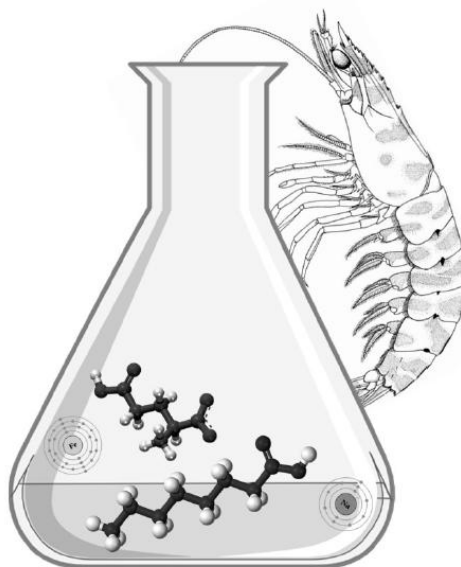


ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
Διαχείριση Βιοποικιλότητας και Βιολογικών Πόρων
«Αλιευτική Βιολογία και Διαχείριση»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Ποιοτική και ποσοτική χημική ανάλυση σάρκας και στομαχικού περιεχομένου των γαρίδων *Penaeus kerathurus* (Forskål, 1775) και *Penaeus aztecus* Ives, 1891



Θεμιστοκλής Κωνσταντινόπουλος

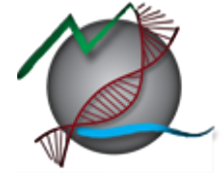
Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή:

Αθανάσιος Παπαδόπουλος, Αναπληρωτής Καθηγητής, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ.

Ευθυμία Αντωνοπούλου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ.

Χρύσα Αναστασιάδου, Εντεταλμένη Ερευνήτρια, ΙΝΑΛΕ, ΕΛΓΟ-Δήμητρα

ARISTOTLE UNIVERSITY OF THESSALONIKI
FACULTY OF SCIENCES



SCHOOL OF BIOLOGY
MASTER'S DEGREE PROGRAM
"FISHERIES BIOLOGY & MANAGEMENT"

Master Thesis

Qualitative and quantitative chemical analysis of flesh and stomach
content of decapod species *Penaeus kerathurus* (Forskål, 1775) and
Penaeus aztecus Ives, 1891

Themistoklis Konstantinopoulos

Advisory Committee

Athanasios Papadopoulos, Associate Professor, Department of Zoology, School of Biology,
Faculty of Sciences, Aristotle University of Thessaloniki

Efthimia Antonopoulou, Associate Professor, Department of Zoology, School of Biology, Faculty
of Sciences, Aristotle University of Thessaloniki

Chrysa Anastasiadou, Researcher, Fisheries Research Institute, Nea Peramos, Kavala

THESSALONIKI 2020

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:

- 1) Αθανάσιος Παπαδόπουλος, Αν. Καθηγητής, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ, Επιβλέπωντας**
- 2) Ευθυμία Αντωνοπούλου, Αν. Καθηγήτρια, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ**
- 3) Χρύσα Αναστασιάδου, Εν. Ερευνήτρια, Ινστιτούτο Αλιευτικής Έρευνας, Καβάλα**

Πρόλογος – Ευχαριστίες

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Ινστιτούτο Αλιευτικής Έρευνας (ΙΝ.ΑΛ.Ε.), στη Νέα Πέραμο Καβάλας στο πλαίσιο του μεταπτυχιακού προγράμματος σπουδών «Διαχείριση Βιοποικιλότητας και Βιολογικών Πόρων» με κατεύθυνση «Αλιευτική Βιολογία και Διαχείριση» του Τμήματος Βιολογίας του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης. Αισθάνομαι ότι πρέπει να δηλώσω πως το περιβάλλον του ΙΝΑΛΕ, συμπεριλαμβανομένων ερευνητών, τεχνικού και διοικητικού προσωπικού, μου προκάλεσε θετική εντύπωση από τις πρώτες μέρες που βρέθηκα εκεί.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την Δρ. Χ. Γκουμπίλη για την φιλική αντιμετώπιση και την προθυμία να μου δείξει βασικές μοριακές τεχνικές στο εργαστήριο μοριακής βιολογίας. Επίσης, ευχαριστώ ιδιαίτερα τον Δρ. Ν. Σταμάτη, που με οδήγησε στο εργαστήριο χημείας και με περίσσεια υπομονή απαντούσε ή/και καθοδηγούσε σωστά τη σκέψη μου σε οποιαδήποτε απορία είχα.

Επιπλέον, ευχαριστώ το λοιπό προσωπικό του ΙΝΑΛΕ για τις εμπειρίες που απέκτησα τόσο σε επαγγελματικό, όσο και σε προσωπικό επίπεδο.

Ευχαριστώ θερμά τους Δρ. Γ. Κρέη, Δρ. Χ. Αναστασιάδου, Δρ. Α. Παπαδόπουλο και Δρ. Ε. Αντωνοπούλου για την συμμετοχή τους στον σχεδιασμό και την διόρθωση της παρούσας μεταπτυχιακής διπλωματικής εργασίας.

Χάρη στην ενδελέχεια και το μεράκι των περισσότερων ανθρώπων που με δίδαξαν αυτό τον καιρό, οι επιστημονικές μου γνώσεις αυξήθηκαν και πλέον μπορώ και αντιμετωπίζω περισσότερο σφαιρικά τα επιστημονικά ερωτήματα που μπορεί να προκύψουν είτε στον κλάδο της θαλάσσιας βιολογίας, είτε σε άλλα θέματα που αφορούν την καθημερινότητα μου. Τους ευχαριστώ πολύ.

Επίσης, ευχαριστώ την Δρ. Σ. Μητκίδου, καθηγήτρια του τμήματος Χημείας του ΔΙ.ΠΑ.Ε. για την παραχώρηση του εξοπλισμού για την ανάλυση GC-MS.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους κοντινούς μου ανθρώπους, την οικογένεια μου και τους φίλους μου, για την στήριξη όλο αυτόν τον καιρό. Χωρίς αυτούς αυτή η εμπειρία δεν θα είχε ιδιαίτερη αξία.

Στην οικογένειά μου

Περιεχόμενα

Περίληψη.....	1
Abstract	2
Κεφάλαιο 1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	3
1.1 Χημική σύσταση οργανισμών	4
1.1.1 Νερό.....	5
1.1.2 Υδατάνθρακες.....	5
1.1.3 Λίπη	5
1.1.4 Αζωτούχες ενώσεις	8
1.1.5 Ανόργανα στοιχεία	9
1.2 Κολυμβητικά δεκάποδα του γένους <i>Penaeus</i>	10
1.2.1 Γενικά.....	10
1.2.2 <i>Penaeus kerathurus</i>	11
1.2.3 <i>Penaeus aztecus</i> Ives, 1891.....	14
1.3 Κολυμβητικά δεκάποδα και ανθρώπινη διατροφή.....	16
1.3.1 Εισαγωγή	16
Σκοπός της εργασίας.....	17
Κεφάλαιο 2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	18
2.1 Λήψη δείγματος.....	19
2.2 Απομόνωση λίπους και παρασκευή μεθυλεστέρων.....	20
2.2.1 Γενικά.....	20
2.2.2 Πειραματική διαδικασία – εκχύλιση λίπους	24
2.2.3 Πειραματική διαδικασία – Μεθυλίωση λιπαρών οξέων	26
2.3 Ανάλυση λιπαρών οξέων.....	27
2.3.1 Αέρια χρωματογραφία με ανιχνευτή ιοντισμού φλόγας	27
2.3.2 Αέρια χρωματογραφία με φασματοσκοπία μάζας.....	29
2.4 Προσδιορισμός ολικών πρωτεϊνών – Μέθοδος Kjeldahl	30
2.4.1 Η μέθοδος Kjeldahl	30
2.4.2 Πειραματική διαδικασία	33
2.5 Υπολογισμός υγρασίας.....	35
2.6 Τέφρα	36
2.7 Στατιστικές αναλύσεις	37

Κεφάλαιο 3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	39
Περιεκτικότητα σάρκας	40
Σύσταση λιπαρών οξέων	40
A. <i>Penaeus kerathurus</i>	40
B. <i>Penaeus aztecus</i>	49
Σύσταση στομαχικών περιεχομένων	60
Διατροφικοί δείκτες σάρκας	69
Αποτελέσματα Αέριας Χρωματογραφίας – Φασματοσκοπίας Μάζας	70
Κεφάλαιο 4 ΣΥΖΗΤΗΣΗ	72
Βιβλιογραφία	77
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α	87
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β	112

Περίληψη

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η χημική σύσταση της σάρκας και του στομαχικού περιεχομένου δύο ειδών κολυμβητικών δεκάποδων, του *P. kerathurus* και του *P. aztecus*. Τα δείγματα λήφθηκαν από το Θρακικό πέλαγος τον Σεπτέμβριο του 2019. Οι χημικές αναλύσεις περιλάμβαναν τον υπολογισμό της υγρασίας και της τέφρας (με θέρμανση των δειγμάτων), καθώς και τον υπολογισμό της περιεκτικότητας σάρκας σε πρωτεΐνες (με τη μέθοδο Kjeldahl) και σε λίπος (με την μέθοδο Bligh & Dyer). Στη συνέχεια έγινε μετατροπή του λίπους σε μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων (Λ.Ο.). Τα Λ.Ο. ταυτοποιήθηκαν με τις μεθόδους GC-FID και GC-MS. Έγινε έλεγχος συσχετισμού μεταξύ των Λ.Ο του στομαχικού περιεχομένου και της σάρκας και υπολογισμός των διατροφικών δεικτών ΑΙ και ΤΙ. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως η σάρκα του *P. kerathurus* και του *P. aztecus* αποτελείται από 77,84% και 77,55% υγρασία, 2,46% και 2,29% τέφρα, 18,95% και 19,33% πρωτεΐνες και 0,76% και 0,83% λίπος αντίστοιχα. Συνολικά αναγνωρίστηκαν 19 Λ.Ο. με τη μέθοδο GC-FID και 36 ενώσεις με τη μέθοδο GC-MS. Ως κυρίαρχη ομάδα Λ.Ο ήταν τα πολυακόρεστα Λ.Ο. και για τα δύο είδη. Το κυρίαρχο Λ.Ο. στην γαρίδα *P. kerathurus* ήταν το C16:0 και στην γαρίδα *P. aztecus* το C20:5 ω-3. Κανένα λιπαρό οξύ που εντοπίστηκε στη σάρκα του *P. kerathurus* δεν συσχετίστηκε θετικά με το αντίστοιχο του στομαχικού περιεχομένου. Οι δείκτες ΑΙ και ΤΙ ήταν <1 και για τα 2 είδη. Κατά την αναπαραγωγική περίοδο η ποιότητα της σάρκας με βάση τη σύσταση της σε Λ.Ο. υποβαθμίζεται. Η ανάλυση ταξιθέτησης του στομαχικού περιεχομένου δεν υποστήριξε την υπόθεση τροφικού ανταγωνισμού.

Λέξεις κλειδιά: Χημική σύσταση, *Penaeus aztecus*, *Penaeus kerathurus*, Θρακικό πέλαγος, Λιπαρά οξέα, Αέρια χρωματογραφία, Kjeldahl

Abstract

In the present study we examined the chemical composition of flesh and stomach content of two decapod species *Penaeus kerathurus* and *Penaeus aztecus*. The specimens were caught in the Tracian Sea, in September 2019. The chemical analysis included moisture and ash content measurement (by heating up the samples). Also, protein and fat content was calculated (by Kjeldahl and Bligh & Dyer methods respectively). Consequently the fat was converted into fatty acid (FA) methyl esters. The FA were identified by GC-FID and GC-MS. The trophic indices AI and TI were calculated as well. A correlation analysis between the flesh's and stomach content's FA was performed. The flesh of *P. kerathurus* and *P. aztecus* consists of 77.84% and 77.55% moisture, 2.46% and 2.29% ash, 18.95% and 19.33% proteins and 0.76% and 0.83% fat respectively. A total of 19 fatty acids were identified by GC-FID method and 36 compounds by GC-MS. Both species had a really high percentage of polysaturated FA. The dominant FA was C16:0 for *P. kerathurus* and C20:5 ω -3 for *P. aztecus*. There was no positive correlation between corresponding FAs in flesh and stomach content for *P. kerathurus*. AI and TI indices were found <1 for both species. Finally, it was showed that the quality of flesh based on the fatty acid profile is being degraded during the reproductive period. Moreover, the RDA showed no evidence of antagonistic trophic interactions between the two species.

Keywords: Chemical composition, *Penaeus aztecus*, *Penaeus kerathurus*, Tracian Sea, Fatty acids, Gas chromatography, Kjeldahl

Κεφάλαιο 1

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Γενικά

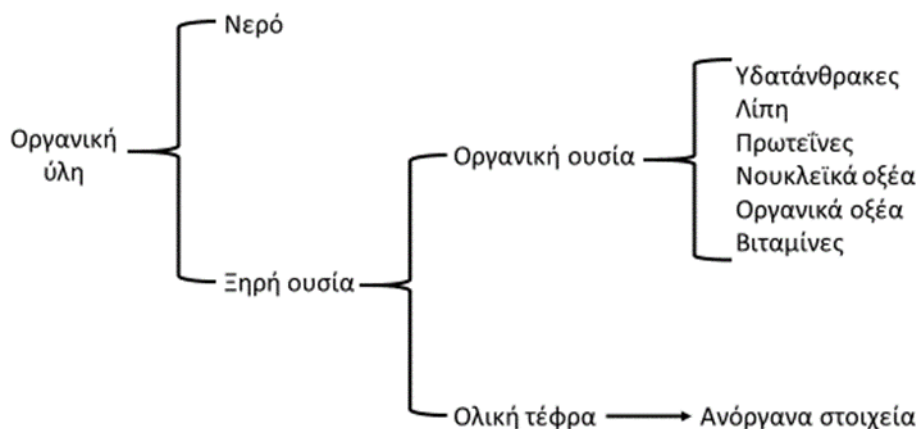
Τρόφιμο χαρακτηρίζεται κάθε ύλη οργανικής προέλευσης (φυτικής ή ζωικής), η οποία προσλαμβάνεται από ζωντανούς οργανισμούς και υπόκειται σε διαδικασία πέψης, απορρόφησης, και χρήσης των θρεπτικών συστατικών που περιέχει. Η ζωή χαρακτηρίζεται από μία αέναη μεταβολή της κατάστασης και της δομής της ύλης που την αποτελεί. Τα στοιχεία που καταναλώνονται κατά τις μεταβολικές διαδικασίες πρέπει να αναπληρώνονται μέσω της τροφής, η οποία αποτελείται από τα ίδια συστατικά που αποτελούν το σώμα των οργανισμών.

Τα θρεπτικά συστατικά, που λαμβάνονται από τα τρόφιμα, χρησιμοποιούνται από τους οργανισμούς ως υλικά για τη σύνθεση ή ανανέωση των σωματικών τους δομών και παραγωγή νέων προϊόντων, όπως απογόνων (αβγά). Ακόμα, χρησιμοποιούνται για την παραγωγή ενέργειας και έργου (που σχετίζεται με την εκδήλωση του φαινομένου της ζωής) όπως στην περίπτωση της σωματικής κίνησης ή της αναπνοής.

Τα φαινόμενα που συμβαίνουν μέσα σε έναν οργανισμό και ο ρόλος της τροφής σε αυτές τις διαδικασίες για να γίνουν αντιληπτά απαιτείται μεταξύ άλλων και επάρκεια γνώσης της χημικής σύστασης όλων των εμπλεκόμενων μορίων. Οι έμβιοι οργανισμοί μπορεί να διαφέρουν ποσοτικά στα στοιχεία που αποτελούν το σώμα τους, αλλά η ποιοτική σύσταση είναι συνήθως η ίδια.

1.1 Χημική σύσταση οργανισμών

Η ζωή στη γη αποτελείται από νερό και τέσσερις κύριες κατηγορίες μακρομορίων (**Εικόνα 1.1**) (Ζέρβας, 2015): Τα νουκλεϊκά οξέα, τις πρωτεΐνες, τους υδατάνθρακες και τα λίπη. Στις μελέτες χημικής ανάλυσης τροφίμων τα κύρια στοιχεία που μελετώνται είναι το νερό, οι πρωτεΐνες, οι υδατάνθρακες και τα λίπη.



Εικόνα 1.1. Κυριότερα συστατικά οργανικής ύλης (Ζέρβας, 2015)

Οι οργανισμοί για να παραλάβουν τα θρεπτικά στοιχεία μέσα από την τροφή, την επεξεργάζονται κατάλληλα μέσω της πέψης. Σκοπός αυτής της διαδικασίας είναι η διάσπαση των μεγάλων

μακρομοριακών ενώσεων και μετέπειτα η απορρόφησή τους από τη βλεννογόνο του πεπτικού στο κυκλοφορικό του ζώου.

Η πέψη μπορεί να χωριστεί σε δύο κατηγορίες: τη μηχανική και τη χημική. Η μηχανική πραγματοποιείται με την μάσηση ή την λειοτρίβιση της τροφής από ειδικές δομές του πεπτικού συστήματος, που έχουν αναπτυχθεί κατά την εξελικτική διαδικασία κάθε είδους. Το αποτέλεσμα της μηχανικής πέψης είναι η καταστροφή της υφής της τροφής και στη συνέχεια η απελευθέρωση των θρεπτικών συστατικών που περιέχει. Η χημική πέψη περιλαμβάνει ενζυμικούς μηχανισμούς, οι οποίοι διασπούν τις ενώσεις σε επιμέρους συστατικά. Τα ένζυμα που χρησιμοποιούνται για τη διαδικασία αυτή εκκρίνονται από ειδικούς αδένες στο πεπτικό σύστημα του ζώου (Patricia & Dharmoon, 2019).

1.1.1 Νερό

Το νερό είναι απαραίτητο για την επιβίωση των οργανισμών. Η υψηλή διηλεκτρική σταθερά (78,5 στους 25°C) το καθιστά διαλύτη πολλών ανόργανων και οργανικών ενώσεων (Uematsu & Frank, 1980). Οι οργανισμοί περιέχουν νερό σε δύο μορφές: την ελεύθερη και την δεσμευμένη. Στην ελεύθερη χρησιμοποιείται ως συστατικό για διάφορες αντιδράσεις του μεταβολισμού. Η δεσμευμένη αφορά νερό, το οποίο συνδέεται με πρωτεΐνικά ή άλλα κυτταρικά κολλοειδή μόρια με διπολικούς δεσμούς ή μέσω ηλεκτροστατικών δυνάμεων (Lloyd, 1933). Τα παραπροϊόντα του μεταβολισμού και άλλες μη χρήσιμες για τους οργανισμούς ενώσεις διαλύονται στο νερό και τελικά απομακρύνονται. Επίσης, η θερμοχωρητικότητα του είναι υψηλή και συνεπώς η μεταβολή της θερμοκρασίας του απαιτεί μεγάλα ποσά ενέργειας (Franks, 2007).

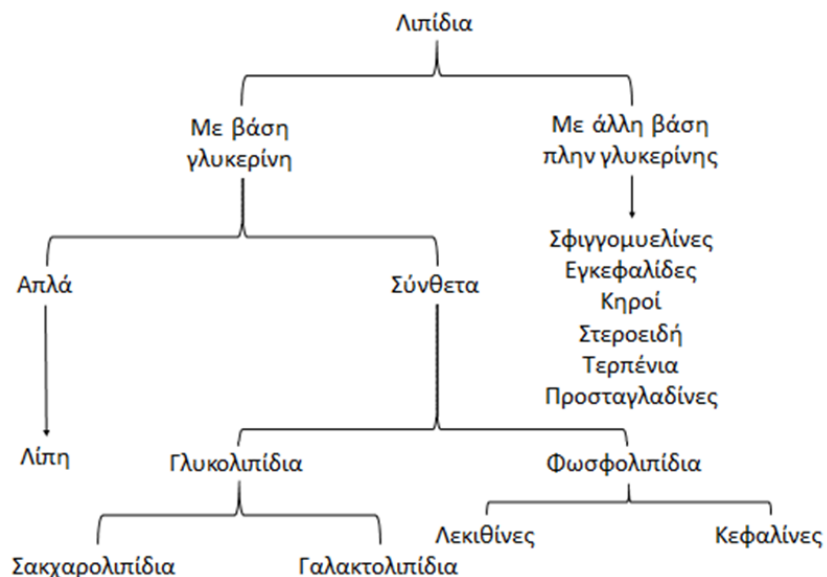
1.1.2 Υδατάνθρακες

Οι υδατάνθρακες αποτελούν τις χημικές ενώσεις που χαρακτηρίζονται από τον συντακτικό τύπο $(CH_2O)_n$. Η πλειονότητα τους αφορά ηλεκτρικά ουδέτερες ενώσεις. Διαφορετικοί συντακτικοί τύποι ενώσεων με τις ίδιες γενικές ιδιότητες περιλαμβάνουν στοιχεία όπως φώσφορο (P), άζωτο (N), θείο (S), ή ακόμα και αναλογία υδρογόνου (H) και οξυγόνου (O) που διαφέρει από τον κλασικό συντακτικό τύπο (2:1), όπως η ραμινόζη ($C_6H_{12}O_5$).

Οι υδατάνθρακες χωρίζονται σε σάκχαρα και μη-σάκχαρα. Στα σάκχαρα χωρίζονται οι μονοσακχαρίτες και οι ολιγοσακχαρίτες. Τα μη-σάκχαρα αποτελούνται από τους πολυσακχαρίτες και τους σύνθετους υδατάνθρακες, όπως τα γλυκολιπίδια και οι γλυκοπρωτεΐνες (Berg et al., 2006).

1.1.3 Λίπη

Τα λίπη ή λιπίδια (εστέρες, λιπαρά οξέα ή συνδυασμός αυτών) βρίσκονται σε όλους τους ιστούς των έμβιων οργανισμών (**Εικόνα 1.2**). Αποτελούν τα κύρια συστατικά των κυτταρικών μεμβρανών, επιτελούν πλήθος μεταβολικών αντιδράσεων στο σώμα και χρησιμοποιούνται και ως αποθήκες ενέργειας. Ακόμα, τα λίπη μπορούν να δράσουν ως δότες ηλεκτρονίων (Berg et al., 2006). Τα λιπαρά οξέα (**ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α**) αποτελούνται από μακριές αλυσίδες ανθράκων, οι οποίες έχουν ένα άκρο καρβονυλικού οξέος. Η χημική τους σύσταση είναι γνωστή και βρίσκονται σε πολλά οργανικά μόρια με διαφορετικά φυσικοχημικά χαρακτηριστικά (Jensen, 2008). Η ενέργεια που παράγεται από την πλήρη οξειδωση του λίπους ανέρχεται περίπου στα 37MJ/kg σε αντίθεση με την ενέργεια που παράγεται από τους υδατάνθρακες (16MJ/kg) (Wiseman, 1991; Paul & Southgate, 1978).



Εικόνα 1.2. Βασική ταξινόμηση λιπιδίων (Ζέρβας, 2015)

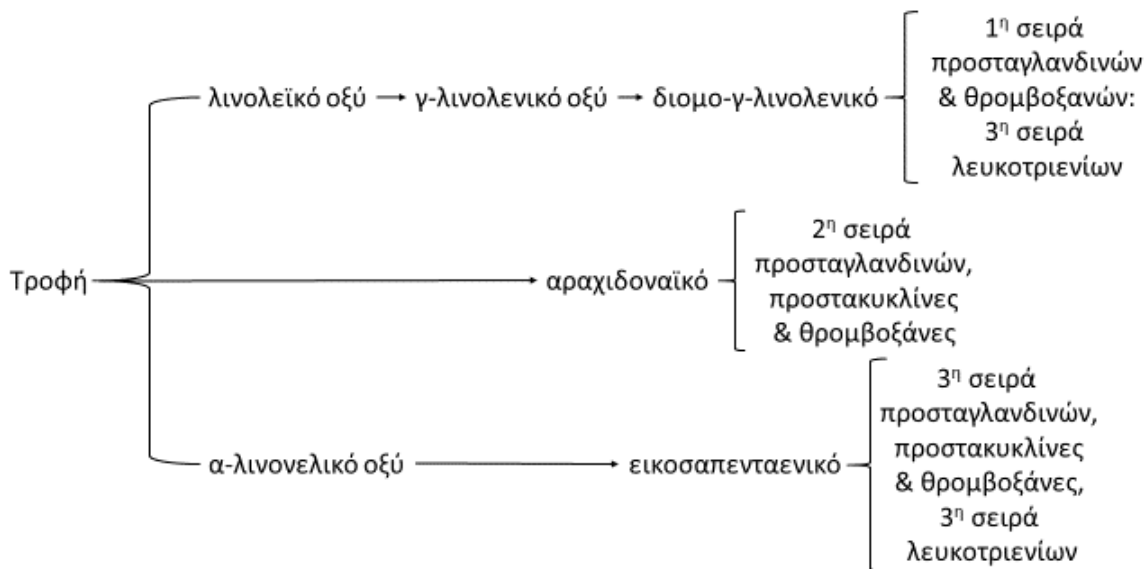
Τα λιπαρά οξέα μπορούν να διαχωριστούν με βάση το μήκος της ανθρακικής τους αλυσίδας, το βαθμό κορεσμού και τη στερεοϊσομέρεια του μορίου (Berg et al., 2006). Σύμφωνα με την πρώτη ταξινόμηση υπάρχουν τέσσερις κατηγορίες: Α) Τα μικρού μεγέθους λιπαρά οξέα (<8 άτομα άνθρακα (C), Β) Μεσαίου μεγέθους λιπαρά οξέα (8-12 άτομα C), Γ) Μεγάλου μεγέθους λιπαρά οξέα (16-21 άτομα C) και Δ) Πολύ μεγάλου μεγέθους λιπαρά οξέα (>21 άτομα άνθρακα) (Bezard & Buguat, 2018; Nury et al., 2020).

Το αποταμιευτικό λίπος αποτελεί την κινητή μορφή λίπους μέσα στον οργανισμό και αποτελείται από ουδέτερα φορτισμένα μόρια. Αυξάνεται όταν το ζώο προσλαμβάνει επαρκή ποσότητα τροφής, ενώ μειώνεται σε συνθήκες πείνας. Η σύσταση του αποταμιευτικού λίπους μεταβάλλεται ανάλογα με τη σύσταση της τροφής και μπορεί να βρεθεί σε όλα τα κύτταρα. Η σταθερή μορφή λίπους στον οργανισμό αποτελείται από το δομικό λίπος. Η σύστασή του παρουσιάζει σχετική σταθερότητα μεταξύ των ατόμων ενός είδους και διαφέρει μεταξύ των ειδών. Μία από τις λειτουργίες του δομικού λίπους είναι η δημιουργία των στιβάδων των κυτταρικών μεμβρανών και των οργανιδίων (Ζέρβας, 2015).

Απαραίτητα λιπαρά οξέα χαρακτηρίζονται όσα δεν μπορεί να συνθέσει ο οργανισμός και επομένως πρέπει να τα λάβει μέσω της τροφής. Για παράδειγμα, μερικά απαραίτητα λιπαρά οξέα για τον άνθρωπο είναι το λινελαϊκό (18:2 ω-6 ή 18:2n6) και το α-λινολενικό (18:3 ω-3) (Singh, 2005). Αυτά, όπως και άλλα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα συμμετέχουν στη δομή διάφορων βιολογικών μεμβρανών και συνδράμουν στη μεταφορά των λιπιδίων και λιποπρωτεϊνικών ενζύμων. Επιπλέον, αποτελούν πρόδρομα μόρια για την σύνθεση των εικοσιενοειδών όπως οι προσταγλαδίνες, οι προστακυκλίνες, οι θρομβοξάνες και τα λευκοτριένια που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο σε διάφορες λειτουργίες των οργανισμών (Εικόνα 1.3). Το λινελαϊκό και το α-λινολενικό αποτελούν πρόδρομα μόρια για τον σχηματισμό άλλων σημαντικών λιπαρών οξέων όπως το EPA (eicosapentaenoic acid – εικοσιπενταενοϊκό οξύ) και το DHA (docosahexaenoic acid - εικοσιδιεξαενοϊκό οξύ) (Berg et al., 2006).

Στον ανθρώπινο οργανισμό το EPA και το DHA προκαλούν ποικίλες θετικές επιδράσεις, όπως μείωση των τριεστέρων της γλυκερόλης (τριγλυκερίδια – TG), μείωση της συχνότητας εμφάνισης θρόμβων, σταθεροποίηση των καρδιακών ρυθμών, παραγωγή προσταγλανδινών σειράς E3 (έχουν αντιφλεγμονώδη δράση), μείωση της αρτηριακής πίεσης, φυσιολογική ανάπτυξη και λειτουργία του ΚΝΣ (κεντρικού νευρικού συστήματος) και βελτίωση της ψυχικής υγείας (μείωση της κατάθλιψης και της

σχιζοφρένειας) (So et al., 2020; Harris, 2013; Malli et al., 2019; Colussi et al., 2017; Sun et al., 2018; Parletta et al., 2016).



Εικόνα 1.3. Σχέσεις μεταξύ απαραίτητων λιπαρών οξέων και εικοσινοειδών (Ζέρβας, 2015)

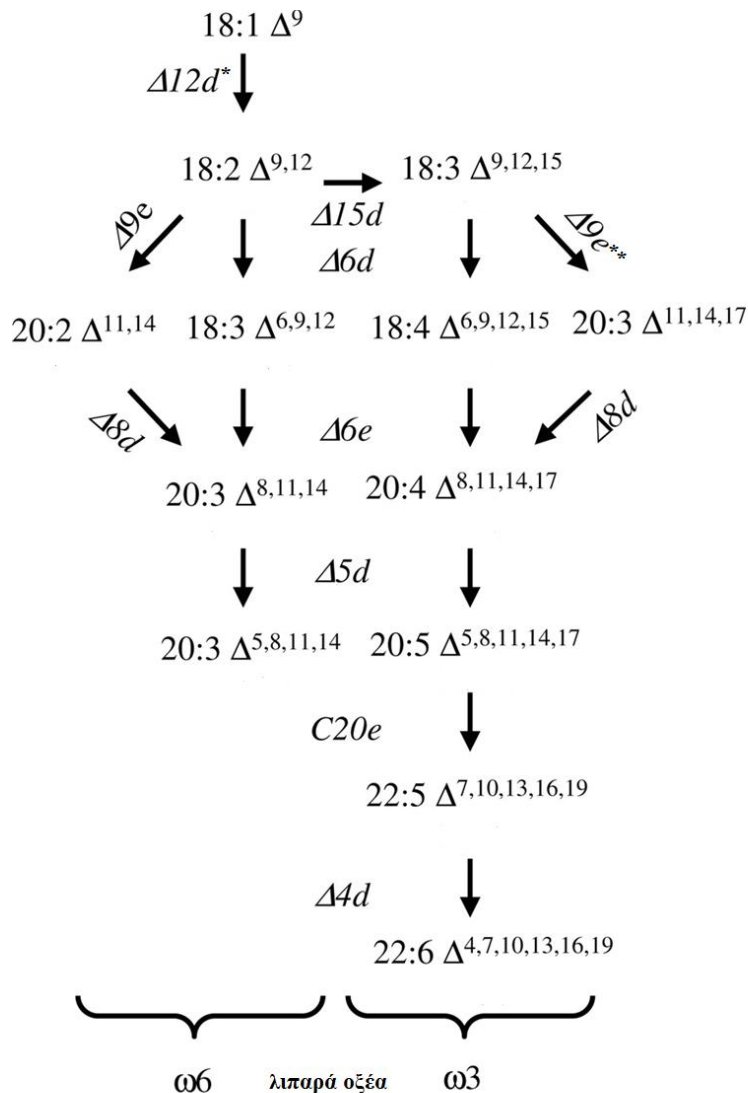
Πέψη και μεταβολισμός λίπους

Τα ουδέτερα λίπη, συνήθως, υφίστανται υδρόλυση στο στομάχι σε παράγωγα λιπαρά οξέα και γλυκερίνη. Η γλυκερίνη καταβολίζεται περαιτέρω σε «κατώτερα λιπαρά οξέα», όπως το προπιονικό. Τα ακόρεστα λιπαρά οξέα (μέχρι το C18), υδρογονώνονται και αποκτούν μία πιο κορεσμένη μορφή.

Ο μεταβολισμός του λίπους έχει ως κύριο στόχο την άντληση ή την αποταμίευση ενέργειας. Τα τριγλυκερίδια που αποτελούν το αποταμιευτικό λίπος μπορούν να προέλθουν από μονο-γλυκερίδια ή να συντεθούν στον οργανισμό από το λιπο-ακετυλο-συνένζυμο Α και τη 3-φωσφογλυκερίνη. Ο σχηματισμός τους μπορεί να λάβει χώρα στο ήπαρ ή στον λιπώδη ιστό (Berg et al., 2006).

Η αποδόμηση του λίπους ξεκινάει με την υδρόλυση των τριγλυκεριδίων από λιπάσες και καταβολισμό των παραγόμενων λιπαρών οξέων και γλυκερίνης στο ήπαρ. Τα ελεύθερα λιπαρά οξέα μεταφέρονται στο ήπαρ μέσω συμπλόκων με αλβουμίνη. Εκεί, πραγματοποιούνται οι βιοχημικές αντιδράσεις της σύνθεσης λίπους (Berg et al., 2006).

Οι οργανισμοί που έχουν επάρκεια στα απαραίτητα ένζυμα μπορούν να παράγουν πολυακόρεστα λιπαρά οξέα με επιμήκυνση της αλυσίδας και αφυδρογόνωση του ελαϊκού οξέος (18:1, ω-9). Για την δημιουργία διπλού δεσμού είναι απαραίτητες οι αποκορεσμάσες, ενώ για την επιμήκυνση της αλυσίδας είναι απαραίτητες οι ελονγκάσες (**Εικόνα 1.4**) (Damude et al., 2006).



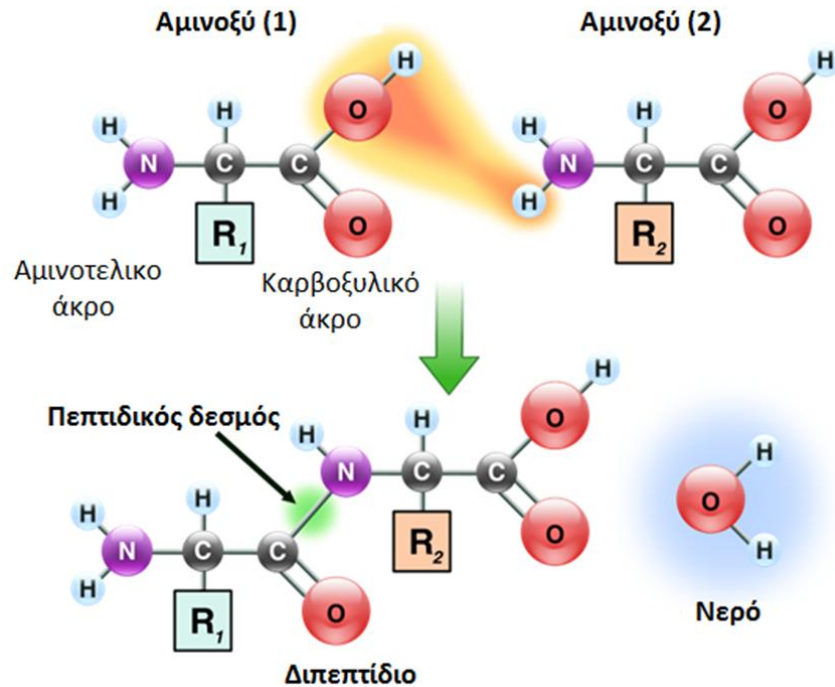
Εικόνα 1.4. Βιοχημικά μονοπάτια για την σύνθεση πολυακόρεστων λιπαρών οξέων από το 18:1 ω-9 και τα παράγωγα του. *: αποκορεσμάση, **: elongase (Damude et al., 2006)

1.1.4 Αζωτούχες ενώσεις

Η κατηγορία των αζωτούχων ενώσεων αποτελείται από μόρια μεγάλου μοριακού βάρους (M.B.), τα οποία περιέχουν κατά κύριο λόγο άζωτο, άνθρακα, υδρογόνο και οξυγόνο. Επίσης, πολλά μόρια περιέχουν θείο (S). Στις ενώσεις αυτές περιλαμβάνονται οι πρωτεΐνες, καθώς και μη πρωτεϊνικά μόρια. Οι πρωτεΐνες αποτελούν το μεγαλύτερο μέρος της οργανικής ουσίας ενός οργανισμού και επιτελούν σχεδόν όλο το έργο για την διατήρηση της ζωής (Ζέρβας, 2015).

Η ταξινόμηση των πρωτεϊνών τις διαχωρίζει σε δύο κύριες κατηγορίες: απλές και σύνθετες πρωτεΐνες. Οι απλές πρωτεΐνες μπορούν να διακριθούν σε ινο-πρωτεΐνες και σφαιρο-πρωτεΐνες και τα προϊόντα της υδρόλυσης τους είναι αποκλειστικά αμινοξέα. Οι ινο-πρωτεΐνες έχουν κυρίως δομικό ρόλο (κερατίνη, κολλαγόνο κλπ), είναι αδιάλυτες στο νερό και πολύ ανθεκτικές σε υδρολυτικά ένζυμα (πρωτεάσες). Οι σφαιροπρωτεΐνες αποτελούν συμπαγή και διαλυτά μόρια. Οι σύνθετες πρωτεΐνες περιέχουν και μία

προσθετική ομάδα, όπως κάποιοι υδατάνθρακα, κάποιο λιπίδιο ή μέταλλα. Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται οι λιποπρωτεΐνες, οι γλυκοπρωτεΐνες, οι φωσφοπρωτεΐνες, οι χρωμοπρωτεΐνες και οι μεταλλοπρωτεΐνες. Κάθε πρωτεΐνη αποτελείται από πολλά αμινοξέα (**ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β**) συνδεδεμένα με πεπτιδικούς δεσμούς (**Εικόνα 1.5**) (Berg et al., 2006).



Εικόνα 1.5. Δημιουργία πεπτιδικού δεσμού μεταξύ δύο αμινοξέων (1) + (2). Όπου R1, R2 η λειτουργική ομάδα κάθε αμινοξέος (<https://en.wikipedia.org>).

Μερικά μη-πρωτεϊνικής φύσεως αζωτούχα μόρια (ΜΠΦΝ) περιλαμβάνουν τις βεταΐνες, τα όξινα αμιδιά ή αμινοξέα (ασπαραγίνη, γλουταμίνη), διάφορα οργανικά μόρια (όπως πουρίνες, πυριμιδίνες, αλκαλοειδή, αζωτούχους γλυκοζίτες) και αμμωνιακά άλατα. Τα πιο σημαντικά ΜΠΦΝ είναι τα νουκλεϊκά οξέα. Κατά την υδρόλυση των τελευταίων, παράγεται μείγμα βασικών αζωτούχων ενώσεων, πεντόζη και φωσφορικό οξύ. Ακόμα, το άζωτο μπορεί να υπάρξει σε μορφή αζωτούχων λιπιδίων, αμινών και σε μερικές βιταμίνες της οικογένειας Β. Οι αμίνες αποτελούν παράγωγα αμινοξέων και μερικές από αυτές δρουν στη φυσιολογία των οργανισμών (Berg et al., 2006).

1.1.5 Ανόργανα στοιχεία

Τα ανόργανα άλατα που βρίσκονται σε μεγάλες ποσότητες στους οργανισμούς και θεωρούνται απαραίτητα για τη ζωή περιλαμβάνουν άτομα ασβεστίου (Ca), μαγνησίου (Mg), φωσφόρου (P), καλίου (K), νατρίου (Na), χλωρίου (Cl) και θείου (S). Άλλα ανόργανα άλατα που δεν συναντώνται σε μεγάλες ποσότητες στους οργανισμούς (ιχνοστοιχεία) περιλαμβάνουν τον σίδηρο (Fe), τον χαλκό (Cu), τον ψευδάργυρο (Zn), το μαγγάνιο (Mn), το σελήνιο (Se), το κοβάλτιο (Co), το ιώδιο (I), το φθόριο (F), το χρώμιο (Cr), το νικέλιο (Ni), το βανάδιο (V) και το μολυβδαίνιο (Mo) (Ζέρβας, 2015).

Στα ζώα το ποσοστό της τέφρας κυμαίνεται γύρω στο 2-5% και μπορεί να ποικίλει ανάλογα με διάφορους παράγοντες, όπως το είδος, το άτομο, την ηλικία ή και ακόμα τον υπό εξέταση ιστό (Ζέρβας, 2015). Τα περισσότερα ανόργανα στοιχεία διατελούν καταλυτικές λειτουργίες στα κύτταρα. Κάποια, έχουν στενούς δεσμούς με ενζυμικές πρωτεΐνες, ενώ άλλα βρίσκονται σε χηλική μορφή στις προσθετικές

ομάδες των ενζύμων αυτών (Berg et al., 2006). Άλλα στοιχεία, όπως το K^+ παίζουν σημαντικό ρόλο στην διακυτταρική επικοινωνία, ενώ μερικά, όπως το Ca^{++} , χρησιμεύουν και ως δομικές μονάδες. Πολλά, έχουν διττούς ρόλους και συμμετέχουν σε περισσότερες από μία λειτουργίες (Sherwood, 2013).

1.2 Κολυμβητικά δεκάποδα του γένους *Penaeus*

1.2.1 Γενικά

Διατροφικές συνήθειες

Οι γαρίδες του γένους *Penaeus* ανήκουν στα πιο μελετημένα είδη κολυμβητικών δεκαπόδων, καθώς αποτελούν ένα από τα κυριότερα καρκινοειδή στον τομέα της αλιείας και των υδατοκαλλιεργειών (Shiau, 1998). Οι θρεπτικές απαιτήσεις είναι διαφορετικές για κάθε είδος (Kanazawa et al., 1970; D'Abramo et al., 1997). Επίσης, τα είδη του γένους *Penaeus* εμφανίζουν διαφορετικές διατροφικές συνήθειες κατά τα διαφορετικά αναπτυξιακά τους στάδια.

Τα ενήλικα άτομα θεωρούνται παμφάγοι θηρευτές και τρέφονται με μεγάλο εύρος βενθικών οργανισμών και οργανικών υπολειμμάτων. Ωστόσο, δεν είναι συνετή η τοποθέτηση τους σε κάποιο συγκεκριμένο διατροφικό επίπεδο, καθώς είναι ευκαιριακοί καταναλωτές (Lovell, 2003).

Οι γαρίδες εμφανίζουν υπεργλυκαιμία μετά την κατανάλωση υδατανθράκων, η οποία προκαλεί σημαντικές αρνητικές επιπτώσεις στην ανάπτυξή τους (Guillaume et al., 2001). Η κύρια χρησιμότητα των υδατανθράκων στη διατροφή τους είναι η χρήση τους ως πηγές ενέργειας. Η χιτίνη φαίνεται να επιδρά θετικά στην ανάπτυξη των γαρίδων, καθώς χρησιμοποιείται για την δημιουργία του εξωσκελετού τους (Shiau, 1998).

Τα λιπίδια στη διατροφή των γαρίδων μπορούν να δράσουν αρνητικά στην ανάπτυξή τους εάν ξεπερνούν το 10% του συνολικού βάρους τροφής (Lovell, 2003). Ωστόσο, η λήψη τους είναι απαραίτητη καθώς δεν προσφέρουν μόνο θερμιδική ενέργεια, αλλά και απαραίτητα θρεπτικά στοιχεία για την ανάπτυξή τους (Lovell, 2003). Τα λιπαρά οξέα που χαρακτηρίζονται ως απαραίτητα στη διατροφή των γαρίδων είναι το α -λινολενικό (18:3 ω -3), το λιγνολικό (18:2 ω -6), το εικοσιπενταενοϊκό (20:5 ω -3) και το εικοσιδιεξαενοϊκό (22:6 ω -3) (Shiau, 1998). Τα είδη του γένους *Penaeus*, όπως και τα υπόλοιπα καρκινοειδή δεν έχουν την δυνατότητα σύνθεσης στερολών, επομένως η πρόσληψή τους είναι απαραίτητη για την ομαλή ανάπτυξη (Guillaume et al., 2001). Μία ακόμα απαραίτητη κατηγορία λιπιδίων στη διατροφή των γαρίδων είναι τα φωσφολιπίδια, τα οποία εκτός από πηγή φωσφόρου, πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, χολίνης και ινσιτόλης για τους οργανισμούς, αποτελούν γαλακτωματοποιητές και πρόδρομες ενώσεις των κολλοειδών σωματίων στον πεπτικό σωλήνα. Επίσης, χρησιμοποιούνται ως συστατικά για τις λιποπρωτεΐνες που μεταφέρουν τη χοληστερόλη μεταξύ των κυττάρων.

Η βέλτιστη ποσότητα λήψης πρωτεϊνών για τα είδη του γένους *Penaeus* διαφέρει από είδος σε είδος (Zien-Eldin & Corliss, 1976; Lee & Lawrence, 1985). Η ποσότητα της απαραίτητης προσλαμβανόμενης πρωτεΐνης εξαρτάται από τις συνθήκες του περιβάλλοντος (Shiau et al., 1991). Όπως στους περισσότερους ζωικούς οργανισμούς, οι γαρίδες πρέπει να προσλαμβάνουν μέσω διατροφής τα 10 απαραίτητα αμινοξέα (αργινίνη, ιστιδίνη, ισολευκίνη, λευκίνη, θρεονίνη, τρυπτοφάνη, βαλίνη, μεθειονίνη, λυσίνη και φαινυλαλανίνη) (Guzon & Guillaume, 1999).

Η πρόσληψη ανόργανων στοιχείων είναι απαραίτητη. Τα στοιχεία αυτά προσλαμβάνονται μέσω του νερού, με απορρόφηση από τα βράγχια ή τον πεπτικό σωλήνα.

Περιεκτικότητα σάρκας

Οι ολικές στερόλες στον μυϊκό ιστό των καρκινοειδών αποτελούν το 41,5% των λιπιδίων. Στα κολυμβητικά δεκάποδα η χοληστερόλη αποτελεί το 90% του συνόλου των στερολών (Μεντέ, 2011). Στα καρκινοειδή, όπως και στους περισσότερους ζωϊκούς οργανισμούς, τα πιο πολλά λιπαρά οξέα περιέχουν ζυγό αριθμό ατόμων άνθρακα. Τα άτομα αυτά είναι ενωμένα σε ευθείες αλυσίδες με *cis* ισομέρεια. Τα λιπίδια είναι μια κατηγορία οργανικών ενώσεων, της οποίας η σύσταση μεταβάλλεται συνεχώς. Οι παράγοντες που τα επηρεάζουν μπορεί να είναι είτε βιολογικοί (όπως το στάδιο κύκλου ζωής), είτε περιβαλλοντικοί και διατροφικοί (Henderson & Tocher, 1987; Shearer, 1994). Η βιοσύνθεση των λιπαρών οξέων στις γαρίδες πιστεύεται ότι ακολουθεί παρόμοια βιοχημικά μονοπάτια με αυτή στα θηλαστικά (Gurr & Harwood, 1991). Τα κύρια λιπαρά οξέα που συντίθενται είναι το παλμιτικό (C16:0) και το στεαρικό οξύ (C18:0) (Cook & McMaster, 2002; Henderson, 1996). Στη συνέχεια μπορεί να αφαιρεθούν δύο άτομα υδρογόνου και να παραχθεί ένας διπλός δεσμός (σύνθεση 16:1 ω-7 και 18:1 ω-9 αντίστοιχα) και μετέπειτα να γίνει επιμήκυνση της ανθρακικής αλυσίδας. Τα καρκινοειδή δεν περιέχουν στο γενετικό τους υλικό γονίδια για την μεταγραφή του ενζύμου Δ12 αποκορεσμάση και του Δ15 αποκορεσμάση. Επομένως, δεν μπορούν να συνθέσουν λιπαρά οξέα όπως το 18:2 ω-6 και το 18:3 ω-3. Τα τελευταία αποτελούν πρόδρομα μόρια μεγαλύτερων ανθρακικών αλυσίδων πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, όπως του 22:6 ω-3 (Sargent et al., 2002). Τα λιπαρά οξέα αποτελούν τις κύριες πηγές μεταβολικής ενέργειας στα καρκινοειδή (Sargent et al., 2002).

Τα λιπαρά οξέα 16:0 και 18:0 έχουν την μεγαλύτερη αφθονία μεταξύ των κορεσμένων λιπαρών οξέων της σάρκας (Henderson & Tocher, 1987; Yurkowski, 1989; Soriguer et al., 1997; Sirot et al., 2008). Ακόμα, εντοπίζονται και άλλα κορεσμένα λιπαρά οξέα με μήκος αλυσίδας από 12 μέχρι 24 άτομα άνθρακα, αλλά σε μικρότερα ποσοστά. Κορεσμένα λιπαρά οξέα με μονό αριθμό ατόμων άνθρακα εντοπίζονται μόνο σε πολύ μικρές ποσότητες. Λιπαρά οξέα με αλυσίδες άνθρακα μικρότερες των 10 ατόμων είναι σπάνιες. Σύμφωνα με τις προαναφερθείσες μελέτες το μονοακόρεστο λιπαρό οξύ με την μεγαλύτερη αφθονία είναι το 18:1 ω-9. Το 18:1 ω-7 συνήθως βρίσκεται σε μικρές ποσότητες και το 16:1 ω-7 βρίσκεται σε μεγαλύτερες ποσότητες συγκριτικά με ζωικά λίπη. Το 24:1 ω-9 αποτελεί προϊόν επιμήκυνσης του 18:1 ω-9.

Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα που συναντώνται σε μεγαλύτερες αφθονίες είναι το εικοσιπενταενοϊκό οξύ (20:5 ω-3), το εικοσιδιεξαενοϊκό οξύ (22:6 ω-3), το αραχιδονικό οξύ (20:4 ω-6), το λινελαϊκό οξύ (18:2 ω-6) και το α-λινολενικό οξύ (18:3 ω-3).

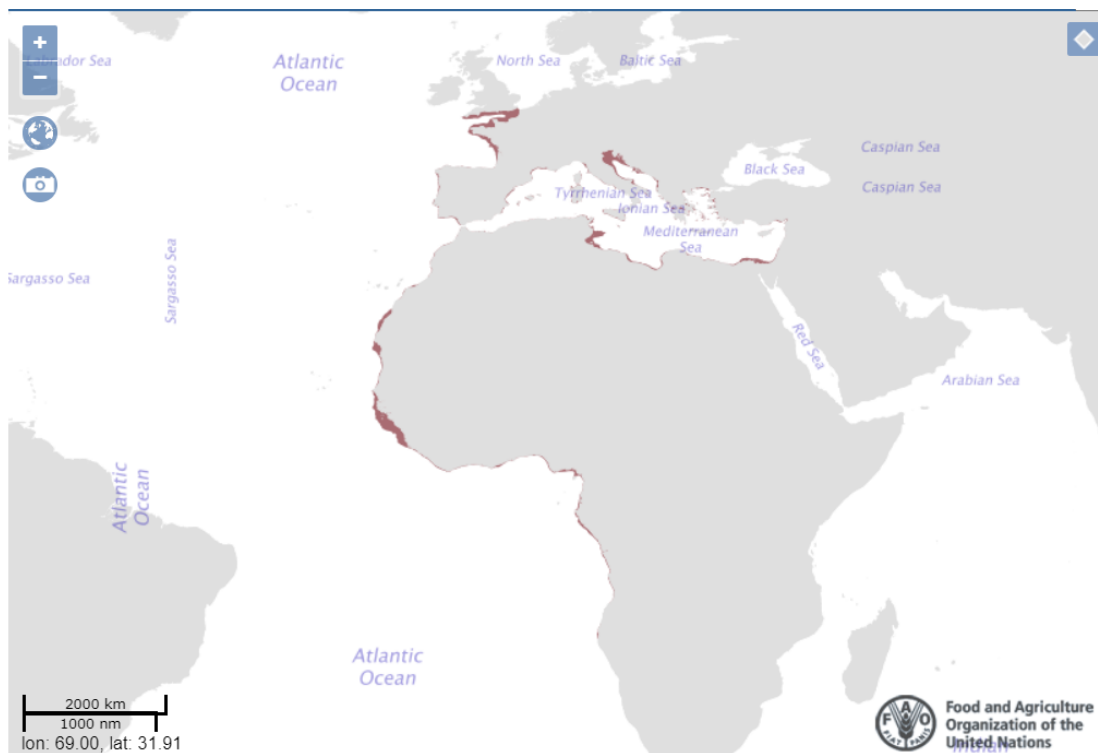
Το περιεχόμενο των ιστών σε λιπαρά οξέα ποικίλει αρκετά μεταξύ των ειδών, καθώς και μεταξύ των ατόμων ενός είδους (Henderson & Tocher, 1987; Ackman, 1989; Ahlgren et al., 1994) και μπορούν να επηρεαστούν από διάφορους παράγοντες, όπως το ενδιαίτημα όπου συναντώνται οι οργανισμοί (Κωνσταντινόπουλος και συν., 2019). Η αύξηση της θερμοκρασίας επάγει αύξηση της συγκέντρωσης των κορεσμένων λιπαρών οξέων και μείωση των μονο- και πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (Martin & Ceccaldi, 1977). Η πενία θρεπτικών πόρων οδηγεί σε μείωση του C16:0 (Guary et al., 1975). Αντίθετη δράση, έχει μια διατροφή η οποία δεν περιέχει πολλά λιπαρά (προκαλεί δηλαδή αύξηση του C16:0 αλλά και των C16:1 και C18:1).

1.2.2 *Penaeus kerathurus*

Το είδος *Penaeus kerathurus* (Forsk., 1775) (Braune Garnele, brown shrimp, γαρίδα, γάμπαρη κ.α. με βάση την κοινή ονομασία κάθε περιοχής) εμφανίζει μια Ατλαντο-Μεσογειακή κατανομή και απαντάται στον Ανατολικό Ατλαντικό Ωκεανό (από την Πορτογαλία έως την Αγκόλα) (d'Udekem & d'Acoz, 1999) και στη Μεσόγειο Θάλασσα έως και τη θάλασσα του Μαρμαρά (WoRMS, 2020) (**Εικόνα 1.6**).

Στην **εικόνα 1.7** παρουσιάζεται η μορφολογία του είδους, όπως περιεγράφηκε από τον Forskal (1775). Το είδος *P. kerathurus* θεωρείται μία από τις γαρίδες μεγάλου μεγέθους. Το συνολικό της μέγεθος φτάνει τα 11-14cm για τα αρσενικά και 13-17cm για τα θηλυκά. Το ασυμπτωτικά μέγιστο μήκος (L_{∞}) (το οποίο παρατηρείται και στην περιοχή της Ελλάδας) είναι 25,2-27,2cm (Aho, 2000). Η απελευθέρωση των αβγών πραγματοποιείται από τους μήνες Ιούνιο-Ιούλιο και διαρκεί ως το Σεπτέμβριο. Στο Αιγαίο Πέλαγος η περίοδος αυτή διαρκεί από τον Μάιο ως τον Οκτώβριο (Turkmen et al., 2007).

