



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ – ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

Τίτλος : ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΑΞΙΑ ΚΑΙ ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΕΚΤΡΕΦΟΜΕΝΩΝ ΙΧΘΥΩΝ
ΜΕ ΕΜΦΑΣΗ ΣΤΑ ΝΕΑ ΕΙΔΗ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΩΝ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Του

ΙΩΑΝΝΗ ΓΙΟΓΙΟΥ, *MSc*

Τεχνολόγου Τροφίμων

ΑΘΗΝΑ 2015

ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΑΞΙΑ ΚΑΙ ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΕΚΤΡΕΦΟΜΕΝΩΝ ΙΧΘΥΩΝ ΜΕ ΕΜΦΑΣΗ ΣΤΑ ΝΕΑ ΕΙΔΗ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΩΝ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ



ΓΙΟΓΙΟΣ ΙΩΑΝΝΗΣ¹

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

¹ Ο Ιωάννης Γιογιός γεννήθηκε στην Αθήνα το 1977. Σπούδασε στο Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής του ΑΤΕΙ Αθήνας (2002), ενώ πραγματοποίησε μεταπτυχιακές σπουδές στο Διαπανεπιστημιακό και Διατμηματικό Πρόγραμμα Σπουδών 'Όργανική Σύνθεση και Εφαρμογες στη Χημική Βιομηχανία' του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Αθηνών (2005). Έχει εργαστεί ως επιστημονικός συνεργάτης στο Εργαστήριο Χημείας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών και στο Ινστιτούτο Υδατοκαλλιεργειών του Ελληνικού Κέντρου Θαλασσιών Ερευνών. Έχει συμμετάσχει στη συγγραφή 7 άρθρων σε έγκριτα διεθνή επιστημονικά περιοδικά και 8 ανακοινώσεων σε διεθνή και ελληνικά συνέδρια.

Η έγκριση της παρούσας διδακτορικής διατριβής από το Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο δεν δηλώνει αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα. (Ν 5343/1932, άρθρο 202).

**ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΑΞΙΑ ΚΑΙ ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΕΚΤΡΕΦΟΜΕΝΩΝ ΙΧΘΥΩΝ ΜΕ
ΕΜΦΑΣΗ ΣΤΑ ΝΕΑ ΕΙΔΗ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΩΝ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ**

**NUTRITIONAL VALUE AND QUALITY OF FARMED FISH WITH FOCUS IN NEW
MEDITERRANEAN AQUACULTURE SPECIES**

ΓΙΟΓΙΟΣ ΙΩΑΝΝΗΣ
ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Επιβλέπων

Καλογερόπουλος Νικόλαος – Αναπληρωτής Καθηγητής

Μέλη

Καραθάνος Βάϊος - Καθηγητής

Γρηγοράκης Κρίτων - Ερευνητής Β΄

Επταμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

| | |
|-------------------------|---|
| Γρηγοράκης Κρίτων | Ερευνητής Β΄ Ινστιτούτο Υδατοκαλλιεργειών, ΕΛΚΕΘΕ |
| Καλογερόπουλος Νικόλαος | Αναπληρωτής Καθηγητής Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας- Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο |
| Καραθάνος Βάϊος | Καθηγητής Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας & Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο |
| Λουγκοβόης Βλαδίμηρος | Τακτικός Καθηγητής ΣΤΕΤΡΟΔ, ΑΤΕΙ Αθήνας |
| Ναθαναηλίδης Κοσμάς | Καθηγητής Τμήμα Τεχνολογίας Αλιείας & Υδατοκαλλιεργειών, ΑΤΕΙ Μεσολογίου |
| Τσιμίδου Μαρία | Καθηγήτρια Τμήμα Χημείας, ΑΠΘ |
| Ωραιοπούλου Βάσω | Καθηγήτρια Τμήμα Μηχανικών, ΕΜΠ |

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε σε συνεργασία του Τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας - Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου Αθηνών με το Ινστιτούτο Υδατοκαλλιεργειών του Ελληνικού Κέντρου Θαλασσίων Ερευνών (ΕΛΚΕΘΕ) υπό την επίβλεψη του Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Νικόλαου Καλογερόπουλου.

Κατ' αρχάς, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον κ. Καλογερόπουλο για την εμπιστοσύνη που επέδειξε στο πρόσωπό μου για την εκπόνηση αυτής της διδακτορικής διατριβής, για την βοήθεια και καθοριστική συμβολή του στην πραγματοποίηση και ολοκλήρωση της. Οι ουσιαστικές παρατηρήσεις του, η καθοδήγησή του και η επιμονή του συντέλεσαν σημαντικά στην ολοκλήρωση της διατριβής με τον καλύτερο δυνατό τρόπο. Επίσης, θα ήθελα να τον ευχαριστήσω για την στήριξη που μου παρείχε όλα τα χρόνια εκπόνησης της διδακτορικής εργασίας μου τόσο σε προσωπικό όσο και σε ερευνητικό επίπεδο.

Παράλληλα, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Κρίτωνα Γρηγοράκη, Ερευνητή Β' του Ινστιτούτου Υδατοκαλλιεργειών του ΕΚΘΕ. Η συμβολή του στη σχεδίαση και υλοποίηση όλων των πειραμάτων ήταν καθοριστική. Τον ευχαριστώ για τις χρήσιμες υποδείξεις του, για το χρόνο που μου αφιέρωσε και την στήριξη σε προσωπικό επίπεδο που μου παρείχε όλο αυτό το διάστημα. Θα ήθελα να τον ευχαριστήσω για όσα με δίδαξε και κατά το παρελθόν καθώς είχα την τύχη να συνεργαστώ και παλαιότερα μαζί του.

Οφείλω θερμές ευχαριστίες, στους ερευνητές του Ινστιτούτου Υδατοκαλλιεργειών του ΕΛΚΕΘΕ Μαρία Αλέξη, Γιάννη Κοτζαμάνη, Ευθυμία Κώτου, Ιωάννη Νέγκα, Γεώργιο Ρήγο, Ελένη Φουντουλάκη για τη φιλοξενία και την πρόσβαση στον εργαστηριακό εξοπλισμό για την πραγματοποίηση των εργαστηριακών αναλύσεων της παρούσας εργασίας καθώς και για την εποικοδομητική συνεργασία κατά την διάρκεια όλων αυτών των ετών.

Ευχαριστίες θα ήθελα επίσης να απευθύνω στον Καθηγητή κ Βάϊο Καραθάνο, Διευθυντή του Εργαστηρίου Χημείας- Βιοχημείας-Φυσικοχημείας Τροφίμων του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου τους επίκουρους καθηγητές κ. Ανδριάννα Καλιώρα, Αντωνία Χίου και Γεώργιο Μπόσκου καθώς και στους υποψήφιους διδάκτορες του Εργαστηρίου για την βοήθεια και καθοδήγηση τους καθώς και για την άριστη συνεργασία μας.

Επίσης, θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου σε όλους τους ανθρώπους που με άμεσο ή με έμμεσο τρόπο συνέβαλαν στο να ολοκληρωθεί η παρούσα διατριβή.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τη σύζυγο μου Τάνια και τα παιδιά μου Κάλλια και Βασίλη για την ψυχολογική κυρίως υποστήριξη, αλλά και για την υπομονή και την κατανόηση που έδειξαν όλα αυτά τα χρόνια κατά τις ημέρες της απουσίας μου.

Συντμήσεις

| | |
|--------|--|
| ADP | Διφωσφορική Αδενοσίνη |
| AEDA | Ανάλυση αρώματος αραιωμένου εκχυλίσματος |
| AMP | Μονοφωσφορική Αδενοσίνη |
| ATP | Τριφωσφορική Αδενοσίνη |
| BHA | Τεταρτοταγής Βουτυλιωμένη Υδροξυανισόλη |
| BHT | Βουτυλιωμένο Υδροξυτολουόλιο |
| DHA | Εικοσιδυοεξαενοϊκό οξύ |
| E- | <i>Trans</i> - διαμόρφωση διπλού δεσμού |
| EPA | Εικοσιπενταενοϊκό οξύ |
| FAO | Οργανισμός Τροφίμων και Γεωργίας των Ηνωμένων Εθνών |
| FFA | Ελεύθερα λιπαρά οξέα |
| GC | Αέρια Χρωματογραφία |
| GC/MS | Αέρια χρωματογραφία/φασματομετρία μάζας |
| GC-FID | Αέρια χρωματογραφία με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας |
| GC-O | Αέρια χρωματογραφία-συνδυασμένη με οσμηρομετρία |
| HCMR | Ελληνικό Κέντρο Θαλασσιών Ερευνών (ΕΛΚΕΘΕ) |
| HPLC | Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης |
| Hx | Υποξανθίνη |
| IMP | Μονοφωσφορική ινοσίνη |
| ISO | Διεθνής Οργανισμός Τυποποίησης |
| LOX | Λιποξυγονάση |
| NADPH | Φωσφορικό νικοτιναμίδο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο |
| OG | Γαλλικός οκτυλεστέρας (Octyl gallate) |
| PG | Γαλλικός προπυλεστέρας (Propyl gallate) |
| PL | Φωσφολιπίδιο |
| ppb | Μέρη ανά δισεκατομμύριο (mg/kg) |
| ppm | Μέρη ανά εκατομμύριο (μg/kg) |
| ppt | Μέρη ανά τρισεκατομμύριο (ng/kg) |
| PUFAs | Πολυακόρεστα λιπαρά οξέα |
| SAFE | Απόσταξη αρωματικών συστατικών υποβοηθούμενη από διαλύτη (Solvent Assisted Flavor Evaporation) |
| SDE | Ταυτόχρονη Απόσταξη Εκχύλιση |
| SFE | Εκχύλιση με υπεκρίσιμα υγρά (Supercritical Fluid Extraction) |

| | |
|------|---|
| SPME | Μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (Solid Phase Microextraction) |
| TBHQ | Τεταρτοταγής Βουτυλοϋδροκινόνη |
| NPN | Μη Πρωτεϊνικό Άζωτο |
| TMA | Τριμεθυλαμίνη |
| TMAO | Οξείδιο της τριμεθυλαμίνης |
| Z- | <i>Cis</i> - διαμόρφωση διπλού δεσμού |

Περιεχόμενα

| | |
|---|----|
| 1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ | 1 |
| 2. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ | 7 |
| 2.1 ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΥΠΟ ΜΕΛΕΤΗ ΕΙΔΩΝ | 7 |
| <u>2.1.1 Μεσογειακές υδατοκαλλιέργειες</u> | 7 |
| <u>2.1.2 Ελληνική ιχθυοκαλλιέργεια</u> | 8 |
| <u>2.1.3 Βιολογία και εκτροφή κρανιού (Meagre, <i>Argyrosomus regius</i>)</u> | 10 |
| <u>2.1.3.1 Φυσικό περιβάλλον και βιολογία</u> | 10 |
| <u>2.1.3.1 Αλίευση και εκτροφή κρανιού</u> | 12 |
| <u>2.1.4 Βιολογία και εκτροφή φαγκριού (Red porgy, <i>Pagrus pagrus</i>, Linnaeus 1758)</u> | 13 |
| <u>2.1.4.1 Φυσικό περιβάλλον και βιολογία</u> | 13 |
| <u>2.1.4.2 Εκτροφή φαγκριού</u> | 15 |
| 2.2 ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΙΧΘΥΩΝ | 17 |
| <u>2.2.1 Παράγοντες που επιδρούν στην ποιότητα των ιχθύων</u> | 17 |
| <u>2.2.1.1 Παράγοντες που επιδρούν στο χρωματισμό του μυϊκού ιστού</u> | 19 |
| <u>2.2.2 Λιπίδια</u> | 20 |
| <u>2.2.2.1 Γενικά στοιχεία</u> | 20 |
| <u>2.2.2.2 Λιπαρά οξέα</u> | 20 |
| <u>2.2.3 Πρωτεΐνες</u> | 23 |
| <u>2.2.4 Αζωτούχες εκχυλισματικές ουσίες</u> | 24 |
| <u>2.2.5 Διατροφική αξία των ιχθύων</u> | 25 |
| <u>2.2.5.1 Λιπαρά οξέα</u> | 25 |
| <u>2.2.5.2 Βιταμίνες και ανόργανα συστατικά</u> | 26 |
| <u>2.2.6 Άρωμα – Προφίλ πτητικών ενώσεων</u> | 28 |
| <u>2.2.6.1 Άρωμα (Flavor)</u> | 28 |
| <u>2.2.6.2 Άρωμα – Οσμή ιχθύων- Γενικά</u> | 29 |
| <u>2.2.6.3 Μεταβολές του αρώματος κατά τη μεταθανάτια διαδικασία: αλλοίωση</u> | 30 |
| <u>2.2.7 Αξιολόγηση της ποιότητας των ιχθύων</u> | 33 |
| <u>2.2.7.1 Οργανοληπτικές μέθοδοι</u> | 34 |
| <u>2.2.7.2 Οργανοληπτικός Έλεγχος</u> | 35 |
| <u>2.2.7.3 Μέθοδοι Οργανοληπτικής Αξιολόγησης</u> | 35 |
| <u>2.2.8 Ποιοτική αξιολόγηση ιχθύων και προϊόντων τους</u> | 36 |
| <u>2.2.8.1 Τριγωνική δοκιμή</u> | 36 |
| <u>2.2.8.2 Ταξινόμηση (Ranking)</u> | 37 |
| <u>2.2.8.3 Περιγραφή του προφίλ (Profiling)</u> | 37 |
| <u>2.2.8.4 Στατιστικά δεδομένα</u> | 37 |
| <u>2.2.8.5 Εκπαίδευση των αξιολογητών</u> | 38 |
| <u>2.2.8.6 Εγκαταστάσεις</u> | 38 |
| <u>2.2.8.7 Μαγείρεμα</u> | 38 |

| | |
|---|-----------|
| 2.2.9 Πτητικές ενώσεις ως δείκτες φρεσκότητας και αλλοίωσης | 39 |
| 2.2.9.1 Πτητικές ενώσεις (Σχέση φρεσκότητας - Οξείδωσης λιπαρών οξέων – Αρώματος ιχθύων) .. | 39 |
| 2.2.9.2 Πτητικές ενώσεις σε φρέσκους ιχθύς..... | 41 |
| 2.2.9.3 Πτητικές ενώσεις από μικροβιολογική αλλοίωση και οξείδωση | 44 |
| 2.2.9.4 Πτητικές ενώσεις προερχόμενες από το περιβάλλον και από την επεξεργασία των ιχθύων ... | 48 |
| 2.2.10 Σχέση λιπιδικής σύστασης – Αρώματος ιχθύων | 50 |
| 2.2.10.1 Προέλευση πτητικών ενώσεων που ανιχνεύονται σε ιστούς των ιχθύων..... | 50 |
| 2.2.10.2 Μεταβολές κατά το μαγείρεμα - Επεξεργασμένα τρόφιμα | 53 |
| 2.2.11 Όρια ανίχνευσης οσμών (Odour Threshold) | 54 |
| 2.2.12 Φυσικά αντιοξειδωτικά | 55 |
| 2.3 ΑΝΑΛΥΣΗ ΠΤΗΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ – ΑΡΩΜΑΤΟΣ..... | 56 |
| 2.3.1 Μεθοδολογίες ανάλυσης αρώματος - Γενικά..... | 56 |
| 2.3.2 Προετοιμασία δείγματος | 58 |
| 2.3.3. Μέθοδοι εκχύλισης των αρωματικών ουσιών | 59 |
| 2.3.3.1 Εκχύλιση με χρήση διαλυτών..... | 59 |
| 2.3.3.2 Εκχύλιση με υδρατμούς και εκχύλιση υπό κενό με υδρατμούς..... | 59 |
| 2.3.3.3 Ταυτόχρονη απόσταξη – Εκχύλιση (simultaneous distillation-extraction, SDE)..... | 60 |
| 2.3.3.4 Απόσταξη υψηλού κενού (solvent assisted flavor evaporation, SAFE) | 61 |
| 2.3.3.5 Ανάλυση υπερκείμενων αερίων (Headspace Analysis) | 62 |
| 2.3.3.6 Προσρόφιση | 62 |
| 2.3.3.7 Μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (SPME)..... | 62 |
| 2.3.4 Διαχωρισμός και ταυτοποίηση των αρωματικών ενώσεων | 63 |
| 2.3.4.1 Ποσοτική ανάλυση των αρωματικών ενώσεων..... | 63 |
| 2.3.4.2 Ανίχνευση και χαρακτηρισμός πτητικών ενώσεων με αέρια χρωματογραφία - οσμημετρία (Gas Chromatography Olfactometry, GC-O)..... | 64 |
| 2.3.4.3 Ηλεκτρονική μύτη (electronic nose) | 65 |
| 3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ | 66 |
| 3.1 Προσδιορισμός σύστασης ιστών των ιχθύων | 66 |
| 3.1.1 Συντήρηση – Προετοιμασία δειγμάτων | 66 |
| 3.1.2 Προσδιορισμός υγρασίας..... | 66 |
| 3.1.3 Προσδιορισμός τέφρας | 66 |
| 3.1.4 Ποσοτικός προσδιορισμός πρωτεϊνών με την μέθοδο Kjeldahl | 67 |
| 3.1.5 Προσδιορισμός λίπους..... | 68 |
| 3.2 Προσδιορισμός λιπαρών οξέων | 69 |
| 3.2.1 Απομόνωση των ολικών λιπιδίων | 69 |
| 3.2.2 Παρασκευή μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων (Christie, 1969) | 70 |
| 3.2.3 Άμεση μεθυλεστεροποίηση λιπαρών οξέων σε ιχθυοτροφές | 71 |
| 3.2.3.1 Διαχωρισμός και ταυτοποίηση μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων με αέρια χρωματογραφία με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (GC-FID) (Fountoulaki et al., 2003) | 72 |
| 3.3 Προσδιορισμός α-τοκοφερόλης (βιταμίνη E) με HPLC (Bai & Gatlin, 1992) | 72 |

| | |
|--|-----|
| 3.4 Προσδιορισμός αμινοξέων..... | 74 |
| 3.5 Ποιοτική και ποσοτική ανάλυση πτητικών ενώσεων | 75 |
| <u>3.5.1 Διαδικασία εκχύλισης των πτητικών συστατικών</u> | 76 |
| <u>3.5.2. Διαδικασία συμπύκνωσης</u> | 77 |
| <u>3.5.3 Διαχωρισμός, ταυτοποίηση και ποσοτική ανάλυση πτητικών συστατικών με αέρια χρωματογραφία - φασματομετρία μάζας (GC-MS)</u> | 78 |
| <u>3.5.4 Κατασκευή καμπυλών αναφοράς</u> | 79 |
| <u>3.5.5 Βελτιστοποίηση των συνθηκών ανάλυσης πτητικών συστατικών</u> | 79 |
| 3.6 Πείραμα ανάκτησης | 84 |
| | |
| 4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ | 88 |
| 4.1 Βελτιστοποίηση μεθόδου απομόνωσης και προσδιορισμού πτητικών συστατικών που χαρακτηρίζουν το άρωμα ιχθύων και θαλασσινών του Αιγαίου. | 88 |
| <u>4.1.1 Εισαγωγή</u> | 88 |
| <u>4.1.2 Υλικά και Μέθοδοι</u> | 89 |
| <u>4.1.2.1 Δείγματα ιχθύων και θαλασσινών</u> | 89 |
| <u>4.1.3 Αποτελέσματα - Συζήτηση</u> | 91 |
| <u>4.1.4 Συμπεράσματα</u> | 98 |
| 4.2 Επίδραση της λιποπερικτικότητας της τροφής στις παραμέτρους ποιότητας εκτρεφόμενων κρانيών (<i>Argyrosomus regius</i>) | 99 |
| <u>4.2.1 Εισαγωγή</u> | 99 |
| <u>4.2.2.1 Εκτροφή και δειγματοληψία των ιχθύων</u> | 100 |
| <u>4.2.2.2 Αναλυτικές μέθοδοι</u> | 101 |
| <u>4.2.3 Αποτελέσματα - Συζήτηση</u> | 101 |
| <u>4.2.3.1 Επίδραση των σιτηρεσιών στην σύσταση των φιλέτων και την περιεκτικότητα σε α-τοκοφερόλη</u> | 101 |
| <u>4.2.3.2 Επίδραση των σιτηρεσιών στο προφίλ λιπαρών οξέων</u> | 102 |
| <u>4.2.3.3 Προσδιορισμός των πτητικών ουσιών που χαρακτηρίζουν το άρωμα του κρانيού</u> | 105 |
| <u>4.2.4 Συμπεράσματα</u> | 113 |
| 4.3 Σύσταση και οργανοληπτική αξιολόγηση της ποιότητας εκτρεφόμενων κρانيών (<i>Argyrosomus regius</i>) διαφορετικού μεγέθους. | 115 |
| <u>4.3.1 Εισαγωγή</u> | 115 |
| <u>4.3.2 Υλικά και μέθοδοι</u> | 115 |
| <u>4.3.2.1 Εκτροφή και δειγματοληψία των ψαριών</u> | 115 |
| <u>4.3.2.2 Σωματομετρικά χαρακτηριστικά- Σύσταση φιλέτου</u> | 116 |
| <u>4.3.2.3 Γευστική αξιολόγηση</u> | 116 |
| <u>4.3.2.4 Προσδιορισμός λιπαρών οξέων - Πτητικών συστατικών</u> | 117 |
| <u>4.3.2.5 Ανάλυση αμινοξέων</u> | 117 |
| <u>4.3.2.6 Στατιστική ανάλυση</u> | 117 |
| <u>4.3.3 Αποτελέσματα - Συζήτηση</u> | 117 |
| <u>4.3.4 Συμπεράσματα</u> | 127 |

| | |
|--|-----|
| 4.4 Επίδραση της αύξησης του σωματικού βάρους στην ποιότητα εκτρεφόμενων κρانيών (<i>Argyrosomus regius</i>) | 128 |
| <u>4.4.1</u> Εισαγωγή | 128 |
| <u>4.4.2</u> Υλικά και μέθοδοι | 129 |
| <u>4.4.2.1</u> Εκτροφή και δειγματοληψία των ψαριών | 129 |
| <u>4.4.2.2</u> Σωματομετρικά χαρακτηριστικά - σύσταση σώματος | 129 |
| <u>4.4.2.3</u> Προσδιορισμός λιπαρών οξέων - Πτητικών συστατικών | 129 |
| <u>4.4.2.4</u> Στατιστική ανάλυση | 130 |
| <u>4.4.3</u> Αποτελέσματα – Συζήτηση | 130 |
| <u>4.4.4</u> Συμπεράσματα | 136 |
| 4.5 Εποχική διαφοροποίηση της ποιότητας εκτρεφόμενων φαγκριών (<i>Red porgy, Pagrus pagrus, Linnaeus 1758</i>) | 137 |
| <u>4.5.1</u> Εισαγωγή | 137 |
| <u>4.5.2</u> Υλικά και μέθοδοι | 138 |
| <u>4.5.2.1</u> Εκτροφή και δειγματοληψία των ψαριών | 138 |
| <u>4.5.2.2</u> Σωματομετρικά χαρακτηριστικά - Σύσταση φιλέτου | 139 |
| <u>4.5.2.3</u> Προσδιορισμός λιπαρών οξέων - Πτητικών συστατικών | 139 |
| <u>4.5.2.4</u> Στατιστική ανάλυση | 139 |
| <u>4.5.3</u> Αποτελέσματα - Συζήτηση | 140 |
| <u>4.5.4</u> Συμπεράσματα | 146 |
| | |
| 5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ | 147 |
| 5.1 Λιπαρά οξέα | 147 |
| <u>5.1.1</u> Επίδραση της εποχικότητας στο προφίλ λιπαρών οξέων κρانيού-φαγκριού | 154 |
| <u>5.1.2</u> Δείκτες αθηρωμάτωσης και θρομβογένεσης | 155 |
| 5.2 Πτητικά Συστατικά | 157 |
| <u>5.2.1</u> Προέλευση Πτητικών Ενώσεων | 157 |
| <u>5.2.2</u> Αξιολόγηση Πτητικών Ενώσεων | 163 |
| <u>5.2.3</u> Επίπεδα – Κατηγοριοποίηση οσμών | 175 |
| 5.3 Διατροφική αξιολόγηση | 181 |
| 5.4 Οικονομοτεχνική ανάλυση ιχθυοκαλλιέργειας κρانيού | 185 |
| | |
| 6. ΤΕΛΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ | 187 |
| ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ - ΠΕΡΑΙΤΕΡΩ ΕΡΕΥΝΑ | 189 |

1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι ιχθύες αναγνωρίζονται ως ιδανική επιλογή διατροφής, παρέχοντας πρωτεΐνη υψηλής διατροφικής αξίας, ενώ το λίπος τους περιέχει σημαντικές ποσότητες πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFA) και κυρίως ω3 λιπαρών που έχει αποδειχθεί ότι έχουν ευεργετική επίδραση στην υγεία μας. Σύμφωνα με τον Οργανισμό Τροφίμων και Γεωργίας των Ηνωμένων Εθνών (FAO 2012), τα τελευταία χρόνια οι ιχθύες αντιπροσώπευαν το 16,6% της παγκόσμιας πηγής ζωικής πρωτεΐνης και το 6,5% της συνολικής πρωτεΐνης που καταναλώνεται.

Οι εκτρεφόμενοι ιχθύες κατέχουν ένα σημαντικό και αυξανόμενο μερίδιο στην αγορά των ιχθυηρών, ενώ υπάρχει αυξημένη ζήτηση για εισαγωγή νέων ειδών στην ιχθυοκαλλιέργεια, που θα προσφέρουν ένα ευρύτερο φάσμα προϊόντων στους καταναλωτές. Ωστόσο, η εκτροφή των περισσότερων από αυτά τα είδη είναι ακόμη σε πειραματικό ή πιλοτικό στάδιο και υπάρχουν σημαντικά κενά στη σχετική βιβλιογραφία. Η παρούσα διατριβή στοχεύει στην βελτίωση της γνώσης μας σχετικά με τη διατροφική αξία, την ποιότητα και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του κρانيού (*Argyrosomus regius*) και του φαγκριού (*Pagrus pagrus*), που βρίσκονται μεταξύ των περισσότερο υποσχόμενων ειδών για τον εμπλουτισμό των Μεσογειακών ιχθυοκαλλιεργειών.

Τα συγκεκριμένα είδη επιλέχθηκαν με γνώμονα τα βιολογικά χαρακτηριστικά και την οικονομική τους προοπτική, δεδομένου ότι έχουν γρήγορο ρυθμό αύξησης, φθάνουν σε μεγάλο μέγεθος και δίνουν τη δυνατότητα παραγωγής προϊόντων υψηλής προστιθέμενης αξίας. Αναμένεται να βοηθήσουν στην αύξηση της παραγωγής, της ποικιλίας παραγόμενων προϊόντων, καθώς και στη δημιουργία νέων αγορών.

Στα πλαίσια της παρούσας διατριβής σχεδιάστηκαν και πραγματοποιήθηκαν τέσσερα πειράματα εκτροφής:

1) Μελέτη της επίδρασης της ποσότητας και της σύστασης του λίπους της τροφής στην ποιότητα των κρانيών (διάρκεια 2 μηνών), 2) Μελέτη της επίδρασης της αύξησης του μεγέθους στην ποιότητα των κρانيών (διάρκεια 8 μηνών), 3) μελέτη της αύξησης του σωματικού βάρους στην ποιότητα των κρانيών (διάρκεια 10 μηνών) και 4) μελέτη της επίδρασης της εποχικότητας στην ποιότητα φαγκριών (διάρκεια 12 μηνών). Σε όλα τα πειράματα έγινε καταγραφή των σωματομετρικών παραμέτρων και προσδιορίστηκαν η σύσταση σώματος, το προφίλ των λιπαρών οξέων, των αμινοξέων και των πτητικών ενώσεων και -όπου αυτό ήταν εφικτό- έγινε οργανοληπτική αξιολόγηση των ιχθύων (υφή, γεύση, άρωμα). Επίσης, έγινε σύγκριση ανάμεσα σε άγρια (διάφορα Μεσογειακά ψάρια και άγριος κρانيός) και εκτρεφόμενα άτομα.

Τα λιπαρά οξέα αναλύθηκαν με αέρια χρωματογραφία (GC-FID), τα αμινοξέα με HPLC και τα πτητικά συστατικά αφού απομονώθηκαν με ταυτόχρονη απόσταξη/εκχύλιση σε συσκευή Likens-Nickerson, προσδιορίστηκαν με αέρια χρωματογραφία φασματοσκοπία μάζας (GC/MS).

Η αποδοχή των ψαριών από τους καταναλωτές, πέρα από τους κανόνες υγιεινής και από την εμφάνιση, εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το άρωμα τους, το οποίο είναι χαρακτηριστικό για κάθε είδος ψαριού. Στα πλαίσια της μελέτης, ιδιαίτερη έμφαση δόθηκε στη μελέτη των λιπαρών οξέων, τα οποία αν και δεν συμμετέχουν άμεσα στη διαμόρφωση του αρώματος, είναι σημαντικά διότι είναι πρόδρομες ενώσεις πτητικών συστατικών που διαμορφώνουν το χαρακτηριστικό άρωμα των ιχθύων και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη συνολική ποιότητά τους.

Οι κυριότερες κατηγορίες πτητικών ενώσεων που ανιχνεύθηκαν σε καλλιεργημένα άτομα των δύο ειδών, είναι οι αλκοόλες, οι κετόνες, οι αλδεΐδες και οι υδρογονάνθρακες. Κάποιες από τις ενώσεις αυτές έχουν χαμηλά κατώφλια ανίχνευσης και επηρεάζουν τις οργανοληπτικές ιδιότητες ακόμα και σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις.

Στους μυς του κρανίου ανιχνεύθηκαν 68-83 πτητικές ενώσεις. Από τις πτητικές ενώσεις οι αλκοόλες φάνηκαν να επηρεάζονται από την σύσταση της τροφής, ενώ οι καρβονυλικές ενώσεις και οι υδρογονάνθρακες μειώνονταν με το μέγεθος. Αντίθετα, τα μικρότερα άτομα περιείχαν συνολικά περισσότερες πτητικές ενώσεις. Επιπρόσθετα, οι καρβονυλικές ενώσεις, οι οποίες είναι γνωστό ότι προέρχονται από τα λιπαρά οξέα, βρέθηκε ότι συσχετίζονται με την λιποπερικτικότητα των κρανίων.

Η οργανοληπτική εξέταση έδειξε ότι υπάρχει ιδιαίτερη διαφοροποίηση στη ποιότητα μεταξύ κρανίων σχετικά μικρού και μεγάλου μεγέθους. Τέλος, σε όλα τα πειράματα η περιεκτικότητα σε λίπος κυμάνθηκε στα χαμηλά επίπεδα που είναι χαρακτηριστικά για το είδος.

Στο φαγκρί ανιχνεύθηκαν περισσότερες από 100 πτητικές ενώσεις. Το χειμώνα παρατηρήθηκαν οι υψηλότερες συγκεντρώσεις υδρογονανθράκων, κυρίως πριτανίου, που συσχετίστηκαν με την αυξημένη λιποπερικτικότητα. Επίσης, ή αύξηση της λιποπερικτικότητας των ιστών του φαγκριού, είχε ως αντίκτυπο τη μείωση της ολικής συγκέντρωσης των κετονών. Την άνοιξη παρατηρήθηκαν οι υψηλότερες συγκεντρώσεις ενώσεων με «θετικά» αρώματα, ακολουθούμενη από το καλοκαίρι.

Γενικότερα στα άγρια, μη εκτρεφόμενα ψάρια (ιχθύες και θαλασσινά της Μεσογείου και άγριος κρανιός) τα οποία περιείχαν αυξημένα ποσοστά ω3 λιπαρών οξέων, καταγράφηκε έντονη παρουσία πτητικών ενώσεων που προσδίδουν θετικές νότες (οσμή γρασιδιού, αγγουριού, φρουτώδες άρωμα) ενώ στους άγριους, μη εκτρεφόμενους ιχθύς, οι οποίοι περιείχαν αυξημένα ποσοστά ω6 λιπαρών οξέων, επικράτησαν σε μεγάλο βαθμό οι ενώσεις που προκαλούν οσμές ψαριού.

Συμπερασματικά, αν και υπάρχει διαφοροποίηση της ποιότητας-αρώματος μεταξύ άγριων και καλλιεργουμένων ατόμων οι ιχθυοκαλλιεργητές είναι -ως ένα βαθμό- σε θέση να «σχεδιάσουν» την χημική σύσταση - άρωμα των ιχθυηρών ελέγχοντας τις συνθήκες της εκτροφής τους.

ABSTRACT

Fish are generally recognized as an ideal food choice, providing high quality protein and lipids rich in the health - promoting long chain n-3 polyunsaturated fatty acids (RUFAs). According to the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO 2012), in the past years, fish represented 16.6% of the world population's source of animal protein and 6.5% of all protein consumed.

Farmed fish represent a growing portion of marketed fish and there is a demand of introducing new species in aquaculture, which will offer the consumers a range of new products. As to date, the rearing for most of these species is still in experimental or pilot stage, our research aimed to produce knowledge for the nutritional value, quality and organoleptic characteristics of farmed meagre (*Argyrosomus regius*) and red porgy (*Pagrus pagrus*), which are among the most promising fish species for the diversification of Mediterranean aquaculture.

The selection of these two species was based on their biological characteristics and economic perspective for aquaculture. They have a high growth rate, they reach large sizes and allow the production of various high value-added products.

In this study four farming experiments were designed:

1) The effect of the dietary fat amount and composition on the quality of cultured meagre (duration two months), 2) the effect of size increase on the quality of meagre (duration eight months), 3) the effect of body size/weight on the quality of meagre (duration 10 months) and 4) the effect of seasonality on the quality of red porgy (duration 12 months). In all experiments fish somatometric parameters were recorded and the crude composition, fatty acids, amino acids and volatile compounds were determined. In addition, whenever possible, a sensory evaluation of meagre fillets (texture, taste, flavor) was carried out. Also, a comparison was made between wild (several Mediterranean species and meagre) and farmed individuals.

Fatty acids were analyzed by gas chromatography (GC-FID), amino acids by HPLC, while volatile aroma compounds were isolated by simultaneous distillation/extraction in a Likens-Nickerson apparatus and analyzed by gas chromatography/mass spectroscopy (GC / MS).

The acceptance of the consumers, depends largely on their flavor, which is characteristic for each fish species. In this study, the fatty acid profiles of fish fillets were extensively studied, as some of them are precursors of volatile substances which contribute to the characteristic flavor of fish and fish products and play a significant role in their overall quality. The main categories of volatile compounds were alcohols, ketones, aldehydes and hydrocarbons, some of which have low odour thresholds and therefore could affect fish sensory quality even at very low concentrations.

In meagre fillets, 68-83 a total number of volatile compounds was detected, which potentially contribute to the samples aroma profile. The levels of volatile alcohols were influenced by meagre diet, while carbonyl compounds and hydrocarbons tended to decrease with meagre size. This was also confirmed by total volatiles that were found elevated in the smaller fish. In addition, carbonyl compounds known to be derived from the fish fatty acids, correlated with the fat content of the samples.

The sensory evaluation indicated that there was particular difference in quality between small and large meagres. Finally, in all experiments the fat content remained at low levels, which are typical for the species.

More than 100 volatile compounds were detected in red porgy fillets. The fat content of the fillets affects positively the amount of hydrocarbons, both being higher during the winter, while the opposite trend was observed for ketones. During spring, the compounds that are related with "positive" flavors reached maximum levels, followed by summer.

In agreement with literature, the wild individuals (Mediterranean fish and seafood and wild meagre) which contained elevated levels of $\omega 3$ fatty acids, contained also significant amounts of volatile compounds that give positive notes (grass, cucumber or fruity aroma) while the farmed individuals, which contained elevated levels of $\omega 6$ fatty acids, prevailed the compounds that cause fishy flavors.

In conclusion, although there is clearly differentiation in the quality-flavor between wild and cultivated fish, fish farmers are –in some extend- able to “interfere to the produce quality to some extend” the chemical composition - aroma of cultivated fish by controlling the rearing and feeding conditions.

Σκοπός

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η διερεύνηση των παραμέτρων ποιότητας των νέων εκτρεφόμενων Μεσογειακών ειδών ιχθύων, συγκεκριμένα του κρανιού (*Argyrosomus regius*), και του φαγκριού (*Ragrus ragrus*). Για το σκοπό αυτό μελετήθηκαν τα ακόλουθα:

- i. Τα κύρια συστατικά του εδώδιμου τμήματος των ιχθύων
- ii. Τα λιπαρά οξέα στα λιπίδια του εδώδιμου τμήματος των ιχθύων
- iii. Τα επίπεδα φυσικών αντιοξειδωτικών (τοκοφερόλες)
- iv. Οι οργανοληπτικές ιδιότητες (εξωτερική εμφάνιση, γεύση, άρωμα και υφή)
- v. Τα πτητικά συστατικά και κυρίως αυτά που χαρακτηρίζουν το άρωμα του εδώδιμου τμήματος

Επιπρόσθετα, διερευνήθηκε η επίδραση που ασκούν στην ποιότητα των υπό μελέτη ειδών οι ακόλουθοι παράγοντες:

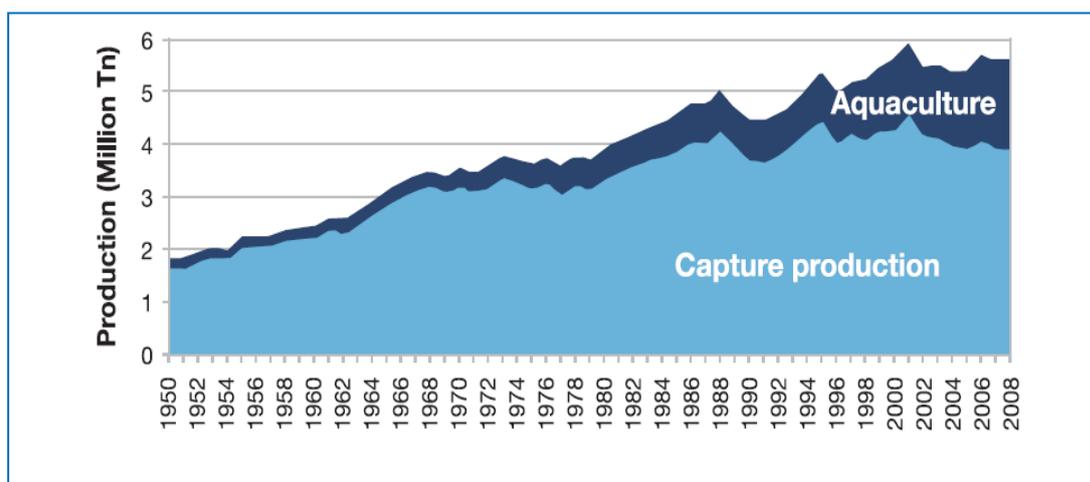
- i. Η εποχική διαφοροποίηση (επίδραση θερμοκρασίας, αφθονίας τροφής)
- ii. Η επίδραση του σιτηρεσίου (δοκιμές διαφόρων πειραματικών σιτηρεσίων)
- iii. Ο ρόλος του μεγέθους (σωματικού βάρους) του ιχθύος
- iv. Η επίδραση της αύξησης του σωματικού βάρους του ιχθύος
- v. Σύγκριση εκτρεφόμενων ψαριών με άγρια (αλιευμένα) άτομα

2.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

2.1 ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΥΠΟ ΜΕΛΕΤΗ ΕΙΔΩΝ

2.1.1 Μεσογειακές υδατοκαλλιέργειες

Τις τελευταίες τρεις δεκαετίες η Μεσογειακή υδατοκαλλιέργεια έχει παρουσιάσει αξιοσημείωτη ανάπτυξη, από τους 700.000 τόνους ετήσιας παραγωγής το 1990 σε 1.700.000 τόνους το 2008 (FAO, 2008).



Εικόνα 2.1: Παραγωγή ιχθύων από αλιεία και υδατοκαλλιέργειες στην περιοχή της Μεσογείου, κατά την περίοδο 1950-2008 (FAO, 2008)

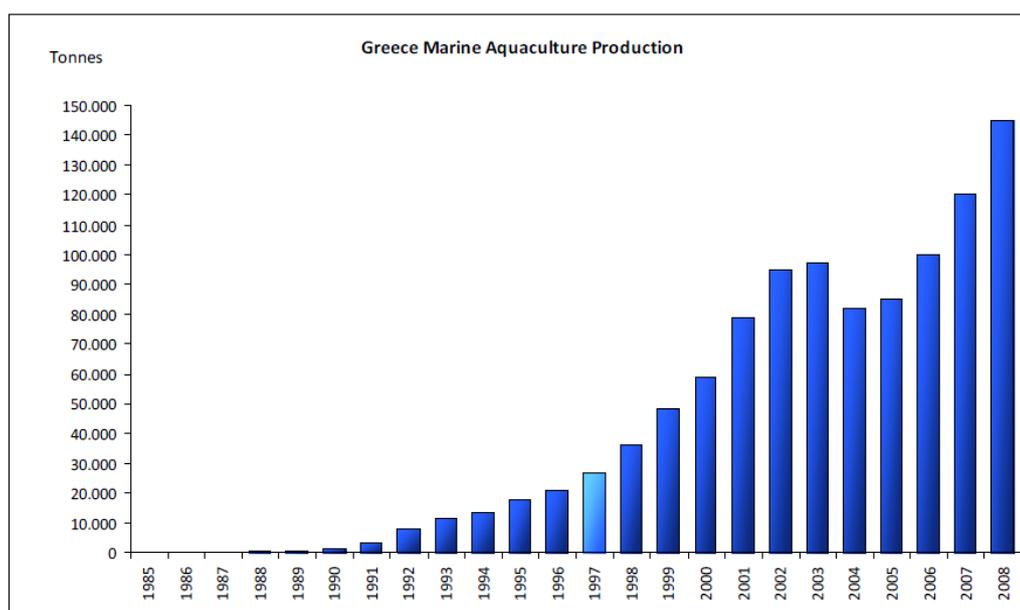
Η σύγχρονη Μεσογειακή υδατοκαλλιέργεια περιλαμβάνει την καθιερωμένη από χρόνια καλλιέργεια μαλακίων και στρειδιών, πέστροφας και θαλάσσιων ιχθύων. Αν και τα τελευταία χρόνια έχει γίνει εκτεταμένη και πολλά υποσχόμενη έρευνα για εκτροφή γόνου πολλών νέων ειδών, εν τούτοις η παραγωγή εστιάζεται σχεδόν αποκλειστικά σε είδη υψηλής αξίας και ζήτησης όπως η τσιπούρα (gilthead seabream, *Sparus aurata* L.), το λαυράκι (European sea bass, *Dicentrarchus labrax* L.) και το καλκάνι (Turbot, *Psetta maxima*).

Κατά τους Doxa et al. (2011) η θαλάσσια ιχθυοκαλλιέργεια της Ευρώπης κυριαρχείται από τρία είδη, το σολομό (Atlantic salmon, *Salmo salar* L.), το λαβράκι και την τσιπούρα. Στη Μεσόγειο η εκτροφή περιορίζεται στην τσιπούρα και το λαβράκι (Kalinowski et al., 2005) και αποτελεί μια από τις κύριες πηγές παραγωγής ιχθύων στην Ευρωπαϊκή ένωση, με την παραγωγή τσιπούρας και λαυρακιού να έχουν αυξηθεί από 3.833 και 2.944 τόνους το 1990, σε 143.295 και 131.509 τόνους το 2010, αντίστοιχα (Committee on Aquaculture, 2013; Hernandez et al., 2001).

Οι σημαντικότερες χώρες παραγωγής τσιπούρας είναι η Ελλάδα (42,8%), η Τουρκία (20,4%) και η Ισπανία (13,3%), ενώ για το λαβράκι είναι η Τουρκία (39,5%), η Ελλάδα (27,5%) και η Αίγυπτος (12,4%) (Committee on Aquaculture, 2013).

2.1.2 Ελληνική ιχθυοκαλλιέργεια

Στην Ελλάδα η πρώτη σύγχρονη θαλάσσια ιχθυοκαλλιέργεια ιδρύθηκε το 1981 και είχε ετήσια παραγωγή 90 τόνων (1985) από τη λειτουργία 12 μονάδων. Η Ελληνική ιχθυοπαραγωγή αναπτύχθηκε τα επόμενα χρόνια με ένα εντυπωσιακό 47% κατά μέσο όρο ετησίως, και έφθασε σε παραγωγή 145,000 τόνων το 2008 (Εικόνα 2.2) (Barazi, 2010). Τα φυσικά πλεονεκτήματα, η γεωγραφική της θέση, η μεγάλη ακτογραμμή με τους πολλούς κόλπους, οι ευνοϊκές κλιματικές συνθήκες και η εθνική και Ευρωπαϊκή βοήθεια για επενδύσεις στην υποδομή αναμφισβήτητα βοήθησαν την εντυπωσιακή ανάπτυξη της Ελληνικής υδατοκαλλιέργειας.

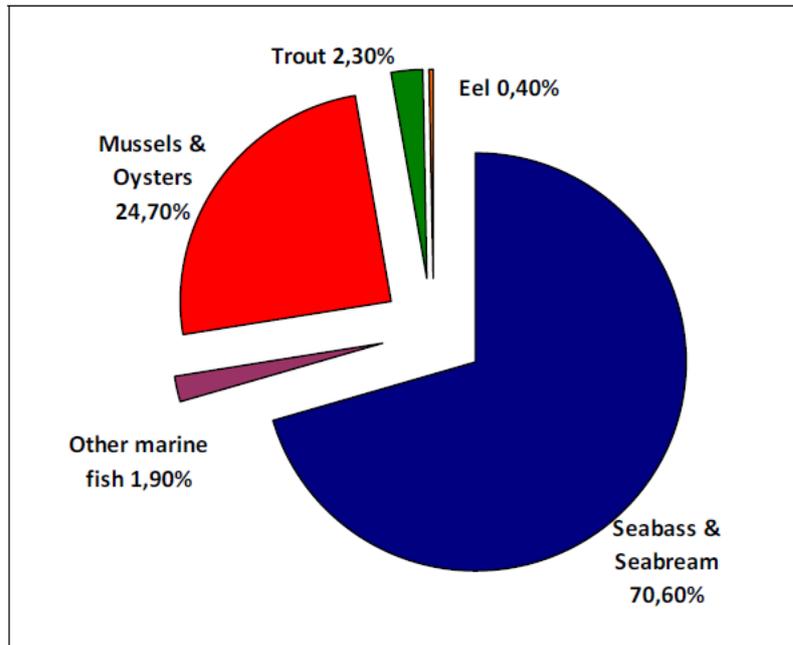


Εικόνα 2.2: Παραγωγή θαλάσσιας ιχθυοκαλλιέργειας στην Ελλάδα κατά τα έτη 1985-2008

Πηγή: FEAP, FGM (Barazi, 2010)

Η ιχθυοκαλλιέργεια έχει εδραιωθεί ως ο ταχύτερα αναπτυσσόμενος κλάδος της πρωτογενούς παραγωγής της χώρας μας και κατατάσσεται στις κορυφαίες θέσεις σε αξία εξαγωγών αγροτικών προϊόντων, παρέχοντας σημαντική στήριξη στην εθνική οικονομία. Η Ελλάδα κατέχει σήμερα τη μεγαλύτερη παραγωγή καλλιεργούμενης τσιπούρας και λαυρακιού στη Μεσόγειο, με τα καλλιεργούμενα είδη να αποτελούν εθνικό προϊόν όπως το ελαιόλαδο, το βαμβάκι και ο καπνός.

Σε ορισμένες αγορές της ΕΕ, όπως της Ιταλίας, της Ισπανίας, της Γαλλίας και του Ηνωμένου Βασιλείου, η τσιπούρα και το λαβράκι της ελληνικής ιχθυοκαλλιέργειας έχουν αποκτήσει τη δική τους 'ταυτότητα' και κατέχουν σημαντικά μερίδια αγοράς. Η Μεσογειακή ιχθυοκαλλιέργεια ταυτίζεται σήμερα σε μεγάλο βαθμό με την Ελλάδα και την ανατολική λεκάνη της Μεσογείου, καθώς η χώρα μας παράγει το 52% της Μεσογειακής παραγωγής.



Εικόνα 2.3: Παραγωγή των κύριων ειδών υδατοκαλλιέργειας στην Ελλάδα το 2007

Πηγή: Med Aqua Market national country report (Barazi, 2010)

Η συνολική παραγωγή της ελληνικής υδατοκαλλιέργειας ήταν περίπου 175,000 τόνοι το 2008, με την παραγωγή τσιπούρας-λαβρακιού να κατέχει το 70,6% της συνολικής παραγωγής, ακολουθούμενη από την παραγωγή μυδιών και στρειδιών με ποσοστό 24,7% και την παραγωγή πέστροφας, άλλων ιχθύων και χελιών (Εικόνα 2.3).

Ο αυξανόμενος πληθυσμός των χωρών της Μεσογείου ευνοεί την ανάγκη για διατήρηση και περαιτέρω ανάπτυξη της υδατοκαλλιέργειας, παρέχοντας στους καταναλωτές προϊόντα υψηλής διατροφικής αξίας σε λογικές τιμές.

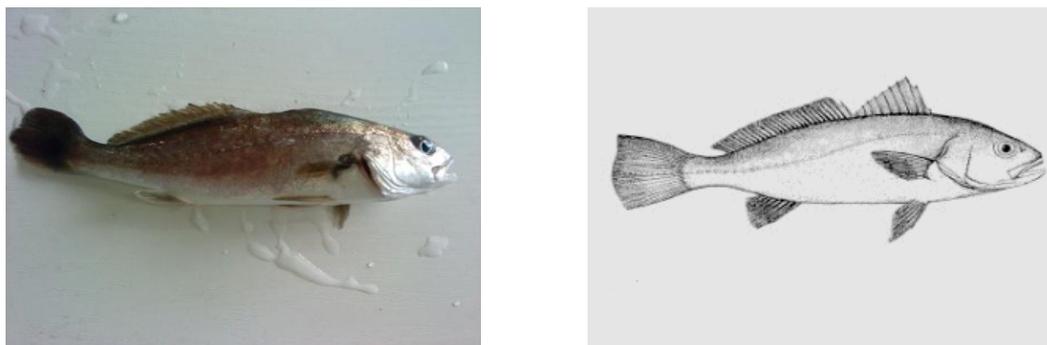
Η προώθηση της παραγωγής και άλλων ειδών ιχθύων θεωρείται σημαντική στρατηγική επιλογή για την μελλοντική ανάπτυξη της εμπορικής ιχθυοκαλλιέργειας (Doxa et al., 2011). Οι μελέτες επικεντρώνονται σε νέα είδη, πολλά από τα οποία ανήκουν στην οικογένεια των σπαριδών (Sparidae) (Kalinowski et al., 2005).

2.1.3 Βιολογία και εκτροφή κρانيού (*Meagre, Argyrosomus regius*)

2.1.3.1 Φυσικό περιβάλλον και βιολογία

Ο κρانيός (*Argyrosomus regius*) συναντάται από τη Νορβηγία μέχρι τη Σενεγάλη στον Α. Ατλαντικό, στη Μεσόγειο και τη Μαύρη Θάλασσα, ενώ μπορεί να βρεθεί και στην Ερυθρά Θάλασσα όπου έχει μεταναστεύσει μέσω της διώρυγας του Σουέζ (Fishbase; Suquet et al., 2009).

Ο κρانيός (Εικόνα 2.4) είναι τελεόστεος ιχθύς, ανήκει στην οικογένεια Sciaenidae και θεωρείται σαρκοφάγος (Roo et al., 2010; Chatzifotis et al., 2010).



Εικόνα 3.4: Κρانيός

Έχει σχετικά μεγάλο κεφάλι με επίμηκες σώμα, το στόμα σε ακραία θέση, μάτια σχετικά μικρά, και πλευρική γραμμή ευδιάκριτη εκτεινόμενη μέχρι το ουραίο πτερύγιο. Το δεύτερο ραχιαίο πτερύγιο είναι μακρύτερο από το πρώτο. Το δεύτερο εδρικό πτερύγιο έχει μία κοντή αγκαθωτή ακτίνα και μια δεύτερη αρκετά λεπτή. Στην νηκτική του κύστη υπάρχουν αρκετές διακλαδισμένες αποφύσεις, οι οποίες δονούμενες μπορούν να παράγουν ένα τυπικό “γρύλισμα”. Έχει αρκετά μεγάλους ωτόλιθους. Χρώμα σώματος γκριζο – ασημί με καφεκίτρινα γνωρίσματα στο νωτιαίο τμήμα του σώματος. Η βάση του πτερυγίου είναι κοκκινωπή - καφέ και η στοματική κοιλότητα κίτρινο - χρυσαφί. Μεταθανάτιο χρώμα καφέ. Φθάνει σε μήκος μέχρι τα δύο μέτρα και σε βάρος μέχρι τα πενήντα κιλά (FAO, 2005).

Η παρουσία του κρانيού εκτείνεται σε όλη τη Μεσόγειο, αν και δεν είναι πολύ κοινός στα νερά γύρω από την Ιταλία και την Ελλάδα. Το μεγαλύτερο σε μέγεθος άτομο έχει βρεθεί κατά μήκος των ακτών της Δυτικής Αφρικής. Ο κόλπος του Ντακάρ στη Σενεγάλη φαίνεται ότι αποτελεί το νοτιότερο όριο εξάπλωσης του είδους (FAO, 2005).

Είναι είδος που ζει σε παράκτια ύδατα και συναντάται στο βυθό της ηπειρωτικής κρηπίδας και κοντά στην επιφάνεια σε βάθη από 15 έως 300m, καθώς επίσης στις εκβολές ποταμών (δέλτα) και λιμνοθάλασσες (Fishbase; Hernández et al., 2009).

Το είδος παραμένει σεξουαλικά αδιαφοροποίητο σχεδόν μέχρι τον ένατο μήνα. Η διαφοροποίηση στα θηλυκά λαμβάνει χώρα νωρίτερα από ότι στα αρσενικά. Γενικότερα ο

κρανιός είναι ένα γονοχωριστικό είδος, του οποίου η σεξουαλική ωρίμανση ολοκληρώνεται κατά το δεύτερο χρόνο στα αρσενικά άτομα και τον τρίτο χρόνο στα θηλυκά (Schianone et al., 2008).

Κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγής ο ενήλικος κρανιός προσεγγίζει την ακτογραμμή στα μέσα Απριλίου, και εισχωρεί στις εκβολές των ποταμών στα τέλη Μαΐου (ανάδρομη μετανάστευση). Κατά την περίοδο αναπαραγωγής τα αρσενικά παράγουν έναν τυπικό βαθύ ήχο πιέζοντας τους κοιλιακούς μύες στη νηκτική κύστη. Από τα μέσα Ιουνίου μέχρι τα τέλη Ιουλίου φεύγουν από τις εκβολές των ποταμών για να τραφούν κατά μήκος των ακτών. Παραμένουν σε ρηχά νερά μέχρι το ξεκίνημα του φθινοπώρου. Στη διάρκεια του χειμώνα ο κρανιός επιστρέφει στα βαθιά νερά (FAO, 2005).

Τα νεαρά ιχθύδια φεύγουν από τις εκβολές των ποταμών στα τέλη του καλοκαιριού και μεταναστεύουν σε παράκτια νερά (βάθους 20-40m) για να περάσουν το χειμώνα. Ξεκινώντας από τα μέσα Μαΐου επιστρέφουν στις πλούσιες σε τροφή εκβολές των ποταμών. Η θερμοκρασία του νερού είναι ο πιο σημαντικός παράγοντας που καθορίζει την μετανάστευση για εύρεση τροφής και αναπαραγωγή του κρανιού. Η άφιξη των ενηλίκων και η αποχώρηση των ιχθυδίων από τις εκβολές των ποταμών λαμβάνει χώρα το Μάιο και τον Οκτώβριο. Η βέλτιστη θερμοκρασία για την ανάπτυξη τους είναι 17-21°C με ένα ανεκτό εύρος από 14-23°C. Ένα θηλυκό μήκους 1,2m γεννά περίπου 800.000 αυγά. Τα γονιμοποιημένα αυγά έχουν διάμετρο 990μm. Τριάντα ώρες μετά την εκκόλαψη το λίπος του λεκιθικού σάκου έχει ολοκληρωτικά απορροφηθεί από τις νεαρές προνύμφες ενώ σε 96 ώρες έχει σχεδόν καταναλωθεί και η πρωτεΐνη και το στόμα της προνύμφης είναι ανοιχτό. Κρανιοί μεγέθους 3,7cm στον ωκεανό έχουν μικρό ποσοστό επιβίωσης. Ο γόνος χρειάζεται θερμοκρασίες πάνω από 20-21°C για να τραφεί. Ανήλικα άτομα (ηλικίας 1 έτους) τρέφονται με μικρά βενθικά ψάρια και οστρακόδερμα. Όταν φτάσουν σε μήκος τα 30-40cm τρέφονται με πελαγικά ψάρια και κεφαλόποδα (FAO, 2005).

Είναι ευρύαλο είδος (μπορεί να επιβιώσει και σε γλυκό και σε αλμυρό νερό) και αυτό καθιστά την εκτροφή του εύκολη ακόμα και στην ενδοχώρα (Hernández et al., 2009).

Οι άγριοι αρσενικοί κρανιοί προσαρμόζονται πολύ καλά σε συνθήκες αιχμαλωσίας και έχουν ήδη δημιουργηθεί αποθέματα αρσενικών γεννητόρων σε εκτροφεία (Suquet et al., 2009). Η αύξηση του βάρους τους επιτυγχάνεται κυρίως κατά την διάρκεια του καλοκαιριού, και η διατροφή τους μειώνεται ουσιαστικά όταν η θερμοκρασία της θάλασσας πέσει κάτω από τους 13°C (FAO, 2005). Σημαντική σωματική αύξηση επιτυγχάνεται από τους 17°C που είναι το ιδανικό μέχρι τους 21 °C. Η ανάπτυξη από το εμβρυικό στάδιο γίνεται με μια πρώιμη διατροφή με τροχόζωα (rotifers) ακολουθούμενη με πλαγκτονικά καρκινοειδή (*Artemia salina*) σε μεγάλες ποσότητες για να αποφευχθεί ο κανιβαλισμός (Suquet et al., 2009). Στην παραθαλάσσια περιοχή

της Γαλλικής Μεσογείου, ο κρανιός φτάνει τα 1,2 kg σε διάστημα 2 ετών σε κλουβιά με τελική ιχθυοφόρτιση 50 kg/m³ (Suquet et al., 2009).

2.1.3.1 Αλίευση και εκτροφή κρανιού

Η αλίευση του κρανιού έχει αυξηθεί μέχρι και τους 10.000 τόνους από τις αρχές του 1950 μέχρι και σήμερα με διασκορπισμένο αλιευτικό πεδίο, αλλά παραμένει με μικρή συνεισφορά στην ευρωπαϊκή αλιεία (Suquet et al., 2009).

Μέχρι τις αρχές του '60 οι αλιεύσεις κρανιού προέρχονταν από το Ν.Α. Ατλαντικό, οι οποίες σταδιακά μειώθηκαν και ισοσταθμίσθηκαν από μια αύξηση της αλίευσής του στην ευρεία περιοχή του Μαρόκου και της Μαυριτανίας. Η Μεσόγειος και ο Ν.Α. Ατλαντικός θεωρείται ότι συμβάλλουν μόνο στο 10% της αλίευσής του (Suquet et al., 2009).



Εικόνα 2.5: Κύριες χώρες παραγωγής κρανιού (FAO Fishery Statistics, 2006)

Η εκτροφή του κρανιού άρχισε σχετικά πρόσφατα και ήταν περιορισμένη στην περιοχή της Μεσογειακής Γαλλίας, της Κορσικής και της Ιταλίας (Εικόνα 2.5) με παραγωγή περί τους 1000 τόνους το 2004 (Suquet et al., 2009). Οι πρώτες δοκιμές με άγριους πληθυσμούς διεξήχθησαν στη νότια Γαλλία, με μερικά είδη από την οικογένεια Sciaenidae που θεωρούνταν ότι έχουν καλή δυναμική για ιχθυοκαλλιέργεια. Το 1996 ξεκίνησε η περιορισμένη παραγωγή ιχθύων με ένα απλό εκκολαπτήριο στη Γαλλία, και η πρώτη εμπορική παραγωγή καταγράφηκε το 1997. Από τότε η παραγωγή εξαπλώνεται με αργούς ρυθμούς στις γειτονικές περιοχές, ειδικότερα στην πλευρά των Ιταλικών ακτών και στην Κορσική. Η αγορά των ενήλικων κρανιών σταδιακά εξαπλώνεται, ειδικότερα στην Ιταλία όπου αναφέρθηκε η πρώτη εμπορική παραγωγή το 2002 (FAO, 2005). Το γεγονός αυτό θα μπορούσε να προωθήσει την έρευνα για την παραγωγή ιχθύων και γόνου. Θα πρέπει πάντως να σημειωθεί ότι το πρωτόκολλο διατροφής αυτών των ειδών δεν είναι ακόμα πλήρως γνωστό και δεν έχει ακόμα δημοσιευτεί κάτι σχετικό.

Ο κρανιός φαίνεται ότι μπορεί να αποκτήσει μια ουσιαστική θέση στις Μεσογειακές ιχθυοκαλλιέργειες δίνοντας διέξοδο στον κορεσμό της αγοράς σε εκτρεφόμενη τσιπούρα και λαυράκι που κυριαρχούν στην ιχθυοκαλλιέργεια της Μεσογείου, επειδή έχει αρκετά αξιόλογα χαρακτηριστικά:

- Η υφή και η γεύση του είναι ιδιαίτερα ικανοποιητικές για τον καταναλωτή (Committee on Aquaculture, 2013; FAO, 2005) ενώ ταυτόχρονα θεωρείται ένα από τα εμπορικά είδη για τη Μεσόγειο (Morales et al., 2010).

- Η χαμηλή λιποπεριεκτικότητα και η ισορροπημένη κατανομή του λίπους στους μυς του κατατάσσουν τον κρυνιό στα υψηλής διατροφικής αξίας είδη (Suquet et al., 2009; FAO, 2005; Chatzifotis et al., 2010). Σημειώνεται ότι παραμένει αρκετά άπαχο ψάρι ακόμα και όταν εκτρέφεται εντατικά με σιτηρέσια υψηλής λιποπεριεκτικότητας (Committee on Aquaculture, 2013; FAO, 2005).
- Το υψηλό περιεχόμενο του λίπους του σε φωσφολιποειδή (πολικά λιπίδια), τα ω3 λιπαρά οξέα που περιέχει και οι χαμηλοί δείκτες αθηρογένεσης και θρομβογένεσης, δηλώνουν την υψηλή ποιότητα των λιπιδίων του κρυνιού (Grigorakis et al., 2011).
- Φθάνει αρκετά γρήγορα σε εμπορεύσιμα μεγέθη (FAO, 2005) με σύνηθες εμπορικό βάρος από 1,5 έως 3 kg (Roo et al., 2010) και προσαρμόζεται εύκολα στις κλασσικές συνθήκες εκτροφής που εφαρμόζονται για το λαυράκι και την τσιπούρα (Suquet et al., 2009; Roo et al., 2010).
- Το μέγεθος και το σχήμα του κρυνιού επιτρέπουν τη φιλετοποίηση, γεγονός που σε συνδυασμό με την αυξανόμενη ζήτηση φιλετοποιημένου ψαριού δίνει καλή εμπορική δυναμικότητα στο συγκεκριμένο είδος (Hernández et al., 2009).
- Στα πλεονεκτήματα του είδους θα πρέπει να αναφερθούν επίσης οι πολύ υψηλοί ρυθμοί ανάπτυξης, η χαμηλή θνησιμότητα, το ωραίο σχήμα και η καλή απόδοση κατά την επεξεργασία (Committee on Aquaculture, 2013).

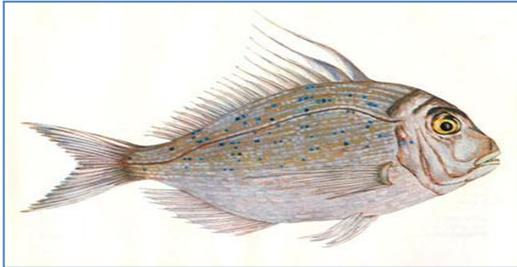
Δικαιολογημένα λοιπόν ο κρυνιός θεωρείται σήμερα ως αναδυόμενο είδος για την ανανέωση της Μεσογειακής ιχθυοκαλλιέργειας και τη δημιουργία μιας νέας αγοράς (Roo et al., 2010; Chatzifotis et al., 2010; Grigorakis et al., 2011; Hernández et al., 2009), και έχει αρχίσει η παραγωγή του στην Αίγυπτο (κύρια παραγωγική χώρα – 81% της συνολικής παραγωγής), την Ισπανία, τη Γαλλία, τη Μάλτα, την Ιταλία, την Κύπρο και την Κροατία (Committee on Aquaculture, 2013).

2.1.4 Βιολογία και εκτροφή φαγκριού (Red porgy, *Pagrus pagrus*, Linnaeus 1758)

2.1.4.1 Φυσικό περιβάλλον και βιολογία

Το φαγκρί (*Pagrus pagrus*) είναι μέλος του γένους *Pagrus*, της οικογένειας των σπαριδών (Sparidae, με περίπου 127 είδη).

Το φαγκρί (Εικόνα 2.6) είναι ευρέως διαδεδομένο στη Μεσόγειο και στον Ανατολικό Ατλαντικό (Carlos et al, 2011; Kalinowski et al., 2005; Mylonas et al., 2004) (Εικόνα 2.7), και έχει μεγάλη εμπορική σημασία για τον κλάδο της αλιείας (Mylonas et al., 2004) και αυξανόμενο ενδιαφέρον για την υδατοκαλλιέργεια (Carlos et al, 2011).



Εικόνα 2.6: Άγριο φαγκρί (*Pagrus pagrus*)

Πηγή: Tejera et al., 2007.

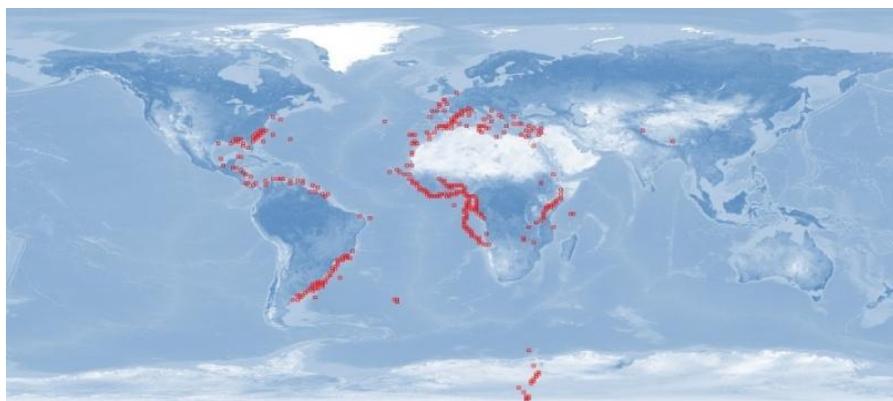
Όπως όλα τα άλλα μέλη της οικογένειας του σπαριδών, έτσι και αυτό αλιεύεται εξαιτίας της άριστης ποιότητας της σάρκας του. Είναι σημαντικό ψάρι για τη βιομηχανία της αλιείας (<http://www.photomazza.com/?Pagrus-pagrus>).

Ιχθυολογικά χαρακτηριστικά: Σώμα επίμηκες, σχετικά βαθύ. Κατατομή κεφαλής σχεδόν κοφτή. Ρύγχος μικρό, στρογγυλεμένο. Χρώμα στη ράχη και τα πλευρά κοκκινωπό, με διάσπαρτα μπλε στίγματα. Κοιλιά ασημόλευκη, πτερύγια ερυθρωπά. Παρουσία κόκκινης κηλίδας στη βάση των θωρακικών πτερυγίων. Πλάγια γραμμή σε όλο το

μήκος του σώματος. Ραχιαίο πτερύγιο με 11-12 σκληρές και 9-10 μαλακές ακτίνες. Εδρικό πτερύγιο με 3 σκληρές και 7-8 μαλακές ακτίνες (Λουγκοβόης, 1997a).

Μέγιστο μέγεθος είναι τα 82 cm, με σύνηθες τα 20-60 cm (Abellán & Basurco, 1999; Λουγκοβόης, 1997a) ενώ, το βάρος του μπορεί να ξεπεράσει τα 10 kg (Abellán & Basurco, 1999). Το φαγκρί έχει ως χαρακτηριστικό τους μεγάλους κυνόδοντες στο κεντρικό τμήμα της κάθε σιαγόνας (4 άνω κυνόδοντες και 6 κάτω κυνόδοντες), με αρκετούς ακόμα μικρότερους οδόντες σε σχήμα κυνόδοντα (Abellán & Basurco, 1999).

Είναι βενθικά ψάρια, ζουν σε βραχώδεις περιοχές ή σε αμμώδεις πυθμένες μέχρι 250 m βάθος (με σύνηθες τα 100m βάθος). Η αναπαραγωγή τους στη θάλασσα γίνεται από τον Απρίλιο μέχρι τον Ιούνιο. Είναι σαρκοφάγα και τρέφονται κυρίως με μαλακόστρακα, μαλάκια και ψάρια. Είναι σπάνιο στον τροπικό Ατλαντικό ενώ βρίσκεται στη Μεσόγειο, αν και είναι πιο σπάνιο από την τσιπούρα (Abellán & Basurco, 1999).



Εικόνα 2.7: Γεωγραφική εξάπλωση του φαγκριού (*Pagrus pagrus*)
<http://www.fishbase.org/summary/1756>

Η αναπαραγωγή του λαμβάνει χώρα κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού, πιο κοντά στις παράκτιες ζώνες. Είναι ερμαφρόδιτα, όπως και τα άλλα μέλη της οικογένειας των Sparidae, και στην αρχή της ζωής τους είναι «πρωτόγυνα», δηλαδή, όλα είναι θηλυκά και στη συνέχεια, μέσω μηχανισμού σεξουαλικής αναστροφής, μετατρέπονται σε αρσενικά. Η σεξουαλική ωριμότητα ξεκινάει στα θηλυκά σε ηλικία 3 ετών, όταν έχουν μέγεθος περίπου 25 cm (<http://www.photomazza.com/?Pagrus-pagrus>).

Η ωριμότητα κατά την αιχμαλωσία παρατηρείται για πρώτη φορά σε ψάρια τριών ετών, όμως ακόμη και σε ηλικία 4 ετών μόνο το 50% των θηλυκών είναι αναπαραγωγικά ώριμα. Το φαγκρί εμφανίζει μια ασύγχρονη ανάπτυξη των ωοθηκών, ανάλογα με το γεωγραφικό πλάτος, από τον Φεβρουάριο έως τα μέσα Ιουνίου (Mylonas et al., 2004).

2.1.4.2 Εκτροφή φαγκριού

Το φαγκρί είναι σημαντικό υποψήφιο είδος για τις ιχθυοκαλλιέργειες. Συγκριτικά με άλλα είδη ιχθύων, ικανοποιεί αρκετά κριτήρια για εντατική υδατοκαλλιέργεια, όπως, η υψηλή εμπορική αξία, οι ικανοποιητικοί ρυθμοί ανάπτυξης (Doxa et al., 2011; Loukas et al., 2010; Garcia et al., 2010; Mylonas et al., 2004), η γεωγραφικά ευρεία ζήτησή του (ιδιαίτερα από τους καταναλωτές της Μεσογείου και του Ατλαντικού) (Doxa et al., 2011; Loukas et al., 2010; Garcia et al., 2010; Miniadis-Meimaroglou et al., 2007; Mylonas et al., 2004) και η υψηλή ποιότητα του φιλέτου (Kalinowski et al., 2005), ενώ επιπρόσθετα προσαρμόζεται σε μεγάλες ιχθυοπυκνότητες με αποτέλεσμα τη μείωση του κόστους παραγωγής (Loukas et al., 2010).

Κατά τον Kalinowski (2005) το φαγκρί έχει καλή προσαρμοστικότητα στις συνθήκες εκτροφής, εύκολη ωοτοκία σε αιχμαλωσία, χωρίς σοβαρά προβλήματα ασθενειών και θνησιμότητας. Τα χαρακτηριστικά αυτά σε συνδυασμό με τις περιορισμένες ποσότητες αλιευμένων άγριων φαγκριών σε σχέση με τη ζήτηση της αγοράς, κάνουν το είδος αυτό πολύτιμο υποψήφιο για την υδατοκαλλιέργεια.

Σημειώνεται εδώ ότι η αλιεία του είναι πολύ δύσκολη εξαιτίας του βάθους στο οποίο ζει και της περιορισμένης γεωγραφικής του εξάπλωσης. Το γεγονός αυτό οδήγησε στην εκτροφή ή την άμεση κατάψυξη των φαγκριών κατά την αλίευση, με στόχο τη διαθεσιμότητά τους καθ' όλη τη διάρκεια του έτους με χαμηλό κόστος (Miniadis-Meimaroglou et al., 2007). Ως εκ τούτου πολλά εκκολαπτήρια άρχισαν να πειραματίζονται με τη διαχείριση των γεννητόρων, την εκτροφή των νυμφών και την ανάπτυξη τους (Mylonas et al., 2004).

Το συγγενικό με το φαγκρί είδος *Pagrus major* (φαγκρί του Ειρηνικού, red seabream) έχει καλλιεργηθεί με επιτυχία επί πολλά χρόνια στην Ιαπωνία, και αποτελεί ένα από τα πιο σημαντικά εκτρεφόμενα είδη της οικογένειας των σπαριδών, ενώ πρόσφατα γίνεται προσπάθεια

στη Νέα Ζηλανδία και την Αυστραλία για την εισαγωγή στις ιχθυοκαλλιέργειες ενός άλλου συγγενικού είδους, του *Pagrus auratus*, (Mylonas et al., 2004).

Παρά τις μέχρι τώρα προσπάθειες, η εμπορική παραγωγή του φαγκριού στη Μεσόγειο δεν έχει φτάσει ακόμη την κλίμακα των άλλων καλλιεργουμένων ιχθύων. Ένας από τους κύριους περιορισμούς της καλλιέργειάς του είναι τα προβλήματα αποχρωματισμού του δέρματος που παρουσιάζονται σε συνθήκες εκτροφής (Doxa et al., 2011; Garcia et al., 2010; Kalinowski et al., 2005; Mylonas et al., 2004) και έχουν ως συνέπεια τη χαμηλότερη αποδοχή από τους καταναλωτές και χαμηλότερη τιμή (Garcia et al., 2010; Kalinowski et al., 2005). Άλλο πρόβλημα της εκτροφής φαγκριού είναι η υψηλή απαίτηση του είδους σε πρωτεΐνη (περίπου 50% w/w) (Garcia et al., 2010).

Κατά τους Doxa et al., (2011) οι αλλαγές του χρώματος του εκτρεφόμενου φαγκριού σχετίζονται συχνά με το στρες, ενώ κατά τους Garcia et al. (2010) βασική αιτία του αποχρωματισμού του δέρματος είναι η αδυναμία των ψαριών να βιοσυνθέτουν καροτενοειδή *de novo*. Επομένως, υπό συνθήκες ιχθυοτροφείου, τα καροτενοειδή πρέπει να παρέχονται μέσω της διαίτας. Έτσι, δεν αποτελεί έκπληξη το ότι οι πιο πρόσφατες διατροφικές μελέτες αυτού του είδους έχουν επικεντρωθεί κυρίως στις διάφορες διατροφικές πηγές καροτενοειδών, τα επίπεδά τους και την επίδρασή τους στο χρωματισμό του δέρματος (Garcia et al., 2010). Ήδη κυκλοφορούν εμπορικές δίαιτες για το φαγκρί του Ειρηνικού που περιέχουν καροτενοειδή για να διατηρηθεί ο καλός χρωματισμός του δέρματος (Kalinowski et al., 2005).

Σύμφωνα με τον Garcia (2010) η προσθήκη στην τροφή ασταξανθίνης, κυρίως σε εστεροποιημένη μορφή, έχει αποδειχθεί αποτελεσματική στο να αποκτήσει το δέρμα του εκτρεφόμενου φαγκριού το χαρακτηριστικό κόκκινο-ροζ χρωματισμό.

Οι Tejera et al. (2007) μελέτησαν την αποτελεσματικότητα διαφόρων εμπορικών πηγών, τις χημικές μορφές και τα επίπεδα ασταξανθίνης στη διαίτα του φαγκριού για την επίτευξη του φυσικού χρωματισμού του δέρματος.

Σήμερα γίνεται έρευνα για την καλλιέργεια φαγκριού σε διάφορες Μεσογειακές χώρες όπως στην Κύπρο (Dept. of Fisheries, Aquaculture Technologies, Sagro Aquaculture Ltd), την Ελλάδα (HCMR, Selonda, Nireus), την Ιταλία (ICRAM Rome, Ittaca Mediterranea), την Πορτογαλία (University of Algarve) και την Ισπανία (IEO Tenerife, GIA Gran Canaria) (Abellán & Basurco, 1999).

2.2 ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΙΧΘΥΩΝ

2.2.1 Παράγοντες που επιδρούν στην ποιότητα των ιχθύων

Η σύσταση σώματος των ιχθύων διαφέρει σημαντικά από είδος σε είδος και από άτομο σε άτομο ανάλογα με την ηλικία, το φύλο, το περιβάλλον και την εποχή. Οι Bargelloni et. al. (2005) έδειξαν ότι περιβαλλοντικοί παράγοντες επηρεάζουν τις γενετικές διαφοροποιήσεις μεταξύ πληθυσμών λυθρινιών (sharpshout sea bream) που ζουν στον Ατλαντικό και στη Μεσόγειο, ενώ υπάρχουν ενδείξεις ότι η ηλικία είναι ένας από τους παράγοντες που καθορίζουν την ικανότητα των ιχθύων να συνθέτουν απαραίτητα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFAs), η οποία μάλιστα μειώνεται όσο αυξάνεται η ηλικία (Bell et al., 2003). Στις εκβολές των ποταμών φαίνεται ότι η εποχική διακύμανση έχει συνέπειες στη διαδικασία πρόσληψης τροφής και στην αύξηση του μεγέθους των ιχθύων (Bell et al., 2001).

Διαφοροποίηση παρατηρείται και στα πτητικά συστατικά που καθορίζουν σε σημαντικό βαθμό το άρωμα των ιχθύων. Η διαφορά στη σύσταση των πτητικών συστατικών ανάμεσα σε ψάρια που ζουν σε γλυκά ή αλμυρά νερά μελετήθηκε από το Kawai (1996) ο οποίος συνέκρινε 4 ψάρια του αλμυρού νερού με 12 ψάρια του γλυκού νερού, επιβεβαιώνοντας την ύπαρξη διαφορών τόσο στο προφίλ των πτητικών συστατικών όσο και στις συγκεντρώσεις τους. Τα ψάρια του αλμυρού νερού είχαν πιο ομοιόμορφη σύσταση πτητικών με πιο μέτρια κατώφλια αντίληψης από αυτά του γλυκού νερού. Οι ακόρεστες καρβονυλικές ενώσεις και αλκοόλες των ψαριών του γλυκού νερού χαρακτηρίζονταν από ισχυρά αρώματα φυτών και πρασινάδας, με αποτέλεσμα να αναδίδουν διαφορετικά αρώματα από αυτά του αλμυρού νερού (Kawai 1996). Σύμφωνα με τους Hsieh & Kinsella (1989) ενώσεις όπως η 2-εννεενάλη συναντώνται κυρίως σε θαλάσσια ψάρια, ενώ οι 1-οκτεν-3-όλη, 1,5-οκταδιεν-3-όλη και 2,5-οκταδιεν-1-όλη συνεισφέρουν στα αρώματα φρέσκων ψαριών τόσο του αλμυρού όσο και του γλυκού νερού. Οι Caprino et al. (2008) ανέφεραν ότι η (E)-2-εννεενάλη και η (E,Z)-2,6 εννεαδιενάλη είναι σημαντικές αρωματικές ενώσεις για τα ψάρια του γλυκού νερού (Caprino et al., 2008).

Οι μεταβολές στη χημική σύσταση των ιχθύων είναι επίσης στενά συνδεδεμένες με την πρόσληψη τροφής, την μετανάστευση και την ωτοκία. Τα ψάρια περνούν περιόδους νηστείας είτε λόγω φυσικών ή φυσιολογικών αιτίων (όπως η μετανάστευση και η ωτοκία) είτε λόγω εξωτερικών παραγόντων, όπως η έλλειψη τροφής.

Η ωτοκία απαιτεί υψηλά επίπεδα ενέργειας (Huss, 1995).

Τα ψάρια αποθηκεύουν ενέργεια υπό τη μορφή λιπιδίων. Τα είδη που πραγματοποιούν μεγάλες μεταναστεύσεις πριν την αναπαραγωγή, εκτός από τα λιπίδια μπορεί να χρησιμοποιήσουν και πρωτεΐνες για ενέργεια, εξαντλώντας έτσι τα αποθέματα λιπιδίων και πρωτεϊνών, με αποτέλεσμα μια γενική μείωση της βιολογικής κατάστασής τους. Επιπλέον, τα

περισσότερα είδη δεν καταναλώνουν συνήθως πολλή τροφή κατά τη μετανάστευση για ωοτοκία, επομένως δεν είναι σε θέση να αναπληρώσουν μέσω της διατροφής την ενέργεια που δαπανούν.

Κατά τις περιόδους έντονης σίτισης, αρχικά αυξάνεται η περιεκτικότητα του μυϊκού ιστού σε πρωτεΐνη και στη συνέχεια αυξάνεται και η λιποπεριεκτικότητα. Μετά την ωοτοκία των ψαριών αποκαθίσταται η διατροφική συμπεριφορά τους και συχνά μεταναστεύουν για να βρουν τροφή. Τα είδη που τρέφονται με πλαγκτόν, όπως η ρέγγα, έχουν μια ακόμη εποχική διακύμανση πέρα από την ωοτοκία, αφού η παραγωγή πλαγκτόν επηρεάζεται από την εποχή και άλλες φυσικές παραμέτρους.

Υπάρχουν είδη ιχθύων με σταθερά χαμηλή λιποπεριεκτικότητα σε σύγκριση με άλλα λιπαρά είδη. Ωστόσο, η ποσοστιαία διακύμανση του λίπους συσχετίζεται με την περιεκτικότητα σε υγρασία, δεδομένου ότι το λίπος και το νερό αποτελούν συνήθως περί το 80% του φιλέτου των ψαριών. Η πραγματική περιεκτικότητα σε λίπος των διαφόρων ειδών ιχθύων είναι σημαντική από τεχνολογική σκοπιά, εφ' όσον επηρεάζει σημαντικά τη συντήρηση και τον τρόπο διαχείρισης και επεξεργασίας τους. Έτσι, κατά την αποθήκευση των λιπαρών ψαριών θα πρέπει να λαμβάνεται μέριμνα για να αποφευχθεί η οξείδωση των λιπιδίων τους.

Διακυμάνσεις στην χημική σύσταση μπορεί να παρουσιαστούν και στα ψάρια των ιχθυοκαλλιεργειών, με τη διαφορά ότι οι διάφοροι παράγοντες μπορούν σε σημαντικό βαθμό να ελεγχθούν, και έτσι οι επιπτώσεις τους στη μεταβολές της χημικής σύστασης των ψαριών μπορούν να προβλεφθούν. Σε κάποιο βαθμό, ο ιχθυοκαλλιεργητής είναι σε θέση να σχεδιάσει τη χημική σύσταση των εκτρεφόμενων ιχθύων επιλέγοντας τις συνθήκες ανάπτυξής τους.

Ανάμεσα στους παράγοντες που έχουν σημαντική επίπτωση στην χημική σύσταση των ιχθύων είναι η παρεχόμενη τροφή. Το ενδιαφέρον των ιχθυοκαλλιεργητών είναι τα ψάρια να αυξήσουν το σωματικό τους βάρος στο συντομότερο δυνατόν διάστημα και με το χαμηλότερο ποσό τροφής, αφού η τροφή έχει μεγάλο κόστος για την ιχθυοκαλλιέργεια. Η αύξηση αυτή των ψαριών είναι εντονότερη όταν η τροφή τους έχει υψηλή περιεκτικότητα σε λιπίδια για παροχή ενέργειας και υψηλή ποσότητα πρωτεΐνης με καλά ισορροπημένη σύνθεση αμινοξέων (Huss, 1995).

Επειδή το κόστος της πρωτεΐνης είναι μεγάλο σε σχέση με αυτό του λίπους, γίνεται προσπάθεια να υποκατασταθεί όσο το δυνατόν η πρωτεΐνη από λίπος. Ωστόσο, ο βασικός μεταβολισμός των ψαριών θέτει ορισμένα όρια ως προς το ποσό των λιπαρών που μπορεί να μεταβολίσει σε σχέση με την πρωτεΐνη. Πολλά είδη ψαριών χρησιμοποιούν αντί για λιπίδια, μερικές πρωτεΐνες για ενεργειακούς σκοπούς. Όταν η περιεκτικότητα σε λιπίδια υπερβαίνει το μέγιστο που μπορεί να καταβολισθεί, αυτά αποτίθενται στους ιστούς με αποτέλεσμα την παραγωγή ψαριών με υψηλή περιεκτικότητα λίπους. Το γεγονός αυτό δεν είναι ιδιαίτερα επιθυμητό, διότι εκτός από την επίδραση στη συνολική ποιότητα, μπορεί επίσης να μειώσει την

απόδοση σε εδώδιμο τμήμα του ζώου, δεδομένου ότι το πλεονάζον λίπος αποθηκεύεται στην περιτοναϊκή κοιλότητα γύρω από τα εντόσθια, και απορρίπτεται με την απεντέρωση κατά την φιλετοποίηση (Huss, 1995).

2.2.1.1 Παράγοντες που επιδρούν στο χρωματισμό του μυϊκού ιστού

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.

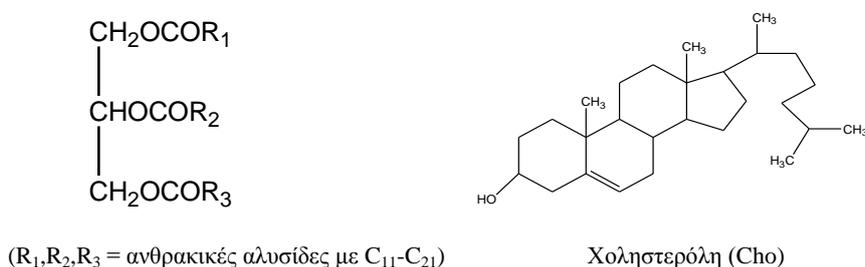
Υπάρχουν πολλές διαφορές στη χημική σύσταση των δύο τύπων μυών, με αξιοσημείωτο το υψηλό επίπεδο των λιπιδίων και μυοσφαιρίνης στο σκούρο μυ.

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, αλλά έχει προταθεί ότι τα καροτενοειδή μπορεί να έχουν ρόλο ως αντιοξειδωτικά. Περαιτέρω, 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 (Huss, 1995). 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.

2.2.2 Λιπίδια

2.2.2.1 Γενικά στοιχεία

Στην κατηγορία των λιπιδίων ανήκουν τα λίπη και τα έλαια στα οποία περιέχονται τα φωσφολιπίδια, οι κηροί, οι προσταγλανδίνες, τα τερπένια και τα στεροειδή. Τα λιπίδια απομονώνονται από τα κύτταρα και τους ιστούς με εκχύλιση χρησιμοποιώντας οργανικούς διαλύτες μικρής πολικότητας. Ταξινομούνται σε δυο γενικές κατηγορίες: αυτά που περιέχουν εστερομάδες και μπορούν να υδρολυθούν (σαπωνοποιηθούν), όπως τα λίπη και οι κηροί, και αυτά που δεν περιέχουν εστερομάδες και δεν υδρολύονται όπως η χοληστερόλη και άλλα στεροειδή (Murry, 2001).



Σχήμα 2.1: Δομή των τριακυλογλυκερολών και της χοληστερόλης

2.2.2.2 Λιπαρά οξέα

Τα λιπαρά οξέα που συναντώνται σε βιολογικά συστήματα (Πίνακας 2.1) συνήθως περιέχουν άρτιο αριθμό ατόμων άνθρακα, κυρίως μεταξύ 14 και 22. Τα συνηθέστερα είναι τα λιπαρά οξέα με 16 και 18 άτομα άνθρακα. Η ανθρακική αλυσίδα είναι αλειφατική (χωρίς διακλαδώσεις) σε όλα τα ζωικά λιπαρά οξέα. Η αλειφατική αλυσίδα είναι δυνατόν να είναι κορεσμένη ή να περιέχει έναν ή περισσότερους διπλούς δεσμούς. Η γεωμετρία του διπλού δεσμού στα περισσότερα των ακόρεστων λιπαρών οξέων είναι *cis*. Οι διπλοί δεσμοί των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων χωρίζονται από μία τουλάχιστον μεθυλενική ομάδα. Οι ιδιότητες των λιπαρών οξέων και των λιπιδίων που τα περιέχουν εξαρτώνται από το μήκος της ανθρακικής αλυσίδας και το βαθμό ακορεστότητας.

Στη φύση απαντούν συνήθως περί τα 40 διαφορετικά λιπαρά οξέα. Το παλμιτικό οξύ (C₁₆) και το στεατικό οξύ (C₁₈) είναι τα πιο διαδεδομένα κορεσμένα οξέα. Το ελαϊκό και το λινελαϊκό οξύ (και τα δύο με C₁₈) είναι τα πλέον διαδεδομένα ακόρεστα οξέα, κυρίως σε χερσαίες τροφικές αλυσίδες. Το α-λινολενικό, το αραχιδονικό (ARA), το EPA και το DHA είναι πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, και έχουν τρεις, τέσσερις, πέντε και έξι διπλούς δεσμούς, αντίστοιχα. Το σημείο τήξης του λίπους των ιχθύων επηρεάζεται από την περιεκτικότητα σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα.

Πίνακας 2.1: Κύρια λιπαρά οξέα που απαντώνται στη φύση

| Αριθμός Ανθράκων | Αριθμός Διπλών δεσμών | Κοινό Όνομα | Συστηματικό (IUPAC) όνομα | Χημικός Τύπος |
|------------------|-----------------------|----------------------|---|--|
| 12 | 0 | Λαυρικό | n-Δωδεκανικό | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COO}^-$ |
| 14 | 0 | Μυριστικό | n-Δεκατετρανικό | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COO}^-$ |
| 16 | 0 | Παλμιτικό | n-Δεκαεξανικό | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COO}^-$ |
| 18 | 0 | Στεατικό | n-Δεκαοκτανικό | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COO}^-$ |
| 20 | 0 | Αραχιδικό | n-Εικοσανικό | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COO}^-$ |
| 22 | 0 | Βεχενικό | n-Εικοσιδουονικό | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}\text{COO}^-$ |
| 24 | 0 | Λιγνοκηρικό | n-Εικοσιτετρανικό | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{22}\text{COO}^-$ |
| 16 | 1 | Παλμιτελαϊκό | cis- Δ^9 -Δεκαεξενικό | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COO}^-$ |
| 18 | 1 | Ελαϊκό | cis- Δ^9 -Δεκαοκτενικό | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COO}^-$ |
| 18 | 2 | Λινελαϊκό | cis- Δ^9, Δ^{12} Δεκαοκταδιενικό | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_2(\text{CH}_2)_6\text{COO}^-$ |
| 18 | 3 | α -Λινολενικό | Cis- $\Delta^9, \Delta^{12}, \Delta^{15}$ - Δεκαοκτατριενικό | $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_3(\text{CH}_2)_6\text{COO}^-$ |
| 20 | 4 | Αραχιδονικό (ARA) | cis- $\Delta^5, \Delta^8, \Delta^{11}, \Delta^{14}$ - Εικοσιτετραενικό | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_4(\text{CH}_2)_2\text{COO}^-$ |
| 20 | 5 | EPA | cis- $\Delta^5, \Delta^8, \Delta^{11}, \Delta^{14}, \Delta^{17}$ - Εικοσιπενταενικό | $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_5(\text{CH}_2)_2\text{COO}^-$ |
| 22 | 6 | DHA | cis- $\Delta^4, \Delta^7, \Delta^{10}, \Delta^{13}, \Delta^{16}, \Delta^{19}$ - Εικοσιδουοεξαενικό | $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_6\text{CH}_2\text{COO}^-$ |

Τα λιπίδια των τελεόστων ιχθύων διακρίνονται σε φωσφολιπίδια και τριακυλογλυκερόλες (τριγλυκερίδια). Τα φωσφολιπίδια συμμετέχουν στην ενιαία δομή των μεμβρανών των κυττάρων ενώ τα τριγλυκερίδια χρησιμοποιούνται ως ενεργειακές αποθήκες. Μερικά είδη περιέχουν και κηρούς (εστέρες μεγάλου MB) στο λίπος τους. Οι λευκοί μύες των μη λιπαρών ιχθύων περιέχουν συνήθως μικρό ποσοστό λίπους, λιγότερο από το 1%. Μεγάλο μέρος του λίπους αυτού, καλύπτουν τα φωσφολιπίδια όπως φωσφατιδυλοχολίνη, φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη, φωσφατιδυλοσερίνη και άλλα σε μικρότερο ποσοστό. Επίσης, σε άπαχα είδη ιχθύων η χοληστερόλη μπορεί να φτάσει και το 6% του συνολικού ποσοστού λιπιδίων. Τα τελευταία χρησιμοποιούν το ήπαρ ως αποθήκη ενέργειας ενώ στα λιπαρά είδη ιχθύων το λίπος αποθηκεύεται στα λιποκύτταρα σε όλο το σώμα τους.

Τα λιποκύτταρα, που αποτελούν τις αποθήκες λιπιδίων σε λιπαρά είδη, βρίσκονται συνήθως στον υποδόριο ιστό, στους μύες της κοιλιάς και στους κινητικούς μύες των πτερυγίων και της ουράς. Σε ορισμένα είδη τα οποία αποθηκεύουν υψηλές ποσότητες λιπιδίων το λίπος μπορεί να εναποτίθεται στην κοιλιακή χώρα (μεσεντέριο λίπος).

Τέλος, αποθήκες λίπους βρίσκονται διάσπαρτες στη δομή των μυών. Η συγκέντρωση των λιποκυττάρων φαίνεται να είναι υψηλότερη κοντά στις μυοτομές (myocommata) και στην περιοχή μεταξύ του λευκού και σκούρου μυός. Οι σκούροι μύες περιέχουν τριγλυκερίδια στο εσωτερικό των μυϊκών κυττάρων ακόμα και σε άπαχα είδη ιχθύων, καθώς αυτοί οι μύες είναι σε

θέση να μεταβολίζουν απευθείας το λίπος σε ενέργεια. Τα αντίστοιχα μυϊκά κύτταρα του λευκού ιστού εξαρτώνται από το γλυκογόνο ως πηγή ενέργειας για τον αναερόβιο μεταβολισμό.

Στους σκούρους μύες τα ενεργειακά αποθέματα καταβολίζονται σε CO₂ και H₂O, ενώ στους λευκούς μύες σε γαλακτικό οξύ. Η ένταση της κίνησης είναι πολύ ταχύτερη στους λευκούς μύες από ότι στους σκούρους μύες, αλλά ο σχηματισμός του γαλακτικού οξέος δημιουργεί κόπωση, με αποτέλεσμα οι λευκοί μύες να μην είναι λειτουργικοί για συνεχή κίνηση μεγάλης διάρκειας. Έτσι, οι σκούροι μύες χρησιμοποιούνται για δραστηριότητες μακράς διάρκειας, όπως το κολύμπι, ενώ οι λευκοί μύες για μικρής διάρκειας ταχείες κινήσεις, πχ για σύλληψη θηράματος ή αποφυγή αρπακτικών. Το ποσοστό των φωσφολιπιδίων μπορεί να τροποποιηθεί σε ορισμένο βαθμό κατά τη διάρκεια παρατεταμένης μετανάστευσης.

Στα ελασμοβράγχια, όπως ο καρχαρίας, σημαντική ποσότητα λιπιδίων αποθηκεύεται στο ήπαρ υπό μορφή διακυλο-αλκυλ-γλυκερυλεστέρων ή σκουαλενίου.

Το ποσοστό των υψηλής ακορεστότητας πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (HUFAs) με 4 έως 6 διπλούς δεσμούς είναι σημαντικά υψηλότερο στα ψάρια σε σύγκριση με τα χερσαία ζώα, ενώ είναι χαμηλότερο στα είδη του γλυκού νερού σε σύγκριση με τα θαλάσσια.

2.2.3 Πρωτεΐνες

Οι πρωτεΐνες στους μυϊκούς ιστούς των ιχθύων μπορούν να ταξινομηθούν σε:

1. Δομικές πρωτεΐνες (ακτίνη, μυοσίνη, τροπομυοσίνη, ακτινομυοσίνη), οι οποίες αποτελούν το 70-80% της πρωτεΐνης (έναντι του 40% στα θηλαστικά) και είναι διαλυτές σε ουδέτερα διαλύματα άλατος με αρκετά υψηλή ιονική ισχύ ($> 0,5 \text{ M}$).
2. Σαρκοπλασματικές πρωτεΐνες (μυαλβουμίνη, γλοβουλίνη, ένζυμα) οι οποίες είναι διαλυτές σε ουδέτερα διαλύματα άλατος με χαμηλή ιονική ισχύ ($< 0,15 \text{ M}$). Αντιπροσωπεύουν το 25-30% του συνόλου των πρωτεϊνών του μυϊκού ιστού των ιχθύων.
3. Πρωτεΐνες συνδετικού ιστού (κολλαγόνο), οι οποίες αποτελούν περίπου το 3% της πρωτεΐνης στους τελεόστεους και περίπου το 10% στους ελασματοβράγχιους ιχθείς (έναντι ποσοστού 17% στα θηλαστικά).

Η δομή των πρωτεϊνών των ιχθύων μεταβάλλεται με τις αλλαγές του φυσικού περιβάλλοντος. Στις πρωτεΐνες των μυϊκών ινιδίων αποδίδονται ιδιότητες όπως το ινώδες και η πλαστικότητα της υφής των ιστών, η ικανότητα τους να συγκρατούν νερό, καθώς και το πλείστο των ρεολογικών τους χαρακτηριστικών.

Η πλειοψηφία των σαρκοπλασματικών πρωτεϊνών είναι ένζυμα που συμμετέχουν στο μεταβολισμό των κυττάρων. Απαντούνται στο σαρκοπλασματικό υγρό, τα μιτοχόνδρια και τα λυσοσωμάτια. Οι σαρκοπλασματικές πρωτεΐνες είναι ξεχωριστές για κάθε είδος ιχθύος (Huss, 1995). Στην ομάδα αυτή ανήκει και η μυοσφαιρίνη που αποτελεί την αποθήκη οξυγόνου του μυϊκού ιστού. Αν και δεν επηρεάζουν άμεσα την υφή των ιστών ή την ικανότητα τους να συγκρατούν νερό, οι σαρκοπλασματικές πρωτεΐνες θεωρούνται σημαντικές δεδομένου ότι εμπλέκονται στις πολύπλοκες μεταθανάτιες βιοχημικές μεταβολές των ιστών. Συγκεκριμένα, συμμετέχουν στο σχηματισμό ενώσεων οι οποίες θεωρούνται υπεύθυνες για τη διαμόρφωση της οσμής, της γεύσης, και του χρώματος της σάρκας του ψαριού. Μέσω υδρολυτικών μεταβολών (αυτόλυσης) καθιστούν τη σάρκα μαλθακότερη και μεταβάλλουν τα φυσικά της χαρακτηριστικά. Παράλληλα προκαλούν μεταβολές του pH οι οποίες με τη σειρά τους επηρεάζουν την ικανότητα συγκράτησης νερού των ιστών. Συνολικά οι πρωτεΐνες του σαρκοπλάσματος είναι περισσότερο σταθερές από τις πρωτεΐνες των μυϊκών ινιδίων, ανθιστάμενες στην παρατεταμένη επίδραση χαμηλών θερμοκρασιών και την αφυδάτωση. Τα ηλεκτροφορητικά τους χαρακτηριστικά αποτελούν κριτήριο για τον προσδιορισμό του είδους του ψαριού. (Λουγκοβόης, 1977a)

Οι χημικές και φυσικές ιδιότητες του κολλαγόνου των πρωτεϊνών μεταβάλλονται στους διάφορους ιστούς όπως το δέρμα, η νηκτική κύστη και τα μυοκόμματα στους μύες. Σε γενικές γραμμές, τα ινίδια κολλαγόνου σχηματίζουν μια λεπτή δομή με μεγάλη πολυπλοκότητα στους

διάφορους συνδετικούς ιστούς παρόμοια με αυτή των θηλαστικών. Όμως, το κολλαγόνο των ιχθύων είναι πιο θερμοευαίσθητο (ζελατινοποιείται σε χαμηλότερη θερμοκρασία) από το κολλαγόνο των θηλαστικών.

Μεταξύ των ειδών των ιχθύων υπάρχει διαφοροποίηση στην ποσότητα του κολλαγόνου στους ιστούς του σώματος. Πιστεύεται ότι η κατανομή του κολλαγόνου μπορεί να αντανακλάται στην κολυμβητική συμπεριφορά του είδους. Οι ποσότητες και τα είδη κολλαγόνου στα ψάρια έχουν επίδραση στην υφή των μυών τους.

Οι πρωτεΐνες των ιχθύων περιέχουν όλα τα απαραίτητα αμινοξέα παρουσιάζοντας υψηλή βιολογική αξία. Ο ιστός των ιχθύων αποτελεί εξαιρετική πηγή λυσίνης και των θειούχων αμινοξέων μεθειονίνης και κυστίνης και συνεπώς πολύτιμο συμπλήρωμα σε δίαιτες, οι οποίες βασίζονται σε δημητριακά τα οποία παρουσιάζουν χαμηλή περιεκτικότητα σε αυτά τα αμινοξέα (Huss, 1995).

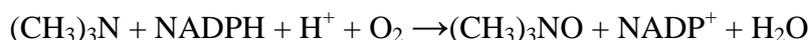
2.2.4 Αζωτούχες εκχυλισματικές ουσίες

Οι αζωτούχες εκχυλισματικές ουσίες είναι υδατοδιαλυτές χαμηλού μοριακού βάρους ενώσεις που περιέχουν μη-πρωτεϊνικό άζωτο. Χαρακτηρίζονται συνολικά και με την ονομασία «μη πρωτεϊνικό άζωτο» (Non protein nitrogen, NPN). Το κλάσμα του μη πρωτεϊνικού αζώτου (NPN) αντιπροσωπεύει το 9 έως 18% του ολικού αζώτου των τελεόστων. Τα κύρια συστατικά του είναι πτητικές βάσεις όπως η αμμωνία και το οξείδιο της τριμεθυλαμίνης (TMAO), κρεατίνη, ελεύθερα αμινοξέα, νουκλεοτίδια (ATP, ADP, AMP, IMP, CP) και πουρινικές βάσεις (υποξανθίνη, ξανθίνη, αδενίνη, γουανίνη) και στην περίπτωση των χονδριχθίων, η ουρία. Η σύσταση του κλάσματος των αζωτούχων εκχυλισματικών ουσιών είναι χαρακτηριστική για κάθε είδος και εξαρτάται από την ηλικία-μέγεθος του ψαριού, την εποχή και την προέλευσή του.

Το οξείδιο της τριμεθυλαμίνης (TMAO) αποτελεί χαρακτηριστικό και σημαντικό συστατικό του μη πρωτεϊνικού αζώτου των θαλάσσιων ιχθύων. Απαντάται σε αναλογία 1 έως 5% επί ξηρού βάρους και απουσιάζει από τους ιχθύες των γλυκών νερών και τους χερσαίους οργανισμούς.

Ο ρόλος του οξειδίου της τριμεθυλαμίνης (TMAO) καθώς και η προέλευση του στα ψάρια δεν έχει διευκρινιστεί. Σχηματίζεται με βιοσύνθεση σε ορισμένα ζωπλαγκτονικά είδη, τα οποία περιέχουν το ένζυμο μονο-οξυγονάση της τριμεθυλαμίνης (TMA-mono-oxygenase) το οποίο οξειδώνει την τριμεθυλαμίνη (TMA) σε οξείδιο της τριμεθυλαμίνης (TMAO). Η τριμεθυλαμίνη (TMA) όπως και άλλες μεθυλαμίνες (μονομεθυλαμίνη, διμεθυλαμίνη) απαντώνται συνήθως σε θαλάσσια φυτά. Έτσι, τα ψάρια πιθανότατα λαμβάνουν το οξείδιο της τριμεθυλαμίνης (TMAO) από το πλαγκτόν, μέσω της διατροφής τους (εξωγενής προέλευση).

Το ενζυμικό σύστημα της TMA-οξειδάσης (TMA-oxidase system) εντοπίζεται στα μικροσωμάτια των κύτταρων και εξαρτάται από την παρουσία φωσφορικού νικοτιναμιδο-αδενινο-δινουκλεοτιδίου (Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NAPH).



Η ποσότητα του TMAO στο μυϊκό ιστό εξαρτάται από το είδος, την εποχή, το αλιευτικό πεδίο. Γενικότερα υψηλότερα ποσοστά βρίσκονται στα σαλάχια και τα καλαμάρια (75-250 mg N/100g), σε κάπως μικρότερο ποσοστό στον μπακαλιάρο (60 - 120 mg N/100g), ενώ τα πελαγικά ψάρια έχουν χαμηλότερες περιεκτικότητες (Huss, 1995). Τα πελαγικά ψάρια (σαρδέλες, τόνος, σκουμπρί) έχουν υψηλότερες συγκεντρώσεις TMAO στους ερυθρούς μυς, ενώ τα βενθικά (λευκόσαρκα) ψάρια έχουν πολύ υψηλότερη περιεκτικότητα στο λευκό μυ (Huss, 1995).

Γενικότερα πιστεύεται ότι το οξείδιο της τριμεθυλαμίνης συσσωρεύεται με την κατανάλωση τροφής που περιέχει TMAO, αποτελεί παραπροϊόν - αποτοξινωμένη μορφή- της τριμεθυλαμίνης, και συμβάλλει στη διατήρηση της οσμωτικής ισορροπίας του κυττάρου.

Ποσοτικά, το κύριο συστατικό του NPN είναι η κρεατίνη. Όταν οι ιχθύες είναι σε κατάσταση ηρεμίας, το μεγαλύτερο μέρος της κρεατίνης βρίσκεται υπό μορφή φωσφορυλιωμένης κρεατίνης, η οποία δίνει ενέργεια για μυϊκή συστολή.

Το NPN περιέχει επίσης ποσότητες ελεύθερων αμινοξέων, σε συγκεντρώσεις 630 mg / 100g στο λευκό μυ του σκουμπριού (*Scomber scombrus*), 350-420 mg/100g στη ρέγγα (*Clupea harengus*) και 310-370 mg/100g στον καπελάνο (capelin, *Mallotus villosus*). Τα αμινοξέα ποικίλλουν ανάλογα με τα είδη με την ταυρίνη, αλανίνη, γλυκίνη και αμινοξέα που περιέχουν ιμιδαζόλιο να κυριαρχούν στα περισσότερα είδη.

Από τα αμινοξέα που περιέχουν ιμιδαζόλιο, η ιστιδίνη έχει προσελκύσει την προσοχή, επειδή μπορεί να αποκαρβοξυλιωθεί μικροβιολογικά προς ισταμίνη. Είδη με σκούρα σάρκα, όπως ο τόνος και το σκουμπρί έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε ιστιδίνη (Huss, 1995).

2.2.5 Διατροφική αξία των ιχθύων

2.2.5.1 Λιπαρά οξέα

Η κύρια διαφοροποίηση των ιχθύων από άλλες ομάδες τροφίμων συνίσταται στην ποιότητα του λίπους τους, δεδομένου ότι το λίπος των ιχθύων περιέχει σημαντικές ποσότητες πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFAs) - κυρίως ω3 λιπαρών οξέων.

Υπάρχει ευρεία αναγνώριση των ευεργετικών επιδράσεων των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFAs), και κυρίως των ω3 λιπαρών στην υγεία μας. Επίσης, ο λόγος των διατροφικά προσλαμβανόμενων ω6/ω3 λιπαρών οξέων θεωρείται σημαντικός, με τις μικρότερες τιμές του λόγου να θεωρούνται πιο ευνοϊκές για την υγεία μας (Kouba, 2011). Η κατανάλωση ιχθύων και

συνεπώς η πρόσληψη πολυακόρεστων λιπαρών οξέων είναι απαραίτητη στην διαίτα, ειδικά στις δυτικές κοινωνίες. Σύμφωνα με τους Cottin et al. (2011) τα ω3 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 (Panagiotakos & Kalogeropoulos, 2008; Bester et al., 2010) ενώ, είναι αποτρεπτικοί παράγοντες για τις χρόνιες και μεταβολικές διαταραχές (Bera et al., 2010). 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 ω3 λιπαρών οξέων (DHA και EPA) για την πρόληψη καρδιαγγειακών νοσημάτων, τη θεραπεία μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου και την πρόληψη καρδιακού αιφνίδιου θανάτου.

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 (Huss, 1995).

Εκτός της παροχής υψηλής ποιότητας πρωτεΐνης και λίπους, τα ψάρια αποτελούν πλούσιες πηγές βιταμινών, όπως λιποδιαλυτών βιταμινών A και D, υδατοδιαλυτών βιταμινών B1, B2, B3 και B12, και απαραίτητων μετάλλων και ιχνοστοιχείων όπως το ασβέστιο, ο φωσφόρος, ο ψευδάργυρος και το ιώδιο.

2.2.5.2 Βιταμίνες και ανόργανα συστατικά

Η περιεκτικότητα σε βιταμίνες και ανόργανα συστατικά διαφοροποιείται από είδος σε είδος, ενώ μπορεί να διαφέρει και με την εποχή. Σε γενικές γραμμές, το κρέας των ιχθύων είναι καλή πηγή βιταμινών B, και στην περίπτωση των λιπαρών ειδών πηγή βιταμινών A και D. Ορισμένα είδη του γλυκού νερού, όπως τα κυπρινοειδή έχουν υψηλή δράση θειαμίνης με αποτέλεσμα το περιεχόμενο της θειαμίνης σε αυτά τα είδη να είναι συνήθως χαμηλό. Στη σάρκα των ιχθύων απαντούν επιπλέον ποσότητες α-τοκοφερόλης (βιταμίνη E), βιταμίνης K και παντοθενικού οξέος. Το φολικό οξύ και η βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ) απαντούν σε μικρές μόνο συγκεντρώσεις. Οι συγκεντρώσεις των βιταμινών είναι συγκρίσιμες με αυτές των θηλαστικών εκτός από την βιταμίνη A και D που βρίσκονται σε μεγάλη ποσότητα στο ιστό των λιπαρών ειδών και σε αφθονία στο ήπαρ κάποιων ειδών, όπως ο βακαλάος και η ιππόγλωσσα.

Όσον αφορά τα ανόργανα συστατικά, το κρέας των ιχθύων θεωρείται πολύτιμη πηγή ασβεστίου και φωσφόρου αλλά και σιδήρου, χαλκού και σεληνίου. Τα θαλάσσια είδη περιέχουν επίσης σημαντικές ποσότητες ιωδίου.

Η περιεκτικότητα των ιστών των ψαριών σε νάτριο είναι σχετικά χαμηλή γεγονός που τα καθιστά κατάλληλα για χαμηλές σε νάτριο δίαιτες.

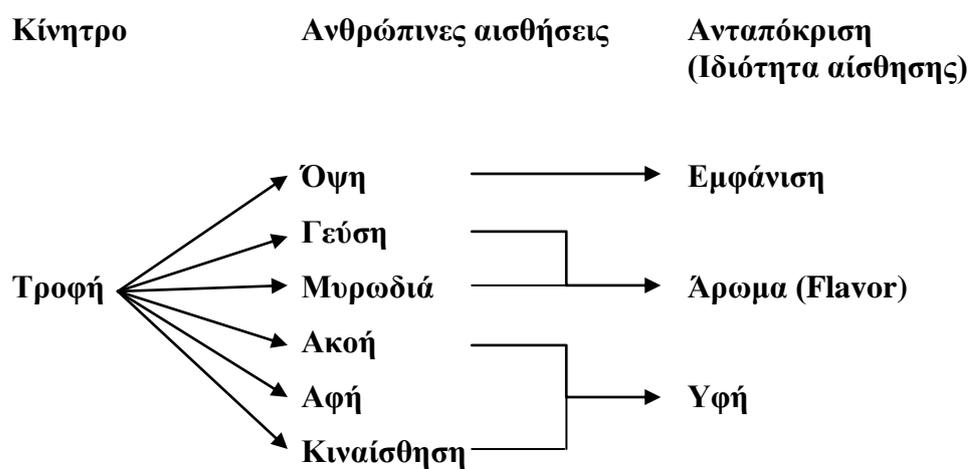
Στους εκτρεφόμενους ιχθύς το περιεχόμενο των βιταμινών και ανόργανων συστατικών αντανακλά ως ένα βαθμό τα συστατικά της διαίτας τους. Με σκοπό την προστασία των ω3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων από την οξειδωση, μπορεί να προστεθεί βιταμίνη E ως αντιοξειδωτικό στην ιχθυοτροφή, η οποία εν μέρει παραμένει και στο τελικό προϊόν (Huss, 1995).

2.2.6 Άρωμα – Προφίλ πτητικών ενώσεων

2.2.6.1 Άρωμα (Flavor)

Δεν υπάρχει ικανοποιητική απόδοση του αγγλικού όρου flavor στα ελληνικά – αποδίδεται ως «γεύση», «άρωμα», «ευχυμία» ενώ υπήρξε μια πρόταση να αποδίδεται ως «οσμηγεύση» που δεν έχει γίνει ευρέως αποδεκτή. Για ανάγκες οικονομίας της εργασίας θα αναφερόμαστε στη συγκεκριμένη ιδιότητα των τροφίμων με τον ελληνικό όρο «άρωμα».

Το άρωμα (flavor) είναι μία από τις τρεις κύριες αισθητήριες ιδιότητες που είναι κύριας σημασίας για την επιλογή, την αποδοχή και την κατανάλωση ενός τροφίμου (Σχήμα 2.2).



Σχήμα 2.2: Αισθητήριες ιδιότητες που προκύπτουν από το τρόφιμο για την αποδοχή του ή μη από τον άνθρωπο.

Το άρωμα (flavor) είναι συνήθως το συνδυασμένο αποτέλεσμα της παρουσίας πολλών πτητικών και μη πτητικών ουσιών, οι οποίες έχουν ποικίλες χημικές και φυσικοχημικές ιδιότητες. Οι μη πτητικές ουσίες συνεισφέρουν κυρίως στη γεύση ενώ οι πτητικές επηρεάζουν τόσο τη γεύση όσο και το άρωμα των τροφίμων (Longo & Sanroman, 2006).

