



ΔΙΕΘΝΕΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΟΣ



ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ & ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ
ΔΙΕΘΝΕΣ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΟΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΣΥΝΟΛΙΚΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΣΕ ΜΥΪΚΟ ΙΣΤΟ ΨΑΡΙΟΥ



ΚΑΠΡΑΝΟΣ ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2020

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΣΥΝΟΛΙΚΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ
ΣΕ ΜΥΪΚΟ ΙΣΤΟ ΨΑΡΙΟΥ

ΚΑΠΡΑΝΟΣ ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ

STUDY OF THE TOTAL ANTIOXIDANT CAPACITY
OF FISH MUSCLE TISSUE

Υποβολή Πτυχιακής διατριβής που αποτελεί μέρος των απαιτήσεων για
την απονομή του Πτυχίου του Τμήματος Επιστημών Διατροφής και
Διαιτολογίας του Διεθνούς Πανεπιστημίου Της Ελλάδος

ΙΟΥΛΙΟΣ 2020

Εισηγητής Καθηγητής

ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΣ ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΣΥΝΟΛΙΚΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ
ΣΕ ΜΥΪΚΟ ΙΣΤΟ ΨΑΡΙΟΥ

ΚΑΠΡΑΝΟΣ ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ

Διεθνές Πανεπιστήμιο της Ελλάδας, Σχολή Επιστημών Υγείας,
Τμήμα Επιστημών Διατροφής και Διαιτολογίας, Σίνδος, 57400,
Θεσσαλονίκη Τ.Θ 141

Στην σύζυγό μου Ντέλια και στα παιδιά μας
Εβελίνα & Μόδεστο – Νικόλα

“Too many free radicals, that’s your problem. ”

“Free radicals, Sir ? ”

“ Yes. They are toxins that destroy the body and brain – caused by eating too much red meat and white bread and too many dry Martinis.”

“Then I shall cut out the white bread, Sir. ”

James Bond, *Never say never again* (1983)

Περιεχόμενα

1 Περίληψη.....	7
2 Εισαγωγή	11
3 Χημική σύσταση και θρεπτική αξία της σάρκας των αλιευμάτων.....	13
4 Οφέλη των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων	18
5 Πολικά λιποειδή των ψαριών και PAF	20
6 Υποβάθμιση των ιχθύων.....	21
6.1 Μικροβιακή ανάπτυξη.....	22
6.2 Ενζυμική δράση	22
6.3 Οξείδωση των λιπών (Τάγγιση)	23
6.3.1 Αυτοοξείδωση των λιπαρών υλών	23
6.3.2 Έμμεση φωτοοξείδωση.....	26
6.3.3 Προϊόντα οξείδωσης.....	27
6.3.4 Παράγοντες που επιδρούν στην πορεία της αυτοοξείδωσης	28
7 Αντιοξειδωτικά στα ψάρια	31
7.1 Βιταμίνη E	34
7.1.1 Μηχανισμός αντιοξειδωτικής δράσης βιταμίνης E	36
7.1.2 Συμπληρωματική χορήγηση βιταμίνης E.....	38
7.2 Ασκορβικό οξύ	38
7.2.1 Μηχανισμός δράσης βιταμίνης C.....	38
7.2.2 Συμπληρωματική χορήγηση βιταμίνης C.....	40
7.3 Ουμπικινόνη ή Συνένζυμο Q ₁₀	40
7.3.1 Πηγές πρόσληψης Q ₁₀	42
7.4 Καροτενοειδή.....	43
7.4.1 Μηχανισμός αντιοξειδωτικής δράσης καροτενοειδών	46
7.4.2 Πηγές πρόσληψης καροτενοειδών	47
7.4.3 Συμπληρωματική χορήγηση καροτενοειδών.....	48
8 Χημικές μέθοδοι προσδιορισμού Συνολικής Αντιοξειδωτικής Ικανότητας (Total Antioxidant Capacity).....	49
8.1 Η μέθοδος TEAC.....	50
8.2 Η μέθοδος ORAC	51
8.3 Η μέθοδος FRAP.....	51
8.4 Η μέθοδος DPPH	52
9. Εκτίμηση της ποιότητας των ιχθύων	54

9.1 Έλεγχος με τις αισθήσεις	54
9.2 Φυσικές και μηχανικές μέθοδοι.....	54
9.3 Χημικές και βιοχημικές μέθοδοι	55
9.3.1 Χημικές αναλύσεις	55
9.3.2 Βιοχημικές αναλύσεις	55
9.3.3 Προσδιορισμός του οξειδίου της τριμεθυλαμίνης (TMAO), της Τριμεθυλαμίνης (TMA), της Διμεθυλαμίνης (DMA) και της Φορμαλδεΐδης (FA).....	55
9.3.4 Προσδιορισμός τιμής K	56
9.3.5 Προσδιορισμός υποξανθίνης	56
9.3.6 Προσδιορισμός υπεροξειδίων (PV)	57
9.3.7 Προσδιορισμός θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBA)	58
9.3.8 Προσδιορισμός ελεύθερων λιπαρών οξέων (FFA)	58
9.4 Μικροβιολογικές μέθοδοι.....	58
10 Σκοπός της εργασίας.....	59
11 Οι Ιχθύες της μελέτης – Σύντομη περιγραφή και εμπορική αξία	60
11.1 Οι ιχθύες της μελέτης κατά οικογένεια και είδος εκτροφής.....	61
12 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	65
12.1 Υλικά – Συσκευές.....	65
12.1.1 Δείγματα ψαριών	65
12.1.2 Χημικά αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν.....	66
12.1.3 Όργανα – Συσκευές	66
12.2 Μέθοδοι.....	67
12.2.1 Προετοιμασία – κατεργασία νωπών ιχθύων	67
12.2.2 Φυγοκεντρήσεις και παραλαβή τελικών δειγμάτων.....	67
12.3 Προσδιορισμός συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη μέθοδο DPPH	69
12.3.1 Παρασκευή διαλυμάτων	69
12.3.2 Πειραματική Διαδικασία	69
12.4 Μέθοδος Στατιστικής Ανάλυσης.....	69
13. Αποτελέσματα – Στατιστική Επεξεργασία	70
13.1 Εργαστηριακά Δεδομένα – Στατιστική Ανάλυση	70
13.2 Αποτελέσματα μεθόδου DPPH	72
14 Συζήτηση.....	74
15 Συμπεράσματα.....	81
16 Βιβλιογραφία.....	81

Έντυπη Βιβλιογραφία	81
Ηλεκτρονική Βιβλιογραφία (Ιστότοποι).....	83
Ηλεκτρονική βιβλιογραφία (Άρθρα).....	83

1 Περίληψη

Ο σύγχρονος τρόπος ζωής έχει απομακρύνει των άνθρωπο από την προετοιμασία των γευμάτων του και τον Μεσογειακό τρόπο διατροφής, αναπόσπαστο κομμάτι του οποίου αποτελεί η συχνή κατανάλωση ψαριών. Τα ψάρια θεωρούνται ως σημαντική πηγή υψηλής ποιότητας ζωικών πρωτεϊνών για την ανθρώπινη διατροφή. Είναι επίσης θρεπτικό τρόφιμο λόγω των φυσικών και υψηλών συγκεντρώσεων πολυακόρεστων ω-3 λιπαρών οξέων (PUFA), όπως το εικοσα-πεντα-εν-οϊκό οξύ (EPA) και το εικοσιδυα-εξα-εν-οϊκό οξύ (DHA), τα οποία έχουν αποδεδειγμένα ευεργετικές επιπτώσεις στην υγεία. Συμβάλουν στην πρόληψη καρδιαγγειακών παθήσεων, εξασφαλίζουν χαμηλότερα επίπεδα χοληστερόλης και ιξώδους αίματος, ενισχύουν τη μνήμη και την ικανότητα σκέψης. Αποτελούν τέλος εξαιρετική πηγή ρετινόλης, βιταμίνης E, σεληνίου, ιωδίου βιταμίνης D και καλή πηγή ασβεστίου.

Στην Ελλάδα, τα θαλάσσια ψάρια και τα οστρακοειδή παραμένουν μέρος της συνήθους διατροφής ενός μεγάλου μέρους του πληθυσμού, αλλά τα αντιοξειδωτικά επίπεδα των συνηθέστερα καταναλισκόμενων ειδών δεν έχουν μελετηθεί εκτενώς. Ο στόχος αυτής της εργασίας ήταν να προσδιοριστεί η συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα στο μυϊκό ιστό 6 ειδών τελεόστεων, που αλιεύθηκαν από την Μεσόγειο θάλασσα. Μελετήθηκαν ψάρια που βρίσκονται στις πρώτες θέσεις στην προτίμηση των Ελλήνων καταναλωτών. Η μελέτη συμπεριέλαβε ψάρια τόσο ελεύθερης αλιείας: το γαύρο (*Engraulis encrasicolus*), τη σαρδέλα (*Sardina plichardus*), την κουτσομούρα (*Mullus barbatus*) και το μπακαλιάρο (*Merluccius merluccius*) όσο και ψάρια ιχθυοκαλλιέργειας: την τσιπούρα (*Sparus aurata*) και το σολομό (*Salmo salar*). Για την εκχύλιση των συνολικών αντιοξειδωτικών που περιέχονται στο μυϊκό ιστό ψαριού επελέγη η μέθοδος του μείγματος η-εξανίου/αιθανόλης. Στη συνέχεια έγινε προσδιορισμός της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη μέθοδο DPPH. Από τα αρχικά τριάντα δείγματα φιλέτων ψαριών που χρησιμοποιήθηκαν προέκυψαν τελικά εξήντα δείγματα προς ανάλυση με τη DPPH ρίζα. Οι μετρήσεις έγιναν εις τριπλούν για καθένα από τα δείγματά μας.

Ο στατιστικός έλεγχος που πραγματοποιήθηκε στα παραπάνω δεδομένα έδειξε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0,107$) στη συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα μεταξύ των ειδών.

Η κουτσομούρα, η σαρδέλα και ο σολομός εμφάνισαν τις υψηλότερες μέσες τιμές και κατέλαβαν τις τρεις πρώτες θέσεις στην κατάταξη αντίστοιχα. Ακολουθεί με πολύ μικρή διαφορά η τσιπούρα στην τέταρτη θέση και τέλος ο μπακαλιάρος και ο γαύρος καταλαμβάνουν την πέμπτη και έκτη θέση της κατάταξης αντίστοιχα.

Τα συγκεκριμένα αποτελέσματα συνηγορούν ότι η συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα του μυϊκού ιστού έξι εκ των συχνότερα καταναλισκόμενων ειδών ψαριού της χώρας μας, θα πρέπει να αποτελεί ένα επιπλέον ισχυρό κίνητρο για την κατανάλωση αυτών των υψηλής βιολογικής αξίας τροφίμων.

Λέξεις – κλειδιά: Αντιοξειδωτικά, μυϊκός ιστός, ψάρια, συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα, DPPH.

Abstract

The modern way of life has taken people away from preparing their meals and the Mediterranean diet, an integral part of which is the frequent consumption of fish. Fish is considered to be an important source of high quality animal protein for human consumption. It is also a nutritious food due to its natural and high concentrations of polyunsaturated omega-3 fatty acids (PUFAs), such as eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA), which have proven beneficial effects on health. They help prevent cardiovascular disease, ensure lower levels of cholesterol and blood viscosity, enhance memory and thinking ability. Finally, they are an excellent source of retinol, vitamin E, selenium, iodine, vitamin D and a good source of calcium. In Greece, marine fish and shellfish remain part of the normal diet of a large part of the population, but the antioxidant levels of the most commonly consumed species have not been extensively studied.

The aim of this study was to determine the total antioxidant capacity in the muscle tissue of 6 species of teleosts, caught from the Mediterranean Sea. Fish that are in the first places in the preference of Greek consumers were studied. The study included both wild fish: anchovies (*Engraulis encrasicolus*), sardines (*Sardina plichardus*), striped mullet (*Mullus barbatus*) and European hake (*Merluccius merluccius*) as well as cultured fish: gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and salmon (*Salmon salar*). For the extraction of the total antioxidants contained in the muscle tissue of the fish, the method of the n-hexane / ethanol mixture was chosen. The total antioxidant capacity was then determined by the DPPH method. From the initial thirty samples of fish fillets used, sixty samples were finally analyzed with the DPPH radical. The measurements were made in triplicate for each of our samples. The statistical analysis performed on the above data showed that there is no statistically significant difference ($p= 0.107$) in the total antioxidant capacity between the species.

Striped mullet, sardine and salmon showed the highest average prices and occupied the first three places in our ranking respectively. Gilthead sea bream

follows with a very small difference in the fourth place and finally European hake and anchovies occupy the fifth and sixth place of the ranking respectively. The specific results suggest that the overall antioxidant capacity of muscle tissue of six of the most frequently consumed species of fish in our country, should be an additional strong incentive to consume these high biological value foods.

Key words: Antioxidants, muscle tissue, fish, total antioxidant capacity, DPPH.

2 Εισαγωγή

Τα ψάρια θεωρούνταν πάντοτε ως σημαντική πηγή υψηλής ποιότητας ζωικών πρωτεϊνών για την ανθρώπινη διατροφή και κατανάλωση. Συγκεκριμένα, το ψάρι είναι επίσης σημαντικό και θρεπτικό θαλασσινό λόγω των φυσικών και υψηλών συγκεντρώσεων πολυακόρεστων ω-3 λιπαρών οξέων (PUFA), όπως το εικοσα-πεντα-εν-οϊκό οξύ (EPA, C20: 5 n-3) και το εικοσιδυα-εξα-εν-οϊκό οξύ (DHA, C22: 6 n-3), τα οποία έχουν αποδειχθεί ότι έχουν ευεργετικές και ειδικές επιπτώσεις στην υγεία για την πρόληψη καρδιαγγειακών παθήσεων, χαμηλότερα επίπεδα χοληστερόλης και ιξώδες αίματος, και ενισχύουν τη μνήμη και την ικανότητα σκέψης (Iglesias and Medina, 2008; Karlsdottir et al., 2014). Ωστόσο, λόγω της υψηλής περιεκτικότητας σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA), σε συνδυασμό με τα εξαιρετικά ενεργά υπάρχοντα προ-οξειδωτικά, τα ψάρια είναι πολύ ευάλωτα στην οξείδωση των λιπιδίων. Η υποβάθμιση των PUFAs που προκαλείται από αυτοοξείδωση ή την ενζυματική οξείδωση κατά τη διάρκεια διαφορετικών συνθηκών αποθήκευσης και επεξεργασίας μπορεί εύκολα να οδηγήσει στο σχηματισμό ανεπιθύμητων προϊόντων οξείδωσης όπως υπεροξειδία, υδροϋπεροξειδία, συζευγμένα διένια / τριένια, αλδεΐδες, κετόνες και άλλα (St. Angelo A. et al., 1996; Alishahi A. & Aider M., 2012). Αυτά είναι σε θέση να τροποποιήσουν τα συστατικά των μυών των ψαριών και να δημιουργήσουν τάγγιση και επικίνδυνες ουσίες (de Abreu et al., 2011). Στην περίπτωση του σολομού ιδιαίτερα, η οξείδωση όχι μόνο θα επιδεινώσει την κατάσταση των λιπιδίων αλλά και το χρώμα της σάρκας και έτσι επηρεάζεται και η οπτική αποδοχή από τους καταναλωτές (Sampels, 2013). Για το λόγο αυτό, η οξείδωση των λιπιδίων έχει αναγνωριστεί ως η κύρια αιτία απώλειας φρεσκάδας και επιδείνωσης της ποιότητας στους μύς των ψαριών. Πολλές δε από τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό της ποιότητας των ιχθύων βασίζονται στο φαινόμενο αυτό (Βαρελτζής, 1999). Η οξείδωση των λιπιδίων συμβαίνει όταν το ζώο είναι εν ζωή. Μία από τις σαφείς ενδείξεις για αυτό είναι η παρουσία πολλών υποστηρικτικών και αλληλοεπιδρώντων αντιοξειδωτικών συστημάτων σε βιολογικούς ιστούς (Sies, 1993). Όταν ένα ψάρι πεθαίνει, πολλές αλλαγές εμφανίζονται στον μυ που επιταχύνουν τον ρυθμό της οξείδωσης των λιπιδίων. Αυτές περιλαμβάνουν τη μετατροπή της αφυδρογονάσης της ξανθίνης σε οξειδάση

της ξανθίνης, την οξείδωση του σιδήρου στις πρωτεΐνες της αίμης από σιδηρούχο σε υψηλότερες καταστάσεις οξείδωσης και την αποσύνθεση των μεμβρανών. Τα αντιοξειδωτικά συστήματα σε ζωντανούς οργανισμούς που καταπολεμούν αυτές τις οξειδωτικές αντιδράσεις είναι δύο τύπων. Ο πρώτος αντιπροσωπεύεται από ένζυμα που απομακρύνουν τις δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS), όπως το υπεροξειδίο του υδρογόνου και τα υπεροξειδία λιπαρών οξέων και περιλαμβάνουν τη δισμουτάση του υπεροξειδίου, την καταλάση και τις υπεροξειδάσες. Η άλλη ομάδα αντιοξειδωτικών ενώσεων δρουν μέσω αδρανοποίησης των ελευθέρων ριζών. Είναι γενικά ενώσεις χαμηλού μοριακού βάρους και μπορεί να είναι υδατοδιαλυτές ή λιποδιαλυτές. Παραδείγματα υδατοδιαλυτών δεσμευτών ελευθέρων ριζών είναι το ασκορβικό οξύ και η γλουταθειόνη, ενώ η τοκοφερόλη και η ουμπικινόλη (συνένζυμο Q, ανηγμένη μορφή) αντιπροσωπεύουν λιποδιαλυτούς, χαμηλού μοριακού βάρους, δεσμευτές ριζών (Petillo et al., 1998). Υπάρχουν πρωτεΐνες πλούσιες σε σουλφυδρύλια που επίσης λειτουργούν ως αντιοξειδωτικά όπως π.χ. η θειορεδοξίνη (Buchanan et al., 1994). Αυτά τα αντιοξειδωτικά μειώνουν τις ελεύθερες ρίζες μέσω της δικής τους οξείδωσης. Μπορούν να αναχθούν στη συνέχεια στην ενεργό τους μορφή από τα αναγωγικά συστήματα των κυττάρων. Μακροπρόθεσμα η αντιοξειδωτική λειτουργία εξαρτάται από μεταβολίτες όπως το NADH ή NADPH και έτσι τελικά επηρεάζεται η παραγωγή και η διαθεσιμότητα του ATP. Τα λιποδιαλυτά αντιοξειδωτικά λειτουργούν μέσω της δωρεάς ενός ατόμου υδρογόνου (H) σε μία ρίζα λιπαρού οξέος πιο εύκολα από ό,τι θα το έκανε ένα μη οξειδωμένο λιπαρό οξύ. Τα υδατοδιαλυτά αντιοξειδωτικά μπορούν στη συνέχεια να αλληλοεπιδράσουν με τα λιποδιαλυτά αντιοξειδωτικά μειώνοντας τις λιποδιαλυτές ελεύθερες ρίζες, ώστε να μπορούν να συνεχίσουν να συμμετέχουν σε αυτές τις αντιοξειδωτικές αντιδράσεις. Αυτό είναι εφικτό καθώς οι λειτουργικές ομάδες των λιποδιαλυτών αντιοξειδωτικών συσσωρεύονται στη διεπαφή μεταξύ υδατικής και λιπιδικής φάσης του κυττάρου. Στον μεταθανάτιο μυϊκό ιστό η ικανότητα να διατηρηθούν τα αντιοξειδωτικά στην ανηγμένη κατάσταση μειώνεται με το χρόνο λόγω της απώλειας των αναγωγικών ενώσεων. Η ικανότητα σταθεροποίησης των λιποδιαλυτών ελευθέρων ριζών χάνεται και τα λιπίδια τελικά θα οξειδωθούν (Petillo et al., 1998).

3 Χημική σύσταση και θρεπτική αξία της σάρκας των αλιευμάτων

Η σάρκα των αλιευμάτων αποτελείται από τους μυς του σώματος, στους οποίους συμπεριλαμβάνονται ο συνδετικός και ο λιπώδης ιστός, το αίμα, τα λεμφικά αγγεία και μικρά ενδομυϊκά οστά. Η ποσότητα της σάρκας στα ψάρια αντιπροσωπεύει το 50% έως 60% του ολικού βάρους του σώματός τους ανάλογα με το είδος και κατ' αναλογία είναι μεγαλύτερη απ' ό τι στα κατοικίδια ζώα ή στον άνθρωπο. Αποτελείται από πρωτεΐνες, λίπος, ανόργανα άλατα, βιταμίνες, ένζυμα, μικρές ποσότητες γλυκογόνου και πλήθος ιχθυοστοιχείων (μαγγάνιο, μολυβδαίνιο, ιώδιο, ψευδάργυρο, χαλκό, κοβάλτιο). Η χημική της σύσταση επηρεάζεται από την ηλικία, το φύλο, το φυσικό περιβάλλον στο οποίο ζουν και την εποχή αλίευσης. Ψάρια μεγάλης ηλικίας περιέχουν στη σάρκα τους περισσότερο λίπος και λιγότερο νερό σε σχέση με τα νεαρής ηλικίας. Στα ψάρια με υψηλό ποσοστό λίπους η κατανομή του στα εδώδιμα τμήματα τους δεν είναι ομοιόμορφη, όπως για παράδειγμα στο σολομό που συγκεντρώνεται στους κοιλιακούς μυς. Το λίπος των ψαριών περιέχει 17% ως 21% κορεσμένα και 79% ως 83% ακόρεστα λιπαρά οξέα. (Γεωργάκης, 2002).

Τα ψάρια διακρίνονται σε αυτά που ζουν είτε σε γλυκό νερό (χέλι, πέστροφα, γριβάδι, κυπρίνος κ.α.) είτε σε θαλασσινό νερό (σαρδέλα, γαύρος, τσιπούρα, μπαρμπούνη, ξιφίας κ.α.). Εκείνα που χαρακτηρίζονται ως άγρια είναι εκείνα τα οποία ζουν ελεύθερα στο φυσικό τους περιβάλλον, ενώ τα εκτρεφόμενα είναι εκείνα τα οποία ζουν και μεγαλώνουν σε ιχθυοκαλλιέργειες. Μια πιο ουσιαστική ταξινόμηση στηρίζεται στην σύσταση του σώματός τους σε λίπος, σύμφωνα με την οποία θα μπορούσαν να ταξινομηθούν στις ακόλουθες κατηγορίες: Τα άπαχα, που το ποσοστό του λίπους τους είναι μικρότερο από 3% (γλώσσα, πέρκα, **μπακαλιάρος**, γαλέος, χριστόψαρο κ.α.), τα ημίπαχα, που το ποσοστό λίπους τους κυμαίνεται από 3 μέχρι 10% (**κουτσομούρα**, μπαρμπούνη, κέφαλος, τόνος, σαφρίδι, ξιφίας κ.α.) και τα παχιά, που το ποσοστό λίπους είναι μεγαλύτερο από 10% (χέλι, **σαρδέλα**, **σολομός**, σκουμπρί, παλαμίδα, ρέγγα, πέστροφα, **τσιπούρα** κ.α.)(Κυρανάς, 2017).

Τα άγρια ψάρια περιέχουν λιγότερο λίπος, σε σχέση με τα ψάρια ιχθυοκαλλιέργειας, ωστόσο έχουν μεγαλύτερη αναλογία ω-3 λιπαρών οξέων. Μόνο τα θαλάσσια φύκια και το φυτοπλαγκτόν παράγουν αυτά τα λιπαρά οξέα, επομένως τα ψάρια που τρέφονται με αυτά αποτελούν τις κυριότερες διατροφικές πηγές τους. Παρόλο που τα ψάρια περιέχουν χαμηλότερα επίπεδα βιταμινών του συμπλέγματος Β, σιδήρου και ψευδάργυρου, σε σχέση με το κόκκινο κρέας και τα πουλερικά, αποτελούν καλή πηγή ρετινόλης, βιταμίνης Ε, σεληνίου, ιωδίου και βιταμίνης D. Όσα καταναλώνονται με το κόκαλο αποτελούν επιπλέον καλές πηγές ασβεστίου (Welch et al. 2002; Ευ διατροφήν β. 2014).

Στις πρωτεΐνες της σάρκας των ψαριών έχουν ταυτοποιηθεί 25 αμινοξέα μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται όλα τα απαραίτητα αμινοξέα με αποτέλεσμα η βιολογική αξία της να είναι πολύ υψηλή (πίνακας 1)(Γεωργάκης, 2002).

Πίνακας 1. Βιολογική αξία διαφόρων τροφίμων.

Τρόφιμα	Βιολογική αξία
Αβγό ολόκληρο	94
Γάλα πλήρες	92-100
Κρέας βοοειδών	92-105
Ψάρια	94
Ρύζι	70
Πατάτες	72
Φακές	60
Σιτάρι	67
Φασόλια	38

Πηγή: Γεωργάκης, 2002.

Η σάρκα των ψαριών περιέχει σκοτεινού (κόκκινου) και λευκού χρώματος μυς. Το ποσοστό της σκοτεινού χρώματος σάρκας κυμαίνεται από 1-2 % για τα ισχνά ψάρια και φθάνει μέχρι 10% στα λιπαρά. Οι κόκκινοι μυς περιέχουν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις λιπών ,μυοσφαιρίνης και ενζύμων. Οι ουσίες αυτές επιταχύνουν την παραγωγή ελεύθερων λιπαρών οξέων και τις αντιδράσεις οξειδωσης, γιατί η

μυοσφαιρίνη είναι αποθήκη O_2 , με αποτέλεσμα την υποβάθμιση των οργανοληπτικών ιδιοτήτων της σάρκας των ψαριών.

Εκτός από τις πρωτεΐνες ανευρίσκονται και μη πρωτεϊνικές αζωτούχες ουσίες με κυριότερες το οξείδιο της τριμεθυλαμίνης, την ουρία, την ταυρίνη, την κρεατίνη, τις βάσεις της πουρίνης καθώς και ιμιδαζολικά παράγωγα όπως ιστιδίνη, καρνοσίνη και ανσερίνη. Επίσης ανευρίσκονται τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP), διφωσφορική αδενοσίνη (ADP) και μονοφωσφορική αδενοσίνη (AMP) ουσίες που παίζουν πρωταρχικό ρόλο στις μεταθανάτιες μεταβολές που συμβαίνουν στους μύς των ψαριών.

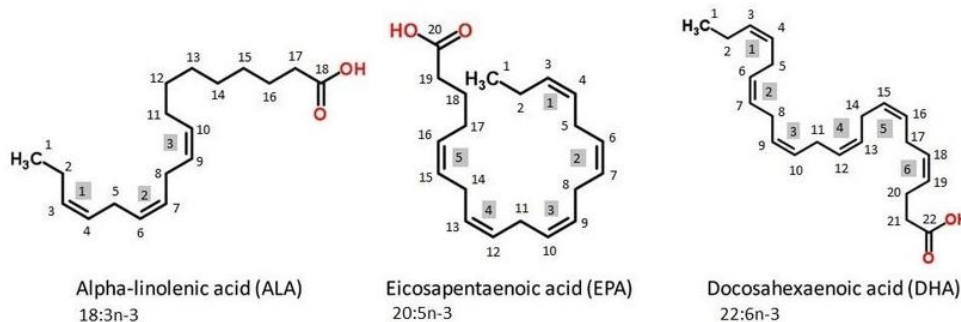
Εξίσου σημαντικές είναι και οι υδατοδιαλυτές βιταμίνες του συμπλέγματος B (B_1 , B_2 , B_6 κτλ.), νιασίνη, παντοθενικό οξύ, καθώς και η βιταμίνη C σε μικρότερες ποσότητες. Μεγάλες συγκεντρώσεις λιποδιαλυτών βιταμινών (A,D) έχουν προσδιοριστεί στα ιχθυέλαια και ειδικότερα στα ηπατέλαια. Η βιταμίνη A δεν υπάρχει σχεδόν καθόλου στη σάρκα των ισχνών ψαριών, ενώ βρίσκεται σε μεγάλες ποσότητες (0,5 ως 0,9mg%) στη σάρκα των λιπαρών ψαριών. Η ποσότητα των ανόργανων αλάτων είναι υψηλή με τα ψάρια της θάλασσας να υπερτερούν αυτών του γλυκού νερού. Το ασβέστιο περιέχεται σε μεγαλύτερη ποσότητα στη σάρκα των ψαριών παρά στο κρέας των θηλαστικών. Ο φωσφόρος βρίσκεται ενωμένος με οργανικές ουσίες, όπως φωσφολιπίδια και φωσφοκρεατίνη. Νάτριο, κάλιο, ασβέστιο, μαγνήσιο και θείο είναι επίσης παρόντα. Ιχνοστοιχεία βρίσκονται σε πολλές οργανικές ουσίες με μεγάλο ενδιαφέρον από πλευράς φυσιολογίας. Σίδηρος στην αιμοσφαιρίνη, στη μυοσφαιρίνη, στα κυτοχρώματα και σε πολλά οξειδωτικά ένζυμα. Μαγγάνιο, ψευδάργυρος και χαλκός υπάρχουν σε πολλά ένζυμα. Κοβάλτιο στη B_{12} και ιώδιο στις ορμόνες (Βαρελτζής, 1999).

Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα μακράς αλυσίδας (LCPUFAs) είναι τα κύρια συστατικά των βιολογικών μεμβρανών και έχουν σημαντικό ρόλο στη φυσιολογική ομοιόσταση. Αποτελούνται από δύο μεμονωμένες σειρές, n-6 και n-3. Ο ανθρώπινος οργανισμός δεν μπορεί να συνθέσει n-6 και n-3 PUFAs, de novo, και μετατρέπει το λινελαϊκό οξύ (LA) και το άλφα-λινολενικό οξύ (ALA) που λαμβάνονται από τα τρόφιμα σε n-6 και n-3 LCPUFAs, αντίστοιχα. Συνεπώς

παράγονται LCPUFA στο σώμα τόσο από τη μετατροπή των LA ή ALA όσο και με την άμεση πρόσληψη των αντίστοιχων LCPUFA από τις τροφές. (Kawashima, 2019)

Τα ωμέγα-3 (n-3) πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFAs) προέρχονται από δύο πηγές:

- ❖ Το α-λινολενικό οξύ (ALA, C18:3 n-3), το οποίο βρίσκεται στα φυτικά έλαια [όπως στο λιναρόσπορο, το κραμβέλαιο (canola-oil), το σογιέλαιο] και τα καρύδια.
- ❖ Το εικοσα-πεντα-εν-οϊκό οξύ (EPA, C20: 5 n-3) και το εικοσιδυα-εξα-εν-οϊκό οξύ (DHA, C22: 6 n-3), που απαντώνται σε λιπαρά ψάρια, ιχθυέλαια και θαλασσινά (εικόνα 1) (Moreno et al. 2012).



