

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου

Εργαστήριο Μηχανικής και Επεξεργασίας Τροφίμων

ΠΜΣ « Επιστήμη και Τεχνολογία Τροφίμων και Διατροφή του Ανθρώπου »

Μεταπτυχιακή Διατριβή

Μελέτη νανοκρυστάλλων αμύλου επεξεργασμένων με υπερυψηλή πίεση ομογενοποίησης και επίδραση στη σταθερότητα γαλακτωμάτων (pickering emulsions)

Ευτύχιος Ι. Αποστολίδης

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια: Ιωάννα Μαντάλα

Αθήνα, 2018

Μεταπτυχιακή Διατριβή

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου

Εργαστήριο Μηχανικής και Επεξεργασίας Τροφίμων

ΠΜΣ « Επιστήμη και Τεχνολογία Τροφίμων και Διατροφή του Ανθρώπου »

Μεταπτυχιακή Διατριβή

Μελέτη νανοκρυστάλλων αμύλου επεξεργασμένων με υπερυψηλή πίεση ομογενοποίησης και επίδραση στη σταθερότητα γαλακτωμάτων (pickering emulsions)

Ευτύχιος Ι. Αποστολίδης

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια: Ιωάννα Μαντάλα

Αθήνα, 2018

Μεταπτυχιακή Διατριβή

Μεταπτυχιακή Διατριβή

Μελέτη νανοκρυστάλλων αμύλου επεξεργασμένων με υπερυψηλή πίεση ομογενοποίησης και επίδραση στη σταθερότητα γαλακτωμάτων (pickering emulsions)

Ευτύχιος Ι. Αποστολίδης

Επιβλέπουσα

Ιωάννα Μαντάλα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Εξεταστική Επιτροπή

Ιωάννα Μαντάλα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Νικόλαος Στοφόρος, Καθηγητής, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Ευαγγελίου Βασιλική, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Αθήνα, 2018

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το άμυλο είναι ένα ιδιαίτερα πολύτιμο υλικό με ποικίλες εφαρμογές στη βιομηχανία τροφίμων, συμπεριλαμβανομένης της παραγωγής γαλακτωμάτων. Το ανθεκτικό άμυλο, θεωρείται το πλέον κατάλληλο υλικό λόγω των ιδιοτήτων του και των ευεργετικών του δράσεων στον ανθρώπινο οργανισμό. Η τεχνολογία υπερυψηλής πίεσης ομογενοποίησης εγείρει το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας, ως μια νέα φυσική μέθοδος για τη μελέτη αμύλων. Σκοπός της παρούσας Μεταπτυχιακής Διατριβής είναι η φυσική τροποποίηση του μεγέθους των κόκκων αμύλου, με χρήση υπερυψηλής πίεσης ομογενοποίησης (HPH) της τάξης των 140 MPa, 200 MPa και 250 MPa, για την παρασκευή σταθερών γαλακτωμάτων (pickering emulsions). Ειδικότερα, η έρευνα εστιάστηκε στην επίδραση της τεχνικής HPH στις ιδιότητες των κόκκων αμύλου, συμπεριλαμβανομένων του μεγέθους, της δομής, της κρυσταλλικότητας, της διαλυτότητας και του βαθμού διόγκωσης. Με τη μέθοδο δυναμικής σκέδασης φωτός (DLS), παρατηρήθηκε ότι, τόσο η αύξηση της πίεσης, όσο και η κατεργασία σε περισσότερους κύκλους ομογενοποίησης επιφέρουν στατιστικά σημαντική μείωση του μεγέθους των κόκκων του δείγματος αμύλου, με τον παράγοντα πίεση να επιδρά περισσότερο. Επιπλέον, με τη χρήση ηλεκτρονικού μικροσκοπίου (SEM), διαπιστώθηκε πως η αύξηση της πίεσης και των κύκλων ομογενοποίησης επιδρά τόσο στη μείωση του μεγέθους όσο και στη μορφολογία των κόκκων. Από τη μελέτη της κρυσταλλικότητας (XRD), παρατηρήθηκε θετική γραμμική συσχέτιση μεταξύ του μεγέθους των κόκκων αμύλου και της κρυσταλλικότητάς τους. Επιπροσθέτως, με την αύξηση της πίεσης ομογενοποίησης, παρατηρήθηκε αύξηση της διαλυτότητας και του βαθμού διόγκωσης. Τέλος, παρόλο που δεν επετεύχθη σταθερότητα του γαλακτώματος στα πλαίσια του πειραματικού μας πρωτοκόλλου, τα προκαταρκτικά αποτελέσματα κρίνονται ενθαρρυντικά για την περαιτέρω μελέτη της δράσης του φυσικά τροποποιημένου αμύλου ως σταθεροποιητή.

Λέξεις Κλειδιά: Ανθεκτικό άμυλο, υπερυψηλή πίεση ομογενοποίησης, νανοσωματίδια, μορφολογία, κρυσταλλικότητα, γαλάκτωμα

Modification of starch nanocrystals using High Pressure Homogenization treatment and the effect on the stability of emulsions (pickering emulsions)

ABSTRACT

Starch is an important material in the food industry, used in various applications in foods, including the production of emulsions. Resistant starch is considered to be of great value, due to its properties and its beneficial effect on human health. High pressure homogenization technology (HPH), invokes great interest in the scientific community as a novel natural method for the modification of starches. The aim of this study is the natural modification of starch granules' size subjected to high pressure homogenization treatment at 140 MPa, 200 MPa and 250 MPa, in order to produce pickering emulsions. In particular, we investigated the properties and structural changes of starch granules, including size, structure, crystallinity, solubility and degree of swelling, after high pressure homogenization. Dynamic Light Scattering measurements of particle size demonstrated a statistically significant decrease in starch granule size, with increasing HPH pressure and cycles. Electron microscopy studies showed that the size of starch granules decreased with increasing HPH pressure and homogenization cycles, while the morphology of the grains was also affected. X-ray diffraction patterns showed that there was an evident decrease in crystallinity after an increase in HPH pressure and cycles. Furthermore, an increase in solubility and degree of swelling was observed, with an increase in homogenization pressure. Finally, although the emulsions were not effectively stabilized by starch nanocrystals, our results provide the basic information on the properties of modified resistant starch treated at different pressures and indicate the potential emulsifying ability of physically modified starch nanocrystals.

Keywords: Resistant starch, High Pressure Homogenization, nanocrystals, granule size, morphology, crystallinity, pickering emulsions

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η Μεταπτυχιακή αυτή Διατριβή εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Μηχανικής του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, και ως εκ τούτου, επιθυμώ να εκφράσω τις θερμότερες ευχαριστίες μου στους ανθρώπους που συνετέλεσαν στην υλοποίησή της.

Σαν ελάχιστο δείγμα εκτίμησης και ευγνωμοσύνης, πρώτα από όλους, θα ήθελα να ευχαριστήσω την κα. Ιωάννα Μαντάλα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών και επιβλέπουσα της διατριβής αυτής, για τη συνεχή καθοδήγηση και την έμπρακτη υποστήριξή της, καθώς και για τη συμβολή της στο σχεδιασμό και στη διεξαγωγή των πειραμάτων και την άριστη συνεργασία μας, λειτουργώντας ως προσωπικός μέντοράς μου σε όλη αυτή την προσπάθεια. Οι πολύτιμες συμβουλές και η σωστή καθοδήγηση διαδραμάτισαν καιρίο ρόλο στην υλοποίηση του έργου μου και αποτέλεσαν πηγή έμπνευσης για την μετέπειτα πορεία μου.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω αμφότερους την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Βασιλική Ευαγγελίου και τον Καθηγητή Νικόλαο Στοφόρο, τόσο για την συμμετοχή τους στην τριμελή επιτροπή, καθώς και για τις πολύτιμες συμβουλές και γνώσεις που μου μεταλαμπάδευσαν καθ'όλη την διάρκεια των Μεταπτυχιακών μου σπουδών.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον κ. Εμμανουήλ Αναγνωσταρά για την άριστη συνεργασία στο χώρο του εργαστηρίου και για τη βοήθειά του στην επίλυση σοβαρών τεχνικών ζητημάτων κατά την εκτέλεση των πειραμάτων.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στην οικογένειά μου, που με ανιδιοτελή και ουσιαστικό τρόπο στάθηκαν δίπλα μου και κατέστησαν δυνατή την επίτευξη αυτού του στόχου.

Πίνακας περιεχομένων

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	6
1.1 ΣΚΟΠΟΣ.....	6
1.2 ΑΜΥΛΟ	6
1.3 ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΑΜΥΛΟΥ.....	12
1.4 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΑΜΥΛΟΥ ΩΣ ΠΡΕΒΙΟΤΙΚΟ.....	19
1.5 ΑΝΘΕΚΤΙΚΟ ΑΜΥΛΟ	21
1.6 ΚΡΥΣΤΑΛΛΙΚΟΤΗΤΑ ΑΜΥΛΟΥ	24
1.7 ΥΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΣΗΣ (High Pressure Homogenization, HPH)	27
1.8 ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΑ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ ΑΜΥΛΟΥ ΣΕ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΑ	31
2. ΚΥΡΙΟ ΜΕΡΟΣ.....	32
2.1 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	32
2.1.1 ΔΕΙΓΜΑ.....	32
2.1.2 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΥΓΡΑΣΙΑΣ.....	32
2.1.3 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΜΕΓΕΘΟΥΣ	34
2.1.4 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΚΟΚΚΩΝ ΑΜΥΛΟΥ ΜΕ ΟΠΤΙΚΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ.....	36
2.1.5 ΥΠΕΡΥΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΣΗΣ.....	37
2.1.6 ΕΞΑΤΜΙΣΗ ΝΕΡΟΥ ΜΕΣΩ ΠΕΡΙΣΤΡΟΦΙΚΟΥ ΕΞΑΤΜΙΣΤΗΡΑ (ROTATION EVAPORATE)	42
2.1.7 ΛΥΟΦΙΛΙΩΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΑΜΥΛΟΥ	43
2.1.8 ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ ΤΗΣ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑΣ ΤΟΥ ΑΜΥΛΟΥ ΜΕ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ (SEM)	45
2.1.9 ΜΕΛΕΤΗ ΚΡΥΣΤΑΛΛΙΚΟΤΗΤΑΣ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΙΚΗ ΠΕΡΙΘΛΑΣΕΩΣ ΑΚΤΙΝΩΝ Χ (XRD)	47
2.1.10 ΜΕΛΕΤΗ ΔΙΑΛΥΤΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΒΑΘΜΟΥ ΔΙΟΓΚΩΣΗΣ ΚΑΙ ΠΡΟΣΛΗΨΗΣ ΝΕΡΟΥ.....	49
2.1.11 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΡΥΘΜΟΥ ΚΑΤΑΒΥΘΙΣΗΣ ΑΜΥΛΟΥ	51
2.1.12 ΜΕΛΕΤΗ ΡΕΟΛΟΓΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ	52
2.1.13 ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΘΕΡΜΙΔΟΜΕΤΡΙΑ ΣΑΡΩΣΗΣ (DSC)	53
2.1.14 ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΩΝ	53
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	54
3.1 ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	54
3.1.1 ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΤΩΝ ΚΟΚΚΩΝ ΜΕ ΤΕΧΝΙΚΗ DLS	54
3.1.2 ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΑΚΑΤΕΡΓΑΣΤΩΝ ΚΟΚΚΩΝ ΑΜΥΛΟΥ	66
3.1.3 ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΤΩΝ ΚΟΚΚΩΝ ΜΕ ΟΠΤΙΚΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ.....	68

3.1.4	ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑΣ ΚΟΚΚΩΝ (SEM)	73
3.2	ΜΕΛΕΤΗ ΚΡΥΣΤΑΛΛΙΚΟΤΗΑΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΑΜΥΛΟΥ	77
3.3	ΙΔΙΟΤΗΤΗΤΕΣ ΖΕΛΑΤΙΝΟΠΟΙΗΣΗΣ ΑΚΑΤΕΡΓΑΣΤΟΥ ΚΑΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΜΕΝΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΑΜΥΛΟΥ ΜΕ ΥΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΣΗΣ (DSC).....	82
3.4	ΔΙΑΛΥΤΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΒΑΘΜΟΣ ΔΙΟΓΚΩΣΗΣ ΤΩΝ ΚΟΚΚΩΝ.....	84
3.5	ΜΕΛΕΤΗ ΚΑΤΑΒΥΘΙΣΗΣ ΚΟΚΚΩΝ.....	85
3.6	ΜΕΛΕΤΗ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΩΝ	87
4.	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	90
5.	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	92
6.	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	104
6.1	ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΥΓΡΑΣΙΑΣ ΑΚΑΤΕΡΓΑΣΤΟΥ ΑΜΥΛΟΥ.....	104
6.2	ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΞΩΔΟΥΣ ΕΝΑΙΩΡΗΜΑΤΟΣ ΑΜΥΛΟΥ.....	104

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της Μεταπτυχιακής Διατριβής είναι η μελέτη ναοκρυστάλλων αμύλου, οι οποίοι έχουν υποστεί μηχανική επεξεργασία με χρήση υπερυψηλής πίεσης ομογενοποίησης (HPH). Παράλληλα, θα μελετηθεί η παρασκευή σταθερών γαλακτωμάτων, χρησιμοποιώντας τα φυσικώς τροποποιημένα ναοσωματιδία ως σταθεροποιητή (pickering emulsions). Ειδικότερα, η έρευνα θα εστιαστεί στην επίδραση της τεχνικής HPH στις ιδιότητες των κόκκων αμύλου, συμπεριλαμβανομένων του μεγέθους, της δομής, της κρυσταλλικότητας, της διαλυτότητας και του βαθμού διόγκωσης, προκειμένου να διασφαλιστεί η παραγωγή ενός γαλακτώματος, το οποίο θα διατηρείται σταθερό με χρήση φυσικών μέσων, απαλλαγμένο από πάσης φύσεως χημικά πρόσθετα. Οι φυσικές μέθοδοι προτιμώνται από την βιομηχανία τροφίμων, καθώς διασφαλίζουν τη διατήρηση της σύστασης, των απαλλαγμένων από χημικά πρόσθετα τροφίμων. Τα υπό μελέτη ναοσωματιδία αμύλου θα προκύψουν με χρήση φυσικής μεθόδου επεξεργασίας, ώστε να αποτελέσουν χρήσιμο εργαλείο στη βιομηχανία τροφίμων.

1.2 ΑΜΥΛΟ

Ιστορικά, η χρήση αμύλου έχει τις ρίζες της σε λαούς που δραστηριοποιήθηκαν πριν χιλιετίες. Χαρακτηριστικά, το άμυλο χρησιμοποιούνταν από τους αρχαίους Αιγύπτιους (4000 π.Χ.) και αργότερα από τους Ρωμαίους ως κόλλα. Ιστορικές αναφορές περιγράφουν λωρίδες Αιγυπτιακού παπύρου κολλημένες μεταξύ τους με μία κόλλα αμύλου, ενώ οι αρχαίοι Έλληνες το χρησιμοποιούσαν σε ιατρικές πρακτικές (Tester and Karkalas, 2001). Μεταγενέστερα, αναφορές που χρονολογούνται περί το έτος 312 μ.Χ., περιγράφουν μεθόδους επεξεργασίας κινέζικων εγγράφων, οι οποίες περιελάμβαναν επικάλυψη του χαρτιού με άμυλο υψηλής ρευστότητας για την αύξηση αντοχής στην διείσδυση μελάνης, καθώς και την ακόλουθη επάλειψη με κονιοποιημένο άμυλο, ώστε να επιτευχθεί το κατάλληλο πάχος (BeMiller, J. N., & Whistler, R. L. (Eds.). (2009a)). Στην Ευρώπη, το άμυλο έγινε ευρέως διαδεδομένο τον 14^ο αιώνα, λόγω της χρήσης του στην κλωστοϋφαντουργία. Αναφέρεται η χρήση του στην ενίσχυση λινών υφασμάτων, ενώ στην συνέχεια υιοθετήθηκε και για την παρασκευή καλλυντικών (Tester and Karkalas, 2001). Πρόκειται για μερικά μόνο από τα ιστορικά στοιχεία που

υποδεικνύουν την σημασία του αμύλου, τις πολλαπλές χρήσεις του, καθώς και την πολυδιάστατη φύση του ως υλικό.

Στις μέρες μας, σε διεθνές επίπεδο, το άμυλο εξακολουθεί να καλύπτει ένα ευρύ φάσμα εφαρμογών (Πίνακας 1), όντας το φθηνότερο βιοπολυμερές, το οποίο είναι παράλληλα και πλήρως βιοαποικοδομήσιμο. Πρόκειται για τους βασικούς παράγοντες που εγείρουν το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας για τις δυνητικές εφαρμογές του αμύλου και εκτός της βιομηχανίας τροφίμων, σε τομείς που παλαιότερα κατεξοχήν χρησιμοποιούνταν συνθετικά πολυμερή (Angellier *et al.*, 2004). Άλλωστε, βελτιώσεις στις ιδιότητες του αμύλου προς βιομηχανική χρήση μπορούν να πραγματοποιηθούν μέσω φυσικοχημικών τροποποιήσεων και μέσω τροποποιήσεων στη βιοσύνθεση του φυτού, είτε κατά το στάδιο της ανάπτυξής του, είτε κατά τη χρήση του, καθιστώντας το ακόμα πιο ελκυστικό υλικό (Ellis *et al.*, 1998). Επιπροσθέτως, για την παραγωγή νέων καινοτόμων υλικών με μοναδικές ή βελτιωμένες εμπορικές λειτουργίες, το άμυλο δύναται να τροποποιηθεί με χρήση διαγονιδιακών τεχνολογιών από ειδικά ένζυμα, που στοχεύουν στη βιοσύνθεση αμύλου (Tester and Karkalas, 2001).

Συγκεκριμένα, στη βιομηχανία χαρτιού η χρήση αμύλου ως μέσο επίστρωσης βελτιώνει την αντοχή του χαρτιού. Επιπλέον, αυξανόμενη είναι και η χρήση του σε χάρτινες συσκευασίες από ανακυκλωμένες ίνες χαρτιού, καθώς η προσθήκη αμύλου επαναφέρει τις φυσικές ιδιότητες της πρόσδεσης των ινών. Εκτός από τη βιομηχανία χαρτιού, στις βιομηχανίες συγκολλητικών υλικών και υφασμάτων γίνεται εκτεταμένη χρήση αμύλου. Συγκεκριμένα, στην παραγωγή υφασμάτων, η χρήση αμύλου επιτυγχάνει καλό φινίρισμα, βοηθά στην εκτύπωση και είναι ένας παράγοντας που επηρεάζει το τελικό μέγεθος του παραγόμενου υφάσματος (Batchelor *et al.*, 1996).

Στη βιομηχανία πλαστικών, το άμυλο αποτελεί σημαντικό παράγοντα. Η πρώτη εμπορική χρήση του αμύλου σε συνδυασμό με πλαστικό αφορούσε την παραγωγή πλαστικής σακούλας με υφή παρόμοια με αυτή του χαρτιού. Οι ιδιότητες διάσπασης-βιοαποικοδόμησης του συγκεκριμένου υλικού, αποτέλεσαν καθοριστικό παράγοντα για τη μετέπειτα εξέλιξή του σε υλικό υψηλής ερευνητικής αξίας. Η ανάπτυξη τέτοιων βιοαποικοδομήσιμων πλαστικών με βάση το άμυλο, συμβάλλει στην άμβλυνση της παγκόσμιας ρύπανσης από τόνους αποβλήτων. Τέλος, στην βιομηχανία πλαστικών το άμυλο χρησιμοποιείται κατά κύριο λόγο για την παραγωγή θερμοανθεκτικών πλαστικών, λόγω των ιδιοτήτων που προσδίδει (Ropper *et al.*, 1993).

Πίνακας 1

Βιομηχανικές χρήσεις αμύλου

Βιομηχανία	Χρήση αμύλου	Πηγή
Συγκολλητικών υλικών	Κόλλες, παραγωγή συγκολλητικών υλικών	(Ellis <i>et al.</i> , 1998)
Αγροχημικά-Φυτοφάρμακα	Επικάλυψη σπόρων, ζιζανιοκτόνα	(Ellis <i>et al.</i> , 1998)
Καλλυντικά	Πούδρες προσώπου, τάλκης (talcum)	(Ellis <i>et al.</i> , 1998)
Απολυμαντικών	Επιφανειοδραστικά, προϊόντα χλωρίνης	(Ellis <i>et al.</i> , 1998)
Τροφίμων	Τροποποιητές ιξώδους, πηκτικοί παράγοντες, παράγοντες γλασαρίσματος, γαλακτώματα, γέλες, είδη αρτοποιίας, αντικαταστάτης λίπους	(Ellis <i>et al.</i> , 1998; Jane <i>et al.</i> , 1992; Li <i>et al.</i> , 2012)
Ιατρικά- Βιοϋλικά	Διατήρηση οργάνων προς μεταμοσχευση, προϊόντα καθαριότητας με απορροφητικές ιδιότητες	(Ellis <i>et al.</i> , 1998)
Εξόρυξη Πετρελαίων	Τροποποιητές ιξώδους	(Ellis <i>et al.</i> , 1998; Batchelor <i>et al.</i> , 1996)
Χαρτιού	Επικάλυψη, μέγεθος, διείσδυση μελανιού, φινίρισμα	(Ellis <i>et al.</i> , 1998; Song <i>et al.</i> , 2011)
Φαρμακευτική	Διαλύτες, κατανομή φαρμάκου, επικάλυψη σφαιρών	(Ellis <i>et al.</i> , 1998), (Batchelor <i>et al.</i> , 1996)
Υφασμάτων	Φινίρισμα, εκτύπωση, μέγεθος	(Tester and Karkalas, 2001), Batchelor <i>et al.</i> , 1996)
Πλαστικών	Βιοαποικοδομήσιμα πρόσθετα, θερμοπλαστικά	(Ellis <i>et al.</i> , 1998; Yang <i>et al.</i> , 2016)
Συσκευασίας	Μέρη συσκευασίας, εδώδιμη μεμβράνη δράση ως φραγμός οξυγόνου και υδρατμών	(Angellier <i>et al.</i> , 2005; García <i>et al.</i> , 2009; Ma <i>et al.</i> , 2008; Bertuzzi <i>et al.</i> , 2012)

Στη βιομηχανία τροφίμων, το άμυλο είναι το πιο κοινό πολυμερές υδατάνθρακα. Πρόκειται για τον πιο άφθονο πολυσακχαρίτη που ανευρίσκεται αποθηκευμένος στα φυτά, υπό τη μορφή κόκκων στους χλωροπλάστες των πράσινων φύλλων και του αμυλοπλάστη των σπόρων και των κονδύλων. Μέσω της διαδικασίας της φωτοσύνθεσης, παράγονται περίπου 2850 εκατομμύρια τόνοι αμύλου ετησίως (Burrell *et al.*, 2003). Ως προς τη χημική σύσταση, το άμυλο είναι ένα πολυμερές γλυκόζης, όπου αποτελείται από την αμυλόζη, ένα γραμμικό μόριο και την αμυλοπηκτίνη, ένα πολύ διακλαδισμένο μόριο (Ellis *et al.*, 1998). Η αναλυτική περιγραφή της χημικής σύστασης του αμύλου παρατίθεται σε μετέπειτα κεφάλαιο της υπό εκπόνηση μεταπτυχιακής διατριβής.

Παράλληλα, έχει αναφερθεί η εκτεταμένη χρήση τροποποιημένου αμύλου με ενισχυμένες και βελτιωμένες ιδιότητες. Η τροποποίηση επιτρέπει στο άμυλο να διατηρεί την επιθυμητή εμφάνιση και υφή, παρά τις καταπονήσεις που δέχεται το τρόφιμο κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας και της διανομής τροφίμων, αλλά και να επεκτείνει το εύρος των χρήσεων του αμύλου στα τρόφιμα. Τα οφέλη όμως που επιτυγχάνονται από την τροποποίηση του αμύλου είναι η διατήρηση φρέσκιας εμφάνισης, η καθαρή και απαλή υφή, ενώ παραμένουν αναλλοίωτες οι ιδιότητες του τροφίμου για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα. Επιπροσθέτως, το άμυλο τροποποιείται για να καταστεί πιο εύκολη η δυνατότητα επεξεργασίας του, όπως με τη μείωση της θερμοκρασίας ζελατινοποίησης ή τη μείωση του ιξώδους. Ακόμα, η τροποποίηση στοχεύει στη βελτίωση ενός ευρέως φάσματος λειτουργιών, συμπεριλαμβανομένου του σχηματισμού μεμβράνης, της αίσθησης του τροφίμου στο στόμα, καθώς επίσης και της γαλακτωματοποίησης (BeMiller, J. N., & Whistler, R. L. (Eds.). (2009b)).

Σημαντικό είναι να αναφερθεί, πως το άμυλο εκτός από κύριος μεταβολίτης των φυτών, αποτελεί την κύρια πηγή ενέργειας για το ανθρώπινο σώμα, καθώς το 50-70% της ενέργειας στην ανθρώπινη διατροφή προέρχεται από αμυλούχες τροφές. Συγκεκριμένα, το άμυλο αποτελεί μία άμεση πηγή γλυκόζης, η οποία είναι βασικό υπόστρωμα του εγκεφάλου και των ερυθρών αιμοσφαιρίων για την παραγωγή μεταβολικής ενέργειας. Καθημερινά καταναλώνονται τρόφιμα που περιέχουν άμυλο, καθώς οι υδατάνθρακες αποτελούν κύριο συστατικό πολλών τροφίμων, όπως τα δημητριακά, τα όσπρια και τα μη ώριμα φρούτα αποτελώντας το 40 έως 80 % της ξηρής τους μάζας και είναι αναγκαίοι για την τέλεση των φυσιολογικών λειτουργιών του ανθρώπινου σώματος (Copeland *et al.*, 2009; Gonzalez-Soto *et al.*, 2006; Homayouni *et al.*, 2014).

Η παγκόσμια αγορά για την βιομηχανική παραγωγή αμύλου καλύπτεται από περιορισμένο φάσμα καλλιεργειών, όπως είναι ο αραβόσιτος (νισεστέ, γλυκόζη) (82%), οι πατάτες (5%), το σιτάρι (8%) και η ταπιόκα (5%) (Batchelor *et al.*, 1996; Angellier *et al.*, 2004). Συνοπτικά, στον Πίνακα 2 παρουσιάζονται οι κύριες χρήσεις και λειτουργίες του αμύλου στα τρόφιμα. Όσον αφορά στη βιομηχανία τροφίμων, το άμυλο είναι ένα ευρέως διαδεδομένο προϊόν, το οποίο χρησιμοποιείται για την παρασκευή ποικίλων τροφίμων, όπως είναι το ψωμί, τα μπισκότα καθώς και άλλα είδη αρτοποιίας. Πιο αναλυτικά, τα τρόφιμα αρτοποιίας είναι πλούσια σε άμυλο και περιέχουν ποσότητες αμύλων που διακρίνονται σε: ταχέως εύπεπτο άμυλο (Rapidly Digestible Starch, RDS), βραδέως εύπεπτο άμυλο (Slowly Digestible Starch, SDS) και ανθεκτικό άμυλο (Resistant Starch, RS) (Giuberti *et al.*, 2016).

Η κατηγοριοποίηση αυτή, αποτελεί μία νέα προσέγγιση, καθώς μέχρι πρόσφατα το άμυλο θεωρούνταν διαθέσιμος υδατάνθρακας, που πέπτονταν πλήρως και απορροφούνταν στο λεπτό έντερο. Σύμφωνα με την ενζυμική υδρόλυση, κατά τη διαδικασία της πέψης το διαιτητικό άμυλο μπορεί να ταξινομηθεί περαιτέρω σε ταχέως εύπεπτο άμυλο (RDS), βραδέως εύπεπτο άμυλο (SDS) και σε ανθεκτικό άμυλο (RS) (Englyst *et al.*, 1992). Τα κλάσματα αμύλου βραδέως εύπεπτου (SDS) και ανθεκτικού (RS) έχουν σημαντικές επιδράσεις στην ανθρώπινη υγεία. Συγκεκριμένα, το ταχέως εύπεπτο άμυλο (RDS) χαρακτηρίζεται από τη δυνατότητα να πέπτεται ταχέως στο γαστρεντερικό σωλήνα και συσχετίζεται με αύξηση του σακχάρου στον άνθρωπο (Giuberti *et al.*, 2016). Αναλυτικότερα, υψηλή περιεκτικότητα RDS σε τρόφιμα έχει συσχετιστεί με μετα-γευματική υπεργλυκαιμία και παχυσαρκία. Το βραδέως εύπεπτο άμυλο (SDS) είναι ο τύπος αμύλου που πέπτεται πλήρως αλλά με βραδύτερο ρυθμό και συμβάλει στη διατήρηση των επιπέδων γλυκόζης στο πλάσμα (Zhong *et al.*, 2018). Σύμφωνα με μελέτες, η κατανάλωση γευμάτων πλούσιων σε άμυλο τύπου SDS δεν συνδέεται με μετα-γευματική υπεργλυκαιμία και υπερινσουλιναϊκές εξάρσεις, σε αντίθεση με τροφές πλούσιες σε άμυλο τύπου RDS (Lehman *et al.*, 2007). Επιπλέον, σύμφωνα με νεότερες μελέτες, έχει ταυτοποιηθεί κλάσμα αμύλου ανθεκτικό στην ενζυμική πέψη. Λόγος γίνεται για το ανθεκτικό άμυλο (RS), όπως έχει χαρακτηριστεί, το οποίο περνάει κατά μήκος του λεπτού εντέρου και ζυμώνεται τελικά στο παχύ έντερο, από τη μικροχλωρίδα του παχέος εντέρου (Gonzales *et al.*, 2006; Giuberti *et al.*, 2016).

Καθίσταται επομένως σαφές, πως το ανθεκτικό άμυλο διαθέτει ιδιαίτερα ευεργετικές ιδιότητες, καθώς η κατανάλωσή του μπορεί να μειώσει τα επίπεδα

γλυκόζης στο ανθρώπινο σώμα (Zhong *et al.*, 2018). Επιπλέον, σύμφωνα με τους Birt *et al.* (2013), το RS έχει συσχετιστεί με μειωμένη πιθανότητα εμφάνισης ορθοκολικού καρκίνου, με μείωση των επιπέδων της χοληστερόλης και των τριγλυκεριδίων στο πλάσμα, ενώ παράλληλα έχει χαρακτηριστεί ως πρεβιοτικό, το οποίο προάγει την ανάπτυξη της φυσιολογικής μικροχλωρίδας του εντέρου. Ως εκ τούτου, οι ισχύουσες διαιτητικές κατευθυντήριες οδηγίες προτείνουν μείωση της κατανάλωσης RDS, ενώ παράλληλα συστήνεται η κατανάλωση αμυλούχων τροφίμων από RS (EFSA 2012).

Πίνακας 2

Ορόλοστουαμύλουσεδιάφορα συστήματα τροφίμων

Λειτουργία	Τρόφιμα
Προσκόλληση (adhesion)	Παναρισμένα τρόφιμα
Πρόσδεση (binding)	Αλλαντικά, καρυκεύματα
Θολότητα	Ποτά
Τραγανότητα	Τηγανητά και ψημένα τρόφιμα, πρόχειρο γεύμα (σνακ)
Πασπάλισμα (dusting)	Τσίχλες, προϊόντα αρτοποιίας
Σταθεροποίηση γαλακτωμάτων	Ποτά, κρέμες
Φορέας ενθυλάκωσης	Γεύσης, αρώματος
Επέκταση (expansion)	Πρόχειρα γεύματα (σνακ), δημητριακά
Αντικατάσταση λίπους	Παγωτά, σάλτσες για σαλάτες, αλοιφές
Σταθεροποίηση αφρού	Ζαχαρωτά (marshmallows)
Πήκτωμα (gelling)	Σταγόνες κόμμεως, κέντρο από ζελεδάκια (jelly gum center)
Στίλβωμα (glazing)	Είδη αρτοποιίας, πρόχειρα γεύματα (σνακ)
Κατακράτηση υγρασίας	Κέικ, κρέατα
Πηκτικός παράγοντας (thickening)	Σάλτσες, πίτες, σούπες

Πηγή: BeMiller, J. N., & Whistler, R. L. (Eds.). (2009c)

1.3 ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΑΜΥΛΟΥ

Οι κατηγορίες αμύλου που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία σε μια μεγάλη σειρά προϊόντων απομονώνονται από την πρώτη ύλη του εκάστοτε φυτού (Ellis *et al.*, 1998). Το άμυλο εμφανίζεται στα φυτά πυκνό, υπό την μορφή κόκκων αδιάλυτων στο νερό, ενώ το μέγεθος και το σχήμα διαφέρουν ανάλογα με την ποικιλία, όπως παρουσιάζεται στον Πίνακα 3, με ένα εύρος διαστάσεων που κυμαίνεται από 1 έως 100 μm. Οι ακατέργαστοι κόκκοι αμύλου αποτελούνται κυρίως από αμυλόζη και αμυλοπηκτίνη. Η πιο σημαντική ιδιότητα που καθορίζει τη λειτουργικότητα του αμύλου είναι η αναλογία αμυλόζης προς αμυλοπηκτίνη (AM/AP) (Εικόνα 1). Το πεδίο ενδιαφέροντός μας, οι κόκκοι ανθεκτικού αμύλου υψηλής αμυλόζης (High Amylose, HA) από αραβόσιπο, εμφανίζουν ετερογενή σχήματα, που αποτελούνται από συσσωματώματα με αυξημένο μέγεθος, σφαιρικούς, πολυέδρους και επιμήκεις κόκκους (Kim *et al.*, 2005; Wei *et al.*, 2010). Το άμυλο τύπου HA με ετερογενείς κόκκους, παρουσιάζει σημαντικές φυσικοχημικές διαφορές στις ιδιότητες του, σε σχέση με το ακατέργαστο άμυλο (Li *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2005).

