



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ, ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ
ΥΔΑΤΙΝΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«Βιοδραστικές ουσίες στους θαλάσσιους οργανισμούς
με εφαρμογές
στην τεχνολογία τροφίμων»**

Αθανάσιος Καρανίκας (1653)

ΒΟΛΟΣ, 2019

**«Βιοδραστικές ουσίες στους θαλάσσιους οργανισμούς με εφαρμογές
στην τεχνολογία τροφίμων»**

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

1. **Δημήτριος Βαφείδης**. Καθηγητής(Δρ.) Βιοποικιλότητα των Θαλάσσιων Βενθικών Ασπονδύλων και άμεση - έμμεση χρηστικότητα τους. Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.**Μέλος**
2. **Ιωάννης Μποζιάρης**, Αναπληρωτής Καθηγητής (M.Sc., Ph.D.) Υγιεινή και Συντήρηση Ιχθυηρών. Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.**Επιβλέπων**
3. **Γεώργιος Γκάφας**, Επίκουρος Καθηγητής (PhD).Μοριακή Βιολογία της Διατήρησης Θαλάσσιων Θηλαστικών και Ιχθυοαποθεμάτων. Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.**Μέλος**

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή μου κ.Μποζιάρη Ιωάννη, την μεταδιδακτορική ερευνήτρια κ.Παρλαπάνη Φωτεινή καθώς και τους υπόλοιπους καθηγητές της Σχολής μου για την πνευματική και ηθική συνεισφορά τους στην υλοποίηση της εργασίας.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η βιβλιογραφική μας επισκόπηση έχει σκοπό να παρουσιάσει το θαλάσσιο περιβάλλον ως μια σημαντική πηγή βιοδραστικών ουσιών, τα οποία με τη σειρά τους αποτελούν μια πολύτιμη πηγή νέων ενώσεων με άμεση επιρροή στον άνθρωπο και στις ανάγκες του.

Πολλά από τα καροτενοειδή που υπάρχουν στους θαλάσσιους οργανισμούς είναι η β-καροτίνη, φουκοξανθίνη, περιδινίνη, διατοξανθίνη, αλλοξανθίνη και ασταξανθίνη.

Τα φύκια θεωρούνται μια βιώσιμη πηγή πρωτεΐνης. Στα ψάρια, η πρωτεϊνική παρουσία συνοψίζεται στην ύπαρξη βιοδραστικών πεπτιδίων.

Ακόμα, οι πολυσακχαρίτες, κυρίως στα φύκια, ανήκουν σε μια μεγάλη κατηγορία βιολογικώς δραστικών ενώσεων, έχοντας σημαντικές δομικές λειτουργίες. Στα ψάρια, οι πολυσακχαρίτες βοηθούν στην ποιοτική βελτίωση του τροφίμου. Οι σημαντικότεροι πολυσακχαρίτες είναι η χιτίνη και η καραγενάνη.

Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA) είναι σημαντικά για την ανθρώπινη υγεία και τη διατροφή. Στα είδη φυτοπλαγκτόν, η παρουσία λιπαρών οξέων ποικίλλει ανάλογα με το είδος, ενώ στα ψάρια είναι έντονη η ύπαρξη εικοσιπεντανοϊκού και δοκοσαεξανοϊκού οξέος.

Οι φαινόλες επίσης επιδρούν γενικότερα στα αναπτυξιακά στάδια του κύκλου ζωής των οργανισμών των θαλασσίων ενδιαιτημάτων.

Τέλος, διάφορες χρωστικές, όπως τα καροτενοειδή, το άγαρ και οι φυκομπιλιπρωτεΐνες χρησιμοποιούνται για τη διαμόρφωση της υφής και άλλων χαρακτηριστικών του τροφίμου.

Λέξεις κλειδιά: ασταξανθίνη, β-καροτένιο, πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, πολυφαινόλες

ABSTRACT

Our bibliographic review aims to present the marine environment as an important source of bioactive substances, which in turn is a valuable source of new compounds with direct influence on humans and their needs.

Many of the carotenoids present in marine organisms are β -carotene, fucoxanthin, perindin, diotoxanthin, aloxanthin and astaxanthin.

Seaweed is considered a viable source of protein. In fish, the protein presence is summarized in the presence of bioactive peptides.

Still, polysaccharides, especially algae, belong to a large class of biologically active compounds, having important structural functions. In fish, polysaccharides help improve the quality of the food. The most important polysaccharides are chitin and carrageenan.

Polyunsaturated fatty acids (PUFAs) are important for human health and nutrition. In the phytoplankton species, the presence of fatty acids varies with species, while the fish are strongly acidified by the presence of docosahexaenoic acid and docosahexaenoic acid.

Phenols also have a more general effect on the developmental stages of the life cycle of marine habitats.

Finally, various dyes, such as carotenoids, agar and phycobiliproteins, are used to shape the texture and other characteristics of the food.

Keywords: astaxanthin, β -carotene, polyunsaturated fatty acids, polyphenols

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
1.1 Μικροφύκη και κυανοβακτήρια.....	5
1.2 <i>Spirulina platensis</i>	6
1.3 Στόχος της εργασίας.....	6
2.ΚΑΡΟΤΕΝΟΕΙΔΗ.....	7
2.1 Ασταξανθίνη.....	9
2.2 β-καροτένιο.....	10
2.3 Μέθοδοι ανίχνευσης	11
3.ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ.....	16
3.1 Μέθοδοι ανίχνευσης	18
4.ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΕΣ.....	20
4.1 Χιτίνη.....	22
4.2 Καρραγενάνη.....	22
4.3 Μέθοδοι ανίχνευσης	23
5.ΛΙΠΙΔΙΑ.....	26
5.1 Δοκοσαεξανοικό οξύ.....	35
5.2 Αραχιδονικό οξύ.....	37
5.3 Μέθοδοι ανίχνευσης	39
6. ΒΡΩΜΟΦΑΙΝΟΛΕΣ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ ΚΑΙ ΣΤΕΡΟΕΙΔΟΓΕΝΕΣΗ.....	45
6.1 Χλωροταννίνες.....	47
6.2 Μέθοδοι ανίχνευσης	48
7.ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗΝ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ.....	50
8.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	59

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η θαλάσσια χλωρίδα και πανίδα είναι εξαιρετικές πηγές βιοενεργών ουσιών με σημαντικά οφέλη και αποτελούν μια πολύτιμη πηγή νέων ενώσεων. Η βιοποικιλότητα του θαλάσσιου περιβάλλοντος και η σχετική χημική ποικιλομορφία συμβάλλουν σε έναν σχεδόν απεριόριστο πόρο αυτών των βιοδραστικών ενώσεων. Οι βιοδραστικές ενώσεις μπορούν να απομονωθούν από διάφορες πηγές, συμπεριλαμβανομένων θαλάσσιων φυτών, ψαριών, μικροοργανισμών, σπόγγων και φυκών.

Συγκεκριμένα, το θαλάσσιο περιβάλλον, λόγω της φαινομενικής βιοποικιλότητας του, είναι πλούσιος φυσικός πόρος πολλών βιολογικά δραστικών ενώσεων όπως πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFAs), στερόλες, πρωτεΐνες, πολυσακχαρίτες, αντιοξειδωτικά και χρωστικές ουσίες. Πολλοί θαλάσσιοι οργανισμοί ζουν σε σύνθετους βιότοπους σε ακραίες συνθήκες και, προσαρμοζόμενοι σε νέα περιβάλλοντα, παράγουν μια ευρεία ποικιλία δευτερογενών βιοενεργών μεταβολιτών που δεν μπορούν να βρεθούν σε άλλους οργανισμούς. Επιπλέον, λαμβάνοντας υπόψη τη μεγάλη ταξινομική ποικιλομορφία των ειδών, οι έρευνες που σχετίζονται με την αναζήτηση νέων βιοενεργών ενώσεων από το θαλάσσιο περιβάλλον μπορούν να συνεχιστούν σε απεριόριστο βαθμό. (Lordan et. al 2011)

Ακόμα, δεδομένου ότι οι ωκεανοί καταλαμβάνουν πάνω από το 70% της επιφάνειας της γης, το υψηλό επίπεδο βιοποικιλότητας τους συνεπάγει ότι θαλάσσια βιοδραστικά συστατικά μπορούν να ληφθούν από διάφορους θαλάσσιους οργανισμούς, φυτά και άλλους χαμηλότερους οργανισμούς. Καθένας οργανισμός είναι μοναδικός ως είδος και

η ζωή και η επιβίωσή του εξαρτάται από διαφορετικές συνθήκες, όπως η αλατότητα, η πίεση, η θερμοκρασία και ο φωτισμός.(Hamed et al. 2015).

Γενικότερα,τα βρώσιμα θαλάσσια φύκια είναι είδη φυτών σε πληθυσμούς της Ανατολικής Ασίας (Ιαπωνία,Κορέα, Κίνα) τακτικά από τα αρχαία χρόνια. Συσσωρεύεται στον οργανισμό μας πολύ υψηλή κατανάλωση ιωδίου,ενώ προκύπτει εξαιρετικά χαμηλό ποσοστό εμφάνισης του καρκίνου του μαστού . Στην Ευρώπη, σε αντίθεση, υπάρχει μια σημαντική έλλειψη ενδιαφέροντος για την κατανάλωσή τους,και κατά συνέπεια η καλλιέργεια αυτοχθόνων φυκών έχει ελάχιστη δημοφιλία.Τα *Undaria pinnatifida* και *Laminaria digitata japonica* (εμπορικές ονομασίες Wakame και Kombu, αντίστοιχα) είναι τα πλέον χρησιμοποιούμενα καφέ φύκια (*Phaeophyceae*) και καταναλώνονται σε μικρές ποσότητες.Τα θαλάσσια φύκια έχουν 10-20 φορές υψηλότερη περιεκτικότητα σε βιταμίνες κυρίως A, D, E, Β-σύμπλοκο και Β12. Οι υδατάνθρακες στα *Phaeophyceae*, που περιέχουν ίνες αλάτων αλγινικών οξέων, λαμιναράνες, φουκάνες και κυτταρίνη, είναι εύπεπτες για τον άνθρωπο. Επίσης,περιέχουν λιγνάνες που μετατρέπονται εύκολα από την εντερική μικροχλωρίδα σε μη στεροειδή οιστρογονικά μόρια. Η περιεκτικότητα σε λιπίδια στα φύκια είναι πολύ χαμηλή, κυμαινόμενη από 1 έως 5% ξηρού βάρους. (Kolb et. al 2004).

Τα πράσινα, καφέ και κόκκινα φύκη περιέχουν διάφορες ανόργανες και οργανικές ενώσεις που είναι σημαντικές για την ανθρώπινη υγεία εξαιτίας της υψηλής θρεπτικής τους αξίας και έχουν σημαντικές θεραπευτικές ιδιότητες για πολλές ασθένειες (φυματίωση,αρθρίτιδα, κρυολογήματα και γρίπη, όγκους κλπ). Η Τυνησία είναι μεταξύ

των ελκυστικών χωρών που συνορεύουν με τη Μεσόγειο Θάλασσα που χαρακτηρίζεται από την αφθονία της βιομάζας και του πληθυσμού των φυκών. (Frikha et. al.,2011)

Τα βιοδραστικά πεπτίδια είναι ειδικά τμήματα πρωτεϊνών τα οποία έχουν πολλές φυσιολογικές λειτουργίες εντός του σώματος και επιπλέον ενεργούν ως πηγές αζώτου και αμινοξέων. Η δυνατότητα παροχής βιοδραστικών πεπτιδίων καθιστά τις πρωτεΐνες ψαριού σημαντικές για τη διατροφή του ανθρώπου και την διατήρηση της υγείας. (Atef M,Ojagh S.,2017) Αυτά τα πεπτίδια έχουν ληφθεί από φύκια, ψάρια, μαλάκια, μαλακόστρακα και θαλάσσια υποπροϊόντα.(Ngo et. al,2012).Ποίικλα θαλάσσια όργανα,όπως το δέρμα, οι μύες, ο σκελετός, τα οστά και άλλα εσωτερικά όργανα χρησιμοποιούνται σήμερα για την απομόνωση ενός αριθμού βιοδραστικών ουσιών. Για παράδειγμα το ψάρι, που είναι μια καλή πηγή ασβεστίου (Ca), και το έντερο ψαριών,το οποίο είναι πηγή ακατέργαστου ενζύμου, είναι φθηνά υλικά για την απομόνωση βιοδραστικών πεπτιδίων. (Atef M,Ojagh S.,2017)

Τα θαλάσσια πεπτίδια έχουν προσελκύσει μεγάλη προσοχή λόγω των σημαντικών τους επιπτώσεων στην προαγωγή της υγείας και στη μείωση του κινδύνου εκδήλωσης ασθενειών.(Ngo et. al,2012)

Οι πολυσακχαρίτες των θαλάσσιων φυκών έχουν μηδενική λιγνίνη και χαμηλή περιεκτικότητα σε κυτταρίνη, γεγονός που τους καθιστά εύκολο να μετατραπούν σε μεθάνιο με διεργασίες αναερόβιας πέψης. Μόνο λίγες έρευνες έχουν αξιολογήσει τη μετατροπή του θαλάσσιου φύκου με αναερόβια βιοδιαχείριση σε μεθάνιο. Οι πρώτες μελέτες σε είδη φυκών,όπως το *Macrosystis pyrifera*, το *Tetraselmis*, το *Gracilaria*

tikvahiae και τα είδη *Hypnea* και *Ulva* ,κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα θαλάσσια φύκια αποτελούν καλές πρώτες ύλες για την αναερόβια διαδικασία πέψης, λόγω των υψηλών ποσοστών μετατρεψιμότητας και της αποτελεσματικότητας τους.(Vergara-Fernandez et. al 2007)

Τα τελευταία χρόνια, επίσης διάφοροι πολυσακχαρίτες απομονωμένοι από τα θαλάσσια φύκια έχουν αποκτήσει αρκετές εφαρμογές σε τρόφιμα,όπως επίσης ιατρικά οφέλη, καλλυντικά και άλλες φαρμακευτικές συνέπειες .(Ngo et. al 2013)

Οι καταναλώσεις τροφίμων όπως φρούτα, λαχανικά και θαλάσσιους οργανισμούς πλούσια σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα,πέρα από την ικανοποίηση των βασικών διατροφικών αναγκών, έχει θεμελιώδη αξία για την προαγωγή της υγείας.(Freitas et. al 2012)

Η πλειοψηφία των υποπροϊόντων των φυκών χρησιμοποιείται προς το παρόν για την παραγωγή ιχθυελαίου,ιχθυαλεύρου,λιπάσματος και ενσιρωμένων ψαριών. Ωστόσο, τα περισσότερα από αυτά τα υποπροϊόντα έχουν οικονομική αξία. Μελέτες επίσης εντόπισαν έναν αριθμό βιοενεργών ενώσεων ,με σκοπό τη χρήση αυτή,όπως μυϊκές πρωτεΐνες, κολλαγόνο και ζελατίνη, το ιχθυελαίο,οστό ψαριού,εσωτερικά όργανα και κελύφη καρκινοειδών.(Kim S.Mendis E,2005)

Επίσης, χρησιμοποιούνται διάφορες μέθοδοι για τον προσδιορισμό χρωστικών φυτοπλαγκτόν που έχουν διάφορα επίπεδα πολυπλοκότητας . Συγκεκριμένα είναι ευρέως χρησιμοποιούμενες απλές φασματοφωτομετρικές μέθοδοι για τις χλωροφύλλες

a, b και c και παράγωγα τους χωρίς Mg και χρωματογραφικές μέθοδοι όπως η χρωματογραφία λεπτής στιβάδας υψηλής απόδοσης και υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης. Οι χρωματογραφικές μέθοδοι διαχωρίζουν μια σειρά χλωροφύλων και καροτενοειδών, τα οποία δρουν ως δείκτες μικροσκοπικής βιομάζας φυτών και ως βιολογικοί δείκτες για όλα τα είδη των φυκιών, καθορίζοντας ταυτόχρονα τις διαδικασίες ανακύκλωσης και τις μετρήσεις παραγωγικότητας. Καμία μέθοδος δεν είναι ιδανική για όλες τις χρωστικές ουσίες. (Wright et al. 1991)

1.1 Μικροφύκη και κυανοβακτήρια

Τα μικροφύκη είναι μικροσκοπικοί φωτοσυνθετικοί οργανισμοί που βρίσκονται τόσο στο θαλάσσιο όσο και στο γλυκό νερό. Έχουν εφαρμογές σε τρόφιμα και ως ζωντανές ζωοτροφές στην υδατοκαλλιέργεια για την παραγωγή δίθυρων μαλακίων, για νεαρά στάδια του θαλασσινού σαλιγκαριού, καρκινοειδών και για το ζωοπλαγκτόν ως τρόφιμα υδατοκαλλιέργειας. Τα Θεραπευτικά συμπληρώματα από μικροφύκη περιλαμβάνουν ένα σημαντικό μερίδιο αγοράς και σε αυτά συμπεριλαμβάνονται ενώσεις όπως β-καροτένιο, ασταξανθίνη, πολυακόρεστο λιπαρό οξύ (PUFA) όπως DHA και EPA και πολυσακχαρίτες όπως β-γλυκάνη. (Priyadarshani I, Rath B., 2012). Πρόσφατα, ερευνητικό ενδιαφέρον επικεντρώθηκε στην παραγωγή βιοκαυσίμων από μικροφύκη. Τα νηματοειδή κυανοβακτήρια φαίνεται να είναι κατάλληλα για καλλιέργεια σε απόβλητα και λύματα, επειδή παράγουν βιομάζα σε ικανοποιητική ποσότητα και μπορούν να συλλεχθούν σχετικά εύκολα λόγω του μεγέθους και της δομής τους. Επιπλέον, η σύνθεση της βιομάζας τους μπορεί να πραγματοποιηθεί σε συνάρτηση με

διάφορους περιβαλλοντικούς και επιχειρησιακούς κανόνες, προκειμένου να παραχθεί βιομάζα με χαρακτηριστικά σκυροδέματος. (Brennan L, Owende P., 2010)

1.2 *Spirulina platensis*

Η *spirulina platensis* είναι πλαγκτονικό κυανοβακτήριο το οποίο ζει και αναπτύσσεται σε τροπικά και υποτροπικά υδάτινα οικοσυστήματα που χαρακτηρίζονται από υψηλά επίπεδα ανθρακικού και όξινου ανθρακικού άλατος και υψηλό pH (μέχρι 11). (Vonshak 1997). Η *Spirulina* μπορεί να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στη διατροφή των ανθρώπων και των ζώων, στην προστασία του περιβάλλοντος μέσω της ανακύκλωσης των λυμάτων και της εξοικονόμησης ενέργειας. Η *Spirulina* είναι πλούσια σε πρωτεΐνες (60-70%), βιταμίνες και ανόργανα συστατικά που χρησιμοποιούνται ως συμπλήρωμα πρωτεΐνης στη διατροφή υποσιτιζόμενων φτωχών παιδιών στις αναπτυσσόμενες χώρες. Ένα γραμμάριο πρωτεΐνης *Spirulina* ισοδυναμεί με ένα κιλό ανάμικτα λαχανικά. (Saranraj, P. Sivasakthi. S 2014)

1.3 Στόχος της εργασίας

Στόχος αυτής της μελέτης είναι η πλήρης ανασκόπηση των βιοδραστικών ουσιών, που ανιχνεύονται σε όλα τα είδη των θαλασσίων οργανισμών και η εφαρμογή τους στην βιομηχανία τροφίμων και η επίδραση τους, θετική ή αρνητική στην ανθρώπινη υγεία.

