

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΕΔΩΔΙΜΩΝ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ ΑΠΟ
ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΚΑΝΝΑΒΗΣ
ΚΑΙ ΤΥΡΟΓΑΛΑΚΤΟΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
της
ΚΑΡΑΦΙΛΗ ΔΗΜΗΤΡΑΣ

Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων
Σχολή Περιβάλλοντος
ΙΟΝΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ



Αργοστόλι Κεφαλληνίας
Οκτώβριος 2024

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΕΔΩΔΙΜΩΝ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ ΑΠΟ
ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΚΑΝΝΑΒΗΣ
ΚΑΙ ΤΥΡΟΓΑΛΑΚΤΟΣ

Η πτυχιακή εργασία εγκρίθηκε από:

Αικατερίνη Παπαδάκη

Νικόλαος Κοψαχείλης

Χαρίλαος Παπαποστόλου

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά, την επιβλέπουσα καθηγήτρια μου, κ. Αικατερίνη Παπαδάκη, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε στην ανάθεση του θέματος, την επιστημονική καθοδήγηση, και το χρόνο που διέθεσε δίνοντάς μου χρήσιμες συμβουλές και οδηγίες για την ολοκλήρωση της πτυχιακής μου εργασίας και την υποστήριξη καθ' όλη τη διάρκεια της συνεργασίας μας. Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω και την υποψήφια διδάκτορα κ. Αικατερίνη Νάτσια, για την καθοδήγηση κατά τη διάρκεια της πειραματικής ερευνάς, τη συνεχή βοήθεια κατά τη συγγραφή και την αμέριστη υποστήριξη της καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της πτυχιακής μου εργασίας. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Προέδρο του τμήματος κ. Νικόλαο Κοψαχείλη, για την ευκαιρία που μου έδωσε να είμαι μέρος της εργαστηριακής του ομάδας και να εκπονήσω την πειραματική μου μελέτη στο Εργαστήριο Χημείας Τροφίμων και Βιομηχανικών Ζυμώσεων, καθώς και για τη συνεχή του υποστήριξη. Θα ήθελα να ευχαριστήσω, ακόμα, όλη την ομάδα του Εργαστηρίου Χημείας Τροφίμων και Βιομηχανικών Ζυμώσεων για τη βοήθεια τους κατά τη διεξαγωγή των πειραμάτων, αλλά και για τη θερμή τους υποστήριξη. Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ στην οικογένεια μου για την ψυχολογική και οικονομική υποστήριξη, καθ' όλα τα χρονιά φοίτησης μου, καθώς και τους συγγενείς και φίλους για την ηθική υποστήριξή τους.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η ανάπτυξη εδώδιμων μεμβρανών από πρωτεΐνες που προέρχονται από απόβλητα και παραπροϊόντα της βιομηχανίας τροφίμων αποτελεί επιτακτική ανάγκη για τη μείωση της περιβαλλοντικής ρύπανσης, που προκύπτει από την απόρριψη των συσκευασιών, αλλά και για την ασφάλεια της ποιότητας τροφίμων. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η παραγωγή εδώδιμων μεμβρανών από πρωτεΐνη τυρογάλακτος και βιομηχανικής κάνναβης. Και οι δύο αυτές πρωτεΐνες, αποτελούν εναλλακτικές πρώτες ύλες για την ανάπτυξη καινοτόμων και βιώσιμων προϊόντων με εφαρμογές στα τρόφιμα. Στο πρώτο πειραματικό σκέλος δόθηκε έμφαση στην ανάπτυξη νέων αντιμικροβιακών μεμβρανών από πρωτεΐνη τυρογάλακτος μέσω της προσθήκης αιθέριου ελαίου θυμαριού (E.O.), σε δυο διαφορετικές συγκεντρώσεις 3% και 5% w/v. Στο πλαίσιο αυτό μελετήθηκε και η επίδραση της βακτηριακής κυτταρίνης στις αντιμικροβιακές και φυσικές ιδιότητες τις μεμβράνης. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η αύξηση τόσο του E.O. όσο και της B.C. προσέδωσαν κι ενίσχυσαν, αντίστοιχα, την αντιμικροβιακή δράση των μεμβρανών. Σε ότι αφορά τις φυσικές ιδιότητες παρατηρήθηκε ότι επηρεάζονται από την προσθήκη τόσο του E.O. όσο και της B.C. Το δεύτερο πείραμα, είχε ως στόχο την ανάπτυξη νέων εδώδιμων μεμβρανών από πρωτεΐνη βιομηχανικής κάνναβης, παρασκευασμένες υπό διαφορετικές συνθήκες pH αλλά και θερμοκρασίας κατά τη μετουσίωση της πρωτεΐνης, καθώς και την επίδραση αυτών των παραμέτρων στις φυσικές τους ιδιότητες. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η θερμοκρασία μπορεί να επηρεάσει ιδιότητες όπως τη διαπερατότητα των μεμβρανών σε υδρατμούς και τη διαλυτότητα τους. Αντίστοιχα, τα διαφορετικά pH είχαν επίδραση κυρίως στην ικανότητα συγκράτησης νερού και τη διαλυτότητα των μεμβρανών. Συνοπτικά, η παρούσα μελέτη έδειξε την δυνατότητα ανάπτυξης εδώδιμων μεμβρανών από πρωτεΐνες ζωικής και φυτικής προέλευσης καθώς και τη δυνατότητα τροποποίησης των αντιμικροβιακών και φυσικών ιδιοτήτων αυτών είτε με την προσθήκη συστατικών είτε με την μεταβολή των συνθηκών παρασκευής.

ABSTRACT

The development of edible films from proteins derived from waste and by-products of the food industry is imperative to reduce the environmental pollution resulting from packaging disposal, but also to ensure food quality safety. In the present paper the production of edible films from whey protein and industrial hemp were studied. Both of these proteins are alternative raw materials for the development of innovative and sustainable products with applications in food. In the first experimental part emphasis was placed on the development of new antimicrobial films from whey protein, adding thyme essential oil (E.O.), at two different concentrations, 3% and 5% w/v. In this context, the effect of bacterial cellulose on the antimicrobial and physical properties of the films were also studied. The results showed that the simultaneous addition of E.O. and B.C., provided films with enhanced antimicrobial activity. In respect to physical properties, it was observed that they were affected by the addition of both E.O. and B.C. The second experiment aimed to develop novel edible films from industrial hemp protein, prepared under different conditions of pH and temperature. Results showed that temperature can affect films physical properties, such as water vapor permeability and solubility. Additionally, different pH had an impact mainly on the swelling index and solubility of the films. Briefly, the present study showed the possibility of developing edible films from proteins of animal and plant origin, as well as the possibility of modifying their antimicrobial and physical properties either by adding ingredients or by adjusting the production conditions.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

Κεφάλαιο	Σελίδα
I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	12
1.1. Ταξινόμηση εδώδιμων μεμβρανών.....	14
1.1.1 Μεμβράνες πολυσακχαριτών.....	15
1.1.2 Μεμβράνες πρωτεϊνών	16
1.1.2.1 Πρωτεΐνες ζωικής προέλευσης	17
1.1.2.1.1 Πρωτεΐνη τυρογάλακτος.....	17
1.1.2.1.2 Ζελατίνη.....	18
1.1.2.2 Πρωτεΐνες φυτικής προέλευσης.....	20
1.1.2.2.1 Πρωτεΐνη βιομηχανικής κάνναβης.....	20
1.1.2.2.2 Πρωτεΐνη σόγιας	21
1.1.3 Μεμβράνες λιπιδίων.....	22
1.2 Πρόσθετα εδώδιμων μεμβρανών.....	22
1.2.1 Πλαστικοποιητές.....	23
1.2.2 Βακτηριακή κυτταρίνη.....	23
1.2.3 Αιθέρια έλαια.....	24
1.2.3.1 Αιθέριο έλαιο θυμαριού	24
1.2.3.2 Αιθέριο έλαιο κανέλας	25
1.3 Πλεονεκτήματα- Μειονεκτήματα εδώδιμων μεμβρανών	25
1.4 Χρήσεις εδώδιμων μεμβρανών- επικαλύψεων.....	28
Σκοπός της παρούσας πτυχιακής μελέτης	30

II. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

2.1 Παρασκευή εδώδιμων μεμβρανών	32
2.1.1 Παρασκευή εδώδιμων μεμβρανών από πρωτεΐνη τυρογάλακτος.....	32
2.1.2 Παρασκευή εδώδιμων μεμβρανών από πρωτεΐνη βιομηχανικής κάνναβης.	32
2.2 Μελέτη των αντιμικροβιακών ιδιοτήτων των μεμβρανών.....	33
2.2.1 Βακτήρια.....	33
2.2.2 Μύκητες	34
2.3 Χαρακτηρισμός εδώδιμων μεμβρανών	34
2.3.1 Προσδιορισμός πάχους.....	34
2.3.2 Προσδιορισμός της περιεκτικότητας σε υγρασία	35
2.3.3 Προσδιορισμός διαλυτότητας σε νερό	35
2.3.4 Προσδιορισμός διαπερατότητας υδρατμών.....	35
2.3.5 Προσδιορισμός ικανότητας συγκράτησης νερού	36
2.3.6 Προσδιορισμός οπτικών ιδιοτήτων	36

III. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

3.1 Παραγωγή μεμβρανών από πρωτεΐνη τυρογάλακτος με αντιμικροβιακή δράση	37
3.2.1 Επίδραση της συγκέντρωσης του αιθέριου ελαίου θυμαριού	37
3.2.2 Επίδραση προσθήκης βακτηριακής κυτταρίνης	38
3.3 Χαρακτηρισμός των φυσικών ιδιοτήτων μεμβρανών.....	41
3.3.1 Πάχος.....	41
3.3.2 Περιεκτικότητα σε υγρασία.....	42
3.3.3 Διαπερατότητα στην ακτινοβολία	42
3.3.4 Διαλυτότητα και ικανότητα συγκράτησης νερού	43
3.3.5 Διαπερατότητα υδρατμών	44
3.4 Ανάπτυξη μεμβρανών από πρωτεΐνη βιομηχανικής κάνναβης: επίδρασης θερμοκρασίας και του pH	45

3.4.1 Παραγωγή μεμβρανών από πρωτεΐνη βιομηχανικής κάνναβης	46
3.4.2 Πάχος μεμβρανών.....	47
3.4.3 Περιεκτικότητα σε υγρασία.....	47
3.4.4 Διαπερατότητα σε ακτινοβολία	48
3.4.5 Διαλυτότητα	50
3.4.6 Ικανότητα συγκράτησης νερού.....	51
3.4.7 Διαπερατότητα υδρατμών	52
 V. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	 54
 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	 56

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας

Σελίδα

Πίνακας 1. Επίδραση προσθήκης αιθέριου ελαίου θυμαριού (E.O.) και βακτηριακής κυτταρίνης (B.C.) στο πάχος και την υγρασία των εδώδιμων μεμβρανών από πρωτεΐνη τυρογάλακτος	42
---	----

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα

Σελίδα

Εικόνα 1. Φυσικά βιοπολυμερή που χρησιμοποιούνται σε βιοαποικοδομήσιμες μεμβράνες συσκευασίας και σύνθετα υλικά	15
Εικόνα 2. Πλεονεκτήματα εδωδίων μεμβρανών	27
Εικόνα 3. Μακροσκοπική παρουσίαση της αντιμικροβιακής δράσης των εδωδίων μεμβρανών με 5% w/v αιθέριο έλαιο θυμαριού, με και χωρίς βακτηριακή κυτταρίνη (0% και 5% B.C.) έναντι των μικροοργανισμών <i>Staphylococcus aureus</i> και <i>Aspergillus niger</i>	39
Εικόνα 4. Ενδεικτικές φωτογραφίες εδωδίων μεμβρανών από πρωτεΐνη βιομηχανικής κάνναβης παρασκευασμένες στους 70 °C, σε pH=8 και pH=12.	46

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα

Σελίδα

- Σχήμα 1.** Επίδραση της αντιμικροβιακής δράσης των εδώδιμων μεμβρανών από πρωτεΐνη τυρογάλακτος που περιείχαν 3% και 5% (w/v) αιθέριο έλαιο θυμαριού 38
- Σχήμα 2.** Επίδραση της συγκέντρωσης της βακτηριακής κυτταρίνης στην αντιμικροβιακή δράση των εδώδιμων μεμβρανών από πρωτεΐνη τυρογάλακτος με προσθήκη (α) 3% w/v και (β) 5% w/v αιθέριου ελαίου θυμαριού. 40
- Σχήμα 3.** Επίδραση προσθήκης αιθέριου ελαίου θυμαριού (E.O.) και βακτηριακής κυτταρίνης (B.C.) στη διαπερατότητα στην ακτινοβολία (%T) των εδώδιμων μεμβρανών από πρωτεΐνη τυρογάλακτος..... 43
- Σχήμα 4.** Επίδραση προσθήκης αιθέριου ελαίου θυμαριού (E.O.) και βακτηριακής κυτταρίνης (B.C.) στη διαλυτότητα και την ικανότητα συγκράτησης νερού (I.S.N.) των εδώδιμων μεμβρανών από πρωτεΐνη τυρογάλακτος..... 44
- Σχήμα 5.** Επίδραση προσθήκης αιθέριου ελαίου θυμαριού (E.O.) και βακτηριακής κυτταρίνης (B.C.) στη διαπερατότητα σε υδρατμούς (WVP) των εδώδιμων μεμβρανών από πρωτεΐνη τυρογάλακτος..... 45
- Σχήμα 6.** Επίδραση του pH και της θερμοκρασίας στο πάχος των μεμβρανών 47
- Σχήμα 7.** Επίδραση του pH και της θερμοκρασίας στην υγρασία των μεμβρανών. .. 48
- Σχήμα 8.** Διαπερατότητα ακτινοβολίας (%T) σε διαφορετικά μήκη κύματος (nm) για τις μεμβράνες που παρασκευάστηκαν σε διαφορετικές τιμές pH στους (α) 70°C, (β) 80°C και (γ) 90°C 49
- Σχήμα 9.** Επίδραση του pH και της θερμοκρασίας στη διαλυτότητα μεμβρανών..... 51
- Σχήμα 10.** Επίδραση του pH και της θερμοκρασίας στην ικανότητα συγκράτησης νερού των μεμβρανών..... 52
- Σχήμα 11.** Επίδραση του pH και της θερμοκρασίας διαλύματος των μεμβρανών ως προς τη διαπερατότητα υδρατμών..... 53

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Ι

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.Εισαγωγή

Τα τελευταία χρόνια, παρατηρείται από τους πολίτες ολοένα και πιο συχνά, η υιοθέτηση νέων συνηθειών προς τη βιώσιμη ανάπτυξη, με στόχο την προστασία του περιβάλλοντος. Μια από αυτές τις συνήθειες περιλαμβάνει και τη μείωση των απορριμμάτων. Μόνο στην Ελλάδα, παράγονται ετησίως 700.000 τόνοι πλαστικών απορριμμάτων (WWF, 2019). Το κύριο μειονέκτημα της χρήσης πλαστικού, είναι ο χαμηλός βαθμός βιοαποικοδομησιμότητας του, αλλά και το κόστος του σε σχέση με την συνεχώς αυξανόμενη τιμή του πετρελαίου.

Ένα μεγάλο ποσοστό των πλαστικών απορριμμάτων, οφείλεται στα πλαστικά υλικά συσκευασίας. Η συσκευασία στην παραγωγή τροφίμων θεωρείται αναπόσπαστο κομμάτι, αφού ρόλος της είναι να προστατεύσει το προϊόν από αλλοιώσεις και να εξασφαλίσει την ασφάλεια του, μέχρι να φτάσει στον καταναλωτή. Πέρα από τον περιβαλλοντικό αντίκτυπο, οι πλαστικές συσκευασίες υποβαθμίζουν την ποιότητα των τροφίμων, καθώς το πλαστικό μπορεί να μεταφερθεί στο τρόφιμο, επηρεάζοντας όχι μόνο τη διάρκεια ζωής του αλλά και την ασφάλειά του. Επιπλέον, ο οικονομικός παράγοντας είναι σημαντικός, δεδομένου ότι η συνεχής αύξηση του πετρελαίου και η μείωση των αποθεμάτων του, επηρεάζουν τη τιμή των συμβατικών μεμβρανών (Vengatesan et al., 2021).

Ως εκ τούτου, η ανάπτυξη εναλλακτικών υλικών συσκευασίας, αποτελεί σημαντικό ζήτημα για τον τομέα της παραγωγής τροφίμων και συγκεκριμένα της συσκευασίας. Στόχος είναι η δημιουργία μιας νέας συσκευασίας η οποία θα είναι φιλική προς το περιβάλλον, αλλά ταυτόχρονα θα προστατεύει το τρόφιμο από μικροβιακές αλλοιώσεις και μηχανικές καταπονήσεις. Ταυτόχρονα θα παρέχει μεγαλύτερη διάρκεια ζωής μέσω των φυσικοχημικών αλληλεπιδράσεων του τροφίμου με το υλικό συσκευασίας. Αυτή την ανάγκη, καλύπτουν οι εδώδιμες ή αλλιώς βρώσιμες συσκευασίες, οι οποίες

παράγονται από εδώδιμες πρώτες ύλες. Οι βρώσιμες συσκευασίες είναι βιοαποικοδομήσιμες, δε δημιουργούν στερεά αστικά απόβλητα και συμβάλλουν στην αειφορία. Στις βρώσιμες συσκευασίες, περιλαμβάνονται οι εδώδιμες μεμβράνες και οι εδώδιμες επικαλύψεις.

