



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΤΡΟΦΙΜΑ, ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑ

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Παρασκευή και μελέτη εδώδιμων μεμβρανών και ελαιοπηκτών από διαλύματα μικτών συστημάτων πηκτίνης υψηλής μεθυλίωσης και πρωτεϊνών

Γεωργία Ν. Παπαντωνοπούλου

Επιβλέπουσα καθηγήτρια:

Βασιλική Ευαγγελίου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΓΠΑ

ΑΘΗΝΑ

2021

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Παρασκευή και μελέτη εδώδιμων μεμβρανών και ελαιοπηκτών από διαλύματα μικτών συστημάτων πηκτίνης υψηλής μεθυλίωσης και πρωτεϊνών

“Development and evaluation of edible films and oleogels obtained from solutions of mixed high methoxyl pectin-protein systems”

Γεωργία Ν. Παπαντωνοπούλου

Εξεταστική Επιτροπή:

Βασιλική Ευαγγελίου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΓΠΑ

Ιωάννα Μαντάλα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΓΠΑ

Χρυσαιγή Γαρδέλη, Επίκουρη Καθηγήτρια ΓΠΑ

Παρασκευή και μελέτη εδώδιμων μεμβρανών και ελαιοπηκτών από διαλύματα μικτών συστημάτων πηκτικής υψηλής μεθυλίωσης και πρωτεϊνών

ΠΜΣ Τρόφιμα, Διατροφή και Υγεία

Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου

Εργαστήριο Χημείας και Ανάλυσης Τροφίμων

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι πρωτεΐνες και οι πολυσακχαρίτες, αποτελούν συστατικά τροφίμων, τα οποία όταν συνυπάρχουν σε διάλυμα, αλληλεπιδρούν διαφορετικά μεταξύ τους, συμβάλλοντας στη δημιουργία δομών, όπως γαλακτώματα, πηκτές και εδώδιμες μεμβράνες. Οι δομές αυτές, μπορούν να βρουν σημαντικές εφαρμογές στη βιομηχανία τροφίμων, όπως η ενθυλάκωση λειτουργικών συστατικών, η δημιουργία προϊόντων μειωμένων λιπαρών και η χρήση εδώδιμων μεμβρανών στη συσκευασία τροφίμων.

Σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής εργασίας, ήταν η δημιουργία και η μελέτη εδώδιμων μεμβρανών και ελαιοπηκτών, προερχόμενων από διαλύματα μικτών συστημάτων HMP και πρωτεϊνών (NaCas και PPI), σε συγκεντρώσεις και pH, που προέκυψαν από προκαταρκτικά πειράματα.

Αρχικά, προσδιορίστηκε το ισοηλεκτρικό σημείο των μεμονωμένων πρωτεϊνών και μετρήθηκε η απορρόφηση των μικτών συστημάτων NaCas-HMP, PPI-HMP.

Ακολούθησε, η παρασκευή γαλακτωμάτων και η εκτίμηση των παραμέτρων του ιξώδους και της σταθερότητας τους, όπου βρέθηκε ότι η προσθήκη HMP και η αύξηση της συγκέντρωσης των βιοπολυμερών, συνέβαλαν στη δημιουργία γαλακτωμάτων, με υψηλότερη τιμή ιξώδους και σταθερότητας, με μία επίσης σημαντική επίδραση του τύπου της πρωτεΐνης, στις παραμέτρους αυτές. Ως προς τη ρεολογική τους συμπεριφορά, όλα τα γαλακτώματα εμφάνισαν, μη νευτώνεια, ψευδοπλαστική συμπεριφορά.

Μετρήθηκε επίσης, η επιφανειακή και η διεπιφανειακή τάση, των υδατικών διαλυμάτων, οι οποίες βρέθηκε ότι παρουσιάζουν χαμηλότερες τιμές, με την αύξηση της συγκέντρωσης των βιοπολυμερών.

Στη συνέχεια, παρασκευάστηκαν γαλακτώματα υψηλής εσωτερικής φάσης (HIPE), καθώς η παρασκευή ελαιοπηκτών, δεν επέφερε τα επιθυμητά αποτελέσματα. Αυτά, παρουσίασαν εξάρτηση από τον τύπο της πρωτεΐνης και τη συγκέντρωση των περιεχόμενων πρωτεϊνών και HMP.

Πιο συγκεκριμένα, τα δείγματα με PPI, εμφάνισαν μεγαλύτερη απώλεια ελαίου και μικρότερη μάζα, με παρόμοια δεδομένα να παρατηρούνται και για τα HIPE, με χαμηλότερη συγκέντρωση βιοπολυμερών. Επιπλέον, από τις μετρήσεις τελικής μάζα και απώλειας νερού, των αποξηραμένων HIPE, φάνηκε ότι τα δείγματα που περιέχουν PPI, εμφάνισαν μεγαλύτερη απώλεια νερού και μικρότερη μάζα, ενώ τα αποξηραμένα HIPE με υψηλότερη ποσότητα βιοπολυμερών, παρουσίασαν μεγαλύτερη τελική ολική μάζα και απώλεια νερού.

Τέλος, παρασκευάστηκαν εδώδιμες μεμβράνες, των οποίων οι παράμετροι επηρεάστηκαν, σε διαφορετικό βαθμό, από τον τύπο της πρωτεΐνης και τη συγκέντρωση των περιεχόμενων βιοπολυμερών. Αναλυτικότερα, οι μεμβράνες που περιείχαν NaCas, εμφάνισαν υψηλότερες τιμές πάχους, βάρους, διαπερατότητας υδρατμών (WVP), συντελεστή ακαμψίας Young's modulus και μέγιστης δύναμης (N), όπως επίσης και τα δείγματα με μεγαλύτερη συγκέντρωση βιοπολυμερών. Σημαντική ήταν, επίσης, η επίδραση του τύπου της πρωτεΐνης, στις τιμές της υγρασίας των δειγμάτων, με τις NaCas μεμβράνες να έχουν αρκετά χαμηλότερες τιμές. Επιπλέον, όλες οι μεμβράνες εμφάνισαν παρόμοιες τιμές πυκνότητας ενώ, παρατηρήθηκε αυξανόμενη τιμή θολερότητας, με την αύξηση της συγκέντρωσης των βιοπολυμερών. Τέλος, αναφορικά με τις παραμέτρους χρώματος L^* , a^* και b^* , όλα τα δείγματα εμφάνισαν ιδιαίτερα υψηλές τιμές της παραμέτρου φωτεινότητας L^* και οι παράμετροι a^* και b^* , εμφάνισαν εξάρτηση από τη συγκέντρωση των βιοπολυμερών και κυρίως από τον τύπο της περιεχόμενης πρωτεΐνης, με τις μεμβράνες που περιέχουν PPI, να έχουν περισσότερο πορτοκαλί χρώμα, σε σχέση με τις NaCas.

Επιστημονική περιοχή: Χημεία τροφίμων

Λέξεις κλειδιά: βιοπολυμερή, πηκτίνη, καζεϊνικό νάτριο, πρωτεΐνη μπιζελιού, σύμπλοκα πρωτεΐνης: πολυσακχαρίτη, ελαιοπηκτές, γαλακτώματα υψηλής εσωτερικής φάσης, εδώδιμες μεμβράνες, ρεολογία, μηχανικές ιδιότητες

Development and evaluation of edible films and oleogels obtained from solutions of mixed high methoxyl pectin-protein systems

MSc Food, Nutrition and Health

Department of Food Science and Human Nutrition

Laboratory of Food Chemistry and Analysis

ABSTRACT

Proteins and polysaccharides are food components that, when coexisting in solution, interact with each other differently and contribute to the formation of structures such as emulsions, gels, and edible films. These structures can have important applications in the food industry, such as the encapsulation of functional ingredients, the development of products with lower fat content and the use of edible films in food packaging.

The purpose of this master thesis was to develop and evaluate edible films and oleogels obtained from solutions of mixed HMP-protein systems at different concentrations and pH values obtained from preliminary experiments.

Firstly, the isoelectric point of each protein was determined and the absorbance of the mixed NaCas-HMP, PPI-HMP systems was measured.

Emulsions were then prepared and their viscosity and stability parameters were evaluated. It was found that adding HMP and increasing the concentration of biopolymers contributed to the formation of emulsions with higher viscosity and stability, and the type of proteins also had a significant effect on these parameters. As for their rheological behavior, all emulsions showed non-Newtonian pseudoplastic behavior.

The surface and interfacial activity of the aqueous solutions was also measured and it was found that values decreased with increasing concentration of the biopolymers. Subsequently, high internal phase emulsions (HIPE) were prepared as the preparation of olive gels did not bring the desired results. These depended on the type of protein and the concentration of protein and HMP. More specifically, the samples from PPI showed higher oil loss and lower mass, whereas similar data were observed for HIPE with lower biopolymer

concentrations. Moreover, the final measurements of mass and water loss of the dried HIPE showed that the PPI-containing samples exhibited higher water loss and lower mass, while the dried HIPE with higher biopolymer content exhibited higher total mass and water loss.

Finally, edible films were prepared whose parameters were affected to varying degrees by the type of protein and concentration of biopolymers present. More specifically, the NaCas containing films exhibited higher values of thickness, weight, water vapor permeability (WVP), Young's modulus, and maximum force (N), as did the samples with higher biopolymer concentrations. The effect of protein type on the moisture values of the samples was also significant, with NaCas films having significantly lower values. In addition, all films showed similar density values, while an increasing turbidity value was observed with increasing biopolymer concentration. Finally, as far as the color parameters L^* , a^* and b^* are concerned, all samples showed particularly high values for the brightness parameter L^* and the parameters a^* and b^* showed a dependence on the concentration of biopolymers and especially on their type, with PPI-containing films exhibiting a more orange color than NaCas.

Scientific area: Food science

Keywords: biopolymers, pectin, sodium caseinate, pea protein, protein: polysaccharide complexes, oleogels, high internal phase emulsions, edible films, rheology, mechanical properties

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα μεταπτυχιακή μελέτη, πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Χημείας και Ανάλυσης Τροφίμων, του τμήματος Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου, του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, υπό την επίβλεψη της Αναπληρώτριας Καθηγήτριας, κυρίας Βασιλικής Ευαγγελίου.

Θα ήθελα λοιπόν, να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στην Αναπληρώτρια Καθηγήτρια κυρία Βασιλική Ευαγγελίου, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε για την εκπόνηση της έρευνας αυτής, καθώς και για την καθοδήγησή της καθ'όλη τη διάρκειά της.

Επίσης, ευχαριστώ ιδιαίτερα για την άψογη συνεργασία, την υποψήφια Διδάκτορα, κυρία Μαριάνθη Ζιώγα, η οποία με τις γνώσεις της και το χρόνο που διέθεσε, με βοήθησε καταλυτικά στην περάτωση της παρούσας μελέτης και στην επίλυση ζητημάτων που προέκυψαν, κατά την πειραματική διαδικασία.

Παράλληλα, ευχαριστώ θερμά τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής, κυρία Ιωάννα Μαντάλα και κυρία Χρυσανγή Γαρδέλη, όπως επίσης και όλους τους καθηγητές του μεταπτυχιακού προγράμματος.

Τέλος, θα ήθελα να πω ένα μεγάλο ευχαριστώ, στην οικογένεια και στους φίλους μου για τη στήριξη, τη συμπαράσταση και την κατανόηση που επέδειξαν, κατά τη διάρκεια των σπουδών μου.

«Με την άδειά μου, η παρούσα εργασία ελέγχθηκε από την Εξεταστική Επιτροπή μέσα από λογισμικό ανίχνευσης λογοκλοπής που διαθέτει το ΓΠΑ και διασταυρώθηκε η εγκυρότητα και η πρωτοτυπία της»

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

1. ΠΟΛΥΜΕΡΗ	15
1.1. ΒΙΟΠΟΛΥΜΕΡΗ / ΥΔΡΟΚΟΛΛΟΕΙΔΗ.....	15
2. ΡΕΟΛΟΓΙΑ	17
2.1. ΙΞΩΔΕΣ	17
2.2. ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΡΕΥΣΤΩΝ ΑΝΑΛΟΓΑ ΜΕ ΤΗΝ ΙΞΩΔΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΤΟΥΣ.....	18
2.2.1. Νευτώνεια ρευστά	18
2.2.2. Μη Νευτώνεια ρευστά	18
2.3. ΙΞΩΔΟΕΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ	19
2.3.1. Μηχανική φασματοσκοπία	20
2.3.2. Δοκιμές μελέτης ιξωδοελαστικών ιδιοτήτων	21
2.3.3. Τύποι συμπεριφοράς συστημάτων βιοπολυμερών στο μηχανικό φάσμα.....	21
3. ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ	23
3.1. ΔΟΜΗ	23
3.2. ΙΣΟΗΛΕΚΤΡΙΚΟ ΣΗΜΕΙΟ (PI)	24
3.3. ΜΕΤΟΥΣΙΩΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ	25
3.4. ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ	26
3.5. ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΜΠΙΖΕΛΙΟΥ	30
3.6. ΚΥΡΙΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΜΠΙΖΕΛΙΟΥ	31
3.6.1. Οφέλη για τη υγεία	31
3.6.2. Λειτουργικές ιδιότητες.....	32
3.6.3. Εφαρμογές της πρωτεΐνης μπιζελιού στα τρόφιμα	34
3.7. ΚΑΖΕΪΝΗ.....	35
3.7.1. Δομή.....	36
3.7.2. Μικρόλια καζεΐνης	37
3.7.1. Καζεϊνικό νάτριο (NaCas)	37
3.7.2. Φυσικοχημικές ιδιότητες	38
3.7.3. Λειτουργικές ιδιότητες.....	39
4. ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΕΣ	42
4.1. ΔΙΑΚΡΙΣΗ	42
4.2. ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ.....	43
4.2.1. Διαλυτότητα.....	43
4.2.2. Ικανότητα σχηματισμού πηκτής.....	43
4.3. ΙΞΩΔΕΣ	44
4.4. ΧΡΗΣΕΙΣ ΣΕ ΤΡΟΦΙΜΑ	44
4.5. ΠΗΚΤΙΝΗ	45
4.5.1. Δομή.....	45
4.5.2. Διάκριση.....	46
4.5.1. Πηγές	47
4.5.2. Ιδιότητες.....	48
4.5.3. Σχηματισμός πηκτής.....	48
4.5.4. Χρήσεις	48
5. ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΔΥΟ ΒΙΟΠΟΛΥΜΕΡΩΝ	50

5.1.	ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ-ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΗ	50
5.2.	ΦΥΣΗ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΗ-ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ.....	52
5.3.	ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΗ-ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΕΣ ΜΕ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΕ ΤΡΟΦΙΜΑ	53
5.3.1.	<i>Ιξώδες συμπλόκου πολυσακχαρίτη-πρωτεΐνης και σταθερότητα αφρού.....</i>	<i>53</i>
5.3.2.	<i>Σταθερότητα γαλακτώματος ελαίου-νερού.....</i>	<i>54</i>
5.3.3.	<i>Ενθυλάκωση και απελευθέρωση ενεργών μορίων</i>	<i>56</i>
6.	ΠΗΚΤΕΣ ΒΙΟΠΟΛΥΜΕΡΩΝ.....	58
6.1.	ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΠΗΚΤΗΣ	58
6.2.	ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΗΞΗΣ	59
6.3.	ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΠΗΚΤΩΝ	60
6.3.1.	<i>Θερμικές ιδιότητες</i>	<i>60</i>
6.3.2.	<i>Μηχανικές ιδιότητες.....</i>	<i>60</i>
6.4.	ΤΥΠΟΙ ΠΗΚΤΩΝ.....	61
6.4.1.	<i>Οργανικές/Ανόργανες.....</i>	<i>61</i>
6.4.2.	<i>Φυσικές.....</i>	<i>61</i>
6.4.3.	<i>Χημικές</i>	<i>62</i>
7.	ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΑ	63
7.1.	ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ	63
7.2.	ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΟΠΟΙΗΤΕΣ.....	64
7.3.	ΣΤΑΘΕΡΟΠΟΙΗΤΕΣ.....	65
7.4.	ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΟΣ	66
7.4.1.	<i>Ομογενοποίηση</i>	<i>66</i>
7.5.	ΙΞΩΔΕΣ	67
7.6.	ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ	67
7.7.	ΑΠΟΣΤΑΘΕΡΟΠΟΙΗΣΗ	68
7.7.1.	<i>Βαρυτικός διαχωρισμός των γαλακτωμάτων / Κρέμωση-Καθίζηση</i>	<i>68</i>
7.7.2.	<i>Συνένωση.....</i>	<i>68</i>
7.7.3.	<i>Κροκίδωση.....</i>	<i>69</i>
7.7.4.	<i>Ωρίμανση Ostwald.....</i>	<i>70</i>
8.	ΕΛΑΙΟΠΗΚΤΕΣ	71
8.1.	ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΛΑΙΟΠΗΚΤΩΜΑΤΟΠΟΙΗΣΗΣ.....	72
8.1.1.	<i>Άμεσες μέθοδοι ελαιοπηκτωματοποίησης.....</i>	<i>72</i>
8.1.2.	<i>Έμμεσες μέθοδοι ελαιοπηκτωματοποίησης.....</i>	<i>73</i>
8.2.	ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΕΛΑΙΟΠΗΚΤΩΝ ΜΕ ΒΑΣΗ ΠΟΛΥΜΕΡΗ.....	76
8.2.1.	<i>Μηχανικές ιδιότητες.....</i>	<i>76</i>
8.2.2.	<i>Εναισθησία στη θερμοκρασία.....</i>	<i>77</i>
8.2.3.	<i>Σταθερότητα στην παρουσία νερού.....</i>	<i>77</i>
8.3.	ΠΙΘΑΝΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΕΛΑΙΟΠΗΚΤΩΝ ΜΕ ΒΑΣΗ ΠΟΛΥΜΕΡΗ.....	77
9.	ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΑ ΥΨΗΛΗΣ ΕΣΩΤΕΡΙΚΗΣ ΦΑΣΗΣ (HIGH INTERNAL PHASE EMULSIONS – HIPE)79	
9.1.	ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ HIPE.....	80
9.1.1.	<i>Εμφάνιση και Μικροδομή</i>	<i>80</i>
9.2.	ΡΕΟΛΟΓΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ	80
9.2.1.	<i>Παράγοντες επίδρασης.....</i>	<i>81</i>
9.3.	ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΩΝ HIPE	82

9.3.1.	Δομική οργάνωση.....	82
9.3.2.	Τύπος γαλακτωματοποιητή.....	83
9.3.3.	Περιβαλλοντική απόκριση.....	84
9.4.	ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΩΝ ΗΙΡΕ.....	85
9.4.1.	Προβιοτική προστασία.....	85
9.4.2.	Ενθυλάκωση διατροφολογικών συστατικών.....	85
9.4.3.	Υποκατάστατα κορεσμένων λιπαρών οξέων και υδρογονομένων ελαίων.....	86
9.4.4.	Παρασκευή πορωδών υλικών.....	87
10.	ΕΔΩΔΙΜΕΣ ΜΕΜΒΡΑΝΕΣ.....	88
10.1.	ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ/ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ.....	88
10.2.	ΧΡΗΣΗ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΟΠΟΙΗΤΩΝ/ΠΛΑΣΤΙΚΟΠΟΙΗΤΩΝ.....	89
10.2.1.	Πλαστικοποιητές.....	89
10.3.	ΕΙΔΗ ΕΔΩΔΙΜΩΝ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ.....	90
10.3.1.	Πρωτεϊνικές.....	90
10.3.2.	Πολυσακχαριτικές.....	91
10.3.3.	Λιπαρές.....	91
10.3.4.	Σύνθετες.....	91
11.	ΣΚΟΠΟΣ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ.....	93
12.	ΥΛΙΚΑ.....	93
13.	ΜΕΘΟΔΟΙ.....	95
13.1.	ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ ΝΑCΑS, ΡΡΙ ΚΑΙ ΗΜΡ ΚΑΙ ΜΙΚΤΩΝ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΝΑCΑS-ΗΜΡ, ΡΡΙ-ΗΜΡ.....	95
13.2.	ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΚΑΙ ΜΙΚΤΩΝ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΝΑCΑS-ΗΜΡ, ΡΡΙ-ΗΜΡ, ΣΥΝΑΡΤΗΣΗ ΤΟΥ ΡΗ 96.....	
13.3.	ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΩΝ.....	96
13.4.	ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΩΝ.....	97
13.4.1.	Ιξώδες.....	97
13.4.2.	Σταθερότητα.....	97
13.5.	ΜΕΤΡΗΣΗ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΚΗΣ ΤΑΣΗΣ, ΔΙΕΠΙΦΑΝΕΙΑΚΗΣ ΤΑΣΗΣ ΚΑΙ ΙΞΩΔΟΥΣ ΥΔΑΤΙΚΗΣ ΦΑΣΗΣ ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ.....	98
13.6.	ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΛΑΙΟΠΗΚΤΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΟΣ (EMULSION TEMPLATED).....	98
13.7.	ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΠΩΛΕΙΑΣ ΝΕΡΟΥ ΤΩΝ ΗΙΡΕ.....	98
13.8.	ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΠΩΛΕΙΑΣ ΕΛΑΙΟΥ ΤΩΝ ΗΙΡΕ.....	99
13.9.	ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΔΩΔΙΜΩΝ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ.....	99
13.10.	ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΚΙΝΗΜΑΤΙΚΟΥ ΙΞΩΔΟΥΣ ΤΩΝ ΜΙΓΜΑΤΩΝ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΕΔΩΔΙΜΩΝ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ.....	99
13.11.	ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΕΔΩΔΙΜΩΝ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ.....	100
13.11.1.	Βάρος.....	100
13.11.2.	Πάχος.....	100
13.11.3.	Πυκνότητα.....	100
13.11.4.	Περιεκτικότητα σε υγρασία.....	101
13.11.5.	Χρώμα.....	101
13.11.6.	Θολρότητα.....	102
13.11.7.	Διαπερατότητα υδρατμών (WVP).....	102
13.11.8.	Μηχανικές ιδιότητες.....	103
	13.12. Στατιστική ανάλυση.....	

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Πολυμερή

Τα πολυμερή είναι μόρια, τα οποία προκύπτουν από τη συμπύκνωση (ή πολυμερισμό) πολλών όμοιων μικρών μορίων, των μονομερών, με αποτέλεσμα τη δημιουργία πολύ μεγάλων μορίων ή αλλιώς μακρομορίων. Πολυμερή, τα οποία αποτελούνται από μόνο ένα είδος επαναλαμβανόμενων μονάδων, με την κάθε μονάδα να συνδέεται με ομοιοπολικό δεσμό με δύο άλλες μονάδες, με εξαίρεση τις δύο τελικές μονάδες της πολυμερικής αλυσίδας, ονομάζονται γραμμικά ομοπολυμερή ενώ, αυτά που αποτελούνται από δύο ή και τρία διαφορετικά είδη μονομερών, ονομάζονται συμπολυμερή και τριαδρομερή αντίστοιχα. Χαρακτηρίζονται από υψηλό μοριακό βάρος, το οποίο κυμαίνεται από μερικές εκατοντάδες έως και εκατομμύρια γραμμάρια ανά γραμμομόριο ($\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) και ως εκ τούτου είναι στερεά σε συνήθεις συνθήκες πίεσης και θερμοκρασίας. (1)

Βασικό τρόπο κατάταξης των πολυμερών, αποτελεί η προέλευσή τους, με αυτά που βρίσκονται στη φύση να ονομάζονται βιοπολυμερή ενώ, εκείνα που παράγονται στο εργαστήριο, να αποτελούν τα συνθετικά πολυμερή. Στα φυσικά πολυμερή, ανήκουν οι πολυσακχαρίτες, οι πρωτεΐνες, οι φυσικές ρητίνες και τα συνθετικά πολυμερή κατηγοριοποιούνται ευκολότερα με βάση τη θερμική τους συμπεριφορά, σε θερμοπλαστικά και θερμοσκληρυνόμενα ενώ, και τα δύο είδη μπορούν να είναι βιοαποικοδομήσιμα ή βιοσυμβατά. (2)

1.2. Βιοπολυμερή / Υδροκολλοειδή

Τα βιοπολυμερή, είναι μία κατηγορία πολυμερών μορίων, που παράγονται από ζωντανούς οργανισμούς. Παραδείγματα βιοπολυμερών, αποτελούν οι υδατάνθρακες, οι οποίοι αποτελούνται από απλά σάκχαρα, που συνδέονται μεταξύ τους με γλυκοζυτικούς δεσμούς α και β τύπου και οι πρωτεΐνες, οι οποίες αποτελούνται από αμινοξέα, τα οποία συνδέονται μεταξύ τους με πεπτιδικούς δεσμούς μεταξύ των αμινο και καρβοξυλικών. (3) Ο όρος «υδροκολλοειδή» χρησιμοποιείται συνήθως, για την περιγραφή μιας σειράς πολυσακχαριτών και πρωτεϊνών που αξιοποιούνται ευρέως σε ποικίλους τομείς της

βιομηχανίας τροφίμων, καθώς μοιράζονται κάποιες πολύ χρήσιμες ιδιότητες, όπως την ενυδάτωση και την ικανότητα συγκράτησης νερού, το ιξώδες, την πήξη, την ικανότητα δράσης ως γαλακτωματοποιητές ή αφριστικοί παράγοντες. Αυτά περιλαμβάνουν όλους τους πολυσακχαρίτες που παραλαμβάνονται από φυτά, φύκη και μικροβιακές πηγές, κόμμεα και τροποποιημένα βιοπολυμερή από τη χημική και ενζυμική επεξεργασία αμύλου ή κυτταρίνης ενώ, επίσης στα υδροκολλοειδή κατατάσσονται και πρωτεΐνες, όπως η ζελατίνη, λόγω του έντονα υδρόφιλου χαρακτήρα της. (4)

2. ΡΕΟΛΟΓΙΑ

Η ρεολογία, είναι η επιστήμη που αφορά τη ροή και την παραμόρφωση της ύλης και προσπαθεί να προσδιορίσει τη σχέση μεταξύ της τάσης, που εφαρμόζεται σε ένα δεδομένο υλικό και της παραμόρφωσης ή της ροής, που αυτή δημιουργεί. Οι δύο φυσικές ποσότητες, που συνδέονται με τη ρεολογία, είναι η τάση ($\text{Stress} = \text{δύναμη} / \text{εμβαδό}$) και η παραμόρφωση (Strain). Η τάση, είναι η δύναμη, που ασκείται στο υλικό ανά μονάδα επιφάνειας, μετράται σε Pascal (Pa) και ο τύπος της καθορίζεται από την κατεύθυνση της δύναμης, σε σχέση με την επιφάνεια, στην οποία ασκείται. Όταν οι δυνάμεις δρουν παράλληλα προς την επιφάνεια, η τάση ονομάζεται διατμητική (Shear stress) ενώ, όταν αυτές ενεργούν απευθείας κάθετα σε μια επιφάνεια, η τάση ονομάζεται ορθή. Παράλληλα, η παραμόρφωση είναι μια αδιάστατη ποσότητα της σχετικής παραμόρφωσης του υλικού και ο τύπος που ασκείται, καθορίζεται από την κατεύθυνση της εφαρμοζόμενης τάσης, σε σχέση με την επιφάνεια του υλικού. Η ορθή παραμόρφωση, αναφέρεται στην κανονική παραμόρφωση της επιφάνειας του δείγματος και τα τρόφιμα την παρουσιάζουν, όταν συμπιέζονται ή έλκονται. Γενικά, σε όλα τα ρεολογικά πειράματα, είτε εφαρμόζεται μία δύναμη και μετράται η προκύπτουσα παραμόρφωση ή μετράται η αντίσταση σε μία εφαρμοζόμενη δύναμη. (5)

Ο προσδιορισμός των ρεολογικών ιδιοτήτων, πραγματοποιείται με τη μέτρηση της δύναμης που ασκείται και της παραμόρφωσης που λαμβάνει χώρα, ως συνάρτηση του χρόνου. (6) Η ρεολογική μελέτη των τροφίμων, χρησιμοποιείται ευρέως στη βιομηχανία τροφίμων, καθώς η μελέτη της ροής των ρευστών, καθορίζει το σχεδιασμό των περισσότερων διεργασιών επεξεργασίας των τροφίμων και αποτελεί εργαλείο χαρακτηρισμού των ακατέργαστων υλών, των ενδιάμεσων προϊόντων και των τελειοποιημένων τροφίμων. Τέλος, παρέχει τη δυνατότητα επιλογής του κατάλληλου εξοπλισμού, κατανόησης της δομής, της υφής και της λειτουργικότητας των τροφίμων, του ποιοτικού τους ελέγχου και της πραγματοποίησης μετρήσεων σταθερότητας, κατά την αποθήκευση ή την επεξεργασία τους. (6)

2.1. Ιξώδες

Το ιξώδες, αποτελεί την πιο χαρακτηριστική ιδιότητα ρεολογικής συμπεριφοράς, ενός ρευστού ή ημίρευστου υλικού. Η φυσική του έννοια, είναι η αντίσταση των ρευστών στη ροή δηλαδή και συνήθως, χαρακτηρίζεται ως αντίστροφο μέγεθος του ποιοτικού μεγέθους της ρευστότητας. Το

ιξώδες, το οποίο συμβολίζεται με η , μπορεί ακόμα να οριστεί ως η παραμόρφωση που προκαλείται από μια δύναμη F , σε ένα υγρό επιφάνειας A , συναρτήσει του χρόνου t και ο λόγος της παραμόρφωσης προς τον χρόνο t , στην ρεολογία ονομάζεται ρυθμός διάτμησης ($\dot{\gamma}$), ενώ ο λόγος $F/A = \tau$ ονομάζεται διατμητική τάση (τ). (7)

2.2. Κατηγορίες ρευστών ανάλογα με την ιξώδη συμπεριφορά τους

Τα ρευστά, με βάση με τη συμπεριφορά που παρουσιάζουν, κατά την εφαρμογή διατμητικής τάσης, διακρίνονται σε δύο βασικές κατηγορίες, στα Νευτώνεια και στα Μη Νευτώνεια ρευστά.

2.2.1. Νευτώνεια ρευστά

Νευτώνεια, καλούνται τα ρευστά, με την απλούστερη ρεολογική συμπεριφορά, στα οποία παρατηρείται γραμμική εξάρτηση ανάμεσα στην ιξώδη τάση και στον ρυθμό παραμόρφωσης. Η τιμή του ιξώδους τους, εξαρτάται από την μοριακή σύσταση και την κατάσταση (πίεση και θερμοκρασία) του ρευστού, ενώ είναι ανεξάρτητη από το ρυθμό διάτμησης. Έτσι, η καμπύλη που παριστάνει τη σχέση της διατμητικής τάσης σε συνάρτηση με το ρυθμό διάτμησης, είναι μία ευθεία γραμμή με σταθερή κλίση, ίση με το ιξώδες του ρευστού, για σταθερή πίεση και θερμοκρασία. Νευτώνεια συμπεριφορά, παρουσιάζουν τα αέρια, τα περισσότερα υγρά και διαλύματα ουσιών με μικρό μοριακό βάρος ενώ, χαρακτηριστικά παραδείγματα, αποτελούν ο αέρας, το νερό, το ελαιόλαδο, αραιά διαλύματα απλών σακχάρων, το μέλι και το γάλα. (8)

2.2.2. Μη Νευτώνεια ρευστά

Μη νευτώνεια, ονομάζονται τα πολύπλοκα δομικά ρευστά, στα οποία υπάρχει μη γραμμική εξάρτηση, ανάμεσα στην ιξώδη τάση και τον ρυθμό παραμόρφωσης. Η καμπύλη της ροής τους, δεν είναι ευθεία γραμμή και η κλίση της, δηλαδή το ιξώδες τους, το οποίο ονομάζεται φαινομενικό ιξώδες και συμβολίζεται με η_a , εξαρτάται από τη θερμοκρασία, την πίεση και από το ρυθμό παραμόρφωσης τους. Τα διαλύματα που περιέχουν μακρομόρια, είτε διαλυμένα, είτε σε κolloειδή μορφή, αιωρήματα, πηκτές ή γαλακτώματα, ανήκουν σε αυτή την κατηγορία. (9)

Τα μη νευτώνεια ρευστά, χωρίζονται σε δύο επιμέρους κατηγορίες: στα ανεξάρτητα από το χρόνο (Time-independent), το ιξώδες των οποίων, σε σταθερή θερμοκρασία, εξαρτάται μόνο από το ρυθμό διάτμησης και στα ρευστά, των οποίων η ροή είναι εξαρτώμενη από το χρόνο (Time-dependent) και το ιξώδες τους εξαρτάται από το ρυθμό και από τη διάρκεια της διάτμησης. (9)

2.2.2.1. *Ρευστά με ροή χρονικά ανεξάρτητη*

Στην κατηγορία των ανεξαρτητών από το χρόνο μη νευτώνειων ρευστών, ανήκουν τα ψευδοπλαστικά (Shear thinning) και τα διασταλτικά (Shear thickening) ρευστά.

Ψευδοπλαστικά ρευστά: Καλούνται τα μη νευτώνεια ρευστά, στα οποία το φαινόμενο ιξώδες, μειώνεται με την αύξηση του ρυθμού διάτμησης, δηλαδή γίνονται πιο λεπτόρευστα και αποτελούν τη μεγαλύτερη κατηγορία μη νευτώνειων ρευστών. Πολλά κολλοειδή συστήματα τροφίμων, εμφανίζουν ψευδοπλαστικότητα, που οφείλεται σε ένα "σπάσιμο" της δομής, κατά την εφαρμογή τάσης. (10)

Διασταλτικά ρευστά: Ονομάζονται τα μη νευτώνεια ρευστά, των οποίων το φαινόμενο ιξώδες, αυξάνεται με την αύξηση του ρυθμού διάτμησης, δηλαδή γίνονται πιο παχύρευστα. Η διασταλτικότητα, αποτελεί ένα σπάνιο φαινόμενο, που εμφανίζεται κυρίως σε πυκνά αιωρήματα, όπου η δομή γίνεται πιο συμπαγής, κατά την εφαρμογή δύναμης, λόγω μιας αρχικής μείωσης του όγκου. (11)

2.2.2.2. *Ρευστά με ροή χρονικά εξαρτώμενη*

Η κατηγορία των εξαρτημένων από το χρόνο μη νευτώνειων ρευστών, απαντάται σπάνια και περιλαμβάνει τα θιξοτροπικά και τα ρεοπηκτικά ρευστά.

Θιξοτροπικά ρευστά: Στα μη νευτώνεια ρευστά αυτά, παρατηρείται μείωση του ιξώδους με το χρόνο, για ένα συγκεκριμένο ρυθμό διάτμησης, με παράδειγμα τη συμπεριφορά που εμφανίζει το συμπυκνωμένο γάλα. (10)

Ρεόπηκτα ρευστά: Καλούνται τα μη νευτώνεια ρευστά, των οποίων το ιξώδες αυξάνεται με το πέρασμα του χρόνου, για ένα συγκεκριμένο ρυθμό διάτμησης. Τα συστατικά των ρεόπηκτων τροφίμων, τείνουν να συσσωματώνονται και να σχηματίζουν τρισδιάστατα πλέγματα (χωροπλέγματα), τα οποία προσδίδουν κάποιο βαθμό ακαμψίας στην υφή. Ρεοπηκτική συμπεριφορά παρατηρείται σε ζελατινοποιημένα διαλύματα αμύλου. (8)

2.3. *Ιξωδοελαστικότητα*

Τα υλικά, ανάλογα με τις ιδιότητές τους διακρίνονται σε στερεά, υγρά και αέρια. Είναι γνωστό, ότι στα ιδανικά στερεά (elastic solids), η τάση είναι ανάλογη της παραμόρφωσης και ανεξάρτητη του ρυθμού παραμόρφωσης ενώ, υφίστανται πεπερασμένη παραμόρφωση, υπό την επίδραση μίας δύναμης και επανέρχονται με τη λήξη της εφαρμογής της δύναμης αυτής, παρουσιάζοντας

συμπεριφορά που ονομάζεται ελαστική. Για τα ιδανικά υγρά (newtonian liquids), ισχύει ότι η τάση είναι ανάλογη του ρυθμού της παραμόρφωσης και ανεξάρτητη της παραμόρφωσης. Ένα μη ιδανικό υγρό, παρουσιάζει παραμόρφωση, η οποία συνεχίζεται, όσο εφαρμόζεται σε αυτό η δύναμη, χωρίς να επανέρχεται στην αρχική του κατάσταση, όταν η δύναμη σταματήσει να επιδρά, εμφανίζοντας μία συμπεριφορά που ονομάζεται ιξώδης. Τα περισσότερα υλικά, όπως τα διαλύματα και οι πηκτές βιοπολυμερών και τα προϊόντα τροφίμων στα οποία περιέχονται, παρουσιάζουν συμπεριφορές που συνδυάζουν στοιχεία και στερεού και υγρού χαρακτήρα, οι οποίες εξαρτώνται από τη φύση των εξωτερικών εφαρμοζόμενων δυνάμεων και από το χρονικό διάστημα, για το οποίο αυτές εφαρμόζονται, με τα υλικά αυτά που τις εμφανίζουν, να καλούνται «ιξωδοελαστικά». (12)

2.3.1. Μηχανική φασματοσκοπία

Η μελέτη των παραπάνω συστημάτων, πραγματοποιείται με την τεχνική της μηχανικής φασματοσκοπίας. Η δυναμική αυτή δοκιμή, αποτελεί μία ρεολογική τεχνική ταλάντωσης, η οποία οδηγεί στη μικρότερη δομική διατάραξη του εξεταζόμενου δείγματος, καθώς πραγματοποιείται σε χαμηλές τάσεις και μήκη κύματος και το δείγμα υπόκειται σε ημιτονοειδή διατμητική παραμόρφωση. Ειδικότερα, για τα ιδανικά στερεά, ισχύει ότι η εφαρμοζόμενη διατμητική παραμόρφωση και η παραγόμενη τάση από το δείγμα, λόγω της αντίστασης στην παραμόρφωση, βρίσκονται σε φάση ($\delta=0^\circ$, όπου δ η διαφορά φάσης μεταξύ τάσης και παραμόρφωσης), για τα ιδανικά υγρά ότι βρίσκονται σε διαφορά φάσης $\delta=90^\circ$ ($\pi/2$) και για τα ιξωδοελαστικά υλικά, ότι η διαφορά φάσης κυμαίνεται μεταξύ 0 και $\pi/2$ ($0<\delta<90^\circ$). Η ανάλυση της προκύπτουσας τάσης σε εν-φάση και με διαφορά φάσης συστατικά, δίνει τη δυνατότητα ποσοτικού υπολογισμού των ιξωδοελαστικών ιδιοτήτων του δείγματος, μέσω της μέτρησης διαφόρων παραμέτρων. Έτσι, υπολογίζεται ο συντελεστής αποθήκευσης ή ελαστικότητας G' , ο οποίος προκύπτει από τον λόγο της εν-φάση τάσης προς την εφαρμοζόμενη παραμόρφωση και είναι το μέτρο παραμόρφωσης που παραμένει, κατά τη διάρκεια της διάτμησης. Επιπλέον, εκφράζει την ποσότητα της ενέργειας, που αποθηκεύεται στο υλικό ή ανακτάται ανά κύκλο παραμόρφωσης και αντιπροσωπεύει την ελαστική συμπεριφορά σε ένα δείγμα. Αντίθετα ο συντελεστής απώλειας ή ιξώδους G'' , προκύπτει από τον λόγο της με διαφορά-φάσης τάσης προς την εφαρμοζόμενη παραμόρφωση και είναι το μέτρο της παραμόρφωσης, όσο διαρκεί η άσκηση δύναμης, ενώ με την απομάκρυνση της, χάνεται. Ο G'' , επίσης, αποτελεί μέτρο της ενέργειας, που διαχέεται ανά

κύκλο παραμόρφωσης και αντιπροσωπεύει την ανελαστική συμπεριφορά (ιξώδη) ενός δείγματος. (3,7)

Για την ολική αντίδραση του δείγματος χρησιμοποιείται ο όρος σύνθετης ιξωδοελαστικότητας $G^*=(G'^2+G''^2)^{1/2}$, ενώ ακόμη, χρησιμοποιείται ευρέως η δυναμική ιξωδοελαστική ιδιότητα της επαπτόμενης απώλειας ($\tan\delta=G''/G'$), η οποία υποδηλώνει την αναλογία ελαστικού-ανελαστικού τμήματος, στη συμπεριφορά κατά την παραμόρφωση. Η παράμετρος αυτή, μπορεί να δώσει χρήσιμες πληροφορίες, όταν το δείγμα υπόκειται σε μία αλλαγή, όπως η πήξη, με το $\tan\delta=0$ ($\delta=0$), να υποδηλώνει ελαστική συμπεριφορά, το $\tan\delta=\infty$ ($\delta=90^\circ$), να αντιστοιχεί σε ανελαστική συμπεριφορά, ενώ όταν η γωνία φάσης είναι $0^\circ < 90^\circ$, το υλικό ονομάζεται ιξωδοελαστικό. Τέλος, θεωρώντας ότι για την ταλάντωση, η συχνότητα ω (rad s^{-1}) αντιστοιχεί στην κλίση της διατμητικής ταχύτητας, ορίζεται ο όρος του σύνθετου ιξώδους $\eta^*=G^*/\omega$. (3,7)

2.3.2. Δοκιμές μελέτης ιξωδοελαστικών ιδιοτήτων

Η μελέτη των ιξωδοελαστικών ιδιοτήτων του δείγματος, πραγματοποιείται με την τοποθέτηση του σε ρεόμετρο, όπου υπόκειται σε μία από τις ακόλουθες δυναμικές δοκιμές είτε σε συνδυασμό αυτών:

-Σάρωση θερμοκρασιών (Temperature Sweep): Κατά τη διάρκεια της, το δείγμα υφίσταται ελάττωση ή αύξηση της θερμοκρασίας, σε σταθερή συχνότητα και παραμόρφωση και προκύπτουν οι γραφικές παραστάσεις G' , G'' , $\tan\delta$ σε συνάρτηση με τη θερμοκρασία.