Η γαρίδα *P. kerathurus* είναι βενθοπελαγικό είδος, το οποίο ζει σε ζώνες κοντά στην ακτή και σε υφάλμυρα νερά. Ο βυθός που προτιμάει είναι πυθμένες με αμμώδη-λασπώδη υποστρώματα. Το εύρος του βάρους στο οποίο συναντάται κυμαίνεται από 0,5 έως 100 m, αλλά συνήθως εντοπίζεται στα 5-40 m (Azouz, 1972). Τα περισσότερα άτομα βρίσκονται στα ρηχά όρια αυτού του εύρους και έχει βρεθεί αρνητική συσχέτιση μεταξύ της αύξησης του βάρους και της πυκνότητας των πληθυσμών του (Gharbi & Ben Meriem, 1996). Στη βιβλιογραφία αναφέρεται πως έχει εντοπισθεί σε πολλά διαφορετικά μικροπεριβάλλοντα (Heldt, 1932; Heldt, 1954; Heldt & Heldt, 1954; Azouz, 1972). Στην αρχή του κύκλου ζωής του εντοπίζεται σε ρηχά παραλιακά νερά. Η μετακίνηση σε βάθη περίπου 50 m, γίνεται όταν το μέγεθος τους φτάνει τα 5-8 cm. Εκεί, παραμένει έως την ενηλικίωση και την αναπαραγωγική περίοδο, κατά την οποία μετακινείται στα αναπαραγωγικά πεδία (George, 1977). Η αναπαραγωγή λαμβάνει χώρα κυρίως στο τέλος του καλοκαιριού, και εξαρτάται από πολλούς περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως π.χ. το ύψος βροχόπτωσης (Bolognini et al., 2017). Σαν είδος πραγματοποιεί δύο τύπους μεταναστεύσεων: Α) κατακόρυφη νυχθημερήσια στη στήλη του νερού (για τροφοληψία και εύρεση καταφυγίου), όπου την μέρα κατεβαίνει στα βαθύτερα στρώματα νερού για να κρυφτεί στη βλάστηση και τα φυσικά καταφύγια που δημιουργούνται στον βυθό, και (β) οριζόντια μετανάστευση (εύρεση αναπαραγωγικών πεδίων), όπου αλλάζει την περιοχή διαβίωσης (Zouari, 1984). Οι Karani et al. (2005) έδειξαν ότι η διατροφή των ανήλικων ατόμων διαφέρει από τη διατροφή των ενήλικων ατόμων. Η διατροφή των τελευταίων αποτελείται κυρίως από καρκινοειδή, πολύχαιτους και μαλάκια. Η Καράνη στην πτυχιακή της εργασία (2004) ανέλυσε λεπτομερώς τα διατροφικά χαρακτηριστικά ατόμων που συλλέχθηκαν από περιοχές πλησίον της εκβολής του Πηνειού ποταμού. Σύμφωνα με αυτή την εργασία, το στομαχικό περιεχόμενο αποτελείται από ανώτερα φύκη, σπόγγους, ανθόζωα, νηματώδεις, σιφωνοειδή, μαλάκια, πολύχαιτους, καρκινοειδή, βρυόζωα, εχινόδερμα και χορδωτά, όπως ασκίδια και ψάρια. Το μεγαλύτερο ποσοστό καταλάμβαναν τα μαλάκια (26,32%) και τα καρκινοειδή (19,66%). Ακόμα, σε μεγάλες αφθονίες βρέθηκαν και οι πολύχαιτοι (12,41%) και τα ανθόζωα (12,30%).



Εικόνα 1.6. Γεωγραφική κατανομή του είδους *P. kerathurus* (FAO, 2020)



Εικόνα 1.7. Μορφολογία του είδους *P. kerathurus* (Forskal, 1775)

Σύσταση σάρκας

Η σάρκα της γαρίδας *P. kerathurus*, περιέχει 73,31-78,2% υγρασία, 0,76-2,69% λίπος, 1,23-2,87% τέφρα, 14,48-19,12% πρωτεΐνες και υψηλά ποσοστά ω-3 λιπαρών οξέων (Zlatanov et al., 2009; Erdilal, 2012; Ayas et al., 2013). Η σύσταση της σάρκας μεταβάλλεται κατά την διάρκεια του έτους (Ayas et al.,

2013). Το γλουταμινικό οξύ φαίνεται να είναι το αμινοξύ σε μεγαλύτερη αφθονία στις πρωτεΐνες του οργανισμού (Zlatanos et al., 2009). Η *P. kerathurus* εμφανίζει τα μέγιστα ποσοστά λίπους το φθινόπωρο, ενώ το χειμώνα και την άνοιξη εμφανίζει μικρότερα. Το καλοκαίρι το ποσοστό λίπους στο σώμα αυξάνεται ξανά, ενώ η σύσταση του λίπους μεταβάλλεται εξίσου μεταξύ των εποχών. Τα κορεσμένα λιπαρά οξέα εμφανίζουν το μέγιστο ποσοστό τους κατά τον χειμώνα, με επικρατέστερο το C16:0 (Ayas et al., 2013; Zlatanos et al., 2009). Ακόμα, βρέθηκαν τα: C12:0 (μόνο την άνοιξη και το καλοκαίρι), C14:0, C15:0, C17:0, C20:0 (μέγιστα το φθινόπωρο), C18:0 και C22:0 (μέγιστα το καλοκαίρι).

Τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα εμφανίζουν τη μέγιστη συγκέντρωσή τους κατά τους φθινοπωρινούς μήνες. Κατά τη διάρκεια του χειμώνα μειώνονται, για να αυξηθούν την άνοιξη και να ξανα-μειωθούν μέσα στο καλοκαίρι. Το μονοακόρεστο με την μεγαλύτερη αφθονία είναι το C18:1 ω-9, ενώ και τα C16:1, C18:1 ω-7 και C20:1 έχουν μεγάλες συγκεντρώσεις.

Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα εμφανίζουν και αυτά μέγιστη συγκέντρωση το φθινόπωρο. Τον χειμώνα και την άνοιξη μειώνεται η συγκέντρωσή τους για να αυξηθεί ξανά το καλοκαίρι. Τα κύρια πολυακόρεστα λιπαρά οξέα είναι το C20:5 ω-3 και C22:6 ω-3 (Zlatanos et al., 2009; Tsape et al., 2010).

Σύμφωνα με τους Κωνσταντινόπουλος και συν. (2019) η περιοχή σύλληψης των ατόμων του *P. kerathurus* μπορεί να επηρεάζει την ποσοστιαία περιεκτικότητα των λιπαρών οξέων στη σάρκα, καθώς σε μελέτη που έγινε στις περιοχές του Θερμαϊκού Κόλπου και του Θρακικού Πελάγους βρέθηκαν διαφορές στη συγκέντρωση των δύο εκ των 14 αναγνωρισθέντων λιπαρών οξέων.

Στη σάρκα ατόμων του είδους έχουν εντοπιστεί βαρέα μέταλλα, όπως μόλυβδος (Pb), κάδμιο (Cd) και χρώμιο (Cr) (Ayas et al., 2016).

1.2.3 *Penaeus aztecus*

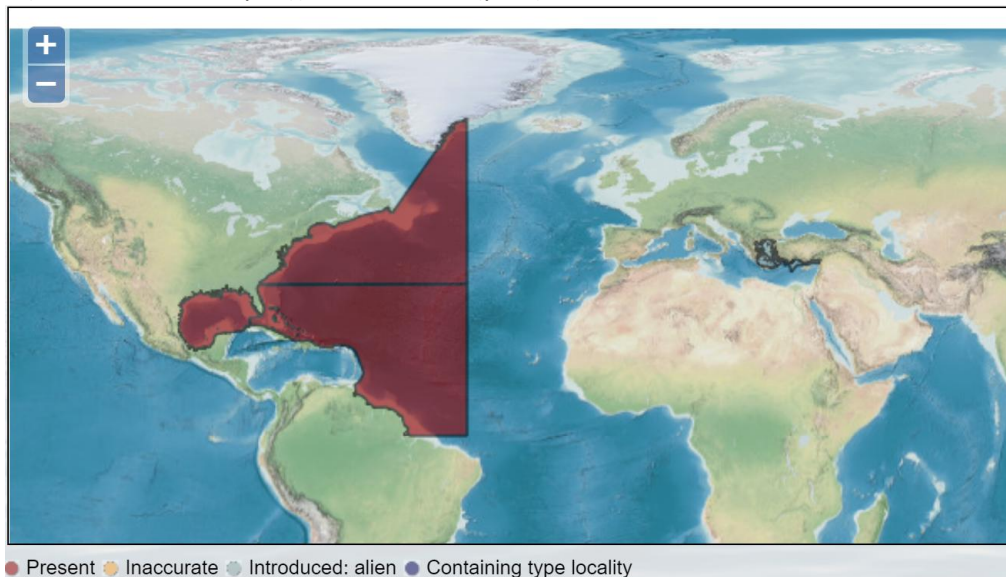
Το *Penaeus aztecus* Ives, 1981 (WoRMS, 2020) είναι ένα μεγάλο είδος κολυμβητικών δεκαπόδων (Εικόνα 1.7), το οποίο είναι ενδημικό του Δυτικού Ατλαντικού Ωκεανού και του Κόλπου του Μεξικού (Εικόνα 1.8). Το μέγιστο μέγεθος των θηλυκών φτάνει τα 23,6 cm και των αρσενικών τα 19,5 cm (FAO, 2012). Στην ανατολική Μεσόγειο τα θηλυκά φτάνουν τα 21,4 cm (Minos et al., 2015). Το είδος αυτό ζει σε βάθη 4-160 m ενώ κυρίως απαντώνται σε βάθη 27-55 m (Williams, 1984). Τα άτομα αυτού του είδους φαίνεται να προτιμάνε λασπώδεις, τυρφώδεις, αμμώδεις ή αργιλώδεις πυθμένες. Τα ανώριμα/αναπτυσσόμενα άτομα βρίσκονται σε θαλάσσια ή εκβολικά συστήματα, ενώ τα ενήλικα συναντώνται μόνο σε θαλάσσια περιβάλλοντα. Στη Μεσόγειο άρχισε να καταγράφεται από το 2009 (Gokoglu et al., 2010; Scannella et al., 2017; Kamouris et al., 2018), ως ξενικό, εισβολικό είδος.



Εικόνα 1.7. Πλευρική κάτοψη του είδους *P. aztecus* (Wikipedia.org)

Η απελευθέρωση των αβγών γίνεται απευθείας στο νερό, όπως συμβαίνει σε όλους τους αντιπροσώπους της οικογένειας Penaeidae, αρκεί το βάθος να είναι μεγαλύτερο από 14 m (Renfro & Brusher, 1964). Η περίοδος αναπαραγωγής στην ανατολική Μεσόγειο είναι τέλος του φθινοπώρου και ολοκληρώνεται στις αρχές του χειμώνα (Minos et al., 2015).

Οι McTigue & Zimmerman (1991) έδειξαν πως τα ανήλικα άτομα είναι παμφάγα, ενώ δεν μπορούν να επιβιώσουν σε συνθήκες με τροφή που προέρχεται αποκλειστικά από φυτικούς οργανισμούς. Οι Gleason & Wellington (1988) βρήκαν πως οι βενθικοί (κωπήποδα -του γένους *Harpacticoida*-, αμφίποδα, κάποια άλλα αρθρόποδα και πολύχαιτοι) και πλαγκτονικοί οργανισμοί μεγέθους >0,095 mm παίζουν σημαντικό ρόλο στην αύξηση των νεαρών ατόμων. Οι φυτικοί οργανισμοί δεν έδειξαν κάποια σημαντική συσχέτιση για την ίδια διαδικασία. Παρόλα αυτά αναφέρουν πως η βέλτιστη διαίτα για την γαρίδα *P. aztecus*, περιλαμβάνει ζωική πρωτεΐνη και φυτοπλαγκτό. Τα ενήλικα άτομα είναι επίσης παμφάγα. Η διατροφή τους αποτελείται από πολύχαιτους, αμφίποδα και νεκρή οργανική ύλη (Zein-Eldin & Renaud, 1986). Σύμφωνα με τον Williams (1955), η εποχική ανάλυση στομαχικού περιεχομένου έδειξε πως το φθινόπωρο τα στομάχια των ατόμων του είδους εμφάνισαν 100% ή 50% πληρότητα. Το χειμώνα σχεδόν 0% πληρότητα και το καλοκαίρι σχεδόν 100% πληρότητα.



Εικόνα 1.8. Γεωγραφική κατανομή του είδους *P. aztecus*. Με κόκκινο χρώμα διακρίνονται οι περιοχές της αυτόχθονος γεωγραφικής κατανομής του είδους, ενώ με γκρι (Ανατολική Μεσόγειος, Σικελία και Κόλπος του Λέοντα) οι περιοχές όπου αναφέρεται ως ξενικό είδος (<http://www.marinespecies.org/>).

Σύσταση σάρκας

Η σύσταση της σάρκας σε οργανικά μόρια (όπως αναφέρθηκε προηγουμένως) επηρεάζεται από τους περιβαλλοντικούς παράγοντες του εκάστοτε ενδιαιτήματος. Η διαφοροποίηση αυτή μπορεί να διακριθεί στις διαφορές που υπάρχουν μεταξύ των εργασιών που έχουν δημοσιευτεί. Τα θηλυκά άτομα περιέχουν 2,0% λίπος και τα ανώριμα άτομα 2,1% (Shewbart et al., 1973). Στα νεαρά άτομα η χοληστερόλη αντιστοιχεί το 0,7% του συνολικού λίπους. Η περιεκτικότητα της σάρκας σε πρωτεΐνες κυμαίνεται μεταξύ 19,23% και 21,8% (Menard et al., 2015; Sidwell, 1981), ενώ η υγρασία που περιέχεται είναι 76,81% με 77,0% (Menard et al., 2015; Sidwell, 1981). Το λίπος καταλαμβάνει το 0,8 με 0,94% ($\pm 0,08$) του συνολικού βάρους (Menard et al., 2015; Sidwell, 1981; Krzypnowek & Panunzio, 1989) και το ποσοστό τέφρας κυμαίνεται μεταξύ 1,6 με 1,69% ($\pm 0,19$) (Menard et al., 2015; Sidwell, 1981).

Οι γαρίδες που απαντώνται σε φυσικούς πληθυσμούς περιέχουν μεγαλύτερο ποσοστό τέφρας από τις εκτρεφόμενες λόγω ανόργανων στοιχείων, όπως το Ca, το K, το Na και ο P. Επίσης εντοπίστηκαν εννέα ιχνοστοιχεία (As, Cu, Fe, Mn, Zn, Al, B, Mo, Se)(Sidwell, 1981).

Οι Bottino et al. (1980) μελέτησαν επί έναν χρόνο το προφίλ των λιπαρών οξέων από μία συγκεκριμένη περιοχή για το είδος *P. aztecus*. Κατά την μελέτη τους, ως επικρατές κορεσμένο λιπαρό οξύ βρέθηκε το C16:0, το οποίο είχε την μέγιστη τιμή τον μήνα Μάρτιο του 1978. Τον Αύγουστο του 1977 είχε μεγαλύτερη τιμή από τον Μάρτιο του ίδιου έτους, αλλά μικρότερη τιμή από τον Μάρτιο του επόμενου έτους. Το μονοακόρεστο λιπαρό οξύ με την μεγαλύτερη αφθονία ήταν το C18:1 ω-9, το οποίο είχε υψηλές τιμές στα δείγματα Μαρτίου των δύο ετών. Το πολυακόρεστο λιπαρό οξύ με την μεγαλύτερη αφθονία ήταν το C20:5 ω-3, το οποίο εμφάνισε παρόμοιες διακυμάνσεις με το C18:1 ω-9. Οι Menard et al. (2015) βρήκαν πως σε αντίθεση με τις γαρίδες προερχόμενες από ιχθυοτροφεία, οι άγριες γαρίδες του είδους *P. aztecus* έχουν ως κυρίαρχο λιπαρό οξύ το πολυακόρεστο C22:6 ω-3 (29,66% του συνόλου των λιπαρών οξέων). Ακόμα, ποσοστά άνω του 10% είχαν τα λιπαρά οξέα C16:0, C18:1 και C20:5 ω-3.

1.3 Κολυμβητικά δεκάποδα και ανθρώπινη διατροφή.

1.3.1 Εισαγωγή

Τα τελευταία χρόνια υπάρχει αυξανόμενο ενδιαφέρον σχετικά με τα ποιοτικά χαρακτηριστικά της διατροφής των ανθρώπων (Simopoulos 1979). Αυτό οφείλεται κυρίως στην ανάπτυξη της επιστήμης και στην κατανόηση των προβλημάτων που μπορούν να προκύψουν σε κάποιο άτομο, εξαιτίας μιας μη ισορροπημένης διατροφής. Ακόμα, λόγω της ταχείας τεχνολογικής προόδου και της αλλαγής του τρόπου ζωής συγκριτικά με την περίοδο πριν τον 20^ο αιώνα, οι διατροφικές συνήθειες έχουν μεταβληθεί πολύ. Το γεγονός αυτό έχει συνδράμει αρκετά στα προβλήματα υγείας που εμφανίζονται λόγω διατροφής.

Τα απαραίτητα Λιπαρά Οξέα (Essential Fatty Acids – EFA) αναγνωρίστηκαν το 1929 (Burr & Burr, 1929), αλλά οι άνθρωποι άρχισαν να δείχνουν ενδιαφέρον μετά την εργασία των Bang & Dyerberg (1978). Από τότε, οι γνώσεις μας σχετικά με τη συνεισφορά αυτών των λιπαρών οξέων στην ανάπτυξη και την αύξηση του ανθρώπινου σώματος, καθώς και τον ρόλο τους στην ανάπτυξη ορισμένων παθήσεων διευρύνθηκαν (Simopoulos, 2001). Οι παθήσεις αυτές αφορούν κυρίως καρδιαγγειακά προβλήματα (Burr et al., 1989).

Μελέτες που αφορούν την εξέλιξη της διατροφής του ανθρώπου έδειξαν πως η προσλαμβανόμενη ποσότητα λίπους έχει αυξηθεί. Ωστόσο, φαίνεται πως η συγκέντρωση των πολυακόρεστων ω-3 λιπαρών οξέων συνεχώς μειώνεται, ενώ αντίθετα η πρόσληψη των πολυακόρεστων ω-6 λιπαρών οξέων συνεχώς αυξάνεται (Simopoulos, 1998; Eaton et al., 1998). Αυτό, μπορεί να προκαλέσει ποικίλα προβλήματα καθώς ο ανθρώπινος οργανισμός εξελίχθηκε σε διαφορετικές τροφικές συνήθειες και ο χρόνος που έχουν συμβεί οι διατροφικές μετατοπίσεις δεν είναι αρκετός ώστε να προσαρμοστεί το γενετικό μας υλικό στις νέες συνθήκες (Simopoulos, 2001).

Τον 21^ο αιώνα, οι αναλογίες ω-6:ω-3 λιπαρά οξέα στη δυτική διατροφή είναι κατά μέσο όρο 15-20:1, ενώ κατά την εμφάνιση του είδους μας ήταν κοντά στο 1:1 (Simopoulos, 1999). Αυτό (σαν γενικός κανόνας) οφείλεται στην εκβιομηχανοποίηση της παραγωγής τροφίμων (Simopoulos, 2001). Ένας ακόμα παράγοντας, στον οποίο οφείλονται τα προβλήματα υγείας που προκύπτουν από την αναλογία ω-6:ω-3 λιπαρά οξέα είναι η αδυναμία του ανθρώπινου οργανισμού να μετατρέψει τα ω-6 σε ω-3.

Τα ω-6 και ω-3 συνήθως έχουν παρόμοιες θέσεις πρόσδεσης στην επιφάνεια των μεμβρανών των κυττάρων, αλλά οι λειτουργίες τους είναι αντίθετες. Έτσι, σε μία δίαιτα με υψηλά ποσοστά ω-6 τα προϊόντα που παράγονται από τις μεταβολικές οδούς των εικοσανοϊδίων (όπως προσταγλαδίνες, θρομβοξανές κ.α.) παράγονται σε μεγαλύτερες ποσότητες από τα αντίστοιχα με ω-3 λιπαρά οξέα. Τα

προϊόντα αυτά είναι πολύ δραστικά και αν παραχθούν σε μεγάλες ποσότητες επάγουν τη δημιουργία θρόμβων, αθηρωματικών πλακών, αλλεργικών αντιδράσεων, οιδημάτων και την ταχεία αναπαραγωγή των κυττάρων (Simopoulos, 2002).

Για την αντιμετώπιση αυτών των προβλημάτων τα άτομα πρέπει να καταναλώνουν τροφές με την μικρότερη δυνατή αναλογία ω-6:ω-3, έτσι ώστε να μπορεί να υπάρχει ισορροπία στους δύο τύπους ΕFA και εύρυθμη λειτουργία του οργανισμού (Simopoulos, 1994). Η ιδανική αναλογία ω-3:ω-6 λιπαρά οξέα κυμαίνεται μεταξύ 4:1 και 1:1 (Simopoulos, 2002).

Εξαιτίας των ιδιοτήτων των ω-6 να δημιουργούν θρόμβους και αθηρώματα και των ω-3 να περιορίζουν την δημιουργία αυτών των δομών, οι Ulbricht & Southgate (1991) ανέπτυξαν δύο δείκτες: Α) Τον δείκτη αθηρογένεσης (Atherogenicity Index – AI) και Β) Τον δείκτη θρομβογένεσης (Thrombogenicity index). Ο υπολογισμός του κάθε δείκτη γίνεται με βάση την ποσοστιαία σύνθεση συγκεκριμένων λιπαρών οξέων ενός τροφίμου. Το νούμερο που μπορεί να λάβει ο δείκτης είναι θετικός αριθμός μεγαλύτερος του 0, με το 0 να δείχνει αδυναμία του τροφίμου να προκαλέσει αρνητικές επιπτώσεις στον οργανισμό και μεγάλες τιμές να υποδηλώνουν πως καλύτερα να μην καταναλωθεί η τροφή.

Σύμφωνα με τις υπάρχουσες μελέτες (όπως παρουσιάστηκαν προηγουμένως) (Ayas et al., 2013; Κωνσταντινόπουλος και συν., 2019) τα κολυμβητικά δεκάποδα παρουσιάζουν πολύ μικρές τιμές των δεικτών IA (0,23-0,46) και IT (0,20-0,30). Επομένως, φαίνεται να συνεισφέρουν θετικά στην πρόληψη έναντι των συγκεκριμένων παθήσεων. Επίσης, έλαια που εξάγονται από είδη γαρίδων είναι πλούσια και σε ασταξανθίνη (Gulzar et al., 2020). Αμινοξέα που προέρχονται από την κεφαλοθωρακική χώρα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ιατροφαρμακευτικά ως αναστολείς υποδοχέων, οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για την όρεξη για φαγητό (Cudennec et al., 2008).

Ωστόσο, η κατανάλωση γαρίδων από μερικούς ανθρώπους μπορεί να προκαλέσει αναφυλακτικό σοκ, εξαιτίας της τροπομοσίνης που περιέχουν (Faisal et al., 2019). Ακόμα, ως αλλεργιογόνα, τα οποία εντοπίζονται στη σάρκα γαρίδας, έχουν χαρακτηριστεί η ελαφριά αλυσίδα της μυοσίνης, μία πρωτεΐνη υποδοχέας ασβεστίου και οι κινάσες ακτίνης και αργινίνης (Faisal et al., 2019). Στο είδος *P. aztecus* έχει παρατηρηθεί αλλεργιογόνος μορφή της τροπομοσίνης (Wild & Lehrer, 2005). Επίσης, οι Palmer & Presley (1980) βρήκαν πως η *P. aztecus* αφομοιώνει πολύ γρήγορα τον υδράργυρο (Hg), εφόσον αυτός βρίσκεται στο περιβάλλον.

Σκοπός της εργασίας

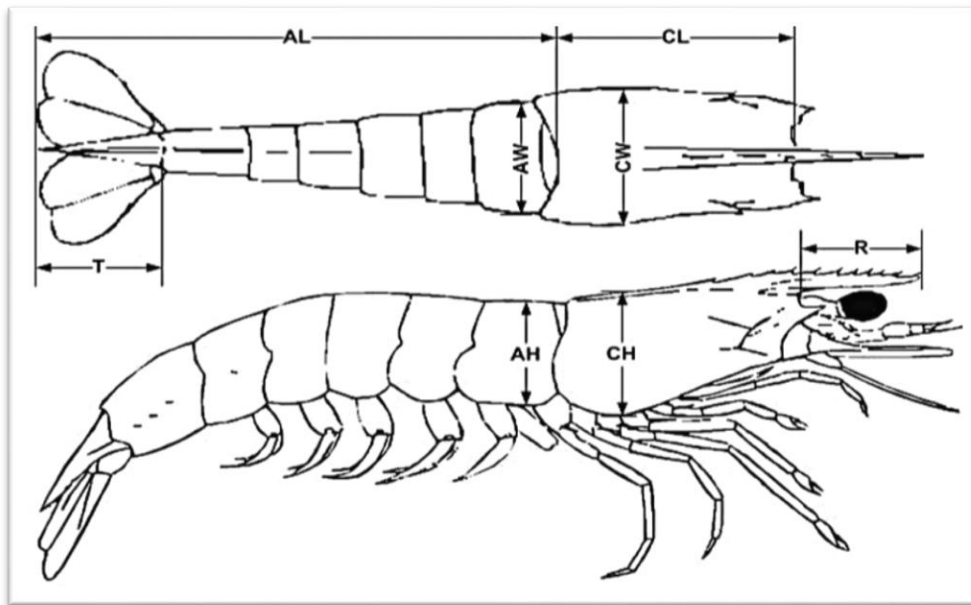
Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να διερευνηθεί η χημική σύσταση της σάρκας και του στομαχικού περιεχομένου σε δύο είδη κολυμβητικών δεκαπόδων, της γαρίδας *P. kerathurus* και της γαρίδας *P. aztecus*. Η σάρκα υποβλήθηκε σε απομόνωση του λίπους, υπολογισμό ολικών πρωτεϊνών, καθώς και θέρμανση και καύση για τον υπολογισμό υγρασίας και τέφρας. Η περιεκτικότητα σε λίπος, πρωτεΐνες, τέφρα και υγρασία υπολογίστηκε ως ποσοστιαία σύσταση στο σύνολο του νωπού βάρους. Επιπλέον, απομονώθηκε το λίπος από το στομαχικό περιεχόμενο. Στη συνέχεια, έγινε επεξεργασία του λίπους της σάρκας και του στομαχικού περιεχομένου για την παρασκευή λιπαρών οξέων και ελέγχθηκαν η ύπαρξη συσχετισμού μεταξύ της σύστασης της δίαιτας και της σύστασης της σάρκας. Στη συνέχεια, εξετάστηκε πιθανή διαφοροποίηση μεταξύ των φύλων των δύο ειδών και μεταξύ των ειδών. Επιπρόσθετα, μελετήθηκαν εάν οι προαναφερόμενες παράμετροι είναι επαρκείς για να μας δείξουν αν και που υπάρχει ανταγωνισμός των δύο ειδών. Τέλος, υπολογίστηκαν διατροφικοί δείκτες και έγινε προσπάθεια πρότασης διαχειριστικών πρακτικών.

Κεφάλαιο 2

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Δειγματοληψία

Για την παρούσα εργασία συλλέχθηκαν συνολικά 25 άτομα *P. kerathurus* και 24 άτομα *P. aztecus* από την ιχθυόσκαλα Καβάλας. Αρχικά, τα είδη διαχωρίστηκαν με βάση το φύλο και μετρήθηκε το μήκος κεφαλοθώρακα (CL – Carapace Length) (**Εικόνα 2.1**) με χρήση παχύμετρου, καθώς και το συνολικό τους βάρος με χρήση ζυγού ακριβείας δύο δεκαδικών ψηφίων. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε εξαγωγή του στομάχου και έγινε εναπόθεση του περιεχομένου σε πλαστικά φιαλίδια των 12 mL της εταιρίας Greiner. Το κομμάτι της σάρκας που χρησιμοποιήθηκε για τις χημικές αναλύσεις προήλθε από το πρώτο μεταμερές της κοιλίας, αφότου καθαρίστηκε από τα υπολείμματα του γαστρεντερικού συστήματος και του χιτινώδους περιβλήματος. Από όλα τα δείγματα λήφθηκε σάρκα από το ίδιο σημείο (**Εικόνα 2.1**) και με την ίδια ακριβώς διαδικασία, ώστε να υπάρχει επαναληψιμότητα των αποτελεσμάτων και να εξαλειφθεί η πιθανότητα σφάλματος λόγω διαφορών στη σύσταση μεταξύ των διαφόρων μεταμερών. Το δείγμα σάρκας τοποθετήθηκε σε ίδια φιαλίδια των 12 mL και έπειτα ομογενοποιήθηκε (με χρήση blender (model T25basic, IKA, Staufen, Germany)) για τις χημικές αναλύσεις. Τα φιαλίδια διατηρήθηκαν στην κατάψυξη (-20°C) και για κάθε χημική ανάλυση λαμβάνονταν μόνο η απαιτούμενη ποσότητα σάρκας.



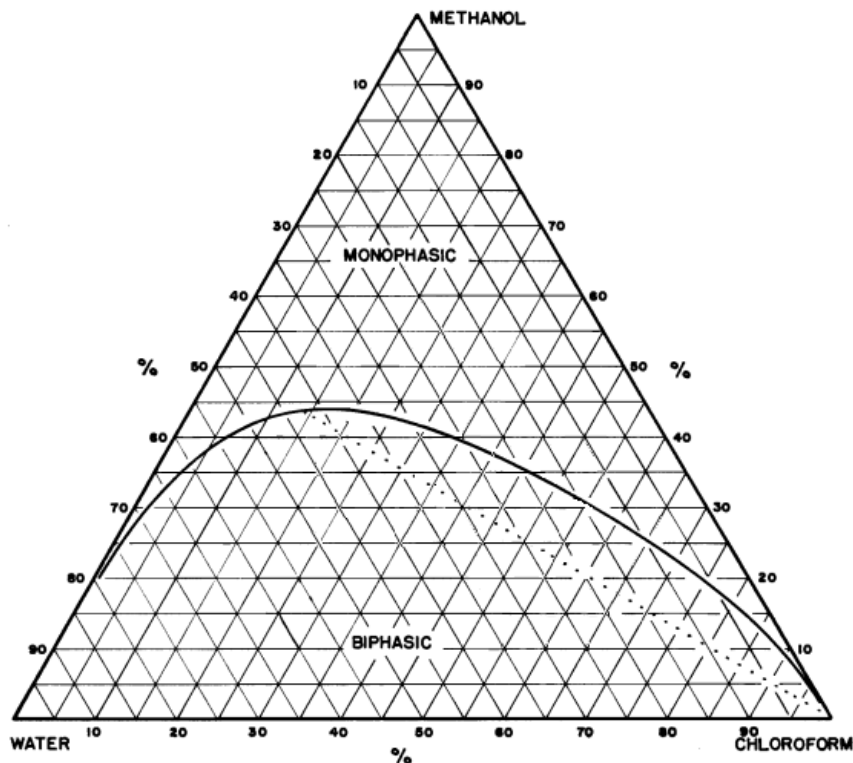
Εικόνα 2.1. Χαρακτηριστικά μήκη που λαμβάνονται για την μορφομετρία των ειδών του γένους *Penaeus*. Για τον υπολογισμό μήκους χρησιμοποιήθηκε η μέτρηση του κεφαλοθώρακα (CL – carapace length), ενώ η σάρκα λήφθηκε από το πρώτο μεταμερές της κοιλίας, όπου το AH είναι αναγραμμένο (Capiris & Conides, 2009).

2.2 Απομόνωση λίπους και παρασκευή μεθυλεστέρων

2.2.1 Γενικά

Για την απομόνωση του λίπους χρησιμοποιήθηκε υγρή εκχύλιση, σύμφωνα με τους Bligh & Dyer (1958). Η μέθοδος σχεδιάστηκε ώστε να είναι σύντομη, αποτελεσματική και να παρέχει επαναληψιμότητα των αποτελεσμάτων. Αρχικά, σχεδιάστηκε για ιστούς ψαριών.

Το σημείο-κλειδί αυτής της μεθόδου είναι η μίξη χλωροφορμίου-μεθανόλης στο διάλυμα. Το χλωροφόρμιο, ως μη πολικός διαλύτης, δεν μπορεί να αναμιχθεί με το νερό, το οποίο είναι πολικός διαλύτης (Kunz et al., 2016). Αυτό εξασφαλίζει την διαλυτότητα όλων των βιομορίων είτε στην υδατική είτε στην οργανική φάση, ανεξαρτήτως της ποσότητας και της πολικότητάς τους. Αρχικά, οι αναλογίες νερού/χλωροφορμίου/μεθανόλης ορίζονται κατάλληλα, ώστε το διάλυμα να είναι μονοφασικό. Το δείγμα αναδεύεται επαρκώς και στη συνέχεια προστίθεται ποσότητα νερού για τον αυθόρμητο διαχωρισμό των δύο φάσεων (**Εικόνα 2.2**). Σύμφωνα με τους Ren et al. (2017), η προσθήκη νερού κατά την εκχύλιση του λίπους αυξάνει σημαντικά την συνολική απόδοση της διαδικασίας. Με αυτό τον τρόπο οι πρωτεΐνες, οι υδατάνθρακες και τα φωσφολιπίδια συγκεντρώνονται στην υδατική φάση (Lipke & Onalle, 1998; Vukovic & Mrsa, 2016; Breil et al., 2016), η οποία περιέχει νερό και μεθανόλη. Όλες οι πολικές ενώσεις, συμπεριλαμβανομένων των περισσότερων λιπιδίων συγκεντρώνονται στην οργανική φάση (Smedes & Tomansen, 1996).



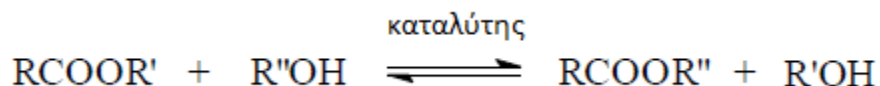
Εικόνα 2.2. Διάγραμμα φάσεων χλωροφορμίου-μεθανόλης-ύδατος, %w/w στους 20°C (τροποποιημένο από Bligh & Dyer, 1958)

Οι δύο φάσεις βρίσκονται σε ισορροπία, με το χημικό δυναμικό του νερού, του χλωροφορμίου και της μεθανόλης να είναι ίδιο και στις δύο φάσεις. Οι δύο φάσεις είναι πολύ κοντά στο κρίσιμο σημείο

τους. Η υδατική φάση χρειάζεται μικρότερα ποσά ελεύθερης ενέργειας για να προσλάβει τις πρωτεΐνες, ενώ η οργανική φάση προσδένει αποτελεσματικά όλα τα λίπη, ανεξαρτήτως της πολικότητάς τους (Cot, 2006). Ωστόσο, η μέθοδος έχει μειονεκτήματα όσον αφορά την ασφάλεια του εργαζόμενου, ιδίως λόγω της χρήσης χλωροφορμίου, το οποίο είναι εξαιρετικά τοξικό και χαρακτηρίζεται ως καρκινογόνο (Breil et al., 2016), καθιστώντας το έτσι ακατάλληλο για εφαρμογές μεγάλης κλίμακας.

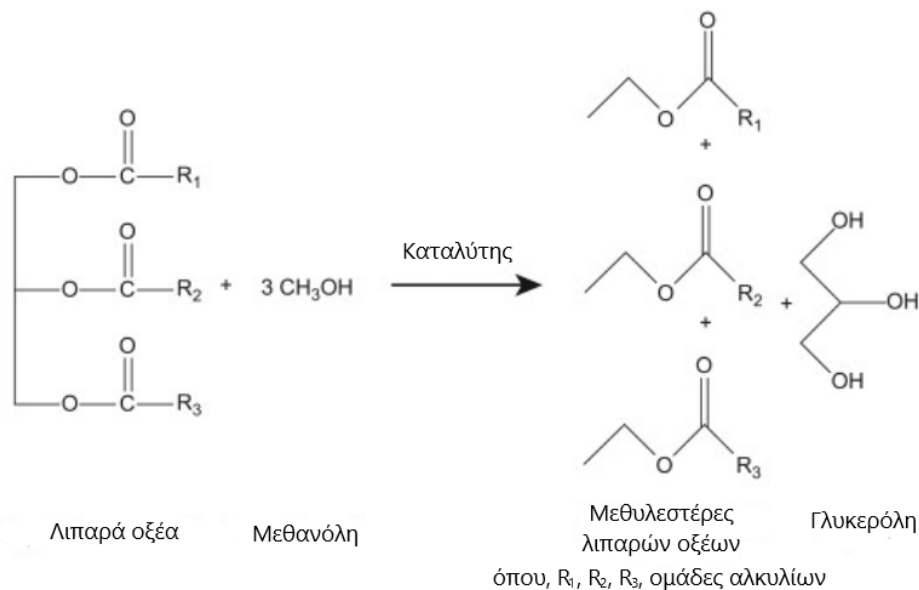
Οι μεθυλεστέρες των λιπαρών οξέων (fatty acid methyl esters – FAME) προκύπτουν με εστεροποίηση των λιπαρών οξέων και μετεστεροποίηση των υπαρχόντων εστέρων (όπως των τριγλυκεριδίων), με χρήση μεθανόλης (Anneken et al., 2006). Συνήθως, οι ενώσεις αυτές παράγονται μέσω μιας αντίδρασης μεταξύ των λιπών και της μεθανόλης, παρουσία καταλύτη, όπως ισχυρής βάσης (π.χ. καυστικό νάτριο), ή οξέος κατά Lewis (π.χ. BF_3) (**Εικόνα 2.3**). Η χρήση οξέων, παρόλο που είναι πιο αργή από άλλες μεθόδους –με χρήση διαφορετικής φύσεως καταλυτών- δεν επηρεάζεται από τα ελεύθερα λιπαρά οξέα (free fatty acids - FFA) (Lotero et al., 2005).

Η αντίδραση μετεστεροποίησης είναι μία αμφίδρομη αντίδραση. Η προσθήκη καταλύτη επιταχύνει σημαντικά την ταχύτητα αντίδρασης και αυξάνει την ποσότητα του παραγόμενου προϊόντος. Επίσης, για να αυξηθεί η ποσότητα των παραγόμενων μεθυλεστέρων πρέπει να χρησιμοποιηθεί περίσσεια μεθανόλης.



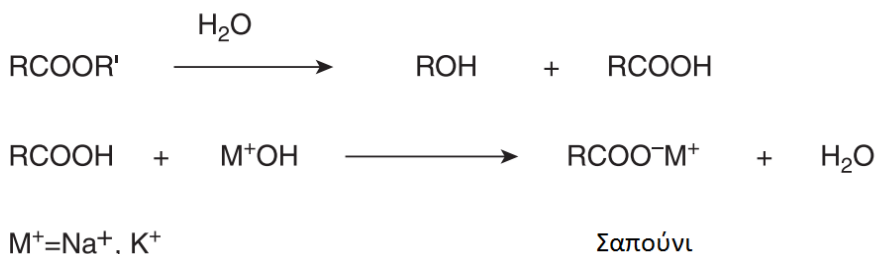
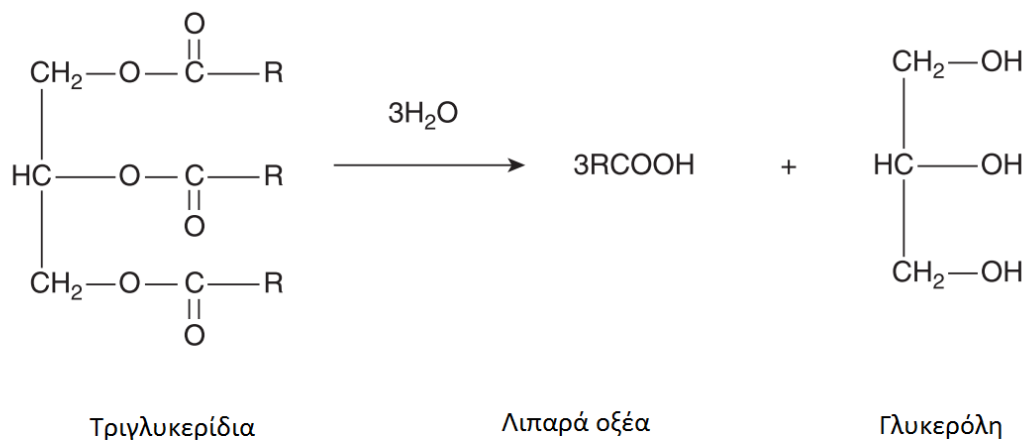
Εικόνα 2.3. Γενική εξίσωση μετεστεροποίησης (Schuchardt et al., 1998)

Τα τριγλυκερίδια αντιδρούν με την μεθανόλη παρουσία ισχυρού οξέος και ισχυρής βάσης παράγοντας μεθυλεστέρες και γλυκερόλη (Schuchardt, 1998). Η μετεστεροποίηση λαμβάνει χώρα έπειτα από την πυρηνόφιλη αντίδραση που συμβαίνει στον καρβονυλικό άνθρακα του οξέος. Αποτέλεσμα αυτής της αντίδρασης είναι μία ενδιάμεση ένωση, στην οποία ο άνθρακας έχει τετραεδρική συμμετρία. Το ενδιάμεσο αυτό στάδιο μπορεί είτε να επιστρέψει στην αρχική του μορφή, είτε να προχωρήσει στην παραγωγή του μεθυλεστέρα και ενός μορίου γλυκερόλης (**Εικόνα 2.4**) (Patel & Shah, 2015).

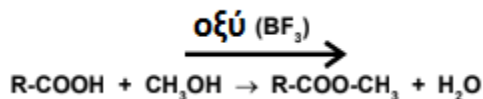


Εικόνα 2.4. Γενική εξίσωση μετεστεροποίησης τριγλυκεριδίων σε μεθυλεστέρες και γλυκερόλη (Patel & Shah, 2015)

Οι Metcalfe & Schmitz (1961) πρότειναν μία διαδικασία, κατά την οποία στην αρχή προστίθεται υδροξείδιο του νατρίου σε μεθανόλη και στη συνέχεια μεθανόλη με τριφθωριούχο βόριο. Με αυτό τον τρόπο κατάφεραν να επιταχύνουν κατά πολύ την διαδικασία και να βελτιώσουν την απόδοσή της. Ο μηχανισμός σαπωνοποίησης του λίπους, που συμβαίνει κατά το πρώτο μέρος της διαδικασίας περιγράφεται στην **εικόνα 2.5** (Verhe et al., 2011). Στις αντιδράσεις όπου χρησιμοποιείται βάση ως καταλύτης, το προϊόν χρειάζεται να περιέχει την ελάχιστη δυνατή ποσότητα ύδατος, ώστε να αποφευχθεί η υδρόλυση των λιπών (**Εικόνα 2.5**). Σε περίπτωση που το δείγμα είναι πλούσιο σε FFA χρειάζονται μεγαλύτερες ποσότητες καταλύτη (Verhe et al., 2011). Οι αντιδράσεις που συμβαίνουν κατά το στάδιο της προσθήκης του διαλύματος BF_3/MeOH περιγράφονται στην **Εικόνα 2.6** (Blau & Halket, 1993).



Εικόνα 2.5. Αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα κατά την προσθήκη NaOH (Verhe et al., 2011)



Εικόνα 2.6. Βασική αντίδραση εστεροποίησης κατά την προσθήκη οξέος κατά Lewis (BF₃) σε μεθανόλη (Blau & Halket, 1993)

Το BF₃ είναι ένας πολύ ισχυρός καταλύτης για την εστεροποίηση των λιπαρών οξέων. Οι Morrison & Smith (1964) απέδειξαν πως είναι εξίσου αποτελεσματικός στην μετεστεροποίηση όλων των λιπιδικών ενώσεων, παρόλο που χρειάζονται μεγαλύτεροι χρόνοι επώασης σε σχέση με την μετατροπή των FFA. Ο Lough (1964a) αναφέρει πως μπορεί να παραχθούν ενώσεις μεθόξυ (methoxy-) από τα ακόρεστα λιπαρά οξέα με προσθήκη επιπλέον μορίου μεθανόλης σε κάποιον από τους διπλούς δεσμούς. Αυτό το γεγονός μπορεί να αποφευχθεί με χρήση μικρότερης ποσότητας του καταλύτη (Lough, 1964b). Αυτό το πρόβλημα προκύπτει από την παρουσία οξειδωμένων λιπιδίων στο δείγμα (Corrock et al., 1965).

Οι εστέρες των στερολών μετεστεροποιούνται σε πολύ χαμηλότερους ρυθμούς από τα γλυκερολιπίδια. Η μεθυλίωση δειγμάτων που περιέχουν παράγωγα στερολών πρέπει να αποφεύγεται. Το BF₃ αντιδρά με τα τελευταία (Suyama et al., 1979) προκαλώντας αφυδάτωση, μεθοξυλίωση (methoxylate) και άλλα παράγωγα, τα οποία μπορούν να επηρεάσουν τις μεθόδους ανάλυσης, όπως την αέρια χρωματογραφία. Στην πράξη, τείνουν να εμφανίζονται ευρείες κορυφές στα χρωματογραφήματα των αναλύσεων, έπειτα από αυτές των μορίων ενδιαφέροντος (Hayes et al., 1971). Επίσης, το BF₃ μπορεί

να αντιδράσει με το συντηρητικό BHT (Butylated hydroxytoluene) και να παράγει 'μεθόξυ-' προϊόντα, τα οποία μπορούν και εκλύονται μαζί με τους μεθυλεστέρες 15:0 και 16:0 επηρεάζοντας τα αποτελέσματα της ανάλυσης της αέριας χρωματογραφίας (Moffat et al., 1991). Για την αποφυγή τέτοιων προβλημάτων, πρέπει να γίνεται συνεχής επιτήρηση των αντιδραστηρίων και των δειγμάτων για τον έγκαιρο εντοπισμό και αποφυγή πιθανών επιμολύνσεων (Christie, 1993).

2.2.2 Πειραματική διαδικασία – εκχύλιση λίπους

1. Αντιδραστήρια

- a. Χλωροφόρμιο με 0,01% BHT (αντιοξειδωτικό)
- b. Μεθανόλη
- c. Απιονισμένο νερό

2. Όργανα – Συσκευές

- a. Αναλυτικός ζυγός (τέσσερα δεκαδικά ψηφία)
- b. Φυγόκεντρος με ελεγχόμενη θερμοκρασία
- c. Ομογενοποιητής
- d. Περιστροφικός εξατμιστήρας κενού
- e. Ποτήρια ζέσεως των 300mL
- f. Ογκομετρικοί κύλινδροι
- g. Γυάλινοι σωλήνες φυγοκέντρωσης
- h. Σιφώνια πληρώσεως
- i. Σιφώνια Pasteur
- j. Εσφυρισμένες φιάλες περιστροφής (100mL)
- k. Ξηραντήρας
- l. Πυριαντήριο
- m. Αυτόματες πιπέτες
- n. Αναδευτήρας δοκιμαστικών σωλήνων (vortex)
- o. Σύριγγες όγκου 10mL

3. Προφυλάξεις

- a. Η μεθανόλη είναι τοξική και εύφλεκτη. Επομένως, οι χειρισμοί γίνονται στον απαγωγό και αποφεύγεται η τοποθέτηση του σιφωνίου στο στόμα για την λήψη της απαιτούμενης ποσότητας.
- b. Η φιάλη του χλωροφορμίου δεν πρέπει να αφήνεται ανοιχτή μέσα στο εργαστήριο, καθώς οι ατμοί του είναι επικίνδυνοι και δεν πρέπει να εισπνέονται. Οι χειρισμοί γίνονται πάντα στον απαγωγό.
- c. Η τήρηση όλων των κανονισμών ασφαλείας του εργαστηρίου (δηλ. χρήση εργαστηριακής ποδιάς, γαντιών κλπ) είναι απαραίτητη.

4. Μέθοδος - σάρκα

- a. Αρχικά, ζυγίστηκαν 1g ομογενοποιημένης σάρκας γαρίδας (νωπής).
- b. Στη συνέχεια προστέθηκε μικρή ποσότητα απιονισμένου νερού, έως ο όγκος φτάσει στα 5mL.
- c. Το δείγμα αναδεύτηκε για να ομογενοποιηθεί.

- d. Με αυτόματη πιπέτα προστέθηκαν 5mL χλωροφορμίου με 0,01% BHT και 10mL μεθανόλης και το δείγμα αναδεύτηκε στη συσκευή vortex για 1min.
- e. Στη συνέχεια προστέθηκε ξανά ποσότητα 5mL χλωροφορμίου με 0,01% BHT και το δείγμα αναδεύτηκε για άλλα 30sec.
- f. Τέλος, έγινε προσθήκη 5mL απιονισμένου νερού και το δείγμα αναδεύτηκε για ακόμα 30sec.
- g. Εφόσον άρχισε να δημιουργείται διφασικό σύστημα, οι σωλήνες μεταφέρθηκαν στην ψυχόμενη φυγόκεντρο, όπου πραγματοποιήθηκε φυγοκέντρηση στις 2.000 RPM (στροφές/λεπτό) για 20 min και σε θερμοκρασία T=4°C.
- h. Μετά την φυγοκέντρηση και με τη βοήθεια των συρίγγων των 10mL λήφθηκαν από τον πυθμένα κάθε σωλήνα περίπου 5mL της οργανικής φάσης και μεταφέρθηκαν σε προζυγισμένη και αποξηραμένη σφαιρική φιάλη με εσμύρισμα.
- i. Ακολούθησε η εξάτμιση του χλωροφορμίου σε περιστροφικό εξατμιστήρα.
- j. Οι φιάλες στη συνέχεια τοποθετήθηκαν σε προθερμασμένο φούρνο στους 40°C για 1h ώστε να εξατμιστούν τυχόν υπολείμματα χλωροφορμίου.

5. Μέθοδος – στομαχικό περιεχόμενο

Για το στομαχικό περιεχόμενο έγινε μεταβολή της ποσότητας των διαλυτών όπως αναγράφεται στον **Πίνακα 2.1**, λόγω των μικρών ποσοτήτων που λήφθηκαν. Όλες οι διαδικασίες πραγματοποιήθηκαν όπως αυτή της απομόνωσης λίπους από τη σάρκα. Μετά τη φυγοκέντρηση η οργανική φάση λήφθηκε με πιπέτα Pasteur, η οποία αρχικά θερμάνθηκε και επιμηκύνθηκε. Με αυτή τη διαδικασία επιτεύχθηκε μικρότερο άνοιγμα στομίου, για την αποφυγή λήψης ουσιών πέρα της οργανικής φάσης.

Πίνακας 2.1. Ποσότητες διαλυτών που χρησιμοποιήθηκαν για την απομόνωση λίπους από το στομαχικό περιεχόμενο των υπό μελέτη ατόμων.

Βήμα διαδικασίας	Διαλύτης	Ποσότητα
b	Νερό	1mL
d	Μεθανόλη	2mL
d	Χλωροφόρμιο με 0,01% BHT	1mL
e	Χλωροφόρμιο με 0,01% BHT	1mL
f	Νερό	1mL

6. Υπολογισμοί

Ο υπολογισμός του συνολικού λίπους έγινε με χρήση της **εξίσωσης 2.1**

$$\text{Λίπος \%} = \frac{\left(\text{Βάρος εκχυλιζόμενου λίπους} \times \frac{\text{ολικό CIF}}{\text{CIF που λήφθηκε}} \right)}{\text{βάρος δείγματος}} \quad \text{εξ. 2.1}$$

2.2.3 Πειραματική διαδικασία – Μεθυλίωση λιπαρών οξέων

1. Απαιτούμενα όργανα – Συσκευές

- a. Συσκευή θέρμανσης
- b. Αναδευτήρας δοκιμαστικών σωλήνων (Vortex)
- c. Θερμόμετρο
- d. Βιδωτά φιαλίδια των 10mL
- e. Αυτόματες πιπέτες
- f. Βιδωτά φιαλίδια 5mL
- g. Αναλυτικός ζυγός

2. Αντιδραστήρια

- a. 0,5M NaOH σε μεθανόλη, παράχθηκε διαλύοντας 20g στερεού NaOH σε 1L μεθανόλης.
- b. 14% τριφθοριούχο βόριο σε μεθανόλη
- c. Ισο-οκτάνιο
- d. Πρότυπα διαλύματα λιπαρών οξέων (FAME 37 methyl ester mix)
- e. Λάδι, για έλεγχο θερμοκρασίας της συσκευής θέρμανσης (Heating block)
- f. Κορεσμένο διάλυμα χλωριούχου νατρίου (NaCl), παράχθηκε διαλύοντας >35g στερεό χλωριούχο νάτριο ανά 100 mL απιονισμένο νερό

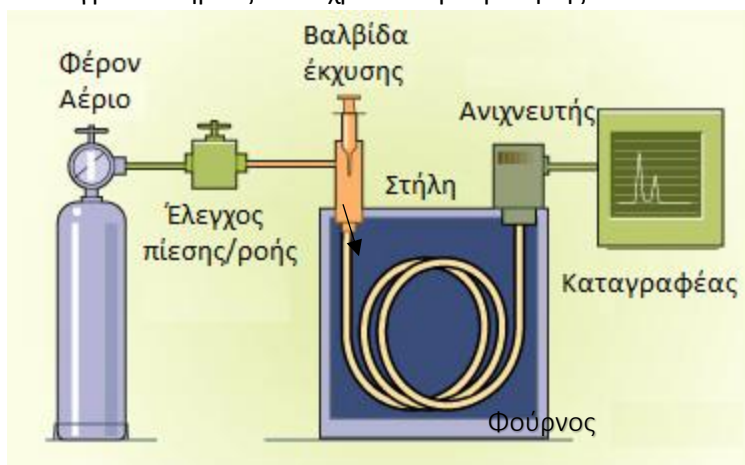
3. Μέθοδος

- a. Στις στρογγυλές φιάλες του περιστροφικού εξατμιστήρα προστέθηκαν 1,5mL 0,5M NaOH σε μεθανόλη.
- b. Στη συνέχεια αναδεύτηκε ώστε να διαλυθεί όλη η ποσότητα λίπους και μεταφέρθηκε σε βιδωτό φιαλίδιο των 10mL.
- c. Το φιαλίδιο βιδώθηκε ερμητικά, το μίγμα αναδεύτηκε για 30sec στο vortex και θερμάνθηκε στους 100°C στο heating block για 7-15min.
- d. Έπειτα το δείγμα αφέθηκε να κρυώσει και προστέθηκαν 2mL 14% τριφθοριούχο βόριο σε μεθανόλη.
- e. Το φιαλίδιο πωματίστηκε ερμητικά και όπως προηγουμένως αναδεύτηκε για 30sec και τοποθετήθηκε στο heating block για άλλα 5min.
- f. Μετά, εφόσον το δείγμα κρύωσε επαρκώς (<35°C), προστέθηκε 1mL ισο-οκτάνιο. Το φιαλίδιο πωματίστηκε ερμητικά και το δείγμα αναδεύτηκε για ακόμη 30sec.
- g. Ακολούθησε προσθήκη 5mL κορεσμένου διαλύματος NaCl και ανάδευση για ακόμα 30sec.
- h. Τέλος το φιαλίδιο αφέθηκε σε ηρεμία ώστε να επιτραπεί ο διαχωρισμός του ισο-οκτανίου, από το οποίο στη συνέχεια λήφθηκαν 800μL με αυτόματη πιπέτα και μεταφέρθηκαν στα μικρά βιδωτά φιαλίδια των 5mL.
- i. Στην περίπτωση των στομαχικών περιεχομένων, ακολούθησε δεύτερη εκχύλιση με προσθήκη ακόμη 1mL ισο-οκτανίου. Οι δύο εκχυλίσεις ισοοκτανίου προστέθηκαν μαζί ώστε να αυξηθεί η ποσότητα των λιπαρών οξέων στο διάλυμα.
- j. Σε όλα τα δείγματα έγινε απομάκρυνση της περίσσειας διαλύτη με παροχή αερίου N₂ μέσω γυάλινης πιπέτας Pasteur με σκοπό την πιο αποτελεσματική ανάλυση στην αέρια χρωματογραφία.