Εικόνα 1. Δομή των κυριότερων πολυακόρεστων λιπαρών οξέων ω-3 (ALA, EPA, DHA)

Το πόσο σημαντική πηγή αυτών των λιπαρών οξέων αποτελούν τα ψάρια και τα θαλασσινά σε σχέση με τα υπόλοιπα, ζωικής προέλευσης τρόφιμα, φαίνεται στον (πίνακα 2)(Kawashima, 2019).

Πίνακας 2. Περιεκτικότητα σε E.P.A και D.H.A και σε άλλα λιπαρά οξέα ανά 100 g εδώδιμου μέρους ζωικών τροφίμων.

Ομάδες Τροφίμων	Πηγή	Ολικό Λίπος (mg)	Λιπαρά Οξέα (mg)					
			P.A	O.A	L.A	A.R.A	E.P.A	D.H.A
Κρέατα και πουλερικά								
Χοιρινό, ωμό	C	12,580	2720	5140	1110	80	0	0
Χοιρινό, ωμό	J	22,600	5600	9100	1900	68	0	12
Κοτόπουλο, ωμό	C	16,610	3511	5832	3096	104	4	7
Κοτόπουλο, ωμό	J	14,200	3300	5800	1600	79	1	7
Βόειο κρέας, ωμό	C	2210	520	910	120	40	0	0
Βόειο κρέας, ωμό	J	4300	890	1500	120	24	4	1
Αυγά								
Κοτόπουλου, ωμό	C	10,010	2218	3810	1109	156	2	72
Χήνας, ωμό	J	10,300	2100	3500	1300	150	0	120
Ψάρια και θαλασσινά								
Σολομός, ροζ, ωμός	C	6700	1044	1108	102	127	547	859
Σολομός, ροζ, ωμός	J	6600	790	920	81	31	400	690
Γλώσσα, ωμή	C	1930	282	358	45	30	137	108
Γλώσσα, ωμή	J	1300	150	140	10	50	100	72
Σαρδέλα, κονσέρβα	C	10,450	1738	1851	123	190	532	864
Σαρδέλα, κονσέρβα	J	10,800	1900	1200	140	160	1300	1100
Γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα								
Τυρί, κρέμα	C	34,240	8497	7923	1032	50	0	0
Τυρί, κρέμα	J	33,000	8700	6400	570	38	20	6

C: Καναδική έκδοση θρεπτικών συστατικών (έκδοση 2015) J: Πίνακες σύνθεσης τροφίμων στην Ιαπωνία 2015 (έβδομη αναθεωρημένη έκδοση) PA: παλμιτικό οξύ , OA: ελαϊκό οξύ, LA: λινολεϊκό οξύ, ARA: αραχιδονικό οξύ , EPA: εικοσα-πεντα-εν-οϊκό οξύ, DHA : εικοσιδυα-εξα-εν-οϊκό οξύ.

Πηγή: Kawashima, 2019.

4 Οφέλη των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων

Υπάρχει ευρεία αναγνώριση των ευεργετικών επιδράσεων των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFAs), και κυρίως των ω 3 λιπαρών στην υγεία μας. Επίσης, ο λόγος των διατροφικά προσλαμβανόμενων ω 6/ ω 3 λιπαρών οξέων θεωρείται σημαντικός, με τις μικρότερες τιμές του λόγου (κοντά στο 1:1) να θεωρούνται πιο ευνοϊκές για την υγεία μας (Kouba, 2011). Η κατανάλωση ιχθύων και συνεπώς η πρόσληψη πολυακόρεστων λιπαρών οξέων είναι απαραίτητη στην δίαιτα, ειδικά στις δυτικές κοινωνίες. Σύμφωνα με τους (Cottin et al., 2011) τα ω 3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα φαίνεται να βελτιώνουν την ελαστικότητα των αρτηριών και την ενδοθηλιακή δραστηριότητα. Βοηθούν την πνευματική υγεία και αποτρέπουν την κατάθλιψη (Mamalakis et al., 2006; Panagiotakos et al., 2010; Suominen-Taipale et al., 2010). Επίσης, υπάρχουν ενδείξεις ότι τα ιχθυέλαια μπορεί να μειώνουν την πιθανότητα εκδήλωσης θανατηφόρων καρδιακών αρρυθμιών (Bester et al., 2010) ενώ, είναι αποτρεπτικοί παράγοντες για τις χρόνιες και μεταβολικές διαταραχές. Σε άτομα που ανήκουν στις υψηλές ομάδες κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα, συμπεριλαμβανομένων ατόμων παχύσαρκων, με δυσλιπιδαιμία και με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, η κατανάλωση ιχθυελαίου ενδέχεται να βελτιώνει την λειτουργία του ενδοθηλίου (Egert & Stehle, 2011).

Οι Schacky & Harris (2007) συνιστούν τη λήψη σε καθημερινή βάση των δύο πολυακόρεστων ω 3 λιπαρών οξέων (DHA και EPA) για την πρόληψη καρδιαγγειακών νοσημάτων, τη θεραπεία μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου και την πρόληψη καρδιακού αιφνίδιου θανάτου.

Οι περισσότερες έρευνες δείχνουν ότι τα ω -3 και ω -6 λιπαρά οξέα έχουν αντιοξειδωτικές και αντι-φλεγμονώδεις ιδιότητες γεγονός που τα καθιστά σημαντικούς παράγοντες προστασίας από τις χρόνιες ασθένειες, όπως τα κακοήθη νεοπλασμάτα, το διαβήτη, νευροεκφυλιστικές ασθένειες, την ασθένεια Alzheimer και την αρθρίτιδα (Karoor and Huang, 2006).

Ο άνθρωπος εξελίχθηκε καταναλώνοντας μια διατροφή που περιείχε περίπου ίσες ποσότητες βασικών λιπαρών οξέων ω-3 και ω-6. Κατά τη διάρκεια των τελευταίων 100-150 ετών σημειώθηκε τεράστια αύξηση στην κατανάλωση λιπαρών οξέων ω-6 λόγω της αυξημένης πρόσληψης φυτικών ελαίων από καλαμπόκι, ηλιόσπορο, βαμβακόσπορο και σόγια. Σήμερα, στις δυτικές δίαιτες, ο λόγος των ω-6 προς ω-3 λιπαρά οξέα κυμαίνεται από <20 έως 30: 1 αντί της παραδοσιακής αναλογίας 1 έως 2: 1. Η πρόσληψη λιπαρών οξέων ω-3 είναι πολύ χαμηλότερη σήμερα λόγω της μείωσης της κατανάλωσης ψαριών και της βιομηχανικής παραγωγή ζωοτροφών πλούσιων σε σπόρους που περιέχουν ω-6 λιπαρά οξέα, που οδηγούν στην παραγωγή κρέατος πλούσιο σε ω-6 και φτωχό σε ω-3 λιπαρά οξέα. Το ίδιο ισχύει και για τα ψάρια ιχθυοκαλλιέργειας και για τα αυγά. Μελέτες δείχνουν ότι η υψηλή πρόσληψη λιπαρών οξέων ω-6 μετατοπίζει τη φυσιολογική ισορροπία σε μια κατάσταση που είναι προθρομβωτική και χαρακτηρίζεται από αυξήσεις στο ιξώδες του αίματος, αυξημένο αγγειόσπασμο και αγγειοσυστολή και μείωση του χρόνου αιμορραγίας. Τα ω-3 λιπαρά οξέα ωστόσο, έχουν αντιφλεγμονώδεις, αντιθρομβωτικές, αντιαρρυθμικές, υπολιπιδαιμικές και αγγειοδιασταλτικές ιδιότητες. Αυτά τα ευεργετικά αποτελέσματα των ω-3 λιπαρών οξέων έχουν δειχθεί στη δευτερογενή πρόληψη της στεφανιαίας νόσου, στην υπέρταση, στο διαβήτη τύπου 2 και, σε μερικούς ασθενείς με νεφρική νόσο, ρευματοειδή αρθρίτιδα, ελκώδη κολίτιδα, νόσο του Crohn και με χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια. (Simopoulos, 1999) (Panagiotakos D. & Kalogeropoulos N. 2008). Πρόσφατη έρευνα εξέτασε τα υπέρ και τα κατά μέσω της διεθνούς βιβλιογραφίας και εκτιμήθηκαν τόσο οι ωφέλιμες πλευρές, όσο και η επικινδυνότητα (risk assessment). Η έρευνα έδειξε ότι οι ευεργετικές συνέπειες στην υγεία από την κατανάλωση ψαριών και άλλων θαλασσινών εδεσμάτων, είναι σημαντικότερη σε σχέση με τον σχετικά μικρότερο κίνδυνο από αυτούς τους ρύπους, παρ' όλη τη βιοσυσσώρευση πολλών από τους ρύπους αυτούς. Μάλιστα, προτείνουν στις εγκύους να αυξήσουν την κατανάλωση θαλασσινών λόγω των ευεργετικών συνεπειών στη νευροφυσιολογική ανάπτυξη των εμβρύων (από τα ω-3 και ω-6 λιπαρά οξέα) και τις καρδιαγγειακές λειτουργίες, αλλά με φρέσκα ψάρια. Επίσης, στην ανθρώπινη διατροφή τα λιπαρά οξέα όπως το λινελαϊκό και το λινολενικό οξύ θεωρούνται απαραίτητα δεδομένου

ότι δεν μπορούν να συντεθούν από τον ανθρώπινο οργανισμό. Στα ιχθυηρά, αυτά τα λιπαρά οξέα αποτελούν μέχρι το 2% του συνόλου των λιπαρών οξέων (Cohen et al. 2005; Mozaffarian & Rimm 2006).

5 Πολικά λιποειδή των ψαριών και PAF

Οι τελευταίες έρευνες έχουν ερμηνεύσει την αντιφλεγμονώδη προστατευτική δράση των ω-3 μέσα από μια άλλη προσέγγιση. Η κατανάλωση ω-3 λιπαρών οξέων μεταβάλλει τη σύσταση των λιποειδών των μεμβρανών των κυττάρων που αποτελούν τις πρόδρομες ουσίες για τη βιοσύνθεση του Παράγοντα Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων (Platelet Activating Factor, PAF), επηρεάζοντας αρνητικά την παραγωγή του. Έτσι ο οργανισμός προστατεύεται από τον ισχυρότατο αυτό φλεγμονώδη παράγοντα που σχετίζεται άμεσα με χρόνιες ασθένειες φθοράς αλλά και καρδιαγγειακές ασθένειες σύμφωνα με τη θεωρία της "αθηροσκλήρωσης με εμπλοκή του PAF". Τα επιστημονικά δεδομένα συμφωνούν ότι η πρόληψη αλλά και η υποστροφή (θεραπεία) της αθηροσκλήρωσης γίνεται χάρη στα πολικά λιποειδή των τροφών (π.χ. ελαιόλαδο, ψάρι) και όχι στη χαμηλή πρόσληψη χοληστερόλης (Ζαμπετάκης, 2014). Έρευνες που έχουν διεξαχθεί στο Τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου Αθηνών κατά τα τελευταία 10 χρόνια έδειξαν ότι στα ιχθυέλαια δεν είναι μόνο τα ω-3 που ασκούν την προστατευτική αντιφλεγμονώδη δράση, αλλά και άλλα λιποειδικά συστατικά, που αναστέλλουν τις επιβλαβείς δράσεις του PAF. (Panayiotou et al., 2000; Nasorouliou et al., 2007). Τα πολικά λιποειδή θεωρούνται εξαιρετικής σημασίας βιομόρια με ισχυρές αντιφλεγμονώδεις δράσεις, ωφέλιμες τόσο στην πρόληψη όσο και στη θεραπεία σοβαρών ασθενειών όπως οι καρδιαγγειακές παθήσεις, ο διαβήτης τύπου 2 και ο καρκίνος. Το γενεσιουργό αίτιο σε αυτές τις ασθένειες είναι η φλεγμονή σε τοπικό επίπεδο η οποία με τη σειρά προκαλεί έναν καταρράκτη βιοχημικών αντιδράσεων. Κομβικό κλειδί στην πρόκληση της φλεγμονής είναι ο PAF, ο οποίος αποτελεί τον ισχυρότερο σήμερα γνωστό λιποειδικό παράγοντα της φλεγμονής. Ο PAF είναι ένα δομικό ανάλογο της φωσφατιδυλοχολίνης. Σύμφωνα με τη θεωρία σχηματισμού των αθηρωματικών πλακών με εμπλοκή του PAF της ερευνητικής ομάδας του καθηγητή Δημόπουλου στο ΕΚΠΑ ενοποιούνται οι υπάρχουσες θεωρίες φλεγμονής, οξείδωσης και

κατακράτησης. Ο προτεινόμενος μηχανισμός είναι ο εξής: η οξείδωση της LDL (Low Density Lipoprotein, που είναι πλούσια σε χοληστερόλη), είναι μία διεργασία που λαμβάνει χώρα στο αίμα του ανθρώπου και εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, όπως τη διατροφή (αντιοξειδωτικά στην τροφή), τον τρόπο ζωής (κάπνισμα, άσκηση) κ.λπ. Κατά τη διαδικασία αυτή παράγεται ανεξέλεγκτα PAF. Τα επίπεδα του PAF βρίσκονται κάτω από αυστηρό έλεγχο με ρυθμιστικούς μηχανισμούς. Όμως όταν τα επίπεδα PAF αυξάνονται ανεξέλεγκτα από την οξείδωση της LDL ή για παθολογικούς λόγους, τότε ο PAF προκαλεί τοπική φλεγμονώδη αντίδραση στο αγγείο, καταστροφή του ενδοθηλίου και αύξηση διαπερατότητας με αποτέλεσμα να σχηματίζονται αφρώδη κύτταρα και υπερπλασία των λείων μυϊκών κυττάρων. Αφρώδη κύτταρα, αιμοπετάλια, λεία μυϊκά κύτταρα, λιποειδή (χοληστερόλη) και άλλα συστατικά του αίματος σχηματίζουν ένα σύμπλεγμα που αποτελεί την αθηρωματική πλάκα (ο PAF είναι το γενεσιουργό αίτιο της αθηρωμάτωσης). Ουσίες με ανασταλτική δράση έναντι στον PAF πιστοποιήθηκαν αρχικά στο ελαιόλαδο και στη συνέχεια στον ελαιοπυρήνα και τα ψάρια ιχθυοκαλλιέργειας. Σε έρευνα του κ. Ζαμπετάκη και των συνεργατών του που μελέτησαν *in vivo* τα πολικά λιποειδή (ΠΛ) της τσιπούρας, από τη βρώσιμη σάρκα των ψαριών με διατροφική παρέμβαση σε κουνέλια, βρέθηκε ότι στην ομάδα Β (που είχε καταναλώσει το πολικό λιποειδικό κλάσμα της τσιπούρας), υπήρξε στατιστικά σημαντική μείωση της αθηρωματικής πλάκας κατά 70% περίπου σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Με βάση τα δεδομένα αυτά γίνεται δεκτό ότι δεν είναι η χοληστερίνη και τα κορεσμένα λιπαρά το γενεσιουργό αίτιο του σχηματισμού αθηρωματικών πλακών αλλά ο PAF. Η προστασία του ανθρώπου από τα υψηλά επίπεδα χοληστερόλης και κορεσμένων λιπαρών μπορεί να γίνεται με αναστολείς του PAF από τη Μεσογειακή δίαιτα. Είναι σε εξέλιξη η ανάπτυξη νέων λειτουργικών τροφίμων, όπως η χορήγηση ελαιοπυρήνα στα ψάρια ιχθυοτροφείου και το τελικό προϊόν έχει ισχυρή καρδιοπροστατευτική δράση (Nomikos et al., 2006; Ζαμπετάκης, 2014).

6 Υποβάθμιση των ιχθύων

Τα αλιεύματα αρχίζουν να υποβαθμίζονται ποιοτικά από τη στιγμή της σύλληψής τους. Πολλές μέθοδοι έχουν χρησιμοποιηθεί για να επιβραδυνθεί η

ποιοτική υποβάθμισή τους, ώστε να συντηρηθούν για μεγάλα χρονικά διαστήματα, για να μεταφερθούν σε μεγάλες αποστάσεις και τελικά να φθάσουν στο πιάτο του καταναλωτή “ζωντανά “. Η ποιοτική υποβάθμιση των νωπών ιχθύων οφείλεται κυρίως στους εξής παράγοντες:

6.1 Μικροβιακή ανάπτυξη

Τα ζωντανά αλιεύματα είναι δυνατό να μολυνθούν από πλήθος παθογόνων βακτηρίων που υπάρχουν στο περιβάλλον όπου ζουν , όπως είναι τα διάφορα είδη των γενών *Clostridium*, *Vibrio*, *Listeria*, *Aeromonas*. Επίσης άλλα βακτήρια όπως *Salmonella spp*, *Escherichia coli*, *Shigella spp*, *Staphylococcus aureus* μπορούν να μολύνουν τα αλιεύματα προερχόμενα είτε από μολυσμένο υδατικό περιβάλλον είτε από τους χώρους παραλαβής και επεξεργασίας τους.

Εδώ θα πρέπει να αναφερθεί και η παρουσία της ισταμίνης στους ιχθύες και κυρίως στην οικογένεια *Scombridae*, που παρουσιάζουν αυξημένη πιθανότητα να την περιέχουν στην σάρκα τους. Είναι τοξική ουσία η οποία προκαλεί τη “δηλητηρίαση από σκομβροειδή” και δεν καταστρέφεται από τη δράση της θερμότητας ακόμα και στα κονσερβοποιημένα προϊόντα. Αυξημένες συγκεντρώσεις ισταμίνης μπορεί να παρατηρηθούν σε νωπούς ιχθύες πριν αυτοί παρουσιάσουν μακροσκοπικές αλλοιώσεις.

Τα αλιεύματα μπορεί να μολυνθούν επίσης με παράσιτα και ιούς που προσβάλλουν τον άνθρωπο, καθώς και να απομονωθούν σε αυτά διάφορες βιοτοξίνες (σαξιτοξίνη, νεοσαξιτοξίνες κ.ά.) ανάλογα με τον τύπο του αλιεύματος, την περιοχή αλίευσης και την αλιευτική περίοδο (Βαρελτζής, 1999).

6.2 Ενζυμική δράση

Είναι γεγονός ότι στη σάρκα των ιχθύων απαντώνται διάφορα ένζυμα. Μετά το θάνατό τους τα ένζυμα αυτά εξακολουθούν να είναι ενεργά με πρώτο αποτέλεσμα την πτώση του pH της σάρκας από το 7,0 στο 6,0 έως 6,5 ` γεγονός που εξαρτάται από το είδος του ιχθύος και από την κατάσταση στην οποία βρίσκεται. Η δράση των ενζύμων προκαλεί επίσης μεταβολές στο άρωμα και στη γεύση των ιχθύων. Το

ευχάριστο άρωμα της σάρκας των νωπών ιχθύων οφείλεται κυρίως στη δράση πρωτεολυτικών ενζύμων της σάρκας τους. Η συνεχιζόμενη όμως δράση των ενζυμικών αυτών συστημάτων και στο διάστημα της συντήρησής τους έχει σαν αποτέλεσμα την ανάπτυξη δυσάρεστων οσμών, οι οποίες καθιστούν το προϊόν μη καταναλώσιμο (Βαρελτζής, 1999).

6.3 Οξείδωση των λιπών (Τάγγιση)

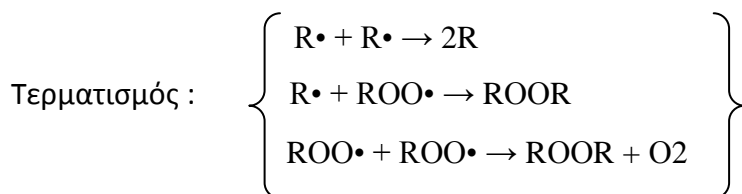
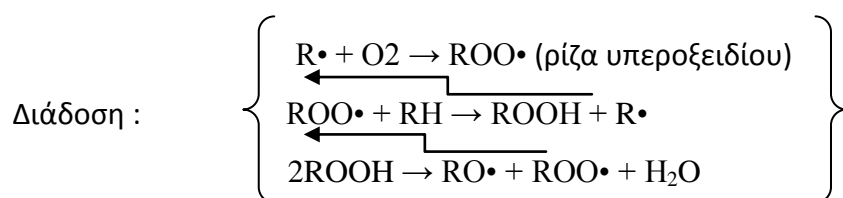
Η υποβάθμιση της ποιότητας πλούσιων σε ακόρεστα λιπαρά οξέα ακυλολιπιδίων των τροφίμων οφείλεται στην ενζυμική και μη ενζυμική οξείδωση των οξέων αυτών που οδηγεί στην τάγγιση. Η τελευταία αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους παράγοντες αλλοίωσης των τροφίμων καθώς συμβάλλει στην ανάπτυξη ανεπιθύμητων οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, μειώνει το χρόνο ζωής και τη θρεπτική αξία και καθιστά πολλά τρόφιμα ακατάλληλα προς κατανάλωση. Ορισμένα δε από τα δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης των ακόρεστων λιπαρών οξέων θεωρούνται τοξικά (Γεωργαντέλης, 2006). Μία από τις σοβαρές επιπτώσεις στη θρεπτική αξία των τροφίμων αυτών από την τάγγιση είναι η καταστροφή των λιποδιαλυτών βιταμινών A ,D, E,K (Κυρανάς , 2017). Η σάρκα των ιχθύων περιέχει μεγάλες ποσότητες ακόρεστων και πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, τα οποία έχουν τεράστια σημασία στη διατροφή του ανθρώπου. Έχει αποδειχθεί ότι οι σειρές ω3 και ω6 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, που απαντώνται στη σάρκα των νωπών ιχθύων, επιδρούν ευεργετικά στο καρδιαγγειακό σύστημα του ανθρώπου μειώνοντας της πιθανότητες προσβολής από καρδιαγγειακά νοσήματα. Δυστυχώς όμως τα ακόρεστα λιπαρά οξέα εύκολα προσβάλλονται από το οξυγόνο με αποτέλεσμα να οξειδώνονται. Να μετατρέπονται δηλαδή σε κορεσμένα και να ταγγίζει το λίπος (Βαρελτζής, 1999).

6.3.1 Αυτοοξείδωση των λιπαρών υλών

Ως αυτοοξείδωση χαρακτηρίζεται η αντίδραση του μοριακού οξυγόνου ($^3\text{O}_2$) με τα ακόρεστα λιπαρά οξέα (ελεύθερα ή με τη μορφή γλυκεριδίων και φωσφολιπιδίων)(Γεωργαντέλης, 2006). Λιπαρές ύλες που περιέχουν σε σημαντικές συγκεντρώσεις ακόρεστα λιπαρά οξέα μπορούν να οξειδωθούν πολύ γρήγορα

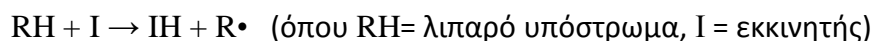
προκαλώντας την αλλοίωση των τροφίμων στα οποία περιέχονται (St. Angelo A. et al.,1996). Η αυτοξειδωση είναι μια αυτοκαταλυόμενη αλυσιδωτή αντίδραση που χωρεί με τον μηχανισμό των ελεύθερων ριζών. Περιλαμβάνει τρία στάδια, την έναρξη, τη διάδοση και τον τερματισμό. Κατά την έναρξη (initiation) με τη δράση μίας ελεύθερης ρίζας που προέρχεται κυρίως από το οξυγόνο, σχηματίζεται μικρός αριθμός εξαιρετικά δραστικών μορίων λιπαρού οξέος με ασύζευκτα ηλεκτόνια, δηλαδή ελεύθερες ρίζες R• (σχήμα 1). Οι οποίες αντιδρούν άμεσα (έχουν μικρό χρόνο ζωής). Έτσι ακολουθεί το στάδιο της διάδοσης (propagation) κατά το οποίο η ελεύθερη ρίζα R• αντιδρά με το ατμοσφαιρικό O₂ και σχηματίζονται υπεροξυ-ρίζες (R-O-O•), επίσης πολύ δραστικές και αντιδρούν με άλλα ακόρεστα λιπαρά οξέα για να δημιουργήσουν υδρο(ϋ)περοξειδία (R-O-OH), δηλαδή ενώσεις στις οποίες η υδροξυλομάδα (-OH) συνδέεται στο οξυγόνο. Με τις παράλληλα σχηματιζόμενες νέες ρίζες R• η πορεία επαναλαμβάνεται με αποτέλεσμα την αντίδραση που φαίνεται στο σχήμα. Επιπλέον και τα υδροϋπεροξειδία μπορεί να διασπαστούν προς τις ελεύθερες ρίζες R-O-O• και RO• και να τροφοδοτήσουν τις αλυσιδωτές αντιδράσεις. Τέλος, αύξηση της συγκέντρωσης των ελεύθερων ριζών έχει ως αποτέλεσμα τις μεταξύ τους αντιδράσεις προς σταθερά τελικά προϊόντα που αποτελούν το στάδιο του τερματισμού (Ζαμπετάκης , 2014).

Σχήμα 1. Οι αντιδράσεις που γίνονται κατά την οξειδωτική τάγγιση.



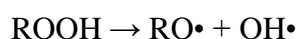
(αδρανή προϊόντα που δεν προκαλούν έναρξη ή διάδοση της αντίδρασης)

Η απευθείας αντίδραση του μοριακού οξυγόνου (βασική ή τριπλή κατάσταση) με τα ακόρεστα λιπαρά οξέα είναι ενεργειακά αδύνατη λόγω της υψηλής ενέργειας ενεργοποίησης (30-45 kcal/mol). Είναι όμως δυνατή με τις ελεύθερες ρίζες που προκύπτουν λόγω απόσπασης ατόμου υδρογόνου από το μόριο των ακόρεστων λιπαρών οξέων.

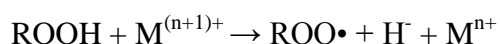


Ανάλογες ελεύθερες ρίζες μπορούν να σχηματιστούν και με θερμική ή καταλυτική αποικοδόμηση των πρωτογενών προϊόντων της αυτοξειδωσης των ακόρεστων λιπαρών οξέων (μονοϋδροϋπεροξειδία).

A) Θερμική αποικοδόμηση



B) Αποικοδόμηση που καταλύεται από μέταλλα

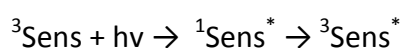


Στο στάδιο της διάδοσης, ρίζες τύπου $R\cdot$ αντιδρούν με μοριακό οξυγόνο και σχηματίζουν υπεροξυ-ρίζες ($ROO\cdot$). Η αντίδραση αυτή είναι πολύ γρήγορη σε σχέση με την αντίδραση που ακολουθεί, δηλαδή την απόσπαση ατόμου υδρογόνου από μόριο ακόρεστου λιπαρού οξέος που οδηγεί στο σχηματισμό μονοϋδροϋπεροξειδίου. Η τελευταία αντίδραση καθορίζει την ταχύτητα με την οποία λαμβάνει χώρα η οξείδωση. Η σταθερά της ταχύτητας εξαρτάται πρωτίστως από την ισχύ του δεσμού C-H που διασπάται. Η ταχύτητα αυτή είναι μικρότερη για τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα λόγω της μεγαλύτερης ενέργειας διάσπασης του δεσμού C-H (~88 kcal)(Γεωργαντέλης, 2006). Πρέπει να σημειωθεί ότι τα ιόντα των μετάλλων μετάπτωσης (π.χ. σίδηρος, κοβάλτιο, μαγγάνιο και νικέλιο) δρουν ως καταλύτες της διάσπασης των υδροϋπεροξειδίων και αναφέρονται ως προ-οξειδωτικά. Ιχνοποσότητες βαρέων μετάλλων βρίσκονται σε όλα τα τρόφιμα (ζωικά

ή φυτικά) ακόμα και στα υγρά τρόφιμα βιολογικής προέλευσης όπως χυμοί φρούτων, γάλα και αυγά (Ζαμπετάκης, 2014).

6.3.2 Έμμεση φωτοοξείδωση

Η παραγωγή των αναγκαίων ελευθέρων ριζών που είναι απαραίτητες για την έναρξη της αυτοοξείδωσης μπορεί να λάβει χώρα διαμέσου του μηχανισμού της έμμεσης φωτοοξείδωσης ή φωτοευαισθητοποιημένης οξείδωσης. Κατά την έμμεση φωτοοξείδωση σχηματίζονται μονοϋδροϋπεροξειδία των ακόρεστων λιπαρών οξέων παρουσία οξυγόνου, φωτεινής ενέργειας (ορατό, υπεριώδες) και ενός φωτοευαισθητοποιητή. Οι φωτοευαισθητοποιητές (Sensitizers, Sens) είναι χημικές ενώσεις που όταν απορροφούν φωτεινή ακτινοβολία μεταπίπτουν από τη βασική ($^3\text{Sens}$) στη διεγερμένη κατάσταση ($^1\text{Sens}$) η οποία μπορεί να ενεργοποιήσει τις πλούσιες σε ακόρεστα λιπαρά οξέα λιπαρές ύλες ή το μοριακό οξυγόνο. Ορισμένες χρωστικές των τροφίμων όπως η χλωροφύλλη, η μυοσφαιρίνη και η φαιοφυτίνη, και άλλες ενώσεις όπως η ριβοφλαβίνη μπορούν να δράσουν ως φωτοευαισθητοποιητές, τα μόρια των οποίων από την απλή διεγερμένη κατάσταση μπορούν με εκπομπή φθορισμού να επιστρέψουν στη βασική κατάσταση ή να μεταπέσουν στην τριπλή διεγερμένη κατάσταση (σχήμα 2).