-Σάρωση χρόνου (Time Sweep): Στη δοκιμή αυτή, το δείγμα αφήνεται για καθορισμένο χρόνο, σε μία δεδομένη θερμοκρασία, υπό σταθερή συχνότητα και παραμόρφωση και μετράται ανά τακτά χρονικά διαστήματα.

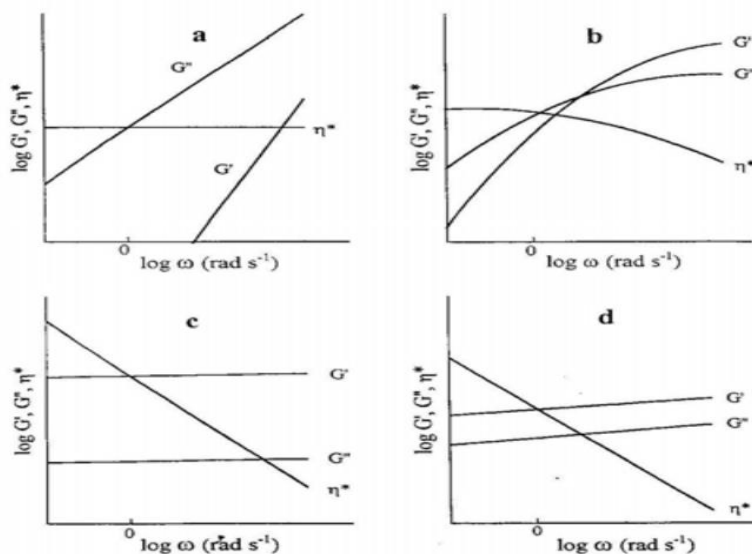
-Σάρωση παραμόρφωσης (Strain Sweep): Το δείγμα, σε αυτή τη διαδικασία, υπόκειται σε συνεχώς αυξανόμενη παραμόρφωση και προσδιορίζονται τα G' και το G'' που προκύπτουν.

-Σάρωση συχνότητας (Frequency Sweep): Στη σάρωση αυτή, προσδιορίζονται τα G' , G'' και η^* , για μία περιοχή συχνοτήτων ενώ, η γραφική τους παράσταση συναρτήσει της συχνότητας, καλείται μηχανικό φάσμα και χρησιμοποιείται ευρέως για το χαρακτηρισμό συστημάτων βιοπολυμερών. (3)

2.3.3. Τύποι συμπεριφοράς συστημάτων βιοπολυμερών στο μηχανικό φάσμα

Στο μηχανικό φάσμα, εμφανίζονται τέσσερις βασικοί τύποι συμπεριφοράς των συστημάτων βιοπολυμερών. Αναλυτικότερα, σε αραιά διαλύματα, παρατηρείται μηχανικό φάσμα

χαρακτηριστικό υγρού, καθώς θεωρείται ότι τα ελάχιστα παρόντα μόρια τους, δρουν ανεξάρτητα μεταξύ τους και επηρεάζονται μόνο από τη διατάραξη της ροής του διαλύτη. Έτσι, το η^* παραμένει σταθερό συναρτήσει της συχνότητας, το G'' αυξάνεται με κλίση 1 ενώ, σε υψηλότερες συχνότητες, αυξάνεται το G' , καθώς εμφανίζεται και ελαστική παραμόρφωση. Τα πυκνά διαλύματα, σε χαμηλές συχνότητες, εμφανίζουν παρόμοια φάσμα με αυτό του αραιού διαλύματος ενώ, σε υψηλές συχνότητες, δηλαδή σε μικρούς χρόνους μέτρησης, επικρατεί ο ελαστικός χαρακτήρας, καθώς οι αλυσίδες των μορίων δεν προλαβαίνουν να απομακρυνθούν μεταξύ τους. Έτσι, το φάσμα εμφανίζει μορφή παρόμοια με αυτή μόνιμης πηκτής, με το G' να είναι μεγαλύτερο του G'' και το η^* να ελαττώνεται απότομα με τη συχνότητα ω . Παράλληλα, στην περίπτωση των πηκτών, τα G' και G'' είναι ανεξάρτητα από τη συχνότητα, το G' είναι πολύ μεγαλύτερο του G'' και το η^* ελαττώνεται συνεχώς με κλίση -1. Τέλος, οι ασθενείς πηκτές, παρουσιάζουν διαλύματα που ρέουν ανεμπόδιστα κάτω από ικανή τάση ενώ, το μηχανικό τους φάσμα, εμφανίζει ομοιότητα με αυτό της πηκτής, με το η^* να ελαττώνεται και τα G' και G'' να εμφανίζουν μικρή διαφορά στην τιμή και εξάρτηση από τη συχνότητα. (3)



Εικόνα 1: Είδη μηχανικού φάσματος: α) αραιό διάλυμα β) πυκνό διάλυμα γ) πηκτή δ) ασθενής πηκτή (3)

3. ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ

Οι πρωτεΐνες των ζωντανών οργανισμών, ανεξάρτητα από την προέλευσή τους (ζωικές, φυτικές ή μικροβιακές), περιέχουν 20 α-αμινοξέα, τα οποία είναι οργανικές ενώσεις, που αποτελούνται από μία αμινομάδα (-NH₂), μία καρβοξυλική ομάδα (-COOH) και μία πλευρική αλυσίδα (-R), η οποία διακρίνει ένα αμινοξύ από κάποιο άλλο και τους δίνει τη δυνατότητα να συμπεριφέρονται ως ασθενή οξέα, ασθενείς βάσεις, ως υδρόφιλα (εάν είναι πολικά) και ως υδρόφοβα (εάν είναι άπολα). (13)

3.1. Δομή

Η αντίδραση της καρβοξυλικής ομάδας ενός αμινοξέος με την α-αμινομάδα ενός άλλου αμινοξέος, οδηγεί στο σχηματισμό ενός διπεπτιδίου και η σύνδεση πολλών αμινοξέων δημιουργεί ένα πολυπεπίδιο. Όταν πολλές πολυπεπτιδικές αλυσίδες δημιουργούν μία μοναδική τρισδιάστατη δομή, αυτή είναι γνωστή ως μονάδα πρωτεΐνης, στην οποία παρατηρούνται οι ακόλουθες δομές:

Πρωτοταγής Δομή: Αυτή αναφέρεται στη γραμμική αλληλουχία των αμινοξέων και σε εκτεταμένη πολυπεπτιδική αλυσίδα, όπου ένας αριθμός γειτονικών αμινοξέων συνδέεται ομοιοπολικά, σχηματίζοντας πεπτιδικούς δεσμούς μεταξύ της καρβοξυλομάδας του ενός αμινοξέος με την αμινομάδα ενός άλλου αμινοξέος. Η πρωτοταγής δομή, καθορίζεται από το είδος, το ποσό και ιδιαίτερα τη σειρά των αμινοξέων στις αλυσίδες που αποτελούν την πρωτεΐνη ενώ, καθορίζει σε μεγάλο βαθμό τις ιδιότητες της πρωτεΐνης και επηρεάζει τη δευτεροταγή και τριτοταγή δομή της.

Δευτεροταγής Δομή: Η δομή αυτή, αναφέρεται στον τρόπο διάταξης στο χώρο μικρών τμημάτων της πολυπεπτιδικής αλυσίδας και η σταθεροποίηση της οφείλεται σε δεσμούς υδρογόνου. Αναλυτικότερα, οι σταθερές δευτεροταγείς δομές, στις οποίες οργανώνονται τα αμινοξέα στην πολυπεπτιδική αλυσίδα, είναι εκείνες της α-έλικας, του β-πτυχωτού φύλλου και της τυχαίας σπείρας.

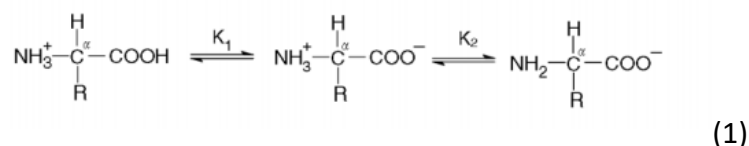
Τριτοταγής Δομή: Η δομή αυτή, περιλαμβάνει την αναδίπλωση των πολυπεπτιδίων σε μία τρισδιάστατη δομή και τη λήψη ενός τελικού σχήματος στο χώρο, ώστε οι υδρόφοβες ομάδες να κρυφτούν στο εσωτερικό του μορίου, αφήνοντας τις υδρόφιλες στο εξωτερικό. Η σταθεροποίησή της, πραγματοποιείται με αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πλευρικών ομάδων -R των αμινοξέων, οι

οποίες είναι οι δισουλφιδικοί δεσμοί (ή γέφυρες θείου), οι ηλεκτροστατικές δυνάμεις (ιοντικοί δεσμοί), οι δεσμοί υδρογόνου και οι υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις.

Τεταρτοταγής Δομή: Αυτή αναφέρεται στη συνένωση και διευθέτηση στο χώρο μίας συστοιχίας αρκετών πρωτεϊνικών μορίων, που ονομάζονται συνήθως υπομονάδες πρωτεϊνών. Η τεταρτοταγής δομή σταθεροποιείται με δεσμούς υδρογόνου και υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις ενώ, ορισμένες πρωτεΐνες δεν θα καταστούν λειτουργικές παρά μόνο εφόσον την αποκτήσουν. (14)

3.2. Ισοηλεκτρικό σημείο (pI)

Τα αμινοξέα, όπως αναφέρθηκε, περιέχουν μία όξινη (καρβοξυλομάδα) και μία βασική (αμινομάδα) λειτουργική ομάδα, οι οποίες σε pH=1 είναι πλήρως πρωτονιωμένες και το κάθε πρωτόνιο έχει μία τιμή pKa. Επιπλέον, σε φυσιολογικό pH (~7,4), η αμινομάδα τους είναι πρωτονιωμένη και η καρβοξυλομάδα αποπρωτονιωμένη, με αποτέλεσμα αυτά να εμφανίζονται ως δίπολα, που διαθέτουν ιδιότητες εσωτερικού άλατος και είναι διαλυτά σε υδατικά διαλύματα. Τα αμινοξέα, καλούνται επίσης αμφοτερικά ιόντα, καθώς αντιδρούν τόσο με οξέα όσο και με βάσεις και ανάλογα με το pH του διαλύματος στο οποίο περιέχονται, μπορούν να βρεθούν σε μία από τις παρακάτω ιοντισμένες καταστάσεις:



Έτσι, όταν το αμφοτερικό ιόν τιτλοδοτείται με ένα οξύ, τα καρβοξυλικά ανιόντα (COO⁻) πρωτονιώνονται, δρουν σαν βάσεις και το pH στο οποίο [-COO⁻] = [-COOH], είναι γνωστό ως pKa₁, ενώ, όταν τιτλοδοτείται με μία βάση, το κατιόν αμμωνίου NH₃⁺ αποπρωτονιώνεται, δρα σαν οξύ και το pH στο οποίο [-NH₃⁺] = [-NH₂], καλείται pKa₂.

Σε κάθε αμινοξύ, παρατηρείται μία τιμή pH, κατά την οποία η συγκέντρωση του αμφοτερικού ιόντος είναι η μέγιστη. Η τιμή αυτή καλείται ισοηλεκτρικό σημείο (Isoelectric point, pI) ενός αμινοξέος και ορίζεται ως το pH του διαλύματος, στο οποίο το συνολικό φορτίο του αμινοξέος είναι μηδέν, και διαθέτει ίσο αριθμό θετικά και αρνητικά φορτισμένων ιόντων, δηλαδή ισχύει η σχέση:

$$pI = \frac{pKa_1 + pKa_2}{2} \quad (2)$$

Το pI του κάθε αμινοξέος, καθορίζεται από τη δομή του, με τα 15 από τα 20 αμινοξέα που είναι ουδέτερα, να έχουν pI κοντά στην τιμή του ουδέτερου pH (5,0-6,5), τα δύο αμινοξέα με την επιπλέον καρβοξυλομάδα, να έχουν pI σε χαμηλές τιμές pH και τα 3 αμινοξέα με βασικές πλευρικές αλυσίδες, να έχουν pI σε υψηλότερες τιμές pH .

Παράλληλα, τα πρωτεϊνικά μόρια, λόγω των περιεχόμενων αμινοξέων τους, είναι αμφολύτες, δηλαδή έχουν την ικανότητα να συμπεριφέρονται ως οξέα ή βάσεις ενώ, οι ομάδες τους, που μπορούν να ιοντιστούν, είναι η N-τερματική αμινομάδα, η C-τερματική καρβοξυλομάδα και οι πολικές πλευρικές. Έτσι, οι pK_a των πρωτεϊνών, παρουσιάζουν διαφορές με αυτές των ελεύθερων αμινοξέων, λόγω της μεταβολής του διηλεκτρικού περιβάλλοντος των ομάδων αυτών, στη δομή των πρωτεϊνών.

Κάθε πρωτεΐνη, διαθέτει μία χαρακτηριστική τιμή pI , η οποία αποτελεί το pH ενός διαλύματος, στο οποίο η πρωτεΐνη εμφανίζεται ως δίπολο, με συνολικό φορτίο μηδέν. Όταν το pH του διαλύματος απέχει από το pI , οι πρωτεΐνες απωθούνται και παραμένουν εν διαλύσει, λόγω όμοιων φορτίων. Ωστόσο, σε pH κοντά στο pI , η διαφορά στο φορτίο των πρωτεϊνικών μορίων ελαττώνεται, τα αρνητικά και θετικά φορτία εξισορροπούνται, μειώνοντας τις απωστικές ηλεκτροστατικές δυνάμεις, έως ότου οι ελκτικές δυνάμεις κυριαρχήσουν, προκαλώντας συσσωμάτωση και δημιουργία ιζήματος. Οι περισσότερες πρωτεΐνες έχουν pI , που βρίσκεται στην περιοχή pH 4 έως 7 και αυτό διαφέρει από πρωτεΐνη σε πρωτεΐνη, καθώς καθορίζεται από το είδος των αμινοξέων, που την αποτελούν και από τη θέση τους στο πρωτεϊνικό μόριο (στην επιφάνεια του μορίου ή στο εσωτερικό). Επιπλέον, στο pI η κινητικότητα του μορίου είναι μηδενική, λόγω μηδενικού φορτίου, και η διαλυτότητα του είναι μικρή, γεγονός που καθιστά την ηλεκτροφόρηση σε διαφορετικό pH , μία αποτελεσματική διαδικασία για το διαχωρισμό και την ταυτοποίηση των πρωτεϊνών. (15)

3.3. Μετουσίωση πρωτεϊνών

Ως μετουσίωση, καλείται η διαδικασία μεταβολής της μοριακής δομής της πρωτεΐνης, χωρίς να διασπαστεί κανένας από τους πεπτιδικούς δεσμούς της, γεγονός που σημαίνει, ότι επέρχονται μεταβολές στη δευτεροταγή, τριτοταγή και τεταρτοταγή δομή των πρωτεϊνών, με την πρωτοταγή δομή να παραμένει αναλλοίωτη. Οι δομικές μεταβολές των πρωτεϊνών περιλαμβάνουν εκδίπλωση ή εκτύλιξη ή τουλάχιστον μεταβολή της πριονωτής ή ελικοειδούς αλυσίδας της πρωτεΐνης. Η διαδικασία αυτή, προκαλείται από ποικιλία παραγόντων, οι οποίοι διακρίνονται σε φυσικούς και χημικούς. Αναλυτικότερα, στους φυσικούς παράγοντες ανήκει η θερμοκρασία (θέρμανση ή ψύξη),

η πίεση, η ακτινοβολία και η μηχανική καταπόνηση ενώ, χημικοί παράγοντες είναι το pH (οξέα, βάσεις), οι οργανικοί διαλύτες, όπως η αιθανόλη και η ακετόνη, ορισμένες χημικές ενώσεις, που διασπούν δεσμούς υδρογόνου, όπως τα άλατα της ουρίας και τα απορρυπαντικά και ορισμένα ιόντα όπως χλωρίου, βρωμίου και ιωδίου. Αξίζει να σημειωθεί ότι η μετουσίωση μπορεί να είναι αντιστρεπτή ολικά, μερικά ή καθόλου, ανάλογα με την ένταση και τη διάρκεια του παράγοντα, που την προκάλεσε. Στις περισσότερες περιπτώσεις, δεν είναι αναστρέψιμη όμως, παρατηρούνται κάποιες εξαιρέσεις, όπως η ανάκτηση ορισμένων τύπων ενζυμικής δραστηριότητας, μετά από θέρμανση και η επαναφορά της φυσικής δομής της πρωτεΐνης, μετά από ανάκτηση του pH στη σταθερή περιοχή (ισοηλεκτρικό σημείο πρωτεΐνης).

Οι κυριότερες μεταβολές στις φυσικοχημικές και λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνών, που προκαλούνται από τη μετουσίωση είναι: 1) η μειωμένη διαλυτότητα, λόγω της αποκάλυψης υδρόφοβων ομάδων, 2) η μεταβολή στην ικανότητα να σχηματίζει δεσμούς με το νερό, 3) η αυξημένη χημική δραστηριότητα, 4) η ελάττωση ή ολική απώλεια βιολογικής δράσης (ενζυμικής ή ανοσολογικής), 5) η απώλεια της ικανότητας κρυστάλλωσης, 6) οι αλλαγές στα φάσματα απορρόφησης και 7) η αύξηση του ιξώδους. (16)

3.4. Λειτουργικές ιδιότητες

Οι πρωτεΐνες των τροφίμων, παρουσιάζουν ποικιλία λειτουργιών ανάλογα με τη χημική σύνθεση, τη φυσική δομή και τον τρόπο με τον οποίο αυτές αλληλεπιδρούν με συστατικά άλλων τροφίμων και το περιβάλλον της διεργασίας. Το σύνολο των ιδιοτήτων των συστατικών τροφίμων, εκτός των θρεπτικών, που επηρεάζει τη χρησιμοποίησή τους στα τρόφιμα, ορίζεται ως λειτουργικότητα. Αυτές οι φυσικοχημικές ιδιότητες των πρωτεϊνών, καθορίζουν τη συμπεριφορά τους στα συστήματα των τροφίμων κατά την παραγωγή, αποθήκευση, προετοιμασία και κατανάλωση και συνεπώς, επηρεάζουν την ποιότητα και την αποδοχή του τροφίμου από τον καταναλωτή. Για το λόγο αυτό, συχνά παρατηρείται ενσωμάτωση πρωτεϊνών σε τρόφιμα, με σκοπό τη βελτίωση της γεύσης, της υφής και άλλων οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των επεξεργασμένων τροφίμων. (14)

Σε γενικές γραμμές, οι λειτουργικές τους ιδιότητες ταξινομούνται σε τρεις κύριες ομάδες: (i) ιδιότητες που σχετίζονται με την ενυδάτωση (όπως διαλυτότητα και διαβρεξιμότητα), (ii) ιδιότητες που σχετίζονται με τα ρεολογικά χαρακτηριστικά και τη θερμική σταθερότητα (όπως ιξώδες, ελαστικότητα, συσσωμάτωση και πηκτωματοποίηση) και (iii) ιδιότητες που σχετίζονται με τα

επιφανειοδραστικά χαρακτηριστικά (όπως γαλακτωματοποίηση και αφρισμός). Έτσι, οι κυριότερες λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνών είναι οι εξής:

-Ενυδάτωση πρωτεϊνών/Ικανότητα Διόγκωσης:

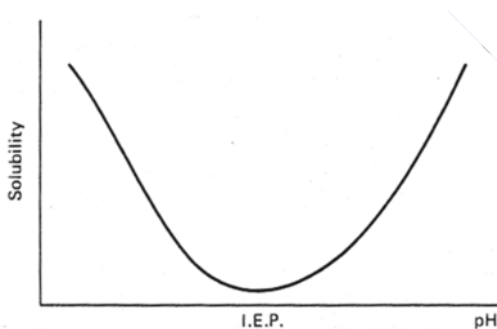
Η αλληλεπίδραση των πρωτεϊνών με το νερό και η ικανότητα τους να το δεσμεύουν και να το ακινητοποιούν, αποτελούν ορισμένα από τα βασικότερα κριτήρια καθορισμού της χρησιμότητας και της λειτουργικότητάς τους, στα περισσότερα συστήματα τροφίμων. Η ικανότητα διόγκωσης ή συγκράτησης νερού, είναι ιδιαίτερα σημαντική για τη βιομηχανία τροφίμων, καθώς το περισσότερο νερό και μεγαλύτερο βάρος του τροφίμου, αποφέρει μεγαλύτερο κέρδος και βελτιώνεται η ποιότητα του προϊόντος. Αναλυτικότερα, τα μόρια των πρωτεϊνών, έχουν την ικανότητα να ενώνονται με μόρια νερού, σχηματίζοντας υδρίδια, η οποία οφείλεται στα άτομα αζώτου και οξυγόνου των πεπτιδικών δεσμών καθώς και άλλων ομάδων, που διαθέτουν ασύζευκτα ηλεκτρονικά ζεύγη και μπορούν επομένως, να σχηματίζουν δεσμούς υδρογόνου. Η ενυδάτωση των πρωτεϊνών, ευνοείται σε pH διαφορετικό του ισοηλεκτρικού τους σημείου ενώ, στο pI καταβυθίζονται, καθώς δεν υπάρχει φορτίο. Παράλληλα, η διαδικασία αυτή, καθορίζεται από παράγοντες όπως το είδος της πρωτεΐνης, με τα υδρόφιλα μόρια να είναι ικανότερα να ενυδατωθούν, τη συγκέντρωση της, το pH του διαλύματος, την παρουσία άλλων ουσιών νερού, όπως ηλεκτρολύτες, σάκχαρα και αλκοόλες, που ανταγωνίζονται τις πρωτεΐνες ως προς την έλξη των μορίων και από τη θερμοκρασία, όταν κατά τη θέρμανση τους δημιουργείται ένα δίκτυο πηκτής. Τέλος, η ενυδάτωση των πρωτεϊνών, καθορίζει σημαντικά τη διόγκωση και την πηκτωματοποίηση τους, με τη διόγκωση να απαλείφει τη σκληρότητα και το εύθραυστό τους, καθιστώντας τις μαλακές και εύκαμπτες. (17)

-Ικανότητα συγκράτησης νερού (WHC) και Ικανότητα συγκράτησης ελαίου (OHC)

Η ικανότητα συγκράτησης νερού (WHC) και ελαίου (OHC) των πρωτεϊνών, σχετίζονται με την υφή, την αίσθηση στο στόμα και τη διατήρηση της γεύσης των προϊόντων διατροφής. Αναλυτικότερα, η πρωτεΐνη με υψηλή ικανότητα συγκράτησης νερού, είναι ευεργετική για τη μείωση της απώλειας υγρασίας σε συσκευασμένα είδη αρτοποιίας, τη διατήρηση της φρεσκάδας και της υγρής αίσθησης στο στόμα των ψημένων τροφίμων ενώ, η υψηλή ικανότητα συγκράτησης ελαίου, ευνοεί τη βελτίωση της αίσθησης στο στόμα και τη διατήρηση της γεύσης ορισμένων τροφίμων.

-Διαλυτότητα πρωτεϊνών:

Η διαλυτότητα, αποτελεί μία από τις σημαντικότερες λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνών, καθώς επηρεάζει τόσο τις οργανοληπτικές ιδιότητες των τροφίμων, όπως η υφή και το χρώμα, όσο και φυσικοχημικές και λειτουργικές ιδιότητες τους, όπως η γαλακτωματοποίηση, ο αφρισμός και η συγκράτηση νερού. Εκφράζει το ποσοστό της πρωτεΐνης σε υδατικό διάλυμα που δεν καθιζάνει ή κατακρημνίζεται, υπό την επίδραση μέτριων φυγόκεντρων δυνάμεων και οφείλεται σε δεσμούς υδρογόνου μεταξύ πρωτεΐνης-νερού, σε pH που απέχει από το pI. Γενικά, οι πρωτεΐνες είναι διαλυτές μόνο σε έντονα πολικούς διαλύτες και η διαλυτότητά τους επηρεάζεται και μεταβάλλεται από τον αριθμό των πολικών και μη πολικών ομάδων και τη διεύθυνση τους κατά μήκος του μορίου. Η ιδιότητα αυτή, εξαρτάται από τη σύνθεση των αμινοξέων, το μοριακό βάρος, τα χαρακτηριστικά επιφάνειας των συστατικών αμινοξέων και από περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως το pH, η θερμοκρασία και η ιοντική ισχύς. Η γραφική παράσταση της διαλυτότητας μίας πρωτεΐνης συναρτήσει του pH (Εικόνα 2), έχει τη μορφή U ή V και το ελάχιστο σημείο της αντιστοιχεί στο pI. Κατά τη μετουσίωση των πρωτεϊνών, παρατηρείται αυξημένη ή μειωμένη διαλυτότητα που εξαρτάται από το pH, καθώς σε πολύ υψηλές ή χαμηλές τιμές του, η μετουσιωμένη πρωτεΐνη παραμένει διαλυτή, λόγω απωστικών δυνάμεων και από τη θερμοκρασία, όπου πολύ υψηλές ή χαμηλές τιμές της, οδηγούν σε μείωση της διαλυτότητας, λόγω της έκθεσης υδρόφοβων ομάδων της πρωτεΐνης και της επακόλουθης καταβύθισής της. (17) Οι πρωτεΐνες υψηλής διαλυτότητας, χρησιμοποιούνται ευρέως στην παραγωγή προϊόντων διατροφής, που απαιτούν άμεση διάλυση, χωρίς παρουσία υπολειμμάτων, όπως σε ροφήματα, βρεφικά γάλατα σε σκόνη και υποκατάστατα γάλακτος.



Εικόνα 2: Διάγραμμα διαλυτότητας πρωτεΐνης συναρτήσει pH (18)

-Ικανότητα σχηματισμού πηκτής:

Η ικανότητα σχηματισμού πηκτής καθορίζει σημαντικά την υφή, την ποιότητα και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά πολλών τροφίμων. Οι πηκτές, οι οποίες αναλύονται στο Κεφάλαιο 6, αποτελούν κολλοειδή συστήματα, στα οποία μεγάλοι όγκοι υγρών, όπως νερού, ακινητοποιούνται από μικρές ποσότητες στερεών ουσιών και σταθεροποιούνται από μια σειρά δεσμών υδρογόνου, ιοντικών και υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων, δυνάμεων Van der Waals και ομοιοπολικής δισουλφιδικής σύνδεσης μεταξύ πρωτεΐνης-πρωτεΐνης και πρωτεΐνης-νερού. Η πήξη των πρωτεϊνών, είναι μία διαδικασία δύο σταδίων, όπου αρχικά επέρχεται αλλαγή της διαμόρφωσης, συνήθως με θέρμανση ή μερική μετουσίωση των πρωτεϊνικών μορίων, από την επίδραση της θερμότητας, του pH, της πίεσης, της μηχανικής καταπόνησης ή των διαλυτών και ακολουθεί η σταδιακή αλληλεπίδραση ή συσσωμάτωση των μετουσιωμένων αλυσίδων. (19)

-Γαλακτωματοποιητική Ικανότητα :

Οι πρωτεΐνες, λόγω της αμφολυτικής τους φύσης, σταθεροποιούν γαλακτώματα τύπου έλαιο σε νερό (o/w), τα οποία αναλύονται στο Κεφάλαιο 7, και οι γαλακτωματοποιητικές τους ιδιότητες, επηρεάζουν σημαντικά τις εφαρμογές τους ως συστατικά τροφίμων. Από τους δείκτες ποιότητας, που χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση των ιδιοτήτων αυτών, σημαντικός είναι ο δείκτης της ικανότητας γαλακτωματοποίησης (EA), ο οποίος εκτιμάται με μέτρηση του μεγέθους σταγονιδίων ή της κατανομής του μεγέθους σταγονιδίων του γαλακτώματος, μετά την ομογενοποίηση ή κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης και εξαρτάται από το ποσοστό στο οποίο διαχέεται στην επιφάνεια και από την ικανότητα παραμόρφωσης της διαμόρφωσης, υπό επίδραση διεπιφανειακής τάσης. Μία πρωτεΐνη με ιδανικές ιδιότητες σχηματισμού γαλακτώματος, σε ένα γαλάκτωμα ελαίου σε νερό, πρέπει να παρουσιάζει σχετικά χαμηλό μοριακό βάρος, ισορροπημένη σύνθεση αμινοξέων, από άποψη φορτισμένων, πολικών και μη πολικών μορίων, καλή υδατοδιαλυτότητα, αρκετά ανεπτυγμένη υδροφοβικότητα και μία σχετικά σταθερή διαμόρφωση, με παράδειγμα το μόριο της β-καζεΐνης. (20)

-Αφριστική Ικανότητα:

Οι αφροί, είναι συστήματα διασποράς, αποτελούμενα από φυσαλίδες αερίου, διαχωρισμένες μεταξύ τους με υγρό, οι οποίες παράγονται με ποικίλους τρόπους όπως ανάδευση, ανατάραξη ή διαβίβαση αερίου σε ένα υγρό. Οι πρωτεΐνες, αποτελούν σημαντικά αφριστικά μέσα, καθώς μειώνουν την επιφανειακή τάση και σταθεροποιούν τον αφρό, με το σχηματισμό εύκαμπτων, συνεκτικών υμενίων, γύρω από τις φυσαλίδες του αερίου. Κατά την πρόσκρουση τους,

προσροφώνται στη διεπιφάνεια, μέσω των υδρόφοβων περιοχών και ακολουθεί μερικό ξεδίπλωμα του μορίου, δηλαδή ένα είδος επιφανειακής μετουσίωσης. Ιδανικά χαρακτηριστικά των πρωτεϊνών για το σχηματισμό και τη σταθεροποίηση αφρού, αποτελούν το χαμηλό μοριακό βάρος, η υψηλή επιφανειακή υδροφοβικότητα, η καλή διαλυτότητα και το μικρό ηλεκτρικό φορτίο, στο pH των τροφίμων ενώ, οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενοι δείκτες, για την περιγραφή των ιδιοτήτων αφρισμού τους, είναι η ικανότητα αφρισμού (Foam Capacity, FC) και η σταθερότητα αφρού (Foam Stability, FS). Χαρακτηριστικά παραδείγματα αφριστικών πρωτεϊνών, είναι οι πρωτεΐνες του λευκώματος του αυγού, η ζελατίνη, τα μικκύλια της καζεΐνης και οι πρωτεΐνες σόγιας. (14)

-Ικανότητα δέσμευσης αρώματος

Η ικανότητα δέσμευσης αρώματος των πρωτεϊνών, μπορεί να επηρεαστεί από ποικίλους παράγοντες, όπως η θερμοκρασία, το pH, η συγκέντρωση άλατος, το επίπεδο πρωτεόλυσης και η πίεση. Πιο αναλυτικά, η προσθήκη άλατος, τροποποιεί τις ιονικές αλληλεπιδράσεις στο μέσο, οι οποίες με τη σειρά τους τροποποιούν τις ιδιότητες δέσμευσης αρώματος των πρωτεϊνών ενώ, το pH επιδρά σημαντικά στις ιδιότητες αυτές, με παράδειγμα την αυξημένη δέσμευση αρώματος, που παρατηρείται στις αλκαλικές τιμές του. Παράλληλα, η ικανότητα αυτή, επηρεάζεται σημαντικά, από το επίπεδο πρωτεόλυσης, καθώς η θραύση δεσμών δισουλφιδίου, αυξάνει τη δέσμευση αρώματος, ενώ η εκτεταμένη πρωτεόλυση, η οποία διακόπτει και μειώνει τον αριθμό των υδρόφοβων περιοχών, τη μειώνει.

3.5. Πρωτεΐνη μπιζελιού

Οι πρωτεΐνες που χρησιμοποιούνται ευρέως από τη βιομηχανία τροφίμων, προέρχονται κυρίως από γάλα, σόγια, αυγό, λόγω της εμπορικής τους διαθεσιμότητας, της υψηλής θρεπτικής αξίας και των εξαιρετικών λειτουργικών ιδιοτήτων τους, με κύριο μειονέκτημα, το γεγονός ότι σχεδόν όλες έχουν αναγνωριστεί ως κοινά τροφικά αλλεργιογόνα. Για το λόγο αυτό, παρατηρείται αυξανόμενο ενδιαφέρον, από τη βιομηχανία τροφίμων και τους καταναλωτές, για την εύρεση φιλικών προς τον καταναλωτή συστατικών φυτικών πρωτεϊνών, προκειμένου να αντικαταστήσουν αυτές που προέρχονται από αλλεργιογόνες ή/και ζωικές πηγές. Την τελευταία δεκαετία, οι πρωτεΐνες από τα όσπρια, έχουν αναπτυχθεί εκτενώς και χρησιμοποιούνται στην ανθρώπινη διατροφή, με χαρακτηριστικό παράδειγμα το κίτρινο μπιζέλι, ένα από τα πιο ευρέως καλλιεργημένα και

καταναλώσιμα όσπρια στον κόσμο, το οποίο χρησιμοποιείται ως σημαντική πηγή εμπορικών πρωτεϊνών. (21)

3.6. Κύρια συστατικά πρωτεΐνης μπιζελιού

Τα μπιζέλια, περιέχουν πρωτεΐνη σε ποσοστό 20-30%, με το 65-80% της πρωτεΐνης αυτής, να αποτελείται από σφαιρίνες και το 10-20% από λευκωματίνες. Οι λευκωματίνες, είναι υδατοδιαλυτές και θεωρούνται μεταβολικές και ενζυματικές πρωτεΐνες, ενώ οι σφαιρίνες, είναι διαλυτές σε άλατα και δρουν ως πρωτεΐνες αποθήκευσης του σπόρου. Οι σφαιρίνες, αποτελούνται από δύο κύρια κλάσματα, τη λεγκουμίνη (με ρΙ 5-6) και τη βισιλίνη (με ρΙ 4-6), τα οποία ανήκουν στις κατηγορίες πρωτεΐνης αποθήκευσης σπόρων 11S και 7S, αντίστοιχα. Η αναλογία μεταξύ των σφαιρινών με τις λευκωματίνες και/ή της λεγκουμίνης με τη βισιλίνη, παρουσιάζει ποικιλία ανάλογα με τα είδη και τις μεθόδους παραγωγής του μπιζελιού και οι διαφορές στην αναλογία και τη δομή, μπορούν να οδηγήσουν σε διαφορές λειτουργικότητας, με παράδειγμα, τις καλύτερες ιδιότητες γαλακτωματοποίησης, που οφείλονται σε μια υψηλότερη περιεκτικότητα σε σφαιρίνες. Επιπλέον, το βασικό προφίλ αμινοξέων της πρωτεΐνης του μπιζελιού, είναι συμπληρωματικό ως προς αυτό των πρωτεϊνών δημητριακών, καθώς το μπιζέλι, όπως και τα άλλα όσπρια, έχει ανεπάρκεια σε μεθειονίνη και κυστεΐνη, σε σχέση με τους κόκκους δημητριακών, αλλά είναι σχετικά πλούσιο σε λυσίνη (~6%). Τέλος, τα προϊόντα απομόνωσης ή συμπυκνώματα πρωτεΐνης μπιζελιού, εκτός από πρωτεΐνη, περιέχουν συνήθως 3-10% υδατάνθρακες, 0,5-3,5% λιπίδια και 4-9% υγρασία. (22)

3.6.1. Οφέλη για τη υγεία

Η πρωτεΐνη μπιζελιού, αναγνωρίζεται γενικά ως μη τροφικό αλλεργιογόνο, δεν υφίσταται γενετική τροποποίηση και διαθέτει υψηλή θρεπτική αξία, προσφέροντας στα τρόφιμα καθαρή ετικέτα (clean label). Πολλές μελέτες έχουν δείξει, ότι η πρωτεΐνη αυτή διαθέτει αντιοξειδωτικές, και αντιφλεγμονώδεις δράσεις, μειώνει τη χοληστερόλη και η υδρόλυση της, έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της αρτηριακής πίεσης. Παράλληλα, ρυθμίζει τις δραστηριότητες των εντερικών βακτηρίων και αποτελεί καλή πηγή για την παραγωγή βιοδραστικών πεπτιδίων, τα οποία παρέχουν ανασταλτική δράση στο ένζυμο μετατροπής της αγγειοτενσίνης (ACE). Ως εκ τούτου, η τακτική πρόσληψη τροφών πλούσιων σε πρωτεΐνες μπιζελιού, έχει τη δυνατότητα να μειώσει τον κίνδυνο ορισμένων χρόνιων παθήσεων και επομένως, είναι ευεργετική για τη βελτίωση της ανθρώπινης υγείας. (21)

3.6.2. Λειτουργικές ιδιότητες

Οι λειτουργικές ιδιότητες της πρωτεΐνης μπιζελιού, καθορίζουν τη συμπεριφορά και την απόδοση της στα συστήματα τροφίμων, κατά τη διάρκεια της προετοιμασίας, επεξεργασίας, αποθήκευσης και της κατανάλωσης, επηρεάζοντας έτσι την υφή, τη σταθερότητα και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τροφίμων. (23) Έτσι, ορισμένες βασικές λειτουργικές ιδιότητες είναι οι εξής:

3.6.2.1. Διαλυτότητα

Οι παράγοντες, που επηρεάζουν το προφίλ διαλυτότητας της πρωτεΐνης μπιζελιού, είναι ο γονότυπος του μπιζελιού, η μέθοδος εκχύλισης της πρωτεΐνης, το κλάσμα πρωτεΐνης, το pH και η ιοντική ισχύς, καθώς οι διαφορές που παρουσιάζουν, μεταβάλλουν τη διαμόρφωση της πρωτεΐνης και τις επιφανειακές της ιδιότητες. Πιο αναλυτικά, το προϊόν απομόνωσης πρωτεΐνης μπιζελιού παρασκευάζεται με αλκαλική εκχύλιση/ισοηλεκτρική καταβύθιση (AE/IP) και εμφανίζει ελάχιστη διαλυτότητα στο νερό, κοντά σε pH 4,5, που είναι το ισοηλεκτρικό του σημείο. Παράλληλα, το εμπορικό προϊόν απομόνωσης πρωτεΐνης μπιζελιού (PPIc), παρουσιάζει χαμηλότερη διαλυτότητα σε σχέση με το φυσικό προϊόν, η οποία οφείλεται στη μετουσίωση και στη συσσωμάτωση που προκαλείται από τη θερμική επεξεργασία, κατά την ξήρανση με ψεκασμό. Σημαντικά διαφορετικό προφίλ διαλυτότητας, παρατηρείται σε προϊόντα που λαμβάνονται από διαφορετικούς γονότυπους ή ποικιλίες, ακόμα και αν χρησιμοποιείται η ίδια μέθοδος εκχύλισης (όπως AE/IP), γεγονός που αποδίδεται στη διαφορά του περιεχομένου και της σύνθεσης της πρωτεΐνης αποθήκευσης. Επιπλέον, η πρωτεΐνη μπιζελιού, μπορεί να ληφθεί μέσω διαφορετικών μεθόδων εκχύλισης, όπως καταβύθιση (καταβύθιση οξέος και καταβύθιση θερμότητας-οξέος, AE/IP, μικκυλιακή καταβύθιση), υπερδιήθηση (UF) και εκχύλιση άλατος (SE), οι οποίες επηρεάζουν τη διαλυτότητα της σε διαφορετικό βαθμό, λόγω της επιλογής διαφορετικών τύπων πρωτεΐνης, κατά την επεξεργασία του εκχυλίσματος. Τέλος, τα διαφορετικά κλάσματα της, επιδρούν σημαντικά στη διαλυτότητα και μπορούν να ταξινομηθούν σε αυτά της βισκιλίνης (7S) και της λεγουμίνης (11S), με βάση τον συντελεστή καθίζησης τους και σε κλάσματα υδατοδιαλυτά, αλατοδιαλυτά, διαλυτά σε αιθανόλη και αλκάλια, με βάση τη διαλυτότητά τους σε διαφορετικούς διαλύτες. (21)

