

ΜΕΛΕΤΗ ΧΡΗΣΗΣ ΒΙΟΕΠΙΦΑΝΕΙΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ

ΣΕ ΕΔΩΔΙΜΕΣ ΜΕΜΒΡΑΝΕΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

του

ΜΑΡΙΟ ΖΑΪΜΗ

Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων

Σχολή Περιβάλλοντος

ΙΟΝΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ



Αργοστόλι Κεφαλληνίας

Μάϊος 2024

ΜΕΛΕΤΗ ΧΡΗΣΗΣ ΒΙΟΕΠΙΦΑΝΕΙΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ
ΣΕ ΕΔΩΔΙΜΕΣ ΜΕΜΒΡΑΝΕΣ

Η πτυχιακή εργασία εγκρίθηκε από:

Αικατερίνη Παπαδάκη

Νικόλαος Κοψαχείλης

Χαρίλαος Παπαποστόλου

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός αυτής της εργασίας είναι η βελτιστοποίηση των ιδιοτήτων των εδώδιμων μεμβρανών με την προσθήκη ελαίου από στερεά απόβλητα καφέ και βιοεπιφανειοδραστικών ουσιών. Πραγματοποιήθηκε παραγωγή εδώδιμων μεμβρανών από πρωτεΐνη τυρογάλακτος, οι οποίες έχουν μελετηθεί ευρέως ως προς τις ιδιότητές τους. Δεδομένου ότι οι μεμβράνες αυτές εμφανίζουν υψηλή διαλυτότητα στο νερό και διαπερατότητα σε υδρατμούς, είναι επιτακτική ανάγκη η βελτίωση αυτών των ιδιοτήτων προκειμένου να μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε ποικίλες εφαρμογές τροφίμων. Στο πλαίσιο αυτό, πραγματοποιήθηκε εκχύλιση και προσθήκη ελαίου καφέ, ενώ για την επιτυχή ενσωμάτωση του ελαίου χρησιμοποιήθηκε η επιφανειοδραστική ουσία Tween80. Επιπλέον, μελετήθηκε η παραγωγή εδώδιμων μεμβρανών με προσθήκη φυσικών βιοεπιφανειοδραστικών ουσιών από γαλακτικά βακτήρια για την αντικατάσταση της επιφανειοδραστικής ουσίας Tween80. Η επίδραση της προσθήκης της βιοεπιφανειοδραστικής ουσίας αξιολογήθηκε με βάση τις ιδιότητες των μεμβρανών, όπως η υγρασία, η ικανότητα συγκράτησης νερού, η διαλυτότητα, οι οπτικές ιδιότητες, το πάχος και η διαπερατότητα υδρατμών. Από την μελέτη τους και την σύγκριση των αποτελεσμάτων ως προς τις ιδιότητες που αναφέρθηκαν παραπάνω μεταξύ των δειγμάτων μεμβρανών, καταλήξαμε στο συμπέρασμα ότι οι μεμβράνες που περιείχαν την βιοεπιφανειοδραστική ουσία είχαν παρόμοια αποτελέσματα με την μεμβράνη που περιείχε την επιφανειοδραστική ουσία Tween80. Ωστόσο η προσθήκη οδήγησε σε αύξηση της διαπερατότητας σε υδρατμούς των μεμβρανών και μείωση της διαλυτότητάς της σε νερό.

ABSTRACT

The purpose of this work is to optimize the properties of edible films by adding spend coffee ground oil and biosurfactants. Edible whey protein films have been produced and have been widely studied for their properties. Since these films exhibit high water solubility and water vapor permeability, it is imperative to improve these properties in order to be used in a variety of food applications. In this context, spend coffee ground oil was extracted and incorporated into films, while the surfactant Tween80 was used for the successful dispersion of the oil. In addition, the study focused on the production of edible films using natural biosurfactants from lactic acid bacteria instead of Tween80. The effect of biosurfactant addition was evaluated based on the properties of the films, such as moisture content, water holding capacity, solubility, optical properties, thickness and water vapor permeability. The results showed that edible films containing biosurfactants had similar results to the films containing the Tween80 surfactant. However, the addition led to an increased water vapor permeability of the films, but also contributed to lowering their water solubility.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1. Δομή Α) κυτταρίνης, Β) καρβοξυμέθυλο-κυτταρίνης (CMC), Γ) μεθυλο-κυτταρίνης (MC), Δ) υδροξυπροπύλο-μεθυλοκυτταρίνης (HPMC), Ε) υδροξυπροπύλο-κυτταρίνης (HPC) (πηγή: Murray et al., 2000).....	13
Εικόνα 2. Δομή Α) Χιτίνης και Β) Χιτοζάνης (πηγή: Muzzarelli, 1996).....	16
Εικόνα 3. Συνηθέστερη δομή αμινοξέων.....	18
Εικόνα 4. Λουτρό υπερήχων.....	30
Εικόνα 5. Ειδικός θάλαμος ελεγχόμενης θερμοκρασίας	30
Εικόνα 6. Ειδικός θάλαμος ελεγχόμενης υγρασίας όπου τοποθετούνται οι μεμβράνες.....	31
Εικόνα 7. Ράβδος ομογενοποίησης	32
Εικόνα 8. Φωτόμετρο, Helios Omega	34
Εικόνα 9. Επίδραση της προσθήκης βιοεπιφανειοδραστικών ουσιών σε διάφορες συγκεντρώσεις στην υγρασία των εδώδιμων μεμβρανών.....	36
Εικόνα 10. Επίδραση της προσθήκης βιοεπιφανειοδραστικών ουσιών σε διάφορες συγκεντρώσεις στο πάχος των εδώδιμων μεμβρανών	37
Εικόνα 11. Επίδραση της προσθήκης βιοεπιφανειοδραστικών ουσιών σε διάφορες συγκεντρώσεις στη διαπερατότητα των εδώδιμων μεμβρανών.....	38
Εικόνα 12. Επίδραση της προσθήκης βιοεπιφανειοδραστικών ουσιών σε διάφορες συγκεντρώσεις στη διαλυτότητα των εδώδιμων μεμβρανών	39
Εικόνα 13. Επίδραση της προσθήκης βιοεπιφανειοδραστικών ουσιών σε διάφορες συγκεντρώσεις στην ικανότητα συγκράτησης νερού των εδώδιμων μεμβρανών	40
Εικόνα 14. Επίδραση της προσθήκης βιοεπιφανειοδραστικών ουσιών σε διάφορες συγκεντρώσεις στη διαπερατότητα σε υδρατμούς των εδώδιμων μεμβρανών	41

Περιεχόμενα

1.	ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	7
1.1	ΕΔΩΔΙΜΕΣ MEMBRANES.....	8
1.1.1	Πρώτες ύλες για παραγωγή εδώδιμων μεμβρανών.....	11
1.1.2	Εφαρμογές εδώδιμων μεμβρανών στα τρόφιμα	20
1.2	ΒΙΟΕΠΙΦΑΝΕΙΟΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ	23
1.2.1	Γενικά.....	23
1.2.2	Παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή βιοεπιφανειοδραστικών	23
1.2.3	Πλεονεκτήματα των βιοεπιφανειοδραστικών έναντι των συνθετικών	25
1.2.4	Εφαρμογές στον τομέα των τροφίμων	26
2.	ΣΤΟΧΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	28
3.	ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	29
3.1	Πρώτες ύλες	29
3.2	Παραγωγή μεμβρανών από πρωτεΐνη τυρογάλακτος	29
3.2.1	Προσθήκη ελαίου από απόβλητα καφέ.....	31
3.3	Αναλυτικές μέθοδοι	32
3.3.1	Προσδιορισμός υγρασίας των μεμβρανών	32
3.3.2	Προσδιορισμός ικανότητας συγκράτησης νερού των μεμβρανών	32
3.3.3	Προσδιορισμός διαλυτότητας των μεμβρανών.....	33
3.3.4	Προσδιορισμός πάχους των μεμβρανών	33
3.3.5	Προσδιορισμός οπτικών ιδιοτήτων των μεμβρανών.....	33
3.3.6	Προσδιορισμός διαπερατότητας υδρατμών των μεμβρανών	34
4.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	36
4.1	Επίδραση στην υγρασία	36
4.2	Επίδραση στο πάχος των μεμβρανών	37
4.3	Επίδραση στις οπτικές ιδιότητες των μεμβρανών	37
4.4	Επίδραση στην διαλυτότητα των μεμβρανών.....	38
4.5	Επίδραση στην ικανότητα συγκράτησης νερού των μεμβρανών	39
4.6	Επίδραση στην διαπερατότητα υδρατμών των μεμβρανών	40
5.	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	42
6.	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	43

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η έννοια, εδώδιμες μεμβράνες, είναι από τους προϊστορικούς χρόνους γνωστή στον άνθρωπο ως προς την διατήρηση και συντήρηση των τροφίμων, λόγω της ευεργετικής τους επίδρασης σε αυτά. Από παλιά οι άνθρωποι χρησιμοποιούσαν ως μέσο συσκευασίας, υλικά που δεν χρειαζόντουσαν ιδιαίτερη επεξεργασία (π.χ. δέρμα ζώων). Αργότερα έγινε γνωστή η χρήση και προσθήκη διάφορων συστατικών που έδιναν την δυνατότητα επεξεργασίας τους με τέτοιο τρόπο που μπορούσαν να προστεθούν στο τρόφιμο και να παραμείνουν σε αυτό βελτιώνοντας τις ιδιότητες του. Για παράδειγμα, διάφοροι κηροί χρησιμοποιούνταν σε διάφορα τρόφιμα (τυριά, κρέατα ή φρούτα) όπως η επικάλυψη φρέσκων πορτοκαλιών και λεμονιών με κερί μέλισσας η οποία εφαρμόστηκε στην Κίνα το 12^ο και 13^ο αιώνα. Πρόκειται για τις πρώτες περιπτώσεις εφαρμογής εδωδιμων μεμβρανών σε προϊόντα τροφίμων, ή αλλιώς τα πρώτα μέσα συσκευασίας όπως γνωρίζουμε σήμερα. Στη δεκαετία του 1930, τα κεριά παραφίνης ήταν εμπορικά διαθέσιμα για την επικάλυψη εσπεριδοειδών, και στις αρχές της δεκαετίας του 1950 αναπτύχθηκαν γαλακτώματα ελαίου σε νερό από κερί καρναούμπα για επικάλυψη φρέσκων φρούτων και λαχανικών. Η ανάπτυξη εδωδιμων μεμβρανών για χρήση σε προϊόντα κρέατος αναφέρθηκαν για πρώτη φορά στα τέλη της δεκαετίας του 1950 (McHugh, 2000).

Η ιδέα για την δημιουργία των εδωδιμων μεμβρανών προήλθε από τις φλούδες των φρούτων και των λαχανικών με τον προστατευτικό ρόλο που παίζουν αυτές ως προς την βελτίωση της ποιότητας τους κατά την διάρκεια της συντήρησής τους. Τα τελευταία 20 χρόνια για την δημιουργία των εδωδιμων μεμβρανών και επικαλύψεων χρησιμοποιούνται ανανεώσιμες πρώτες ύλες, όπως πρωτεΐνες, λιπίδια, πολυσακχαρίτες είτε μεμονωμένα, είτε σε μίγματα με στόχο την παραγωγή εδωδιμων μεμβρανών. Ο σκοπός για την δημιουργία των εδωδιμων μεμβρανών δεν είναι μόνο για να αντικαταστήσουν τις συμβατικές συσκευασίες, αλλά και για να βελτιώσουν τις ιδιότητες του προϊόντος στο οποίο προστίθενται, αυξάνοντας την διάρκεια ζωής και συντήρησής του, προσφέροντας την δυνατότητα κατανάλωσης τους μαζί με το προϊόν. Ακόμη, οι εδωδιμες μεμβράνες δύνανται να εμποδίσουν την μεταφορά της υγρασίας και διαφόρων αερίων και να αποτρέψουν την απώλεια θρεπτικών συστατικών του προϊόντος (Debeaufortand, Quezada-Gallo, 1998).

1.1 ΕΔΩΔΙΜΕΣ MEMBRANES

Οι απαιτήσεις των καταναλωτών για τρόφιμα ασφαλή και με μεγαλύτερη ποιότητα αυξάνεται ολοένα και περισσότερο (HanJH, 2014). Οι εδώδιμες μεμβράνες αλλά και τα υλικά που χρησιμοποιούνται ως επίστρωση εξωτερικά διαφόρων τροφίμων, παρασκευάζονται από διάφορα εδώδιμα βιοπολυμερή όπως, πρωτεΐνες, πολυφακχαρίτες και λιπίδια. Βασικός στόχος των υλικών αυτών είναι η αύξηση του χρόνου ζωής των τροφίμων αλλά και η βελτίωση των χαρακτηριστικών και η διατήρηση της ποιότητάς τους. Όλα αυτά μπορούν να επιτευχθούν λόγω του ρόλου που διαδραματίζουν τα υλικά αυτά στα τρόφιμα, καθώς δύνανται να αποτελέσουν φραγμό και να παρεμποδίσουν τη μεταφορά οξυγόνου, υγρασίας, αλλά και παθογόνων μικροοργανισμών αποτρέποντας την αλλοίωση του προϊόντος.

Τα τελευταία χρόνια τα εδώδιμα φιλμ έχουν λάβει μεγάλη προσοχή όσον αφορά τα πολυάριθμα πλεονεκτήματα τους έναντι των συνθετικών υλικών συσκευασίας. Ένα από τα βασικά τους πλεονεκτήματα είναι ότι παρέχουν την δυνατότητα κατανάλωσης τους μαζί με τα συσκευασμένα προϊόντα με αποτέλεσμα να μην αφήνουν απόβλητα και δεν υπάρχει συσκευασία για απόρριψη. Ακόμα κι αν οι μεμβράνες δεν καταναλώνονται μαζί με αυτό και με αυτόν τον τρόπο θα μπορούσαν να συνεισφέρουν στην μείωση την περιβαλλοντικής ρύπανσης, καθώς οι εδώδιμες μεμβράνες αποτελούνται από βιοαποικοδομήσιμα υλικά και συμβάλλουν θετικά στην προστασία του περιβάλλοντος. Επιπλέον, πολλές βιομηχανίες τροφίμων έχουν την δυνατότητα να αξιοποιήσουν διάφορα υποπροϊόντα τους (π.χ. πρωτεΐνη τυρογάλακτος, άμυλο) που μπορούν να χρησιμεύσουν σαν πρώτες ύλες για την δημιουργία εδώδιμων φιλμ, δίνοντας την οικολογική λύση μέσω της εύκολης βιοαποικοδόμησής τους, χωρίς να προκαλούν αύξηση στο κόστος παραγωγής σε αντίθεση με τη χρήση άλλων υλικών συσκευασίας (πλαστικό, αλουμίνιο, γυαλί). Πέρα από το πλεονέκτημα των μεμβρανών ότι καταναλώνονται μαζί με το τρόφιμο, μπορούν να χρησιμοποιηθούν επίσης ως ατομικές συσκευασίες για διαφορά φρούτα και λαχανικά που περιλαμβάνουν μικρές ποσότητες τροφίμων όπως για παράδειγμα, τα αχλάδια τα φασόλια και οι φράουλες. Επίσης οι μεμβράνες μπορούν να εμπλουτιστούν με άλλα συστατικά (αντιοξειδωτικά, φαινολικά, αιθέρια έλαια) και να αποκτήσουν αποκτώντας αντιοξειδωτικές και αντιμικροβιακές ιδιότητες (Kester and Fennema, 1986).

