα για το σχηματισμό των αφρωδών κυττάρων. Κρίσιμο στάδιο για την υπόθεση αυτή είναι ο μηχανισμός οξείδωσης των LDL *in vivo* και *in vitro*. Γνωρίζουμε πολύ περισσότερα για την *in vivo* παρά για την *in vitro* οξείδωση.

### 2.6.2. Στάδια Οξείδωσης της LDL- Χοληστερόλης

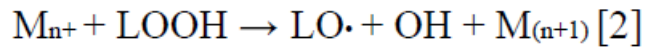
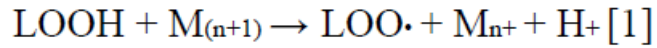
Το κυριότερο λιπίδιο που φαγοκυτταρώνεται από τα μακροφάγα είναι η χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (LDL) και πιο συγκεκριμένα η οξειδωμένη τους μορφή (ox-LDL). Η οξειδωτική τροποποίηση των LDL, αυτή διαχωρίζεται αυθαίρετα σε τρία στάδια. Το πρώτο στάδιο είναι γνωστό ως έναρξη της υπεροξειδωσης των λιποειδών και περιλαμβάνει τον αρχικό σχηματισμό ελευθέρων ριζών μέσα στο σωματίδιο των LDL. Το δεύτερο στάδιο είναι γνωστό ως στάδιο διάδοσης της οξείδωσης και αντιπροσωπεύει το τμήμα της οξείδωσης των LDL που περιλαμβάνει αλυσιδωτή αντίδραση, κατά την οποία κάθε ελεύθερη ρίζα που παράγεται μέσα στο σωματίδιο των LDL οδηγεί στο σχηματισμό περισσότερων της μιας ελεύθερης ρίζας. Το τελικό στάδιο της οξείδωσης των LDL είναι γνωστό ως αποσύνθεση, κυρίως επειδή τα υδρουπεροξειδία των λιποειδών που σχηματίζονται μέσα στο σωματίδιο των LDL αποσυντίθενται προς δραστικές αλδεΐδες και κετόνες<sup>52</sup>. Αυτό οδηγεί στην τροποποίηση της apo-B των LDL και αλλάζει το καθαρό φορτίο των LDL.

Το πρωταρχικό στάδιο στην τροποποίηση αυτή είναι η έναρξη της υπεροξειδωσης των λιποειδών, ως απόσπαση υδρογόνου από ένα PUFA. Σε αυτή την περίπτωση το οξειδωτικό είναι μια ελεύθερη ρίζα υδροξυλίου (Εικόνα 2.2).

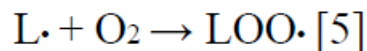
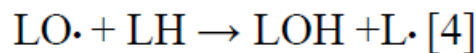
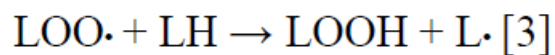


Εικόνα 2.2. Σχηματική απόδοση της υπεροξειδωσης των λιποειδών

Από τη στιγμή που θα σχηματιστούν τα υπεροξειδία των λιποειδών στο σωματίδιο της LDL, είναι σχετικά εύκολο να παραχθούν σωματίδια ελευθέρων ριζών, ειδικά από την παρουσία ιόντων μετάλλων, όπως φαίνεται και στις εξισώσεις [1] και [2].



Σε συστήματα λιποειδών που περιέχουν ίχνη ή προσχηματισμένα υδροϋπεροξειδία λιποειδών (LOOH), ιόντα μετάλλων (M) όπως ο χαλκός ή ο σίδηρος μπορούν να καταλύσουν την αποσύνθεση των υδροϋπεροξειδίων των λιποειδών προς υπεροξυ- (LOO•) και αλκοξυ-(LO•) ρίζες όπως φαίνεται παραπάνω. Αυτές οι υπεροξυ- και αλκοξυ- ρίζες αντιδρούν εύκολα με άλλες παρακείμενες δις-αλλυλικές ομάδες μεθυλενίου (LH) αποσπώντας άτομα υδρογόνου παράγοντας υδροϋπεροξειδία των λιποειδών καθώς και ελεύθερες ρίζες με το ελεύθερο ηλεκτρόνιο να εντοπίζεται σε άνθρακα όπως φαίνεται στις εξισώσεις [3] έως [5].



Αυτή η αποσύνθεση των υδροϋπεροξειδίων των λιποειδών και η δευτερογενής παραγωγή των υπεροξυ- και αλκοξυ- ριζών έχουν ονομαστεί ως επανέναρξη της υπεροξειδωσής των λιποειδών των LDL αφού η ύπαρξη προσχηματισμένων υδροϋπεροξειδίων μέσα στο σωματίδιο των LDL φανερώνει οξειδωτικά στάδια που έχουν προηγηθεί.

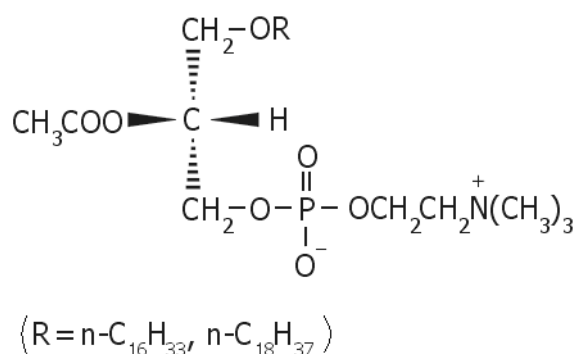
Τα τελευταία χρόνια έχει καταβληθεί προσπάθεια να διευκρινιστούν οι μοριακές αλληλεπιδράσεις που λαμβάνουν χώρα στον αρτηριακό αυλό και εμπλέκονται στο ξεκίνημα της αθηροσκλήρωσης. Σημαντικός αριθμός διεθνών επιστημονικών ερευνών φαίνεται να ενοποιεί τις αποδεκτές σήμερα υποθέσεις που δέχονται τη φλεγμονή σαν αίτιο για την αθηρωμάτωση και την αρτηριοσκλήρυνση, υποδεικνύει το φλεγμονώδη Παράγοντα Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων (PAF, Platelet-Activating Factor) του οποίου ο ρόλος φαίνεται να είναι κρίσιμος κατά την έναρξη αλλά και τη διάδοση της αθηροσκλήρωσης. Βάσει αυτών των μελετών, πιστεύεται ότι δεν είναι η χοληστερόλη

και τα κορεσμένα λιποειδή το γενεσιουργό αίτιο του σχηματισμού των αθηρωματικών πλακών, αλλά ο PAF. Τα υψηλά επίπεδα χοληστερόλης και κορεσμένων λιποειδών στο αίμα εντείνουν την οξειδωση της LDL και κατά συνέπεια την παραγωγή PAF που έχει σαν αποτέλεσμα τη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου.

## 2.7. Γενικά Στοιχεία για τον PAF

Ο παράγοντας ενεργοποίησης αιμοπεταλίων (Platelet Activating Factor, PAF) αποτελεί λιποειδική ένωση που ανήκει στην τάξη των φωσφολιποειδών. Η ονομασία της ένωσης κατά IUPAC είναι 1-O-αλκυλο-2-ακετυλο-*sn*-γλυκερο-3-φωσφο-χολίνη και προσδιορίζει δομικά την ένωση ως ένα γλυκεριναιθερικό ανάλογο της φωσφατιδυλοχολίνης.

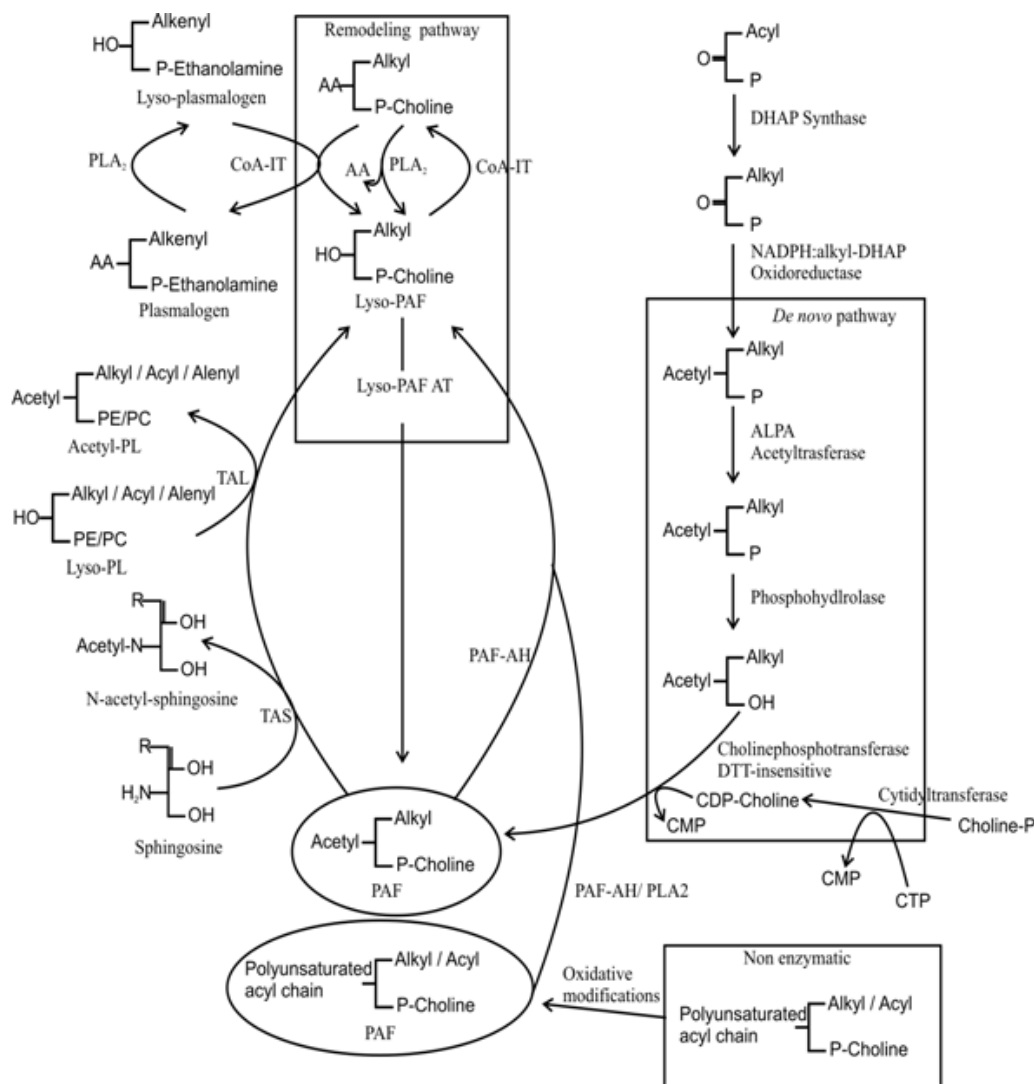
Από άποψη χημικής δομής ο PAF διαθέτει δύο χαρακτηριστικά, τα οποία είναι σχετικώς ασυνήθιστα για τα φωσφολιποειδή: (α) Στον άνθρακα C1 της γλυκερόλης (Σχήμα 4.1) υπάρχει αιθερικός δεσμός (-CH<sub>2</sub>OR) με ένα "μεγάλο" αλκύλιο κάτι το ασυνήθιστο, αφού ο κανόνας είναι η ύπαρξη εστερικού δεσμού (-CH<sub>2</sub>OCOR) με "μεγάλα" λιπαρά οξέα και (β) το υδροξύλιο του άνθρακα C2 της γλυκερόλης είναι εστεροποιημένο με οξικό οξύ, (>CHOC<sub>2</sub>H<sub>3</sub>), κάτι το οποίο είναι επίσης ασυνήθιστο λόγω του μικρού μεγέθους του οξέος<sup>1</sup> (Σχήμα 2.1).



Σχήμα 2.1. Η χημική δομή του PAF

## 2.8. Βιοσύνθεση του PAF

Η κύρια οδός βιοσύνθεσης του PAF είναι η οδός του ανασχηματισμού που περιλαμβάνει την ενεργοποίηση της ακετυλοτρανσφεράσης, η οποία ακετυλιώνει τον λύσο-PAF (1-O-αλκυλο-*sn*-γλυκερο-3-φωσφοχολίνη) προς PAF<sup>27,53</sup> (Σχήμα 2.2). Στη συνέχεια, μία σημαντική ποσότητα του κυτταρικού PAF εκκρίνεται και μεταφέρεται στην κυκλοφορία του αίματος συνδεδεμένος με αλβουμίνη, ενώ μία μικρή ποσότητα είναι συνδεδεμένη με τις λιποπρωτεΐνες του πλάσματος<sup>27</sup>.



Σχήμα 2.2. Βιοσυνθετική πορεία του PAF<sup>54</sup>

Ο PAF επιδρά στα κύτταρα στόχους σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις της τάξεως του  $10^{-12}$  -  $10^{-9}$  M μέσω ειδικών υποδοχέων που έχουν ανιχνευθεί σε πολλά είδη κυττάρων<sup>27</sup>.

Τα επίπεδα του ενδοκυτταρικού και του εκκρινόμενου PAF ελέγχονται και από την ακετυλοϋδρολάση, ένα ένζυμο ανεξάρτητο ασβεστίου που υδρολύει τον PAF μετατρέποντας τον σε λύσο-PAF. Εκκρίνεται από διάφορα κύτταρα όπως τα ανθρώπινα μακροφάγα, αιμοπετάλια και ηπατοκύτταρα και μεταφέρεται στην κυκλοφορία του αίματος συνδεδεμένη κυρίως με λιποπρωτεΐνες χαμηλής (LDL) και υψηλής (HDL) πυκνότητας του πλάσματος. Στις παθοφυσιολογικές καταστάσεις όπου ο PAF έχει κεντρικό ρόλο ως μεσολαβητής, η ακετυλοϋδρολάση φαίνεται να είναι ένζυμο κλειδί<sup>27</sup>.



## 2.9. Σχέση του PAF με την Αθηρογένεση

Είναι πλέον κοινά αποδεκτό ότι ο PAF παίζει τον κύριο ρόλο σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις, όπως το αναφυλακτικό σοκ, το άσθμα, οι αλλεργίες, ισχαιμία και οξείες φλεγμονώδεις καταστάσεις. Πληθώρα ισχυρών ενδείξεων ενισχύουν την άποψη ότι ο PAF είναι ένα μόριο με προαθηρογόνο δράση στο μικροπεριβάλλον του αρτηριακού έσω χιτώνα και με συμμετέχει σημαντικά στις επιπλοκές που επακολουθούν και σχετίζονται με σχηματισμό θρόμβων<sup>27,55</sup>. Επίσης, έχει βρεθεί ως συστατικό της αθηρωματικής πλάκας<sup>27,56</sup> ενώ από μελέτες έχουν βρεθεί μόρια ανταγωνιστές του με προστατευτική δράση έναντι της αθηροσκλήρωσης<sup>27,59,60</sup>. Ο PAF επάγει την ελευθέρωση διαφόρων συστατικών που πιθανόν να έχουν προαθηρογόνο δράση, όπως η ελαστάση<sup>27,58</sup>, η οποία καταβολίζει τα συστατικά της εξωκυττάριας ύλης του έσω και μέσω χιτώνα των αρτηριών καθώς και ενώσεις ενεργού οξυγόνου<sup>27,59,60</sup> οι οποίες με τη σειρά τους καταστρέφουν ιστούς και συνεισφέρουν στην οξείδωση της LDL<sup>27,61</sup>. Συνεπώς, ο PAF φαίνεται ότι εμπλέκεται στις φλεγμονώδεις καταστάσεις της αθηρογένεσης, οι οποίες είναι γνωστό ότι σχετίζονται με την ενεργοποίηση των μονοκυττάρων, των μακροφάγων, των ενδοθηλιακών κυττάρων και των αιμοπεταλίων καθώς και με την έκκριση κυτοκινών. Τέτοιου είδους όμως ενεργοποιημένα κύτταρα βιοσυνθέτουν PAF, κάνοντας φανερό πως ένα λανθασμένο σήμα μπορεί να ενισχυθεί και να επιφέρει καταστροφή σε κάποιον ιστό<sup>27</sup>.

Οι δράσεις του PAF εκδηλώνονται μετά από σύνδεση του σε ειδικό υποδοχέα που ανήκει στην κατηγορία των επταδιαμεμβρανικών υποδοχέων, που συνδέονται με G πρωτεΐνες<sup>27,62</sup>. Ο υποδοχέας του PAF παρουσιάζει μεγάλη εκλεκτικότητα αφού δείχνει εκατοντάδες φορές μεγαλύτερη εκλεκτικότητα για τον αιθερικό δεσμό του μορίου στη θέση *sn-1* και πλήρη εξειδίκευση για την ακετυλομάδα της *sn-2* θέσης<sup>27,63</sup>. Η κεφαλή της χολίνης επίσης αναγνωρίζεται από τον υποδοχέα και μάλιστα πολλές χιλιάδες φορές εκλεκτικότερα σε σχέση με τα ανάλογα της αιθανολαμίνης<sup>27,64</sup>. Να σημειωθεί πως ο υποδοχέας του PAF ανταποκρίνεται και σε συνθετικά ανάλογα τα οποία στην *sn-2* θέση έχουν συνήθως λιπαρές αλυσίδες μικρού μήκους<sup>27</sup>. Τα ανάλογα με αυτή τη δομή παράγονται κατά την οξείδωση της φωσφατιδυλοχολίνης η οποία βρίσκεται στα κύτταρα<sup>27,65</sup> και στην LDL<sup>27,71</sup>. Η κύρια δομή της φωσφατιδυλοχολίνης είναι αυτή της διακυλο-φωσφατιδυλοχολίνης, οπότε και τα οξειδωμένα παράγωγα αναμένεται να είναι κυρίως διακυλο-παράγωγα. Τα ανάλογα αυτά ενεργοποιούν μονοκύτταρα, λευκοκύτταρα και αιμοπετάλια, βρίσκονται στις αθηροσκληρωτικές πλάκες και κυκλοφορούν στο πλάσμα του ανθρώπου σε ανιχνεύσιμες ποσότητες<sup>27</sup>.

## 2.10. Η Σχέση του PAF με την ox-LDL

Όπως προαναφέρθηκε, η οξείδωση της LDL παίζει σημαντικό ρόλο στην αθηροσκλήρωση. Είναι αποδεδειγμένο ότι η ox-LDL προσλαμβάνεται με γρήγορους ρυθμούς από τα μακροφάγα του υποενδοθηλιακού χώρου του αρτηριακού τοιχώματος μέσω του εκκαθαριστή υποδοχέα και τα μετατρέπει σε αφρώδη κύτταρα που είναι χαρακτηριστικά της αθηροσκληρωτικής βλάβης. Επιπλέον, η ox-LDL ως κυτταροτοξική μεταβάλλει τις λειτουργίες διάφορων κυττάρων<sup>27,67</sup>.

Η οξείδωση της ανθρώπινης LDL παράγει προφλεγμονώδεις μεσολαβητές που επιφέρουν φλεγμονώδεις αντιδράσεις και ενεργοποιούν τα πολυμορφοπύρηνα λευκοκύτταρα και κύτταρα που εκτός σωστής θέσης και χρόνου εκφράζουν τον υποδοχέα του PAF. Έτσι, γίνεται φανερό πως αυτοί οι μεσολαβητές εμπλέκονται στα πρώιμα στάδια της αθηρογένεσης<sup>27,68</sup>.

Καθοριστικός παράγοντας στην εξήγηση των βιολογικών ιδιοτήτων της ox-LDL αποτέλεσε η απόδειξη της παραγωγής PAF κατά την οξείδωση της LDL. Αυτό αποδείχθηκε με την *in vitro* οξείδωση της LDL παρουσία ειδικού αναστολέα της PAF-ακετυλοϋδρολάσης, οπότε η παραγόμενη ποσότητα PAF δεν υδρολύεται από την ακετυλοϋδρολάση που υπάρχει στην LDL. Ο μηχανισμός για την παραγωγή PAF στην ox-LDL περιλαμβάνει τη δράση μίας τρανσακετυλάσης, η οποία μεταφέρει ακετυλομάδα από την sn-2 θέση της 1-ακυλο-2-ακετυλο-γλυκερο-3-φωσφοχολίνης στην θέση της sn-2 θέση του λύσο-PAF, ο οποίος αποτελεί αναστολέα της ακετυλοϋδρολάσης<sup>69</sup>. ετά την απομόνωση και τον χρωματογραφικό διαχωρισμό του κλάσματος και ενώ μελετήθηκε και η βιολογική του δράση, παράλληλα μελετήθηκε και δομικά. Έτσι αποδείχθηκε ότι η ένωση με χρωματογραφική συμπεριφορά PAF και βιολογική δράση PAF παρουσιάζει στο φάσμα μάζας τα χαρακτηριστικά θραύσματα του PAF<sup>27</sup>.

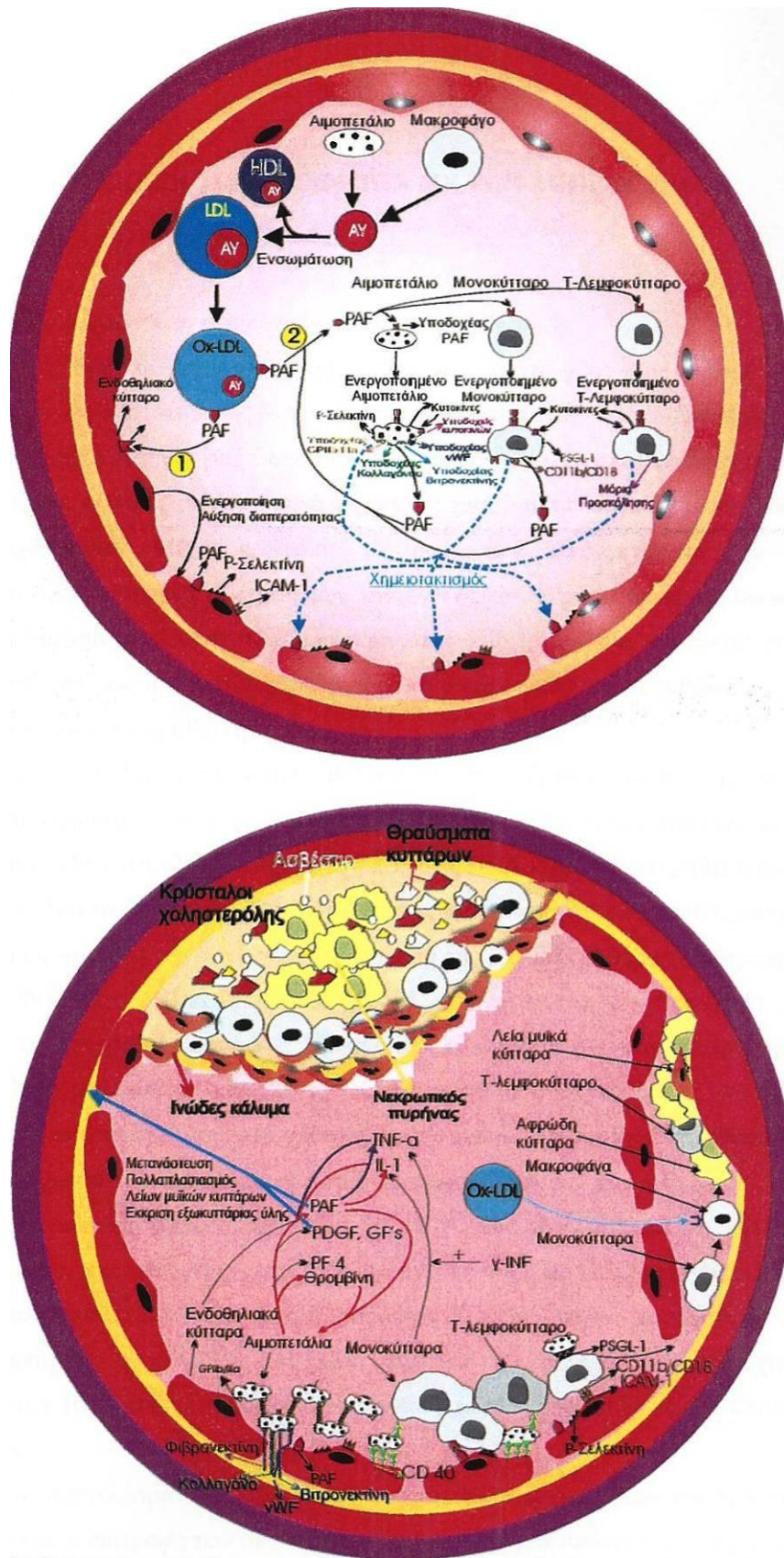
Τέλος, και κατόπιν μακροχρόνιων ερευνών και με τη βοήθεια των φασμάτων MS καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι η *in vitro* οξείδωση της LDL παράγει και οξειδωμένα φωσφολιποειδή, τα οποία δρώντας μέσω του υποδοχέα του PAF αποτελούν όπως και ο PAF γενεσιουργό αίτιο του σχηματισμού αθηρωματικών πλακών<sup>27,70,71</sup>. Οι ενώσεις αυτές προκαλούν υπερπλασία των λείων μυϊκών κυττάρων καθώς και την ενεργοποίηση των λευκοκυττάρων<sup>27,72</sup>. Επίσης, είναι υπεύθυνες όπως και ο PAF για την αύξηση της διαπερατότητας των αγγείων και την πρόκληση φλεγμονής<sup>27</sup>.

### **2.11. Ο ρόλος της Ακετυλοϋδρολάσης<sup>27</sup>**

Σύμφωνα με πειράματα που έγιναν σε διάφορα μοντέλα ζώων, η ακετυλοϋδρολάση είναι ένα ένζυμο που μπορεί να προφυλάξει τον οργανισμό από ανεπιθύμητες φλεγμονώδεις αντιδράσεις αφού παίζει το ρόλο του κυτταρικού μηνύματος που θα σταματήσει την διαδικασία της φλεγμονής<sup>73</sup>. Η ακετυλοϋδρολάση είναι ένα ένζυμο που αποικοδομεί τον PAF και τα οξειδωμένα φωσφολιπιδίδη που είναι ανάλογα του PAF. Ακόμη είναι στενά συνδεδεμένη με την LDL και την HDL αφού έχει υψηλή εξειδίκευση μόνο στα παραπάνω ασυνήθιστα φωσφολιπιδίδη ενώ αξιοσημείωτο είναι το γεγονός πως δεν έχει καμία δράση υδρολάσης στα συνηθισμένα φωσφολιπιδίδη των μεμβρανών. Επιπλέον φαίνεται ότι εμποδίζει την οξείδωση της LDL, εμποδίζοντας έτσι την παραγωγή του PAF και των αναλόγων του. Ενώ όμως η ακετυλοϋδρολάση προστατεύει τον οργανισμό από τον PAF και τα ανάλογά του κατά τα πρώτα στάδια οξείδωσης της LDL, δεν φαίνεται να συνεχίζει να έχει την ίδια δράση σε προχωρημένα στάδια οξείδωσης της LDL γιατί καταστρέφεται. Έτσι, η δραστηριότητα του ενζύμου είναι αντιστρόφως ανάλογη της οξειδωτικής κατάστασης της LDL, σε αντίθεση με την ακετυλοϋδρολάση της HDL που φαίνεται να έχει συνεχώς προστατευτική δράση<sup>72,74</sup>.

### **2.12. Θεωρητικός Μηχανισμός Σχηματισμού της Αθηρωματικής Πλάκας<sup>75</sup>**

Ο πιθανός μηχανισμός για το σχηματισμό της αθηρωματικής πλάκας δίνεται στο παρακάτω σχήμα (Σχήμα 2.3).



Σχήμα 2.3. Πιθανός μηχανισμός σχηματισμού αθηρωματικής πλάκας με τον PAF ως γενεσιουργό αίτιο<sup>27</sup>

Σύμφωνα με το σχήμα αυτό, τα αιμοπετάλια και τα μακροφάγα κύτταρα εκκρίνουν ακετυλοϋδρολάση, η οποία ενσωματώνεται στις LDL και HDL και με τη μορφή αυτή κυκλοφορεί στο πλάσμα. Κατά την οξειδωση της LDL, η οποία είναι μία φυσιολογική διαδικασία που λαμβάνει χώρα στον οργανισμό, παράγεται PAF, ενώ ταυτόχρονα μειώνεται η δραστικότητα της ακετυλοϋδρολάσης, η οποία είναι ένα από τα ένζυμα που ρυθμίζουν τα επίπεδα του. Σημαντικό ρόλο στην έκταση της οξειδωσης της LDL διαδραματίζουν τα αντιοξειδωτικά του αίματος, τα οποία προέρχονται κυρίως από την τροφή. Αν όμως για κάποιο λόγο η οξειδωση της LDL επεκταθεί πέραν του κανονικού, τότε και ο PAF παράγεται άτοπα και άκαιρα σε υψηλότερα από τα φυσιολογικά επίπεδα. Εκτός από την ακετυλοϋδρολάση ο οργανισμός μας έχει και άλλους μηχανισμούς προστασίας έναντι της ανεξέλεγκτης δράσης του PAF, όπως οι ενδογενείς και άλλοι αναστολείς αυτού που υπάρχουν στο αίμα. Αν όμως παρ' όλους τους μηχανισμούς προστασίας τελικά τα επίπεδα του αυξηθούν πάνω από τα φυσιολογικά όρια τότε μπορεί στη συνέχεια να συμβούν τα ακόλουθα: Ο PAF ενεργοποιώντας τα ενδοθηλιακά κύτταρα του αρτηριακού τοιχώματος διαμέσου του υποδοχέα του μετατρέπει το ενδοθήλιο από αντιθρομβωτικό σε προθρομβωτικό. Τότε παρατηρείται παραγωγή του PAF από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, ο οποίος δεν ελευθερώνεται, αλλά παραμένει συνδεδεμένος στην περικυτταρική μεμβράνη τους. Στα ενεργοποιημένα πλέον ενδοθηλιακά κύτταρα παράγονται επίσης κυτοκίνες, όπως είναι οι IL και εκφράζονται μόρια προσκόλλησης, όπως η P-σελεκτίνη, η E-σελεκτίνη και ο vWF. Συγχρόνως, ο PAF που παράγεται από την οξειδωση της LDL διεγείρει την παραγωγή κυτοκινών και την έκφραση μορίων προσκόλλησης στα κύτταρα του αίματος που εμπλέκονται στο μηχανισμό της αθηρωμάτωσης. Ο PAF είναι ικανός να προκαλέσει χημειοτακτισμό στα παραπάνω κύτταρα. Έτσι τα κύτταρα προσελκύονται από τον PAF, που είναι συνδεδεμένος στην περικυτταρική μεμβράνη των ενδοθηλιακών κυττάρων, στο χώρο του ενδοθηλίου. Το κρίσιμο σημείο φαίνεται να είναι η παραγωγή του PAF από την οξειδωση της LDL και η διατάραξη του ενδοθηλίου. Από το σημείο αυτό οι διεργασίες που ακολουθούν είναι εξαιρετικά πολύπλοκες καθώς ο PAF είναι σε θέση να προκαλέσει την παραγωγή κυτοκινών από κύτταρα του αίματος και του αρτηριακού τοιχώματος, οι οποίες στη συνέχεια προκαλούν με τη σειρά τους την παραγωγή του PAF από τα κύτταρα αυτά, με αποτέλεσμα να λαμβάνει χώρα ένα δίκτυο βιοχημικών αντιδράσεων, όπου το αρχικό σήμα συνεχώς ενισχύεται μέσω θετικών ανάδρομων μηχανισμών<sup>27</sup>.

Στη συνέχεια, τα κύτταρα του αίματος συνδέονται στα ενδοθηλιακά κύτταρα μέσω των

σελεκτινών, οπότε παρατηρείται μία κυλιόμενη κίνηση. Στο σημείο αυτό το παρατεταμένο σήμα από τον PAF και τα μόρια των κυτοκινών οδηγούν στην περαιτέρω ενεργοποίηση και καθήλωση στο ενδοθήλιο μετά τη σύνδεση μέσω των ιντεγκρινών. Κατά τον τρόπο αυτό δημιουργείται ένα στρώμα κυττάρων από αιμοπετάλια, μονοκύτταρα και λίγα T-λεμφοκύτταρα. Επαναλαμβάνεται ότι τα διάφορα αυτά κύτταρα είναι ικανά να συνδέονται όχι μόνο στο ενδοθήλιο αλλά και μεταξύ τους, μέσω συμπληρωματικών μορίων προσκόλλησης<sup>27</sup>.

Με αυτό τον τρόπο η διατάραξη του ενδοθηλίου λόγω φλεγμονής, οδηγεί στην αύξηση της διαπερατότητας του. Η οξειδωμένη LDL και τα προσκολλημένα στο ενδοθήλιο κύτταρα διαπερνούν το ενδοθήλιο και μεταναστεύουν στον υποενδοθηλιακό χώρο. Εκεί τα μονοκύτταρα μετατρέπονται σε μακροφάγα, τα οποία προσλαμβάνουν την οξειδωμένη LDL, διαμέσου του ειδικού εκκαθαριστή υποδοχέα και σχηματίζονται τα αφρώδη κύτταρα. Η ενεργοποίηση όλων αυτών των κυττάρων οδηγεί στην παραγωγή μορίων, όπως ο PDGF, που μαζί με τον PAF προκαλούν μετανάστευση και πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών κυττάρων, τα οποία στη συνέχεια εκκρίνουν εξωκυττάρια ύλη. Στο χώρο λοιπόν των αφρώδων κυττάρων μεταναστεύουν λίγα λεία μυϊκά κύτταρα καθώς και πολύ λίγα T-λεμφοκύτταρα. Το παρατεταμένο σήμα οδηγεί σε μία συνεχώς αυξανόμενη βλάβη, όπου παρατηρείται μία μετανάστευση λείων μυϊκών κυττάρων, τα οποία μαζί με λίγα λευκοκύτταρα και συνδετικό ιστό δημιουργούν ένα «ινώδες» κάλυμμα, κάτω από το οποίο δημιουργείται ένα στρώμα από μακροφάγα και λεία μυϊκά κύτταρα. Κάτω από αυτό το στρώμα κυττάρων νεκρώνονται άλλα είδη κυττάρων που βρίσκονται σε αυτό το σημείο και συσσωρεύονται θραύσματα κυττάρων, χοληστερόλη, ασβέστιο και λίγα αφρώδη κύτταρα δημιουργώντας έναν πυρήνα, ένα «νεκρωτικό» πυρήνα<sup>27</sup>.

Ο σχηματισμός λοιπόν από το ινώδες κάλυμμα έως και τον νεκρωτικό πυρήνα αποτελεί την *αθηρωματική πλάκα*. Μία πιθανή ρήξη της αθηρωματικής πλάκας μπορεί να οδηγήσει σε αιμορραγία και σχηματισμό θρόμβου με τελικό αποτέλεσμα το έμφραγμα του μυοκαρδίου<sup>27</sup>.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

### Ιχθυοκαλλιέργειες

#### 3.1. Εισαγωγή

Σύμφωνα με στοιχεία της Διεθνούς Οργάνωσης Τροφίμων και Γεωργίας (FAO), η παγκόσμια παραγωγή υδατοκαλλιεργειών αλλά και η κατανάλωση ψαριών έχει αυξηθεί σημαντικά τις τελευταίες δεκαετίες. Στην Ευρωπαϊκή Ένωση συγκεκριμένα, αν και η διαθέσιμη ποσότητα ψαριών από την αλιεία έχει μειωθεί, η κατανάλωση έχει αυξηθεί τουλάχιστον κατά 10% την τελευταία δεκαετία, με την αύξηση αυτή να καλύπτεται από τα ψάρια ιχθυοτροφείου. Παραδείγματα ψαριών που προέρχονται κυρίως από ιχθυοτροφεία είναι η τσιπούρα, το λαβράκι, ο σολομός, η ιριδίζουσα πέστροφα και ο κυπρίνος, ενώ στα ψάρια ελεύθερης αλιείας περιλαμβάνονται η τσιπούρα, η ρέγγα, ο τόνος, ο κολιός, και οι σαρδέλες. Για τα τελευταία, το θρεπτικό περιεχόμενο και τα επίπεδα επιμόλυνσης εξαρτώνται από διάφορους παράγοντες, όπως το είδος του ψαριού, η εποχή, η διατροφή του, η τοποθεσία, το στάδιο ζωής και η ηλικία, οι οποίοι όπως γίνεται αντιληπτό δεν είναι δυνατό να ελεγχθούν εύκολα<sup>76</sup>. Τα ψάρια που βρίσκονται σε υψηλότερη θέση στην τροφική αλυσίδα (π.χ. σολομός, τόνος, ξιφίας) μπορεί να συγκεντρώσουν μολυσματικά υλικά όπως και βαρέα μέταλλα κυρίως στο υποδόριο λίπος τους. Εν αντιθέσει, στα ψάρια που μεγαλώνουν με μεθόδους υδατοκαλλιέργειας ή άλλες μεθόδους καλλιέργειας, είναι δυνατόν να επιτευχθεί πολύ στενότερος έλεγχος της διατροφής τους. Επιπλέον, στην Ε.Ε ισχύουν αυστηρές νομοθετικές ρυθμίσεις σε σχέση με την επιμόλυνση στα ψάρια ιχθυοτροφείου.

Ο ρόλος και η συμβολή των υδατοκαλλιεργειών είναι σημαντικοί και καθοριστικοί στη βαθμιαία μείωση της προσφοράς αλιευμάτων που προέρχονται από τη συλλεκτική και ελεύθερη αλιεία των θαλασσών, στην τόνωση των τοπικών οικονομιών, στη δημιουργία θέσεων εργασίας, καθώς και στην προσφορά πρόσθετων αλιευτικών προϊόντων στην κατανάλωση αφού η αδυναμία της φυτικής και ζωικής παραγωγής να καλύψουν ανάγκες σε τρόφιμα αυξάνεται με ταχείς ρυθμούς. Ο ρόλος τους ενισχύεται επίσης από το γεγονός, ότι η συλλεκτική αλιεία αντιμετωπίζει έντονα προβλήματα παραγωγής, τα οποία προέρχονται από την εντατική εκμετάλλευση των αποθεμάτων, καθώς και τους κοινοτικούς περιορισμούς. Παρόλα αυτά προβλήματα όπως, ο έντονος ανταγωνισμός, η κυμαινόμενη ζήτηση, καθώς και η ποιότητα και η υγιεινή των προϊόντων μαστίζουν τον κλάδο των υδατοκαλλιεργειών στην Ευρωπαϊκή Ένωση και κρίνεται απαραίτητη η

χάραξη πολιτικής και η οικονομική ενίσχυσή τους, τόσο σε κοινοτικό όσο και σε εθνικό επίπεδο.