Πίνακας 3

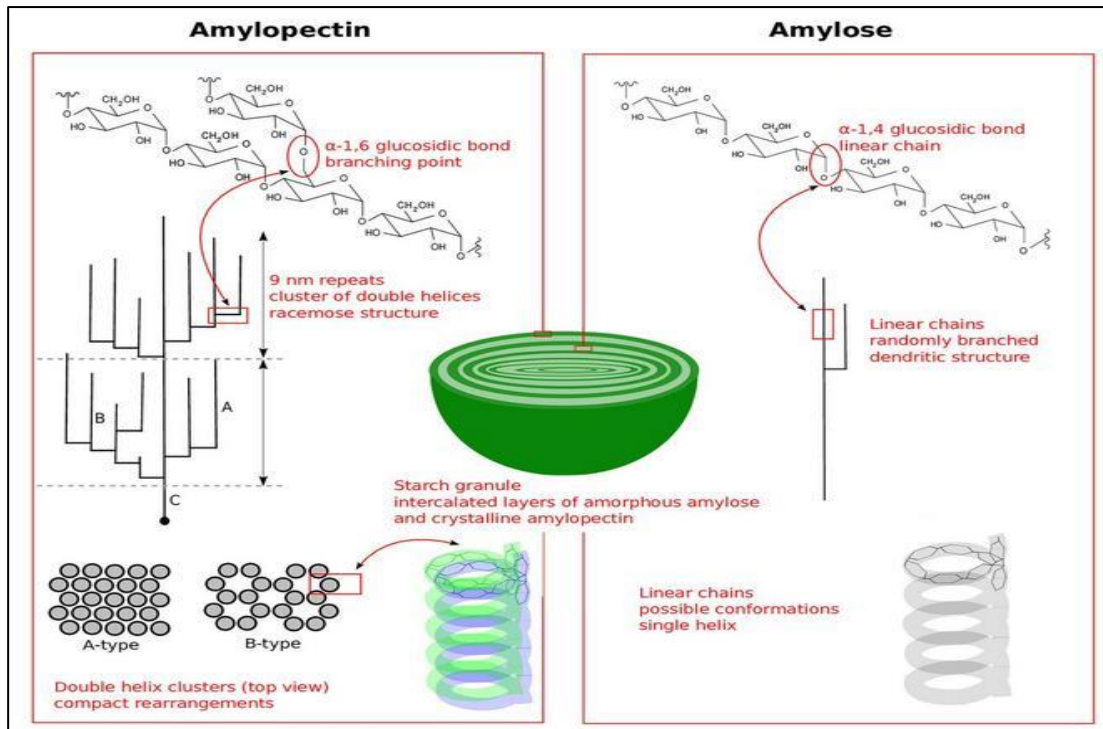
Χαρακτηριστικά κόκκων αμύλου διαφορετικών βοτανικών προελεύσεων

Άμυλο	Τύπος	Σχήμα	Κατανομή	Μέγεθος (μm)
Κριθαριού	Δημητριακό	Φακοειδής (Lenticular) (A-TYPE), Σφαιρικό (B-Type)	Δίτιμη	15-25
Αραβόσιπος (waxy, normal)	Δημητριακό	Σφαιρικό/Πολύεδρο	Μονοκόρυφη	2-30
Αραβόσιτος HA	Δημητριακό	Ακανόνιστο	Μονοκόρυφη	2-30
Κεχρί (millet)	Δημητριακό	Πολύεδρο	Μονοκόρυφη	4-12
Βρώμης	Δημητριακό	Πολύεδρο	Μονοκόρυφη	3-10(μονά) 80(συνδυσασμένα)
Αρακά	Όσπριο	Νεφροειδές (μονό)	Μονοκόρυφη	5-10
Πατάτας	Κόνδυλος	Φακοειδής (lenticular)	Μονοκόρυφη	5-100
Ρυζιού	Δημητριακό	Πολύεδρο	Μονοκόρυφη	3-8(μονά) 150(συνδυσασμένα)
Σίκαλη	Δημητριακό	Φακοειδής(Lenticular) (A-TYPE), Σφαιρικό (B-Type)	Δίτιμη (5-10)	10-40
Σόργο (sorghum)	Δημητριακό	Σφαιρικό	Μονοκόρυφη	5-20
Ταπιόκα	Ρίζα	Σφαιρικό/Φακοειδής	Μονοκόρυφη	5-45
Τριτικάλε	Δημητριακό	Σφαιρικό	Μονοκόρυφη	1-30
Sago	Δημητριακό	Οβάλ	Μονοκόρυφη	20-40
Σιτάρι	Δημητριακό	Φακοειδής (Lenticular) (A-TYPE)	Δίτιμη Σφαιρική (Τύπου B)	15-35 2-10

Πηγή: (Tester *et al.*, 2004)

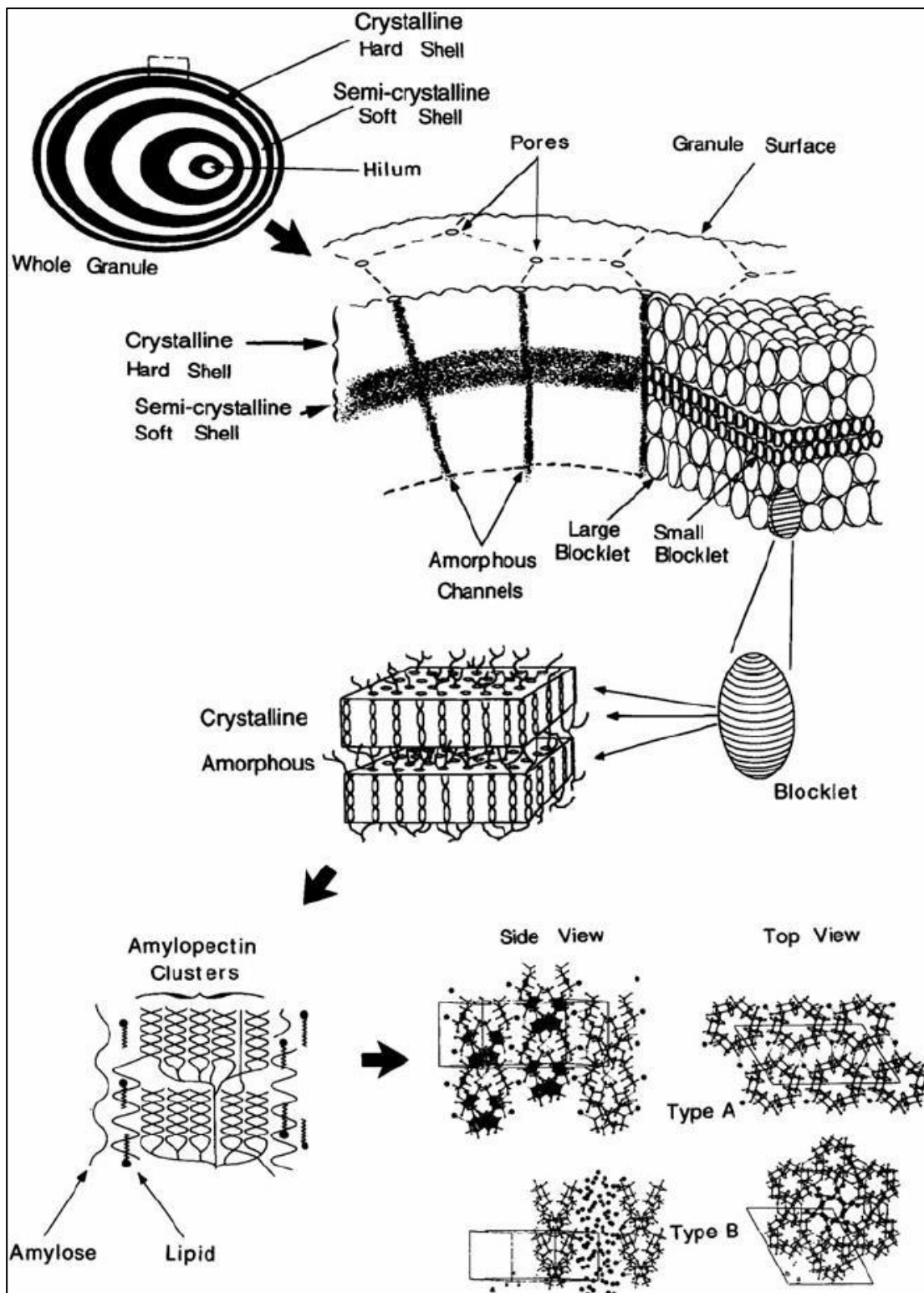
Η αμυλόζη είναι ένα γραμμικό πολυμερές που αποτελείται από πολλά μόρια κυμαίνεται από $10^5 - 10^6$, όπου αντιστοιχεί σε ένα βαθμό πολυμερισμού (DP, Degree of Polymerization) 1000-10000 μονάδων γλυκόζης. Λιγότερο από το 0,5% των μορίων γλυκόζης στην αμυλόζη σχηματίζει $\alpha(1\rightarrow6)$ δεσμούς, με αποτέλεσμα χαμηλό βαθμό διακλάδωσης και δομή αποτελούμενη από 3 έως 11 αλυσίδες με περίπου 200-700 κατάλοιπα γλυκόζης ανά μόριο. Λόγω του χαμηλού βαθμού διακλάδωσης, η διαλυμένη αμυλόζη έχει την τάση να σχηματίζει αδιάλυτα ημικρυσταλλικά συσσωματώματα, ανάλογα με τη θέση των διακλαδώσεων στη δομή (Copeland *et al.*, 2009).

Η αμυλοπηκτική είναι ένα πολύ μεγαλύτερο πολυμερές με μοριακό βάρος. Οι περισσότερες κατηγορίες αμύλου περιέχουν 60-90% αμυλοπηκτίνη, παρόλο που εντοπίζονται και άμυλα τύπου ΗΑ με μόλις 30% αμυλοπηκτίνη, ενώ ευρέως διαδεδομένα είναι και τα κηρώδη άμυλα (Waxy starches) με 100% περιεκτικότητα σε αμυλοπηκτίνη. Ο γλυκοζιτικός δεσμός στην αλυσίδα είναι κυρίως $\alpha(1 \rightarrow 4)$. Όμως, οι γλυκόζες ενός μορίου αμυλοπηκτίνης σχηματίζουν σε ποσοστό 5-6% $\alpha(1\rightarrow6)$ δεσμούς, καθιστώντας την ένα πολυδιακλαδισμένο πολυμερές με δομή σαν δένδρο και σύνθετη μοριακή αρχιτεκτονική, όπου μπορεί να διαφέρει σημαντικά μεταξύ διαφορετικών τύπων αμύλου, όσον αφορά τη θέση και το μήκος των διακλαδώσεων. Κάθε μία από αυτές τις αλυσίδες απαρτίζεται από 10 έως και πάνω από 100 μονάδες γλυκόζης και ανά δύο σχηματίζουν διπλές έλικες, στις οποίες οφείλεται η κρυσταλλικότητα της δομής του αμύλου (Copeland *et al.*, 2009).



Εικόνα 1: Δομή και δομικά συστατικά κόκκων αμύλου: αμυλόζη και αμυλοπηκτίνη
 Πηγή: (Raguin *et al.*, 2017)

Οι κόκκοι αμύλου όταν παρατηρούνται στο οπτικό μικροσκόπιο έχουν μια χαρακτηριστική στρωματοποιημένη δομή, λόγω του χαρακτηριστικού που ονομάζεται «growth rings» (Gallant *et al.*, 1997), όπως φαίνεται στην Εικόνα 2. Η δομή του κόκκου είναι ψευδοκρυσταλλική, δεν υπάρχει δηλαδή μια σαφής επαναλαμβανόμενη συμμετρία αλλά εμφανίζει περισσότερο την μορφή ενός θυσάνου από στενά πλεγμένους έλικες αμυλόζης και μόρια αμυλοπηκτίνης με ένα κεντρικό σημείο έναρξης (hilum). Πρόκειται για το αποτέλεσμα πολλαπλών ομόκεντρων στρώσεων (lamellae) αυξανόμενης διαμέτρου που επεκτείνονται από το κέντρο προς την επιφάνεια των κόκκων (όπως τα στρώματα ενός κρεμμυδιού). Αυτοί οι δακτύλιοι ανάπτυξης αντιπροσωπεύουν την ημερήσια εναπόθεση αμύλου, όπως ορίστηκε αρχικά από τους Robin *et al.*, (1974), συνήθως με βάση τα δεδομένα που προέκυψαν από ενζυμική (αμυλάση) ή χημική (οξύ) επεξεργασία των κόκκων. Οι εναλλασσόμενες κρυσταλλικές και άμορφες στρώσεις (lamellae) οργανώνονται σε μεγαλύτερες σφαιροειδείς δομές, οι οποίες έχουν χαρακτηριστεί ως «πακέτα» (blocklets) με διάμετρο που κυμαίνεται από 20-500 nm, ανάλογα με την βοτανική προέλευση του αμύλου και το που εντοπίζεται στον κόκκο. Τα πακέτα (blocklets) έχουν μια ασύμμετρη δομή με μία αναλογία άξονα 2 ή 3:1 (Tang *et al.*, 2006), ενώ το μέγεθος είναι μικρότερο στις ημικρυσταλλικές στρώσεις από ότι στις κρυσταλλικές.

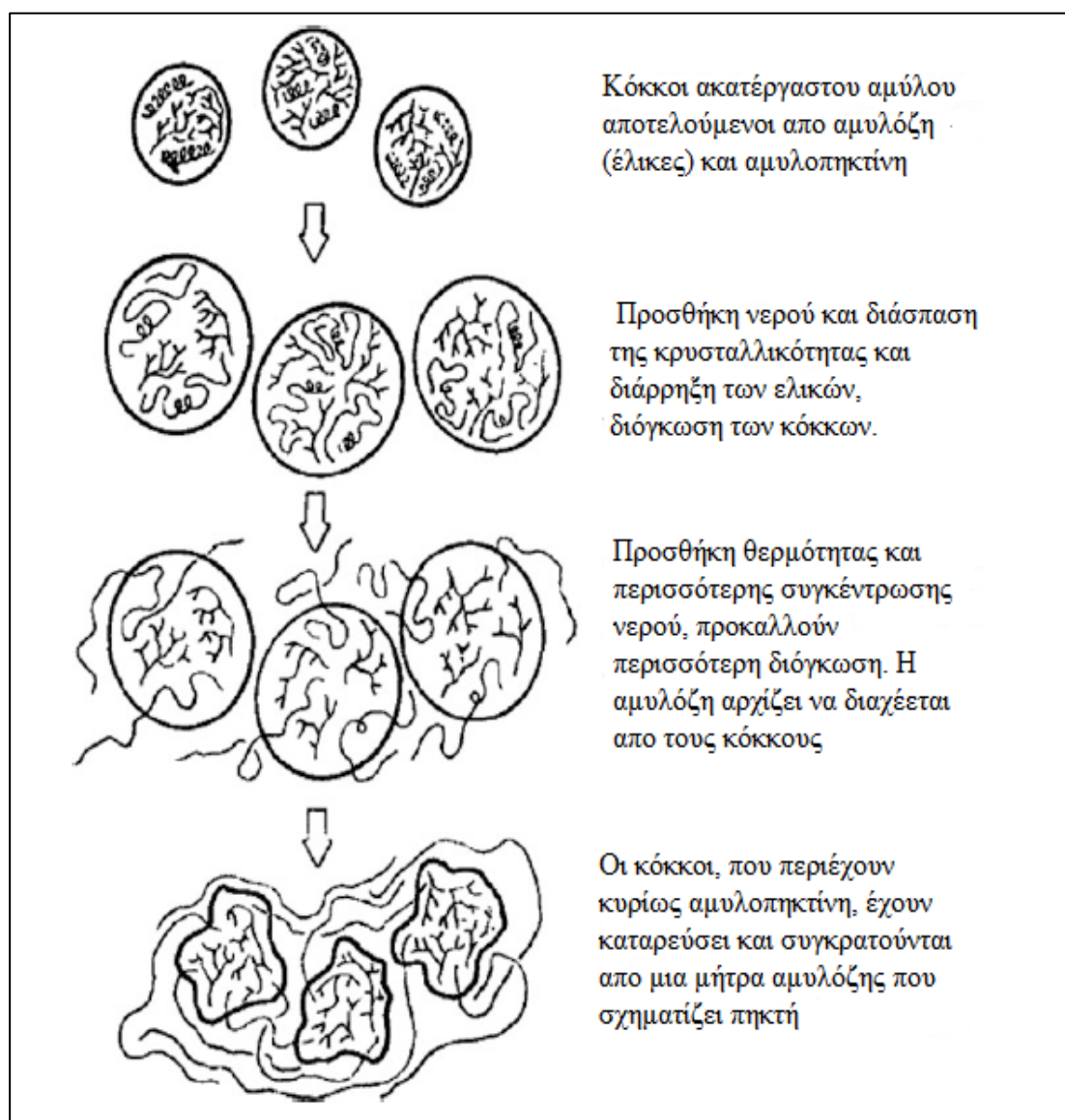


Εικόνα 2: Η δομή των κόκκων του αμύλου
 Πηγή: (Gallant *et al.*, 1997; Imberty *et al* 1988; Imberty and Perez 1988)

Η αμυλόζη και η αμυλοπηκτίνη αποτελούν το 98-99% του ξηρού βάρους των ακατέργαστων κόκκων αμύλου, ενώ το υπόλοιπο μέρος αποτελείται από μικρές ποσότητες λιπιδίων, μεταλλικών ιχνοστοιχείων και φώσφορο υπό μορφή φωσφορικών αλάτων, εστεροποιημένων σε υδροξύλια γλυκόζης (Copeland *et al.*, 2009). Τα επιφανειακά λιπίδια αποτελούνται κυρίως από τριγλυκερίδια, ενώ σε μικρότερες ποσότητες από λιπαρά οξέα, γλυκολιπίδια και φωσφολιπίδια, τα οποία δύναται να εκχυλιστούν με διαουθλαιθέρα. Τα εσωτερικά λιπίδια αμύλων είναι κατά κύριο λόγο μόνο-άκυλο λιπίδια και μπορούν να εκχυλιστούν εν θερμώ με διάλυμα αλκοόλης. Τόσο τα επιφανειακά, όσο και τα εσωτερικά λιπίδια μπορούν να βρίσκονται σε ελεύθερη κατάσταση ενωμένα με ιοντικούς δεσμούς ή δεσμούς υδρογόνου με υδροξυλομάδες, ή συνδεδεμένα υπό μορφή συσσωματωμάτων που εμπεριέχουν αμυλόζη (Morrison *et al.*, 1995). Η περιεκτικότητα λιπιδίων σε άμυλο είναι συσχετισμένη με την περιεκτικότητα αμυλόζης. Όσο μεγαλύτερο το ποσοστό αμυλόζης τόσο υψηλότερα ποσοστά λιπιδίων υπάρχουν (Copeland *et al.*, 2009).

Η αμυλόζη και η αμυλοπηκτίνη έχουν διαφορετικές ιδιότητες. Χαρακτηριστικά, η αμυλόζη παρουσιάζει υψηλή τάση να αναδιατάσσεται και να παράγει σκληρές πηκτές και σκληρές μεμβράνες, ενώ η αμυλοπηκτίνη σε υδατικό διάλυμα είναι πιο σταθερή και παράγει πηκτές μαλακής σύστασης και ασθενείς μεμβράνες. Δίκτυα μεταξύ αμυλόζης και αμυλοπηκτίνης, ιδιαίτερα με την παρουσία λιπιδίων και φωσφολιπιδίων, έχει παρατηρηθεί πως επηρεάζουν σημαντικά τη θερμοκρασία ζελατινοποίησης, το ιξώδες, τη σταθερότητα και τη διαύγεια, καθώς και το ρυθμό αναδιάταξης (BeMiller, J. N., & Whistler, R. L. (Eds.). (2009d)). Όταν οι ακατέργαστοι κόκκοι αμύλου θερμαίνονται στο νερό, παρέχεται ενέργεια ικανή να διασπάσει τους δεσμούς μεταξύ των ημικρυσταλλικών μυκηλίων, με αποτέλεσμα να διακόπτεται βαθμιαία η τρισδιάστατη αρχιτεκτονική, προκαλώντας αλλαγή φάσης από την κοκκώδη δομή σε μια διαταραγμένη κατάσταση στο νερό. Το φαινόμενο αυτό είναι γνωστό ως ζελατινοποίηση και εκδηλώνεται με μη αναστρέψιμες αλλαγές στις ιδιότητες (Atwell *et al.*, 1988; Lelievre *et al.*, 1974). Η διαδικασία της ζελατινοποίησης παρουσιάζεται στην Εικόνα 3. Η ζελατινοποίηση είναι μια αλληλουχία του χρόνου, της θερμοκρασίας, της διόγκωσης των κόκκων, της τήξης των κρυστάλλων και της μοριακής διαλυτοποίησης. Ωστόσο, με την αύξηση της θερμοκρασίας, τα μόρια του αμύλου σταδιακά αποκτούν περισσότερη κίνηση, με αποτέλεσμα την καταστροφή των κρυσταλλικών περιοχών (Donovan *et al.*, 1979). Σημαντικό είναι να αναφερθεί, πως η διαδικασία ζελατινοποίησης με χαμηλή

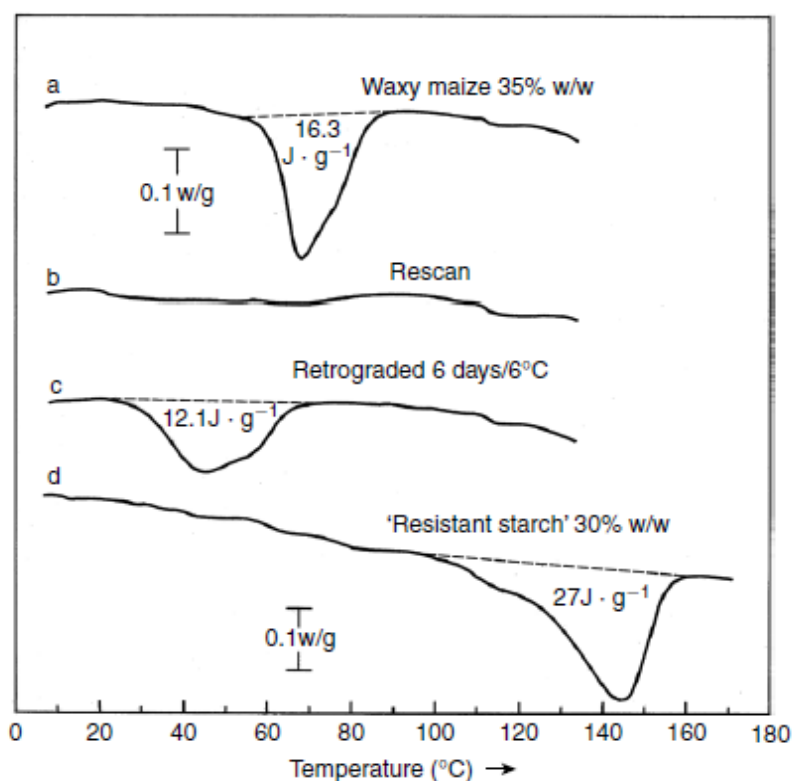
περιεκτικότητα σε νερό, μπορεί να οριστεί, με περισσότερη ακρίβεια, ως «τήξη» του αμύλου (Lai and Kokini 1991).



Εικόνα 3 Μηχανισμός ζελατινοποίησης αμύλου
Πηγή: Προσαρμογή από Remsen and Clark (1978)

Η θερμοκρασία ζελατινοποίησης των περισσότερων αμύλων είναι μεταξύ 60 και 80°C (BeMiller, J. N., & Whistler, R. L. (Eds.). (2009e)). Όσον αφορά άμυλα τύπου ΗΑ, έχουν βρεθεί βιβλιογραφικά δύο θερμικά διακριτές μορφές συμπλόκων αμυλόζης-λιπιδίων, με την τεχνική της θερμιδομετρίας διαφορικής σάρωσης (DSC). Χαρακτηριστικά, μία κορυφή γύρω στους 95 έως 115 °C αντιπροσωπεύει τις άμορφες και κρυσταλλικές περιοχές. Μια δεύτερη κορυφή βρέθηκε στους 155 °C και υποδεικνύει την παρουσία αμύλου ανθεκτικού στη δράση ενζύμων που παρουσιάζει

κρυσταλλική οργάνωση συμπλόκων αμυλόζης (Biliaderis and Galloway 1989; Gelders *et al.*, 2005; Gallant *et al.*, 1997; Tufvesson and Eliasson 2000). Σύμφωνα με τους Sajilata *et al.*, (2006), τα άμυλα αραβόσιτου υψηλής αμυλόζης παρουσιάζουν υψηλές θερμοκρασίες ζελατινοποίησης, απαιτούνται θερμοκρασίες 154 έως 171°C για να διασπασθούν εντελώς οι κόκκοι. Ενδεικτικά, στην Εικόνα 4 απεικονίζονται τα διαφορετικά εύρη των θερμικών καμπυλών από κηρώδη αραβόσιτο και ανθεκτικό άμυλο.



Εικόνα4: Θερμικές καμπύλες (DSC) υδατικών εναιωρημάτων Waxy Maize αραβόσιτου (a,b,c) και Ανθεκτικού Αμύλου (d)
 Πηγή: BeMiller, J. N., & Whistler, R. L. (Eds.). (2009e)

1.4 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΑΜΥΛΟΥ ΩΣ ΠΡΕΒΙΟΤΙΚΟ

Λόγω της ιδιαίτερης σημασίας των πρεβιοτικών στην πρόληψη συγκεκριμένων ασθενειών, στις μέρες μας η ανάπτυξη του συγκεκριμένου τομέα έχει εγείρει το ενδιαφέρον, τόσο του κλάδου παραγωγής τροφίμων, όσο και της επιστημονικής κοινότητας, όσο ποτέ άλλοτε (Verma *et al.*, 2010). Τα πρεβιοτικά είναι μη εύπεπτοι ολιγοσακχαρίτες που δύνανται να επιφέρουν πολλές θετικές επιδράσεις στο γαστρεντερικό σύστημα, ενώ παράλληλα μειώνουν τον κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου και διαβήτη τύπου 2 και συνεισφέρουν στη διατήρηση του σωματικού βάρους (EFSA, 2010; Hauner *et al.*, 2012). Οι προαναφερθέντες θετικές επιδράσεις στην υγεία γίνονται εμφανείς μετά από επιλεκτική διέγερση της ανάπτυξης και δραστηριότητας ενδογενών βακτηρίων (Hauner *et al.*, 2012).

Τα τυπικά πρεβιοτικά είναι διαιτητικές ίνες (Dietary Fibers, DF), που συνήθως αποτελούνται από ινουλίνη, ολιγοσακχαρίτες και ανθεκτικό άμυλο (Resistant Starch, RS) (Buttriss *et al.*, 2008). Οι διαιτητικές ίνες (DF) είναι πολυμερή υδατάνθρακα με δέκα ή περισσότερες ενώσεις γλυκόζης (Glc), όπου δεν υδρολύονται από τα ενδογενή ένζυμα (McCleary *et al.*, 2012). Μεγίστης σημασίας ιδιότητα των διαιτητικών ινών (DF) είναι η ικανότητα τους να μεταβολίζονται από κυρίαρχους μικροοργανισμούς που αποικούν στο κόλον, οι οποίοι ονομάζονται προβιοτικά. Πρόκειται, για στοιχείο που μπορεί να οδηγήσει σε προώθηση της βακτηριακής ανάπτυξης και σε αυξημένο όγκο κοπράνων, και κατ' επέκταση καθίσταται σαφές πως υλικά που αποτελούνται από ίνες έχουν πρεβιοτικές ιδιότητες

Τα οφέλη στην υγεία των καταναλωτών λόγω της πρόσληψης διαιτητικών ινών (DF) είναι η μείωση της γλυκαιμικής απόκρισης στην κατανάλωση υδατανθράκων, η μείωση του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του παχέος εντέρου και η ενίσχυση της απορρόφησης θρεπτικών συστατικών, καθιστώντας το πολύτιμο πρεβιοτικό (Kumar *et al.*, 2012). Συμπερασματικά, η χρήση λειτουργικών τροφίμων, έχει θετική επίδραση στην ανθρώπινη υγεία, αποδεικνύοντας πώς το φαγητό δεν είναι μόνο κάτι που τρώμε δίχως να το επεξεργαζόμαστε πλέον. Για τον λόγο αυτό, είναι πολύ σημαντική η γνώση και ο καθορισμός, βάση διεθνών και εθνικών οδηγιών, της ποσότητας του ανθεκτικού αμύλου που πρέπει να καταναλώνεται στα τελικά προϊόντα, καθώς και η πρεβιοτική δοσολογία που απαιτείται για να επιτευχθούν τα προαναφερθέντα οφέλη στην υγεία του ανθρώπου και της εντερικής λειτουργίας (Hodayouni *et al.*, 2014)

Η Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA) έχει κατηγοριοποιήσει τις διαιτητικές ίνες (DFs) σε τέσσερις ομάδες (Westenbrink *et al.*, 2013):

- 1) Μη αμυλούχοι πολυσακχαρίτες (non-starch polysaccharides, NSPs) όπως κυτταρίνη, ημικυτταρίνες, πηκτίνες και υδροκολλοειδή.
- 2) Ανθεκτικοί ολιγοσακχαρίτες όπως γαλακτό-ολιγοσακχαρίτες (GOSs), φρούκτο-ολιγοσακχαρίτες (FOSs) και άλλοι ολιγοσακχαρίτες με ελάχιστες τρεις μονάδες γλυκόζης (Glc) που αντιστέκονται στην πέψη.
- 3) Λιγνίνη, η οποία φυσικά σχετίζεται με διαιτητικές ίνες πολυσακχαριτών.
- 4) Ανθεκτικά άμυλα (Resistant Starches, RS) συμπεριλαμβανομένων της αναδιατεταγμένης (retrograded) αμυλόζης, των κόκκων ακατέργαστου αμύλου και των χημικώς τροποποιημένων αμύλων.

Τα ανθεκτικά άμυλα έχει αποκτήσει μεγάλο ενδιαφέρον, μεταξύ των υπολοίπων διαιτητικών ινών, τις τελευταίες δύο δεκαετίες, λόγω των πολυάριθμων οικονομικών και λειτουργικών οφελών, όπως αναλυτικά προαναφέρθηκαν.

1.5 ΑΝΘΕΚΤΙΚΟ ΑΜΥΛΟ

Ως ανθεκτικό άμυλο (Resistant Starch, RS) ορίζεται το κλάσμα του αμύλου και των προϊόντων της αποικοδόμησής του που δεν απορροφάται και δεν διασπάται (πέπτεται) από τις αμυλάσες στο λεπτό έντερο υγιών ατόμων, ενώ περνάει στο κόλον όπου υφίσταται ζύμωση από τη χλωρίδα του παχέος εντέρου (Englyst *et al.*, 1985). Ο ρυθμός που πέπτεται και απορροφάται το άμυλο είναι καθοριστικής σημασίας για την μεταβολική απόκριση ενός γεύματος. Τροφές πλούσιες σε υδατάνθρακες, που πέπτονται και απορροφούνται βραδέως είναι ευνοϊκές για την διατροφική διαχείριση μεταβολικών διαταραχών, όπως ο διαβήτης και η υπερλιπιδαιμία (Saravathy *et al.*, 2001).

Το ανθεκτικό άμυλο (RS) υπολογίζεται ως η διαφορά μεταξύ της συνολικής ποσότητας αμύλου (Total Starch, TS), η οποία προκύπτει από ομογενοποιημένο δείγμα που έχει υποστεί χημική επεξεργασία, και του αθροίσματος των RDS και SDS, που υπολογίζεται σε μη ομογενοποιημένα δείγματα τροφίμων μέσω ενζυμικής πέψης:

$$RS = TS - (RDS + SDS) \quad (\text{Sajilata } et al., 2006).$$

Διεθνείς και εθνικές βιομηχανίες τροφίμων, προσανατολίζονται στο άμυλο καλαμποκιού ως κύρια πηγή ανθεκτικού αμύλου (Resistant Starch RS), τον τύπο αμύλου που αντιστέκεται στην πέψη. Οι καταναλωτές μπορούν να επωφεληθούν από την προσθήκη ανθεκτικού αμύλου (Resistant Starch RS) στα επεξεργασμένα τρόφιμα, καθώς μειώνει τον γλυκαιμικό δείκτη. Επιπροσθέτως, το ανθεκτικό άμυλο (Resistant Starch RS) συμπεριφέρεται και ως διαιτητική ίνα και θεωρείται ότι μειώνει τον κίνδυνο καρκίνου του παχέος εντέρου όταν ενσωματώνεται στην διατροφή (Sajilata *et al.*, 2006).

Η κύρια ταξινόμηση του ανθεκτικού αμύλου προτάθηκε με βάση τη φύση του αμύλου και του περιβάλλοντος στην τροφή (Englyst *et al.*, 1992). Όπως φαίνεται στον Πίνακα 4 σε όλες σχεδόν τις μελέτες για τα ανθεκτικά άμυλα (RS), κατηγοριοποιείται σε τέσσερις κατηγορίες, όμως πρόσφατα αναφέρθηκε και ένας πέμπτος τύπος (Ranhotra *et al.*, 1999; Englyst *et al.*, 1992).

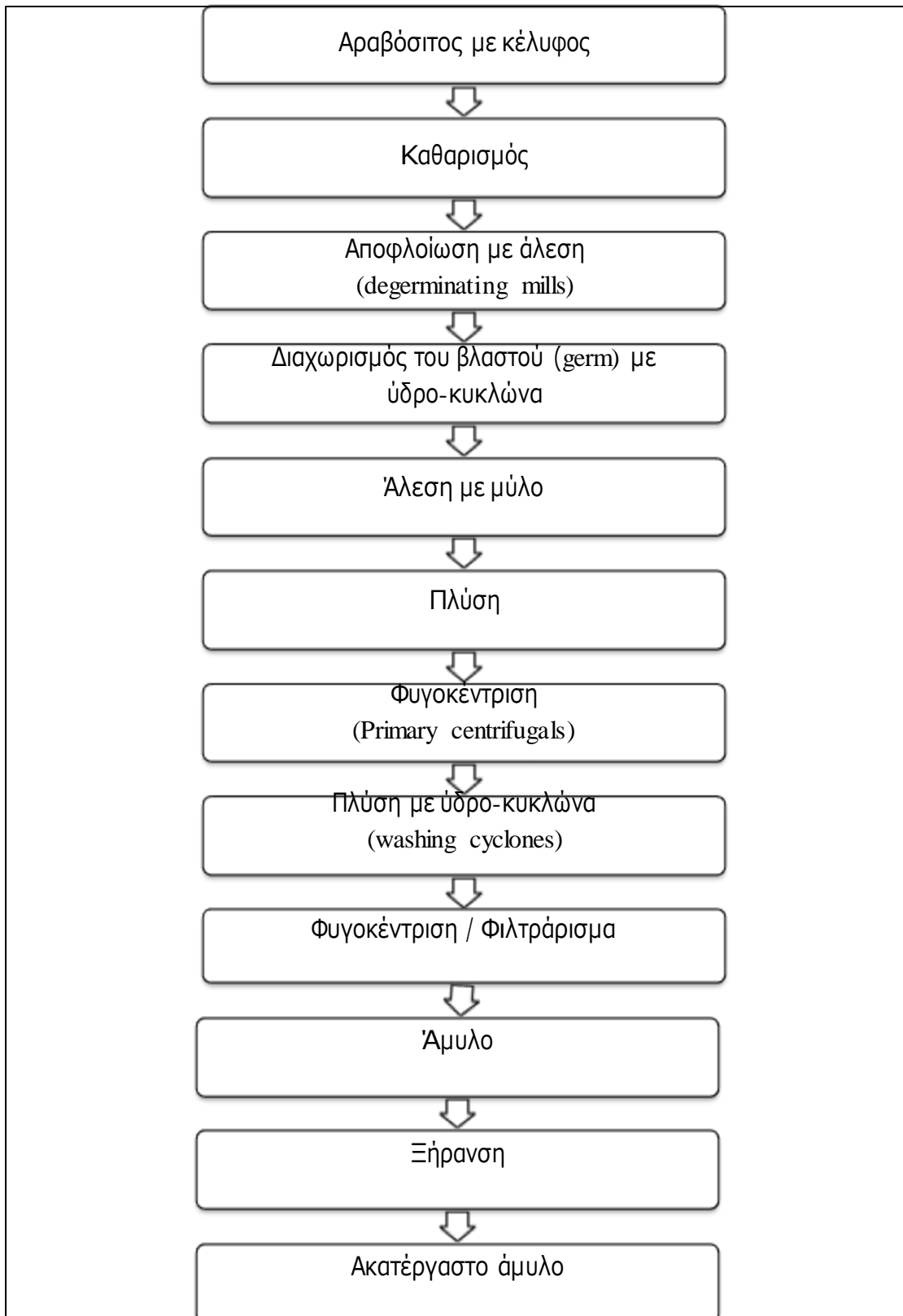
Πίνακας 4

Τύποι ανθεκτικού αμύλου, πηγές και ανθεκτικότητα

Τύπος	Περιγραφή	Πηγή	Μείωση ανθεκτικότητας από:
RS1	Φυσικώς μη προσβάσιμο άμυλο	Ολόκληροι ή μερικώς αλεσμένοι σπόροι, κόκκοι, όσπρια, ζυμαρικά	Άλεση και μάσηση
RS2	Φυσικό άμυλο σε μορφή μη ζελατινοποιημένων ανθεκτικών κόκκων, Β τύπου κρυσταλλικότητας.	Ακατέργαστη πατάτα, άγουρη μπανάνα, άμυλο υψηλής αμυλόζης, όσπρια	Επεξεργασία τροφίμων και μαγείρεμα
RS3	Αναδιαταγμένο (retrograded) μη-κοκκώδες άμυλο	Μαγειρεμένες και αποικοδομημένες (retrograded), καλλιέργειες αμύλου και τροφίμων	Συνθήκες επεξεργασίας τροφίμων
RS4	Χημικά τροποποιημένο άμυλο και ανθεκτικές δεξτρίνες	Λειτουργικά τρόφιμα με τροποποιημένες ίνες	Ανθεκτικό στην υδρόλυση

Πηγή: (Nugent *et al.*, 2005; Homayouni *et al.*, 2014)

Η κύρια διεργασία παραγωγής ανθεκτικού αμύλου (Resistant Starch, RS) από αραβόσιτο παρατίθεται σχηματικά στην Εικόνα 5. Αρχικά, στο δείγμα αραβοσίτου γίνεται μία φυσική διεργασία και προετοιμάζεται μέσω ξήρανσης για την τελική απομόνωση του ανθεκτικού αμύλου. Στην κατηγορία αμύλου RS2, το οποίο αποτελείται από ακατέργαστους κόκκους αμύλου, δεν γίνεται καμία χημική τροποποίηση.



Εικόνα 5: Διεργασία παραγωγής ανθεκτικού αμύλου
Πηγή: BeMiller, J. N., & Whistler, R. L. (Eds.). (2009f)

1.6 ΚΡΥΣΤΑΛΛΙΚΟΤΗΤΑ ΑΜΥΛΟΥ

Τόσο οι αλυσίδες αμυλόζης, όσο και οι εξωτερικές αλυσίδες αμυλοπηκτίνης σχηματίζουν διπλές έλικες, οι οποίες με τη σειρά τους μπορούν να συνδεθούν σχηματίζοντας κρυσταλλικές περιοχές. Στα περισσότερα άμυλα το φαινόμενο αυτό έχει συσχετιστεί με τη παρουσία αμυλοπηκτίνης (Veregin *et al.*, 1986). Σύμφωνα με τους Cheetham and Tao (1998), η αμυλόζη παρεμποδίζει τον σχηματισμό κρυσταλλικής μορφής της αμυλοπηκτίνης. Ανάλογα με την βοτανική προέλευση, η περιεκτικότητα σε αμυλόζη στο άμυλο μπορεί να ποικίλει από <1% έως 83% και έχει μεγάλη επίδραση στην κρυσταλλική δομή και στο βαθμό κρυσταλλικότητας (Tan *et al.*, 2007). Ο βαθμός της κρυσταλλικότητας των ακατέργαστων κόκκων αμύλου για το HA-RS κυμαίνεται από περίπου 15% έως περίπου 45-50% για κηρώδη άμυλα (Waxy maize). Το ποσοστό της κρυσταλλικότητας των κόκκων αμύλου έχει καθοριστεί από μεγάλο αριθμό συγγραφέων, όπως παρουσιάζεται στον Πίνακα 5. Στην κατηγορία αμύλων τύπου HA, οι έλικες αμυλόζης συμβάλλουν στην κρυσταλλικότητα των κόκκων (Copeland *et al.*, 2009).