2.3 Ανάλυση λιπαρών οξέων

Η τεχνική της χρωματογραφίας χρησιμοποιείται για τον διαχωρισμό των συστατικών ενός δείγματος, χρησιμοποιώντας το συνεχόμενο επιμερισμό των υπό μελέτη συστατικών μεταξύ δύο διαφορετικών φάσεων, της στατικής και της κινητής φάσης. Αυτό το χαρακτηριστικό την καθιστά την πιο αποτελεσματική τεχνική για τον διαχωρισμό, την αναγνώριση και τον προσδιορισμό χημικών μορίων. Η αέρια χρωματογραφία προτάθηκε το 1944 (Martin & Synge, 1944) και εφαρμόστηκε για πρώτη φορά το 1952 (James & Martin, 1952).

Στην αέρια χρωματογραφία, η κινητή φάση αποτελείται από ένα αέριο, το οποίο καλείται φέρον αέριο. Συνήθως το αέριο αυτό αποτελείται από κάποιο αδρανές στοιχείο (όπως το ήλιο (He)) ή μπορεί να χρησιμοποιηθεί και το άζωτο (N). Ο ρόλος του είναι αποκλειστικά η μεταφορά του δείγματος από την βαλβίδα έγχυσης στον ανιχνευτή (Εικόνα 2.7) και δεν παρατηρούνται αλληλεπιδράσεις μεταξύ αυτού και του δείγματος. Η σταθερή φάση αποτελείται από μία στήλη, η οποία – σύμφωνα με τις αλληλεπιδράσεις με το δείγμα – επηρεάζει τον χρόνο παρακράτησης.



Εικόνα 2.7. Σχηματική διάταξη του αέριου χρωματογράφου (GC) (<https://chem.libretexts.org>).

Για την ανάλυση της αέριας χρωματογραφίας, το δείγμα πρέπει να είναι πτητικό, ώστε να διαλύεται στην κινητή φάση. Αυτό πολλές φορές επιτυγχάνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας της στήλης. Ο διαχωρισμός των λιγότερο πτητικών μορίων πρέπει να εκτελείται σε συνθήκες όπου τα μόρια αυτά έχουν σχετικά υψηλή τάση ατμών. Για τα μη πτητικά μόρια, απαιτείται η επεξεργασία τους για την μετατροπή τους σε πτητικά. Για παράδειγμα, στην ανάλυση των λιπαρών οξέων απαιτείται αντίδραση των οξέων για την μετατροπή τους σε μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων (Fatty Acid Methyl Esters – FAME).

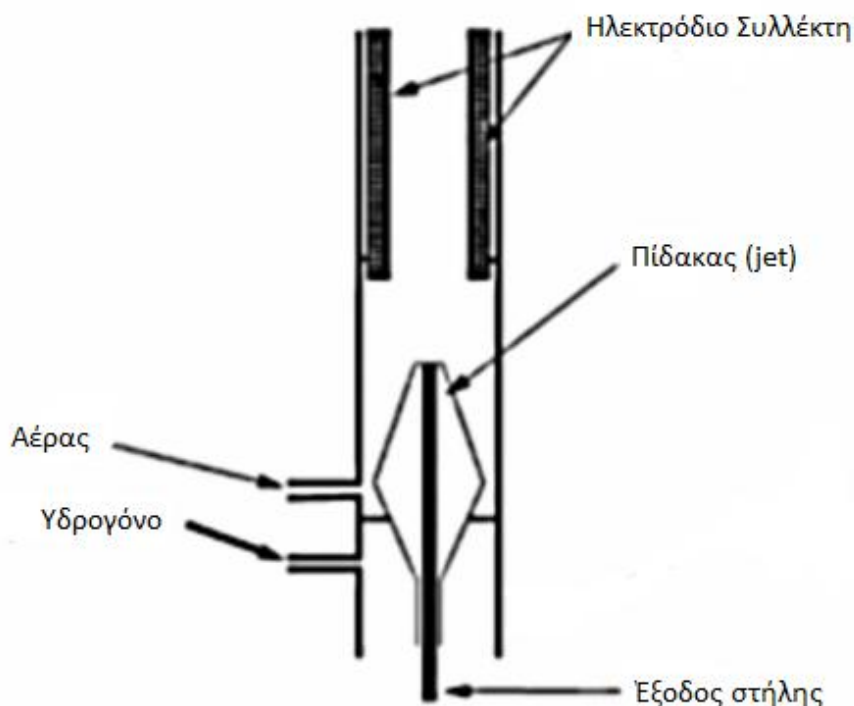
Η εικόνα 2.7 δείχνει την σχηματική αναπαράσταση ενός συστήματος αέριας χρωματογραφίας. Το δείγμα εισάγεται στην προθερμασμένη βαλβίδα έγχυσης, όπου και εξατμίζεται. Στη συνέχεια, μεταφέρεται από το φέρον αέριο στη στήλη που βρίσκεται μέσα στο φούρνο. Εκεί, πραγματοποιείται ο περαιτέρω διαχωρισμός των επιμέρους στοιχείων. Στο τέλος της στήλης βρίσκεται ένας ανιχνευτής, ο οποίος δημιουργεί ηλεκτρικά σήματα σύμφωνα με τα συστατικά που περνάνε από αυτόν και μέσω ειδικού λογισμικού παράγεται η εικόνα του χρωματογραφήματος.

2.3.1 Αέρια χρωματογραφία με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας

Ένας ιδανικός ανιχνευτής χαρακτηρίζεται από υψηλή σταθερότητα και επαναληψιμότητα σε συνάρτηση με το χρόνο, υψηλή ευαισθησία (10^{-8} - 10^{-15} g ουσίας/s), εκλεκτικότητα, γραμμική απόκριση,

δυνατότητα λειτουργίας έως 400°C, μικρό χρόνο απόκρισης, μη καταστρεπτική μέθοδο ανίχνευσης και ευκολία χρήσης με υψηλή αξιοπιστία (Clarkson, 1998; James & Martin; 1952, Martin & Synge 1941; Abian, 1999).

Ο ανιχνευτής ιοντισμού φλόγας (Flame Ionization Detector – FID) είναι η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη μέθοδος ανίχνευσης σε συστήματα αέριας χρωματογραφίας. Η φλόγα του FID (**Εικόνα 2.8**) παράγεται από καύση υδρογόνου και αέρα. Το ηλεκτρικό σήμα παράγεται από ένα ηλεκτρόδιο συλλέκτη. Μεταξύ της φλόγας και του ηλεκτροδίου εφαρμόζεται αρνητική τάση πόλωσης (Sparkman et al., 2011).



Εικόνα 2.8. Σχηματική απεικόνιση του FID (Jinno, 2002).

Για την επίτευξη της μέγιστης απόδοσης του FID προτείνεται η χρήση ενός αερίου «make up» (συνήθως αζώτου), το οποίο ωθεί το δείγμα στη φλόγα και επομένως αυξάνει την ευαισθησία (Grinberg & Rodrigues, 2019). Ο FID είναι ευαίσθητος σε όλες τις χημικές ενώσεις που περιέχουν δεσμούς C-C και C-H. Για την λειτουργία του απαιτείται η ροή του υδρογόνου να είναι 20-30mL/min και του αέρα 120-200mL/min. Ένα αρνητικό χαρακτηριστικό του είναι η καύση, δηλαδή η καταστροφή των ενώσεων κατά την ανάλυση.

Πειραματικές συνθήκες

- Για την αέρια χρωματογραφία, χρησιμοποιήθηκε ο αέριος χρωματογράφος HP 5890 SERIES II (**Εικόνα 2.9**) με τριχοειδή στήλη SGE 50QC2/BPX70 0,25 (50m, εσωτερική διάμετρος 0,22mm, film 0,25μm).
- Στο πρόγραμμα υπήρχε split 1:100. Ο όγκος δείγματος ήταν 2μL για τα δείγματα σάρκας και 4μL για τα δείγματα στομαχικού περιεχομένου.
- Η θερμοκρασία στην βαλβίδα έκχυσης ρυθμίστηκε στους 320°C, ενώ του ανιχνευτή στους 300°C.
- Η αρχική θερμοκρασία του φούρνου παρέμεινε στους 50 °C για 2min και έπειτα έγινε αύξηση 20 °C/min έως την θερμοκρασία των 150 °C.
- Στη συνέχεια η αύξηση της θερμοκρασίας τροποποιήθηκε στους 1,5 °C/min έως τη θερμοκρασία των 230 °C όπου παρέμεινε για 3 ακόμη λεπτά.



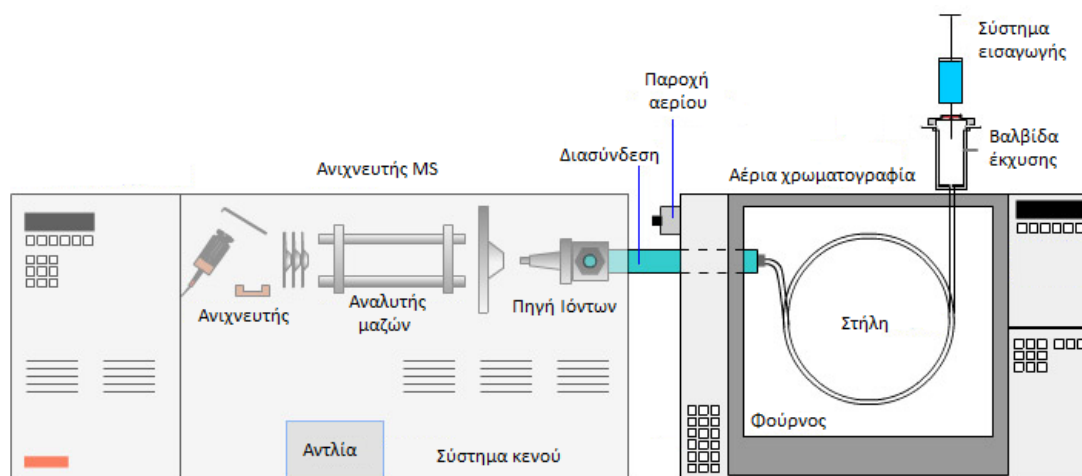
Εικόνα 2.9. Ο αέριος χρωματογράφος που χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση των λιπαρών οξέων.

2.3.2 Αέρια χρωματογραφία με φασματοσκοπία μάζας

Στη φασματοσκοπία μάζας (mass spectroscopy – ms) είναι δυνατός ο προσδιορισμός των άγνωστων κορυφών που προκύπτουν από την αέρια χρωματογραφία (Grinberg & Rodrigues, 2019). Τα άγνωστα μόρια μετατρέπονται σε ιόντα και ο διαχωρισμός τους γίνεται με βάση τον λόγο μάζας/φορτίου (m/z). Οι φασματογράφοι μάζας, συχνά συνδέονται με άλλες διαχωριστικές τεχνικές, για τον καλύτερο διαχωρισμό των συστατικών του άγνωστου δείγματος και την πιο αποτελεσματική αναγνώριση των άγνωστων συστατικών. Σε διαφορετική περίπτωση, η αναγνώριση θα ήταν αδύνατη εξαιτίας του τεράστιου αριθμού διαφορετικών θραυσμάτων που θα αναγνώριζε ο ανιχνευτής.

Η αέρια χρωματογραφία θεωρείται ιδανική για ανάλυση μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων. Η σύζευξη της αέριας χρωματογραφίας με φασματοσκοπία μάζας (GC-MS) (Εικόνα 2.10) οδηγεί σε ένα σύστημα, το οποίο διαχωρίζει άριστα τα συστατικά του υπό μελέτη δείγματος και στη συνέχεια επιτρέπει το χημικό προσδιορισμό των μορίων που το αποτελούν (Amigo, 2008). Ακόμα, το σύστημα GC-MS επιτρέπει την ταυτοποίηση και τον προσδιορισμό των πτητικών και μη πτητικών οργανικών ενώσεων, τον προσδιορισμό του μοριακού βάρους (ή ακόμα και της στοιχειακής σύνθεσης) άγνωστων οργανικών ενώσεων και τη δυνατότητα προσδιορισμού ενώσεων μέσω αντιστοίχισης με φάσματα αναφοράς που υπάρχουν σε διάφορες βιβλιοθήκες (όπως η NIST) (Hites, 1997).

Για να αναλυθεί σωστά το δείγμα χρειάζεται μια πηγή ιονισμού (ionization source), καθώς και ο σωστός τύπος αναλυτή μάζας. Αναλυτές μάζας για συστήματα GC-MS μπορούν να είναι είτε οι τετραπολικοί ή οι παγίδες ιόντων.



Εικόνα 2.10. Σύστημα GC-MS (<https://www.chromacademy.com/>).

Πειραματικές συνθήκες

- Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε σε αέριο χρωματογράφο - χρωματογράφο μάζας, GC-MS HP6890 της Agilent / MSD 5973 με τριχοειδή χρωματογραφική στήλη DB-1ms, με μήκος 30 m και εσωτερική διάμετρο 0,25 mm.
- Αρχικά η θερμοκρασία παρέμεινε σταθερή στους 50 °C για δύο λεπτά.
- Έπειτα, από τους 50 °C έως τους 340 °C υπήρξε κλίση ανόδου 10 °C /min
- Στη συνέχεια η θερμοκρασία παρέμεινε σταθερή στους 340 °C για 10 min.

2.4 Προσδιορισμός ολικών πρωτεϊνών – Μέθοδος Kjeldahl

2.4.1 Η μέθοδος Kjeldahl

Για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Kjeldahl, η οποία αναπτύχθηκε αρχικά από τον Johan Kjeldahl, για χρήση στην βιομηχανία μύρας. Σκοπός της μεθόδου, κατά την ανάπτυξη της, ήταν ο υπολογισμός της μεταβολής των πρωτεϊνών στο κριθάρι κατά την βλάστηση και τη ζύμωση (Kjeldahl, 1883).

Η μέθοδος Kjeldahl υπολογίζει την τιμή της συνολικής ποσότητας πρωτεϊνών. Αυτό επιτυγχάνεται με τον πολλαπλασιασμό της συνολικής συγκέντρωσης αζώτου με έναν σταθερό παράγοντα, ο οποίος

διαφέρει αναλόγως της φύσης του δείγματος (Mariotti et al., 2008). Για τις γαρίδες ο παράγοντας αυτός είναι 5,8 (Menard et al., 2015). Το μη-πρωτεϊνικό άζωτο (non-protein nitrogen, NPN) θεωρείται αμελητέο.

Ο ποσοτικός προσδιορισμός της περιεκτικότητας πρωτεϊνών ενός τρόφιμου είναι απαραίτητος για τον έλεγχο της ποιότητας των τροφίμων και αποτελεί προϋπόθεση για την σωστή σήμανση των προϊόντων (Owosu & Arpenten, 2002). Επίσης, η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες μπορεί να επηρεάσει την τιμή ενός προϊόντος στην αγορά (Krotz et al., 2008).

Η μέθοδος Kjeldahl υπερिशύει έναντι άλλων μεθόδων, όπως οι χρωματογραφικές μέθοδοι ή η μέθοδος Lowry, για την ανάλυση πρωτεϊνών. Αυτό συμβαίνει, διότι στην πρώτη δεν χρειάζεται να υπάρξει προεργασία του δείγματος με σκοπό τη δημιουργία διαλύματος, στο οποίο οι υπό μελέτη πρωτεΐνες είναι σε διαλυτή μορφή. Επιπλέον, η μέθοδος Kjeldahl χρησιμοποιείται ως μέθοδος αναφοράς για την επαλήθευση άλλων μεθόδων ποσοτικού προσδιορισμού πρωτεϊνών, οι οποίες χρησιμοποιούνται στην φαρμακευτική βιομηχανία και τη βιομηχανία τροφίμων (Moller, 2010).

Η μέθοδος Kjeldahl αποτελείται από 3 στάδια (Krotz et al., 2008):

A) Όξινη χώνευση (μεταλλοποίηση) οργανικού δείγματος που περιέχει άζωτο. Για τον σκοπό αυτό χρησιμοποιείται πυκνό διάλυμα δυνατού οξέος, όπως του H_2SO_4 . Οι σωλήνες που χρησιμοποιούνται σήμερα είναι οι ίδιοι με αυτούς που σχεδίασε ο Kjeldahl το 1888 (Kjeldahl, 1888). Κατά την παραδοσιακή μέθοδο, χρησιμοποιούνται οι εν λόγω σωλήνες, περιεκτικότητας 500-800mL, ενώ για την θέρμανση χρησιμοποιείται ενέργεια που προέρχεται από ηλεκτρικό ρεύμα ή καύση αερίου. Η αντίδραση που πραγματοποιείται περιγράφεται από την **εξίσωση 2.2** (Owosu & Arpenten, 2002).



Η διαδικασία πρέπει να περιέχει πλεόνασμα θεικού οξέος, έτσι ώστε να διατηρεί την NH_3 σε μορφή NH_4^+ .

Η διαδικασία της χώνευσης μπορεί να διαρκέσει από μισή ώρα μέχρι μερικές ώρες, αναλόγως του δείγματος. Η διαδικασία της χώνευσης θεωρείται ότι έχει πραγματοποιηθεί πλήρως μόλις το διάλυμα αποκτήσει ένα διαυγές, απαλό πράσινο χρώμα. Ωστόσο, ο βρασμός συνεχίζεται για ακόμη ένα διάστημα με σκοπό την καθολική μετατροπή-απομόνωση του αζώτου (Amin & Flowers, 2004). Αυτά τα δύο βήματα μαζί, συνήθως δεν διαρκούν περισσότερο από 15 λεπτά (Chemat et al., 1998).

Το ζεστό, πυκνό θεικό οξύ δρα ως ήπιο αντιοξειδωτικό. Στην αντίδραση που συμβαίνει κατά την χώνευση, είναι επιθυμητό να οξειδωθεί ο άνθρακας που περιέχεται στο δείγμα, αλλά όχι η αμμωνία που απελευθερώνεται σε μορφή αερίου αζώτου. Για την ανύψωση του σημείου ζέσεως και την αύξηση της οξειδωτικής ισχύς του θεικού οξέος χρησιμοποιείται άλας. Το θεικό κάλιο χρησιμοποιείται γι' αυτό το σκοπό ήδη από το 1889 (Gunning, 1889). Με την αύξηση του σημείου ζέσεως επιτυγχάνεται επίσης σημαντική μείωση του απαιτούμενου χρόνου χώνευσης. Η θερμοκρασία βρασμού μετά την προσθήκη του θεικού καλίου μπορεί να φτάσει τους $380^\circ C$. Ακόμα, η χρήση οξειδίου του τιτανίου ως καταλύτη έχει αποδειχθεί πως επιφέρει πολύ ικανοποιητικά αποτελέσματα (Anderson & Moller, 1995). Ωστόσο, αν γίνει ανεξέλεγκτη προσθήκη άλατος, η θερμοκρασία αυτή μπορεί να ανέβει μέχρι και τους $400^\circ C$, στους οποίους ξεκινάει η πυρολυτική καύση του αζώτου. Συνέπεια του τελευταίου είναι η μερική απώλεια αζώτου (ALPHA, 2017).

Το σημείο βρασμού μεταβάλλεται με την προσθήκη άλατος σύμφωνα με την **εξίσωση 2.3**:

$$Y (^{\circ}C) = 55,8x + 331,2$$

εξ. 2.3

όπου το x είναι mg θειικού καλίου ανά ml θειικού οξέος. Οι τυπικές αναλογίες οξέος/άλατος κυμαίνονται από 1,4 ως 2,0 (Saez Plaza et al., 2013).

Η χώνευση σε υψηλές θερμοκρασίες καθιστά βέβαιη την πρόσληψη του αζώτου που βρίσκεται σε ενώσεις, οι οποίες δεν διασπώνται στη φυσιολογική θερμοκρασία βρασμού του θειικού οξέος (Amin & Flowers, 2004). Το εύρος θερμοκρασιών που είναι κατάλληλο για αυτή τη διαδικασία είναι 360°C με 410°C. Σύμφωνα με τον McKenzie (1994) αν γίνει σωστός σχεδιασμός, μπορεί να ληφθεί το άζωτο ακόμα και από ενώσεις που είναι ανθεκτικές στην καύση, όπως τρυπτοφάνη, λυσίνη και νικοτινικό οξύ.

Η χώνευση σε υψηλές θερμοκρασίες καθιστά βέβαιη την πρόσληψη του αζώτου που βρίσκεται σε ενώσεις, οι οποίες δεν διασπώνται στη φυσιολογική θερμοκρασία βρασμού του θειικού οξέος (Amin & Flowers, 2004). Το εύρος θερμοκρασιών που είναι κατάλληλο για αυτή τη διαδικασία είναι 360°C με 410°C. Σύμφωνα με τον McKenzie (1994) αν γίνει σωστός σχεδιασμός, μπορεί να ληφθεί το άζωτο ακόμα και από ενώσεις που είναι ανθεκτικές στην καύση, όπως τρυπτοφάνη, λυσίνη και νικοτινικό οξύ.

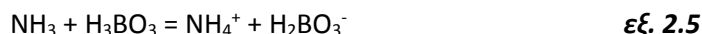
B) Μετατροπή των ιόντων NH_4^+ σε NH_3 (εξουδετέρωση με βάση) και απόσταξη της παραγόμενης αμμωνίας. Νερό και βάση προστίθενται στις φιάλες, οι οποίες στη συνέχεια θερμαίνονται. Αυτό συμβαίνει ώστε τα ιόντα NH_4^+ να μετατραπούν σε αμμωνία και μέσω της διαδικασίας της απόσταξης να γίνει δυνατή η λήψη τους. Για να πραγματοποιηθεί αποτελεσματικά αυτή η διαδικασία, το περιεχόμενο των σωλήνων δεν πρέπει να υπερβαίνει το 1/3 του συνολικού τους όγκου (Feinberg et al., 1993). Η απευθείας παροχή ατμού για την απόσταξη μειώνει σημαντικά τον συνολικό χρόνο της διαδικασίας (Thiex et al., 2002). Σύμφωνα με τους Doolan & Belcher (1978) οι πειραματικές παράμετροι, όπως ο ρυθμός και η ένταση της παροχής ατμού και απόσταξης και ο συνολικός όγκος των υπό χρήση διαλυμάτων, πρέπει να ρυθμίζονται προσεκτικά, για να διαβεβαιώσουν την αποτελεσματική εξαγωγή της αμμωνίας χωρίς την παράλληλη λήψη μέρους του βασικού διαλύματος.

Η μετατροπή των αμμωνιακών ιόντων σε αμμωνία με προσθήκη καυστικού νατρίου γίνεται σε δοχείο Pregl-Parnas-Wagner (Parnas & Wagner, 1921; Sheers & Cole, 1953). Η αναλογία των δύο συστατικών περιγράφεται από την **εξίσωση 2.4**:

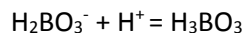
$$\frac{[NH_3]}{[NH_4^+]} = 10^{pH-pK_1} \quad \text{εξ. 2.4}$$

όπου $pK_1 = -\log K_1$ και K_1 η σταθερά της αντίδρασης $NH_4^+ = H^+ + NH_3$, $pK_1 = 9,35$ στους 20°C.

C) Ογκομέτρηση του διαλύματος στο δοχείο λήψης της αμμωνίας. Μετά την συλλογή της αμμωνίας σε διάλυμα οξέος, η ποσότητα της αμμωνίας μπορεί να υπολογιστεί με ογκομέτρηση χρησιμοποιώντας κάποιο ισχυρό οξύ (όπως H_2SO_4) ή βορικό οξύ. Το H_3BO_3 χρησιμοποιείται συνήθως για την παγίδευση της αμμωνίας που προκύπτει από την απόσταξη (Thiex et al., 2002). Η ιδανική συγκέντρωση του βορικού οξέος μπορεί να είναι 1%, έτσι ώστε να δύναται η χρήση αυτόματων ογκομετρητών (Thiex et al., 2002). Το H_3BO_3 είναι αρκετά όξινο, ώστε να αντιδράσει με την αμμωνία και να αποτρέψει την απώλεια της μέσω μετατροπής της σε αέριο και παράλληλα επαρκώς ασθενές ώστε να μην επηρεάσει το αποτέλεσμα της ογκομέτρησης. Η συγκέντρωση του διαλύματος του βορικού οξέος δεν χρειάζεται να είναι ιδιαίτερα ακριβής (Saez Plaza et al., 2013). Σύμφωνα με την τροποποίηση Winker η αντίδραση που λαμβάνει χώρα στο δοχείο Pregl-Parnas-Wagner περιγράφεται με την **εξίσωση 2.5**:



Στη συνέχεια ο υπολογισμός του παραγόμενου βορικού ανιόντος πραγματοποιείται σύμφωνα με την **εξίσωση 2.6**:



εξ. 2.6

Καθώς ένα δισθενές οξύ, όπως το θειικό, προσφέρει δύο ιόντα H^+ ανά μόριο, μπορεί εύκολα να υπολογιστεί η συνολική ποσότητα του παραγόμενου βορικού ανιόντος.

2.4.2 Πειραματική διαδικασία

1. Απαιτούμενα όργανα/συσκευές

- a. Συσκευή Kjeldahl
 - i. Distillation unit B-324 Buchi (**Εικόνα 2.12a**)
 - ii. Titroline 96 (**Εικόνα 2.12b**)
 - iii. Digestion Unit K-424 (**Εικόνα 2.12c**)
 - iv. Scrubber (**Εικόνα 2.12d**)
- b. Αναλυτικός ζυγός
- c. Γυάλινη πιπέτα όγκου 20mL
- d. Λαβίδα

2. Απαιτούμενα διαλύματα

- a. NaOH 30% w/v, δημιουργήθηκε διαλύοντας 30g στερεού NaOH της εταιρίας EMSURE (πυκνότητας 99%) σε 100mL δις-απεσταγμένο H_2O
- b. H_3BO_3 2% w/v, δημιουργήθηκε διαλύοντας 2g στερεό H_3BO_3 της εταιρίας Merck (πυκνότητας 99,5-100,5%) σε 100mL δις-απεσταγμένο H_2O
- c. Δις-Απεσταγμένο H_2O
- d. H_2SO_4 , πυκνότητας 95-97%, της εταιρίας EMSURE
- e. Παστίλιες Kjeldahl της εταιρίας Panreac, κωδ. 173348, περιέχουν: Potassium Sulphate (47,17%) + Sodium Sulphate (47,17%) + Copper(II) Sulphate 5-Hydrate (2,83%) + Titanium(IV) Oxide (2,83%).
- f. H_2SO_4 0,25M, παρασκευάστηκε διαλύοντας 6,941mL του stock του θειικού οξέος σε 500mL H_2O
- g. NaCO_3
- h. Bromothymole blue



Εικόνα 2.12. Τα επιμέρους στοιχεία της συσκευής Kjeldahl. a) Distillation Unit B-324, b) TitroLine 96, c) Digestion Unit K-424, d) Scrubber

3. Μέθοδος

- a. Αρχικά, στο scrubber, όπου πραγματοποιείται η εξουδετέρωση των ατμών του θειικού οξέος, προστέθηκαν 600g NaCO_3 και 0,1g bromothymole blue σε 2,8L H_2O .
- b. Για την ανάλυση των δειγμάτων λήφθηκε 1g μάζας, ζυγισμένη σε ζυγό ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων, και τοποθετήθηκε σε διηθητικό χαρτί.
- c. Όλα τα διηθητικά χαρτιά κόπηκαν στο ίδιο μέγεθος, ώστε να έχουν το ίδιο βάρος.
- d. Στη συνέχεια, το διηθητικό χαρτί με το δείγμα τοποθετήθηκε στους σωλήνες χώνευσης.
- e. Σε κάθε βράση τοποθετούνταν πέντε δείγματα με σάρκα, καθώς και ένα χωρίς, ώστε να είναι δυνατός ο υπολογισμός αζώτου, το οποίο μπορεί να προερχόταν από άλλες πηγές πέρα από το υπό μελέτη δείγμα.
- f. Στη συνέχεια, προστέθηκαν 20mL θειικού οξέος με χρήση γυάλινης πιπέτας και 2 παστίλιες Kjeldahl χρησιμοποιώντας λαβίδα σε κάθε σωλήνα χώνευσης.
- g. Έπειτα από αναμονή 10 λεπτών στη θέση 10, για την προθέρμανση του digestion unit, οι σωλήνες κλείνονταν ερμητικά και τοποθετούνταν στις θέσεις καύσης.
- h. Τα πώματα των σωλήνων συνδέονταν -πάντα- με το scrubber, το οποίο έμπαινε σε λειτουργία αμέσως μετά την τοποθέτηση των σωλήνων στις θέσεις καύσης.
- i. Τέλος, τα δείγματα αφήνονταν να βράσουν. Η διαδικασία της χώνευσης διαρκούσε συνολικά 1 ώρα και 15 λεπτά. Μετά τα πρώτα 45 λεπτά, το χρώμα του διαλύματος γινόταν ανοιχτό πράσινο-διαυγές.
- j. Μόλις τέλειωνε η διαδικασία τα δείγματα απομακρύνονταν από την θέση καύσης και αφήνονταν να κρυώσουν, μέχρι να σταματήσει η έκλυση ατμών. Σε αυτό το σημείο διακοπτόταν και η λειτουργία του Scrubber.

- k. Μόλις η θερμοκρασία μειωνόταν σημαντικά, ανοίγονταν οι διακόπτες του distillation unit B-324 και του TitroLine 96.
- l. Στο TitroLine 96 επιλεγόταν οι λειτουργίες Fill και calibrate.
- m. Οι σωλήνες χώνευσης τοποθετούνταν ανά ένας -κάθε φορά- στην ειδική υποδοχή και επιλεγόταν το κατάλληλο πρόγραμμα, του οποίου οι παράμετροι παρουσιάζονται στον **Πίνακα 2.1**.
- n. Μόλις τέλειωνε η απόσταξη και η τιτλοδότηση (με 0,25M H₂SO₄) ο αριθμός των απαιτούμενων mL, σημειωνόταν και χρησιμοποιούνταν στη συνέχεια για τους υπολογισμούς συνολικού περιεχόμενου του αζώτου και των πρωτεϊνών.

Πίνακας 2.1. Παράμετροι που χρησιμοποιήθηκαν στο Kjeldahl System B-324

Παράμετρος	Τιμή
V(H ₂ O)	50mL
V(NaOH)	70mL
V(H ₃ BO ₃)	60mL
Delay	5 seconds
Steam	100%
Distillation time	3 min
Aspiration	All
Endpoint pH	4,65

4. Υπολογισμοί

Οι υπολογισμοί έγιναν με βάση τους ακόλουθους μαθηματικούς τύπους:

Συνολικό βάρος αζώτου ανά 100g σάρκας (w(N)):

$$w(N) = \frac{\{(V_1 - V_2) * F * c * M(N)\}}{m * 1000}$$

Όπου: w(N) = βάρος κλάσματος αζώτου, V₁= καταναλωθέντα mL H₂SO₄ δείγματος, V₂ = καταναλωθέντα mL H₂SO₄ blank, F= συντελεστής μαζικής αντίδρασης (2 για το θειικό οξύ), c= συγκέντρωση του H₂SO₄ σε mol/L, M(N) = μοριακό βάρος του αζώτου (14,008), m βάρος δείγματος σε g.

Επί τοις εκατό περιεκτικότητα αζώτου: %N = w(N) * 100%

Επί τοις εκατό περιεκτικότητα πρωτεϊνών: %P = w(N) * PF * 100%

Όπου: PF= Συντελεστής Kjeldahl (για τις γαρίδες 5,8 (Menard et al., 2015))

2.5 Υπολογισμός υγρασίας

Για τον υπολογισμό υγρασίας των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε η εξής διαδικασία:

1. Απαιτούμενα όργανα-συσκευές

- a. Γυάλινα τρυβλία
- b. Ζυγός ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων

- c. Φούρνος
- d. Αλουμινόχαρτο
- e. Άμμος
- f. Silica gel
- g. Ξηραντήρας

2. Μέθοδος

- a. Αρχικά, τα τρυβλία διαχωρίστηκαν στα 4 με χρήση αλουμινόχαρτου.
- b. Στη συνέχεια τα τρυβλία και η άμμος τοποθετήθηκαν στον φούρνο στους 100°C για μία ώρα.
- c. Μόλις πέρασε ο χρόνος, τοποθετήθηκαν στον ξηραντήρα με το silica gel και παρέμειναν εκεί έως ότου η θερμοκρασία τους εξισωθεί με του περιβάλλοντος.
- d. Ζυγίστηκε 1 g από την ομογενοποιημένη σάρκα και 10 g άμμος και τοποθετήθηκαν στα ειδικά διαμορφωμένα τρυβλία.
- e. Στη συνέχεια τα τρυβλία με τα δείγματα τοποθετήθηκαν στον φούρνο, στους 100°C για 24 ώρες.
- f. Τέλος, μόλις περάσουν οι 24 ώρες, τα τρυβλία τοποθετούνται στον ξηραντήρα για να κρυσώσουν και ζυγίζεται το κάθε δείγμα με την άμμο ξεχωριστά.

3. Υπολογισμοί

$$\text{Υγρασία} = [(B_1 - B_2) / \text{Βάρος δείγματος}] \times 100\%$$

Όπου, B_1 το βάρος του νωπού δείγματος και της άμμου και B_2 το βάρος του ξηρού δείγματος και της άμμου.

2.6 Τέφρα

Για τον υπολογισμό της τέφρας ακολουθήθηκε το εξής πρωτόκολλο:

1. Απαιτούμενα όργανα-συσσκευές

- a. Κάψες πορσελάνης
- b. Λύχνος Bunsen
- c. Πυράργα
- d. Κεραμικό πλέγμα
- e. Φούρνος τέφρας
- f. Ζυγός ακριβείας

2. Μέθοδος

- a. Τοποθετήθηκαν οι κάψες πορσελάνης στον φούρνο στους 100°C για μία ώρα.
- b. Στη συνέχεια, αφέθηκαν σε ξηραντήρα με silica gel, ώστε να κρυσώσουν. Ζυγίστηκε 1g ομογενοποιημένης σάρκας και προστέθηκε σε κάψα, αφού πρώτα είχε ζυγιστεί η τάρα της.

- c. Σε περίπτωση που τα δείγματα έχουν υψηλά ποσοστά λίπους χρειάζεται να θερμανθούν σε φλόγα λύχνου Bunsen. Στην περίπτωση των δεκαπόδων δεν κρίθηκε απαραίτητο αυτό το βήμα.
- d. Τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε φούρνο τέφρας, στους 520°C για 20h μέχρι το χρώμα να γίνει γκριζόλευκο.
- e. Έπειτα τοποθετήθηκαν οι κάψες στο ξηραντήριο για να κρυσώσουν.
- f. Τέλος τα δείγματα ζυγίστηκαν και λήφθηκε το τελικό βάρος.

3. Υπολογισμοί

Τέφρα % = [(Τελικό βάρος – Τάρα)/Βάρος δείγματος] x 100%

2.7 Στατιστικές αναλύσεις

Τα δεδομένα συλλέχθηκαν σε αρχεία .xlsx με χρήση του προγράμματος MS EXCEL 2016 (Microsoft, 2016). Με το ίδιο πρόγραμμα πραγματοποιήθηκε η βασική στατιστική ανάλυση και ο υπολογισμός της μικρότερης και της μεγαλύτερης τιμής, καθώς και της μέσης τιμής και της τυπικής απόκλισης. Ακόμα, οι τιμές τροποποιήθηκαν με την εξίσωση $F(x) = \arcsin(\sqrt{x})$ για την διεκπεραίωση περαιτέρω στατιστικών αναλύσεων (Warton & Hui, 2011).

Η μηδενική υπόθεση πως τα διαφορετικά σύνολα ήταν όμοια ελέγχθηκε με την διαδικασία student's T-TEST για ζεύγη δειγμάτων με το πρόγραμμα SPSS (IBM, 2017). Επίσης, με το ίδιο πρόγραμμα δημιουργήθηκαν τα θηκογράμματα που παρουσιάζονται στα αποτελέσματα και ελέγχθηκαν συσχετισμοί μεταξύ των τιμών χρησιμοποιώντας τη μέθοδο Pearson (r_p).

Για την έρευνα των σχέσεων των τιμών του στομαχικού περιεχομένου αλλά και της σύστασης της σάρκας εφαρμόστηκε η ταξιθετική ανάλυση κύριων συνιστωσών (principal component analysis PCA), η οποία αναγνωρίζει πρότυπα στα δεδομένα και τα εκφράζει με τέτοιο τρόπο ώστε να τονίζει τις ομοιότητες και τις διαφορές τους (Smith, 2002). Η ανάλυση PCA αποτελεί μια τεχνική μείωσης των διαστάσεων ενός μεγάλου πολυμεταβλητού συνόλου δεδομένων. Λειτουργεί αντικαθιστώντας τις αρχικές μεταβλητές με έναν μικρότερο αριθμό παράγωγων μεταβλητών (Jolliffe, 2002).

Η συσχέτιση των τιμών του στομαχικού περιεχομένου και της σύστασης της σάρκας έγιναν με το πρόγραμμα canoco. Αρχικά εφαρμόζεται η ανάλυση αντιστοιχιών (Detrended Correspondence Analysis, DCA) με την οποία ελέγχεται η γραμμική απόκριση των τιμών της σύστασης της σάρκας στις θεωρητικές τιμές στομαχικού περιεχομένου που κατασκευάζει η μέθοδος ή αν έχουν καλύτερη απόκριση γύρω από κάποιες βέλτιστες τιμές των θεωρητικών αυτών μεταβλητών. Γενικά όπου το μήκος της πρώτης θεωρητικής μεταβλητής, στον πρώτο άξονα ταξιθέτησης, είναι κατά τρεις φορές μικρότερο από την τυπική απόκλιση (SD) των τιμών της σύστασης της σάρκας, τότε οι οργανισμοί αποκρίνονται περισσότερο γραμμικά στις θεωρητικές μεταβλητές. Στην περίπτωση αυτή η πιο κατάλληλη άμεση ανάλυση διαβάθμισης στομαχικού περιεχομένου είναι η ανάλυση RDA (Redundancy). Αν το μήκος είναι τριπλάσιο ή μεγαλύτερο τότε η απόκριση είναι κωνοειδής, δηλαδή κανονική κατανομή, και επομένως η πιο κατάλληλη άμεση ανάλυση διαβάθμισης στομαχικού περιεχομένου είναι η ανάλυση κανονικών αντιστοιχιών (canonical correspondence analysis, CCA). Για τις αναλύσεις χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα CANOCO v.4.5.1.

Ο δείκτης αθηρογένεσης (AI – atherogenicity index) υπολογίστηκε με τον τύπο:

$$AI = (4 * C14 + C16) / (\Sigma \text{μονοακόρεστα λιπαρά οξέα} + \Sigma \omega 3 + \Sigma \omega 6)$$

Ο δείκτης θρομβογένεσης (TI – thrombogenicity index) υπολογίστηκε με τον τύπο:

$TI = (C14+C16+C18)/\{(0.5 \times \text{Σμονοακόρεστα λιπαρά οξέα}) + (0.5 \times \Sigma\omega6 + (3 \times \Sigma\omega3) + (\Sigma\omega3 / \Sigma\omega6))\}$, (Ulbricht & Southgate, 1991)

Κεφάλαιο 3

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Περιεκτικότητα σάρκας

Οι χημικές αναλύσεις σάρκας έδειξαν πως το συνολικό λίπος ήταν 0,83% ($\pm 0,18$) και 0,76% ($\pm 0,17$) για τα είδη *P. aztecus* και *P. kerathurus* αντίστοιχα. Οι πρωτεΐνες καταλαμβάνουν το μεγαλύτερο ποσοστό των οργανικών μορίων καταλαμβάνοντας ποσοστά 19,33% ($\pm 2,27$) για το *P. aztecus* και 18,95% ($\pm 1,60$) για το *P. Kerathurus*. Η τέφρα καταλάμβανε το 2,29% ($\pm 0,41$) και 2,46% ($\pm 0,67$), ενώ η υγρασία το 77,55% ($\pm 3,35$) και 77,84% ($\pm 2,77$) για τα δύο είδη αντίστοιχα (**Πίνακας 3.18**). Στο t-test που πραγματοποιήθηκε βρέθηκε πως υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφοροποίηση μόνο στη σύσταση της τέφρας μεταξύ των αρσενικών και θηλυκών ατόμων του είδους *P. kerathurus* -όπου τα αρσενικά εμφάνισαν μεγαλύτερες τιμές- καθώς και των αρσενικών ατόμων μεταξύ των δύο ειδών, η οποία αναλύεται παρακάτω.

Πίνακας 3.18. Ποσοστιαία σύσταση σάρκας σε λίπος, πρωτεΐνες, τέφρα και υγρασία για τα δύο είδη (μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση)

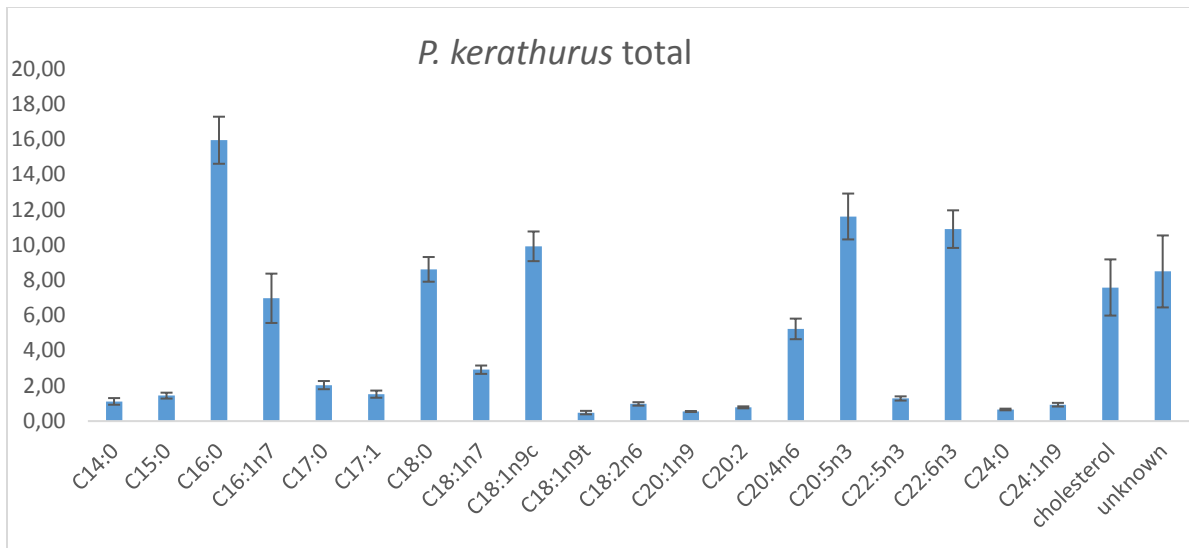
	<i>P. aztecus</i>			<i>P. kerathurus</i>		
	Male	Female	Total	Male	Female	Total
Λίπος	0,74 \pm 0,16	0,92 \pm 0,17	0,83 \pm 0,18	0,73 \pm 0,26	0,77 \pm 0,14	0,76 \pm 0,17
Πρωτεΐνες	19,42 \pm 2,77	19,42 \pm 2,27	19,33 \pm 2,27	18,33 \pm 1,93	19,41 \pm 1,32	18,95 \pm 1,60
Τέφρα	2,19 \pm 0,23	2,42 \pm 0,56	2,29 \pm 0,41	3,24 \pm 0,72	2,10 \pm 0,25	2,46 \pm 0,67
Υγρασία	77,65 \pm 4,31	77,24 \pm 3,99	77,55 \pm 3,35	77,70 \pm 3,19	77,71 \pm 3,23	77,84 \pm 2,77

Σύσταση λιπαρών οξέων

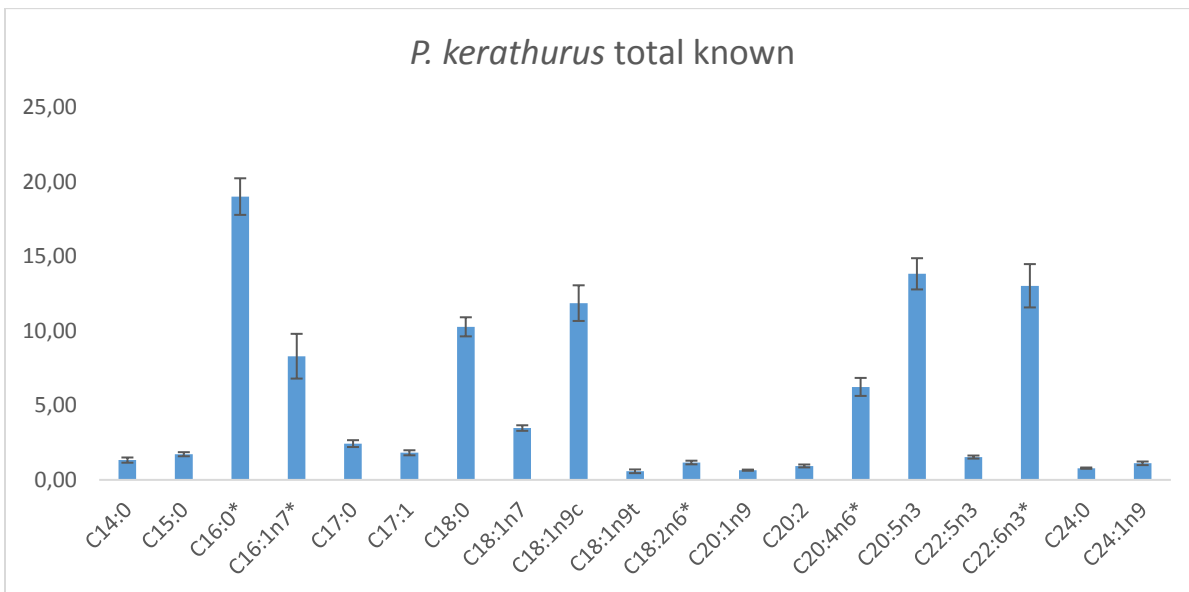
A. *Penaeus kerathurus*

Σύσταση σάρκας

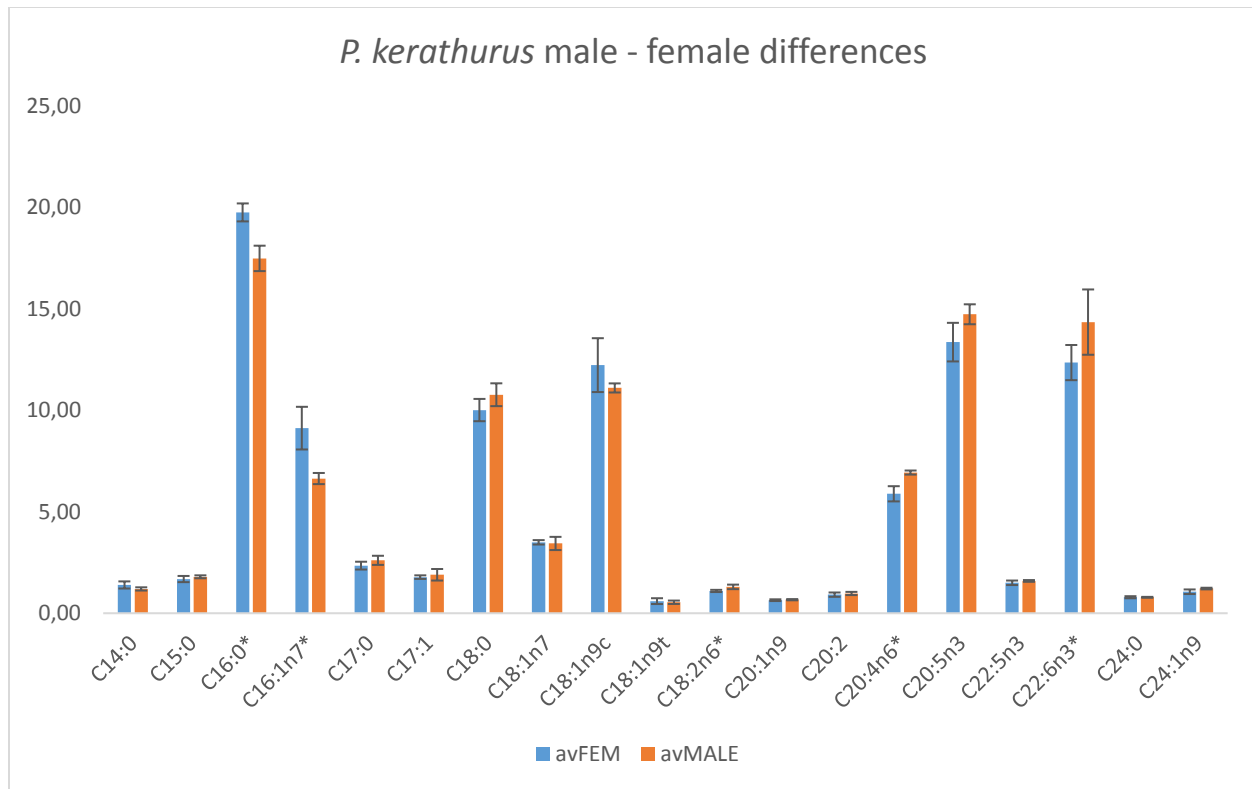
Στη σάρκα του είδους *Penaeus kerathurus* αναγνωρίστηκαν συνολικά 19 λιπαρά οξέα (**Πίνακας 3.1**). Η χοληστερόλη και παράγωγα αυτής καταλαμβάνουν ποσοστό 7,59 \pm 1,60 % του συνολικού λίπους. Τα λιπαρά οξέα χωρίς δυνατότητα αναγνώρισης ήταν 8,50 \pm 2,04% (**Εικόνα 3.1**). Η ποσοστιαία σύνθεση των αναγνωρισθέντων λιπαρών οξέων παρουσιάζεται στον **Πίνακα 3.2** και την **Εικόνα 3.2**. Το δεκαεξανοϊκό οξύ (C16:0) παρουσιάζει την μεγαλύτερη αφθονία (19 \pm 1,23% εκ των αναγνωρισθέντων). Ακόμα, τα οξέα C18:0, C18:1 n9c, C20:5 n3 και C22:6 n3 βρέθηκαν σε ποσοστά μεγαλύτερα του 10% (**Πίνακας 3.2**). Η μικρότερη αφθονία παρουσιάζεται στο οξύ C18:1 n9t (0,58 \pm 0,12%), ενώ και τα C20:1 n9, C20:2 και C24:0 παρουσίασαν συγκέντρωση μικρότερη του 1%. Η ποσοστιαία σύνθεση και η τυπική απόκλιση του κάθε λιπαρού οξέος μεταβάλλεται μεταξύ φύλων (**Πίνακας 3.2, Πίνακας 3.3**). Το t-test και η απονα που πραγματοποιήθηκαν έδειξαν πως τα δύο φύλα εμφανίζουν διαφορές σε πέντε λιπαρά οξέα: το C16:0, το C16:1n7, το C18:2n6, το C20:4n6 και το C22:6n3 (**Πίνακας 3.4**). Για τα δύο πρώτα τα θηλυκά άτομα παρουσιάζουν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις, ενώ για τα υπόλοιπα τα αρσενικά παρουσιάζουν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις (**Εικόνες 3.3 & 3.4**).