Συνοπτικά, θα μπορούσαμε να πούμε ότι οι εδώδιμες μεμβράνες παρουσιάζουν τα παρακάτω πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα έναντι των συνθετικών μεμβρανών/υλικών.

Πλεονεκτήματα

- Παράγονται από ανανεώσιμες, εδώδιμες πρώτες ύλες
- Προσφέρουν την δυνατότητα κατανάλωσης μαζί με το τρόφιμο, που αυτό έχει ως αντίκτυπο την μείωση αποβλήτων προς απόρριψη γεγονός που βοηθά στην προστασία του περιβάλλοντος.
- Ακόμη κι αν δεν γίνεται να καταναλωθούν μαζί με το τρόφιμο, συμβάλλουν στην μείωση της ρύπανσης του περιβάλλοντος, καθώς αποτελούνται από βιοδιασπώμενα υλικά.
- Επίσης είναι δυνατόν να προστεθούν σε αυτά διάφορα πρόσθετα τροφίμων, δηλαδή ουσίες που βελτιώνουν την γεύση, το χρώμα και την υφή του προϊόντος και γενικά που βελτιώνουν τις οργανοληπτικές ιδιότητες του προϊόντος . Ενώ με την προσθήκη κατάλληλων συστατικών μπορούν να έχουν επίσης αντιμικροβιακή και αντιοξειδωτική δράση.
- Μεταξύ των πρώτων υλών που χρησιμοποιούνται για την δημιουργία των εδώδιμων φιλμ, όπως οι πρωτεΐνες, τα λιπίδια και οι πολυσακχαρίτες, οι πρωτεΐνες θεωρούνται οι καταλληλότερες πηγές για την παραγωγή αυτών καθώς βελτιώνουν την θρεπτική αξία των προϊόντων
- Χρησιμοποιούνται επίσης ως ατομικές συσκευασίες μικρών μερίδων προϊόντων όπως σε διάφορα φρούτα και λαχανικά, στα οποία δεν υπάρχει η δυνατότητα συσκευασίας από συνθετικές μεμβράνες
- Ένα κύριο χαρακτηριστικό τους είναι η ενσωμάτωσή τους σε διάφορα τρόφιμα, ως εκ τούτου δίνεται η δυνατότητα της σταδιακής και ελεγχόμενης απελευθέρωσης των συστατικών τους κατά την διάρκεια της παραγωγής ή της συντήρησης των τροφίμων (Μοδίτση, 2012).

Μειονεκτήματα

- Λόγω της αλλαγής που προκαλούν ανάμεσα στο εσωτερικό και εξωτερικό μέρος του προϊόντος, υπάρχει ο κίνδυνος ανάπτυξης παθογόνων μικροοργανισμών

- Πρόκειται για νέα τεχνολογία συνεπώς χρειάζονται κι άλλες μελέτες και έρευνες προκειμένου να βρεθεί ποιο εδώδιμο υλικό είναι κατάλληλο για κάθε εφαρμογή τρώφιμου
- Έχουν αναφερθεί κάποιες περιπτώσεις εφαρμογών εδωδιμων μεμβρανών όπου συνδέθηκαν με την υποβάθμιση της ποιότητας του προϊόντος (Linand, Zhao, 2007).

Σύσταση εδωδιμων μεμβρανών

Οι εδωδιμες μεμβράνες μπορούν να παραχθούν από υλικά που έχουν την ικανότητα σχηματισμού εδωδιμου φιλμ. Κατά την διάρκεια της παραγωγής τους τα υλικά που χρησιμοποιούνται θα πρέπει να διαλύονται σε νερό ή διάλυμα αλκοόλης, ή μίγματος νερού και αλκοόλης ή σε μίγματα άλλων διαλυτών. Ο έλεγχος της θερμοκρασίας κατά τη διάρκεια επεξεργασίας των εδωδιμων μεμβρανών είναι σημαντικός, επειδή οι υψηλές θερμοκρασίες ενισχύουν την εξάτμιση του διαλύτη κατά τη διάρκεια της ξήρανσης, με αποτέλεσμα να δημιουργείται μια δομή όχι τόσο συνεκτική. Η συνοχή εξαρτάται από την χημική φύση και δομή του χρησιμοποιούμενου πολυμερούς. Τα συστατικά τα οποία χρησιμοποιούνται για την παραγωγή των εδωδιμων φιλμ ταξινομούνται σε τρεις βασικές κατηγορίες:

- **Υδροκολλοειδή**, που αποτελούνται από πρωτεΐνες και πολυσακχαρίτες. Πρόκειται για πολυμερή τα οποία έχουν μακρά αλυσίδα και αυξάνουν το ιξώδες του διαλύματος. Η καζεΐνη θεωρείται η σημαντικότερη πρωτεΐνη που χρησιμοποιείται από την ομάδα των πρωτεϊνών και οι πρωτεΐνες από ορό γάλακτος και λιγότερο άλλες πρωτεΐνες όπως το κολλαγόνο και πρωτεΐνες σίτου. Όσον αφορά τους πολυσακχαρίτες, το άμυλο και τα παράγωγα κυτταρίνης είναι οι σημαντικότεροι και πιο διαδεδομένοι και διαθέτουν το σημαντικό πλεονέκτημα ότι είναι διαθέσιμοι σε μεγάλες ποσότητες προκειμένου να αξιοποιηθούν από τις βιομηχανίες τροφίμων με το λιγότερο δυνατό κόστος
- **Λιπίδια**, στα οποία περιλαμβάνονται διάφορα λιπαρά οξέα, η γλυκερόλη, η παραφίνη και το κερί μέλισσας και τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε μίγματα με διάφορες πρωτεΐνες
- **Σύνθετα υλικά** (Donhowe και Fennema, 1993).

Οι ιδιότητες των εδώδιμων μεμβρανών εξαρτώνται από την μοριακή δομή και όχι την χημική σύσταση, τότε αυτές θα πρέπει να πληρούν τις εξής προϋποθέσεις:

- 1) Θα πρέπει να είναι ανθεκτικές στο νερό, διότι έτσι θα παραμένουν άθικτες και στο προϊόν το οποίο θα εφαρμόζονται, θα το καλύπτουν επαρκώς.
- 2) Θα πρέπει να διατηρούν το οξυγόνο σε σταθερά επίπεδα (τουλάχιστον 1 με 3%) για να μην αυξάνεται το διοξείδιο του άνθρακα και ως αποτέλεσμα να δημιουργηθούν αναερόβιες συνθήκες.
- 3) Θα πρέπει να παρουσιάζουν σε αρκετά μεγάλο βαθμό ανθεκτικότητα στην διαπερατότητα υδρατμών.
Πρέπει να συμβάλλουν στην βελτίωση της εμφάνισης, της ακεραιότητας και των μηχανικών ιδιοτήτων και να διατηρούν όσο περισσότερο μπορούν τις γευστικές ιδιότητες των προϊόντων.
- 4) Θα πρέπει να είναι ανθεκτικές στην ξήρανση.
- 5) Ως υλικά θα πρέπει να είναι εύκολα γαλακτωματοποιήσιμα και μη κολλώδη.
- 6) Δεν θα πρέπει να υποβαθμίζουν την ποιότητα των φρέσκων προϊόντων.
- 7) Πρέπει να έχουν χαμηλό κόστος και χαμηλό ιξώδες.
- 8) Και τέλος θα πρέπει να έχουν αντοχή σε μηχανικά χτυπήματα και να είναι όσο το δυνατόν περισσότερο διαφανείς έως ημιδιαφανείς (R. K. Dhall, 2013).

1.1.1 Πρώτες ύλες για παραγωγή εδώδιμων μεμβρανών

Όπως προαναφέρθηκε μεταξύ των σημαντικότερων πρώτων υλών που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή εδώδιμων μεμβρανών είναι οι πολυσακχαρίτες, οι πρωτεΐνες και τα λιπίδια. Κάθε ένα από αυτά τα συστατικά παίζει σημαντικό ρόλο ως προς την παραγωγή των εδώδιμων μεμβρανών λόγω των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών και ιδιοτήτων που κατέχουν όταν συνδυάζονται μεταξύ τους. Παρακάτω αναλύεται η παραγωγή μεμβρανών από καθ'ένα από αυτά τα συστατικά.

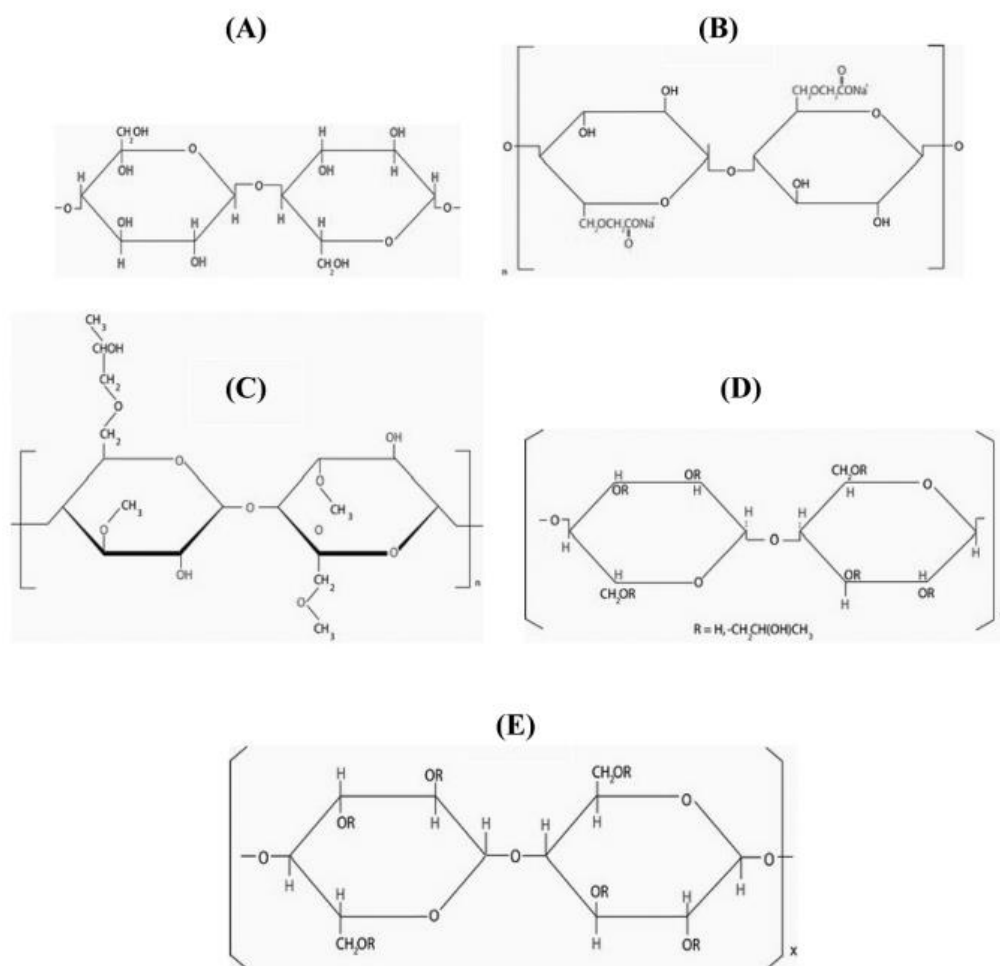
Πολυσακχαρίτες

Οι πολυσακχαρίτες γενικά είναι υδρόφιλα μόρια με αποτέλεσμα να μην έχουν καλές ιδιότητες φραγμού στους υδρατμούς και την υγρασία, έχουν όμως καλές μηχανικές ιδιότητες και καλές ιδιότητες φραγμού στην διαπερατότητα αερίων, ενώ δημιουργούν διαφανείς και ομοιογενείς εδώδιμες μεμβράνες. Συνεπώς οι πολυσακχαρίτες χρησιμοποιούνται μετά από μίξη με άλλα βιοπολυμερή και την προσθήκη υδρόφοβων ενώσεων, όπως για παράδειγμα τα λιπίδια. Οι κυριότεροι πολυσακχαρίτες που χρησιμοποιούνται περιλαμβάνουν την κυτταρίνη και παράγωγά της, άμυλο και παράγωγα αμύλου, πηκτίνη και παράγωγά της, εκχυλίσματα φυκιών, μικροβιακά κόμμεα και χιτίνη από την οποία παράγεται και η χιτοζάνη (Kester and Fennema, 1986).

A) Κυτταρίνη και παράγωγα

Η **κυτταρίνη** είναι ο πιο άφθονος πολυσακχαρίτης στον πλανήτη και αποτελεί το κυριότερο συστατικό των φυτικών κυτταρικών τοιχωμάτων. Η κυτταρίνη περιέχει επαναλαμβανόμενες μονάδες D-γλυκόζης που είναι συνδεδεμένες μεταξύ τους με β -1, 4 γλυκοζιτικούς δεσμούς. Στην φυσική της μορφή η κυτταρίνη δεν είναι διαλυτή στο νερό αφού οι υδροξυμεθυλικές ομάδες υπολειμμάτων ανυδρογλυκόζης βρίσκονται εναλλάξ στο πάνω και κάτω μέρος της σπονδυλικής στήλης του πολυμερούς. Ωστόσο τα παράγωγα της κυτταρίνης είναι περισσότερο διαλυτά στο νερό, έχουν καλή ικανότητα φραγμού σε υδρατμούς και αέρια, επηρεάζοντας την διαπερατότητα και το ιξώδες και είναι καλοί μορφοποιητές των εδώδιμων φιλμ. Συγκεκριμένα, η διαλυτότητα αυξάνεται με την επεξεργασία της κυτταρίνης με αλκάλια με αποτέλεσμα την διάγκωση της δομής της ακολουθούμενη μέσω αντίδρασης με χλωροξικό οξύ, μεθυλοχλωρίδιο ή προπυλενοξειδίο για την παραγωγή καρβοξυμεθυλοκυτταρίνης (CMC), μεθυλοκυτταρίνης (MC), υδροξυπροπύλο-μεθυλοκυτταρίνης (HPMC) ή υδροξυπροπυλο-κυτταρίνη (HPC). Τα δύο τελευταία παράγωγα (HPC) και (HPMC), έχουν εγκριθεί ως πρόσθετα τροφίμων διότι δημιουργούν καλές ανθεκτικές μεμβράνες και λειτουργούν επίσης ως πλαστικοποιητές. Η μεθυλοκυτταρίνη (MC), είναι η λιγότερο υδρόφιλη από τα παράγωγα της κυτταρίνης και έχει την μεγαλύτερη ανθεκτικότητα στο νερό, ωστόσο η διαπερατότητα σε υδρατμούς των μεμβρανών από αυτή είναι σχετικά υψηλή (Kester and Fennema, 1986). Επίσης η μεθυλοκυτταρίνη (MC) και η υδροξυπροπύλο-μεθυλοκυτταρίνη (HPMC) έχουν χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή μεμβρανών που επιβραδύνουν την απορρόφηση λαδιού σε τηγανισμένα των προϊόντα διατροφής. Επιπλέον

έρευνες έχουν δείξει πως τα δύο αυτά παράγωγα (MC, HPMC), σε συνδυασμό με διάφορα λιπίδια, όπως το κερι παραφίνης και διάφορα λιπαρά οξέα, ήταν υπεύθυνα για τον σχηματισμό σύνθετων μεμβρανών που είχαν χαμηλή διαπερατότητα σε υδατικούς, αλλά υψηλή διαπερατότητα σε αέρια (κυρίως CO₂), ανάλογα με την φύση του λιπαρού οξέος που χρησιμοποιήθηκε. Αυτές οι μεμβράνες σχηματίστηκαν από υδατικά διαλύματα κυτταρίνης με αιθέρια λιπαρά οξέα (Ayranci και Tunc, 2003).