Οι εδώδιμες μεμβράνες χρησιμοποιούνται εδώ και αιώνες, όπως για παράδειγμα η χρήση του κεριού σε φρούτα για την αποφυγή απώλειας υγρασίας αλλά και για αισθητικούς λόγους, προσδίδοντας στο φρούτο τη χαρακτηριστική γυαλιστερή επιφάνεια. Η διαφορά ανάμεσα στην επικάλυψη και τη μεμβράνη είναι ότι η επικάλυψη εφαρμόζεται στην επιφάνεια του τροφίμου και αποτελεί τμήμα του, ενώ η μεμβράνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί και ως περιτύλιγμα (Embuscado et al., 2009).

Ως εδώδιμη μεμβράνη, ορίζεται η λεπτή και εύκαμπτη μεμβράνη που έχει παραχθεί από βρώσιμα υλικά, συνήθως από ανανεωμένες πρώτες ύλες. Αυτά την καθιστούν βιοαποικοδομήσιμη συσκευασία, η οποία μπορεί να καταναλωθεί μαζί με το τρόφιμο με το οποίο έρχεται σε επαφή. Η εμφάνιση και οι λειτουργίες αυτών των μεμβρανών, είναι παρόμοιες με τις αντίστοιχες μεμβράνες που παράγονται από την πετροχημική βιομηχανία. Για την καλύτερη προστασία του τροφίμου, οι περισσότερες μεμβράνες, αποτελούνται από συνδυασμό πρώτων υλών και συχνά ενισχύονται με αντιμικροβιακές και αντιοξειδωτικές ουσίες, χρωστικές και μικροσωματίδια. Η χρήση ανανεώσιμων πρώτων υλών, όπως απόβλητα από βιομηχανίες τροφίμων, και οι νέες τεχνολογίες που εφαρμόζονται για την παραγωγή των εδώδιμων μεμβρανών, τις καθιστούν προϊόν υψηλής προστιθέμενης αξίας.

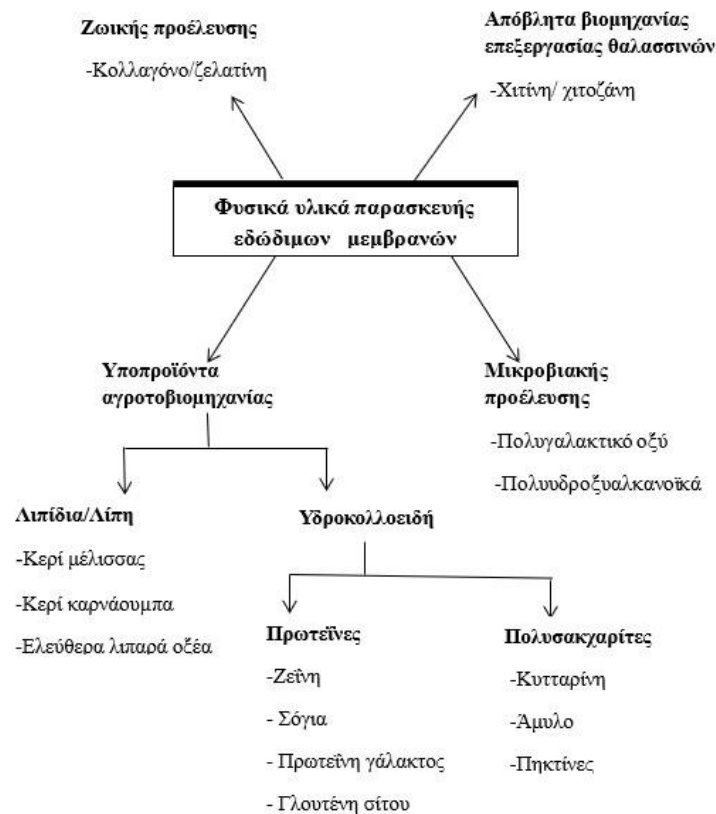
Σε κάθε περίπτωση, εφόσον η μεμβράνη ονομάζεται εδώδιμη, τα υλικά που χρησιμοποιούνται για την ανάπτυξη της πρέπει να είναι ασφαλή και κατάλληλα για ανθρώπινη κατανάλωση, με σχετική πιστοποίηση από αρμόδιο φορέα. Επίσης, τα συστατικά της πρέπει να αναγράφονται αναλυτικά στην επισήμανση του τροφίμου, ώστε οι καταναλωτές να ενημερώνονται πλήρως για τυχόν αλλεργίες ή δυσανεξίες. Στις Η.Π.Α. υπάρχει ένα σύστημα που ελέγχει την καταλληλότητα του τροφίμου προς κατανάλωση, χαρακτηρίζοντας το κάθε προϊόν ως GRAS (Generally recognized as safe). Στη περίπτωση που το προϊόν δεν χαρακτηρίζεται ως GRAS, μπορεί να γίνει

έλεγχος από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων των Η.Π.Α. (FDA) (Σφλώμος, 2018).

Η μελέτη των εδώδιμων μεμβρανών απασχολεί έντονα την επιστημονική κοινότητα, ενώ ήδη έχουν γίνει αρκετές έρευνες και έχουν αναπτυχθεί διάφορες εδώδιμες μεμβράνες. Παρ' όλα αυτά, εμπορικά η εφαρμογή τους είναι ακόμα πολύ περιορισμένη, διότι χρειάζονται βελτιώσεις σε ορισμένες ιδιότητες, όπως η μηχανική αντοχή και η μικρή διάρκεια ζωής τους σε σχέση με τις συμβατικές, λόγω της βιοαποικοδομησιμότητάς τους. Ένας άλλος παράγοντας που περιορίζει την παραγωγή τους σε εργαστηριακή κλίμακα, είναι το κόστος και μετέπειτα, η εκμάθηση προσωπικού για τη δημιουργία τους. Επιπλέον, η εμπορική εφαρμογή τους, απαιτεί την ενημέρωση του καταναλωτικού κοινού για τη νέα μέθοδο συσκευασίας. Εφόσον οι εδώδιμες μεμβράνες πρόκειται να καταναλωθούν άμεσα ή να έρθουν σε επαφή με το τρόφιμο είναι σημαντικό να μην προσδίδουν κάποια γεύση ή άρωμα, ώστε να μην αλλοιώνουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του προϊόντος.

1.1 Ταξινόμηση εδώδιμων μεμβρανών

Για να εξασφαλισθεί η μηχανική αντοχή των μεμβρανών, πρέπει να περιέχουν τουλάχιστον ένα βιοπολυμερές υψηλού μοριακού βάρους. Το πολυμερές αυτό μπορεί να έχει ζωική ή φυτική προέλευση και κατατάσσεται σε τρεις κύριες κατηγορίες τα υδροκολλοειδή, τα λιπίδια και τα σύνθετα αυτών. Συνήθως χρησιμοποιούνται πολυσακχαρίτες, λιπίδια και πρωτεΐνες, με πολλούς συνδυασμούς για τη βελτιστοποίηση των ιδιοτήτων της μεμβράνης (Εικόνα 1) (Tharanathan, 2003).



Εικόνα 1. Φυσικά βιοπολυμερή που χρησιμοποιούνται σε βιοαποικοδομήσιμες μεμβράνες συσκευασίας και σύνθετα υλικά (Tharanathan, 2003).

1.1.1 Μεμβράνες πολυσακχαριτών

Οι πολυσακχαρίτες είναι υδατάνθρακες που αποτελούνται από μονοσακχαρίτες, ενωμένους μεταξύ τους με γλυκοζιτικούς δεσμούς. Έχουν την ιδιότητα να αυξάνουν το ιξώδες του διαλύματος και έχουν μελετηθεί εκτενώς για την παραγωγή εδώδιμων μεμβρανών. Ως φυσικά πολυμερή που βρίσκονται σε μεγάλη αφθονία, οι πολυσακχαρίτες έχουν χαμηλό κόστος και δεν είναι τοξικοί. Είναι εύκολοι στη χρήση και θεωρούνται κατάλληλοι για τον σχηματισμό μεμβρανών λόγω της μηχανικής τους αντοχής, της επιλεκτικής διαπερατότητας στο διοξείδιο του άνθρακα και το οξυγόνο καθώς και της μη τοξικότητάς τους (Salah Mohamed et al., 2020).

Μερικοί από τους πολυσακχαρίτες που έχουν χρησιμοποιηθεί για αυτόν τον σκοπό είναι το άμυλο, η κυτταρίνη και τα παράγωγά της, η πηκτίνη, η χιτοζάνη, τα αλγινικά άλατα οι καραγενάνες και το άγαρ (Παπαδάκης, 2018). Η κυτταρίνη και τα παράγωγά της έχουν μελετηθεί και χρησιμοποιηθεί περισσότερο στην ανάπτυξη των βρώσιμων μεμβρανών αλλά έχουν δημιουργηθεί και πολλές μεμβράνες από άμυλο, συνήθως πατάτας και αραβόσιτου (Yazi Mohamad et al., 2018; Bertuzzi et al., 2007).

Οι επικαλύψεις από πολυσακχαρίτες, είναι άχρωμες και η θερμιδική τους αξία είναι χαμηλή. Έχουν την ικανότητα να μειώνουν την αφυδάτωση, την οξειδωτική τάγγιση και την ενζυμική αμαύρωση των τροφίμων. Ωστόσο, έχουν υψηλή διαπερατότητα στην υγρασία καθώς είναι εγγενώς υδρόφιλες (Bilal et al., 2018).

1.1.2 Μεμβράνες πρωτεϊνών

Οι πρωτεΐνες είναι οργανικές αζωτούχες ενώσεις που αποτελούνται από αμινοξέα τα οποία συνδέονται μεταξύ τους με πεπτιδικούς δεσμούς. Στην παραγωγή εδώδιμων μεμβρανών έχουν χρησιμοποιηθεί πρωτεΐνες τόσο ζωικής όσο και φυτικής προέλευσης. Πρωτεΐνες ζωικής προέλευσης, όπως κολλαγόνο, ζελατίνη, πρωτεΐνες τυρογάλακτος και καζεΐνη, καθώς και πρωτεΐνες φυτικής προέλευσης, όπως πρωτεΐνες σόγιας, γλουτένης σίτου και ζεΐνη αραβοσίτου, έχουν μελετηθεί για το σκοπό αυτό. Πολλές διαφορετικές πρωτεΐνες έχουν μελετηθεί, με την πρωτεΐνη από τυρόγαλα να είναι μια από τις πιο διαδεδομένες (Patel, 2015). Εκτός από την προσθήκη θρεπτικής αξίας, οι μεμβράνες αυτές παρουσιάζουν ικανοποιητικές μηχανικές και οπτικές ιδιότητες. Παρουσιάζουν υψηλή αδιαπερατότητα στο οξυγόνο, στο διοξείδιο του άνθρακα, στα λίπη και στα αρώματα. Ωστόσο, έχουν υψηλή διαπερατότητα σε υδρατμούς, λόγω του υδρόφιλου χαρακτήρα τους και των υδρόφιλων πλαστικοποιητών που τους προστίθενται για να τους προσδώσουν ευκαμψία (Παπαδάκης, 2018).

Για να επιτευχθεί ο επιθυμητός σχηματισμός μεμβρανών, πολλές πρωτεΐνες απαιτούν θερμική επεξεργασία του διαλύματος και χρήση οξέων ή βάσεων. Αυτός ο συνδυασμός επιτρέπει τη δημιουργία εκτεταμένων δομών, καθώς επιτρέπει να ξεδιπλωθούν τα

μόρια της πρωτεΐνης και να δημιουργηθούν νέοι διαμοριακοί δεσμοί, οι οποίοι χρειάζονται για την ανάπτυξη μεμβρανών (Eissa, 2012).

Επιπλέον, η τιμή pH του διαλύματος επηρεάζει σημαντικά τη δομή των μεμβρανών. Όταν το pH του διαλύματος συμπίπτει με το pH του ισοηλεκτρικού σημείου, οι πρωτεΐνες κατακρημνίζονται, ενώ όταν το pH τους απέχει το ένα από το άλλο, οι πρωτεΐνες απωθούνται μεταξύ τους και δε σχηματίζεται πήγμα (Pelegrine, & Gasparetto, 2005).

1.1.2.1 Πρωτεΐνες ζωικής προέλευσης

1.1.2.1.1 Πρωτεΐνη τυρογάλακτος

Το τυρόγαλα αποτελεί υποπροϊόν της γαλακτοβιομηχανίας και είναι το υδαρές τμήμα του γάλακτος που λαμβάνεται κατά τη μετατροπή του γάλακτος σε τυρί, λόγω της διαδικασίας συσσωμάτωσης καζεΐνης, με χρήση οξέων, πυτιάς ή φυσικοχημικών μεθόδων. Το χρώμα του υγρού είναι πρασινοκίτρινο και περιέχει περίπου το 50% των στερεών συστατικών του γάλακτος και μεγάλη ποσότητα νερού. Τα κύρια συστατικά του τυρογάλακτος, διαφέρουν ανάλογα με τον τύπο του τυριού από όπου προέρχεται αλλά και από το είδος του γάλακτος που χρησιμοποιήθηκε για την παραγωγή του τυριού (Lievore et al., 2015).

Υπολογίζεται ότι για την παραγωγή ενός κιλού τυριού, παράγονται περίπου 9 λίτρα τυρογάλακτος, και ένα μεγάλο εργοστάσιο τυροκομικών μπορεί να παράγει πάνω από 1 εκατομμύριο λίτρα τυρογάλακτος ημερησίως (Onwulata & Huth, 2008). Η ρύπανση που προκαλείται από την παραγωγή τυρογάλακτος εκφράζεται σε B.O.D.₅ –Biological Oxygen Demand (Βιοχημικά απαιτούμενο οξυγόνο), δηλαδή την ποσότητα οξυγόνου σε mg που απαιτούνται για την αποσύνθεση με βιολογική οξείδωση από μικροοργανισμούς, κάτω από αερόβιες συνθήκες, του οργανικού φορτίου που έχει ένα λίτρο τυρογάλακτος σε διάστημα 5 ημερών. Το τυρόγαλα συχνά απορρίπτεται σε θάλασσες, λίμνες και ποτάμια από τις βιομηχανίες και αυτό επιφέρει θάνατο σε πολλά

θαλάσσια είδη, λόγω της αυξημένης ποσότητας οξυγόνου που περιέχει (Chatzipaschali, & Stamatis 2012).

Για τον λόγο αυτό, τα τελευταία χρόνια η αξιοποίηση του τυρογάλακτος απασχολεί ιδιαίτερα την επιστημονική κοινότητα, ερευνώντας ενναλακτικές χρήσεις του για να μειωθούν οι περιβαλλοντικές του επιπτώσεις και να μετατραπεί σε προϊόν υψηλής προστιθέμενης αξίας μέσω διαφόρων μεθόδων. Σε πολλές χώρες χρησιμοποιείται για την παραγωγή τυριών, συγκεκριμένα στην Ελλάδα παράγεται από αυτό η μυζήθρα, η ξινομυζήθρα, το ανθότυρο και το μανούρι. Επίσης, χρησιμοποιείται ως ζωοτροφή, κυρίως με την αντικατάσταση του νερού που καταναλώνουν τα ζώα (Kosikowski 1978).

Κάποιες άλλες χρήσεις του τυρογάλακτος είναι σε παιδικές τροφές, σε μορφή σκόνης, σε διάφορα ποτά και αναψυκτικά, ως συμπλήρωμα διατροφής, ως θρεπτικό υπόστρωμα για μικροοργανισμούς και για την παραγωγή εδώδιμων μεμβρανών και επικαλύψεων. Η εφαρμογή της πρωτεΐνης τυρογάλακτος για την ανάπτυξη εδώδιμων μεμβρανών, έχει εφαρμοστεί εδώ και αρκετά χρόνια, και ήδη έχουν γίνει πολλά πειράματα για τις ιδιότητες τους και την εφαρμογή τους. Από την πρωτεΐνη αυτή, παράγονται διαφανείς μεμβράνες με ιδιότητες παρόμοιες με τα πετροχημικά πολυμερή, πλούσιες σε πηγή πρωτεΐνης και με χαμηλή διαπερατότητα στην υγρασία και τους υδρατμούς (Hammam, 2019).

1.1.2.1.2 Ζελατίνη

Η ζελατίνη είναι μια φυσική, υδατοδιαλυτή πρωτεΐνη που προέρχεται από το ζωικό κολλαγόνο. Χαρακτηρίζεται από την έλλειψη έντονης οσμής και το άχρωμο παρουσιαστικό της, γεγονός που της επιτρέπει να δημιουργεί διάφανα φιλμ. Παράγεται μέσω μερικής υδρόλυσης του κολλαγόνου, μιας πρωτεΐνης που βρίσκεται στους περισσότερους συνδετικούς ιστούς, όπως το δέρμα, τους τένοντες και τα οστά. Θεωρείται φυσικό πολυμερές, το οποίο βρίσκεται σε αφθονία, έχει χαμηλό κόστος και είναι βιοαποικοδομήσιμο, καθιστώντας την μια καλή επιλογή για την βιομηχανία

τροφίμων (Ma Wen, et al. 2012 ; Musso et al., 2012). Ακόμη, είναι εύπεπτη πρωτεΐνη, που περιέχει όλα τα απαραίτητα αμινοξέα εκτός από την τρυπτοφάνη (Duconseille et al., 2015).