Εικόνα 3.1. Σύσταση σάρκας *P. kerathurus* σύμφωνα με την ανάλυση GC-FID



Εικόνα 3.2. Σύσταση αναγνωρισθέντων λιπαρών οξέων σάρκας *P. kerathurus* σύμφωνα με την ανάλυση GC-FID



Εικόνα 3.3. Διαφορές στη σύσταση αναγνωρισθέντων λιπαρών οξέων σάρκας *P. kerathurus* μεταξύ αρσενικών (πορτοκαλί) και θηλυκών (μπλε) ατόμων

Πίνακας 3.1 Συνολική ποσοστιαία σύσταση λιπαρών οξέων της σάρκας του είδους *P. kerathurus*

Fatty acid	F1	F2	F3	F4	F5	F6	M1	M2	M3	min	max	average	SD
C14:0	1,17	1,09	1,05	0,96	1,20	1,56	1,07	1,04	0,91	0,91	1,56	1,12	0,19
C15:0	1,33	1,51	1,32	1,29	1,29	1,75	1,65	1,41	1,47	1,29	1,75	1,45	0,17
C16:0	16,32	16,39	15,60	16,13	16,30	18,53	16,01	13,82	14,38	13,82	18,53	15,94	1,34
C16:1n7	8,44	6,74	6,49	6,79	8,13	9,37	6,12	5,45	5,22	5,22	9,37	6,97	1,40
C17:0	1,74	2,11	1,97	1,97	1,75	2,25	2,41	1,93	2,25	1,74	2,41	2,04	0,23
C17:1	1,45	1,39	1,40	1,48	1,44	1,81	1,91	1,31	1,58	1,31	1,91	1,53	0,20
C18:0	8,33	8,42	8,66	8,49	7,40	8,99	10,08	8,45	8,71	7,40	10,08	8,61	0,70
C18:1n7	2,86	2,93	2,92	2,83	2,72	3,31	3,19	2,51	2,99	2,51	3,31	2,92	0,24
C18:1n9c	11,66	9,30	10,02	9,91	10,84	9,53	9,72	9,00	9,32	9,00	11,66	9,92	0,84
C18:1n9t	0,63	0,62	0,48	0,38	0,47	0,39	0,56	0,39	0,42	0,38	0,63	0,48	0,10
C18:2n6	0,96	0,91	0,94	0,85	0,87	0,98	1,04	1,10	1,13	0,85	1,13	0,98	0,10
C20:1n9	0,49	0,54	0,57	0,53	0,55	0,56	0,58	0,53	0,57	0,49	0,58	0,55	0,03
C20:2	0,72	0,76	0,85	0,77	0,80	0,68	0,78	0,84	0,83	0,68	0,85	0,78	0,06
C20:4n6	4,41	4,86	5,13	5,10	4,54	5,55	6,19	5,74	5,59	4,41	6,19	5,23	0,58
C20:5n3	10,72	10,39	10,76	11,43	10,07	13,98	12,89	12,55	11,77	10,07	13,98	11,62	1,30
C22:5n3	1,19	1,30	1,26	1,22	1,08	1,50	1,38	1,30	1,34	1,08	1,50	1,29	0,12
C22:6n3	9,51	9,86	10,74	10,99	10,38	10,47	11,21	13,02	11,90	9,51	13,02	10,90	1,07
C24:0	0,67	0,68	0,68	0,58	0,62	0,74	0,69	0,66	0,63	0,58	0,74	0,66	0,05
C24:1n9	0,72	0,92	0,95	0,95	0,82	0,96	1,05	1,04	0,99	0,72	1,05	0,93	0,10
cholesterol	9,49	8,88	8,64	11,05	9,48	0,00	6,10	6,77	7,84	0,00	11,05	7,59	1,60
unknown	7,19	10,41	9,56	6,30	9,26	7,08	5,37	11,13	10,15	5,37	11,13	8,50	2,04

Πίνακας 3.2. Ποσοστιαία σύσταση αναγνωρισθέντων λιπαρών οξέων στη σάρκα του *P. kerathurus*

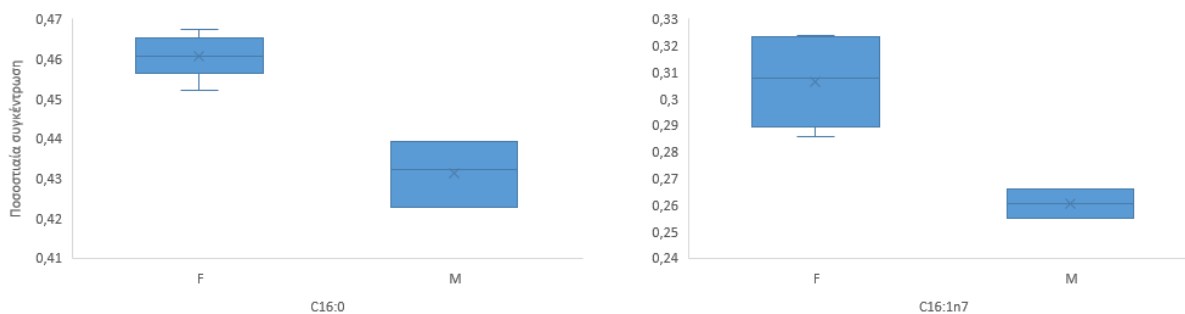
Fatty acid	F1	F2	F3	F4	F5	F6	M1	M2	M3	min	max	average	SD
C14:0	1,41	1,35	1,29	1,16	1,48	1,68	1,21	1,27	1,11	1,11	1,68	1,33	0,17
C15:0	1,59	1,87	1,61	1,56	1,59	1,89	1,87	1,72	1,80	1,56	1,89	1,72	0,14
C16:0	19,59	20,31	19,08	19,52	20,07	19,95	18,08	16,84	17,54	16,84	20,31	19,00	1,23
C16:1n7	10,13	8,35	7,94	8,21	10,00	10,09	6,91	6,63	6,36	6,36	10,13	8,29	1,50
C17:0	2,09	2,61	2,41	2,39	2,15	2,43	2,73	2,35	2,74	2,09	2,74	2,43	0,23
C17:1	1,74	1,72	1,71	1,79	1,77	1,95	2,16	1,60	1,93	1,60	2,16	1,82	0,17
C18:0	10,00	10,43	10,59	10,27	9,11	9,67	11,39	10,30	10,62	9,11	11,39	10,26	0,64
C18:1n7	3,44	3,63	3,57	3,43	3,34	3,56	3,60	3,06	3,65	3,06	3,65	3,48	0,19
C18:1n9c	14,00	11,52	12,25	11,99	13,34	10,26	10,98	10,96	11,36	10,26	14,00	11,85	1,20
C18:1n9t	0,75	0,77	0,59	0,46	0,58	0,42	0,63	0,48	0,51	0,42	0,77	0,58	0,12
C18:2n6	1,15	1,13	1,15	1,03	1,07	1,06	1,17	1,34	1,38	1,03	1,38	1,16	0,12
C20:1n9	0,58	0,67	0,69	0,64	0,68	0,60	0,65	0,65	0,70	0,58	0,70	0,65	0,04
C20:2	0,86	0,94	1,04	0,94	0,98	0,74	0,88	1,02	1,02	0,74	1,04	0,93	0,10
C20:4n6	5,29	6,02	6,27	6,17	5,59	5,98	6,99	6,99	6,82	5,29	6,99	6,23	0,60
C20:5n3	12,86	12,87	13,15	13,83	12,39	15,04	14,56	15,29	14,35	12,39	15,29	13,82	1,05
C22:5n3	1,43	1,61	1,55	1,47	1,33	1,61	1,55	1,58	1,64	1,33	1,64	1,53	0,10
C22:6n3	11,42	12,21	13,13	13,29	12,78	11,26	12,66	15,86	14,52	11,26	15,86	13,02	1,45
C24:0	0,80	0,84	0,83	0,70	0,76	0,80	0,78	0,81	0,76	0,70	0,84	0,79	0,04
C24:1n9	0,87	1,14	1,16	1,15	1,01	1,03	1,18	1,26	1,20	0,87	1,26	1,11	0,12

Πίνακας 3.3. Μέση τιμή (av) και τυπική απόκλιση (sd) για τα λιπαρά οξέα στη σάρκα των αρσενικών (MALE) και θηλυκών (FEMALE) ατόμων.

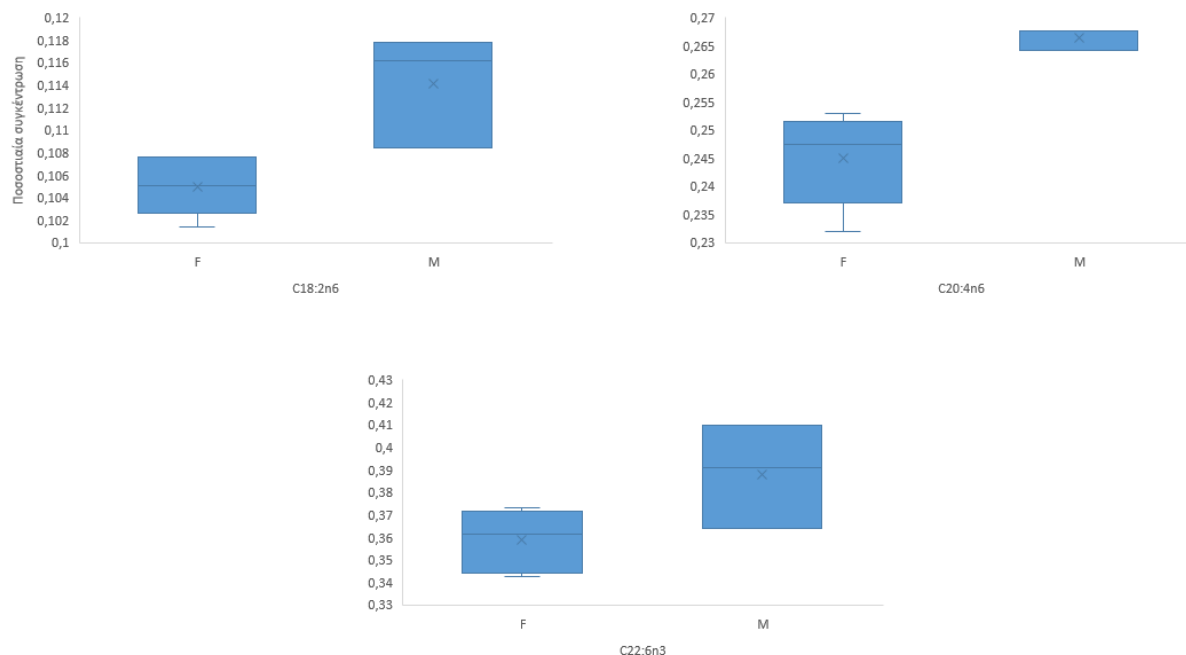
Fatty acid	avFEM	avMALE	sdFEM	sdMALE
C14:0	1,39	1,20	0,18	0,08
C15:0	1,68	1,79	0,15	0,07
C16:0	19,75	17,49	0,44	0,63
C16:1n7	9,12	6,64	1,05	0,27
C17:0	2,35	2,61	0,19	0,22
C17:1	1,78	1,90	0,09	0,28
C18:0	10,01	10,77	0,55	0,56
C18:1n7	3,49	3,44	0,11	0,33
C18:1n9c	12,23	11,10	1,33	0,22
C18:1n9t	0,60	0,54	0,14	0,08
C18:2n6	1,10	1,30	0,05	0,11
C20:1n9	0,64	0,67	0,04	0,03
C20:2	0,92	0,97	0,11	0,08
C20:4n6	5,89	6,93	0,37	0,10
C20:5n3	13,36	14,73	0,95	0,49
C22:5n3	1,50	1,59	0,11	0,04
C22:6n3	12,35	14,35	0,87	1,61
C24:0	0,79	0,78	0,05	0,02
C24:1n9	1,06	1,22	0,11	0,04

Πίνακας 3.4. Αποτελέσματα T-test για τις συγκεντρώσεις λιπαρών οξέων μεταξύ αρσενικών και θηλυκών ατόμων του είδους *P. kerathurus*

<i>Independent Samples Test</i>			
	t	df	Sig. (2-tailed)
C14:0	1,836	7	0,109
C15:0	-1,189	7	0,273
C16:0	6,386	7	0,000
C16:1n7	5,646	6,450	0,001
C17:0	-1,800	7	0,115
C17:1	-0,924	7	0,386
C18:0	-1,914	7	0,097
C18:1n7	0,313	2,215	0,781
C18:1n9c	1,400	7	0,204
C18:1n9t	0,566	7	0,589
C18:2n6	-3,724	7	0,007
C20:1n9	-0,838	7	0,430
C20:2	-0,819	7	0,440
C20:4n6	-4,419	7	0,003
C20:5n3	-2,299	7	0,055
C22:5n3	-1,341	7	0,222
C22:6n3	-2,477	7	0,042
C24:0	0,125	7	0,904
C24:1n9	-2,182	7	0,065



Εικόνα 3.4. Θηκόγραμμα των συγκεντρώσεων των οξέων C16:0 και C16:1n7 όπου είχαν μεγαλύτερη συγκέντρωση στα θηλυκά



Εικόνα 3.5. Θηκόγραμμα των συγκεντρώσεων των οξέων C18:2n6, C20:4n6 και C22:6n3 όπου είχαν μεγαλύτερη συγκέντρωση στα αρσενικά

Συσχετισμός λιπαρών οξέων σάρκας *P. kerathurus*

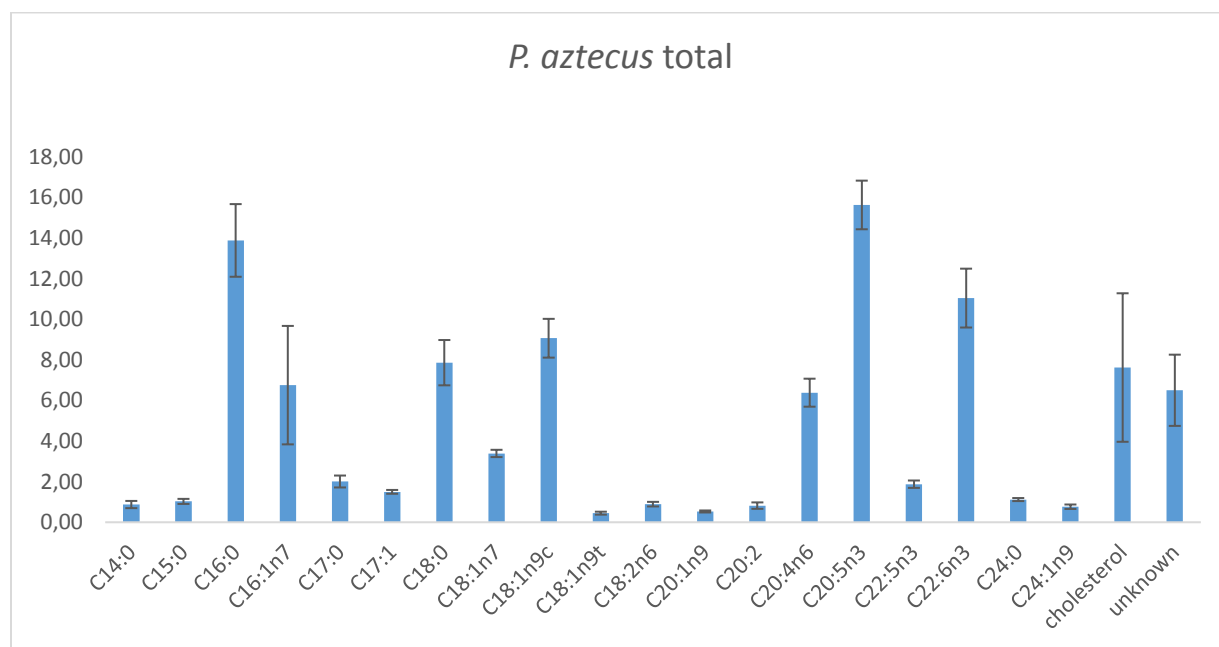
Ο συσχετισμός Spearman έδειξε πως όλα τα λιπαρά οξέα –πλην του C18:1n9t, του C17:1 και του C24:0- σχετίζονται θετικά ή αρνητικά με τουλάχιστον ένα ακόμα λιπαρό οξύ. Το C20:1n9 σχετίζεται μόνο με το C20:2 (0,750, $p < 0,05$) θετικά, ενώ το λιπαρό οξύ που παρουσίασε τους περισσότερους συσχετισμούς είναι το C18:0 που εμφανίζει θετική συσχέτιση με τα C17:0, C18:1n7, C18:2n6, C20:4n6 και το C24:1n7 με τιμές 0,733 ($p < 0,05$), 0,683 ($p < 0,05$), 0,7 ($p < 0,05$), 0,817 ($p < 0,01$), 0,733 ($p < 0,05$) αντίστοιχα, ενώ παρουσιάζει αρνητική συσχέτιση με το C14:0 και το C16:1n7 με τιμές -0,733 ($p < 0,05$) και -0,767 ($p < 0,05$) αντίστοιχα (**Πίνακας 3.5**).

Πίνακας 3.5. Αποτελέσματα συσχετισμού Spearman για τα λιπαρά οξέα της σάρκας του *P. kerathurus* (*: τιμή $p < 0,05$, ** τιμή $p < 0,01$)

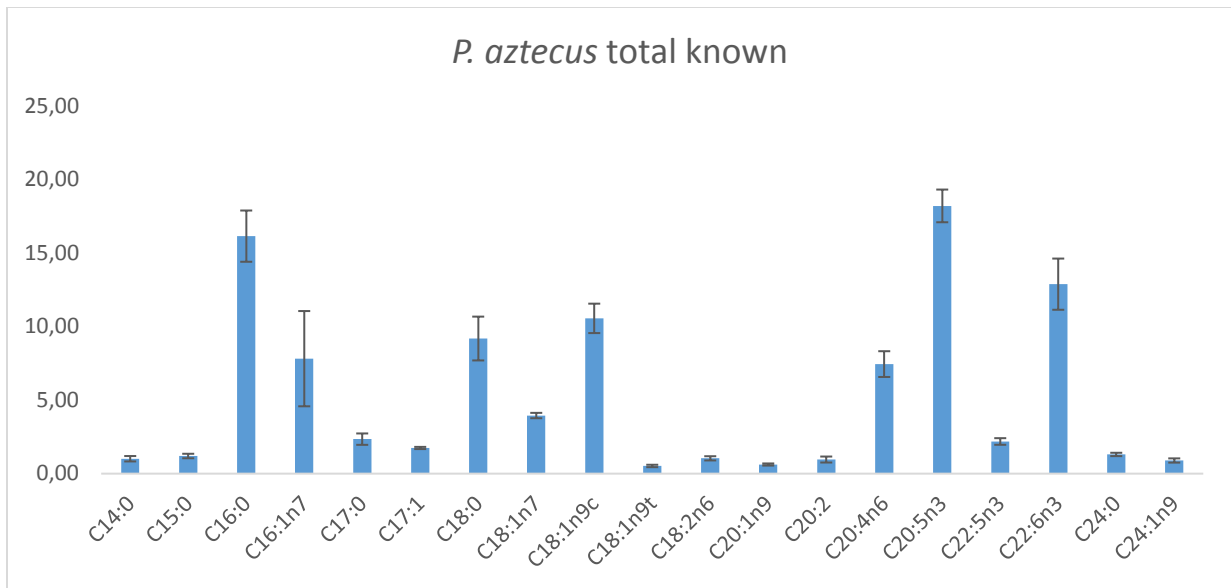
	C14:0	C15:0	C16:0	C16:1n7	C17:0	C17:1	C18:0	C18:1n7	C18:1n9c	C18:1n9t	C18:2n6	C20:1n9	C20:2	C20:4n6	C20:5n3	C22:5n6	C22:6n3	C24:0	C24:1n9
C14:0	1	0,167	,717*	,833**	-0,467	-0,117	-,733*	-0,3	0,15	0,083	-0,5	-0,367	-0,383	-,750*	-0,333	-0,25	-,733*	0,283	-,767*
C15:0	0,167	1	0,05	-0,1	,683*	0,283	0,333	0,583	-,733*	0,067	0,233	0,033	-0,25	0,25	0,5	,817**	-0,4	0,467	0,2
C16:0	,717*	0,05	1	,817**	-0,217	0,033	-0,583	0,017	0,367	0,283	-,750*	-0,183	-0,433	-,800**	-0,65	-0,267	-,717*	0,083	-,850**
C16:1n7	,833**	-0,1	,817**	1	-0,55	0,033	-,767*	-0,267	0,417	0,15	-,733*	-0,6	-0,65	-,917**	-0,533	-0,45	-,817**	0,05	-,967**
C17:0	-0,467	,683*	-0,217	-0,55	1	0,5	,733*	,850**	-0,567	0,017	0,35	0,483	0,033	0,583	0,417	,783*	0,05	0,033	0,517
C17:1	-0,117	0,283	0,033	0,033	0,5	1	0,1	0,367	-0,317	-0,25	-0,167	-0,1	-0,633	0,083	0,217	0,217	-0,333	-0,633	-0,083
C18:0	-,733*	0,333	-0,583	-,767*	,733*	0,1	1	,683*	-0,267	0,333	,700*	0,5	0,35	,817**	0,333	0,45	0,35	0,233	,733*
C18:1n7	-0,3	0,583	0,017	-0,267	,850**	0,367	,683*	1	-0,15	0,4	0,333	0,467	-0,033	0,25	0	0,6	-0,2	0,217	0,183
C18:1n9c	0,15	-,733*	0,367	0,417	-0,567	-0,317	-0,267	-0,15	1	0,5	-0,217	0,083	0,117	-0,567	-,917**	-,783*	-0,083	-0,083	-0,567
C18:1n9t	0,083	0,067	0,283	0,15	0,017	-0,25	0,333	0,4	0,5	1	0,25	0,183	0,033	-0,117	-0,583	-0,233	-0,317	0,5	-0,233
C18:2n6	-0,5	0,233	-,750*	-,733*	0,35	-0,167	,700*	0,333	-0,217	0,25	1	0,467	0,517	0,65	0,333	0,383	0,483	0,283	,700*
C20:1n9	-0,367	0,033	-0,183	-0,6	0,483	-0,1	0,5	0,467	0,083	0,183	0,467	1	,750*	0,383	-0,167	0,217	0,483	0,017	0,433
C20:2	-0,383	-0,25	-0,433	-0,65	0,033	-0,633	0,35	-0,033	0,117	0,033	0,517	,750*	1	0,433	-0,017	0,033	,783*	0,233	0,583
C20:4n6	-,750*	0,25	-,800**	-,917**	0,583	0,083	,817**	0,25	-0,567	-0,117	0,65	0,383	0,433	1	,683*	0,433	0,617	0,033	,950**
C20:5n3	-0,333	0,5	-0,65	-0,533	0,417	0,217	0,333	0	-,917**	-0,583	0,333	-0,167	-0,017	,683*	1	0,65	0,283	0,033	,700*
C22:5n6	-0,25	,817**	-0,267	-0,45	,783*	0,217	0,45	0,6	-,783*	-0,233	0,383	0,217	0,033	0,433	0,65	1	0,067	0,267	0,517
C22:6n3	-,733*	-0,4	-,717*	-,817**	0,05	-0,333	0,35	-0,2	-0,083	-0,317	0,483	0,483	,783*	0,617	0,283	0,067	1	-0,217	,767*
C24	0,283	0,467	0,083	0,05	0,033	-0,633	0,233	0,217	-0,083	0,5	0,283	0,017	0,233	0,033	0,033	0,267	-0,217	1	0,067
C24:1n9	-,767*	0,2	-,850**	-,967**	0,517	-0,083	,733*	0,183	-0,567	-0,233	,700*	0,433	0,583	,950**	,700*	0,517	,767*	0,067	1

B. *Penaeus aztecus*

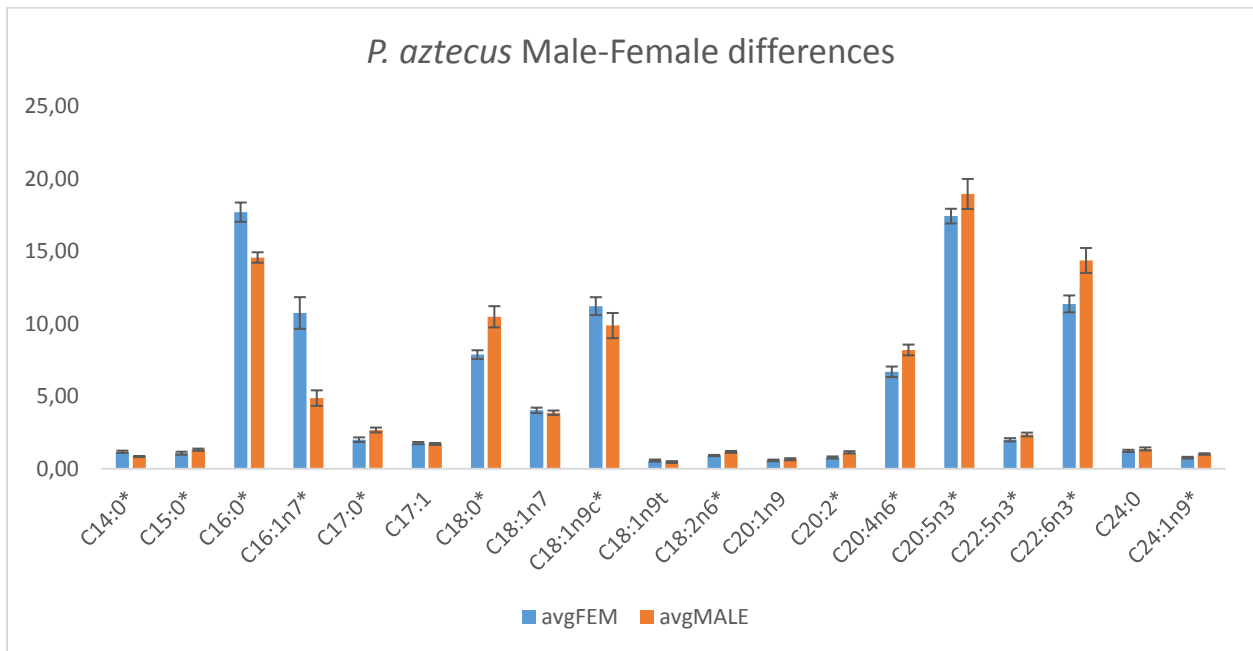
Στη σάρκα του είδους *Penaeus aztecus* αναγνωρίστηκαν συνολικά 19 λιπαρά οξέα (Πίνακας 3.6). Η χοληστερόλη και παράγωγα αυτής καταλαμβάνουν ένα σημαντικό ποσοστό ($7,62 \pm 3,66$ %) του συνολικού λίπους. Τα λιπαρά οξέα χωρίς δυνατότητα αναγνώρισης ήταν $6,50 \pm 1,75$ % (Εικόνα 3.6). Η ποσοστιαία σύνθεση των αναγνωρισθέντων λιπαρών οξέων παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.7 και την Εικόνα 3.7. Το DHA παρουσιάζει την μεγαλύτερη αφθονία ($18,20 \pm 1,11$ % εκ των αναγνωρισθέντων). Ακόμα, τα οξέα C16:0, C18:1n9c, και C20:5n3 βρέθηκαν σε ποσοστά μεγαλύτερα του 10% (Πίνακας 3.7). Η μικρότερη αφθονία παρουσιάζεται στο οξύ C18:1n9t ($0,52 \pm 0,08$ %), ενώ και τα C20:1n9, C20:2 και C24:1n9 παρουσίασαν συγκέντρωση μικρότερη του 1%. Η ποσοστιαία σύνθεση και η τυπική απόκλιση του κάθε λιπαρού οξέος μεταβάλλεται μεταξύ επιπέδου είδους και επιπέδου φύλων (Πίνακας 3.7, Πίνακας 3.8). Το t-test και η απονα που πραγματοποιήθηκαν έδειξαν πως τα δύο φύλα εμφανίζουν διαφορές σε όλα πλην πέντε λιπαρών οξέων: τα C17:1, C18:1n7, C18:1n9t, C20:1n9, C24:0 (Πίνακας 3.9). Τα λιπαρά οξέα στα οποία τα θηλυκά άτομα παρουσιάζουν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις παρουσιάζονται στην Εικόνα 3.9, ενώ τα οξέα που παρουσιάζουν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στα αρσενικά φαίνονται στην Εικόνα 3.10 και 3.11.



Εικόνα 3.6. Σύσταση σάρκας *P. aztecus* σύμφωνα με την ανάλυση GC-FID



Εικόνα 3.7. Σύσταση αναγνωρισθέντων λιπαρών οξέων σάρκας *P. aztecus* σύμφωνα με την ανάλυση GC-FID



Εικόνα 3.8. Διαφορές στη σύσταση αναγνωρισθέντων λιπαρών οξέων σάρκας *P. aztecus* μεταξύ αρσενικών (πορτοκαλί) και θηλυκών (μπλε) ατόμων

Πίνακας 3.6 Συνολική ποσοστιαία σύσταση λιπαρών οξέων της σάρκας του είδους *P. aztecus*

Fatty acid	M1	M2	M3	M4	F5	F6	F7	F8	min	max	average	SD
C14:0	0,64	0,73	0,77	0,75	0,96	1,14	0,93	1,07	0,64	1,14	0,87	0,18
C15:0	1,00	1,18	1,16	1,13	0,85	0,97	1,04	0,89	0,85	1,18	1,03	0,12
C16:0	11,46	12,33	12,51	13,17	15,30	16,70	14,59	15,02	11,46	16,70	13,89	1,79
C16:1n7	3,32	4,38	4,69	4,21	8,76	10,59	8,03	10,07	3,32	10,59	6,76	2,92
C17:0	2,33	2,14	2,30	2,31	1,72	1,76	1,89	1,61	1,61	2,33	2,01	0,29
C17:1	1,32	1,46	1,58	1,46	1,56	1,61	1,55	1,45	1,32	1,61	1,50	0,09
C18:0	9,12	8,68	9,17	8,54	6,46	6,94	7,02	6,97	6,46	9,17	7,86	1,12
C18:1n7	3,10	3,37	3,38	3,26	3,36	3,60	3,67	3,38	3,10	3,67	3,39	0,18
C18:1n9c	7,59	9,28	8,14	8,49	10,06	9,93	8,89	10,17	7,59	10,17	9,07	0,96
C18:1n9t	0,34	0,46	0,37	0,42	0,46	0,45	0,57	0,50	0,34	0,57	0,45	0,07
C18:2n6	0,91	1,03	0,95	1,05	0,79	0,83	0,82	0,75	0,75	1,05	0,89	0,11
C20:1n9	0,60	0,49	0,59	0,55	0,53	0,46	0,53	0,50	0,46	0,60	0,53	0,05
C20:2	0,98	0,93	0,92	1,01	0,69	0,61	0,73	0,68	0,61	1,01	0,82	0,16
C20:4n6	6,62	6,88	7,53	6,77	5,43	5,75	5,96	6,12	5,43	7,53	6,38	0,69
C20:5n3	14,85	14,66	17,32	17,59	14,70	15,85	15,36	14,73	14,66	17,59	15,63	1,20
C22:5n3	1,88	1,94	2,25	1,97	1,81	1,68	1,75	1,72	1,68	2,25	1,87	0,18
C22:6n3	11,54	11,13	12,50	13,65	10,14	9,54	9,99	9,87	9,54	13,65	11,04	1,45
C24:0	1,14	1,20	1,23	1,07	1,07	1,02	1,06	1,15	1,02	1,23	1,12	0,07
C24:1n9	0,86	0,83	0,91	0,85	0,66	0,63	0,71	0,66	0,63	0,91	0,76	0,11
cholesterol	14,96	8,19	6,07	8,06	8,31	1,69	6,64	7,07	1,69	14,96	7,62	3,66
unknown	5,46	8,70	5,66	3,70	6,36	8,26	8,28	5,61	3,70	8,70	6,50	1,75

Πίνακας 3.7. Ποσοστιαία σύσταση αναγνωρισθέντων λιπαρών οξέων στη σάρκα του *P. aztecus*

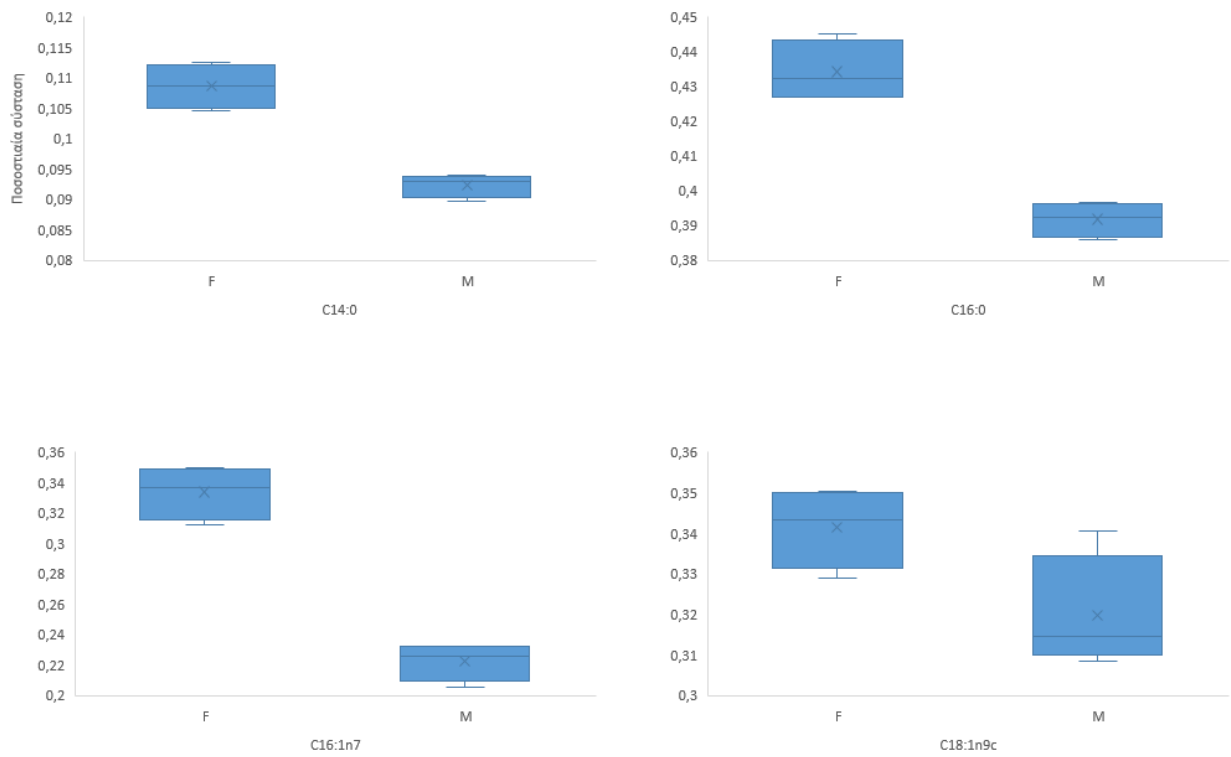
Fatty acid	M1	M2	M3	M4	F5	F6	F7	F8	min	max	average	SD
C14:0	0,80	0,88	0,87	0,85	1,13	1,26	1,09	1,22	0,80	1,26	1,01	0,18
C15:0	1,25	1,42	1,31	1,28	0,99	1,08	1,22	1,02	0,99	1,42	1,20	0,15
C16:0	14,40	14,84	14,17	14,93	17,94	18,55	17,15	17,20	14,17	18,55	16,15	1,74
C16:1n7	4,17	5,27	5,31	4,77	10,27	11,76	9,44	11,54	4,17	11,76	7,81	3,24
C17:0	2,92	2,58	2,60	2,61	2,02	1,95	2,23	1,85	1,85	2,92	2,34	0,39
C17:1	1,66	1,75	1,79	1,66	1,83	1,79	1,82	1,66	1,66	1,83	1,74	0,07
C18:0	11,45	10,44	10,39	9,67	7,57	7,71	8,25	7,98	7,57	11,45	9,18	1,49
C18:1n7	3,89	4,06	3,83	3,69	3,94	4,00	4,31	3,87	3,69	4,31	3,95	0,18
C18:1n9c	9,54	11,16	9,22	9,62	11,79	11,03	10,44	11,65	9,22	11,79	10,56	1,00
C18:1n9t	0,43	0,55	0,42	0,48	0,54	0,50	0,67	0,58	0,42	0,67	0,52	0,08
C18:2n6	1,15	1,24	1,08	1,19	0,93	0,92	0,96	0,85	0,85	1,24	1,04	0,14
C20:1n9	0,75	0,59	0,67	0,62	0,62	0,51	0,62	0,57	0,51	0,75	0,62	0,07
C20:2	1,23	1,12	1,04	1,15	0,80	0,68	0,86	0,78	0,68	1,23	0,96	0,20
C20:4n6	8,31	8,28	8,54	7,67	6,37	6,39	7,01	7,01	6,37	8,54	7,45	0,88
C20:5n3	18,66	17,64	19,63	19,94	17,23	17,60	18,05	16,87	16,87	19,94	18,20	1,11
C22:5n3	2,37	2,33	2,54	2,23	2,12	1,87	2,06	1,97	1,87	2,54	2,19	0,22
C22:6n3	14,50	13,39	14,16	15,46	11,88	10,59	11,75	11,30	10,59	15,46	12,88	1,74
C24:0	1,43	1,44	1,40	1,21	1,25	1,13	1,25	1,31	1,13	1,44	1,30	0,11
C24:1n9	1,08	1,00	1,03	0,96	0,78	0,70	0,84	0,76	0,70	1,08	0,89	0,14

Πίνακας 3.8. Μέση τιμή (av) και τυπική απόκλιση (sd) για τα λιπαρά οξέα στη σάρκα των αρσενικών (MALE) και θηλυκών (FEMALE) ατόμων.

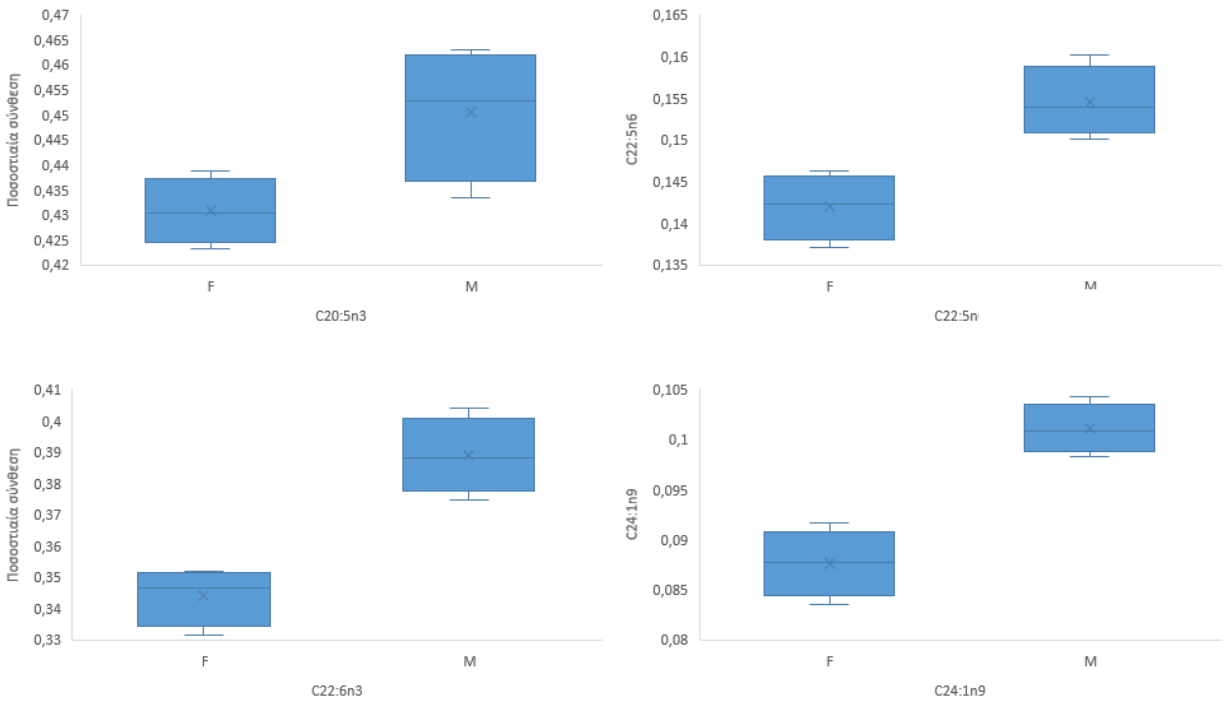
Fatty acid	avgFEM	sdFEM	avgMALE	sdMALE
C14:0	1,18	0,08	0,85	0,03
C15:0	1,08	0,10	1,32	0,08
C16:0	17,71	0,67	14,58	0,36
C16:1n7	10,75	1,09	4,88	0,54
C17:0	2,01	0,16	2,68	0,16
C17:1	1,77	0,08	1,71	0,07
C18:0	7,88	0,30	10,49	0,73
C18:1n7	4,03	0,19	3,87	0,15
C18:1n9c	11,23	0,62	9,89	0,87
C18:1n9t	0,57	0,07	0,47	0,06
C18:2n6	0,92	0,04	1,17	0,07
C20:1n9	0,58	0,05	0,66	0,07
C20:2	0,78	0,07	1,14	0,08
C20:4n6	6,69	0,36	8,20	0,37
C20:5n3	17,44	0,51	18,97	1,04
C22:5n3	2,00	0,11	2,37	0,13
C22:6n3	11,38	0,58	14,38	0,86
C24:0	1,24	0,08	1,37	0,11
C24:1n9	0,77	0,06	1,02	0,05

Πίνακας 3.9. Αποτελέσματα T-test για τις συγκεντρώσεις λιπαρών οξέων μεταξύ αρσενικών και θηλυκών ατόμων του είδους *P. aztecus*. Παρουσιάζονται μόνο τα στατιστικώς σημαντικά αποτελέσματα ($p < 0,05$)

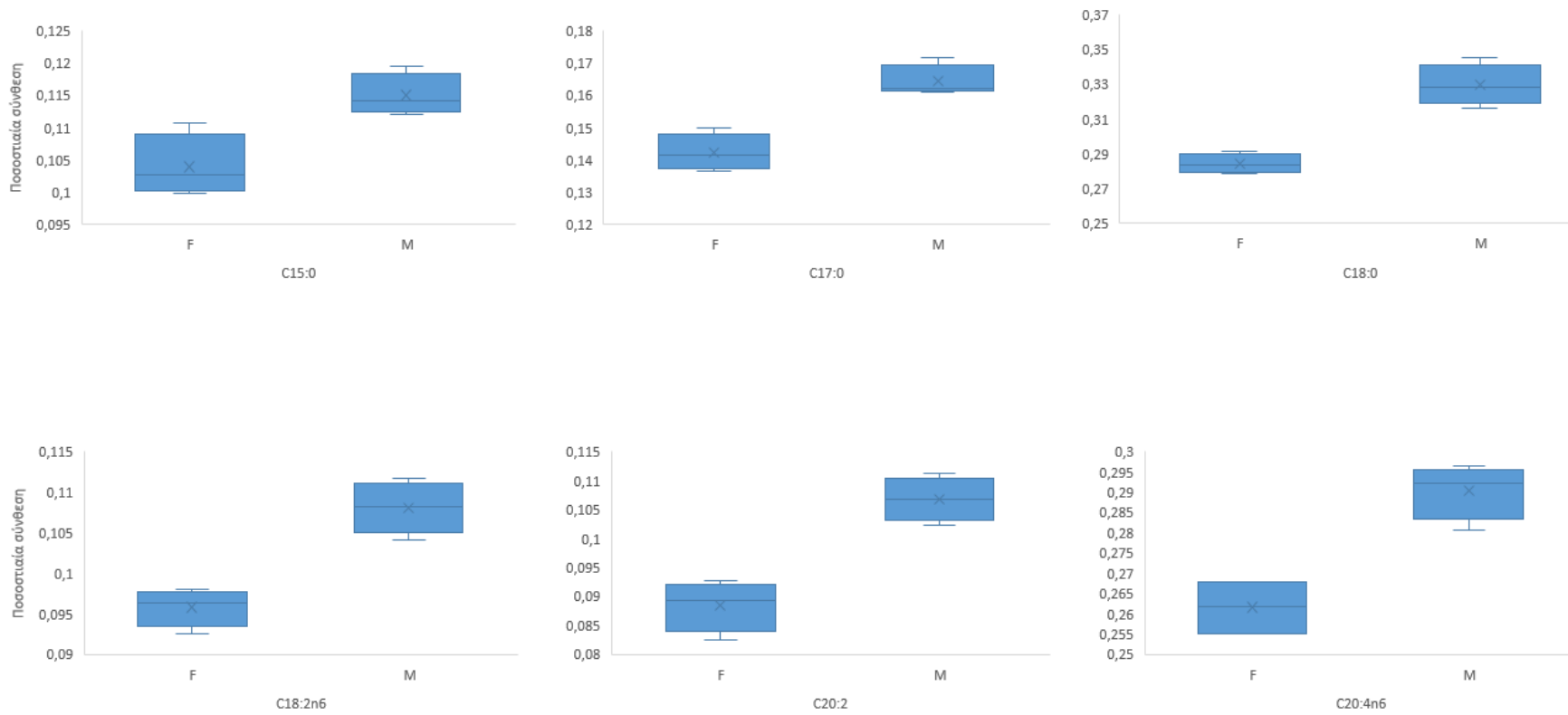
Independent Samples Test			
	t	df	Sig. (2-tailed)
C14:0	-7,830	6	0,000
C15:0	3,794	6	0,009
C16:0	-8,416	6	0,000
C16:1n7	-10,218	6	0,000
C17:0	5,868	6	0,001
C18:0	6,881	6	0,000
C18:1n9c	-2,528	6	0,045
C18:2n6	6,232	6	0,001
C20:2	6,475	6	0,001
C20:4n6	5,767	6	0,001
C20:5n3	2,657	6	0,038
C22:5n3	4,300	6	0,005
C22:6n3	5,851	6	0,001
C24:1n9	6,430	6	0,001



Εικόνα 3.9. Θηκόγραμμα των συγκεντρώσεων των οξέων C14:0, C16:0, C16:1n7 και C18:1n9c όπου είχαν μεγαλύτερη συγκέντρωση στα θηλυκά



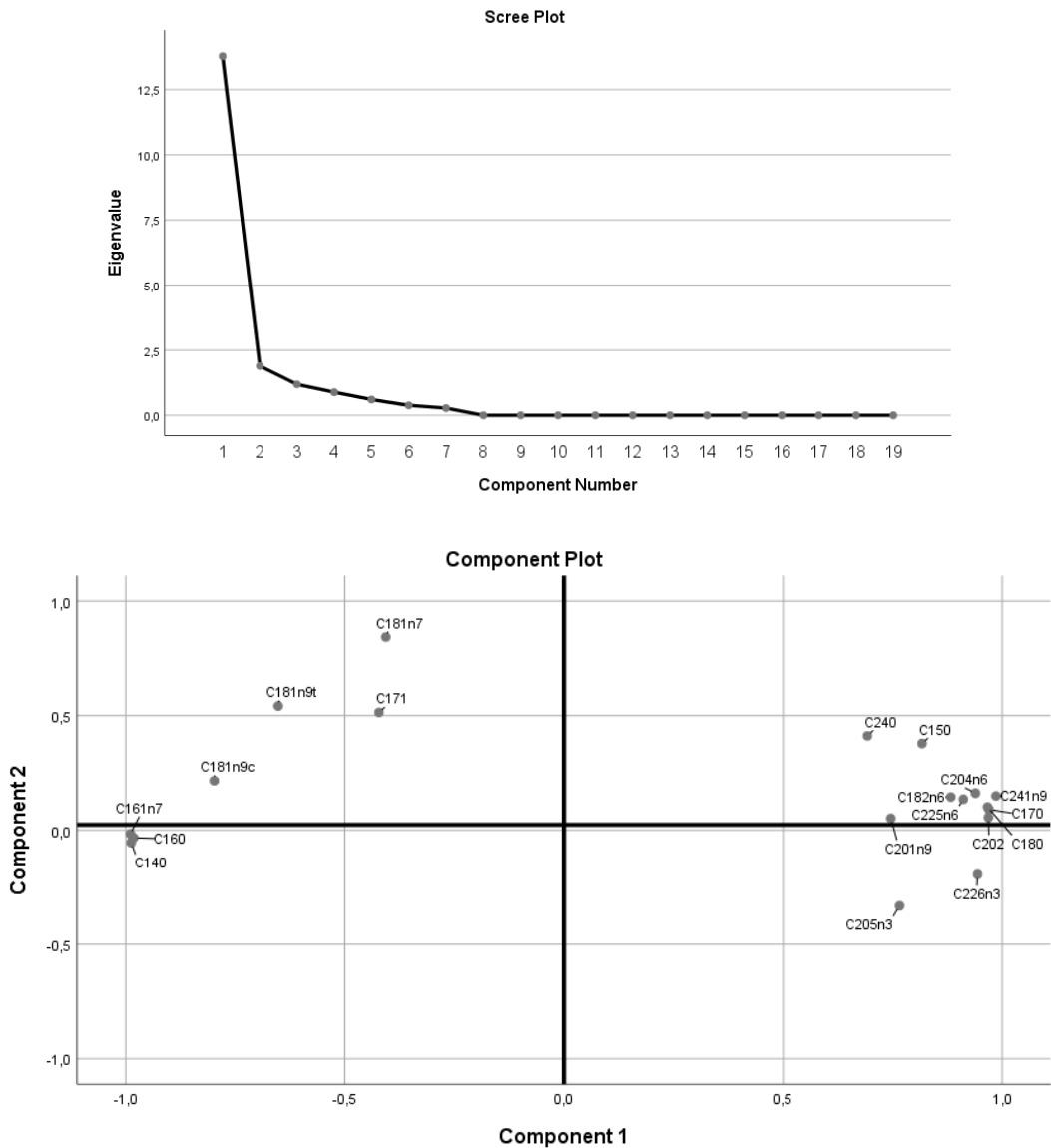
Εικόνα 3.10. Θηκόγραμμα των συγκεντρώσεων των οξέων C20:5n3, C24:1n9 και C22:6n3 C22:5n3 όπου είχαν μεγαλύτερη συγκέντρωση στα αρσενικά



Εικόνα 3.11. Θηκόγραμμα των συγκεντρώσεων των οξέων C15:0, C17:0, C18:0, C18:2n6, C20:2 και C20:4n6, όπου είχαν μεγαλύτερη συγκέντρωση στα αρσενικά άτομα

Συσχετισμός λιπαρών οξέων σάρκας *P. aztecus*

Ο συσχετισμός Spearman έδειξε πως όλα τα λιπαρά οξέα –πλην του C18:1n7c και του C17:1 σχετίζονται θετικά ή αρνητικά με τουλάχιστον ένα ακόμα λιπαρό οξύ. Στην ανάλυση PCA που πραγματοποιήθηκε με εξαγωγή δύο ομαδοποιήσεων, ο πρώτος άξονας εξηγεί το 72,53% των τιμών, ενώ αθροιστικά με τον δεύτερο άξονα εξηγούνται το 82,48% των τιμών. Όλα τα οξέα πλην των C18:1n7c και C17:1 τοποθετήθηκαν με πολύ καλές τιμές $\pm 0,65$ στον πρώτο άξονα και από την **Εικόνα 3.12** μπορεί να διακριθεί ο θετικός ή αρνητικός συσχετισμός μεταξύ των λιπαρών οξέων της σάρκας του *P. aztecus* (**Πίνακας 3.10**).



Εικόνα 3.12. Scree Plot και αναπαράσταση αποτελέσματος PCA στη συγκέντρωση λιπαρών οξέων σάρκας του *P. aztecus*

Πίνακας 3.10. Αποτελέσματα συσχέτισμού Spearman για τα λιπαρά οξέα της σάρκας του *P. aztecus* (*: τιμή $p < 0,05$, **: τιμή $p < 0,01$)

	C14:0	C15:0	C16:0	C16:1n7	C17:0	C17:1	C18:0	C18:1n7	C18:1n9c	C18:1n9t	C18:2n6	C20:1n9	C20:2	C20:4n6	C20:5n3	C22:5n3	C22:6n3	C24:0	C24:1n9
C14:0	1,000	-0,667	,857**	,976**	-,976**	0,476	-,833*	0,405	,714*	0,571	-,810*	-,833*	-,976**	-,810*	-,833*	-,857**	-,952**	-0,452	-,929**
C15:0	-0,667	1,000	-,810*	-0,690	0,690	-0,357	,833*	-0,119	-0,619	-0,381	,857**	0,381	0,690	,857**	,714*	,714*	0,619	0,476	,738*
C16:0	,857**	-,810*	1,000	,810*	-,810*	0,310	-,905**	0,333	,738*	0,524	-,714*	-,762*	-,810*	-,976**	-,714*	-,929**	-,762*	-0,690	-,952**
C16:1n7	,976**	-0,690	,810*	1,000	-,952**	0,524	-,857**	0,286	0,595	0,452	-,881**	-,738*	-1,000**	-,762*	-,762*	-,810*	-,929**	-0,500	-,905**
C17:0	-,976**	0,690	-,810*	-,952**	1,000	-0,429	,810*	-0,333	-,762*	-0,643	,833*	,810*	,952**	,786*	,881**	,833*	,929**	0,357	,905**
C17:1	0,476	-0,357	0,310	0,524	-0,429	1,000	-0,524	0,524	0,310	0,286	-0,381	-0,048	-0,524	-0,381	-0,357	-0,167	-0,476	-0,119	-0,286
C18:0	-,833*	,833*	-,905**	-,857**	,810*	-0,524	1,000	-0,143	-0,667	-0,405	,786*	0,619	,857**	,929**	0,643	,786*	0,690	0,690	,905**
C18:1n7	0,405	-0,119	0,333	0,286	-0,333	0,524	-0,143	1,000	0,381	0,643	-0,071	-0,238	-0,286	-0,310	-0,405	-0,357	-0,548	0,024	-0,238
C18:1n9c	,714*	-0,619	,738*	0,595	-,762*	0,310	-0,667	0,381	1,000	0,690	-0,452	-,738*	-0,595	-,810*	-,881**	-0,619	-0,595	-0,095	-0,690
C18:1n9t	0,571	-0,381	0,524	0,452	-0,643	0,286	-0,405	0,643	0,690	1,000	-0,333	-0,476	-0,452	-0,548	-0,619	-0,643	-0,619	-0,119	-0,548
C18:2n6	-,810*	,857**	-,714*	-,881**	,833*	-0,381	,786*	-0,071	-0,452	-0,333	1,000	0,476	,881**	0,690	,714*	,738*	,810*	0,452	,786*
C20:1n9	-,833*	0,381	-,762*	-,738*	,810*	-0,048	0,619	-0,238	-,738*	-0,476	0,476	1,000	,738*	0,690	,714*	,762*	,714*	0,357	,833*
C20:2	-,976**	0,690	-,810*	-1,000**	,952**	-0,524	,857**	-0,286	-0,595	-0,452	,881**	,738*	1,000	,762*	,762*	,810*	,929**	0,500	,905**
C20:4n6	-,810*	,857**	-,976**	-,762*	,786*	-0,381	,929**	-0,310	-,810*	-0,548	0,690	0,690	,762*	1,000	,738*	,857**	0,690	0,619	,905**
C20:5n3	-,833*	,714*	-,714*	-,762*	,881**	-0,357	0,643	-0,405	-,881**	-0,619	,714*	,714*	,762*	,738*	1,000	0,667	,810*	0,024	,714*
C22:5n3	-,857**	,714*	-,929**	-,810*	,833*	-0,167	,786*	-0,357	-0,619	-0,643	,738*	,762*	,810*	,857**	0,667	1,000	,833*	0,690	,952**
C22:6n3	-,952**	0,619	-,762*	-,929**	,929**	-0,476	0,690	-0,548	-0,595	-0,619	,810*	,714*	,929**	0,690	,810*	,833*	1,000	0,357	,833*
C24:0	-0,452	0,476	-0,690	-0,500	0,357	-0,119	0,690	0,024	-0,095	-0,119	0,452	0,357	0,500	0,619	0,024	0,690	0,357	1,000	0,690
C24:1n9	-,929**	,738*	-,952**	-,905**	,905**	-0,286	,905**	-0,238	-0,690	-0,548	,786*	,833*	,905**	,905**	,714*	,952**	,833*	0,690	1,000

Πίνακας 3.11. Τιμές που προέκυψαν από την ανάλυση PCA στα λιπαρά οξέα της σάρκας του *P. Aztecus*, με **bold** οι τιμές στον άξονα που εξηγεί καλύτερα τη μεταβλητή.