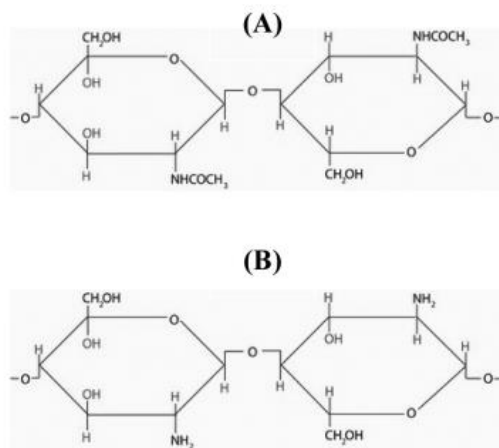
Εικόνα 1. Δομή Α) κυτταρίνης, Β) καρβοξυμέθυλο-κυτταρίνης (CMC), Γ) μεθυλο-κυτταρίνης (MC), Δ) υδροξυπροπύλο-μεθυλοκυτταρίνης (HPMC), Ε) υδροξυπροπύλο-κυτταρίνης (HPC) (πηγή: Murray et al., 2000)

Β) Άμυλο

Το **άμυλο** είναι ένας πολυμερής υδατάνθρακας και αποτελείται από μονάδες ανυδρογλυκόζης, όπου τα περισσότερα μόρια αμύλου περιέχουν δύο τύπους πολυμερών γλυκοζών όπου το ένα μόριο έχει σχήμα γραμμικής αλυσίδας και ονομάζεται αμυλάση και το άλλο είναι διακλαδισμένο πολυμερές και ονομάζεται αμυλοπηκτίνη. Το άμυλο έχει καλές μηχανικές ιδιότητες, χρησιμοποιείται πολύ συχνά στις βιομηχανίες τροφίμων και έχει χρησιμοποιηθεί επίσης για την δημιουργία βιοδιασπώμενων μεμβρανών για την αντικατάσταση των πλαστικών πολυμερών, λόγω του χαμηλού κόστους και της δυνατότητας της συνεχούς ανανέωσης τους. Στις μεμβράνες που παράγονται από άμυλο η κρυσταλλικότητα και η διαπερατότητα τους σε αέρια, επηρεάζεται ανάλογα με την περιεκτικότητα σε αμυλόζη, ενώ η διαπερατότητα σε υδρατμούς των μεμβρανών αμύλου αυξάνεται με την αύξηση της περιεκτικότητας σε αμυλοπηκτίνη (Xu et al., 2005). Συνεπώς το άμυλο με υψηλή περιεκτικότητα σε αμυλόζη, όπως το άμυλο καλαμποκιού, θεωρείται μια καλή πηγή για παραγωγή εδωδιμων φιλμ, όπου το κανονικό άμυλο αποτελείται από περίπου 25% αμυλόζη και 75% αμυλοπηκτίνη, ενώ από το καλαμπόκι παράγονται και ορισμένες μεταλλαγμένες ποικιλίες που μπορεί να περιέχουν έως και 85% αμυλόζη. Οι (Mark et al. 1966) ανέφεραν ότι μεμβράνες που παράγονται από άμυλο αραβοσίτου με υψηλή περιεκτικότητα σε αμυλόζη (συγκεκριμένα 71% αμυλόζη) δεν είχαν ανιχνεύσιμη διαπερατότητα οξυγόνου, γεγονός που ίσχυε τόσο για μη πλαστικοποιημένες όσο και πλαστικοποιημένες μεμβράνες (16% γλυκερόλη). Αυτό το αποτέλεσμα είχε αρκετά μεγάλο ενδιαφέρον σύμφωνα με το γεγονός ότι με την προσθήκη πλαστικοποιητών και την απορρόφηση του νερού από υδρόφιλα πολυμερή, γενικά οδηγούν σε αυξημένη διαπερατότητα σε αέρια. Άρα από αυτά τα δύο πολυμερή η αμυλόζη θεωρείται καλύτερη ως σχηματοποιητής μεμβρανών και η αμυλοπηκτίνη είναι περισσότερο χρήσιμη ως παράγοντας πάχυνσης. Για την παραγωγή εδωδιμων μεμβρανών αμύλου, χρειάζεται τα υδατικά διαλύματα αμύλου να θερμανθούν έτσι ώστε να ζελατινοποιηθεί το άμυλο, πριν την έγχυση και ξήρανση τους. Τέλος, άμυλο γλυκοπατάτας, χρησιμοποιήθηκε ως πρώτη ύλη για την παραγωγή εδωδιμων μεμβρανών τα οποία είχαν αντιμικροβιακό ρόλο, με την προσθήκη σορβικού καλίου ή χιτοζάνης, όπου είχαν ως αποτέλεσμα την βελτίωση των μηχανικών ιδιοτήτων των μεμβρανών και την μείωση της διαπερατότητας τους σε αέρια (Shen, et al. 2010).

Γ) Χιτίνη και Χιτοζάνη

Μετά την κυτταρίνη, η **χιτίνη** είναι ο δεύτερος αφθονότερος πολυσακχαρίτης στον πλανήτη, αποτελεί συστατικό στοιχείο των κυτταρικών τοιχωμάτων των μυκητιακών και πράσινων φυκιών και άλλων βιολογικών υλικών και βρίσκεται στον εξωτερικό σκελετό των οστρακοειδών. Στην δομή της είναι πανομοιότυπη με την κυτταρίνη, με την μόνη διαφορά ότι το δεύτερο υδροξύλιο στο δεύτερο άτομο άνθρακα στην μονάδα επανάληψης εξόζης αντικαθίσταται από μια ομάδα ακεταμιδίων(Andrady and Xu, 1997). Η χιτοζάνη παράγεται από την χιτίνη μέσω της αποακετυλίωσης παρουσία αλκάλειος. Τα εδώδιμα φιλμ που παράγονται από χιτοζάνη, έχουν καλές μηχανικές ιδιότητες, είναι διαυγείς, εύκαμπτες, σκληρές και αποτελούν καλό φραγμό στην διαπερατότητα οξυγόνου και διοξειδίου του άνθρακα, αλλά δεν είναι ανθεκτικές στην υγρασία, με αποτέλεσμα να επιτρέπουν την μετανάστευση της(Sandford, 1989, Kalplan, et al., 1993). Επίσης έρευνες έδειξαν ότι η χιτοζάνη, μπορεί να δημιουργήσει ημιπερατές μεμβράνες και να τροποποιήσει την εσωτερική ατμόσφαιρα των φρούτων και λαχανικών, με αποτέλεσμα να προκαλεί μείωση της αναπνοής, μείωση παραγωγής αιθυλενίου και καθυστέρηση της ωρίμανσης διάφορων φρούτων και λαχανικών, αφού είχε πρώτα δοκιμαστεί να προστεθεί ως επικάλυψη σε διάφορα φρούτα και λαχανικά, όπως καρότα, τομάτες, φράουλες, ακτινίδια και ροδάκινα με στόχο την βελτίωση και διατήρηση της ποιότητας τους (Vargasetal., 2006). Συγκεκριμένα, οι μεμβράνες από χιτοζάνη χρησιμοποιούνται σε προϊόντα όπως φράουλες, αγγούρια και πιπεριές με στόχο την αντιμικροβιακή δράση τους σε αυτά και σε προϊόντα όπως μήλα, αχλάδια, ροδάκινα και δαμάσκηνα ως φραγμοί αερίων (Elson and Hayes, 1985; Davies, et al., 1989).



*Εικόνα 2. Δομή Α) Χιτίνης και Β) Χιτοζάνης
(πηγή: Muzzarelli, 1996)*

Λιπίδια

Τα λιπίδια αποτελούνται από μια ομάδα υδρόφοβων ενώσεων, οι οποίες είναι ουδέτεροι εστέρες γλυκερόλης και λιπαρών οξέων. Συγκεκριμένα οι ενώσεις αυτές περιλαμβάνουν ακετυλιωμένα μονογλυκερίδια, φυσικό κερύ και διάφορες επιφανειοδραστικές ουσίες. Οι αποτελεσματικότερες ουσίες λιπιδίων που λαμβάνουν χώρα για την δημιουργία εδωδιμων μεμβρανών είναι οι κηροί όπως, το κερύ μέλισσας το κερύ παραφίνης το κερύ καντελλίλα και διάφορα λιπαρά οξέα. Η κύρια λειτουργία των λιπιδίων, είναι να εμποδίζουν την μεταφορά υγρασίας, λόγω του υδρόφοβου χαρακτήρα τους και της σχετικά χαμηλής πολικότητάς τους και παράλληλα να δημιουργούν πιο ελαστικές, γυαλιστερές και παχύτερες μεμβράνες. Ένα παράδειγμα εφαρμογής τους σε τρόφιμα είναι η χρήση τους σε διάφορα φρούτα και λαχανικά, όπως τα μήλα, τα εσπεριδοειδή, οι ντομάτες, τα αγγούρια, άλλα και σε διάφορα τυριά, λόγω της γυαλάδας που προσδίδουν στην επιφάνεια αυτών των προϊόντων. Ωστόσο το κύριο τους μειονέκτημα είναι ότι οι μεμβράνες λιπιδίων δεν έχουν καλές μηχανικές ιδιότητες και δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως ανεξάρτητες μεμβράνες. Για αυτόν τον λόγο λοιπόν συνδυάζονται συχνά με πρωτεΐνες και πολυσακχαρίτες κι έτσι δημιουργούν μεμβράνες με υψηλή αντοχή στην υγρασία λόγω των λιπιδίων και με υψηλή μηχανική αντοχή και χαμηλή διαπερατότητα σε αέρια, λόγω των υδροκολλοειδών, δηλαδή των πρωτεϊνών και των πολυσακχαριτών (Debeaufort, et al., 1993, Kester και Fennema. 1989).

A) Κηροί

Το κερι μέλισσας, το κερι καρναούμπα, το κερι καντελλίλα και η παραφίνη κατατάσσονται στους σημαντικότερους κηρούς που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή βρώσιμων μεμβρανών. Το κερι μέλισσας, παράγεται από τις μέλισσες, το κερι καντελλίλα παράγεται από το φυτό καντελλίλα(candellila), το οποίο είναι ένα φυτό που μοιάζει με καλαμπόκι και μεγαλώνει στο Μεξικό, ενώ η παραφίνη προέρχεται από το κλάσμα απόσταξης αργού πετρελαίου μέσω του καταλυτικού πολυμερισμού του αιθυλενίου. Τα κεριά γενικά αυτά, χρησιμοποιούνται για την παραγωγή μεμβρανών με στόχο την παρεμπόδιση της υγρασίας και των αερίων και την βελτίωση της εμφάνισης της επιφάνειας διαφόρων τροφίμων. Μεταξύ των λιπαρών ουσιών που χρησιμοποιήθηκαν, το κερι μέλισσας μαζί την παραφίνη θεωρούνται τα πιο αποτελεσματικά στην παρεμπόδιση υγρασίας και υδρατμών, διότι ο σημαντικός υδρόφοβος χαρακτήρας αυτών των δύο και ιδιαίτερα του κεριού μέλισσας, συμβάλλει στην χαμηλή διαπερατότητα υδρατμών(Kester και Fennema. 1989). Στην περίπτωση εφαρμογής τους ως παχιά στρώματα, πρέπει να αφαιρούνται πριν από την κατανάλωση (ορισμένα τυριά), ενώ όταν εφαρμόζονται σε λεπτά στρώματα τότε θεωρούνται εδώδιμα και μπορούν να καταναλωθούν μαζί με το προϊόν. Συνεπώς οι κηροί, κυρίως της μέλισσας, καντελλίλα και παραφίνης είναι οι πιο αποτελεσματικές βρώσιμες ενώσεις και προσδίδουν στην μεμβράνη ένα ικανοποιητικό φραγμό υγρασίας και υδρατμών.

B) Έλαια και γαλακτώματα

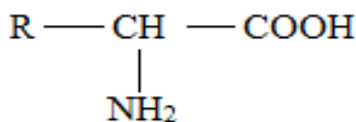
Οι μεμβράνες από γαλακτώματα αποτελούνται από έλαια ή κηρούς, όπου είναι διαλυμένα σε νερό ή σε άλλο υδρόφιλο διάλυμα. Μεταξύ των ελαίων που χρησιμοποιούνται είναι το παραφινέλαιο, το ορυκτέλαιο, το καστορέλαιο, το κραμβέλαιο, τα ακετυλιωμένα μονογλυκερίδια και κάποια φυτικά έλαια (από φιστίκι, καλαμπόκι και σόγια) τα οποία χρησιμοποιούνται ανεξάρτητα ή σε συνδυασμό με άλλα συστατικά για την επικάλυψη τροφίμων. Τα πολυγλυκερίδια και τα λιπαρά οξέα παράγονται από φυτικά έλαια και χρησιμοποιούνται κυρίως σε συνδυασμό με τα γλυκερίδια ως γαλακτωματοποιητές. Τα ακετογλυκερίδια είναι συνθετικά λίπη, πολύ εύκαμπτα σε πολυμορφική μορφή και σταθερά σε κρυσταλλική μορφή. Αυτά τα τροποποιημένα λίπη χρησιμοποιούνται ως προστατευτικές επικαλύψεις και ως πλαστικοποιητές, για παράδειγμα οι μεμβράνες ακετυλιωμένων μονογλυκεριδίων έχουν χρησιμοποιηθεί σε πουλερικά και τεμάχια

κρέατος με στόχο την καθυστέρηση της απώλειας υγρασίας κατά την αποθήκευση (Kester and Fennema, 1986). Όσον αφορά τις μεμβράνες γαλακτώματος μεταξύ των σημαντικότερων κεριών που χρησιμοποιούνται, είναι το κεριό μέλισσας και το κεριό Carnauba, τα οποία σχηματίζουν σταθερά μικρογαλακτώματα με τους κατάλληλους γαλακτωματοποιητές και προσδίδουν μια γυαλάδα στην παραγόμενη εδώδιμη μεμβράνη (Elizabeth A. Baldwin, 2007).