Το μεγαλύτερο ποσοστό παραγωγής ζελατίνης, λαμβάνεται από το δέρμα χοίρων και βοοειδών, ενώ όταν προορίζεται για χρήση σε φαρμακοβιομηχανίες, προτιμάται να λαμβάνεται από τα οστά των βοοειδών, η οποία είναι πιο σύνθετη και με μεγαλύτερο κόστος διαδικασία. Στη βιομηχανία φαρμάκων, είναι το κυρίαρχο συστατικό των φαρμάκων σε μορφή κάψουλας, και θεωρείται κατάλληλη διότι σε θερμοκρασία άνω των 30 °C, λιώνει και η φαρμακευτική ουσία απελευθερώνεται κατευθείαν στον πεπτικό σωλήνα λόγω της θερμοκρασίας του γαστρικού pH και των πεπτικών ενζύμων (Duconseille et al., 2015; Lisitsyn et al., 2021).

Μια άλλη ενναλακτική πηγή ζελατίνης, είναι εκείνη που προέρχεται από τα ψάρια, και παράγεται από τα υποπροϊόντα των αλιευμάτων, όπως κεφάλια, δέρμα, οστά, πτερύγια, μυϊκά μέρη, λέπια και εσωτερικά όργανα. Λόγω της περιορισμένης της παραγωγής, τα προϊόντα που παράγονται από ζελατίνη ψαριών έχουν μεγαλύτερο κόστος από εκείνα που παράγονται από ζελατίνη θηλαστικών. Επίσης, η ζελατίνη ψαριών είναι λιγότερο σταθερή από τη ζελατίνη θηλαστικών (Duconseille et al., 2015; Lisitsyn et al., 2021).

Οι εδώδιμες μεμβράνες με βάση τη ζελατίνη, παρουσιάζουν μηχανική αντοχή και φραγμούς ενάντια στο οξυγόνο. Για τη δημιουργία μιας τέτοιας μεμβράνης, θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί υψηλή συγκέντρωση ζελατίνης, ώστε να μπορέσει να σταθεί σε θερμοκρασία δωματίου. Όταν όμως οι μεμβράνες αυτές, έρθουν σε επαφή με τρόφιμα με υψηλή περιεκτικότητα σε υγρασία, διογκώνονται και μπορούν να διαλυθούν (Kowalczyk et al., 2021; Bigi et al., 2002; Lisitsyn et al., 2021).

1.1.2.2 Πρωτεΐνες φυτικής προέλευσης

1.1.2.2.1 Πρωτεΐνη βιομηχανικής κάνναβης

Η στροφή των καταναλωτών στην κατανάλωση προϊόντων που περιέχουν συστατικά φυτικής προελεύσεως σημειώνεται τα τελευταία χρόνια ολοένα και περισσότερο. Παρατηρείται μεγάλη ζήτηση σε φυτικές πρωτεΐνες, όχι μόνο και λόγω των ευεργετικών τους επιδράσεων στην υγεία, αλλά και για ηθικούς και θρησκευτικούς λόγους (Sá et al., 2020).

Ανάμεσα στις φυτικές πρωτεΐνες ανήκει και αυτή που προέρχεται από τη βιομηχανική κάνναβη, η οποία έχει αποκτήσει μεγάλο ενδιαφέρον. Οι σπόροι κάνναβης είναι πλούσιοι σε λάδι, πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, αδιάλυτες ίνες, βιταμίνες, θρεπτικά μέταλλα και μακροθρεπτικά συστατικά. Επειδή αποτελεί πλήρη πηγή θρεπτικών συστατικών, χαρακτηρίζεται διατροφικά ως υπερτροφή (Shen et al., 2021).

Θεωρείται μια από τις ασφαλέστερες φυτικές πρωτεΐνες για τον άνθρωπο, χάρη στη θρεπτική της αξία, την εξαιρετική πεπτικότητα και κυρίως τη χαμηλή αλλεργιογόνο δράση της, σε σχέση με άλλες φυτικές πρωτεΐνες. Για αυτούς τους λόγους, τα προϊόντα που περιέχουν κάνναβη, κερδίζουν όλο και περισσότερο αναγνώριση ως ευεργετικά για την υγεία του ανθρώπου (Shen et al., 2021).

Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη στους ολόκληρους σπόρους κάνναβης είναι μεταξύ 20% και 25%, ανάλογα με την ποικιλία του σπόρου κάνναβης, ενώ στους αποφλοιωμένους σπόρους, το ποσοστό αυτό είναι μεγαλύτερο (Farinon et al., 2020). Η χρήση της βιομηχανικής κάνναβης στα τρόφιμα θεωρείται κατάλληλη λόγω της χαμηλής περιεκτικότητας σε τετραϋδροκανναβινόλη (THC) και των υψηλότερων συγκεντρώσεων κανναβιδιόλης (CBD), μιας ουσίας που χρησιμοποιείται επίσης στη φαρμακευτική και θεωρείται απολύτως ασφαλής για τον άνθρωπο (Liu et al., 2022).

Παρόλο που υπάρχουν αρκετές μελέτες για την ανάπτυξη εδώδιμων μεμβρανών από πρωτεΐνες, η μελέτη της ανάπτυξης μεμβρανών από πρωτεΐνη βιομηχανικής κάνναβης είναι περιορισμένη.

1.1.2.2.2 Πρωτεΐνη σόγιας

Μια ακόμη φυτική πηγή πρωτεΐνης, είναι εκείνη που προέρχεται από τα φασόλια σόγιας, η οποία τα τελευταία χρόνια έχει γίνει ιδιαίτερος γνωστή, καθώς χρησιμοποιείται συχνά ως αντικατάστατο των ζωικών πρωτεϊνών στη διατροφή του ανθρώπου. Η σόγια έχει χαμηλή περιεκτικότητα σε κορεσμένα λιπαρά οξέα, είναι πλούσια σε φυτικές ίνες και σε βιταμίνες (Montgomery, 2003). Χρησιμοποιείται αρκετά από τη βιομηχανία τροφίμων, λόγω της υψηλής της περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και έλαιο, που αποτελούν περίπου το 56% του καρπού (Saldivar et al., 2011).

Η απομονωμένη πρωτεΐνη σόγιας (SPI), που συναντάται πιο συχνά, περιέχει 90% καθαρή πρωτεΐνη, και βρίσκεται σε αφθονία, είναι αρκετά οικονομική, θεωρείται βιοδιασπώμενη και μια θρεπτική πρώτη ύλη για τον ανθρώπινο οργανισμό. Οι περισσότερες πρωτεΐνες που περιέχονται στη SPI, είναι οι γλοβουλίνες (περίπου το 90%) (Kokoszka et al., 2010). Ένα από τα σημαντικότερα μειονεκτήματα αυτής της πρωτεΐνης είναι η ελαφριά γεύση φασολιών που μπορεί να έχει.

Οι μεμβράνες που δημιουργούνται από την πρωτεΐνη σόγιας αναμένεται να είναι εύθραυστες, λόγω της αυξημένης ακαμψίας και της αντοχής εφελκυσμού, που προκύπτουν από τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πλευρικών αλυσίδων των πρωτεϊνικών μορίων. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα κακές μηχανικές ιδιότητες, όπως οι περιορισμένες ιδιότητες φραγμού υγρασίας εξαιτίας των υδρόφιλων χαρακτηριστικών τους. Ωστόσο, μελέτες έχουν δείξει ότι οι ιδιότητες αυτές μπορούν να βελτιωθούν με διάφορες επεξεργασίες και με τη δημιουργία σύνθετων μεμβρανών (Na Cao et al., 2007; Kokoszka et al., 2010).

Η χρήση της πρωτεΐνης σόγιας για την παραγωγή εδωδιμων μεμβρανών, είναι ιδιαίτερα διαδεδομένη, προσφέροντας μια εναλλακτική λύση στα πλαστικά που εξακολουθούν να χρησιμοποιούνται στις συσκευασίες τροφίμων. Έχουν αναπτυχθεί αρκετές σύνθετες μεμβράνες με βάση την πρωτεΐνη σόγιας, προκειμένου να δημιουργηθούν μεμβράνες με βελτιωμένες ιδιότητες (Kokoszka et al., 2010).

1.1.3 Μεμβράνες λιπιδίων

Τα λιπίδια είναι οργανικές ενώσεις που προέρχονται από φυσικές πηγές όπως τα ζώα, τα έντομα και τα φυτά. Αποτελούνται από φωσφολιπίδια, φωσφατίδια, μονο-, δι- και τρι-γλυκερίδια, τερπένια, σερβεροσίδια, λιπαρή αλκοόλη και λιπαρά οξέα (Hassan et al., 2018). Εδώ και πολλά χρόνια χρησιμοποιούνται κυρίως για τη συντήρηση των φρούτων και των λαχανικών.

Ωστόσο, επειδή δεν ανήκουν στα πολυμερή, δεν μπορούν να σχηματιστούν μεμβράνες με την απαραίτητη μηχανική αντοχή. Επομένως, συνήθως συνδυάζονται με άλλα υλικά, συχνά με υδροκολλοειδή, για την παραγωγή μεμβρανών (Παπαδάκης, 2018).

Αν και έχουν λιπαρή επιφάνεια και κηρώδη γεύση, καθώς και χαμηλή αντοχή, παρέχουν ικανοποιητικό φραγμό στην υγρασία, λόγω της μικρής πολικότητάς τους. Επίσης, βελτιώνουν την εμφάνιση του τροφίμου, προσδίδοντάς του χαρακτηριστική στιλπνότητα. Οι επικαλύψεις από κηρούς, είναι αρκετά πιο ανθεκτικές στη μεταφορά υγρασίας, σε σχέση άλλες εδωδιμες επικαλύψεις, είτε από λιπίδια είτε από υδροκολλοειδή.

Επιπλέον, το κερί μέλισσας, χρησιμοποιείται ως συστατικό των μεμβρανών, καθώς είναι αναγνωρισμένο ως GRAS. Πολλά λιπαρά οξέα χρησιμοποιούνται επίσης ως πλαστικοποιητές, όπως η γλουτένη σιτού (Παπαδάκης, 2018 ; Salah et al., 2020).

1.2 Πρόσθετα εδωδιμων μεμβρανών

Οι εδωδιμες μεμβράνες ενισχύονται με την προσθήκη διαφόρων ουσιών με σκοπό τη βελτίωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών τους. Αυτές οι ουσίες μπορεί να περιλαμβάνουν αρωματικές ή χρωστικές ενώσεις, με στόχο την ενίσχυση της γεύσης και του χρώματος. Επίσης, η προσθήκη πλαστικοποιητή βελτιώνει τις μηχανικές ιδιότητες των μεμβρανών, καθιστώντας τις πιο εύκαμπτες και ανθεκτικές. Τέλος, η προστασία από μικροβιακές αλλοιώσεις επιτυγχάνεται με τη χρήση αιθέριων ελαίων που διαθέτουν αντιμικροβιακές ιδιότητες.

1.2.1 Πλαστικοποιητές

Οι μεμβράνες που προέρχονται από πολυσακχαρίτες ή πρωτεΐνες, είναι αρκετά εύθραυστες, λόγω των εκτεταμένων διαμοριακών δυνάμεων τους. Για να αποκτήσουν ευκαμψία, ευλυγισία και ανθεκτικότητα, καθώς και για να ενισχύουν τις ιδιότητες φραγμού, προστίθενται πλαστικοποιητές σε αυτές. Οι πλαστικοποιητές είναι χαμηλού μοριακού βάρους, μη πτητικοί και υδρόφιλοι παράγοντες, που προστίθενται για τη βελτίωση των μηχανικών ιδιοτήτων. Συνήθως χρησιμοποιείται γλυκερόλη, σορβιτόλη, και γλυκόζη. Επιπλέον, το νερό δρα ως πλαστικοποιητής λόγω του υδρόφιλου χαρακτήρα του (Kandasamy et al., 2021 ; Salah et al., 2020).

1.2.2 Βακτηριακή κυτταρίνη

Η βακτηριακή κυτταρίνη, είναι ένας φυσικός πολυσακχαρίτης που προέρχεται από τη ζύμωση του *Acetobacter* sp., με ιδιότητες που προσομοιάζουν εκείνες της φυτικής κυτταρίνης. Χαρακτηρίζεται ως GRAS τρόφιμο, γεγονός που επιτρέπει τη χρήση της χωρίς αμφιβολία σε προϊόντα προς κατανάλωση καθώς και σε βιοαποικοδομήσιμες συσκευασίες. Επιπλέον, η βακτηριακή κυτταρίνη μπορεί να παραχθεί από πληθώρα απορριμμάτων τροφίμων, εξασφαλίζοντας τη διαθεσιμότητα των πρώτων υλών, σε αντίθεση με τη φυτική κυτταρίνη που προέρχεται κυρίως από το ξύλο (Papadaki et al., 2022).

Στις ιδιότητες της βακτηριακής κυτταρίνης περιλαμβάνονται η υψηλή ικανότητα συγκράτησης νερού, ο μεγάλος βαθμός πολυμερισμού, η βιοαποικοδομησιμότητα της και η μηχανική της σταθερότητα, χαρακτηριστικά που την καθιστούν ένα εξαιρετικό πρόσθετο για την ανάπτυξη εδώδιμων μεμβρανών (Wang et al., 2018).

1.2.3 Αιθέρια έλαια

Τα αιθέρια έλαια, είναι ουσίες που απομονώνονται από αρωματικά φυτά μέσω τεχνικών εκχύλισης αρωμάτων, όπως η απόσταξη. Είναι εμπλουτισμένα με υλικά που έχουν μεγάλη υδροφοβικότητα και πτητικότητα. Αν και ονομάζονται αιθέρια έλαια, δεν είναι απαραίτητα για τον οργανισμό, ωστόσο, όπως όλα τα έλαια είναι ελάχιστα διαλυτά στο νερό. Έχουν σημαντική αντιμικροβιακή δράση χάρη στα συστατικά τους, όπως τα τερπενοειδή, τα τερπένια και άλλες αρωματικές ενώσεις. Αυτά τα συστατικά συμβάλλουν στη διασφάλιση της μικροβιακής σταθερότητας και παρατείνουν τη διάρκεια ζωής των προϊόντων διατροφής (Salah et al., 2020 ; Papadaki et al., 2023 ; Calo et al., 2015).

Σε σύγκριση με άλλους αντιβακτηριδιακούς παράγοντες που προστίθενται στα τρόφιμα απευθείας, η προσθήκη αιθέριων ελαίων στη μεμβράνη συσκευασίας, επιτρέπει τη σταδιακή απελευθέρωση στην επιφάνεια του συσκευασμένου τροφίμου. Αυτό διατηρεί τις συγκεντρώσεις των ενεργών συστατικών για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα. Αν η προσθήκη του αιθέριου ελαίου γίνει απευθείας στο τρόφιμο, θα αντιδράσει πιο γρήγορα με αυτό, με αποτέλεσμα να εξατμιστεί και να μειωθεί η δράση του. Η συγκέντρωση των αιθέριων ελαίων στις μεμβράνες είναι επίσης σημαντική, καθώς η αύξησή της οδηγεί σε καλύτερα αποτελέσματα (Liu et al., 2021).

1.2.3.1 Αιθέριο έλαιο θυμαριού

Το αιθέριο έλαιο θυμαριού (E.O.), θεωρείται από τα πιο αποτελεσματικά αιθέρια έλαια, λόγω της ισχυρής αντιβακτηριδιακής του ικανότητας που αποδίδεται στις φαινολικές ενώσεις που περιέχει, όπως η θυμόλη, η καρβακρόλη, η λιναλοόλη και η γερανιόλη (Emiroğlu et al., 2010). Εκτός από την αντιβακτηριδιακή του δράση έναντι Gram-θετικών και Gram-αρνητικών βακτηρίων, το αιθέριο έλαιο θυμαριού έχει επίσης αντική, αντιμυκητιακή, αντιοξειδωτική, και αντιφλεγμονώδη δράση (Kowalczyk et al., 2020).

1.2.3.2 Αιθέριο έλαιο κανέλας

Το αιθέριο έλαιο κανέλας, έχει αποδειχθεί ότι διαθέτει αντιβακτηριδιακές, αντικαρκινικές, αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδης ιδιότητες (Li et al., 2013). Το κύριο συστατικό του ελαίου, είναι η κινναμαλδεΰδη, και περιέχονται ακόμη λιναλοόλη, καμφορά και ακόμη πολλές φαινολικές ενώσεις (Abdelwahab et al., 2017). Το αιθέριο έλαιο προέρχεται από τον φλοιό της κανέλας και περιέχει μεγάλες ποσότητες τερπενίων και αρωματικών ενώσεων. Χρησιμοποιείται ευρέως ως καρύκευμα, σε τρόφιμα και ποτά αλλά και σε καλλυντικά και φαρμακευτικά σκευάσματα (Zhang et al., 2016).

1.3 Πλεονεκτήματα-Μειονεκτήματα εδώδιμων μεμβρανών

Σημαντικό είναι να επισημανθεί ότι η ανάπτυξη των εδώδιμων μεμβρανών, δεν στοχεύει στο να αντικαταστήσει εξ ολοκλήρου τα υπόλοιπα είδη συσκευασιών, αλλά στο να λειτουργήσουν συμπληρωματικά, μειώνοντας την παραγωγή των συμβατικών συσκευασιών (Εικόνα 2).

Τα κυριότερα πλεονεκτήματα των εδώδιμων μεμβρανών σε σχέση με εκείνες που παράγονται από την πετροχημική βιομηχανία είναι τα εξής:

- 1) **Κατανάλωση:** Μπορούν να καταναλωθούν μαζί με το τρόφιμο που επικαλύπτουν, χωρίς να δημιουργούνται υπολείμματα που θα καταλήξουν στα σκουπίδια, συμβάλλοντας έτσι στη μείωση της περιβαλλοντικής ρύπανσης.
- 2) **Βιοαποικοδόμηση:** Ακόμα και αν δεν καταναλωθούν, τα υπολείμματα που αφήνουν βιοαποικοδομούνται πολύ πιο εύκολα σε σχέση με τα πλαστικά πολυμερή, αφού τα συστατικά τους είναι αποκλειστικά εδώδιμα και μη τοξικά υλικά.
- 3) **Συσκευασίες πολλαπλών στρωμάτων:** Χρησιμοποιούνται σε συσκευασίες που αποτελούνται από πολλά στρώματα, για παράδειγμα κατεψυγμένες πίτσες,

ανάμεσά τους, ώστε να διαχωρίζονται τα τρόφιμα μεταξύ τους και να παρεμποδίζεται η ανταλλαγή υγρασίας.