2.ΚΑΡΟΤΕΝΟΕΙΔΗ

Οι θαλάσσιοι οργανισμοί περιέχουν διάφορα καροτενοειδή που παρουσιάζουν δομική ποικιλομορφία. Πολλά από τα καροτενοειδή που υπάρχουν στους θαλάσσιους οργανισμούς είναι μεταβολίτες β-καροτίνης, φουκοξανθίνης, περιδινίνης, διατοξανθίνης, αλλοξανθίνης και ασταξανθίνης κλπ. Τα καροτενοειδή αυτά συμβάλλουν στην τροφική αλυσίδα καθώς και στις μεταβολικές οδούς.

Ειδικότερα,πολλά θαλάσσια σφουγγάρια είναι έντονα χρωματισμένα λόγω της παρουσίας καροτενοειδών. Τα σφουγγάρια τροφοδοτούν τα φίλτρα και αλληλεπιδρούν συχνά με συμβιωτικούς μικροοργανισμούς όπως τα μικροφύκη ή τα βακτήρια. Τα χαρακτηριστικά καροτενοειδή σε σπόγγους είναι τα αρυλικά καροτενοειδή όπως η ισορενιρατένη , η ρενιρατένη και η ρενιναπουρπουρίνη . Πάνω από είκοσι αρυλικά καροτενοειδή έχουν ερευνηθεί σε σφουγγάρια . Νέες θεικές ενώσεις καροτενοειδών που έχουν μια ακετυλενική ομάδα, που ονομάζεται βασταξανθίνες, ανιχνεύθηκαν στον σπόγγο της θάλασσας *Ianthella basta* .Πρόσφατα απομονώθηκε ένα νέο ακετυλενικό καροτενοειδές από τον θαλάσσιο σπόγγο *Prianos osiros* . Εκτός από τα σφουγγάρια της θάλασσας, τα αρυλικά καροτενοειδή εντοπίζονται και σε συμβιωτικά πράσινα βακτήρια θείου. Με βάση τη δομική ομοιότητα, οι βασταξανθίνες και το ακετυλενικό καροτενοειδές είναι μεταβολίτες της φουκοξανθίνης και προέρχονται από μικροφύκη.

Τα χιτωνόζωα είναι τροφοδοτικά φίλτρων. Πολλοί χιτομόνες είναι φυτοφάγα και τρέφονται με προσκολλημένα φύκη. Τα κύρια καροτενοειδή, που βρίσκονται στο χιτώνα, είναι η λουτεΐνη, η ζεαξανθίνη, η φουκοξανθίνη και οι μεταβολίτες τους .Τα

καροτενοειδή που απαντώνται στα χιτωνόζωα ,όπως και στα διάτομα,είναι επίσης μεταβολίτες της διατοξανθίνης και της αλλοξανθίνης.

Το θαλασσίνο σαλιγκάρι,το *Haliotis discus discus*, και το *Turbo cornutus* ανήκουν στα Γαστερόποδα,είναι φυτοφάγα και τρέφονται με καφέ και κόκκινα φύκη. Αρκετά αποκαροτενοειδή έχουν αναφερθεί σε θαλασσινά σαλιγκάρια. Μια σειρά από 8'-αποκαροτενικές ενώσεις και 8'-αποκαροτενόλες, που παράγονται από β-καροτένιο, λουτεΐνη και ζεαξανθίνη. βρέθηκαν στο *Aplysia kurodai* . Η ασταξανθίνη, η οποία βρίσκεται και σε μικροκαρκινοειδή, βρέθηκε να είναι σε περίσσεια στο κοχύλι *Buccinum bayani*. Τέλος, το *Drupella fragum* προσβάλλει τα κοράλλια.

Στα οστρακόδερμα, η ασταξανθίνη υπάρχει ως καροτενοπρωτεΐνη όπως η κρουστακυανίνη και περιέχει μωβ, μπλε , και κίτρινα χρώματα.Η ασταξανθίνη, η αδονιξανθίνη και η 3-υδροξυκινινενόνη, που έχουν μία 3-υδροξυ-4-οξο-β-τελική ομάδα, σε αρκετά οστρακόδερμα, αποτελούνται από ένα μίγμα οπτικών ισομερών.

Η εχινενόνη είναι ένα πολύ γνωστό καροτενοειδές των γονάδων των αχιών της θάλασσας και είναι ένας οξειδωτικός μεταβολίτης του β-καροτένιου . Πρόσφατα, απομονώθηκαν τέσσερα καροτενοειδή: 4-κετοδεποξυνοξανθίνη , 4-κετο-4'-υδροξυδιατοξανθίνη , 3'-επιγκοβιουσξανθίνη και 7,8- διυδροδιανοξανθίνη ως δευτερεύοντα συστατικά από το είδος *Acanthaster planci* μαζί με τα πρωτεύοντα καροτενοειδή 7,8-διυδροασταξανθίνη, περιδινινόλη και ασταξανθίνη και διάφορα άλλα δευτερεύοντα καροτενοειδή περιλαμβανομένων 7,8,7 ' , 8'-

τετραϋδροασταξανθίνης, διδαμινοξανθίνης, διατοξανθίνης και αλλοξανθίνης. (Maoka 2011)

2.1 Ασταξανθίνη

Η ασταξανθίνη είναι ένα κοκκινωπό συμμετρικό μόριο που αποτελείται από ένα σύντομο δακτύλιο πολυενίου με πολλούς επίσης δακτυλίους. Η κετο (O) και η υδροξυλο ομάδα ,που υπάρχει, συμβάλλει στη διάκρισή της από άλλα καροτενοειδή όπως το β-καροτένιο. Χρησιμοποιείται ευρέως στη βιομηχανία υδατοκαλλιέργειας ως πηγή χρωματισμού. Η ασταξανθίνη συντίθεται φυσικά από μικροφύκη ή φυτοπλαγκτόν. Παράγεται στο κυτταρόπλασμα αυτών των οργανισμών. Το ζωοπλαγκτόν και άλλοι θαλάσσιοι μικροοργανισμοί καταναλώνουν μικροφύκη και ως αποτέλεσμα, η ασταξανθίνη θα συσσωρευτεί στο σώμα τους και θα προκαλέσει ρόδινο-κόκκινο χρώμα στη σάρκα αυτών των ψαριών. Αυτή η χρωστική έχει θεωρηθεί ως σούπερ βιταμίνη E λόγω των φυσικών αντιοξειδωτικών δραστηριοτήτων της.

Οι φυσικές πηγές της ασταξανθίνης είναι πολυάριθμες, αλλά η ασταξανθίνη είναι παρούσα σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις. Η φυσική ασταξανθίνη μπορεί να παραχθεί από το *Haematococcus pluvialis*, το οποίο επίσης αναφέρεται ως *Haematococcus lacustris* ή *Sphaerella lacustris* που ανήκει στην οικογένεια *Haematococcaceae.*, τη *Chlorella zofingiensis*, τα είδη *Chlorococcum sp.* και το ζυμομύκητα *Xanthophyllomyces dendrorhous*. Συγκεκριμένα, τα λιπαρά οξέα εστεροποιούνται στις 3 ή 3 'υδροξυλομάδες και καταλήγουν σε μονο και διεστέρες ασταξανθίνης. Αυτή η εστεροποίηση αυξάνει τη διαλυτότητά τους και τα καθιστά πιο σταθερά στην οξείδωση. Η συνθετική ασταξανθίνη είναι σε ελεύθερη μορφή. Κανονικά, η ασταξανθίνη είναι μια

κόκκινη καροτενοειδής χρωστική ουσία, αλλά όταν σχηματίζει σύμπλοκα με διάφορες πρωτεΐνες, η ιδιότητά της απορρόφησης φωτός αλλάζει και προκαλούνται χρώματα από το πράσινο, το κίτρινο και το μπλε μέχρι το καφέ. Το επίπεδο της ασταξανθίνης στο *Haematococcus* είναι περίπου 1,5-3% του ξηρού βάρους.

Οι οργανισμοί δεν μπορούν να συνθέσουν την ασταξανθίνη και παίρνουν αυτή τη χρωστική ουσία μέσω της διατροφής. Η ικανότητα να συντίθεται η ασταξανθίνη ή η μετατροπή της ασταξανθίνης σε βιταμίνη Α απουσιάζει στα θηλαστικά. Σε αντίθεση με το β-καροτένιο, η ασταξανθίνη δεν έχει δραστηριότητα προβιταμίνης Α στους οργανισμούς. (Udayan et. al 2017)

2.2 Β-καροτένιο

Το β-καροτένιο είναι η καροτενοειδής ένωση που υπάρχει σε αφθονία στην ανθρώπινη διατροφή και βρίσκεται σε όλους τους ανθρώπινους ιστούς συμπεριλαμβανομένου του αίματος. Λόγω της υψηλής βιοδραστηριότητας, χρησιμοποιείται επίσης ευρέως στην ιατρική. Μεταξύ των πολυάριθμων λειτουργιών του β-καροτένιου στο ανθρώπινο σώμα, η πιο σημαντική αναδεικνύεται στην προμητίνη Α, η οποία επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό την εμβρυϊκή ανάπτυξη και την όραση. Θεωρείται ως ένας αναστολέας ορισμένων γονιδίων. Επιπλέον, παρουσιάζει αντικαρκινικές και αντιοξειδωτικές ιδιότητες.

Όμως, η υψηλή βιοδραστηριότητα του β-καροτένιου επιδρά στην ανάπτυξη των μεθόδων παραγωγής του. Το μόριο β-καροτένιο περιέχει δύο β-ιονικούς δακτυλίους. Η διάσπαση της αλυσίδας στη θέση $-C15 = C15'$ παρέχει δύο μόρια ρετινόλης. Η

μετατροπή β-καροτενίου σε ρετινόλη συμβαίνει μέσω παθητικής διάχυσης στον βλεννογόνο του λεπτού εντέρου. Κατά τη διάρκεια της μετατροπής, οι καροτενοπρωτεΐνες σχηματίζονται από το ένζυμο 15,15'-διοξυοξυγενάση. Το β-καροτένιο μετατρέπεται εν μέρει σε βιταμίνη Α, η υπόλοιπη ποσότητα μη μετατρέπομένου β-καροτενίου και εστέρων του αμφιβληστροειδούς ενσωματώνεται σε χυλομικράνια, εκκρίνεται στη λεμφαδένα και στη συνέχεια μεταφέρεται στο ήπαρ.

Η βιολογική δράση καθιστά το β-καροτένιο ως ένα πολύτιμο πρόσθετο τροφίμων. Οι χρωστικές του ιδιότητες του παρέχουν αξιοπρόσεκτη βιομηχανική σημασία. (Bogacz-Radomska L.,Harasym J. 2018)

2.3 Μέθοδοι ανίχνευσης

Ο πρώτος τρόπος που μελετήθηκε για να ληφθούν καροτενοειδή είναι η εκχύλιση από φυτικό υλικό. (Bogacz-Radomska L.,Harasym J. 2018)

Σε άλλη μέθοδο, χρησιμοποιήθηκαν μέθοδοι για την απομόνωση λιπόφιλων χρωστικών από ακατέργαστα εκχυλίσματα φυτικών υλικών (σπανάκι και καλαμπόκι) με χρωματογραφία ρεύματος υψηλής ταχύτητας (HSCCC). Ιδιαίτερη προσοχή δόθηκε στον προσδιορισμό των (παν-E) -λευκίνης και (παν-E) -ζεαξανθίνης. (Aman et. al 2005)

Επιπλέον, έχουν αναπτυχθεί μέθοδοι για την αποτελεσματική εκχύλιση του β-καροτενίου από τα κύτταρα των φυκών. Χρησιμοποιήθηκε μέθοδος υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC) βασισμένη σε στήλη C₈ αντίστροφης φάσης και κινητές φάσεις που περιέχουν πυριδίνη για τον ταυτόχρονο διαχωρισμό των

χλωροφυλλών και των καροτενοειδών. Η μέθοδος είναι αρκετά επιλεκτική για την ανίχνευση ζευγών μονοβινυλίου (Mv) και διβινυλίου (DV) πολικών χλωροφύλων και χλωροφύλλης α (chl a) (χρωστική σήμανσης για τον προκαρυώτη *Prochlorococcus marinus*) από chl a (το ανάλογο Mv). Μόνο το ζεύγος DV chl a / chl b δεν επιλύθηκε. Αυτή η ικανότητα ανάλυσης για χλωροφύλλη επιτυγχάνεται μόνο χρησιμοποιώντας πολυμερικές στήλες C₁₈ σε συνδυασμό με οξική αμμωνία ή κινητές φάσεις που περιέχουν πυριδίνη. Η προτεινόμενη μέθοδος επιτρέπει επίσης τον διαχωρισμό των καροτενοειδών που ανήκουν σε 8 κατηγορίες φυκών, συμπεριλαμβανομένων μερικών κρίσιμων ζευγών χρωστικών ουσιών για προηγούμενες μεθόδους HPLC χρησιμοποιώντας στήλες C₁₈. Η δυνατότητα αποτελεσματικότητας της μεθόδου δοκιμάστηκε χρησιμοποιώντας, ακόμη, 3 συστήματα HPLC. Για την επίτευξη παρόμοιων αποτελεσμάτων με τη μέθοδο HPLC που έχουν διαφορετικούς όγκους αναμονής, απαιτήθηκε μόνο μία μικρή προσαρμογή του προφίλ κλίσης. Η επιλεκτικότητα της μεθόδου προς ορισμένες πρόσφατα ανακαλυφθείσες χρωματοφύλλες και καροτενοειδείς χρωστικές το καθιστά ιδιαίτερα κατάλληλο για τη μελέτη όχι μόνο δειγμάτων πεδίου, αλλά και για επανεξέταση της σύνθεσης χρωστικών ουσιών διάφορων κατηγοριών φυκών (Zapata et. al 2000)

Το β-καροτένιο στο *Dunaliella bardawil* αποτελείται από περίπου ίσες ποσότητες των ισομερών all-trans και 9 cis. Η παρουσία των καροτενοειδών ισομερών μπορεί να οφείλεται σε ισομερισμό κατά τη διάρκεια των μακροχρόνιων διαδικασιών εκχύλισης και καθαρισμού. Ωστόσο, η ανάλυση HPLC έχει προσφέρει σαφείς ενδείξεις για τη φυσική εμφάνιση διαφορετικών ισομερών ξανθοφύλλης και καροτενοειδών στο *D.bardawil*. (Amotz et.al 1987)

Η περιεκτικότητα σε καροτενοειδή του *Dunaliella salina* αυξήθηκε χρησιμοποιώντας διαφορετικές παραμέτρους στρες, όπως η αναστολή κυτταρικού διαχωρισμού (vinblastine), η έλλειψη αζώτου, η υψηλή αλατότητα, η υψηλή ακτινοβολία και η υψηλή θερμοκρασία. Το *Dunaliella salina* καλλιεργήθηκε σε εργαστηριακές συνθήκες. Ως συμπέρασμα, προκύπτει αύξηση της περιεκτικότητας σε β-καροτένιο του *D. salina*. (Pisal D., Lele S 2005).

Η βιοχημική παραγωγή καροτενοειδών περιέχει συγκεκριμένες βιοχημικές διαδικασίες. Πάνω από 600 διαφορετικά καροτενοειδή παράγονται με φυσικό τρόπο σε ένα ευρύ φάσμα βιοσυνθετικών δυνατοτήτων. Λόγω των χαρακτηριστικών της βιοσύνθεσης των καροτενοειδών, η γνώση του βιοσυνθετικού μονοπατιού ενός καροτενοειδούς είναι εφαρμόσιμη και σε άλλα καροτενοειδή. Με τη βιολογική παραγωγή, παράγονται μόνο τα φυσικά υπάρχοντα στερεοϊσομερή. Ακόμα, όλα τα σύγχρονα εργαλεία βιολογικής επεξεργασίας και τεχνολογίας ανασυνδυασμένου DNA μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή καροτενοειδών. Όμως, υπάρχουν επίσης μειονεκτήματα για τη βιοσύνθεση των καροτενοειδών. Τα μίγματα καροτενοειδών παράγονται συχνά σε βιολογικά συστήματα και μπορεί να απαιτούν περαιτέρω επεξεργασία και καθαρισμό. Σε πολλές περιπτώσεις υπάρχουν περιθώρια περαιτέρω έρευνας για βελτίωση. Επίσης, το συνολικό κόστος παραγωγής είναι υψηλότερο από αυτό μιας χημικής συνθετικής διαδικασίας. (Ausich R. 1997).

Τα καροτενοειδή συντίθενται από φωτοσυνθετικούς οργανισμούς, βακτήρια και μύκητες, ενώ γενικά οι οργανισμοί πρέπει να λαμβάνουν τα απαραίτητα καροτενοειδή είτε απευθείας από τη τροφή είτε να τροποποιούν τα πρόδρομα καροτενοειδή μέσω

μεταβολικών αντιδράσεων για να ταιριάζουν στις απαιτήσεις τους. Αυτές οι μεταβολικές τροποποιήσεις είναι κυρίως οξείδωση, αναγωγή, διάσπαση διπλών δεσμών ή εποξυ δεσμών και μετάφραση διπλών δεσμών. Οι φυσιολογικές λειτουργίες των καροτενοειδών ως φωτο-αυτότροφα σχετίζονται με τη φωτοσυνθετική διαδικασία. Τα καροτενοειδή συμμετέχουν στη συλλογή της φωτεινής ενέργειας και τη μετατροπή της σε χλωροφύλλη για φωτοσύνθεση και δρουν ως φωτοπροστατευτικά μέσα τόσο από τη διάχυση της υπερβολικής ενέργειας που μπορεί να βλάψει το μόριο της χλωροφύλλης και την αναστολή του σχηματισμού ROS.(De Carvalho.C.C.S,Caramujo M.,2017)

Πολλές μελέτες επικεντρώνονται στα διάφορα είδη ζυμομυκήτων που συνθέτουν το β-καροτένιο, λόγω του υψηλού ρυθμού ανάπτυξής τους. Η ικανότητα της καροτενογένεσης βρέθηκε σε βακτήρια όπως το *Rhodococcus maris* και το *Rhodobacter sphaeroides*. Τα καροτενοειδή επίσης εξάγονται από πράσινα μέρη φυτών, λουλουδιών, φρούτων, σπόρων, ριζών και βολβών. Το κύριο μειονέκτημα της παραγωγής καροτενοειδών από φυτικά υλικά είναι το υψηλό κόστος, οι γεωγραφικοί καθοριστικοί παράγοντες και η εποχικότητα της πρώτης ύλης. Η μεταγενέστερη επεξεργασία μετά τη βιοσύνθεση είναι το σημαντικό βήμα στην παραγωγή β-καροτένιου. Η κατάλληλη μέθοδος εκχύλισης β-καροτένιου με διάσπαση των κυτταρικών μεμβρανών και απομόνωση της ένωσης από το εσωτερικό του κυττάρου είναι ένα κρίσιμο βήμα για την αποτελεσματική επίτευξη της μεθόδου.(Bogacz-Radomska L.,Harasym J. 2018).