3.6.2.2. Ικανότητα συγκράτησης νερού (WHC) και Ικανότητα συγκράτησης ελαίου (OHC)

Αναφορικά με το προϊόν απομόνωσης της πρωτεΐνης μπιζελιού, αποτελέσματα ερευνών οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι, οι διαφορετικές μέθοδοι εκχύλισής του, επηρεάζουν σημαντικά τις ικανότητες συγκράτησης νερού και ελαίου, χωρίς ωστόσο, να παρατηρούνται σημαντικές

διαφορές στις τιμές αυτές, μεταξύ των διαφόρων ποικιλιών του. Ως εκ τούτου, είναι απαραίτητη η πλήρης κατανόηση των παραγόντων που αφορούν τη διατήρηση της ποιότητας του προϊόντος και την ικανοποίηση της αποδοχής των καταναλωτών και επηρεάζουν τις ικανότητες συγκράτησης νερού και ελαίου ενώ, είναι αναγκαία η προσαρμογή των παραγόντων αυτών, στις κατάλληλες συνθήκες, με σκοπό την επέκταση της εφαρμογής του προϊόντος απομόνωσης πρωτεΐνης μπιζελιού, στη βιομηχανία τροφίμων. (21)

3.6.2.3. *Γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες*

Οι γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες της πρωτεΐνης μπιζελιού, εμφανίζουν εξάρτηση σε μεγάλο βαθμό από τη μέθοδο εκχύλισης ενώ, ακόμη και με την ίδια μέθοδο εκχύλισης (π.χ. AE/IP), το προϊόν απομόνωσης πρωτεΐνης μπιζελιού, που εξήχθη από διαφορετικές ποικιλίες ή γονοτύπους, έχει σημαντικά διαφορετικά χαρακτηριστικά γαλακτωματοποίησης. Επιπλέον, επίδραση, σε διαφορετικό βαθμό, στις ιδιότητες αυτές, παρουσιάζουν διαφορετικά κλάσματα πρωτεΐνης και ορισμένες περιβαλλοντικές συνθήκες, όπως η ιοντική ισχύς, το pH και η συγκέντρωση πρωτεΐνης. Χαρακτηριστικό παράδειγμα, αποτελεί το γεγονός ότι, το προϊόν απομόνωσης πρωτεΐνης μπιζελιού παρουσιάζει καλύτερες γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες σε pH που αποκλίνει από το pI, από ότι σε pH γύρω από το pI καθώς, σε όξινες συνθήκες (pH 2,4 ή 3,0), σχηματίζει γαλακτώματα πιο σταθερά έναντι της κρέμωσης, από εκείνα που σχηματίζονται σε pH 7,0. Παράλληλα, οι πρωτεΐνες μπιζελιού, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη σταθεροποίηση των γαλακτωμάτων ελαίου σε νερό, λόγω των επιφανειακών ιδιοτήτων των συστατικών πρωτεϊνικών μονάδων τους: των σφαιρινών αποθήκευσης 7S (βισκυλίνη) και 11S (λεγουμίνη). Έχει αποδειχθεί πρόσφατα, ότι έχουν την ικανότητα να μειώσουν την διεπιφανειακή τάση μεταξύ του νερού και του ελαίου και να βοηθούν στη σταθεροποίηση των γαλακτωμάτων, σχηματίζοντας μια άκαμπτη μεμβράνη στη διεπιφάνεια ελαίου-νερού. Ωστόσο, η σταθεροποιητική συμπεριφορά των πρωτεϊνών αυτών στα γαλακτώματα τροφίμων, επηρεάζεται επίσης από περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως το pH, η ιοντική ισχύς και η παρουσία άλλων συστατικών. (24)

3.6.2.4. *Ιδιότητες αφρισμού*

Οι αφριστικές ιδιότητες του προϊόντος απομόνωσης πρωτεΐνης μπιζελιού, επηρεάζονται σημαντικά από τη μέθοδο εκχύλισης ενώ, οι ποικιλίες ή οι γονότυποι επιδρούν στην ικανότητα αφρισμού του, χωρίς να μεταβάλουν αρκετά τη σταθερότητα του αφρού. Παράλληλα, τα υδατοδιαλυτά κλάσματα του προϊόντος απομόνωσης πρωτεΐνης μπιζελιού, εμφάνισαν ιδιαίτερα υψηλή αφριστική ικανότητα, σε σύγκριση με κλάσματα που είναι διαλυτά σε αιθανόλη, αλκάλια

και άλατα ενώ, ορισμένοι άλλοι παράγοντες όπως το pH, η συγκέντρωση πρωτεΐνης και το περιεχόμενο NaCl, επηρέασαν επίσης τις ιδιότητες αφρισμού του. Μεταξύ αυτών, σημαντική είναι η επίδραση του pH, καθώς το προϊόν απομόνωσης πρωτεΐνης μπιζελιού, εμφανίζει τις χαμηλότερες ιδιότητες αφρισμού κοντά στο pI ενώ, η αυξημένη συγκέντρωση πρωτεΐνης και η αυξημένη περιεκτικότητα σε NaCl, επηρεάζουν σημαντικά τις αφριστικές του ιδιότητες, σε σχέση με την επιρροή τους σε χαμηλές τιμές.(25)

3.6.2.5. Πηκτωματοποιητικές ιδιότητες

Οι παράγοντες που επηρεάζουν το σχηματισμό πηκτής στην πρωτεΐνη μπιζελιού, είναι η ποικιλία, το κλάσμα πρωτεΐνης, η μέθοδος εκχύλισης και ορισμένες περιβαλλοντικές συνθήκες, όπως το pH, η συγκέντρωση πρωτεΐνης, η ιοντική ισχύς, η θερμοκρασία και ο ρυθμός θέρμανσης και ψύξης. Ειδικότερα, μελέτες έχουν αναφέρει, ότι το προϊόν απομόνωσης πρωτεΐνης μπιζελιού, που λαμβάνεται με διαφορετικές μεθόδους εκχύλισης (π.χ. μέθοδοι UF και SE), εμφανίζει σημαντικά διαφορετικές ιδιότητες πηκτωματοποίησης. Παράλληλα, το προϊόν που προέρχεται από διαφορετικές ποικιλίες μπιζελιού και αποκτήθηκε με την ίδια μέθοδο εκχύλισης, εμφανίζει διαφορές στην πηκτή και στις ρεολογικές του ιδιότητες, λόγω των διαφορών στη φυσικοχημική και δομική σύνθεση των ποικιλιών. Τέλος, τα κλάσματα της πρωτεΐνης μπιζελιού, σύμφωνα με ποικίλες μεθόδους ταξινόμησης, παρουσιάζουν διαφορετική απόδοση πηκτωματοποίησης, με παράδειγμα τη διαφορά στην τιμή της ελάχιστης συγκέντρωσης πηκτωματοποίησης του διαλυτού σε αλκάλια κλάσματος (10% κ/ό), σε σχέση με το διαλυτό στην αιθανόλη κλάσμα (0% κ/ό). (21)

3.6.3. Εφαρμογές της πρωτεΐνης μπιζελιού στα τρόφιμα

Η πρωτεΐνη μπιζελιού εμφανίζει ποικίλες εφαρμογές στα συστήματα τροφίμων. Αναλυτικότερα, ιδιαίτερο ερευνητικό ενδιαφέρον, εμφανίζει η χρήση της ως υλικό ενθυλάκωσης, για την ενσωμάτωση ορισμένων βιοδραστικών συστατικών. Οι κύριες τεχνολογίες χρήσης της, είναι η ξήρανση με ψεκασμό, για την παραγωγή μικροσωματιδίων, τα οποία μπορούν να περιέχουν λιπόφιλα βιοδραστικά συστατικά, όπως α -τοκοφερόλη και ωμέγα-3 λιπαρά οξέα, τα γαλακτώματα, τα οποία μπορούν να ενθυλακώσουν άλλα λιπόφιλα βιοδραστικά συστατικά, όπως β -καροτένιο και βιταμίνη D και τα σύμπλοκα, που σχηματίζονται μεταξύ της πρωτεΐνης μπιζελιού και άλλων μορίων, όπως οι πολυσακχαρίτες με ηλεκτροστατική αλληλεπίδραση, χρησιμεύοντας ως ένα νέο σύστημα μεταφοράς λειτουργικών συστατικών. Παράλληλα, η πρωτεΐνη μπιζελιού προστίθεται σε προϊόντα αλεύρων, για τη βελτίωση της θρεπτικής τους αξία, παρέχοντας το βασικό προφίλ αμινοξέων και επηρεάζει την υφή και τη δομή τους, με χαρακτηριστικό παράδειγμα την

ενσωμάτωση προϊόντος απομόνωσης πρωτεΐνης μπιζελιού σε ψωμιά χωρίς γλουτένη. Η πρωτεΐνη αυτή, μπορεί να χρησιμοποιηθεί επίσης, ως υποκατάστατο προϊόντων λίπους ή ζωικής πρωτεΐνης, για την κάλυψη των αναγκών των λακτο-χορτοφάγων και για την παραγωγή υγιεινότερων τροφίμων. Παράδειγμα αποτελεί, η εν μέρει ή πλήρης αντικατάσταση γαλακτοκομικών πρωτεϊνών, από την πρωτεΐνη μπιζελιού, σε προϊόντα γαλακτώματος ή πηκτής, με ευεργετικά αποτελέσματα στη δομή και τη γεύση των προϊόντων αυτών. Επιπλέον, σημαντική είναι η χρήση της σε τεχνικές εξώθησης, οι οποίες διακρίνονται σε χαμηλής υγρασίας (LME, <35%), για την προετοιμασία σνακ και σε υψηλής υγρασίας (HME, >40%), για την παρασκευή αναλόγων κρέατος. Ειδικότερα, πλήθος μελετών ανέφερε, ότι η προσθήκη προϊόντος απομόνωσης πρωτεΐνης μπιζελιού σε διαφορετικά άμυλα, για την παρασκευή ενισχυμένων με πρωτεΐνη εξωθημένων σνακ, είχε ως αποτέλεσμα την υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και το ισορροπημένο προφίλ αμινοξέων των τελικών προϊόντων ενώ, με τη χρήση τεχνικής εξώθησης HME, η πρωτεΐνη μπιζελιού μπορεί να σχηματίσει ινώδη δομή, που μοιάζει με κρέας. Τέλος, η πρωτεΐνη μπιζελιού, αποτελεί ένα βιοσυμβατό και βιοαποικοδομήσιμο φυσικό πολυμερές, που έχει μελετηθεί εκτενώς, για την παραγωγή εδώδιμων ή/και βιοαποικοδομήσιμων συσκευασιών, οι οποίες αποτελούν μεμβράνες ή επικαλύψεις, με βάση βιοπολυμερή, που χρησιμοποιούνται για την επικάλυψη τροφίμων, μπορούν να καταναλωθούν μαζί με αυτά και περιγράφονται αναλυτικότερα στο Κεφάλαιο 9. Οι κύριες τεχνολογίες, που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή μεμβρανών, με βάση πρωτεΐνες μπιζελιού, είναι η χύτευση με διαλύτη, η χύτευση με έγχυση και η ηλεκτροϊονοποίηση ενώ, οι ιδιότητες σχηματισμού μεμβράνης του προϊόντος απομόνωσης πρωτεΐνης μπιζελιού, επηρεάζονται από τον τύπο πλαστικοποιητή, την αναλογία πρωτεΐνης/πλαστικοποιητή, το pH, τη θερμική επεξεργασία και τις παραμέτρους έγχυσης. Ωστόσο, αξίζει να σημειωθεί, ότι λόγω της υδρόφιλης φύσης της, η πρωτεΐνη μπιζελιού αποτελεί φραγμό υγρασίας σε σύγκριση με τις συνθετικές μεμβράνες, με αποτέλεσμα να χρησιμοποιείται συχνά ο συνδυασμός προϊόντος απομόνωσης πρωτεΐνης μπιζελιού με διαφορετικά πολυμερή, για την ενίσχυση της λειτουργικότητας των μεμβρανών της.

(21)

3.7. Καζεΐνη

Το γάλα περιέχει αζωτούχες ενώσεις, που κατανέμονται σε πρωτεΐνες (95%) και άλλες αζωτούχες μη πρωτεϊνικές ενώσεις, όπως αμινοξέα, αμμωνία, ουρία (5%) και η περιεκτικότητά του σε πρωτεΐνες, κυμαίνεται από 3,3 έως 3,9gr/100ml, με μέσο όρο περίπου τα 3,5gr/100ml. Οι πρωτεΐνες του γάλακτος, συγκροτούν ένα πολύπλοκο μίγμα και θεωρούνται συστατικά υψηλής

ποιότητας, καθώς περιέχουν σημαντικές ποσότητες από τα εννέα απαραίτητα αμινοξέα, που ο ανθρώπινος οργανισμός δεν μπορεί να συνθέσει, ενισχύοντας τον με ασβέστιο και φώσφορο. Λόγω της διαφορετικής φυσικοχημικής τους συμπεριφοράς, διακρίνονται σε δύο κύριες ετερογενείς κατηγορίες, στις καζεΐνες, την κύρια ομάδα πρωτεϊνών γάλακτος, οι οποίες αποτελούν περίπου το 75-80% των ολικών πρωτεϊνών και στις πρωτεΐνες του ορού γάλακτος. Στις πρωτεΐνες του ορού, ανήκουν οι πρωτεΐνες του γάλακτος που μένουν διαλυτές σε pH 4,6 στους 20°C, μετά την απομάκρυνση της καζεΐνης. Οι σημαντικότερες από αυτές είναι η β-γαλακτογλοβουλίνη (50,65%), η α-γαλακτοαλβουμίνη (17,32%), οι ανοσογλοβουλίνες ή ανοσοσφαιρίνες (12,42%), που είναι θερμοευαίσθητες και κατακρημνίζονται σε υψηλές θερμοκρασίες. Παράλληλα, ο ορός γάλακτος περιέχει και άλλες πρωτεΐνες, όπως την αλβουμίνη του ορού, την γαλακτοπεροξειδάση και την λακτοφερρίνη και περιέχει πεπτίδια, τα οποία διαμορφώνονται από την υδρόλυση άλλων πρωτεϊνών του γάλακτος, ενώ, στη βιομηχανία τροφίμων, χρησιμοποιείται συχνά το προϊόν απομόνωσης πρωτεΐνης ορού γάλακτος (WPI). (26)

3.7.1. Δομή

Οι καζεΐνες, είναι το χαρακτηριστικό λεύκωμα του γάλακτος, με περιεκτικότητα από 2,2 έως 3,15% και η διάκριση τους, αποδίδεται στον αριθμό και τη διάταξη των αμινοξέων, στο μόριο τους. Έτσι, διαιρούνται επιμέρους σε κλάσματα α_s^- (α_{s1}^- και α_{s2}^-), β^- και κ^- ενώ, υπάρχει και ένα κλάσμα γ^- , το οποίο προέρχεται από το σπάσιμο της β-καζεΐνης από εγγενή πρωτεολυτικά ένζυμα του γάλακτος. Τα κλάσματα αυτά, αποτελούν αντίστοιχα το 55% (α_s^-), 25% (β^-), 15% (κ^-), και 5% (γ^-) των συνολικών καζεϊνών και διαφέρουν μεταξύ τους, ως προς το μοριακό βάρος, την ποσότητα φωσφορικού οξέος, το είδος και τον αριθμό των αμινοξέων που περιέχουν, τη στερεοχημική δομή και την ευαισθησία, που παρουσιάζουν έναντι του ασβεστίου (Ca^{2+}). Πιο αναλυτικά, οι α_s^- -καζεΐνες αποτελούν το 40-45% των ολικών καζεϊνών, είναι οι πλουσιότερες σε φώσφορο, καταβυθίζονται με ασβέστιο και διαιρούνται στα κλάσματα α_{s1}^- και α_{s2}^- . Οι α_{s1}^- -καζεΐνες, αποτελούν το 1,2-1,5% των συστατικών του γάλακτος, περιέχουν 8-9 μόρια φωσφοσερίνης και διαθέτουν υψηλό καθαρό αρνητικό φορτίο. Οι α_{s2}^- -καζεΐνες, αποτελούν το 0,3-0,4% των συστατικών του γάλακτος, περιέχουν 10-14 μόρια φωσφοσερίνης και δύο υπολείμματα κυστεΐνης, που σχηματίζουν μια δισουλφιδική γέφυρα. Οι β^- -καζεΐνες, αποτελούν το 0,9-1,1% των συστατικών του γάλακτος, διαθέτουν άνισα κατανομημένο φορτίο, είναι οι πιο υδρόφοβες καζεΐνες, περιέχουν 5 μονάδες φωσφοσερίνης και μεγάλη ποσότητα προλίνης. Οι κ^- -καζεΐνες, αποτελούν το 0,3-0,4% περίπου των συστατικών του γάλακτος, περιέχουν 1-2 μόρια φωσφοσερίνης, διαθέτουν δύο υπολείμματα κυστεΐνης, δεν είναι

ευαίσθητες και δεν καταβυθίζονται στο ασβέστιο (Ca^{2+}) και μόνο αυτές περιέχουν ένα τμήμα υδατάνθρακα, άρα είναι γλυκοπρωτεΐνες. (27)

3.7.2. Μικκύλια καζεΐνης

Οι καζεΐνες, (περίπου το 95% των συνολικών καζεϊνών) απαντώνται στο γάλα ως σωματίδια, που ονομάζονται μικκύλια. Τα μικκύλια, είναι σύμπλοκα μόρια των α_s , $\beta+\gamma$, και κ -καζεϊνών, βρίσκονται σε κolloειδή διασπορά στην υδατινή φάση του γάλακτος και σχηματίζουν μικρά (υπομικκύλια) ή μεγάλα (μικκύλια) σφαιρικά ενυδατωμένα σωματίδια, με τη βοήθεια κυρίως των ιόντων ασβεστίου και φωσφόρου. Η αλληλοσύνδεση των καζεϊνών, οφείλεται στο φώσφορο που διαθέτουν συνδεδεμένο με το αμινοξύ σεροτονίνη (σύμπλεγμα φωσφοσερίνης), που δεσμεύει το ασβέστιο της κolloειδούς φάσης απευθείας στις καζεΐνες ενώ, η αύξηση του μεγέθους ενός μικκυλίου, ολοκληρώνεται όταν όλη η επιφάνεια του αποτελείται από κ -καζεΐνες, καθώς η κ -καζεΐνη έχει πολύ μικρή περιεκτικότητα σε φώσφορο. Επιπλέον, τα μικκύλια είναι σφαιρικά σωματίδια, που ποικίλουν σε μέγεθος από 50 έως 200 nm, το οποίο εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το περιεχόμενο ιόντων ασβεστίου καθώς, αν το ασβέστιο αφήσει το μικκύλιο, τότε διασπάται σε υπομικκύλια. Επίσης, περιέχουν χιλιάδες μόρια πρωτεΐνης και αποτελούνται κατά 93% από καζεΐνες, από τις οποίες, οι ευαίσθητες στο ασβέστιο ($\alpha_{s1}, \alpha_{s2}, \beta$), βρίσκονται στο εσωτερικό τους. Στην επιφάνεια των μικκυλίων, υπάρχει μία περιοχή που καλύπτεται από το ανθρακικό άκρο της καζεΐνης ενώ, η ελεύθερη επιφάνεια διευκολύνει την κίνηση της β - καζεΐνης μέσα και έξω από αυτά, για τη σύνδεση πρωτεϊνών ορού, πολυσακχαριτών κτλ. Το υπόλοιπο μέρος των καζεϊνικών μικκυλίων (7%), αποτελείται από ανόργανη ύλη, με κύρια συστατικά της, το φώσφορο και το ασβέστιο, τα οποία απαντούν, κυρίως με τη μορφή κolloειδούς φωσφοασβεστίου (CCP) και συμβάλλουν στο σχηματισμό και τη διατήρηση του σχήματος των μικκυλίων. Σημαντικό ρόλο, παίζουν επίσης τα κιτρικά άλατα, τα οποία ρυθμίζουν την ισορροπία της κατάστασης διασποράς τους. Τα καζεϊνικά μικκύλια, θεωρούνται σταθερά σε πολλές επεξεργασίες που εφαρμόζονται στο γάλα, με εξαίρεση την όξινη πήξη και την πήξη του γάλακτος με πυτιά. Επιπλέον, είναι σπογγώδη, έχουν υψηλό βαθμό ενυδάτωσης, αποτελούνται από 5.000-50.000 μεμονωμένα καζεϊνικά μόρια και παρουσιάζουν αρνητικό φορτίο, στο οποίο αποδίδεται η μη συνένωσή τους στο γάλα, όταν βρίσκονται σε φυσική κατάσταση αλλά, και η τάση ενυδάτωσή τους. (28)

3.7.1. Καζεϊνικό νάτριο (NaCas)

Το καζεϊνικό άλας, είναι ένα σημαντικό συστατικό του γάλακτος, για την ενίσχυση των λειτουργιών των μικκυλίων της καζεΐνης, όπως η διαλυτότητα στο νερό, η γαλακτωματοποιητική ικανότητα, οι

ιδιότητες αφρισμού καθώς και η δυνατότητα ενθυλάκωσης. Το άλας αυτό, παράγεται με καταβύθιση με οξύ των μικυλλίων καζεΐνης (συνήθως από βόειο γάλα), ακολουθούμενη από εξουδετέρωση, χρησιμοποιώντας υδροξείδιο νατρίου ή καλίου, για ξήρανση με ψεκασμό. Αν και το καζεϊνικό άλας μπορεί να παραχθεί με τη μορφή είτε νατρίου είτε καλίου, το καζεϊνικό νάτριο (NaCas) είναι περισσότερο εμπορικά διαθέσιμο. Το καζεϊνικό νάτριο (NaCas), έχει παρόμοια σύνθεση με τα μικκύλια καζεΐνης, αλλά διαφέρει στην ποσότητα του κολλοειδούς φωσφορικού ασβεστίου (CaP), το οποίο έχει αφαιρεθεί σε μεγάλο βαθμό κατά την παραγωγή του NaCas, με αποτέλεσμα να διαθέτει μικρότερη μάζα και μεγαλύτερη υδατοδιαλυτότητα, σε σχέση με τα αρχικά μικκύλια καζεΐνης. Το υδατικό εναιώρημα του NaCas, έχει αποδειχθεί ότι είναι ένα εναιώρημα σωματιδίων, με μοριακή μάζα μέσου βάρους 1200-44700 kDa και διάμετρο που κυμαίνεται από 50 έως 120 nm. Ως εκ τούτου, τα νανοσωματίδια NaCas, όπως και τα μικκύλια καζεΐνης, έχουν προσελκύσει σημαντική προσοχή, καθώς αποτελούν ένα σύστημα κολλοειδούς μεταφοράς, βρίσκουν ποικίλες παραδοσιακές εφαρμογές, ως επιλεγμένα πρωτεϊνικά συστατικά για την πρόσδοση ιξώδους σε υγρά τρόφιμα και οι ιδιότητές τους περιλαμβάνουν τη γαλακτωματοποίηση, τη δέσμευση νερού, την πρόσδεση λίπους, την πύκνωση και την πηκτωματοποίηση. (29)

3.7.2. Φυσικοχημικές ιδιότητες

Οι ιδιότητες των καζεϊνών, διαφέρουν σε σχέση με εκείνες των περισσότερων πρωτεϊνών. Αναλυτικότερα, είναι υδρόφοβες, έχουν αμφολυτικές ιδιότητες, λόγω της ταυτόχρονης παρουσίας καρβοξυλικών (-COOH) και αμινικών (-NH₂) ομάδων στο μόριό τους, γεγονός με μεγάλη σημασία, για το σχηματισμό πολυμερών και έχουν υψηλό μοριακό βάρος, γι' αυτό συμπεριφέρονται ως κολλοειδή. Παράλληλα, είναι μερικώς φωσφορυλιωμένες και διαθέτουν πολλά μόρια προλίνης και μερικά υπολείμματα κυστεΐνης. Παρουσιάζουν επίσης, αρκετά υψηλά φορτία, για τη διατήρηση τους σε διαλυμένη μορφή, τα οποία προκαλούνται εν μέρει από τις φωσφορικές τους ομάδες, που κατά το μεγαλύτερο μέρος είναι εστεροποιημένες σε υπολείμματα σερίνης, ιονισμένες σε μεγάλο βαθμό, κοντά στο pH του γάλακτος ενώ, συνδέουν ισχυρά δισθενή ιόντα όπως το Ca²⁺, ειδικά σε υψηλότερο pH. Οι καζεΐνες, διαθέτουν χαμηλά επίπεδα δευτεροταγούς δομής, η οποία σταθεροποιείται σε μικρό βαθμό με α-έλικα και β-φύλλο, λόγω της υψηλής της περιεκτικότητας σε προλίνη. Επίσης, διαθέτουν χαμηλά επίπεδα τριτοταγούς δομής, η οποία προκύπτει από τη δημιουργία δισουλφιδικών δεσμών, μεταξύ υπολειμμάτων κυστεΐνης, κατά την διάρκεια της αναδίπλωσης πτυχωτών δομών φύλλου, ελικοειδών τμημάτων και μη διευθετημένων δομών. Τα

χαμηλά αυτά επίπεδα δευτεροταγών και τριτοταγών δομών, τους δίνουν τη δυνατότητα να μετουσιώνονται πολύ δύσκολα ή και καθόλου σε υψηλές θερμοκρασίες, παρουσιάζοντας έτσι, υψηλή θερμική σταθερότητα. Ωστόσο, όταν υφίστανται σοβαρή θερμική επεξεργασία, οι καζεΐνες υποβάλλονται σε αλλαγές, όπως η αποφωσφορυλίωση και η πρωτεόλυση ενώ, ο πολυμερισμός τους μπορεί να συμβεί ως αποτέλεσμα αντιδράσεων συμπύκνωσης, όπως οι αντιδράσεις τύπου Maillard. Τέλος, είναι ευαίσθητες στις μεταβολές του pH (καταβυθίζονται σε pH 4,6 στους 30°C) και των ιοντικών τους συνθηκών και διαθέτουν υψηλή βιολογική αξία και πεπτικότητα, καθώς περιέχουν όλα τα απαραίτητα αμινοξέα για τη σωστή διατροφή και ανάπτυξη του ανθρώπου. (30)

3.7.3. Λειτουργικές ιδιότητες

Οι πρωτεΐνες του γάλακτος, διαθέτουν λειτουργικές ιδιότητες, οι οποίες παρέχουν επιθυμητές ιδιότητες στα τελικά προϊόντα και γι 'αυτό, έχουν βρει πολυάριθμες εφαρμογές σε μεγάλη ποικιλία τροφίμων. Οι ιδιότητες αυτές, ποικίλουν ανάλογα με το pH, τη θερμοκρασία, την ιοντική ισχύ, τη συγκέντρωση ασβεστίου και άλλων πολυσθενών ιόντων, σακχάρων και υδροκολλοειδών, καθώς και με τις διαδικασίες επεξεργασίας. Οι μέθοδοι, που χρησιμοποιούνται στην παρασκευή προϊόντων πρωτεΐνης γάλακτος, μπορούν να τροποποιήσουν τις φυσικές δομές των πρωτεϊνών, οι οποίες μπορούν να οδηγήσουν σε περαιτέρω αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης-πρωτεΐνης, επηρεάζοντας συνεπώς την πρωτεϊνική λειτουργικότητα.(31)

3.7.3.1. Διαλυτότητα

Τα προϊόντα πρωτεΐνης γάλακτος απαιτείται, στις περισσότερες περιπτώσεις, να παρέχουν υψηλό βαθμό διαλυτότητας, προκειμένου να είναι χρήσιμα και λειτουργικά. Η διαλυτότητα τους, εξαρτάται από τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά, τα οποία επηρεάζονται σημαντικά από τις συνθήκες επεξεργασίας. Έτσι, οι θερμικές επεξεργασίες έως 60°C, γενικά, αυξάνουν τη διαλυτότητα, προκαλώντας μη αναστρέψιμες φυσικοχημικές αλλαγές σε σταθερό pH και ιοντική ισχύ, ενώ, η θέρμανση σε υψηλότερες θερμοκρασίες τη μειώνει, προκαλώντας μετουσίωση, έκθεση υψηλότερης ποσότητας μη πολικών ομάδων, συσσωμάτωση και καταβύθιση των πρωτεϊνών. Παράλληλα, η διαλυτότητα τους μεταβάλλεται με την ενζυμική τροποποίηση, η οποία περιλαμβάνει τη χρήση ενζύμων, μεταβάλλοντας τη διαμόρφωση, τη δομή της πρωτεΐνης και συνεπώς, τις φυσικοχημικές και λειτουργικές της ιδιότητες. Έτσι, η ενζυμική πρωτεόλυση γενικά, αυξάνει τη διαλυτότητα των πρωτεϊνών του γάλακτος, ενώ η υπερβολική υδρόλυση τους, προκαλεί μειωμένη διαλυτότητα. Εφαρμογές της ιδιότητας της διαλυτότητας, παρατηρούνται

στην παραγωγή αποστερωμένου γάλακτος, σε σούπες και σάλτσες, στη βρεφική και κλινική διατροφή, σε αθλητικά ποτά και σε ενισχυμένα με πρωτεΐνες ροφήματα.

3.7.3.2. Πηκτωματοποίηση

Η πηκτωματοποίηση των πρωτεϊνών επηρεάζεται από παράγοντες, όπως η θερμότητα, η οποία οδηγεί σε σχηματισμό συσσωματωμάτων, από την πίεση, που προκαλεί μετουσίωση πρωτεϊνών καθώς και την αναλογία και τον τύπο των πρωτεϊνών. Οι καζεΐνες, αποτελούν τις σημαντικότερες πρωτεΐνες του γάλακτος, που παίζουν βασικό ρόλο στο σχηματισμό και τη ρεολογία των πηκτών πρωτεϊνών γάλακτος και οι πηκτές αυτές, γενικά σχηματίζονται με ενζυμική δράση, οξύνιση ή με συνδυασμό και των δύο. Οι επεξεργασίες, που περιλαμβάνουν την προσθήκη χημικών ουσιών, την εφαρμογή υδροστατικής πίεσης, τις θερμικές διεργασίες και την ενζυμική υδρόλυση, αποσταθεροποιούν την φυσική τριτοταγή δομή τους, προκαλώντας σχηματισμό σταθερού δικτύου και πηκτωματοποίηση. Εφαρμογές της πηκτωματοποίησης, συναντώνται στην παραγωγή γιαουρτιού, στην αρτοποιία, στη ζαχαροπλαστική, σε προϊόντα κρέατος και σε κρέμες. (32)

3.7.3.3. Αφρισμός

Οι πρωτεΐνες γάλακτος, διαθέτουν διαφορετικές προσροφητικές επιφάνειες και ιδιότητες αφρισμού, λόγω διαφορών στη μοριακή τους δομή. Οι εσωτερικοί παράγοντες, που επηρεάζουν τις ιδιότητες αφρισμού τους, είναι κυρίως η αλληλουχία και η σύνθεση των αμινοξέων, οι δευτεροταγείς και τριτοταγείς δομές, ο υδρόφιλος ή υδρόφοβος χαρακτήρας των πρωτεϊνικών ομάδων, το καθαρό φορτίο, η κατανομή φορτίου, η μοριακή ακαμψία ή ευκαμψία της πρωτεΐνης και εξωγενείς παράγοντες, όπως το pH, η ιοντική ισχύς, η θερμοκρασία και οι αλληλεπιδράσεις τους με άλλα συστατικά τροφίμων. Εφαρμογές του αφρισμού των πρωτεϊνών γάλακτος, παρατηρούνται στην παρασκευή παγωτού, κατεψυγμένων επιδορπίων, αεριούχων γλυκών (π.χ marshmallows), σε τούρτες και μους.

3.7.3.4. Γαλακτωματοποίηση

Οι πρωτεΐνες γάλακτος, διαδραματίζουν βασικό ρόλο στον σχηματισμό και τη σταθερότητα των υγρών γαλακτωμάτων. Η επιφανειακή τους δραστηριότητα, οδηγεί στην ταχεία προσρόφηση τους στη διεπιφάνεια ελαίου-νερού, κατά τη διάρκεια της γαλακτωματοποίησης, παράγοντας ένα σταθεροποιητικό στρώμα, που προστατεύει τα σταγονίδια ελαίου, από την επακόλουθη κροκίδωση ή συσσωμάτωση. Η φύση της πρωτεϊνικής μεμβράνης, που περιβάλλει τα σταγονίδια ελαίου, είναι υπεύθυνη για τις αλλαγές του γαλακτώματος, κατά την αποθήκευση ενώ, η αντοχή

της στο μηχανικό στρες και οι συσχετιστικές ιδιότητες (associative) αυτής της μεμβράνης, είναι οι παράγοντες που επηρεάζουν τη διάρκεια ζωής των ρευστών γαλακτωμάτων. Επίσης, οι αλλαγές της, κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης, είναι επίσης σημαντικές σε σχέση με τη σταθερότητα του γαλακτώματος. Έτσι, οι διαλυτές και διεσπαρμένες μορφές πρωτεϊνών γάλακτος, διαθέτουν εξαιρετικές ιδιότητες γαλακτωματοποίησης, οι οποίες επηρεάζονται σε μεγάλο βαθμό από τις διαφορές στη δομή, την ευκαμψία, την κατάσταση συσσωμάτωσης και τη σύνθεση των πρωτεϊνών και μπορεί να τροποποιηθούν με αλληλεπιδράσεις που εμφανίζονται κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας του γάλακτος και με αλλαγή στη δομή και το βαθμό της μετουσίωσης τους. Εφαρμογές της γαλακτωματοποιητικής ικανότητας των πρωτεϊνών γάλακτος, παρατηρούνται στην παρασκευή παγωτού, σε σάλτσες για σαλάτες, λουκάνικα (γαλακτώματα κρέατος), σούπες, επιδόρπια γάλακτος και στην παρασκευή μαγιονέζας. (33)

4. ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΕΣ

Οι υδατάνθρακες, είναι οι πιο διαδεδομένες χημικές ενώσεις στον πλανήτη και βρίσκονται σε αφθονία στους φυτικούς και στους ζωικούς οργανισμούς. Σήμερα, ο όρος υδατάνθρακας αναφέρεται σε μία ευρεία κατηγορία πολυ-υδροξυλιωμένων αλδευδών, κετονών, αλκοολών, οξέων καθώς και ενώσεων, που προκύπτουν από αυτές, μέσω αντιδράσεων συμπύκνωσης, υδρόλυσης, αναγωγής, οξειδωσης, υποκατάστασης, και πολυμερισμού (με ακεταλικούς δεσμούς). (34)

4.1. Διάκριση

Οι υδατάνθρακες διακρίνονται σε:

-Απλά σάκχαρα ή μονοσακχαρίτες, τα οποία δεν μπορούν να υδρολυθούν σε άλλα μικρότερα μόρια, με τις εξόζες (αλδόζες ή κετόζες), όπως η γλυκόζη, η φρουκτόζη και η γαλακτόζη, να αποτελούν την πιο ενδιαφέρουσα ομάδα τους.

-Ολιγοσακχαρίτες, οι οποίοι προκύπτουν από την ένωση έως 10 μορίων μονοσακχαρίτη και οι πιο διαδεδομένοι είναι η κελλοβιόζη, η ισομαλτόζη, η λακτόζη, η μαλτόζη, η ραφιννόζη, και η ζαχαρόζη.

-Πολυσακχαρίτες, μια σημαντική κατηγορία φυσικών πολυμερών, που προκύπτει από την ένωση περισσότερων από 10 μονοσακχαριτών, με γλυκοζιτικό δεσμό.

Οι πολυσακχαρίτες, ανάλογα με τη χημική τους σύσταση, διακρίνονται σε ομοπολυσακχαρίτες όπως το άμυλο, η κυτταρίνη, το γλυκογόνο, όταν το μόριο τους αποτελείται από ένα μόνο είδος απλού σακχάρου και σε ετεροπολυσακχαρίτες, όπως οι ημικυτταρίνες, οι πηκτινικές ύλες, τα κόμμεα, όταν το μόριο τους αποτελείται από τουλάχιστον δύο είδη σακχάρων. (34)

Επιπρόσθετα, με βάση τη λειτουργία τους μπορούν να ομαδοποιηθούν σε:

Πεπτώμενους πολυσακχαρίτες, οι οποίοι αποτελούν πολυσακχαρίτες αποθήκευσης ενέργειας, παρόντες σε σπόρους, κονδύλους, ρίζες, μίσχους και στο ήπαρ, με χαρακτηριστικά παραδείγματα το άμυλο, την ινουλίνη στα φυτά και το γλυκογόνο στα ζώα.

Μη πεπτώμενους πολυσακχαρίτες, που είναι επίσης γνωστοί ως δομικοί πολυσακχαρίτες και παρέχουν προστατευτική ή λιπαντική επικάλυψη σε κύτταρα και μηχανική αντοχή σε φυτά και

ζώα, με παραδείγματα την πηκτίνη, την κυτταρίνη, τη χιτίνη, το υαλουρονικό οξύ και τη χονδροϊτίνη. (35)

4.2. Ιδιότητες

4.2.1. Διαλυτότητα

Μια σημαντική ιδιότητα των πολυσακχαριτών αποτελεί η διαλυτότητα τους, η οποία αυξάνεται ανάλογα με την ανομοιογένεια των μορίων τους, έτσι ώστε να παρεμποδίζεται η προσέγγιση των μορίων αυτών. Αναλυτικότερα, οι πολυσακχαρίτες αλληλεπιδρούν με το νερό, καθώς αυτό σχηματίζει δεσμούς υδρογόνου με τις υδροξυλομάδες των σακχάρων και το οξυγόνο του γλυκοζιτικού δεσμού. Όταν οι υδροξυλομάδες των πολυσακχαριτών, βρίσκονται κοντά σε στρώματα νερού, δημιουργείται ένα τρισδιάστατο πλέγμα, που οδηγεί στη δημιουργία αιωρήματος ή διαλύματος των μακρομορίων. Τα ενυδατωμένα μόρια, καθώς περιστρέφονται στο διάλυμα, μεταβάλλουν την τρισδιάστατη δομή των μακρομορίων, ενώ, η ευθυγράμμισή τους με τμήματα άλλων μορίων, σχηματίζει υδρόφοβες κρυσταλλικές περιοχές, καθώς το νερό έχει αντικατασταθεί από τους δεσμούς υδρογόνου μεταξύ των μορίων. Έτσι, οι πολυσακχαρίτες, παρουσιάζουν διαφορές μεταξύ τους ως προς τη διαλυτότητα, με ορισμένους να είναι αδιάλυτοι στο ζεστό νερό, όπως η κυτταρίνη, άλλοι διαλυόμενοι να σχηματίζουν κολλοειδή διαλύματα, όπως το άμυλο και τέλος, ορισμένοι να διαλύονται σχετικά εύκολα, όπως το γλυκογόνο.

4.2.2. Ικανότητα σχηματισμού πηκτής

Παράλληλα, η συνένωση πολλών μορίων πολυσακχαριτών, μπορεί να οδηγήσει στη δημιουργία ενός τρισδιάστατου πλέγματος νερού, το οποίο εγκλωβίζει σημαντικά ποσά νερού, με αποτέλεσμα τη δημιουργία πηκτής. Γενικά, τα δίκτυα των πηκτών που σχηματίζουν οι πολυσακχαρίτες διακρίνονται στα εξής μοντέλα:

Ζιγκ-ζαγκ: Στην κατάσταση τάξης του συγκεκριμένου μοντέλου, παρατηρούνται εκτεταμένες αλυσίδες ζιγκ-ζαγκ, με παράδειγμα τις γαλακτομαννάνες.

Κεκαμμένο ζιγκ-ζαγκ: Το μοντέλο αυτό, είναι γνωστό και ως «egg box model», με χαρακτηριστικά παραδείγματα τα αλγινικά και τις πηκτίνες χαμηλής μεθυλίωσης, όπου η σύζευξη επιτυγχάνεται με την παρουσία ιόντων ασβεστίου, στα κενά που δημιουργούνται μεταξύ δύο αλυσίδων μορφής κεκαμμένου ζιγκ-ζαγκ.