- 4) **Ατομικές συσκευασίες:** Μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως ατομικές συσκευασίες για μικρή ποσότητα τροφίμων, που είναι δύσκολο να συσκευαστούν, όπως ξηροί καρποί και φασόλια, για πρακτικούς και οικονομικούς λόγους.
- 5) **Βελτίωση οργανοληπτικών ιδιοτήτων:** Βελτιώνουν τις οργανοληπτικές ιδιότητες των τροφίμων που συσκευάζουν, αν τους προστεθούν αρωματικές ενώσεις, χρωστικές ή ακόμη και ιδιότητες από υδροφοβικότητα και υδροφιλικότητα.
- 6) **Θρεπτική αξία:** Μπορούν να δράσουν συμπληρωματικά στη θρεπτική αξία του τροφίμου, ειδικά εκείνες που παράγονται από πρωτεΐνες, χάρη στα απαραίτητα αμινοξέα που περιέχουν.
- 7) **Προστασία τροφίμου:** Προστατεύουν το τρόφιμο από εξωτερικές αλλοιώσεις, διατηρούν την υγρασία του τροφίμου και του προσφέρουν μηχανική σταθερότητα μέχρι να φτάσει στον καταναλωτή χωρίς φθορές.
- 8) **Ανανεώσιμες πρώτες ύλες:** Υπάρχει αφθονία σε ανανεώσιμες πρώτες ύλες για την παραγωγή εδωδίων μεμβρανών.
- 9) **Φορείς αντιμικροβιακών και αντιοξειδωτικών:** Δρουν ως φορείς αντιμικροβιακών και αντιοξειδωτικών ενώσεων, ελέγχοντας τον ρυθμό διάχυσης των ενώσεων από την εξωτερική επιφάνεια στο εσωτερικό του τροφίμου.
- 10) **Πολυστρωματικές συσκευασίες:** Μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε πολυστρωματικές συσκευασίες μαζί με πλαστικό ή χαρτί, μειώνοντας τα απορρίμματα, και καθιστώντας τις συσκευασίες περισσότερο ανακυκλώσιμες. Το στρώμα του εδωδιού φιλμ, συνήθως είναι εκείνο που έρχεται σε άμεση επαφή με το τρόφιμο.

- 11) **Ελεγχόμενη ανταλλαγή αερίων:** Επιτρέπουν την ελεγχόμενη ανταλλαγή αερίων που απαιτείται για την αναπνοή του τροφίμου, όπως οξυγόνο, διοξείδιο του άνθρακα και αιθυλένιο.
- 12) **Ενθυλάκωση συστατικών:** Είναι δυνατό να γίνει ενθυλάκωση καρυκευμάτων, εκχυλισμάτων και καλλιιεργειών εκκίνησης στο εσωτερικό τους, συμβάλλοντας στον έλεγχο του ρυθμού απελευθέρωσης τους στο τρόφιμο (Παπαδάκης, 2018 ; Petkoska et al., 2020).



Εικόνα 2. Πλεονεκτήματα εδωδιμων μεμβρανών (Petkoska et al., 2021).

Αν και οι εδωδιμες μεμβράνες έχουν μελετηθεί εκτενώς οι πρακτικές εφαρμογές τους παραμένουν περιορισμένες, με αποτέλεσμα να μην γνωρίζουμε την ακριβή τους συμπεριφορά σε σχέση με τα τρόφιμα. Είναι γνωστό ότι παρουσιάζουν αδυναμία στη μηχανική αντοχή, καθώς συνήθως είναι εύθραυστες και έχουν υψηλή διαπερατότητα σε υδρατμούς και υγρασία. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε αλλοίωση των τροφίμων και

να επηρεάσει τη διάρκεια ζωής τους. Επιπλέον, λόγω της βιαποκοδομησιμότητας τους, η διάρκεια ζωής τους είναι πιο μικρή σε σχέση με τα συνθετικά πολυμερή που ήδη χρησιμοποιούνται στη συσκευασία τροφίμων.

Είναι επιτακτική ανάγκη να αναπτυχθούν εδώδιμα φιλμ που θα επεκτείνουν τη διάρκεια ζωής των τροφίμων αλλά και διαφορετικές μεμβράνες για κάθε είδος τροφίμου, ανάλογα με τις ανάγκες του. Αυτό θα εξασφαλίσει τα καλύτερα δυνατά αποτελέσματα σε ό,τι αφορά στη συντηρησιμότητα και στην ασφάλεια των τροφίμων (Παπαδάκης, 2018).

1.4 Χρήσεις εδωδίων μεμβρανών- επικαλύψεων

Οι εδωδιμες συσκευασίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν όπου υπάρχουν πλαστικές συσκευασίες στην παραγωγή τροφίμων. Μερικές από τις εμπορικές εφαρμογές των εδωδίων μεμβρανών και επικαλύψεων περιλαμβάνουν:

- 1) Κάψουλες φαρμάκων:** Χρησιμοποιούνται ως κάψουλες σε φάρμακα από ζελατίνη, αντικαθιστώντας τις ήδη υπάρχουσες, για ευκολότερη κατάποση, συγκράτηση του προϊόντος και βελτίωση της εμφάνισης του.
- 2) Λουκάνικα:** Χρησιμοποιούνται για την εξασφάλιση της δομικής ακεραιότητας των λουκάνικων, καθώς και για τον περιορισμό της μεταφοράς οξυγόνου και απώλειας υγρασίας.
- 3) Ασιατική κουζίνα:** Μπορούν να αντικαταστήσουν τα φύλλα από φύκια με μεμβράνες από λαχανικά, ή να χρησιμοποιηθούν μεμβράνες από φρούτα ως περιτύλιγμα σε μπισκότα.
- 4) Φρέσκα φρούτα και λαχανικά:** Εφαρμόζονται για να περιοριστεί η απώλεια υγρασίας και να ελέγχεται η ανταλλαγή οξυγόνου και διοξειδίου του άνθρακα, καθυστερώντας έτσι την ωρίμανση τους και διατηρώντας τις πτητικές αρωματικές ουσίες.

- 5) **Τηγανητά προϊόντα:** Επικαλύψεις από παράγωγα της κυτταρίνης, μειώνουν τη απορρόφησης ελαίων κατά το τηγάνισμα και διατηρούν την τραγανότητα σε παναρισμένα προϊόντα.
- 6) **Κρέας, πουλερικά και ιχθυηρά:** Οι επικαλύψεις αποτρέπουν την απώλεια υγρασίας και την οξείδωση, βελτιώνοντας τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και τη μικροβιακή σταθερότητα.
- 7) **Τυριά:** Η χρήση εδωδιμων συσκευασιών, στόχευε στον έλεγχο της μικροβιακής αλλοίωσης και προσδίδει επιπλέον προστασία, έναντι των παθογόνων μικροοργανισμών (Παπαδάκης, 2018).

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής μελέτης

Η παρούσα εργασία είχε ως στόχο τη βελτίωση των φυσικοχημικών και αντιμικροβιακών ιδιοτήτων των εδώδιμων μεμβρανών. Πιο συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκαν δύο πειράματα, που αφορούσαν στη χρήση δυο διαφορετικών πρωτεϊνών, μια ζωικής προελεύσεως και μια φυτικής προελεύσεως.

Στο πρώτο πείραμα, χρησιμοποιήθηκε πρωτεΐνη τυρογάλακτος για την ανάπτυξη εδώδιμων μεμβρανών, η οποία έχει μελετηθεί και εφαρμοστεί αρκετές φορές για το σκοπό αυτό. Παρά τις έρευνες, υπάρχουν περιθώρια βελτίωσης, ειδικά όσον αφορά στις αντιμικροβιακές ιδιότητες. Για την αύξηση της αντιμικροβιακής δράσης, προστέθηκαν βακτηριακή κυτταρίνη και αιθέριο έλαιο θυμαριού (*Thymus vulgaris*), σε διαφορετικές συγκεντρώσεις. Αυτές οι ουσίες έχουν αποδειχθεί αποτελεσματικές στην προστασία των τροφίμων από παθογόνους μικροοργανισμούς. Δημιουργήθηκαν μεμβράνες με αιθέριο έλαιο (Essential oil, E.O.) σε συγκεντρώσεις 3 και 5 % και μεμβράνες με ίδιες συγκεντρώσεις αιθέριου ελαίου και 5% w/w βακτηριακή κυτταρίνη (Bacterial Cellulose, B.C.). Αυτές συγκρίθηκαν με μεμβράνες χωρίς προσθήκη αιθέριου ελαίου και βακτηριακής κυτταρίνης, καθώς και με μεμβράνες που περιείχαν μόνο βακτηριακή κυτταρίνη. Εξετάστηκε η αντιμικροβιακή δράση έναντι των παθογόνων βακτηρίων, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* και *Salmonella enteritidis* και μυκήτων *Aspergillus niger* και *Aspergillus flavus*.

Το δεύτερο πείραμα, είχε ως στόχο την ανάπτυξη εδώδιμων μεμβρανών με τη χρήση φυτικής πρωτεΐνης και συγκεκριμένα την πρωτεΐνη βιομηχανικής κάνναβης. Η βιομηχανική κάνναβη έχει αποκτήσει μεγάλο επιστημονικό ενδιαφέρον, λόγω των ευεργετικών της ιδιοτήτων για την ανθρώπινη υγεία, και θεωρείται κατάλληλη για την παραγωγή εδώδιμων μεμβρανών. Η ανάπτυξη εδώδιμων μεμβρανών από πρωτεΐνη βιομηχανικής κάνναβης, έχει μελετηθεί ελάχιστα, συνεπώς χρειάζονται αρκετά πειράματα ώστε να δημιουργηθεί η μεμβράνη εκείνη που θα έχει τις καλύτερες ιδιότητες και θα θεωρείται κατάλληλη για τη χρήση στη βιομηχανία τροφίμων. Για να επιτευχθεί ο σκοπός αυτός, δημιουργήθηκαν μεμβράνες με διαφορετικές τιμές pH

(8,9,10,11 και 12) και σε διαφορετικές θερμοκρασίες (70 °C, 80°C, και 90°C) κατά τη μετουσίωση της πρωτεΐνης. Τέλος, μελετήθηκαν οι φυσικές ιδιότητες των μεμβρανών και έγινε σύγκριση των αποτελεσμάτων.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ II

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

2.1 Παρασκευή εδώδιμων μεμβρανών

2.1.1 Παρασκευή εδώδιμων μεμβρανών από πρωτεΐνη τυρογάλακτος

Για την παρασκευή των εδώδιμων μεμβρανών, αρχικά, πραγματοποιήθηκε ενυδάτωση της πρωτεΐνης τυρογάλακτος (7% w/w) σε απιονισμένο νερό, υπό συνεχή ανάδευση για τουλάχιστον δύο ώρες. Έπειτα, το pH του διαλύματος ρυθμίστηκε στο 8 με προσθήκη 1M NaOH, και θερμάνθηκε στους 80 °C υπό ανάδευση για 30 λεπτά. Στη συνέχεια, το διάλυμα ψύχθηκε σε θερμοκρασία περιβάλλοντος έτσι ώστε να σταματήσει οποιαδήποτε περαιτέρω μετουσίωση της πρωτεΐνης και έγινε προσθήκη της γλυκερόλης, σε συγκέντρωση 40% w/w, με βάση την ποσότητα της πρωτεΐνης. Έπειτα, το διάλυμα ομογενοποιήθηκε για 3 λεπτά στις 10.000 στροφές (HG-15D, Witeg Labortechnik GMBH, Wertheim, Germany), και τοποθετήθηκε σε λουτρό υπερήχων (Sonica 2400 M S3, Soltec, Milano, Italy), για 15 λεπτά ώστε να μειωθούν οι φυσαλίδες που είχαν δημιουργηθεί λόγω της ομογενοποίησης. Τέλος, 9 mL διαλύματος μεταφέρθηκαν σε ειδικά καλούπια σιλικόνης, και έμειναν σε ειδικό θάλαμο υγρασίας σε θερμοκρασία 30°C με σχετική υγρασία 60 % για 24 ώρες. Στις περιπτώσεις που χρησιμοποιήθηκε αιθέριο έλαιο θυμαριού, η προσθήκη του έγινε πριν την ομογενοποίηση στις αντίστοιχες συγκεντρώσεις (3% w/v και 5% w/v), ενώ η βακτηριακή κυτταρίνη (5% w/w, με βάση την ποσότητα της πρωτεΐνης) προστέθηκε μετά τη ρύθμιση του pH.

2.1.2 Παρασκευή εδώδιμων μεμβρανών από πρωτεΐνη βιομηχανικής κάνναβης

Οι εδώδιμες μεμβράνες προετοιμάστηκαν, με την ενυδάτωση της πρωτεΐνης βιομηχανικής κάνναβης, σε συγκέντρωση 5% w/w, σε απιονισμένο νερό, υπό συνεχή ανάδευση για ένα βράδυ. Έπειτα, δοκιμάστηκαν διαφορετικές τιμές pH (8, 9, 10, 11 και 12) και διαφορετικές θερμοκρασίες (70 °C, 80 °C, και 90°C). Η ρύθμιση του pH

πραγματοποιήθηκε με προσθήκη 1M NaOH και η μετουσίωση της πρωτεΐνης διήρκησε 30 λεπτά, υπό συνεχή ανάδευση. Η θερμοκρασία του διαλύματος κατήλθε σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και προστέθηκε γλυκερόλη (50% w/w, με βάση την ποσότητα της πρωτεΐνης). Το διάλυμα ομογενοποιήθηκε για 5 λεπτά στις 4500 στροφές (HG-15D, Witeg Labortechnik GMBH, Wertheim, Germany). Για να μειωθούν οι φυσαλίδες που είχαν δημιουργηθεί λόγω της ομογενοποίησης, ο ουροσυλέκτης που περιείχε το διάλυμα, τοποθετήθηκε σε λουτρό υπέρηχων (Sonica 2400 M S3, Soltec, Milano, Italy), έως ότου αυτές απομακρυνθήκαν. Ποσότητα διαλύματος μεταφέρθηκε σε ειδικά καλούπια σιλικόνης, και έμειναν σε ειδικό θάλαμο υγρασίας σε θερμοκρασία 30°C και σχετική υγρασία 60%, μέχρι να στεγνώσουν.

2.2 Μελέτη των αντιμικροβιακών ιδιοτήτων των μεμβρανών

Προκειμένου να εξεταστεί η δράση του αιθέριου ελαίου που περιείχαν οι εδώδιμες μεμβράνες, έναντι των παθογόνων μικροοργανισμών, κόπηκαν σε μορφή δισκίων με διάμετρο 19 mm. Οι μεμβράνες αποστειρώθηκαν με τη χρήση ειδικού λαμπτήρα UV, για κάθε πλευρά 5 λεπτά, και διατηρήθηκαν σε αποστειρωμένα γυάλινα τρυβλία Petri.

2.2.1 Βακτήρια

Για τη διεξαγωγή της έρευνας, χρησιμοποιήθηκαν 4 παθογόνα βακτήρια που σχετίζονται με τα τρόφιμα, συγκεκριμένα *Listeria monocytogenes* (B124), *Staphylococcus aureus* (B134), *Pseudomonas aeruginosa* (B223) και *Salmonella enteritidis* (B286). Το κάθε παθογόνο βακτήριο, σε συγκέντρωση 10 μ L, μεταφέρθηκε υπό ασηπτικές συνθήκες σε δοκιμαστικούς σωλήνες με 10 mL Tryptone Soy Broth (TSB), και αναδεύτηκε. Ακολούθησε επώαση για 24 ώρες στους 37 °C και πραγματοποιήθηκε η 2η ανανέωση, όπου μεταφέρθηκαν 10 μ L από την 1η ανανέωση σε 10 mL TSB, αναδεύτηκε και ακολούθησε ξανά επώαση. Αφού έχει ολοκληρωθεί και η 2η ανανέωση, το εμβόλιο αραιώθηκε κατάλληλα, έως ότου η τελική συγκέντρωση των κυττάρων να είναι 10⁶ cfu/mL. Σε τρυβλία Petri που περιείχαν Tryptic Soy Agar (TSA) κατάλληλη ποσότητα από το εκάστοτε παθογόνο, εφαρμόστηκε σε όλη την επιφάνεια του τρυβλίου με τη χρήση αποστειρωμένου swab.

Έπειτα, εφαρμόστηκε στο κέντρο του τρυβλίου το δισκίο μεμβράνης. Η όλη διαδικασία έγινε υπό ασηπτικές συνθήκες και τα τρυβλία τοποθετήθηκαν σε θάλαμο στους 37 °C για 24 ώρες.