Σύμφωνα με τους Laing & Jinks (1996) οι ουσίες που προσδίδουν άρωμα στα τρόφιμα έχουν μοριακά βάρη που δεν ξεπερνούν το 400, ενώ η αίσθηση της γεύσης προσδίδεται από μη πτητικές ενώσεις με μοριακά βάρη που ποικίλλουν από <100 μέχρι 20000 όπως οι πρωτεΐνες (Laing & Jinks, 1996).

Έτσι, ως άρωμα ορίζεται η αίσθηση η οποία προκαλείται από ουσίες που λαμβάνονται από το στόμα και ερεθίζουν τα αισθητήρια της γεύσης και της όσφρησης και επίσης τους υποδοχείς πόνου και θερμοκρασίας του στόματος. Οι Laing & Jinks (1996) ορίζουν ως άρωμα την αίσθηση που προκύπτει από την αλληλεπίδραση των σημάτων που παράγονται ως συνέπεια της οσμής και της γεύσης από ένα τρόφιμο.

Τα τρόφιμα εκλύουν πλήθος διαφορετικών πτητικών ουσιών, πολλές από τις οποίες συνεισφέρουν στο άρωμα τους. Το άρωμα (flavor) είναι, αν όχι το σημαντικότερο, ένα από τα κύρια χαρακτηριστικά γνωρίσματα για την αποδοχή ενός τροφίμου, πέρα από την υφή και την εμφάνιση.

2.2.6.2 Άρωμα – Οσμή ιχθύων- Γενικά

Τα συστατικά της οσμής των ιχθύων καλύπτουν μεγαλύτερο εύρος οσμηρών χαρακτηριστικών σε σύγκριση με τα προϊόντα κρέατος. Τα πραγματικά φρέσκα ψάρια έχουν ιδιαίτερα αρώματα που είναι πολύ διαφορετικά από τα συνήθως θεωρούμενα στο εμπόριο ως «φρέσκα», τα οποία έχουν συντηρηθεί για μικρότερο ή μεγαλύτερο διάστημα σε ψύξη (Lindsay, 2008). Η αποδοχή των ιχθυηρών ως ένα ποιοτικό προϊόν από τους καταναλωτές, πέρα από τους κανόνες υγιεινής που ακολουθούνται και από την εμφάνιση, εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το άρωμα τους, το οποίο είναι χαρακτηριστικό για κάθε είδος ιχθύος (Thakur et al., 2009). Ο ρυθμός αύξησης, η ηλικία, η μετανάστευση, το φύλο, η εποχή αναπαραγωγής, περιβαλλοντικοί παράγοντες (θερμοκρασία νερού, ρεύματα, αλατότητα, στρες), διατροφικοί παράγοντες (κύκλος διατροφής, υπο- ή υπερσιτισμός, απουσία ή παρουσία συγκεκριμένων θρεπτικών συστατικών στη διατροφή) επηρεάζουν τη χημική σύσταση και πιθανόν και την οσμή των ιχθύων (Norman, 1992).

Ακόμα και σε ελεγχόμενο περιβάλλον όπως στις υδατοκαλλιέργειες το άρωμα των ιχθύων μπορεί να ποικίλει, αλλά σε αυτήν την περίπτωση μπορούν να ελεγχθούν αρκετοί παράγοντες και να προβλεφθεί η χημική τους σύσταση. Επομένως ο ιχθυοκαλλιεργητής είναι - ως ένα βαθμό- σε θέση να επιδράσει στη χημική σύσταση - άρωμα των ιχθυηρών ελέγχοντας τις συνθήκες της διατροφής τους (Norman, 1992).

Η σύσταση της τροφής, το περιβάλλον, το μέγεθος και τα γενετικά χαρακτηριστικά των ψαριών έχουν αντίκτυπο στη σύσταση και συνεπώς στην ποιότητά τους. Επομένως, διαφορές παρατηρούνται όχι μόνο μεταξύ των ειδών αλλά και μεταξύ των ατόμων ενός πληθυσμού. Αυτές οι αποκλίσεις πρέπει να λαμβάνονται υπόψη σε πειράματα που στοχεύουν στο καθορισμό και κατά το δυνατόν έλεγχο της ποιότητας των ιχθυηρών και των προϊόντων τους (Oehlenschlaeger, 2010).

Οι άνθρωποι καταναλώνουν πολλά είδη ιχθύων και οστρακοειδών ανά τον κόσμο, για πολλά από τα οποία έχουν μελετηθεί οι χημικές ενώσεις που συνεισφέρουν στο άρωμά τους. Αυτές οι ενώσεις έχουν γενικά μικρό μοριακό βάρος, συναντώνται σε χαμηλές συγκεντρώσεις και έχουν περιορισμένη διαλυτότητα στο νερό (Olafsdottir & Jonsdottir, 2010). Οι πτητικές ουσίες μπορούν να χαρακτηριστούν ως δείκτες φρεσκότητας, ή αλλοίωσης και μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως ένας δείκτης αξιολόγησης της ποιότητας των ιχθυηρών. Πτητικές ενώσεις

και ουσίες που επηρεάζουν τη γεύση είναι αυτές που δίνουν το ευχάριστο άρωμα του ψαριού, με τις πτητικές ενώσεις που προέρχονται από τα λίπη να δίνουν το ξεχωριστό άρωμα κάθε ψαριού. Τα φρέσκα ψάρια είναι σχεδόν άοσμα ως αποτέλεσμα των χαμηλών ποσοτήτων πτητικών ουσιών που περιέχουν (Olafsdottir & Jonsdottir, 2010).

2.2.6.3 Μεταβολές του αρώματος κατά τη μεταθανάτια διαδικασία: αλλοίωση

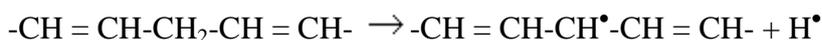
Μετά το θάνατο του ψαριού ο αρχικός καταβολισμός της ATP οδηγεί στη συσσώρευση μονοφωσφορικής ινοσίνης (IMP) συνεισφέροντας στο ευχάριστο άρωμα του ιστού. Ο περαιτέρω καταβολισμός οδηγεί στην απώλεια αυτού του αρώματος καθώς οι μεταβολές των λιπιδίων κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας και αποθήκευσης των ιχθύων και θαλασσινών καταλήγουν στη δημιουργία δύσοσμων ενώσεων (off flavors) και συνεπώς κατώτερης ποιότητας προϊόντων τόσο από χημική όσο και από οργανοληπτική άποψη.

Ένζυμα όπως η λιποξυγονάση, η υπεροξειδάση, και τα μικροσωμικά ένζυμα μπορούν να εκκινήσουν την υπεροξειδωση των λιπιδίων προς παραγωγή υδροϋπεροξειδίων. Τα προϊόντα διάσπασης αυτών των υδροϋπεροξειδίων, όπως αλδεϋδες, κετόνες και αλκοόλες, μπορούν στη συνέχεια να προκαλέσουν την επικράτηση οξειδωτικών οσμών στα τρόφιμα. Η αποσύνθεση των ακυλοϋδροϋπεροξειδίων περιλαμβάνει πολύπλοκα μονοπάτια αντιδράσεων και τα προϊόντα διάσπασης καθορίζονται εν πολλοίς από τη δομή των μητρικών λιπαρών οξέων (Ashie et al., 1996).

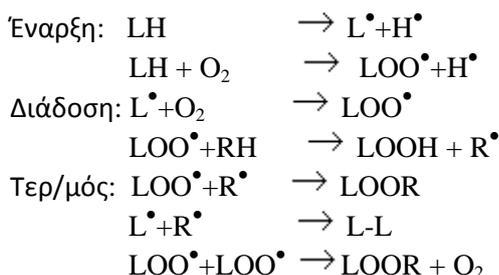
Χημική αλλοίωση (λιπιδική οξείδωση –υδρόλυση): Οι δύο διακριτές αντιδράσεις στα λιπίδια των ιχθύων που προκαλούν υποβάθμιση της ποιότητας είναι η οξείδωση και η υδρόλυση που προκαλούν την παραγωγή ορισμένων δυσάρεστων γεύσεων και οσμών καθώς και αλλαγές στην υφή των ιχθύων. Οι διάφορες αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα είναι είτε μη ενζυμικές είτε καταλυόμενες από μικροβιακά ένζυμα ή από ενδοκυτταρικά ή πεπτικά ένζυμα προερχόμενα από το ίδιο το ψάρι (Huss, 1995).

Η σχετική σημασία αυτών των αντιδράσεων, ως εκ τούτου, εξαρτάται κυρίως από το είδος του ιχθύος και τη θερμοκρασία αποθήκευσης. Τα λιπαρά ψάρια είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα στην αποικοδόμηση των λιπιδίων που μπορεί να οδηγήσει σε υποβάθμιση της ποιότητας ακόμα και κατά την αποθήκευση σε θερμοκρασίες υπό το μηδέν (Huss, 1995).

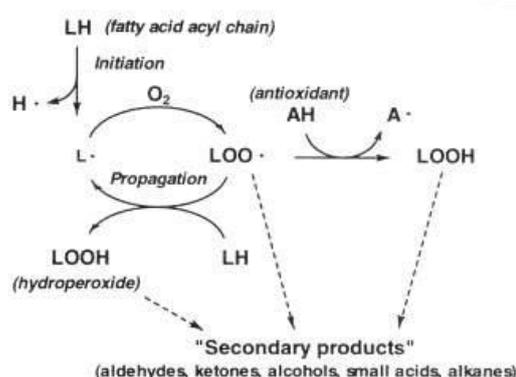
Οι μεγάλες ποσότητες πολυακόρεστων λιπαρών οξέων στα λιπίδια των ιχθύων τα καθιστά ιδιαίτερα ευαίσθητα στην οξείδωση μέσω αυτοκαταλυτικών μηχανισμών (Εικόνα 2.8). Η διαδικασία ξεκινά με απόσπαση ενός αλλυλικού ατόμου υδρογόνου από τον κεντρικό άνθρακα της δομής πενταδιενίου, που απαντάται στα περισσότερα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα :



Αυτό το είδος αλλοίωσης των ιχθυηρών σχετίζεται με τον σχηματισμό υδροϋπεροξειδίων δηλαδή την οξειδωτική τάγγιση, που οφείλονται κυρίως σε χημικές αλλαγές στους ιστούς του μυ ως αποτέλεσμα πολλών παραγόντων, ιδίως από τη φύση των λιπιδίων. Η οξειδωτική τάγγιση έχει αναγνωριστεί προ πολλού ως κύρια αιτία αλλοίωσης των θαλασσινών. Η διαδικασία περιλαμβάνει την οξείδωση των ακόρεστων λιπαρών οξέων ή τριγλυκεριδίων των θαλασσινών, η οποία βαίνει με αλυσιδωτή αντίδραση μέσω μηχανισμού ελεύθερων ριζών (Σχήμα 2.3):



Σχήμα 2.3: Μηχανισμός ελευθέρων ριζών



Εικόνα 2.8: Αυτοοξείδωση πολυακόρεστων λιπιδίων
 Πηγή: Huss, 1995

όπου LH είναι ένα ακόρεστο λιπίδιο, L^\bullet η ρίζα ενός λιπιδίου και LOO^\bullet είναι η υπεροξυ ρίζα ενός λιπιδίου. Από τη στιγμή που η αντίδραση ξεκινήσει, τα ασταθή υδροϋπεροξειδία που σχηματίζονται μετατρέπονται σε ελεύθερες ρίζες, οι οποίες με τη σειρά τους μπορούν να επιταχύνουν το ρυθμό της αυτοοξείδωσης. Τα δευτερογενή προϊόντα που παράγονται από αυτές τις δευτερογενείς αντιδράσεις συμβάλλουν στην ταγγισμένη γεύση των θαλασσινών (Ashie et al., 1996).

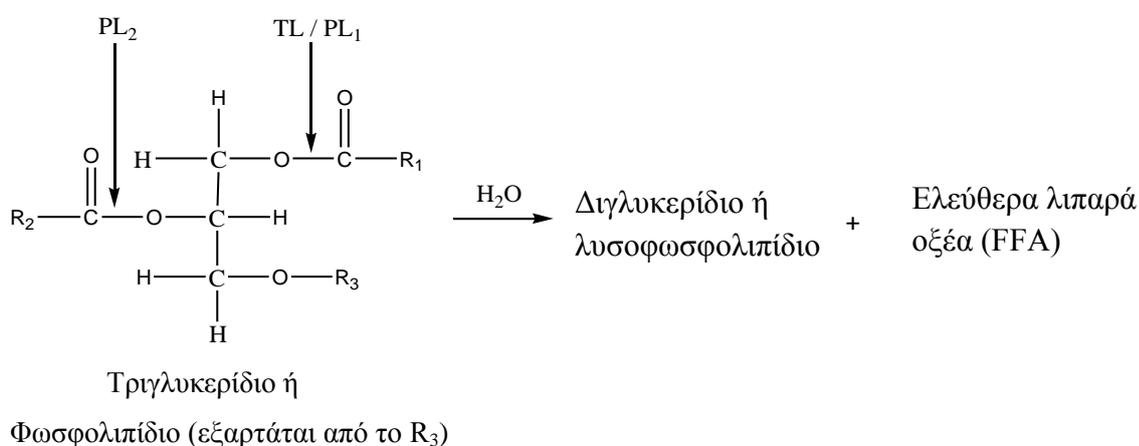
Τα υδροϋπεροξειδία που παράγονται σε σχετικά μεγάλες ποσότητες κατά τη φάση διάδοσης της οξείδωσης είναι άγευστα και επομένως δεν αποτελεί έκπληξη το γεγονός ότι η τιμή υπεροξειδίων δεν συσχετίζεται καλά με τις μεταβολές των οργανοληπτικών ιδιοτήτων (Huss, 1995).

Τα υδροϋπεροξειδία διασπώνται εύκολα, με αντιδράσεις που καταλύονται από ιόντα μετάλλων, σε δευτερογενή προϊόντα αυτοοξείδωσης με μικρότερο μήκος ανθρακικής αλυσίδα. Αυτά τα δευτερογενή προϊόντα - κυρίως αλδεΐδες, κετόνες, αλκοόλες, μικρά καρβοξυλικά οξέα και αλκάνια - δημιουργούν ένα ευρύ φάσμα οσμών και σε ορισμένες περιπτώσεις ένα κιτρινωπό αποχρωματισμό (Huss, 1995).

Η παρουσία ιόντων μετάλλων είναι πολύ σημαντική στα πρώτα στάδια της αυτο-οξειδωσης των λιπιδίων καταλύοντας το σχηματισμό δραστικών μορφών οξυγόνου, όπως για παράδειγμα, η ρίζα υδροξυλίου (OH^\bullet), η οποία αντιδρά αμέσως με λιπίδια ή άλλα μόρια στο σημείο όπου παράγεται. Τα υδροϋπεροξειδία των λιπαρών οξέων μπορούν επίσης να σχηματιστούν ενζυμικά μέσω κατάλυσης από τη λιποξυγονάση η οποία είναι παρούσα σε ποικίλες συγκεντρώσεις στους ιστούς των ιχθύων, κυρίως στα βράγχια και στον υποδόριο ιστό πολλών ειδών. Το ένζυμο αυτό είναι ασταθές και πιθανώς έχει σημαντικό ρόλο για την οξείδωση των λιπιδίων μόνο στα φρέσκα ψάρια. Το μαγείρεμα, η κατάψυξη και η απόψυξη καταστρέφουν την δραστηριότητα του ενζύμου.

Εκτός των προαναφερθέντων και διάφορες άλλες ενώσεις όπως αμινοξέα, παράγωγα αιμογλοβίνης, οργανικά οξέα και χρωστικές, έχει αποδειχθεί ότι καταλύουν την αντίδραση οξείδωσης είτε μεμονωμένα είτε σε συνδυασμό με μεταλλικά ιόντα όπως Cu^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , και αίμη. Άλλοι παράγοντες που μπορούν να επηρεάσουν την οξείδωση των λιπιδίων, και συνεπώς την αλλοίωση των θαλασσινών είναι η θερμοκρασία, η ενεργότητα ύδατος, και το pH (Ashie et al., 1996).

Υδρόλυση: Κατά τη συντήρηση των ιχθυηρών παράγεται σημαντική ποσότητα ελεύθερων λιπαρών οξέων (FFA) (Σχήμα 2.4). Το φαινόμενο είναι πιο εμφανές στα μη εκσπλαχνισμένα ιχθυηρά σε σχέση με τα εκσπλαχνισμένα, πιθανώς λόγω της συμμετοχής των πεπτικών ενζύμων. Τα τριγλυκερίδια διασπώνται από τις λιπάσες των τριγλυκεριδίων που προέρχονται από το πεπτικό σύστημα ή εκκρίνονται από ορισμένους μικροοργανισμούς. Οι κυτταρικές λιπάσες μπορούν επίσης να διαδραματίσουν δευτερεύοντα ρόλο (Huss, 1995).



Σχήμα 2.4: Αρχικές υδρολυτικές αντιδράσεις των τριγλυκεριδίων και φωσφολιπιδίων

Σε άπαχα ψάρια, όπως ο μπακαλιάρος, ο σχηματισμός ελεύθερων λιπαρών οξέων λαμβάνει χώρα ακόμη και σε χαμηλές θερμοκρασίες. Τα ένζυμα που πιστεύεται ότι είναι υπεύθυνα είναι οι κυτταρικές φωσφολιπάσες - ιδίως η φωσφολιπάση A2 (PL2 στο σχ. 2.4), αν και δεν έχει ακόμα τεκμηριωθεί συσχέτιση μεταξύ της δραστηριότητας αυτών των ενζύμων και της ποσότητας ελεύθερων λιπαρών οξέων

Επειδή τα λιπαρά οξέα στα φωσφολιπίδια είναι σε μεγάλο βαθμό πολυακόρεστα, η υδρόλυσή τους οδηγεί συχνά σε ενίσχυση της οξειδωσης. Επιπλέον, τα λιπαρά οξέα προκαλούν ανεπιθύμητες οσμές (Huss, 1995).

2.2.7 Αξιολόγηση της ποιότητας των ιχθύων

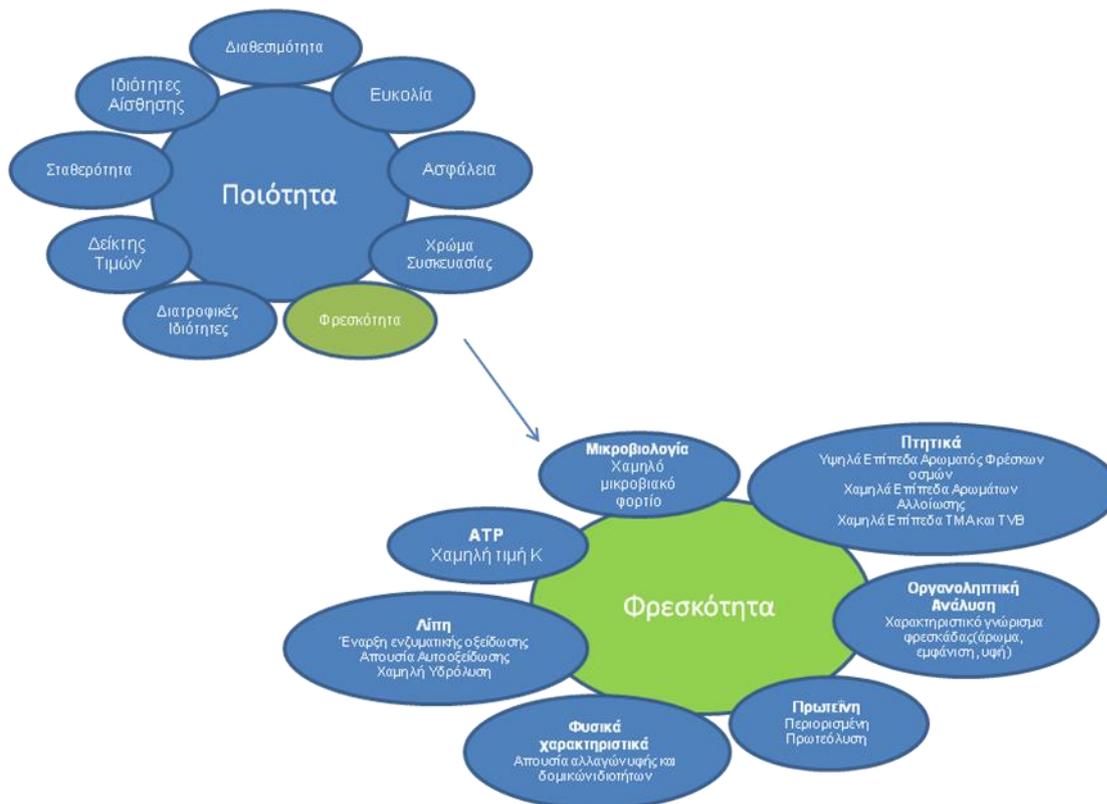
Η αξιολόγηση της ποιότητας των ψαριών έχει μεγάλη σημασία, δεδομένης της απαίτησης των καταναλωτών για φρέσκα ψάρια. Επιπρόσθετα, οι καταναλωτές ενδιαφέρονται όλο και περισσότερο για την ποιότητα των εκτρεφόμενων ειδών, και -ιδιαίτερα στις ιχθυοκαλλιέργειες- για τις συνθήκες διαβίωσης και το είδος της διατροφής των ιχθύων (Carpino et al., 2008).

Ως ποιότητα ενός τροφίμου ορίζεται ο βαθμός εναρμόνισης της διατροφικής αξίας και των οργανοληπτικών ιδιοτήτων του με τις απαιτήσεις του καταναλωτή, και αποτελεί το σύνολο των χαρακτηριστικών, τα οποία στοχεύουν στην ικανοποίηση των εκφρασμένων ή εννοούμενων αναγκών του καταναλωτή.

Η ποιότητα των ιχθύων καθορίζεται με χαρακτηριστικά, όπως θρεπτική αξία, μικροβιολογική ποιότητα (απουσία παθογόνων μικροοργανισμών, ολικό μικροβιακό φορτίο), οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (γεύση, άρωμα, υφή, χρώμα, εμφάνιση κτλ.), απουσία παρασίτων και διαφόρων τοξικών χημικών ουσιών.

Η ποιότητα ενός προϊόντος μπορεί να διαφοροποιείται από καταναλωτή σε καταναλωτή και συνεπώς είναι ένα όρος που πρέπει να καθορίζεται σε σχέση με ένα μεμονωμένο τύπο προϊόντος. Στα ψάρια θεωρείται ότι καλύτερη ποιότητα βρίσκεται σε αυτά που καταναλώνονται λίγες ώρες μετά την αλίευση τους (Huss, 1995).

Η φρεσκότητα έχει σημαντική συνεισφορά στη ποιότητα του ψαριού και των τελικών προϊόντων του. Στο Σχήμα 2.5 απεικονίζεται η σχέση της ποιότητας και της φρεσκότητας, εστιάζοντας στα διαφορετικά χαρακτηριστικά της φρεσκότητας ως προσέγγιση από διαφορετικές υποομάδες. Η φρεσκότητα μπορεί να περιγραφεί ως ένα βαθμό με βιοχημικές, μικροβιολογικές και φυσικές παραμέτρους (Olafsdottir et al., 1997).



Σχήμα 2.5: Συσχέτιση μεταξύ ποιότητας και φρεσκότητας (Olafsdottir et al., 1997).

Οι μέθοδοι για την αξιολόγηση της ποιότητας των νωπών ιχθύων μπορούν να διακριθούν σε:

1. οργανοληπτικές και
2. ενόργανες.

Δεδομένου ότι τελικός κριτής της ποιότητας είναι ο καταναλωτής, οι περισσότερες χημικές ή ενόργανες μέθοδοι πρέπει να συσχετίζονται με την οργανοληπτική αξιολόγηση, η οποία πρέπει να εκτελείται υπό προσεκτικά ελεγχόμενες συνθήκες, ώστε να μειώνονται οι επιδράσεις του περιβάλλοντος, η προσωπική προκατάληψη κλπ. (Huss, 1995).

2.2.7.1 Οργανοληπτικές μέθοδοι

Ως οργανοληπτική αξιολόγηση (sensory evaluation) ορίζεται η επιστημονική διαδικασία που χρησιμοποιείται για τη μέτρηση, την ανάλυση και την ερμηνεία των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών των τροφίμων όπως τα αντιλαμβανόμενα μέσω των αισθήσεων της όρασης, της όσφρησης, της γεύσης, της αφής και της ακοής (Huss, 1995; Olafsdottir et al., 1997).

Χαρακτηριστικές οργανοληπτικές αλλαγές λαμβάνουν χώρα στην εμφάνιση, οσμή γεύση, και υφή των ψαριών όταν αυτά αλλοιώνονται (Olafsdottir et al., 1997).

2.2.7.2 Οργανοληπτικός Έλεγχος

Η οργανοληπτική εξέταση αξιολογεί την εμφάνιση, την οσμή, τη γεύση και την υφή ενός τροφίμου χρησιμοποιώντας τις ανθρώπινες αισθήσεις. Επιστημονικά, η μέθοδος μπορεί να διαιρεθεί σε τρία στάδια:

- ανίχνευση ενός ερεθίσματος από τα ανθρώπινα αισθητήρια όργανα
- αξιολόγηση και ερμηνεία από μια νοητική διαδικασία
- απάντηση του αξιολογητή στο ερέθισμα.

Διαφοροποιήσεις μεταξύ διαφορετικών ατόμων στην ίδια δοκιμασία ή ερέθισμα μπορεί να έχουν ως αποτέλεσμα τη μη εξαγωγή συμπεράσματος από τη δοκιμή. Οι άνθρωποι μπορεί να έχουν διαφορετική απόκριση σε κάποιο χρώμα καθώς και στην ευαισθησία τους σε χημικά ερεθίσματα. Επίσης, μερικοί άνθρωποι δεν μπορούν να ανιχνεύσουν τη γεύση του ταγκισμένου ενώ άλλοι έχουν πολύ χαμηλή απόκριση όταν τα δείγματα βρίσκονται σε χαμηλή θερμοκρασία.

Είναι πολύ σημαντικό να γνωρίζουν αυτές τις διαφορές όσοι επιλέγουν και εκπαιδεύουν την ομάδα αξιολογητών για την οργανοληπτική αξιολόγηση. Εξυπακούεται ότι οι αξιολογητές πρέπει να έχουν πολύ καλή εκπαίδευση ώστε να μπορούν να αξιολογήσουν και να περιγράψουν τα χαρακτηριστικά των ιχθύων (Huss, 1995).

2.2.7.3 Μέθοδοι Οργανοληπτικής Αξιολόγησης

Οι οργανοληπτικές δοκιμές που χρησιμοποιούνται στον έλεγχο ποιότητας μπορούν να χωριστούν σε τρεις ομάδες: τις δοκιμές διάκρισης (discriminative tests), τις περιγραφικές δοκιμές (descriptive tests) και τις δοκιμές προτίμησης (συναισθηματικές δοκιμές) (Olafsdottir et al., 1997; Huss, 1995).

Οι δοκιμές διάκρισης χρησιμοποιούνται για να καθορισθεί εάν υπάρχει διαφορά μεταξύ των δειγμάτων (τριγωνική δοκιμή, δοκιμή κατάταξης). Οι περιγραφικές δοκιμές χρησιμοποιούνται για να προσδιοριστεί η φύση και η ένταση των διαφορών (δοκιμές προφίλ και ποιότητας). Οι δοκιμές προτίμησης ή απαρέσκειας βασίζονται στο μέτρο της προτίμησης ή της αποδοχής (Huss, 1995).

Οι δοκιμές διάκρισης και οι περιγραφικές δοκιμές είναι αντικειμενικές αναλυτικές δοκιμές στις οποίες χρησιμοποιείται εξειδικευμένη ομάδα. Οι δοκιμές προτίμησης ή απαρέσκειας είναι συναισθηματικές δοκιμές και ως εκ τούτου θεωρούνται υποκειμενικές (Olafsdottir et al., 1997).

Η επιλογή της μεθόδου που θα χρησιμοποιηθεί εξαρτάται από το σκοπό της εφαρμογής της οργανοληπτικής αξιολόγησης και από το εάν αυτή θα χρησιμοποιηθεί στην ανάπτυξη νέου

προϊόντος, στον έλεγχο ποιότητας, σε έρευνα καταναλωτή ή σε επιστημονική έρευνα (Olafsdottir et al., 1997).

2.2.8 Ποιοτική αξιολόγηση ιχθύων και προϊόντων τους

Η οργανοληπτική αξιολόγηση των ψαριών και των προϊόντων τους μπορεί να εκτελεστεί με δοκιμές διάκρισης και με περιγραφικές δοκιμές.

2.2.8.1 Τριγωνική δοκιμή

Η συχνότερα χρησιμοποιούμενη δοκιμή διάκρισης στην οργανοληπτική εξέταση των ιχθύων είναι η τριγωνική δοκιμή (triangle test ή triangular test - πρότυπο ISO 4120 1983), η οποία δείχνει εάν υφίσταται ή όχι ανιχνεύσιμη διαφορά μεταξύ δύο δειγμάτων. Η τριγωνική δοκιμή είναι ιδιαίτερα χρήσιμη όταν τα αποτελέσματα μιας μεταβολής σε συστατικά, διαδικασία παραγωγής, συσκευασία, ή αποθήκευση ενός τροφίμου στις οργανοληπτικές του ιδιότητες δεν μπορούν να χαρακτηρισθούν σαν απλή αλλαγή σε ένα ή δύο χαρακτηριστικά του. Επίσης ενδείκνυται όταν οι διαφορές μεταξύ των δύο εξεταζόμενων τροφίμων είναι μικρές. Οι αξιολογητές λαμβάνουν τρία κωδικοποιημένα δείγματα, γνωρίζοντας ότι τα δύο από τα δείγματα είναι πανομοιότυπα ενώ το ένα είναι διαφορετικό, και καλούνται να προσδιορίσουν το διαφορετικό δείγμα. Η ανάλυση των αποτελεσμάτων της τριγωνικής δοκιμής γίνεται με σύγκριση του αριθμού των ορθών χαρακτηρισμών με τον αριθμό που θα προέκυπτε από εντελώς τυχαία επιλογή του διαφορετικού δείγματος μεταξύ των τριών. Ο αριθμός των σωστών ταυτοποιήσεων συγκρίνεται με τον αναμενόμενο αριθμό με τη χρήση ενός στατιστικού πίνακα. Στην τριγωνική δοκιμή η πιθανότητα της τυχαίας σωστής επιλογής ενός δείγματος είναι $p = 1/3$ ενώ η πιθανότητα της τυχαίας λάθος επιλογής, αντίστοιχα είναι $q = 2/3$.

Τα δείγματα που σημειώνονται ως A και B μπορεί να παρουσιαστούν με έξι διαφορετικούς τρόπους: ABB BBA AAB BAB ABA BAA. Παρασκευάζονται ίσοι αριθμοί δειγμάτων των έξι πιθανών συνδυασμών και σερβίρονται τυχαία στους δοκιμαστές. Έτσι επιτυγχάνεται τυχαιοποίηση του σφάλματος (randomization of error).

Η ενδεικνύομενη κωδικοποίηση περιλαμβάνει τυχαίους τριψήφιους αριθμούς (πχ 472, 853 κ.α.) ή συνδυασμό γραμμάτων και αριθμών (π.χ. TK24, XP24 κτλ) ώστε να μην προκαταλαμβάνεται ο δοκιμαστής και να θεωρεί το ένα δείγμα καλύτερο από το άλλο.

Τα σκεύη που χρησιμοποιούνται για την τοποθέτηση των δειγμάτων πρέπει να είναι πανομοιότυπα. Επίσης η ποσότητα του δείγματος και η θερμοκρασία πρέπει να είναι η ίδια και για τα τρία δείγματα.

Οι πολλές δοκιμές κουράζουν τους δοκιμαστές και έχουν σαν αποτέλεσμα να μη δίνουν αξιόπιστα αποτελέσματα, γι' αυτό σε κάθε συνεδρίαση δεν πρέπει να γίνονται περισσότερες από 4 δοκιμές από τον ίδιο δοκιμαστή. Οι δοκιμαστές που απαιτούνται είναι συνήθως 20 έως 40, αν και για πιο προφανείς διαφορές, ακόμα και 12 δοκιμαστές αποτελούν επαρκή αριθμό. Οι ελάχιστοι αριθμοί δοκιμαστών για να μπορέσει να εκτελεστεί με επιτυχία η δοκιμή είναι, σύμφωνα με το ISO 4120, τουλάχιστον 6 ειδικοί, ή 15 επιλεγμένοι ή 25 τυχαίοι δοκιμαστές.

2.2.8.2 Ταξινόμηση (Ranking)

Προκειμένου να γίνει ταξινόμηση, παρουσιάζεται ένας αριθμός δειγμάτων στους αξιολογητές, οι οποίοι πρέπει να τα ταξινομήσουν σύμφωνα με το επίπεδο των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών που παρουσιάζουν. Συνήθως η ταξινόμηση μπορεί να γίνει πιο γρήγορα και με μικρότερη εκπαίδευση των αξιολογητών από ότι η αξιολόγηση μέσω άλλων μεθόδων. Έτσι συχνά χρησιμοποιείται για τον αρχικό διαχωρισμό. Η μέθοδος δεν δίνει ατομικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων και δεν είναι κατάλληλη για συνεδρίες στις οποίες πρέπει να αξιολογηθούν ταυτόχρονα πολλά κριτήρια (Huss, 1995).

2.2.8.3 Περιγραφή του προφίλ (Profiling)

Η περιγραφική δοκιμή χρησιμοποιείται για την εκτίμηση ενός χαρακτηριστικού των τροφίμων όπως η υφή, η γεύση ή η εμφάνιση. Οι μέθοδοι της περιγραφικής ανάλυσης μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να δημιουργηθεί μια πλήρης περιγραφή των τροφίμων.

2.2.8.4 Στατιστικά δεδομένα

Σε κάθε πείραμα, συμπεριλαμβανομένης της οργανοληπτικής ανάλυσης, ο πειραματικός σχεδιασμός (π.χ., ο αριθμός των μελών της ομάδας, ο αριθμός των δειγμάτων, οι υποθέσεις της δοκιμής) και οι στατιστικές δοκιμασίες θα πρέπει να προγραμματίζονται εκ των προτέρων. Σε αντίθετη περίπτωση, υπάρχει ο κίνδυνος να οδηγηθούμε σε ανεπαρκή δεδομένα και μη πειστικά πειράματα.

Ένα πάνελ (ομάδα δοκιμαστών) που χρησιμοποιείται για την περιγραφική δοκιμή αποτελείται κατά προτίμηση από όχι λιγότερο από 8-10 άτομα. Θα πρέπει να τονισθεί ότι η δοκιμή ισχυροποιείται στατιστικώς αν εκτελεσθεί εις διπλούν. Αυτό μπορεί να είναι δύσκολο στην οργανοληπτική ανάλυση μικρών ψαριών. Έτσι, το πείραμα πρέπει να περιλαμβάνει επαρκή αριθμό δειγμάτων, ώστε να εξαλειφθούν οι πηγές μεταβλητότητας και να έχουμε συνθήκες τυχαιότητας (Huss, 1995).

2.2.8.5 Εκπαίδευση των αξιολογητών

Η εκπαίδευση των αξιολογητών για την οργανοληπτική αξιολόγηση είναι απαραίτητη για όλες σχεδόν τις μεθόδους. Ο βαθμός της εκπαίδευσης εξαρτάται από τη δυσκολία και την πολυπλοκότητα της αξιολόγησης. Η τριγωνική δοκιμή συνήθως απαιτεί μικρότερο βαθμό εκπαίδευσης.

Ο αξιολογητής πρέπει να εκπαιδευτεί σε βασικές γεύσεις, όπως στη κοινή γεύση των ιχθύων και τη διαφορά μεταξύ των δυσάρεστων οσμών (off-flavor) και των οσμών που προέρχονται από μολύνσεις (taint).

Σε μεγαλύτερες επιχειρήσεις, όπου υπάρχει καθημερινή πειραματική εργασία, είναι απαραίτητη η περαιτέρω κατάρτιση των αξιολογητών προκειμένου να υπάρχει μια αντικειμενική ομάδα αξιολόγησης. Μία εργαστηριακή ομάδα αξιολογητών πρέπει να περιλαμβάνει 8-10 μέλη, ενώ η εκπαίδευση και ο έλεγχος των αξιολογητών πρέπει να επαναλαμβάνεται τακτικά (Huss, 1995).

2.2.8.6 Εγκαταστάσεις

Οι εγκαταστάσεις που απαιτούνται για την οργανοληπτική αξιολόγηση περιλαμβάνουν μια αίθουσα παρασκευής και μια αίθουσα στην οποία σερβίρονται τα δείγματα. Οι χώροι πρέπει να αερίζονται καλά και να είναι καλά φωτισμένοι. Επίσης πρέπει να υπάρχει αρκετός χώρος στα τραπέζια για την επιθεώρηση των δειγμάτων ιχθύων (Huss, 1995).

2.2.8.7 Μαγείρεμα

Τα δείγματα των ιχθυηρών δεν πρέπει να έχουν βάρος μικρότερο από 50-100g ανά άτομο. Το δείγμα πρέπει να είναι από το ίδιο κομμάτι του φιλέτου και πρέπει να μαγειρεύεται έχοντας εσωτερική θερμοκρασία 65°C. Τα δείγματα πρέπει να διατηρούνται ζεστά, δηλαδή, σε μονωμένα δοχεία ή πιάτα. Τα ψάρια υπόκεινται σε θερμική επεξεργασία με ατμό ή με χρήση μικροκυμάτων ή σε φούρνο, συνήθως σε δοχείο ερμητικά κλειστό ή τυλιγμένα σε αλουμινόχαρτο. Ο χρόνος της θερμικής επεξεργασίας είναι στις περισσότερες περιπτώσεις 20 λεπτά για φιλέτο ψαριού. Το ψάρι τεμαχίζεται και κωδικοποιείται πριν το σερβίρισμα (Huss, 1995).

2.2.9 Πτητικές ενώσεις ως δείκτες φρεσκότητας και αλλοίωσης

Το άρωμα είναι ένας από τους κύριους παράγοντες που αξιολογούνται για την εκτίμηση της φρεσκότητας των ιχθύων. Για τον έλεγχο του επιπέδου φρεσκότητας ή τυχόν αλλοίωσης των ιχθύων μπορούν να χρησιμοποιηθούν μετρήσεις των επιπέδων χαρακτηριστικών πτητικών ενώσεων. Για τον καθορισμό του βαθμού φρεσκότητας χρησιμοποιούνται χημικές μέθοδοι προσδιορισμού των ολικών πτητικών συστατικών και της τριμεθυλαμίνης (Olafsdottir et al., 1997).

2.2.9.1 Πτητικές ενώσεις (Σχέση φρεσκότητας - Οξειδωσης λιπαρών οξέων – Αρώματος ιχθύων)

Οι πτητικές ενώσεις είναι υπεύθυνες σε σημαντικό βαθμό για τις οργανοληπτικές ιδιότητες των ιχθύων, ενώ επηρεάζουν σημαντικά τη συνολική εκτίμηση της ποιότητας και επομένως την προτίμηση των καταναλωτών.

Το είδος και η φύση των ιχθυηρών δημιουργούν αρώματα διακριτά, άμεσα συνδεδεμένα με το κάθε είδος και εύκολα αναγνωρίσιμα από τον καταναλωτή.

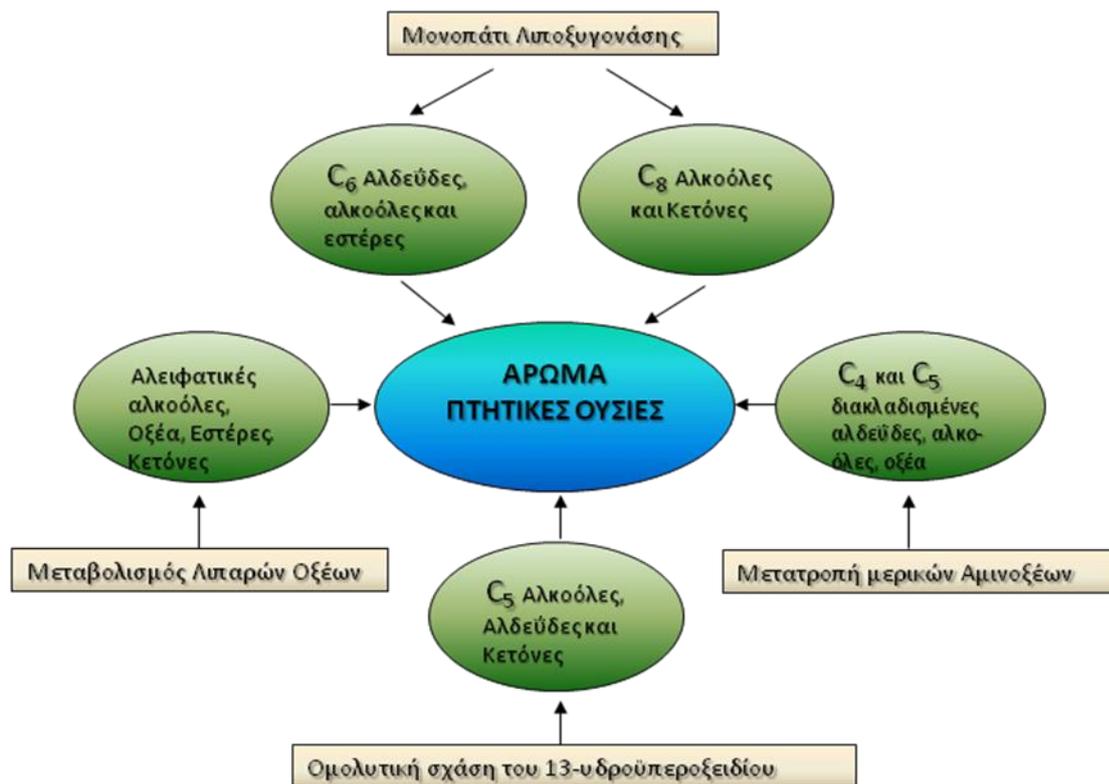
Οι μεταθανάτιες αλλαγές που επιδρούν αρχικά στο άρωμα είναι η αυτολυτική διάσπαση νουκλεοτιδίων, η ενεργοποίηση της ινοσίνης και η συσσώρευση υποξανθίνης (Hx). Σε δεύτερη φάση, αφού μειωθεί το pH, ενεργοποιούνται τα ενδογενή ένζυμα και ακολουθεί η οξειδωτική διαδικασία. Σε πιο μεταγενέστερο στάδιο, ο πολλαπλασιασμός συγκεκριμένων μικροοργανισμών έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή πτητικών συστατικών που επηρεάζουν την φρεσκότητα και την ποιότητα των ιχθυηρών. Οι λιποξυγονάσες (LOX) -οξειδωτικά ένζυμα- μεσολαβούν για την μετατροπή των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων σε πτητικές ενώσεις που επηρεάζουν το άρωμα. Επίσης η αιμογλοβίνη και η μυογλοβίνη εμπλέκονται στην έναρξη της οξειδωσης του μυϊκού ιστού των ιχθύων σχηματίζοντας δευτερογενή προϊόντα οξειδωσης. Η διάσπαση των διαλυτών συστατικών των μυών, όπως των σαρκοπλασματικών πρωτεϊνών και ο μικροβιακός μεταβολισμός συνεισφέρουν επιπρόσθετα στις μεταβολές του αρώματος των ψαριών κατά την διάρκεια της αποθήκευσης (Olafsdottir & Jonsdottir, 2010). Οι πτητικές αρωματικές ενώσεις που παράγονται από μικροβιακή δραστηριότητα, προέρχονται κυρίως από τη διάσπαση διαλυτών συστατικών των μυών και αποτελούνται από ποικίλα μη πρωτεϊνικά αζωτούχα συστατικά: μικρά πεπτίδια – όπως η καρνοσίνη και η ασερίνη, αμινοξέα, αζωτούχες ενώσεις όπως η κρεατινίνη, το οξείδιο της τριμεθυλαμίνης (TMAO) και νουκλεοτίδια. Μερικές από αυτές τις ενώσεις επηρεάζουν τη γεύση του ψαριού. Επίσης αμινοξέα όπως η γλυκίνη, η βαλίνη, η αλανίνη και το γλουταμικό οξύ συνεισφέρουν στην γεύση μαζί με ενώσεις που προέρχονται από τα νουκλεοτίδια όπως η ινοσίνη (Olafsdottir & Jonsdottir, 2010).

Η κύρια πηγή του αρώματος των ιχθύων είναι η οξείδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFAs). Το τυπικό άρωμα του φρέσκου ψαριού σχετίζεται με πτητικές ενώσεις που προέρχονται από την ενζυμική οξείδωση των PUFAs, ενώ τόσο η χημική όσο και η ενζυμική οξείδωση (αυτοοξείδωση) είναι υπεύθυνες για τον σχηματισμό πτητικών ενώσεων κατά τη διάρκεια της συντήρησης των ψαριών σε ψύξη (Serot et al., 2002).

Οι ενώσεις που προέρχονται από την οξείδωση των λιπιδίων επιδρούν αρνητικά στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των ιχθυηρών. Τα δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης των λιπαρών οξέων -και ειδικότερα των ω3 λιπαρών οξέων- έχουν χαμηλά κατώφλια ανίχνευσης (ελάχιστες συγκεντρώσεις οι οποίες γίνονται αντιληπτές από τα ανθρώπινα αισθητήρια όργανα) και έχουν αρνητικό αντίκτυπο στην ποιότητα των ιχθυηρών. Επίσης, πολλά προϊόντα της οξείδωσης των λιπιδίων επιδρούν αρνητικά στην υγεία.

Τα οξειδωμένα λίπη και τα υπεροξειδία προκαλούν αποπολυμερισμό των πρωτεϊνών, διάσπαση των πεπτιδικών αλυσίδων, σχηματισμό παραγώγων αμινοξέων και πολυμερών. Τα πιο ευπαθή αμινοξέα είναι η τρυπτοφάνη, η ιστιδίνη, η λυσίνη, η κυστεΐνη, η βαλίνη, η σερίνη και η προλίνη, λόγω των δραστικών πλευρικών τους αλυσίδων.

Η οξείδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFAs) ακόμα και σε μικρές ποσότητες προκαλεί το σχηματισμό οσμηρών προϊόντων. Τα προϊόντα της περαιτέρω διάσπασης των υπεροξειδίων (κύριο προϊόν της οξείδωσης) είναι κυρίως αλδεΐδες, κετόνες και αλκοόλες με διάφορα μήκη αλυσίδων και επίπεδα ακορεστότητας καθώς επίσης αλκάνια, αλκένια, εστέρες και οξέα (Serfert et al., 2010; Schindler et al., 2010; Rustad, 2010; Veberga et al., 2006; Kawai, 1996). Η σύσταση των λιπαρών οξέων των ιστών μπορεί να επηρεάσει τα χαρακτηριστικά αρώματα των ψαριών. Στο Σχήμα 2.6 φαίνονται οι κύριες πορείες για τον σχηματισμό πτητικών ενώσεων σε ιστούς ψαριών.



Σχήμα 2.6: Κύριες πορείες για τον σχηματισμό πτητικών ενώσεων σε ιστούς ψαριών (Angerosa, 2002)

2.2.9.2 Πτητικές ενώσεις σε φρέσκους ιχθύς

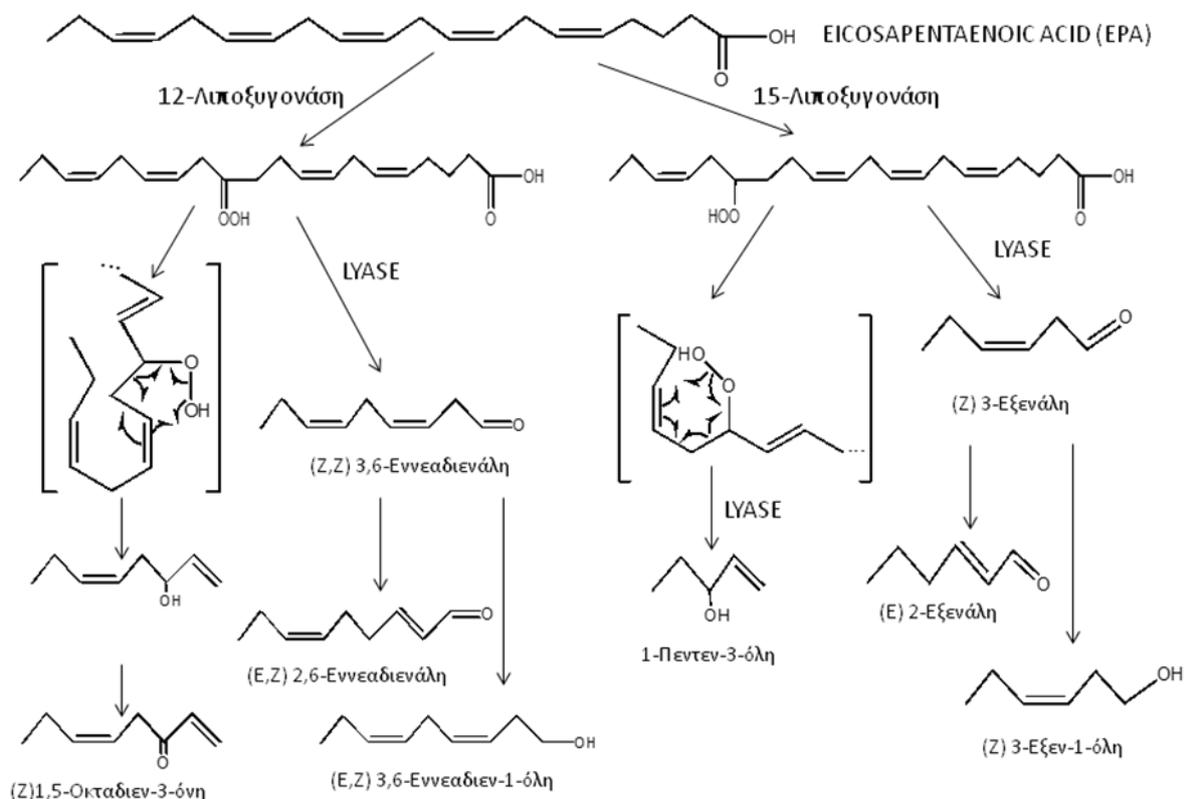
Η δραστηριότητα της λιποξυγονάσης του δέρματος και των βραγχίων προκαλεί τον σχηματισμό εύοσμων πτητικών ουσιών που προσδίδουν ευχάριστο άρωμα στους ιχθύς (Olafsdottir & Jonsdottir, 2010). Η δράση της ενδογενούς λιποξυγονάσης στα μακράς αλυσίδας πολυακόρεστα $\omega 3$ και $\omega 6$ λιπαρά οξέα παράγει πτητικές ενώσεις με 6, 8 και 9 άτομα άνθρακα, αλκοόλες και καρβονυλικές ενώσεις, τα οποία προσδίδουν άρωμα φρέσκου ψαριού και συγκεκριμένα πρασινάδας, φυτού και πεπονιού αμέσως μετά την αλίευση (Lindsay, 1990).

Αν και ο ρόλος των λιποξυγονασών στα ψάρια δεν είναι ακόμα γνωστός, πιστεύεται ότι βοηθούν στη βιοσύνθεση των λευκοτριενίων, τα οποία εμπλέκονται σε κυτταρικό επίπεδο στη ρύθμιση της οσμωτικής πίεσης και στη ρύθμιση έκκρισης βλέννας (Lindsay, 1990).

Η λιποξυγονάση καταλύει την οξείδωση πολυακόρεστων λιπαρών οξέων τα οποία περιέχουν συστήματα (Z,Z)-1,4-πενταδιενίου, παράγοντας υδροϋπεροξειδία των λιπαρών οξέων με Z,E διενική σύζευξη. Στα ψάρια οι διάφορες λιποξυγονάσες ονομάζονται σύμφωνα με τη θέση σύνδεσης του υδροϋπεροξειδίου. Αν η σύνδεση γίνει στο 15^ο, 12^ο, ή 5^ο άτομο άνθρακα του πολυακόρεστου λιπαρού οξέος, έχουμε αντίστοιχα 15- 12- ή 5- λιποξυγονάση (Fu et al., 2009).

Τα προϊόντα της δράσης των λιποξυγονασών είναι καταλύτες για την οξείδωση των λιπαρών, δημιουργώντας προϊόντα αυτοοξείδωσης σε μικρό χρονικό διάστημα μετά το θάνατο των ιχθύων. Χρήση αναστολέων της λιποξυγονάσης είχε ως αποτέλεσμα την απουσία των πτητικών ουσιών που προσδίδουν άρωμα φρέσκου ψαριού. Η παρουσία των πτητικών ενώσεων που προέρχονται από την αυτοοξείδωση των λιπαρών (και όχι αυτών που προέρχονται από τη δράση της λιποξυγονάσης) προκαλεί την αντικατάσταση του αρώματος του φρέσκου ψαριού με αυτό των οξειδωμένων ιχθυελαίων (Lindsay, 1990).

Στο Σχήμα 2.7 απεικονίζεται ο προτεινόμενος μηχανισμός για ενζυμική βιοσύνθεση πτητικών ενώσεων από το EPA μέσω της δράσης της λιποξυγονάσης σε φρέσκα θαλασσινά.



Σχήμα 2.7: Μηχανισμός ενζυμικής βιοσύνθεσης πτητικών ενώσεων που χαρακτηρίζουν τα φρέσκα θαλασσινά από το EPA (20:5ω3). (Kawai 1996)

Οι Fu και συνεργάτες (2009) μελέτησαν την επίδραση της λιποξυγονάσης και της αιμοσφαιρίνης στην οξείδωση των λιπιδίων και συνέκριναν τις ουσίες που σχηματίζονται από την επίδραση τους με χρήση μοντέλων. Η λιποξυγονάση (LOX) ήταν στενά συνδεδεμένη με έντονη μυρωδιά ψαριού πιθανόν λόγω σχηματισμού (E,E)-2,4-επταδιενάλης, ενώ η αιμοσφαιρίνη προκάλεσε οσμή ισχυρά οξειδωμένου ιχθυελαίου, πιθανόν λόγω σχηματισμού εξενάλης και εννεανάλης (Fu et al., 2009).

Γενικότερα η οξειδωση των λιπιδίων από την αιμοσφαιρίνη ξεκινά με παραγωγή ελευθέρων ριζών που μπορούν να αποσπάσουν πρωτόνια από τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα με τυχαίο τρόπο, ενώ οι λιποξυγονάσες αποσπούν πρωτόνια από συγκεκριμένες θέσεις των μορίων των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFAs) με αποτέλεσμα τη δημιουργία διαφορετικών πτητικών ενώσεων (Fu et al., 2009).

Οι κύριες πτητικές ενώσεις που προήλθαν από τη δράση της αιμοσφαιρίνης ήταν ο οξικός αιθυλεστέρας, η αιθανόλη, η 2,3-βουτανοδιόνη, η εξανάλη, η 1-πεντεν-3-όλη, η εννεανάλη, η 1-οκτεν-3-όλη και η 2-ενδεκανόνη, ενώ αντίστοιχα προϊόντα από τη δράση της λιποξυγονάσης ήταν η αιθανόλη, η 2,3-βουτανοδιόνη, η εξανάλη, η εννεανάλη, η 2,4-επταδιενάλη, και η 2-ενδεκανόνη. Οι συγκεντρώσεις (μg/kg) της εξανάλης και της εννεανάλης ήταν συγκριτικά χαμηλότερες σε σχέση με αυτές που αναπτύχθηκαν μέσω της δράσης της αιμοσφαιρίνης (Fu et al., 2009). Γενικότερα, οι συγκεντρώσεις των αλκεναλών και αλκαδιεναλών που προέρχονταν από τις λιποξυγονάσες ήταν σαφώς χαμηλότερες από αυτές που σχηματιζόνταν μέσω της αιμοσφαιρίνης (Fu et al., 2009).

Σύμφωνα με τους Olafsdottir & Jonsdottir, (2010) οι ουσίες που δίνουν χαρακτηριστικές φυτικές οσμές όπως αγγουριού, πεπονιού, μανιταριού είναι ακόρεστες καρβονυλικές ενώσεις και αλκοόλες με 6, 8 και 9 άτομα άνθρακα. Οι ακόρεστες αλκοόλες 1-οκτεν-3-όλη, 1,5-οκταδιεν-3-όλη και 2,5-οκταδιεν-1-όλη είναι υπεύθυνες για τις αμυδρές οσμές στα θαλάσσια είδη, ενώ ενώσεις όπως η 2,6-εννεαδιενάλη (2,6-nonadienal) δίνουν έντονες οσμές φρέσκου φυτού, αγγουριού και πεπονιού σε ιχθύς του γλυκού νερού και σε αυτά που ζουν στις εκβολές των ποταμών. Οι αλκοόλες και οι καρβονυλικές ενώσεις μακράς ανθρακικής αλυσίδας που υφίστανται ενζυμική διάσπαση δίνουν την αίσθηση του φρέσκου ψαριού, ενώ σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις λόγω αυτοοξειδωσης δίνουν την αίσθηση του μαγιάτικου ψαριού.

Οι αλδεΐδες όπως η επτανάλη και η 2,6-εννεαδιενάλη, δημιουργούνται κατά την διάρκεια της αποθήκευσης και έχουν επιθυμητή χαρακτηριστική οσμή σε μικρές συγκεντρώσεις (Olafsdottir & Jonsdottir, 2010). Στον Πίνακα 2.2 παρουσιάζονται οι κυριότερες ενώσεις που σχετίζονται με την οσμή φρέσκων ιχθύων.

Πίνακας 2.2: Ουσίες που σχετίζονται με οσμή φρέσκου ιχθύος

Πηγές: Olafsdottir & Fleurence, (1998); Lindsay, (1990)

| Κατηγορίες χημικών ενώσεων | Χαρακτηριστικές ενώσεις | Περιγραφή αρώματος | Κατώφλιο ανίχνευσης σε υδατικό διάλυμα (μg/kg, ppb) |
|---|----------------------------------|-------------------------|---|
| C6-C9 αλκοόλες και καρβονυλικές ενώσεις | εξανάλη/ <i>trans</i> -2-εξανάλη | Γρασίδι, σαν αλδεΐδη | 4,5-17 |
| | 1-οκτεν-3-όλη, / 1-οκτεν-3-όνη | Μανιτάρι | 10 |
| | 1,5-οκταδιεν-3-όλη | Γήινο, μανιτάρι | 10 |
| | 1,5-οκταδιεν-3-όνη | Γεράνι | 0,001 |
| | 2,6-εννεαδιενάλη | Αγγούρι | 0,001 |
| | 3,6-εννεαδιενάλη | Αγγούρι, πεπόνι | 10 |
| Βρωμοφαινόλες | 2,6-διβρωμοφαινόλη | Ιώδιο, γαρίδες | 0,0005 |
| | 2,4,6-τριβρωμοφαινόλη | Θαλασσινά ψάρια, αλμύρα | 0,6 |
| | 2-βρωμοφαινόλη | Θάλασσα | |
| Αζωτούχες κυκλικές ενώσεις | πυρρολιδίνη, πιπεριδίνη | Γήινα αρώματα | |

2.2.9.3 Πτητικές ενώσεις από μικροβιολογική αλλοίωση και οξείδωση

Ο βασικός λόγος αλλοίωσης των ψαριών και θαλασσινών είναι η ανάπτυξη βακτηρίων και οι αλλαγές που προκαλούνται από οξειδωτικές και ενζυμικές αντιδράσεις.

Η ισορροπία της εξωτερικής και εσωτερικής βακτηριακής χλωρίδας των ιχθύων ανατρέπεται μετά το θάνατο, με τον επακόλουθο ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό των βακτηρίων. Παράλληλα, παύει η λειτουργία των μηχανισμών που εμποδίζουν την εισβολή μικροοργανισμών στους ιστούς. Μετά από μια πολύ σύντομη περίοδο προσαρμογής, η μικροβιακή χλωρίδα των ιχθύων των εύκρατων και ψυχρών θαλασσών εισέρχεται στη λογαριθμική φάση ανάπτυξης, δεδομένου ότι τα βακτήρια είναι ήδη προσαρμοσμένα στις χαμηλές θερμοκρασίες (Λουγκοβόης, 1977a).

Τα κύρια είδη βακτηρίων που προκαλούν την αλλοίωση είναι τα *Pseudomonas* spp., *Aeromonas* spp., *Vibrio* spp., συγκεκριμένα είδη ψυχρόφιλων Enterobacteriaceae, τα οποία βρίσκονται σε ψάρια του γλυκού νερού που συντηρούνται με ψύξη. Στα θαλάσσια ψάρια βρίσκονται κυρίως τα *Shewanella putrefaciens*, *Shewanella algae* και *Shewanella baltica* (Kulawik et al., 2013).

Οι μικροοργανισμοί που βρίσκονται στους ιχθύς παράγουν ουσίες όπως η υδροξυλαμίνη, βιογενείς αμίνες, κετόνες, αλδεΐδες, αλκοόλες και οργανικά οξέα με κύριο αντιπρόσωπο την τριμεθυλαμίνη, που προέρχεται από το οξείδιο της τριμεθυλαμίνης (trimethylamine oxide, TMAO) το οποίο περιέχεται στα ψάρια (Kulawik et al., 2013), οι οποίες συνεισφέρουν στην οργανοληπτική και όχι μόνο αλλοίωση του ψαριού.

Οι αλλοιούντες μικροοργανισμοί χρησιμοποιούν το οξείδιο της τριμεθυλαμίνης (TMAO) ως τελικό αποδέκτη ηλεκτρονίων στην αναπνευστική αλυσίδα τους (αναερόβια αναπνοή),

παράγοντας ταυτόχρονα τριμεθυλαμίνη (TMA). Στα ψάρια και θαλασσινά η παραγωγή τριμεθυλαμίνης από το οξείδιο της τριμεθυλαμίνης μέσω μικροοργανισμών προκαλεί την ενίσχυση των αρωμάτων του ιχθύος που συνήθως θυμίζουν την οσμή μαγειρεμένου καβουριού (Lindsay, 1990). Σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις η TMA ευθύνεται σε μεγάλο βαθμό για τη δυσάρεστη οσμή των αλλοιωμένων ιχθύων (Λουγκοβόης, 1977a).

Άλλη μεταβολή του αρώματος των νωπών ψαριών κατά τη συντήρηση, οφείλεται στην ελάττωση των πτητικών ουσιών που χαρακτηρίζουν το άρωμα του φρέσκου ψαριού λόγω της μετατροπής τους σε λιγότερο αρωματικά παράγωγα και ταυτόχρονη παραγωγή πτητικών ουσιών με υποδεέστερα αρώματα λόγω αλλοίωσης μικροβιακής προέλευσης. Η παραγωγή πτητικών ουσιών από μικροβιολογική αλλοίωση συνυπάρχει συνήθως με τα πτητικά προϊόντα της οξείδωσης των λιπών. Έτσι, η παρουσία της τριμεθυλαμίνης με την έντονη οσμή «ψαρίλας» από τη δράση μικροοργανισμών, συνοδεύεται από την παρουσία της 2,4,7-δεκατριενάλης από την οξείδωση των λιπών, δεδομένου ότι οσμή «ψαρίλας» αναπτύσσεται επίσης κατά την οξείδωση των πολυακόρεστων ω3 και ω6 λιπαρών οξέων, προς σχηματισμό 2,4,7-δεκατριενάλης και αντίστοιχων καρβονυλικών ενώσεων. Ο συνδυασμός τους προσδίδει τη δυσάρεστη οσμή άρα και την μειωμένη αποδοχή από τους καταναλωτές (Lindsay, 1990). Στον Πίνακα 2.3 φαίνονται τα υποστρώματα και οι παραγόμενες δύσοσμες ενώσεις κατά τη βακτηριακή αλλοίωση των ιχθύων.

Πίνακας 2.3: Δύσοσμες ενώσεις που παράγονται κατά τη βακτηριακή αλλοίωση των ιχθύων και τα αντίστοιχα υποστρώματα (Huss, 1995)

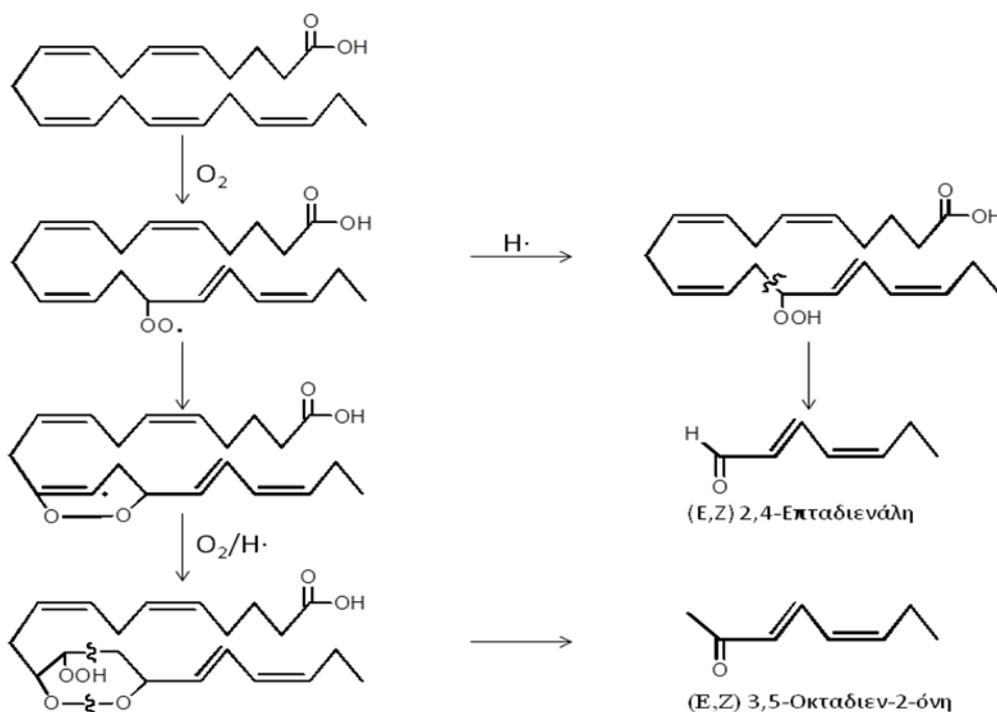
| Υπόστρωμα | Ενώσεις που παράγονται από βακτηριακή δράση |
|--------------------------------------|---|
| TMAO | Τριμεθυλαμίνη (TMA) |
| Κυστεΐνη | Υδρόθειο (H ₂ S) |
| Μεθειονίνη | Μεθυλο μερκαπτάνη (CH ₃ SH), Διμεθυλοσουλφίδιο (CH ₃) ₂ S |
| Υδατάνθρακες, γαλακτικό οξύ | Οξικό οξύ, CO ₂ , H ₂ O |
| Ινισίνη, μονοφωσφορική ινισίνη (IMP) | Υποξανθίνη |
| Αμινοξέα (Γλυκίνη, σερίνη, λευκίνη) | Εστέρες, κετόνες, αλδεΐδες |
| Αμινοξέα, Ουρία | Αμμωνία (NH ₃) |

Εκτός από τη βακτηριακή αλλοίωση, η οξείδωση είναι από τις κύριες αιτίες αλλοίωσης των ιστών των ιχθύων εξαιτίας των υψηλών συγκεντρώσεων καταλυτών όπως ιόντων σιδήρου και αιμοσφαιρίνης και της μεγάλης συγκέντρωσης πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFAs).

Τα υψηλά επίπεδα πολυακόρεστων PUFAs στα λιπίδια των ιχθύων τα καθιστούν ευαίσθητα στην οξείδωση και την αυτοοξείδωση, τα προϊόντα των οποίων προσδίδουν μη αποδεκτό χρώμα, άρωμα και οσμή (Kulawik et al., 2013; Wang et al., 2011; Ladikos & Lougonois, 1990).

Στα θαλασσινά, η αυτοοξειδωση προκαλείται μέσω ενζυμικών ή μη ενζυμικών δράσεων. Η οξείδωση των λιπιδίων ενισχύεται από την παρουσία μετάλλων (σίδηρος, κοβάλτιο, χαλκός) που εισέρχονται στο τρόφιμο μέσω του νερού και σε μερικές περιπτώσεις μέσω του αλατιού και των καρυκευμάτων. Την επίδραση του σιδήρου στην οξείδωση των λιπών μπορεί να ενισχύσει το οξυγόνο που εισχωρεί κατά την ομογενοποίηση του ιχθύος ή να τη μειώσει η χαμηλή ενεργότητα νερού. Η αλληλεπίδραση του H_2O_2 με την μεθυμοσφαιρίνη ή μεθαιμοσφαιρίνη θεωρείται ως η απαρχή της υπεροξειδωσης των λιπιδίων (Ladikos & Lougonois, 1990), ενώ και το αλάτι -ίσως μέσω ιχνοστοιχείων που περιέχει- μπορεί να θεωρηθεί ως καταλύτης της οξείδωσης των λιπιδίων (Ladikos & Lougonois 1990; Osinchak et al., 1992).

Κατά τον Kawai (1996) η 3,5-οκταδιενόνη και η 2,4-επταδιενάλη είναι τα κύρια πτητικά προϊόντα της διάσπασης του εικοσιπενταενοϊκού οξέος (EPA, 20:5 ω 3) μέσω αυτοοξειδωσης (Σχήμα 2.8).



Σχήμα 2.8: Προτεινόμενη διάσπαση του EPA σε 2,4-επταδιενάλη και 3,5-οκταδιεν-2-όνη μέσω αυτοοξειδωσης (Kawai, 1996)

Στους Πίνακες 2.4 και 2.5 παρουσιάζονται τα κυριότερα πτητικά προϊόντα της μικροβιολογικής αλλοίωσης και της οξείδωσης των λιπιδίων των ιχθύων, αντίστοιχα.

Πίνακας 2.4: Πτητικά συστατικά που σχετίζονται με την μικροβιολογική αλλοίωση των ιχθύων (Olafsdottir & Fleurence, 1998; Lindsay, 1990)

| Κατηγορίες Χημικών Ενώσεων | Χαρακτηριστικές ενώσεις | Περιγραφή Αρώματος | Κατώφλι αντίχνευσης σε υδατικό διάλυμα (μg/kg, ppb) |
|--------------------------------------|---|----------------------|---|
| Μικρής αλυσίδας αλκοόλες | αιθανόλη, προπανόλη, βουτανόλη 3-μεθύλ-1-βουτανόλη | Οσμή διαλύτη | 1-100 |
| Μικρής αλυσίδας καρβονυλικές ενώσεις | ακετόνη, βουτανόνη | Οσμή διαλύτη | |
| | αιθανάλη, προπανάλη | Βύνη | 0,06 |
| | 3-μεθυλ-βουτανάλη 2- μεθυλ-βουτανάλη | Βύνη | 0,04 |
| Αμίνες | αμμωνία | Οσμή αμμωνίας | 110 |
| | τριμεθυλαμίνη (TMA) | Ψαρίλα, οσμή | 30 |
| | διμεθυλαμίνη (DMA) | | 0,6 |
| | ισταμίνη | | |
| | πουτρεσκίνη καδεβερίνη | Οσμή σήψης | |
| Θειούχες ενώσεις | υδρόθειο | Θειώδες, βραστά αυγά | 5-40 |
| | μεθυλομερκαπτάνη | Σάπιο λάχανο | 0,05 |
| | μεθυλοσουλφίδιο | Σαν λάχανο | 0,9 |
| | διμεθυλοδισουλφίδιο | Σάπιο, σαν κρεμμύδι | 12 |
| | διμεθυλοτρισουλφίδιο | Σάπιο, λάχανο, | 0,01 |
| | διθειομεθυλενομεθάνιο θειοεστέρες | Σαν σκόρδο | 0,3 |
| Αρωματικές | φαιναιθυλική αλκοόλη | ξερά τριαντάφυλλα | |
| | φαινόλη | Σαν φαινόλη | 2 |
| | π-κρεσόλη | Οσμή στάβλου | 300 |
| Αζωτούχες κυκλικές ενώσεις | ινδόλη σκατόλη | Οσμή κοπράνων | |
| Οξέα | οξικό οξύ | | 34,2 |
| | βουτυρικό οξύ | Ξινό, σάπιο, | 32,8 |
| | ισοβουτυρικό οξύ | φορεμένες κάλτσες | |

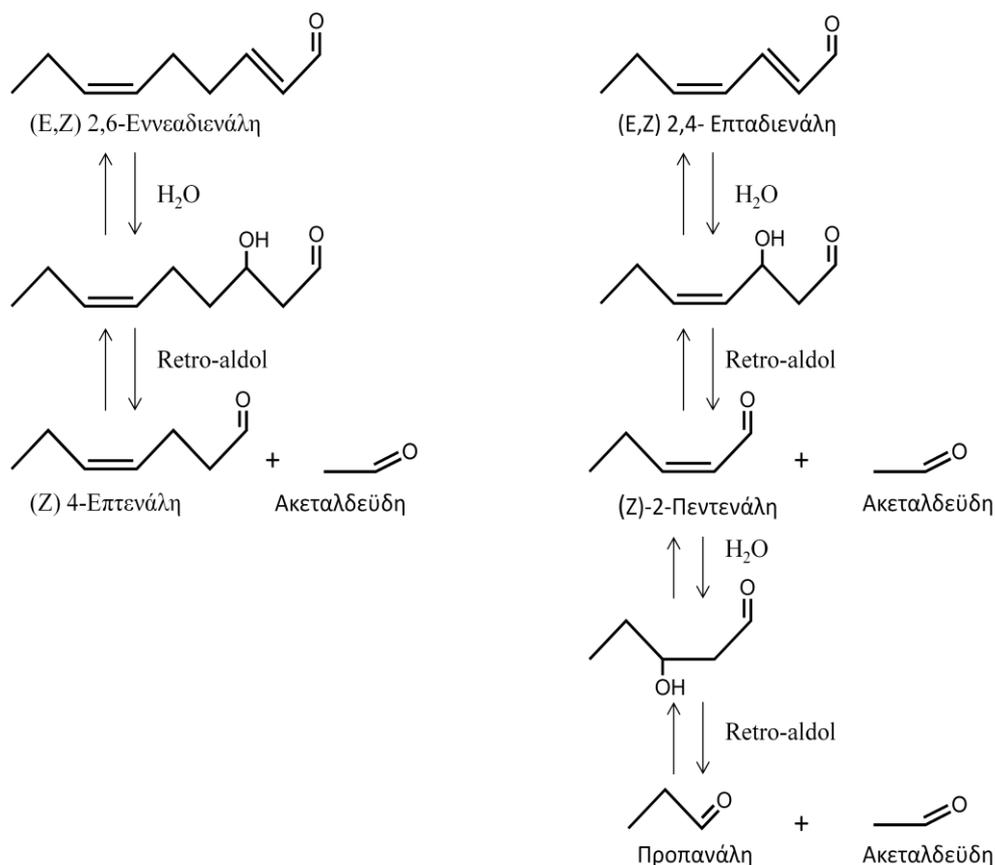
Πίνακας 2.5: Ουσίες που σχετίζονται με την οξείδωση των λιπιδίων του ιχθύος Πηγές: Olafsdottir & Fleurence, (1998); Lindsay, (1990)

| Κατηγορίες Χημικών Ενώσεων | Χαρακτηριστικές ενώσεις | Περιγραφή Αρώματος | Κατώφλι αντίχνευσης σε υδατικό διάλυμα (μg/kg, ppb) |
|----------------------------|-------------------------|--------------------------------|---|
| Κορεσμένες αλδεΐδες | εξανάλη | Γρασίδι, φυτικό | 4,5 |
| Ακόρεστες αλδεΐδες | 4-επτενάλη | Πατάτα, χαρτόνι | 0,04 |
| | 2,4-επταδιενάλη | Οξειδωμένες οσμές ψαρίλα | |
| | 2,4,7-δεκατριενάλη | Καμένο, ψαρίλα, μυρουνέλαιο | |

2.2.9.4 Πτητικές ενώσεις προερχόμενες από το περιβάλλον και από την επεξεργασία των ιχθύων

Οι πτητικές ουσίες οι οποίες προέρχονται από το περιβάλλον συνήθως έχουν αρνητική συνεισφορά στο άρωμα των ψαριών και των θαλασσινών και μπορούν να διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο στο τελικό άρωμα των ιχθυηρών. Η γεοσμίνη (geosmin) και η μεθυλ-ισοβορνεόλη (methylisoborneol) παράγονται από συγκεκριμένα βακτήρια και άλγη και προσδίδουν οσμές λάσπης και μούχλας, συνεπώς η παρουσία τους είναι ανεπιθύμητη. Επίσης, ανεπιθύμητες ενώσεις μπορεί να σχηματισθούν και στα επεξεργασμένα ιχθυηρά (Lindsay, 1990).

Η θερμική επεξεργασία των ιχθύων και των θαλασσινών προκαλεί ελάττωση των αλδευδών και των κετονών μέσω αντίδρασης τους με αμίνες, ενώ η θέρμανση των δραστικών πτητικών ενώσεων δημιουργεί μεγάλη ποικιλία αρωματικών ενώσεων παρόμοιων με αυτές που δημιουργούνται σε ιστούς άλλων τροφίμων. Επίσης η θέρμανση επιταχύνει την retro-αλδολική διάσπαση των πολυακόρεστων αλδευδών, με αποτέλεσμα την αλλαγή του προφίλ των αρωματικών ενώσεων στα θερμικώς επεξεργασμένα ιχθυηρά (Lindsay, 1990) (Σχήμα 2.9).



Σχήμα 2.9: Μηχανισμός σχηματισμού της 4Z-επτενάλης από 2E,6Z-εννεαδιενάλη και της 2E-πεντενάλης/προπανάλης από 2E,4Z-επταδιενάλη μέσω προσθήκης νερού σε διπλούς δεσμούς και retro-αλδολικής συμπίκνωσης. (Kawai, 1996).

Χημικές μετατροπές πτητικών καρβονυλικών ενώσεων παρατηρούνται και κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας των ιχθύων, αποδίδοντας πολλαπλά αρώματα στα τελικά προϊόντα. Τα ιδιαίτερα ανά είδος αρώματα των ιχθύων και των θαλασσινών σχετίζονται με την ύπαρξη συγκεκριμένων ενώσεων, πολλές από τις οποίες συσσωρεύονται από το περιβάλλον μέσω της διατροφικής αλυσίδας (Lindsay, 1990).

Στους Πίνακες 2.6 και 2.7 παρουσιάζονται οι κυριότερες πτητικές ενώσεις που σχηματίζονται κατά την επεξεργασία των ιχθύων ή προέρχονται από το περιβάλλον, αντίστοιχα.

Πίνακας 2.6: Πτητικές ενώσεις που παράγονται κατά την επεξεργασία των ιχθυηρών (Olafsdottir & Fleurence, 1998; Lindsay, 1990)

| Χαρακτηριστικές ενώσεις | Περιγραφή Αρώματος |
|-------------------------|------------------------|
| 2,4-Επταδιενάλη | Οσμή αντζούγιας |
| 3,5-Οκταδιεν-2-όνη | |
| Μεθειονάλη | Οσμή πατάτας |
| 2-Μεθυλ-3-φουρανοθειόλη | Οσμή τόνου σε κονσέρβα |

Πίνακας 2.7: Πτητικές ενώσεις προερχόμενες από το περιβάλλον (Olafsdottir & Fleurence, (1998);

| Χαρακτηριστικές ενώσεις | Περιγραφή Αρώματος |
|-------------------------|-------------------------------|
| Μεθυλοσουλφίδιο | Οσμή πετρελαίου |
| Γεοσμίνη | Γήινα αρώματα, βρεγμένο χρώμα |
| 2-Μεθυλ-ισο-βορνεόλη | Γήινα αρώματα, βρεγμένο χρώμα |

2.2.10 Σχέση λιπιδικής σύστασης – Αρώματος ιχθύων

Τα λιπίδια αποτελούν συνήθως το δεύτερο σε αφθονία μακροσυστατικό των ιχθύων και θαλασσινών μετά τις πρωτεΐνες, με τα ω3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα να κυριαρχούν, με κύριους εκπροσώπους το εικοσιπενταενοϊκό οξύ (eicosapentaenoic acid, EPA) και το εικοσιδυεξαενοϊκό οξύ (docohexaenoic acid, DHA).

Η σύσταση των λιπιδίων των ιχθύων μπορεί να επηρεασθεί από ενδογενείς και εξωγενείς παράγοντες. Εξωγενείς παράγοντες όπως η εποχή αλίευσης σε σχέση με την θερμοκρασία και την διατροφή των ιχθύων παίζουν σημαντικό ρόλο στην λιπιδική τους σύσταση. Αντίστοιχα, ενδογενείς παράγοντες, όπως η φυσιολογία και η ανατομία του ψαριού, η περιογή αλίευσης, η ηλικία, το φύλο και η σεξουαλική ωριμότητα, διαφοροποιούν την σύσταση των λιπιδίων (Aubourg, 2010).

2.2.10.1 Προέλευση πτητικών ενώσεων που ανιχνεύονται σε ιστούς των ιχθύων

Στην παράγραφο αυτή παρατίθενται δεδομένα για την προέλευση διαφόρων πτητικών ενώσεων που ανιχνεύονται στους ιστούς των ιχθύων.

Οι αλκοόλες πιθανότατα παράγονται από την οξείδωση των λιπών (χημική και ενζυμική) ή τη θερμική διάσπαση ακόρεστων λιπαρών (Turchini et al., 2004).

Οι 1-αλκανόλες (1-alkanols) με 3 έως 8 άτομα άνθρακα μπορεί να προέρχονται από θερμική διάσπαση των ακόρεστων λιπιδίων (Chung et al., 2002).

Οι κετόνες μπορεί να προέλθουν από η θερμική διάσπαση, οξείδωση των λιπών - κυρίως των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFA)- ή των αμινοξέων, καθώς και από την αντίδραση Maillard (Kawai 1996, Chung et al. 2002, Turchini et al., 2004).

Τα αλκάνια ανιχνεύονται σε όλα τα δείγματα ιχθύων και πιθανών προέρχονται από την διάσπαση των λιπιδίων (Chung et al 2002).

Οι κανονικές αλδεΐδες παράγονται από την οξείδωση των μονοακόρεστων και ω6 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων. Η εξανάλη μπορεί να παραχθεί από το λινελαϊκό οξύ (13-υδροϋπεροξειδίο) και από τη διάσπαση ήδη σχηματισμένων πτητικών ενώσεων όπως η 2,4-δεκαδιενάλη και η 2-οκτενάλη. Η εξανάλη προέρχεται από την οξείδωση του λινελαϊκού οξέος, η επτανάλη και η οκτανάλη προέρχονται κυρίως από την οξείδωση του ελαϊκού οξέος (Caprino et al., 2008), ενώ η εννεανάλη κυριαρχεί στο κλάσμα των πτητικών ενώσεων που σχηματίζονται κατά την αυτοοξείδωση του λινελαϊκού οξέος (Caprino et al., 2008). Η προπανάλη είναι προϊόν του 16-υδροϋπεροξειδίου και του 15-υδροϋπεροξειδίου που σχηματίζονται από αυτοοξείδωση και τη φωτοοξείδωση του λινελαϊκού οξέος, αντίστοιχα (Iglesias & Medina, 2008). Η οξείδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων των ιχθυηρών σχετίζεται επίσης με τον σχηματισμό και άλλων αλδευδών, όπως οι (E)-2-πεντενάλη, (E)-2-εξενάλη, (Z)-4-επτενάλη, (E,E)-2,4-

επταδιενάλη, 2,4,7-δεκατριενάλη και 2,6-εννεαδιενάλη, καθώς και πτητικών αλκοολών και κετονών όπως οι 1-πεντεν-3-όλη, 1-οκτεν-3-όλη, 1,5-οκταδιεν-3-όνη, μερικές από τις οποίες έχουν υψηλό κατώφλι ανίχνευσης (Iglesias & Medina, 2008).

Οι αλκενάλες (alkenals) σχηματίζονται από την αυτοοξειδωση είτε των ω6 PUFAs είτε των ω3 PUFAs. Ειδικότερα η 2-εξενάλη και η 2-επτενάλη είναι ουσίες προερχόμενες από το λινολενικό οξύ ενώ η 2-οκτενάλη και η 2-εννεενάλη προέρχονται κυρίως από το λινελαϊκό οξύ (Caprino et al., 2008). Η 4-επτενάλη πιθανώς προέρχεται από την (E,Z)-2,6-εννεαδιενάλη (Σχήμα 4) (Kawai, 1996; Caprino et al., 2008). Η (E,Z)-2,6-εννεαδιενάλη και (E)-2-εννεάλη, είναι σημαντικές αρωματικές ενώσεις στα ψάρια του γλυκού νερού (Caprino et al., 2008). Η 3,6-εννεαδιενάλη και η 2,4,7-δεκατριενάλη πιθανώς προέρχονται από το 9-υδροϋπεροξειδίο του λινολενικού οξέος και από την εξανάλη που σχηματίζεται από το 13-υδροϋπεροξειδίο του λινελαϊκού οξέος (Ashie et al., 1996). Η (Z)-4-επτενάλη παράγεται από την 2,6-εννεαδιενάλη με την δράση της 12-λιποξυγονάσης στο EPA. Επίσης, πιστεύεται ότι η (E,Z)-2,4-επταδιενάλη και η (E,Z)-3,5-οκταδιεν-2-ονη προέρχονται από την αυτοοξειδωση του EPA (Iglesias & Medina, 2008).

Άλλες ουσίες που σχηματίζονται σε αξιόλογες συγκεντρώσεις και σχετίζονται με την οξείδωση των λιπιδίων είναι το 2-αιθυλ-φουράνιο, η (Z)-4-επτενάλη και η 3,5-οκταδιεν-2-όνη (Iglesias & Medina, 2008).

Η 1-πεντεν-3-όλη σχηματίζεται από το EPA (20:5ω3) με την επίδραση της 15-λιποξυγονάσης. Το 2-αιθυλφουράνιο μπορεί να παραχθεί από το λινολενικό οξύ (18:3ω3) με την επίδραση της 12-λιποξυγονάσης, από το EPA (20:5ω-3) με τη δράση της 14-λιποξυγονάσης είτε από το DHA (22:6ω3) με τη δράση της 16-λιποξυγονάσης.

Η μελέτη των πτητικών συστατικών του καλκανιού έδειξε ότι οι υψηλές συγκεντρώσεις ω3 PUFAs είχαν ως αποτέλεσμα την αυξημένη παρουσία ενώσεων με μεγάλη ένταση αρώματος, όπως οι (E,Z)-2,6-εννεαδιενάλη, (E)-2-πεντενάλη και το (E,E)-1,3-(Z)-5-οκτατριένιο, ενώ αντίστοιχα τα υψηλά επίπεδα ω6 PUFAs συνοδεύτηκαν από υψηλές συγκεντρώσεις εξανάλης και δεκανάλης (Serot et al., 2002).

Οι πυραζίνες προέρχονται από την αντίδραση Maillard. Οι πυραζίνες μπορούν να σχηματιστούν κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης, της επεξεργασίας ή ακόμα και κατά τη διάρκεια της απομόνωσης των πτητικών συστατικών του τροφίμου με απόσταξη-εκχύλιση (Chung et al., 2002).

Τα φουράνια πιθανώς προέρχονται από την αντίδραση Maillard (Chung et al., 2002) ενώ το 2-πεντολοφουράνιο προέρχεται από την οξείδωση των ω6 PUFA (Turchini et al., 2004).

Από τους αρωματικούς υδρογονάνθρακες που ανιχνεύονται στα πτητικά συστατικά των ιχθύων, τα διμεθυλοβενζόλια (ξυλόλια), τριμεθυλοβενζόλια (trimethylbenzenes),

αιθυλοβενζόλιο (ethylbenzene) και τολουόλιο (toluene) προέρχονται πιθανώς από θερμική αποικοδόμηση των σακχάρων και των αμινοξέων.

Το πριστάνιο (pristane ή 2,6,10,14-tetramethylpentadecane) είναι ένα κορεσμένο τερπενοειδές αλκάνιο φυσικής προέλευσης (πρωτοανιχνεύθηκε σε ηπατέλαια καρχαρία). Το prisτάνιο μπορεί να προέρχεται από την αυτοοξειδωση λιπαρών μέσω αλκυλικών ριζών (alkyl radicals), από την αποσύνθεση των καροτενοειδών ή μέσω της διατροφής. Το prisτάνιο προέρχεται επίσης από το πετρέλαιο ή από βιογενείς πηγές, και ανιχνεύεται σε ιχθύς οι οποίοι προέρχονται από μολυσμένα θαλάσσια νερά (Turchini et al., 2004).

Η παρουσία τριμεθυλαμίνης ή/και 1H-ινδόλης (1H-Indole ή 2,3-βενζοπυρρόλη) είναι ένδειξη μικροβιακής αλλοίωσης (Chung et al., 2002).

Το λεμονένιο (limonene) προέρχεται πιθανώς από βιοσυσσώρευση μέσω της τροφικής αλυσίδας (Chung et al., 2002).

Η προπανάλη, η 1-πεντεν-3-όλη, η 2,3-πεντανοδιόνη, η εξανάλη, και η 1-οκτεν-3-όλη είναι οι κύριες πτητικές ενώσεις που σχηματίζονται κατά τη διάρκεια της συντήρησης-αποθήκευσης (Iglesias & Medina, 2008). Σύμφωνα με τους ίδιους συγγραφείς, με δεδομένο ότι η ανάλυση των πτητικών ουσιών έχει γίνει αποδεκτός δείκτης μέτρησης του βαθμού οξείδωσης των λιπών, οι 2,3-πεντανοδιόνη και 1-οκτεν-3-όλη πρέπει να επιλέγονται ως δείκτες οξείδωσης (Iglesias & Medina, 2008).

Η εξανάλη ανιχνεύεται συχνά σε τρόφιμα και χρησιμοποιείται ως δείκτης για τον χαρακτηρισμό δυσάρεστων οσμών (off-flavor) (Caprino et al., 2008).

Σε μελέτη των πτητικών συστατικών του μπακαλιάρου, τα επίπεδα *cis*-4-επτανάλης, *trans*-2-επτενάλης, *trans*-2,*cis*-4-επταδιενάλης, *cis*-2-πεντενάλης, *cis*-3-εξανάλης και της *trans*-2,*cis*-4-δεκαδιενάλης βρέθηκαν αυξανόμενα με το χρόνο και τη θερμοκρασία αποθήκευσης με τις *cis*-2-πεντενάλη, *cis*-4-επτανάλη και εξανάλη να ανιχνεύονται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις. Άλλα προϊόντα διάσπασης που σχετίζονται με χαρακτηριστικές δυσάρεστες οσμές των ιχθύων είναι η 1,5-οκταδιεν-3-όλη, η 1-οκτεν-3-όλη, και η εξανάλη. Να τονισθεί πάντως στο σημείο αυτό, ότι σε χαμηλές συγκεντρώσεις οι ουσίες αυτές μπορεί να προσδίδουν άρωμα φρέσκου ψαριού (Ashie et al., 1996).

2.2.10.2 Μεταβολές κατά το μαγείρεμα - Επεξεργασμένα τρόφιμα

Πέρα από τις αρνητικές επιπτώσεις που προκαλεί στο άρωμα ενός τροφίμου η οξείδωση των λιπαρών κατά την διάρκεια του μαγειρέματος των ψαριών μπορεί να είναι πηγή ενδιάμεσων ενώσεων που αντιδρούν με άλλα συστατικά και δίνουν επιθυμητό άρωμα στα μαγειρεμένα ψάρια (Ladikos & Lougonois, 1990; Schindler et al., 2010). Η θερμική οξείδωση προκαλεί το σχηματισμό πτητικών ενώσεων αντίστοιχων με αυτές που προκαλεί η οξειδωτική τάγγιση αντίστοιχες πτητικές ενώσεις με αυτήν της οξείδωσης λόγω τάγγισης, όμως οι μικροδιαφορές που υπάρχουν στον μηχανισμό οξείδωσης δημιουργούν ένα σύνολο πτητικών προϊόντων με διαφορές τόσο ποιοτικές όσο και ποσοτικές (Ladikos & Lougonois, 1990).

Η ανάπτυξη των αρωμάτων στα επεξεργασμένα θαλασσινά είναι αποτέλεσμα πρωτεολυτικών και λιπολυτικών αντιδράσεων και επηρεάζεται από την παρουσία ενζύμων και τη θερμοκρασία. Η αντίδραση Maillard, περιλαμβάνοντας την αποικοδόμηση Strecker, την θερμική αποικοδόμηση και την λιπιδική οξείδωση οδηγεί στο σχηματισμό πολύπλοκων αρωμάτων. Με την αύξηση της θερμοκρασίας παράγονται αρωματικές ενώσεις από την αντίδραση Maillard όπως οι πυραζίνες χαρακτηριστικές της ενζυμικής υδρόλυσης των θαλασσινών (Olafsdottir & Jonsdottir, 2010).

Η αντίδραση Maillard είναι μια πολύπλοκη αλληλουχία αντιδράσεων που λαμβάνει χώρα κατά τη θερμική κατεργασία των τροφίμων και έχει σαν αποτέλεσμα την εμφάνιση επιθυμητών οργανοληπτικών χαρακτηριστικών όπως ανάπτυξη καστανού χρώματος, χαρακτηριστικής γεύσης και αρώματος. Πραγματοποιείται μεταξύ καρβονυλικών ενώσεων με αμινομάδες και έχει σαν τελικό αποτέλεσμα τη δημιουργία σκουρόχρωμων προϊόντων, τις μελανοΐδινες.

Η αλληλεπίδραση των υπεροξειδίων και των ενώσεων που προκύπτουν από την διάσπαση των λιπών με τις πρωτεΐνες ή τα αμινοξέα, δίνουν σταθερότητα στο άρωμα κατά την διάρκεια της επεξεργασίας, του μαγειρέματος και της αποθήκευσης ενός τροφίμου. Επίσης το pH, η θερμοκρασία και η ενεργότητα του ύδατος παίζουν σημαντικό ρόλο στον σχηματισμό αρωμάτων (Ladikos & Lougonois, 1990).

Η μεθειονάλη (methional), με χαρακτηριστική οσμή πατάτας, προέρχεται από την αποικοδόμηση Strecker της μεθειονίνης, ενώ η 2-ακετυλο-1-πυρρολίνη (2-acetyl-1-pyrroline) με χαρακτηριστικό άρωμα ποπ-κορν παράγεται θερμικά από την αντίδραση Maillard. Σε μαγειρευμένα θαλασσινά έχουν βρεθεί επίσης αλκυλο-πυραζίνες, φουράνια και ενώσεις που περιέχουν θείο (Olafsdottir & Jonsdottir, 2010).

Ενώσεις που προέρχονται από τα λίπη όπως *cis*-4-επτανάλη (*cis*-4-heptanal), 2-οκτεν-3-όλη (2-octen-3-ol), 2,6-εννεαδιενάλη (2,6-nonadienal), εξανάλη (hexanal), 2,4-επτανάλη (2,4-heptanal) και 2,4-δεκαδιενάλη (2,4-decadienal) συνεισφέρουν στο άρωμα των επεξεργασμένων

θαλασσινών. Οι αλδεΰδες που προέρχονται από τα λίπη έχουν αξιοσημείωτο ρόλο στον σχηματισμό του τελικού αρώματος των ψαριών και χαρακτηρίζουν την γλυκιά οσμή των επεξεργασμένων θαλασσινών όπως πχ. αυτή του καπνιστού σολομού. Η *cis*-4-επτανάλη και η επτανάλη (προϊόντα οξειδωσης με οσμή πατάτας) και η 1-οκτεν-3-όλη (με οσμή μανιταριού) είναι οι πιο χαρακτηριστικές πτητικές ενώσεις σε καπνιστό σολομό και αλίπαστο βακαλάο. Κάποιες από τις ενώσεις αυτές έχουν χαμηλό κατώφλι ανίχνευσης και επηρεάζουν τις οργανοληπτικές ιδιότητες ακόμα και σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις. Επομένως η εκτίμηση της αίσθησης που προκαλούν είναι μια από τις πιο σημαντικές αναλύσεις για τον ποιοτικό έλεγχο των ενώσεων που προέρχονται από την οξείδωση των λιπών (Serfert et al., 2010).

2.2.11 Όρια ανίχνευσης οσμών (Odour Threshold)

Οι πτητικές ενώσεις που βρίσκονται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις δεν είναι πάντοτε αυτές που συνεισφέρουν στο τελικό άρωμα των ιχθυηρών. Η οσμή που αντιλαμβανόμαστε εξαρτάται και από τα όρια πάνω από τα οποία οι ενώσεις αυτές γίνονται αντιληπτές. Επίσης, κάποιες ενώσεις μπορεί να είναι επιθυμητές σε χαμηλά επίπεδα, ενώ σε μεγαλύτερα να είναι ανεπιθύμητες (Olafsdottir & Jonsdottir, 2010).

Γενικώς, οι αλδεΰδες με ένα ω3 διπλό δεσμό έχουν χαμηλά κατώφλια ανίχνευσης και είναι κύρια συστατικά των δυσάρεστων οσμών (off-flavors) που συνοδεύουν την οξείδωση. Έτσι, οι ιστοί ιχθύων, όντας πλούσιοι σε ω3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα είναι πολύ ευαίσθητοι στην οξείδωση των λιπιδίων και την επακόλουθη απελευθέρωση αλδευδών με ω3 διπλούς δεσμούς που προκαλούν οσμές τάγγισης (Ashie et al., 1996).

Η εξανάλη και η 2,4-επταδιενάλη έχουν αναφερθεί ότι έχουν οσμή που θυμίζει μουρουνέλαιο και μυρωδιά μπογιάς (Turchini et al., 2004) ενώ κατά τους Caprino et al. (2008) η εξανάλη προσδίδει λιπαρές και άγουρες νότες στο άρωμα του ψαριού.

Οι κανονικές αλδεΰδες θεωρούνται ότι διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στο άρωμα των τροφίμων, δεδομένου ότι έχουν χαμηλό κατώφλιο ανίχνευσης και προσδίδουν αρώματα γρασιδιού και λίπους (Caprino et al., 2008).

Οι αλκοόλες δεν συνεισφέρουν στο συνολικό άρωμα λόγω των υψηλών κατωφλίων ανίχνευσης, εκτός εάν είναι ακόρεστες, όπως η 2-πεντεν-2-όλη ή οποία έχει αναφερθεί ότι συνεισφέρει σημαντικά προσδίδοντας οσμή φρέσκου μανιταριού στο άρωμα καλκανιού και μυδιών (Turchini et al., 2004).

Ακόρεστες αλκοόλες με 6 έως 9 άτομα άνθρακα (π.χ 3-εξεν-1-όλη, 1-οκτεν-3-όλη) είναι υπεύθυνες για την μυρωδιά φρέσκου ψαριού, αγγουριού και μανιταριού (Turchini et al., 2004). Η 1-οκτεν-3-όλη, η οποία θεωρείται ότι σχηματίζεται από την οξείδωση του αραχιδονικού οξέος

μέσω της 12-λιποξυγονάσης, συνεισφέρει σημαντικά σε δυσάρεστες οσμές λόγω του χαμηλού κατώφλιου αντίχνευσής της (Iglesias & Medina, 2008). Οι 1-αλκανόλες έχουν σχετικά μικρή επίδραση στο συνολικό άρωμα του τροφίμου αφού το κατώφλιο αντίχνευσής τους είναι σχετικά υψηλό (Chung et al., 2002).

Το κατώφλιο αντίχνευσης των αλδευδών είναι γενικότερα χαμηλότερο από αυτό των αλκοολών (Spurvey et. al., 1998). Η 3,5 οκταδιεν-2-όνη (3,5-Octadiene-2-one) δίνει ένα λιπαρό φρουτώδες άρωμα (Turchini et al., 2004). Η πυριδίνη εάν βρίσκεται σε μεγάλες συγκεντρώσεις διαδραματίζει αξιόλογο ρόλο στο συνολικό άρωμα αφού έχει χαμηλό κατώφλι αντίχνευσης. Η μεθειονάλη (methional) αξιολογείται με άρωμα σάλτσα σόγιας, τα φουράνια δίνουν μια γλυκιά αίσθηση στο προϊόν, ενώ οι πυραζίνες έχουν ευχάριστη γεύση ποπ-κορν (Chung et al., 2002). Επίσης, σύμφωνα με τους Chung et al (2002) τα αλκάνια δεν συνεισφέρουν σημαντικά στο άρωμα.

2.2.12 Φυσικά αντιοξειδωτικά

Τα ζωντανά κύτταρα διαθέτουν διάφορους μηχανισμούς προστασίας κατά των προϊόντων οξείδωσης των λιπιδίων. Τα αντιοξειδωτικά που υπάρχουν στα βιολογικά συστήματα βοηθούν στη πρόληψη χρονίων και εκφυλιστικών νόσων (Andre et al., 2010). Το ένζυμο υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, που βρίσκεται στις κυτταρικές μεμβράνες μετατρέπει τα υδροϋπεροξειδία στις αντίστοιχες υδροξυενώσεις. Η αντίδραση αυτή απαιτεί την παρουσία ανηγμένης γλουταθειόνης η οποία διακόπτεται μετά το θάνατο του ιχθύος αφού τα αποθέματα της στο κύτταρο εξαντλούνται (Huss, 1995).

Οι βιομεμβράνες περιέχουν επίσης α-τοκοφερόλη (βιταμίνη E), η οποία θεωρείται το πιο σημαντικό φυσικό αντιοξειδωτικό σε λιπαρές φάσεις. Η τοκοφερόλη μπορεί να παρέχει ένα άτομο υδρογόνου στις ρίζες L^\bullet ή LOO^\bullet . Η ρίζα τοκοφερόλης που προκύπτει, αντιδρά με το ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C) στην διεπιφάνεια λιπιδίων-νερού και έτσι αναγεννάται το μόριο της τοκοφερόλης. Επίσης, τα καροτενοειδή, μπορούν να λειτουργήσουν ως αντιοξειδωτικά.

2.3 ΑΝΑΛΥΣΗ ΠΤΗΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ – ΑΡΩΜΑΤΟΣ

2.3.1 Μεθοδολογίες ανάλυσης αρώματος - Γενικά

Το άρωμα είναι σημαντικό ποιοτικό χαρακτηριστικό γνώρισμα για πολλά είδη τροφίμων. Το πρώτο βήμα για την κατανόηση του ποιες ουσίες χαρακτηρίζουν το άρωμα κάθε προϊόντος είναι η απομόνωση και ταυτοποίηση των πτητικών ενώσεων, οι οποίες δρώντας είτε ξεχωριστά, είτε σε συνδυασμό δημιουργούν το χαρακτηριστικό άρωμα για το κάθε προϊόν.

Ενώσεις που συναντώνται σε υψηλές συγκεντρώσεις δεν είναι απαραίτητο να προσδίδουν και άρωμα. Το αντίθετο συνήθως συμβαίνει: πολλές φορές οι σημαντικές για το άρωμα ενώσεις βρίσκονται σε χαμηλά επίπεδα (Neil et al., 2005). Η τεχνική απομόνωσης που θα επιλεγεί δεν θα πρέπει να διαχωρίζει τις πολικές από τις μη πολικές ενώσεις, να μην προκαλεί θερμική καταστροφή, οξείδωση, αλλαγές στο pH, ή απώλειες πτητικών συστατικών. Η μέθοδος απομόνωσης δεν πρέπει να παραλαμβάνει και μη πτητικές ενώσεις, οι οποίες συνήθως έχουν υψηλά μοριακά βάρη και μπορεί να προκαλέσουν επιμόλυνση στο χώρο εισαγωγής του δείγματος και στη χρωματογραφική στήλη. Σε αρκετές περιπτώσεις, για να αποκτηθεί κατά το δυνατόν πληρέστερη εικόνα των πτητικών που προσδίδουν το άρωμα, χρησιμοποιούνται περισσότερες από μία τεχνικές (Neil et al., 2005). Υπάρχουν πολλές προκλήσεις που πρέπει να ξεπεραστούν στην έρευνα των αρωμάτων, κυρίως λόγω της πολυπλοκότητας της φύσης των τροφίμων και των περιορισμών που θέτουν οι διάφορες αναλυτικές τεχνικές.

Συνήθη προβλήματα που συναντώνται στην έρευνα των αρωμάτων είναι (Neil et al., 2005):

- *Οι συγκεντρώσεις των πτητικών συστατικών*

Οι συγκεντρώσεις των πτητικών ενώσεων είναι γενικά χαμηλές, συνήθως σε επίπεδα μερών ανά εκατομμύριο (ppm), δισεκατομμύριο (ppb) ή τρισεκατομμύριο (ppt), γεγονός που δυσκολεύει την απομόνωσή τους, ενώ επιβάλλει τη συμπύκνωση των εκχυλισμάτων για περαιτέρω ανάλυση.

- *Το υλικό*

Οι πτητικές ενώσεις βρίσκονται συχνά σε ενδοκυττάριο χώρο και πρέπει να αποδεσμευτούν με καταστροφή των κυττάρων. Το δείγμα επίσης περιέχει πάντοτε και μη πτητικές ενώσεις, οι οποίες περιπλέκουν την διαδικασία απομόνωσης των πτητικών.

- *Η ποικιλία και η πολυπλοκότητα του αρώματος*

Τα συστατικά που είναι υπεύθυνα για το άρωμα ενός τροφίμου, είναι συνήθως πολυάριθμα, με ποικιλία χαρακτηριστικών ομάδων και παρουσιάζουν διαφορές ως προς την πολικότητα, τη διαλυτότητα, την πτητικότητα και εξάρτηση από τις τιμές του pH.

- *Αστάθεια*

Πολλές πτητικές ενώσεις είναι ασταθείς και μπορούν να οξειδωθούν από τον αέρα ή να αλλοιωθούν από τη θερμότητα ή ακραίες τιμές pH.

- *Μικρό ποσοστό των πτητικών συστατικών συνεισφέρουν στην οσμή*

Δεν συνεισφέρουν όλες οι πτητικές ενώσεις που είναι παρούσες σε ένα τρόφιμο στην οσμή του τροφίμου, αλλά μόνο ένα μικρό κλάσμα το οποίο έχει αξιόλογη βαρύτητα. Για αυτό οι ουσίες με έντονη οσμή είναι επιθυμητό να διαχωριστούν και να ποσοτικοποιηθούν.

Γενικότερα, δεν υπάρχει τεχνική που να έχει αποδειχθεί ως η καταλληλότερη για την απομόνωση όλων των πτητικών ενώσεων που αντιπροσωπεύουν το πραγματικό αρωματικό προφίλ του τροφίμου. Όμως, είναι σημαντικό να διασφαλισθεί ότι η μέθοδος που θα εφαρμοστεί στην έρευνα των αρωμάτων δεν θα προκαλέσει αποσύνθεση ή/και απώλεια των επιθυμητών ενώσεων (Elmore, 2010).

Για να πιστοποιηθούν αποτελεσματικά οι ενώσεις-κλειδιά που συνθέτουν το άρωμα, ενός τροφίμου, είναι απαραίτητη μια συστηματική προσέγγιση, η οποία ξεκινά με την απομόνωση των πτητικών ενώσεων, την ταυτοποίηση των οσμών των ενεργών ενώσεων, και στην επιβεβαίωση των δεδομένων με σύνθεση του αρώματος και με δοκιμές παράλειψης ενώσεων. Κάθε βήμα είναι κρίσιμο στο να καθοριστούν τα τελικά αποτελέσματα.

2.3.2 Προετοιμασία δείγματος

Κατά την προετοιμασία του δείγματος για προσδιορισμό των πτητικών συστατικών των θαλασσινών απαιτείται να λαμβάνονται υπόψη πολλοί παράγοντες. Ενδεικτικά, θα πρέπει να αποφασισθεί εάν η μελέτη θα αφορά μαγειρεμένα ή νωπά θαλασσινά, ο τρόπος του μαγειρέματος, εάν θα αναλυθεί φιλέτο ψαριού ή ολόκληρο το ψάρι, καθώς και το αν θα προηγηθεί ή όχι ομογενοποίηση του δείγματος, δεδομένου ότι κατά την ομογενοποίηση υπάρχει κίνδυνος απώλειας μέρους των αρωματικών ενώσεων, ενώ στην αντίθετη περίπτωση μπορεί να υπάρξει ανομοιομορφία στα δείγματα. Τα φιλέτα ψαριών είναι σε γενικές γραμμές ομοιόμορφα αλλά σίγουρα απαιτείται η λήψη περισσότερων δειγμάτων για να έχουμε αντιπροσωπευτικά αποτελέσματα. Στην περίπτωση που πρόκειται να αναλυθούν μαγειρεμένα ψάρια, η λήψη των δειγμάτων πρέπει να γίνει σε συγκεκριμένη θερμοκρασία και σε συγκεκριμένο χρόνο (Elmore, 2010).

Η χρήση θέρμανσης κατά την εκχύλιση των πτητικών ενώσεων, προσεγγίζει αυτή των αρωμάτων που εκλύονται κατά την διάρκεια της μάσησης.

Η μελέτη των πτητικών ουσιών περιλαμβάνει την εκχύλιση τους από το δείγμα, τη συμπύκνωση του εκχυλίσματος, το διαχωρισμό τους και τέλος την ταυτοποίηση τους. Όσον αφορά τον διαχωρισμό και την ταυτοποίηση των αρωματικών ενώσεων των εκχυλισμάτων, η αέρια χρωματογραφία σε συνδυασμό με φασματοσκοπία μάζας (gas chromatography/mass spectroscopy, GC/MS) είναι πολύτιμο εργαλείο για τους ερευνητές δίνοντας αξιόλογα αποτελέσματα. Όσον αφορά την εκχύλιση των πτητικών ουσιών, ο αναλυτής πρέπει να επιλέξει από πλήθος τεχνικών εκχύλισης, οι οποίες βασίζονται στις φυσικές ιδιότητες των αρωματικών ενώσεων και την μεγάλη υγρασία των ιχθυηρών (Olafsdottir & Jonsdottir, 2010).

Συχνά δεν απαιτείται λεπτομερής ανάλυση των αρωματικών ενώσεων δεδομένου ότι μόνο ένα μέρος των ουσιών αυτών δίνουν το χαρακτηριστικό άρωμα- “αποτύπωμα” του κάθε ιχθυηρού. Σε αυτή την περίπτωση είναι απαραίτητη η γνώση των ορίων αντίχενωσης των διαφόρων πτητικών συστατικών.

2.3.3. Μέθοδοι εκχύλισης των αρωματικών ουσιών

Η μέθοδος εκχύλισης των αρωματικών ουσιών καθορίζεται από το αντικείμενο μελέτης (ποιοτικός ή ποσοτικός προσδιορισμός, μελέτη ή όχι συγκεκριμένων ενώσεων). Κατά την εκτέλεση αυτής της εργασίας θα πρέπει να μεριμνείται ώστε να μην λαμβάνουν χώρα παράπλευρες αντιδράσεις που οδηγούν στο σχηματισμό παραπροϊόντων. Στην περίπτωση που είναι ζητούμενο το προφίλ του συνόλου των αρωματικών ενώσεων υπάρχει πληθώρα μεθόδων εκχύλισης και τεχνικών απομόνωσης, κάθε μία με τα πλεονεκτήματα και μειονεκτήματά της.

2.3.3.1 Εκχύλιση με χρήση διαλυτών

Η εκχύλιση με χρήση διαλυτών, γνωστή και ως εκχύλιση υγρού-υγρού (liquid-liquid extraction), περιλαμβάνει την παραλαβή των πτητικών ενώσεων από την υδατική φάση με χρήση οργανικών διαλυτών. Η τεχνική αυτή υπήρξε αρκετά διαδεδομένη δεδομένου ότι κατά την εφαρμογή της οι θερμοευαίσθητες ενώσεις δεν υφίστανται μεταβολές, λόγω απουσίας υψηλών θερμοκρασιών (Cuevas-Glory et al., 2007). Όμως η επίδραση ενός οργανικού διαλύτη απευθείας σε δείγματα ψαριών και θαλασσινών έχει περιορισμένη χρήση, δεδομένου ότι στο εκχύλισμα παραλαμβάνονται και μη πτητικές ουσίες, όπως οι λιπαρές ουσίες. Η χρήση της μεθόδου εκχύλισης με υπερκρίσιμα ρευστά (SFE, supercritical fluid extraction) -συνήθως με υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα- είναι μια χρήσιμη τεχνική για την εκχύλιση των πτητικών ενώσεων. Οι ποσότητες που θα εκχυλισθούν μπορούν να μεταβληθούν αναλόγως της πίεσης και της θερμοκρασίας στις οποίες η εκχύλιση λαμβάνει χώρα. Υπό ιδανικές συνθήκες το υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα έχει στενή συγγένεια με τις περισσότερες πτητικές ενώσεις που επηρεάζουν το άρωμα, ενώ οι μη πτητικές ενώσεις δεν εκχυλίζονται (Elmore, 2010).

2.3.3.2 Εκχύλιση με υδρατμούς και εκχύλιση υπό κενό με υδρατμούς

Η εκχύλιση με υδρατμούς βρίσκει εφαρμογή στην απομόνωση πτητικών από αναψυκτικά και τρόφιμα με υψηλό περιεχόμενο νερού, ενώ έχει περιορισμένες εφαρμογές στα λίπη και έλαια. Μειονέκτημα της μεθόδου είναι η εκτεταμένη χρήση διαλυτών για το διαχωρισμό των πτητικών από το νερό. Πρόβλημα επίσης αποτελεί η παρουσία παραπροϊόντων που μπορεί να περιοριστεί με χρήση κενού (Elmore, 2010).