Πρωτεΐνες

Οι πρωτεΐνες εμφανίζονται σε μεγάλο αριθμό από ζωική και φυτική προέλευση (όπως η καζεΐνη, η πρωτεΐνη σόγιας, το κολλαγόνο, η ζελατίνη, ο ορός γάλακτος, η γλουτένη σίτου, η ζεΐνη αραβοσίτου κ.α.). Για κάποιες πρωτεΐνες, όπως για την πρωτεΐνη σόγιας, τον ορό γάλακτος και τη γλουτένη σίτου, πρώτα ακολουθεί μετουσίωση μέσω θέρμανσης των διαλυμάτων των πρωτεϊνών σε όξινο ή αλκαλικό περιβάλλον για την δημιουργία του πλέγματος μεμβράνης. Η θέρμανση, έχει ως αποτέλεσμα την αλλαγή της πρωτεϊνικής δομής βγάζοντας στην επιφάνεια τις σουλφυδρικές ομάδες και τις υδρόφοβες πλευρικές αλυσίδες, με αποτέλεσμα οι πρωτεΐνες να επεκτείνονται πλήρως και να συνδέονται στενά μεταξύ τους σε παράλληλες δομές μέσω δεσμών υδρογόνου, για να σχηματίσουν ίνες (Gennadios & Weller, 1991, Scope, 1994).

Οι πρωτεΐνες αποτελούνται από τους πολυσακχαρίτες καθώς βασίζονται σε περίπου 20 μονομερή αμινοξέα. Ωστόσο υπάρχουν κι αυτοί που περιέχουν μόνο ένα μονομερές, για παράδειγμα η γλυκόζη στην περίπτωση της κυτταρίνης και του αμύλου. Τα αμινοξέα ως προς τη δομή τους είναι παρόμοια, καθώς αποτελούνται από μία αμινομάδα (NH_2) και μία καρβοξυλική ομάδα (COOH) οι οποίες συνδέονται στο ίδιο άτομο άνθρακα. (Εικόνα 3)



Εικόνα 3. Συνηθέστερη δομή αμινοξέων

Βέβαια, η διαφορά μεταξύ των αμινοξέων έγκειται στην πλευρική ομάδα η οποία είναι συνδεδεμένη με το μόριο του άνθρακα, στην οποία οφείλονται οι ιδιότητες του αμινοξέος. Οι

πλευρικές ομάδες διαφέρουν ως προς τα χαρακτηριστικά τους, δηλαδή μπορεί να είναι υδρόφιλες ή υδρόφοβες ενώσεις και να είναι είτε θετικά, είτε αρνητικά φορτισμένες σε pH 7,0. Μια πρωτεΐνη μπορεί να αποτελείται από 100 έως και 500 μόρια αμινοξέων. Οι ιδιότητες των πρωτεϊνών εξαρτώνται από την πρωτοταγή δομή τους, δηλαδή την ακολουθία των αμινοξέων. Επίσης μπορεί να εξαρτώνται από την δευτεροταγή δομή τους, η οποία βασίζεται στις διάφορες δομές που δημιουργούνται κατά μήκος της **πολυπεπτιδικής αλυσίδας**. Οι δομές αυτές σχηματίζονται μέσω των δεσμών υδρογόνου, των δυνάμεων Van der Waals, των υδρόφοβων και ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων καθώς επίσης και των δισουλφιδικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μορίων αμινοξέων. Η τριτοταγής δομή μιας πρωτεΐνης αναφέρεται στην τρισδιάστατη μορφή που έχει η πολυπεπτιδική αλυσίδα της στο χώρο, η οποία έχει τμήματα είτε καλά οργανωμένα είτε με τυχαία διαμόρφωση. Η παραπάνω δομή εξαρτάται από τους δεσμούς υδρογόνου, τις υδρόφοβες και τις ιοντικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των υδρόφιλων πλευρικών ομάδων. Τέλος, η τεταρτοταγής δομή των πρωτεϊνών αφορά τις πρωτεΐνες που έχουν παραπάνω από μια πολυπεπτιδικές αλυσίδες και αφορά την χωροδιάταξη και τις αλληλεπιδράσεις ανάμεσα σε διαφορετικές αλυσίδες. Οι παράγοντες οι οποίοι μπορούν να τροποποιήσουν τις δομές των πρωτεϊνών, μπορεί να είναι είτε φυσικοί, όπως η θερμότητα, διάφορες μηχανικές κατεργασίες και η υδροστατική πίεση, είτε χημικοί, όπως η ακτινοβολία, τα οξέα και τα μέταλλα. Κατά την παραγωγή εδώδιμων μεμβρανών από πρωτεΐνες, γίνεται συχνά χρήση των παραπάνω παραγόντων με στόχο την αλλαγή της διαμόρφωσης των πρωτεϊνών και των αλληλεπιδράσεων τους, που αυτό έχει ως αποτέλεσμα να επιφέρει μεταβολές στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των μεμβρανών. (Cheftel et al., 1985)

Οι πρωτεΐνες του γάλακτος χρησιμοποιούνται πολύ συχνά στην παρασκευή εδώδιμων μεμβρανών. Οι καζεΐνες και γενικότερα οι πρωτεΐνες του γάλακτος αποτελούν τα κύρια κλάσματα των πρωτεϊνών του γάλακτος που παρουσιάζουν μεγάλο ενδιαφέρον καθώς διακρίνονται λόγω της υψηλής θρεπτικής αξίας και της ιδιαίτερα επιθυμητής γεύσης που προσδίδουν πέρα από τις ιδιότητες φραγμού που διαθέτουν. Τα τελευταία χρόνια μάλιστα έχει παρατηρηθεί πως στο μόριο των καζεϊνών και των πρωτεϊνών ορού γάλακτος βρίσκονται περιοχές που κατά την απελευθέρωση τους μέσω ενζυμικής υδρόλυσης παρουσιάζουν βιολογική δραστηριότητα σε συγκεκριμένες συνθήκες. Τα πεπτίδια που παρουσιάζουν αυτή την ιδιότητα χαρακτηρίζονται ως βιοενεργά πεπτίδια. (Clare et al., 2000)

Η διαφάνεια και η ευκαμψία είναι δύο κύρια χαρακτηριστικά των μεμβρανών από πρωτεΐνες ορού γάλακτος (WPI), όπως επίσης και η χαμηλή διαπερατότητα τους σε αέρια (όπως οξυγόνο και

διοξειδίο του άνθρακα), σε λιπίδια και σε αρωματικές ενώσεις. Ωστόσο λόγω του ότι οι μεμβράνες αυτές είναι κυρίως υδρόφιλες, έχουν υψηλή διαπερατότητα σε υγρασία, ένα φαινόμενο που μπορεί να αντιμετωπιστεί με προσθήκη λιπιδίων στη σύνθεσή τους, αφού έτσι αποκτούν πιο υδρόφοβο χαρακτήρα. Τα λιπίδια προστίθενται κυρίως είναι ακετυλιωμένα μονογλυκερίδια, κερί μέλισσας και λιπαρά οξέα. (Kamper & Fennema, 1985, Debeaufort et al., 1993)

Η σύσταση των καζεϊνών σε υδρόφοβα αμινοξέα (35-45%) του συνόλου των αμινοξέων, οδηγεί στον σχηματισμό υδρόφοβων περιοχών κατά μήκος της πολυπεπτιδικής αλυσίδας. Επίσης οι καζεΐνες παρουσιάζουν υψηλή περιεκτικότητα σε προλίνη και χαμηλή σε κυστεΐνη. Αυτό αποτρέπει την δημιουργία πολλών δισουλφιδικών δεσμών και προσδίδει την ιδιότητα στις καζεΐνες να αποτελούνται από μια ανοιχτή και τυχαία διαμόρφωση. Έτσι οι καζεΐνες είναι προσιτές σε διάφορες ενζυμικές αντιδράσεις, όπως για παράδειγμα η κατάλυση της διαμοριακής γεφύρωσης από την τρανσγλουταμινάση. Τα καζεϊνικά άλατα σχηματίζονται μέσω της διαλυτοποίησης τους με τα αλκάλια των όξινων κατακρημνιζόμενων καζεϊνών σε ουδέτερο περιβάλλον pH. Ένα από τα συνηθέστερα καζεϊνικά άλατα, είναι το καζεϊνικό νάτριο το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την δημιουργία μεμβρανών λόγω διαφόρων χαρακτηριστικών του, όπως η υψηλή διαλυτότητα στο νερό, η τυχαία του διαμόρφωση και η ιδιότητα του να δημιουργεί συσσωματώματα αλυσίδων. (Mc Hugh & Krochta 1994, Chen 1995, Khawaldia 2004)

Μελέτες στις οποίες οι μεμβράνες αυτές χρησιμοποιήθηκαν ως φορείς συντηρητικών (π.χ. σορβικό κάλιο), παρουσίασαν μεγάλη μεταβολή στις θερμομηχανικές ιδιότητες, αλλά και στις ιδιότητες φραγμού στους υδρατμούς. (Kristo et al., 2008)

1.1.2 Εφαρμογές εδώδιμων μεμβρανών στα τρόφιμα

Οι εδώδιμες μεμβράνες βρίσκουν εφαρμογή σε πολλά διαφορετικά προϊόντα. Για παράδειγμα συμβάλλουν στην μείωση της αφυδάτωσης, ρυθμίζουν την αναπνοή ενός προϊόντος καθώς βελτιώνουν και διατηρούν διάφορα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, όπως η υφή, η γεύση κ.λπ.

Φρούτα και λαχανικά

Η χρήση μεμβρανών σε αυτή την κατηγορία τροφίμων, ειδικά σε ωμά ή ελαφρώς επεξεργασμένα φρούτα και λαχανικά, φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο σε αρκετούς παράγοντες. Αρχικά τα

συγκεκριμένα τρόφιμα είναι πολύ ευάλωτα σε αλλοιώσεις και μάλιστα σε πολλές περιπτώσεις καταστρέφεται έως και το 50% του προϊόντος κατά τη διάρκεια της συγκομιδής, της μεταχείρισης, της μεταφοράς και της αποθήκευσης. Οι εδώδιμες μεμβράνες μπορούν να αποτρέψουν μεγάλο ποσοστό αυτών των απωλειών, καθώς επίσης και να αυξήσουν το χρόνο ζωής ενός φρούτου ή λαχανικού. Όταν λοιπόν ένα προϊόν καλύπτεται με μεμβράνη όταν είναι φρέσκο ή φρεσκοτεμαχισμένο, εκτός από τα παραπάνω προστατεύεται σε μεγάλο βαθμό από αφυδάτωση και ανταλλαγή αερίων με το περιβάλλον (οξυγόνο και διοξείδιο του άνθρακα), αποχρωματισμό, μικροβιολογική επιβάρυνση, μαύρισμα του προϊόντος και δυσάρεστες οσμές(κυρίως κατά την αποθήκευση). Έχει παρατηρηθεί ότι μεμβράνες από πρωτεΐνες γάλακτος εμποδίζουν τις αλλοιώσεις από οξείδωση σε κομμένα φρούτα και λαχανικά παρεμποδίζοντας την πολυφαινολική οξείδωση. Τέλος είναι σημαντικό να αναφερθεί πως η χρήση μεμβρανών επηρεάζεται άμεσα από τις χημικές ιδιότητες του τροφίμου. Υψηλή σχετική υγρασία, οξύτητα ή θερμοκρασία είναι πολύ πιθανό να μειώσουν τις ιδιότητες μιας μεμβράνης. Ακόμη, η ενεργότητα του νερού στο τρόφιμο και ο βαθμός ωριμότητας του προϊόντος πρέπει να λαμβάνονται υπ' όψιν κατά τη χρήση εδωδιμων μεμβρανών.

Κρέας

Στο κρέας και στα προϊόντα του, είναι σημαντικό να προστατεύονται από απώλειες υγρασίας κατά την αποθήκευσή τους (είτε είναι φρέσκα είτε είναι κατεψυγμένα), να παραμένει χαμηλά ο ρυθμός οξείδωσής τους, να περιορίζονται οι απώλειες των πτητικών ουσιών τους και σε περιπτώσεις κυρίως φρέσκου κρέατος να μην υπάρχουν απώλειες στα υγρά του. Σε αυτή την κατηγορία γίνεται χρήση κυρίως μεμβρανών που έχουν έμφαση στην χαμηλή διαπερατότητα οξυγόνου, υγρασίας και αερίων. Κάνοντας χρήση μεμβρανών με τις παραπάνω ιδιότητες, το κρέας και τα προϊόντα του αποφεύγουν και επιμολύνσεις από παθογόνους μικροοργανισμούς, πράγμα που μεγαλώνει και το χρόνο ζωής τους. (Quintavalla & Vicini 2002)

Τυριά

Στα τυριά οι εδωδιμες μεμβράνες παίζουν δύο πολύ σημαντικούς ρόλους. Αρχικά προστατεύουν το προϊόν από επιμολύνσεις παθογόνων μικροοργανισμών (όπως *L. monocytogenes* και

Salmonella) και παρεμποδίζουν την επαφή του προϊόντος με εξωτερικά αέρια, διατηρούν ακεραία τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του. Συγκεκριμένα, με εφαρμογή μεμβρανών από μίγμα με χιτοζάνης, γαλακτομαννάνης και αραβοσιτελαίου σε ημίσκληρα τυριά, αποτρέπεται ο σχηματισμός μούχλας.

Άλλες εφαρμογές σε τρόφιμα

Γενικότερα έχει παρατηρηθεί ότι οι εδώδιμες μεμβράνες (με προσθήκη κάποιας λιπαρής ουσίας κατά την παρασκευή τους) έχει ως αποτέλεσμα τον φραγμό στην διαπερατότητα υγρασίας μεταξύ των συστατικών ενός τροφίμου. Άλλες ανεπιθύμητες συνθήκες που αποτρέπονται με χρήση μεμβρανών είναι η αποφυγή της επιφανειακής ξήρανσης φρέσκων και κατεψυγμένων προϊόντων, αποφυγή σχηματισμού συσσωματωμάτων, αλλαγές στο βάρος του προϊόντος ή ακόμη και ως γαλακτοματοποιητές κατά τη συσκευασία προϊόντων. Μεμβράνες τροφίμων (όπως αναφέρθηκε και παραπάνω) χρησιμοποιούνται σε πολλές περιπτώσεις για τη διατήρηση οργανοληπτικών χαρακτηριστικών ενός τροφίμου όπως γεύση, οσμή, όψη (πχ χρώμα) αλλά σε μερικές περιπτώσεις για μηχανική στήριξη ενός προϊόντος (συνήθως σε μαλακά προϊόντα ή προϊόντα που έχουν σε μεγάλο ποσοστό υγρά στοιχεία όπως σάλτσες).