### **3.2 Οι Υδατοκαλλιέργειες στην Ελλάδα**

Ο κλάδος των υδατοκαλλιεργειών στη χώρα μας, παρουσιάζει ιδιαίτερη ανάπτυξη με υψηλές παραγωγικές επιδόσεις. Πρόκειται για μια μορφή βιομηχανίας, η οποία συνεισφέρει στην αποκέντρωση της οικονομίας, δεδομένου ότι οι παραγωγικές μονάδες βρίσκονται διάσπαρτες σε όλη τη χώρα, τόσο στην ηπειρωτική Ελλάδα, όσο και στα συμπλέγματα των νήσων αυτής. Η παραγωγή από υδατοκαλλιέργειες το 2007 ανήλθε στους 113.188 τόνους (αύξηση 16,5% σε σχέση με το 2004), καλύπτοντας το 54,3% της συνολικής παραγωγής ιχθύων<sup>3</sup>. Σύμφωνα με στοιχεία της Ελληνικής Εταιρείας Στατιστικών και Οικονομικών Πληροφοριών (Hellastat A.E) οι προοπτικές για τον κλάδο της ιχθυοκαλλιέργειας αναμένεται να είναι ιδιαίτερα ευνοϊκές με προβλεπόμενη ετήσια αύξηση της παραγωγής κατά 5%. Οι σημαντικότεροι λόγοι στους οποίους βασίζονται οι προβλέψεις αυτές είναι η μείωση των αλιευμάτων λόγω ρυθμιστικών και περιβαλλοντικών παραγόντων, η αυξανόμενη έμφαση για την υγιεινή διατροφή, η όλο και μεγαλύτερη εξοικείωση του καταναλωτικού κοινού με τα ψάρια ιχθυοκαλλιέργειας, οι πιο έντονες και συστηματικές διαφημιστικές ενέργειες των εταιρειών, η διείσδυση των αλιευμάτων σε νέες αγορές του εξωτερικού, η ανάπτυξη καλλιέργειας νέων ειδών και η υψηλή τεχνογνωσία και μακροχρόνια εμπειρία του κλάδου.

Σε γενικές γραμμές, η ιχθυοκαλλιέργεια στην Ελλάδα επικεντρώνεται στην παραγωγή γόνου και ιχθύων τσιπούρας και λαβρακίου, ενώ γίνονται συνεχείς προσπάθειες και έρευνα από εταιρείες του κλάδου, με στόχο την ανάπτυξη της καλλιέργειας νέων ειδών (μυτάκι, κέφαλος, λυθρίνι, συναγρίδα κ.α)<sup>39</sup>.

### **3.3 Παραγωγικά Στάδια σε μια Τυπική Μονάδα Ιχθυοκαλλιέργειας**

Ο όρος υδατοκαλλιέργεια χρησιμοποιείται για να περιγράψει την εκτροφή υδρόβιων οργανισμών, κατά την οποία διατηρείται ο έλεγχος ολόκληρου ή μέρους του κύκλου ζωής τους. Ο έλεγχος αυτός διακρίνει τις υδατοκαλλιέργειες από τις συμβατικές μεθόδους αλιείας, στις οποίες οι οργανισμοί συλλέγονται από φυσικά αποθέματα<sup>77</sup>.

Το πρώτο στάδιο της παραγωγικής διαδικασίας αφορά την παραγωγή γόνου, η οποία λαμβάνει χώρα στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς. Ένας σύγχρονος ιχθυογεννητικός σταθμός αποτελείται από το τμήμα γεννητόρων, το τμήμα λαρβών, το τμήμα ζωντανής τροφής και το τμήμα πάχυνσης.

Στο τμήμα γεννητόρων κάτω από απόλυτα ελεγχόμενες συνθήκες οι ιχθύες γεννούν τα αυγά (γεννήτορες). Στη συνέχεια στο τμήμα λαρβών, οι ιχθύες εκκολάπτονται και τα



ιχθύδια τρέφονται αρχικά με ζωντανή τροφή και μετά τον απογαλακτισμό τους με βιομηχανική τροφή. Στο τμήμα ζωντανής τροφής παράγεται κάτω από αυστηρά ελεγχόμενες συνθήκες φυτοπλαγκτόν για το πρώτο στάδιο παραγωγής των λαρβών.

Τέλος, στο τμήμα πάχυνσης, πραγματοποιείται η ολική προετοιμασία του γόνου μέχρι να μεταφερθεί στους ιχθυοκλωβούς για την τελική πάχυνσή του σε έτοιμο ιχθύ<sup>39</sup>. Στο στάδιο αυτό, τα ιχθύδια (γόνοι) μεταφέρονται από τους ιχθυογεννητικούς σταθμούς στις μονάδες πάχυνσης και τοποθετούνται σε πλωτά κλουβιά με δίχτυα ή δεξαμενές. Εκεί εκτρέφονται μέχρι να φτάσουν σε εμπορεύσιμο μέγεθος. (Εικόνα 3.1.).



**Εικόνα 3.1. Πλωτοί ιχθυοκλωβοί εκτροφής**

Οι ιχθυοτροφές που χρησιμοποιούνται παρασκευάζονται από ιχθυάλευρα και έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και βιταμίνες<sup>78</sup>.

Παραδείγματα χημικής συστάσεως των κυριότερων ζωοτροφών, που χρησιμοποιούνται κατά την κατάρτιση σιτηρεσίων εκτρεφόμενων κυρίως σαρκοφάγων ιχθύων, δίνονται στους πίνακες 3.1 και 3.2.

**Πίνακας 3.1. Τυπική χημική σύσταση ζωοτροφών-πρώτων υλών (g/kg ΞΟ) που χρησιμοποιούνται κατά την κατάρτιση σιτηρεσιών κυρίως σαρκοφάγων εκτρεφόμενων ιχθύων<sup>38,79</sup>**

Χημικά χαρακτηριστικά	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Ξηρά ουσία (g/kg)	917	903	885	942	898	962	909	939	946	920	932	953	899	876	887	952	949
ΕΝΕΟ	770	547	415	690	381	431	517	590	602	830	958	674	725	501	411	642	662
ΟΛΟ	68	87	53	93	136	22	47	54	110	117	1	459	86	9	18	121	121
Τέφρα	142	44	33	31	66	86	69	79	237	29	16	154	160	62	78	149	129
Φώσφορος	22	6	4	5	24	23	8	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ΣΕ (MJ/kg ΞΟ)	21.3	20.9	20.4	22.2	23.1	19.6	19.6	20.3	19.4	22.8	25.1	23.2	18.4	18.5	18.3	20.0	20.3
Αργινίνη	43	61	47	78	39	32	42	45	37.2	48.0	38.0	47.8	35.5	29.4	-	43.6	44.7
Ιστιδίνη	25	15	10	15	28	26	14	15	12.1	8.0	58.0	13.5	19.9	10.4	9.5	17.5	17.1
Ισολευκίνη	28	20	15	27	3	3	23	26	21.2	36.7	15.1	24.5	27.3	20.5	16.8	22.6	24.1
Λευκίνη	55	45	29	51	28	25	44	48	40.9	63.2	123.1	45.2	48.0	34.5	29.9	51.7	53.9
Λυσίνη	46	23	14	25	46	41	28	28	37.3	19.7	85.4	38.4	47.2	28.3	21.6	42.8	41.0
Μεθειονίνη	21	4	3	5	37	30	9	9	9.6	6.2	9.9	11.3	15.8	3.8	4.4	10.7	10.3
Φαινυλαλανίνη	29	21	16	28	29	27	27	30	19.7	32.2	54.8	22.4	21.5	19.2	13.9	24.8	26.1
Θρεονίνη	32	20	16	23	18	16	24	25	18.0	28.0	31.8	19.2	22.2	14.0	15.0	21.1	21.1
Βαλίνη	34	19	14	23	66	78	24	27	27.0	58.0	77.3	29.5	30.5	21.4	21.4	33.5	36.6
Κυστεΐνη	-	-	-	-	-	-	-	-	4.3	31.0	8.2	5.5	4.4	3.8	5.6	5.4	8.1
Τυροσίνη	-	-	-	-	-	-	-	-	13.0	17.8	22.4	15.7	17.4	10.5	8.9	15.6	16.0

1: Ιχθυάλευρο (γαύρος Χιλής-Περού-*Engraulis ringens*), 2: Άλευρο πυρήνων λούπινου (*Lupinus luteus*), 3: Άλευρο λούπινου (*Lupinus angustifolius*), 4: Συμπυκνωμένο άλευρο λούπινου (*Lupinus angustifolius*), 5: Άλευρο εξωθήσεως ελαιοκράμβης (*Brassica napus*), 6: Συμπυκνωμένο άλευρο ελαιοκράμβης (*Brassica napus*), 7: Συμπυκνωμένο άλευρο σόγιας, 8: Συμπυκνωμένο πρεωτεϊνούχο άλευρο σόγιας, 9: Οστεοκρεατάλευρο, 10: Πτεράλευρο, 11: Αιματάλευρο, 12: Άλευρο υποπροϊόντων πτηνοσφαγείων, 13: Ρεγγάλευρο, 14: Σογιάλευρο, 15: Άλευρο λούπινου (*Lupinus angustifolius*), 16: Μείγμα 60% από το 12, 30% από το 9 και 10% από το 11, 17: Μείγμα 60% από το 12, 20% από το 9, 10% από το 11 και 10% από το 10, ΕΝΕΟ: Ελεύτερες Αζωτούχες Εκχυλισματικές Ουσίες, ΟΛΟ: Ολικές Λιπαρές Ουσίες, ΣΕ: Συνολική Ενέργεια, ΞΟ: Ξηρά Ουσία.

**Πίνακας 3.2. Μέσοι όροι επιπέδων (~% των ολικών λιπών) των σημαντικότερων λιπαρών οξέων διαφόρων ελαίων φυτικής προελεύσεως<sup>38</sup>**

Λιπαρά οξέα	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Μυριστικό C14:0	0.8										
C15:0		5.5				0.3					
Παλμιτικό C16:0	22.4	3.0	3.7	8.6	7.5	8.5	11.0	4.5	6.5	42.0	13.5
Στεατικό C18:0	2.5		3.0	4.5	3.5	4.5	3.5	1.5	2.5	4.5	2.0
Παλμιτελαϊκό C16:1 $\omega_9$	0.8	17.0	35								
Ελαϊκό C18:1 $\omega_9$	29	15.5	68	43.0	45.0	37.0	43.0	58	11.5	37.0	73.5
Λινολεϊκό C18:2 $\omega_6$	50.1	56.0		42.0	42.0	42.5	31.0	20.0	74.0	10.0	9.5
Λινολενικό C18:4 $\omega_3$	0.1		0.8			6.0		9.5			
Αραχιδονικό C20:4 $\omega_6$		0.41									
C22:6 $\omega_3$			11.0								
ΣΚΛΟ	24.0		20.0	14.0	13.0	15.0	18.0	6.0	9.0	52.0	15.5
ΣΜΛΟ	26.0		69.0	40.0	25.0	24.0	49.0	58.0	11.5	38.0	73.5
ΣΠΛΟ	50.0			46.0	62.0	61.0	33.0	29.6	74.0	10.0	9.5

1: Βαμβακέλαιο, 2: Λινέλαιο, 3: Ηλιέλαιο, 4: Σησαμέλαιο, 5: Καλαμποκέλαιο, 6: Σογιέλαιο, 7: Φυστικέλαιο, 8: Έλαιο ελαιοκράμβης, 9: Έλαιο κρόκκου, 10: Φοινικέλαιο, 11: Ελαιόλαδο. ΣΚΛΟ: Σύνολο Κορεσμένων Λιπαρών Οξέων, ΣΜΛΟ: Σύνολο Μονοακόρεστων Λιπαρών Οξέων, ΣΠΛΟ: Σύνολο Πολυακόρεστων Λιπαρών Οξέων.

Η αλίευση πραγματοποιείται με ειδικά διαμορφωμένα πλωτά μέσα που διαθέτουν τον απαραίτητο εξοπλισμό για τη θανάτωση και συντήρηση ιχθύων με πάγο. Οι προς αλίευση ιχθύες νηστεύονται για μερικές ημέρες, ώστε το πεπτικό τους σύστημα να είναι τελείως απαλλαγμένο από υπολείμματα τροφών. Οι ιχθύες μετά την αλίευσή τους θανατώνονται ακαριαία, με τη μεταφορά τους σε γλυκό νερό με πάγο (παγοσόκ). Στη συνέχεια οι ιχθύες οδηγούνται σε συσκευαστήρια για την κατάψυξη, τυποποίηση ή άμεση διάθεσή τους στην αγορά.

### 3.4 Ιχθυοκαλλιέργεια Τσιπούρας

Η τσιπούρα αποτελεί είδος μεγάλης εμπορικής σημασίας τόσο για την ελληνική όσο και για την ευρωπαϊκή αγορά. Η απαίτηση για νωπή τσιπούρα έχει αυξηθεί σημαντικά την τελευταία δεκαετία λόγω της υψηλής ποιότητας και των επιθυμητών οργανοληπτικών χαρακτηριστικών. Είναι κατάλληλο είδος για εκτεταμένη εκτροφή στη Μεσόγειο, δεδομένου ότι εκμεταλλεύεται τη φυσική παραγωγή της λεκάνης σε ασπόνδυλους οργανισμούς, έχει πολύ καλή τιμή στην αγορά, καλλιεργείται με επιτυχία σε συστήματα πολυκαλλιεργειών εντατικής μορφής με άλλα είδη, τα οποία δε συναγωνίζεται στην τροφή (κέφαλος, λαυκίνος, μυτάκι) και έχει εντυπωσιακά υψηλό ποσοστό διαβίωσης που φτάνει και το 85% ιχθύ<sup>39</sup>.

Το 1981-82 πραγματοποιήθηκε η τεχνική αναπαραγωγή της τσιπούρας στην Ιταλία και το 1988-89 επιτεύχθηκε η παραγωγή σε μεγάλη κλίμακα νεαρών τσιπούρων σε Ελλάδα, Ιταλία και Ισπανία. Το συγκεκριμένο είδος αναπτύσσει γρήγορα υψηλή προσαρμοστικότητα στις εντατικές συνθήκες εκτροφής, τόσο σε κλωβούς όσο και σε λίμνες, ενώ η ετήσια παραγωγή αυξάνεται ολοένα, φτάνοντας το υψηλότερο σημείο των 87.000 τόνων<sup>80</sup>. Η συνεχώς αυξανόμενη ζήτηση της αγοράς και οι φυσικές ευνοϊκές συνθήκες που προσέφερε το κλίμα της Ελλάδας με την έντονη ηλιοφάνεια, την έκαναν τη χώρα επιλογής για την ανάπτυξη του κλάδου αυτού. Τα χρηματοδοτικά προγράμματα από την Ε.Ε, αλλά και η δράση ορισμένων ατόμων που δε φοβήθηκαν την πρόκληση και πήραν το ρίσκο, είχαν ως αποτέλεσμα μια γρήγορη αύξηση στην παραγωγή και να γίνει η Ελλάδα η μεγαλύτερη παραγωγός χώρα των ειδών αυτών στη Μεσόγειο θάλασσα. (Σχήμα 3.1).



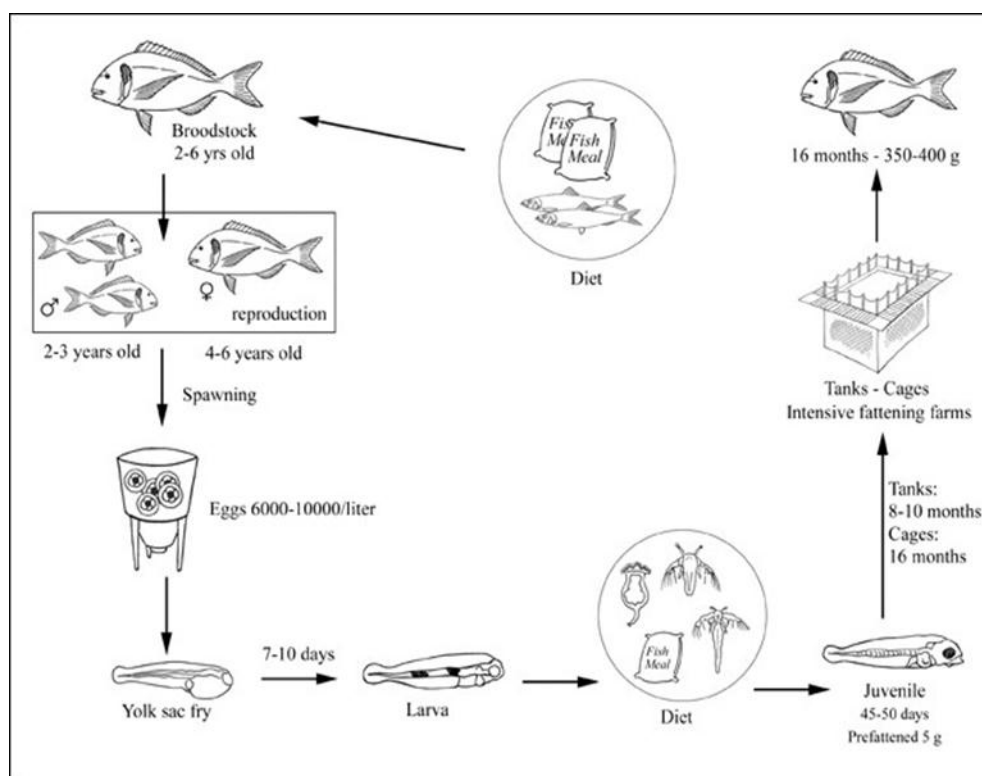
Σχήμα 3.1. Ελληνική Ιχθυοκαλλιέργεια: Πρωταθλήτρια Μεσογείου 2007<sup>80</sup>

Πίνακας 3.3 Παραγωγή τσιπούρας/λαβρακίου μεσογειακών χωρών (τόνοι)

ΧΩΡΑ	2003	2004	2005	2006	2007	Μερίδιο 2007
Ελλάδα	97.000	82.000	85.000	100.000	120.000	48%
Τουρκία	27.000	31.000	38.000	46.000	64.000	26%
Ισπανία	17.000	17.700	21.000	29.100	33.000	13%
Ιταλία	16.700	17.500	17.100	18.000	18.300	7%
Γαλλία	4.800	5.600	6.200	7.800	6.200	2%
Πορτογαλία	4.000	4.000	4.000	3.000	3.000	1%
Κροατία	2.500	2.400	3.000	2.600	3.000	1%
Κύπρος	2.000	2.000	2.000	2.200	2.500	1%
Μάλτα	1.000	900	900	900	900	0%
Σύνολο	172.000	163.100	177.900	209.600	250.900	100%

### 3.5 Κύκλος Παραγωγής Τσιπούρας

Ο κύκλος παραγωγής της τσιπούρας ιχθυοτροφείου φαίνεται στην παρακάτω εικόνα (Εικόνα 3.2).



Εικόνα 3.2. Ο κύκλος παραγωγής της τσιπούρας ιχθυοτροφείου<sup>72</sup>

Σύμφωνα με το παραπάνω σχήμα, τα ψάρια ιχθυοτροφείου τα οποία τρέφονται με ιχθυοτροφή εμπορίου ή με άλλα ψάρια, όταν φτάσουν στην αναπαραγωγική ηλικία που είναι 2-3 ετών για τα αρσενικά και 4-6 για τα θηλυκά, ζευγαρώνουν και στη συνέχεια γεννιούνται τα αυγά τα οποία τοποθετούνται σε δεξαμενές και το πλήθος των αυγών αυτών κυμαίνεται από 6.000-10.000/λίτρο. Στις δεξαμενές αυτές γεννιούνται οι νύμφες που μετά από 7-10 μέρες μετατρέπονται στους λεγόμενους γόνους που τρέφονται με ιχθυοτροφή εμπορίου και μετά από 45-50 μέρες μετατρέπονται στα νεαρά ψάρια τα οποία μένουν σε κλωβούς για 16 μήνες ή σε δεξαμενές για 8-10 μήνες που μετά το πέρας αυτού του χρονικού διαστήματος ζυγίζουν 350-400 g<sup>80</sup>.

### **3.6 Ψάρια Ιχθυοτροφείου/Ελεύθερης Αλιείας – Επίδραση στον Ιστό**

#### **3.6.1 Σύσταση Ιχθυοτροφής Ιχθυοκαλλιεργειών**

Σε γενικές γραμμές, η τροφή των ψαριών περιέχει πρωτεΐνες (55%), λίπη (11%), ίνες (3%), μεταλλικά στοιχεία (13%) και νερό (10%). Η σύσταση της διαφέρει σε σχέση με το μέγεθος των ψαριών και το ίδιο ισχύει για τη μορφή με την οποία παρέχεται. Μέχρι και το μέγεθος των 8 gr η τροφή παρέχεται στα ιχθύδια σε μικρούς κόκκους ενώ όσο τα ψάρια μεγαλώνουν έχει τη μορφή κροκέτας διαφόρων μεγεθών που ξεκινούν από τα 1,5 χιλιοστά και φθάνει τα 4,5 χιλιοστά, όταν τα ψάρια ξεπεράσουν το μέγεθος των 100 gr. Τα υλικά από τα οποία κατασκευάζεται η τροφή είναι βιολογικής προέλευσης και η πρώτη ύλη είναι ψάρια (ιχθυάλευρα 50%, λίπη ψαριών 7%), φυτά με βάση τη σόγια (μέχρι 25%), το σιτάρι (μέχρι και 20%) και μικροοργανισμούς όπως σακχαρομύκητες με τη μορφή μαγιάς για την παροχή των απαραίτητων βιταμινών (Πίνακας 3.4).

Τα ψάρια ιχθυοτροφείου σιτίζονται με ελεγχόμενη διαίτα, η οποία βασίζεται σε ιχθυέλαια και ιχθυάλευρα. Μια τέτοια διατροφή δεν υπόκειται σε εποχιακές μεταβολές σαν αυτές που παρατηρούνται στα ψάρια ανοιχτής θάλασσας. Συνεπώς, η έρευνα έχει πλέον αποδείξει ότι τα επίπεδα λίπους στα ψάρια ιχθυοτροφείου είναι περισσότερο σταθερά σε σύγκριση με τα επίπεδα εκείνων στα ψάρια ανοιχτής θάλασσας. Τα ιχθυάλευρα που χρησιμοποιούνται για τα σαρκοφάγα ψάρια ιχθυοτροφείου παράγονται κυρίως από ψάρια που δεν προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση, όπως η σαρδελόρεγγα (*Clupea sprattus*) και το καπελάν (*Mallotus Villosus*). Αυξανόμενη είναι επίσης η χρήση φυτικών πηγών λίπους στις ιχθυοτροφές.

Πίνακας 3.4. Συνήθης σύσταση ξηρών ιχθυοτροφών για την τσιπούρα σε σχέση με τη διάμετρο του κόκκου της τροφής

Μέγεθος κόκκων τροφής (mm)	Υγρασία %	Πρωτεΐνες %	Λίπη %	Υδατάνθρακες %	Στερεά
0,3-0,5	10	55	11	2	13
0,5-0,8	10	55	11	2	13
0,8-1,2	10	55	11	2	13
1,2-2	10	55	11	2	13
1,5	10	52	12	2	13
2,0	10	49	15	2	13

Πίνακας 3.5. Παράδειγμα πίνακα διατροφής για ιχθύδια τσιπούρας. Ημερήσιοι ρυθμοί διατροφής σε σχέση με το βάρος και τη θερμοκρασία

Βάρος(g)	Θερμοκρασία νερού εκτροφής					
	<15 °C	15-19 °C	19-23 °C	23-26 °C	26-28 °C	>28 °C
>0,6	Διανομή σύμφωνα με την όρεξη του ψαριού (συνήθως >5% του ζωντανού βάρους)					Τάισμα ανάλογα με την όρεξη του ψαριού με τάση μείωσης
0,6-1,0	Τάισμα ανάλογα με την όρεξη του ψαριού	3,0	3,0	3,2	3,0	
1,0-3,0		2,8	3,0	3,2	3,0	
3,0-8,0		2,4	2,7	2,9	2,7	
8,0-15,0		2,2	2,5	2,7	2,5	
15,0-35,0		1,8	2,0	2,2	2,0	

Για κάθε μέγεθος, αυξανόμενης της θερμοκρασίας, ο ημερήσιος ρυθμός διατροφής αυξάνεται ως εκείνη που αντιστοιχεί στη βέλτιστη δυνατότητα αύξησης. Σε μεγαλύτερες θερμοκρασίες μειώνεται εξαιτίας μεταβολικής αποδιοργάνωσης του οργανισμού και πολύ περισσότερο όταν σε αυτές τις θερμοκρασίες ο παράγοντας οξυγόνο μπορεί να είναι περιοριστικός. Αυξανόμενου του μέσου μεγέθους των εκτρεφόμενων ψαριών, ο ημερήσιος ρυθμός διατροφής μειώνεται σταδιακά.

### 3.6.2. Διαφορές στην Περιεκτικότητα του Λίπους και των Λιπαρών Οξέων

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, διάφορα είδη ψαριών ιχθυοτροφείου έχουν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε λίπος από ότι τα αντίστοιχα ψάρια ελεύθερης αλιείας<sup>73</sup>. Λόγω της μειωμένης κατανάλωσης ενέργειας και των διατροφικών διαφορών. Η τροφή με την οποία τρέφονται τα ψάρια ιχθυοτροφείου έχει μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε λίπος (~20%) με αποτέλεσμα την αποθήκευση μεγάλου ποσού λιποειδών στον ιστό τους.

Επιπρόσθετα, όπως έχει αναφερθεί από πολλές μελέτες, τα ψάρια ιχθυοτροφείου και ελεύθερης αλιείας εμφανίζουν κάποιες διαφορές και ως προς τα επίπεδα ορισμένων λιπαρών οξέων, οι οποίες αποδίδονται κυρίως στη διαφορετική διατροφή των ψαριών αλλά και της εποχής<sup>7,22,24,81</sup>.

Ειδικότερα, μια από τις μελέτες αυτές δείχνει ότι τα επίπεδα λιπαρών οξέων τσιπούρας ιχθυοτροφείου είναι παραπλήσια με τα επίπεδα των λιπαρών οξέων της τροφής που κατανάλωσε το συγκεκριμένο ψάρι<sup>22</sup> (Πίνακας 3.6).

**Πίνακας 3.6. Σύσταση των λιπαρών οξέων τροφής τσιπούρας ιχθυοτροφείου και ελεύθερης αλιείας, εκφρασμένη σε εκατοστιαίο ποσοστό ολικών λιποειδών<sup>22</sup>**

Λιπαρό οξύ	Τροφή ψαριών	Τσιπούρα ιχθυοτροφείου	Τσιπούρα ελεύθερης αλιείας
(C14:0)	4,91	4,35	2,89
(C15:0)	0,76	0,37	0,41
(C16:0)	18,82	19,05	23,62
(C16:1 ω-7)	4,58	4,24	6,91
(C18:0)	5,19	4,05	7,21
(C18:1 ω-3)	19,72	25,21	16,06
(C18:1 ω-7)	2,47	2,62	3,54
(C18:2 ω-6)	8,50	9,00	1,03
(C18:3 ω-6)	0,14	1,74	MA
(C18:3 ω-3)	2,04	1,39	0,27
(C20:0)	0,47	0,31	0,33
(C20:1 ω-9)	3,09	2,74	0,75
(C20:2 ω-6)	0,21	0,19	0,13
(C20:4 ω-6)	0,11	0,59	5,85
(C20:4 ω-3)	0,50	0,78	0,17
(C20:5 ω-3)	6,40	5,71	6,96
(C22:1 ω-11)	3,62	2,34	0,24
(C22:3 ω-6)	0	0,19	0,60
(C22:4 ω-6)	0,13	MA	0,32
(C22:5 ω-6)	0,37	0,15	1,36
(C22:5 ω-3)	1,23	2,30	3,67
(C22:6 ω-3)	12,40	12,67	17,61
<b>Κορεσμένα</b>	<b>31,02</b>	<b>28,15</b>	<b>34,49</b>
<b>Μονοακόρεστα</b>	<b>33,48</b>	<b>37,15</b>	<b>27,51</b>
<b>ω-9</b>	<b>22,81</b>	<b>27,95</b>	<b>16,82</b>
<b>ω-6</b>	<b>9,46</b>	<b>11,86</b>	<b>9,3</b>
<b>ω-3</b>	<b>23,99</b>	<b>22,84</b>	<b>28,68</b>
<b>ω-3/ω-6</b>	<b>2,54</b>	<b>1,92</b>	<b>3,09</b>

α, β: υποδηλώνουν στατιστική διαφορά  $p < 0,05$

MA: Μη Ανιχνεύσιμο



Όπως φαίνεται από τα δεδομένα του παραπάνω πίνακα, μεταξύ τσιπούρας ιχθυοτροφείου και ελεύθερης αλιείας, υπάρχουν σημαντικές διαφορές ως προς τη συγκέντρωση ορισμένων λιπαρών οξέων. Το ψάρι ιχθυοτροφείου έχει αρκετά υψηλότερα επίπεδα μονοακόρεστων και ω-9 μονοακόρεστων λιπαρών οξέων, τα οποία οφείλονται στην αυξημένη παρουσία του ελαϊκού οξέος (C18:1) στους ιστούς του ψαριού. Αντίθετα, το ψάρι ελεύθερης αλιείας έχει υψηλότερα ποσοστά κορεσμένων λιπαρών οξέων, τα οποία οφείλονται κυρίως στο παλμιτικό (C16:0) και στο στεατικό οξύ (C18:0)<sup>83</sup>.

Το μονοακόρεστο λιπαρό οξύ 22:1, το οποίο ανιχνεύεται στο ψάρι ιχθυοτροφείου ενώ στο ψάρι ελεύθερης αλιείας υπάρχει μόνο σε ιχθυοποσότητες, προέρχεται από τα ιχθυέλαια που περιέχονται στην τροφή που καταναλώνουν τα ψάρια ιχθυοτροφείου, τα οποία ιχθυέλαια παράγονται από άλλα ψάρια ελεύθερης αλιείας και κυρίως ψάρια που ζουν στα βάθη ωκεανών. Το συγκεκριμένο λιπαρό οξύ δεν είναι συστατικό των λιποειδών των ψαριών που ζουν σε θερμά ύδατα, όπως η τσιπούρα, αλλά αποθηκεύεται στους ιστούς τους όταν αυτά τρέφονται με έλαια που το περιέχουν<sup>22</sup>.

Στην τσιπούρα ιχθυοτροφείου παρατηρήθηκαν υψηλά ποσά λινελαϊκού οξέος (C18:2). Το λινελαϊκό οξύ δεν είναι βασικό συστατικό των ψαριών, τα οποία περιέχουν κυρίως πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, αλλά προέρχεται κυρίως από φυτικά έλαια, που χρησιμοποιούνται για την Παρασκευή της τροφής των ψαριών ιχθυοτροφείου και συσσωρεύεται αναλλοίωτο στα λιποειδή των ψαριών, λόγω της μειωμένης ικανότητάς τους να επιμηκύνουν την ανθρακική αλυσίδα και να την κάνουν πιο ακόρεστη<sup>22</sup>.

Τα επίπεδα του αραχιδονικού οξέος (C20:4) είναι υψηλότερα στην τσιπούρα ανοιχτής θαλάσσης απ' ότι στην ιχθυοτροφείου, αφού τα ιχθυέλαια της διατροφής των ψαριών του ιχθυοτροφείου περιέχουν ελάχιστη ποσότητα από το συγκεκριμένο οξύ.

Τέλος, η αναλογία ω-3/ω-6 είναι μεγαλύτερη στην τσιπούρα ελεύθερης αλιείας από ότι σε εκείνη του ιχθυοτροφείου<sup>22</sup>.

Επίσης, έχει αναφερθεί ότι η αυξημένη λήψη ω-6 λιπαρών οξέων έχει μη επιθυμητή επίδραση στην υγεία του ανθρώπου, γι' αυτό η αναλογία ω-3/ω-6 στη τροφή των ψαριών θα πρέπει όσο το δυνατόν μεγαλύτερη ή τουλάχιστον παρόμοια με εκείνη των ψαριών ανοιχτής θαλάσσης<sup>82</sup>.

Στον πίνακα 3.7. φαίνεται ενδεικτικά η χημική σύσταση τσιπούρας ιχθυοκαλλιέργειας ενώ οι τιμές έχουν προκύψει από το μέσο όρο των μετρήσεων που πραγματοποιήθηκαν από διάφορες ερευνητικές ομάδες<sup>81,82</sup>.

**Πίνακας 3.7. Χημική σύσταση ιστού από τσιπούρα ελεύθερης αλιείας και ιχθυοκαλλιέργειας ως προς τα βασικά συστατικά<sup>81,82</sup>**

Συστατικό	ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ (%)	ΛΙΠΟΣ (%)	ΥΓΡΑΣΙΑ (%)	ΤΕΦΡΑ (%)
Τσιπούρα ελεύθερης αλιείας	20.2±1.4	6.4±0.8 <sup>α</sup>	77.2±1.5 <sup>β</sup>	1.4±0.1
Τσιπούρα ιχθυοτροφείου	20.5±1.3	6.02±2.6 <sup>α</sup>	71.8±1.8 <sup>β</sup>	1.4±0.1

<sup>α, β</sup>: υποδηλώνουν στατιστική διαφορά  $p < 0.05$

Από τα παραπάνω δεδομένα του πίνακα προκύπτει ότι η υγρασία είναι το κυρίαρχο συστατικό και στα δύο ψάρια τόσο ιχθυοτροφείου, όσο και ελεύθερης αλιείας και στη συνέχεια ακολουθούν οι πρωτεΐνες και το λίπος.

Επίσης, η τσιπούρα ιχθυοτροφείου βρέθηκε ότι περιέχει σημαντικά μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε λίπος και σημαντικά μικρότερη υγρασία από ότι η τσιπούρα ελεύθερης αλιείας<sup>81,82</sup>. Η περιεκτικότητα σε λίπος της τσιπούρας ελεύθερης αλιείας διακρίνεται από μεγάλη διασπορά, γεγονός που υποδηλώνει ότι τα προς εξέταση δείγματα ψαριού είχαν μεγάλες διακυμάνσεις ως προς την περιεκτικότητα σε λίπος, λόγω των διαφορετικών, πολυάριθμων και αστάθμητων παραγόντων που διέπουν τα ψάρια ελεύθερης αλιείας, κάτι που δεν παρατηρείται στα ψάρια ιχθυοτροφείου στα οποία επικρατούν ελεγχόμενες και αρκετά σταθερές συνθήκες κατά την ανάπτυξή τους, καθιστώντας με αυτό τον τρόπο δύσκολη τη διεξαγωγή αξιόπιστων αποτελεσμάτων για τα ψάρια ελεύθερης αλιείας.

Η περιεκτικότητα της πρωτεΐνης τόσο στην τσιπούρα ελεύθερης αλιείας όσο και στην ιχθυοτροφείου δεν εμφανίζει σημαντικές διαφορές.

Η τσιπούρα διατίθεται στην ελληνική αγορά κυρίως νωπή και ορισμένες φορές κατεψυγμένη. Η νωπή τσιπούρα διατίθεται συνήθως ως ολόκληρος ιχθύς ή ως φιλέτο, με το τελευταίο να παρουσιάζει μεγαλύτερο ενδιαφέρον αλλά και μικρότερο χρόνο ζωής. Υπολογίζεται ότι αν διατηρηθούν οι σημερινές πρακτικές αλιείας, τα αποθέματα ψαριών θα εξαντληθούν μέσα στα επόμενα 40 χρόνια. Όσον αφορά τη ναυτική περιοχή της ΕΕ, μόνο το 10% των κοπαδιών ψαριών είναι διατηρήσιμα. Είναι ξεκάθαρο, λοιπόν, ότι τα ψάρια ιχθυοτροφείου θα μπορούσαν να προσφέρουν μια μακροπρόθεσμη λύση στις αυξημένες ανάγκες της αγοράς<sup>83</sup>.

Το 67,1% της συνολικής ελληνικής παραγωγής τσιπούρας και λαβρακίου οδεύει προς τις αγορές άλλων ευρωπαϊκών χωρών (Ιταλία, Ισπανία κ.α.). Όσον αφορά το υπόλοιπο

32,9%, η διάθεσή του στην εγχώρια αγορά παρουσιάζει προβλήματα, λόγω της επιφυλακτικής στάσης των καταναλωτών έναντι των εκτρεφόμενων ιχθύων<sup>85</sup>. Οι Έλληνες καταναλωτές αναγνωρίζεται ότι έχουν ιδιαίτερες ποιοτικές προτιμήσεις, καθώς θεωρούν ότι τα ψάρια ιχθυοτροφείου περιέχουν πολύ λίπος και έχουν λιγότερο ικανοποιητική γεύση από τα αντίστοιχα ελεύθερης αλιείας. Επίσης έχουν ελλιπή ενημέρωση σχετικά με τη θρεπτική αξία και την ασφάλεια των προϊόντων αυτών και την εναλλακτική και άμεση δυνατότητα αγοράς ιχθύων συλλεκτικής αλιείας σε όχι τόσο υψηλές τιμές. Πιο συγκεκριμένα, τα ψάρια ιχθυοτροφείου διαθέτουν αρκετά πλεονεκτήματα, όπως:

- Σταθερά αποθέματα
- Θρεπτικό περιεχόμενο σύμφωνα με προδιαγραφές
- Αυστηρός έλεγχος της γραμμής παραγωγής
- Χαμηλότερες και σταθερότερες τιμές
- Ιχνηλασιμότητα

Η ευαισθησία των καταναλωτών για το θέμα της ποιότητας των ιχθύων ιχθυοτροφείου που καταναλώνουν εμφανίζει συνεχώς αύξηση ανεξαρτήτως γεωγραφικών και κοινωνικοοικονομικών χαρακτηριστικών, έτσι ώστε να επιδιώκουν αλλά και να απαιτούν την κατοχύρωσή της με στοιχεία πιστοποίησης/σήμα ποιότητας<sup>86</sup>.