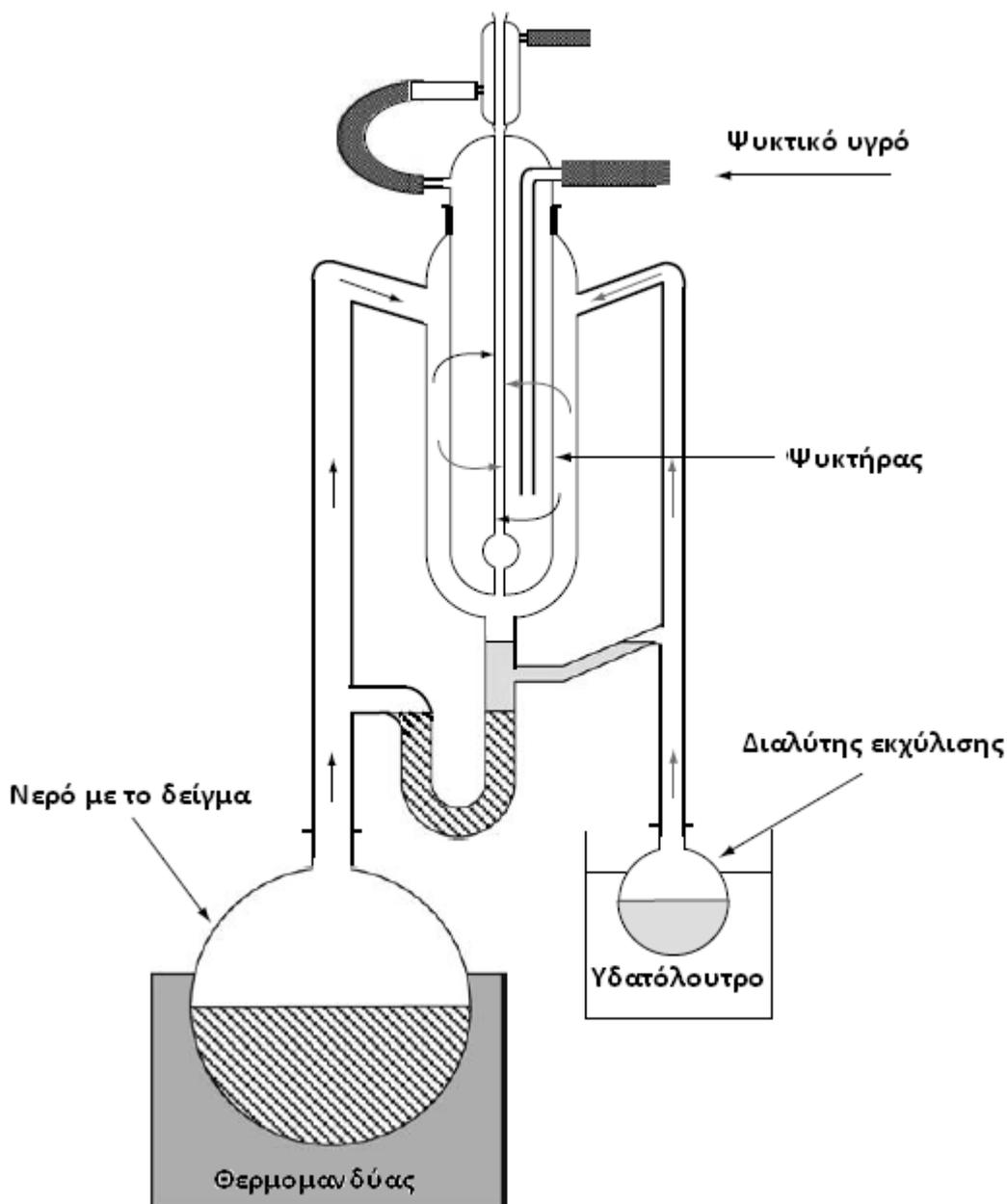
2.3.3.3 Ταυτόχρονη απόσταξη – Εκχύλιση (simultaneous distillation-extraction, SDE)

Πρόκειται για τεχνική απομόνωσης πτητικών συστατικών που συνδυάζει την απόσταξη με υδρατμούς και την εκχύλιση με διαλύτη με την χρήση συσκευής που αναπτύχθηκε από τους Likens & Nickerson (1964). Στην ομώνυμη συσκευή (Εικόνα 2.9) ο διαλύτης εκχύλισης δεν έρχεται σε επαφή με το προς ανάλυση τρόφιμο ούτε με το νερό. Μέσω της θέρμανσης του δείγματος οι πτητικές ενώσεις περνούν στην αέρια φάση μαζί με υδρατμούς, μεταφέρονται - στην αέρια φάση πάντα- στους ατμούς του διαλύτη και στη συνέχεια συμπυκνώνονται μαζί με τον διαλύτη. Η συσκευή είναι κατασκευασμένη με τέτοιο τρόπο ώστε το νερό και ο διαλύτης να επιστρέφουν στους αρχικούς τους περιέκτες (Εικόνα 2.9). Μετά την ολοκλήρωση της διαδικασίας το εκχύλισμα συλλέγεται, απομακρύνονται τυχόν ίχνη νερού με άνυδρο θειικό νάτριο, συμπυκνώνεται και αναλύεται (Elmore, 2010).

Επιλέγεται διαλύτης με χαμηλό σημείο ζέσεως για να αποφευχθεί η απώλεια ή η καταστροφή των αρωματικών ενώσεων κατά την συμπύκνωση του εκχυλίσματος.

Πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι η επαρκής απομόνωση των πτητικών ενώσεων από το τρόφιμο (μπορεί να δώσει ποσοτικά αποτελέσματα), η συγκέντρωση τους σε διαλύτη (δίνει την δυνατότητα πολλών αναλύσεων από μία εκχύλιση), καθώς και το ότι το εκχύλισμα μπορεί να διαχωρισθεί περαιτέρω (π.χ σε βασικό και ουδέτερο εκχύλισμα) με σκοπό την ταυτοποίηση ενώσεων με χαμηλές συγκεντρώσεις. Τα πλεονεκτήματα αυτά κάνουν την μέθοδο αυτή ευρείας χρήσης από τους αναλυτές.

Μειονεκτήματα της μεθόδου είναι η πιθανή απώλεια πτητικών συστατικών με χαμηλά σ.ζ. κατά την συμπύκνωση του διαλύτη και ο πιθανός σχηματισμός παραπροϊόντων λόγω της θέρμανσης κατά τη διαδικασία της εκχύλισης. Κατά τον Chung et al. (2002), παρά την πιθανότητα σχηματισμού παραπροϊόντων, η τεχνική SDE είναι η πιο αποδοτική σε σύγκριση με άλλες μεθόδους απόσταξης. Λόγω της υψηλής εκχυλιστικής ικανότητάς η τεχνική SDE επιτυγχάνει την απομόνωση και ημιπτητικών ουσιών (Chaintreau, 2001).



Εικόνα 2.9: Συσκευή Likens–Nickerson για ταυτόχρονη απόσταξη-εκχύλιση (SDE)

Σύμφωνα με τους Caprino et al. (2008) η τεχνική SDE είναι κατάλληλη για την απομόνωση μεγάλου εύρους πτητικών ουσιών και ιδιαίτερα των αλδεϋδών, οι οποίες είναι οι κύριες υπεύθυνες για το άρωμα.

2.3.3.4 Απόσταξη υψηλού κενού (solvent assisted flavor evaporation, SAFE)

Για να ελαχιστοποιηθεί ο σχηματισμός παραπροϊόντων που προκαλεί η τεχνική SDE, χρησιμοποιούνται τεχνικές υψηλού κενού. Οι τεχνικές αυτές είναι πιο κατάλληλες σε σύγκριση με την SDE για απομόνωση πολικών ενώσεων με υψηλά σημεία βρασμού. Μια εξέλιξη αυτής της τεχνικής, γνωστή ως SAFE, επιτυγχάνει καλύτερο θερμοκρασιακό έλεγχο και υψηλές

αποδόσεις σε πολικές ενώσεις ουσίες με υψηλά σ.ζ. Χρησιμοποιείται κατευθείαν στο τρόφιμο χωρίς να απαιτείται εξάτμιση του διαλύτη, μειώνοντας έτσι τον χρόνο που απαιτείται για την συμπύκνωσή του πριν την ανάλυση (Elmore, 2010).

2.3.3.5 Ανάλυση υπερκείμενων αερίων (Headspace Analysis)

Η ανάλυση του headspace δεν έχει ευρεία εφαρμογή στην περίπτωση της μελέτης του αρώματος ψαριών και θαλασσινών, λόγω των χαμηλών συγκεντρώσεων των πτητικών συστατικών και της χαμηλής ανάκτησης ημι-πτητικών ουσιών (Cuevas-Glory et al., 2007). Δημοφιλής παραλλαγή της τεχνικής αυτής είναι η μέθοδος “purge and trap”, κατά την οποία γίνεται διαβίβαση αδρανούς αερίου πάνω από το δείγμα και στη συνέχεια συγκέντρωση των πτητικών ουσιών που παρασύρονται από το αδρανές αέριο σε μια παγίδα από την οποία οι πτητικές ενώσεις οδηγούνται σε αεριοχρωματογράφο προς ανάλυση (Elmore, 2010). Η τεχνική αυτή προσφέρει το πλεονέκτημα της ταυτοποίησης και ποσοτικοποίησης μεγάλου εύρους πτητικών και λιγότερο πτητικών ουσιών (Cuevas-Glory et al., 2007).

2.3.3.6 Προσρόφηση

Οι αρωματικές ενώσεις που βρίσκονται στον υπερκείμενο χώρο του τροφίμου μπορούν να συλλεχθούν σε ένα προσροφητικό υλικό όπως το Tenax TA, μια πορώδη πολυμερή ρητίνη, που εύκολα προσροφά τις πτητικές ενώσεις που έχουν μικρή συγγένεια με το νερό. Η τεχνική είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για την ανάλυση δειγμάτων με υψηλή περιεκτικότητα σε νερό. Οι αρωματικές ενώσεις μεταφέρονται εν συνεχεία σε συνδεδεμένες αναλυτικές συσκευές με χρήση αδρανούς αερίου και εφαρμογή υψηλών θερμοκρασιών, αποφεύγοντας απώλειες από τη χρήση διαλυτών (Elmore, 2010).

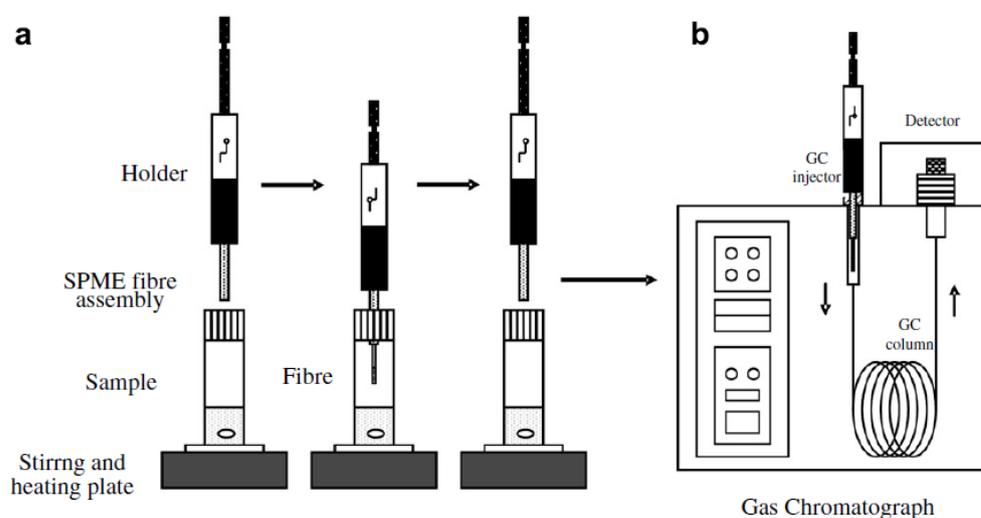
2.3.3.7 Μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (SPME)

Η SPME (Solid Phase Microextraction) είναι μια απλή και δημοφιλής τεχνική που παρουσιάστηκε στις αρχές του 1990 (Zhang & Pawliszyn, 1993) (Εικόνα 2.10).

Η τεχνική αυτή χρησιμοποιεί μια μικρή ίνα κατασκευασμένη από διοξείδιο του πυριτίου, επικαλυμμένη με προσροφητικό υλικό, τοποθετημένη μέσα σε συσκευή που μοιάζει με σύριγγα. Η βελόνα εισέρχεται σε σφραγισμένο φιαλίδιο που περιέχει κατάλληλο διάλυμα του προς ανάλυση δείγματος τροφίμου μέσα από ένα διάφραγμα (septum) και η ίνα εκτίθεται στο υπερκείμενο (headspace) μέρος. Οι πτητικές ενώσεις προσροφούνται στην ίνα και έπειτα από συγκεκριμένο χρόνο η ίνα επανέρχεται με την βοήθεια εμβόλου στη βελόνα της συσκευής και στη συνέχεια εισάγεται στον εισαγωγέα ενός αερίου χρωματογράφου μέσω ενός πολύ στενού liner το οποίο αναγκάζει τις πτητικές ενώσεις να συγκεντρωθούν στην είσοδο της στήλης ώστε

να προκύψουν οξείς κορυφές. Εναλλακτικά χρησιμοποιείται και η τεχνική της κρυοεστίασης (cryofocusing) (Elmore, 2010).

Πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι η ευκολία στην χρήση, το σχετικά χαμηλό κόστος, η μικρή ποσότητα δείγματος, η αποφυγή προετοιμασίας δείγματος, η μη χρησιμοποίηση διαλυτών, η μεγάλη ευαισθησία και η προσρόφηση μεγάλου εύρους ενώσεων με χρήση της κατάλληλης ίνας. Μειονεκτήματα της μεθόδου είναι, αφενός η αδυναμία εργασίας με μεγάλες ποσότητες δείγματος που πολλές φορές είναι απαραίτητη δεδομένων των μικρών συγκεντρώσεων των πτητικών ενώσεων και αφετέρου η αδυναμία προσρόφησης πτητικών ενώσεων με μεγάλο εύρος πτητικοτήτων και πολικότητων.



Εικόνα 2.10: Διαδικασία ανάλυσης πτητικών συστατικών με SPME: a) διαδικασία εκχύλισης b) εισαγωγή της ίνας σε GC (Πηγή: Cuevas-Glory 2007).

2.3.4 Διαχωρισμός και ταυτοποίηση των αρωματικών ενώσεων

Για να προσδιοριστούν οι πτητικές ενώσεις θα πρέπει το μείγμα, το οποίο περιέχει πολλές χημικές ενώσεις με διαφορετική δομή σε εξαιρετικά χαμηλές ποσότητες, να διαχωριστεί στα συστατικά του και να ακολουθήσει η ανίχνευσή τους. Έτσι, η επιτυχία της ανάλυσης έγκειται στον κατάλληλο διαχωρισμό και στην ευαισθησία της ανίχνευσης.

2.3.4.1 Ποσοτική ανάλυση των αρωματικών ενώσεων

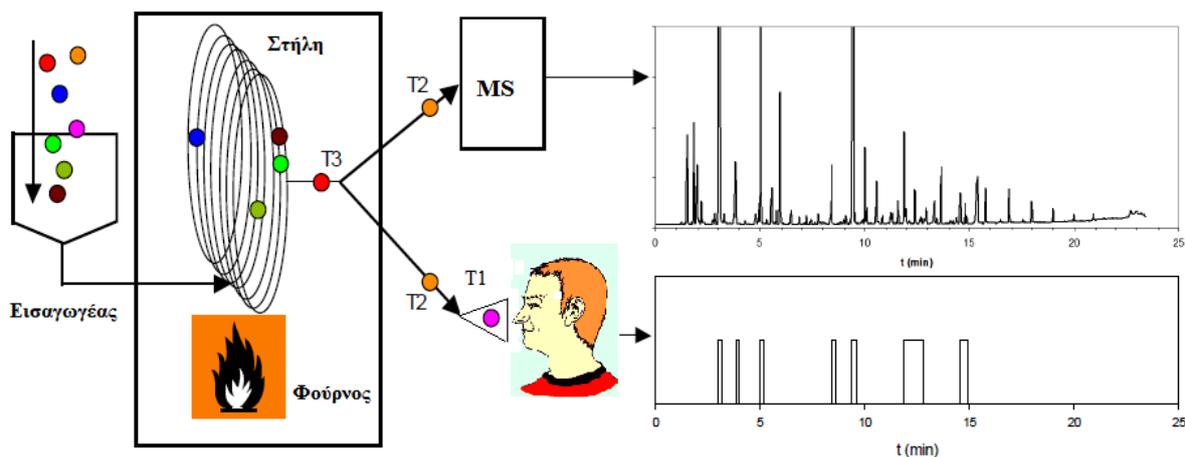
Ο ποσοτικός προσδιορισμός των πτητικών ενώσεων γίνεται με χρήση εσωτερικού προτύπου, το οποίο είναι κάποια ένωση που δεν περιέχεται στα προς εξέταση δείγματα και έχει χημική σύσταση παρόμοια με τις χημικές ενώσεις που μας ενδιαφέρουν. Μέσω σύγκρισης των εμβαδών κορυφής του χαρακτηριστικού ιόντος του προτύπου και της μελετώμενης ουσίας,

μπορεί να υπολογιστεί με ακρίβεια η ποσότητα της τελευταίας στο προς εξέταση δείγμα. Εναλλακτικά, για λόγους οικονομίας και ευκολίας, για γενικό προσδιορισμό το εσωτερικό πρότυπο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την κατά προσέγγιση ποσοτικοποίηση όλων των χημικών ενώσεων του εκχυλίσματος, μετρώντας τις κορυφές των χαρακτηριστικών ιόντων των ενώσεων σε σχέση με αυτή του προτύπου. Σε περίπτωση που απαιτείται πιο ακριβής ποσοτικοποίηση, χρησιμοποιούνται μείγματα προτύπων των ενώσεων που μας ενδιαφέρουν και χαράσσονται πρότυπες καμπύλες.

2.3.4.2 Ανίχνευση και χαρακτηρισμός πτητικών ενώσεων με αέρια χρωματογραφία - οσμημετρία (Gas Chromatography Olfactometry, GC-O)

Η αέρια χρωματογραφία-οσμημετρία είναι τεχνική που καθορίζει τα συστατικά τα οποία χαρακτηρίζουν ένα άρωμα. Πρόκειται για συσκευή αέριας χρωματογραφίας, στην οποία λίγο πριν την είσοδο της στήλης στον ανιχνευτή, το φέρον αέριο με το δείγμα διαχωρίζεται και ένα μέρος του κατευθύνεται προς τον ανιχνευτή ενώ το άλλο έξω από τον φούρνο του αέριου χρωματογράφου, σε διάταξη με την οποία μπορούν να ανιχνευθούν και να περιγραφούν οι οσμές των συστατικών που εξέρχονται (Εικόνα 2.11). Για την εκτίμηση της σχετικής συνεισφοράς των αρωματικών ενώσεων στο ολικό άρωμα των ιχθυηρών χρησιμοποιείται η AEDA (Aroma Extraction Dilution Analysis), μια ποσοτική GC-O τεχνική, με την οποία υπολογίζονται οι αρωματικοί συντελεστές των πτητικών ενώσεων που γίνονται αντιληπτές με το GC-O με σύγκριση με τον μεγαλύτερο αρωματικό συντελεστή. Έτσι προκύπτει το λεγόμενο διάγραμμα αρώματος (aromagram) το οποίο αντιπροσωπεύει το τρόφιμο και περιλαμβάνει τη σχετική συνεισφορά των ουσιών στο άρωμα του τροφίμου, η οποία δε σχετίζεται απαραίτητα με τις συγκεντρώσεις των ουσιών σε αυτό.

Σήμερα είναι διαθέσιμες αρκετές τεχνικές που χρησιμοποιούν GC-O και τα αποτελέσματά τους εφαρμόζονται για τη βελτίωση των βιομηχανικών πρακτικών για τα θαλασσινά, όπως πχ για τις συνθήκες συντήρησης.



Εικόνα 2.11: Σχηματική παράσταση διάταξης GC-O

2.3.4.3 Ηλεκτρονική μύτη (electronic nose)

Με αυτή την τεχνική αναλύεται με απλότητα και ευαισθησία το κλάσμα των πτητικών ενώσεων ως σύνολο χωρίς να ταυτοποιείται κάθε μία από τις πτητικές ενώσεις που συνεισφέρουν στο άρωμα του τροφίμου. Η μέθοδος στην ουσία προσφέρει μια γρήγορη αποτίμηση του αρώματος (Cuevas-Glory 2007). Αρχικά, ο όρος “ηλεκτρονική μύτη” χρησιμοποιήθηκε για να περιγράψει μια διάταξη από χημικούς αισθητήρες, συνδεδεμένη με ένα σύστημα αναγνώρισης το οποίο ανταποκρίνεται στα πτητικά συστατικά που περνούν. Διαφορετικές οσμές προκαλούν διαφορετικές ανταποκρίσεις στους αισθητήρες και αυτές οι αποκρίσεις δίνουν με τη σειρά τους σήμα χαρακτηριστικό για συγκεκριμένο άρωμα. Μέσω υπολογιστή εκτιμάται το σήμα και συγκρίνεται με το άρωμα διαφορετικών προτύπων. Οι αισθητήρες είναι συνήθως κατασκευασμένοι από οξείδια μετάλλων και οργανικά πολυμερή. Προβλήματα παρατηρούνται σε δείγματα που περιέχουν πολύ νερό καθώς οι αισθητήρες αποκρίνονται ισχυρά στο νερό και παρεμποδίζεται η καταγραφή τυχόν διαφοροποιήσεων ανάμεσα στα αναλυόμενα δείγματα (Elmore, 2010).

3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1 Προσδιορισμός σύστασης ιστών των ιχθύων

3.1.1 Συντήρηση – Προετοιμασία δειγμάτων

Τα προς ανάλυση δείγματα ιχθύων αποθηκεύονται στους -20°C μέχρι να αναλυθούν. Πριν την ανάλυση φιλετοποιούνται, ομογενοποιούνται με την βοήθεια συσκευής ομογενοποίησης (IKA Analytical mill). Μέρος του ιστού αφυδατώνεται με λυοφιλίωση επί 48 ώρες και ομογενοποιείται σε ειδικό μύλο ώστε να προκύψει κατά το δυνατόν πιο λεπτόκοκκο ομογενές δείγμα.

3.1.2 Προσδιορισμός υγρασίας

Η μέτρηση της υγρασίας γίνεται σταθμικά σε 1-2g νωπού ομογενοποιημένου δείγματος (φιλέτου) που τοποθετείται σε προζυγισμένες κάψες από πυράντοχη πορσελάνη. Οι κάψες στη συνέχεια τοποθετούνται σε φούρνο και παραμένουν για ξήρανση στους 105°C μέχρι σταθεροποίησης του βάρους (στην πράξη 24 ώρες είναι επαρκής χρόνος). Μετά την απομάκρυνση από το φούρνο τοποθετούνται άμεσα σε ξηραντήρα και παραμένουν επί 1 ώρα μέχρι να ψυχθούν σε θερμοκρασία δωματίου χωρίς να απορροφήσουν υγρασία από το περιβάλλον. Ακολούθως γίνεται ζύγιση των καψών και υπολογισμός της υγρασίας ως εξής:

$$\% \text{ Υγρασία} = (\Xi\text{B} / \text{YB}) \times 100$$

Όπου: YB= υγρό βάρος δείγματος = μικτό υγρό βάρος – βάρος κάψας και

ΞB = μικτό ξηρό βάρος – βάρος κάψας.

Οι ζυγίσεις γίνονται σε ζυγό με ακρίβεια 0,0001g. Οι προσδιορισμοί για κάθε δείγμα πραγματοποιούνται εις τριπλούν.

3.1.3 Προσδιορισμός τέφρας

Η τέφρα αποτελείται από τα ανόργανα υλικά που απομένουν μετά την πλήρη αποτέφρωση του δείγματος στους 500°C επί 12 ώρες. Οι κάψες με το ξηρό δείγμα μετά τον προσδιορισμό της υγρασίας τοποθετούνται σε πυριαντήριο, στους 500°C . Μετά το πέρας των 12 ωρών οι κάψες τοποθετούνται σε ξηραντήρα μέχρις ότου αποκτήσουν θερμοκρασία δωματίου και στη συνέχεια ζυγίζονται σε ζυγό ακριβείας. Η περιεκτικότητα σε τέφρα υπολογίζεται ως εξής:

$$\% \text{ Τέφρα} = (\text{Βάρος τέφρας} / \text{YB}) \times 100$$

Όπου: Βάρος τέφρας = βάρος αποτεφρωμένου δείγματος – βάρος κάψας

YB= υγρό βάρος δείγματος πριν τον προσδιορισμό υγρασίας

Οι ζυγίσεις γίνονται σε ζυγό με ακρίβεια 0,0001g. Οι προσδιορισμοί για κάθε δείγμα πραγματοποιούνται εις τριπλούν.

3.1.4 Ποσοτικός προσδιορισμός πρωτεϊνών με την μέθοδο Kjeldahl

Υλικά και Αντιδραστήρια

α) Πυκνό θειικό οξύ (H_2SO_4)

β) NaOH (60% w/v)

γ) Υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2)

δ) Ταμπλέτα καταλύτη που περιέχει θειϊκό κάλιο (K_2SO_4) και σελήνιο (Se) (Foss Tecator 1527-0001)

ε) Απιονισμένο νερό

ζ) Μείγμα δεικτών: Ερυθρό του μεθυλίου (0,1% w/v σε αλκοόλη) και πράσινο της βρωμοκρεσόλης (0,2% w/v σε αλκοόλη) σε αναλογία 1:5

η) Διάλυμα κορεσμένου βορικού οξέος (H_3BO_3)

θ) Πρότυπο διάλυμα HCl 0,1N

Με τη μέθοδο Kjeldahl υπολογίζονται οι ολικές πρωτεΐνες σε λυοφιλωμένα δείγματα ιστού. Η μέθοδος στην πραγματικότητα υπολογίζει την περιεκτικότητα του δείγματος σε άζωτο. Το περιεχόμενο άζωτο μετατρέπεται σε όξινο θειικό αμμώνιο κατά την υγρή χώνευση (wet digestion) του δείγματος με πυκνό θειικό οξύ, παρουσία καταλύτη. Ακολουθεί εξουδετέρωση του πυκνού H_2SO_4 με πυκνό καυστικό νάτριο (NaOH) που διασπά τα αμμωνιακά άλατα και απελευθερώνει αμμωνία η οποία αποστάζει με υδρατμούς και συλλέγεται σε κορεσμένο διάλυμα βορικού οξέος. Τέλος πραγματοποιείται ογκομέτρηση της περίσσειας βορικού (οπισθοογκομέτρηση) με χρήση υδροχλωρίου 0,1N και δείκτη. Η διαδικασία πραγματοποιείται εις τριπλούν για κάθε δείγμα.

Η πορεία αναλυτικά: Τοποθετούνται σε ειδικό σωλήνα μικρο-Kjeldahl, 200 mg δείγματος, ταμπλέτα καταλύτη (1,7 g), 2-3 γυάλινα σφαιρίδια (ώστε να αποφευχθεί υστέρηση βρασμού και να εξασφαλισθεί ομοιόμορφος βρασμός), 6ml πυκνού θειικού οξέος και 1 ml υπεροξειδίου του υδρογόνου. Παράλληλα, πραγματοποιείται τυφλός προσδιορισμός με όλα τα αντιδραστήρια χωρίς την παρουσία του δείγματος. Το δείγμα τοποθετείται σε ειδική συσκευή θέρμανσης (προθερμασμένη στους $110^\circ C$) για 1 ώρα. Αφού ψυχθεί το δείγμα, προστίθενται 20 ml απιονισμένου νερού και NaOH 60% (β). Οι σωλήνες τοποθετούνται σε συσκευή απόσταξης με υδρατμούς και το απόσταγμα συλλέγεται σε ποτήρι ζέσεως των 250ml που περιέχει 5 σταγόνες δείκτη (ζ) σε 20 ml κορεσμένο βορικό οξύ (η). Μετά τη συλλογή περίπου 120 ml αποστάγματος τιτλοδοτείται το διάλυμα στο ποτήρι ζέσεως με HCl 0,1N (θ).

Ο υπολογισμός του πρωτεϊνικού αζώτου του δείγματος γίνεται ως ακολούθως:

$$\% N = (V_{HCl} - v_{HCl})/1000 \times 14,01/W(g)$$

Όπου V_{HCl} = mL HCl για το δείγμα, v_{HCl} =mL HCl για το τυφλό, W =βάρος δείγματος σε g.

Από το άζωτο (%) υπολογίζεται η πρωτεΐνη (%) με πολλαπλασιασμό επί το συντελεστή 6,25 δεδομένου ότι οι πρωτεΐνες θεωρείται ότι περιέχουν κατά μέσο όρο 16% N.

$$Pr (\%) = N(\%) \times 6,25$$

Στη συνέχεια γίνεται αναγωγή της % πρωτεΐνης επί ξηρού σε πρωτεΐνη επί νωπού μέσω της υγρασίας του νωπού δείγματος.

3.1.5 Προσδιορισμός λίπους

Ο προσδιορισμός του λίπους πραγματοποιείται με εκχύλιση προζυγισμένου δείγματος με πετρελαϊκό αιθέρα σε συσκευή επαναλαμβανόμενων εκχυλίσεων Soxhlet. Ο πετρελαϊκός αιθέρας (50 mL) τοποθετείται σε προζυγισμένες κυλινδρικές φιάλες μαζί με πέτρες βρασμού. Ποσότητα λυοφιλιωμένου δείγματος (3 g) τοποθετείται σε ειδικές χάρτινες φύσιγγες στη συσκευή Soxhlet. Οι χάρτινες φύσιγγες και οι σφαιρικές φιάλες με τον διαλύτη τοποθετούνται στην προθερμασμένη συσκευή Soxhlet και εκτελείται σειρά εκχυλίσεων, μετά το πέρας των οποίων ο αιθέρας απομακρύνεται με περιστροφικό εξατμιστήρα (rotary evaporator) υπό ελαττωμένη πίεση. Οι σφαιρικές φιάλες τοποθετούνται σε φούρνο για 1 ώρα στους 60°C. Ακολουθεί η τοποθέτησή τους σε ξηραντήρα μέχρι να κρυσώσουν και να ζυγιστούν σε αναλυτικό ζυγό. Το λίπος υπολογίζεται από τον τύπο:

$$\% \text{ λίπος} = 100 \times (\text{βάρος φιάλης με λίπος} - \text{αρχικό βάρος φιάλης}) / w$$

Όπου: w = βάρος λυοφιλιωμένου δείγματος (g)

Στη συνέχεια γίνεται αναγωγή του % λίπους λυοφιλιωμένου δείγματος σε νωπό.

3.2 Προσδιορισμός λιπαρών οξέων

Ο προσδιορισμός των λιπαρών οξέων γίνεται στα λιπίδια που απομονώνονται από τους ιστούς σύμφωνα με παραλλαγή τη μέθοδο εκχύλισης λιποειδών των Folch et al. (1957).

3.2.1 Απομόνωση των ολικών λιπιδίων

Υλικά

α) Διαλύτης εκχύλισης Χλωροφόρμιο (CHCl_3): Μεθανόλη (MeOH) 2:1 + αντιοξειδωτικό BHT 0,01% w/v

β) NaCl 0,9% w/v

γ) Θεωρητική επάνω φάση Folch: CHCl_3 :MeOH:NaCl (0,9%) σε αναλογίες 3:48:47

δ) Γυάλινα σκεύη: ηθμοί με ίνες υάλου (Glass fibre filters), ογκομετρικοί κύλινδροι των 25 ή 50 mL με εσφυρισμένο πόμα, σωλήνες φυγοκέντρου των 50 ml, φιάλες εξάτμισης, σύριγγα 25 mL.

ε) Πάγος

Όλα τα γυάλινα σκεύη είχαν προπλυθεί με χλωροφόρμιο και όλοι οι χειρισμοί γίνονταν υπό ψύξη και σε μειωμένο φωτισμό.

Τα προς εκχύλιση δείγματα (1 g) ιστών από νωπά ψάρια, είχαν ζυγισθεί και φυλαχθεί σε διάλυμα χλωροφορμίου:μεθανόλης 2:1 στους -20°C , με αναλογία 1 g ιστού προς 20 ml διαλύματος.

1. Για την εκχύλιση των λιποειδών, τα δείγματα αρχικά ομογενοποιούνται σε σωλήνες φυγοκέντρου των 50 mL υπό ψύξη
2. Το δείγμα διηθείται με ηθμούς ινών υάλου που έχουν προηγουμένως εκπλυθεί με χλωροφόρμιο και το διήθημα συλλέγεται σε ογκομετρικό κύλινδρο των 50 mL. Όλα τα γυάλινα σκεύη (σωλήνας, φιαλίδιο, φίλτρο) που ήλθαν σε επαφή με το δείγμα ξεπλένονται με περίπου 10mL διάλυμα χλωροφορμίου-μεθανόλης για συλλογή τυχόν παραμένουσας ποσότητας λίπους, και το διάλυμα μεταφέρεται επίσης στον ογκομετρικό κύλινδρο.
3. Στον κύλινδρο προστίθεται NaCl 0,9% σε όγκο ίσο με 20% του όγκου των εκχυλισμάτων, ο κύλινδρος πωματίζεται και αναταράσσεται πολύ καλά. Σχηματίζονται δύο φάσεις. Για ταχύτερο διαχωρισμό, το περιεχόμενο του κυλίνδρου μεταφέρεται σε σωλήνες των 40 mL και φυγοκεντρείται στις 2100 rpm για 5 λεπτά.
4. Απομακρύνεται η επάνω φάση με αντλία κενού προσέχοντας να μην απομακρυνθεί και μέρος της κάτω φάσης. Απλώνεται πολύ προσεκτικά στην επιφάνεια του εκχυλίσματος θεωρητική επάνω φάση Folch σε όγκο ίσο με το 1/3 του όγκου του, περιστρέφεται ο σωλήνας για να περάσουν στην επάνω φάση τα ανεπιθύμητα υλικά που υπάρχουν στην ενδιάμεση φάση και αφαιρείται η επάνω φάση με αντλία κενού. Η διαδικασία καθαρισμού των λιπιδίων επαναλαμβάνεται 2-3 φορές.
5. Με σύριγγα συλλέγεται η κάτω φάση και μεταφέρεται σε φιάλη των 100 mL με εσφυρισμένο

πώμα.

6. Ο διαλύτης εξατμίζεται μέχρι ξηρού σε περιστροφικό εξατμιστήρα, στους 40°C.

Το δείγμα επαναδιαλύεται σε 1,5 ml χλωροφόρμιο:μεθανόλη 2:1 και φυλάσσεται σε φιαλίδια με βιδωτό πώμα σε ατμόσφαιρα αζώτου στους -20°C .

3.2.2 Παρασκευή μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων (Christie, 1969)

Υλικά

- α) 2% θειικό οξύ σε άνυδρη μεθανόλη
- β) Εξάνιο αναλυτικής καθαρότητας
- γ) Εξάνιο HPLC grade
- δ) Εξάνιο - Διαιθυλαιθέρας 1:1
- ε) KHCO_3 , 2% σε υπερκαθαρό (HPLC) νερό
- ζ) Υπερκαθαρό νερό HPLC
- η) Θερμαινόμενος μαγνητικός αναδευτήρας

Αναλυτική πορεία

1. Μεταφέρονται τα εκχυλίσματα λιπιδίων (50-70 mg) σε σωλήνες με εσφυρισμένο πώμα των 15 mL. Οι διαλύτες απομακρύνονται με ρεύμα αζώτου ενώ οι σωλήνες βρίσκονται σε υδατόλουτρο με χλιαρό νερό. Για την πραγματοποίηση της μετεστεροποίησης των λιπαρών οξέων, προστίθεται σε κάθε δείγμα 2 mL θειικού οξέος σε άνυδρη μεθανόλη και μαγνήτης καλυμμένος με Teflon, διαβιβάζεται άζωτο στην επιφάνεια για απομάκρυνση του υπερκείμενου αέρα, οι σωλήνες πωματίζονται καλά και τοποθετούνται σε θερμαντική πλάκα με μαγνητική ανάδευση στους 50°C, επί 16 ώρες.
2. Μετά το πέρας της μεθυλεστεροποίησης, προστίθενται 2 mL KHCO_3 2%, 4 mL νερό HPLC και 5mL εξανίου. Οι σωλήνες ανακινούνται ζοηρά και αφήνονται για να διαχωριστούν οι δύο φάσεις. Με πιπέτα Pasteur συλλέγεται η επάνω φάση και μεταφέρεται σε σωλήνες φυγοκέντρου των 35 mL. Στους αρχικούς σωλήνες της μεθυλεστεροποίησης προστίθενται 5 mL εξανίου: διαιθυλαιθέρα, ανακινούνται ζοηρά και αφήνονται για να αποχωριστούν οι δύο φάσεις. Συλλέγεται η επάνω φάση και μεταφέρεται στον σωλήνα φυγοκέντρου. Προστίθενται 5 mL νερού HPLC και φυγοκεντρώνονται στις 2000 rpm για 5 λεπτά.
3. Μεταφέρεται η επάνω φάση σε φιάλη των 50-100 mL με εσφύρισμα και απομακρύνονται οι διαλύτες σε περιστροφικό εξατμιστήρα στους 35°C. Οι μεθυλεστέρες των λιπαρών οξέων αναδιαλύονται σε 1 mL εξάνιο HPLC, μεταφέρονται σε φιαλίδια αέριας χρωματογραφίας των 1.5 mL, σφραγίζονται και φυλάσσονται σε κατάψυξη σε ατμόσφαιρα αζώτου, μέχρι να αναλυθούν.

3.2.3 Άμεση μεθυλεστεροποίηση λιπαρών οξέων σε ιχθυοτροφές

Ακολουθήθηκε η μέθοδος άμεσης μεθυλεστεροποίησης των Lepage & Roy (1984)

Υλικά

- Σωλήνες των 35 mL με βιδωτά καπάκια καλυμμένα με Teflon (SIGMA)
- Σωλήνες φυγοκέντρου των 35-50 mL και απλοί σωλήνες των 35 mL
- Σφαιρικές φιάλες εξάτμισης των 50-100 mL
- Περιστροφικός εξατμιστήρας κενού
- Σύστημα διήθησης υπό κενό
- Υδατόλουτρο

α) Μεθανόλη/τολουόλιο (3:2 v/v)

β) ακετυλοχλωρίδιο/μεθανόλη (1/20 v/v) (παρασκευάζεται αυθημερόν)

γ) εξάνιο αναλυτικής καθαρότητας

δ) θειικό νάτριο (άνυδρο)

ε) ισοοκτάνιο

Αναλυτική πορεία

1. Ζυγίζονται 50-70 mg ιχθυοτροφής και μεταφέρονται σε σωλήνα των 35 mL με βιδωτό καπάκι.
2. Προστίθεται 5 mL μεθανόλη/τολουόλιο και 5 mL ακετυλοχλωρίδιο/μεθανόλη
3. Σε κάθε σωλήνα διαβιβάζεται ρεύμα αζώτου και πωματίζεται καλά
4. Προσεκτική ανάδευση
5. Οι σωλήνες τοποθετούνται σε υδατόλουτρο στους 100°C επί 1 ώρα και κάθε 10 λεπτά αναδεύονται προσεκτικά
6. Στη συνέχεια οι σωλήνες ψύχονται και προστίθενται 5 mL νερό HPLC και 5 mL εξάνιο ακολουθούμενα από έντονη ανάδευση
7. Τα δείγματα μεταφέρονται σε σωλήνες φυγοκέντρου των 35-50 mL και φυγοκεντρούνται στις 3000 rpm επί 5 λεπτά
8. Μεταφέρεται η επάνω φάση του εξανίου προσεκτικά σε απλούς σωλήνες των 35 mL
9. Επαναλαμβάνεται το στάδιο του καθαρισμού άλλες δύο φορές (προσθήκη νερού και εξανίου στους σωλήνες φυγοκέντρου ανατάραξη, φυγοκέντρωση)
10. Απομακρύνονται ίχνη υγρασίας από την στιβάδα του εξανίου με προσθήκη 1-2 g άνυδρου Na_2SO_4 και διήθηση του δείγματος, το οποίο τελικά συλλέγεται σε σφαιρική φιάλη.
11. Ο διαλύτης απομακρύνεται σε περιστροφικό εξατμιστήρα υπό κενό Συλλέγονται οι μεθυλεστέρες με 1 mL ισοοκτάνιο σε αναλογία 6mg/mL και φυλάσσονται στους -20°C μέχρι να αναλυθούν με αέρια χρωματογραφία.

3.2.3.1 Διαχωρισμός και ταυτοποίηση μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων με αέρια χρωματογραφία με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (GC-FID) (Fountoulaki et al., 2003)

Οι μεθυλεστέρες των λιπαρών οξέων διαχωρίστηκαν με στήλη Megabore DB-WAX (30 mm × 0.54 mm, 1 μm πάχος επίστρωσης) σε αεριοχρωματογράφο Varian 3300. Ως φέρον αέριο χρησιμοποιήθηκε ήλιο υψηλής καθαρότητας με ροή 5 mL/λεπτό. Ο εισαγωγέας του δείγματος και ο ανιχνευτής ήταν σε θερμοκρασία 250°C και 300°C, αντίστοιχα.

Χρησιμοποιήθηκε το ακόλουθο θερμοκρασιακό πρόγραμμα για τον φούρνο του αεριοχρωματογράφου: αρχική θερμοκρασία στήλης 140°C, παραμονή επί 5 λεπτά και αύξηση της θερμοκρασίας με ρυθμό 3°C ανά λεπτό μέχρι θερμοκρασίας 240°C. Η αναγνώριση των κορυφών έγινε με τη βοήθεια γνωστών προτύπων. Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με το λογισμικό Millennium.

3.3 Προσδιορισμός α-τοκοφερόλης (βιταμίνη E) με HPLC (Bai & Gatlin, 1992)

Υλικά

α) Διάλυμα 2% (w/v) πυρογαλλόλης σε απόλυτη αιθανόλη

β) 60% KOH

γ) Εξάνιο HPLC + 0,01% BHT

δ) Μεθανόλη HPLC

ε) Πρότυπα διαλύματα α-τοκοφερόλης :

ε1. Stock πρότυπο διάλυμα: 70 mg βιταμίνης E / 50 mL δ) (1,4mg/mL),

ε2. Πρότυπο διάλυμα εργασίας (a): 100 μL stock / 10 mL μεθανόλης (συγκέντρωση 14 μg/mL),

ε3. Πρότυπο διάλυμα εργασίας (a'): 1 mL διάλυμα εργασίας a / 5 mL μεθανόλης (συγκέντρωση 2,8μg/mL).

Συνθήκες λειτουργίας HPLC:

- Κινητή φάση: 95% Μεθανόλη
- Ροή: 1,0 mL/min
- Ανιχνευτής φθορισμού: λ_{ex}: 295 nm, λ_{em}: 335 nm, Attenuation: 64, Gain: 100.
- Πριν τις αναλύσεις, απαραίτητη η εξισορρόπηση της στήλης και του ανιχνευτή στις παραπάνω συνθήκες.

Αναλυτική πορεία

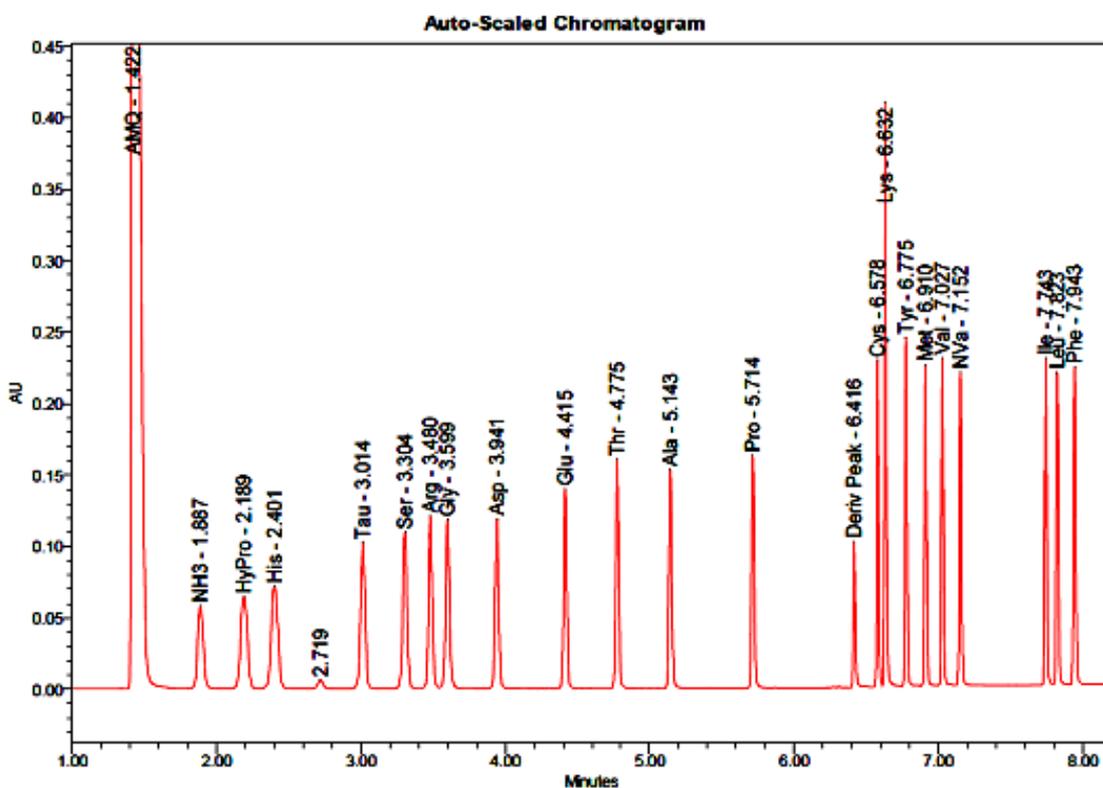
Για προσδιορισμό α-τοκοφερόλης σε μυικούς ιστούς ζυγίζονται περί τα 400 mg δείγματος και προστίθενται 4 mL πυρογαλλόλης σε αιθανόλη.

1. Το δείγμα ομογενοποιείται υπό ψύξη, επί 30 δευτερόλεπτα, μεταφέρεται σε ογκομετρικούς

- σωλήνες των 25 mL με εσφυρισμένα πώματα και θερμαίνεται επί 5 λεπτά στους 70°C.
2. Προστίθεται 1 mL KOH 60%, διαβιβάζεται άζωτο και οι σωλήνες πωματίζονται καλά. Επωάζονται στους 70°C για 20 λεπτά, και ανά πέντε λεπτά αναδεύονται τα δείγματα.
 3. Μετά την ψύξη των δειγμάτων προστίθεται νερό HPLC μέχρις όγκου 10 mL, και 4 mL εξάνιο με BHT και αναδεύονται πολύ καλά επί ένα λεπτό. Αφήνονται να ηρεμήσουν για να διαχωριστούν οι δύο φάσεις.
 4. Παραλαμβάνονται 3 mL από την επάνω φάση, εφόσον είναι διαυγής, (διαφορετικά φυγοκεντρείται σε σωλήνες των 10 mL και απομακρύνεται ο διαλύτης με διαβίβαση ρεύματος αζώτου, ενώ διατηρούνται οι σωλήνες βυθισμένοι σε χλιαρό νερό για να μην συμπυκνωθούν υδρατμοί).
 5. Προστίθεται 1 mL μεθανόλη HPLC, αναδεύοντας καλά και το δείγμα εισάγεται σε υγρό χρωματογράφο. Για ιστούς ψαριών εισάγεται όγκος 50 μ L.
 6. Κατασκευάζεται καμπύλη αναφοράς με πρότυπα συγκεντρώσεων 0,14-2,0 μ g/mL :
S₁ 50 μ L (a') / 1 mL (δ) (0,14 μ g/mL),
S₂ 100 μ L (a') / 1 mL (δ) (0,28 μ g/mL),
S₃ 50 μ L (a) / 1 mL (δ) (0,7 μ g/mL),
S₄ 100 μ L (a) / 1 mL (δ) (1,4 μ g/mL),
S₅ 200 μ L (a) / 1 mL (δ) (2,8 μ g/mL).
Από τα πρότυπα διαλύματα και τα δείγματα εισάγονται στον υγρό χρωματογράφο όγκοι 50 μ L.
 7. Συγχρόνως με τα δείγματα η ίδια διαδικασία ακολουθείται και για τυφλό προσδιορισμό. Μετά την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς υπολογίζεται η συγκέντρωση τοκοφερόλης στα δείγματα και αφού υπολογιστούν οι αραιώσεις που έγιναν, η ποσότητα εκφράζεται σε mg/g ιστού.

3.4 Προσδιορισμός αμινοξέων

Η ανάλυση των αμινοξέων έγινε με υγρή χρωματογραφία, με σύστημα UltraPerformance LC (UPLC) με ανιχνευτή πολλαπλών φωτοδιόδων (UV/vis PDA) και με εφαρμογή της επικυρωμένης τεχνικής παραγωγοποίησης AccQTag™ της Waters. Πριν τον προσδιορισμό προηγήθηκε όξινη υδρόλυση (6N, 110°C, 22h) των πρωτεϊνών και παραγωγοποίηση των αμινοξέων με την τεχνική AccQ-Tag (Waters). Ως εσωτερικό πρότυπο (internal standard) χρησιμοποιήθηκε η DL-Norvaline (Sigma) 2.5 mM. Ο διαχωρισμός των αμινοξέων έγινε στο σύστημα Acquity system της Waters σε σύνδεση με τον ανιχνευτή πολλαπλών φωτοδιόδων (PDA detector) σε μήκος κύματος 260 nm. Η χρωματογραφική στήλη που χρησιμοποιήθηκε ήταν η BEH C18, 100 mm×2,1 mm id, 1,7 μm (Waters). Η ροή της κινητής φάσης είχε ρυθμιστεί σε 0,7 ml/min και η θερμοκρασία στήλης στους 55°C. Για το διαχωρισμό των αμινοξέων εφαρμόστηκε πρόγραμμα βαθμιαίας έκλυσης με χρήση δύο διαλυμάτων A (ακετονιτρίλιο-μυρμηκικό οξύ-νερό) και B (ακετονιτρίλιο).



Εικόνα 3.1: Υγροχρωματογράφημα προτύπου μίγματος αμινοξέων

Η ανίχνευση και ταυτοποίηση των αμινοξέων, η ολοκλήρωση των κορυφών και η ποσοτική ανάλυση έγινε με το λογισμικό Empower 2 (Waters) και τη χρησιμοποίηση προτύπου μίγματος αμινοξέων (H της Pierce) σαν εξωτερικό πρότυπο. Τα αμινοξέα κυστεΐνη (cysteine) και θρυπτοφάνη (tryptophan) δεν προσδιορίστηκαν ποσοτικά επειδή καταστρέφονται κατά την

όξινη υδρόλυση. Στην Εικόνα 3.1 φαίνεται ένα χρωματογράφημα προτύπου μίγματος αμινοξέων.

3.5 Ποιοτική και ποσοτική ανάλυση πτητικών ενώσεων

Υλικά και Αντιδραστήρια

- A.1. Υπερκαθαρό νερό (MilliQ),
- A.2. Λεμονένιο, (R) – (+) – Limonene, 97% (Sigma),
- A.3. Εννεανάλη Nonanal, 95% (Aldrich),
- A.4. 1-Πεντεν-3-όλη 1-Penten-3-ol, 99% (Aldrich),
- A.5. 2,4-Επταδιενάλη 2,4 Heptadienal (technical grade), 90% (Aldrich),
- A.6. Δεκαπεντάνιο Pentadecane $\geq 99\%$ (Aldrich),
- A.7. Επτανόλη 1-Heptanol (puriss. p.a., standard for GC, $\geq 99\%$ (GC) (Fluka),
- A.8. 4-Επτανόνη 4-Heptanone purum, $\geq 96\%$ (GC) (Fluka),
- A.9. Βενζόλιο Benzene anhydrous, 99,8% (Sigma- Aldrich),
- A.10. Τολουόλιο Toluene anhydrous, 99,8% (Sigma- Aldrich).
- A.11. Χλωριούχο νάτριο (Carlo Erba Reagents)
- A.12. Θεικό νάτριο, 99,6% (Carlo Erba Reactifs –SDS)
- A.13. Διχλωρομεθάνιο- HPLC grade, 99,9% (Merck),
- A.14. Βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο (Butylated Hydroxy Toluene (BHT), minimum 99,0% (Sigma)
- B.1. Συσκευή ομογενοποίησης (IKA Analytical mill)
- B.2. Υδατόλουτρο
- B.3. Θερμομανδύας (Electrothermal, England)
- B.4. Συσκευή μαγνητικής ανάδευσης (IKA Labortechnik RCT basic)
- B.5. Κυκλοφορητής με συσκευή ψύξης (RB-12A Techne / Tempette TE-8D)
- B.6. Συσκευή εκχύλισης πτητικών συστατικών Likens and Nickerson (Selen lab, Νίκαια)
- B.7. Συσκευή συμπύκνωσης Kuderna Danish (Selen lab, Νίκαια, Πειραιάς)
- Γ. Δείγματα ιστών τσιπούρας (διατηρημένα σε $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$)

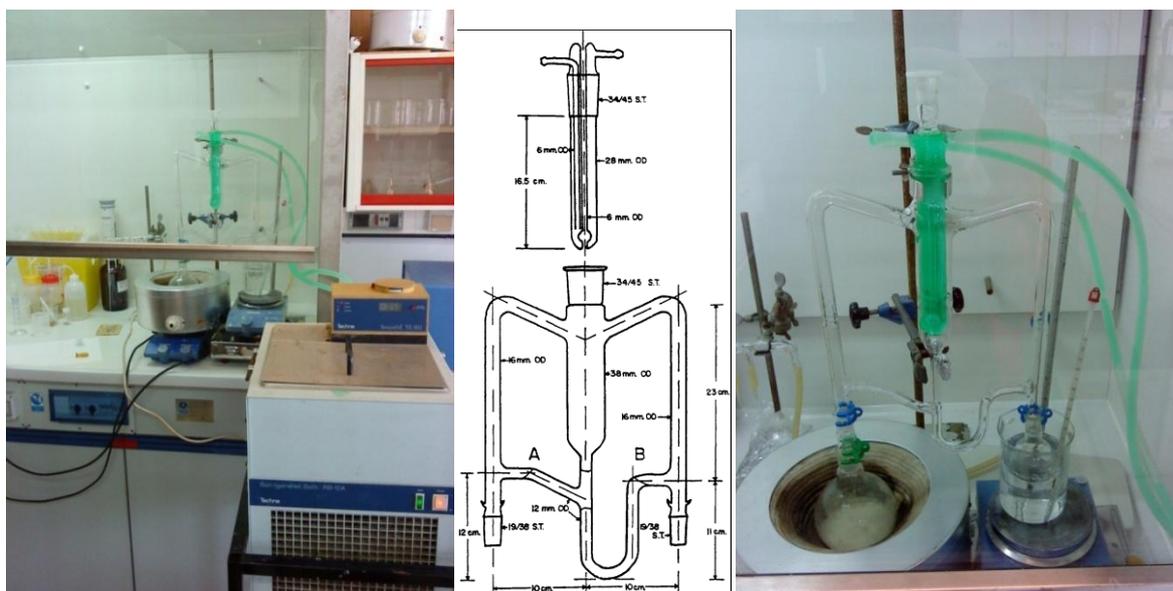
3.5.1 Διαδικασία εκχύλισης των πτητικών συστατικών

Για την εφαρμογή και αξιολόγηση της μεθόδου χρησιμοποιήθηκε φιλέτο τσιπούρας, τα πτητικά συστατικά του οποίου απομονώθηκαν με ταυτόχρονη απόσταξη/εκχύλιση (simultaneous distillation-extraction, SDE) με συσκευή Likens & Nickerson (Σχήμα 3.1) που κατασκευάστηκε στο υαουργείο Selen lab (Νίκαια, Πειραιάς). Ως διαλύτης εκχύλισης χρησιμοποιήθηκε διχλωρομεθάνιο (CH_2Cl_2). Για την απομόνωση των πτητικών συστατικών τοποθετήθηκαν 30 g ομογενοποιημένου φιλέτου τσιπούρας (Γ) σε σφαιρική φιάλη των 500 mL και προστέθηκαν 60 mL νερού (A.1) που περιείχε 30% χλωριούχο νάτριο (A.11), εσωτερικό πρότυπο (1-επτανόλη), αντιοξειδωτικό BHT (A.14), πέτρα βρασμού από πορσελάνη και μαγνητάκι για ανάδευση. Η φιάλη με το δείγμα τοποθετήθηκε στην αριστερά πλευρά της συσκευής (Εικόνες 2.9 και 3.2.β).

Σε δεύτερη σφαιρική φιάλη των 50 mL τοποθετήθηκαν 25 mL CH_2Cl_2 (A.13). Επειδή ο διαλύτης είναι βαρύτερος από το νερό τοποθετείται στην δεξιά (U) πλευρά της συσκευής (Σχήμα 3.1β και 3.1γ). Η λογική βάσει της οποίας θα πρέπει ο διαλύτης να βρίσκεται στην δεξιά πλευρά της συσκευής είναι ότι σαν βαρύτερος από το νερό θα καλύψει το κεντρικό (U) υοειδές τμήμα της συσκευής, γι' αυτό και ο βρασμός του διαλύτη θα πρέπει να ξεκινήσει πρώτος. Στη συνέχεια ξεκινάει ο βρασμός στη φιάλη που περιέχει το δείγμα.

Η θερμοκρασία του διαλύτη διατηρήθηκε στους 50-55°C με τη βοήθεια υδατόλουτρου. Η ψύξη των ατμών στους -5°C επιτυγχανόταν με χρήση ψυκτικού μέσου (αιθυλενογλυκόλης) σε συσκευή ψύξης η οποία ήταν συνδεδεμένη στη διάταξη εκχύλισης (Σχήμα 3.1α). Η συνολική διάρκεια της απόσταξης – εκχύλισης είναι 3 ώρες. Με το πέρας των 3 ωρών αφαιρούνται οι εστίες θέρμανσης, αφήνεται το σύστημα να ηρεμήσει επί 30 min, για την καλύτερη ανάκτηση των πτητικών ουσιών.

Στη συνέχεια συγκεντρώθηκε η οργανική φάση, προστέθηκε θειικό νάτριο (A.12) για απομάκρυνση ιχθών υγρασίας και το εκχύλισμα (25–30 mL) συμπυκνώθηκε, αρχικά σε περίπου 1-3 mL με την χρήση συσκευής Kuderna Danish (Σχήμα 3.2) και στην συνέχεια σε 0,5 mL με ρεύμα αζώτου. Το δείγμα τελικά αποθηκεύτηκε στους -20°C σε σφραγισμένο φιαλίδιο χρωματογραφίας μέχρι την ανάλυσή του.



(α)

(β)

(γ)

Σχήμα 3.1: Συσκευή εκχύλισης πτητικών συστατικών Likens and Likerson's με διαλύτες βαρύτερους από το νερό. (Chaintreau A., Flavour Fragr. J. 2001; 16: 136-148)

3.5.2. Διαδικασία συμπύκνωσης

Η συμπύκνωση του εκχυλίσματος πραγματοποιείται με την συσκευή Kuderna Danish (K-D) (Selen lab, Νίκαια, Πειραιάς). Η συσκευή (Σχήμα 3.2) αποτελείται από τη φιάλη εξάτμισης (σφαιρική φιάλη των 50mL στην οποία ο διαλύτης αποτελεί το 40 με 60% του όγκου της), η οποία συνδέεται με αποστακτική στήλη Snyder. Το εκχύλισμα τοποθετείται στην συσκευή, προστίθενται μία ή δύο πέτρες βρασμού και θερμαίνεται με την βοήθεια υδατόλουτρου. Η θερμοκρασία του υδατόλουτρου παραμένει περίπου 15-20°C από το σημείο βρασμού του οργανικού διαλύτη. Η στήλη Snyder βρέχεται αρχικά με τον οργανικό διαλύτη (CH₂Cl₂) από το άνοιγμα της κορυφής για αποφυγή απώλειας δείγματος.

Η συσκευή λειτουργεί σε ατμοσφαιρική πίεση κάτω από συνθήκες μερικής επαναυγροποίησης ατμών. Οι ατμοί του διαλύτη συμπυκνώνονται στην κλασματική στήλη Snyder, κάθε στάδιο της οποίας έχει ένα περιορισμένο άνοιγμα το οποίο καλύπτεται από γυάλινο ένθεμα που έχει χαλαρή εφαρμογή. Η συσκευή Kuderna Danish (K-D) συμπυκνώνει το δείγμα σχεδόν μέχρις όγκου 1- 3 mL.

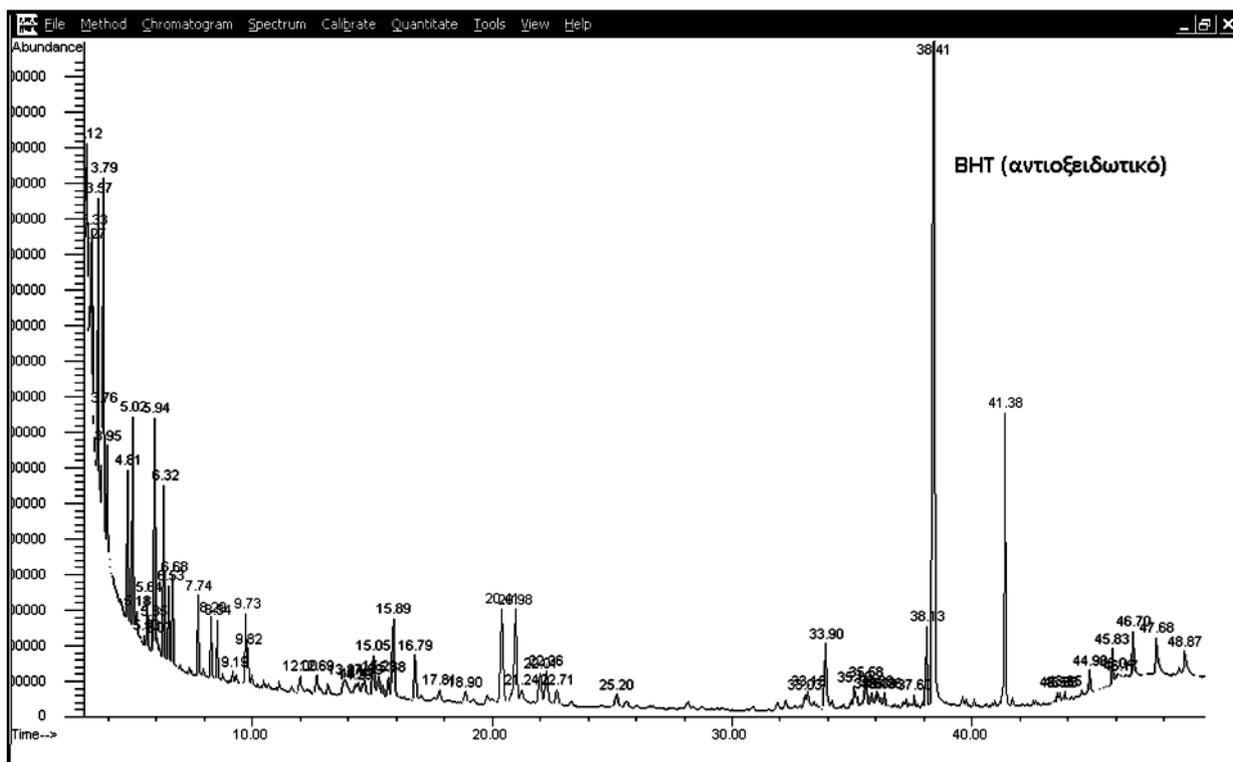
Ο διαλύτης που εξατμίζεται δεν συμπυκνώνεται και για αυτό η συσκευή τοποθετείται σε απαγωγό. Κίνδυνος αυτής της μεθόδου είναι η πιθανή βίαιη εκτίναξη του διαλύτη που μπορεί να προκαλέσει απώλεια δείγματος.



Σχήμα 3.2: Συσκευή Kuderna Danish. Αριστερά: συναρμολογημένη, δεξιά: τα τμήματά της.

3.5.3 Διαχωρισμός, ταυτοποίηση και ποσοτική ανάλυση πτητικών συστατικών με αέρια χρωματογραφία - φασματομετρία μάζας (GC-MS)

Η ανάλυση των εκχυλισμάτων από ιστούς ιχθύων και των διαλυμάτων προτύπων ουσιών έγινε σε αέριο χρωματογράφο Agilent 7890A, συνδεδεμένο με ανιχνευτή μάζας Agilent 5975C (Agilent Technologies, USA) και εφοδιασμένο με στήλη HP-5MS της Agilent, με μήκος 30 m, εσωτερική διάμετρο 0,25 mm και πάχος εσωτερικής επικάλυψης 0,25 μm. Το εκχύλισμα των πτητικών συστατικών εισαγόταν στη στήλη (όγκος 2 μL) χωρίς διαχωρισμό του δείγματος (splitless injection). Ως φέρον αέριο χρησιμοποιήθηκε ήλιο (He) υψηλής καθαρότητας με ροή 1,8 mL/min. Για την ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το ακόλουθο θερμοκρασιακό πρόγραμμα: αρχική θερμοκρασία 35°C, αύξηση με ρυθμό 2 °C/min μέχρι τους 95°C, στη συνέχεια αύξηση με ρυθμό 8°C/min μέχρι τους 195°C, και τέλος αύξηση με ρυθμό 12°C/min μέχρι τους 240°C και παραμονή επί 4 min. Ο ανιχνευτής μάζας λειτουργούσε σε εύρος μαζών από 30-300 amu με ρυθμό σάρωσης 2,73 scan/sec. Η θερμοκρασία της γραμμής μεταφοράς του δείγματος από την αεριοχρωματογραφική στήλη στον ανιχνευτή μάζας (transfer line) τέθηκε στους 240°C. Η ενέργεια ηλεκτρονιακού ιονισμού στο φασματόμετρο μάζας ήταν 70 eV. Στο Σχήμα 3.3 φαίνεται τυπικό αεριοχρωματογράφημα των πτητικών συστατικών από νωπό μύ τσιπούρας ιχθυοτροφείου.



Σχήμα 3.3: Αεριοχρωματογράφημα πτητικών συστατικών φρέσκου ιστού τσιπούρας.

3.5.4 Κατασκευή καμπυλών αναφοράς

Για την ποσοτική ανάλυση των πτητικών συστατικών, παρασκευάστηκε μια σειρά προτύπων διαλυμάτων που περιείχαν τις ακόλουθες πρότυπες ουσίες: βενζόλιο, διμεθυλοσουλφίδιο, εννεανάλη, 2-βουτανόνη, 1-επτανόλη, 4-επτανόνη, D-λεμονένιο, 1-πεντεν-3-όλη, τολουόλιο, φουράνιο, δεκαοκτάνιο. Διάλυμα που περιείχε 20 μL από κάθε πρότυπη ουσία, αραιώθηκε σε 10 mL με CH_2Cl_2 (Διάλυμα Α). 0,5 mL του διαλύματος (Α) αραιώθηκαν με 7 mL CH_2Cl_2 (Διάλυμα Β). 1 mL του διαλύματος (Β) αραιώθηκε εκ νέου με 3 mL CH_2Cl_2 (Διάλυμα Γ). Στη συνέχεια, ανά 100 μL του διαλύματος (Γ) τοποθετήθηκαν σε 4 φιαλίδια στα οποία προστέθηκαν 100, 200, 300 και 400 μL CH_2Cl_2 αντίστοιχα. Αυτά τα τελευταία διαλύματα αναλύθηκαν με GC/MS.

Για όλες τις πρότυπες ουσίες κατασκευάστηκαν καμπύλες αναφοράς. Σημειώνεται ότι το φουράνιο και το διμεθυλοσουλφίδιο δεν έγινε δυνατό να προσδιορισθούν, διότι λόγω της πτητικότητάς τους συνεκλούνται από τη χρωματογραφική στήλη μαζί με τον διαλύτη.

3.5.5 Βελτιστοποίηση των συνθηκών ανάλυσης πτητικών συστατικών

Για να καθοριστούν οι βέλτιστες συνθήκες όσον αφορά την εκχύλιση και την ταυτοποίηση των πτητικών ουσιών σε ιστούς ιχθύων, έγινε σειρά δοκιμών στα δείγματα φιλέτου τσιπούρας ιχθυοτροφείου το οποίο ομογενοποιήθηκε και ελήφθησαν δείγματα των 30 g (Serkan et al., 2009). Η ποσότητα των 30 g κρίθηκε ως η καταλληλότερη μετά από διάφορες δοκιμές

ανάλυσης δειγμάτων διαφορετικού βάρους, δεδομένου ότι μικρότερη ποσότητα δείγματος είχε ως αποτέλεσμα την αδυναμία ανίχνευσης και ταυτοποίησης μερικών συστατικών, ενώ μεγαλύτερες ποσότητες δείγματος δημιουργούσαν προβλήματα στον χειρισμό των δειγμάτων κατά την διαδικασία εκχύλισης.

Για την εκχύλιση χρησιμοποιήθηκαν 25 mL CH₂Cl₂ (Maignial et al., 1992), ποσότητα που κρίθηκε ως η ελάχιστη ικανοποιητική μετά από δοκιμές με διάφορους όγκους και συνθήκες, δεδομένου ότι πετύχαινε να καλύπτει τον κεντρικό υοειδή σωλήνα (U) της συσκευής, ενώ ταυτόχρονα παρέμενε επαρκής ποσότητα στην σφαιρική φιάλη ώστε να διατηρείται σταθερή η ροή του διαλύτη στην συσκευή.

Κρίθηκε απαραίτητη η προσθήκη άλατος (NaCl) στην σφαιρική φιάλη του δείγματος, προκειμένου να μειωθεί η διαλυτότητα των πτητικών ενώσεων στο νερό (Bartsch & Hammerschmidt 1933), να αυξηθεί η ανάκτηση των πολικών ενώσεων (Chaintreau, 2001) και γενικότερα να επιτευχθούν καλύτερες ανακτήσεις (Roberts, et al., 2001).

Κατά τη διάρκεια της βελτιστοποίησης της πειραματικής διαδικασίας ιδιαίτερα επίπονος ήταν ο καθορισμός των καταλληλότερων θερμοκρασιών. Εκτός της επιλογής των κατάλληλων συσκευών (επιλογή θερμομανδύα ή υδατόλουτρου για τις φιάλες του δείγματος και του διαλύτη, διάταξη ανάδευσης του δείγματος, σύστημα ψύξης του ψυκτήρα), έπρεπε να βελτιστοποιηθεί τόσο ο ρυθμός της σταδιακής αύξησης της θερμοκρασίας του θερμομανδύα, ώστε να διατηρείται ομαλός βρασμός χωρίς προβλήματα λόγω σχηματισμού επιφανειακής κρούστας, όσο και η τελική θερμοκρασία της φιάλης που περιέχει το διαλύτη, ώστε να διατηρείται ομαλός βρασμός και ομοιόμορφη ροή διαλύτη (θερμοκρασία υδατόλουτρου 50-55°C).

Στη συνέχεια ακολουθήθηκε η διαδικασία συμπύκνωσης, και αεριοχρωματογραφικού διαχωρισμού και αναγνώρισης των τυπικών πτητικών ουσιών, όπως περιγράφεται στις παραγράφους 3.6.1 έως 3.6.3.

Στο Σχήμα 3.3 φαίνεται τυπικό αεριοχρωματογράφημα των πτητικών συστατικών από νωπό μυ τσιπούρας, ενώ οι ονομασίες των ουσιών-κορυφών δίνονται στον Πίνακα 3.1. Η ταυτοποίηση των πτητικών συστατικών πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια της ηλεκτρονικής βιβλιοθήκης φασμάτων μάζας NIST 05 Mass Spectral Library (Rev D.05.01) (Agilent Technologies, USA) από τα χαρακτηριστικά ιόντα των κορυφών, ενώ η ποσοτικοποίηση των κορυφών έγινε με την βοήθεια καμπυλών αναφοράς και εσωτερικών προτύπων. Όπως φαίνεται στον Πίνακα 3.1 τα πρότυπα είχαν επιλεγεί ώστε να καλύπτουν όλη την περιοχή -και τις πτητικότητες- των πιθανών πτητικών συστατικών και είναι παρόντα στην αρχή στο μέσον και στο τέλος του χρωματογραφήματος. Η “καθαρότητα” των χρωματογραφικών κορυφών, ελέγχθηκε με το λογισμικό AMDIS (Automated Mass Spectral Deconvolution and Identification System).

Για αποφυγή τυχόν επιμόλυνσης των δειγμάτων από συστατικά που παρέμεναν από προηγούμενες αναλύσεις ή ατελή καθαρισμό της διάταξης, πριν από κάθε ανάλυση, η όλη διαδικασία εφαρμοζόταν και σε τυφλό δείγμα.

Πίνακας 3.1: Πτητικά συστατικά που ανιχνεύθηκαν σε ιστούς εκτρεφόμενης τσιπούρας. Δίνονται οι χρόνοι κατακράτησης (Rt) των ουσιών και το ποσοστό συμφωνίας (% match) με τα δεδομένα βιβλιοθηκών φασμάτων μάζας του προγράμματος NIST 05 Mass Spectral Library για τις ουσίες που ταυτοποιήθηκαν. Επίσης δίνονται τα χαρακτηριστικά ιόντα που βοηθούν στην ταυτοποίηση.

| α/α | Χημική ένωση | Rt | % match | Χαρακτηριστικό ιόν | Πρότυπη ουσία |
|-----|---|-------|---------|--------------------|---------------|
| 1. | 2 Βουτενάλη | 3,219 | 96,8 | 70 | |
| 2. | 3-Μεθυλο βουτανάλη | 3,237 | 93,0 | 41 | |
| 3. | Βενζόλιο | 3,298 | 93,1 | NIST / I.S. | NIST / I.S. |
| 4. | 3-Μεθυλο 1-βουτένιο | 3,322 | 82,5 | 70 | |
| 5. | 1-Πεντεν-3-όλη | 3,511 | 91,2 | NIST / I.S. | NIST / I.S. |
| 6. | 2,3-Πεντανοδιόνη | 3,706 | 92,0 | 43 | |
| 7. | 2-Αιθυλο-φουράνιο | 3,749 | 94,8 | 81 | |
| 8. | 1,4-Κυκλοεξαδιένιο | 3,846 | 92,3 | 79 | |
| 9. | 3-Υδροξυ-2-βουτανόνη | 3,901 | 88,2 | 45 | |
| 10. | 2-Αιθοξυ-2-μεθυλο βουτάνιο | 4,157 | 89,6 | 59 | |
| 11. | Διμεθυλο – δισουλφίδιο | 4,535 | 85,4 | 94 | |
| 12. | 2-Μεθυλο πεντανάλη | 4,596 | 86,6 | 43 | |
| 13. | <i>trans</i> -2-Πεντενάλη | 4,767 | 93,9 | 84 | |
| 14. | Τολουόλιο | 4,968 | 96,0 | NIST / I.S. | NIST / I.S. |
| 15. | 1-Πεντανόλη | 5,053 | 87,9 | 42 | |
| 16. | <i>cis</i> -2-Πεντεν-1-όλη | 5,133 | 93,2 | 57 | |
| 17. | 2,3-Εξανοδιόνη | 5,486 | 95,7 | 43 | |
| 18. | Οκτάνιο | 5,809 | 92,9 | 43 | |
| 19. | Εξανάλη | 5,870 | 93,6 | 44 | |
| 20. | Τετραχλωροαιθυλένιο | 6,071 | 98,2 | 166 | |
| 21. | 2,4-Οκταδιένιο | 6,260 | 91,4 | 81 | |
| 22. | 3,5- Οκταδιένιο | 6,480 | 89,6 | 81 | |
| 23. | 2,4-Διμεθυλο-επτάνιο | 6,498 | 88,7 | 43 | |
| 24. | Φουρφουράλη | 6,931 | 95,3 | 96 | |
| 25. | 4-Υδροξυ-4-μεθυλο-2-πεντανόνη | 7,321 | 85,3 | 43 | |
| 26. | 2-Εξενάλη | 7,675 | 95,6 | 41 | |
| 27. | Αιθυλοβενζόλιο | 7,906 | 93,9 | 91 | |
| 28. | 4-Μεθυλοοκτάνιο | 8,053 | 86,2 | 43 | |
| 29. | p-Ξυλόλιο | 8,236 | 96,1 | 91 | |
| 30. | 4-Επτανόνη | 8,504 | 93,9 | NIST / I.S. | NIST / I.S. |
| 31. | 1,3 <i>trans</i> - 5- <i>cis</i> -Οκτατριένιο | 8,736 | 93,0 | 79 | |
| 32. | Στυρόλιο | 9,138 | 94,8 | 104 | |
| 33. | ο-Ξυλόλιο | 9,223 | 90,3 | 91 | |
| 34. | 2-Επτανόνη | 9,303 | 90,7 | 43 | |
| 35. | 4-Επτενάλη, (Z)- | 9,674 | 92,4 | 41 | |
| 36. | Επτανάλη | 9,766 | 91,2 | 70 | |
| 37. | 3- Μεθυλοθειοπροπανάλη | 9,943 | 92,7 | 48 | |

| α/α | Χημική ένωση | Rt | % match | Χαρακτηριστικό ιόν | Πρότυπη ουσία |
|-----|--------------------------------------|--------|---------|--------------------|---------------|
| 38. | 2,4-Εξαδιενάλη (E,E)- | 10,174 | 83,6 | 81 | |
| 39. | Άγνωστη | 10,430 | | N.I. | |
| 40. | Άγνωστη | 10,522 | | N.I. | |
| 41. | 4-Αιθυλοφαινόλη | 10,644 | 89,0 | 107 | |
| 42. | Άγνωστη | 10,723 | | N.I. | |
| 43. | 3 Αιθυλο-1,5-οκταδιένιο | 11,595 | 89,6 | 69 | |
| 44. | 3-Αιθυλοπεντάνιο | 11,881 | 73,3 | 43 | |
| 45. | 2,4-Εννεαδιένιο (E,E) | 11,942 | 80,7 | 41 | |
| 46. | 5-Μεθυλο-2-φουρανοκαρβοξαλδεϋδη | 12,173 | 92,8 | 110 | |
| 47. | 4,5-Διμεθυλο-1-εξένιο | 12,241 | 80,1 | 43 | |
| 48. | Προπυλοβενζόλιο | 12,290 | 91,6 | 91 | |
| 49. | <i>trans</i> -2-Επτενάλη | 12,625 | 91,5 | 41 | |
| 50. | Βενζαλδεϋδη | 12,649 | 95,6 | 106 | |
| 51. | Άγνωστη | 13,125 | | 82 | |
| 52. | 1-Επτανόλη | 13,534 | | 70 | |
| 53. | Άγνωστη | 13,747 | | 57 | |
| 54. | Αιθαινυλεστέρας εξανικού οξέος | 14,381 | 82,1 | 43 | |
| 55. | 2-Θειοφαινοκαρβοξαλδεϋδη | 14,430 | 84,6 | 111 | |
| 56. | 1,2,4-Τριμεθυλοβενζόλιο | 14,545 | 94,0 | 105 | |
| 57. | 2-Πεντυλφουράνιο | 14,643 | 90,3 | 81 | |
| 58. | 2,4-Επταδιενάλη (E,E)- | 14,984 | 91,6 | 81 | |
| 59. | <i>cis</i> -2-(2-Πεντενυλο)φουράνιο | 15,240 | 91,3 | 107 | |
| 60. | Οκτανάλη | 15,411 | 93,7 | 41 | |
| 61. | 2,4-Επταδιενάλη, (Z,Z)- | 15,813 | 95,2 | NIST / I.S. | NIST / I.S. |
| 62. | 1,3,5-Τριμεθυλοβενζόλιο | 16,265 | 85,1 | 105 | |
| 63. | D-Λεμονένιο | 16,734 | 89,6 | NIST / I.S. | NIST / I.S. |
| 64. | Βενζακεταλδεϋδη | 17,777 | 95,1 | 91 | |
| 65. | 2-Οκτενάλη, (E)- | 18,874 | 91,9 | 41 | |
| 66. | 3,5-Οκταδιεν-2-όνη, (E,E)- | 19,779 | 89,1 | 95 | |
| 67. | 2,4-Διαιθαινυλο-μεθυλο κυκλοεξάνιο | 20,916 | 81,8 | 79 | |
| 68. | 3,5- Οκταδιεν-2-όνη, (Z,Z)- | 21,208 | 90,5 | 97 | |
| 69. | Εννεανάλη | 21,965 | 92,7 | NIST / I.S. | NIST / I.S. |
| 70. | Άγνωστη | 22,214 | | 81 | |
| 71. | Άγνωστη | 22,670 | | 79 | |
| 72. | 2,5- Διμεθυλο βενζαλδεϋδη | 24,239 | 82,1 | 133 | |
| 73. | <i>trans, cis</i> - 2,6-εννεαδιενάλη | 25,165 | 91,0 | 41 | |
| 74. | 4- Αιθυλοβενζαλδεϋδη | 25,540 | 84,5 | 134 | |
| 75. | 2-Εννεενάλη | 25,616 | 85,5 | 43 | |
| 76. | Ναφθαλίνιο | 26,525 | 83,0 | 128 | |
| 77. | Άγνωστη | 28,153 | | 79 | |
| 78. | Δωδεκάνιο | 28,348 | 85,1 | 43 | |
| 79. | Δεκανάλη | 28,726 | 84,4 | 43 | |
| 80. | Βενζοθειαζόλη | 29,347 | 92,8 | 135 | |
| 81. | 2-Φαινοξυαιθανόλη | 29,347 | 74,0 | 94 | |
| 82. | Άγνωστη | 29,553 | | 94 | |
| 83. | Άγνωστη | 30,865 | | 79 | |
| 84. | Άγνωστη | 31,842 | | 82 | |

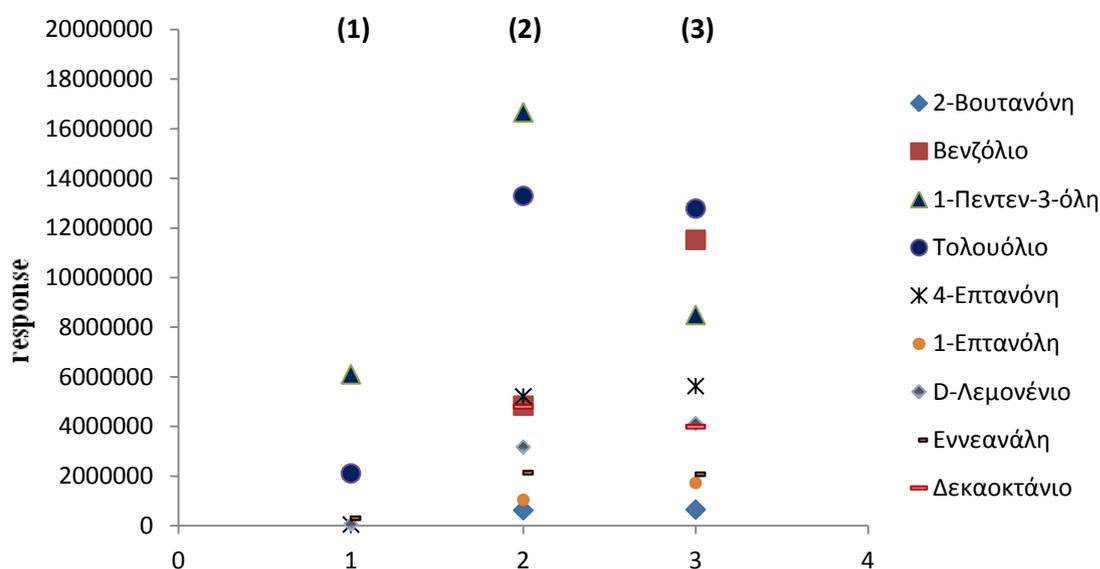
| α/α | Χημική ένωση | Rt | % match | Χαρακτηριστικό ιόν | Πρότυπη ουσία |
|------|-------------------------------------|--------|---------|--------------------|---------------|
| 85. | <i>trans</i> -2-δεκενάλη | 31,902 | 81,3 | 43 | |
| 86. | Άγνωστη | 32,030 | | 79 | |
| 87. | Άγνωστη | 32,218 | | 57 | |
| 88. | Άγνωστη | 32,585 | | 79 | |
| 89. | 1-Μεθυλοναφθαλίνιο | 32,792 | 85,2 | 142 | |
| 90. | 2,4-Δεκαδιενάλη | 33,145 | 91,9 | 81 | |
| 91. | Δεκατριάνιο | 33,389 | 82,0 | 57 | |
| 92. | 2,4-Δεκαδιενάλη | 33,889 | 84,2 | 81 | |
| 93. | 2,2,11,11-Τετραμεθυλοδωδεκάνιο | 33,930 | 83,2 | 57 | |
| 94. | Άγνωστη | 34,956 | | 134 | |
| 95. | 2-(1,1-διμεθυλαιθυλ)-5μεθυλοφαινόλη | 34,997 | 90,6 | 149 | |
| 96. | Άγνωστη | 35,084 | | 134 | |
| 97. | Άγνωστη | 35,515 | | 79 | |
| 98. | Άγνωστη | 35,572 | | 79 | |
| 99. | Άγνωστη | 35,810 | | 79 | |
| 100. | Αιθυλοσουλφονυλοβενζόλιο | 36,000 | 87,7 | 79 | |
| 101. | Δεκατετράνιο | 36,084 | 87,9 | 57 | |
| 102. | Άγνωστη | 36,200 | | 79 | |
| 103. | Άγνωστη | 36,300 | | 79 | |
| 104. | Άγνωστη | 36,350 | | 79 | |
| 105. | Άγνωστη | 36,770 | | 79 | |
| 106. | Άγνωστη | 36,931 | | 79 | |
| 107. | Άγνωστη | 37,261 | | 79 | |
| 108. | Άγνωστη | 37,570 | | 205 | |
| 109. | Άγνωστη | 37,657 | | 205 | |
| 110. | Άγνωστη | 37,772 | | 161 | |
| 111. | Δεκαπεντάνιο | 38,074 | 92,8 | NIST / I.S. | NIST / I.S. |
| 112. | Άγνωστη | 39,321 | | 219 | |
| 113. | Άγνωστη | 39,589 | | 79 | |
| 114. | Άγνωστη | 39,656 | | 57 | |
| 115. | Άγνωστη | 40,105 | | 41 | |
| 116. | Βενζοφαινόνη | 40,290 | 94,0 | 105 | |
| 117. | Άγνωστη | 40,821 | | 57 | |
| 118. | Δεκαεπτάνιο | 41,266 | 85,8 | 57 | |
| 119. | Πριστάνιο | 41,382 | 93,5 | 57 | |

3.6 Πείραμα ανάκτησης

Για να αξιολογηθεί η επαναληψιμότητα και η αποτελεσματικότητα της αναλυτικής μεθόδου, η όλη διαδικασία εκχύλισης και ανάλυσης με GC-MS εφαρμόστηκε:

1. σε εκχύλιμα μυός τσιπούρας (Σχήμα 3.4, σημεία 1),
2. σε εκχυλίσματα μυός τσιπούρας στα οποία είχαν προστεθεί 250 μl (2) του διαλύματος Γ των 9 προτύπων ουσιών (Σχήμα 3.4, σημεία 2).
3. σε 250 μl από τα διαλύματα των 9 προτύπων ουσιών που τοποθετήθηκαν σε φιαλίδια GC και αναλύθηκαν χωρίς άλλους χειρισμούς (Σχήμα 3.4, σημεία 3)

Οι αριθμοί σε παρένθεση αναφέρονται στο Σχήμα 3.4 και τον Πίνακα 3.2.



Σχήμα 3.4: Πειράματα σταθερής προσθήκης για υπολογισμό της ανάκτησης 9 πρότυπων ουσιών σε δείγματα ιστού ιχθύος (τσιπούρας)

Πίνακας 3.2: Αποτελέσματα ολοκλήρωσης των προτύπων ουσιών στα διάφορα δείγματα

| Πρότυπες ουσίες | τσιπούρα SDE (1) | τσιπούρα +250μl SDE (2) | 250μl (3) |
|-----------------|------------------------|-------------------------------|--------------|
| 2-Βουτανόνη | | 615842 | 645128 |
| Βενζόλιο | | 4833627 | 11517015 |
| 1-Πεντεν-3-όλη | 6098199 | 16655395 | 8489901 |
| Τολουόλιο | 2101574 | 13285422 | 12776027 |
| 4-Επτανόνη | 40671 | 5210420 | 5621406 |
| 1-Επτανόλη | | 1036168 | 1719358 |
| D-Λεμονένιο | 49243 | 3163083 | 4112065 |
| Εννεανάλη | 296702 | 2133637 | 2069529 |
| Δεκαοκτάνιο | | 4797141 | 3989478 |

Συγκρίνοντας, τα αποτελέσματα ολοκλήρωσης των διαλυμάτων (250 μL) προτύπων ουσιών τα οποία τοποθετήθηκαν κατευθείαν σε φιαλίδιο (3) με τα αντίστοιχα αποτελέσματα του εκχυλίσματος μύος τσιπούρας που περιείχαν επιπρόσθετα 250 μL προτύπων ουσιών (2) -αφού αφαιρέθηκαν τα εμβαδά που προέκυψαν από την ανάλυση του εκχυλίσματος του μύος τσιπούρας (1), υπολογίστηκε η ανάκτηση (%) για την κάθε πρότυπη ουσία (Πίνακας 3.3).

Ανάκτηση % = $100(C1-C2)/C3$ όπου:

C1= συγκέντρωση δείγματος με προσθήκη πρότυπων ενώσεων (σημεία 2)

C2= συγκέντρωση δείγματος χωρίς την προσθήκη πρότυπων ουσιών (σημεία 1)

C3= συγκέντρωση πρότυπων ουσιών (σημεία 3)

Εξυπακούεται ότι δεν έγιναν αντίστοιχοι υπολογισμοί για το φουράνιο και το διμεθυλοσουλφίδιο, τα οποία λόγω της πτητικότητάς τους συνεκλούνταν με τον διαλύτη.

Πίνακας 3.3: Αποτελέσματα % ανάκτησης των πρότυπων ουσιών

| | 2-Βουτανόνη | Βενζόλιο | 1-Πεντεν-3-όλη | Τολουόλιο | 4-Επτανόνη | 1-Επτανόλη | D-Λεμονένιο | Εννεανάλη | Δεκαοκτάνιο |
|--------------------------|-------------|----------|----------------|-----------|------------|------------|-------------|-----------|-------------|
| (Στήλη 2) Πίνακας 3.2 | 95,43 | 41,97 | 124,35 | 87,54 | 91,97 | 60,26 | 75,72 | 88,76 | 45,05 |

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό των ενώσεων που ανιχνεύτηκαν κατασκευάστηκαν καμπύλες αναφοράς και κάθε πτητική ένωση ποσοτικοποιήθηκε μέσω της καμπύλης αναφοράς της πρότυπης ένωσης που είχε παρόμοια με αυτήν χημικά χαρακτηριστικά.

Για τη χάραξη των καμπυλών αναφοράς η όλη διαδικασία (SDE) εφαρμόστηκε (χωρίς δείγμα ιστού) με διαλύματα που περιείχαν διαφορετικές ποσότητες κάθε φορά των 9 προτύπων ουσιών, συγκεκριμένα 100 μ l, 150 μ l και 250 μ l διαλύματος (**Γ**). Το διάλυμα συμπυκνώθηκε σε φιαλίδιο GC (0,5 ml) και αναλύθηκαν 2 μ L (ένεση στον αεριοχρωματογράφο). Τα εμβαδά των χαρακτηριστικών ιόντων των 9 πρότυπων ουσιών φαίνονται στο παρακάτω πίνακα (Πίνακας 3.4).

Πίνακας 3.4: Ολοκληρώματα των χαρακτηριστικών ιόντων των 9 πρότυπων ουσιών

| Ουσία | R.T. (min) | Χαρακτηριστικό ión (m/z) | Όγκος (μ L) | | | |
|----------------|---------------|-----------------------------|------------------|--------|--------|--------|
| | | | 0 | 100 | 150 | 250 |
| 2-Βουτανόνη | 3.10 | 43 | 0 | 222833 | 357215 | 642340 |
| Βενζόλιο | 3.60 | 78 | 0 | 320480 | 639327 | 913701 |
| 1-Πεντεν-3-όλη | 3.87 | 57 | 0 | 237372 | 418342 | 738815 |
| Τολουόλιο | 5.43 | 91 | 0 | 297180 | 476564 | 938032 |
| 4-Επτανόνη | 9.16 | 43 | 0 | 307910 | 416262 | 834466 |
| 1-Επτανόλη | 14.55 | 70 | 0 | 110304 | 152856 | 307855 |
| D-Λεμονένιο | 17.74 | 68 | 0 | 195368 | 281320 | 561824 |
| Εννεανάλη | 23.02 | 57 | 0 | 133089 | 145983 | 245236 |
| Δεκαοκτάνιο | 43.04 | 57 | 0 | 100000 | 147496 | 186151 |

Βάσει της πυκνότητας της κάθε ένωσης μετατράπηκαν τα μ L που χρησιμοποιήθηκαν κάθε φορά σε ng (Πίνακας 3.5)

Πίνακας 3.5: Ποσότητες σε ng των 9 πρότυπων ουσιών στα πρότυπα διαλύματα (100 μl (Γ), 150 μl (Γ), 250 μl (Γ))

| Πρότυπη ένωση | Ποσότητα | d (g/cm ³) | 100μL (Γ) | 150μL (Γ) | 250μL (Γ) |
|----------------|----------|------------------------|-----------|-----------|-----------|
| 2-Βουτανόνη | 20μl | 0,8050 | 10,787 | 16,180 | 26,967 |
| Βενζόλιο | 20μl | 0,8765 | 11,745 | 17,617 | 29,362 |
| 1-Πεντεν-3-όλη | 20μl | 0,8390 | 11,242 | 16,863 | 28,106 |
| Τολουόλιο | 20μl | 0,8669 | 11,616 | 17,424 | 29,041 |
| 4-Επτανόνη | 20μl | 0,8200 | 10,988 | 16,482 | 27,470 |
| 1-Επτανόλη | 20μl | 0,8187 | 10,970 | 16,455 | 27,426 |
| D-Λεμονένιο | 20μl | 0,8411 | 11,270 | 16,966 | 28,177 |
| Εννεανάλη | 20μl | 0,8270 | 11,081 | 16,622 | 27,704 |
| Δεκαοκτάνιο | 20,7mg* | - | 13,869 | 20,803 | 34,672 |

* Το δεκαοκτάνιο είναι στερεό

Με τη βοήθεια των Πινάκων 3.4 και 3.5 κατασκευάστηκαν καμπύλες αναφοράς για κάθε ουσία οι κλίσεις και η τιμή του R² των οποίων δίνονται στον Πίνακα 3.6. Με τις καμπύλες αναφοράς ποσοτικοποιήθηκαν οι χημικά παρόμοιες ουσίες που ανιχνεύτηκαν.

Πίνακας 3.6: Καμπύλες αναφοράς (κλίση καμπύλης a και R²) για τις πρότυπες ενώσεις αναφοράς που χρησιμοποιήθηκαν για την ποσοτικοποίηση των πτητικών ενώσεων.

| Ένωση αναφοράς | a | R ² | Πτητικές ενώσεις οι οποίες ποσοτικοποιήθηκαν μέσω των ενώσεων αναφοράς |
|--|--------|----------------|--|
| 2-Βουτανόνη | 23074 | 0.9938 | Κετόνες με χρόνο κατακράτησης 2,9-7,3 min. |
| Βενζόλιο 99.8% (Sigma-Aldrich) | 31939 | 0.9799 | Βενζόλιο, ακυλβενζόλια, p-ξυλόλιο, o-ξυλόλιο, αιθέρες, αμίνες, φουράνια |
| 1-Πεντεν-3-όλη 99% (Aldrich) | 25391 | 0.9895 | Μη αλειφατικές αλκοόλες |
| Τολουόλιο, 99.8% (Sigma-Aldrich) | 30421 | 0.9806 | Τολουόλιο, αλκυλοτολουόλια, πυραζίνες, πυριδίνες, πυρρόλες, πυρρολιδίνες |
| 4-Επτανόνη (purum, ≥96% (GC) (Fluka)) | 28916 | 0.9850 | Κετόνες με χρόνο κατακράτησης από 7,3-56,3 min, εστέρες |
| 1-Επτανόλη (puriss. p.a., standard for GC, ≥99%) (Fluka) | 10643 | 0.9838 | Αλειφατικές αλκοόλες |
| (R)-(+)-Λεμονένιο 97% (Sigma) | 18866 | 0.9834 | Τερπένια, μη αρωματικοί κυκλικοί υδρογονάνθρακες |
| Εννεανάλη 95% (Aldrich) | 9167.7 | 0.9635 | Αλδεΐδες |
| Δεκαοκτάνιο ≥99% (Aldrich) | 5970.3 | 0.9344 | Αλκάνια, αλκένια, αλκαδιένια |

4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

4.1 Βελτιστοποίηση μεθόδου απομόνωσης και προσδιορισμού πτητικών συστατικών που χαρακτηρίζουν το άρωμα ιχθύων και θαλασσινών του Αιγαίου.

4.1.1 Εισαγωγή

Οι πτητικές ενώσεις καθορίζουν σε μεγάλο βαθμό το άρωμα και τη γεύση, επομένως και την ποιότητα των θαλασσινών (Kawai, 1996; Ólafsdóttir & Jónsdóttir, 2010). Χαρακτηρίζουν την ιδιαίτερη μυρωδιά τόσο των φρέσκων όσο και των αλλοιωμένων ιχθύων (Josephson et al., 1984; Ólafsdóttir & Jónsdóttir, 2010).

Υπάρχουν αρκετές μελέτες για τις πτητικές ενώσεις διαφόρων ειδών νωπών ιχθύων (ενδεικτικά Kawai, 1996; Prell & Sawyer, 1988; Morita et al., 2003) και νωπών θαλασσινών (Chung, 1999; Piveteau et al., 2000; Pennarun et al., 2002; Zhang et al., 2010). Δεδομένου ότι μεταξύ των στόχων της παρούσας διατριβής περιλαμβάνεται και ο προσδιορισμός των πτητικών συστατικών σε εκτρεφόμενα είδη των Μεσογειακών ιχθυοκαλλιεργειών, όπως ο κρانيός και το φαγκρί, εφαρμόστηκε αρχικά η μέθοδος απομόνωσης και προσδιορισμού των πτητικών συστατικών σε μερικά κοινά Μεσογειακά είδη ιχθύων και θαλασσινών ώστε να συγκριθούν τόσο μεταξύ τους όσο και με τα παραπάνω καλλιεργούμενα είδη.

Τα είδη που επιλέχθηκαν είναι η αθερίνα (*Atherina boyeri*), η μαρίδα (*Spicara smaris*), ο μπακαλιάρος (*Merluccius merluccius*), η σαρδέλα (*Sardina pilchardus*), η γόπα (*Boops boops*), ο γαύρος (*Engraulis encrasicolus*), η κουτσομούρα (*Mullus barbatus*), το καλαμάρι (*Loligo vulgaris*), η γαρίδα (*Parapenaeus longirostris*) και το μύδι (*Mytilus galloprovincialis*). Η επιλογή των υπό μελέτη ειδών βασίστηκε στη δημοτικότητά τους, δεδομένου ότι όλα καταναλώνονται ευρέως στην περιοχή της Μεσογείου. Στη βιβλιογραφία υπάρχουν πολύ λίγα δεδομένα σχετικά με τα πτητικά συστατικά Μεσογειακών ιχθύων, τα οποία αναφέρονται κυρίως στη σαρδέλα (Triqui & Bouchriti, 2003; Prost et al., 2004), την τσιπούρα (Grigorakis et al., 2003b; Alasalvar et al., 2005) και το λαβράκι (Leduc et al., 2012), ενώ για τα οστρακοειδή της Μεσογείου, η σχετική βιβλιογραφία περιορίζεται μόνο στα πτητικά συστατικά των μυδιών (Rasmussen et al., 1993; Le Guen et al., 2000a; Le Guen et al., 2000b; Fuentes et al., 2009). Επομένως το κομμάτι αυτό της διατριβής αναμένεται επιπρόσθετα να συμπληρώσει ένα βιβλιογραφικό κενό, ενώ η πληροφορία που θα αποκτηθεί θα έχει ευρύτερη σημασία, δεδομένου ότι η κατανάλωση των περισσότερων από τα μελετηθέντα είδη είναι παγκόσμια.

Επιπλέον, δεδομένου ότι οι ιχθύες και τα θαλασσινά μοιράζονται πολλά παρόμοια πτητικά συστατικά, που συμβάλλουν στο γενικότερο άρωμά τους έχοντας ταυτόχρονα το καθένα τη δική του ιδιαίτερη μυρωδιά (Morita et al., 2003), τα αποτελέσματα της μελέτης των

Μεσογειακών ιχθύων και θαλασσινών θα χρησιμεύσουν και για την σύγκριση με τα πτητικά συστατικά των εκτρεφόμενων ψαριών από τα πειράματα εκτροφής της παρούσας διατριβής, όπου αυτό είναι εφικτό.

4.1.2 Υλικά και Μέθοδοι

4.1.2.1 Δείγματα ιχθύων και θαλασσινών

Οι ιχθύες και τα θαλασσινά της παρούσας μελέτης αγοράστηκαν μεταξύ Ιανουαρίου και Φεβρουαρίου του 2011 από την τοπική αγορά της Καλλιθέας, ενώ τα μύδια προέρχονταν από μυτιλοτροφείο του Κόλπου της Ελευσίνας. Όλα τα είδη ήταν φρεσκοαλιευμένα και αποθηκευμένα σε πάγο, σύμφωνα με τους κανονισμούς υγιεινής, ενώ τα μύδια κρατήθηκαν ζωντανά. Όλα τα θαλασσινά είχαν το ίδιο επίπεδο φρεσκότητας (Extra), σύμφωνα με την κατάταξη φρεσκότητας της Ευρωπαϊκής Ένωσης (Howgate et al., 1992), δηλαδή όλα τα δείγματα ελήφθησαν λίγες ώρες μετά την αλίευση.

Μετά την άφιξη στο εργαστήριο, καταγράφηκαν τα σωματομετρικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων και ποσότητες επαρκείς για την ανάλυση των πτητικών καλύφθηκαν με αλουμινόχαρτο και σφραγίστηκαν σε πλαστικές σακούλες ώστε να αποφευχθεί η ανταλλαγή πτητικών ενώσεων από την ατμόσφαιρα ή από την επαφή με διάφορα υλικά. Τα δείγματα αποθηκεύτηκαν στους -80°C μέχρι την ανάλυση τους. Τα σωματομετρικά χαρακτηριστικά και η περιοχή αλίευσης των ειδών που μελετήθηκαν παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.1.1.

Τα πτητικά συστατικά απομονώθηκαν με ταυτόχρονη απόσταξη/εκχύλιση σε συσκευή Likens-Nickerson και προσδιορίστηκαν ποιοτικά και ποσοτικά με αέρια χρωματογραφία – φασματογραφία μάζας (GC/MS), με την χρήση βιβλιοθηκών φασμάτων μάζας και προτύπων καμπυλών αναφοράς όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο 3.2 της παρούσας εργασίας.

Πίνακας 4.1.1: Ονομασία, σωματομετρικά χαρακτηριστικά και περιοχή αλίευσης των μελετηθέντων ιχθύων και θαλασσινών

| Κοινή ονομασία (Ελληνικά) | Κοινή ονομασία (Αγγλικά) | Επιστημονική Ονομασία | Βάρος (g) ^a | Μήκος (cm) ^a | Περιοχή αλίευσης |
|---------------------------|--------------------------|----------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------------|
| <u>Ψάρια</u> | | | | | |
| Αθερίνα | Sand smelt | <i>Atherina boyeri</i> | 4,2 ± 1,3 | 7,5 ± 0,9 | Λέρος |
| Μαρίδα | Picarel | <i>Spicara smaris</i> | 14,1 ± 2,3 | 9,5 ± 0,5 | Ευβοϊκός |
| Μπακαλιάρος | Hake | <i>Merluccius merluccius</i> | 43,6 ± 11,4 | 16,6 ± 1,5 | Λέσβος |
| Σαρδέλα | Pilchard | <i>Sardina pilchardus</i> | 18,3 ± 5,1 | 10,6 ± 0,8 | Καβάλα |
| Γόπα | Bogue | <i>Boops boops</i> | 128,6 ± 8,0 | 17,5 ± 0,5 | Χίος |
| Γαύρος | Anchovy | <i>Engraulis encrasicolus</i> | 12,5 ± 1,8 | 10,4 ± 0,6 | Ευβοϊκός |
| Κουτσομούρα | Striped mullet | <i>Mullus barbatus</i> | 17,9 ± 5,1 | 9,2 ± 0,7 | Καβάλα |
| <u>Θαλασσινά</u> | | | | | |
| Καλαμάρι | Squid | <i>Loligo vulgaris</i> | 68,1 ± 15,1 | 18,4 ± 1,9 | Χίος |
| Γαρίδα | Shrimp | <i>Parapenaeus longirostris</i> | 7,9 ± 2,4 | 12,1 ± 1,2 ^b | Σαρωνικός |
| Μύδι | Mediterranean mussel | <i>Mytilus galloprovincialis</i> | 22,2 ± 6,2 ^c | 6,2 ± 0,5 ^c | Κόλπος Ελευσίνας ^d |

^a: Μ. όρος και τυπική απόκλιση από 20-40 άτομα, ^b: περιλαμβάνει και τον κεφαλοθώρακα,

^c: περιλαμβάνει και το όστρακο, ^d: μυτιλοτροφείο

4.1.3 Αποτελέσματα - Συζήτηση

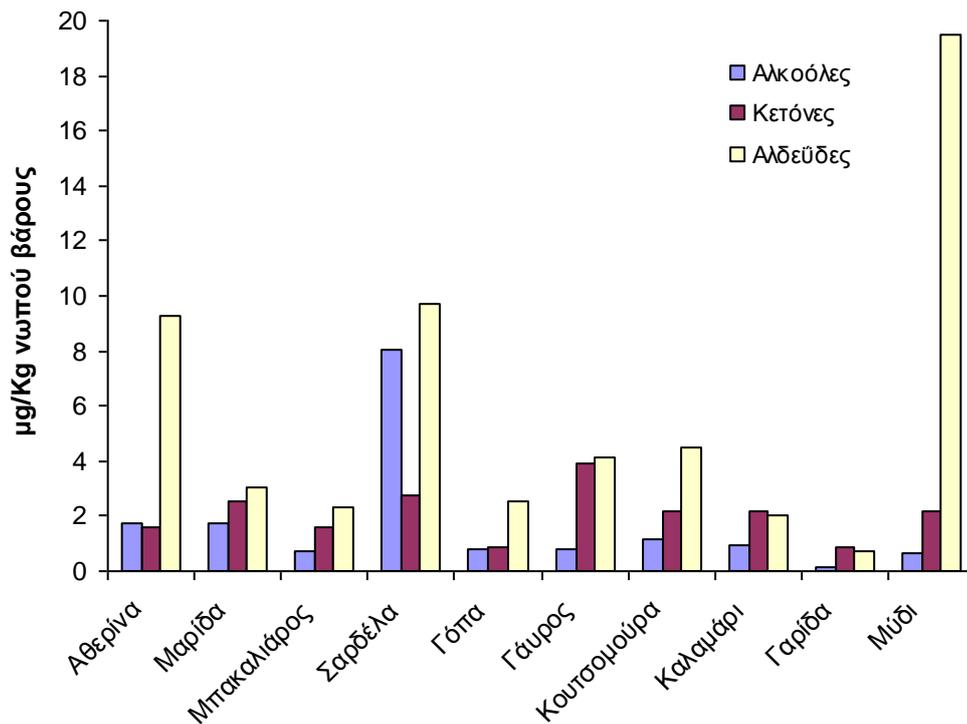
Στα δείγματα ιχθύων και θαλασσινών ανιχνεύθηκαν συνολικά 298 πτητικές ενώσεις από τις οποίες οι 75 που βρέθηκαν σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από 0,1 µg/kg παρουσιάζονται στο Παράρτημα 1.1. Δεδομένου ότι όλα τα δείγματα ήταν ολόφρεσκα, μπορούμε να θεωρήσουμε ότι οι πτητικές ενώσεις που βρέθηκαν στα υπό μελέτη θαλασσινά είναι αυτές που χαρακτηρίζουν τα συγκεκριμένα είδη, χωρίς να αποκλείεται κάποιες από αυτές να προέρχονται και από το περιβάλλον, ιδιαίτερα στην περίπτωση των μυδιών (Fuentes et al., 2009). Στην περίπτωση των θαλάσσιων ιχθύων, η σύγκριση άγριων και εκτρεφόμενων ατόμων του ίδιου είδους έχει δείξει ότι η διατροφή επηρεάζει σε κάποιο βαθμό το προφίλ των πτητικών ενώσεων (Grigorakis et al., 2003b; Alasalvar et al., 2005). Από την άλλη πλευρά, μελέτες που συνέκριναν την επίδραση διαφορετικών σιτηρεσίων σε εκτρεφόμενους ιχθύς έδειξαν μικρή ή απουσία επίδρασης της διαίτας στο προφίλ των πτητικών συστατικών σε ορισμένες περιπτώσεις (Grigorakis et al., 2009; Silva et al., 2012) και επιδράσεις σε ορισμένα πτητικά συστατικά σε άλλες περιπτώσεις (Sérot et al., 2001).

Στην παρούσα μελέτη των δειγμάτων από το Αιγαίο, τα μύδια παρουσίασαν την υψηλότερη συνολική συγκέντρωση πτητικών συστατικών, ενώ μεταξύ των ιχθύων η σαρδέλα εμφάνισε τις υψηλότερες ολικές συγκεντρώσεις και τον μεγαλύτερο αριθμό πτητικών ενώσεων (Πίνακας 4.1.2).

Πίνακας 4.1.2: Συγκεντρώσεις ομολόγων σειρών των πτητικών συστατικών (μg/kg νωπού βάρους) και περιεχόμενο λίπος στους ιχθύς και θαλασσινά από το Αιγαίο (nd: δεν ανιχνεύθηκε, tr: ίχνη)

| Ομόλογη σειρά \ Είδος | Αθερίνα | Μαρίδα | Μπακαλιάρος | Σαρδέλα | Γόπα | Γαύρος | Κουτσομούρα | Καλαμάρι | Γαρίδα | Μύδι |
|-------------------------|-------------|--------------|-------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|--------------|--------------|-----------------|
| Αλκοόλες | 1,75 | 1,71 | 0,69 | 8,05 | 0,77 | 0,82 | 1,15 | 0,94 | 0,12 | 0,64 |
| Αλδεΐδες | 9,27 | 3,09 | 2,32 | 9,68 | 2,54 | 4,10 | 4,47 | 2,04 | 0,70 | 19,47 |
| Κετόνες | 1,58 | 2,54 | 1,62 | 2,78 | 0,86 | 3,93 | 2,17 | 2,17 | 0,85 | 2,19 |
| Φουράνια | 1,29 | 0,53 | 0,40 | 2,78 | 0,64 | 0,68 | 0,74 | 0,19 | 0,09 | 3,55 |
| Αμίνες | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,02 | tr ^a | 0,02 | 0,00 | 0,45 | 0,92 | nd ^b |
| Πυραζίνες | nd | nd | tr | nd | 0,12 | 0,09 | 0,11 | 0,18 | 1,71 | 1,64 |
| Πυριδίνες | nd | 0,27 | 0,01 | 0,01 | 0,05 | nd | 0,02 | 0,03 | 0,06 | 1,54 |
| Πυρρόλες | nd | nd | nd | nd | nd | nd | tr | 0,01 | 0,11 | 0,42 |
| Υδρογονάνθρακες | 2,06 | 2,17 | 1,26 | 17,09 | 3,97 | 4,17 | 8,15 | 5,08 | 0,83 | 30,14 |
| Ενώσεις θείου | 0,27 | 0,06 | 0,04 | 0,24 | 0,05 | 0,12 | 0,05 | 0,27 | 0,90 | 0,36 |
| Αιθέρες | 0,26 | 0,21 | 0,21 | 0,23 | 0,05 | 0,07 | 0,12 | 0,12 | 0,07 | 0,24 |
| Εστέρες | 0,12 | 0,10 | 0,07 | 0,22 | 0,31 | 0,14 | 0,10 | 0,01 | 0,13 | 0,10 |
| Οξέα | 0,01 | nd | tr | nd | nd | 0,01 | nd | nd | nd | nd |
| Άλλες ενώσεις | 0,07 | 0,06 | 0,04 | 0,09 | 0,03 | 0,14 | 0,02 | 0,10 | 0,05 | 0,05 |
| Άγνωστες | 2,00 | 0,51 | 0,47 | 0,85 | 0,49 | 0,84 | 1,34 | 2,53 | 11,5 | 1,50 |
| Σύνολο | 18,7 | 11,22 | 7,17 | 42,04 | 9,79 | 15,06 | 18,38 | 17,07 | 16,54 | 60,35 |
| Ολικά λιπαρά (%) | 2,39 | 2,24 | 0,74 | 2,20 | 1,30 | 2,11 | 2,01 | 1,84 | 1,54 | 1,95 |

Η γνωστή από την βιβλιογραφία προέλευση των καρβονυλικών ενώσεων από τα λιπαρά οξέα των ψαριών, φαίνεται να επιβεβαιώνεται από την συσχέτιση που παρουσιάζουν με την λιποπεριεκτικότητα των διαφόρων ειδών. Έτσι, λιπαρά ψάρια όπως η σαρδέλα, ο γαύρος και η μαρίδα περιέχουν μεγαλύτερες ποσότητες καρβονυλικών ενώσεων (12,5, 8,0 και 5,6 μg/kg, αντίστοιχα) σε σύγκριση με πιο άπαχα είδη όπως η γόπα και ο μπακαλιάρος (3,4 και 3,9 μg/kg, αντίστοιχα) (Πίνακας 4.1.2, Σχήμα 4.1.1), κάτι που έχει αναφερθεί και σε προηγούμενες μελέτες (Iglesias et al., 2010). Η υπάρχουσα βιβλιογραφία επιβεβαιώνει το υψηλό περιεχόμενο λίπους στη σαρδέλα (Kalogeropoulos et al., 2004, Zlatanov & Laskaridis, 2007), τον γαύρο και τη μαρίδα από θαλάσσιες περιοχές της Ελλάδας, στο τέλος του χειμώνα (Zlatanov & Laskaridis, 2007).



Σχήμα 4.1.1: Κυριότερες κατηγορίες πτητικών ουσιών (µg/kg) που χαρακτηρίζουν τα υπό μελέτη είδη

Παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των πτητικών συστατικών των ιχθύων και των θαλασσινών που μελετήθηκαν. Σε όλα τα είδη ψαριών ανιχνεύθηκε η 2,3-πεντανοδιόνη, η οποία απουσίαζε από τα θαλασσινά. Επίσης τα ψάρια περιείχαν μέχρι 30 φορές υψηλότερες συγκεντρώσεις 1-πεντεν-3-όλης σε σύγκριση με τα θαλασσινά. Οι χαμηλές συγκεντρώσεις ή η απουσία της 1-πεντεν-3-όλης έχουν αναφερθεί σε μύδια (Le Guen et al., 2000) και γαρίδες (Soncin et al., 2008).

Οι ιχθύες περιέχουν επίσης σημαντικά αυξημένες συγκεντρώσεις 2-αιθυλοφουρανίου σε σύγκριση με τα θαλασσινά (Παράρτημα 1.1), σε συμφωνία με τα ευρήματα των Giogios et al. (2009) οι οποίοι ανέφεραν υψηλές συγκεντρώσεις 2-αιθυλοφουρανίου και φουρανίων σε ιχθυέλαια, σε σύγκριση με το έλαιο γαρίδας. Ο πιθανός μηχανισμός, για το σχηματισμό του 2-αιθυλοφουρανίου στους μυς των ψαριών, περιλαμβάνει την β-οξειδωση των ω3 λιπαρών οξέων προς παραγωγή συζευγμένων διενικών ριζών, οι οποίες οξειδώνονται περαιτέρω προς βινυλδροϋπεροξειδία (vinylhydroperoxides), τα οποία στη συνέχεια χάνουν μια ρίζα υδροξυλίου και υφίστανται κυκλοποίηση προς σχηματισμό 2-αιθυλοφουρανίου (Medina et al., 1999).