Σχήμα 2. Μηχανισμός φωτοευαισθητοποίησης

Ο φωτοευαισθητοποιητής στην τριπλή διεγερμένη κατάσταση μπορεί να δράσει με δύο τρόπους. Στον τύπο I της φωτοευαισθητοποιημένης οξείδωσης, ο $^3\text{Sens}^*$ αντιδρά με το λιπαρό υπόστρωμα σχηματίζοντας σύμπλοκο (με μεταφορά ηλεκτρονίου ή ατόμου υδρογόνου). Το σύμπλοκο αυτό στη συνέχεια αντιδρά με το μοριακό οξυγόνο ($^3\text{O}_2$). Τα μονοϋδροϋπεροξειδία που σχηματίζονται με τον τρόπο αυτό είναι ανάλογα με εκείνα της αυτοοξείδωσης, άλλα η αντίδραση δεν παρεμποδίζεται από αντιοξειδωτικά που δεσμεύουν ελεύθερες ρίζες. Η ριβοφλαβίνη (βιταμίνη B₂) αλληλοεπιδρά με τους εστέρες των ακόρεστων λιπαρών οξέων με βάση τον παραπάνω μηχανισμό. Στον τύπο II της φωτοευαισθητοποιημένης οξείδωσης ο $^3\text{Sens}^*$ αντιδρά με $^3\text{O}_2$ οπότε σχηματίζεται

οξυγόνο στην απλή διεγερμένη κατάσταση ($^1\text{O}_2$) το οποίο μπορεί να προσβάλει απ' ευθείας τις ακόρεστες ενώσεις και μάλιστα με μεγάλη ταχύτητα (η αντίδραση με το μεθυλεστέρα του λινελαϊκού οξέος είναι 10^3 - 10^4 φορές ταχύτερη από ότι αυτή με το μοριακό οξυγόνο). Η χλωροφύλλη αλληλοεπιδρά με τους εστέρες των ακόρεστων λιπαρών οξέων με βάση τον προαναφερθέντα μηχανισμό (Γεωργαντέλης, 2006). Το οξειδωτικό τάγγισμα των λιπαρών υλών επιταχύνεται τέλος από την παρουσία ελεύθερων λιπαρών οξέων, ακόμη και σε συγκεντρώσεις περί του 0,5%, επειδή η ελεύθερη καρβοξυλομάδα τους διευκολύνει τη διάσπαση των υπεροξειδίων που σχηματίστηκαν και συνεπώς την προαγωγή της οξείδωσης (Κυρανάς, 2011).

6.3.3 Προϊόντα οξείδωσης

Τα υδροϋπεροξειδία είναι σχετικά ασταθείς ενώσεις και μπορούν να διασπαστούν και να αντιδράσουν με πολλούς και πολύπλοκους τρόπους προς ποικίλα προϊόντα διαφόρων μοριακών βαρών. Αναμεσά τους βρίσκονται οσμηρές ενώσεις καθώς και βιολογικά δραστικές ενώσεις όπως αλδεΐδες, κετόνες, φουράνια, οξέα, ημιαλδεΐδες, αλκυλο-ρίζες κ.α. Πολλές από αυτές αποτελούν προϊόντα τερματισμού και ορισμένες (αλδεΐδες) συνεισφέρουν στη δυσάρεστη γεύση και οσμή των ταγγισμένων λιπαρών. Κάποια από αυτά θεωρείται ότι έχουν καρκινογόνο ή μεταλλαξιογόνο δράση. Έχει διαπιστωθεί και πρέπει να τονιστεί η εμπλοκή των υπεροξειδίων που προέρχονται από τη διατροφή στην εμφάνιση στεφανιαίας νόσου. Αξίζει να σημειωθεί ότι τα ακόρεστα λιποειδή των ιστών και των ζωντανών οργανισμών είναι σχετικά σταθερά, αφού τόσο τα ζώα όσο και τα φυτά περιέχουν φυσιολογικά τις κατάλληλες αντιοξειδωτικές ουσίες και ένζυμα (π.χ. υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, υπεροξειδική δισμουτάση) για την προστασία από την υπεροξείδωση. Όμως περιβαλλοντικοί παράγοντες ή τρόφιμα που περιέχουν ή προκαλούν τη δημιουργία ελευθέρων ριζών στον άνθρωπο, θεωρείται ότι προκαλούν οξειδωτικές αντιδράσεις τις οποίες δεν μπορούν να αντιμετωπίσουν αποτελεσματικά οι παραπάνω μηχανισμοί με συνέπεια την εμφάνιση ασθενειών όπως καρκίνο και καρδιαγγειακές παθήσεις (Ζαμπετάκης, 2014).

6.3.4 Παράγοντες που επιδρούν στην πορεία της αυτοξειδωσης

Υπάρχουν αρκετοί παράγοντες που επιδρούν στην ταχύτητα με την οποία χωρεί η αυτοξειδωση των λιπαρών υλών. Ορισμένοι από αυτούς όπως ο ακόρεστος χαρακτήρας των λιπαρών οξέων, η παρουσία ιόντων μεταβατικών μετάλλων και η θερμοκρασία επιταχύνουν την αυτοξειδωση. Άλλοι όπως η διατήρηση σε ατμόσφαιρα αδρανών αερίων και η προσθήκη αντιοξειδωτικών επιβραδύνουν την αυτοξειδωση. Η επίδραση κάθε παράγοντα στην ταχύτητα με την οποία χωρεί η αυτοξειδωση εξαρτάται κυρίως από τη φύση των συνθηκών κάτω από την οποία λαμβάνει χώρα η αντίδραση.

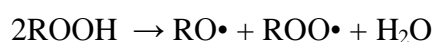
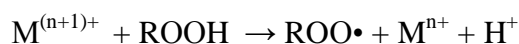
1. Ένζυμα.

Λιποξειδάσες. Απαντώνται σε όλους τους ζωικούς και φυτικούς ιστούς. Όταν ενεργοποιηθούν κάτω από ειδικές συνθήκες ενεργού οξύτητας, θερμοκρασίας και υγρασίας, καταλύουν την οξειδωτική αποικοδόμηση των πολυακόρεστων ακυλολιπιδίων.

2. Μέταλλα.

Ουσίες που ευνοούν την οξείδωση (pro-oxidants) είναι τα ίχνη των ιόντων διαφόρων μετάλλων όπως του σιδήρου (Fe), του χαλκού (Cu), του νικελίου (Ni) και του μαγγανίου (Mn) ευνοούν το σχηματισμό νέων ριζών και έτσι δρουν ως προξειδωτικά καθώς :

- I. Επιταχύνουν την διάσπαση των υδροϋπεροξειδίων



- II. Αντιδρούν απευθείας με το υπόστρωμα
- III. Ενεργοποιούν το μοριακό οξυγόνο προς οξυγόνο διεγερμένης κατάστασης που διευκολύνει το σχηματισμό υδροϋπεροξειδίων. Η οξείδωση ευνοείται

ακόμα και από την παρουσία χλωροφύλλης (περιέχει ιόντα μαγνησίου) και αιμοσφαιρίνης (περιέχει ιόντα σιδήρου).

3. Θερμοκρασία.

Η οξείδωση επιταχύνεται ιδιαίτερα σε υψηλές θερμοκρασίες (πάνω από 60 °C). Αύξηση της θερμοκρασίας κατά 15 °C διπλασιάζει την ταχύτητα οξείδωσης.

4. Φως. Ιδιαίτερα το υπεριώδες φως επιταχύνει την οξείδωση των λιπών και ελαίων.

5. Συγκέντρωση οξυγόνου.

Όταν η συγκέντρωση του οξυγόνου είναι υψηλή, η ταχύτητα οξείδωσης μίας λιπαρής ύλης είναι ανεξάρτητη από τη μερική πίεση του. Αντίθετα όταν η συγκέντρωση του οξυγόνου είναι χαμηλή (συσκευασία σε συνθήκες υποπίεσης), η ταχύτητα της οξείδωσης είναι περίπου ανάλογη της μερικής πίεσης του οξυγόνου. Παράγοντες όπως η θερμοκρασία και η επιφάνεια έκθεσης επηρεάζουν την επίδραση της μερικής πίεσης του οξυγόνου στην ταχύτητα της οξείδωσης. Συσκευασία σε συνθήκες υποπίεσης (κενό) ή σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα (N₂/CO₂) αυξάνει την οξειδωτική σταθερότητα προϊόντων κρέατος και ιχθυηρών. Σε πολλές περιπτώσεις η συσκευασία σε ανάλογες συνθήκες είναι περισσότερο αποτελεσματική από τη χρήση φαινολικών αντιοξειδωτικών. Το οξυγόνο έρχεται σε επαφή με την λιπαρή ύλη και επιταχύνει την οξείδωση. Η ταχύτητα της αυτοοξείδωσης εξαρτάται κυρίως από τον ακόρεστο χαρακτήρα της λιπαρής ύλης. Γι' αυτό όσο πιο ακόρεστο είναι το υπόστρωμα τόσο πιο επιδεκτικό είναι στην αυτοοξείδωση.

6. Σύσταση σε λιπαρά οξέα.

Τα ακόρεστα λιπαρά οξέα προσβάλλονται ευκολότερα από το οξυγόνο σε σχέση με τα κορεσμένα και ταχύτερα όσο αυξάνεται ο αριθμός των διπλών δεσμών στο μόριο τους. Οι σχετικές ταχύτητες οξείδωσης του αραχιδονικού, του λινολενικού, του λινελαϊκού και του ελαϊκού οξέος είναι αντίστοιχα 40:20:10:1. Η θέση και η γεωμετρία των διπλών δεσμών επηρεάζει επίσης την ταχύτητα της αντίδρασης. Τα

λιπαρά οξέα με *cis* διπλό δεσμό οξειδώνονται ευκολότερα από ότι τα *trans* ισομερή τους, ενώ οι συζυγείς διπλοί δεσμοί ευνοούν την ταχύτερη οξείδωση από ότι οι μη συζυγείς. Τα ακόρεστα λιπαρά οξέα οξειδώνονται με ταχύτερους ρυθμούς όταν απαντούν σε ελεύθερη μορφή, από ότι όταν απαντούν με τη μορφή τριγλυκεριδίων. Αρκετοί ερευνητές έχουν επιβεβαιώσει την προ-οξειδωτική δράση των ελεύθερων λιπαρών οξέων. Η χρονική περίοδος κατά την οποία μία λιπαρή ύλη ανθίσταται στην οξείδωση είναι γνωστή ως περίοδος επαγωγής (induction period). Προσθήκη μικρών ποσοτήτων (0,1%) ελεύθερων λιπαρών οξέων στη λιπαρή ύλη προκαλεί μείωση της περιόδου επαγωγής, ενώ έχει δειχθεί ότι περιορίζει και την αποτελεσματικότητα αντιοξειδωτικών όπως η τοκοφερόλης. Τα ζωικά λίπη οξειδώνονται ευκολότερα από τα φυτικά, γιατί τα τελευταία περιέχουν φυσικές αντιοξειδωτικές ουσίες (antioxidants) που τα προστατεύουν (π.χ. οι τοκοφερόλες) (Sherwin, 1978; Γεωργαντέλης, 2006; Κυρανάς, 2017).

Το οξειδωτικό τάγγισμα των τροφίμων μπορεί να περιοριστεί ή ακόμη και να περισταλεί πλήρως με:

- ❖ αποθήκευση των τροφίμων σε χαμηλή θερμοκρασία και σε περιέκτες που αποκλείουν το φως (αποκλεισμός της φωτολυτικής ή/και θερμολυτικής απόσπασης ατόμου H στο στάδιο της έναρξης). Στον (πίνακα 3) δίνεται η διάρκεια συντήρησης διαφόρων αλιευμάτων που έχουν ψυχθεί με πάγο
- ❖ αποθήκευση των τροφίμων υπό κενό ή σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, με στόχο τον αποκλεισμό της επαφής με το οξυγόνο (αποφυγή δημιουργίας υπεροξειδικής ρίζας κατά την έναρξη του σταδίου της προαγωγής) και
- ❖ προσθήκη στα τρόφιμα αντιοξειδωτικών ουσιών (Κυρανάς, 2016).

Πίνακας 3. Χρόνος συντήρησης διαφόρων ειδών αλιευμάτων με πάγο.

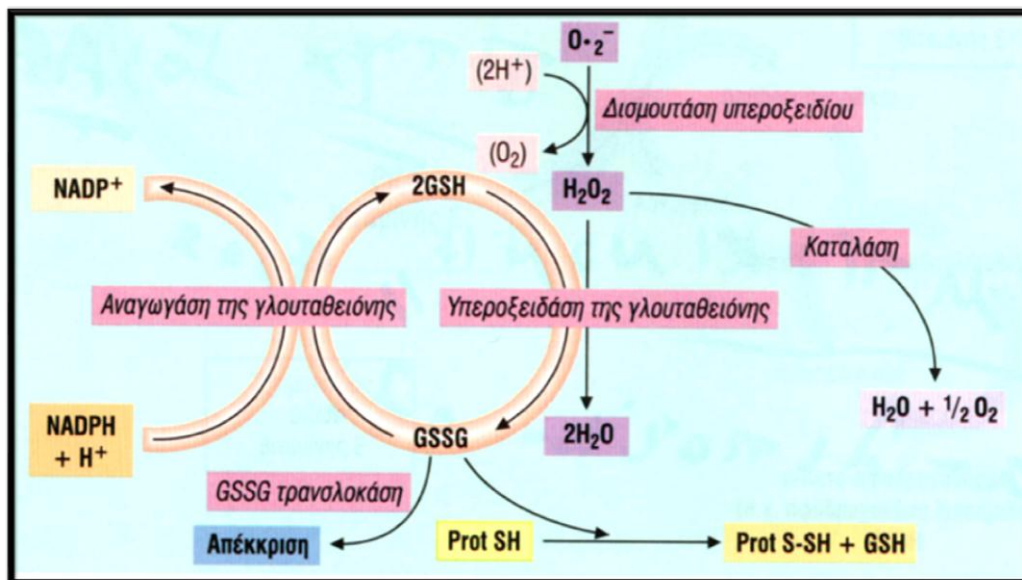
Τύπος αλιεύματος	Υψηλή ποιότητα	Μπορούν να καταναλωθούν
Λευκόσαρκοι ιχθύες, μέσου μεγέθους που έχουν εκπλαχνιστεί ή όχι.		
Αλίευση σε δροσερά ή κρύα νερά	3-4 ημέρες	12-18 ημέρες
Αλίευση σε θερμά νερά	6-8 ημέρες	18-35 ημέρες
Μεγάλοι μπακαλιάροι, τόνοι ή ιχθύες όμοιας κατηγορίας	5-6 ημέρες	21-22 ημέρες
Σκοτεινόχρωμοι ιχθύες, μικρού μεγέθους που έχουν εκπλαχνιστεί ή όχι .		
Χαμηλής λιποπεριεκτικότητας	2-3 ημέρες	6-9 ημέρες
Υψηλής λιποπεριεκτικότητας	1-1,5 ημέρες	4-6 ημέρες

Πηγή: Βαρελτζής, 1999.

7 Αντιοξειδωτικά στα ψάρια

Τα αντιοξειδωτικά ενδιαφέρουν τη βιομηχανία τροφίμων, επειδή αποτρέπουν την τάγγιση των λιπαρών οξέων. Τα αντιοξειδωτικά ενδιαφέρουν επίσης τους βιολόγους και τους γιατρούς, επειδή μπορεί να βοηθήσουν στην προστασία του ανθρώπινου σώματος έναντι βλάβης από τις δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS). Οι επιστήμονες τροφίμων συχνά εξισώνουν τα αντιοξειδωτικά με τους αναστολείς της υπεροξειδωσης των λιπιδίων. Ωστόσο, οι ελεύθερες ρίζες που δημιουργούνται in vivo βλάπτουν πολλούς στόχους εκτός των λιπιδίων, συμπεριλαμβανομένων των πρωτεϊνών, του DNA και μικρών μορίων. Εξ' ου και ένας ευρύτερος ορισμός ενός αντιοξειδωτικού είναι «οποιαδήποτε ουσία που, όταν υπάρχει σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις σε σύγκριση με το οξειδώσιμο υπόστρωμα, καθυστερεί σημαντικά ή αποτρέπει την οξείδωση αυτού του υποστρώματος.» Ο όρος «οξειδώσιμο υπόστρωμα» περιλαμβάνει σχεδόν όλα όσα βρίσκονται στα τρόφιμα και στους ζωντανούς ιστούς συμπεριλαμβανομένων πρωτεϊνών, λιπιδίων, υδατανθράκων και

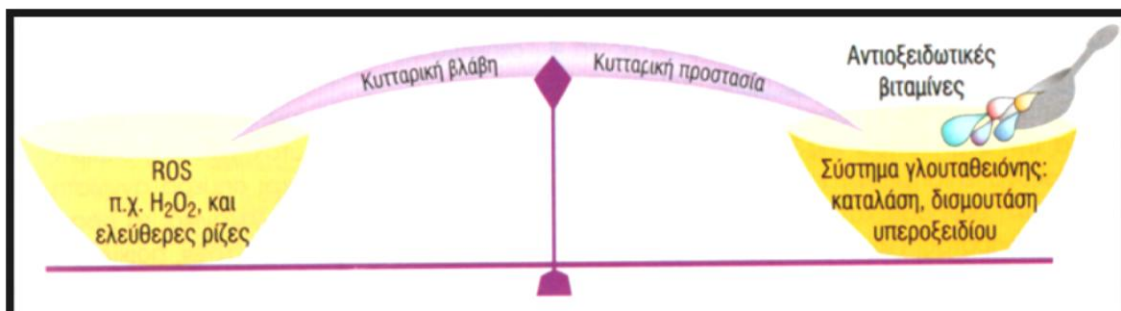
DNA. Αυτός ο ορισμός τονίζει τη σημασία του επιλεγμένου στόχου και της πηγής της οξειδωτικής βλάβης στο χαρακτηρισμό ενός αντιοξειδωτικού. Όταν ROS δημιουργούνται σε ζωντανά συστήματα, μία ευρεία ποικιλία αντιοξειδωτικών έρχεται στο προσκήνιο. Πολλές ανασκοπήσεις έχουν καλύψει το καθιερωμένο φυσιολογικό αντιοξειδωτικό ρόλο της α-τοκοφερόλης, του ασκορβικού οξέος και των πρωτεϊνών όπως το υπεροξειδίο της δισμουτάσης (SOD), την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, την καταλάση και τη σερουλοπλασμίνη. Ο μηχανισμός της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης και της καταλάσης παρουσιάζεται συνοπτικά στην (εικόνα 2) και επεξηγείτε στην παράγραφο 7.2 (Ασκορβικό οξύ). Η σχετική σημασία αυτών των διαφόρων αντιοξειδωτικών *in vivo* εξαρτάται από το ποιο ROS δημιουργείται, πώς δημιουργείται, πού δημιουργείται και ποιος στόχος - καταστροφή μετράται. Ως εκ τούτου, είναι απολύτως δυνατό για ένα αντιοξειδωτικό να παρέχει προστασία σε ένα σύστημα, αλλά να αποτύχει η προστασία, ή ακόμη και μερικές φορές να προκαλέσει ζημιά, σε άλλους (Halliwell et al., 1995). Τα ενζυμικά αντιοξειδωτικά συστήματα του υπεροξειδίου της δισμουτάσης (SOD) και της καταλάσης (CAT) και τα μη ενζυμικά (άλφα-τοκοφερόλη, βήτα-καροτένιο, ουμπικινόλη 10 και γλουταθειόνη αίματος) διερευνήθηκαν στο ήπαρ και το αίμα 37 ειδών ψαριών. Τα πιο ενεργά θαλάσσια είδη εμφανίζουν γενικά υψηλότερες συγκεντρώσεις SOD και CAT στο ήπαρ και το αίμα, σε σύγκριση με εκείνες των λιγότερα ενεργά ειδών. Η αντιοξειδωτική άμυνα στα θαλάσσια ψάρια μπορεί να σχετίζεται με την κατανάλωση οξυγόνου στους ιστούς και ολόκληρο τον οργανισμό, ενώ σε αυτά του γλυκού νερού μπορεί να σχετίζεται με φυσικά και χημικά χαρακτηριστικά του περιβάλλοντος και όχι με το επίπεδο δραστηριότητας. Ως ποικιλόθερμοι οργανισμοί, τα περισσότερα ψάρια πρέπει να αντιμετωπίζουν τακτικά τις αλλαγές της θερμοκρασίας του περιβάλλοντος και, κατά συνέπεια, τις μεταβολές στους μεταβολικούς ρυθμούς τους. Τα σχετικά υψηλά επίπεδα αντιοξειδωτικής άμυνας που χαρακτηρίζουν τα ψάρια, ακόμη και σε σύγκριση τα ομοιόθερμα, πουλιά και θηλαστικά, μπορούν να προστατεύσουν τους υδρόβιους οργανισμούς από τις συνέπειες των αλλαγών της θερμοκρασίας (Filho, 1996).



Εικόνα 2. Μηχανισμός δράσης του αντιοξειδωτικού ενζυμικού συστήματος της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης. **Πηγή:** Pocket Atlas of Nutrition.

Οι αερόβιοι οργανισμοί, όπως τα ψάρια, προστατεύονται από την τοξικότητα του οξυγόνου από μια σειρά αμυντικών συστημάτων όπως αυτά που αναφέρθηκαν παραπάνω, που δρουν σε διαφορετικά σημεία και με διαφορετικούς μηχανισμούς, ελαχιστοποιώντας ή προλαμβάνοντας τη βλάβη των ιστών. Μεταξύ αυτών των ξεχωριστών γραμμών άμυνας, τα αντιοξειδωτικά αδρανοποιούν τις ρίζες και καταστέλλουν την αλυσίδα της οξείδωσης των ελεύθερων ριζών με το μοριακό οξυγόνο (Cabrini et al., 1992). Η έρευνα για το οξειδωτικό στρες στην υδατοκαλλιέργεια είναι ιδιαίτερα σημαντική για την αξιολόγηση τόσο της υγείας των εκτρεφόμενων ψαριών όσο και για την ποιότητα των θαλασσινών. Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι το άγχος καθιστά τα ψάρια πιο ευάλωτα σε ασθένειες λόγω βλάβης των αντιοξειδωτικών αμυντικών συστημάτων (Sakai, 1998). Το οξειδωτικό στρες χαρακτηρίζεται από υπερφόρτωση οξειδωτικών ειδών ή / και σημαντική εξάντληση των αντιοξειδωτικών. Όπως και στα θηλαστικά, η βιταμίνη E (d-RRR α-τοκοφερόλη) και οι ανηγμένες και οι οξειδωμένες μορφές της ουβικινόνης ($\text{CoQ}_n\text{H}_2 - \text{CoQ}_n$) είναι τα κύρια λιπόφιλα αντιοξειδωτικά στους ιστούς των ψαριών και αποτελούν ισχυρά αμυντικά εργαλεία κατά της οξείδωσης των ω-3 HUFA (Highly Unsaturated Fatty Acids)(Filho, 1996).

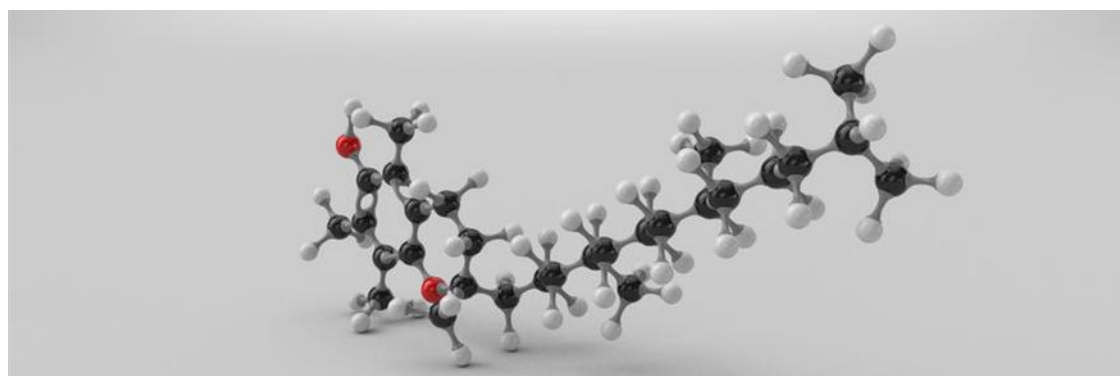
Το ενδογενές αμυντικό σύστημα προσπαθεί να διατηρήσει μία ισορροπία ανάμεσα στην κυτταρική βλάβη από την παραγωγή ελευθέρων ριζών και την κυτταρική προστασία με τα συστήματα που διαθέτει (εικόνα 3).



Εικόνα 3. Ισορροπία ανάμεσα στην παραγωγή ελευθέρων ριζών και την άμυνα.
Πηγή: Pocket Atlas of Nutrition.

7.1 Βιταμίνη Ε

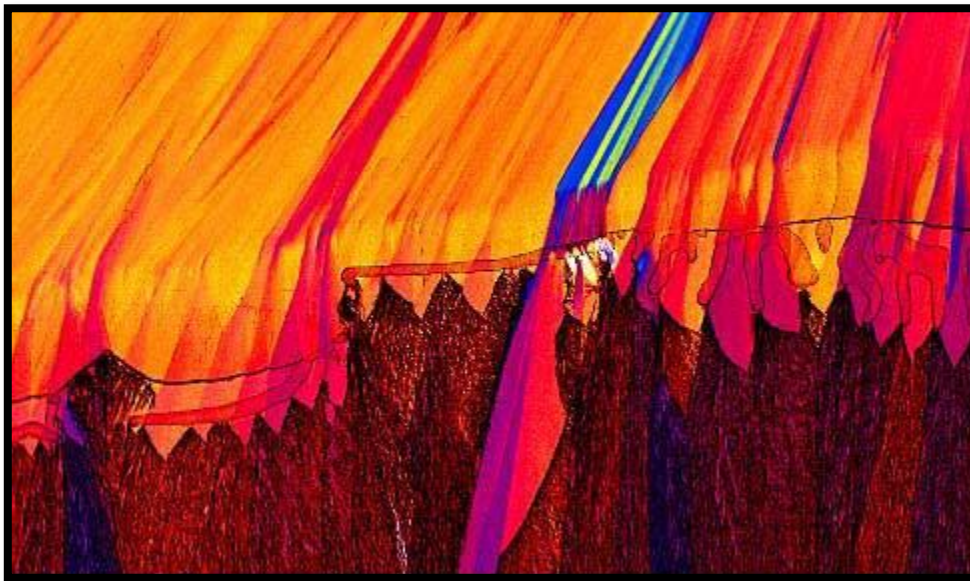
Η βιταμίνη Ε είναι ο κυριότερος λιποδιαλυτός αντιοξειδωτικός παράγοντας του αντιοξειδωτικού συστήματος άμυνας των κυττάρων και λαμβάνεται αποκλειστικά μέσω της τροφής. Στα ψάρια είναι επίσης σημαντική για τη γονιμότητα και την αναπαραγωγή. Η βιταμίνη Ε συναντάται σε οκτώ διαφορετικές μορφές, αλλά η άλφα-τοκοφερόλη έχει τη μεγαλύτερη επίδραση στο σώμα των ψαριών. Αυτή είναι η μορφή που υπάρχει στα περισσότερα συμπληρώματα βιταμινών (εικόνα 4).



Εικόνα 4. Δομή της άλφα – τοκοφερόλης

Η βιταμίνη Ε εμπλέκεται επίσης στη διατήρηση της φυσιολογικής διαπερατότητας των τριχοειδών αγγείων και της ακεραιότητας του καρδιακού μυός. Μπορεί επίσης να επηρεάσει τη διαπερατότητα της εμβρυϊκής μεμβράνης και την ικανότητα εκκόλαψης των αυγών ψαριών. Είναι από τα πιο σημαντικά θρεπτικά συστατικά

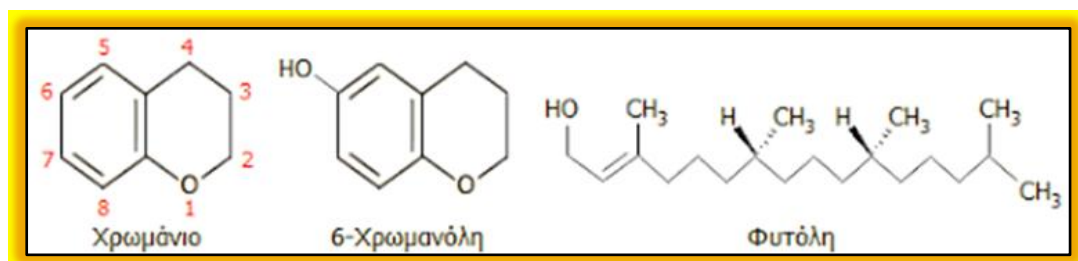
που επηρεάζουν το ανοσοποιητικό σύστημα των ψαριών και η παροχή της μπορεί να μειώσει τη θνησιμότητα και να βελτιώσει την απόδοση των ψαριών, αυξάνοντας παράλληλα συγκεκριμένες ειδικές και μη ειδικές ανοσολογικές αντιδράσεις. Επιπλέον, η βιταμίνη E (εικόνα 5) είναι ισχυρό αντιοξειδωτικό που προσφέρει προστασία από οξειδωτική βλάβη σε διάφορους ιστούς ψαριών, ενισχύει την αντίσταση των μεμβρανών των ερυθρών αιμοσφαιρίων και προστατεύει τις λειτουργίες των λευκοκυττάρων. Τα ψάρια δεν μπορούν να συνθέσουν βιταμίνη E και ως εκ τούτου πρέπει να συμπληρωθούν στη διατροφή των ψαριών, ιδίως στη μητρική και πατρική διατροφή πριν από τη σπερματογένεση, καθώς είναι ένας από τους καθοριστικούς παράγοντες για την αναπαραγωγική ικανότητα (Udo and Afia, 2013).



Εικόνα 5. Φωτογραφία της βιταμίνης E κάτω από το μικροσκόπιο
Πηγή: Χατζημιχαλάκης, 2004.

Είναι το κυριότερο χρησιμοποιούμενο αντιοξειδωτικό στις ζωοτροφές συνήθως στη μορφή της οξικής τοκοφερόλης. Η βιταμίνη E είναι μια γενική ονομασία για όλες τις ουσίες που έχουν τη βιολογική λειτουργία της α-τοκοφερόλης. Κοινό χημικό χαρακτηριστικό των τοκοφερολών (α-, β-, γ- και δ-τοκοφερόλη) είναι η ύπαρξη μια ομάδας χρωμανίου (chromane), η οποία στη θέση 6 περιέχει ένα (φαινολικό) υδροξύλιο, σχηματίζοντας την 6-χρωμανόλη (6-chromanol), όπως και μια πλευρική

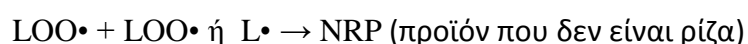
αλειφατική αλυσίδα, η οποία αναφέρεται στη βιβλιογραφία ως ουρά φυτυλίου (phytyl tail), στη θέση 2. Ο αντιοξειδωτικός χαρακτήρας των τοκοφερολών οφείλεται στο φαινολικό υδροξύλιο του χρωμανίου, ενώ ο έντονα λιπόφιλος χαρακτήρας τους και η ουσιαστική μηδενική διαλυτότητά τους στο νερό οφείλεται στην ουρά φυτυλίου (εικόνα 6)(Sampels, 2013).



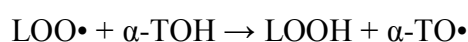
Εικόνα 6: Δομή χρωμανίου, 6-χρωμανόλης και ουρά φυτυλίου στη βιταμίνη E.