Component	Initial Eigenvalues			Extraction Sums of Squared Loadings		
	Total	% of Variance	Cumulative %	Total	% of Variance	Cumulative %
1	13,780	72,527	72,527	13,780	72,527	72,527
2	1,890	9,948	82,475	1,890	9,948	82,475

Component Matrix^a

	Component	
	1	2
C14:0	-,988	-,055
C15:0	,817	,378
C16:0	-,982	-,034
C16:1n7	-,989	-,017
C17:0	,970	,090
C17:1	-,422	,514
C18:0	,966	,101
C18:1n7	-,406	,843
C18:1n9c	-,798	,216
C18:1n9t	-,652	,542
C18:2n6	,883	,144
C20:1n9	,746	,051
C20:2	,968	,055
C20:4n6	,939	,161
C20:5n3	,766	-,332
C22:5n3	,911	,135
C22:6n3	,944	-,195
C24:0	,693	,412
C24:1n9	,986	,149

Extraction Method: Principal

Component Analysis.

a. 2 components extracted.

Σύσταση στομαχικών περιεχομένων

A. Σύσταση στομαχικού περιεχομένου *P. kerathurus*

Στο στομαχικό περιεχόμενο του *P. kerathurus* αναγνωρίστηκαν συνολικά 23 λιπαρά οξέα. Το ποσοστό της χοληστερόλης ήταν $6,13 \pm 4,38\%$ του συνολικού λίπους και τα λιπαρά οξέα χωρίς δυνατότητα αναγνώρισης ήταν $9,48 \pm 4,68\%$. Το λιπαρό οξύ με την μεγαλύτερη αφθονία ήταν το C16:0 ($27,78 \pm 7,27$), το οποίο σε ένα ορισμένο δείγμα (για το οποίο δείγμα η ανάλυση πραγματοποιήθηκε δύο φορές) ήταν 46,00%. Ποσοστό μεγαλύτερο του 10% παρουσίασαν τα λιπαρά οξέα C18:0, EPA και DHA ($12,42 \pm 4,45$, $10,63 \pm 2,92$ και $10,78 \pm 4,71\%$ εκ των αναγνωρισθέντων αντίστοιχα) (Πίνακας 3.12).

B. Σύσταση στομαχικού περιεχομένου *P. aztecus*

Στο στομαχικό περιεχόμενο του *P. Aztecus* αναγνωρίστηκαν συνολικά 24 λιπαρά οξέα. Το ποσοστό των παραγώγων χοληστερόλης ήταν $9,80 \pm 4,47\%$ εκ των συνολικών μορίων και τα λιπαρά οξέα χωρίς δυνατότητα αναγνώρισης ήταν $13,56 \pm 5,84\%$. Όπως και στο είδος *P. kerathurus* το λιπαρό οξύ με την μεγαλύτερη αφθονία στο στομαχικό περιεχόμενο των ατόμων ήταν το C16:0 ($26,22 \pm 3,31\%$). Παρόμοια, ποσοστό μεγαλύτερο του 10% παρουσίασαν τα λιπαρά οξέα C18:0, EPA και DHA ($10,15 \pm 1,19$, $12,04 \pm 3,58$ και $11,34 \pm 6,77\%$ εκ των αναγνωρισθέντων αντίστοιχα) (Πίνακας 3.13).

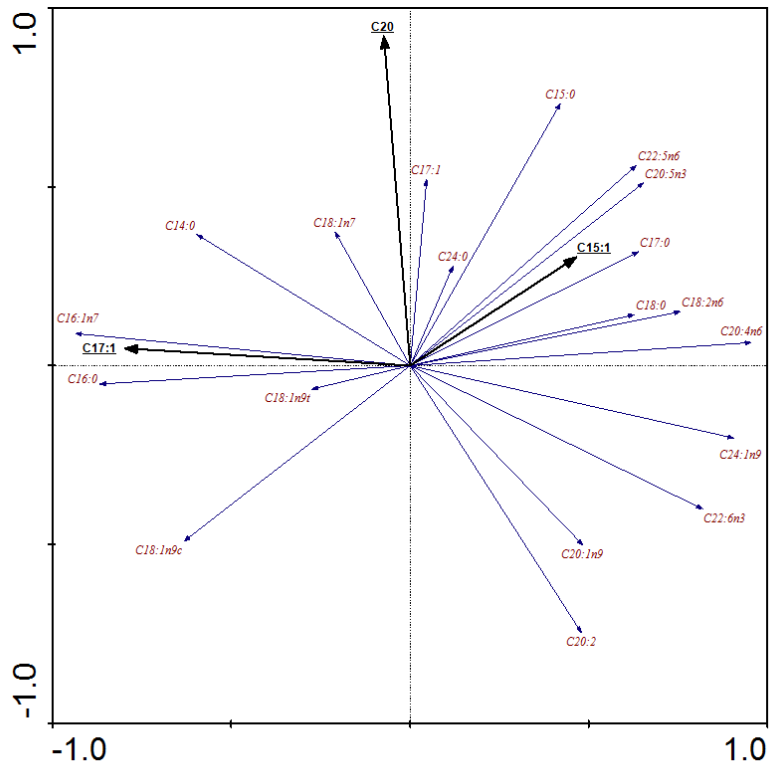
Γ. Συσχετισμός λιπαρών οξέων στομαχικού περιεχομένου – σάρκας

P. kerathurus

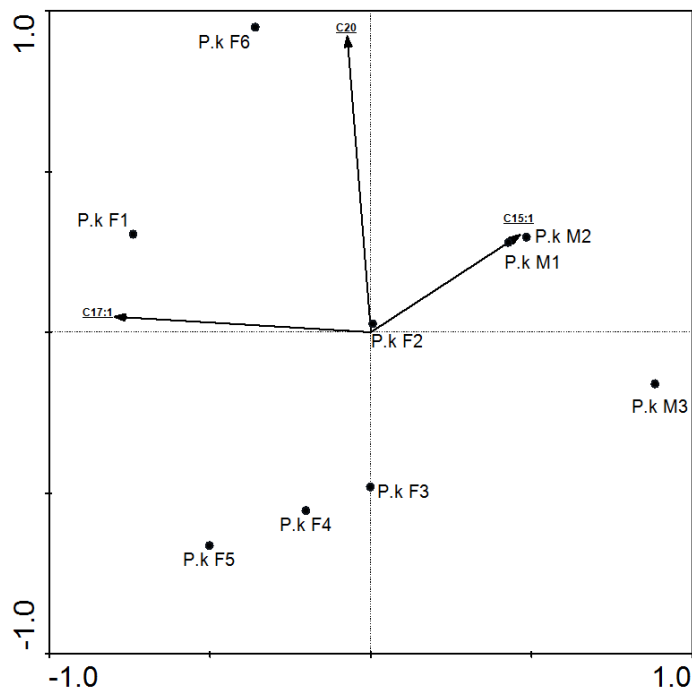
Σύμφωνα με την ανάλυση DCA επιλέχθηκε ως κατάλληλη μέθοδος η ανάλυση RDA. Οι μεταβλητές του στομαχικού περιεχομένου που επιλέχθηκαν ως στατιστικά σημαντικές σύμφωνα με την ανάλυση Monte Carlo ήταν τα οξέα C17:1, C15:1 και C20:0 (τιμές $p=0,002$ και για τις 3 μεταβλητές). Οι άξονες κρίθηκαν στατιστικά σημαντικοί με τιμή $p=0,002$. Το λιπαρό οξύ 15:1 σχετίζεται αρνητικά με το C20:2 (τιμή $r_p=-0,777$, $p<0,05$)

Θετική συσχέτιση με το στομαχικό λιπαρό οξύ C20:0 εμφάνισαν 4 λιπαρά οξέα της σάρκας, τα C15:0, C17:1, C18:1n7 και C24:0. Το στομαχικό λιπαρό οξύ C17:1 εμφάνισε θετική συσχέτιση με τα C14:0, C16:0, C16:1n7, C18:1n9c και C18:1n9t. Τα λιπαρά οξέα της σάρκας που έδειξαν θετική συσχέτιση με το C15:1 στομαχικό λιπαρό οξύ ήταν τα C17:0, C18:0, C18:2n6, C20:4n6, C20:5n3, C22:5n3, C22:6n3 και C24:1n7 (Εικόνα 3.13, Πίνακας 3.14). Δεν παρουσιάστηκε θετική συσχέτιση μεταξύ λιπαρών οξέων της σάρκας με τα αντίστοιχα που εντοπίστηκαν στο στομαχικό περιεχόμενο.

Από την ανάλυση φαίνεται πως υπάρχει κάποιος διαχωρισμός μεταξύ των φύλων ως προς τη σύσταση των στομαχικών περιεχομένων. Συγκεκριμένα τα αρσενικά εμφάνισαν όλα θετική συσχέτιση με το λιπαρό οξύ C15:1 ενώ τα θηλυκά με το C17:1 (Εικόνα 3.14).



Εικόνα 3.13. Γραφική απεικόνιση του αποτελέσματος RDA για το *P. kerathurus*, συσχέτιση μεταξύ περιεκτικότητας σάρκας και στομαχικού περιεχομένου. Με καφέ τα λιπαρά οξέα της σάρκας, με bold τα λιπαρά οξέα του στομαχικού περιεχομένου.



Εικόνα 3.14. Γραφική απεικόνιση του αποτελέσματος RDA για το *P. kerathurus*, συσχέτιση μεταξύ ατόμων και στομαχικού περιεχομένου. F: θηλυκά, M: αρσενικά

Πίνακας 3.14. Αποτελέσματα ανάλυσης RDA για το είδος *P. Kerathurus*, με **bold** οι τιμές στον άξονα που εξηγεί καλύτερα τη μεταβλητή.

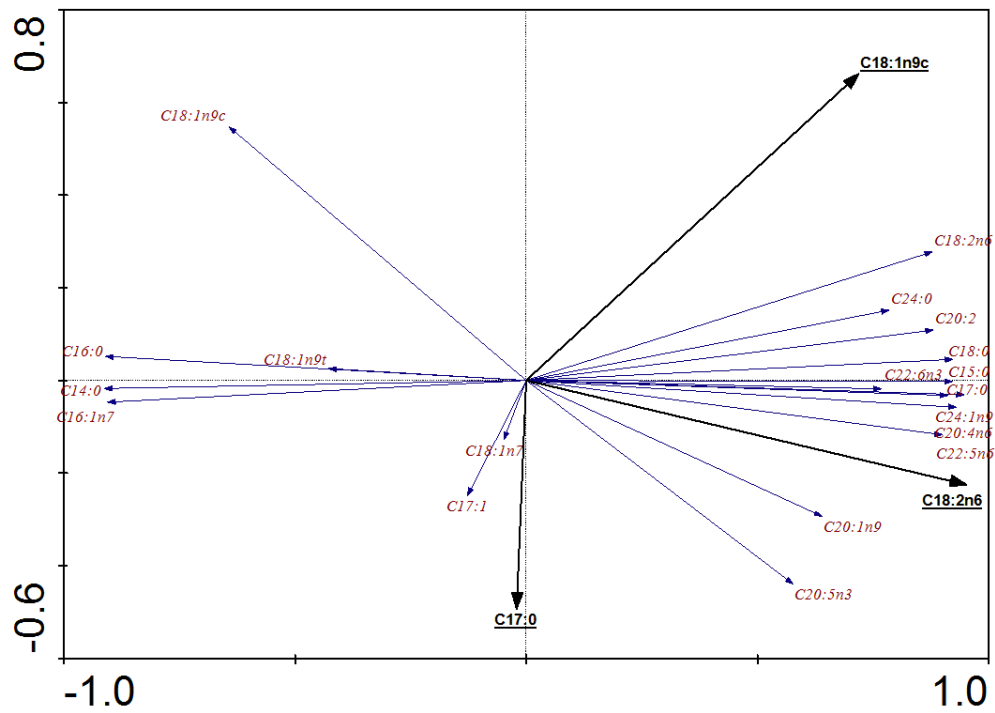
Λιπαρά οξέα σάρκας			Δείγματα			Στομαχικό περιεχόμενο		
NAME	AX1	AX2	NAME	AX1	AX2	NAME	AX1	AX2
EIG	0,6274	0,1089	EIG	0,6274	0,1089	R(SPEC,ENV)	0,9737	0,8257
C14:0	-0,5968	0,3676	F1	-15056	0,6229	C15:1	0,4647	0,3037
C15:0	0,4201	0,734	F2	0,0133	0,0542	C17:1	-0,7971	0,0484
C16:0	-0,8678	-0,0512	F3	-0,0018	-0,9808	C20	-0,0729	0,9224
C16:1n7	-0,9365	0,0906	F4	-0,4108	-11293			
C17:0	0,6394	0,3194	F5	-10231	-13518			
C17:1	0,0461	0,5216	F6	-0,7326	19360			
C18:0	0,6271	0,1431	M1	0,8715	0,5699			
C18:1n7	-0,2093	0,3751	M2	18018	-0,3256			
C18:1n9c	-0,6316	-0,4902	M3	0,9872	0,6046			
C18:1n9t	-0,2746	-0,0654						
C18:2n6	0,7564	0,1516						
C20:1n9	0,4839	-0,5016						
C20:2	0,4795	-0,7465						
C20:4n6	0,9547	0,0652						
C20:5n3	0,6534	0,5126						
C22:5n3	0,6329	0,5606						
C22:6n3	0,8181	-0,4005						
C24:0	0,1203	0,2792						
C24:1n9	0,906	-0,2025						

P. aztecus

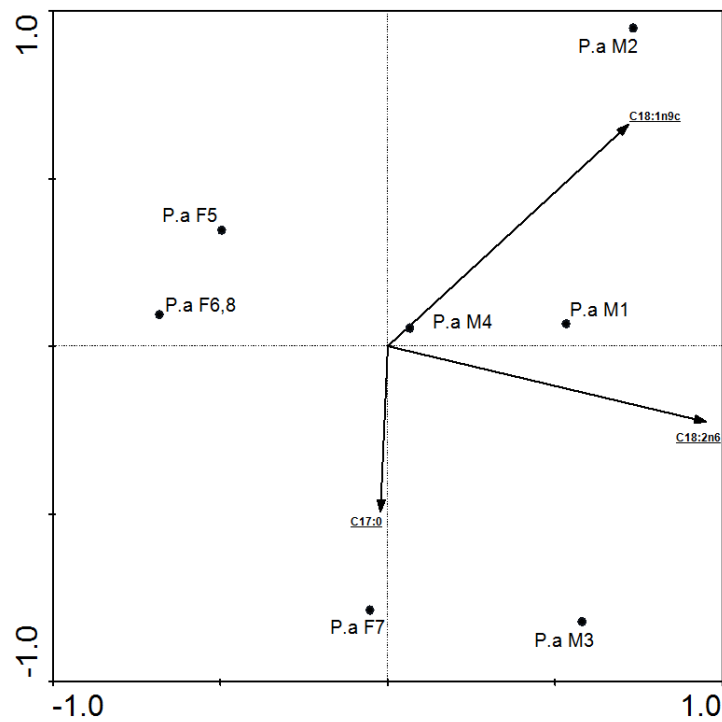
Από την ανάλυση DCA στα άτομα του *P. aztecus* επιλέχθηκε ως κατάλληλη μέθοδος η ανάλυση RDA. Στην ανάλυση Monte Carlo επιλέχθηκαν ως στατιστικά σημαντικές οι μεταβλητές στομαχικού περιεχομένου C18:2n6, C18:1n9c και C17:0 με τιμές $p=0,004$, $0,002$ και $0,002$ αντίστοιχα. Οι άξονες κρίθηκαν στατιστικά σημαντικοί με τιμή $p=0,034$. Το C18:2n6 σχετίζεται αρνητικά με το C16:0 (τιμή $r_p=-0,831$, $p<0,05$). Το C17:0 σχετίζεται θετικά με το C15:0 (τιμή $r_p=0,963$, $p<0,01$), με το C18:1n7 (τιμή $r_p=0,744$, $p<0,05$) και το C24:0 (τιμή $r_p=0,758$, $p<0,05$), ενώ σχετίζεται αρνητικά με το C20:5n3 (τιμή $r_p=-0,955$, $p<0,01$) και το C22:6n3 (τιμή $r_p=-0,924$, $p<0,01$).

Θετική συσχέτιση με το λιπαρό οξύ C17:0 εμφάνισαν 2 λιπαρά οξέα της σάρκας: το C17:1 και C18:1n7. Το (στομαχικού περιεχομένου) λιπαρό οξύ C18:1n9c εμφάνισε θετική συσχέτιση με τα C15:0, C17:0, C18:0, C18:2n6, C20:1n9, C20:2, C20:4n6, C20:5n3, C22:5n3, C22:6n3, C24:0 και C24:1n7. Το (στομαχικού περιεχομένου) λιπαρό οξύ C18:2n6 εμφάνισε με τα ίδια λιπαρά οξέα θετική συσχέτιση. Η διαφορά του με το C18:1n9c υπόκειται στον δεύτερο άξονα όπου το πρώτο συσχετίζεται θετικά ενώ το δεύτερο αρνητικά (**Πίνακας 3.15**, **Εικόνα 3.15**).

Τα δύο φύλα διαχωρίζονται σαφώς στον πρώτο άξονα με τα αρσενικά να εμφανίζουν θετική συσχέτιση τιμών, ενώ τα θηλυκά αρνητική συσχέτιση τιμών (**Εικόνα 3.16**).



Εικόνα 3.15. Γραφική απεικόνιση του αποτελέσματος RDA για το *P. aztecus*, συσχέτιση μεταξύ περιεκτικότητας σάρκας και στομαχικού περιεχομένου. Με καφέ τα λιπαρά οξέα της σάρκας, με bold τα λιπαρά οξέα του στομαχικού περιεχομένου.



Εικόνα 3.16. Γραφική απεικόνιση του αποτελέσματος RDA για το *P. aztecus*, συσχέτιση μεταξύ ατόμων και στομαχικού περιεχομένου. F: θηλυκά, M: αρσενικά

Πίνακας 3.15. Αποτελέσματα ανάλυσης RDA για το είδος *P. aztecus*, με **bold** οι τιμές στον άξονα που εξηγεί καλύτερα τη μεταβλητή.

Στομαχικό περιεχόμενο			Δείγματα			Λιπαρά οξέα σάρκας		
NAME	AX1	AX2	NAME	AX1	AX2	NAME	AX1	AX2
R(SPEC,ENV)	0,9106	0,885	EIG	0,7662	0,02	EIG	0,7662	0,02
C17:0	-0,0209	-0,4932	M1	0,9848	0,1243	C14:0	-0,9134	-0,0177
C18:1n9c	0,7191	0,6613	M2	13554	17558	C15:0	0,9216	-0,0021
C18:2n6	0,951	-0,2248	M3	10732	-15181	C16:0	-0,9101	0,0515
			M4	0,122	0,1014	C16:1n7	-0,9059	-0,0468
			F5	-0,916	0,6406	C17:0	0,9116	-0,0327
			F6	-12605	0,1752	C17:1	-0,1272	-0,2493
			F7	-0,0985	-14544	C18:0	0,9228	0,0458
			F8	-12605	0,1752	C18:1n7	-0,049	-0,1283
						C18:1n9c	-0,6428	0,5473
						C18:1n9t	-0,4278	0,0253
						C18:2n6	0,8788	0,2778
						C20:1n9	0,6396	-0,2936
						C20:2	0,8805	0,1088
						C20:4n6	0,9304	-0,0579
						C20:5n3	0,5772	-0,4401
						C22:5n3	0,9002	-0,1176
						C22:6n3	0,7675	-0,0183
						C24:0	0,7849	0,1513
						C24:1n9	0,9477	-0,0308

Συνδυασμός των δύο ειδών

Στην ανάλυση DCA που πραγματοποιήθηκε, η τιμή lengths of gradient για τον πρώτο άξονα ήταν 0,193, οπότε στη συνέχεια το μοντέλο που επιλέχθηκε για την ανάλυση ήταν το RDA. Στην ανάλυση Monte Carlo που προηγήθηκε, τέσσερα λιπαρά οξέα εμφάνισαν τιμές $p < 0,05$ (C15:1 $p = 0,016$, C18:1n7 $p = 0,028$, C22:6n3 $p = 0,01$ και C20:2 $p = 0,046$). Ακόμα 9 λιπαρά οξέα εμφάνισαν inflation factor < 20 . Τα οξέα αυτά ήταν τα C20:0, C20:2, C20:4n6, C20:5n3, C22:0, C22:5n3, C22:6n3, C24:0 και C24:1n9. Τα υπόλοιπα λιπαρά οξέα του στομαχικού περιεχομένου δεν λήφθηκαν υπόψη στην ανάλυση ταξιθέτησης.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της RDA, τα λιπαρά οξέα της σάρκας έχουν τιμή eigenvalue 0,5544 για τον πρώτο άξονα και 0,2592 για τον δεύτερο άξονα. Ο πρώτος άξονας ερμηνεύει τα 12 από τα 19 λιπαρά οξέα ενώ ο δεύτερος τα υπόλοιπα επτά (**Πίνακας 3.16**).

Η ταξιθέτηση των λιπαρών οξέων του στομαχικού περιεχομένου έδωσαν $R = 0,9356$ για τον πρώτο άξονα και $R = 0,9745$ για τον δεύτερο άξονα. Στον πρώτο άξονα μεγαλύτερες απόλυτες τιμές είχαν πέντε από τα 11 λιπαρά οξέα που διατηρήθηκαν στην ανάλυση. Στον δεύτερο άξονα μεγαλύτερες απόλυτες τιμές είχαν τα υπόλοιπα έξι. Τα λιπαρά οξέα της ομάδας Α (**Εικόνα 3.17**) εμφανίζουν θετική συσχέτιση με τα λιπαρά οξέα C24:0, C24:1n9, C15:1 και C20. Τα λιπαρά οξέα της ομάδας Β (**Εικόνα 3.17**) εμφανίζουν θετική συσχέτιση με τα λιπαρά οξέα C18:1n7 και C20:4n6 ενώ τα λιπαρά οξέα της ομάδας Γ (εικόνα σάρκα στομάχι) εμφανίζουν θετική συσχέτιση με το λιπαρό οξύ C20:2. Το λιπαρό οξύ C15:0 εμφανίζει θετική συσχέτιση με το αρνητικό τμήμα του άξονα 2, ενώ το C16:1n7 εμφανίζει θετική συσχέτιση με το αρνητικό τμήμα του άξονα 1.

Τα δείγματα διαχωρίστηκαν και αυτά στους ίδιους άξονες με τιμές eigenvalue 0,5544 και 0,2592 αντίστοιχα με τον διαχωρισμό των λιπαρών οξέων σάρκας. Η ομαδοποίηση των δειγμάτων έγινε με βάση το είδος τους όπως φαίνεται στην **Εικόνα 3.18**. Τα δείγματα του είδους *P. kerathurus* ομαδοποιούνται με τα λιπαρά οξέα C20:2 και C20:4n6. Τα δείγματα του είδους *P. aztecus* παρουσιάζουν πιο διευρυμένη κατανομή και επίδραση από περισσότερα λιπαρά οξέα (**Εικόνα 3.18**).

Πίνακας 3.16. Αποτελέσματα ανάλυσης RDA για τα δύο είδη συνδυαστικά (με **bold** η τιμή του άξονα που εξηγεί καλύτερα την μεταβλητή)

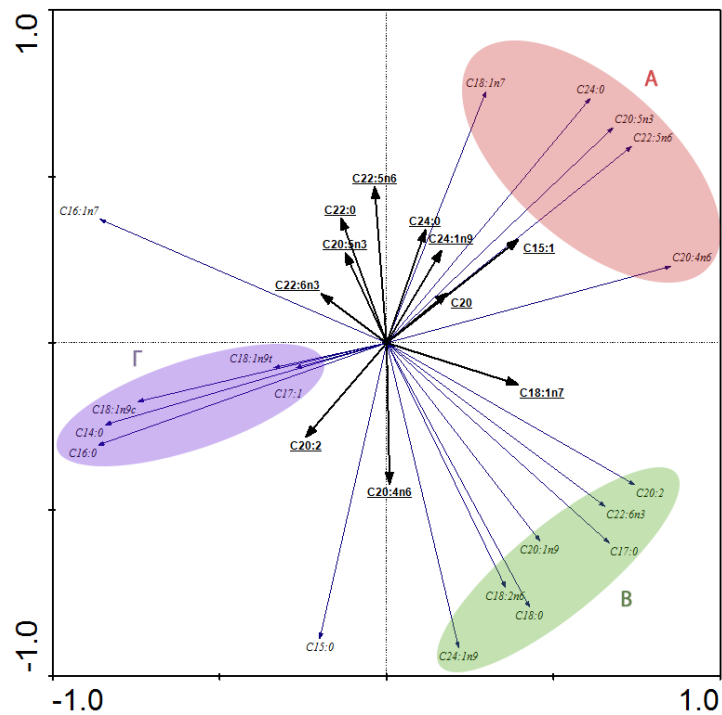
Λιπαρά οξέα σάρκας			Λιπαρά οξέα στομαχικού περιεχομένου			Δείγματα		
NAME	AX1	AX2	NAME	AX1	AX2	NAME	AX1	AX2
EIG	0,5544	0,2592	R(SPEC,ENV)	0,9356	0,9745	EIG	0,5544	0,2592
C14:0	-0,842	-0,2444	C15:1	0,3947	0,3107	<i>P. a M1</i>	24.016	-0,2074
C15:0	-0,1995	-0,888	C18:1n7	0,3944	-0,1244	<i>P. a M2</i>	0,5796	0,5218
C16:0	-0,8635	-0,3064	C20	0,1814	0,149	<i>P. a M3</i>	13.181	0,6027
C16:1n7	-0,8585	0,3715	C20:2	-0,2416	-0,2827	<i>P. a M4</i>	17.466	0,1277
C17:0	0,6668	-0,5997	C20:4n6	0,0096	-0,4227	<i>P. a F5</i>	-0,5469	14.999
C17:1	-0,2713	-0,0744	C20:5n3	-0,1234	0,2703	<i>P. a F6</i>	-0,6434	15.888
C18:0	0,4286	-0,7937	C22:0	-0,1367	0,375	<i>P. a F7</i>	0,1136	13.728
C18:1n7	0,2988	0,7565	C22:5n3	-0,0354	0,4692	<i>P. a F8</i>	-0,6434	15.888
C18:1n9c	-0,7454	-0,1754	C22:6n3	-0,1953	0,147	<i>P. k F1</i>	-10.159	-0,1791
C18:1n9t	-0,338	-0,0743	C24:0	0,1163	0,3392	<i>P. k F2</i>	-0,0547	-14.320
C18:2n6	0,3567	-0,7338	C24:1n9	0,1644	0,2779	<i>P. k F3</i>	-0,1561	-0,7888
C20:1n9	0,4598	-0,5945				<i>P. k F4</i>	-11.732	-0,9426
C20:2	0,7444	-0,4255				<i>P. k F5</i>	-11.210	-0,399
C20:4n6	0,8519	0,231				<i>P. k F6</i>	-11.046	-0,2465
C20:5n3	0,6782	0,6473				<i>P. k M1</i>	0,1331	-0,8203
C22:5n3	0,7342	0,5909				<i>P. k M2</i>	0,1942	-12.453
C22:6n3	0,6544	-0,4903				<i>P. k M3</i>	-0,0278	-10.416
C24:0	0,611	0,7357						
C24:1n9	0,2162	-0,9152						

Πίνακας 3.12. Λιπαρά οξέα στομαχικού περιεχομένου του είδους *P. kerathurus*

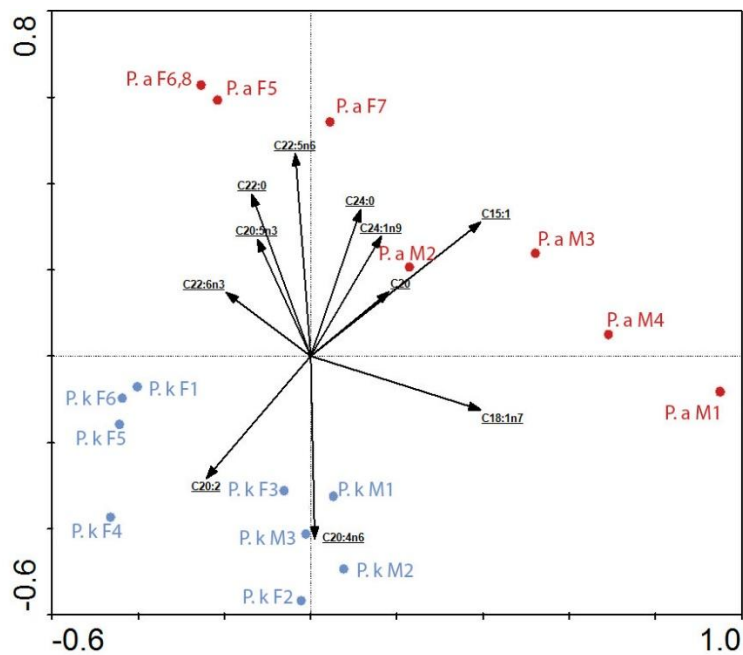
<i>fatty acid</i>	<i>F1</i>	<i>F2</i>	<i>F3</i>	<i>F4</i>	<i>F5</i>	<i>F6</i>	<i>M1</i>	<i>M2</i>	<i>M3</i>	<i>min</i>	<i>max</i>	<i>average</i>	<i>SD</i>
C10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,53	0,00	0,53	0,06	0,18
C14	3,48	1,90	3,24	3,67	3,69	3,08	3,01	3,80	3,05	1,90	3,80	3,21	0,58
C14:1	1,24	1,57	0,00	0,00	0,00	0,00	0,35	0,00	0,00	0,00	1,57	0,35	0,61
C15	2,38	0,51	1,48	1,67	1,98	1,37	2,37	1,81	1,31	0,51	2,38	1,65	0,58
C15:1	0,00	0,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,94	0,00	0,52	0,00	0,94	0,21	0,34
C16	23,17	20,18	27,58	26,45	25,75	28,44	26,07	26,35	46,00	20,18	46,00	27,78	7,27
C16:1n7	7,57	8,64	3,47	6,30	6,34	4,00	4,79	4,48	2,81	2,81	8,64	5,38	1,95
C17	3,47	1,63	2,05	2,26	2,38	1,75	2,50	2,52	1,52	1,52	3,47	2,23	0,60
C17:1	1,67	1,31	0,60	0,91	1,48	0,80	1,00	0,00	0,60	0,00	1,67	0,93	0,51
C18	9,02	10,22	10,01	10,68	11,68	8,71	12,83	15,86	22,76	8,71	22,76	12,42	4,45
C18:1n7c	3,29	3,68	3,56	4,86	4,23	3,37	5,28	3,97	2,35	2,35	5,28	3,84	0,88
C18:1n9c	8,56	12,67	5,14	7,46	7,12	5,73	6,95	5,71	4,31	4,31	12,67	7,07	2,47
C18:1n9t	0,00	0,51	0,84	0,00	0,00	0,64	0,66	1,78	0,00	0,00	1,78	0,49	0,59
C18:2n6	1,27	0,92	0,72	0,00	0,00	0,00	0,84	0,00	0,67	0,00	1,27	0,49	0,49
C20	0,41	0,36	0,00	0,00	0,00	0,89	0,67	0,00	0,49	0,00	0,89	0,31	0,33
C20:1n9	2,22	1,32	2,10	1,70	1,66	2,54	1,64	1,53	0,95	0,95	2,54	1,74	0,48
C20:2	1,23	1,23	0,95	1,58	1,38	1,17	0,57	1,50	0,67	0,57	1,58	1,14	0,35
C20:4n6	5,66	7,18	3,94	5,81	6,48	3,66	5,92	6,46	2,31	2,31	7,18	5,27	1,60
C20:5n3	11,57	12,81	13,14	10,60	11,86	12,13	8,84	11,11	3,64	3,64	13,14	10,63	2,92
C22:5n3	2,12	1,41	1,35	2,33	2,29	1,34	2,34	2,00	0,82	0,82	2,34	1,78	0,56
C22:6n3	9,05	9,77	18,08	10,53	9,76	18,49	8,77	9,02	3,54	3,54	18,49	10,78	4,71
C24	1,73	0,96	1,03	1,98	1,93	1,09	2,36	2,10	0,72	0,72	2,36	1,54	0,60
C24:1	0,91	0,81	0,74	1,20	0,00	0,80	1,28	0,00	0,44	0,00	1,28	0,69	0,46

Πίνακας 3.13. Λιπαρά οξέα στομαχικού περιεχομένου του είδους *P. aztecus*

<i>fatty acid</i>	<i>M1</i>	<i>M2</i>	<i>M3</i>	<i>M4</i>	<i>F5</i>	<i>F6</i>	<i>F7</i>	<i>F8</i>	<i>min</i>	<i>max</i>	<i>average</i>	<i>SD</i>
C10	0,00	0,00	1,44	0,00	0,44	0,41	0,00	0,41	0,00	1,44	0,34	0,49
C14	4,35	2,25	2,80	3,09	2,92	4,55	3,72	4,55	2,25	4,55	3,53	0,89
C14:1	1,01	0,41	0,00	0,00	0,66	1,23	0,00	1,23	0,00	1,23	0,57	0,54
C15	2,76	1,54	2,34	1,31	0,99	2,42	2,38	2,42	0,99	2,76	2,02	0,64
C15:1	1,37	0,74	1,11	0,00	0,27	1,09	0,00	1,09	0,00	1,37	0,71	0,55
C16	24,34	21,32	24,68	27,68	25,58	30,79	24,58	30,79	21,32	30,79	26,22	3,31
C16:1n7	5,31	6,39	5,52	2,54	2,21	7,20	3,87	7,20	2,21	7,20	5,03	1,97
C17:0	3,14	1,85	2,98	1,82	1,60	2,94	2,48	2,94	1,60	3,14	2,47	0,62
C17:1	1,47	1,17	1,09	0,00	0,32	0,82	0,69	0,82	0,00	1,47	0,80	0,47
C18:0	12,65	8,07	12,47	12,09	7,69	9,22	9,77	9,22	7,69	12,65	10,15	1,99
C18:1n7	8,48	5,01	6,78	3,54	0,00	4,93	5,32	4,93	0,00	8,48	4,87	2,46
C18:1n9c	7,07	8,79	5,15	5,28	4,68	4,64	3,86	4,64	3,86	8,79	5,51	1,62
C18:1n9t	1,32	0,52	0,00	0,00	0,60	1,36	0,83	1,36	0,00	1,36	0,75	0,57
C18:2n6	0,81	0,86	0,92	0,77	0,61	0,52	0,77	0,52	0,52	0,92	0,72	0,15
C20	0,89	0,42	0,89	0,00	0,25	0,42	0,00	0,42	0,00	0,89	0,41	0,34
C20:1n9	2,44	1,08	1,62	1,95	2,94	1,05	1,94	1,05	1,05	2,94	1,76	0,70
C20:2	1,80	0,81	1,38	0,00	0,71	0,78	0,62	0,78	0,00	1,80	0,86	0,53
C20:4n6	3,95	5,97	5,26	5,51	3,49	3,90	3,18	3,90	3,18	5,97	4,39	1,03
C20:5n3	6,57	15,91	10,26	15,32	16,60	9,79	12,06	9,79	6,57	16,60	12,04	3,58
C22:0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,85	0,00	0,00	0,00	0,00	0,85	0,11	0,30
C22:5n3	1,79	1,98	2,82	1,50	1,20	2,71	3,75	2,71	1,20	3,75	2,31	0,84
C22:6n3	5,13	12,56	6,08	16,16	24,05	6,01	14,69	6,01	5,13	24,05	11,34	6,77
C24:0	2,45	1,48	3,40	0,70	0,66	2,41	4,44	2,41	0,66	4,44	2,24	1,30
C24:1n9	0,91	0,88	1,01	0,75	0,67	0,82	1,04	0,82	0,67	1,04	0,86	0,13



Εικόνα 3.17. Γραφική απεικόνιση του αποτελέσματος RDA και για τα δύο είδη, συσχέτιση μεταξύ λιπαρών οξέων σάρκας και στομαχικού περιεχομένου. Με καφέ τα λιπαρά οξέα της σάρκας, με bold τα λιπαρά οξέα του στομαχικού περιεχομένου. Α: λιπαρά οξέα σάρκας που σχετίζονται θετικά με τα λιπαρά οξέα C20, C15:1, C24:1n9 και C24:0 του στομαχικού περιεχομένου. Β: λιπαρά οξέα σάρκας που σχετίζονται θετικά με τα λιπαρά οξέα C20:4n6 και C18:1n7 του στομαχικού περιεχομένου. Γ: λιπαρά οξέα σάρκας που σχετίζονται θετικά με τα λιπαρό οξύ C20:2 του στομαχικού περιεχομένου



Εικόνα 3.18. Γραφική απεικόνιση του αποτελέσματος RDA και για τα δύο είδη, συσχέτιση μεταξύ ατόμων και στομαχικού περιεχομένου. Με κόκκινο τα άτομα του είδους *P. aztecus*, με μπλε τα άτομα του είδους *P. kerathurus*. Μ: αρσενικά, F: θηλυκά

Διατροφικοί δείκτες σάρκας

Η σύσταση των λιπαρών οξέων διαφέρει μεταξύ των δύο ειδών. Το *P. kerathurus* έχει σύνολο 35,53% ± 1,16 κορεσμένων λιπαρών οξέων έναντι του 31,19 ± 0,61% στο *P. aztecus*. Τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα καταλαμβάνουν παρόμοια ποσοστά στα δύο είδη με τιμές 27,78% (±2,22) και 26,10% (±4,01) για το *P. kerathurus* και *P. aztecus* αντίστοιχα. Το είδος *P. aztecus* φαίνεται να περιέχει μεγαλύτερα ποσοστά πολυακόρεστων λιπαρών οξέων σε σχέση με το *P. kerathurus* (42,71 ± 3,95% και 36,7 ± 2,84% αντίστοιχα). Οι δείκτες IA και IT ήταν μικροί και για τα δύο είδη (0,54 ± 0,03 και 0,43 ± 0,02 για το *P. kerathurus* και *P. aztecus* αντίστοιχα). Επίσης και οι τιμές IT ήταν πολύ μικρές (0,26 ± 0,02 και 0,22 ± 0,02 αντίστοιχα). Οι αναλογία ω-3 προς ω-6 λιπαρά είναι αρκετά μεγάλη και στα δύο είδη (3,84 ± 0,17 και 3,94 ± 0,27 αντίστοιχα). Τέλος, η συγκέντρωση του DHA ήταν μικρότερη του EPA και στα δύο είδη (Πίνακας 3.17).

Πίνακας 3.17. Λιπαρά οξέα και διατροφικοί δείκτες για τα δύο είδη κολυμβητικών δεκαπόδων (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)

Λιπαρά οξέα (%)	<i>P. kerathurus</i>			<i>P. aztecus</i>		
	Male	Female	Total	Male	Female	Total
C14:0	1,20±0,08	1,39±0,18	1,33±0,17	0,85±0,03 ^a	1,18±0,08	1,01±0,18
C15:0	1,79±0,07	1,68±0,15	1,72±0,14	1,32±0,08 ^a	1,08±0,10 ^a	1,20±0,15
C16:0	17,49±0,63	19,75±0,44 ^a	19,00±1,23	14,58±0,36 ^a	17,71±0,67	16,15±1,74
C17:0	2,61±0,22 ^{b2}	2,35±0,19	2,43±0,23	2,68±0,16 ^{b1}	2,01±0,16 ^{b1,2}	2,34±0,39
C18:0	10,77±0,56	10,01±0,55	10,26±0,64	10,49±0,73	7,88±0,30 ^a	9,18±1,49
C24:0	0,78±0,02 ^{a,c}	0,79±0,05 ^{a,c}	0,79±0,04	1,37±0,11	1,24±0,08	1,30±0,11
ΣSFA	34,63±1,39	35,97±0,82	35,53±1,16	31,29±0,79	31,09±0,46	31,19±0,61
C16:1n7	6,64±0,27 ^a	9,12±1,05	8,29±1,50	4,88±0,54 ^a	10,75±1,09	7,81±3,24
C17:1	1,90±0,28	1,78±0,09	1,82±0,17	1,71±0,07	1,77±0,08	1,74±0,07
C18:1n7	3,44±0,33 ^{b1}	3,49±0,11 ^{b2}	3,48±0,19	3,87±0,15 ^{b1,2,c}	4,03±0,19 ^{b1,2,c}	3,95±0,18
C18:1n9c	11,10±0,22	12,23±1,33 ^b	11,85±1,20	9,89±0,87 ^b	11,23±0,62	10,56±1,00
C18:1n9t	0,54±0,08	0,60±0,14	0,58±0,12	0,47±0,06	0,57±0,07	0,52±0,08
C20:1n9	0,67±0,03	0,64±0,04	0,65±0,04	0,66±0,07	0,58±0,07	0,62±0,07
C24:1n9	1,22±0,04 ^{a,c}	1,06±0,11 ^c	1,11±0,12	1,02±0,05	0,77±0,06 ^a	0,89±0,14
ΣMUFA	25,49±0,77	28,92±1,72	27,78±2,22	22,49±1,30	29,70±1,10	26,10±4,01
C18:2n6	1,30±0,11 ^b	1,10±0,05 ^b	1,16±0,12	1,17±0,07	0,92±0,04 ^a	1,04±0,14
C20:2	0,97±0,08	0,92±0,11 ^{b,c}	0,93±0,10	1,14±0,08 ^b	0,78±0,07 ^{b,c}	0,96±0,20
C20:4n6	6,93±0,10	5,89±0,37 ^a	6,23±0,60	8,20±0,37	6,69±0,36 ^a	7,45±0,88
C20:5n3	14,73±0,49 ^{a,c}	13,36±0,95 ^{a,c}	13,82±1,05	18,97±1,04	17,44±0,51	18,20±1,11
C22:5n3	1,59±0,04	1,50±0,11	1,53±0,10	2,37±0,13 ^a	2,00±0,11 ^a	2,19±0,22
C22:6n3	14,35±1,61 ^{b2}	12,35±0,87 ^{b1}	13,02±1,45	14,38±0,86 ^{b1}	11,38±0,58 ^{b1,2}	12,88±1,74
ΣPUFA	39,87±2,14	35,11±1,40	36,7±2,84	46,22±1,58	39,21±1,11	42,71±3,95
IA	0,35±0,02	0,40±0,02	0,38±0,03	0,27±0,01	0,33±0,01	0,30±0,04
IT	0,26±0,02	0,30±0,01	0,29±0,02	0,20±0,01	0,23±0,01	0,22±0,02
ΣPUFA/ΣSFA	1,15±0,11	0,98±0,04	1,04±0,11	1,48±0,08	1,26±0,04	1,37±0,13
Σn6	8,23±0,09	6,98±0,37	7,40±0,69	9,37±0,035	7,61±0,36	8,49±0,99
Σn3	30,67±1,99	27,21±1,08	28,36±2,17	35,71±1,79	30,82±0,87	33,27±2,92
Σn3/Σn6	3,73±0,20	3,90±0,12	3,84±0,17	3,82±0,31	4,06±0,19	3,94±0,27
DHA/EPA	0,97±0,09	0,93±0,10	0,94±0,09	0,76±0,03	0,65±0,04	0,71±0,06

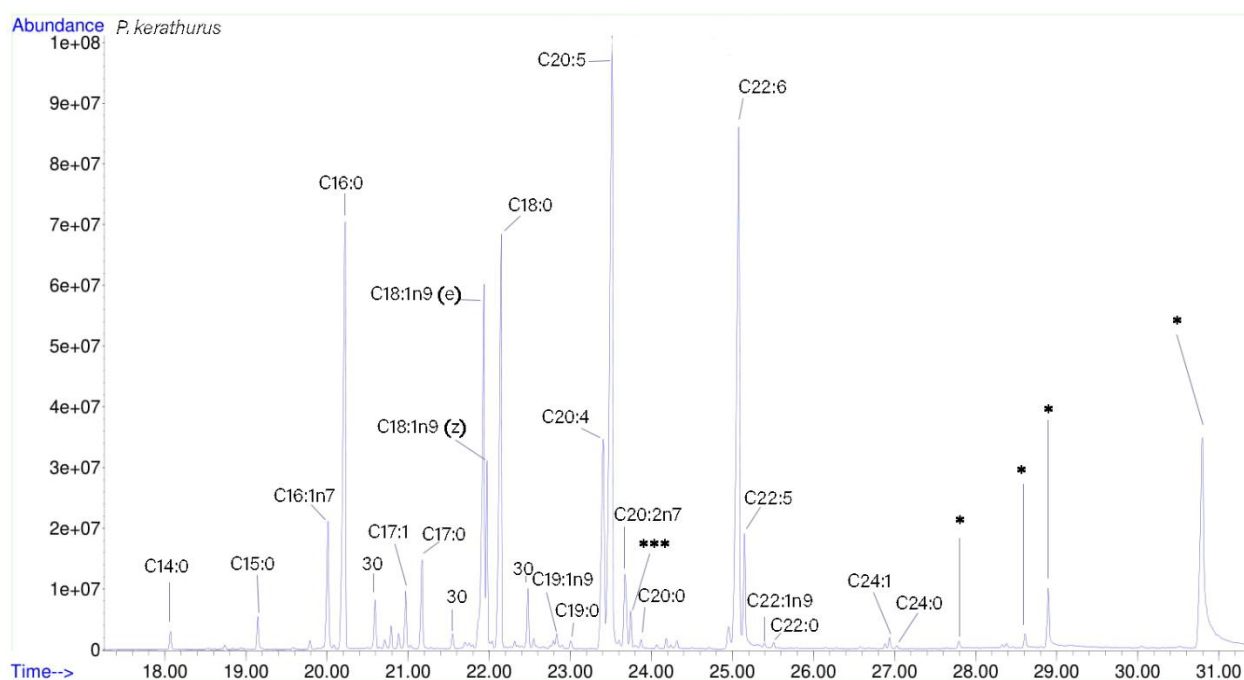
^a: Οι τιμές διαφέρουν από τις υπόλοιπες (p<0,05) ^b: Οι τιμές διαφέρουν μεταξύ τους (p<0,05), c: οι τιμές δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά, έλεγχος ANOVA, Tukey HSD.

Αποτελέσματα Αέριας Χρωματογραφίας – Φασματοσκοπίας Μάζας

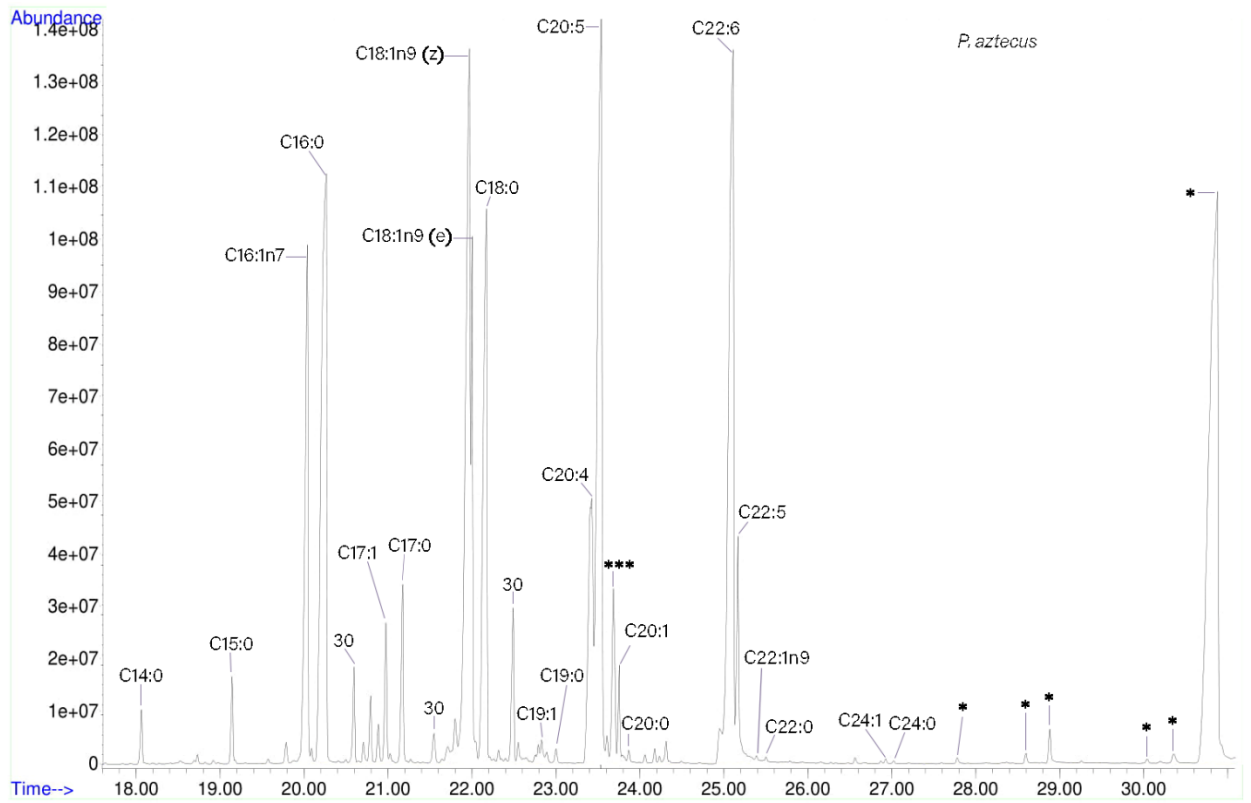
Στην ανάλυση που πραγματοποιήθηκε με το μηχάνημα της αέριας χρωματογραφίας-φασματοσκοπίας μάζας αναγνωρίστηκαν συνολικά 36 ενώσεις από τα μοριακά τους φάσματα (**ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α**). Οι χρόνοι απόκρισης και η ένταση της κάθε κορυφής ήταν διαφορετικοί από αυτούς της αέριας χρωματογραφίας με εντοπισμό ιοντισμού φλόγας, λόγω του διαφορετικού προγράμματος και στήλης (**Εικόνες 3.19 & 3.20**).

Τα λιπαρά οξέα που ταυτοποιήθηκαν ήταν τα: C14:0, C15:0, C16:0, C16:1n7, C17:0, C18:3, C18:1n9 (*cis*), C18:1n9 (*trans*), C18:0, C20:4, C20:5, C20:3, C20:1n11, C20:2, C20:3n11, C20:0, C21:0, C22:6n3, C22:1n9, C22:0, C23:0, C24:0, C24:1n9, C19:1n9, C19:0, C22:5n3, C14:1, C16:1n9.

Επίσης, εμφανίστηκαν οι εξής ενώσεις: Cholesterylbenzoate, Cholesta-3,5-diene, Cholest-5-en-3-ol(3β)-propanoate, dodecane, 1,1-dimethoxy, 9,12- octadecadienoic acid (*cis,cis*), 17-(1,5-dimethyl-hex-4-ethyl)-10,13-dimethyl-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-tetradecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-ol/ ή cholesta-5,22-dien-3-ol, 16:1n7 με δύο μεθύλια, C16:0 με ένα επιπλέον μεθύλιο



Εικόνα 3.19. Χρωματογραφικό προφίλ του είδους *P. kerathurus*, όπως προέκυψε από την ανάλυση GC-MS (*: παράγωγα χοληστερόλης, ***: dodecane, 1,1-dimethoxy)



Εικόνα 3.20. Χρωματογραφικό προφίλ του είδους *P. aztecus*, όπως προέκυψε από την ανάλυση GC-MS (*: παράγωγα χοληστερόλης, ***: dodecane, 1,1-dimethoxy)

Κεφάλαιο 4

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Συνολική σύσταση σάρκας

Τα αποτελέσματα της σύστασης της σάρκας (**Πίνακας 3.18**) έρχονται σε συμφωνία με προηγούμενες δημοσιευμένες μελέτες (Menard et al., 2015; Κωνσταντινόπουλος και συν., 2019; Zlatanov et al., 2009; Erdilal, 2012) συγκριτικά με την ποσοστιαία σύσταση λίπους και πρωτεϊνών για τα είδη του γένους *Penaeus*. Επομένως, τα δύο είδη κολυμβητικών δεκαπόδων, το *P. kerathurus* και το *P. aztecus* θεωρούνται ισχνά αλιεύματα (δηλαδή χαμηλής περιεκτικότητας σε λίπος) και πλούσια σε περιεκτικότητα πρωτεϊνών. Ακόμα, η υγρασία δεν παρουσίασε διαφοροποίηση από τη διαθέσιμη βιβλιογραφία (Zlatanov et al., 2009; Erdilal, 2012; Ayas et al., 2013; Menard et al., 2015; Sidwell, 1981). Η τέφρα παρουσίασε τιμές υψηλότερες του αναμενόμενου (2,20-3,32 (**Πίνακας 3.18**) έναντι 1,60-1,69 (Zlatanov et al., 2009; Menard et al., 2015). Αυτό το αποτέλεσμα μπορεί να οφείλεται σε διαφοροποίηση των πληθυσμών στην περιοχή του Θρακικού πελάγους, για τον προσδιορισμό της οποίας χρειάζονται μελέτες σύστασης του περιβάλλοντος και έλεγχος συσχετισμού περιβαλλοντικών μεταβλητών και ποσοστιαίας σύνθεσης τέφρας. Ακόμα, έρευνες με χρήση μηχανημάτων όπως της ατομικής απορρόφησης, μπορούν να δείξουν την ακριβή σύσταση της τέφρας σε ιχνοστοιχεία που περιέχεται στους οργανισμούς. Μέσω τέτοιων αναλύσεων μπορεί να προσδιοριστεί η σύσταση ανόργανων μορίων που έχει ήδη αναφερθεί από προηγούμενες μελέτες (Ca, K, Na, P, As, Cu, Fe, Mn, Zn, Al, B, Mo και Se (Sidwell, 1981), καθώς και να διερευνηθεί η επιβάρυνση των οργανισμών με βαρέα μέταλλα, όπως ο Hg, το Cd, το Cr και ο Pb, τα οποία έχουν εντοπιστεί στη σάρκα των δύο ειδών γαρίδων (Ayas et al., 2016; Palmer & Presley, 1980).

Σύμφωνα με τα παραπάνω, η κατανάλωση των δύο ειδών κολυμβητικών δεκαπόδων ενδείκνυται σε δίαιτες με υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και χαμηλή περιεκτικότητα λίπους, αλλά χρειάζεται προσοχή καθώς ενδέχεται να είναι επιβαρυμένα με βαρέα μέταλλα.