Τα πτητικά συστατικά της σαρδέλας χαρακτηρίζονται από την παρουσία σημαντικών ποσοτήτων αλκοολών σε σύγκριση με τα υπόλοιπα μελετηθέντα είδη (Πίνακας 4.1.2 και Σχήμα 4.1.1), με κυρίαρχες την 1-πεντεν-3-όλη, την 1-μεθοξυ-2-προπανόλη, την *trans*-2-πεντεν-1-όλη και την 3-πεντανόλη (Παράρτημα 1.1). Η ύπαρξη αυτών των αλκοολών έχει αναφερθεί επίσης

σε σαρδέλες από την Γαλλία (Prost et al., 2004) και την Ιαπωνία (Ganeko et al., 2008). Στα πτητικά συστατικά της σαρδέλας αξίζει να σημειωθεί, η σημαντική παρουσία διαφόρων καρβονυλικών ενώσεων όπως οι 2,3-πεντανοδιόνη, πεντανάλη, 2-βουτανόνη, *cis*-2-πεντενάλη, εξανάλη, *trans,trans*-2,4-επταδιενάλη και *trans*-4-επτενάλη καθώς και του 2-αιθυλοφουρανίου (Παράρτημα 1.1), που έχουν αναφερθεί και σε προηγούμενες μελέτες και θεωρείται ότι συμβάλλουν στην χαρακτηριστική μυρωδιά της σαρδέλας (Triqui & Bouchriti, 2003; Prost et al., 2004; Ganeko et al., 2008).

Δεν υπάρχουν βιβλιογραφικά δεδομένα για τις πτητικές ενώσεις των άλλων ειδών ψαριών της παρούσας μελέτης, με εξαίρεση τις καρβονυλικές ενώσεις του γαύρου (Iglesias et al., 2010).

Από τα θαλασσινά που μελετήθηκαν, τα πτητικά συστατικά του καλαμαριού χαρακτηρίζονται (α) από υψηλές συγκεντρώσεις 1-μεθοξυ-2-προπανόλης, 3-υδροξυ-βουτανόνης, N,N-διμεθυλομεθανοθειαμιδίου, 2,4-διυδροξυ-3,4-διμεθυλ-2,5-εξανοδιόνης, και μιας μη ταυτοποιημένης ουσίας με χρόνο κατακράτησης $R_t=12.043\text{min}$, (β) από την πολύ χαμηλή συγκέντρωση φουρανίου και (γ) τη σχεδόν πλήρη απουσία εστέρων. Δεν υπάρχουν προηγούμενα δεδομένα σχετικά με τις πτητικές ενώσεις σε νωπά καλαμάρια. Τα μόνα διαθέσιμα στοιχεία αφορούν τα μεταποιημένα (Giri, Osako & Ohshime, 2011) ή μαγειρεμένα (Kubota et al., 1996) καλαμάρια, ή δύσοσμες πτητικές ενώσεις από αλλοιωμένα καλαμάρια (Kim et al., 2009).

Τα πτητικά συστατικά της γαρίδας χαρακτηρίζονται από την παρουσία αμινών και ενώσεων θείου, τις χαμηλές συγκεντρώσεις υδρογονανθράκων, αλκοολών και καρβονυλικών ενώσεων και από τη σχεδόν πλήρη απουσία φουρανίων. Τα μύδια, αντίθετα, χαρακτηρίζονται από υψηλές συγκεντρώσεις υδρογονανθράκων, αλδεϋδών, φουρανίων και παραγώγων τους. Οι γαρίδες και τα μύδια περιέχουν συγκριτικά αυξημένες συγκεντρώσεις ενώσεων θείου και ετεροκυκλικών ενώσεων αζώτου, κυρίως πυραζινών και πυρρολών (Πίνακας 4.1.2).

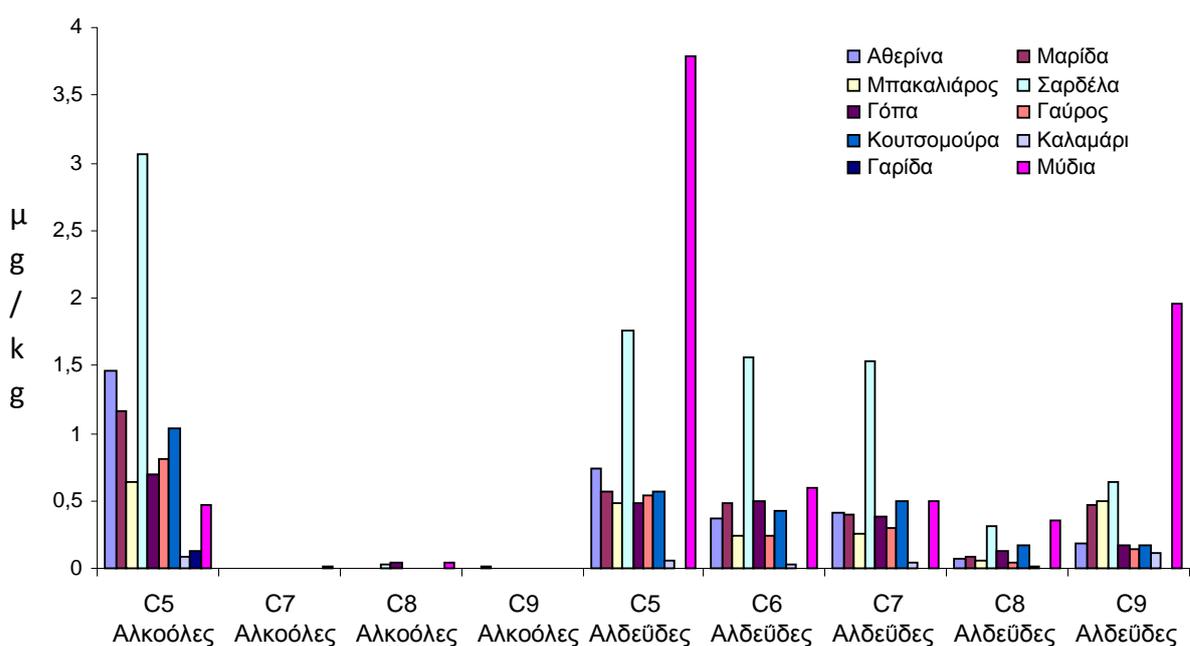
Οι θειοενώσεις που ανιχνεύθηκαν στα θαλασσινά, θεωρείται ότι παράγονται ενζυμικά από την μεθειονίνη και την κυστεΐνη (Varlet & Fernandez, 2010). Μεταξύ των πτητικών συστατικών της γαρίδας, σε μεγαλύτερη συγκέντρωση βρέθηκε μια άγνωστη θειόλη (Παράρτημα 1.1). Τα θειοαμίδια που βρέθηκαν στις γαρίδες, έχουν αναφερθεί επίσης σε καβούρια (Chung, 1999) και σε αφυδατωμένα καλαμάρια (Kawai et al., 1991). Τα θειαζόλια, έχουν βρεθεί σε έλαιο σουπιάς (Shen et al., 2007) και σε μαγειρεμένα καλαμάρια (Kubota et al., 1996) και θεωρούνται προϊόντα θέρμανσης των θαλασσινών (Varlet & Fernandez, 2010).

Η ύπαρξη ετεροκυκλικών ενώσεων αζώτου έχει αναφερθεί σε διάφορα είδη καβουριών (Chung 1999; Chen and Zhang, 2006) και θεωρείται ότι συνεισφέρουν θετικά στο άρωμα της γαρίδας (Morita et al., 2001).

Προηγούμενες μελέτες στα πτητικά συστατικά των μυδιών, έχουν δείξει την ύπαρξη πυραζινών και πυριδινών (Le Guen et al., 2000a), καθώς και την παρουσία σημαντικών ποσοτήτων καρβονυλικών ενώσεων, όπως εξανάλης, βενζαλδεΐδης και 2-επτανόνης (Le Guen et al., 2000a; Fuentes et al., 2009), συστατικών που ανιχνεύθηκαν και στην παρούσα μελέτη. Από την άλλη πλευρά, βρέθηκαν ορισμένες διαφοροποιήσεις στα προφίλ των πτητικών σε σχέση με τα δεδομένα της βιβλιογραφίας. Η *trans*-4-επτενάλη η οποία ανιχνεύεται σε μεγάλες ποσότητες (Fuentes et al., 2009) και αναγνωρίζεται ως μία από τις πιο ισχυρές οσμηρές ουσίες στα μύδια (Le Guen et al., 2000b), βρέθηκε σε σχετικά μικρές ποσότητες στην παρούσα μελέτη. Το ίδιο παρατηρήθηκε και για τις 2,3-διόνες, που συγκαταλέγονται ανάμεσα στα κύρια οσμηρά συστατικά των μυδιών (Le Guen et al. 2000a, b), και είναι σχεδόν απύσες στα μύδια, αλλά παρούσες στους ιχθύς της παρούσας μελέτης. Επίσης, η 2,4-οκταδιενάλη, η οποία έχει αναφερθεί ότι έχει σημαντική συμβολή στη μυρωδιά των μυδιών (Le Guen et al., 2000b), δεν ανιχνεύθηκε στα μύδια της μελέτης μας. Από την άλλη πλευρά, οι *cis*-2-βουτενάλη, 2-μεθυλοβουτανάλη, 3-μεθυλοβουτανάλη, πεντανάλη, 1-(2-φουρανυλο)-αιθανόνη και 5-μεθυλο-2-φουρανοκαρβοξυαλδεΐδη, που βρέθηκαν σε σημαντικές ποσότητες στα μύδια της μελέτης μας, δεν έχουν αναφερθεί στην αντίστοιχη βιβλιογραφία.

Αν και δεν υπάρχει εμφανής αιτιολογία για τις διαφορές μεταξύ των βιβλιογραφικών δεδομένων και των αποτελεσμάτων μας, μπορούν να δοθούν πιθανές εξηγήσεις. Δεδομένου ότι η μεθοδολογία απομόνωσης των πτητικών ενώσεων που ακολουθείται στη βιβλιογραφία (Le Guen et al., 2000a; 2000b; Fuentes et al., 2009) ήταν η ίδια με αυτή που ακολουθήθηκε στην παρούσα εργασία, οι διαφορές αυτές μπορούν να δικαιολογηθούν μόνο από την προέλευση των δειγμάτων. Ο τρόπος διατροφής των μυδιών (διηθητές, filter feeders), κάνει τα μύδια, επομένως και τα πτητικά τους συστατικά, ευεπηρεάστα από περιβαλλοντικούς παράγοντες (Fuentes et al., 2009). Μια άλλη πιθανή αιτία για τις παρατηρούμενες διαφορές μπορεί να είναι η διαφορετική εποχή δειγματοληψίας, καθώς η εποχικότητα είναι γνωστό ότι επηρεάζει τις πτητικές ενώσεις των θαλασσινών (Ólafsdóttir & Jonsdóttir, 2010). Στη μελέτη των Le Guen et al., (2000a) και των Fuentes et al., (2009) η δειγματοληψία διεξήχθη σε διαφορετική περίοδο του έτους από ότι στην παρούσα μελέτη, ενώ σε άλλες περιπτώσεις δεν καθορίζεται η περίοδος δειγματοληψίας (Le Guen et al., 2000b).

Οι πτητικές αλκοόλες και ιδιαίτερα οι πτητικές αλδεΐδες (που έχουν χαμηλότερα κατώφλια ανίχνευσης από τις αλκοόλες) παράγονται μέσω της οξείδωσης των $\omega 3$ και $\omega 6$ πολυακόρεστων λιπαρών οξέων κυρίως από την λιποξυγονάση και είναι, σύμφωνα με την βιβλιογραφία, υπεύθυνες για τα ευχάριστα, αμυδρά αρώματα των φρέσκων ιχθυηρών (Kawai, 1996; Lindsay, 1990). Ένα χαρακτηριστικό προφίλ των ουσιών αυτών με 5,6,7,8 και 9 άτομα άνθρακα παρουσιάζεται στο Σχήμα 4.1.2. Άλλες ομάδες πτητικών ενώσεων, όπως οι κετόνες, έχουν υψηλά κατώφλια ανίχνευσης και μπορούν να επηρεάσουν το συνολικό άρωμα των τροφίμων μόνο αν είναι παρούσες σε υψηλές συγκεντρώσεις. Πτητικές ενώσεις όπως η 1-οκτεν-3-όλη, η 1,5-οκταδιεν-3-όλη, η 2-οκτεν-1-όλη και η 2,5-οκταδιεν-1-όλη, οι οποίες συγκαταλέγονται μεταξύ των πτητικών ενώσεων που ευθύνονται για τις αμυδρές οσμές στα θαλάσσια είδη (Olafsdottir & Jonsdottir, 2010), δεν ανιχνεύθηκαν στα δείγματά μας, με εξαίρεση την 1-οκτεν-3-όλη που βρέθηκε στη σαρδέλα, τη γόπα και τα μύδια. Πιθανόν η φρεσκότητα των ψαριών και των θαλασσινών της παρούσας μελέτης δεν επέτρεψαν την ανάπτυξη αυτών των ουσιών.

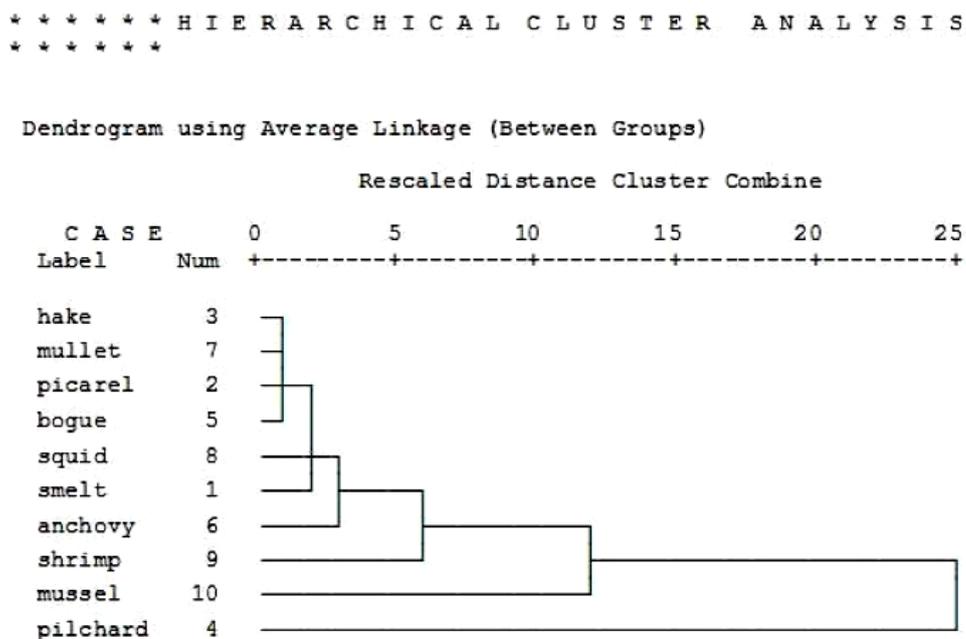


Σχήμα 4.1.2: C5, C6, C7, C8 και C9 αλδεΐδες και αλκοόλες (συνδέονται με θετικές νότες, green notes) που χαρακτηρίζουν τα πτητικά συστατικά των ψαριών και θαλασσινών.

Από τις αλκοόλες και αλδεΐδες με 5 έως 8 άτομα άνθρακα, φαίνεται ότι συνεισφέρουν σημαντικά στο άρωμα των θαλασσινών (α) για τα μύδια οι C5 (πεντανάλη) και C9 (εννεανάλη, 2,6-εννεαδιενάλη) αλδεΐδες, (β) για τα καλαμάρια οι C9 αλδεΐδες (εννεανάλη) και (γ) για τη γαρίδα αποκλειστικά η 1-πεντεν-3-όλη.

Αντίστοιχα, το άρωμα των ιχθύων φαίνεται ότι προέρχεται από τις C5 αλκοόλες, με κύριο αντιπρόσωπο την 1-πεντεν-3-όλη, ενώ επιπρόσθετα στην μαρίδα η 3-πεντεν-2-όλη και στη σαρδέλα η 2-πεντεν-1-όλη και η 3-πεντανόλη βρίσκονται σε αξιόλογα ποσοστά συμπληρωματικά της 1-πεντεν-3-όλης. Από τις αλδεΐδες, οι C5 αλδεΐδες είναι πάντα παρούσες στην διαμόρφωση των αρωμάτων των ιχθύων με κύριους αντιπροσώπους την πεντανάλη και την 2-πεντενάλη. Ακολουθούν οι C6 αλδεΐδες με σημαντικότερη την εξανάλη, ενώ ακολουθεί η 2-εξανάλη στον γαύρο, τη μαρίδα και τη σαρδέλα. Οι C7 αλδεΐδες απαντώνται στον γαύρο, τη γόπα, την κουτσομούρα και την σαρδέλα, με κύριους αντιπροσώπους την 2,4-επταδιενάλη και την 4-επτανάλη επιπρόσθετα στην σαρδέλα. Τέλος οι C9 αλδεΐδες απαντώνται στην μαρίδα και τον μπακαλιάρo με σημαντικότερη την εννεανάλη και επιπρόσθετα την 2,6 εννεαδιενάλη για τον μπακαλιάρo.

Η εφαρμογή της ανάλυσης ομαδοποίησης (Cluster analysis) έδειξε ότι τα πτητικά συστατικά της σαρδέλας, των μυδιών (σε μικρότερο βαθμό), και της γαρίδας διαφοροποιούνται από τα αντίστοιχα των υπολοίπων υπό μελέτη ειδών (Σχήμα 4.1.3). Αυτά τα τρία είδη παρουσιάζουν επίσης τις μεγαλύτερες Ευκλείδειες αποστάσεις (squared Euclidian distances) (6.216,6 και 6.016,4 μεταξύ σαρδέλας-γαρίδας και σαρδέλας-μυδιού, αντίστοιχα). Από τα υπόλοιπα δείγματα, ο μπακαλιάρo, η κουτσομούρα, η μαρίδα και η γόπα, σχηματίζουν μια ομάδα, το καλαμάρι και η αθερίνα διαφοροποιούνται από αυτή την ομάδα, ενώ ο γαύρος παρουσιάζει ακόμη μεγαλύτερη διαφοροποίηση.



Σχήμα 4.1.3: Δενδρόγραμμα από ανάλυση ομαδοποίησης των Μεσογειακών ψαριών και θαλασσινών με βάση το προφίλ των πτητικών συστατικών.

Ενδιαφέρον σε αυτή την ομαδοποίηση παρουσιάζει το γεγονός ότι η σαρδέλα και ο γαύρος, δύο παράκτια είδη που ζουν σε ρηχά νερά, διαφοροποιούνται από τα υπόλοιπα είδη ψαριών που είναι πελαγικά και ζουν σε βαθιά νερά, ή κοντά στον βυθό (βενθικά) (www.fishbase.org). Το γεγονός ότι όλα τα υπό μελέτη ψάρια είναι σαρκοφάγα (www.fishbase.org) και ότι προέρχονται από την ίδια ευρύτερη γεωγραφική περιοχή, δείχνει ότι η οικολογία του είδους του ψαριού παίζει σημαντικό ρόλο στο προφίλ των πτητικών του συστατικών.

4.1.4 Συμπεράσματα

Η εφαρμογή της μεθόδου απομόνωσης-ταυτοποίησης-ποσοτικοποίησης των πτητικών συστατικών από ιχθύς και θαλασσινά αποδείχθηκε επιτυχής, καθώς ανιχνεύθηκε μεγάλος αριθμός πτητικών ενώσεων, το προφίλ και η αφθονία των οποίων σε γενικές γραμμές βρίσκονται σε συμφωνία με τα δεδομένα της βιβλιογραφίας και τη λιποπεριεκτικότητα των δειγμάτων. Εκτός από τις καρβονυλικές ενώσεις που χαρακτηρίζουν το άρωμα των ψαριών και θαλασσινών, ορισμένα από τα Μεσογειακά είδη που μελετήθηκαν περιέχουν ιδιαίτερες πτητικές ενώσεις. Έτσι, η σαρδέλα χαρακτηρίζεται από υψηλότερο αριθμό και συγκεντρώσεις πτητικών ενώσεων και ιδιαίτερα αλκοολών. Τα θαλασσινά επίσης διαφοροποιούνται, με το μύδι να έχει την πιο διακριτή δομή πτητικών συστατικών, που χαρακτηρίζονται από υψηλή περιεκτικότητα σε αλδεΐδες, φουράνια, παράγωγα φουρανίων και ετεροκυκλικές ενώσεις αζώτου (πυριδίνες, πυραζίνες και πυρρόλες) και τις γαρίδες να είναι πλούσιες σε αμίνες και ενώσεις θείου. Μια ενδιαφέρουσα παρατήρηση είναι ότι η ομαδοποίηση των ειδών ψαριών, σύμφωνα με το προφίλ των πτητικών τους συστατικών μπορεί να σχετίζεται με περιβαλλοντικούς-οικολογικούς παράγοντες.

4.2 Επίδραση της λιποπεριεκτικότητας της τροφής στις παραμέτρους ποιότητας εκτρεφόμενων κρانيών (*Argyrosomus regius*)

4.2.1 Εισαγωγή

Η αγοραστική αξία των εκτρεφόμενων ιχθυηρών εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την ποιότητα και τη σύσταση της παρεχομένης τροφής και κυρίως από την περιεκτικότητα των σιτηρεσίων σε λίπος, που αποτελεί έναν από τους κύριους παράγοντες που επηρεάζουν την ποιότητα. Αυτό έχει ιδιαίτερη σημασία λόγω των αυξανόμενων απαιτήσεων της αγοράς για φρέσκα ψάρια.

Η σύσταση των λιπαρών οξέων στους ιστούς των ιχθύων (ποιότητα) αντανακλά συνήθως εκείνη των λιπιδίων της τροφής τους, γεγονός που επιτρέπει την τροποποίηση (ρύθμιση) του προφίλ των λιπαρών οξέων των ιστών μέσω επιλεκτικών μεταβολών στην περιεκτικότητα και την σύσταση των λιπαρών οξέων στα σιτηρέσια (Grigorakis et al., 2011; Oehlenschlager, 2010; Turchini et al., 2007).

Μετά τον θάνατο των ιχθύων, τα λιπίδια υφίστανται αλλοιώσεις που οφείλονται σε ενζυμικές ή οξειδωτικές δράσεις και οδηγούν στο σχηματισμό πτητικών ενώσεων μικρού μοριακού βάρους.

Οι πτητικές ενώσεις καθορίζουν σε σημαντικό βαθμό τις οργανοληπτικές ιδιότητες των ιχθύων και τη συνολική ποιότητα και κατ' επέκταση επηρεάζουν την προτίμηση των καταναλωτών (Lindsay, 1990).

Τα διάφορα είδη ιχθύων έχουν διακριτά αρώματα, χαρακτηριστικά του είδους και εύκολα αναγνωρίσιμα από τον καταναλωτή. Έτσι, η γνώση της επίδρασης των σιτηρεσίων στην ποιότητα του κρانيού, είδος το οποίο αξιολογείται ως βασικός υποψήφιος για υδατοκαλλιέργεια, είναι απαραίτητη.

Έχουν πραγματοποιηθεί μελέτες για τα σωματομετρικά χαρακτηριστικά (Grigorakis et al., 2011; Poli et al., 2003) και το προφίλ των λιπαρών οξέων του κρانيού (Grigorakis et al., 2011; Piccolo et al., 2008; Poli et al., 2003) αλλά δεν υπάρχουν μελέτες των πτητικών συστατικών άγριων ή εκτρεφόμενων ατόμων. Με σκοπό να καλυφθεί αυτό το βιβλιογραφικό κενό, μελετήθηκε η επίδραση της εκτροφής ατόμων κρانيού με σιτηρέσια διαφορετικής περιεκτικότητας σε λίπος, σε διάφορα ποιοτικά χαρακτηριστικά όπως η σύσταση του φιλέτου, το προφίλ των λιπαρών οξέων και το προφίλ των πτητικών συστατικών, τα οποία χαρακτηρίζουν το άρωμα του κρانيού.

4.2.2 Υλικά και μέθοδοι

4.2.2.1 Εκτροφή και δειγματοληψία των ιχθύων

Για το πείραμα εκτροφής χρησιμοποιήθηκαν κρανιοί από μονάδα εκτροφής, με κοινό γενετικό υπόβαθρο (ίδια γέννα και προερχόμενοι από τους ίδιους γεννήτορες). Η δοκιμή διεξήχθη στην πειραματική μονάδα του Ελληνικού Κέντρου Θαλασσίων Ερευνών (ΕΛΚΕΘΕ), στον Άγιο Κοσμά (Αττική), σε δεξαμενές χωρητικότητας 450 L με θαλάσσιο νερό. Τα άτομα που χρησιμοποιήθηκαν είχαν αρχικό μέσο βάρος $114,5 \pm 5,0$ g και η ιχθυοπυκνότητα ήταν $4,1 \text{ kg/m}^3$. Η θερμοκρασία του νερού κυμάνθηκε μεταξύ $20\text{-}25^\circ\text{C}$, η αλατότητα του νερού ήταν 37,5 ppt και η φωτοπεριοδικότητα ρυθμίστηκε σε 12 ώρες φως και 12 ώρες σκοτάδι.

Χρησιμοποιήθηκαν τρία σιτηρέσια που παρήχθησαν με εξώθηση και είχαν την ίδια περιεκτικότητα πρωτεΐνης αλλά διαφορετικά επίπεδα λίπους και αμύλου. Το πείραμα εκτροφής έγινε εις τριπλούν, δηλ. το κάθε σιτηρέσιο χρησιμοποιήθηκε σε τρεις διαφορετικές δεξαμενές. Οι περιεκτικότητες πρωτεΐνης και λίπους (% επί ξηρού) των 3 σιτηρεσίων ήταν A1: 46/15, A2: 46/18 και A3: 46/24, αντίστοιχα. Αναλυτική περιγραφή της σύνθεσης πρώτων υλών και της σύστασης των τριών σιτηρεσίων δίνεται στους Πίνακες 4.2.1 & 4.2.2.

Η χορήγηση των σιτηρεσίων γινόταν με το χέρι, μία φορά την ημέρα μέχρι κορεσμού (οπτική εκτίμηση της στιγμής που σταματούσε η περεταιίρω λήψη τροφής). Η αξιολόγηση του σημείου κορεσμού γινόταν οπτικά από το άτομο που είχε επιφορτιστεί με τη διαδικασία. Το πείραμα εκτροφής διήρκεσε τέσσερις βδομάδες από τον Ιούνιο μέχρι τον Ιούλιο του 2011.

Η θανάτωση των ιχθύων πραγματοποιήθηκε (σχεδόν ταυτόχρονα και για τα τρία σιτηρέσια) με εμβάπτιση σε πάγο, σύμφωνα με τη συνήθη πρακτική στις υδατοκαλλιέργειες. Αμέσως μετά φιλετοποιήθηκαν και τοποθετήθηκαν σε βαθιά κατάψυξη (-80°C) μέχρι την ανάλυση τους. Πριν ξεκινήσει η διαδικασία του πειράματος, συλλέχθηκε επιπρόσθετα αντιπροσωπευτικός αριθμός ιχθύων από τον αρχικό πληθυσμό (0) για σύγκριση.

Πίνακας 4.2.1: Σύνθεση των σιτηρεσίων

| Συστατικά % (w/w) | Σιτηρέσιο A1 | Σιτηρέσιο A2 | Σιτηρέσιο A3 |
|---|--------------|--------------|--------------|
| Ιχθυάλευρα | 37,0 | 37,0 | 37,0 |
| Σόγια | 10,0 | 10,0 | 10,0 |
| Αλεύρι | 28,5 | 22,6 | 16,8 |
| Γλουτένη καλαμποκιού | 14,1 | 15,2 | 16,5 |
| Ιχθυέλαιο | 7,5 | 11,5 | 17,0 |
| Μίγμα (premix) βιταμινών και ιχνοστοιχείων* | 0,3 | 0,3 | 0,3 |

***Βιταμίνες:** Βιταμίνη A: 5000 IU, βιταμίνη D3: 1000 IU, βιταμίνη E: 100 IU, θειαμίνη: 30 mg, ριβοφλαβίνη: 45 mg, πυριδοξίνη: 30mg, κυανοκοβαλαμίνη: 12 mg, βιταμίνη C: 1000 mg, παντοθενικό ασβέστιο: 105 mg, χολίνη: 5000 mg, φυλλικό οξύ: 10,5 mg, ινοσιτόλη: 500 mg, βιοτίνη: 5,1 mg, νιασίνη: 150 mg.

Ιχνοστοιχεία: Σίδηρος: 780 mg, $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$: 11 mg, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 214 mg, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$: 16.8 mg, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$: 48 mg, KI: 10 mg, $\text{CoCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$: 63 mg.

Η εμπορική τροφή που λάμβανε ο αρχικός πληθυσμός πριν την έναρξη της πειραματικής εκτροφής με τα τρία σιτηρέσια, περιείχε 45% πρωτεΐνη, 16% λίπος, 18,3% υδατάνθρακες, 6,5% τέφρα, 4,2% κυτταρίνη και 10% υγρασία.

Πίνακας 4.2.2: Μακροσυστατικά και ενεργειακό περιεχόμενο των σιτηρεσίων

| Συστατικά (% ξηρού βάρους) | Σιτηρέσιο A1 | Σιτηρέσιο A2 | Σιτηρέσιο A3 |
|----------------------------|--------------|--------------|--------------|
| Ξηρό υλικό (Dry Matter) | 90,17 | 92,79 | 92,38 |
| Πρωτεΐνη | 46,55 | 46,55 | 46,88 |
| Λίπος | 15,19 | 18,32 | 23,90 |
| Άμυλο | 19,57 | 16,64 | 14,80 |
| Ενέργεια (kJ/100g) | 1973 | 2176 | 2383 |

4.2.2.2 Αναλυτικές μέθοδοι

Η υγρασία, η τέφρα, οι πρωτεΐνες, τα ολικά λιπαρά και η α -τοκοφερόλη (βιταμίνη E) προσδιορίστηκαν σε φιλέτα κρανιού από τις τρεις ομάδες εκτροφής και από τον αρχικό πληθυσμό όπως περιγράφεται στις παραγράφους 3.1 και 3.3. Ο προσδιορισμός των λιπαρών οξέων έγινε σύμφωνα με την παράγραφο 3.2 της παρούσας εργασίας. Η ανάλυση των πτητικών συστατικών πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφεται στην παράγραφο 3.6 και τα αποτελέσματα των αναλύσεων δίνονται στο Παράρτημα 1.2.

4.2.3 Αποτελέσματα - Συζήτηση

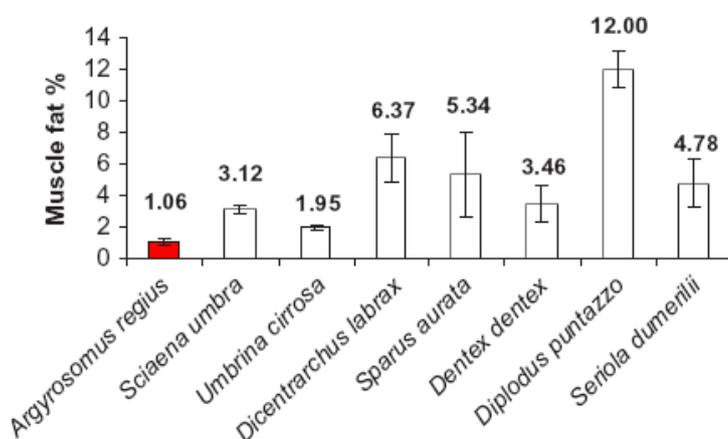
4.2.3.1 Επίδραση των σιτηρεσίων στην σύσταση των φιλέτων και την περιεκτικότητα σε α -τοκοφερόλη

Όπως φαίνεται στον Πίνακα 4.2.3 η περιεκτικότητα των ιστών του κρανιού σε λίπος συσχετίστηκε αρνητικά με το περιεχόμενο νερό σε πλήρη συμφωνία με το γνωστό κανόνα αντίστροφης συσχέτισης υγρασίας / λίπους (Huss, 1995).

Πίνακας 4.2.3: Σύσταση φιλέτου (% επί νωπού, μέσος όρος \pm τυπική απόκλιση, n=3) και περιεκτικότητα σε α -τοκοφερόλη ($\mu\text{g/g}$, n=3) κρανιών που τράφηκαν με τα σιτηρέσια A1, A2 και A3 και του αρχικού πληθυσμού (0).

| | 0 | A1 | A2 | A3 |
|----------------------|------------------|-------------------|------------------|------------------|
| Υγρασία | 76,15 \pm 0,11 | 77,80 \pm 0,01 | 77,03 \pm 0,11 | 77,84 \pm 0,28 |
| Λίπος | 1,92 \pm 0,09 | 0,63 \pm 0,07 | 0,91 \pm 0,02 | 0,69 \pm 0,03 |
| Πρωτεΐνη | 19,63 \pm 0,26 | 19,66 \pm 0,00 | 19,69 \pm 0,22 | 19,76 \pm 0,04 |
| Τέφρα | 1,45 \pm 0,02 | 1,41 \pm 0,02 | 1,49 \pm 0,01 | 1,51 \pm 0,05 |
| α -Τοκοφερόλη | 180,4 \pm 5,0 | 196,96 \pm 0,79 | 56,6 \pm 11,9 | 184,3 \pm 4,3 |

Η περιεκτικότητα σε λίπος και πρωτεΐνη των κρανίων που έλαβαν τα τρία σιτηρέσια δεν εμφανίζουν αξιοσημείωτες διαφορές. Κανονικά θα αναμέναμε ότι η αύξηση της λιποπεριεκτικότητας της τροφής θα προκαλούσε αύξηση του λίπους στους ιστούς των εκτρεφόμενων κρανίων. Εν τούτοις, κάτι τέτοιο δεν παρατηρήθηκε. Απεναντίας υπήρξε μείωση του περιεχομένου λίπους στις τρεις ομάδες σε σχέση με τον αρχικό πληθυσμό. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, ο κρανιός χαρακτηρίζεται ως ψάρι με χαμηλή λιποπεριεκτικότητα σε σύγκριση με άλλα ψάρια της Μεσογείου (Σχήμα 4.2.4), ακόμα και όταν εκτρέφεται εντατικά με σιτηρέσια υψηλής λιποπεριεκτικότητας (Committee on Aquaculture, 2013; FAO, 2005; Grigorakis et al., 2011).



Σχήμα 4.2.4: Λίπος σε μυς καλλιεργουμένων Μεσογειακών ειδών ιχθύων (Grigorakis et al., 2011).

Παρόμοια αποτελέσματα (Πίνακας 4.2.5) έχουν αναφερθεί σε μελέτες με κρανιούς διαφορετικού βάρους που τράφηκαν με διάφορα σιτηρέσια.

Τα επίπεδα α-τοκοφερόλης στους ιστούς των κρανίων που έλαβαν τα σιτηρέσια A1 και A3 παρέμειναν στα επίπεδα του αρχικού πληθυσμού. Σημαντική διαφοροποίηση παρατηρήθηκε στους κρανιούς της ομάδας A2, ο μυς των οποίων περιείχε περίπου το 1/3 των συγκεντρώσεων α-τοκοφερόλης σε σύγκριση με τις άλλες ομάδες και τον αρχικό πληθυσμό. Το αποτέλεσμα αυτό δεν συμβαδίζει με την λιποπεριεκτικότητα του σιτηρεσίου A2 (Πίνακας 4.2.2). Δεδομένου ότι η α-τοκοφερόλη είναι λιποδιαλυτή θα περιμέναμε χαμηλότερες συγκεντρώσεις της στην ομάδα A1.

4.2.3.2 Επίδραση των σιτηρεσίων στο προφίλ λιπαρών οξέων

Μεταξύ των κορεσμένων και των μονοακόρεστων λιπαρών οξέων στα λιπίδια των μυών του κρανίου, επικρατέστερα ήταν το παλμιτικό οξύ (16:0) και το ελαϊκό οξύ (18:1ω9),

αντίστοιχα, ενώ μεταξύ των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων επικρατέστερα ήταν το λινελαϊκό οξύ (18:2ω6, LA) και το εικοσιδυοεξαενοϊκό οξύ (22:6ω3, DHA) (Πίνακας 4.2.4).

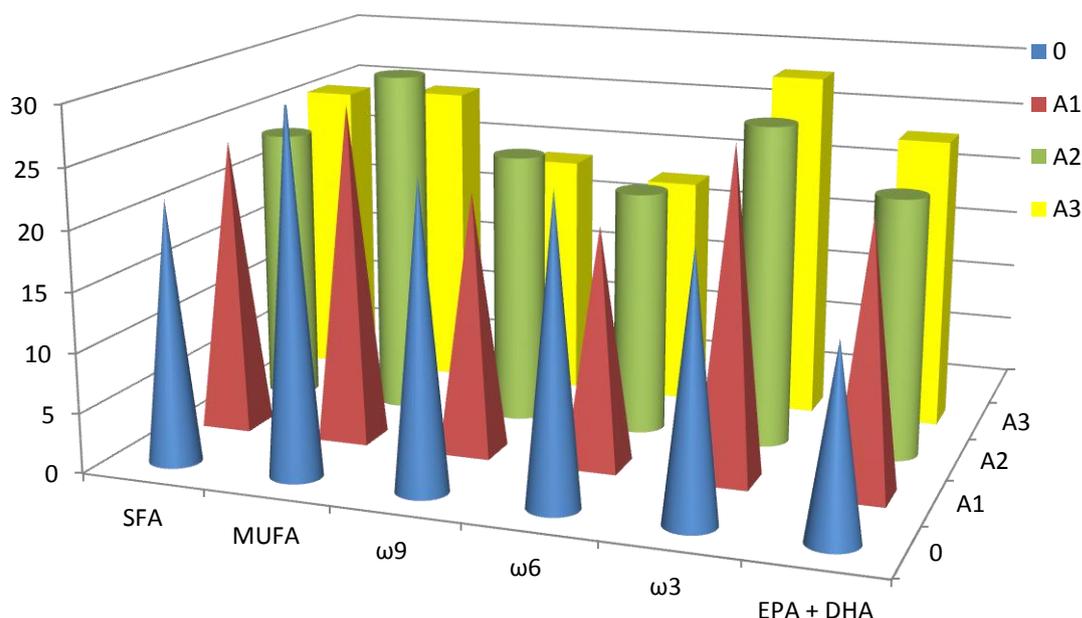
Πίνακας 4.2.4: Λιπαρά οξέα (% του συνόλου των λιπαρών οξέων) σε φιλέτα κρانيών που τράφηκαν με σιτηρέσια διαφορετικής λιποπερικτικότητας (A1, A2, A3) και στον αρχικό πληθυσμό (0). Σε κάθε γραμμή του πίνακα, οι τιμές με διαφορετικά γράμματα εμφανίζουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους ($p < 0.05$).

| | Αρχικός πληθυσμός (0) | A1 | A2 | A3 |
|--------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|
| 14:0 | 1,52 ± 0,53 | 1,44 ± 0,16 | 1,27 ± 0,02 | 1,15 ± 0,25 |
| 16:0 | 14,17 ± 0,59 ^a | 15,97 ± 0,13 ^b | 15,33 ± 0,11 ^{ab} | 16,33 ± 0,32 ^b |
| 16:1ω7 | 2,38 ± 0,20 | 2,25 ± 0,16 | 2,19 ± 0,23 | 1,85 ± 0,31 |
| 16:4ω3 | 0,26 ± 0,06 | 0,45 ± 0,09 | 0,45 ± 0,08 | 0,50 ± 0,13 |
| 18:0 | 6,19 ± 0,13 ^a | 7,14 ± 0,25 ^{ab} | 6,74 ± 0,61 ^a | 7,93 ± 0,33 ^b |
| 18:1ω9 | 23,06 ± 0,96 ^b | 19,39 ± 0,95 ^a | 20,56 ± 0,01 ^{ab} | 18,40 ± 1,04 ^a |
| 18:1ω7 | 2,07 ± 0,41 | 2,27 ± 0,02 | 2,25 ± 0,28 | 2,18 ± 0,13 |
| 18:2ω6 (LA) | 24,41 ± 0,21 ^b | 18,84 ± 0,25 ^a | 19,49 ± 0,91 ^a | 18,06 ± 0,53 ^a |
| 18:3ω3 (ALA) | 2,97 ± 0,11 ^b | 1,81 ± 0,14 ^a | 1,99 ± 0,00 ^a | 1,54 ± 0,19 ^a |
| 18:4ω3 | 0,37 ± 0,02 ^a | 0,52 ± 0,04 ^b | 0,38 ± 0,07 ^{ab} | 0,32 ± 0,06 ^a |
| 20:1ω9 | 2,21 ± 0,20 ^a | 2,39 ± 0,21 ^b | 2,36 ± 0,00 ^b | 2,12 ± 0,28 ^b |
| 20:4ω6 (ARA) | 0,69 ± 0,05 ^b | 1,06 ± 0,12 ^a | 1,08 ± 0,04 ^a | 1,35 ± 0,12 ^a |
| 20:4ω3 | 0,53 ± 0,03 ^b | 0,38 ± 0,01 ^a | 0,44 ± 0,05 ^{ab} | 0,40 ± 0,02 ^a |
| 20:5ω3 (EPA) | 3,33 ± 0,35 | 3,77 ± 0,07 | 3,63 ± 0,44 | 3,36 ± 0,13 |
| 22:1ω11 | 1,64 ± 0,27 | 1,95 ± 0,37 | 1,77 ± 0,06 | 1,43 ± 0,40 |
| 22:5ω3 (DPA) | 1,84 ± 0,13 | 1,75 ± 0,06 | 1,87 ± 0,04 | 1,96 ± 0,09 |
| 22:6ω3 (DHA) | 12,38 ± 1,24 ^a | 18,67 ± 1,80 ^b | 18,20 ± 0,46 ^b | 21,18 ± 2,47 ^b |
| Κορεσμένα | 21,87 ± 1,16 | 24,54 ± 0,04 | 23,34 ± 0,69 | 25,41 ± 0,25 |
| Μονοακόρεστα | 31,36 ± 1,14 | 28,24 ± 1,70 | 29,12 ± 0,43 | 25,97 ± 1,90 |
| ω9 | 25,27 ± 0,86 | 21,78 ± 1,15 | 22,91 ± 0,01 | 20,52 ± 1,32 |
| ω6 | 25,10 ± 0,23 | 19,89 ± 0,13 | 20,57 ± 0,87 | 19,40 ± 0,41 |
| ω3 | 21,68 ± 1,50 | 27,34 ± 1,86 | 26,96 ± 1,15 | 29,24 ± 2,55 |
| EPA+DHA | 15,70 ± 1,35 | 22,44 ± 1,87 | 21,83 ± 0,90 | 24,54 ± 2,60 |

Η αύξηση του περιεχομένου ιχθυελαίου στα πειραματικά σιτηρέσια δεν φαίνεται να επηρεάζει σημαντικά το προφίλ των λιπαρών οξέων, σε αντίθεση με τον αρχικό πληθυσμό που είχε τραφεί με εμπορικά σιτηρέσια με διαφορετική πηγή λιπαρών. Συγκεκριμένα, τόσο το αραχιδονικό οξύ (ARA, 20:4ω6) όσο και το εικοσιδυοεξαενοϊκό οξύ (DHA, 22:6ω3), λιπαρά οξέα που προσδίδουν ευεργετικές ιδιότητες στα ιχθυηρά, είναι μειωμένα στον αρχικό πληθυσμό

ενώ αντίθετα το ποσοστό του ελαϊκού οξέος (18:1 ω 9) και του λινελαϊκού οξέος (LA, 18:2 ω 6) είναι αυξημένα (Πίνακας 4.2.4). Το ARA και το DHA φαίνεται να συσσωρεύονται μέσω της διατροφικής πρόσληψης ενώ το ελαϊκό οξύ και το LA που προέρχονται κυρίως από φυτικά έλαια χειρσαίας προέλευσης μειώνονται με την αύξηση του ιχθυελαίου στα σιτηρέσια.

Διαφοροποίηση υπάρχει και στο α -λινολενικό οξύ (ALA, 18:3 ω 3) και στο 20:1 ω 9. Όσον αφορά το εικοσιπενταενοϊκό οξύ (EPA) δεν παρατηρείται αξιόλογη μεταβολή μεταξύ του αρχικού πληθυσμού κρانيών που τράφηκαν με εμπορική τροφή (0), ή με τις πειραματικές τροφές (A1, A2, A3).



Σχήμα 4.2.5: Τάξεις λιπαρών οξέων σε λιπίδια κρانيών που εκτράφηκαν με σιτηρέσια διαφορετικής λιποπεριεκτικότητας (A1, A2, A3) και στον αρχικό πληθυσμό (0)

Από τα δεδομένα του Πίνακα 4.2.3 και του Σχήματος 4.2.5 παρατηρείται ότι όσο αυξάνεται η περιεκτικότητα της τροφής σε ιχθυέλαιο (από το σιτηρέσιο A1 στο σιτηρέσιο A3) αυξάνεται αντίστοιχα το ποσοστό των ω 3 λιπαρών οξέων και το ποσοστό EPA + DHA στα λιπίδια του κρانيού, ενώ αντίθετα παρατηρείται τάση για μείωση των ω 9 και ω 6 λιπαρών οξέων. Επίσης αυξάνονται τα κορεσμένα λιπαρά οξέα και μειώνονται τα μονοακόρεστα.

Στον Πίνακα 4.2.5 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από προηγούμενα πειράματα εκτροφής κρانيών που είχαν διαφορετικά μεγέθη και τράφηκαν με διαφορετικά σιτηρέσια για διάφορα χρονικά διαστήματα. Είναι φανερό ότι σε όλες τις μελέτες η περιεκτικότητα ολικών λιπιδίων παραμένει σε χαμηλά επίπεδα (0,63-0,91% για κρانيούς μικρού βάρους και 1,1-3,6% για κρانيούς μεγαλύτερου βάρους).

Πίνακας 4.2.5: Βιβλιογραφικά δεδομένα από πειράματα εκτροφής κρανιού.

| | Παρούσα εργασία | Piccolo et al., 2008 | Poli et al., 2003 | Poli et al., 2003 | Grigorakis et al., 2011 |
|--|----------------------|-----------------------|-------------------|-------------------|-------------------------|
| Διάρκεια εκτροφής / αριθμός σιτηρεσίων | 2 μήνες, 3 σιτηρέσια | 15 μήνες, 2 σιτηρέσια | 26 μήνες | 30 μήνες | - |
| Μήνας συλλογής | Ιούλιος | Δεκέμβριος | Ιούλιος | Νοέμβριος | Δεκέμβριος |
| Αρχικό βάρος (g) | 114,5 | 12,8 | 88,8 | 88,8 | - |
| Τελικό βάρος (g) | 132,1-148,1 | 811,8-869,1 | 1199,6 | 1502,5 | 1278 |
| Ολικό λίπος (%) | 0,63-0,91 | 2,41-3,60 | 2,93 | 2,06 | 1,06 |
| Υγρασία (%) | 77,03-77,84 | 74,10-75,42 | 74,47 | 75,96 | 78,2 |
| Λιπαρά οξέα (% λιπαρών οξέων) | | | | | |
| • Κορεσμένα | 23,34-25,41 | 23,17-26,44 | 31,4 | 33,7 | 26,9 |
| • Μονοακόρεστα | 25,97-29,12 | 24,79-24,91 | 34,2 | 29,0 | 34,8 |
| • Πολυακόρεστα | 47,23-48,64 | 31,56-36,08 | 34,1 | 36,9 | 38,14 |
| • ω3 | 26,96-29,24 | 15,35-15,74 | 26,2 | 28,6 | 25,2 |
| • ω6 | 19,40-20,57 | 14,32-20,34 | 7,88 | 8,26 | 13,5 |

Η εποχικότητα σε συνδυασμό με το μέγεθος φαίνεται ότι επηρεάζουν μερικώς τη σύσταση των λιπαρών οξέων (Poli et al., 2003 – Πίνακας 4.2.5), ενώ το μέγεθος των ψαριών (εκφρασμένο ως σωματικό βάρος), με τα υπάρχοντα δεδομένα, δε φαίνεται να έχει συγκεκριμένη επίδραση. Τα διαφορετικά σιτηρέσια που χρησιμοποιήθηκαν σε κάθε μελέτη δεν επιτρέπουν την άμεση σύγκριση των αποτελεσμάτων για τις τάξεις των λιπαρών οξέων. Όμως, είναι φανερό ότι σε όλες τις περιπτώσεις επικρατούν τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, ακολουθούμενα από τα μονοακόρεστα και τα κορεσμένα λιπαρά οξέα.

4.2.3.3 Προσδιορισμός των πτητικών ουσιών που χαρακτηρίζουν το άρωμα του κρανιού

Η οξείδωση των πολυακορέστων λιπαρών οξέων (PUFAs), ακόμα και σε μικρές ποσότητες, οδηγεί στη δημιουργία οσμών. Τα προϊόντα της περαιτέρω διάσπασης των υπεροξειδίων (κύριο προϊόν της οξείδωσης) είναι κυρίως αλδεύδες, κετόνες και αλκοόλες με διάφορα μήκη ανθρακικών αλυσίδων και επίπεδα ακορεστότητας καθώς επίσης αλκάνια, αλκένια, εστέρες και οξέα (Serfert et al., 2010; Schindler et al., 2010; Rustad, 2010; Veberga et al., 2006; Kawai, 1996).

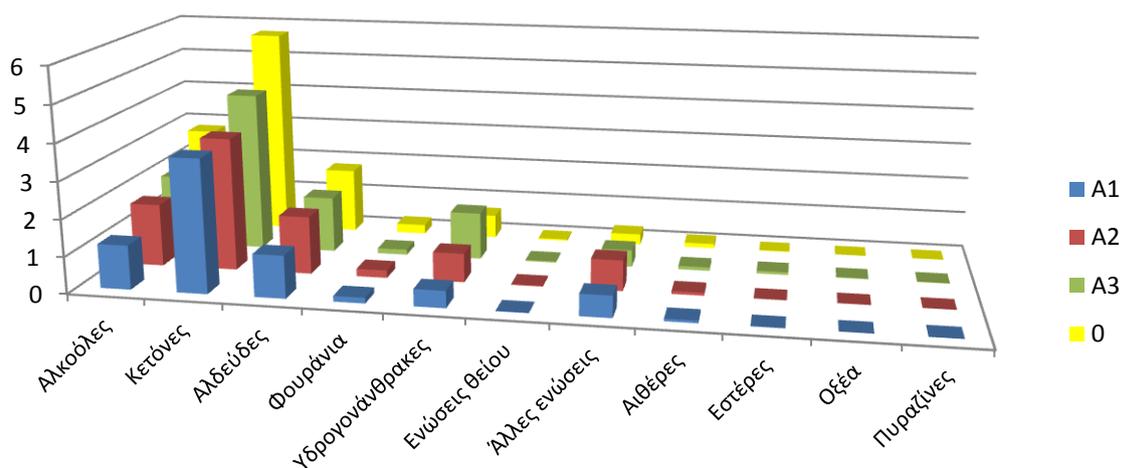
Οι Grigorakis et al. (2009) έδειξαν ότι η αντικατάσταση του ιχθυελαίου με φυτικά έλαια σε εκτρεφόμενες τσιπούρες, δεν είχε σημαντική επίπτωση στις πτητικές ενώσεις των ιστών. Όμως οι Grigorakis et al. (2003b) συγκρίνοντας άγριες και εκτρεφόμενες τσιπούρες (*Sparus aurata*) κατέγραψαν διαφορές στο προφίλ των πτητικών συστατικών και στα οργανοληπτικά

χαρακτηριστικά των ιχθύων, που τις απέδωσαν σε διαφορές στη σύσταση των λιπαρών οξέων τους.

Οι Turchini et al. (2007) θεωρούν ότι σιτηρέσια πλούσια σε ω6 λιπαρά οξέα έχουν ως αποτέλεσμα αυξημένα επίπεδα ω6 λιπαρών οξέων στη σάρκα των εκτρεφόμενων ιχθύων, τα οποία προκαλούν με τη σειρά τους αύξηση των πτητικών αλδεϋδών.

Από τα δείγματα κρανιού του πειράματος με σιτηρέσια διαφορετικής λιποπεριεκτικότητας, απομονώθηκαν, ταυτοποιήθηκαν και ποσοτικοποιήθηκαν 68 πτητικές ενώσεις (Παράρτημα 1.2). Ανάμεσα στις πτητικές ενώσεις που θεωρούνται ότι προσδίδουν το άρωμα, βρέθηκαν σε υψηλότερες συγκεντρώσεις οι καρβονυλικές ενώσεις (14 ενώσεις) και οι αλκοόλες (6 ενώσεις). Οι υδρογονάνθρακες ήταν η πολυπληθέστερη ομάδα με 17 ενώσεις, ενώ ανιχνεύθηκαν και 6 εστέρες, 6 φουράνια, και 5 ενώσεις θείου.

Η επίδραση των τριών σιτηρεσιών σε σχέση με τον αρχικό πληθυσμό στις κατηγορίες πτητικών ουσιών στο φιλέτο του κρανιού φαίνεται στο Σχήμα 4.2.6.

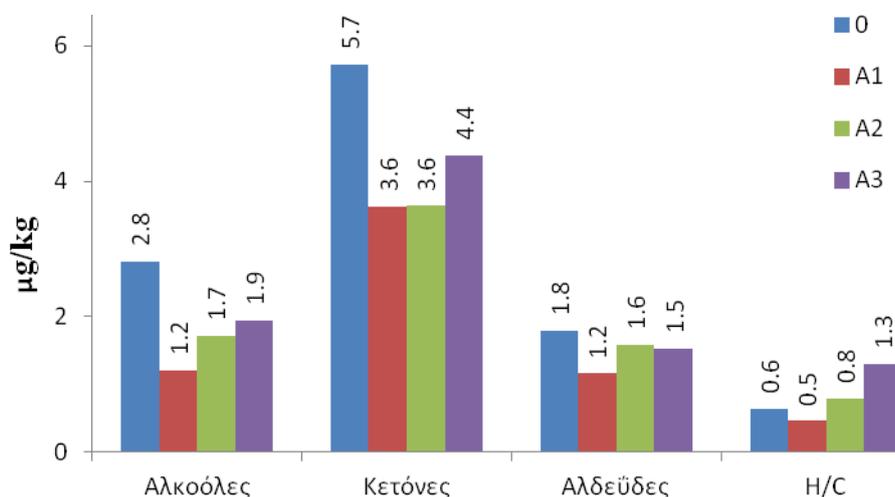


Σχήμα 4.2.6: Τάξεις πτητικών ουσιών (μg/kg νωπού βάρους) σε φιλέτα κρανιών που τράφηκαν με σιτηρέσια διαφορετικής λιποπεριεκτικότητας (A1, A2, A3) και στον αρχικό πληθυσμό (0).

Από ποσοτική άποψη οι κυριότερες κατηγορίες πτητικών ενώσεων ήταν οι αλκοόλες, οι κετόνες, οι αλδεϋδες και οι υδρογονάνθρακες (Σχήμα 4.2.7), αποτελώντας το 93,74% της ολικής συγκέντρωσης πτητικών ουσιών για τον αρχικό πληθυσμό, το 88,36% της ομάδας A1, το 86,83 της ομάδας A2 και το 91,57% της ομάδας A3.

Οι καρβονυλικές ενώσεις και οι αλκοόλες είναι αυτές που συνεισφέρουν κυρίως το άρωμα στο φιλέτο του κρανιού, αφού οι υδρογονάνθρακες έχουν περιορισμένη συμμετοχή στο άρωμα των τροφίμων (λόγω των υψηλών κατωφλίων ανίχνευσης). Συγκεκριμένα, οι αλκοόλες

και οι καρβονυλικές ενώσεις που προκύπτουν από ενζυμική διάσπαση δίνουν την αίσθηση του φρέσκου ψαριού, ενώ όταν παράγονται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις μέσω αντιδράσεων αυτοοξειδωσης δίνουν την αίσθηση του μπαγιάτικου ψαριού (Olafsdottir & Jonsdottir, 2010).



Σχήμα 4.2.7: Συγκεντρώσεις των κυριότερων κατηγοριών πτητικών ουσιών (µg/kg νωπού βάρους) που χαρακτηρίζουν τις τρεις ομάδες κρανιού (A1, A2, A3) και τον αρχικό πληθυσμό (0).

Ο αρχικός πληθυσμός, περιείχε τις υψηλότερες συγκεντρώσεις καρβονυλικών ενώσεων και αλκοολών, ενώ στους πληθυσμούς που τράφηκαν με τα πειραματικά σιτηρέσια A1, A2, A3 η αύξηση της περιεκτικότητας σε ιχθυέλαιο προκάλεσε αύξηση των αλκοολών, των κετονών και των υδρογονανθράκων, ενώ οι αλδεΐδες παρέμειναν σχετικά ανεπηρέαστες (Σχήμα 4.2.7). Οι υδρογονάνθρακες, οι οποίοι αποτελούσαν το 5,5-13,0% των πτητικών ενώσεων, θεωρούνται ότι σχηματίζονται από την αυτοοξειδωση των λιπιδίων ή από την αποσύνθεση των καροτενοειδών και έχουν περιορισμένη επιρροή στο άρωμα των τροφίμων δεδομένου του υψηλού κατωφλίου ανίχνευσης τους. Από τους ημιπτητικούς υδρογονάνθρακες το 2,6,10,14-τετραμεθυλδεκαπεντάνιο (πριστάνιο) βρέθηκε σε υψηλότερες συγκεντρώσεις, και έτεινε να αυξάνεται όσο αυξανόταν το ιχθυέλαιο στο σιτηρέσιο των κρανιών (Παράρτημα 1.2). Σύμφωνα με το Λουγκοβόη (1997a) το prisτάνιο βρίσκεται στο λίπος των χονδριχθών.

Το 2,4-διμεθυλοεπτάνιο και το δεκαεξάνιο βρέθηκαν σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις, ενώ οι υπόλοιποι υδρογονάνθρακες που ανιχνεύτηκαν, όπως το 2-χλωρο-3-μεθυλ-1-βουτένιο, τολουόλιο, 3,5-οκταδιένιο, αιθυλοβενζόλιο, ο- και π-ξυλόλιο, πινένιο, 1,3,5-τριμεθυλοβενζόλιο, οκτάνιο, δεκαεπτάνιο, δεκαοκτάνιο, εικοσάνιο, βρέθηκαν σε ακόμη χαμηλότερες συγκεντρώσεις.

Αξιοσημείωτη ήταν η ταυτοποίηση του δεκαεξανοϊκού οξέος (παλμιτικού οξέος) που είναι ημιπτητική ουσία. Τα ελεύθερα λιπαρά οξέα θεωρούνται ότι προέρχονται από την υδρόλυση τριγλυκεριδίων και φωσφολιπιδίων (Turchini et al., 2007; Chung et al., 2002). Η παρουσία λιπαρών οξέων με άρτιο αριθμό ατόμων άνθρακα στα πτητικά συστατικά υποδεικνύει υδρόλυση των λιπιδίων. Δεδομένου ότι τα δείγματα των ιχθύων της παρούσας μελέτης ήταν φρέσκα, η όποια υδρόλυση του κλάσματος των λιπιδίων αναμένεται να είναι περιορισμένης έκτασης. Το μυριστικό οξύ (14:0) και το στεατικό οξύ (18:0) που βρίσκονται σε χαμηλότερα ποσοστά στα λιπίδια του κρανίου σε σύγκριση με το παλμιτικό οξύ (Παράρτημα 1.2), δεν ανιχνεύτηκαν. Το δεκαεξανοϊκό οξύ είναι το τρίτο από πλευράς αφθονίας στα λιπίδια του κρανίου, αποτελώντας το 14,2-16,3% των λιπαρών οξέων του (Πίνακας 4.2.4). Το γεγονός ότι το δεκαεξανοϊκό οξύ ανιχνεύτηκε σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις -από 0,002 έως 0,018 ppb- δικαιολογεί την μη ανίχνευση των συναντώμενων σε λιγότερη αφθονία λιπαρών οξέων. Το δεκαεξανοϊκό οξύ εμφάνισε αυξητική τάση στα πτητικά συστατικά των κρανίων που τράφηκαν με σιτηρέσια αυξανόμενης λιποπεριεκτικότητας (0,03 - 0,05 - 0,18%, Παράρτημα 1.2)

Αν και τα λιπαρά οξέα δεν συμμετέχουν στη διαμόρφωση του αρώματος (λόγω υψηλών κατωφλίων ανίχνευσης) είναι σημαντικά διότι τα ίδια είναι πρόδρομες ενώσεις ουσιών που διαμορφώνουν το χαρακτηριστικό άρωμα των ιχθυηρών. Έτσι, το λινελαϊκό οξύ (18:2ω6 LA) μετατρέπεται σε δευτερογενείς ενώσεις όπως οι προπανάλη, 2-επτανάλη, 2-εξανάλη, 3-εξανάλη, 2,4-επταδιανάλη, 2,5-οκταδιενάλη, 2,6-εννεαδιενάλη, 2,4,7-δεκατριενάλη, ενώ από το ελαιϊκό οξύ (18:1ω9) προκύπτουν οι βουτανάλη, επτανάλη, οκτανάλη, εννεανάλη, 2-ενδεκανάλη, 2-δεκανάλη.

Οι αλκοόλες μπορεί να σχηματιστούν (α) από την αποσύνθεση των δευτερογενών υδροϋπεροξειδίων των λιπαρών οξέων, (β) από τη δράση των λιποξυγονασών, (γ) από την οξειδωτική αποσύνθεση των λιπών, και (δ) από την αναγωγή των καρβονυλικών ενώσεων προς αλκοόλες (Paleari et al., 2008). Στα δείγματα κρανίου του παρόντος πειράματος, οι αλκοόλες αποτελούν τη δεύτερη σε αφθονία ομάδα πτητικών συστατικών μετά τις κετόνες με κύριο αντιπρόσωπο την 1-πεντεν-3-όλη. Η 1-πεντεν-3-όλη προέρχεται από την οξείδωση των ω3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (Saga et al., 2011) και κυρίως από το EPA (Iglesias & Medina, 2008), ενώ κατά τον Kawai (1996) από ενζυματική αλλοίωση των λιπαρών οξέων, με κατώφλι ανίχνευσης στα 400 ng/g (Reboredo-Rodríguez et al., 2012; Kawai, 1996) και με άρωμα χλόης-γρασιδιού (Kawai, 1996). Στο παρόν πείραμα εκτροφής τα ποσοστά της 1-πεντεν-3-όλης αυξάνονται όσο αυξάνεται το ολικό λίπος του κρανίου και όσο μειώνονται τα ποσοστά των ω3 λιπαρών οξέων, ενώ φαίνεται να μειώνεται όσο αυξάνεται το % ποσοστό του EPA με διαφοροποίηση στο σιτηρέσιο A3 (Πίνακες 4.2.3 και 4.2.4). Η 2-πεντεν-1-όλη διαδραματίζει

σημαντικό ρόλο στη διαμόρφωση του αρώματος του προϊόντος, ακόμη και σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις (Paleari et al., 2008).

Οι κετόνες, σχηματίζονται είτε μέσω οξειδωσης ή θερμικής αποικοδόμησης των λιπαρών οξέων ή από την αποικοδόμηση των αμινοξέων (Paleari et al., 2008). Αποτελούν τη σημαντικότερη σε ποσοστά ομάδα πτητικών ενώσεων στα δείγματα κρασιού με κύριους αντιπροσώπους την 3-υδροξυ-2-βουτανόνη (ακετοΐνη) και την 2,3-βουτανοδιόνη ενώ σε χαμηλότερα ποσοστά βρέθηκαν οι 2-επτανόνη και η 2,3-πεντανοδιόνη. Η 3-υδροξυ-2-βουτανόνη (ακετοΐνη) παράγεται από την αποκαρβοξυλίωση του α-ακετογαλακτικού οξέος (alpha-acetolactate), κοινής πρόδρομης ένωσης της βιοσύνθεσης αμινοξέων με διακλαδισμένη αλυσίδα, και είναι η ουσία που δίνει το ευχάριστο άρωμα στο βούτυρο (Dirinck et al., 1997). Ορισμένα βακτήρια, μπορούν να μετατρέψουν ενζυμικά την ακετοΐνη σε 2,3-βουτανοδιόλη (<http://en.wikipedia.org/wiki/Acetoin>). Το ποσοστό της ακετοΐνης στα πτητικά συστατικά του αρχικού πληθυσμού διέφερε σημαντικά από τα αντίστοιχα στις ομάδες των πειραματικών σιτηρεσιών, γεγονός που μας επιτρέπει να συνδέσουμε τα επίπεδα της ακετοΐνης με τα επίπεδα λίπους του μυός των κρασιών.

Η 2,3-βουτανοδιόνη που βρέθηκε σε ποσοστά που κυμάνθηκαν από 12,3-23,3% παράγεται από στελέχη όλων των γενών των γαλακτικών βακτηρίων και σχετίζεται με το άρωμα του βουτύρου. Ο σχηματισμός της 2,3-βουτανοδιόνης τείνει να παρεμποδιστεί κατά τον μεταβολισμό των εξοζών, όμως μπορούν να παραχθούν σημαντικές ποσότητες υπό άλλες συνθήκες, π.χ. παρουσία οργανικών οξέων όπως του κιτρικού, το οποίο μετατρέπεται σε 2,3-βουτανοδιόνη. Η 2-επτανόνη (απαντάται σε ποσοστά 0,25- 0,49%) προέρχεται από την β-οξειδωση της ανθρακικής αλυσίδας ακολουθούμενη από αποκαρβοξυλίωση (Paleari et al., 2008) ενώ η 2,3-πεντανοδιόνη απαντάται με ποσοστά από 1,79 έως 4,47%.

Οι αλδεΐδες αποτελούν την τρίτη κατά σειρά αφθονίας ομάδα πτητικών ενώσεων στα δείγματα του κρασιού. Αντιπροσωπεύονται από πλήθος πτητικών ενώσεων (14 ενώσεις), που προέρχονται κυρίως από την οξειδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFAs). Ειδικότερα, σύμφωνα με τους Caprino et al. (2008), οι κανονικές αλδεΐδες παράγονται από την οξειδωση των μονοακόρεστων και ω6 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, ενώ οι ακόρεστες από τα ω3 PUFAs (Paleari et al., 2008).

Συγκεκριμένα η πεντανάλη προέρχεται από την οξειδωση των ω6 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFAs) (Varlet, 2007), ενώ και η εξανάλη θεωρείται ότι προέρχεται από την οξειδωση των ω6 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων και κυρίως από το λινελαϊκό οξύ (Caprino et al., 2008; Iglesias & Medina, 2008; Saga et al., 2011; Serot et al., 2002; Varlet et al., 2007) και το αραχιδονικό οξύ (Varlet et al., 2007). Μπορεί επίσης να παραχθεί κατά την οξειδωση ακόρεστων αλδευδών όπως η 2,4-δεκαδιενάλη και η 2-οκτενάλης (Iglesias & Medina, 2008)

αλλά και από ενζυμική οξείδωση του αραχιδονικού οξέος (Josephson et al., 1984). Οι επτανάλη, οκτανάλη, εννεανάλη και δεκανάλη προέρχονται είτε από ω9 μονοακόρεστα λιπαρά (MUFAs) όπως το ελαϊκό οξύ (Caprino et al., 2008;) ή από ω6 PUFAs όπως το λινελαϊκό οξύ (Caprino et al., 2008; Serot et al., 2002; Varlet et al., 2007) και απαντώνται σε χαμηλά ποσοστά στα δείγματα των κρانيών (Παράρτημα 1.2).

Όπως προαναφέρθηκε, οι ακόρεστες αλδεΐδες, όπως οι 2-πεντενάλη, 2-εξενάλη και 2,4-επταδιενάλη προέρχονται κυρίως από την αυτοοξείδωση των ω3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (Turchini et al., 2007).

Η 3-μεθυλοβουτανάλη προέρχεται από την οξειδωτική απαμίνωση-αποκαρβοξυλίωση (αποικοδόμηση Strecker) της λευκίνης (Varlet et al., 2007). Η βενζυλακεταλδεΐδη, με κατώφλι ανίχνευσης 4 μg/L προέρχεται από την φαινυλαλανίνη μέσω της αντίδρασης Strecker (Caprino et al., 2008). Κατά τον Paleari (2008) η βενζυλακεταλδεΐδη είναι υπεύθυνη για αρώματα αμύγδαλου, φρούτου και φουντουκιού, ενώ κατά τον Caprino (2008) έχει πικάντικο και «ποώδες» άρωμα.

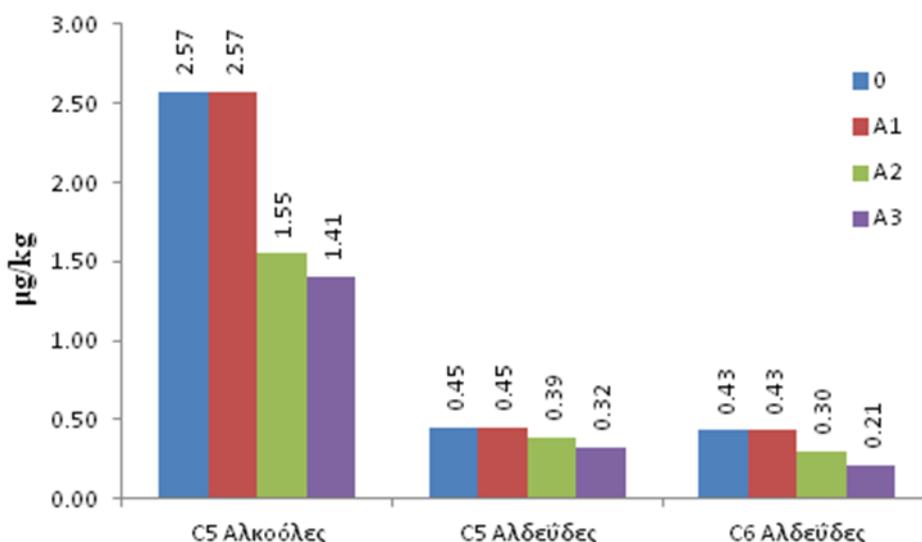
Οι πυραζίνες που απαντώνται σε αρκετά χαμηλά ποσοστά σε όλα τα δείγματα, προέρχονται από την αντίδραση Maillard. Πυραζίνες όμως μπορούν να σχηματιστούν κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης, της επεξεργασίας ή ακόμα και κατά το στάδιο απόσταξης-εκχύλισης του δείγματος για απομόνωση των πτητικών του (Chung et al., 2002).

Τα φουράνια έχουν ανιχνευθεί σε προϊόντα που έχουν υποστεί θερμική επεξεργασία και προέρχονται πιθανώς από την αντίδραση Maillard (Chung et al., 2002). Αντίθετα, κατά τους Turchini et al. (2004) μπορεί να προέλθουν από την οξείδωση ακόρεστων λιπαρών οξέων, για παράδειγμα το 2-πεντυλο-φουράνιο από την οξείδωση των ω6 PUFA. Στα δείγματα της παρούσας μελέτης τα φουράνια που ανιχνεύθηκαν σε χαμηλές συγκεντρώσεις (0,15–0,26 μg/kg), πιθανώς σχηματίζονται λόγω της θέρμανσης κατά την εφαρμογή της μεθόδου απομόνωσης των πτητικών ουσιών με απόσταξη (SDE). Θα πρέπει να αναφερθεί εδώ ότι οι Dirinck et al. (1997), οι οποίοι χρησιμοποίησαν την ίδια μέθοδο (SDE) για την απομόνωση πτητικών ουσιών από τρόφιμα απέδωσαν την ύπαρξη τριμεθυλοοξιρανίου και τετραϋδροφουρανίου σε προσμίξεις - ακαθαρσίες του διαλύτη. Αυτό όμως δεν φαίνεται πιθανό να συμβαίνει επειδή κατά την απομόνωση των πτητικών συστατικών τσιπούρας με τη μέθοδο purge and trap, που περιλαμβάνει απόσταξη χωρίς χρήση διαλύτη, οι Grigorakis et al., (2009) ανίχνευσαν τετραϋδροφουράνιο. Όμοια οι Giogios et al. (2009) χρησιμοποιώντας τη μέθοδο purge and trap χωρίς κάποιου είδους επεξεργασία (εκχύλιση ή χρήση διαλύτη) ανίχνευσαν φουράνια σε ιχθυάλευρα και σε ιχθυέλαια. Στα δείγματα της παρούσας εργασίας το τετραϋδροφουράνιο και το τριμεθυλοοξιρανίο βρέθηκαν σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Η ανίχνευση τους μας επιτρέπει να ισχυριστούμε ότι οι ενώσεις αυτές μπορεί να βρίσκονται στους

ιστούς των ιχθύων μέσω της διατροφής ή ακόμα και να σχηματίζονται μέσω βιοχημικών διαδικασιών με κάποιο τρόπο.

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία η «φρέσκια» γεύση των ιχθύων οφείλεται σε πτητικές αλδεΐδες και αλκοόλες που προέρχονται κυρίως από την ενζυμική οξείδωση των $\omega 3$ και $\omega 6$ πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (Kawai, 1996; Lindsay, 1990). Οι Olafsdottir & Jonsdottir (2010) θεωρούν ότι αλκοόλες με 6, 8 και 9 άτομα άνθρακα, όπως οι 1-οκτεν-3-όλη, 1,5-οκταδιεν-3-όλη, 2-οκτεν-1-όλη και 2,5-οκταδιεν-1-όλη, είναι υπεύθυνες για τις αμυδρές οσμές στα θαλάσσια είδη. Στην παρούσα μελέτη αυτά τα πτητικά συστατικά δεν ανιχνεύθηκαν. Πιθανόν η ενζυμική βιοσύνθεση τέτοιων ουσιών μπορεί να διαφοροποιείται από είδος σε είδος (Josephson et al., 1987) ή να απαντώνται σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις που δεν είναι δυνατόν να ανιχνευθούν με την μέθοδο απομόνωσης που ακολουθήθηκε.

Στα πτητικά συστατικά του κρανίου ανιχνεύθηκαν αλδεΐδες και αλκοόλες με 5 και 6 άτομα άνθρακα, οι οποίες συνδέονται με θετικές νότες (green notes) (Σχήμα 4.2.8). Δεν ανιχνεύτηκαν αλκοόλες με 6 άτομα άνθρακα σε αντίθεση με τις αλκοόλες με 5 άτομα άνθρακα, όπως οι 1-πεντεν-3-όλη και 2-πεντεν-1-όλη, οι οποίες βρέθηκαν σε σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις (Παράρτημα 1.2).



Σχήμα 4.2.8: Αλδεΐδες και αλκοόλες με 5 και 6 άτομα άνθρακα που χαρακτηρίζουν τις τρεις ομάδες κρανίων του πειράματος (A1, A2, A3) και τον αρχικό πληθυσμό (0). Μέσες τιμές (n=3).

Σε σύγκριση με τις αλδεΐδες, οι κετόνες μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά το άρωμα των τροφίμων μόνο σε υψηλές συγκεντρώσεις, λόγω των υψηλών κατωφλίων ανίχνευσής τους. Ως εκ τούτου, σύμφωνα με τα δεδομένα του Παραρτήματος 1.2, μόνο η ακετοΐνη (3-υδροξυ, 2-

βουτανόνη) παρούσα σε ποσοστά 1,5 έως 4% των ολικών πτητικών- και η 2,3-βουτανοδιόνη (ευχάριστο άρωμα βουτύρου) με παρουσία 12 έως 23% των ολικών πτητικών, θα μπορούσαν να επηρεάσουν το άρωμα των δειγμάτων.

Το κατώφλι ανίχνευσης των αλδεϋδών (όπως η 2-πεντενάλη, η 2-εξενάλη και η εξανάλη) είναι χαμηλότερο από εκείνο των άλλων πτητικών ενώσεων, με αποτέλεσμα να έχουν σημαντική επίδραση στο συνολικό άρωμα (Palaria et al., 2008; Turchini et al., 2007), παρόλο που απαντώνται σε χαμηλά ποσοστά. Στην παρούσα μελέτη παρατηρήθηκε μια τάση μείωσης της συγκέντρωσης των αλδεϋδών και των αλκοολών με 5 και 6 άτομα άνθρακα όσο αυξάνεται η ποσότητα ιχθυελαίου στο σιτηρέσιο των κρانيών. Αυτό έχει σαν συνέπεια πιο αμυδρά αρώματα παρά την αύξηση της συγκέντρωσης των ολικών πτητικών.

Από τις αλδεϋδες η πεντανάλη έχει κατώφλιο ανίχνευσης 240 μg/L με άρωμα ξυλώδες, πικρό και ελαιώδες (Reboredo-Rodriguez et al., 2012). Το κατώφλι ανίχνευσης της εξεναλής είναι 4,5-5 μg/L (Caprino et al., 2008) με άρωμα ποώδους φυτού (Caprino et al., 2008; Turchini et al., 2004) ή άρωμα γρασιδιού (Serot et al., 2002). Όταν η εξανάλη προέρχεται από ενζυμική δράση το άρωμα περιγράφεται ως άρωμα γρασιδιού και αλδεϋδης και το κατώφλιο ανίχνευσης είναι 4,5 μg/L (Kawai, 1996). Η επτανάλη αντιστοιχεί στο άρωμα πατάτας (Palaria et al., 2008). Σε γενικές γραμμές η εξανάλη και η 2,4-επταδιενάλη συνδέονται με τις οσμές οξειδωμένων ελαίων και μουρουνέλαιου, καθώς και με τη χαρακτηριστική μυρωδιά του χόρτου και των φυτών. Έτσι, είναι δύσκολο να ερμηνευθεί η πραγματική συνεισφορά των ενώσεων αυτών στη συνολική οσμή του δείγματος (Palaria et al., 2008). Η οκτανάλη και η εννεανάλη με κατώφλια ανίχνευσης 0,7 μg/L και 1 μg/L (Caprino et al., 2008), ανιχνεύθηκαν σε όλα τα δείγματα κρانيού σε χαμηλές συγκεντρώσεις: η οκτανάλη δίνει οσμή μαγειρεμένης πατάτας, λιπώδες ή κηρώδες άρωμα κατά τους Caprino et al. (2008) ακόμα και άρωμα εσπεριδοειδούς κατά τους Turchini et al. (2004), ενώ η εννεανάλη που δίνει κηρώδη οσμή ή άρωμα λουλουδιού (Caprino et al., 2008; Turchini et al., 2007), εμφάνισε στατιστικά σημαντική αύξηση με την αύξηση της λιποπεριεκτικότητας των σιτηρεσίων (Παράρτημα 1.2). Η δεκανάλη δίνει άρωμα γρασιδιού (Serot et al., 2002) και άρωμα πατάτας ανάμικτο με άρωμα βούτυρου (Palaria et al., 2008).

Η 4-επτενάλη και 2,4-επταδιενάλη, οι οποίες χαρακτηρίζονται ως δείκτες οξείδωσης βρέθηκαν σε χαμηλές συγκεντρώσεις (Παράρτημα 1.2), συνεπώς με μηδαμινό αντίκτυπο στο συνολικό άρωμα. Επίσης, η 2-εννεανάλη η οποία θεωρείται ότι σχηματίζεται κατά τα πρώτα στάδια της αυτοοξείδωσης του λινελαϊκού οξέος (Kiritsakis, 1998) απουσιάζει από τα δείγματά μας, επιβεβαιώνοντας τη φρεσκότητα αυτών.

Οι ενώσεις θείου, που βρέθηκαν σε χαμηλές συγκεντρώσεις (0,016 έως 0,037 μg/kg) έχουν πάντα χαμηλά κατώφλια ανίχνευσης. Έτσι, παρά τη χαμηλή τους συγκέντρωση θα μπορούσαν να επηρεάσουν τη συνολική γεύση.

Τέλος, οι εστέρες (0,006 έως 0,075 $\mu\text{g}/\text{kg}$) είναι ενώσεις που χαρακτηρίζουν τα αρώματα των φρούτων, αν προέρχονται από οξέα μικρής ανθρακικής αλυσίδας, ενώ έχουν μια ελαφριά λιπαρή μυρωδιά, αν προέρχονται από οξέα μακράς ανθρακικής αλυσίδας (Paleari et al., 2008).

4.2.4 Συμπεράσματα

Στο παρόν πείραμα εκτροφής οι πτητικές ουσίες που ανιχνεύτηκαν επηρεάζονται αποκλειστικά από τη διατροφή του κρανιού, δεδομένου ότι τυχόν επιδράσεις εποχικότητας, μεγέθους και φρεσκότητας των ιχθύων ήταν πανομοιότυπες για όλες τις ομάδες.

Η θεώρηση αυτή επιβεβαιώνεται από τα αποτελέσματα των αναλύσεων των λιπαρών οξέων, όπου το προφίλ λιπαρών οξέων του αρχικού πληθυσμού (εμπορικά σιτηρέσια) διαφοροποιείται από τα αντίστοιχα των τριών ομάδων που τράφηκαν με πειραματικά σιτηρέσια, στα οποία έγινε χρήση ιχθυελαίου.

Τα τρία πειραματικά σιτηρέσια A1, A2, A3 δεν προκάλεσαν αξιοσημείωτες μεταβολές στην σύσταση σώματος και στα προφίλ των λιπαρών οξέων των εκτρεφόμενων κρανιών (Πίνακας 4.2.4). Η έλλειψη διαφοροποιήσεων μπορεί να οφείλεται στον περιορισμένο χρόνο της παρέμβασης (2 μήνες).

Ομοίως, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφοροποιήσεις στα προφίλ των πτητικών συστατικών των εκτρεφόμενων ιχθύων ($p < 0.05$). Από τα 68 πτητικά συστατικά που προσδιορίστηκαν ποσοτικά, βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) μεταξύ των τριών σιτηρεσίων κυρίως για την εννεανάλη και την 2,3-πεντανοδιόνη (Παράρτημα 1.2). Σε σύγκριση με τον αρχικό πληθυσμό που τρεφόταν με εμπορική τροφή, αξιοσημείωτη είναι η μεταβολή των συγκεντρώσεων της ακετοΐνης (3-υδροξυ-2-βουτανόνης), η οποία βρέθηκε σχεδόν σε διπλάσια συγκέντρωση στον αρχικό πληθυσμό σε σύγκριση με τις αντίστοιχες των τριών πειραματικών σιτηρεσίων (Παράρτημα 1.2), μια διαφορά που είναι πιθανόν να επιδρά στη διαφοροποίηση του συνολικού αρώματος των κρανιών.

Επίσης βρέθηκε ότι οι ολικές συγκεντρώσεις των πτητικών συστατικών αυξάνονται όσο αυξάνεται η περιεκτικότητα των σιτηρεσίων σε ιχθυέλαιο. Η ίδια τάση παρατηρήθηκε για το άθροισμα των αλκοολών, των κετονών, των αλδεϋδών και των υδρογονανθράκων.

Από τις πτητικές ενώσεις, πολυπληθέστερη ομάδα ήταν οι υδρογονάνθρακες που αντιπροσωπεύουν το 5,5-12,9% των πτητικών και τείνουν να αυξάνονται όσο αυξάνεται το ποσοστό του ιχθυελαίου στα σιτηρέσια, κυρίως λόγω της αύξησης του πριστανίου (2,6,10,14-τετραμεθυλ-δεκαπεντάνιου), χωρίς όμως να έχουν αξιόλογο ρόλο στη διαμόρφωση του αρώματος του κρανιού.

Συμπερασματικά, η αύξηση του περιεχομένου ιχθυελαίου στην τροφή είχε μερική επίδραση στη σύσταση των πτητικών ουσιών στο φιλέτο του κρανιού. Όμως, οι επιμέρους μικρές διαφοροποιήσεις που προκαλούνται στις πτητικές ενώσεις από την αύξηση του ιχθυελαίου της τροφής (αύξηση των ολικών συγκεντρώσεων των πτητικών συστατικών καθώς και επί μέρους ομάδων πτητικών) μπορεί να διαφοροποιεί το τελικό, συνολικό, άρωμα του κρανιού.

4.3 Σύσταση και οργανοληπτική αξιολόγηση της ποιότητας εκτρεφόμενων κρانيών (*Argyrosomus regius*) διαφορετικού μεγέθους.

4.3.1 Εισαγωγή

Τα εμπορεύσιμα μεγέθη του κρانيού κυμαίνονται συνήθως μεταξύ 1-2 kg. Όμως, τα τελευταία χρόνια διατίθενται στο εμπόριο και κρانيοί μικρότερου μεγέθους, ξεκινώντας από τα 600 g, παρά το γεγονός ότι υπάρχει μια αντίληψη στην αγορά ότι τα ψάρια με βάρος μικρότερο του 1 kg είναι κατώτερης ποιότητας (FAO, 2013; Monfort, 2010).

Στη βιβλιογραφία υπάρχουν ελάχιστα δεδομένα σχετικά με την ποιότητα του κρانيού, ενώ δεν υπάρχουν δεδομένα σχετικά με τις πτητικές ενώσεις που καθορίζουν το άρωμά του. Επιπλέον δεν υπάρχουν μελέτες σχετικές με την επίδραση του μεγέθους στην ποιότητα και τις οργανοληπτικές ιδιότητες του κρانيού. Προκειμένου να καλυφθεί το βιβλιογραφικό κενό και παράλληλα να ελεγχθεί κατά πόσον ισχύει η αντίληψη ότι οι μικρότεροι κρانيοί είναι κατώτερης ποιότητας, σχεδιάστηκε και εκτελέστηκε πείραμα στο οποίο διερευνήθηκε εάν τα χημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των εκτρεφόμενων κρانيών διαφοροποιούνται με το μέγεθος. Συγκεκριμένα, συγκρίθηκαν άτομα που έχουν φθάσει σε εμπορεύσιμο μέγεθος (περίπου 1,5 kg) και άτομα που ζυγίζουν λιγότερο από 1 kg.

4.3.2 Υλικά και μέθοδοι

4.3.2.1 Εκτροφή και δειγματοληψία των ψαριών

Για τη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν δύο ομάδες κρانيών με κοινό γενετικό υπόβαθρο (προέρχονταν από τους ίδιους γεννήτορες αλλά είχαν εκκολαφθεί σε διαφορετικές χρονικές στιγμές). Οι δύο ομάδες εκτράφηκαν παράλληλα σε θαλάσσιους ιχθυοκλωβούς (6×8 m²) στις εγκαταστάσεις του ΕΛΚΕΘΕ στη Σούδα (Νομός Χανίων, Κρήτη). Τα αρχικά βάρη των κρانيών όταν άρχισε το πείραμα εκτροφής ήταν 200 g (εφεξής θα αναφέρονται ως "μικρά") και 1000 g (εφεξής θα αναφέρονται ως "μεγάλα"), αντίστοιχα. Οι δύο ομάδες εισήχθησαν στους ιχθυοκλωβούς τον Μάιο του 2011, σε ιχθυοπυκνότητες ίσες με 6 και 9 kg/m³, αντίστοιχα. Το πείραμα εκτροφής διήρκησε οκτώ μήνες, μέχρι τον Ιανουάριο του 2012 και όλα τα ψάρια τράφηκαν με εμπορική τροφή που περιείχε 44% πρωτεΐνη και 18% λίπος (παρασκευαστής IRIS S.A., Εύβοια). Οι τελικές ιχθυοπυκνότητες ήταν 12 και 18 kg/m³ για τους μικρούς και τους μεγάλους κρانيούς, ενώ τα τελικά βάρη ήταν 830 ± 220 g και 1600 ± 350 g, αντίστοιχα.

Στο τέλος του πειράματος τα ψάρια θανατώθηκαν με εμβάπτιση σε πάγο, μέθοδος που ακολουθείται στις Μεσογειακές ιχθυοκαλλιέργειες. Τα ψάρια παρέμειναν σε πάγο και αμέσως μεταφέρθηκαν στα εργαστήρια του ΕΛΚΕΘΕ στις Γούρνες (Ηράκλειο, Κρήτη). Στο εργαστήριο ζυγίσθηκαν και φιλετοποιήθηκαν 20 ψάρια από κάθε ομάδα για την οργανοληπτική αξιολόγηση

(η οποία διεξήχθη εντός των επόμενων δύο ημερών) και 3 ψάρια ανά ομάδα για σωματομετρικές μετρήσεις και χημικές αναλύσεις. Τα τελευταία αποθηκεύτηκαν στους -80°C μέχρι την ανάλυσή τους.

4.3.2.2 Σωματομετρικά χαρακτηριστικά- Σύσταση φιλέτου

Καταγράφηκαν τα βάρη των ψαριών, ολόκληρων και μετά την αφαίρεση των σπλάχνων, καθώς και τα βάρη των φιλέτων, των σπλάχνων, των συκωτιών και των γονάδων. Από αυτές τις ζυγίσεις υπολογίσθηκαν οι βασικοί σωματομετρικοί δείκτες (απόδοση σε φιλέτο, εδώδιμο τμήμα, ηπατοσωματικός και γοναδοσωματικός δείκτης) που εκφράστηκαν ως ποσοστά του συνολικού σωματικού βάρους των ψαριών) και δίνονται στον Πίνακα 4.3.1.

Ο προσδιορισμός της σύστασης των φιλέτων κρανιού για τις δύο ομάδες περιέλαβε τον προσδιορισμό υγρασίας, τέφρας, πρωτεΐνης και λίπους. Επίσης προσδιορίστηκε το ενεργειακό περιεχόμενο και η α-τοκοφερόλη (βιταμίνη Ε) όπως περιγράφεται στις παραγράφους 3.1, 3.3 και 3.4 της παρούσας εργασίας. Τα αποτελέσματα δίνονται στον Πίνακα 4.3.3.

4.3.2.3 Γευστική αξιολόγηση

Η γευστική αξιολόγηση των δύο ομάδων κρανιού διεξήχθη σε σχολή μαγειρών (Kappa Studies, Κοκκίνη Χάνι, Ηράκλειο, Κρήτη) όπου υπήρχαν διαθέσιμες εγκαταστάσεις για τη εκτέλεση γευσμετρίας μεγάλης κλίμακας. Πραγματοποιήθηκαν δύο δοκιμές αξιολόγησης. Αρχικά οι αξιολογητές κλήθηκαν να εκτιμήσουν την ύπαρξη διαφορών μεταξύ των δύο ομάδων μέσω μιας τριγωνικής δοκιμής. Στη συνέχεια, εάν γινόταν διακριτή η ύπαρξη διαφοράς μεταξύ των δύο ομάδων ψαριών, οι αξιολογητές πραγματοποιούσαν μία δεύτερη δοκιμή για εκτίμηση της συνολικής αποδοχής των δύο ομάδων ψαριών. Η προετοιμασία της γευστικής αξιολόγησης, η εκπαίδευση των αξιολογητών και η διεξαγωγή των δοκιμών (κωδικοποίηση και τυχαιοποίηση των δειγμάτων) διεξήχθησαν σύμφωνα με το ISO 4120:2004.

Η πρώτη δοκιμή εκτελέστηκε από ομάδα 20 αξιολογητών, που ήταν καθηγητές και σπουδαστές της σχολής. Σε κάθε αξιολογητή δόθηκαν τρία ισομεγέθη ($7 \times 4 \text{ cm}^2$) τεμάχια φιλέτου κρανιού μαγειρεμένα στον ατμό, από τα οποία δύο προέρχονταν από την μια ομάδα και ένα από την δεύτερη ομάδα. Η τριγωνική δοκιμή ανοιχτού τύπου (open-end), εκτός από το βασικό ερώτημα για την ανίχνευση του διαφορετικού δείγματος, έδινε τη δυνατότητα στον αξιολογητή να εξηγήσει-περιγράψει την παρατηρούμενη διαφορά, ώστε να διευκολυνθεί ο εντοπισμός των ενδεχόμενων διαφορών μεταξύ των δύο ομάδων.

Η δεύτερη δοκιμή που αποσκοπούσε στην αξιολόγηση της αποδοχής των δύο ομάδων κρανιών, έγινε από 50 αξιολογητές, οι οποίοι ήταν σεφ, διευθυντές ξενοδοχείων και άνθρωποι που

επιρεάζουν την κοινή γνώμη σε θέματα διατροφής και τροφίμων. Σε αυτή τη δοκιμή σε κάθε μέλος του πάνελ δόθηκαν δύο ισομεγέθη κωδικοποιημένα δείγματα φιλέτου κρανιού μαγειρεμένα στον ατμό και τους ζητήθηκε να βαθμολογήσουν την αποδοχή τους (σε κλίμακα από 1 έως 8) σε σχέση με το άρωμα, την υφή, τη γεύση, καθώς και τη συνολική αποδοχή (Πίνακας 4.3.2).

4.3.2.4 Προσδιορισμός λιπαρών οξέων - Πτητικών συστατικών

Τα λιπαρά οξέα προσδιορίστηκαν όπως περιγράφεται στην παράγραφο 3.2 και τα αποτελέσματα δίνονται στον Πίνακα 4.3.4. Τα πτητικά συστατικά απομονώθηκαν από δείγματα φιλέτων κρανιού με ταυτόχρονη απόσταξη/εκχύλιση (simultaneous distillation-extraction, SDE) με συσκευή Likens and Nickerson και προσδιορίστηκαν όπως περιγράφηκε στην παράγραφο 3.6. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο Παράρτημα 1.3.

4.3.2.5 Ανάλυση αμινοξέων

Η ανάλυση των αμινοξέων έγινε όπως περιγράφεται στην παράγραφο 3.5 της παρούσας εργασίας και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.3.5.

4.3.2.6 Στατιστική ανάλυση

Οι διαφορές των αποτελεσμάτων των χημικών αναλύσεων ποιότητας μεταξύ των δύο ομάδων κρανιών αξιολογήθηκαν με το Student's t-test, μετά την εφαρμογή του Levene's test για έλεγχο της ισότητας των διακυμάνσεων. Η ίδια διαδικασία χρησιμοποιήθηκε για τον καθορισμό της σημαντικότητας των διαφορών στα αποτελέσματα της γευστικής αξιολόγησης. Για την τριγωνική δοκιμή τα αποτελέσματα για τις δύο ομάδες εκτιμήθηκαν βάσει των στατιστικών πινάκων του ISO 4120:2004 σχετικά με τις ελάχιστες απαντήσεις που απαιτούνται για να αποφανθούμε ότι υπάρχουν αισθητές διαφορές. Το γεγονός ότι αναλύθηκαν μεμονωμένα άτομα κρανιών επέτρεψε τις συσχετίσεις (two-tailed, Pearson) μεταξύ των περιεχομένων πτητικών ενώσεων και των λιπαρών οξέων (Πίνακας 4.3.6).

4.3.3 Αποτελέσματα - Συζήτηση

Τα σωματομετρικά χαρακτηριστικά των δύο ομάδων κρανιών παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.3.1. Αν και τα σωματικά βάρη των δύο ομάδων διέφεραν σημαντικά, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στο σπλαχνικό λίπος, στο εδώδιμο μέρος (dressing rate) και την απόδοση του φιλέτου. Αυτό έρχεται σε αντίθεση με την αύξηση του εδώδιμου μέρους και της απόδοσης φιλέτου όσο αυξάνει το μέγεθος, που ανέφεραν οι Grigorakis et al. (2011).

Ωστόσο η απόδοση του φιλέτου ήταν κάπως χαμηλότερη από αυτές που έχουν αναφερθεί σε προηγούμενες μελέτες για το ίδιο είδος (Hernández et al., 2009; Grigorakis et al., 2011).

Πίνακας 4.3.1: Σωματομετρικά χαρακτηριστικά και δείκτες των δύο ομάδων κρανιού. Μέσες τιμές ± τυπική απόκλιση.

| | Μικρός | Μεγάλος |
|--|-------------|--------------|
| Ολικό βάρος (g) | 871 ± 176 | 1536 ± 135 |
| Εδώδιμο μέρος (dressing rate) (%) | 94,5 ± 0,20 | 93,6 ± 0,87 |
| Μεσεντέριο λίπος (% του ολικού βάρους) | 0,03 ± 0,05 | 0,04 ± 0,007 |
| Ηπατοσωματικός δείκτης (HSI) | 2,12 ± 0,41 | 2,00 ± 0,38 |
| Γοναδοσωματικός δείκτης (GSI) | 0,04 ± 0,05 | 0,03 ± 0,05 |
| Φιλέτο (% του ολικού βάρους) | 33,9 ± 0,60 | 31,6 ± 4,19 |
| Αριθμός δειγμάτων (n) | 20 | 20 |

Οι γοναδοσωματικοί δείκτες των μικρών και των μεγάλων κρανίων δεν διέφεραν, ένδειξη ότι τα άτομα και των δύο ομάδων ήταν σεξουαλικά ανώριμα (Schianone et al., 2012). Επομένως η διαδικασία σεξουαλικής ωρίμανσης δεν πρέπει να ευθύνεται για τις πιθανές διαφορές στις παραμέτρους ποιότητας των δύο ομάδων. Στο τριγωνικό τεστ, από τους 20 δοκιμαστές οι 11 απάντησαν ορθά (εντόπισαν το διαφορετικό μεταξύ των τριών δειγμάτων). Αυτό σημαίνει ότι οι οργανοληπτικές ιδιότητες των δύο ομάδων ιχθύων διαφέρουν ($p < 0.05$). Από τους αξιολογητές που απάντησαν σωστά αναφέρθηκαν διαφορές στην υφή, τη γεύση και το άρωμα, ενώ η ομάδα με τα μεγαλύτερου μεγέθους άτομα μεγαλύτερα ψάρια αξιολογήθηκε ότι είχε πιο συνεκτική και πιο σταθερή υφή, πιο έντονη γεύση και με πιο έντονο "άρωμα ψαριού" (Πίνακας 4.3.2).

Πίνακας 4.3.2: Σχόλια των αξιολογητών οι οποίοι απάντησαν σωστά στη τριγωνική δοκιμή σε σχέση με τη φύση των ανιχνεύσιμων διαφορών

| Χαρακτηριστικό ψαριού | Αριθμός αξιολογητών | Σχόλια αξιολογητών |
|-----------------------|---------------------|---|
| Υφή | 9 | Ο μεγάλος κρανιός είναι πιο συνεκτικός, πιο άκαμπτος - σκληρός, με πιο ευχάριστη υφή. Το μικρό ψάρι είναι λιγότερο ινώδες και πιο μαλακό. |
| Γεύση | 8 | Ο μεγάλος κρανιός είναι πιο νόστιμος, με πιο γεμάτη και έντονη γεύση. |
| Άρωμα | 2 | Ο μεγάλος κρανιός έχει πιο έντονο άρωμα ψαριού σε σχέση με τον μικρό. Το μικρότερο ψάρι έχει πιο «σωστό» και πλήρες άρωμα. |

Και οι δύο ομάδες έλαβαν σχετικά υψηλές βαθμολογίες από τους αξιολογητές. Ωστόσο, τα μεγάλα ψάρια είχαν σημαντικά υψηλότερη ($p < 0.05$) συνολική αποδοχή: $6,04 \pm 1,14$ έναντι $5,50 \pm 1,14$ για τα μικρά ψάρια, σε κλίμακα αρεστότητας 1-8. Τα επί μέρους αποτελέσματα αποδοχής δεν διέφεραν σημαντικά και ήταν: για την οσμή και τη γεύση (flavor) $5,76 \pm 1,38$ για τα μεγαλύτερα έναντι $5,72 \pm 1,43$ για τα μικρότερα ψάρια, για την υφή $5,91 \pm 1,40$ έναντι $5,49 \pm 1,21$ και για τη γεύση $6,19 \pm 1,32$ έναντι $5,55 \pm 1,55$. Επιπλέον, σε σχέση με τη συνολική αποδοχή, από τους 50 αξιολογητές οι 32 (64%) έδειξαν προτίμηση για τα μεγαλύτερα ψάρια, οι 14 (28%) για τα μικρότερα ψάρια, ενώ οι 4 (8%) δεν είχαν συγκεκριμένη προτίμηση.



Εικόνα 4.3.1: Αξιολόγηση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των μικρών και μεγαλύτερων κρانيών μέσω τριγωνικής δοκιμής.

Συνολικά, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δείχνουν ότι και τα δύο μεγέθη κρانيού είναι σε μεγάλο βαθμό αποδεκτά από τους καταναλωτές, με τα μεγαλύτερα ψάρια να έχουν καλύτερη αποδοχή. Το εύρημα αυτό επιβεβαιώνει σε ένα βαθμό τη φήμη της αγοράς για την σχετική κατωτερότητα των μικρών ψαριών (Monfort, 2010), αφού τα ψάρια των 800 g πράγματι παρουσίασαν χαμηλότερη αποδοχή από αυτά των 1600 g. Θα πρέπει όμως να σημειωθεί ότι η αποδοχή των μικρότερων κρانيών από τους καταναλωτές παραμένει υψηλή. Επίσης θα πρέπει να τονισθεί ότι η παρούσα μελέτη δεν επιβεβαίωσε τη φήμη ότι τα ατομικά χαρακτηριστικά του ψαριού -και ειδικότερα η υφή- αλλάζουν με το μέγεθος (Gonçalves et al., 2011).

Στη βιβλιογραφία τα μόνα διαθέσιμα αποτελέσματα γευσιμετρίας για τον κρانيό προέρχονται από μια μελέτη των Gonçalves et al. (2011b) στην οποία αξιολογήθηκαν κρانيοί που είχαν εκτραφεί σε λίμνη και είχαν βάρη που κυμαίνονταν ανάμεσα στα 557-855 g, δηλαδή ήταν συγκρίσιμα με τα «μικρά» ψάρια της παρούσας μελέτης. Στην εν λόγω μελέτη, τα ψάρια πήραν υψηλές βαθμολογίες αποδοχής από τους αξιολογητές επιβεβαιώνοντας τα ευρήματά μας

ότι και τα μικρότερου μεγέθους ψάρια μπορούν να είναι εμπορεύσιμα. Ωστόσο, στην ίδια μελέτη (Gonçalves et al., 2011) αναφέρθηκε ότι παρά την πολύ καλή συνολική αποδοχή που είχαν τα μικρά ψάρια των 600 g για την οσμή και τη γεύση τους (flavor), δεν ίσχυε το ίδιο για την υφή και πιο συγκεκριμένα για τη σκληρότητα του μυός. Η τελευταία παρατήρηση, δεν επιβεβαιώθηκε στην παρούσα μελέτη, δεδομένου ότι η αξιολόγηση της υφής για τα μικρά ψάρια έλαβε υψηλή βαθμολογία, και δεν διέφερε από εκείνη των μεγαλύτερων ατόμων.

Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στα κύρια συστατικά των φιλέτων ανάμεσα στις δύο ομάδες (Πίνακας 4.3.3). Μικρή διαφοροποίηση παρατηρήθηκε στις συγκεντρώσεις α-τοκοφερόλης στα φιλέτα των δύο ομάδων κρανιού, ενώ και οι δύο ομάδες είχαν χαμηλή λιποπεριεκτικότητα, τυπική για το είδος (Poli et al., 2003; Hernández et al., 2009; Grigorakis et al., 2011; Nevigado et al., 2012). Σε αντίθεση με τα υπάρχοντα δεδομένα για άλλα μεσογειακά είδη (Grigorakis, 2007; Grigorakis, 2011), στην παρούσα εργασία δεν παρατηρήθηκε αύξηση της λιποπεριεκτικότητας με το μέγεθος του κρανιού. Μία εξήγηση για αυτή την απόκλιση μπορεί να είναι η εμπορική τροφή που χρησιμοποιήθηκε για την εκτροφή του κρανιού η οποία είναι τροφή σχεδιασμένη για άλλα είδη ψαριών της Μεσογείου, δεδομένου ότι μέχρι στιγμής δεν υπάρχει εμπορική τροφή για το συγκεκριμένο είδος. Δεν θα πρέπει να παραβλεφθεί επίσης το γεγονός ότι οι διατροφικές συνήθειες του κρανιού είναι εντελώς διαφορετικές στο φυσικό του περιβάλλον, όπου η τροφή του αποτελείται κυρίως από λιπαρά ψάρια όπως οι σαρδέλες και άλλα πελαγικά είδη (FAO 2013), ενώ υπάρχουν ενδείξεις ότι ο κρανιός έχει διαφορετικό μεταβολισμό των λιπιδίων, έχοντας μειωμένο λίπος στο φιλέτο του σε σύγκριση με άλλα εκτρεφόμενα Μεσογειακά είδη (Grigorakis et al., 2011).

Πίνακας 4.3.3: Μακροσυστατικά (% νωπού βάρους, n=3), α-τοκοφερόλη (μg/g, n=3) και ενεργειακό περιεχόμενο (kcal/100 g, n=3) στα φιλέτα των δύο ομάδων κρανιού. Μέσες τιμές ± τυπική απόκλιση.

| | Μικρός | Μεγάλος |
|------------------------|----------------|----------------|
| Υγρασία | 76,5 ± 0,4 | 76,8 ± 1,2 |
| Λίπος | 1,09 ± 0,96 | 0,73 ± 0,36 |
| Πρωτεΐνη | 20,1 ± 0,1 | 20,1 ± 0,6 |
| Τέφρα | 1,36 ± 0,03 | 1,36 ± 0,02 |
| α-Τοκοφερόλη | 207,15 ± 58,41 | 322,34 ± 89,51 |
| Ενεργειακό περιεχόμενο | 367,35 ± 6,50 | 364,20 ± 4,08 |

Το προφίλ των λιπαρών οξέων των δύο ομάδων ήταν το χαρακτηριστικό για το είδος (Hernández et al., 2009; Grigorakis et al., 2011), με το παλμιτικό οξύ (16:0) να επικρατεί ανάμεσα στα κορεσμένα λιπαρά οξέα (SFA), το ελαϊκό οξύ (18:1ω9) στα μονοακόρεστα (MUFA), το λινελαϊκό (18:2ω6) και εικοσιδυοεξαενοϊκό (22:6ω3) ανάμεσα στα ω6 και ω3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA) αντίστοιχα (Πίνακας 4.3.4). Σε σύγκριση με τα ευρήματα

παλαιότερων μελετών (Poli et al., 2003; Hernández et al., 2009; Grigorakis et al., 2011), παρατηρήθηκαν διαφορές στις κύριες τάξεις λιπαρών οξέων, συγκεκριμένα χαμηλότερα επίπεδα SFA και MUFA και υψηλότερα επίπεδα $\omega 3$ και $\omega 6$ PUFA. Επί πλέον το 18:1 $\omega 9$ βρέθηκε σε χαμηλότερα ποσοστά, ενώ το 18:2 $\omega 6$, το 20:5 $\omega 3$ (εικοσιπενταενοϊκό οξύ, EPA) και το 22:6 $\omega 3$ (εικοσιδυοεξαενοϊκό οξύ, DHA) σε υψηλότερα ποσοστά σε σύγκριση με προηγούμενες αναφορές (Poli et al., 2003; Grigorakis et al., 2011). Οι διαφορές αυτές μπορεί να αντανακλούν την επίδραση της διαφορετικής διαίτας στα λιπαρά οξέα του φιλέτου.

Πίνακας 4.3.4: Λιπαρά οξέα φιλέτων μικρών και μεγάλων κρانيών (% του συνόλου των λιπαρών οξέων). Μέσες τιμές \pm τυπική απόκλιση (n=3) ($\dagger p < 0.1$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$)

| Λιπαρά οξέα | Μικρός | Μεγάλος | Σημαντικότητα διαφορών |
|--------------------------|------------------|------------------|------------------------|
| 14:0 | 1,67 \pm 0,32 | 1,48 \pm 0,24 | |
| 16:0 | 17,90 \pm 0,31 | 17,03 \pm 0,55 | † |
| 16:1 $\omega 7$ | 2,47 \pm 0,38 | 2,20 \pm 0,38 | |
| 16:4 $\omega 3$ | 0,42 \pm 0,11 | 0,62 \pm 0,13 | |
| 18:0 | 6,95 \pm 0,32 | 7,29 \pm 1,20 | |
| 18:1 $\omega 9$ | 19,50 \pm 1,69 | 19,51 \pm 1,89 | |
| 18:1 $\omega 7$ | 2,38 \pm 0,77 | 2,37 \pm 0,88 | |
| 18:2 $\omega 6$ (LA) | 13,80 \pm 0,51 | 15,00 \pm 0,26 | * |
| 18:3 $\omega 3$ | 1,65 \pm 0,30 | 1,73 \pm 0,26 | |
| 18:4 $\omega 3$ | 0,58 \pm 0,13 | 0,55 \pm 0,11 | |
| 20:1 $\omega 9$ | 2,33 \pm 0,21 | 2,11 \pm 0,27 | |
| 20:4 $\omega 6$ (ARA) | 1,18 \pm 0,19 | 1,43 \pm 0,26 | † |
| 20:4 $\omega 3$ | 0,50 \pm 0,55 | 0,52 \pm 0,84 | |
| 20:5 $\omega 3$ (EPA) | 5,40 \pm 0,06 | 5,00 \pm 0,28 | † |
| 22:1 $\omega 9$ | 1,45 \pm 0,28 | 1,30 \pm 0,47 | |
| 22:5 $\omega 3$ | 2,07 \pm 0,12 | 2,26 \pm 0,22 | |
| 22:6 $\omega 3$ (DHA) | 18,9 \pm 3,23 | 18,7 \pm 1,52 | |
| 24:1 $\omega 9$ | 0,81 \pm 0,02 | 0,88 \pm 0,16 | |
| Κορεσμένα λιπαρά οξέα | 26,5 \pm 0,43 | 25,8 \pm 1,51 | |
| Μονοακόρεστα λιπαρά οξέα | 29,0 \pm 2,79 | 28,4 \pm 2,65 | |
| $\omega 9$ | 22,5 \pm 1,80 | 22,7 \pm 2,08 | |
| $\omega 6$ | 15,0 \pm 0,32 | 16,4 \pm 0,16 | ** |
| $\omega 3$ | 29,6 \pm 2,99 | 29,4 \pm 1,07 | |

Οι δύο ομάδες παρουσίασαν μικρές διαφορές στο προφίλ των λιπαρών τους οξέων. Τα μεγαλύτερα ψάρια περιείχαν περισσότερο 18:2 $\omega 6$, 20:4 $\omega 6$ (ARA), περισσότερα $\omega 6$ λιπαρά οξέα, ελαφρά αυξημένους λόγους $\omega 6/\omega 3$ (0,56 έναντι 0,51) και μειωμένα ποσοστά 16:0 και EPA. Δεδομένου ότι και οι δύο ομάδες είχαν το ίδιο γενετικό υπόβαθρο, και έλαβαν την ίδια τροφή

κάτω από τις ίδιες συνθήκες εκτροφής, οι παρατηρούμενες διαφορές στα λιπαρά οξέα μπορούν να αποδοθούν στην επίδραση του μεγέθους.

Αν και δεν υπάρχει προφανής εξήγηση για αυτές τις διαφορές, μπορούμε να υποθέσουμε ότι τα 18:2ω6 και 20:4ω6 μπορεί να συσσωρεύονται μέσω της διατροφικής πρόσληψης, με αποτέλεσμα την επακόλουθη αύξηση του ποσοστού των ω6 λιπαρών οξέων με το μέγεθος.

Το λινελαϊκό οξύ προέρχεται από τα φυτικά έλαια που ενσωματώνονται στις ιχθυοτροφές, με αποτέλεσμα να παρατηρείται συσσώρευση του σε καλλιεργημένα ψάρια, λόγω της σχετικής αδυναμίας τους για αποκορεσμό ή επιμήκυνσή του (Grigorakis et al., 2002; Benedito-Palos et al., 2009). Ενδιαφέρον έχει η τάση μείωσης του EPA στα μεγαλύτερα ψάρια (Πίνακας 4.3.4), η οποία μπορεί να δηλώνει κάποιο είδος διατροφικής έλλειψης για τον εκτρεφόμενο κρانيό. Αυτή η υπόθεση βασίζεται στην σημαντική μείωση του EPA σε λαβράκι μετά από παρατεταμένη νηστεία (Delgado et al., 1994) και στο γεγονός ότι τα ω3 PUFA είναι απαραίτητα συστατικά των κυτταρικών μεμβρανών.

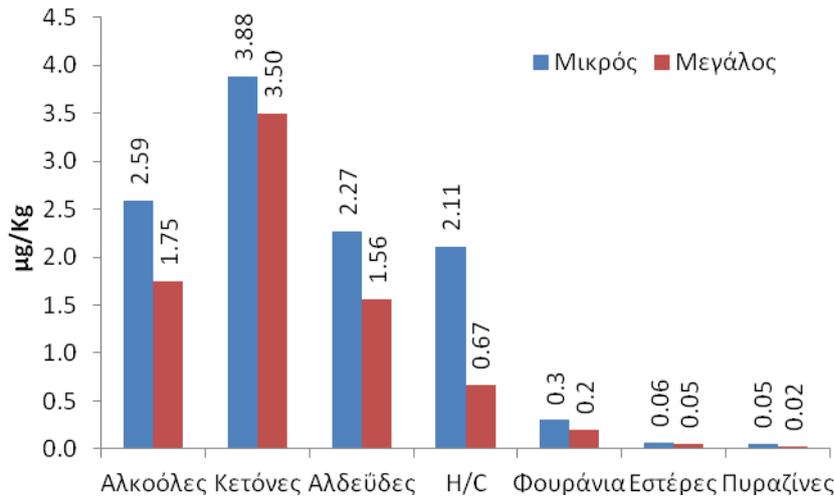
Δεν παρατηρήθηκαν διαφοροποιήσεις στις περιεκτικότητες (mg/100 mg) των αμινοξέων μεταξύ των δύο ομάδων (Πίνακας 4.3.5). Η απουσία διαφορών στο προφίλ των αμινοξέων υποδεικνύει ότι οι διαφορές στις πτητικές ενώσεις που καθορίζουν το άρωμα, άρα και την αποδοχή του μεγάλου και του μικρού κρانيού, οφείλονται κατά κύριο λόγο σε διαφορές στα λιπαρά τους.