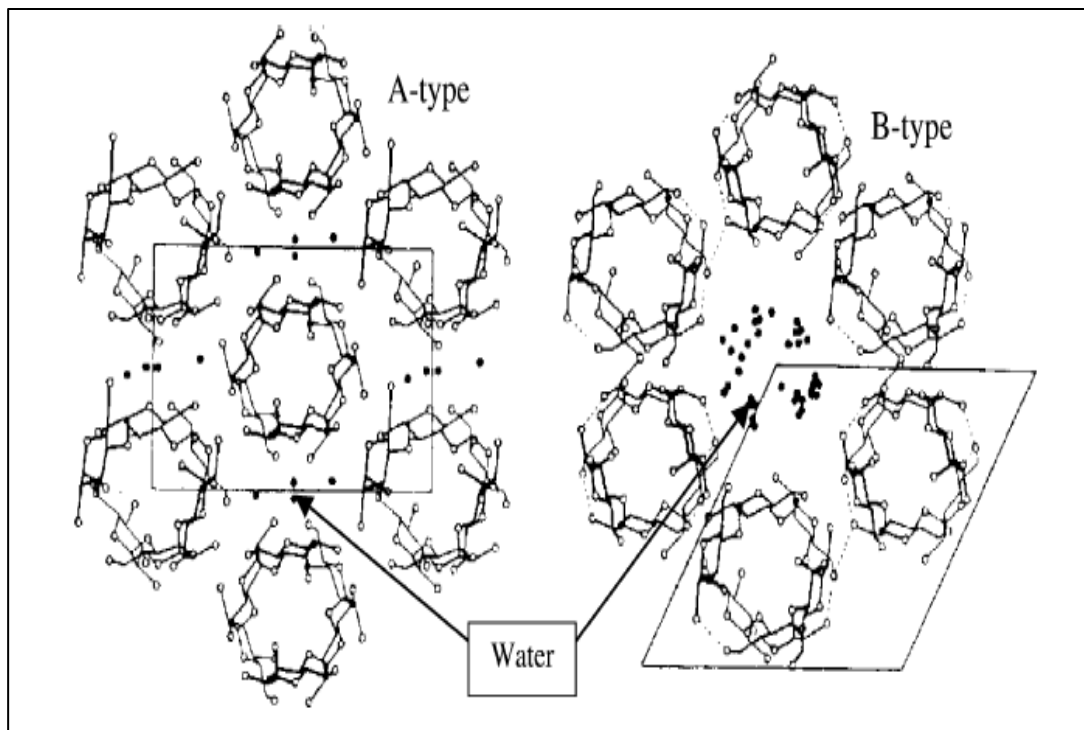
Η κύρια κατηγοριοποίηση της κρυσταλλικότητας των αμύλων έχει ως εξής: 1) Τα άμυλα προερχόμενα από δημητριακά, παρουσιάζουν μοτίβα (patterns) τύπου A περιθλασης ακτίνων X, 2) Οι κόνδυλοι και τα άμυλα τύπου HA μοτίβα τύπου B, 3) Τα άμυλα ριζών και ορισμένων φρούτων παρουσιάζουν μοτίβα τύπου C. Η κατηγορία μοτίβων περιθλασης ακτίνων X τύπου C, αναφέρεται ότι αντιπροσωπεύει τον συνδυασμό των μοντέλων A και B (Buléon *et al.*, 1997; Banks and Greenwood 1975; Biliaderis 1998; McPherson and Jane 1999; Hsien-Chih and Sarko 1978).

Τύπος A: Στη δομή τύπου A η αμυλοπηκτίνη έχει μήκος αλυσίδας 23 έως 29 μονάδων γλυκόζης. Οι δεσμοί υδρογόνου μεταξύ των ομάδων υδροξυλίου των αλυσίδων των μορίων της αμυλοπηκτίνης συντελούν στο σχηματισμό της εξωτερικής διπλής ελικοειδούς δομής. Ανάμεσα σε αυτά τα μικκύλια, οι γραμμικές αλυσίδες της αμυλόζης «πακετάρονται» με τον σχηματισμό δεσμών υδρογόνου με τις εξωτερικές γραμμικές αλυσίδες της αμυλοπηκτίνης. Αυτό το μοντέλο συναντάται συχνά στα άμυλα από δημητριακά (Sajilata *et al.*, 2006).

Τύπος B: Στη δομή τύπου B η αμυλοπηκτίνη έχει μήκος αλυσίδας από 33 έως 44 μόρια γλυκόζης με διασπορά νερού. Το μοντέλο αυτό παρατηρείται σε άμυλα προερχόμενα από άγουρη μπανάνα και πατάτα (Sajilata *et al.*, 2006).

Τύπος C: Στη δομή τύπου C η αμυλοπηκτίνη έχει μήκος αλυσίδας από 26 έως 29 μόρια γλυκόζης, και είναι ένας συνδυασμός των τύπων A και B. Χαρακτηριστικά, το μοντέλο αυτό παρατηρείται σε άμυλα προερχόμενα από μπιζέλια και φασόλια (Sajilata *et al.*, 2006).

Οι δομές των τύπων A και B φαίνονται σχηματικά στην Εικόνα 6.



Εικόνα 6: Κρυσταλλική δομή Τύπου A και Τύπου B
Πηγή: (Hsien-Chih and Sarko 1978)

Πίνακας 5

Κρυσταλλικότητα αμύλων διαφορετικής βοτανικής προέλευσης

Ακατέργαστο άμυλο	Τεχνική	Ποσοστό Κρυσταλλικότη τας (%)	Αναφορές
Αραβόσιτος	Περίθλαση ακτίνων X		
0% Αμυλόζη		42	Cheetham and Tao, 1998
28% Αμυλόζη		30	
40% Αμυλόζη		22	
56% Αμυλόζη		20	
65% Αμυλόζη		18	
84% Αμυλόζη		17	
Αραβόσιτος	Περίθλαση ακτίνων X	43	
Αραβόσιτος waxy		48	Cooke and Gidley, 1992
Πατάτας		40	
Ταπιόκα		44	
Σιτάρι		39	
Πατάτας	Περίθλαση ακτίνων X	26	Yusuph <i>et al.</i> , 2003
waxy	Περίθλαση ακτίνων X	37-43	Paris <i>et al.</i> , 1999
Πατάτας		25-53	
Σιτάρι	Περίθλαση ακτίνων X	36	Morison <i>et al.</i> , 1994
Ρύζι	Περίθλαση ακτίνων X	47-51	Qi <i>et al.</i> , 2003
Βρώμη	Περίθλαση ακτίνων X	28-37	Hoover <i>et al.</i> , 2003
Μαύρο φασόλια		17-22	Hoover and Ratnayake, 2002
Φακή	Περίθλαση ακτίνων X	19	
Φασόλια		20-21	
Μπιζελι		20	
Κριθάρι	Περίθλαση ακτίνων X	22-27	Tang <i>et al.</i> , 2001
Γλυκοπατάτα	Περίθλαση ακτίνων X	42	Nara <i>et al.</i> , 1978
Ρυζι		38	

1.7 ΥΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΣΗΣ (High Pressure Homogenization, HPH)

Το άμυλο είναι ένα ιδιαίτερα πολύτιμο υλικό με ποικίλες εφαρμογές, όπως περιγράφεται στο εισαγωγικό μέρος της παρούσας Μεταπτυχιακής Διατριβής. Λόγω της ευρείας χρήσης του αμύλου, έχουν αναπτυχθεί πολλές τεχνικές επεξεργασίας που εμπίπτουν είτε στην κατηγορία χημικών ή φυσικών μεθόδων είτε σε συνδυασμό αυτών. Η κυριότερη χημική μέθοδος επεξεργασίας είναι η όξινη υδρόλυση. Μεταξύ των κυριότερων φυσικών μεθόδων αναφέρονται η χρήση υπερήχων, η χρήση εξώθησης (reactive extrusion) και η υψηλή πίεση ομογενοποίησης (High Pressure Homogenization, HPH). Η βιομηχανία τροφίμων, απευθυνόμενη σε ένα καταναλωτικό κοινό το οποίο αποζητά τρόφιμα απαλλαγμένα από χημικά πρόσθετα, προτιμά τη χρήση φυσικών μεθόδων επεξεργασίας, διασφαλίζοντας την διατήρηση της σύστασης των τροφίμων. Πολλά υποσχόμενη φυσική μέθοδος με δυνητικές εφαρμογές και στην βιομηχανία τροφίμων είναι η τεχνολογία υψηλής πίεσης, με κύριους εκπροσώπους την υψηλή πίεση ομογενοποίησης (High Pressure Homogenization, HPH) και την υψηλή υδροστατική πίεση (High Hydrostatic Pressure, HHP).

Λόγω της εκτενούς μελέτης που έχει γίνει στην χρήση υψηλής υδροστατικής πίεσης στην τεχνολογία τροφίμων, τα δεδομένα που προκύπτουν από την μελέτη των διεργασιών αυτών είναι άξια αναφοράς. Η τεχνολογία υψηλής πίεσης έχει ευρέως χρησιμοποιηθεί ως νέα μέθοδος για την μελέτη μετουσιωμένων αμύλων. Σύμφωνα με την διεθνή βιβλιογραφία, η υψηλή υδροστατική πίεση (High Hydrostatic Pressure, HHP), δύναται να οδηγήσει στη ζελατινοποίηση των κόκκων αμύλου, σε υδατικό διάλυμα αμύλου σε θερμοκρασία δωματίου (Błaszczak *et al.*, 2007, 2005; Buckow *et al.*, 2007, Douzals *et al.*, 1998, Rubens *et al.*, 2000). Η επίδραση στη ζελατινοποίηση εξαρτάται από το μέγεθος της εφαρμοζόμενης πίεσης, την περιεκτικότητα σε υγρασία του υδατικού εναιωρήματος αμύλου, το χρόνο κατεργασίας, τη θερμοκρασία, τη συγκέντρωση αμύλου και τον τύπο του αμύλου (Bauer and Knorr, 2004; Kawai *et al.*, 2007).

Μια σημαντική διαπίστωση είναι πώς τα άμυλα τύπου Β (υψηλής αμυλόζης) παρουσιάζουν πιο ανθεκτική συμπεριφορά στη ζελατινοποίηση όταν τους ασκείται υψηλή πίεση, σε σχέση με τα άμυλα τύπου Α (αραβόσιτος, κηρώδης άμυλο), λόγω της διαφορετικής κρυσταλλικής δομής που σχηματίζεται από την αμυλοπηκτίνη

(Rubens *et al.*, 1999; Katopo *et al.*, 2002). Οι κρυσταλλικές δομές τύπου Β έχουν πιο στενά συνδεδεμένα μόρια νερού, τα οποία γεμίζουν τα κανάλια των κελιών και δρουν ως σταθεροποιητές, ενώ η δομή της αμυλοπηκτικής σε άμυλα τύπου Β, είναι πιο διασκορπισμένη. Οι διαφορές αυτές στη δομή, καθιστούν τα άμυλα τύπου Β πιο σταθερά και τα άμυλα τύπου Α να τείνουν να αναδιατάσσονται ή να καταστρέφονται από το νερό υπό υψηλή πίεση (Jane *et al.*, 1997).

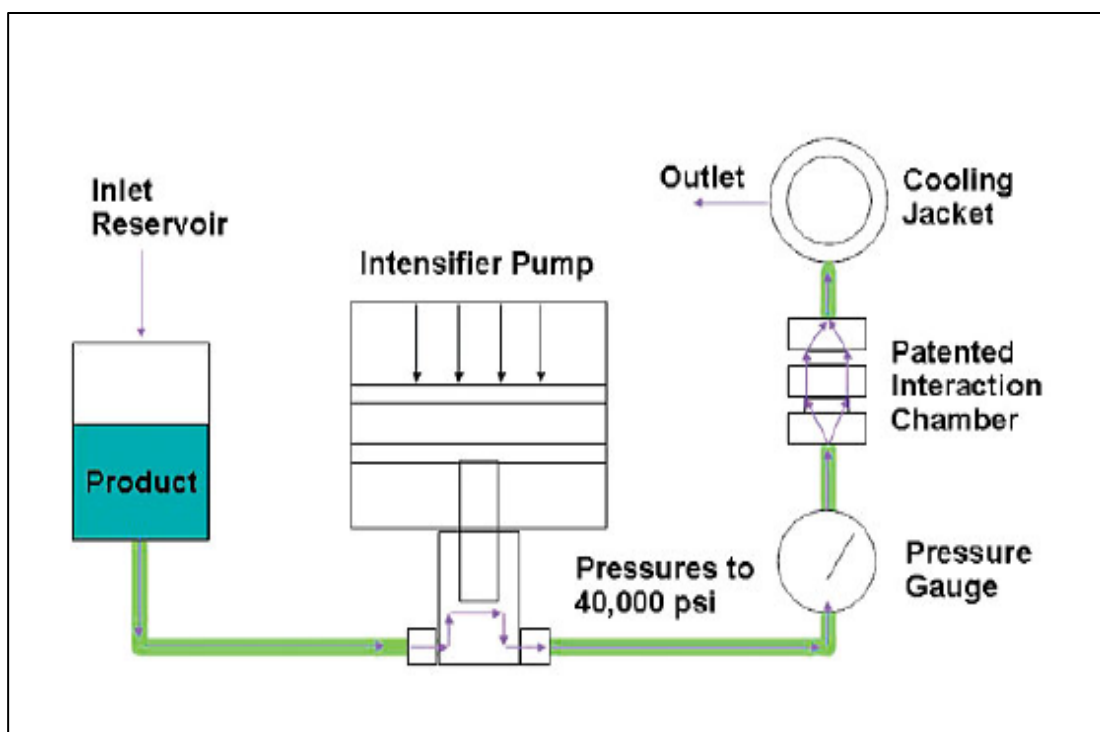
Επιπροσθέτως, η περιεκτικότητα σε αμυλόζη επηρεάζει την «ευαισθησία» στην εφαρμογή υψηλής πίεσης. Άμυλα που εμπεριέχουν υψηλά ποσοστά αμυλόζης συχνά παρουσιάζουν μεγαλύτερη αντίσταση στην εφαρμογή υψηλής πίεσης σε σχέση με άμυλα χαμηλής περιεκτικότητας αμυλόζης. Σύμφωνα με τους Błaszczak *et al.* (2007), η εφαρμογή υψηλής υδροστατικής πίεσης μπορεί να προκαλέσει την απώλεια της κρυσταλλικής δομής των αμύλων. Κατεργασία με υψηλή πίεση στα 650 MPa για 9 λεπτά σε κηρώδη άμυλο αραβόσιτου, είχε ως αποτέλεσμα την απώλεια της κρυσταλλικής δομής και τον σχηματισμό δομής σαν πηκτή. Ενώ η ίδια κατεργασία σε άμυλο αραβόσιτου με υψηλή περιεκτικότητα αμυλόζης, είχε ως αποτέλεσμα την μείωση της κρυσταλλικής δομής αλλά την διατήρηση της δομής των κόκκων. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η αμυλόζη μπορεί να σχηματίζει σύμπλοκα με λιπίδια που υπάρχουν στο άμυλο αραβόσιτου ΗΑ, σταθεροποιώντας τη δομή των κόκκων, περιορίζοντας τη διόγκωσή τους (Chen *et al.*, 2007).

Μέχρι σήμερα, οι περισσότερες έρευνες έχουν επικεντρωθεί στην εφαρμογή ΗΗΡ σε άμυλα και από αυτές προκύπτει η πλειοψηφία των δεδομένων σχετικά με τις δομικές αλλαγές στο άμυλο υπό πίεση. Όμως, η επεξεργασία με ΗΗΡ δεν έχει ακόμα πραγματοποιηθεί σε μαζική βιομηχανική παραγωγή προϊόντων αμύλου, αφού δεν είναι οικονομικά συμφέρουσα στη βιομηχανία αμύλου για παραγωγή σε μεγάλη κλίμακα. Επομένως, οφείλει να δοθεί περισσότερη έμφαση στη μελέτη εναλλακτικών μεθόδων αντίστοιχης φιλοσοφίας, όπως η δυναμική ομογενοποίηση με υψηλή πίεση (ΗΡΗ). Πρόκειται για μία μέθοδο που χρησιμοποιείται ήδη από φαρμακευτικές βιομηχανίες και από ειδικές βιομηχανίες τροφίμων και βιοτεχνολογίας (Pandolf and Kinney, 1998).

Η υψηλή πίεση ομογενοποίησης στις μέρες μας, σπανίως χρησιμοποιείται ως μέθοδος επεξεργασίας του φυσικού αμύλου και τα περισσότερα δεδομένα έχουν προκύψει από μελέτες με χρήση ΗΗΡ, όπως προαναφέρθηκε. Για το λόγο αυτό, είναι θεμελιώδους σημασίας ο σχεδιασμός περαιτέρω μελετών, για να επιτευχθεί η λεπτομερής κατανόηση των επιδράσεων της μεθόδου ΗΡΗ τόσο στη δομή όσο και

στις φυσικοχημικές ιδιότητες των αμύλων. Ένας μικρός αριθμός μελετών έχει εστιάσει στην μελέτη της εν λόγω τεχνικής. Χαρακτηριστικά, οι Wang *et al.*, (2007) μελέτησαν τη συμπεριφορά του αραβόσιτου σε υψηλή πίεση ομογενοποίησης, ενώ οι Che *et al.*, (2007) διερεύνησαν την επίδραση της ομογενοποίησης σε άμυλο (cassava). Παρόλα αυτά, η διεθνής βιβλιογραφία παρουσιάζει σημαντικά κενά σε ότι αφορά την μελέτη της επίδρασης της ομογενοποίησης υψηλής πίεσης σε κόκκους άμυλου, υποδεικνύοντας την ανάγκη για περαιτέρω έρευνα.

Επιπλέον, η χρήση νανοσωματιδίων αμύλου έχει εγείρει το ενδιαφέρον λόγω του μεγέθους τους και των μηχανικών ιδιοτήτων τους, ενισχύοντας τις εφαρμογές στην νανοτεχνολογία (Angellier *et al.*, 2005). Οι Liu *et al.*, (2009) ανέπτυξαν μια πολύπλευρη και φιλική προς το περιβάλλον τεχνική για την απομόνωση των νανοκρυστάλλων αμύλου. Όπως φαίνεται στην Εικόνα 7, πρόκειται για μία φυσική διεργασία όπου χρησιμοποιείται η τεχνική της υψηλής πίεσης ομογενοποίησης.



Εικόνα 7: Ομογενοποιητής Υψηλής Πίεσης

Πηγή: (Lee *et al.*, 2009)

Στην βιομηχανία, οι πιέσεις που χρησιμοποιούνται συνήθως κυμαίνονται μεταξύ 20 και 50 MPa. Όταν η πίεση ομογενοποίησης ξεπερνά τα 100 MPa, χαρακτηρίζεται συνήθως ως ομογενοποίηση υπέρ-υψηλής πίεσης (Ultra-High-Pressure Homogenization, UHPH) (Tribst *et al.*, 2008). Κατά την διεργασία της ομογενοποίησης με υψηλή πίεση, στα υγρά ασκούνται ταυτόχρονα υψηλές πιέσεις, υψηλοί ρυθμοί διάτμησης, στροβιλισμού και σπηλαιώσης λόγω της ταχείας αλλαγής της πίεσης (Hayes and Kelly, 2003). Ο συνδυασμός αυτών των φαινομένων συμβάλλει στη γαλακτωματοποίηση, στη διασπορά και στην ανάμιξη των προϊόντων. Η ομογενοποίηση υψηλής πίεσης συνήθως δημιουργεί αλλαγές στα επεξεργασμένα προϊόντα (Che *et al.*, 2009). Μεταξύ των αλλαγών που συμβαίνουν κατά την διεργασία της ομογενοποίησης με υψηλή πίεση, η αποικοδόμηση και η διάσπαση των πολυμερών ελκύει περισσότερο το ερευνητικό ενδιαφέρον.

Παράλληλα, έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία η μείωση του μεγέθους των κόκκων αμύλου με χρήση υψηλής πίεσης. Αναλυτικότερα, όταν σε 5% εναιώρημα αμύλου αραβόσιτου υψηλής αμυλόζης ασκήθηκε πίεση της τάξεως των 207 MPa μετά από 20 περάσματα από έναν ειδικά σχεδιασμένο μικρορευστοποιητή (microfluidizer) επετεύχθη μείωση των σωματιδίων των κόκκων αμύλου από 3-6 μm στα 10-20 nm (Song *et al.*, 2011). Η μείωση του μεγέθους αποδίδεται στη θραύση των δεσμών υδρογόνου μέσα στα μεγάλα σωματίδια από τις μηχανικές δυνάμεις διάτμησης. Παράλληλα παρατηρήθηκε μερική ή πλήρης καταστροφή της κρυσταλλικής δομής. Επιπροσθέτως, μόνο το εναιώρημα αμύλου χαμηλής συγκέντρωσης μπορούσε να περάσει από τον ομογενοποιητή, ενώ η ανάκτηση υλικού από τον κάθε κύκλο ήταν χαμηλή (Song *et al.*, 2011).

1.8 ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΑ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ ΑΜΥΛΟΥ ΣΕ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΑ

Το άμυλο χρησιμοποιείται σε μια ευρεία ποικιλία εφαρμογών, συμπεριλαμβανομένων των γαλακτωμάτων τροφίμων (Che *et al.*, 2007). Συγκεκριμένα, οι κόκκοι αμύλου έχουν την ικανότητα να δρουν ως σταθεροποιητές σωματιδίων για την παρασκευή γαλακτωμάτων τύπου “Pickering” (Ge *et al.*, 2017). Τα γαλακτώματα τύπου “Pickering”, σταθεροποιούνται αποκλειστικά από στερεά σωματίδια που βρίσκονται εντοπισμένα στη διεπιφάνεια λαδιού-νερού (Yang *et al.*, 2017). Προκειμένου να σταθεροποιηθεί το γαλάκτωμα, τα σωματίδια αμύλου αλληλεπιδρούν στη διεπαφή με αμφοτέρως τα μη αναμίξιμα υγρά. Τα προσροφημένα σωματίδια δρουν ως φραγμός “steric barrier” έναντι της συσσωμάτωσης των σταγονιδίων γαλακτώματος (Binks *et al.*, 2000). Σε σύγκριση με άλλους μηχανισμούς σταθεροποίησης, τα γαλακτώματα τύπου “pickering” είναι πιο σταθερά, παρεμποδίζοντας πλήρως τη διαδικασία της συσσωμάτωσης “Coalescence” καθώς και το φαινόμενο ωρίμανσης Ostwald “Ostwald ripening” (Aveyard *et al.*, 2003). Συγκεκριμένα, η σταθερότητα των γαλακτωμάτων τύπου “pickering” επηρεάζεται από το μέγεθος των κόκκων αμύλου (Saari *et al.*, 2016), το οποίο με τη σειρά του εξαρτάται από τη φυτική προέλευση του αμύλου (French, 1973). Ποικίλα σωματίδια/κρύσταλλοι, μεγέθους που κυμαίνεται από νανόμετρα έως μικρόμετρα έχουν χρησιμοποιηθεί για τη σταθεροποίηση γαλακτωμάτων (Li *et al.*, 2012). Η ικανότητα γαλακτωματοποίησης μικρών σωματιδίων (<100 nm) είναι αυξημένη σε σύγκριση με την ικανότητα γαλακτωματοποίησης μεγάλων κόκκων που προέρχονται από την ίδια φυτική πηγή (Saari *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2012).

Το ανθεκτικό άμυλο θεωρείται κατάλληλο υλικό λόγω της δυνατότητας τροποποίησης της υδροφοβικότητάς του με φυσικές μεθόδους. Η αύξηση της υδροφοβικότητας των υπόλοιπων αμύλων γίνεται μέσω χημικής επεξεργασίας με τη χρήση Osa (Rayner *et al.*, 2014). Αξίζει να σημειωθεί ότι το άμυλο θεωρείται ένα εύκολα προσβάσιμο, οικονομικό, μη τοξικό, εύκολο να παραχθεί, βιοαποικοδομήσιμο υλικό (Tan *et al.*, 2012). Επιπροσθέτως, η χρήση αμύλου εξασφαλίζει ότι δεν θα ανιχνεύονται χημικά κατάλοιπα στα τρόφιμα. Επομένως, γίνεται σαφές ότι τα προαναφερθέντα χαρακτηριστικά καθιστούν τα νανοσωματίδια αμύλου ιδανικούς σταθεροποιητές για τη βιομηχανία τροφίμων, όπου η ανάγκη χρήσης ασφαλών και συμβατών υλικών είναι διαρκώς αυξανόμενη.

2. ΚΥΡΙΟ ΜΕΡΟΣ

2.1 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1.1 ΔΕΙΓΜΑ

Το υπό μελέτη δείγμα είναι το ΗΙ-ΜΑΙΖΕ®260 ανθεκτικό άμυλο (Ingredion Inc.,USA). Είναι μη χημικά τροποποιημένο άμυλο από καλαμπόκι υψηλής αμυλόζης. Έχει χαρακτηριστεί ως διαιτητική ίνα στα πλαίσια των κανόνων επισήμανσης τροφίμων, με τις μεθόδους ΑΟΑC985.29 και ΑΟΑC 991.43. Το προϊόν πληροί τα κριτήρια συμμετοχής στο πρόγραμμα Ingredion incorporated's TRUETRACE® Identity Preserved Program για μη γενετικά τροποποιημένα τρόφιμα (ΗΙ-ΜΑΙΖΕ®260, datasheet).

2.1.2 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΥΓΡΑΣΙΑΣ

Ο υπολογισμός της υγρασίας του αρχικού δείγματος πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τη μέθοδο «ΑΟΑC 925.10». Πραγματοποιήθηκαν τρεις μετρήσεις, ώστε να διασφαλιστεί μεγαλύτερη ακρίβεια στην τιμή της υγρασίας (επαναληψιμότητα). Αναλυτικότερα, ζυγίστηκαν τα βαζάκια-περιέκτες (Βάρος Α) και τα καπάκια (Βάρος Β) (Εικόνα 8), αφού πρώτα θερμάνθηκαν σε φούρνο αέρα (Memmert) στους $130 \pm 3^{\circ}\text{C}$ (Εικόνα 9).



Εικόνα 8: Περιέκτες

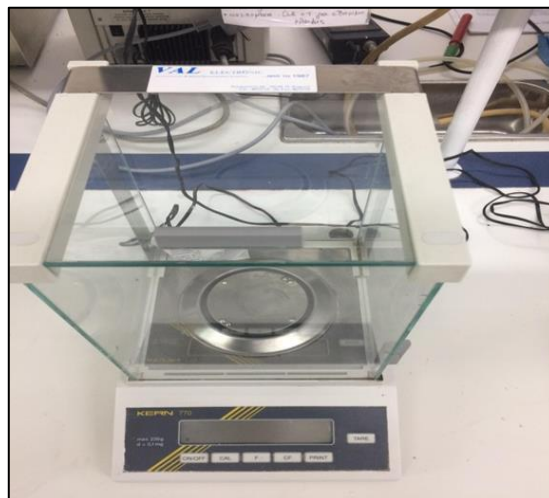
Πηγή: Προσωπική συλλογή



Εικόνα 9: Φούρνος αέρα

Πηγή: Προσωπική συλλογή

Στη συνέχεια, ζυγίστηκαν τα δείγματα ακατέργαστου ανθεκτικού αμύλου, τελικού βάρους 2,0 gr (Βάρος Γ). Για τις μετρήσεις χρησιμοποιήθηκε ο ζυγός ακριβείας KERN 770, με ακρίβεια $\pm 0,001$ (Εικόνα 10).



Εικόνα 10: Ζυγός ακριβείας

Πηγή: Προσωπική συλλογή

Αφού ζυγίστηκαν τα δείγματα, τοποθετήθηκαν στον περιέκτη, χωρίς το καπάκι, και μεταφέρθηκαν στο φούρνο. Η διαδικασία της ξήρανσης διήρκησε, σύμφωνα με τη μέθοδο, μία ώρα. Μετά τη μία ώρα, τοποθετήθηκαν τα καπάκια στους περιέκτες των δειγμάτων, εντός του φούρνου, και τα δείγματα μεταφέρθηκαν σε γυάλινο ξηραντήριο (desiccator), ώστε να αποφευχθεί η απορρόφηση υγρασίας από το περιβάλλον (Εικόνα 11).



Εικόνα 11: Ξηραντήριο (desiccator)

Πηγή: Προσωπική συλλογή

Τα δείγματα παρέμειναν στον ξηραντήρα μέχρι να επανέλθουν σε θερμοκρασία δωματίου. Μόλις τα δείγματα ήρθαν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, ζυγίστηκαν άμεσα με τον περιέκτη και το καπάκι (Βάρος Δ).

Ο υπολογισμός της υγρασίας προκύπτει από την εξίσωση:

$$\text{Υγρασία (\%)} = \frac{(\text{βάρος δείγματος} - \text{βάρος δείγματος ξηρό})}{\text{βάρος δείγματος}} \times 100$$

2.1.3 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΜΕΓΕΘΟΥΣ

Για τον υπολογισμό του μεγέθους των κόκκων του αμύλου χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της δυναμικής σκέδασης φωτός (Dynamic Light Scattering, DLS), μέσω της χρήσης του μηχανήματος Zetasizer nano Zs της εταιρείας Malvern, που φαίνεται στην Εικόνα 12. Η τεχνική αυτή χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό του προφίλ κατανομής του μεγέθους μικρών σωματιδίων σε αραιά διαλύματα καθώς και για την ανίχνευση συσσωματωμάτων σε εναιωρήματα. Μέσω της τεχνικής αυτής είναι δυνατός ο υπολογισμός μεγέθους σωματιδίων από 0,3 nm (διάμετρος) έως 10 μm. Για τον υπολογισμό του μεγέθους χρησιμοποιείται ένας δειγματοφορέας- κυβέτα με ελάχιστο όγκο δείγματος τα 12 mL



Εικόνα 12: Zetasizer Nano ZS.
Πηγή: Malvern Panalytical

Αρχικά, για τη μέτρηση του μεγέθους των σωματιδίων παρασκευάστηκε εναιώρημα αμύλου με υπερκάθαρο νερό συγκέντρωσης 0,5%w/v. Η συγκέντρωση του εναιωρήματος, ο τρόπος και ο χρόνος ανάδευσης αυτού, αρχικά βρέθηκαν βιβλιογραφικά και στη συνέχεια τροποποιήθηκαν βάση δοκιμών και πρόδρομων αποτελεσμάτων που προέκυψαν από προκαταρκτικά πειράματα. Λόγω των φαινομένων της πολύ γρήγορης συσσωμάτωσης και καταβύθισης, ο χρόνος ανάδευσης ορίστηκε βάση των καλύτερων αποτελεσμάτων. Συγκεκριμένα, η ανάδευση του εναιωρήματος επετεύχθη μέσω της συσκευής ομογενοποίησης T 25 digital ULTRA-TURRAX®, της εταιρείας IKA, στις 3000 στροφές για 3 λεπτά. Ως δείκτης διάθλασης για το νερό ορίστηκε 1,33 και για το άμυλο 1,53, βάση βιβλιογραφίας (Che *et al.*, 2007). Μετά την ανάδευση, συλλέχθηκαν 12 mL εναιωρήματος, μέσω πιπέτας Pasteur και τοποθετήθηκαν στην ειδική κιβέτα για να γίνει η μέτρηση. Για τη διασφάλιση της επαναληψιμότητας των μετρήσεων, η κάθε μέτρηση του εκάστοτε δείγματος έγινε διαδοχικά τρεις φορές. Τα τελικά αποτελέσματα των μετρήσεων προέκυψαν μέσω του λογισμικού προγράμματος του μηχανήματος (Zetasizer Software). Η ακρίβεια των μετρήσεων επαληθεύτηκε, κατόπιν σύγκρισης με τις μετρήσεις που προέκυψαν από το οπτικό μικροσκόπιο.

2.1.4 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΚΟΚΚΩΝ ΑΜΥΛΟΥ ΜΕ ΟΠΤΙΚΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ

Για τη διερεύνηση της επίδρασης της υψηλής πίεσης ομογενοποίησης στη δομή του αμύλου αραβόσιτου υψηλής περιεκτικότητας αμυλόζης, καθώς και για τον προσδιορισμό και επαλήθευση του μεγέθους των κρυστάλλων, χρησιμοποιήθηκε οπτικό μικροσκόπιο (Kruss Optronik, Germany), το οποίο ήταν εξοπλισμένο με κάμερα (Sony, Topica TP-1002DS). Η διάταξη του μικροσκοπίου φαίνεται αναλυτικά στην Εικόνα 13. Για τη διεξαγωγή της μέτρησης, μια σταγόνα από το εναιώρημα αμύλου τοποθετούνταν πάνω σε αντικειμενοφόρο πλάκα και στη συνέχεια σκεπάζονταν με καλυπτρίδα, ώστε να μην λερωθεί ο φακός κατά τη μέτρηση. Για τις μετρήσεις χρησιμοποιήθηκαν φακοί με μεγεθύνεις X40 και X100. Μετά τη λήψη φωτογραφιών, καλύτερης δυνατής ευκρίνειας, έγινε περαιτέρω επεξεργασία των εικόνων και μετρήθηκε το μέγεθος και το σχήμα των κόκκων, τόσο των ακατέργαστων όσο και των επεξεργασμένων με υπερυψηλή πίεση δειγμάτων αμύλου, με χρήση του λογισμικού Image Pro 8.



Εικόνα 13: Οπτικό μικροσκόπιο (Kruss Optronik, Germany)

Πηγή: Προσωπική συλλογή

2.1.5 ΥΠΕΡΥΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΣΗΣ

Για την επίτευξη της μείωσης του μεγέθους των σωματιδίων του αμύλου, χρησιμοποιήθηκε ομογενοποιητής υψηλής πίεσης (FPG 12800 PRESSURE CELL HOMOGENISER, STANSTED FLUID POWER LTD). Το μοντέλο αναλυτικά φαίνεται στην Εικόνα 14.



Εικόνα 14: Ομογενοποιητής υψηλής πίεσης
(FPG 12800 PRESSURE CELL HOMOGENISER, STANSTED FLUID POWER LTD)

Πηγή: Προσωπική συλλογή

Με το συγκεκριμένο μοντέλο ομογενοποιητή, καθίσταται δυνατή η εφαρμογή πίεσης στο εκάστοτε δείγμα από 0 έως 400 MPa ή 60000 Psi. Κατά τη φάση της προετοιμασίας του πειραματικού πρωτοκόλλου, μελετήθηκε η επίδραση ενός μεγάλου εύρους πιέσεων, που κυμαινόταν από χαμηλές τιμές της τάξης των 40 MPa , έως και κάποιες ακραίες τιμές της τάξης των 250 MPa.

Αρχικά, στα πλαίσια του χαρακτηρισμού του μεγέθους των κόκκων του αμύλου, παρασκευάστηκαν 100 mL εναιωρήματος αμύλου, αναμεμιγμένου με υπερκάθαρο νερό συγκέντρωσης 0,5%w/v. Το υπερκάθαρο νερό χρησιμοποιήθηκε για την αποφυγή μέτρησης ξένων προσμίξεων, που δύναται να υπήρχαν στο νερό βρύσης. Η παρασκευή του υπερκάθολου νερού γινόταν κατόπιν απόσταξης απιονισμένου νερού. Στη συνέχεια, το νερό διηθούνταν με χρήση φίλτρων 0,2 μm (Millipore) και μίας αντλίας κενού. Η μέθοδος παρασκευής παρατίθεται αναλυτικότερα στην Εικόνα 15.



Εικόνα 15: Παρασκευή υπερκάθαρου νερού.
Πηγή: Προσωπική συλλογή.

Ως δεξαμενή τροφοδοσίας του ομογενοποιητή χρησιμοποιείται μια κυλινδρική σύριγγα χωρητικότητας 60 mL, όπως φαίνεται και στην Εικόνα 16. Η συσκευή ομογενοποίησης επεξεργάζεται 10 mL ανά κύκλο ομογενοποίησης και το δείγμα που προκύπτει συλλέγεται σε ποτήρι ζέσεως.

Σημαντικό είναι να αναφερθεί πως, λόγω των δυνάμεων που ασκούνται στο δείγμα κατά την διαδικασία της ομογενοποίησης, παρατηρείται το φαινόμενο της αύξησης της θερμοκρασίας του δείγματος. Ανάλογα με το ρυθμό της πίεσης που ασκείται, παρατηρείται και διαφορετική θερμοκρασία. Στα δείγματα αμύλου, ένα φαινόμενο που είναι αλληλένδετο με την επίδραση της θερμοκρασίας, είναι η ζελατινοποίηση. Για την αποφυγή θέρμανσης του δείγματος, κατασκευάστηκε ένα σύστημα ψύξης, η ακριβής διάταξη του οποίου απεικονίζεται στην Εικόνα 16 και στην Εικόνα 17. Αναλυτικότερα, ο σπειροειδής εναλλάκτης θερμότητας συνδέθηκε με παροχή νερού. Το ψυκτικό μέσο ήταν νερό βρύσης, όπου με συνεχή ανακυκλοφορία έψυχε τον φορέα εξόδου του δείγματος. Τόσο για την παροχή, όσο και για την έξοδο, χρησιμοποιήθηκε πλαστικός σωλήνας, ο οποίος συνδέθηκε με βρύση μέσω μούφας ταχείας απελευθέρωσης 3/8-1/2, όπως φαίνεται στην Εικόνα 18. Με αυτό τον τρόπο κατέστη δυνατή η χρήση του εναλλάκτη ως ψυκτικό σύστημα.