Επιπλέον, η άρνηση της κατανάλωσης ψαριών ανοικτής θάλασσας έχει συσχετιστεί με ηθικά διλήμματα, ενώ η άρνηση για κατανάλωση ψαριών ιχθυοτροφείου σχετίζεται με την πεποίθηση για χαμηλότερη ποιότητα τροφίμων. Η υδατοκαλλιέργεια έχει φυσικά και αρνητικές περιβαλλοντικές συνέπειες: ανεξέλεγκτο ψάρεμα για την παραγωγή ιχθυοτροφών, αλλαγές φυσικού περιβάλλοντος, δημιουργία παραποτάμων και επιδράσεις στη βιοποικιλότητα όταν τα ψάρια δραπέτεύουν από τα σημεία εκτροφής. Ως λύση στα παραπάνω αποτελεί η χρηματοδότηση αρκετών προγραμμάτων στην ΕΕ, τα οποία στοχεύουν στη βελτίωση των υδατοκαλλιεργειών, έτσι ώστε να καλύπτονται οι καταναλωτικές ανάγκες με υπεύθυνο και διατηρήσιμο τρόπο. Επιπρόσθετα, υπάρχει η πεποίθηση ότι τα ψάρια ιχθυοτροφείου είναι λιγότερο υγιεινά. Ωστόσο, λόγω του ελεγχόμενου περιβάλλοντος, οι ασθένειες σε μια υδατοκαλλιέργεια είναι περιορισμένες, βελτιώνοντας έτσι την ευημερία των ψαριών. Ένας σημαντικός στόχος των υδατοκαλλιεργειών είναι η εξασφάλιση ενός επιθυμητού επιπέδου ευημερίας, έτσι ώστε τα ψάρια ιχθυοτροφείου να μπορούν να συγκριθούν με τα ψάρια ανοικτής θάλασσας<sup>87</sup>.



## Κεφάλαιο 4

### Θερμική Επεξεργασία – Ψήσιμο<sup>88</sup>

#### 4.1. Εισαγωγή<sup>88</sup>

Οι διάφορες μέθοδοι θερμικής επεξεργασίας εφαρμόζονται για να μεταβάλλουν, να βελτιώσουν και να παρατείνουν τη γεύση, το άρωμα και την υφή των τροφίμων. Επίσης, καταστρέφουν ένζυμα και παθογενείς μικροοργανισμούς και μειώνουν την υγρασία σε κάποιο βαθμό, με απώτερο σκοπό την καλύτερη συντήρηση του τροφίμου. Διακρίνονται τρεις κατηγορίες μαγειρέματος των τροφίμων. Η μέθοδος όπου το τρόφιμο θερμαίνεται με ζεστό αέρα ή λίπος (ψήσιμο, grill, φούρνισμα, τηγάνισμα), η μέθοδος στην οποία το τρόφιμο θερμαίνεται με τη βοήθεια κάποιου υγρού συνήθως νερού ή ατμού (ατμομάγειρας, βράσιμο), και η μέθοδος στην οποία δύναται να χρησιμοποιηθεί συνδυασμός των δύο προηγούμενων. Μελέτες πάνω στις διάφορους μεθόδους μαγειρέματος των τροφίμων έχουν αποδείξει ότι μπορεί να επηρεαστεί η θρεπτική και διατροφική τους αξία.

Το ψήσιμο περιλαμβάνει ταυτόχρονη μεταφορά θερμότητας και μάζας. Η θερμότητα μεταφέρεται στο τρόφιμο από τις θερμές επιφάνειες και τον αέρα του φούρνου και η υγρασία μεταφέρεται από το τρόφιμο στον αέρα που το περιβάλλει και το οποίο μετέπειτα απομακρύνεται από τον φούρνο.

#### 4.2. Επίδραση του Ψησίματος στην Υφή<sup>88</sup>

Οι αλλαγές στην υφή εξαρτώνται από τη φύση του τροφίμου (περιεχόμενη υγρασία, σύνθεση λιπιδίων, πρωτεΐνες, δομή υδατανθράκων), από τη θερμοκρασία και τη διάρκεια θέρμανσης. Χαρακτηριστικό τροφίμων που έχουν ψηθεί είναι ο σχηματισμός μιας κρούστας, η οποία προστατεύει τον υγρό τους όγκο (κρέας, ψωμί, πατάτα). Σε άλλα τρόφιμα, (μπισκότα) όπου η περιεχόμενη υγρασία είναι χαμηλότερη, οι αλλαγές που συμβαίνουν κατά το ψήσιμο αφορούν όλη τη μάζα του τροφίμου. Όταν ψήνεται το κρέας, το λίπος λιώνει και διασπείρεται σε όλη του τη μάζα ή χάνεται σαν απώλεια υγρών. Το κολλαγόνο είναι διαλυτοποιημένο στην επιφάνεια για να σχηματίσει τη ζελατίνη. Οι πρωτεΐνες μετουσιώνονται και χάνουν τη ικανότητά τους να συγκρατούν το νερό. Αυτό αναγκάζει τα επιπλέον λίπη και νερό να σκληραίνουν με αποτέλεσμα το τρόφιμο να συρρικνώνεται σε μάζα. Περαιτέρω αύξηση της θερμοκρασίας καταστρέφει τους μικροοργανισμούς και αδρανοποιεί τα ένζυμα. Η επιφάνεια στεγνώνει και η υφή γίνεται πιο τραγανή και σκληρή καθώς μια πορώδης κρούστα σχηματίζεται από την

υποβάθμιση του σημείου πήξεως και τη μερική πυρόλυση των πρωτεϊνών. Σε τρόφιμα, όπως τα δημητριακά οι αλλαγές στην κοκκώδη δομή του αμύλου, η ζελατινοποίηση και η αφυδάτωση παράγουν αυτή τη χαρακτηριστική κρούστα.

Η ταχεία θέρμανση παράγει μια αδιαπέραστη κρούστα, η οποία διατηρεί την υγρασία και το λίπος προστατεύοντας έτσι τα θρεπτικά συστατικά και τη γεύση καθώς σχηματίζονται υδρατμοί μεταξύ του εσωτερικού και του εξωτερικού των τροφίμων. Κατά τη διάρκεια αποθήκευσης των τροφίμων η υγρασία μεταφέρεται σε όλη την επιφάνεια του τροφίμου. Εάν οι μέθοδοι συντήρησης (π.χ. ψύξη) δεν χρησιμοποιούνται για να περιορίσουν την υγρασία, αυτή η μεταφορά μαλακώνει την κρούστα, υποβαθμίζει την ποιότητα και επίσης περιορίζει τη διατηρησιμότητα του τροφίμου. Χαμηλότερες θερμοκρασίες θέρμανσης επιτρέπουν μεγαλύτερες ποσότητες υγρασίας να «δραπετεύσουν» από την επιφάνεια του τροφίμου πριν εγκλωβιστούν στην κρούστα με αποτέλεσμα τα τρόφιμα να στεγνώνουν. Στους φούρνους που ψήνεται το ψωμί, η αρχική θέρμανση με ατμό μειώνει την αφυδάτωση στην επιφάνεια της ζύμης και έτσι η κρούστα παραμένει ελαστική χωρίς να σπάει για περισσότερο χρονικό διάστημα. Η κρούστα είναι πιο ομαλή και γυαλιστερή, και παίρνει καλύτερο χρώμα όταν λαμβάνουν χώρα οι αντιδράσεις αμαύρωσης.

#### **4.3. Επίδραση του Ψησίματος στη Γεύση και το Άρωμα<sup>88</sup>**

Το άρωμα των τροφίμων που παράγεται κατά το ψήσιμό τους είναι χαρακτηριστικό. Οι διάφορες θερμοκρασίες θέρμανσης σε όλα τα στρώματα της επιφάνειάς τους προκαλούν αντιδράσεις αμαύρωσης μεταξύ των σακχάρων και των αμινοξέων. Οι υψηλές θερμοκρασίες και η χαμηλή περιεχόμενη υγρασία στα επιφανειακά στρώματα, προκαλούν επίσης καραμελοποίηση των σακχάρων και οξείδωση των λιπαρών οξέων σε αλδεΐδες, λακτόνες, κετόνες, αλκοόλες και εστέρες. Η αντίδραση Maillard και η υποβάθμιση Strecker παράγουν διαφορετικό άρωμα σύμφωνα με το συνδυασμό των ελεύθερων αμινοξέων και σακχάρων που παρουσιάζεται σε ένα ιδιαίτερο τρόφιμο. Κάθε αμινοξύ παράγει ένα χαρακτηριστικό άρωμα όταν θερμανθεί με ένα σάκχαρο, λόγω της παραγωγής μιας συγκεκριμένης αλδεΐδης. Τα διαφορετικά αρώματα που παράγονται, εξαρτώνται από τον τύπο του σακχάρου και τις συνθήκες θέρμανσης (για παράδειγμα, το αμινοξύ προλίνη, μπορεί να παράξει άρωμα πατάτας, μανιταριού ή καμένου αυγού, όταν θερμανθεί με διαφορετικά σάκχαρα και σε διαφορετικές θερμοκρασίες). Εν συντομία τα αρώματα που παράγονται από τα πιο σημαντικά αμινοξέα σε τέσσερα τρόφιμα παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 4.1).

**Πίνακας 4.1. Αρώματα που παράγονται κατά το ψήσιμο (Andrian, 1982)<sup>88</sup>**

Τρόφιμο	Κυρίαρχα αμινοξέα	Χαρακτηριστικό άρωμα μετά τη θέρμανση με ένα σάκχαρο
Πατάτα	Ασπαραγίνη Γλουταμίνη Βαλίνη Αμινοβουτυρικό οξύ	- καραμελένιο, καμένης ζάχαρης φρουτώδες, γλυκό, ζύμης καραμέλας, σιρόπι σφενδάμου, καρυδένιο
Φυστίκι	Αλανίνη Φαινυλαλανίνη Ασπαραγίνη Αργινίνη	καραμέλας, καρυδένιο, βύνης γλυκιάς και ταγγισμένης καραμέλας, βιολέτας - ψωμιού, βουτύρου, καμένης ζάχαρης
Βοδινό κρέας	Βαλίνη Γλυκίνη Λευκίνη	φρουτώδες, γλυκό, ζύμης καραμέλας, καπνιστό, καμένο ψημένο, τυρένιο, βύνης
Κόκκος καρύδας	Λευκίνη Αλανίνη Φαινυλαλανίνη	ψημένο, τυρένιο, βύνης καραμέλας, καρυδένιο, βύνης γλυκιάς και ταγγισμένης καραμέλας, βιολέτας
Βαλίνη		Φρουτώδες, γλυκό, ζύμης

Περαιτέρω θέρμανση υποβαθμίζει μερικές από τις πτητικές ουσίες που παράγονται από τους παραπάνω μηχανισμούς με αποτέλεσμα ένα καμένο ή καπνώδες άρωμα. Υπάρχει ωστόσο, ένας μεγάλος αριθμός συστατικών αρωμάτων που παράγονται κατά τη διάρκεια του ψησίματος. Ο τύπος του αρώματος εξαρτάται από συγκεκριμένο συνδυασμό λιπών, αμινοξέων και σακχάρων που παρουσιάζονται στα επιφανειακά στρώματα του τροφίμου, τη θερμοκρασία, την περιεχόμενη υγρασία κατά τη διάρκεια θέρμανσης καθώς και το χρόνο θέρμανσής του.

Το χαρακτηριστικό χρυσό-καστανό χρώμα που σχετίζεται με τα ψημένα τρόφιμα οφείλεται στις αντιδράσεις Maillard, στην καραμελοποίηση των σακχάρων και των δεξτρινών (είτε παρουσιάζονται στο τρόφιμο, είτε παράγονται από την υδρόλυση του αμύλου), στη φουρφουράλη, στην υδροξυμεθυλο-φουρφουράλη, στην απανθράκωση των σακχάρων, στα λίπη και τις πρωτεΐνες.

#### **4.4. Επίδραση του Ψησίματος στη Διατροφική Αξία<sup>88</sup>**

Ορισμένα ψημένα τρόφιμα (για παράδειγμα, το ψωμί και το κρέας) είναι σημαντικά συστατικά μιας δίαιτας σε πολλές χώρες και είναι επίσης σημαντική πηγή πρωτεϊνών, βιταμινών και μεταλλικών στοιχείων. Για παράδειγμα, η λυσίνη είναι το αμινοξύ που βρίσκεται στο λευκό αλεύρι και η καταστροφή του από το ψήσιμο είναι επίσης σημαντική ως προς τη διατροφική αξία. Άλλα ψημένα τρόφιμα (καρύδια, μπισκότα, καρύδα, καφές και σνακ) είναι λιγότερο σημαντικά σε μια δίαιτα, γι' αυτό και η διατροφική τους απώλεια είναι εξίσου λιγότερο σημαντική.

Οι κύριες διατροφικές αλλαγές κατά τη διάρκεια του ψησίματος που συμβαίνουν στην επιφάνεια του τροφίμου και η αναλογία της επιφάνειας προς τον όγκο είναι συνεπώς ένας σημαντικός παράγοντας που καθορίζει την απώλεια των συνολικών θρεπτικών συστατικών. Στο ψωμί που ψήνεται στο τηγάνι, μόνο η ανώτερη επιφάνεια επηρεάζεται και το τηγάνι προστατεύει το μεγαλύτερο μέρος του ψωμιού από τις ουσιαστικές διατροφικές αλλαγές. Με εξαίρεση τη βιταμίνη C, η οποία προστίθεται στη ζύμη του ψωμιού ως βελτιωτικό και η οποία καταστρέφεται κατά τη διάρκεια του ψησίματος. Σε χημικά προζύμια, οι αλκαλικές συνθήκες προκαλούν την απελευθέρωση της νιασίνης, η οποία δεσμεύεται σε πολυσακχαρίτες και πολυπεπτίδια προκαλώντας συνεπώς την αύξηση της συγκέντρωσής της. Οι βιταμίνες του ψωμιού καθορίζονται επίσης και από τη ζύμωση η οποία αυξάνει το ποσό των βιταμινών του συμπλέγματος B. Στο κρέας, οι διατροφικές απώλειες επηρεάζονται από το είδος του ζώου, το μέγεθος του κομματιού που ψήνεται, από την αναλογία κόκκαλου και λίπους και τις διαδικασίες πριν και μετά τη σφαγή του ζώου.

Στα μπισκότα, στα δημητριακά και στα κριτσίνια, το μεγαλύτερο μέρος του τροφίμου θερμαίνεται παρόμοια. Ωστόσο, υπάρχουν μικρότερα κομμάτια που απαιτούν λιγότερο χρόνο ψησίματος και οι απώλειες συνεπώς μειώνονται. Στα τρόφιμα, τα οποία έχουν συστατικά που έχουν επεξεργαστεί ώστε να σταθεροποιούν την αποθήκευσή τους, μπορεί να υπάρχουν πρόσθετες απώλειες στη διατροφική ποιότητα (αλεσμένο σιτάρι, αποξηραμένα φρούτα, κατεψυγμένα κρέατα ή ζύμες, αποξηραμένη καρύδα ή κόκκοι καφέ).

Η θειαμίνη είναι η πιο σημαντική θερμοασταθής βιταμίνη στα δημητριακά και στα κρέατα και οι απώλειές της παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 4.2).

**Πίνακας 4.2. Απώλεια θειαμίνης κατά τη διάρκεια του ψησίματος (Farren 1955)<sup>88</sup>**

Τρόφιμο	Απώλεια θειαμίνης (%)
Βοδινό κρέας	40-60
Χοιρινό κρέας	30-40
Ζαμπόν	50
Αρνί	40-50
Πουλερικά	30-45
Ψωμί	15
Κέικ	23
Κέικ <sup>a</sup>	30-95
Σόγια	90

<sup>a</sup> Χρήση χημικής μαγιάς



Στα δημητριακά ο βαθμός απώλειας της θειαμίνης καθορίζεται από τη θερμοκρασία ψησίματος και το pH του τροφίμου. Η απώλεια της θειαμίνης στο τηγανόψωμο κυμαίνεται στο 15%, ενώ στα μπισκότα και στα κέικ που το προζύμι τους φτιάχνεται χημικά με διττανθρακικό νάτριο το ποσοστό απώλειας αυξάνεται στο 50-95%.

Κατά τη διάρκεια του ψησίματος, η φυσική κατάσταση των πρωτεϊνών και των λιπών αλλοιώνεται, το άμυλο ζελατινοποιείται και υδρολύεται σε δεξτρίνες και μειώνονται τα σάκχαρα. Ωστόσο, σε κάθε περίπτωση η διατροφική αξία, ουσιαστικά δεν επηρεάζεται. Η απώλεια των αμινοξέων και η μείωση των σακχάρων στις αντιδράσεις αμαύρωσης Maillard προκαλεί μικρή μείωση της θρεπτικής αξίας. Πιο συγκεκριμένα, η λυσίνη χάνεται από τις αντιδράσεις Maillard, όπου και μειώνεται ελαφρώς η ποιότητα των πρωτεϊνών. Στο ψωμί ο δείκτης αποτελεσματικότητας της πρωτεΐνης μειώνεται στο 23% συγκριτικά με το αρχικό αλεύρι. Η απώλεια αυξάνεται από τις υψηλές θερμοκρασίες, το μεγαλύτερο χρόνο ψησίματος και το μεγαλύτερο ποσό μείωσης των σακχάρων. Η δραστικότητα της αμυλάσης του αλευριού, η προσθήκη σακχάρων στη ζύμη, η χρήση μυκήτων αμυλάσης και η έγχυση ατμού στους φούρνους για να ζελατινοποιήσουν την επιφάνεια του αμύλου και να βελτιώσουν το χρώμα της κρούστας συνεπώς επηρεάζουν σε κάποιο βαθμό τη θρεπτική αξία των πρωτεϊνών. Στα μπισκότα μια μείωση πάχους της ζύμης από 4.9 mm στα 3.8 mm, σε θερμοκρασία 170 ° C και για 8 min προκάλεσε υψηλότερη απώλεια αμινοξέων ως εξής: τρυπτοφάνη από 8% σε 44%, μεθειονίνη από 15% σε 48%, λυσίνη από 27% σε 61%. Στον αραβόσιτο, η απώλεια λυσίνης αυξάνεται από 5% σε 88% κατά τη διάρκεια παραγωγής των δημητριακών.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

### Η Θεωρία της Οργανοληπτικής Ανάλυσης

#### 5.1. Αντίληψη του Αρώματος και της Γεύσης<sup>89,90</sup>

Ο κάθε άνθρωπος αντιλαμβάνεται τον κόσμο γύρω του μέσα στα όρια των αισθήσεων του. Ο κόσμος του κάθε ανθρώπου χωριστά, ξεκινά όταν οι αισθήσεις αντιδρούν στο ελάχιστο ερέθισμα που είναι ικανό να τις διεγείρει. Έτσι λοιπόν, οι αισθήσεις αντιδρούν ποσοτικά μεταξύ του κατωφλιού αντίληψης και της πλήρους ικανοποίησης με αίτια φυσικά και χημικά ερεθίσματα. Η αντίληψή μας όμως είναι κάτι περισσότερο από το άθροισμα όλων των αισθημάτων από τα ερεθίσματα. Αυτό συμβαίνει, διότι η εισερχόμενη πληροφορία εξαρτάται της προσοχής μας, συνδυάζεται με την επίκτητη μνήμη μας και ενσωματώνεται με μια τελική σύνθετη αντίληψη<sup>91</sup>. Σύμφωνα με τον ορισμό της American Society of Testing and Materials, η γεύση είναι το άθροισμα των αισθητήριων χαρακτηριστικών που απορρέουν από το ερέθισμα των γευστικών υποδοχέων της γλώσσας<sup>92</sup>.

Το αισθητήριο της γεύσης βρίσκεται στην κοιλότητα του στόματος. Συγκεκριμένα η γεύση περιλαμβάνει:

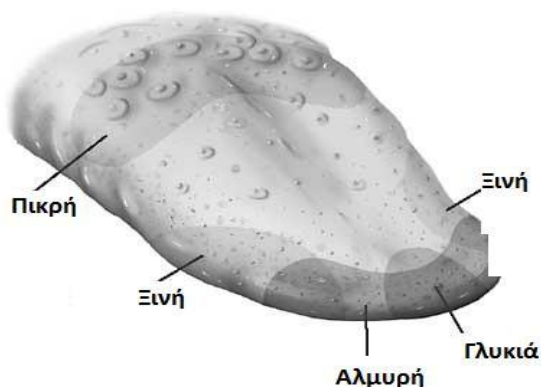
- Τα αρωματικά χαρακτηριστικά δηλαδή τις πτητικές ουσίες που απελευθερώνονται από ένα προϊόν στο στόμα μέσω του οσφρητικού συστήματος.
- Τα γευστικά χαρακτηριστικά τα οποία αντιλαμβάνονται οι γευστικοί υποδοχείς με τη βοήθεια διαλυτών ουσιών στο στόμα.
- Τις χημικές ουσίες οι οποίες ερεθίζουν τις νευρικές απολήξεις των μεμβρανών των στοματικών και ρινικών κοιλοτήτων.

Συμπερασματικά, στον ανθρώπινο οργανισμό η αίσθηση της γεύσης και της όσφρησης είναι στενά συνδεδεμένες. Τα όργανα της γεύσης και της όσφρησης είναι τόσο κοντά τοποθετημένα το ένα στο άλλο που αποτελούν τελικά ένα σύνολο. Στη γεύση η ανίχνευση της χημικής ουσίας που αποτελεί το ερέθισμα και είναι διαλυμένη σε νερό, λάδι ή σάλιο γίνεται από τους γευστικούς κάλυκες οι οποίοι βρίσκονται κυρίως στην επιφάνεια της γλώσσας όπως επίσης και σε περιοχές του λαιμού. Η ονομασία τους προήλθε από την ομοιότητά τους με τους κάλυκες των ανθέων. Κάθε γευστικός κάλυκας διαθέτει πολλά κύτταρα υποδοχείς τα οποία μεταδίδουν τα μηνύματα των αισθήσεων της όσφρησης και της γεύσης του στόματος στα κέντρα γεύσης του εγκεφάλου. Τα

κύτταρα της γλώσσας είναι κατά τέτοιο τρόπο κατασκευασμένα ώστε να δέχονται μόρια που έχουν ορισμένο σχήμα και μέγεθος. Το κάθε μόριο που τελικά θα μπει σε ένα κύτταρο (και πάντα στο ορισμένο κύτταρο) θα αντιπροσωπεύει και μια ορισμένη γεύση. Θεωρείται ότι η ουσία προσροφάται στη γλώσσα προκαλώντας διατάραξη της ισορροπίας των ιόντων στην επιφάνεια της. Με αυτόν τον τρόπο δημιουργείται ηλεκτρικό σήμα στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Ο εγκέφαλος με την σειρά του, συγκεντρώνει όλες αυτές τις πληροφορίες από την γεύση και την μυρωδιά του εκάστοτε φαγητού και ποτού και τις «μεταφράζει» ενοποιώντας τις σε μια γεύση ή μυρωδιά. Ο αριθμός των γευστικών υποδοχέων σε ένα ενήλικο άτομο είναι περίπου 2.000 και μειώνονται σταδιακά από την νεαρή ηλικία μέχρι τη γήρανση. Μεταξύ των τεσσάρων βασικών γεύσεων ο άνθρωπος παρουσιάζει μεγαλύτερη ευαισθησία στο πικρό και μετά ακολουθούν κατά φθίνουσα σειρά το ξινό, το αλμυρό και το γλυκό.

Οι γευστικοί υποδοχείς έχουν περιορισμένη διάρκεια ζωής που κυμαίνεται από 8-10 ημέρες περίπου. Ο δοκιμαστής θα πρέπει να δοκιμάζει μικρές ποσότητες τροφίμου και να τις κρατάει στο στόμα για μερικά δευτερόλεπτα και να περιμένει 15 με 60 δευτερόλεπτα για να ξαναδοκιμάσει. Η πρώτη και η δεύτερη δοκιμή είναι οι πιο κρίσιμες γιατί θα πρέπει ο δοκιμαστής να εκπαιδευτεί για να μπορεί να κάνει όλες τις απαραίτητες συγκρίσεις που απαιτούνται σ' αυτές τις πρώτες δοκιμές. Τα μόρια τα οποία προκαλούν δυνατή πικρίλα συνδέονται με τις πρωτεΐνες των υποδοχέων και μερικά μπορεί να παραμείνουν για μέρες ή ώρες.

Οι γευστικοί κάλυκες είναι εμβαπτισμένοι στο σάλιο και συντηρούνται από το αίμα. Οπότε οι γευστικές διαφορές που αισθανόμαστε εξαρτώνται από τη συγκέντρωση πολλών ουσιών. Εκτός από τη συγκέντρωση των ουσιών άλλες συνθήκες οι οποίες επηρεάζουν την αντίληψη της γεύσης είναι η θερμοκρασία, το ιξώδες, η αναλογία, η διάρκεια, η περιοχή δράσης της ουσίας, η χημική κατάσταση του σάλιου και η παρουσία άλλων γευστικών συστατικών στο διάλυμα που εξετάζεται.



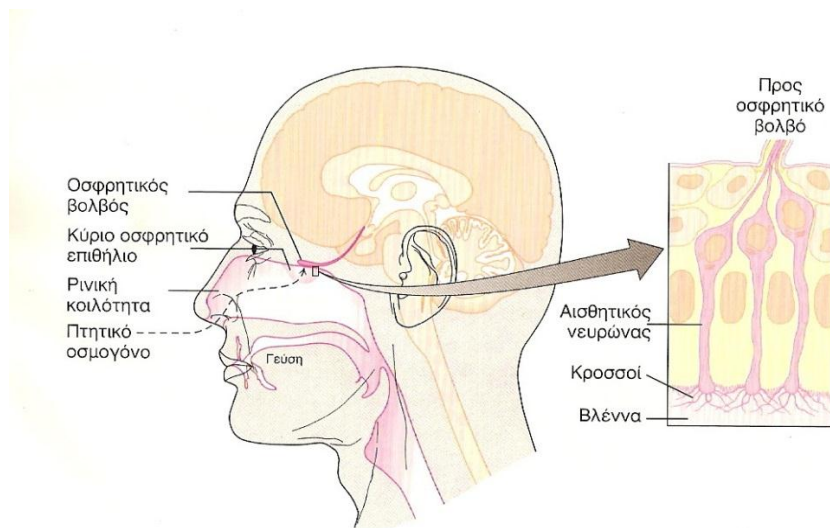
**Εικόνα 5.1.** Η ανθρώπινη γλώσσα μπορεί να ανιχνεύσει τέσσερις διαφορετικές γεύσεις, πικρή, ξινή, γλυκιά, αλμυρή από τους αντίστοιχους γευστικούς κάλυκες που βρίσκονται σε συγκεκριμένα σημεία της γλώσσας

Ο μηχανισμός της όσφρησης είναι περισσότερο πολύπλοκος από εκείνον της γεύσης. Ο όρος άρωμα περιλαμβάνει το σύνολο των πτητικών συστατικών μιας ουσίας τα οποία αντιλαμβάνονται οι υποδοχείς της όσφρησης. Το άρωμα ενός προϊόντος ανιχνεύεται όταν τα πτητικά συστατικά του μπουν στη ρινική κοιλότητα και προσληφθούν από τους υποδοχείς της όσφρησης οι οποίοι βρίσκονται στο οσφρητικό επιθήλιο το οποίο με τη σειρά του βρίσκεται στην κορυφή της ρινικής κοιλότητας. Το επιθήλιο αν ανοιχτεί καλύπτει ένα εμβαδόν περίπου μιας τετραγωνικής ίντσας. Οι υποδοχείς της όσφρησης είναι μεμβρανικές πρωτεΐνες των οσφρητικών νευρώνων. Ενώ οι περισσότεροι υποδοχείς, συμπεριλαμβανομένου και των αντίστοιχων της γεύσης, συνδέονται με συγκεκριμένα μόρια (υποκαταστάτες), οι υποδοχείς της όσφρησης έχουν συγγένεια προς μια ποικιλία αρωματικών μορίων. Οι υποδοχείς ενεργοποιούνται όταν αντιληφθούν ένα οσμογόνο. Οι οσφραντικοί νευρώνες μετατρέπουν την ενεργοποίηση των υποδοχέων σε ηλεκτρικό σήμα. Τα σήματα αυτά ταξιδεύουν διαμέσου του οσφραντικού νεύρου τα οποία ανήκει στο περιφερειακό νευρικό σύστημα. Το νεύρο αυτό καταλήγει στον οσφρητικό βολβό ο οποίος βρίσκεται στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Οι διαφορετικοί υποδοχείς που είναι συνδεδεμένοι με διαφορετικούς νευρώνες μπορούν να διαχωρίσουν μια καινούργια οσμή από τις υπόλοιπες του περιβάλλοντος χώρου και να καθορίσουν τη συγκέντρωση του οσμογόνου. Η ανατομία της μύτης είναι τέτοια που μόνο μια μικρή ποσότητα εισπνεόμενου αέρα φτάνει το οσφρητικό επιθήλιο δια μέσου της ρινικής κοιλότητας ή διάμεσου του πίσω μέρους του στόματος κατά την κατάποση.

Δε γνωρίζουμε κάτι συγκεκριμένο για τον τρόπο με τον οποίο ο εγκέφαλος χειρίζεται τις εισερχόμενες πληροφορίες για να παράγει στο μυαλό μας την αίσθηση της συγκεκριμένης μυρωδιάς και την έντασή της και ακόμα λιγότερα γνωρίζουμε για το πώς χειρίζεται τις διαφορετικές μυρωδιές των οποίων τα σήματα φτάνουν ταυτόχρονα μέσω του οσφρητικού νεύρου. Καλή επαφή με την ουσία επιτυγχάνεται με μια μέτρια εισπνοή για 1 με 2 δευτερόλεπτα. Στο τέλος του δεύτερου δευτερολέπτου οι υποδοχείς έχουν προσαρμοστεί στο νέο ερέθισμα. Σε μικρότερο χρόνο, οι υποδοχείς δεν έχουν προλάβει να απαλλαχθούν από το ερέθισμα και έτσι δεν μπορούν να παράγουν μια σωστή αίσθηση του νέου ερεθίσματος. Μια επιπλοκή είναι ότι το αρωματικό χαρακτηριστικό μπορεί να γεμίσει εκείνη τη θέση στην οποία εξετάζεται ένα ερέθισμα και έτσι να μειωθεί η ικανότητα του ατόμου να ανιχνεύσει ένα συγκεκριμένο αρωματικό ή διαφορές ανάμεσα σε παρόμοια αρωματικά.

Επίσης, εξαρτάται και από την επιφάνεια του τροφίμου δηλαδή πιο πολλά πτητικά συστατικά διαφεύγουν από μια μαλακή, πορώδη, υγρή επιφάνεια σε σχέση με μια σκληρή και ξηρή επιφάνεια. Πολλές αρωματικές ουσίες απελευθερώνονται μόνο όταν συμβεί κάποια ενζυμική αντίδραση σε μια φρεσκοκομμένη επιφάνεια (όπως το άρωμα του κρεμμυδιού). Τα αρωματικά μόρια μπορούν να μεταδοθούν με τη βοήθεια ενός αερίου που μπορεί να είναι αέρας, υγρασία ή ένα βιομηχανικό αέριο και η ένταση του αρωματικού συστατικού καθορίζεται από την αναλογία του αερίου που έρχεται σε επαφή με τους υποδοχείς της όσφρησης του ατόμου. Οι περιπτώσεις ανοσμίας είναι σπάνιες αλλά η ανικανότητα ανίχνευσης συγκεκριμένων οσμών δεν είναι σπάνια. Γι' αυτό και οι δοκιμαστές θα πρέπει να εκπαιδεύονται χρησιμοποιώντας αρωματικές ουσίες παρόμοιες με αυτές στις οποίες τελικά θα τεσταριστούν. Η ευαισθησία των υποδοχέων στις χημικές ουσίες ποικίλλει σε μια περιοχή της τάξης  $10^{12}$  και περισσότερο. Ενώ τα μάτια και τα αυτιά μπορούν να αισθανθούν μόνο ένα είδος σήματος, η μύτη έχει τεράστια διαχωριστική ικανότητα: π.χ. ένας εκπαιδευόμενος δοκιμαστής μπορεί να αναγνωρίσει από 150 μέχρι 200 διαφορετικές οσμές. Και η πιο ευαίσθητη τεχνική αέριας χρωματογραφίας μπορεί να ανιχνεύσει περίπου  $10^9$  μόρια/ml. Αυτό σημαίνει ότι υπάρχουν αμέτρητες αρωματικές ουσίες, πιθανότατα χιλιάδες στη φύση για τις οποίες η μύτη είναι πιο ευαίσθητη από τον αέριο χρωματογράφο.

Η ευαισθησία των υποδοχέων σε διαφορετικές χημικές ενώσεις ποικίλλει σε ένα όριο της τάξης  $10^{12}$  ή και περισσότερο. Τα όρια ανίχνευσης των ουσιών ποικίλλουν από  $1.3 \times 10^{19}$  μόρια /ml αέρα για το αιθάνιο σε  $6 \times 10^7$  μόρια/ml αέρα για την αλλυλική μερκαπτάνη.



**Εικόνα 5.2.** Η αντίληψη της όσφρησης. Το κύριο οσφρητικό επιθήλιο. Εκτείνεται στην κορυφή της ρινικής κοιλότητας ενώ περιέχει περίπου ένα εκατομμύριο νευρώνες. Νευρικές ώσεις, δημιουργούμενες από οσμογόνα μόρια που δεσμεύονται σε υποδοχείς κροσσών, ταξιδεύουν προς τους αισθητικούς νευρώνες στον οσφρητικό βολβό

## 5.2. Ανάλυση των Οργανοληπτικών Χαρακτηριστικών

Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά αποτελούν βασική παράμετρο για την ποιοτική εκτίμηση και κατανάλωση του τροφίμου από τους καταναλωτές. Ένας καταναλωτής μεταξύ δύο προϊόντων ίδιας θρεπτικής αξίας θα προτιμήσει εκείνο, που έχει καλύτερη γεύση, ή οσμή, ακόμη και αν το κόστος του είναι μεγαλύτερο. Ως οργανοληπτική ανάλυση ορίζεται ως το μέτρο των χαρακτηριστικών της γεύσης και του αρώματος ενός προϊόντος αλλά και των ιδιαίτερων αισθήσεων του κάθε δοκιμαστή που βοηθά στην ταυτοποίηση των χαρακτηριστικών. Η επιστήμη της οργανοληπτικής ανάλυσης αποτελεί ένα συνονθύλευμα της επιστήμης τροφίμων, της φυσιολογίας, της ψυχολογίας αλλά και της στατιστικής<sup>91</sup>. Βασικό στοιχείο μιας επιτυχημένης οργανοληπτικής ανάλυσης αποτελεί η εγκυρότητα και η ακρίβεια, τόσο των δοκιμαστών, όσο και του επιστημονικού προσωπικού που διεξάγει αυτή την έρευνα.

Ο οργανοληπτικός έλεγχος διακρίνεται σε δύο ομάδες: την κριτική, όπου γίνεται διάκριση μεταξύ δυο δειγμάτων ως διαφορετικά και την περιγραφική στην οποία πραγματοποιείται η ταυτοποίηση και η μέτρηση της έντασης των χαρακτηριστικών<sup>92</sup>. Ένας όρος ευρέως χρησιμοποιούμενος στον τομέα της ανάλυσης των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών είναι η ποιότητα. Η ποιότητα εξαρτάται από δύο μεταβλητές: το χαρακτηριστικό του τροφίμου αυτό καθαυτό (γεύση, οσμή κ.ά.) και την ιδιοσυγκρασία

του εκτιμητή. Τα χαρακτηριστικά του τροφίμου ποικίλουν λόγω της σύστασης, όμως ο κάθε εκτιμητής διαφέρει ως προς την ευαισθησία, τις προσδοκίες, την εμπειρία και τον πραγματικό του χαρακτήρα. Συμπερασματικά, η έννοια ποιότητα καταλήγει να είναι ένας υποκειμενικός όρος όπου ο καθένας μπορεί να περιγράψει διαφορετικά λόγω διαφορετικής αντίδρασης των αισθήσεων<sup>91</sup>. Αποτελεί από τα πιο βασικά στάδια της οργανοληπτικής ανάλυσης. Σε αυτό το στάδιο σημαντικό ρόλο παίζουν οι εκτιμητές και ο τρόπος με τον οποίο θα εκπαιδευτούν, προκειμένου να είναι έτοιμοι για την επιλογή των χαρακτηριστικών του τροφίμου ή του ποτού, το οποίο και θα δοκιμάσουν. Το επιστημονικό προσωπικό θα πρέπει να κρίνει για την καταλληλότητα του προσωπικού.

Όπως όλες οι επιστημονικές μέθοδοι, έτσι και αυτή της οργανοληπτικής ανάλυσης έχει πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα. Το σημαντικότερο πλεονέκτημα της οργανοληπτικής ανάλυσης, όπως αρχικά προαναφέρθηκε, είναι η δυνατότητα καθορισμού των χαρακτηριστικών που συνθέτουν ένα προϊόν απόλυτα επιθυμητό. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με το συνδυασμό των αποτελεσμάτων της εξέτασης των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών με τα αποτελέσματα των ενόργανων τεχνικών ανάλυσης. Έτσι καθίσταται πιθανή η εύρεση ενός μοντέλου μεταξύ των δεδομένων από τους δύο τρόπους ανάλυσης το οποίο θα αποφέρει την βελτίωση του προϊόντος.

Ως μειονέκτημα στην οργανοληπτική ανάλυση θεωρείται η έλλειψη γνώσης του εκτιμητή, έτσι ώστε να μην εστιάζει στα ουσιαστικά χαρακτηριστικά του τροφίμου ή του ποτού, με απώτερο αποτέλεσμα τη δημιουργία μη αποτελεσματικού συμπεράσματος. Το πρόβλημα αυτό επιλύεται συνήθως με τη σωστή καθοδήγηση των εκτιμητών από το επιστημονικό προσωπικό μέσω της σωστής εκπαίδευσης αυτών, έτσι ώστε να γίνει σωστά η κατανόηση και η περιγραφή των όρων<sup>91</sup>.