Άλλη μία σημαντική εφαρμογή μεμβρανών (τύπου WPI) είναι σε φιστίκια έτοιμα προς κατανάλωση στα οποία παρατηρούνταν αλλοιώσεις κατά την αποθήκευσή τους λόγω έκθεσης σε υψηλά επίπεδα οξυγόνου. Φιστίκια που καλύφθηκαν με τέτοια μεμβράνη και στη συνέχεια πέρασαν από θάλαμο εξάτμισης για περαιτέρω μείωση της σχετικής υγρασίας, άντεξαν πολύ περισσότερο καιρό στις ίδιες συνθήκες αποθήκευσης.

Οι εδώδιμες μεμβράνες από πρωτεΐνες γάλακτος έχουν επίσης την ικανότητα να διατηρούν τα θρεπτικά συστατικά τροφίμων κατά την αποθήκευση. Αν και απαιτείται υψηλό επίπεδο γνώσης ως προς την σύσταση της μεμβράνης που θα χρησιμοποιηθεί, στα πρόσθετα που πιθανόν να πρέπει να χρησιμοποιηθούν καθώς και στο να μην υπάρξουν ανεπιθύμητες χημικές αντιδράσεις μεταξύ των συστατικών του τροφίμου και των συστατικών της μεμβράνης.

Σαν γενικό συμπέρασμα των παραπάνω, θα μπορούσαμε να πούμε ότι ο χώρος της επεξεργασίας και της αποθήκευσης των τροφίμων χρειάζεται συνεχώς τέτοιες πρωτοποριακές τεχνολογίες ώστε να μπορούν να δίνονται λύσεις σε όλες τις ανάλογες απαιτήσεις της αγοράς. Από τις εδώδιμες

μεμβράνες για τρόφιμα, εκείνες που φτιάχνονται από πρωτεΐνες γάλακτος και ορού γάλακτος θεωρούνται πολλά υποσχόμενες για το μέλλον της επεξεργασίας τροφίμων, τόσο για τις πολυάριθμες εφαρμογές τους όσο και για τη φιλικότητα προς το περιβάλλον που τις διακρίνει.

1.2 ΒΙΟΕΠΙΦΑΝΕΙΟΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ

1.2.1 Γενικά

Οι βιοεπιφανειοδραστικές ουσίες είναι αμφιφιλικές ενώσεις που παράγονται με φυσικό τρόπο από καλλιέργεια μικροοργανισμών (όπως βακτήρια και ζύμες), και παράγονται στην επιφάνεια του μικροοργανισμού ή μπορεί να παράγονται και εξωκυτταρικά και να απελευθερώνονται στο υγρό της ζύμωσης. Αποτελούνται από υδρόφοβο και υδρόφιλο τμήμα που προσδίδουν την ικανότητα συσσώρευσης μεταξύ ρευστών φάσεων, μειώνοντας έτσι την επιφανειακή και τη διεπιφανειακή τάση στην επιφάνεια και τη διεπαφή αντίστοιχα. Επιπλέον, είναι ιδιαίτερα χρήσιμη η ικανότητα των υλικών αυτών να δημιουργούν γαλακτώματα λόγω της αμφίφιλης φύσης τους και να ομογενοποιούν διφασικά συστήματα. Οι βιοεπιφανειοδραστικές ουσίες ταξινομούνται ανάλογα με τη χημική τους δομή και τα συστατικά που απαρτίζουν το υδρόφιλο και το υδρόφοβο τμήμα τους (πρωτεΐνες, λιπίδια, σάκχαρα) αλλά και τη μικροβιακή τους προέλευση. Οι κύριες κατηγορίες βιοεπιφανειοδραστικών είναι τα γλυκολιπίδια, τα φωσφολιπίδια, τα πολυμερή βιοεπιφανειοδραστικά και τα λιποπεπτίδια. Τα πιο γνωστά γλυκολιπίδια είναι τα ραμνολιπίδια, τα σοφορολιπίδια και τα τρεαλολιπίδια.

1.2.2 Παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή βιοεπιφανειοδραστικών

Η σύνθεση και η γαλακτωματοποιητική δραστηριότητα των βιοεπιφανειοδραστικών δεν εξαρτάται μόνο από το μικροβιακό στέλεχος που θα παραχθούν αλλά και από τις συνθήκες καλλιέργειας. Πολύ σημαντικό ρόλο ακόμη παίζουν η φύση της πηγής άνθρακα, η πηγή αζώτου καθώς και η αναλογία C:N(άνθρακα:αζώτου), οι διατροφικοί περιορισμοί, οι χημικές και φυσικές παράμετροι όπως η θερμοκρασία, ο αερισμός, τα δισθενή κατιόντα και το pH, καθώς επηρεάζουν

όχι μόνο την ποσότητα του βιοεπιφανειοδραστικού που παράγεται κάθε φορά αλλά και τον τύπο του παραγόμενου πολυμερούς.

Πιο συγκεκριμένα οι διάφοροι τρόποι που επηρεάζουν οι παραπάνω παράγοντες στην παραγωγή βιοεπιφανειοδραστικών είναι:

- **Πηγές άνθρακα:** Η ποιότητα και η ποσότητα της παραγωγής βιοεπιφανειοδραστικών επηρεάζονται από τη φύση του υποστρώματος άνθρακα. Το ντίζελ, το αργό πετρέλαιο, η γλυκόζη, η σακχαρόζη, η γλυκερίνη έχουν αναφερθεί ότι αποτελούν καλή πηγή υποστρώματος άνθρακα για την παραγωγή βιοεπιφανειοδραστικών.
- **Πηγές αζώτου:** Το άζωτο είναι σημαντικό ως μέσο παραγωγής βιοεπιφανειοδραστικών, επειδή είναι απαραίτητο για τη μικροβιακή ανάπτυξη καθώς οι συνθέσεις πρωτεϊνών και ενζύμων εξαρτώνται από αυτό. Γενικά χρησιμοποιούνται διάφορες ενώσεις αζώτου για την παραγωγή βιοεπιφανειοδραστικών όπως η πεπτόνη ουρίας, το εκχύλισμα ζύμης, το θειικό αμμώνιο, το νιτρικό αμμώνιο, το νιτρικό νάτριο, εκχυλίσματα κρέατος και εκχυλίσματα βύνης. Αν και τα εκχυλίσματα ζυμών είναι η πιο χρησιμοποιούμενη πηγή αζώτου για την παραγωγή βιοεπιφανειοδραστικών, η χρήση τους ως προς την τελική συγκέντρωση που θα έχουν, εξαρτάται άμεσα από το στέλεχος του μικροοργανισμού καθώς και το μέσο καλλιέργειας αυτού. Τα άλατα αμμωνίου και η ουρία είναι προτιμώμενες πηγές αζώτου για την παραγωγή βιοεπιφανειοδραστικών από το *Arthrobacter paraffineus*, ενώ τα νιτρικά υποστηρίζουν τη μέγιστη παραγωγή βιοεπιφανειοδραστικών από *Pseudomonas aeruginosa*.
- **Περιβαλλοντικοί παράγοντες:** Είναι εξαιρετικά σημαντικοί στην απόδοση και τα χαρακτηριστικά του παραγόμενου βιοεπιφανειοδραστικού. Για να παραχθούν μεγάλες ποσότητες βιοεπιφανειοδραστικών, είναι πάντα απαραίτητο να βελτιστοποιηθεί η βιοδιεργασία, καθώς το προϊόν μπορεί να επηρεαστεί από αλλαγές στη θερμοκρασία, το pH, τον αερισμό ή την ταχύτητα ανάδευσης. Οι περισσότερες παραγωγές βιοεπιφανειοδραστικών ουσιών αναφέρεται ότι πραγματοποιούνται σε εύρος θερμοκρασίας 25-300°C. Η επίδραση του pH στο βιοεπιφανειοδραστικό που παράγεται μελετήθηκε από τους Zinjarde και Pant οι οποίοι ανέφεραν ότι η καλύτερη παραγωγή εμφανίστηκε όταν το pH ήταν 8,0 που είναι το φυσικό pH του θαλασσινού νερού.
- **Αερισμός και ανάδευση:** Ο αερισμός και η ανάδευση είναι σημαντικοί παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή βιοεπιφανειοδραστικών καθώς και οι δύο διευκολύνουν τη

μεταφορά οξυγόνου από την αέρια φάση στην υδατική φάση. Μπορεί επίσης να συνδέεται με τη φυσιολογική λειτουργία του μικροβιακού γαλακτωματοποιητή, έχει παρατηρηθεί ότι η παραγωγή βιογαλακτωματοποιητών μπορεί να ενισχύσει τη διαλυτοποίηση των αδιάλυτων στο νερό υποστρωμάτων και κατά συνέπεια να διευκολύνει τη μεταφορά θρεπτικών ουσιών στους μικροοργανισμούς. Οι Adamczak και Bednarski παρατήρησαν ότι η καλύτερη τιμή παραγωγής της βιοεπιφανειοδραστικής ουσίας αποκτήθηκε όταν ο ρυθμός ροής αέρα ήταν 1vvm (δηλαδή κάθε 1 λεπτό να περνάει ποσότητα 1 λίτρου αέρα από το μέσο παραγωγής) και η συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου διατηρήθηκε στο 50% του κορεσμού.

- **Συγκέντρωση άλατος:** Η συγκέντρωση άλατος ενός συγκεκριμένου μέσου είχε επίσης αντίστοιχη επίδραση στην παραγωγή βιοεπιφανειοδραστικών καθώς οι κυτταρικές δραστηριότητες των μικροοργανισμών επηρεάζονται από τη συγκέντρωση αλατιού. Ωστόσο, παρατηρήθηκε ότι ορισμένα βιοεπιφανειοδραστικά προϊόντα δεν επηρεάστηκαν από συγκεντρώσεις έως και 10% (βάρος/όγκος) αν και ανιχνεύθηκαν ελαφρές μειώσεις στην ποσότητα τελικού προϊόντος.

1.2.3 Πλεονεκτήματα των βιοεπιφανειοδραστικών έναντι των συνθετικών

Οι βιοεπιφανειοδραστικές ουσίες έχουν πολλά πλεονεκτήματα έναντι των χημικά συντιθέμενων επιφανειοδραστικών, μερικά εκ των οποίων είναι:

- **Βιο-αποικοδομησιμότητα:** Οι βιολογικές επιφανειοδραστικές ουσίες αποικοδομούνται εύκολα από μικροοργανισμούς, πράγμα που τις κάνει πολύ φιλικότερες με το περιβάλλον.
- **Χαμηλή τοξικότητα:** Τα βιοεπιφανειοδραστικά επιδεικνύουν χαμηλότερη τοξικότητα από εκείνα που προέρχονται από χημικές συνθέσεις.
- **Διαθεσιμότητα πρώτων υλών:** Μπορούν να παραχθούν από πολύ φθηνές πρώτες ύλες, όπως είναι τα διάφορα απόβλητα, τα οποία μπορούν να αξιοποιηθούν ως υποστρώματα για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών και τη διεξαγωγή μικροβιακών ζυμώσεων. Τα απόβλητα αυτά είναι πλούσια σε θρεπτικά συστατικά, απαραίτητα για τους μικροοργανισμούς από τους οποίους προέρχονται οι βιοεπιφανειοδραστικές ουσίες, όπως άνθρακας, άζωτο, μέταλλα και ιχνοστοιχεία, αλλά και το απαιτούμενο για τη ζύμωση νερό.

- **Σταθερότητα:** Πολλά βιοεπιφανειοδραστικά δεν επηρεάζονται από περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως η θερμοκρασία, το pH και η ανοχή ιοντικής ισχύος. Για παράδειγμα, η λιχενυσίνη (ανιονικό κυκλικό λιποεπταπεπτίδιο) που ανήκει στα λιποπεπτίδια και παράγεται από το στέλεχος *Bacillus licheniformis* δεν επηρεάστηκε από θερμοκρασίες έως και 50°C, με εύρος pH 4,5-9,0, και συγκέντρωση NaCl 50 g/l και συγκέντρωση Ca 25 g/l.

1.2.4 Εφαρμογές στον τομέα των τροφίμων

Τα γαλακτώματα τροφίμων και τα κολλοειδή είναι περίπλοκα συστήματα που αποτελούνται από διάφορα συστατικά. Τα αμφίφιλα μόρια χαμηλού μοριακού βάρους παίζουν ουσιαστικό ρόλο στη σταθερότητα τέτοιων γαλακτωμάτων. Οι υπηρεσίες τροφίμων και οι υγειονομικές αρχές παγκοσμίως επιβάλλουν συνεχώς περιορισμούς στη χρήση συνθετικών γαλακτωματοποιητών και σε συνδυασμό με την επιθυμία να μειωθεί η εξάρτηση από φυτικούς γαλακτωματοποιητές που παράγονται από γενετικά τροποποιημένες καλλιέργειες, έχει οδηγήσει σε αυξημένο ενδιαφέρον για την εύρεση εναλλακτικών φυσικών πηγών για τέτοια αμφίφιλα μόρια κατάλληλα για χρήση σε νέα και προηγμένα σκευάσματα τροφίμων.

Έτσι οι βιοεπιφανειοδραστικές ουσίες έχουν χρησιμοποιηθεί για διάφορες εφαρμογές τροφίμων, προάγοντας τον σχηματισμό και τη σταθεροποίηση γαλακτωμάτων. Ουσιαστικά ελέγχουν την συσσωμάτωση των σφαιριδίων λίπους, τη σταθεροποίηση αεριζόμενων συστημάτων, βελτιώνουν την υφή, καθώς ρυθμίζουν τις ρεολογικές ιδιότητες, και συμβάλλουν στη βελτίωση της συνοχής και της υφής των προϊόντων με βάση το λίπος. Η ικανότητα των επιφανειοδραστικών ενώσεων να τροποποιούν τα ρεολογικά χαρακτηριστικά ή τη γαλακτωματοποίηση εξηγεί την ανάγκη χρήσης τους σε πληθώρα τροφίμων.

Η αναζήτηση νέων γαλακτωματοποιητών/βιοεπιφανειοδραστικών κατάλληλων για βιομηχανίες τροφίμων αυξάνεται σταθερά λόγω βιομηχανιών που επιδιώκουν να μειώσουν την εξάρτηση από φυτικούς γαλακτωματοποιητές που παράγονται από γενετικά τροποποιημένες καλλιέργειες. Ωστόσο, το δυσμενές οικονομικό κόστος παραγωγής και οι δυσκολίες παραγωγής επαρκών ποσοτήτων βιοεπιφανειοδραστικών έχουν παρεμποδίσει την απορρόφηση από πολλές βιομηχανίες. Η χρήση φθηνών βιώσιμων πόρων, οι βελτιώσεις στελεχών και η βελτιστοποίηση των τεχνολογιών παραγωγής και εκχύλισης για την αύξηση των αποδόσεων και της

παραγωγικότητας, επιπλέον της καλύτερης κατανόησης των μεταβολικών ικανοτήτων των μικροοργανισμών μπορεί να φέρει την απαιτούμενη σημαντική ανακάλυψη στις αποδόσεις και το κόστος παραγωγής.