Εικόνα 16: Αυτοσχέδιο σύστημα ψύξης
Πηγή: Προσωπική συλλογή



Εικόνα 17: Παροχή και έξοδος νερού ως ψυκτικό μέσο
Πηγή: Προσωπική συλλογή

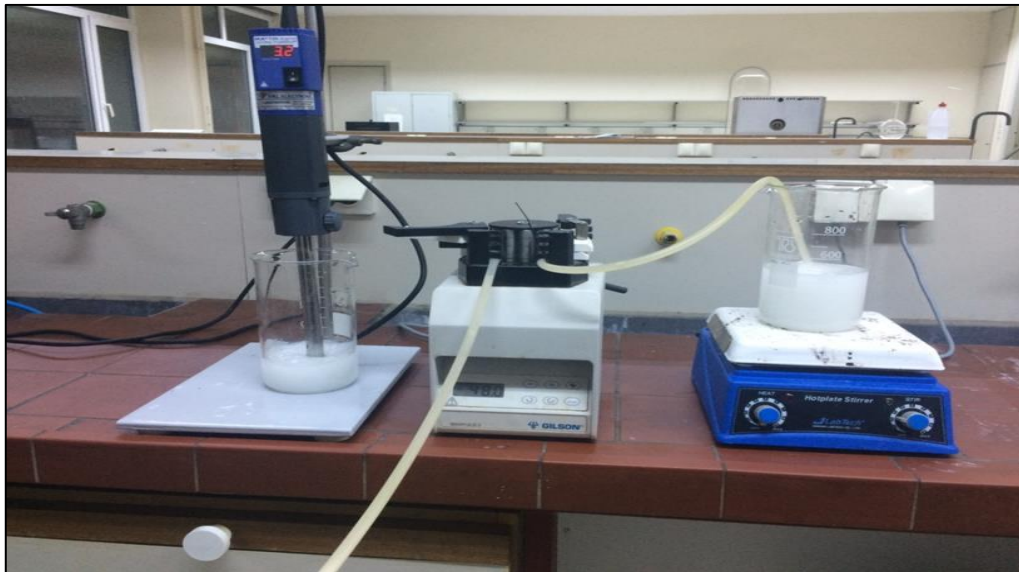


Εικόνα 18: Παροχή νερού σε εναλλάκτη θερμότητας.
Πηγή: Προσωπική συλλογή.

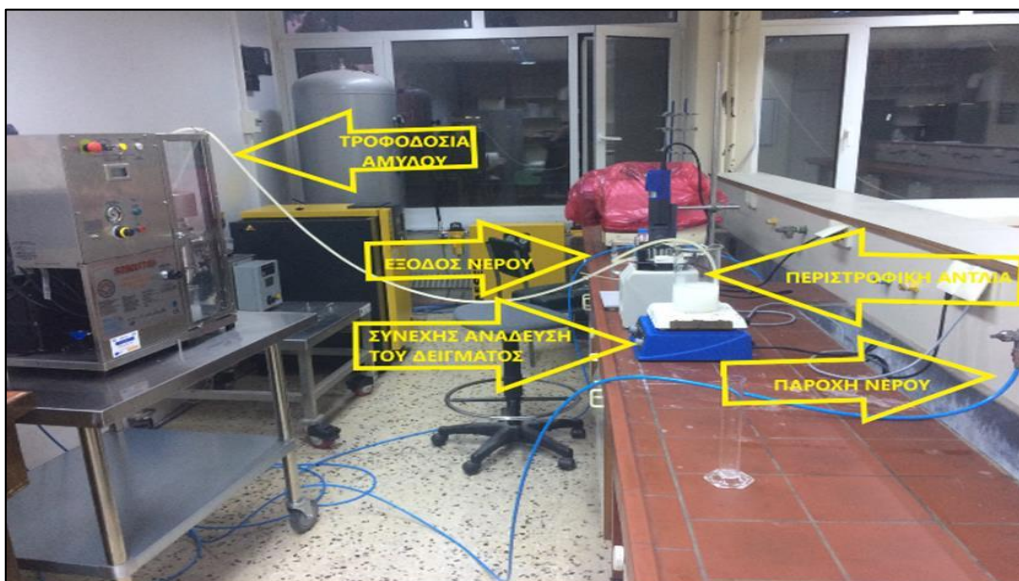
Εκτός από τον χαρακτηρισμό του μεγέθους των σωματιδίων, για τις υπόλοιπες διεργασίες χαρακτηρισμού του υλικού, χρειάστηκαν μεγαλύτερες ποσότητες δείγματος προς επεξεργασία. Συγκεκριμένα, παρασκευάστηκε ένα λίτρο (1L) εναιωρήματος αμύλου σε υπερκάθαρο νερό, συγκέντρωσης 0,5%w/v. Στη συνέχεια, κατασκευάστηκε η αυτοσχέδια διάταξη, που παρουσιάζεται στην Εικόνα 19. Το εναιώρημα, το οποίο παρέμενε υπό συνεχή ανάδευση (Magnetic Stirrer Lms-1003, Daihan Labtech) για την αποφυγή φαινομένων συσσωμάτωσης και καθίζησης, παροχετευόταν στον ομογενοποιητή με χρήση περιστροφικής αντλίας (Peristaltic Pump-MINIPULS® 3, Gilson) με σταθερό ρυθμό.

Η ογκομετρική παροχή υπολογίστηκε 100 mL/min με βάση τον ρυθμό λειτουργίας του ομογενοποιητή. Έπειτα, το επεξεργασμένο δείγμα που προέκυπτε από τον ομογενοποιητή υψηλής πίεσης, τοποθετούνταν σε ποτήρι ζέσεως για ανάδευση (T 25 digital ULTRA-TURRAX®, IKA Werke, Staufen, Germany), ανάλογα με τους κύκλους επεξεργασίας. Το αυτοσχέδιο σύστημα ψύξης συνολικά φαίνεται στην

Εικόνα 20.



Εικόνα 19: Διάταξη αντλίας
Πηγή: Προσωπική συλλογή



Εικόνα 20: Συνολική διάταξη διεργασίας Ομογενοποίησης με υψηλή πίεση (ΗΡΗ)
Πηγή: Προσωπική συλλογή

2.1.6 ΕΞΑΤΜΙΣΗ ΝΕΡΟΥ ΜΕΣΩ ΠΕΡΙΣΤΡΟΦΙΚΟΥ ΕΞΑΤΜΙΣΤΗΡΑ (ROTATION EVAPORATE)

Για τη διεξαγωγή των επιμέρους μετρήσεων του πρωτοκόλλου, όπως ο προσδιορισμός της κρυσταλλικότητας (XRD) και οι μετρήσεις με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (SEM), κατόπιν της επεξεργασίας των δειγμάτων μέσω υπερυψηλής πίεσης ομογενοποίησης, τα δείγματα έπρεπε να είναι σε απόλυτα ξηρή κατάσταση. Για την επίτευξη αυτών των συνθηκών, το πρώτο στάδιο της επεξεργασίας ήταν η απομάκρυνση του νερού από το επεξεργασμένο εναιώρημα αμύλου με υπερυψηλή πίεση ομογενοποίησης.

Αρχικά, διεξήχθησαν αρκετά προκαταρκτικά πειράματα βάσει διεθνούς βιβλιογραφίας, για την απομόνωση του αμύλου και την παράλληλη απομάκρυνση του νερού με χρήση της μεθόδου της φυγοκέντρωσης (Thermo Scientific™ Sorvall LYNX 6000 Centrifuge, US). Όμως, στα υπό μελέτη δείγματα, δε βρέθηκαν οι βέλτιστες συνθήκες για την επίτευξη αυτού του σκοπού.

Ως εναλλακτικός τρόπος, κατά το στάδιο των προπειραμάτων, μελετήθηκε η μέθοδος της εξάτμισης με πολύ ήπιες συνθήκες. Η εξάτμιση πραγματοποιήθηκε μέσω περιστροφικής εξάτμισης κενού. Πρόκειται για μία μέθοδο, που οδηγεί σε μείωση του σημείου βρασμού του νερού, με αποτέλεσμα να μην αναπτύσσονται μεγάλες θερμοκρασίες. Με αυτόν τον τρόπο, η θερμοκρασία δεν ανέρχεται στα επίπεδα της θερμοκρασίας ζελατινοποίησης του αμύλου, και έτσι αποφεύγονται δυνητικές επιδράσεις στην κρυσταλλικότητα του δείγματος.

Η διάταξη της συσκευής που χρησιμοποιήθηκε παρουσιάζεται αναλυτικότερα στην Εικόνα 21 (Waterbath B-480, Buchi, Switzerland). Το υπό εξάτμιση δείγμα τοποθετούνταν στην σφαιρική φιάλη εξάτμισης της συσκευής, κατόπιν κατάλληλης ρύθμισης της θερμοκρασίας και του ρυθμού περιστροφής. Το νερό περισυλλέγονταν σε φιάλη συλλογής, αφού εξατμιζόνταν και υγροποιούνταν μέσω της ψύξης του συστήματος. Συγκεκριμένα, στα δείγματα μας, η θερμοκρασία βρασμού του νερού επετεύχθη μεταξύ 40-50 °C με την κατάλληλη ρύθμιση του κενού στο σύστημα. Παράλληλα, η γρήγορη περιστροφή του δείγματος συντελεί στην αποφυγή φαινομένων, όπως ο έντονος βρασμός και κοχλασμός, όπου θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε αναρρόφηση του δείγματος στο δοχείο αναρρόφησης και κατ' επέκταση σε απώλεια αυτού.



Εικόνα 21: Περιστροφικός εξατμιστήρας
(Waterbath B-480, Buchi)
Πηγή: Προσωπική συλλογή

2.1.7 ΛΥΟΦΙΛΙΩΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΑΜΥΛΟΥ

Ο τρόπος κρυοξήρανσης των επεξεργασμένων δειγμάτων αμύλου επετεύχθη μέσω ψύξης σε χαμηλή θερμοκρασία, οδηγώντας σε απομάκρυνση του νερού από το δείγμα με εξαχνωση. Μέσω της διεργασίας λυοφιλίωσης, το εναπομείναν νερό στο δείγμα μεταβαίνει απευθείας από την στερεή στην αέρια φάση, χωρίς να περάσει από το στάδιο της υγρής φάσης. Με αυτό τον τρόπο, αποφεύγεται η θέρμανση των δειγμάτων, όπως γίνεται στις κλασικές μεθόδους ξήρανσης. Αναλυτικότερα, τα επεξεργασμένα δείγματα αμύλου, μετά το πρώτο στάδιο της εξάτμισης του νερού (rotation evaporate), συλλέχθηκαν σε πλαστικά κυπελάκια και σκεπάστηκαν με «χειρουργική» γάζα για την αποφυγή απώλειας δείγματος κατά την έξοδο των δειγμάτων από τον εξαχνωτή (Εικόνα 22), καθώς όταν «σπάει» το κενό κατά το άνοιγμα της συσκευής, δύναται να χαθεί δείγμα, λόγω και της χαμηλής κοκκομετρίας.



Εικόνα 22: Πλαστικός περιέκτης, δείγμα αμύλου προς λυοφιλίωση
Πηγή: Προσωπική συλλογή

Αρχικά, τα καλυμμένα δείγματα τοποθετήθηκαν στους $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ για 24 ώρες, έτσι ώστε το νερό να ψυχθεί. Στη συνέχεια, τοποθετήθηκαν κατάλληλα στην συσκευή λυοφιλίωσης, όπως φαίνεται στην Εικόνα 23 (Unicryo MC4L (Uniequip), Germany). Στην συσκευή δημιουργείται κενό στον αεροστεγή χώρο, μέσω μιας αντλίας κενού που διαθέτει, μειώνοντας την πίεση σε σημείο κάτω από το τριπλό σημείο του νερού. Η χαμηλή πίεση, έχει ως συνέπεια το νερό να απομακρύνεται με εξάχνωση, ενώ το δείγμα να ψύχεται από την λανθάνουσα θερμότητα εξάχνωσης του νερού. Η εξάχνωση των δειγμάτων απαιτούσε το λιγότερο 24 ώρες. Μετά το πέρας της διεργασίας, τα δείγματα συλλέχθηκαν σε μικρά βαζάκια (περιέκτες), όπως φαίνεται στην Εικόνα 24 και τοποθετήθηκαν για φύλαξη σε ξηραντήρα (desicator) για την αποφυγή υγρασίας.



Εικόνα 23: Συσκευή λυοφιλίωσης
(Unicryo MC4L (Uniequip), Germany)
Πηγή: Προσωπική συλλογή



Εικόνα 24: Περιέκτες δείγματος
Πηγή: Προσωπική συλλογή

2.1.8 ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ ΤΗΣ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑΣ ΤΟΥ ΑΜΥΛΟΥ ΜΕ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ (SEM)

Αρχικά, για τη διεξαγωγή των μετρήσεων στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, χρειάστηκε τα λυοφιλιωμένα δείγματα αμύλου να τοποθετηθούν στους κατάλληλους δειγματοφορείς. Όπως παρατίθεται στην Εικόνα 25, πρώτα τοποθετήθηκε ταινία άνθρακα διπλής όψης στους χρυσούς δειγματοφορείς. Η ταινία άνθρακα είναι αγωγική και παράλληλα διασφαλίζει την παραμονή του αμύλου στο δειγματοφορέα. Εν συνεχεία, με τη βοήθεια σπάτουλας και λαβίδας, τοποθετήθηκε η κατάλληλη ποσότητα αμύλου (Εικόνα 25). Στην συνέχεια έγινε επιμετάλωση της επιφάνειας του αμύλου με πλατίνα, μέσω της συσκευής Auto Sputter Coater, Agar (Εικόνα 26).



Εικόνα 25: Διάταξη δειγματοφορέων για Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο (SEM)
Πηγή: Προσωπική συλλογή



Εικόνα 26: Συσκευή επιμετάλλωσης
(Auto Sputter Coater, Agar)
Πηγή: Προσωπική συλλογή

Η διαδικασία της εναπόθεσης πλατίνας στην επιφάνεια του αμύλου, περιλαμβάνει το φαινόμενο του βομβαρδισμού ιόντων από έναν στόχο (πλατίνα) σε ένα υπόστρωμα (δειγματοφορέας αμύλου με αγώγιμη ταινία άνθρακα). Τα ιονισμένο αέριο που επικρατεί μέσα στην συσκευή, προκαλεί ένα έντονο οπτικό φαινόμενο κατά την διαδικασία της εναπόθεσης που ονομάζεται «αίγλη». Το φαινόμενο αυτό, κατά την διαδικασία της εναπόθεσης, αποτυπώθηκε σε φωτογραφία και απεικονίζεται στην Εικόνα 27.



Εικόνα 27: Φαινόμενο «αίγλης» κατά την διαδικασία εναπόθεσης πλατίνας
Πηγή: Προσωπική συλλογή

Αφού προετοιμάστηκαν τα υπό μελέτη δείγματα, πραγματοποιήθηκαν οι μετρήσεις στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (JSM-6380LV, JEOL) (Εικόνα 28). Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στα 15 kV, με χρήση της εικόνας δευτερογενών ηλεκτρονίων (SEI) και κάποιες αλλαγές στην απόσταση από τον ανιχνευτή (Working Distance, WD), όπου χρησιμοποιήθηκε η ονομαστική μεγέθυνση (X500, X800, X1000, X2000) και η γραμμική μεγέθυνση (50 μm , 20 μm , 10 μm), έτσι ώστε να μπορέσει να επιτευχθεί η καλύτερη δυνατή αποτύπωση. Το spot size που χρησιμοποιήθηκε είναι 50%. Το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο ήταν εξοπλισμένο και συνδεδεμένο με ηλεκτρονικό υπολογιστή, όπου μέσω λογισμικού προγράμματος, ακολούθησε η κατάλληλη επεξεργασία των εικόνων.



Εικόνα 28: Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο (SEM)
(JSM-6380LV, JEOL)
Πηγή: Προσωπική συλλογή

2.1.9 ΜΕΛΕΤΗ ΚΡΥΣΤΑΛΛΙΚΟΤΗΤΑΣ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΙΚΗ ΠΕΡΙΘΛΑΣΕΩΣ ΑΚΤΙΝΩΝ Χ (XRD)

Σε αυτό το στάδιο του πειράματος, υπολογίστηκε η κρυσταλλικότητα τόσο του ακατέργαστου δείγματος αμύλου, όσο και των επεξεργασμένων με υπερυψηλή πίεση δειγμάτων αμύλου, μέσω της συσκευής D8 Advanced, Bruker (Εικόνα 29). Η λειτουργία του μηχανήματος, βάσει βιβλιογραφίας, ρυθμίστηκε στα 40 kV και 40 mA, ακτινοβολίας Cu K α με μήκος κύματος 0,1542 nm ως πηγή ακτίνων Χ. Η σάρωση ορίστηκε να εκτελείται με γωνία περιθλάσεως (2θ) από 3° έως 35° με ταχύτητα σάρωσης 10° λεπτό και μέγεθος βήματος 0,05° (Yang *et al.*, 2016).



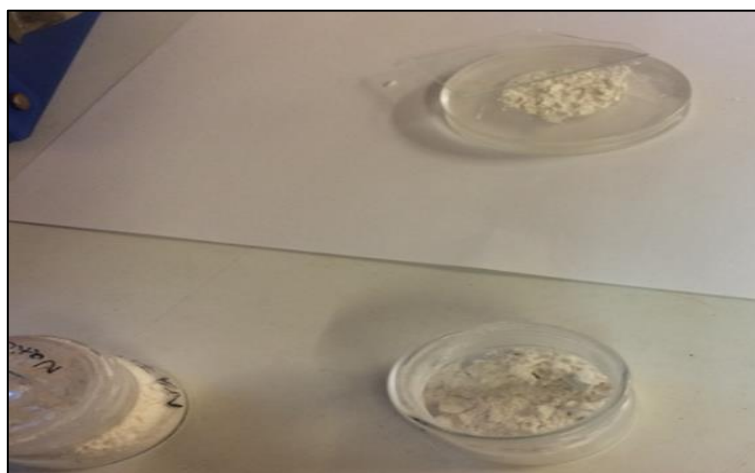
Εικόνα 29: Περιθλαση ακτίνων Χ (XRD)
(D8 Advanced, Bruker)

Πηγή: Προσωπική συλλογή

Για τη διεξαγωγή των μετρήσεων, τα λυοφιλωμένα δείγματα αμύλου στρώνονταν προσεκτικά με τη βοήθεια μίας γυάλινης επιφάνειας στους ειδικούς δειγματοφορείς που χρησιμοποιούνται στη συσκευή (Εικόνα 30). Στην συνέχεια, εναποτέθηκαν στη θέση του δειγματοφορέα, όπως φαίνεται και στην Εικόνα 31. Τα αποτελέσματα λαμβάνονται μέσω κατάλληλου λογισμικού, που παρείχε τη δυνατότητα να υπολογιστεί η κρυσταλλικότητα των δειγμάτων και να εκτιμηθεί η άμορφη και η κρυσταλλική περιοχή (Bruker Diffrac. Eva Version 3.1).



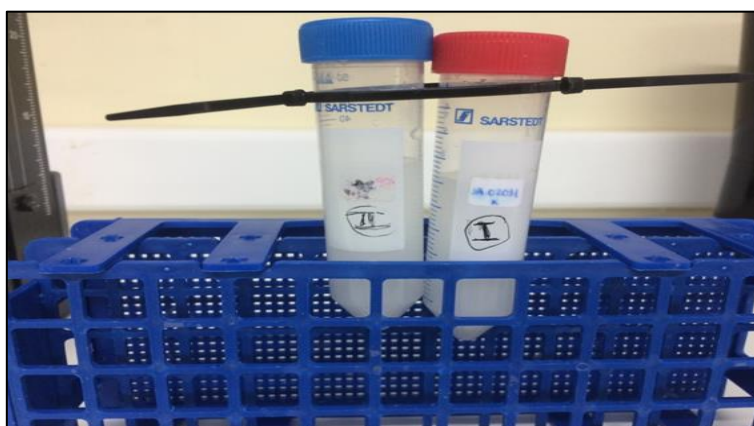
Εικόνα 30: Διάταξη δειγματοφορέα (XRD)
Πηγή: Προσωπική συλλογή



Εικόνα 31: Διάταξη δείγματος περίθλασης ακτίνων
Πηγή: Προσωπική συλλογή

2.1.10 ΜΕΛΕΤΗ ΔΙΑΛΥΤΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΒΑΘΜΟΥ ΔΙΟΓΚΩΣΗΣ ΚΑΙ ΠΡΟΣΛΗΨΗΣ ΝΕΡΟΥ

Η μέτρηση της διαλυτότητας και του βαθμού διόγκωσης έγινε σύμφωνα με την μέθοδο των Choi *et al.*, (2009). Αναλυτικότερα, χρησιμοποιήθηκε 0,5 gr αμύλου και 30 mL απιονισμένου νερού σε σωλήνες φυγοκέντρησης των 50 mL. Αρχικά, αφού προζυγίστηκαν οι σωλήνες της φυγοκέντρησης, τοποθετήθηκε με τη βοήθεια σπάτουλας το άμυλο και ζυγίστηκε με ακρίβεια. Το νερό τοποθετήθηκε στον σωλήνα με την χρήση πιπέτας ρυθμισμένης στα 5 mL. Στη συνέχεια, οι σωλήνες δέθηκαν με ταινίες μετά από το βρήκαν αδρανειακή μπάλα (Εικόνα 32) και τοποθετήθηκαν σε μπάνιους νερού για μισή ώρα (RCT Basic S1 Digital Hot Plate Magnetic Stirrer, IKA) (Εικόνα 33).



Εικόνα 32: Διάταξη δείγματος αμύλου
Πηγή: Προσωπική συλλογή



Εικόνα 33: Διάταξη δειγμάτων σε θέρμανση υπό ανάδευση
(RCT Basic S1 Digital Hot Plate Magnetic Stirrer, IKA)
Πηγή: Προσωπική συλλογή

Σε κάθε μέτρηση χρησιμοποιήθηκαν δύο σωλήνες και μετά τη θέρμανση του δείγματος ακολούθησε φυγοκέντρηση στις 3000 στροφές για μισή ώρα (Εικόνα 34) (Hettich® Universal 320R centrifuge, Germany). Κατά την διαδικασία αυτή, τα δείγματα πρέπει να τοποθετούνται αντιδιαμετρικά και να είναι ισοβαρή. Τα ιζήματα ζυγίστηκαν μετά τη φυγοκέντρηση μαζί με τους σωλήνες και αφαιρέθηκε το βάρος του προζυγισμένου σωλήνα. Ακολούθως, συλλέχθηκαν τα υπερκείμενα υγρά σε γυάλινα προζυγισμένα τρυβλία και τοποθετήθηκαν σε προθερμασμένο φούρνο για ξήρανση επί 16 ώρες στους 105 °C. Ύστερα από την ξήρανση, τα τρυβλία ζυγίστηκαν και αφαιρέθηκε το βάρος των προζυγισμένων τρυβλίων, για τον υπολογισμό του υδατοδιαλυτού βάρους του υλικού στο υπερκείμενο υγρό. Η διαλυτότητα και ο βαθμός διόγκωσης υπολογίστηκαν σύμφωνα με τις παρακάτω εξισώσεις:

$$\begin{aligned}
 \text{Βαθμός Διόγκωσης} &= \frac{\text{Βάρος υλικού} \times \text{Βαθμολογία} \times \text{Βαθμολογία}}{\text{Βάρος υλικού} \times \text{Βαθμολογία} \times \text{Βαθμολογία}} \times 100 \\
 \text{Διαλυτότητα} &= \frac{\text{Βάρος υλικού} \times \text{Βαθμολογία} \times \text{Βαθμολογία}}{\text{Βάρος υλικού} \times \text{Βαθμολογία} \times \text{Βαθμολογία}} \times 100
 \end{aligned}$$

Σύμφωνα με τους Kimbar *et al.*, (2010), ο βαθμός διόγκωσης και η πρόσληψη νερού είναι παράμετροι που συσχετίζονται. Επομένως, καθίσταται δυνατό να προκύψει μια σχέση που να εκφράζει την συσχέτιση των δύο αυτών παραγόντων. Η πρόσληψη νερού υπολογίστηκε ως εξής:

$$\Pi = \frac{\text{Βαθμολογία}}{\text{Βαθμολογία}} - 1$$



Εικόνα 34: Φυγόκεντρος (Hettich® Universal 320R centrifuge, Germany).
 Πηγή: Προσωπική συλλογή.

2.1.11 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΡΥΘΜΟΥ ΚΑΤΑΒΥΘΙΣΗΣ ΑΜΥΛΟΥ

Για τον υπολογισμό του ρυθμού καταβύθισης του εναιωρήματος αμύλου χρησιμοποιήθηκε ο αναλυτής κάθετης σάρωσης ή συσκευή πολλαπλής σκέδασης φωτός TurbiscanMA, 2000 (Formulation, Toulouse, France) (Εικόνα 35). Τα υπό μελέτη δείγματα (ακατέργαστο άμυλο υψηλής αμυλόζης και άμυλο επεξεργασμένο σε υπερυψηλή πίεση ομογενοποίησης στα 250 MPa και 4 φορές πέρασμα-ακραία κατεργασία), τοποθετήθηκαν ως εξής: 6 mL δείγματος σε ειδικούς σωλήνες, όπου ο πάτος σφραγίζεται με ειδική φλάντζα και πώμα και τοποθετείται το κατάλληλο καπάκι. Η συσκευή ρυθμίστηκε να σαρώνει το δείγμα ανά 3 λεπτά. Η μελέτη της ταχύτητας αποσταθεροποίησης πραγματοποιήθηκε με βάση τη σκέδαση του φωτός (Backscattering). Σημαντικό είναι να αναφερθεί, πως η θολότητα του εναιωρήματος αμύλου σταδιακά άλλαζε με την πάροδο του χρόνου, λόγω του ρυθμού καταβύθισης του αμύλου. Για αυτό το λόγο, κατά το σκανάρισμα του δείγματος, η πηγή φωτός μετακινούνταν κατά μήκος του σωλήνα και το αποτέλεσμα προέκυψε από τη μέτρηση που έγινε, στο εκάστοτε σημείο του δείγματος, τη συγκεκριμένη χρονική στιγμή.



Εικόνα 35: Συσκευή πολλαπλής σκέδασης
(TurbiscanMA, 2000 (Formulation, Toulouse, France))
Πηγή: Προσωπική συλλογή

2.1.12 ΜΕΛΕΤΗ ΡΕΟΛΟΓΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ

Οι ρεολογικές μετρήσεις των εναιωρημάτων αμύλου (ακατέργαστου αμύλου και ακραία επεξεργασμένου δείγματος 250 MPa, 4 κύκλοι ομογενοποίησης), πραγματοποιήθηκαν με το ρεόμετρο ελεγχόμενης τάσης (DiscoveryHR-3, TA Instruments, NewCastle, DE, USA) (Εικόνα 36). Χρησιμοποιήθηκε η γεωμετρία των παράλληλων πλακών. Το κενό ανάμεσα στις πλάκες ορίστηκε στα 0,1 mm, ενώ η θερμοκρασία διεξαγωγής των μετρήσεων ορίστηκε σταθερή στους $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Η διατήρηση της θερμοκρασίας σε σταθερό ρυθμό επετεύχθη λόγω της παράλληλης λειτουργίας του συστήματος ψύξης (κυκλοφορία νερού από κυκλοφορητή) και του συστήματος θέρμανσης της κάτω πλάκας της γεωμετρίας. Η μέτρηση έγινε σε ρυθμό διάτμησης 0,01 έως 100 sec^{-1} . Το φαινόμενο ιξώδους του δείγματος υπολογίστηκε σε αυτούς τους ρυθμούς διάτμησης.



Εικόνα 36: Υβριδικό Ρεόμετρο
(DiscoveryHR-3, TA Instruments, NewCastle , DE, USA)
Πηγή: <http://www.tainstruments.com/dhr-3-2/?lang=fr>

2.1.13 ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΘΕΡΜΙΔΟΜΕΤΡΙΑ ΣΑΡΩΣΗΣ (DSC)

Για τον υπολογισμό της θερμοκρασίας ζελατινοποίησης του ακατέργαστου δείγματος αμύλου, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (Differential Scanning Calorimetry, DSC). Τα δείγματα προζυγίστηκαν με ακρίβεια έως 0,006 gr, καθώς το ακριβές βάρος του δείγματος δηλώνεται στο λογισμικό του θερμιδόμετρου για τον υπολογισμό των μετρήσεων. Τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε ειδικά καψίδια, τα οποία κλείνουν ερμητικά, με τη βοήθεια της κατάλληλης πρέσας που διατίθεται. Η συσκευή στην οποία πραγματοποιήθηκαν οι μετρήσεις φαίνεται στην Εικόνα 37 (DSC Q100, TA Instruments, NewCastle, DE,USA). Το θερμοκρασιακό προφίλ, που εξετάσθη το δείγμα, είναι από 20 °C έως 200 °C, έτσι ώστε να βρεθεί η θερμοκρασία ζελατινοποίησης του αμύλου.



Εικόνα 37: Συσκευή Διαφορικής Θερμιδομετρίας Σάρωσης (DSC Q100, TA Instruments, NewCastle, DE,USA)
Πηγή: Προσωπική συλλογή

2.1.14 ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΩΝ

Για την παρασκευή γαλακτωμάτων τύπου O/W έγινε προσπάθεια καθορισμού τόσο της αναλογίας της λιπαρής προς υδατικής φάσης (5%, 10% και 20% O/W), όσο και της βέλτιστης συγκέντρωσης σταθεροποιητή. Αναλυτικότερα, δοκιμάστηκαν ποσότητες ανθεκτικού αμύλου εύρους από 1 gr έως και 20 gr στην υδατική φάση. Τα γαλακτώματα παρασκευάστηκαν σε ποτήρια ζέσεως. Αρχικά, αναδεύτηκε η υδατική φάση με την κατάλληλη ποσότητα αμύλου, και στη συνέχεια προστέθηκε και η λιπαρή φάση (έξτρα παρθένο ελαιόλαδο). Η γαλακτωματοποίηση έγινε με τη χρήση συσκευής ομογενοποίησης υψηλής διάτμησης Ultra Turax T25 (IKA WERKE, Germany) στις 12.000 rpm για 3 λεπτά. Κατά το στάδιο των προπειραμάτων, μελετήθηκε και η επίδραση του συστατικού της ξανθάνης, σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις (0,2%w/v), στη σταθερότητα των γαλακτωμάτων.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ

3.1 ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

3.1.1 ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΤΩΝ ΚΟΚΚΩΝ ΜΕ ΤΕΧΝΙΚΗ DLS

Το μέγεθος των σωματιδίων (z-average) προσδιορίστηκε με τη χρήση της τεχνικής δυναμικής σκέδασης φωτός (dls) και τα αποτελέσματα των 6 επαναλαμβανόμενων μετρήσεων για κάθε δείγμα παρουσιάζονται στον Πίνακα 6, ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση, (Mean ±SD).

Πίνακας 6

Μέγεθος κόκκων αμύλου υπό διαφορετικές κατεργασίες πίεσης

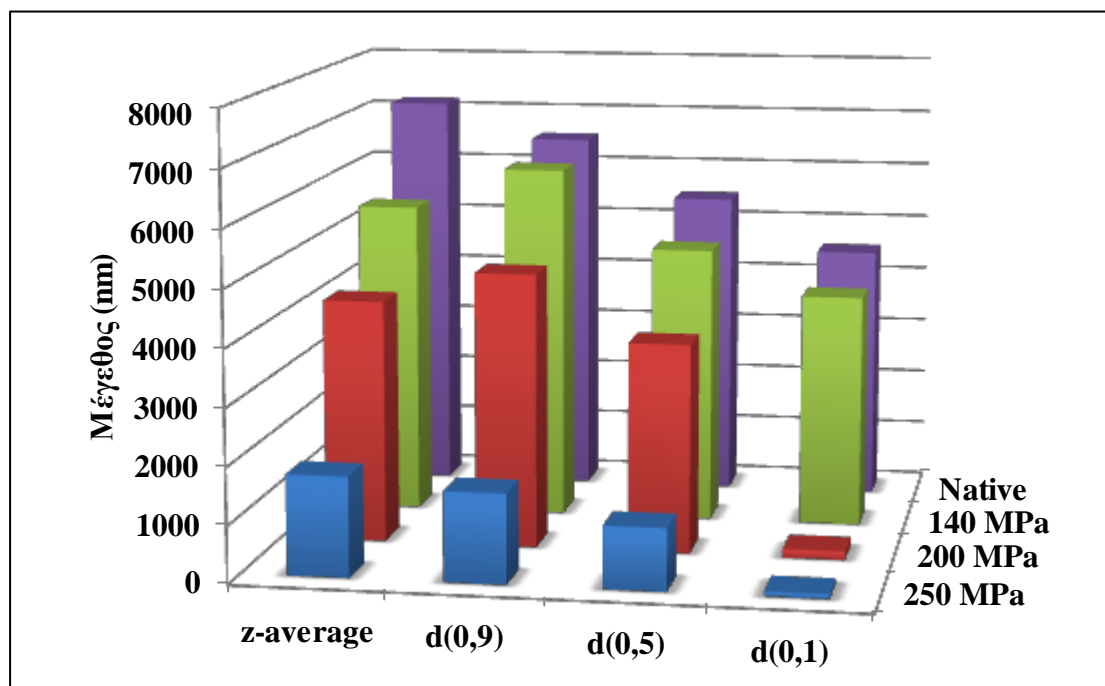
Όνομα δείγματος*	Μέγεθος κόκκων (nm)			
	z-average	d (0,9)	d (0,5)	d (0,1)
native	7168,7±820,5	6533,3±117,2	5471,7±98,7	4533,3±150,6
140 MPa _1	5556,7±793,5	6291,7±58,8	4905,0±294,4	4128,8±108,0
140 MPa _2	5143,7±1476,7	5219,7±1537,9	4375,7±1144,6	605,5±1222,4
140 MPa _3	3545,7±1573,1	3668,3±1288,5	3522,4±1043,9	101,9±38,4
140 MPa _4	3542,5±1283,9	2811,0±1067,5	2293,3±702,7	91,7±13,9
200 MPa _1	4270,5±653,5	4825,0±1826,5	3681,0±1291,0	156,2±89,6
200 MPa _2	4001,2±1250,4	3710,0±1037,7	2104,9±505,8	99,4±36,0
200 MPa _3	2687,0±871,8	1908,0±707,9	1353,3±344,8	90,0±22,6
200 MPa _4	1269,5±342,1	1147,8±346,1	913,6±201,4	36,2±15,4
250 MPa _1	1749,0±359,7	1564,9±364,5	1086,8±292,2	88,1±22,5
250 MPa _2	899,5±204,4	895,1±227,7	895,5±302,8	81,5±50,9
250 MPa _3	579,9±134,9	605,0±121,7	264,2±120,7	74,7±28,4
250 MPa _4	544,4±72,4	413,2±104,6	184,4±71,0	34,3±13,6

*1, 2, 3, 4 αναφέρονται στους κύκλους ομογενοποίησης.

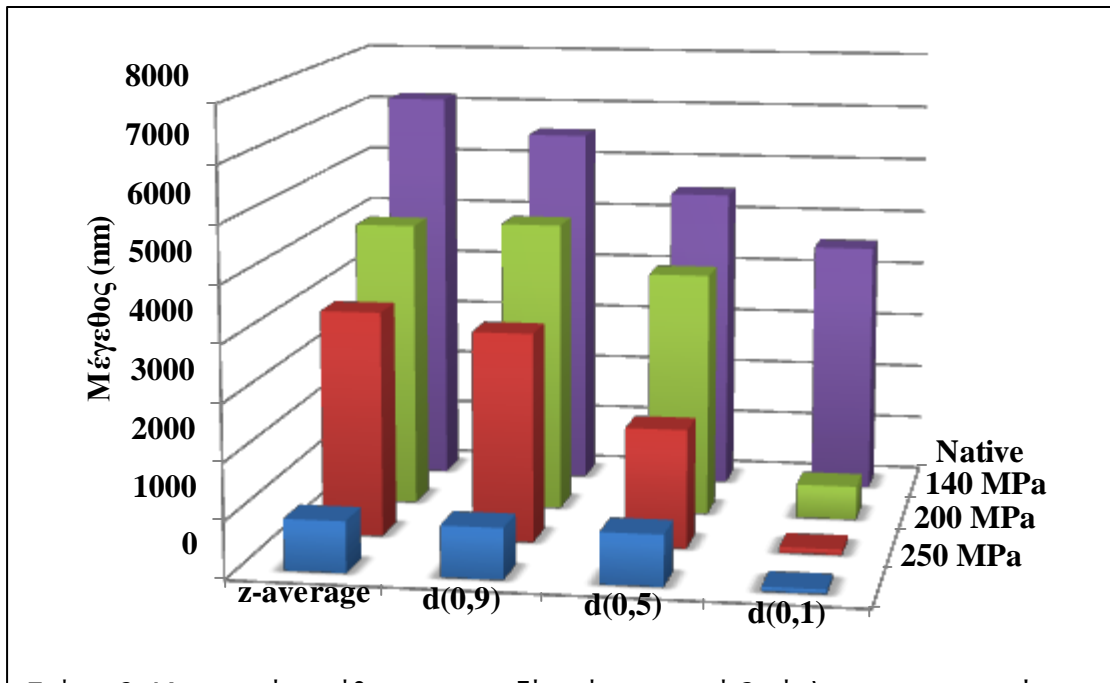
Οι τιμές για τις παραμέτρους d (0,1), d (0,5) και d (0,9) αφορούν το μέγεθος των σωματιδίων στο 10%, 50% και 90% του όγκου του δείγματος αντίστοιχα.