7.1.1 Μηχανισμός αντιοξειδωτικής δράσης βιταμίνης E

Στα ζωικά κύτταρα η σημαντικότερη λειτουργία της α-τοκοφερόλης είναι η προστασία των λιπιδίων της μεμβράνης και των αποθηκευμένων λιπιδίων, από την αποδόμησή τους μέσω υπεροξειδωσης. Στο μηχανισμό της υπεροξειδωσης των πολυάκορεστων λιπαρών οξέων το στάδιο της διάδοσης γίνεται με τις LOO•. Οι αλυσιδωτές αντιδράσεις θα τερματιστούν όταν η LOO• εξουδετερωθούν. Η εξουδετέρωση μπορεί να γίνει με δύο τρόπους. Ο ένας είναι να αντιδράσουν οι ρίζες μεταξύ τους και να δώσουν ένα προϊόν (NRP) που δεν είναι ρίζα:

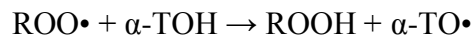


Ο άλλος τρόπος είναι να αντιδράσουν με ένα κατάλληλο αντιοξειδωτικό, όπως την α-τοκοφερόλη. Η α-τοκοφερόλη μπορεί να αντιδράσει με τις LOO• και να τις εξουδετερώσει. Η εξουδετέρωση των LOO•, γίνεται δια μέσου του φαινολικού υδροξυλίου (α-TOH), που βρίσκεται στο χρωμανολικό της δακτύλιο

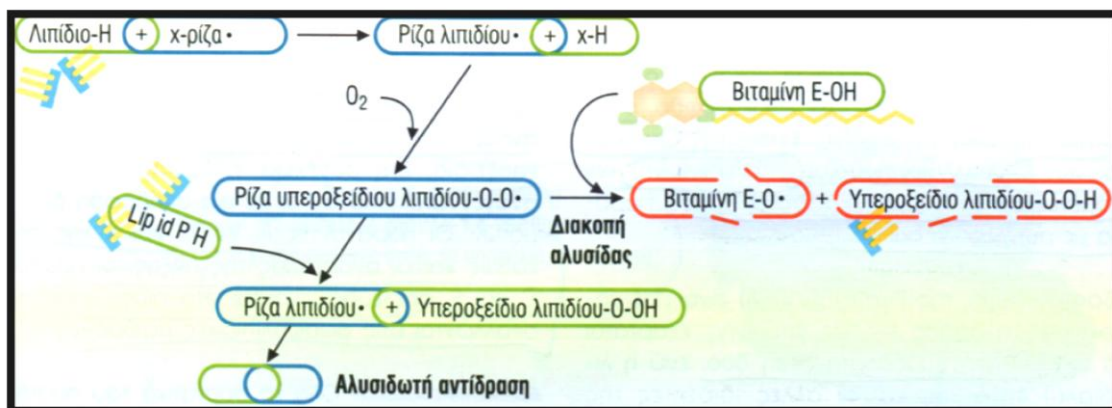


Με τον τρόπο αυτό η βιταμίνη E σταματά την αλυσιδωτή αντίδραση της υπεροξειδωσης των λιπιδίων (chain breaking antioxidant) και επιτυγχάνει την

προστασία των PUFA από την οξείδωση. Επίσης η α -τοκοφερόλη μπορεί να αντιδράσει άμεσα και με τη ρίζα που αρχίζει τη λιπιδική υπεροξείδωση ($\text{ROO}\cdot$):



Και στις δύο περιπτώσεις παράγεται η τοκοφεροξυλική ρίζα ($\alpha\text{-TO}\cdot$) που είναι λιγότερο δραστική, επειδή σταθεροποιείται με συντονισμό και έτσι δε διαδίδει εύκολα τη λιπιδική υπεροξείδωση. Μελέτες *in vitro* απέδειξαν ότι η μεγάλη ικανότητα της α -τοκοφερόλης να προστατεύει τα πολυακόρεστα λιπίδια από την οξειδωτική βλάβη, οφείλεται στο ότι οι τοκοφεροξυλικές ρίζες ανάγονται από άλλα αντιοξειδωτικά όπως είναι το ασκορβικό οξύ. Με την αναγωγή αυτή αναγεννιέται η αρχική της μορφή και έτσι κλείνει ένας οξειδοαναγωγικός κύκλος της α -τοκοφερόλης (Φεσληκίδης, 2008). Συνοπτικά, όταν ένα πολυακόρεστο λιπαρό οξύ προσβληθεί από μία ρίζα X, προκύπτει μια πολύ ασταθής ελεύθερη ρίζα λιπιδίου η οποία όταν συνδεθεί με O_2 σχηματίζεται μία επίσης ασταθής ελεύθερη ρίζα υπεροξειδίου του λιπιδίου. Αυτό θα αντιδράσει με ένα άλλο λιπαρό οξύ για να σχηματίσει ένα σταθερό, μη φυσιολογικό άλλα κυτταροτοξικό υπεροξείδιο του λιπιδίου ή θα “συντηχθεί” με ένα ακόμη μόριο υπεροξειδίου – αλυσιδωτή αντίδραση που οδηγεί σε καταστροφή της προσβεβλημένης κυτταρικής μεμβράνης. Η βιταμίνη E με τη μεταφορά ενός ατόμου H στην ελεύθερη ρίζα, οδηγεί στο σχηματισμό ενός σταθερού υδροϋπεροξειδίου του λιπιδίου και μίας ελεύθερης ρίζας βιταμίνης E η οποία σταματά την αλυσιδωτή αντίδραση (εικόνα 7)(Biesalski, 2008).



Εικόνα 7. Προστατευτική δράση βιταμίνης E.

Πηγή: Pocket Atlas of Nutrition.

7.1.2 Συμπληρωματική χορήγηση βιταμίνης E

Η απαίτηση για βιταμίνη E ως βασικό διατροφικό συστατικό στα ψάρια έχει αναγνωριστεί από καιρό και έχουν ήδη καθοριστεί ελάχιστες απαιτήσεις για κάθε είδος ψαριού. Η Επιτροπή Διατροφής των Ζώων του Αμερικανικού Εθνικού Συμβουλίου Έρευνας πρότεινε ένα γενικό συμπλήρωμα βιταμίνης E στη διατροφή περίπου 50 mg ανά κιλό σωματικού βάρους ψαριού. Υψηλές συγκεντρώσεις βιταμίνης E μπορεί να οδηγήσουν σε υπερτροφία λεκιθικού σάκου και μειωμένη επιβίωση που προκαλείται από οξειδωτικό στρες. Σε αντίθεση με τις βιταμίνες A και D, η βιταμίνη E είναι ουσιαστικά μη τοξική (Serezli et al., 2010).

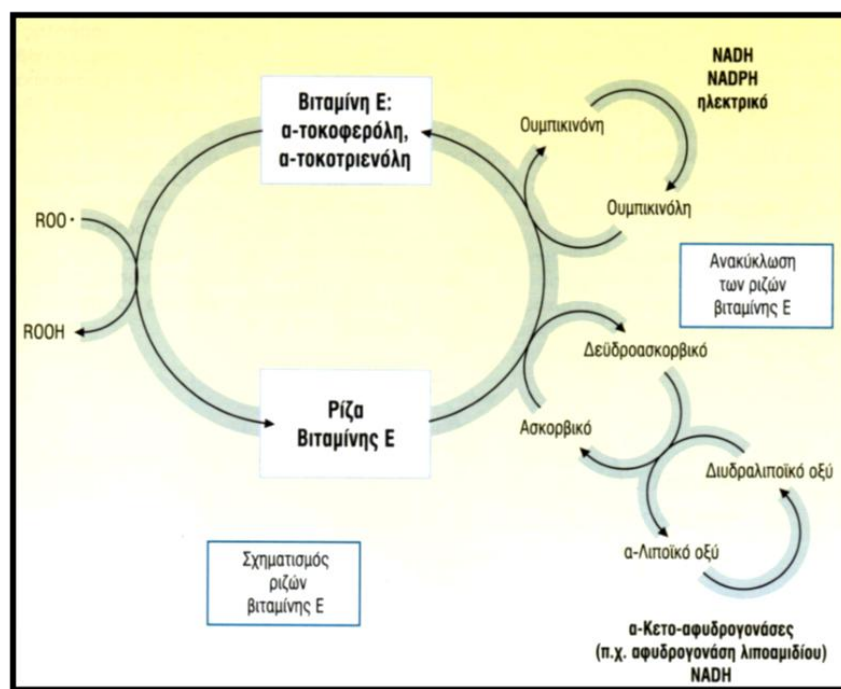
7.2 Ασκορβικό οξύ

Ο όρος “βιταμίνη C” συμπεριλαμβάνει το L – ασκορβικό οξύ και τα παράγωγά του με ταυτόσημο βαθμό βιολογικής δράσης. Τα περισσότερα ζώα μπορούν να συνθέσουν βιταμίνη C σε επαρκείς ποσότητες για φυσιολογική ανάπτυξη και λειτουργία, αλλά πολλά ψάρια δεν μπορούν, καθώς δεν διαθέτουν το ένζυμο οξειδάση της L- γουλονολακτόνης για τη σύνθεση της βιταμίνης C από τη γλυκόζη. Η βιταμίνη C είναι ένας συμπαράγοντας για την υδροξυλίωση της προλίνης προς την υδροξυπρολίνη, ένα βασικό συστατικό του κολλαγόνου, και ως εκ τούτου είναι απαραίτητη για το σχηματισμό συνδετικού ιστού, ουλώδη ιστού για την επούλωση τραυμάτων και της οστικής μήτρας. Η βιταμίνη C διευκολύνει επίσης την απορρόφηση του σιδήρου. Μπορεί να ελαττώσει τη χρήση της βιταμίνης E, μειώνοντας την υπεροξείδωση των λιπιδίων στους ιστούς των ψαριών και είναι απαραίτητη για την αναγέννηση της βιταμίνης E μετά την οξείδωση. Είναι απαραίτητη για την επίτευξη μέγιστης ανοσοαπόκρισης και επιτρέπει μια καλή απόκριση στο στρες (Wikivet, 2020).

7.2.1 Μηχανισμός δράσης βιταμίνης C

Το ασκορβικό οξύ είναι δότης ηλεκτρονίων (αναγωγικό αντιδραστήριο) και μπορεί να προμηθεύσει ηλεκτόνια, τόσο σε ένζυμα, όσο και σε οξειδωτικές ενώσεις. Έτσι μπορεί να ανάγει το σουπεροξειδίο ($O_2^{\bullet-}$), τις υδροξυλικές ρίζες (OH^{\bullet}), το υποχλωριώδες οξύ ($HOCl$) και άλλες δραστικές μορφές οξυγόνου που βρίσκονται

μέσα και έξω από τα κύτταρα (Φεσληκίδης, 2008). Η σημαντικότερη δράση του ασκορβικού οξέος είναι η αναγέννηση της ρίζας της βιταμίνης E. Αντιπροσωπεύει το σύνδεσμο ανάμεσα στις ρίζες τοκοφερόλης στη διπλή στιβάδα λιπιδίων και ένα πολύπλοκο σύμπλεγμα αναγέννησης στο υδατικό κυτταρικό περιβάλλον (εικόνα 8).



Εικόνα 8. Μηχανισμός αναγέννησης της ρίζας της βιταμίνης E με την εμπλοκή ασκορβικού, ουμπικινόνης και α-λιποϊκού οξέος. **Πηγή:** Pocket Atlas of Nutrition.

Περιλαμβάνει ουσίες όπως το λιποϊκό οξύ και την ουμπικινόνη (συνένζυμο Q₁₀) καθώς και τα ενδογενή αμυντικά συστήματα. Το ενδογενές αμυντικό σύστημα αποτελείται ουσιαστικά από ενζυμικά συστήματα (εικόνα 2) κεφάλαιο 7. Το υπεροξειδίο μπορεί γρήγορα να μετατραπεί σε H₂O₂ μέσω της δισμουτάσης του υπεροξειδίου (SOD). Υπάρχουν δύο τρόποι εξουδετέρωσης του H₂O₂ : μέσω της καταλάσης σε H₂O και O₂ και μέσω της εξαρτημένης από Se υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης σε H₂O. Κατά τη διάρκεια της τελευταίας αντίδρασης, η αναχθείσα γλουταθειόνη (GSH), μετατρέπεται στην οξειδωμένη της μορφή (GSSG). Η αναγωγή της γλουταθειόνης τη μετατρέπει εκ νέου σε GSH ώστε να εξασφαλιστεί η επαρκής παροχή αναχθείσας γλουταθειόνης στο κύτταρο. Το σύστημα γλουταθειόνης προστατεύει, επίσης, τις πρωτεΐνες που περιέχουν θείο (Prot-SH),

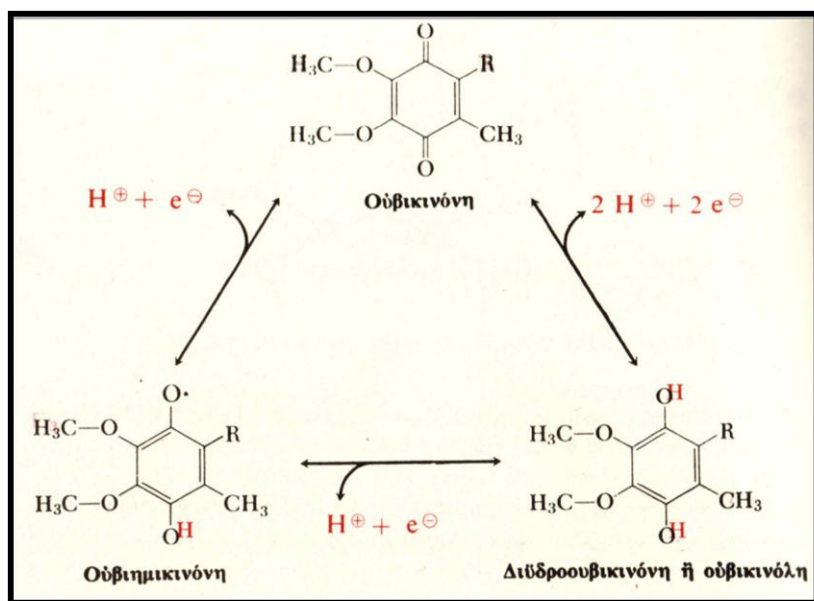
όπως είναι οι θειολικές ομάδες στην αιμοσφαιρίνη, από τις οξειδωτικές βλάβες. (Biesalski, 2008).

7.2.2 Συμπληρωματική χορήγηση βιταμίνης C

Τα ψάρια εμφανίζουν συμπτώματα ανεπάρκειας όταν τρέφονται με δίαιτες ανεπαρκείς σε βιταμίνη C. Τα πιο συνηθισμένα συμπτώματα που παρατηρούνται με ανεπάρκεια βιταμίνης C είναι οι σκελετικές παραμορφώσεις που παρατηρούνται ως: σπονδυλική λόρδωση και σκολίωση, κατάγματα στρες και ελαστική παραμόρφωση των βραγχίων. Μπορεί να παρουσιάσουν εξωτερική και εσωτερική αιμορραγία, ανορεξία και λήθαργο. Η επούλωση πληγών μπορεί επίσης να προχωρά με μειωμένο ρυθμό. Τα ψάρια είναι πιο επιρρεπή στην ανάπτυξη βακτηριακών λοιμώξεων και τυχόν προβλήματα πρέπει να αντιμετωπίζονται άμεσα. Η βιταμίνη C είναι πολύ ευαίσθητη στην οξειδωτική βλάβη κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας και της αποθήκευσής της και μια σημαντική ποσότητα χάνεται. Έχουν αναπτυχθεί πιο σταθερά παράγωγα της βιταμίνης C για την αντιμετώπιση αυτών των προβλημάτων με σύζευξη ασκορβικού οξέος με φωσφορικά ή θειικά παράγωγα (Wikivet, 2020).

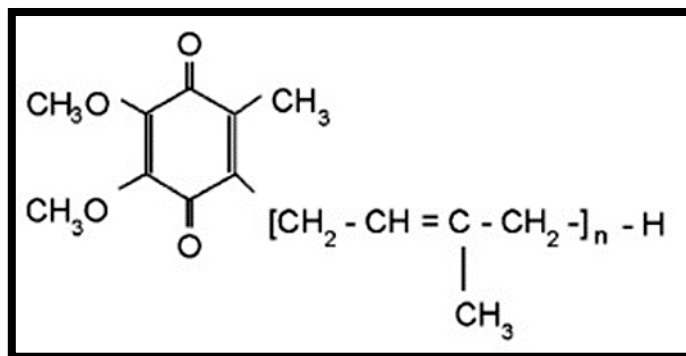
7.3 Ουμπικινόνη ή Συνένζυμο Q₁₀

Η ουμπικινόνη ή κατά άλλους ουβικινόνη ή συνένζυμο Q είναι παράγωγο της κινόνης. Περιέχει μία μεγάλη πλάγια αλυσίδα, που αποτελείται από ισοπρενικές μονάδες. Ο αριθμός των ισοπρενικών μονάδων εξαρτάται από το είδος του ζωικού οργανισμού. Η ουμπικινόνη μπορεί να αναχθεί με ένα ηλεκτρόνιο, οπότε δίνει ούμπι-ημικινόνη η οποία με ένα δεύτερο ηλεκτρόνιο ανάγεται σε διϋδροουμπικινόνη ή ουμπικινόλη. Η ουμπικινόλη διαφέρει από τα άλλα μέρη της αναπνευστικής αλυσίδας, που είναι πρωτεΐνες, διότι είναι ένα μικρό, με μεγάλη διαλυτότητα στα λιπίδια και μπορεί εύκολα και ελεύθερα να κινείται σε όλο το πάχος της μιτοχονδριακής μεμβράνης (εικόνα 9) (Τρακατέλλης, 2001).



Εικόνα 9. Μηχανισμός αναγωγής ουμπικινόνης. **Πηγή:** Τρακατέλλης, 2001.

Η ουμπικινόνη είναι πανταχού παρούσα και απαραίτητη για τη ζωή, έτσι υπάρχει σε όλα τα κύτταρα του σώματος και υποστηρίζει την κυτταρική παραγωγή ενέργειας βοηθώντας στην παραγωγή τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP). Είναι γνωστό ότι το CoQ_n , εκτός από τη λειτουργία του ως φορέας ηλεκτρονίων και πρωτονίων στα μιτοχόνδρια, δρα ως ισχυρό αντιοξειδωτικό στην ανηγμένη μορφή του ουμπικινόλη ($\text{CoQ}_n \text{H}_2$), αποτρέποντας τόσο τα στάδια έναρξης όσο και τα βήματα διάδοσης της λιπιδικής υπεροξειδωσης σε βιολογικές μεμβράνες. Επιπλέον, είναι σε θέση να διατηρήσει την αντιοξειδωτική ικανότητα της βιταμίνης E αποτελεσματικά, αναγεννώντας την από τη ρίζα α-τοκοφερόλης (Ferrante et al, 2003). Το πιο κοινό συνένζυμο Q στα θηλαστικά στους ανθρώπους και στα ψάρια είναι το συνένζυμο Q_{10} (2,3-διμεθοξυ-5-μεθυλ-6-δεκαπρενυλβενζοκινόνη), που περιέχει 10 ισοπρενικές μονάδες στην πλευρική αλυσίδα (εικόνα 10). Κατά την τελευταία δεκαετία, το CoQ_{10} έλαβε μεγάλη προσοχή ως το μόνο ενδογενώς συντιθέμενο διαλυτό στα λιπίδια αντιοξειδωτικό στα ζωικά κύτταρα. Μειωμένα επίπεδα CoQ_{10} αναφέρθηκαν σε διάφορες ασθένειες, συμπεριλαμβανομένων των καρδιομυοπαθειών, των εκφυλιστικών μυϊκών παθήσεων και το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα (Souchet and Laplante, 2007).



Εικόνα 10. Χημική δομή ουμπικινόνης, όπου $n=10$ για το συνένζυμο Q₁₀

Πηγή: Souchet & Laplante, 2007.

7.3.1 Πηγές πρόσληψης Q₁₀

Έχουν γίνει πολλές πρόσφατες μελέτες για την τεκμηρίωση των αποτελεσμάτων της από του στόματος χορήγηση του CoQ₁₀ από τα τρόφιμα ή τα συμπληρώματα διατροφής μερικοί από τους οποίους αποκάλυψαν ότι μεγάλες δόσεις CoQ₁₀ θα μπορούσαν να ληφθούν από μιτοχόνδρια ζώων από όλους τους ιστούς συμπεριλαμβανομένης της καρδιάς και του εγκεφάλου. Προς το παρόν, η συμβολή του διαιτητικού CoQ₁₀ στις συγκεντρώσεις στους ανθρώπινους ιστούς δεν είναι γνωστή, αλλά υπάρχουν πειστικά στοιχεία ότι επάγει την αύξηση των επιπέδων CoQ₁₀ στο αίμα, όπου μπορεί να ασκήσει τις αντιοξειδωτικές του ιδιότητες. Πολλά ευεργετικά και θεραπευτικά αποτελέσματα θα μπορούσαν να προκύπτουν από αυτήν την ιδιότητα, ιδίως από την προστασία από ασθένειες που σχετίζονται με τη γενική διαδικασία γήρανσης όπως καρδιαγγειακές παθήσεις, διαβήτη και καρκίνος (Albano, Muralikrishnan and Ebadi, 2002). Η πλουσιότερη γνωστή πηγή τροφής του CoQ₁₀ είναι η καρδιά από τα θηλαστικά είδη όπως των βοοειδών και των χοίρων, που περιέχουν πάνω από 100 mg/g νωπού ιστού (Mattila et al., 2000). Όσον αφορά το περιεχόμενο CoQ₁₀ στα ψάρια, αποκάλυψαν ότι η λιπαρή σάρκα των ψαριών είναι η δεύτερη πιο πλούσια πηγή CoQ₁₀ μετά από το κόκκινο κρέας (Petillo et al., 1998; Mattila and Kumpulainen, 2001). Τέλος υπάρχουν ενδείξεις ότι η συμπληρωματική λήψη CoQ₁₀ επηρεάζει θετικά το σύνδρομο μιτοχονδριακής ανεπάρκειας και τα συμπτώματα της γήρανσης. Οι καρδιαγγειακές παθήσεις και η φλεγμονή ανακουφίζονται από την αντιοξειδωτική δράση του CoQ₁₀ (Hernández-Camacho et al., 2018).

7.4 Καροτενοειδή

Τα καροτενοειδή είναι πάρα πολύ διαδεδομένες φυσικές, λιποδιαλυτές χρωστικές, που απαντώνται στα φυτά, αλλά και στα ζώα. Τα ζώα δεν μπορούν να συνθέσουν καροτενοειδή, αλλά τα αποθηκεύουν (σολομός, μπαρμπούνη, κρόκος αυγού κ.ά.) μέσω της διατροφής τους. Η κατάταξή τους γίνεται συνήθως με δύο συστήματα:

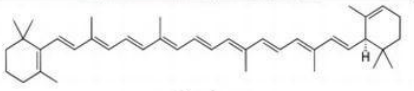
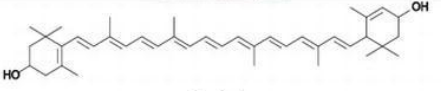
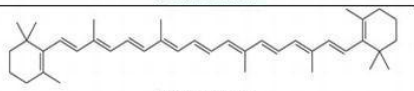
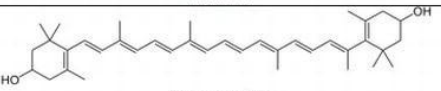
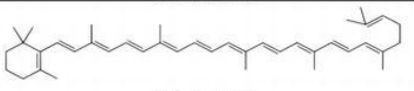
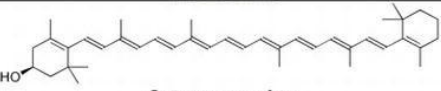
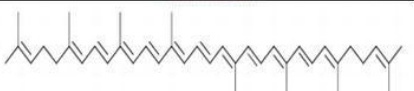
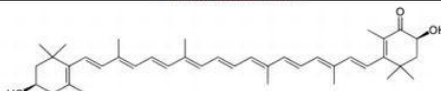
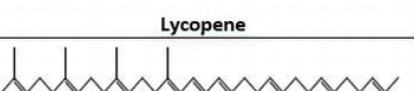
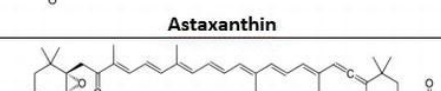
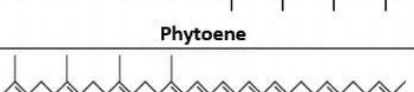
A. Σύμφωνα με το πρώτο ταξινομούνται σε δύο ομάδες :

- τα καροτένια, που είναι καθαροί υδατάνθρακες και
- τις ξανθοφύλλες, που περιέχουν και άτομα οξυγόνου με τη μορφή υδροξυ-μεθοξυ-, καρβοξυ-, κετο- και εποξυ- ομάδας.

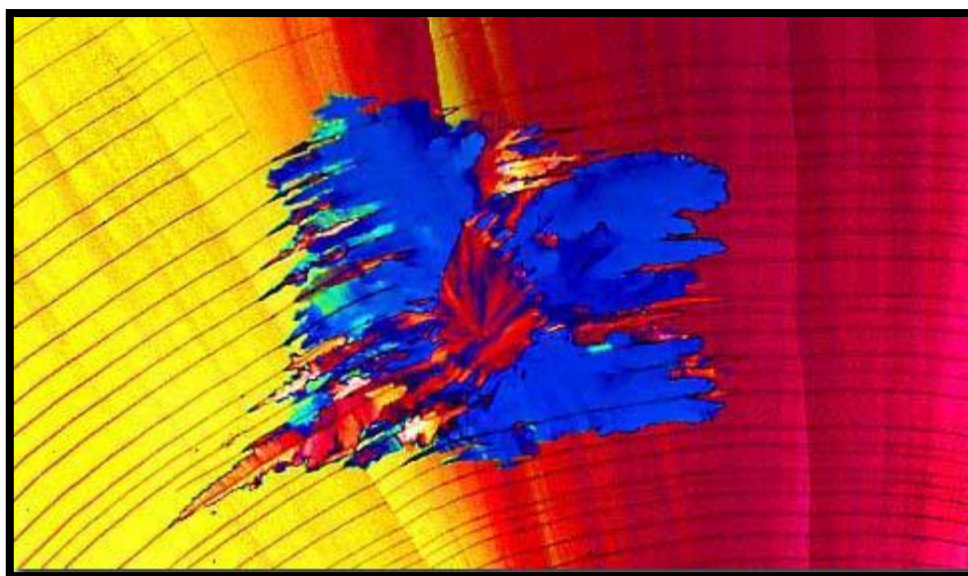
B. Με βάση το δεύτερο ταξινομούνται σε τρεις ομάδες:

- τα ακυκλικά (π.χ. λυκοπένιο),
- τα μονοκυκλικά (π.χ. γ-καροτένιο) και
- τα δικυκλικά (π.χ. α- και β-καροτένιο, λουτεΐνη, ζεαξανθίνη)(Κυρανάς, 2011).

Οι συντακτικοί τύποι των κυριότερων καροτενοειδών έχουν ως ακολούθως:

Hydrocarbon Carotenoids	Xanthophylls
 α-Carotene	 Lutein
 β-Carotene	 Zeaxanthin
 γ-Carotene	 β-Cryptoxanthin
 Lycopene	 Astaxanthin
 Phytoene	 Fucoxanthin
 Phytofluene	

Χημικά είναι τετρατερπένια, που αποτελούνται από οκτώ, συμμετρικά διευθετημένες μονάδες ισοπρενίου. Η συμπεριφορά τους καθορίζεται από τις μακριές υδρογονανθρακικές τους αλυσίδες, που περιέχουν πολλούς συζευγμένους διπλούς δεσμούς: είναι λιπόφιλα και χρωματισμένα. Στα φυτά απαντώνται πολλές εκατοντάδες διαφορετικά καροτενοειδή. Μόνο τα 40 από αυτά διαθέτουν ιδιότητες προβιταμίνης Α. Ποσοτικά, μεγαλύτερης σημασίας για τον άνθρωπο είναι τα β-καροτένια, που είναι υπεύθυνα για το κόκκινο χρώμα στα καρότα. Το λυκοπένιο το οποίο αντίθετα με τα β-καροτένια, δε διαθέτει αρωματικά συστατικά, είναι η κύρια χρωστική στις ντομάτες και τις κόκκινες πιπεριές. Οι ξανθοφύλλες σχηματίζονται με την εισαγωγή υδροξυλικών ομάδων στους καροτενοειδείς δακτυλίους. Τα β-καροτένια είναι λιποδιαλυτά και απορροφούνται στο λεπτό έντερο μαζί με τα υπόλοιπα λιπίδια. Στο εσωτερικό των κυττάρων του βλεννογόνου, μπορούν και διασπώνται σε δύο μόρια ρετινάλης (βιταμίνη Α)(εικόνα 11) με τη βοήθεια του ενζύμου 15,15-διδοξυγενάσης.



Εικόνα 11. Φωτογραφία της βιταμίνης Α κάτω από το μικροσκόπιο
Πηγή: Χατζημιχαλάκης, 2004.