### **5.3. Επιλογή και Εκπαίδευση των Συμμετεχόντων στη Διαδικασία της Περιγραφικής Ανάλυσης<sup>89</sup>**

Αποτελεί από τα πιο βασικά στάδια της οργανοληπτικής ανάλυσης. Σε αυτό το στάδιο σημαντικό ρόλο παίζουν οι εκτιμητές και ο τρόπος με τον οποίο θα εκπαιδευτούν προκειμένου να είναι έτοιμοι για την επιλογή των χαρακτηριστικών του τροφίμου ή του ποτού, το οποίο θα δοκιμάσουν.

Το επιστημονικό προσωπικό θα πρέπει να κρίνει για την καταλληλότητα των εκτιμητών.

Η επιλογή των συμμετεχόντων γίνεται με βάση τα παρακάτω κριτήρια:

- i) Την ικανότητά τους να αντιλαμβάνονται σωστά το κάθε χαρακτηριστικό και την έντασή του στο εκάστοτε τρόφιμο ή ποτό.



ii) Την ικανότητά τους να θυμούνται και να ανακαλούν τις περιπτώσεις που έχουν αντιμετωπίσει στο παρελθόν, σχετικά με χαρακτηριστικά που έχουν κοινές ιδιότητες.

iii) Να μην εμφανίζουν το φαινόμενο της συναισθησίας, δηλαδή να μην μπερδεύουν τις αισθήσεις.

Οι ομάδες των δοκιμαστών που συνήθως χρησιμοποιούνται κατά την οργανοληπτική ανάλυση είναι τρεις: α) μια μικρή ομάδα από ειδικούς, β) μια ομάδα από λιγότερο ειδικούς αλλά μεγαλύτερη σε αριθμό και γ) μια ομάδα από καταναλωτές.

Η πρώτη ομάδα περιέχει άτομα με γνώση ως προς το εξέταση προϊόν αλλά και εμπειρία στην εξέταση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών. Αποτελείται το λιγότερο από τρεις ειδικούς που διαθέτουν ικανό λεξιλόγιο για την περιγραφή του κάθε χαρακτηριστικού. Ως μειονέκτημα μπορεί να θεωρηθεί η ικανότητα τους να περιγράψουν ένα ερέθισμα με πολλές λέξεις ή να χρησιμοποιούν μία λέξη για διαφορετικά ερεθίσματα.

Η ομάδα με τους λιγότερο ειδικούς αποτελείται από περισσότερα άτομα, συνήθως 11-25 και τα αποτελέσματα αναλύονται μέσω στατιστικής ανάλυσης. Τα άτομα αυτά εκπαιδεύονται στις οργανοληπτικές τεχνικές, χωρίς σημαντική και απαραίτητη εμπειρία και γνώση πάνω στο αντικείμενο.

Η τελευταία ομάδα χρησιμοποιείται όταν διεξάγεται έρευνα σχετικά με την προτίμηση των καταναλωτών. Ο αριθμός των δοκιμαστών είναι μεγάλος όπως επίσης μεγάλη είναι και η διακύμανση των αποτελεσμάτων, σε αντίθεση με τις δύο προηγούμενες ομάδες στις οποίες η διακύμανση είναι σχετικά μικρή<sup>91</sup>.

Επιπλέον, πολύ βασικά είναι και τα κριτήρια που παρουσιάζουν τη συνολική εικόνα ενός καταρτισμένου εκτιμητή. Σημαντικό κριτήριο για την διεκπεραίωση της οργανοληπτικής ανάλυσης παίζει και η διαθεσιμότητα των εκτιμητών, που θα πρέπει να αποτελεί τουλάχιστον το 80% της συνολικής διαδικασίας.

Η επιλογή της ομάδας των δοκιμαστών για την περιγραφική οργανοληπτική ανάλυση προαπαιτεί εξέταση του καθενός για να διαπιστωθεί αν μπορεί να ανταποκριθεί στις ανάγκες του προγράμματος. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με ερωτηματολόγια ώστε να διαπιστωθεί η ικανότητα διάκρισης των ιδιοτήτων του κάθε ανθρώπου, οι διατροφικές του συνήθειες και γενικότερα η προσωπικότητά του.

Η προσωπικότητα του εκτιμητή αποτελεί εξίσου σημαντικό παράγοντα για την ομαλή διεκπεραίωση του προγράμματος και την επιτυχημένη επίτευξη του στόχου του. Ο εκτιμητής που θα λάβει μέρος στην όλη διαδικασία, θα πρέπει να έχει ενδιαφέρον και ταχύτητα στην εξοικείωση και εκπαίδευση με τα δείγματα. Σημαντικό ρόλο για τη σωστή

λειτουργία και διεξαγωγή του προγράμματος, παίζει η δέσμευση και το κίνητρο κάθε εκτιμητή ξεχωριστά. Η απροθυμία για την παρακολούθηση των συνεδριάσεων και της εκπαίδευσης είναι ανεπιθύμητη από το επιστημονικό προσωπικό, διότι έχει ως συνέπεια την καθυστέρηση του προγράμματος και πιθανόν την αποτυχία του. Για το προσδιορισμό του κίνητρου, το οποίο μπορεί να είναι και η επιθυμία για γνώση, πραγματοποιούνται προσωπικές συνεντεύξεις από τους αντίστοιχους εκπαιδευτές. Η υγεία ενός εκτιμητή είναι απαραίτητη στη σωστή λειτουργία της πειραματικής διαδικασίας. Ο εκτιμητής θα πρέπει να είναι απαλλαγμένος από κάθε είδους ασθένεια όπως η υπογλυκαιμία, η υπέρταση ή ο σακχαρώδης διαβήτης. Δε θα πρέπει να παρουσιάζει προβλήματα κοινού κρουολογήματος, ή αλλεργίες σε ροφήματα, ή οποιουδήποτε είδους φαρμακευτικής ουσίας<sup>94</sup>.

#### **5.4. Η Επιλογή του Λεξιλογίου**

Η φάση της εκπαίδευσης των τεχνικών της περιγραφικής αισθητήριας ανάλυσης ξεκινά με την ανάπτυξη ενός κοινού λεξιλογίου, που θα αντιπροσωπεύει λεπτομερώς τις χαρακτηριστικές ιδιότητες του προϊόντος. Γενικότερα, οι εκτιμητές θα δημιουργήσουν το αισθητήριο λεξιλόγιο, ωστόσο όμως ο αρχηγός του προγράμματος, ή και άλλα μέλη της επιτροπής μπορούν να βοηθήσουν στη συγκρότηση των όρων με βάση τις εμπειρίες τους. Σε περίπτωση που κάποιο άλλο εργαστήριο έχει δημιουργήσει ένα σχετικό λεξιλόγιο, γίνεται αποδεκτό εφόσον οι όροι είναι κατανοητοί. Για την πλήρη κατανόηση των όρων μπορεί να χρησιμοποιηθούν πρότυπα που είναι κοινά αποδεκτό ότι αντιπροσωπεύουν τον κάθε όρο (standards).

Η επιλογή των κατάλληλων όρων κάθε φορά είναι αρκετά δύσκολη. Πραγματοποιείται κατόπιν δοκιμών σε μεγάλο αριθμό προϊόντων παρόμοιων με αυτών του προγράμματος. Συνήθως τα προϊόντα εξετάζονται μαζί και η περιγραφή του ενός γίνεται σε σύγκριση με των άλλων. Η επιλογή του τελικού λεξιλογίου βασίζεται περισσότερο στις διαφορές των δειγμάτων μεταξύ τους, παρά στην παρουσίαση απλών χαρακτηριστικών ιδιοτήτων, χωρίς καμία ουσία.

Το τελικό λεξιλόγιο ολοκληρώνεται κατόπιν κοινής συναίνεσης και περιλαμβάνει έναν ικανό αριθμό χαρακτηριστικών ιδιοτήτων του προϊόντος<sup>94</sup>.

#### **5.5. Μέθοδοι Περιγραφικής Οργανοληπτικής Ανάλυσης**

Τα τελευταία 40 χρόνια έχουν αναπτυχθεί διάφορες μέθοδοι περιγραφικής ανάλυσης μερικές από τις οποίες αποτελούν πιστοποιημένες μεθόδους. Οι κύριες διαφορές τους έγκεινται στο πλήθος των δοκιμαστών, στο χρόνο εκπαίδευσής τους καθώς επίσης και

στον τρόπο διεξαγωγής των συμπερασμάτων. Ο οργανοληπτικός αναλυτής θα πρέπει να μελετήσει τη βιβλιογραφία διάφορων περιγραφικών μεθόδων πριν επιλέξει το πιο κατανοητό και ακριβές περιγραφικό αναλυτικό σύστημα για ένα συγκεκριμένο προϊόν.

Η «Μέθοδος Γευστικού Προφίλ» (Μ.Γ.Π *flavour profile method*) ήταν η πρώτη μέθοδος που αναφέρθηκε και αναπτύχθηκε στα τέλη της δεκαετίας του 1940. Περιλαμβάνει την ανάπτυξη ενός λεξιλογίου για την ανάλυση των αρωματικών και γευστικών χαρακτηριστικών ενός προϊόντος, τις εντάσεις τους, τη σειρά εμφάνισής τους και την επίγευση. Η ομάδα των δοκιμαστών αποτελείται από τέσσερα έως έξι άτομα που εκπαιδεύονται για δύο-τρεις εβδομάδες, ώστε να είναι σε θέση να αντιλαμβάνονται πολύ μικρές διαφορές μεταξύ των προϊόντων. Στην εκπαίδευσή τους χρησιμοποιείται μια ποικιλία από δείγματα αναφοράς τα οποία αντιπροσωπεύουν την ποικιλία του προϊόντος. Οι δοκιμαστές με τη βοήθεια του αρχηγού του πάνελ αναπτύσσουν τους όρους που θα χρησιμοποιηθούν για όλο το πάνελ. Δοκιμάζουν ένα δείγμα τη φορά όσον αφορά το άρωμα και τη γεύση και καταγράφουν τα χαρακτηριστικά, τις εντάσεις τους, τη σειρά εμφάνισης και την επίγευση. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον αρχηγό του πάνελ ο οποίος διενεργεί συζήτηση για να καταλήξει το πάνελ σε ένα συγκεκριμένο προφίλ για κάθε δείγμα. Τα δεδομένα παρουσιάζονται σε συνοπτική μορφή. Πλεονέκτημα της μεθόδου αποτελεί ο μικρός αριθμός των εκτιμητών διότι δημιουργείται μια πολύ συνεκτική και συνεργάσιμη ομάδα. Ταυτόχρονα όμως το πλεονέκτημα είναι και μειονέκτημα εφόσον η πιθανή αποχώρηση ενός από τα μέλη έχει σοβαρές επιδράσεις στο πρόγραμμα.

Παρόμοια είναι και η «Μέθοδος Σκιαγράφησης της Χαρακτηριστικής Ιδιότητας» (*Texture Profile Method*) η οποία αναπτύχθηκε από τους ερευνητές περίπου στη δεκαετία του 1960. Στη μέθοδο αυτή αναπτύσσεται ένα σύστημα κατά το οποίο γεφυρώνεται το κενό μεταξύ των εμπειρογνομόνων και των καταναλωτών. Το σύστημα αυτό βασίζεται στην ταξινόμηση των ιδιοτήτων σε τρεις ομάδες: τις «μηχανικές», τις «γεωμετρικές» και τις «άλλες» ιδιότητες. Η περιγραφή αναφέρεται στα χαρακτηριστικά από την πρώτη δαγκωνιά ως την πλήρη μάσηση καθώς και στις βραχυπρόθεσμες ιδιότητες ενός τροφίμου. Το γκρουπ αποτελείται από τουλάχιστον δέκα δοκιμαστές που εκπαιδεύονται για 130 ώρες περίπου σε διάστημα 6-7 μηνών<sup>93</sup>. Το εύρος και η διάρκεια της εκπαίδευσης άλλοτε θεωρείται ως μειονέκτημα άλλοτε όμως οδηγεί σε ομάδα με μεγάλη συνεκτικότητα και ακρίβεια.

Μια άλλη μέθοδος είναι η «Ποσοτική Περιγραφική Ανάλυση» (Π.Π.Α., *Quantitative Descriptive Analysis*) που αναπτύχθηκε στη δεκαετία του 1970. Αυτή η μέθοδος

στηρίζεται κυρίως στη στατιστική ανάλυση για να καθοριστούν οι κατάλληλοι όροι, οι διαδικασίες και οι δοκιμαστές που πρέπει να χρησιμοποιηθούν για ένα συγκεκριμένο προϊόν. Το λεξιλόγιο είναι καθημερινής γλώσσας χωρίς τεχνικούς όρους. Στην περίπτωση που η έννοια ενός όρου δεν είναι πλήρως κατανοητή χρησιμοποιούνται ουσίες αναφοράς (standards). Στην ομάδα υπάρχει ένας αρχηγός, γνώστης του αντικειμένου, που δεν παίζει ενεργό ρόλο κατά την ανάλυση αλλά συντονίζει όλη την ομάδα. Οι δοκιμαστές εκπαιδεύονται για 10-15 ώρες για την πλήρη κατανόηση των όρων. Πιο συγκεκριμένα αξιολογούν ένα προϊόν τη φορά σε διαφορετικούς θαλάμους για να μειωθεί η απόσπαση της προσοχής τους και η αλληλεπίδρασή τους, εισάγουν τις σχετικές πληροφορίες στον υπολογιστή ή συλλέγονται τα σχετικά φυλλάδια αξιολόγησης από τον καθένα ξεχωριστά και μεταφέρονται τα δεδομένα στον υπολογιστή. Οι δοκιμαστές δε συζητούν μεταξύ τους τα δεδομένα, τους όρους ή τα δείγματα μετά από κάθε συνεδρία και στηρίζονται στη διακριτικότητα του αρχηγού του πάνελ για κάποια πληροφόρηση. Σε σχέση με τις παραπάνω μεθόδους η ποσοτική περιγραφική ανάλυση χρησιμοποιεί κλίμακα για τη βαθμολόγηση των ιδιοτήτων, ενώ οι σχετικές διαφορές είναι εκείνες που δίνουν το σωστό αποτέλεσμα και όχι οι απόλυτες διαφορές. Το σχέδιο της Π.Π.Α βασίζεται στις επαναλαμβανόμενες μετρήσεις και η στατιστική ανάλυση επιτελείται με την μέθοδο ανάλυσης διακύμανσης (Anova). Τα αποτελέσματα απεικονίζονται γραφικά με την βοήθεια αραχνοδιαγραμμάτων. Το πλεονέκτημα της Π.Π.Α. που την κάνει ευρέως προτιμητέα είναι η μικρότερη σε χρονική διάρκεια εκπαίδευση των εκτιμητών.

Μια τροποποιημένη μέθοδος της προηγούμενης είναι η «Τεχνική Ποσοτικού Γευστικού Προφίλ» (*Quantitative Flavour Profiling Technique*) η οποία ασχολείται μόνο με την αίσθηση της γεύσης. Η ομάδα αποτελείται από 6-8 άτομα που είναι έμπειροι γευσιγνώστες και χρησιμοποιούν στο λεξιλόγιο τους, τεχνικούς δύσκολους όρους. Το εξειδικευμένο λεξιλόγιο έχει ως συνέπεια τη μείωση αλλά και την εξάλειψη εσφαλμένων όρων αλλά προσδίδει δυσκολία στη συσχέτιση των δεδομένων με τις αντιλήψεις και προτιμήσεις των καταναλωτών. Η μέθοδος του γευστικού προφίλ εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη χρήση προτύπων αναφοράς, με απώτερο στόχο την αποσαφήνιση των εννοιών. Οι πολιτιστικές διαφορές, που προκύπτουν μεταξύ ατόμων, που προέρχονται από διαφορετικά μέρη με διαφορετικές κουλτούρες μπορούν να αντισταθμιστούν, αν όλοι οι εκτιμητές εκπαιδευτούν κατάλληλα και όλοι μαζί. Η μέθοδος της τεχνικής ποσοτικού γευστικού προφίλ χρησιμοποιείται κυρίως για την αποσαφήνιση της γεύσης των γαλακτοκομικών προϊόντων, ιδιαίτερα των τυριών, γιαουρτιών και του γάλακτος.

Εξίσου σημαντική είναι η «Μέθοδος Φάσματος» (*Spectrum Method*) που αναπτύχθηκε τη δεκαετία του 1970. Η τεχνική βασίζεται στην εκτενή χρήση των καταλόγων αναφοράς, στην ειδικά εκπαιδευμένη ομάδα εκτιμητών και στις κλιμακωτές διαδικασίες. Η φιλοσοφία της βασίζεται στη φιλοσοφία της τεχνικής της μεθόδου σκιαγράφησης της χαρακτηριστικής ιδιότητας, εξετάζοντας όμως το πλήρες φάσμα των ιδιοτήτων του προϊόντος<sup>92</sup>. Η μέθοδος του φάσματος χρησιμοποιεί ειδικά εκπαιδευμένο προσωπικό, το οποίο συλλέγεται και εκπαιδεύεται, έτσι ώστε να μπορεί να διακρίνει τις διαφορές ενός ή μιας πληθώρας προϊόντων. Οι εκτιμητές εκπαιδεύονται με τέτοιο τρόπο, έτσι ώστε να μπορούν να περιγράψουν με ακρίβεια το προϊόν.

Ένα από τα προβλήματα που αντιμετωπίζονται κατά τις διάφορες τεχνικές της οργανοληπτικής ανάλυσης είναι η γλώσσα που χρησιμοποιείται για την περιγραφή των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών. Ο κάθε άνθρωπος μπορεί να αντιλαμβάνεται διαφορετικά το νόημα των όρων. Κάποιοι όροι μπορεί να είναι συνώνυμοι, διαφορούμενοι (π.χ. λουλουδάτη οσμή τριαντάφυλλου ή γερανιού) ή ακόμα χωρίς συγκεκριμένο νόημα (π.χ. φρουτένια γεύση). Για να ξεπεραστεί αυτό το πρόβλημα έχει προταθεί η μέθοδος του «Προφίλ Ελεύθερης Επιλογής» (Π.Ε.Ε., *Free Choice Profiling Method*) η οποία επιτρέπει στο πάνελ να εφεύρει και να χρησιμοποιεί όσους περισσότερους όρους μπορεί για να περιγράψει τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά μιας σειράς δειγμάτων. Εφ' όσον ο κάθε δοκιμαστής αναπτύσσει το προσωπικό του λεξιλόγιο σε αυτήν την τεχνική δεν υπολογίζεται ο μέσος όρος. Όλα τα δείγματα αφορούν την ίδια κατηγορία προϊόντων και ο κάθε δοκιμαστής συμπληρώνει το σχετικό φυλλάδιο αξιολόγησης. Τα δεδομένα αναλύονται με την μέθοδο πολλών μεταβλητών (*Generalized Procrustes analysis*) η οποία χειρίζεται τα δεδομένα και συνδυάζει του όρους οι οποίοι φαίνονται να μετρούν το ίδιο χαρακτηριστικό. Αυτοί οι συνδυασμένοι όροι δημιουργούν το προφίλ του κάθε προϊόντος.

Τέλος μία άλλη μέθοδος που μπορεί να χρησιμοποιηθεί είναι η «Γενική Περιγραφική Ανάλυση» (Γ.Π.Α., *Generic Descriptive Analysis*). Η Γ.Π.Α. επιτρέπει τις φιλοσοφίες ποικίλων μεθόδων να χρησιμοποιούνται και να προσαρμόζονται ανάλογα με το πρόγραμμα. Η συγκεκριμένη μέθοδος βρίσκει εφαρμογή από αρκετές εταιρίες που χρησιμοποιούν στοιχεία από διάφορες τεχνικές κατά την διάρκεια των ερευνών τους<sup>93</sup>. Η περιγραφική ανάλυση αποτελεί την πιο εύκαμπτη, περιεκτική και χρήσιμη αισθητήρια μέθοδο, η οποία αντικατοπτρίζει όλες τις βασικές ιδιότητες των προϊόντων, μέσω των βασικών και αναλυτικών πληροφοριών που δίνει. Έρευνες αναφέρουν, πως την επόμενη χιλιετία η περιγραφική ανάλυση θα χρησιμοποιηθεί ακόμη περισσότερο και σε ευρύτερο φάσμα προϊόντων<sup>94</sup>. Λαμβάνοντας υπόψη την παραπάνω θεωρία γίνεται

αμέσως αντιληπτό, πως η περιγραφική ανάλυση αποτελεί ένα ζωτικής σημασίας φαινόμενο και η επένδυσή του στο μέλλον δημιουργεί τη δυνατότητα ανάπτυξης, με απώτερο στόχο την εξασφάλιση του κέρδους.

## 5.6. Διαφορές Τσιπούρας Ιχθυοτροφείου και Ελεύθερης Αλιείας στα Οργανοληπτικά Χαρακτηριστικά

Όσον αφορά τη γεύση και το άρωμα, τα ψάρια ελεύθερης αλιείας περιέχουν περισσότερες ενώσεις που συνεισφέρουν στη γεύση και υπάρχουν ουσιαστικές διαφορές, με τα ψάρια ιχθυοτροφείου, ως προς το περιεχόμενο των πτητικών ενώσεων που προσδίδουν το άρωμα. Συγκεκριμένα σε τσιπούρα ελεύθερης αλιείας, μετά από φασματομετρία μαζών, βρέθηκαν 51 πτητικές ενώσεις που προσδίδουν το άρωμα, ενώ σε τσιπούρα ιχθυοτροφείου βρέθηκαν 45 ανάλογες ενώσεις<sup>24</sup>.

Πίνακας 5.1. Πτητικές ενώσεις που προσδίδουν το άρωμα στην τσιπούρα ιχθυοτροφείου και ελεύθερης αλιείας<sup>24</sup>

Χημική ένωση	Τσιπούρα ελεύθερης αλιείας	Τσιπούρα ιχθυοτροφείου
<b>Αλκοόλες</b>		
Βουταν-1-όλη	0,328	0,208
3-μεθυλβουταν-1-όλη	0,067	0,010
Πενταν-1-όλη	0,142	0,134
2-Πεντεν-1-όλη	0,057	0,045
1-Πεντεν-3-όλη	0,130	0,226
Εξαν-1-όλη	0,037	0,061
2-αιθυλεξαν-1-όλη	5,064	2,397
Επταν-1-όλη	0,044	ιχνοποσότητα
1-Οκτεν-3-όλη	0,324	0,062
Εννεα-1-όλη	0,041	0,016
<b>Σύνολο (%)</b>	<b>55,3</b>	<b>42,4</b>
<b>Αλδεΐδες</b>		
2-μεθυλοβουταν-1-άλη	0,487	0,158
3-μεθυλβουταν-1-άλη	0,210	0,057
Εξαν-1-άλη	0,152	0,068
2,4-εξαδιεν-1-άλη	M.A	0,329
2,4-επταδιεν-1-άλη	0,261	0,102
Οκταν-1-άλη	0,077	0,082
Εννεα-1-άλη	0,310	0,180
2-εννεεν-1-άλη	0,035	M.A
Βενζαλδεΐδη	0,060	0,041
<b>Σύνολο (%)</b>	<b>14,1</b>	<b>13,7</b>
<b>Κετόνες</b>		
Προπαν-2-όνη	0,414	0,665
Βουταν-2,3,-διόνη	0,035	0,038

Πενταν-2,3,-διόνη	M.A	0,015
Επταν-2-όνη	0,076	ιχνοποσότητα
6-μέθυλο-5-επτεν-2-όνη	0,431	0,276
Οκταν-2-όνη	0,162	M.A
3,5-οκτανδιεν-2-όνη	0,040	0,033
Εννεα-2-όνη	0,033	0,033
Δεκαν-2-όνη	0,290	0,247
Εντεκαν-2-όνη	0,013	0,018
<b>Σύνολο (%)</b>	<b>13,2</b>	<b>14,0</b>
<b>Αρωματικές Ενώσεις</b>		
Τολουόλιο	0,078	0,095
Αιθυλοβενζόλιο	0,038	0,035
Προπυλοβενζόλιο	0,060	M.A
p-ξυλόλιο	0,040	0,026
m-ξυλόλιο	0,041	0,069
ο-ξυλόλιο	0,018	0,039
1-αιθυλ-2-μεθυλοβενζόλιο	0,070	0,098
1-αιθυλ-3-μεθυλοβενζόλιο	0,171	0,031
1-αιθυλ-2,4-διμεθυλοβενζόλιο	0,075	M.A
1,2,4-τριμεθυλοβενζόλιο	0,063	0,094
1,3,5-τριμεθυλοβενζόλιο	0,165	0,048
1,4-διχλωροβενζόλιο	ιχνοποσότητα	0,057
Στυρένιο	0,046	0,078
Ναφθαλίνο	0,034	0,051
<b>Σύνολο (%)</b>	<b>8,0</b>	<b>9,6</b>
<b>Τερπένια</b>		
α-πινένιο (τερεβινθέλαιο)	0,037	0,032
β-πινένιο	0,008	M.A
Μυρκένιο (αιθέριο της δάφνης)	0,025	M.A
Λεμονένιο (αιθέριο των εσπεριδοειδών)	0,043	0,351
Καμφορά	0,022	M.A
<b>Σύνολο (%)</b>	<b>1,4</b>	<b>6,4</b>
<b>Θειούχες ενώσεις</b>		
Διμεθυλοσουλφίδιο	M.A	0,014
<b>Σύνολο (%)</b>	<b>0</b>	<b>0,2</b>
<b>Άλλες ενώσεις</b>		
Τριμεθυλαμίνη	0,101	0,32
Χλωροφόρμιο	0,306	0,226
<b>Σύνολο (%)</b>	<b>3,6</b>	<b>7,3</b>
<b>Φουράνιο</b>		
2-αιθυλοφουράνιο	0,232	0,274
<b>Σύνολο (%)</b>	<b>2,1</b>	<b>3,7</b>
<b>Οξέα</b>		
Οξικό οξύ	0,265	0,191
<b>Σύνολο (%)</b>	<b>2,3</b>	<b>2,5</b>

Η κάθε πτητική ένωση είναι εκφρασμένη ως αναλογία των κορυφών του φασματογραφήματος μάζας. Το σύνολο κάθε ομάδας ενώσεων είναι εκφρασμένο ως επί τοις εκατό ποσοστό. M.A: Μη ανιχνεύσιμο.

Τα υψηλότερα ποσοστά αλκοολών στην τσιπούρα ελεύθερης αλιείας καθώς και τα παρόμοια επίπεδα καρβονυλικών ενώσεων τόσο στην τσιπούρα ιχθυοτροφείου όσο και στην τσιπούρα ελεύθερης αλιείας, είναι πιθανόν να δικαιολογούν την «πιο ευχάριστη» και «πιο νόστιμη» γεύση» που χαρακτηρίζει τα ψάρια ελεύθερης αλιείας<sup>24</sup>.

Όπως έχει προαναφερθεί, ορισμένες πτητικές ενώσεις που προσδίδουν άρωμα στο ψάρι, όπως είναι οι αλκοόλες και οι καρβονυλικές ενώσεις, προέρχονται από οξείδωση ορισμένων λιπαρών οξέων. Κατά συνέπεια διαφορές στα επίπεδα των λιπαρών οξέων προκαλούν ανάλογες διαφορές και στα επίπεδα των πτητικών ενώσεων που προσδίδουν άρωμα<sup>24</sup>. Επομένως, ενώσεις που προέρχονται από το ΑΑ, όπως η εξαν-1-άλη, η 1-οκτεν-3-όλη και η 2-εννεν-1-άλη βρέθηκαν σε μεγάλα ποσοστά στην τσιπούρα ελεύθερης αλιείας, γεγονός που δικαιολογείται από τα υψηλά επίπεδα του ΑΑ οξέος στο συγκεκριμένο ψάρι (0,32%, συγκριτικά με 0% στο ψάρι ιχθυοτροφείου)<sup>24</sup>.

Οι πτητικές θειούχες ενώσεις σχετίζονται κυρίως με την αλλοίωση των ψαριών. Έχουν πολύ ισχυρή επίδραση στο συνολικό άρωμα, ακόμα και αν βρίσκονται σε πολύ μικρή συγκέντρωση, λόγω του χαμηλού ορίου ανίχνευσης. Στην τσιπούρα ιχθυοτροφείου ανιχνεύτηκε το διμεθυλοσουλφίδιο, ενώ στην τσιπούρα ελεύθερης αλιείας δεν ανιχνεύτηκε καμία ανάλογη ένωση<sup>24</sup>.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 - Πειραματικό

### Μέθοδοι

#### 6.1. Εκχύλιση Λιποειδών κατά Bligh-Dyer<sup>95</sup>

##### Αντιδραστήρια – Όργανα

- Οργανικοί διαλύτες ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ) αναλυτικής καθαρότητας
- Κυκλοαναδευτήρας.
- Αέριο άζωτο.
- Υάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες των 10 ή 20 mL.
- Σφαιρικές φιάλες των 100 ή 250 mL.
- Περιστρεφόμενη συσκευή εξάτμισης υπό ελαττωμένη πίεση (flash evaporator), Heidolph Laborotora 4000 eco/WB/G1.

##### Αρχή μεθόδου

Με κατάλληλης πολικότητας μονοφασικό σύστημα διαλυτών ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ), επιτυγχάνεται η εκχύλιση όλων των λιποειδών καθώς επίσης και η εκχύλιση μικρών ποσοτήτων υδατοδιαλυτών ενώσεων, όπως είναι διάφορα άλατα, αμινοξέα και σάκχαρα. Με την μετατροπή του μονοφασικού συστήματος σε διφασικό σύστημα, αποτελούμενο από χλωροφορμική και υδατική φάση, στη μεν χλωροφορμική φάση κατανέμονται όλα τα λιποειδή, στην δε υδατική κατανέμονται τα υδατοδιαλυτά συστατικά.

##### Αναλυτική πορεία

Το προς εκχύλιση δείγμα κατεργάζεται με μίγμα  $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}:\text{H}_2\text{O}$  1/2/0.8 (v/v/v), αναδεύεται έντονα με τη βοήθεια κυκλοαναδευτήρα. Η έντονη ανάδευση επαναλαμβάνεται περιοδικά για διάστημα 10 min. Στη συνέχεια και εφόσον είναι απαραίτητο, το όλο δείγμα φυγοκεντρείται, ώστε να απομακρυνθούν τα αδιάλυτα συστατικά. Ακολούθως προστίθενται συγκεκριμένες ποσότητες  $\text{CHCl}_3$  και  $\text{H}_2\text{O}$  ώστε η αναλογία των διαλυτών  $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$  να γίνει 1/1/0.9 (v/v/v), οπότε σχηματίζονται δύο φάσεις διαλυτών. Η χλωροφορμική (κάτω) φάση που παραλάβαμε από τη διαχωριστική χοάνη, η οποία περιέχει τα λιποειδή, μεταφέρεται ανάλογα τον όγκο της, είτε σε δοκιμαστικό σωλήνα, οπότε το δείγμα εξατμίζεται έως ξηρού σε ρεύμα αζώτου,

είτε σε σφαιρική φιάλη οπότε ο διαλύτης εξατμίζεται έως μικρό όγκο σε περιστρεφόμενη συσκευή εξάτμισης υπό ελαττωμένη πίεση και στη συνέχεια γίνεται μεταφορά σε δοκιμαστικό σωλήνα όπου συνεχίζεται η εξάτμιση έως ξηρού σε ρεύμα αζώτου. Σε όλες τις περιπτώσεις, η θερμοκρασία εξάτμισης κυμαίνεται από 30 έως 35° C. Τα λιποειδή αναδιαλύονται σε μικρή ποσότητα μίγματος CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH 1/1 ( v/v) για περαιτέρω επεξεργασία.

## 6.2. Κατανομή Κατ' αντιρροή<sup>96</sup>

### Αντιδραστήρια-Όργανα

- Οργανικοί διαλύτες (πετρελαϊκός αιθέρας, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH, H<sub>2</sub>O) αναλυτικής καθαρότητας.
- Αέριο άζωτο.
- Υάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες.
- Υάλινες πιπέτες Pasteur.

### Αρχή μεθόδου

Τα ολικά λιποειδή αναμιγνύονται με προεξισορροπημένους διαλύτες πετρελαϊκού αιθέρα και CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH 87 %, σε αναλογία 1/1. Δημιουργείται διφασικό σύστημα διαλυτών, όπου τα μεν πολικά λιποειδή κατανέμονται στη φάση της CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH, τα δε ουδέτερα λιποειδή στη φάση του πετρελαϊκού αιθέρα.

### Αναλυτική πορεία

Σε διαχωριστική χοάνη, γίνεται εξισορρόπηση των διαλυτών του πετρελαϊκού αιθέρα με την αιθανόλη 87 %. Σχηματίζονται δύο φάσεις, οπότε παραλαμβάνεται χωριστά η κάτω φάση που είναι η εξισορροπημένη CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH και στη συνέχεια η άνω φάση που είναι ο εξισορροπημένος πετρελαϊκός αιθέρας, για να ακολουθήσει η περαιτέρω κατεργασία των λιποειδών. Στη συνέχεια, τα ολικά λιποειδή εξατμίζονται και αναδιαλύονται σε 4,5 mL προεξισορροπημένου πετρελαϊκού αιθέρα. Προστίθεται 1,5 mL προεξισορροπημένης CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH 87 % και ακολουθεί ισχυρή ανάδευση με τη βοήθεια κυκλοαναδευτήρα. Η κάτω φάση, που είναι η αιθανολική φάση, παραλαμβάνεται με γυάλινη πιπέτα Pasteur και μεταφέρεται σε δεύτερο σωλήνα που περιέχει 4,5 mL πετρελαϊκού αιθέρα. Ακολουθεί εκ νέου ισχυρή ανάδευση με τη βοήθεια κυκλοαναδευτήρα και παραλαβή της αιθανολικής φάσης η οποία τοποθετείται σε

υάλινο δοκιμαστικό σωλήνα. Στον πρώτο δοκιμαστικό σωλήνα προστίθενται 1,5 mL προεξισοροπημένης αιθανόλης 87 % για να επαναληφθεί η ανωτέρω διαδικασία. Η διαδικασία αυτή γίνεται συνολικά 8 φορές. Μετά το πέρας της διαδικασίας, η αιθανολική φάση (8 × 1,5 mL) που περιέχει τα πολικά λιποειδή, εξατμίζεται έως ξηρού σε ρεύμα αζώτου και αναδιαλύεται σε μικρό όγκο διαλύτη CHCl<sub>3</sub>/MeOH 1/1 (v/v). Οι φάσεις του πετρελαϊκού αιθέρα (2×4,5 mL) που βρίσκονται στους πρώτους δύο δοκιμαστικού σωλήνες, περιέχουν τα ουδέτερα λιποειδή, και αφού ενωθούν σε έναν υάλινο δοκιμαστικό σωλήνα, εξατμίζονται έως ξηρού σε ρεύμα αζώτου και αναδιαλύονται σε μικρό όγκο διαλύτη CHCl<sub>3</sub>/MeOH 1/1 (v/v).

### 6.3. Αέρια Χρωματογραφία (G.C) Λιπαρών Οξέων Ψαριών<sup>84</sup>

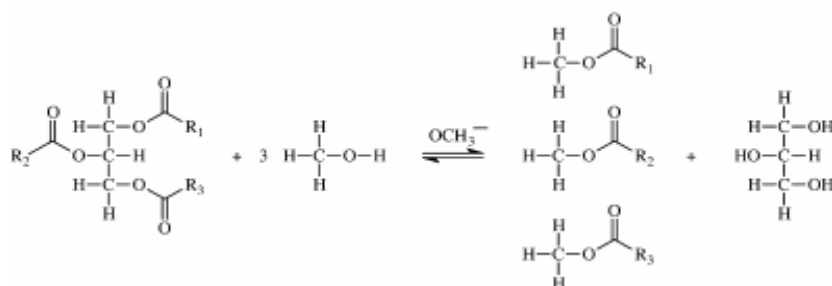
#### 6.3.1. Μέθοδος Εστεροποίησης Λιπαρών Οξέων

##### Αντιδραστήρια – Όργανα

- Διάλυμα KOH σε MeOH 0,5%N 90%.
- Κανονικό εξάνιο.
- Διάλυμα HCL 6N.
- Άνυδρο Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>.
- Πεχαμετρικό χαρτί.

##### Αρχή μεθόδου

Η μέθοδος παρασκευής μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων που χρησιμοποιήθηκε καταλύεται από βάση και συγκεκριμένα από KOH. Η μέθοδος αυτή επιδρά στα τριγλυκερίδια, με μια διαδικασία ενός βήματος προκαλώντας την τρανσεστεροποίησή τους (Σχήμα 6.1).



Σχήμα 6.1. Τρανσεστεροποίηση των τριαλογλυκερολών καταλυόμενη από βάση

Η συγκεκριμένη μέθοδος πλεονεκτεί έναντι των μεθόδων εστεροποίησης που καταλύονται από οξύ, ως προς το ότι είναι πολύ πιο απλή, πιο γρήγορη, πιο ασφαλής και οι παραγόμενοι μεθυλεστέρες έχουν μεγάλο χρόνο ζωής<sup>84</sup>.

### **Αναλυτική πορεία**

Συγκεκριμένη ποσότητα λιποειδούς φέρεται σε μεγάλο δοκιμαστικό σωλήνα σε μορφή διαλύματος από το οποίο εξατμίζεται ο διαλύτης μέχρι ξηρού σε ρεύμα N<sub>2</sub>. Στη συνέχεια προστίθεται στο δοκιμαστικό σωλήνα 1 ml κανονικού εξανίου, γίνεται ισχυρή ανάδευση σε κυκλοαναδευτήρα προκειμένου να διαλυτοποιηθούν τα λιποειδή και τέλος προστίθενται 4 ml διαλύματος KOH σε MeOH 0,5N 90%. Ακολουθεί ανάδευση σε κυκλοαναδευτήρα επί 5min σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια ρυθμίζεται το pH=7 με διάλυμα HCL 6N, προσθέτονται 2ml νερό και 2 ml κανονικό εξάνιο, ισχυρή ανάδευση και παραλαβή της στιβάδας του εξανίου που περιέχει τους μεθυλεστέρες των λιπαρών οξέων. Στη συνέχεια προστίθενται στο δοκιμαστικό σωλήνα επιπλέον 2 ml κανονικού εξανίου, ανάδευση και παραλαβή της στιβάδας του εξανίου. Η συνολική ποσότητα του εξανίου που περιέχει τους μεθυλεστέρες των λιπαρών οξέων εκχυλίζονται με 2 ml νερό και τελικά η στιβάδα του εξανίου ξηραίνεται με άνυδρο στερεό Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>. Ακολουθεί διήθηση και εξάτμιση της περίσσειας του διαλύτη και διαλυτοποίηση των μεθυλεστέρων σε μικρό όγκο κανονικού εξανίου.