Λιπαρά οξέα

Η σύσταση των λιπαρών οξέων που βρέθηκε, είναι σε μερική συμφωνία με αποτελέσματα προηγούμενων μελετών. Εντούτοις, είναι η πρώτη μελέτη που αφορά τη χημική σύσταση των ειδών αυτών για την περιοχή του Θρακικού Πελάγους. Το κορεσμένο λιπαρό οξύ C16:0, το οποίο βρίσκεται σε αφθονία στην σάρκα και των δύο ειδών, υποδηλώνει την ανάγκη των οργανισμών για πρόσβαση σε μόρια τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν άμεσα ως πηγές ενέργειας (Μεντέ, 2011). Για το είδος *P. kerathurus* το ποσοστό αυτό αναμένεται να αυξηθεί, καθώς παρουσιάζει το μέγιστο ποσοστό του κατά τους χειμερινούς μήνες (Ayas et al., 2013). Ωστόσο, τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας σε συνδυασμό με τα αποτελέσματα των Κωνσταντινόπουλος και συν. (2019), για το είδος *P. kerathurus* στο Θρακικό πέλαγος, δεν συμφωνούν με τα ευρήματα των Ayas et al. (2013) σχετικά με την ετήσια μεταβολή της σύστασης των λιπαρών οξέων κατά την περίοδο καλοκαίρι-φθινόπωρο στο Αιγαίο πέλαγος. Πιο συγκεκριμένα, το C14, το C15, το C16:1 ω-7 και το C18:1 ω-9 δεν παρουσιάζουν μεγάλη διαφοροποίηση μεταξύ των δύο περιόδων (1,38 και 1,33%, 1,48 και 1,72%, 8,00 και 8,29% και 10,83 και 11,85% αντίστοιχα), σε αντίθεση με την εργασία των Ayas et al. (1,25 και 4,27%, 0,75 και 0,32%, 11,25 και 5,52% και 12,92 και 6,75%). Παρόμοια μεταβολή της σύνθεσης των λιπαρών οξέων ως προς τα αναγνωρισθέντα λιπαρά οξέα είχαν τα C17:0, C18:0, και C20:4 ω-6, τα οποία αυξήθηκαν από το καλοκαίρι προς το φθινόπωρο, καθώς και τα C18:2 ω-6, C20:5 ω-3 και C22:6 ω-3, τα οποία μειώθηκαν το αντίστοιχο διάστημα. Τέλος, τα C17:1 και C18:1 ω-7 εμφάνισαν διαφοροποίηση (3,12 και 1,82% και 4,70 και 3,48%) σε αντίθεση με τα προηγούμενες δημοσιευμένα αποτελέσματα (1,08 και 1,27% και 3,83 και 4,32% αντίστοιχα).

Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, ιδιαίτερα τα ω-3 λιπαρά οξέα είναι η κυρίαρχη κατηγορία στη σύσταση της σάρκας και των δύο ειδών. Η συγκεκριμένη κατηγορία αναμένεται να

μειωθεί κατά τους χειμερινούς και ανοιξιάτικους μήνες (Ayas et al., 2013). Αυτό, φανερώνει πως η διαθεσιμότητα τροφής –δηλαδή οργανισμών- από την οποία προσλαμβάνονται τα οργανικά αυτά μόρια μειώνεται εξίσου, καθώς οι γαρίδες δεν μπορούν να συνθέσουν μόνες τους όλα τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα. Λόγω της υψηλής περιεκτικότητας των εν λόγω λιπαρών οξέων τα δύο είδη μπορούν να καταναλώνονται για την εξισορρόπηση της αναλογίας ω-6/ω-3 λιπαρών οξέων στην ανθρώπινη διατροφή (Simopoulos, 2002).

Στην παρούσα εργασία, όπως αναφέρθηκε, επιχειρήθηκε ο προσδιορισμός της σύστασης των λιπαρών οξέων με δύο πειραματικές διαδικασίες. Η πρώτη, με χρήση του μηχανήματος GC-FID, παρείχε πιο αξιόπιστα αποτελέσματα για την ποσοστιαία σύνθεση των λιπαρών οξέων, ενώ η δεύτερη, με χρήση του GC-MS, παρείχε συγκεκριμένες πληροφορίες για την μοριακή δομή των λιπαρών οξέων, τα οποία ήταν δυσκολότερο να προσδιοριστούν από την πρώτη ανάλυση. Για τον ακριβή προσδιορισμό περιεκτικότητας λιπαρών οξέων ανά μονάδα μάζας ιστού (π.χ. mg/g), χρειάζονται πρότυπα διαλύματα γνωστής συγκέντρωσης λιπαρών οξέων και η μετέπειτα σύγκριση των επιφανειών τους στα χρωματογραφήματα με την επιφάνεια των υπό μελέτη λιπαρών οξέων. Με αυτό τον τρόπο θα μπορούσε να ποσοτικοποιηθεί η ποσότητα σάρκας που πρέπει να καταναλωθεί για την κάλυψη των ημερήσιων αναγκών σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα.

Και στα δύο είδη τα αρσενικά παρουσίασαν μεγαλύτερα ποσοστά πολυακόρεστων λιπαρών οξέων από τα θηλυκά, τα οποία παρουσίασαν μεγαλύτερα ποσοστά κορεσμένων λιπαρών οξέων και συγκεκριμένα του C16:0, γεγονός που πιθανώς συνδέεται με τον αναπαραγωγικό κύκλο των οργανισμών. Οι γαρίδες δεν είναι ικανές για τη σύνθεση μερικών πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (ΠΛΟ). Επομένως, τα μικρότερα ποσοστά αυτών των μορίων στα θηλυκά άτομα μπορεί να οφείλεται στην κινητοποίηση των αποθεμάτων ΠΛΟ από τη σάρκα στην αναπαραγωγή, δηλαδή την παραγωγή αβγών (Bolognini et al., 2017). Ακόμα, τα θηλυκά είχαν μεγαλύτερα ποσοστά λίπους από τα αρσενικά.

Η αέρια χρωματογραφία με φασματοσκοπία μάζας αποδείχθηκε πολύ πιο αποτελεσματική για την αναγνώριση κορυφών, για τις οποίες δεν υπήρχε αντιστοίχιση με το πρότυπο διάλυμα που χρησιμοποιήθηκε στον ανιχνευτή ιοντισμού φλόγας. Συγκεκριμένα, μέσω της πρώτης αναγνωρίστηκαν 36 ενώσεις έναντι των 19 που αναγνωρίστηκαν μέσω του FID. Ωστόσο, καθώς ο FID έχει υψηλότερη ευαισθησία και παρέχει πιο ακριβή αποτελέσματα, ο συνδυασμός των δύο μπορεί να επιδράσει θετικά στο σύνολο των αναλύσεων. Ακόμα λόγω της μικρότερης διάρκειας του προγράμματος του GC/MS υπάρχει πιθανότητα να αλληλεπικαλύφθηκαν κορυφές, όπως στην περίπτωση του C18:1-ω7. Ένα παράδειγμα συνδυασμού των δύο τεχνικών θα μπορούσε να αποτελεί μία πρώτη ανάλυση ενός άγνωστου δείγματος με GC/MS. Στη συνέχεια θα μπορούσαν να επιλεγθούν με μεγαλύτερη ακρίβεια τα πρότυπα διαλύματα για το GC/FID.

Περαιτέρω μελέτες, όπως ποιοτική ανάλυση πρωτεϊνών (προφίλ αμινοξέων) θα μπορούσαν να μας δείξουν αν η *P. kerathurus* περιέχει αλλεργιογόνες χημικές ενώσεις στη σάρκα της, όπως έχει αναφερθεί για το είδος *P. aztecus* (Faisal et al., 2019).

Σύσταση στομαχικού περιεχομένου

Τα αποτελέσματα συσχέτισμού λιπαρών οξέων σάρκας και στομαχικού περιεχομένου δεν έδειξαν κάποιο ξεκάθαρο αποτέλεσμα για το *P. kerathurus*. Παρόλα αυτά, τα αρσενικά φαίνεται πως επιλέγουν διαφορετικές πηγές τροφής από τα θηλυκά (**Εικόνα 3.14**). Μία πιθανή εξήγηση θα μπορούσε να αφορά την αναπαραγωγική περίοδο, όπου τα θηλυκά έχουν διαφορετικές διατροφικές απαιτήσεις συγκριτικά με τα αρσενικά. Παρόμοια διαφοροποίηση μεταξύ αρσενικών και θηλυκών παρατηρήθηκε και για το είδος *P. aztecus* (**Εικόνα 3.16**). Για το *P. aztecus* τα αρσενικά έδειξαν θετική συσχέτιση με το C18:2n6, το οποίο σχετίζεται

αρνητικά με το C16:0. Τα θηλυκά εμφανίζουν αντίθετη συσχέτιση. Αυτό μπορεί να οφείλεται στην αυξημένη ανάγκη για πρόσληψη τροφής πλούσια σε λιπαρά οξέα που μπορούν να χρησιμοποιηθούν άμεσα ως πηγή ενέργειας από τα θηλυκά, καθώς οι ενεργειακές τους απαιτήσεις είναι αυξημένες κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής περιόδου (Bolognini et al., 2017).

Στη συγκριτική ανάλυση ταξιθέτησης, όπου περιλήφθηκαν και τα δύο είδη, φάνηκε να υπάρχει διαφοροποίηση ως προς την προτίμηση και τη σύσταση των λιπαρών οξέων του στομαχικού περιεχομένου. Το *P. aztecus* φαίνεται να παρουσιάζει μεγαλύτερη προτίμηση από το *P. kerathurus* σε τροφές που έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε ω-3 λιπαρά οξέα, ενώ το *P. kerathurus* παρουσιάζει προτίμηση σε τροφές που περιέχουν μεγάλα ποσοστά ω-6 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (C22:4 ω-6 και C20:2 ω-6). Αυτό το αποτέλεσμα μπορεί να εξηγηθεί από δύο πιθανά σενάρια: Α) Οι οργανισμοί έχουν διαφορετικές επιλογές θρέψης στο θαλάσσιο περιβάλλον ή Β) Το *P. aztecus* είναι πιο αποτελεσματικός θηρευτής οργανισμών που περιέχουν απαραίτητα συστατικά για την ανάπτυξη και αύξησή του από το *P. kerathurus*. Μελλοντικές μελέτες στομαχικού περιεχομένου, οι οποίες θα αφορούν τα δύο είδη από την ίδια περιοχή μελέτης, θα μπορέσουν να απαντήσουν με σαφή τρόπο στη δυαδική σχέση σχετικά με την διατροφή, άρα και στην ύπαρξη ή μη τροφικού ανταγωνισμού

Οι γαρίδες ως διατροφή

Σύμφωνα με τους διατροφικούς δείκτες που υπολογίστηκαν στη σάρκα των δύο ειδών και τις τιμές AI και TI, το *P. aztecus* είναι πιο αποτελεσματικό στη πρόληψη και αντιμετώπιση καρδιαγγειακών παθήσεων. Παρόλα αυτά αποτελέσματα από την άνοιξη του 2019, είχαν δείξει πως γαρίδες του είδους *P. kerathurus* έχουν πολύ μικρότερες τιμές AI και TI από τα άτομα που συλλέχθηκαν τους φθινοπωρινούς μήνες (Κωνσταντινόπουλος και συν., 2019). Ακόμα, η απουσία εργασιών με αναφορές αλλεργιογόνων μορίων στη σύσταση της σάρκας του *P. kerathurus* δεν αποτελεί στοιχείο για την μη ύπαρξη τέτοιων ενώσεων, καθώς υπάρχουν μεμονωμένες αναφορές για αλλεργικές αντιδράσεις από άτομα που έχουν καταναλώσει το συγκεκριμένο είδος.

Η υψηλή αναλογία ω-3:ω-6 λιπαρών οξέων μπορεί να έχει ευεργετικές επιπτώσεις για την ανθρώπινη υγεία. Η ιδανική αναλογία ορίζεται από 1:1 έως 1:4. Εξαιτίας του σύγχρονου τρόπου ζωής, η αναλογία αυτή (για τον δυτικό πολιτισμό) κυμαίνεται μεταξύ 1:5 και 1:50. Τα δύο είδη που μελετήθηκαν περιέχουν αναλογία ω3:ω-6 λιπαρών οξέων 3,84:1 και 3,94:1 για το *P. kerathurus* και το *P. aztecus* αντίστοιχα. Επομένως, είναι ιδανικά τρόφιμα για την εξισορρόπηση της αναλογίας αυτής στον ανθρώπινο οργανισμό, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε μείωση της πιθανότητας εκδήλωσης παθήσεων, όπως της στεφανιαίας νόσου, του διαβήτη, της παχυσαρκίας, των αυτοάνοσων νοσημάτων, της αρθρίτιδας και της κατάθλιψης (Simoropoulos & Cleland, 2003).

Από τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, σε συνδυασμό με τα αποτελέσματα των Κωνσταντινόπουλος και συν. (2019), παρατηρείται πως η καταλληλότερη περίοδος για την κατανάλωση γαρίδων είναι το τέλος της άνοιξης με αρχή καλοκαιριού. Καθώς, κατά την αναπαραγωγική περίοδο η ποιότητα της σάρκας υποβαθμίζεται συγκριτικά με τον υπόλοιπο χρόνο. Συνίσταται ιδιαίτερη προσοχή στους ανθρώπους που δεν έχουν καταναλώσει προηγουμένως γαρίδες καθώς υπάρχει πιθανότητα 0,8-2,0% να εμφανίσουν κάποια αλλεργική αντίδραση με το τρόφιμο.

Τα τελευταία χρόνια παρουσιάζεται αυξημένο ενδιαφέρον για την εξαγωγή ελαίων από αλιευτικά προϊόντα και τη χρήση τους ως συμπληρώματα διατροφής. Εξαιτίας της πολύ μικρής περιεκτικότητας λίπους τη συγκεκριμένη περίοδο στα υπό μελέτη είδη, αυτή η χρήση

δεν προτείνεται από τον συγγραφέα του παρόντος κειμένου. Από την άλλη, έχει παρατηρηθεί μεγάλη διακύμανση της περιεκτικότητας του λίπους μέσα στον χρόνο, έως και 2%. Επομένως, χρειάζεται πιο ενδελεχής μελέτη καθ' όλη τη διάρκεια του έτους για την συγκεκριμένη περιοχή, ώστε να διαπιστωθεί το μέγιστο ποσοστό λίπους που μπορεί να περιέχεται στη σάρκα των οργανισμών (Erdilal, 2012; Ayas et al., 2013).

Τα αμινοξέα που προέρχονται από την περιοχή του κεφαλοθώρακα, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως ενεργά πρόσθετα σε ιατρικά προϊόντα. Η λήψη της βιομάζας μπορεί να γίνει σε ένα πρώτο στάδιο επεξεργασίας των οργανισμών, με την σάρκα να συσκευάζεται και να επεξεργάζεται αναλόγως τις απαιτήσεις της αγοράς και τα τμήματα κεφαλοθώρακα να χρησιμοποιούνται για την παραγωγή των προϊόντων αυτών (Cudennec et al., 2008).

Τα δεδομένα της παρούσας εργασίας, όπως και άλλων ερευνών χημικής σύστασης σάρκας, μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε διάφορους τομείς. Παραδείγματα αφορούν μελέτες διατροφικών συνηθειών, εκπαιδευτικές διαδικασίες, φροντίδα ασθενών, ανάπτυξη προϊόντων, διαμόρφωση δίαιτας και κλινικές ή επιδημιολογικές μελέτες μεγάλου εύρους (Greenfield & Southgate, 2003; Pennington, 2008). Ακόμα, από πληροφορίες ποσοτικής ανάλυσης τροφών, δύναται να σχηματιστεί η βάση για την ανάπτυξη πολιτικών σχετικά με τη διατροφή, σε εθνικό και διεθνές επίπεδο (Greenfield & Southgate, 2003).

Βιβλιογραφία

- Abian, J. (1999). The coupling of gas and liquid chromatography with mass spectrometry. *Journal of mass spectrometry*, 34(3), 157-168.
- Ackman, R. G. (1989). Nutritional composition of fats in seafoods. *Progress in food & nutrition science*, 13(3-4), 161-289.
- Ahlgren, G., Blomqvist, P., Boberg, M., & Gustafsson, I. B. (1994). Fatty acid content of the dorsal muscle—an indicator of fat quality in freshwater fish. *Journal of Fish Biology*, 45(1), 131-157.
- American Jersey Cattle Association (1999). True Protein vs. Total Protein. https://www.usjersey.com/Portals/0/NAJ/2_Docs/TrueProteinExplained_NAJ_1999.pdf
- Amigo, J. M., Cruz, J., Bautista, M., Maspoch, S., Coello, J., & Blanco, M. (2008). Study of pharmaceutical samples by NIR chemical-image and multivariate analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 27(8), 696-713.
- Amin, M., & Flowers, T. H. (2004). Evaluation of Kjeldahl digestion method. *J. Res. Science*, 15, 159-179.
- Anderson, K. A., & Moller, G. (1995). Alternative catalyst to mercury for Kjeldahl determination of nitrogen in water and wastewater samples. *Journal of AOAC International (USA)*.
- Anneken, D. J., Both, S., Christoph, R., Fieg, G., Steinberner, U., & Westfechtel, A. (2006). "Fatty Acids". *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Weinheim: Wiley-VCH.
- Anon. (2000). Analysis of trawls' discard operation in the central and eastern Mediterranean Sea. Commission of the European Communities. Directorate-General for Fisheries XIV. Contract No 97/0044. Final Report.
- AOAC (1935). Official and Tentative Method of Analysis, 4th ed.; AOAC: Arlington, VA, 1935; Secs. 19-25.
- AOAC (1935). Official and Tentative Method of Analysis, 4th ed.; AOAC: Arlington, VA; Secs. 19-25.
- APHA (2017). Standard Methods for the Examination of Water and Waste Waters, 23th ed.; Rice, E. W.; Baird, R. B.; Eaton, A. D.; Clesceri, L. S., Eds.; American Public Health Association: Washington, DC.
- Ayas, D., Ozogul, Y., & Yazgan, H. (2013). The effects of season on fat and fatty acids contents of shrimp and prawn species. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 115(3), 356-362.
- Ayas, D., Köşker, A. R., Durmuş, M., & Bakan, M. (2016). Determination of seasonal changes on some heavy metal (Cd, Pb, Cr) levels of shrimp and prawn species from North-Eastern Mediterranean Sea, Gulf of Mersin, Turkey. *J Aquacult Eng Fish Res*, 2, 42-49.
- Azouz, A. (1972). Les crustacés comestibles (crevettes et langoustines) des mers tunisiennes. *Bull. Int. natn. scient. tech. Océanogr. Pêche. Salammbô*, 2 (3) : 275 - 301.
- Berg, J. M., Tymoczko, J. L., & Stryer, L. (2006). *Biochemistry*. 5th. New York: WH Freeman, 38(894), 76.
- Bezard, J., & Buguat, M. (2018). Absorption of glycerides containing short, medium and long chain fatty acids. *Fat absorption*, 1.
- Blau, K. & Halket, J. (1993). *Handbook of Derivatives for Chromatography (2nd ed.)* John Wiley & Sons, New York.
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian journal of biochemistry and physiology*, 37(8), 911-917.

- Bolognini, L., Donato, F., Lucchetti, A., Olivotto, I., Truzzi, C., Randazzo, B., ... & Grati, F. (2017). A multidisciplinary approach to study the reproductive biology of wild prawns. *Scientific reports*, 7(1), 1-12.
- Bottino, N. R., Gennity, J., Lilly, M. L., Simmons, E., & Finne, G. (1980). Seasonal and nutritional effects on the fatty acids of three species of shrimp, *Penaeus setiferus*, *P. aztecus* and *P. duorarum*. *Aquaculture*, 19(2), 139–148. doi:10.1016/0044-8486(80)90015-0
- Bradstreet, R. B. (1965). *The Kjeldahl Method for Organic Nitrogen*; Academic Press: London.
- Breil, C., Meullemiestre, A., Vian, M., & Chemat, F. (2016). Bio-based solvents for green extraction of lipids from oleaginous yeast biomass for sustainable aviation biofuel. *Molecules*, 21(2), 196.
- Burr, G. O., & Burr, M. M. (1929). A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fat from the diet. *Journal of Biological Chemistry*, 82(2), 345-367.
- Burr, M. L., Gilbert, J. F., Holliday, R. A., Elwood, P. C., Fehily, A. M., Rogers, S., ... & Deadman, N. M. (1989). Effects of changes in fat, fish, and fibre intakes on death and myocardial reinfarction: diet and reinfarction trial (DART). *The Lancet*, 334(8666), 757-761.
- Chemat, Z., Hadj-Boussaad, D. E., & Chemat, F. (1998). Application of atmospheric pressure microwave digestion to total Kjeldahl nitrogen determination in pharmaceutical, agricultural and food products. *Analisis*, 26(5), 205-209.
- Christie, W. W. (1993). Preparation of ester derivatives of fatty acids for chromatographic analysis. *Advances in lipid methodology*, 2(69), e111.
- Clarkson, T. W. (1998). Human toxicology of mercury. *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine: The Official Publication of the International Society for Trace Element Research in Humans*, 11(2-3), 303-317.
- Colussi, G., Catena, C., Novello, M., Bertin, N., & Sechi, L. A. (2017). Impact of omega-3 polyunsaturated fatty acids on vascular function and blood pressure: Relevance for cardiovascular outcomes. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 27(3), 191-200.
- Cook, H. W., & McMaster, C. R. (2002). Fatty acid desaturation and chain elongation in eukaryotes. In *New comprehensive biochemistry* (Vol. 36). Elsevier.
- Coppock, J. B. M., Daniels, N. W. R., & Eggitt, P. R. (1965). Lipid oxidation in flour doughs—observations involving the boron trifluoride interesterification reaction. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 42(7), 652-656.
- Cot, M. (2006). *Etudes physiologiques de l'adaptation et de la résistance de la levure Saccharomyces cerevisiae au cours de la production intensive d'éthanol* (Doctoral dissertation, Toulouse, INSA).
- Cudennec, B., Ravallec-Plé, R., Courois, E., & Fouchereau-Peron, M. (2008). Peptides from fish and crustacean by-products hydrolysates stimulate cholecystokinin release in STC-1 cells. *Food Chemistry*, 111(4), 970-975.
- D'Abramo, L. R., Conklin, D. E., & Akiyama, D. M. (1997). Crustacean Nutrition. *Advances in World Aquaculture*, vol. 6. World Aquaculture Society.
- Damude, H. G., Zhang, H., Farrall, L., Ripp, K. G., Tomb, J. F., Hollerbach, D., & Yadav, N. S. (2006). Identification of bifunctional $\Delta 12/\omega 3$ fatty acid desaturases for improving the ratio of $\omega 3$ to $\omega 6$ fatty acids in microbes and plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(25), 9446-9451.
- Doolan, K. J., & Belcher, C. B. (1978). Nitrogen determination in coal and coke with an ammonia electrode. *Talanta*, 25(7), 398-400.

- Dyerberg, J. H. E. S. J., Bang, H. O., Stoffersen, E., Moncada, S., & Vane, J. R. (1978). Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and atherosclerosis?. *The Lancet*, 312(8081), 117-119.
- Eaton, S. B., Eaton, S. B., Sinclair, A. J., Cordain, L., & Mann, N. J. (1998). Dietary intake of long-chain polyunsaturated fatty acids during the paleolithic. *World review of nutrition and dietetics*, 83, 12-23.
- Erdilal, R., İköz, R., Ünlüsayın, M., & Gülyavuz, H. (2014). Assessment of caramote prawn (*Penaeus kerathurus*) proximate value and freshness under ice storage. *Acta Alimentaria*, 43(1), 88-95.
- Faisal, M., Vasiljevic, T., & Donkor, O. N. (2019). A review on methodologies for extraction, identification and quantification of allergenic proteins in prawns. *Food Research International*, 121, 307-318.
- FAO. 2020 <http://www.fao.org/figis/geoserver/factsheets/species.html?species=TGS-m&extent=-64.3112014963639,33.095289621677985,78.0716110036361,63.584397878322015¢er=6.880204753636093,15.244554128322013&zoom=1&prj=4326> (τελευταία πρόσβαση: 14/6/2020)
- Feinberg, M. H., Ireland-Ripert, J., & Mourel, R. M. (1993). Optimization procedure of open vessel microwave digestion for Kjeldahl nitrogen determination in foods. *Analytica chimica acta*, 272(1), 83-90.
- Feinberg, M.H. (1993) Microwave-Assisted Digestion Technique for Kjeldahl Nitrogen in Foods. *Recent Research and Development in Agricultural and Food Chemistry, Research Signpost: Trivandrum, India*, 3 (Part 1), 391-402.
- Fleck, A., & Munro, H. N. (1965). The determination of organic nitrogen in biological materials: a review. *Clinica Chimica Acta*, 11(1), 2-12.
- Forskål, P., & Niebuhr, C. (1775). *Descriptiones animalium, avium, amphibiorum, piscium, insectorum, vermium / quae in itinere orientali observavit Petrus Forskål. Post mortem auctoris edidit Carsten Niebuhr. Adjuncta est materia medica kahirina atque tabula maris Rubri geographica. Hauniæ [Copenhagen]:ex officina Mölleri.*[alternative spelling Forsskål is also correct]., available online at <https://www.biodiversitylibrary.org/page/2088059>
- Franks, F. (2007). *Water : a matrix of life* (2nd ed.). Royal Society of Chemistry.
- George, J.P. (1977). Prospection des lieux de pêche de la crevette *Penaeus kerathurus* et introduction d'une nouvelle technique de pêche pour ce crustacé en Tunisie (1973-1975). *Bull. Inst. natn. scient. tech. Océanogr. Pêches Salammbô*, 4 (2-4): 263 - 306.
- Gharbi, A., & Ben Meriem, S. (1996). Résultats de chalutages expérimentaux (mai-juin 1996) dans le golfe de Gabès. *Bulletin de l'Institut National des Sciences et Technologies de la Mer*, 23: 80-96.
- Gleason, D. F., & Wellington, G. M. (1988). Food resources of postlarval brown shrimp (*Penaeus aztecus*) in a Texas salt marsh. *Marine Biology*, 97(3), 329-337.
- Gokoglu, M., Deval, M. C., & Guven, O. (2010). An unexpected find of the western Atlantic shrimp, *Farfantepenaeus aztecus* (Ives, 1891)(Decapoda, Penaeidae) in Antalya Bay... *Crustaceana*, 83(12), 1531-1537.
- Gordon, A. H., Martin, A. J. P., & Synge, R. L. M. (1944). Technical notes on the partition chromatography of acetamino-acids with silica gel. *Biochemical Journal*, 38(1), 65.
- Greenfield, H., & Southgate, D. A. (2003). *Food composition data: production, management, and use*. Food & Agriculture Org., 2003.
- Greenfield, H., & Southgate, D. A. T. (2003). Review of Methods of Analysis. In *Food Composition Data. Production, Management and Use*, 2nd ed.; FAO: Rome, 2003; Ch. 7, pp 97–148.
- Grinberg, N., & Rodriguez, S. (Eds.). (2019). *Ewing's Analytical Instrumentation Handbook*. CRC Press.

Guary, J. C., Kayama, M., Murakami, Y., & Ceccaldi, H. J. (1976). The effects of a fat-free diet and compounded diets supplemented with various oils on moult, growth and fatty acid composition of prawn, *Penaeus japonicus* Bate. *Aquaculture*, 7(3), 245-254.

Guillaume, J., Kaushik, S., Bergot, P., & Metailler, R. (2001). *Nutrition and feeding of fish and crustaceans*. Springer Science & Business Media.

Gulzar, S., Raju, N., Nagarajarao, R. C., & Benjakul, S. (2020). Oil and pigments from shrimp processing by-products: Extraction, composition, bioactivities and its application-A review. *Trends in Food Science & Technology*.

Gunning, J. W. (1889). Ueber eine modification der Kjeldahl-Methode. *Zeitschrift für analytische Chemie*, 28(1), 188-191.

Gurr, M. I., & Harwood, J. L. (1991). *Lipid biochemistry, an introduction*. (4th edition, pp 1-9). Chapman and Hall, London

Guzon, G., & Guillaume, J. (1999). Nutrition and feeding of shrimp in intensive and extensive culture. *Nutrition and Feeding of Fish and Crustaceans*. Praxis Publishing, Chichester, UK, 265-277.

Harris, W. S. (2004). Omega-3 fatty acids, thrombosis and vascular disease. In *International Congress Series* (Vol. 1262, pp. 380-383). Elsevier.

Hayes, L., Lowry, R. R., & Tinsley, I. J. (1971). Cholesterol interference in analysis of fatty acid methyl esters. *Lipids*, 6(1), 65-66.

Heldt, H., & Heldt, J.H. (1954). Les crustacés comestibles des mers tunisiennes et leur pêche. *Annales Sta. Océanogr. Salammbô*, 9: 3 – 16.

Heldt, J.H. (1932). Sur quelques différences sexuelles (Coloration, Taille, Rostre) chez deux crevettes tunisiennes : *Panaeus caramote* Risso et *Parapenaeus longirostris* Lucas. *Bull. Sta. Océanogr. Salammbô*, (27): 1 - 25.

Heldt, J.H. (1954). Contribution à l'étude de la biologie des Pénéides. *Bull. Sta. Océanogr. Salammbô*, 47: 5 - 27.

Henderson, R. J. (1996). Fatty acid metabolism in freshwater fish with particular reference to polyunsaturated fatty acids. *Archives of Animal Nutrition*, 49(1), 5-22.

Henderson, R. J., & Tocher, D. R. (1987). The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. *Progress in lipid research*, 26(4), 281-347.

Hites, R. A. (1997). Gas chromatography mass spectrometry. *Handbook of instrumental techniques for analytical chemistry*, 609-626.

IBM Corp. Released 2017. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp.

ISO. ISO 5983-1:2005 (2009). *Animal Feeding Stuffs - Determination of Nitrogen Content and Calculation of Crude Protein Content - Part 1: Kjeldahl Method*; International Organization for Standardization: Genève.

ISO. ISO 5983-2:2009 (2009). *Animal Feeding Stuffs - Determination of Nitrogen Content and Calculation of Crude Protein Content – Part 2: Block Digestion/Steam Distillation Method*; International Organization for Standardization: Genève.

Ives, J.E. (1891). Crustacea from the northern coast of Yucatan, the harbor of Vera Cruz, the west coast of Florida and the Bermuda Islands. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*. 43: 176-207, pls. V-VI

- James, A. T., & Martin, A. J. (1952). Gas-liquid partition chromatography: the separation and micro-estimation of volatile fatty acids from formic acid to dodecanoic acid. *Biochemical Journal*, 50(5), 679.
- Jinno, K., (2002). *Encyclopedia of Chromatography*; New York, Marcel Dekker.
- Jolliffe, I. T. (2002). Principal components as a small number of interpretable variables: some examples. *Principal Component Analysis*, 63-77.
- Kampouris, T. E., Tiralongo, F., Golemaj, A., Giovos, I., Doumpas, N., & Batjakas, I. E. (2018). *Penaeus aztecus* Ives, 1891 (Decapoda, Dendrobranchiata, Penaeidae): On the range expansion in Sicilian waters and on the first record from Albanian coast. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 6(4), 468-471.
- Kanazawa, A., Shimaya, M., Kawasaki, M., & Kashiwada, K. I. (1970). Nutritional requirements of prawn. 1. Feeding on artificial diet. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 36(9), 949-954.
- Karani, I., Kitsos, M. S., Chartosia, N., & Koukouras, A. (2005). Diet Composition of the Penaeid Shrimp, *Melicertus kerathurus* (Forskål, 1775) (Decapoda, Penaeidae) in the Aegean Sea. *Crustaceana*, 78 (4): 385-396.
- Kell, G., & Steinhart, H. (1990). Oxidation of tryptophan by H₂O₂ in model systems. *Journal of food science*, 55(4), 1120-1123.
- Kjeldahl, J. (1883). Sur une Nouvelle Methode de Dosage de l'Azote dans les Substances Organiques (French summary: Resume du CR Trav. Lab. Carlsberg; separately paged section), 1-12
- Kjeldahl, J. (1888). Et Destillationsapparat til Brug ved Kvaelstofbestemmelse. *Medd. Carlsberg Lab.* 2 (5), 197-198; Un Appareil Distillatoire a l'Usage de la Determination de l'Azote (French summary: Resume du CR Trav. Lab. Carlsberg; separately paged section), 2 (5)
- Krotz, L., Cicerci, E., & Giuzzi, G. (2008). Protein Determination in Cereals and Seeds. *Food Quality 2008*, 15 (4), 37-39.
- Krzynowek, J., & Panunzio, L. J., (1989). Cholesterol and fatty acids in several species of shrimp. *J. Food Sci.* 54: 237-239.
- Kunz, W., Holmberg, K., & Zemb, T. (2016). Hydrotropes. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 22, 99-107.
- Lee, P. G., & Lawrence, A. L. (1985). Effects of diet and size on growth, feed digestibility and digestive enzyme activities of the marine shrimp, *Penaeus setiferus* Linnaeus. *Journal of the World Mariculture Society*, 16(1-4), 275-287.
- Lipke, P. N., & Ovale, R. (1998). Cell wall architecture in yeast: new structure and new challenges. *Journal of bacteriology*, 180(15), 3735-3740.
- Lloyd, D. J. (1933). The movements of water in living organisms. *Biological Reviews*, 8, 463-481.
- Lotero, E., Liu, Y., Lopez, D. E., Suwannakarn, K., Bruce, D. A., & Goodwin, J. G. (2005). Synthesis of biodiesel via acid catalysis. *Industrial & engineering chemistry research*, 44(14), 5353-5363.
- Lough, A. K. (1964a). The production of methoxy-substituted fatty acids as artifacts during the esterification of unsaturated fatty acids with methanol containing boron trifluoride. *Biochemical Journal*, 90(2), 4C-5C.
- Lough, A. K. (1964b). Use of methanol containing boron trifluoride for the esterification of unsaturated fatty acids. *Nature*, 202(4934), 795-795.
- Lovell, R. T. (2003). Diet and fish husbandry. In *Fish nutrition* (pp. 703-754). Academic Press.

- Malli, F., Koutsioukis, T., Pounis, G., & Gourgoulianis, K. I. (2019). Diet and Lung Health. In *Analysis in Nutrition Research* (pp. 355-382). Academic Press.
- Mariotti, F., Tomé, D., & Mirand, P. P. (2008). Converting nitrogen into protein—beyond 6.25 and Jones' factors. *Critical reviews in food science and nutrition*, 48(2), 177-184.
- Martin, B. J., & Ceccaldi, H. J. (1977). Influence de la température sur la composition en acides gras du muscle abdominal de *Palaemon serratus*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 5(2), 151-154.
- McKenzie, H. A. (1994). The Kjeldahl determination of nitrogen: retrospect and prospect.
- McTigue, T. A., & Zimmerman, R. J. (1991). Carnivory vs. herbivory in juvenile *Penaeus setiferus* (Linnaeus) and *Penaeus aztecus* (Ives). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 151(1), 1-16.
- Menard, S., Todd, A., Durham, H. A., Lammi-Keefe, C. J., & Lampila, L. E. (2015). Benchmarking select nutrients in domestic, wild caught and imported, farmed shrimp. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 24(2), 112-119.
- Metcalfe, L. D., & Schmitz, A. A. (1961). The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatographic analysis. *Analytical Chemistry*, 33(3), 363-364.
- Microsoft Corporation. (2016). Microsoft Excel.
- Minos, G., Kokokiris, L., Imsiridou, A., Karachle, P., & Kapiris, K. (2015). Notes on the distribution and biology of northern brown shrimp *Farfantepenaeus aztecus* (Ives, 1891) in the Eastern Mediterranean. *Turkish Journal of Zoology*, 39(3), 467-473.
- Moffat, C. F., McGill, A. S., & Anderson, R. S. (1991). The production of artifacts during preparation of fatty acid methyl esters from fish oils, food products and pathological samples. *Journal of High Resolution Chromatography*, 14(5), 322-326.
- Möller, J. (2009). Kjeldahl-still going strong. *focus*, 33(1), 14-16.
- Morrison, W. R., & Smith, L. M. (1964). Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride–methanol. *Journal of lipid research*, 5(4), 600-608.
- Moller, J. (2010). Protein analysis revisited. *Focus*, 34(2), 22-23.
- Nury, T., Doria, M., Lizard, G., & Vejux, A. (2020). Docosahexaenoic Acid Attenuates Mitochondrial Alterations and Oxidative Stress Leading to Cell Death Induced by Very Long-Chain Fatty Acids in a Mouse Oligodendrocyte Model. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(2), 641.
- Oishi, S., & Komatsuzaki, H. (1991). A Pd (II)–Cu (II) Catalyst for the Kjeldahl Analysis of Nitrogen in Pyridines. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 64(9), 2838-2840.
- Owusu-Apenten, R. K. (2002). Kjeldahl Method, Quantitative Aminoacid Analysis and Combustion Analysis. In *Food Protein Analysis. Quantitative Effects on Processing*; Marcel Dekker: New York-Basel, Chap.1, pp 1–45.
- Palmer, S. J., & Presley, B. J. (1993). Mercury bioaccumulation by shrimp (*Penaeus aztecus*) transplanted to Lavaca Bay, Texas. *Marine pollution bulletin*, 26(10), 564-566.
- Parletta, N., Zarnowiecki, D., Cho, J., Wilson, A., Procter, N., Gordon, A., ... & Champion, A. (2016). People with schizophrenia and depression have a low omega-3 index. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 110, 42-47.
- Parnas, J. K., & Wagner, R. (1926). Über die Ausführung von Bestimmungen kleiner Stickstoffmengen nach Kjeldahl. *Zeitschrift für analytische Chemie*, 69(1-2), 72-72.

- Patel, N. K., & Shah, S. N. (2015). Biodiesel from plant oils. In *Food, energy, and water* (pp. 277-307). Elsevier
- Patricia, J. J., & Dhmoon, A. S. (2019). *Physiology, Digestion*. StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL)
- Pennington, J. A. (2008). Applications of food composition data: data sources and considerations for use. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21, S3-S12.
- Pomeranz, Y., & Meloan, C. E. (2002). *Food Analysis: Theory and Practice*, 3rd ed.; Aspen Publishers: Gaithersburg, MA, pp 733–748
- Ren, X., Zhao, X., Turcotte, F., Deschênes, J. S., Tremblay, R., & Jolicoeur, M. (2017). Current lipid extraction methods are significantly enhanced adding a water treatment step in *Chlorella protothecoides*. *Microbial cell factories*, 16(1), 26.
- Renfro, W. C., & Brusher, H. A. (1964). Population distribution and spawning. *Circ. Fish Wildl. Serv. Wash.,(183)*, 13-15.
- Rowland, S. J. (1938). 176. The determination of the nitrogen distribution in milk. *Journal of Dairy Research*, 9(1), 42-46.
- Sáez-Plaza, P., Michałowski, T., Navas, M. J., Asuero, A. G., & Wybraniec, S. (2013). An overview of the Kjeldahl method of nitrogen determination. Part I. Early history, chemistry of the procedure, and titrimetric finish. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 43(4), 178-223.
- Sargent, J. R., Tocher, D. R., & Bell, J. G. (2003). The lipids. In *Fish nutrition* (pp. 181-257). Academic Press.
- Scannella, D., Falsone, F., Geraci, M. L., Frogli, C., Fiorentino, F., Giusto, G. B., ... & Colloca, F. (2017). First report of Northern brown shrimp *Penaeus aztecus* Ives, 1891 in Strait of Sicily. *BioInvasions Record*, 6(1).
- Schoniger, W. (1960). New Ideas in Organic Microanalysis. Part I. C-H, O, N, Halogens, S, and Other Elements. In *Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation*; Interscience Publishers: New York, Vol. I, pp 199-240.
- Schöniger, W. (1960). New ideas in organic microanalysis. Part I. CH, O, N, halogens, S, and other elements. In *Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation* (Vol. 1, pp. 199-241). Interscience New York-London.
- Schuchardt, U., Sercheli, R., & Vargas, R. M. (1998). Transesterification of vegetable oils: a review. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 9(3), 199-210.
- Schwab, G. M., & Caramanos, S. (1955). Zur Kenntnis der Kjeldahl-Reaktion III. *Monatshefte für Chemie und verwandte Teile anderer Wissenschaften*, 86(3), 341-347.
- Schwab, G. M., & Neuwirth, O. (1957). Zur Kenntnis der Kjeldahl-Reaktion IV. *Monatshefte für Chemie und verwandte Teile anderer Wissenschaften*, 88(3), 288-291.
- Schwab, G. M. & Schwab-Agallidis, E. (1951). Kinetics of the Kjeldahl Reaction. *J. Am. Chem. Soc.*, 73 (2), 803–809.
- Schwab, G. M. & Schwab-Agallidis, E. (1963). Die Kjeldahlsierung des Harnstoffs Kinetik der Kjeldahl-Reaktion 2. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 65 (16), 418421
- Shearer, K. D. (1994). Factors affecting the proximate composition of cultured fishes with emphasis on salmonids. *Aquaculture*, 119(1), 63-88.

- Sheers, E., & Cole, M. (1953). Modification of Parnas-Wagner-Pregl Micro-Kjeldahl Apparatus. *Analytical Chemistry*, 25(11), 1775-1775.
- Sherwood, Lauralee. *Human Physiology : from Cells to Systems*. Belmont, CA :Brooks/Cole, Cengage Learning, 2013.
- Shewbart, K. L., Mies, W. L. & Ludwig, P. D. (1973). Nutritional requirements of brown shrimp, *Penaeus aztecus*. Department of Marine Resources Information, Texas A&M University
- Shiau, S. Y. (1998). Nutrient requirements of penaeid shrimps. *Aquaculture*, 164(1-4), 77-93.
- Shiau, S. Y., Kwok, C. C., & Chou, B. S. (1991). Optimal dietary protein level of *Penaeus monodon* reared in seawater and brackishwater. *日本水産学会誌*, 57(4), 711-716.
- Sidwell, V., (1981). *Chemical and Nutritional Composition of Finfishes, Whales, Crustaceans, Mollusks, and Their Products* (NOAA Technical Memorandum NMFS F/SEC-11). Washington, DC: National Marine Fisheries Service, National Oceanic Atmospheric Administration
- Simopoulos, A. P. (1979). The scientific basis of the "Goals": what can be done now?. *Journal of the American Dietetic Association*, 74(5), 539-542.
- Simopoulos, A. P. (1994). Is insulin resistance influenced by dietary linoleic acid and trans fatty acids?. *Free Radical Biology and Medicine*, 17(4), 367-372.
- Simopoulos, A. P. (1998). Overview of evolutionary aspects of w3 fatty acids in the diet. *World review of nutrition and dietetics*, 83, 1-11.
- Simopoulos, A. P. (1999). Genetic variation and evolutionary aspects of diet. *Antioxidant status, diet, nutrition and health*, 65-88.
- Simopoulos, A. P. (2001). N- 3 fatty acids and human health: Defining strategies for public policy. *Lipids*, 36(1), S83-S89.
- Simopoulos, A. P. (2002). The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 56(8), 365-379.
- Simopoulos, A. P., & Cleland, L. G. (Eds.). (2003). *Omega-6/omega-3 essential fatty acid ratio: the scientific evidence* (Vol. 92). Karger Medical and Scientific Publishers.
- Singh, M. (2005). Essential fatty acids, DHA and human brain. *The Indian Journal of Pediatrics*, 72(3), 239-242.
- Sirot, V., Oseredczuk, M., Bemrah-Aouachria, N., Volatier, J. L., & Leblanc, J. C. (2008). Lipid and fatty acid composition of fish and seafood consumed in France: CALIPSO study. *Journal of food composition and analysis*, 21(1), 8-16.
- Smedes, F., & Thomasen, T. K. (1996). Evaluation of the Bligh & Dyer lipid determination method. *Marine Pollution Bulletin*, 32(8-9), 681-688.
- Smith, L. I. (2002). A tutorial on principal components analysis.
- So, J., Asztalos, B., Horvath, K., Lichtenstein, A., & Lamon-Fava, S. (2020). EPA and DHA Have Differential Effects on Cholesterol Ester Transfer Protein and Lipoprotein Lipase Activities Following Plasma Triglycerides Lowering. *Current Developments in Nutrition*, 4(Supplement_2), 662-662.
- Soriguer, F., Serna, S., Valverde, E., Hernando, J., Martín-Reyes, A., Soriguer, M., ... & Esteva, I. (1997). Lipid, protein, and calorie content of different Atlantic and Mediterranean fish, shellfish, and molluscs commonly eaten in the south of Spain. *European Journal of Epidemiology*, 13(4), 451-463.

- Sparkman, O. D., Penton, Z., & Kitson, F. G. (2011). *Gas chromatography and mass spectrometry: a practical guide*. Academic Press.
- Suard, C. L., Mourel, R. M., Didenot, D., & Feinberg, M. H. (1997). Mechanisms involved in Kjeldahl microwave digestion of amino acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(4), 1202-1208.
- Sun, G. Y., Simonyi, A., Fritsche, K. L., Chuang, D. Y., Hannink, M., Gu, Z., ... & Beversdorf, D. Q. (2018). Docosahexaenoic acid (DHA): An essential nutrient and a nutraceutical for brain health and diseases. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 136, 3-13.
- Suyama, K., Hori, K., & Adachi, S. (1979). Interference by phytol derivatives in the gas chromatographic analysis of fatty acids in the lipids of plant shoots. *Journal of Chromatography A*, 174(1), 234-238.
- Thiex, N. J., Manson, H., Anderson, S., & Persson, J. Å. (2002). Determination of crude protein in animal feed, forage, grain, and oilseeds by using block digestion with a copper catalyst and steam distillation into boric acid: collaborative study. *Journal of AOAC International*, 85(2), 309-317.
- Tsape, K., Sinanoglou, V. J., & Miniadis-Meimaroglou, S. (2010). Comparative analysis of the fatty acid and sterol profiles of widely consumed Mediterranean crustacean species. *Food Chemistry*, 122(1), 292-299.
- Turkmen, G., & Yilmazyerli, H. (2006). Some biological aspects of *Melicertus kerathurus* (Forskål, 1775) (Decapoda, Penaeidae) Inhabiting Izmir Bay (Aegean Sea) Turkey. *Crustaceana*, 79(5): 583-591.
- Turkmen, G., Ozden, O., Parug, S., & Akalin, S. (2007). Some Reproductive Aspects of *Melicertus kerathurus* (Forskål, 1775) (Decapoda, Penaeidae) Inhabiting the Gulluk Bay (Aegean Sea) of Turkey. *J. App. Biol. Sci.*, 1(1): 69-74, 2007.
- Uematsu, M., & Frank, E. U. (1980). Static dielectric constant of water and steam. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, 9(4), 1291-1306.
- Ulbricht, T. L. V., & Southgate, D. A. T. (1991). Coronary heart disease: seven dietary factors. *The lancet*, 338(8773), 985-992.
- Ulbricht, T. L. V., & Southgate, D. A. T. (1991). Coronary heart disease: seven dietary factors. *The lancet*, 338(8773), 985-992.
- Van Camp, J., & Huyghebaert, A. (1996). Analysis of Protein in Foods. In *Handbook of Food Analysis*, Vol. 1. Physical Characterization and Nutrient Analysis; Nollet, L. M. L., Ed.; Marcel Dekker: New York, 1996, pp 277–309.
- Verhé, R., Echim, C., De Greyt, W., & Stevens, C. (2011). Production of biodiesel via chemical catalytic conversion. In *Handbook of biofuels production* (pp. 97-133). Woodhead Publishing.
- Vuković, R., & Mrša, V. (1995). Structure of the *Saccharomyces cerevisiae* cell wall. *Croatica Chemica Acta*, 68(3), 597-605.
- Wang, Y. (2005). Study on Protein Determination Experiment. *Res. Explor. Lab.* 24 (4), 58-59.
- Warton, D.I., & Hui, F.K.C. (2011). The arcsine is asinine: the analysis of proportions in ecology. *Ecology* 92:3–10.
- Wild, L. G., & Lehrer, S. B. (2005). Fish and shellfish allergy. *Current allergy and asthma reports*, 5(1), 74-79.
- Williams, A. B. (1955). A contribution to the life histories of commercial shrimps (Penaeidae) in North Carolina. *Bulletin of Marine Science*, 5(2), 116-146.
- Williams, A.B. (1984). *Shrimps, lobsters, and crabs of the Atlantic coast of the Eastern United States, Maine to Florida*. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C., 550 pp

Wiseman, J., Salvador, F., & Craigon, J. (1991). Prediction of the apparent metabolizable energy content of fats fed to broiler chickens. *Poultry Science*, 70(7), 1527-1533.

WoRMS (2020). *Penaeus aztecus* Ives, 1891. Accessed at: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=395176> on 2020-06-14

WoRMS (2020). *Penaeus kerathurus* (Forskål, 1775). Accessed at: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=246388> on 2020-06-14

Yurkowski, M. (1989). Lipid content and fatty acid composition of muscle from some freshwater and marine fish from central and arctic Canada. *Health Effects of Fish Oils*, 547-557.

Zein-Eldin, Z. P., & Corliss, J. (1976). The effect of protein levels and sources on growth of *Penaeus aztecus*. In *FAO Technical Conference on Aquaculture* (Vol. 33, pp. 1-8). Farnham.

Zein-Eldin, Z. P., & Renaud, M. L. (1986). Inshore environmental effects on brown shrimp, *Penaeus aztecus*, and white shrimp, *P. setiferus*, populations in coastal waters, particularly of Texas. *Marine Fisheries Review*, 48(3), 9-19.

Zlatanov, S., Laskaridis, K., & Sagredos, A. (2009). Determination of proximate composition, fatty acid content and amino acid profile of five lesser-common sea organisms from the Mediterranean Sea. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(8), 1590–1594.

Zouari, M. (1984). Etude descriptive de la pêche à la crevette au filet tramail fil 40.000 dans la région de Gabès. *Rapp. Doc. Inst. natn. scient. tech. Océanogr. Pêche Salammbô*, 2: 31 - 45.

Ζέρβας, Γ. (2015). Φυσιολογία θρέψης παραγωγικών ζώων. *Εκδόσεις Σταμούλης*, 2, 28-41.

Καράνη, Ε. (2004) Η ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΙΤΑΣ ΤΗΣ ΓΑΡΙΔΑΣ *MELICERTUS KERATHURUS* (FORSKAL, 1775) ΑΝΟΙΧΤΑ ΤΗΣ ΕΚΒΟΛΙΚΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ ΤΟΥ ΠΗΝΕΙΟΥ. Πτυχιακή εργασία, Βόλος, 2004

Κωνσταντινόπουλος, Θ., Αναστασιάδου, Χ., Γκουμπίλη, Χ., Καρκαμπούνας, Σ., & Σταμάτης, Ν. (2019). Ανάλυση λιπαρών οξέων και θερμιδομετρία σε πληθυσμούς γαρίδων *Penaeus kerathurus* (Forskål, 1775) και *Parapenaeus longirostris* (Lucas, 1846) από το Βόρειο Αιγαίο. 17ο συνέδριο ιχθυολόγων.

Μεντέ, Ε., & Νέγκας, Ι. (2011). Στοιχεία φυσιολογίας θρέψεως και εφαρμοσμένη διατροφή ιχθύων και καρκινοειδών. *Εκδόσεις Παπαζήση*, 2, 165-250.

Πηγές από το διαδίκτυο

<http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=395176#distributions> (τελευταία πρόσβαση 14/6/2020)

[https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Supplemental_Modules_\(Analytical_Chemistry\)/Chromedia/01Gas_Chromotography_\(GC\)/Gas_Chromotography%3A_Basic_Theory/01Introduction_to_GC](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Supplemental_Modules_(Analytical_Chemistry)/Chromedia/01Gas_Chromotography_(GC)/Gas_Chromotography%3A_Basic_Theory/01Introduction_to_GC) (τελευταία πρόσβαση 10/2/2020)

https://en.wikipedia.org/wiki/Farfantepenaeus_aztecus (τελευταία πρόσβαση 14/6/2020)

<https://www.chromacademy.com/essential-guide/nov2010/fig-1.jpg> (τελευταία πρόσβαση 10/2/2020)

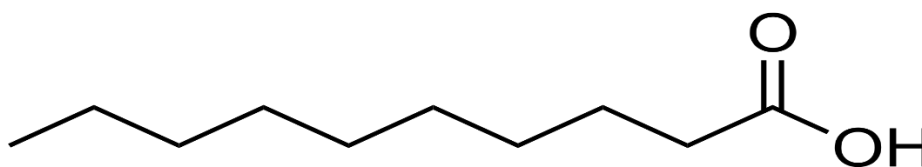
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α
ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ – ΣΥΝΤΑΚΤΙΚΟΙ ΤΥΠΟΙ ΚΑΙ ΠΡΟΦΙΛ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ
ΜΑΖΑΣ

*Στα προφίλ φασματοσκοπίας μάζας παρατηρείται μία επιπλέον μεθυλομάδα, λόγω της επεξεργασίας του δείγματος για να είναι δυνατή η ανάλυση με αέριο χρωματογράφο.

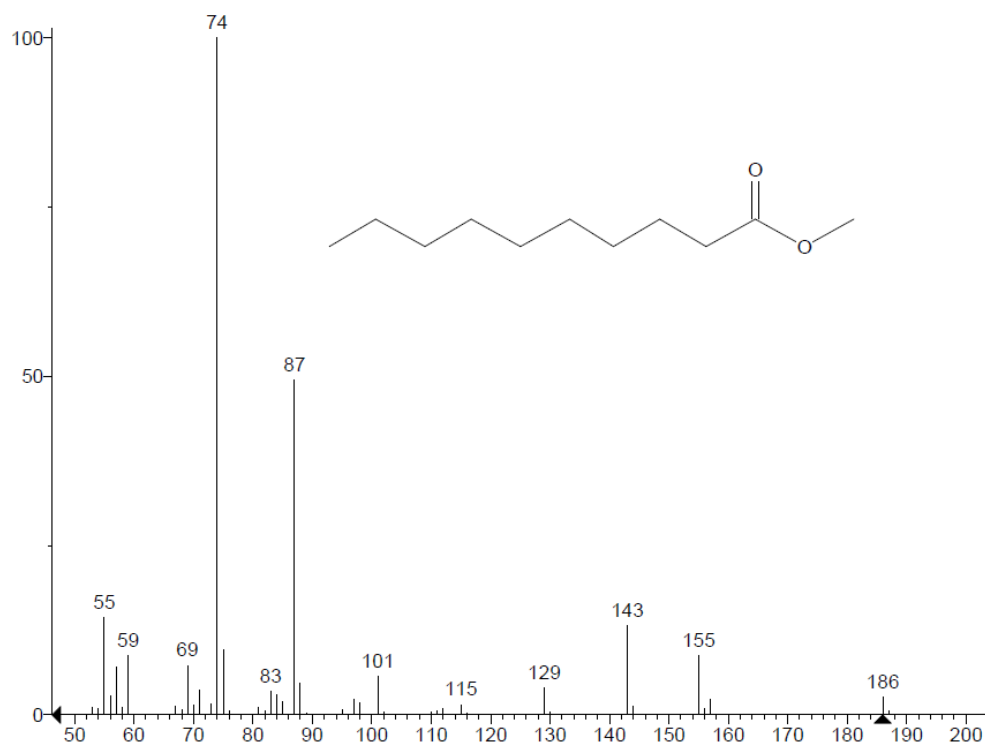
Α) ΚΟΡΕΣΜΕΝΑ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ

A.1) C10:0 (Δεκανοϊκό οξύ)

Το μυριστικό οξύ (Εικόνα A.1.1) περιλαμβάνει 10 άτομα άνθρακα και ο συντακτικός του τύπος είναι $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{COOH}$. Στη φασματοσκοπία μάζας το προφίλ που το χαρακτηρίζει φαίνεται στην εικόνα A.1.2.