2.2.2 Μύκητες

Στη συνέχεια, χρησιμοποιήθηκαν δύο διαφορετικοί μύκητες, ο *Aspergillus niger* και ο *Aspergillus flavus*. Αρχικά, με τη βοήθεια κρίκου, τοποθετήθηκε στο κέντρο κάθε τρυβλίου με θρεπτικό υπόστρωμα Potato Dextrose Agar (PDA) λίγη ποσότητα του εκάστοτε μύκητα, υπό ασηπτικές συνθήκες. Ακολούθησε επώαση στους 25 °C για 7 ημέρες, ώστε να αναπτυχθεί ο μύκητας. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε συλλογή των σπορίων του κάθε μύκητα, με τη χρήση πλαστικού κρίκου και διαλύματος Tween 80. Τα σπόρια συλλέχθηκαν και πραγματοποιήθηκε η κατάλληλη αραιώση έτσι ώστε η τελική συγκέντρωση των σπορίων να είναι 10^6 cfu/mL. Σε τρυβλία Petri που περιείχαν malt extract κατάλληλη ποσότητα μύκητα εφαρμόστηκε σε όλη την επιφάνεια του τρυβλίου με τη χρήση αποστειρωμένου swab. Έπειτα, εφαρμόστηκε στο κέντρο του τρυβλίου το δισκίο μεμβράνης. Η όλη διαδικασία έγινε υπό ασηπτικές συνθήκες και τα τρυβλία τοποθετήθηκαν σε θάλαμο στους 37 °C για 24 ώρες. Η αντιμικροβιακή δράση προσδιορίστηκε με βάση τον σχηματισμό ζώνης αναστολής (καθαρή επιφάνεια γύρω από τη μεμβράνη), σε κάθε μια από τις 4 περιπτώσεις με προσθήκη Ε.Ο., και έγινε σύγκριση τους με τις μεμβράνες που δεν υπήρχε καμία προσθήκη Ε.Ο. (control και δοκιμή με προσθήκη Β.С.). Για τον υπολογισμό, μετρήθηκαν οι ζώνες αναστολής από τη διάμετρο της μεμβράνης σε cm, σε τέσσερα διαφορετικά σημεία. Το πείραμα τόσο για τα βακτηριακά στελέχη, όσο και για τους μύκητες, πραγματοποιήθηκε δύο φορές.

2.3 Χαρακτηρισμός εδωδιμων μεμβρανών

2.3.1 Προσδιορισμός πάχους

Το πάχος κάθε μεμβράνης, μετρήθηκε με ψηφιακό μικρόμετρο (YATO TOOLS (Shanghai) Co., Ltd, China), με ακρίβεια 0,002 mm. Μετρήθηκαν πέντε διαφορετικά σημεία (τέσσερα περιμετρικά και το κέντρο της μεμβράνης). Η μέση τιμή πάχους για κάθε περίπτωση μεμβράνης, υπολογίστηκε μετά από 3 επαναλήψεις.

2.3.2 Προσδιορισμός της περιεκτικότητας σε υγρασία

Για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας των μεμβρανών σε υγρασία, λωρίδες μεμβρανών (4 cm × 1 cm) ζυγίστηκαν και τοποθετήθηκαν σε φούρνο ξήρανσης (UNB 400, Memmert, Germany), στους 70 °C μέχρι να σταθεροποιηθεί το βάρος τους. Ζυγίστηκαν ξανά και η περιεκτικότητα σε υγρασία (% w/w) υπολογίστηκε από την αφαίρεση του βάρους πριν το στέγνωμά από το αρχικό βάρος.

2.3.3 Προσδιορισμός διαλυτότητας σε νερό

Η διαλυτότητα των μεμβρανών, υπολογίστηκε με την εμβάπτιση τους σε ποτήρι ζέσεως με 30 mL απιονισμένου νερού, για 24 ώρες. Οι μεμβράνες ήταν κομμένες σε λωρίδες (4 cm × 1 cm). Το αδιάλυτο φιλμ, που παρέμεινε μετά από τις 24 ώρες, ξηράνθηκε στους 70°C για μέχρι τη σταθεροποίηση του βάρους του και υπολογίστηκε με βάση την παρακάτω εξίσωση:

$$S(\%) = \left(\frac{S_0 - S_1}{S_0} \right) \times 100$$

S₀: αρχικό ξηρό βάρος μεμβράνης

S₁: ξηρό βάρος μεμβράνης μετά την εμβάπτιση σε νερό

2.3.4 Προσδιορισμός διαπερατότητας υδρατμών

Για τη μέτρηση της διαπερατότητας υδρατμών (WVP), χρησιμοποιήθηκαν γυάλινα βαζάκια που περιείχαν 40 g silica gel, και τοποθετήθηκαν οι μεμβράνες, όπου σφραγίστηκαν με σιλικόνη. Οι μεμβράνες είχαν κενό 1 cm με το silica gel. Τα βαζάκια ζυγίστηκαν και τοποθετήθηκαν σε θάλαμο με κορεσμένο διάλυμα νιτρικού μαγνησίου με 50% υγρασία για 4 ημέρες. Το κάθε δείγμα ζυγίστηκε τουλάχιστον 10 φορές σε διαφορετικούς χρόνους, και κάθε φορά γινόταν και καταγραφή του ποσοστού υγρασίας στον θάλαμο. Η διαπερατότητα υδρατμών υπολογίστηκε από την κλίση της γραμμικής παλινδρόμησης του βάρους που αποκτήθηκε με την πάροδο του χρόνου ($R^2 \geq 0,99$). Χρησιμοποιήθηκε η παρακάτω εξίσωση για τον προσδιορισμό της διαπερατότητας των υδρατμών:

$$WVP = \frac{WVTR \times x}{\Delta p}$$

WVTR (g·m²·d): η κλίση (g/d) διαιρούμενη με την περιοχή μεταφοράς της μεμβράνης (m²)

x (mm): το πάχος της μεμβράνης

Δp (kPa): είναι η μερική πίεση υδρατμών στη μεμβράνη

2.3.5 Προσδιορισμός ικανότητα συγκράτησης νερού

Η ικανότητα συγκράτησης νερού των δειγμάτων, υπολογίστηκε ζυγίζοντας λωρίδες μεμβρανών (4 cm × 1 cm), και έπειτα εμβαπτίζοντας τες σε ποτήρι ζέσεως με 50 mL απεσταγμένου νερού για 2 λεπτά, και ζυγίζοντας τες ξανά. Η ικανότητα συγκράτησης νερού, υπολογίστηκε με βάση την παρακάτω εξίσωση:

$$SI (\%) = \left(\frac{S1 - S0}{S0} \right) \times 100$$

S0: αρχικό βάρος μεμβράνης

S1: βάρος μεμβράνης μετά την εμβάπτιση σε νερό

2.3.6 Προσδιορισμός οπτικών ιδιοτήτων

Η διαφάνεια των μεμβρανών, προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας φασματοφωτόμετρο ορατού υπεριώδους (Helios Omega, ThermoScientific, USA). Λωρίδες μεμβρανών (4 cm × 1 cm), τοποθετήθηκαν σε κυψελίδα και μετρήθηκε η διαπερατότητα φωτός (%T) σε περιοχή μήκους κύματος από 200-800 nm.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΙΙ

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

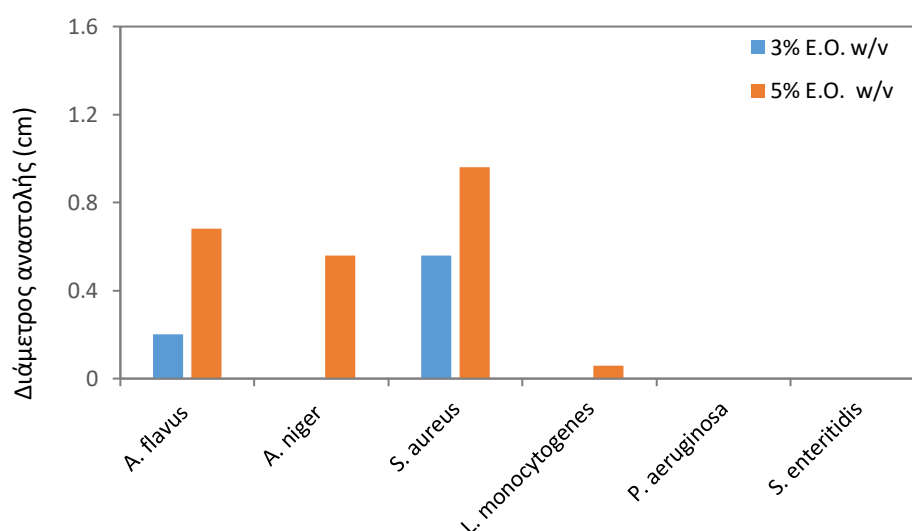
3.1 Παραγωγή μεμβρανών από πρωτεΐνη τυρογάλακτος με αντιμικροβιακή δράση

Στη συγκεκριμένη μελέτη, εξετάστηκαν οι αντιμικροβιακές ιδιότητες του αιθέριου ελαίου θυμαριού, όταν προστέθηκε στις εδωδιμες μεμβράνες μόνο του σε συγκεντρώσεις 3 και 5% w/v καθώς και σε συνδυασμό με βακτηριακή κυτταρίνη. Πιο συγκεκριμένα, μελετήθηκαν οι μυκήτες *Aspergillus niger* και *Aspergillus flavus*, και τα παθογόνα βακτήρια *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* και *Salmonella enteritidis*. Για τη σύγκριση των αποτελεσμάτων, πραγματοποιήθηκαν δοκιμές και σε μεμβράνες που δεν περιείχαν αιθέριο έλαιο (control), αλλά και σε μεμβράνες με προσθήκη μόνο βακτηριακής κυτταρίνης σε συγκέντρωση 5% w/w.

3.2.1 Επίδραση της συγκέντρωσης του αιθέριου ελαίου θυμαριού

Σε πρώτη φάση αξιολογήθηκε η επίδραση του αιθέριου ελαίου στις μεμβράνες σε δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις. Όπως φαίνεται στο Σχήμα 1, οι μεμβράνες με 5% w/v αιθέριο έλαιο εμφάνισαν μεγαλύτερες ζώνες αναστολής, σε σχέση με εκείνες που περιείχαν 3% w/v. Συγκεκριμένα, για τον *S. aureus* οι μέγιστες ζώνες αναστολής ήταν 0,96 cm στις μεμβράνες με 5% w/v E.O., ενώ οι μεμβράνες με 3% w/v E.O. εμφάνισαν μικρότερη ζώνη αναστολής (0,84 cm). Στην περίπτωση του *A. niger*, οι μεμβράνες με 3% w/v E.O., δεν έδωσαν κανένα αποτέλεσμα, σε αντίθεση με τις μεμβράνες με 5% w/v E.O., όπου η ζώνη αναστολής ήταν 0,56 cm. Μεγάλη διαφορά σημειώθηκε στον *A. flavus*, αφού οι μεμβράνες με 3% w/v E.O. εμφάνισαν ζώνη αναστολής 0,2 cm, ενώ οι μεμβράνες με 5% w/v E.O. είχαν ζώνη αναστολής 0,68 cm. Επιπλέον, όπως αναμενόταν οι μεμβράνες Control δεν είχαν αντιμικροβιακή δράση.

Συνολικά, από τους μικροοργανισμούς που μελετήθηκαν, ανιχνεύθηκαν ζώνες αναστολής στους δύο μύκητες και μόνο σε ένα θετικό κατά Gram βακτήριο, από τα τέσσερα που έγιναν δοκιμές. Ο *S. aureus* ήταν ο μικροοργανισμός που εμφάνισε μεγαλύτερη ζώνη αναστολής, σε σχέση με τους μύκητες, και στις δύο συγκεντρώσεις αιθέριου ελαίου. Παρόμοια μελέτη που χρησιμοποίησε αιθέριο έλαιο θυμαριού σε εδώδιμες μεμβράνες από πρωτεΐνη σόγιας σε συγκεντρώσεις από 0% έως 5% w/v, ανέφερε ότι ο *S. aureus* παρουσιάζει μεγαλύτερη ευαισθησία σε σχέση με άλλα παθογόνα, με τα αποτελέσματα να δείχνουν ότι το Ε.Ο. ήταν πιο δραστικό έναντι στον *S. aureus* (Emiroğlu et al., 2010).

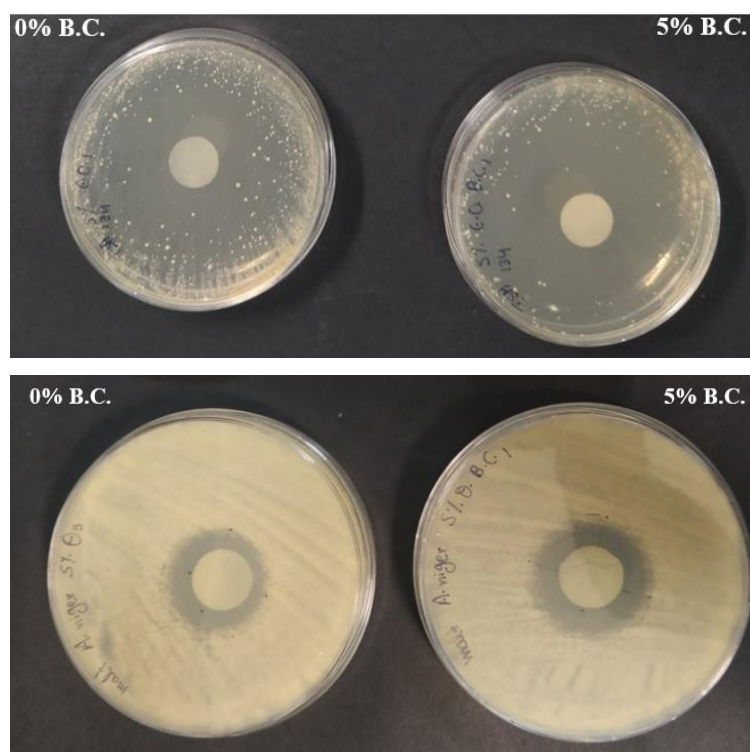


Σχήμα 1. Επίδραση της αντιμικροβιακής δράσης των εδώδιμων μεμβρανών από πρωτεΐνη τυρογάλακτος που περιείχαν 3% και 5% (w/v) αιθέριο έλαιο θυμαριού.

3.2.2 Επίδραση προσθήκης βακτηριακής κυτταρίνης

Στη συνέχεια μελετήθηκε η επίδραση της βακτηριακής κυτταρίνης καθώς έχει αναφερθεί ότι η προσθήκη της επιφέρει αλλαγές στις ιδιότητες των μεμβρανών αλλά και στο ρυθμό απελευθέρωσης του αιθέριου ελαίου (Papadaki et al., 2024). Παρατηρήθηκε πως ενώ οι μεμβράνες που περιείχαν μόνο βακτηριακή κυτταρίνη δεν

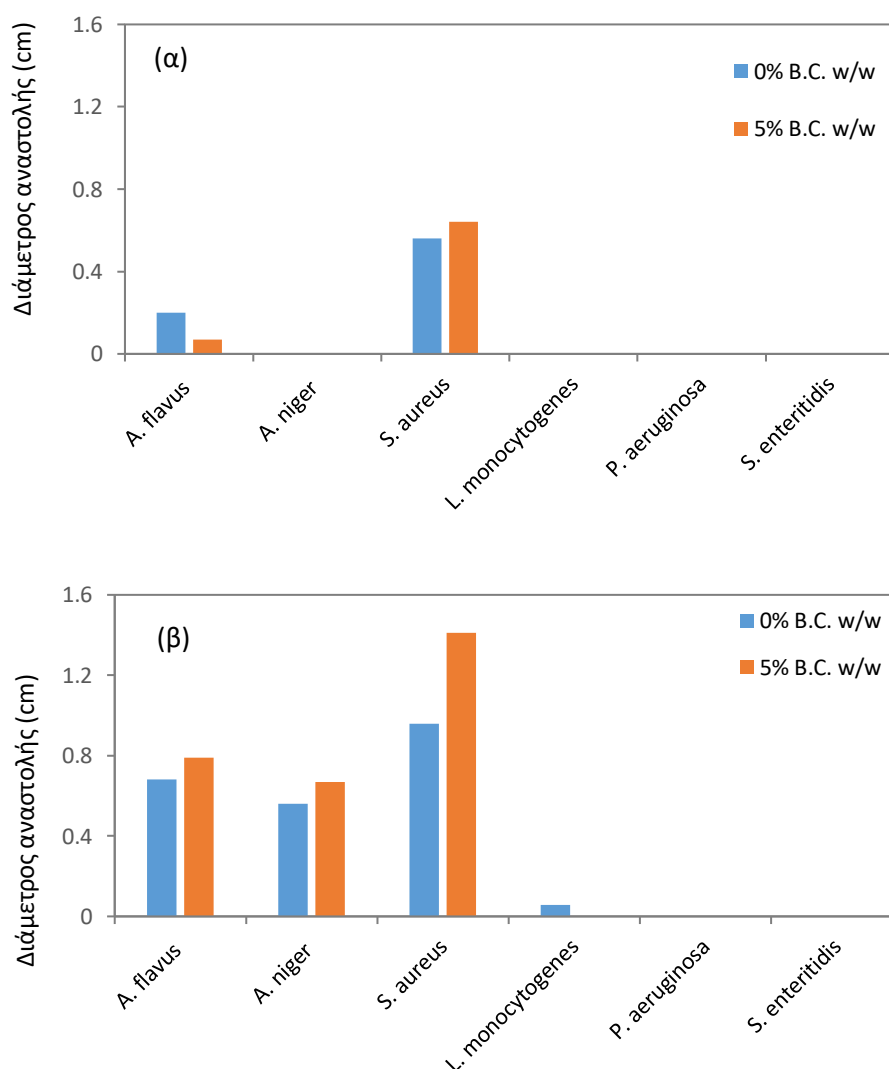
παρουσίασαν αντιμικροβιακή δράση, όταν ήταν σε συνδυασμό με Ε.Ο. τα αποτελέσματα ήταν καλύτερα σε σχέση με εκείνες που περιείχαν μόνο Ε.Ο. Πιο συγκεκριμένα, από τους μικροοργανισμούς που μελετήθηκαν, ανιχνεύθηκαν ζώνες αναστολής στους δύο μύκητες και μόνο σε ένα βακτήριο, από τα τέσσερα που έγιναν δοκιμές. Και σε αυτή την περίπτωση, ο *S. aureus* ήταν ο μικροοργανισμός που εμφάνισε μεγαλύτερη ζώνη αναστολής, σε σχέση με τους μύκητες, και στις δύο συγκεντρώσεις αιθέριου ελαίου (Εικόνα 3).