### **6.3.2. Ποσοτικός Προσδιορισμός των Μεθυλεστέρων των Λιπαρών Οξέων από Τσιπούρα με Αέρια Χρωματογραφία (G.C)<sup>84</sup>**

#### **Αντιδραστήρια – Όργανα**

- Φέρον αέριο H<sub>2</sub>.
- Φέρον αέριο He<sub>2</sub>.
- Φέρον αέριο αέρος.
- Πρότυπα διαλύματα μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων:

α) παλμιτικού οξέος (16:0).

β) παλμιτελαϊκού οξέος (16:1).

γ) (17:0).

δ) ελαϊκού οξέος (18:0).

ε) ελαϊδικού οξέος (18:1).

στ) λινελαϊκού οξέος (18:2).

ζ) α-λινολενικού οξέος (18:3).

η) αραχιδονικού οξέος (20:4).

θ) εικοσιπεντανοϊκού οξέος (EPA) (20:5).

ι) (21:0) και

κ) εικοσιδυεξανοϊκού οξέος (DHA) (22:6).

- Εξάνιο.
- Πολική τριχοειδής στήλη DB-23 (Agilent J & W) (60 m x 0,25 I mm ID x 0,25 μm) και θερμοκρασιών 40 °C-250 °C.
- Αέριος χρωματογράφος Shimadzu CLASS-VP (GC-17A) (Kyoto, Japan) με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (FID).

### Αναλυτική πορεία

Το θερμοκρασιακό πρόγραμμα που χρησιμοποιήθηκε ξεκινούσε από τους 120 °C και παρέμενε εκεί για 5 min, στη συνέχεια η θερμοκρασία αυξανόταν με ρυθμό 10 °C/min μέχρι τους 180 °C και τέλος αυξανόταν με ρυθμό 20 °C/min μέχρι τους 220 °C και παρέμενε εκεί για 40 min. Η θερμοκρασία εισόδου του δείγματος και του ανιχνευτή ιονισμού φλόγας ήταν 240 °C και 250 °C αντίστοιχα, ενώ η ροή του φέροντος αερίου είναι 1ml/min<sup>15</sup>. Για την ποιοτική ταυτοποίηση των λιπαρών οξέων των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκαν τα πρότυπα διαλύματα των μεθυλεστέρων και η ταυτοποίηση έγινε με βάση τους χρόνους έκλουσης.

Για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς χρησιμοποιήθηκαν δύο λιπαρά οξέα το 17:0 και το 21:0, που δεν υπάρχουν στα ιχθυέλαια. Παρασκευάστηκαν πέντε διαλύματα, η σύσταση των οποίων φέρεται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 6.2).

**Πίνακας 6.2. Συγκέντρωση των λιπαρών οξέων 17:0 και 21:0 στα πρότυπα διαλύματα**

Λιπαρά οξέα	Διάλυμα 1 (ppm)	Διάλυμα 2 (ppm)	Διάλυμα 3 (ppm)	Διάλυμα 4 (ppm)	Διάλυμα 5 (ppm)
17:0	500	500	500	500	500
21:0	1000	500	200	100	50

Στη συνέχεια έγινε ένεση 1,5 μl από κάθε δείγμα στον αέριο χρωματογράφο και καταγράφηκαν τα εμβαδά κορυφών των δύο λιπαρών οξέων. Η διαδικασία αυτή γίνεται τέσσερις φορές. Ο μέσος όρος των λόγων του εμβαδού του 21:0 προς το εμβαδόν του 17:0 αποτελεί τις τεταγμένες των σημείων της καμπύλης αναφοράς, ενώ η συγκέντρωση του 21:0 (ppm) αποτελεί τις τετμημένες των σημείων αυτών.

Με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων υπολογίστηκε η εξίσωση της καμπύλης αναφοράς:

$$y = 0,0021x + 0,0210 \quad (1)$$

Από την οποία είναι δυνατόν να υπολογιστεί η συγκέντρωση (τετμημένη x) κάθε λιπαρού οξέος των χρωματογραφημάτων των δειγμάτων αν στη θέση του y μπαίνει κάθε φορά ο λόγος του εμβαδού του λιπαρού οξέος που θέλουμε να υπολογίσουμε τη συγκέντρωσή του προς το εμβαδό του εσωτερικού προτύπου. Στα δείγματα χρησιμοποιήθηκε ως εσωτερικό πρότυπο το λιπαρό οξύ 17:0 σε συγκέντρωση 500ppm.

Από κάθε δείγμα έγινε ένεση 1,5 μl, καταγράφηκαν τα εμβαδά των κορυφών των λιπαρών οξέων και με τη βοήθεια της εξίσωσης (1) προσδιορίστηκε ποσοτικά το κάθε λιπαρό οξύ των δειγμάτων.

#### **6.4. Χρωματογραφία Λεπτής Στιβάδας (TLC) Λιποειδών<sup>84,97</sup>**

##### **Αντιδραστήρια – Όργανα**

- Οργανικοί διαλύτες (πετρελαϊκός αιθέρας, διαιθυλαιθέρας, οξικό οξύ, ακετόνη, μεθανόλη, χλωροφόρμιο)
- Πρότυπα λιποειδή: Merck, Supelco, Sigma
- Προσροφητικό υλικό: πηκτική SiO<sub>2</sub> (Silica gel G 60)
- Σύστημα επίστρωσης πλακών TLC: Desaga
- Γυάλινες πλάκες διαστάσεων 20× 20 cm, 20×10 cm
- Φούρνος
- Φυγόκεντρος: Sorvall RC-5B Refrigerated, Du Pont.
- Σωλήνες φυγόκεντρου
- Γυάλινοι θάλαμοι ανάπτυξης διαστάσεων 25×25×10 cm
- Θάλαμος ιωδίου
-

## Αρχή Μεθόδου

Όταν στην TLC χρησιμοποιείται ως στατική φάση πυριτική πηκτή, ο διαχωρισμός ενός μίγματος λιπιδίων στα συστατικά του οφείλεται στη διαφορετική προσρόφηση της κάθε ομάδας λιπιδίων στην πηκτή. Με την TLC επιτυγχάνονται καλύτεροι διαχωρισμοί απ' ό,τι με τη χρωματογραφία στήλης, δεν επιτρέπει όμως η TLC το διαχωρισμό μεγάλων ποσοτήτων λιπιδίων.

## Αναλυτική πορεία

### Επίστρωση και ενεργοποίηση των πλακών

Το πυριτικό οξύ αναμιγνύεται με νερό σε αναλογία 1:2 (w/v). Το διάλυμα που προκύπτει, αναδεύεται έντονα για 2 λεπτά και επιστρώνεται σε πλάκες διαστάσεων 20×20cm (και 20×10cm), με τη συσκευή Desaga, με πάχος επίστρωσης 0,5mm. Οι πλάκες παραμένουν για 24 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου μέχρι να στεγνώσουν και στη συνέχεια ενεργοποιούνται με θέρμανση στους 130°C για 1 ώρα.

### Προετοιμασία των θαλάμων χρωματογραφίας

Προετοιμάζονται δύο θάλαμοι χρωματογραφίας με τα εξής συστήματα ανάπτυξης:

(α) Χλωροφόρμιο-Μεθανόλη-Νερό (65:35:6 v/v/v) για την ανάλυση των πολικών λιπιδίων (PL) και

(β) Πετρελαϊκός αιθέρας-Διαιθυλαιθέρας-Οξικό οξύ (75:30:1 v/v/v) για την ανάλυση των ουδέτερων λιπιδίων (NL).

Οι θάλαμοι καλύπτονται εσωτερικά με διηθητικό χαρτί και αφήνονται να κορεσθούν.

### Τοποθέτηση των δειγμάτων και ανάπτυξη των χρωματογραφημάτων

Οι πλάκες χωρίζονται σε δύο ζώνες και το δείγμα τοποθετείται στην αριστερή πλευρά, με μορφή κηλίδας σε μία ευθεία νοητή γραμμή περίπου 2cm από το κάτω μέρος της πλάκας. Η δεξιά πλευρά των πλακών έχει χωριστεί σε επιμέρους ισοπαχείς ζώνες και εκεί τοποθετούνται επίσης με μορφή κηλίδας τα πρότυπα δείγματα λιπιδίων. (Μετά την ανάπτυξη, η σύγκριση των R<sub>f</sub> των προτύπων και των αγνώστων λιπιδίων εξυπηρετεί την ταυτοποίηση των τελευταίων). Χρησιμοποιούνται ως πρότυπα διαλύματα διάλυμα τριγλυκεριδίου (TG), διγλυκεριδίου (DG), μονογλυκεριδίου (MG) και λιπαρού οξέος (FA) για την ανάλυση των ουδέτερων λιπιδίων (NL) και φωσφατιδυλοχολίνης (PC), φωσφατιδυλοαιθανολαμίνης (PE) και σφιγγομυελίνης (SM) για την ανάλυση των πολικών λιπιδίων (PL). Μετά την τοποθέτηση των δειγμάτων, οι πλάκες εισάγονται

στους χρωματογραφικούς θαλάμους και αναπτύσσονται. Απομακρύνονται δε από αυτούς όταν ο διαλύτης φτάσει σε προκαθορισμένο σημείο στο πάνω μέρος της πλάκας.

#### Εμφάνιση των χρωματογραφημάτων

Όταν οι πλάκες στεγνώσουν, τοποθετούνται στο θάλαμο ιωδίου. Τα διαχωρισμένα λιπίδια εμφανίζονται ως κίτρινες κηλίδες μετά από περίπου 5 λεπτά. Οι πλάκες φωτογραφίζονται, συγκρίνονται οι κηλίδες των προτύπων με αυτές των αγνώστων λιπιδίων και ταυτοποιούνται τα τελευταία. Οι κηλίδες ή οι οριζόντιες λωρίδες των διαχωρισμένων λιποειδών αποξύνονται με τη βοήθεια μικρής υάλινης αντικειμενοφόρου πλάκας, μεταφέρονται σε σωλήνες φυγοκέντρου και τα κλάσματα που προκύπτουν υπόκεινται σε βιολογική δοκιμασία *in vitro*. Το πυριτικό οξύ απομακρύνεται, πριν τη μετατροπή του μονοφασικού συστήματος εκχύλισης σε διφασικό, με φυγοκέντρωση.

### **6.5. Βιολογική Δοκιμασία Συσσώρευσης Πλυμένων Αιμοπεταλίων Κουνελιού<sup>1</sup>**

#### **Αντιδραστήρια – Όργανα**

- Φυσιολογικός ορός (NaCl 0,1 %) ελεύθερος πυρετογόνων.
- Διάλυμα φύλαξης (stock) 10x Tyrodes : Σε 1 L νερού διαλύονται 80 g NaCl, 1,95 g MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O και 10 g γλυκόζης.
- Διάλυμα φύλαξης 100 x CaCl<sub>2</sub>: Σε 100 mL νερού διαλύονται 1,911 g CaCl<sub>2</sub>.
- Διάλυμα φύλαξης EGTA 0,2 M: Ποσότητα 0,76 g EGTA διαλύεται σε 10 mL νερό. Ρυθμίζεται το pH του διαλύματος στο 7,5 με NaOH 5 M.
- Υδατικό διάλυμα ζελατίνης 10 % (w/v).
- Διαλύματα Tyrodes με ζελατίνη pH = 6,5 (Tg pH = 6,5), και Tyrodes με ζελατίνη και EGTA pH = 6,5 (Tg EGTA pH = 6,5): Σε 80 mL νερό προσθέτονται 10 mL από το αντιδραστήριο φύλαξης Tyrodes 10x. Υπό συνεχή ανάδευση με τη βοήθεια μαγνητικού αναδευτήρα, προστίθενται 2,5 mL υδατικού διαλύματος ζελατίνης 10 % (w/v) που έχει υποστεί τήξη στο σημείο βρασμού. Ακολούθως, διαλύονται 0,2030 g NaHCO<sub>3</sub> σε 10 mL νερό και από το διάλυμα αυτό προστίθενται 5 mL αμέσως μετά την παρασκευή του. Συμπληρώνεται ο όγκος στα 100 mL με νερό και χωρίζεται σε δύο τμήματα των 50 mL. Στο ένα από τα δύο προσθέτονται 25 μL EGTA 0,2 M και ρυθμίζεται το pH και των δύο κλασμάτων στο 6,46 με HCl 1 N. Αμέσως γεμίζονται γυάλινοι σωλήνες των 20 mL και



κλείνονται με απομονωτική ταινία στερεής παραφίνης (parafilm), αποφεύγοντας τον εγκλεισμό φυσαλίδων αέρα. Τα διαλύματα φυλάσσονται σε θερμοκρασία δωματίου.

- Διάλυμα Tyrodes με ασβέστιο pH = 7,2 (Tg-Ca pH = 7,2): Σε 5 mL διαλύματος φύλαξης tyrodes 10x προστίθενται 40 mL νερό. Υπό συνεχή ανάδευση με τη βοήθεια μαγνητικούς αναδευτήρα προστίθενται 1,25 mL υδατικού διαλύματος ζελατίνης 10% (w/v). Στη συνέχεια προστίθενται 0,5 mL διαλύματος φύλαξης CaCl<sub>2</sub> 100x και αμέσως μετά 2,5 mL διαλύματος NaHCO<sub>3</sub> που παρασκευάζεται εκείνη τη στιγμή διαλύοντας 0,2030 g NaHCO<sub>3</sub> σε 10 mL νερό. Συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι τα 50 mL με νερό και ρυθμίζεται το pH στο 7,16 με HCl 1 N. Διατηρείται στους 37 °C σε ερμητικά κλειστούς σωλήνες με απομονωτική ταινία στερεής παραφίνης (parafilm).
- Αντιπηκτικό διάλυμα κιτρικών με γλυκόζη (ACD): Σε 1000 mL νερού διαλύονται 13,65 g κιτρικού οξέος, 25 g κιτρικού νατρίου και 20 g δεξτρόζης.
- Διάλυμα φύλαξης βοείας αλβουμίνης ορού (BSA) 100 mg/mL: Ποσότητα 100 mg BSA (Sigma) ελεύθερης λιπαρών οξέων διαλύεται σε 1 mL φυσιολογικού ορού ελεύθερου πυρετογόνων. Φυλάσσεται στους -20 °C.
- Διάλυμα εργασίας βόειας αλβουμίνης ορού (BSA) 2,5 mg/mL: Από 10 mL φυσιολογικού ορού ελεύθερου πυρετογόνων αφαιρούνται 250 μL και προστίθενται 250 μL διαλύματος φύλαξης BSA.
- Ficoll-Paque (Pharmacia).
- Υγρό επίστρωσης σιλικόνης (Serva).
- Πλαστικοί σωλήνες των 50 mL.
- Πλαστικά σιφώνια των 20 mL.
- Συσσωρευματομέτρο, Chrono-log.
- Πεχάμετρο ORION 410A.
- Φωτόμετρο Bausch-Lomb.
- Θερμοστατούμενο υδρόλουτρο στους 37 °C.
- Φυγόκεντρος Sorvall RC-5B Refrigerated, DuPont.
- Διάλυμα φύλαξης PAF συγκέντρωσης 10<sup>-4</sup> M σε διαλύτη CH<sub>3</sub>Cl/MeOH 1/1 (v/v).
- Διαλύματα εργασίας PAF συγκεντρώσεων 6,25x10<sup>-6</sup>M, 6,25x10<sup>-8</sup>M, 6,25x10<sup>-9</sup> M, 6,25x10<sup>-10</sup> M σε διάλυμα εργασία BSA. Σε υάλινο δοκιμαστικό σωλήνα

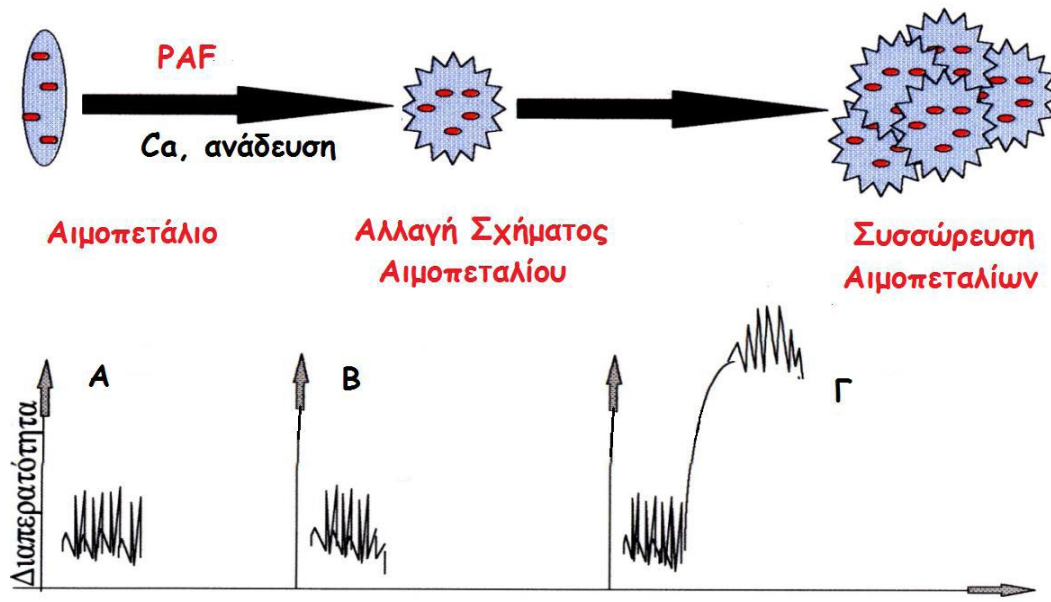
παραλαμβάνονται 25  $\mu\text{L}$  από το διάλυμα φύλαξης του PAF συγκέντρωσης  $10^{-4}$  M τα οποία εξατμίζονται έως ξηρού σε ρεύμα αζώτου και αναδιαλύονται σε 400  $\mu\text{L}$  διαλύματος εργασίας BSA. Μετά από παραμονή 10 min από το διάλυμα αυτό συγκέντρωσης  $6,25 \times 10^{-6}$  M, ετοιμάζονται σε πλαστικούς σωλήνες και οι υπόλοιπες συγκεντρώσεις με κατάλληλες αραιώσεις με διάλυμα εργασίας BSA.

### **Αναλυτική πορεία**

Ποσότητα των ολικών πολικών λιποειδών και των πολικών λιποειδικών κλασμάτων, ελέγχθηκαν ως προς τη βιολογική δραστηριότητα με κατάλληλη βιολογική μέθοδο, που αποτελεί διεθνώς το δόκιμο τρόπο μελέτης ενός συστατικού για το αν έχει ανάλογη δράση του PAF ή αν δρα ως αναστολέας αυτού.

Έτσι ελέγχθηκε: **α)** Η ικανότητά τους να προκαλούν συσσώρευση των πλυμένων αιμοπεταλίων κουνελιού και **β)** Η ικανότητά τους να αναστέλλουν τη συσσώρευση πλυμένων αιμοπεταλίων κουνελιού που προκαλείται από τον PAF.

Σε συγκεκριμένη ποσότητα αιμοπεταλίων προστίθεται ο PAF ή το δείγμα που εξετάζεται διαλυμένο σε υδατικό διάλυμα αλβουμίνης βοδινού (BSA) και ελέγχεται από τον καταγραφέα του οργάνου η αλλαγή της διαπερατότητας. Όταν τα αιμοπετάλια συσσωρεύονται, το περιεχόμενο της κυψελίδας διαυγάζεται, η οπτική διαπερατότητα αυξάνει απότομα και λαμβάνεται η καμπύλη του σχήματος 6.2. Το ύψος και η μορφή της καμπύλης είναι ανάλογα της συσσώρευσης, το δε φαινόμενο της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων εξαρτάται από τη συγκέντρωση του συσσωρευτικού παράγοντα.



Σχήμα 6.2. Ενεργοποίηση και συσσώρευση των αιμοπεταλίων από τον PAF και απόδοση της καταγραφόμενης καμπύλης ως αύξησης της διαπερατότητας με το χρόνο. Α) Αιμοπετάλια σε φυσιολογική κατάσταση, Β) Αιμοπετάλια μετά από προσθήκη PAF, Γ) Συσσώρευση αιμοπεταλίων.

Η εμφάνιση αναστολής της προκαλούμενης από τον PAF συσσώρευσης ή η εμφάνιση συσσώρευσης των αιμοπεταλίων από τα λιποειδή των εξεταζόμενων ψαριών, υποδεικνύει την ύπαρξη ανταγωνιστών του PAF. Οι ανταγωνιστές του PAF εμποδίζουν τη δράση του είτε ως αναστολείς είτε ως αγωνιστές με πολύ μικρότερη βιολογική δραστηριότητα.

#### Απομόνωση πλυμένων αιμοπεταλίων από αίμα κουνελιού.

Σε πλαστικούς σωλήνες των 50 mL προστίθενται 7 mL αντιπηκτικού ACD. Το αίμα συλλέγεται από την κεντρική αρτηρία του αυτιού του κουνελιού. Ο σωλήνας γεμίζεται με αίμα μέχρι τα 50 mL και αναμιγνύεται ήπια με αναστροφή. Ακολουθεί φυγοκέντρηση για 15 min στους 24 °C στα 500×g. Κατά την διάρκεια της φυγοκέντρησης μεταφέρουμε 2 mL Ficoll-Paque σε πλαστικούς σωλήνες των 14 mL. Αναροφώνται τα 2/3 του υπερκείμενου πλάσματος που είναι πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια (PRP, Platelet Rich Plasma) με πλαστικό σιφώνιο των 20 mL και μεταφέρονται σε άλλο πλαστικό σωλήνα των 50 mL. Το πλάσμα το πλούσιο σε αιμοπετάλια (PRP), τοποθετείται πάνω στο στρώμα του Ficoll, με μέγιστο ποσοστό PRP τα 9 mL για κάθε 2 mL Ficoll, χρησιμοποιώντας πλαστικά σιφώνια. Μεταφέρονται ίσοι όγκοι PRP σε 2 ή 3 σωλήνες ανάλογα με το συνολικό όγκο του πλάσματος. Οι πλαστικοί σωλήνες κλείνονται με απομονωτική ταινία στερεής παραφίνης (parafilm) και φυγοκεντρώνται για 20 min στους 24 °C στα 750×g. Μετά τη φυγοκέντρηση τα αιμοπετάλια εμφανίζονται σαν ταινία

μεταξύ της στιβάδας του υπερκείμενου πλάσματος του φτωχού σε αιμοπετάλια (PPP, Platelet Poor Plasma) και του στρώματος του Ficoll. Το PPP αναρροφάται και απορρίπτεται με πλαστικό σιφώνιο των 20 mL. Το στρώμα των αιμοπεταλίων διαπερνάται με σιλικοναρισμένη πιπέτα Pausteur, αναρροφάται το Ficoll και απορρίπτεται. Αν υπάρχουν 2 σωλήνες προστίθενται 7 mL Tg-EGTA pH = 6,5 σε κάθε σωλήνα. Το διάλυμα αφήνεται να τρέξει ήπια στα τοιχώματα του σωλήνα και χωρίς ανάμιξη αποχύνεται το αιώρημα σε άλλο πλαστικό σωλήνα των 14 mL, αφήνοντας έτσι τα ερυθρά αιμοσφαίρια στον αρχικό σωλήνα. Αν υπάρχουν 3 σωλήνες προστίθενται 3 mL Tg EGTA pH = 6,5 σε κάθε σωλήνα. Το διάλυμα αφήνεται να τρέξει ήπια στα τοιχώματα του σωλήνα και χωρίς ανάμιξη αποχύνεται το αιώρημα σε άλλο πλαστικό σωλήνα των 14 mL του οποίου το περιεχόμενο χωρίζεται σε 2 ίσα μέρη που μεταφέρονται σε δύο ξεχωριστούς σωλήνες και προστίθενται περίπου 3 mL Tg EGTA pH = 6,5. Το περιεχόμενο του κάθε σωλήνα μεταφέρεται σε 2 mL Ficoll καλύπτεται με απομονωτική ταινία στερεής παραφίνης (parafilm). Ακολουθεί φυγοκέντρηση για 15 min στους 24 °C στα 750×g. Το υπερκείμενο ρυθμιστικό διάλυμα απορροφάται και απορρίπτεται με σιφώνιο των 20 mL. Διαπερνάται το στρώμα αιμοπεταλίων με σιλικοναρισμένη πιπέτα pasteur, αναρροφάται το Ficoll και απορρίπτεται. Στην συνέχεια προστίθενται περίπου 8 mL διαλύματος Tg pH = 6,5 σε κάθε σωλήνα αφήνοντας το διάλυμα να τρέξει στα τοιχώματα του σωλήνα και χωρίς ανάμιξη μεταφέρεται το εναιώρημα σε καθαρό πλαστικό σωλήνα των 14 mL και καλύπτεται με απομονωτική ταινία στερεής παραφίνης (parafilm). Ακολουθεί φυγοκέντρηση για 15 min στους 24 °C στα 750×g. Το υπερκείμενο ρυθμιστικό διάλυμα απορροφάται και απορρίπτεται μέχρι και την τελευταία σταγόνα. Ακολούθως προστίθενται 0,8 mL Tg pH = 6,5 σε κάθε συσσωμάτωμα αιμοπεταλίων αναδιασπείροντας τα κύτταρα με ήπιο τρόπο. Το περιεχόμενο των σωλήνων ενώνεται σε πλαστικό σωλήνα. Ετοιμάζεται εναιώρημα αιμοπεταλίων σε Tg pH = 6,5 που να περιέχει  $1,25 \times 10^8$  κύτταρα/mL. Από το πυκνό διάλυμα αιμοπεταλίων λαμβάνονται 10  $\mu$ L τα οποία αραιώνονται με 990  $\mu$ L Tg pH = 6,5 και το διάλυμα φωτομετρείται στα 530 nm. Ο αριθμός των κυττάρων στα 10  $\mu$ L δίνεται από τον τύπο:  $\text{κύτταρα}/10 \mu\text{L} = A \times 1,25 \times 10^8$  όπου A είναι η απορρόφηση. Με βάση πρότυπη καμπύλη της οπτικής απορρόφησης συναρτήσε του αριθμού αιμοπεταλίων υπολογίζεται ο αριθμός αιμοπεταλίων και ετοιμάζεται το επιθυμητό εναιώρημα αιμοπεταλίων.

### Συσσώρευση πλυμένων αιμοπεταλίων κουνελιού

Σε γυάλινες κυψελίδες συσσωρευματομέτρου των 0,5 mL προστίθενται 50  $\mu$ L από το εναιώρημα αιμοπεταλίων που περιέχει  $1,25 \times 10^8$  κύτταρα/mL και 200  $\mu$ L διαλύματος Tg-Ca pH = 7,2 καθώς και μικρός μαγνητικός αναδευτήρας που περιστρέφεται με 1.200 στροφές το λεπτό (rpm, rounds per min). Ακολουθεί επώαση για 15 min σε θερμοστατούμενο υδρόλουτρο θερμοκρασίας 37 °C. Στη συνέχεια η κυψελίδα με το εναιώρημα των αιμοπεταλίων τοποθετείται στην ειδική θερμοστατούμενη κυψελίδα του συσσωρευματομέτρου και προστίθενται διάφορες ποσότητες PAF ή του εκάστοτε δείγματος το οποίο είναι διαλυτοποιημένο σε BSA 2,5 mg/mL και καταγράφεται η καμπύλη συσσώρευσης, ως αύξηση της διαπερατότητας. Η αύξηση της διαπερατότητας στηρίζεται στο γεγονός ότι κατά την συσσώρευση των αιμοπεταλίων διαυγάζεται το περιεχόμενο της κυψελίδας μέσα από την οποία διέρχεται η δέσμη ακτινοβολίας. Το ύψος και η μορφή της καμπύλης είναι ανάλογα με την συσσώρευση, το δε φαινόμενο της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων εξαρτάται από τη συγκέντρωση του συσσωρευτικού παράγοντα. Με βάση γνωστής συγκέντρωσης διαλύματα συνθετικού PAF σχεδιάζεται η καμπύλη της επί τοις εκατό συσσώρευσης συναρτήσει της συγκέντρωσης του PAF. Ως 100 % συσσώρευση ορίζεται η μέγιστη αντιστρεπτή συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Βάση της πρότυπης αυτής καμπύλης και το ύψος της καμπύλης συσσώρευσης που προκαλεί το εξεταζόμενο δείγμα, γίνεται ο υπολογισμός της συγκέντρωσης του δείγματος, ως συγκέντρωση ανάλογη της συγκέντρωσης του PAF στην κυψελίδα του συσσωρευματομέτρου (τελική συγκέντρωση) που έχει την ίδια βιολογική δραστηριότητα. Εξετάζεται επίσης, αν η μορφή της καμπύλης συσσώρευσης που δίνει το δείγμα ομοιάζει με εκείνη της καμπύλης συσσώρευσης του PAF (γρήγορη συσσώρευση με αντιστρεπτή μορφή σε μικρές συγκεντρώσεις και μη αντιστρεπτή σε μεγάλες συγκεντρώσεις). Τα αποτελέσματα μπορούν να εκφραστούν και σαν συγκέντρωση του συσσωρευτικού παράγοντα που μπορεί να προκαλέσει το 50% της μέγιστης συσσώρευσης που καλείται EC<sub>50</sub> (Equivalent Concentration for 50% aggregation).

### Πειράματα απευαισθητοποίησης σε πλυμένα αιμοπετάλια κουνελιού

Με κάποια συγκέντρωση PAF ή άλλου συσσωρευτικού παράγοντα προκαλείται αντιστρεπτή συσσώρευση αιμοπεταλίων και όταν τα αιμοπετάλια επανέλθουν στην αρχική τους κατάσταση προστίθεται στην κυψελίδα η ίδια συγκέντρωση PAF ή του άλλου συσσωρευτικού παράγοντα. Παρατηρείται ότι η δεύτερη προσθήκη του συσσωρευτικού παράγοντα προκαλεί μικρότερη συσσώρευση από την αρχική, λόγω

απευαισθητοποίησης των αιμοπεταλίων. Στα πειράματα διασταυρούμενης απευαισθητοποίησης το ίδιο πείραμα επαναλαμβάνεται με προσθήκη δύο διαφορετικών συσσωρευτικών παραγόντων.

#### Πειράματα αναστολής της συσσώρευσης των πλυμένων αιμοπεταλίων κουνελιού

Στη σειρά αυτή των πειραμάτων πριν την προσθήκη του συσσωρευτικού παράγοντα, προστίθενται διάφορες ποσότητες του αναστολέα, ακολουθεί επώαση για 1 min και στη συνέχεια προστίθεται ο PAF που προκαλεί γνωστού ύψους συσσώρευση αιμοπεταλίων. Υπολογίζεται το ποσοστό αναστολής στον PAF για κάθε ποσότητα δείγματος. Σχεδιάζεται η καμπύλη της επί της εκατό αναστολής, συναρτήσει της ποσότητας και τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ποσότητα δείγματος ικανή να προκαλέσει 50 % αναστολή της συσσώρευσης των πλυμένων αιμοπεταλίων που καλείται IC<sub>50</sub> (Inhibitory Concentration for 50% Inhibition).

#### **6.6. Οργανοληπτική Αξιολόγηση<sup>98</sup>**

Για την αξιολόγηση των δειγμάτων εφαρμόστηκε η μέθοδος της ποσοτικής περιγραφικής ανάλυσης χρησιμοποιώντας μία κλίμακα 10 cm από ένα πάνελ εκπαιδευμένο που αποτελούνταν από 8 γυναίκες και 2 άντρες. Το πάνελ έπρεπε να ανιχνεύσει συγκεκριμένους όρους ως προς την οσμή, τη γεύση και την επίγευση για το κάθε δείγμα ξεχωριστά και να καθορίσει την ένταση του κάθε όρου. Εξετάστηκαν δύο διαφορετικά δείγματα ψημένης συμβατικής και εμπλουτισμένης τσιπούρας σε μία συνεδρία. Τα δείγματα ψημένης τσιπούρας ψήθηκαν σε grill για 10-15 λεπτά από κάθε πλευρά την ίδια μέρα της συνεδρίας. Σε κάθε δοκιμαστή σερβιρίστηκαν 30 g δείγματος ψημένης συμβατικής και εμπλουτισμένης τσιπούρας σε πλαστικά πιάτα ενώ παράλληλα προσφέρονταν και πλαστικά ποτήρια με νερό σε όλους για να ξεπλένουν το στόμα τους κατά τη διάρκεια της δοκιμής μεταξύ των δειγμάτων .

#### **6.7. Στατιστική Ανάλυση των Αποτελεσμάτων**

Όλα τα πειράματα επαναλήφθηκαν 3 φορές και τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση. Το Wilcoxon test χρησιμοποιήθηκε προκειμένου να διαλευκανθούν αν υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των νωπών και των ψημένων δειγμάτων αλλά και μεταξύ των νωπών και των παστών δειγμάτων. Οι διαφορές ήταν μεγάλες όταν η τιμή p ήταν μικρότερη από 0.05. Τα δεδομένα αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας ένα στατιστικό λογισμικό πακέτο (PASW 18 for Windows, SPSS Inc., Chicago, IL, 17 USA).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7

### Αποτελέσματα της Ποιοτικής και Ποσοτικής Μελέτης των TL των Δειγμάτων με Αέρια Χρωματογραφία (GC)

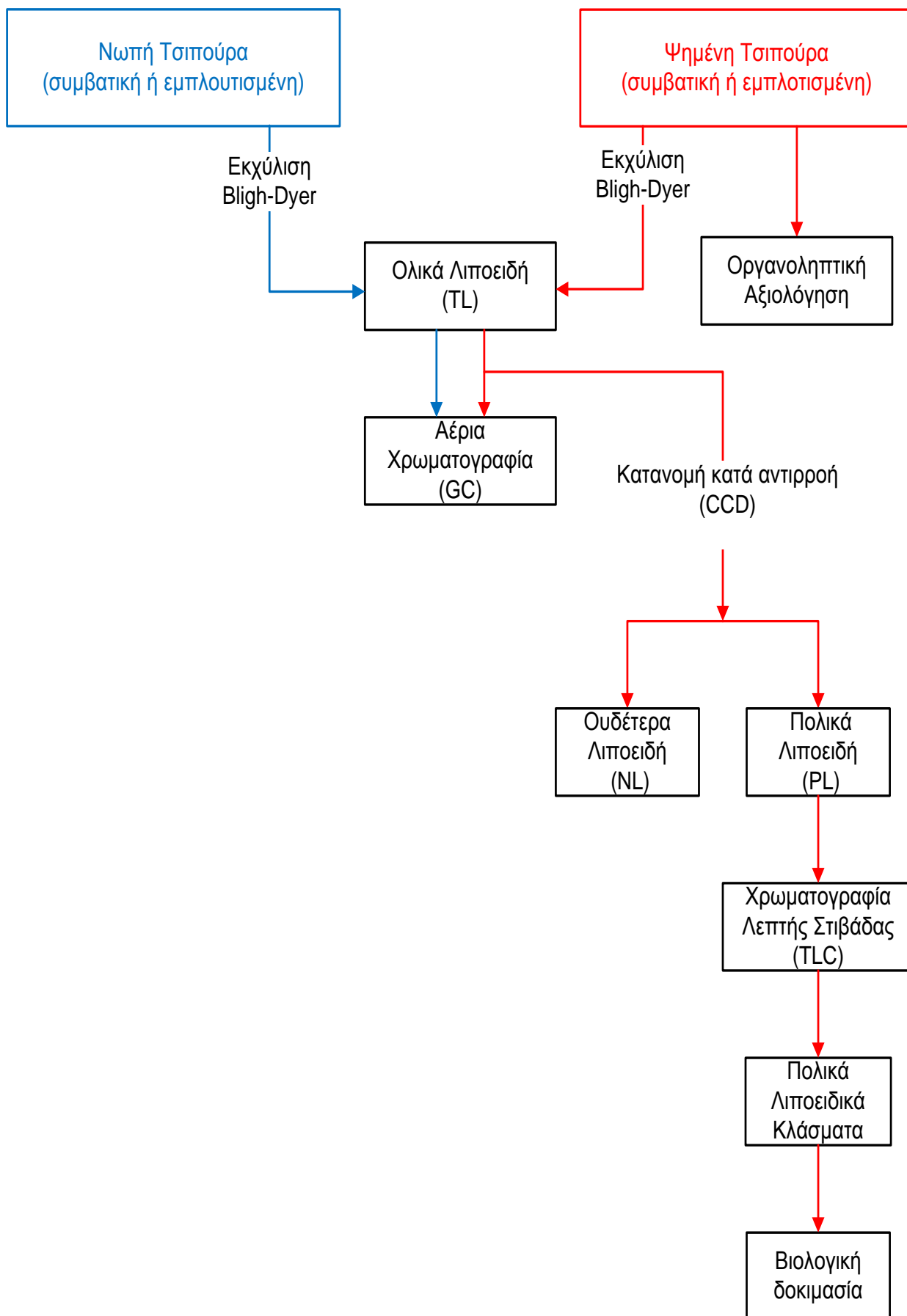
#### 7.1. Δειγματοληψία Ψαριών

Οι τσιπούρες (*Sparus Aurata*) ιχθυοτροφείου που χρησιμοποιήθηκαν για την πραγματοποίηση της πειραματικής εργασίας προέρχονται από τα ιχθυοτροφεία ΝΗΡΕΥΣ Α.Ε. που αλιεύθηκαν από την περιοχή της Χίου τον μήνα Αύγουστο.

Αφαιρέθηκαν τα λέπια, το κεφάλι, τα εντόσθια και τα κόκκαλα και ελήφθησαν φιλέτα ιστού, τα οποία τεμαχίστηκαν, ζυγίστηκαν (περίπου 150 gr) και ομογενοποιήθηκαν. Το πείραμα πραγματοποιήθηκε τρεις φορές.