Πίνακας 1. Σημαντικά καροτενοειδή

ΚΑΡΟΤΕΝΟΕΙΔΕΣ	ΕΙΔΟΣ
Βασταξανθίνες	<i>Lanthella basta</i>
Ασταξανθίνη	<i>Haematococcus pluvialis</i>
Ζεαξανθίνη	<i>Aplysia kurodai</i>
Εχινενόνη	Αχινός
7,8- δωδροδιαδιανοξανθίνη	<i>Acanthaster planci</i>

3.ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ

Οι φυτικές πρωτεΐνες είναι επίσης τυπικά πιο εύπεπτες από τις ζωικές πρωτεΐνες, λόγω της υψηλής συγκέντρωσης των αδιάλυτων πολυσακχαριτών τους.

Τα φύκια θεωρούνται γενικά ως βιώσιμη πηγή πρωτεΐνης και είναι συχνά ισοδύναμα με άλλες πηγές πρωτεϊνών, όπως η σόγια και το αυγό. Η έλλειψη εκτεταμένης κατανάλωσης θαλάσσιων φυκιών έχει οδηγήσει σε ελάχιστη *in vivo* έρευνα σχετικά με τον ειλεό των φυκών, περιορίζοντας έτσι τη σύγκριση της ποιότητας των πρωτεϊνών μεταξύ διαφορετικών ειδών φυκιών καθώς και με άλλες πηγές πρωτεϊνών. Η τρυπτοφάνη και η λυσίνη είναι περιοριστικά αμινοξέα στα περισσότερα είδη φυκιών. Συγκεκριμένα, η μεθειονίνη, η κυστεΐνη και η λυσίνη είναι περιοριστικά στα καφέ φύκια. Η κυστεΐνη εμφανίζεται συνήθως σε χαμηλές συγκεντρώσεις σε πολλά είδη φυκιών και συχνά δεν είναι ανιχνεύσιμη. Επιπλέον, η λευκίνη και η ισολευκίνη βρίσκονται συχνά σε χαμηλές συγκεντρώσεις σε κόκκινα είδη φυκιών. Το ασπαρτικό οξύ και το γλουταμινικό οξύ αποτελούν σχετικά μεγάλο ποσοστό του συνόλου των αμινοξέων σε πολλά είδη φυκιών, συμβάλλοντας σε μεγάλο βαθμό στη χαρακτηριστική γεύση «umami» που σχετίζεται με τα φύκια. Για παράδειγμα, αυτά τα δύο αμινοξέα έχουν αναφερθεί ότι αντιπροσωπεύουν 22% -44% της ολικής συγκέντρωσης στο *Fucus sp.* και 26% -32% στην *Ulva sp.* (Bleakley S, Hayes M. 2017)

Ειδικότερα, το πρωτεϊνικό κλάσμα των καφέ φυκιών είναι χαμηλό (3 - 15% του ξηρού βάρους) σε σύγκριση με αυτό των πράσινων ή κόκκινων φυκιών (10 - 47% του ξηρού βάρους). Εκτός από το είδος *Undaria pinnatifida* (*wakame*) που έχει πρωτεϊνικό επίπεδο μεταξύ 11 και 24% (ξηρό βάρος), τα περισσότερα καφέ φύκια που

χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία (*Laminaria digitata*, *Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus* και *Himanthalia elongata*) έχουν περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες χαμηλότερη από 15% (κατά ξηρό βάρος). Σε ορισμένα πράσινα φύκια όπως τα είδη που ανήκουν στο γένος *Ulva*, η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες μπορεί να αντιπροσωπεύει μεταξύ 10 και 26% (ξηρό βάρος) του φυτού. Για παράδειγμα, το είδος *Ulva pertusa*, το οποίο καταναλώνεται συχνά στην Ιαπωνία με το όνομα «ao-nori», έχει υψηλό επίπεδο πρωτεϊνών μεταξύ 20 και 26% (ξηρό προϊόν) . Τα υψηλότερα επίπεδα πρωτεϊνών καταγράφηκαν για τα κόκκινα φύκια όπως το *Porphyra tenera* (47% ξηρής μάζας) και το *Palmaria palmata* (35% της ξηρής μάζας).(Fleurence J.1999)

Τέλος, οι πρωτεΐνες των ψαριών αποτελούνται από μικρά πεπτίδια, στα οποία υπάρχει πλήρη αλληλουχία πρωτεϊνών. Τα βιοδραστικά πεπτίδια είναι ανενεργά ή λανθάνοντα στην μητρική πρωτεΐνη αλλά ενεργοποιείται η δραστηριότητά τους μετά από πρωτεολυτική πέψη. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται στην πρωτεολυτική πέψη των μητρικών πρωτεϊνών περιλαμβάνουν την υδρόλυση με πεπτικά ένζυμα, φυτικές και βακτηριακές πρωτεάσες και με μικροβιακή ζύμωση.

Τα βιοδραστικά πεπτίδια συνήθως αποτελούνται από κατάλοιπα 3-20 αμινοξέων. Τα πεπτίδια αυτά εμφανίζουν διάφορες βιολογικές δραστηριότητες όπως αντιοξειδωτική, αντιμικροβιακή και ανασταλτική δράση μετατροπής της αγγειοτασίνης-I, καθώς επίσης αναστολή της μετάστασης του καρκίνου και ανοσοδιεγερτική δραστηριότητα. Μια μεγάλη ποσότητα διπεπτιδίων που περιέχουν ιστιδίνη, καρνοσίνη (β-αλανυλιστιδίνη) και ανσερίνη (β-αλανυλ 1-μεθυλιστιδίνη) υπάρχουν στον τόνο, τον σολομό και τα

χέλια. Τα πεπτίδια, επίσης, χρησιμεύουν ως σημαντικά δραστικά συστατικά για διάφορες φαρμακευτικές και καλλυντικές εφαρμογές.

Η ενζυματική υδρόλυση χρησιμοποιείται συχνά για την απομόνωση βιοδραστικών πεπτιδίων από θαλάσσιους οργανισμούς και προϊόντα αποβλήτων θαλασσινών. Οι συνηθέστερα χρησιμοποιούμενες πρωτεϊνάσες για την υδρόλυση πρωτεϊνών των ψαριών είναι οι : αλκαλάση, χυμοθρυψίνη και πεψίνη. (Venkatesan et. al 2017)

Μία επιπλέον πρόκληση, η οποία είναι ιδιαίτερα σημαντική στην παραγωγή βιοδραστικών πεπτιδίων, είναι τα υψηλά επίπεδα μεταβλητότητας στις πρωτεΐνες των φυκιών. Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες μπορεί να ποικίλει ανάλογα με την εποχή, τη θερμοκρασία και την τοποθεσία στην οποία συλλέγονται τα φύκια. Η σχετική σύνθεση συγκεκριμένων πρωτεϊνών μπορεί επίσης να διαφέρει, αλλάζοντας τις συγκεντρώσεις αμινοξέων και κατά συνέπεια μεταβάλλοντας την απόδοση των επιθυμητών πεπτιδίων. Για παράδειγμα, η ετήσια μελέτη της *P. palmata* στη γαλλική ακτή του Ατλαντικού έδειξε ότι τα επίπεδα πρωτεϊνών ήταν τα υψηλότερα στους χειμερινούς και τους ανοιξιάτικους μήνες, κυμαινόμενοι από 9 έως 25% και κορυφαίους τον Μάιο. Ομοίως, οι πρωτεϊνικές συγκεντρώσεις των *Gracilaria cervicornis* και *S. vulgare* ποικίλλουν ανάλογα με την εποχή, με τα επίπεδα πρωτεϊνών να συσχετίζονται αρνητικά με τη θερμοκρασία και την αλατότητα και θετικά με το άζωτο. Οι διαφορετικές τοποθεσίες συγκομιδής του *U. pinnatifida* στη Νέα Ζηλανδία επηρέασαν επίσης σημαντικά την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και τη σύνθεση αμινοξέων. (Bleakley S, Hayes M. 2017)

3.1 Μέθοδοι ανίχνευσης

Οι πρωτεΐνες των φυκών εξάγονται συμβατικά με υδατικές, όξινες και αλκαλικές μεθόδους, ακολουθούμενες από αρκετούς κύκλους φυγοκέντρησης και ανάκτησης χρησιμοποιώντας τεχνικές όπως η υπερδιήθηση, η καθίζηση ή η χρωματογραφία. Οι μέθοδοι χημικής εκχύλισης, όπως οι επεξεργασίες με δύο φάσεις οξέος και αλκαλίων, ήταν ιδιαίτερα αποτελεσματικές για την εκχύλιση πρωτεϊνών από τα *Ascophyllum Nodosum*, *Ulva spp.* και *L. digitata*

Αντιθέτως, οι μέθοδοι εκχύλισης πρωτεϊνών που χρησιμοποιούνται στα φύκια μέχρι σήμερα είναι περιορισμένες για εμπορική χρήση με κλιμάκωση. Τα συμβατικά μηχανικά και ενζυματικά πρωτόκολλα για την εκχύλιση πρωτεΐνης μπορούν επίσης να επηρεάσουν την ακεραιότητα των εκχυλισμένων πρωτεϊνών λόγω της απελευθέρωσης πρωτεασών από κυτοσολικά κενοτόπια, ενώ είναι ακόμα επίπονες και χρονοβόρες. Η προεπεξεργασία με τεχνικές διάσπασης των κυττάρων βοηθά στην καταστροφή του σκληρού τοιχώματος τους στα φύκια, αυξάνοντας τη διαθεσιμότητα πρωτεϊνών και άλλων συστατικών υψηλής αξίας, με σκοπό την περαιτέρω εκχύλιση τους. Ορισμένα παραδείγματα μεθόδων πρωτεϊνικής εκχύλισης περιλαμβάνουν την υποβοηθούμενη από υπερήχους εκχύλιση, το παλλόμενο ηλεκτρικό πεδίο και την εκχύλιση με υποβοήθηση μικροκυμάτων. (Bleakley S, Hayes M. 2017). Όμως, απαιτούνται νέες βελτιωμένες μέθοδοι εκχύλισης για διαταραχή κυττάρων.

Πίνακας 2. Σημαντικοί μέθοδοι εκχύλισης

Μέθοδοι
Εκχύλιση με υπερήχους
Παλλόμενο ηλεκτρικό πεδίο
Μικροκύματα

4. ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΕΣ

Γενικά, οι πολυσακχαρίτες ανήκουν σε μια μεγάλη κατηγορία βιοδραστικών ενώσεων οι οποίες μπορούν να απομονωθούν από θαλάσσιους οργανισμούς. Οι υδατάνθρακες, που βρίσκονται ως επί το πλείστον στα κυτταρικά τοιχώματα ως δομικές ενώσεις, συνιστούν περίπου το 75% ξηρού βάρους της φυτικής κοινότητας στους χερσαίους όσο και στους θαλάσσιους πόρους. Οι πολυσακχαρίτες έχουν μεγάλη σημασία για την επέκταση της διάρκειας ζωής για τα επεξεργασμένα τρόφιμα και για την ενίσχυση της ποιότητας και της αποδοχής τους από τους καταναλωτές. Δεδομένου ότι οι θαλάσσιοι μικροοργανισμοί κατοικούν σε κρίσιμες υδρόβιες συνθήκες, παράγουν τη συντριπτική πλειοψηφία των βιολογικά δραστικών χημικών ενώσεων με ποικίλο εύρος νέων λειτουργιών και θεραπευτικών αποτελεσμάτων. Οι έρευνες για την ανακάλυψη νέων φαρμάκων από τους θαλάσσιους πόρους έχουν δώσει επιπλέον ευκαιρίες, με σκοπό την ανακάλυψη ευγενών τύπων πολυσακχαριτών από το θαλάσσιο περιβάλλον.

Οι περισσότεροι από τους θαλάσσιους μικροοργανισμούς παράγουν ετεροπολυσακχαρίτες οι οποίοι αποτελούνται από σύνθετα μόρια υδατανθράκων, που υποστηρίζονται με αλληλουχίες επαναλαμβανόμενων μονάδων διάφορων μονοσακχαριτών συνδεδεμένων με γλυκοσιδικούς δεσμούς σε αυτά. Η εξόζη (γλυκόζη, γαλακτόζη και μαννόζη), πεντόζη (αραβινόζη, ξυλόζη και ριβόζη), η φουκόζη και η ραμνόζη αποτελούν χαρακτηριστικά παραδείγματα μονοσακχαριτών στα θαλάσσια οικοσυστήματα. Στη θαλάσσια βιοτεχνολογία έχουν χρησιμοποιηθεί επίσης ουδέτερες ορολογίες μονοσακχαριτών ή καθαρών σακχάρων για τον καθορισμό και την ανίχνευση

των μονομερών των θαλάσσιων πολυσακχαριτών, ιδιαίτερα κατά την εφαρμογή χρωματογραφικών τεχνικών για την ανίχνευση χημικής δομής των μονοσακχαριτών.

Αναλυτικότερα, η θαλάσσια μακρο-χλωρίδα αντιπροσωπεύει ένα ενδιαφέρον εύρος συγκεντρώσεων πολυσακχαριτών από 4 έως 76% ξηρού βάρους. Έχει αποδειχθεί ότι τα ενδιαιτήματα από θαλάσσια ύδατα παρέχουν διάφορους αξιοπρόσεκτους πολυσακχαρίτες που περιέχουν β-γλυκάνη, λαμιναρίνη, αλγινικό οξύ, γαλακτάνη, καραγενάνη και χιτίνη. Αν και τα θαλάσσια είδη *Ascophyllum*, *Porphyra* και *Palmaria* έχει αναφερθεί ότι διαθέτουν τα υψηλότερα ποσοστά πολυσακχαριτών, τα πράσινα φύκια *Ulva* έχουν δείξει περιεκτικότητα σε πολυσακχαρίτες έως και 65% ξηρού βάρους. Οι πολυσακχαρίτες, ως κύρια συστατικά του κυτταρικού τοιχώματος των φυκιών, αποτελούνται κυρίως από κυτταρίνη και ημικυτταρίνη, ουδέτερα πολυσακχαρίδια τα οποία υποστηρίζουν τη φυσική αντοχή του θαλλού κατά τη διάρκεια της υδάτινης ροής και χρησιμεύουν ως δομικοί φραγμοί στη θαλάσσια μακρο-χλωρίδα κατά την κινητικότητα των θαλλού η οποία είναι συγκριτικά λιγότερο ισχυρή από τα χερσαία φυτά ή τα δέντρα. Τα περιεχόμενα κυτταρίνης και ημικυτταρίνης της μακροχλωρίδας (θαλάσσια φύκια) κυμαίνονται από 2 έως 10% ξηρού βάρους.(Bajrai et al.2014)

Στην ηπαρίνη από τα μαλάκια έχει αποδειχθεί η ύπαρξη κοινών φυσικοχημικών και βιολογικών ιδιοτήτων με τους ιστούς των θηλαστικών (Saravanan και Shanmugam 2011). Η ηπαρίνη από το θαλάσσιο μαλάκιο *Anomalocardia brasiliensis* επέδειξε υψηλότερο βαθμό ικανότητας δέσμευσης σε αντιθρομβίνη III (45%), μοριακό βάρος (27-43kDa) και αντιπηκτική δραστηριότητα (320 IU / mg) από τη ηπαρίνη θηλαστικών.

Περαιτέρω, προτάθηκε ότι η γλυκοζαμινογλυκάνη θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως μία εναλλακτική πηγή ηπαρίνης.

Μια νέα φουκοζυλιωμένη θειική χονδροϊτίνη ή γλυκοζαμινογλυκάνη έχει απομονωθεί από το τοίχωμα του αγγουριού της θάλασσας τις τελευταίες δεκαετίες. Οι γλυκοζαμινογλυκάνες που απομονώνονται από τα αγγούρια της θάλασσας *Stichopus japonicas* και *Ludwigothurea grisea* ανέδειξαν διάφορες αντι-υικές, αντικαρκινικές, αντιθρομβωτικές και αντιπηκτικές επιπτώσεις.(Thangarandi et. al 2016)

4.1 Χιτίνη

Η χιτίνη είναι ένα βιοπολυμερές μακράς αλυσίδας που αποτελείται από υπολείμματα 2-ακεταμιδο-2-δεοξυ- (1-4) -β-u-γλυκοπυρανόζης (μονάδες N-ακετυλο-γλυκοζαμίνης) και βρίσκεται στα κυτταρικά τοιχώματα μυκήτων και μικροοργανισμών, εξωσκελετούς αρthropόδων, επιδερμίδες εντόμων και εσωτερικά κελύφη κεφαλόποδων (Je και Kim 2012). Είναι ενδιαφέρον ότι η εμφάνιση ισόμορφων χιτίνης παρατηρήθηκε σε μύκητες, αρthropόδα και μαλάκια με τη μορφή κοκκίων, φύλλων ή σκονών (Khor 2001). Τα ικριώματα, με βάση τη χιτίνη του *Poriferan* (θαλάσσιο σφουγγάρι), παρουσίασαν τρισδιάστατα δίκτυα σωληνίσκων διασυνδεδεμένων ινών στο *Aplysina aerophoba* (Brunner et al., 2009). Η χιτίνη είναι αδιάλυτη στο νερό λόγω της έντονης ενδομοριακής δέσμησης υδρογόνου.(Thangarandi et. al 2016)

4.2 Καρραγενάνη

Η καρραγενάνη ονομάζεται η οικογένεια στην οποία επικρατούν οι υψηλού μοριακού βάρους θειωμένοι πολυσακχαρίτες, που απομονώνονται από κόκκινα φύκια ,και αποτελείται από μονάδες γαλακτόζης και ανυδρογαλακτόζης συνδεδεμένες με γλυκοσιδικούς δεσμούς (Jiao et al., 2011). Γενικά, οι καρραγενάνες ταξινομούνται ως μορφές κ , λ και ι .(Shanmugam and Mody 2000). Η λάμδα-καρραγενάνη που απομονώθηκε από τα κόκκινα φύκια *Gigartina skottsbergii* επέδειξε δραστικότητα έναντι των ζωικών ιών BoHV-1 και SuHV-1 (Diogo et al., 2015). Επίσης, η λάμδα-καρραγενάνη έχει την ικανότητα να δεσμεύει τις γλυκοπρωτεΐνες του ιικού φακέλλου και να παρεμποδίζει τη δέσμευση του ιού στους υποδοχείς κυτταρικής επιφάνειας (Carlucci et al., 1997). Η καρραγενάνη έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως στις βιομηχανίες τροφίμων και καλλυντικών λόγω των εξαιρετικών φυσικών και λειτουργικών ιδιοτήτων της, συμπεριλαμβανομένων της ζελατινοποίησης, της παχύνσεως, της γαλακτωματοποίησης και της σταθεροποιητικής ικανότητας (Necas and Bartosikova 2013).

4.3 Μέθοδοι ανίχνευσης

Χρησιμοποιήθηκαν αρκετές αναλυτικές τεχνικές τα τελευταία 30 χρόνια για τον προσδιορισμό σακχάρων σε δείγματα θαλάσσης.