Σύμφωνα με τη μελέτη των Tester *et al.* (2004), το μέσο μέγεθος των κόκκων αμύλου υψηλής περιεκτικότητας σε αμυλόζη κυμαίνεται μεταξύ 2 έως 30 μm , ανάλογα με την περιεκτικότητά τους σε αμυλόζη. Επίσης, σύμφωνα με τη μελέτη των Liu *et al.*, (2009) η μέση διάμετρος των σωματιδίων αμύλου κυμαίνεται από 2 έως 6 μm . Συγκεκριμένα όμως για το άμυλο HI-MAIZE® 260, το οποίο και μελετήθηκε, σύμφωνα με τη μελέτη των Zhang *et al.*, (2017), η διάμετρος των κόκκων είναι κατά μέσο όρο $9,3 \pm 0,82 \mu\text{m}$, γεγονός που είναι σε συμφωνία με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας. Όπως φαίνεται και στον Πίνακα 6, η μέση διάμετρος των κόκκων του ακατέργαστου δείγματος αμύλου που μελετήθηκε είναι περίπου $7,2 \pm 0,8 \mu\text{m}$.

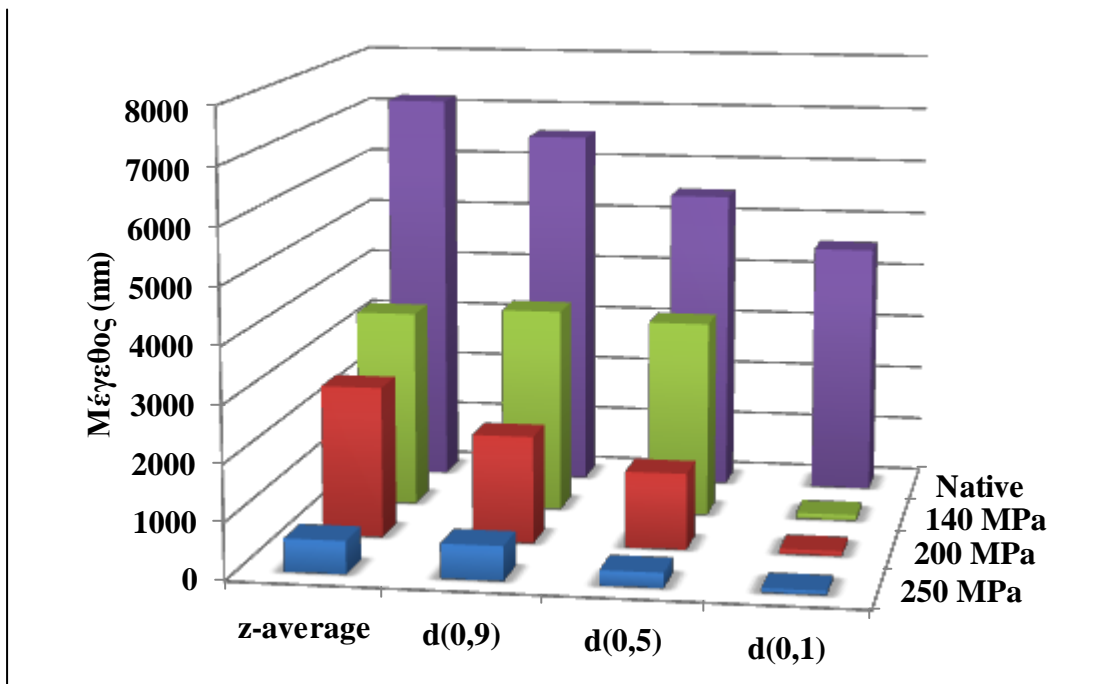
Η κατανομή του μεγέθους των κόκκων αμύλου, στις διάφορες κατεργασίες πίεσης για 1 (Σχήμα 1), 2 (Σχήμα 2), 3 (Σχήμα 3) και 4 (Σχήμα 4) κύκλους ομογενοποίησης περιγράφεται από τα αντίστοιχα ιστογράμματα κατανομής.



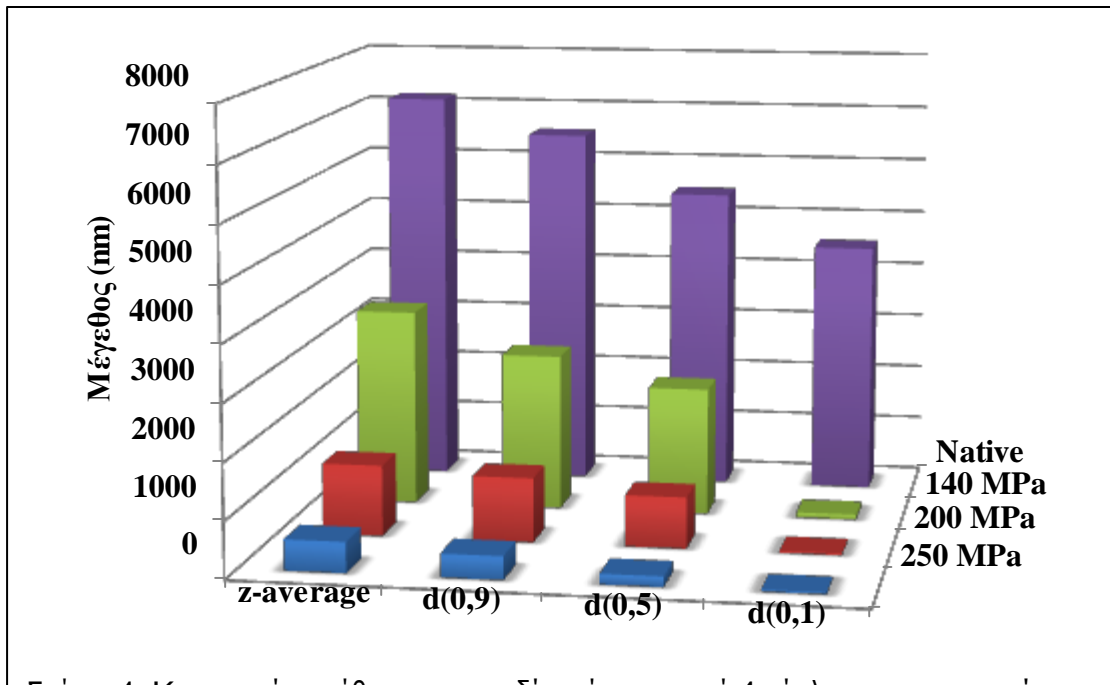
Σχήμα 1: Κατανομή μεγέθους σωματιδίων ύστερα από 1 κύκλο ομογενοποίησης



Σχήμα 2: Κατανομή μεγέθους σωματιδίων ύστερα από 2 κύκλους ομογενοποίησης

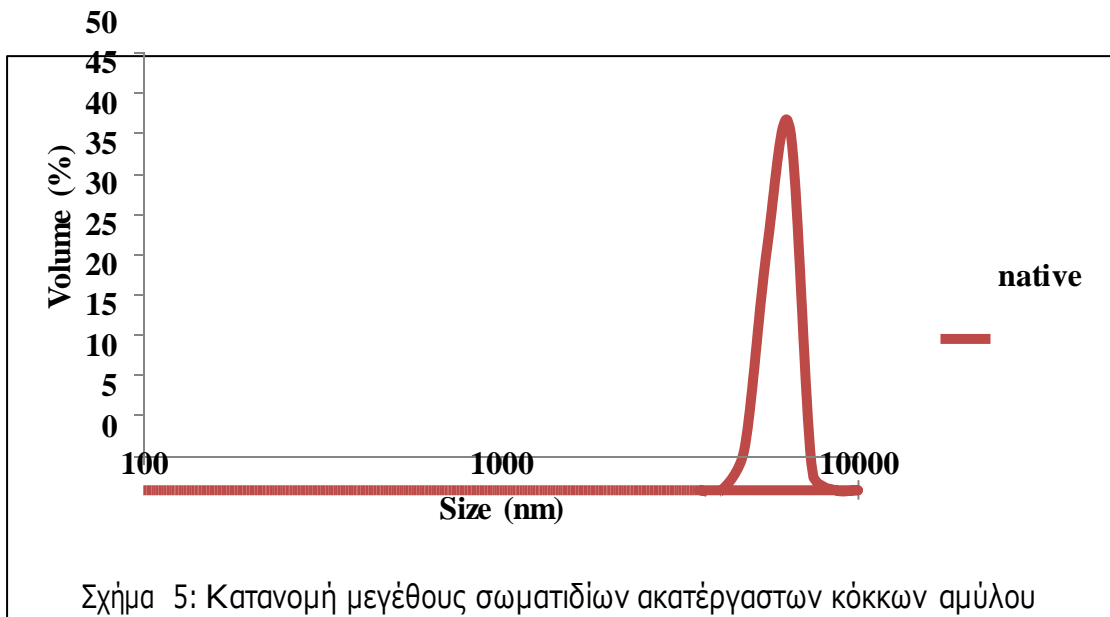


Σχήμα 3: Κατανομή μεγέθους σωματιδίων ύστερα από 3 κύκλους ομογενοποίησης

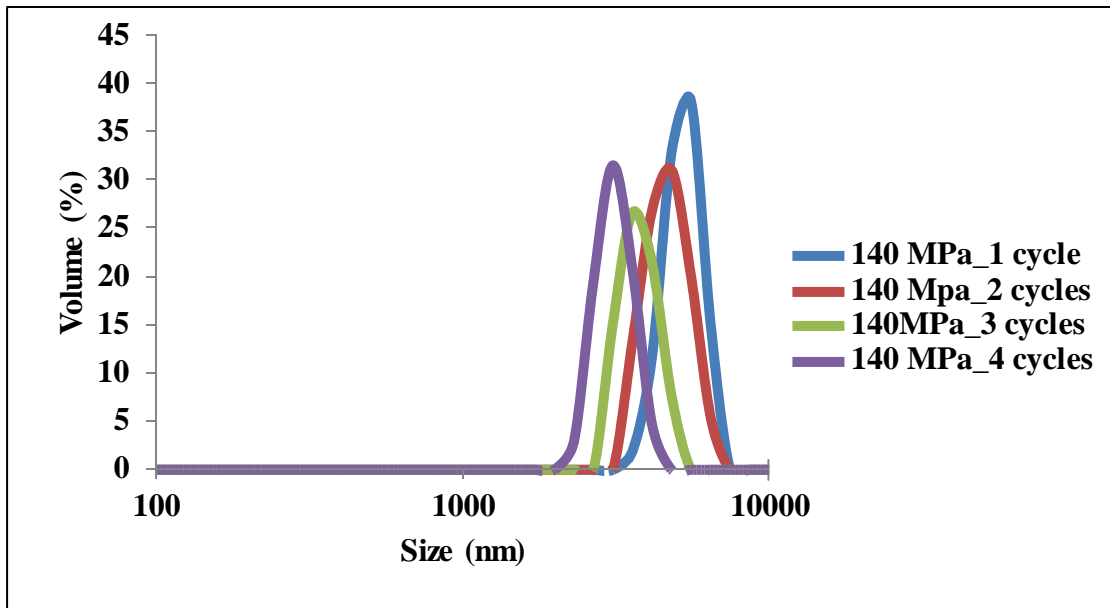


Σχήμα 4: Κατανομή μεγέθους σωματιδίων ύστερα από 4 κύκλους ομογενοποίησης

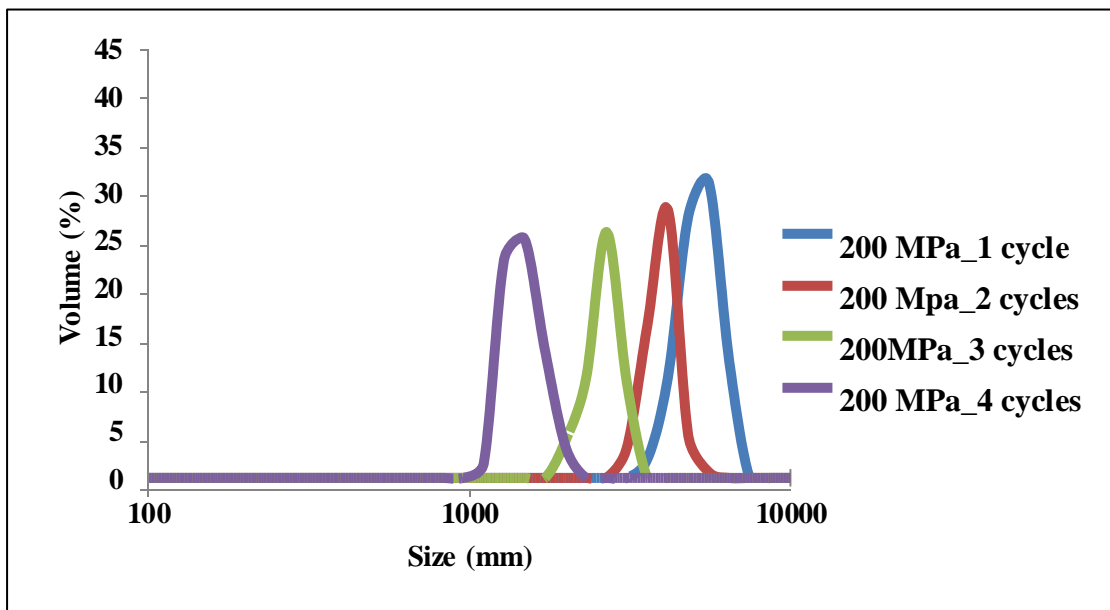
Παρακάτω, παρουσιάζονται διαγραμματικά οι κατανομές του μεγέθους των σωματιδίων, όπως προέκυψαν από την τεχνική (dls) τόσο του ακατέργαστου δείγματος αμύλου (Σχήμα 5), όσο και των δειγμάτων που προέκυψαν ύστερα από τις διάφορες κατεργασίες πίεσης στους 4 διαφορετικούς κύκλους ομογενοποίησης στα 140 MPa (Σχήμα 6), στα 200 MPa (Σχήμα 7) και στα 250 MPa (Σχήμα 8).



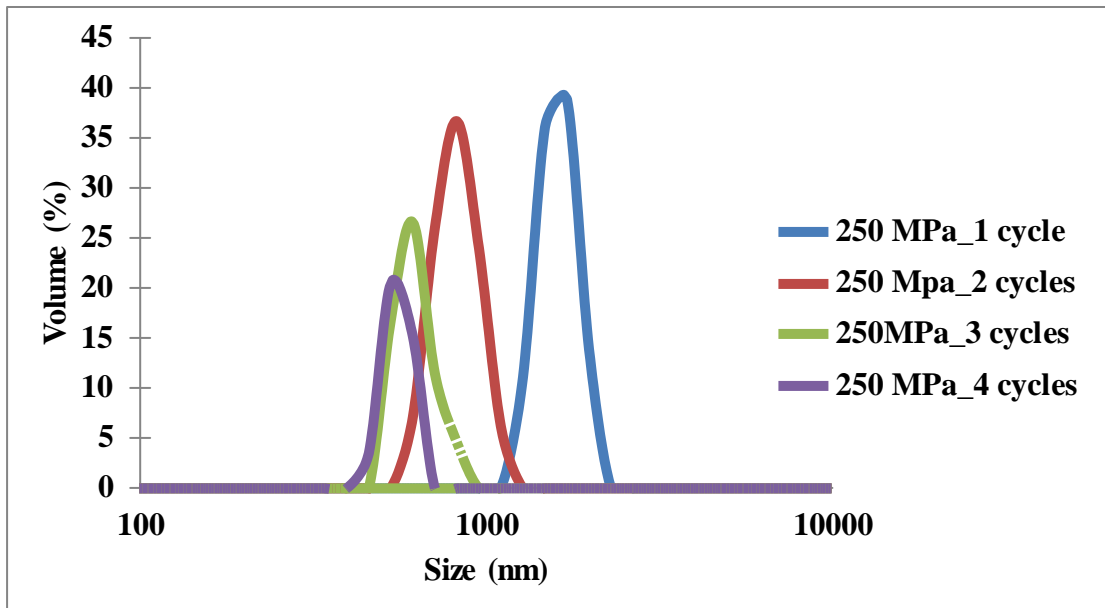
Σχήμα 5: Κατανομή μεγέθους σωματιδίων ακατέργαστων κόκκων αμύλου



Σχήμα 6: Κατανομή μεγέθους σωματιδίων κόκκων αμύλου επεξεργασμένων σε πίεση 140 MPa

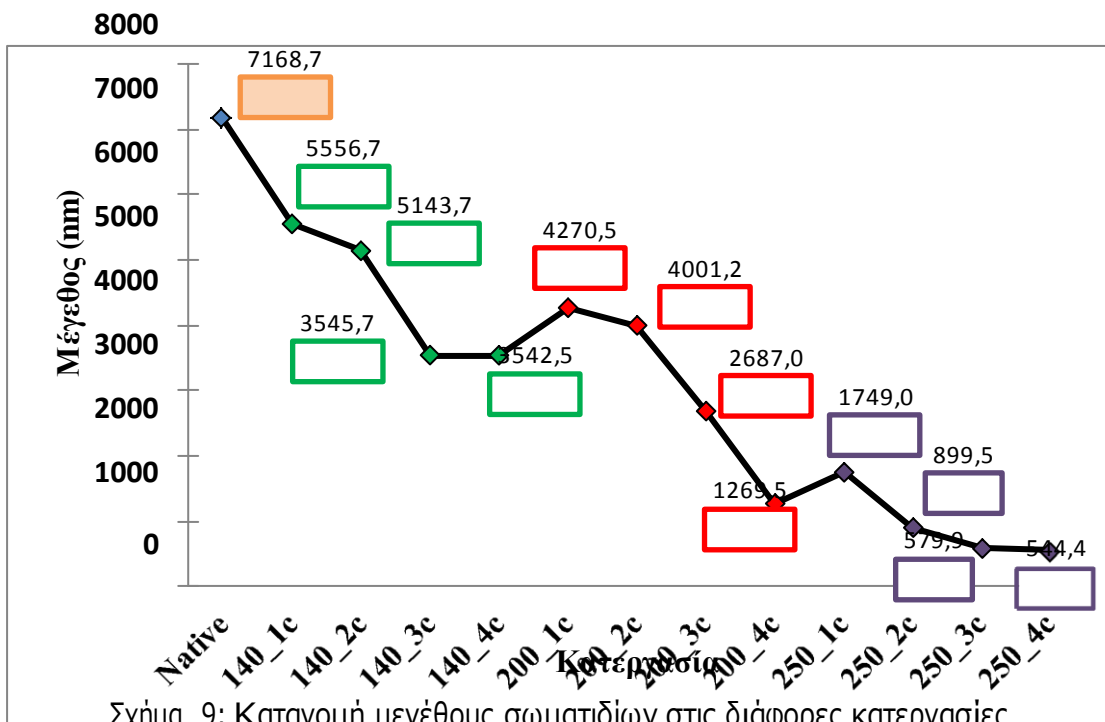


Σχήμα 7: Κατανομή μεγέθους σωματιδίων κόκκων αμύλου επεξεργασμένων σε πίεση 200 MPa



Σχήμα 8: Κατανομή μεγέθους σωματιδίων κόκκων αμύλου επεξεργασμένων σε πίεση 250 MPa

Από το παρακάτω Σχήμα (Σχήμα 9), όπου παρουσιάζονται συγκεντρωτικά τα αποτελέσματα των μετρήσεων ανάλογα με την διαφορετική κατεργασία που έχουν υποστεί τα δείγματα, παρατηρούμε ότι τόσο η αύξηση της πίεσης, όσο και η κατεργασία σε περισσότερους κύκλους ομογενοποίησης επιδρούν στη μείωση του μεγέθους των κόκκων του δείγματος αμύλου.



Σχήμα 9: Κατανομή μεγέθους σωματιδίων στις διάφορες κατεργασίες

Προκειμένου να διερευνηθεί η επίδραση της αύξησης της πίεσης στη μείωση του μεγέθους των κόκκων του δείγματος αμύλου, για έναν κύκλο ομογενοποίησης, πραγματοποιήθηκε ανάλυση διασποράς με έναν παράγοντα, One-Way Analysis of Variance (One-Way ANOVA). Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0,001$) στο μέγεθος του δείγματος μεταξύ των διαφορετικών συνθηκών πίεσης (Πίνακας 7). Συγκεκριμένα, αυξανόμενης της πίεσης παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση του μεγέθους των κόκκων του δείγματος αμύλου.

Πίνακας 7

ANOVA για τις διαφορετικές συνθήκες πίεσης

Διαφορετικές συνθήκες πίεσης	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	94321819,792	3	31440606,597	67,640	,000
Within Groups	9296518,167	20	464825,908		
Total	103618337,958	23			

Αφού επιβεβαιώθηκε η στατιστικά σημαντική επίδραση της αύξησης της πίεσης στη μείωση του μεγέθους των κόκκων του δείγματος, πραγματοποιήθηκαν επιμέρους πολλαπλές συγκρίσεις, για να προσδιοριστεί μεταξύ ποιών συνθηκών πίεσης προκύπτει αυτή η διαφορά. Τα αποτελέσματα των επιμέρους συγκρίσεων περιγράφονται ως μέση διαφορά στο μέγεθος του κόκκου με τα αντίστοιχα p-value και 95% Διαστήματα Εμπιστοσύνης (Πίνακας 8.)

Πίνακας 8

Πολλαπλές συγκρίσεις μεταξύ των διαφορετικών κατεργασιών πίεσης

Συγκρίσεις	Μέση διαφορά (nm)	p-value	95% CI
Native - 140 MPa	1612,0*	<0,05	(459,8 , 2764,2)
Native - 200 MPa	2898,2*	<0,001	(1746,0 , 4050,4)
Native - 250 MPa	5419,7*	<0,001	(4267,5 , 6571,9)
140 MPa - 200 MPa	1286,2*	<0,05	(134,0 , 2438,4)
140 MPa - 250 MPa	3807,7*	<0,001	(2655,5 , 4959,9)
200 MPa - 250 MPa	2521,5*	<0,001	(1369,3 , 3673,7)

* Η μέση διαφορά είναι στατιστικά σημαντική με $p < 0.05$.

Παρατηρούμε ότι για όλες τις πολλαπλές συγκρίσεις που πραγματοποιήθηκαν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στο μέγεθος του δείγματος, αφού για όλα τα παραπάνω ζεύγη συγκρίσεων η τιμή p στατιστικής σημαντικότητας είναι μικρότερη του 0,05 ($p \text{ value} < 0.05$). Δηλαδή, όλες οι διαφορετικές κατεργασίες, στις διαφορετικές συνθήκες πίεσης, που πραγματοποιήθηκαν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους ως προς την επίδραση που έχουν στη μείωση του μεγέθους των κόκκων του δείγματος.

Στη συνέχεια, προκειμένου να διερευνηθεί η επίδραση της αύξησης του αριθμού των κύκλων ομογενοποίησης στη μείωση του μεγέθους του δείγματος, πραγματοποιήθηκε εκ νέου ο στατιστικός έλεγχος One-Way ANOVA για κάθε συνθήκη πίεσης ξεχωριστά.

Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0,001$) στο μέγεθος του δείγματος μεταξύ των διαφορετικών κύκλων ομογενοποίησης και για τις 3 διαφορετικές συνθήκες πίεσης (Πίνακας 9).

Πίνακας 9

ANOVA για τους διαφορετικούς κύκλους ομογενοποίησης

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
140MPa_total	Between Groups	20083359,125	3	6694453,042	3,862	,025
	Within Groups	34667059,500	20	1733352,975		
	Total	54750418,625	23			
200MPa_total	Between Groups	34175820,113	3	11391940,038	15,890	,000
	Within Groups	14338052,467	20	716902,623		
	Total	48513872,580	23			
250MPa_total	Between Groups	5653347,167	3	1884449,056	38,734	,000
	Within Groups	973030,327	20	48651,516		
	Total	6626377,493	23			

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, όσον αφορά στην επίδραση της αύξησης των κύκλων ομογενοποίησης του δείγματος, είναι σε συμφωνία με αυτά της μελέτης των Liu *et al.*, (2009). Συγκεκριμένα, στη μελέτη των Liu *et al.*, (2009), παρατηρήθηκε κατακόρυφη μείωση του μεγέθους των κόκκων του δείγματος αμύλου, ύστερα από κατεργασία μέχρι και 10 κύκλους ομογενοποίησης, ενώ ύστερα από κατεργασία σε περισσότερους κύκλους ομογενοποίησης το μέγεθος των σωματιδίων παρέμενε σχετικά σταθερό χωρίς περαιτέρω μείωση.

Προκειμένου να προσδιοριστεί μεταξύ ποιών κύκλων, κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες πίεσης, προκύπτει η διαφορά στο μέγεθος των κόκκων του δείγματος, πραγματοποιήθηκαν επιμέρους πολλαπλές συγκρίσεις.

Για την κατεργασία του δείγματος στα 140 MPa, από τις επιμέρους συγκρίσεις, που αφορούν στους κύκλους ομογενοποίησης και παρουσιάζονται στον Πίνακα 10, παρατηρήθηκε πως η σημαντικότερη μείωση στο μέγεθος των κόκκων επήλθε ύστερα από 3 κύκλους ομογενοποίησης του δείγματος, με στατιστικά σημαντική διαφορά από τους προηγούμενους κύκλους που εφαρμόστηκαν. Επίσης, όπως φαίνεται και από τα περιγραφικά δεδομένα, για την κατεργασία στα 140 MPa, η εφαρμογή μόνο 2 κύκλων ομογενοποίησης δεν είναι αρκετή για να μειώσει το μέγεθος του δείγματος, ενώ η εφαρμογή 4 κύκλων ομογενοποίησης στο δείγμα δεν επιδρά σημαντικά στην περαιτέρω μείωση του μεγέθους των κόκκων ($p \text{ value} = 0,997$).

Πίνακας 10

Πολλαπλές συγκρίσεις μεταξύ των διαφορετικών κύκλων ομογενοποίησης στα 140 MPa

Συγκρίσεις**	Μέση διαφορά(nm)	p-value	95% CI
140 MPa_1 - 140 MPa_2	413	0,593	(-1172,6 , 1998,6)
140 MPa_1 - 140 MPa_3	2011,0*	<0,05	(425,4 , 3596,6)
140 MPa_1 - 140 MPa_4	2014,2*	<0,05	(428,6 , 3599,8)
140 MPa_2 - 140 MPa_3	1598*	<0,05	(12,4 , 3183,6)
140 MPa_2 - 140 MPa_4	1601,2*	<0,05	(15,6 , 3186,8)
140 MPa_3 - 140 MPa_4	3,2	0,997	(-1582,4 , 1588,8)

* Η μέση διαφορά είναι στατιστικά σημαντική με $p < 0.05$.

**1, 2, 3, 4 αναφέρονται στους κύκλους ομογενοποίησης.

Για την κατεργασία του δείγματος στα 200 MPa όπως και στην κατεργασία στα 140 MPa, η εφαρμογή μόνο δύο κύκλων ομογενοποίησης φαίνεται να μην επιδρά σημαντικά στη μείωση του μεγέθους των κόκκων του δείγματος (p value=0.588). Όλες οι υπόλοιπες επιμέρους συγκρίσεις, που παρουσιάζονται στον Πίνακα 11, παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση του μεγέθους των κόκκων του δείγματος μέχρι και τον τέταρτο κύκλο ομογενοποίησης, ο οποίος φαίνεται πως έχει και τη πιο σημαντική επίδραση στο μέγεθος, αφού συγκριτικά με το μέγεθος των κόκκων του δείγματος ύστερα από 1 κύκλο ομογενοποίησης η μείωση στο μέγεθος είναι περίπου 3000 nm με τιμή p στατιστικής σημαντικότητας μικρότερη από 0,001 (p value <0,001).

Πίνακας 11

Πολλαπλές συγκρίσεις μεταξύ των διαφορετικών κύκλων ομογενοποίησης στα 200 MPa

Συγκρίσεις**	Μέση διαφορά(nm)	p-value	95% CI
200 MPa_1 - 200 MPa_2	269,3	0,588	(-750,4 , 1289,0)
200 MPa_1 - 200 MPa_3	1583,5*	0,004	(563,8 , 2603,2)
200 MPa_1 - 200 MPa_4	3001,0*	0,000	(1981,3 , 4020,7)
200 MPa_2 - 200 MPa_3	1314,2*	0,014	(294,5 , 2333,9)
200 MPa_2 - 200 MPa_4	2731,6*	0,000	(1711,9 , 3751,3)
200 MPa_3 - 200 MPa_4	1417,5*	0,009	(397,8 , 2437,2)

* Η μέση διαφορά είναι στατιστικά σημαντική με $p < 0.05$.

**1, 2, 3, 4 αναφέρονται στους κύκλους ομογενοποίησης.

Τέλος, οι επιμέρους συγκρίσεις για την κατεργασία του δείγματος στα 250 MPa παρουσιάζονται στον Πίνακα 12. Όπως φαίνεται, στα 250 MPa από την εφαρμογή 2 κύκλων ομογενοποίησης στο δείγμα παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική μείωση στο μέγεθος των κόκκων. Η πιο σημαντική μείωση στο μέγεθος των κόκκων επήλθε ύστερα από 3 κύκλους ομογενοποίησης του δείγματος (p value < 0,001), ενώ η περαιτέρω κατεργασία σε 4 κύκλους ομογενοποίησης φαίνεται να μην επιδρά στην επιπλέον μείωση του μεγέθους των κόκκων (p value = 0,783).

Πίνακας 12

Πολλαπλές συγκρίσεις μεταξύ των διαφορετικών κύκλων ομογενοποίησης στα 250 MPa

Συγκρίσεις**	Μέση διαφορά(nm)	p-value	95% CI
250 MPa_1 - 250 MPa_2	849,5*	0,000	(583,8, 1115,1)
250 MPa_1 - 250 MPa_3	1169,1*	0,000	(903,4 , 1434,7)
250 MPa_1 - 250 MPa_4	1204,6*	0,000	(939,0 , 1470,2)
250 MPa_2 - 250 MPa_3	319,6*	0,021	(-1556,7 , 2195,9)
250 MPa_2 - 250 MPa_4	355,1*	0,011	(89,5, 620,8)
250 MPa_3 - 250 MPa_4	35,5	0,783	(-230,1 , 301,2)

* Η μέση διαφορά είναι στατιστικά σημαντική με $p < 0.05$.

**1, 2, 3, 4 αναφέρονται στους κύκλους ομογενοποίησης.

Από όλα τα παραπάνω δεδομένα προέκυψε ότι το μέγεθος των κόκκων του δείγματος μειώνεται στατιστικά σημαντικά ύστερα από κατεργασία είτε σε υψηλότερη πίεση είτε σε περισσότερους κύκλους ομογενοποίησης. Παρά το γεγονός ότι και οι δύο αυτοί παράγοντες επιφέρουν μείωση στο μέγεθος του δείγματος, παρατηρήθηκε ότι η πίεση επιδρά περισσότερο στη μείωση του μεγέθους του δείγματος, γεγονός που αποδεικνύεται και μέσω του στατιστικής ανάλυσης διασποράς με δύο παράγοντες Two-Way Analysis Of Variance (Two-Way ANOVA).

Συγκεκριμένα, όπως φαίνεται και στον Πίνακα 13 η επίδραση της πίεσης στο μέγεθος του δείγματος ($n^2=0,737$) είναι κατά 1,5 φορά μεγαλύτερη από την επίδραση των κύκλων ομογενοποίησης ($n^2=0,479$), ενώ ο μεταξύ τους συνδυασμός επιδρά οριακά στατιστικά σημαντικά στη μείωση του μεγέθους των κόκκων ($p\text{-value} = 0.055$).

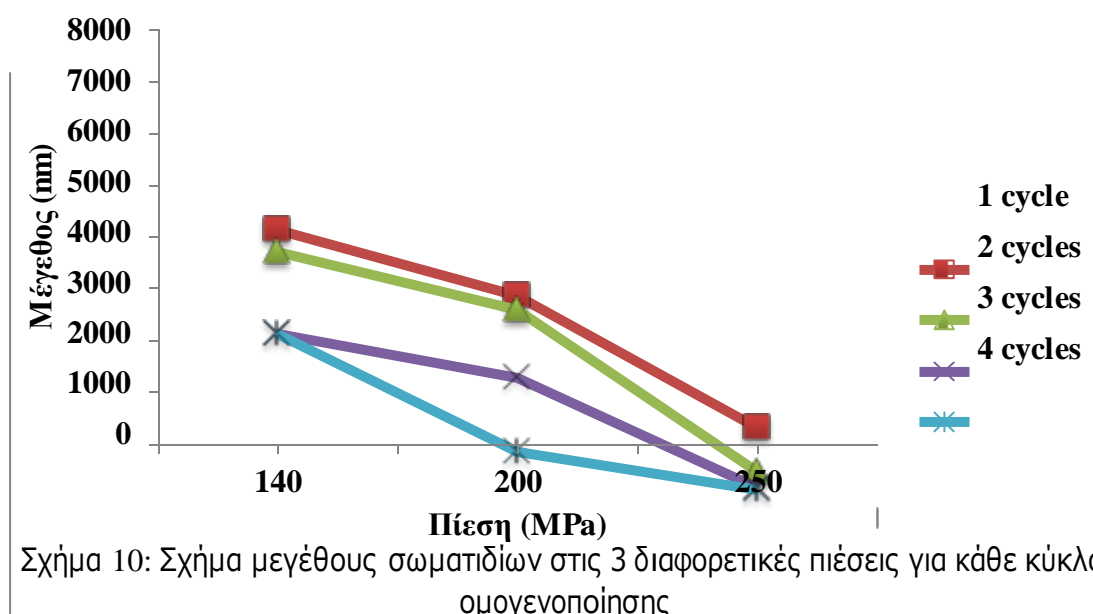
Πίνακας 13

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Μέγεθος_κόκκου						
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	314276161,347 ^a	12	26189680,1	31,9	,000	,855
Intercept	878770259,484	1	878770259,5	1070,8	,000	,943
Πιέσεις	149423787,801	2	74711893,9	91,0	,000	,737
Κύκλοι_ομογενοποίησης	49132258,726	3	16377419,6	19,95	,000	,479
Πιέσεις *	10780267,679	6	1796711,3	2,2	,055	,168
Κύκλοι_ομογενοποίησης						
Error	53344531,627	65	820685,1			
Total	1141886944,260	78				
Corrected Total	367620692,973	77				

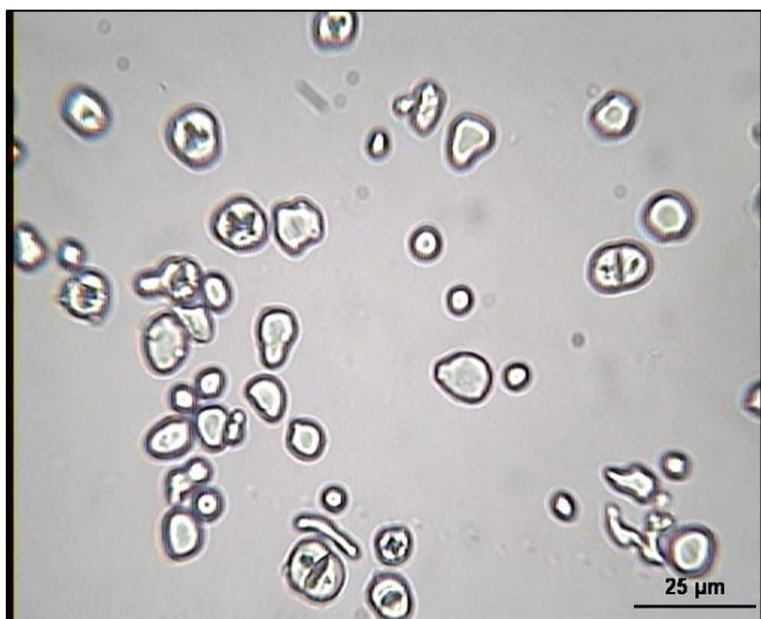
a. R Squared = ,855 (Adjusted R Squared = ,828)

Κατά συνέπεια, η κατεργασία του δείγματος σε υψηλότερη πίεση μπορεί να επιφέρει μεγαλύτερη μείωση στο μέγεθος του δείγματος συγκριτικά με την κατεργασία σε χαμηλότερη πίεση με περισσότερους κύκλους ομογενοποίησης. Στο παρακάτω Σχήμα συνοψίζονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων του μεγέθους του δείγματος στις διαφορετικές πιέσεις ανά κύκλο ομογενοποίησης (Σχήμα 10)





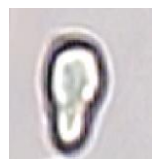


3.1.2 ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΑΚΑΤΕΡΓΑΣΤΩΝ ΚΟΚΚΩΝ ΑΜΥΛΟΥ

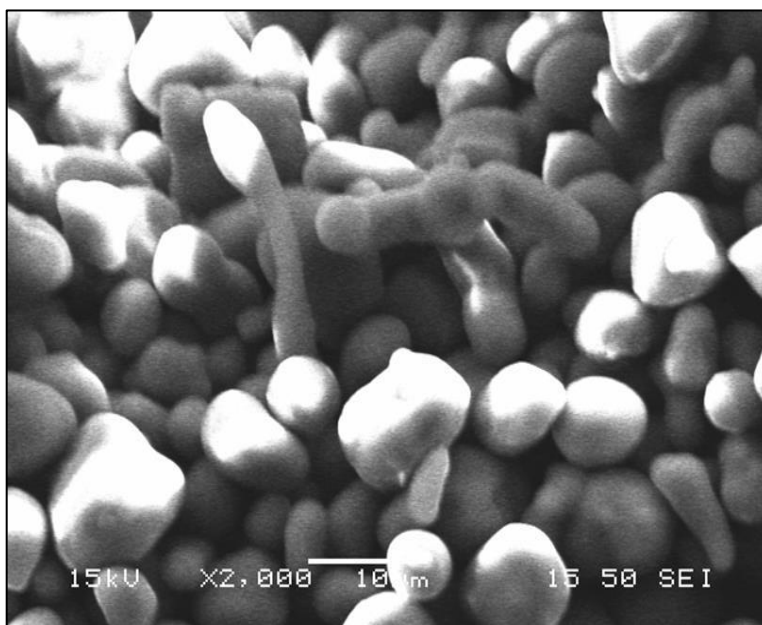
Οι κόκκοι αμύλου αραβόσιτου υψηλής περιεκτικότητας σε αμυλόζη, παρουσιάζουν σημαντική ετερογένεια στο οπτικό μικροσκόπιο. Η μέτρηση επετεύχθη με μεγέθυνση 40X. Οι ετερογενείς κόκκοι μπορούν να χωριστούν σε τρεις διαφορετικούς τύπους: μεμονωμένους (σφαιρικά και ακανόνιστα-πολύγωνα), συσσωμάτωμα και επιμήκεις (Εικόνα 38).