Εάν δεν μετατραπούν σε ρετινάλη εκδηλώνουν αντιοξειδωτικές δράσεις στα κύτταρα. Αξίζει να σημειωθεί ότι το β-καροτένιο είναι μη τοξικό και μη τερατογόνο. Για τη βέλτιστη αντιοξειδωτική δράση καθώς και για πρόληψη του καρκίνου συστήνονται 15-50 mg καροτενοειδών την ημέρα (Biesalski, 2008). Το β-καροτένιο

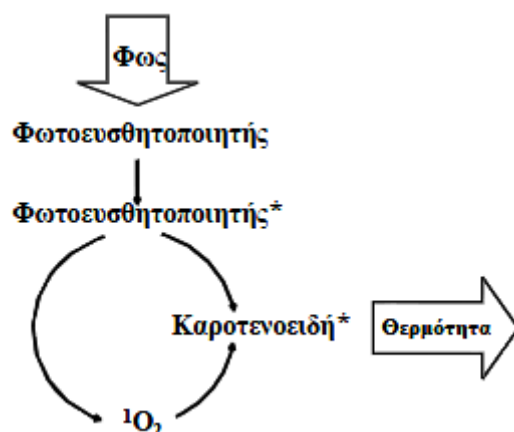
αποτελεί την κύρια πρόδρομη ένωση της βιταμίνης A, η οποία εμπλέκεται στη λειτουργία της όρασης, στην κυτταρική διαφοροποίηση, στη σύνθεση γλυκοπρωτεϊνών, στην έκκριση βλέννας από τα επιθηλιακά κύτταρα, στη λειτουργία της αναπαραγωγής και γενικά στην ανάπτυξη και τη διαμόρφωση των οστών. Υπολογίζεται πως σε παγκόσμιο επίπεδο το 60% από τη βιταμίνη A της δίαιτας προκύπτει από τις προβιταμίνες A. Η ανεπάρκεια δε, σε βιταμίνη A, αποτελεί την πλέον συχνή διαιτητική ανεπάρκεια για τον άνθρωπο. Διάφορες μελέτες δείχνουν πως οι περισσότερες από τις σύγχρονες εκφυλιστικές ασθένειες (καρδιαγγειακές παθήσεις, καταρράκτης, μολυσματικές ασθένειες, Alzheimer, καρκίνος κ.ά.) οφείλουν την προέλευσή τους στην παρουσία ελευθέρων ριζών. Η αντιοξειδωτική δράση των καροτενοειδών, μέσω της απενεργοποίησης των ελευθέρων ριζών και ιδιαίτερα της ρίζας του οξυγόνου, θεωρείται καθοριστική για την πρόληψή τους (Κυρανάς, 2017). Ο μυϊκός ιστός των περισσότερων ψαριών έχει λευκό χρώμα, όμως σε αρκετές περιπτώσεις έχει αποχρώσεις καφέ ή κοκκινωπού χρώματος, όταν είναι σημαντική η παρουσία του λεγόμενου σκούρου μυός, ο οποίος βρίσκεται ακριβώς κάτω από το δέρμα κατά μήκος της πλευράς του σώματος. Η αναλογία σκούρου - λευκού μυός ποικίλλει ανάλογα με τη δραστηριότητα του ψαριού. Σε πελαγικά ψάρια όπως η ρέγγα και το σκουμπρί που κολυμπούν σχεδόν διαρκώς, ο σκούρος μυς αποτελεί έως και 48% του σωματικού τους βάρους. Αντίθετα στα βενθοπελαγικά ψάρια, δηλαδή στα είδη τα οποία τρέφονται στο βυθό και κινούνται περιοδικά, η ποσότητα του σκούρου μυός είναι πολύ μικρή. Υπάρχουν πολλές διαφορές στη χημική σύσταση των δύο τύπων μυών, με αξιοσημείωτο το υψηλό επίπεδο των λιπιδίων και μυοσφαιρίνης στο σκούρο μυ. Ωστόσο το κοκκινωπό χρώμα του μυός στο σολομό και τη πέστροφα δεν προέρχεται από τη μυοσφαιρίνη αλλά οφείλεται στο καροτενοειδές ασταξανθίνη. Η λειτουργία αυτής της χρωστικής δεν έχει εξακριβωθεί πλήρως. Η συσσώρευση στο μυ μπορεί να λειτουργεί ως αποθήκη της χρωστικής που απαιτείται κατά την αναπαραγωγή, όπου το αρσενικό αναπτύσσει ένα έντονο κόκκινο χρώμα στο δέρμα ενώ το θηλυκό μεταφέρει καροτενοειδή στα αυγά. Φαίνεται να υπάρχει εξάρτηση σε μεγάλο βαθμό της ποσότητας των καροτενοειδών για τη σωστή ανάπτυξη των εμβρύων μετά τη γονιμοποίηση. Να σημειωθεί ότι το χρώμα των μυών των σολομοειδών εξασθενίζει

κατά τη στιγμή της αναπαραγωγής. Τα ψάρια δεν μπορούν να συνθέσουν ασταξανθίνη και επομένως εξαρτώνται από την πρόσληψη της χρωστικής μέσω της τροφής. Έχει βρεθεί ότι σολομοειδή που ζουν σε περιοχές στις οποίες η λεία τους δεν περιέχει αρκετά καροτενοειδή έχουν μύες με λιγότερο κοκκινωπό χρώμα. Στους εκτρεφόμενους σολομούς, παρέχεται ασταξανθίνη με την τροφή, καθώς το ερυθρό χρώμα της σάρκας αποτελεί ένα από τα πιο σημαντικά κριτήρια ποιότητας για το είδος αυτό (Γιογιός, 2015).

7.4.1 Μηχανισμός αντιοξειδωτικής δράσης καροτενοειδών

Τα ζώα μπορούν να μεταβολίσουν τα καροτενοειδή αλλά δεν είναι σε θέση να τα βιοσυνθέσουν. Έτσι η βιοσύνθεση των καροτενοειδών περιορίζεται στα φυτά και σε πολλούς μικροοργανισμούς. Τα καροτενοειδή είναι οι ισχυρότεροι βιολογικοί απενεργοποιητές του μονήρους οξυγόνου ($^1\text{O}_2$). Μονήρες οξυγόνο παράγεται, όταν η ενέργεια διεγερμένου φωτός από ένα φωτοευαισθητοποιητή μεταφέρεται στο μοριακό οξυγόνο. Η αντίδραση του β-καροτένιου με το $^1\text{O}_2$ έχει δειχθεί για πρώτη φορά από τον Foote και συν. Η ικανότητα των καροτενοειδών να απενεργοποιούν το $^1\text{O}_2$ συσχετίζεται με το μήκος της πολυενικής αλυσίδας. Έτσι το λυκοπένιο (μεγάλη πολυενική αλυσίδα) εμφανίζεται να έχει μεγαλύτερη ικανότητα στην απενεργοποίηση του $^1\text{O}_2$. Τα καροτενοειδή αλληλεπιδρούν με το $^1\text{O}_2$ με δύο τρόπους:

- Δια μέσου ενός φυσικού μηχανισμού με τον οποίο η διεγερμένη ενέργεια του $^1\text{O}_2$ μεταφέρεται στο καροτενοειδές και στη συνέχεια διασκορπίζεται στο περιβάλλον με τη μορφή θερμότητας (σχήμα 3).
- Με χημική εξουδετέρωση με την οποία το καροτενοειδές καταστρέφεται με την εισαγωγή του $^1\text{O}_2$ σε ένα διπλό δεσμό.



Σχήμα 3. Απενεργοποίηση μορίων που βρίσκονται στη διεγερμένη μορφή (*) από τα καροτενοειδή.

Εκτός από την απενεργοποίηση του μονήρους οξυγόνου έχει μελετηθεί και η δράση των καροτενοειδών στην εξουδετέρωση των ελευθέρων ριζών. Το β-καροτένιο, όταν αντιδρά με λιπιδικές ρίζες (LOO[·]) σχηματίζει μία ενδιάμεση ρίζα του καροτένιου που έχει δύο δυνατότητες.

α. να αντιδράσει με μία άλλη λιπιδική ρίζα και να σχηματίσει ένα σταθερό παράγωγο και

β. να αντιδράσει με οξυγόνο και να δώσει ένα παράγωγο που έχει προ-οξειδωτικές ιδιότητες (Φεσληκίδης, 2008).

7.4.2 Πηγές πρόσληψης καροτενοειδών

Τα καροτενοειδή προσλαμβάνονται με τη διατροφή κυρίως από τα φυτά όπου εντοπίζονται στις ρίζες, στα φύλλα, στο σπέρμα, στα βλαστάρια, στα φρούτα και στα άνθη. Υψηλές συγκεντρώσεις σε καροτενοειδή εμφανίζουν τα καρότα, τα κολοκύθια, η γλυκοπατάτα, η ντομάτα, τα ροδάκινα, τα εσπεριδοειδή. Τα πορτοκαλί καροτένια απαντώνται στα βερίκοκα, την πάπρικα και το κόκκινο πιπέρι. Καροτενοειδή περιέχονται και στα οστρακόδερμα (αστακοί, γαρίδες, караβίδες κλπ.) συνενωμένα με πρωτεΐνη, με αποτέλεσμα να προκύπτει μια μπλε ή γκρι-μπλε χροιά στη σάρκα τους. Όταν τοποθετηθούν σε βραστό νερό, τότε διασπάται το σύμπλοκο καροτενοειδών – πρωτεΐνης και αναπτύσσεται από τα ελεύθερα καροτενοειδή πορτοκαλέρυθρη χροιά. Το κύριο καροτενοειδές των οστρακόδερμων

είναι η ασταξανθίνη, ενώ στα κόκκινα ψάρια (μπαρμπούνια, λυθρίνια, σαργούς, κοκκινόψαρο κλπ.) περιέχονται κυρίως ασταξανθίνη, λουτεΐνη και ταραξανθίνη (Κυρανάς, 2014).

7.4.3 Συμπληρωματική χορήγηση καροτενοειδών

Ορισμένες έρευνες έδειξαν ότι τα καροτενοειδή ασταξανθίνη και κανθαξανθίνη, που δίνουν στα σαλμονοειδή το χαρακτηριστικό τους χρώμα, θα μπορούσαν να προσδώσουν προστασία κατά της οξειδωτικής αποδόμησης σε μυϊκούς ιστούς ψαριών κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης υπό κατάψυξη. Ωστόσο, ορισμένες μελέτες έδειξαν ότι τα καροτενοειδή δεν μπόρεσαν να προστατεύσουν τους μυς των ψαριών από οξειδωτική βλάβη και η επίδραση των καροτενοειδών στην οξειδωτική σταθερότητα κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης υπό κατάψυξη είναι ακόμα ασαφής. Μέχρι σήμερα, τα όρια που ορίζονται από τη νομοθεσία της ΕΕ για την προσθήκη καροτενοειδών στην τροφή για σολομό και πέστροφα είναι 25 mg/kg για την κανθαξανθίνη και 100 mg/kg για την ασταξανθίνη είτε μόνη είτε σε συνδυασμό με κανθαξανθίνη. Σε μία μελέτη η ιριδίζουσα πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*) έλαβε μια διατροφή που περιέχει είτε ιχθυέλαιο είτε κραμβέλαιο (φυτικό έλαιο) και με ή χωρίς προσθήκη 200 mg/kg καροτενοειδούς (ασταξανθίνη ή κανθαξανθίνη). Τα ψάρια σφαγιάστηκαν και αποθηκεύτηκαν σε σακούλες πολυαιθυλενίου ξεχωριστά ως φιλέτα πεταλούδας για έως και 22 μήνες στους -20 C. Αξιολογήθηκε η σύνθεση του μυός των ψαριών κατά τη σφαγή και κατά τη διάρκεια της κατάψυξης με δειγματοληψία μετά από 4, 8, 13, 18 και 22 μήνες. Η περιεκτικότητα σε καροτενοειδή στον μυ βρέθηκε να είναι περίπου 9-10 mg/kg ψαριού και για τα δύο καροτενοειδή. Η ανάλυση αποκάλυψε ότι σε αυτή την έρευνα τα ψάρια που τρέφονταν με ιχθυέλαια ήταν ελαφρώς πιο οξειδωμένα από τα ψάρια που τρέφονταν με ιχθυοτροφές με φυτικό λάδι. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η κανθαξανθίνη προστατεύει αποτελεσματικά τόσο την πρωτεΐνη όσο και τα λιπίδια από την οξείδωση κατά την κατάψυξη. Αντίθετα, η ασταξανθίνη δεν φαίνεται να έχει καθαρό και συστηματικό αποτέλεσμα. Τα αποτελέσματα έδειξαν επίσης ότι η σύνθεση της τροφής επηρέασε τη σύνθεση των μυών των ψαριών και στη συνέχεια την οξειδωτική σταθερότητα των ψαριών κατά τη διάρκεια της

αποθήκευσης υπό κατάψυξη. Φαίνεται πιθανό ότι η αλληλεπίδραση μεταξύ καροτενοειδών, τοκοφερολών, λιπαρών οξέων και δευτερευόντων συστατικών που υπάρχουν στις ζωοτροφές όπως οι φυτοστερόλες και οι βιταμίνες επηρεάζουν τη σύνθεση του μυϊκού ιστού. Επιπλέον, υπάρχουν επίσης όλο και περισσότερες ενδείξεις ότι η τοκοφερόλη και τα καροτενοειδή δεν λειτουργούν μόνο ως αντιοξειδωτικά αλλά μπορούν να παίξουν ρόλο στη ρύθμιση της μεταγωγής σήματος και της γονιδιακής έκφρασης, επηρεάζοντας έτσι ολόκληρο τον μεταβολισμό (Baron, Hyldig and Jacobsen, 2009).

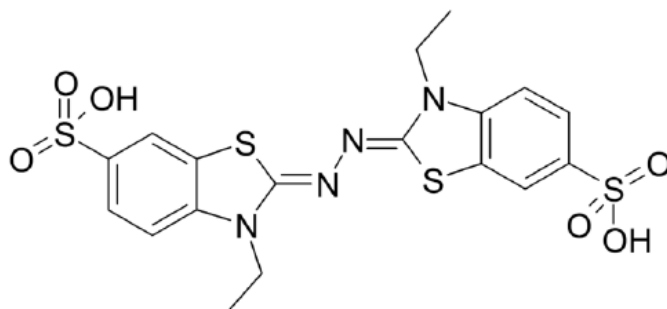
8 Χημικές μέθοδοι προσδιορισμού Συνολικής Αντιοξειδωτικής Ικανότητας (Total Antioxidant Capacity)

Λόγω της χημικής ποικιλότητας των αντιοξειδωτικών ενώσεων που υπάρχουν στα τρόφιμα, πλήρεις βάσεις δεδομένων σχετικά με το αντιοξειδωτικό περιεχόμενο δεν είναι ακόμη διαθέσιμες. Επιπλέον, τα επίπεδα μεμονωμένων αντιοξειδωτικών στα τρόφιμα δεν αντανακλούν απαραίτητα τη συνολική αντιοξειδωτική τους ικανότητα (Total Antioxidant Capacity). Αυτή εξαρτάται επίσης από τις συνεργιστικές και οξειδοαναγωγικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των διαφόρων μορίων που είναι παρόντα στο τρόφιμο. Επίσης, παρατηρούνται γεωγραφικές διαφορές στα δεδομένα σύνθεσης τροφίμων που θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη. Τέλος επειδή διαφορετικές αντιοξειδωτικές ενώσεις μπορούν να δρουν *in vivo* μέσω διαφορετικών μηχανισμών, καμία μέθοδος δεν μπορεί να αξιολογήσει πλήρως την TAC των τροφίμων (Pellegrini et al., 2003). Έχουν εισαχθεί διάφορες δοκιμασίες για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας τροφίμων και βιολογικών δειγμάτων. Η έννοια της αντιοξειδωτικής ικανότητας προήλθε αρχικά από τη χημεία και αργότερα προσαρμόστηκε στη βιολογία, την ιατρική, την επιδημιολογία και τη διατροφή. Περιγράφει την ικανότητα των αναγωγικών μορίων στα τρόφιμα και τα βιολογικά συστήματα να εκκαθαρίζουν τις ελεύθερες ρίζες. Αυτή η ιδέα παρέχει μια ευρύτερη εικόνα για τα αντιοξειδωτικά που υπάρχουν σε ένα βιολογικό δείγμα και μπορεί, επομένως, να είναι χρήσιμη στη μελέτη για τα πιθανά οφέλη των αντιοξειδωτικών για την υγεία στις μεσολαβούμενες από το οξειδωτικό στρες ασθένειες. Τα τελευταία χρόνια, ένα ευρύ φάσμα φασματοφωτομετρικών δοκιμασιών έχει υιοθετηθεί για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των

τροφίμων. Δημοφιλείς είναι ο προσδιορισμός του 2,2'-αζινο-δισ-3-αιθυλοβενζοθειαζολιν-6-σουλφονικό οξέος (ABTS) και του 1,1-διφαινυλ-2-πικρυλδραζυλίου (DPPH), μεταξύ άλλων, όπως επίσης και η ικανότητα απορρόφησης της ρίζας οξυγόνου (ORAC) και τέλος η δοκιμή ικανότητας μείωσης του σιδήρου του πλάσματος (FRAP). Οι περισσότερες από τις δοκιμασίες χρησιμοποιούν την ίδια αρχή: γίνεται εκκίνηση μίας συνθετικής έγχρωμης ρίζας ή μίας δραστικής οξειδοαναγωγικής ένωσης και η ικανότητα ενός βιολογικού δείγματος να εκκαθαρίζει τη ρίζα ή να μειώνει την οξειδοαναγωγική ένωση παρακολουθείται με φασματοφωτόμετρο. Εφαρμόζεται ταυτόχρονα ένα κατάλληλο πρότυπο για τον ποσοτικό προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας, π.χ. ως ισοδύναμη αντιοξειδωτική ικανότητα Trolox (TEAC) ή βιταμίνη C ισοδύναμη αντιοξειδωτική ικανότητα (VCEAC)(Floegel et al., 2011).

8.1 Η μέθοδος TEAC

Η μέθοδος TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) προτάθηκε το 1993 και βασίζεται στην εκκαθάριση των ανιόντων της ρίζας ABTS⁻ 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) (σχήμα 4) με σιδηρομυογλοβίνη.



Σχήμα 4. Δομή του μορίου ABTS

Κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας μετράται η ικανότητα του αντιοξειδωτικού να εκκαθαρίζει τη ρίζα ABTS⁻ που παράγεται στην υδατική φάση. Η σύγκριση γίνεται σε σχέση με μία ορισμένης συγκέντρωσης ποσότητα Trolox (Σημείωση 1) (Fried, 2014). Η μέθοδος βασίζεται στην αναστολή της απορρόφησης του ABTS⁻ το οποίο όταν ανάγεται χάνει τις χαρακτηριστικές κορυφές που παρουσιάζει στο φάσμα

Σημείωση 1: Το Trolox είναι η εμπορική ονομασία των Hoffman-LaRoche για ένα υδατοδιαλυτό παράγωγο της βιταμίνης E. Είναι ένα αντιοξειδωτικό, όπως η βιταμίνη E, και χρησιμοποιείται σε βιολογικές ή βιοχημικές εφαρμογές για τη μείωση του οξειδωτικού στρες ή της οξειδωτικής βλάβης. Η ισοδύναμη αντιοξειδωτική ικανότητα Trolox (TEAC) είναι μια μέτρηση της αντιοξειδωτικής αντοχής – δύναμης με βάση το Trolox, μετρούμενη σε μονάδες που ονομάζονται Trolox Ισοδύναμα (TE, π.χ. $\mu\text{mol TE} / 100\text{g}$). Η μέτρηση TEAC χρησιμοποιείται για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας τροφίμων, ποτών και συμπληρωμάτων διατροφής (Fried, 2014).

απορρόφησής του στα 660, 734, και 820 nm. Η κινητική της αντίδρασης παρακολουθείται φωτομετρικά (συνήθως στα 734 nm)(Pellegrini et al., 2003).

8.2 Η μέθοδος ORAC

Την ίδια χρονικά περίοδο που δημιουργήθηκε η μέθοδος TEAC, στις Η.Π.Α προτάθηκε η μέθοδος ORAC (Oxygen Radical Absorption Capacity). Η μέθοδος αυτή βασίζεται στη μεταβολή που επέρχεται σε ένα φθορίζων δείγμα από την επίδραση των ελευθέρων ριζών. Η μεταβολή στην ένταση φθορισμού αποτελεί την ένδειξη της επίδρασης των ελευθέρων ριζών. Με την παρουσία του αντιοξειδωτικού, η φθορίζουσα ουσία προστατεύεται και έτσι ανάλογα με την προστασία που παρέχεται μετράται και η αντιοξειδωτική ικανότητα του αντιοξειδωτικού (Φεσληκίδης, 2008).

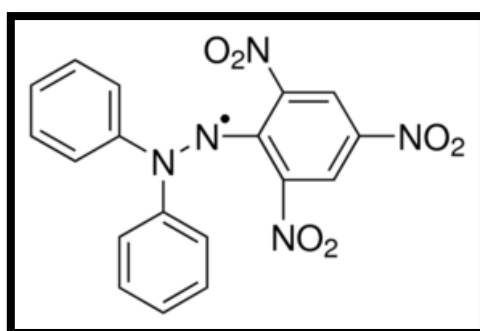
8.3 Η μέθοδος FRAP

Η μέθοδος FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) αναπτύχθηκε το 1996 από τους Benzie και Strain. Βασίζεται στην αρχή ότι, σε χαμηλό pH το σύμπλοκο της σιδηροτριπυριδυλοτριαζίνης (Fe^{III} - TPTZ) όταν ανάγεται στη δισθενή του μορφή (Fe^{II}) αναπτύσσει ένα έντονο μπλε χρώμα το οποίο ανιχνεύεται εύκολα στα 593 nm. Οι συνθήκες ευνοούν την αναγωγή του συγκεκριμένου συμπλόκου ακόμα και αν στο δείγμα υπάρχουν άλλες ενώσεις που είναι εύκολο να αναχθούν. Έτσι όταν υπάρχουν αντιοξειδωτικά (αναγωγικά) στο δείγμα, αυτά ανάγουν το σύμπλοκο του

σιδήρου, προκύπτει η δισθενής του μορφή και έτσι παρατηρείται αύξηση της απορρόφησης (Φεσληκίδης, 2008).

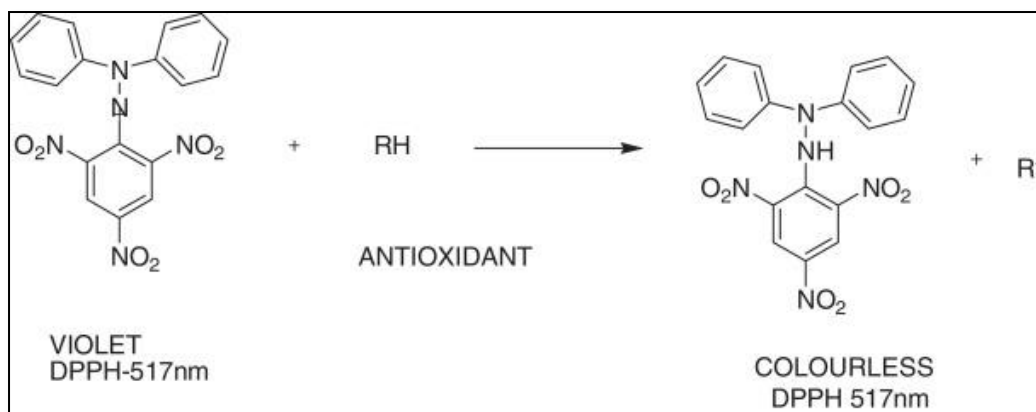
8.4 Η μέθοδος DPPH

Η μέθοδος αναγωγής της DPPH (της 1,1-διφαινυλ-2-πικρυύδραζυλ ελεύθερης ρίζας) είναι ευρέως διαδεδομένη πλέον για τη μέτρηση της εκκαθάρισης ελευθέρων ριζών από τα διάφορα αντιοξειδωτικά. Η μέθοδος αυτή παρέχει με απλό τρόπο αξιόπιστα και ακριβή αποτελέσματα για την τιτλοποίηση και την αξιολόγηση των διαφόρων αντιοξειδωτικών. Η διαδικασία της προετοιμασίας του δείγματος είναι σχετικά απλή ενώ δεν απαιτείται μεγάλο στάδιο επώασης (30 min) που θα μπορούσε να επιβαρύνει χρονικά τη διαδικασία. Η διαδικασία μέτρησης μπορεί να γίνει με ένα απλό φασματοφωτόμετρο και η απορρόφηση μετρείται στα 517 nm. Σε αυτό το μήκος κύματος απορροφά το DPPH[•] στη μορφή ελεύθερης ρίζας (εικόνα 12). Αλλά όταν αναχθεί από ένα αντιοξειδωτικό τότε η απορρόφηση μειώνεται. Το χρώμα αλλάζει στην ανηγμένη μορφή και από σκούρο κυανό (μωβ) μετατρέπεται σε ανοικτό κίτρινο. Άρα, όσο περισσότερο μειώνεται η απορρόφηση, τόσο πιο ισχυρό είναι το αντιοξειδωτικό που μελετάται. Ο αποχρωματισμός που προκύπτει είναι στοιχειομετρικός σε σχέση με τον αριθμό των ηλεκτρονίων τα οποία δημιουργούν ζεύγη και δεσμεύονται (Antolovich et al., 2001; Alam et al., 2012).



Εικόνα 12. Δομή του DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*)

Η αντίδραση που πραγματοποιείται μεταξύ του αντιοξειδωτικού και της ελεύθερης ρίζας αποτυπώνεται στο παρακάτω σχήμα (εικόνα 13).



Εικόνα 13. Αντίδραση ελεύθερης ρίζας DPPH και αντιοξειδωτικού

Διάφορες ενώσεις αντέδρασαν με την ρίζα DPPH και αποδείχθηκε ότι ακολουθούν έναν από τους τρεις πιθανούς κινητικούς τύπους αντίδρασης. Το ασκορβικό οξύ, το ισοασκορβικό οξύ και η ισοευγενόλη αντέδρασαν γρήγορα με την DPPH να φτάνει αμέσως σε σταθερή κατάσταση. Το ροζμαρινικό οξύ και η δ-τοκοφερόλη αντέδρασαν λίγο πιο αργά και έφτασαν σε σταθερή κατάσταση μέσα σε 30 λεπτά. Οι υπόλοιπες ενώσεις αντέδρασαν προοδευτικά με την επίτευξη σταθερής κατάστασης της DPPH από 1 έως 6 ώρες. Το καφεϊκό οξύ, το γεντισικό οξύ και το γαλλικό οξύ εμφάνισαν τις υψηλότερες δράσεις απενεργοποίησης ρίζας. Η βανιλίνη, η φαινόλη και το βανιλικό οξύ βρέθηκαν να είναι φτωχές αντιοξειδωτικές ενώσεις (Brand-Williams, Cuvelier and Berset, 1995). Σε μία άλλη έρευνα μελετήθηκε επίσης η ικανότητα αδρανισμού της DPPH ρίζας από διάφορες ουσίες και βρέθηκαν αντιοξειδωτικά που παρουσιάζουν παρόμοια μοτίβα αντίδρασης: Ομάδα 1 (με στιγμιαία πτώση της αρχικής απορρόφησης) όπως το ν-προπυλικό γαλλικό άλας, η πυρογαλόλη και το ασκορβικό οξύ. Ομάδα 2 (με ταχεία πτώση αρχικής απορρόφησης και στη συνέχεια η αντίδραση συνεχίζεται αργά) όπως η κατεχόλη, η 3-μεθυλοκατεχόλη, η α-τοκοφερόλη, το καφεϊκό οξύ, το γαλλικό οξύ, η κουερσετίνη και η επικατεχίνη. Ομάδα 3 (μέτρια έως καθυστερημένη αρχική αντίδραση) – όπως στην περίπτωση της υδροκινόνης, του πρωτοκατεχικού οξέος, του ροζμαρινικού οξέος, του Trolox, του φερουλικού οξέος και του χλωρογενικού οξέος. Ομάδα 4 (η απορρόφηση πέφτει πολύ αργά και είναι σχεδόν γραμμική με την πάροδο του χρόνου) όπως στη γλουταθειόνη, τη ρεσορκινόλη και βανιλικό οξύ (Sch aich, Tian and Xie, 2015). Ωστόσο όταν εφαρμόζονται στην ανάλυση τροφίμων,

τα αποτελέσματα των μετρήσεων της συνολικής αντιοξειδωτικής χωρητικότητας μπορεί να διαφέρουν ανάλογα με τη μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε (Floegel et al., 2011).

9. Εκτίμηση της ποιότητας των ιχθύων

9.1 Έλεγχος με τις αισθήσεις

Η εμφάνιση του προϊόντος αποτελεί το πρώτο σημείο επαφής του καταναλωτή με το τρόφιμο (Κυρανάς, 2017). Ο έλεγχος με τις αισθήσεις βασίζεται σε όλες τις αισθήσεις του ανθρώπου πλην της ακοής, για την ποιοτική αξιολόγηση των ιχθύων. Η εμφάνιση, η οσμή, η γεύση και η σύσταση επηρεάζουν την αποδοχή ενός τροφίμου πολύ περισσότερο απ' ό,τι η σύνθεση και η θρεπτική του αξία. Ένα ιχθυοσκεύασμα μπορεί να έχει μεγάλη θρεπτική αξία να μην έχει όμως καλή συσκευασία και να μην είναι ακριβό. Αν όμως η οσμή και η γεύση του δεν είναι ευχάριστες στον καταναλωτή είναι βέβαιο ότι δεν πρόκειται να πουληθεί στην αγορά (Βαρελτζής, 1999).

9.2 Φυσικές και μηχανικές μέθοδοι

Πολλά είδη οργάνων έχουν χρησιμοποιηθεί στην ποιοτική αξιολόγηση των ιχθύων. Τα τελευταία χρόνια μεγάλη εφαρμογή έχει βρει η ρομποτική. Οι συνηθέστερα χρησιμοποιούμενες μέθοδοι είναι :

- I. Μέτρηση των ηλεκτρικών πεδίων της επιφάνειας των ιχθύων
- II. Μέτρηση της συνεκτικότητας της σάρκας των ιχθύων.(Puncture test).
- III. Χρησιμοποίηση δεικτών χρόνου – Θερμοκρασίας (Time – temperature Indicators TTIs)
- IV. Χρησιμοποίηση φασματοσκοπίας υπέρυθρης ακτινοβολίας (Near –infrared Spectroscopy) (Βαρελτζής, 1999).

Ο στόχος μίας πρόσφατης έρευνας ήταν να χαρακτηρίσει τις αλλαγές στο χρώμα και τη μορφολογία των ματιών του ευρωπαϊκού μπακαλιάρου (*Merluccius merluccius*) κατά τη διάρκεια 13 ημερών αποθήκευσης σε πάγο, χρησιμοποιώντας

μία εξειδικευμένη τεχνική όρασης ηλεκτρονικού υπολογιστή και σαρωτή 3D. Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν επέτρεψαν την εκτίμηση των μη παραδεκτών ψαριών μετά από 7 ημέρες αποθήκευσης και ήταν σε συμφωνία με τα αποτελέσματα που λαμβάνονται από την ανάλυση Quality Index Method(QIM). Αυτή η προκαταρκτική μελέτη έδειξε τη δυνατότητα ανάπτυξης μίας μη παρεμβατικής μεθόδου για το χαρακτηρισμό της νωπότητας των ιχθύων και μίας πολλά υποσχόμενης προσέγγισης για τη δημιουργία ενός ισχυρού φορητού οργάνου για την αξιολόγηση της φρεσκάδας των ψαριών στις πραγματικές συνθήκες μεταφορές των ιχθύων στην αγορά (Rocculi et al., 2019).

9.3 Χημικές και βιοχημικές μέθοδοι

9.3.1 Χημικές αναλύσεις

Με αυτές προσδιορίζονται η βασική χημική σύσταση των αλιευμάτων και των ιχθυοσκευασμάτων και περιλαμβάνουν τον προσδιορισμό της υγρασίας, της τέφρας, των ολικών πρωτεϊνών, του χλωριούχου νατρίου και άλλων ανόργανων αλάτων καθώς και προσδιορισμό της ολικής οξύτητας. Πολλές φορές μπορεί να απαιτηθεί από τον ποιοτικό έλεγχο ο προσδιορισμός βαρέων μετάλλων, ραδιενεργών στοιχείων και προσθετικών ουσιών (Βαρελτζής, 1999).