Συγκεκριμένα, τα διάφορα πρωτόκολλα υδρόλυσης που χρησιμοποιούνται για την εκχύλιση σακχάρων από θαλάσσιους οργανισμούς είναι η βύθιση σωματιδιακής οργανικής ύλης (POM), διαλυμένης οργανικής ύλης (DOM), υπερδιηθημένης διαλυμένης οργανικής ύλης (UDOM) και ιζημάτων. Η ήπια και ισχυρή υδρόλυση παρέχει συγκρίσιμα αποτελέσματα για δείγματα ωκεανού, κυρίως στις POM, DOM και UDOM (εκτός από τα ιζήματα), συμπεριλαμβάνοντας και χρωματογραφικές ή

χρωματομετρικές τεχνικές. Τα περισσότερα από τα επίσημα δεδομένα για το σάκχαρο που λαμβάνονται με χρωματογραφικές τεχνικές σχετίζονται με αιωρούμενη ή βυθισμένη POM και ιζήματα, το οποίο συνεπάγεται περαιτέρω εμπόδια για τα πρωτόκολλα χρωματογραφικής ανίχνευσης.

Τα συχνότερα χρησιμοποιούμενα πρωτόκολλα είναι το θειικό οξύ φαινόλης (PSA), η υδροχλωρική υδραζόνη 3-μεθυλ-2-βενζοθειαζολίνης (MBTH) και η 2,4,6-τριπυριδύλ-s-τριαζίνη (TPTZ). Για μεμονωμένα σάκχαρα, αξιοποιήθηκε ανίχνευση ιονισμού χρωματογραφίας με αέρια χρωματογραφία (GC-FID), σύμπλοκα υγρής χρωματογραφίας-βορικού εστέρα (LC), υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης-παράγωγα αιθυλενοδιαμίνης (HPLC-EDA), υψηλής απόδοσης υγρή χρωματογραφία-παράγωγα παμινοβενζοϊκού οξέος, και υψηλής απόδοσης ανιοντοανταλλακτική χρωματογραφία-παλμική αμπερομετρική ανίχνευση (HPAEC-PAD), με την τελευταία μέθοδο να είναι η ευρύτερα χρησιμοποιούμενη. Μια έρευνα σε 130 δεδομένα αποκάλυψε ότι περισσότερο από το ήμισυ του αναλυόμενου σακχάρου C διαφεύγει χρησιμοποιώντας κυρίως χρωματογραφικές τεχνικές παρά με τις τεχνικές NMR και ¹³C NMR. (Panagiotopoulos C Sempéré R. 2005)

Η χιτίνη και η λαμβανόμενη χιτοζάνη χαρακτηρίστηκαν με στοιχειακή ανάλυση, XRD, NMR, FTIR και θερμοσταθμικές μετρήσεις. (Al Sagheer F.A et al. 2009)

Οι κυριότερες διαδικασίες απομόνωσης υβριδικού μείγματος καρραγενάνης από κόκκινα φύκια είναι: εκχύλιση, τροποποίηση αλκαλίων και κατακρήμνιση. Το πιο αποτελεσματικό μέσο εκχύλισης για καρραγενάνες από τη βιομάζα του *Furcellaria*

lumbricalis-Coccotylus truncatus με σκοπό τον προσδιορισμό απόδοσης, είναι το καθαρό νερό .Η μακροχρόνια αλκαλική εκχύλιση προκαλεί μεγάλες απώλειες λόγω της υποβάθμισης των καρραγενών,αλλά είναι ένα υποχρεωτικό βήμα για την απομόνωση των υψηλής ποιότητας ζελατινοποιημένων γαλακτανών από το στρώμα των κόκκινων φυκών.(Tuvikene et. al 2005)

Πίνακας 3. Θαλάσσιοι πολυσακχαρίτες

ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΕΣ	ΕΙΔΟΣ
Χιτίνη	<i>Poriferan</i>
Καρραγενάνη	<i>Gigartina skottsbergii</i>
Ηπαρίνη	<i>Anomalocardia brasiliiana</i>
Κυτταρίνη	<i>Cladophora</i>

5.ΛΙΠΙΔΙΑ

Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA) είναι σημαντικά για την ανθρώπινη υγεία και τη διατροφή, με συνέπεια να ελκύεται το ενδιαφέρον χημικών, βιοχημικών και βιοτεχνολόγων. Η πηγή έρευνας και πληροφόρησης ήταν μεγάλη.

Ειδικότερα, στα θαλάσσια ετερότροφα βακτήρια, τα οποία είναι άφθονα στα ιζήματα, τα βακτηριακά λιπαρά οξέα είναι συνήθως κορεσμένα (SFA) και μονοακόρεστα (MUFA), που κυμαίνονται από 10 έως 20 άτομα άνθρακα, ενώ τα πολυακόρεστα είναι αρκετά σπάνια. Επιπλέον, τα βακτήρια βαθέων υδάτων και διάφορα βακτηριακά στελέχη όπως το *Pseudomonas* και το *Vibrio*, έχουν αποδειχθεί ότι είναι ικανά να παράγουν (n-3) πολυακόρεστα, ενώ τα κυανοβακτήρια παράγουν πολυακόρεστα με 18 άτομα άνθρακα εστεροποιημένα σε πολικά λιπίδια και δεν βιοσυνθέτουν εικοσιπεντανοϊκό ή δοκοσαεξανοϊκό οξύ. Η παραγωγή εικοσιπεντανοϊκού οξέος διεξήχθη σε ένα διαγονιδιακό θαλάσσιο κυανοβακτήριο που φέρει ένα βασικό πλασμίδιο για τη σύνθεση του. Τα κυανοβακτήρια του γένους *Lyngbya* είναι μια πλούσια πηγή βιοενεργών δευτερογενών μεταβολιτών, συμπεριλαμβανομένων των αμιδίων λιπαρών οξέων. Σε θαλάσσια κυανοβακτήρια, έχει διακριθεί μία σειρά βιολογικά ενεργών μαλιναμιδίων με μεθοξυλιωμένη αλκυλική αλυσίδα.

Οι πρωτογενείς παραγωγοί παρέχουν τα βασικά πρότυπα λιπαρά οξέα στις θαλάσσιες τροφικές αλυσίδες. Τα λιπαρά οξέα των φυκών βιοσυντίθενται στις θυλακοειδείς μεμβράνες των χλωροπλαστών και είναι εστεροποιημένα σε γλυκολιπίδια πλούσια σε (n-3) πολυακόρεστα. Κατά τη διάρκεια της φάσης εκθετικής ανάπτυξης των

ανθών του φυτοπλαγκτού, ο άνθρακας που έχει υποστεί φωτοσύνθεση προορίζεται για την ανάπτυξη και την κατανομή των κυττάρων αντί για τη διατήρηση των λιπιδίων. Είναι γνωστό ότι τα φυτά είναι συνήθως οι μόνοι οργανισμοί που μπορούν να βιοσυνθέσουν τα οξέα 18: 2 (n-6) και 18: 3 (n-3). Τα λιπαρά οξέα και τα κύρια παράγωγά τους (π.χ. αραχιδονικό, εικοσιπεντανοϊκό και δοκοσαεξανοϊκό οξύ) είναι απαραίτητα συστατικά των ετερότροφων οργανισμών. Έτσι, τα φύκια καταλαμβάνουν κεντρική θέση μέσα σε θαλάσσιους τροφικούς ιστούς. Επίσης, υψηλά ποσοστά 16: 1 (n-7) έχουν παρατηρηθεί στα *Bacillariophytes*, όπως επίσης και χαμηλές τιμές σε 18: 5 (n-3). Τα λιπίδια των διατόμων χαρακτηρίζονται από υψηλά επίπεδα εικοσιπεντανοϊκού και απουσία δοκοσαεξανοϊκού οξέος και είναι επίσης πλούσια σε πολυακόρεστα με 16 άνθρακες. Παρόλο που οι έρευνες για απομόνωση και καθαρισμό λιπαρών οξέων έχουν διεξαχθεί κατά κύριο λόγο σε (n-3) πολυακόρεστα, υπάρχουν και άλλα αξιοπρόσεκτα λιπαρά οξέα που δεν είναι εμπορικά προσιτά, όπως τα οξέα 16: 3 (n-4), 16: 2 (n-4) και 16: 2 (n-7), τα οποία απομονώθηκαν ως μεθυλεστέρες με υγρή χρωματογραφία χρησιμοποιώντας πορώδη φάση γραφίτη-άνθρακα.

Κατόπιν, στα *raphidophyte* τα κύρια πολυακόρεστα ήταν εικοσιπεντανοϊκό οξύ και 18: 4 (n-3). Υψηλά επίπεδα ελεύθερων λιπαρών οξέων, ακόμα, παρατηρήθηκαν στα είδη *Fibrocapsa*. Δύο είδη *Pseudonitzschia* επίσης μελετήθηκαν και εμφάνισαν αμφότερες παρόμοιες συνθέσεις λιπαρών οξέων, συμπεριλαμβανομένων των 16: 1 (n-7), 16: 2 (n-4) και εικοσιπεντανοϊκό οξύ ως κύρια ακόρεστα λιπαρά οξέα. Οι συνθέσεις λιπαρών οξέων των μικροφυκών επηρεάζονται από τις μεταβολές στην αλατότητα.

Τα ακόρεστα λιπαρά οξέα σε δύο απομονωμένα στελέχη *Dunaliella* που προέρχονται από τις υπερατλαντικές λίμνες της Ανταρκτικής ήταν τα εξής : 16: 4 (n-3), 18: 3 (n-3), 18: 2 (n-6), 18: 1 (n-9) ,16: 1 (n-7).

Υψηλά επίπεδα δοκοσαεξανοικού οξέος παρατηρούνται στα λιπίδια του *Dinophyceae*, ένα άλλο βασικό συστατικό του θαλάσσιου φυτοπλαγκτόν, μαζί με σημαντικές ποσότητες εικοσιπεντανοικού, 18: 5 (n-3) και 18: 4 (n-3) . Τα VLC (πολύ μακράς αλυσίδας) πολυακόρεστα λιπαρά οξέα ,όπως 28: 7 (n-3) και 28: 7 (n-6) ,έχουν βρεθεί σε μερικούς αυτοτροφικούς και ετεροτροφικούς κατώτερους οργανισμούς όπως μικροφύκη, μύκητες, σπόγγι και βακτηρίδια καθώς και στη ρέγγα της Βαλτικής.Οι περισσότεροι από αυτούς είναι είτε κορεσμένοι είτε μονοσθενείς.

Τα κόκκινα φύκια από τη Θάλασσα Bohai περιείχαν μεγάλες συγκεντρώσεις πολυακόρεστων με 20 άτομα άνθρακα, πρωτίστως εικοσιπεντανοικό και αραχιδονικό οξύ. Η κύρια διαφορά στις συνθέσεις λιπαρών οξέων μεταξύ κόκκινων και καφέ φυκιών ήταν ότι τα τελευταία ήταν πλουσιότερα σε πολυακόρεστα με 18 άτομα άνθρακα, ειδικά σε 18: 4 (n-3) (έως 20,1%). Τα πράσινα φύκη που μελετήθηκαν είχαν το υψηλότερο επίπεδο σε πολυακόρεστα με 18 άτομα άνθρακα, κυρίως 18: 3 (n-3) (20,5-27,2% των συνολικών λιπιδίων) και 18: 4 (n-3),καθώς και 16: 4 (n-3) (13,6-16,2%). Τα κόκκινα φύκια Καλιφόρνιας περιείχαν αραχιδονικό οξύ (5.3-23.4%) και εικοσιπεντανοικό (27.8-45.4%). Τα καστανά φύκια περιείχαν 18: 4 (n-3) (3.6-18.6%) και εικοσιπεντανοικό (3.1-15.5%).

Επιπλέον, οι καλονοειδείς κωπήποδες είναι παραγωγοί σημαντικών λιπαρών οξέων και λιπαρών αλκοολών (από κηροεστέρες). Κυρίως, σε κωπήποδα Αρκτικής και Ανταρκτικής, οι κηροί εστέρες των φυτοφάγων ειδών χαρακτηρίστηκαν από μονοακόρεστα μακράς αλυσού λιπαρά οξέα, όπως τα 20: 1 (n-9) και 22: 1 (n-11), ενώ τα παμφάγα και τα σαρκοφάγα είδη είχαν συνήθως υψηλές σχετικές ποσότητες 18: 1 (n-9).

Στο πελαγικό χιτωνόζωο *Dolioletta gegenbauri* τα πολικά λιπίδια περιείχαν τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα. Συγκεκριμένα η συγκέντρωση του δοκοσαεξανοικού οξέος ήταν μεγαλύτερη από εκείνη του εικοσιπεντανοικού οξέος.

Τα θαλάσσια σφουγγάρια είναι οι πιο πρωτόγονοι πολυκύτταροι οργανισμοί και περιέχουν πολλούς νέους μεταβολίτες, ιδιαίτερα τα γλυκολιπίδια και τα φωσφολιπίδια. Τα σφουγγάρια υπήρχαν στα θαλάσσια οικοσυστήματα από τους αρχαίους χρόνους. Περιέχουν ειδικά δομικά χαρακτηριστικά στις κυτταρικές μεμβράνες τους, τα φωσφολιπιδικά λιπαρά οξέα και τις στερόλες. Επίσης, οι αλληλεπιδράσεις στερόλης-φωσφολιπιδίου θεωρείται ότι παίζουν θεμελιώδη ρόλο στις κυτταρικές μεμβράνες. Τα θαλάσσια σφουγγάρια είναι τροφοδοτικά φίλτρων και κατά συνέπεια μπορούν να συσχετιστούν με μικροοργανισμούς. Συνεπώς, τα συγκεκριμένα λιπαρά οξέα εμφανίζονται ως βιοδείκτες για μικροοργανισμούς.

Ακόμα, μεγάλες ποσότητες τετρακοσαπολυενοϊκών οξέων, δηλαδή 24: 6 (n-3) και 24: 5 (n-6), βρέθηκαν σε διαφορετικές τάξεις της υποκατηγορίας *Octacorallia* των ανθόζωων. Τα γοργονικά δείγματα, που συλλέχθηκαν σε ψυχρότερα νερά, περιείχαν

μεγάλες ποσότητες πολυακόρεστων με μεθυλενικούς δεσμούς, ιδιαίτερα (n-3) και (n-6), σε αντίθεση με δείγματα από θερμότερα νερά. Αυτό θα μπορούσε να οφείλεται στη θερμοκρασία ή στην υψηλή περιεκτικότητα σε εστέρες κεριών. Το αραχιδονικό οξύ είναι ένας πολύ γνωστός πρόδρομος των προστανοειδών ενώσεων. Εξαιτίας του σχετικά χαμηλού περιεχομένου 24: 6 (n-3) (2% του συνόλου λιπαρών οξέων), τα πολυακόρεστα κανονικής δομής με 24 άτομα άνθρακα και πέντε έως έξι cis-διπλούς δεσμούς μεθυλενίου εκπροσωπούνται στις τάξεις *Octacorallia*, *Alcyonaria*, *Gorgonaria*, *Helioporida* και *Pennatularia*. Τρία πρωτότυπα 10-υδροξυδεκαπολυενοϊκά οξέα ανιχνεύθηκαν σε κοράλια βαθέων υδάτων. Μια ανάλυση τεσσάρων δειγμάτων *Gorgonians* από το γένος *Pseudopterogorgia* αποκάλυψε ότι τα κύρια πολυακόρεστα είναι το 18: 3 (n-6) σε μεγάλο βαθμό, αλλά και τα 18: 4 (n-3), αραχιδονικό και δοκοσαεξανοϊκό οξύ και 24: 5 (n-3). Τα λιπαρά οξέα μακράς αλυσίδας 2-υδροξυλίου επίσης εμφανίστηκαν και στους *Gorgonians*, όπως και σε θαλάσσια σφουγγάρια. Η σύνθεση φωσφολιπιδίων των Γοργόνων της Καραϊβικής *Gorgonia mariae* και *Gorgonia ventalina* (*Gorgoniidae*) περιλαμβάνει τα εξής: 14: 0, 16: 0, 18: 3 (n-6), 18: 4 (n-3), 18: 2 (n-6), αραχιδονικό και δοκοσαεξανοϊκό οξύ. Τα *Gorgonians* μοιράζονται ένα παρόμοιο φωσφολιπιδικό προφίλ, καθώς όλα βιοσυνθέτουν τα λιπαρά οξέα 24: 5 (n-6) και 24: 6 (n-3), με το πρώτο να κυριαρχεί. Αρκετά διακλαδισμένα ακόρεστα λιπαρά οξέα εμφανίστηκαν επίσης στους *Gorgonians*. Όλα τα κοράλια του γένους *Eunicea*, κατόπιν, παρουσίασαν παρόμοια σύνθεση φωσφολιπιδίων με ακόρεστες αλκυλικές αλυσίδες από 18 έως 24 άτομα άνθρακα. Η καληδονική γοργόνια *Rumphella aggregata* περιείχε επίσης 24: 5 (n-6) (11%), διενικά λιπαρά οξέα χωρίς μεθυλενικούς δεσμούς, καθώς και σπάνια ακόρεστα λιπαρά οξέα βραχείας διακλαδισμένης αλυσίδας. Επίσης, το 24: 6 (n-3) βρέθηκε στο *Heliopora coerulea*.

Ακόμα, ανιχνεύθηκαν σε αυτό 16: 0 (40-42%) και 18: 3 (n-3) (15-16%). Τα κοράλλια που φέρουν ζοξοτενέλιο στα κύτταρα τους περιέχουν μεγάλες ποσότητες λιπιδίων στους ιστούς τους (24-26% ξηρού βάρους).

Σημαντικές ποσότητες τετρακοσαπολυενοϊκών οξέων όπως 24: 6 (n-3) βρέθηκαν επίσης και στα εχινόδερμα *Ophiuroidea* και *Crinoidea* ,στις συνλεντεράτες , σε θηρευτές τους καθώς και στον αστερία *Ophiura sarsi* .Αυτά τα λιπαρά οξέα έχουν αντι-αλλεργικές ιδιότητες. Επίσης τα είδη αυτά των αστεριών περιέχουν 14% 24: 6 (n-3), 15% εικοσιπεντανοϊκού οξέος και 2,6% δοκοσαεξανοϊκού οξέος . Σε συμβιωτικούς και μη συμβιωτικούς αστερίες στη Σκωτία ,η παράγωγος αλυσίδα και η διακλαδισμένη αλυσίδα λιπαρών οξέων υπήρχαν σε χαμηλή περιεκτικότητα. Τα παλμιτολεϊκά και τα cis-vaccenic οξέα, που επίσης θεωρούνται καλοί δείκτες για τα βακτηρίδια, εμφανίστηκαν σε πολύ υψηλότερες ποσότητες σε συμβιωτικά είδη.

Αρκετά γλυκοσφιγγολιπίδια έχουν ταυτοποιηθεί πρόσφατα σε αγγούρια της θάλασσας, που έχουν α-υδροξυλιωμένες ή μη-υδροξυλιωμένες, κορεσμένες ή μονοενικές αλυσίδες λιπαρών ακυλίων .

Στα χιτωνόζωα *Eudistoma bituminis* και *Cystodytes violatinctus* ,τα πιο άφθονα λιπαρά οξέα ήταν τα κορεσμένα (10 έως 18 άτομα άνθρακα). Το *Cystodytes violatinctus* περιείχε υψηλές ποσότητες ελαϊκού οξέος (20%) και φυτικού οξέος. Η παρουσία φυτικού οξέος έχει ταυτοποιηθεί και στο *Eudistoma bituminis*.