Διπλές κενές έλικες: Η δημιουργία του δικτύου πηκτής, οφείλεται σε ομοαξονικές διπλές έλικες, με αρχική δημιουργία μικρών διαλυτών συσσωματωμάτων, από περίπου δέκα αλυσίδες και ακόλουθη πλευρική συσσωμάτωση διπλών ελίκων, από διαφορετικά αρχικά συσσωματώματα, παρουσία ή απουσία κατιόντων. Παραδείγματα τέτοιων πολυσακχαριτών αποτελούν η αγαρόζη και οι καραγεννάνες. (3)

4.3. Ιξώδες

Όσο αφορά το ιξώδες, οι πολυσακχαρίτες εμφανίζουν μεγάλη ποικιλία συμπεριφορών, ενώ γενικά παρατηρείται ότι, η αύξηση του μοριακού βάρους, οδηγεί σε αύξηση του ιξώδους. Πιο συγκεκριμένα, σε διαλύματα, οι διακλαδισμένοι πολυσακχαρίτες, καταλαμβάνουν μικρότερο όγκο από τον αντίστοιχο των γραμμικών, με το ίδιο μοριακό βάρος, παρουσιάζοντας έτσι, μικρότερη συχνότητα συγκρούσεων στο σφαιρικό χώρο, που καταλαμβάνουν, με αποτέλεσμα το μικρότερο ιξώδες τους. Επιπλέον, ορισμένοι γραμμικοί ιοντισμένοι πολυσακχαρίτες, υπό την επίδραση ηλεκτροστατικών απωθήσεων, μπορούν να αποκτήσουν μια εκτεταμένη διαμόρφωση, η οποία αυξάνει το μήκος της αλυσίδας τους και επομένως το ιξώδες. Η αναδίπλωση της αλυσίδας των πολυσακχαριτών σε συμπαγές σχήμα, παρουσιάζει μικρή επίδραση στο ιξώδες, ενώ, ακόμα και μία διακλάδωση μικρού βαθμού, μπορεί να εμποδίσει την αναδίπλωση αυτή, ενισχύοντας τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μορίων, με επακόλουθη αύξηση του. Έτσι, τα διαλύματα τους, ενδέχεται να παρουσιάσουν χαμηλό ιξώδες, ακόμη και σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις (αραβικό κόμμα), ή να έχουν εξαιρετικά υψηλή τιμή ακόμη και σε χαμηλές συγκεντρώσεις (κόμμα ξανθάνης και γκουάρ). (36)

4.4. Χρήσεις σε τρόφιμα

Οι πολυσακχαρίτες, βρίσκονται σε πολλά τρόφιμα, διατηρώντας συχνά το φυσικό τους ρόλο ως σκελετικές ουσίες σε φρούτα και λαχανικά ή ως αφομοιωτικά θρεπτικών ουσιών σε δημητριακά, πατάτες, όσπρια κ.α.. Αξιοσημείωτη είναι, η εκτεταμένη χρήση απομονωμένων πολυσακχαριτών στην επεξεργασία τροφίμων, σε φυσική ή τροποποιημένη μορφή, για το σχηματισμό μεμβρανών, ως πυκνωτικά ή πηκτωματοποιητές (άμυλο, αλγινικά άλατα, πηκτίνη, κόμμα γκουάρ), ως σταθεροποιητές σε γαλακτώματα και εναιωρήματα, ως ουσίες επικάλυψης για την προστασία των ευαίσθητων τροφίμων από ανεπιθύμητες μεταβολές, αλλά και ως αδρανή υλικά πληρώσεως, για την αύξηση της αναλογίας μη πεπτόμενων ουσιών στη διατροφή. (20)

4.5. Πηκτίνη

Η πηκτίνη, είναι ένας σύνθετος ετεροπολυσακχαρίτης, που βρίσκεται στο κυτταρικό τοίχωμα, σχεδόν όλων των φυτικών ιστών. Παράγεται φυσιολογικά,, κατά τη διάρκεια των αρχικών σταδίων ανάπτυξης του πρωτογενούς κυτταρικού τοιχώματος και αποτελεί περίπου το ένα τρίτο της ξηράς ουσίας του κυτταρικού τοιχώματος, ορισμένων μονοκοτυλήδων και δικοτυλήδων φυτών. (37)

4.5.1. Δομή

Αποτελείται βασικά από 200 έως 1000 μονάδες α-D-γαλακτουρονικού οξέος (GalA), συνδεδεμένων με α(1-4) γλυκοζιτικό δεσμό και ποικιλία ουδέτερων σακχάρων, όπως αραβινόζη, γαλακτόζη, ραμνόζη και μικρότερες ποσότητες άλλων σακχάρων. Το γαλακτουρονικό οξύ, αποτελεί περίπου το 70% της πηκτίνης, βρίσκεται συνδεδεμένο στη θέση O-1 και O-4, ενώ, μπορεί να ακετυλωθεί και να μετεστεροποιηθεί. Οι πηκτίνες, διαθέτουν γραμμικό ανιονικό σκελετό, με περιοχές που δεν έχουν πλευρικές αλυσίδες, γνωστές ως «λείες περιοχές» και περιοχές με μη ιονικές πλευρικές αλυσίδες, γνωστές ως «τριχωτές περιοχές», ενώ προκύπτουν από το συνδυασμό των παρακάτω δομικών κατηγοριών: (35)

-Γραμμική ομογαλακτουρονάνη (HG): Είναι ο κύριος τύπος πηκτίνης, στα κυτταρικά τοιχώματα των φυτών, αποτελώντας το 65% του συνολικού ποσοστού της. Περιλαμβάνει μονομερή D-γαλακτουρονικού οξέος, ενωμένα με β-(1-4) γλυκοζιτικό δεσμό και οι καρβοξυλικές ομάδες των μονομερών αυτών, εστεροποιούνται σε διαφορετικό βαθμό από μεθανόλη.

-Έντονα διακλαδισμένη γαλακτουρονάνη (ή Ραμνογαλακτορουρανάνη II (RG-II)). Η δομή αυτή, αποτελεί περίπου το 10% της πηκτίνης και είναι δομικά πιο πολύπλοκο συστατικό. Αποτελείται από μία κύρια αλυσίδα περίπου 9 μονάδων γαλακτουρονικού οξέος, που φέρουν τέσσερις πλευρικές αλυσίδες και αποτελούνται από σπάνια σάκχαρα (όπως απιόζη, ακερικό οξύ, KDO, DHA), ενώ, χρησιμοποιείται για τη σύνδεση δύο μορίων πηκτίνης με το φυτικό κυτταρικό τοίχωμα.

-Γραμμικά διακλαδισμένη ξυλογαλακτουρονάνη (XG) και απιογαλακτορουρανάνη: Αυτές οι δομές διαθέτουν πλευρικές μονάδες ξυλοπυρανόζης και πλευρικές αλυσίδες με μονάδες ενός ή δύο μορίων απιόζης, αντίστοιχα.

-Ραμνογαλακτορουρανάνη I (RG-I): Το πολυμερές αυτό, αποτελεί το 20-35% της πηκτίνης και έχει πιο σύνθετη δομή από την ομογαλακτορουρανάνη, καθώς διαθέτει έως και 100 επαναλαμβανόμενες μονάδες (1,2)-L-ραμνόζης- (1,4) -D-γαλακτουρονικού οξέος. Επιπλέον, φέρει πλευρικές διακλαδώσεις στο O-4 των μονάδων ραμνόζης, οι οποίες αποτελούνται από ουδέτερα σάκχαρα,

όπως αραβινογαλακτάνη I και II, αραβινάνη και γαλακτάνη και ποικίλουν σε μήκος. Οι καρβοξυλικές ομάδες, όπως συμβαίνει και στην ομογαλακτουρονάνη, μπορεί να είναι μεθυλιωμένες ή ακετυλιωμένες, σε ποσοστό που ποικίλλει, ανάλογα με την προέλευση της πηκτίνης.

-Πολυμερείς πλευρικές αλυσίδες της πηκτίνης, συνήθως αραβινάνες, γαλακτάνες και αραβινογαλακτάνες: Οι αραβινάνες είναι διακλαδισμένες ομογλυκάνες, οι οποίες αποτελούνται από μία κύρια αλυσίδα μονάδων αραβινόζης, ενωμένες με α -L-(1-5) γλυκοζιτικό δεσμό και οι γαλακτάνες και οι αραβινογαλακτάνες είναι ομοπολυμερή και ετεροπολυμερή, της γαλακτόζης και της αραβινόζης, αντίστοιχα. (38)

4.5.2. Διάκριση

Η ταξινόμηση των διαφόρων τύπων πηκτίνης, πραγματοποιείται κυρίως με τη χρήση του βαθμού εστεροποίησης (Degree of Esterification, DE, %), ο οποίος ορίζεται ως το ποσοστό των εστεροποιημένων καρβοξυλομάδων στο μόριο μιας πηκτίνης. Ο βαθμός αυτός, επηρεάζει τον μηχανισμό πηκτωματοποίησης, τις συνθήκες επεξεργασίας και τις ιδιότητες της πηκτίνης και με βάση αυτόν, οι πηκτίνες διακρίνονται στις παρακάτω κατηγορίες:

-Πρωτοπηκτίνη: Αποτελεί τη μητρική, μη υδατοδιαλυτή πηκτινική ουσία, η οποία απαντάται στα φυτά.

-Πηκτίνη υψηλής μεθυλίωσης (HMP): Διαθέτει βαθμό εστεροποίησης (DE) σε ποσοστό που κυμαίνεται από 50 έως 90%. Η πηκτίνη αυτή, χρησιμοποιείται κυρίως για εφαρμογές κονσερβοποίησης και για πηκτωματοποίηση, στην οποία απαιτεί υψηλή ποσότητα ζάχαρης, ενώ, είναι πολύ ευαίσθητη στην οξύτητα. Παράλληλα, σχηματίζει πηκτή σε χαμηλές τιμές pH και σε υψηλή συγκέντρωση διαλυτών στερεών, λόγω της παρουσίας δεσμού υδρογόνου και υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων, μεταξύ των αλυσίδων πηκτίνης. Οι πηκτές της, είναι μη αντιστρεπτές, η ισχύς των οποίων, εξαρτάται από την περιεκτικότητα σακχάρου και οξέος, καθώς και από την ποσότητα της προστιθέμενης πηκτίνης. Επιπλέον, η πηκτίνη υψηλής μεθυλίωσης διακρίνεται περαιτέρω σε:

Βραδείας πήξεως (slow set), με βαθμό εστεροποίησης 50-60%. Ο σχηματισμός πηκτής, προϋποθέτει ψύξη του μίγματος, σε θερμοκρασία δωματίου και οι πηκτίνες αυτές, αποτελούν φθηνές επιλογές για την παρασκευή διαυγών ζελέδων και μαρμελάδων.

Ταχείας πήξεως (rapid set), με βαθμό εστεροποίησης 70%. Οι πηκτίνες, πήζουν πρακτικά εντός του δοχείου συσκευασίας, σε υψηλότερες θερμοκρασίες, προκειμένου τα τεμάχια του φρούτου να παγώνουν και διατηρούνται στη μάζα της πηκτής, χωρίς να καθιζάνουν.

Πηκτίνες πολύ υψηλού βαθμού μεθυλίωσης (VHM), με βαθμό εστεροποίησης 80-90%. Αυτή η κατηγορία σχηματίζει πηκτή ταχέως, μόνο παρουσία σακχάρου και με απομάκρυνση του νερού, δεν απαιτείται οξύ και συνήθως χρησιμοποιείται για την παρασκευή προϊόντων καραμελοποίησης και όχι πηκτών.

-Πηκτίνη χαμηλής μεθυλίωσης (LMP): Ο τύπος πηκτίνης αυτός, σχηματίζεται από την αποεστεροποίηση της πηκτίνης υψηλής μεθυλίωσης και έχει βαθμό εστεροποίησης (DE) μικρότερο από 50%. Επιπλέον, χρησιμοποιείται ευρέως στη βιομηχανία τροφίμων, για το σχηματισμό μαρμελάδων, καθώς δεν απαιτεί μεγάλη ποσότητα ζάχαρης, για τη πηκτωματοποίηση ενώ, δείχνει λιγότερη ευαισθησία στην οξύτητα και απαιτεί ιόντα Ca^{2+} , για το σχηματισμό της πηκτής της, η οποία είναι αντιστρεπτή.

-Αμιδιωμένη πηκτίνη χαμηλής μεθυλίωσης (ALMP): Αυτός ο τύπος πηκτίνης, παράγεται μετά από κατεργασία με αμμωνία και χρειάζεται λιγότερο ασβέστιο να πήξει, σε σχέση με τις μη αμιδιωμένες πηκτίνες χαμηλής μεθυλίωσης. Επιπλέον, είναι λιγότερο ευαίσθητες στην καταβύθιση από υψηλές ποσότητες ασβεστίου, οι πηκτές τους είναι θερμοαντιστρεπτές και είναι πιο ανθεκτικές στις μεταβολές του pH και στις διακυμάνσεις των επιπέδων ασβεστίου, σε σχέση με τις συμβατικές πηκτίνες. (39)

-Πηκτικά οξέα: Παρουσιάζουν βαθμό εστεροποίησης (DE) σε ποσοστό μικρότερο του 10%.

4.5.1. Πηγές

Η πηκτίνη αποτελεί το κύριο συστατικό της φλούδας και του πολτού πολλών φρούτων. Πλούσιες πηγές της, είναι η φλούδα των εσπεριδοειδών, ιδίως του πορτοκαλιού, του λεμονιού, του φραγκοστάφυλου και του lime και η πούλπα μήλου, ενώ, ορισμένες άλλες φυτικές πηγές πηκτίνης, είναι οι κεφαλές ηλίανθου, η πατάτα, ο πολτός ζαχαρότευτλων, η ντομάτα και το καρότο. Η πηκτίνη που προέρχεται από ζαχαρότευτλα (SBP), διαθέτει μεγαλύτερο αριθμό ουδέτερων πλευρικών αλυσίδων σακχάρου, δηλαδή τριχωτών περιοχών, και υψηλότερο βαθμό ακετυλίωσης. Εμπορικά, οι πηκτίνες εξάγονται ως επί το πλείστον από φλούδες εσπεριδοειδών και από πούλπα μήλου, τα οποία αποτελούν υποπροϊόντα των μονάδων παραγωγής χυμού, με την πούλπα του

μήλου να περιέχει περίπου 10-15% πηκτίνη σε ξηρή ουσία, ενώ η φλούδα των εσπεριδοειδών, περιέχει περίπου 20-30% υψηλότερη ποσότητα από την πούλπα μήλου. (35)

4.5.2. Ιδιότητες

Η πηκτίνη παρουσιάζει διαλυτότητα στο καθαρό νερό και τα διαλύματα της εμφανίζουν μη νευτώνεια, συγκεκριμένα ψευδοπλαστική, ρεολογική συμπεριφορά. Το ιξώδες των διαλυμάτων αυτών, επηρεάζεται από τη συγκέντρωση και το pH του κάθε διαλύματος, το βαθμό μεθυλίωσης, το μοριακό βάρος και την παρουσία ιόντων. Επιπλέον, ιδιαίτερα σημαντική ιδιότητα της πηκτίνης, για τη βιομηχανία τροφίμων, αποτελεί η ικανότητα σχηματισμού πηκτών κοντά σε pH 3, παρουσία ενός μέσου αφυδάτωσης, όπως η ζάχαρη και ιόντων ασβεστίου. Η πηκτωματοποιητική της ικανότητα και η σταθερότητα της τελικής πηκτής, επηρεάζεται από παράγοντες όπως η θερμοκρασία, το pH, η συγκέντρωση της πηκτίνης και η συγκέντρωση κατιόντων και άλλων διαλυμένων συστατικών όπως τα σάκχαρα.

4.5.3. Σχηματισμός πηκτής

Η ικανότητα δημιουργίας πηκτής, αποτελεί ίσως τη σημαντικότερη λειτουργία της πηκτίνης. Η πηκτή της αποτελεί ένα σύστημα, στο οποίο το πολυμερές βρίσκεται σε μια κατάσταση ανάμεσα στην πλήρη διάλυση και την καθίζηση. Επιπλέον, θεωρείται ότι τμήματα των αλυσίδων του μορίου, συνδέονται μεταξύ τους με περιορισμένη κρυστάλλωση, για το σχηματισμό τρισδιάστατου πλέγματος, στο οποίο συγκρατείται το νερό, το σάκχαρο και άλλα διαλυτά συστατικά. Ο σχηματισμός πηκτής, από την κατάσταση της πλήρους διάλυσης του πολυμερούς, προκαλείται με φυσικές ή χημικές μεταβολές, οι οποίες τείνουν να μειώσουν τη διαλυτότητα της πηκτίνης, γεγονός το οποίο ευνοεί το σχηματισμό τοπικής κρυστάλλωσης. Οι σημαντικότεροι παράγοντες που επηρεάζουν την τάση σχηματισμού πηκτής (ή τη διαλυτότητα της πηκτίνης), στους διαφορετικούς τύπους πηκτίνης, είναι η θερμοκρασία, η συγκέντρωση της πηκτίνης, το pH, η συγκέντρωση άλλων διαλυτών συστατικών, η συγκέντρωση ιόντων, ο βαθμός εστεροποίησης, ο βαθμός αμινοποίησης, το μοριακό βάρος πηκτίνης, η παρουσία ακετυλομάδων, η ετερογένεια και η παρουσία ουδέτερων σακχάρων. (40)

4.5.4. Χρήσεις

Οι πηκτίνες από διαφορετικές πηγές, συμπεριλαμβανομένων των περισσότερων φρούτων και λαχανικών, αν και παρουσιάζουν δομικές διαφορές, διαθέτουν παρόμοιες φυσικοχημικές ιδιότητες ενώ, ως φυτικές ίνες είναι όλες ευεργετικές για την ανθρώπινη υγεία, ως συστατικό

διατροφής. Έτσι, διαθέτουν πολλές εφαρμογές στη βιομηχανία τροφίμων ως συστατικό τροφίμων, κυρίως λόγω των ιδιοτήτων σχηματισμού πηκτής και σταθεροποίησης. Οι παραδοσιακές εφαρμογές της πηκτίνης στη βιομηχανία τροφίμων, περιλαμβάνουν την παρασκευή μαρμελάδων και πελτέδων, όταν τα φρούτα (μαρμελάδες) και οι χυμοί φρούτων (πελτέδες) περιέχουν μικρά ποσά φυσικών πηκτινικών ουσιών, τα οποία είναι μη επαρκή για το σχηματισμό πηκτώματος, με ικανοποιητική συνεκτικότητα, όπως επίσης και για την παρασκευή ζελέδων ζαχαροπλαστικής και κρέμας γάλακτος. Παράλληλα, ενισχύουν το ιξώδες στο σιρόπι κονσερβοποιημένων φρούτων και σε χυμούς φρούτων ενώ, επίσης σταθεροποιούν γαλακτώματα ελαίου σε νερό. Οι πηκτίνες υψηλής μεθυλίωσης, σχηματίζουν γαλακτώματα, και χρησιμοποιούνται στην παρασκευή μαγιονέζας, dressing σαλατών και στα γαλακτώματα αιθέριων ελαίων ενώ, οι πηκτίνες χαμηλής μεθυλίωσης χρησιμοποιούνται για εδώδιμες μεμβράνες σε τεμάχια επεξεργασμένου κρέατος, λουκάνικα και σακχαρόπηκτα αφυδατωμένα φρούτα. (29)

5. ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΔΥΟ ΒΙΟΠΟΛΥΜΕΡΩΝ

5.1. Αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης-πολυσακχαρίτη

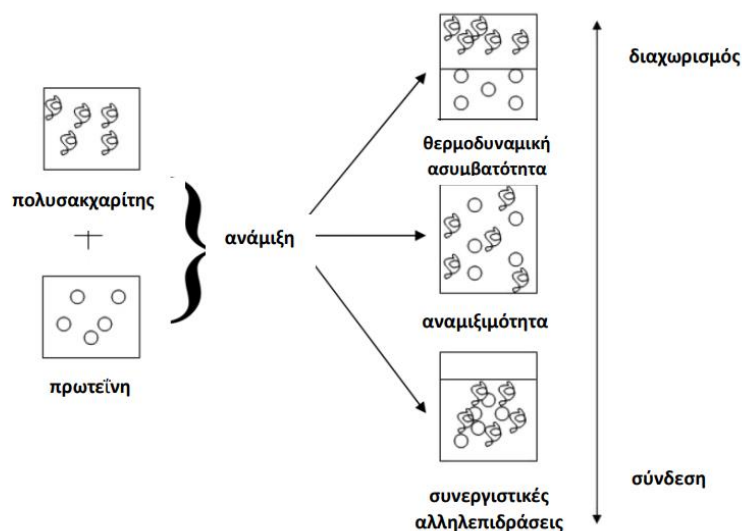
Η αλληλεπίδραση των βιοπολυμερών, έχει άμεση σημασία για τις μακροσκοπικές ιδιότητες των τροφίμων, όπως η ροή, η σταθερότητα, η υφή και η αίσθηση στο στόμα. Για το λόγο αυτό, συχνά στη βιομηχανία τροφίμων, είναι αναγκαίος ο συνδυασμός βιοπολυμερών, με σκοπό την παρασκευή προϊόντων με επιθυμητές ιδιότητες, οι οποίες μπορούν να ενισχύσουν τη βιοαποικοδομησιμότητα, τη βιοσυμβατότητα και τις μηχανικές ιδιότητες των τροφίμων. Οι αλληλεπιδράσεις των πρωτεϊνικών μορίων με τα μόρια των πολυσακχαριτών, στα συστήματα τροφίμων, επηρεάζουν άμεσα τις λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνών, όπως τη διαλυτότητα, την επιφανειοδραστικότητα και τις γαλακτωματοποιητικές και αφριστικές ιδιότητες ενώ, διακρίνονται σε ελκτικές και σε απωστικές. Οι πρώτες, έχουν ως αποτέλεσμα το σχηματισμό συμπλόκων, ανάμεσα στις πρωτεΐνες και τους πολυσακχαρίτες ενώ, οι απωστικές αλληλεπιδράσεις, οδηγούν σε μη αναμιξιμότητα των βιοπολυμερών και εμφάνιση φαινομένων διαχωρισμού φάσεων. (41)

Δύο βιοπολυμερή, μπορούν να υπάρχουν, είτε σε μονοφασικά συστήματα, είτε σε συστήματα διαχωρισμένης φάσης, ανάλογα με τη φύση των βιοπολυμερών, τη συγκέντρωσή τους και τις συνθήκες του διαλύματος. Έτσι, τα συστήματα, στα οποία συνυπάρχουν οι πρωτεΐνες με τους πολυσακχαρίτες, μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε τέσσερις ομάδες, με βάση τον αριθμό των φάσεων που απαντώνται στο τελικό σύστημα και το σχηματισμό ή μη συμπλόκων. (42)

Όταν δύο βιοπολυμερή φέρουν αντίθετο φορτίο, τότε συσσωματώνονται για να σχηματίσουν είτε διαλυτά σύμπλοκα (μονοφασικό σύστημα) ή αδιάλυτα ιζήματα (σύστημα δύο φάσεων). Στην πρώτη περίπτωση, παρατηρείται σύστημα μιας φάσης σε συνδυασμό με σχηματισμό διαλυτού συμπλόκου, το οποίο χαρακτηρίζεται από τη θερμοδυναμική συμβατότητα των βιοπολυμερών και την εμφάνιση ελκτικών αλληλεπιδράσεων, ανάμεσα στα μόριά τους. Το σύμπλοκο, παραμένει σε διασπορά και το σύστημα, μακροσκοπικά είναι ομοιογενές, έως ότου παρουσιαστεί αύξηση της ολικής συγκέντρωσης των βιοπολυμερών, πάνω από ένα όριο ή μεταβολή της αναλογίας πρωτεΐνης και πολυσακχαρίτη στο σύμπλοκο, οδηγώντας έτσι, στη δημιουργία ιζήματος. Στη δεύτερη περίπτωση, εμφανίζεται σύστημα δυο φάσεων, με παράλληλο σχηματισμό συμπλόκου, το οποίο επίσης χαρακτηρίζεται από συμβατότητα, λόγω των ελκτικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μορίων των βιοπολυμερών. Αυτό, περιλαμβάνει μακροσκοπικά δυο φάσεις, με τη μία να

περιέχει το σύμπλοκο, όπου συνυπάρχουν και τα δυο πολυμερή, και τη δεύτερη να είναι η φάση του διαλύτη, όπου η συγκέντρωση των βιοπολυμερών είναι πολύ χαμηλή. (36)

Από την άλλη πλευρά, όταν αναμιγνύονται δύο μη αλληλεπιδρώντα βιοπολυμερή, είτε υπάρχουν σε ένα μονοφασικό σύστημα, όπου δύο ξεχωριστές οντότητες κατανέμονται ομοιόμορφα σε όλο το μέσο, είτε υπάρχουν ως δύο ξεχωριστές φάσεις, με κάθε φάση να περιλαμβάνει διαφορετικά βιοπολυμερή. Αναλυτικότερα, το σύστημα μιας φάσης, στο οποίο συμβαίνει αποκλεισμός του ενός βιοπολυμερούς από την περιοχή του άλλου, εμφανίζεται, όταν τα δυο βιοπολυμερή είναι θερμοδυναμικά ασύμβατα μεταξύ τους, δηλαδή όταν ισχύει $\Delta G > 0$. Σε αυτό, τα μόρια του κάθε βιοπολυμερούς, καταλαμβάνουν τις δικές τους περιοχές μέσα στο διάλυμα, αποκλείοντας από αυτές τα μόρια του άλλου. Αρχικά, λόγω της μικρής συγκέντρωσης των βιοπολυμερών, είναι μακροσκοπικά ομοιογενές, ενώ, σταδιακά, όταν παρατηρείται αύξηση της συγκέντρωσης, πάνω από ένα όριο συγκέντρωσης, το σύστημα διαχωρίζεται σε δυο φάσεις. Τέλος, στο σύστημα δυο φάσεων, στο οποίο παρατηρείται διαχωρισμός των βιοπολυμερικών μορίων, υπάρχει θερμοδυναμική ασυμβατότητα, καθώς οι κυρίαρχες δυνάμεις, που αναπτύσσονται ανάμεσα στα μόρια των βιοπολυμερών, είναι απωστικές. Η ασυμβατότητα αυτή, οφείλεται στην ανταγωνιστική δράση, που παρουσιάζουν τα βιοπολυμερή, για την κατοχή του χώρου στο διάλυμα, με την περιεκτικότητα του νερού να είναι μεγαλύτερη στην φάση του βιοπολυμερούς, που είναι περισσότερο υδρόφιλο. Το σύστημα αυτό, προκύπτει όταν η συνολική συγκέντρωση των βιοπολυμερών ξεπεράσει ένα όριο. Η ελάχιστη ολική συγκέντρωση των συστημάτων πρωτεϊνών-πολυσακχαριτών, στην οποία πραγματοποιείται διαχωρισμός φάσεων, υπολογίζεται διατηρώντας τη συγκέντρωση του ενός βιοπολυμερούς σταθερή και μεταβάλλοντας αυτή του άλλου, πρέπει να υπερβαίνει το 4% w/v και εξαρτάται από το μέγεθος και τη δομή των μορίων των βιοπολυμερών. (36)



Εικόνα 3: Πιθανές αλληλεπιδράσεις συστήματος δύο βιοπολυμερών (πρωτεΐνης-πολυσακχαρίτη) (41)

5.2. Φύση του συμπλόκου πολυσακχαρίτη-πρωτεΐνης

Ο σχηματισμός συμπλόκου πολυσακχαρίτη και πρωτεΐνης, βασίζεται κυρίως σε μη ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις, όπως οι δεσμοί υδρογόνου, οι ηλεκτροστατικές, οι υδρόφοβες και οι στεरिकές αλληλεπιδράσεις. Αναλυτικότερα, το ηλεκτρικό φορτίο, στη ραχοκοκαλιά της αλυσίδας της πρωτεΐνης (+ve σε pH χαμηλότερο από το pI και αντίστροφα) ή του πολυσακχαρίτη (-ve σε εύρος pH υψηλότερο από το pKa), είναι υπεύθυνο για την ηλεκτροστατική έλξη ή άπωση μεταξύ τους ενώ, η παρουσία -COOH ομάδας στον πολυσακχαρίτη και -NH₃, -COOH ομάδων στην πρωτεϊνική αλυσίδα, είναι οι πηγές των δεσμών υδρογόνου, μεταξύ αυτών των δύο βιοπολυμερών. Παράλληλα, τα βιοπολυμερή, εκτός από αυτά τα ιοντικά τμήματα, διαθέτουν λίγα μη πολικά τμήματα, τα οποία είναι υπεύθυνα για την υδρόφοβη στοίχιση μεταξύ τους. Γενικά, η ηλεκτροστατική έλξη, είναι η κύρια κινητήρια δύναμη για την συμπλοκοποίηση μεταξύ πρωτεΐνης και πολυσακχαρίτη, ενώ, ο δεσμός υδρογόνου και η υδρόφοβη αλληλεπίδραση, διαδραματίζουν δευτερεύοντα ρόλο στη σταθερότητα των συσσωματωμάτων πρωτεΐνης-πολυσακχαρίτη. (43)

Ο έλεγχος του διαφορετικού τρόπου αλληλεπίδρασης μεταξύ πρωτεΐνης και πολυσακχαρίτη, καθορίζεται από τις παραμέτρους του διαλύματος, όπως το pH, η ιοντική ισχύς και η θερμοκρασία, αλλά και από τον τύπο πρωτεϊνών/πολυσακχαριτών, το μοριακό βάρος, την πυκνότητα φορτίου

και τη υδροφοβικότητα των βιοπολυμερών, τα οποία καθορίζουν την έκταση της συμπλοκοποίησης, μεταξύ των δύο βιοπολυμερών, σε σταθερή κατάσταση. Πιο συγκεκριμένα, η θερμοκρασία καθορίζει την έκταση του δεσμού υδρογόνου και της υδρόφοβης αλληλεπίδρασης και παίζει επίσης σημαντικό ρόλο στον καθορισμό των διαμορφώσεων πρωτεΐνης (διπλωμένες ή ξεδιπλωμένες), με τις μη διπλωμένες, να εκθέτουν περισσότερες δραστικές θέσεις (αμινοξέα) στη φάση του διαλύτη, συνεπώς, έχουν περισσότερες πιθανότητες αλληλεπιδράσεων (ή σύνδεσης) με πολυσακχαρίτη. Η σύνδεση ανιονικών πολυσακχαριτών ($pH \sim pKa$) με τις κατιονικές πρωτεΐνες (σε $pH < pI$), έχει ως αποτέλεσμα τόσο διαλυτά όσο και αδιάλυτα σύμπλοκα. Η αρχική σύνδεση μεταξύ τους, προκαλεί εξουδετερώσεις φορτίου, οι οποίες οδηγούν στο σχηματισμό αδιάλυτων συσσωματωμάτων πρωτεϊνών-πολυσακχαριτών ενώ, περαιτέρω δέσμευση ανιονικών πολυσακχαριτών, σε αυτά τα ουδέτερα συσσωματώματα, τα καθιστά αποτελεσματικά ανιονικά, γεγονός που οδηγεί στο σχηματισμό διαλυτών συμπλοκών. Παράλληλα, παρατηρείται σύνδεση ανιονικών πολυσακχαριτών με ανιονικές πρωτεΐνες ($pH > pI$), η οποία διέπεται από τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ ανιονικών δραστικών θέσεων πολυσακχαρίτη και μικρών κατιονικών δραστικών θέσεων πρωτεΐνης, με την δέσμευση των ανιονικών πολυσακχαριτών στην κατιονική πλευρά των πρωτεϊνών (σε $pH > pI$), να οδηγεί στο σχηματισμό ανιονικών συσσωματωμάτων πρωτεΐνης-πολυσακχαρίτη και επομένως, διαλυτών συμπλοκών. Έτσι, συμπεραίνεται ότι η συγκέντρωση πολυσακχαριτών και το pH, επηρεάζουν σημαντικά τη διαλυτότητα των συσσωματωμάτων πρωτεϊνών-πολυσακχαριτών. (43)

5.3. Λειτουργικές ιδιότητες των συμπλοκών πολυσακχαρίτη-πρωτεΐνης σχετιζόμενες με εφαρμογές σε τρόφιμα

Τα σύμπλοκα πολυσακχαρίτη-πρωτεΐνης, εμφανίζουν ένα ευρύ φάσμα ιδιοτήτων, όπως η επιφανειακή δραστηριότητα, για τη σταθεροποίηση διεπιφανειών αέρα-νερού ή ελαίου-νερού, οι ιδιότητες ιξώδους και πηκτωματοποίησης και η ικανότητα ενθυλάκωσης δραστικών συστατικών.

5.3.1. Ιξώδες συμπλόκου πολυσακχαρίτη-πρωτεΐνης και σταθερότητα αφρού

Το ιξώδες και η πηκτωματοποίηση, αποτελούν σημαντικές ρεολογικές ιδιότητες των βιοπολυμερών. Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ πολυσακχαρίτη και πρωτεΐνης, έχει αποδειχθεί ότι διευρύνουν τις λειτουργικές τους ιδιότητες και οι ρεολογικές ιδιότητες του συμπλόκου τους, οδηγούν σε νέες συμπεριφορές, διαφορετικές από αυτές του κάθε μεμονωμένου βιοπολυμερούς. Έτσι, η σύνδεση δύο βιοπολυμερών, αναμένεται να αυξήσει το ιξώδες του κύριου όγκου του

συστήματος, καθώς σχηματίζονται οντότητες μεγαλύτερου μεγέθους και η ρεολογική συμπεριφορά πολλών μικτών συστημάτων πρωτεΐνης-πολυσακχαρίτη, κυμαίνεται από ιξώδεις έως ιξωδοελαστικές ιδιότητες, που δείχνουν ελαστική συμπεριφορά. Τα σύμπλοκα ενυδατωμένου πολυσακχαρίτη-πρωτεΐνης, αυξάνουν το ιξώδες και η ρεολογία του συστήματος, εξαρτάται από τα μοριακά χαρακτηριστικά των βιοπολυμερών, όπως το μοριακό τους βάρος, το σχήμα και η ευκαμψία της αλυσίδας, από τη συγκέντρωση των βιοπολυμερών, τη μεταξύ τους αλληλεπίδραση με το νερό, καθώς και από παραμέτρους του διαλύματος, όπως το pH, η ιοντική ισχύς και η παρουσία άλλων συστατικών. Ωστόσο, η παρουσία βελτιωμένης ιδιότητας πηκτωματοποίησης, καθιστά απαραίτητο τον έλεγχο των παραμέτρων, που απαιτούνται για το σχηματισμό συσσωματωμάτων, καθώς η ισχυρή συνεργιστική αλληλεπίδραση, μειώνει τη διαλυτότητα των συμπλοκών και συνεπώς, μειώνει την ικανότητα ενυδάτωσης τους, οδηγώντας σε μείωση του ιξώδους. (44)

Οι ιξωδοελαστικές ιδιότητες των συμπλοκών πολυσακχαρίτη-πρωτεΐνης, παίζουν επίσης σημαντικό ρόλο στη σταθερότητα του αφρού, σε ποικιλία προϊόντων διατροφής. Στην περίπτωση του συστήματος αέρα-νερού, ο αφρός ορίζεται ως η παγίδευση αέρα από μία λεπτή υγρή μεμβράνη (νερό) και η σταθερότητα του, αυξάνεται με την υψηλότερη σταθερότητα και το ιξώδες της διεπιφανειακής υγρής μεμβράνης, καθώς οδηγούν σε χαμηλότερη διάχυση αέρα, που παγιδεύεται μέσα στον αφρό. Έχει αποδειχθεί, ότι η σταθερότητα του είναι υψηλότερη, όταν αυτός σταθεροποιείται από σύμπλοκο πρωτεΐνης-πολυσακχαρίτη, σε σύγκριση με αυτόν που σταθεροποιείται από ένα μεμονωμένο βιοπολυμερές ενώ, τα συσσωμάτωμα των δύο βιοπολυμερών παρουσιάζουν διαφορετικές διεπιφανειακές ιδιότητες. Το γεγονός αυτό, οφείλεται στην ικανότητα των συμπλοκών πρωτεΐνης-πολυσακχαρίτη, να αναδιοργανώνονται στη διεπιφάνεια με συσσωμάτωση, σχηματίζοντας διεπιφανειακές μικροπηκτές, με παράδειγμα εφαρμογής του τη σύνθεση παγωτού με βελτιωμένη σταθερότητα φυσαλίδων αέρα. Επιπλέον, στην περίπτωση σταθεροποίησης του αφρού από σύμπλοκα, είναι επιθυμητή η διακύμανση στην αναλογία βιοπολυμερών, με σκοπό τον έλεγχο του μεγέθους των συμπλοκών, και επομένως της επιφανειακής τους δραστηριότητας. (44)

5.3.2. Σταθερότητα γαλακτώματος ελαίου-νερού

Ιδιαίτερη προσοχή, έχει λάβει η χρήση συμπλοκών πολυσακχαρίτη-πρωτεΐνης, για τη σταθεροποίηση γαλακτωμάτων ελαίου-νερού. Η σταθερότητα των συστημάτων γαλακτώματος, επηρεάζεται κυρίως από τους δύο σημαντικούς παράγοντες, οι οποίοι αναφέρονται λεπτομερώς

στο Κεφάλαιο 7 και είναι η απωστική δύναμη μεταξύ δύο σταγονιδίων υγρού, που βρίσκονται σε στενή απόσταση και η ωρίμανση Ostwald, η οποία συνεπάγεται την μετατροπή μικρότερων σταγονιδίων σε ένα μεγαλύτερο. Αναλυτικότερα, ο υψηλότερος βαθμός απώσεως μεταξύ των δύο γειτονικών σταγονιδίων, οδηγεί σε μέγιστη σταθερότητα, λόγω της ύπαρξης λιγότερων πιθανοτήτων συσσωμάτωσης και διέπεται από την απόσταση μεταξύ των σταγονιδίων, δηλαδή το πάχος της λεπτής υγρής μεμβράνης μεταξύ δύο σταγονιδίων, που πλησιάζουν πολύ μεταξύ τους, το οποίο εξαρτάται από το χώρο που καταλαμβάνεται από τα προσροφημένα μόρια, στη διεπιφάνεια των σταγονιδίων. Το γαλάκτωμα, γενικά σταθεροποιείται από διαφορετικούς γαλακτωματοποιητές, όπως επιφανειοδραστικά, πρωτεΐνες ή υδροκολλοειδή (σύμπλοκα πρωτεΐνης-πολυσακχαρίτη) και το σχετικό πάχος της υγρής μεμβράνης, μεταξύ δύο στενών σταγονιδίων, ακολουθεί την εξής σειρά: υδροκολλοειδή (5-10 nm) > πρωτεΐνες (1-5 nm) > επιφανειοδραστικά (0,5-1 nm). Επομένως, η σταθερότητα των σταγονιδίων γαλακτώματος, αναμένεται να είναι υψηλότερη, όταν αυτά σταθεροποιούνται από σύμπλοκα πρωτεΐνης-πολυσακχαρίτη, σε σύγκριση με τη σταθεροποίηση τους από πρωτεΐνες ή επιφανειοδραστικά μόρια. (45)

Αναφορικά με την ωρίμανση του Ostwald, η κινητήρια δύναμη της, είναι η διαφορά στο χημικό δυναμικό των μικρότερων και μεγαλύτερων σταγονιδίων και καθορίζεται σημαντικά από τον τύπο του γαλακτωματοποιητή. Η εκρόφηση του γαλακτωματοποιητή και επομένως, η αποτροπή της διαδικασίας ωρίμανσης, είναι λιγότερο πιθανή στην περίπτωση των γαλακτωμάτων, που σταθεροποιούνται από το μόριο πρωτεΐνης, καθώς παρέχεται ένα παχύτερο ελαστικό στρώμα, γύρω από τα σταγονίδια και μεγαλύτερη κάλυψη της διεπιφανειακής περιοχής. Αντίθετα, η διαδικασία ωρίμανσης Ostwald, είναι δυνατό να αποφευχθεί εντελώς, μόνο εάν το γαλάκτωμα σταθεροποιηθεί από αδιάλυτα σωματίδια ή εάν το πάχος του ελαστικού στρώματος, γύρω από τα διασπαρμένα σταγονίδια, είναι ίσο με την ακτίνα των σταγονιδίων. Έτσι, τα σωματιδιακά γαλακτώματα, είναι ικανά να αποτρέψουν τη διαδικασία ωρίμανσης εντελώς, ενώ, τα υδροκολλοειδή (σύμπλοκα πρωτεΐνης-πολυσακχαρίτη), τα οποία συμπεριφέρονται κυρίως σαν μαλακά πολυμερή, μοιάζουν περισσότερο με τις δομές πρωτεΐνης και δεν μπορούν να αποφύγουν πλήρως τη διαδικασία ωρίμανσης. (46)

Παράλληλα, σταθεροποιημένα γαλακτώματα, με σύμπλοκα πρωτεΐνης-πολυσακχαρίτη, είναι δυνατόν να ληφθούν, χρησιμοποιώντας δύο εναλλακτικές μεθόδους. Η πρώτη, ονομάζεται «γαλάκτωμα διπλής στιβάδας» και περιλαμβάνει την προσθήκη φορτισμένου διαλύματος