Τέλος, μέσω εξειδικευμένων οικονομικά αποδοτικών εφαρμογών στη βιομηχανία τροφίμων και κατευθυνόμενων δοκιμών και ερευνών για τη διαπίστωση της τοξικότητας, μπορούμε να πούμε με αρκετή σιγουριά ότι η επένδυση βιομηχανιών σε βιοεπιφανειοδραστικές ουσίες όλο και θα αυξάνεται στο μέλλον.

2. ΣΤΟΧΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν αρχικά, η παρασκευή εδώδιμων μεμβρανών από πρωτεΐνη τυρογάλακτος, με καθαρότητα πάνω από 80% σε πρωτεΐνη, και καθαρή γλυκερόλη, και η προσθήκη σε αυτές υδρόφοβων ουσιών (φυσικοί κηροί, έλαιο καφέ) για την βελτίωση των ιδιοτήτων τους. Στην συνέχεια έγινε προσθήκη της επιφανειοδραστικής ουσίας Tween80 (polysorbate 80), και οι παρασκευασμένες μεμβράνες μελετήθηκαν ως προς τις ιδιότητες τους σε υγρασία, πάχος, διαλυτότητα, ικανότητα συγκράτησης νερού, οπτικές ιδιότητες (διαπερατότητα σε φως) και στην διαπερατότητα υδρατμών.

Έπειτα αφού οι παραπάνω μεμβράνες μελετήθηκαν ως προς τις ιδιότητες τους, μελετήθηκε περαιτέρω η αντικατάσταση του Tween80 με φυσική βιοεπιφανειοδραστική ουσία παραγόμενη από γαλακτικά βακτήρια σε διαφορετικές συγκεντρώσεις (80, 160, 320 mg).

Τελικός σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να αξιολογηθεί μέσω της σύγκρισης των αποτελεσμάτων, αν θα μπορούσε η φυσική βιοεπιφανειοδραστική ουσία, να αντικαταστήσει την επιφανειοδραστική ουσία Tween80.

3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1 Πρώτες ύλες

Για την παρασκευή των μεμβρανών χρησιμοποιήθηκε πρωτεΐνη τυρογάλακτος (WPC), με περιεκτικότητα πάνω από 80% σε πρωτεΐνη, και καθαρή γλυκερόλη (>99%). Τα απόβλητα καφέ, ποικιλίας Arabica, συλλέχθηκαν από τοπικό κατάστημα πώλησης ροφημάτων καφέ espresso (Αργοστόλι, Κεφαλονιά) και αποθηκεύτηκαν στην κατάψυξη (-20 °C) έως ότου επεξεργαστούν περαιτέρω. Επίσης, χρησιμοποιήθηκαν φυσικοί κηροί όπως κηρός μέλισσας (beewax, BW) και κηρός καντελίλλα (candelilla wax, CW) υψηλής καθαρότητας. Όλα τα υπόλοιπα αντιδραστήρια και οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν επίσης υψηλής καθαρότητας.

3.2 Παραγωγή μεμβρανών από πρωτεΐνη τυρογάλακτος

Παρασκευάστηκε υδατικό διάλυμα πρωτεΐνης τυρογάλακτος 7% (w/w). Ύστερα το pH ρυθμίστηκε στο 8 με καυστικό νάτριο 0,5 M και ακολούθησε η μετουσίωση του διαλύματος στους 80 °C για 30 min, υπό ανάδευση, σε υδατόλουτρο. Στη συνέχεια, το διάλυμα ψύχθηκε αμέσως με σκοπό να μην μετουσιωθεί περαιτέρω, κι όταν βρισκόταν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος προστέθηκε γλυκερόλη (40% w/w επί του βάρους της πρωτεΐνης). Το διάλυμα τοποθετήθηκε σε λουτρό υπερήχων (Εικόνα 4) για 10 min κατ' ελάχιστο ώστε να απομακρυνθούν οι φυσαλίδες. Για την επίστρωση των μεμβρανών, χρησιμοποιήθηκαν 9 mL διαλύματος σε καλούπι σιλικόνης διαμέτρου περίπου 9 cm. Οι μεμβράνες αφέθηκαν να στεγνώσουν σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών (25±1 °C, σχετική υγρασία 55±2%) για 1 ημέρα (Εικόνα 5,6). Αφού στέγνωσαν, τοποθετήθηκαν σε υάλινο περιέκτη που κλείνει αεροστεγώς, στους 25±2 °C και σχετική υγρασία 50±2% με χρήση κορεσμένου διαλύματος νιτρικού μαγνησίου για τουλάχιστον 48 h πριν αναλυθούν οι ιδιότητές τους. Αυτή η διαδικασία παρασκευής εδώδιμων μεμβρανών πραγματοποιήθηκε τέσσερις συνολικά φορές καθώς παράχθηκαν τρεις εδώδιμες μεμβράνες με την προσθήκη βιοεπιφανειοδραστικής ουσίας (BS) σε τρεις διαφορετικές ποσότητες (80 mg, 160 mg και 320 mg) και μια εδώδιμη μεμβράνη με την προσθήκη της επιφανειοδραστικής ουσίας

Tween80 σε ποσότητα 0,131g. Η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε για την προσθήκη διαφορετικών ουσιών περιγράφονται στις ενότητες που ακολουθούν.



Εικόνα 4. Λουτρό υπερήχων



Εικόνα 5. Ειδικός θάλαμος ελεγχόμενης θερμοκρασίας



Εικόνα 6. Ειδικός θάλαμος ελεγχόμενης υγρασίας όπου τοποθετούνται οι μεμβράνες

3.2.1 Προσθήκη ελαίου από απόβλητα καφέ

Αρχικά, τα απόβλητα καφέ ξηράθηκαν στους 40 °C μέχρι σταθερού βάρους. Στη συνέχεια εκχυλίστηκε το έλαιο από τα απόβλητα του καφέ με εξάνιο (αναλογία 1:9 στερεού:υγρού) και διαχωρίστηκε από τον διαλύτη υπό κενό με περιστροφικό εξατμιστήρα. Το έλαιο που παραλήφθηκε με τη διαδικασία που περιγράφεται στην ενότητα 4.1 χρησιμοποιήθηκε σε αναλογία 7,5% (w/w, επί της WPC) στο μετουσιωμένο μείγμα πρωτεΐνης-γλυκερόλης και αναμίχθηκε με ράβδο ομογενοποίησης (10.000 rpm, 15 min). Επίσης, έγινε και προσθήκη της ουσίας Tween 80 και ύστερα της βιοεπιφανειοδραστικής ουσίας BS για καλύτερη ενσωμάτωση του ελαίου. Οι φυσαλίδες του μίγματος αφαιρέθηκαν τοποθετώντας το μείγμα στο λουτρό υπερήχων. Έπειτα ακολούθησε επίστρωση του μίγματος και συλλογή των μεμβρανών όπως ακριβώς περιγράφεται στην ενότητα 4.2.



Εικόνα 7. Ράβδος ομογενοποίησης

3.3 Αναλυτικές μέθοδοι

3.3.1 Προσδιορισμός υγρασίας των μεμβρανών

Οι μεμβράνες κόπηκαν σε μέγεθος 2 x 2 cm και τοποθετήθηκαν σε θάλαμο ξήρανσης στους 60 °C (Binder, Germany) μέχρι απόκτησης σταθερού βάρους. Η υγρασία των δειγμάτων υπολογίστηκε με βάση το βάρος των δειγμάτων που καταγράφηκε σε ζυγό με ακρίβεια τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων, πριν και μετά τη ξήρανση. Ο μέσος όρος των μετρήσεων προέκυψε από την ανάλυση τεσσάρων επαναλήψεων για κάθε δείγμα.

3.3.2 Προσδιορισμός ικανότητας συγκράτησης νερού των μεμβρανών

Η ικανότητα συγκράτησης νερού (swelling index, SI) προσδιορίστηκε σε δείγματα μεμβράνης (2 x 2 cm) (SI_0), τα οποία τοποθετήθηκαν σε ποτήρι ζέσεως με νερό για 2 min. Έπειτα το επιπλέον επιφανειακό νερό του δείγματος αφαιρέθηκε με χαρτί και το δείγμα ζυγίστηκε σε ζυγό με ακρίβεια τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων (SI_2). Η ικανότητα συγκράτησης νερού υπολογίστηκε με βάση την εξίσωση:

$$SI = \left(\frac{SI_2 - SI_0}{SI_0} \right) \times 100$$

όπου SI_0 είναι το ξηρό βάρος (g) του δείγματος πριν την ανάλυση και SI_2 είναι το νωπό βάρος (g) του δείγματος μετά την ανάλυση. Ο μέσος όρος των μετρήσεων προέκυψε από την ανάλυση τριών επαναλήψεων για κάθε δείγμα.

3.3.3 Προσδιορισμός διαλυτότητας των μεμβρανών

Οι μεμβράνες κόπηκαν σε μέγεθος 2 x 2 cm, ζυγίστηκαν σε ζυγό με ακρίβεια τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων (S_0) και τοποθετήθηκαν σε ποτήρι ζέσεως που περιείχε 30 mL νερό, όπου αφέθηκαν για 24 h. Στη συνέχεια το αδιάλυτο δείγμα παραλήφθηκε και ξηράθηκε (60 °C) μέχρι σταθερού βάρους (S_{24}). Για τον υπολογισμό της διαλυτότητας (S) λήφθηκε υπόψη η παρακάτω εξίσωση:

$$S = \left(\frac{S_0 - S_{24}}{S_0} \right) \times 100$$

όπου S_0 είναι το ξηρό βάρος (g) του δείγματος πριν την ανάλυση και S_{24} είναι το ξηρό βάρος (g) του δείγματος μετά την ανάλυση. Ο μέσος όρος των μετρήσεων προέκυψε από την ανάλυση τριών επαναλήψεων για κάθε δείγμα.

3.3.4 Προσδιορισμός πάχους των μεμβρανών

Το πάχος των μεμβρανών μετρήθηκε με αναλογικό παχύμετρο ακρίβειας 0.01 mm (Silverline, United Kingdom). Η κάθε μεμβράνη μετρήθηκε σε 5 διαφορετικά σημεία (A, B, C, D, E, όπου E το κέντρο). Ο μέσος όρος των μετρήσεων προέκυψε από την ανάλυση δύο επαναλήψεων για κάθε δείγμα, εκτός του δείγματος BS080 (80mg ποσότητας βιοεπιφανειοδραστικής ουσίας) στο οποίο είχαμε μία επανάληψη.

3.3.5 Προσδιορισμός οπτικών ιδιοτήτων των μεμβρανών

Οι μεμβράνες κόπηκαν σε μέγεθος 4 x 1 cm και τοποθετήθηκαν στην εσωτερική πλευρά μίας πλαστικής κυψελίδας με σκοπό το προσδιορισμό των οπτικών τους ιδιοτήτων. Η απορρόφηση (Abs) (600 nm) και η διαπερατότητα (%T) (200 - 800 nm) μετρήθηκαν σε φωτόμετρο (Helios Omega, ThermoScientific, USA). Ο μέσος όρος των μετρήσεων προέκυψε από την ανάλυση έξι επαναλήψεων για κάθε δείγμα.



Εικόνα 8. Φωτόμετρο, Helios Omega

3.3.6 Προσδιορισμός διαπερατότητας υδρατμών των μεμβρανών

Η διαπερατότητα υδρατμών (water vapor permeability, WVP) των μεμβρανών προσδιορίστηκε σύμφωνα με το πρότυπο ASTM E96/E96M (2015), με κάποιες τροποποιήσεις (Gheribi et al., 2018). Ειδικότερα, η μεμβράνη προσαρτήθηκε στο ανοικτό στόμιο υάλινου περιέκτη, ο οποίος είχε πληρωθεί με 40 g silica gel, ούτως ώστε το κενό διάστημα μεταξύ μεμβράνης και silica gel να είναι ίσο με 1 cm. Οι περιέκτες σφραγίστηκαν με σιλικόνη για να αποφευχθούν τυχόν απώλειες που μπορεί να επηρεάσουν τις μετρήσεις και στη συνέχεια τοποθετήθηκαν σε θάλαμο στους 25±2 °C και σχετική υγρασία 50±2%. Ο ρυθμός μεταφοράς των υδρατμών δια μέσου της μεμβράνης (water vapor transport, WVTR) υπολογίστηκε από την καμπύλη συσχέτισης της αύξησης του βάρους του περιέκτη με το χρόνο. Στη συνέχεια, η διαπερατότητα υδρατμών των μεμβρανών υπολογίστηκε από την εξίσωση:

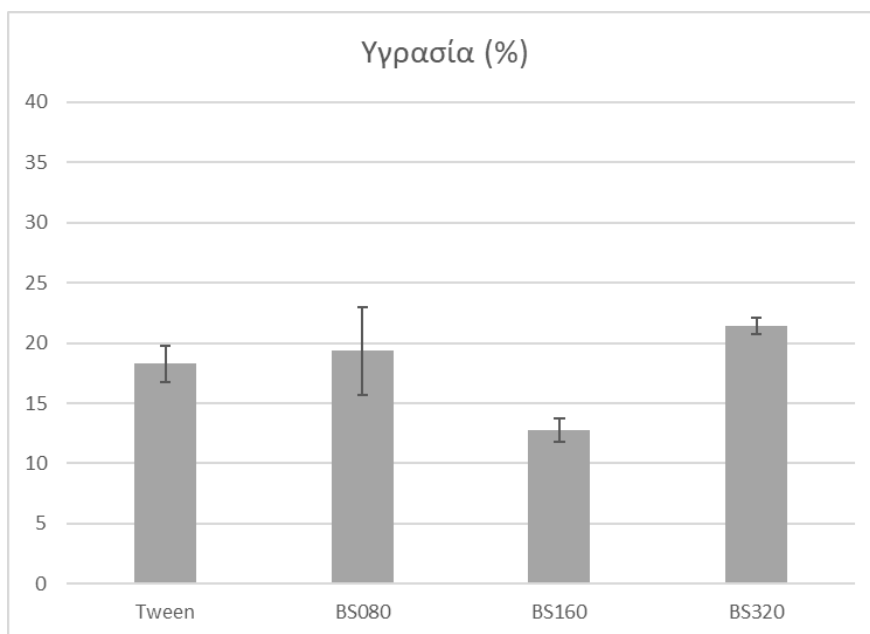
$$WVP = \frac{WVTR \times x}{\Delta p}$$

όπου WVP (g mm/ m² d kPa) είναι ο ρυθμός μεταφοράς των υδρατμών δια μέσου της μεμβράνης (κλίση της καμπύλης (g/d) δια το εμβαδόν της επιφάνειας της μεμβράνης (m²)), x (mm) είναι το πάχος της μεμβράνης, και Δp (kPa) είναι η διαφορά της μερικής πίεσης υδρατμών των δύο πλευρών της μεμβράνης (Δp = p (RH₂ – RH₁), όπου p είναι η τάση ατμών του νερού στους 25 °C, RH₂ = 50% και RH₁=0%). Ο μέσος όρος των μετρήσεων προέκυψε από την ανάλυση δύο επαναλήψεων για κάθε δείγμα, εκτός του δείγματος BS080 στο οποίο είχαμε μία επανάληψη.