Τα λιπίδια είναι ένα πολύ σημαντικό αποθεματικό τροφίμων, ιδιαίτερα στα ωοκύτταρα των μαλακίων, τα οποία εξασφαλίζουν τη βιωσιμότητα των προνυμφών. Επίσης, τα λιπαρά διενικά οξέα με ασυνεχείς μεθυλενικούς δεσμούς, που δεν υπάρχουν στο φυτοπλαγκτόν, έχουν καταγραφεί σε πολλά είδη μαλακίων. Τα λιπίδια παρέχουν επίσης ενέργεια για ανάπτυξη σε συνθήκες περιορισμένης προσφοράς υδατανθράκων (παρέχουν ενέργεια στα μαλάκια). Το φυτοπλαγκτόν αποτελεί τη μεγαλύτερη πηγή τροφής για τα δίθυρα μαλάκια και περιέχει μεγάλη αναλογία πολυακόρεστων, επειδή η εντατική εκτροφή των διθύρων εξακολουθεί να εξαρτάται από τη μαζική παραγωγή μονοκύτταρων φυκών ειδικά για την καλλιέργεια νεαρών ιχθυδίων. Τα μονοκύτταρα φύκη μπορούν να παρέχουν τη μεγαλύτερη βιομάζα σε ένα εμπορικό εκκολαπτήριο.

Σε βιογεωχημική έρευνα βιοδεικτών λιπαρών οξέων μιας πρώην περιοχής υδατοκαλλιέργειας μύδιου βρέθηκαν υψηλά επίπεδα πολυακόρεστων, τα οποία έδειξαν σημαντική πηγή φυτοπλαγκτού (διατόμια και διφωσφορικά). Συγκεκριμένα, στο μύδι *Mytilus galloprovincialis* τα πολυακόρεστα αναδείχθηκαν ότι είναι η ομάδα με το υψηλότερο ποσοστό (42-49% του συνόλου των λιπαρών οξέων), συμπεριλαμβανομένων του εικοσιπεντανοϊκού και δοκοσαεξανοϊκού οξέος ως κύρια συστατικά. Το ίδιο συμβαίνει και στο *Argopecten purpuratus*. Επιπρόσθετα, τα μύδια της υποπαλιρροιακής ζώνης παρουσίασαν υψηλότερα αρχικά επίπεδα από τα μύδια στις βραχώδεις ακτές σε 14: 0, 16: 0 και εικοσιπεντανοϊκό, εξαιτίας μεγάλης πρόσβασης σε φυτοπλαγκτονική τροφή. Επίσης τα μύδια στις βραχώδεις ακτές υπερείχαν σημαντικά σε σχέση με τα μύδια της υποπαλιρροιακής προέλευσης, όσον αφορά τα λιπαρά οξέα, που έχουν ιδιαίτερα δομικά χαρακτηριστικά, π.χ. 18: 0, δοκοσαεξανοϊκό οξύ και λιπαρά οξέα χωρίς δεσμούς μεθυλενίου με 20 και 22 άνθρακες. Αυτά τα λιπαρά οξέα

χωρίς δεσμούς μεθυλενίου έχουν παρατηρηθεί σε μεγαλύτερες αναλογίες και σε φωσφολιπίδια. Έχουν γίνει έρευνες ακόμα για σύνθεση λιπιδίων, λιπαρών οξέων και στερόλης στο μύδι της Νέας Ζηλανδίας (*Perna canaliculus*) και στο μπλε μύδι της Τασμανίας (*Mytilus edulis*).

Στο *Crassostrea gigas* οι αναλογίες δοκοσαεξανοϊκού οξέος και εικοσιπεντανοϊκού οξέος από ουδέτερα και πολικά λιπίδια στρειδιών που ρυθμίστηκαν τεχνητά ήταν σημαντικά χαμηλότερες από εκείνες που ρυθμίστηκαν φυσιολογικά.

Σε τέσσερις γονάδες ειδών *Patella* παρατηρήθηκαν τα εξής λιπαρά οξέα : 14: 0, 16: 0 και 18: 0, τα μονοακόρεστα 18: 1 (n-7), 18: 1 (n-9), 16: 1 (n-7) και 20: 1 (n-9), καθώς και εικοσιπεντανοϊκό και αραχιδονικό οξύ. Στα αρσενικά *Patella depressa* και *Patella ulysiponensis* εμφανίστηκαν σημαντικά υψηλότερα ποσοστά εικοσιπεντανοϊκού και αραχιδονικού οξέος, ενώ στα γυναικεία φύλα βρέθηκαν υψηλότερα ποσοστά μονοακόρεστων, καθώς και κορεσμένα λιπαρά οξέα.

Τα κύρια λιπαρά οξέα που υπήρχαν στο *Ruditapes decussatus*, ήταν 16: 0, 18: 1 (n-9) και δοκοσαεξανοϊκό οξύ, και σε μικρότερη περιεκτικότητα τα 18: 4 (n-3) και 18: 1 (n-7). Τα εικοσιπεντανοϊκά οξέα ανιχνεύθηκαν σε μικρές ποσότητες. Οι γόννοι που τροφοδοτούνται με μικροφύκη παρουσιάζουν σημαντικά υψηλότερη περιεκτικότητα σε (n-3) πολυακόρεστα και (n-9) λιπαρά οξέα.

Έχει αποδειχθεί ότι η επιτυχία της εκκόλαψης του *Pecten maximus* σχετίζεται με τη λιπιδική κατάσταση των αυγών όταν γεννήθηκε, εξασφαλίζοντας τη βιωσιμότητα των

προνομφών. Τα κυριότερα (n-3) λιπαρά οξέα (κυρίως τα φωσφολιπίδια) έδειξαν μια εποχική διακύμανση που σχετίζεται με τον αναπαραγωγικό κύκλο. Είναι ενδιαφέρουσα η ανίχνευση ενός cis-4,7,10, trans-13-δοκοσατετρανοϊκού οξέος στις θηλυκές γονάδες του *Pecten maximus*. Τα ποσοστά εικοσιπεντανοϊκού και δοκοσαεξανοϊκού οξέος στα συνολικά κλάσματα λιπιδίων και πολικών λιπιδίων μειώθηκαν κατά τη διάρκεια της κατάψυξης του *Pecten maximus* στους -20° C, αλλά αυτά των πολυακόρεστων στο μη πολικό λιπίδιο αυξήθηκαν.

Το υψηλότερο επίπεδο (n-3) πολυακόρεστων (κυρίως εικοσιπεντανοϊκό και δοκοσαεξανοϊκό οξύ) βρέθηκε στον μυ προσαγωγού του *Argopecten purpuratus*. Με βάση παρόμοια στοιχεία, όσον αφορά τη σύνθεση λιπαρών οξέων των τριγλυκεριδίων της θηλυκής γονάδας και του πεπτικού αδένου (π.χ. το υψηλό επίπεδο 14: 0 και 18: 4 (n-3)), αναδείχθηκε η μεταφορά λιπιδίων από τον πλούσιο σε λιπίδια πεπτικό αδένου στην γυναικεία γονάδα. Ένα ιδιαίτερο χαρακτηριστικό των βραγχίων και του μανδύα ήταν η παρουσία υψηλών επιπέδων πλασμαλογόνων (φωσφογλυκερίδια με αλυσίδες 1-αλκενυλίου) μαζί με την παρουσία διμεθυλακετάλων, τα οποία σχηματίζονται με καταλύομενη με οξύ διαμεθυλίωση. Η συμπλήρωση της τροφής του *A. purpuratus* με λιπιδικά γαλακτώματα είχε σαν αποτέλεσμα σημαντική αύξηση της συνολικής περιεκτικότητας σε λιπίδια των αυγών. Τα επίπεδα εικοσιπεντανοϊκού και δοκοσαεξανοϊκού οξέος στα συνολικά και ακαθάριστα λιπίδια των αυγών, σε ζωμό που συμπληρώθηκε με τροφές που περιλάμβαναν τα αντίστοιχα γαλακτώματα, ήταν σημαντικά υψηλότερα από ό, τι στα αυγά από χτένια που τρέφονται αποκλειστικά με φύκια.

Όλοι οι ιστοί του *Illex argentinus* περιείχαν υψηλές συγκεντρώσεις πολυακόρεστων μαζί με κορεσμένα και μονοακόρεστα, π.χ. 16: 0, 18: 0, 18: 1 (η-9), 20: 1, 22: 1, εικοσιπεντανοϊκό και δοκοσαεξανοϊκό οξύ, καθώς και ασυνήθιστα υψηλά επίπεδα λινολεϊκού οξέος (2-3%). Ο πεπτικός αδένας του καλαμαριού είναι πλούσιος σε πολυενοϊκά λιπαρά οξέα, εικοσιπεντανοϊκό και δοκοσαεξανοϊκό οξύ. Αυτός ο ιστός μπορεί να είναι μια φθινή πρώτη ύλη, που όμως δεν μπορεί να γίνει εκμεταλλεύσιμη για παραγωγή πολυακόρεστων.

Η μειωμένη διαθεσιμότητα των σπερμάτων και το χαμηλό ποσοστό επιβίωσης στα εκκολαπτήρια καβουριών αποτελούν μείζονα προβλήματα στην αύξηση της παραγωγής της υδατοκαλλιέργειας τους. Ο ρόλος του εικοσιπεντανοϊκού και δοκοσαεξανοϊκού οξέος στην ανάπτυξη των προνυμφών των καβουριών είναι τεράστιος. Συγκεκριμένα, το εικοσιπεντανοϊκό οξύ είναι αποτελεσματικό στη διατήρηση της επιβίωσης, ενώ το δοκοσαεξανοϊκό οξύ παίζει σημαντικό ρόλο στην επιτάχυνση της περιόδου όπου καταναλώνουν τον εξωσκελετό τους και παράγεται ένα νέο κελύφος στις προνύμφες καβουριών, που χρησιμεύει για την κολύμβηση. Τέλος, τα *Gammarus* συσσωρεύουν το sn-1 μονοενοϊκό και το sn-2 πολυενοϊκό φωσφολιπίδιο λιπαρό οξύ σε μειωμένες θερμοκρασίες για έλεγχο της ρευστότητας της μεμβράνης στο κρύο. (Bergé J., Barnathan G 2005)

5.1 Δοκοσαεξαενοϊκό Οξύ

Το δοκοσαεξανοϊκό οξύ (DHA) είναι ένα μακράς αλυσίδας, ιδιαίτερα ακόρεστο ωμέγα-3 (n-3) λιπαρό οξύ. Έχει 22 άνθρακες στην ακυλική αλυσίδα του, η οποία

περιλαμβάνει 6 διπλούς δεσμούς. Χημικά μπορεί να περιγραφεί ως cis-4,7,10,13,16,19-εικοσιεξανοϊκό οξύ, με τους αριθμούς 4, 7, 10, 13, 16 και 19 να αναφέρονται στα άτομα άνθρακα στην αλυσίδα ακυλίου που φέρουν διπλούς δεσμούς όταν ο καρβοξυλικός ή ο α-άνθρακας μετριέται ως αριθμός 1. Το DHA εμφανίζεται στην ονοματολογία των κοινών λιπαρών οξέων ως 22: 6 n-3 ή 22: 6 n-3, όπου το ω-3 (ή n-3) δείχνει τη θέση του πρώτου διπλού δεσμού στην αλυσίδα ακυλίου. Ο μεθυλ ή ω-άνθρακας μετριέται ως ο αριθμός 1. Μία ονομασία, που σπάνια χρησιμοποιείται, είναι το ερβονικό οξύ. (Calder P.C. 2016)

Ειδικότερα, το δοκοσαεξανοϊκό οξύ βελτιώνει τη ρευστότητα των κυττάρων στη μεμβράνη και μειώνει τη δραστηριότητα των καρκινικών κυττάρων. Αν και ο άνθρωπος μπορεί να συνθέσει δοκοσαεξανοϊκό οξύ από α-λινολενικό οξύ και εικοσαπεντανοϊκό οξύ, μπορεί να ληφθεί συμπληρωματικό δοκοσαεξανοϊκό οξύ που είναι απαραίτητο τη βελτίωση της ανάπτυξης του κεντρικού νευρικού συστήματος, της οπτικής ικανότητας και άλλων παραγόντων υγείας. Στην περίπτωση των ψαριών, η έλλειψη δοκοσαεξανοϊκού οξέος αναδεικνύει την τη μη παροχή διατροφής σε χαμηλή ένταση φωτός, την έλλειψη σχηματισμού κοπαδιών και τη χαμηλή ανάπτυξη ή επιβίωση μακροπρόθεσμα. Σε αντίθεση με τους περισσότερους χερσαίους οργανισμούς, τα θαλάσσια ψάρια δεν μπορούν να συνθέσουν δοκοσαεξανοϊκό οξύ de novo από πρόδρομα μόρια. Για την επιτυχημένη καλλιέργεια ιχθύων, ο ώριμος ιχθύς πρέπει να τροφοδοτείται με τις κατάλληλες ποσότητες δοκοσαεξανοϊκού οξέος για να δημιουργήσει καλή ποιότητα αυγών. Επίσης το θήραμα πρέπει να εμπλουτιστεί με έλαιο που περιέχει δοκοσαεξανοϊκό οξύ. Στο θαλάσσιο οικοσύστημα, τα φύκη και, σε μικρότερο βαθμό, τα βακτήρια, είναι οι σημαντικότεροι παραγωγοί δοκοσαεξανοϊκού οξέος. Δεδομένου ότι η παραγωγή δοκοσαεξανοϊκού οξέος των φυκιών μειώνεται με

ακτινοβολία UVB (280-320 nm), η αύξηση της UVB στην επιφάνεια του ωκεανού μπορεί να έχει αρνητικές επιπτώσεις στην παραγωγή DHA στα ψάρια στην τροφική αλυσίδα. Ορισμένα πελαγικά είδη ψαριών έχουν συμβιωτικά βακτήρια που μπορούν να παράγουν δοκοσαεξανοϊκό οξύ και επομένως πλεονεκτούν σε τέτοιες συνθήκες.(Masuda R. 2003)

5.2 Αραχιδονικό Οξύ

Το αραχιδονικό οξύ , ένα πολυακόρεστο λιπαρό οξύ με 20 άτομα άνθρακα με 4 διπλούς δεσμούς, αποτελεί αναπόσπαστο συστατικό της βιολογικής κυτταρικής μεμβράνης, προσδίδοντάς τη σημαντική ρευστότητα και ευκαμψία. Η παρουσία του συντελεί στην οξυγόνωση, η οποία οδηγεί σε πληθώρα μεταβολιτών που έχουν μεγάλη σημασία για τη σωστή λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος, την προώθηση αλλεργικών φλεγμονών και αύξησης της διάθεσης και όρεξης.(Hanna V. ,Hafez E. 2018)

Το αραχιδονικό οξύ (C22: 6, ω-3) θεωρείται ως πρόδρομος των προσταγλανδινών και πολλών άλλων εικοσανοειδών. Είναι το κύριο συστατικό φωσφολιπιδίου της εγκεφαλικής μεμβράνης, μπορεί να δράσει ως ανοσοκατασταλτικό , και προκαλεί πήξη αίματος και σηματοδότηση κυττάρων . Οι μεταβολίτες του είναι σημαντικοί για τη λειτουργία των σκελετικών μυών και του νευρικού συστήματος. Τα παράγωγα του αραχιδονικού οξέος, ανεξάρτητα από την οξείδωση, παίζουν καθοριστικό ρόλο στις αντιδράσεις του στρες, τον πόνο και το συναίσθημα. Η έλλειψη τους μπορεί να έχει βλαβερές συνέπειες όπως απώλεια μαλλιών, εκφυλισμό λιπώδους ήπατος, αναιμία και μειωμένη γονιμότητα στους ενήλικες. Η ανεπαρκής σύνθεση του σε βρέφη οδηγεί στην

ανάγκη προσθήκης του αραχιδονικού οξέος στη φόρμουλα των νεογνών για την καλύτερη ανάπτυξη και εξέλιξη κυρίως στο κεντρικό νευρικό σύστημα και τα αμφιβληστροειδή . Η σπουδαιότερη πηγή προμήθειας του αραχιδονικού οξέος προέρχεται από το θαλάσσιο ιχθυέλαιο και τους ζωικούς ιστούς . Στην υδατοκαλλιέργεια και το θαλάσσιο οικοσύστημα, είναι το κύριο συστατικό τροφίμων των προνυμφών πολλών υδρόβιων οργανισμών.

Το ψυχρόφιλο βακτήριο *Flavobacterium* παράγαγε αραχιδονικό οξύ σε ποσοστό 1.4-2.7% .

Στα μονοκύτταρα, μη ετεροκυκλικά και ετεροκυκλικά κυανοβακτήρια δεν ανιχνεύθηκε αραχιδονικό οξύ αλλά διαφορετικά λιπαρά οξέα με 18 άτομα άνθρακα (C18: 1, C18: 2, C18: 3, C18: 4). Το *Porphyridium purpureum* είναι ένα μονοκύτταρο μικροφύκος που παράγει σημαντική ποσότητα αραχιδονικού οξέος με ποσοστό μέχρι και 40% του συνόλου των λιπαρών οξέων.

Η *Euglena gracilis* περιέχει αραχιδονικό οξύ που συντέθηκε από λινολειακό οξύ (C18: 2).

Το πράσινο φύκι γλυκού νερού *Parietochloris incisa* θεωρείται η πλουσιότερη πηγή αραχιδονικού οξέος, η οποία αποτελεί το 77% του συνόλου των λιπαρών οξέων.

Επίσης, εντοπίστηκε μικρή ποσότητα αραχιδονικού οξέος στην *Cetraria pseudocomplicata* (5,2%), *Cladonia mitis* (2,3%) και *Nephroma arcticum* (1,7%), σε 8

λειχήνες που συλλέχθηκαν στην Κιργιζία, 1.47% στο *Peltigera canina*, 1.39% στα *Xanthoria sp.*, 2.39% στο *Acarospora gobiensis*, 2.52% στο *Cladonia furcate*, 2.92% στο *Parmelia tinctoria*, 3.43% στο *P. comischadalis*, 3.64% στο *Lecanora fructulosa* και 4.17% στο *Leptogium saturninum*.

Ορισμένα είδη γαρίδων, δίθυρων και abalone είχαν αντίστοιχη ποσότητα αραχιδονικού οξέος με τα προαναφερθέντα, ενώ τα αγγούρια, τα αστερίες και ορισμένα είδη κοραλλιών είχαν υψηλές συγκεντρώσεις αραχιδονικού οξέος (20-30%).(Sanaa et. al 2018)

5.3 Μέθοδοι ανίχνευσης

Η συνολική περιεκτικότητα σε λιπίδια βιολογικών δειγμάτων έχει απασχολήσει πολλές βιοχημικές, φυσιολογικές και διατροφικές μελέτες. Πολλές διαφορετικές μέθοδοι έχουν δημιουργηθεί για τον προσδιορισμό της συνολικής περιεκτικότητας σε λιπίδια, παραδείγματος χάριν Folch et al, Bligh and Dyer και Soxhlet. Η αποτελεσματικότητα μιας μεθόδου εκχύλισης λιπιδίων εξαρτάται από τη χημική φύση των λιπιδίων καθώς και από τον τύπο της συσχέτισης στην οποία εμφανίζονται στο κύτταρο. Η μέθοδος Soxhlet είναι ίσως η πιο κοινή τεχνική που χρησιμοποιείται για την ανίχνευση λίπους από τα τρόφιμα.