πολυσακχαρίτη, σε ένα πρωτογενές γαλάκτωμα, το οποίο έχει ήδη σταθεροποιηθεί από την πρωτεΐνη, ως απλός γαλακτωματοποιητής, για την παραγωγή σταγονιδίων γαλακτώματος, με επιφανειακή επίστρωση πρωτεΐνης-πολυσακχαρίτη. Η δεύτερη μέθοδος, αποτελεί το «μικτό γαλάκτωμα» και περιλαμβάνει την προσθήκη ενός υδατικού διαλύματος, που περιέχει τα σύμπλοκα πρωτεΐνης-πολυσακχαρίτη, ως γαλακτωματοποιητή, πριν την ομογενοποίηση. Ωστόσο, η προσέγγιση «γαλακτώματος διπλής στιβάδας», παρουσιάζει μειονεκτήματα, καθώς το σταγονίδιο γαλακτώματος, τείνει να κροκιδώνεται, λόγω δύο διαφορετικών μηχανισμών: της γεφύρωσης κροκίδωσης και της κροκίδωσης εξάντλησης, που αναλύονται στο επόμενο Κεφάλαιο 7. Για το λόγο αυτό, είναι ιδιαίτερα χρήσιμη η δημιουργία γαλακτωμάτων με πρωτεΐνες και πολυσακχαρίτες, πριν από την ομογενοποίηση, σε σύγκριση με την προσέγγιση διπλής στιβάδας. (43)

5.3.3. Ενθυλάκωση και απελευθέρωση ενεργών μορίων

Η ενθυλάκωση, γενικά περιλαμβάνει όλες τις πτυχές της προστασίας ή της σταθεροποίησης των ενεργών μορίων (αρώματα και βιοδραστικά), έναντι αρκετών εξωτερικών δραστικών συνθηκών, όπως η θερμότητα, το δυναμικό οξειδοαναγωγής, η διάτμηση, η θερμοκρασία, το φως, το οξυγόνο και η υγρασία. Η ελεγχόμενη απελευθέρωση, διευκολύνει τη μεταφορά του εγκλεισμένου υλικού, στο στοχευμένο μέρος, με τη βέλτιστη κινητική. Οι συνθήκες ενθυλάκωσης σε ενεργά μόρια, εξαρτώνται από την ευαισθησία (θερμική και οξειδοαναγωγική σταθερότητα) και τη φύση (διαλυτότητα σε έλαιο και νερό) των δραστικών συστατικών, αλλά η απελευθέρωση μπορεί να ελεγχθεί με μηχανική διεργασία, διακυμάνσεις του pH (όξιμες συνθήκες στο στομάχι, ουδέτερες στο έντερο) ή ενζυματικές δράσεις. Στη σύγχρονη εποχή, έχουν αναπτυχθεί αρκετά συστήματα πρωτεϊνών-πολυσακχαριτών, όπως πρωτεΐνες ορού γάλακτος, φυτικές πρωτεΐνες, πηκτίνη και κόμμι ξανθάνης, για τη διεύρυνση των τεχνικών ενθυλάκωσης. Εκτός από αυτούς τους συνδυασμούς πολυσακχαρίτη-πρωτεΐνης, οι παράμετροι της διεργασίας ενθυλάκωσης όπως το pH, η ιοντική ισχύς, η μακρομοριακή αναλογία και διαδικασία ξήρανσης/ομογενοποίησης, καθορίζουν επίσης σημαντικά τη διαμόρφωση των φυσικών ιδιοτήτων (πάχος, ρυθμός διόγκωσης, κ.λπ.) της στοιβάδας του συσσωματώματος, στις μικροκάψουλες ενθυλάκωσης. Σε αντίθεση με την ενθυλάκωση μέσω συσσωμάτωσης, η τεχνική διπλού στρώματος γαλακτώματος, που σχηματίζεται από διαδοχική προσρόφηση βιοπολυμερών στη διεπιφάνεια, αποτελεί εναλλακτικό τρόπο για τη μελέτη των ιδιοτήτων της μικροκάψουλας. Αυτό συμβαίνει, καθώς πρόσφατα, διαπιστώθηκε ότι η προσέγγιση αυτή, παρέχει καλύτερο έλεγχο της διεπιφανειακής δομής, του φορτίου, του πάχους

και της διαπερατότητας, με βελτιωμένη σταθερότητα και ελεγχόμενη απελευθέρωση δραστικών ουσιών. (41)

6. ΠΗΚΤΕΣ ΒΙΟΠΟΛΥΜΕΡΩΝ

6.1. Σύνθεση και χαρακτηρισμός πηκτής

Η δημιουργία πηκτής, προϋποθέτει την αρχική ύπαρξη τουλάχιστον δύο συστατικών, ενός διαλύτη και μιας διαλυμένης ουσίας. Η αρχική φάση, αποτελείται από ένα υγρό, συνήθως νερό, στο οποίο διαλύεται ένα βιολογικό μακρομόριο, όπως μια πρωτεΐνη ή ένας υδατάνθρακας. Αναλυτικότερα, η αρχική κατάσταση ρευστού είναι το διάλυμα, το οποίο υπό ορισμένες συνθήκες θερμοκρασίας, pH και συγκέντρωσης, υπόκειται σε μετάβαση φάσης, περνώντας στην κατάσταση πηκτής. Η μετάβαση αυτή από την αταξία (διάλυμα) προς την τάξη (πηκτή), ονομάζεται πηκτωματοποίηση ή αλλιώς σχηματισμός πηκτής, εξαρτάται από τους νόμους της θερμοδυναμικής και πιο συγκεκριμένα από τη σχέση $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$, η οποία απαιτείται να έχει αρνητική τιμή. (47)

Έτσι, ο σχηματισμός πηκτής είναι αποτέλεσμα της ισορροπίας μεταξύ ανταγωνιστικών αλληλεπιδράσεων. Ειδικότερα, η εντροπία, η οποία ευνοεί την κατάσταση διαλύματος, επηρεάζεται σημαντικά από τις ηλεκτροστατικές απώσεις μεταξύ των αλυσίδων καθώς επίσης και από κάποιες δομικές ανωμαλίες και διακλαδώσεις. Παράλληλα, η ενθαλπία, η οποία ευνοεί τη διαμοριακή σύζευξη, δηλαδή τη δημιουργία δεσμών και επομένως πηκτής, επηρεάζεται από την παρουσία συγκεκριμένων αλληλεπιδράσεων, όπως η ικανότητα δημιουργίας μη ομοιοπολικών δεσμών μεταξύ των αλυσίδων, οι ηλεκτροστατικές έλξεις και οι αλληλεπιδράσεις με το νερό ενώ, προς την κατεύθυνση της τάξης δρουν επίσης η δυσκαμψία της αλυσίδας και η δυνατότητα καλού πακεταρίσματος των αλυσίδων. (3)

Ο διαλύτης και η διαλυμένη ουσία σχηματίζουν στην κατάσταση πηκτής, ένα τρισδιάστατο δίκτυο, το οποίο δημιουργείται από διασταυρώσεις των αλυσίδων του μακρομορίου και είναι χαρακτηριστικό της πηκτωματοποίησης. Επιπλέον, δεν μπορούν να διακριθούν μεταξύ τους στη φάση πηκτής, καθώς αυτή είναι ομοιογενής, ενώ, γενικά, ο όρος πηκτή, προορίζεται για συστήματα στα οποία ο διαλύτης είναι το κυρίαρχο συστατικό. (47)

Αξίζει να σημειωθεί ότι, ενώ τα βιοπολυμερή μπορούν να προσδώσουν αύξηση του ιξώδους σε υδατικά διαλύματα, δεν διαθέτουν όλα την ικανότητα να σχηματίζουν πηκτές. Επιπλέον, παρατηρούνται περιπτώσεις βιοπολυμερών που δρουν συνεργιστικά για το σχηματισμό πηκτής, καθώς δεν πήζουν από μόνα τους. Γενικότερα, τα διάφορα είδη βιοπολυμερών, διαφέρουν στον

τρόπο επίτευξης της πήξης τους καθώς και στην ποιότητα, τη σταθερότητα και τις οργανοληπτικές ιδιότητες της πηκτής, που αυτά δημιουργούν. (3)

Η πηκτή, απαιτείται να διαθέτει κάποιες περιοχές αταξίας, δηλαδή οι αλυσίδες της να μην ενώνονται σε όλο το μήκος τους, προκειμένου να δημιουργηθεί ένα εκτεταμένο και ενυδατωμένο δίκτυο και όχι ένα στερεό ίζημα. Το γεγονός αυτό, επιτυγχάνεται με την ύπαρξη ανωμαλιών στην αλυσίδα, καθώς οι περιοδικές ακολουθίες της ευνοούν την υιοθέτηση διαμόρφωσης με τάξη. Τέτοιες ανωμαλίες αλυσίδας, αποτελούν η ταυτόχρονη ύπαρξη περιοχών με ή χωρίς υποκαταστάτες, όπως συμβαίνει στις γαλακτομανάνες, ή η παρουσία ενός πρόσθετου σακχάρου, το οποίο δεν ταιριάζει στην υδατανθρακική αλυσίδα, όπως η ραμνόζη στις πηκτίνες. (47)

6.2. Παράγοντες πήξης

Η πήξη των βιοπολυμερών καθορίζεται από ποικίλες παραμέτρους, όπως η συγκέντρωση, ο χρόνος, η θερμοκρασία, η παρουσία συνδιαλυτών και το pH. Αναλυτικότερα, η θεωρία σχηματισμού πηκτής του Flory-Stockmayer, αναφέρει ότι για ένα πολυμερές που έχει f πιθανές θέσεις σύνδεσης (λειτουργικότητες) ανά αλυσίδα, υπάρχει μια κρίσιμη ποσότητα αυτών, α_c , οι οποίες πρέπει να αντιδράσουν, πριν δημιουργηθεί το τρισδιάστατο δίκτυο. Έτσι, ισχύει η σχέση $\alpha_c = \frac{1}{f-1}$ (3) όπου, για τιμές του α μικρότερες από α_c , μπορούν να προκύψουν μόνο συσσωματώματα περιορισμένου μεγέθους ενώ, μόλις το α φτάσει την τιμή α_c , γεγονός που συμβαίνει μετά από ένα συγκεκριμένο χρονικό διάστημα t_g (χρόνος πηκτωματοποίησης), ένα μόριο με αυξημένο μέγεθος συγκριτικά με τα υπόλοιπα, γίνεται "gel fraction". Στο σημείο αυτό, που ονομάζεται σημείο πήξης, το ιζώδες και το αναλογικό μέσο μοριακό βάρος τείνουν στο άπειρο, ενώ καθώς ο βαθμός διασταύρωσης των αλυσίδων αυξάνεται, η ισχύς της πηκτής αυξάνεται απότομα, μέχρι το σημείο όπου υπάρχει ισορροπία μεταξύ της δημιουργίας και του σπασίματος του δεσμού. Επιπλέον, καθοριστικό παράγοντα πήξης, για ένα δεδομένο χρόνο t ($t > t_g$), αποτελεί αυτός της συγκέντρωσης, καθώς σε συγκεντρώσεις μικρότερες της κρίσιμης συγκέντρωσης πήξης c_0 , η οποία είναι χαρακτηριστική για το κάθε βιοπολυμερές, δεν μπορεί να σχηματιστεί πηκτή. Άλλοι κρίσιμοι για την πήξη παράγοντες σε πολλά βιοπολυμερή, είναι το pH, το οποίο επηρεάζει τις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των αλυσίδων, τη συμπεριφορά των πρωτεϊνών κ.ά. και η παρουσία συνδιαλυτών όπως άλατα (μονοσθενή και δισθενή κατιόντα) και σάκχαρα. (3)

6.3. Ιδιότητες Πηκτών

6.3.1. Θερμικές ιδιότητες

Η πηκτωματοποίηση, είναι μια πολύπλοκη διαδικασία και οι συνθήκες υπό τις οποίες συμβαίνει, είναι συνάρτηση της θερμικής επεξεργασίας του συστήματος. Ένα σύστημα βιοπολυμερούς, μπορεί να σχηματίσει πηκτή, είτε με θέρμανση είτε με ψύξη και η πηκτή του να χάνει μέρος του υγρού της, με την πάροδο του χρόνου και να συρρικνώνεται, εμφανίζοντας το φαινόμενο της συναίρεσης. Επίσης, μπορεί να εμφανίσει είτε θερμικά αντιστρεπτή πηκτή, η οποία, με μεταβολή της θερμοκρασίας, μεταπίπτει από τη μορφή του διαλύματος σε αυτό της πηκτής και το αντίστροφο, είτε μη αντιστρεπτή.

Σε πολλές πηκτές, ενός δεδομένου συστήματος, σταθερής συγκέντρωσης διαλυμένης ουσίας στον διαλύτη, δεν υπάρχει σταθερή και μοναδική θερμοκρασία πηκτωματοποίησης, και η θερμοκρασία αυτή, αποτελεί συνάρτηση του θερμικού ιστορικού του υλικού, όπως του ρυθμού ψύξης. Επιπλέον, όταν το σύστημα βρίσκεται σε κατάσταση πηκτής και θερμαίνεται εκ νέου, μπορεί να μην μεταπηδά ξανά στη φάση διαλύματος, στη θερμοκρασία στην οποία έλαβε χώρα η πηκτωματοποίηση, καθώς συμβαίνει το φαινόμενο της θερμική υστέρησης και η πηκτή δεν βρίσκεται σε κατάσταση θερμοδυναμικής ισορροπίας.

Η πηκτωματοποίηση και η τήξη μιας πηκτής, μπορούν να μελετηθούν με τη θερμοαναλυτική τεχνική της διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης, σε διαφορετικά συστήματα, η οποία στηρίζεται στους νόμους της θερμοδυναμικής $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$. Η τεχνική αυτή, μετρά και ποσοτικοποιεί τη μεταφορά θερμότητας, που σχετίζεται με οποιαδήποτε από τις αλλαγές που μπορεί να υποστεί κάθε ουσία όταν θερμανθεί, ανάλογα με τη φύση της, συναρτήσει της θερμοκρασίας. Έτσι, σύμφωνα με τη μελέτη της τήξης των πηκτών με θερμιδομετρία, προκύπτει ότι για μια δεδομένη πηκτή, το σημείο τήξης και η τιμή της ενθαλπίας σύντηξης, εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από τη θερμοκρασία και τον ρυθμό πηκτωματοποίησης, και κατά συνέπεια, από το θερμικό ιστορικό του υλικού. (47)

6.3.2. Μηχανικές ιδιότητες

Η κατάσταση πηκτής, παρουσιάζει σημαντικές ομοιότητες με τη στερεά κατάσταση, με αποτέλεσμα, η πηκτή να χαρακτηρίζεται από τις ρεολογικές της ιδιότητες, οι οποίες είναι το ιξώδες και η ελαστικότητα. Η μελέτη των μηχανικών ιδιοτήτων των πηκτών, πραγματοποιείται με την εκτίμηση της ελαστικής τους απόκρισης, με μέτρηση του ελαστικού συντελεστή και της

ιξωδοελαστικής τους συμπεριφοράς ενώ, οι μετρήσεις εκτελούνται συνήθως με δύο μεθόδους, την συμπίεση της πηκτής ή την έκθεση της σε περιοδικές μηχανικές διαταραχές.

Η αρχή της ρεολογικής μέτρησης, περιλαμβάνει την επιβολή περιοδικής παραμόρφωσης στο υλικό ενώ, σύμφωνα με αυτή, προκύπτει ότι η συνοχή μία πηκτής, η οποία χαρακτηρίζεται από το συντελεστή ελαστικότητας, ποικίλλει σημαντικά ανάλογα με τη χημική της σύνθεση και παράγοντες όπως η θερμοκρασία και το pH του αρχικού διαλύματος. Έτσι, υπάρχει μεγάλη ποικιλία πηκτών, που κυμαίνονται από πολύ ιξώδη υγρά έως ελαστικά στερεά. Επίσης, στις φυσικές καθώς και στις χημικές πηκτές, παρατηρείται μια πολύ σημαντική αύξηση των συντελεστών G' και G'' στην περιοχή της μετάβασης από διάλυμα σε πηκτή, γεγονός που υποδηλώνει ότι μεγέθη, όπως το ιξώδες της φάσης διαλύματος και ο ελαστικός συντελεστής διάτμησης, εμφανίζουν κρίσιμη συμπεριφορά, κοντά σε αυτή την περιοχή μετάβασης. (47)

6.4. Τύποι πηκτών

6.4.1. Οργανικές/Ανόργανες

Τα μόρια της φάσης, που διασκορπίζεται στον διαλύτη, μπορεί να είναι ανόργανα ή οργανικά. Έτσι, ανόργανες πηκτές, λαμβάνονται από διαλύματα κολλοειδών (κρυσταλλικών ή άμορφων) μεταλλικών υδροξειδίων, των οποίων το μέγεθος είναι της τάξης των 5-10 nm ενώ, οργανικές πηκτές, λαμβάνονται από διαλύματα πολυμερών, όπως το πολυακρυλαμίδιο και πολυστυρόλιο ή βιοπολυμερή, όπως το κολλαγόνο. (47)

6.4.2. Φυσικές

Υπάρχουν δύο ευρείες κατηγορίες πηκτών, οι φυσικές και οι χημικές πηκτές. Ειδικότερα, οι φυσικές πηκτές, αποτελούνται από εκτεταμένες ζώνες διασταύρωσης μεταξύ τμημάτων αλυσίδων και σταθεροποιούνται από μη ομοιοπολικούς δεσμούς, φυσικής προέλευσης, που δρουν συνεργιστικά, όπως οι van der Waals, οι δεσμοί υδρογόνου και οι υδρόφοβοι δεσμοί. Οι δεσμοί αυτοί, είναι ασθενείς και για να είναι σταθερό το σύστημα, δεν πρέπει να εντοπίζονται σε ένα σημείο, αλλά να επεκτείνονται σε μεγαλύτερο διάστημα ενώ, δεδομένου ότι η ενέργεια τους είναι ασθενής, η πηκτωματοποίηση φυσικών πηκτών είναι θερμικά αντιστρεπτή διαδικασία. (3) Οι πηκτές που λαμβάνονται από πολυμερή βιολογικής προέλευσης, ανήκουν στην κατηγορία αυτή και σταθεροποιούνται από δευτερεύοντες πολύ ασθενείς δεσμούς, οι οποίοι υπερνικούν το εντροπικό πλεονέκτημα προς την αταξία, δρώντας συνεργιστικά. Οι δύο τύποι πηκτών

βιοπολυμερούς, που είναι ιδιαίτερα σημαντικοί, είναι οι πηκτές πρωτεΐνης και οι πηκτές πολυσακχαρίτη. (48)

6.4.3. Χημικές

Στις χημικές πηκτές, το τρισδιάστατο δίκτυο σχηματίζεται από μια χημική αντίδραση. Οι αλυσίδες διασταυρώνονται σε ένα σημείο ή μέσω ομοιοπολικών δεσμών μεταξύ συγκεκριμένων ατόμων της αλυσίδας. Οι χημικές πηκτές σχηματίζονται μη αντιστρεπτά, καθώς η καταστροφή των ομοιοπολικών δεσμών, προκαλεί αποδόμηση των πολυμερών αλυσίδων που συνιστούν την πηκτή, η οποία δεν επιτρέπει πλέον την ανασύστασή της. Παραδείγματα χημικών πηκτών, αποτελούν οι πηκτές πολυακρυλαμίδιου και πολυστυρολίου. (3)

7. ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΑ

Τα γαλακτώματα, αποτελούν κolloειδή συστήματα διασποράς, των οποίων οι διάμετροι είναι συνήθως, μεταξύ 0,1 και 100μm και προκύπτουν από την ανάμιξη δύο μη αναμίξιμων υγρών, όπου το ένα βρίσκεται διεσπαρμένο σε μορφή πολύ μικρών σταγονιδίων, σε όλη τη μάζα του άλλου υγρού. Το υγρό που είναι διεσπαρμένο υπό μορφή σταγονιδίων, αναφέρεται ως διεσπαρμένη, ασυνεχής ή εσωτερική φάση, ενώ το περιβάλλον υγρό, είναι γνωστό ως διασπείρουσα, συνεχής ή εξωτερική φάση. Το μη αναμίξιμο υγρό, μπορεί να είναι νερό, έλαιο ή κάποια λιπαρή ύλη ενώ, στα συστήματα τροφίμων οι δυο μη αναμίξιμες φάσεις, είναι συνήθως το έλαιο και το νερό. (49)

7.1. Ταξινόμηση

Με βάση μέγεθος και ειδικά τη διάμετρο των διεσπαρμένων σταγονιδίων τους, τα συστήματα γαλακτωμάτων ταξινομούνται, σε τρεις διαφορετικούς τύπους:

(α) Τα μακρογαλακτώματα, τα οποία αποτελούν τα συμβατικά γαλακτώματα, με τυπική διάμετρο σταγονιδίων από 100nm έως 100 μm. Τα γαλακτώματα αυτά, είναι αδιαφανή στο ορατό φως και τείνουν να είναι φυσικά ασταθή, ειδικά όταν υφίστανται περιβαλλοντικό στρες, όπως βαρυτικό διαχωρισμό, συσσωμάτωση, πήξη και ωρίμανση κατά Ostwald, λόγω της σχετικά μεγάλης διεπιφανειακής τάσης τους. Αποτελούν τον πιο κοινό τύπο γαλακτώματος, που χρησιμοποιείται σε ποικίλες μορφές όπως γάλα, ποτά, μαγιονέζα, σάλτσες και επιδόρπια.

(β) Τα μικρογαλακτώματα, που έχουν αυθόρμητο σχήμα, σε διαμέτρους που κυμαίνονται από 5 έως 100 nm, είναι διάφανες διασπορές και θερμοδυναμικά σταθερές. Επιπλέον, απαιτούν υψηλή συγκέντρωση επιφανειοδραστικού παράγοντα για την προετοιμασία τους, σε ποσοστό 20% ή υψηλότερο και οι φάσεις του, σχηματίζονται με αυτοσυναρμολόγηση, δηλαδή ένα μείγμα που περιλαμβάνει κατάλληλες ποσότητες νερού, ελαίου και επιφανειοδραστικών συστατικών, μπορεί να δημιουργήσει αυθόρμητα ένα μικρογαλάκτωμα.

(γ) Τα νανογαλακτώματα, τα οποία αποτελούν δομές με διάμετρο σταγονιδίων από 20 έως 200 nm και είναι ανώτερα από τα συμβατικά γαλακτώματα. Αυτό συμβαίνει, καθώς έχουν διάφανη και ημιδιάφανη εμφάνιση, μικρότερο μέγεθος σταγονιδίων και είναι σταθερά έναντι της καθίζησης και της κρέμωσης. Επιπλέον, τα γαλακτώματα αυτά, απαιτούν επιφανειοδραστικό παράγοντα στα στάδια παρασκευής τους, σε ποσοστό λιγότερο από 10% ενώ, καθώς διαθέτουν ευρεία επιφάνεια, οδηγούν στη γρήγορη διείδυση των ενεργών συστατικών. Σε αντίθεση με τα θερμοδυναμικά

σταθερά μικρογαλακτώματα, τα νανογαλακτώματα είναι ασταθή συστήματα, τα οποία είναι πιθανό να υποστούν περιβαλλοντική υποβάθμιση και ο σχηματισμός τους απαιτεί συνήθως την ενεργειακή είσοδο μιας μηχανικής συσκευής. (50)

Παράλληλα, τα γαλακτώματα, ανάλογα με τη φύση της συνεχούς και της ασυνεχούς φάσης τους, κατατάσσονται στις εξής κατηγορίες:

-Γαλακτώματα τύπου έλαιο σε νερό (o/w), στα οποία τα σταγονίδια του ελαίου (λιποσφαίρια), διασπείρονται στη συνεχή υδατική φάση. Χαρακτηριστικά παραδείγματα, αποτελούν το γάλα, η κρέμα γάλακτος, διάφορες σούπες και η μαγιονέζα.

-Γαλακτώματα τύπου νερό σε έλαιο (w/o), όπου το έλαιο αποτελεί τη συνεχή φάση και σε αυτή βρίσκονται σε διασπορά σταγονίδια νερού, με παραδείγματα το βούτυρο και τη μαργαρίνη.

-Διπλά γαλακτώματα, τύπου έλαιο σε νερό σε έλαιο (o/w/o) και νερό σε έλαιο σε νερό (w/o/w), στα οποία τα σταγονίδια ελαίου ή νερού, βρίσκονται σε διασπορά σε σταγονίδια νερού ή ελαίου αντίστοιχα, τα οποία με τη σειρά τους διασπείρονται στη συνεχή φάση ελαίου ή νερού. Οι τύποι γαλακτωμάτων αυτοί, αποτελούν πολύπλοκα συστήματα, με δυσκολία παρασκευής και ελέγχου, καθώς τα σταγονίδια νερού μέσα στα λιποσφαίρια, όπως και τα λιποσφαίρια μέσα στην υδατική φάση, θα πρέπει να είναι σταθερά. Χρησιμοποιούνται για την προστασία και την ελεγχόμενη απελευθέρωση ευαίσθητων συστατικών ή για την παρασκευή τροφίμων με χαμηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά.

-Πολλαπλά γαλακτώματα, όπως τύπου νερό σε έλαιο σε νερό σε έλαιο (w/o/w/o). (51)

7.2. Γαλακτωματοποιητές

Η δημιουργία σταθερών γαλακτωμάτων, καθίσταται αναγκαία για τη βιομηχανία τροφίμων και επιτυγχάνεται με την ενσωμάτωση κατάλληλων ουσιών, των γαλακτωματοποιητών ή αλλιώς παραγόντων γαλακτωματοποίησης. Οι γαλακτωματοποιητικοί παράγοντες, είναι αμφίφιλα μόρια, που περιλαμβάνουν τόσο υδρόφιλα όσο και λιπόφιλα μέρη, γεγονός στο οποίο οφείλεται η γαλακτωματοποιητική τους ικανότητα. Σύμφωνα με αυτή τη δομή, οι πολικές ομάδες προσαρμόζουν τον γαλακτωματοποιητή στην υδατική φάση και οι μη πολικές, κατευθύνουν το μόριο του γαλακτωματοποιητή στην φάση ελαίου. Παράλληλα, αποτελούν επιφανειοδραστικές ενώσεις, που προστίθενται στο γαλάκτωμα πριν ή μετά την ομογενοποίηση και απορροφώνται

στην επιφάνεια των σταγονιδίων, εξασφαλίζοντας κινητική σταθερότητα, για μία ορισμένη περίοδο. Οι κύριες επιδράσεις των παραγόντων αυτών είναι οι ακόλουθες:

-Η μείωση της διεπιφανειακής τάσης ανάμεσα στις φάσεις νερού-ελαίου και η δημιουργία μια διεπιφανειακής μεμβράνης, παρέχοντας δομικές ή ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ σταγονιδίων.

-Η μείωση της απαιτούμενης ποσότητας ενέργειας, για την αποικοδόμηση των μεγάλων σωματιδίων, ώστε να εξασφαλιστεί ο σχηματισμός μικρότερων σταγονιδίων.

-Η αποφυγή της συνένωσης, με τη δημιουργία ενός προστατευτικού στρώματος, γύρω από τα σταγονίδια.

-Η παροχή πρόσθετων λειτουργιών, όπως η τροποποίηση της κρυστάλλωσης του ελαίου, η πραγματοποίηση αλληλεπιδράσεων με συστατικά υδατανθράκων, ο σχηματισμός μεμβρανών και ο έλεγχος της μεταφοράς οξυγόνου ή υγρασίας. (50)

Στη βιομηχανία τροφίμων, οι τύποι γαλακτωματοποιητών, που χρησιμοποιούνται ευρέως, είναι ενώσεις λιπαρής φύσης, μικρού μοριακού βάρους, φωσφολιπίδια, καθώς και αμφίφιλα βιοπολυμερή, όπως πρωτεΐνες και πολυσακχαρίτες. (51)

7.3. Σταθεροποιητές

Η παρασκευή και η σταθεροποίηση των γαλακτωμάτων, καθορίζεται σημαντικά και από τους σταθεροποιητές. Πρόκειται για χημικές ουσίες ή μείγματα ουσιών, φυσικής ή συνθετικής προέλευσης, που παρέχουν μακροπρόθεσμη σταθερότητα στα κολλοειδή τροφίμων, πιθανώς μέσω ενός μηχανισμού, που επηρεάζει τη ρεολογία της φάσης του κύριου όγκου τους. Αναλυτικότερα, έλκουν τα μόρια του νερού, μειώνοντας τη δράση τους στην υδατική φάση, με αποτέλεσμα τη μείωση της διεπιφανειακής τάσης και, κατά συνέπεια, την αύξηση της σταθερότητας του γαλακτώματος. Χαρακτηριστικά παραδείγματα τέτοιων ουσιών, αποτελούν πολυσακχαρίτες, όπως η ξανθάνη ή τα παράγωγα κυτταρίνης, που λειτουργούν μόνο ως σταθεροποιητές, καθώς αδυνατούν να χρησιμοποιηθούν μεμονωμένα για το σχηματισμό ενός γαλακτώματος, αλλά χρησιμοποιούνται μόνο για τη σταθεροποίηση κάποιου ήδη υπάρχοντος. Επίσης τα κόμμεα και οι πηκτίνες, ενώ δεν αποτελούν επιφανειοδραστικά μόρια, επιτυγχάνουν σταθεροποίηση γαλακτωμάτων ελαίου σε νερό, γεγονός που οφείλεται στην επίδρασή τους στο ιζώδες της υδατικής φάσης. (52)

7.4. Σχηματισμός γαλακτώματος

Ο σχηματισμός ενός γαλακτώματος, προϋποθέτει την παρουσία ελαίου, νερού, γαλακτωματοποιητή και ενέργειας ενώ, επηρεάζεται από τη διεπιφάνεια, δηλαδή την επιφάνεια (A) που διαχωρίζει την υδατική φάση από τη φάση του ελαίου. Η διεπιφανειακή τάση, αποτελεί βασικό παράγοντα, που καθορίζει τη διάσπαση σταγονιδίων μεταξύ των συνεχών και διεσπαρμένων φάσεων και ορίζεται ως η δύναμη ανά μονάδα μήκους, που δρα σε μια επιφάνεια. Σε υψηλές τιμές, δρα στην επιφάνεια ενός σταγονιδίου, ελαχιστοποιώντας την αποτελεσματικά, αναγκάζοντας το σταγονίδιο να αποκτήσει σφαιρικό σχήμα. Έτσι, στα γαλακτώματα τύπου ελαίου σε νερό, όπου τα άπολα μόρια του ελαίου, αδυνατούν να σχηματίσουν δεσμούς υδρογόνου με τα μόρια του νερού, καθώς διαθέτουν υψηλή υδροφοβικότητα, μειώνεται το μέγεθος των διασκορπισμένων στο νερό σωματιδίων του ελαίου, με σκοπό την ελάττωση της επιφάνειας επαφής τους με το νερό, και επομένως του αριθμού των ανεπιθύμητων αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μορίων των δύο φάσεων. Η τάση μείωσης του μεγέθους των σωματιδίων ελαίου, εκφράζει το απαραίτητο ποσό ενέργειας (ΔG) που απαιτείται να προσφερθεί στο σύστημα του γαλακτώματος, με σκοπό την αύξηση του εμβαδού της διεπιφάνειας μεταξύ των δυο μη αναμίξιμων υγρών και την επαναφορά του συστήματος στην κατάσταση ισορροπίας. Έτσι, η συνολική ελεύθερη ενέργεια που απαιτείται (ΔG), δίνεται από την εξίσωση : $\Delta G = \Delta A \gamma + T \Delta S$ (4), όπου ΔA η μεταβολή της διεπιφάνειας, γ η διεπιφανειακή τάση, T η θερμοκρασία και ΔS η μεταβολή της εντροπίας. Η σχέση ανάμεσα στην απαιτούμενη ενέργεια ΔG και τη διεπιφανειακή τάση, δείχνει ότι όσο λιγότερο αναμίξιμα είναι τα δυο υγρά, τόσο μεγαλύτερη είναι η διεπιφανειακή τάση και επομένως, τόσο μεγαλύτερη είναι η απαιτούμενη ποσότητα ενέργειας, για την επίτευξη της κατάστασης ισορροπίας. (53)

7.4.1. Ομογενοποίηση

Η παροχή της απαιτούμενης ενέργειας, για τη διάτμηση των σωματιδίων της ασυνεχούς φάσης σε μικρότερα σωματίδια, αυξάνοντας το εμβαδό της διεπιφάνειας ανάμεσα στα δυο μη αναμίξιμα υγρά, πραγματοποιείται με την εφαρμογή έντονης μηχανικής ανάδευσης στο σύστημα, δηλαδή ομογενοποίησης. Κατά τη διεργασία αυτή, με βάση τη φύση του αρχικού υλικού, είτε δημιουργούνται γαλακτώματα από δύο διακριτά μη αναμείξιμα υγρά και καλείται πρωτογενής, είτε μειώνεται το μέγεθος σταγονιδίων ενός ήδη υπάρχοντος γαλακτώματος και καλείται δευτερογενής. Η ανάδευση στο υγρό μίγμα, πραγματοποιείται με τη χρήση συσκευών, που ονομάζονται ομογενοποιητές, οι οποίοι διακρίνονται σε ποικίλους τύπους, όπως οι

ομογενοποιητές υψηλής διάτμησης και υψηλής πίεσης. Γενικά, η ομογενοποίηση, διασπά τα σταγονίδια γαλακτώματος, έως ότου φτάσουν σε μέγεθος ισορροπίας, στο οποίο να υπάρχει ισορροπία μεταξύ της εφαρμοζόμενης ενέργειας, των δυνάμεων διάτμησης και των φυσικοχημικών ιδιοτήτων των φάσεων ελαίου και νερού. (54)

7.5. Ιξώδες

Το ιξώδες ενός γαλακτώματος, επηρεάζεται από ποικιλία παραγόντων, όπως το ιξώδες της συνεχούς φάσης, η αναλογία συνεχούς και ασυνεχούς φάσης, το μέγεθος των διεσπαρμένων σταγονιδίων και ο τύπος και η συγκέντρωση του γαλακτωματοποιητή. Αναλυτικότερα, τα γαλακτώματα διαθέτουν συνήθως ιξώδες όμοιο με αυτό της συνεχούς φάσης, όταν η φάση αυτή αποτελεί το μεγαλύτερο μέρος του προϊόντος. Παράλληλα, η αύξηση της συγκέντρωσης της ασυνεχούς φάσης, οδηγεί σε αύξηση του ιξώδους του γαλακτώματος ενώ, η αύξηση του όγκου της ασυνεχούς φάσης, οδηγεί σε αύξηση του φαινομενικού ιξώδους, λόγω συγκέντρωσης μεγάλου αριθμού σωματιδίων στο γαλάκτωμα. Επιπλέον, κατά τη μείωση του μεγέθους των διεσπαρμένων σταγονιδίων, παρατηρείται μια μικρή αύξηση του ιξώδους του γαλακτώματος ενώ, οι πηκτικές ουσίες ή οι παράγοντες που αυξάνουν το ιξώδες και προστίθενται συνήθως σε γαλακτώματα με υψηλή αναλογία συνεχούς φάσης, οδηγούν σε αύξηση του φαινομενικού τους ιξώδους. (55)

7.6. Σταθερότητα

Ο όρος σταθερότητα γαλακτώματος, αναφέρεται στην ικανότητά του να αντιστέκεται στις αλλαγές των ιδιοτήτων του, με την πάροδο του χρόνου. Έτσι, όσο πιο σταθερό είναι ένα γαλάκτωμα, τόσο πιο αργά μεταβάλλονται οι ιδιότητες του και η μακροπρόθεσμη σταθερότητα του, βασίζεται σε μία ποικιλία δυνάμεων κολλοειδούς σταθεροποίησης, με σκοπό τη συγκράτηση των σταγονιδίων του ως ομοιογενή διασπορά. Η σταθερότητα των κολλοειδών συστημάτων, περιγράφεται από την θεωρία των DLVO (Derjaguin, Landau, Verwey, Overbeek), ως το αποτέλεσμα συσχέτισης ελκτικών δυνάμεων van der Waals και ηλεκτροστατικών απωστικών δυνάμεων. Οι απωστικές ηλεκτροστατικές δυνάμεις αυτές, οφείλονται στην διπλοστοιβάδα φορτίων, η οποία περιλαμβάνει τη φορτισμένη επιφάνεια των σταγονιδίων και τα ιόντα του γαλακτωματοποιητή, που έχουν αντίθετο φορτίο και περιβάλλουν τη σταγόνα. Έτσι, σύμφωνα με τη θεωρία αυτή, το γαλάκτωμα παραμένει σταθερό, για όσο διάστημα οι απωστικές δυνάμεις μεταξύ των σταγονιδίων είναι μεγαλύτερες από τις ελκτικές. Οι παράγοντες που επηρεάζουν τη σταθερότητα των γαλακτωμάτων, είναι η κατανομή του μεγέθους και το ηλεκτρικό φορτίο των σωματιδίων, η

συγκέντρωση των σωματιδίων που βρίσκονται διεσπαρμένα στην υδατική φάση, η πυκνότητα των δύο διαφορετικών φάσεων, τα ρεολογικά χαρακτηριστικά της υδατικής φάσης και οι κολλοειδείς αλληλεπιδράσεις μεταξύ των σωματιδίων. (56)

7.7. Αποσταθεροποίηση

Τα τυπικά γαλακτώματα τροφίμων, είναι γενικά θερμοδυναμικά ασταθή και μία ποικιλία μηχανισμών αστάθειας, μειώνει τη σταθερότητα τους, οδηγώντας τελικά σε πλήρη διαχωρισμό των φάσεων ελαίου και νερού. Το χρονικό διάστημα αυτής της αποσταθεροποίησης, κυμαίνεται από λίγα λεπτά έως αρκετά χρόνια, ανάλογα με την σύνθεση και τις μεθόδους επεξεργασίας τους. Οι κύριες διεργασίες που επιφέρουν αστάθεια στα γαλακτώματα και τελικά οδηγούν στην καταστροφή τους, με την πάροδο του χρόνου, είναι η κρέμωση, η καθίζηση, η συνένωση, η κροκίδωση και ο ωρίμανση Ostwald. (54)

7.7.1. Βαρυτικός διαχωρισμός των γαλακτωμάτων / Κρέμωση-Καθίζηση

Τα σωματίδια ενός γαλακτώματος, διαθέτουν διαφορετική πυκνότητα από αυτή του υγρού που τα περιβάλλει, με αποτέλεσμα να ασκείται σε αυτά, εκτός από την βαρυτική δύναμη και η δύναμη της άνωσης. Έτσι, όταν η πυκνότητά τους είναι μεγαλύτερη από εκείνη του περιβάλλοντος υγρού, τότε τείνουν να κινούνται προς τα κάτω, με το φαινόμενο αυτό να καλείται καθίζηση ενώ, όταν η πυκνότητα των σωματιδίων είναι μικρότερη από αυτή του υγρού, κινούνται προς τα επάνω και το φαινόμενο ονομάζεται κρέμωση. Επομένως, τα σωματίδια των γαλακτωμάτων ελαίου σε νερό (o/w), εμφανίζουν κρέμωση και τα σωματίδια στα γαλακτώματα νερού σε έλαιο (w/o), παρουσιάζουν καθίζηση. Η πλειοψηφία των γαλακτωμάτων που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων, παρουσιάζει το φαινόμενο της κρέμωσης, καθώς τα περισσότερα βρώσιμα έλαια έχουν πυκνότητες χαμηλότερες από αυτή του νερού. Γενικά, το φαινόμενο του βαρυτικού διαχωρισμού, έχει αρνητική επίδραση τόσο την ποιότητα όσο και την εμφάνιση των τροφίμων. (52)

7.7.2. Συνένωση

Η συνένωση, αποτελεί φαινόμενο κατά το οποίο δύο ή περισσότερα σταγονίδια συγχωνεύονται, σχηματίζοντας ένα μεγάλο σταγονίδιο. Αυτό παρατηρείται, όταν οι δυνάμεις που σταθεροποιούν την επιφάνεια, δεν απωθούν επαρκώς τα σταγονίδια, για τη διατήρηση της κολλοειδούς σταθερότητας, με αποτέλεσμα αυτά να έρχονται σε επαφή και να συγχωνεύονται. Το γεγονός αυτό, μπορεί να συμβεί όταν οι ηλεκτροστατικές απωστικές δυνάμεις των σταγονιδίων είναι