9.3.2 Βιοχημικές αναλύσεις

Βασίζονται στον προσδιορισμό ορισμένων ουσιών που παράγονται από τη δράση των ενζύμων ορισμένων βακτηρίων αλλά και από τη δράση των ενζύμων της ίδιας της σάρκας των αλιευμάτων. Πρέπει πάντοτε να συνδυάζονται με τα αποτελέσματα της αξιολόγησης με τις αισθήσεις.

9.3.3 Προσδιορισμός του οξειδίου της τριμεθυλαμίνης (TMAO), της Τριμεθυλαμίνης (TMA), της Διμεθυλαμίνης (DMA) και της Φορμαλδεΐδης (FA)

Το TMAO ανήκει στις μη πρωτεϊνικές αζωτούχες ουσίες όπως η ουρία, η ταυρίνη, η κρεατίνη κ.α. Πολλές από αυτές τις ουσίες επιδρούν στη μεταβολή του αρώματος και έχουν σχέση με τη νωπότητα. Ανευρίσκεται στους θαλάσσιους ιχθύς ενώ λείπει

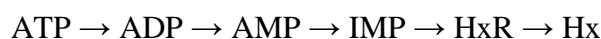
παντελώς ή βρίσκεται σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις στους ιχθύες του γλυκού νερού. Οφείλει το σχηματισμό του σε ενζυμική οξειδωση διαφόρων προϊόντων από την αποδόμηση των πρωτεϊνών. Η διάσπαση του TMAO σε TMA, DMA και σε FA οφείλεται στη δράση ενζύμων της σάρκας των αλιευμάτων και εξωγενών βακτηριακών ενζύμων. Η παρουσία της TMA στη σάρκα των ιχθύων έχει άμεση σχέση με τη νωπότητά τους.

9.3.4 Προσδιορισμός τιμής K

Η τιμή K αναφέρεται στη νωπότητα των ιχθύων και υπολογίζεται με την εξίσωση:

$$\text{Τιμή K\%} = \frac{[HxR] + [Hx]}{[ATP] + [ADP] + [AMP] + [IMP] + [HxP] + [Hx]} \times 100$$

Που στηρίζεται στην ενζυμική διάσπαση της ATP:



Όπου: ATP = Τριφωσφορική αδενοσίνη , ADP = Διφωσφορική αδενοσίνη , AMP = Μονοφωσφορική αδενοσίνη , IMP = Μονοφωσφορική ινοσίνη, HxR = Ινοσίνη ή υποξανθίνη + ριβόζη , Hx = Υποξανθίνη (Βαρελτζής, 1999).

9.3.5 Προσδιορισμός υποξανθίνης

Στους ιστούς των ψαριών, μετά το θάνατο, η παραγωγή ATP μειώνεται γρήγορα, οδηγώντας γενικά εντός 1-6 ωρών σε σκλήρυνση των σκελετικών μυών (νεκρική ακαμψία). Οι ζωτικές διεργασίες σταματούν και μετά πραγματοποιούνται αυτολυτικές και βακτηριακές διεργασίες. Η παρακολούθηση αυτών των διεργασιών στα ψάρια αποτελεί μέσο αξιολόγησης της βιοχημικής και βακτηριακής φρεσκάδας τους. Η αποικοδόμηση του νουκλεοτιδίου ATP ήταν μία από τις πρώτες διαδικασίες που εντοπίστηκαν (Wills et al., 2004). Η αποικοδόμηση της ATP είναι μια αυτολυτική αλλαγή που συμπίπτει με το μαλάκωμα των μυών κατά τη διάρκεια της λύσης της νεκρικής ακαμψίας και τελικά με την αντιληπτή μείωση της φρεσκάδας των ψαριών (Logotheti et al., 2018). Η υποξανθίνη αποτελεί προϊόν διάσπασης της

τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP) μετά το θάνατο των ιχθύων. Έχει δυσάρεστη οσμή και πικρή γεύση και είναι αυτή που θεωρείται υπεύθυνη για την κακή οσμή που αποκτούν οι ιχθύες στη διάρκεια της συντήρησής τους. Η μέγιστη συγκέντρωση της υποξανθίνης σε νωπούς ιχθύες που συντηρούνται με πάγο δεν θα πρέπει να υπερβαίνει ποτέ τα 50mg/100g σάρκας (Βαρελτζής, 1999). Πρόσφατα αναπτύχθηκε μία μέθοδος για τον εύκολο και ακριβή προσδιορισμό της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP) και των πρώτων πέντε καταβολιτών της : διφωσφορική αδενοσίνη (ADP), μονοφωσφορική αδενοσίνη (AMP), μονοφωσφορική ινοσίνη (IMP), ινοσίνη (Ino) και υποξανθίνη (Hx), σε ιστό ψαριών, με βάση υδρόφιλη υγρή χρωματογραφία αλληλεπίδρασης (HILIC) και για την ακόλουθη αξιολόγηση της φρεσκάδας των ψαριών για πρώτη φορά (Logotheti et al., 2018). Θα πρέπει να τονιστεί τέλος ότι διαθέσιμη ποσότητα υποξανθίνης χρησιμοποιείται συχνά ως δείκτης της φρεσκάδας των ψαριών στις βιομηχανίες τροφίμων καθώς και σε ορισμένες παθολογικές διαδικασίες στο ανθρώπινο σώμα. Έτσι, ο προσδιορισμός της υποξανθίνης έχει μεγάλη σημασία για τον ποιοτικό έλεγχο των ψαριών και των προϊόντων ψαριών στις βιομηχανίες τροφίμων (Görgülü et al., 2013).

9.3.6 Προσδιορισμός υπεροξειδίων (PV)

Για την εκτίμηση της οξειδωτικής τάγγισης των ιχθύων συνήθως προσδιορίζονται ποσοτικώς τα υπεροξείδια και ο αριθμός του θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBA). Οι προσδιορισμοί αυτοί αφορούν κυρίως τους λιπαρούς ιχθύς, οι οποίοι περιέχουν στη σάρκα τους μεγάλες συγκεντρώσεις ακόρεστων λιπαρών οξέων, τα οποία εύκολα προσβάλλονται από το οξυγόνο οπότε αρχικώς σχηματίζονται υπεροξείδια τα οποία αντιδρώντας, με τη σειρά τους, με διάφορες ουσίες, σχηματίζουν προϊόντα που δίνουν στους ιχθύς την οσμή και τη γεύση του ταγγισμένου. Επειδή τα υπεροξείδια έχουν την τάση να αντιδρούν ταχύτατα με διάφορες ενώσεις πρέπει να προσδιορίζονται στα αρχικά στάδια της συντήρησης των αλιευμάτων (Βαρελτζής, 1999).

9.3.7 Προσδιορισμός θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBA)

Όταν οξειδώνονται οι λιπαρές ουσίες σχηματίζεται μαλοναλδεΐδη, η οποία επιδρά στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των ιχθύων (οσμή – γεύση). Ο αριθμός του θειοβαρβιτουρικού οξέος εκφράζει τα mg μαλοναλδεΐδης / Kg σάρκας. Στους νωπούς ιχθύες η συγκέντρωσή της δεν πρέπει να υπερβαίνει το 1-1,5 mg/Kg σάρκας (Βαρελτζής, 1999). Σε μία πρόσφατη έρευνα διερευνήθηκε η καταλληλότητα της τεχνικής υπερφασματικής απεικόνισης (400-1000 nm) για τον προσδιορισμό της τιμής του θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBA) για την παρακολούθηση της οξείδωσης των λιπιδίων στα φιλέτα ψαριών κατά τη διάρκεια της ψυχρής αποθήκευσης στους 4 ° C για 0, 2, 5 και 8 ημέρες. Τα τελικά αποτελέσματά της επιβεβαίωσαν ότι η χρήση τεχνικής υπερφασματικής απεικόνισης ως γρήγορου και μη καταστροφικού εργαλείου είναι κατάλληλη για τον προσδιορισμό των τιμών TBA για την παρακολούθηση της οξείδωσης των λιπιδίων και την αξιολόγηση της φρεσκάδας των ψαριών (Cheng JH et al., 2015).

9.3.8 Προσδιορισμός ελεύθερων λιπαρών οξέων (FFA)

Κατά τη διάρκεια της συντήρησης των αλιευμάτων εκτός από την οξείδωση των λιπαρών ουσιών των ιχθύων, η δράση πολλών ενζύμων προκαλεί υδρόλυση των λιπαρών ουσιών με αποτέλεσμα το σχηματισμό ελεύθερων λιπαρών οξέων που οι αυξημένες συγκεντρώσεις τους αυξάνουν την ολική οξύτητα της σάρκας τους. Η οξύτητα αρχίζει να γίνεται αντιληπτή, όταν η συγκέντρωση των ελεύθερων λιπαρών οξέων υπολογιζόμενη ως συγκέντρωση ολικού οξέος είναι περίπου 0,5 – 1,5% (Βαρελτζής, 1999).

9.4 Μικροβιολογικές μέθοδοι

Οι μικροβιακοί δείκτες που προτείνονται για την εκτίμηση της ποιότητας των αλιευμάτων και των ιχθυοσκευασμάτων είναι η ολική μεσόφιλη χλωρίδα. Η μελέτη αυτή περιγράφει την πρώτη πολλαπλή ανάλυση αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης σε πραγματικό χρόνο που αναπτύχθηκε, ως αξιολόγηση πολλαπλών χρήσεων, για την ταυτόχρονη ποσοτικοποίηση των συνολικών βακτηρίων και τριών ειδών του *Vibrio* spp. (*V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* και *V. anguillarum*) σε ψάρια

και θαλασσινό νερό. Η κατανάλωση ακατέργαστων ψαριών ως σούσι ή σασίμι αυξάνει την πιθανότητα εμφάνισης λοίμωξης από *Vibrio* στους καταναλωτές. Η φρεσκάδα και η ποιότητα των προϊόντων ψαριού εξαρτώνται επίσης από τους συνολικούς πληθυσμούς βακτηρίων που υπάρχουν. Τα δεδομένα μας δείχνουν ότι αυτή η πολλαπλή δοκιμασία θα μπορούσε να είναι χρήσιμη για την ταχεία ανίχνευση και ποσοτικοποίηση του *Vibrio spp.* και των ολικών βακτηρίων ως εργαλείο πολλαπλών χρήσεων για την παρακολούθηση της ποιότητας των ψαριών και του νερού, καθώς και ως διαγνωστική μέθοδος (Kim, J. Y. and J. L. Lee., 2014).

10 Σκοπός της εργασίας

Ο στόχος αυτής της έρευνας ήταν να προσδιοριστεί η συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα στο μυϊκό ιστό ψαριών που προέρχονται κυρίως από τη θαλάσσια περιοχή της Μεσογείου πλην του σολομού. Μελετήθηκαν ψάρια που βρίσκονται στις πρώτες θέσεις στην προτίμηση των Ελλήνων καταναλωτών και ταυτόχρονα μεγάλης εμπορικής αξίας για τη χώρα μας καθώς το ψάρι είναι το πιο εξαγόμενο ελληνικό ζωικό προϊόν, με καθαρό εμπορικό ισοζύγιο περίπου 172,2 εκατ. Ευρώ στην εθνική οικονομία το 2014 (Πηγή Fao.org). Η μελέτη συμπεριέλαβε ψάρια τόσο ελεύθερης αλιείας: το γαύρο (*Engraulis encrasicolus*), τη σαρδέλα (*Sardina plichardus*), την κουτσομούρα (*Mullus barbatus*) και το μπακαλιάρο (*Merluccius merluccius*) όσο και ψάρια ιχθυοκαλλιέργειας: την τσιπούρα (*Sparus aurata*) και το σολομό (*Salmo salar*).

Η διαδικασία που επελέγη, και που επιτρέπει, την ποσοτική εκχύλιση τόσο των κυτταρικών λιπιδίων, των φωσφολιπιδίων και των συνολικών αντιοξειδωτικών που περιέχονται στο μυϊκό ιστό ψαριού ήταν αυτή του μείγματος n-εξανίου/αιθανόλης με τροποποίηση για να μπορεί να εφαρμοστεί στο Ερευνητικό Εργαστήριο Οργανικής Χημείας του τμήματος Επιστημών Διατροφής και Διαιτολογίας του ΔΙ.ΠΑ.Ε με τα διαθέσιμα μέσα. Επιπλέον, αυτή η μέθοδος είναι γρήγορη και κατάλληλη για μικρές ποσότητες υλικού. Το σύστημα n-εξανίου/αιθανόλης φαίνεται να είναι εξίσου αποτελεσματικό στην εκχύλιση αντιοξειδωτικών σε δείγματα μυϊκού ιστού ψαριού, με τη μέθοδο SDS και τη μέθοδο Bligh and Dyer. Ενώ υπερέχει

ξεκάθαρα στην εκχύλιση αντιοξειδωτικών σε δείγματα ηπατικού ιστού ψαριών (Cabrinini et al., 1992).

Το ψάρι περιέχει πολλές ευαίσθητες στην οξείδωση ουσίες, όπως τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα. Όταν ένα ψάρι πεθαίνει, εμφανίζονται αρκετές οξειδωτικές αλλαγές στους ιστούς που επιταχύνουν το ρυθμό οξείδωσης των λιπιδίων. Μειώνεται η ικανότητα διατήρησης των αντιοξειδωτικών σε ανηγμένη κατάσταση με το χρόνο λόγω της απώλειας των αναγωγικών ενώσεων, η ικανότητα για τη σταθεροποίηση των ελεύθερων ριζών λιπιδίων χάνεται, και τα λιπίδια τελικά οξειδώνονται (Passi et al., 2002).

Σε αυτό το πλαίσιο, θέλοντας να συγκρίνουμε τις μετά το θάνατο απώλειες ποιότητας με βάση τη συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα για το κάθε είδος που εξετάσαμε, εκτελέσαμε τη δοκιμασία αναγωγής της ρίζας DPPH όπως έχει προηγουμένως περιγραφεί. Ο σκοπός για τον οποίο προχωρήσαμε σε αυτή την μελέτη είναι διπλός. Θέλαμε να εξετάσουμε τόσο την ύπαρξη διαφορών μεταξύ των ειδών στη συνολική αντιοξειδωτική τους ικανότητα από τη σκοπιά του ίδιου του ψαριού (δηλαδή αν κάποιο ψάρι έχει μεγαλύτερη ικανότητα να προστατεύεται από τη μεταθανάτια οξείδωση σε σχέση με τα υπόλοιπα). Καθώς επίσης και από την πλευρά του καταναλωτή όσον αφορά το όφελος για την υγεία του από την κατανάλωση συγκεκριμένου είδους ψαριών (αν δηλαδή κάποιο είδος υπερέχει σε συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα και με την κατανάλωσή του, το άτομο θα προσλάβει μεγαλύτερη ποσότητα φυσικών αντιοξειδωτικών για την προστασία της δικής του υγείας).

11 Οι Ιχθύες της μελέτης – Σύντομη περιγραφή και εμπορική αξία .

Η αλιεία ανήκει στον πρωτογενή τομέα οικονομικής δραστηριότητας στη χώρα μας και υπήρξε παραδοσιακά σαν κύρια δραστηριότητα και βασική πηγή εισοδήματος για τους κατοίκους πολλών παράκτιων περιοχών και κυρίως των νησιών μας. Τα αλιεύματα αποτελούν κύρια πηγή διατροφής του ανθρώπου λόγω της υψηλής βιολογικής αξίας των πρωτεϊνών τους, της ποικιλότητας των

ιχνοστοιχείων και του υψηλού ποσοστού πολυακόρεστων λιπαρών οξέων που περιέχονται στη σάρκα τους. Περισσότεροι από 1.500.000.000 άνθρωποι καλύπτουν το 50% της ημερήσιας ανάγκης τους σε ζωικές πρωτεΐνες από την κατανάλωση αλιευμάτων. Για το λόγο αυτό τα αλιεύματα και τα διάφορα προϊόντα τους καταλαμβάνουν ξεχωριστή θέση στη διεθνή αγορά τροφίμων.

Η αλιευτική παραγωγή στη χώρα μας ετησίως κυμαίνεται μεταξύ 150000 και 160000 μετρικών τόνων αλιευμάτων. Τουλάχιστον 447 είδη ιχθύων που ανήκουν σε 129 οικογένειες εκτιμάται ότι υπάρχουν στις ελληνικές θάλασσες. Τα περισσότερα εμπορεύσιμα είδη ανήκουν σε 10 οικογένειες που αποτελούν το 73% της συνολικής αλιευτικής παραγωγής (Βαρελτζής, 1999).

11.1 Οι ιχθύες της μελέτης κατά οικογένεια και είδος εκτροφής

❖ Ιχθύες ελεύθερης αλιείας

1. ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ CLUPEIDAE.

Σαρδέλα (*Sardina pilchardus*), αποτελεί το 9,1 % της αλιευτικής παραγωγής (εικόνα 14). Ζει σε βάθος 60 m, φθάνει όμως πολλές φορές έως και τα 180 m. Είναι είδος μεταναστευτικό και η περίοδος αναπαραγωγής του εκτείνεται από Σεπτέμβριο έως τον Ιούνιο. Το μέγιστο ολικό μήκος του μπορεί να φθάσει τα 25 cm και το ποσοστό λίπους της σάρκας του έως 23%.



Εικόνα 14. Σαρδέλα (*Sardina pilchardus*)

Το βρώσιμο τμήμα ποικίλλει ανάλογα με το μέγεθος του ιχθύος από 63% έως 75% του ολικού βάρους ενώ η απόδοση σε φιλέτο φθάνει το 53%. Καταναλώνεται αλατισμένη ακέραιη ή σε φιλέτα, καπνιστή, αποξηραμένη και χρησιμοποιείται για την παρασκευή πολλών ειδών κονσερβών.

2. ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ ENGRAULIDAE.

Γαύρος (*Engraulis encrasicolus*) αποτελεί το 24% της αλιευτικής παραγωγής (εικόνα 15). Είναι είδος μεταναστευτικό που ζει σε βάθη έως 180 m. Στην Ανατολική Μεσόγειο η περίοδος αναπαραγωγής του εκτείνεται από τον Απρίλιο έως τον Οκτώβρη. Το ποσοστό λίπους της σάρκας του δεν ξεπερνά το 5%.



Εικόνα 15. Γαύρος (*Engraulis encrasicolus*)

Το βρώσιμο τμήμα φθάνει το 74% περίπου του ολικού βάρους του σώματος, ενώ η απόδοση σε φιλέτο πλησιάζει το 80%. Καταναλώνεται αλατισμένος ακέραιος ή σε φιλέτα, είναι δυνατόν να υποστεί θερμή ή ψυχρή κάπνιση και μπορεί επίσης να καταψυχθεί. Το γνωστότερο βιομηχανικό προϊόν είναι ο αλατισμένος γαύρος, γνωστός με την εμπορική ονομασία αντζούγια. Στη Γερμανία και στη Γαλλία παρασκευάζεται ειδικό προϊόν από φιλέτα γαύρου, τα οποία αναμειγνύονται με βούτυρο σε αναλογία 23% (Γερμανία – Sardellen Butter) ή 10% (Γαλλία).

3. ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ MERLUCCIDAE

Μπακαλιάρος (*Merluccius merluccius*) αποτελεί περίπου το 3% της αλιευτικής παραγωγής (εικόνα 16). Το μέγιστο μήκος του μπακαλιάρου ξεπερνά τα 120 cm. Είναι είδος βενθοπελαγικό¹ και ζει σε βάθη έως 1000 m.



Εικόνα 16. Μπακαλιάρος (*Merluccius merluccius*)

¹ “Βενθοπελαγικό είδος”: Με τον όρο αυτό νοούνται τα είδη των ιχθύων που ζουν πλησίον του βυθού ή σε σχετικώς βαθιά νερά .

Στην Ανατολική Μεσόγειο η περίοδος αναπαραγωγής του εκτείνεται ολόκληρο περίπου το χρόνο με μέγιστη ένταση το χειμώνα και την άνοιξη. Η σάρκα του μπακαλιάρου είναι άπαχη, λευκή και νόστιμη. Το ποσοστό λίπους της σάρκας του κυμαίνεται από 0,1% έως 1%. Η απόδοση σε βρώσιμο τμήμα πλησιάζει το 75% και η απόδοση σε φιλέτο ξεπερνά το 44% του ολικού βάρους του σώματός του. Προσφέρεται νωπός ή κατεψυγμένος ή αποκεφαλισμένος – εκσπλαχνισμένος, σε φιλέτα ή σε φέτες (Βαρελτζής, 1999).

4. ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ MULLIDAE.

Κουτσομούρα ή Κουτσομούρα (*Mullus barbatus*) αποτελεί το 1,6% της αλιευτικής παραγωγής (εικόνα 17). Η Κουτσομούρα αποτελεί βιοδείκτη για τις συγκεντρώσεις των ιχθύων σε βαρέα μέταλλα. Η απόκριση του βιοδείκτη αντανακλά την ευαισθησία που επιδεικνύει το οικοσύστημα που εξετάζεται στις επιβαρύνσεις που δέχεται.



Εικόνα 17. Κουτσομούρα (*Mullus barbatus*)

Η κουτσομούρα είναι βενθικό είδος και απαντάται στη Μεσόγειο Θάλασσα, στα Βρετανικά Νησιά, στη Σκανδιναβία, στο Ντακάρ, στη Σενεγάλη, στα Κανάρια Νησιά, στη Μαύρη Θάλασσα και στις Αζόρες. Έχει ιδιαίτερη προτίμηση στους αμμώδεις και ιλυώδεις πυθμένες. Βρίσκεται συνήθως σε βάθη 50-300 m και σε υποτροπικές περιοχές στα 100-300m. Τα νεαρά άτομα προτιμούν ρηχότερους πυθμένες, όπου η ποικιλία των τροφικών ειδών είναι μεγαλύτερη (Γιαννακοπούλου, 2018). Είναι ψάρι που συγγενεύει με το μπαρμπούνη, με μόνη διαφορά ότι έχει κοφτό, σχεδόν κατακόρυφο, κεφάλι. Το χρώμα της είναι κόκκινο στην ράχη της, λευκό στην κοιλιά και ασημένιο στα πλευρά της. Έχει συνήθως μήκος 20 εκατοστά, με μέγιστο καταγεγραμμένο τα 33 εκατοστά (Wikipedia, 2020). Το ποσοστό λίπους της σάρκας της κυμαίνεται $2.77 \pm 0.24 \%$ (Passi et al., 2002).

❖ Ιχθύες Εκτροφής

1. ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ SALMONIDAE.

Σολομός (*Salmo salar*), η παραγωγή του φθάνει τους 50 μετρικούς τόνους ετησίως. Έχει σώμα ατρακτοειδές, σκεπασμένο με πολυάριθμα μικρά και λεία λέπια. Χαρακτηριστικό του γνώρισμα αποτελεί το λιπώδες πτερύγιο, που βρίσκεται πίσω από το ραχιαίο και αποτελείται από μάζα λίπους που καλύπτεται από το δέρμα (εικόνα 18).



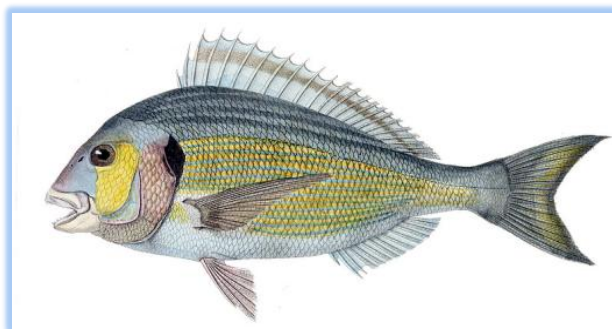
Εικόνα 18. Σολομός (*Salmo salar*)

Το χρώμα του σώματός του ποικίλει ανάλογα με την ηλικία. Οι ελεύθεροι σολομοί ζουν στη θάλασσα και κατά την εποχή της αναπαραγωγής τους κατευθύνονται στα ποτάμια. Το ποσοστό λίπους της σάρκας του υπερβαίνει το 12%. Το χρώμα της σάρκας του σολομού είναι ρόδινο και η γεύση της θαυμάσια. Προσφέρεται νωπός ακέραιος ή ακέφαλος και εκσπλαχνισμένος και καταναλώνεται με ποικίλους τρόπους. Τα αυγά του σολομού χρησιμοποιούνται για την παρασκευή του Μπρικ (ερυθρό χαβιάρι).

2. ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ SPARIDAE.

Η παραγωγή της τσιπούρας (*Sparus aurata*) και του λαυρακιού (*Dicentrarchus labrax*) (οικογένεια *serranidae*) πλησιάζει τους 26 μετρικούς τόνους ετησίως και είναι η μεγαλύτερη στην Ευρώπη. Το σώμα της τσιπούρας είναι επίμηκες, πτερισμένο πλευρικά. Ζει σε βάθη από 5 έως 30 m και το χειμώνα έως 150 m. Είναι ευρύαλος² ιχθύς, που προσαρμόζεται εύκολα σε υφάλμυρα νερά (εικόνα 19). Η αναπαραγωγική της περίοδος εκτείνεται από τον Οκτώβριο έως το Δεκέμβριο.

² "Ευρύαλος ιχθύς": Με τον όρο αυτό νοείται ο ιχθύς που είναι δυνατόν να αναπτυχθεί σε νερά που η αλατότητά τους ποικίλει (αλμυρά, υφάλμυρα ή σχεδόν γλυκά νερά).



Εικόνα 19. Τσιπούρα (*Sparus aurata*)

Το ποσοστό λίπους της σάρκας της τσιπούρας που ζει ελεύθερη είναι περίπου 1%, ενώ της τσιπούρας που προέρχεται από ιχθυοκαλλιέργεια ξεπερνά το 6-7%. Η σάρκα είναι λευκή και πολύ νόστιμη. Η απόδοση σε φιλέτο είναι περίπου 47% του βάρους του ιχθύος (Βαρελτζής, 1999). Η χημική ανάλυση φιλέτου της τσιπούρας της Μεσογείου παρουσιάζεται στον (πίνακα 4) (Τσιρώνη, 2010).

Πίνακας 4. Σύσταση νωπών φιλέτων τσιπούρας από την περιοχή της Μεσογείου.

Συστατικό	% περιεκτικότητα σε υγρή βάση
Πρωτεΐνη	19,7(±1,3)
Υγρασία	75,3(±0,8)
Λίπη	9,7(±0,8)
Ανόργανα συστατικά	1,4(±0,3)

Πηγή: Τσιρώνη, 2010.

Οι τιμές αυτές είναι σε συμφωνία με τα αποτελέσματα και άλλων δημοσιευμένων μελετών για τσιπούρα με προέλευση την περιοχή της μεσογείου (Grigorakis *et al*, 2003).

12 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

12.1 Υλικά – Συσκευές

12.1.1 Δείγματα ψαριών

Στα πλαίσια της πτυχιακής αυτής εργασίας χρησιμοποιήθηκαν ολόκληρα νωπά ψάρια η προμήθεια των οποίων έγινε από τοπικό ιχθυοπωλείο στην περιοχή της Σίνδου (πλησίον στην Αλεξάνδρεια Πανεπιστημιούπολη του ΔΙΠΑΕ) ώστε να γίνεται άμεσα η επεξεργασία των δειγμάτων. Η μεταφορά τους έγινε μέσα σε ειδικά

μονωμένα κουτιά (thermo - box) ώστε να υπάρχει όσο το δυνατόν μικρότερη μεταβολή στη θερμοκρασία τους. Η προέλευση των δειγμάτων παρουσιάζεται στον (πίνακα 5).

Πίνακας 5. Οι ιχθύες της μελέτης και το είδος εκτροφής τους.

A/A	Κοινή Ονομασία	Επιστημονική Ονομασία	Τύπος Εκτροφής
1	Γαύρος	<i>Engraulis encrasicolus</i>	Ελεύθερης αλιείας (αφρόψαρο)
2	Σαρδέλα	<i>Sardina plichardus</i>	Ελεύθερης αλιείας
3	Τσιπούρα	<i>Sparus aurata</i>	Ιχθυοκαλλιέργειας
4	Σολομός	<i>Salmo salar</i>	Ιχθυοκαλλιέργειας
5	Κουτσομούρα	<i>Mullus barbatus</i>	Ελεύθερης αλιείας
6	Μπακαλιάρος	<i>Merluccius merluccius</i>	Ελεύθερης αλιείας

Πηγή: Wikipedia, 2020.

12.1.2 Χημικά αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν.

- Αιθανόλη 99,5% (C₂H₅OH) (Chem. -Lab)
- n-Hexane (εξάνιο) 99% (Merck, Germany)
- Νερό (Merck, Germany)
- DPPH (2,2diphenyl-picrylhydrazyl) 85% (Sigma Aldrich Germany)

12.1.3 Όργανα - Συσκευές

- Αναλυτικός ζυγός ακριβείας (Kern Analytical Balance ABJ 220-4NM)
- Ομογενοποιητής , (Heidolph DIAX 900)
- Φυγόκεντρος ψυχόμενη (Sigma 3-18KS)
- Φασματοφωτόμετρο Thermo-scientific Helios γ (UV-Vis) με κυψελίδες lighthpath optical LTD (United Kingdom) (1-G-10 mm).

12.2 Μέθοδοι

12.2.1 Προετοιμασία – κατεργασία νωπών ιχθύων

- Παραλαβή των ιχθύων και ζύγιση ατομικών βαρών .
- Απομάκρυνση του δέρματος και στη συνέχεια λήψη τεμαχίων μυϊκού ιστού μέχρι καθαρού βάρους 20 γραμμαρίων με ακρίβεια τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων σε αναλυτικό ζυγό .
- Τοποθέτηση του ζυγισμένου φιλέτου του εκάστοτε υπό κατεργασία δείγματος σε διάφανη γυάλινη φιάλη Pyrex με βιδωτό πλαστικό πώμα.
- Προσθήκη 200ml διαλύματος εξανίου/αιθανόλης σε αναλογία 5:2 το οποίο είχε παρασκευαστεί σε ογκομετρική φιάλη.
- Προσθήκη 10 ml απεσταγμένου νερού .
- Ομογενοποίηση του δείγματος στον ομογενοποιητή Heidolph DIAX 900 στο επίπεδο "4" για τέσσερα (4) λεπτά.
- Τοποθέτηση και συντήρηση των δειγμάτων αυτού του σταδίου σε θερμοκρασία 0-3 °C σε ψυγείο με ηλεκτρονική καταγραφή θερμοκρασίας.