Εικόνα 3. Μακροσκοπική παρουσίαση της αντιμικροβιακής δράσης των εδώδιμων μεμβρανών με 5% w/v αιθέριο έλαιο θυμαριού, με και χωρίς βακτηριακή κυτταρίνη (0% και 5% B.C.) έναντι των μικροοργανισμών *Staphylococcus aureus* (πάνω) και *Aspergillus niger* (κάτω).

Στο Σχήμα 2(α,β), φαίνονται τα αποτελέσματα της αντιμικροβιακής δράσης των εδώδιμων μεμβρανών εμπλουτισμένες με Ε.Ο. και Β.Ο. Ειδικότερα, οι μέγιστες ζώνες

αναστολής ανιχνευθήκαν στις μεμβράνες με προσθήκη 5% w/v E.O. και B.C. οι οποίες ήταν 1,41 cm για τον *S. aureus*. Οι αντίστοιχες τιμές για τις μεμβράνες με 3% w/v E.O. και B.C. ήταν 0,64 cm. Σημαντικό είναι να αναφερθεί, ότι οι μεμβράνες με 5% w/v E.O. και B.C. έδωσαν καλύτερα αποτελέσματα σε σχέση με τις μεμβράνες με 5% w/v E.O., για τον *S. aureus*. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε αύξηση της αντιμικροβιακής δράσης κατά 46,9%. Ωστόσο, πρέπει να σημειωθεί ότι αυτή η επίδραση δεν παρατηρήθηκε στις μεμβράνες με 3% w/v E.O.



Σχήμα 2. Επίδραση της συγκέντρωσης της βακτηριακής κυτταρίνης στην αντιμικροβιακή δράση των εδώδιμων μεμβρανών από πρωτεΐνη τυρογάλακτος με προσθήκη (α) 3% w/v και (β) 5% w/v αιθέριου ελαίου θυμαριού.

3.3 Χαρακτηρισμός των φυσικών ιδιοτήτων των μεμβρανών

Εκτός από την αντιμικροβιακή δράση μελετήθηκαν και οι φυσικές ιδιότητες των μεμβρανών, οι οποίες αναφέρονται αναλυτικά στα επόμενα υποκεφάλαια. Στόχος ήταν να μελετηθεί η επίδραση προσθήκης του αιθέριου ελαίου και της βακτηριακής κυτταρίνης στις ιδιότητες των μεμβρανών οι οποίες καθορίζουν και την εφαρμογή τους στα διάφορα τρόφιμα.

3.3.1 Πάχος

Τα αποτελέσματα σχετικά με τις μετρήσεις του πάχους των μεμβρανών παρατίθενται στον Πίνακα 1. Όπως φαίνεται, οι μεταβολές στο πάχος των μεμβρανών ήταν πολύ μικρές, με τις μετρήσεις να κυμαίνονται από 0,09 έως 0,12 mm. Το αναμενόμενο θα ήταν να υπάρχει μικρή αύξηση, όπως έχει παρατηρηθεί σε παρόμοιες μελέτες με μεμβράνες από πρωτεΐνη τυρογάλακτος/αιθέριο έλαιο ρίγανης και μεμβράνες από αλγινικό νάτριο/αιθέριο έλαιο ρίγανης (Papadaki et al., 2024; Benavides et al., 2012).

Όπως παρατηρείται, λοιπόν, δεν σημειώθηκε ιδιαίτερη αύξηση του πάχους των μεμβρανών με την προσθήκη E.O. και B.C. όπως ειπώθηκε και πιο πάνω, σε προηγούμενες μελέτες έχει αναφερθεί ότι το E.O. έχει την τάση να σχηματίζει μικροσταγονίδια, δημιουργώντας φιλμ με υψηλότερο πάχος (Noshirvani et al., 2017). Κρίσιμο θεωρείται το στάδιο της ομογενοποίησης, καθώς συμβάλλει στην επιτυχή ενσωμάτωση το ελαίου στο διάλυμα. Η μη αποτελεσματική ομογενοποίηση, έχει ως αποτέλεσμα την εναπόθεση του ελαίου στην επιφάνεια της μεμβράνης.

Πίνακας 1. Επίδραση προσθήκης αιθέριου ελαίου θυμαριού (E.O.) και βακτηριακής κυτταρίνης (B.C.) στο πάχος και την υγρασία των εδώδιμων μεμβρανών από πρωτεΐνη τυρογάλακτος.

E.O. (%, w/v)	B.C. (%, w/w)	Πάχος (mm)	Υγρασία (%)
3	0	0,09 ± 0,02	18,10 ± 0,54
	5	0,09 ± 0,02	15,28 ± 0,71
5	0	0,12 ± 0,02	18,55 ± 1,86
	5	0,09 ± 0,03	13,88 ± 1,08

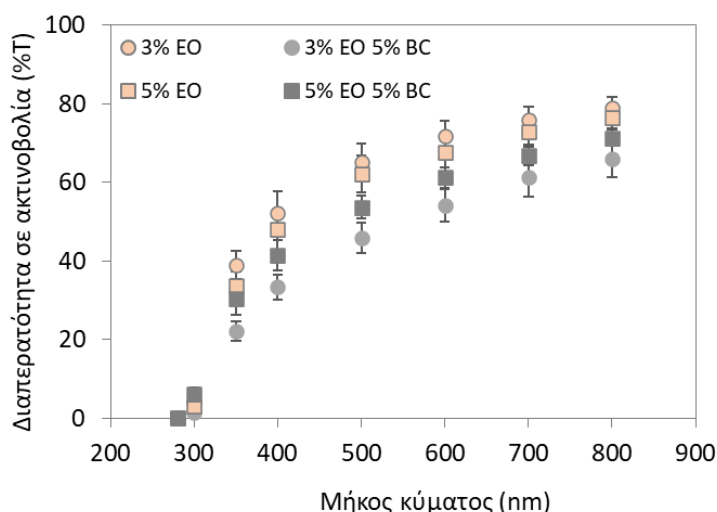
3.3.2 Περιεκτικότητα σε υγρασία

Η περιεκτικότητα σε υγρασία των μεμβρανών που περιείχαν B.C. μειώθηκε, όπως φαίνεται και στα αποτελέσματα του Πίνακα 1, με τιμές που κυμάνθηκαν στην περιοχή 13,88-15,28%. Αντίστοιχα στις μεμβράνες που έγινε προσθήκη μόνο E.O. οι τιμές ήταν ελαφρώς αυξημένες (18,10-18,55%). Στις μεμβράνες που ενσωματώθηκε B.C., αναμενόταν αυξημένη περιεκτικότητα σε υγρασία, λόγω της υδρόφιλης φύσης της B.C. Στην παρούσα ερεύνα, παρατηρήθηκε ότι η B.C., επηρέασε την αλληλεπίδραση νερού και πρωτεΐνης. Το ίδιο αποτέλεσμα παρατηρήθηκε και στο πείραμα των Papadaki et al. (2022), και αποδόθηκε στον σχηματισμό νέων δεσμών υδρογόνου μεταξύ της B.C. και της πρωτεΐνης τυρογάλακτος, όπου οδήγησαν στη μείωση των διαθέσιμων θέσεων δέσμευσης νερού.

3.3.3 Διαπερατότητα στην ακτινοβολία

Η διαφάνεια των μεμβρανών, πραγματοποιήθηκε με τη χρήση φασματοφωτομέτρου και τα αποτελέσματα φαίνονται στο Σχήμα 5. Ειδικότερα, παρατηρήθηκε ότι στα 280 nm οι μεμβράνες εμφανίζουν μηδενικές τιμές, που σημαίνει ότι κατάφεραν να διατηρήσουν την ικανότητα τους να παρεμποδίζουν την UVC ακτινοβολία, ανεξάρτητα από την προσθήκη E.O. ή B.C.. Αντίστοιχα, ίδιο συμπέρασμα διεξάγεται και για την

ακτινοβολία UVB, καθώς στα 300 nm, οι τιμές ήταν χαμηλότερες από 5%. Στα 600 nm, οι μεμβράνες που περιείχαν E.O. και B.C., έδειξαν μικρή μείωση, σε αντίθεση με εκείνες που περιείχαν μόνο E.O. Επίσης, υψηλότερη διαπερατότητα παρατηρήθηκε στις μεμβράνες που περιείχαν μόνο E.O. και καθόλου B.C. Συνολικά, η υψηλότερη διαπερατότητα που παρατηρήθηκε στα 600 nm, ήταν 71,75% στις μεμβράνες με 3% w/v E.O., ενώ η χαμηλότερη τιμή ήταν 54,05% στις μεμβράνες με 3% w/v E.O. και 5% B.C. w/w.

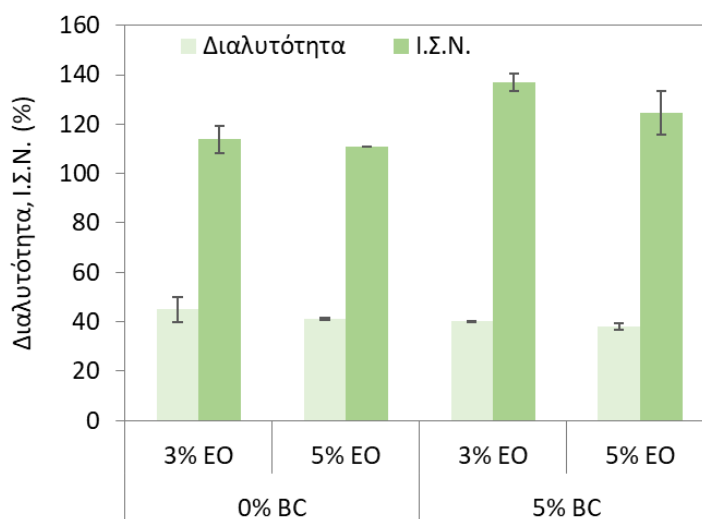


Σχήμα 3. Επίδραση προσθήκης αιθέριου ελαίου θυμαριού (E.O.) και βακτηριακής κυτταρίνης (B.C.) στη διαπερατότητα στην ακτινοβολία (%T) των εδωδιμων μεμβρανών από πρωτεΐνη τυρογάλακτος.

3.3.4 Διαλυτότητα και ικανότητα συγκράτησης νερού

Έρευνες έχουν δείξει ότι η προσθήκη B.C. δίνει χαμηλότερες τιμές στις ιδιότητες που σχετίζονται με το νερό και στη συγκεκριμένη περίπτωση παρατηρήθηκε μειούμενη τάση των τιμών διαλυτότητας, όταν οι μεμβράνες ενισχύθηκαν με B.C. και E.O. (Σχήμα 4). Επίσης, ενδιαφέρον, παρουσίασε η ικανότητα συγκράτησης νερού των

μεμβρανών, καθώς όταν εκείνες περιείχαν B.C. εμφάνισαν αύξηση από 12,5 έως 20,2% στις περιπτώσεις μεμβρανών με 3% και 5% w/v E.O., αντίστοιχα (Σχήμα 4). Η βακτηριακή κυτταρίνη, είναι γνωστή για την αυξημένη ικανότητα συγκράτησης νερού, επομένως ήταν αναμενόμενο να παρατηρηθεί επίδραση στην ικανότητα συγκράτησης νερού των μεμβρανών από πρωτεΐνη τυρογάλακτος.

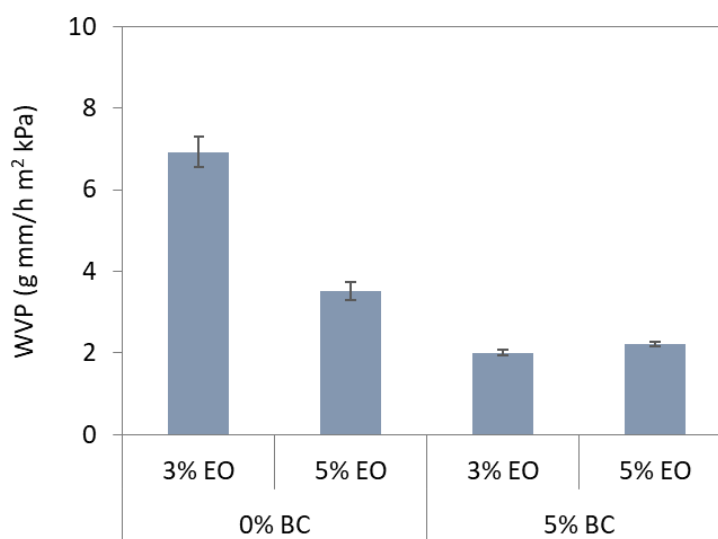


Σχήμα 4. Επίδραση προσθήκης αιθέριου ελαίου θυμαριού (E.O.) και βακτηριακής κυτταρίνης (B.C.) στη διαλυτότητα και την ικανότητα συγκράτησης νερού (Ι.Σ.Ν.) των εδωδιμων μεμβρανών από πρωτεΐνη τυρογάλακτος.

3.3.5 Διαπερατότητα υδρατμών

Η διαπερατότητα υδρατμών των μεμβρανών παρουσιάζεται στο Σχήμα 5. Με την προσθήκη E.O. και B.C. στις μεμβράνες παρατηρήθηκε μεγάλη μείωση (66%) της διαπερατότητας υδρατμών με την μικρότερη τιμή να διαμορφώνεται στα 2,31 g mm/h m² kPa για τις μεμβράνες που περιείχαν 5% w/v E.O. και B.C. Η προσθήκη τόσο του E.O. όσο και της B.C., φαίνεται πως εμπόδισαν τη μεταφορά μορίων νερού δια μέσου των μεμβρανών. Σε προηγούμενη μελέτη, έχει αναφερθεί ότι η B.C. πιθανότατα

επιμηκύνει τη διαδρομή μεταφοράς του νερού με αποτέλεσμα τη μείωση της διαπερατότητας των υδρατμών (Papadaki et al., 2022).



Σχήμα 5. Επίδραση προσθήκης αιθέριου ελαίου θυμαριού (E.O.) και βακτηριακής κυτταρίνης (B.C.) στη διαπερατότητα σε υδρατμούς (WVP) των εδώδιμων μεμβρανών από πρωτεΐνη τυρογάλακτος.

3.4 Ανάπτυξη μεμβρανών από πρωτεΐνη βιομηχανικής κάνναβης: επίδραση της θερμοκρασίας και του pH

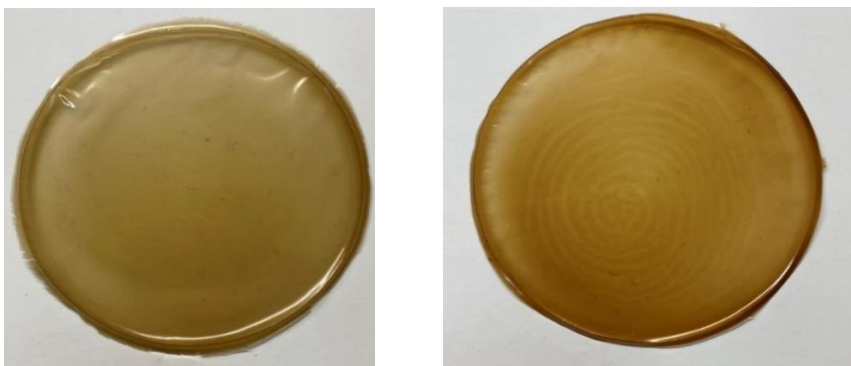
Σε αυτό το κεφάλαιο παρουσιάζονται τα αποτελέσματα για την παραγωγή μεμβρανών από πρωτεΐνη βιομηχανικής κάνναβης υπό διαφορετικές συνθήκες θερμοκρασίας και pH. Ειδικότερα, το pH του διαλύματος αποτελεί μια σημαντική παράμετρο για την ανάπτυξη εδώδιμων μεμβρανών, αφού έχει την ικανότητα να επηρεάζει τις ιδιότητες τους. Ειδικότερα, όσο μεγαλύτερη είναι η απόσταση του pH του διαλύματος από το ισοηλεκτρικό σημείο (pI) της πρωτεΐνης, αναπτύσσονται πιο ισχυρές απωθητικές δυνάμεις, και με τον τρόπο αυτό παρεμποδίζεται η συσσωμάτωση των πρωτεϊνών, δημιουργώντας πιο διαφανή φιλμ. Αυτό συμβαίνει, διότι ανάλογα με το πόσο

υψηλότερη ή χαμηλότερη είναι η τιμή pH σε σχέση με την τιμή pI, αναπτύσσονται αρνητικά ή θετικά φορτισμένες πρωτεΐνες, αντίστοιχα, σχηματίζοντας απωθητικές ηλεκτροστατικές δυνάμεις (Pelegrine, & Gasparetto, 2005).

Στην παρούσα μελέτη δόθηκε περισσότερο έμφαση στις συνθήκες παραγωγής των μεμβρανών από πρωτεΐνη βιομηχανικής κάνναβης, καθώς πρόκειται για ένα νέο προϊόν που δεν έχει μελετηθεί εκτενώς στη βιβλιογραφία. Ως εκ τούτου, απώτερος στόχος αυτής της ενότητας ήταν η μελέτη επίδρασης των διαφορετικών συνθηκών παρασκευής των μεμβρανών στις φυσικές τους ιδιότητες.