μικρές ή οι ελκτικές δυνάμεις van der Waals είναι αρκετά υψηλές, για να ξεπεράσουν τις απωστικές δυνάμεις. Τα μεγαλύτερα σταγονίδια, οδηγούν σε ταχύτερη κρέμωση ενώ, λόγω της μείωσης του αριθμού των σταγονιδίων και του μεγαλύτερου μεγέθους τους, η ικανότητα σκέδασης φωτός του γαλακτώματος μεταβάλλεται, οδηγώντας σε μείωση της αντιληπτής «λευκότητας». Για το λόγο αυτό, η εμφάνιση και η υφή ενός γαλακτωματοποιημένου φαγητού, μπορεί να επηρεαστεί σοβαρά με την παρουσία σημαντικής συνένωσης. (57)

7.7.3. Κροκίδωση

Η κροκίδωση, αποτελεί τη διαδικασία σχηματισμού συστάδων δύο ή περισσοτέρων σταγονιδίων, τα οποία παραμένουν πολύ κοντά, χωρίς όμως να συνενώνονται. Οι διαδικασίες έναρξής της, είναι όμοιες με τις υπεύθυνες για τα πρώτα στάδια της συνένωσης ενώ, στη συνέχεια, είτε η επιφάνεια των σταγονιδίων επικαλύπτεται από έναν σταθεροποιητικό γαλακτωματοποιητή, ο οποίος δρα αποτρέποντας τη συνένωση, είτε η ισορροπία μεταξύ απωστικών και ελκτικών δυνάμεων, δημιουργεί ένα δυναμικό πηγάδι ενέργειας, κρατώντας τα σταγονίδια σε σταθερή απόσταση μεταξύ τους, σχηματίζοντας έτσι συσσωματώματα σταγονιδίων. Ο τύπος κροκίδωσης αυτός, θεωρείται αναστρέψιμος, καθώς τα κροκιδωμένα σταγονίδια, με μειωμένη ηλεκτροστατική άπωση, μπορούν να διασκορπιστούν εκ νέου, εάν οι απωστικές δυνάμεις αυξηθούν, είτε με τη χρήση γαλακτωματοποιητών είτε με αλλαγή της ιοντικής ισχύος ή του pH της συνεχούς φάσης. (58)

Η κροκίδωση, προκαλείται επίσης από δύο άλλους μηχανισμούς, τη γεφύρωση και την ώσμωση. Ειδικότερα, η κροκίδωση λόγω γεφύρωσης, παρατηρείται όταν ένα μόριο μπορεί να προσροφάται ταυτόχρονα σε δύο σταγονίδια, σχηματίζοντας μια γέφυρα μεταξύ των σταγονιδίων και το φαινόμενο αυτό συνδέεται συνήθως, με μεγάλα, αμφιπαθή πολυμερή, που είναι αρκετά μεγάλα και εύκαμπτα, ώστε να μπορούν να προσροφηθούν σε δύο σταγονίδια. Γενικά η διαδικασία αυτή, θεωρείται μη αναστρέψιμη, καθώς η δύναμη που συγκρατεί τα σταγονίδια είναι πολύ μεγαλύτερη από την ηλεκτροστατικά ευνοούμενη κροκίδωση. (59)

Η κροκίδωση λόγω ώσμωσης, αποτελεί φαινόμενο κατά το οποίο τα σταγονίδια υποκινούνται από οσμωτικές δυνάμεις. Οι δυνάμεις που εμπλέκονται, εξαρτώνται από το μέγεθος και τη συγκέντρωση του πολυμερούς και από το μέγεθος των σταγονιδίων γαλακτώματος, ενώ η διαδικασία αυτή μπορεί να αντιστραφεί, αυξάνοντας τις απωστικές δυνάμεις μεταξύ των σταγονιδίων, με χρήση γαλακτωματοποιητών ή με αλλαγή του pH ή της ιοντικής ισχύος. Στα

συστήματα τροφίμων, η παρουσία της οδηγεί σε αποτελεσματική αύξηση του μέγεθος των σταγονιδίων και σε μείωση του αριθμού των σταγονιδίων στο σύστημα, οδηγώντας ενδεχομένως, σε αλλαγές στο ιξώδες και την εμφάνιση του προϊόντος ενώ, η εκτεταμένη κροκίδωση μπορεί να φανεί με τα μάτια, προκαλώντας μια συσσωματωμένη εμφάνιση και μία μη ελκυστική υφή στο στόμα. (60)

7.7.4. Ωρίμανση Ostwald

Η ωρίμανση κατά Ostwald, αποτελεί μια μακροπρόθεσμη διεργασία αστάθειας, η οποία περιλαμβάνει τη μαζική μεταφορά μορίων λιπιδίων μεταξύ των σταγονιδίων του γαλακτώματος και οφείλεται στην πίεση Laplace μέσα στα σταγονίδια γαλακτώματος. Αναλυτικότερα, η πίεση μέσα στα σταγονίδια με μικρότερη ακτίνα, είναι μεγαλύτερη από αυτήν των μεγαλύτερων σταγονιδίων, με αποτέλεσμα αυτή η διαφορά, να οδηγεί στον διαχωρισμό των μορίων λιπιδίων στα μικρά και στα μεγάλα σταγονίδια, μειώνοντας έτσι το μέγεθος των μικρών και αυξάνοντας το μέγεθος των μεγάλων σταγονιδίων. Η διαδικασία αυτή επηρεάζεται καθοριστικά από τη διαλυτότητα του μορίου λιπιδίων στη συνεχή φάση, η οποία είναι γενικά μικρή, επομένως στα γαλακτώματα τροφίμων, είναι γενικά πολύ αργή. (61)

8. ΕΛΑΙΟΠΗΚΤΕΣ

Στις μέρες μας, η βιομηχανία τροφίμων αναζητά ενεργά λύσεις για την εύρεση εναλλακτικών υγιεινότερων λιπαρών. Αυτό συμβαίνει, καθώς, τα περισσότερα προϊόντα διατροφής, με βάση τα λιπίδια, παρασκευάζονται από σημαντικές ποσότητες λίπους, με τη μορφή μερικώς υδρογονωμένων ελαίων (PHOs), των γνωστών trans-λιπαρών, όπως επίσης και από λίπη με υψηλή περιεκτικότητα σε κορεσμένα λιπαρά οξέα, όπως το ζωικό, τα οποία έχουν συνδεθεί με καρδιαγγειακές παθήσεις και άλλες επιβλαβείς επιπτώσεις, στην ανθρώπινη υγεία. Ως απόκριση στα δεδομένα αυτά, οι διατροφικές κατευθυντήριες γραμμές, που εκδόθηκαν από παγκόσμια ιδρύματα συνιστούν, τη μείωση από τη βιομηχανία τροφίμων, του συνολικού και κορεσμένου λίπος στα τρόφιμα, σε λιγότερο από το 10% της συνολικής κατανάλωσης ενέργειας και την αύξηση της χρήσης ακόρεστων λιπαρών οξέων, από φυτικές πηγές. (62)

Ωστόσο, η άμεση αντικατάσταση των κορεσμένων και trans-λιπαρών με ακόρεστα λίπη είναι αρκετά δύσκολη, διότι εκτός από την παροχή εξαιρετικών οργανοληπτικών ιδιοτήτων, όπως η γεύση και η τήξη στο στόμα, τα επιβλαβή αυτά λίπη, είναι επίσης υπεύθυνα για την παροχή φυσικών χαρακτηριστικών, όπως η σκληρότητα, η υφή, η τραγανότητα και η επάλειψη. Επιπλέον, σε ορισμένα τρόφιμα, οι κρύσταλλοι λίπους, διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ενίσχυση της κολλοειδούς σταθερότητας των συστημάτων, σταθεροποιώντας τις διεπιφάνειες ελαίου-νερού ή αέρα-νερού και κατ'επέκταση, ολόκληρο το δίκτυο. (63)

Για την αντιμετώπιση αυτής της πρόκλησης, οι κατασκευαστές τροφίμων διερευνούν μία σειρά εναλλακτικών λύσεων λίπους, με βάση ακόρεστα λίπη (υγρά έλαια), που μιμούνται τη λειτουργικότητα των κορεσμένων και trans λιπαρών. Μεταξύ των ποικίλων μεθόδων που διερευνήθηκαν, η παρασκευή ελαιοπηκτών, αποτελεί μία πολλά υποσχόμενη προσέγγιση, για τη βελτίωση του διατροφικού προφίλ των προϊόντων διατροφής. Πιο συγκεκριμένα, η ελαιοπηκτωματοποίηση, παρέχει τη δυνατότητα πηκτωματοποίησης μίας σημαντικής ποσότητας ($\geq 90\%$ κ.β.) υγρού ελαίου, σε μία σχετικά χαμηλή συγκέντρωση πηκτωματοποιητή (συνήθως κάτω από 8% κ.β., που μπορεί να φτάσει έως και 0,5% κ.β.). (64) Η χαρακτηριστική δομή, που συναντάται στις ελαιοπηκτές, συνήθως επιτυγχάνεται από δομικές μονάδες μορίων πηκτωματοποιητή, που οργανώνονται σε ένα τρισδιάστατο δίκτυο, με αποτέλεσμα την παγίδευση μεγάλης ποσότητας ελαίου, σε μια δομή που μοιάζει με πηκτή. (65)

Μεταξύ των ελαιοπηκτωματοποιητών, που έχουν μελετηθεί μέχρι στιγμής, τα πολυμερή θεωρούνται περισσότερο υποσχόμενα. Αυτό συμβαίνει, καθώς πολλά έχουν εγκριθεί, για χρήση σε τρόφιμα, λόγω της φυσικής τους προέλευσης, έχουν ήδη χαρακτηριστεί θετικά τόσο από την άποψη των φυσικοχημικών όσο και των θρεπτικών ιδιοτήτων που παρέχουν, ενώ ακόμα, καθίστανται αποτελεσματικά σε σχετικά χαμηλότερες συγκεντρώσεις. (66)

8.1. Μέθοδοι ελαιοπηκτωματοποίησης

Τα βιοπολυμερή, όπως οι πολυσακχαρίτες και οι πρωτεΐνες, έχουν χρησιμοποιηθεί εκτενώς ως δομικοί παράγοντες για τη δημιουργία πηκτών με βάση πολικούς διαλύτες. Ωστόσο, αδυνατούν να χρησιμοποιηθούν απευθείας για τη διαμόρφωση μη πολικών ελαίων, λόγω της περιορισμένης διασποράς τους σε μη πολικούς διαλύτες. Η λειτουργικότητά τους, να σχηματίζουν δομικό πλαίσιο στο διαλύτη αποδίδεται στη διασπορά τους σε αυτόν, η οποία είναι απαραίτητη για το σχηματισμό ισχυρότερων μοριακών αλληλεπιδράσεων, με την επέκταση και το άνοιγμα της διαμόρφωσης του πολυμερούς, και επομένως τη δυνατότητα συναρμολόγησης του επιθυμητού δομικού πλαισίου. (67) Ορισμένα μόνο υδρόφοβα βιοπολυμερή, όπως η αιθυλοκυτταρίνη και η χιτίνη, μπορούν να διασπαρούν άμεσα σε υγρά έλαια, για να σχηματίσουν ένα συνεχές δίκτυο πολυμερικών τμημάτων, το οποίο μπορεί να οδηγήσει σε σχηματισμό ελαιοπηκτής. Από την άλλη, τα πολυμερή, τα οποία είναι εγγενώς υδρόφιλα, αλλά εμφανίζουν κάποια επιφανειακή δραστηριότητα, λόγω της παρουσίας υδρόφοβων ομάδων, στις μοριακές τους δομές, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για το σχηματισμό ελαιοπηκτών, μέσω έμμεσων προσεγγίσεων, όπως η προενυδάτωση τους σε μία υδατική φάση, ακολουθούμενη από την προσρόφησή τους στη διεπιφάνεια ελαίου-νερού, μετά την οποία λαμβάνεται μια δομή συγκράτησης ελαίου, σε αφυδατωμένη μορφή. Στις επόμενες παραγράφους αναλύονται οι άμεσες και οι έμμεσες μέθοδοι, που έχουν εφαρμοστεί για την παρασκευή ελαιοπηκτών, με βάση βιοπολυμερή. (66)

8.1.1. Άμεσες μέθοδοι ελαιοπηκτωματοποίησης

8.1.1.1. Ελαιοπηκτές με βάση αιθυλοκυτταρίνη

Η αιθυλοκυτταρίνη, είναι ένα ημικρυσταλλικό υλικό που λαμβάνεται με χημική τροποποίηση της κυτταρίνης, με υποκατάσταση των αιθοξυλομάδων και λόγω της υδρόφοβης φύσης της, μπορεί να αξιοποιηθεί για τη δημιουργία ελαιοπηκτών, με βάση φυτικά έλαια. Οι ελαιοπηκτές της, δημιουργούνται με τη διασπορά της σε υγρό έλαιο υπό διάτμηση, σε θερμοκρασίες πάνω από τη θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης του πολυμερούς (συνήθως πάνω από 130°C). Η διασπορά

της αιθυλοκυτταρίνης στη φάση ελαίου, διατηρείται σε υψηλή θερμοκρασία για ορισμένο χρονικό διάστημα, προκειμένου να είναι ομοιόμορφη και ακολουθείται η ψύξη της σε χαμηλότερη θερμοκρασία. Έτσι, το συνεχές δίκτυο τμημάτων πολυμερούς, που σχηματίζεται κατά την ψύξη, είναι υπεύθυνο για τη φυσική παγίδευση του υγρού ελαίου, σε μια δομή που μοιάζει με πηκτή. Ωστόσο, η παρασκευή αυτών των ελαιοπηκτών, παρουσιάζει ορισμένους περιορισμούς, όπως η υψηλή θερμοκρασία που απαιτείται για το σχηματισμό τους, που μπορεί να οδηγήσει στην υποβάθμιση της ποιότητας του ελαίου, καθώς τα ακόρεστα λίπη, είναι πολύ επιρρεπή σε οξειδωτική βλάβη. Παράλληλα, εμφανίζουν ευαισθησία στη διάτμηση, η οποία μπορεί να προκαλέσει μη αναστρέψιμη απώλεια της δομής τους, ενώ, επίσης η χρήση τους σε εφαρμογές στη διαμόρφωση ελαίων, εμφανίζει κανονιστικούς περιορισμούς. (68)

8.1.1.2. Ελαιοπηκτές με βάση χιτίνη

Η χιτίνη και τα παράγωγά της, όπως η χιτοζάνη, λόγω της αφθονίας τους στη φύση και των σημαντικών ιδιοτήτων βιοαποικοδομησιμότητας και βιοσυμβατότητας που εμφανίζουν, έχουν αποκτήσει ενδιαφέρον για την χρήση τους σε ελαιοπηκτές. Έτσι, οι ελαιοπηκτές τους, παρασκευάζονται χρησιμοποιώντας μια μέθοδο άμεσης διασποράς, όπου τα πολυμερή διασκορπίζονται στον διαλύτη ελαίου σε θερμοκρασίες 85-90°C, υπό διάτμηση, ακολουθώντας ψύξη σε θερμοκρασία δωματίου. Συνολικά, οι ελαιοπηκτές με βάση τη χιτίνη, αποτελούν ένα καλό πρότυπο για τη δημιουργία φυσικών, βιοσυμβατών ελαιοπηκτών με βάση πολυμερή, οι οποίες είναι επίσης σταθερές παρουσία νερού. Ωστόσο, η παρασκευή τους, παρουσιάζει ορισμένους περιορισμούς, όπως η απαίτηση σχετικά υψηλής συγκέντρωσης χιτίνης (15-20% κ.β.), η επεξεργασία σε υψηλή θερμοκρασία, η χημική τροποποίηση της χιτίνης, σε ορισμένες περιπτώσεις και η ανάγκη προσθήκης υψηλής συγκέντρωσης επιφανειοδραστικών. (69)

8.1.2. Έμμεσες μέθοδοι ελαιοπηκτωματοποίησης

8.1.2.1. Πηκτές βασισμένες στη φυσική απορρόφηση υγρού ελαίου σε πορώδη κρυσταλλική

Τα τελευταία χρόνια, υπάρχει αυξανόμενο ενδιαφέρον για την ανάπτυξη πορώδων υλικών (αεροπηκτές και κρυσταλλικές), που μπορούν να απορροφήσουν μεγάλη ποσότητα υδρόφοβου ελαίου, παρουσία νερού, συμβάλλοντας στη διαχείριση προβλημάτων απώλειας ελαίου. Χαρακτηριστικό παράδειγμα, αποτελεί η χρήση παραγώγων κυτταρίνης, όπως η υδροξυλοπροπυλομεθυλοκυτταρίνη και η μεθυλοκυτταρίνη, ως υλικά για τη δημιουργία πορώδων

κρυσταλλικών, με εξαιρετικές ιδιότητες ρόφησης ελαίου και σημαντικές επιφανειοδραστικές ιδιότητες. Αναλυτικότερα, η υψηλή επιφανειακή δραστηριότητα των παραγώγων κυτταρίνης, τους δίνει τη δυνατότητα να ενσωματώσουν μεγάλη ποσότητα αέρα στο διάλυμά τους, και ο υδατικός αφρός στη συνέχεια μπορεί να υποβληθεί σε λυοφιλίωση, για την απομάκρυνση της υδατικής φάσης, με αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός πορώδους αφρού (κρυσταλλική). Αυτή η πορώδης δομή, η οποία διαθέτει μια δικτυωτή κυτταρική δομή, έχει την ικανότητα υψηλής απορρόφησης υγρού ελαίου (έως και πάνω από 100 φορές το βάρος του πορώδους) ενώ, στη συνέχεια μπορεί να υποστεί διάτμηση και να μετατραπεί σε ελαιοπηκτή, στην οποία τα τμήματα του πολυμερούς σχηματίζουν ένα συνεχές δίκτυο, που παγιδεύει την ελαιώδη φάση. (70)

8.1.2.2. *Ελαιοπηκτές με βάση πρωτεϊνικές υδροπηκτές, μέσω διαδικασίας ενδιάμεσου διαλύτη (Διαδρομή ανταλλαγής)*

Μια καινοτόμα έμμεση μέθοδος παρασκευής ελαιοπηκτών, αποτελεί η αντικατάσταση του νερού πρωτεϊνικών υδροπηκτών, με φυτικό έλαιο, μέσω μιας σταδιακής οδού ανταλλαγής διαλυτών. Παράδειγμα αποτελεί, η χρήση ενός επαγόμενου από θερμότητα δικτύου πρωτεΐνης ορού γάλακτος (WPI), που δημιουργήθηκε σε υδατικό διαλύτη, ως πλαίσιο για την υποστήριξη της δομής ελαιοπηκτών, με περιεκτικότητα σε υγρό έλαιο μεγαλύτερη από 90% κ.β. Με την μέθοδο αυτή, στην οποία χρησιμοποιείται ένας ενδιάμεσος οργανικός διαλύτης, όπως η ακετόνη ή το τετραϋδροφουράνιο, παρασκευάστηκαν διάφανες έως ημιδιάφανες, θολές ελαιοπηκτές, με αμελητέο υπολειμματικό νερό (<1% κ.β.). Η διαδικασία, περιλαμβάνει πολλαπλά στάδια βύθισης των αρχικών πρωτεϊνικών υδροπηκτών, σε διαλύτες με ποικίλες αναλογίες νερού-διαλύτη στην αρχική φάση, ακολουθείται από τη μεταβολή των αναλογιών διαλύτη-ελαίου και ολοκληρώνεται τελικά με 100% διαλύτη ελαίου. Η δομική ακεραιότητα και η ικανότητα δέσμευσης ελαίου της πρωτεϊνικής μήτρας στις ελαιοπηκτές, βρέθηκε ότι επηρεάζεται έντονα από τη σύνθεση του ενδιάμεσου διαλύτη και την προκύπτουσα πολικότητα, όπως επίσης και από τον αριθμό των βημάτων, που εμπλέκονται στη διαδικασία ανταλλαγής διαλύτη. (71)

8.1.2.3. *Ελαιοπηκτές με τη μέθοδο σχηματισμού γαλακτώματος (emulsion-templated)*

Η παρασκευή ελαιοπηκτών, με τη μέθοδο σχηματισμού γαλακτώματος ως πρότυπο (emulsion-templated μέθοδος), μέσω της ξήρανσης της υδατικής συνεχούς φάσης των γαλακτωμάτων, αποτελεί έναν σαφή, εύχρηστο και ευρέως χρησιμοποιημένο τρόπο ενθυλάκωσης υγρών ελαίων, σε τρόφιμα και φαρμακευτικά προϊόντα για ποικίλους σκοπούς, όπως η βελτιωμένη

σταθεροποίηση, η ευκολία χειρισμού και ο έλεγχος της απελευθέρωσης τους. Πολλά πολυμερή τροφίμων, όπως οι πρωτεΐνες και οι τροποποιημένοι πολυσακχαρίτες, έχουν τη δυνατότητα να σταθεροποιούν τα γαλακτώματα ελαίου σε νερό, λόγω της αμφίφιλης φύσης τους. Μετά την προσρόφηση αυτών των πολυμερών στη διεπιφάνεια ελαίου-νερού και το σχηματισμό σταθερών γαλακτωμάτων, το νερό μπορεί να αφαιρεθεί έως ότου το σύστημα αποτελείται από περισσότερο από 95% κ.β. έλαιο και σχηματίζεται ένα φυσικό δίκτυο πολυμερούς, που εγκλωβίζει το υγρό λάδι. Αρχικά, οι μέθοδοι σχηματισμού γαλακτώματος, για την απόκτηση αποξηραμένων δομών, περιλάμβαναν την ξήρανση γαλακτώματος με ψεκασμό, η οποία όμως, οδήγησε σε μία σημαντικά υψηλή αναλογία μη ελαιωδών συστατικών, στο αποξηραμένο προϊόν (περίπου στο 30% κ.β.), που αποτρέπει την απόκτηση ελαιοπηκτής. Για το λόγο αυτό, πολλές ερευνητικές ομάδες, εκμεταλλεζόμενες αυτή τη μέθοδο, με ορισμένες τροποποιήσεις, δημιούργησαν ελαιοπηκτές, χρησιμοποιώντας γαλακτώματα υδατικής συνεχής φάσης ως πρότυπα, ακολουθώντας μια διαδικασία πολλαπλών σταδίων. Η διαδικασία αυτή, περιλαμβάνει το σχηματισμό και τη σταθεροποίηση συμπυκνωμένου γαλακτώματος ελαίου σε νερό, τη σκλήρυνση της προσροφημένης διεπιφανειακής στιβάδας μέσω διασύνδεσης, το σχηματισμό συμπλόκων ή την προσρόφηση σωματιδίων, την ξήρανση της υδατικής φάσης σε συμβατικό φούρνο και την ήπια διάτμηση των ξηρών στερεών, για τη λήψη των ελαιοπηκτών. (66)

Η επιτυχία αυτής της προσέγγισης, επηρεάζεται σημαντικά από τη σταθερότητα των πρωτογενών γαλακτωμάτων και από το σχηματισμό μιας σταθερής διεπιφανειακής στοιβάδας, η οποία είναι αρκετά άκαμπτη, ώστε να αντέχει την αφυδάτωση, κατά την ξήρανση και επιτυγχάνεται με μία από τις ακόλουθες μεθόδους: (1) χρήση επιφανειοδραστικών πρωτεϊνών, για τη σταθεροποίηση των διεπιφανειών και επακόλουθη διασύνδεση της διεπιφάνειας μέσω θερμικών ή χημικών μέσων, (2) χρήση σωματιδίων πρωτεΐνης, ακολουθούμενη από συμπλοκοποίηση με λιπιδικό πρόσθετο, (3) χρήση στερεών σωματιδίων, για τη δημιουργία αλληλένδετων διεπιφανειών και (4) χρήση συνδυασμού επιφανειοδραστικών και μη επιφανειοδραστικών πολυμερών τροφίμων, όπως πρωτεΐνες-πολυσακχαρίτες, που μπορούν να αυξήσουν την ιξωδοελαστικότητα της διεπιφάνειας και τη σταθερότητα του συστήματος. (72)

Από αυτές, αξίζει να αναλυθεί η τελευταία μέθοδος, η οποία περιλαμβάνει την παρασκευή ελαιοπηκτών, με τη μέθοδο σχηματισμού γαλακτωμάτων, σταθεροποιημένων με σύμπλοκα πρωτεΐνης-πολυσακχαρίτη. Η σταθεροποίηση των γαλακτωμάτων αυτών πραγματοποιείται είτε με

τη γαλακτωματοποίηση μιας ελαιώδους φάσης σε μια υδατική φάση, που περιέχει προσχηματισμένα σύμπλοκα πρωτεΐνης: πολυσακχαρίτη, ή με τη γαλακτωματοποίηση μιας ελαιώδους φάσης σε μια υδατική διασπορά πρωτεϊνών, ακολουθούμενη από την προσρόφηση του δεύτερου βιοπολυμερούς (τεχνική διπλής στοιβάδας) (73). Για την παρασκευή ελαιοπηκτών από συμπυκνωμένα γαλακτώματα, προτιμάται η χρήση προσχηματισμένων συμπλοκών, έναντι της τεχνικής διπλής στοιβάδας, καθώς τα γαλακτώματα στη δεύτερη παρουσίασαν μικρή σταθερότητα, λόγω της δυσκολίας που εμφανίστηκε στην ενσωμάτωση του διαλύματος πολυσακχαρίτη, στο πρωτογενές συμπυκνωμένο γαλάκτωμα, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε διαχωρισμό φάσης, κατά την ανάμιξη. (74) Γενικά, τα τρία βήματα που απαιτούνται για την παρασκευή ελαιοπηκτών, μέσω της μεθόδου σχηματισμού γαλακτώματος, το οποίο έχει σταθεροποιηθεί από μίγματα πρωτεϊνών: πολυσακχαριτών είναι: 1) ο σχηματισμός ενός ηλεκτροστατικού συνδεδεμένου μίγματος, 2) η σταθεροποίηση του γαλακτώματος από τα ηλεκτροστατικά συνδεδεμένα μίγματα και 3) η ξήρανση του γαλακτώματος, ακολουθούμενη από διάτμηση του αποξηραμένου προϊόντος, για τη λήψη της ελαιοπηκτής. Οι παράγοντες που επηρεάζουν δημιουργία σταθερά δομημένων ελαιοπηκτών, είναι το pH, η αναλογία και η συγκέντρωση των βιοπολυμερών, καθώς διαδραματίζουν ουσιαστικό ρόλο στο σχηματισμό ενός μίγματος πρωτεϊνών: πολυσακχαριτών, που παρέχει βέλτιστη σταθερότητα γαλακτώματος και ελαιοπηκτής. (75)

8.2. Ιδιότητες ελαιοπηκτών με βάση πολυμερή

8.2.1. Μηχανικές ιδιότητες

Η μελέτη των μηχανικών ιδιοτήτων των ελαιοπηκτών, συνήθως πραγματοποιείται με τη χρήση ρεολογικών μετρήσεων (δοκιμές ταλάντωσης) και μελετών μεγάλων παραμορφώσεων (ανάλυση υφής). Για τις ελαστικές πηκτές πολυμερών, η μελέτη μεγάλης παραμόρφωσης, είναι ένας ευκολότερος τρόπος για να ληφθούν πληροφορίες, σχετικά με τη συμπεριφορά θραύσης, κάτω από μεγάλες καταστροφικές δυνάμεις ενώ, οι ιξωδοελαστικές ελαιοπηκτές, που παρασκευάζονται με έμμεση διασπορά ενυδατωμένων τμημάτων πολυμερούς, σε συνεχή φάση ελαίου, είναι πιο κατάλληλες για ταλαντωτικές μετρήσεις. Επιπλέον, τόσο οι μελέτες μεγάλης παραμόρφωσης, όσο και οι μελέτες δυναμικής μέτρησης, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη διαφοροποίηση μεταξύ των δειγμάτων πηκτών, όπως επίσης και για τη μελέτη της επίδρασης του τύπου πολυμερών και της συγκέντρωσης πολυμερών και βοηθητικών παραγόντων, όπως οι επιφανειοδραστικές ουσίες.

Τέλος, η χρήση ρεολογικών δοκιμών είναι σημαντική για τη μελέτη των ιδιοτήτων της πηκτής, όπως η θερμική συμπεριφορά, η ευαισθησία στη διάτμηση και η ανάκτηση της δομής της. (66)

8.2.2. Ευαισθησία στη θερμοκρασία

Οι ελαιοπηκτές με βάση πολυμερή, ανταποκρίνονται διαφορετικά στη θερμοκρασία, με βάση τον τρόπο παρασκευής τους και τον τύπο πολυμερούς, που χρησιμοποιείται ως δομικός παράγοντας. Συνήθως, οι ελαιοπηκτές τείνουν να παρουσιάζουν μείωση της αντοχής πηκτής, σε υψηλότερες θερμοκρασίες, λόγω παραγόντων, όπως η αύξηση της κινητικότητας του ελαίου, η διάσπαση του πολυμερούς και η αυξημένη διαλυτότητα των βοηθητικών παραγόντων και των πολυμερών στην ελαιώδη φάση. Ωστόσο, αυτές που παρασκευάζονται με τη μέθοδο σχηματισμού γαλακτώματος, εμφανίζουν προοδευτική αύξηση στην αντοχή της πηκτής, ως συνάρτηση της θερμοκρασίας, πιθανώς, ως αποτέλεσμα των επαγόμενων από τη θερμοκρασία αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μορίων πολυμερών σε υψηλή θερμοκρασία, οδηγώντας σε αύξηση της αντοχής της πολυμερικής μήτρας. Τέλος, αναφορικά με την αναστρεψιμότητα στη δομική αντοχή, οι περισσότερες ελαιοπηκτές με βάση πολυμερή, έχει βρεθεί ότι χάνουν μέρος της δομικής αντοχής τους, κατά την ψύξη, λόγω καθυστέρησης του σχηματισμού διαμοριακών δεσμών και επακόλουθης αναδιοργάνωσης του πολυμερικού δικτύου. (70)

8.2.3. Σταθερότητα στην παρουσία νερού

Οι περισσότερες ελαιοπηκτές, παρουσιάζουν απώλεια λειτουργικότητας και κατάρρευση δομής, παρουσία νερού, λόγω της εξασθένησης των υδρόφιλων αλληλεπιδράσεων, μεταξύ των μορίων των δομικών παραγόντων. Στην περίπτωση των ελαιοπηκτών πολυμερών, η προσθήκη νερού συχνά, οδηγεί σε συσσωμάτωση των πολυμερών και διαχωρισμό φάσεων. Ωστόσο, με την ενσωμάτωση βοηθητικών δομικών παραγόντων, όπως οι γαλακτωματοποιητές, οι πηκτές ανέχονται χαμηλά επίπεδα νερού (20-25% κ.β.), χωρίς να παρουσιάζουν καμία κατάρρευση της δομής τους ή διαχωρισμό φάσεων. (76)

8.3. Πιθανές εφαρμογές ελαιοπηκτών με βάση πολυμερή

Τα τελευταία χρόνια, έχουν δημοσιευτεί αρκετές μελέτες για τις πιθανές εφαρμογές των ελαιοπηκτών σε συστήματα τροφίμων. Παραδείγματα τέτοιων εφαρμογών, αποτελούν η χρήση των ελαιοπηκτών αιθυλοκυτταρίνης, για την αντικατάσταση του λίπους βόειου κρέατος, σε προϊόντα κονιοποιημένου κρέατος, τα οποία εμφάνισαν παρόμοια σκληρότητα και μασητικότητα με τα αρχικά προϊόντα. (63) Παράλληλα, οι ελαιοπηκτές αιθυλοκυτταρίνης, χρησιμοποιήθηκαν για

την παραγωγή σοκολατών ανθεκτικών στη θερμότητα, με τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ αιθυλοκυτταρίνης και σακχαρόζης, να είναι υπεύθυνες για το σχηματισμό δικτύου στη μήτρα της σοκολάτας, που παρείχε μηχανική αντοχή και υψηλή συγκράτηση ελαίου, σε υψηλές θερμοκρασίες. Επιπλέον, σημαντική είναι η αντικατάσταση των λιπαρών υλών αρτοποιίας (shortenings), από ελαιοπηκτές πολυμερών, οι οποίες όταν χρησιμοποιήθηκαν ως λίπη αρτοποιίας, συνέβαλαν στη δημιουργία ζύμης και κέικ με σημαντικά καλύτερες ιδιότητες από αυτά, που παρασκευάστηκαν με υγρά έλαια. (66) Τέλος, οι ελαιοπηκτές αιθυλοκυτταρίνης έχουν επίσης, διερευνηθεί για εφαρμογές σε αρτοπαρασκευάσματα, όπως γεμίσεις κρέμας και λίπη αρτοποιίας για μπισκότα, συμβάλλοντας στη μείωση της διαρροής των υγρών ελαίων, όπως του ηλιελαίου υψηλής περιεκτικότητας σε ελαϊκό οξύ, που χρησιμοποιούνται ως υποκατάστατα των κορεσμένων λιπαρών, μέσω της πηκτωματοποίησής τους με την αιθυλοκυτταρίνη. (63)

9. ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΑ ΥΨΗΛΗΣ ΕΣΩΤΕΡΙΚΗΣ ΦΑΣΗΣ (HIGH INTERNAL PHASE EMULSIONS – HIPE)

Η τεχνολογία γαλακτώματος, εδώ και πολλές δεκαετίες χρησιμοποιείται στη βιομηχανία τροφίμων, για τη δημιουργία ενός ευρέος φάσματος προϊόντων διατροφής, όπως ποτά, σάλτσες, καρυκεύματα, επικαλύψεις, σάλτσες, επιδόρπια και ντιπ. Πρόσφατα, χρησιμοποιήθηκαν αρχές δομικού σχεδιασμού για τη δημιουργία διαφορετικών τύπων γαλακτωμάτων, με βελτιωμένες ή εκτεταμένες λειτουργίες, με χαρακτηριστικό παράδειγμα τα γαλακτώματα υψηλής εσωτερικής φάσης (HIPE). Τα συστήματα αυτά με βάση το γαλακτώμα, μπορούν να χρησιμοποιηθούν είτε για τη δημιουργία επιθυμητών οπτικών, ρεολογικών ή σταθεροποιητικών χαρακτηριστικών στα τρόφιμα, είτε για την ενθυλάκωση βιοδραστικών ουσιών, όπως χρώματα, γεύσεις, διατροφοδραστικά συστατικά, βιταμίνες ή προβιοτικά. (77)

Τα HIPE, έχουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια για ορισμένες εφαρμογές τους σε τρόφιμα, λόγω της ημιστερεάς υφής και της ικανότητάς τους να εγκλωβίζουν μεγάλες ποσότητες υδρόφοβων βιοδραστικών ουσιών, ενώ παράλληλα, σε αντίθεση με τα κοινά γαλακτώματα, τα οποία τείνουν να διασπώνται με τον χρόνο, μέσω του βαρυτικού διαχωρισμού, της συσσωμάτωσης σταγονιδίων και της ωρίμανσης κατά Ostwald, αυτά έχουν δείξει ανώτερη σταθερότητα έναντι φυσικών (μερική συσσωμάτωση και διαχωρισμός φάσεων), χημικών (οξειδωση και υδρόλυση) και μικροβιολογικών αλλαγών, καθώς και περιβαλλοντικών συνθηκών, όπως η θερμοκρασία, το pH και η ιοντική ισχύς. Αναλυτικότερα, ο τύπος γαλακτώματος αυτός, διαθέτει ένα κλάσμα όγκου εσωτερικής φάσης, που υπερβαίνει το όριο στενού πακεταρίσματος (συνήθως >74%), δηλαδή τα σταγονίδια είναι τόσο σφιχτά πακεταρισμένα μεταξύ τους, ώστε να μπορούν να υιοθετούν πολυγωνικά σχήματα, υπό ορισμένες συνθήκες. Έτσι, τα HIPE, ως αποτέλεσμα αυτού του στενού πακεταρίσματος των σταγονιδίων, εμφανίζουν ελαστικές και ιξώδεις ιδιότητες. Αναλυτικότερα, τείνουν να δρουν σαν ελαστικά στερεά, κάτω από μία κρίσιμη εφαρμοζόμενη τάση (την «τάση απόδοσης» (yield stress)) και σαν ιξώδη υγρά, πάνω από αυτή την τάση ενώ επίσης, τείνουν να εμφανίζουν έντονη ψευδοπλαστική συμπεριφορά, με το ιξώδες τους να μειώνεται με την αύξηση της διατμητικής τάσης. (78)

9.1. Χαρακτηριστικά των HIPE

9.1.1. Εμφάνιση και Μικροδομή

Τα HIPE, όπως και τα συμβατικά γαλακτώματα, είναι οπτικά αδιαφανή υλικά, που έχουν λευκή εμφάνιση, δηλαδή παρουσιάζουν απουσία χρωμοφόρων συστατικών. Παράλληλα, είναι ημιστερεά υλικά, σε αντίθεση με τα συμβατικά γαλακτώματα, που τείνουν να είναι ρευστά και μπορούν να μετατραπούν σε ημιστερεά υλικά, με την προσθήκη ενός παράγοντα πηκτωματοποίησης στην υδατική φάση ή προάγοντας την έλξη σταγονιδίου-σταγονιδίου. Γενικά, το ιξώδες των γαλακτωμάτων, αυξάνεται καθώς αυξάνεται το κλάσμα όγκου της εσωτερικής φάσης, ωστόσο, στα HIPE, το κλάσμα αυτό, είναι τόσο υψηλό (συνήθως > 74%), που τα σταγονίδια μπλοκάρονται στενά μεταξύ τους, οδηγώντας σε ιξωδοελαστικά ημιστερεά χαρακτηριστικά. Το γεγονός αυτό, έχει ως αποτέλεσμα, την ικανότητα τους να διατηρούν το σχήμα τους, μετά την έξοδο από το δοχείο, το οποίο είναι ιδιαίτερα σημαντικό για ορισμένες εφαρμογές, όπως σε σάλτσες, επικαλύψεις και επιδόρπια. Επιπλέον, τα σταγονίδια στα HIPE, τείνουν να έχουν σχήματα πολυέδρου, καθώς είναι μπλοκαρισμένα τόσο κοντά μεταξύ τους, πάνω από το όριο στενού πακεταρίσματος, σε αντίθεση με αυτά των συμβατικών γαλακτωμάτων, τα οποία τείνουν να είναι σφαιρικά, επειδή έχουν αρκετό χώρο για να υιοθετήσουν ένα σχήμα με τη χαμηλότερη επιφάνεια. (79)

9.2. Ρεολογικές ιδιότητες

Οι ρεολογικές ιδιότητες των γαλακτωμάτων υψηλής εσωτερικής φάσης, διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην εφαρμογή τους σε τρόφιμα, καλλυντικά, προϊόντα προσωπικής φροντίδας και φάρμακα, καθώς, μπορούν να επηρεάσουν την ικανότητα επάλειψης των τροφίμων ή των καλλυντικών. Επιπλέον, επηρεάζονται έντονα από το γεγονός ότι, τα σταγονίδια εσωτερικής φάσης πακετάρονται τόσο κοντά, καθώς και από τη φύση της παρεμβαίνουσας εξωτερικής φάσης. Τα HIPE, εμφανίζουν ιξωδοελαστική συμπεριφορά, δρώντας τόσο ως υγρά όσο και ως στερεά, ανάλογα με την εφαρμοζόμενη τάση. Πιο συγκεκριμένα, σε σχετικά χαμηλές τάσεις, συμπεριφέρονται σαν ελαστικά στερεά, αλλά σε σχετικά υψηλές καταπονήσεις, ρέουν σαν υγρά, ενώ το ιξώδες διάτμησης τους μειώνεται ουσιαστικά με την αύξηση της διατμητικής τάσης, γεγονός που σημαίνει ότι παρουσιάζουν ισχυρή ψευδοπλαστική συμπεριφορά. (80)

9.2.1. Παράγοντες επίδρασης

Οι ρεολογικές ιδιότητες των HIPE επηρεάζονται από ποικιλία παραγόντων και οι σημαντικότεροι είναι οι εξής:

-Μέγεθος σωματιδίου

Οι διαστάσεις των σταγονιδίων εντός των HIPE, όπως συμβαίνει και στα υπόλοιπα γαλακτώματα, επηρεάζονται έντονα από τη σύνθεση τους και τις συνθήκες ομογενοποίησης. Συνήθως, το μέγεθος των σταγονιδίων μειώνεται με την αύξηση του χρόνου και της έντασης της ομογενοποίησης, καθώς και με την αύξηση της συγκέντρωσης επιφανειοδραστικών. Ο συντελεστής αποθήκευσης και η τάση απόδοσης των HIPE, έχει αποδειχθεί ότι αυξάνονται καθώς το μέγεθος των σταγονιδίων τους μειώνεται, λόγω μιας σειράς φυσικοχημικών φαινομένων. Πιο συγκεκριμένα, η απόσταση μεταξύ των σταγονιδίων στα HIPE, μειώνεται καθώς το μέγεθος των σταγονιδίων τους μειώνεται, γεγονός που αυξάνει τις αλληλεπιδράσεις σταγονιδίων-σταγονιδίων, αυξάνοντας έτσι το συντελεστή. Παράλληλα, η πίεση Laplace των σταγονιδίων, αυξάνεται καθώς οι διαστάσεις τους μειώνονται, γεγονός που σημαίνει, ότι πρέπει να εφαρμοστεί περισσότερη εξωτερική ενέργεια για την παραμόρφωση, η οποία και πάλι οδηγεί σε αύξηση του συντελεστή. Τέλος, καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση του γαλακτωματοποιητή ή σταθεροποιητή, αυξάνεται η ιξωδοελαστικότητα της διεπιφάνειας ελαίου-νερού ή η συνεχής φάση που διαχωρίζει τα σταγονίδια, γεγονός που αυξάνει επίσης, τον συντελεστή του συνολικού συστήματος. Αξιοσημείωτο είναι το ότι, τα HIPE συνήθως περιέχουν σχετικά μεγάλα σταγονίδια, καθώς είναι δύσκολο να ομογενοποιηθούν υλικά που είναι πολύ ιξώδη. (77)

-Κλάσμα όγκου φάσης

Οι ρεολογικές ιδιότητες των HIPE, επηρεάζονται επίσης από το κλάσμα όγκου εσωτερικής φάσης. Το ιξώδες των συμβατικών γαλακτωμάτων, αυξάνεται με το αυξανόμενο κλάσμα όγκου φάσης διασποράς, το οποίο με τη σειρά του αυξάνει τη σταθερότητά τους στο διαχωρισμό λόγω βαρύτητας. Πάνω από την κρίσιμη παράμετρο πακεταρίσματος, τα σταγονίδια ωθούνται κοντά μεταξύ τους και μπορεί να παραμορφωθούν, γεγονός που αυξάνει το ιξώδες, τον ελαστικό συντελεστή και την τάση απόδοσης των HIPE, υπό την προϋπόθεση ότι τα σταγονίδια παραμένουν ανέπαφα. Εάν τα σταγονίδια συσσωματώνονται όταν εξαναγκάζονται μαζί, τότε το ιξώδες του γαλακτώματος, μπορεί στην πραγματικότητα να μειωθεί, λόγω του σχηματισμού μεγαλύτερων σταγονιδίων. Επιπλέον, ο συντελεστής αποθήκευσης των HIPE, δεν επηρεάζεται έντονα από τη

συχνότητα της εφαρμοζόμενης τάσης και είναι σημαντικά υψηλότερος από τον συντελεστή απώλειας, υποδηλώνοντας την παρουσία κυρίως συμπεριφοράς που μοιάζει με στερεό. (80)

-Εξωτερικό περιβάλλον

Οι ρεολογικές ιδιότητες των HIPE, επηρεάζονται επίσης από το εξωτερικό περιβάλλον, όπως η θερμοκρασία, το pH, η ιοντική ισχύς και τα πρόσθετα. Για παράδειγμα, η προσθήκη πηκτικών παραγόντων στη συνεχή φάση, αυξάνει το συνολικό ιξώδες ή την αντοχή πηκτής των HIPE, ενώ η επίδραση του pH και του άλατος στις ρεολογικές ιδιότητες των HIPE, επηρεάζεται έντονα από τον τύπο γαλακτωματοποιητή. Έτσι, για ορισμένες πρωτεΐνες, όπως η ζελατίνη, είναι δυνατόν να σχηματιστούν μόνο σταθερά HIPE, σε τιμές pH μακριά από το ισοηλεκτρικό σημείο της προσροφημένης πρωτεϊνικής στιβάδας ενώ, όταν η τιμή του pH του συστήματος πλησιάζει στο ισοηλεκτρικό σημείο της πρωτεΐνης, προκαλείται απορρόφηση των σωματιδίων από τη διεπιφάνεια και μείωση του ιξώδους και της αντοχής της πηκτής του συστήματος γαλακτώματος. Επιπρόσθετα, η ενίσχυση των ελκτικών δυνάμεων μεταξύ των σταγονιδίων, μπορεί να οδηγήσει σε σχηματισμό ισχυρότερης πηκτής και να επηρεάσει τη μη γραμμική ιξωδοελαστική συμπεριφορά, όπως τη ρευστότητα του γαλακτώματος, η οποία αυξάνεται με τη μείωση της αλληλεπίδρασης σταγονιδίων στον όγκο μονάδας. (81)

9.3. Ταξινόμηση των HIPE

9.3.1. Δομική οργάνωση

Τα HIPE μπορούν να ταξινομηθούν ως τύπου ελαίου σε νερό (o/w) ή νερού σε έλαιο (w/o), με βάση τις πολικότητες της εσωτερικής και εξωτερικής φάσης. Πιο συγκεκριμένα, το γαλακτώμα των HIPE νερού σε έλαιο, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη μείωση της περιεκτικότητας των τροφίμων σε κορεσμένα λιπαρά οξέα και για το σχεδιασμό τροφίμων χαμηλών θερμίδων. Έτσι, είναι δυνατή η χρήση τους, για την ενθυλάκωση υψηλών επιπέδων υδρόφιλων βιοδραστικών ουσιών, εντός της εσωτερικής υδατικής φάσης, όπως ενζύμων ή προβιοτικών ενώ, στη φαρμακευτική βιομηχανία, αυτός ο τύπος HIPE χρησιμοποιείται για την ενθυλάκωση υδρόφιλων φαρμάκων, τα οποία καθυστερούν την απελευθέρωσή τους, σε σύγκριση με απλά υδατικά διαλύματα. (82) Τα HIPE ελαίου σε νερό, είναι κατάλληλα για εγκλεισμό υψηλών επιπέδων ελαιοδιαλυτών βιοδραστικών ουσιών, με παράδειγμα την ενθυλάκωση υδρόφοβων διατροφολογικών συστατικών, όπως η κουρκουμίνη και το β-καροτένιο, καθώς και υδρόφοβων φαρμάκων. Στον τύπο αυτό, ανήκει η

μαγιονέζα ενώ, οι φυτικές εκδοχές της, μπορούν επίσης να παραχθούν χρησιμοποιώντας HIPE ελαίου σε νερό, καθώς μιμούνται την οπτικά αδιαφανή εμφάνιση και τις ημιστερεές ιδιότητες υφής του πραγματικού προϊόντος. (83)

9.3.2. Τύπος γαλακτωματοποιητή

Η σταθεροποίηση των HIPE, συνήθως πραγματοποιείται με τη χρήση μικρομοριακών συνθετικών επιφανειοδραστικών, όπως βρωμιούχο κετυλοτριμεθυλαμμώνιο (CTAB), Tween 20, Tween 80, PGPR και Span 80. Ωστόσο, υπάρχει αυξανόμενο ενδιαφέρον, για τη χρήση φυσικών γαλακτωματοποιητών, όπως βιοπολυμερών με επιφανειακή δραστικότητα (πρωτεϊνών και πολυσακχαριτών), λόγω των καλών λειτουργικών τους ιδιοτήτων, για την αντιμετώπιση των ανησυχιών των καταναλωτών, σχετικά με τη χρήση ζωικών ή συνθετικών συστατικών σε τρόφιμα.

9.3.2.1. Βιοπολυμερή με επιφανειακή δραστικότητα

Η χρήση φυσικών γαλακτωματοποιητών, όπως οι πρωτεΐνες και οι πολυσακχαρίτες αποτελεί χρήσιμη εναλλακτική για τη σταθεροποίηση των HIPE. Αναλυτικότερα, οι πολυσακχαρίτες, χρησιμοποιούνται σε τρόφιμα με βάση το γαλάκτωμα, λόγω των ιδιοτήτων πρόσδεσης ιξώδους, πηκτωματοποίησης, σταθεροποίησης και συγκράτησης νερού, που διαθέτουν ενώ, ορισμένοι αμφίφιλοι πολυσακχαρίτες, χρησιμοποιούνται ως γαλακτωματοποιητές, καθώς περιέχουν τόσο πολικές όσο και μη πολικές περιοχές και μπορεί να εμφανιστούν φυσικά, όπως το αραβικό κόμμα ή η πηκτίνη τεύτλων ή να σχηματιστούν με φυσική, χημική ή ενζυματική σύνδεση μη πολικών ομάδων σε μόρια πολικών πολυσακχαριτών, όπως το τροποποιημένο άμυλο ή η κυτταρίνη. Χαρακτηριστικά παραδείγματα πολυσακχαριτών, που χρησιμοποιούνται συνήθως σε HIPE ως γαλακτωματοποιητές ή σταθεροποιητές, είναι το άμυλο, η κυτταρίνη, η χιτίνη, η πηκτίνη, η καρραγεννάνη, το υαλουρονικό οξύ και η θειική χονδροϊτίνη. (84)

Παράλληλα, οι πρωτεΐνες χρησιμοποιούνται ευρέως ως λειτουργικά συστατικά σε HIPE ελαίου σε νερό, λόγω των γαλακτωματοποιητικών και πηκτωματοποιητικών ιδιοτήτων τους και μπορεί να προέρχονται από φυτικές ή ζωικές πηγές. Με βάση τη λειτουργικότητα των πρωτεϊνών, είναι δυνατή η παρασκευή HIPE με διαφορετικές δομές και ιδιότητες, τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη βελτίωση της στοματικής διαθεσιμότητας βιοδραστικών ουσιών και για τον έλεγχο της απελευθέρωσής τους στο γαστρεντερικό σωλήνα. Έτσι, οι ζωικές πρωτεΐνες, που χρησιμοποιούνται συνήθως για τη σταθεροποίηση των HIPE, περιλαμβάνουν τις πρωτεΐνες ορού γάλακτος, την καζεΐνη, τη ζελατίνη και την ωοαλβουμίνη. Ωστόσο, υπάρχει αυξανόμενο

ενδιαφέρον και για τη χρήση πρωτεϊνών φυτικής προέλευσης σε γαλακτώματα, όπως η γλιαδίνη, η πρωτεΐνη σόγιας, η πρωτεΐνη φυσιτικών, η πρωτεΐνη αρακά και η ζεΐνη, οι οποίες χρησιμοποιούνται ευρέως για τη σταθεροποίηση των HIPE, λόγω των υψηλών γαλακτωματοποιητικών ιδιοτήτων τους, της μεγάλης αφθονίας και του σχετικά χαμηλού κόστους, που παρουσιάζουν. Αξίζει να σημειωθεί, ότι στα σταθεροποιημένα με πρωτεΐνη HIPE, το pH σε σχέση με το pI των πρωτεϊνών, καθορίζει σημαντικά τον προσδιορισμό των μηχανικών ιδιοτήτων τους και την αντοχή τους στον διαχωρισμό, καθώς επηρεάζει την ισχύ των ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων, μεταξύ των σταγονιδίων. Έτσι, η αντίσταση στο διαχωρισμό των σταθεροποιημένων με πρωτεΐνη HIPE, σε αντίθεση με τα αραιά γαλακτώματα, βελτιώνεται συχνά σε τιμές pH κοντά στο ισοηλεκτρικό τους σημείο, λόγω του σχηματισμού ενός ισχυρού τρισδιάστατου δικτύου συσσωματωμένων σταγονιδίων. (85)

-Σύμπλοκα

Η χρήση μοριακών συμπλοκών ως γαλακτωματοποιητές, σε σχέση με τους μεμονωμένους μοριακούς τύπους, συχνά οδηγεί σε βελτίωση του σχηματισμού και της σταθερότητας των HIPE. Συγκεκριμένα, η σταθερότητα και η λειτουργική απόδοση των HIPE, βελτιώνονται με τη χρήση συνδυασμού πρωτεϊνών, πολυσακχαριτών και/ή πολυφαινόλων, για το σχηματισμό διεπιφανειακών συμπλόκων. Τα σύμπλοκα αυτά, συγκρατούνται συνήθως από φυσικές δυνάμεις, όπως ηλεκτροστατικές έλξεις, δεσμοί υδρογόνου και υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις, αλλά μπορούν επίσης να συγκρατούνται μεταξύ τους, με ομοιοπολικούς δεσμούς. Έτσι, τα δυαδικά σύμπλοκα, που χρησιμοποιούνται για το σχηματισμό και τη σταθεροποίηση των HIPE, περιλαμβάνουν πολυσακχαρίτη-πρωτεΐνη, πρωτεΐνη-πρωτεΐνη, πολυσακχαρίτη-πολυσακχαρίτη και σύμπλοκα βιοπολυμερών-πολυφαινόλης. Η λειτουργική απόδοση αυτών των συμπλοκών, προσαρμόζεται σε συγκεκριμένες εφαρμογές, μεταβάλλοντας τους τύπους και τις αναλογίες των συστατικών που περιέχουν, καθώς και τις μεθόδους παρασκευής που χρησιμοποιούνται για τη δημιουργία τους. Ένας από τους συνηθέστερα χρησιμοποιούμενους σταθεροποιητές γαλακτωματοποιητή για το σκοπό αυτό, είναι τα σύμπλοκα πρωτεΐνης-πολυσακχαρίτη που σχηματίζονται από ηλεκτροστατική έλξη. (86)

9.3.3. Περιβαλλοντική απόκριση

Τα HIPE έχουν την ικανότητα ανάπτυξης έξυπνων υλικών, των οποίων οι ιδιότητες ανταποκρίνονται σε εξωτερικά ερεθίσματα, όπως το pH, η ιοντική ισχύς, η θερμοκρασία ή η

ενζυμική δραστηριότητα. Αυτά μπορούν να δημιουργηθούν, με τη χρήση κατάλληλων κολλοειδών σωματιδίων, όπως ορισμένοι τύποι βρώσιμων βιοπολυμερών ή ο συνδυασμός τους. Χαρακτηριστικό παράδειγμα, αποτελούν τα HIPE που σταθεροποιούνται από την ωοαλβουμίνη, τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως μήτρα σε εφαρμογές τροφίμων, λόγω της απόκρισης θερμοκρασίας και της καλής σταθερότητας ψύξης-απόψυξης, που παρουσιάζουν. Επιπλέον, σε ορισμένα HIPE, η κατάσταση συσσωμάτωσης των επικαλυμμένων με γαλακτωματοποιητή σταγονιδίων, εμφανίζει εξάρτηση από το pH, γεγονός που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης αξιολόγησης του pH, με αποτέλεσμα, για παράδειγμα, την απελευθέρωση δραστικών συστατικών, όταν το γαλάκτωμα βρίσκεται σε συγκεκριμένες συνθήκες pH, όπως αυτές σε μια συγκεκριμένη περιοχή του γαστρεντερικού σωλήνα. (87)

9.4. Εφαρμογές των HIPE

9.4.1. Προβιοτική προστασία

Τα HIPE μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ενθυλάκωση και επομένως, την προστασία των προβιοτικών στα τρόφιμα, κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης, της επεξεργασίας των τροφίμων και εντός του γαστρεντερικού σωλήνα, αποτρέποντας τη συχνή απώλεια της βιωσιμότητάς των προβιοτικών στις συνθήκες αυτές και την πιθανή καταστροφή τους από αυξημένες θερμοκρασίες αποθήκευσης, επεξεργασίας, ακραίες τιμές pH και χολικά οξέα. Έτσι, η κατασκευή χαμηλής περιεκτικότητας σε υγρασία HIPE ελαίου σε νερό, με διασπορά προβιοτικών στη φάση ελαίου, επιτυγχάνει καλύτερο αποτέλεσμα απομόνωσης υγρασίας και αποτρέπει την απώλεια δραστηριότητας των προβιοτικών, λόγω ενεργοποίησης από νερό. Επιπλέον, τα HIPE διαθέτουν μια ρυθμιζόμενη δομή πόρων, η οποία μπορεί να αντισταθεί στη μηχανική μικροανάδευση και να ενισχύσει περαιτέρω την κυτταρική βιωσιμότητα των προβιοτικών στο περιβάλλον επεξεργασίας. (88)

9.4.2. Ενθυλάκωση διατροφοδραστικών συστατικών

9.4.2.1. Βελτιωμένη διαλυτότητα και βιοδιαθεσιμότητα

Τα HIPE ελαίου σε νερό εμφανίζουν υψηλή συνολική περιεκτικότητα σε έλαιο, διαθέτοντας υψηλότερη ικανότητα ενσωμάτωσης υδρόφοβων βιοδραστικών ουσιών, οι οποίες συχνά πρέπει να ενθυλακώνονται, προκειμένου να αυξήσουν τη διασπορά, τη σταθερότητα και τη βιοπροσβασιμότητα τους. Χαρακτηριστικά παραδείγματα τέτοιων υδρόφοβων

διατροφολογικών συστατικών, που έχουν ενθυλακωθεί σε HIPE ελαίου σε νερό, είναι το β-καροτενίο και η κουρκουμίνη. (89)

9.4.2.2. *Βελτιωμένη χημική σταθερότητα του βιοδραστικού ελαίου*

Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα ωμέγα-3 (PUFAs), παρουσιάζουν ποικίλα οφέλη για την υγεία, όμως οξειδώνονται εύκολα, παρουσία αυξημένων θερμοκρασιών, οξυγόνου και φωτός, οδηγώντας σε ανεπιθύμητες ταγγισμένες γεύσεις. Το λάδι φυκιών, είναι πλούσιο σε ω-3 PUFA (ειδικά DHA) και αποτελεί μια βιώσιμη εναλλακτική λύση για το ιχθυέλαιο σε χορτοφάγους και vegan ενώ, είναι συχνά δύσκολο να ενσωματωθεί σε λειτουργικά τρόφιμα, λόγω της τάσης του να οξειδώνεται γρήγορα. Για το λόγο αυτό, είναι αναγκαία η χρήση των HIPE, για την ενθυλάκωση και επομένως την προστασία των ελαίων φυκών, σε εφαρμογές τροφίμων. Πιο συγκεκριμένα, τα HIPE αναστέλλουν την οξείδωση, κυρίως μέσω του σχηματισμού ενός παχίου προστατευτικού στρώματος, γύρω από τα σταγονίδια ελαίου, το οποίο εμποδίζει στερικτά τα προοξειδωτικά να φτάσουν στα PUFAs, καθώς και μέσω των φυσικών αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων, ορισμένων συστατικών, που χρησιμοποιούνται για τη σύσταση των γαλακτωματοποιητών. (90)

9.4.3. *Υποκατάστατα κορεσμένων λιπαρών οξέων και υδρογονωμένων ελαίων*

Η βιομηχανία τροφίμων, λαμβάνοντας υπόψη τις ανησυχίες για την υγεία των καταναλωτών, σχετικά με τα κορεσμένα και trans λιπαρά οξέα, που βρίσκονται σε πολλά φυσικά και υδρογονωμένα λίπη, έχει δώσει μεγάλη έμφαση στον εντοπισμό υγιεινότερων εναλλακτικών λύσεων, που μπορούν να παρέχουν τα ίδια επιθυμητά χαρακτηριστικά υφής, που συνήθως συνδέονται με κορεσμένα και τρανς λιπαρά. Συγκεκριμένα, αυτά τα ημι-στερεά λίπη, έχουν τη δυνατότητα να σχηματίσουν τρισδιάστατα δίκτυα συσσωματωμένων κρυστάλλων λίπους, που συμβάλλουν στις μοναδικές ιδιότητες υφής των προϊόντων διατροφής, όπως η μαργαρίνη, τα αλείμματα και τα ψημένα προϊόντα. Έτσι, ορισμένοι ερευνητές, έχουν διερευνήσει το δυναμικό των HIPE, για τη δημιουργία ημιστερεών δομών, τα οποία μιμούνται αυτές που συνήθως σχηματίζονται από κορεσμένα ή trans λιπαρά οξέα, όπως η χρήση μικροπηκτών πρωτεΐνης φυσικιού, για την παρασκευή σταθερών Pickering HIPE, που έχουν υφές παρόμοιες με εκείνες της ελαιομαργαρίνης. Επομένως, τα HIPE μπορεί να είναι κατάλληλα για την αντικατάσταση στερεών λιπών, σε ορισμένες εφαρμογές τροφίμων. (91)

9.4.4. Παρασκευή πορωδών υλικών

Τα HIPE, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πρότυπα για τη δημιουργία πορωδών υλικών, με καλά καθορισμένα χαρακτηριστικά πόρων, τα οποία χρησιμοποιούνται σε ένα ευρύ φάσμα ερευνητικών πεδίων, συμπεριλαμβανομένης της δημιουργίας βιοϊατρικών συσκευών και συσκευών διαχωρισμού. Αυτό συμβαίνει, καθώς τα πορώδη υλικά, παρασκευάζονταν παραδοσιακά χρησιμοποιώντας ανόργανους ή συνθετικούς σταθεροποιητές, οι οποίοι περιόριζαν την εφαρμογή τους σε τρόφιμα. Έτσι, οι ερευνητές επικεντρώθηκαν πρόσφατα, στην προετοιμασία πορωδών υλικών από βρώσιμα HIPE, με ποικιλία στους πόρους και στην επιφανειακή χημεία, τα οποία μπορούν να δημιουργηθούν, προσαρμόζοντας τη σύνθεση και τη μικροδομή τους, οδηγώντας σε ένα ευρύ φάσμα πιθανών εφαρμογών. (92)

10. ΕΔΩΔΙΜΕΣ ΜΕΜΒΡΑΝΕΣ

Τα τελευταία χρόνια, το αυξανόμενο ενδιαφέρον των καταναλωτών για θέματα υγείας, διατροφής, ασφάλειας των τροφίμων και περιβάλλοντος, έχει οδηγήσει τις εταιρείες τροφίμων και τους ερευνητές να διερευνήσουν εναλλακτικά μέσα για τη βελτίωση της παραγωγικότητας τους, όσον αφορά τη διατήρηση της ποιότητας, της φρεσκάδας και της ασφάλειας των τροφίμων, όπως η χρήση εδώδιμων υλικών στη συσκευασία τροφίμων. (39)

Ως εδώδιμη μεμβράνη, θεωρείται κάθε είδους υλικό που χρησιμοποιείται για την επικάλυψη διαφόρων τροφίμων, με σκοπό την παράταση της διάρκειας ζωής τους και μπορεί να καταναλωθεί μαζί με τα τρόφιμα. Το λεπτό αυτό στρώμα βρώσιμου υλικού, λειτουργεί ως «φράγμα» ανάμεσα στο τρόφιμο και το περιβάλλον του, με σκοπό να ενισχύσει την ποιότητα του τροφίμου και να το προστατεύσει από φυσικές, χημικές και μικροβιολογικές αλλοιώσεις. Παράλληλα, τοποθετείται απευθείας στο τρόφιμο, με ψεκασμό, επάλειψη ή με εμβάπτιση του τροφίμου σε αυτό και θεωρείται μέρος του τελικού προϊόντος ενώ, η ιδέα της χρήσης του, προέκυψε από τις φυσικές μεμβράνες ορισμένων τροφίμων, όπως στα φρούτα και στα λαχανικά. Τα υλικά που χρησιμοποιούνται για τις εδώδιμες μεμβράνες, διαλυτοποιούνται σε διάλυμα νερού ή αλκοόλης ή και μίγμα νερού/αλκοόλης. (93)

10.1. Ιδιότητες/ Χαρακτηριστικά

Οι εδώδιμες μεμβράνες πλεονεκτούν έναντι των συνθετικών μεμβρανών, καθώς παρουσιάζουν ενισχυμένες λειτουργικές και διατροφικές ιδιότητες, ισχυρή βιοαποικοδόμηση και ικανότητα να καταναλώνονται μαζί με το τρόφιμο, μειώνοντας έτσι την περιβαλλοντική μόλυνση. Παράλληλα, η δράση τους ενισχύεται, με την ενσωμάτωση αντιμικροβιακών και αντιοξειδωτικών ουσιών, ενεργώντας ως φορείς για διάφορες ενώσεις, με σκοπό την παρεμπόδιση της ανάπτυξης αλλοιωγόνων και παθογόνων μικροοργανισμών, την καθυστέρηση της οξειδωσης των λιπαρών, την αποφυγή εμφάνισης ανεπιθύμητου χρώματος και την βελτίωση της θρεπτικότητας του επικαλυμμένου τροφίμου. Οι μεμβράνες αυτές, μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν ως περιβλήματα μαζί με μη εδώδιμες μεμβράνες, αποτελώντας το εσωτερικό στρώμα, που έρχεται σε επαφή με το τρόφιμο και οδηγώντας στη δημιουργία μίας πολυστρωματικής συσκευασίας, η οποία αυξάνει την αντίσταση στην διάχυση υγρασίας και αερίων. (94)

Τα χαρακτηριστικά που πρέπει να εμφανίζει μία ιδανική εδώδιμη μεμβράνη είναι τα εξής:

- Να αποτελείται από μη τοξικά, υποαλλεργικά και εύπεπτα συστατικά.
- Να παρέχει δομική και μηχανική σταθερότητα, με σκοπό την αποφυγή της φθοράς του προϊόντος, κατά την μεταφορά και την εμπορευματοποίηση του.
- Να παρουσιάζει καλή προσκόλληση στην επιφάνεια του τροφίμου.
- Να ελέγχει τη διάχυση του νερού εντός και εκτός του τροφίμου, με στόχο τη διατήρηση της επιθυμητής υγρασίας.
- Να παρέχει ημι-διαπερατότητα, για τη διατήρηση της εσωτερικής ισορροπίας των αερίων.
- Να αποτρέπει την απώλεια των συστατικών, που σταθεροποιούν το άρωμα, το χρώμα και όλα τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, που είναι απαραίτητα για την αποδοχή του προϊόντος από τους καταναλωτές.
- Να παρέχει βιοχημική και μικροβιακή σταθερότητα, προστατεύοντας το προϊόν από μικροβιακή επιμόλυνση και άλλους τύπους αποσύνθεσης. (95)

10.2. Χρήση γαλακτωματοποιητών/πλαστικοποιητών

Η παραγωγή αποτελεσματικότερων εδώδιμων μεμβρανών και η βελτίωση των ιδιοτήτων τους, σε αρκετές περιπτώσεις, προϋποθέτει την ενσωμάτωση λειτουργικών συστατικών, όπως οι πλαστικοποιητές ή οι γαλακτωματοποιητές.

10.2.1. Πλαστικοποιητές

Οι εδώδιμες μεμβράνες με βάση πολυσακχαρίτες και πρωτεΐνες που παράγονται, παρουσιάζουν συχνά εύθραυστη και σκληρή δομή, λόγω εκτεταμένων αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μορίων του βιοπολυμερούς. Για το λόγο αυτό, συχνά είναι αναγκαία η χρήση πλαστικοποιητών, για την τροποποίηση των μηχανικών ιδιοτήτων των εδώδιμων μεμβρανών και η ενσωμάτωση τους, μπορεί να προκαλέσει σημαντικές αλλαγές στις ιδιότητες φραγμού των μεμβρανών αυτών. Οι πλαστικοποιητές, αποτελούν ουσίες χαμηλού μοριακού βάρους, που προστίθενται προκειμένου να μειώσουν την ευθραυστότητα των μεμβρανών, μειώνοντας τις διαμοριακές δυνάμεις μεταξύ των αλυσίδων των βιοπολυμερών, αυξάνοντας έτσι την ευελιξία και την επεκτασιμότητα τους. Γενικά, παρεμβάλλονται μεταξύ μοριακών αλυσίδων βιοπολυμερών, συνδέονται φυσικοχημικά με το βιοπολυμερές, μειώνοντας τη συνοχή εντός του δικτύου της μεμβράνης, επεκτείνοντας και μαλακώνοντας αποτελεσματικά τη δομή της. Οι ουσίες που χρησιμοποιούνται συνήθως, είναι υγρές οργανικές ενώσεις, όπως πολυόλες, μονο-, δι-, ολιγοσακχαρίτες, λιπίδια και παράγωγα

λιπιδίων ενώ, χαρακτηριστικά παραδείγματα πλαστικοποιητών τροφίμων, κατάλληλων για χρήση σε τρόφιμα (food grade), οι οποίοι ενσωματώνονται σε εδώδιμες μεμβράνες, είναι οι πολυόλες (όπως η γλυκερόλη, η σορβιτόλη και η πολυαιθυλενογλυκόλη), τα σάκχαρα (όπως η γλυκόζη και το μέλι) και τα λιπίδια (όπως τα μονογλυκερίδια, τα φωσφολιπίδια και τα επιφανειοδραστικά). Παράλληλα, ορισμένοι από τους πιο συνηθισμένους πλαστικοποιητές, που ενσωματώνονται στην μήτρα του βιοπολυμερούς, με σκοπό τη μείωση της θερμοκρασίας υαλώδους μετάπτωσης και την αύξηση της ευελιξίας της μεμβράνης, είναι η γλυκερόλη, τα ακετυλιωμένα μονογλυκερίδια, η πολυαιθυλενογλυκόλη και η σακχαρόζη. Οι πλαστικοποιητές, είναι συνήθως υγροσκοπικοί και προσελκύουν μόρια νερού ενώ, και το νερό μπορεί επίσης να λειτουργήσει ως πλαστικοποιητής, όμως χάνεται εύκολα λόγω αφυδάτωσης σε περιβάλλοντα χαμηλής σχετικής υγρασίας. Επιπρόσθετα, εκτός από τη βελτίωση των μηχανικών ιδιοτήτων, επηρεάζουν την αντίσταση των μεμβρανών στη διαπερατότητα των ατμών και των αερίων ενώ, γενικά μειώνουν την ικανότητα των μεμβρανών να δρουν ως φραγμοί στη μεταφορά υγρασίας, αερίων και αρωματικών ενώσεων.

(39)

10.3. *Είδη Εδώδιμων Μεμβρανών*

Τα βασικά συστατικά των εδώδιμων μεμβρανών, είναι δομικά βιοπολυμερή, όπως πολυσακχαρίτες, πρωτεΐνες και λιπίδια, κυρίως λόγω της μηχανικής και θερμικής τους σταθερότητας.

10.3.1. *Πρωτεϊνικές*

Οι εδώδιμες μεμβράνες, μπορούν να προέρχονται από πρωτεΐνες ζωικής προέλευσης, όπως η καζεΐνη, οι πρωτεΐνες ορού γάλακτος, το κολλαγόνο, η ζελατίνη και η αλβουμίνη αυγού ή φυτικής προέλευσης, όπως το καλαμπόκι, η σόγια, το μπιζέλι, το σιτάρι, ο σπόρος βαμβακιού και το ρύζι. Οι πρωτεϊνικές αυτές μεμβράνες, εφαρμόζουν καλά στις υδρόφιλες επιφάνειες του προϊόντος και αποτελούν φραγμό για το οξυγόνο και το διοξείδιο του άνθρακα, αλλά δεν παρουσιάζουν αντίσταση στην διάχυση του νερού, λόγω του υδρόφιλου χαρακτήρα τους. Για το λόγο αυτό, πραγματοποιείται προσθήκη πλαστικοποιητών, ώστε να βελτιωθεί η ελαστικότητά τους, ενώ η διαπερατότητα στο νερό, μειώνεται προσθέτοντας υδρόφοβες ενώσεις, όπως κεριά μέλισσας ή έλαια.

10.3.2. Πολυσακχαρικές

Οι εδώδιμες μεμβράνες των πολυσακχαριτών, προέρχονται από ενώσεις όπως η κυτταρίνη, το άμυλο (φυσικό και τροποποιημένο), η πηκτίνη, τα εκχυλίσματα φυκιών (αλγινικά, καραγενάνη και άγαρ), τα κόμμεα (αραβικό κόμμι, γκουάρ), η πουλλουλάνη και η χιτοζάνη, οι οποίες τους προσδίδουν ιδιότητες όπως σκληρότητα, υψηλό ιξώδες, συγκολλητικότητα και ικανότητα σχηματισμού πηκτής. Επιπλέον, παρουσιάζουν υψηλή διαπερατότητα υγρασίας, εκλεκτικότητα στην διαπερατότητα στο οξυγόνο και το διοξείδιο του άνθρακα και αντίσταση στα λίπη και έλαια. Ιδιαίτερα σημαντική, είναι η χρήση τους με σκοπό την επέκταση της διάρκειας ζωής των προϊόντων, εμποδίζοντας την αφυδάτωση, λόγω της υδρόφιλης φύσης τους ενώ, ταυτόχρονα λόγω της αντίστασης που παρουσιάζουν στην διάχυση του οξυγόνου, αποτρέπουν την οξειδωτική τάγγιση και επιβραδύνουν την ανάπτυξη των αερόβιων μικροοργανισμών, που προκαλούν αλλοίωση στα τρόφιμα. Γενικά, οι εδώδιμες μεμβράνες πολυσακχαριτών σε τρόφιμα, βελτιώνουν την δομή και την υφή τους και μειώνουν την απώλεια υγρασίας κατά το μαγείρεμα.

10.3.3. Λιπαρές

Η παραγωγή λιπαρών εδώδιμων μεμβρανών, πραγματοποιείται με τη χρήση μίας μεγάλης κατηγορίας ενώσεων, η οποία περιλαμβάνει ζωικά και φυτικά λίπη και έλαια (φιστίκι, καρύδα, κακάο, λιπαρά οξέα και μονο-, δι-, και τρι- γλυκερίδια), κηρούς (παραφίνη, κερι μέλισσας), φυσικές ρητίνες, αιθέρια έλαια, γαλακτωματοποιητές και επιφανειοδραστικούς παράγοντες (λεκιθίνη, λιπαρά οξέα). Τα λιπίδια, είναι υδρόφοβες ενώσεις, με καλύτερες ιδιότητες φραγμού υγρασίας από εκείνες των πολυσακχαριτών ενώ, η μη πολυμερική φύση τους, περιορίζει τη συνεκτική ικανότητα σχηματισμού μεμβρανών. Έτσι, σε νωπά και επεξεργασμένα προϊόντα, οι λιπαρές εδώδιμες μεμβράνες, έχουν την ικανότητα να βελτιώνουν την υδροφοβικότητα και τη συνεκτικότητα του προϊόντος ενώ, μπορούν να δράσουν ως εξαιρετικό φράγμα υγρασίας, το οποίο παρατείνει τη φρεσκάδα, το χρώμα, το άρωμα, τη γεύση και τη μικροβιακή σταθερότητα.

10.3.4. Σύνθετες

Οι βιοαποικοδομήσιμες μεμβράνες, συνήθως παρασκευάζονται με τη χρήση δύο τύπων βιομορίων, των υδροκολλοειδών και των λιπιδίων και αποτελούν ένα μίγμα αυτών των συστατικών σε διάφορες αναλογίες, που καθορίζει το βαθμό διαπερατότητας τους σε αέρια και υδρατμούς (σε νερό, οξυγόνο, διοξείδιο του άνθρακα και αρωματικές ενώσεις), καθώς και τις μηχανικές τους ιδιότητες. Οι σύνθετες αυτές μεμβράνες, συνδυάζουν τα πλεονεκτήματα των υδρόφοβων λιπαρών ουσιών και των υδρόφιλων πολυσακχαριτών ή πρωτεϊνών καθώς,

μεμονωμένα στερούνται δομικής ακεραιότητας και χαρακτηριστικής λειτουργικότητας. Αναλυτικότερα, μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ως διπλής στιβάδας ή σταθερού γαλακτώματος, όπου στην πρώτη κατηγορία, το λιπίδιο γενικά σχηματίζει μία επιπλέον στιβάδα, πάνω από τη στιβάδα του υδροκολλοειδούς, ενώ στη δεύτερη, το λιπίδιο διασπείρεται και παγιδεύεται στη μήτρα του υδροκολλοειδούς. Οι φραγμοί και οι μηχανικές ιδιότητες των σύνθετων μεμβρανών, επηρεάζονται από τη σύνθεση και την κατανομή των υδρόφοβων ουσιών στη μήτρα της μεμβράνης ενώ, γενικά, οι μεμβράνες διπλής στιβάδας, είναι πιο αποτελεσματικοί φραγμοί υδρατμών, σε σχέση με τις μεμβράνες γαλακτώματος, λόγω της ύπαρξης συνεχούς υδρόφοβης φάσης στη μήτρα. Επιπλέον, η ιδιότητα φραγμού υγρασίας που παρουσιάζουν, μπορεί να βελτιωθεί, αυξάνοντας τον βαθμό κορεσμού λιπιδίων και το μήκος της αλυσίδας λιπαρών οξέων ενώ, στην κατηγορία μεμβρανών γαλακτώματος, η ιδιότητα αυτή επηρεάζεται σημαντικά από τον τύπο λιπιδίου, τη θέση, το κλάσμα όγκου, την πολυμορφική φάση και τις συνθήκες ξήρανσης. (94)

I. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

11. ΣΚΟΠΟΣ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ

Η παρούσα εργασία ασχολήθηκε με τη δημιουργία και τη μελέτη εδωδιμων μεμβρανών και ελαιοπηκτών, που προέρχονται από διαλύματα μικτών συστημάτων πηκτίνης υψηλής μεθυλίωσης (High Methoxyl Pectin, HMP) και πρωτεϊνών [καζεϊνικού νατρίου (Sodium Caseinate, NaCas) και πρωτεΐνης κίτρινου μπιζελιού (Pea Protein Isolate, PPI)], σε συγκεντρώσεις και pH, που προέκυψαν από προκαταρκτικά πειράματα. Τα συστήματα πηκτίνης υψηλής μεθυλίωσης και πρωτεϊνών, χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή ελαιοπηκτών, μέσω της emulsion-templated μεθόδου (μέθοδος σχηματισμού γαλακτώματος), από την οποία προέκυψαν τελικά, γαλακτώματα υψηλής εσωτερικής φάσης (HIPE), καθώς το σύστημα δεν κατάφερε να αποξηρανοθεί πλήρως.

12. ΥΛΙΚΑ

Τα υλικά και αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν για τη διενέργεια του πειράματος ήταν τα ακόλουθα:

- Πηκτίνη μήλου υψηλής μεθυλίωσης (HMP, με εστεροποίηση 50-75%, 93854, Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany)
- Πρωτεΐνη κίτρινου μπιζελιού (PPI, NUTRALYS® F85F, 84% πρωτεΐνη σε ξηρή βάση, Alteco S.A. Food Ingredients, Αθήνα, Ελλάδα)
- Καζεϊνικό νάτριο (NaCas) (SC, Excellion® EM-7, 93% πρωτεΐνη σε ξηρή βάση, Roquette, Lestrem, France)
- Γλυκερόλη, ως πλαστικοποιητής (Merck, Darmstadt, Germany)
- Ηλιέλαιο (SANOΛΑ, Κορέ, Κορωπί, Ελλάδα)
- Απιονισμένο νερό
- Διάλυμα NaOH σε συγκεντρώσεις 0,1M, 0,5M, 1M
- Διάλυμα HCl σε συγκεντρώσεις 0,1M, 0,5M, 1M

Τα σκεύη και που χρησιμοποιήθηκαν για την εκτέλεση του πειράματος ήταν τα εξής:

- Ποτήρια ζέσεως 100mL και 250mL

- Δοκιμαστικοί σωλήνες
- Ογκομετρικός κύλινδρος
- Πλαστικοί περιέκτες falcon / Σωληνάρια Eppendorf φυγοκέντρου
- Τρυβλία
- Πιπέτες Pasteur
- Θερμόμετρο
- Κυψελίδες

Τα όργανα και τα μηχανήματα που χρησιμοποιήθηκαν για τη διενέργεια του πειράματος ήταν τα ακόλουθα:

- Ζυγός ακριβείας (AE 200, Mettler - Toledo, USA)
- Εστία θέρμανσης με μαγνητικό αναδευτήρα (ARE, Velp Scientifica Srl, Italy)
- Φούρνος (Mettler, Schwabach, Germany)
- Πεχάμετρο (HI 2211, Hanna Instruments, USA)
- Μικρόμετρο (Holex, Munich, Germany) με ακρίβεια 0.01mm
- Φασματοφωτόμετρο UV-Vis διπλής δέσμης (UV1800, Shimadzu Europa GmbH, Duisburg, Germany)
- Χρωματόμετρο (LC 100, Lovibond, Dortmund, Germany).
- Instron Universal (Instron 1011, Norwood, Massachusetts, USA)
- Περιστροφικό Ιξωδόμετρο (Viscolead One, Fungilab S.A., Barcelona, Spain)
- Ιξωδόμετρο Ostwald , με σταθερά Κ ίση με 0,3062 cSt/s
- Φυγόκεντρος (Z 326 K, Hermle Labortechnik GmbH, Wehingen, Germany)
- Συσκευή ομογενοποίησης (Ultraturrax, IKA-Werke GmbH & Co. KG, Germany)
- Μηχάνημα επιφανειακής τάσης (Sigma 701 Tensiometer, KSV Instruments, Ltd., Helsinki, Finland)
- Ξηραντήρας



Εικόνα 4: Φωτογραφίες από α) πηκτίνη μήλου υψηλής μεθυλίωσης (HMP), β) καζεϊνικό νάτριο (NaCas), γ) πρωτεΐνη κίτρινου μπιζελιού (PPI)

13. ΜΕΘΟΔΟΙ

13.1. Παρασκευή διαλυμάτων NaCas, PPI και HMP και μικτών συστημάτων NaCas-HMP, PPI-HMP

Για τα πειράματα, παρασκευάστηκαν διαλύματα NaCas (12% και 0,1% w/w), PPI (12% και 0,1% w/w) και HMP 2% (w/w). Τα διαλύματα HMP, προέκυψαν με προσθήκη HMP και απιονισμένου νερού, σε ποτήρι ζέσεως, υπό ανάδευση με θερμαινόμενο μαγνητικό αναδευτήρα, σε σταθερή θερμοκρασία (85-95°C) ενώ, τα διαλύματα NaCas και PPI, παρασκευάστηκαν με προσθήκη NaCas και PPI αντίστοιχα, σε ποτήρι ζέσεως με απιονισμένο νερό, υπό ανάδευση και θερμοκρασία δωματίου.