12.2.2 Φυγοκεντρήσεις και παραλαβή τελικών δειγμάτων.

- Σταδιακή φυγοκέντρωση του συνόλου του περιεχομένου (στερεή και υγρή φάση) κάθε δείγματος στις 5500 rpm και σε θερμοκρασία 6 °C για 30 λεπτά.
- Σε αυτό το στάδιο παρατηρήθηκε σχηματισμός δακτυλίου (πιθανότατα λιπώδης στοιβάδα) περίπου στα 2/3 του ύψους του κάθε δοκιμαστικού σωλήνα .
- Με τη χρήση πιπέτας Pasteur έγινε ανάκτηση της καθαρής οργανικής φάσης από το υπερκείμενο τμήμα (της σχηματισθείσας λιπαρής στοιβάδας) του κάθε σωλήνα και τοποθέτηση σε ογκομετρική φιάλη των 250ml με πώμα. Συντήρηση του δείγματος υπό ψύξη σε θερμοκρασία 0-3 °C.

- Εν συνεχεία έγινε προσθήκη 100 ml καθαρού εξανίου σε όλο το υπόλοιπο δείγμα (στερεό υπόλειμμα και λιπώδη φάση και οργανική φάση που ήταν αδύνατο να ανακτηθεί εξαιτίας του δακτυλίου).
- Ακολούθησε ισχυρή ανάδευση με συσκευή Vortex και εκ νέου φυγοκέντρηση (2^η) στις 5500 rpm σε θερμοκρασία 6° C για 30' λεπτά και παρατηρήθηκε εκ νέου σχηματισμός δακτυλίου.
- Ανακτήθηκε επιπλέον καθαρή οργανική φάση από το υπερκείμενο τμήμα (της σχηματισθείσας λιπαρής στοιβάδας) των δοκιμαστικών σωλήνων και το υλικό αυτό προστέθηκε σε αυτό που είχε ανακτηθεί μετά την πρώτη φυγοκέντρηση.
- Με τη χρήση πλαστικής πιπέτας Pasteur μίας χρήσεως προχωρήσαμε σε αναρρόφηση και στη συνέχεια απόρριψη του σχηματισθέντος δακτυλίου από τους δοκιμαστικούς σωλήνες μαζί με όσο το δυνατόν μικρότερη απώλεια οργανικών διαλυτών.
- Τελική φυγοκέντρηση (3^η) στις 5500 rpm σε θερμοκρασία 6° C για 5' λεπτά.
- Δεν παρατηρήθηκε σχηματισμός δακτυλίου σε αυτό το στάδιο.
- Έγινε λήψη της οργανικής φάσης και απόρριψη του στερεού υπολείμματος.
- Η ανακτηθείσα σε αυτό το στάδιο οργανική φάση αποτέλεσε ξεχωριστό δείγμα για τις μετρήσεις μας και τοποθετήθηκε σε ογκομετρική φιάλη των 50 ml με πώμα (για την ελαχιστοποίηση απωλειών λόγω εξάτμισης των ιδιαίτερα πτητικών διαλυτών που χρησιμοποιήθηκαν).
- Τελικά προέκυψαν δύο δείγματα από κάθε ψάρι για τις μετρήσεις μας :
Δείγμα A: (υπερκείμενες φάσεις των δύο πρώτων φυγοκεντρήσεων άνωθεν της σχηματισθείσας στοιβάδας) και
Δείγμα B : (οργανική φάση μετά την 3^η φυγοκέντρηση).

12.3 Προσδιορισμός συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη μέθοδο DPPH

12.3.1 Παρασκευή διαλυμάτων

- ❖ Παρασκευή διαλύματος DPPH με αιθανόλη (πυκνό διάλυμα): Ζυγίζονται 0,0197 gr “σκόνης” DPPH με ακρίβεια 4^{ου} δεκαδικού ψηφίου και διαλύονται με αιθανόλη σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml (συμπλήρωση με αιθανόλη μέχρι τη χαραγή της φιάλης) και πωματισμός της φιάλης.
- ❖ Αναμονή μία (1) ώρα με παραμονή του διαλύματος σε σκοτεινό μέρος.
- ❖ Παρασκευή διαλύματος DPPH με αιθανόλη (αραιό διάλυμα):

Από το παραπάνω πυκνό διάλυμα πραγματοποιήθηκε σταδιακή αραίωση με προσθήκη αιθανόλης μέχρι όπου προκύψει τελικό διάλυμα που να δίνει απορρόφηση UV στα 517 nm 0.7 μονάδες (700A) (πρότυπη καμπύλη DPPH).

12.3.2 Πειραματική Διαδικασία

- ❖ Σε δοκιμαστικούς σωλήνες προστέθηκαν 100 μl του δείγματός μας και 3,9 ml αραιού διαλύματος DPPH.
- ❖ Ισχυρή ανάδευση στη συσκευή VORTEX για 30” και τοποθέτηση των δειγμάτων σε σκοτεινό μέρος για μία (1) ώρα.
- ❖ Μέτρηση απορρόφησης σε UV στα 517 nm.

Η παραπάνω διαδικασία ακολουθήθηκε για όλα τα δείγματά μας με τη χρήση δοκιμαστικών σωλήνων. Οι μετρήσεις έγιναν εις τριπλούν για το καθένα από τα δείγματά μας.

12.4 Μέθοδος Στατιστικής Ανάλυσης

Ο έλεγχος κανονικότητας στα δεδομένα των μετρήσεων στο φωτόμετρο έγινε με χρήση του ελέγχου Shapiro – Wilk για το κάθε είδος ψαριού που μελετήθηκε. Για την διαειδική σύγκριση των αποτελεσμάτων εφαρμόστηκε ο μη παραμετρικός έλεγχος Kruskal – Wallis όπου μελετήθηκε η επίδραση του είδους ψαριού στη

μεταβλητή (συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα), ανάλογα με την απορρόφηση UV (Ultraviolet) στα 517 nm. Το στατιστικό πρόγραμμα που χρησιμοποιήθηκε ήταν το Minitab 19.

13. Αποτελέσματα – Στατιστική Επεξεργασία

13.1 Εργαστηριακά Δεδομένα – Στατιστική Ανάλυση

Μετά την αρχική παραλαβή των νωπών ιχθύων των εκσπλαχνισμό τους και τον καθαρισμό τους έγινε λήψη φιλέτων από την περιοχή πίσω από τα πλευρικά θωρακικά περύγια , σε όσα ψάρια ήταν εφικτό , πλην του σολομού που ήταν ήδη τεμαχισμένος σε φέτες. Τα ατομικά βάρη των φιλέτων που λάβαμε φαίνονται στον (πίνακα 6).

Πίνακας 6. Παρουσιάζει τα ατομικά βάρη των φιλέτων σε γραμμάρια από τα έξι είδη ψαριών που συμπεριελήφθησαν στις μετρήσεις μας.

A/A	Γαύρος	Σαρδέλα	Τσιπούρα	Σολομός	Κουτσομούρα	Μπακαλιάρος
1	20,4000	20,1134	20,3087	20,2670	20,2216	20,1044
2	20,3293	20,3601	20,3564	20,3722	20,1630	20,6704
3	20,5464	20,7050	20,4933	20,2290	20,8989	20,6670
4	20,4389	20,6726	20,8357	20,0090	20,3609	20,3862
5	20,7449	20,3206	20,9788	20,0590	20,2301	20,8950

Κατά τη διάρκεια της εκτέλεσης της πειραματικής διαδικασίας και συγκεκριμένα στο στάδιο μετά την πρώτη και τη δεύτερη φυγοκέντρηση παρατηρήθηκε σχηματισμός δακτυλίου (πιθανότατα λιπώδης στοιβάδα) περίπου στα 2/3 του ύψους του κάθε δοκιμαστικού σωλήνα όπως φαίνεται στην (εικόνα 20). Το υλικό που ανακτήθηκε και βρισκόταν άνωθεν της στοιβάδας αυτής μετά τις δύο πρώτες φυγοκεντρήσεις αποτέλεσε ξεχωριστό δείγμα για τη μετέπειτα διαδικασία. Ακολούθησε απομάκρυνση του δακτυλίου και εκ νέου φυγοκέντρηση οπότε και δεν παρατηρήθηκε εκ νέου σχηματισμός δακτυλίου. Το υλικό που ανακτήθηκε σε αυτό το στάδιο αποτέλεσε το δεύτερο και μικρότερο σε όγκο δείγμα για τα υπόλοιπα στάδια της διαδικασίας.



Εικόνα 20. Συμπαγής στοιβάδα που παρατηρήθηκε στη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας.

Οι όγκοι του υπερκείμενου της στοιβάδας υλικού που ανακτήθηκαν ανά είδος ψαριού που μελετήθηκε φαίνονται στον (πίνακα 7).

Πίνακας 7. Όγκοι σε (ml) της υπερκείμενης φάσης που ανακτήθηκαν ανά είδος.

A/A	Γαύρος	Σαρδέλα	Τσιπούρα	Σολομός	Κουτσομούρα	Μπακαλιάρος
1	195	208	225	229	218	220
2	222	219	220	229	222	222
3	221	220	218	226	222	220
4	222	214	220	225	223	235
5	228	221	219	222	223	222

Ομοίως οι όγκοι του υποκείμενου της στοιβάδας υλικού που ανακτήθηκαν ανά είδος ψαριού που μελετήθηκε φαίνονται στον (πίνακα 8).

Πίνακας 8. Όγκοι σε (ml) της υποκείμενης φάσης που ανακτήθηκαν ανά είδος.

A/A	Γαύρος	Σαρδέλα	Τσιπούρα	Σολομός	Κουτσομούρα	Μπακαλιάρος
1	15	19	30	34	24	29
2	26	15	17	12	17	12,5
3	20	14	24	24	28	18
4	30	20	23,5	23,5	26	27
5	21	22,5	21,5	15	23	42

Τα δεδομένα από τους δύο πίνακες στη συνέχεια ενοποιήθηκαν και εκτελέστηκε έλεγχος κανονικότητας με Kolmogorov – Smirnov και όλα τα δεδομένα βρέθηκαν να ακολουθούν την κανονική κατανομή. Στη συνέχεια εκτελέσαμε έλεγχο ομοιογένειας της διακύμανσης και ανάλυση διακύμανσης κατά έναν παράγοντα (One – Way ANOVA). Δεν διαπιστώθηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στους συνολικούς όγκους που ανακτήθηκαν. Παρατηρήθηκε μόνο μία ακραία τιμή στο πρώτο δείγμα του γάυρου (210 ml) ωστόσο η τιμές μας παρουσιάζουν μία μέση τιμή (243,45 ml) στο σύνολο των δειγμάτων με τυπική απόκλιση ($s=10,6531$) (pooled Standard Deviation).

13.2 Αποτελέσματα μεθόδου DPPH

Η μέθοδος βασίζεται στη βαθμιαία εξαφάνιση της ιώδους απόχρωσης της σταθερής DPPH ρίζας στα 517 nm εξαιτίας της δέσμευσής της από αντιοξειδωτικές ουσίες με ισχυρή ικανότητα αδρανοποίησης ελευθέρων ριζών.

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω από τα αρχικά τριάντα (30) δείγματα φυλέτων ψαριών που χρησιμοποιήθηκαν προέκυψαν τελικά εξήντα (60) δείγματα προς ανάλυση – αντίδραση με τη DPPH ρίζα. Οι μετρήσεις έγιναν εις τριπλούν για καθένα από τα δείγματά μας.

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε στατιστικός έλεγχος ξεχωριστά για τα δείγματα που προέρχονταν από το τμήμα πάνω από τη σχηματισθείσα στοιβάδα και αντίστοιχα για τα δείγματα που ελήφθησαν μετά την απόρριψή της. Ωστόσο τα αποτελέσματα, τα οποία είναι διαθέσιμα σε κάθε ενδιαφερόμενο, ήταν αντιφατικά για τις δύο φάσεις και περισσότερο θα προκαλούσαν σύγχυση του αναγνώστη αυτής της εργασίας, παρά ένα ξεκάθαρο αποτέλεσμα που ήταν ο σκοπός της. Για το λόγω αυτό προχωρήσαμε σε ενοποίηση των αποτελεσμάτων που αφορούσαν τα δείγματά μας και έτσι παρουσιάζονται στον (πίνακα 9).

Πίνακας 9. Συνολική αντιοξειδωτική χωρητικότητα (Total Antioxidant Capacity) ανά δείγμα εκφρασμένη σε $\mu\text{Mol eq. (equivalent) Trolox}$ για $N=5$.

A/A	Γαύρος	Σαρδέλα	Τσιπούρα	Σολομός	Κουτσομούρα	Μπακαλιάρος
1	54,680	97,298	47,996	87,630	171,835	28,168
2	95,142	212,377	187,854	202,587	152,891	160,945
3	106,745	209,188	202,862	198,149	202,683	147,423
4	101,895	201,992	196,322	208,830	181,757	88,275
5	97,046	182,473	200,676	201,984	221,144	99,545

Εκτελώντας τους προβλεπόμενους στατιστικούς ελέγχους στα δεδομένα του παραπάνω πίνακα προέκυψε ο παρακάτω (πίνακας 10) με τα μέτρα περιγραφικής στατιστικής ανά είδος ψαριού που μελετήθηκε.

Πίνακας 10. Μέτρα περιγραφικής στατιστικής για τη Συνολική Αντιοξειδωτική Χωρητικότητα εκφρασμένη σε $\mu\text{Mol eq. TROLOX}$ για πλήθος δειγματος $N=5$.

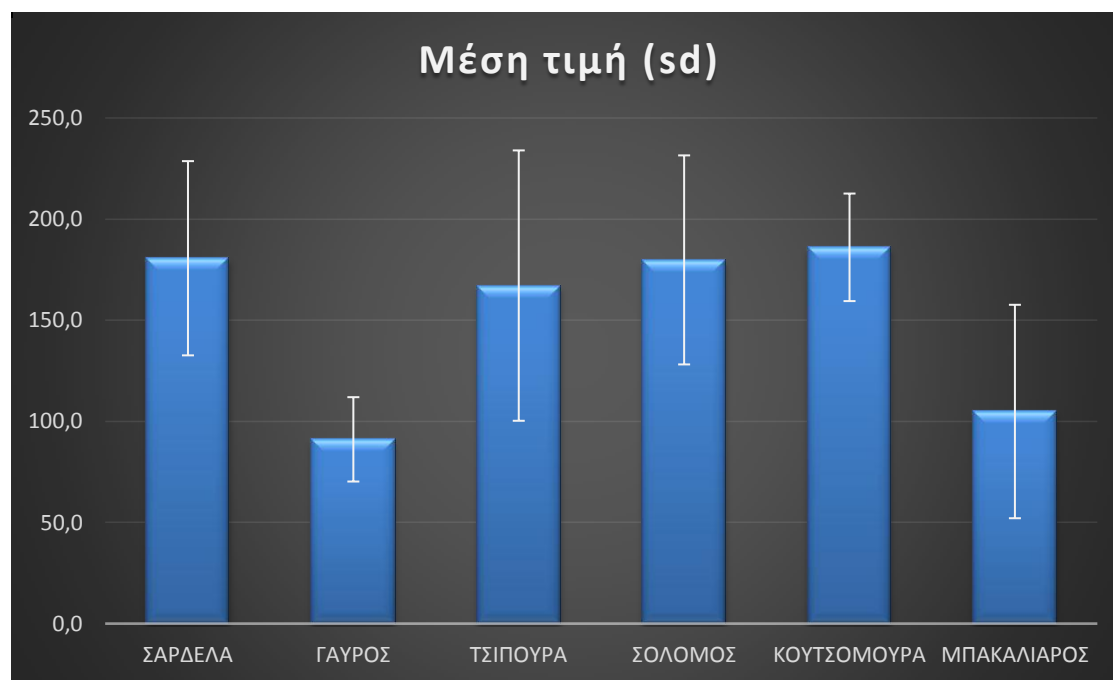
Μεταβλητή	ΕΙΔΟΣ	N	Μέση τιμή
$\mu\text{Mol eq. TROLOX}$	Γαύρος	5	91,10 ($\pm 20,85$)
	Κουτσομούρα	5	186,1 ($\pm 26,6$)
	Μπακαλιάρος	5	104,9 ($\pm 52,8$)
	Σαρδέλα	5	180,7 ($\pm 48,0$)
	Σολομός	5	179,8 ($\pm 51,7$)
	Τσιπούρα	5	167,1 ($\pm 66,9$)

Σημείωση: Οι τιμές στις παρενθέσεις αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση.

Ο έλεγχος Kruskal – Wallis που πραγματοποιήθηκε στα παραπάνω δεδομένα έδειξε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($P = 0,107$) στη συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα μεταξύ των ειδών.

Η κουτσομούρα, η σαρδέλα και ο σολομός εμφανίζουν τις υψηλότερες μέσες τιμές και καταλαμβάνουν τις τρεις πρώτες θέσεις στην κατάταξη αντίστοιχα. Ακολουθεί με πολύ μικρή διαφορά η τσιπούρα με μέση τιμή 167,1 ($\pm 66,9$) στην τέταρτη θέση της κατάταξης. Τέλος τόσο ο μπακαλιάρος όσο και ο γαύρος δείχνουν μία τάση για στατιστικά σημαντική διαφορά στη συνολική αντιοξειδωτική τους ικανότητα αφού απέχουν 81,2 και 95 $\mu\text{Mol eq. TROLOX}$ από την “πρώτη” κουτσομούρα, αντίστοιχα. Έτσι μπακαλιάρος και γαύρος καταλαμβάνουν την πέμπτη και έκτη θέση της κατάταξης αντίστοιχα.

Τελικά, όλα τα είδη που μελετήθηκαν έχουν παραπλήσιες τιμές και αυτό γίνεται καλύτερα κατανοητό και στο (σχήμα 5) που ακολουθεί.



Σχήμα 5. Ραβδόγραμμα μέσης τιμής Συνολικής Αντιοξειδωτικής Ικανότητας ανά είδος ψαριού με απεικόνιση της τυπικής απόκλισης (standard deviation).

Για να είμαστε συνεπείς και με το δεύτερο σκέλος του σκοπού της μελέτης μας θα πρέπει να δούμε τα αποτελέσματα και από την πλευρά του καταναλωτή. Οπότε συμπεραίνουμε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στην ποσότητα των φυσικών αντιοξειδωτικών που θα προσλάβει ο καταναλωτής ανεξάρτητα με το είδος του ψαριού, από τα μελετώμενα, που θα επιλέξει να καταναλώσει.

14 Συζήτηση

Αν και υπάρχει γενική συμφωνία ότι η οξείδωση των λιπιδίων συμβάλλει σημαντικά στη χημική αλλοίωση του μεταθανάτιου μυϊκού ιστού λιπαρών ψαριών υπάρχουν πολλές πτυχές αυτής της διαδικασίας που δεν είναι καλά κατανοητές. Η οξείδωση των λιπιδίων εμφανίζεται στο ζωντανό ζώο. Μία από τις σαφείς ενδείξεις για αυτό είναι η παρουσία πολλών υποστηρικτικών και αλληλεπιδρώντων αντιοξειδωτικών συστημάτων στους βιολογικούς ιστούς. Όταν ένα ψάρι πεθαίνει,

πολλές αλλαγές εμφανίζονται στον μυ που επιταχύνουν τον ρυθμό της οξειδωσης των λιπιδίων. Τα αντιοξειδωτικά συστήματα στους ζωντανούς οργανισμούς για την καταπολέμηση αυτών των οξειδωτικών αντιδράσεων είναι δύο τύπων. Ο ένας αντιπροσωπεύεται από ένζυμα που απομακρύνουν αντιδραστικά είδη οξυγόνου όπως το υπεροξειδίο, το υπεροξειδίο του υδρογόνου και τα υπεροξειδία λιπιδίων και περιλαμβάνουν τη δισμουτάση του υπεροξειδίου, την καταλάση και τις υπεροξειδάσες. Η άλλη ομάδα αντιοξειδωτικών ενώσεων εκκαθαρίζουν τις ελεύθερες ρίζες. Αυτές οι ενώσεις είναι γενικά χαμηλού μοριακού βάρους και μπορεί να είναι υδατοδιαλυτές ή λιποδιαλυτές. Τα λιποδιαλυτά αντιοξειδωτικά λειτουργούν επειδή δίνουν ένα άτομο υδρογόνου (H) σε μία ρίζα λιπαρού οξέος πιο εύκολα από ό,τι ένα μη οξειδωμένο λιπαρό οξύ. Τα υδατοδιαλυτά αντιοξειδωτικά μπορούν στη συνέχεια να αλληλεπιδράσουν με τα λιποδιαλυτά αντιοξειδωτικά προς μείωση των λιποδιαλυτών ελευθέρων ριζών, ώστε να μπορούν τα λιποδιαλυτά αντιοξειδωτικά να συνεχίσουν να συμμετέχουν σε αυτές τις αντιοξειδωτικές αντιδράσεις. Τα υδατοδιαλυτά αντιοξειδωτικά μπορούν να αλληλεπιδρούν με τα λιποδιαλυτά αντιοξειδωτικά καθώς οι αντιδραστικές ομάδες των τελευταίων συσσωρεύονται στη διεπαφή μεταξύ υδατικής και λιπιδικής φάσης. Στο μεταθανάτιο μυϊκό ιστό η ικανότητα να διατηρούνται τα αντιοξειδωτικά στην ανηγμένη κατάσταση μειώνεται με το χρόνο λόγω της απώλειας αναγωγικών ενώσεων, η ικανότητα σταθεροποίησης των λιποδιαλυτών ελευθέρων ριζών χάνεται και τα λιπίδια τελικά θα οξειδωθούν. Η ικανότητα ενός αντιοξειδωτικού να ανάγει ένα άλλο αντιοξειδωτικό ή μια ρίζα που προέρχεται από λιπίδια προσδιορίζεται από το δυναμικό αναγωγής του. Στα λιπαρά είδη ψαριών, μια σημαντική απώλεια ποιότητας οφείλεται στην οξείδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων που βρίσκονται στον ιστό. Αν και ορισμένες οξειδωτικές αντιδράσεις έχουν σημαντικές φυσιολογικές λειτουργίες και εμφανίζονται στο ζωντανό ζώο, οι περισσότερες οξειδώσεις λιπαρών οξέων που συμβαίνουν στον μεταθανάτιο μυϊκό ιστό είναι το αποτέλεσμα τυχαίων οξειδώσεων από ένα σύστημα που έχει χάσει την ικανότητά του να παρέχει την αντιοξειδωτική του προστασία. Η εκτίμηση της ποιότητας του μυϊκού ιστού συνήθως εστιάζεται στα πρώιμα σημάδια χημικών αλλαγών στα ίδια τα λιπίδια. Θα μπορούσε ωστόσο να

υποτεθεί ότι τα αντιοξειδωτικά που υπάρχουν στο μυϊκό ιστό θα πρέπει επίσης να μειώνονται μετά το θάνατο αφού καταστρέφονται από οξειδωτικές αντιδράσεις, όπως και τα λιπίδια. Υπάρχει ένα δυνητικό πλεονέκτημα της μέτρησης των αλλαγών στα αντιοξειδωτικά αντί για τις αλλαγές στα ίδια τα λιπίδια. Εφόσον τα αντιοξειδωτικά λειτουργούν προστατεύοντας τα λιπίδια από την οξείδωση με το να οξειδώνονται πριν από αυτά, μπορεί να υποτεθεί ότι η απώλεια αντιοξειδωτικών προηγείται της οξείδωσης των λιπιδίων, δίνοντας έτσι μια προειδοποίηση για έναρξη της οξείδωσης (Petillo et al., 1998).

Τα αντιοξειδωτικά στα τρόφιμα μπορεί να προέρχονται από ενώσεις που απαντώνται φυσικά στο τρόφιμο ή από ουσίες που σχηματίζονται κατά την επεξεργασία του. Τα φυσικά αντιοξειδωτικά είναι κυρίως φυτικές πολυφαινολικές ενώσεις που μπορεί να εμφανιστούν σε όλα τα μέρη του φυτού. Τα φυτικά φαινολικά είναι πολυλειτουργικά και μπορεί να δρουν ως αναγωγικά μέσα (τερματιστές ελεύθερων ριζών), μεταλλικοί χηλικοποιητές και αδρανοποιητές μονήρους οξυγόνου. Παραδείγματα κοινών φαινολικών φυτικών αντιοξειδωτικών περιλαμβάνουν τις φλαβονοειδείς ενώσεις, παράγωγα του κιναιμικού οξέος, κουμαρίνες, τοκοφερόλες, και πολυλειτουργικά οργανικά οξέα.

Οι τοκοφερόλες εμφανίζονται ευρέως στη φύση και είναι μονοφαινολικά αντιοξειδωτικά που βοηθούν στη σταθεροποίηση των περισσότερων από τα έλαια που προέρχονται από φυτά. Οι τοκοφερόλες έχουν επίσης δραστηριότητα βιταμίνης E. Όσον αφορά τη δραστηριότητα της βιταμίνης E, η α-τοκοφερόλη είναι το πιο ισχυρό μέλος αυτής της οικογένειας. Η αντιοξειδωτική δράση μειώνεται από 8 στην α τοκοφερόλη. Τα φυτικά τρόφιμα περιέχουν σημαντικές ποσότητες διαφορετικών τοκοφερολών και τοκοτριενολών στο κλάσμα των λιπιδίων τους. Δημητριακά και δημητριακά προϊόντα, ελαιούχοι σπόροι, ξηροί καρποί και λαχανικά είναι πλούσιες πηγές τοκοφερολών.

Στο ζωικό βασίλειο, οι τοκοφερόλες βρίσκονται μόνο σε ίχνη. Οι τοκοφερόλες είναι σημαντικά βιολογικά αντιοξειδωτικά. Η α-τοκοφερόλη ή βιταμίνη E αποτρέπει την οξείδωση των λιπιδίων του σώματος, συμπεριλαμβανομένων των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, των λιπιδικών συστατικών των κυττάρων και των

μεμβρανών των διαφόρων οργανιδίων. Οι τοκοφερόλες παράγονται εμπορικά και χρησιμοποιούνται ως αντιοξειδωτικά τροφίμων (Shahidi, Janitha and Wanasundara, 1992). Για να γίνει καλύτερα κατανοητή η τάξη μεγέθους της διαφοράς στην περιεκτικότητα σε α-τοκοφερόλη των κυριότερων ελαίων και των σημαντικότερων εκπροσώπων των ιχθύων παρατίθεται ο (πίνακας 11) με στοιχεία από (Shahidi, Janitha and Wanasundara, 1992; Cabrini et al., 1992; Passi et al., 2002).

Τα δεδομένα αυτά βρίσκονται σε συμφωνία με τα δεδομένα της δικής μας μελέτης καθώς οι συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα για το μυϊκό ιστό των ειδών ψαριού που προσδιορίσαμε είναι μικρή συγκριτικά με αυτή των φυτικών ιστών και ελαίων. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι η περιεκτικότητα σε α-τοκοφερόλη, σε εστέρες της βιταμίνης Α καθώς και σε συνένζυμο Q10, τα οποία αποτελούν τα κυριότερα λιποδιαλυτά αντιοξειδωτικά στους ιχθύες, σε δείγματα από ήπαρ τσιπούρας (*Sparus auratus*) είναι 137.23 ± 20.36 , 157.11 ± 25.41 και 40.45 ± 8.03 mg/kg αντίστοιχα (Cabrini et al., 1992). Ωστόσο επειδή τα αποτελέσματά μας είναι εκφρασμένα σε διαφορετική μονάδα μέτρησης δεν επιτρέπονται απευθείας συγκρίσεις.

Πίνακας 11. Περιεκτικότητα σε α-τοκοφερόλη σε φυτικά έλαια και σε μυϊκό ιστό ιχθυηρών της Μεσογείου (mg/kg).

Είδος ελαίου	mg/kg	Είδος ψαριού	Ονομασία FAO	mg/kg
Καρύδας	5-10	<i>Squilla mantis</i>	Shrimp	11.70 ± 2.17
Βαμβακόσπορου	40-560	<i>Tapes decussatus</i>	Grooved carpet shell	10.40 ± 1.04
Καλαμποκιού	60-260	<i>Octopus vulgaris</i>	Octopus	7.42 ± 1.46
Αραβόσιτου	300-430	<i>Sardina pilchardus</i>	Sardine	5.80 ± 0.66
Ελαιόλαδο	1-240	<i>Merluccius merluccius</i>	European hake	6.40 ± 0.55
Φοινικέλαιο	180-260	<i>Dicentrarchus labrax</i>	Sea bass	6.48 ± 0.85
Φιστικιού	80-330	<i>Sphyaena sphyaena</i>	Pike	9.68 ± 1.45
Ελαιοκράμβης	180-280	<i>Mullus barbatus</i>	Striped mullet	7.47 ± 1.60

Κάρθαμου	340-450	<i>Mullus surmuletus</i>	Red mullet	7.94 ± 1.50
Σόγιας	30-120	<i>Diplodus annularis</i>	Annular seabream	17.90 ± 2.40
Ηλιέλαιο	350-700	<i>Lithognatus marmyrus</i>	Striped seabream	10.99 ± 1.35
Καρυδιού	560	<i>Scomber scombrus</i>	Atlantic mackerel	14.24 ± 2.16
Φύτρο σιταριού	560-1200	<i>Lepidorhombus boscii</i>	Brill	14.71 ± 2.11

Για να προσλάβει κανείς την απαραίτητη ημερήσια ποσότητα 0.9 mg της βιταμίνης A (ρετινόλης) θα πρέπει να καταναλώσει 5-10 γρ. συκώτι, 200 γρ. τόνο και 2-3 κιλά ψαριών. Η αντίστοιχη ημερήσια ποσότητα σε καροτενοειδή 2-4 mg β-καροτένιου καλύπτεται με κατανάλωση 50-100 γρ. κατσαρού λάχανου ή σπανακιού ή καρότων, ενώ τα ψάρια περιλαμβάνονται στις πλούσιες πηγές πρόσληψης καροτενοειδών καθώς σύμφωνα με τους Baron και συν. η περιεκτικότητα σε καροτενοειδή στον μυ της ιριδίζουσας πέστροφας (*Oncorhynchus mykiss*) βρέθηκε να είναι περίπου 9-10 mg/kg ψαριού. Εξίσου διαφωτιστικά είναι και τα δεδομένα για την πρόσληψη της ημερήσιας ανάγκης των 12mg βιταμίνης E που μπορούν να καλυφθούν με την κατανάλωση 5ml ελαίου από φύτρα σιτηρών, 20ml ελαιολάδου, 100 γρ. λαχανικών και 50 γρ. φουντούκια, ενώ απαιτείται η κατανάλωση 2-3 κιλών μυϊκού ιστού ψαριού ή 800-1000 γρ. σολομού για να προσληφθεί η αντίστοιχη ποσότητα. Δεν αποτελεί εξαίρεση ούτε η υδατοδιαλυτή βιταμίνη C, που για την κάλυψη της ημερήσιας απαιτούμενης ανάγκης των 100mg απαιτείται η κατανάλωση 60 γρ. μανταρινιού ή πορτοκαλιού, 70 γρ. πιπεριές ή 80 γρ. μπρόκολου. Ενώ οι υψηλότερες συγκεντρώσεις βιταμίνης C σε μυϊκό ιστό ψαριών της Μεσογείου όπως αναφέρονται σε έρευνα των Passi και συν. βρέθηκαν στην *Trigla lucerna* (20.1 mg/kg), *Pagellus erythrinus* (16.0 mg/kg), *Trigla lyra* (14.1mg/kg), *Thunnus alalunga* (12.1 mg/kg), *Mullus surmuletus* (11.8 mg/kg) και *Mullus barbatus* (11.4 mg/kg) (Biesalski, 2008).