Εικόνα 38: Φωτογραφία από το οπτικό μικροσκόπιο εναιωρήματος αμύλου 0,5% w/v (Μεγέθυνση 40X)

				
A	B	C	D	E
Επιμήκη	Μεμονωμένοι σφαιρικοί	Μεμονωμένοι ακανόνιστοι, πολύγωνοι	Συσσωμάτωμα	Συσσωμάτωμα

Αναλυτικότερα, οι επιμήκης κόκκοι αμύλου παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές στο σχήμα από τους μεμονωμένους κόκκους και τα συσσωματώματα. Το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (SEM) χρησιμοποιήθηκε για να συμπληρώσει τις εικόνες του οπτικού μικροσκοπίου, σε μια προσπάθεια να διασαφηνίσει λεπτομέρειες σχετικά με την επιφάνεια των κόκκων που δεν μπορούν να διακριθούν με το οπτικό μικροσκόπιο (Εικόνα 39). Τα ακατέργαστα δείγματα αμύλου παρουσιάζουν σημαντική ετερογένεια και αποτελούνται από τρεις τύπους κόκκων αμύλου: μεμονωμένους, συσσωματώματα και επιμήκη. Οι συσσωματωμένοι και επιμήκεις κόκκοι ακατέργαστου αμύλου παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές από τους μεμονωμένους κόκκους, εμφανίζοντας τραχιές και με σβόλους επιφάνειες. Ενώ δεν παρατηρήθηκαν πόροι στις επιφάνειες των ετερογενών κόκκων. Η μορφολογία των κόκκων του αμύλου που μελετήθηκε βρίσκεται σε συμφωνία με την αντίστοιχη της μελέτης των Cai *et al.*, (2014).

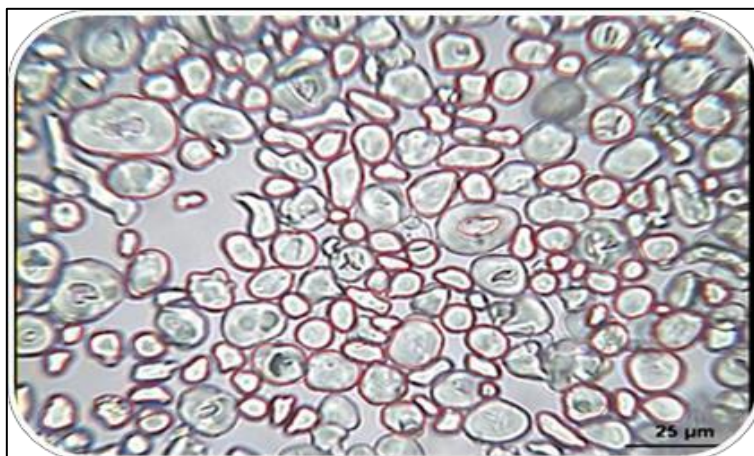


Εικόνα 39: Εικόνα από Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο ακατέργαστου δείγματος αμύλου.



3.1.3 ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΤΩΝ ΚΟΚΚΩΝ ΜΕ ΟΠΤΙΚΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ

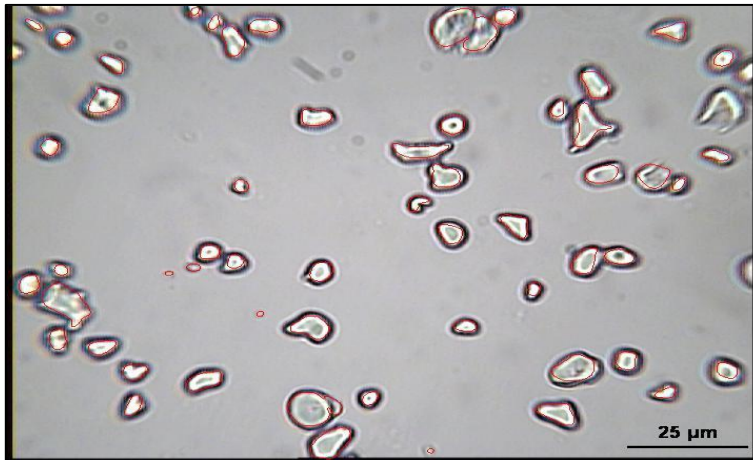
Η απεικόνιση των δειγμάτων στο οπτικό μικροσκόπιο πέραν της ανάλυσης της μορφολογίας των κόκκων του δείγματος, χρησιμοποιήθηκε και για να προσδιοριστεί το μέγεθός τους, προς επαλήθευση των μετρήσεων της μεθόδου αβ. Παρακάτω παρατίθενται ενδεικτικές εικόνες από το οπτικό μικροσκόπιο για κάθε διαφορετική κατεργασία του δείγματος (Εικόνα 40 – Εικόνα 48).



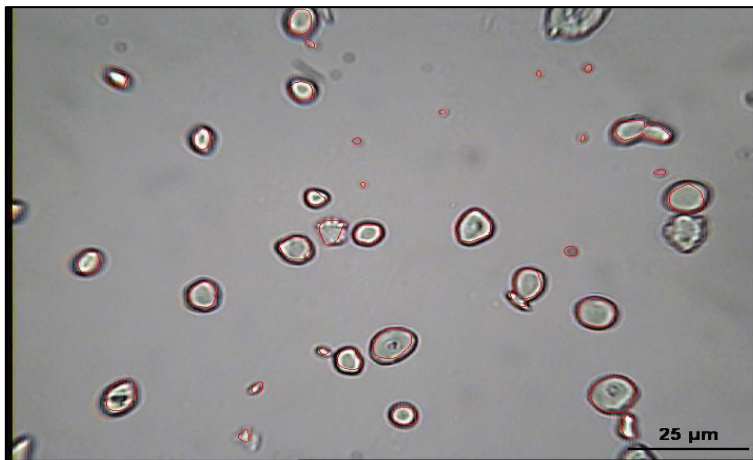
Εικόνα 40: Κόκκοι ακατέργαστου δείγματος αμύλου



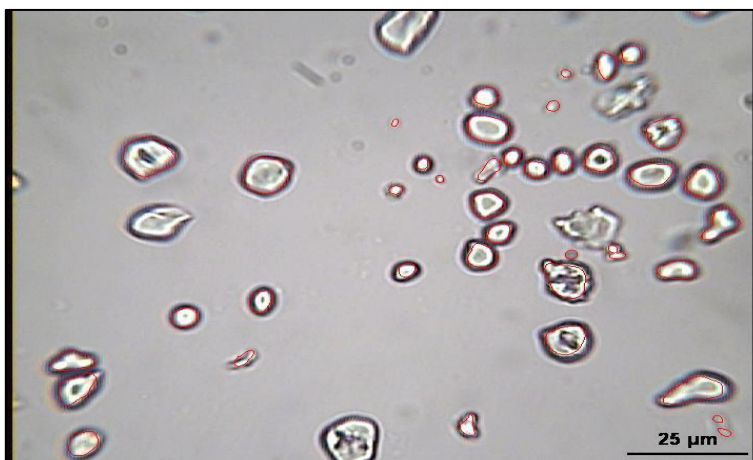
Εικόνα 41: Κόκκοι αμύλου σε 140 MPa_1 κύκλος ομογενοποίησης



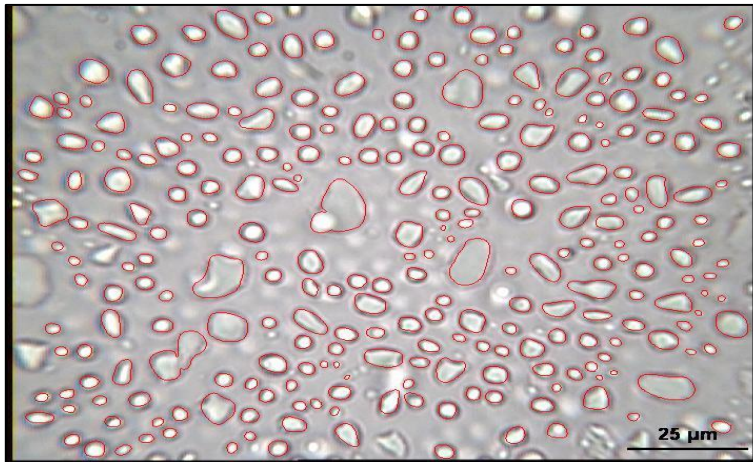
Εικόνα 42: Κόκκοι αμύλου σε 140 MPa_2 κύκλοι ομογενοποίησης



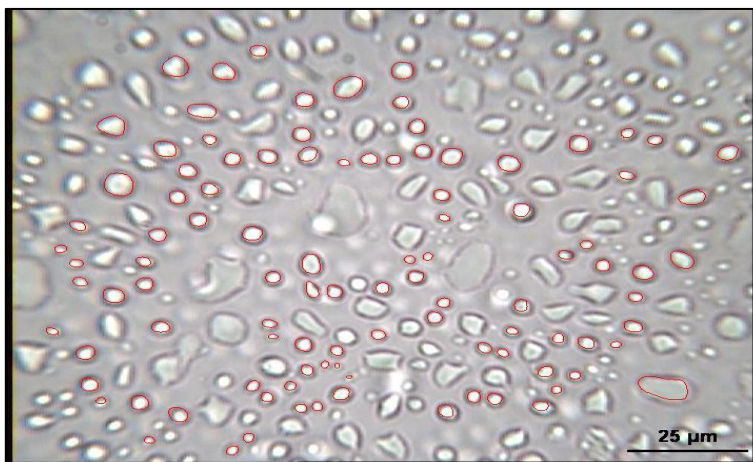
Εικόνα 43: Κόκκοι αμύλου σε 140 MPa_3 κύκλοι ομογενοποίησης



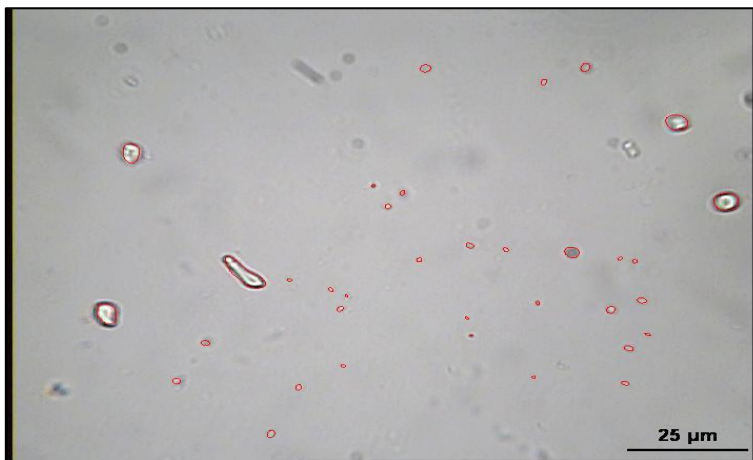
Εικόνα 44: Κόκκοι αμύλου σε 140 MPa_4 κύκλοι ομογενοποίησης



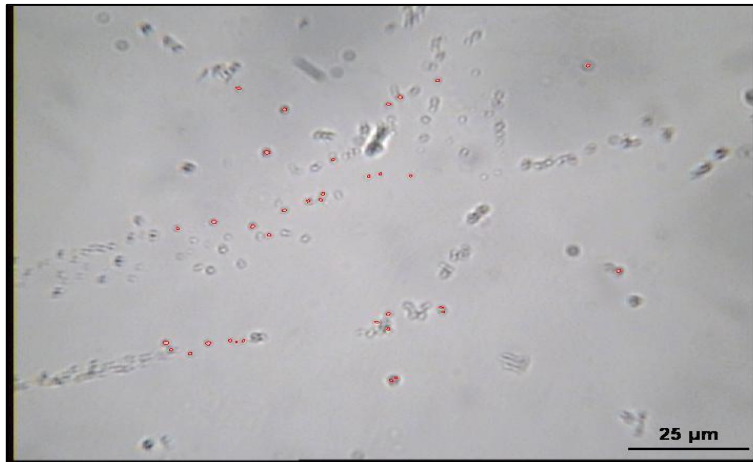
Εικόνα 45: Κόκκοι αμύλου σε 200 MPa_1 κύκλος ομογενοποίησης



Εικόνα 46: Κόκκοι αμύλου σε 200 MPa_2 κύκλοι ομογενοποίησης



Εικόνα 47: Κόκκοι αμύλου σε 200 MPa_3 κύκλοι ομογενοποίησης



Εικόνα 48: Κόκκοι αμύλου σε 200 MPa_4 κύκλοι ομογενοποίησης



Εικόνα 49: Κόκκοι αμύλου σε 250 MPa_1 κύκλος ομογενοποίησης

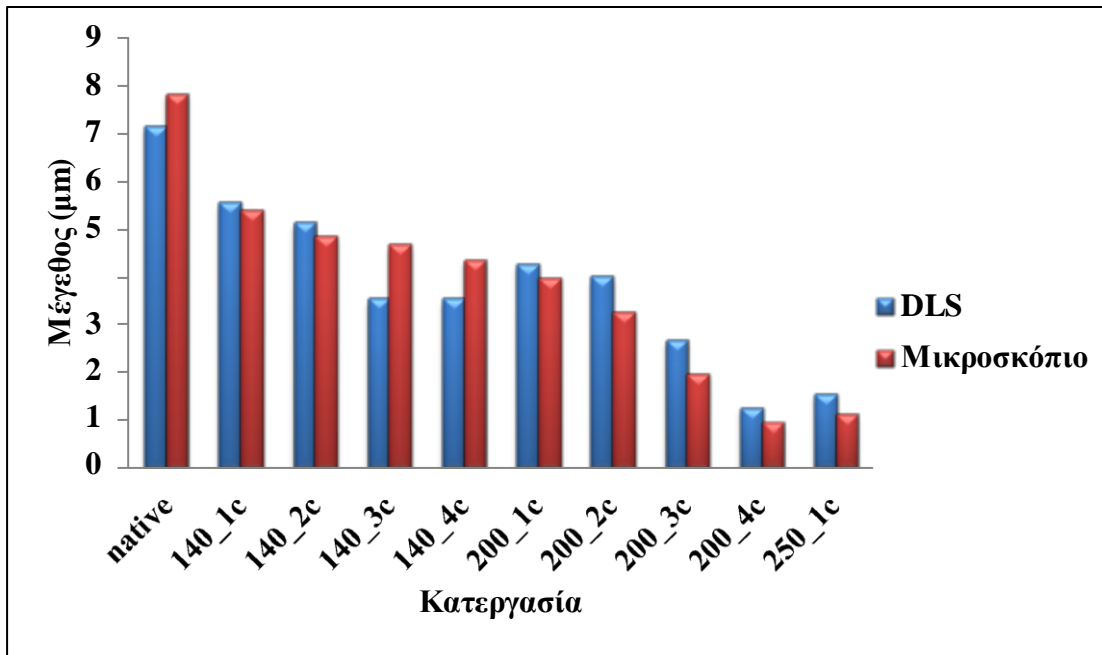
Τα δείγματα αμύλου που επεξεργάστηκαν σε συνθήκες πίεσης 250 MPa για περισσότερους από έναν κύκλο ομογενοποίησης, λόγω του πολύ μικρού μεγέθους τους, δεν μετρήθηκαν στο οπτικό μικροσκόπιο.

Στον Πίνακα 14 παρουσιάζονται οι μέσες διαμέτροι των κόκκων αμύλου για κάθε διαφορετική κατεργασία του δείγματος, όπως προέκυψαν ύστερα από την επεξεργασία των απεικονίσεών τους στο οπτικό μικροσκόπιο, συγκριτικά με αυτές που προέκυψαν από τις μετρήσεις με τη μέθοδο dls.

Πίνακας 14**Μετρήσεις μεγέθους κόκκων δείγματος (μm)**

Όνομα δείγματος	DLS	Μικροσκόπιο
native	7,168	7,85
140 MPa_1 κύκλος ομογενοποίησης	5,556	5,41
140 MPa_2 κύκλοι ομογενοποίησης	5,143	4,86
140 MPa_3 κύκλοι ομογενοποίησης	3,545	4,67
140 MPa_4 κύκλοι ομογενοποίησης	3,542	4,37
200 MPa_1 κύκλος ομογενοποίησης	4,271	3,96
200 MPa_2 κύκλοι ομογενοποίησης	4,001	3,28
200 MPa_3 κύκλοι ομογενοποίησης	2,687	1,98
200 MPa_4 κύκλοι ομογενοποίησης	1,27	0,95
250 MPa_1 κύκλος ομογενοποίησης	1,565	1,13

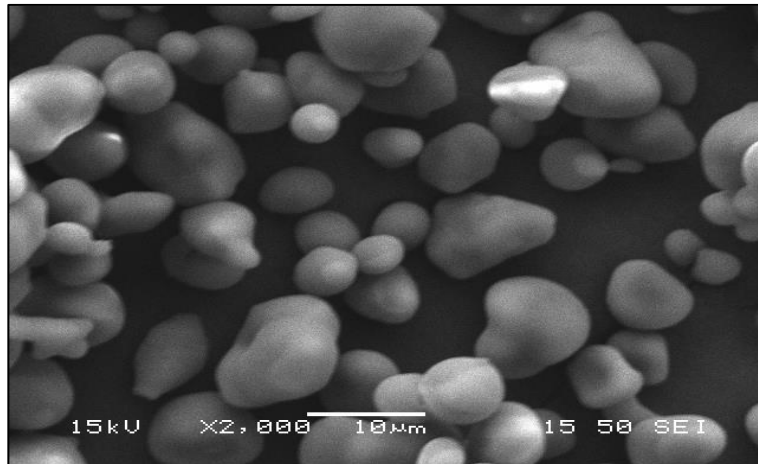
Οι μετρήσεις της διαμέτρου των κόκκων των δειγμάτων αμύλου στις διάφορες κατεργασίες μέσω του οπτικού μικροσκοπίου δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά με αυτές που προέκυψαν μέσω της τεχνικής dls. Συνεπώς, μέσω της απεικονιστικής ανάλυσης και μέτρησης του μεγέθους των κόκκων αμύλου επιβεβαιώνονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων που πραγματοποιήθηκαν με την τεχνική dls. Παρακάτω παρουσιάζονται διαγραμματικά τα συγκριτικά αποτελέσματα των δύο μεθόδων που χρησιμοποιήθηκαν για τη μέτρηση της διαμέτρου των κόκκων αμύλου (Σχήμα 11).



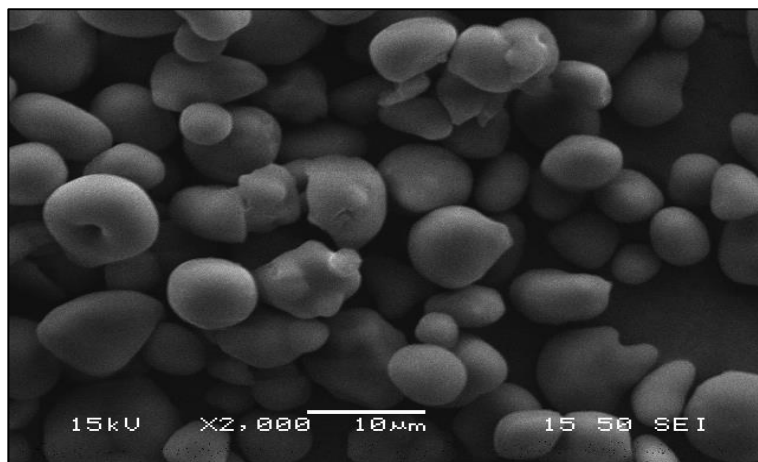
Σχήμα 11: Συγκριτικά αποτελέσματα μετρήσεων μεγέθους κόκκων αμύλου με μικροσκόπιο και μέθοδο dls

3.1.4 ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑΣ ΚΟΚΚΩΝ (SEM)

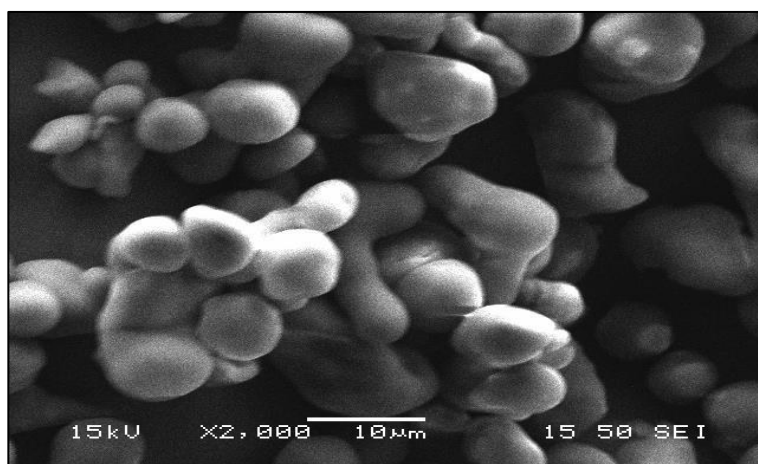
Προκειμένου να διερευνηθεί η επίδραση τόσο της πίεσης, όσο και των κύκλων ομογενοποίησης στα μορφολογικά χαρακτηριστικά των σωματιδίων αμύλου, πραγματοποιήθηκε η ανάλυση των δειγμάτων μέσω του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου. Πέραν του ακατέργαστου δείγματος αμύλου, όπως παρουσιάστηκε στην ενότητα 3.1.2, αναλύθηκαν επίσης τα δείγματα που προέκυψαν ύστερα από όλες τις κατεργασίες πίεσης στους 1 και 4 κύκλους ομογενοποίησης (140 MPa, 200 MPa και 250 MPa). Για όλες τις διαφορετικές πιέσεις που εφαρμόστηκαν, επιλέχτηκαν μόνο τα δείγματα που προέκυψαν ύστερα από 1 και από 4 κύκλους ομογενοποίησης, όπου και παρατηρήθηκε η μεγαλύτερη διαφορά στο μέγεθος των κόκκων του δείγματος αμύλου, ανεξάρτητα του αν η διαφορά αυτή ήταν στατιστικά σημαντική. Παρακάτω παρατίθενται ενδεικτικές εικόνες των δειγμάτων που αναλύθηκε στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο ύστερα από τις διαφορετικές κατεργασίες πίεσης (Εικόνα 50 – Εικόνα 55).



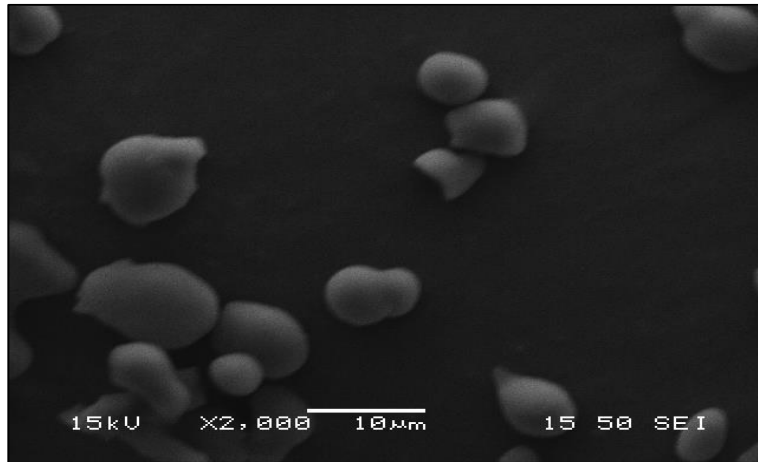
Εικόνα 50: Κόκκοι αλεύρου μετά από 1 κύκλο ομογενοποίησης στα 140 MPa



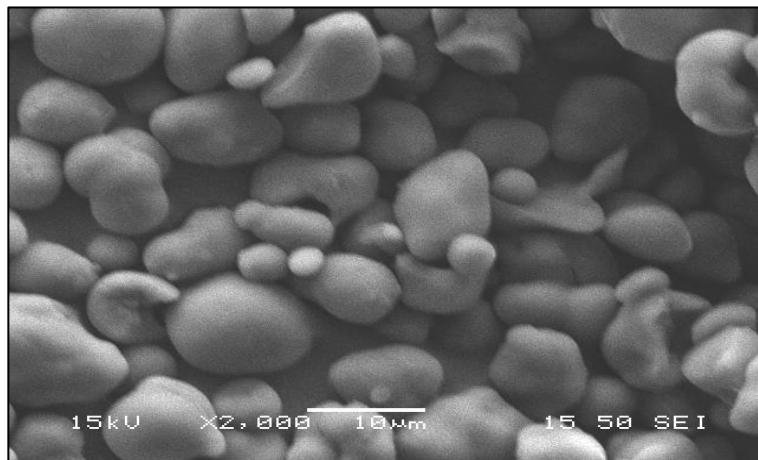
Εικόνα 51: Κόκκοι αλεύρου μετά από 4 κύκλους ομογενοποίησης στα 140 MPa



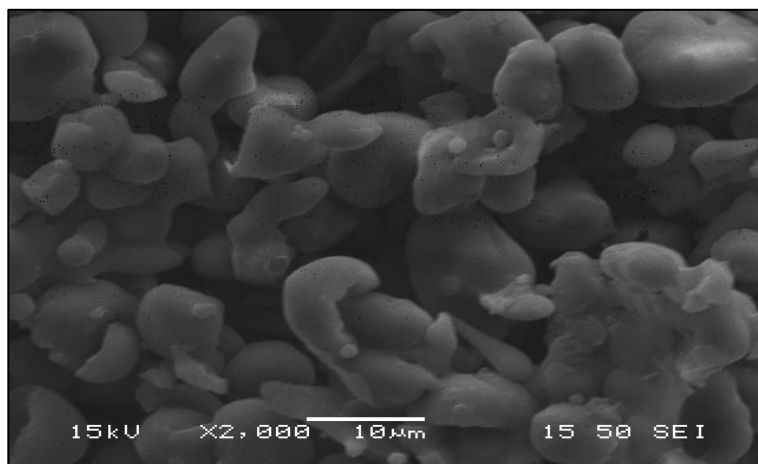
Εικόνα 52: Κόκκοι αλεύρου μετά από 1 κύκλο ομογενοποίησης στα 200 MPa



Εικόνα 53: Κόκκοι αµύλου μετά από 4 κύκλους οµογενοποίησης στα 200 MPa



Εικόνα 54: Κόκκοι αµύλου μετά από 1 κύκλο οµογενοποίησης στα 250 MPa



Εικόνα 55: Κόκκοι αµύλου μετά από 4 κύκλους οµογενοποίησης στα 250 MPa

Με την ανάλυση των επεξεργασμένων δειγμάτων με υψηλή πίεση ομογενοποίησης με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, παρατηρήθηκε ότι τόσο το σχήμα όσο και η χαρακτηριστική ομαλή επιφάνεια των κόκκων αμύλου επηρεάζεται ανάλογα με την επεξεργασία του δείγματος. Συγκεκριμένα, η μικροσκοπική ανάλυση των επεξεργασμένων δειγμάτων επιβεβαιώνει την αλλαγή της δομής των κόκκων με την αύξηση της πίεσης

Όπως προαναφέρθηκε στην ενότητα 3.1.2, το κυρίως σχήμα των ακατέργαστων κόκκων αμύλου είναι σφαιρικό με επιμήκη δομή και η επιφάνειά τους είναι λεία χωρίς πόρους και σχισμές.

Στα δείγματα που επεξεργάστηκαν σε πίεση 140 MPa για 1 κύκλο ομογενοποίησης, παρά το γεγονός ότι δεν παρατηρήθηκε σημαντική αλλαγή στο σχήμα των κόκκων, αυξήθηκε ο αριθμός των μικρότερων σωματιδίων (Εικόνα 50). Ενώ στα δείγματα που επεξεργάστηκαν στις ίδιες συνθήκες πίεσης αλλά σε 4 κύκλους ομογενοποίησης εκτός από την αύξηση του αριθμού των μικρότερων σωματιδίων, παρατηρήθηκε και αλλαγή στη μορφολογία των κόκκων, όπου εμφανίζονται σχηματισμένοι πόροι (Εικόνα 51).

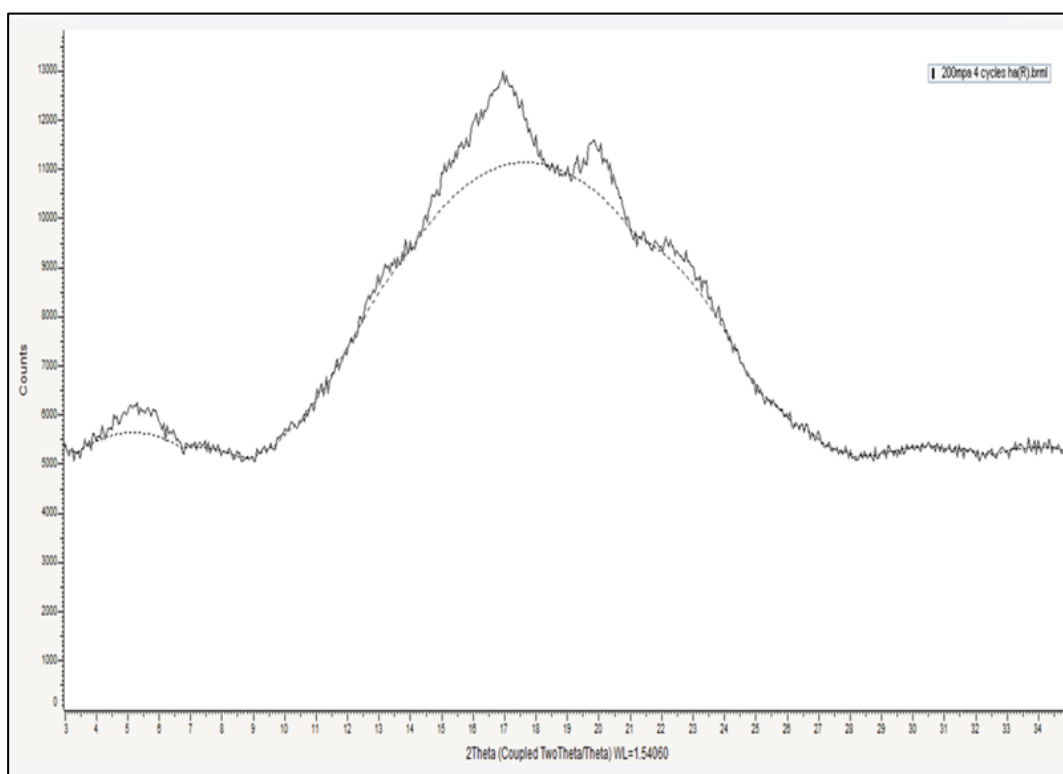
Για τα δείγματα που επεξεργάστηκαν σε πίεση 200 MPa τόσο για 1 κύκλο ομογενοποίησης (Εικόνα 52) όσο και για 4 κύκλους (Εικόνα 53), παρουσιάζεται εμφανέστερα η επίδραση της πίεσης στο σχήμα και το μέγεθος των κόκκων αμύλου. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε σχηματισμός βαθέων αυλακώσεων και πόρων στην επιφάνεια των κόκκων με παράλληλη μείωση του μεγέθους τους.

Για τα δείγματα που επεξεργάστηκαν σε πίεση 250 MPa για 1 κύκλο ομογενοποίησης (Εικόνα 54) παρατηρήθηκαν αλλαγές στο σχήμα και στην μορφολογία της επιφάνειας των κόκκων. Χαρακτηριστικά, εκτός από τον σχηματισμό πόρων και αυλακώσεων, παρατηρήθηκαν επίσης και κατεστραμμένοι κόκκοι αμύλου. Επίσης, παρατηρήθηκε μείωση του μεγέθους των κόκκων αλλά και δημιουργία συσσωματωμάτων. Τέλος, για τα δείγματα που επεξεργάστηκαν αντίστοιχα για 4 κύκλους ομογενοποίησης (Εικόνα 55) παρατηρήθηκαν κόκκοι μικρότερου μεγέθους, αρκετοί κατεστραμμένοι κόκκοι καθώς και πιο έντονα συσσωματώματα.

Η αύξηση της πίεσης φαίνεται να επιδρά στη μείωση του μεγέθους αλλά και στη μορφολογία των κόκκων, γεγονός που βρίσκεται σε συμφωνία με τις μελέτες των Yang *et al.*, (2016) ; Tu *et al.*, (2013).

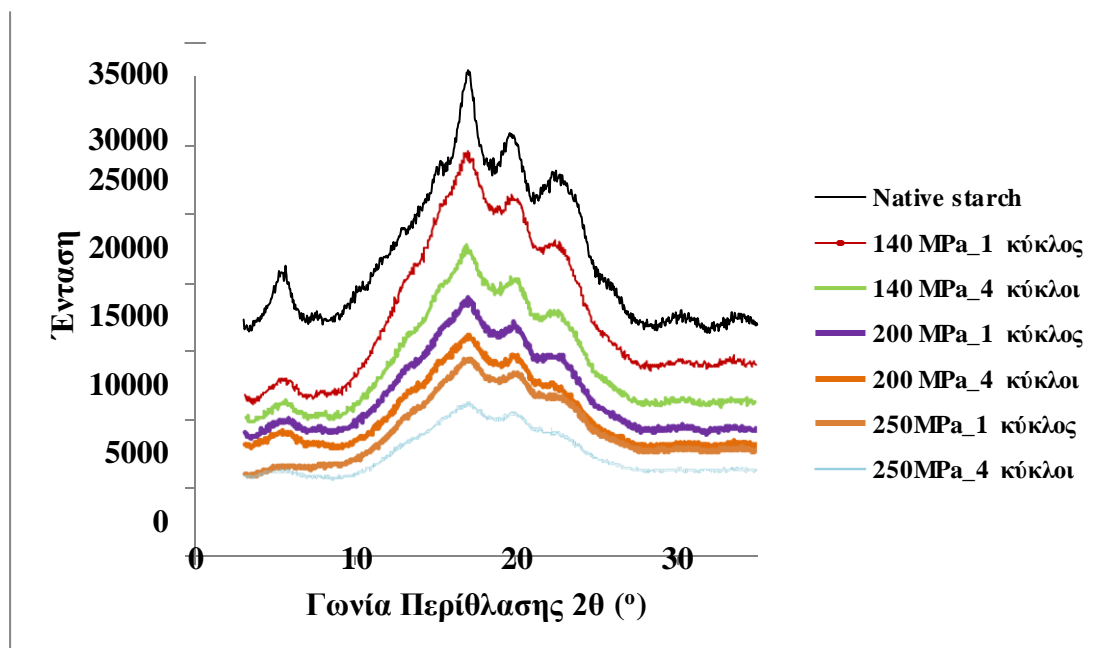
3.2 ΜΕΛΕΤΗ ΚΡΥΣΤΑΛΛΙΚΟΤΗΤΑΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΑΜΥΛΟΥ

Η σχετική κρυσταλλικότητα των δειγμάτων εκτιμήθηκε ποσοτικά, μέσω του υπολογισμού του βαθμού έντασης της σχετικής κορυφής. Μέσω του λογισμικού προγράμματος, σχεδιάστηκε στα γραφήματα περίθλασης μία ομαλή καμπύλη, η οποία συνέδεε τις κορυφές στην βασική γραμμή (baseline). Σημειώνεται ότι κάποια από τα σημεία δεν συνενώθηκαν με την ομαλή καμπύλη. Η περιοχή πάνω από την ομαλή καμπύλη θεωρήθηκε πως αντιπροσωπεύει το κρυσταλλικό τμήμα, ενώ η από κάτω περιοχή, ανάμεσα στην ομαλή καμπύλη και τη γραμμική baseline, όπου συνέδεε τα δύο σημεία έντασης στο εύρος γωνιών 2θ μεταξύ 3 έως 35°, θεωρήθηκε ως το άμορφο τμήμα και ο υπολογισμός του ολοκληρώματος έγινε μέσω του λογισμικού. Η αναλογία της ανώτερης περιοχής προς την ολική περιοχή περίθλασης θεωρήθηκε ως η σχετική κρυσταλλικότητα. Ενδεικτικά, η μέθοδος ανάλυσης των γραφημάτων περίθλασης για τον υπολογισμό το ποσοστού του κρυσταλλικού και του άμορφου τμήματος απεικονίζεται στην Εικόνα 56.