3.4.1 Παραγωγή μεμβρανών από πρωτεΐνη βιομηχανικής κάνναβης

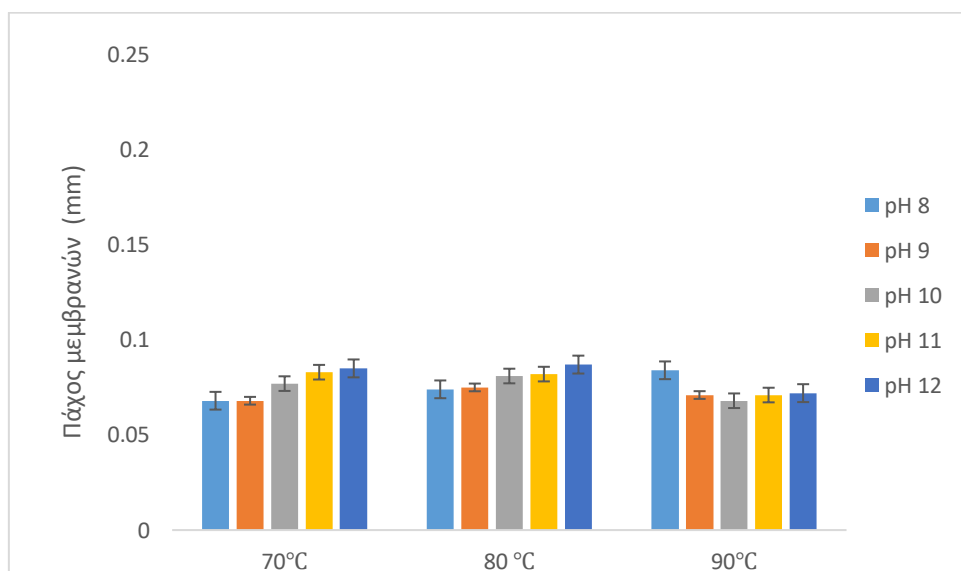
Στην Εικόνα 4 που ακολουθεί παρατίθενται ενδεικτικές φωτογραφίες των μεμβρανών που παράχθηκαν σε διαφορετικές συνθήκες pH, στις οποίες δεν παρατηρούνται σημαντικές μακροσκοπικές αλλαγές. Γενικά, όλες οι μεμβράνες εμφάνισαν παρόμοιο καφέ χρώμα. Ωστόσο, είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι όσο αυξανόταν η τιμή pH τόσο πιο σκούρο χρώμα αποκτούσαν οι μεμβράνες, ανεξαρτήτως θερμοκρασίας μετουσίωσης.



Εικόνα 4. Ενδεικτικές φωτογραφίες εδωδίων μεμβρανών από πρωτεΐνη βιομηχανικής κάνναβης παρασκευασμένες στους 70 °C, σε pH=8 (αριστερά) και pH=12 (δεξιά).

3.4.2 Πάχος μεμβρανών

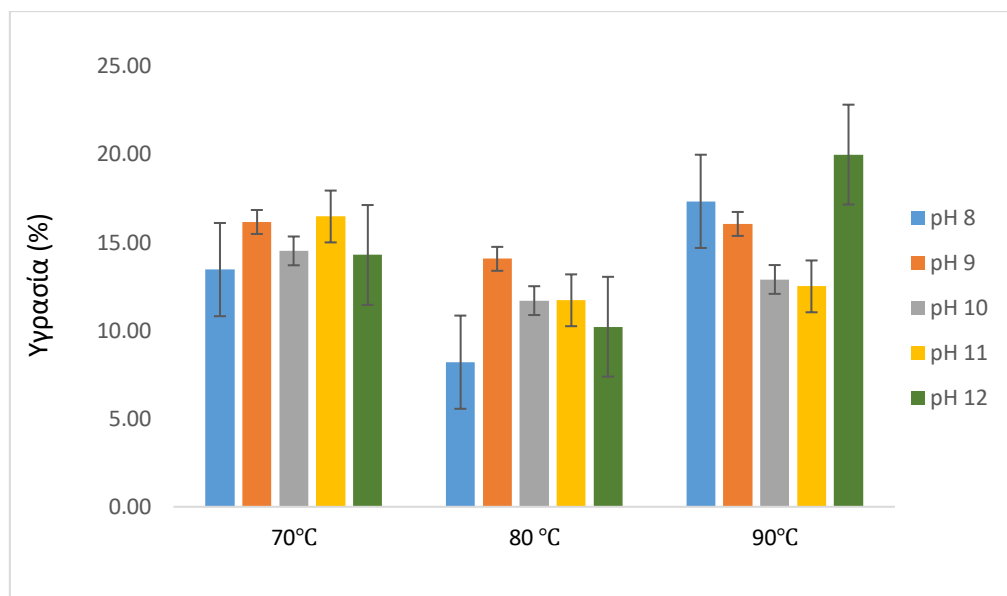
Το πάχος των μεμβρανών δεν παρουσίασε μεγάλες διαφορές στα διαφορετικά είδη μεμβρανών, που παρασκευάστηκαν σε διαφορετικές θερμοκρασίες και pH (Σχήμα 6). Γενικά, το πάχος κυμάνθηκε από 0,07 έως και 0,09 mm, τιμές οι οποίες είναι μικρότερες συγκριτικά με τις μεμβράνες από πρωτεΐνη τυρογάλακτος.



Σχήμα 6. Επίδραση του pH και της θερμοκρασίας στο πάχος των μεμβρανών.

3.4.3 Περιεκτικότητα σε υγρασία

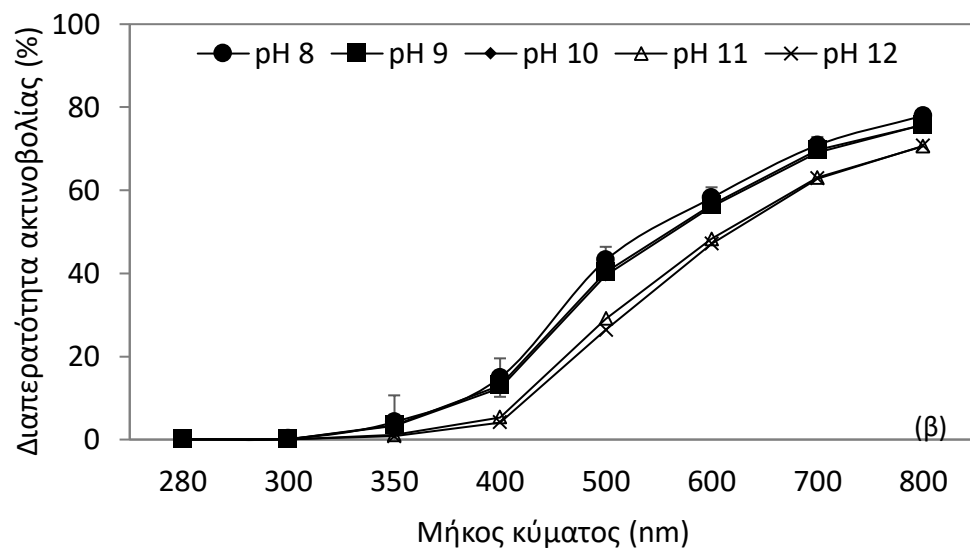
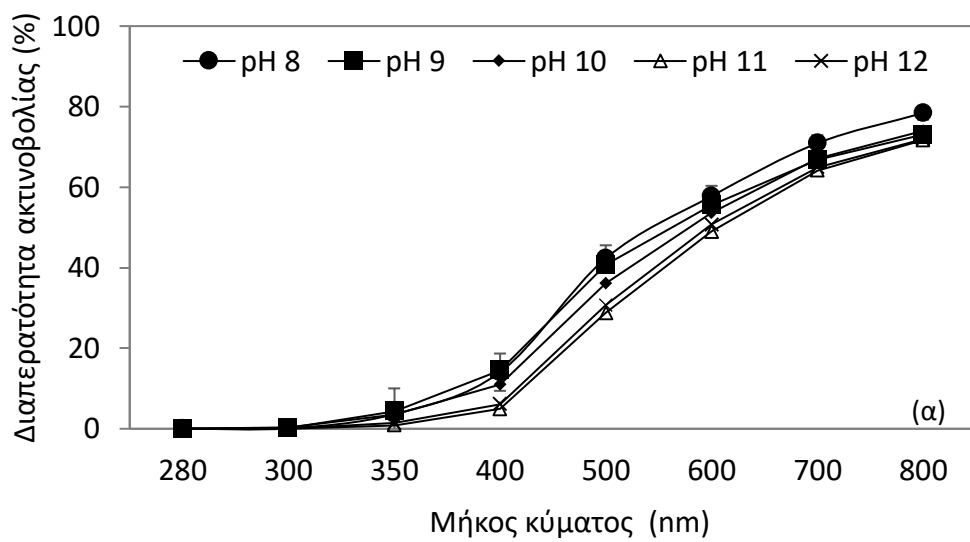
Η περιεκτικότητα σε υγρασία των μεμβρανών παρουσιάζεται στο Σχήμα 7. Η υγρασία των μεμβρανών κυμάνθηκε σε τιμές από 8,2% έως 19,97%. Τα χαμηλότερα ποσοστά υγρασίας παρατηρήθηκαν στους 80 °C και 70 °C, ενώ στους 90 °C τα υψηλότερα. Γενικά, θα μπορούσε να ειπωθεί ότι παρόλο που φαίνονται σημαντικές αποκλίσεις, πιθανότατα μία στατιστική ανάλυση να έδειχνε μη στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε κάποιες περιπτώσεις. Σε ό,τι αφορά στην επίδραση του pH φαίνεται ότι δεν επιδρά στο πάχος των μεμβρανών που παρασκευάστηκαν στην ίδια θερμοκρασία, με κάποιες ελάχιστες εξαιρέσεις.

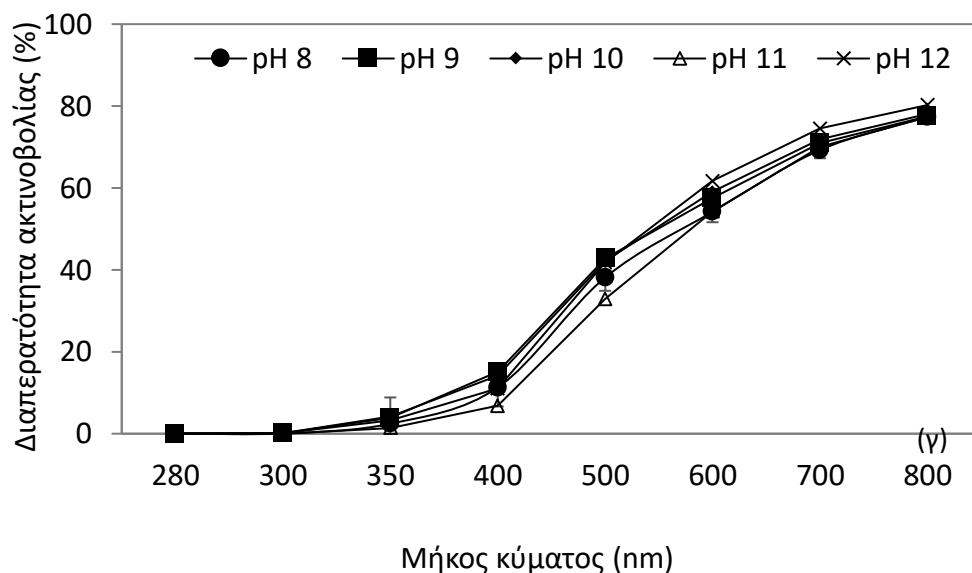


Σχήμα 7. Επίδραση του pH και της θερμοκρασίας στην υγρασία των μεμβρανών.

3.4.4 Διαπερατότητα σε ακτινοβολία

Η διαφάνεια των μεμβρανών, πραγματοποιήθηκε με τη χρήση φασματοφωτομέτρου και τα αποτελέσματα φαίνονται στο Σχήμα 8. Ειδικότερα, παρατηρήθηκε ότι στα 280 nm οι μεμβράνες εμφάνισαν μηδενικές τιμές, που σημαίνει ότι είναι ανθεκτικές στην υπεριώδη ακτινοβολία, εμποδίζοντας την UVB ακτινοβολία, ανεξάρτητα από τις μεταβολές του pH και της θερμοκρασίας. Αντίστοιχα, ίδιο συμπέρασμα διεξάγεται και για την ακτινοβολία UVC, καθώς στα 300 nm, οι τιμές δεν ξεπέρασαν το 3%. Στα 600 nm, οι τιμές δεν ξεπέρασαν το 61,69%, τιμή που παρατηρήθηκε στις μεμβράνες στους 90°C με pH=12, ενώ η χαμηλότερη τιμή ήταν 47,15%, στις μεμβράνες με pH=12 στους 80°C.

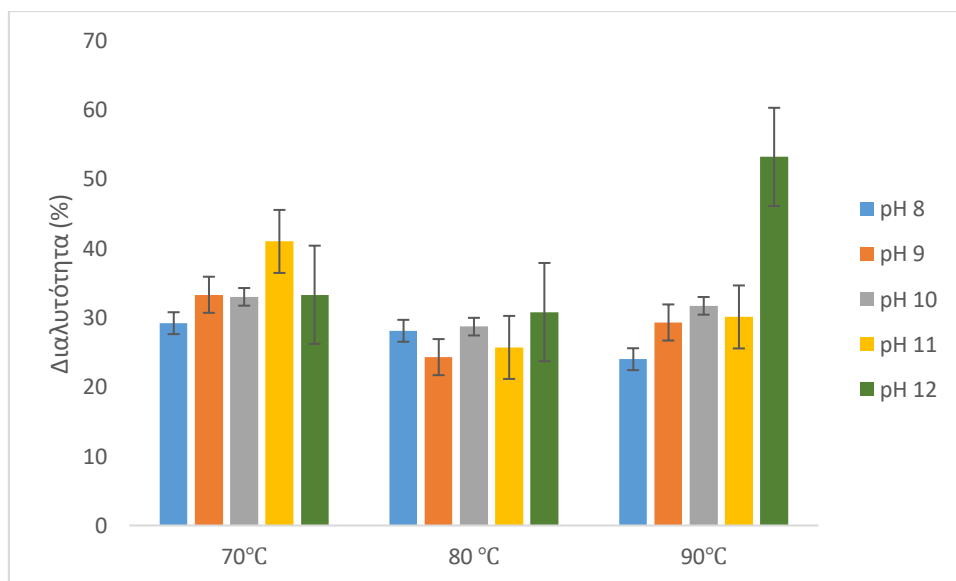




Σχήμα 8. Διαπερατότητα ακτινοβολίας (%T) σε διαφορετικά μήκη κύματος (nm) για τις μεμβράνες που παρασκευάστηκαν σε διαφορετικές τιμές pH στους (α) 70°C, (β) 80°C και (γ) 90°C .

3.4.5 Διαλυτότητα

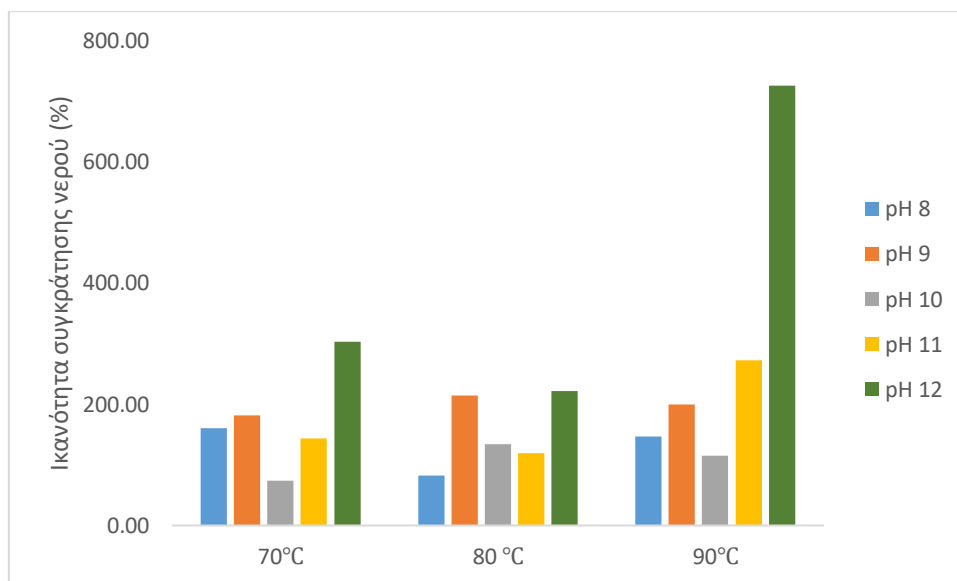
Όσον αφορά στη διαλυτότητα των μεμβρανών, παρατηρήθηκε ότι με την αύξηση του pH αυξανόταν σταδιακά και η τιμή διαλυτότητας (Σχήμα 8). Η θέρμανση προκαλεί ξεδίπλωμα της πρωτεΐνης, με αποτέλεσμα την έκθεση των εσωτερικών αμινοξέων, με αποτέλεσμα την απώλεια διαλυτότητας (Perez-Gago et al., 2001). Πιο συγκεκριμένα, στους 70 °C, 80 °C και 90 °C οι υψηλότερες διαλυτότητες παρατηρήθηκαν σε pH=11 και pH=12. Το υψηλότερο ποσοστό διαλυτότητας ήταν 53,2% στους 90°C με pH=12, που πιθανώς οφείλεται στην υψηλή διαλυτοποίηση της πρωτεΐνης λόγω του ακραίου pH. Οι χαμηλότερες τιμές στους 70 °C και 80 °C παρατηρήθηκαν σε pH=8 και pH=9 αντίστοιχα.