Τα παραπάνω επιβεβαιώνονται από επιδημιολογικές μελέτες που έχουν δείξει μια αντίστροφη σχέση μεταξύ της κατανάλωσης φρούτων και λαχανικών και της νοσηρότητας και θνησιμότητας από εκφυλιστικές ασθένειες. Η αντιοξειδωτική περιεκτικότητα σε φρούτα και λαχανικά μπορεί να συμβάλει στην προστασία που προσφέρουν από ασθένειες. Επειδή τα φυτικά τρόφιμα περιέχουν πολλές διαφορετικές κατηγορίες και είδη αντιοξειδωτικών, η γνώση της ολικής αντιοξειδωτικής τους ικανότητας (TAC), η οποία είναι η σωρευτική ικανότητα των συστατικών των τροφίμων να απομακρύνουν τις ελεύθερες ρίζες, είναι χρήσιμη και για επιδημιολογικούς σκοπούς. Για να επιτευχθεί αυτό, ποικιλία τροφίμων, αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας τρεις διαφορετικούς μεθόδους, την Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC), την Total radical trapping antioxidant parameter (TRAP) και την Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP). Μεταξύ των λαχανικών, το σπανάκι είχε την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα στις δοκιμές TEAC και FRAP ακολουθούμενο από τις πιπεριές, ενώ τα σπαράγγια είχαν τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα στην ανάλυση TRAP. Μεταξύ των φρούτων, οι υψηλότερες αντιοξειδωτικές δραστηριότητες παρατηρήθηκαν στα μούρα (βατόμουρο, φραγκοστάφυλο και σμέουρο) ανεξάρτητα από τη μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε. Μεταξύ των ποτών, ο καφές είχε τη μεγαλύτερη TAC, ανεξάρτητα από τη μέθοδο παρασκευής ή ανάλυσης, ακολουθούμενος από τους χυμούς εσπεριδοειδών, που παρουσίασαν την υψηλότερη τιμή μεταξύ των αναψυκτικών. Τέλος, από τα έλαια, το σογιέλαιο είχε την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα, ακολουθούμενο από το έξτρα παρθένο ελαιόλαδο (Pellegrini et al., 2003).

Μία πιθανή εξήγηση για την σειρά κατάταξης των ψαριών της δικής μας μελέτης θα ήταν ότι η συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα του μυϊκού ιστού είναι ανάλογη της λιποπεριεκτικότητάς του. Καθόσον είναι γνωστό ότι τα σημαντικότερα αντιοξειδωτικά στο μυϊκό ιστό των ιχθύων είναι λιποδιαλυτά, όπως έχουν εκτενώς αναλυθεί προηγουμένως, θα περίμενε κανείς η συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα να μεταβάλλεται ανάλογα με τη συνολική περιεκτικότητα σε λίπος της σάρκας τους. Έτσι η σαρδέλα (*Sardina plichardus*), με το ποσοστό λίπους της σάρκας της να αγγίζει το 23%, ο σολομός (*Salmo salar*) με το ποσοστό λίπους να υπερβαίνει το 12% και η τσιπούρα (*Sparus aurata*) με ποσοστό λίπους της σάρκας αυτής που

προέρχεται από ιχθυοκαλλιέργεια να ξεπερνά το $9.8 \pm 1.36\%$ (Grigorakis *et al*, 2003) θα έπρεπε να καταλαμβάνουν τις τρεις πρώτες θέσεις στη μελέτη μας. Ενώ ο γαύρος (*Engraulis encrasicolus*) με ποσοστό λίπους της σάρκας του να μην ξεπερνά το 5%, η κουτσομούρα (*Mullus barbatus*) με το αντίστοιχο ποσοστό λίπους της σάρκας της να κυμαίνεται στο $2.77 \pm 0.24 \%$ (Passi *et al.*, 2002) και ο μπακαλιάρος (*Merluccius merluccius*) με ποσοστό λίπους της σάρκας του να κυμαίνεται από 0,1% έως 1% θα έπρεπε να καταλαμβάνουν τις τρεις τελευταίες θέσεις. Ωστόσο κάτι τέτοιο δε συνέβη, καθώς η κουτσομούρα βρέθηκε στην πρώτη θέση της κατάταξής μας παρά το μικρό ποσοστό λίπους της σάρκας της. Αυτό εξηγείται πιθανότατα από το υψηλό ποσοστό πολυακόρεστων λιπαρών οξέων 48,4%, ποσοστό εξίσου υψηλό με αυτό της σαρδέλας 49,6% ενώ το αντίστοιχο ποσοστό για τον μπακαλιάρo ήταν 36,2% (Passi *et al.*, 2002). Χρησιμοποιώντας τα δεδομένα από την έρευνα του Passi και των συνεργατών του, προσθέτοντας τα λιποδιαλυτά αντιοξειδωτικά συστατικά (συνένζυμο Q10, βιταμίνη E) με τα υδατοδιαλυτά (βιταμίνη C) για τα τρία από τα έξι είδη της μελέτης μας (κουτσομούρα, μπακαλιάρo και σαρδέλα) που υπήρχαν δεδομένα η κουτσομούρα κατέλαβε την πρώτη θέση με αντιοξειδωτική περιεκτικότητα 52,81 (mg/kg), η σαρδέλα τη δεύτερη θέση με 48,08 (mg/kg) και ο μπακαλιάρος την τρίτη θέση με 43,1 (mg/kg). Αυτά τα δεδομένα, και παρά την έλλειψη αντίστοιχων στοιχείων για το σολομό, την τσιπούρα και το γαύρο, βρίσκονται σε απόλυτη αντιστοιχία με τη δική μας σειρά κατάταξης της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του μυϊκού ιστού των ειδών που μελετήθηκαν. Ο λόγος που η κουτσομούρα καταφέρνει να βρίσκεται στην πρώτη θέση, παρά το μικρό ποσοστό λίπους της σάρκας της, είναι η πολύ υψηλή συγκέντρωση σε βιταμίνη C που προσδιορίστηκε στα $11,4 \pm 2,0$ (mg/kg) σε σχέση με αυτή της σαρδέλας $2,3 \pm 0,5$ (mg/kg) και του μπακαλιάρου $2,9 \pm 0,6$ (mg/kg). Η συγκέντρωση αυτή είναι η έκτη μεγαλύτερη ανάμεσα στα τριάντα πιο κοινά είδη ψαριών της Μεσογείου (Passi *et al.*, 2002).

Τα δεδομένα αυτά είναι πολύ ενθαρρυντικά για την ακρίβεια εκτέλεσης της δικής μας μελέτης και ισχυροποιούν τα αποτελέσματά μας. Τα δεδομένα και η γνώση της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας τόσο της φυτικής όσο και της ζωικής προέλευσης τροφίμων (συμπεριλαμβανομένων των ιχθυηρών), σε

συνδυασμό με ένα κατάλληλο ερωτηματολόγιο για την εκτίμηση της ημερήσιας πρόσληψης αντιοξειδωτικών· θα επιτρέψει τη διερεύνηση της σχέσης μεταξύ των αντιοξειδωτικών που προσλαμβάνονται από τη διατροφή και του οξειδωτικού στρες που προκαλεί τις διάφορες ασθένειες.

15 Συμπεράσματα

Τα αντιοξειδωτικά από θαλάσσιες πηγές έχουν προσελκύσει την προσοχή των ερευνητών καθώς εξάγονται από τα υποπροϊόντα της θαλάσσιας επεξεργασίας και δεν έχουν παρενέργειες. Τα εκχυλίσματα ιστών ειδών ψαριών έχουν αξιοσημείωτες αντιοξειδωτικές δραστηριότητες και οι φυσικές φαινολικές ενώσεις και βιταμίνες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στις αντιοξειδωτικές δραστηριότητες. Έτσι, τα εκχυλίσματα ψαριού είναι φυσικά αντιοξειδωτικά που έχουν δυνητικά αντιοξειδωτική δράση. Ωστόσο με βάση τα αποτελέσματα και της δικής μας μελέτης, η συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα του μυϊκού ιστού έξι εκ των συχνότερα καταναλισκόμενων ειδών ψαριού της χώρας μας, θα πρέπει να αποτελεί ένα επιπλέον ισχυρό κίνητρο για την κατανάλωση αυτών των υψηλής βιολογικής αξίας τροφίμων. Τα ψάρια αυτά δεν περιέχουν καθόλου πρόσθετα και δεν έχουν υποστεί καμία θερμική ή χημική επεξεργασία πλην της συντήρησης με πάγο κατά τη διακίνησή τους. Αποτελούν έτσι μια πολύ σημαντική, φυσική πηγή πρόσληψης αντιοξειδωτικών για τον άνθρωπο.

16 Βιβλιογραφία

Έντυπη Βιβλιογραφία

- ❖ Biesalski H. K. 2008. Pocket Atlas of Nutrition. Broken Hill Publishers. Cyprus.
- ❖ Βαρελτζής, Κ. 1999. Ποιοτικός έλεγχος και τεχνολογία αλιευμάτων. Εκδόσεις Σύγχρονη Παιδεία. Θεσσαλονίκη.
- ❖ Γεωργάκης, Σ. 2002. Τεχνολογία Τροφίμων Ζωικής Προέλευσης. Εκδόσεις Σύγχρονη Παιδεία. Θεσσαλονίκη.
- ❖ Γεωργαντέλης, Δ. 2006. Επίδραση των φυσικών αντιοξειδωτικών στην παραγωγή των κρεατοσκευασμάτων. Διδακτορική διατριβή. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, σελ. 9

- ❖ Γιαννακοπούλου, Λ. 2018. Συσσώρευση βαρέων μετάλλων σε εμπορικούς υδρόβιους Οργανισμούς. Διδακτορική διατριβή. Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, σελ. 15,16
- ❖ Γιογιός Ι. 2015. Διατροφική αξία και ποιότητα εκτρεφόμενων ιχθύων με έμφαση στα νέα είδη μεσογειακών υδατοκαλλιεργειών. Διδακτορική διατριβή. Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο, σελ. 19
- ❖ Ευ διατροφήν β. 2014. “Εθνικός Διατροφικός Οδηγός Για Ενήλικες.” *Ινστιτούτο Προληπτικής, Περιβαλλοντικής Και Εργασιακής Ιατρικής*, 1–206.
- ❖ Ζαμπετάκης Γ. 2014. Χημεία Τροφίμων. Εκδόσεις Σταμούλη. Αθήνα.
- ❖ Κυρανάς Ε. 2017. Τρόφιμα Σύσταση, Προέλευση, Αλλοιώσεις, Επεξεργασία Ποιότητα Και Συσκευασία. Εκδόσεις Τζιόλα. Θεσσαλονίκη.
- ❖ Κυρανάς Ε. 2011. Λειτουργικές Ιδιότητες Νερού, Πρωτεϊνών, Σακχάρων, Λιπιδίων Και Φυσικών Χρωστικών, Επίδραση Στην Ποιότητα Και Τη Θρεπτική Αξία Των Τροφίμων. Εκδόσεις Τζιόλα. Θεσσαλονίκη.
- ❖ Κυρανάς Ε. 2014. Λειτουργικές Ιδιότητες Νερού, Πρωτεϊνών, Σακχάρων Λιπιδίων & Φυσικών Χρωστικών. Εκδόσεις Τζιόλα. Θεσσαλονίκη.
- ❖ Κυρανάς Ε. 2016. Πρόσθετα Τροφίμων και Νομοθεσία. Εκδόσεις Τζιόλα. Θεσσαλονίκη.
- ❖ Τρακατέλλης Α. 2001. Βιοχημεία. Εκδοτικός Οίκος Αδελφών Κυριακίδη. Θεσσαλονίκη.
- ❖ Τσιρώνη Θ. 2010. Μελέτη μη θερμικών προκατεργασιών για τη βελτίωση της διατηρησιμότητας ιχθυηρών. Διδακτορική διατριβή. Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, σελ. 170
- ❖ Φεσληκίδης Θ. 2008. Μελέτη των μηχανισμών δράσης φυσικών αντιοξειδωτικών στην οξείδωση των λιποπρωτεϊνών. Διδακτορική διατριβή. Ιατρική Σχολή. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, σελ. 53,54
- ❖ Χατζημιχαλάκης Π. 2004. Ανάπτυξη και επικύρωση μεθόδων για τον προσδιορισμό Βιταμινών με υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης μετά από εκχύλιση στερεάς φάσης – υγρού εφαρμογή σε φαρμακευτικά σκευάσματα και βιολογικά υγρά. Διδακτορική διατριβή. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, σελ. 27, 31

Ηλεκτρονική Βιβλιογραφία (Ιστότοποι)

- ❖ <https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%93%CE%B1%CF%8D%CF%81%CE%BF%CF%82> (Γαύρος)
- ❖ <https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A3%CE%B1%CF%81%CE%B4%CE%AD%CE%BB%CE%B1> (Σαρδέλα)
- ❖ <https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A4%CF%83%CE%B9%CF%80%CE%BF%CF%8D%CF%81%CE%B1> (Τσιπούρα)
- ❖ <https://www.wikidata.org/wiki/Q188879> (Σολομός Ατλαντικού)
- ❖ https://en.wikipedia.org/wiki/Mullus_barbatus (Κουτσομούρα)
- ❖ <https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%9C%CF%80%CE%B1%CE%BA%CE%B1%CE%BB%CE%B9%CE%AC%CF%81%CE%BF%CF%82> (Μπακαλιάρος)
- ❖ https://en.wikivet.net/Vitamin_C_Deficiency_-_Fish (Βιταμίνη C)
- ❖ http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso_greece/en

Ηλεκτρονική βιβλιογραφία (Άρθρα)

- A. J. Allen J. St. Angelo , Drs. John Vercellotti , Tom Jacks & Mr. Michael Legendre. "Lipid Oxidation on Foods." *Crit Rev Food Sci Nutr* 36, no. 3 (1996): 175-224.
- Alam, M. N., N. J. Bristi and M. Rafiqzaman. "Review on in Vivo and in Vitro Methods Evaluation of Antioxidant Activity." *Saudi Pharm J* 21, no. 2 (2013): 143-52.
- Albano, C. B., D. Muralikrishnan and M. Ebadi. "Distribution of Coenzyme Q Homologues in Brain." *Neurochemical Research* 27, no. 5 (2002): 359-368.
- Alishahi, Alireza and Mohammed Aïder. "Applications of Chitosan in the Seafood Industry and Aquaculture: A Review." *Food and Bioprocess Technology* 5, no. 3 (2011): 817-830.
- Antolovich, Michael, Paul D. Prenzler, Emiliós Patsalides, Suzanne McDonald and Kevin Robards. "Methods for Testing Antioxidant Activity." *The Analyst* 127, no. 1 (2002): 183-198.
- Baron, Caroline P., Grethe Hyldig and Charlotte Jacobsen. "Does Feed Composition Affect Oxidation of Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) During Frozen Storage?" *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57, no. 10 (2009): 4185-4194.

- Bera, R., T. K. Dhara, R. Bhadra, G. C. Majumder and P. C. Sen. "Eicosapentaenoic and Docosahexaenoic Acids Enriched Polyunsaturated Fatty Acids from the Coastal Marine Fish of Bay of Bengal and Their Therapeutic Value." *Indian J Exp Biol* 48, no. 12 (2010): 1194-203.
- Bester, D., A. J. Esterhuysen, E. J. Truter and J. van Rooyen. "Cardiovascular Effects of Edible Oils: A Comparison between Four Popular Edible Oils." *Nutrition Research Reviews* 23, no. 2 (2010): 334-348.
- Brand-Williams, W., M. E. Cuvelier and C. Berset. "Use of a Free-Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity." *Food Science and Technology-Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie* 28, no. 1 (1995): 25-30.
- Buchanan, B. B., P. Schurmann, P. Decottignies and R. M. Lozano. "Thioredoxin: A Multifunctional Regulatory Protein with a Bright Future in Technology and Medicine." *Archives of Biochemistry and Biophysics* 314, no. 2 (1994): 257-260.
- Cabrini, L., L. Landi, C. Stefanelli, V. Barzanti and A. M. Sechi. "Extraction of Lipids and Lipophilic Antioxidants from Fish Tissues: A Comparison among Different Methods." *Comp Biochem Physiol B* 101, no. 3 (1992): 383-6.
- Chan, Kin M., Eric A. Decker and Cameron Feustman. "Endogenous Skeletal Muscle Antioxidants." *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 34, no. 4 (1994): 403-426.
- Cheng, Jun-Hu, Da-Wen Sun, Hong-Bin Pu, Qi-Jun Wang and Yu-Nan Chen. "Suitability of Hyperspectral Imaging for Rapid Evaluation of Thiobarbituric Acid (Tba) Value in Grass Carp (*Ctenopharyngodon Idella*) Fillet." *Food Chemistry* 171, (2015): 258-265.
- Cohen, J. T., D. C. Bellinger, W. E. Connor, P. M. Kris-Etherton, R. S. Lawrence, D. A. Savitz, B. A. Shaywitz, S. M. Teutsch and G. M. Gray. "A Quantitative Risk-Benefit Analysis of Changes in Population Fish Consumption." *Am J Prev Med* 29, no. 4 (2005): 325-34.
- Cottin, S. C., T. A. Sanders and W. L. Hall. "The Differential Effects of Epa and Dha on Cardiovascular Risk Factors." *Proceedings of the Nutrition Society* 70, no. 2 (2011): 215-231.
- de Abreu, D. A. Pereira, P. Paseiro Losada, J. Maroto and J. M. Cruz. "Lipid Damage During Frozen Storage of Atlantic Halibut (*Hippoglossus Hippoglossus*) in Active Packaging Film Containing Antioxidants." *Food Chemistry* 126, no. 1 (2011): 315-320.

- Egert, Sarah and Peter Stehle. "Impact of N – 3 Fatty Acids on Endothelial Function: Results from Human Interventions Studies." *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care* 14, no. 2 (2011).
- Ferrante, I., S. Cataudella, P. Di Marco, S. Passi, R. Ricci and F. Bertolino. "A Screening of Lipophilic Antioxidants in Muscle Tissue of Cage Reared Bluefin Tuna (*Thunnus Thynnus Thynnus* L.): A Potential Tool to Assess Oxidative Stress." In *Domestication of the Bluefin Tuna Thunnus Thynnus Thynnus*, edited by C. R. Bridges, A. García and H. Gordin, 60, 69-71: Zaragoza : CIHEAM, 2003.
- Floegel, Anna, Dae-Ok Kim, Sang-Jin Chung, Sung I. Koo and Ock K. Chun. "Comparison of Abts/Dpph Assays to Measure Antioxidant Capacity in Popular Antioxidant-Rich Us Foods." *Journal of Food Composition and Analysis* 24, no. 7 (2011): 1043-1048.
- Fried, Robert. "Chapter 9 - the Polyphenolic Antioxidant Resveratrol, the Carotenoid Lycopene, and the Proanthocyanidin Pycnogenol." In *Erectile Dysfunction as a Cardiovascular Impairment*, edited by Robert Fried, 259-291. Boston: Academic Press, 2014.
- Gorgulu, M., S. Cete, H. Arslan and A. Yasar. "Preparing a New Biosensor for Hypoxanthine Determination by Immobilization of Xanthine Oxidase and Uricase in Polypyrrole-Polyvinyl Sulphonate Film." *Artif Cells Nanomed Biotechnol* 41, no. 5 (2013): 327-31.
- Grigorakis, K., K. D. A. Taylor and M. N. Alexis. "Organoleptic and Volatile Aroma Compounds Comparison of Wild and Cultured Gilthead Sea Bream (*Sparus Aurata*): Sensory Differences and Possible Chemical Basis." *Aquaculture* 225, no. 1-4 (2003): 109-119.
- Halliwel, B., R. Aeschbach, J. Löliger and O. I. Aruoma. "The Characterization of Antioxidants." *Food and Chemical Toxicology* 33, no. 7 (1995): 601-617.
- Hernández-Camacho, Juan D., Michel Bernier, Guillermo López-Lluch and Plácido Navas. "Coenzyme Q(10) Supplementation in Aging and Disease." *Frontiers in physiology* 9, (2018): 44-44.
- Iglesias, Jacobo and Isabel Medina. "Solid-Phase Microextraction Method for the Determination of Volatile Compounds Associated to Oxidation of Fish Muscle." *Journal of Chromatography A* 1192, no. 1 (2008): 9-16.
- Kapoor, R. and Y. S. Huang. "Gamma Linolenic Acid: An Antiinflammatory Omega-6 Fatty Acid." *Curr Pharm Biotechnol* 7, no. 6 (2006): 531-4.
- Karlsdottir, Magnea G., Kolbrun Sveinsdottir, Hordur G. Kristinsson, Dominique Villot, Brian D. Craft and Sigurjon Arason. "Effects of Temperature During Frozen Storage on Lipid

- Deterioration of Saithe (*Pollachius Virens*) and Hoki (*Macruronus Novaezelandiae*) Muscles." *Food Chemistry* 156, (2014): 234-242.
- Kawashima, H. "Intake of Arachidonic Acid-Containing Lipids in Adult Humans: Dietary Surveys and Clinical Trials." *Lipids Health Dis* 18, no. 1 (2019): 101.
- Kim, Ji Yeun and Jung-Lim Lee. "Multipurpose Assessment for the Quantification of *Vibrio* Spp. And Total Bacteria in Fish and Seawater Using Multiplex Real-Time Polymerase Chain Reaction." *Journal of the science of food and agriculture* 94, no. 13 (2014): 2807-2817.
- Kouba, Maryline and Jacques Mouro. "A Review of Nutritional Effects on Fat Composition of Animal Products with Special Emphasis on N-3 Polyunsaturated Fatty Acids." *Biochimie* 93, no. 1 (2011): 13-17.
- Logotheti, Maria, Konstantina Theochari, Marios Kostakis, Ioannis N. Pasiadis and Nikolaos S. Thomaidis. "Development and Validation of a HPLC-Uv Method for the Determination of Nucleotides in Fish Samples." *Food Chemistry* 248, (2018): 70-77.
- Mamalakis, G., N. Kalogeropoulos, N. Andrikopoulos, C. Hatzis, D. Kromhout, J. Moschandreas and A. Kafatos. "Depression and Long Chain N-3 Fatty Acids in Adipose Tissue in Adults from Crete." *European Journal of Clinical Nutrition* 60, no. 7 (2006): 882-888.
- Mattila, Pirjo and Jorma Kumpulainen. "Coenzymes Q9 and Q10: Contents in Foods and Dietary Intake." *Journal of Food Composition and Analysis* 14, no. 4 (2001): 409-417.
- Mattila, Pirjo, Marko Lehtonen and Jorma Kumpulainen. "Comparison of in-Line Connected Diode Array and Electrochemical Detectors in the High-Performance Liquid Chromatographic Analysis of Coenzymes Q9 and Q10 in Food Materials." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, no. 4 (2000): 1229-1233.
- Moreno, C., A. Macias, A. Prieto, A. de la Cruz, T. Gonzalez and C. Valenzuela. "Effects of N-3 Polyunsaturated Fatty Acids on Cardiac Ion Channels." *Front Physiol* 3, no. 245 (2012): 245.
- Mozaffarian, D. and E. B. Rimm. "Fish Intake, Contaminants, and Human Health: Evaluating the Risks and the Benefits." *Jama* 296, no. 15 (2006): 1885-99.
- Nasopoulou, C., T. Nomikos, C. A. Demopoulos and I. Zabetakis. "Comparison of Antiatherogenic Properties of Lipids Obtained from Wild and Cultured Sea Bass (*Dicentrarchus Labrax*) and Gilthead Sea Bream (*Sparus Aurata*)." *Food Chemistry* 100, no. 2 (2007): 560-567.

- Nomikos, T., H. Karantonis, C. Skarvelis, C. Demopoulos and I. Zabetakis. "Antiatherogenic Properties of Lipid Fractions of Raw and Fried Fish." *Food Chemistry* 96, no. 1 (2006): 29-35.
- Panagiotakos, Demosthenes B., Efterpi Mamplekou, Christos Pitsavos, Nick Kalogeropoulos, Christina-Maria Kastorini, Charalambos Papageorgiou, George N. Papadimitriou and Christodoulos Stefanadis. "Fatty Acids Intake and Depressive Symptomatology in a Greek Sample: An Epidemiological Analysis." *Journal of the American College of Nutrition* 29, no. 6 (2010): 586-594.
- Panagiotakos, Demosthenes and Nick Kalogeropoulos. "Omega-3 Consumption May Benefit Heart Rhythm: A Review." *Agro Food Industry Hi-Tech* 19, (2008): 66-68.
- Panayiotou, Athina, Dimitris Samartzis, Tzortzis Nomikos, Elizabeth Fragopoulou, Haralabos C. Karantonis, Constantinos A. Demopoulos and Ioannis Zabetakis. "Lipid Fractions with Aggregatory and Antiaggregatory Activity toward Platelets in Fresh and Fried Cod (*Gadus Morhua*): Correlation with Platelet-Activating Factor and Atherogenesis." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, no. 12 (2000): 6372-6379.
- Passi, Siro, Stefano Cataudella, Patrizia Di Marco, Francesco De Simone and Luca Rastrelli. "Fatty Acid Composition and Antioxidant Levels in Muscle Tissue of Different Mediterranean Marine Species of Fish and Shellfish." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, no. 25 (2002): 7314-7322.
- Pellegrini, N., M. Serafini, B. Colombi, D. Del Rio, S. Salvatore, M. Bianchi and F. Brighenti. "Total Antioxidant Capacity of Plant Foods, Beverages and Oils Consumed in Italy Assessed by Three Different in Vitro Assays." *J Nutr* 133, no. 9 (2003): 2812-9.
- Petillo, David, Herbert O. Hultin, Judith Krzynowek and Wesley R. Autio. "Kinetics of Antioxidant Loss in Mackerel Light and Dark Muscle." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46, no. 10 (1998): 4128-4137.
- Rocculi, Pietro, Chiara Cevoli, Silvia Tappi, Jessica Genovese, Eleonora Urbinati, Gianfranco Picone, Angelo Fabbri, Francesco Capozzi and Marco Dalla Rosa. "Freshness Assessment of European Hake (*Merluccius Merluccius*) through the Evaluation of Eye Chromatic and Morphological Characteristics." *Food Research International* 115, (2018).
- Sakai, Tadashi, Hisashi Murata, Makoto Endo, Toshiyuki Shimomura, Kiyoshi Yamauchi, Takafumi Ito, Tokio Yamaguchi, Hiroshi Nakajima and Mikio Fukudome. "Severe Oxidative Stress Is Thought to Be a Principal Cause of Jaundice of Yellowtail *Seriola Quinqueradiata*." *Aquaculture* 160, no. 3-4 (1998): 205-214.

- Sampels, Sabine. "Oxidation and Antioxidants in Fish and Meat from Farm to Fork." 2013.
- Schaich, K. M., X. Tian and J. Xie. "Reprint of "Hurdles and Pitfalls in Measuring Antioxidant Efficacy: A Critical Evaluation of Abts, Dpph, and Orac Assays"." *Journal of Functional Foods* 18, (2015): 782-796.
- Serezli, Ramazan, Süleyman Akhan and Fatma Delihasan Sonay. "The Effect of Vitamin E on Black Sea Trout (*Salmo Labrax*) Broodstock Performance." *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 16, (2010): 219-222.
- Shahidi, Fereidoon, P. K. Janitha and P. D. Wanasundara. "Phenolic Antioxidants." *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 32, no. 1 (1992): 67-103.
- Sherwin, E. R. "Oxidation and Antioxidants in Fat and Oil Processing." *Journal of the American Oil Chemists' Society* 55, no. 11 (1978): 809-814.
- Sies, H. "Strategies of Antioxidant Defense." *Eur J Biochem* 215, no. 2 (1993): 213-9.
- Simopoulos, A. P. "Essential Fatty Acids in Health and Chronic Disease." *Am J Clin Nutr* 70, no. 3 Suppl (1999): 560S-569S.
- Souchet, Nathalie and Serge Laplante. "Seasonal Variation of Co-Enzyme Q10 Content in Pelagic Fish Tissues from Eastern Quebec." *Journal of Food Composition and Analysis* 20, no. 5 (2007): 403-410.
- Suominen-Taipale, Anna Liisa, Timo Partonen, Anu W. Turunen, Satu Männistö, Antti Jula and Pia K. Verkasalo. "Fish Consumption and Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids in Relation to Depressive Episodes: A Cross-Sectional Analysis." *PloS one* 5, no. 5 (2010): e10530-e10530.
- von Schacky, Clemens and William S. Harris. "Cardiovascular Benefits of Omega-3 Fatty Acids." *Cardiovascular Research* 73, no. 2 (2007): 310-315.
- Welch, A. A., E. Lund, P. Amiano, M. Dorransoro, M. Brustad, M. Kumle, M. Rodriguez, C. Lasheras, L. Janzon, J. Jansson, R. Luben, E. A. Spencer, K. Overvad, A. Tjønneland, F. Clavel-Chapelon, J. Linseisen, K. Klipstein-Grobusch, V. Benetou, X. Zavitsanos, R. Tumino, R. Galasso, H. B. Bueno-De-Mesquita, M. C. Ocke, U. R. Charrondiere and N. Slimani. "Variability of Fish Consumption within the 10 European Countries Participating in the European Investigation into Cancer and Nutrition (Epic) Study." *Public Health Nutr* 5, no. 6B (2002): 1273-85.

Wilhelm Filho, D. "Fish Antioxidant Defenses--a Comparative Approach." *Braz J Med Biol Res* 29, no. 12 (1996): 1735-42.

WILLS, CARMEL C., MARLENE R.M. PROCTOR and J.V. McLOUGHLIN. "Integrated Studies on the Freshness of Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss* Walbaum) Postmortem During Chilled and Frozen Storage." *Journal of Food Biochemistry* 28, no. 3 (2004): 213-244.

Σας ευχαριστώ πολύ !!!