Η μέθοδος Bligh και Dyer μπορεί να οδηγήσει στην ανάκτηση περισσότερο από το 94% των συνολικών λιπιδίων. Τα μειονεκτήματα της μεθόδου είναι ότι χρησιμοποιεί πολλούς διαλύτες και μπορεί να υπάρξει πρόβλημα στη διάθεση των αποβλήτων. Η

μέθοδος Bligh και Dyer αναπτύχθηκε με τα διαγράμματα φάσης νερού-μεθανόλης-χλωροφορμίου . Το δείγμα, πρώτα, αναμιγνύεται με μεθανόλη, νερό και χλωροφόρμιο σε συγκεκριμένες αναλογίες και ομογενοποιείται για να δημιουργηθεί ένα μονοφασικό διάλυμα. Στη συνέχεια, η αραίωση με χλωροφόρμιο και νερό παράγει ένα διφασικό σύστημα. Το ανώτερο στρώμα κατασκευάζεται από μεθανόλη και νερό και το κάτω στρώμα είναι χλωροφόρμιο. Η στιβάδα νερού-μεθανόλης αποτελεί τα πολικά συστατικά του διαλύματος, όπου διαλύονται διάφορα συστατικά όπως πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, ελεύθερα λιπαρά οξέα και φωσφολιπίδια. Το στρώμα χλωροφορμίου περιέχει τα μη πολικά συστατικά, όπως τα περισσότερα λιπίδια. Τα πολικά λιπίδια, όπως τα φωσφολιπίδια, διαλύονται σε αυτό το στρώμα. Η χλωροφορμική στιβάδα απομονώνεται από το διφασικό διάλυμα και η περιεκτικότητα σε λιπίδια ταυτοποιείται όταν καθαρίζονται τα λιπίδια .

Η εκχύλιση υγρού-υγρού από ένα σύστημα δύο φάσεων χρησιμοποιεί δύο μη αναμίξιμους διαλύτες και είναι ένα φαινόμενο ισορροπίας που διέπεται από τους νόμους κατανομής. Η εξαγόμενη διαλυμένη ουσία (λιπίδια ή φωσφολιπίδια) διανέμεται μεταξύ των δύο φάσεων. Ένα από τα 2 συστήματα διαλύτη, για παράδειγμα το χλωροφόρμιο, διαλύει τη διαλυμένη ουσία καλύτερα από το άλλο. Η συγκέντρωση της διαλυμένης ουσίας είναι συνεπώς υψηλότερη σε αυτόν τον διαλύτη από ότι στην άλλη φάση, το στρώμα νερό / μεθανόλη. Ο επιταχυνόμενος εξαγνιστής διαλυτών είναι ένα αυτοματοποιημένο σύστημα που εκτελεί εκχυλίσεις. Αξιοποιεί οργανικούς διαλύτες σε υψηλές θερμοκρασίες και ασκεί πίεση για τη διατήρηση του διαλύτη σε υγρή κατάσταση.

Η σύνθεση της λιπιδικής τάξης στο εκχυλισμένο λιπίδιο μπορεί να διαπιστωθεί με ανάλυση Χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας. Η χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) είναι μια μέθοδος διαχωρισμού, η οποία συνθέτει μια υγρή κινητή φάση και μια στατική φάση ενός λεπτού στερεού στρώματος, το οποίο βρίσκεται επάνω σε ένα φύλλο από γυαλί, πλαστικό ή μέταλλο. Η διαδικασία ανάλυσης της TLC περιγράφεται με γενικούς όρους ως εξής: Πρώτον, τα στίγματα του δείγματος τοποθετούνται σε μια διακριτή περιοχή στην πλάκα. Ο διαλύτης του δείγματος εξατμίζεται πριν τοποθετηθεί σε ένα θάλαμο που χρησιμοποιεί τον διαλύτη κινητής φάσης. Οι τριχοειδείς δυνάμεις προκαλούν τη μετακίνηση της κινητής φάσης στην στατική φάση, μεταφέροντας τα συστατικά του δείγματος με μεταβλητή ταχύτητα. Η ταχύτητα καθορίζεται από τις ελκτικές δυνάμεις μεταξύ της κινητής φάσης και των συστατικών, ανάλογα με τον τύπο και τις λειτουργικές ομάδες. Όταν έχει επιτευχθεί ο βέλτιστος διαχωρισμός των συστατικών, η πλάκα TLC απομακρύνεται από τον θάλαμο κινητής φάσης και τα συστατικά ανιχνεύονται οπτικά ή με την χρήση ενός οργάνου του Iatroscan. Το Iatroscan είναι ένα όργανο που συνδυάζει την ανάλυση της χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας και την ποσοτικοποίηση της ανίχνευσης ιονισμού φωτός.

Λεπτομερείς ποσοτικές μετρήσεις λαμβάνονται με HPLC, όπου αποκαλύπτεται τόσο η λιπαρή σύνθεση όσο και οι συγκεντρώσεις της. Η Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (HPLC) είναι μια μέθοδος ανάλυσης, η οποία διαχωρίζει τα συστατικά του δείγματος σε υγρή φάση. Τα σκοπίμως διαχωρισμένα συστατικά σε ένα μείγμα κατανέμονται κατ' αναλογία μεταξύ μιας στατικής φάσης και μιας κινητής φάσης. Η κινητή φάση είναι το υγρό που κινείται μέσω του οργάνου, μεταφέροντας τα εξαρτήματα και η στατική φάση είναι το υλικό στήλης. Ο ανιχνευτής CAD σχηματίζει

σωματίδια που ξηραίνονται και φορτίζονται. Το υγρό HPLC υποβάλλεται σε νεφελοποίηση με αέριο άζωτο και δημιουργούνται σταγονίδια και στο τέλος γίνεται η ανίχνευση.

Ο ποσοτικός προσδιορισμός του οργανικού άνθρακα και του αζώτου (ανάλυση CN) μπορεί να εφαρμοστεί για την ανίχνευση της κυκλοφορίας άνθρακα και αζώτου σε θαλάσσια περιβάλλοντα ή για τη χαρτογράφηση οργανικού άνθρακα στο έδαφος για τις καλλιέργειες, καθώς και για τον προσδιορισμό του αριθμού των φωσφολιπιδίων σε ένα εκχύλισμα. Η βασική αρχή αυτής της μεθόδου είναι η ανάλυση ξηρής καύσης. Χρησιμοποιούνται κατά κύριο λόγο ένας αντιδραστήρας καύσης, μια στήλη αερίου χρωματογραφίας και ένα φασματοφωτόμετρο μάζας. Κατά την εκκίνηση το ήλιο είναι το φέρον αέριο, τα δείγματα πέφτουν και τέλος το ήλιο μετατρέπεται σε οξυγόνο. Το οξυγόνο και τα δείγματα αλληλεπιδρούν σε μια οξειδοαναγωγική αντίδραση και καίγονται στους 1700-1800°C. Το δείγμα διασπάται και οξειδώνεται στις στοιχειακές του συνιστώσες N₂ και CO₂. Τα σύρματα χαλκού υψηλής απόδοσης απορροφούν το υπερβολικό οξυγόνο. Τα εξελιγμένα αέρια, το N₂ και το CO₂, διαχωρίζονται σε στήλη αερίου χρωματογραφίας, και στη συνέχεια ανιχνεύονται με TCD. Η έκπλυση ανόργανων υλικών που δεν περιέχουν ανθρακικό άλας οδηγεί σε υπερβολική συσσώρευση άνθρακα, διότι πραγματοποιείται επιπλέον καύση CO₂ από την ανόργανη ύλη. Ωστόσο, η ανάλυση είναι ανοικτή σε τεχνικά σφάλματα, δεν είναι ιδανική, προβλέπει ότι χρησιμοποιούνται κατάλληλα πρότυπα και ότι τα υποδείγματα που αναλύονται είναι αντιπροσωπευτικά του συνόλου του δείγματος. (Grøgaard H.2011)

Μια μέθοδος για την εξαγωγή των λιπιδικών κλασμάτων πραγματοποιείται με θαλάσσιο και υδρόβιο ζωικό υλικό μέσω εκχύλισης με ακετόνη. Το προκύπτον μη διαλυτό σωματιδιακό κλάσμα υποβάλλεται σε μία επιπλέον εκχύλιση με διαλύτη μία αλκοόλη, κατά προτίμηση αιθανόλη, ισοπροπανόλη ή τ-βουτανόλη ή έναν εστέρα οξικού οξέος, κατά προτίμηση οξικό αιθύλιο για να επιτευχθεί η εκχύλιση του εναπομένου διαλυτού λιπιδικού κλάσματος από το υδρόβιο ζωικό υλικό. Τα υπόλοιπα μη διαλυτά σωματιδιακά περιεχόμενα είναι απαραίτητα, επίσης, να ανακτηθούν, επειδή είναι πλούσια σε πρωτεΐνες και περιέχει μια χρήσιμη ποσότητα ενεργών ενζύμων. (Beaudoin A., Martin. G 1999)

Τέλος, η βιοσυνθετική οδός του αραχιδονικού οξέος είναι γνωστή με επισήμανση της καλλιέργειας φυκών με ραδιενεργούς πρόδρομους (παλμός με [2-14C] οξικό νάτριο), η οποία ενσωματώθηκε σε νέα βιοσυνθετική οδό λιπαρών οξέων, η οποία περιλαμβάνει επιμήκυνση και αποκορεσμό. Με αυτόν τη μέθοδο, συντέθηκαν πολυακόρεστα με 20 άτομα άνθρακα. Σήμανση οξικού άλατος γίνεται και στη σύνθεση και επιμήκυνση των λιπαρών οξέων με 18 και 20 άτομα άνθρακα μετά από σύντομο παλμό 0,5 h, όπως και στο λουθήριο Pavlova. Τα κύρια επισημασμένα λιπαρά οξέα αμέσως μετά τον παλμό ήταν 16: 0, 16: 1 και 18: 1. Κατά τη διάρκεια του βιοσυνθετικού μονοπατιού, το αραχιδονικό οξύ έγινε το δεύτερο με σήμανση λιπαρό οξύ μετά τα 16: 0. Η επισήμανση του ελαϊκού οξέος οδήγησε σε ταχεία μετατροπή του 18: 1 σε 18: 2, 18: 3, 20: 3 n-6 και αραχιδονικό οξύ μέσω της βιοσυνθετικής οδού n-6. Λιπαρά οξέα μικρότερα από 18: 1 δεν είχαν επισημανθεί.

Η παρουσία σημασμένων 18: 1, 18: 2, 18: 3 n-6 και 20: 3 n-6 έδειξε ότι η βιοσυνθετική οδός οδηγεί στη δημιουργία αραχιδονικού και στο *Porphyridium cruentum*. (Sanaa et. al 2018)

Πίνακας 4. Ανίχνευση EPA

ΕΙΔΗ
raphidophyte
Δύο είδη <i>Pseudonitzschia</i>
<i>Ophiura sarsi</i>
<i>Mytilus galloprovincialis</i>
<i>Patella</i>
<i>Ilex argentinus</i>

6.ΒΡΩΜΟΦΑΙΝΟΛΕΣ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ ΚΑΙ ΣΤΕΡΟΕΙΔΟΓΕΝΕΣΗ

Οι βρωμοφαινόλες ανιχνεύθηκαν στις οικογένειες *Ceramiales*, *Delesseriaceae*, *Bonnemaisoniaceae*, *Rhodophyllaceae*, *Corallinaceae* και *Rhodomelaceae*. (Pedersen et. al 1974). Συγκεκριμένα, η 3,5-διβρωμο-ρ-υδροξυβενζυλική αλκοόλη αναφέρθηκε ως συστατικό της *Odonthalia dentata* και της *Rhodomela confervoides*. Οι απομονωθείσες ποσότητες, με βάση το νωπό βάρος του ιστού, ήταν 0,024 και 0,003%, αντίστοιχα. Μία μείζων φαινολική ένωση και στα δύο φύκη ήταν επίσης η 2,3-διβρωμο-4,5-διυδροξυβενζυλική αλκοόλη. (Craigie J. S. , Gruenig D. E. 1967). Επίσης, ταυτοποιήθηκε στο φύκος *Polysiphonia Brodiaei*, η λανοσόλη (Pedersen et. al 1974).

Στο *Calothrix brevissima* ,ανιχνεύθηκαν δύο απλές βρωμιωμένες φαινόλες, η 2,3-διβρωμο-4,5-διυδροξυβενζυλική αλκοόλη (λανοσόλη) και η 3,5-διβρωμο-ρ-υδροξυβενζυλική αλκοόλη καθώς και δύο τριβρωμιωμένες φαινόλες, η 2,3,5-τριβρωμο-ρ-υδροξυβενζυλική αλκοόλη και η 2,3,5-τριβρωμο-ρ-υδροξυβενζαλδεΐδη και ίχνη λανοσόλης. (Pedersén M, DaSilva E. 1973). (Pedersen et. al 1974).

Οι βρωμοφαινόλες έχουν αντιοξειδωτικά, αντιμικροβιακά, αντικαρκινικά, αντιδιαβητικά και αντιθρομβωτικά αποτελέσματα. (Liu et al 2011)

Οι πολυφαινόλες διαδραματίζουν πολλαπλούς ρόλους μέσα στους κύκλους ζωής των φυκών, από τα αρχικά αναπτυξιακά στάδια έως την ανάπτυξη των ενήλικων φυκών. Επιδρούν σε σημαντικό βαθμό στην ανάπτυξη και την αναπαραγωγή, στο σχηματισμό κυτταρικού τοιχώματος, της προσκόλλησης και της παρεμπόδισης. Ένα από τα είδη στα οποία εμφανίζονται αυτές οι επιπτώσεις, είναι το *Hygrophila polysperma* . (Freile-

Pelegrin Y., Robledo D. 2014). Οι πολυφαινόλες δεσμεύουν τον σίδηρο μέσω της ομάδας ορθο-διϋδροξυ κατεχόλης ή τριϋδροξυ-βενζολίου (γαλλουΐλιου) (Lopes et al., 1999) , μέσω της ομάδας καρβονυλίου σε C3 άνθρακα,καθώς και μέσω της υδροξυλομάδας σε C4 άνθρακα των φλαβονοειδών. Οι ταννίνες μπορούν επίσης να σχηματίσουν σύμπλοκο με $Fe + 2 [(Fe + 2) n\text{-ταννικό οξύ}]$, μειώνοντας έτσι την προ-οξειδωτική δράση των μεταλλικών ιόντων.

Η αντιοξειδωτική δράση των φλαβονοειδών διέπεται γενικά από τις χημικές δομές τους. Η αντιοξειδωτική δράση των φλαβονολών βρέθηκε να αυξάνεται καθώς ο αριθμός των φαινολικών υδροξυλικών ομάδων στον B-δακτύλιο αυξήθηκε. Η θετική σχέση μεταξύ της αυξημένης υδροξυλίωσης και της αυξημένης αντιοξειδωτικής δράσης των φλαβονολών έχει επίσης αναφερθεί σε διαφορετικά λιπιδικά συστήματα, όπως χύμα έλαια. (Maqsood et al. 2013)

Η έκκριση ορισμένων μακροφυκικών φαινολικών ενώσεων,όπως Χλωροταννίνες σε καφέ φύκη και κουμαρίνες στο πράσινο μακροφύκος *Dasycladus vermicularis*, θεωρείται επίσης ότι βοηθά στην φωτοπροστασία.

Η αυξημένη σύνθεση χλωροταννινών στο *Ascophyllum nodosum* και το *Fucus distichus* αποτρέπει την παρουσία ασθενειών.

Τέλος , η μειωμένη στεροειδογένεση προκαλεί συσσώρευση χοληστερόλης στις ωοθήκες, σε συνδυασμό με χαμηλότερες τιμές γοναδοσωματικών δεικτών στα κατεργασμένα ψάρια. Αυξημένα επίπεδα ηπατικής χοληστερόλης υποδεικνύουν ότι η

ηπατική δυσλειτουργία στα επεξεργασμένα ψάρια είναι υπεύθυνη για την μειωμένη ωρίμανση των ωοθηκών. (Kumar V., Mukherjee D.,1988)

6.1 Χλωροταννίνες

Οι Χλωροταννίνες σχηματίζονται με τον πολυμερισμό μονάδων μονομερούς φλορογλουκινόλης (1,3,5-τριυδροξυβενζόλιο) και βιοσυντίθενται μέσω του οξικού-μυλονικού μονοπατιού, επίσης γνωστού ως μονοπάτι πολυκετιδίου. (Li et. Al 2011)

Περιέχονται στα φύκη σε ελεύθερη μορφή ή σχηματίζουν σύμπλοκα με διαφορετικά συστατικά των κυτταρικών τοιχωμάτων, όπως τα οξέα αλγινικών αλάτων. Οι Χλωροταννίνες είναι απαραίτητες για την φυσιολογική ακεραιότητα του φύκου και εμπλέκονται σε διάφορους προστατευτικούς μηχανισμούς όπως η χημική άμυνα, η προστασία από οξειδωτικά φαινόμενα, όπως μεταβολές στη διαθεσιμότητα θρεπτικών ουσιών, στην ακτινοβολία UV, αλληλεπιδράσεις με άλλους οργανισμούς ή το αβιοτικό περιβάλλον.(Li et. al 2017)

Οι Χλωροταννίνες που απομονώνονται από τα καστανά φύκια έχουν δείξει ενδιαφέρουσες βιοδραστικές ιδιότητες συμπεριλαμβανομένων των αντικαρκινικών, αντιφλεγμονωδών, αντιοξειδωτικών, αντιαλλεργικών, αντιρυτιδικών, προαγωγικών ιδιοτήτων ανάπτυξης μαλλιών, καθώς και σε καλλυντικά προϊόντα.(Sanjeewa K. 2016)

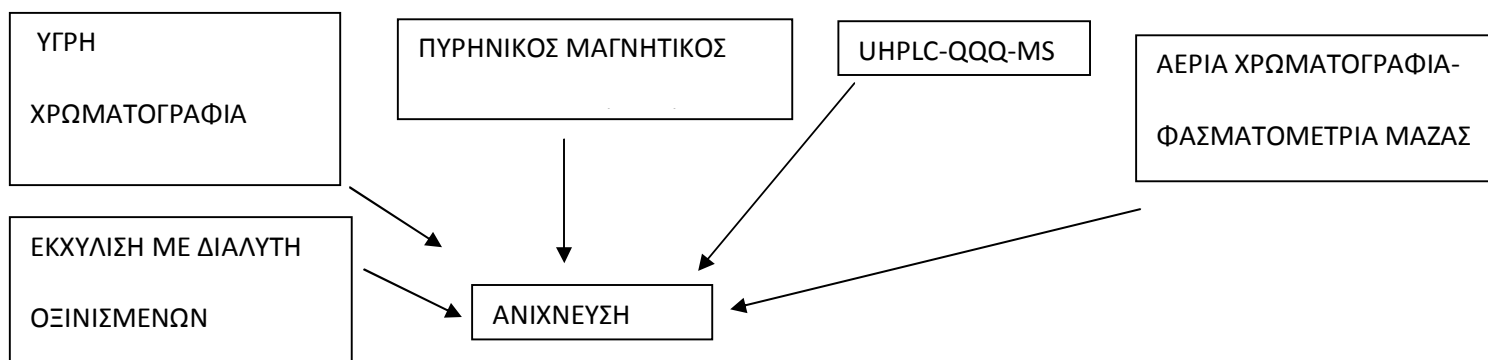
6.2 Μέθοδοι ανίχνευσης

Τα εκχυλίσματα χαρακτηρίζονται χρησιμοποιώντας μια τροποποιημένη μέθοδο UHPLC-QQQ-MS. Η ανάλυση UHPLC-QQQ-MS των εκχυλισμάτων διέκρινε και ταυτοποίησε την περίπλοκη σύνθεση Χλωροταννινών των φουαλόλων, των φουκοφλορεθολών, των φλορεθολών και των εχόλων. (Li et. al 2017). Στο πρωτόκολλο αυτό, τα δείγματα παρασκευάζονται με ενισχυμένη πέψη με μικροκύματα οργανικού διαλύτη, μαζί με εκχύλιση σε στερεή φάση (SPE) και παραγοντοποίηση. Η ανάλυση γίνεται με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας (GC-MS) και με LC-UV και υγρή χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας (LC-MS). (Stuart et al. 2005)

Οι διαλύτες που χρησιμοποιούνται συχνότερα για την εκχύλιση χλωροταννινών από τα φύκια είναι υδατικά μίγματα αιθανόλης και ακετόνης. (Freile-Pelegrin Y., Robledo D. 2014)

Μια άλλη μέθοδος περιλαμβάνει εκχύλιση με διαλύτη οξιτισμένων δειγμάτων, ακολουθούμενη από παραγωγοποίηση σε οξικό φαινύλιο και ανάλυση με αέρια χρωματογραφία συζευγμένη με φασματομετρία μάζας (GC-MS). Ένα εκχύλισμα οξικού η-βουτυλίου εγχύθηκε σε αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας GC-MS. Η συγκεκριμένη μέθοδος είναι επίσης εφαρμόσιμη στην ανάλυση άλλων βιολογικών ιστών για είδη φαινόλης, όπως πενταχλωροφαινόλη. (Kim et. al 2018)

Οι διαλύτες που χρησιμοποιούνται συχνότερα για την εκχύλιση χλωροταννινών από τα φύκια είναι υδατικά μίγματα αιθανόλης και ακετόνης. (Freile-Pelegriñ Y., Robledo D. 2014)



Σχήμα 1. Τεχνικές ανίχνευσης φαινολών

7.ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗΝ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Η τεχνολογία τροφίμων είναι ένας τεράστιος κλάδος,ο οποίος υφίσταται επιρροές από το θαλάσσιο οικοσύστημα.Οι επιρροές αυτές δεν είναι γνωστές σε ευρύ βαθμό στο καταναλωτικό κοινό.