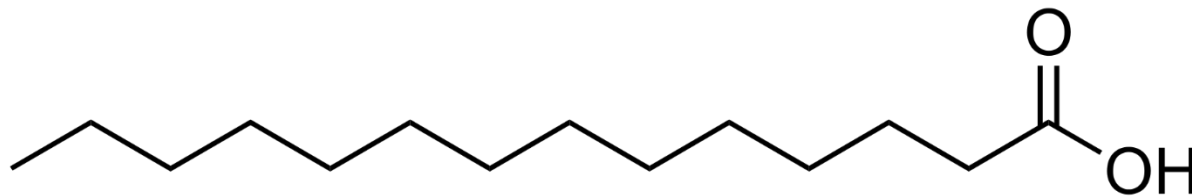
Εικόνα A.1.1. Σκελετική δομή του δεκανοϊκού οξέος.



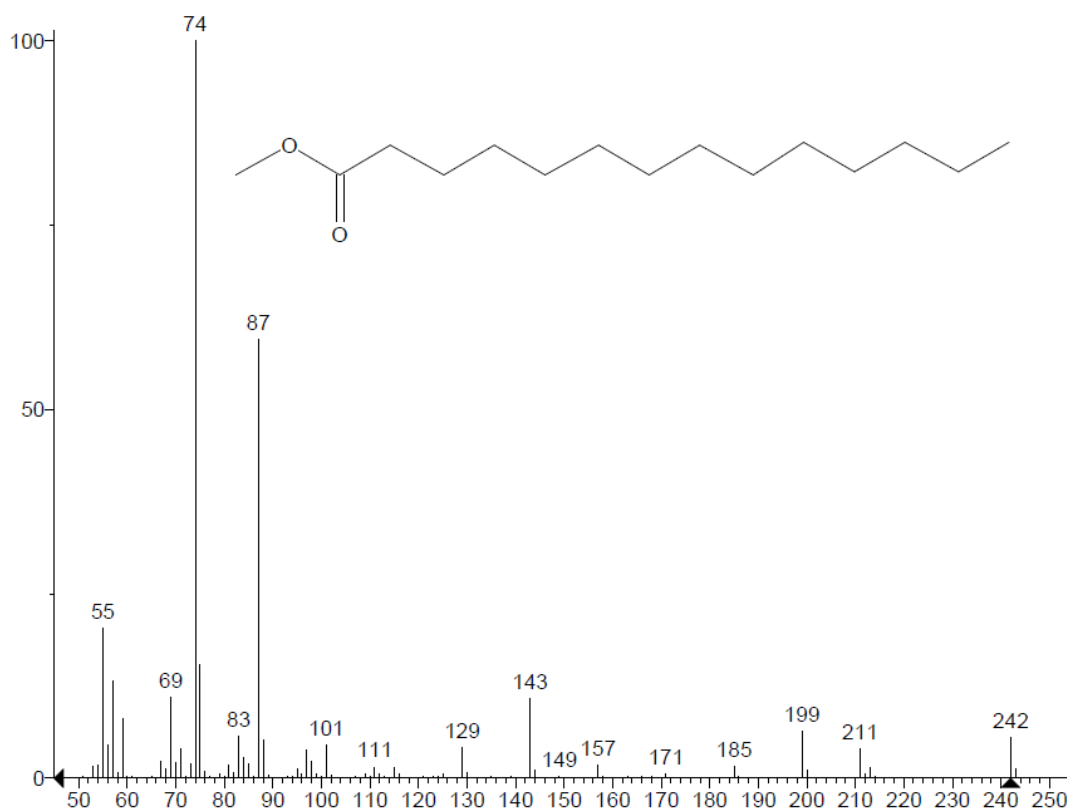
Εικόνα A.1.2. Φασματοσκοπικό προφίλ μάζας του δεκανοϊκού οξέος.

A.2) C14:0 (Μυριστικό οξύ)

Το μυριστικό οξύ (**Εικόνα A.2.1**) περιλαμβάνει 14 άτομα άνθρακα και ο συντακτικός του τύπος είναι $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$. Στη φασματοσκοπία μάζας το προφίλ που το χαρακτηρίζει φαίνεται στην **εικόνα A.2.2**.



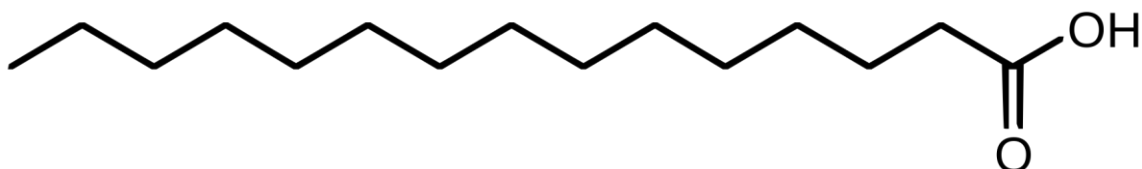
Εικόνα A.2.1. Σκελετική δομή του Μυριστικού οξέος.



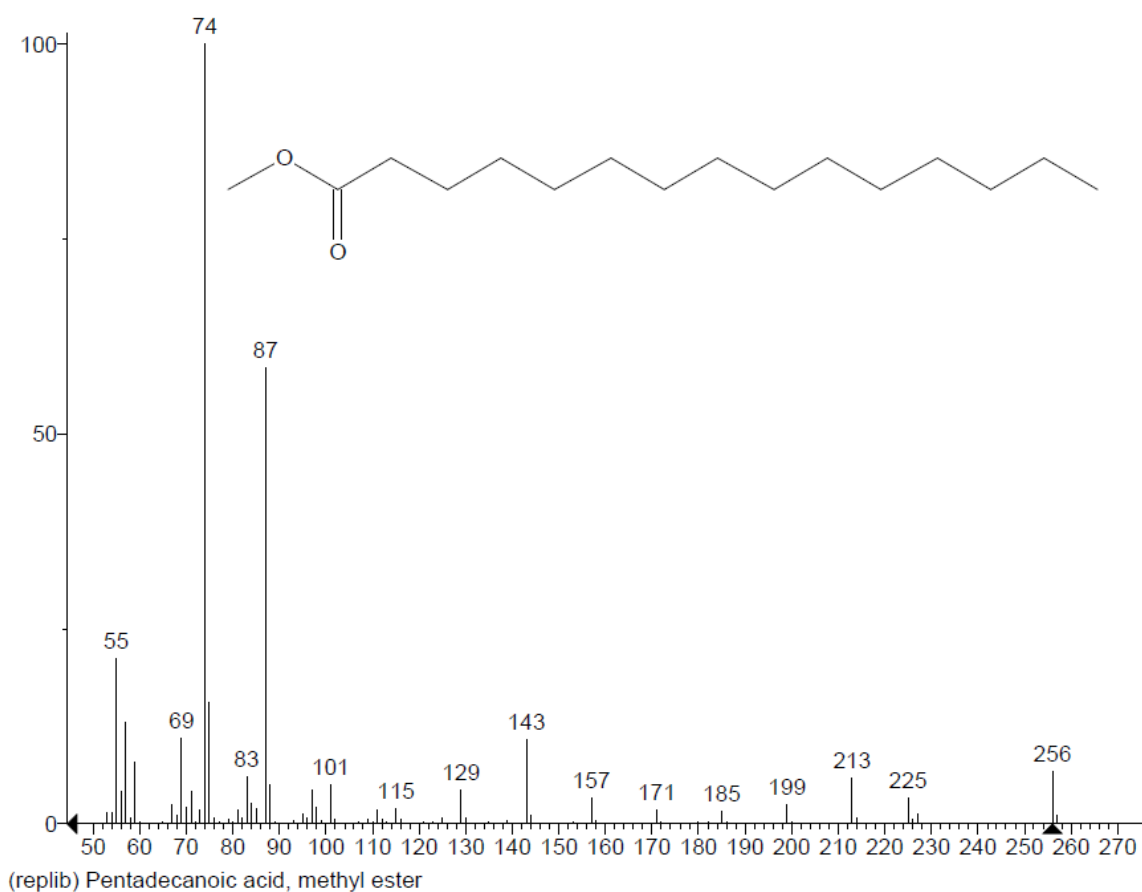
Εικόνα A.2.2. Φασματοσκοπικό προφίλ μάζας του μυριστικού οξέος.

A.3) C15:0 (Δεκαπεντανοϊκό οξύ)

Το δεκαπεντανοϊκό οξύ (**Εικόνα A.3.1**) περιλαμβάνει 15 άτομα άνθρακα και ο συντακτικός του τύπος είναι $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\text{COOH}$. Στη φασματοσκοπία μάζας το προφίλ που το χαρακτηρίζει φαίνεται στην **εικόνα A.3.2**.



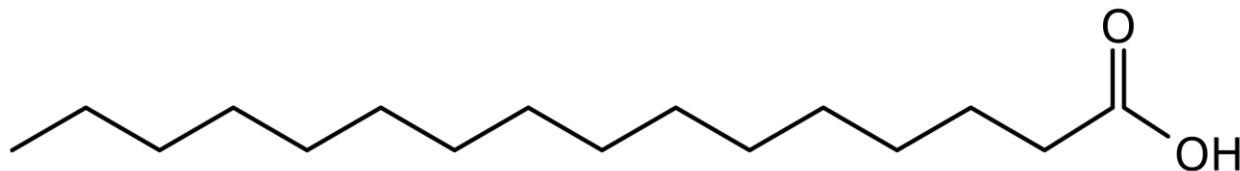
Εικόνα A.3.1. Σκελετική δομή δεκαπεντανοϊκού οξέος.



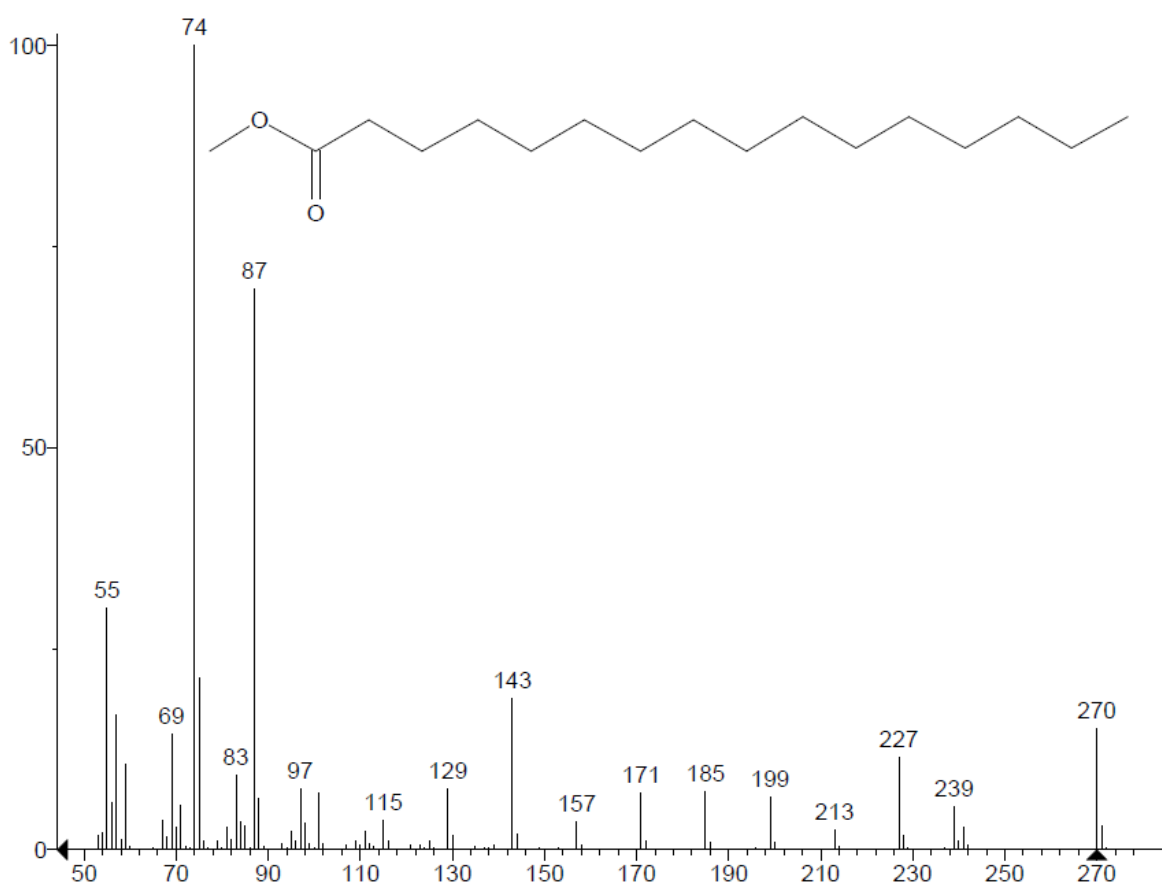
Εικόνα A.3.2. Φασματοσκοπικό προφίλ μάζας του δεκαπεντανοϊκού οξέος.

A.4) C16:0 (Παλμιτικό οξύ)

Το δεκαπεντανοϊκό οξύ (**Εικόνα A.4.1**) περιλαμβάνει 16 άτομα άνθρακα και ο συντακτικός του τύπος είναι $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$. Στη φασματοσκοπία μάζας το προφίλ που το χαρακτηρίζει φαίνεται στην **εικόνα A.4.2**.



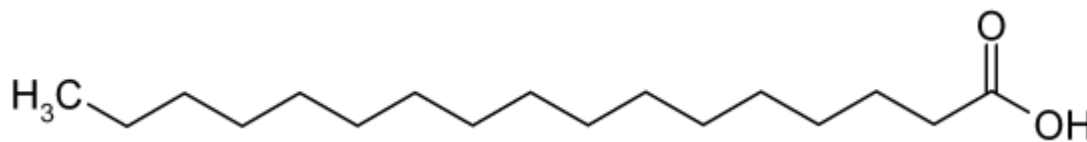
Εικόνα A.4.1. Σκελετική δομή του παλμιτικού οξέος.



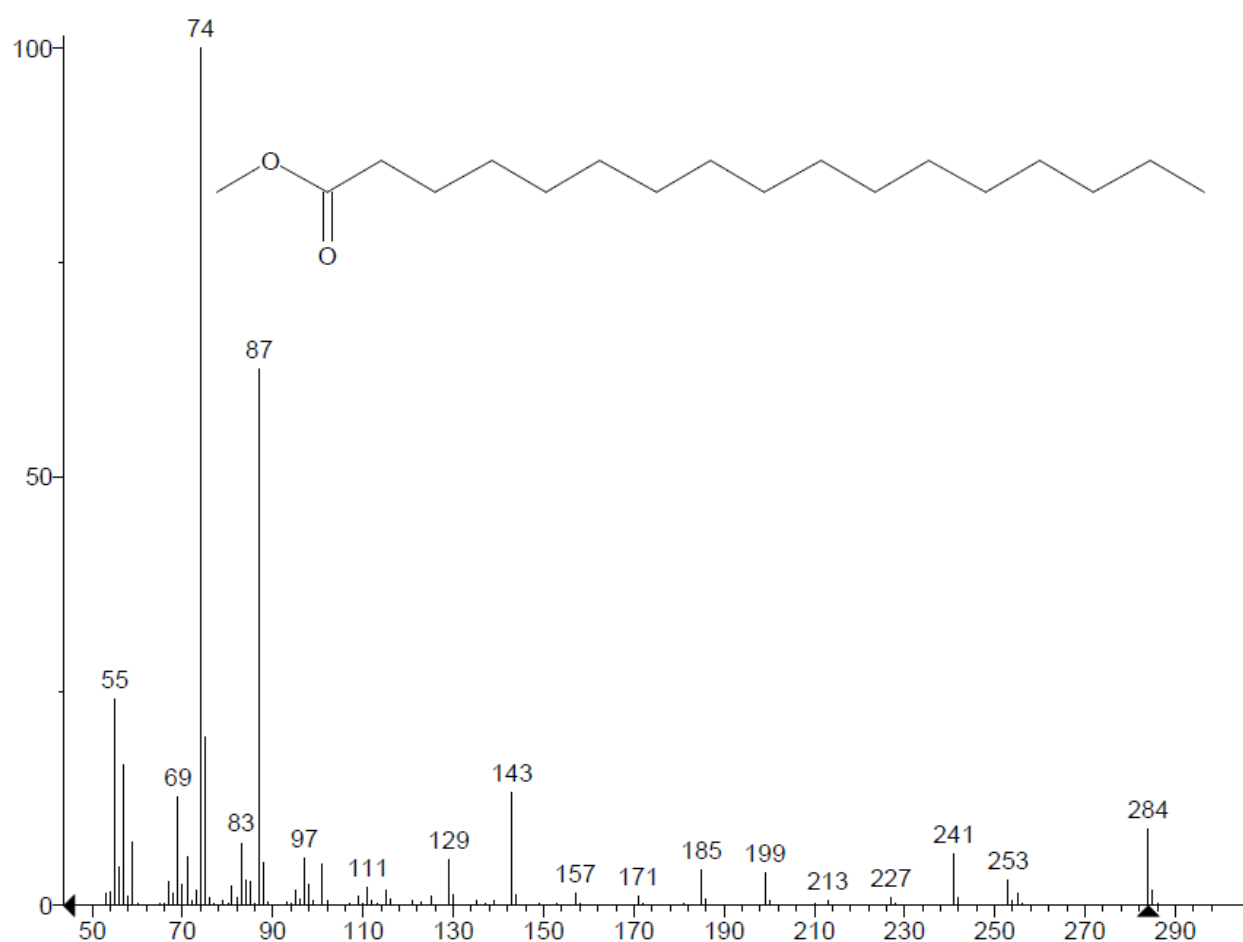
Εικόνα A.4.2. Φασματοσκοπικό προφίλ μάζας του παλμιτικού οξέος.

A.5) C17:0 (Μαργανικό οξύ)

Το Μαργανικό οξύ (**Εικόνα A.5.1**) περιλαμβάνει 17 άτομα άνθρακα και ο συντακτικός του τύπος είναι $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{COOH}$. Στη φασματοσκοπία μάζας το προφίλ που το χαρακτηρίζει φαίνεται στην **εικόνα A.5.2**.



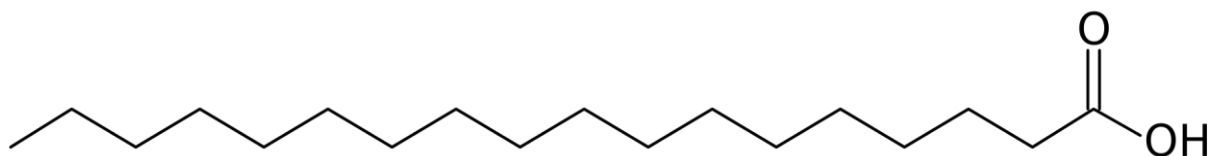
Εικόνα A.5.1. Σκελετική δομή του μαργανικού οξέος.



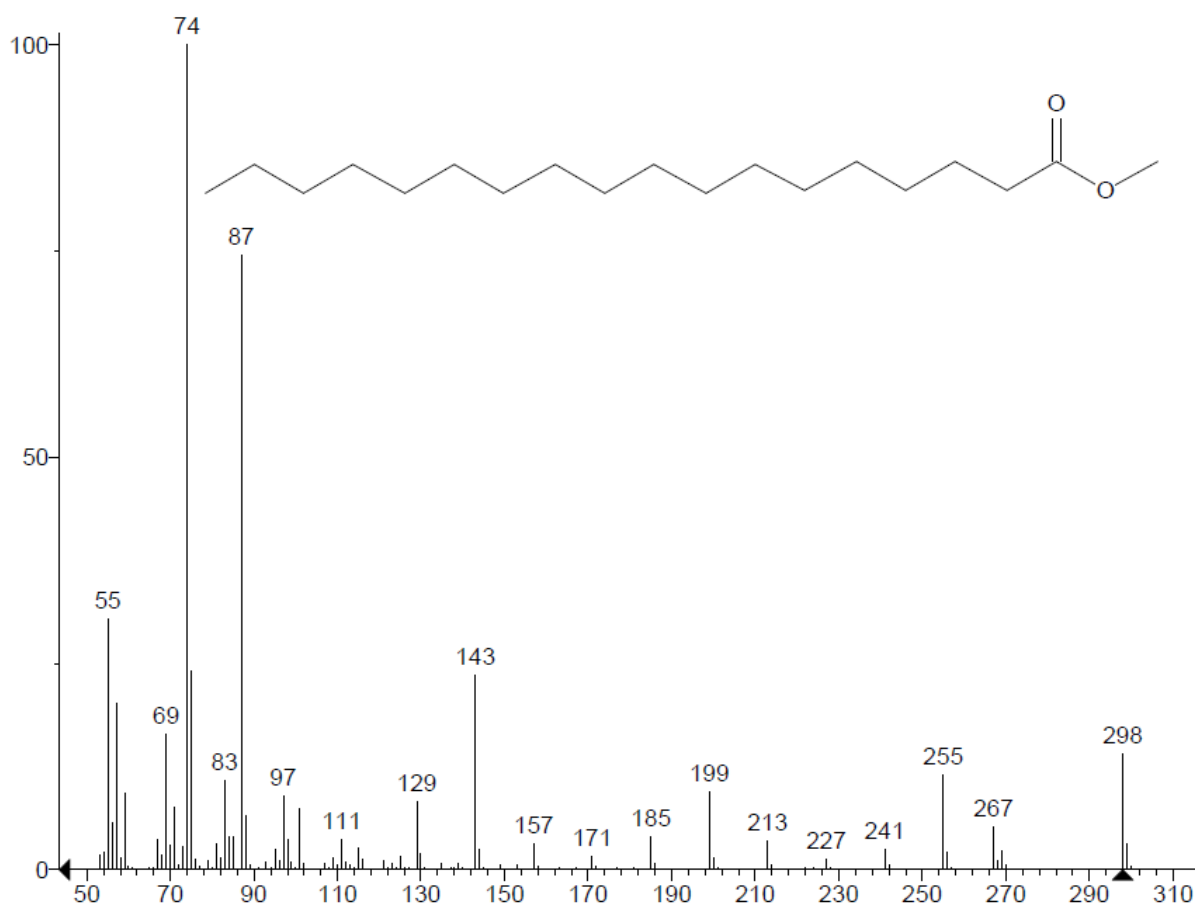
Εικόνα A.5.2. Φασματοσκοπικό προφίλ μάζας του μαργανικού οξέος.

A.6) C18:0 (Στεατικό οξύ)

Το Στεατικό οξύ (**Εικόνα A.6.1**) περιλαμβάνει 18 άτομα άνθρακα και ο συντακτικός του τύπος είναι $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$. Στη φασματοσκοπία μάζας το προφίλ που το χαρακτηρίζει φαίνεται στην **εικόνα A.6.2**.



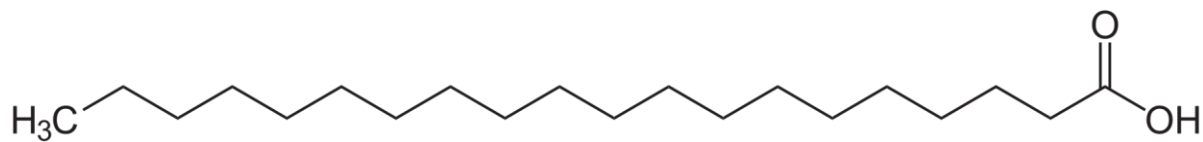
Εικόνα A.6.1. Σκελετική δομή του στεατικού οξέος.



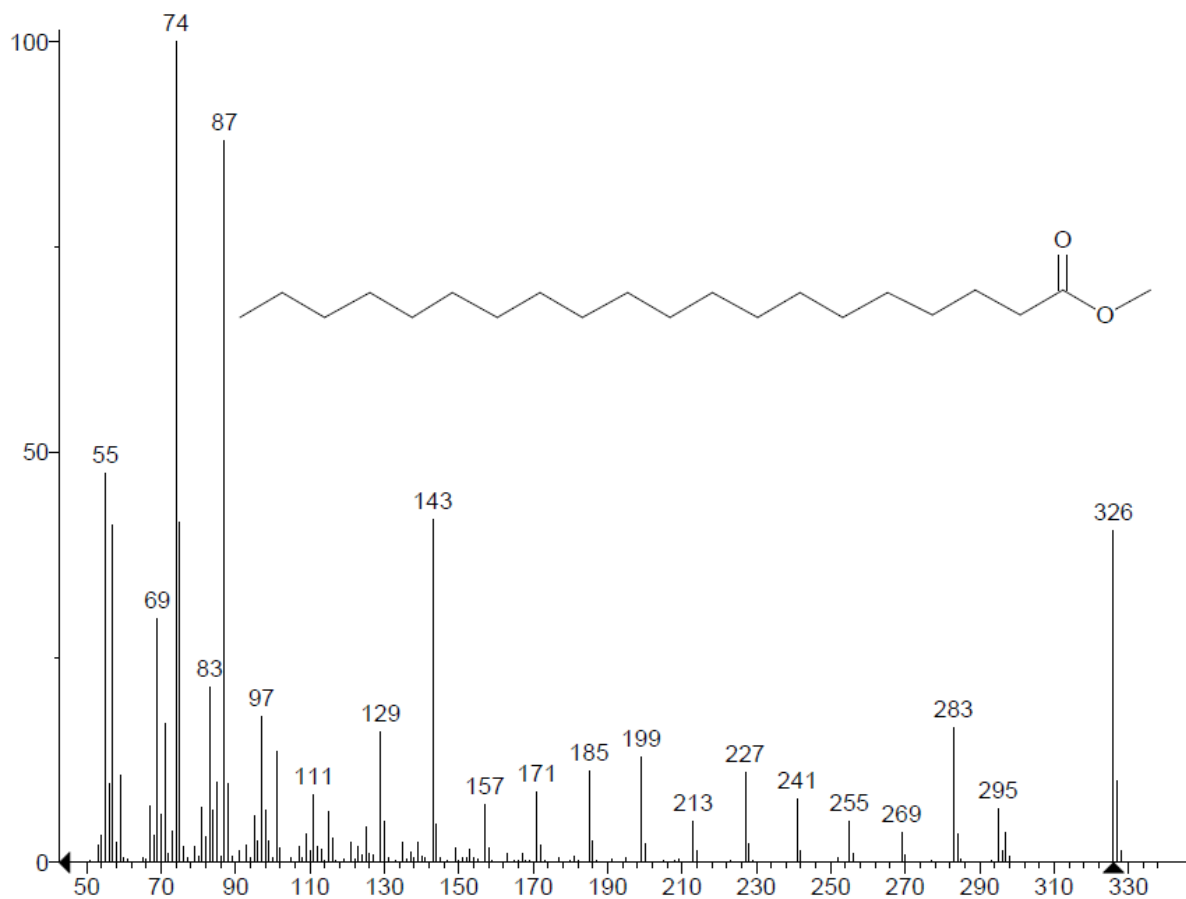
Εικόνα A.6.2. Φασματοσκοπικό προφίλ μάζας του στεατικού οξέος.

A.7) C₂₀:0 (Αραχιδικό οξύ)

Το Αραχιδικό οξύ (**Εικόνα A.7.1**) περιλαμβάνει 20 άτομα άνθρακα και ο συντακτικός του τύπος είναι CH₃(CH₂)₁₈COOH. Στη φασματοσκοπία μάζας το προφίλ που το χαρακτηρίζει φαίνεται στην **εικόνα A.7.2**.



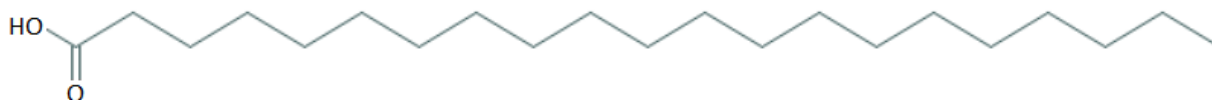
Εικόνα A.7.1. Σκελετική δομή του αραχιδικού οξέος.



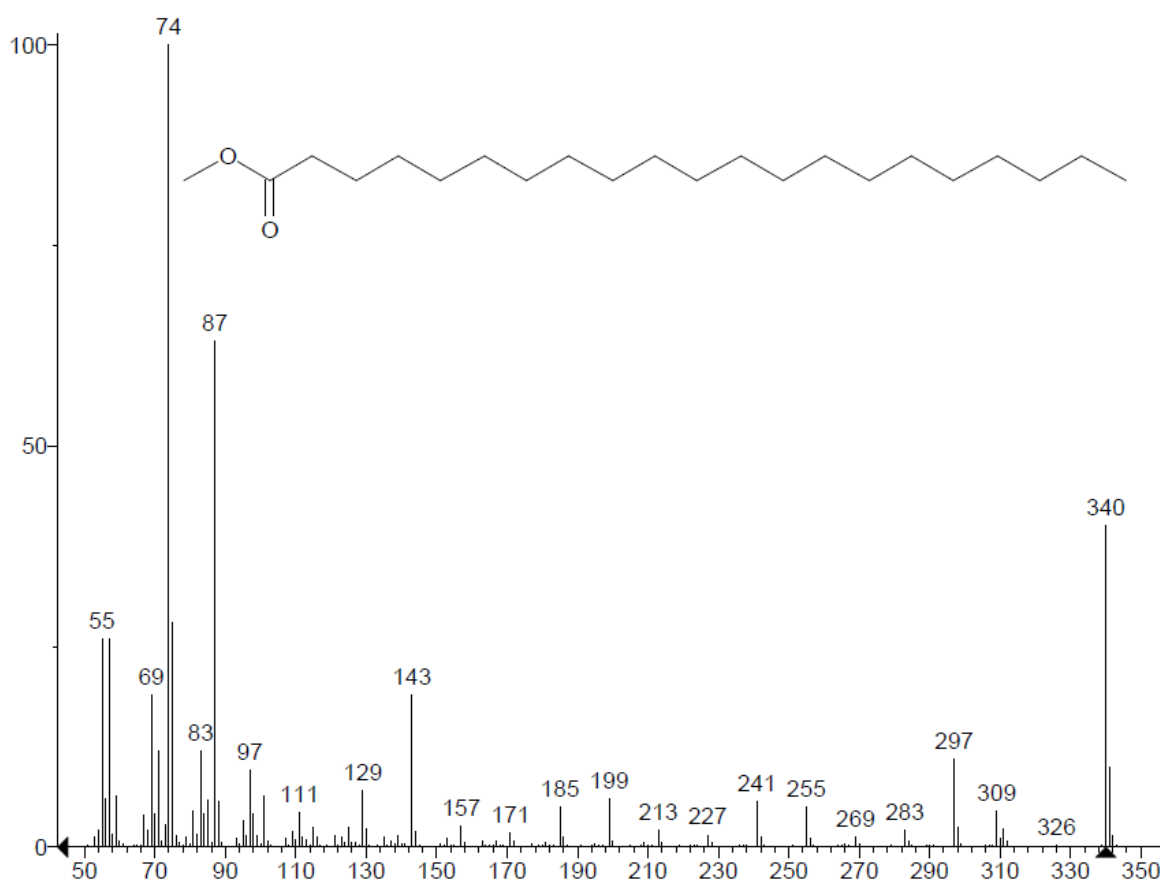
Εικόνα A.7.2. Φασματοσκοπικό προφίλ μάζας του αραχιδικού οξέος.

A.8) C21:0 (Εικοσιεναϊκό οξύ)

Το Εικοσιεναϊκό οξύ (**Εικόνα A.8.1**) περιλαμβάνει 21 άτομα άνθρακα και ο συντακτικός του τύπος είναι $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{19}\text{COOH}$. Στη φασματοσκοπία μάζας το προφίλ που το χαρακτηρίζει φαίνεται στην **εικόνα A.8.2**.



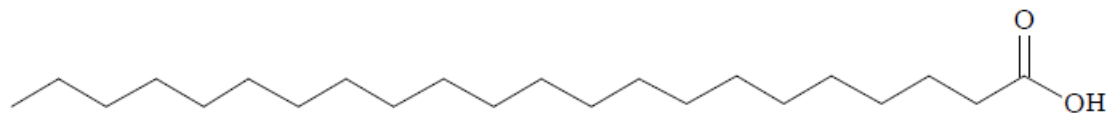
Εικόνα A.8.1. Σκελετική δομή του εικοσιεναϊκού οξέος.



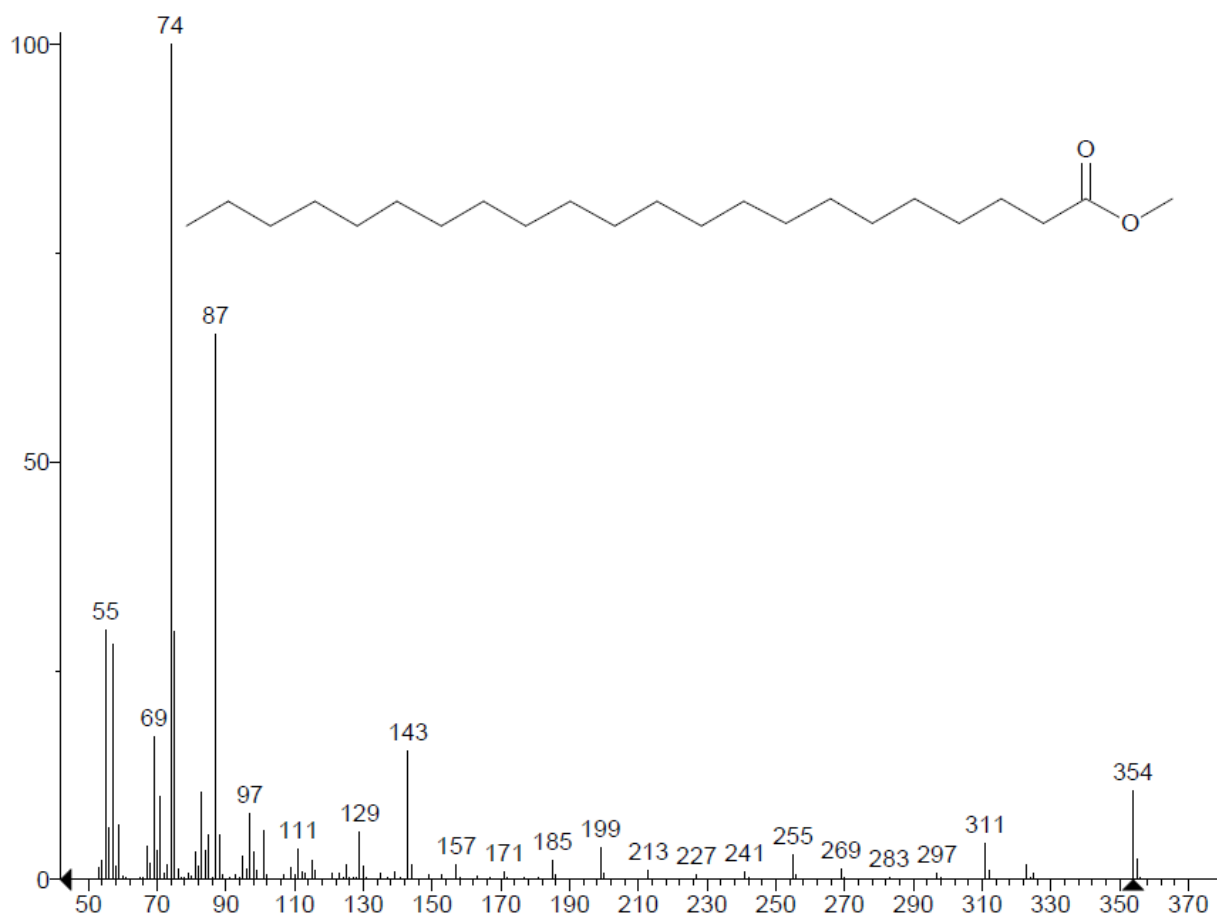
Εικόνα A.8.2. Φασματοσκοπικό προφίλ μάζας του εικοσιεναϊκού οξέος.

A.9) C22:0 (Εικοσιδυοϊκό οξύ)

Το Εικοσιδυοϊκό οξύ (**Εικόνα A.9.1**) περιλαμβάνει 22 άτομα άνθρακα και ο συντακτικός του τύπος είναι $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}\text{COOH}$. Στη φασματοσκοπία μάζας το προφίλ που το χαρακτηρίζει φαίνεται στην **εικόνα A.9.2**.



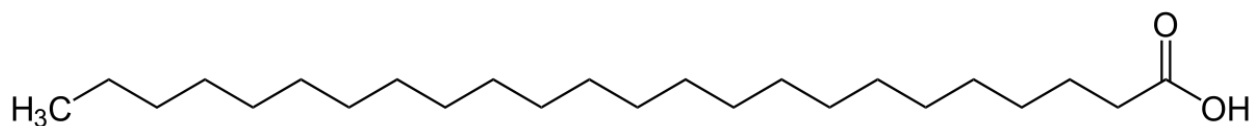
Εικόνα A.9.1. Σκελετική δομή του εικοσιδυοϊκού οξέος.



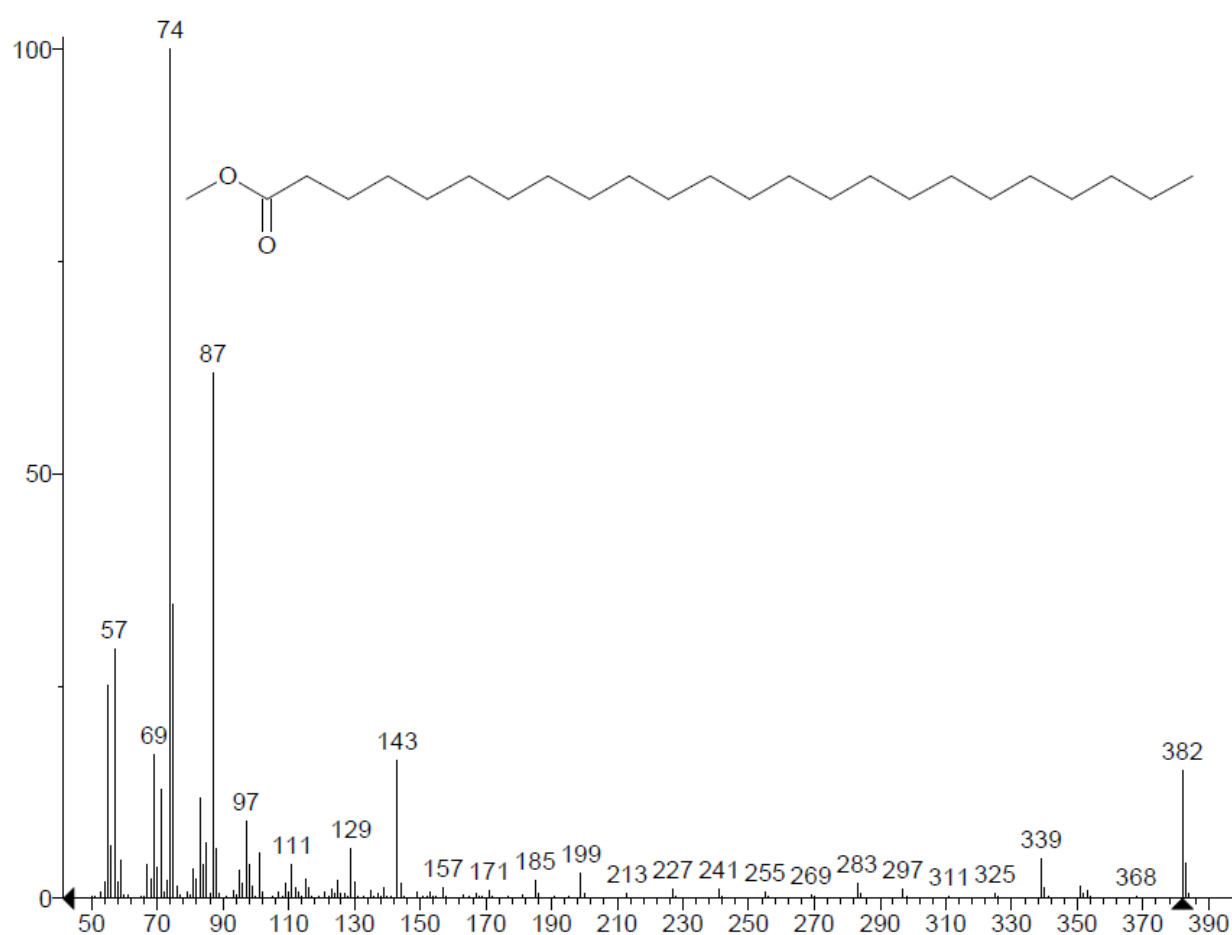
Εικόνα A.9.2. Φασματοσκοπικό προφίλ μάζας του εικοσιδυοϊκού οξέος.

A.10) C24:0 (Λιγνοκηρικό οξύ)

Το Λιγνοκηρικό οξύ (**Εικόνα A.10.1**) περιλαμβάνει 24 άτομα άνθρακα και ο συντακτικός του τύπος είναι $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{22}\text{COOH}$. Στη φασματοσκοπία μάζας το προφίλ που το χαρακτηρίζει φαίνεται στην **εικόνα A.10.2**.



Εικόνα A.10.1. Σκελετική δομή του λιγνοκηρικού οξέος.



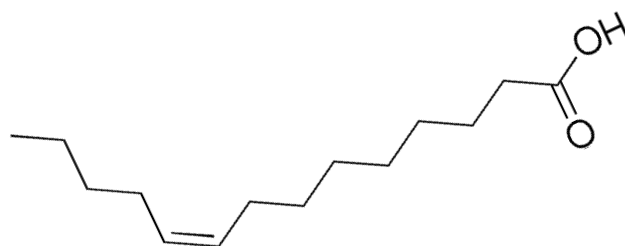
Εικόνα A.10.2. Φασματοσκοπικό προφίλ μάζας του λιγνοκηρικού οξέος.

Β) ΜΟΝΟΑΚΟΡΕΣΤΑ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ

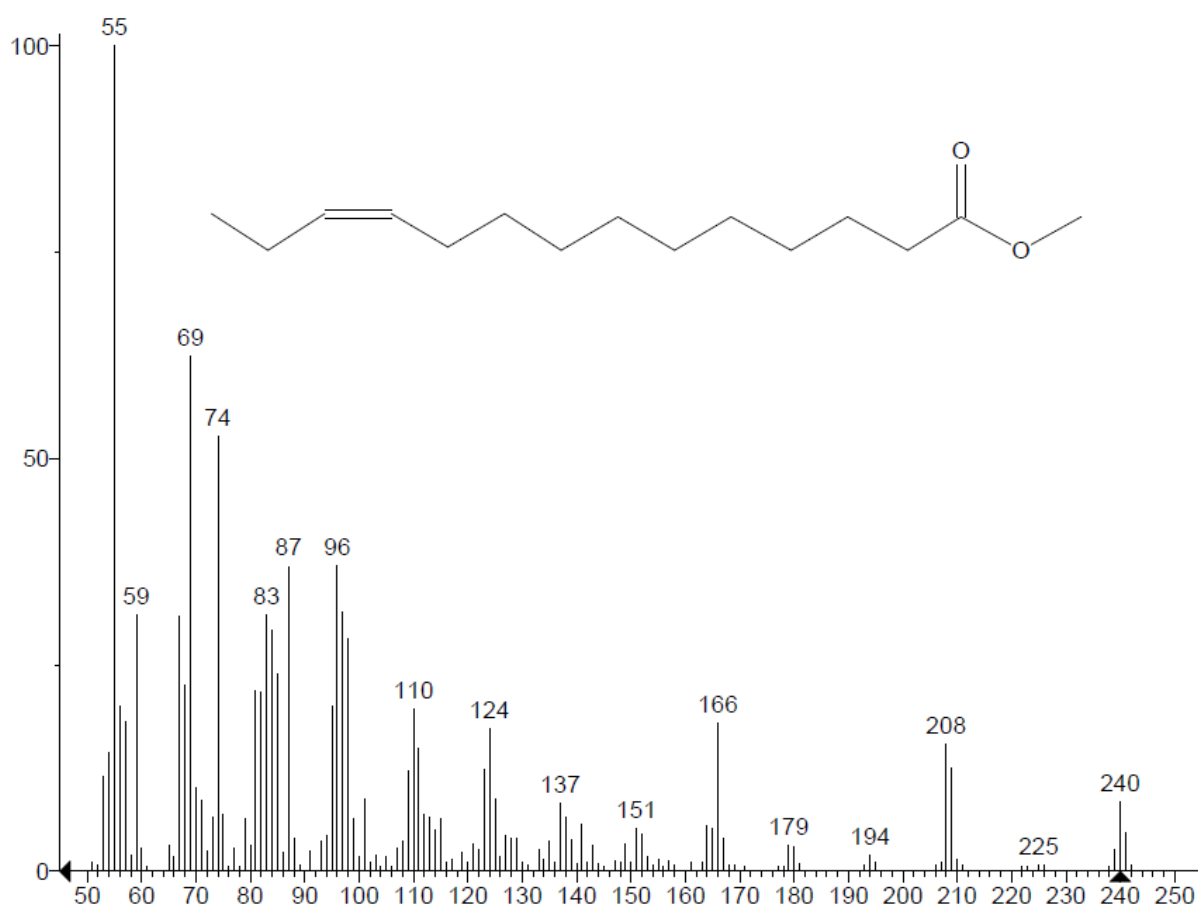
Τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα περιλαμβάνουν έναν διπλό δεσμό μεταξύ δύο ατόμων της ανθρακικής τους αλυσίδας

Β.1) C₁₄:1 (Μυριστολεϊκό οξύ)

Το Μυριστολεϊκό οξύ (Εικόνα Β.1.1) περιλαμβάνει 14 άτομα άνθρακα και ο συντακτικός του τύπος είναι C₁₄H₂₆O₂. Στη φασματοσκοπία μάζας το προφίλ που το χαρακτηρίζει φαίνεται στην εικόνα Β.1.2.



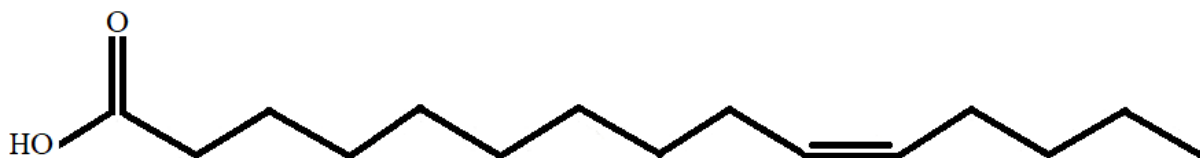
Εικόνα Β.1.1. Σκελετική δομή του μυριστολεϊκού οξέος.



Εικόνα Β.1.2. Φασματοσκοπικό προφίλ μάζας του λιγνοκηρικού (Z) οξέος.

B.2) C15:1 (Δεκαπεντενοϊκό οξύ)

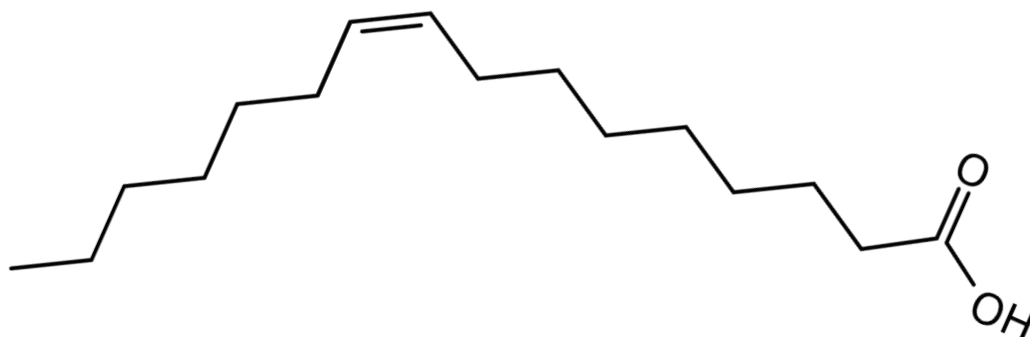
Το Δεκαπεντενοϊκό οξύ (**Εικόνα B.2.1**) περιλαμβάνει 15 άτομα άνθρακα και ο συντακτικός του τύπος είναι C₁₅H₂₈O₂. Στη φασματοσκοπία μάζας το προφίλ που το χαρακτηρίζει φαίνεται στην **εικόνα B.2.2**.



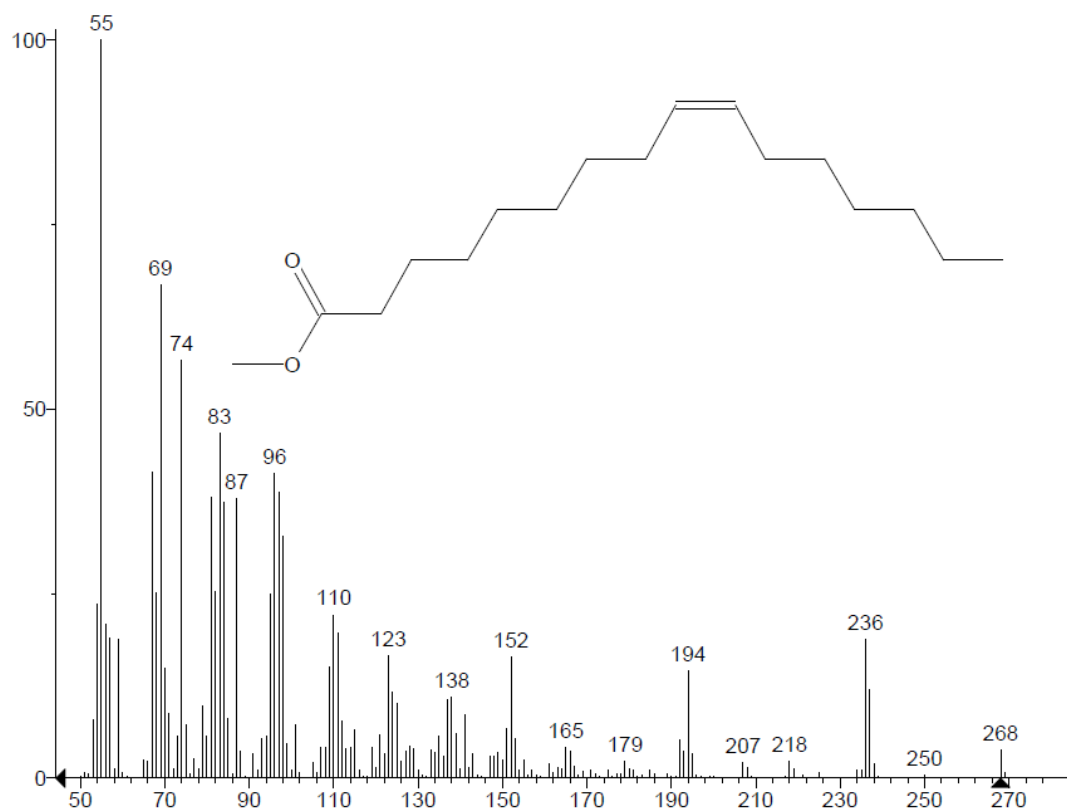
Εικόνα B.2.1. Σκελετική δομή του δεκαπεντενοϊκού οξέος.

B.3) C16:1 (Παλμιτολεϊκό οξύ)

Το Παλμιτολεϊκό οξύ (**Εικόνα B.3.1**) περιλαμβάνει 16 άτομα άνθρακα και ο συντακτικός του τύπος είναι $C_{16}H_{30}O_2$. Στη φασματοσκοπία μάζας το προφίλ που το χαρακτηρίζει φαίνεται στην **εικόνα B.3.2**.



Εικόνα B.3.1. Σκελετική δομή του παλμιτολεϊκού οξέος.



Εικόνα B.3.2. Φασματοσκοπικό προφίλ μάζας του παλμιτολεϊκού οξέος.

B.4) C17:1 (Δεκαεπτενικό οξύ)

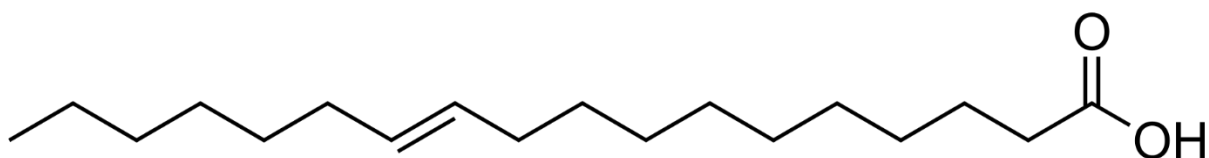
Το Δεκαεπτενικό οξύ (**Εικόνα B.4.1**) περιλαμβάνει 17 άτομα άνθρακα και ο συντακτικός του τύπος είναι C₁₇H₃₂O₂. Στη φασματοσκοπία μάζας το προφίλ που το χαρακτηρίζει φαίνεται στην **εικόνα B.4.2**.



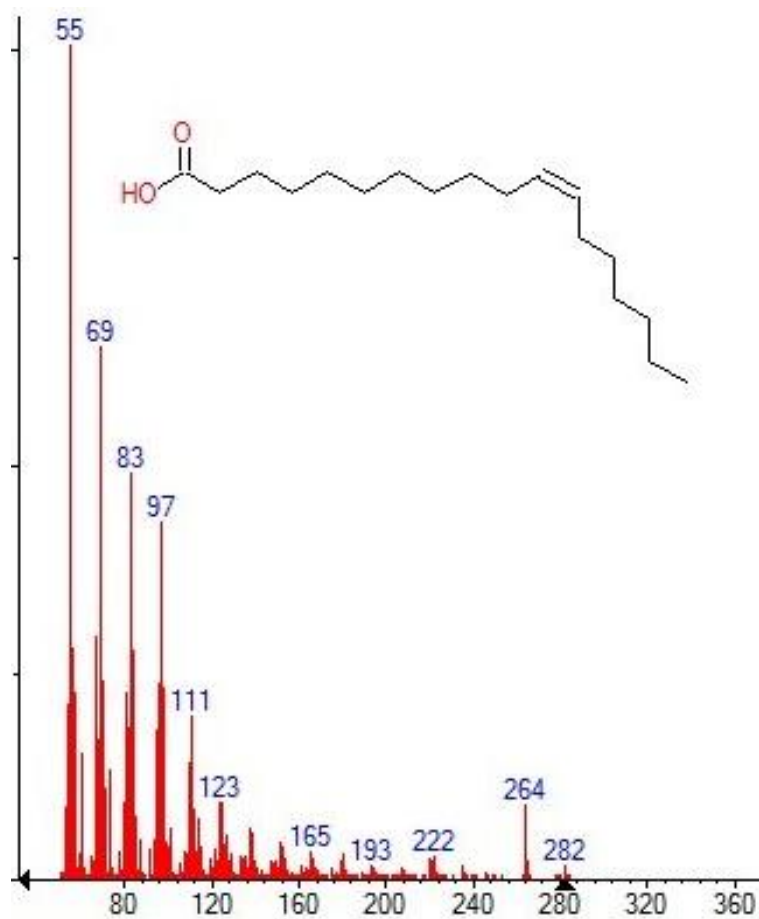
Εικόνα B.4.1. Σκελετική δομή του δεκαεπτενικού οξέος.