Σχήμα 9. Επίδραση του pH και της θερμοκρασίας στη διαλυτότητα των μεμβρανών.

3.4.6 Ικανότητα συγκράτησης νερού

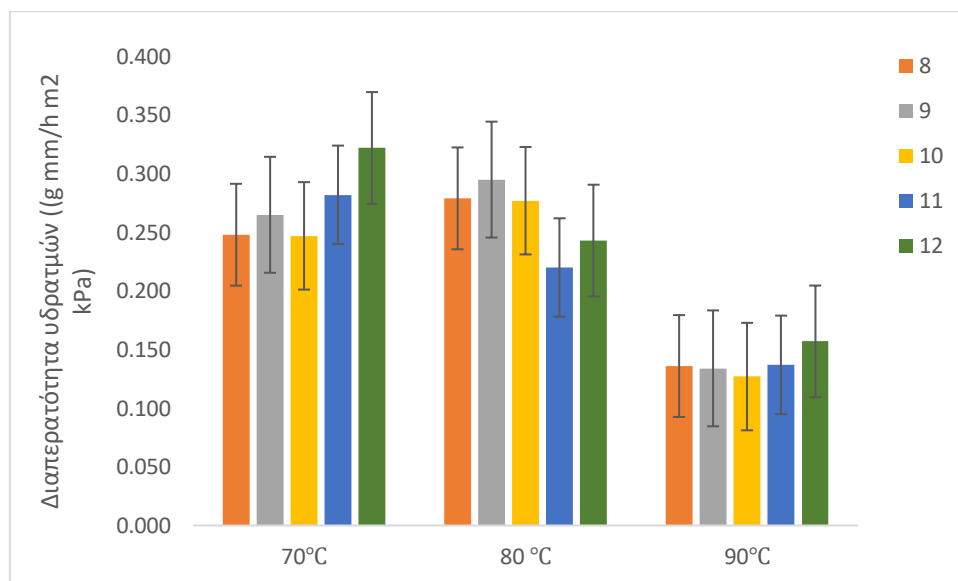
Στο Σχήμα 6 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα σχετικά με την ικανότητα συγκράτησης νερού (ΙΣΝ). Γενικά, παρατηρήθηκε ότι η αύξηση του pH είχε ως αποτέλεσμα και την αύξηση του ΙΣΝ, φτάνοντας το 725,1% στους 90 °C, δηλαδή σχεδόν επταπλάσια τιμή σε σχέση με το pH=8 (147,1%). Επίσης, παρατηρείται ότι στους 70 °C (74%) και 90 °C (115,3%), η χαμηλότερη τιμή είναι στο pH=10, ενώ στους 80 °C παρατηρείται σε pH=8 (82,3%). Τέλος, ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι σε όλες τις θερμοκρασίες η ΙΣΝ είναι χαμηλότερη στα pH 8-11 σε σύγκριση με το pH 12.



Σχήμα 10. Επίδραση του pH και της θερμοκρασίας στην ικανότητα συγκράτησης νερού των μεμβρανών.

3.4.7 Διαπερατότητα υδρατμών

Η διαπερατότητα υδρατμών των μεμβρανών παρουσίασε μείωση καθώς αυξανόταν η θερμοκρασία (Σχήμα 10). Επίσης, σε ότι αφορά στην επίδραση του pH φαίνεται να μην επηρεάζει την διαπερατότητα σε υδρατμούς. Συνολικά, η παρασκευή των μεμβρανών στους 90 °C εμφάνισαν την μικρότερη διαπερατότητα σε υδρατμούς, συγκριτικά με τις άλλες δύο θερμοκρασίες.



Σχήμα 11. Επίδραση του pH και της θερμοκρασίας διαλύματος των μεμβρανών ως προς τη διαπερατότητα υδρατμών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ V

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η επιστημονική κοινότητα έχει στραφεί στη μελέτη ενναλακτικών προϊόντων στον τομέα του τροφίμου αλλά και της συσκευασίας, με σκοπό να χρησιμοποιηθούν στο έπακρο οι φυσικές πρώτες ύλες, μειώνοντας τη σπατάλη υλών και τη δημιουργία απορριμμάτων. Οι εδώδιμες μεμβράνες καλύπτουν αυτές τις ανάγκες, και η μελέτη τους θεωρείται αρκετά σημαντική. Σε αυτή την εργασία, για τις μεμβράνες από πρωτεΐνη τυρογάλακτος, που έχουν μελετηθεί αρκετά, έγινε μια προσέγγιση για τη βελτιστοποίηση της αντιμικροβιακής της δράσης ενάντια σε βακτήρια και μύκητες που απαντώνται συχνά στα τρόφιμα. Τα ευρήματα αυτής της μελέτης, έδειξαν ότι η προσθήκη αιθέριου ελαίου θυμαριού και βακτηριακής κυτταρίνης στα φιλμ, μπορούν να προσδώσουν και να διαφοροποιήσουν τις αντιμικροβιακές τους ιδιότητες. Πιο συγκεκριμένα, τα συμπεράσματα που διεξήχθησαν ήταν:

- Η προσθήκη 5% w/w βακτηριακής κυτταρίνης ενίσχυσε την αντιμικροβιακή δράση των μεμβρανών που περιείχαν E.O. 5% w/v κατά 46,9%.
- Οι μεμβράνες με προσθήκη E.O. 5% w/v εμφάνισαν μεγαλύτερη αντιμικροβιακή δράση σε σχέση με τις μεμβράνες που περιείχαν E.O. 3% w/v.
- Μεγαλύτερη ευαισθησία σημειώθηκε στον *S. aureus*, σε όλες τις αντιμικροβιακές δοκιμές.

Όσον αφορά στις μεμβράνες από πρωτεΐνη βιομηχανικής κάνναβης, η μελέτη εστίασε στις διαφορετικές συνθήκες παραγωγής και στην επίδραση αυτών στις φυσικές ιδιότητές τους. Ειδικότερα, τα συμπεράσματα που διεξήχθησαν ήταν:

- Όλες οι μεμβράνες είχαν καφέ χρώμα, ωστόσο με την αύξηση του pH οι μεμβράνες αποκτούσαν πιο έντονο χρώμα.
- Οι διαφορετικές συνθήκες μετουσίωσης φάνηκε να επιδρούν στις φυσικές ιδιότητες των μεμβρανών.

- Όλες οι μεμβράνες ήταν ανθεκτικές στην υπεριώδη ακτινοβολία, συνεπώς μπορούν να χρησιμοποιηθούν ώστε να προστατέψουν τα τρόφιμα από την οξείδωση.
- Με την αύξηση του pH παρατηρήθηκε σταδιακή αύξηση της διαλυτότητας των μεμβρανών.
- Με την αύξηση της θερμοκρασίας παρατηρήθηκε μείωση στη διαπερατότητα υδρατμών των μεμβρανών.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abdelwahab, S. I., Mariod, A. A., Taha, M. M. E., Zaman, F. Q., Abdelmageed, A. H. A., Khamis, S., ... & Awang, K. (2017). Chemical composition and antioxidant properties of the essential oil of *Cinnamomum altissimum* Kosterm.(Lauraceae). *Arabian Journal of Chemistry*, 10(1), 131-135.
- Bertuzzi, M. A., Armada, M., & Gottifredi, J. C. (2007). Physicochemical characterization of starch based films. *Journal of food engineering*, 82(1), 17-25.
- Bigi, A., Cojazzi, G., Panzavolta, S., Roveri, N., & Rubini, K. (2002). Stabilization of gelatin films by crosslinking with genipin. *Biomaterials*, 23(24), 4827-4832.
- Boaventura, T. P., dos Santos, F. A. C., de Sena Souza, A., Batista, F. S., Júlio, G. S. C., & Luz, R. K. (2022). Thymol and linalool chemotypes of the essential oil of *Thymus vulgaris* (thyme) as anesthetic for *Colossoma macropomum*: Physiology and feed consumption. *Aquaculture*, 554, 738161.
- Calo, J. R., Crandall, P. G., O'Bryan, C. A., & Ricke, S. C. (2015). Essential oils as antimicrobials in food systems—A review. *Food control*, 54, 111-119.
- Cao, N., Fu, Y., & He, J. (2007). Preparation and physical properties of soy protein isolate and gelatin composite films. *Food Hydrocolloids*, 21(7), 1153-1162.
- Chatzipaschali, A. A., & Stamatis, A. G. (2012). Biotechnological utilization with a focus on anaerobic treatment of cheese whey: current status and prospects. *Energies*, 5(9), 3492-3525.
- Duconseille, A., Astruc, T., Quintana, N., Meersman, F., & Sante-Lhoutellier, V. (2015). Gelatin structure and composition linked to hard capsule dissolution: A review. *Food hydrocolloids*, 43, 360-376.
- Eissa, A. A. (Ed.). (2012). *Structure and function of food engineering*. BoD—Books on Demand.
- El-Sohaimy, S. A., Androsova, N. V., Toshev, A. D., & El Enshasy, H. A. (2022). Nutritional quality, chemical, and functional characteristics of hemp (*Cannabis sativa* ssp. *sativa*) protein Isolate. *Plants*, 11(21), 2825.

- Embuscado, M. E., & Huber, K. C. (2009). *Edible films and coatings for food applications* (Vol. 9, pp. 169-208). New York, NY, USA:: Springer.
- Emiroğlu, Z. K., Yemiş, G. P., Coşkun, B. K., & Candoğan, K. (2010). Antimicrobial activity of soy edible films incorporated with thyme and oregano essential oils on fresh ground beef patties. *Meat science*, 86(2), 283-288.
- Farinon, B., Molinari, R., Costantini, L., & Merendino, N. (2020). The seed of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.): Nutritional quality and potential functionality for human health and nutrition. *Nutrients*, 12(7), 1935.
- Hammam, A. R. (2019). Technological, applications, and characteristics of edible films and coatings: A review. *SN Applied Sciences*, 1, 1-11.
- Hassan, B., Chatha, S. A. S., Hussain, A. I., Zia, K. M., & Akhtar, N. (2018). Recent advances on polysaccharides, lipids and protein based edible films and coatings: A review. *International journal of biological macromolecules*, 109, 1095-1107.
- Kandasamy, S., Yoo, J., Yun, J., Kang, H. B., Seol, K. H., Kim, H. W., & Ham, J. S. (2021). Application of whey protein-based edible films and coatings in food industries: An updated overview. *Coatings*, 11(9), 1056.
- Kilara, A., & Vaghela, M. N. (2018). Whey proteins. In *Proteins in food processing* (pp. 93-126). Woodhead publishing.
- Kokoszka, S., Debeaufort, F., Hambleton, A., Lenart, A., & Voilley, A. (2010). Protein and glycerol contents affect physico-chemical properties of soy protein isolate-based edible films. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(3), 503-510.
- Kosikowski, F. V. (1979). Whey utilization and whey products.
- Kowalczyk, A., Przychodna, M., Sopata, S., Bodalska, A., & Fecka, I. (2020). Thymol and thyme essential oil—new insights into selected therapeutic applications. *Molecules*, 25(18), 4125.
- Kowalczyk, D., Szymanowska, U., Skrzypek, T., Basiura-Cembala, M., Łupina, K., & Biendl, M. (2021). Edible films based on gelatin, carboxymethyl cellulose, and their blends as carriers of potassium salts of iso- α -acids: Structural, physicochemical and antioxidant properties. *Food Hydrocolloids*, 115, 106574.

- Lievore, P., Simões, D. R., Silva, K. M., Drunkler, N. L., Barana, A. C., Nogueira, A., & Demiate, I. M. (2015). Chemical characterisation and application of acid whey in fermented milk. *Journal of food science and technology*, 52, 2083-2092.
- Li, Y. Q., Kong, D. X., & Wu, H. (2013). Analysis and evaluation of essential oil components of cinnamon barks using GC–MS and FTIR spectroscopy. *Industrial Crops and Products*, 41, 269-278.
- Liu, Z., Lin, D., Shen, R., Zhang, R., Liu, L., & Yang, X. (2021). Konjac glucomannan-based edible films loaded with thyme essential oil: Physical properties and antioxidant-antibacterial activities. *Food Packaging and Shelf Life*, 29, 100700.
- Liu, X., Wang, M., Xue, F., & Adhikari, B. (2022). Application of ultrasound treatment to improve the technofunctional properties of hemp protein isolate. *Future Foods*, 6, 100176.
- Ma, W., Tang, C. H., Yin, S. W., Yang, X. Q., Wang, Q., Liu, F., & Wei, Z. H. (2012). Characterization of gelatin-based edible films incorporated with olive oil. *Food Research International*, 49(1), 572-579.
- Mohamed, S. A., El-Sakhawy, M., & El-Sakhawy, M. A. M. (2020). Polysaccharides, protein and lipid-based natural edible films in food packaging: A review. *Carbohydrate polymers*, 238, 116178.
- Montgomery, K. S. (2003). Soy protein. *The Journal of perinatal education*, 12(3), 42.
- Musso, Y. S., Salgado, P. R., & Mauri, A. N. (2016). Gelatin based films capable of modifying its color against environmental pH changes. *Food Hydrocolloids*, 61, 523-530.
- Nedorostova, L., Kloucek, P., Kokoska, L., Stolcova, M., & Pulkrabek, J. (2009). Antimicrobial properties of selected essential oils in vapour phase against foodborne bacteria. *Food control*, 20(2), 157-160.
- Noshirvani, N., Ghanbarzadeh, B., Gardrat, C., Rezaei, M. R., Hashemi, M., Le Coz, C., & Coma, V. (2017). Cinnamon and ginger essential oils to improve antifungal, physical and mechanical properties of chitosan-carboxymethyl cellulose films. *Food Hydrocolloids*, 70, 36-45.
- Onwulata, C., & Huth, P. (Eds.). (2009). *Whey processing, functionality and health benefits* (Vol. 82). John Wiley & Sons.

- Papadaki, A., Manikas, A. C., Papazoglou, E., Kachrimanidou, V., Lappa, I., Galiotis, C., ... & Kopsahelis, N. (2022). Whey protein films reinforced with bacterial cellulose nanowhiskers: Improving edible film properties via a circular economy approach. *Food Chemistry*, 385, 132604.
- Papadaki, A., Lappa, I. K., Manikas, A. C., Carbone, M. G. P., Natsia, A., Kachrimanidou, V., & Kopsahelis, N. (2024). Grafting bacterial cellulose nanowhiskers into whey protein/essential oil film composites: Effect on structure, essential oil release and antibacterial properties of films. *Food Hydrocolloids*, 147, 109374.
- Patel, S. (2015). Functional food relevance of whey protein: A review of recent findings and scopes ahead. *Journal of Functional Foods*, 19, 308-319.
- Pelegri, D. H. G., & Gasparetto, C. A. (2005). Whey proteins solubility as function of temperature and pH. *LWT-Food Science and Technology*, 38(1), 77-80.
- Perez-Gago, M. B., & Krochta, J. M. (2001). Denaturation time and temperature effects on solubility, tensile properties, and oxygen permeability of whey protein edible films. *Journal of Food Science*, 66(5), 705-710.
- Petkoska, A. T., Daniloski, D., D'Cunha, N. M., Naumovski, N., & Broach, A. T. (2021). Edible packaging: Sustainable solutions and novel trends in food packaging. *Food Research International*, 140, 109981.
- Rangaraj, V. M., Rambabu, K., Banat, F., & Mittal, V. (2021). Natural antioxidants-based edible active food packaging: An overview of current advancements. *Food Bioscience*, 43, 101251.
- Rooney, M. L. (Ed.). (1995). Active food packaging.
- Sá, A. G. A., Moreno, Y. M. F., & Carciofi, B. A. M. (2020). Plant proteins as high-quality nutritional source for human diet. *Trends in Food Science & Technology*, 97, 170-184.
- Saldivar, X., Wang, Y. J., Chen, P., & Hou, A. (2011). Changes in chemical composition during soybean seed development. *Food Chemistry*, 124(4), 1369-1375.
- Samadani, F., Behzad, T., & Enayati, M. S. (2019). Facile strategy for improvement properties of whey protein isolate/walnut oil bio-packaging films: Using modified

- cellulose nanofibers. *International journal of biological macromolecules*, 139, 858-866.
- Shen, P., Gao, Z., Fang, B., Rao, J., & Chen, B. (2021). Ferreting out the secrets of industrial hemp protein as emerging functional food ingredients. *Trends in Food Science & Technology*, 112, 1-15.
- Tharanathan, R. N. (2003). Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. *Trends in food science & technology*, 14(3), 71-78.
- Wang, X., Guo, C., Hao, W., Ullah, N., Chen, L., Li, Z., & Feng, X. (2018). Development and characterization of agar-based edible films reinforced with nano-bacterial cellulose. *International journal of biological macromolecules*, 118, 722-730.
- WWF, (2019). Εκθεση, Η πλαστική ρύπανση στην Ελλάδα και πως μπορεί να αντιμετωπιστεί.
- Yano, H., & Fu, W. (2023). Hemp: A sustainable plant with high industrial value in food processing. *Foods*, 12(3), 651.
- Yazid, N. S. M., Abdullah, N., Muhammad, N., & Matias-Peralta, H. M. (2018). Application of starch and starch-based products in food industry. *Journal of Science and Technology*, 10(2).
- Zhang, Y., Liu, X., Wang, Y., Jiang, P., & Quek, S. (2016). Antibacterial activity and mechanism of cinnamon essential oil against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Food control*, 59, 282-289.
- Παπαδάκης, Σ. (2018). *Συσκευασία τροφίμων*. Τζιόλας.
- Σφλώμος (2018). *Εισαγωγή στην επιστήμη και τεχνολογία τροφίμων*. Ελλάδα: Τσοτρας.