Αναλυτικότερα,οι περισσότεροι άνθρωποι δεν έχουν ιδέα πόσα προϊόντα καθημερινής χρήσης περιέχουν φύκια. Τα φύκια είναι ένα συστατικό σε χιλιάδες τρόφιμα, ζωοτροφές, χρώμα, nutraceutical, ιατρική, είδη προσωπικής φροντίδας, βιολιπάσματα, χημικά και βιοκαύσιμα. Η τεράστια οικονομική σημασία αναδεικνύεται από το γεγονός ότι η αγοραία αξία της λουτεΐνης ήταν περίπου 233 εκατομμύρια δολάρια το 2010 και αναμένεται να φθάσει τα 309 εκατομμύρια δολάρια μέχρι το 2018. Περίπου 35.000 τόνοι μικροφύκους ξηρής μάζας είναι μεταποιημένοι για διατροφή. Μια μεγάλη αγορά για τις ζωοτροφές υδατοκαλλιέργειας θα μπορούσε να αναπτυχθεί από βιομάζα μικροφυκών που περιέχει ω-3 λιπαρά οξέα , αντικαθιστώντας το ιχθυάλευρο και το έλαιο, αλλά το κόστος παραγωγής πρέπει να μειωθεί από τα τρέχοντα \$ 50- \$ 100 σε \$ 1-2 ανά κιλό. Τα φαρμακευτικά προϊόντα είναι ραγδαίως αναπτυσσόμενα στην αγορά, αλλά μέχρι σήμερα υπάρχουν μόνο δύο εγκεκριμένα φαρμακευτικά προϊόντα , με βάση το ω-3, στον κόσμο, τα οποία μαζί αντιπροσωπεύουν το 1,6% της κατανάλωσης με πωλήσεις σχεδόν 1,5 δισεκατομμυρίων δολαρίων.

Επιπλέον,ένα από τα κύρια πλεονεκτήματα της επίδρασης μικροφυκών με καροτενοειδή στη βιομηχανία τροφίμων είναι ότι πολλές άλλες αντιοξειδωτικές ενώσεις που υπάρχουν στη βιομάζα μικροφυκών έχουν θετική επίδραση στην ανθρώπινη υγεία,

αλληλεπιδρόμενα με καροτενοειδή . Τα καροτενοειδή έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί ως συντηρητικά στα καλλυντικά και τα προϊόντα ηλιακής προστασίας .

Τα καινοτόμα παρασκευάσματα διατροφής παρασκευάστηκαν με τη χρήση μικροφυκών όπως *Spirulina*, *Chlorella* και μακροφυκών όπως *pori*, *wakame*, *dulse*, *kombu*, φύκια και συστατικά φυκών όπως το άγαρ και η καρραγενάνη. Όλα τα φύκη δίνουν προϊόντα ευεργετικά για το δέρμα είτε ως μαλακτικά είτε ως αντιοξειδωτικά. (Usmani et.al 2015)

Επίσης η χρήση των καροτενοειδών επεκτάθηκε ευρέως σε πολλές εφαρμογές της αγοράς τροφίμων. Τα *Arthrospira*, *Chlorella*, *Dunaliella*, *Spirulina* και *Aphanizomenon* μπορούν να βρεθούν στην αγορά με τη μορφή χαπιών, δισκίων και καψουλών. Αυτά τα μικροφύκη έχουν επίσης ενσωματωθεί στη διατροφική φόρμουλα ζυμαρικών, σνακ, γλυκών, ποτών και τσίγλας . (Vilchez et. al 2011).

Παρά το γεγονός ότι περισσότερο από το 95% της αγοράς ασταξανθίνης καταναλώνει συνθετικώς παραγόμενη ασταξανθίνη, η ζήτηση των καταναλωτών για φυσικά προϊόντα καθιστά τις συνθετικές χρωστικές πολύ λιγότερο επιθυμητές και παρέχει μια ευκαιρία για την παραγωγή φυσικής ασταξανθίνης από τον *Haematococcus*. (Usmani et.al 2015)

Με την ασταξανθίνη παρουσιάστηκε μεγάλη βελτίωση στο χρώμα των καρκινοειδών με άμεσο αποτέλεσμα την αύξηση του αγοραστικού ενδιαφέροντος. Μειώθηκε η θνησιμότητα, βελτιώθηκε το ανοσοποιητικό, η αντοχή στο στρες , η υγεία, η ανάπτυξη,

η αναπαραγωγή, η αντιοξειδωτική δραστηριότητα και η δραστηριότητα της προβιταμίνης Α. Πιο συγκεκριμένα, μετά από έρευνες αποδείχθηκε ότι όταν οι *Perneus monodon*, *Tiger Prawn* ταισθήκαν με φυσική ασταξανθίνη που προερχόταν από μικροφύκη *Haematococcus pluvialis*, παρουσίασαν βελτίωση στη διακύμανση μεταβολής των επιπέδων της αμμωνίας και στις μεταβολές της θερμοκρασίας, της αλατότητας, σε σχέση με τους οργανισμούς που προσελάμβαναν συνθετική ασταξανθίνη. Η συγκέντρωση καροτενοειδών στο δέρμα τους αυξάνεται παράλληλα με την ανάπτυξη του είδους, αλλά σχετικά μειώθηκε σταδιακά για ψάρια με ραγδαία ανάπτυξη. Επίσης παρουσιάστηκε βελτίωση στο σολομό του ατλαντικού. Αποδείχθηκε επίσης ότι η χρήση ασταξανθίνης βελτίωσε και το δείκτη μετατρεψιμότητας (FRC) της τροφής με ποσοστό αύξησης μέχρι και 30%, το οποίο ποσοστό παρατηρήθηκε και σε ιριδίζουσες πέστροφες. Έχοντας στο μυαλό μας την ανάγκη για υγιεινή και ασφαλή τροφή, οι έρευνες σ' αυτόν τον τομέα επικεντρώθηκαν στην αντικατάσταση της κανθαξανθίνης που χρησιμοποιούνταν μέχρι τώρα με φυσική ασταξανθίνη. Οι Storebakken and Choubert (1991) προσδιόρισαν την επίδραση της θερμοκρασίας του νερού στο μεταβολισμό της ασταξανθίνης στην ιριδίζουσα πέστροφα. Το *Haematococcus pluvialis* παράγεται σε μονάδα εντατικής καλλιέργειας φυκιών και είναι πλούσιο σε ασταξανθίνη. Ακόμη, μετά από έρευνα στην Ιαπωνία παρατηρήθηκε ότι εστέρες ασταξανθίνης αυξάνουν την ποσότητα αλλά και την ποιότητα των αυγών. Τέλος βοηθά σημαντικά στην αναπαραγωγική διαδικασία, ενώ αποτελεί ένα πολύ ισχυρό αντιοξειδωτικό και αντιφλεγμονώδες. (Μουστάκα Ε. 2007)

Παρά το γεγονός ότι η κανθαξανθίνη παρέχει μια αρκετά καλή χρωστική ουσία, η ασταξανθίνη προτιμάται ευρέως έναντι αυτής λόγω της υψηλότερης έντασης χρώματος

(Storebakken and No, 1992). Επιπρόσθετα, η ασταξανθίνη εναποτίθεται αποτελεσματικότερα στους μύες, πιθανώς λόγω της καλύτερης απορρόφησης στο πεπτικό σύστημα (Torrissen, 1989). Οι κατασκευαστές της φυσικής ασταξανθίνης έχουν προσπαθήσει από καιρό να διεισδύσουν στην αγορά της υδατοκαλλιέργειας με ελάχιστη επιτυχία. Τα τελευταία χρόνια, η προσοχή τους έχει μετατοπιστεί προς μια άλλη αναπτυσσόμενη βιομηχανία: την αγορά nutraceuticals (McCoy, 1999). Σήμερα υπάρχει μεγάλη ποικιλία προϊόντων ασταξανθίνης που πωλούνται σε καταστήματα υγιεινής διατροφής με τη μορφή συμπληρωμάτων διατροφής. Τα περισσότερα από αυτά τα προϊόντα κατασκευάζονται από εκχυλίσματα φυκών ή ζυμομυκήτων. Λόγω των υψηλών αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων τους, αυτά τα συμπληρώματα έχουν θετική επίδραση έναντι πολλών ασθενειών. (Higuera-Ciarama et.al 2006).

Ακόμα,όταν τα καρκινοειδή μαγειρεύονται,παράγεται κόκκινο χρώμα επειδή οι πρωτεΐνες θα μετουσιώνονται κατά το μαγείρεμα και θα απελευθερωθεί η ασταξανθίνη από αυτές.(Udayan et. al 2017)

Στη συνέχεια, η βιολογική δραστηριότητα καθιστά το β-καροτένιο ένα πολύτιμο πρόσθετο τροφίμων. Η βιομηχανική σημασία προκύπτει επίσης από τις χρωστικές του ιδιότητες. Στη βιομηχανία τροφίμων, το β-καροτένιο χρησιμοποιείται ως πορτοκαλί-κόκκινη χρωστική ουσία σε πολλά προϊόντα, συμπεριλαμβανομένων των μη θερμικά επεξεργασμένων μη αλκοολούχων ποτών με γεύση τροπικών φρούτων, βρώσιμων λιπών, τυριού, ζαχαροπλαστικής και παγωτού.(Bogacz-Radomska L.,Harasym J. 2018)

Οι θεικοί πολυσακχαρίτες είναι παραπροϊόντα στην παρασκευή αλάτων από βρώσιμα καφέ φύκια και μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πλούσια πηγή φυσικών αντιοξειδωτικών με πιθανή εφαρμογή στη βιομηχανία τροφίμων. Δύο τύποι θεικών πολυσακχαριτών χαρακτηρίζονται με υψηλή αντιπηκτική δραστηριότητα, περιλαμβανομένων των θεικών φουκοϊδανών [Chevolot et al. 1999] και καρραγενάνης από θαλάσσια κόκκινα φύκη [Carlucci et al 1997]. Οι θεικοί πολυσακχαρίτες έχουν πολλά υποσχόμενη δυνατότητα να χρησιμοποιηθούν επίσης ως αντιπηκτικά συστατικά τροφίμων. (Ngo D., Kim S. 2013).

Τα χαμηλού μοριακού βάρους και υψηλού θεικού περιεχομένου συστατικά των *ulvans* έδειξαν βελτιωμένες αντιοξειδωτικές δραστηριότητες (Sun et al 2009).

Η σκόνη ψαριών πρωτεΐνης (FPP) είναι ένα αποξηραμένο προϊόν ψαριών που προορίζεται για κατανάλωση από τον άνθρωπο. Η πρωτεΐνη στη σκόνη είναι πιο συμπυκνωμένη από την αρχική σάρκα ψαριών. Η ποιότητα και η αποδοχή του FPP εξαρτώνται από διάφορους παράγοντες. Η περιεκτικότητα σε λιπαρά του FPP είναι ένα κρίσιμο ζήτημα γιατί όταν οξειδώνεται παράγεται μια ισχυρή και συχνά ταγγισμένη γεύση. Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες του FPP εξαρτάται από τις πρώτες ύλες, την ποσότητα προσθέτων και την περιεκτικότητα σε υγρασία. Η ξηρή πρωτεΐνη ψαριών μπορεί να εφαρμοστεί για την ενίσχυση της τροφής και την παραγωγή προστιθέμενης αξίας και λειτουργικών τροφίμων, ενθαρρύνοντας τη βιομηχανία τροφίμων να εξετάσει διαφορετικές μεθόδους για την ανάπτυξη συστατικών πρωτεϊνών ψαριών από διαφορετικές πρώτες ύλες. (Shaviklo AR 2015)

Επιπροσθέτως, οι μέθοδοι επεξεργασίας τροφίμων μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά τη λειτουργία των βιοδραστικών πεπτιδίων. Οι μέθοδοι φυσικής επεξεργασίας, όπως ο υπέρηχος, η θερμότητα και η ακτινοβολία, μπορεί να επηρεάσουν τη δομή και τις λειτουργίες της πρωτεΐνης. Η επεξεργασία θα μπορούσε να οδηγήσει σε περισσότερες αντιδράσεις και στην πρόκληση της δημιουργίας αλλεργικών ενώσεων. Ωστόσο, οι μέθοδοι επεξεργασίας που μπορούν να μειώσουν τη δραστικότητα ενός πεπτιδίου μπορεί να ενισχύσουν τις δραστηριότητες άλλων. Για την περίπτωση αυτή, η αντιβακτηριδιακή δραστικότητα της α-λακταλβουμίνης και της λυσοζύμης αυξήθηκε, αφού μετουσιωθούν με θερμότητα, ενώ άλλα πεπτίδια μπορεί να χάσουν τη δραστηριότητά τους μετά τη θέρμανση. Τα αποτελέσματα του βρασμού επί της δραστικότητας των βιοπεπτιδίων εξαρτώνται από τη σύνθεση του ενζύμου καθώς και από τις συνθήκες επεξεργασίας της μητρικής πρωτεΐνης. Έχει αποδειχθεί ότι η υδρόλυση της ακατέργαστης καζεΐνης με τη χρήση χυμοθρυψίνης έδωσε αντιδιαβητικά πεπτίδια με μεγαλύτερη δραστικότητα από την καζεΐνη και συνεπώς τα προϊόντα υδρόλυσης νωπού γάλακτος μπορεί να είναι πιο αποτελεσματικά στη διαχείριση του διαβήτη από το παστεριωμένο γάλα. Παρομοίως, η θερμική επεξεργασία έχει αναφερθεί ότι μειώνει σημαντικά την αντιοξειδωτική δραστικότητα πεπτιδίων προερχόμενων από αμπελοφάσουλο. (Daliri et al. 2017)

Η θαλάσσια ζελατίνη σχηματίζεται κατά τη διάρκεια της μερικής υδρόλυσης κολλαγόνου και χρησιμοποιείται ως πρόσθετο τροφίμων λόγω της ικανότητάς της να σχηματίζει πηκτές, της βελτίωσης της υφής, της ικανότητας συγκράτησης νερού και της σταθερότητας των τροφίμων. Το Agar μπορεί να χρησιμοποιηθεί στις βιομηχανίες

ζαχαροπλαστικής λόγω της υψηλής περιεκτικότητας σε ζάχαρη και δεν μεταδίδει γεύση σε ζελέ, μαρμελάδες, φρούτα, καραμέλες, πουτίγκες και κρέμες.

Οι φυκομπιλιπρωτεΐνες προέρχονται από θαλάσσια μπλε και πράσινα φύκη, τα οποία χρησιμεύουν ως φυσικές χρωστικές τροφίμων. Οι φυκομπιλιπρωτεΐνες χρησιμοποιούνται επίσης ως φυσικές χρωστικές ουσίες στη βιομηχανία καλλυντικών και ως χρωστικές ουσίες σε πολλά τρόφιμα όπως επιδόρπια, παγωτά, γάλα που έχει υποστεί ζύμωση και μιλκσεικ.(Suleria et. al 2016).

Στη συνέχεια, η αντιοξειδωτική δράση ενός ευρέος φάσματος φυτικών πολυφαινολών και εκχυλισμάτων έχει αξιολογηθεί στα θαλάσσια ελαία, κρέατα και ψάρια . Οι Χλωροταννίνες στην *Ecklonia cava* είναι φυσικά αντι-οξειδωτικά ,χρήσιμα στη βιομηχανία τροφίμων και φαρμακευτικών προϊόντων (Suleria et. al 2016). Είναι ένα φυσικό προϊόν που συνδυάζει υψηλές ποσότητες αντιοξειδωτικών και φαινολικών αντιοξειδωτικών όπως φαινολικών οξέων, ανθοκυανιδινών, προανθοκυανιδινών, κατεχινών και άλλων φλαβονοειδών και χρησιμοποιήθηκε με επιτυχία ως συστατικό σε κιμά ψαριού. Τα συστατικά των φλαβονοειδών ήταν αποτελεσματικά στην επιβράδυνση της οξειδωσης των λιπιδίων σε όργανα του ψαριού που περιείχαν λιπίδια φωσφόρου, συμπεριλαμβανομένου του χύμα ελαίου, του γαλακτώματος ελαίου σε νερό και του κατεψυγμένου φλεβικού μυός . Επιπρόσθετα, η αναστολή της οξειδωσης στο σκουμπρί έγινε επίσης από τα φυσικά συστατικά του σταφυλιού (Pazos et al., 2005).