#### 7.2. Πειραματική Πορεία Απομόνωσης Λιποειδικών Κλασμάτων

Αρχικός σκοπός των πειραμάτων ήταν η εκχύλιση των ολικών λιποειδών (TL) φιλέτου ιστού τσιπούρας ιχθυοτροφείου με τη μέθοδο Bligh-Dyer<sup>94</sup>. Το κλάσμα των TL συμπυκνώθηκε σε μικρό όγκο με περιστροφική συσκευή εξάτμισης υπό ελαττωμένη πίεση (flash evaporator) και μεταφέρθηκε σε σκουρόχρωμο γυάλινο φιαλίδιο για να εξατμιστεί το δείγμα μέχρι ξηρού σε ρεύμα αζώτου. Ακολούθησε ο διαχωρισμός αυτών σε ολικά πολικά (TPL) και ολικά ουδέτερα λιποειδή (TNL) με τη μέθοδο της κατανομής κατ'αντιρροή<sup>88</sup> (Πίνακας 7.1). Ποσοτικός προσδιορισμός των μεθυλεστέρων των λιπαρών Οξέων όλων των δειγμάτων τσιπούρας με αέρια χρωματογραφία (G.C) έγινε στα ολικά λιποειδή (TL) ενώ βιολογική δοκιμασία έγινε ολικά πολικά λιποειδή και στα επιμέρους πολικά λιποειδικά κλάσματα των ψημένων δειγμάτων ψαριού μετά το διαχωρισμό με TLC. Η γενική πειραματική διαδικασία φαίνεται στο σχήμα που ακολουθεί (Σχήμα 7.1).



Σχήμα 7.1. Σχηματική αναπαράσταση της πειραματικής πορείας που ακολουθήθηκε



### 7.3. Αποτελέσματα Ζυγίσεων των TL, PL, NL

Πίνακας 7.1. Ποσότητες TL, PL και NL που απομονώθηκαν από φιλέτο ιστού τσιπούρας

Είδος ψαριού	TL (g/100g ιστού ψαριού)	PL (ως εκατοστιαίο ποσοστό των TL)	NL (ως εκατοστιαίο ποσοστό των TL)
Νωπή Συμβατική Τσιπούρα	5.23±0.26	12.4	87.6
Ψημένη Συμβατική Τσιπούρα	4.10±0.20	27.9	75.1
Νωπή Εμπλουτισμένη Τσιπούρα	5.37±0.27	11.5	88.5
Ψημένη Εμπλουτισμένη Τσιπούρα	6.31±0.32	25.8	74.2

Όπως φαίνεται από τον παραπάνω πίνακα τα ολικά λιποειδή της ψημένης συμβατικής και εμπλουτισμένης τσιπούρας παρουσιάζουν κοντινές τιμές. Το περιεχόμενο λίπος υπολογίστηκε βάσει της υγρασίας και συνήθως εξαρτάται από την εποχή ψαρέματος.

### 7.4. Αποτελέσματα της Ποιοτικής και Ποσοτικοποίησης Μελέτης των TL των Δειγμάτων με Αέρια Χρωματογραφία.

#### **Τσιπούρα Νωπή Συμβατική (TNΣ)**

Στην εικόνα A1 (Παράρτημα A) φαίνεται το χρωματογράφημα των TL του δείγματος TNΣ στο οποίο είναι σημειωμένοι οι χρόνοι έκλουσης και τα εμβαδά κάθε κορυφής.

Με τη βοήθεια των πρότυπων διαλυμάτων μεθυλεστέρων ταυτοποιήθηκαν οι κορυφές των λιπαρών οξέων με βάσει τους χρόνους έκλουσης όπως φαίνονται στον πίνακα B1 (Παράρτημα B).

Οι σημαντικότερες κορυφές των λιπαρών οξέων που ταυτοποιήθηκαν στο λιποειδικό κλάσμα των TL του δείγματος TNΣ ήταν το μυριστικό (14:0), το παλμιτικό (16:0), το παλμιτελαϊκό (16:1, ω-7), το στεατικό (18:0), το ελαϊκό (18:1 cis, ω-9), το ελαϊδικό (18:1 trans, ω-9), το λινελαϊκό (18:2, ω-6), το α-λινολενικό (18:3, ω-3), το αραχιδονικό (20:4, ω-6), το εικοσιπεντανοϊκό (20:5, ω-3), γνωστό και ως EPA, το εικοσιδυπεντανοϊκό (22:5, ω-3), και το εικοσιδυεξαενοϊκό (22:6, ω-3) οξύ, γνωστό και ως DHA. Διαπιστώνουμε λοιπόν ότι στο λιποειδικό κλάσμα των TL του δείγματος TNΣ περιέχονται κορεσμένα

λιπαρά οξέα, όπως είναι το μυριστικό (14:0), το παλμιτικό (16:0) και το στεατικό (18:0) οξύ, μονοακόρεστα λιπαρά οξέα όπως το παλμιτελαϊκό (16:1, ω-7), το ελαϊκό (18:1 cis, ω-9), και το ελαϊδικό (18:1 trans, ω-9) οξύ και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα όπως τα ω-3 λιπαρά οξέα: α-λινολενικό (18:3, ω-3), εικοσιπεντανοϊκό (20:5, ω-3) (EPA), εικοσιδυπεντανοϊκό (22:5, ω-3), και το εικοσιδυεξαενοϊκό (22:6, ω-3) οξύ, (DHA) και τα ω-6 λιπαρά οξέα: λινελαϊκό (18:2, ω-6) και αραχιδονικό (20:4, ω-6) οξύ. Ανάλογα αποτελέσματα όσον αφορά τη σύσταση των λιπαρών οξέων των TL της τσιπούρας ιχθυοτροφείου βρέθηκαν και από άλλους ερευνητές<sup>24</sup>.

Από τα εμβαδά των κορυφών των λιπαρών οξέων και με τη βοήθεια της καμπύλης αναφοράς προσδιορίστηκαν ποσοτικά τα λιπαρά οξέα που περιείχονταν στα TL του δείγματος ΤΝΣ και συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 7.2).

**Πίνακας 7.2. Ποσοτικός προσδιορισμός των λιπαρών οξέων των TL του δείγματος ΤΝΣ**

ΛΙΠΑΡΟ ΟΞΥ	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ (ppm)
14:0	21.06±1.65 <sup>a</sup>
16:0	223.66±5.04
16:1 (ω-7)	149.74±19.3 <sup>a</sup>
18:0	68.49±5.37 <sup>a</sup>
18:1 cis	348.31±228 <sup>a</sup>
18:1 trans	16.63±7.36
18:2 (ω-6)	184.78±11.6 <sup>a</sup>
18:3 (ω-3)	14.05±1.69
20:4 (ω-6)	21.90±3.18 <sup>a</sup>
20:5 (ω-3)	81.19±4.32 <sup>a</sup>
22:5 (ω-3)	63.50±3.23 <sup>a</sup>
22:6 (ω-3)	381.98±16.8 <sup>a</sup>
Άθροισμα των κορεσμένων λιπαρών οξέων	104.4±10.9 <sup>a</sup>
Άθροισμα των ω-7 λιπαρών οξέων	149.74±19.3 <sup>a</sup>
Άθροισμα των ω-9 λιπαρών οξέων	182.47±234 <sup>a</sup>
Άθροισμα των μονοακόρεστων λιπαρών οξέων	171.56±166 <sup>a</sup>
Άθροισμα των ω-3 λιπαρών οξέων	166.97±166 <sup>a</sup>
Άθροισμα των ω-6 λιπαρών οξέων	103.34±115 <sup>a</sup>
ω-6/ω-3	0.62

\* Τα "α" σε κάθε σειρά υποδηλώνουν σημαντικά διαφορετικές τιμές μεταξύ των νωπών και των ψημένων συμβατικών δειγμάτων σύμφωνα με το Wilcoxon test (p<0.05)

### Τσιπούρα Ψημένη Συμβατική (ΤΨΣ)

Στην εικόνα Α2 (Παράρτημα Α) φαίνεται το χρωματογράφημα των ΤΛ του δείγματος ΤΨΣ στο οποίο είναι σημειωμένοι οι χρόνοι έκλουσης καθώς και τα εμβαδά της κάθε κορυφής.

Με τη βοήθεια των πρότυπων διαλυμάτων μεθυλεστέρων ταυτοποιήθηκαν οι κορυφές των λιπαρών οξέων με βάση τους χρόνους έκλουσης όπως φαίνονται στον πίνακα Β2 (Παράρτημα Β).

Οι σημαντικότερες κορυφές των λιπαρών οξέων που ταυτοποιήθηκαν στο λιποειδικό κλάσμα των ΤΛ του δείγματος ΤΨΣ ήταν ίδιες με εκείνες που ταυτοποιήθηκαν και στην περίπτωση του δείγματος ΤΝΣ, ήταν δηλαδή το μυριστικό (14:0), το παλμιτικό (16:0), το παλμιτελαϊκό (16:1, ω-7), το στεατικό (18:0), το ελαϊκό (18:1 cis, ω-9), το ελαϊδικό (18:1 trans, ω-9), το λινελαϊκό (18:2, ω-6), το α-λινολενικό (18:3, ω-3), το αραχιδονικό (20:4, ω-6), το εικοσιπεντανοϊκό (20:5, ω-3), (ΕΡΑ), το εικοσιδυπεντανοϊκό (22:5, ω-3), και το εικοσιδυεξαενοϊκό (22:6, ω-3) οξύ, (DHA). Διαπιστώνουμε λοιπόν ότι στο λιποειδικό κλάσμα των ΤΛ του δείγματος ΤΨΣ περιέχονται κορεσμένα λιπαρά οξέα, όπως είναι το μυριστικό (14:0), το παλμιτικό (16:0) και το στεατικό (18:0) οξύ, μονοακόρεστα λιπαρά οξέα όπως το παλμιτελαϊκό (16:1, ω-7), το ελαϊκό (18:1 cis, ω-9), και το ελαϊδικό (18:1 trans, ω-9) οξύ και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα όπως τα ω-3 λιπαρά οξέα: α-λινολενικό (18:3, ω-3), εικοσιπεντανοϊκό (20:5, ω-3) (ΕΡΑ), εικοσιδυπεντανοϊκό (22:5, ω-3), και το εικοσιδυεξαενοϊκό (22:6, ω-3) οξύ, (DHA) και τα ω-6 λιπαρά οξέα: λινελαϊκό (18:2, ω-6) και αραχιδονικό (20:4, ω-6) οξύ. Ανάλογα αποτελέσματα όσον αφορά τη σύσταση των λιπαρών οξέων των ΤΛ της τσιπούρας ιχθυοτροφείου βρέθηκαν και από άλλους ερευνητές<sup>24</sup>.

Από τα εμβαδά των κορυφών των λιπαρών οξέων και με τη βοήθεια της καμπύλης αναφοράς προσδιορίστηκαν ποσοτικά τα λιπαρά οξέα που περιέχονταν στα ΤΛ του δείγματος ΤΨΣ και συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 7.3).

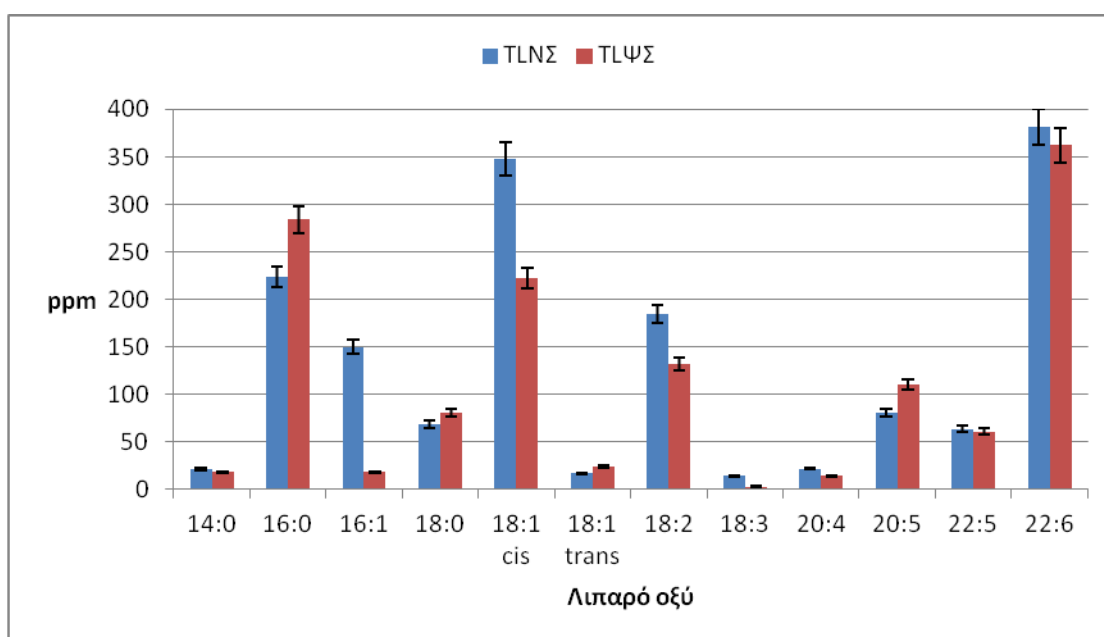
**Πίνακας 7.3. Ποσοτικός προσδιορισμός των λιπαρών οξέων των ΤΛ του δείγματος ΤΨΣ**

ΛΙΠΑΡΟ ΟΞΥ	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ (ppm)
14:0	18.02±1.25 <sup>a</sup>
16:0	283.84±0.18
16:1 (ω-7)	18.02±0.27 <sup>a</sup>

18:0	81.04±0.84 <sup>a</sup>
18:1 cis	222.05±2.78 <sup>a</sup>
18:1 trans	24.06±0.72
18:2 (ω-6)	131.57±0.64 <sup>a</sup>
18:3 (ω-3)	2.98±0.47
20:4 (ω-6)	14.37±0.34 <sup>a</sup>
20:5 (ω-3)	109.90±2.35 <sup>a</sup>
22:5 (ω-3)	61.01±2.36 <sup>a</sup>
22:6 (ω-3)	362.22±16.1 <sup>a</sup>
Άθροισμα των κορεσμένων λιπαρών οξέων	127.63±13.9 <sup>a</sup>
Άθροισμα των ω-7 λιπαρών οξέων	18.02±0.27 <sup>a</sup>
Άθροισμα των ω-9 λιπαρών οξέων	123.06±140 <sup>a</sup>
Άθροισμα των μονοακόρεστων λιπαρών οξέων	88.04±116 <sup>a</sup>
Άθροισμα των ω-3 λιπαρών οξέων	158.25±158 <sup>a</sup>
Άθροισμα των ω-6 λιπαρών οξέων	72.97±82.8 <sup>a</sup>
ω-6/ω-3	0.46

\* Τα "a" σε κάθε σειρά υποδηλώνουν σημαντικά διαφορετικές τιμές μεταξύ των νωπών και των ψημένων συμβατικών δειγμάτων σύμφωνα με το Wilcoxon test ( $p < 0.05$ )

Τα αποτελέσματα των πινάκων 7.2 και 7.3 παρουσιάζονται σχηματικά στο παρακάτω ραβδόγραμμα (Σχήμα 7.2).



Σχήμα 7.2. Συγκεντρώσεις σε ppm, των λιπαρών οξέων που περιέχονται στα λιποειδικά κλάσματα των TL των δειγμάτων ΤΝΣ και ΤΨΣ αντίστοιχα

Όπως προκύπτει από το σχήμα 7.2 και τους πίνακες 7.2 και 7.3 τα λιπαρά οξέα που βρέθηκαν σε μεγαλύτερη ποσότητα στα λιποειδικά κλάσματα των TL τόσο της νωπής όσο και της ψημένης συμβατικής τσιπούρας ήταν το παλμιτικό οξύ (16:0), το ελαϊκό

(18:1 cis, ω-9), το EPA (20:5, ω-3), το λινελαϊκό (18:2, ω-6) και το DHA (22:6, ω-3) οξύ, ενώ σε μικρότερες ποσότητες ανιχνεύτηκαν το παλμιτελαϊκό (16:1, ω-7) και κυρίως στο ψημένο δείγμα, το μυριστικό (14:0), το στεατικό (18:0), το ελαϊδικό (18:1 trans, ω-9), το α-λινολενικό (18:3, ω-3), το αραχιδονικό (20:4, ω-6) και το εικοσιδιπεντανοϊκό (22:5, ω-3), οξύ.

Επίσης από το σχήμα 7.2 παρατηρούμε ότι το ψήσιμο επηρέασε ελαφρώς τα περιεχόμενα ολικά πολικά λιποειδή. Πιο συγκεκριμένα, τις μεγαλύτερες μειώσεις επιδέχτηκαν τα λιπαρά οξέα: παλμιτελαϊκό (16:1), ελαϊκό (18:1 cis, ω-9) και το α-λινολενικό (18:3, ω-3) σε ποσοστά που κυμάνθηκαν στα 88%, 36% και 79% αντίστοιχα. Εν αντιθέσει με το παλμιτικό (16:0), το ελαϊδικό (18:1 trans), το EPA (20:5, ω-3) και το DHA (22:6, ω-3), τα οποία αυξήθηκαν πιθανότατα λόγω της απώλειας του περιεχόμενου νερού του ιστού των ψαριών που οφείλεται στην αύξηση της θερμοκρασίας κατά τη διάρκεια του ψησίματος<sup>99</sup>. Επίσης, εκτός από την ποσότητα των κορεσμένων και πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, η αναλογία ω-6/ω-3 αποτελεί δείκτη της θρεπτικής αξίας των ψαριών. Πιο συγκεκριμένα όταν αυτή η αναλογία είναι μικρότερη της μονάδας διατηρούνται χαμηλά επίπεδα πρόσληψης κορεσμένου λίπους και trans λιπαρών οξέων<sup>2,82,100</sup>.

### **Τσιπούρα Νωπή Εμπλουτισμένη (TNE)**

Στην εικόνα A3 (Παράρτημα A) φαίνεται το χρωματογράφημα των TL του δείγματος TNE στο οποίο είναι σημειωμένοι οι χρόνοι έκλουσης καθώς και τα εμβαδά της κάθε κορυφής.

Με τη βοήθεια των πρότυπων διαλυμάτων μεθυλεστέρων ταυτοποιήθηκαν οι κορυφές των λιπαρών οξέων με βάση τους χρόνους έκλουσης όπως φαίνονται στον πίνακα B3 (Παράρτημα B).

Οι σημαντικότερες κορυφές των λιπαρών οξέων που ταυτοποιήθηκαν στο λιποειδικό κλάσμα των TL του δείγματος TNE ήταν ίδιες με εκείνες που ταυτοποιήθηκαν και στις περιπτώσεις των δειγμάτων TNΣ και ΤΨΣ, ήταν δηλαδή το μυριστικό (14:0), το παλμιτικό (16:0), το παλμιτελαϊκό (16:1, ω-7), το στεατικό (18:0), το ελαϊκό (18:1 cis, ω-9), το ελαϊδικό (18:1 trans, ω-9), το λινελαϊκό (18:2, ω-6), το α-λινολενικό (18:3, ω-3), το αραχιδονικό (20:4, ω-6), το εικοσιπεντανοϊκό (20:5, ω-3), (EPA), το εικοσιδιπεντανοϊκό (22:5, ω-3), και το εικοσιδυεξαενοϊκό (22:6, ω-3) οξύ, (DHA). Διαπιστώνουμε λοιπόν ότι στο λιποειδικό κλάσμα των TL του δείγματος TNE περιέχονται κορεσμένα λιπαρά οξέα, όπως είναι το μυριστικό (14:0), το παλμιτικό (16:0) και το στεατικό (18:0) οξύ,

μονοακόρεστα λιπαρά οξέα όπως το παλμιτελαϊκό (16:1,  $\omega$ -7), το ελαϊκό (18:1 cis,  $\omega$ -9), και το ελαϊδικό (18:1 trans,  $\omega$ -9) οξύ και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα όπως τα  $\omega$ -3 λιπαρά οξέα:  $\alpha$ -λινολενικό (18:3,  $\omega$ -3), εικοσιπεντανοϊκό (20:5,  $\omega$ -3) (EPA), εικοσιδυπεντανοϊκό (22:5,  $\omega$ -3), και το εικοσιδυεξαενοϊκό (22:6,  $\omega$ -3) οξύ, (DHA) και τα  $\omega$ -6 λιπαρά οξέα: λινελαϊκό (18:2,  $\omega$ -6) και αραχιδονικό (20:4,  $\omega$ -6) οξύ. Ανάλογα αποτελέσματα όσον αφορά τη σύσταση των λιπαρών οξέων των TL της τσιπούρας ιχθυοτροφείου βρέθηκαν και από άλλους ερευνητές<sup>24</sup>.

Από τα εμβαδά των κορυφών των λιπαρών οξέων και με τη βοήθεια της καμπύλης αναφοράς προσδιορίστηκαν ποσοτικά τα λιπαρά οξέα που περιείχονταν στα TL του δείγματος TNE και συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 7.4).

**Πίνακας 7.4. Ποσοτικός προσδιορισμός των λιπαρών οξέων των TL του δείγματος TNE**

ΛΙΠΑΡΟ ΟΞΥ	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ (ppm)
14:0	28.69±0.76
16:0	123.80±1.05 <sup>b</sup>
16:1 ( $\omega$ -7)	35.40±0.33 <sup>b</sup>
18:0	26.17±0.08 <sup>b</sup>
18:1 cis	121.89±1.03 <sup>b</sup>
18:1 trans	14.77±0.21 <sup>b</sup>
18:2 ( $\omega$ -6)	50.35±0.59 <sup>b</sup>
18:3 ( $\omega$ -3)	7.93±0.14 <sup>b</sup>
20:4 ( $\omega$ -6)	7.22±0.17 <sup>b</sup>
20:5 ( $\omega$ -3)	57.08±2.28 <sup>b</sup>
22:5 ( $\omega$ -3)	23.99±2.17 <sup>b</sup>
22:6 ( $\omega$ -3)	150.88±11.5 <sup>b</sup>
Άθροισμα των κορεσμένων λιπαρών οξέων	59.55±55.6
Άθροισμα των $\omega$ -7 λιπαρών οξέων	35.40±0.33 <sup>b</sup>
Άθροισμα των $\omega$ -9 λιπαρών οξέων	68.33±75.7
Άθροισμα των μονοακόρεστων λιπαρών οξέων	57.35±56.8
Άθροισμα των $\omega$ -3 λιπαρών οξέων	63.97±63.9
Άθροισμα των $\omega$ -6 λιπαρών οξέων	28.79±30.5 <sup>b</sup>
$\omega$ -6/ $\omega$ -3	0.45

Τα "b" σε κάθε σειρά υποδηλώνουν σημαντικά διαφορετικές τιμές μεταξύ των νωπών και των ψημένων εμπλουτισμένων δειγμάτων σύμφωνα με το Wilcoxon test ( $p < 0.05$ )

### Τσιπούρα Ψημένη Εμπλουτισμένη (ΤΨΕ)

Στην εικόνα A4 (Παράρτημα A) φαίνεται το χρωματογράφημα των TL του δείγματος ΤΨΕ στο οποίο είναι σημειωμένοι οι χρόνοι έκλουσης καθώς και τα εμβαδά της κάθε κορυφής.

Με τη βοήθεια των πρότυπων διαλυμάτων μεθυλεστέρων ταυτοποιήθηκαν οι κορυφές των λιπαρών οξέων με βάση τους χρόνους έκλουσης όπως φαίνονται στον πίνακα B4 (Παράρτημα B).

Οι σημαντικότερες κορυφές των λιπαρών οξέων που ταυτοποιήθηκαν στο λιποειδικό κλάσμα των TL του δείγματος ΤΨΕ ήταν ίδιες με εκείνες που ταυτοποιήθηκαν και στις περιπτώσεις των δειγμάτων ΤΝΣ, ΤΨΣ, και ΤΝΕ, ήταν δηλαδή το μυριστικό (14:0), το παλμιτικό (16:0), το παλμιτελαϊκό (16:1, ω-7), το στεατικό (18:0), το ελαϊκό (18:1 cis, ω-9), το ελαϊδικό (18:1 trans, ω-9), το λινελαϊκό (18:2, ω-6), το α-λινολενικό (18:3, ω-3), το αραχιδονικό (20:4, ω-6), το εικοσιπεντανοϊκό (20:5, ω-3), (EPA), το εικοσιδυπεντανοϊκό (22:5, ω-3), και το εικοσιδυεξαενοϊκό (22:6, ω-3) οξύ, (DHA). Διαπιστώνουμε λοιπόν ότι στο λιποειδικό κλάσμα των TL του δείγματος ΤΨΕ περιέχονται κορεσμένα λιπαρά οξέα, όπως είναι το μυριστικό (14:0), το παλμιτικό (16:0) και το στεατικό (18:0) οξύ, μονοακόρεστα λιπαρά οξέα όπως το παλμιτελαϊκό (16:1, ω-7), το ελαϊκό (18:1 cis, ω-9), και το ελαϊδικό (18:1 trans, ω-9) οξύ και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα όπως τα ω-3 λιπαρά οξέα: α-λινολενικό (18:3, ω-3), εικοσιπεντανοϊκό (20:5, ω-3) (EPA), εικοσιδυπεντανοϊκό (22:5, ω-3), και το εικοσιδυεξαενοϊκό (22:6, ω-3) οξύ, (DHA) και τα ω-6 λιπαρά οξέα: λινελαϊκό (18:2, ω-6) και αραχιδονικό (20:4, ω-6) οξύ. Ανάλογα αποτελέσματα όσον αφορά τη σύσταση των λιπαρών οξέων των TL της τσιπούρας ιχθυοτροφείου βρέθηκαν και από άλλους ερευνητές<sup>24</sup>.

Από τα εμβαδά των κορυφών των λιπαρών οξέων και με τη βοήθεια της καμπύλης αναφοράς προσδιορίστηκαν ποσοτικά τα λιπαρά οξέα που περιείχονταν στα TL του δείγματος ΤΨΕ και συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 7.5).

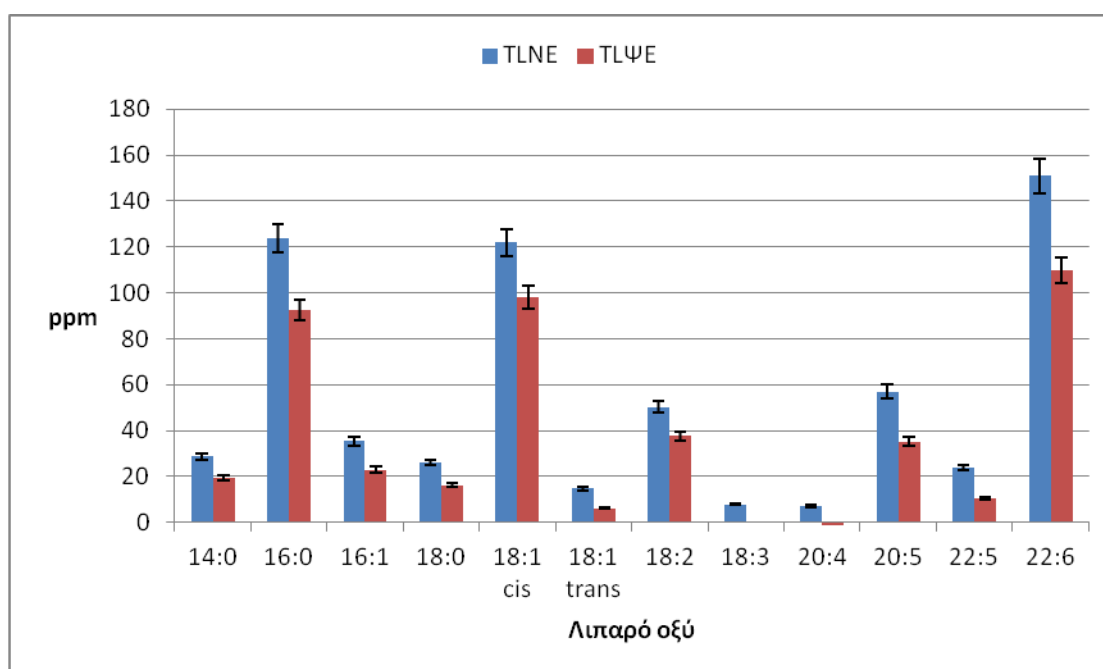
**Πίνακας 7.5. Ποσοτικός προσδιορισμός των λιπαρών οξέων των TL του δείγματος ΤΨΕ**

ΛΙΠΑΡΟ ΟΞΥ	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ (ppm)
14:0	19.45±4.72 <sup>b</sup>
16:0	92.54±4.23 <sup>b</sup>
16:1 (ω-7)	23.05±3.99 <sup>b</sup>
18:0	16.22±0.66 <sup>b</sup>
18:1 cis	98.00±1.07 <sup>b</sup>

18:1 trans	6.26±0.05 <sup>b</sup>
18:2 (ω-6)	37.64±0.59 <sup>b</sup>
18:3 (ω-3)	0.30±0.08 <sup>b</sup>
20:4 (ω-6)	n.d
20:5 (ω-3)	35.27±2.31 <sup>b</sup>
22:5 (ω-3)	10.55±1.37 <sup>b</sup>
22:6 (ω-3)	109.70±10.4 <sup>b</sup>
Άθροισμα των κορεσμένων λιπαρών οξέων	43.64±44.72 <sup>b</sup>
Άθροισμα των ω-7 λιπαρών οξέων	23.05±3.99 <sup>b</sup>
Άθροισμα των ω-9 λιπαρών οξέων	52.13±64.8
Άθροισμα των μονοακόρεστων λιπαρών οξέων	42.44±48.5
Άθροισμα των ω-3 λιπαρών οξέων	49.39±49.3
Άθροισμα των ω-6 λιπαρών οξέων	37.64±0.59 <sup>b</sup>
ω-6/ω-3	0.62

Τα "b" σε κάθε σειρά υποδηλώνουν σημαντικά διαφορετικές τιμές μεταξύ των νωπών και των ψημένων εμπλουτισμένων δειγμάτων σύμφωνα με το Wilcoxon test ( $p < 0.05$ )

Τα αποτελέσματα των πινάκων 7.4 και 7.5 παρουσιάζονται σχηματικά στο παρακάτω ραβδόγραμμα (Σχήμα 7.3).



**Σχήμα 7.3.** Συγκεντρώσεις σε ppm, των λιπαρών οξέων που περιέχονται στα λιποειδικά κλάσματα των TL των δειγμάτων TNE και TΨE αντίστοιχα

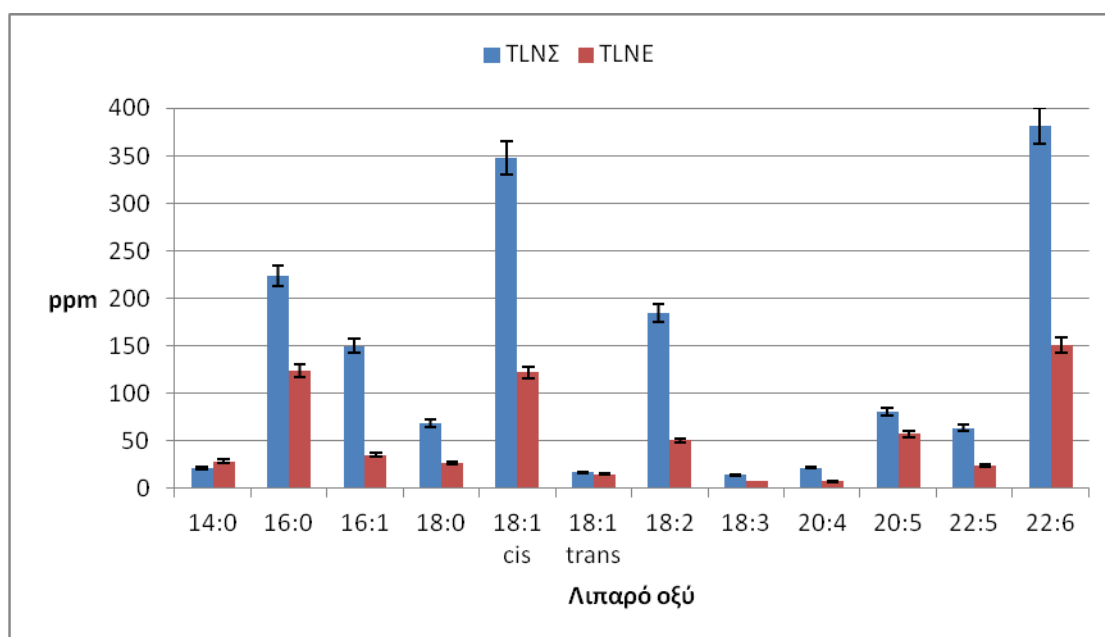
Όπως προκύπτει από το σχήμα 7.3 και τους πίνακες 7.4 και 7.5 τα λιπαρά οξέα που βρέθηκαν σε μεγαλύτερη ποσότητα στα λιποειδικά κλάσματα των TL τόσο της νωπής όσο και της ψημένης εμπλουτισμένης τσιπούρας ήταν το DHA (22:6, ω-3), το παλμιτικό οξύ (16:0), το παλμιτελαϊκό (16:1, ω-7), το ελαϊκό (18:1 cis, ω-9), το λινελαϊκό (18:2, ω-



6), το EPA (20:5, ω-3), και το DHA (22:6, ω-3) οξύ, ενώ σε μικρότερες ποσότητες ανιχνεύτηκαν το μυριστικό (14:0), το στεατικό (18:0), το ελαϊδικό (18:1 trans, ω-9) και το εικοσιδιπεντανοϊκό (22:5, ω-3) οξύ. Η ποσότητα του α-λινολενικού (18:3, ω-3) μετά το ψήσιμο ήταν αμελητέα. Ομοίως και για το αραχιδονικό (20:4, ω-6) οξύ. Αυτό επιβεβαιώνεται από τη βιβλιογραφία σύμφωνα με την οποία τα έλαια τα οποία χρησιμοποιούνται για τη διατροφή των ψαριών ιχθυοτροφείου περιέχουν ιχνοποσότητες από το συγκεκριμένο λιπαρό οξύ<sup>98</sup> και ότι μετά το ψήσιμο η συγκεντρώσεις των λιπαρών οξέων μειώνονται<sup>101</sup>.

Από το σχήμα 7.3 παρατηρούμε ότι το ψήσιμο δεν επηρέασε σημαντικά τη χημική σύσταση των λιπαρών οξέων του ψαριού. Το ελαϊδικό (18:1trans, ω-9), το α-λινολενικό (18:3, ω-3) και το αραχιδονικό (20:4, ω-6) δέχτηκαν τις μεγαλύτερες μειώσεις σε ποσοστά 58%, 96% και 100% αντίστοιχα. Εκτός από την ποσότητα των κορεσμένων και πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, η αναλογία ω-6/ω-3 αποτελεί δείκτη της θρεπτικής αξίας των ψαριών. Πιο συγκεκριμένα όταν αυτή η αναλογία είναι μικρότερη της μονάδας διατηρούνται χαμηλά επίπεδα πρόσληψης κορεσμένου λίπους και trans λιπαρών οξέων<sup>2,82,100</sup>. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί λόγω της μείωσης της συγκέντρωσης του αραχιδονικού οξέος (20:4,ω-6) που παρατηρήθηκε κατά τη διάρκεια του ψησίματος με grill.

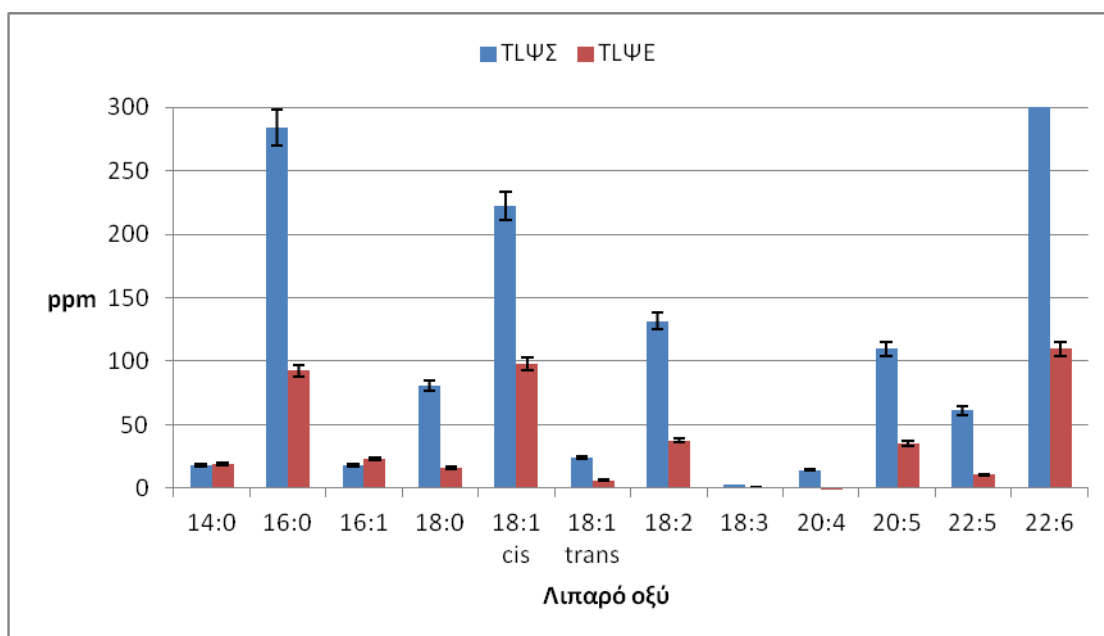
Στο σχήμα 7.4 συγκρίνονται τα επίπεδα των λιπαρών οξέων των TL νωπής συμβατικής και εμπλουτισμένης τσιπούρας.



Σχήμα 7.4. Συγκεντρώσεις σε ppm, των λιπαρών οξέων που περιέχονται στα λιπιδικά κλάσματα των TL των δειγμάτων TNΣ και TNE αντίστοιχα

Όπως προκύπτει από το παραπάνω σχήμα οι συγκεντρώσεις των λιπαρών οξέων των ΤΛ νωπής συμβατικής και εμπλουτισμένης τσιπούρας είναι αρκετά διαφοροποιημένες. Στη νωπή συμβατική τσιπούρα τα λιπαρά οξέα που βρέθηκαν των οποίων οι συγκεντρώσεις βρέθηκαν σε μεγαλύτερη αφθονία είναι το παλμιτικό (16:0), το παλμιτελαϊκό (16:1), το ελαϊκό (18:1 cis, ω-9), από τα ω-6 το λινελαϊκό (18:2) και από τα ω-3 το DHA (22:6). Στη νωπή εμπλουτισμένη τσιπούρα σε υψηλές συγκεντρώσεις βρέθηκαν από τα ω-3 το DHA (22:6) και το EPA (20:5), το παλμιτικό (16:0) και το ελαϊκό (18:1 cis, ω-9) οξύ.