Εικόνα 56: Ενδεικτικό Σχήμα υπολογισμού κρυσταλλικότητας κόκκων αμύλου με την τεχνική XRD

μοτίβων περίθλασης ακτίνων LiX για τα 2θ που εμφανίζονται περίθλασης των ορισμένες μικρές κορυφές σε τιμές 2θ περίπου στις 20°, 22° και 24°. Στα δείγματα αμύλου που μελετήθηκαν παρατηρήθηκε ότι τόσο το ακατέργαστο δείγμα αμύλου όσο και τα επεξεργασμένα, με υψηλή πίεση ομογενοποίησης, δείγματα παρουσιάζουν ισχυρές κορυφές περίθλασης 2θ στις 5,4°, 17°, 20° και 23°, παρουσιάζοντας χαρακτηριστική δομή Β τύπου (Σχήμα 12). Στον Πίνακα 15 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της σχετικής κρυσταλλικότητας των δειγμάτων ύστερα από την επεξεργασία τους.



Σχήμα 12: Διαγράμματα περίθλασης ακτίνων X

Η δομή των κρυστάλλων του δείγματος φαίνεται να επηρεάζεται σημαντικά από τις συνθήκες πίεσης κάτω από τις οποίες ομογενοποιήθηκε το δείγμα. Συγκεκριμένα, με την αύξηση της πίεσης παρατηρήθηκε μείωση της κρυσταλλικότητας, όπως χαρακτηριστικά απεικονίζεται στο Σχήμα 12, όπου οι ίδιες κορυφές περίθλασης (2θ) εμφανίζονται λιγότερο έντονες. Σε όλες τις κατεργασίες ομογενοποίησης με υψηλή πίεση, οι κορυφές που εμφανίζονται είναι στις ίδιες γωνίες, γεγονός που υποδηλώνει ότι ο τύπος της δομής των κόκκων παραμένει Β τύπου με μειωμένη όμως κρυσταλλικότητα.

Πίνακας 15

Μετρήσεις σχετικής κρυσταλλικότητας δειγμάτων

Όνομα δείγματος*	Κρυσταλλικότητα (%)	Άμορφη περιοχή (%)
native	15,4	84,6
140 MPa_1	10,9	89,1
140 MPa_4	10,6	89,4
200 MPa_1	9,6	90,4
200 MPa_4	8,9	91,1
250 MPa_1	7,8	92,2
250 MPa_4	7,7	92,3

*1,4 αναφέρονται στους κύκλους ομογενοποίησης.

Σύμφωνα με τη μελέτη των Cheetman and Tao (1998), η αύξηση της πίεσης επιδρά στη δομή της αμυλοπηκτίνης, καταστρέφοντάς την, γεγονός που έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της σχετικής κρυσταλλικότητας των κόκκων του δείγματος αμύλου. Συνεπώς, στην παρούσα μελέτη, η μείωση της κρυσταλλικότητας, με την αύξηση της πίεσης ομογενοποίησης των δειγμάτων, ενδέχεται να οφείλεται στην αύξηση της αμυλόζης στα δείγματα.

Όπως παρουσιάζεται και στον Πίνακα 16, παρατηρήθηκε μια συσχέτιση μεταξύ του μεγέθους των κόκκων και της κρυσταλλικότητας. Συγκεκριμένα, με την αύξηση της πίεσης ομογενοποίησης των δειγμάτων παρατηρήθηκε μείωση τόσο στο μέγεθος όσο και στην κρυσταλλικότητα των κόκκων αμύλου.

Στη μελέτη των Ding *et al.*, (2016), όπου η μείωση του μεγέθους των κόκκων πραγματοποιήθηκε με φυσική μέθοδο επεξεργασίας (υπερήχους), παρατηρήθηκε μείωση της σχετικής κρυσταλλικότητας του αναδιατεταγμένου άμυλου τύπου RS3 χωρίς καμία σημαντική μεταβολή στο ρυθμό πέψης του αμύλου. Συμπερασματικά, στην παρούσα μελέτη, η μείωση της κρυσταλλικότητας είναι πιθανό να μην επιφέρει σημαντική μεταβολή στο ρυθμό πέψης του αμύλου.

Πίνακας 16

Μετρήσεις σχετικής κρυσταλλικότητας – μεγέθους δειγμάτων

Όνομα δείγματος*	Μέγεθος κόκκων (μm)	Κρυσταλλικότητα (%)
native	7,168	15,4
140 MPa_1	5,556	10,9
140 MPa_4	3,542	10,6
200 MPa_1	4,271	9,6
200 MPa_4	1,27	8,9
250 MPa_1	1,565	7,8
250 MPa_4	0,544	7,7

*1,4 αναφέρονται στους κύκλους ομογενοποίησης

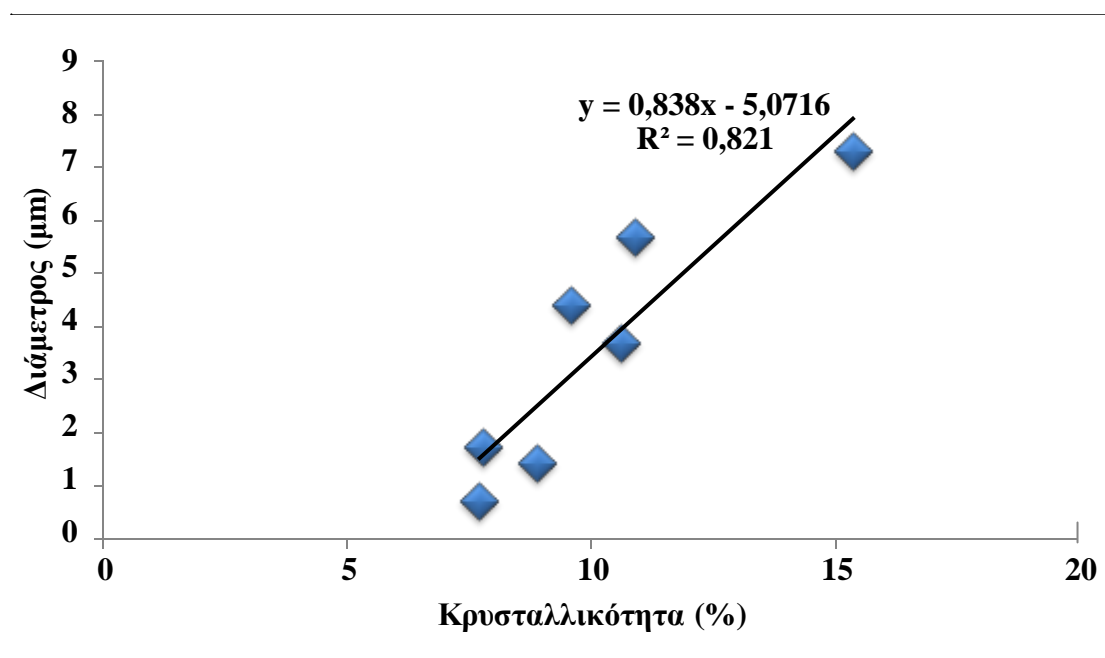
Προκειμένου να διερευνηθεί η ύπαρξη ή μη κάποιας στατιστικά σημαντικής γραμμικής συσχέτισης μεταξύ διαμέτρου και κρυσταλλικότητας, χρησιμοποιήθηκε ο συντελεστής συσχέτισης Pearson (Pearson's Correlation Coefficient). Όπως παρουσιάζεται στον Πίνακα 17, παρατηρήθηκε στατιστικά ισχυρή θετική γραμμική συσχέτιση μεταξύ της κρυσταλλικότητας και του μεγέθους των κόκκων αμύλου, με Pearson's Correlation Coefficient, $r = 0,906$ και $p \text{ value} < 0,01$. Η θετική γραμμική συσχέτιση κρυσταλλικότητας-μεγέθους παριστάνεται διαγραμματικά στο Σχήμα 13.

Πίνακας 17

Συσχέτιση κρυσταλλικότητας - μεγέθους κόκκων

	Διάμετρος κόκκου	Κρυσταλλικότητα
Διάμετρος κόκκου	Pearson Correlation	,906**
	Sig. (2-tailed)	,005
	N	7
Κρυσταλλικότητα	Pearson Correlation	,906**
	Sig. (2-tailed)	,005
	N	7

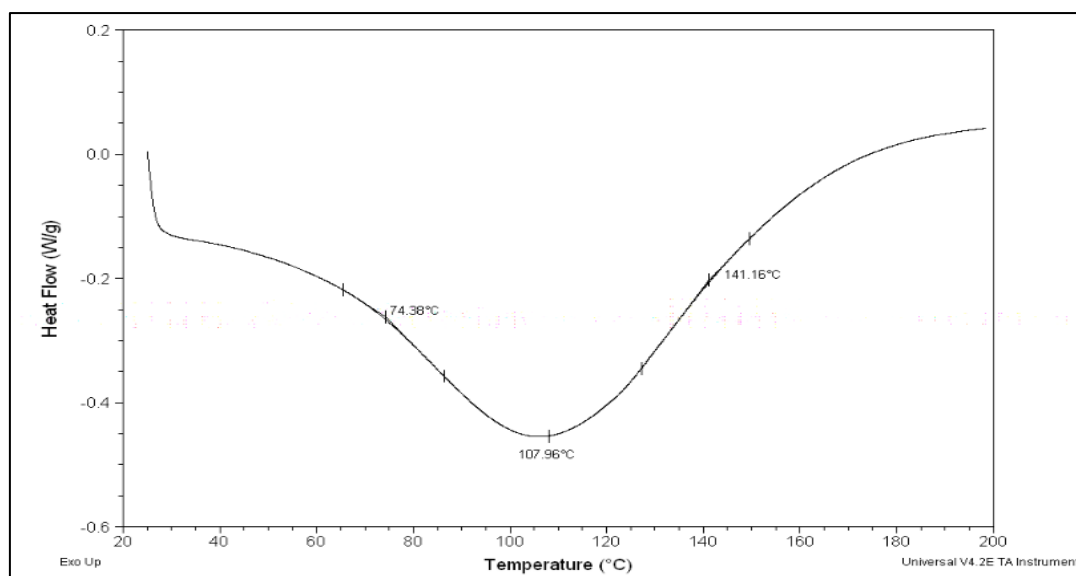
** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).



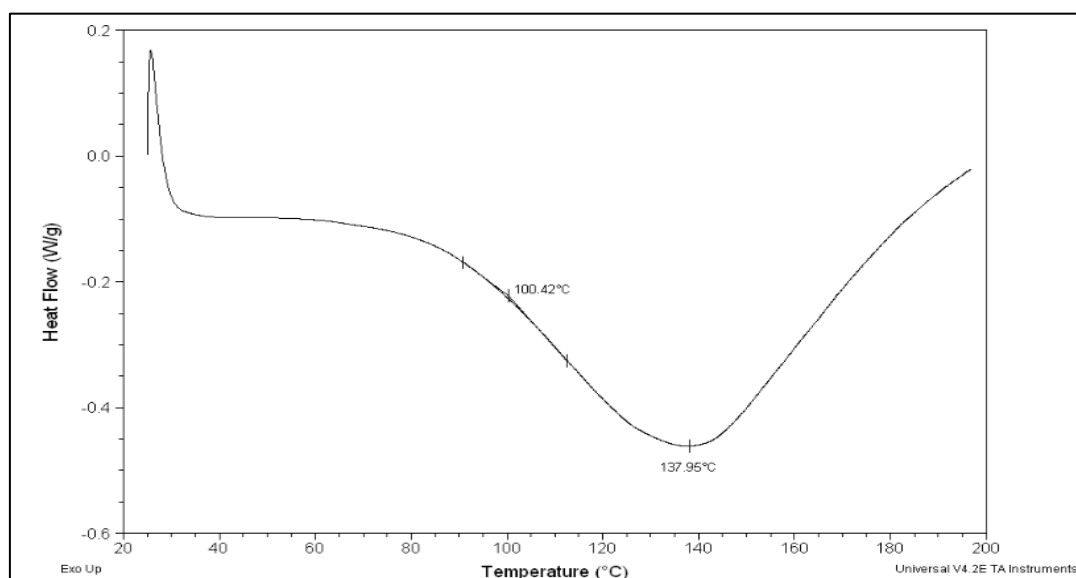
Σχήμα 13: Συσχέτιση κρυσταλλικότητας-διαμέτρου κόκκων

3.3 ΙΔΙΟΤΗΤΗΤΕΣ ΖΕΛΑΤΙΝΟΠΟΙΗΣΗΣ ΑΚΑΤΕΡΓΑΣΤΟΥ ΚΑΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΜΕΝΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΑΜΥΛΟΥ ΜΕ ΥΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΣΗΣ (DSC)

Τα θερμιδογράφημα του ακατέργαστου και του επεξεργασμένου δείγματος αμύλου σε πίεση ομογενοποίησης 250 MPa και 4 κύκλους ομογενοποίησης παρατίθενται στις εικόνες (Εικόνα 57, Εικόνα 58) και οι θερμοκρασίες ζελατινοποίησης (έναρξης T_0 , κορυφής T_p και τελική T_c) παρατίθενται στον Πίνακα 18.



Εικόνα 57: Θερμιδογράφημα ακατέργαστου δείγματος αμύλου



Εικόνα 58: Θερμιδογράφημα επεξεργασμένου δείγματος αμύλου σε 4 κύκλους ομογενοποίησης στα 250 MPa

Πίνακας 18

Θερμοκρασία ζελατινοποίησης

Όνομα δείγματος	T _O	T _P	T _C
Ακατέργαστο	74,38	107,96	141,16
250 MPa_4 κύκλοι	96,42	137,95	180,18

Σύμφωνα με βιβλιογραφικές αναφορές, Biliaderis and Galloway (1989); Gelders *et al.*, (2005); Gallant *et al.*, (1997); Tufvesson and Eliasson (2000), η θερμοκρασία ζελατινοποίησης του ακατέργαστου δείγματος αμύλου κυμαίνεται μεταξύ 95 και 115°C, γεγονός που είναι σε συμφωνία με την παρούσα μελέτη όπου η θερμοκρασία ζελατινοποίησης υπολογίστηκε στους 108°C.

Επίσης, παρατηρείται ότι τόσο η θερμοκρασία έναρξης (T_{onset}), όσο και η θερμοκρασία κορυφής (T_p) αυξήθηκαν σημαντικά με την αύξηση της πίεσης ομογενοποίησης. Στην μελέτη των Sievert and Pomeranz (1990) προτείνεται πως η αύξηση της θερμοκρασίας ζελατινοποίησης οφείλεται στο άνοιγμα των ελικών αμυλόζης υπό υδρόθερμη επεξεργασία, γεγονός που πιθανό να ερμηνεύει και ένα από τα φαινόμενα που πραγματοποιούνται κατά τη διεργασία της ομογενοποίησης των υπό μελέτη δειγμάτων. Ακόμη, σύμφωνα με την μελέτη των Sievert and Pomeranz (1989) η αύξηση της θερμοκρασίας στα επεξεργασμένα δείγματα αμύλου οφείλεται στην επανακρυσταλλοποίηση της αμυλόζης στο δείγμα. Επίσης, σύμφωνα με την μελέτη των Biliaderis *et al.*, (1985) η αύξηση της θερμοκρασίας ζελατινοποίησης οφείλεται στην αποδόμηση των συμπλόκων αμυλόζης - λιπιδίων.

Η θερμοκρασία ζελατινοποίησης του επεξεργασμένου δείγματος αμύλου σε 4 κύκλους ομογενοποίησης σε πίεση 250 MPa παρατηρήθηκε περίπου στους 140 °C και πιθανά οφείλεται σε αναδιάταξη της δομής του δείγματος κατά την επεξεργασία του, καθώς σύμφωνα με τον FAO η θερμοκρασία ζελατινοποίησης αναδιατεταγμένης αμυλόζης είναι περίπου 145 °C. Συνεπώς, είναι πιθανό το άμυλο να τροποποιήθηκε από κατηγορία αμύλου RS2 σε κατηγορία RS3, με αποτέλεσμα να μειώνεται ο ρυθμός πέψης του, αφού το άμυλο κατηγορίας RS3 εμφανίζει πιο έντονη αντίσταση στην πέψη (Sajilata *et al.*, 2006).

3.4 ΔΙΑΛΥΤΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΒΑΘΜΟΣ ΔΙΟΓΚΩΣΗΣ ΤΩΝ ΚΟΚΚΩΝ

Η διαλυτότητα και ο βαθμός διόγκωσης, των ακατέργαστων κόκκων αλλά και των επεξεργασμένων υπό τις διάφορες κατεργασίες ομογενοποίησης σε συνθήκες υψηλής πίεσης, προσδιορίστηκαν σε θερμοκρασία 90 °C και παρατίθενται αναλυτικά στον Πίνακα 19.

Πίνακας 19

Μετρήσεις διαλυτότητας – βαθμού διόγκωσης

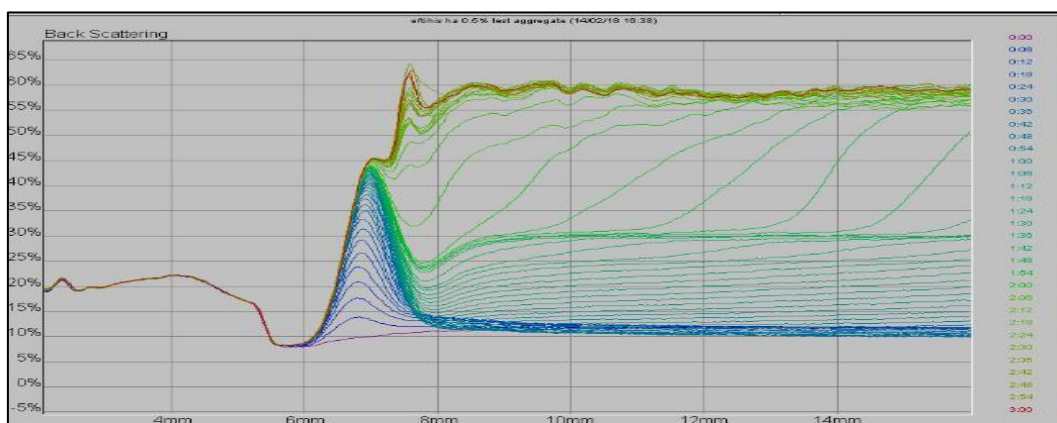
Όνομα δείγματος	solubility (%)	swelling power (g/g)	water uptake ($g_{\text{water}}/g_{\text{sediment}}$)
native	1,72	2,61	1,61
140 MPa_1c	1,84	2,53	1,53
140 MPa_2c	1,84	2,6	1,6
140 MPa_3c	2,08	2,8	1,8
140 MPa_4c	2,24	2,95	1,95
200 MPa_1c	2,26	2,97	1,97
200 MPa_2c	3,17	3,04	2,04
200 MPa_3c	3,21	3,22	2,23
200 MPa_4c	3,3	3,63	2,63
250 MPa_1c	2,21	3,2	2,2
250 MPa_2c	-	-	-
250 MPa_3c	-	-	-
250 MPa_4c	10,98	3,59	2,59

Παρατηρήθηκε επίδραση της πίεσης και των διαφορετικών κύκλων ομογενοποίησης στη διαλυτότητα και στο βαθμό διόγκωσης των κόκκων αμύλου. Συγκεκριμένα, με την αύξηση της πίεσης ομογενοποίησης, αυξάνονται τόσο η διαλυτότητα όσο και ο βαθμός διόγκωσης. Σημαντικό είναι να αναφερθεί, πως προέκυψε και μια ακραία τιμή διαλυτότητας στο δείγμα που επεξεργάστηκε στα 250 MPa στους 4 κύκλους ομογενοποίησης. Επιπρόσθετα, παρατηρήθηκε το φαινόμενο υπολείμματος αμύλου ιδιαίτερα έντονο στις εν λόγω συνθήκες σε σχέση με όλες τις άλλες επεξεργασίες.

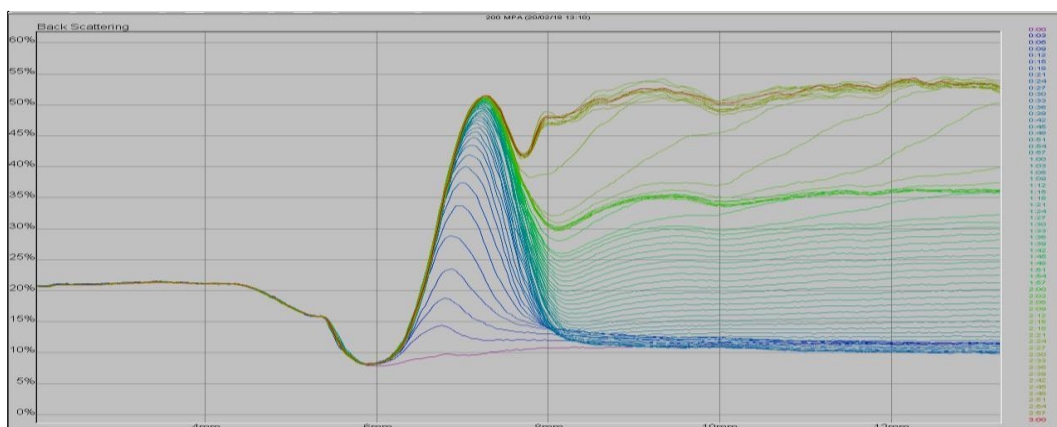
Δεν μπορούμε να εξάγουμε κάποιο συμπέρασμα σχετικά με το εάν πρόκειται όντως για ακραία τιμή ή αν μπορεί να υπάρχει πραγματική συσχέτιση με το μέγεθος των κόκκων του δείγματος, καθώς δεν πραγματοποιήθηκαν αντίστοιχες μετρήσεις για τα δείγματα στους ενδιάμεσους κύκλους ομογενοποίησης στα 250 MPa, ούτε βρέθηκε σχετική βιβλιογραφία.

3.5 ΜΕΛΕΤΗ ΚΑΤΑΒΥΘΙΣΗΣ ΚΟΚΚΩΝ

Προκειμένου να διερευνηθεί η πιθανή επίδραση του μεγέθους των κόκκων αμύλου στο ρυθμό καταβύθισης των κόκκων του εναιωρήματος, μετρήθηκε ο ρυθμός καταβύθισης για τα δείγματα που έχουν υποστεί τις πιο ακραίες επεξεργασίες. Συγκεκριμένα, μετρήθηκε το ποσοστό της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας (Backscattering, BS%) στα εναιωρήματα του ακατέργαστου δείγματος αμύλου και του επεξεργασμένου δείγματος σε 4 κύκλους ομογενοποίησης στα 250 MPa (Εικόνα 59, Εικόνα 60)

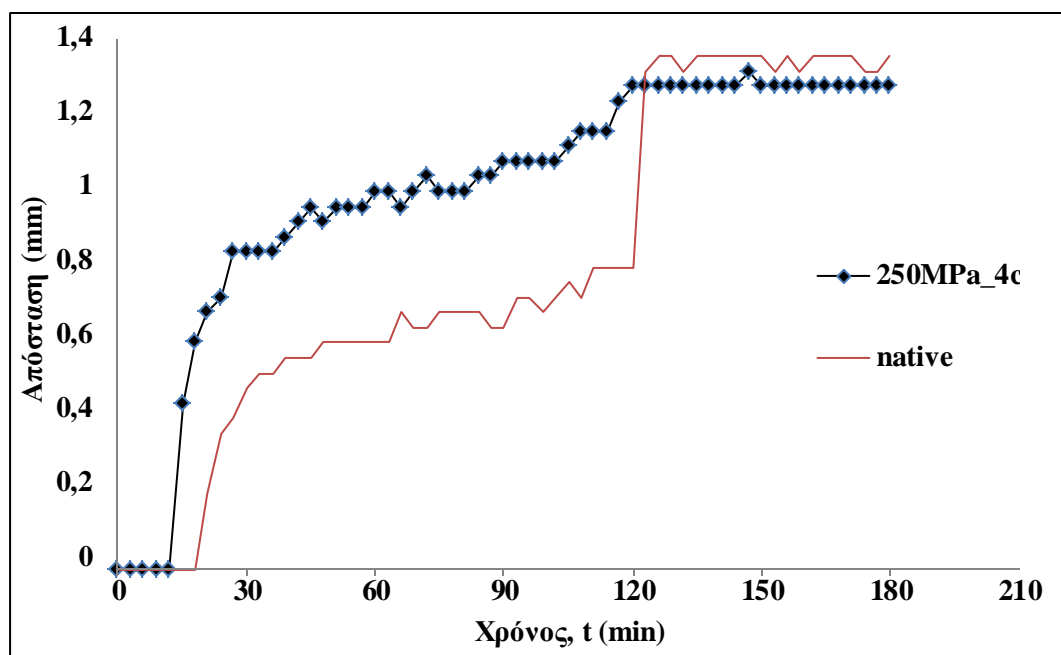


Εικόνα 59: Προφίλ οπισθοσκέδασης φωτός ακατέργαστου δείγματος αμύλου



Εικόνα 60: Προφίλ οπισθοσκέδασης φωτός επεξεργασμένου δείγματος αμύλου σε 4 κύκλους ομογενοποίησης στα 250 MPa

Όπως φαίνεται στις παραπάνω εικόνες αλλά και στο Σχήμα 14, ο ρυθμός καταβύθισης του επεξεργασμένου δείγματος αμύλου στα 250 MPa, είναι μικρότερος και συνεπώς οι κόκκοι καταβυθίζονται πιο γρήγορα συγκριτικά με το ακατέργαστο δείγμα αμύλου.

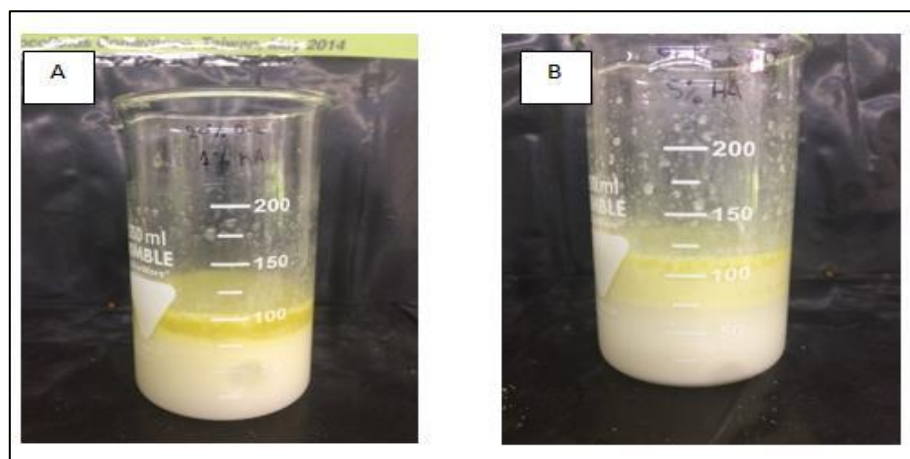


Σχήμα 14: Ρυθμός καταβύθισης εναιωρημάτων αμύλου

Στην μελέτη των Cai *et al.*, (2014), όπου χρησιμοποιήθηκε μια τεχνική διαχωρισμού των κόκκων, ανάλογα με το μέγεθός τους, βρέθηκε ότι κατά τη διαδικασία καταβύθισης, ύστερα από μισή ώρα, το υπερκείμενο του εναιωρήματος αποτελούνταν από σωματίδια μικρότερου μεγέθους συγκριτικά με αυτά που είχαν ήδη καθιζάνει. Από το Σχήμα 14, παρατηρούμε ότι μέχρι τα 30 min καταβυθίζονται με πιο γρήγορο ρυθμό οι κόκκοι αμύλου και στα δύο δείγματα, ενώ στη συνέχεια υπάρχει πιο σταθερός ρυθμός καταβύθισης. Η διαφορά στο ρυθμό καταβύθισης μέχρι τα 30 λεπτά μεταξύ των δειγμάτων μπορεί να αποδοθεί στη διαφορά μεγέθους των κόκκων τους, με το ακατέργαστο δείγμα, λόγω κόκκων μεγαλύτερης διαμέτρου, να εμφανίζει μικρότερο ρυθμό καταβύθισης. Τέλος, η πρόωρη καταβύθιση που παρατηρείται στο επεξεργασμένο δείγμα, δύναται να οφείλεται σε συσσωματώματα που καταβυθίζονται και στη συνέχεια καταβυθίζονται τα ομοιόμορφα σωματίδια.

3.6 ΜΕΛΕΤΗ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΩΝ

Αρχικά, τα γαλακτώματα που παρασκευάστηκαν με ακατέργαστους κόκκους αμύλου στις διαφορετικές συγκεντρώσεις, παρατηρήθηκε πως δεν κατάφεραν να σταθεροποιήσουν τις σταγόνες λαδιού. Ενδεικτικά, στην Εικόνα 61 παρουσιάζονται τα γαλακτώματα για συγκεντρώσεις 1% και 5% των ακατέργαστων κόκκων αμύλου στην υδατική φάση.



Εικόνα 61: Γαλακτώματα με ακατέργαστο άμυλο, (A: 1% άμυλο, B: 5% άμυλο)

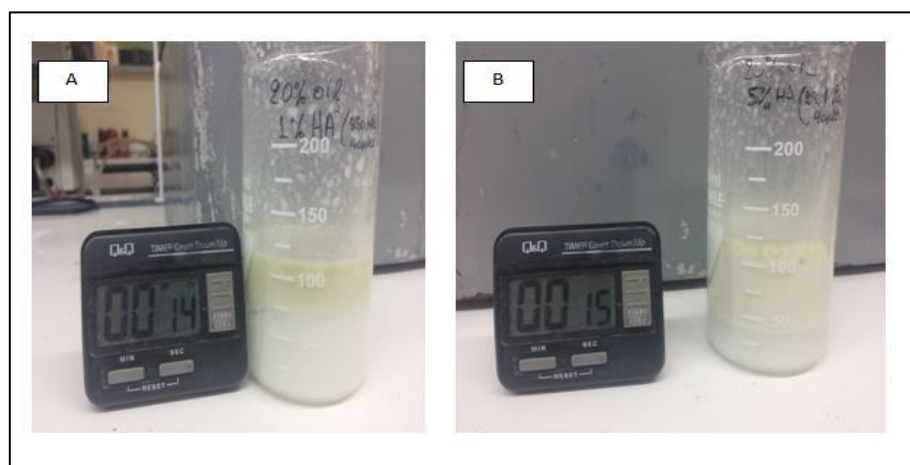
Πηγή: Προσωπική συλλογή

Όλα τα γαλακτώματα που παρασκευάστηκαν παρουσίασαν έντονα φαινόμενα συσσωμάτωσης (coalescence) τόσο των σταγόνων του λαδιού αλλά όσο και του αμύλου. Παρατηρήθηκε επίσης και το φαινόμενο ωρίμανσης Ostwald (Ostwald ripening) και αποκορύφωσης σε όλα τα δείγματα αμέσως μετά την ομογενοποίηση. Παρόλο που δεν επετεύχθη σταθερότητα του γαλακτώματος στα πλαίσια του πειραματικού μας πρωτοκόλλου, εντοπίζονται βιβλιογραφικές αναφορές που πραγματεύονται στη βελτίωση της σταθερότητας.

Η παρουσία λιπιδίων στο άμυλο που αποτελούν τα δευτερεύοντα συστατικά του, παρατηρείται πως επηρεάζουν την υδροφοβικότητα του δείγματος και επιδρούν σημαντικά στις ιδιότητες του αμύλου (BeMiller, 2009). Χαρακτηριστικά, έχει βρεθεί ότι η τροποποίηση της υδροφοβικότητας βελτιώνει την ικανότητα σταθερότητας των γαλακτωμάτων (Rayner *et al.*, 2012; Timgren *et al.*, 2013), ενώ το μη σφαιρικό σχήμα επηρεάζει την ικανότητα σταθεροποίησης γαλακτωμάτων με τα επιμήκη σωματίδια να επιδρούν και αυτά στο φαινόμενο αυτό. Ακόμη, η μορφολογία της

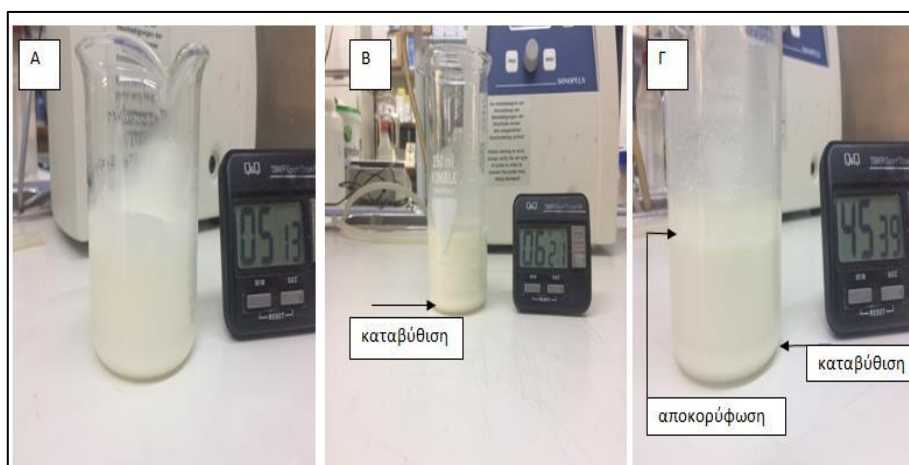
επιφάνειας των κόκκων δεν έχει αποδειχτεί ότι έχει κάποια επίδραση στην σταθερότητα (Madivala *et al.*, 2009).

Η ικανότητα σταθερότητας των λιποσαφαιριών δοκιμάστηκε και στην πιο ακραία επεξεργασία του δείγματος αμύλου (250 MPa, 4 κύκλοι ομογενοποίησης και σε διαφορετικές συγκεντρώσεις. Καθώς βιβλιογραφικά έχει μελετηθεί πως το μικρό μέγεθος των κόκκων (<100 nm) έχει επίδραση στην σταθερότητα των γαλακτωμάτων (Saari *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2012). Όμως αυτό που παρατηρήθηκε ήταν τα ίδια φαινόμενα της άμεσης αποσταθεροποίησης αμέσως μετά την ομογενοποίηση. Στα γαλακτώματα με την χρήση ακατέργαστου αμύλου, το φαινόμενο της αποκορύφωσης είναι πιο έντονο και φαίνεται πιο ξεκάθαρα το λάδι, και ο διαχωρισμός των δύο φάσεων. Συγκεκριμένα, στα γαλακτώματα με χρήση αμύλου επεξεργασμένου με πίεση στα 250 MPa, παρατηρείται αποκορύφωση αλλά με μεγαλύτερη θολότητα, χωρίς να παρατηρείται ο διαχωρισμός του λαδιού. Χαρακτηριστικά, στην Εικόνα 62 παρουσιάζονται τα γαλακτώματα για συγκεντρώσεις 1% και 5% του επεξεργασμένου αμύλου.



Εικόνα 62: Γαλακτώματα με επεξεργασμένο άμυλο, (A: 1% άμυλο, B: 5% άμυλο)
Πηγή: Προσωπική συλλογή

Για τον λόγο αυτό δοκιμάστηκε και η επίδραση της ξανθάνης σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις στο γαλακτώμα για την μελέτη της σταθερότητας. Στην Εικόνα.63 φαίνεται πως η ξανθάνη δρα επιτυχάνοντας τη σταθερότητα του γαλακτώματος για ένα χρονικό διάστημα μέχρι 5'. Όμως μετά το χρονικό διάστημα των 6' παρατηρήθηκε το φαινόμενο της συνένωσης και καταβύθισης του αμύλου χωρίς όμως να παρουσιάζονται φαινόμενα αποκορύφωσης και ωρίμανσης Ostwald έως και 45 λεπτά.



Εικόνα 63: Γαλακτώματα με συγκέντρωση Ξανθάνης (0,2% w/v), (A) για 5', B) για 6', Γ) για 45')
 Πηγή: Προσωπική συλλογή

Αναλυτικότερα, στα γαλακτώματα που δεν χρησιμοποιήθηκε Ξανθάνη το φαινόμενο της αποκορύφωσης παρουσιαζόταν αμέσως, συγκριτικά με τα γαλακτώματα στα οποία χρησιμοποιήθηκε Ξανθάνη, όπου το φαινόμενο παρατηρούνταν μετά από 45 λεπτά. Επιπλέον, το pH των γαλακτωμάτων είναι 4, και δεν επηρεάζεται από τις διαφορετικές συγκεντρώσεις τόσο του αμύλου, όσο και της Ξανθάνης.