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1 Επίδραση στην υγρασία

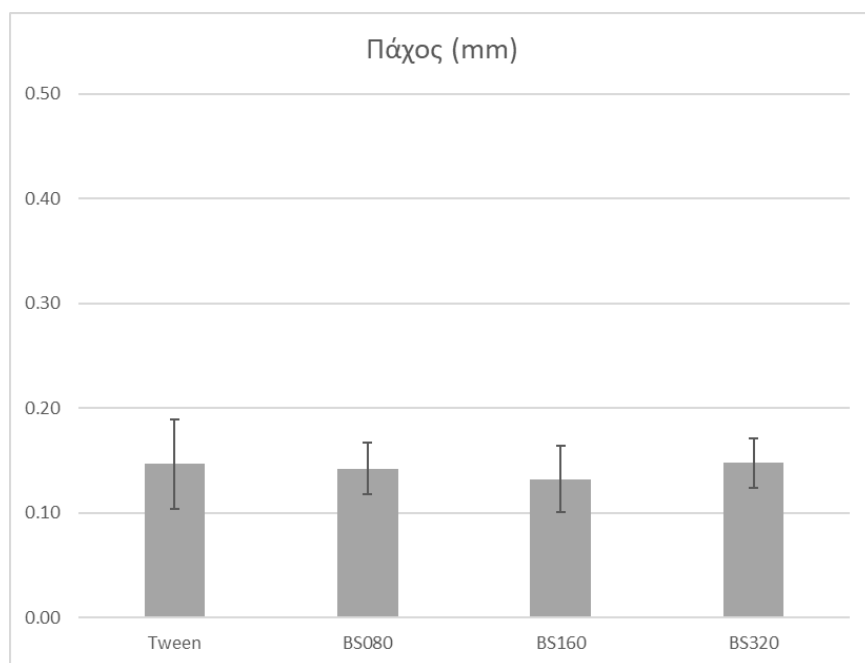
Στο παρακάτω γράφημα παρουσιάζεται η υγρασίας των εδώδιμων μεμβρανών, με πρώτο το δείγμα στο οποίο έγινε χρήση Tween80 και στην συνέχεια τα δείγματα στα οποία έγινε προσθήκη της βιοεπιφανειοδραστικής ουσίας σε διάφορες συγκεντρώσεις (BS 80, 160 και 320mg). Το ποσοστό της υγρασίας των δειγμάτων υπολογίστηκε με βάση το βάρος πριν και μετά την ξήρανση όπως φαίνεται στον παραπάνω πίνακα και ο μέσος όρος της υγρασίας προέκυψε από τέσσερις επαναλήψεις για κάθε δείγμα μεμβράνης. Από το Γράφημα 1 φαίνεται ότι η προσθήκη των βιοεπιφανειοδραστικών ουσιών δεν επηρέασε την υγρασία των εδώδιμων μεμβρανών, η οποία κυμάνθηκε περίπου στο 18-21%, εκτός από την περίπτωση BS160 που η υγρασία ήταν 12,8%.



Εικόνα 9. Επίδραση της προσθήκης βιοεπιφανειοδραστικών ουσιών σε διάφορες συγκεντρώσεις στην υγρασία των εδώδιμων μεμβρανών

4.2 Επίδραση στο πάχος των μεμβρανών

Στον παρακάτω γράφημα παρουσιάζεται η επίδραση της προσθήκης των βιοεπιφανειοδραστικών ουσιών στο πάχος (mm) των μεμβρανών. Το πάχος μετρήθηκε με παχύμετρο σε πέντε διαφορετικά σημεία κατά μήκος της μεμβράνης. Από τα αποτελέσματα του γραφήματος μπορούμε να συμπεράνουμε ότι η προσθήκη βιοεπιφανειοδραστικών ουσιών δεν επηρέασε το πάχος των μεμβρανών το οποίο ήταν 0,12-0,15 mm.

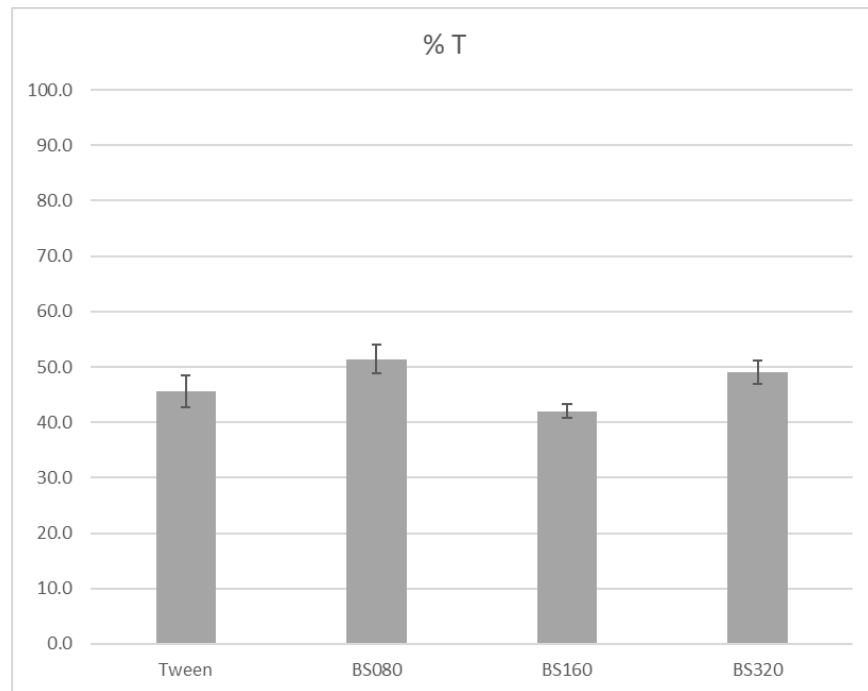


Εικόνα 10. Επίδραση της προσθήκης βιοεπιφανειοδραστικών ουσιών σε διάφορες συγκεντρώσεις στο πάχος των εδώδιμων μεμβρανών

4.3 Επίδραση στις οπτικές ιδιότητες των μεμβρανών

Όσον αφορά τις οπτικές ιδιότητες κάθε δείγμα μεμβράνης μετρήθηκε ως προς την διαπερατότητα σε φως (T%). Στο Γράφημα 3 φαίνονται τα αποτελέσματα σε ότι αφορά τη διαπερατότητα στα 600 nm, σύμφωνα με τα οποία η διαπερατότητα κυμάνθηκε μεταξύ 40-50%, χωρίς και πάλι να

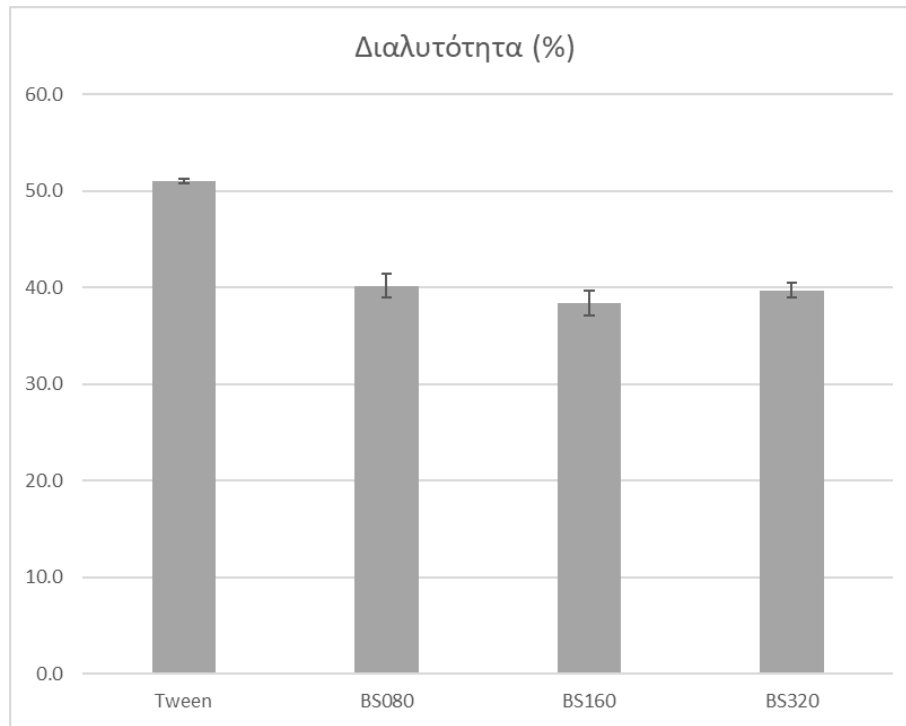
παρατηρείται κάποια επίδραση από την αντικατάσταση του Tween80 με τις βιοεπιφανειοδραστικές ουσίες.



Εικόνα 11. Επίδραση της προσθήκης βιοεπιφανειοδραστικών ουσιών σε διάφορες συγκεντρώσεις στη διαπερατότητα των εδώδιμων μεμβρανών

4.4 Επίδραση στην διαλυτότητα των μεμβρανών

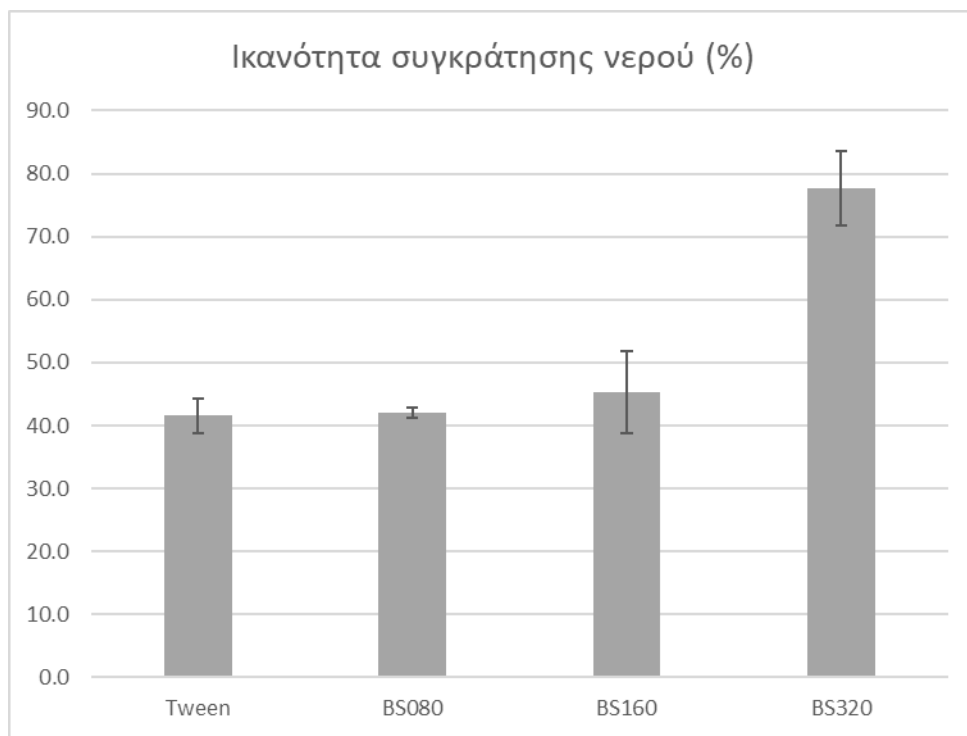
Σε ό,τι αφορά τη διαλυτότητα των μεμβρανών στο νερό, τα αποτελέσματα απεικονίζονται στο Γράφημα 4. Είναι αξιοσημείωτο το γεγονός ότι η διαλυτότητα των μεμβρανών μειώθηκε με την προσθήκη βιοεπιφανειοδραστικών ουσιών κατά 10% περίπου, το οποίο ήταν ανεξάρτητο της συγκέντρωσης αυτών. Ως εκ του τούτου, η διαλυτότητα των εδώδιμων μεμβρανών διαμορφώθηκε στο 40% περίπου όταν το Tween80 αντικαταστάθηκε από τις βιοεπιφανειοδραστικές ουσίες.



Εικόνα 12. Επίδραση της προσθήκης βιοεπιφανειοδραστικών ουσιών σε διάφορες συγκεντρώσεις στη διαλυτότητα των εδώδιμων μεμβρανών

4.5 Επίδραση στην ικανότητα συγκράτησης νερού των μεμβρανών

Σε ό,τι αφορά την ικανότητα συγκράτησης νερού, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι υπάρχει μία τάση αύξησης της ιδιότητας αυτής η οποία είναι εξαρτώμενη από τη συγκέντρωση των βιοεπιφανειοδραστικών ουσιών (Γράφημα 5). Ειδικότερα, η ικανότητα συγκράτησης νερού από 40% αυξήθηκε στο 77,7% με την προσθήκη BS360. Μία πιθανή εξήγηση είναι ότι αυτές οι βιοεπιφανειοδραστικές ουσίες πιθανότατα να είναι περισσότερο υδρόφιλες οπότε συνείσφεραν στην υψηλότερη ικανότητα συγκράτησης νερού των εδώδιμων μεμβρανών. Αντιθέτως, έρευνα έχει δείξει ότι οι λιπόφιλες επιφανειοδραστικές ουσίες, όπως π.χ. το SPAN80, μειώνουν την ικανότητα συγκράτησης νερού των μεμβρανών (Peng et al., 2013).