Στο σχήμα 7.5 συγκρίνονται τα επίπεδα των λιπαρών οξέων των ΤΛ ψημένης συμβατικής και εμπλουτισμένης τσιπούρας.



**Σχήμα 7.5. Συγκεντρώσεις σε ppm, των λιπαρών οξέων που περιέχονται στα λιπιδικά κλάσματα των ΤΛ των δειγμάτων ΤΨΣ και ΤΨΕ αντίστοιχα**

Όπως προκύπτει από το παραπάνω σχήμα οι συγκεντρώσεις των λιπαρών οξέων των ΤΛ ψημένης συμβατικής τσιπούρας που βρέθηκαν σε μεγαλύτερη αφθονία είναι το παλμιτικό (16:0), το ελαϊκό (18:1 cis, ω-9), από τα ω-6 το λινελαϊκό (18:2) και από τα ω-3 το DHA (22:6) και το EPA (22:5). Στην ψημένη εμπλουτισμένη τσιπούρα σε υψηλές συγκεντρώσεις βρέθηκαν από τα ω-3 το DHA (22:6) και το EPA (20:5), το παλμιτικό (16:0) και το ελαϊκό (18:1 cis, ω-9) οξύ.

## Κεφάλαιο 8

### Αποτελέσματα Βιολογικής Δοκιμασίας Πλυμένων Αιμοπεταλίων Κουνελιού

#### 8.1. Βιολογική Δραστικότητα των Ολικών Πολικών Λιποειδών της Τσιπούρας

Η βιολογική δοκιμασία των ολικών λιποειδών έχει μεγάλη διατροφική αξία, όσον αφορά στη θεωρία που υποστηρίζει ότι ο PAF είναι γενεσιουργό αίτιο της αθηρωμάτωσης. Η εμφάνιση αναστολής της προκαλούμενης από τον PAF συσσώρευσης ή η εμφάνιση συσσώρευσης των αιμοπεταλίων από τα λιποειδή των εξεταζόμενων ψαριών, υποδεικνύει την ύπαρξη ανταγωνιστών του PAF. Οι ανταγωνιστές του PAF εμποδίζουν τη δράση του είτε ως αναστολείς είτε ως αγωνιστές με μικρότερη βιολογική δραστικότητα.

Τα ολικά πολικά λιποειδικά κλάσματα αποτελούν ένα μίγμα λιποειδικών μορίων τα οποία παρουσιάζουν είτε συσσωρευτική είτε ανασταλτική ικανότητα. Η τελική τους δράση εξαρτάται από τη σχετική ικανότητα του κάθε μορίου να συσσωρεύει αιμοπετάλια ή να αναστέλλει την επαγόμενη από τον PAF συσσώρευση των αιμοπεταλίων αλλά και από την ποσότητα του κάθε μορίου στο μίγμα. Όπως φαίνεται στον πίνακα 8.1 τα κλάσματα ολικών πολικών λιποειδών και των δύο δειγμάτων (19.80 μg και 13.03 μg ολικών πολικών λιποειδών, ψημένης συμβατικής και εμπλουτισμένης τσιπούρας αντίστοιχα) παρουσίασαν 1.6 cm και 4.5 cm συσσώρευση των αιμοπεταλίων αντίστοιχα. Παρατηρούμε λοιπόν, ότι παρά την μικρότερη ποσότητα (13.03 μg) που προστέθηκε στην κυψελίδα, η ψημένη εμπλουτισμένη με ελαιοπυρήνα τσιπούρα εμφάνισε μεγαλύτερη συσσωρευτική δράση συγκριτικά με τη συμβατική.

**Πίνακας 8.1. In vitro βιολογικές δραστηριότητες των ολικών πολικών λιποειδών ψημένης συμβατικής και εμπλουτισμένης τσιπούρας**

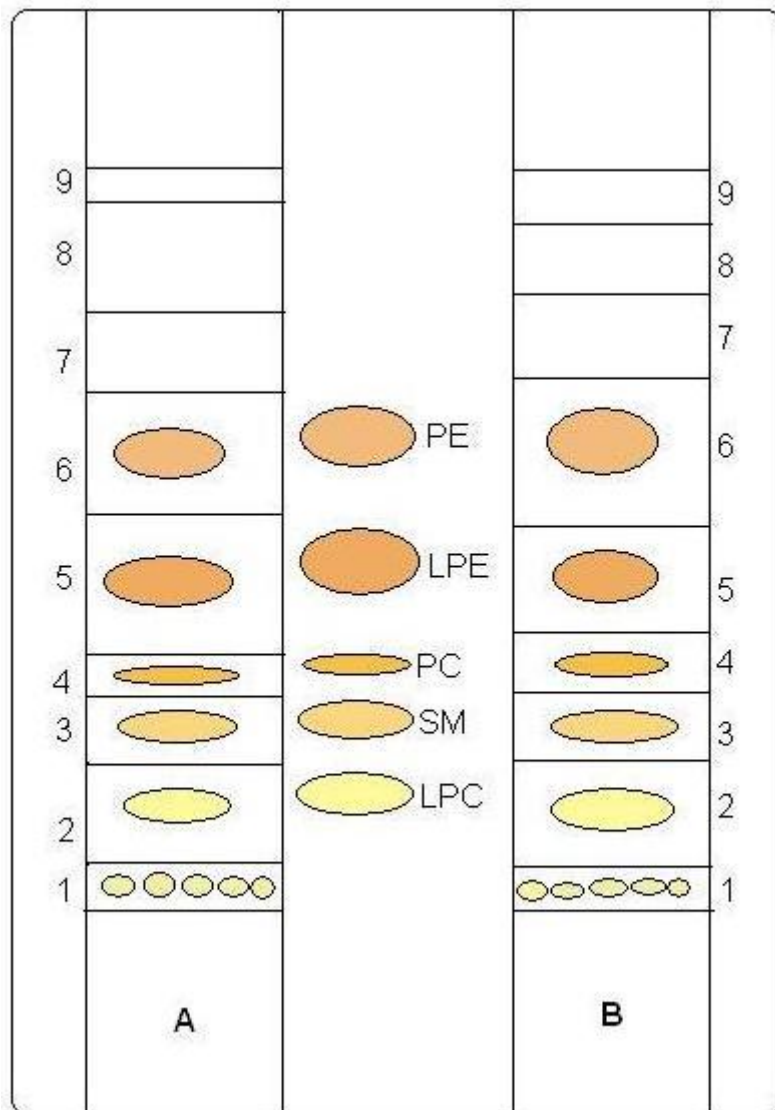
Ολικά πολικά λιποειδή			
Δείγμα ψαριού	Προστιθέμενη ποσότητα στην κυψελίδα (μg)	Συσώρευση <sup>α</sup>	Αναστολή <sup>β</sup>
Ψημένη Συμβατική	19.80	1.6	-
Ψημένη Εμπλουτισμένη	13.03	4.5	-

α: Η συσώρευση μετρήθηκε σαν μήκος (cm) του ύψους της καμπύλης συσώρευσης και από αυτό το μήκος υπολογίστηκε η αναστολή. Η ποσότητα ολικών πολικών λιποειδών που χρησιμοποιήθηκε για το βιολογικό πείραμα δίνεται σε μg.

β: Η αναστολή δίνεται ως εκατοστιαίο ποσοστό της συσώρευσης η οποία προκαλείται από PAF συγκέντρωσης  $10^{-8}M$ .

## **8.2. Βιολογική Δράση των Πολικών Λιποειδικών Κλασμάτων της Τσιπούρας**

Τα πολικά λιποειδή διαχωρίστηκαν (περίπου 80 mg από κάθε δείγμα) σε επιμέρους πολικά λιποειδικά κλάσματα με παρασκευαστική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC). Το σύστημα έκλουσης που χρησιμοποιήθηκε για το διαχωρισμό τους ήταν χλωροφόρμιο: μεθανόλη: νερό = 65: 35: 6 V/V/V. Το προφίλ των πολικών λιποειδικών κλασμάτων που προέκυψε από τα PL μετά από TLC φαίνεται στο σχήμα 8.1.



**Σχήμα 8.1. Πολικά λιποειδικά κλάσματα ψημένης συμβατικής και εμπλουτισμένης τσιπούρας μετά από διαχωρισμό με TLC. Α) Ψημένη Συμβατική Τσιπούρα Β) Ψημένη Εμπλουτισμένη Τσιπούρα. (L-PC: Λυσοφωσφατιδυλοχολίνη, SM: Σφιγγομυελίνη, PC: φωσφατιδυλοχολίνη, LPE: Λυσοφωσφατιδυλοαιθανολαμίνη, PE: φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη.**

Όλα τα πολικά λιποειδικά κλάσματα που προέκυψαν δοκιμάστηκαν για τη βιολογική τους ικανότητα να προκαλούν συσσώρευση αιμοπεταλίων ή να αναστέλλουν την επαγομένη από τον PAF. Οι τιμές συσσώρευσης και αναστολής για το κάθε λιποειδικό κλάσμα και των δύο δειγμάτων φαίνονται στον πίνακα 8.2.

**Πίνακας 8.2. In vitro βιολογικές δραστηριότητες των πολικών λιποειδικών κλασμάτων ψημένης συμβατικής και εμπλουτισμένης τσιπούρας μετά από παρασκευαστική TLC**

Πολικά λιποειδικά κλάσματα μετά από TLC	Ψημένη συμβατική τσιπούρα			Ψημένη εμπλουτισμένη τσιπούρα		
	Προστιθέμενος όγκος στην κυψελίδα (μL)	Συσσώρευση <sup>α</sup>	Αναστολή <sup>β</sup>	Προστιθέμενος όγκος στην κυψελίδα(μL)	Συσσώρευση <sup>α</sup>	Αναστολή <sup>β</sup>
1	4	1.7	-	1	6.8	-
2	4	1.8	-	4	6.1	-
3	4	7.5	-	4	-	100
4	1	8.5	-	1	6.6	-
5	1	1.3	-	1	6	-
6	1	6.2	-	4	4.5	-
7	0.4	-	50	0.4	-	50
8	0.4	-	79	0.4	-	50
9	1	-	20	0.4	-	38

**α:** Η συσσώρευση μετρήθηκε ως μήκος (cm) του ύψους της καμπύλης συσσώρευσης και από αυτό το μήκος υπολογίστηκε η αναστολή. Η ποσότητα του όγκου που χρησιμοποιήθηκε στο βιολογικό πείραμα δίνεται σε μl.

**β:** Η αναστολή δίνεται ως εκατοστιαίο ποσοστό της συσσώρευσης η οποία προκαλείται από PAF συγκέντρωσης  $10^{-8}M$ .

Πολλές χημικές ενώσεις, φυσικές και συνθετικές, αποτελούν αναστολείς του PAF δρώντας είτε ως ασθενείς αγωνιστές είτε αναστέλλοντας τη βιολογική δράση του PAF. Όταν δρουν ως αναστολείς του PAF εκδηλώνουν ανταγωνιστική δράση είτε επειδή προσδένονται στον υποδοχέα του PAF είτε μέσω έμμεσων μηχανισμών. Στην τελευταία περίπτωση η βιολογική τους ικανότητα συνδέεται με αλλαγές στη μεμβράνη του υποδοχέα του PAF. Όταν αυτές οι ενώσεις είναι χίλιες φορές λιγότερο ενεργές από τον PAF τότε δρουν ως ασθενείς αγωνιστές και συμπεριφέρονται στην ουσία ως αναστολείς του PAF. Από την έρευνά μας έχει προκύψει ότι οι ασθενείς αγωνιστές του PAF (με συσσωρευτική δράση) εμφανίζουν καλύτερη *in vivo* αντιαθηρωματική ικανότητα από τους αναστολείς του PAF. Επομένως η ανίχνευση λιποειδών τόσο με συσσωρευτική όσο και με ανασταλτική ικανότητα αποτελεί ισχυρή ένδειξη ότι αυτά τα κλάσματα αποτελούν βιολογικά ενεργές ενώσεις κατά του PAF και επομένως κατά της αθηρογένεσης.

Από τον πίνακα 8.2 παρατηρούμε ότι τα πολικά λιποειδικά κλάσματα και των δύο ψαριών εμφάνισαν και ανασταλτική και συσσωρευτική δράση. Στο πολικό λιποειδικό κλάσμα 1 παρατηρούμε ότι ενώ προστέθηκε στην κυψελίδα μικρότερος όγκος πολικών

λιποειδών η εμπλουτισμένη τσιπούρα εμφάνισε μεγαλύτερη συσσωρευτική δραστικότητα από τη συμβατική. Στα κλάσματα 2 και 5 παρατηρούμε ότι ενώ ο προστιθέμενος όγκος είναι ίδιος, η εμπλουτισμένη τσιπούρα παρουσιάζει μεγαλύτερη συσσώρευση. Ενδεχομένως, τα πολικά λιποειδικά κλάσματα 1, 2 και 5 να περιέχουν ισχυρές αντιαθηρωματικές ενώσεις. Το κλάσμα 3 στην εμπλουτισμένη τσιπούρα εμφάνισε 100% ανασταλτική δράση, υποδηλώνοντας έτσι ότι περιέχει έναν ισχυρό αναστολέα του PAF. Τα κλάσματα 4 και 6 φαίνεται να παρουσιάζουν ελαφρώς υψηλότερη συσσώρευση στο συμβατικό δείγμα ενώ τα κλάσματα 7, 8 και 9 έχουν παρόμοια δραστικότητα και στα δύο ψάρια. Επιπλέον, το λιποειδικό κλάσμα 4 τόσο της συμβατικής, όσο και της εμπλουτισμένης τσιπούρας έχει παραπλήσια τιμή  $R_f$  με εκείνο της PC. Η PC δεν έχει συσσωρευτικές ικανότητες, αλλά η οξειδωμένη -PC, της οποίας η τιμή του  $R_f$  είναι παραπλήσια με εκείνη της PC, πιθανόν να έχει ανάλογη δράση του PAF.

Συνολικά, ίσες ή μικρότερες ποσότητες πολικών λιποειδικών κλασμάτων ψημένης εμπλουτισμένης τσιπούρας έδωσαν υψηλότερη συσσώρευση από τις αντίστοιχες της συμβατικής, εκτός από τα κλάσματα 4 και 6. Μπορούμε λοιπόν να συμπεράνουμε, ότι ο εμπλουτισμός των ψαριών με ελαιοπυρήνα, βελτίωσε τις *in vitro* καρδιοπροστατευτικές τους ιδιότητες.





## Κεφάλαιο 9

### Οργανοληπτική Ανάλυση Ψαριών

#### 9.1 Μέθοδος Οργανοληπτικής Ανάλυσης

Πριν τη διεξαγωγή της οργανοληπτικής δοκιμής στα ψημένα δείγματα τσιπούρας, προηγήθηκε η εκπαίδευση ομάδας εκτιμητών, στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Η ομάδα των δοκιμαστών απαρτίζεται από δέκα εκτιμητές (panelists) από τους οποίους οι οχτώ ήταν γυναίκες και οι δύο άνδρες. Για την εκπαίδευση της ομάδας πραγματοποιήθηκαν οκτώ συνεδρίες (sessions) ώστε ο κάθε δοκιμαστής να εκπαιδευτεί για τις απαιτήσεις του πειράματος.

##### 1<sup>η</sup> Συνεδρία:

Τα πειράματα της πρώτης συνεδρίας αφορούσαν την γλυκιά γεύση γι' αυτό κάθε δείγμα παρασκευάστηκε με διάλυση σακχαρόζης σε νερό σε συγκεκριμένες και πολύ μικρές συγκεντρώσεις.

##### Πείραμα 1: Δοκιμή Διπλού Τριπλού (Duo Triple Test)

Στον κάθε εκτιμητή παρουσιάζονται τρία διαλύματα από τα οποία το καθένα χαρακτηρίζεται από ένα τριψήφιο νούμερο. Δύο από αυτά είναι όμοια και το τρίτο διαφορετικό. Το ένα από τα ίδια δείγματα χρησιμοποιείται ως δείγμα ελέγχου και ζητείται να αποφασίσουν ποιο από τα άλλα δύο δείγματα είναι ίδιο με το δείγμα ελέγχου.

##### Πείραμα 2: Τριγωνική δοκιμή (Triangle Test)

Στον κάθε εκτιμητή παρουσιάζονται τρία διαλύματα, από τα οποία τα δύο είναι ίδια. Τοποθετούνται σε τρίγωνο και ζητείται να επιλέξουν αυτό που ξεχωρίζει.

##### Πείραμα 3: Δοκιμή Κατάταξης (Ranking Test)

Στον κάθε εκτιμητή παρουσιάζονται τέσσερα διαλύματα με διαφορετικές συγκεντρώσεις και ζητείται η κατάταξη τους κατά αύξουσα σειρά.

##### 2<sup>η</sup> Συνεδρία:

Τα πειράματα της δεύτερης συνεδρίας αφορούσαν την αντίληψη της ξινής πικρής και αλμυρής γεύσης.

### Πείραμα 1: Δοκιμή Διπλού Τριπλού (Duo Triple Test).

Το πείραμα αφορούσε την ξινή γεύση οπότε τα δείγματα περιείχαν κιτρικό οξύ σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις.

### Πείραμα 2: Τριγωνική δοκιμή (Triangle Test)

Στο συγκεκριμένο σημείο γίνεται η μέτρηση της ικανότητας των δοκιμαστών στην αναγνώριση της πικρής γεύσης γι' αυτό τα διαλύματα περιείχαν καφεΐνη σε νερό σε ελάχιστη ποσότητα.

### Πείραμα 3: Δοκιμή Κατάταξης (Ranking Test)

Τα δείγματα περιείχαν κιτρικό οξύ σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις.

### **3<sup>η</sup> Συνεδρία:**

Κατά την 3<sup>η</sup> συνεδρία πραγματοποιήθηκε ένα πείραμα στο οποίο παρουσιάστηκαν δύο σειρές από τέσσερα δείγματα. Ανά δύο τα δείγματα ήταν ίδια και ο εκτιμητής έπρεπε να αντιστοιχίσει το κάθε δείγμα της σειράς Α με το «ταίρι» του από την σειρά Β. Το πείραμα αφορούσε τις γεύσεις: γλυκό, ξινό, πικρό, αλμυρό.

### **4<sup>η</sup> Συνεδρία:**

Η 4<sup>η</sup> συνεδρία αφορούσε την αίσθηση της οσμής. Οπότε παρουσιάστηκαν πέντε γυάλινα φιαλίδια με κύριο περιεχόμενό τους θαλασσινά (κοχύλια, φύκια, θαλασσινό αλάτι, ιχθυέλαιο και ιώδιο) και ζητήθηκε να ταυτοποιηθούν οι οσμές.

### **5<sup>η</sup> +6<sup>η</sup> Συνεδρία:** Δοκιμή κατάταξης σε ελιά

Στον κάθε εκτιμητή παρουσιάζονται δύο είδη ελιάς (μια πράσινη και μια μαύρη και ζητείται να σημειώσουν πάνω σε βαθμονομημένη κλίμακα από το μηδέν ως το δέκα την ένταση για τα χαρακτηριστικά: γλυκό, ξινό, πικρό και αλμυρό που αντιπροσωπεύει κάθε ελιά.

### **7<sup>η</sup> Συνεδρία:** Επιλογή λεξιλογίου

Στον κάθε εκτιμητή παρουσιάζονται δύο ψημένα δείγματα φιλέτου τσιπούρας του πειράματος (συμβατικής και εμπλουτισμένης) και μια λίστα από 11 όρους. Οι εκτιμητές καλούνται να σημειώσουν την ένταση των χαρακτηριστικών της οσμής, της γεύσης και

της επίγευσης πάνω σε δοσμένη κλίμακα έντασης από το μηδέν ως το δέκα (Πίνακας 9.1).

**Πίνακας 9.1. Λεξιλόγιο ιδιοτήτων ψημένης συμβατικής και εμπλουτισμένης τσιπούρας**

ΟΣΜΗ	ΓΕΥΣΗ	ΕΠΙΓΕΥΣΗ
Φρέσκου ψαριού	Γλυκιά	Γλυκιά
Άρωμα παραλίας	Αλμυρή	Πικρή
Ψημένου ψαριού	Στυφή	Ελαιώδης
Ιχθυελαίου	Λιπαρή	Διαρκείας
Θαλασσινή	Πλούσια	Ιωδίου
	Θαλασσινή	
	Φρέσκου ψαριού	

### **8<sup>η</sup> Συνεδρία:**

Μετά την εκπαίδευση των δοκιμαστών (panelists) ακολούθησε η οργανοληπτική δοκιμή στα δείγματα του πειράματος. Στον κάθε εκτιμητή παρουσιάζονται δύο δείγματα 1 και 2 από φιλέτο ψημένης τσιπούρας. Ο κάθε εκτιμητής δοκίμασε το κάθε δείγμα από δύο φορές μετά από τρεις συνεδρίες, προκειμένου να εξασφαλιστεί καλύτερη επαναληψιμότητα των αποτελεσμάτων και βαθμολόγησε το κάθε χαρακτηριστικό του (Πίνακας 9.1) σε μια κλίμακα από το μηδέν έως το δέκα.

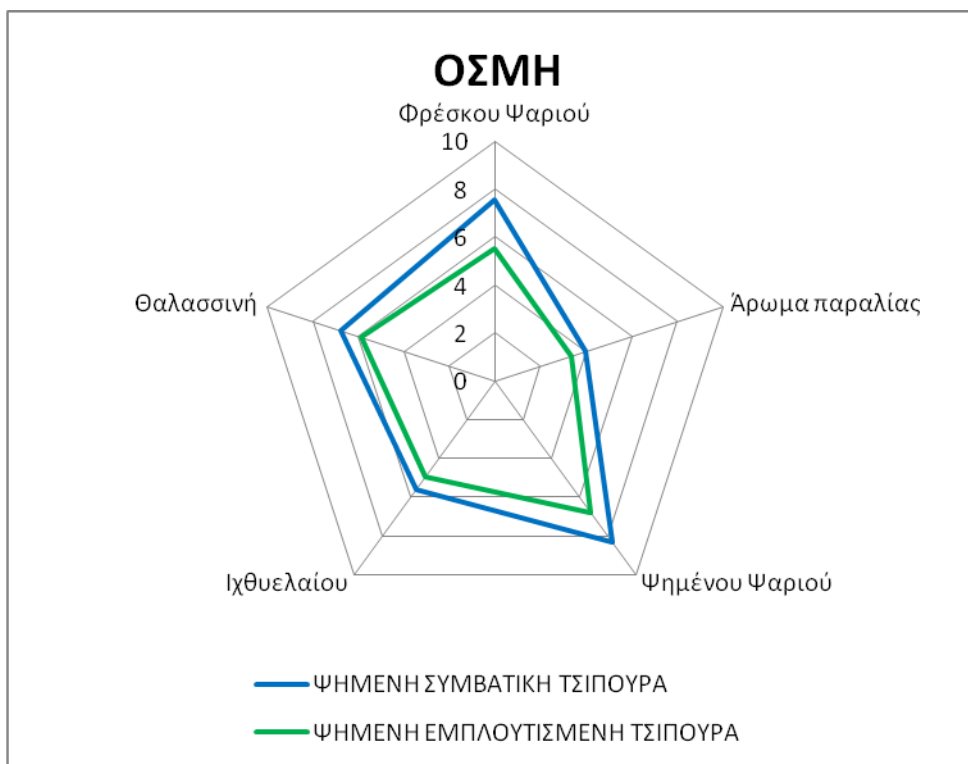
Ακολούθησε στατιστική επεξεργασία των ερωτηματολογίων των δοκιμαστών απ' όπου και προέκυψαν οι μέσοι όροι για κάθε χαρακτηριστικό όρο της οσμής, της γεύσης και της επίγευσης. Οι μέσοι όροι χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή αραχνοδιαγραμμάτων για κάθε χαρακτηριστικό προκειμένου να εξαχθούν τα συμπεράσματα ως προς διαφορές της γεύσης, της οσμής και της επίγευσης μεταξύ ψημένης συμβατικής και εμπλουτισμένης τσιπούρας.

### **9.2 Οργανοληπτικές Διαφορές μεταξύ Ψημένης Συμβατικής και Εμπλουτισμένης Τσιπούρας**

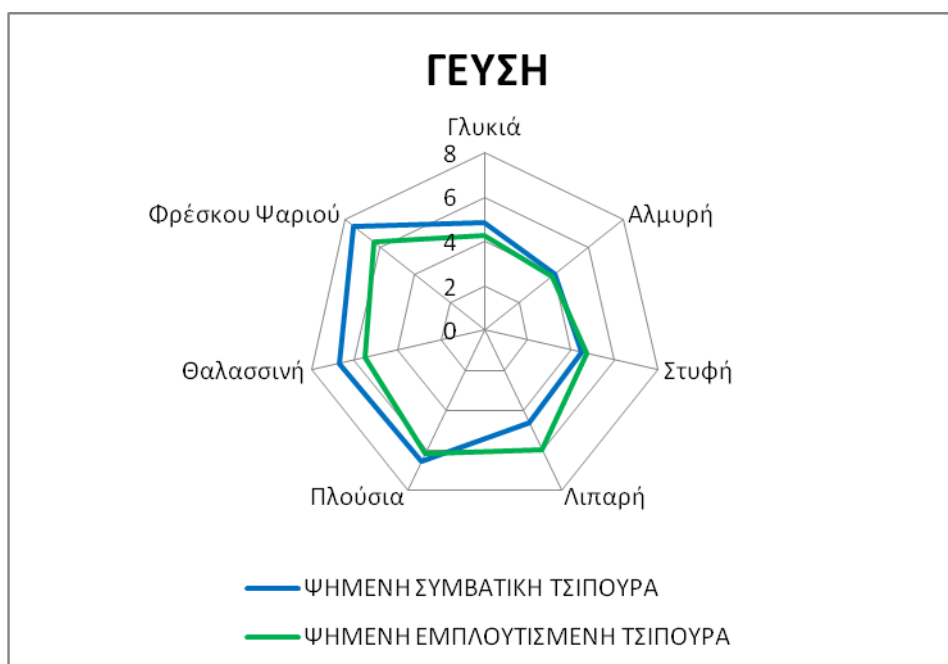
Τα αποτελέσματα της οργανοληπτικής ανάλυσης για τη γεύση, το άρωμα και την επίγευση μεταξύ ψημένης συμβατικής και εμπλουτισμένης με ελαιοπυρήνα τσιπούρας παρουσιάζονται στην εικόνα 9.1 υπό τη μορφή αραχνοδιαγραμμάτων. Οι αναλυτικές

βαθμολογίες των όρων που επέλεξαν οι δοκιμαστές για κάθε χαρακτηριστικό παρατίθενται στους πίνακες του παραρτήματος Γ.

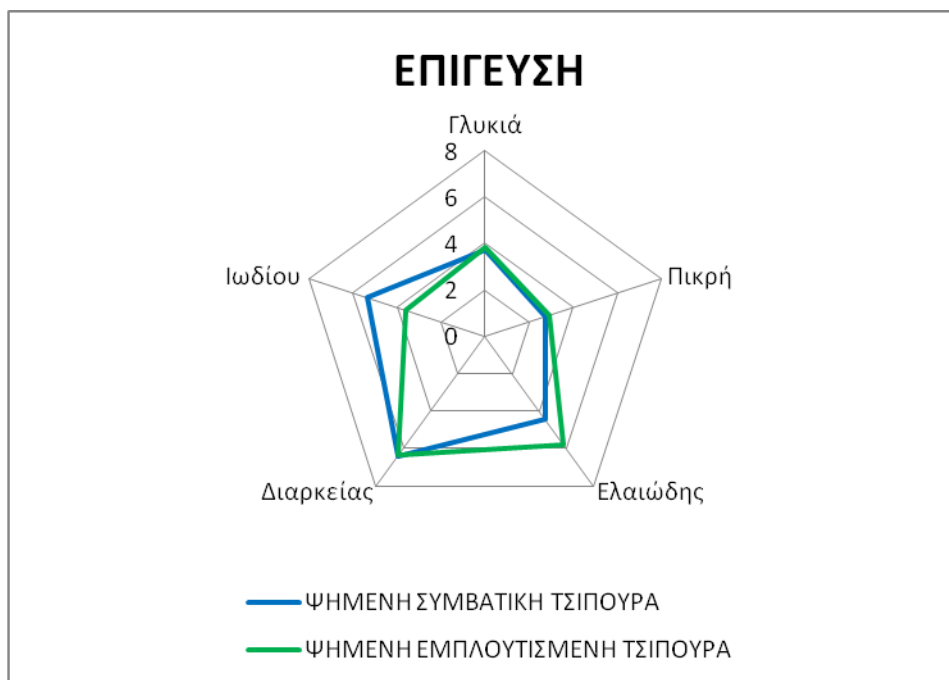
A)



B)



Γ)



**Εικόνα 9.1. Οργανοληπτικές διαφορές μεταξύ ψημένης συμβατικής και εμπλουτισμένης τσιπούρας. Α) Διαφορές ως προς την οσμή Β) Διαφορές ως προς τη γεύση Γ) Διαφορές ως προς την επίγευση**

Από την εικόνα 9.1 προκύπτει ότι ως προς την οσμή η ψημένη συμβατική τσιπούρα παρουσιάζει υψηλότερη βαθμολογία για τους όρους «θαλασσινή», «άρωμα παραλίας», «ιχθυελαίου», «φρέσκου ψαριού» και «ψημένου ψαριού» συγκριτικά με την εμπλουτισμένη τσιπούρα. Επίσης, ανέδειξε πιο έντονη γεύση για τους όρους «γλυκιά», «φρέσκου ψαριού» και «θαλασσινή». Όσον αφορά την επίγευση στην ψημένη εμπλουτισμένη με ελαιοπυρήνα τσιπούρα, υψηλότερη βαθμολογία παρουσίασε ο όρος «ελαιώδης», το οποίο πιθανότατα οφείλεται στη μερική υποκατάσταση του ιχθυελαίου από τον ελαιοπυρήνα.

Οι οργανοληπτικές διαφορές μπορεί γενικότερα να οφείλονται σε διαφορές στη χημική σύσταση των ψαριών, στη συγκέντρωση των παραγώγων των λιπαρών οξέων καθώς και στην περιεκτικότητα των αρωματικών ενώσεων.

Στη συγκεκριμένη μελέτη, οι διαφορές στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά οφείλεται ενδεχομένως στην μερική υποκατάσταση του ιχθυελαίου των ψαριών από ελαιοπυρήνα. Αντίστοιχη έρευνα στην ιριδίζουσα πέστροφα που τράφηκε με μια διατροφή που περιείχε 5% στερεό υπόλειμμα ελαιοτριβείου, έδειξε σχεδόν καμία ή έστω μια μικρή επίδραση στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά της<sup>102</sup>.



## Κεφάλαιο 10

### Επίλογος

Σκοπός της εργασίας αυτής είναι η εκτροφή τσιπούρας ιχθυοτροφείου με την ενισχυμένη με ελαιοπυρήνα τροφή, με στόχο να μελετήσουμε, το κατά πόσο αυτή επηρεάζει την σύσταση, κατ'επέκταση τη βιολογική δραστηριότητα των λιποειδών του ψαριού καθώς και την προστατευτική του ιδιότητα έναντι των καρδιαγγειακών νοσημάτων μέσω της επίδρασης τους στη δημιουργία των αθηρωματικών πλακών και να εντοπίσουμε τις οργανοληπτικές διαφορές συγκριτικά με την αντίστοιχη συμβατική τσιπούρα. Αρχικά εκχυλίστηκαν τα ολικά λιποειδή (TL) και των δύο ψαριών και διαχωρίστηκαν σε πολικά (PL) και ουδέτερα λιποειδή (NL) με κατανομή κατ' αντηροή. Τα πολικά λιποειδή διαχωρίστηκαν περαιτέρω σε λιποειδικά κλάσματα με παρασκευαστική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) και μελετήθηκε η ικανότητά τους να προκαλούν συσσώρευση των αιμοπεταλίων ή να αναστέλλουν την επαγόμενη από τον PAF συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Μελετήθηκε η επίδραση του ψησίματος με grill στην περιεκτικότητα των ολικών λιποειδών των δύο ψαριών με αέρια χρωματογραφία (GC). Τέλος, διεξήχθη οργανοληπτικός έλεγχος μεταξύ ψημένων δειγμάτων και των δύο ψαριών με σκοπό να εντοπιστούν οι διαφορές τους ως προς τη γεύση, το άρωμα και την επίγευση.

Τα συμπεράσματα που διεξήχθησαν από τα πειραματικά δεδομένα της παρούσας εργασίας ενδυναμώνουν τα αποτελέσματα της Nasorouλου et al<sup>84</sup>, σύμφωνα με τα οποία επιτυγχάνεται σημαντική ενίσχυση της βιολογικής δραστηριότητας ως αναστολείς του PAF των λιποειδών της τσιπούρας ιχθυοτροφείου και κατά συνέπεια και του καρδιοπροστατευτικού ρόλου της έναντι των καρδιαγγειακών παθήσεων, όταν αυτή τράφηκε με ιχθυοτροφή εμπλουτισμένη με ελαιοπυρήνα.

Η παρουσία ανταγωνιστών του PAF σε διάφορα τρόφιμα έχει μεγάλη σημασία για τη διατροφική τους αξία, λαμβάνοντας υπόψη τον κρίσιμο ρόλο της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων και της θρόμβωσης στις καρδιαγγειακές παθήσεις. Μελέτες που έχουν γίνει σχετικά με την αθηρογένεση, έχουν δείξει ότι μόνο ειδικοί αναστολείς του PAF<sup>57</sup>, τα πολικά λιποειδή<sup>103</sup> του ελαιολάδου και οι στατίνες είναι δυνατό να μειώσουν την αθηρογένεση *in vivo*, ενώ τα ω-3 λιπαρά οξέα παρότι περιορίζουν μεν διάφορα στάδιά της, δεν είναι ικανά να τη μειώσουν *in vivo*. Η λήψη ανταγωνιστών του PAF από τη

διατροφή είναι ανώτερης ποιότητας, αφού είναι φυσικά προϊόντα και κατά συνέπεια δε θέτουν σε κίνδυνο την ανθρώπινη υγεία σε αντίθεση με τις τοξικές στατίνες.

Τα ψάρια είναι από τα βασικά τρόφιμα της Μεσογειακής Δίαιτας και οι επωφελείς δράσεις της συγκεκριμένης διατροφής μπορούν εν μέρει να αποδοθούν στην παρουσία ανταγωνιστών του PAF στα τρόφιμα που την αποτελούν.

Σύμφωνα με βιβλιογραφικές αναφορές, όταν η ιχθυοτροφή των ψαριών ιχθυοκαλλιέργειας εμπλουτισθεί με φυτικής προέλευσης έλαια, η διατροφική αξία του ψαριού βελτιώνεται. Πιο συγκεκριμένα, αναφέρεται μείωση της περιεκτικότητας σε κορεσμένα λιπαρά οξέα και ω-3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα στον ιστό τσιπούρας (*Sparus Aurata*) όταν τράφηκε με ιχθυοτροφή που περιείχε σογιέλαιο 80% και ιχθυέλαιο 20%, σιναπέλαιο 80% και έλαιο λιναρόσπορου 60%, ενώ αυξήθηκε η περιεκτικότητα σε λινελαϊκό οξύ, ελαϊκό οξύ και λινολενικό οξύ αντίστοιχα<sup>104</sup>. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα μιας άλλης έρευνας, η κατανάλωση ιχθυοτροφής στην οποία τα ιχθυέλαια αντικαταστάθηκαν με φυτικά έλαια, οδήγησε στην παραγωγή ψαριών με χαμηλά επίπεδα ω-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων<sup>105</sup>, το οποίο έρχεται σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία<sup>89</sup> που αποδεικνύει επιπλέον πως τα φυτικά έλαια της ιχθυοτροφής και ειδικότερα αυτά που προέρχονται από τον ελαιοπυρήνα, βελτιώνουν τις καρδιοπροστατευτικές ιδιότητες της τσιπούρας ιχθυοτροφείου. Σύμφωνα με τα παραπάνω, επιβεβαιώνεται η αποτελεσματικότητα του μερικού εμπλουτισμού της ιχθυοτροφής με τα βιοδραστικά συστατικά του ελαιοπυρήνα ως πηγή λιποειδών στη διατροφή των ψαριών, παράγοντας ένα τρόφιμο με βελτιωμένες και ενισχυμένες ιδιότητες ως προς την πρόληψη καρδιαγγειακών νοσημάτων, αυξάνοντας με αυτό τον τρόπο όχι μόνο τη διατροφική αλλά και την εμπορική αξία των ψαριών ιχθυοκαλλιέργειας σε σχέση με τα ψάρια ελεύθερης αλιείας. Έτσι, οι ιχθυοκαλλιέργειες αποτελούν ένα σημαντικό παράγοντα για την αύξηση της ζήτησης ψαριών από το καταναλωτικό κοινό. Συνοψίζοντας, η παρούσα εργασία προτείνει ένα νέο τρόπο για την εκμετάλλευση και αξιοποίηση των βιολογικά δραστικών συστατικών του ελαιοπυρήνα, ο οποίος αποτελεί ένα σταθερά βιώσιμο παραπροϊόν της ελαιουργίας όντας πλούσιο σε οργανικό φορτίο, που θα μπορούσε να αντικαταστήσει επαρκώς τα ιχθυέλαια, η ποσότητα των οποίων τείνει τα επόμενα χρόνια να μειωθεί. Η διατροφική αξία του ψαριού δε μεταβάλλεται κατά το ψήσιμό του σε grill, αλλά αντιθέτως το καθιστά και θρεπτικό και γευστικό.