Σύμφωνα με τη μελέτη των Saari *et al.*, (2015), τροποποιημένοι κόκκοι άμυλου μικρότερου μεγέθους, συγκριτικά με τους αντίστοιχους ακατέργαστους κόκκους, έχουν την ικανότητα να δημιουργούν σταθερότερα γαλακτώματα. Υπάρχουν και άλλοι παράγοντες που είναι πιθανό να επιδρούν στη σταθερότητα των γαλακτωμάτων, όπως η υδροφοβικότητα, η ιοντική ισχύς και το pH, οι οποίοι όμως δεν μελετήθηκαν στα πλαίσια της παρούσας εργασίας.

Σύμφωνα με τη μελέτη των Timgren *et al.*, (2011), η υδροφοβικότητα των κόκκων αμύλου επιδρά στη σταθερότητα των γαλακτωμάτων. Συγκεκριμένα, κόκκοι αμύλου με αυξημένη υδροφοβικότητα σχηματίζουν σταθερότερα γαλακτώματα. Από τη βιβλιογραφία προτείνεται η χρήση Octenyl Succinic Anhydride (OSA) ως τροποποιητή της υδροφοβικότητας των κόκκων αμύλου. Χαρακτηριστικά, όπως παρουσιάζεται και στη μελέτη των Matos *et al.*, (2018), τα γαλακτώματα τύπου Pickering στα οποία χρησιμοποιήθηκε τροποποιημένο άμυλο με OSA, εμφάνιζαν μεγαλύτερη σταθερότητα έναντι του φαινομένου *creaming*.

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ο κύριος σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η φυσική τροποποίηση του μεγέθους των κόκκων αμύλου, με μηχανική επεξεργασία, για την παρασκευή σταθερών γαλακτωμάτων.

Παρατηρήθηκε ότι τόσο η κατεργασία σε υψηλότερες συνθήκες πίεσης, όσο και η εφαρμογή περισσότερων κύκλων ομογενοποίησης επιφέρουν στατιστικά σημαντική μείωση στο μέγεθος των κόκκων αμύλου, με την πίεση να επιδρά περισσότερο στη μείωση του μεγέθους τους. Συγκεκριμένα, η εφαρμογή υψηλότερης πίεσης στα δείγματα, φαίνεται να έχει κατά 1,5 φορές μεγαλύτερη επίδραση στη μείωση του μεγέθους των κόκκων αμύλου από αυτή των περισσότερων κύκλων ομογενοποίησης. Συνεπώς, η κατεργασία του δείγματος σε υψηλότερη πίεση μπορεί να επιφέρει μεγαλύτερη μείωση στο μέγεθος των κόκκων συγκριτικά με την κατεργασία σε χαμηλότερη πίεση με περισσότερους κύκλους ομογενοποίησης.

Το μικρότερο μέγεθος κόκκων επετεύχθη ύστερα από κατεργασία με 4 κύκλους ομογενοποίησης σε πίεση 250 MPa. Όμως, στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο παρατηρήθηκε έντονη ανομοιομορφία στους κόκκους αμύλου με αρκετούς κατεστραμμένους κόκκους και εντονότερα συσσωματώματα στα δείγματα που επεξεργάστηκαν στις εν λόγω συνθήκες, σε σχέση με αυτά των άλλων, ηπιότερων, κατεργασιών. Κατά συνέπεια, η αύξηση της πίεσης και των κύκλων ομογενοποίησης επιδρά και στη μορφολογία των κόκκων αμύλου.

Επίσης, παρατηρήθηκε θετική γραμμική συσχέτιση μεταξύ του μεγέθους των κόκκων αμύλου και της κρυσταλλικότητάς τους. Η μείωση της κρυσταλλικότητας μετά την εφαρμογή υψηλότερης πίεσης μπορεί να αποδοθεί στην αναδιάταξη της μορφής του αμύλου, δεδομένου ότι παρατηρήθηκε και ταυτόχρονη αύξηση της θερμοκρασίας ζελατινοποίησης των κόκκων αμύλου, ύστερα από κατεργασία σε πίεση 250 MPa, συγκριτικά με το ακατέργαστο δείγμα αμύλου.

Σε όλα τα γαλακτώματα που μελετήθηκαν, τόσο σε αυτά που προστέθηκε ακατέργαστο άμυλο ως σταθεροποιητής, όσο και σε αυτά που χρησιμοποιήθηκαν επεξεργασμένοι κόκκοι αμύλου μικρότερου μεγέθους, δεν παρουσιάστηκε σταθερότητα. Ωστόσο, παρατηρήθηκε μια τάση προς σταθεροποίηση στα γαλακτώματα των επεξεργασμένων κόκκων αμύλου σε πίεση 250 MPa. Αυτό διότι, στα γαλακτώματα που χρησιμοποιήθηκε ακατέργαστο άμυλο, το φαινόμενο της αποκορύφωσης είναι εντονότερο και είναι πιο εμφανής ο διαχωρισμός των δύο

φάσεων στο λάδι, ενώ στα γαλακτώματα που χρησιμοποιήθηκε άμυλο επεξεργασμένο σε πίεση 250 MPa παρατηρήθηκε αποκορύφωση με μεγαλύτερη θολότητα, χωρίς να διακρίνεται ο διαχωρισμός των φάσεων στο λάδι. Επίσης, η προσθήκη ξανθάνης στα γαλακτώματα φαίνεται να επιδρά στη σταθερότητά τους σε συνδυασμό με το άμυλο, αφού όπως παρατηρήθηκε στα γαλακτώματα που δεν χρησιμοποιήθηκε ξανθάνη, το φαινόμενο της αποκορύφωσης παρουσιάζοταν αμέσως, συγκριτικά με τα γαλακτώματα στα οποία χρησιμοποιήθηκε ξανθάνη, όπου το φαινόμενο παρατηρούνταν μετά από 45 λεπτά.

Επιπλέον, παρατηρήθηκε επίδραση της πίεσης και των διαφορετικών κύκλων ομογενοποίησης στη διαλυτότητα και στο βαθμό διόγκωσης των κόκκων αμύλου. Συγκεκριμένα, με την αύξηση της πίεσης ομογενοποίησης, αυξάνονται τόσο η διαλυτότητα όσο και ο βαθμός διόγκωσης, καθιστώντας το άμυλο λιγότερο υδρόφοβο. Σημαντικό είναι να αναφερθεί, πως προέκυψε και μια ακραία τιμή διαλυτότητας στο δείγμα που επεξεργάστηκε στα 250 MPa στους 4 κύκλους ομογενοποίησης

Η περαιτέρω κατεργασία του αμύλου σε υψηλότερες συνθήκες πίεσης, δεν ενδείκνυται για την τροποποίησή του με σκοπό τη χρήση του ως σταθεροποιητή γαλακτωμάτων, αφού εκτός από τη μείωση του μεγέθους των κόκκων παράλληλα μειώνεται η υδροφοβικότητά του. Ένας πολύ σημαντικός παράγοντας για την σταθερότητα γαλακτωμάτων τύπου Pickering εκτός από το μέγεθος είναι και η υδροφοβικότητα. Προτείνεται από τη βιβλιογραφία, η χημική τροποποίηση του αμύλου με OSA για την αύξηση της υδροφοβικότητας και τη σταθερότητα του γαλακτώματος.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης είναι ενθαρρυντικά, όμως χρειάζεται να διερευνηθεί περαιτέρω η επίδραση στην σταθερότητα των γαλακτωμάτων και άλλων τροποποιητικών μεθόδων ή παραγόντων για την επεξεργασία του αμύλου. Τέλος, θα πρέπει να μελετηθεί εκτενέστερα, αν η κατεργασία σε υψηλή πίεση οδηγεί στη δημιουργία αναδιατεταγμένης δομής αμύλου, με αποτέλεσμα τη μείωση του ρυθμού πέψης του, καθώς μια τέτοια τροποποιημένη μορφή αμύλου έχει πολλά οφέλη για την ανθρώπινη υγεία.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Angellier, H., Choisnard, L., Molina-Boisseau, S., Ozil, P., & Dufresne, A. (2004). Optimization of the preparation of aqueous suspensions of waxy maize starch nanocrystals using a response surface methodology. *Biomacromolecules*, 5(4), 1545-1551.
- Angellier, H., Molina-Boisseau, S., & Dufresne, A. (2005). Mechanical properties of waxy maize starch nanocrystal reinforced natural rubber. *Macromolecules*, 38(22), 9161-9170.
- Angellier, H., Putaux, J. L., Molina-Boisseau, S., Dupeyre, D., & Dufresne, A. (2005, January). Starch nanocrystal fillers in an acrylic polymer matrix. In *Macromolecular Symposia* (Vol. 221, No. 1, pp. 95-104). WILEY-VCH Verlag.
- Atwell, W. A., Hood, L. F., Lineback, D. R., Varriano-Marston, E., & Zobel, H. F. (1988). The terminology and methodology associated with basic starch phenomena. *Cereal foods world (USA)*.
- Aveyard, R., Binks, B. P., & Clint, J. H. (2003). Emulsions stabilised solely by colloidal particles. *Advances in Colloid and Interface Science*, 100, 503-546.
- Banks, W., & Greenwood, C. T. (1975). *Starch and its Components*.
- Batchelor, S. E., Booth, E. J., Entwistle, G., Walker, K. C., Morrison, I., Mackay, G., ... & Hacking, A. (1996). Industrial markets for UK-grown starch. *Outlook on Agriculture*, 25(1), 43-48.
- Bauer, B. A., & Knorr, D. (2004). Electrical conductivity: A new tool for the determination of high hydrostatic pressure-induced starch gelatinisation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 5(4), 437-442.
- BeMiller, J. N., & Whistler, R. L. (Eds.). (2009a). *Starch: chemistry and technology* (pp.1-4). Academic Press.
- BeMiller, J. N., & Whistler, R. L. (Eds.). (2009b). *Starch: chemistry and technology* (pp.748-756). Academic Press.
- BeMiller, J. N., & Whistler, R. L. (Eds.). (2009c). *Starch: chemistry and technology* (pp.748-749). Academic Press.
- BeMiller, J. N., & Whistler, R. L. (Eds.). (2009d). *Starch: chemistry and technology* (pp.749-750). Academic Press.

- BeMiller, J. N., & Whistler, R. L. (Eds.). (2009e). Starch: chemistry and technology (pp.301-310). Academic Press.
- BeMiller, J. N., & Whistler, R. L. (Eds.). (2009f). Starch: chemistry and technology (pp.391-393). Academic Press.
- Bertuzzi, M. A., Gottifredi, J. C., & Armada, M. (2012). Mechanical properties of a high amylose content corn starch based film, gelatinized at low temperature. *Brazilian Journal of Food Technology*, 15(3), 219-227.
- Biliaderis, C. G. (1998). Structures and phase transitions of starch polymers. *ChemInform*, 29(47).
- Biliaderis, C. G., & Galloway, G. (1989). Crystallization behavior of amylose-V complexes: structure-property relationships. *Carbohydrate Research*, 189, 31-48.
- Biliaderis, C. G., Page, C. M., Slade, L., & Sirett, R. R. (1985). Thermal behavior of amylose-lipid complexes. *Carbohydrate Polymers*, 5(5), 367-389
- Binks, B. P., & Lumsdon, S. O. (2000). Influence of particle wettability on the type and stability of surfactant-free emulsions. *Langmuir*, 16(23), 8622-8631.
- Birt, D. F., Boylston, T., Hendrich, S., Jane, J. L., Hollis, J., Li, L., ... & Schalinske, K. (2013). Resistant starch: promise for improving human health. *Advances in Nutrition*, 4(6), 587-601.
- Błaszczak, W., Fornal, J., Kiseleva, V. I., Yuryev, V. P., Sergeev, A. I., & Sadowska, J. (2007). Effect of high pressure on thermal, structural and osmotic properties of waxy maize and Hylon VII starch blends. *Carbohydrate Polymers*, 68(3), 387-396
- Błaszczak, W., Fornal, J., Valverde, S., & Garrido, L. (2005). Pressure-induced changes in the structure of corn starches with different amylose content. *Carbohydrate Polymers*, 61(2), 132-140.
- Buckow, R., Heinz, V., & Knorr, D. (2007). High pressure phase transition kinetics of maize starch. *Journal of Food Engineering*, 81(2), 469-475.
- Buléon, A., Gallant, D. J., Bouchet, B., Mouille, G., D'Hulst, C., Kossmann, J., & Ball, S. (1997). Starches from A to C (*Chlamydomonas reinhardtii* as a model microbial system to investigate the biosynthesis of the plant amylopectin crystal). *Plant Physiology*, 115(3), 949-957.
- Burrell, M. M. (2003). Starch: the need for improved quality or quantity—an overview. *Journal of Experimental Botany*, 54(382), 451-456.

- Buttriss, J. L., & Stokes, C. S. (2008). Dietary fibre and health: an overview. *Nutrition Bulletin*, 33(3), 186-200.
- Cai, C., Lin, L., Man, J., Zhao, L., Wang, Z., & Wei, C. (2014). Different structural properties of high-amylose maize starch fractions varying in granule size. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(48), 11711-11721.
- Cai, C., Zhao, L., Huang, J., Chen, Y., & Wei, C. (2014). Morphology, structure and gelatinization properties of heterogeneous starch granules from high-amylose maize. *Carbohydrate polymers*, 102, 606-614.
- Che, L. M., Li, D., Wang, L. J., Dong Chen, X., & Mao, Z. H. (2007). Micronization and hydrophobic modification of cassava starch. *International Journal of Food Properties*, 10(3), 527-536.
- Che, L. M., Wang, L. J., Li, D., Bhandari, B., Özkan, N., Chen, X. D., & Mao, Z. H. (2009). Starch pastes thinning during high-pressure homogenization. *Carbohydrate polymers*, 75(1), 32-38.
- Che, L., Li, D., Wang, L., Özkan, N., Chen, X. D., & Mao, Z. (2007). Effect of high-pressure homogenization on the structure of cassava starch. *International Journal of Food Properties*, 10(4), 911-922.
- Cheetham, N. W., & Tao, L. (1998). Solid state NMR studies on the structural and conformational properties of natural maize starches. *Carbohydrate Polymers*, 36(4), 285-292.
- Cheetham, N. W., & Tao, L. (1998). Variation in crystalline type with amylose content in maize starch granules: an X-ray powder diffraction study. *Carbohydrate polymers*, 36(4), 277-284.
- Cheetham, N. W., & Tao, L. (1998). Variation in crystalline type with amylose content in maize starch granules: an X-ray powder diffraction study. *Carbohydrate polymers*, 36(4), 277-284.
- Chen, G., Campanella, O. H., & Purkayastha, S. (2007). A dynamic model of crosslinked corn starch granules swelling during thermal processing. *Journal of food engineering*, 81(2), 500-507.
- Cooke, D., & Gidley, M. J. (1992). Loss of crystalline and molecular order during starch gelatinisation: origin of the enthalpic transition. *Carbohydrate research*, 227, 103-112.

- Copeland, L., Blazek, J., Salman, H., & Tang, M. C. (2009). Form and functionality of starch. *Food hydrocolloids*, 23(6), 1527-1534.
- Ding, Y., & Kan, J. (2016). Characterization of nanoscale retrograded starch prepared by a sonochemical method. *Starch-Stärke*, 68(3-4), 264-273.
- Donovan, J. W. (1979). Phase transitions of the starch-water system. *Biopolymers*, 18(2), 263-275.
- Douzals, J. P., Perrier Cornet, J. M., Gervais, P., & Coquille, J. C. (1998). High-pressure gelatinization of wheat starch and properties of pressure-induced gels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(12), 4824-4829.
- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). (2012). Scientific Opinion on the substantiation of a health claim related to *Rhodiola rosea* L. extract and reduction of mental fatigue pursuant to Article 13 (5) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal*, 10(7), 2805.
- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA). (2010). Scientific opinion on dietary reference values for carbohydrates and dietary fibre. *EFSA journal*, 8(3), 1462.
- Ellis, R. P., Cochrane, M. P., Dale, M. F. B., Duffus, C. M., Lynn, A., Morrison, I. M., ... & Tiller, S. A. (1998). Starch production and industrial use. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77(3), 289-311.
- Englyst, H. N., & Cummings, J. H. (1985). Digestion of the polysaccharides of some cereal foods in the human small intestine. *The American journal of clinical nutrition*, 42(5), 778-787.
- Englyst, H. N., Kingman, S. M., & Cummings, J. H. (1992). Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *European journal of clinical nutrition*, 46, S33-50.
- French, D. (1973). Chemical and physical properties of starch. *Journal of animal science*, 37(4), 1048-1061.
- Gallant, D. J., Bouchet, B., & Baldwin, P. M. (1997). Microscopy of starch: evidence of a new level of granule organization. *Carbohydrate polymers*, 32(3-4), 177-191.
- García, N. L., Ribba, L., Dufresne, A., Aranguren, M. I., & Goyanes, S. (2009). Physico-Mechanical Properties of Biodegradable Starch Nanocomposites. *Macromolecular Materials and Engineering*, 294(3), 169-177.

- Ge, S., Xiong, L., Li, M., Liu, J., Yang, J., Chang, R., ... & Sun, Q. (2017). Characterizations of Pickering emulsions stabilized by starch nanoparticles: Influence of starch variety and particle size. *Food chemistry*, 234, 339-347.
- Gelders, G. G., Duyck, J. P., Goesaert, H., & Delcour, J. A. (2005). Enzyme and acid resistance of amylose-lipid complexes differing in amylose chain length, lipid and complexation temperature. *Carbohydrate Polymers*, 60(3), 379-389.
- Giuberti, G., Gallo, A., Fortunati, P., & Rossi, F. (2016). Influence of high-amylose maize starch addition on in vitro starch digestibility and sensory characteristics of cookies. *Starch-Stärke*, 68(5-6), 469-475.
- Gonzalez-Soto, R. A., Sanchez-Hernandez, L., Solorza-Feria, J., Nunez-Santiago, C., Flores-Huicochea, E., & Bello-Perez, L. A. (2006). Resistant starch production from non-conventional starch sources by extrusion. *Food science and technology international*, 12(1), 5-11.
- Hauner, H., Bechthold, A., Boeing, H., Brönstrup, A., Buyken, A., Leschik-Bonnet, E., ... & Wolfram, G. (2012). Evidence-based guideline of the German Nutrition Society: carbohydrate intake and prevention of nutrition-related diseases. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 60(Suppl. 1), 1-58.
- Hayes, M. G., & Kelly, A. L. (2003). High pressure homogenisation of raw whole bovine milk (a) effects on fat globule size and other properties. *Journal of Dairy Research*, 70(3), 297-305.
- Homayouni, A., Amini, A., Keshtiban, A. K., Mortazavian, A. M., Esazadeh, K., & Pourmoradian, S. (2014). Resistant starch in food industry: A changing outlook for consumer and producer. *Starch-Stärke*, 66(1-2), 102-114.
- Hoover, R., Smith, C., Zhou, Y., & Ratnayake, R. M. W. S. (2003). Physicochemical properties of Canadian oat starches. *Carbohydrate Polymers*, 52(3), 253-261.
- Hsien-Chih, H. W., & Sarko, A. (1978). The double-helical molecular structure of crystalline A-amylose. *Carbohydrate Research*, 61(1), 27-40.
- Imberty, A., & Perez, S. (1988). A revisit to the three-dimensional structure of B-type starch. *Biopolymers*, 27(8), 1205-1221.
- Imberty, A., Chanzy, H., Pérez, S., Buléon, A., & Tran, V. (1988). The double-helical nature of the crystalline part of A-starch. *Journal of molecular biology*, 201(2), 365-378.

- J. BeMiller, R. Whistler, *Starch: Chemistry and Technology*, 3rd ed., Academic
- Jane, J. L., Shen, L., Wang, L., & Maningat, C. C. (1992). Preparation and properties of small-particle corn starch. *Cereal Chem*, 69(3), 280-283.
- Jane, J. L., Wong, K. S., & McPherson, A. E. (1997). Branch-structure difference in starches of A-and B-type X-ray patterns revealed by their Naegeli dextrans. *Carbohydrate Research*, 300(3), 219-227.
- Katopo, H., Song, Y., & Jane, J. L. (2002). Effect and mechanism of ultrahigh hydrostatic pressure on the structure and properties of starches. *Carbohydrate Polymers*, 47(3), 233-244.
- Kaur, J., Kaur, G., Sharma, S., & Jeet, K. (2017). Cereal starch nanoparticles—A prospective food additive: A review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 1-11.
- Kawai, K., Fukami, K., & Yamamoto, K. (2007). Effects of treatment pressure, holding time, and starch content on gelatinization and retrogradation properties of potato starch-water mixtures treated with high hydrostatic pressure. *Carbohydrate polymers*, 69(3), 590-596.
- Kibar, E. A. A., Gönenc, İ., & Us, F. (2010). Gelatinization of waxy, normal and high amylose corn starches. *The Journal of Food*, 35(4), 237-244.
- Kim, K. S., Hwang, H. G., Kang, H. J., Hwang, I. K., Lee, Y. T., & Choi, H. C. (2005). Ultrastructure of individual and compound starch granules in isolation preparation from a high-quality, low-amylose rice, ilpumbyeo, and its mutant, G2, a high-dietary fiber, high-amylose rice. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(22), 8745-8751.
- Kumar, V., Sinha, A. K., Makkar, H. P., De Boeck, G., & Becker, K. (2012). Dietary roles of non-starch polysachharides in human nutrition: A review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 52(10), 899-935.
- Lai, L. S., & Kokini, J. L. (1991). Physicochemical changes and rheological properties of starch during extrusion.(a review). *Biotechnology progress*, 7(3), 251-266.
- Lee, S. Y., Chun, S. J., Kang, I. A., & Park, J. Y. (2009). Preparation of cellulose nanofibrils by high-pressure homogenizer and cellulose-based composite films. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 15(1), 50-55.

- Lehmann, U., & Robin, F. (2007). Slowly digestible starch—its structure and health implications: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 18(7), 346-355.
- Lelievre, J. (1974). Starch gelatinization. *Journal of Applied Polymer Science*, 18(1), 293-296.
- Li, C., Sun, P., & Yang, C. (2012). Emulsion stabilized by starch nanocrystals. *Starch-Stärke*, 64(6), 497-502.
- Li, L., Jiang, H., Campbell, M., Blanco, M., & Jane, J. L. (2008). Characterization of maize amylose-extender (ae) mutant starches. Part I: Relationship between resistant starch contents and molecular structures. *Carbohydrate polymers*, 74(3), 396-404.
- Liu, D., Wu, Q., Chen, H., & Chang, P. R. (2009). Transitional properties of starch colloid with particle size reduction from micro-to nanometer. *Journal of Colloid and Interface Science*, 339(1), 117-124.
- Ma, X., Jian, R., Chang, P. R., & Yu, J. (2008). Fabrication and characterization of citric acid-modified starch nanoparticles/plasticized-starch composites. *Biomacromolecules*, 9(11), 3314-3320.
- Madivala, B., Vandebril, S., Fransær, J., & Vermant, J. (2009). Exploiting particle shape in solid stabilized emulsions. *Soft Matter*, 5(8), 1717-1727.
- Matos, M., Laca, A., Rea, F., Iglesias, O., Rayner, M., & Gutiérrez, G. (2018). O/W emulsions stabilized by OSA-modified starch granules versus non-ionic surfactant: Stability, rheological behaviour and resveratrol encapsulation. *Journal of Food Engineering*, 222, 207-217.
- McCleary, B. V., DeVries, J. W., Rader, J. I., Cohen, G., Prosky, L., Mugford, D. C., ... & Okuma, K. (2012). Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber (CODEX definition) by enzymatic-gravimetric method and liquid chromatography: collaborative study. *Journal of AOAC International*, 95(3), 824-844.
- McPherson, A. E., & Jane, J. L. (1999). Comparison of waxy potato with other root and tuber starches. *Carbohydrate polymers*, 40(1), 57-70.
- Morrison, W. R. (1995). Starch lipids and how they related to starch granule structure and functionality. *Cereal Foods World*, 40, 437-446.

- Morrison, W. R., Tester, R. F., & Gidley, M. J. (1994). Properties of damaged starch granules. II. Crystallinity, molecular order and gelatinisation of ball-milled starches. *Journal of Cereal Science*, 19(3), 209-217.
- Nara, S., Mori, A., & Komiya, T. (1978). Study on relative crystallinity of moist potato starch. *Starch-Stärke*, 30(4), 111-114.
- Nugent, A. P. (2005). Health properties of resistant starch. *Nutrition Bulletin*, 30(1), 27-54.
- Pandolf, W. D., & Kinney, R. R. (1998). High-pressure homogenization-Latest technology expands performance and product possibilities. *Chemical Processing*, 61(3), 39-44.
- Paris, M., Bizot, H., Emery, J., Buzaré, J. Y., & Buléon, A. (1999). Crystallinity and structuring role of water in native and recrystallized starches by ¹³C CP-MAS NMR spectroscopy: 1: Spectral decomposition. *Carbohydrate Polymers*, 39(4), 327-339.
- Press/Elsevier Inc., New York, 2009, pp. 168-198.
- Qi, X., Tester, R. F., Snape, C. E., & Ansell, R. (2003). Molecular basis of the gelatinisation and swelling characteristics of waxy rice starches grown in the same location during the same season. *Journal of Cereal Science*, 37(3), 363-376.
- Raguin, A., & Ebenhöf, O. (2017). Design starch: stochastic modeling of starch granule biogenesis. *Biochemical Society Transactions*, BST20160407.
- Ranhotra, G. S., Gelroth, J. A., & Leinen, S. D. (1999). Resistant starch in selected grain-based foods. *Cereal foods world*.
- Rayner, M., Marku, D., Eriksson, M., Sjöö, M., Dejmek, P., & Wahlgren, M. (2014). Biomass-based particles for the formulation of Pickering type emulsions in food and topical applications. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 458, 48-62.
- Rayner, M., Sjöö, M., Timgren, A., & Dejmek, P. (2012). Quinoa starch granules as stabilizing particles for production of Pickering emulsions. *Faraday discussions*, 158(1), 139-155.
- REMSEN, C. H., & CLARK, J. P. (1978). A viscosity model for a cooking dough. *Journal of Food Process Engineering*, 2(1), 39-64.
- Retrieved from: <http://www.fao.org/docrep/W8079E/w8079e0j.htm> (accessed: May 2018)

- Retrieved from: <http://www.tainstruments.com/dhr-3-2/?lang=fr> (accessed: May 2018)
- Retrieved from: <http://www.ingredion.us/content/dam/ingredion/technical-documents/na/HI-MAIZE%20260%20%202022000B00%20%20Technical%20Specification.pdf> (accessed: May 2018)
- Retrieved from: <https://www.malvernpanalytical.com/en/products/product-range/zetasizer-range/zetasizer-nano-range/zetasizer-nano-zs/index.html> (accessed: May 2018)
- Robin, J. P. (1974). Lint-nerized starches. Gel filtration and enzymatic studies of insoluble residues from prolonged acid treatment of potato starch. *Cereal Chem.*, *51*, 389-406.
- Roper, H. (1993). Industrial products from starch, recent developments, potential applications and future perspectives. *New Crops for Temperate Regions.* eds Antony KRM, Meadley J and Röbbelen, Chapman and Hall, London, 157-167.
- Rosado, J. L., Morales, M., & Allen, L. H. (1987). Energy and macronutrient bioavailability from rural and urban Mexican diets. *Nutrient availability: chemical and biological aspects.* Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry. p, 327-9.
- Rubens, P., & Heremans, K. (2000). Pressure-temperature gelatinization phase diagram of starch: an in situ Fourier transform infrared study. *Biopolymers*, *54*(7), 524-530.
- Rubens, P., Snauwaert, J., Heremans, K., & Stute, R. (1999). In situ observation of pressure-induced gelation of starches studied with FTIR in the diamond anvil cell. *Carbohydrate polymers*, *39*(3), 231-235.
- Saari, H., Fuentes, C., Sjöö, M., Rayner, M., & Wahlgren, M. (2017). Production of starch nanoparticles by dissolution and non-solvent precipitation for use in food-grade Pickering emulsions. *Carbohydrate polymers*, *157*, 558-566.
- Saari, H., Heravifar, K., Rayner, M., Wahlgren, M., & Sjöö, M. (2016). Preparation and characterization of starch particles for use in pickering emulsions. *Cereal Chemistry*, *93*(2), 116-124.
- Sajilata, M. G., Singhal, R. S., & Kulkarni, P. R. (2006). Resistant starch—a review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, *5*(1), 1-17.

- Sharavathy, M. K., Urooj, A., & Puttaraj, S. (2001). Nutritionally important starch fractions in cereal based Indian food preparations. *Food chemistry*, 75(2), 241-247.
- Sievert, D., & Pomeranz, Y. (1989). Enzyme-resistant starch. I. Characterization and evaluation by enzymatic, thermoanalytical, and microscopic methods. *Cereal Chem*, 66(4), 342-347.
- Sievert, D., & Pomeranz, Y. (1990). Enzyme-resistant starch. II. Differential scanning calorimetry studies on heat-treated starches and enzyme-resistant starch residues. *Cereal Chem*, 67(3), 217-221.
- Song, D., Thio, Y. S., & Deng, Y. (2011). Starch nanoparticle formation via reactive extrusion and related mechanism study. *Carbohydrate polymers*, 85(1), 208-214.
- Tan, I., Flanagan, B. M., Halley, P. J., Whittaker, A. K., & Gidley, M. J. (2007). A method for estimating the nature and relative proportions of amorphous, single, and double-helical components in starch granules by ¹³C CP/MAS NMR. *Biomacromolecules*, 8(3), 885-891.
- Tan, Y., Xu, K., Liu, C., Li, Y., Lu, C., & Wang, P. (2012). Fabrication of starch-based nanospheres to stabilize pickering emulsion. *Carbohydrate polymers*, 88(4), 1358-1363.
- Tang, H., Ando, H., Watanabe, K., Takeda, Y., & Mitsunaga, T. (2001). Physicochemical properties and structure of large, medium and small granule starches in fractions of normal barley endosperm. *Carbohydrate Research*, 330(2), 241-248.
- Tang, H., Mitsunaga, T., & Kawamura, Y. (2006). Molecular arrangement in blocklets and starch granule architecture. *Carbohydrate Polymers*, 63(4), 555-560.
- Tester, R. F., & Karkalas, J. (2001). The effects of environmental conditions on the structural features and physico-chemical properties of starches. *Starch-Stärke*, 53(10), 513-519.
- Tester, R. F., Karkalas, J., & Qi, X. (2004). Starch—composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science*, 39(2), 151-165.

- Tingren, A., Rayner, M., Dejmek, P., Marku, D., & Sjöo, M. (2013). Emulsion stabilizing capacity of intact starch granules modified by heat treatment or octenyl succinic anhydride. *Food science & nutrition*, 1(2), 157-171.
- Tingren, A., Rayner, M., Sjöo, M., & Dejmek, P. (2011). Starch particles for food based Pickering emulsions. *Procedia Food Science*, 1, 95-103.
- Tribst, A. A., Franchi, M. A., & Cristianini, M. (2008). Ultra-high pressure homogenization treatment combined with lysozyme for controlling *Lactobacillus brevis* contamination in model system. *Innovative food science & emerging technologies*, 9(3), 265-271.
- Tu, Z., Yin, Y., Wang, H., Liu, G., Chen, L., Zhang, P., ... & Zhang, L. (2013). Effect of dynamic high-pressure microfluidization on the morphology characteristics and physicochemical properties of maize amylose. *Starch-Stärke*, 65(5-6), 390-397.
- Tufvesson, F., & Eliasson, A. C. (2000). Formation and crystallization of amylose–monoglyceride complex in a starch matrix. *Carbohydrate polymers*, 43(4), 359-365.
- Veregin, R. P., Fyfe, C. A., Marchessault, R. H., & Taylor, M. G. (1986). Characterization of the crystalline A and B starch polymorphs and investigation of starch crystallization by high-resolution carbon-13 CP/MAS NMR. *Macromolecules*, 19(4), 1030-1034.
- Verma, A. K., & Banerjee, R. (2010). Dietary fibre as functional ingredient in meat products: a novel approach for healthy living—a review. *Journal of food science and technology*, 47(3), 247-257.
- Wang, B., Li, D., Wang, L. J., Chiu, Y. L., Chen, X. D., & Mao, Z. H. (2008). Effect of high-pressure homogenization on the structure and thermal properties of maize starch. *Journal of Food Engineering*, 87(3), 436-444.
- Wei, C., Xu, B., Qin, F., Yu, H., Chen, C., Meng, X., ... & Liu, Q. (2010). C-type starch from high-amylose rice resistant starch granules modified by antisense RNA inhibition of starch branching enzyme. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(12), 7383-7388.
- Westenbrink, S., Brunt, K., & van der Kamp, J. W. (2013). Dietary fibre: challenges in production and use of food composition data. *Food chemistry*, 140(3), 562-567.

- Xie, F., Pollet, E., Ha ley, P. J., & Avérous, L. (2015). Advanced nano-biocomposites based on starch. *Polysaccharides: Bioactivity and Biotechnology*, 1467-1553.
- Yang, Y., Fang, Z., Chen, X., Zhang, W., Xie, Y., Chen, Y., ... & Yuan, W. (2017). An overview of pickering emulsions: solid-particle materials, classification, morphology, and applications. *Frontiers in pharmacology*, 8, 287.
- Yang, J., Xie, F., Wen, W., Chen, L., Shang, X., & Liu, P. (2016). Understanding the structural features of high-amylose maize starch through hydrothermal treatment. *International journal of biological macromolecules*, 84, 268-274.
- Yusuph, M., Tester, R. F., Ansell, R., & Snape, C. E. (2003). Composition and properties of starches extracted from tubers of different potato varieties grown under the same environmental conditions. *Food Chemistry*, 82(2), 283-289.
- Zhang, X., Guo, D., Xue, J., Yanniotis, S., & Mandala, I. (2017). The effect of salt concentration on swelling power, rheological properties and saltiness perception of waxy, normal and high amylose maize starch. *Food & function*, 8(10), 3792-3802.
- Zhong, Y., Zhu, H., Liang, W., Li, X., Liu, L., Zhang, X., ... & Guo, D. (2018). High-amylose starch as a new ingredient to balance nutrition and texture of food. *Journal of Cereal Science*, 81, 8-14.

6. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

6.1 ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΥΓΡΑΣΙΑΣ ΑΚΑΤΕΡΓΑΣΤΟΥ ΑΜΥΛΟΥ

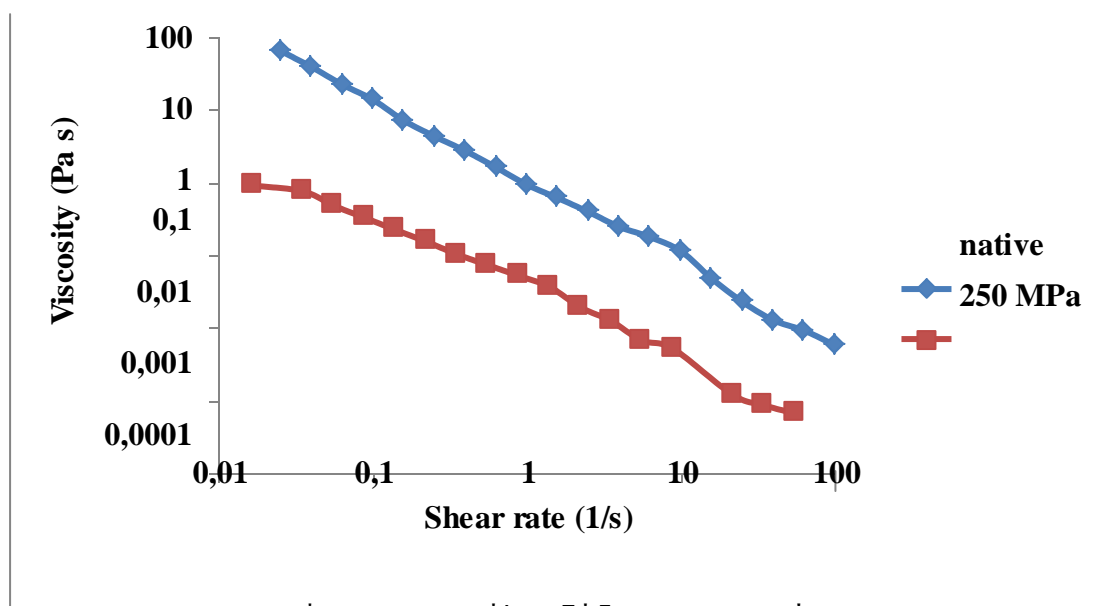
Πίνακας 20

Υπολογισμός υγρασίας ακατέργαστου δείγματος

ΜΕΤΡΗΣΗ	1	2	3
Βαζάκι	11,92±0,01	13,33±0,01	12,78±0,01
(Βάρος Α) gr			
Καπάκι	6,59±0,01	7,10±0,01	6,96±0,01
(Βάρος Β) gr			
Άμυλο	2,00±0,01	2,00±0,01	2,00±0,01
(Βάρος Γ) gr			
Τελικό Ξηρό	20,27±0,01	22,18±0,01	21,48±0,01
(Βάρος Δ) gr			
Υγρασία (%)	1,17±0,01	1,10±0,01	1,19±0,01

Η υγρασία εκφράζεται σε % επί υγρού βάρους (υ.β) ±0,1%

6.2 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΙΞΩΔΟΥΣ ΕΝΑΙΩΡΗΜΑΤΟΣ ΑΜΥΛΟΥ



Σχήμα 15: Καμπύλες ιξώδους εναιωρημάτων