B.5) C₁₈:1n₇ (Δεκαοκτενικό Ω-7 οξύ)

Το Δεκαοκτενικό οξύ (Εικόνα B.5.1) περιλαμβάνει 18 άτομα άνθρακα και ο συντακτικός του τύπος είναι C₁₈H₃₄O₂. Στη φασματοσκοπία μάζας το προφίλ που το χαρακτηρίζει φαίνεται στην εικόνα B.5.2.



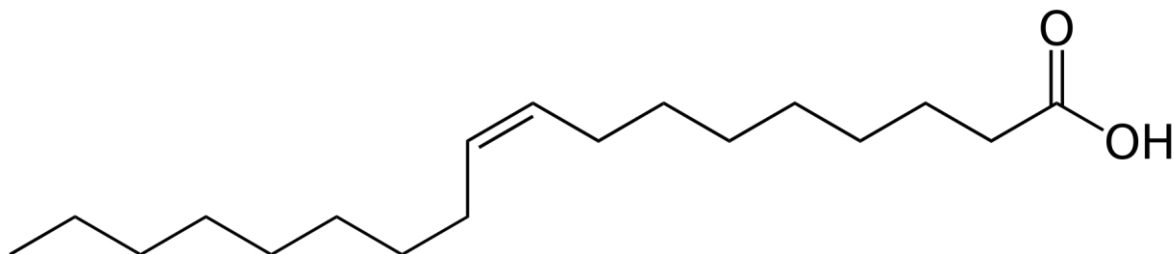
Εικόνα B.5.1. Σκελετική δομή του δεκαοκτενικού Ω-7 οξέος.



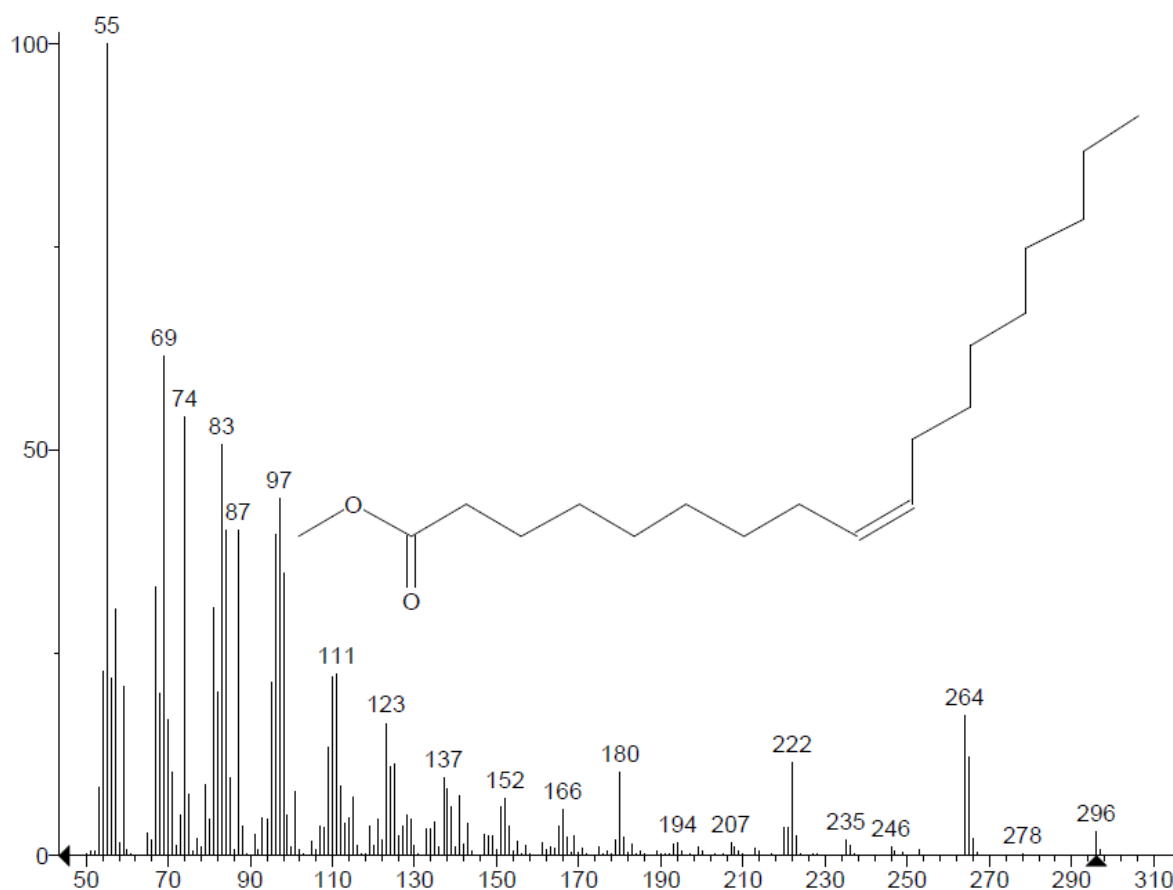
Εικόνα B.5.2. Φασματοσκοπικό προφίλ μάζας του δεκαοκτενικού Ω-7 οξέος.

B.6) C18:1n9cis (Ολεϊκό οξύ)

Το Ολεϊκό οξύ (**Εικόνα B.6.1**) περιλαμβάνει 18 άτομα άνθρακα και ο συντακτικός του τύπος είναι C₁₈H₃₄O₂. Στη φασματοσκοπία μάζας το προφίλ που το χαρακτηρίζει φαίνεται στην **εικόνα B.6.2**.



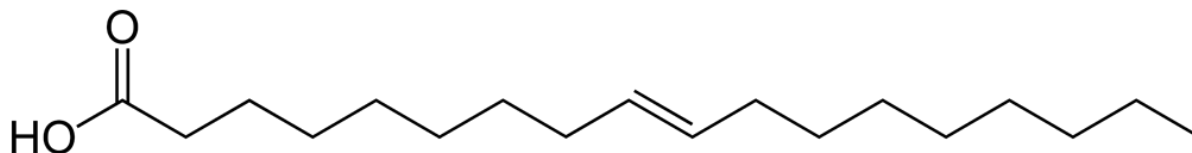
Εικόνα B.6.1. Σκελετική δομή του ολεϊκού Ω-7 οξέος.



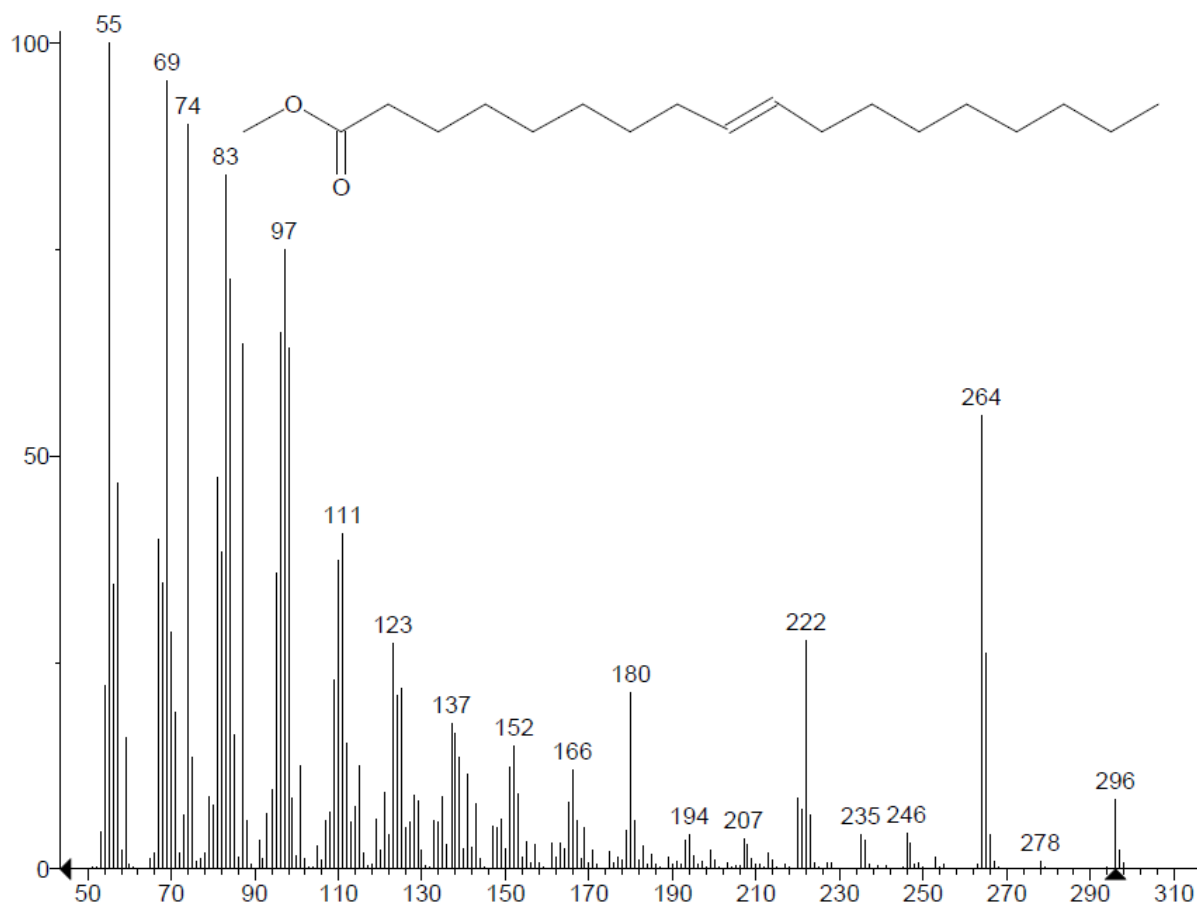
Εικόνα B.6.2. Φασματοσκοπικό προφίλ μάζας του ολεϊκού οξέος.

B.7) C18:1n9trans (Ελαϊδικό οξύ)

Το Ελαϊδικό οξύ (**Εικόνα B.7.1**) περιλαμβάνει 18 άτομα άνθρακα και ο συντακτικός του τύπος είναι C₁₈H₃₄O₂. Στη φασματοσκοπία μάζας το προφίλ που το χαρακτηρίζει φαίνεται στην **εικόνα B.7.2**.



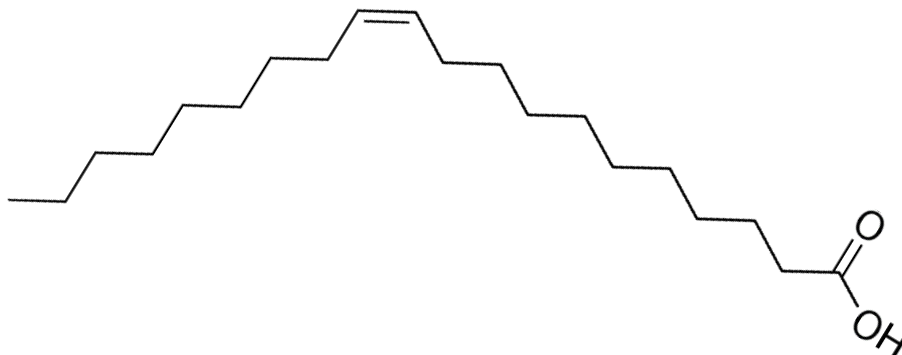
Εικόνα B.7.1. Σκελετική δομή του ελαϊδικού οξέος.



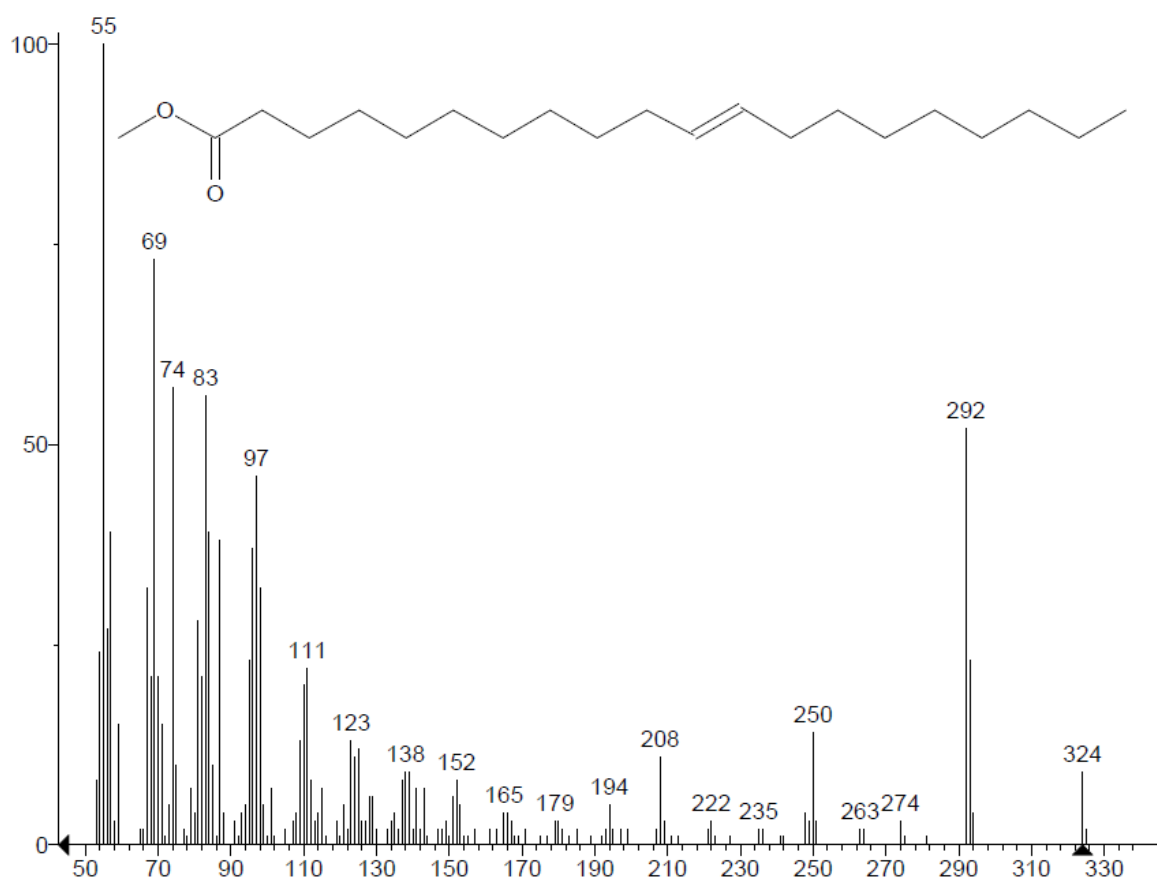
Εικόνα B.7.2. Φασματοσκοπικό προφίλ μάζας του ελαϊδικού οξέος.

B.8) C20:1 (Εικοσenoϊκό οξύ)

Το Εικοσenoϊκό οξύ (**Εικόνα B.8.1**) περιλαμβάνει 20 άτομα άνθρακα και ο συντακτικός του τύπος είναι $C_{20}H_{38}O_2$. Στη φασματοσκοπία μάζας το προφίλ που το χαρακτηρίζει φαίνεται στην **εικόνα B.8.2**.



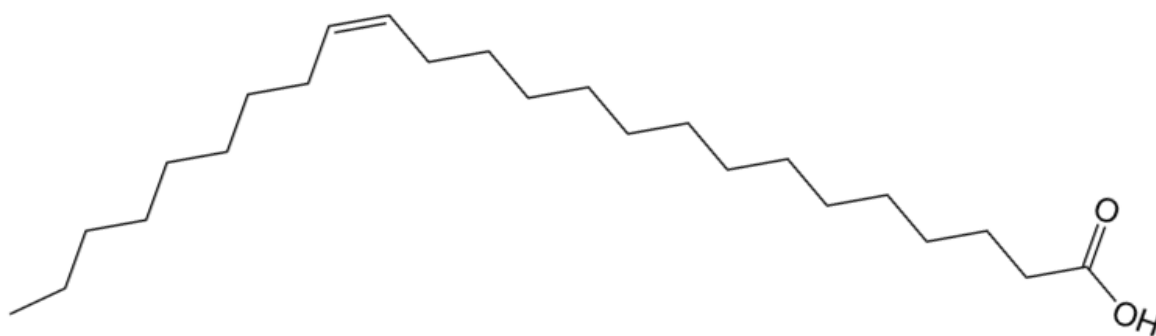
Εικόνα B.8.1. Σκελετική δομή του εικοσenoϊκού οξέος.



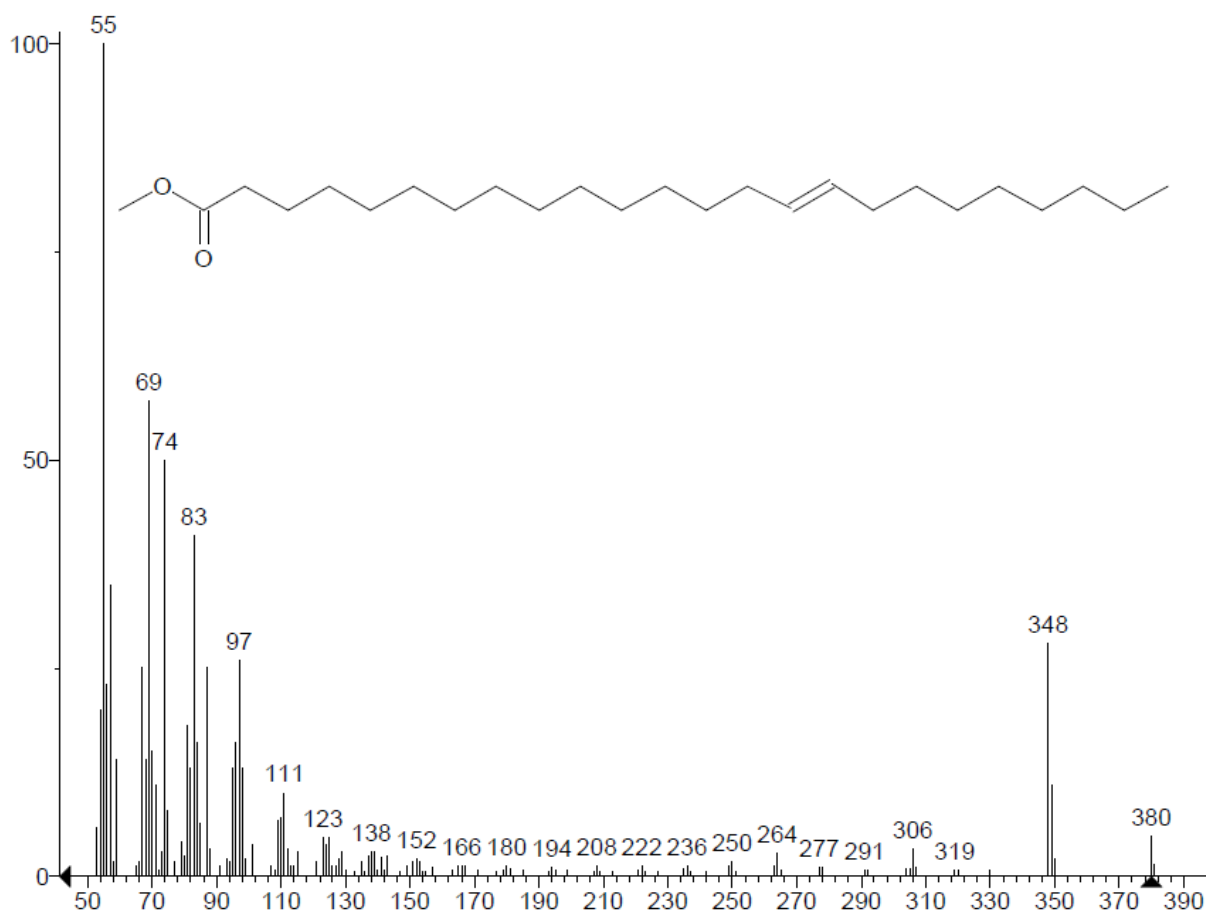
Εικόνα B.8.2. Φασματοσκοπικό προφίλ μάζας του εικοσenoϊκού οξέος.

B.9) C24:1 (Νευρονικό οξύ)

Το Εικοσενοϊκό οξύ (**Εικόνα B.8.1**) περιλαμβάνει 24 άτομα άνθρακα και ο συντακτικός του τύπος είναι $C_{24}H_{46}O_2$. Στη φασματοσκοπία μάζας το προφίλ που το χαρακτηρίζει φαίνεται στην **εικόνα B.8.2**.



Εικόνα B.9.1. Σκελετική δομή του νευρονικού οξέος.

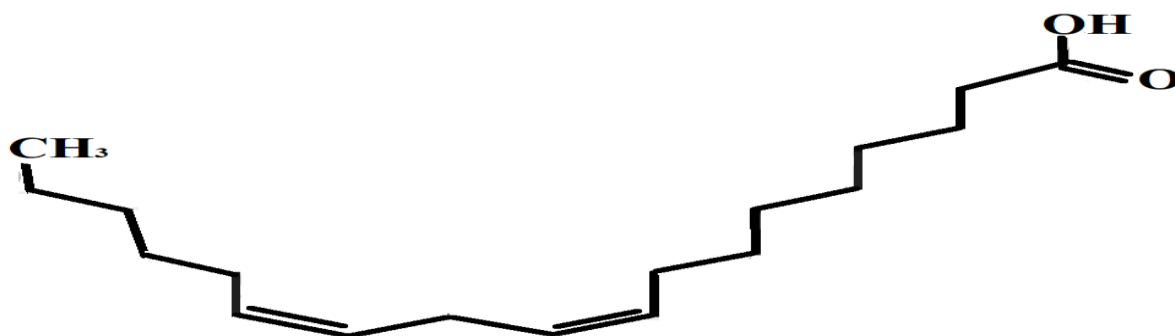


Εικόνα B.9.2. Φασματοσκοπικό προφίλ μάζας του νευρονικού οξέος.

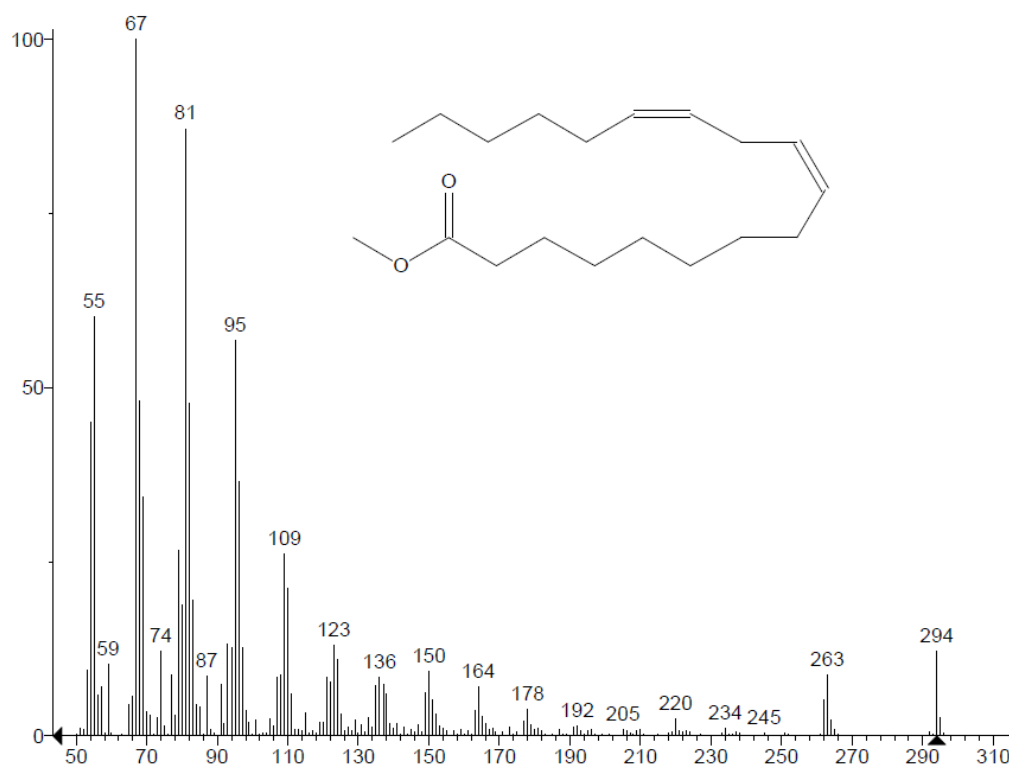
Γ) ΠΟΛΥΑΚΟΡΕΣΤΑ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ

Γ.1) C₁₈:2n6 (Λινελαϊκό οξύ)

Το Λινελαϊκό οξύ (**Εικόνα Γ.1.1**) περιλαμβάνει 18 άτομα άνθρακα και ο συντακτικός του τύπος είναι C₁₈H₃₂O₂. Στη φασματοσκοπία μάζας το προφίλ που το χαρακτηρίζει φαίνεται στην **εικόνα Γ.1.2**.



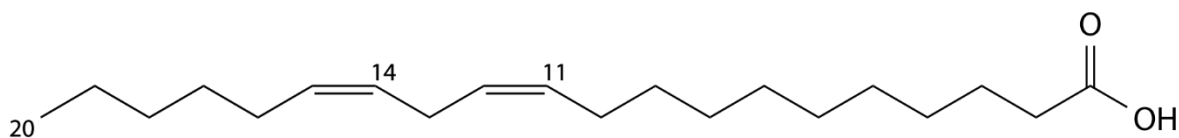
Εικόνα Γ.1.1. Σκελετική δομή του λινελαϊκού οξέος.



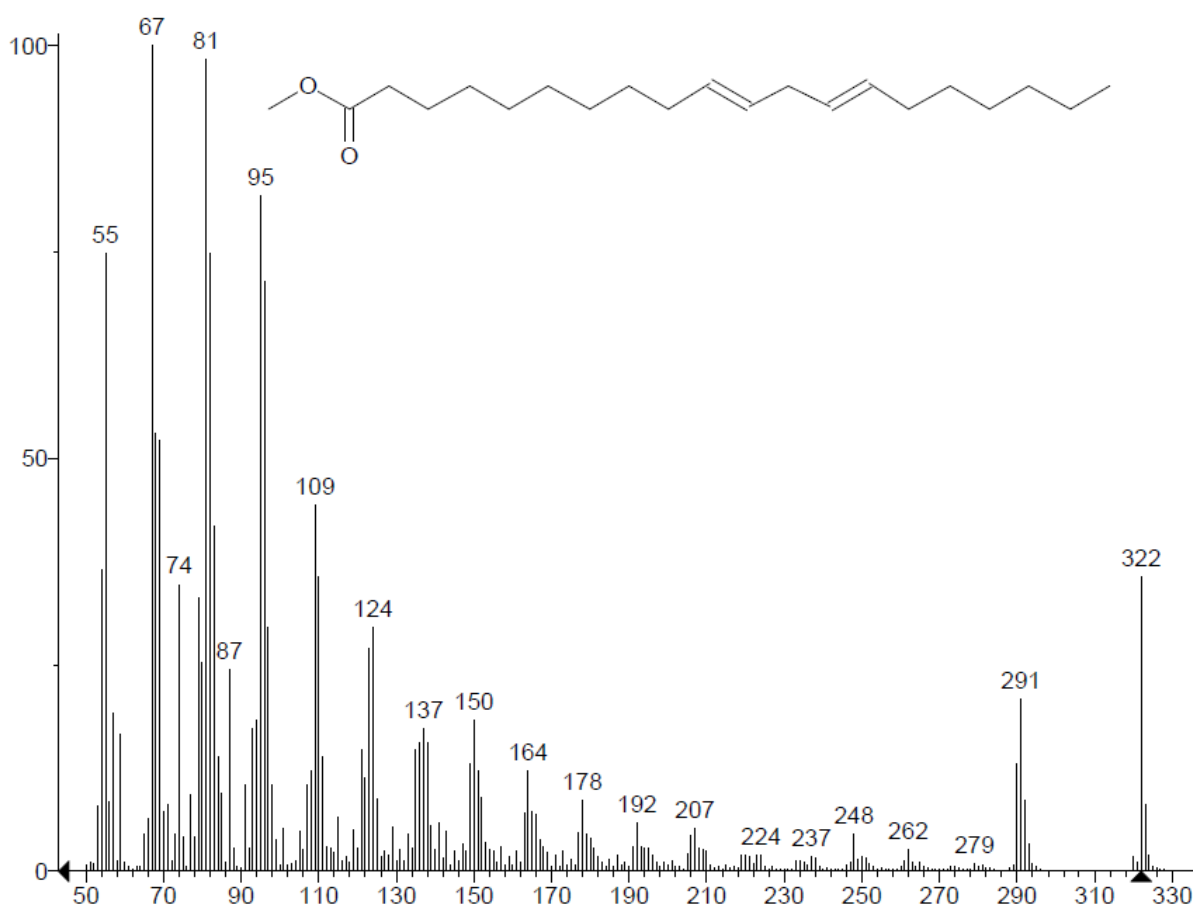
Εικόνα Γ.1.2. Φασματοσκοπικό προφίλ μάζας του λινελαϊκού οξέος.

Γ.2) C₂₀:2n6 (Εικοσιδιενικό οξύ)

Το Εικοσιδιενικό οξύ (**Εικόνα Γ.2.1**) περιλαμβάνει 20 άτομα άνθρακα και ο συντακτικός του τύπος είναι C₂₀H₃₆O₂. Στη φασματοσκοπία μάζας το προφίλ που το χαρακτηρίζει φαίνεται στην **εικόνα Γ.2.2**.



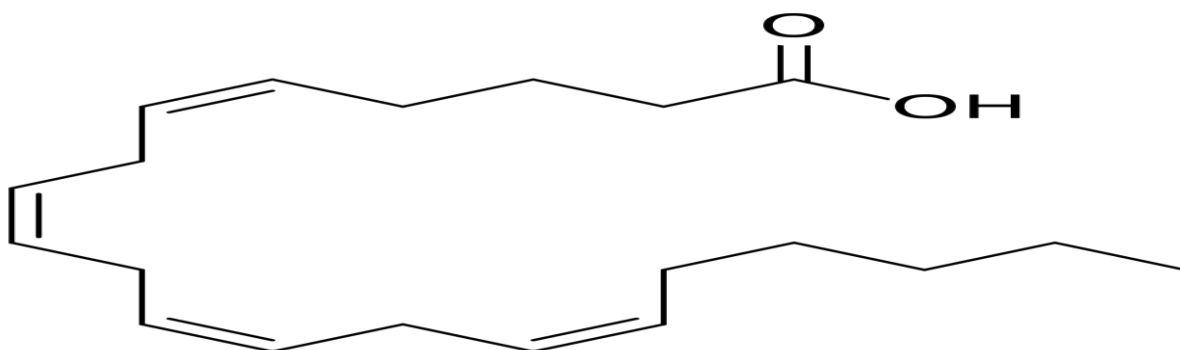
Εικόνα Γ.2.1. Σκελετική δομή του εικοσιδιενικού οξέος.



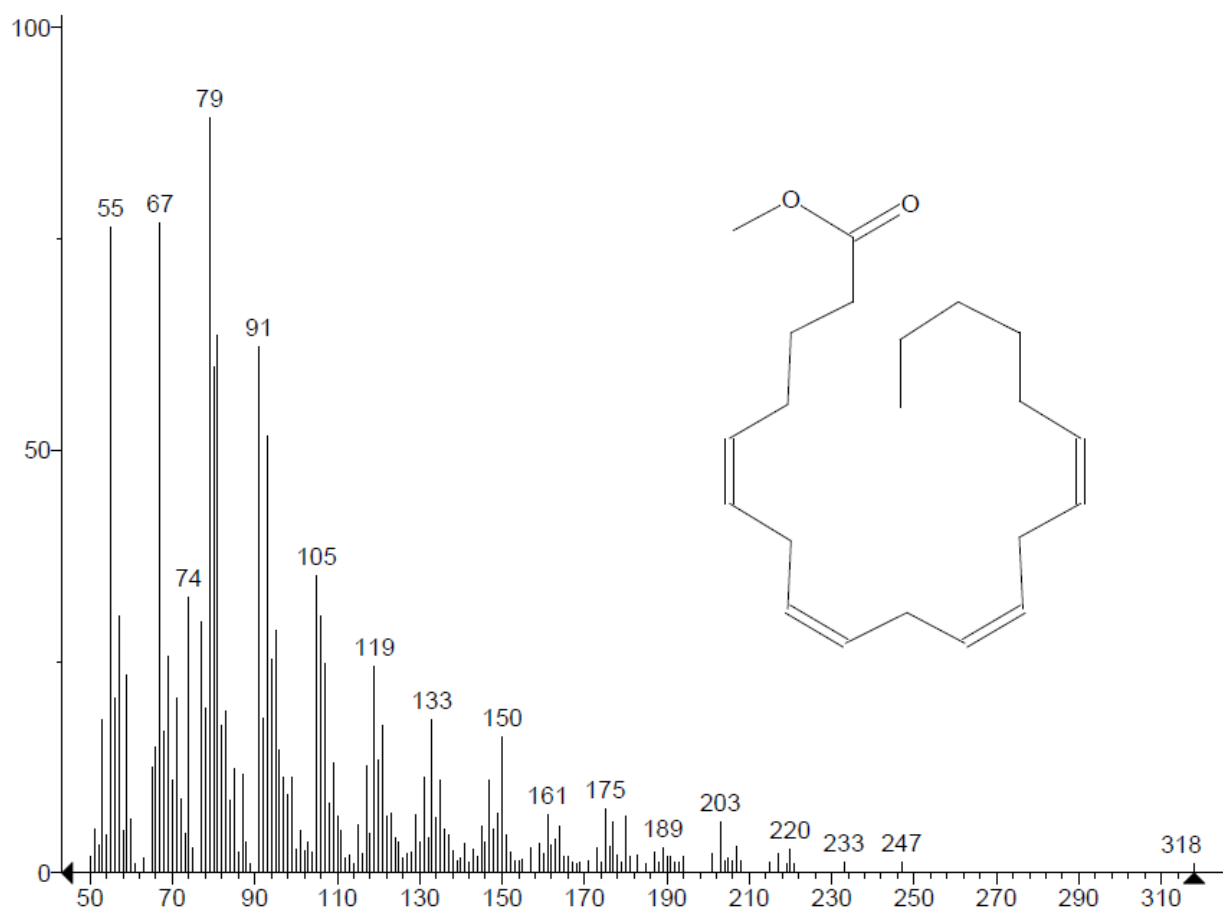
Εικόνα Γ.2.2. Φασματοσκοπικό προφίλ μάζας του εικοσιδιενικού οξέος.

Γ.3) C₂₀:4n6 (Αραχιδονικό οξύ)

Το Αραχιδονικό οξύ (**Εικόνα Γ.3.1**) περιλαμβάνει 20 άτομα άνθρακα και ο συντακτικός του τύπος είναι C₂₀H₃₂O₂. Στη φασματοσκοπία μάζας το προφίλ που το χαρακτηρίζει φαίνεται στην **εικόνα Γ.3.2**.



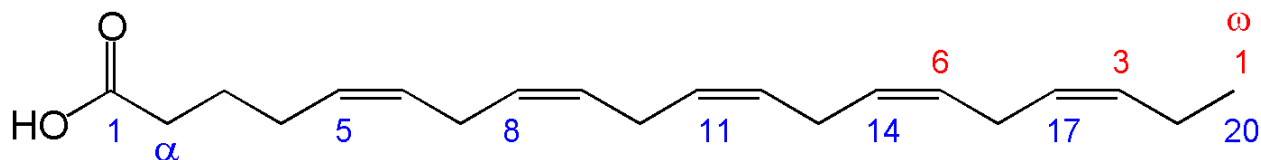
Εικόνα Γ.3.1. Σκελετική δομή του αραχιδονικού οξέος.



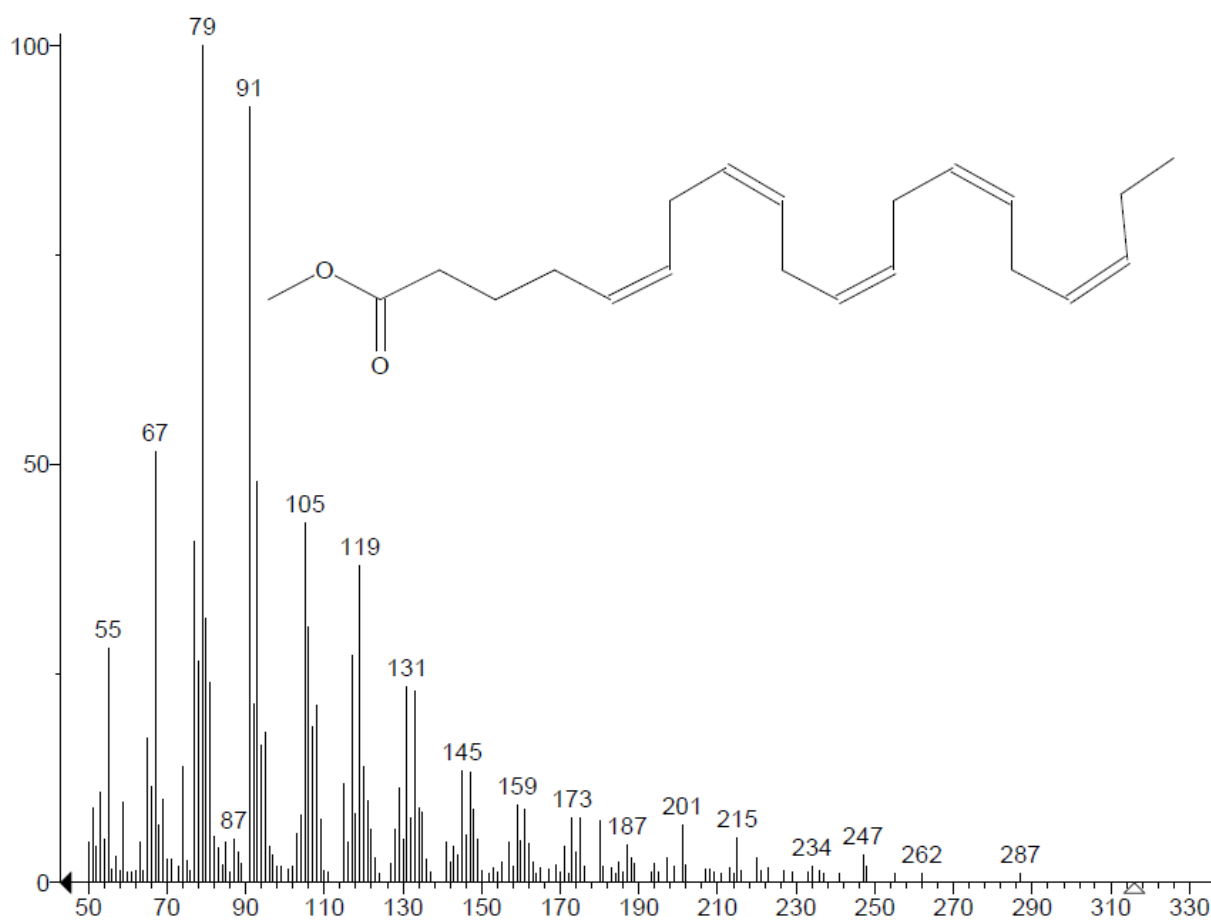
Εικόνα Γ.3.2. Φασματοσκοπικό προφίλ μάζας του αραχιδονικού οξέος.

Γ.4) C₂₀:5n₃ (Εικοσιπενταενοϊκό οξύ)

Το Εικοσιπενταενοϊκό οξύ (**Εικόνα Γ.4.1**) περιλαμβάνει 20 άτομα άνθρακα και ο συντακτικός του τύπος είναι C₂₀H₃₀O₂. Στη φασματοσκοπία μάζας το προφίλ που το χαρακτηρίζει φαίνεται στην **εικόνα Γ.4.2**.



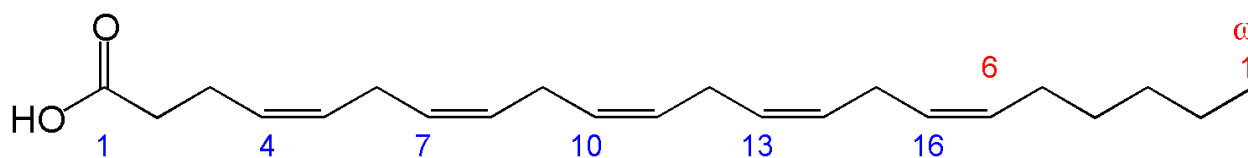
Εικόνα Γ.4.1. Σκελετική δομή του εικοσιπενταενοϊκού οξέος.



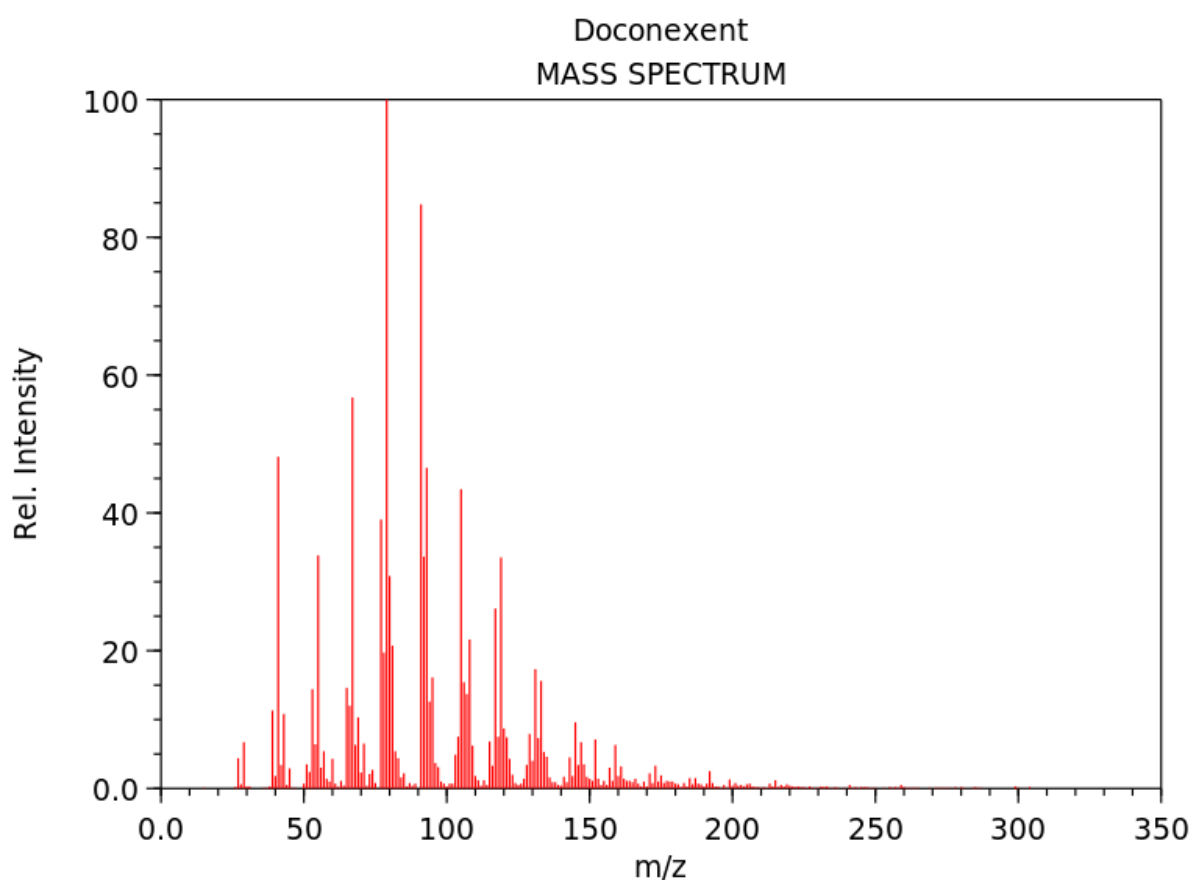
Εικόνα Γ.4.2. Φασματοσκοπικό προφίλ μάζας του εικοσιπενταενοϊκού οξέος.

Γ.5) C₂₂:5n3 (Εικοσιδυοπενταενοϊκό οξύ)

Το Εικοσιπενταενοϊκό οξύ (**Εικόνα Γ.5.1**) περιλαμβάνει 22 άτομα άνθρακα και ο συντακτικός του τύπος είναι C₂₂H₃₄O₂. Στη φασματοσκοπία μάζας το προφίλ που το χαρακτηρίζει φαίνεται στην **εικόνα Γ.5.2**.



Εικόνα Γ.5.1. Σκελετική δομή του εικοσιδυοπενταενοϊκού οξέος.

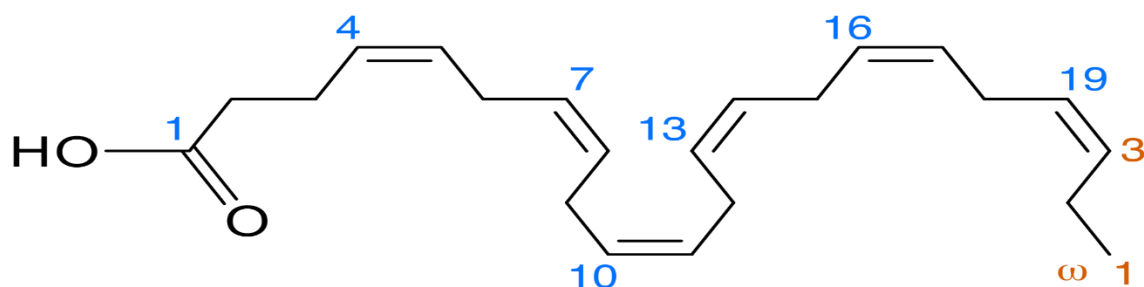


NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

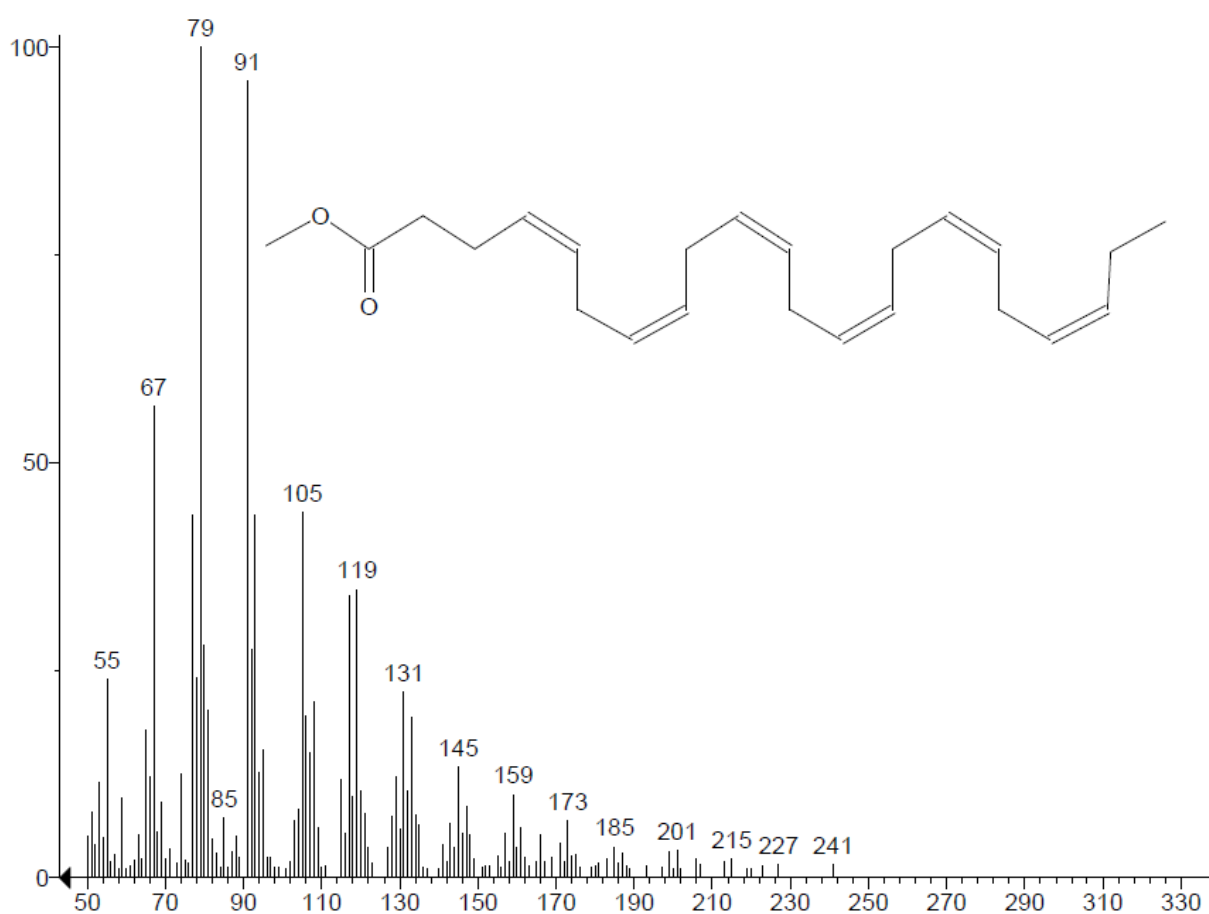
Εικόνα Γ.5.2. Φασματοσκοπικό προφίλ μάζας του εικοσιδυοπενταενοϊκού οξέος.

Γ.6) C₂₂:6n₃ (Εικοσιδυοεξαενοϊκό οξύ)

Το Εικοσιπενταενοϊκό οξύ (Εικόνα Γ.5.1) περιλαμβάνει 22 άτομα άνθρακα και ο συντακτικός του τύπος είναι C₂₂H₃₂O₂. Στη φασματοσκοπία μάζας το προφίλ που το χαρακτηρίζει φαίνεται στην εικόνα Γ.5.2.

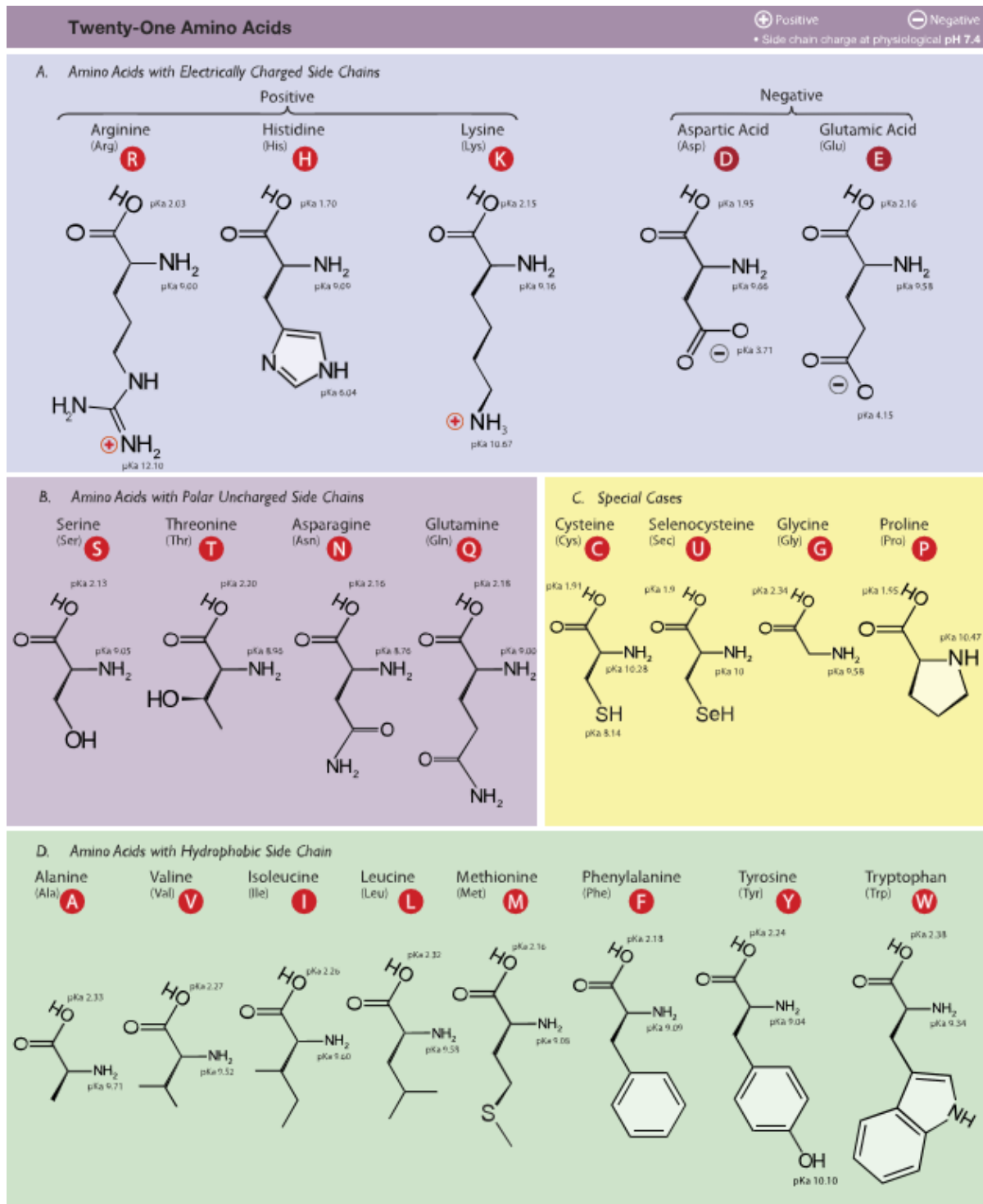


Εικόνα Γ.6.1. Σκελετική δομή του εικοσιδυοεξαενοϊκού οξέος.



Εικόνα Γ.6.2. Φασματοσκοπικό προφίλ μάζας του εικοσιδυοεξαενοϊκού οξέος.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β ΑΜΙΝΟΞΕΑ – ΣΚΕΛΕΤΙΚΕΣ ΔΟΜΕΣ



Εικόνα 1. Τα 21 αμινοξέα που απαντώνται σε ευκαριωτικούς οργανισμούς, ομαδοποιημένα με βάση την πλευρική τους ομάδα, τις τιμές pKa και το φορτίο τους σε pH=7,4 (Dan Cojocari, 2016)