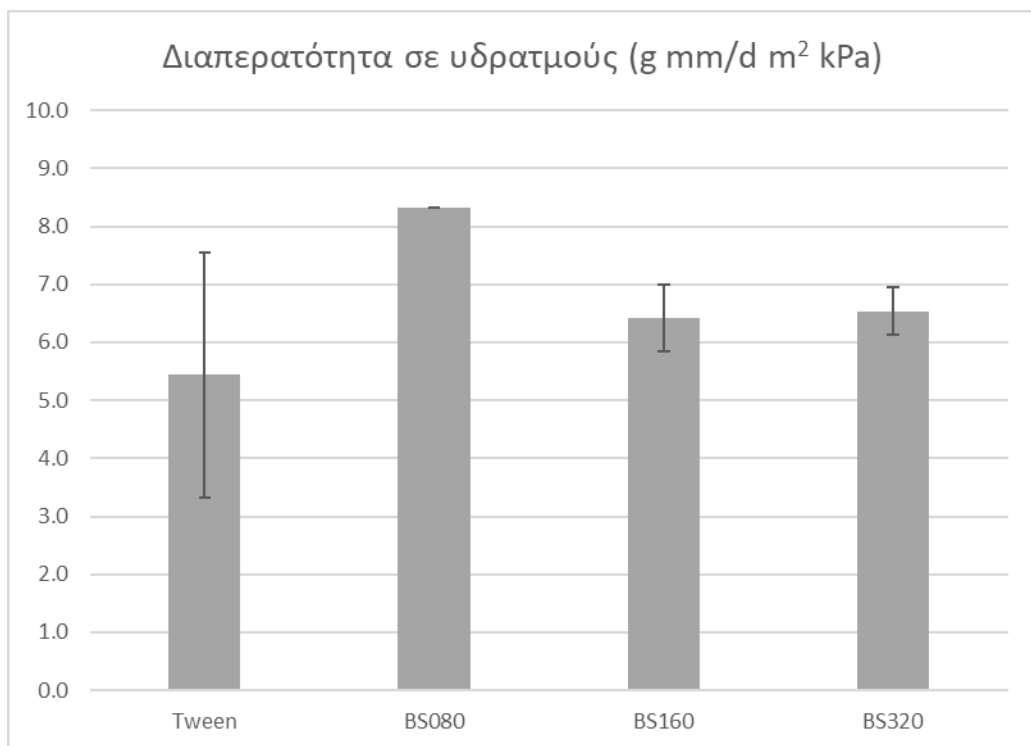


Εικόνα 13. Επίδραση της προσθήκης βιοεπιφανειοδραστικών ουσιών σε διάφορες συγκεντρώσεις στην ικανότητα συγκράτησης νερού των εδώδιμων μεμβρανών

4.6 Επίδραση στην διαπερατότητα υδρατμών των μεμβρανών

Η ικανότητα των μεμβρανών να λειτουργούν ως φραγμός στην υγρασία απεικονίζεται στο Γράφημα 6. Από τα αποτελέσματα διαπιστώνουμε ότι η διαπερατότητα σε υδρατμούς αυξήθηκε με την προσθήκη βιοεπιφανειοδραστικών ουσιών. Συγκεκριμένα, η διαπερατότητα σε υδρατμούς κυμάνθηκε από 6 μέχρι 8 (g mm/d m² kPa).

Σε παλαιότερη μελέτη έχει διαπιστωθεί ότι οι διαφορετικοί τύποι και οι συγκεντρώσεις των επιφανειοδραστικών ουσιών, μπορούν να επηρεάσουν διαφορετικά την διαπερατότητα σε υδρατμούς των εδώδιμων μεμβρανών (Peng et al., 2013).



Εικόνα 14. Επίδραση της προσθήκης βιοεπιφανειοδραστικών ουσιών σε διάφορες συγκεντρώσεις στη διαπερατότητα σε υδρατμούς των εδωδιμων μεμβρανών

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα μελέτη μελετήθηκαν οι ιδιότητες των εδώδιμων μεμβρανών αρχικά με την χρήση της επιφανειοδραστικής ουσίας Tween80, ως προς την υγρασία, την διαλυτότητα, το πάχος, την ικανότητα συγκράτησης νερού, τις οπτικές ιδιότητες και την διαπερατότητα σε υδρατμούς. Ύστερα παρασκευάστηκαν εδώδιμες μεμβράνες με την προσθήκη της φυσικής βιοεπιφανειοδραστικής ουσίας BS σε τρεις ποσότητες (80mg, 160mg, 320mg), όπου επίσης μελετήθηκαν ως προς τις ιδιότητες που αναφέρθηκαν παραπάνω και συγκρίναμε τα αποτελέσματά τους με αυτά των μεμβρανών που είχαν την ουσία Tween80. Τελικός σκοπός, ήταν να αξιολογήσουμε αν μπορεί η βιοεπιφανειοδραστική ουσία να αντικαταστήσει την ουσία Tween80 μέσω των αποτελεσμάτων των ιδιοτήτων τους.

Τα συμπεράσματα τα οποία προέκυψαν είναι τα εξής:

- Η υγρασία, το πάχος και η διαπερατότητα σε φως των μεμβρανών δεν μεταβάλλεται με την προσθήκη βιοεπιφανειοδραστική ουσίας σε σχέση με την μεμβράνη με Tween80
- Όσον αφορά την διαλυτότητα μειώθηκε με την προσθήκη βιοεπιφανειοδραστικών ουσιών
- Όσον αφορά την διαπερατότητα στους υδρατμούς και την ικανότητα συγκράτησης νερού των μεμβρανών, τα αποτελέσματα έδειξαν να αυξάνονται με την προσθήκη βιοεπιφανειοδραστικών ουσιών
- Οι βιοεπιφανειοδραστικές ουσίες φαίνεται να είναι περισσότερο υδρόφιλες και με αυτό τον τρόπο συνείσφεραν στην αύξηση της ικανότητας συγκράτησης νερού των μεμβρανών
- Δεδομένου ότι οι μεμβράνες από πρωτεΐνη τυρογάλακτος χρήζουν βελτίωση στις ιδιότητες που σχετίζονται με το νερό, η προσθήκη βιοεπιφανειοδραστικών ουσιών βοήθησε στη βελτίωση μόνο της διαλυτότητας των μεμβρανών.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Adamczak M, Bednarski W (2000) Influence of medium composition and aeration on the synthesis of biosurfactants produced by *Candida antarctica*
- Ahmad, M. and Khan, I. (1987). Effect of waxing and cellophane lining on chemical quality indices of citrus fruit. *Plant Foods Human Nutrition* 37: 47- 57.
- Andrady, A. L., & Xu, P. (1997). Elastic behavior of chitosan films. *Journal of Polymer Science*, 5, 307-521.
- Ayranci E., Tunc, S. (2003). A method for the measurement of the oxygen permeability and the development of edible films to reduce the rate of oxidative reactions in fresh foods. *Food Chemistry*, 80, 423-431
- Baker, R. A., Baldwin, E. A., and Nisperos-Carriedo, M. O. (1994). Edible coatings and films for processed foods. In Krochta, J.M., Baldwin, E. A. and Nisperos-Carriedo M.O. (Eds.). *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*, p. 89-104. Lancaster, Basel: Technomic Publishing.
- Bourtoom, (2008). Factor Affecting the Properties of Edible Film Prepared from Mung Bean Proteins, *International Food Research Journal* 15(2): 167- 180
- Bourtoom T. Edible films and coatings: characteristics and properties. *Int Food Res J.* 15(3): 237-248
- Carmen A. Campos, Lía N. Gerschenson and Silvia K. Flores (2010). Development of Edible Films and Coatings with Antimicrobial Activity”, in “Food Bioprocess Technologies”, Vol. 4, pp. 849-875.
- Cheftel, J. C., Cuq, J. – L., & Lorient, D. (1985). Amino Acids, Peptides, and Proteins in Food Chemistry, ed., O.R. Fennema, New York: Marcel Dekker, 245-369.
- Chen H. (1995). Functional Properties and Applications of Edible Films Made of Milk Proteins. *J Dairy Sci.* 78(11):2563–2583.
- Clare, D. A., (2000) Swaisgood, H.E Bioactive Milk Peptides: A prospectus. *Journal of Dairy Science*, 83, 1187-1195
- Lin D. and Y. Zhao, (2007). Innovations in the development and Application of Edible Coatings for Fresh and Minimally Processed Fruits and Vegetables," *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, vol. 6, no. 3, pp. 60-75.
- Debeaufort F. and Quezada-Gallo J. (1998). Edible Films and Coatings: Tomorrow's packagings: A review," *Critical Reviews in Food Science*, vol. 38, pp. 299-313.

- Debeaufort, F., Martin-Polo, M. and Voilley, A. (1993). Polarity homogeneity and structure affect water vapor permeability of model edible films. *Journal of Food Science* 58: 426-434.
- Desai JD, Banat IM (1997) Microbial production of surfactants and their commercial potential. *Microbiol Mol Biol Rev* 61: 47- 64
- Dhall R. K. (2013). Advances in Edible Coatings for Fresh Fruits and Vegetables: A Review”, in “Critical Reviews in Food Science and Nutrition”, Vol. 53, pp. 435-450
- Donhowe, I. G. and Fennema, O. R. (1993). The effects of plasticizers on crystallinity, permeability, and mechanical properties of methylcellulose films. *Journal of Food Processing and Preservation* 17: 247-257
- Donhowe, I.G. and Fenemma, O. (1993). The effects of solution composition and drying temperature on crystallinity, permeability and mechanical properties of methylcellulose films. *J. Food Processing Preservation* 17(4), 23 1-246.
- Elizabeth A. Baldwin, (2007). Surface Treatments and Edible Coatings in Food Preservation”, in “Handbook of Food Preservation” Ch. 21, pp. 478-498
- Elson, C. M. and Hayes, E. R. (1985). Development of the differentially permeable fruit coating NutriSave® for the modified atmosphere storage of fruit. *Proceedings of the 4th National Controlled Atmosphere Research Conference: Controlled Atmosphere for Storage and Transport of Perishable Agricultural Commodities*, p. 248-262. Raleigh, North Carolina.
- Gennadios, A. and Weller, C. L. (1992). Tensile strength increase of wheat gluten films. ASAE paper no. 92- 6517. In *International Winter Meeting American Society of Agricultural Engineers*, December 15-18. Nashville, TN
- Gennadios, A., Brandenburg, A. H., Weller, C. L. and Testin, R. F. (1993). Effect of pH on properties of wheat gluten and soy protein isolate films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 41, 1835-1839.
- Guilbert, S. (1986). Technology and application of edible protective films. In Mathlouthi, M. (Ed.), *Food packaging and preservation*, p. 371–394. London, UK: Elsevier Applied Science
- Han JH. (2014). Edible films and coatings: a review: In book: *Innovations in food packaging*. 2nd ed. A volume in food science and technology. 213-255
- Kamper, S. L. and Fennema, O. N. (1984). Water vapor permeability of an edible fatty acid, bilayer films. *Journal of Food Science* 49: 1482-1485.
- Kaplan, D. L., Mayer, J. M., Ball, D., McCassie, J., Allen, A. L. and Stenhouse, P. (1993). Fundamental of biodegradable polymer. In Ching, C., Kaplan D., and Thomas E. (eds.). *Biodegradable Polymers and Packaging*, p. 1-42. Lancaster: Technomic Publishing.

- Kester, J. J. and Fennema, O. R. (1986). Edible films and coatings: A review. *Food Technology* 40(12): 47-59.
- Khwalidia K, Perez C, Banon S, et al. (2004). Milk proteins for edible films and coatings. *Crit Rev Food Sci Nutr.*44(4):239–251
- Khwalidia K. (2011). Antimicrobial films and coatings from milk proteins. In: Rai M, Chikindas M, editors. *Natural antimicrobials in food safety and quality*. CAB International, Wallingford, UK; 114–130.
- Kristo E., Koutsoumanis K. P., Biliaderis C. G. (2008). Thermal, mechanical and water vapor barrier properties of sodium caseinate films containing antimicrobials and their inhibitory action on *Listeria monocytogenes*. *Food Hydrocolloids*, 22, 373-386.
- Lacroix M, VuKhanh D. (2014). Edible coatings and film materials: Proteins. In book: Jung H Han editor. *Innovations in food packaging 2nd ed. A volume in food science and technology*. 277-304
- McHugh TH, Krochta JM. (1994) Milk protein based edible films and coatings. *Food Technology*. 48(1):97–103
- McHugh, T. H., Aujard, J. F. and Krochta, J. M. 1994. Plasticized whey protein edible films: water vapor permeability properties. *Journal of Food Science* 59: 416-419.
- McHugh, T.H. (2000). Protein-lipid interactions in edible films and coatings. *Nahrung*, 44, 148-151
- Murray, J. F.C., Limited, H. and Reigate. (2000). Cellulose. In Phillips, G.O. and Williams, P.A. (Eds.). *Handbook of hydrocolloids*, p 219-245. Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited
- Muzzarelli, R. A. A. (1996). Chitosan-based dietary foods. *Carbohydrate Polymer* 29: 309-316
- Nelson, K. L. and Fennema, O. R. (1991). Methylcellulose films to prevent lipid migration in confectionery products. *Journal of Food Science* 56: 504-509.
- Peng, Y., Yin, L., Li, Y. (2013). Combined effects of lemon essential oil and surfactants on physical and structural properties of chitosan films. *Int. J. Food Sci. Technol.* 48, 44–50.
- Quintavalla S, Vicini L. (2022). Antimicrobial food packaging in meat industry. *Meat Sci.* 2002;62(3):373–380
- Rahman PKSM, Gakpe E (2008) Production, characterization and application of Biosurfactants- Review. *Biotechnology* 7: 360-370.

- Salihu A, Abdulkadir I, Almustapha MN (2009) An investigation for potential development of biosurfactants. *Microbiol Mol Biol Rev* 3: 111-117.
- Sandford, P. A. 1989. Chitosan: commercial uses and potential application. In Skjak-Braek, G., Anthosen, T. and Sandford, P. (Eds.). *Chitin and Chitosan: Source, Chemistry, Biochemistry, Physical Properties, and Application*, p. 51-69. New York: Elsevier Applied Science.
- Scope, R. K. 1994. Separation by precipitation. In Scope, R.K. (Ed.), *Protein purification: Principles and practice*, p. 71-101. New York: Springer-Verlag.
- Scope, R. K. 1994. Separation by precipitation. In Scope, R.K. (Ed.), *Protein purification: Principles and practice*, p. 71-101. New York: Springer-Verlag
- Scope, R. K. 1994. Separation by precipitation. In Scope, R.K. (Ed.), *Protein purification: Principles and practice*, p. 71-101. New York: Springer-Verlag
- Shen XL, Wu, JM, Chen Y, Zhao G. (2010). Antimicrobial and physical properties of sweet potato starch films incorporated with potassium sorbate or chitosan. *Food hydrocolloids*, 24, 285-290.
- Singh A, Van Hamme JD, Ward OP. Surfactants in microbiology and biotechnology: Part 2. Application aspects. *Biotechnol Adv.* 2007;25:99–121.
- Vargas, M., Albors. A., Chiralt. A., & Gonzalez-Martinez, C. (2006). Quality of cold-stored strawberries as affected by chitosan-oleic acid edible coatings. *Postharvest Biology and Technology*, 41, 164-171.
- Vargas, M., Pastor C., Chiralt. A., McClements, D. J., & Gonzalez-Martinez, C. (2008). Recent advances in edible coatings for fresh and minimally processed fruits. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48, 496-511.
- Xu, X.Y., Kim, K.M., Hanna, M.A. and Nag, D. 2005. Chitosan-starch composite film: preparation and characterization. *Industrial Crops and Products an International Journal* 21:185-192
- Μοδίτση, Μ., 2012. Μελέτη μεμβρανών από πρωτεΐνες γάλακτος ως συστήματα μεταφοράς και ελεγχόμενης απελευθέρωσης αντιμυκητιακών ουσιών, Θεσσαλονίκη.