Πίνακας 4.3.5: Αμινοξέα σε φιλέτα μικρών και μεγάλων κρانيών (mg/100mg). Μέσες τιμές ± τυπική απόκλιση (n=3).

| | | Μικρός | Μεγάλος |
|---------------|-----|-------------|-------------|
| Ιστιδίνη | His | 0,48 ± 0,02 | 0,46 ± 0,07 |
| Σερίνη | Ser | 0,88 ± 0,02 | 0,91 ± 0,07 |
| Αργινίνη | Arg | 1,29 ± 0,03 | 1,33 ± 0,07 |
| Γλυκίνη | Gly | 1,08 ± 0,03 | 1,09 ± 0,16 |
| Ασπαραγινικό | Asp | 2,17 ± 0,03 | 2,22 ± 0,08 |
| Γλουταμίνη | Glu | 3,19 ± 0,05 | 3,24 ± 0,08 |
| Θρεονίνη | Thr | 0,96 ± 0,03 | 0,97 ± 0,04 |
| Αλανίνη | Ala | 1,28 ± 0,02 | 1,27 ± 0,09 |
| Προλίνη | Pro | 0,74 ± 0,02 | 0,80 ± 0,07 |
| Κυστεΐνη | Cys | 0,11 ± 0,00 | 0,12 ± 0,01 |
| Λυσίνη | Lys | 1,92 ± 0,03 | 1,94 ± 0,06 |
| Τυροσίνη | Tyr | 0,70 ± 0,02 | 0,71 ± 0,02 |
| Μεθειονίνη | Met | 0,62 ± 0,02 | 0,63 ± 0,02 |
| Βαλλίνη | Val | 0,98 ± 0,03 | 1,00 ± 0,04 |
| Ισολευκίνη | Ile | 0,90 ± 0,02 | 0,91 ± 0,03 |
| Λευκίνη | Leu | 1,61 ± 0,04 | 1,62 ± 0,05 |
| Φαινυλαλανίνη | Phe | 0,81 ± 0,02 | 0,82 ± 0,03 |

Συνολικά, ταυτοποιήθηκαν 71 πτητικές ενώσεις στις δύο ομάδες κρανιού (Παράρτημα 1.3), οι οποίες συγκαταλέγονται μεταξύ εκείνων που ανιχνεύονται συνήθως σε φρέσκα θαλάσσια ψάρια (Josephson et al., 1984; Kawai, 1996). Οι πτητικές ενώσεις των κρανιών χαρακτηρίζονται από την παρουσία καρβονυλικών ενώσεων (12 αλδεϋδών και 6 κετονών) και αλκοολών (4 συνολικά), με την 2,3-βουτανοδιόνη, την 1-μεθοξυ-προπανόλη, την 3-μεθυλοβουτανάλη, και την 1-πεντεν-3-όλη να κυριαρχούν. Επιπλέον ταυτοποιήθηκαν, σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις, 20 υδρογονάνθρακες, 5 φουράνια και 8 εστέρες. Από τα δεδομένα του Παραρτήματος 1.3, προκύπτει ότι υπάρχουν μικρές διαφοροποιήσεις στα προφίλ των πτητικών ενώσεων των δύο ομάδων κρανιού.

Τα μικρότερα άτομα περιείχαν συνολικά περισσότερες πτητικές ενώσεις ($p < 0.01$) σε σύγκριση με τα μεγαλύτερα. Συγκεκριμένα περιείχαν περισσότερες αλδεϋδες ($p < 0.05$), φουράνια ($p < 0.05$), πυραζίνες ($p < 0.05$) και υδρογονάνθρακες ($p < 0.1$) (Σχήμα 4.3.1). Στη βιβλιογραφία υπάρχουν αντικρουόμενα αποτελέσματα σχετικά με την επίδραση των παρεχομένων σιτηρεσιών στο προφίλ των πτητικών ενώσεων ψαριών του ίδιου είδους. Σε κάποιες περιπτώσεις παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στα πτητικά συστατικά ψαριών του ίδιου είδους που τράφηκαν με διαφορετικά σιτηρέσια (Sérot et al., 2002; Turchini et al., 2004; Turchini et al., 2007), ενώ αντίθετα, σε άλλες εργασίες δεν παρατηρήθηκαν διαφοροποιήσεις (Grigorakis et al., 2009; Silva et al., 2012). Επί πλέον υπάρχουν ενδείξεις, ιδιαίτερα σε άγριους ιχθύς του γλυκού νερού, για την ύπαρξη εποχικών διαφοροποιήσεων στο προφίλ των πτητικών (Shi et al., 2012).



Σχήμα 4.3.1: Κυριότερες κατηγορίες πτητικών ενώσεων (µg/kg νωπού βάρους) που χαρακτηρίζουν τις δύο ομάδες κρانيού (Μικρό, Μεγάλο). Μέσες τιμές (n=3).

Στην παρούσα εργασία οι δύο ομάδες κρانيού διέφεραν ως προς το μέγεθος, ενώ το γενετικό υπόβαθρο, η τροφή, η εποχή εκτροφής και η φρεσκότητα τους ήταν πανομοιότυπες. Επιπλέον όλα τα ψάρια του πειράματος ήταν σεξουαλικά ανώριμα. Όλα αυτά αποτελούν ισχυρές ενδείξεις ότι οι πτητικές ενώσεις του κρانيού μπορεί να διαφοροποιούνται με το μέγεθος.

Από τη βιβλιογραφία είναι γνωστό ότι η πλειονότητα των καρβονυλικών ενώσεων και των αλκοολών που χαρακτηρίζουν τις πτητικές ενώσεις των ιχθύων και θαλασσιών προέρχονται κυρίως από τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (Josephson et al., 1984; Kawai, 1996). Επομένως, η μελέτη των συσχετίσεων των λιπαρών οξέων με τις πτητικές ενώσεις μπορεί να μας δώσουν κάποιες ενδείξεις σχετικά με την προέλευση των τελευταίων. Από τις συσχετίσεις που παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.3.6, φάνηκε ότι το λινελαϊκό οξύ (LA) συσχετίζεται αρνητικά με τις ολικές αλκοόλες (-0,835, $p < 0.05$) και τις αλδεΐδες (-0,855, $p < 0.05$, καθώς και με αρκετές αλκοόλες και καρβονυλικές ενώσεις (Πίνακας 4.3.6). Επίσης το λινελαϊκό οξύ παρουσιάζει θετική συσχέτιση με το δεκαεπτάνιο και το δεκαεννεάνιο. Είναι γνωστό από τη βιβλιογραφία ότι τα n-αλκάνια αποτελούν σημαντικό κλάσμα των πτητικών συστατικών των φρέσκων ψαριών χωρίς όμως να συνεισφέρουν σημαντικά στο άρωμά τους (Aro et al., 2002). Το αραχιδονικό οξύ (ARA) έχει θετική συσχέτιση με την 1-πεντεν-3-όλη, η οποία θεωρείται ότι προέρχεται από το EPA μέσω της 15-λιποξυγονάσης και της λυάσης (Kawai, 1996). Εν τούτοις στην παρούσα μελέτη δεν βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ της 1-πεντεν-3-όλης και του EPA. Αντίθετα το EPA συσχετίζεται θετικά με την πλειονότητα των 2-φουρανίων, όπως τα 2-αιθυλ-φουράνιο, 2-πεντυλ-φουράνιο, *trans*-2-(2-πεντενυλ)-φουράνιο, τα οποία έχουν σημαντική παρουσία στα πτητικά των φρέσκων ψαριών (Vetter et al., 2012; Vetter & Wendlinger, 2013). Οι συσχετίσεις αυτές

αποτελούν ισχυρές ενδείξεις ότι το συγκεκριμένο λιπαρό οξύ είναι πρόδρομη ένωση των 2-φουρανίων. Παρατηρήθηκαν επίσης ($p < 0,1$) θετική συσχέτιση του EPA με τη 2,3-πεντανοδιόνη και την εννεανάλη, και θετική συσχέτιση του DHA με τα διμεθυλο-δισουλφίδιο, 3-πεντανόλη, 2-εξανάλη, αιθυλοβενζόλιο και 2-επτανόνη.

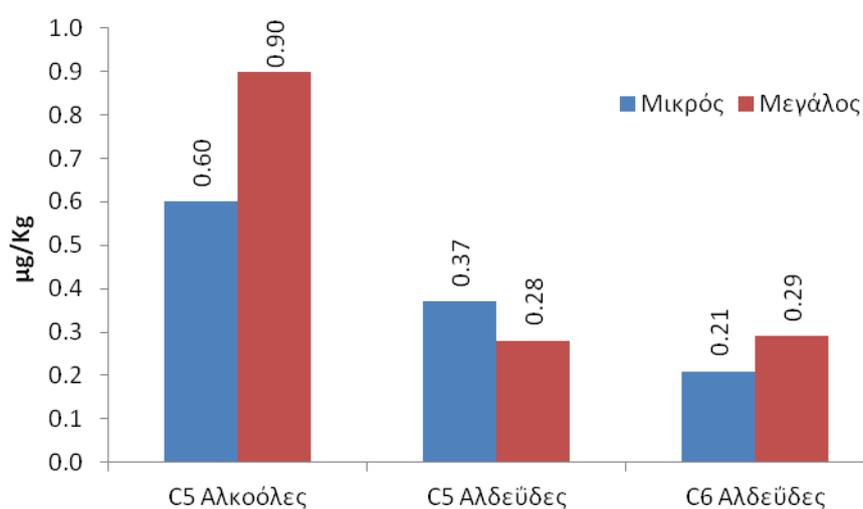
Πίνακας 4.3.6: Συσχετίσεις μεταξύ πτητικών ενώσεων και λιπαρών οξέων σε ιστούς κраниών διαφορετικού μεγέθους (†: $p < 0,1$; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$). Παρουσιάζονται μόνο οι στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις.

| | LA | ARA | EPA | DHA | $\omega 6$ | $\omega 3$ | Ολικά λιπίδια |
|---------------------------------------|----------|---------|----------|----------|------------|------------|---------------|
| Τετραϋδροφουράνιο | | | | 0,803† | | 0,826* | |
| <i>Trans</i> -2-βουτενάλη | -0,831* | | | | | | |
| 1-Πεντεν-3-όλη | | 0,828* | | | | | -0,818* |
| 1-Μεθόξυ-2-προπανόλη | -0,959** | | | | -0,913* | | |
| 2,3-Πεντανοδιόνη | -0,943† | | 0,769† | | -0,964** | | |
| Πεντανάλη | | -0,787† | | | | | 0,874* |
| 2-Αιθυλο-φουράνιο | | | 0,781† | | | | |
| Διμεθυλο-δισουλφίδιο | | | | 0,856* | | 0,893* | |
| <i>Cis</i> -2-πεντενάλη | -0,961** | | | | -0,867* | | |
| 1-(Μεθυλθειο)-προπάνιο | | | -0,935** | | | | |
| <i>Trans</i> -2-πεντεν-1-όλη | | | | | | | |
| 3-Πεντανόλη | | | | 0,865* | | 0,886* | |
| <i>Cis, cis</i> -3,5-οκταδιένιο | -0,910* | | | | -0,936** | | |
| Μεθυλοπυραζίνη | -0,904* | | | | -0,880* | | |
| 2-Εξενάλη | -0,861* | | | 0,813* | | 0,819* | |
| Αιθυλοβενζόλιο | | | | 0,846* | | 0,873* | |
| 2-Επτανόνη | | | | 0,957** | | 0,963** | |
| 1,3,5-Τριμεθυλοβενζόλιο | | | | -0,929** | | -0,921** | |
| Επτανάλη | | | | | | | 0,777† |
| 2-Πεντυλ φουράνιο | | | 0,919* | | -0,877* | | |
| <i>Trans</i> -2-(2-πεντενυλ)-φουράνιο | | -0,843* | 0,848* | | -0,736† | | |
| Οκτανάλη | -0,739† | | | | | | |
| <i>Trans, trans</i> -2,4-επταδιενάλη | -0,804† | | | | -0,791† | | |
| Εννεανάλη | | | 0,794† | | -0,805† | | |
| 4-Αιθυλο-βενζαλδεϋδη | | | | | | | 0,753† |
| Δεκατριάνιο | | | | | | | 0,852* |
| Δεκαεπτάνιο | 0,893* | | | | 0,965** | | |
| 2,6,10,14-Τετραμεθυλοδεκαπεντάνιο | | | | | | | 0,863* |
| Δεκαεννεάνιο | 0,928† | | | | 0,809† | | |
| Ελαιϊκό οξύ | | | | | | | 0,828* |

LA: λιγνελαιϊκό οξύ, ARA: αραχιδονικό οξύ, EPA: εικοσιπενταενοϊκό οξύ, DHA: εικοσιδυοεξαενοϊκό οξύ

Οι πυραζίνες, οι οποίες βρέθηκαν σχεδόν σε διπλάσιες συγκεντρώσεις στα πτητικά των μικρότερων κρανίων (Παράρτημα 1.3) δεν συσχετίζονται με κάποιο λιπαρό οξύ. Οι πυραζίνες φαίνεται ότι προέρχονται από υδατοδιαλυτές αζωτούχες ενώσεις και θεωρούνται ότι συμβάλλουν σε μεγάλο βαθμό στη γεύση των τροφίμων, λόγω του χαμηλότερου κατωφλίου ανίχνευσής τους (Mottram, 1998).

Το γεγονός ότι οι μεγαλύτεροι κρανιοί χαρακτηρίστηκαν από τους δοκιμαστές ότι είχαν πιο έντονη "γεύση ψαρίλας" σε σχέση με τα μικρότερα άτομα (Πίνακας 4.3.2), πιθανώς σχετίζεται με την ποσότητα των επιμέρους καρβονυλικών ενώσεων και φουρανίων που περιέχουν. Ιδιαίτερη σημασία για τον καθορισμό του αρώματος των ψαριών της παρούσας μελέτης έχει και το διαφορετικό προφίλ των C5 και C6 αλδευδών και αλκοολών στα πτητικά των δύο ομάδων κρανίου (Σχήμα 4.3.2) δεδομένου ότι οι ενώσεις αυτές έχουν χαμηλά κατώφλια ανίχνευσης και συνδέονται με θετικές νότες στο άρωμα των ψαριών. Η αυξημένη ποσότητα των C5 αλκοολών και C6 αλδευδών στα πτητικά των μεγαλύτερων κρανίων, πιθανόν να εξηγεί το πιο έντονο άρωμα ψαριού που καταγράφηκε από τους αξιολογητές στους μεγαλύτερους κρανιούς (Πίνακας 4.3.2).



Σχήμα 4.3.2: C5 και C6 αλδεΐδες και αλκοόλες που χαρακτηρίζουν τα δύο μεγέθη κρανίου (Μικρό, Μεγάλο). Μέσες τιμές (n=3).

4.3.4 Συμπεράσματα

Η ποιότητα του κρανιού φαίνεται να διαφοροποιείται με το μέγεθος. Υπάρχει μία διακριτή αλλαγή στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά ανάμεσα σε ψάρια που ζυγίζουν 800 g και 1,5 kg, με τα μεγαλύτερα άτομα να είναι ανώτερης ποιότητας σε σύγκριση με αυτά του μικρότερου μεγέθους. Ωστόσο, δεδομένου ότι η αποδοχή και των μικρών ιχθύων παρέμεινε σε υψηλά επίπεδα, δεν επιβεβαιώνεται η προκατάληψη που υπάρχει στην αγορά ότι οι μικρότερου μεγέθους κρανιοί δεν μπορούν να διατίθενται στο εμπόριο, λόγω της κατώτερης ποιότητάς τους. Δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στα κύρια συστατικά του φιλέτου και τα τεχνολογικά χαρακτηριστικά των δύο ομάδων κρανιών. Διαφορές παρατηρήθηκαν στη σύσταση των λιπαρών οξέων και στο προφίλ των πτητικών συστατικών τους.

Η οργανοληπτική εξέταση έδειξε ότι υπάρχει κάποια διαφοροποίηση της υφής με το μέγεθος, επομένως απαιτείται περαιτέρω έρευνα σχετικά με την επίδραση του μεγέθους στη δομή των μυών, η οποία θα δώσει χρήσιμες γνώσεις σχετικά με τη συνολική ποιότητα του κρανιού.

Επιπλέον, η εξέταση κρανιών με ακόμη μικρότερα μεγέθη από αυτά που μελετήθηκαν, θα βοηθήσει στον καθορισμό του ελάχιστου εμπορεύσιμου βάρους του ψαριού σε σχέση με την ικανοποιητική ποιότητα. Αυτό θα μπορούσε να διευκολύνει τη διεύρυνση τόσο του αριθμού των διαθέσιμων προϊόντων όσο και της αγοράς για το συγκεκριμένο είδος.

4.4 Επίδραση της αύξησης του σωματικού βάρους στην ποιότητα εκτρεφόμενων κρانيών (*Argyrosomus regius*)

4.4.1 Εισαγωγή

Η ποιότητα των ιχθύων εξαρτάται από ένα σύνολο παραμέτρων, που περιλαμβάνουν ενδογενείς παράγοντες, όπως το γενετικό υπόβαθρο, το μέγεθος, η ηλικία, το φύλο και το στάδιο της ανάπτυξης και εξωγενείς παράγοντες όπως η θερμοκρασία του νερού, η διατροφή, η σωματική δραστηριότητα του ψαριού και οι πηγές δημιουργίας στρες (Grigorakis, 2010).

Το μέγεθος είναι ένας από τους σημαντικότερους ενδογενείς παράγοντες που επηρεάζουν την ποιότητα των ιχθύων, καθώς με την αύξηση του σωματικού βάρους αποθηκεύεται λίπος που μεταβάλλει τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και τη διατροφική αξία τους (Grigorakis, 2010). Η αύξηση του μεγέθους των ψαριών επηρεάζει τη δομή του μυϊκού τους συστήματος ακόμα και σε κυτταρικό επίπεδο, με άμεση επίπτωση στα ποιοτικά του χαρακτηριστικά (Dunajski, 1979; Johnston, 1999). Επιπλέον οι εποχικές - περιβαλλοντικές μεταβολές κατά τη διάρκεια της σωματικής αύξησης, μπορούν να επηρεάσουν σε μεγάλο βαθμό την εναπόθεση λίπους και το προφίλ των λιπαρών οξέων (Cordier et al., 2002).

Στη βιβλιογραφία υπάρχουν μελέτες για τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του κρانيού, όπως η σύσταση σώματος, η ποιότητα του λίπους και το προφίλ των λιπαρών οξέων, καθώς και η σχέση της διατροφής των καλλιεργούμενων ψαριών με τη θρεπτική τους αξία (Poli et al., 2003; Grigorakis et al., 2011; Sinanoglou et al., 2013).

Στο κεφάλαιο 4.3 της παρούσας εργασίας παρουσιάστηκαν τα αποτελέσματα πειράματος για την επίδραση του μεγέθους στην σύσταση και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του κρانيού. Η καταγραφή των επιπτώσεων της αύξησης στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των εκτρεφόμενων κρانيών αποτέλεσε το αντικείμενο ενός δεύτερου πειράματος στο οποίο αξιολογήθηκαν ψάρια μεγέθους 200-860 g που βρίσκονται κοντά στα εμπορεύσιμα μεγέθη. Το εν λόγω πείραμα αναμένεται να δώσει μια καλύτερη εικόνα για το πώς διαφοροποιείται η ποιότητα των κρانيών με το μέγεθος σε σχέση με τις προτιμήσεις των καταναλωτών. Τέτοιες πληροφορίες είναι χρήσιμες για την προώθηση και το μάρκετινγκ του προϊόντος (Monfort, 2010). Μέχρι σήμερα δεν έχουν γίνει τέτοιες μελέτες, εκτός από μια πρόσφατη εργασία των García Mesa et al. (2014), οι οποίοι μελέτησαν την επίδραση της αύξησης στο προφίλ των λιπαρών οξέων σε κρانيούς μικρότερου μεγέθους (4,1-211,4 g).

4.4.2 Υλικά και μέθοδοι

4.4.2.1 Εκτροφή και δειγματοληψία των ψαριών

Για τις ανάγκες του πειράματος έγινε εκτροφή κρانيών σε ιχθυοκλωβούς στις ακτές της Θεσπρωτίας (όρμος Παγανιά, Lorida Sea farm S.A.). Τα ψάρια τράφηκαν με εμπορική τροφή (Aqualine, Feedus 5, που περιέχει 43,5% πρωτεΐνη και 10% λίπος) σε ποσότητες που καθορίζονται από την εταιρεία παραγωγής της τροφής. Κατά τη διάρκεια του πειράματος έγιναν τρεις δειγματοληψίες ψαριών με μέσο βάρος ίσο με 200 g (Δεκέμβριος 2011- Ομάδα Α), 350 g (Απρίλιος 2012 – Ομάδα Β) και 860 g (Αύγουστος 2012 – Ομάδα Γ).

Οι θερμοκρασίες του νερού κατά την εποχή των δειγματοληψιών ήταν 15,2°C (ομάδα Α), 17,6°C (ομάδα Β) και 23,2°C (ομάδα Γ). Η θανάτωση των ιχθύων πραγματοποιήθηκε με εμβάπτιση τους σε πάγο, συνήθη πρακτική στις Μεσογειακές ιχθυοκαλλιέργειες. Στη συνέχεια παρέμειναν σε πάγο και μεταφέρθηκαν αυθημερόν στο ΕΛΚΕΘΕ (Άγιος Κοσμάς), όπου πραγματοποιήθηκαν οι σωματομετρικές μετρήσεις και αποθηκεύτηκαν στους -80°C μέχρι την ανάλυσή τους.

4.4.2.2 Σωματομετρικά χαρακτηριστικά - σύσταση σώματος

Τα σωματομετρικά μεγέθη που μετρήθηκαν ήταν τα βάρη ολόκληρων και εκσπλαχνισμένων ψαριών, τα βάρη των σπλάχνων, των συκωτιών, των γονάδων και των φιλέτων. Αυτά χρησίμευσαν για τον υπολογισμό των βασικών σωματομετρικών δεικτών: edώδιμο μέρος, σπλαχνοσωματικός, ηπατοσωματικός και γοναδοσωματικός δείκτης και απόδοση σε φιλέτο, εκφρασμένα ως ποσοστά του συνολικού σωματικού βάρους των ψαριών. Επιπρόσθετα, προσδιορίστηκε η σύσταση των φιλέτων των κρانيών από τις τρεις δειγματοληψίες, δηλαδή προσδιορίστηκαν σε αυτά η υγρασία, η τέφρα, οι πρωτεΐνες και το λίπος (Πίνακας 4.4.1) σύμφωνα με τις επίσημες μεθόδους (AOAC, 2005).

4.4.2.3 Προσδιορισμός λιπαρών οξέων - Πτητικών συστατικών

Τα λιπαρά οξέα προσδιορίστηκαν όπως περιγράφεται στην παράγραφο 3.2 ενώ η ανάλυση των πτητικών συστατικών πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο που περιγράφεται στην παράγραφο 3.6. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων δίνονται στους Πίνακες 4.4.2 και στο Παράρτημα 1.4, αντίστοιχα.

4.4.2.4 Στατιστική ανάλυση

Οι διαφορές στις παραμέτρους ποιότητας μεταξύ των κρανίων από τις τρεις ομάδες αξιολογήθηκαν με ANOVA (One Way Analysis of Variance) με επίπεδο εμπιστοσύνης 5%. Η στατιστική επεξεργασία έγινε με χρήση του προγράμματος SPSS 13.0.

4.4.3 Αποτελέσματα – Συζήτηση

Τα βάρη και τα σωματομετρικά χαρακτηριστικά των τριών ομάδων κρανίων δίνονται στον Πίνακα 4.4.1. Στο παρόν πείραμα βρέθηκαν χαμηλότερα ποσοστά εδώδιμου τμήματος από αυτά που αναφέρουν οι Martelli et al. (2013) καθώς και στο πείραμα κρανίων διαφορετικού μεγέθους της παρούσας εργασίας (Πείραμα 4.3), ήταν όμως παρόμοια με αυτά που αναφέρουν οι Grigorakis et al. (2011). Αυτές οι διαφοροποιήσεις μπορούν να αποδοθούν σε διαφορές στα βάρη των σπλάχνων στις προαναφερθείσες μελέτες. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφοροποιήσεις μεταξύ των 3 ομάδων, γεγονός που επιβεβαιώνει ότι το ποσοστό που αντιπροσωπεύει το εδώδιμο τμήμα δεν επηρεάζεται από την ανάπτυξη των ψαριών, τουλάχιστον στο εύρος βαρών των κρανίων του πειράματος.

Πίνακας 4.4.1: Σωματομετρικά χαρακτηριστικά (n=10) των τριών ομάδων εκτρεφόμενων κρανίων και σύσταση φιλέτου (% νωπού βάρους, n=9). Μέσες τιμές ± τυπική απόκλιση. Διαφορετικά γράμματα στην ίδια γραμμή υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων ($p < 0.05$)

| | Ομάδα Α | Ομάδα Β | Ομάδα Γ |
|------------------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|
| Βάρος (g) | 200,9 ± 7,78 ^a | 354,2 ± 48,3 ^b | 861,5 ± 120,1 ^c |
| Εδώδιμο τμήμα (% του βάρους) | 87,45 ± 0,91 | 88,93 ± 0,56 | 88,11 ± 1,21 |
| Περισπλαχνικό λίπος (% του βάρους) | 1,64 ± 0,35 ^b | 1,36 ± 0,33 ^b | 0,38 ± 0,03 ^a |
| Ηπατοσωματικός δείκτης (HSI) | 1,85 ± 0,50 ^b | 1,35 ± 0,33 ^{ab} | 1,27 ± 0,27 ^a |
| Γοναδοσωματικός δείκτης (GSI) | N/A | 0,77 ± 0,21 | 0,30 ± 0,03 |
| Φιλέτο (% του βάρους) | 40,1 ± 4,43 ^b | 38,1 ± 2,78 ^{ab} | 35,7 ± 3,16 |
| Υγρασία | 79,5 ± 5,8 ^a | 78,5 ± 0,5 ^a | 79,9 ± 1,5 ^b |
| Λίπος | 1,25 ± 0,60 ^{ab} | 1,38 ± 1,00 ^b | 1,19 ± 0,80 ^a |
| Πρωτεΐνη | 17,60 ± 1,50 | 18,10 ± 0,80 | 18,40 ± 0,90 |
| Τέφρα | 1,32 ± 0,03 | 1,38 ± 0,01 | 1,35 ± 0,02 |

N/A: Μη εφαρμόσιμο

Ο γοναδοσωματικός δείκτης (GSI) ήταν σε όλες τις περιπτώσεις χαρακτηριστικός ανώριμων σεξουαλικά ψαριών (Schianone et al., 2012).

Ο ηπατοσωματικός δείκτης (HSI) κυμάνθηκε από 1,27 μέχρι 1,85 παραμένοντας ανάμεσα στις τιμές 0,9-2,12 που έχουν αναφερθεί στη βιβλιογραφία για το είδος αυτό (Mittakos et al., 2012; Martelli et al., 2013), καθώς και στο πείραμα εκτρεφόμενων κρανίων διαφορετικού

μεγέθους της παρούσας διατριβής (Πείραμα 4.3). Αξίζει να σημειωθεί ότι ο ηπατοσωματικός δείκτης μειώθηκε με την ανάπτυξη των ψαριών (Πίνακας 4.4.1).

Η απόδοση του φιλέτου ήταν χαμηλότερη σε σύγκριση με προηγούμενες αναφορές (Hernández et al., 2009; Grigorakis et al., 2011; Martelli et al., 2013), αλλά υψηλότερη από το πείραμα εκτρεφόμενων κρανιών διαφορετικού μεγέθους (Πείραμα 4.3) της παρούσας εργασίας. Μια σημαντική παρατήρηση είναι ότι η απόδοση του φιλέτου μειώνεται σταδιακά με την αύξηση του βάρους των κρανιών. Το εύρημα αυτό είναι σε συμφωνία με την τάση ($p < 0,1$) για μικρότερη αναλογία φιλέτου στα μεγαλύτερα ψάρια που παρατηρήθηκε και στο πείραμα καλλιεργημένων κρανιών διαφορετικού μεγέθους (Πείραμα 4.3) και έρχεται σε αντίθεση με τη θετική συσχέτιση μεταξύ της αναλογίας του φιλέτου και του σωματικού βάρους που αναφέρεται από τους Martelli et al (2013).

Η παρατηρούμενη μείωση του ηπατοσωματικού δείκτη (HSI) και της απόδοσης του φιλέτου όσο αναπτύσσονται οι κρανιοί θα μπορούσε να αποτελεί ένδειξη κάποιου είδους υποσιτισμού των ψαριών. Αυτή η υπόθεση βασίζεται (α) στο ότι το ήπαρ αποτελεί ενεργειακή αποθήκη και ο ηπατοσωματικός δείκτης αυξάνεται σταδιακά όταν τα ψάρια καλύπτουν τις ενεργειακές τους ανάγκες και αποθηκεύουν λίπος στο ήπαρ και (β) στο ότι -ως γενικότερος κανόνας- η απόδοση του φιλέτου των ψαριών αυξάνει με το μέγεθός τους (Grigorakis, 2010). Ο πιθανός υποσιτισμός δεν μπορεί να αποκλεισθεί, δεδομένου ότι δεν έχουν ακόμη καθοριστεί οι διατροφικές απαιτήσεις για το συγκεκριμένου είδος και δεν αποκλείεται μελλοντικά να υπάρξει βελτίωση της απόδοσης του φιλέτου ως αποτέλεσμα της διαμόρφωσης καταλληλότερων τροφών για την καλλιέργεια του κρανιού (Piccolo et al., 2008). Ωστόσο, η υπόθεση του υποσιτισμού δε μπορεί να επιβεβαιωθεί εάν δεν υπάρξουν περαιτέρω μελέτες, καθώς η παρατηρούμενη μείωση της απόδοσης του φιλέτου θα μπορούσε να αποδοθεί και σε ιδιαιτερότητα του είδους.

Η απόδοση του φιλέτου μπορεί να επηρεαστεί από την αλλομετρική ανάπτυξη και την αλληλεπίδραση μεταξύ γονότυπου και περιβαλλοντικών συνθηκών, όπως η θερμοκρασία και η αναλογία σίτισης (Árnason et al., 2009; Saillant et al 2009; Hurtado-Rodríguez et al., 2010). Μελέτη της αλλομετρίας (allometry) του είδους, που θα περιλάβει την παράλληλη καταγραφή της αύξησης του μυϊκού συστήματος και του κεφαλιού, το οποίο αντιπροσωπεύει την μεγαλύτερη απώλεια κατά τη φιλετοποίηση του κρανιού, ίσως βοηθήσει στην εξαγωγή σαφέστερων συμπερασμάτων.

Σε όλες τις φάσεις αύξησης τα φιλέτα του κρανιού περιείχαν χαμηλές ποσότητες λίπους, 1,19-1,38% νωπού βάρους (Πίνακας 4.4.1), τιμές εντός του εύρους 0,73 - 2,93% νωπού βάρους της βιβλιογραφίας (Poli et al., 2003; Hernández et al., 2009; Grigorakis et al., 2011; Mittakos et al., 2012; Nevigato et al., 2012; Martelli et al., 2013; Sinanoglou, et al., 2013; García Mesa et al.,

2014). Παρατηρήθηκε μια τάση μείωσης του λίπους των φιλέτων με την αύξηση του βάρους των κρανίων, σε συμφωνία με πρόσφατα δεδομένα (García Mesa et al., 2014).

Τα ποσοστά των λιπαρών οξέων στα φιλέτα του κρανίου (Πίνακας 4.4.2) συμφωνούν σε γενικές γραμμές με τα τυπικά προφίλ που έχουν μέχρι τώρα αναφερθεί για το συγκεκριμένο είδος, με το παλμιτικό οξύ (16:0) και το ελαϊκό οξύ (18:1ω9) να επικρατούν μεταξύ των κορεσμένων και μονοακόρεστων λιπαρών οξέων, αντίστοιχα (Poli et al., 2003; Piccolo et al., 2008; Grigorakis et al., 2011; Sinanoglou et al., 2013; García Mesa et al., 2014). Τα μεγαλύτερα σε μέγεθος ψάρια (ομάδα Γ) περιείχαν σημαντικά υψηλότερα ποσοστά, 16:4ω3, αραχιδονικού οξέος (ARA, 20:4ω6), 22:6ω3 (DHA) και ολικών ω3 λιπαρών οξέων, σε σύγκριση με τις άλλες ομάδες. Αντίθετα το εικοσιπενταενοϊκό (EPA, 20:5ω3) δεν φάνηκε να επηρεάζεται από την αύξηση του σωματικού βάρους, ενώ τα μεγαλύτερα άτομα της ομάδας Γ περιείχαν λιγότερο ελαϊκό οξύ (18:1ω9) και λινελαϊκό οξύ (18:2ω6).

Πίνακας 4.4.2: Λιπαρά οξέα στην τροφή και σε φιλέτα από τις τρεις ομάδες εκτρεφόμενων κρανίων (% του συνόλου των λιπαρών οξέων). Μέσες τιμές ± τυπική απόκλιση (n=3). Διαφορετικά γράμματα στην ίδια γραμμή υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων (p < 0.05)

| Λιπαρό οξύ | Τροφή | Ομάδα Α | Ομάδα Β | Ομάδα Γ |
|--------------|-------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 14:0 | 3,77 | 2,15 ± 0,53 | 1,94 ± 0,44 | 1,75 ± 0,13 |
| 16:0 | 15,4 | 16,52 ± 1,13 | 15,99 ± 0,52 | 14,96 ± 0,05 |
| 16:1ω7 | 4,27 | 2,86 ± 0,57 | 2,74 ± 0,48 | 2,13 ± 0,18 |
| 16:3ω3 | 0,42 | | | |
| 16:4ω3 | 0,61 | 0,39 ± 0,12 ^a | 0,44 ± 0,09 ^a | 0,63 ± 0,04 ^b |
| 18:0 | 3,45 | 7,51 ± 0,85 | 7,99 ± 0,93 | 8,92 ± 0,30 |
| 18:1ω9 | 22,3 | 20,74 ± 2,13 ^b | 19,58 ± 1,99 ^b | 17,31 ± 0,62 ^a |
| 18:1ω7 | 2,57 | 2,31 ± 0,03 | 2,23 ± 0,00 | 2,24 ± 0,06 |
| 18:2ω6 (LA) | 13,9 | 16,32 ± 0,11 ^b | 16,13 ± 0,04 ^b | 14,14 ± 0,14 ^a |
| 18:3ω3 | 3,10 | 1,63 ± 0,13 ^b | 1,54 ± 0,13 ^b | 1,00 ± 0,11 ^a |
| 18:4ω3 | 1,36 | 0,35 ± 0,04 | 0,33 ± 0,06 | 0,22 ± 0,00 |
| 20:1ω9 | 3,52 | 2,60 ± 0,43 | 2,53 ± 0,52 | 2,49 ± 0,16 |
| 20:2ω9 | 0,50 | | | |
| 20:4ω6 (ARA) | 0,61 | 1,73 ± 0,45 ^a | 1,80 ± 0,33 ^a | 2,42 ± 0,16 ^b |
| 20:4ω3 | 0,81 | 0,48 ± 0,02 | 0,45 ± 0,00 | 0,40 ± 0,01 |
| 20:5ω3 (EPA) | 7,50 | 4,12 ± 0,69 | 4,32 ± 0,50 | 4,06 ± 0,08 |
| 22:0 | 0,32 | | | |
| 22:1ω11 | | 2,01 ± 0,51 | 2,01 ± 0,64 | 1,81 ± 0,16 |
| 22:5ω3 | 1,88 | 2,13 ± 0,20 ^a | 2,26 ± 0,13 ^{ab} | 2,42 ± 0,02 ^b |
| 22:6ω3 (DHA) | 10,3 | 16,19 ± 3,32 ^a | 17,77 ± 2,79 ^a | 23,14 ± 0,99 ^b |
| 24:1ω9 | 0,55 | | | |
| Κορεσμένα | 25,8 | 26,18 ± 0,81 | 25,92 ± 0,03 | 25,62 ± 0,22 |
| Μονοακόρεστα | 33,2 | 30,51 ± 3,66 | 29,08 ± 3,63 | 25,97 ± 1,19 |
| ω9 | 31,1 | 22,75 ± 2,64 ^b | 21,58 ± 2,63 ^b | 19,12 ± 0,78 ^a |
| ω6 | 14,6 | 18,05 ± 0,33 ^b | 17,93 ± 0,36 ^b | 16,56 ± 0,01 ^a |
| ω3 | 26,0 | 25,27 ± 4,13 ^a | 27,09 ± 3,32 ^a | 31,85 ± 0,98 ^b |

Η αύξηση των ποσοστών του αραχιδονικού οξέως (20:4ω6) παράλληλα με την αύξηση του μεγέθους των κρανίων (Πίνακας 4.4.2) παρατηρήθηκε και στο πείραμα εκτροφής κρανίων διαφορετικού μεγέθους της παρούσας διατριβής (Πείραμα 4.3). Θα πρέπει να σημειωθεί εδώ ότι, αν και τα περισσότερα θαλάσσια ψάρια έχουν περιορισμένη δυνατότητα επιμήκυνσης και αποκορεσμού του 18:2ω6 προς σχηματισμό του 20:4ω6 (Tocher, 2003), η παρατηρούμενη θετική συσχέτιση του βάρους του κρανίου με την περιεκτικότητα αραχιδονικού στα λιπίδιά του, υποδεικνύει ότι το είδος αυτό μπορεί να έχει σε κάποιο βαθμό την ικανότητα πραγματοποίησης αυτής της βιομετατροπής.

Σε πειράματα εκτροφής τσιπούρας με διάφορα σιτηρέσια φυτικής προέλευσης (συνεπώς τροφές με μειωμένα ποσοστά DHA και EPA), έχει αναφερθεί ότι το DHA και το ARA διατηρούνται επιλεκτικά στους ιστούς των ψαριών (Menoyo et al., 2004; Izquierdo et al., 2005; Fountoulaki et al., 2009). Στα πειράματα της παρούσας διατριβής το ARA και το DHA βρέθηκαν σε υψηλότερα επίπεδα στους ιστούς των κρανίων από ότι στην τροφή που κατανάλωσαν. Αυτό, σε συνδυασμό με το ότι τα συγκεκριμένα λιπαρά οξέα ενσωματώνονται κυρίως στο πολικό κλάσμα των λιπιδίων του κρανίου (Grigorakis et al., 2011) καταδεικνύει το σημαντικό ρόλο των DHA και ARA στις κυτταρικές λειτουργίες του κρανίου.

Σε πειράματα εκτροφής κρανίου, τα επίπεδα του EPA στους ιστούς βρέθηκαν σημαντικά χαμηλότερα και ανεξάρτητα από τα επίπεδά του στην παρεχόμενη τροφή (Piccolo et al., 2008; Grigorakis et al., 2011). Η παρατήρηση αυτή, καθώς και η σταθερότητα των ποσοστών του EPA στους ιστούς των 3 ομάδων κρανίου (Πίνακας 4.4.2) οδηγεί στο συμπέρασμα ότι το συγκεκριμένο λιπαρό οξύ δεν μπορεί να δημιουργηθεί με επιμήκυνση αλλά ότι προσλαμβάνεται αυτούσιο από την τροφή και διατηρείται στον οργανισμό σε συγκεκριμένα επίπεδα λόγω του σημαντικού βιολογικού του ρόλου.

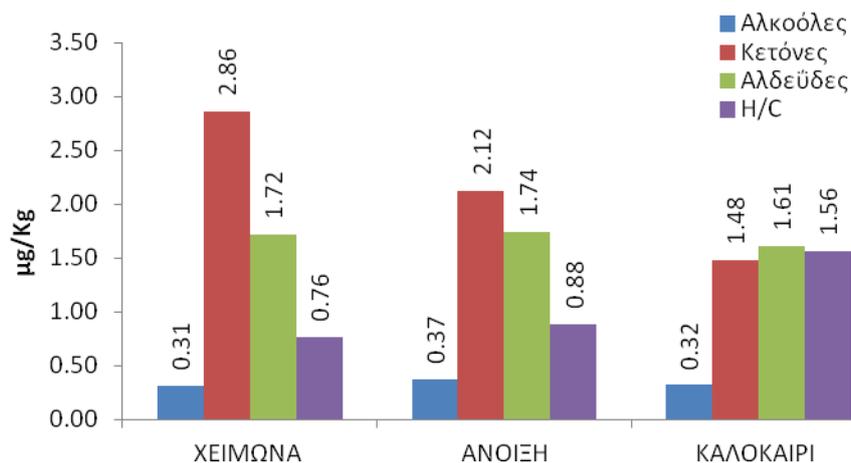
Το λινελαϊκό οξύ (18:2ω6), έχει κυρίως φυτική προέλευση και μεταφέρεται στους ιστούς των ψαριών μέσω της διατροφής τους, όπως έχει καταδειχθεί σε πειράματα εκτροφής διαφόρων μεσογειακών ειδών, συμπεριλαμβανομένου και του κρανίου (Grigorakis, 2007; Piccolo et al., 2008; Grigorakis et al., 2011). Η συσσώρευση του λινελαϊκού και του ελαϊκού οξέος σε ιστούς εκτρεφόμενων κρανίων επιβεβαιώθηκαν σε προηγούμενο πείραμα της παρούσας διατριβής (Πείραμα 4.3) καθώς και σε πρόσφατη εργασία των García Mesa et al. (2014). Ωστόσο, σε αντίθεση με τα μέχρι τώρα δεδομένα, παρατηρήθηκαν χαμηλότερα επίπεδα λινελαϊκού και ελαϊκού στην ομάδα με τους μεγαλύτερου μεγέθους κρανιούς (ομάδα Γ). Δεδομένου ότι στα πλαίσια του παρόντος πειράματος είναι δύσκολο να εντοπισθούν τυχόν εποχικές επιδράσεις στην ανάπτυξη των ψαριών, και η εποχικότητα αναπόφευκτα επηρεάζει, οι προαναφερθείσες διαφοροποιήσεις, δηλαδή η σημαντική εξάντληση του λινελαϊκού και του

ελαϊκού οξέος στα μεγαλύτερου μεγέθους ψάρια (καλοκαίρι) μπορεί να υποδεικνύει ορισμένες εποχικές αλλαγές στο μεταβολισμό των κρانيών.

Αλλαγές παρατηρήθηκαν και στις πτητικές ενώσεις των τριών ομάδων κρانيού. Συνολικά, ταυτοποιήθηκαν 84 πτητικές ενώσεις (Παράρτημα 1.4), οι οποίες χαρακτηρίζονται από την παρουσία καρβονυλικών ενώσεων (21 αλδεϋδών και 9 κετονών συνολικά) και αλκοολών (3 συνολικά) με τις 2,3-βουτανοδιόνη, 3-μεθυλ-βουτανάλη και 1-πεντεν-3-όλη να κυριαρχούν. Επιπλέον, ανιχνεύθηκαν σε χαμηλότερες ποσότητες 24 υδρογονάνθρακες, 5 φουράνια και 9 εστέρες. Οι ενώσεις που ταυτοποιήθηκαν (Παράρτημα 1.4) συγκαταλέγονται μεταξύ εκείνων που συναντώνται συνήθως σε φρέσκους θαλασσινούς ιχθύς (Josephson et al., 1984; Kawai, 1996).

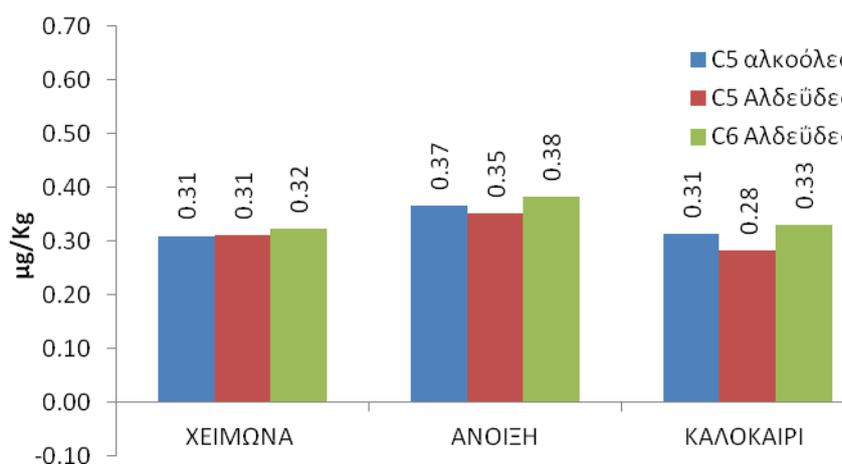
Οι μεγαλύτερου μεγέθους κρانيοί (ομάδα Γ) περιείχαν υψηλότερες συγκεντρώσεις υδρογονανθράκων (Σχήμα 4.4.1) και συγκεκριμένα δεκαεπτάνιο και πριστάνιο (2,6,10,14-τετραμεθυλ-δεκαπεντάνιο). Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται σε αντίθεση με τα ευρήματα του πειράματος 4.3. της παρούσας διατριβής, στο οποίο οι μεγαλύτερου μεγέθους κρانيοί περιείχαν μικρότερες ποσότητες υδρογονανθράκων. Να τονισθεί στο σημείο αυτό ότι οι κορεσμένοι υδρογονάνθρακες είναι παράγωγα των λιπιδίων και έχουν πολύ υψηλά κατώφλια ανίχνευσης (Kolanowski et al., 2007), με μικρή συνεισφορά στο τελικό άρωμα του ψαριού.

Τα μεγαλύτερα άτομα (ομάδα Γ) περιείχαν μικρότερες συγκεντρώσεις καρβονυλικών ενώσεων (Σχήμα 4.4.1) και συγκεκριμένα σημαντικά χαμηλότερες ποσότητες 3-υδροξυ-2-βουτανόνης (ένωση που δίνει ευχάριστο άρωμα στο βούτυρο σύμφωνα με τους Dirinck et al., (1997) και 2,3-βουτανοδιόνης (ένωση που σχετίζεται με το άρωμα του βουτύρου), αλλά υψηλότερες συγκεντρώσεις διαιθυλκαρβαμοδιθειοϊκού οξέος και 1-θειοφαινυλοκαρβοξαλδεΐδης (1-thiophene-carboxaldehyde) (Παράρτημα 1.4). Οι καρβονυλικές ενώσεις είναι προϊόντα των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFAs) και συγκεκριμένα των EPA, DHA και ARA, έχουν χαμηλά κατώφλια ανίχνευσης και επηρεάζουν σημαντικά το άρωμα των ιχθύων (Kawai, 1996).



Σχήμα 4.4.1: Κυριότερες κατηγορίες πτητικών ουσιών (µg/kg νωπού βάρους) σε κρανιούς διαφορετικού μεγέθους (Ομάδα Α: Χειμώνας, Ομάδα Β: Άνοιξη, Ομάδα Γ: Καλοκαίρι). Μέσες τιμές (n=3).

Οι αλδεΐδες και οι αλκοόλες παράγονται μέσω της οξείδωσης των PUFAs κυρίως από την λιποξυγονάση, έχουν τα χαμηλότερα κατώφλια ανίχνευσης ανάμεσα στα πτητικά συστατικά και προσδίδουν τα ευχάριστα, ελαφρά αρώματα των φρέσκων ιχθύων και θαλασσινών. Οι κατανομές των αλδεϋδών και αλκοολών με 5 ή 6 άτομα άνθρακα παρουσιάζονται στο Σχήμα 4.4.2. Από τις καρβονυλικές ενώσεις με 7, 8 ή 9 άτομα άνθρακα απαντώνται σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις οι οκτανάλη, εννεανάλη, 4-επτανάλη και 2,4-επταδιενάλη (E,E), ενώ δεν ανιχνεύτηκαν αλκοόλες με 6 άτομα άνθρακα. Από τα δεδομένα του Σχήματος 4.4.2 και του Παραρτήματος 1.4, φαίνεται μια τάση μείωσης αυτών των ενώσεων στα μεγαλύτερα ψάρια της ομάδας Γ (Καλοκαίρι), επιβεβαιώνοντας την επίδραση του μεγέθους στην ένταση αρώματος-οσμής (σε αντιστοιχία με την εποχική διαφοροποίηση).



Σχήμα 4.4.2: C5 και C6 αλδεΐδες και C5 αλκοόλες (συνδέονται με θετικές νότες, green notes) που χαρακτηρίζουν τις τρεις ομάδες κρανιών διαφορετικού μεγέθους (Ομάδα Α: Χειμώνας, Ομάδα Β: Άνοιξη, Ομάδα Γ: Καλοκαίρι). Μέσες τιμές (n=3).

Στην παρούσα μελέτη η λιποπεριεκτικότητα και οι καρβονυλικές ενώσεις βρέθηκαν μειωμένες στους κρανιούς της ομάδας Γ (καλοκαίρι) (Πίνακας 4.4.1 και Παράρτημα 1.4), σε συμφωνία με τα ευρήματα του πειράματος 4.3, που περιέλαβε σύγκριση δύο μεγεθών κρανιού, καταδεικνύοντας απώλεια αυτών των ενώσεων καθώς τα άτομα αυξάνουν σε σωματικό βάρος.

Μια σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε στην φουρφουράλη που βρέθηκε σε υψηλότερες συγκεντρώσεις στους κρανιούς της ομάδας Α σε σχέση με τα μεγαλύτερα ψάρια (ομάδα Γ), κάτι που είναι σε συμφωνία με τα ευρήματα του πειράματος 4.3. Η φουρφουράλη είναι προϊόν της αντίδρασης Maillard (Yu et al., 2013) και έχει αναφερθεί ότι παράγεται κατά τη θερμική επεξεργασία τροφίμων όπως το μέλι (Foo Wong et al., 2012; Rivellino et al., 2013), ο καφές (Petisca et al., 2013), το μπέικον (Yu et al., 2008) και τα φυτικά έλαια (Foo Wong et al., 2012). Οι συστηματικά παρατηρούμενες διαφορές στα επίπεδα φουρφουράλης μεταξύ κρανιών μεγαλύτερου και μικρότερου μεγέθους, αντανακλούν κάποια επίδραση του μεγέθους των κρανιών στη συγκεκριμένη πτητική ουσία.

Η μείωση διαφόρων πτητικών ενώσεων που προσδίδουν άρωμα στους ιχθύες, όπως οι καρβονυλικές ενώσεις και η φουρφουράλη, όσο αυξάνεται το βάρος των κρανιών, είναι μια ένδειξη ότι τα μεγαλύτερα ψάρια έχουν μικρότερη ένταση αρώματος-οσμής, κάτι που έχει επίσης αναφερθεί από τους Gonçaves et al. (2011). Πάντως η υπόθεση της διαφοροποίησης της έντασης αρώματος-οσμής με το μέγεθος του κρανιού δεν μπορεί να επιβεβαιωθεί μέχρι να πραγματοποιηθεί περιγραφική οργανοληπτική ανάλυση (descriptive sensory analysis).

4.4.4 Συμπεράσματα

Τα συμπεράσματα που προκύπτουν από τη μελέτη της αύξησης σωματικού βάρους των εκτρεφομένων κρανιών συνοψίζονται ως εξής:

Σε σχέση με τα τεχνολογικά χαρακτηριστικά ποιότητας, το ποσοστό του εδώδιμου τμήματος παρέμεινε ανεπηρέαστο, όμως η απόδοση του φιλέτου βρέθηκε ότι μειώνεται με την ανάπτυξη του κρανιού. Μείωση παρατηρήθηκε και στον ηπατοσωματικό δείκτη (HSI) με την αύξηση του μεγέθους των κρανιών, ενώ η περιεκτικότητα σε λίπος κυμάνθηκε στα χαμηλά επίπεδα που είναι χαρακτηριστικά για το είδος.

Τα λιπίδια των μεγαλύτερων ατόμων περιείχαν σημαντικά περισσότερα 16:4ω3, ARA (20:4ω6), DHA (22:6ω3) και συνολικά ω3, αλλά χαμηλότερες ποσότητες λινελαϊκού (LA, 18:2ω6) και ελαϊκού οξέος (18:1ω9) σε σύγκριση με τα μικρότερου μεγέθους ψάρια.

Διαφορές παρατηρήθηκαν και στα προφίλ των πτητικών ενώσεων του κρανιού, με τα μεγαλύτερου μεγέθους άτομα να περιέχουν μεγαλύτερες ποσότητες υδρογονανθράκων και μικρότερες ποσότητες καρβονυλικών ενώσεων (αλδεΐδες, κετόνες).

4.5 Εποχική διαφοροποίηση της ποιότητας εκτρεφόμενων φαγκριών (*Red porgy, Pagrus pagrus, Linnaeus 1758*)

4.5.1 Εισαγωγή

Η εποχικότητα αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους παράγοντες που καθορίζουν την ποιότητα των άγριων ιχθύων. Εποχικές μεταβολές στη διαθεσιμότητα της τροφής επηρεάζουν την εναπόθεση λίπους και τη σύσταση των λιπαρών οξέων (Zlatanov & Laskaridis, 2007; Ozogul et al., 2011; Aydin et al., 2013), ενώ επιπρόσθετα, μεταβολές της θερμοκρασίας και διαδικασίες όπως η μετανάστευση και η σεξουαλική ωρίμανση των ιχθύων (Love, 1997; Roncarati et al., 2012) προκαλούν αλλαγές στο μεταβολισμό και επηρεάζουν τη σύσταση και την ποιότητα. Εποχικότητα στην ποιότητα του τελικού προϊόντος παρατηρείται ακόμη και στις ιχθυοκαλλιέργειες, όπου οι ιχθύες τρέφονται κατά βούληση με τροφές καθορισμένης σύστασης σε όλο τον κύκλο παραγωγής. Οι εποχικές μεταβολές της λιποπεριεκτικότητας εκτρεφόμενων ιχθύων έχουν συσχετιστεί με τη μείωση του μεταβολισμού όταν μειώνεται η θερμοκρασία του νερού (Grigorakis, 2010) ή με ορισμένους περιορισμούς σίτισης (Hurtado-Rodriguez et al., 2010). Σε εκτρεφόμενες τσιπούρες και λαυράκια της Μεσογείου έχουν αναφερθεί εποχικές μεταβολές στο περιεχόμενο λίπος και τα λιπαρά οξέα (Grigorakis et al., 2002; Hurtado-Rodriguez et al., 2010) καθώς και στην εξέλιξη της μεταθανάτιας αλλοίωσης (Grigorakis et al., 2003a, 2004).

Το φαγκρί είναι σημαντικό υποψήφιο είδος για τον εμπλουτισμό των μεσογειακών ιχθυοκαλλιεργειών, ικανοποιώντας αρκετά κριτήρια για εντατική υδατοκαλλιέργεια όπως η υψηλή εμπορική αξία, οι ικανοποιητικοί ρυθμοί ανάπτυξης (Doxa et al., 2011; Loukas et al., 2010; Garcia et al., 2010; Mylonas et al., 2004), η γεωγραφικά ευρεία ζήτησή του (ιδιαίτερα από καταναλωτές της Μεσογείου και του Ατλαντικού) (Doxa et al., 2011; Loukas et al., 2010; Garcia et al., 2010; Miniadis-Meimaroglou et al., 2007; Mylonas et al., 2004), η υψηλή ποιότητα του φιλέτου (Kalinowski et al., 2005), η προσαρμοστικότητά του σε μεγάλες ιχθυοπυκνότητες (με αποτέλεσμα μειωμένο κόστος παραγωγής) (Loukas et al., 2010), η εύκολη ωτοκία σε αιχμαλωσία και η απουσία σοβαρών προβλημάτων ασθενειών και θνησιμότητας (Kalinowski et al., 2005). Τα χαρακτηριστικά αυτά, σε συνδυασμό με τις περιορισμένες ποσότητες αλιευμένων άγριων φαγκριών, εξαιτίας των βαθών στα οποία ζει και της περιορισμένης γεωγραφικής του εξάπλωσης (Miniadis-Meimaroglou et al., 2007), και την αυξημένη ζήτηση, κάνουν το είδος αυτό έναν πολύτιμο υποψήφιο για υδατοκαλλιέργεια.

Η επίδραση της εποχικότητας στην ποιότητα εκτρεφόμενων φαγκριών στις τέσσερις εποχές του χρόνου εξετάστηκε στα πλαίσια της παρούσας διατριβής. Τέτοιου είδους μελέτες δεν

έχουν γίνει ακόμη για το συγκεκριμένο είδος. Οι μελέτες που έχουν γίνει μέχρι σήμερα είναι κυρίως ποιοτικές και περιορίζονται στην επίδραση που έχει η διαίτα του φαγκριού στην ποιότητα, και κυρίως στα προβλήματα αποχρωματισμού του δέρματος σε συνθήκες εκτροφής (Doxa et al., 2011; Garcia et al., 2010; Kalinowski et al., 2005; Mylonas et al., 2004) καθώς και στις απαιτήσεις του είδους σε πρωτεΐνη (Garcia et al., 2010). Από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, αναμένεται να είμαστε σε θέση να γνωρίζουμε το ρόλο που διαδραματίζει η εποχή στην ποιότητα των φαγκριών, κάτι που έχει άμεσο αντίκτυπο στην ικανοποίηση των προτιμήσεων των καταναλωτών.

4.5.2 Υλικά και μέθοδοι

4.5.2.1 Εκτροφή και δειγματοληψία των ψαριών

Η εκτροφή των φαγκριών έγινε σε μονάδα θαλάσσιας υδατοκαλλιέργειας στην Λωρίδα Σαγιάδας Ηγουμενίτσας, από τον Αύγουστο του 2011 μέχρι τον Σεπτέμβριο του 2012.

Τα φαγκριά του πειράματος είχαν παρόμοια βάρη και ίδιο γενετικό υπόβαθρο και έλαβαν την ίδια εμπορική τροφή, σε ποσότητες σύμφωνες με αυτές που καθορίζουν οι παραγωγοί της. Έγιναν τέσσερις δειγματοληψίες, μία στο τέλος κάθε εποχής, κατά τις οποίες δόθηκε ιδιαίτερη προσοχή ώστε τα βάρη των ψαριών να είναι κατά το δυνατό πιο ομοιόμορφα, για να μην αποτελέσουν συγχυτικό παράγοντα.

Οι θερμοκρασίες του νερού κυμάνθηκαν μεταξύ 13,9-17,3°C το χειμώνα, 14,1-16,4°C την άνοιξη, 20-24,5°C το καλοκαίρι και 19,4-24,0°C το φθινόπωρο. Σε κάθε δειγματοληψία, η συλλογή των ιχθύων και η μεταφορά τους αυθημερόν στις εγκαταστάσεις του ΕΛΚΕΘΕ (Άγιος Κοσμάς - Ελληνικό, Αθήνα) έγινε με χρήση πάγου (μέθοδος που ακολουθείται στην Μεσογειακή ιχθυοκαλλιέργεια). Αμέσως μόλις έφθαναν τα δείγματα στο εργαστήριο εκτελούνταν σωματομετρικές μετρήσεις και διαχωρίζοντουσαν τα φιλέτα, τα οποία φυλάχθηκαν στους -80°C μέχρι να αναλυθούν.

4.5.2.2 Σωματομετρικά χαρακτηριστικά - Σύσταση φιλέτου

Στο εργαστήριο καταγράφηκαν τα βάρη των ιχθύων -ολόκληρων και χωρίς τα σπλάγχνα- καθώς και των φιλέτων τους. Από τα βάρη αυτά, υπολογίσθηκαν το ποσοστό που αντιπροσωπεύει το εδώδιμο τμήμα και η απόδοση σε φιλέτο, εκφρασμένα ως ποσοστά του βάρους σώματος των ψαριών (Πίνακας 4.5.1).

Τα φιλέτα των φαγκριών από τις τέσσερις δειγματοληψίες, αναλύθηκαν για την περιεκτικότητα σε υγρασία, τέφρα, λίπος, πρωτεΐνη, και α-τοκοφερόλη (βιταμίνη E) και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.5.1.

Πίνακας 4.5.1: Σωματομετρικά χαρακτηριστικά, και μακροσυστατικά και α-τοκοφερόλη στα φιλέτα των τεσσάρων ομάδων εκτρεφόμενων φαγκριών. Μέσες τιμές \pm τυπική απόκλιση .

| Παράμετρος | Χειμώνας (n=3) | Ανοιξη (n=5) | Καλοκαίρι (n=3) | Φθινόπωρο (n=3) |
|---------------------------|--------------------|---------------------|--------------------|--------------------|
| Βάρος (g) | 193,56 \pm 41,95 | 363,81 \pm 141,96 | 389,96 \pm 30,85 | 292,12 \pm 40,27 |
| Εδώδιμο τμήμα (% βάρους) | 89,25 \pm 1,55 | 90,62 \pm 2,00 | 90,78 \pm 1,16 | 86,61 \pm 2,23 |
| Φιλέτο (% βάρους) | 36,17 \pm 3,89 | 35,21 \pm 2,29 | 36,79 \pm 2,45 | 32,03 \pm 0,50 |
| Υγρασία (% επί νωπού) | 74,21 \pm 0,91 | 73,20 \pm 1,77 | 72,64 \pm 0,91 | 72,49 \pm 0,55 |
| Λίπος (% επί νωπού) | 3,89 \pm 1,17b | 1,61 \pm 1,41a | 3,07 \pm 0,63b | 3,47 \pm 0,42b |
| Πρωτεΐνη (% επί νωπού) | 20,46 \pm 0,27 | 20,90 \pm 0,62 | 21,73 \pm 0,30 | 21,55 \pm 0,36 |
| Τέφρα (% επί νωπού) | 1,52 \pm 0,03 | 1,56 \pm 0,09 | 1,58 \pm 0,02 | 1,53 \pm 0,04 |
| α-Τοκοφερόλη (μg/g νωπού) | 348,9 \pm 60,5 | 200,3 \pm 21,4 | 290,4 \pm 38,4 | 165,7 \pm 17,5 |

4.5.2.3 Προσδιορισμός λιπαρών οξέων - Πτητικών συστατικών

Τα λιπαρά οξέα προσδιορίστηκαν όπως περιγράφεται στην παράγραφο 3.2 της παρούσας εργασίας. Τα πτητικά συστατικά των φιλέτων απομονώθηκαν με ταυτόχρονη απόσταξη/εκχύλιση (simultaneous distillation-extraction, SDE) με συσκευή Likens and Nickerson και προσδιορίστηκαν όπως περιγράφεται στην παράγραφο 3.6.

4.5.2.4 Στατιστική ανάλυση

Η ύπαρξη στατιστικά σημαντικών διαφορών στις διάφορες παραμέτρους ποιότητας μεταξύ των τεσσάρων ομάδων φαγκριών αξιολογήθηκαν με ANOVA (one way analysis of variance σε επίπεδο εμπιστοσύνης 5%, με χρήση του στατιστικού λογισμικού SPSS 13.0.

4.5.3 Αποτελέσματα - Συζήτηση

Σωματομετρικά χαρακτηριστικά - Σύσταση φιλέτου. Από τα δεδομένα του Πίνακα 4.5.1, φαίνεται ότι η εποχικότητα δεν επηρεάζει σημαντικά τα σωματομετρικά χαρακτηριστικά και τη σύσταση του φιλέτου των φαγκριών. Μικρές διαφοροποιήσεις παρατηρήθηκαν στην λιποπερικτικότητα που εμφάνισε τις χαμηλότερες τιμές (1,61%) την άνοιξη και τις υψηλότερες (3,89%) τον χειμώνα (Πίνακας 4.5.1). Οι τιμές αυτές κυμαίνονται εντός των ορίων 0,81- 6,49 % της βιβλιογραφίας (Loukas et al., 2010; Miniadis-Meimaroglou et al., 2007; Rueda et al. 1997).

Λιπαρά οξέα. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων των λιπαρών οξέων στα φιλέτα των τεσσάρων ομάδων φαγκριών παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.5.2. Ανάμεσα στα κορεσμένα λιπαρά οξέα (SFA) επικρατεί το παλμιτικό οξύ (16:0), ακολουθούμενο από το στεατικό (18:0) και το μυριστικό (14:0), ενώ μεταξύ των μονοακόρεστων λιπαρών οξέων (MUFA) κυριαρχεί το ελαϊκό οξύ (18:1ω9) ακολουθούμενο από το παλμιτελαϊκό οξύ (16:1ω7). Μεταξύ των ω6 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFA) επικρατεί το λινελαϊκό οξύ (18:2ω6), ενώ το αραχιδονικό (20:4ω6) βρέθηκε σε χαμηλές συγκεντρώσεις, τυπικές για εκτρεφόμενα ψάρια. Τέλος, ανάμεσα στα ω3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA) κυρίαρχο είναι το εικοσιδυεξαενοϊκό οξύ (22:6ω3) ακολουθούμενο από το εικοσιπενταενοϊκό οξύ (20:5ω3) και το στεαριδονικό οξύ (18:4ω3).

Παρατηρήθηκαν μικρές διαφορές στα προφίλ των λιπαρών οξέων των 4 ομάδων φαγκριών. Έτσι, τα ποσοστά του εικοσιδυοπενταενοϊκού οξέος (DPA) ήταν αυξημένα ($p < 0.05$) την άνοιξη και το καλοκαίρι (2,90 και 2,74% αντίστοιχα) και μειωμένα το φθινόπωρο και το χειμώνα (1,97 και 2,33% αντίστοιχα), παραμένοντας σε κάθε περίπτωση υψηλότερα από αυτά της βιβλιογραφίας για το ίδιο είδος: 1,4% το καλοκαίρι (Rueda et al., 1997), απουσία του (Miniadis-Meimaroglou et al., 2007), απουσία του την άνοιξη (Loukas et al., 2010). Το φθινόπωρο παρατηρήθηκαν τα υψηλότερα ποσοστά ελαϊκού οξέος (18:1ω9) και γ-λινολενικού οξέος (GLA, 18:3ω6) ($p < 0.05$) (περιέχεται στη τροφή – Πίνακας 4.5.2), ενώ αντίθετα το χειμώνα καταγράφηκε το υψηλότερο ποσοστό λινολενικού οξέος (18:3ω3) ($p < 0.05$). Το GLA (18:3ω6), σημαντικό λιπαρό οξύ για τον ανθρώπινο οργανισμό, ενώ βρίσκεται σε χαμηλά επίπεδα παρουσίασε μια σημαντική αύξηση το καλοκαίρι και το φθινόπωρο.

Διαφορές μεταξύ των τεσσάρων εποχών στις κύριες τάξεις λιπαρών οξέων παρατηρήθηκαν στα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα (MUFA) όπου ήταν αρκετά αυξημένα το φθινόπωρο (40,99%) κυρίως ως αποτέλεσμα της σημαντικής αύξησης του ελαϊκού οξέος το καλοκαίρι και το φθινόπωρο, ενώ τις υπόλοιπες εποχές κυμάνθηκαν μεταξύ 32,29-35,88%.

Τα αποτελέσματα για το DHA και τα ω3 λιπαρά οξέα δεν έχουν στατιστικώς σημαντικές διαφοροποιήσεις μεταξύ των εποχών, παρότι υπάρχει μια διακύμανση της μέσης τιμής.

Σε αντίστοιχη μελέτη διάρκειας 2 χρόνων για τις εποχικές μεταβολές των λιπαρών οξέων σε εκτρεφόμενους κρانيούς οι Chatzifotis et al. (2004) παρατήρησαν ότι τα ποσοστά του DHA και των ω3 λιπαρών οξέων βρέθηκαν χαμηλά τον Φεβρουάριο και αυξημένα τον Οκτώβριο.

Οι Ozyurt et al., (2005), σε εκτρεφόμενες τσιπούρες, παρατήρησαν αυξημένα ποσοστά το φθινόπωρο και το χειμώνα για το DHA και το καλοκαίρι για το GLA, ενώ αντίθετα παρατηρήθηκε σημαντική μείωση του ελαϊκού οξέος το καλοκαίρι.

Σταθερά ποσοστά εμφανίστηκαν για τα κορεσμένα και ω6 λιπαρά οξέα ενώ για το EPA παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφοροποίηση το φθινόπωρο.

Η απουσία διαφοροποιήσεων των κύριων ω6 PUFA -αραχιδονικού και λινελαϊκού- ανάμεσα στις 4 ομάδες φαγκριών του παρόντος πειράματος (Πίνακας 4.5.2), έρχεται σε αντίθεση με τα ευρήματα του πειράματος εκτροφής κρانيών (Πείραμα 4.4) όπου καταγράφηκε αύξηση των συγκεντρώσεων αυτών των λιπαρών οξέων με την ηλικία των ψαριών.

Οι εποχικές μεταβολές στα επίπεδα των PUFAs αποδίδονται από τον Love (1997) κυρίως στη θερμοκρασία του νερού. Όταν το επίπεδο των PUFAs των φωσφολιπιδίων (σημαντικό συστατικό των κυτταρικών μεμβρανών) αυξάνει, το σημείο τήξης των λιπιδίων μειώνεται και συνεπώς η ευελιξία και η διαπερατότητα των κυττάρων αυξάνεται.

Δεδομένου, ότι το γενετικό υπόβαθρο, η παρεχόμενη τροφή και οι συνθήκες εκτροφής ήταν οι ίδιες και για τις 4 ομάδες, οι παρατηρούμενες διαφορές στα επίπεδα των λιπαρών οξέων μπορούν να αποδοθούν στην επίδραση της εποχικότητας.

Πίνακας 4.5.2: Λιπαρά οξέα σε φιλέτα εκτρεφόμενων φαγκριών (% του συνόλου των λιπαρών οξέων). Μέσοι όροι \pm τυπική απόκλιση (n=3, Άνοιξη n=5). Διαφορετικά γράμματα στην ίδια γραμμή υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τεσσάρων εποχών ($p < 0,05$). n.d.: δεν ανιχνεύθηκε

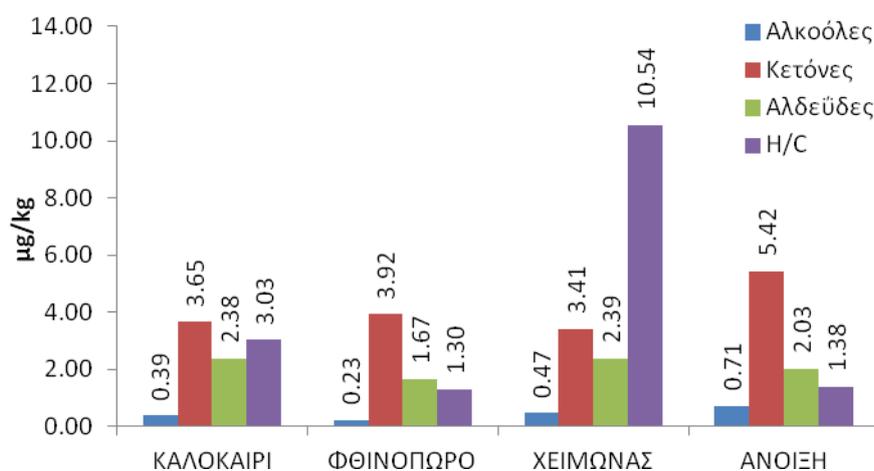
| | Χειμώνας (12/2011) | Άνοιξη (3/2012) | Καλοκαίρι (7/2012) | Φθινόπωρο (9/2012) |
|------------------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| 14:0 | 3,47 \pm 0,25 ^b | 2,51 \pm 0,39 ^a | 2,97 \pm 0,12 ^{ab} | 2,54 \pm 0,08 ^a |
| 16:0 | 17,62 \pm 0,47 | 18,52 \pm 0,85 | 18,04 \pm 0,27 | 17,27 \pm 0,16 |
| 16:1 ω 7 | 5,17 \pm 0,48 ^b | 3,85 \pm 0,79 ^a | 4,75 \pm 0,27 ^{ab} | 3,97 \pm 0,09 ^{ab} |
| 18:0 | 3,94 \pm 0,10 ^a | 5,22 \pm 0,35 ^b | 5,08 \pm 0,25 ^b | 5,48 \pm 0,03 ^b |
| 18:1 ω 9 | 20,76 \pm 1,68 ^a | 22,91 \pm 2,55 ^a | 25,07 \pm 1,10 ^a | 30,71 \pm 0,23 ^b |
| 18:1 ω 7 | 2,51 \pm 0,07 | 2,57 \pm 0,34 | 2,63 \pm 0,31 | 2,96 \pm 0,03 |
| 18:2 ω 6 (LA) | 12,27 \pm 0,08 | 11,43 \pm 0,48 | 11,96 \pm 0,48 | 11,82 \pm 0,26 |
| 18:3 ω 6 (GLA) | 1,70 \pm 0,10 ^a | 1,76 \pm 0,22 ^{ab} | 2,11 \pm 0,18 ^b | 2,52 \pm 0,03 ^c |
| 18:3 ω 3 (ALA) | 1,29 \pm 0,06 ^c | 0,52 \pm 0,07 ^a | 0,67 \pm 0,03 ^b | 0,60 \pm 0,01 ^{ab} |
| 18:4 ω 3 | 3,82 \pm 0,23 ^b | 2,15 \pm 0,27 ^a | 2,54 \pm 0,12 ^a | 2,63 \pm 0,07 ^a |
| 20:1 ω 9 | 0,46 \pm 0,01 ^a | 0,48 \pm 0,06 ^a | 0,56 \pm 0,02 ^a | 0,75 \pm 0,07 ^b |
| 20:2 ω 9 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| 20:4 ω 6 (ARA) | 0,59 \pm 0,12 | 0,84 \pm 0,18 | 0,57 \pm 0,09 | 0,54 \pm 0,10 |
| 20:4 ω 3 | 0,81 \pm 0,07 | 0,80 \pm 0,04 | 0,88 \pm 0,05 | 0,83 \pm 0,02 |
| 20:5 ω 3 (EPA) | 5,34 \pm 0,33 ^b | 4,93 \pm 0,26 ^b | 4,97 \pm 0,08 ^b | 3,82 \pm 0,05 ^a |
| 22:1 ω 11 | 4,53 \pm 0,23 ^a | 1,46 \pm 0,21 ^a | 1,81 \pm 0,09 ^b | 1,55 \pm 0,06 ^b |
| 22:1 ω 9 | 0,37 \pm 0,02 ^{ab} | 0,30 \pm 0,05 ^a | 0,38 \pm 0,01 ^{ab} | 0,42 \pm 0,02 ^b |
| 22:4 ω 6 | 0,26 \pm 0,01 ^b | 0,21 \pm 0,04 ^{ab} | 0,26 \pm 0,01 ^b | 0,20 \pm 0,01 ^a |
| 22:5 ω 6 | 0,25 \pm 0,05 | 0,37 \pm 0,13 | 0,23 \pm 0,05 | 0,18 \pm 0,01 |
| 22:5 ω 3 (DPA) | 1,97 \pm 0,03 ^a | 2,90 \pm 0,26 ^c | 2,74 \pm 0,15 ^{bc} | 2,33 \pm 0,04 ^{ab} |
| 22:6 ω 3 (DHA) | 12,18 \pm 2,26 | 15,55 \pm 3,88 | 11,13 \pm 1,81 | 8,27 \pm 0,21 |
| 24:1 ω 9 | 0,71 \pm 0,04 | 0,73 \pm 0,02 | 0,67 \pm 0,07 | 0,62 \pm 0,06 |
| Κορεσμένα | 25,29 \pm 0,67 | 26,46 \pm 1,01 | 26,35 \pm 0,59 | 25,5 \pm 0,14 |
| Μονοακόρεστα | 34,5 \pm 2,03 ^a | 32,29 \pm 3,84 ^a | 35,88 \pm 1,18 ^{ab} | 40,99 \pm 0,23 ^b |
| ω 9 | 26,46 \pm 1,52 ^a | 25,58 \pm 2,77 ^a | 28,12 \pm 1,08 ^a | 33,63 \pm 0,20 ^b |
| ω 6 | 14,55 \pm 0,07 | 14,03 \pm 0,47 | 14,64 \pm 0,58 | 14,87 \pm 0,19 |
| ω 3 | 25,42 \pm 2,56 ^b | 26,85 \pm 3,63 ^b | 22,92 \pm 1,88 ^{ab} | 18,48 \pm 0,22 ^a |
| EPA + DHA | 17,52 \pm 2,59 ^{ab} | 20,48 \pm 3,70 ^b | 16,10 \pm 1,88 ^{ab} | 12,09 \pm 0,25 ^a |
| ω 3/ ω 6 | 1,75 \pm 0,17 ^b | 1,91 \pm 0,26 ^b | 1,57 \pm 0,17 ^{ab} | 1,24 \pm 0,03 ^a |

Πηθικά συστατικά. Η ανάλυση των πηθικών συστατικών του φαγκριού οδήγησε στην ταυτοποίηση 104 ενώσεων (Παράρτημα 1.5), οι οποίες συγκαταλέγονται ανάμεσα σε αυτές που ανιχνεύονται συνήθως σε νωπά θαλασσινά ψάρια (Josephson et al., 1984; Kawai, 1996).

Οι σημαντικότερες -από πλευράς συγκεντρώσεων- κατηγορίες πηθικών συστατικών είναι οι αλκοόλες, οι κετόνες, οι αλδεΐδες και οι υδρογονάνθρακες (Σχήμα 4.5.1). Συνολικά, ταυτοποιήθηκαν 3 αλκοόλες, 8 κετόνες, 23 αλδεΐδες, και 33 υδρογονάνθρακες με κύριους εκπροσώπους την 1-πεντεν-3-όλη, την 2,3-βουτανοδιόνη, την 3-μεθυλ-βουτανάλη, και το

2,6,10,14-τετραμεθυλ-δεκαπεντάνιο (πριστάνιο), αντίστοιχα. Επίσης προσδιορίστηκαν σε μικρότερες συγκεντρώσεις 7 ενώσεις θείου, 5 φουράνια και 5 εστέρες.

Από τις διάφορες κατηγορίες πτητικών συστατικών, μεγαλύτερη βαρύτητα έχουν οι αλκοόλες, οι κετόνες και οι αλδεΐδες, οι οποίες έχουν χαμηλά κατώφλια ανίχνευσης και θεωρούνται ότι σε χαμηλές συγκεντρώσεις δίνουν την αίσθηση του αρώματος των φρέσκων ψαριών (Olafsdottir & Jonsdottir, 2010). Οι υδρογονάνθρακες λόγω των υψηλών κατωφλίων ανίχνευσης έχουν περιορισμένη επιρροή στο τελικό άρωμα. Οι άλλες κατηγορίες ενώσεων που θα μπορούσαν να επηρεάσουν το συνολικό άρωμα, συνήθως ανιχνεύονται σε χαμηλές συγκεντρώσεις.



Σχήμα 4.5.1: Κυριότερες κατηγορίες πτητικών ουσιών (μg/kg νωπού βάρους) που χαρακτηρίζουν τις τέσσερις ομάδες φαγκριού (Καλοκαίρι, Φθινόπωρο, Χειμώνα, Άνοιξη). Μέσες τιμές (n=3, Άνοιξη n=5).

Η αφθονότερη από τις αλδεΐδες 3-μεθυλοβουτανάλη ήταν αυξημένη το καλοκαίρι και το χειμώνα. Η συγκεκριμένη αλδεΐδη προέρχεται από αποικοδόμηση Strecker της λευκίνης (Varlet, 2007) και απαντάται σε πλήθος τροφίμων όπως η μύρα, το τυρί, ο καφές, η σοκολάτα, το ελαιόλαδο και το τσάι (Cserháti et al., 2003; Owuor, 2003) προσδίδοντας ευχάριστη γεύση μέντας, πορτοκαλιού και λεμονιού.

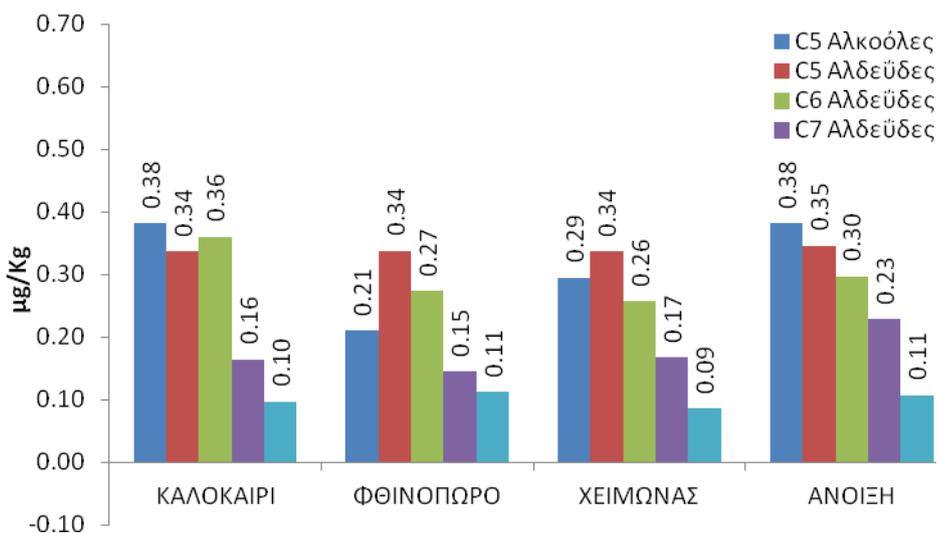
Από τις άλλες αλδεΐδες η βενζυλακεταλδεΐδη (προέρχεται από την φαινυλαλανίνη) (Carpino et al., 2008) και η βενζαλδεΐδη ήταν παρούσες σε αξιόλογες συγκεντρώσεις, και συμμετέχουν στη διαμόρφωση του συνολικού αρώματος, δεδομένου των χαμηλών κατωφλίων ανίχνευσής τους. Άλλες αλδεΐδες που ανιχνεύτηκαν ήταν οι πεντανάλη, εξανάλη, επτανάλη, οκτανάλη, εννεανάλη, και δεκανάλη οι οποίες συμβάλλουν, άλλες περισσότερο και άλλες λιγότερο στο τελικό άρωμα, δεδομένων των συγκεντρώσεών τους και των κατά τεκμήριο χαμηλών κατωφλίων ανίχνευσής τους.

Ανάμεσα στις ουσίες που θεωρούνται ότι είναι κυρίως υπεύθυνες για το άρωμα των ιχθύων, οι κετόνες παρουσίασαν τις ψηλότερες συγκεντρώσεις στα πτητικά συστατικά των

φαγκριών (Σχήμα 4.5.1). Από τις κετόνες η 2,3-βουτανοδιόνη, ένωση που σύμφωνα με τους Belitz et al., (2009) σχετίζεται με άρωμα βουτύρου, βρέθηκε σε μεγαλύτερη αφθονία σχεδόν σε όλες τις ομάδες δειγμάτων και εμφάνισε μέγιστη συγκέντρωση την άνοιξη (Παράρτημα 1.5). Με όριο αναγνώρισης οσμής (odor recognition concentration) ίσο με 0,20 μg/L (Diaz et al., 2004), η παρουσία της θεωρείται ότι έχει καταλυτική επίδραση στο τελικό άρωμα των φαγκριών. Η ταυτόχρονη παρουσία της ακετοΐνης (3-υδροξυ-2-βουτανόνη) η οποία εμφάνισε επίσης τη μέγιστη συγκέντρωσή της την άνοιξη, ενισχύει το ευχάριστο άρωμα του βουτύρου (Παράρτημα 1.5). Η 2,3-πεντανοδιόνη βρέθηκε επίσης σε αξιόλογες συγκεντρώσεις στα δείγματα των φαγκριών εμφανίζοντας επίσης μέγιστη συγκέντρωση την άνοιξη. Αξιοσημείωτο είναι ότι την άνοιξη τα φαγκριά είχαν τη χαμηλότερη περιεκτικότητα λίπους, ενώ τον χειμώνα που τα φαγκριά είχαν τη μεγαλύτερη λιποπεριεκτικότητα καταγράφηκαν οι χαμηλότερες συγκεντρώσεις 2,3-βουτανοδιόνης και ακετοΐνης. Η παρατήρηση αυτή επιβεβαιώνει ότι και τα χαμηλής λιποπεριεκτικότητας ψάρια μπορούν να έχουν την ευχάριστη οσμή βουτύρου. Την ίδια τάση - μέγιστες συγκεντρώσεις την άνοιξη και αρνητική συσχέτιση με το περιεχόμενο λίπος των φαγκριών- ακολούθησαν όλες σχεδόν οι κετόνες (2-επτανόνη, 2,3-οκτανοδιόνη, φλωροβουτυροφαινόνη) καθώς και το άθροισμα των συγκεντρώσεων των κετονών.

Στα πτητικά συστατικά του φαγκριού ανιχνεύθηκαν οι αλκοόλες 1-πεντεν-3-όλη, 3-πεντανόλη και 1-μεθοξυ-2-προπανόλη. Από αυτές, ουσιαστικό ρόλο στο τελικό άρωμα του φαγκριού διαδραματίζει ή 1-πεντεν-3-όλη (σχετικά χαμηλό κατώφλι ανίχνευσης, με άρωμα χλόης-γρασιδιού (Kawai, 1996), η οποία προέρχεται είτε από ενζυμική αλλοίωση (Kawai, 1996) είτε από οξείδωση πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (Saga et al., 2011). Η 3-πεντανόλη απαντάται σε ελάχιστες συγκεντρώσεις και δεν αναμένεται να συνεισφέρει σημαντικά στο άρωμα.

Είναι γνωστό ότι τα ευχάριστα αρώματα των ιχθύων οφείλονται σε ουσίες με χαμηλά κατώφλια ανίχνευσης, ειδικά σε αλδεΐδες και αλκοόλες με 5 έως 9 άτομα άνθρακα οι οποίες παρέχουν θετικές νότες των αρωμάτων στους ιχθύες και παράγονται μέσω της οξείδωσης των PUFAs κυρίως από την λιποξυγονάση (Kawai, 1996). Στα πτητικά συστατικά που χαρακτηρίζουν το φαγκρί, ανιχνεύτηκαν σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις οι C5, C6, C7 και C9 αλδεΐδες καθώς και οι C5 αλκοόλες ενώ οι συγκεντρώσεις αλδεϋδών και αλκοολών με περισσότερα άτομα άνθρακα (ημιπτητικές ενώσεις) ήταν ελάχιστες ή και μηδενικές. Ίσως, η ενζυμική δραστηριότητα στο συγκεκριμένο είδος ψαριού ή ακόμα και η μεγάλη φρεσκότητα των δειγμάτων να μην επιτρέπει την παρουσία των αντίστοιχων ημιπτητικών ουσιών. Τα προφίλ των χαρακτηριστικότερων αλκοολών και αλδεϋδών με 5, 6, 7 και 9 άτομα άνθρακα παρουσιάζονται στο Σχήμα 4.5.2.



Σχήμα 4.5.2: Πτητικές ενώσεις που συνδέονται με θετικές νότες (green notes) στις τέσσερις ομάδες φαγκριών. Μέσες τιμές (n=3, Άνοιξη n=5).

Την άνοιξη ανιχνεύθηκαν οι ψηλότερες συνολικά συγκεντρώσεις πτητικών ουσιών που συνδέονται με το ευχάριστο άρωμα «γρασιδιού» (Σχήμα 4.5.2) καθώς και κετονών που δίνουν γεύση βουτύρου (Παράρτημα 1.5) ενώ το φθινόπωρο και ο χειμώνας φαίνεται να είναι οι εποχές με τις χαμηλότερες συγκεντρώσεις πτητικών που συνδέονται με θετικές νότες. Η παραπάνω παρατήρηση για τα πτητικά συστατικά στην ομάδα της άνοιξης έρχεται σε πλήρη συμφωνία με τα αυξημένα ποσοστά πολυακόρεστων ω3 λιπαρών οξέων (EPA, DPA, DHA) που ανιχνεύτηκαν την ίδια εποχή (Πίνακας 4.5.2), δεδομένου ότι τα παραπάνω λιπαρά οξέα είναι πρόδρομες ενώσεις για την δημιουργία καρβονυλικών ενώσεων (Kawai, 1996) μέσω της ενζυμικής δράσης της λιποξυγονάσης. Μικρή απόκλιση από την παραπάνω τάση παρουσιάστηκε στην ομάδα του χειμώνα όπου παρατηρήθηκαν επίσης αυξημένα ποσοστά ω3 λιπαρών οξέων, αλλά ελαφρά μειωμένες τιμές C5 αλκοολών και C6, C7, C9 αλδεϋδών. Αυτή η διαφοροποίηση πιθανώς να οφείλεται στο ότι το ολικό βάρος των φαγκριών τον χειμώνα ήταν ελαφρά μικρότερο από τις άλλες εποχές (Πίνακας 4.5.1). Αντίστοιχα ευρήματα είχαμε και κατά τη μελέτη του κρασιού, όπου βρέθηκε ότι το μέγεθος των ψαριών επηρέαζε τα επίπεδα των καρβονυλικών ενώσεων, ανεξάρτητα από την αύξηση των ποσοστών των ω3 λιπαρών οξέων. Εποχικές μεταβολές φαίνονται να υπάρχουν στις C5 αλκοόλες και στις C6-C7 αλδεϋδες, ενώ οι C5 αλδεϋδες δεν επηρεάζονται από την εποχή.

Σημαντική από ποσοτική άποψη ομάδα πτητικών συστατικών του φαγκριού είναι οι υδρογονάνθρακες και κυρίως το πριστάνιο (2,6,10,14-τετραμεθυλο-δεκαπεντάνιο) αν και, όπως προαναφέρθηκε, δεν επιδρά στο τελικό άρωμα. Η συγκέντρωση του συγκεκριμένου υδρογονάνθρακα αυξάνεται όσο αυξάνεται η λιποπεριεκτικότητα. Αυτό επιβεβαιώθηκε τόσο σε

κάθε δείγμα ξεχωριστά όσο και από το σύνολο των δειγμάτων κάθε εποχής, με εξαίρεση την ομάδα του φθινοπώρου. Αξιοσημείωτη είναι η συμπεριφορά του δεκατριανίου, η συγκέντρωση του οποίου τριπλασιάστηκε στα δείγματα του καλοκαιριού φθάνοντας τα 0,225 μg/kg. Αξιοσημείωτη επίσης είναι η ανίχνευση χαμηλών ποσοτήτων δεκαεξανοϊκού και ελαϊκού οξέος, ως αποτέλεσμα της αυτοοξειδωσης των λιπιδίων και αποτελεί απόδειξη της ευαισθησίας της μεθόδου που ακολουθήθηκε για την ανίχνευσή τους. Όμως, λόγω των υψηλών κατωφλίων ανίχνευσής τους δεν επιδρούν στο τελικό άρωμα (Kolanowski et al., 2007).

Τα φουράνια που ανιχνεύθηκαν στα δείγματα της παρούσας μελέτης, πιθανόν να σχηματίζονται ως παραπροϊόντα κατά την εφαρμογή της ταυτόχρονης απόσταξης-εκχύλισης των πτητικών ουσιών (SDE), δεδομένου ότι έχουν ανιχνευθεί σε τρόφιμα που έχουν υποστεί θερμική επεξεργασία και πιθανόν να προέρχονται από την αντίδραση Maillard (Chung et al., 2002). Από τα φουράνια βρέθηκε σε αξιόλογες, σχεδόν σταθερές συγκεντρώσεις, μόνο το 2-αιθυλοφουράνιο (Παράρτημα 1.5).

4.5.4 Συμπεράσματα

Το φαγκρί εμφάνισε αυξημένα ποσοστά εικοσιπενταενοϊκού οξέος την άνοιξη και το καλοκαίρι, ελαϊκού οξέος, γ-λινολενικού οξέος και μονοακόρεστων λιπαρών οξέων το φθινόπωρο καθώς και λινολενικού οξέος τον χειμώνα. Τάση αύξησης των ολικών ω3 λιπαρών οξέων και παράλληλα αύξηση του ποσοστού EPA+DHA παρατηρήθηκε το χειμώνα και την άνοιξη.

Οι πτητικές ενώσεις που προσδίδουν το άρωμα στο φαγκρί, δεν παρουσιάζουν στατιστικά αξιόλογη διακύμανση ($p < 0.05$) όταν εξετάζονται μεμονωμένα. Όταν όμως εξετασθούν στο σύνολό τους, παρουσιάζεται αξιόλογη εποχική διαφοροποίηση, με την άνοιξη να βρίσκεται στην πρώτη θέση όσον αφορά στα «θετικά» αρώματα, ακολουθούμενη από το καλοκαίρι, ενώ ο χειμώνας και το φθινόπωρο έχουν, με μικρές διαφορές, την χαμηλότερη συγκέντρωση πτητικών συστατικών που προσδίδουν «θετικά» αρώματα. Επίσης, το χειμώνα παρατηρήθηκαν οι υψηλότερες συγκεντρώσεις υδρογονανθράκων, κυρίως πριτανίου, που συσχετίστηκαν με την αυξημένη λιποπεριεκτικότητα.

Αξιοσημείωτο ήταν το εύρημα ότι όσο αυξάνεται η λιποπεριεκτικότητα των ιστών του φαγκριού, μειώνεται η ολική συγκέντρωση κετονών.

5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

5.1 Λιπαρά οξέα

Η διαφοροποίηση των ψαριών από τις άλλες κατηγορίες τροφίμων οφείλεται εν πολλοίς στην σύσταση του λίπους τους και κυρίως στα ω3 λιπαρά οξέα που περιέχουν. Τα λιπαρά οξέα, πέρα από την χρησιμότητα τους ως πηγές ενέργειας, είναι απαραίτητα για τους ζωντανούς οργανισμούς, ενώ εμπλουτίζεται διαρκώς η γνώση και κατανόηση των επωφελών δράσεων που μπορεί να έχουν συγκεκριμένοι τύποι λιπαρών οξέων για την υγεία του ανθρώπου. Επιπρόσθετα, οι πτητικές ενώσεις στις οποίες οφείλεται το άρωμα των φρέσκων ιχθύων παράγονται κυρίως από την αντίδραση του οξυγόνου με τριγλυκερίδια ή πολικά λιπίδια. Τα ελεύθερα λιπαρά οξέα που σχηματίζονται είναι πρόδρομες ενώσεις για τον σχηματισμό των πτητικών ουσιών που αποτελούν αντικείμενο της παρούσας μελέτης. Τα πρωτογενή προϊόντα της οξειδωσης των λιπιδίων είναι άχρωμα, άοσμα και αποσυντίθενται ταχέως προς δευτερογενή προϊόντα (Shahidi & Cadwallader, 1997). Επομένως, το προφίλ των λιπαρών οξέων στα λιπίδια των ψαριών μπορεί να έχει σημαντική επίδραση στα χαρακτηριστικά του αρώματός τους και είναι σημαντικό να το γνωρίζουμε. Στον Πίνακα 5.1 παρατίθενται τα προφίλ των λιπαρών οξέων σε μυς κρانيού στο σύνολο των πειραμάτων που πραγματοποιήθηκαν στα πλαίσια της παρούσας διατριβής.

Σε γενικές γραμμές, η σύσταση των λιπαρών οξέων στους μυς των εκτρεφομένων κρانيών (Πίνακας 5.1) είναι παρόμοια με τα δεδομένα της βιβλιογραφίας για το συγκεκριμένη είδος (Poli et al., 2003; Piccolo et al., 2008; Grigorakis et al., 2011; Sinanoglou et al., 2014; García Mesa et al., 2014), με το παλμιτικό οξύ (16:0) και το ελαϊκό οξύ (18:1ω-9) να είναι τα επικρατέστερα λιπαρά οξέα ανάμεσα στα κορεσμένα και τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα ενώ το λινελαϊκό οξύ (18:2ω6, LA) και το εικοσιδυεξαενοϊκό οξύ (22:6ω3, DHA) να επικρατούν μεταξύ των ω6 και ω3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, αντιστοίχως. Οι διαφορές στα ποσοστά των λιπαρών οξέων μεταξύ των διαφορετικών πειραμάτων αντανακλούν την επίδραση των διαφορετικών σιτηρεσιών στα λιπαρά οξέα του κρانيού.

Το λινελαϊκό οξύ (18:2ω6, LA) προέρχεται κυρίως από φυτικά έλαια χερσαίας προέλευσης, τα οποία ενσωματώνονται στις ιχθυοτροφές και λόγω της σχετικής αδυναμίας των ιχθύων για αποκορεσμό ή επιμήκυνσή του (Grigorakis et al., 2002; Tocher, 2003; Benedito-Palos et al., 2009; Vagner & Santigosa 2011), παρατηρείται συσσώρευση του στα λιπίδια των εκτρεφομένων ιχθύων.

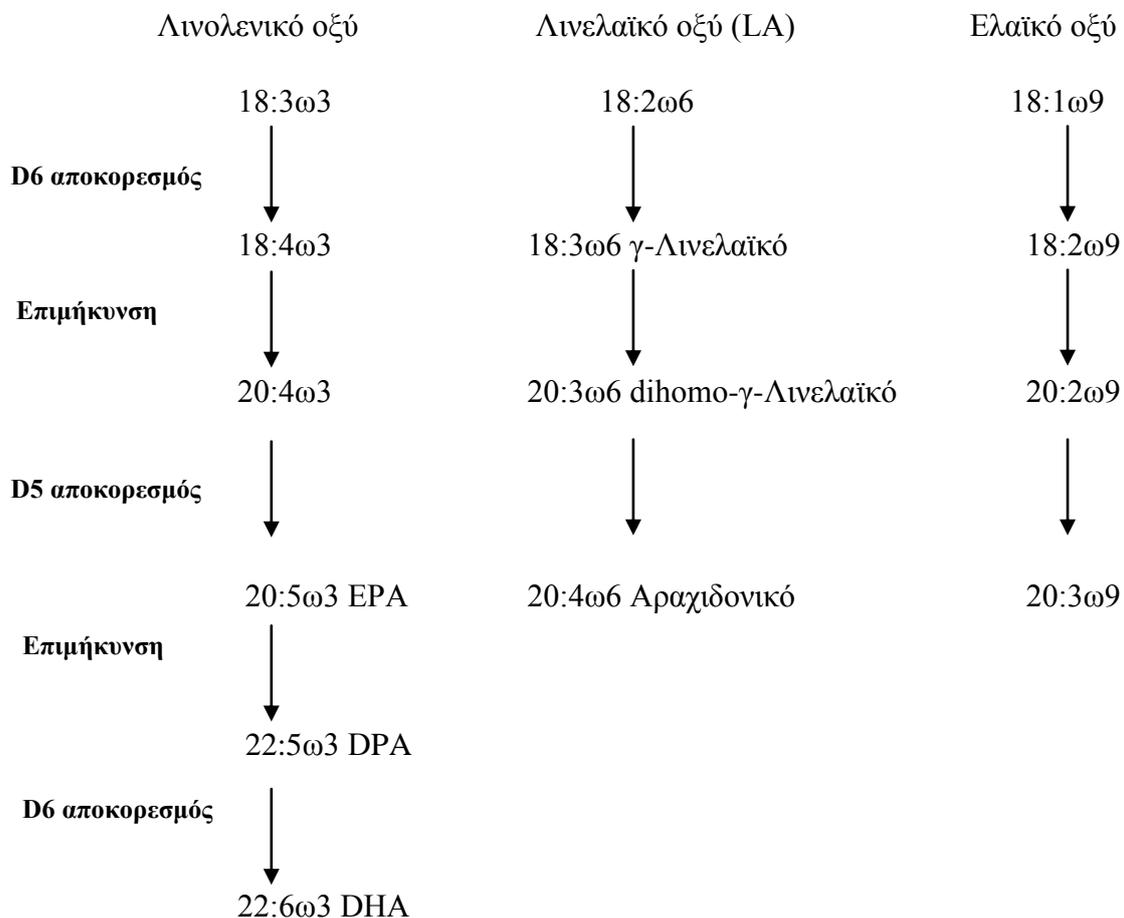
Πίνακας 5.1: Λιπαρά οξέα σε μύες εκτρεφόμενων κρυνιών από τα πειράματα της παρούσας εργασίας (% του συνόλου των λιπαρών οξέων). Για σύγκριση παρατίθεται το προφίλ των λιπαρών οξέων άγριου κρυνιού

| Λιπαρό οξύ | Πείραμα 1 ^a | | | | Πείραμα 2 ^b | | | Πείραμα 3 ^c | | Άγριος Κρυνός (n=1) |
|---------------|------------------------|-------|-------|-------|------------------------|-------|-------|------------------------|---------|---------------------|
| | 0 | A1 | A2 | A3 | Ομ. Α | Ομ. Β | Ομ. Γ | Μικρός | Μεγάλος | |
| 14:0 | 1,52 | 1,44 | 1,27 | 1,15 | 2,15 | 1,94 | 1,75 | 1,67 | 1,48 | 1,41 |
| 16:0 | 14,17 | 15,97 | 15,33 | 16,33 | 16,52 | 15,99 | 14,96 | 17,9 | 17,03 | 21,15 |
| 16:1ω7 | 2,38 | 2,25 | 2,19 | 1,85 | 2,86 | 2,74 | 2,13 | 2,47 | 2,20 | 2,70 |
| 16:4ω3 | 0,26 | 0,45 | 0,45 | 0,50 | 0,39 | 0,44 | 0,63 | 0,42 | 0,62 | 1,22 |
| 18:0 | 6,19 | 7,14 | 6,74 | 7,93 | 7,51 | 7,99 | 8,92 | 6,95 | 7,29 | 9,25 |
| 18:1ω9 | 23,06 | 19,39 | 20,56 | 18,40 | 20,74 | 19,58 | 17,31 | 19,5 | 19,5 | 10,61 |
| 18:1ω7 | 2,07 | 2,27 | 2,25 | 2,18 | 2,31 | 2,23 | 2,24 | 2,38 | 2,37 | 2,34 |
| 18:2ω 6 (LA) | 24,41 | 18,84 | 19,49 | 18,06 | 16,32 | 16,13 | 14,14 | 13,8 | 15,0 | 1,29 |
| 18:3ω6 (GLA) | – | – | – | – | – | – | – | – | – | 0,15 |
| 18:3ω3 (ALA) | 2,97 | 1,81 | 1,99 | 1,54 | 1,63 | 1,54 | 1,00 | 1,65 | 1,73 | 0,19 |
| 18:4ω3 | 0,37 | 0,52 | 0,38 | 0,32 | 0,35 | 0,33 | 0,22 | 0,58 | 0,55 | 0,98 |
| 20:1ω9 | 2,21 | 2,39 | 2,36 | 2,12 | 2,60 | 2,53 | 2,49 | 2,33 | 2,11 | 0,44 |
| 20:4ω6 (ARA) | 0,69 | 1,06 | 1,08 | 1,35 | 1,73 | 1,80 | 2,42 | 1,18 | 1,43 | 12,07 |
| 20:4ω3 | 0,53 | 0,38 | 0,44 | 0,40 | 0,48 | 0,45 | 0,40 | 0,50 | 0,52 | 0,22 |
| 20:5ω3 (EPA) | 3,33 | 3,77 | 3,63 | 3,36 | 4,12 | 4,32 | 4,06 | 5,40 | 5,00 | 4,16 |
| 22:1ω11 | 1,64 | 1,95 | 1,77 | 1,43 | 2,01 | 2,01 | 1,81 | 1,45 | 1,30 | – |
| 22:4ω6 | – | – | – | – | – | – | – | – | – | 2,74 |
| 22:5ω6 | – | – | – | – | – | – | – | – | – | 2,00 |
| 22:5ω3 (DPA) | 1,84 | 1,75 | 1,87 | 1,96 | 2,13 | 2,26 | 2,42 | 2,07 | 2,26 | 2,05 |
| 22:6ω3 (DHA) | 12,38 | 18,67 | 18,20 | 21,18 | 16,19 | 17,77 | 23,14 | 18,9 | 18,7 | 23,56 |
| 24:1ω9 | tr | tr | tr | tr | tr | tr | tr | 0,81 | 0,88 | 1,52 |
| Κορεσμένα | 21,87 | 24,54 | 23,34 | 25,41 | 26,18 | 25,92 | 25,62 | 26,5 | 25,8 | 31,80 |
| Μονοακόρεστα | 31,36 | 28,24 | 29,12 | 25,97 | 30,51 | 29,08 | 25,97 | 29,0 | 28,4 | 17,60 |
| ω9 | 25,27 | 21,78 | 22,91 | 20,52 | 22,75 | 21,58 | 19,12 | 22,5 | 22,7 | 12,56 |
| ω6 | 25,10 | 19,89 | 20,57 | 19,40 | 18,05 | 17,93 | 16,56 | 15,0 | 16,4 | 13,51 |
| ω3 | 21,68 | 27,34 | 26,96 | 29,24 | 25,27 | 27,09 | 31,85 | 29,6 | 29,4 | 32,37 |
| ω3/ω6 | 0,86 | 1,37 | 1,31 | 1,51 | 1,40 | 1,51 | 1,92 | 1,97 | 1,79 | 2,40 |
| Ολικό λίπος % | 1,92 | 0,63 | 0,91 | 0,69 | 1,25 | 1,38 | 1,19 | 1,09 | 0,73 | 0,34 |

^a Πείραμα αξιολόγησης των παραμέτρων ποιότητας φιλέτου εκτρεφόμενων κρυνιών (*Argyrosomus regius*) με σιτηρέσια διαφορετικής λιποπεριεκτικότητας; ^b Πείραμα επίδρασης της ανάπτυξης στη ποιότητα εκτρεφόμενων κρυνιών; ^c Πείραμα οργανοληπτικής και χημικής αξιολόγησης της ποιότητας εκτρεφόμενων κρυνιών διαφορετικού μεγέθους; tr: ίχνη

Τα ψάρια του γλυκού νερού έχουν την ικανότητα να μετατρέπουν τα ακόρεστα λιπαρά οξέα με 18 άτομα άνθρακα (18:1ω9, 18:2ω6, 18:3ω3) της τροφής τους, σε λιπαρά οξέα μεγαλύτερης ακορεστότητας και ανθρακικής αλυσίδας (20:4ω6, 20:5ω3, 22:5ω3, 22:6ω3).

Όμως, τα σαρκοφάγα είδη του αλμυρού νερού (όπως η τσιπούρα, το λαυράκι και το καλκάνι) έχουν περιορισμένη δυνατότητα αυτών των μετατροπών συνεπώς, θα πρέπει να λαμβάνουν τα PUFAs μέσω της διαίτας. Κατά τον Tocher (2003) τα περισσότερα θαλάσσια είδη ιχθύων έχουν περιορισμένη δυνατότητα πραγματοποίησης της επιμήκυνσης και αποκορεσμού του 18:2ω6 προς 20:4ω6. Άρα, η σύσταση των λιπιδίων των διαφόρων οργανισμών δεν εξαρτάται μόνο από τα παρεχόμενα λιπαρά οξέα μέσω της διατροφής τους αλλά και από την ικανότητα τους να μετατρέπουν τις πρόδρομες ενώσεις -λιπαρά οξέα- μέσω μεταβολικών μονοπατιών αποκορεσμού και επιμήκυνσης (Σχήμα 5.1). Δεδομένου όμως του ότι ο κρانيός είναι είδος που ζει και στις εκβολές ποταμών και παράκτιων λιμνοθαλασσών, ίσως θα μπορούσε σε κάποιο βαθμό να έχει την ικανότητα επιμήκυνσης και αποκορεσμού (Monroig et al.,2013).

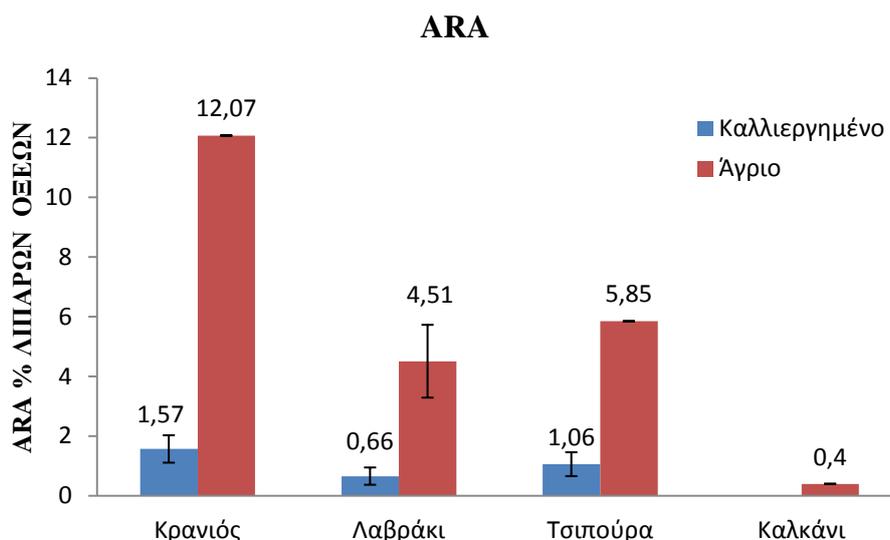


Σχήμα 5.1: Επιμήκυνση και αποκορεσμός λιπαρών οξέων στα ιχθυηρά. Σημειώνεται ότι εικονίζονται τα σημαντικότερα λιπαρά οξέα

Το αραχιδονικό οξύ (ARA, 20:4ω6) παρουσίασε τάση αύξησης με το μέγεθος των κρانيών. Με δεδομένο ότι τα ποσοστά του ARA ήταν σχετικά σταθερά στα σιτηρέσια που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματά μας (0,46-0,5% των λιπαρών οξέων), ή τάση αύξησης του αραχιδονικού οξέος είναι λογικό να υποθέσει κάποιος ότι το αραχιδονικό οξύ συσσωρεύεται

μέσω της διατροφικής πρόσληψης. Επίσης, το περιεχόμενο ARA σε κраниούς από όλα τα πειράματα εκτροφής της παρούσας διατριβής και στον άγριο κраниό ήταν ελάχιστα αυξημένα σε σύγκριση με άλλα ψάρια της Μεσογείου, εκτρεφόμενα και μη (Σχήμα 5.2).

Τα αποτελέσματα στα άγρια άτομα των διαφόρων ειδών (Σχήμα 5.2) ακολουθούν τη γενικότερη εκτίμηση ότι τα περισσότερα από αυτά άγρια ψάρια έχουν μεγαλύτερα ποσοστά ARA σε σύγκριση με τα εκτρεφόμενα (Arechavala-Lopez P. et al., 2013).



Σχήμα 5.2: Συγκέντρωση αραχιδονικού οξέος (ARA) % των λιπαρών οξέων εκτρεφόμενων και μη ειδών ιχθύων της Μεσογείου. Πηγές: Alasalvar et al., 2002; Grigorakis et al., 2002; Bell et al., 2007; Senso et al., 2007; Linder et al., 2010; Fuentes et al., 2010; Lenas et al., 2011; Anedda et al., 2013.

Αντίθετα από το αραχιδονικό οξύ, παρατηρήθηκε μια τάση μείωσης των ποσοστών του παλμιτικού οξέος (16:0) στα μεγαλύτερου σωματικού βάρους άτομα ιχθύων τόσο στο πείραμα επίδρασης της ανάπτυξης (Πείραμα 2) όσο και στο πείραμα της επίδρασης του μεγέθους (Πείραμα 3) στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του κраниού, όπως φαίνεται στον Πίνακα 5.1. Δεδομένου ότι και στα δύο πειράματα οι κраниοί είχαν το ίδιο γενετικό υπόβαθρο, αναπτύχθηκαν κάτω από τις ίδιες συνθήκες εκτροφής και λάμβαναν το ίδιο σιτηρέσιο, η μείωση του παλμιτικού οξέος μπορεί να αποδοθεί κυρίως στις μεταβολές του σωματικού μεγέθους. Επιβεβαιωτικά αυτής της θεώρησης είναι τα αποτελέσματα του πειράματος με τα σιτηρέσια διαφορετικής λιποπεριεκτικότητας (Πείραμα 1), στο οποίο τα ψάρια είχαν σχεδόν το ίδιο μέγεθος και δεν παρατηρήθηκε ουσιαστική μεταβολή στα επίπεδα του παλμιτικού οξέος.

Ενδιαφέρον έχει και η διαφοροποίηση των ποσοστών του εικοσιπενταενοϊκού οξέος (EPA, 20:5ω3) τα ποσοστά του οποίου κυμάνθηκαν από 3,3 έως 5,4% στα πειράματα της παρούσας εργασίας (Πίνακας 5.1), παρεμφερή με τις τιμές 2,6-4,6% που αναφέρονται στη βιβλιογραφία (Grigorakis et al., 2011; Piccolo et al., 2008; Saavedra et al., 2015). Στην

περίπτωση αυτή, το μέγεθος δείχνει να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στον καθορισμό των επιπέδων EPA, δεδομένου ότι τα μικρά ψάρια (Πείραμα 1) εμφάνισαν τα χαμηλότερα ποσοστά (3,33-3,77%), τα ενδιάμεσα (Πείραμα 2) λίγο υψηλότερα ποσοστά (4,06-4,32%) και τα πιο μεγάλα (Πείραμα 3) τα υψηλότερα ποσοστά (5,00-5,40%) κατανομή που μας επιτρέπει να συμπεράνουμε ότι τα ποσοστά του EPA αυξάνονται με το μέγεθος. Παρά το γεγονός ότι και άλλοι παράγοντες, όπως τα σιτηρέσια, οι συνθήκες εκτροφής (τα πειράματα έλαβαν χώρα σε εγκαταστάσεις στον Άγιο Κοσμά, την Ηγουμενίτσα και το Ηράκλειο Κρήτης, αντίστοιχα) και η γενετική προέλευση μπορούν να παίζουν ρόλο στον καθορισμό των ποσοστών του EPA στους ιστούς των κρανίων, η επίδραση του μεγέθους φαίνεται ότι είναι καθοριστική και υπερκαλύπτει τυχόν συγχυτικούς παράγοντες. Την ίδια παρατήρηση έκαναν πολύ πρόσφατα οι Saavedra et al. (2015), που κατέγραψαν σημαντικά αυξημένα ποσοστά EPA σε μεγάλους κρανιούς βάρους 2500 g σε σύγκριση με κρανιούς βάρους 800 g και 1500 g. Τα επίπεδα του EPA σε κάθε πείραμα ξεχωριστά δεν εμφάνισαν αξιόλογες μεταβολές, με εξαίρεση μία τάση μείωσης στα μεγαλύτερα άτομα σε σύγκριση με τα μικρότερα στο Πείραμα 3, ενώ σύμφωνα με τα παραπάνω θα περιμέναμε αύξηση του ποσοστού αυτού. Πιθανότατα αυτή η μικρή τάση μείωσης να οφείλεται σε κακή απορρόφηση των λιπιδίων ή κακή διατροφή των συγκεκριμένων κρανίων. Επίσης, δεν παρατηρήθηκε διαφοροποίηση των επιπέδων του EPA με το μέγεθος στο Πείραμα 2 (επίδραση της ανάπτυξης), όπου παρατηρήθηκε ελαφρά μείωση στα μεγαλύτερα άτομα της ομάδας Γ (καλοκαίρι). Ίσως η επίδραση της εποχικότητας, για την συγκεκριμένη δειγματοληψία να αντισταθμίζει την τάση αύξησης με το μέγεθος. Δεδομένου ότι το εικοσιπενταενοϊκό οξύ είναι απαραίτητο λιπαρό οξύ ο κρανιός φαίνεται ότι διατηρεί το EPA στα παραπάνω συγκεκριμένα επίπεδα λόγω του σημαντικού βιολογικού του ρόλου.

Όσον αφορά το εικοσιδυεξαενοϊκό οξύ (DHA, 22:6 ω3) βρίσκεται σε αρκετά υψηλά ποσοστά στα λιπίδια του κρανιού, κυμαινόμενο από 16,19% έως 23,14%, με εξαίρεση τους κρανιούς που έλαβαν εμπορική δίαιτα που δεν περιείχε ιχθυέλαιο αλλά έλαια αποκλειστικά φυτικής προέλευσης οι οποίοι παρουσίασαν τα χαμηλότερα ποσοστά (12,38%) - Πίνακας 5.1 Πείραμα 1. Σύμφωνα με τον Πίνακα 5.1 παρατηρήθηκε αύξηση του ποσοστού του DHA στους ιστούς του κρανιού στο Πείραμα 1 - με την αύξηση του ιχθυελαίου - και στο Πείραμα 2 - με την αύξηση του μεγέθους και την εποχικότητα - ενώ αντίθετα σταθερά είναι τα επίπεδα του DHA στο Πείραμα 3. Στο Πείραμα 2 εκτός από το μέγεθος, την αύξηση του DHA επηρεάζει και η εποχικότητα σε συμφωνία και με τη μελέτη των Chatzifotis et al. (2004).