Προκειμένου να διαπιστωθεί αν τα βιολογικά δραστικά λιποειδικά κλάσματα της εμπλουτισμένης τσιπούρας ιχθυοτροφείου είναι ωφέλιμα για τον άνθρωπο, είναι απαραίτητο τα δραστικά αυτά λιποειδικά κλάσματα αυτά να μελετηθούν σε *in vivo* πειράματα σε πειραματόζωα, έτσι ώστε να αποσαφηνιστεί ποια λιποειδικά κλάσματα μπορούν να αναστείλουν το σχηματισμό των αθηρωματικών πλακών στις αρτηρίες. Επίσης, σε επόμενο στάδιο, κρίνεται απαραίτητη η χρήση ενόργανων τεχνικών ανάλυσης, όπως συζευγμένη αεριοχρωματογραφία-φασματομετρία μαζών (GC-MS) και φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR), που σκοπό θα έχουν την πιστοποίηση της δομής των βιολογικά δραστικών κλασμάτων.



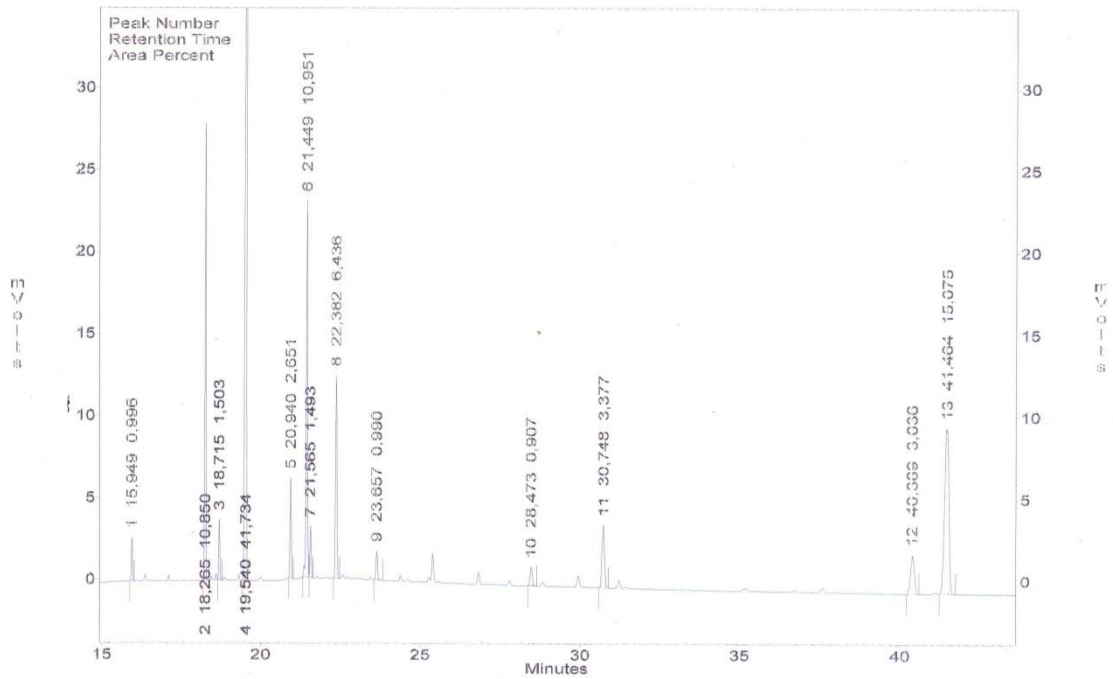
## ΠΙΝΑΚΑΣ ΟΡΟΛΟΓΙΑΣ

Ξενόγλωσσος όρος	Ελληνικός Όρος
flavor profile method	Μέθοδος Γευστικού Προφίλ
Texture Profile Method	Μέθοδος Σκιαγράφησης της Χαρακτηριστικής Ιδιότητας
Quantitative Descriptive Analysis	Ποσοτική Περιγραφική Ανάλυση
Quantitative Flavour Profiling Technique	Τεχνική Ποσοτικού Γευστικού Προφίλ
Spectrum Method	Μέθοδος Φάσματος
Free Choice Profiling Method	Προφίλ Ελεύθερης Επιλογής
Generic Descriptive Analysis	Γενική Περιγραφική Ανάλυση
Duo Triple Test	Δοκιμή Διπλού Τριπλού
Triangle Test	Τριγωνική Δοκιμή
Ranking Test	Δοκιμή Κατάταξης

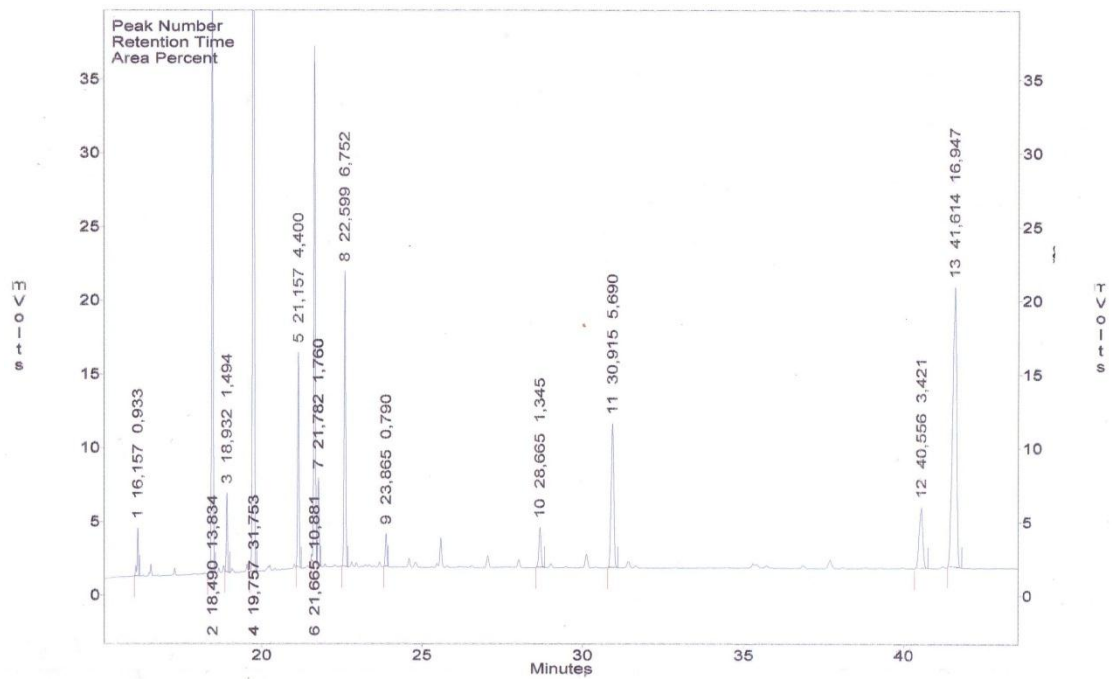
## ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ

AA	Αραχιδονικό οξύ
PAF	Platelet activating factor
LDL	Low density lipoprotein
EPA	Eicosapentaenoic Acid
DHA	docosahexaenoic acid
TLC	Thin-layer chromatography
L-PC	Lyso-phosphatidylcholine
SM	Sphingomyelin
PC	Phosphatidylcholine
L-PE	lyso-phosphatidylethanolamine
PE	Phosphatidylethanolamine

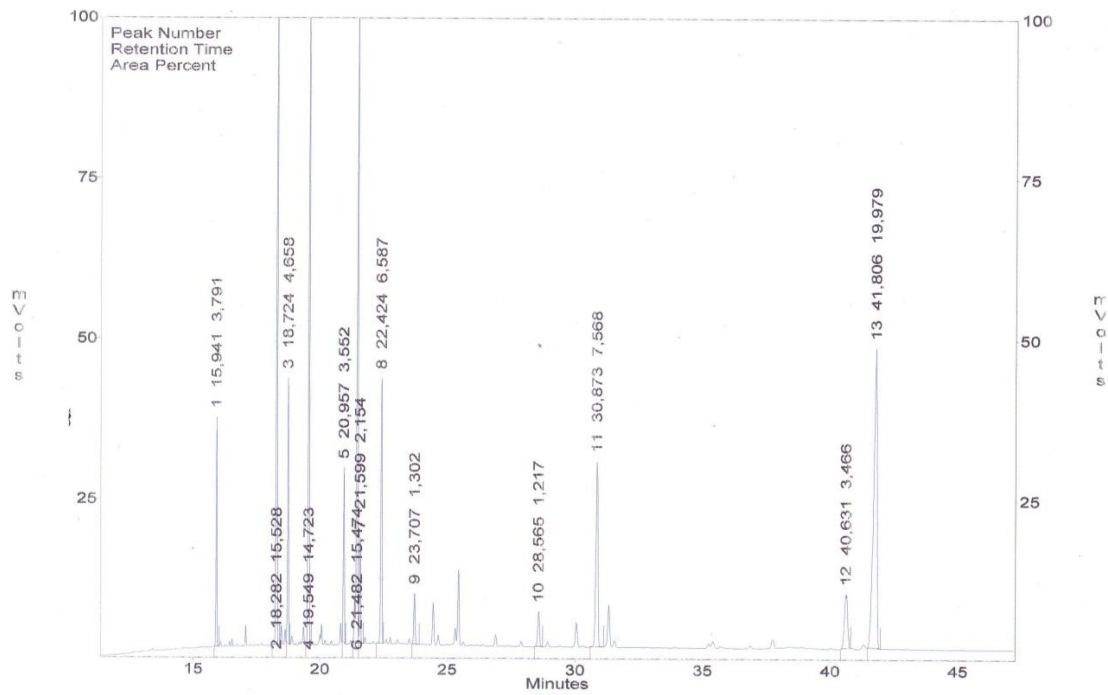
# ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α



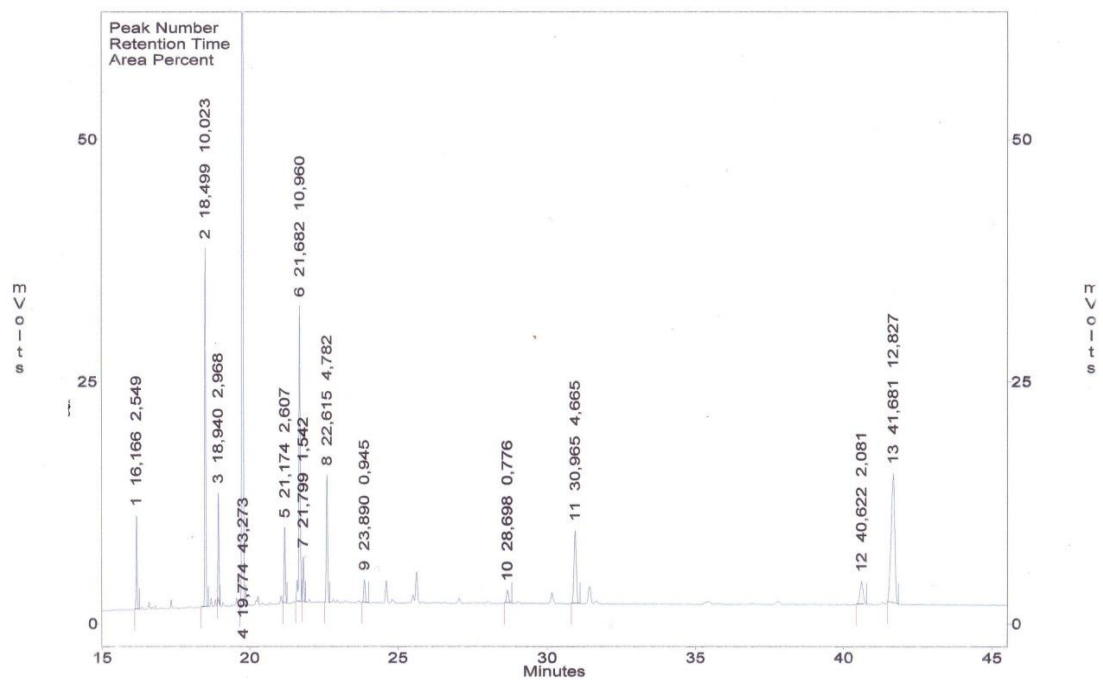
Εικόνα Α1. Χρωματογράφημα των TL του δείγματος TNΣ



Εικόνα Α2. Χρωματογράφημα των TL του δείγματος ΤΨΣ



Εικόνα Α3. Χρωματογράφημα των TL του δείγματος ΤΝΕ



Εικόνα Α4. Χρωματογράφημα των TL του δείγματος ΤΨΕ

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β

Πίνακας Β1. Ταυτοποίηση των κορυφών των ΤL του δείγματος ΤΝΣ σύμφωνα με τους χρόνους έκλουσης

ΛΙΠΑΡΟ ΟΞΥ	Χρόνος έκλουσης (min)
14:0	15,949
16:0	18,265
16:1 (ω-7)	18,715
17:0 (Εσωτερικό πρότυπο)	19,549
18:0	20,940
18:1 cis	21,449
18:1 trans	21,565
18:2 (ω-6)	22,382
18:3 (ω-3)	23,657
20:4 (ω-6)	28,473
20:5 (ω-3)	30,748
22:5 (ω-3)	40,389
22:6 (ω-3)	41,404

Πίνακας Β2. Ταυτοποίηση των κορυφών των ΤL του δείγματος ΤΨΣ σύμφωνα με τους χρόνους έκλουσης

ΛΙΠΑΡΟ ΟΞΥ	Χρόνος έκλουσης (min)
14:0	16,157
16:0	18,490
16:1 (ω-7)	18,932
17:0 (Εσωτερικό πρότυπο)	19,757
18:0	21,157
18:1 cis	21,665
18:1 trans	21,782
18:2 (ω-6)	22,599
18:3 (ω-3)	23,865
20:4 (ω-6)	28,665
20:5 (ω-3)	30,915
22:5 (ω-3)	40,556
22:6 (ω-3)	41,614

**Πίνακας Β3. Ταυτοποίηση των κορυφών των ΤL του δείγματος ΤΝΕ σύμφωνα με τους χρόνους έκλουσης**

ΛΙΠΑΡΟ ΟΞΥ	Χρόνος έκλουσης (min)
14:0	15,941
16:0	18,282
16:1 (ω-7)	18,724
17:0 (Εσωτερικό πρότυπο)	19,549
18:0	20,957
18:1 cis	21,482
18:1 trans	21,599
18:2 (ω-6)	22,424
18:3 (ω-3)	23,707
20:4 (ω-6)	28,565
20:5 (ω-3)	30,873
22:5 (ω-3)	40,631
22:6 (ω-3)	41,806

**Πίνακας Β4. Ταυτοποίηση των κορυφών των ΤL του δείγματος ΤΨΕ σύμφωνα με τους χρόνους έκλουσης**

ΛΙΠΑΡΟ ΟΞΥ	Χρόνος έκλουσης (min)
14:0	16,166
16:0	18,499
16:1 (ω-7)	18,940
17:0 (Εσωτερικό πρότυπο)	19,774
18:0	21,174
18:1 cis	21,682
18:1 trans	21,799
18:2 (ω-6)	22,615
18:3 (ω-3)	23,890
20:4 (ω-6)	28,698
20:5 (ω-3)	30,965
22:5 (ω-3)	40,622
22:6 (ω-3)	41,681



## ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Demopoulos, C. A., Pinckard, R. N., and Hanahan, D. J. Platelet-Activating Factor. Evidence for 1-O-alkyl-2-acetyl-sn-glycerol-3-phosphoryl- choline as the active component. (A new class of lipid chemical mediators). *J. Biol. Chem.*, 1979, vol. 254, pp. 9355-9358.
2. Simopoulos, A. (2002). The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 56, 365–379.
3. FAO-Fisheries and Aquaculture Department,2008.
4. Wassef, E. A., Wahby, O. M., & Sakr, E. M. (2007). Effect of dietary vegetable oils on health and liver histology of gilthead seabream (*Sparus aurata*) growers. *Aquaculture Research*, 38(8), 852–861.
5. Nasopoulou, C., & Zabetakis, I. (2012). Benefits of fish oil replacement by plant originated oils in compounded fish feeds. A review. *LWT- Food Science and Technology*, 47, 217-224.
6. Nasopoulou, C., Karantonis, H. C., Perrea, D. N., Theocharis, S. E., Iliopoulos, D. G., Demopoulos, C. A. and Zampetakis, I. In vivo anti-atherogenic properties of cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*) polar lipid extracts in hypercholesterolaemic rabbits. *Food Chem.*, 2010, vol. 120, no. 3, pp. 831-836.
7. Nasopoulou, C., Stamatakis, G., Demopoulos, C. A. and Zabetakis, I. Effects of olive pomace and olive pomace oil on growth performance, fatty acid composition and cardio protective properties of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Food. Chem.*, 2011, vol. 129, no. 3, pp. 1108-1113.
8. Sofi, F., Cesari, F., Abbate, R., Gensini, G. F., and Casini, A. Adherence to Mediterranean diet and health status: *meta-analysis*. *BMJ*, 2008, 337, p. 1344.

9. A. Trichopoulou, T. Costacou, C. Bamia, and D. Trichopoulos, *Adherence to a Mediterranean diet and survival in a Greek population*. N. Engl. J. Med., 2003, 348, pp. 2599-2608.
10. Menotti, A., Lanti M., et al., Coronary heart disease incidence in northern and southern European populations: a reanalysis of the seven countries study for a European coronary risk chart. *Heart* 2000, 84: 238-44.
11. Willett, W. C., Sacks, F., Trichopoulou, A., Drescher, G., Ferro-Luzzi, A., Helsing, E., and Trichopoulos, D. Mediterranean diet pyramid: a cultural model for healthy eating. Review. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1995, 61, pp. 1402-1406.
12. Framingham Monograph No. 10: Final Summary Report, 1917-1923, Inclusive. *Framingham, MA* n.p., 1924.
13. Keys, A., Menotti, A., Aravanis, C., Blackburn H., Djordjevic, B.S., Buzina, R., Dontas, A.S., Fidanza, F., Karvonen, M.J., Kimura, N., Mohacek, I., Nedeljkovic, S., Puddu, V., Punsar, S., Taylor, H.L., Conti, S., Kromhout, D., & Toshima, H. (1984). The Seven Countries Study: 2,289 deaths in 15 years. *Preventive Medicine*, 13, 141-154.
14. Krauss, R. M., Eckel, R. H., Howard, B., et al, AHA Dietary Guidelines: A statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee of the American Heart Association. *Circulation*, 2000, 102, pp. 2284–2299.
15. Simopoulos, A. P. The Mediterranean Diets: What Is So Special about the Traditional Diet of Greece? *J. Nutr.*, 2001, 131, pp. 30655-30735.
16. Nordoy, A., Marchioli, R., Arnesen, H., and Videbaek, J. n-3 polyunsaturated fatty acids and cardiovascular diseases. To whom, how much, preparations. *Lipids*, 2001, vol. 36, no. 1, pp. 127-129.
17. Holdson, L., Skeaff C. M., et al. The effect of replacing dietary saturated fat with polyunsaturated or monounsaturated fat on plasma lipids in free-living young adults. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2001, 55:908-915.
18. Kris-Etherton, P. M., Harris W.S., et al for the Nutrition Committee. AHA Scientific Statement: Fish consumption, fish oil,  $\omega$ -3 fatty acids, and CVD. *Circulation* 2002, 106:2747-57.

19. De Lorgeril, M., Salen P., et al., Mediterranean Diet, Traditional Risk Factors, and the Rate of Cardiovascular Complications after Myocardial Infarction Final Report of the Lyon Diet Heart Study. *Circulation* 1999, 99:779-85.K.
20. Burr M. L., Gilbert J. F., Holliday R. M., et al. Effects of changes in fat, fish, and fibre intakes on death and myocardial reinfarction: diet and reinfarction trial (DART). *Lancet* 1989; 344: 757–61.
21. Knapp, H. R., and FitzGerald, G. A. The antihypertensive effects of fish oil. A controlled study of polyunsaturated fatty acid supplements in essential hypertension. *N. Engl. J. Med.*, 1989, 320, pp. 1037-1043.
22. Grigorakis, K., Alexis, M. N., Taylor, K. D. A. and Hole, M., Comparison of wild and cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*): composition, appearance and seasonal variations. *Int. J. Food Science Technology*, 2002, 37, 477-484.
23. Alasalvar, C., Taylor, K. D. A., Zubcov, E., Shahidi, F. and Alexis, M. N., Differentiation of cultured and wild sea bass (*Dicentrarchus labrax*): total lipid content, fatty acid and trace mineral composition, *Food Chem.*, 2002, 37, 477-484.
24. Grigorakis, K., Taylor, K.D.A. and Alexis, M.N. Organoleptic and volatile aroma compounds comparison of wild and cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*): sensory differences and possible chemical basis, *Aquaculture*, 2003, 225, 109-119.
25. Shearer, K. D., Factors affecting the proximate cultured fishes with emphasis composition of on salmonids, *Aquaculture*, 1994, 119, 63-88.
26. Liaset, B., Julshamn, K. and Espe, M., Chemical composition and theoretical nutritional evaluation of the produced fractions from enzymic hydrolysis of salmon frames with Protamex™ Proc. *Biochem.*, 2003, 38(12), 1747-1759.
27. Νασσοπούλου, Κ., Σύγκριση Λιποειδών με Αντιαθηρωματική Δραστικότητα στα Ψάρια: Τσιπούρα (*Sparus aurata*) και Λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) Ιχθυοτροφείου και Ελεύθερης Αλιείας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα Χημείας, Αθήνα, 2005.

28. Balian, G. and Bowes, J. H., The structure and properties of collagen. In: A. G. Ward and A. Courts, Editors, The science and technology of gelatin. Academic Press, London, 1977, pp. 1-30.
29. Παπαναστασίου Δ.Π. Τεχνολογία και Ποιοτικός Έλεγχος Αλιευμάτων, Τόμος Α, Εκδόσεις ΙΩΝ, Αθήνα, 1990.
30. Visioli, F., Wolfram, R., Richard, D., Muhammad Imran Chong, B. A., and Crea, R. Olive phenolics increase glutathione levels in healthy volunteers. *J. Agric. Food Chem.*, 2009, vol. 57. No. 5, pp. 1793-1796.
31. Karantonis, C. A., Tsantila, N., Stamatakis, G., Samiotaki, M., Panayotou, G., Antonopoulou, S., and Demopoulos, C. A. Bioactive polar lipids in Olive Oil, Pomace and Waste Byproducts. *J. Food Biochem.* 2008, vol. 32, no. 4, pp. 443-459.
32. Mensink, R. P. and Katan, M. B. An epidemiological and an experimental study on the effect of olive oil on total serum and HDL cholesterol in healthy volunteers. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 1989, 43, pp. 43-48.
33. Lindsay, R. C. Fish Flavors, *Food Rev. Food In.* 1990. 6 (4), 437-455.
34. Josephson, D. B. Seafood in Volatile Compounds In Foods and Beverages, *Ed by Maarse H. Marcel Dekker, New York*, 179-202, 1991.
35. Kawai, T. Fish Flavor, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 1996, 36, 257-298.
36. Josephson, D. B., Lindsay R. C., and Stuibler, D. A. Identification of compounds characterizing the aroma of fresh white fish (*corregonus clupeaformis*), *J. Agric. Food. Chem.*, 1983, 31, 324-330.
37. Josephson, D. B., Lindsay R. C., and Stuibler, D. A. Variations in the occurrences of enzymically derived volatile aroma compounds in salt- and freshwater fish, *J. Agric. Food. Chem.*, 1984, 32, 1344-1347.
38. Παπουτσόγλου Σ.Ε. Διατροφή ιχθύων, Εκδόσεις Σταμούλη, 2008.
39. Χώτος Γ., Ρογδάκης Ι., Υδατοκαλλιέργειες ευρύαλων ψαριών- Λαυράκι και Τσιπούρα (Τεχνικές της αναπαραγωγής και της πάχυνσης, Εκδόσεις ΙΩΝ, 1992.

40. Kuehn K. Claudii Galeni Opera Omnia Vol X. Leipzig: Officina Libraria Car. Cnoblochii, 1825.
41. American Heart Association Heart. Heart and Stroke Statistical Update 2001.
42. Kannel, W. B., and McGee D. L. Diabetes and cardiovascular disease. *The Framingham study*. JAMA, 1979, vol. 241, no. 19, pp. 2035-2038.
43. Loscalzo J. Molecular mechanisms of atherosclerosis. *Abingdon: Taylor & Francis*, 2005.
44. Junqueira L. C, Carneiro J. Basic Histology: Text and Atlas, 11th Edition <http://www.accessmedicine.com>.
45. Munro J. M., and Cotran R. S. *The pathogenesis of atherosclerosis: Atherogenesis and inflammation, Lab. Invest.* ,1988, 58, 249-261.
46. Virchow R. Cellular Pathology. *London: John Churchill*, 1858.
47. Benditt E. P., Benditt J. M. Evidence for a monoclonal origin of human atherosclerotic plaques. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 1973;70:1753-6.
48. Ross, R., Glomset J. A. *The pathogenesis of atherosclerosis* (second of two parts). *N Engl. J Med.* 1976; 295:420-5.
49. Ross, R., Glomset J. A. The pathogenesis of atherosclerosis (first of two parts). *N Engl. J Med* 1976; 295:369-77.
50. Witztum J. L. The oxidation hypothesis of atherosclerosis. *Lancet* 1994; 344: 793-5.
51. Goldstein, J. L., Ho, Y. K., Basu, S. K., and Brown, M. S. Binding site on macrophages that mediates uptake and degradation of acetylated low density lipoprotein, producing massive cholesterol deposition. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1979, vol. 76, no. 1, pp. 333-337.
52. Esterbauer, H., Dieber-Rotheneder, M., Waeg, G., Striegl, G., and Jurgens, G. Biochemical, structural, and functional properties of oxidized low-density lipoprotein. *Chem. Res. Toxicol.*, 1990, vol. 3, no. 2, pp. 77-92.
53. Ninio, E. & Joly, F. (1991) Transmembrane signalling and pafacether biosynthesis, *Lipids* 26, 1034–1037

54. Δημόπουλος Κων/νος, Παραδόσεις Μεταπτυχιακού μαθήματος: *Διατροφή*, [http://www.chem.uoa.gr/courses/Undergraduate/Diatrofi/Post\\_Diatrofi.htm](http://www.chem.uoa.gr/courses/Undergraduate/Diatrofi/Post_Diatrofi.htm)
55. Evagelou, A. M., Prostaglandins Leukotrienes Essent. *Fatty Acids*, 1994, 50, 1-28.
56. Mueller, H. W., Haught, C. A., Mcnatt, J. M., Cui, K. X., Gaskell, S. J., Johnston, D. A. & Willerson, J. T. (1995) Measurement of platelet-activating factor in a canine model of coronary thrombosis and in endarterectomy samples from patients with advanced coronary artery disease, *Circ. Res.* 77, 54–63.
57. Feliste, R., Perret, B., Braquet, P. & Chap, H. (1989) Protective effect of BN 52021, a specific antagonist of platelet-activating factor (PAF-acether) against diet-induced cholesteryl ester drposition in rabbit aorta, *Atherosclerosis* 78, 151–158.
58. Rouis, M., Nigon, F., Lafuma, C., Hornebeck, W. & Chapman, M. J. (1990) Expression of elastase activity by human monocytemacrophages is modulated by cellular cholesterol content, inflammatory mediators, and phorbol myristate acetate. *Arteriosclerosis* 10, 246–255.
59. Rouis, M., Nigon, F. & Chapman, J. (1988) Platelet-activating factor is a potent stimulant of the production of active oxygen species by human monocyte-derived macrophages, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 156, 1293–1301.
60. Stewart, A. G., Dubbin, P. N., Harris, T. & Dusting, G. J. (1990) Platelet-activating factor may act as a second messenger in the release of icosanoids and superoxide anions from leukocytes and endothelial cells, *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 87, 3215–3219
61. Ross, R. (1993) The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s, *Nature* 362, 801–809.
62. Honda, Z. I., Nakamura, M., Miki, I., Minami, M., Watanabe, T., Seyama, Y., Okado, H., Toh, H., Ito, K., Miyamoto, T. & Shimizu, T. (1991) Cloning by functional expression of platelet-activating factor receptor from guinea-pig lung, *Nature* 349, 342–346.

63. O'Flaherty J. T., Salzer, W. L., Cousart, S., McCall, C. E., Piantadosi, C., Surles, J. R., Hammett, M. J. and Wykle, R. L. Platelet activating factor and analogues: Comparative studies with human neutrophils and rabbit platelets. *Res. Comm. Chem. Pathol. Pharm.*, 1983, 39, 291-304.
64. O'Flaherty J. T., Tessner T., Greene D., Redman J. R., Wykle R. L. Comparison of 1-O-alkyl-, 1-O-alk-1'-enyl-, and 1-O-acyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamines and -3-phosphocholines as agonists of the platelet-activating factor family. *Biochim Biophys Acta* 1994;1210:209-216.
65. Patel, K. D., Zimmerman, G. A., Prescott, S. M. and McIntyre, T. M. Novel leucocyte agonists are released by endothelial cells exposed to peroxide. *J. Biol. Chem.*, 1992, 267, 15168-15175
66. Heery, J. M., Kozak, M., Stafforini, D. M., Jones, D. A., Zimmerman, G. A., McIntyre, T. M. and Prescott, S. M. Oxidatively modified LDL contains phospholipids with PAF-like activity and stimulates the growth of smooth muscle cells, *J. Clin. Invest.*, 1995, 96, 2322-2330.
67. Brown, M. S. and Goldstein, J. L., *Annu. Rev. Biochem.*, 1983, 52, 223-261.
68. Marathe G. K., Davies S. S., Harrison K. A., Silva A. R., Murphy R. C., Castro-Faria-Neto H. et al. 1999. Inflammatory plateletactivating factor-like phospholipids in oxidized low density lipoproteins are fragmented alkyl phosphatidylcholines. *J Biol Chem.*, 274: 28395-28404.
69. Tsoukatos, D. C., Liapikos, T. A., Tselepis, A. D., Chapman, M. J. and Ninio, E. Mechanisms of PAF formation upon coppercatalyzed oxidation of human LDL, *Atherosclerosis*, 1999, Vol 144, Sup. 1, pp1 23
70. Δημόπουλος, Κ., Αντωνοπούλου, Σ. *Βασική Βιοχημεία*, Αθήνα 2000.
71. Fragopoulou E., Nomikos T., Antonopoulou S., Mitsopoulou C. A., Demopoulos C. A. Separation of biologically active lipids from red wine. *J Agric Food Chem.* 2000 Apr;48(4):1234–1238.
72. Liapikos, T. A., Antonopoulou, S., Karabina, S. A., Tsoukatos, D. C., Demopoulos, C. A. & Tselepis, A. D. (1994) Platelet-activating factor formation during oxidative modification of low-density lipoprotein when PAF-

- acetylhydrolase has been inactivated, *Biochim. Biophys. Acta* 1212, 353–360.
73. Prescott, S. M., Zimmerman, G., A., McIntyre, T. M. and Stafforini, D. M., Inflammation in the vascular wall as an early event in atherosclerosis, *Diabetologia*, 1997, 40, S111-S112.
  74. Stafforini, D. M., Zimmerman, G. A., McIntyre, T. M., Prescott, S. M. The platelet-activating factor acetylhydrolase from human plasma prevents oxidative modification of low-density-lipoprotein, *Trans. Assoc. Am. Physicians.*, 1992, 105, 44-63.
  75. Nestel, P. J. Effects of n-3 fatty acids on lipid metabolism, *Annu. Rev. Nutr.*, 1990, 10, 149-167.
  76. Read, P., and Fernandes, T. Management of environmental impacts of marine aquaculture in Europe. *Manage Aquac. Effl.*, 2003, vol. 226, no. 1-3, pp. 139-163.
  77. Martin R. E, Flick G. J., *The Seafood Industry*, Van Nostrand Reinhold (E.d), NY, USA, 1990
  78. Wilde, J. W., Kamstra, A. Fish production, in: A. Ruiters (E.d), Fish and fishery products, Composition, nutritive properties and stability. *CAB International*, 1995, pp.1-29
  79. Guo, J., Wang, Y., and Bureau D. P. Inclusion of rendered animal ingredients as fishmeal substitutes in practical diets for cuneate drum, *Nibea miichthioides* (Chu, lo et Wu). *Aquacult. Nutr.*, 2007, 13, 81-87.
  80. Velazquez, M., Zamora, S., and Martinez, F. L. Influence of environmental conditions on demand-feeding behavior of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *J. App. Ichth.*, 2004, vol. 20, no. 6, pp. 536-541.
  81. Grigorakis, K. Compositional and organoleptic quality of farmed and wild gilthead sea bream (*S. aurata*) and sea bass (*D. labrax*) and factors affecting it: a review. *Aquaculture*, 2007, vol. 272, no. 1-4, pp. 55-75.
  82. Simopoulos, A. P. The Importance of the Omega-6/Omega-3 Fatty Acid Ratio in Cardiovascular Disease and Other Chronic Diseases. *Biol. Med.*, 2008, vol. 233, no. 6, pp. 674-688.



83. Jennings, S., and Kaiser, M. J. The Effects of Fishing on Marine Ecosystems. *Adv. Mar. Biol.*, 1998, vol. 34, pp. 201-352.
84. Κωνσταντίνα Νασοπούλου , Μελέτη των δραστικών λιποειδών ψαριών ιχθυοτροφείου και ελεύθερης αλιείας ως προς τα καρδιαγγειακά νοσήματα, *Διδακτορική διατριβή*, Τμήμα χημείας , Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών , 2009.
85. Christofilogiannis P., 2009 FAO. 2006-2009. Nationala Aquaculture Sector Overview. Greece. In: *FAO Fisheries and Aquaculture Department*, Rome.
86. Batzios C., Angelidis P., Moutopoulos D. K., Anastasiadou C. Chrisopolitou V. 2002, Investigation of consumer preferences towards the farmed fish market in Greece. Proceedings of the 1<sup>st</sup> International Congress on Aquaculture, Technology and Enviromental Management, June 2002, ECEP Expo Centre, Athens
87. Verbeke, W., Vanhonacker, F., Sioen, I., Van Camp, J., and De Henauw, S. Perceived importance of sustainability and ethics related with fish: a consumer behaviour perspective. *J. Hum. Environm.*, 2007, vol. 36, no. 7, pp. 580-585.
88. Νασοπούλου, Κ., Νικολάου, Σ., Ζαμπετάκης, Ι., *Τεχνολογία Τροφίμων*, Αθήνα, 2010.
89. Morten Meilgaard, Gail Vance Civile , B.Thomas Carr, Sensory evaluation techniques, 3rd edition, *CRC press*, United states of America ,1999
90. N. Ganeko, M. Shoda, I. Hirohara, A. Bhadra, T. Ishida, H. Matsuda, H. Takamura, T. Matoba, Analysis of Volatile Flavor Compounds of Sardine (*Sardinops melanostica*) by Solid Phase Microextraction, *Journal of Food Science*,2008,73,83-88
91. Dürr P.(1994), Sensory Analysis in *Understanding Natural Flavour*, Ed by Piggott JR, Paterson A, Blackie Academic & Professional, Glasgow, UK.
92. Baldwin, Scott, Einstein, Malundo, Shewfelt, Tandon, (1998), Relationship between Sensory and Instrumental Analysis for Tomato Flavor, *J.amer.Soc.Hort.SCI*.123(5):906-915

93. John R. Piggott, Stephanie J. Simpson and Simon A. R. Williams, Sensory Analysis. *International Journal of Food Science and Technology*, 1998, 33, 7-18
94. Murray J. M., Delahunty C. M., Baxter I. A.,(2001),Descriptive sensory analysis: past, present and future, *Food Research International*, 2001, vol 34,p.461-471
95. Bligh, E. G., and Dyer, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 1959, vol. 37, no. 8, pp. 911-917.
96. Galanos, D.S., Kapoulas, V. M. Isolation of polar lipids from triglyceride mixtures. *J. Lipid. Res.*, 1962, vol. 3, pp. 134-137.
97. Nasopoulou, C., Nomikos, T., Demopoulos, C. A. & Zabetakis, I. Comparison of antiatherogenic properties of lipids obtained from wild and cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Food Chem.*, 2007, 100: 560-567.
98. Kae Morita, Kikue Kubota, Tetsuo Aishima, Comparison of aroma characteristics of 16 fish species by sensory evaluation and gas chromatographic analysis, *J Sci Food Agric.*,2003, 83,289–297.
99. Sargent, J., Bell, G., McEvoy, L. and Tocher, D., and Estevez, A. Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. *Aquaculture*, **1999**, 177, 191-199.
100. Simopoulos A. P., Essential Fatty Acids in Health and Chronic Disease, *Am. J. Cl. Nutr.*, 1999,70, 560S-9S.
101. Bouri, A., Harzallah, H., Dhabi, M., Boulet, I., Hammami, M., & Chaouch, A. (2010). Nutritional Fatty Acid Quality of Raw and Cooked Farmed and Wild Sea Bream (*Sparus Aurata*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 507–512.
102. Sicuro, B., Barbera, S., Dapra, F., Gai, F., Gausco, L., Parlialonga, G., Palmegiano, G. B. and Vilella, S. The olive oil by-product in “rainbow trout *Onchorynchus mykyss* (Walbaum)” farming: productive results and quality of the product, *Aquaculture Research*, 2010, 41, c475-486.

103. Karantonis, H. C., Tsantila, N., Antonopoulou, S., Perrea, D. N., Sokolis, D. P., Theocharis, S. E., et al, In vivo antiatherogenic properties of olive oil and its constituent lipid classes in hyperlipidemic rabbit. *Chemistry and Physics of Lipid*, 2004, 130, 59.
104. Montero, D., Kalinowski, T., Obach, A. Robaina, L. Tort, L., Cabarello, M. J., and Izquierdo, M. S. *Vegetable lipid sources for gilthead seabream (Sparus aurata): effects on fish health*. *Aquaculture*, 2003, vol. 225, no. 1-4, pp. 353-370.
105. Shapawi, R., Mustafa, S., and Ng W. K. *Effects of dietary fish oil replacement with vegetable oils on growth and tissue fatty acid composition of humpback grouper, Cromileptes altivelis (Valenciennes)*. *Aquac. Res.*, 2008, vol. 39, pp. 315-323.



Από την παρούσα ερευνητική εργασία έχει προκύψει μια επιστημονική εργασία προς δημοσίευση με τίτλο: «*Comparison of sensory and cardioprotective properties of olive-pomace and conventional gilthead sea bream (Sparus aurata)*» και συγγραφείς τους Eleni Sioriki, Constantina Nasopoulou, Constantinos A. Demopoulos and Ioannis Zabetakis που έχει υποβληθεί στο περιοδικό *Journal of Aquatic Food Product Technology*.