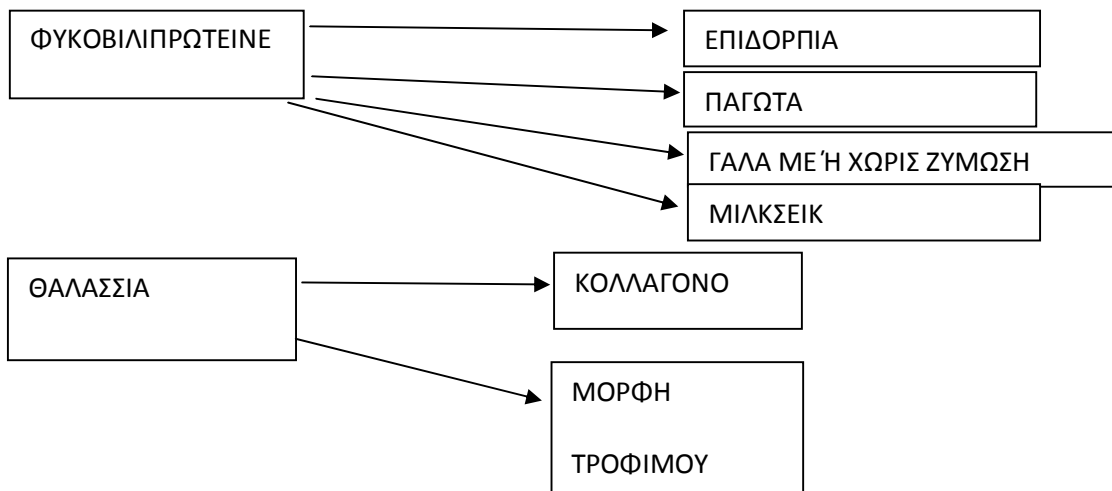
Το *Grateloupia filicina* χρησιμοποιείται στην Κορέα και την Ιαπωνία ως πηγή τροφής και σε διαφορετικές συνταγές τροφίμων. Επίσης μπορεί να καταστήσει

οξειδωτική σταθερότητα σε προϊόντα. Το εκχύλισμα από αυτό το είδος ήταν ικανό να προστατεύσει το ιχθυέλαιο από την οξείδωση, σύμφωνα με το πρωτόκολλο TBARS.

Ο Yan (1996) ανέφερε ότι το *Sargassum kjellmanianurn* περιείχε Χλωροτανίνη, η οποία θα μπορούσε να εμποδίσει το ιχθυέλαιο να υποστεί οξείδωση.

Επίσης, το καφεϊκό οξύ αποδείχθηκε ότι είναι περισσότερο δραστικό αντιοξειδωτικό για την πρόληψη της οξείδωσης λιπιδίων του κατεψυγμένου λευκού μυός σαφριδιού κατά τη διάρκεια αποθήκευσης στους -10 και -18 ° C. Συνεπώς θα μπορούσε να αναστέλλει σημαντικά τον σχηματισμό και την παραγωγή υπεροξειδίων και TBARS.

Συμπερασματικά, η ανασκόπηση μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι βιοδραστικές ουσίες υπάρχουν σε όλα τα είδη της Θαλάσσιας χλωρίδας και πανίδας. Παρότι τα τελευταία χρόνια ο τομέας της απομόνωσης και διαχωρισμού ουσιών από εκχυλίσματα θαλάσσιων οργανισμών για αναγνώριση των βιοδραστικών τους χαρακτηριστικών, έχει μελετηθεί και εξελιχθεί αρκετά, εντύπωση προκαλεί το γεγονός πως δεν υπάρχει κάποια συγκεκριμένη μέθοδος που θα μπορούσε να ακολουθείται ως πρότυπο για τον διαχωρισμό αυτό. Όμως έχει αναδειχθεί με τον καλύτερο τρόπο η σημασία αρκετών τέτοιων ουσιών και η επίδρασή τους στην υγεία και την ύπαρξη της ανθρώπινης ζωής.



Σχήμα 2. Συνέπειες βιοδραστικών πεπτιδίων

8.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Freitas et .al (2012) Marine biotechnology advances towards applications in new functional foods.Biotechnology Advances,30 :1506-1515
2. Wright et .al (1991) Improved HPLC method for the analysis of chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton.MARINE ECOLOGY PROGRESS SERIES,77:183-196
3. Kolb et al. (2004) Evaluation of Marine Algae Wakame (*Undaria pinnatifida*) and Kombu (*Laminaria digitata japonica*) as Food Supplement. Food Technology and Biotechnology, 42 (1) 57–61
4. Frikha et. al (2011) Chemical composition and some biological activities of marine algae collected in Tunisia. Ciencias Marinas, 37(2): 113–124
5. Ngo et. al (2012) Biological activities and potential health benefits of bioactive peptides derived from marine organisms. International Journal of Biological Macromolecules, 51 : 378–383
6. Atef M,Ojagh S.(2017) Health benefits and food applications of bioactive compounds from fish byproducts: A review. Journal of Functional Foods, 35 : 673-681
7. Vergara-Fernandez et. al (2007) Evaluation of marine algae as a source of biogas in a two-stage anaerobic reactor system. BIOMASS AND BIOENERGY,32: 338– 344
8. Ngo D.,Kim S. (2013) Sulfated polysaccharides as bioactive agents from marine algae. International Journal of Biological Macromolecules,62:70-75

9. Lordan et. al (2011) Marine Bioactives as Functional Food Ingredients: Potential to Reduce the Incidence of Chronic Diseases. *Mar Drugs*,9(6): 1056–1100.
10. Hamed et al. (2015) Marine Bioactive Compounds and Their Health Benefits: A Review. *Comprehensive Reviews in food science and food safety*,14(4):446-465
11. Saranraj P, Sivasakthi.S (2014) *Spirulina Platensis – Food For Future: A Review*. *Asian Journal of Pharmaceutical Science & Technology*,4(1):26-33
12. Priyadarshani I, Rath B.(2012) Commercial and industrial applications of micro algae A review. *J. Algal Biomass Utln* 3 (4): 89–100
13. Maoka T. (2011) Carotenoids in Marine Animals. *Mar. Drugs* 9(2): 278-293
14. Bogacz-Radomska L.,Harasym J. (2018). β -Carotene—properties and production methods, *Food Quality and Safety*, 2 (2):69–74
15. Ausich R. (1997). Commercial opportunities for carotenoid production by biotechnology, *Pure and Applied Chemistry* 69(10):2169-2174
16. Zapata et. al (2000). Separation of chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton: a new HPLC method using a reversed phase C8 column and pyridine-containing mobile phases, *Marine Ecology Progress Series* 195:29-45
17. Bleakley S, Hayes M (2017) Algal Proteins: Extraction, Application, and Challenges Concerning Production. *Foods*,6(5): 33.
18. Fleurence J. (1999) Seaweed proteins: biochemical, nutritional aspects and potential uses. *Trends in Food Science & Technology* 10:25-28

19. Venkatesan et. al (2017) Marine Fish Proteins and Peptides for Cosmeceuticals: A Review. *Marine Drugs* 15(6):143
20. Bajpai et al.(2014) Diversity of bioactive polysaccharide originated from marine sources: A review, *Indian Journal of Geo-Marine Sciences* ,43(10):1857-1869
21. Thangapandi et. al (2016) It's all about the marine carbohydrates: Principles and Applications, *Marine Glycobiology* p.403-413
22. Necas J. Bartosikova L. (2013) Carrageenan: a review, *Veterinari Medicina*, 58 (4): 187–205
23. Diogo et al. (2015) Antiviral activity of lambda-carrageenan prepared from red seaweed (*Gigartina skottsbergii*) against BoHV-1 and SuHV-1, *Research in Veterinary Science* 98
24. Carlucci, M. J., (1997). Antiherpetic and anticoagulant properties of carrageenans from the red seaweed *Gigartina skottsbergii* and their cyclized derivatives: correlation between structure and biological activity. *Int. J. Biol. Macromol.* 20, 97–105
25. Shanmugam, M. and Mody, K.H. (2000) Heparinoid-Active Sulphated Polysaccharides from Marine Algae as Potential Blood Anticoagulant Agents. *Current Science*, 79, 1672-1683.
26. Jiao et al., (2011) Chemical Structures and Bioactivities of Sulfated Polysaccharides from Marine Algae, *Mar Drugs*,9(2): 196–223.

27. Panagiotopoulos C Sempéré R. (2005) Analytical methods for the determination of sugars in marine samples: A historical perspective and future directions. *Limnology and oceanography, methods* 3 (10):419-454
28. Al Sagheer F.A et al. (2009) Extraction and characterization of chitin and chitosan from marine sources in Arabian Gulf. *Carbohydrate Polymers* 77(2) :410-419
29. Tuvikene et. al (2005) Extraction and quantification of hybrid carrageenans from the biomass of the red algae *Furcellaria lumbricalis* and *Coccotylus truncatus*. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences. Chemistry* 55(1) :40–53
30. Bergé J., Barnathan G (2005) Fatty Acids from Lipids of Marine Organisms: Molecular Biodiversity, Roles as Biomarkers, Biologically Active Compounds, and Economical Aspects. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 96 : 49-125
31. Calder P.C. (2016) Docosahexaenoic Acid. *Annals of Nutrition and Metabolism* 69(1):8-21
32. Masuda R. (2003) The critical role of docosahexaenoic acid in marine and terrestrial ecosystems from bacteria to human behavior. Fisheries Research Station, Kyoto University, Nagahama, Maizuru, Kyoto 625-0086 Japan. E-mail: reiji@kais.kyoto-u.ac.jp
33. Hanna V. ,Hafez E. (2018) Synopsis of arachidonic acid metabolism: A review. *Journal of Advanced Research*, 11: 23–32.

34. Sanaa et. al (2018) A review on algae and plants as potential source of arachidonic acid, 11:3-13
35. Beaudoin A., Martin. G (1999) Method of extracting lipids from marine and aquatic animal tissues, US 6,800,299 B1 Date of patent: 5 October 2004
36. Grøgaard H. (2011) Extraction and Analysis of Marine Lipids with Emphasis on Phospholipids-Evaluation and Improvement of Methods, Norwegian University of Science and Technology, Department of Biotechnology
37. Canadian Council of Ministers of the Environment. 1999. Canadian water quality guidelines for the protection of aquatic life: Phenols — Mono- and dihydric phenols. In: Canadian environmental quality guidelines, 1999, Canadian Council of Ministers of the Environment, Winnipeg.
38. Saha et. al (1999) Toxicity of Phenol to Fish and Aquatic Ecosystems, Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 63(2):195-202
39. Verma et. al (1980) Effects of phenol and dinitrophenol on acid and alkaline phosphatases in tissues of a fish (*Notopterus notopterus*), Archives of Environmental Contamination and Toxicology 9 (4) :451–459
40. Sannadurgappa et al. (2007) Toxicity, bioaccumulation and metabolism of phenol in the freshwater fish *Oreochromis mossambicus*, Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology 18(1):65-77
41. De Moraes et. Al (2015) Acute toxicity and sublethal effects of phenol on hematological parameters of channel catfish *Ictalurus punctatus* and pacu

- Piaractus mesopotamicus, *Ecotoxicology and Environmental Contamination*, 10 (1):31-36
42. Gad N., Saad A (2008) Effect of Environmental Pollution by Phenol on Some Physiological Parameters of *Oreochromis niloticus* 2 (6): 312-319
43. Kuba K. (1969) THE ACTION OF PHENOL ON NEUROMUSCULAR TRANSMISSION IN THE RED MUSCLE OF FISH. *The Japanese Journal of Physiology*, 19(6):762-774.
44. Pedersen et. al (1974) Simple brominated phenols in red algae. *Phytochemistry*, *Phytochemistry* 13 (10) :2273-2279
45. Craigie J. S. , Gruenig D. E. (1967) Bromophenols from Red Algae. *Science* ,157, (3792): 1058-1059
46. Onofrejová et. al (2010) Bioactive phenols in algae: The application of pressurized-liquid and solid-phase extraction techniques. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 51 (2) : 464-470
47. Pedersén M, DaSilva E. (1973) Simple brominated phenols in the bluegreen alga *Calothrix brevissima* West. *Planta* 115 (1) :83–86
48. Freile-Pelegrin Y., Robledo D. (2014) Bioactive phenolic compounds from algae. *Bioactive Compounds from Marine Foods: Plant and Animal Sources*, Chapter 6, p.113-129
49. Saarikoski J., Viluksela M. (1981) Influence of pH on the toxicity of substituted phenols to fish. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 10 (6) :747–753

50. Angus R. (1983) Phenol Tolerance in Populations of Mosquitofish from Polluted and Nonpolluted Waters. *Transactions of the American Fisheries Society*, 112 (6) : 794-799
51. Layiwola et. al (1983) Hydrolysis of the biliary glucuronic acid conjugate of phenol by the intestinal mucus/flora of goldfish (*Carassius auratus*). *Xenobiotica*, 13 (1) : 27-29
52. Kumar V., Mukherjee D.(1988) Phenol and sulfide induced changes in the ovary and liver of sexually maturing common carp, *Cyprinus carpio*. *Aquatic Toxicology* 13 (1):53-59
53. Green et. al (1988) Toxicity of phenol to *Asellus aquaticus* (L.)—effects of temperature and episodic exposure. *Water Research* 22 (2): 225-231
54. Ponopal M, Păunescu A (2014) EFFECT OF PHENOL INTOXICATION ON SOME PHYSIOLOGICAL PARAMETERS OF *PERCA FLUVIATILIS* AND *PELOPHYLLAX RIDIBUNDUS*. *Current Trends in Natural Sciences*, 3 (6) :82-87
55. Li et. Al (2011) Phlorotannins as bioactive agents from brown algae. *Process Biochemistry*, 46 (12) :2219-2224
56. Li et. al (2017) Extraction and Identification of Phlorotannins from the Brown Alga, *Sargassum fusiforme* (Harvey) Setchell. *Marine drugs*, 15(2): 49
57. Sanjeeva K. (2016) Bioactive properties and potentials cosmeceutical applications of phlorotannins isolated from brown seaweeds: A review. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 162 :100-105

58. FAO (1992) Prepared at the 39th JECFA (1992), published in FNP Add 1 (1992) superseding specifications prepared at the 35th JECFA (1989), published in FNP 49 (1990) and in FNP 52 (1992). Metals and arsenic specifications revised at the 63rd JECFA (2004). An ADI 'not specified' was established at the 35th JECFA (1989)
59. Varanka et.al (2001) Biochemical and morphological changes in carp (*Cyprinus carpio* L.) liver following exposure to copper sulfate and tannic acid. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 128 (3):467-477
60. Stuart et al. (2005) Analyses of phenolic endocrine disrupting chemicals in marine samples by both gas and liquid chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1079 (1–2):136-145
61. Kim et. al (2018) Gas Chromatographic Determination of Phenol in Fish Tissues as a Phenyl Acetate Derivative Following Solvent Extraction of Acidified Samples. *Acta chromatographika*
62. Ofstad et. al (1981) Analysis of volatile halogenated organic compounds in fish. *Science of the Total Environment*, 20(3):205-215.
63. Cesile et. al (2012) Occurrence of priority and emerging organic compounds in fishes from the Rhone River (France). *Analytical And Bioanalytical Chemistry*, 404(9):2721-2735
64. Crompton T. (2016) Toxic Effects of Organic Compounds on Fish and Invertebrates. *Occurrence, Toxicity & Analysis of Toxic Compounds in Oceanic Biota*, chapter 9, p.32

65. Ammu et.al (1986) Carbonyls from some commercially important fishes and shellfishes of tropical waters. Central Institute of Fisheries Technology, Cochin
66. Tierney et. al (2013) Organic Chemical Toxicology of Fishes. Volume 33, chapter 2, p.57-90
67. National Research Council of Washington (1981) Formaldehyde and Other Aldehydes, Chapter 8 ,235-241
68. Tang A (2007) Natural Toxic Substances in Seafood. Proceedings of Food Safety Focus (12th Issue, July 2007) – Food Safety Platform
69. Rossini G., Hess P., (2010) Phycotoxins: chemistry, mechanisms of action and shellfish poisoning. Molecular, Clinical and Environmental Toxicology, 2
70. Gersen et. al (2010) Marine Toxins: Chemistry, Toxicity, Occurrence and Detection, with Special Reference to the Dutch Situation. Toxins (Basel), 2(4): 878–904
71. Usmani et.al (2015) Role of algae in sustainable Food, Health and Nutritional Security: An Overview. Approval of Conference of Biodiversity for Sustainable Development (International Biodiversity Day for Biological Diversity), Uttar Pradesh State Biodiversity Board, Lucknow, India
72. Mobin S., Alam F. (2014) Biofuel Production from Algae Utilizing Wastewater. Approval of 19th Australasian Fluid Mechanics Conference, Melbourne, Australia 8-11 December 2014

73. Higuera-Ciapara et.al (2006) Astaxanthin: A Review of its Chemistry and Applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*,46:185–196
Copyright ©Taylor and Francis Group,LLC
74. Ngo D.,Kim S. (2013) Sulfated polysaccharides as bioactive agents from marine algae.*International Journal of Biological Macromolecules*,62: 70-75
75. Vilchez et. al (2011) Marine Carotenoids: Biological Functions and Commercial Applications.*Marine drugs*,9(3): 319–333
76. Shaviklo AR (2015) Development of fish protein powder as an ingredient for food applications: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 52(2):648-661
77. Daliri et al. (2017) Bioactive Peptides. *Foods*,6(5): 32.
78. Suleria et. al (2016) Marine Bioactive Compounds and Health Promoting Perspectives; Innovation Pathways for Drug Discovery. *Trends in Food Science & Technology*,50 : 44-55
79. Maqsood et al. (2013) Emerging Role of Phenolic Compounds as Natural Food Additives in Fish and Fish Products. *Critical reviews in food science and nutrition*, 53(2):162-179
80. Udayan et. al (2017) Nutraceuticals From Algae and Cyanobacteria. *Algal Green Chemistry*, 65-89
81. Kim S.Mendis E(2005) Bioactive compounds from marine processing byproducts – A review, 39: 383–393

82. Aman et. al (2005) Isolation of carotenoids from plant materials and dietary supplements by high-speed counter-current chromatography. *Journal of Chromatography A*,1074, (1–2) :99-105
83. Pisal D.,Lele S (2005) Carotenoid production from microalga, *Dunaliella salina*, *Indian Journal of Biotechnology* 4 :476-483
84. Amotz et.al (1987) Stereoisomers of β -Carotene and Phytoene in the Alga *Dunaliella bardawil* *PlantPhysiol*, 86:1286-1291
85. De Carvalho.C.C.S,Caramujo M.(2017) Carotenoids in Aquatic Ecosystems and Aquaculture: A Colorful Business with Implications for Human Health, *Front. Mar.* 4(93): 1-14.
86. Anku et al. (2016) Phenolic Compounds in Water: Sources, Reactivity, Toxicity and Treatment Methods. *Phenolic Compounds-Natural Sources, Importance and Applications*,Chapter 17: 420-443
87. Liu et al (2011) Bromophenols in Marine Algae and Their Bioactivities. *Mar Drugs*,9(7): 1273–1292.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Μουστάκα Ε. (2007) Χρωστικές ουσίες στα τρόφιμα. Εφαρμογή καροτενοειδών σε προϊόντα ιχθυοκαλλιέργειας.Μεταπτυχιακή διατριβή στο πλαίσιο του διατμηματικού προγράμματος μεταπτυχιακών σπουδών «Αγροχημεία & Βιολογικές καλλιέργειες» Ιωάννινα ,σελ. 86-87,90