Σύμφωνα με τους Grigorakis et al. (2011) (Πίνακας 5.2) και τους Piccolo et al. (2008), το εικοσιδυεξαενοϊκό οξύ έχει σημαντικό βιολογικό ρόλο στις κυτταρικές λειτουργίες του κρανιού και ενσωματώνεται κατά προτίμηση στα πολικά λιπίδιά του, ενώ τα επίπεδά του βρέθηκαν αυξημένα σε σχέση με αυτά της τροφής τους.

Πίνακας 5.2: Τάξεις λιπιδίων σε καλλιεργημένους κρανιούς (Grigorakis et al., 2011).

| | % ολικών λιπιδίων | mg/g μυϊκού ιστού |
|-------|-------------------|-------------------|
| TAG | 15,1 ± 2,95 | 1,63 ± 0,57 |
| C | 15,8 ± 1,62 | 1,68 ± 0,38 |
| FFA | 1,52 ± 0,13 | 0,16 ± 0,03 |
| MAG | 15,4 ± 2,11 | 1,62 ± 0,30 |
| PE | 12,3 ± 0,91 | 1,30 ± 0,21 |
| PI+PS | 12,2 ± 0,85 | 1,28 ± 0,22 |
| PC | 27,7 ± 2,43 | 2,92 ± 0,56 |

TAG=Τριγλυκερίδια, C=χοληστερόλη, FFA= ελεύθερα λιπαρά οξέα, MAG= μονογλυκερίδια,

PE=φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη, PI=φωσφατιδυλοϊνositόλη, PS=φωσφατιδυλοσερίνη, PC=φωσφατιδυλοχολίνη

Στο Πίνακα 5.2 φαίνεται η υψηλή περιεκτικότητα των λιπιδίων του εκτρεφόμενου κρανιού σε πολικά λιπίδια (φωσφολιπίδια) που αποτελούν >50% των ολικών λιπιδίων. Επίσης, στον άγριο κρανιό της μελέτης μας βρέθηκαν ότι τα πολικά λιπίδια αποτελούν >70% των ολικών λιπιδίων. Επομένως, το λίπος του κρανιού, παρόλο την χαμηλή λιποπεριεκτικότητα του, περιέχει μεγάλο ποσοστό πολικών λιπιδίων (ενσωμάτωση DHA) και μπορεί να χαρακτηριστεί ως υψηλής ποιότητας λίπος αφού αποτελεί πολύ καλή διατροφική πηγή DHA.

Οι άγριοι αλιευμένοι κρανιοί είναι σήμερα εξαιρετικά δυσεύρετοι. Σε όλη τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας διατριβής, βρέθηκε μόνο ένα τέτοιο άτομο βάρους 476,75 g και μήκους 34 cm σε κατάστημα της τοπικής αγοράς της Αθήνας. Η μελέτη του άγριου ατόμου μπορεί να δώσει χρήσιμες πληροφορίες σε σύγκριση με τους εκτρεφόμενους κρανιούς, ακόμα και αν ένα μόνο άτομο δεν αποτελεί επαρκές δείγμα και δεν δίνει τη δυνατότητα στατιστικής αξιολόγησης των διαφορών (Πίνακας 5.1).

Από την ανάλυση των λιπαρών οξέων του αγρίου κρανιού, παρατηρήθηκε ότι το προφίλ των λιπαρών οξέων του ακολουθεί την τάση που έχουν τα λιπαρά οξέα στις ομάδες του πειράματος 1, δηλ. της μελέτης της επίδρασης της περιεκτικότητας της τροφής σε ιχθυέλαιο. Στο συγκεκριμένο πείραμα παρατηρήθηκε ότι η αύξηση του ιχθυελαίου στην παρεχόμενη τροφή προκαλεί μείωση των 18:2ω6 και 18:1ω9 και αύξηση των 16:0, 20:4ω6 (ARA) και 22:6ω3 (DHA) στα λιπίδια των εκτρεφόμενων κρανιών. Τα 18:2ω6 και 18:1ω9 βρέθηκαν στον άγριο κρανιό σε ποσοστά 1,3 και 10,6% έναντι των 18,06 και 18,40% στους κρανιούς που τράφηκαν με το σιτηρέσιο A3 που είχε την υψηλότερη περιεκτικότητα σε ιχθυέλαιο (Πίνακας 5.1). Το αραχιδονικό οξύ (ARA) βρέθηκε ιδιαίτερα αυξημένο στον άγριο κρανιό, σε ποσοστό 12,07% έναντι μόνο 0,69-2,42% στους εκτρεφόμενους κρανιούς. Η υψηλή συγκέντρωση ARA στον άγριο κρανιό επιβεβαιώνει την ορθότητα των αποτελεσμάτων μας αφού ο άγριος κρανιός, όντας σαρκοφάγο είδος, προσλαμβάνει αποκλειστικά ιχθυέλαια. Επίσης, στον άγριο κρανιό ανιχνεύτηκαν σε χαμηλά ποσοστά λιπαρά οξέα όπως τα 18:3ω6, 22:4ω6 και 22:5ω6 τα οποία δεν ανιχνεύθηκαν στους εκτρεφόμενους κρανιούς της μελέτης μας.

Όσον αφορά τις τάξεις των λιπαρών οξέων, τα κορεσμένα λιπαρά οξέα φαίνεται ότι επηρεάζονται αυξητικά από την περιεκτικότητα του σιτηρεσίου σε ιχθυέλαιο, ενώ έχουν αρνητική συσχέτιση με το μέγεθος. Στον άγριο κρανιό τα επίπεδα των κορεσμένων λιπαρών οξέων είναι αρκετά υψηλότερα από τα αντίστοιχα των εκτρεφομένων κρανιών. Τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα έδειξαν μια τάση μείωσης με το μέγεθος των ψαριών (Πείραμα 2) και με την παρουσία ιχθυελαίου στα σιτηρέσια (Πείραμα 1), ενώ στον άγριο κρανιό είναι κατά πολύ χαμηλότερα (Πίνακας 5.1). Για τα ω6 λιπαρά οξέα παρατηρήθηκε μείωση των ποσοστών τους όσο μειώνεται τα φυτικής προέλευσης έλαια και αυξάνεται το ιχθυέλαιο. Το μέγεθος δείχνει να επιδρά θετικά στο ποσοστό τους, ενώ η επίδραση της εποχικότητας φαίνεται να υπερισχύει της επίδρασης του μεγέθους προκαλώντας μείωση των ω6 λιπαρών οξέων στο Πείραμα 2 (επίδραση της ανάπτυξης). Τα ποσοστά των ω3 λιπαρών οξέων αυξάνονται όσο αυξάνεται το ιχθυέλαιο στην τροφή (Πείραμα 1) και με την αύξηση του μεγέθους (Πείραμα 2), ενώ στο Πείραμα 3 είναι σταθερά (Πίνακας 5.1). Πιθανόν η αύξηση της ενσωμάτωσης των ω3 λιπαρών οξέων στους ιστούς του κρανιού να πραγματοποιείται μέχρι μεγέθους 800-1000 g (πείραμα ανάπτυξης) μετά από το οποίο παραμένει σταθερή.

Όπως φαίνεται στον Πίνακα 5.1, τα υψηλότερα ποσοστά ω3 λιπαρών οξέων (32,3%) βρέθηκαν στα λιπίδια του άγριου κρανιού. Τα λιπίδια των εκτρεφομένων κρανιών περιείχαν ελαφρά χαμηλότερα ποσοστά ω3 λιπαρών οξέων (25,3-31,8%) ενώ η χαμηλότερη τιμή (21,63%) καταγράφηκε στα άτομα της ομάδας 0 του πειράματος 1, το σιτηρέσιο των οποίων ήταν φτωχό σε ιχθυέλαιο (εμπορική δίαιτα). Αυτό είναι ένδειξη ότι τα εκτρεφόμενα ψάρια πιθανώς απαιτούν περισσότερα ω3 λιπαρά οξέα στα σιτηρέσια τους από αυτά που τους παρέχονται.

Σε αντίθεση με τα αποτελέσματα του άγριου και εκτρεφομένων κρανιών οι Grigorakis et al. (1994) ανέφεραν υψηλότερα ποσοστά μονοακόρεστων ω9 λιπαρών οξέων και χαμηλότερα ποσοστά EPA, DHA και λόγω ω3/ω6 σε εκτρεφόμενες τσιπούρες σε σύγκριση με άγρια άτομα του ίδιου είδους. Όπως και στον άγριο κρανιό, οι άγριες τσιπούρες, περιείχαν υψηλά επίπεδα ARA, αυξημένα επίπεδα 22:5ω6 και μειωμένα επίπεδα 18:2ω6, 20:1ω9 και 20:4ω3.

Η λιποπεριεκτικότητα εμφάνισε τάση μείωσης με την ανάπτυξη του κρανιού τόσο στο πείραμα της επίδρασης της ανάπτυξης (Πείραμα 2) όσο και στο πείραμα της επίδρασης του μεγέθους (Πείραμα 3) στην ποιότητα του κρανιού. Παρόμοια αποτελέσματα έχουν αναφέρει και οι Garcia Mesa et al. (2014).

5.1.1 Επίδραση της εποχικότητας στο προφίλ λιπαρών οξέων κρανιού-φαγκριού

Συγκρίνοντας το προφίλ των λιπαρών οξέων του εκτρεφόμενου κρανιού με αυτό του φαγκριού (Πείραμα 4.5 - Πίνακας 4.5.2) παρατηρούμε ότι ο κρανιός περιέχει χαμηλότερα ποσοστά 16:1 ω 7 (1,85-2,86 έναντι 2,51-2,96) και 18:4 ω 3 (0,22-0,58 έναντι 2,15-3,82) και αυξημένα ποσοστά 20:1 ω 9 (2,11-2,60 έναντι 0,46-0,75), 20:4 ω 6 (0,69-2,42 έναντι 0,54-0,84) και 22:6 ω 3 (12,38-23,14 έναντι 8,27-15,55). Το καλοκαίρι τα επίπεδα του DHA είναι αυξημένα στον κρανιό ενώ το αντίθετο ισχύει στο φαγκρί. Την άνοιξη και το καλοκαίρι παρατηρείται μείωση των ποσοστών του 18:1 ω 9 στον κρανιό (αύξηση μεγέθους), ενώ στο φαγκρί τα ποσοστά του ελαϊκού οξέος αυξάνουν την άνοιξη, το καλοκαίρι και το φθινόπωρο. Τα κορεσμένα και τα ω 3 λιπαρά οξέα βρίσκονται στα ίδια σχεδόν επίπεδα στα δύο είδη, τα ω 6 λιπαρά οξέα υπερτερούν στον κρανιό (15,0-25,10 έναντι 14,03-14,87), ενώ τα μονοακόρεστα και τα ω 9 λιπαρά οξέα επικρατούν στο φαγκρί (25,97-31,36 έναντι 32,29-40,99 και 19,12-25,27 έναντι 25,58-33,63 στον κρανιό και το φαγκρί, αντίστοιχα).

Πέραν των διαφορών που παρατηρούνται στο προφίλ των λιπαρών οξέων, μια ιδιαιτερότητα του κρανιού είναι η ιδιόμορφη άπαχη σάρκα του και το χαμηλό ποσοστό μεσεντερικού λίπους. Οι χαμηλές λιποπεριεκτικότητες των εκτρεφόμενων κρανιών σε όλα τα πειράματα της παρούσας διατριβής - αλλά και του άγριου κρανιού - επιβεβαιώνουν την ιδιότητα του είδους αυτού να διατηρεί χαμηλά ποσοστά λίπους στους ιστούς του ανεξάρτητα της διαίτας (Πίνακας 5.1), εύρημα που βρίσκεται σε πλήρη συμφωνία με την βιβλιογραφία (Poli et al., 2003; Hernández et al., 2009; Grigorakis et al., 2011; Mittakos et al., 2012; Navigato et al., 2012; Martelli et al., 2013; Sinanoglou, et al., 2013; García Mesa et al., 2014). Οι Chatzifotis et al. (2010) συνέκριναν τροφές με 13, 17 και 21% περιεχόμενο λίπος και συμπέραναν ότι η διαίτα με 17% λίπος είναι ιδανική για την ανάπτυξη του κρανιού.

Η χαμηλή λιποπεριεκτικότητα καθιστά τον κρανιό ιδιαίτερο είδος σε σχέση με τα άλλα εκτρεφόμενα είδη ψαριών, όπως η τσιπούρα και το λαυράκι, τα οποία έχουν ευρεία αποδοχή από τους καταναλωτές, ιδιαίτερα στη Μεσόγειο. Ο κρανιός έχει 88% λιγότερο μεσεντέριο λίπος και 83% λιγότερο ενδομυϊκό λίπος συγκρινόμενος με λαυράκι ιδίου μεγέθους (Poli et al., 2003). Επίσης, κατά τους Poli et al. (2003) η τσιπούρα και το λαυράκι ιχθυοτροφείου παρουσιάζουν 2 έως 5 φορές μεγαλύτερη λιποπεριεκτικότητα ακόμα και σε μικρότερα μεγέθη σε σχέση με τον εκτρεφόμενο κρανιό. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έδειξαν ότι και το φαγκρί περιέχει 2-3 φορές περισσότερο λίπος σε σύγκριση με τον κρανιό.

5.1.2 Δείκτες αθηρωμάτωσης και θρομβογένεσης

Το λίπος του κρανιού, όπως και των περισσότερων ιχθύων και θαλασσινών, θεωρείται λίπος υψηλής ποιότητας. Μέτρο της ποιότητας του λίπους των τροφίμων σε σχέση με την καρδιαγγειακή υγεία του καταναλωτή αποτελούν οι δείκτες αθηρωμάτωσης (AI, atherogenicity index) και θρομβογένεσης (TI, thrombogenicity index) (Ulbricht & Southgate, 1991). Σύμφωνα με τους Ulbricht & Southgate (1991) όσο μεγαλύτερος είναι κάθε ένας από τους παραπάνω δείκτες για ένα τρόφιμο, τόσο μεγαλύτερες είναι οι πιθανότητες πρόκλησης στον άνθρωπο καρδιαγγειακών νοσημάτων ως αποτέλεσμα της κατανάλωσης αυτού του τροφίμου. Οι δείκτες αυτοί υπολογίζονται από τους τύπους (1) και (2):

$$AI = [12:0 + (4 \times 14:0) + 16:0] / (MUFA + PUFA) \quad (1)$$

$$TI = (14:0 + 16:0 + 18:0) / [(0,5 \times MUFA) + (0,5 \times \omega 6) + (3 \times \omega 3) + (\omega 3/\omega 6)] \quad (2)$$

Πίνακας 5.3a: Δείκτες αθηρωμάτωσης (AI) και θρομβογένεσης (TI) των διάφορων ομάδων εκτρεφόμενων κρανιών

| Δείκτης | Πείραμα διατροφής | | | | Πείραμα ανάπτυξης | | | Πείραμα μεγέθους | | Άγριος κρανιός |
|-----------|-------------------|------|------|------|-------------------|------|------|------------------|---------|----------------|
| | 0 | A1 | A2 | A3 | Ομ Α | Ομ Β | Ομ Γ | Μικρός | Μεγάλος | |
| AI | 0,26 | 0,29 | 0,27 | 0,28 | 0,34 | 0,32 | 0,29 | 0,34 | 0,31 | 0,42 |
| TI | 0,23 | 0,23 | 0,23 | 0,23 | 0,26 | 0,24 | 0,22 | 0,24 | 0,24 | 0,28 |

Πίνακας 5.3b: Δείκτες αθηρωμάτωσης και θρομβογένεσης των διάφορων ομάδων από το πείραμα εποχικότητας του φαγκριού (διαφορετικά γράμματα δίπλα στις αναφερόμενες τιμές αντιπροσωπεύουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές, $p < 0,05$)

| Φαγκρί | Πείραμα εποχικότητας | | | |
|-----------|----------------------|--------|-----------|-----------|
| | Χειμώνας | Άνοιξη | Καλοκαίρι | Φθινόπωρο |
| AI | 0,42a | 0,39bc | 0,41bc | 0,37cd |
| TI | 0,25a | 0,25a | 0,27ab | 0,30b |

Πίνακας 5.3c: Δείκτες αθηρωμάτωσης (ΑΙ) και θρομβογένεσης (ΤΙ) Μεσογειακών ψαριών - θαλασσινών και άλλων τροφίμων.

| Είδος | ΑΙ | ΤΙ |
|---------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| Αθερίνα | 0,99 ¹ , 0,66 ² | 0,58 ¹ , 0,12 ² |
| Γαύρος | 1,08 ¹ , 0,64 ² | 0,38 ¹ , 0,23 ² |
| Γόπα | 1,18 ¹ , 0,33 ² | 0,53 ¹ , 0,05 ² |
| Κουτσομούρα | 0,80 ¹ , 0,49 ² | 0,59 ¹ , 0,17 ² |
| Μαρίδα | 1,08 ¹ , 0,50 ² | 0,51 ¹ , 0,11 ² |
| Σαυρίδι | 0,71 , 0,43 ² | 0,33 , 0,17 ² |
| Καλαμάρι | 0,48 ¹ | 0,15 ¹ |
| Μύδι | 0,73 ¹ | 0,25 ¹ |
| Μπακαλιάρaki | 0,27 ² | 0,11 ² |
| Σαρδέλα | 0,62 ² | 0,22 ² |
| Αυγοτάραχο | 0,26 ³ | 0,25 ³ |
| Ελαιόλαδο | 0,39 ³ | 0,17 ³ |
| Βόειο κρέας | 0,72 ³ | 0,8-1,4 ³ |
| Χοιρινό κρέας | 0,60 ³ | 1,4-1,7 ³ |
| Κοτόπουλο | 0,50 ³ | 0,95 ³ |
| Αρνί | 1,00 ³ | 1,3-1,6 ³ |

Πηγή: 1. Kalogeropoulos et al. (2004), 2. Kalogeropoulos et al. (2006), 3. Kalogeropoulos et al. (2008)

Τα αποτελέσματα των υπολογισμών έδειξαν και οι δύο δείκτες είχαν πολύ χαμηλές τιμές σε όλες τις περιπτώσεις, τόσο για τον κρανιό όσο και για το φαγκρί (Πίνακες 5.3a, 5.3b). Η αύξηση περιεκτικότητας ιχθυελαίου στα σιτηρέσια του κρανιού (πείραμα διατροφής) δεν φάνηκε να επηρεάζει τους παραπάνω δείκτες, ενώ παρατηρείται μια τάση μείωσής τους όσο αυξάνεται το μέγεθος των ψαριών. Όσον αφορά το φαγκρί έχουμε ελαφρά υψηλότερο ΑΙ σε σχέση με τον κρανιό με μεγαλύτερη τιμή το χειμώνα και χαμηλότερη το φθινόπωρο. Ο ΤΙ αντίθετα, έχει ελαφρά αυξημένη τιμή το φθινόπωρο σε σχέση με τον χειμώνα και την άνοιξη.

Σε κάθε περίπτωση, οι τιμές των δεικτών για τα ψάρια της παρούσας διατριβής είναι από τις χαμηλότερες της βιβλιογραφίας για διάφορα ψάρια και είδη τροφίμων (Πίνακες 5.3c).

5.2 Πτητικά Συστατικά.

5.2.1 Προέλευση Πτητικών Ενώσεων

Σε συνέχεια της μελέτης των λιπαρών οξέων του κρανίου και του φαγκριού έγινε αξιολόγηση των πτητικών ενώσεών τους. Η οσμή του φρέσκου ψαριού είναι η σημαντικότερη παράμετρος και καθορίζει την αποδοχή του από τον καταναλωτή. Το προφίλ των πτητικών συστατικών ενός ψαριού συνεισφέρει στα χαρακτηριστικά αρώματα που σχετίζονται με την ποιότητα του. Συγκεκριμένα, οι αλκοόλες και οι καρβονυλικές ενώσεις με έξι έως εννέα άτομα άνθρακα προσδίδουν γενικότερα ευχάριστα αρώματα ενώ οι αλκοόλες και οι καρβονυλικές ενώσεις μικρότερης ανθρακικής αλυσίδας καθώς και ενώσεις θείου, αμίνες και διενάλες είναι δείκτες αλλοίωσης του ψαριού.

Οι πτητικές ουσίες των ιχθύων προέρχονται κυρίως από την οξείδωση των λιπαρών οξέων. Τα προϊόντα οξείδωσης των λιπαρών οξέων (δευτερογενή προϊόντα) και ειδικότερα των ω3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων προκαλούν οσμές ακόμα και σε μικρές ποσότητες (έχουν χαμηλά κατώφλια αντίχενωσης). Τα προϊόντα της οξείδωσης είναι κυρίως αλδεύδες, κετόνες και αλκοόλες με διάφορα μήκη αλυσίδων και βαθμούς ακορεστότητας καθώς επίσης αλκάνια, αλκένια, εστέρες και οξέα (Serfert et al., 2010; Schindler et al., 2010; Rustad, 2010; Veberga et al., 2006; Kawai, 1996). Ιδιαίτερη βαρύτητα δίδεται στις αλδεύδες, στις οποίες οφείλονται σε σημαντικό βαθμό οι οσμές των ιχθύων, λόγω των χαμηλών κατωφλίων αντίχενωσης τους. Στον Πίνακα 5.4 φαίνεται η προέλευση διαφόρων πτητικών αλδευδών από οξειδωμένα λιπαρά οξέα ανάλογα με την αντίστοιχη θέση δημιουργίας υδροξειδίου και υπεροξειδίου.

Πίνακας 5.4: Πιθανή προέλευση αλδευδών από ακόρεστα λιπαρά οξέα (Varlet et al., 2007)

| Λιπαρό οξύ | Θέση υδροξειδίου και υπεροξειδίου | Παραγόμενη αλδεύδη |
|--------------------------|-----------------------------------|--------------------|
| Ελαϊκό οξύ (18:1ω9) | C11 | Οκτανάλη |
| | C8 | 2-Ενδεκανάλη |
| | C9 | 2-Δεκανάλη |
| | C10 | Εννεανάλη |
| Λινελαϊκό οξύ (18:2ω6) | C13 | Εξανάλη |
| | C9 | 2,4-Δεκαδιενάλη |
| | C11 | 2-Οκτενάλη |
| Λινολενικό οξύ (18:3ω3) | C16 | Προπανάλη |
| | C14 | 2-Πεντανάλη |
| | C12 | 2,4-Επταδιενάλη |
| | C13 | 3-Εξενάλη |
| | C11 | 2,5-Οκταδιενάλη |
| | C9 | 2,4,7-Δεκατριενάλη |
| Αραχιδονικό οξύ (20:4ω6) | C15 | Εξανάλη |
| | C13 | 2-Οκτενάλη |
| | C12 | 3-Εννεανάλη |
| | C11 | 2,4-Δεκαδιενάλη |
| | C10 | 2,5-Ενδεκαδιενάλη |
| | C7 | 2,5,8-Δεκατριενάλη |

Εκτός των πληροφοριών που παρέχει ο Πίνακας 5.4, έγινε προσπάθεια καταγραφής από βιβλιογραφικά δεδομένα της πιθανής προέλευσης κάθε ένωσης από τα αντίστοιχα λιπαρά οξέα ή αμινοξέα (Πίνακες 5.5 και 5.6) μέσω χημικής ή ενζυμικής δράσης, καθώς και η περιγραφή της οσμής και του κατωφλίου ανίχνευσής της. Θα πρέπει να τονισθεί ότι σε χαμηλές συγκεντρώσεις, οι πτητικές αλδεΐδες και αλκοόλες που προέρχονται κυρίως από την οξείδωση των $\omega 3$ και $\omega 6$ πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFAs), προσδίδουν τα ευχάριστα αρώματα του φρέσκου ψαριού (ενδεικτικά Kawai, 1996; Lindsay, 1990).

Πίνακας 5.5: Πτητικές ενώσεις οι οποίες προέρχονται κυρίως από οξείδωση λιπαρών οξέων ή αμινοξέων.

| Πτητική ουσία | Μητρική Ένωση | Κατώφλι Ανίχνευσης | Περιγραφή Αρώματος |
|----------------------|--|-----------------------|---|
| 1-Πεντεν-3-όλη | EPA (3), ω3 PUFAs (1) | 400 (ng/g) (12) | |
| 1- Πεντεν-3-όνη | ω3 PUFAs (1) | 50 (ng/g) (12) | Γρασίδι (12) |
| Προπανάλη | Λινολενικό (18:3ω3) (3,4,11), EPA (3,4) | | |
| Βουτανάλη | Ελαϊκό, Λινελαϊκό (18:2 ω6) (11) | | |
| Πεντανάλη | ω6 PUFAs (11) | 240(ng/g) (12) | Ξυλώδες, πικρό, ελαιώδες (12) |
| Εξανάλη | ω6 PUFAs (1,5) Λινελαϊκό (18:2 ω6) (1,2,3,11), ARA (11), 2,4-δεκαδιενάλη (3), 2-οκτενάλη (3) | 4,5-5(μg/L) (2) | Ποώδες, οξειδωμένο (2,5,7), γρασίδι, χλωρό (5) |
| Επτανάλη | Ελαϊκό - Λινελαϊκό (18:2 ω6) (2), ω6 PUFAs (5) | 0,3 ng/g (5) | |
| Οκτανάλη | Ελαϊκό (2,11), Λινελαϊκό (18:2 ω6) (2) | 0,7 μg/L (2) | Μαγειρεμένη πατάτα, λιπώδες, κηρώδες, εσπεριδοειδή (2,5), πορτοκάλι (5) |
| Εννεανάλη | Ελαϊκό, Λινελαϊκό (18:2 ω6) (11) | 1 μg/L (2) | Λουλούδι, κηρώδες (2,7) |
| Δεκανάλη | ω6 PUFAs (5), ω-9 PUFAs (11), Ελαϊκό (5), | | Γρασίδι (5) |
| (E)2-Πεντανάλη | ω3 PUFAs (5) | | |
| 2-Επτανάλη | Λινολενικό (18:3ω3) (2) | | |
| 2-Οκτανάλη | Λινελαϊκό (18:2 ω6) (2) | | |
| 2-Ενδεκανάλη | Ελαϊκό (11) | | |
| (Z) 4-Επτανάλη | (E,Z) Εννεαδιενάλη μέσω EPA(2,4) | | Οσμή ταγγισμένου ψαριού (5) |
| 2-Πεντενάλη | ω3 PUFAs (1), Λινολενικό (18:3ω3) (11) | 300(ng/g) (12) | Γρασίδι (5,12), μήλο, πικραμύγδαλο (12) |
| (E) 2-Εξενάλη | Λινολενικό (18:3ω3) (1,2,5) | 424(ng/g) (12) | Γρασίδι, μήλο (12), πόα, μανιτάρι (5,7) |
| 2-Εξενάλη | Λινολενικό (18:3ω3) (5) | 17 μg/L(2) | Πόα (2,5), μανιτάρι (2) |
| 2-Οκτενάλη | Λινελαϊκό (18:2 ω6), ARA (11) | 3 μg/L(9) 4 ng/g (12) | Ελαιώδες (2, 7), ποώδες, πικάντικο (12) |
| (E) 2-Εννεανάλη | Λινελαϊκό (18:2 ω6) (1,2,5) ω6 PUFAs (5) | 0,08-0,1 μg/L (2) | Βρύο, εσπεριδοειδή (2,7), μυρωδιά σήψης, γήινο (5) |
| 2-Δεκενάλη | Ελαϊκό, ω6 PUFAs (11) | | |
| 3-Εξενάλη | Λινολενικό (18:3ω3) (11) | | |
| 3-Εννεανάλη | ARA (11) | | |
| (E,Z)2,4-Επταδιενάλη | EPA (3,5), Λινολενικό (18:3ω3) (11) | 778 μg/L (2) | Τηγανητό, ελαιώδες (2) |
| (E,E)2,4-Επταδιενάλη | ω3 PUFAs (1), EPA (4), Λινολενικό (18:3ω3) (11) | 778 μg/L (2) | Λιπώδες, καρύδι (2), γρασίδι, αγγούρι (5) |
| 2,5-Οκταδιενάλη | Λινολενικό (18:3ω3) (11) | | |

| Πτητική ουσία | Μητρική Ένωση | Κατώφλι Ανίχνευσης | Περιγραφή Αρώματος |
|-----------------------------|---|--------------------|--|
| (E,Z)-2,6-Εννεαδιενάλη | ω3 PUFAs (5), Λινολενικό (18:3ω3) (1) | 0,01 µg/L (2) | Γρασίδι, αγγούρι (2,5,7) |
| 2,4-Δεκαδιενάλη | Λινελαϊκό (18:2 ω6) (10,11) ARA (10,11) | 0,07 µg/L (2) | Γρασίδι, λιπαρά τηγανητά, μουρουνέλαιο (2) |
| 2,5-Ενδεκαδιενάλη | ARA (11) | | |
| 2,4,7-Δεκατριενάλη | Λινολενικό (18:3ω3) (11) | | |
| 2,5,8-Δεκατριενάλη | ARA (11) | | |
| (E,Z)3,5-Οκταδιεν-2-όνη | EPA (3,4) | 150 µg/L (2) | Λιπώδες, μεταλλικό, φρουτώδες (7) |
| (E,E)-1,3-(Z)-5-Οκτατριένιο | ω3 PUFAs (5) | | |
| Πυραζίνες | Αντίδραση Maillard (6) | | |
| Φουράνια | Αντίδραση Maillard (6) | | |
| 2 πεντυλφουράνιο | ω6 PUFAs (7) | | Γλυκόριζα, πορτοκάλι (7) |
| 2 αιθυλφουράνιο | Λινελαϊκό (18:2 ω6) /EPA/DHA (3) | | |
| Μεθειονάλη | Αντίδραση Strecker από μεθειονίνη (5,6) | | Βραστές πατάτες (5), ψητές πατάτες (7) |
| Διμεθυλοβενζόλια | Θερμική αποικοδόμηση σακχάρων και αμινοξέων (6) | | |
| Τριμεθυλοβενζόλια | Θερμική αποικοδόμηση σακχάρων και αμινοξέων (6) | | |
| Αιθυλοβενζόλιο | Θερμική αποικοδόμηση σακχάρων και αμινοξέων (6) | 730 µg/L (2) | Πικρό (12) |
| Τολουόλιο | Θερμική αποικοδόμηση σακχάρων και αμινοξέων (6) | | |
| Πριστάνιο | Περιβαλλοντική προέλευση (7) | | Γρασίδι, γλυκό, караβίδα (7) |
| Λεμονένιο | Συσσώρευση μέσω τροφικής αλυσίδας (6) | | |
| 2-Ακετυλο-L-πυρρολίνη | Αντίδραση Maillard (8) | | |
| 2-Φαινυλαιθανάλη | Αντίδραση Strecker από φαινυλαλανίνη (9) | 4 µg/L (2) | Πόα, πικάντικο (2) |
| 3-Μεθυλοβουτανάλη | Αντίδραση Strecker από λευκίνη (11) | | |
| 3-Μεθυλοθειοπροπανάλη | Αντίδραση Strecker από μεθειονίνη (11) | 0,2 µg/L (2) | Ζυμωμένο, μαγειρεμένες γαρίδες (2) |

(1) Saga et al., 2011, (2) Caprino et al., 2008, (3) Iglesias & Medina, 2008, (4) Kawai 1996, (5) Serot et al., 2002, (6) Chung et al., 2002, (7) Turchini et al., 2004, (8) Olafsdottir & Jonsdottir, 2010, (9) Paleari M. A., 2008, (10) Loureiro et al., 2000, (11) Varlet et al., 2007, (12) Reboredo-Rodríguez et al., 2012.

Πίνακας 5.6: Πτητικές ενώσεις οι οποίες προέρχονται από ενζυμική αλλοίωση των λιπαρών οξέων.

| Πτητική ουσία | Μητρικό Λιπαρό Οξύ | Περιγραφή Αρώματος | Κατώφλι ανίχνευσης (ppb*) |
|---------------------------|--------------------|------------------------------|---------------------------|
| 2-Πεντενάλη | | | |
| 1- Πεντεν-3-όνη | | Διαλύτης (1) | 1.3 (1) |
| 1-Πεντανόλη | | Κρασί, αιθέρας (1) | 120 (1) |
| 1-Πεντεν-3-όλη | | Χλόη, γρασίδι (1) | 400 (1) |
| Εξανάλη | ARA(2) | Γρασίδι, αλδεΐδη (1) | 4.5 (1) |
| 2E-Εξενάλη | EPA(1,2) | Φρεσκοκομμένο γρασίδι (1) | 17 (1) |
| 3Z-Εξενάλη | EPA(1,2) | Γρασίδι, μήλο (1) | 0.25 (1) |
| Εξανόλη | | Γρασίδι, λιπώδες (1) | 500 (1) |
| 3-Z-εξεν-1-όλη | EPA(1,2) | Γρασίδι, φύλλο (1) | 70 (1) |
| 3-Οκτανόνη | | Ρητινώδης, αιθέρας (1) | 50 (1) |
| 3-Οκτανόλη | | Μανιτάρι (1) | 18 (1) |
| 2-Οκτενάλη | ARA(2) | | |
| 1-Οκτένιο | ARA(3) | | |
| 2-Οκτένιο | ARA(3) | | |
| 1-Οκτεν-1-όλη | ARA(3) | | |
| 2-Οκτεν-1-όλη | ARA(2,3) | | |
| 1-Οκτεν-3-όλη | EPA(2), ARA(2,3) | Μανιτάρι (1) | 10 (1) |
| 1-Οκτεν-3-όνη | EPA(2) | Μανιτάρι (1) | 0.09 (1) |
| 1,5Z Οκταδιεν-3-όλη | EPA(2,3) | Γήινο, μανιτάρι (1) | 10 (1) |
| 1,5Z Οκταδιεν-3-όνη | EPA(2) | Φύλλα γερανιού (1) | 0.001 (1) |
| 2Z Οκτεν-1-όλη | | Λιπώδες, ταγκό (1) | 40 (1) |
| 2E,5Z Οκταδιεν-1-όλη | EPA(2) | Γήινο, μανιτάρι (1) | 10 (1) |
| 2Z,5Z Οκταδιεν-1-όλη | EPA(2,3) | | |
| 2E Εννεενάλη | ARA(2) | Αγγούρι, λίπος (1) | 0.08 (1) |
| 2Z Εννεενάλη | ARA(3) | | |
| 3Z Εννεενάλη | ARA(3) | Καρπούζι (1) | 0.08 (1) |
| 6Z Εννεενάλη | | Αγγούρι, πεπόνι (1) | |
| 2E,6Z Εννεαδιενάλη | EPA(2) | Αγγούρι (1) | 0.01 (1) |
| 2Z,6Z Εννεαδιενάλη | EPA(3) | | |
| 3Z,6Z Εννεαδιενάλη | EPA(2) | Καρπούζι (1) | |
| 2Z Εννεεν-1-όλη | | Γρασίδι, κηρώδες, πεπόνι (1) | |
| 6Z Εννεεν-1-όλη | | Γρασίδι, κηρώδες, πεπόνι (1) | |
| 2E, 6Z Εννεαδιεν-1-όλη | | Στεγνό γρασίδι, αγγούρι (1) | |
| 3Z, 6Z Εννεαδιεν-1-όλη | EPA(2) | Αγγούρι, πεπόνι (1) | 10 (1) |
| 1,5Z Ενδεκαδιεν-3-όλη | | | |
| 1,5Z,8Z Ενδεκατριεν-3-όλη | | | |

(1) Kawai 1996, (2) Josephson et al., 1984, (3) Hsieh & Kinsella, 1989, *: ng/g ή μg/L

Πολλές από τις πτητικές ενώσεις που παρουσιάζονται στους Πίνακες 5.5 και 5.6 θεωρούνται δείκτες φρεσκότητας ή αλλοίωσης και μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες αξιολόγησης της ποιότητας των ιχθυηρών. Επιβεβαίωση της φρεσκότητας των ψαριών που μελετήθηκαν αποτελεί το γεγονός ότι δεν ανιχνεύτηκαν πτητικές ουσίες, όπως η τριμεθυλαμίνη

(TMA), το υδρόθειο (H₂S), το οξικό οξύ και η αμμωνία (NH₃), που προέρχονται από μικροβιακή αλλοίωση. Επίσης το πεντάνιο (με χαμηλό κατώφλι ανίχνευσης), το οποίο θεωρείται δείκτης υπεροξειδωσής των λιπιδίων (Kiritsakis, 1998), δεν ανιχνεύθηκε στα δείγματά μας. Επιπρόσθετα, οι αλδεϋδες 4-επτενάλη και 2,4-επταδιενάλη, που χαρακτηρίζονται ως δείκτες οξειδωμένων προϊόντων, βρέθηκαν σε χαμηλές συγκεντρώσεις.

Επειδή τα υλικά συσκευασίας μπορεί να γίνουν πηγή επιμόλυνσης με ανεπιθύμητες δύσσομες ενώσεις οι οποίες επηρεάζουν τα αποτελέσματα των αναλύσεων, δόθηκε ιδιαίτερη προσοχή στα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη φύλαξη των δειγμάτων μας τα οποία, αφού ζυγίστηκαν, φιλετοποιήθηκαν και ομογενοποιήθηκαν, συσκευάστηκαν σε φύλλο αλουμινίου και έπειτα σε πλαστικό περιέκτη.

Στους Πίνακες 5.7 και 5.8 παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις της 1-πεντεν-3-όλης από τα πειράματα κρανίων και φαγκριών, μαζί με τις συγκεντρώσεις επιλεγμένων πολυακόρεστων λιπαρών οξέων. Σύμφωνα με τα δεδομένα της βιβλιογραφίας, η 1-πεντεν-3-όλη προέρχεται από τα ω3 PUFAs -πιο συγκεκριμένα από το EPA- (Πίνακας 5.4) και από το ARA.

Πίνακας 5.7: Συγκεντρώσεις της 1-πεντεν-3-όλης (μg/kg) σε ιστούς κρανίων και συγκεντρώσεις των ω3 και επιλεγμένων πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (εκφρασμένα ως g λιπαρού οξέος ανά 100 g νωπού ιστού*) από τα οποία πιθανολογείται η προέλευσή της.

| Λιπαρά οξέα σε κρανίο | Πείραμα Διατροφής | | | | Πείραμα Ανάπτυξης | | | Πείραμα Μεγέθους | | Άγριος |
|-----------------------|-------------------|-------|-------|-------|-------------------|---------|---------|------------------|---------|--------|
| | Ο | Α1 | Α2 | Α3 | Α (Δεκ) | Β (Απρ) | Γ (Αυγ) | Μικρός | Μεγάλος | |
| ω3 | 0,290 | 0,119 | 0,250 | 0,175 | 0,224 | 0,259 | 0,266 | 0,224 | 0,147 | 0,077 |
| ARA | 0,009 | 0,005 | 0,007 | 0,006 | 0,015 | 0,016 | 0,020 | 0,009 | 0,007 | 0,028 |
| EPA | 0,045 | 0,017 | 0,023 | 0,016 | 0,036 | 0,042 | 0,034 | 0,041 | 0,026 | 0,010 |
| EPA+ARA | 0,054 | 0,022 | 0,030 | 0,022 | 0,052 | 0,058 | 0,054 | 0,050 | 0,033 | 0,039 |
| 1-πεντεν-3-όλη | 2,153 | 0,901 | 1,502 | 1,178 | 0,280 | 0,331 | 0,270 | 0,560 | 0,820 | 1,101 |

*: σύμφωνα με τη μεθοδολογία που περιγράφουν οι Exler et al., 1975.

Πίνακας 5.8: Συγκεντρώσεις της 1-πεντεν-3-όλης (μg/kg) σε ιστούς φαγκριών και συγκεντρώσεις των ω3 και επιλεγμένων πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (εκφρασμένα ως g λιπαρού οξέος ανά 100 g νωπού ιστού*) από τα οποία πιθανολογείται η προέλευσή της.

| Λιπαρά οξέα σε φαγκρί | Πείραμα Εποχικότητας | | | |
|-----------------------|----------------------|--------|-----------|-----------|
| | Χειμώνας | Άνοιξη | Καλοκαίρι | Φθινόπωρο |
| ω3 | 0,693 | 0,301 | 0,490 | 0,448 |
| ARA | 0,016 | 0,010 | 0,013 | 0,013 |
| EPA | 0,146 | 0,055 | 0,107 | 0,093 |
| EPA + ARA | 0,162 | 0,065 | 0,120 | 0,106 |
| 1-πεντεν-3-όλη | 0,259 | 0,344 | 0,347 | 0,186 |

*: σύμφωνα με τη μεθοδολογία που περιγράφουν οι Exler et al., 1975.

Στον Πίνακα 5.7 και συγκεκριμένα για το πείραμα διατροφής του κρανιού, παρατηρείται μεταβολή των συγκεντρώσεων της 1-πεντεν-3-όλης παρόμοια με αυτή του αθροίσματος EPA+ARA. Ανάλογα αποτελέσματα δεν βρέθηκαν για τα υπόλοιπα πειράματα. Στο πείραμα του μεγέθους βρέθηκε μεγαλύτερη συγκέντρωση 1-πεντεν-3-όλης στους μεγαλύτερους κρανιούς, παρότι περιείχαν μικρότερες συγκεντρώσεις EPA και ARA σε σχέση με τους μικρότερους κρανιούς. Πιθανότατα τα επίπεδα της λιποξυγονάσης να αυξάνονται με την ηλικία (δεδομένης της φρεσκότητας των δειγμάτων θεωρούμε ότι η 1-πεντεν-3-όλη προέρχεται από ενζυμική και όχι από οξειδωτική δράση δηλ. από το μονοπάτι της λιποξυγονάσης).

Αντίστοιχα στο πείραμα ανάπτυξης του κρανιού (Πίνακας 5.7) και της εποχικότητας του φαγκριού (Πίνακας 5.8), η συγκέντρωση των EPA και ARA δεν έχει κάποια αντιστοιχία με τις συγκεντρώσεις της 1-πεντεν-3-όλης. Η εποχικότητα, δεδομένου ότι οι περιβαλλοντικές συνθήκες διαφοροποιούνται, επηρεάζει τη δράση των ενζύμων (θεωρούμε την ύπαρξη μόνο ενζυμικής δράσης δεδομένης της φρεσκότητας των δειγμάτων). Όσον αφορά το DHA, οι συγκεντρώσεις του δεν φαίνεται (ούτε υπάρχει αντίστοιχη βιβλιογραφική αναφορά) να επηρεάζουν την συγκέντρωση της 1-πεντεν-3-όλης.

Βάσει των παραπάνω, γίνεται αντιληπτό ότι οι πιθανές σχέσεις των πτητικών ενώσεων με τα λιπαρά οξέα που δίνονται στους Πίνακες 5.5 και 5.6, δεν συνεπάγονται αναγκαστικά και την αναλογικότητα των συγκεντρώσεων αυτών των ενώσεων. Δεδομένου ότι, ένα πολύ μικρό ποσοστό των λιπαρών (και πιθανώς μη ανιχνεύσιμο) είναι αυτό που αυτοοξειδώνεται και οδηγεί σε σχηματισμό πτητικών προϊόντων, καθιστά την εύρεση πιθανών συσχετίσεων ακόμα πιο δύσκολη.

5.2.2 Αξιολόγηση Πτητικών Ενώσεων

Πέρα από τις πτητικές ενώσεις που μπορούν να χρησιμεύσουν ως δείκτες ποιότητας, και η αξιολόγηση των τάξεων των πτητικών συστατικών μπορεί να δώσει πληροφορίες για την ποιότητα των ιχθύων. Στους Πίνακες 5.9, 5.10 και 4.1.2 παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις των τάξεων των πτητικών ενώσεων από τα πειράματα του κρανιού και του φαγκριού καθώς και από τα Μεσογειακά ψάρια και θαλασσινά που μελετήθηκαν.

Πίνακας 5.9: Τάξεις πτητικών συστατικών (μg/kg νωπού βάρους) σε εκτρεφόμενους κρανιούς και ολικό λίπος (%) της κάθε ομάδας μελέτης

| Κρανιός (n=3) | Πείραμα 1 ^a | | | | Πείραμα 2 ^b | | | Πείραμα 3 ^c | | Άγριος κρανιός (n=1) |
|-----------------|------------------------|-------------|-------------|--------------|------------------------|-------------|-------------|------------------------|--------------|----------------------|
| | 0 | A1 | A2 | A3 | Ομ. A | Ομ. B | Ομ. Γ | Μικρός | Μεγά- λος | |
| Αλκοόλες | 2,81 | 1,20 | 1,71 | 1,95 | 0,31 | 0,37 | 0,32 | 2,59 | 1,74 | 1,25 |
| Κετόνες | 5,73 | 3,62 | 3,64 | 4,38 | 2,86 | 2,12 | 1,48 | 3,88 | 3,50 | 2,82 |
| Αλδεΐδες | 1,80 | 1,16 | 1,58 | 1,53 | 1,71 | 1,74 | 1,61 | 2,27 | 1,56 | 2,80 |
| Φουράνια | 0,26 | 0,15 | 0,21 | 0,14 | 0,17 | 0,20 | 0,18 | 0,30 | 0,20 | 0,36 |
| Υδρογονάνθρακες | 0,65 | 0,46 | 0,79 | 1,30 | 0,76 | 0,88 | 1,56 | 2,11 | 0,67 | 0,30 |
| Ενώσεις θείου | 0,04 | 0,02 | 0,03 | 0,04 | 0,08 | 0,04 | 0,10 | 0,01 | 0,01 | 0,02 |
| Αιθέρεις | 0,12 | 0,07 | 0,08 | 0,09 | 0,14 | 0,15 | 0,16 | 0,12 | 0,07 | 0,03 |
| Εστέρες | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,08 | 0,05 | 0,06 | 0,06 | 0,06 | 0,05 | tr |
| Οξέα | 0,00 | 0,002 | 0,01 | 0,02 | tr | 0,01 | 0,08 | 0,04 | 0,03 | 0,04 |
| Πυραζίνες | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,05 | 0,02 | 0,01 |
| Άλλες ενώσεις | 0,30 | 0,60 | 0,84 | 0,47 | 0,09 | 0,06 | 0,09 | 0,22 | 0,20 | 0,03 |
| Σύνολο | 11,71 | 7,29 | 8,89 | 10,01 | 6,20 | 5,65 | 5,68 | 11,7 | 8,05 | 7,66 |
| Λίπος (%) | 1,92 | 0,63 | 0,91 | 0,69 | 1,25 | 1,38 | 1,19 | 1,09 | 0,73 | 0,34 |

^a Πείραμα αξιολόγησης των παραμέτρων ποιότητας φιλέτου εκτρεφόμενων κρανιών με σιτηρέσια διαφορετικής λιποπεριεκτικότητας; ^b Πείραμα επίδρασης της ανάπτυξης στη ποιότητα εκτρεφόμενων κρανιών; ^c Πείραμα οργανοληπτικής και χημικής αξιολόγησης της ποιότητας εκτρεφόμενων κρανιών διαφορετικού μεγέθους

Πίνακας 5.10: Τάξεις πτητικών συστατικών (μg/kg νωπού βάρους) και ολικό λίπος (%) σε εκτρεφόμενα φαγκριά σε διάφορες εποχές

| Φαγκρί (n=3) | Πείραμα εποχικότητας | | | |
|-----------------|----------------------|--------------|--------------|-------------|
| | Χειμώνας | Άνοιξη | Καλοκαίρι | Φθινόπωρο |
| Αλκοόλες | 0,47 | 0,71 | 0,39 | 0,23 |
| Κετόνες | 3,41 | 5,42 | 3,65 | 3,92 |
| Αλδεΐδες | 2,39 | 2,03 | 2,38 | 1,67 |
| Φουράνια | 0,34 | 0,34 | 0,27 | 0,38 |
| Υδρογονάνθρακες | 10,54 | 1,38 | 3,03 | 1,30 |
| Ενώσεις θείου | 0,06 | 0,11 | 0,05 | 0,04 |
| Αιθέρεις | 0,04 | 0,05 | 0,05 | 0,05 |
| Εστέρες | tr | 0,01 | tr | tr |
| Οξέα | 0,04 | 0,10 | 0,04 | 0,02 |
| Πυραζίνες | 0,02 | 0,05 | 0,01 | 0,01 |
| Άλλες ενώσεις | 0,36 | 0,42 | 0,17 | 0,49 |
| Σύνολο | 17,66 | 10,60 | 10,03 | 8,12 |
| Ολικό λίπος % | 3,89 | 1,61 | 3,07 | 3,47 |

Οι αλκοόλες προέρχονται είτε από τη θερμική αποικοδόμηση των ακόρεστων λιπαρών οξέων, είτε από την χημική ή ενζυμική οξείδωση των λιπιδίων (Turchini et al., 2004). Γενικότερα έχουν υψηλότερα κατώφλια ανίχνευσης σε σύγκριση με τις αλδεΐδες, συνεισφέροντας στο συνολικό άρωμα των ιχθύων ενώ χαρακτηρίζονται από ευχάριστα αρώματα. Εξαιρέση αποτελούν οι ακόρεστες αλκοόλες με κύριους αντιπροσώπους την 2-πεντεν-1-όλη και την 1-οκτεν-3-όλη (κατώφλι ανίχνευσης 10 ppb) οι οποίες ακόμη και σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις αποδίδουν μια ευχάριστη μυρωδιά μανιταριών (Paleari et al., 2008), ενώ η 1-πεντεν-3-όλη με κατώφλι ανίχνευσης ίσο με 400 ppb αποδίδει μυρωδιά χλόης - γρασιδιού. Από τις κορεσμένες αλκοόλες η ενζυμικής προελεύσεως η 3-οκτανόλη, με κατώφλι ανίχνευσης 18 ppb, προσδίδει μυρωδιά μανιταριού (Πίνακας 5.6), η 1-επτανόλη και η 1-εννεανόλη, με κατώφλια ανίχνευσης 3 ppb και 50 ppb αντίστοιχα, προσδίδουν οσμή εσπεριδοειδούς, η οκτανόλη με κατώφλι ανίχνευσης 110 ppb προσδίδει οσμή εσπεριδοειδούς και λιπαρού και η 3-πεντανόλη (ενζυμικής προελεύσεως) μυρωδιά βοτάνου και καρυδελαιίου. Ιδιαίτερη βαρύτητα δίδεται στην 1-πεντεν-3-όλη, η οποία ανιχνεύθηκε σε όλα τα ψάρια και τα θαλασσινά σε σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις, διαμορφώνοντας ως ένα βαθμό το τελικό άρωμά τους, παρά το σχετικά υψηλό κατώφλι ανίχνευσης της. Η 1-πεντεν-3-όλη στο Πείραμα 1 αυξάνεται με την λιποπερικτικότητα (βάρος κρανίου σταθερό). Στο Πείραμα 2 παρόλο που το βάρος των ιχθύων αυξάνεται σταδιακά (μεγαλύτερα βάρη από αυτά των κρανίων του πειράματος 1) οι συγκεντρώσεις της 1-πεντεν-3-όλης παραμένουν σχεδόν σταθερές και χαμηλότερες από αυτές των κρανίων του πειράματος 1. Αντίθετα στο Πείραμα 3, η ομάδα των μεγαλύτερων κρανίων περιείχε σχετικά υψηλότερες συγκεντρώσεις 1-πεντεν-3-όλης και χαμηλότερη λιποπερικτικότητα σε σχέση με την ομάδα των μικρότερων κρανίων. Στον άγριο κρανιό, παρά την χαμηλότερη λιποπερικτικότητα η συγκέντρωση της 1-πεντεν-3-όλης πλησιάζει τα επίπεδα των κρανίων που έλαβαν την πλουσιότερη σε ιχθυέλαιο τροφή. Συνεπώς, η διατροφή, η περιεκτικότητα σε λίπος, το μέγεθος και η εποχικότητα-ανάπτυξη επηρεάζουν τα επίπεδα της 1-πεντεν-3-όλης. Ο ρόλος της εποχικότητας παρατηρήθηκε και στο πείραμα με το φαγκρί.

Αντίστοιχα, στα διάφορα Μεσογειακά ψάρια και θαλασσινά, τα αυξημένα επίπεδα λίπους είχαν ως άμεσο αντίκτυπο τα αυξημένα επίπεδα 1-πεντεν-3-όλης.

Η 1-μεθοξυ-2-προπανόλη απαντήθηκε σε ψάρια με υψηλή λιποπερικτικότητα - ιχθυέλαιο (σαρδέλα). Στα εκτρεφόμενα ψάρια, την άνοιξη φέρεται να υπάρχει αύξηση στα ποσοστά της στα δείγματα κρανίου (Πείραμα 2-ομάδα Β) και φαγκριού. Αξιοσημείωτη είναι η παρουσία της στα πτητικά συστατικά του καλαμαριού.

Η 2-πεντεν-1-όλη βρέθηκε σε όλα τα Μεσογειακά ψάρια και κυρίως στη σαρδέλα, με εξαίρεση τον μπακαλιάρo (βενθικό είδος), ενώ απουσίαζε από τα θαλασσινά (καλαμάρι, γαρίδα, μύδι). Στα εκτρεφόμενα ψάρια (φαγκρί-κρανιό) ανιχνεύτηκε μόνο στους κρανιούς που έλαβαν

τροφή με αυξημένες ποσότητες ιχθυέλαιων (Πείραμα 1) και στο φιλέτο του άγριου κρانيού (Παράρτημα 1.6).

Η 3-πεντανόλη ανιχνεύτηκε σε δείγματα από όλα τα πειράματα, με εξαίρεση την αθερίνα και την γαρίδα από τα Μεσογειακά είδη και τους κρانيούς από το πείραμα μεγέθους. Όσο αφορά τον κρانيό, πιθανότατα, στα μεγαλύτερου μεγέθους άτομα η ενζυμικής προέλευσης 3-πεντανόλη να μην είναι εφικτό να σχηματιστεί.

Από τους Πίνακες 5.9 και 5.10 παρατηρούμε ότι τόσο στο φαγκρί όσο και στον κρانيό (Πείραμα 2 - ομάδα Β) υπάρχει τάση αύξησης του ποσοστού των αλκοολών την άνοιξη. Επίσης στον κρانيό, παρατηρήθηκε αύξηση των αλκοολών όσο αυξάνεται το ιχθυέλαιο στο σιτηρέσιο, ενώ η λιποπεριεκτικότητα δεν φαίνεται να διαδραματίζει αξιόλογο ρόλο.

Από το Πείραμα 3 (Πίνακας 5.9) στο οποίο δεν υπεισέρχονται μεταβολές λόγω εποχικότητας προκύπτει ότι τα μικρότερα ψάρια έχουν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις αλκοολών.

Οι κετόνες, προϊόντα της θερμικής οξείδωσης – διάσπασης των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFAs) ή των αμινοξέων (Kawai, 1996; Turchini et al., 2004), έχουν στην πλειοψηφία τους υψηλά κατώφλια ανίχνευσης, και δεν συνεισφέρουν σημαντικά στο άρωμα των ιχθύων εκτός και αν βρεθούν σε μεγάλες συγκεντρώσεις, όπως η 3-υδροξυ-2-βουτανόνη (ακετοΐνη) (κατώφλι ανίχνευσης 800 ppb) και η 2,3-βουτανοδιόνη (κατώφλι ανίχνευσης 15 ppb) ουσίες με ευχάριστο άρωμα βουτύρου οι οποίες βρέθηκαν σε σχετικά μεγάλες συγκεντρώσεις σε δείγματα από όλα τα πειράματα. Στα εκτρεφόμενα ψάρια ανιχνεύθηκαν σε μικρότερες συγκεντρώσεις η 1-πεντεν-3-όνη (κατώφλι ανίχνευσης 1,3 ppb) με άρωμα γρασιδιού, η 2,3-πεντανοδιόνη (κατώφλι ανίχνευσης 30 ppb) με φρουτώδη γεύση και οσμή βουτύρου, η 2-επτανόνη, η φλωροβουτυροφαινόνη, και η 2,3-οκτανοδιόνη με οσμή βουτύρου, άνηθου και μαγειρεμένου μπρόκολου. Η 2,3-οκτανοδιόνη δεν ανιχνεύθηκε σε κανένα από τα δείγματα κρانيού, εκτρεφόμενου ή άγριου, γεγονός που δηλώνει την απουσία αυτής της ένωσης από το συγκεκριμένο είδος. Αντίθετα ανιχνεύθηκε σε χαμηλές συγκεντρώσεις στα δείγματα του φαγκριού καθώς και στην σαρδέλα, τον μπακαλιάρο, τη γόπα, το γαύρο, την κουτσομούρα και το μύδι. Αξιοσημείωτο είναι ότι η 2,3-πεντανοδιόνη, η οποία συσχετίστηκε θετικά με το EPA, ανιχνεύθηκε στα δείγματα των ψαριών εκτρεφομένων και μη, αλλά όχι στα δείγματα θαλασσινών.

Μεταξύ των διαφόρων κατηγοριών πτητικών ενώσεων, οι αλδεΐδες έχουν τη σημαντικότερη επίδραση στο συνολικό άρωμα των ιχθύων ακόμα και σε χαμηλές συγκεντρώσεις, λόγω των χαμηλών κατωφλίων ανίχνευσής τους. Οι κορεσμένες αλδεΐδες προέρχονται από την οξείδωση των μονοακόρεστων και ω6 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, ενώ οι ακόρεστες αλδεΐδες προέρχονται από τα ω3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα.

Στα δείγματα των πειραμάτων της παρούσας διατριβής, ανιχνεύθηκαν κορεσμένες αλδεΐδες με 5 έως και 10 άτομα άνθρακα, οι οποίες θεωρούνται δύσοσμες. Επίσης ανιχνεύτηκαν σε χαμηλές συγκεντρώσεις οι ημιπτητικές κορεσμένες αλδεΐδες δωδεκανάλη (σε μπακαλιάρaki, κουτσομούρα, μύδι), δεκατετρανάλη (σε κρανιό, γαύρο, μύδι), δεκαεξανάλη (σε κρανιό, φαγκρί, μύδι) και δεκαοκτανάλη (στο μύδι). Πιθανόν οι ενώσεις αυτές να είναι πρόδρομες ενώσεις πτητικών αλδεϋδών με μικρότερο μοριακό βάρος χωρίς να συνεισφέρουν άμεσα στο άρωμα των ιχθυρών. Η πιθανή παρουσία της προπανάλης ή/και της βουτανάλης δεν ήταν δυνατό να επιβεβαιωθεί λόγω της συνέκλουσης τους με τον διαλύτη. Αξίζει να σημειωθεί η παντελής απουσία κορεσμένων αλδεϋδών από τα πτητικά συστατικά της γαρίδας.

Η προερχόμενη από ω6 PUFAs πεντανάλη, με κατώφλι ανίχνευσης 240 ng/g και ξυλώδες, πικρό και ελαιώδες άρωμα, ανιχνεύθηκε στα δείγματα όλων των πειραμάτων με εξαίρεση τη γαρίδα. Οι συγκεντρώσεις της στα Μεσογειακά είδη ιχθύων και θαλασσιών καθώς και στον άγριο κρανιό ήταν αυξημένες σε σχέση με τις αντίστοιχες στο φαγκρί και τον κρανιό εκτροφής. Το αποτέλεσμα αυτό έρχεται σε αντίθεση με την βιβλιογραφία (Varlet et al., 2007) δεδομένων των χαμηλότερων ποσοστών ω6 λιπαρών οξέων στα άγρια άτομα. Πιθανόν οι υψηλές συγκεντρώσεις αραχιδονικού στους άγριους αλιευμένους ιχθύες να οδηγεί στον σχηματισμό πεντανάλης.

Η εξανάλη (κατώφλι ανίχνευσης 4,5-5 ppb) δίνει άρωμα γρασιδιού και αλδεϋδης όταν προέρχεται από ενζυμική δραστηριότητα (μητρικό λιπαρό οξύ είναι το αραχιδονικό οξύ). Η αυξημένη συγκέντρωση αραχιδονικού οξέος στον άγριο κρανιό δικαιολογεί τη μεγαλύτερη συγκέντρωση εξανάλης (έως και τριπλάσια συγκέντρωση παρά την χαμηλή λιποπεριεκτικότητα) στα πτητικά συστατικά του, διαφοροποιώντας το άρωμά του σε σχέση με τους εκτρεφόμενους κρανιούς. Όταν η εξανάλη προέρχεται από οξείδωση (μητρικό λιπαρό οξύ είναι κυρίως το λινελαϊκό οξύ) έχει οσμή οξειδωμένων ιχθυρών και αποτελεί δείκτη αποικοδόμησης των ω6 λιπαρών οξέων (Saga et al., 2011).

Η επτανάλη και η οκτανάλη έχουν χαμηλά κατώφλια ανίχνευσης (0,3 και 0,7 ppb αντίστοιχα), η πρώτη με οσμή ψαριού και η δεύτερη με άρωμα λιπώδες, κηρώδες και πορτοκαλιού. Βρέθηκαν σε χαμηλές συγκεντρώσεις σε όλα τα δείγματα, ενώ η σαρδέλα και το μύδι περιείχαν διπλάσιες και τριπλάσιες συγκεντρώσεις σε σύγκριση με τα εκτρεφόμενα, τα άγρια είδη ιχθύων και τα θαλασσιά.

Η εννεανάλη (κατώφλι ανίχνευσης 1 ppb, με άρωμα κηρώδες ή και λουλουδιού) ανιχνεύθηκε στα Μεσογειακά είδη ιχθύων και τα θαλασσιά με εξαίρεση τη γαρίδα. Οι ψηλότερες συγκεντρώσεις της (5-10 φορές υψηλότερες) βρέθηκαν στο μύδι. Εκτός της γαρίδας, η εννεανάλη δεν ανιχνεύτηκε στον άγριο κρανιό, κάτι που δικαιολογείται από το χαμηλό ποσοστό ελαϊκού οξέος και το πολύ χαμηλό ποσοστό λινελαϊκού οξέος (μητρικά λιπαρά οξέα

σύμφωνα με τους Varlet et al., 2007) σε σχέση με τους εκτρεφόμενους κρانيούς, καθώς και στην χαμηλή λιποπεριεκτικότητα του. Η εννεανάλη εμφάνισε αυξητική τάση όσο αυξανόταν η περιεκτικότητα ιχθυελαίου στα σιτηρέσια.

Η δεκανάλη (κατώφλι ανίχνευσης 0,1 ppb με οσμή γρασιδιού) υπήρχε στα πτητικά του μυδιού ενώ στα υπόλοιπα δείγματα από τα άλλα πειράματα η παρουσία της ήταν ελάχιστη ή και μηδαμινή. Το άθροισμα των συγκεντρώσεων των κορεσμένων αλδευδών στον άγριο κρانيό (1,06 ppb) ήταν σχεδόν διπλάσιο σε σύγκριση με τους εκτρεφόμενους. Αυξημένα ήταν τα αθροίσματα και για τα ψάρια της Μεσογείου, από 0,61 ppb στον γάυρο μέχρι 2,68 ppb στη σαρδέλα, ενώ στα θαλασσινά οι συγκεντρώσεις τους κυμάνθηκαν από μη ανιχνεύσιμες για τη γαρίδα μέχρι 6,91 ppb για το μύδι.

Από τις ακόρεστες αλδεύδες, η *trans*-2-πεντενάλη (κατώφλι ανίχνευσης 300 ppb) με άρωμα γρασιδιού, μήλου και πικραμύγδαλου ανιχνεύθηκε σε όλα τα είδη ιχθύων των πειραμάτων μας με αυξημένες συγκεντρώσεις στα Μεσογειακά είδη και στον άγριο κρانيό έναντι των εκτρεφόμενων. Αναλογικά κυμάνθηκαν και οι συγκεντρώσεις της *cis*-2-εξενάλης (κατώφλι ανίχνευσης 17 ppb) που προσδίδει άρωμα γρασιδιού, πόας και μανιταριού. Η *cis*-2-επτενάλη (κατώφλι ανίχνευσης 13 ppb) και η *trans*-2-οκτενάλη (κατώφλι ανίχνευσης 9,1 ppb) βρέθηκαν κάτω του ορίου ανίχνευσης ή σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις. Επίσης, δεν ανιχνεύθηκε σε κανένα από τα δείγματά μας η 2-εννεανάλη, η οποία σχηματίζεται κατά τα πρώτα στάδια της αυτοοξειδωσης του λινελαϊκού οξέος (Kiritsakis, 1998), και η απουσία της οποίας αποτελεί ένδειξη φρεσκότητας. Η *trans*-2-δεκενάλη με ιδιαίτερα χαμηλό κατώφλι ανίχνευσης (0,4 ppb) ανιχνεύτηκε σε ελάχιστες ποσότητες στην κουτσομούρα και το μύδι.

Οι θεωρούμενες ως δείκτες οξειδωσης ακόρεστες αλδεύδες *cis*-4-επτενάλη και 2,4-επταδιενάλη βρέθηκαν σε χαμηλές συγκεντρώσεις: <0,05 ppb στα εκτρεφόμενα είδη και 0,1-0,72 ppb στους ιχθύς και θαλασσινά της Μεσογείου, με τις υψηλότερες συγκεντρώσεις να καταγράφονται στη σαρδέλα. Το χαμηλό κατώφλι ανίχνευσης της *cis*-4-επτενάλης (0,04 ppb) με οσμή οξειδωμένου ιχθυηρού επηρεάζει άμεσα το συνολικό άρωμα. Όσον αφορά την 2,4-επταδιενάλη (κατώφλι ανίχνευσης 778 ppb) με οσμή οξειδωμένου ελαίου και μουρουνέλαιου, καθώς και με τη χαρακτηριστική οσμή χόρτου είναι δύσκολο να ερμηνευθεί η πραγματική συνεισφορά της ένωσης αυτής στη συνολική οσμή του δείγματος. Στη βιβλιογραφία αναφέρεται ότι η *trans,trans*-2,4-επταδιενάλη προσδίδει οσμή χόρτου και γρασιδιού ενώ η *trans,cis*-2,4-επταδιενάλη προσδίδει ελαιώδη οσμή (Serot et al., 2002; Caprino et al., 2008).

Η *trans,cis*-2,6-εννεαδιενάλη έχει χαμηλό κατώφλι ανίχνευσης (0,01 ppb, με άρωμα καρπουζιού-γρασιδιού) και, όταν είναι παρούσα, επηρεάζει το σύνολο των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του τροφίμου. Η ένωση αυτή βρέθηκε σε χαμηλές συγκεντρώσεις στα

αλιευμένα άτομα ιχθύων σε όλα τα είδη αλλά όχι στα εκτρεφόμενα. Από τα θαλασσινά ανιχνεύθηκε μόνο στο μύδι.

Σε μερικά από τα ψάρια της Μεσογείου, ανιχνεύθηκαν επιπλέον σε μικρές συγκεντρώσεις οι *trans,trans*-2,4-εξαδιενάλη (κατώφλι ανίχνευσης 10 ppb - σαρδέλα, γόπα, γαύρο, κουτσομούρα), η 2,4-οκταδιενάλη (σαρδέλα, γόπα, κουτσομούρα) και η *trans,trans*-2,4-δεκαδιενάλη (κατώφλι ανίχνευσης 0,07 ppb - κουτσομούρα). Η *cis,cis*-2,4-δεκαδιενάλη εκτός από τα Μεσογειακά αλιευμένα είδη ιχθύων ανιχνεύθηκε και στο εκτρεφόμενο φαγκρί και κρυνό.

Η 3-μεθυλ-βουτανάλη (κατώφλι ανίχνευσης 0,06 ppb – άρωμα βύνης) που σχηματίζεται μέσω αποικοδόμησης Strecker από την λευκίνη (Varlet et al., 2007), ανιχνεύθηκε στο σύνολο των δειγμάτων μας σε σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις και θεωρείται ότι επηρεάζει άμεσα το συνολικό άρωμα. Η αλδεΰδη αυτή βρέθηκε σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις στα εκτρεφόμενα άτομα σε σύγκριση με τα άγρια.

Η 2-μεθυλ-βουτανάλη (κατώφλι ανίχνευσης 0,04 ppb – άρωμα βύνης) ανιχνεύθηκε στην αθερίνα, μπακαλιάρaki, σαρδέλα, κουτσομούρα, γαύρο και μύδι.

Ανιχνεύθηκαν και άλλες πτητικές ενώσεις που προέρχονται από αμινοξέα, όπως η βενζαλδεΰδη (κατώφλι ανίχνευσης 350 ppb – άρωμα αμυγδάλου) και η βενζακεταλδεΰδη (κατώφλι ανίχνευσης 4 ppb – άρωμα πόας-πικάντικο). Η παρουσία της βενζαλδεΰδης αναμένεται να είναι περισσότερο αισθητή στο μύδι, η παρουσία της βενζακεταλδεΰδης στην αθερίνα και το μύδι, ενώ δεν ανιχνεύθηκαν στην γαρίδα.

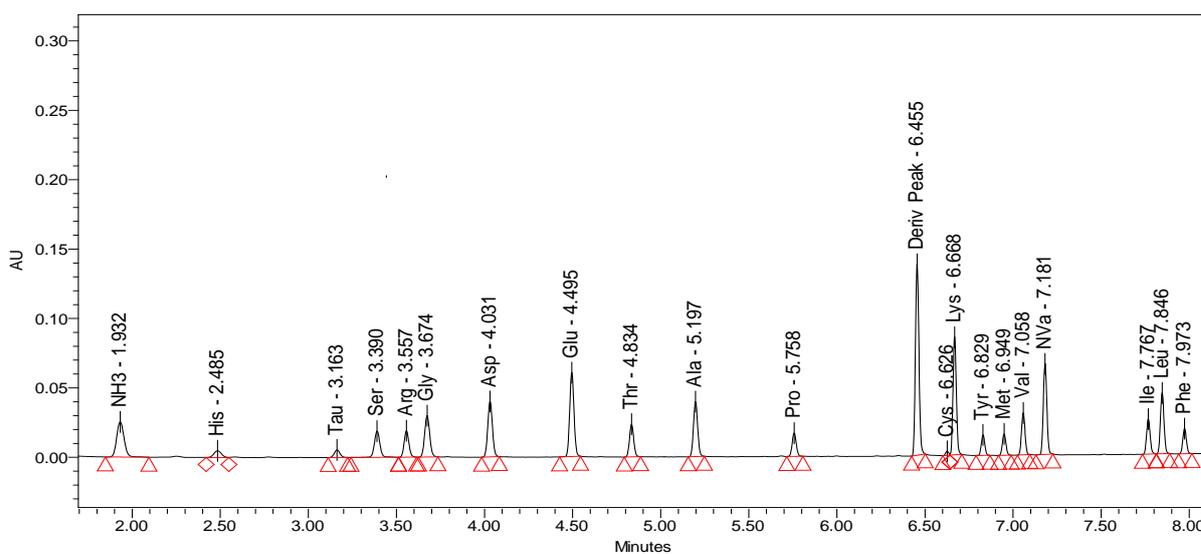
Στην αθερίνα και το μύδι καταγράφηκε αυξημένη παρουσία 3-μεθυλ-βουτανάλης και 3-μεθυλ-θειο-προπανάλης σε σύγκριση με τα άλλα είδη ιχθύων και τα θαλασσινά, τοποθετώντας τα είδη αυτά μεταξύ αυτών που είναι επιρρεπή στην αντίδραση Strecker.

Η ανάλυση των αμινοξέων (Πίνακας 5.11) σε άτομα άγριου και εκτρεφόμενου κρυνού ίδιου μεγέθους δεν έδειξε σημαντικές διαφορές στα προφίλ τους, γεγονός που εξηγεί την μη διαφοροποίηση των παραπάνω πτητικών ενώσεων που προέρχονται από αμινοξέα (φαινυλαλανίνη, λευκίνη και μεθειονίνη).

Πίνακας 5.11. Συγκεντρώσεις αμινοξέων (% w/w επί νωπού) σε μυς άγριου και εκτρεφόμενου κρانيός.

| Αμινοξύ | | Εκτρεφόμενος Κρانيός (n=3) | Άγριος Κρانيός (n=1) |
|------------------|-----|-------------------------------|----------------------|
| Ιστιδίνη | His | 0,48 ± 0,02 | 0,41 |
| Ταυρίνη* | Tau | -- | 0,28 |
| Σερίνη | Ser | 0,88 ± 0,02 | 0,80 |
| Αργινίνη | Arg | 1,29 ± 0,03 | 1,21 |
| Γλυκίνη | Gly | 1,08 ± 0,03 | 0,83 |
| Ασπαραγινικό οξύ | Asp | 2,17 ± 0,03 | 2,06 |
| Γλουταμινικό οξύ | Glu | 3,19 ± 0,05 | 3,09 |
| Θρεονίνη | Thr | 0,96 ± 0,03 | 0,87 |
| Αλανίνη | Ala | 1,28 ± 0,02 | 1,16 |
| Προλίνη | Pro | 0,74 ± 0,02 | 0,62 |
| Κυστεΐνη | Cys | 0,11 ± 0,00 | 0,10 |
| Λυσίνη | Lys | 1,92 ± 0,03 | 1,86 |
| Τυροσίνη | Tyr | 0,70 ± 0,02 | 0,66 |
| Μεθειονίνη | Met | 0,62 ± 0,02 | 0,59 |
| Βαλίνη | Val | 0,98 ± 0,03 | 0,89 |
| Ισολευκίνη | Ile | 0,90 ± 0,02 | 0,85 |
| Λευκίνη | Leu | 1,61 ± 0,04 | 1,51 |
| Φαινυλαλανίνη | Phe | 0,81 ± 0,02 | 0,76 |

*: Η ταυρίνη δεν είναι αμινοξύ με τη στενή βιοχημική έννοια του όρου, αλλά εξετάζεται μαζί με τα αμινοξέα



Σχήμα 5.3: Χρωματογράφημα αμινοξέων άγριου κρانيός

Μεμονωμένες πτητικές ενώσεις που ανιχνεύθηκαν στα θαλασσινά, όπως η 2-αιθυλ-2-βουτενάλη στο καλαμάρι και τη γαρίδα και η 3-μεθυλ-2-βουτενάλη στο μύδι, θεωρείται ότι συμβάλλουν στην ακόμα μεγαλύτερη διαφοροποίηση του αρώματος των θαλασσινών σε σχέση με το άρωμα των ιχθύων.

Σε όλα τα δείγματα εκτρεφόμενων ιχθύων (φαγκρί- κρانيός) της παρούσας διατριβής καθώς και στη σαρδέλα, την κουτσομούρα και το μύδι ανιχνεύθηκε σε χαμηλές συγκεντρώσεις η τοξική αλδεϋδη 2-βουτενάλη. Η 2-βουτενάλη παράγεται ενδογενώς από την υπεροξειδωση των

λιπιδίων, μια διαδικασία που περιλαμβάνει την οξειδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων τα οποία είναι κύρια συστατικά των βιομεμβρανών. Η 2-βουτενάλη έχει ανιχνευθεί σε φρούτα (μήλα, σταφύλια, φράουλες, ντομάτες), σε λαχανικά (λάχανο, καρότο, σέλινο, κουνουπίδι, λαχανάκια Βρυξελλών), σε ψωμί, τυρί, κρέας, μύρα, ψάρι, γάλα και κρασί (WHO: World Health Organization, 2008).

Σύμφωνα με τους Olafsdottir & Jonsdottir (2010) οι καρβονυλικές ενώσεις και οι αλκοόλες με 6, 8 και 9 άτομα άνθρακα είναι υπεύθυνες για τις αμυδρές οσμές στα θαλάσσια είδη (χαρακτηριστικές φυτικές οσμές όπως αγγουριού, πεπονιού, μανιταριού). Οι αλκοόλες 1-οκτεν-3-όλη, 1,5-οκταδιεν-3-όλη, 2-οκτεν-1-όλη και 2,5-οκταδιεν-1-όλη είναι πτητικές ενώσεις που σχηματίζονται από ενζυμική δράση (Josephson et al., 1987). Η (E)-2-εννεανάλη και η (E,Z)-2,6-εννεαδιενάλη μπορούν να σχηματιστούν είτε ενζυμικά είτε με μη ενζυμική αυτοοξειδωση (Josephson et al., 1987). Στην παρούσα εργασία οι παραπάνω πτητικές ενώσεις δεν ανιχνεύτηκαν με εξαίρεση την 1-οκτεν-3-όλη (σαρδέλα, γόπα και μύδι) και την (E,Z)-2,6-εννεαδιενάλη στα αλιευμένα είδη ιχθύων Μεσογείου και στο μύδι. Η απουσία τους από τα δείγματα κρανίου σημαίνει ότι πιθανόν τα βιοσυνθετικά μονοπάτια για το σχηματισμό αυτών των αλκοολών δεν υπάρχουν στον κρανίο. Οι Josephson et al. (1987) αναφέρουν ότι η ενζυμική βιοσύνθεση αλκοολών ή αλδευδών με 9 άτομα άνθρακα μπορεί να λαμβάνει χώρα ή όχι στα διάφορα είδη ψαριών. Η πιθανότητα οι παραπάνω ουσίες να είναι παρούσες σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις και να μην μπορούν να ανιχνευτούν με την ακολουθούμενη μέθοδο απομόνωσης και ανίχνευσης είναι πολύ μικρή, αφού η (E)-2-εννεανάλη και η (E,Z)-2,6-εννεαδιενάλη ανιχνεύτηκαν σε ιστό εκτρεφόμενης τσιπούρας κατά την ανάπτυξη της μεθόδου. Εδώ πρέπει να αναφερθεί ότι η 1-οκτεν-3-όλη προέρχεται από το αραχιδονικό (ARA) και το εικοσιπενταενοϊκό οξύ (EPA), η 1,5-οκταδιεν-3-όλη από το εικοσιπενταενοϊκό οξύ (EPA), η 2-οκτεν-1-όλη από το αραχιδονικό οξύ (ARA) και η 2,5-οκταδιεν-1-όλη από το εικοσιπενταενοϊκό οξύ (EPA) (Πίνακας 5.6). Στα εκτρεφόμενα είδη (κρανίο και φαγκρί) της παρούσας διατριβής, το αραχιδονικό οξύ (ARA) βρέθηκε σε σχετικά χαμηλά ποσοστά (0.69 έως 2.42%) σε σύγκριση με το ποσοστό αραχιδονικού οξέος στα λιπίδια του άγριου κρανίου (12.07%) (Πίνακας 5.1). Αντίθετα, το εικοσιπενταενοϊκό οξύ (EPA) βρέθηκε σε παρόμοια ποσοστά στα εκτρεφόμενα και τα άγρια άτομα. Συνεπώς, η απουσία της 2-οκτεν-1-όλης και της 1-οκτεν-3-όλης μπορεί να εξηγηθεί λόγω των χαμηλών ποσοτήτων των λιπαρών οξέων από τα οποία προέρχονται. Όμοια, η απουσία της 1,5-οκταδιεν-3-όλης και της 2,5-οκταδιεν-1-όλης από τα πτητικά συστατικά των εκτρεφόμενων ιχθύων πιθανώς οφείλεται στο ότι το εικοσιπενταενοϊκό οξύ (EPA) δεν είναι παρόν σε συγκεντρώσεις αρκετές για να σχηματίσουν ανιχνεύσιμες συγκεντρώσεις αυτών των ακόρεστων αλκοολών. Η μη ανίχνευση αυτών των ενώσεων θα πρέπει να συνδεθεί (α) με την φρεσκότητα των ψαριών των πειραμάτων μας, (β) τη χαμηλή περιεκτικότητα του κρανίου σε

λίπος ή και (γ) διαφορές στην ενζυμική βιοσύνθεση αλκοολών από είδος σε είδος, αφού πτητικές ουσίες που σχηματίζονται ενζυμικά από το αραχιδονικό (ARA) και το εικοσιπενταενοϊκό οξύ (EPA) ανιχνεύθηκαν στα πειράματα μας (Πίνακας 5.5). Απουσία των παραπάνω πτητικών ενώσεων παρατηρήθηκε και στο φιλέτο τού άγριου κρανιού, πιθανώς ως αποτέλεσμα της χαμηλής λιποπεριεκτικότητας του άγριου κρανιού (0,34%) -σχεδόν τρεις φορές χαμηλότερης από την αντίστοιχη των εκτρεφόμενων (Πίνακας 5.1).

Στην παρούσα μελέτη ανιχνεύθηκαν στα δείγματα κρανιού πτητικές ενώσεις όπως η 2-εξανάλη, 2-οκτενάλη, 2,3-οκτανοδιόνη, 2,6-εννεαδιενάλη, οι οποίες σύμφωνα με τους Josephson et al. (1984) συναντώνται σε ψάρια του γλυκού νερού. Πιθανώς, το γεγονός ότι οι κρανιοί είναι ανάδρομα ψάρια και η βιολογία τους χαρακτηρίζεται από την παρουσία τους σε εκβολές ποταμών, όπου τα νερά είναι υφάλμυρα, ίσως δικαιολογεί την παρουσία των ενώσεων αυτών.

Οι υδρογονάνθρακες προέρχονται από την αυτοοξειδωση των λιπιδίων ή από την αποσύνθεση των καροτενοειδών και συμμετέχουν ελάχιστα στην διαμόρφωση του αρώματος λόγω των πολύ υψηλών κατωφλίων ανίχνευσής τους. Στα δείγματά μας ανιχνεύτηκε πλήθος υδρογονανθράκων. Από τους κορεσμένους υδρογονάνθρακες κυριότεροι ήταν το επτάνιο στα θαλασσινά (καλαμάρι 0,23 ppb και μύδια 1,91 ppb) και το οκτάνιο (μύδια 2,15 ppb). Στα εκτρεφόμενα είδη ιχθύων παρατηρήθηκαν χαμηλές συγκεντρώσεις, ενώ ο άγριος κρανιός περιείχε αυξημένη συγκέντρωση οκτανίου. Επίσης, ανιχνεύθηκε δεκαπεντάνιο στη σαρδέλα (0,43 ppb) και τη γόπα (0,22 ppb), δεκαεξάνιο στην αθερίνα (0,45 ppb) και τον κρανιό (στη δεύτερη ομάδα του πειράματος διατροφής -0,15 ppb- μεγαλύτερη λιποπεριεκτικότητα από τις τρεις ομάδες) και δεκαεπτάνιο στη σαρδέλα (1,68 ppb).

Από τους ακόρεστους υδρογονάνθρακες ανιχνεύθηκαν σε υψηλότερες συγκεντρώσεις το *trans-trans*-3,5-οκταδιένιο στη σαρδέλα (0,29 ppb) και την κουτσομούρα (0,10 ppb), το *cis-cis*-3,5-οκταδιένιο και το 1,3-*trans*-5-*cis*-οκτατριένιο στη σαρδέλα (0,21 ppb και 0,11 ppb αντίστοιχα).

Από τους διακλαδισμένους υδρογονάνθρακες το 2,6,10,14-τετραμεθυλδεκαπεντάνιο (πριστάνιο) βρέθηκε σε υψηλότερες συγκεντρώσεις κυρίως στα εκτρεφόμενα είδη ιχθύων και στη γόπα (1,20 ppb). Το prisτάνιο παρουσίασε τάση αύξησης όσο αυξανόταν το ιχθυέλαιο στο σιτηρέσιο των κρανιών. Επίσης, τάση αύξησης παρατηρήθηκε και στο πείραμα της ανάπτυξης με την ομάδα Γ (Αύγουστος) να φτάνει στο 1,01 ppb. Αυτή η τάση όμως έρχεται σε αντίθεση με το πείραμα μεγέθους αφού οι μικρού μεγέθους κρανιοί είχαν σχεδόν πενταπλάσιες συγκεντρώσεις από τους μεγάλους, εύρημα που μας οδηγεί να θεωρήσουμε ότι και η εποχικότητα επηρεάζει τη συγκέντρωσή του. Επίσης, στο πείραμα με το φαγκρί στο οποίο τα ψάρια είχαν παρόμοιο μέγεθος, τον Αύγουστο βρέθηκε αυξημένη συγκέντρωση όπως και το χειμώνα. Αξιοσημείωτη είναι η μη ανίχνευση prisτανίου στον άγριο κρανιό. Το 2,4-

διμεθυλοεπτάνιο και το 4-μεθυλοοκτάνιο παρουσιάζουν αυξημένες συγκεντρώσεις στη σαρδέλα (0,50 και 0,35 ppb), το μύδι (0,82 και 0,62 ppb) και το γαύρο (0,25 και 0,23 ppb).

Από τους αρωματικούς υδρογονάνθρακες ανιχνεύτηκε τολουόλιο σε αρκετά μεγάλες συγκεντρώσεις στα μύδια (22,24 ppb), τη σαρδέλα (11,13 ppb) και σε χαμηλότερες στην κουτσομούρα, το καλαμάρι και τον γαύρο. Στα εκτρεφόμενα είδη ανιχνεύτηκε σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Επίσης ανιχνεύθηκε στυρόλιο στην κουτσομούρα και το καλαμάρι σε συγκεντρώσεις 0,28 και 0,16 ppb αντίστοιχα, ενώ οι συγκεντρώσεις του ήταν σχεδόν μηδενικές στις υπόλοιπες περιπτώσεις.

Στο φαγκρί ανιχνεύθηκαν και ημιπτητικές ενώσεις όπως το π-ξυλόλιο και το δεκαεπτάνιο, που προέρχονται μάλλον από την πλούσια σε καροτένια διατροφή των φαγκριών, (τα καροτένια χρησιμοποιούνται στα σιτηρέσια του φαγκριού για τη βελτίωση του χρώματος του δέρματός του). Η μεγαλύτερη συγκέντρωση δεκαεπτανίου (0,096 ppb) βρέθηκε στο φαγκρί την άνοιξη. Στον κρανίο το δεκαεπτάνιο βρέθηκε σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις, με εξαίρεση το πείραμα εκτροφής των κρανίων με σιτηρέσια διαφορετικής λιποπεριεκτικότητας, όπου παρατηρήθηκε ότι το δεκαεπτάνιο αυξάνεται όσο αυξάνει η λιποπεριεκτικότητα. Αυτό είναι σε συμφωνία με τις ψηλές συγκεντρώσεις δεκαεπτανίου που παρατηρήθηκαν σε ιχθύς με μεγάλη λιποπεριεκτικότητα, όπως η σαρδέλα (1,68 ppb). Τα παραπάνω μας οδηγούν στο συμπέρασμα ότι το δεκαεπτάνιο αυξάνεται πιθανώς με την αύξηση της λιποπεριεκτικότητας και από την περιεκτικότητα της τροφής τους σε καροτένια.

Το π-ξυλόλιο μπορεί να προέρχεται και από τη μέθοδο απομόνωσης των πτητικών (SDE) η οποία μπορεί να συμβάλει στη θερμική αποικοδόμηση των β,β καροτενίων και τον σχηματισμό πολυενίων και αρωματικών υδρογονανθράκων όπως το π-ξυλόλιο (Nor & Vijaya, 2011). Το π-ξυλόλιο, στο πείραμα της εποχικής διαφοροποίησης του φαγκριού ανιχνεύθηκε στα δείγματα από όλες τις εποχές, ενώ αντίθετα στα δείγματα κρανιού το π-ξυλόλιο ανιχνεύθηκε μόνο στο πείραμα εκτροφής κρανίων με σιτηρέσια διαφορετικής λιποπεριεκτικότητας. Επίσης ανιχνεύτηκε στα Μεσογειακά είδη ιχθύων και τα θαλασσινά και η υψηλότερη συγκέντρωση βρέθηκε στο μύδι (0,26 ppb) κάτι το αναμενόμενο, δεδομένου ότι τα μύδια τρέφονται κυρίως με φυτοπλαγκτόν, τροφή πλούσια σε καροτενοειδή.

Πυραζίνες ανιχνεύθηκαν σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις σε ορισμένα από τα άτομα των πειραμάτων μας, πιθανώς ως παραπροϊόντα της μεθόδου απόσταξης-εκχύλισης για απομόνωση των πτητικών συστατικών (Chung et al., 2002). Αντίθετα με τους ιχθύς, στα θαλασσινά βρέθηκαν αυξημένες συγκεντρώσεις πυραζινών, συγκεκριμένα στη γαρίδα (1,71 ppb) και το μύδι (1,64 ppb) συμβάλλοντας σημαντικά στο άρωμα και στη γεύση αυτών των θαλασσινών, λόγω του χαμηλότερου κατωφλίου ανίχνευσης τους (Mottram, 1998). Στο μύδι βρέθηκαν επί

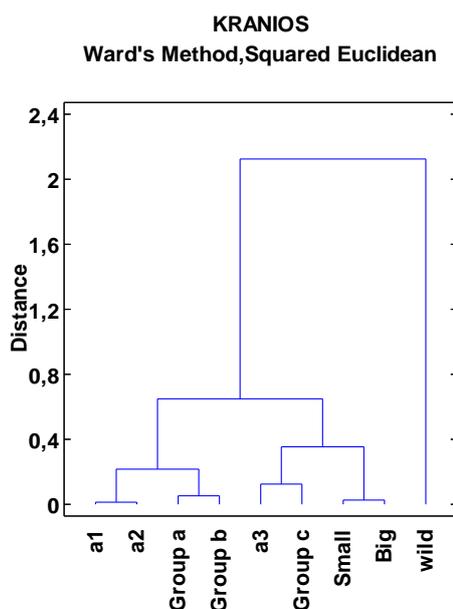
πλέον αξιόλογες συγκεντρώσεις πυριδινών (1,54 ppb) οι οποίες διαφοροποιούν επιπλέον το συνολικό άρωμά του μυδιού από τα άλλα ψάρια και θαλασσινά της παρούσας εργασίας.

Τέλος, η γαρίδα περιείχε ιδιαίτερα μεγάλες συγκεντρώσεις (11,5 ppb) αγνώστων πτητικών ενώσεων σε σύγκριση με τα άλλα ψάρια και θαλασσινά.

Οι υπόλοιπες κατηγορίες πτητικών ενώσεων των Πινάκων 5.9, 5.10 και 4.1.2 βρέθηκαν σε χαμηλές συγκεντρώσεις και μάλλον έχουν μικρό αντίκτυπο στο συνολικό άρωμα των ψαριών. Εξαιρέση και αντικείμενο ιδιαίτερης προσοχής αποτελούν το 2-αιθυλφουράνιο και το διμεθυλοδισουλφίδιο τα οποία, έχοντας χαμηλό κατώφλι ανίχνευσης (0,0023 ppb και 0,33 ppb) αναμένεται να συνεισφέρουν στο συνολικό άρωμα των ιχθύων και των θαλασσινών.

Στο σύνολο των αποτελεσμάτων από τα πειράματα του κρανίου για το ολικό λίπος, τα κορεσμένα λιπαρά οξέα (SFA), τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα (MUFA), τα $\omega 9$, $\omega 6$, και $\omega 3$ λιπαρά οξέα, τις αλκοόλες, τις κετόνες, τις αλδεύδες και τους υδρογονάνθρακες, ως σημαντικότερες τάξεις λιπαρών οξέων και πτητικών ενώσεων εφαρμόστηκε ανάλυση ομαδοποίησης (cluster analysis) με το στατιστικό πρόγραμμα Statgraphics και το αποτέλεσμα δίνεται στο Σχήμα 5.4. Παρατηρούμε ότι:

- Ο άγριος κρανιός (wild) διαφοροποιείται σε σχέση με όλους τους εκτρεφόμενους κρανιούς
- Κρανιοί με όμοιο γενετικό υπόβαθρο (ίδια γέννα) και συνθήκες εκτροφής σχετίζονται (μικρός και μεγάλος κρανιός: small big)
- Οι διαφορές λόγω της αύξησης σωματικού βάρους και αύξησης του ιχθυελαίου στη τροφή είναι σημαντικές (group c - a3)



Σχήμα 5.4: Δενδρόγραμμα από ανάλυση ομαδοποίησης των κυριότερων τάξεων λιπαρών οξέων, πτητικών ενώσεων και του ολικού λίπους των πειραμάτων κρανίου της παρούσας διατριβής.

5.2.3 Επίπεδα – Κατηγοριοποίηση οσμών

Από τα παραπάνω συγκεντρωτικά αποτελέσματα μπορεί να γίνει μια σύγκριση, ως ένα βαθμό, του αρώματος των ιχθύων (ιχθυοκαλλιέργειας και μη) και των θαλασσινών της παρούσας μελέτης, δεδομένου ότι στη βιβλιογραφία δεν είναι διαθέσιμα τα κατώφλια ανίχνευσης όλων των ενώσεων που ανιχνεύθηκαν. Για να αποκτηθεί μια συνολική εικόνα των αποτελεσμάτων των πειραμάτων, παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.12 οι πτητικές ενώσεις που θεωρείται ότι συνεισφέρουν περισσότερο στο άρωμα των μελετηθέντων δειγμάτων.

Πίνακας 5.12: Πτητικές ενώσεις που θεωρείται ότι χαρακτηρίζουν το άρωμα των ιχθύων και θαλασσινών, τα κατώφλια ανίχνευσής τους και περιγραφή της οσμής που προσδίδουν.

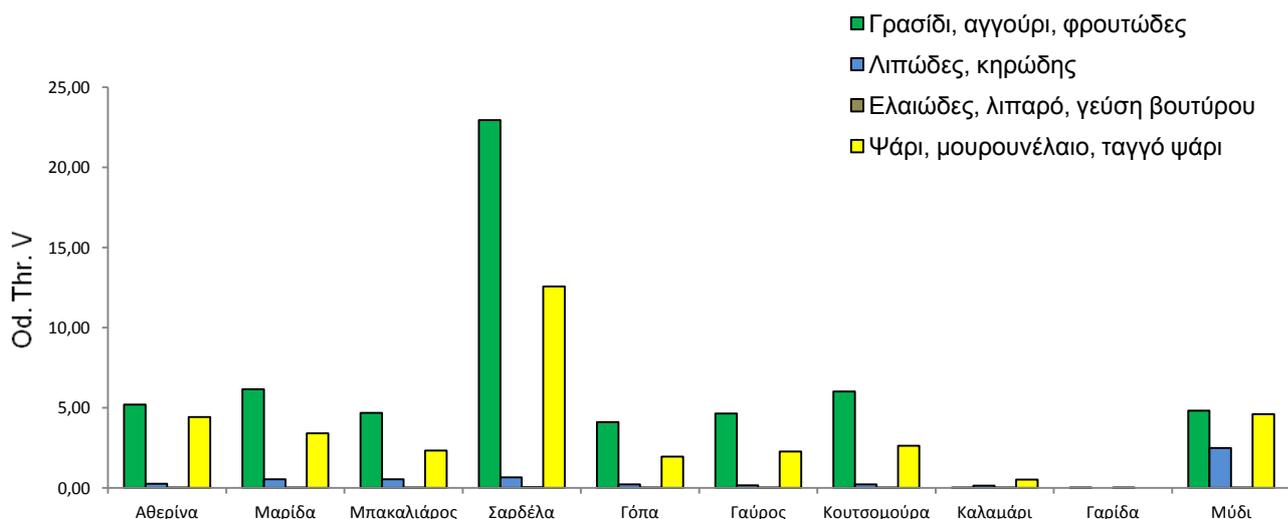
| Ένωση | Κατώφλι ανίχνευσης (ppb) | Περιγραφή αρώματος | Βιβλιογραφική αναφορά |
|------------------------|--------------------------|---|---|
| 1-Πεντεν-3-όλη | 400 | Γρασίδι, φρουτώδες, λαχανικό | Kawai (1996) |
| 1-Πεντεν-3-όνη | 1,3 | Γρασίδι | Kawai (1996) |
| Πεντανάλη | 240 | Ελαιώδες, ξυλώδες, πικρό | Rodríguez et al, (2012)* |
| Εξανάλη | 4,5 | Γρασίδι | Kawai (1996) |
| Επτανάλη | 0,3 | Σαν ψάρι | Serot et al, (2002) |
| Οκτανάλη | 0,7 | Λιπώδες, κηρώδες, πορτοκάλι | Caprino et al, (2008) |
| Εννεανάλη | 1 | Κηρώδες, άνθος | Caprino et al, (2008) |
| Δεκανάλη | 0,1 | Γρασίδι | http://www.leffingwell.com |
| (E,E)-2,4-Εξαδιενάλη | 10 | Γρασίδι, φρουτώδες, εσπεριδοειδή, κηρώδες | http://www.leffingwell.com |
| (E,Z)-2,4-Επταδιενάλη | 778 | Σαν ψάρι, γρασίδι, αγγούρι | Caprino et al, (2008) |
| (E,Z)-2,6-Εννεαδιενάλη | 0,01 | Αγγούρι, γρασίδι | Caprino et al, (2008) |
| 2,4-Οκταδιενάλη | nd | Γρασίδι, λιπαρό ελαιώδες, εσπεριδοειδή | |
| 2,4-Δεκαδιενάλη | 0,07 | Τηγανητά λιπαρά, μουρουνέλαιο | Caprino et al, (2008) |
| 2-Πεντανόνη | 70000 | Φρουτώδες, ξυλώδες, μπανάνα | http://www.leffingwell.com |
| 2,3-Βουτανοδιόνη | 15 | Βούτυρο | Belitz et al. (2009) |
| 2,3-Πεντανοδιόνη | 30 | Βούτυρο, φρουτώδες | Belitz et al. (2009) |
| 2,3-Εξανοδιόνη | nd | Βούτυρο, ελαιώδες, φρουτώδες | |
| 2,3-Οκτανοδιόνη | nd | Άνηθος, μαγειρεμένο μπρόκολο, βούτυρο | |
| 3-Υδροξυ-2-βουτανόνη | 800 | Άρωμα βουτύρου | http://www.leffingwell.com |
| (E) 2-Βουτενάλη | nd | Πικάντικο | |
| (E) 2-Πεντενάλη | 300 | Γρασίδι, μήλο, πικραμύγδαλο | Rodríguez et al, (2012)* |
| (Z) 2-Εξενάλη | 17 | Γρασίδι | Kawai (1996) |
| (Z) 2-Επτενάλη | 13 | Γρασίδι | http://www.leffingwell.com |
| (E) 2-Οκτενάλη | 9,1 | Ελαιώδες, ποιώδες, πικάντικο | Hall & Anderson (1983) |
| (E) 2-Δεκενάλη | 0,4 | Κηρώδες | http://www.leffingwell.com |
| 2-Μεθυλοβουτανάλη | 0,04 | Βύνη | Πίνακας 2.4 |
| 3-Μεθυλοβουτανάλη | 0,06 | Βύνη | Πίνακας 2.4 |
| 2-Αιθυλοφουράνιο | 0,0023 | Καουτσούκ, πικάντικο | Hajaratul et al.(2012) |
| 1-Πεντανόλη | 120 | | Kawai (1996) |
| 2-Πεντεν-1-όλη (E) | nd | Μανιτάρι | |
| 2- Πεντεν-1-όλη (Z) | nd | Γρασίδι | |
| 1-Οκτεν-3-όλη | 10 | Μανιτάρι | Πίνακας 2.2 |
| 1-Επτανόλη | 3 | Εσπεριδοειδές | http://www.leffingwell.com |
| 1-Οκτανόλη | 110 | Λιπαρό, Εσπεριδοειδές | http://www.leffingwell.com |
| 1-Εννεανόλη | 50 | Εσπεριδοειδές | http://www.leffingwell.com |
| 3-Πεντανόλη | nd | Καρυδέλαιο, βότανο | |
| 4-Επτενάλη (Z) | 0,04 | Οσμή οξειδωμένου ψαριού | McGill et al. (1974) |
| Βενζαλδεΐδη | 350 | Αμύγδαλα | Belitz et al. (2009) |
| Αιθυλοβενζόλιο | 730 | Πικρό | Caprino et al, (2008) |
| Φουρφουράλη | 3000 | Αμύγδαλα | Belitz et al. (2009) |
| Διμεθυλοδισουλφίδιο | 0,33 | Θαλασσινό, λάχανο-πατζάρι | Belitz et al. (2009) |

* Το κατώφλι ανίχνευσης προσδιορίστηκε σε εξευγενισμένο ελαιόλαδο

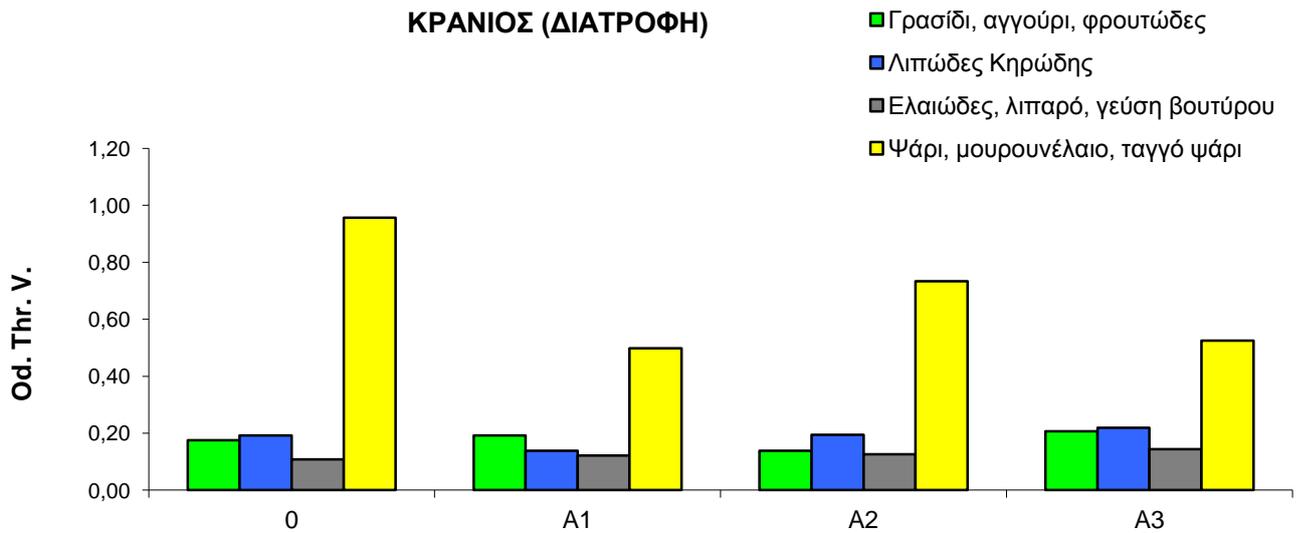
Για κάθε πτητική ένωση του Πίνακα 5.12 υπολογίστηκε το λεγόμενο «όριο ανίχνευσης οσμής» (Odour Threshold Value, Od.Thr.V.) (Παράρτημα 2) και στη συνέχεια έγινε ομαδοποίηση των πτητικών ενώσεων ανάλογα με το άρωμα που προσδίδουν στα δείγματα κάθε πειράματος ξεχωριστά, ως εξής:

1. Θετικές νότες από γρασίδι, αγγούρι, φρουτώδες, και άρωμα εσπεριδοειδών δημιουργούν οι 1-πεντεν-3-όλη, 1-πεντεν-3-όνη, εξανάλη, δεκανάλη, (E,E)-2,4-εξαδιενάλη, (E,E)-2,4-επταδιενάλη, (E,Z)-2,6-εννεαδιενάλη, 2,4-οκταδιενάλη, 2-πεντανόνη, (E)-2-πεντενάλη, (Z)-2-εξανάλη, (Z)-2-επτενάλη και (Z)-2-πεντεν-1-όλη.
2. Οσμές λιπώδεις – κηρώδεις δημιουργούν οι οκτανάλη, εννεανάλη και (E)-2-δεκενάλη.
3. Οσμές ελαιώδεις, λιπαρές και γεύση βουτύρου δημιουργούν οι πεντανάλη, 2,3-βουτανοδιόνη, 2,3-πεντανοδιόνη, 2,3-εξανοδιόνη, 2,3-οκτανοδιόνη, 3-υδροξυ-2-βουτανόνη, 1-οκτανόλη και 3-πεντανόλη.
4. Οσμές ψαριού «ψαρίλας», μουρουνέλαιου και ταγγού ψαριού προκαλούν οι επτανάλη, (E,Z)-2,4-επταδιενάλη και 2,4-δεκαδιενάλη, (Z)-4-επτενάλη.
5. Τέλος, οσμή μανιταριού δημιουργούν οι 2-πεντεν-1-όλη και (E)-1-οκτεν-3-όλη), οσμές εσπεριδοειδών οι 1-επτανόλη και 1-εννεανόλη και οσμές βύνης οι 2-μεθυλ-βουτανάλη και 3-μεθυλ-βουτανάλη.

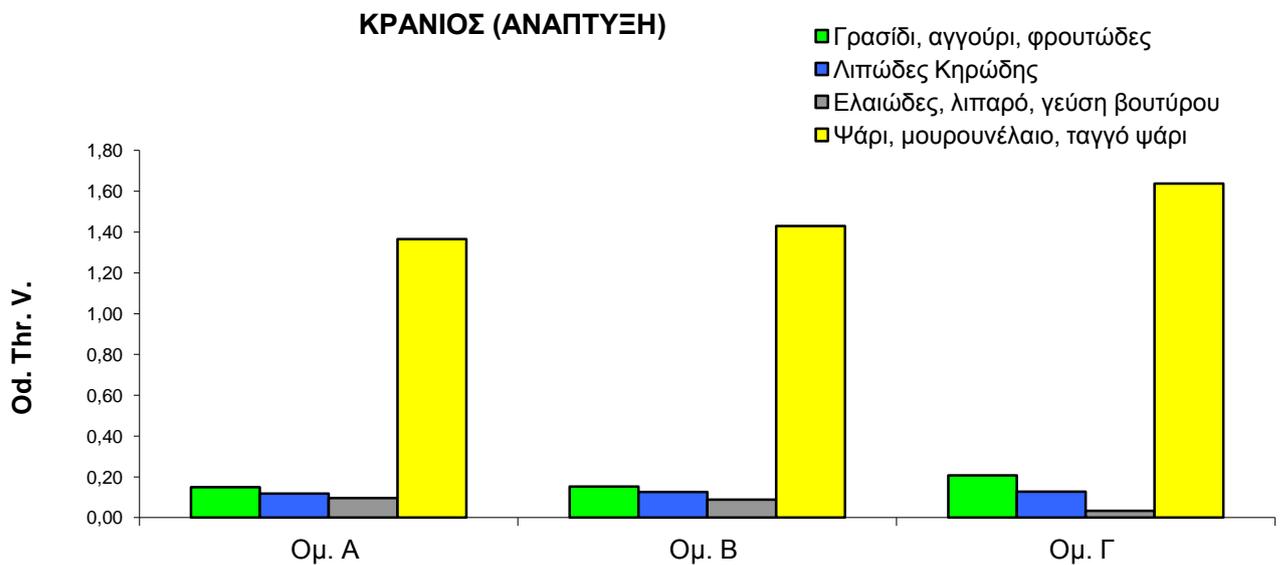
ΙΧΘΥΕΣ ΚΑΙ ΘΑΛΑΣΣΙΝΑ ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΟΥ



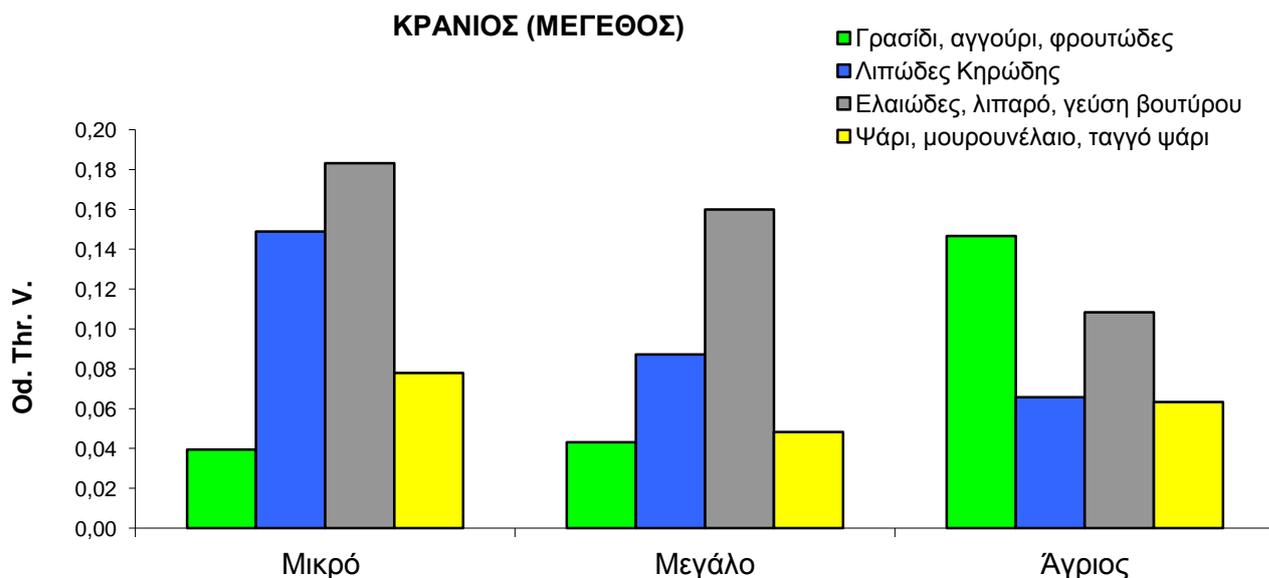
Σχήμα 5.5: Σταθμισμένες εντάσεις αρωμάτων (Od. Thr. V.) που προσδίδουν τα πτητικά συστατικά στα Μεσογειακά είδη ιχθύων και τα θαλασσινά της μελέτης.



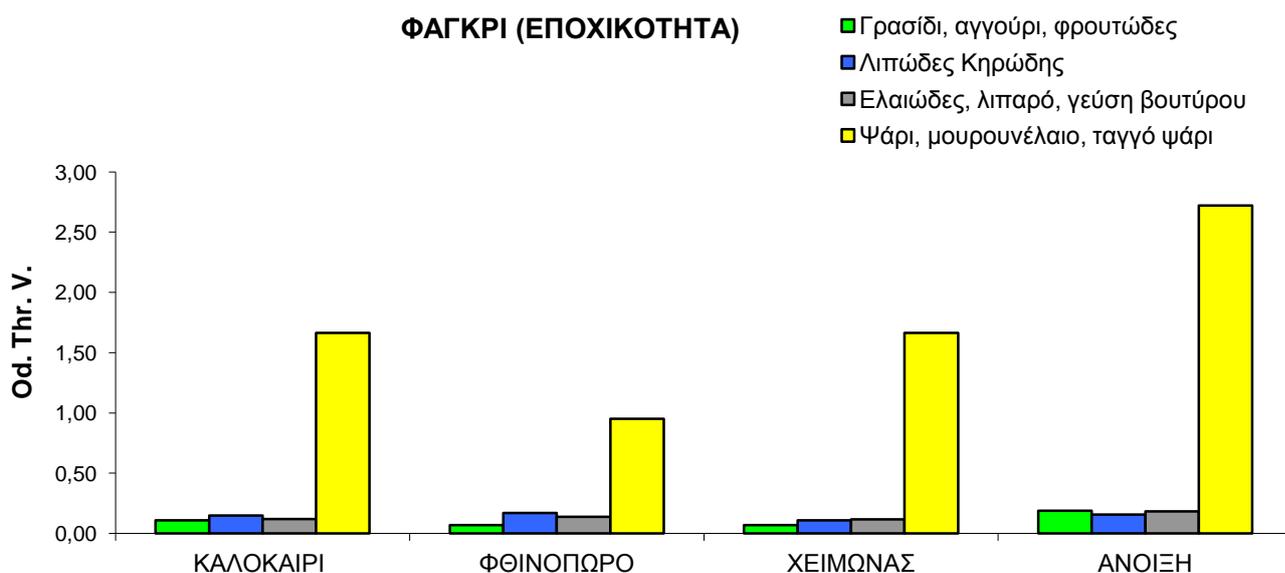
Σχήμα 5.6: Σταθμισμένες εντάσεις αρωμάτων (Od. Thr. V.) που προσδίδουν τα πτητικά συστατικά εκτρεφόμενων κρανίων που τράφηκαν με σιτηρέσια διαφορετικής λιποπεριεκτικότητας.



Σχήμα 5.7: Σταθμισμένες εντάσεις αρωμάτων (Od. Thr. V.) που προσδίδουν τα πτητικά συστατικά σε εκτρεφόμενους κρανιούς σε τρία στάδια ανάπτυξης.



Σχήμα 5.8: Σταθμισμένες εντάσεις αρωμάτων (Od. Thr. V.) που προσδίδουν τα πτητικά συστατικά σε εκτρεφόμενους κρανιούς διαφορετικού μεγέθους.



Σχήμα 5.9: Σταθμισμένες εντάσεις αρωμάτων (Od. Thr. V.) που προσδίδουν τα πτητικά συστατικά σε εποχιακές μεταβολές εκτρεφόμενων φαγκριών.

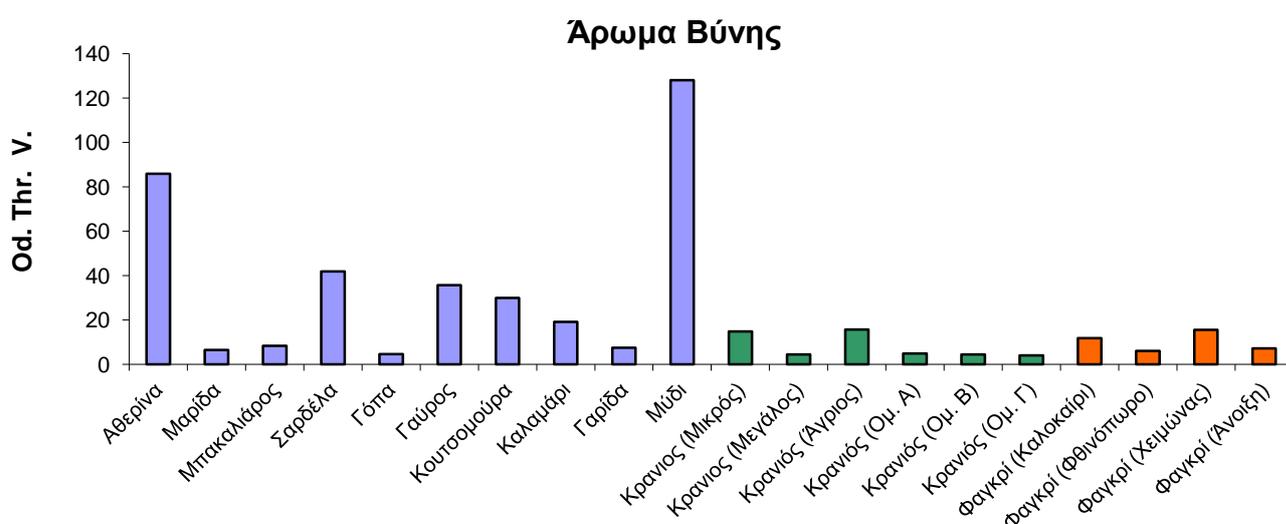
Από τα παραπάνω σχήματα γίνεται φανερός ο ρόλος της διατροφής στη διαφοροποίηση της οσμής των ιχθυών. Τα Μεσογειακά είδη ιχθύων (μη εκτρεφόμενα) (Σχήμα 5.5) έχουν έντονη την παρουσία των θετικών οσμών (γρασίδι, αγγούρι, φρουτώδες), ενώ ακολουθεί η οσμή του ψαριού και η λιπαρή οσμή. Αντίθετα στα εκτρεφόμενα είδη επικρατεί σε μεγάλο βαθμό η οσμή ψαριού (Σχήματα 5.6, 5.7, 5.9) που τα διαφοροποιεί ως προς το άρωμα από τα μη

εκτρεφόμενα Μεσογειακά. Εξαίρεση αποτελούν τα δείγματα κρανιού από το πείραμα μελέτης κρανιών διαφορετικού μεγέθους (Σχήμα 5.8) όπου οι θετικές οσμές και η οσμή ψαριού βρίσκονται στα ίδια επίπεδα, με τις λιπαρές οσμές και το άρωμα βουτύρου να επικρατούν. Αυτό ίσως δείχνει ότι το άρωμα «φτιάχνει» καθώς μεγαλώνει σε σωματικό βάρος ο κρανιός.

Στον άγριο κρανιό (Σχήμα 5.7) όπως και στα Μεσογειακά είδη αλιευμένων ιχθύων (Σχήμα 5.5) επικρατούν οι θετικές οσμές και τα επίπεδα λιπαρών οσμών και αρώματος βουτύρου επικρατούν έναντι της οσμής ψαριού. Η διαφοροποίηση του αρώματος του άγριου κρανιού και των κρανιών από το πείραμα μεγέθους (Σχήμα 5.7) από τους κρανιούς των άλλων πειραμάτων οφείλεται πιθανότατα στην αυξημένη παρουσία ω3 λιπαρών οξέων καθώς και στις ψηλότερες τιμές του λόγου ω3/ω6 σε σχέση με τα άλλα πειράματα (Πίνακας 5.1). Γνωρίζουμε ότι σιτηρέσια με αυξημένη περιεκτικότητα ω6 λιπαρών οξέων έχουν ως αποτέλεσμα αυξημένες συγκεντρώσεις ω6 λιπαρών οξέων στη σάρκα των εκτρεφόμενων ψαριών. Επί πλέον έχει παρατηρηθεί ότι η αύξηση στην περιεκτικότητα ω6 λιπαρών οξέων οδηγεί σε αύξηση των πτητικών αλδευδών. Οι ενώσεις αυτές είναι γνωστό από την βιβλιογραφία ότι συνεισφέρουν αρνητικά στο συνολικό άρωμα των ψαριών παράγοντας δύσοσμες ενώσεις χαρακτηριστικές των ψαριών που λαμβάνουν δίαιτες υψηλής περιεκτικότητας σε ω6 λιπαρά οξέα.

Επίσης, στα δείγματα από όλα τα πειράματα υπάρχει σε διαφορετικές εντάσεις η παρουσία οσμής βύνης (Σχήμα 5.10), που προκαλείται κυρίως από την 3-μεθυλ-βουτανάλη.

Τέλος, σε χαμηλά επίπεδα ανιχνεύθηκαν ενώσεις που προσδίδουν άρωμα μανιταριού στη σαρδέλα, τη γόπα, και το μύδι και οσμές εσπεριδοειδών στη μαρίδα και το μύδι. Συνολικά, η γαρίδα διαφοροποιείται εντελώς από τα άλλα ψάρια και θαλασσινά, με τις πτητικές της ενώσεις να είναι πλούσιες σε αμίνες, πυραζίνες και ένα σύνολο άγνωστων ουσιών.



Σχήμα 5.10: Σταθμισμένες εντάσεις αρώματος βύνης (Od. Thr. V.) στο σύνολο των ψαριών και θαλασσινών της παρούσας διατριβής.

5.3 Διατροφική αξιολόγηση

Τα ψάρια είναι πολύτιμη πηγή υψηλής ποιότητας πρωτεΐνης, ενώ το πλούσιο σε $\omega 3$ πολυακόρεστα λιπαρά οξέα λίπος τους θεωρείται ότι έχει πολλαπλά οφέλη για την υγεία. Η αυξανόμενη ενημέρωση των καταναλωτών για την ποιότητα της διατροφής και της σχέσης της με την προάσπιση της υγείας, προκαλεί την ανάγκη σύνταξης διατροφικών πινάκων που θα συνοδεύουν τα προϊόντα.

Στους Πίνακες 5.13 και 5.14 παρουσιάζεται η πρόσληψη διαφόρων μακρο- και μικροσυστατικών από την κατανάλωση των καλλιεργουμένων κρانيών και φαγκριών των πειραμάτων μας, σε απόλυτες τιμές και ως ποσοστά της τυπικής ή της συνιστώμενης ημερήσιας πρόσληψης.

Φαίνεται ότι η πρόσληψη 100 g νωπού κρانيού και φαγκριού (περίπου 70g ψημένου) παρέχει στον οργανισμό μας το 20-25% της ημερήσιας πρόσληψης πρωτεΐνης, με πολύ χαμηλή πρόσληψη λίπους και ενέργειας. Αν και οι ποσότητες του προσλαμβανομένου λίπους είναι μικρές, λόγω της υψηλής περιεκτικότητας του λίπους των ιχθύων σε φωσφολιποειδή, τα οποία είναι πλούσια σε $\omega 3$ PUFA, η κατανάλωση 100g των εκτρεφόμενων κρانيών και φαγκριών παρέχει 122-300 mg και 371-480 mg $\omega 3$ PUFA, αντίστοιχα, ποσότητες που καλύπτουν μεγάλο μέρος των καθημερινών αναγκών υγιών αλλά και καρδιοπαθών σε $\omega 3$ PUFA (Πίνακες 5.13-5.14). Επίσης το άθροισμα του EPA και του DHA βρίσκεται σε αυξημένα επίπεδα, ιδιαίτερα στους εκτρεφόμενους κρانيούς, ενώ τα κορεσμένα λιπαρά οξέα είναι σε αρκετά χαμηλά επίπεδα.

Στον Πίνακα 5.15 παρουσιάζεται η πρόσληψη διαφόρων μακρο- και μικροσυστατικών από την κατανάλωση των συχνότερα εκτρεφόμενων ιχθύων της Μεσογείου, καθώς και των αντίστοιχων αλιευμένων. Το σύνολο σχεδόν των εκτρεφόμενων ατόμων παρέχουν υψηλότερα επίπεδα $\omega 3$ PUFA, EPA και DHA, λόγω των αυξημένων επιπέδων λιποπεριεκτικότητάς τους, σε σύγκριση με τα αντίστοιχα άγρια άτομα με εξαίρεση στο καλκάνι όπου έχουμε τα αντίθετα αποτελέσματα, ενώ στο λαυράκι δεν υπήρχε αξιοσημείωτη διαφορά. Γενικότερα, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία (Grigorakis et al., 2002) το επίπεδο του λίπους στα καλλιεργούμενα ιχθυηρά είναι υψηλότερο από αυτό των άγριων ατόμων, λόγω της εμπορικής τροφής που χρησιμοποιείται για την εκτροφή τους. Αντίθετα, τα άγρια άτομα φαίνεται ότι παρέχουν ελαφρώς αυξημένα επίπεδα πρωτεΐνης ως ποσοστά της ημερήσιας πρόσληψης. Όμοια έχουμε και αυξημένα επίπεδα κορεσμένων λιπαρών οξέων με εξαίρεση τον κρانيό και το φαγκρί.

Πίνακας 5.13: Διατροφική αξιολόγηση κρανιών (ανά 100g νωπού)

| | ΚΡΑΝΙΟΣ | | | | | | | | |
|-------------------------------|--------------------|------------------------|----------|------------------------|-----------|------------------------|-----------|----------------|------|
| | ΗΠ* | Πείραμα 1 ^a | % ΗΠ | Πείραμα 2 ^b | % ΗΠ | Πείραμα 3 ^c | % ΗΠ | Άγριος κρανιός | % ΗΠ |
| Πρωτεΐνη (g) | 91 ¹ | 19,7 | 22 | 17,4-18,2 | 19-20 | 20,1 | 22,1 | 21,3 | 23,5 |
| Λίπος (g) | 65 ¹ | 0,6-0,9 | 1-1,4 | 1-1,4 | 2 | 0,7-1,1 | 1-2 | 0,3 | 0,5 |
| Τοκοφερόλη (mg) | 15 ¹ | 0,6-2,0 | 3,7-13,1 | 3,0-3,4 | 20,2-22,8 | 1,6-3,8 | 11,1-25,7 | 0,8 | 5,1 |
| Ενεργειακό Περιεχόμενο (kcal) | 2000 ¹ | 90-92 | 4-5 | 85-86 | 4 | 92-96 | 5 | 94 | 4,7 |
| SFA (mg) | 17000 ¹ | 109-165 | 0,6-1 | 247-297 | 1,5-1,8 | 139-232 | 0,8-1,4 | 55 | 0,3 |
| MUFA (mg) | 24000 ¹ | 126-206 | 0,5-1 | 251-333 | 1,1-1,4 | 153-253 | 0,6-1,0 | 31 | 0,1 |
| ω3 HUFA (mg) | 900 ³ | 122-190 | 14-21 | 250-300 | 28-33 | 158-259 | 18-29 | 56 | 6 |
| | 200 ⁴ | | 61-95 | | 125-150 | | 79-130 | | 28 |
| EPA + DHA (mg) | 250 ² | 100-164 | 40-78 | 188-249 | 75-100 | 128-212 | 51-85 | 48 | 19 |

^a Πείραμα αξιολόγησης των παραμέτρων ποιότητας φιλέτου εκτρεφομένων κρανιών (*Argyrosomus regius*) με σιτηρέσια διαφορετικής λιποπερικτικότητας; ^b Πείραμα επίδρασης της ανάπτυξης στη ποιότητα εκτρεφομένων κρανιών; ^c Πείραμα οργανοληπτικής και χημικής αξιολόγησης της ποιότητας εκτρεφομένων κρανιών διαφορετικού μεγέθους.

¹ Dietary Guidelines for Americans (2005)

² Dietary Guidelines for Americans (2010)

³ Συνιστώμενη πρόσληψη για άτομα με καρδιακά νοσήματα (Holub & Holub, 2004)

⁴ Ruxton et al., 2004

* Συνιστώμενη ή τυπική ημερήσια πρόσληψη

Πίνακας 5.14: Διατροφική αξιολόγηση φαγκριών (100g νωπού)

| | ΦΑΓΚΡΙ | | |
|-------------------------------|--------------------|---------------------|-----------|
| | ΗΠ* | Πείραμα εκτροφής | % ΗΠ |
| Πρωτεΐνη (g) | 91 ¹ | 20,5-21,7 | 22-24 |
| Λίπος (g) | 65 ¹ | 1,6-3,9 | 2-6 |
| Τοκοφερόλη (mg) | 15 ¹ | 1,6-3,5 | 11,5-23,3 |
| Ενεργειακό Περιεχόμενο (kcal) | 2000 ¹ | 104-123 | 5-6 |
| SFA (mg) | 17000 ¹ | 366-837 | 2,1-4,9 |
| MUFA (mg) | 24000 ¹ | 446-1163 | 1,9-4,8 |
| ω3 HUFA (mg) | 900 ³ | 371-842 | 41-94 |
| | 200 ⁴ | | 185-421 |
| EPA + DHA (mg) | 250 ² | 283-480 | 113-192 |

¹ Dietary Guidelines for Americans (2005)

² Dietary Guidelines for Americans (2010)

³ Συνιστώμενη πρόσληψη για άτομα με καρδιακά νοσήματα (Holub & Holub, 2004)

⁴ Ruxton et al., 2004

* Συνιστώμενη ή τυπική ημερήσια πρόσληψη

Πίνακας 5.15: Διατροφική αξιολόγηση εκτρεφόμενων και μη μεσογειακών ιχθύων (100g νωπού)

| | ΗΠ* | Καλκάνι % ΗΠ | | Μαγιάτικο % ΗΠ | | Συναγρίδα % ΗΠ | | Λαυράκι % ΗΠ | | Τσιπούρα % ΗΠ | | Κρανιός % ΗΠ | | Φαγκρί % ΗΠ | |
|----------------------------------|--------------------|-----------------------|--------------------------|--------------------|-----------------------|--------------------|-------------------------|---------------------|------------------------|---------------------|------------------------|-----------------|----------|---------------------|----------|
| | | Άγριο ^{5,12} | Εκτροφής ^{6,12} | Άγριο ⁷ | Εκτροφής ⁷ | Άγρια ⁸ | Εκτροφής ^{8,9} | Άγριο ¹⁰ | Εκτροφής ¹⁰ | Άγρια ¹⁰ | Εκτροφής ¹⁰ | Άγριος | Εκτροφής | Άγριο ¹¹ | Εκτροφής |
| Πρωτεΐνη (g) | 91 ¹ | 22,4 | 19,3-19,7 | - | - | 24,1 | 20,9-22,9 | 21,7 | 21,5 | 22,4 | 21,4 | 23,5 | 19-22 | 0,00 | 22-24 |
| Λίπος (g) | 65 ¹ | 1,5 | 2,8-2,9 | 5,6 | 19,82 | 2,5 | 4,5-12,1 | 3,3 | 14,4 | 11,3 | 17,1 | 0,5 | 1,0-2,0 | 1,40 | 2,0-6,0 |
| Τοκοφερόλη (mg) | 15 ¹ | 4,3-4,4 | 2,3-2,4 | - | - | - | - | 0,5 | 1,0 | 0,5 | 0,7 | 0,5 | 0,6-1,4 | - | 1, 2-2,3 |
| Ενεργειακό Περιεχόμενο (kcal) | 2000 ¹ | 4,8 | 4,6-4,7 | - | - | 5,4 | 5,4-7,8 | 5,2 | 8,4 | 7,7 | 9,2 | 4,7 | 4,0-5,0 | - | 5,0-6,0 |
| SFA (mg) | 17000 ¹ | 1,3 | 0,8-1,0 | 1,6 | 1,4 | 1,9 | 1,3-1,6 | 1,5 | 1,3 | 1,6 | 1,2 | 0,3 | 0,6-1,8 | 1,8 | 2,1-4,9 |
| MUFA (mg) | 24000 ¹ | 0,8 | 0,6-0,7 | 1,2 | 0,9 | 1,2 | 0,8-1,1 | 1,0 | 1,2 | 1,4 | 1,2 | 0,1 | 0,5-1,4 | 1,1 | 1,9-4,8 |
| ω3 HUFA (mg) | 900 ³ | 32,7 | 18,5-18,8 | 21,8 | 27,9 | 6,5 | 21,8-26,5 | 20,8 | 19,9 | 10,6 | 21,1 | 6,0 | 14-33 | 19,6 | 41-94 |
| | 200 ⁴ | 146,9 | 83,2-84,4 | 98,3 | 125,9 | 29,3 | 98,3-119,2 | 93,5 | 89,7 | 47,6 | 95,1 | 28,0 | 61-150 | 88,2 | 185-421 |
| EPA + DHA (mg) | 250 ² | 102,7 | 62,7-63,1 | 65,4 | 79,9 | 40,6 | 72,9-78,4 | 60,6 | 58,3 | 26,3 | 58,3 | 19,0 | 40-100 | 69,1 | 113-192 |

¹ Dietary Guidelines for Americans (2005)

² Dietary Guidelines for Americans (2010)

³ Συνιστώμενη πρόσληψη για άτομα με καρδιακά νοσήματα (Holub & Holub, 2004)

⁴ Ruxton et al., 2004

⁵ Soriguer et al., 1997

⁶ Altundag et al., 2014

⁷ Rodriguez-Bareto et al., 2012

⁸ Dincer et al., 2010

⁹ Suarez et al., 2010

¹⁰ Orban et al., 2003

¹¹ Loukas et al., 2010

¹² Aubourg et al., 2007

* Συνιστώμενη ή τυπική ημερήσια πρόσληψη

5.4 Οικονομοτεχνική ανάλυση ιχθυοκαλλιέργειας κρانيού

Τα είδη ιχθύων των ελληνικών ιχθυοκαλλιεργειών έχοντας κερδίσει την εμπιστοσύνη του αγοραστικού κοινού, αποτελούν μία σίγουρη επιλογή για τους εγχώριους καταναλωτές και έναν ιδανικό πρεσβευτή της χώρας μας σε πολλές -ιδιαίτερα ανταγωνιστικές και απαιτητικές- αγορές του εξωτερικού.

Το μέλλον για τις ιχθυοκαλλιέργειες της χώρας μας θεωρείται ελπιδοφόρο και εξαιρετικά προσοδοφόρα για τη χώρα μας, που συνεχίζει την έντονα ανοδική πορεία και η αξία των εξαγωγών ψαριών και θαλασσινών (κυρίως τσιπούρα, λαβράκι και μύδια) έχει υπερβεί τα 560 εκατομμύρια ευρώ, ξεπερνώντας ακόμη και την αξία εξαγωγών ελαιολάδου.

Χαρακτηριστικά αναφέρουμε ότι οι εισαγωγές τσιπούρας και λαβρακιού στην Βρετανία αντιπροσωπεύουν το 80% της συνολικής αγοράς. Άρα, οι προοπτικές των ελληνικών προϊόντων, δεδομένων των τάσεων της αγοράς εμφανίζονται ιδιαίτερα ευνοϊκές (Υπουργείο Εξωτερικών, http://agora.mfa.gr/appdata/documents/ereunes_agoras/ixthyoka_liegergies20081219_web.pdf).

Ήδη στην Ελλάδα προχωρά η ιχθυοκαλλιέργεια και άλλων ειδών ειδών (φαγκρί, μυτάκι, κρانيός και μυλοκόπι). Ο κρانيός πέρα από τα αρκετά αξιόλογα χαρακτηριστικά που διαθέτει -όπως έχουν περιγραφεί στην παράγραφο 2.1.3.1- έχει όλες τις προϋποθέσεις ενός εμπορικού ψαριού αφού αναπτύσσεται γρήγορα (~ 1 kg ανά έτος) με χαμηλή αναλογία τροφής (0,9-1,2) (Duncan et al, 2013), χαμηλή θνησιμότητα, ωραίο σχήμα, καλή απόδοση επεξεργασίας (Committee on Aquaculture, 2013), εύκολη εκτροφή νυμφών (Roo et al, 2010) ενώ προσαρμόζεται εύκολα στις κλασσικές συνθήκες εκτροφής που εφαρμόζονται για το λαυράκι και την τσιπούρα (Suquet et al., 2009; Roo et al., 2010).

Αν υπολογίσουμε ότι για να φθάσει η τσιπούρα ή το λαυράκι σε μέγεθος 1kg απαιτείται εκτροφή διάρκειας ≥ 2 ετών (δεδομένου ότι τα ψάρια αυτά αποκτούν το εμπορεύσιμο μέγεθος των 350-500 g σε 15-17 μήνες εκτροφής), ενώ ο κρانيός, στις ίδιες εγκαταστάσεις, φθάνει σε μεγέθη του 1 kg περίπου σε ένα έτος, γίνεται φανερό η οικονομικά πιο αποδοτική δυναμική του κρانيού. Τα οικονομικά πλεονεκτήματα της εκτροφής κρانيού γίνονται ακόμη μεγαλύτερα εάν στα παραπάνω συνεκτιμηθεί και η εμπορική τιμή πώλησης του κρانيού, που είναι -σε τιμές του 2015- μεταξύ 8 και 10 ευρώ/ kg, ενώ η τσιπούρα και το λαυράκι πωλούνται από 6 έως 8 ευρώ/ kg.

Όμως, η τεχνογνωσία για την εκτροφή του κρانيού βρίσκεται ακόμη σε χαμηλό επίπεδο (θνησιμότητες στο εκκολαπτήριο και στους πρώτους μήνες εκτροφής, απώλειες τροφής) σε σχέση με την τσιπούρα και το λαυράκι, επομένως τα κόστη δεν είναι ακόμη συγκρίσιμα.

Επίσης το κόστος κυμαίνεται από μονάδα σε μονάδα, ανάλογα με τις φυσικοχημικές παραμέτρους, την παρεχόμενη τροφή (η οποία καλύπτει περίπου το 55% του συνολικού κόστους

και καθορίζεται κυρίως από την τιμή του ιχθυαάλευρου και του ιχθυελαίου) καθώς και τη γενικότερη διαχείριση. Μια γενικότερη εκτίμηση είναι ότι με τα σημερινά δεδομένα, το κόστος εκτροφής είναι περίπου 1,8 ευρώ/ kg τόσο για τη τσιπούρα και το λαυράκι όσο και τον κρανιό, ενώ η τιμή πώλησης από τις μονάδες προς την αγορά είναι περίπου 2 ευρώ η τσιπούρα, 2,5-3 ευρώ το λαυράκι και περίπου 5 ευρώ για τον κρανιό.

Ως συνολική εικόνα, ο κρανιός δείχνει, ακόμα και με τις διάφορες ελλείψεις τεχνογνωσίας, μια συμφέρουσα επένδυση για την εισαγωγή του ως νέο εκτρεφόμενο είδος.

6. ΤΕΛΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η παρούσα μελέτη συμβάλλει στην κάλυψη βιβλιογραφικών κενών σχετικά με την εκτροφή ενός νέου είδους (κρανιός), ενώ αποτελεί την πρώτη προσπάθεια διερεύνησης των πτητικών ενώσεων σε Μεσογειακά ψάρια και θαλασσινά, καθώς και σε δύο εκτρεφόμενα είδη, τον κρανιό και το φαγκρί.

Τα κυριότερα συμπεράσματα της μελέτης αυτής παρουσιάζονται στη συνέχεια:

Τεκμηριώθηκε η επίδραση του μεγέθους στην ποιότητα των φιλέτων κρανιού, αφού η σύγκριση ατόμων διαφορετικού σωματικού βάρους την ίδια εποχή έδειξε την ύπαρξη διαφορών στα πτητικά συστατικά, κάτι που καταγράφηκε και από την οργανοληπτική εξέταση των ψαριών, η οποία έδειξε επί πλέον και κάποια διαφοροποίηση της υφής μεταξύ εκτρεφόμενων κρανιών διαφορετικού μεγέθους. Η απόδοση του φιλέτου και ο ηπατοσωματικός δείκτης μειώθηκαν σταδιακά με την αύξηση του βάρους των κρανιών. Αντίθετα το μέγεθος δεν επηρεάζει τη σύσταση του φιλέτου και τα τεχνολογικά χαρακτηριστικά των κρανιών. Η καταγραφείσα καλή αποδοχή και των μικρότερου μεγέθους κρανιών από τους δοκιμαστές, δίνει τη δυνατότητα εξαλίευσης κρανιών σε σημαντικά μικρότερο χρόνο, με προφανή οικονομικά οφέλη για τις μονάδες παραγωγής.

Η περιεκτικότητα των σιτηρεσίων σε ιχθυέλαιο επηρεάζει την κατανομή των λιπαρών οξέων στους ιστούς των κρανιών: τα ARA (20:4ω6) και DHA (22:6ω3) συσσωρεύονται στους μυς του κρανιού όσο αυξάνεται το ιχθυέλαιο στην τροφή του, ενώ το ελαϊκό οξύ (18:1ω9) και το λινελαϊκό οξύ (18:2ω6) μειώνονται. Αυξάνονται επίσης τα κορεσμένα λιπαρά οξέα και αντιστοίχως μειώνονται τα μονοακόρεστα.

Η αύξηση του μεγέθους των κρανιών συνοδεύθηκε από μείωση της περιεκτικότητας σε λίπος, αύξηση των ποσοστών των ARA και EPA (20:5ω3) στους μυς του κρανιού, και μείωση των ποσοστών του παλμιτικού οξέος (16:0). Αύξηση του μεγέθους σε συνδυασμό με την επίδραση της εποχικότητας οδήγησε επίσης σε αύξηση των επιπέδων του DHA στους μυς του κρανιού.

Όσον αφορά τις πτητικές ενώσεις βρέθηκε ότι η λιποπεριεκτικότητα, η ποσότητα ιχθυελαίου στην τροφή και το σωματικό βάρος των κρανιών επηρεάζουν το προφίλ των πτητικών συστατικών τους. Οι καρβονυλικές ενώσεις, οι οποίες επηρεάζουν σημαντικά το άρωμα, βρέθηκε ότι συσχετίζονται θετικά με το περιεχόμενο λίπος των ψαριών, ενώ τα πτητικά συστατικά συνολικά αυξάνονταν όσο αυξάνεται το ιχθυέλαιο στα σιτηρέσια.

Οι καρβονυλικές ενώσεις βρέθηκαν μειωμένες στους μεγαλύτερους κρανιούς καταδεικνύοντας διαφοροποίηση του συνολικού αρώματος καθώς τα ψάρια μεγαλώνουν. Οι μεγαλύτερου μεγέθους κρανιοί περιείχαν σημαντικά λιγότερη ακετοΐνη, 2,3-βουτανοδιόνη και

φουρφουράλη και μικρότερες ποσότητες υδρογονανθράκων. Αντίθετα, τα μικρότερα ψάρια περιείχαν περισσότερες πτητικές ενώσεις στα δύο πειράματα μελέτης διαφορετικού μεγέθους- αύξησης σωματικού βάρους, ενώ και η προσθήκη ιχθυελαίου στην τροφή ευνοούσε την αύξηση αυτών.

Δεν παρατηρήθηκαν διαφοροποιήσεις στο προφίλ των αμινοξέων μεταξύ άγριου και εκτρεφόμενων κρانيών. Το γεγονός αυτό, σε συνδυασμό με το ότι τα ψάρια ήταν ολόφρεσκα, όπως έδειξε η πλήρης απουσία πτητικών συστατικών-δεικτών των μικροβιολογικών αλλοιώσεων, οδηγεί στο συμπέρασμα ότι τα λιπαρά οξέα των ιστών των κρانيών είναι κυρίως υπεύθυνα για το σχηματισμό των πτητικών ενώσεων που καθορίζουν το άρωμα άρα και την ποιότητα των φρέσκων κρانيών.

Τέλος, επιβεβαιώθηκε ότι ο εκτρεφόμενος κρانيός είναι ένα ψάρι με χαμηλή λιποπεριεκτικότητα (0,63-1,92%) και προφίλ λιπαρών οξέων ευνοϊκό για την καρδιαγγειακή υγεία, εμφανίζοντας πολύ χαμηλές τιμές των δεικτών αθηρωμάτωσης (AI) και θρομβογένεσης (TI), κάτι το οποίο παρατηρήθηκε και για το εκτρεφόμενο φαγκρί.

Όσον αφορά το φαγκρί, βρέθηκε ότι η εποχή της εξαλίευσης δεν επηρεάζει τα κύρια συστατικά του φιλέτου και τα τεχνολογικά χαρακτηριστικά. Την άνοιξη ανιχνεύθηκαν οι ψηλότερες συγκεντρώσεις πτητικών συστατικών που συνδέονται με ευχάριστο άρωμα «γρασιδιού» καθώς και κετονών που δίνουν άρωμα και γεύση βουτύρου, ενώ το φθινόπωρο και ο χειμώνας είναι οι εποχές με τις χαμηλότερες συγκεντρώσεις πτητικών συστατικών που συνδέονται με θετικές νότες.

Γενικότερα στα άγρια, μη εκτρεφόμενα είδη (ιχθύες και θαλασσινά της Μεσογείου και άγριος κρانيός) τα οποία περιείχαν αυξημένα ποσοστά ω3 λιπαρών οξέων, καταγράφηκε έντονη παρουσία πτητικών ενώσεων που προσδίδουν θετικές νότες (οσμή γρασιδιού, αγγουριού, φρουτώδες άρωμα) ενώ ακολουθούν αυτές που προκαλούν οσμή ψαριού και λιπαρές οσμές. Αντίθετα στα εκτρεφόμενα άτομα, τα οποία περιείχαν αυξημένα ποσοστά ω6 λιπαρών οξέων, επικράτησαν σε μεγάλο βαθμό οι ενώσεις που προκαλούν οσμές ψαριού και προφανώς διαφοροποιούν το άρωμά τους από αυτό των άγριων.

Στα δείγματα από όλα σχεδόν τα πειράματα ανιχνεύθηκαν συστατικά που προσδίδουν οσμή βύνης, όπως η 3-μεθυλ-βουτανάλη.

Τα ευρήματα της παρούσας διατριβής μπορούν να αξιοποιηθούν από τους παραγωγούς, τους φορείς ελέγχου και τους καταναλωτές. Για τους παραγωγούς μπορεί να χρησιμεύσει για το πως μπορούν με κατάλληλους χειρισμούς κατά την εκτροφή να επιτύχουν το καλύτερο δυνατό αποτέλεσμα. Για τους φορείς ελέγχου θα αποτελέσει πηγή πληροφοριών για τον καθορισμό κριτηρίων ποιότητας. Για τους καταναλωτές θα δώσει πληροφορίες σχετικά με τη διατροφική αξία και τα πιθανά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των εκτρεφόμενων ειδών.

ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ - ΠΕΡΑΙΤΕΡΩ ΕΡΕΥΝΑ

1. Μελέτη για την επίδραση του σωματικού βάρους στη δομή των μυών, τα τεχνολογικά χαρακτηριστικά (απόδοση φιλέτου, απώλειες κατά την επεξεργασία κλπ) και τις πτητικές ενώσεις που χαρακτηρίζουν το άρωμα του κρανιού. Επέκταση της μελέτης με εξέταση κρανιών με σωματικά βάρη διαφορετικά αυτών που μελετήθηκαν στην παρούσα εργασία. Συγκέντρωση περαιτέρω στοιχείων γύρω από την ποιότητα του άγριου αλιευμένου κρανιού και φαγκριού για πληρέστερη σύγκριση άγριων και εκτρεφόμενων ατόμων.
2. Μελέτη για καλύτερη κατανόηση της χημικής σύνθεσης των φυσικών αρωμάτων και τον μηχανισμό του σχηματισμού τους. Διερεύνηση για την ύπαρξη συσχετίσεων συγκεκριμένων πτητικών ουσιών με συγκεκριμένες κατηγορίες αρωμάτων – οργανοληπτική ποιότητα ιχθύων, μέσω διαγραμμάτων αρώματος (aomagams) και μέσω συσχέτισης οργανοληπτικής περιγραφικής ανάλυσης και ενόργανης ανάλυσης πτητικών.
3. Μελέτη συσχέτισης πτητικών ουσιών και φρεσκότητας για τα υπό μελέτη είδη.
4. Περαιτέρω αξιοποίηση των αποτελεσμάτων της παρούσας εργασίας για τη σχέση διατροφής, σύστασης φιλέτου και πτητικών συστατικών, με στόχο την βελτιστοποίηση της ποιότητας των παραγομένων ιχθύων μέσω της διατροφής τους και συνεπώς την καθιέρωση των καταλληλότερων σιτηρεσίων για τον κρανιό.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abellán E., Basurco B. Marine Finfish Species Diversification: Current Situation and Prospects in Mediterranean Aquaculture Aquaculture Zaragoza : CIHEAM Options Méditerranéennes : Série B. Etudes et Recherches; 1999;24:1-139.
- Alasalvar C., Taylor K.D.A., Shahidi F. Comparison of volatiles of cultured and wild sea bream (*Sparus aurata*) during storage in ice by dynamic headspace analysis/gas chromatography-mass spectroscopy. Journal of Agricultural and Food Chemistry 2005;53:2616-2622.
- Alasalvar C., Taylor K.D.A., Zubcov E., Shahidi F., Alexis M. Differentiation of cultured and wild sea bass (*Dicentrarchus labrax*) total lipid content, fatty acid and trace mineral composition. Food Chemistry 2002;79:145-150.
- Altundag M.S., Tiril S.U., Ozdemir A. Effects of safflower oil supplementation in diet on growth performance and body fatty acid composition of turbot (*Psetta maxima*). Aquaculture International 2014;22:597-605.
- Andrade A.P.C., Brazo P.G.I., Nogueira N., Ferreira P.M., Dillinger T., Dinis T.M., Narciso L. Red porgy (*Pagrus pagrus*) larval feeding performance and behavior at the onset of exogenous feeding, Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 2011;407:377-381.
- Andre C., Castanheira I., Cruz J.M., Paseiro P., Sanches-Silva A. Analytical strategies to evaluate antioxidants in food: a review. Trends in Food Science & Technology 2010;21:229-246.
- Anedda R., Piga C., Santercole V., Spada S., Bonaglini E., Cappuccinelli R., Mulas G., Roggio T., Uzzau S. Multidisciplinary analytical investigation of phospholipids and triglycerides in offshore farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*) fed commercial diets. Food Chemistry 2013;138:1135–1144.
- Angerosa F., Influence of volatile compounds on virgin olive oil quality evaluated by analytical approaches and sensor panels European Journal of Lipid Sciences and Technology 2002;104:639–660.
- AOAC, (2005), Official methods of Analysis of AOAC international., 18th edition (available in http://www.aoac.org/omarev1/front_18th_ed.pdf).
- Árnason T., Björnsson B., Steinarsson A. Allometric growth and condition factor of atlantic cod (*gadus morhua*) fed to satiation. Journal of Applied Ichthyology 2009;25:401-406.
- Aro T., Brede C., Manninen P., Kallio H. Determination of semivolatile compounds in Baltic herring (*Clupea harengus membras*) by supercritical fluid extraction – supercritical fluid chromatography – gas chromatography – mass spectroscopy. Journal of Agricultural & Food Chemistry 2002;50:1970-1975.
- Ashie I.N.A., Smith J.P., Simpson B.K. Spoilage and Shelf-Life Extension of Fresh Fish and Shellfish. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 1996;36:87-121.
- Aubourg S.P. Lipid Compounds 1st. ed. In: Handbook of seafood and seafood product analysis Nollet L. M.L., Toldra F., CRC Press, 2010: 69-86.
- Aubourg S.P., Losada V., Prego R. Distribution of lipids and trace minerals in different muscle sites of farmed and wild turbot (*Psetta maxima*). International Journal of Food Science and Technology 2007;42:1456-1464.
- Aydın M., Tufan B., Sevgili H., Köse S. Seasonal changes in proximate composition and fatty acid profile of pufferfish (*Lagocephalus sceleratus* Gmelin, 1789) from the Mediterranean sea of Turkey. Journal of Aquatic Food Product Technology 2013;22:178-191.

- Bai S.C., Gatlin D.M., III Τροποποιήσεις από το εργαστήριο Διατροφής, βάσει μεθοδολογίας του πανεπιστημίου του STERLING. *Aquaculture* 1992;113:129-135.
- Bargelloni L., Alarcon J.A., Alvarez M.C., Penzo E., Magoulas A., Palma J., Patarnello T. The Atlantic–Mediterranean transition: Discordant genetic patterns in two seabream species, *Diplodus puntazzo* (Cetti) and *Diplodus sargus* (L.). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 2005;36:523–535.
- Bartsch A. Hammerschmidt FJ *Perfume Flavor* 1933;5/6:41.
- Belitz H.-D., Grosch W., Schieberle P. *Aroma Compounds. Food Chemistry* 2009;5:340-402.
- Bell G.J., Preston T., Henderson J.R., Strachan F., Bron E.J., Cooper K., Morrison J.D. Discrimination of Wild and Cultured European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) Using Chemical and Isotopic Analyses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2007;55:5934-5941.
- Bell I.N.K., Cowley D.P., Whitfield K. A. Seasonality in Frequency of Marine Access to an Intermittently Open Estuary: Implications for Recruitment Strategies. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 2001;52:327-337.
- Bell J.G., Tocher R.D., Henderson R.J., Dick R.J., Vivian O.C. Altered Fatty Acid Compositions in Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Fed Diets Containing Linseed and Rapeseed Oils Can Be Partially Restored by a Subsequent Fish Oil Finishing Diet. *Journal of Nutrition* 2003;133:2793-2801.
- Benedito-Palos L., Navarro J.C., Bermejo-Nogales A., Saera-Vila A., Kaushik S., Pérez-Sánchez, J. The time course of fish oil wash-out follows a simple dilution model in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) fed graded levels of vegetable oils. *Aquaculture* 2009;288:98-105.
- Bera R., Dhara T.K., Bhadra R., Majumder G.C., Sen P.C. Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids enriched polyunsaturated fatty acids from the coastal marine fish of Bay of Bengal and their therapeutic value. *Indian Journal of Experimental Biology* 2010;48:1194-1203.
- Bester D., Esterhuyse A.J., Truter E.J., Van Rooyen J. Cardiovascular effects of edible oils: A comparison between four popular edible oils. *Nutritional Research Reviews* 2010;23:334-348.
- Caprino F., Moretti V.M., Bellagamba F., Turchini G.M., Busetto M.L., Giani I., Paleari M.A., Pazzaglia M. Fatty acid composition and volatile compounds of caviar from farmed white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *Analytica Chimica Acta* 2008;617:139-147.
- Chaintreau A. Simultaneous distillation-extraction: from birth to maturity-review *Flavour and Fragrance Journal* 2001;16:136-148.
- Chatzifotis S., Panagiotidou M., Papaioannou N., Pavlidis M., Nengas I., Mylonas C. Effect of dietary lipid levels on growth, feed utilization, body composition and serum metabolites of meagre (*Argyrosomus regius*) juveniles. *Aquaculture* 2010;307:65–70
- Chen D., Zhang M. Analysis of volatile compounds in Chinese mitten crab (*Eriocheir Sinensis*). *Journal of Food and Drug Analysis* 2006;14:297-303.
- Christie W.W. *Gas Chromatography and Lipids A Practical Guide*, The Oily Press, Τόμος I, 1^η έκδοση, Dundee, 1989.
- Christie W.W., Rebello D., Holman R.T. Mass spectrometry of derivatives of cyclopentenyl fatty acids. *Lipids* 1969;4:229-231.
- Christie, W.W. *Gas Chromatography and Lipids: A Practical Guide*. Ayr, Scotland: The Oily Press. 1989:66-69.
- Chung H.Y. Volatile components of *Charybdis feriatus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1999;47:2280-2287.

- Chung H.Y., Yung I.K.S., Ma W.C.J., Kim J-S. Analysis of Volatile Components in Frozen and Dried Scallops (*Patinopecten yessoensis*) by Gas Chromatography / Mass Spectrometry. *Food Research International* 2002;35:43-53.
- Committee on Aquaculture (CAQ) Trend and issues of aquaculture in the Mediterranean and Black Sea. General Fisheries Commission For The Mediterranean GFCM:CAQVIII/2013/Inf.9 Eighth Session Paris, France, 13–15 March 2013.
- Concise International Chemical Assessment Document 74. 2-Butenal First draft prepared by Dr J. Kielhorn and Dr I. Mangelsdorf, Fraunhofer Institute for Toxicology and Experimental Medicine, Hanover, Germany; and Dr K. Ziegler-Skylakakis, MAK Commission, Munich, Germany. World Health Organization (www.inchem.org/pages/cicads.html).
- Cordier M., Brichon G., Weber J.-M., Zwingelstein G. Changes in the fatty acid composition of phospholipids in tissues of farmed sea bass (*Dicentrarchus labrax*) during an annual cycle. Roles of environmental temperature and salinity. *Comparative Biochemistry & Physiology* 2002;133B:281-288.
- Cottin S.C., Sanders T.A., Hall W.L. The differential effects of EPA and DHA on cardiovascular risk factors. *Proceedings of the Nutrition Society* 2011;70:215-231.
- Cserhádi T., Forgács E. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition): Flavor (Flavour) Compounds. Structures and Characteristics*, Elsevier Science Ltd., 2003:2509-2517.
- Cuevas-Glory L.F., Pino J.A., Santiago L.S., Sauri-Duch E., A review of volatile analytical methods for determining the botanical origin of honey *Food Chemistry* 2007;103:1032–1043.
- Da Costa C. N., Eri S. Identification of Aroma Chemicals 1st. ed. In: *Chemistry and technology of flavors and fragrances* David J. Rowe: Blackwell Publishing Ltd, 2005: 12-31.
- Delgado A., Estevez A., Hortelano P., Alejandro M.J. Analysis of fatty acids from different lipids in liver and muscle of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) Influence of temperature and fasting. *Comparative Biochemistry and Physiology A*. 1994;108:673-680.
- Díaz A, Ventura F, Galceran M.T. Identification of 2,3-butanedione (diacetyl) as the compound causing odor events at trace levels in the Llobregat River and Barcelona's treated water (Spain). *Journal of Chromatography A*. 2004;1034:175-182.
- Dincer T., Cakli S., Cadun A., Comparison of proximate and fatty acid composition of the flesh of wild and cultured fish species. *Archiv für Lebensmittelhygiene* 2010;61:12-17.
- Dirinck P., Van Opstaele F., Vandendriessche F. Flavour differences between northern and southern European cured hams. *Food Chemistry* 1997;59:511-521.
- Doxa K. C., Papadakis E. I., Divanach P., Kentouri M. Effect of feeding delay after self-feeder activation on growth performance and feeding behaviour of red porgy (*Pagrus pagrus* L. 1758): application to submergible cages with surface hopper. *Aquaculture Research* 2011;42:1623-1631.
- Dunajski E. Texture of fish muscle. *Journal of Texture Studies* 1979;10:301-318.
- Duncan N.J., Estévez A., Egert S., Stehle P. Impact of n-3 fatty acids on endothelial function: Results from human interventions studies. *Clinical Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. 2011;14:121-131.
- Egert S., Stehle P. Impact of n-3 fatty acids on endothelial function: Results from human interventions studies. *Clinical Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* 2011;14:121-131.
- Elmore J.S., *Aroma*. 1st. ed. In: *Handbook of seafood and seafood product analysis* Nollet L. M.L., Toldra F., CRC Press, 2010:440-453.

- Exler J., Kinsella J.E., Watt B.K. Lipids and fatty acids of important finfish: New data for nutrient tables. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 1975;52:154-159.
- FAO (2012). The State of the World fisheries and Aquaculture. FAO Fisheries 501 and Aquaculture, Department Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- FAO (2013), © 2011-2013. Fisheries and Aquaculture topics. FishStatJ - software for fishery statistical time series. Topics Fact Sheets. In: FAO Fisheries and Aquaculture Department, Rome. Updated 29 June 2012. Available on-line at: http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Argyrosomus_regius/en (assessed in 10th January, 2013).
- FAO. © 2005-2011. Cultured Aquatic Species Information Programme. *Argyrosomus regius*. Cultured Aquatic Species Information Programme. Text by Stipa, P.; Angelini, M. In: *FAO Fisheries and Aquaculture Department* [online]. Rome. Updated 10 February 2005. [Cited 30 August 2011].
- Fernández-Palacios H. FishBase. *Argyrosomus regius*. World Wide Web electronic publication. <http://www.fishbase.org/summary/418>;
- Folch J., Lees M., Sloane-Stanley H.G. A simple method for the isolation and purification of the total lipid from animal tissue. *Journal of Biological Chemistry*, 1957;226:497-509.
- Foo Wong Y., Makahleh A., Al Azzam K.M., Yahaya N., SaadB., Amrah Sulaiman S. Micellar electrokinetic chromatography method for the simultaneous determination of furanic compounds in honey and vegetable oils. *Talanta* 2012;97:23-31.
- Fountoulaki E., Alexis M.N., Nengas I., Venou B. Effects of dietary arachidonic acid (20:4n-6), on growth, body composition, and tissue fatty acid profile of gilthead bream fingerlings (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture* 2003;225:309-323.
- Fountoulaki E., Vasilaki A., Hurtado R., Grigorakis K., Karacostas I., Nengas I., Rigos G., Kotzamanis I., Venou B., Alexis M.N. Fish oil substitution by vegetable oils in commercial diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.); effects on growth performance, flesh quality and fillet fatty acid profile. Recovery of fatty acid profiles by a fish oil finishing diet under fluctuating water temperatures. *Aquaculture* 2009;289:317-326.
- Fu X., Xu S., Wang Z. Kinetics of lipid oxidation and off-odor formation in silver carp mince: The effect of lipoxigenase and hemoglobin. *Food Research International* 2009;42:85-90.
- Fuentes A., Fernández-Segovia I., Escriche I., Serra J.A. Comparison of physico-chemical parameters and composition of mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lmk.) from different Spanish origins. *Food Chemistry* 2009;112:295-302.
- Fuentes A., Fernandez-Segovia I., Serra A.J., Barat M.J. Comparison of wild and cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) quality. *Food Chemistry* 2010;119:1514-1518.
- Ganeko N., Shoda M., Hirohara I., Bhadra A., Ishida T., Matsuda H., Takamura H., Matoba T. Analysis of volatile flavor compounds of sardine (*Sardinops melanostica*) by solid phase microextraction. *Journal of Food Science* 2008;73:83-88.
- García J.R., Kalinowski C.T.H., Izquierd M.S.L., Robaina L.E.R. Marine and freshwater crab meals in diets for red porgy (*Pagrus pagrus*): effect on growth, fish composition and skin colour. *Aquaculture Research* 2010;41:1759-1769.
- García Mesa S., Suárez M.D., Rincón Cervera, M.A., Guerrero G., González G., Cárdenas S., García Gallego M. Time course of muscle fatty acid composition of culture meagre (*Argyrosomus regius*) during the first sixteen months of a cage culture. *Gracias y Aceites*, 2014;65(1), *in press*, doi: <http://dx.doi.org/10.3989/gya.049813>.
- Genç I.Y., Esteves E., Aníbal J., Diler A. Effects of chilled storage on quality of vacuum packed meagre fillets. *Food Engineering* 2012;115(4):486-494.

- Giogios I., Grigorakis K., Kalogeropoulos N. Organoleptic and chemical quality of farmed meagre (*Argyrosomus regius*) as affected by size. *Food Chemistry*, 2013;141:3153-3159.
- Giogios I., Grigorakis K., Nengas I., Papasolomondos S., Papaioannou N., Alexis M.N., Fatty acid composition and volatile compounds of selected marine oils and meals. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2009;89:88-100.
- Giogios I., Kalogeropoulos N., Grigorakis K. Volatile compounds of some popular Mediterranean seafood species. *Mediterranean Marine Science* 2013b;14:343-352.
- Giri A., Osako K., Ohshime T. Effects of hypobaric and temperature-dependent storage on headspace aroma-active volatiles in common squid miso. *Food Research International* 2011;44:739-747.
- Gonçalves A., De Sá M., Furlan F., Gama Pereira T., Cardoso C., Bandarra N., Pousão-Ferreira P., Ribeiro L., Nunes M.L. Quality of portion-size meagre (*Argyrosomus regius*) cultured in earth ponds. In (eds. Canovious L., Eriksson L., Undeland I., Wennerhag M.-L.), *41st WEFTA Meeting, 27-30 Sept 2011*. pp 119 Chalmers, Gothenburg, Sweden., p9.
- Gonçalves A., De Sá M., Pousão-Ferreira P., Ribeiro L., Nunes L., Bandarra N. Sensory quality and nutritional value of farmed meagre (*Argyrosomus regius*). In EAS 2011 “Mediterranean Aquaculture 2020”, Rhodes 18-21 October 2011, CD of Abstracts 2011b:345
- Grigorakis K. Comparative studies in body composition of wild and farmed sea bream (*S. aurata*)., MSc Thesis, MSc in Biomolecular Technology, University of Leicestershire 1994.
- Grigorakis K. Compositional and organoleptic quality of farmed and wild gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and factors affecting it: a review. *Aquaculture* 2007;272:55-75.
- Grigorakis K. Effects of nutrition and aquaculture practices on fish quality. In *Seafood Quality, Safety and Health Effects*. (edited by Cesarettin Alasalvar, Fereidoon Shahidi, Kazuo Miyashita, and Udaya Wanasundara), Wiley-Blackwell Publishing U.K. 2010:82-95.
- Grigorakis K., Alexis M., Gialamas I., Nikolopoulou D. Sensory, microbiological and chemical spoilage of cultured common sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in ice: a seasonal differentiation. *European Food Research and Technology* 2004;219:584-587.
- Grigorakis K., Fountoulaki E., Giogios I., Alexis M.N. Volatile compounds and organoleptic qualities of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) fed commercial diets containing different lipid sources. *Aquaculture* 2009;290:116-121.
- Grigorakis K., Fountoulaki E., Vasilaki, A., Mittakos, I., Nathanailides C. Lipid quality and filleting yield of reared meagre (*Argyrosomus regius*). *International Journal of Food Science and Technology* 2011;46:711-716.
- Grigorakis K., Taylor K.D.A., Alexis M.N. Seasonal patterns of spoilage of ice-stored cultured gilthead sea bream. *Food Chemistry* 2003a;81:263-268.
- Grigorakis K., Taylor K.D.A., Alexis M.N. Organoleptic and volatile aroma compounds comparison of wild and cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*): sensory differences and possible chemical basis. *Aquaculture* 2003b;225:109-119.
- Grigorakis K., Alexis M.N., Taylor K.D.A., Hole M. Comparison of wild and cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*); composition, appearance and seasonal variations. *International Journal of Food Science & Technology* 2002;37:477-484.
- Hajaratul N.M., Yaakob C.M., Shuhaimi M., Yazid A.M. Tentative Identification of Volatile Flavor Compounds in Commercial Budu, a Malaysian Fish Sauce, Using GC-MS. *Molecules* 2012;17:5062-5080.
- Hall G., Anderson J. Volatile fat oxidation products I. Determination of odour threshold

and odour intensity functions by dynamic olfactometry. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie* 1983;16:354-361.

- Hernández M.D., López M.B., Álvarez A., Ferrandini E., García García B., Garrido, M.D. Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured meagre (*Argyrosomus regius*) fillets during ice storage. *Food Chemistry* 2009;114:237-245.
- Hernandez M.D., Martinez F.J., Garcia B. Sensory evaluation of farmed sharpshout seabream. *Aquaculture International* 2001;9:519-529.
- Hernández-Cruz C.M., Roo J., Schuchardt D., Holub D.J., Holub B.J. Omega-3 fatty acids from fish oils and cardiovascular disease. *Molecular and Cellular Biochemistry* 2004;263:217-225.
- Howgate P., Johnston A., Whittle A.D.J. *Multilingual Guide to EC Freshness Grades for Fishery Products*, Tommy Research Station, Aberdeen 1992.
- Hsieh R.J, Kinsella J.E. Lipoxygenase generation of specific volatile flavor carbonyl compounds in fish tissues. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1989;37:279-286.
- http://agora.mfa.gr/appdata/documents/ereunes_agoras/ixthyokalliergeies20081219_web.pdf
- <http://el.wikipedia.org>
- <http://food--flavor.blogspot.gr/2007/10/definition-of-favor.html> FAO, 2011.
- http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Argyrosomus_regius/en
- <http://www.leffingwell.com/odorthre.htm> (Odor & Flavor Detection Thresholds in Water (In Parts per Billion))
- <http://www.natural-advantage.net/Deca.htm>
- <http://www.photomazza.com/?Pagrus-pagrus> Text © DrSc Giuliano Russini - Biologist Zoologist
- Hurtado-Rodríguez R., Fountoulaki E., Grigorakis K., Alexis M., Flos R. Season and size effects: Changes in the quality of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Mediterranean Marine Science* 2010;11:117-131.
- Huss H.H. Quality and quality changes in fresh fish. FAO Fisheries Technical Paper – 348. Technological Laboratory, Ministry of Agriculture and Fisheries, Denmark. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 1995.
- Iglesias J., Gallardo J.L., Medina I., Determination of carbonyl compounds in fish species samples with solid-phase microextraction with on-fibre derivatization. *Food Chemistry* 2010;123:771-778.
- Iglesias J., Medina I. Solid-phase microextraction method for the determination of volatile compounds associated to oxidation of fish muscle. *Journal of Chromatography A* 2008;1192:9-16.
- Izquierdo M.S., Montero D., Robaina L., Caballero M.J., Rosenlund G., Gines R. Alterations in fillet fatty acid profile and flesh quality in gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed vegetable oils for long term period. Recovery of fatty acid profiles by fish oil feeding. *Aquaculture* 2005;250:431-444.
- Johnston I.A. Muscle development and growth: potential implications for flesh quality in fish. *Aquaculture* 1999;177:99-115.
- Josephson D.B., Lindsay R.C., Stuibler D.A. Biogenesis of Lipid- Derived Aroma Compounds in Emerald Shiner (*Notropis atherionides*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1984b;32:1347-1352.
- Josephson D.B., Lindsay R.C., Stuibler D.A. Enzymic Hydroperoxide Initiated Effects in Fresh Fish *Journal of Food Science* 1987;52,3:596-600.
- Josephson D.B., Lindsay R.C., Stuibler D.A. Variations in the occurrences of enzymically derived volatile aroma compounds in salt- and freshwater fish. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1984a;32:1344-1347.

- Kalinowski C.T., Izquierdo M.S., Schuchardt D., Robaina L.E. Dietary supplementation time with shrimp shell meal on red porgy (*Pagrus pagrus*) skin colour and carotenoid concentration. *Aquaculture* 2007;272:451-457.
- Kalinowski C.T., Robaina L.E., Fernandez-Palacios H., Schuchardt D., Izquierdo M.S., Effect of different carotenoid sources and their dietary levels on red porgy (*Pagrus pagrus*) growth and skin colour. *Aquaculture* 2005;244:223-231.
- Kalogeropoulos N., Andrikopoulos N.K., Hassapidou M. Dietary evaluation of Mediterranean fish and molluscs pan-fried in virgin olive oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2004;84:1750-1758.
- Kalogeropoulos N., Kotsiopoulou C., Mylona A., Christea M., Andrikopoulos N.K. Compositional changes and enrichment of Mediterranean finfish during pan frying with virgin olive oil. *Ecology of Food and Nutrition* 2006;45:171-188.
- Kalogeropoulos N., Nomikos T., Chiou A., Fragopoulou E., Antonopoulou S. Chemical Composition of Greek Avgotaracho Prepared from Mullet (*Mugil cephalus*): Nutritional and Health Benefits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2008;56:5916-5925.
- Kawai T. Fish Flavor. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 1996;36:257-298.
- Kawai T., Ishida Y., Kakiuchi H., Ikeda N., Higashida T., Nakamura S. Flavour components of dried squid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1991;39:770-777.
- Kim K.-H., Pal R., Ahn J.-W., Kim Y.-H. Food decay and offensive odorants: A comparative analysis among three types of food. *Waste Management* 2009;29:1265-1273.
- Kiritsakis A.K. Flavor components of olive oil – a review. *Journal of the American Oil Chemists Society* 1998;75:673-681.
- Kolanowski W., Jaworska D., Weissbrodt J. Importance of instrumental and sensory analysis in the assessment of oxidative deterioration of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acid rich foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2007;87:181-191.
- Kouba M., Mourot J. A review of nutritional effects on fat composition of animal products with special emphasis on n-3 polyunsaturated fatty acids. *Biochimie* 2011;93:13-17.
- Kubota K., Matsukage Y., Sekiwa Y., Kobayashi A. Identification of the characteristic volatile flavor compounds formed by cooking squid (*Todarodes pacificus* Steenstrup). *Food Science & Technology International* 1996;2:163-166.
- Kulawik P., Özogul F., Glew R., Özogul Y. Significance of Antioxidants for Seafood Safety and Human Health. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2013;61:475-491.
- Ladikos D., Lougovois V. Lipid oxidation in muscle foods: a review. *Food Chemistry* 1990;35:295-314.
- Laing D.G., Jinks A. Flavour perception Mechanisms. *Trends in Food Science & Technology Special Issue on Flavour Perception* 1996;7:387-389.
- Lara Barazi-Yeroulanos General Fisheries Commission for the Mediterranean Studies and Reviews No 88 Synthesis of Mediterranean Marine Finfish Aquaculture – a Marketing and Promotion, Strategy Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome: 2010.
- Le Guen S., Prost C., Demaimay M. Characterization of odorant compounds of mussels (*Mytilus edulis*) according to their origin using gas chromatography-olfatometry and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 2000a;896:361-371.
- Le Guen S., Prost C., Demaimay M. Critical comparison of three olfactometric methods for the identification of the most potent odorants in cooked mussels (*Mytilus edulis*). *Journal of Agricultural & Food Chemistry* 2000b;48:1307-1314.
- Leduc F., Tournayre P., Kondjohan N., Mercier F., Malle P., Kol O., Berdagué J.L.,

- Duflos G. Evolution of volatile odorous compounds during the storage of European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Food Chemistry* 2012;131:1304-1311.
- Lenas D., Chatziantoniou S., Nathanailides C., Triantafillou D. Comparison of wild and farmed sea bass (*Dicentrarchus labrax* L) lipid quality. *Procedia Food Science* 2011;1:1139-1145.
 - Lepage G., Roy C.C. Improved recovery of fatty acid through direct transesterification without priorextraction or purification. *Journal of Lipid Research* 1984;25:1392-1396.
 - Likens S.T., Nickerson G.B. Detection of certain hop oil constituents in brewing products. *American Society of Brewing Chemists, Proceedings*, 1964;5-13.
 - Linder M., Belhaj N., Sautot P., Tehrany A.E. From Krill to Whale: an overview of marine fatty acids and lipid compositions. *Disponibilite de la Ressource* 2010;17:194-204.
 - Lindsay R.C. Fish Flavors. *Food Reviews International Special Issue:Seafoods: Quality and Evaluation* 1990;6:437-455.
 - Lindsay R.C. Flavors. In: S. Damoradan, K.L. Parkin, & O.R. Fennema (Eds.), *Fennema's Food Chemistry*, 4th Edition, CRC Press, Boca Raton, FL, 2008;10:639-687.
 - Longo A.M., Sanroman A.M. Production of Food Aroma Compounds: Microbial and Enzymatic Methodologies. *Food Technology and Biotechnology* 2006;44:335-353.
 - Loukas V., Dimizas C., Sinanoglou V.J., Miniadis-Meimaroglou S. EPA, DHA, cholesterol and phospholipid content in *Pagrus pagrus* (cultured and wild), *Trachinus draco* and *Trigla lyra* from Mediterranean Sea. *Chemistry and Physics of Lipids* 2010;163:292-299.
 - Loureiro M. A-P., Mascio P, Gomes F.O., Medeiros H.G.M. *trans,trans-2,4-Decadienal-Induced 1,N²-Etheno-2'-deoxyguanosine Adduct Formation* *Chemical Research in Toxicology* 2000;13:601-609.
 - Love R.M. Biochemical dynamics and the quality of fresh and frozen fish. In: *Fish Processing Technology*, (edited by G.M. Hall), Blackie Academic, Chapman and Hall, London, UK. 1997:1-30.
 - Lundebye A.K. , Hovea H., Mågea A., Bohn V.J.B., Hamrea K. Levels of synthetic antioxidants (ethoxyquin, butylated hydroxytoluene and butylated hydroxyanisole) in fish feed and commercially farmed fish. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment* 2010;27:1652-1657.
 - Maignial L., Pibarot P., Bonetti G., Chaintreau A., Marion J.P. Simultaneous distillation extraction under static vacuum: Isolation of volatile compounds at room temperature. *Journal of Chromatography A* 1992;606:87-94.
 - Mamalakis G., Kalogeropoulos N., Andrikopoulos N., Hatzis C., Kromhout D., Moschandreas J., Kafatos A. Depression and long chain n-3 fatty acids in adipose tissue in adults from Crete. *European Journal of Clinical Nutrition* 2006;60:882-888.
 - Martelli R., Parisi G., Lupi P., Bonelli A., Zotte A.D., Franci O. Effect of rearing system on body traits and fillet quality of meagre (*Argyrosomus regius*, Asso 1801) chilled for a short time. *Italian Journal of Animal Science* 2013;12:186-195.
 - McGill A.S., Hardy R., Burt J.R. Hept-cis-4-enal and its contribution to the off flavour in cold storage cod. *Journal of the Science of Food Agriculture* 1974;25:1477-1489.
 - Medina I., Satue-Gracia M.T., Frankel E.N. Static headspace-gas chromatography analysis to determinate oxidation of fish muscle during thermal processing. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 1999;76:231-236.
 - Menoyo D., Izquierdo M.S., Robaina L., Ginés R., Lopez-Bote C.J., Bautista J.M. Adaptation of lipid metabolism, tissue composition and flesh quality in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) to the replacement of dietary fish oil by linseed and soyabean oils. *British Journal of Nutrition* 2004;92:41-52.
 - Miniadis-Meimaroglou S., Dimizas C., Loukas V., Moukas A., Vlachos A., Thomaidis

- N., Paraskevopoulou V., Dasenakis M. Proximate composition, fatty acids, cholesterol, minerals in frozen red porgy. *Chemistry and Physics of Lipids* 2007;146:104-110.
- Mittakos I., Ayala M.D., López-Albors O., Grigorakis K., Lenas D., Kakali F., Nathanailides C. Muscle cellularity, enzyme activities, and nucleic acid content in meagre (*Argyrosomus regius*). *Canadian Journal of Zoology* 2012;90:1270-1277.
 - Monfort M.C. Present market situation and prospects of meager (*Argyrosomus regius*), as an emerging species in Mediterranean aquaculture. *Studies and Reviews. General Fisheries Commission for the Mediterranean. Rome, FAO.* 2010;89:28. Available in <http://www.fao.org/docrep/013/i1675e/i1675e.pdf> (last assessed in 10th January, 2013).
 - Monroig O., Tocher R. D., Hontoria F., Navarro C. J. Functional characterisation of a Fads2 fatty acyl desaturase with $\Delta 6/\Delta 8$ activity and an Elovl5 with C16, C18 and C20 elongase activity in the anadromous teleost meagre (*Argyrosomus regius*). *Aquaculture* 2013;412-413:14-22.
 - Morales-Nina B., Graub A., Perez-Mayola S., del Mar Gil b M., Marking of otoliths, age validation and growth of *Argyrosomus regius* juveniles (Sciaenidae) *Fisheries Research* 2010;106:76-80.
 - Morita K, Kubota K., Aishima T. Comparison of aroma characteristics of 16 fish species by sensory evaluation and gas chromatographic analysis. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2003;83:289-97.
 - Morita K, Kubota K., Aishima T. Sensory characteristics and volatile components in aromas of boiled prawns prepared according to experimental designs. *Food Research International* 2001;34:473-481.
 - Mottram D.S. Flavour formation in meat and meat products: a review. *Food Chemistry* 1998;62:415-424.
 - Murry J. Mc. Οργανική χημεία, Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης, Τόμος II, 2^η έκδοση, Ηράκλειο 2001.
 - Mylonas C. C., Papadaki M., Pavlidis M., Divanach P. Evaluation of egg production and quality in the Mediterranean red porgy (*Pagrus pagrus*) during two consecutive spawning seasons *Aquaculture* 2004;232:637-649.
 - Neil C., Da Costa, Sanja Eri. Identification of Aroma Chemicals 1st. ed. In: *Chemistry and technology of flavors and fragrances* David J. Rowe: Blackwell Publishing Ltd, 2005:12-31.
 - Nevigado T., Masci M., Orban E., Di Lena G., Casini I., Caproni R. Analysis of fatty acids in 12 Mediterranean fish species: Advantages and limitations of a new GC-FID/GC-MS based technique. *Lipids* 2012;47:741-753.
 - Nor Qhairul Izzreen M.N., Vijaya Ratnam R. Volatile compound extraction using Solid Phase Micro Extraction coupled with Gas chromatography Mass Spectrometry (SPME-GCMS) in local seaweeds of *Kappaphycus alvarezii*, *Caulerpa lentillifera* and *Sargassum polycystem*. *International Food Research Journal* 2011;18:1449-1456.
 - Norman F. Hazard Control of chemical composition and food quality attributes of cultured fish. *Food Research International* 1992;25:289-307.
 - Oehlenschlager J. Introduction - Importance of Analysis in Seafood and Seafood Products, Variability and Basic Concepts 1st. ed. In: *Handbook of seafood and seafood product analysis* Nollet L. M.L., Toldra F., CRC Press, 2010:3-10.
 - Olafsdottir G., Fleurence J. Evaluation of fish freshness using volatile compounds – classification of volatile compounds in fish. In *Methods to Determine the Freshness of Fish in Research and Industry, Proceedings of the Final meeting of the Concerted Action ‘Evaluation of Fish Freshness’ AIR3 CT94 2283.* Nantes Nov 12-14, International Institute of Refrigeration 1997;12-14:55-69.

- Olafsdottir G., Jonsdottir R. Volatile Aroma Compounds in Fish 1st. ed. In: Handbook of seafood and seafood product analysis Nollet L. M.L., Toldra F., CRC Press, 2010:98-113.
- Ólafsdóttir G., Jónsdóttir R. *Volatile aroma compounds in fish*. In: *Handbook of seafood and seafood product analysis*. Nollet L.M.L., Toldrá F. (Eds), Boca Raton, FL: CRC Press. 2010:97-117.
- Olafsdottir G., Martinsdottir E., Oehlenschlager J., Dalgaard P., Jensen B., Undeland I., Mackie I.M., Henehan G., Nielsen J., Nilsen H. Methods to evaluate fish freshness in research and industry. *Trends in Food Science & Technology* 1997;8:258-265.
- Orban E., Navigato T., Di Lena G., Casini I., Marzetti A. Differentiation in the Lipid Quality of Wild and Farmed Seabass (*Dicentrarchus labrax*) and Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata*). *Journal of Food Science* 2003;68:128-132.
- Osinchak J.E., Huttin H.O., Zajicek O.T., Kelleher S.N., Huang C.H. Effect of NaCl on catalysis of lipid oxidation by the soluble fraction of fish muscle. *Free Radical Biology & Medicine* 1992;12:35-41.
- Owuor P.O. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition)* TEA . Analysis and Tasting 2003:5757-5762.
- Ozogul Y., Polat A., Uçar İ., Ozogul F. Seasonal fat and fatty acid variations of seven marine fish species from the Mediterranean Sea, *European Journal of Lipid Science and Technology* 2011;113:1491-1498.
- Ozyurt G., Polat A., Ozkutuk S. Seasonal changes in the fatty acids of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and white sea bream (*Diplodus sargus*) captured in Iakenderun Bay, eastern Mediterranean coast of Turkey. *European Food Research Technology* 2005;220:120-124.
- Paleari M.A., Moretti V.M., Beretta G., Caprino F. Chemical parameters, fatty acids and volatile compounds of salted and ripened goat thigh *Small Ruminant Research* 2008;74:140-148.
- Panagiotakos D.B., Mamplekou E., Pitsavos C., Kalogeropoulos N., Kastorini C-M., Papageorgiou C., Papadimitriou G., Stefanadis C. Fatty acids intake and depressive symptomatology, in a Greek sample; an epidemiological analysis. *Journal of the American College of Nutrition* 2010;29:586-594.
- Panagiotakos DB., Kalogeropoulos N. Omega-3 consumption may benefit heart rhythm: a review. *Agro Food Industry Hi-Tech*, 2008;19: 66-68.
- Pennarun A.-L., Prost C., Demaimay M. Identification and origin of the character-impact compounds of raw oyster *Crassostrea gigas*. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2002;82:152-1660.
- Petisca C., Pérez-Palacios T., Farah A., Pinho O., Ferreira I.M.P.L.V.O. Furans and other volatile compounds in ground roasted and espresso coffee using headspace solid-phase microextraction: Effect of roasting speed. *Food and Bioproducts Processing* 2013;91:233-241.
- Piccolo G., Bovera F., De Riu N., Marono S., Salati F., Cappuccinelli R., Moniello G. Effect of two different protein/fat ratios of the diet on meager (*Argyrosomus regius*) traits. *Italian Journal of Animal Science* 2008;7:363-371.
- Piveteau F., Le Guen S., Gandemer G., Baud J.-B., Prost C., Demaimay M. Aroma of fresh oysters *Crassostra gigas*: composition and aroma notes. *Journal of Agricultural & Food Chemistry* 2000;48:4851-4857.
- Poli B.M., Parisi G., Zampacavallo G., Iurzan F., Meccati M., Lupi P., Bonelli A. Preliminary results on quality and quality changes in reared meagre (*Argyrosomus regius*): body and fillet traits and freshness changes in refrigerated commercial-size fish. *Aquaculture International* 2003;11:301-311.
- Prell P.A., Sawyer F.M. Flavor profiles of 17 species of north Atlantic fish. *Journal of*

- Food Science 1988;53:1036-1042.
- Prost C., Hallier A., Cardinal M., Serot T., Courcoux P. Effect of storage time on raw sardine (*Sardina pilchardus*) flavor and aroma quality. Journal of Food Science 2004;69:198-204.
 - Prost C., Serot T., Demaimay M. Identification of the most potent odorants in wild and farmed cooked turbot (*Scophthalmus maximus* L.) Journal of Agricultural & Food Chemistry 1998;46:3214-3219.
 - Rasmussen T., Anthoni U., Christophersen C., Nielsen P.H. Volatile compounds for marine indicator organism *Mytilus edulis*. Chemosphere 1993;27:2123-2125.
 - Reboredo-Rodríguez P., González-Barreiro C., Cancho-Grande B., Simal-Gándara J. Dynamic headspace/GC-MS to control the aroma fingerprint of extra-virgin olive oil from the same and different olive varieties. Food Control 2012;25:684-695.
 - Ribeiro B., Cardoso C., Silva H.A., Serrano C., Ramos C., Santos P.C., Mendes R. Effect of grape dietary fibre on the storage stability of innovative functional seafood products made from farmed meagre (*Argyrosomus regius*). International Journal of Food Science and Technology 2013;48:10-21.
 - Rivellino S.R., Hantao L.W., Risticovic S., Carasek E., Pawliszyn J., Augusto F. Detection of extraction artifacts in the analysis of honey volatiles using comprehensive two-dimensional gas chromatography. Food Chemistry 2013;141:1828-1833.
 - Roberts D., Brevard H., (2001). Isolation and Concentration of Aroma Compounds, Current Protocols in Food Analytical Chemistry G1.2.1-G1.2.9.
 - Rodríguez-Barreto D., Jerez S., Cejas J.R., Martín M.V., Acosta N.G., Bolaños A., Lorenzo A. Comparative study of lipid and fatty acid composition in different tissues of wild and cultured female broodstock of greater amberjack (*Seriola dumerili*). Aquaculture 2012;360:1-9.
 - Roncarati A., Brambilla G., Meluzzi A., Lamiceli L.A., Fanelli R., Moret I., Di Domenico A. Fatty acid profile and proximate composition of fillets from *Engraulis encrasicolus*, *Mullus barbatus*, *Merluccius merluccius* and *Sarda sarda* caught in Tyrrhenian, Adriatic and Ionian seas. Journal of Applied Ichthyology 2012;28:545-552.
 - Roo J., Hernández-Cruz C.M., Borrero C., Schuchardt D., Fernández-Palacios H. Effect of larval density and feeding sequence on meagre (*Argyrosomus regius*; Asso, 1801) larval rearing Aquaculture 2010;302:82-88.
 - Rueda F.M., Lopez J.A., Martínez F.J., Zamora S. Divanach P. Kentouri M. Fatty acids in muscle of wild and farmed red porgy, *Pagrus pagrus*. Aquaculture Nutrition 1997;3:161-165.
 - Rustad T. Lipid Oxidation 1st. ed. In: Handbook of seafood and seafood product analysis Nollet L. M.L., Toldra F., CRC Press, 2010:87-93.
 - Ruxton C.H.S., Reed S.C., Simpson M.J.A., Millington K.J. The health benefits of omega-3 polyunsaturated fatty acids: A review of the evidence. Journal of Human Nutrition and Dietetics 2004;17:449-459.
 - Saavedra M., Pereira T.G., Grade A., Barbeiro M., Pousão-Ferreira P., Quental-Ferreira H., Nunes M.L., Bandarra N., Gonçalves A. Farmed meagre, *Argyrosomus regius* of three different sizes: what are the differences in flesh quality and muscle cellularity? International Journal of Food Science and Technology 2015;50:1311-1316.
 - Saga L.C., Rukke E.-O., Liland K.H., Kirkhus B., Egelandsdal B., Karlsen J., Volden J. Oxidative stability of polyunsaturated edible oils mixed with microcrystalline cellulose. JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society 2011;88:1883-1895.
 - Saillant E., Dupont-Nivet M., Sabourault M., Haffray P., Laureau S., Vidal M.-O., Chatain B. Genetic variation for carcass quality traits in cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Aquatic Living Resources 2009;22:105-112.
 - Sarwar G., Botting H.G. Rapid analysis of nutritionally important free amino acids in

serum and organs (liver, brain, and heart) by liquid chromatography of precolumn phenylisothiocyanate derivatives. *Journal of Association Official Analytical Chemistry* 1990;73:470-475.

- Schacky C.V., Harris W.S. Cardiovascular benefits of omega-3 fatty acids. *Cardiovascular Research* 2007;73:310-315.
- Schiavone R., Zilli L., Storelli C., Vilella S. Changes in hormonal profile, gonads and sperm quality of *Argyrosomus regius* (Pisces, Scianidae) during the first sexual differentiation and maturation. *Theriogenology* 2012;77:888-898.
- Schiavone R., Zilli L., Vilella S., Sex differentiation and serum levels of sex steroids in meagre (*Argyrosomus regius*) Abstracts / *Comparative Biochemistry and Physiology* 2008;151:11-18.
- Schindler S., Krings U., Berger R.G., Orlie V. Aroma development in high pressure treated beef and chicken meat compared to raw and heat treated. *Meat Science* 2010;86:317-323.
- Selli S., Cayhan G.C. Analysis of volatile compounds of wild gilthead sea bream (*Sparus aurata*) by simultaneous distillation-extraction (SDE) and GCMS. *Microchemical Journal* 2009;93:232-235.
- Senso L., Suarez D. M., Ruiz-Cara T., Garcia-Gallego M. On the possible effects of harvesting season and chilled storage on the fatty acid profile of the fillet of farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*) *Food Chemistry* 2007;101:298-307.
- Serfert Y., Drusch S., Schwarz K. Sensory odour profiling and lipid oxidation status of fish oil and microencapsulated fish oil *Food Chemistry* 2010;123: 968-975.
- Sérot T., Regost C., Arzel J. Identification of odour-active compounds in muscle of brown trout (*Salmo trutta*) as affected by dietary lipid sources. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2002;82:636-643.
- Sérot T., Regost C., Prost C., Robin J., Arzel J. Effect of dietary lipid sources on odour-active compounds in muscle of turbot (*Psetta maxima*). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2001;81:1339-1346.
- Shahidi F., Cadwallader K.R. Flavor and Lipid Chemistry of Seafoods: An Overview In *Flavor and Lipid Chemistry of Seafoods*; Shahidi F., et al.; ACS Symposium Series; American Chemical Society: Washington, DC, 1997.
- Shen S., Xie J., Xu X. The components of cuttlefish (*Sepiella maindroni* de Rochebruns) oil. *Food Chemistry* 2007;102:210-214.
- Shi W., Ying M., Wang X. Effect of seasons on volatile compounds in grass carp meat. *Advanced Materials Research* 2012;554-556:1565-1571.
- Silva J.M.G., Valente L.M.P., Castro-Cunha M., Bacelar M., Guedes De Pinho P. Impact of dietary plant protein levels on the volatile composition of Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup, 1858) muscle. *Food Chemistry* 2012;131:569-602.
- Sinanoglou V.J., Proestos C., Lantzouraki D.Z., Calokerinos A.C., Miniadis-Meimaroglou S. Lipid evaluation of farmed and wild meagre (*Argyrosomus regius*). *European Journal of Lipid Science and Technology* 2014;116:134-143.
- Sonsin S., Chiesa L.M., Panseri S., Biondi P., Cantoni C. Determination of volatile compounds of precooked prawn (*Penaeus vannamei*) and cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*) stored in ice as possible spoilage markers using solid phase microextraction and gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2008;89:436-442.
- Soriguer F., Serna S., Valverde E., Hernando J., Martín-Reyes A., Soriguer M., Pareja A., Tinahones F., Esteva I. Lipid, protein, and calorie content of different Atlantic and Mediterranean fish, shellfish, and molluscs commonly eaten in the south of Spain. *European Journal of Epidemiology* 1997;13:451-463.
- Suárez M.D., Cervera M.A.R., Abellán E., Morales A.E., Gallego M.G., Cardenete G.

Influence of starvation on flesh quality of farmed Dentex, *Dentex dentex*. Journal of the World Aquaculture Society 2010;41:490-505.

- Suominen-Taipale A.L., Partonen T., Turunen A.W., Männistö S., Jula A., Verkasalo P.K. Fish consumption and Omega-3 polyunsaturated fatty acids in relation to depressive episodes: A cross-sectional analysis. PLoS ONE 2010;5:issue 5.
- Suquet M., Divanach P., Hussenot Jérôme, Coves D., Fauvel C. Pisciculture marine de « nouvelles espèces » d'élevage pour l'Europe. Cahier Agriculture 2009;18:2-3.
- Taherianfard M., Sajedianfard J., Geramizadeh B., Jafari N., Haghghatjoo G., Hoseinnia F. Effect of butylated hydroxytoluene on passive avoidance learning in male rats. Physiology and Pharmacology 2012;15:538-544.
- Tejera N., Cejas R.J., Rodríguez C., Bjerkeng B., Jerez S., Bolapos A., Lorenzo A. Pigmentation, carotenoids, lipid peroxides and lipid composition of skin of red porgy (*Pagrus pagrus*) fed diets supplemented with different astaxanthin sources Aquaculture 2007;270:218-230.
- Thakur D.P., Morioka K., Itoh N., Wada M., Itoh Y. Muscle biochemical constituents of cultured amberjack *Seriola dumerili* and their influence on raw meat texture. Fish Science 2009;75:1489-1498.
- Tocher D.R. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. Reviews in Fisheries Science 2003;11:107-184.
- Triqui R., Bouchriti N., Freshness assessments of Moroccan sardine (*Sardina pilchardus*): Comparison of overall sensory changes to instrumentally determined volatiles. Journal of Agricultural and Food Chemistry 2003;51:7540-7546.
- Turchini G.M., Mentasti T., Caprino F., Panseri S., Moretti V.M., Valfrè F. Effects of dietary lipid sources on flavour volatile compounds of brown trout (*Salmo trutta* L.) fillet. Journal of Applied Ichthyology 2004;20:71-75.
- Turchini M.G., Moretti M.V., Mentasti T., Orban E., Valfrè F. Effects of dietary lipid source on fillet chemical composition, flavour volatile compounds and sensory characteristics in the freshwater fish tench (*Tinca tinca* L.) Food Chemistry 2007;102:1144-1155.
- U.S. Department of Health and Human Services, U.S. Department of Agriculture. Dietary guidelines for Americans. Washington, DC, 2005; www.healthierus.gov/dietaryguidelines
- U.S. Department of Health and Human Services, U.S. Department of Agriculture. Dietary guidelines for Americans 2010; <http://www.healthgov/dietaryguidelines/ddg2010/dietaryguidelines2010.pdf>
- Ulbricht T.L.V., Southgate D.A.T. Coronary heart disease: seven dietary factors. Lancet 1991;338:985-992.
- Vallés R. Aquaculture production of meagre (*Argyrosomus regius*): hatchery techniques, ongrowing and market. Advances in Aquaculture Hatchery Technology 2013;17:519-541.
- Varlet V., Fernandez X. Sulfur-containing volatile compounds in seafood: occurrence, odorant properties and mechanisms of formation. Food Science and Technology International 2010;16:463-503.
- Varlet V., Prost C., Serot T. Volatile aldehydes in smoked fish: Analysis methods, occurrence and mechanisms of formation. Food Chemistry 2007;105:1536-1556.
- Veberga A., Vogta G., Woldab J.P. Fluorescence in aldehyde model systems related to lipid oxidation. LWT – Food Science and Technology 2006;39:562-570.
- Vetter W., Laure S., Wendlinger C., Mattes A., Smith A.W.T., Knight D.W. Determination of furan fatty acids in food samples. JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society 2012;89:1501-1508.
- Vetter W., Wendlinger C. Furan fatty acids – valuable minor fatty acids in food. Lipid Technology 2013;25:7-10.

- Wang H., Liu F., Yang L., Zu Y., Wang H., Qu S., Zhang Y. Oxidative stability of fish oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during long-term storage Food Chemistry 2011;128:93-99.
- WHO (World Health Organization) International Programme on Chemical Safety Inter-organization Programme for the Sound Management of Chemicals. 2-Butenal Concise International Chemical Assessment Document 74. Geneva: World Health Organization 2008;47p.
- Xiong Y.L., Decker E.A. Alterations of muscle protein functionality by Oxidative and Antioxidative Processes. Journal of Muscle Foods 1995;6:139-160.
- Yu A.-N., Sun B.G., Tian D.T., Qu W.Y. Analysis of volatile compounds in traditional smoke-cured bacon (CSCB) with different fibre coatings using SPME. Food Chemistry 2008;110:233-238.
- Yu X., Zhao M., Liu F., Zeng S., Hu J. Antioxidants in volatile Maillard reaction products: Identification and interaction. LWT - Food Science and Technology, 2013;53:22-28.
- Zhang Z., Li G., Luo L., Chen G. Study on seafood volatile profile characteristics during storage and its potential use for freshness evaluation by headspace solid phase microextraction coupled with gas chromatography–mass spectrometry. Analytica Chimica Acta 2010;659:151-158.
- Zhang Z.Y., Pawliszyn J. Headspace solid-phase microextraction. Analytical Chemistry 1993;43:809.
- Zlatanov S., Laskaridis K. Seasonal variation in the fatty acid composition of three Mediterranean fish – sardine (*Sardina pilchardus*), anchovy (*Engraulis encrasicolus*) and picarel (*Spicara smaris*). Food Chemistry 2007;103:725-728.
- Ανδρικόπουλος Ν., Ανάλυση τροφίμων, Εκδόσεις Μπιστικέα, Θεωρία Μεθοδολογίας – Οργανολογίας και Εργαστηριακές Ασκήσεις, 2010;313-331.
- Λουγκοβόης Β. Σημειώσεις Εργαστηριακών Ασκήσεων Ποιοτικού Ελέγχου Αλιευμάτων, Σχολή Τεχνολογίας και Διατροφής, ΤΕΙ Αθήνας, 1997b.
- Λουγκοβόης Β. Σημειώσεις Τεχνολογίας Αλιευμάτων, Σχολή Τεχνολογίας και Διατροφής, ΤΕΙ Αθήνας, 1997a.
- Υπουργείο Εξωτερικών – Γενική Γραμματεία Διεθνών Οικονομικών Σχέσεων & Αναπτυξιακής Συνεργασίας, Σύνδεσμος Ελληνικών Θαλασσοκαλλιέργειών (ΣΕΘ), Η Ελληνική Ιχθυοκαλλιέργεια και τα προϊόντα της στην παγκόσμια αγορά 2008.

Παράρτημα 1.1: Κύρια πτητικά συστατικά (μg/kg νωπού βάρους) που χαρακτηρίζουν τα υπό μελέτη Μεσογειακά είδη. Αναφέρεται επίσης ο χρόνος κατακράτησης (Rt) και τα χαρακτηριστικά ιόντα για κάθε πτητική ένωση. (nd= δεν ανιχνεύτηκε, tr= ίχνη <0.01 μg/kg).

| Χημική ένωση | Rt (min) | Χαρακτηριστικά ιόντα (m/z) | Αθέρβια | Μαρίδα | Μπακαλιάρος | Σαρδέλα | Γόπα | Γαύρος | Κουτσομούρα | Καλαμάρι | Γαρίδα | Μύδι |
|-------------------------------------|----------|----------------------------|---------|--------|-------------|---------|------|--------|-------------|----------|--------|-------|
| Τετραϋδροφουράνιο | 3,042 | 42 72 71 | 0,06 | 0,05 | 0,04 | 0,17 | 0,04 | nd | 0,23 | 0,13 | 0,06 | 0,82 |
| Trans-2-βουτενάλη | 3,279 | 70 39 69 | nd | nd | nd | 0,22 | nd | nd | 0,02 | nd | nd | 0,29 |
| 3-Μεθυλο βουτανάλη | 3,298 | 44 41 43 | 3,01 | 0,39 | 0,22 | 1,43 | 0,27 | 1,30 | 0,96 | 1,14 | 0,45 | 3,94 |
| 2-Μεθυλο βουτανάλη | 3,395 | 41 57 58 | 1,38 | nd | 0,18 | 0,72 | nd | 0,56 | 0,56 | nd | nd | 2,49 |
| N,N,N',N'-Τετραμεθυλο-μεθανοδιαμίνη | 3,432 | 58 42 44 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 0,35 | nd |
| 1-πεντεν-3-όλη | 3,590 | 57 41 39 | 1,33 | 0,88 | 0,60 | 2,63 | 0,60 | 0,77 | 0,95 | 0,06 | 0,13 | 0,12 |
| 1-μεθόξυ-2-προπανόλη | 3,612 | 45 47 43 | nd | 0,49 | nd | 4,48 | nd | nd | nd | 0,82 | nd | nd |
| 3- Πεντεν-2-όλη | 3,633 | 71 43 41 | 0,03 | 0,17 | 0,02 | nd | nd | nd | nd | 0,01 | nd | nd |
| 2-Πεντανόνη | 3,694 | 43 45 48 | nd | nd | nd | 0,14 | 0,03 | 0,03 | nd | nd | 0,02 | nd |
| 2,3-Πεντανοδιόνη | 3,767 | 43 57 100 | 0,21 | 0,27 | 0,13 | 1,03 | 0,21 | 0,46 | 0,23 | nd | nd | nd |
| Επτάνιο | 3,767 | 43 71 56 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 0,23 | nd | 1,91 |
| Πεντανάλη | 3,785 | 44 58 45 | 0,45 | 0,30 | 0,28 | 0,84 | 0,26 | 0,32 | 0,29 | 0,06 | nd | 3,78 |
| 2-Αιθυλοφουράνιο | 3,822 | 81 96 53 | 0,72 | 0,41 | 0,28 | 2,31 | 0,42 | 0,57 | 0,44 | 0,02 | 0,02 | 0,15 |
| 3-Υδροξυ-2-βουτανόνη | 3,987 | 45 43 88 | 1,19 | 2,18 | 1,42 | 1,17 | 0,50 | 3,29 | 1,63 | 1,92 | 0,81 | 0,88 |
| 3-Μεθυλο-1-βουτανόλη | 4,432 | 57 70 42 | 0,11 | 0,02 | nd | nd | nd | nd | 0,08 | 0,01 | nd | nd |
| Πυριδίνη | 4,624 | 79 52 51 | nd | 0,03 | 0,01 | 0,01 | 0,03 | nd | 0,02 | 0,04 | 0,07 | 1,54 |
| 2-Μεθοξυ-φουράνιο | 4,694 | 98 83 69 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 0,20 |
| trans-2-Πεντενάλη | 4,846 | 55 83 84 | 0,29 | 0,26 | 0,20 | 0,91 | 0,22 | 0,23 | 0,28 | nd | nd | nd |
| Πυρρόλιο | 4,919 | 67 41 39 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 0,04 | nd | 0,03 | 0,13 |
| Τολουόλιο | 5,035 | 91 92 65 | 0,33 | 0,15 | 0,23 | 11,12 | 0,01 | 2,06 | 6,90 | 3,49 | 0,29 | 22,24 |

Παράρτημα 1.1 (Συνέχεια)

| Χημική ένωση | Rt (min) | Χαρακτηριστικά ιόντα (m/z) | Αθέρνα | Μαρίδα | Μπακαλιάρος | Σαρδέλα | Γόπα | Γαύρος | Κουτσομούρα | Καλαμάρι | Γαρίδα | Μύδι |
|------------------------------|----------|-------------------------------|--------|--------|-------------|---------|------|--------|-------------|----------|--------|------|
| 1-Πεντανόλη | 5,125 | 42 55 41 | 0,03 | 0,01 | nd | nd | 0,01 | nd | 0,01 | nd | nd | 0,21 |
| <i>trans</i> -2-πεντεν-1-όλη | 5,188 | 57 41 44 | 0,07 | 0,07 | nd | 0,24 | 0,04 | tr | 0,02 | nd | nd | nd |
| 3-Μεθυλο-2-βουτενάλη | 5,596 | 84 55 41 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 0,40 |
| Οκτάνιο | 5,901 | 43 85 57 | 0,14 | 0,22 | 0,23 | 0,21 | 0,12 | 0,09 | 0,15 | 0,08 | 0,04 | 2,14 |
| Εξανάλη | 5,962 | 44 56 41 | 0,25 | 0,38 | 0,19 | 1,03 | 0,40 | 0,12 | 0,33 | 0,02 | nd | 0,49 |
| 3-Πεντανόλη | 6,029 | 59 107 45 | nd | 0,03 | 0,02 | 0,10 | 0,02 | 0,04 | 0,05 | 0,02 | nd | 0,07 |
| 2-Υδροξυ-3-πεντανόνη | 6,248 | 45 57 59 | 0,11 | 0,01 | 0,03 | 0,05 | 0,01 | 0,05 | 0,03 | nd | nd | 0,04 |
| Άγνωστη | 6,474 | 58 42 61 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 0,56 | 1,70 | nd |
| 2,4-Διμεθυλο-επτάνιο | 6,596 | 43 85 57 | 0,15 | 0,25 | 0,12 | 0,50 | 0,21 | 0,25 | nd | nd | nd | 0,82 |
| Φουρφουράλη | 7,059 | 96 95 39 | 0,03 | 0,01 | 0,01 | 0,02 | 0,02 | 0,05 | 0,01 | 0,04 | tr | 0,36 |
| 3-Μεθοξυ-1-βουτανόλη | 7,096 | 59 43 89 | nd | nd | nd | 0,42 | nd | nd | nd | nd | nd | nd |
| 2,4-Διμεθυλο-1-επτένιο | 7,285 | 43 70 55 | 0,05 | 0,08 | 0,04 | 0,09 | 0,05 | 0,10 | 0,02 | 0,05 | 0,02 | 0,27 |
| 2-Μεθυλο-1Η-πυρρόλιο | 7,352 | 80 81 53 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 0,18 |
| 2-Εξενάλη | 7,803 | 41 69 55 | 0,12 | 0,11 | 0,05 | 0,50 | 0,08 | 0,11 | 0,08 | nd | nd | 0,09 |
| Φουρφουρυλική αλκοόλη | 7,980 | 98 97 41 | 0,14 | nd | nd | nd | 0,01 | nd | nd | nd | nd | 1,40 |
| 4-Μεθυλο-οκτάνιο | 8,163 | 43 85 71 | 0,15 | 0,19 | 0,11 | 0,35 | 0,17 | 0,23 | 0,02 | 0,10 | 0,04 | 0,62 |
| ρ-Ξυλόλιο | 8,345 | 91 106 105 | 0,04 | nd | nd | 0,02 | 0,02 | 0,06 | nd | 0,02 | nd | 0,26 |
| 1-Μεθοξυ-2-προπυλεστέρας | 8,716 | 43 45 72 | nd | nd | nd | 0,13 | nd | nd | nd | 0,06 | nd | nd |
| Στυρόλιο | 9,345 | 104 103 78 | nd | 0,01 | 0,06 | 0,08 | nd | 0,03 | 0,27 | 0,16 | 0,01 | 0,06 |
| 4-Επτανόνη | 9,449 | 43 58 71 | 0,02 | 0,02 | 0,02 | 0,06 | 0,01 | 0,01 | 0,03 | nd | 0,02 | 0,14 |

Παράρτημα 1.1 (Συνέχεια)

| Χημική ένωση | Rt (min) | Χαρακτηριστικά ιόντα (m/z) | Αθήρινα | Μαρίδα | Μπακαλιάρος | Σαρδέλα | Γόπα | Γαύρος | Κουτσομούρα | Καλαμάρι | Γαρίδα | Μύδι |
|---------------------------------------|----------|-------------------------------|---------|--------|-------------|---------|------|--------|-------------|----------|--------|------|
| <i>trans</i> -4-Επτενάλη | 9,796 | 41 55 68 | 0,17 | 0,12 | 0,08 | 0,45 | 0,05 | 0,08 | 0,05 | 0,02 | nd | 0,25 |
| 2 Ακετυλοφουράνιο | 10,382 | 95 100 | tr | tr | tr | nd | nd | 0,01 | nd | nd | nd | 0,15 |
| 2-3-Διμεθυλο-πυραζίνη | 10,746 | 108 67 40 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 0,03 | 0,02 |
| Άγνωστη | 10,894 | 57 42 86 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 0,212 | nd |
| Άγνωστη | 11,827 | 95 126 96 | 0,09 | nd | nd | 0,03 | 0,01 | nd | nd | nd | nd | 0,13 |
| 5-Μεθυλο-2-φουρανοκαρβοξαλδεΰδη | 12,296 | 110 109 53 | 0,26 | 0,01 | nd | 0,03 | 0,07 | nd | nd | nd | nd | 0,48 |
| Βενζαλδεΰδη | 12,790 | 106 105 77 | 0,21 | 0,11 | 0,15 | 0,26 | 0,14 | 0,15 | 0,12 | 0,15 | 0,12 | 0,96 |
| 2-Θειοφαινυλοκαρβοξαλδεΰδη | 14,564 | 111 112 83 | 0,15 | 0,04 | 0,03 | 0,07 | 0,02 | 0,04 | 0,10 | 0,04 | nd | 0,09 |
| 2-Πεντυλοφουράνιο | 14,771 | 81 82 138 | 0,03 | 0,02 | 0,03 | 0,09 | 0,04 | 0,02 | 0,04 | nd | nd | 0,03 |
| 2-Οκτανόνη | 14,850 | 43 58 59 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 0,04 |
| 2-Αιθυλο-6-μεθυλο-πυραζίνη | 15,210 | 121 122 39 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 0,01 |
| <i>trans</i> -2-(2-Πεντενυλο)φουράνιο | 15,368 | 107 136 68 | 0,03 | 0,02 | 0,02 | 0,07 | 0,03 | 0,02 | 0,02 | nd | nd | nd |
| Τριμεθυλο-πυραζίνη | 15,411 | 122 42 81 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 0,07 | nd |
| Οκτανάλη | 15,521 | 43 41 57 | 0,07 | 0,08 | 0,05 | 0,16 | 0,04 | 0,04 | 0,05 | 0,01 | nd | 0,35 |
| <i>cis,cis</i> -2,4-Επταδιενάλη | 15,954 | 81 110 53 | 0,16 | 0,21 | 0,12 | 0,71 | 0,21 | 0,17 | 0,32 | 0,01 | nd | 0,08 |
| N,N-Διμεθυλοθειο φορμαμίδιο | 16,624 | 89 44 42 | nd | nd | nd | 0,02 | nd | nd | nd | 0,08 | 0,10 | nd |
| Άγνωστη αμίνη | 16,686 | 58 44 42 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 0,60 | nd |
| Φαινυλοακεταλδεΰδη | 17,911 | 91 92 120 | 2,14 | 0,27 | 0,09 | 0,24 | 0,16 | 0,08 | 0,43 | 0,12 | nd | 2,71 |
| 3,4-Διμεθυλο-2,5-εξανοδιόνη | 18,222 | 43 131 88 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 0,14 | nd | nd |

Παράρτημα 1.1 (Συνέχεια)

| Χημική ένωση | Rt (min) | Χαρακτηριστικά ιόντα (m/z) | Αθερίνα | Μαρίδα | Μπακαλιάρος | Σαρδέλα | Γόπα | Γαύρος | Κουτσομούρα | Καλαμάρι | Γαρίδα | Μύδι |
|--|----------|-------------------------------|---------|--------|-------------|---------|------|--------|-------------|----------|--------|------|
| Άγνωστη | 18,362 | 58 42 72 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 0,11 | nd |
| 4,7-Διμεθυλο-ενδεκάνιο | 18,959 | 57 43 71 | 0,04 | 0,06 | 0,04 | 0,15 | 0,07 | 0,05 | nd | 0,02 | nd | 0,13 |
| 4-Μεθοξυ-2,5-διμεθυλο-3(2H)-φουρανόνη | 19,240 | 142 43 71 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 0,09 |
| Cis-5-εννενάλη | 20,368 | 79 41 55 | 0,11 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd |
| 1,2,4-Τριθειοκυκλοπεντάνιο | 20,587 | 124 78 45 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 0,23 | 0,07 |
| Διμεθυλο(2-(μεθυλοάμινο)αίθυλο) αμίνη | 21,221 | 58 42 59 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 0,45 | nd |
| 2-Εννεανόνη | 21,373 | 43 58 71 | 0,02 | 0,02 | 0,01 | 0,07 | 0,01 | 0,03 | nd | nd | nd | 0,10 |
| Άγνωστη | 21,666 | 107 79 135 | nd | nd | nd | 0,332 | nd | 0,13 | nd | nd | nd | nd |
| Εννεανάλη | 22,105 | 57 41 56 | 0,14 | 0,41 | 0,46 | 0,42 | 0,14 | 0,10 | 0,12 | 0,12 | nd | 1,92 |
| Διμεθυλοαμινοεξάνιο | 24,123 | 58 45 42 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 1,03 | nd | nd | nd |
| 2,6,6-Τριμεθυλο-2-κυκλοοξενυλο-1,4-διόνη | 24,568 | 68 96 152 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 0,20 |
| cis,trans-2,6-Εννεαδιενάλη | 25,324 | 41 70 69 | 0,05 | 0,06 | 0,04 | 0,22 | 0,04 | 0,05 | 0,06 | nd | nd | 0,04 |
| 2- Φαινυλοπροπενάλη | 25,360 | 103 104 132 | 0,36 | 0,06 | 0,02 | 0,34 | 0,02 | 0,55 | 0,12 | 0,22 | nd | nd |
| 4-Αιθυλοβενζαλδεΰδη | 25,702 | 104 133 105 | 0,07 | 0,07 | 0,03 | 0,24 | 0,06 | 0,07 | 0,07 | nd | nd | nd |
| N,N-Διμεθυλο-1-βουταναμίνη | 25,797 | 58 45 42 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 2,71 | nd |
| 5,6-Δωδρο-5-μεθυλο-4H-1,3,5-διθειαζίνη | 27,744 | 135 44 57 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 0,49 | nd |
| Δεκαεπτάνιο | 28,902 | 57 43 41 | 0,03 | 0,04 | 0,04 | 0,04 | 0,03 | nd | 0,03 | nd | nd | 0,11 |

Παράρτημα 1.1 (Συνέχεια)

| Χημική ένωση | Rt (min) | Χαρακτηριστικά ίοντα (m/z) | Αθερίνα | Μαρίδα | Μπακαλιάρος | Σαρδέλλα | Γόπα | Γαύρος | Κουτσομούρα | Καλαμάρι | Γαρίδα | Μύδι |
|--|----------|-------------------------------|---------|--------|-------------|----------|------|--------|-------------|----------|--------|------|
| Άγνωστη αμίνη | 29,726 | 58 42 44 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 0,22 | nd |
| Άγνωστος Η/С | 37,834 | 57 42 177 | 1,39 | 0,31 | 0,34 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd |
| Δεκαπεντάνιο | 38,260 | 57 43 71 | nd | nd | nd | 0,43 | 022 | nd | nd | nd | nd | nd |
| Άγνωστη | 39,160 | 112 57 42 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 0,14 | nd |
| Άγνωστη θειόλη | 39,636 | 42 162 120 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 5,09 | nd |
| Δεκαεπτάνιο | 41,498 | 57 71 43 | nd | 0,04 | nd | 1,68 | nd | 0,15 | nd | 0,03 | 0,02 | 0,09 |
| Πριστάνιο | 41,598 | 57 71 43 | 0,06 | 0,04 | nd | 0,03 | 1,19 | nd | 0,15 | 0,03 | nd | 0,02 |
| 2-Δεκαπεντανόνη | 41,857 | 58 43 71 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 0,10 | nd | nd | nd |
| cis-1-Δεκαοκτένιο | 42,800 | 83 97 55 | 0,05 | nd | 0,08 | 0,10 | 0,05 | 0,07 | 0,10 | 0,03 | 0,02 | 0,11 |
| Δεκαοκτάνιο | 43,070 | 57 71 43 | 0,26 | 0,71 | nd | 0,94 | 1,22 | 0,34 | nd | 0,07 | 0,20 | nd |
| 1- Δεκαεννένιο | 45,049 | 55 83 97 | nd | nd | 0,07 | nd | nd | 0,06 | 0,09 | 0,07 | nd | 0,14 |
| Δεκαοκτανάλη | 45,409 | 57 43 82 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 0,96 |
| Αιθυλεστέρας του δεκαοκτανοϊκού οξέος | 46,872 | 88 101 43 | 0,02 | 0,02 | 0,01 | 0,10 | 0,11 | 0,01 | nd | 0,01 | 0,01 | 0,02 |

Παράρτημα 1.2: Πτητικές ενώσεις και κατηγορίες πτητικών ενώσεων (μg/kg νωπού βάρους και % συνόλου πτητικών) που προσδιορίστηκαν με GC-MS στις τρεις ομάδες κρανιού (A1,A2,A3) και στον αρχικό πληθυσμό (0). Δίνονται επί πλέον τα χαρακτηριστικά ιόντα για κάθε πτητική ένωση. Αποτελέσματα από αναλύσεις εις τριπλούν.

| Χημική ένωση | Χαρακτ. ιόντα (m/z) | Αρχικός πληθυσμός (0) | | A1 | | A2 | | A3 | |
|---------------------------------|---------------------|----------------------------|-------|-----------------------------|-------|-----------------------------|-------|-----------------------------|-------|
| | | μg/kg | % | μg/kg | % | μg/kg | % | μg/kg | % |
| 2,3-Βουτανοδιόνη | 43 86 | 1,439 ± 1,122 | 12,29 | 1,698 ± 0,256 | 23,29 | 1,748 ± 0,005 | 19,67 | 1,888 ± 0,136 | 18,87 |
| Τριμεθυλο οξιράνιο | 43 41 58 | 0,123 ± 0,031 | 1,05 | 0,070 ± 0,025 | 0,96 | 0,082 ± 0,046 | 0,92 | 0,094 ± 0,090 | 0,94 |
| Τετραΐδρο φουράνιο | 42 72 71 | 0,029 ± 0,041 | 0,25 | 0,000 ± 0,000 | 0,00 | 0,004 ± 0,006 | 0,04 | 0,000 ± 0,000 | 0,00 |
| <i>Trans</i> -2-βουτενάλη | 70 39 69 | 0,077 ± 0,109 | 0,66 | 0,075 ± 0,077 | 1,03 | 0,077 ± 0,075 | 0,87 | 0,114 ± 0,052 | 1,14 |
| 3-Μεθυλο βουτανάλη | 44 41 43 | 0,347 ± 0,036 | 2,96 | 0,208 ± 0,100 | 2,86 | 0,284 ± 0,051 | 3,20 | 0,316 ± 0,109 | 3,16 |
| 1-Πεντεν-3-όλη | 57 41 39 | 2,153 ± 0,808 | 18,38 | 0,901 ± 0,165 | 12,35 | 1,502 ± 0,436 | 16,90 | 1,178 ± 0,733 | 11,77 |
| 1-Μεθόξυ-2-προπανόλη | 45 47 43 | 0,000 ± 0,000 | 0,00 | 0,000 ± 0,000 | 0,00 | 0,000 ± 0,000 | 0,00 | 0,285 ± 0,404 | 2,85 |
| 3- Πεντεν-2-όλη | 71 43 41 | 0,067 ± 0,016 | 0,57 | 0,045 ± 0,001 | 0,62 | 0,041 ± 0,007 | 0,46 | 0,056 ± 0,017 | 0,56 |
| 2-Χλωρο-3-μεθυλ-1-βουτένιο | 69 67 104 | 0,068 ± 0,032 | 0,58 | 0,063 ± 0,029 | 0,86 | 0,058 ± 0,025 | 0,65 | 0,072 ± 0,028 | 0,72 |
| 2,3-Πεντανοδιόνη | 43 57 100 | 0,210 ± 0,005 ^a | 1,79 | 0,146 ± 0,023 ^a | 2,00 | 0,208 ± 0,010 ^a | 2,35 | 0,448 ± 0,092 ^b | 4,47 |
| Πεντανάλη | 44 58 45 | 0,255 ± 0,042 | 2,17 | 0,172 ± 0,039 | 2,36 | 0,219 ± 0,032 | 2,46 | 0,198 ± 0,060 | 1,98 |
| 2-Αιθυλο-φουράνιο | 81 96 53 | 0,194 ± 0,047 | 1,66 | 0,125 ± 0,029 | 1,72 | 0,167 ± 0,061 | 1,88 | 0,126 ± 0,061 | 1,26 |
| 1,4-Κυκλοεξαδιένιο | 79 80 77 | 0,001 ± 0,001 | 0,01 | 0,000 ± 0,000 | 0,00 | 0,000 ± 0,000 | 0,00 | 0,000 ± 0,000 | 0,00 |
| 3-Υδροξυ-2-βουτανόνη (ακετοΐνη) | 45 43 88 | 3,957 ± 0,211 ^b | 33,79 | 1,710 ± 0,246 ^a | 23,45 | 1,565 ± 0,080 ^a | 17,61 | 1,964 ± 0,325 ^a | 19,63 |
| Χλωροϊωδομεθάνιο | 176 127 178 | 0,013 ± 0,018 | 0,11 | 0,000 ± 0,000 | 0,00 | 0,000 ± 0,000 | 0,00 | 0,000 ± 0,000 | 0,00 |
| Πυραζίνη | 80 69 53 | 0,006 ± 0,001 | 0,05 | 0,006 ± 0,004 | 0,09 | 0,004 ± 0,002 | 0,04 | 0,009 ± 0,006 | 0,09 |
| Διμεθυλο – δισουλφίδιο | 94 79 45 | 0,010 ± 0,009 | 0,09 | 0,008 ± 0,001 | 0,10 | 0,011 ± 0,010 | 0,12 | 0,006 ± 0,006 | 0,06 |
| <i>Trans</i> -2-πεντενάλη | 55 83 84 | 0,195 ± 0,026 ^b | 1,67 | 0,104 ± 0,003 ^a | 1,43 | 0,173 ± 0,025 ^{ab} | 1,95 | 0,124 ± 0,003 ^{ab} | 1,24 |
| 1-Μεθυλο θειο - προπάνιο | 61 90 45 | 0,003 ± 0,004 | 0,02 | 0,002 ± 0,003 | 0,03 | 0,007 ± 0,000 | 0,07 | 0,004 ± 0,001 | 0,04 |
| Τολουόλιο | 91 92 65 | 0,039 ± 0,004 ^a | 0,33 | 0,049 ± 0,000 ^{ab} | 0,67 | 0,058 ± 0,003 ^b | 0,66 | 0,042 ± 0,001 ^a | 0,42 |
| 3-Μεθυλο θειοφαίνιο | 97 98 96 | 0,008 ± 0,002 | 0,07 | 0,002 ± 0,000 | 0,03 | 0,004 ± 0,003 | 0,05 | 0,005 ± 0,003 | 0,05 |
| <i>Cis</i> -2-πεντεν-1-όλη | 57 41 44 | 0,378 ± 0,535 | 3,23 | 0,096 ± 0,136 | 1,32 | 0,003 ± 0,004 | 0,03 | 0,175 ± 0,248 | 1,75 |
| 2-Προπυλο φουράνιο | 81 53 110 | 0,001 ± 0,002 | 0,01 | 0,001 ± 0,001 | 0,01 | 0,001 ± 0,001 | 0,01 | 0,002 ± 0,000 | 0,02 |
| Οκτάνιο | 43 85 57 | 0,022 ± 0,031 | 0,19 | 0,031 ± 0,010 | 0,42 | 0,012 ± 0,018 | 0,14 | 0,046 ± 0,010 | 0,46 |

Παράρτημα 1.2 (Συνέχεια)

| Χημική ένωση | Χαρακτ. ίοντα (m/z) | Αρχικός πληθυσμός (0) | | A1 | | A2 | | A3 | |
|--|------------------------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|----------------------------|------|-----------------------------|------|
| | | μg/kg | % | μg/kg | % | μg/kg | % | μg/kg | % |
| Εξανάλη | 44 56 41 | 0,356 ± 0,210 ^b | 3,04 | 0,162 ± 0,009 ^a | 2,22 | 0,227 ± 0,069 ^b | 2,55 | 0,161 ± 0,013 ^{ab} | 1,61 |
| 3-Πεντανόλη | 59 107 45 | 0,040 ± 0,010 | 0,34 | 0,027 ± 0,004 | 0,38 | 0,041 ± 0,028 | 0,47 | 0,053 ± 0,027 | 0,53 |
| Άγνωστη αλκοόλη | 45 43 41 | 0,172 ± 0,166 | 1,46 | 0,133 ± 0,099 | 1,82 | 0,126 ± 0,142 | 1,42 | 0,200 ± 0,087 | 2,00 |
| <i>Trans,trans</i> -3,5-Οκταδιένιο | 81 67 68 | 0,013 ± 0,016 | 0,11 | 0,011 ± 0,003 | 0,15 | 0,013 ± 0,001 | 0,14 | 0,013 ± 0,000 | 0,13 |
| 2,4-Διμεθυλο-επτάνιο | 43 85 57 | 0,112 ± 0,105 | 0,95 | 0,092 ± 0,087 | 1,26 | 0,089 ± 0,093 | 1,01 | 0,108 ± 0,085 | 1,08 |
| Φουρφουράλη | 96 95 39 | 0,010 ± 0,001 ^{ab} | 0,08 | 0,013 ± 0,002 ^{bc} | 0,18 | 0,015 ± 0,000 ^c | 0,17 | 0,005 ± 0,001 ^a | 0,05 |
| 2-Εξανάλη | 41 69 55 | 0,075 ± 0,003 | 0,64 | 0,037 ± 0,009 | 0,51 | 0,076 ± 0,014 | 0,86 | 0,048 ± 0,007 | 0,48 |
| Αιθυλοβενζόλιο | 91 106 77 | 0,011 ± 0,008 | 0,09 | 0,009 ± 0,005 | 0,13 | 0,007 ± 0,003 | 0,07 | 0,009 ± 0,008 | 0,09 |
| <i>p</i> -Ευλόλιο | 91 106 105 | 0,073 ± 0,000 ^b | 0,62 | 0,031 ± 0,001 ^a | 0,42 | 0,088 ± 0,006 ^c | 0,99 | 0,037 ± 0,003 ^a | 0,37 |
| <i>o</i> - Ευλόλιο | 91 106 105 | 0,003 ± 0,004 | 0,02 | 0,008 ± 0,003 | 0,10 | 0,005 ± 0,003 | 0,05 | 0,008 ± 0,005 | 0,08 |
| 2-Επτανόνη | 43 58 71 | 0,058 ± 0,011 | 0,49 | 0,027 ± 0,002 | 0,37 | 0,042 ± 0,010 | 0,47 | 0,025 ± 0,007 | 0,25 |
| <i>Cis</i> -4-επτενάλη | 41 55 68 | 0,034 ± 0,007 | 0,29 | 0,018 ± 0,025 | 0,24 | 0,026 ± 0,000 | 0,30 | 0,020 ± 0,013 | 0,20 |
| Επτανάλη | 70 44 43 | 0,030 ± 0,040 | 0,25 | 0,018 ± 0,012 | 0,24 | 0,021 ± 0,004 | 0,24 | 0,011 ± 0,012 | 0,11 |
| 1R-a-Πινένιο | 93 91 92 | 0,033 ± 0,001 ^b | 0,29 | 0,001 ± 0,001 ^a | 0,01 | 0,001 ± 0,001 ^a | 0,01 | 0,001 ± 0,002 ^a | 0,01 |
| Βενζαλδεΐδη | 106 105 77 | 0,114 ± 0,015 | 0,97 | 0,183 ± 0,014 | 2,51 | 0,151 ± 0,010 | 1,70 | 0,122 ± 0,048 | 1,22 |
| 1,3,5-Τριμεθυλο βενζόλιο | 105 120 119 | 0,015 ± 0,002 ^b | 0,13 | 0,004 ± 0,005 ^{ab} | 0,05 | 0,001 ± 0,001 ^a | 0,01 | 0,006 ± 0,001 ^{ab} | 0,06 |
| 2-Πεντύλο – φουράνιο | 81 82 138 | 0,018 ± 0,002 | 0,15 | 0,015 ± 0,007 | 0,20 | 0,015 ± 0,000 | 0,17 | 0,008 ± 0,001 | 0,08 |
| <i>Trans</i> -2-(2-πεντενύλο) φουράνιο | 107 136 68 | 0,004 ± 0,001 | 0,03 | 0,001 ± 0,000 | 0,01 | 0,005 ± 0,002 | 0,06 | 0,004 ± 0,003 | 0,04 |
| Οκτανάλη | 43 41 57 | 0,029 ± 0,007 | 0,24 | 0,020 ± 0,015 | 0,28 | 0,027 ± 0,002 | 0,30 | 0,022 ± 0,008 | 0,22 |
| <i>Cis,cis</i> -2,4-επταδιενάλη | 81 110 53 | 0,038 ± 0,013 | 0,32 | 0,003 ± 0,004 | 0,04 | 0,016 ± 0,023 | 0,18 | 0,013 ± 0,007 | 0,13 |
| 2 Ακετυλο θειαζόλιο | 43 127 99 | 0,015 ± 0,016 | 0,13 | 0,004 ± 0,002 | 0,06 | 0,005 ± 0,002 | 0,06 | 0,020 ± 0,009 | 0,20 |
| Βενζόλιο ακεταλδεΐδη | 91 92 120 | 0,088 ± 0,055 | 0,75 | 0,034 ± 0,001 | 0,47 | 0,120 ± 0,054 | 1,35 | 0,181 ± 0,012 | 1,81 |
| Άγνωστη | 88 129 100 | 0,005 ± 0,001 | 0,04 | 0,005 ± 0,003 | 0,07 | 0,007 ± 0,007 | 0,07 | 0,006 ± 0,008 | 0,06 |
| Εννεανάλη | 57 41 56 | 0,151 ± 0,003 ^b | 1,29 | 0,110 ± 0,003 ^a | 1,50 | 0,156 ± 0,003 ^b | 1,75 | 0,187 ± 0,006 ^c | 1,87 |
| 1-Διμεθυλάμινο-εξάνιο | 58 45 42 | 0,094 ± 0,065 | 0,81 | 0,466 ± 0,046 | 6,39 | 0,428 ± 0,216 | 4,81 | 0,334 ± 0,068 | 3,34 |
| Δεκανάλη | 57 43 41 | 0,009 ± 0,001 | 0,07 | 0,015 ± 0,017 | 0,21 | 0,008 ± 0,001 | 0,09 | 0,016 ± 0,005 | 0,16 |
| Διαιθυλ άμινο-μεθανοδιθειοϊκό οξύ | 163 88 116 | 0,041 ± 0,007 ^a | 0,35 | 0,076 ± 0,004 ^{ab} | 1,05 | 0,102 ± 0,021 ^b | 1,15 | 0,045 ± 0,019 ^{ab} | 0,45 |

Παράρτημα 1.2 (Συνέχεια)

| Χημική ένωση | Χαρακτ. ίοντα (m/z) | Αρχικός πληθυσμός (0) | | A1 | | A2 | | A3 | |
|--|------------------------|-----------------------|------|---------------|------|---------------|------|---------------|------|
| | | μg/kg | % | μg/kg | % | μg/kg | % | μg/kg | % |
| 2,6-δισ (1,1-διμεθυλαιθυλο) 2,5 Κυκλοεξαδιενο-1,4-διόνη | 177 220 207 | 0,019 ± 0,004 | 0,16 | 0,008 ± 0,000 | 0,10 | 0,009 ± 0,007 | 0,10 | 0,010 ± 0,003 | 0,10 |
| 1,2,3,5,7,8,8a-οκταϋδρο-1,8a διμεθυλ-7 (1-μεθυλαιθενυλο) - (1R (1α, 7β, 8AA)) ναφθαλίνιο | 161 107 93 | 0,157 ± 0,118 | 1,34 | 0,042 ± 0,008 | 0,58 | 0,300 ± 0,417 | 3,38 | 0,082 ± 0,098 | 0,82 |
| 1-(2,4,6-τριϋδροξυφαινύλιο) βουταν- 1-όνη (Phlorogobutyrophenone) | 153 196 181 | 0,044 ± 0,013 | 0,37 | 0,031 ± 0,008 | 0,43 | 0,062 ± 0,064 | 0,70 | 0,047 ± 0,036 | 0,47 |
| Δεκαεξάνιο | 57 43 71 | 0,074 ± 0,104 | 0,63 | 0,024 ± 0,014 | 0,32 | 0,152 ± 0,196 | 1,71 | 0,066 ± 0,020 | 0,66 |
| 1,2,3,5,6-Πενταθειο-κυκλοεπτάνιο (Lenthionine) | 142 78 124 | 0,000 ± 0,000 | 0,00 | 0,000 ± 0,000 | 0,00 | 0,004 ± 0,005 | 0,04 | 0,000 ± 0,000 | 0,00 |
| Δις (μεθυλοπροπυλο) εστέρας του δεκαεξανοϊκού οξέος | 129 57 185 | 0,001 ± 0,000 | 0,01 | 0,001 ± 0,000 | 0,01 | 0,000 ± 0,000 | 0,00 | 0,002 ± 0,002 | 0,02 |
| Δεκαεπτάνιο | 57 71 43 | 0,030 ± 0,011 | 0,25 | 0,019 ± 0,008 | 0,26 | 0,035 ± 0,026 | 0,40 | 0,062 ± 0,002 | 0,62 |
| Πριστάνιο (2,6,10,14- τετραμεθυλοδεκαπεντάνιο) | 57 71 43 | 0,103 ± 0,062 | 0,88 | 0,100 ± 0,006 | 1,37 | 0,243 ± 0,177 | 2,73 | 0,519 ± 0,316 | 5,19 |
| Δεκαοκτάνιο | 57 71 43 | 0,028 ± 0,004 | 0,24 | 0,015 ± 0,009 | 0,20 | 0,020 ± 0,014 | 0,22 | 0,092 ± 0,039 | 0,92 |
| 6,10,14-Τριμεθυλο 2-δεκαπεντανόνη | 58 43 71 | 0,001 ± 0,002 | 0,01 | 0,000 ± 0,000 | 0,00 | 0,002 ± 0,002 | 0,02 | 0,001 ± 0,001 | 0,01 |
| Μεθυλεστέρας του δεκαεξανοϊκού οξέος | 74 87 | 0,003 ± 0,001 | 0,03 | 0,002 ± 0,000 | 0,03 | 0,003 ± 0,001 | 0,04 | 0,007 ± 0,004 | 0,07 |
| Δεκαεξανοϊκό οξύ | 43 73 60 | 0,002 ± 0,003 | 0,02 | 0,002 ± 0,003 | 0,03 | 0,005 ± 0,002 | 0,05 | 0,018 ± 0,016 | 0,18 |
| Αιθυλεστέρας του δεκαεξανοϊκού οξέος | 88 101 43 | 0,001 ± 0,001 | 0,01 | 0,000 ± 0,000 | 0,00 | 0,000 ± 0,000 | 0,00 | 0,000 ± 0,001 | 0,00 |
| Εικοσάνιο | 57 71 85 | 0,007 ± 0,011 | 0,06 | 0,009 ± 0,013 | 0,12 | 0,003 ± 0,005 | 0,04 | 0,217 ± 0,307 | 2,17 |
| Άγνωστος εστέρας | 55 83 57 | 0,004 ± 0,006 | 0,03 | 0,004 ± 0,004 | 0,06 | 0,001 ± 0,002 | 0,01 | 0,034 ± 0,038 | 0,34 |
| Αιθυλεστέρας του δεκαοκτανοϊκού οξέος | 88 101 43 | 0,000 ± 0,001 | 0,00 | 0,000 ± 0,000 | 0,00 | 0,000 ± 0,000 | 0,00 | 0,000 ± 0,000 | 0,00 |
| Άγνωστος εστέρας | 55 83 57 | 0,004 ± 0,005 | 0,03 | 0,004 ± 0,002 | 0,05 | 0,001 ± 0,001 | 0,01 | 0,032 ± 0,023 | 0,32 |

Παράρτημα 1.2 (Συνέχεια)

| Χημική ένωση | Χαρακτ. ιόντα (m/z) | Αρχικός πληθυσμός (0) | | A1 | | A2 | | A3 | |
|-----------------|------------------------|-----------------------|---------------|----------------------|---------------|----------------------|---------------|-----------------------|---------------|
| | | μg/kg | % | μg/kg | % | μg/kg | % | μg/kg | % |
| Αλκοόλες | | 2,810 ± 1,151 | 23,99 | 1,204 ± 0,197 | 16,48 | 1,714 ± 0,269 | 19,28 | 1,947 ± 1,288 | 19,46 |
| Κετόνες | | 5,728 ± 0,909 | 48,91 | 3,620 ± 0,519 | 49,64 | 3,636 ± 0,128 | 40,91 | 4,383 ± 0,248 | 43,80 |
| Αλδεΐδες | | 1,795 ± 0,327 | 15,33 | 1,159 ± 0,026 | 15,89 | 1,582 ± 0,263 | 17,80 | 1,534 ± 0,031 | 15,33 |
| Φουράνια | | 0,255 ± 0,086 | 2,18 | 0,154 ± 0,037 | 2,12 | 0,207 ± 0,057 | 2,33 | 0,144 ± 0,064 | 1,44 |
| Υδρογονάνθρακες | | 0,644 ± 0,086 | 5,50 | 0,463 ± 0,098 | 6,35 | 0,786 ± 0,517 | 8,84 | 1,298 ± 0,106 | 12,97 |
| Ενώσεις θείου | | 0,037 ± 0,005 | 0,31 | 0,016 ± 0,003 | 0,21 | 0,031 ± 0,019 | 0,35 | 0,035 ± 0,001 | 0,35 |
| Άλλες ενώσεις | | 0,297 ± 0,061 | 2,54 | 0,590 ± 0,030 | 8,08 | 0,837 ± 0,229 | 9,41 | 0,467 ± 0,057 | 4,66 |
| Αιθέρες | | 0,123 ± 0,031 | 1,05 | 0,070 ± 0,025 | 0,96 | 0,082 ± 0,046 | 0,92 | 0,094 ± 0,090 | 0,94 |
| Εστέρες | | 0,013 ± 0,012 | 0,11 | 0,011 ± 0,006 | 0,15 | 0,006 ± 0,002 | 0,06 | 0,075 ± 0,067 | 0,75 |
| Οξέα | | 0,002 ± 0,003 | 0,02 | 0,002 ± 0,003 | 0,03 | 0,005 ± 0,002 | 0,05 | 0,018 ± 0,016 | 0,18 |
| Πυραζίνες | | 0,006 ± 0,001 | 0,05 | 0,006 ± 0,004 | 0,09 | 0,004 ± 0,002 | 0,04 | 0,009 ± 0,006 | 0,09 |
| Σύνολο | | 11,710 ± 1,635 | 100,00 | 7,294 ± 0,691 | 100,00 | 8,889 ± 0,879 | 100,00 | 10,005 ± 1,373 | 100,00 |

nd: δεν ανιχνεύτηκε; tr: ίχνη (< 0.01 μg/kg νωπού βάρους). Στην ίδια γραμμή, οι τιμές με το ίδιο γράμμα δεν έχουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους (p<0.05)

Παράρτημα 1.3: Κύριες πτητικές ενώσεις και κατηγορίες πτητικών ενώσεων (μg/kg νωπού βάρους και %) που χαρακτηρίζουν τους διαφορετικού μεγέθους κρανιούς. Δίνονται επίσης αναφέρεται οι χρόνοι κατακράτησης (Rt) και τα χαρακτηριστικά ιόντα (m/z) για κάθε πτητική ένωση. Μέσες τιμές ± τυπική απόκλιση (n=3); nd: δεν ανιχνεύτηκε; tr: ίχνη (< 0,01 μg/kg νωπού βάρους); Sig: σημαντικότητα διαφορών †:p<0,1; *: p<0,05; p<0,01).

| Χημική ένωση | Rt (min) | Χαρακτ. ιόν (m/z) | Μικρός | | Μεγάλος | | Sig |
|------------------------------------|----------|-------------------|-------------|-------|-------------|-------|-----|
| | | | μg/kg | % | μg/kg | % | |
| 2,3-Βουτανοδιόνη | 3,064 | 43 86 | 2,54 ± 0,06 | 21,76 | 2,29 ± 0,07 | 28,44 | |
| Τετραϋδροφουράνιο | 3,084 | 42 72 71 | 0,03 ± 0,03 | 0,25 | 0,01 ± 0,01 | 0,10 | |
| <i>Trans</i> -2-βουτενάλη | 3,279 | 70 39 69 | 0,20 ± 0,02 | 1,72 | 0,17 ± 0,01 | 2,08 | † |
| 3-Μεθυλο βουτανάλη | 3,298 | 44 41 43 | 0,89 ± 0,21 | 7,6 | 0,27 ± 0,02 | 3,33 | ** |
| 1-Πεντεν-3-όλη | 3,590 | 57 41 39 | 0,56 ± 0,26 | 4,83 | 0,82 ± 0,44 | 10,14 | |
| 1-Μεθόξυ-2-προπανόλη | 3,612 | 45 47 43 | 1,99 ± 0,74 | 17,05 | 0,84 ± 0,35 | 10,48 | † |
| 2-Χλωρο-3-μεθυλ-1-βουτένιο | 3,724 | 69 67 104 | 0,09 ± 0,02 | 0,79 | 0,08 ± 0,01 | 1,04 | |
| 2,3-Πεντανοδιόνη | 3,767 | 43 57 100 | 0,36 ± 0,08 | 3,08 | 0,15 ± 0,04 | 1,96 | * |
| Πεντανάλη | 3,785 | 44 58 45 | 0,21 ± 0,01 | 1,76 | 0,19 ± 0,00 | 2,42 | |
| 2-Αιθυλο-φουράνιο | 3,822 | 81 96 53 | 0,24 ± 0,05 | 2,02 | 0,17 ± 0,02 | 2,15 | † |
| 3-Υδροξυ-2-βουτανόνη | 3,987 | 45 43 88 | 0,89 ± 0,38 | 7,63 | 0,98 ± 0,44 | 12,13 | |
| Χλωροϊσοδομεθάνιο | 4,163 | 176 127 178 | 0,02 ± 0,01 | 0,14 | 0,01 ± 0,00 | 0,31 | |
| Πυραζίνη | 4,395 | 80 69 53 | 0,02 ± 0,00 | 0,14 | 0,01 ± 0,00 | 0,17 | |
| Διμεθυλο – δισουλφίδιο | 4,572 | 94 79 45 | 0,01 ± 0,00 | 0,06 | tr. | 0,04 | |
| <i>Trans</i> -2-πεντενάλη | 4,846 | 55 83 84 | 0,16 ± 0,04 | 1,40 | 0,11 ± 0,02 | 1,35 | |
| 1-Μεθυλοθειοπροπάνιο | 4,919 | 61 90 45 | tr. | 0,03 | 0,01 ± 0,00 | 0,08 | |
| 3-Μεθυλοθειοφαίνιο | 5,169 | 97 98 96 | tr. | 0,00 | tr. | 0,01 | |
| <i>Cis</i> -2-πεντεν-1-όλη | 5,188 | 57 41 44 | tr. | 0,00 | 0,05 ± 0,09 | 0,63 | |
| 2-Προπυλο φουράνιο | 5,687 | 81 53 110 | tr. | 0,03 | tr. | 0,02 | |
| Οκτάνιο | 5,901 | 43 85 57 | 0,05 ± 0,04 | 0,46 | tr. | 0,00 | |
| Εξανάλη | 5,962 | 44 56 41 | 0,15 ± 0,06 | 1,31 | 0,17 ± 0,08 | 2,16 | |
| 3-Πεντανόλη | 6,029 | 59 107 45 | 0,04 ± 0,01 | 0,36 | 0,03 ± 0,00 | 0,42 | |
| <i>Trans,trans</i> -3,5-οκταδιένιο | 6,352 | 81 67 68 | 0,03 ± 0,00 | 0,25 | 0,01 ± 0,01 | 0,16 | ** |
| 2,4-Διμεθυλο-επτάνιο | 6,596 | 43 85 57 | 0,02 ± 0,00 | 0,14 | 0,03 ± 0,02 | 0,34 | |
| Μεθυλοπυραζίνη | 6,691 | 94 67 93 | 0,03 ± 0,01 | 0,25 | 0,01 ± 0,01 | 0,10 | * |
| Φουρφουράλη | 7,059 | 96 95 39 | 0,03 ± 0,00 | 0,22 | 0,02 ± 0,00 | 0,24 | † |
| 2-Εξενάλη | 7,803 | 41 69 55 | 0,06 ± 0,03 | 0,49 | 0,03 ± 0,01 | 0,43 | |
| Αιθυλοβενζόλιο | 8,022 | 91 106 77 | 0,01 ± 0,01 | 0,09 | 0,01 ± 0,00 | 0,10 | |
| 4-Μεθυλοοκτάνιο | 8,163 | 43 85 71 | 0,04 ± 0,00 | 0,36 | 0,03 ± 0,02 | 0,38 | |
| ο- Ξυλόλιο | 9,345 | 91 106 105 | tr. | 0,04 | 0,01 ± 0,00 | 0,08 | |
| 2-Επτανόνη | 9,449 | 43 58 71 | 0,02 ± 0,01 | 0,20 | 0,02 ± 0,00 | 0,24 | |
| Εννεάνιο | 9,789 | 57 43 41 | 0,04 ± 0,01 | 0,32 | 0,03 ± 0,02 | 0,43 | |
| Επτανάλη | 9,894 | 70 44 43 | 0,02 ± 0,02 | 0,20 | 0,01 ± 0,03 | 0,18 | |
| Βενζαλδεϋδη | 12,790 | 106 105 77 | 0,20 ± 0,01 | 1,68 | 0,19 ± 0,02 | 2,34 | |
| 1,3,5-Τριμεθυλοβενζόλιο | 14,680 | 105 120 119 | 0,01 ± 0,00 | 0,06 | 0,01 ± 0,00 | 0,11 | |
| 2-Πεντυλο - φουράνιο | 14,771 | 81 82 138 | 0,02 ± 0,00 | 0,20 | 0,01 ± 0,00 | 0,18 | * |

Παράρτημα 1.3 (Συνέχεια)

| Χημική ένωση | Rt (min) | Χαρακτ. ιόν (m/z) | Μικρός | | Μεγάλος | | Sig |
|---|-------------|----------------------|-------------|-------------|-------------|------|-----|
| | | | µg/kg | % | µg/kg | % | |
| <i>Trans</i> -2-(2-πεντενυλο) φουράνιο | 15,368 | 107 136 68 | 0,01 ± 0,00 | 0,07 | tr. | 0,06 | * |
| Οκτανάλη | 15,521 | 43 41 57 | 0,03 ± 0,02 | 0,27 | 0,02 ± 0,00 | 0,27 | |
| <i>Cis, cis</i> -2,4-επταδιενάλη | 15,954 | 81 110 53 | 0,05 ± 0,03 | 0,49 | 0,03 ± 0,01 | 0,31 | † |
| 2 Ακετυλοθειαιζόλιο | 16,301 | 43 127 99 | tr. | 0,01 | tr. | 0,00 | |
| D-Λεμονένιο | 16,874 | 68 93 67 | 0,01 ± 0,00 | 0,07 | tr. | 0,04 | * |
| Φαινυλακεταλδεΐδη | 17,911 | 91 92 120 | 0,15 ± 0,16 | 1,32 | 0,26 ± 0,29 | 3,27 | |
| Άγνωστη | 18,362 | 58 42 72 | 0,01 ± 0,00 | 0,09 | 0,02 ± 0,01 | 0,24 | |
| Εννεανάλη | 22,105 | 57 41 56 | 0,10 ± 0,01 | 0,89 | 0,06 ± 0,03 | 0,70 | † |
| Άγνωστη αμίνη | 24,123 | 58 45 42 | 0,19 ± 0,08 | 1,66 | 0,17 ± 0,11 | 2,09 | |
| 4-Αιθυλοβενζαλδεΐδη | 25,702 | 104 133 105 | 0,01 ± 0,01 | 0,05 | nd. | 0,00 | |
| Δεκατριάνιο | 33,475 | 57 43 71 | 0,02 ± 0,02 | 0,16 | nd. | 0,00 | |
| 2-Βουτυλο-5(2-μεθυλπροπυλ) θειοφαίνιο | 39,205 | 153 196 181 | 0,07 ± 0,02 | 0,62 | 0,05 ± 0,01 | 0,63 | |
| Άγνωστος εστέρας | 39,559 | 115 171 57 | 0,01 ± 0,00 | 0,07 | 0,01 ± 0,00 | 0,13 | |
| Δεκαεξάνιο | 39,891 | 57 43 71 | 0,05 ± 0,04 | 0,44 | 0,02 ± 0,01 | 0,28 | |
| Βενζοφαινόνη | 40,084 | 57 43 82 | tr. | 0,01 | tr. | 0,03 | |
| Μεθυλεστέρας του δεκαεξανοϊκού οξέος | 41,318 | 129 57 185 | tr. | 0,02 | tr. | 0,04 | |
| Δεκαεπτάνιο | 41,498 | 57 71 43 | nd. | 0,00 | 0,03 ± 0,00 | 0,32 | ** |
| Πριστάνιο (2,6,10,14- τετραμεθυλ-δεκαπεντάνιο) | 41,598 | 57 71 43 | 1,68 ± 1,21 | 14,43 | 0,29 ± 0,15 | 3,55 | † |
| Άγνωστος εστέρας | 42,830 | 88 101 157 | tr. | 0,03 | tr. | 0,02 | |
| Δεκαοκτάνιο | 43,070 | 57 71 43 | 0,02 ± 0,00 | 0,19 | 0,02 ± 0,01 | 0,29 | |
| Δεκαεξανάλη | 43,135 | 57 43 82 | tr. | 0,02 | tr. | 0,00 | |
| 6,10,14-Τριμεθυλο 2- δεκαπεντανόνη | 43,489 | 58 43 71 | tr. | 0,01 | tr. | 0,04 | |
| Άγνωστη αλδεΐδη | 43,830 | 43 71 97 | 0,02 ± 0,01 | 0,13 | 0,01 ± 0,00 | 0,07 | |
| Δεκαεννέανιο | 44,019 | 57 71 43 | 0,01 ± 0,00 | 0,13 | 0,02 ± 0,00 | 0,30 | † |
| Μεθυλεστέρας του δεκαεξανοϊκού οξέος | 44,312 | 74 87 | tr. | 0,02 | tr. | 0,03 | |
| Δεκαεξανοϊκό οξύ Αιθυλεστέρας του δεκαεξανοϊκού οξέος | 44,781 | 43 73 60 | tr. | 0,04 | 0,01±0,00 | 0,16 | |
| 45,001 | 88 101 43 | 0,03 ± 0,03 | 0,27 | 0,02 ± 0,01 | 0,19 | | |
| Άγνωστη (eicosane) | 45,055 | 57 71 85 | nd. | 0,00 | 0,03 ± 0,01 | 0,32 | * |
| 9-Δεκαεννέανιο | 45,049 | 55 83 97 | nd. | 0,00 | 0,02 ± 0,02 | 0,22 | |
| Άγνωστη | 45,653 | 55 41 43 | 0,01 ± 0,01 | 0,07 | nd. | 0,00 | |
| Άγνωστη αλδεΐδη | 45,878 | 57 97 71 | tr. | 0,01 | 0,02 ± 0,01 | 0,29 | * |
| Άγνωστος εστέρας | 45,952 | 55 83 57 | 0,01 ± 0,00 | 0,06 | 0,01 ± 0,00 | 0,10 | |
| Ελαϊκό οξύ Αιθυλεστέρας του δεκαοκτανοϊκού οξέος | 46,598 | 55 69 73 | 0,04 ± 0,03 | 0,34 | 0,01 ± 0,01 | 0,17 | |
| 46,872 | 88 101 43 | tr. | 0,03 | 0,01 ± 0,00 | 0,06 | | |
| Άγνωστος εστέρας | 47,854 | 55 83 57 | tr. | 0,04 | tr. | 0,08 | |

Παράρτημα 1.3 (Συνέχεια)

| Χημική ένωση | Rt (min) | Χαρακτ. ιόν (m/z) | Μικρός | | Μεγάλος | | Sig |
|-----------------|-------------|----------------------|--------------------|-------|--------------------|-------|-----------|
| | | | μg/kg | % | μg/kg | % | |
| Αλκοόλες | | | 2,59 ± 0,99 | 22,24 | 1,74 ± 0,77 | 21,68 | |
| Αλδεΐδες | | | 2,27 ± 0,40 | 19,43 | 1,56 ± 0,27 | 19,36 | * |
| Κετόνες | | | 3,88 ± 1,07 | 33,31 | 3,50 ± 1,06 | 43,48 | |
| Φουράνια | | | 0,30 ± 0,05 | 2,58 | 0,20 ± 0,02 | 2,51 | * |
| Αμίνες | | | 0,19 ± 0,08 | 1,66 | 0,17 ± 0,11 | 2,09 | |
| Πυραζίνες | | | 0,05 ± 0,01 | 0,39 | 0,02 ± 0,01 | 0,28 | * |
| Εστέρες | | | 0,06 ± 0,05 | 0,54 | 0,05 ± 0,02 | 0,65 | |
| Υδρογονάνθρακες | | | 2,11 ± 1,24 | 18,07 | 0,67 ± 0,08 | 8,27 | † |
| Ενώσεις θείου | | | 0,01 ± 0,01 | 0,10 | 0,01 ± 0,00 | 0,13 | |
| Αιθέρες | | | 0,12 ± 0,06 | 1,03 | 0,07 ± 0,04 | 0,92 | |
| Οξέα | | | 0,04 ± 0,03 | 0,38 | 0,03 ± 0,01 | 0,33 | |
| Σύνολο | | | 11,7 ± 0,88 | | 8,05 ± 0,31 | | ** |

Παράρτημα 1.4: Κύριες πτητικές ενώσεις και κατηγορίες (ομόλογες σειρές) πτητικών ενώσεων (μg/kg νωπού βάρους) που χαρακτηρίζουν τις τρεις ομάδες των κρανίων. Δίνονται επίσης οι χρόνοι κατακράτησης (Rt) και τα χαρακτηριστικά ιόντα για κάθε πτητική ένωση. Μέσες τιμές ± τυπική απόκλιση (n=3). Διαφορετικά γράμματα στην ίδια γραμμή υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων (p < 0,05). nd: δεν ανιχνεύτηκε. tr: ίχνη (< 0,01 μg/kg νωπού βάρους).

| Χημική ένωση | Rt (min) | Χαρακτ. ιόντα (m/z) | Ομάδα Α | Ομάδα Β | Ομάδα Γ |
|------------------------------------|----------|---------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|
| Τριμεθυλο οξιράνιο | 3,048 | 43 41 58 | 0,09 ± 0,02 | 0,08 ± 0,00 | 0,11 ± 0,02 |
| 2,3-Βουτανοδιόνη | 3,064 | 43 86 | 1,31 ± 2,24 | 1,22 ± 2,07 | 0,41 ± 0,55 |
| Τετραϋδρο φουράνιο | 3,084 | 42 72 71 | 0,02 ± 0,02 | 0,02 ± 0,01 | 0,04 ± 0,01 |
| <i>Trans</i> -2-βουτενάλη | 3,279 | 70 39 69 | 0,05 ± 0,08 | 0,05 ± 0,08 | 0,00 ± 0,00 |
| 3-Μεθυλο βουτανάλη | 3,298 | 44 41 43 | 0,29 ± 0,09 | 0,27 ± 0,08 | 0,24 ± 0,00 |
| 1-Πεντεν-3-όλη | 3,590 | 57 41 39 | 0,28 ± 0,02 | 0,33 ± 0,10 | 0,27 ± 0,04 |
| 1- Πεντεν-3-όνη | 3,663 | 55 56 70 | 0,01 ± 0,01 | 0,00 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 |
| 2-Χλωρο-3-μεθυλ-1-βουτένιο | 3,724 | 69 67 104 | 0,03 ± 0,04 | 0,05 ± 0,02 | 0,03 ± 0,00 |
| 2,3-Πεντανοδιόνη | 3,767 | 43 57 100 | 0,18 ± 0,04 | 0,16 ± 0,04 | 0,14 ± 0,03 |
| Πεντανάλη | 3,785 | 44 58 45 | 0,24 ± 0,03 | 0,28 ± 0,07 | 0,21 ± 0,02 |
| 2-Αιθυλο-φουράνιο | 3,822 | 81 96 53 | 0,13 ± 0,01 | 0,15 ± 0,03 | 0,12 ± 0,00 |
| 3-Υδροξυ-2-βουτανόνη | 3,987 | 45 43 88 | 1,30 ± 0,01 ^b | 0,66 ± 0,25 ^a | 0,84 ± 0,14 ^a |
| Χλωροϊωδομεθάνιο | 4,163 | 176 127 178 | 0,01 ± 0,01 | 0,02 ± 0,00 | 0,02 ± 0,00 |
| Πυραζίνη | 4,395 | 80 69 53 | 0,01 ± 0,01 | 0,01 ± 0,00 | 0,02 ± 0,00 |
| Διμεθυλο – δισουλφίδιο | 4,572 | 94 79 45 | tr | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 |
| <i>trans</i> -2- Πεντενάλη | 4,846 | 55 83 84 | 0,07 ± 0,01 | 0,07 ± 0,02 | 0,07 ± 0,01 |
| 1-Μεθυλο θειο - προπάνιο | 4,919 | 61 90 45 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 |
| 3-Μεθυλο θειοφαίνιο | 5,169 | 97 98 96 | tr | nd | tr |
| 2-Προπυλο φουράνιο | 5,687 | 81 53 110 | tr | nd | nd |
| Οκτάνιο | 5,901 | 43 85 57 | 0,04 ± 0,01 | 0,03 ± 0,02 | 0,03 ± 0,01 |
| Εξανάλη | 5,962 | 44 56 41 | 0,30 ± 0,02 | 0,36 ± 0,11 | 0,30 ± 0,05 |
| 3-Πεντανόλη | 6,029 | 59 107 45 | 0,03 ± 0,01 | 0,04 ± 0,01 | 0,04 ± 0,01 |
| <i>trans,trans</i> -3,5-Οκταδιένιο | 6,352 | 81 67 68 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,02 ± 0,00 |
| 2,4-Διμεθυλο-επτάνιο | 6,596 | 43 85 57 | 0,07 ± 0,08 | 0,07 ± 0,07 | 0,05 ± 0,01 |
| Μεθυλο - πυραζίνη | 6,691 | 94 67 93 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 |
| Φουρφουράλη | 7,059 | 96 95 39 | 0,05 ± 0,00 ^b | 0,04 ± 0,00 ^{ab} | 0,03 ± 0,00 ^a |
| 2-Εξανάλη | 7,803 | 41 69 55 | 0,02 ± 0,01 | 0,02 ± 0,01 | 0,02 ± 0,00 |
| Αιθυλοβενζόλιο | 8,022 | 91 106 77 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 |
| 4-Μεθυλο - οκτάνιο | 8,163 | 43 85 71 | 0,04 ± 0,06 | 0,03 ± 0,02 | 0,07 ± 0,02 |

Παράρτημα 1.4 (Συνέχεια)

| Χημική ένωση | Rt (min) | Χαρακτ. ιόντα (m/z) | Ομάδα Α | Ομάδα Β | Ομάδα Γ |
|--|-----------------|----------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|
| ρ-Ξυλόλιο | 8,345 | 91 106 105 | tr | tr | tr |
| Στυρόλιο | 9,289 | 104 103 78 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 |
| ο- Ξυλόλιο | 9,345 | 91 106 105 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 |
| 2-Επτανόνη | 9,449 | 43 58 71 | 0,03 ± 0,00 | 0,03 ± 0,00 | 0,03 ± 0,00 |
| Εννεάνιο | 9,789 | 57 43 41 | 0,01 ± 0,02 | 0,01 ± 0,00 | nd, |
| Επτανάλη | 9,894 | 70 44 43 | 0,04 ± 0,00 | 0,05 ± 0,01 | 0,04 ± 0,00 |
| 3- Μεθυλο θειο - προπανάλη | 10,071 | 48 104 47 | tr | 0,01 ± 0,00 | 0,02 ± 0,00 |
| 4-Αιθυλο-φαινόλη | 10,772 | 107 122 77 | tr | tr | tr |
| 1R-α-Πινένιο | 11,314 | 93 91 92 | tr | tr | tr |
| Προπυλο βενζόλιο | 12,418 | 91 120 92 | tr | tr | nd |
| Βενζαλδεΐδη | 12,790 | 106 105 77 | 0,31 ± 0,06 | 0,26 ± 0,04 | 0,28 ± 0,02 |
| 1-Θειοφαινυλο-καρβοξαλδεΐδη | 14,564 | 111 112 83 | nd ^a | tr ^a | 0,02 ± 0,00 ^b |
| 1,3,5-Τριμεθυλο βενζόλιο | 14,680 | 105 120 119 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 |
| 2-Πεντυλο - φουράνιο | 14,771 | 81 82 138 | 0,01 ± 0,00 | 0,02 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 |
| <i>Trans</i> -2-(2-πεντενυλο) φουράνιο | 15,368 | 107 136 68 | tr | tr | tr |
| Οκτανάλη | 15,521 | 43 41 57 | 0,03 ± 0,00 | 0,04 ± 0,01 | 0,03 ± 0,00 |
| <i>cis,cis</i> -2,4-Επταδιενάλη | 15,954 | 81 110 53 | 0,03 ± 0,02 | 0,05 ± 0,01 | 0,05 ± 0,01 |
| 2-Ακετυλο θειαζόλιο | 16,301 | 43 127 99 | 0,02 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 |
| <i>D</i> -Λεμονένιο | 16,874 | 68 93 67 | tr | tr | tr |
| Βενζόλιο ακεταλδεΐδη | 17,911 | 91 92 120 | 0,08 ± 0,06 | 0,10 ± 0,05 | 0,11 ± 0,00 |
| Άγνωστος εστέρας | 18,362 | 88 129 100 | 0,03 ± 0,00 ^b | 0,01 ± 0,00 ^a | 0,02 ± 0,01 ^{ab} |
| Εννεανάλη | 22,105 | 57 41 56 | 0,07 ± 0,01 | 0,07 ± 0,06 | 0,08 ± 0,01 |
| 2-Φαινυλο-προπενάλη | 25,360 | 103 104 132 | 0,04 ± 0,04 | nd | 0,01 ± 0,02 |
| 4-Αιθυλο βενζαλδεΐδη | 25,702 | 104 133 105 | 0,02 ± 0,02 | 0,02 ± 0,02 | 0,01 ± 0,01 |
| Βενζο-θειαζόλιο | 29,921 | 135 108 29 | 0,05 ± 0,02 | 0,01 ± 0,01 | 0,06 ± 0,03 |
| Δεκατριάνιο | 33,475 | 57 43 71 | nd | nd | tr |
| 2,4-Δεκαδιενάλη | 33,962 | 81 41 67 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 |
| Διαιθυλο-αμινο-μεθανοδιθειοϊκό οξύ | 35,785 | 163 88 116 | 0,01 ± 0,00 ^a | 0,02 ± 0,00 ^{ab} | 0,02 ± 0,00 ^b |
| Δεκατετράνιο | 36,151 | 57 43 71 | tr | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 |
| 6,10-Διμεθυλο 5,9-εντεκαδιεν-2-όνη | 37,315 | 43 69 59 | tr | tr | tr |
| 2-Βουτυλο-5(2μεθυλοπρόπυλο)θειοφαίνιο | 39,205 | 153 196 181 | 0,02 ± 0,02 | 0,03 ± 0,02 | 0,02 ± 0,00 |
| Άγνωστος εστέρας | 39,559 | 115 171 57 | tr | tr | tr |

Παράρτημα 1.4 (Συνέχεια)

| Χημική ένωση | Rt (min) | Χαρακτ. ιόντα (m/z) | Ομάδα Α | Ομάδα Β | Ομάδα Γ |
|---|-----------------|----------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Δεκαεξάνιο | 39,891 | 57 43 71 | 0,03 ± 0,01 ^b | 0,04 ± 0,01 ^b | nd ^a |
| Δεκατετρανάλη | 40,184 | 57 43 82 | nd | tr | nd |
| Βενζοφαινόνη | 40,419 | 57 43 82 | nd | tr | nd |
| Δεκαεπτάνιο | 41,498 | 57 71 43 | 0,05 ± 0,01 ^a | 0,05 ± 0,00 ^a | 0,08 ± 0,00 ^b |
| Πριστάνιο | 41,598 | 57 71 43 | 0,31 ± 0,22 ^a | 0,35 ± 0,14 ^a | 1,00 ± 0,14 ^b |
| <i>Trans</i> -δεκαοκτένιο | 42,955 | 55 83 69 | nd | tr | nd |
| Δεκαοκτάνιο | 43,070 | 57 71 43 | 0,09 ± 0,03 | 0,12 ± 0,09 | 0,13 ± 0,06 |
| Δεκαεξανάλη | 43,135 | 57 43 82 | tr | tr | nd |
| Μυριστικός ισοπροπυλεστέρας (isopropyl myristate) | 43,190 | 43 41 55 | tr | tr | tr |
| Άγνωστη αλδεΐδη | 43,830 | 43 71 97 | 0,01 ± 0,00 | tr, | 0,02 ± 0,00 |
| Δεκαεννεάνιο | 44,019 | 57 71 43 | 0,02 ± 0,01 | 0,02 ± 0,01 | 0,02 ± 0,01 |
| Δεκαεξανικός μεθυλεστέρας | 44,312 | 74 87 | tr | tr | tr |
| Δεκαεξανοϊκό οξύ | 44,781 | 43 73 60 | nd | nd | 0,06 ± 0,11 |
| Δεκαεξανικός αιθυλεστέρας | 45,001 | 88 101 43 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 |
| Εικοσάνιο | 45,055 | 57 71 85 | 0,02 ± 0,01 | 0,02 ± 0,01 | 0,04 ± 0,03 |
| Άγνωστη αλδεΐδη | 45,878 | 57 97 71 | 0,01 ± 0,00 | tr, | 0,01 ± 0,00 |
| Προπενικός δεκαπεντυλεστέρας | 45,952 | 55 83 57 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,02 ± 0,01 |
| Ελαϊκός μεθυλεστέρας | 46,007 | 55 41 69 | tr | tr | nd |
| Ελαϊκό οξύ | 46,384 | 57 55 41 | tr | tr | nd |
| Λινελαϊκός αιθυλεστέρας | 46,543 | 67 81 95 | nd | nd | tr |
| Δεκαοκτανικός αιθυλεστέρας | 46,872 | 88 101 43 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 |
| Άγνωστος εστέρας | 47,854 | 55 83 57 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,02 ± 0,01 |

Παράρτημα 1.4 (Συνέχεια)

| Ομόλογες σειρές | | | |
|------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Αλκοόλες | 0,31± 0,01 | 0,37 ± 0,11 | 0,32 ± 0,06 |
| Αλδεΐδες | 1,71 ± 0,23 ^b | 1,74 ± 0,29 ^b | 1,61 ± 0,08 ^a |
| Κετόνες | 2,86 ± 2,17 ^b | 2,12 ± 1,79 ^b | 1,49 ± 0,58 ^a |
| Φουράνια | 0,16 ± 0,01 | 0,20 ± 0,05 | 0,18 ± 0,01 |
| Αμίνες | 0,03 ± 0,01 | 0,02 ± 0,01 | 0,02 ± 0,00 |
| Πυραζίνες | 0,03 ± 0,01 | 0,03 ± 0,01 | 0,03 ± 0,00 |
| Εστέρες | 0,05 ± 0,01 | 0,06 ± 0,03 | 0,06 ± 0,03 |
| Υδρογονάνθρακες | 0,76 ± 0,34 ^a | 0,88 ± 0,11 ^a | 1,56 ± 0,19 ^b |
| Θειούχες ενώσεις | 0,08 ± 0,02 ^b | 0,04 ± 0,01 ^a | 0,10 ± 0,03 ^b |
| Αιθέρες | 0,14 ± 0,05 | 0,15 ± 0,02 | 0,16 ± 0,03 |
| Οξέα | tr | 0,01 ± 0,01 | 0,08 ± 0,14 |
| Σύνολο | 6,20 ± 2,38 | 5,65 ± 2,34 | 5,69 ± 0,31 |

Παράρτημα 1.5: Πτητικά συστατικά και κατηγορίες πτητικών συστατικών (μg/kg νωπού βάρους) που χαρακτηρίζουν τις τέσσερις ομάδες εκτρεφόμενων φαγκριών. Μέσες τιμές ± τυπική απόκλιση (n=3 - Άνοιξη n=5). Αναφέρεται επίσης ο χρόνος έκλουσης (Rt) και τα χαρακτηριστικά ιόντα (m/z) για κάθε πτητική ένωση. Διαφορετικά γράμματα στην ίδια γραμμή υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τεσσάρων εποχών (p<0.05).

| Χημική ένωση | Rt (min) | Χαρακτ. ιόντα (m/z) | Χειμώνας | Άνοιξη | Καλοκαίρι | Φθινόπωρο |
|----------------------------|----------|---------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 2,3-Βουτανοδιόνη | 3,064 | 43 86 | 1,613 ± 0,393 | 2,573 ± 1,552 | 1,676 ± 0,520 | 1,966 ± 0,779 |
| Τριμεθυλο οξιράνιο | 3,048 | 43 41 58 | 0,035 ± 0,007 | 0,048 ± 0,014 | 0,052 ± 0,015 | 0,052 ± 0,016 |
| <i>Trans</i> -2-βουτενάλη | 3,279 | 70 39 69 | 0,093 ± 0,014 | 0,113 ± 0,034 | 0,096 ± 0,026 | 0,083 ± 0,007 |
| 3-Μεθυλο βουτανάλη | 3,298 | 44 41 43 | 0,931 ± 0,619 | 0,430 ± 0,330 | 0,709 ± 0,123 | 0,356 ± 0,154 |
| 1-Πεντεν-3-όλη | 3,590 | 57 41 39 | 0,259 ± 0,116 | 0,344 ± 0,041 | 0,347 ± 0,168 | 0,186 ± 0,075 |
| 1-Μεθοξυ-2-προπανόλη | 3,612 | 45 47 43 | 0,176 ± 0,089 | 0,325 ± 0,382 | 0,004 ± 0,000 | 0,021 ± 0,028 |
| 2-Χλωρο-3-μεθυλ-1-βουτένιο | 3,724 | 69 67 104 | 0,086 ± 0,006 | 0,063 ± 0,020 | 0,086 ± 0,008 | 0,085 ± 0,006 |
| 2,3-Πεντανοδιόνη | 3,767 | 43 57 100 | 0,177 ± 0,033 | 0,263 ± 0,106 | 0,101 ± 0,027 | 0,144 ± 0,040 |
| Πεντανάλη | 3,785 | 44 58 45 | 0,218 ± 0,041 | 0,204 ± 0,009 | 0,186 ± 0,037 | 0,194 ± 0,034 |
| 2-Αιθυλοφουράνιο | 3,822 | 8196 53 | 0,296 ± 0,069 | 0,302 ± 0,045 | 0,229 ± 0,045 | 0,327 ± 0,054 |
| 1,4-Κυκλοεξαδιένιο | 3,950 | 79 80 77 | 0,002 ± 0,000 ^a | 0,003 ± 0,000 ^{ab} | 0,003 ± 0,001 ^b | 0,003 ± 0,000 ^{ab} |
| 3-Υδροξυ-2-βουτανόνη | 3,987 | 45 43 88 | 1,536 ± 0,596 | 2,445 ± 1,247 | 1,805 ± 0,548 | 1,710 ± 0,488 |
| Χλωροϊωδομεθάνιο | 4,163 | 176 127 178 | 0,012 ± 0,005 ^b | 0,002 ± 0,005 ^a | 0,013 ± 0,002 ^b | 0,009 ± 0,001 ^{ab} |
| Πυραζίνη | 4,395 | 80 69 53 | 0,006 ± 0,006 | 0,003 ± 0,004 | 0,000 ± 0,000 | 0,004 ± 0,002 |
| Θειαζόλη | 4,424 | 85 58 57 | 0,008 ± 0,009 ^{ab} | 0,020 ± 0,005 ^b | 0,001 ± 0,000 ^a | 0,010 ± 0,002 ^{ab} |
| Διμεθυλο – δισουλφίδιο | 4,572 | 94 79 45 | 0,008 ± 0,003 | 0,013 ± 0,010 | 0,017 ± 0,015 | 0,008 ± 0,004 |
| Διμεθυλαμινο-ακετονιτρίλιο | 4,797 | 83 42 58 | 0,000 ± 0,000 ^a | 0,030 ± 0,007 ^b | 0,000 ± 0,000 ^a | 0,000 ± 0,000 ^a |
| <i>trans</i> -2-Πεντενάλη | 4,846 | 55 83 84 | 0,118 ± 0,032 | 0,141 ± 0,028 | 0,150 ± 0,081 | 0,143 ± 0,015 |
| Πυριδίνη | 4,624 | 79 52 51 | 0,044 ± 0,041 | 0,024 ± 0,019 | 0,000 ± 0,000 | 0,001 ± 0,000 |
| 1-Μεθυλο θειο - προπάνιο | 4,919 | 61 90 45 | 0,011 ± 0,007 ^a | 0,016 ± 0,004 ^{ab} | 0,024 ± 0,003 ^b | 0,012 ± 0,001 ^a |
| Τολουόλιο | 5,053 | 91 92 65 | 0,092 ± 0,019 | 0,024 ± 0,004 | 0,067 ± 0,011 | 0,062 ± 0,012 |
| 3-Μεθυλο θειοφαίνιο | 5,169 | 97 98 96 | 0,005 ± 0,002 ^c | 0,003 ± 0,003 ^a | 0,005 ± 0,002 ^{bc} | 0,003 ± 0,001 ^b |
| 2-Προπυλο φουράνιο | 5,687 | 81 53 110 | 0,005 ± 0,002 | 0,003 ± 0,001 | 0,003 ± 0,001 | 0,003 ± 0,001 |
| Οκτάνιο | 5,901 | 43 85 57 | 0,000 ± 0,000 | 0,021 ± 0,031 | 0,038 ± 0,066 | 0,000 ± 0,000 |
| Εξανάλη | 5,962 | 44 56 41 | 0,208 ± 0,104 | 0,242 ± 0,049 | 0,313 ± 0,046 | 0,227 ± 0,045 |
| 3-Πεντανόλη | 6,029 | 59 107 45 | 0,036 ± 0,014 | 0,038 ± 0,011 | 0,035 ± 0,005 | 0,024 ± 0,005 |

Παράρτημα 1.5 (Συνέχεια)

| Χημική ένωση | Rt (min) | Χαρακτ. ιόντα (m/z) | Χειμώνας | Άνοιξη | Καλοκαίρι | Φθινόπωρο |
|--|----------|---------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| <i>trans,trans</i> -3,5-Οκταδιένιο | 6,352 | 81 67 68 | 0,040 ± 0,019 | 0,025 ± 0,006 | 0,034 ± 0,019 | 0,024 ± 0,002 |
| <i>Cis,cis</i> -3,5- οκταδιένιο | 6,591 | 81 68 67 | 0,013 ± 0,005 | 0,009 ± 0,004 | 0,008 ± 0,008 | 0,009 ± 0,002 |
| 2,4-Διμεθυλο-επτάνιο | 6,596 | 43 85 57 | 0,027 ± 0,002 | 0,060 ± 0,049 | 0,025 ± 0,003 | 0,028 ± 0,001 |
| Μεθυλο-πυραζίνη | 6,691 | 94 67 93 | 0,012 ± 0,006 | 0,022 ± 0,025 | 0,000 ± 0,000 | 0,005 ± 0,003 |
| Φουρφουράλη | 7,059 | 96 95 39 | 0,018 ± 0,005 | 0,024 ± 0,025 | 0,012 ± 0,009 | 0,018 ± 0,007 |
| 2-Εξενάλη | 7,803 | 41 69 55 | 0,048 ± 0,011 | 0,054 ± 0,010 | 0,047 ± 0,017 | 0,046 ± 0,006 |
| Αιθυλοβενζόλιο | 8,022 | 91 106 77 | 0,014 ± 0,004 ^b | 0,004 ± 0,001 ^a | 0,005 ± 0,003 ^a | 0,014 ± 0,004 ^b |
| 4-Μεθυλ-οκτάνιο | 8,163 | 43 85 71 | 0,006 ± 0,004 | 0,004 ± 0,006 | 0,000 ± 0,000 | 0,009 ± 0,010 |
| <i>p</i> -Ξυλόλιο | 8,345 | 91 106 105 | 0,061 ± 0,023 | 0,040 ± 0,017 | 0,033 ± 0,009 | 0,049 ± 0,012 |
| 3-Μεθυλοπυριδίνη | 8,124 | 93 66 92 | 0,000 ± 0,000 | 0,006 ± 0,007 | 0,000 ± 0,000 | 0,000 ± 0,000 |
| Χλωρο-διαιθυλο-αμινομεθανικό οξύ | 8,699 | 72 107 42 | 0,010 ± 0,009 | 0,015 ± 0,004 | 0,015 ± 0,003 | 0,007 ± 0,001 |
| 2-Ακετυλο-5-μεθυλο φουράνιο | 9,370 | 109 124 110 | 0,009 ± 0,002 ^b | 0,007 ± 0,001 ^{ab} | 0,007 ± 0,001 ^{ab} | 0,006 ± 0,002 ^a |
| 2-Επτανόνη | 9,449 | 43 58 71 | 0,019 ± 0,003 | 0,020 ± 0,003 | 0,015 ± 0,001 | 0,017 ± 0,001 |
| Εννεάνιο | 9,789 | 57 43 41 | 0,044 ± 0,015 | 0,024 ± 0,006 | 0,028 ± 0,034 | 0,017 ± 0,016 |
| <i>cis</i> -4-Επτενάλη | 9,796 | 41 55 68 | 0,059 ± 0,019 ^{ab} | 0,102 ± 0,036 ^b | 0,058 ± 0,013 ^{ab} | 0,030 ± 0,008 ^a |
| Επτανάλη | 9,894 | 70 44 43 | 0,057 ± 0,012 | 0,053 ± 0,005 | 0,067 ± 0,015 | 0,059 ± 0,008 |
| 3-Μεθυλο-θειο-προπανάλη | 10,071 | 48 104 47 | 0,016 ± 0,006 | 0,022 ± 0,018 | 0,033 ± 0,003 | 0,026 ± 0,011 |
| <i>Cis</i> -2-επτενάλη | 12,771 | 41 83 55 | 0,004 ± 0,002 | 0,003 ± 0,002 | 0,005 ± 0,007 | 0,006 ± 0,001 |
| Βενζαλδεΰδη | 12,790 | 106 105 77 | 0,153 ± 0,035 | 0,144 ± 0,049 | 0,113 ± 0,009 | 0,115 ± 0,018 |
| 2,3-Οκτανοδιόνη | 14,503 | 43 99 71 | 0,009 ± 0,003 | 0,044 ± 0,022 | 0,012 ± 0,013 | 0,012 ± 0,007 |
| 2-Θειοφαινυλοκαρβοξαλδεΰδη | 14,564 | 111 112 83 | 0,000 ± 0,000 | 0,025 ± 0,017 | 0,000 ± 0,000 | 0,000 ± 0,000 |
| 2-πεντυλο - φουράνιο | 14,771 | 81 82 138 | 0,021 ± 0,012 | 0,018 ± 0,004 | 0,020 ± 0,013 | 0,031 ± 0,002 |
| <i>trans</i> -2-(2-Πεντενυλο) φουράνιο | 15,368 | 107 136 68 | 0,011 ± 0,004 ^{ab} | 0,010 ± 0,003 ^{ab} | 0,006 ± 0,003 ^a | 0,014 ± 0,001 ^b |
| Οκτανάλη | 15,521 | 43 41 57 | 0,017 ± 0,006 | 0,035 ± 0,014 | 0,036 ± 0,024 | 0,041 ± 0,014 |
| Τριμεθυλοπυραζίνη | 15,411 | 122 42 81 | 0,003 ± 0,003 | 0,020 ± 0,018 | 0,014 ± 0,011 | 0,000 ± 0,000 |
| <i>cis,cis</i> -2,4-Επταδιενάλη | 15,954 | 81 110 53 | 0,047 ± 0,018 | 0,070 ± 0,026 | 0,034 ± 0,022 | 0,050 ± 0,027 |
| 2 Ακέτυλο θειαζόλιο | 16,301 | 43 127 99 | 0,022 ± 0,032 | 0,045 ± 0,041 | 0,000 ± 0,000 | 0,010 ± 0,013 |
| Βενζόλιο ακεταλδεΰδη | 17,911 | 91 92 120 | 0,257 ± 0,046 ^{ab} | 0,134 ± 0,130 ^{ab} | 0,338 ± 0,091 ^b | 0,091 ± 0,073 ^a |

Παράρτημα 1.5 (Συνέχεια)

| Χημική ένωση | Rt (min) | Χαρακτ. ιόντα (m/z) | Χειμώνας | Άνοιξη | Καλοκαίρι | Φθινόπωρο |
|--|----------|---------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| <i>Trans</i> -2-οκτενάλη | 19,032 | 55 70 41 | 0,001 ± 0,001 | 0,003 ± 0,002 | 0,013 ± 0,020 | 0,004 ± 0,002 |
| Άγνωστη | 19,660 | 88 129 100 | 0,004 ± 0,006 ^a | 0,063 ± 0,030 ^b | 0,000 ± 0,000 ^a | 0,012 ± 0,007 ^a |
| Εννεανάλη | 22,105 | 57 41 56 | 0,085 ± 0,005 | 0,107 ± 0,037 | 0,097 ± 0,054 | 0,112 ± 0,025 |
| Άγνωστη (1-Διμεθυλαμινο-εξάνιο) | 24,123 | 58 45 42 | 0,101 ± 0,097 | 0,003 ± 0,007 | 0,000 ± 0,000 | 0,146 ± 0,110 |
| 2-Φαινυλο προπενάλη | 25,360 | 103 104 132 | 0,026 ± 0,013 | 0,049 ± 0,048 | 0,011 ± 0,012 | 0,009 ± 0,009 |
| 4-Αιθυλο- βενζαλδεΐδη | 25,702 | 134 133 105 | 0,020 ± 0,008 | 0,042 ± 0,012 | 0,037 ± 0,018 | 0,046 ± 0,026 |
| Δωδεκάνιο | 28,550 | 57 43 71 | 0,009 ± 0,003 | 0,023 ± 0,040 | 0,038 ± 0,029 | 0,031 ± 0,023 |
| Δεκανάλη | 28,902 | 57 43 41 | 0,002 ± 0,001 | 0,013 ± 0,011 | 0,004 ± 0,002 | 0,001 ± 0,001 |
| Βενζοθειαζόλη | 29,921 | 135 108 69 | 0,000 ± 0,000 | 0,010 ± 0,012 | 0,000 ± 0,000 | 0,000 ± 0,000 |
| Δεκατριάνιο | 33,475 | 57 43 71 | 0,072 ± 0,054 ^{ab} | 0,095 ± 0,052 ^{ab} | 0,255 ± 0,165 ^b | 0,049 ± 0,019 ^a |
| 2,4-Δεκαδιενάλη | 33,962 | 81 41 67 | 0,005 ± 0,004 | 0,012 ± 0,006 | 0,018 ± 0,028 | 0,010 ± 0,008 |
| Άγνωστη (3-εννεεν-2-όνη) | 34,752 | 43 55 69 | 0,001 ± 0,002 | 0,003 ± 0,002 | 0,005 ± 0,005 | 0,003 ± 0,003 |
| Άγνωστη | 34,737 | 71 43 57 | 0,001 ± 0,001 | 0,001 ± 0,002 | 0,004 ± 0,003 | 0,001 ± 0,001 |
| Άγνωστη | 34,920 | 71 43 83 | 0,003 ± 0,002 | 0,001 ± 0,001 | 0,005 ± 0,004 | 0,000 ± 0,001 |
| 2-Μεθυλο δεκατριάνιο | 35,838 | 57 43 71 | 0,006 ± 0,006 | 0,006 ± 0,006 | 0,022 ± 0,023 | 0,005 ± 0,003 |
| 3- Μεθυλο δεκατριάνιο | 35,996 | 57 43 71 | 0,005 ± 0,006 ^{ab} | 0,005 ± 0,004 ^{ab} | 0,017 ± 0,009 ^b | 0,001 ± 0,001 ^a |
| Άγνωστος H/C | 36,136 | 57 71 43 | 0,017 ± 0,015 | 0,015 ± 0,011 | 0,012 ± 0,009 | 0,003 ± 0,002 |
| Δακατετράνιο | 36,151 | 57 43 71 | 0,021 ± 0,019 | 0,040 ± 0,029 | 0,112 ± 0,132 | 0,031 ± 0,016 |
| Άγνωστη | 37,285 | 207 169 171 | 0,009 ± 0,006 | 0,004 ± 0,005 | 0,015 ± 0,009 | 0,019 ± 0,003 |
| 2,6,10,14-Τετραμεθυλ δεκαεπτάνιο | 37,474 | 57 43 71 | 0,056 ± 0,050 | 0,017 ± 0,011 | 0,055 ± 0,045 | 0,006 ± 0,004 |
| 2,6-δισ (1,1-διμεθυλαιθυλο)-2,5-κυκλοεξαδιενο-1,4-διόνη | 37,547 | 177 220 207 | 0,004 ± 0,001 | 0,012 ± 0,012 | 0,006 ± 0,006 | 0,012 ± 0,010 |
| Άγνωστη | 37,930 | 165 57 180 | 0,142 ± 0,048 | 0,252 ± 0,089 | 0,110 ± 0,035 | 0,294 ± 0,187 |
| Δεκαπεντάνιο | 38,260 | 57 43 71 | 0,000 ± 0,000 | 0,000 ± 0,000 | 0,172 ± 0,298 | 0,220 ± 0,199 |
| 1-(2,4,6-τριϋδροξυφαινυλ)-βουταν-1-όνη (φλωροβουτυροφαινόνη) | 39,205 | 153 196 181 | 0,046 ± 0,004 | 0,066 ± 0,023 | 0,033 ± 0,007 | 0,055 ± 0,037 |
| n-Εννεανυλοκυκλοεξάνιο (n-Nonylcyclohexane) | 39,272 | 83 82 55 | 0,005 ± 0,004 | 0,004 ± 0,003 | 0,009 ± 0,005 | 0,001 ± 0,000 |
| Δεκαεξάνιο | 39,891 | 57 43 71 | 0,012 ± 0,014 | 0,033 ± 0,013 | 0,022 ± 0,014 | 0,023 ± 0,010 |
| 1,2,3,5,6-Πενταθειο-κυκλοεπτάνιο (Lenthionine) | 40,388 | 142 78 124 | 0,000 ± 0,000 ^a | 0,004 ± 0,002 ^b | 0,000 ± 0,000 ^a | 0,000 ± 0,000 ^a |
| Άγνωστος H/C | 41,062 | 57 71 43 | 0,012 ± 0,017 | 0,014 ± 0,010 | 0,021 ± 0,024 | 0,001 ± 0,001 |

Παράρτημα 1.5 (Συνέχεια)

| Χημική ένωση | Rt (min) | Χαρακτ. ιόντα (m/z) | Χειμώνας | Άνοιξη | Καλοκαίρι | Φθινόπωρο |
|--|-------------|------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| Άγνωστη | 41,190 | 83 82 55 | 0,006 ± 0,003 | 0,004 ± 0,003 | 0,008 ± 0,006 | 0,003 ± 0,003 |
| 8-Δεκαεπτένιο | 41,114 | 55 69 41 | 0,021 ± 0,023 | 0,004 ± 0,006 | 0,009 ± 0,009 | 0,019 ± 0,004 |
| Δις (μεθυλοπροπυλο) εστέρας του δεκαεξανικού οξέος | 41,318 | 129 57 185 | 0,000 ± 0,000 | 0,001 ± 0,001 | 0,000 ± 0,000 | 0,000 ± 0,000 |
| 1-Δεκαεπτένιο | 41,428 | 83 97 69 | 0,016 ± 0,013 | 0,002 ± 0,001 | 0,004 ± 0,007 | 0,004 ± 0,003 |
| Δεκαεπτάνιο | 41,498 | 57 71 43 | tr | 0,096 ± 0,074 | tr | 0,025 ± 0,006 |
| Πριστάνιο (2,6,10,14-Tetramethyl pentadecane) | 41,589 | 57 71 43 | 9,852 ± 7,974 ^b | 0,671 ± 0,425 ^a | 1,911 ± 1,035 ^{ab} | 0,542 ± 0,258 ^a |
| Άγνωστος H/C | 42,288 | 57 71 85 | 0,010 ± 0,013 | 0,002 ± 0,004 | 0,007 ± 0,007 | 0,004 ± 0,000 |
| Δεκαοκτάνιο | 43,070 | 57 71 43 | 0,011 ± 0,004 ^a | 0,036 ± 0,010 ^b | 0,007 ± 0,010 ^a | 0,012 ± 0,002 ^a |
| Δεκαεξανάλη | 43,135 | 57 43 82 | 0,005 ± 0,005 | 0,004 ± 0,005 | 0,001 ± 0,001 | 0,001 ± 0,000 |
| Μυριστικός ισοπροπυλεστέρας | 43,166 | 43 41 55 | 0,000 ± 0,000 ^a | 0,001 ± 0,000 ^b | 0,000 ± 0,000 ^a | 0,000 ± 0,000 ^a |
| Άγνωστη αλδεΐδη | 43,830 | 43 71 97 | 0,041 ± 0,018 ^b | 0,010 ± 0,008 ^a | 0,007 ± 0,007 ^a | 0,015 ± 0,007 ^a |
| Άγνωστη | 44,141 | 81 82 95 | 0,004 ± 0,003 | 0,000 ± 0,000 | 0,005 ± 0,006 | 0,000 ± 0,000 |
| Δεκαεννιάνιο | 44,019 | 57 71 43 | 0,003 ± 0,004 | 0,010 ± 0,006 | 0,002 ± 0,002 | 0,007 ± 0,004 |
| 2-Δεκαεπτανόνη | 44,135 | 58 59 43 | 0,003 ± 0,004 | 0,001 ± 0,001 | 0,000 ± 0,001 | 0,004 ± 0,001 |
| Μεθυλεστέρας του δεκαεξανικού οξέος | 44,312 | 74 87 | 0,000 ± 0,000 | 0,006 ± 0,007 | 0,000 ± 0,000 | 0,000 ± 0,000 |
| Δεκαεξανικό οξύ | 44,781 | 43 73 60 | 0,036 ± 0,015 ^{ab} | 0,081 ± 0,027 ^b | 0,042 ± 0,021 ^{ab} | 0,015 ± 0,009 ^a |
| Εικοσάνιο | 45,055 | 57 71 85 | 0,002 ± 0,002 | 0,015 ± 0,010 | 0,003 ± 0,003 | 0,001 ± 0,001 |
| Άγνωστος H/C | 45,964 | 97 43 98 | 0,007 ± 0,006 | 0,010 ± 0,007 | 0,002 ± 0,004 | 0,009 ± 0,005 |
| Μεθυλεστέρας του ελαϊκού οξέος | 46,007 | 55 41 69 | 0,002 ± 0,001 | 0,003 ± 0,004 | 0,000 ± 0,000 | 0,001 ± 0,001 |
| Ελαϊκό οξύ | 46,384 | 55 41 69 | 0,001 ± 0,001 | 0,013 ± 0,020 | 0,001 ± 0,002 | 0,000 ± 0,000 |
| Δεκαοκτανικό οξύ | 46,598 | 43 73 60 | 0,000 ± 0,000 | 0,001 ± 0,002 | 0,000 ± 0,000 | 0,000 ± 0,000 |
| Άγνωστος εστέρας | 47,854 | 55 83 57 | 0,000 ± 0,000 | 0,003 ± 0,002 | 0,001 ± 0,002 | 0,000 ± 0,000 |

Παράρτημα 1.5 (Συνέχεια)

| Ομόλογες σειρές | Χειμώνας | Άνοιξη | Καλοκαίρι | Φθινόπωρο |
|------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| Αλκοόλες | 0,471 ± 0,147 | 0,707 ± 0,386 | 0,385 ± 0,171 | 0,230 ± 0,085 |
| Κετόνες | 3,407 ± 0,389 | 5,424 ± 1,003 | 3,650 ± 1,073 | 3,921 ± 1,263 |
| Αλδεΐδες | 2,388 ± 0,651 | 2,026 ± 0,509 | 2,376 ± 0,418 | 1,670 ± 0,218 |
| Εστέρες | 0,003 ± 0,001 | 0,013 ± 0,013 | 0,001 ± 0,002 | 0,001 ± 0,001 |
| Φουράνια | 0,341 ± 0,089 | 0,341 ± 0,051 | 0,266 ± 0,060 | 0,380 ± 0,055 |
| Αμίνες | 0,111 ± 0,090 | 0,048 ± 0,009 | 0,015 ± 0,003 | 0,153 ± 0,109 |
| Πυραζίνες | 0,022 ± 0,009 | 0,045 ± 0,044 | 0,014 ± 0,011 | 0,009 ± 0,004 |
| Πυριδίνες | 0,044 ± 0,041 | 0,031 ± 0,015 | 0,000 ± 0,000 | 0,001 ± 0,000 |
| Υδρογονάνθρακες | 10,539 ± 8,204 ^b | 1,381 ± 0,678 ^a | 3,029 ± 1,922 ^{ab} | 1,304 ± 0,556 ^a |
| Ενώσεις θείου | 0,055 ± 0,047 | 0,110 ± 0,066 | 0,046 ± 0,014 | 0,043 ± 0,013 |
| Αιθέρες | 0,035 ± 0,007 | 0,048 ± 0,014 | 0,053 ± 0,015 | 0,052 ± 0,016 |
| Οξέα | 0,037 ± 0,014 ^{ab} | 0,095 ± 0,047 ^b | 0,043 ± 0,020 ^{ab} | 0,015 ± 0,009 ^a |
| Άγνωστες ενώσεις | 0,207 ± 0,060 | 0,335 ± 0,118 | 0,151 ± 0,022 | 0,344 ± 0,182 |
| Σύνολο | 17,658 ± 8,773 | 10,603 ± 1,676 | 10,029 ± 1,514 | 8,124 ± 1,107 |

Παράρτημα 1.6: Πτητικά συστατικά και κατηγορίες πτητικών συστατικών (μg/kg νωπού βάρους) που χαρακτηρίζουν άγριο και εκτρεφόμενο κρανίο παρόμοιου μεγέθους. Μέσες τιμές ± τυπική απόκλιση (Εκτρεφόμενος κρανιός n=3, Άγριος Κρανιός n=1). Επίσης αναφέρεται ο χρόνος έκλυσης (Rt) και τα χαρακτηριστικά ιόντα για κάθε πτητική ένωση.

| | | | Άγριος κρανιός | Εκτρεφόμενος κρανιός |
|------------------------------|-------|-------------|-------------------|-------------------------|
| 2,3-Βουτανοδιόνη | 3,064 | 43,86 | 1,517 | 2,537 ± 1,369 |
| Τριμεθυλο οξιράνιο | 3,048 | 43,41,58 | 0,032 | 0,121 ± 0,078 |
| Τετραϋδρο φουράνιο | 3,084 | 42,72,71 | 0,006 | 0,029 ± 0,028 |
| 2-Βουτενάλη (E)- | 3,279 | 70,39,69 | 0,099 | 0,200 ± 0,102 |
| 3-Μεθυλο βουτανάλη | 3,298 | 44,41,43 | 0,936 | 0,886 ± 0,476 |
| 1-Πεντεν-3-όλη | 3,590 | 57,41,39 | 1,100 | 0,563 ± 0,350 |
| 1-Μεθόξυ 2-προπανόλη | 3,612 | 45,47,43 | 0,000 | 1,988 ± 1,163 |
| 2-Χλωρο 3-μεθυλο 1-βουτένιο | 3,724 | 69,67,104 | 0,073 | 0,093 ± 0,049 |
| 2,3-Πεντανοδιόνη | 3,767 | 43,57,100 | 0,127 | 0,359 ± 0,191 |
| Πεντανάλη | 3,785 | 44,58,45 | 0,381 | 0,206 ± 0,103 |
| 2-Αίθυλο φουράνιο | 3,822 | 81,96,53 | 0,235 | 0,236 ± 0,125 |
| 3-Υδροξυ 2-βουτανόνη | 3,987 | 45,43,88 | 1,060 | 0,890 ± 0,546 |
| Χλωροϊωδομεθάνιο | 4,163 | 176,127,178 | 0,007 | 0,017 ± 0,013 |
| Πυραζίνη | 4,395 | 80,69,53 | 0,005 | 0,017 ± 0,009 |
| Διμεθυλο - δισουλφίδιο | 4,572 | 94,79,45 | 0,017 | 0,007 ± 0,008 |
| Ακετονιτρίλιο (διμεθυλαμινο) | 4,797 | 83,42,58 | 0,021 | |
| 2-Πεντενάλη,(E)- | 4,846 | 55,83,84 | 0,206 | 0,163 ± 0,088 |
| 1-Μεθυλο θειο προπάνιο | 4,919 | 61,90,45 | 0,005 | 0,004 ± 0,002 |
| 3-Μεθυλο θειοφαίνιο | 5,169 | 97,98,96 | 0,000 | 0,000 ± 0,000 |
| 2-Πεντεν-1-όλη-(Z)- | 5,236 | 57,41,44 | 0,075 | 0,000 ± 0,000 |
| 2- Πρόπυλο φουράνιο | 5,687 | 81,53,110 | 0,000 | 0,004 ± 0,002 |
| Οκτάνιο | 5,901 | 43,85,57 | 0,125 | 0,054 ± 0,047 |
| Εξανάλη | 5,962 | 44,56,41 | 0,610 | 0,153 ± 0,091 |
| 3-Πεντανόλη | 6,029 | 59,107,45 | 0,078 | 0,042 ± 0,024 |
| 3,5-Οκταδιένιο,(E,E)- | 6,352 | 81,67,68 | 0,025 | 0,029 ± 0,015 |
| 2,4-Διμεθυλο επτάνιο | 6,596 | 43,85,57 | 0,000 | 0,016 ± 0,008 |

Παράρτημα 1.6 (Συνέχεια)

| | | | Άγριος κρανιός | Εκτρεφόμενος κρανιός |
|--|--------|-------------|-------------------|-------------------------|
| Μεθυλο πυραζίνη | 6,691 | 94,67,93 | 0,000 | 0,029 ± 0,016 |
| Φουρφουράλη | 7,059 | 96,95,39 | 0,002 | 0,026 ± 0,013 |
| 2-Εξενάλη | 7,803 | 41,69,55 | 0,130 | 0,057 ± 0,036 |
| Αιθυλοβενζόλιο | 8,022 | 91,106,77 | 0,004 | 0,011 ± 0,007 |
| 4-Μεθυλο οκτάνιο | 8,163 | 43,85,71 | 0,000 | 0,042 ± 0,022 |
| Διμεθυλαμινο μεθανικό οξύ | 8,699 | 72,107,42 | 0,016 | |
| ο-Ξυλόλιο | 9,345 | 91,106,105 | 0,000 | 0,004 ± 0,004 |
| 2-Επτανόνη | 9,449 | 43,58,71 | 0,033 | 0,023 ± 0,014 |
| Εννεάνιο | 9,789 | 57,43,41 | 0,062 | 0,037 ± 0,019 |
| Επτανάλη | 9,894 | 70,44,43 | 0,019 | 0,023 ± 0,020 |
| Βενζαλδεΐδη | 12,790 | 106,105,77 | 0,097 | 0,195 ± 0,098 |
| 1,3,5-Τριμεθυλο βενζόλιο | 14,680 | 105,120,119 | 0,000 | 0,007 ± 0,005 |
| 2-Πεντυλο φουράνιο | 14,771 | 81,82,138 | 0,105 | 0,023 ± 0,012 |
| <i>trans</i> -2-(2-Πεντενυλο) φουράνιο | 15,368 | 107,136,68 | 0,010 | 0,009 ± 0,004 |
| Οκτανάλη | 15,521 | 43,41,57 | 0,046 | 0,031 ± 0,021 |
| <i>cis, cis</i> -2,4-επταδιενάλη | 15,954 | 81,110,53 | 0,022 | 0,057 ± 0,036 |
| 2-Ακετυλο θειαζόλιο | 16,301 | 43,127,99 | 0,000 | 0,001 ± 0,001 |
| D-Λεμονένιο | 16,874 | 68,93,67 | 0,000 | 0,008 ± 0,004 |
| Φαινυλακεταλδεΐδη | 17,911 | 91,92,120 | 0,095 | 0,154 ± 0,152 |
| Άγνωστη | 19,660 | 88,129,100 | 0,000 | 0,010 ± 0,006 |
| Εννεανάλη | 22,105 | 57,41,56 | 0,000 | 0,104 ± 0,053 |
| Άγνωστη (1-Διμεθυλαμινο εξάνιο) | 24,123 | 58,45,42 | 0,000 | 0,194 ± 0,117 |
| 2-Φαινυλ προπενάλη | 25,360 | 103,104,132 | 0,112 | |
| 4- Αιθυλο βενζαλδεΐδη | 25,702 | 134,133,105 | 0,028 | 0,006 ± 0,008 |
| Δεκατριάνιο | 33,475 | 57,43,71 | 0,000 | 0,019 ± 0,017 |
| 1-(2,4,6-τριϋδροξυφαινύλιο) βουταν-1-όνη (Φλωροβουτυροφαινόνη) | 39,205 | 153,196,181 | 0,068 | 0,072 ± 0,040 |
| Άγνωστη | 39,559 | 115,171,57 | 0,000 | 0,008 ± 0,005 |
| Δεκαεξάνιο | 39,891 | 57,43,71 | 0,004 | 0,051 ± 0,040 |

Παράρτημα 1.6 (Συνέχεια)

| | | | Άγριος κρανός | Εκτρεφόμενος κρανός |
|--|--------|------------|------------------|------------------------|
| Διφαινυλο μεθανόνη (βενζοφαινόνη) | 40,419 | 105,77,182 | 0,001 | 0,002 ± 0,001 |
| Δις (μεθυλοπροπυλο) εστέρας του δεκαεξανικού οξέος | 41,318 | 129,57,185 | 0,000 | 0,002 ± 0,001 |
| Δεκαεπτάνιο | 41,498 | 57,71,43 | 0,000 | 0,000 ± 0,001 |
| Πριστάνιο (2,6,10,14-τετραμεθυλδεκαπεντάνιο) | 41,589 | 57,71,43 | 0,001 | 1,682 ± 1,298 |
| Άγνωστη (μυριστικός αιθυλεστέρας) | 42,830 | 88,101,157 | 0,000 | 0,004 ± 0,004 |
| Δεκαοκτάνιο | 43,070 | 57,71,43 | 0,000 | 0,022 ± 0,011 |
| Δεκαεξανάλη | 43,135 | 57,43,82 | 0,012 | 0,002 ± 0,003 |
| 6,10,14-Τριμεθυλο 2-δεκαπεντανόνη | 43,489 | 58,43,71 | 0,000 | 0,001 ± 0,001 |
| Άγνωστη αλδεΐδη (13-δεκαοκτενάλη, (Z)-) | 43,830 | 43,71,97 | 0,009 | 0,015 ± 0,013 |
| Δεκαεννιάνιο | 44,019 | 57,71,43 | 0,000 | 0,015 ± 0,008 |
| Μεθυλεστέρας του δεκαεξανικού οξέος | 44,312 | 74,87 | 0,001 | 0,002 ± 0,001 |
| Δεκαεξανικό οξύ | 44,781 | 43,73,60 | 0,037 | 0,005 ± 0,003 |
| Αιθυλεστέρας του δεκαεξανικού οξέος | 45,001 | 88,101,43 | 0,000 | 0,031 ± 0,031 |
| Εικοσάνιο | 45,055 | 57,71,85 | 0,000 | 0,000 ± 0,000 |
| 9-Δεκαεννένιο | 45,049 | 57,41,43 | 0,000 | 0,000 ± 0,000 |
| Άγνωστη | 45,653 | 55,41,43 | 0,000 | 0,008 ± 0,011 |
| Άγνωστη (9-δεκαοκτενάλη (Z)-) | 45,878 | 57,97,71 | 0,000 | 0,001 ± 0,001 |
| Άγνωστη (2-προπενικός δεκαπεντυλεστέρας) | 45,952 | 55,83,57 | 0,000 | 0,007 ± 0,006 |
| Ελαϊκό οξύ | 46,598 | 55,69,73 | 0,000 | 0,040 ± 0,032 |
| Αιθυλεστέρας του δεκαοκτανικού οξέος | 46,817 | 88,101,43 | 0,000 | 0,003 ± 0,004 |
| Άγνωστος εστέρας | 47,854 | 55,83,57 | 0,000 | 0,005 ± 0,003 |

Παράρτημα 1.6 (Συνέχεια)

| | Άγριος κρανιός | Εκτρεφόμενος κρανιός |
|---------------|-------------------|-------------------------|
| Αλκοόλες | 1,253 | 2,593 ± 1,526 |
| Κετόνες | 2,822 | 3,884 ± 2,131 |
| Αλδεύδες | 2,796 | 2,265 ± 1,178 |
| Εστέρες | 0,001 | 0,063 ± 0,049 |
| Φουράνια | 0,357 | 0,301 ± 0,156 |
| Αμίνες | 0,021 | 0,194 ± 0,117 |
| Πυραζίνες | 0,005 | 0,046 ± 0,024 |
| H/C | 0,301 | 2,107 ± 1,464 |
| Άγνωστες | 0,009 | 0,033 ± 0,027 |
| Ενώσεις θείου | 0,022 | 0,011 ± 0,009 |
| Αιθέρες | 0,032 | 0,121 ± 0,078 |
| Οξέα | 0,037 | 0,044 ± 0,034 |
| Σύνολο | 7,655 | 11,661 ± 5,875 |

Παράρτημα 2.1α: Od.Thr.V. πτητικών ενώσεων που χαρακτηρίζουν τα Μεσογειακά ιχθυηρά

| | Μεσογειακά ιχθυηρά | | | | | | | | | | | | | | | |
|------------------------|-------------------------------------|----------|------------------------|----------|------------------------|----------|------------------------|----------|------------------------|----------|------------------------|----------|------------------------|----------|------------------------|----------|
| | ΑΘΕΡΙΝΑ | | ΜΑΡΙΔΑ | | ΜΠΑΚΑΛΙΑΡΟΣ | | ΣΑΡΔΕΛΑ | | ΓΟΠΑ | | ΓΑΥΡΟΣ | | ΚΟΥΤΣΟΜΟΥΡΑ | | | |
| | Od.Thr. σε νερό (20 °C) µg/Kg (ppb) | Od.Thr.V | µg/Kg | Od.Thr.V |
| 1-πεντεν-3-όλη | 400 | 1,331 | 0,003 | 0,885 | 0,002 | 0,596 | 0,001 | 2,631 | 0,007 | 0,603 | 0,002 | 0,774 | 0,002 | 0,952 | 0,002 | |
| 1-πεντεν-3-όνη | 1,3 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 | 0,025 | 0,019 | |
| Πεντανάλη | 240 | 0,454 | 0,002 | 0,302 | 0,001 | 0,279 | 0,001 | 0,849 | 0,004 | 0,263 | 0,001 | 0,316 | 0,001 | 0,285 | 0,001 | |
| Εξανάλη | 4,5 | 0,254 | 0,056 | 0,376 | 0,083 | 0,190 | 0,042 | 1,030 | 0,229 | 0,403 | 0,090 | 0,129 | 0,029 | 0,329 | 0,073 | |
| Επτανάλη | 0,3 | 0,074 | 0,248 | 0,075 | 0,249 | 0,057 | 0,190 | 0,182 | 0,607 | 0,056 | 0,188 | 0,030 | 0,99 | 0,062 | 0,205 | |
| Οκτανάλη | 0,7 | 0,073 | 0,105 | 0,078 | 0,112 | 0,052 | 0,075 | 0,156 | 0,222 | 0,048 | 0,068 | 0,036 | 0,051 | 0,052 | 0,074 | |
| Εννεανάλη | 1 | 0,137 | 0,137 | 0,414 | 0,414 | 0,459 | 0,459 | 0,421 | 0,421 | 0,139 | 0,139 | 0,100 | 0,100 | 0,120 | 0,120 | |
| Δεκανάλη | 0,1 | 0,029 | 0,289 | 0,039 | 0,387 | 0,037 | 0,375 | 0,044 | 0,437 | 0,030 | 0,297 | | 0,000 | 0,032 | 0,322 | |
| (E,E)-2,4-εξαδιενάλη | 10 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 | 0,023 | 0,002 | 0,006 | 0,636*10 ⁻³ | 0,009 | 0,922*10 ⁻³ | 0,006 | 0,597*10 ⁻³ | |
| (E,Z)-2,4-επταδιενάλη | 778 | 0,165 | 0,212*10 ⁻³ | 0,210 | 0,270*10 ⁻³ | 0,120 | 0,155*10 ⁻³ | 0,711 | 0,914*10 ⁻³ | 0,213 | 0,273*10 ⁻³ | 0,172 | 0,221*10 ⁻³ | 0,323 | 0,415*10 ⁻³ | |
| (E,E)-2,4-επταδιενάλη | 778 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 | 0,157 | 0,201*10 ⁻³ | 0,036 | 0,046*10 ⁻³ | 0,024 | 0,031*10 ⁻³ | 0,067 | 0,086*10 ⁻³ | |
| (E,Z)-2,6-εννεαδιενάλη | 0,01 | 0,048 | 4,826 | 0,057 | 5,659 | 0,042 | 4,246 | 0,222 | 22,233 | 0,037 | 3,709 | 0,046 | 4,594 | 0,056 | 5,592 | |
| 2,4-οκταδιενάλη | 0 | | | | | | | 0,150 | | 0,047 | | | | 0,069 | | |
| 2,4-δεκαδιενάλη | 0,07 | | 0,000 | 0,013 | 0,188 | 0,007 | 0,100 | 0,047 | 0,678 | 0,032 | 0,461 | 0,019 | 0,277 | 0,080 | 1,148 | |
| 2-πεντανόνη | 70000 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 | 0,136 | 0,002*10 ⁻³ | 0,033 | 0,000 | 0,025 | 0,000 | | 0,000 | |
| 2,3-βουτανοδιόνη | 15 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 | |
| 2,3-πεντανοδιόνη | 30 | 0,209 | 0,007 | 0,276 | 0,009 | 0,127 | 0,004 | 1,033 | 0,034 | 0,213 | 0,007 | 0,464 | 0,015 | 0,232 | 0,008 | |
| 2,3-εξανοδιόνη | 0 | | | | | | | 0,019 | | 0,008 | | 0,008 | | 0,006 | | |
| 2,3-οκτανοδιόνη | 0 | | | | | 0,013 | | 0,071 | | 0,022 | | 0,008 | | 0,045 | | |
| 3-υδροξυ 2-βουτανόνη | 800 | 1,191 | 0,001 | 2,186 | 0,003 | 1,418 | 0,002 | 1,171 | 0,001 | 0,497 | 0,622*10 ⁻³ | 3,295 | 0,004 | 1,636 | 0,002 | |
| (E) 2-βουτενάλη | nd | | | | | | | 0,217 | | | | | | 0,067 | | |
| (E) 2-πεντενάλη | 300 | 0,289 | 0,965*10 ⁻³ | 0,264 | 0,881*10 ⁻³ | 0,204 | 0,679*10 ⁻³ | 0,907 | 0,003 | 0,222 | 0,739*10 ⁻³ | 0,229 | 0,764*10 ⁻³ | 0,281 | 0,938*10 ⁻³ | |
| (Z) 2-εξενάλη | 17 | 0,121 | 0,007 | 0,110 | 0,006 | 0,051 | 0,003 | 0,505 | 0,030 | 0,086 | 0,005 | 0,109 | 0,006 | 0,088 | 0,005 | |
| (Z) 2-επτενάλη | 13 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 | 0,032 | 0,002 | 0,021 | 0,002 | | 0,000 | | 0,000 | |
| (E) 2-οκτενάλη | 9,1 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 | 0,038 | 0,004 | | 0,000 | 0,044 | 0,005 | |
| (E) 2-δεκενάλη | 0,4 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 | 0,011 | 0,026 | |
| 2-μεθυλ βουτανάλη | 0,04 | 1,372 | 34,299 | | 0,000 | 0,185 | 4,619 | 0,720 | 17,999 | | 0,000 | 0,558 | 13,958 | 0,557 | 13,919 | |
| 3- μεθυλ βουτανάλη | 0,06 | 3,097 | 51,622 | 0,386 | 6,431 | 0,219 | 3,653 | 1,427 | 23,784 | 0,273 | 4,544 | 1,297 | 21,621 | 0,956 | 15,928 | |
| 2-αιθυλ φουράνιο | 0,0023 | 0,729 | 316,864 | 0,413 | 179,510 | 0,297 | 129,338 | 2,319 | 1008,061 | 0,424 | 184,254 | 0,570 | 247,623 | 0,439 | 191,016 | |
| 1-Πεντανόλη | 120 | 0,030 | 0,249*10 ⁻³ | 0,011 | 0,090*10 ⁻³ | | 0,000 | | 0,000 | 0,014 | 0,113*10 ⁻³ | | 0,000 | 0,012 | 0,099*10 ⁻³ | |

Παράρτημα 2.1α (Συνέχεια)

Μεσογειακά ιχθυηρά

| | ΑΘΕΡΙΝΑ | | ΜΑΡΙΔΑ | | ΜΠΑΚΑΛΙΑΡΟΣ | | ΣΑΡΔΕΛΑ | | ΓΟΠΙΑ | | ΓΑΥΡΟΣ | | ΚΟΥΤΣΟΜΟΥΡΑ | | |
|---------------------|-------------------------|-------|------------------------|-------|------------------------|-------|------------------------|-------|------------------------|-------|------------------------|-------|------------------------|-------|------------------------|
| | Od.Thr. σε νερό (20 °C) | μg/Kg | Od.Thr.V |
| 2-Πεντεν-1-όλη (E) | 0 | | | | | | | 0,098 | | 0,023 | | | | | |
| 2- Πεντεν-1-όλη (Z) | 0 | 0,066 | | 0,070 | | | | 0,240 | | 0,037 | | 0,004 | | 0,024 | |
| 1-Οκτεν-3-όλη | 10 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 | 0,033 | 0,003 | 0,037 | 0,004 | | 0,000 | | 0,000 |
| 1-Επτανόλη | 3 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 |
| 1-Οκτανόλη | 110 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 |
| 1-Εννεανόλη | 50 | | 0,000 | 0,012 | 0,231*10 ⁻³ | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 |
| 3-Πεντανόλη | 0 | | | 0,034 | | 0,018 | | 0,101 | | 0,018 | | 0,037 | | 0,051 | |
| 4-Επτενάλη (Z) | 0,04 | 0,167 | 4,170 | 0,119 | 2,971 | 0,081 | 2,032 | 0,451 | 11,282 | 0,052 | 1,298 | 0,076 | 1,889 | 0,051 | 1,274 |
| Βενζαλδεϋδη | 350 | 0,209 | 0,598*10 ⁻³ | 0,114 | 0,327*10 ⁻³ | 0,146 | 0,418*10 ⁻³ | 0,255 | 0,729*10 ⁻³ | 0,140 | 0,401*10 ⁻³ | 0,151 | 0,432*10 ⁻³ | 0,126 | 0,359*10 ⁻³ |
| Αιθυλοβενζόλιο | 730 | 0,014 | 0,019*10 ⁻³ | 0,012 | 0,016*10 ⁻³ | 0,019 | 0,026*10 ⁻³ | 0,016 | 0,021*10 ⁻³ | 0,007 | 0,010*10 ⁻³ | 0,011 | 0,015*10 ⁻³ | 0,014 | 0,019*10 ⁻³ |
| Φουρφουράλη | 3000 | 0,032 | 0,011*10 ⁻³ | 0,008 | 0,003*10 ⁻³ | 0,008 | 0,003*10 ⁻³ | 0,022 | 0,007*10 ⁻³ | 0,025 | 0,008*10 ⁻³ | 0,052 | 0,017*10 ⁻³ | 0,014 | 0,005*10 ⁻³ |
| Διμεθυλ δισουλφίδιο | 0,33 | 0,025 | 0,074 | | 0,000 | 0,005 | 0,017 | 0,042 | 0,127 | 0,012 | 0,037 | 0,017 | 0,051 | 0,004 | 0,011 |
| Σύνολο | | | 412,715 | | 196,030 | | 145,158 | | 1086,168 | | 195,112 | | 290,324 | | 229,754 |

Παράρτημα 2.1β: Od.Thr.V. πτητικών ενώσεων που χαρακτηρίζουν τα θαλασσινά.

| ΘΑΛΑΣΣΙΝΑ | | | | | | | |
|-------------------------------|--------|-----------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|
| ΚΑΛΑΜΑΡΙ | | | ΓΑΡΙΔΑ | | | ΜΥΔΙΑ | |
| Od.Thr. σε νερό (20 °C) | μg/Kg | Od.Thr.V ¹ | μg/Kg | Od.Thr.V ¹ | μg/Kg | Od.Thr.V ¹ | |
| | | | | | | μg/Kg (ppb) | g |
| 1-πεντεν-3-όλη | 400 | 0,057 | 0,142*10 ⁻³ | 0,126 | 0,314*10 ⁻³ | 0,116 | 0,290*10 ⁻³ |
| 1-πεντεν-3-όνη | 1,3 | | 0,000 | | 0,000 | 0,058 | 0,044 |
| Πεντανάλη | 240 | 0,061 | 0,252*10 ⁻³ | | 0,000 | 3,783 | 0,016 |
| Εξανάλη | 4,5 | 0,024 | 0,005 | | 0,000 | 0,492 | 0,109 |
| Επτανάλη | 0,3 | 0,011 | 0,036 | | 0,000 | 0,247 | 0,822 |
| Οκτανάλη | 0,7 | 0,011 | 0,015 | | 0,000 | 0,350 | 0,500 |
| Εννεανάλη | 1 | 0,115 | 0,115 | | 0,000 | 1,929 | 1,929 |
| Δεκανάλη | 0,1 | | 0,000 | | 0,000 | 0,112 | 1,115 |
| (E,E)-2,4-εξαδιενάλη | 10 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 |
| (E,Z)-2,4-επταδιενάλη | 778 | 0,014 | 0,018*10 ⁻³ | | 0,000 | 0,084 | 0,107*10 ⁻³ |
| (E,E)-2,4-επταδιενάλη | 778 | | 0,000 | | 0,000 | 0,044 | 0,056*10 ⁻³ |
| (E,Z)-2,6-εννεαδιενάλη | 0,01 | | 0,000 | | 0,000 | 0,035 | 3,529 |
| 2,4-οκταδιενάλη | 0 | | | | | | |
| 2,4-δεκαδιενάλη | 0,07 | | 0,000 | | 0,000 | 0,041 | 0,590 |
| 2-πεντανόνη | 70000 | | 0,000 | 0,021 | 0,000 | | 0,000 |
| 2,3-βουτανοδιόνη | 15 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 |
| 2,3-πεντανοδιόνη | 30 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 |
| 2,3-εξανοδιόνη | 0 | | | | | | |
| 2,3-οκτανοδιόνη | 0 | | | | | 0,019 | |
| 3-υδροξυ 2-βουτανόνη | 800 | 1,929 | 0,002 | 0,815 | 0,001 | 0,884 | 0,001 |
| (E) 2-βουτενάλη | 0 | | | | | 0,286 | |
| (E) 2-πεντενάλη | 300 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 |
| (Z) 2-εξενάλη | 17 | | 0,000 | | 0,000 | 0,099 | 0,006 |
| (Z) 2-επτενάλη | 13 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 |
| (E) 2-οκτενάλη | 9,1 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 |
| (E) 2-δεκενάλη | 0,4 | | 0,000 | | 0,000 | 0,024 | 0,061 |
| 2-μεθυλ βουτανάλη | 0,04 | | 0,000 | | 0,000 | 2,492 | 62,290 |
| 3- μεθυλ βουτανάλη | 0,06 | 1,147 | 19,122 | 0,449 | 7,482 | 3,947 | 65,780 |
| 2-αιθυλ φουράνιο | 0,0023 | 0,016 | 6,786 | 0,018 | 7,978 | 0,158 | 68,860 |
| 1-Πεντανόλη | 120 | | 0,000 | | 0,000 | 0,213 | 0,002 |
| 2-Πεντεν-1-όλη (E) | 0 | | | | | | |
| 2- Πεντεν-1-όλη (Z) | 0 | | | | | | |
| 1-Οκτεν-3-όλη | 10 | | 0,000 | | 0,000 | 0,035 | 0,003 |
| 1-Επτανόλη | 3 | | 0,000 | | 0,000 | 0,017 | 0,006 |
| 1-Οκτανόλη | 110 | | 0,000 | | 0,000 | 0,007 | 0,060*10 ⁻³ |
| 1-Εννεανόλη | 50 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 |
| 3-Πεντανόλη | 0 | 0,016 | | | | 0,073 | |
| 4-Επτενάλη (Z) | 0,04 | 0,019 | 0,483 | | 0,000 | 0,127 | 3,187 |
| Βενζαλδεΐδη | 350 | 0,145 | 0,416*10 ⁻³ | 0,124 | 0,355*10 ⁻³ | 0,964 | 0,003 |
| Αιθυλοβενζόλιο | 730 | 0,014 | 0,019*10 ⁻³ | 0,007 | 0,009*10 ⁻³ | 0,037 | 0,051*10 ⁻³ |
| Φουρφουράλη | 3000 | 0,043 | 0,014*10 ⁻³ | 0,004 | 0,001*10 ⁻³ | 0,359 | 0,120*10 ⁻³ |
| Διμεθυλ δισουλφίδιο | 0,33 | 0,082 | 0,250 | 0,005 | 0,015 | | 0,000 |
| Σύνολο | | | 26,816 | | 15,477 | | 208,854 |

¹ Od. Thr. V. = ppb ένωσης / Od. Thr. ένωσης εκφρασμένη σε ppb στους 20°C σε υδατικό περιβάλλον

Παράρτημα 2.2: Od.Thr.V. πτητικών ενώσεων που χαρακτηρίζουν κρανιούς στο πείραμα αξιολόγησης των παραμέτρων ποιότητας φιλέτου εκτρεφόμενων κρανιών (*Argyrosomus regius*) με σιτηρέσια διαφορετικής λιποπεριεκτικότητας.

| Επίδραση του Σιτηρεσίου | | | | | | | | | |
|--------------------------------|---------------------------------------|-------|------------------------|-------|------------------------|-------|------------------------|-------|------------------------|
| Κρανιός (n=3) | Od.Thr. σε νερό (20°C) μg/Kg (ppb) | 0 | | A1 | | A2 | | A3 | |
| | | μg/Kg | Od.Thr.V ¹ |
| 1-πεντεν-3-όλη | 400 | 2,153 | 0,005 | 0,901 | 0,002 | 1,502 | 0,004 | 1,178 | 0,003 |
| 1-πεντεν-3-όνη | 1,3 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 |
| Πεντανάλη | 240 | 0,042 | 0,176*10 ⁻³ | 0,172 | 0,716*10 ⁻³ | 0,219 | 0,912*10 ⁻³ | 0,198 | 0,824*10 ⁻³ |
| Εξανάλη | 4,5 | 0,356 | 0,79 | 0,162 | 0,036 | 0,227 | 0,050 | 0,161 | 0,036 |
| Επτανάλη | 0,3 | 0,030 | 0,099 | 0,018 | 0,059 | 0,021 | 0,072 | 0,011 | 0,035 |
| Οκτανάλη | 0,7 | 0,029 | 0,041 | 0,020 | 0,029 | 0,027 | 0,038 | 0,022 | 0,031 |
| Εννεανάλη | 1 | 0,151 | 0,151 | 0,110 | 0,110 | 0,156 | 0,156 | 0,187 | 0,187 |
| Δεκανάλη | 0,1 | 0,009 | 0,085 | 0,015 | 0,151 | 0,008 | 0,079 | 0,016 | 0,165 |
| (E,E)-2,4-εξαδιενάλη | 10 | | | | | | | | |
| (E,Z)-2,4-επταδιενάλη | 778 | | | | | | | | |
| (E,E)-2,4-επταδιενάλη | 778 | 0,038 | 0,049*10 ⁻³ | 0,030 | 0,039*10 ⁻³ | 0,016 | 0,021*10 ⁻³ | 0,013 | 0,017*10 ⁻³ |
| (E,Z)-2,6-εννεαδιενάλη | 0,01 | | | | | | | | |
| 2,4-οκταδιενάλη | 0 | | | | | | | | |
| 2,4-δεκαδιενάλη | 0,07 | | | | | | | | |
| 2-πεντανόνη | 70000 | | | | | | | | |
| 2,3-βουτανοδιόνη | 15 | 1,439 | 0,096 | 1,698 | 0,113 | 1,748 | 0,117 | 1,888 | 0,126 |
| 2,3-πεντανοδιόνη | 30 | 0,210 | 0,007 | 0,146 | 0,005 | 0,208 | 0,007 | 0,448 | 0,015 |
| 2,3-εξανοδιόνη | 0 | | | | | | | | |
| 2,3-οκτανοδιόνη | 0 | | | | | | | | |
| 3-υδροξυ 2-βουτανόνη | 800 | 3,957 | 0,005 | 1,710 | 0,002 | 1,565 | 0,002 | 1,964 | 0,002 |
| (E) 2-βουτενάλη | 0 | 0,077 | | 0,075 | | 0,077 | | 0,114 | |
| (E) 2-πεντενάλη | 300 | 0,195 | 0,651*10 ⁻³ | 0,104 | 0,347*10 ⁻³ | 0,173 | 0,577*10 ⁻³ | 0,124 | 0,414*10 ⁻³ |
| (Z) 2-εξενάλη | 17 | 0,075 | 0,004 | 0,037 | 0,002 | 0,076 | 0,004 | 0,048 | 0,003 |
| (Z) 2-επτενάλη | 13 | | | | | | | | |
| (E) 2-οκτενάλη | 9,1 | | | | | | | | |
| (E) 2-δεκενάλη | 0,4 | | | | | | | | |
| 2-μεθυλ βουτανάλη | 0,04 | | | | | | | | |
| 3- μεθυλ βουτανάλη | 0,06 | | | | | | | | |
| 2-αιθυλ φουράνιο | 0,0023 | 0,194 | 84,319 | 0,125 | 54,453 | 0,167 | 72,592 | 0,126 | 54,777 |
| 1-Πεντανόλη | 120 | | | | | | | | |
| 2-Πεντεν-1-όλη (E) | 0 | | | | | | | | |
| 2- Πεντεν-1-όλη (Z) | 0 | 0,378 | | 0,096 | | 0,003 | | 0,175 | |
| 1-Οκτεν-3-όλη | 10 | | | | | | | | |
| 1-Επτανόλη | 3 | | | | | | | | |
| 1-Οκτανόλη | 110 | | | | | | | | |
| 1-Εννεανόλη | 50 | | | | | | | | |
| 3-Πεντανόλη | 0 | 0,040 | | 0,027 | | 0,041 | | 0,053 | |
| 4-Επτενάλη (Z) | 0,04 | 0,034 | 0,858 | 0,018 | 0,440 | 0,026 | 0,662 | 0,020 | 0,490 |
| Βενζαλδεϋδη | 350 | 0,114 | 0,325*10 ⁻³ | 0,183 | 0,523*10 ⁻³ | 0,151 | 0,432*10 ⁻³ | 0,122 | 0,349*10 ⁻³ |
| Αιθυλοβενζόλιο | 730 | 0,011 | 0,015*10 ⁻³ | 0,009 | 0,013*10 ⁻³ | 0,007 | 0,009*10 ⁻³ | 0,009 | 0,012*10 ⁻³ |
| Φουρφουράλη | 3000 | 0,010 | 0,003*10 ⁻³ | 0,013 | 0,004*10 ⁻³ | 0,015 | 0,005*10 ⁻³ | 0,005 | 0,002*10 ⁻³ |
| Διμεθυλ δισουλφίδιο | 0,33 | 0,010 | 0,031 | 0,008 | 0,023 | 0,011 | 0,033 | 0,006 | 0,020 |
| Σύνολο | | | 85,782 | | 55,427 | | 73,818 | | 55,892 |

¹ Od. Thr. V. = ppb ένωσης / Od. Thr. ένωσης εκφρασμένη σε ppb στους 20°C σε υδατικό περιβάλλον

Παράρτημα 2.3: Od.Thr.V. πτητικών ενώσεων που χαρακτηρίζουν κρانيούς στο πείραμα επίδρασης της ανάπτυξης στη ποιότητα εκτρεφόμενων κρانيών (*Argyrosomus regius*).

| Επίδραση της Ανάπτυξης | | | | | | | |
|------------------------|---|------------------|------------------------|----------------|------------------------|-----------------|------------------------|
| Κρانيός (n=3) | Od.Thr. σε νερό (20 °C) μg/Kg (ppb) | Ομ. Α Δεκέμβριος | | Ομ. Β Απρίλιος | | Ομ. Γ Αύγουστος | |
| | | μg/Kg | Od.Thr.V ¹ | μg/Kg | Od.Thr.V ¹ | μg/Kg | Od.Thr.V ¹ |
| 1-πεντεν-3-όλη | 400 | 0,276 | 0,689*10 ⁻³ | 0,331 | 0,829*10 ⁻³ | 0,272 | 0,681*10 ⁻³ |
| 1-πεντεν-3-όνη | 1,3 | 0,005 | 0,004 | 0,005 | 0,004 | 0,012 | 0,009 |
| Πεντανάλη | 240 | 0,240 | 0,001 | 0,278 | 0,001 | 0,215 | 0,896*10 ⁻³ |
| Εξανάλη | 4,5 | 0,299 | 0,066 | 0,360 | 0,080 | 0,304 | 0,068 |
| Επτανάλη | 0,3 | 0,042 | 0,138 | 0,049 | 0,165 | 0,043 | 0,143 |
| Οκτανάλη | 0,7 | 0,034 | 0,049 | 0,037 | 0,053 | 0,030 | 0,043 |
| Εννεανάλη | 1 | 0,069 | 0,069 | 0,073 | 0,073 | 0,084 | 0,084 |
| Δεκανάλη | 0,1 | 0,008 | 0,076 | 0,007 | 0,067 | 0,013 | 0,128 |
| (E,E)-2,4-εξαδιενάλη | 10 | | | | | | |
| (E,Z)-2,4-επταδιενάλη | 778 | | | | | | |
| (E,E)-2,4-επταδιενάλη | 778 | 0,026 | 0,033*10 ⁻³ | 0,046 | 0,058*10 ⁻³ | 0,050 | 0,065*10 ⁻³ |
| (E,Z)-2,6-εννεαδιενάλη | 0,01 | | | | | | |
| 2,4-οκταδιενάλη | 0 | | | | | | |
| 2,4-δεκαδιενάλη | 0,07 | 0,009 | 0,136 | 0,011 | 0,160 | 0,011 | 0,163 |
| 2-πεντανόνη | 70000 | | | | | | |
| 2,3-βουτανοδιόνη | 15 | 1,320 | 0,088 | 1,228 | 0,082 | 0,411 | 0,027 |
| 2,3-πεντανοδιόνη | 30 | 0,182 | 0,006 | 0,155 | 0,005 | 0,142 | 0,005 |
| 2,3-εξανοδιόνη | 0 | | | | | | |
| 2,3-οκτανοδιόνη | 0 | | | | | | |
| 3-υδροξυ 2-βουτανόνη | 800 | 1,301 | 0,002 | 0,657 | 0,821*10 ⁻³ | 0,839 | 0,001 |
| (E) 2-βουτενάλη | 0 | 0,052 | | 0,050 | | 0,000 | |
| (E) 2-πεντενάλη | 300 | 0,070 | 0,233*10 ⁻³ | 0,074 | 0,247*10 ⁻³ | 0,067 | 0,224*10 ⁻³ |
| (Z) 2-εξενάλη | 17 | 0,023 | 0,001 | 0,023 | 0,001 | 0,025 | 0,001 |
| (Z) 2-επτενάλη | 13 | | | | | | |
| (E) 2-οκτενάλη | 9,1 | | | | | | |
| (E) 2-δεκενάλη | 0,4 | | | | | | |
| 2-μεθυλ βουτανάλη | 0,04 | | 0,000 | | 0,000 | | 0,000 |
| 3- μεθυλ βουτανάλη | 0,06 | 0,294 | 4,902 | 0,262 | 4,366 | 0,238 | 3,960 |
| 2-αιθυλ φουράνιο | 0,0023 | 0,127 | 55,163 | 0,155 | 67,356 | 0,123 | 53,409 |
| 1-Πεντανόλη | 120 | | | | | | |
| 2-Πεντεν-1-όλη (E) | 0 | | | | | | |
| 2- Πεντεν-1-όλη (Z) | 0 | | | | | | |
| 1-Οκτεν-3-όλη | 10 | | | | | | |
| 1-Επτανόλη | 3 | | | | | | |
| 1-Οκτανόλη | 110 | | | | | | |
| 1-Εννεανόλη | 50 | | | | | | |
| 3-Πεντανόλη | 0 | 0,033 | | 0,034 | | 0,041 | |
| 4-Επτενάλη (Z) | 0,04 | 0,044 | 1,092 | 0,044 | 1,105 | 0,053 | 1,331 |
| Βενζαλδεΰδη | 350 | 0,310 | 0,886*10 ⁻³ | 0,258 | 0,738*10 ⁻³ | 0,285 | 0,813*10 ⁻³ |
| Αιθυλοβενζόλιο | 730 | 0,008 | 0,011*10 ⁻³ | 0,008 | 0,011*10 ⁻³ | 0,007 | 0,010*10 ⁻³ |
| Φουρφουράλη | 3000 | 0,049 | 0,016*10 ⁻³ | 0,039 | 0,013*10 ⁻³ | 0,034 | 0,011*10 ⁻³ |
| Διμεθυλ δισουλφίδιο | 0,33 | | | | | | |
| Σύνολο | | | 61,795 | | 73,522 | | 59,376 |

¹ Od. Thr. V. = ppb ένωσης / Od. Thr. ένωσης εκφρασμένη σε ppb στους 20°C σε υδατικό περιβάλλον

Παράρτημα 2.4: Od.Thr.V. πτητικών ενώσεων που χαρακτηρίζουν κρανιούς στο πείραμα οργανοληπτικής και χημικής αξιολόγησης της ποιότητας εκτρεφόμενων κρανιών (*Argyrosomus regius*) διαφορετικού μεγέθους.

| Επίδραση του Μεγέθους | | | | | | | |
|------------------------------|---|--------|------------------------|---------|------------------------|--------|------------------------|
| Κρανιός (n=3) | Od.Thr. σε νερό (20 °C) μg/Kg (ppb) | Μικρός | | Μεγάλος | | Άγριος | |
| | | μg/Kg | Od.Thr.V ¹ | μg/Kg | Od.Thr.V ¹ | μg/Kg | Od.Thr.V ¹ |
| 1-πεντεν-3-όλη | 400 | 0,563 | 0,001 | 0,817 | 0,002 | 1,1 | 0,003 |
| 1-πεντεν-3-όνη | 1,3 | | 0,000 | | 0,000 | | |
| Πεντανάλη | 240 | 0,206 | 0,001 | 0,195 | 0,811*10 ⁻³ | 0,381 | 0,002 |
| Εξανάλη | 4,5 | 0,153 | 0,034 | 0,174 | 0,039 | 0,61 | 0,136 |
| Επτανάλη | 0,3 | 0,023 | 0,078 | 0,014 | 0,048 | 0,019 | 0,063 |
| Οκτανάλη | 0,7 | 0,031 | 0,045 | 0,021 | 0,031 | 0,046 | 0,066 |
| Εννεανάλη | 1 | 0,104 | 0,104 | 0,057 | 0,057 | 0 | 0,000 |
| Δεκανάλη | 0,1 | | 0,000 | | 0,000 | | |
| (E,E)-2,4-εξαδιενάλη | 10 | | | | | | |
| (E,Z)-2,4-επταδιενάλη | 778 | | | | | | |
| (E,E)-2,4-επταδιενάλη | 778 | 0,057 | 0,074*10 ⁻³ | 0,025 | 0,032*10 ⁻³ | 0,022 | 0,028*10 ⁻³ |
| (E,Z)-2,6-εννεαδιενάλη | 0,01 | | | | | | |
| 2,4-οκταδιενάλη | 0 | | | | | | |
| 2,4-δεκαδιενάλη | 0,07 | | | | | | |
| 2-πεντανόνη | 70000 | | | | | | |
| 2,3-βουτανοδιόνη | 15 | 2,537 | 0,169 | 2,290 | 0,153 | 1,517 | 0,101 |
| 2,3-πεντανοδιόνη | 30 | 0,359 | 0,011 | 0,158 | 0,005 | 0,127 | 0,004 |
| 2,3-εξανοδιόνη | 0 | | | | | | |
| 2,3-οκτανοδιόνη | 0 | | | | | | |
| 3-υδροξυ 2-βουτανόνη | 800 | 0,890 | 0,001 | 0,977 | 0,001 | 1,060 | 0,001 |
| (E) 2-βουτενάλη | 0 | 0,200 | | 0,168 | | 0,099 | |
| (E) 2-πεντενάλη | 300 | 0,163 | 0,543*10 ⁻³ | 0,109 | 0,363*10 ⁻³ | 0,206 | 0,687*10 ⁻³ |
| (Z) 2-εξενάλη | 17 | 0,057 | 0,003 | 0,035 | 0,002 | 0,130 | 0,008 |
| (Z) 2-επτενάλη | 13 | | | | | | |
| (E) 2-οκτενάλη | 9,1 | | | | | | |
| (E) 2-δεκενάλη | 0,4 | | | | | | |
| 2-μεθυλ βουτανάλη | 0,04 | | | | | | |
| 3- μεθυλ βουτανάλη | 0,06 | 0,886 | 14,766 | 0,268 | 4,463 | 0,936 | 15,600 |
| 2-αιθυλ φουράνιο | 0,0023 | 0,236 | 102,642 | 0,173 | 75,217 | 0,235 | 102,174 |
| 1-Πεντανόλη | 120 | | | | | | |
| 2-Πεντεν-1-όλη (E) | 0 | | | | | | |
| 2- Πεντεν-1-όλη (Z) | 0 | 0,000 | | 0,051 | | 0,075 | |
| 1-Οκτεν-3-όλη | 10 | | | | | | |
| 1-Επτανόλη | 3 | | | | | | |
| 1-Οκτανόλη | 110 | | | | | | |
| 1-Εννεανόλη | 50 | | | | | | |
| 3-Πεντανόλη | 0 | 0,042 | | 0,034 | | 0,078 | |
| 4-Επτενάλη (Z) | 0,04 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | | |
| Βενζαλδεΰδη | 350 | 0,195 | 0,558*10 ⁻³ | 0,188 | 0,538*10 ⁻³ | 0,097 | 0,277*10 ⁻³ |
| Αιθυλοβενζόλιο | 730 | 0,011 | 0,014*10 ⁻³ | 0,008 | 0,011*10 ⁻³ | 0,004 | 0,005*10 ⁻³ |
| Φουρφουράλη | 3000 | 0,026 | 0,009*10 ⁻³ | 0,019 | 0,006*10 ⁻³ | 0,002 | 0,001*10 ⁻³ |
| Διμεθυλ δισουλφίδιο | 0,33 | 0,007 | 0,021 | 0,003 | 0,010 | 0,017 | 0,052 |
| Σύνολο | | | 117,879 | | 80,029 | | 118,210 |

¹ Od. Thr. V. = ppb ένωσης / Od. Thr. ένωσης εκφρασμένη σε ppb στους 20°C σε υδατικό περιβάλλον

Παράρτημα 2.5: Od.Thr.V. πτητικών ενώσεων που χαρακτηρίζουν φαγκριά στο πείραμα εποχικής διαφοροποίησης της ποιότητας εκτρεφόμενων φαγκριών (*Red porgy, Pagrus pagrus*, Linnaeus 1758)

| Επίδραση της Εποχικότητας | | | | | | | | | |
|----------------------------------|-------------------------------------|-----------|-----------------------|-----------|-----------------------|----------|-----------------------|--------|-----------------------|
| Φαγκρί (n=3) | Od.Thr. σε νερό (20 °C) μg/Kg (ppb) | ΚΑΛΟΚΑΙΡΙ | | ΦΘΙΝΟΠΩΡΟ | | ΧΕΙΜΩΝΑΣ | | ΑΝΟΙΞΗ | |
| | | μg/Kg | Od.Thr.V ¹ | μg/Kg | Od.Thr.V ¹ | μg/Kg | Od.Thr.V ¹ | μg/Kg | Od.Thr.V ¹ |
| 1-πεντεν-3-όλη | 400 | 0,35 | 0,87*10 ⁻³ | 0,19 | 0,46*10 ⁻³ | 0,26 | 0,65*10 ⁻³ | 0,34 | 0,86*10 ⁻³ |
| 1-πεντεν-3-όνη | 1,3 | | 0,00 | | 0,00 | | 0,00 | | 0,00 |
| Πεντανάλη | 240 | 0,19 | 0,77*10 ⁻³ | 0,19 | 0,81*10 ⁻³ | 0,22 | 0,91*10 ⁻³ | 0,20 | 0,85*10 ⁻³ |
| Εξανάλη | 4,5 | 0,31 | 0,696 | 0,23 | 0,051 | 0,21 | 0,046 | 0,24 | 0,054 |
| Επτανάλη | 0,3 | 0,07 | 0,224 | 0,06 | 0,196 | 0,06 | 0,190 | 0,05 | 0,177 |
| Οκτανάλη | 0,7 | 0,04 | 0,051 | 0,04 | 0,058 | 0,02 | 0,025 | 0,03 | 0,050 |
| Εννεανάλη | 1 | 0,10 | 0,096 | 0,11 | 0,112 | 0,09 | 0,085 | 0,11 | 0,107 |
| Δεκανάλη | 0,1 | 0,00 | 0,037 | 0,00 | 0,015 | 0,00 | 0,019 | 0,01 | 0,131 |
| (E,E)-2,4-εξαδιενάλη | 10 | | | | | | | | |
| (E,Z)-2,4-επταδιενάλη | 778 | | | | | | | | |
| (E,E)-2,4-επταδιενάλη | 778 | 0,03 | 0,04*10 ⁻³ | 0,05 | 0,06*10 ⁻³ | 0,05 | 0,06*10 ⁻³ | 0,07 | 0,09*10 ⁻³ |
| (E,Z)-2,6-εννεαδιενάλη | 0,01 | | | | | | | | |
| 2,4-οκταδιενάλη | 0 | | | | | | | | |
| 2,4-δεκαδιενάλη | 0,07 | 0,02 | 0,258 | 0,01 | 0,147 | 0,01 | 0,077 | 0,01 | 0,174 |
| 2-πεντανόνη | 70000 | | | | | | | | |
| 2,3-βουτανοδιόνη | 15 | 1,68 | 0,112 | 1,97 | 0,131 | 1,61 | 0,108 | 2,57 | 0,172 |
| 2,3-πεντανοδιόνη | 30 | 0,10 | 0,003 | 0,14 | 0,005 | 0,18 | 0,006 | 0,26 | 0,009 |
| 2,3-εξανοδιόνη | 0 | | | | | | | | |
| 2,3-οκτανοδιόνη | 0 | 0,01 | | 0,01 | | 0,01 | | 0,04 | |
| 3-υδροξυ 2-βουτανόνη | 800 | 1,81 | 0,002 | 1,71 | 0,002 | 1,54 | 0,002 | 2,45 | 0,003 |
| (E) 2-βουτενάλη | 0 | 0,10 | | 0,08 | | 0,09 | | 0,11 | |
| (E) 2-πεντενάλη | 300 | 0,15 | 0,50*10 ⁻³ | 0,14 | 0,48*10 ⁻³ | 0,12 | 0,39*10 ⁻³ | 0,14 | 0,47*10 ⁻³ |
| (Z) 2-εξανάλη | 17 | 0,05 | 0,003 | 0,05 | 0,003 | 0,05 | 0,003 | 0,05 | 0,003 |
| (Z) 2-επτενάλη | 13 | | | | | | | | |
| (E) 2-οκτενάλη | 9,1 | 0,01 | 0,001 | 0,00 | 0,48*10 ⁻³ | 0,00 | 0,08*10 ⁻³ | 0,00 | 0,38*10 ⁻³ |
| (E) 2-δεκενάλη | 0,4 | | | | | | | | |
| 2-μεθυλ βουτανάλη | 0,04 | | | | | | | | |
| 3- μεθυλ βουτανάλη | 0,06 | 0,71 | 11,810 | 0,36 | 5,929 | 0,93 | 15,512 | 0,43 | 7,162 |
| 2-αιθυλ φουράνιο | 0,0023 | 0,23 | 99,566 | 0,33 | 142,357 | 0,30 | 128,494 | 0,30 | 131,349 |
| 1-Πεντανόλη | 120 | | | | | | | | |
| 2-Πεντεν-1-όλη (E) | 0 | | | | | | | | |
| 2- Πεντεν-1-όλη (Z) | 0 | | | | | | | | |
| 1-Οκτεν-3-όλη | 10 | | | | | | | | |
| 1-Επτανόλη | 3 | | | | | | | | |
| 1-Οκτανόλη | 110 | | | | | | | | |
| 1-Εννεανόλη | 50 | | | | | | | | |
| 3-Πεντανόλη | 0 | 0,03 | | 0,02 | | 0,04 | | 0,04 | |
| 4-Επτενάλη (Z) | 0,04 | 0,06 | 1,439 | 0,03 | 0,755 | 0,06 | 1,475 | 0,10 | 2,544 |
| Βενζαλδεΐδη | 350 | 0,11 | 0,32*10 ⁻³ | 0,12 | 0,33*10 ⁻³ | 0,15 | 0,44*10 ⁻³ | 0,14 | 0,41*10 ⁻³ |
| Αιθυλοβενζόλιο | 730 | 0,01 | 0,01*10 ⁻³ | 0,01 | 0,02*10 ⁻³ | 0,01 | 0,02*10 ⁻³ | 0,00 | 0,01*10 ⁻³ |
| Φουρφουράλη | 3000 | 0,01 | 0,00 | 0,02 | 0,01*10 ⁻³ | 0,02 | 0,01*10 ⁻³ | 0,02 | 0,01*10 ⁻³ |
| Διμεθυλ δισουλφίδιο | 0,33 | 0,02 | 0,052 | 0,01 | 0,025 | 0,01 | 0,025 | 0,01 | 0,039 |
| Σύνολο | | | 113,730 | | 149,787 | | 146,067 | | 141,977 |

¹ Od. Thr. V. = ppb ένωσης / Od. Thr. ένωσης εκφρασμένη σε ppb στους 20°C σε υδατικό περιβάλλον