Τα μίγματα πρωτεΐνης-HMP παρασκευάστηκαν προσθέτοντας διαφορετικούς όγκους διαλυμάτων πρωτεϊνών, στον ίδιο όγκο διαλύματος πηκτίνης, για να προκύψει αναλογία πρωτεΐνης: HMP 2:1 ή 6:1. Η τελική συγκέντρωση της HMP ήταν συγκεκριμένη και ορίστηκε στο 0,1% (w/w), 0,5% (w/w) και 1% (w/w) (για τις ομάδες πειραμάτων A, B και C, αντίστοιχα). Παρασκευάστηκαν επίσης, διαλύματα απλής πρωτεΐνης με συγκέντρωση ίση με τη συνολική συγκέντρωση βιοπολυμερούς κάθε περίπτωσης. Το pH όλων των διαλυμάτων ρυθμίστηκε στο 6 (τιμή περίπου ίση με το φυσικό pH των μιγμάτων και των μεμονωμένων πρωτεϊνών), με την προσθήκη διαλύματος HCl 0,1 N. Ο Πίνακας 1, παρουσιάζει το σύνολο των δειγμάτων των ομάδων πειραμάτων A, B και C, που περιέχουν μίγματα βιοπολυμερών καθώς και μεμονωμένα βιοπολυμερή.

Πίνακας 1: Σύνολο δειγμάτων πειράματος

Ομάδα	Μίγμα Βιοπολυμερών			Μεμονωμένο Βιοπολυμερές	
	Δείγμα	Πηκτίνη (% w/w)	Πρωτεΐνη (% w/w)	Δείγμα	Πρωτεΐνη (% w/w)
A	A1	0,1	0,2	A3	0,3
	A2	0,1	0,6	A4	0,7
B	B1	0,5	1,0	B3	1,5
	B2	0,5	3,0	B4	3,5
C	C1	1,0	2,0	C3	3,0
	C2	1,0	6,0	C4	7,0

13.2. Προσδιορισμός απορρόφησης πρωτεϊνών και μικτών συστημάτων NaCas-HMP, PPI-HMP, συναρτήσει του pH

Για τον προσδιορισμό της απορρόφησης των μεμονωμένων πρωτεϊνών και των μικτών συστημάτων πρωτεΐνης-HMP, χρησιμοποιήθηκαν 100 mL διαλυμάτων πρωτεϊνών περιεκτικότητας 0,1% (w/w) και 100mL διαλυμάτων πρωτεΐνης-HMP, περιεκτικότητας 0,2% (w/w) : 0,1% (w/w) και 0,6% w/w : 0,1% w/w. Το pH τους ρυθμίστηκε στο 7, με στάγδην προσθήκη διαλύματος NaOH 0,1M και 1M και έπειτα, κάθε διάλυμα οξινίστηκε σταδιακά σε pH 1,5, με τη στάγδην προσθήκη διαλύματος 0,1M και 1M HCl. Ελήφθησαν δείγματα για κάθε αλλαγή 0,5 μονάδων στο pH, για τη μέτρηση της απορρόφησης στα 600 nm. Η μέτρηση πραγματοποιήθηκε σε φασματοφωτόμετρο UV-Vis (UV1800, Shimadzu Europa GmbH, Duisburg, Germany), με την τοποθέτηση του διαλύματος, με πιπέτα Pasteur, σε κυψελίδα χαλαζία, και η απορρόφηση του κάθε διαλύματος μετρήθηκε εις τριπλούν, υπολογίζοντας τη μέση τιμή της.

13.3. Παρασκευή γαλακτωμάτων

Παρασκευάστηκαν γαλακτώματα ελαίου σε νερό (oil in water, o/w) με αναλογία 60:40 και τελικό όγκο 100 mL. Σε κάθε γαλάκτωμα, η φάση ελαίου περιελάμβανε ηλιέλαιο ενώ, η υδατική φάση περιείχε ένα από τα δείγματα του Πίνακα 1. Αναλυτικότερα, σε ποτήρι ζέσεως των 250 mL, αναμίχθηκαν 60mL ηλιέλαιο και 40mL διαλυμάτων, που περιείχαν πρωτεΐνη ή μικτά συστήματα πρωτεΐνης-πηκτίνης, ίσης συνολικής συγκέντρωσης βιοπολυμερών, με τη χρήση συσκευής

ομογενοποίησης υψηλής διάτμησης (Ultraturrax, IKA-Werke GmbH & Co. KG, Germany), σε ταχύτητα 18000 rpm, για διάρκεια 5 λεπτά και σε θερμοκρασία δωματίου. (75)

13.4. Χαρακτηρισμός γαλακτωμάτων

13.4.1. Ιξώδες

Μετά την παρασκευή τους, τα γαλακτώματα (o/w), αφέθηκαν να έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου και ακολούθησε μέτρηση του ιξώδους τους, με τη χρήση περιστροφικού ιξωδόμετρου (Viscolead One, Fungilab S.A., Barcelona, Spain), σε ταχύτητες 0,6 - 100 rpm. (96)

13.4.2. Σταθερότητα

Τα γαλακτώματα, τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες και η εκτίμηση της σταθερότητας τους, πραγματοποιήθηκε με βάση τη μεταβολή του ύψους τους, σε σχέση με το χρόνο αποθήκευσης. Ο μακροσκοπικός διαχωρισμός των γαλακτωμάτων, προσδιορίστηκε οπτικά ανά μία ημέρα, για χρονικό διάστημα μίας εβδομάδας (0 έως 7 ημέρες) και η πρώτη παρατήρηση-μέτρηση πραγματοποιήθηκε τη στιγμή της παρασκευής τους, σε χρόνο $t=0$, όπου καταγράφηκε το αρχικό ύψος του κάθε γαλακτώματος. Στη συνέχεια, κατά την οπτική παρατήρηση, καταγράφηκε για κάθε χρονικό διάστημα, το ύψος του γαλακτώματος που παρέμεινε στο δοκιμαστικό σωλήνα και η σταθερότητα του δείγματος (H%) (97), υπολογίστηκε με βάση τον τύπο:

$$H\% = \frac{H_t}{H_0} * 100 \quad (6)$$

Όπου: H_0 : το αρχικό ύψος του γαλακτώματος για χρόνο $t=0$

H_t : το ύψος του γαλακτώματος για χρονικό διάστημα αποθήκευσης t

Για τη συνέχεια των μετρήσεων, επιλέχθηκαν δύο δείγματα, βάσει των αποτελεσμάτων της εκτίμησης του ιξώδους και της σταθερότητας των δειγμάτων. Αυτά είναι τα δείγματα B₂ και C₂, ως τα δείγματα υψηλότερου ιξώδους και σταθερότητας γαλακτωμάτων της ομάδας B και C, αντίστοιχα. Όλα τα δείγματα της ομάδας A, παρουσίασαν σημαντικά χαμηλότερες τιμές, γι' αυτό και δεν συμμετείχαν στην ανάλυση που ακολούθησε. Η ανάλυση αυτή, περιελάμβανε τη μέτρηση επιφανειακής και διεπιφανειακής τάσης, αλλά και τη μέτρηση ιξώδους της υδατικής φάσης των δειγμάτων B₂ και C₂, δηλαδή πριν την παραγωγή γαλακτωμάτων.

13.5. Μέτρηση επιφανειακής τάσης, διεπιφανειακής τάσης και ιξώδους υδατικής φάσης επιλεγμένων δειγμάτων

Η μέτρηση του ιξώδους των υδατικών φάσεων των δειγμάτων B₂ και C₂, πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τα λεγόμενα της παραγράφου 13.4.1. Η επιφανειακή και η διεπιφανειακή τάση των υδατικών φάσεων με τη φάση ελαίου (ηλιέλαιο), προσδιορίστηκε με τη χρήση μηχανήματος μέτρησης της επιφανειακής τάσης (Sigma 701 Tensiometer, KSV Instruments, Ltd., Helsinki, Finland). Οι μετρήσεις, έγιναν σύμφωνα με τη μέθοδο του Yaro et al. (2007) με μικρές τροποποιήσεις, με τη χρήση δακτυλίου du Nouy. Πραγματοποιήθηκαν πέντε μετρήσεις επιφανειακής και διεπιφανειακής τάσης ανά δείγμα και υπολογίστηκε η μέση τιμή τους. (98)

13.6. Παρασκευή ελαιοπηκτών με τη μέθοδο σχηματισμού γαλακτώματος (emulsion templated)

Για την παρασκευή ελαιοπηκτών, με τη μέθοδο σχηματισμού γαλακτώματος (emulsion templated), τα γαλακτώματα (o/w), αναλογίας 60:40 και τελικού όγκου 100mL, των οποίων η υδατική φάση περιείχε τα δείγματα B₂ και C₂, τοποθετήθηκαν σε τρυβλία διαμέτρου 9cm (30g γαλακτώματος σε κάθε τρυβλίο, δύο τρυβλία ανά γαλάκτωμα), προκειμένου να ξηρανθούν σε φούρνο (Memmert, Schwabach, Germany), στους 60 °C. Η διαδικασία ξήρανσης, περιλαμβάνει την μέτρηση της απώλειας βάρους των δειγμάτων, με την πάροδο του χρόνου, έως ότου αυτά αποκτήσουν σταθερό βάρος και ακολουθείται από την παρασκευή του δείγματος ελαιοπηκτής, με την χειροκίνητη ανάμιξη του ξηρού προϊόντος. (75) Ωστόσο, τα συστήματα γαλακτώματος του πειράματος, δεν κατάφεραν να αποξηρανθούν πλήρως, μετά την παραμονή τους στο φούρνο για 18 ώρες, με αποτέλεσμα την παραγωγή γαλακτωμάτων υψηλής εσωτερικής φάσης (HIPE), ο χαρακτηρισμός των οποίων ακολουθεί παρακάτω. (99)

13.7. Προσδιορισμός απώλειας νερού των HIPE

Το αποξηραμένο προϊόν, μετά την έξοδο από το φούρνο, υποβλήθηκε σε μέτρηση της μάζας του και η απώλεια νερού του HIPE, μετά τη διαδικασία ξήρανσης, προσδιορίστηκε σταθμικά. Αναλυτικότερα, καθώς η μάζα του ελαίου και η μάζα του συστήματος πρωτεΐνης-πηκτίνης παρέμειναν αμετάβλητες μετά την ξήρανση, η διαφορά στη μάζα του τελικού αποξηραμένου προϊόντος από το αρχικό γαλάκτωμα, αποδόθηκε εξ ολοκλήρου στην απώλεια νερού. Έτσι, η απώλεια νερού του HIPE, προσδιορίστηκε με την αφαίρεση της μάζας του νερού του τελικού αποξηραμένου προϊόντος, από τη μάζα του νερού της υδατικής φάσης του αρχικού γαλακτώματος

(μάζα του νερού της υδατικής φάσης του αρχικού γαλακτώματος= μάζα υδατικής φάσης-μάζα συστήματος πρωτεΐνης-πηκτίνης). (75)

13.8. Προσδιορισμός απώλειας ελαίου των HIPE

Η εκτίμηση της απώλειας ελαίου (75) περιελάμβανε την ομογενοποίηση των αποξηραμένων δειγμάτων σε μύλο για 30 δευτερόλεπτα (3 φορές από 10sec) και τη φυγοκέντρησή τους, σε φυγόκεντρο (Z 326 K, Hermle Labortechnik GmbH, Wehingen, Germany), στις 6000 rpm, για 30 λεπτά, στους 5°C, σε δοχείο Eppendorf. Μετά τη φυγοκέντρωση, το ελεύθερο έλαιο απομακρύνθηκε με πιπέτα Pasteur και ζυγίστηκε το ίζημα. (99) Η απώλεια ελαίου (Oil Loss, OL) προσδιορίστηκε από την εξίσωση:

$$OL = \frac{m_i - m_f}{m_i} * 100 \quad (7)$$

Όπου: m_i = η μάζα του αρχικού δείγματος

m_f = η μάζα του ιζήματος, μετά τη φυγοκέντρωση

13.9. Παρασκευή εδώδιμων μεμβρανών

Οι εδώδιμες μεμβράνες, παρασκευάστηκαν με τα ίδια μικτά συστήματα (B_2 και C_2), που χρησιμοποιήθηκαν για την παραγωγή ελαιοπηκτών, τα οποία επιλέχθηκαν σε προηγούμενο στάδιο. Για την παρασκευή τους, τα δείγματα B_2 και C_2 , με τελικό όγκο 100mL, αναμίχθηκαν με την κατάλληλη ποσότητα γλυκερόλης, 30% (w/w βιοπολυμερών). Το κάθε μίγμα, μοιράστηκε σε τρυβλία με διάμετρο 9cm (30g μίγματος σε κάθε τρυβλίο, τρία τρυβλία ανά μίγμα) και αυτά τοποθετήθηκαν σε φούρνο (Memmert, Schwabach, Germany), για 24 ώρες, στους 50°C.

13.10. Προσδιορισμός του κινηματικού ιξώδους των μιγμάτων σχηματισμού εδώδιμων μεμβρανών

Το κινηματικό ιξώδες των μιγμάτων σχηματισμού εδώδιμων μεμβρανών, προσδιορίστηκε με τη χρήση ιξωδόμετρου Ostwald. Το όργανο αυτό, ανήκει, στα ιξωδόμετρα τριχοειδούς ροής και η αρχή χρήσης του περιλαμβάνει τη μέτρηση του χρόνου t , που απαιτείται ώστε ορισμένος όγκος V υγρού, να εκρεύσει διαμέσου ενός τριχοειδούς σωλήνα μήκους l και ακτίνας r , υπό την επίδραση της βαρύτητας. Το κινηματικό ιξώδες των διαλυμάτων, υπολογίστηκε πολλαπλασιάζοντας τον χρόνο εκροής (t) με τη σταθερά του ιξωδομέτρου (c), δηλαδή σύμφωνα με τη σχέση:

$$v=c*t \quad (5)$$

Όπου: v = το κινηματικό ιξώδες, σε cSt

c = η σταθερά του ιξωδόμετρου, σε cSt/s

t = ο χρόνος ροής (s) που μετρείται ανάμεσα στις χρονικές στιγμές διόδου του μηνίσκου του διαλύματος στον τριχοειδή σωλήνα

Το ιξωδόμετρο, που χρησιμοποιήθηκε για το πείραμα, είχε σταθερά c ίση με 0,3062 cSt /s. Πραγματοποιήθηκαν τρεις μετρήσεις κινηματικού ιξώδους, ανά διάλυμα και υπολογίστηκε η μέση τιμή τους. (100)

13.11. Χαρακτηρισμός εδωδιμων μεμβρανών

13.11.1. Βάρος

Το βάρος των μεμβρανών, υπολογίστηκε σε αναλυτικό ζυγό ακριβείας (AE 200, Mettler - Toledo, USA), μετά την έξοδο τους από το φούρνο και την απόκτηση θερμοκρασίας δωματίου. Μετρήθηκαν τρεις μεμβράνες ανά σύνθεση και υπολογίστηκε η μέση τιμή για κάθε σύνθεση.

13.11.2. Πάχος

Το πάχος μετρήθηκε σε πέντε τυχαία σημεία, κατά μήκος της μεμβράνης, μέσω ψηφιακού μικρομέτρου (Holex, Munich, Germany), με ακρίβεια 0,01mm, σε θερμοκρασία δωματίου. Μετρήθηκαν τρεις μεμβράνες ανά σύνθεση και υπολογίστηκε η μέση τιμή για κάθε σύνθεση. (101)

13.11.3. Πυκνότητα

Οι μεμβράνες κόπηκαν σε τετράγωνα τεμάχια, με εμβαδόν επιφάνειας 4cm² και μετρήθηκε η μάζα του κάθε κομματιού, σε ζυγό ακριβείας (AE 200, Mettler - Toledo, USA). Στη συνέχεια, υπολογίστηκε ο όγκος των κομματιών, με βάση τον τύπο:

$$\text{Όγκος} = \text{πάχος} * \text{εμβαδόν} \quad (8)$$

Η πυκνότητα της κάθε μεμβράνης, υπολογίστηκε βάσει της μεθόδου του Sartori et al. (2018), με τον τύπο:

$$\text{Πυκνότητα} = \frac{\text{μάζα}}{\text{όγκος}} \quad (9)$$

Πραγματοποιήθηκαν δύο μετρήσεις ανά σύνθεση ενώ, υπολογίστηκε η μέση τιμή για κάθε σύνθεση. (102)

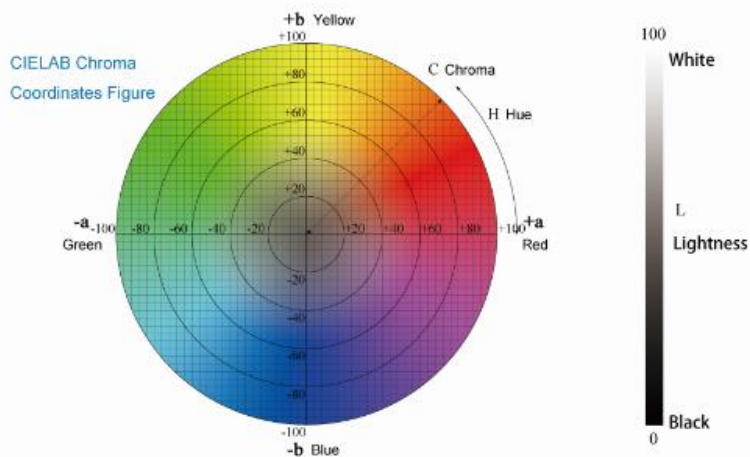
13.11.4. Περιεκτικότητα σε υγρασία

Οι μεμβράνες κόπηκαν σε τετράγωνα τεμάχια, με εμβαδόν επιφάνειας 4 cm². Τα κομμάτια τοποθετήθηκαν σε τρυβλία διαμέτρου 9cm, ζυγίστηκαν σε ζυγό ακριβείας και καταγράφηκε η αρχική τους μάζα (m_i). Στη συνέχεια, ξηράνθηκαν σε φούρνο, στους 105° C, για 18 ώρες και το βάρος τους καταγράφηκε ξανά m_f. (101) Μετρήθηκαν δύο μεμβράνες ανά σύνθεση, υπολογίστηκε η μέση τιμή για κάθε σύνθεση και ο υπολογισμός της υγρασίας της κάθε μεμβράνης, υπολογίστηκε από την εξίσωση:

$$\text{Περιεκτικότητα σε υγρασία (\%)} = \frac{m_i - m_f}{m_i} * 100 \quad (10)$$

13.11.5. Χρώμα

Ο προσδιορισμός του χρώματος των μεμβρανών, πραγματοποιήθηκε με τη χρήση χρωματομέτρου χειρός (Spectrocolimeter, LC100, Lovibond). Το όργανο αυτό, προσδιορίζει τις παραμέτρους χρώματος του χρωματικού μοντέλου CIE L*,a*,b*, σύμφωνα με το οποίο, το κάθε χρώμα περιγράφεται με τρεις συντεταγμένες. Αναλυτικότερα, ο παράγοντας L, αφορά τη φωτεινότητα και λαμβάνει τιμές από 0 (μαύρο) έως 100 (λευκό), η χρωματική παράμετρος a*, δείχνει πόσο ερυθρό (+a*) ή πράσινο (-a*) είναι ένα χρώμα και η παράμετρος b* υποδηλώνει πόσο κίτρινη (+b*) ή κυανή (-b*) είναι η απόχρωση του χρώματος. (103) Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε πέντε τυχαία σημεία της κάθε μεμβράνης ενώ, μετρήθηκαν τρεις μεμβράνες ανά σύνθεση και υπολογίστηκε η μέση τιμή για κάθε σύνθεση. Πριν από κάθε δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε βαθμονόμηση του οργάνου, με τη χρήση λευκής πλάκας.



Εικόνα 5: Παράμετροι χρώματος L^* , a^* , b^* (104)

13.11.6. Θολερότητα

Ο προσδιορισμό της θολερότητας πραγματοποιήθηκε βάσει της μεθόδου της Gontard et al. (1994), όπου οι μεμβράνες κόπηκαν σε ορθογώνια κομμάτια και τοποθετήθηκαν στην εσωτερική πλευρά κυψελίδας χαλαζία φασματοφωτόμετρου. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε φασματοφωτόμετρο UV-Vis διπλής δέσμης (UV1800, Shimadzu Europa GmbH, Duisburg, Germany), στο οποίο μετρήθηκε το φάσμα απορρόφησής του κάθε κομματιού (400-800 nm) και η περιοχή κάτω από την καταγεγραμμένη καμπύλη, ορίστηκε ως θολερότητα. Μετρήθηκαν τέσσερις μεμβράνες ανά σύνθεση και υπολογίστηκε η μέση τιμή για κάθε σύνθεση. (105)

13.11.7. Διαπερατότητα υδρατμών (WVP)

Η διαπερατότητα υδρατμών (Water Vapor Permeability, WVP) προσδιορίστηκε σταθμικά σύμφωνα με τη μεθοδολογία ASTM E96 (1989), με μικρές τροποποιήσεις (106) και περιελάμβανε, τη χρήση γυάλινων δοχείων (ύψος 2,9cm, διάμετρος 3cm), τα οποία πληρώθηκαν με 3g silica gel, ως ξηραντικό, για να παράγουν 0% σχετική υγρασία (Relative Humidity, RH), κάτω από την μεμβράνη. Οι μεμβράνες κόπηκαν σε κυκλικό σχήμα και τοποθετήθηκαν στο στόμιο του, όπου σφραγίστηκαν χρησιμοποιώντας βαζελίνη, για να διασφαλιστεί η μετανάστευση υγρασίας μόνο μέσω του φιλμ. Το διάκενο αέρα ήταν περίπου 2cm, μεταξύ της επιφάνειας του φιλμ και του ξηραντικού. Στη συνέχεια, τα γυάλινα δοχεία ζυγίστηκαν, για τον υπολογισμό του αρχικού βάρους και τοποθετήθηκαν σε ξηραντήρα με 200 mL απεσταγμένο νερό, για την παροχή 100% RH. Ακολούθησε, καταγραφή του βάρους των δοχείων σε καθορισμένα χρονικά διαστήματα (24 ώρες, 48 ώρες, 72 ώρες, 96 ώρες). Η διαπερατότητα υδρατμών (WVP) προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας την ακόλουθη εξίσωση:

$$WVP = \frac{w}{t} \frac{x}{A \Delta P} \left(\frac{10^{-8} \text{ gmm}}{\text{hcm}^2 \text{Pa}} \right) \quad (11)$$

Όπου: x = το μέσο πάχος των εδωδιμων μεμβρανών (μm)

A = η επιφάνεια διαπερατότητας ($6,15\text{cm}^2$)

ΔP = η διαφορά της μερικής τάσης ατμών της ατμόσφαιρας με το silica gel και το καθαρό νερό (2642 Pa, στους 22°C)

$\frac{\Delta w}{\Delta t}$ = η ποσότητα νερού που προσλαμβάνεται ανά μονάδα χρόνου μεταφοράς

Ο όρος $\frac{w}{t}$ υπολογίστηκε με γραμμική παλινδρόμηση, από τα σημεία αύξησης βάρους και χρόνου, στην περίοδο σταθερού ρυθμού. Οι μεμβράνες, που χρησιμοποιήθηκαν για τους προσδιορισμούς, δεν παρουσίαζαν ελαττώματα, όπως οπές, φυσαλίδες αέρα και ρωγμές ενώ, κάθε δοκιμή επαναλήφθηκε δύο φορές και υπολογίστηκε η μέση τιμή της για κάθε σύσταση. (106)

13.11.8. Μηχανικές ιδιότητες

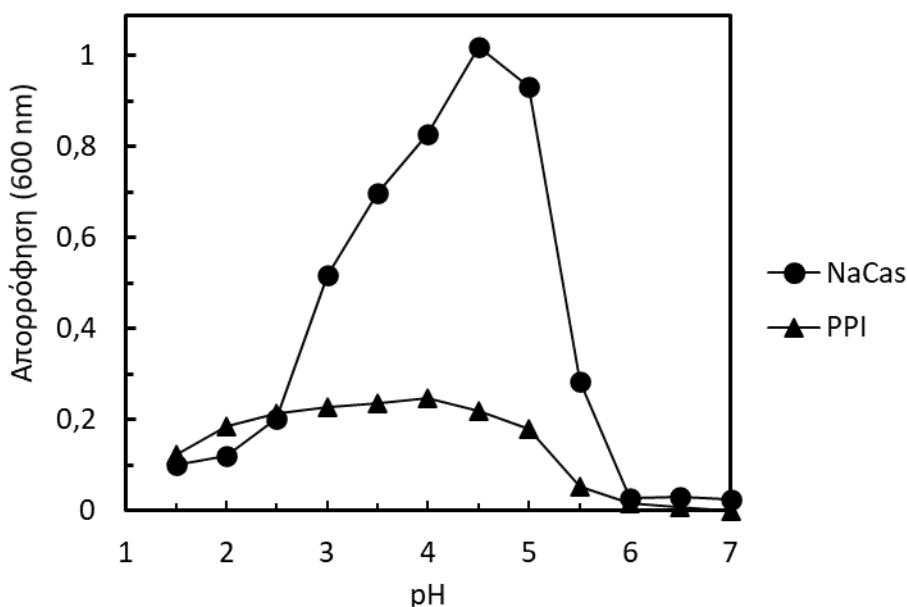
Οι δοκιμές διάτρησης των μεμβρανών του πειράματος, πραγματοποιήθηκαν σε ένα μηχάνημα Instron Universal (Instron 1011, Norwood, Massachusetts, USA), χρησιμοποιώντας ένα κυλινδρικό έμβολο διαμέτρου 3mm, το οποίο κινήθηκε κάθετα στην επιφάνεια της μεμβράνης, με σταθερή ταχύτητα 1mm/s, μέχρι να τη διαπεράσει. Οι παράμετροι που μελετήθηκαν, ήταν η μέγιστη δύναμη και ο συντελεστής ελαστικότητας, οι οποίες συσχετίζονται με την ισχύ και την ακαμψία της μεμβράνης, αντίστοιχα. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε πέντε τυχαία σημεία της κάθε μεμβράνης ενώ, μετρήθηκαν τρεις μεμβράνες ανά σύνθεση και υπολογίστηκε η μέση τιμή για κάθε σύνθεση. (101)

13.12. Στατιστική ανάλυση

Η ανάλυση των δεδομένων, πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια του προγράμματος Statgraphics Centurion XVI (StatPoint Technologies, Inc., Warrenton, VA, USA). Τα δείγματα, υποβλήθηκαν σε μονόδρομη και πολυπαραγοντική ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) και σε δοκιμές ελάχιστα σημαντικής διαφοράς (LSD), προκειμένου να προσδιοριστούν σημαντικές διαφορές μεταξύ τους. Το επίπεδο σημαντικότητας, ήταν το $p < 0,05$, καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης.

II. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

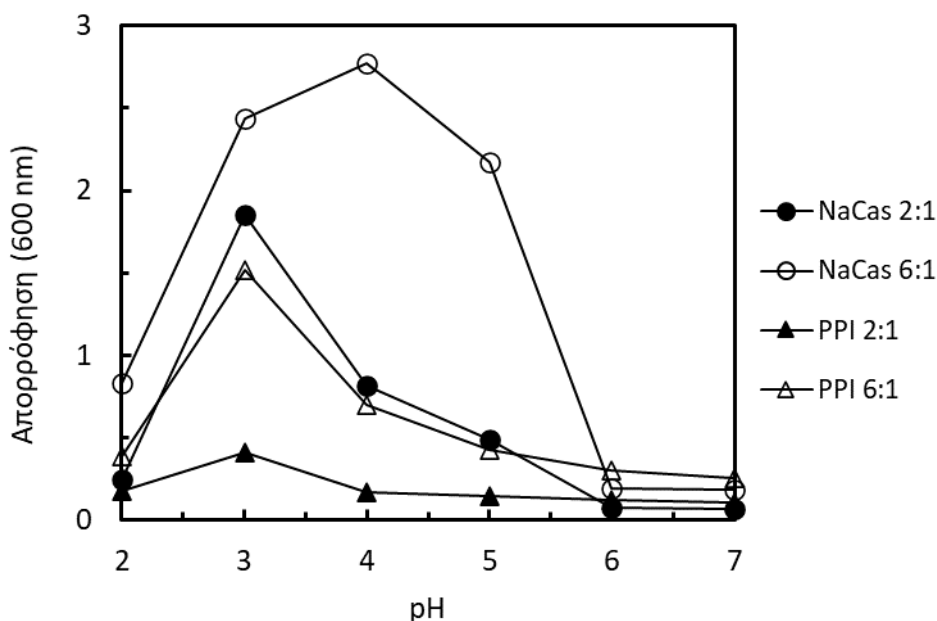
Το πρώτο στάδιο της μελέτης, περιελάμβανε την παρασκευή διαλυμάτων πρωτεϊνών NaCas και PPI συγκέντρωσης 0,1% w/w, για τον προσδιορισμό του ισοηλεκτρικού τους σημείου. Στο Σχήμα 1, φαίνεται ότι το ισοηλεκτρικό σημείο των πρωτεϊνών NaCas και PPI, το οποίο προσδιορίστηκε ως η τιμή μέγιστης απορρόφησης των διαλυμάτων πρωτεϊνών στα 600nm, βρίσκεται στην περιοχή γύρω από το 4,5 και 4, αντίστοιχα, με τις τιμές απορρόφησης της πρωτεΐνης NaCas, να είναι αισθητά υψηλότερες από αυτές του PPI. Τα δεδομένα αυτά, συμφωνούν με τη βιβλιογραφία, η οποία υποστηρίζει ότι το ισοηλεκτρικό σημείο της καζεΐνης βρίσκεται στην περιοχή pH 4,6 (107) ενώ, αυτό της πρωτεΐνης μπιζελιού, βρίσκεται κοντά στο 4,3 (108). Γενικά, παρατηρήθηκε, ότι η απορρόφηση των διαλυμάτων μεμονωμένων πρωτεϊνών, παρέμεινε σχετικά χαμηλή, υπό τιμές τόσο χαμηλού όσο και υψηλού pH. Ωστόσο, αυξήθηκε, γύρω από τις ενδιάμεσες τιμές pH και έφτασε στο μέγιστο στη τιμή pH 4,5 και 4, για τη NaCas και PPI, αντίστοιχα, υποδεικνύοντας την εκτεταμένη συσσωμάτωση τους. (109)



Σχήμα 1: Ισοηλεκτρικό σημείο διαλυμάτων πρωτεϊνών NaCas και PPI 0,1% w/w

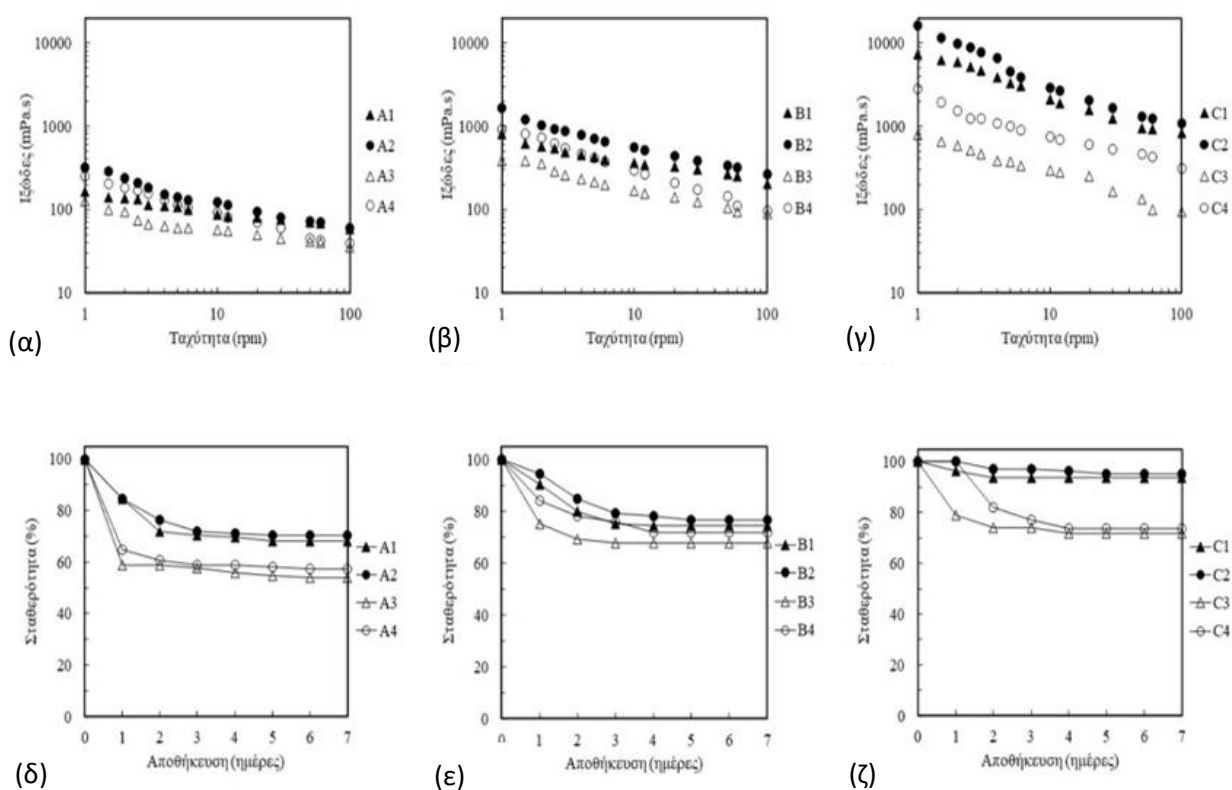
Ακολούθησε, η μέτρηση της απορρόφησης των μιγμάτων πρωτεΐνης-HMP (NaCas-HMP και PPI-HMP) της ομάδας A, με αναλογία 2:1 (0,2% w/w : 0,1% w/w) και 6:1 (0,6% w/w : 0,1% w/w), συναρτήσεως του pH, για την εκτίμηση των αλληλεπιδράσεων πρωτεΐνης-HMP και του πιθανού σχηματισμού συμπλόκων.. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων, παρουσιάζονται στο Σχήμα 2, όπου

φαίνεται ότι, η απορρόφηση των μιγμάτων πρωτεΐνης-HMP, ως συνάρτηση του pH, είναι διαφορετική από εκείνη των μεμονωμένων διαλυμάτων πρωτεϊνών. Παράδειγμα αποτελεί, η μετατόπιση του σημείου μέγιστης απορρόφησης των διαλυμάτων που περιέχουν HMP, σε χαμηλότερες τιμές pH, σε σχέση με τα διαλύματα μεμονωμένων πρωτεϊνών, υποδεικνύοντας την ύπαρξη διαμοριακής αλληλεπίδρασης μεταξύ της πρωτεΐνης και της HMP. Αναλυτικότερα, η απορρόφηση των μιγμάτων πρωτεΐνης-HMP παρέμεινε πολύ χαμηλή από το pH 7 στο 6, ακολουθούμενη από μια σταδιακή αύξηση, καθώς οι τιμές του pH μειώθηκαν από το 6 στο 3 (ή στο 4 για το μίγμα NaCas-HMP, αναλογίας 2:1) και τελικά έφτασε στο μέγιστο σε pH περίπου ίσο με 3 (ή στο 4 για το μίγμα NaCas-HMP, αναλογίας 2:1), στο οποίο παρατηρήθηκε μία ομοιογενής φάση, πιθανώς λόγω του σχηματισμού διαλυτών συμπλοκών, μεταξύ της αρνητικά φορτισμένης HMP και τμημάτων θετικών φορτίων στην επιφάνεια των μορίων των πρωτεϊνών. Ωστόσο, όταν το pH μειώθηκε από 3 σε 2 (ή από 4 σε 2 για το μίγμα NaCas-HMP, αναλογίας 2:1), παρατηρήθηκαν χαμηλές τιμές απορρόφησης, που οφείλονται στη δημιουργία αδιάλυτων συμπλοκών (δημιουργία συμπλόκου συγκαταβύθισης), πιθανών λόγω ισχυρότερης ηλεκτροστατικής έλξης μεταξύ της πρωτεΐνης και της HMP (110). Επιπλέον, η απορρόφηση, φαίνεται ότι είναι υψηλότερη στα μίγματα με υψηλότερη συγκέντρωση πρωτεΐνης (0,6% w/w σε σχέση με τη 0,2% w/w) ενώ, επίσης τα μίγματα που περιέχουν NaCas, παρουσιάζουν, και για τις δυο αναλογίες, υψηλότερη απορρόφηση από τα μίγματα με PPI, κάτι το οποίο είναι εμφανές από τις τιμές απορρόφησης των διαλυμάτων μεμονωμένων πρωτεϊνών, στο Σχήμα 1.



Σχήμα 2: Απορρόφηση διαλυμάτων μιγμάτων πρωτεΐνης-πηκτικής (NaCas-HMP και PPI-HMP) αναλογίας 2:1 (0,2% w/w : 0,1% w/w) και 6:1 (0,6% w/w : 0,1% w/w), συναρτήσεϊ του pH

Στο επόμενο στάδιο της μελέτης, παρασκευάστηκαν γαλακτώματα ελαίου σε νερό (ο/w), με αναλογία 60:40, από το σύνολο των δειγμάτων των ομάδων πειραμάτων A, B και C, που περιέχουν πρωτεΐνη ή μικτά συστήματα πρωτεΐνης-HMP, στα οποία προσδιορίστηκε το ιξώδες (mPa.s) και εκτιμήθηκε η σταθερότητά τους.



Σχήμα 3 : Ιξώδες (mPa.s) και σταθερότητα γαλακτωμάτων NaCas και NaCas-HMP διαφορετικών συγκεντρώσεων

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων ιξώδους (mPa.s) των γαλακτωμάτων που περιέχουν ως πρωτεΐνη NaCas, απεικονίζονται στο Σχήμα 3 (α, β και γ). Αρχικά, στο διάγραμμα 3α, παρατηρείται ότι τα δείγματα A₁ και A₂, τα οποία αποτελούνται από μίγμα βιοπολυμερών, έχουν υψηλότερη τιμή ιξώδους (mPa.s) από τα A₃ και A₄ αντίστοιχα, με την ίδια τάση να εμφανίζεται και στα

διαγράμματα 3β και 3γ, με τα γαλακτώματα των ομάδων Β και C. Επομένως, εξάγεται το συμπέρασμα, ότι τα γαλακτώματα μικτών συστημάτων πρωτεΐνης-HMP, παρουσιάζουν υψηλότερο ιξώδες (mPa.s) από τα γαλακτώματα μεμονωμένης πρωτεΐνης. Αυτό, συμφωνεί με τους Lan et al. (2018) (23), που υποστήριξαν ότι το φαινόμενο ιξώδες των διαλυτών συμπλοκών, που σχηματίζονται ανάμεσα σε μία πρωτεΐνη και έναν πολυσακχαρίτη, μέσω ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων, είναι υψηλότερο από αυτό της πρωτεΐνης ή του πολυσακχαρίτη μεμονωμένα και εξηγείται, από το ότι μπορούν να παγιδεύσουν περισσότερο νερό στο σύστημά τους. Επίσης, ένας άλλος παράγοντας αύξησης του ιξώδους σύμφωνα με αυτούς, είναι η εμφάνιση δεσμών υδρογόνου στα κοντινά μόρια βιοπολυμερούς, κατά τον σχηματισμό διαλυτών συμπλοκών μεταξύ τους. Παρόμοια αποτελέσματα, σχετικά με σύμπλοκα πρωτεΐνης-πολυσακχαρίτη, έχουν αναφερθεί για διαλυτά σύμπλοκα WPI-πηκτίνης (113), για σύμπλοκα πρωτεΐνης-πηκτίνης canola (114) και για σύμπλοκα κόμμεων WPI-λιναρόσπορου (115).

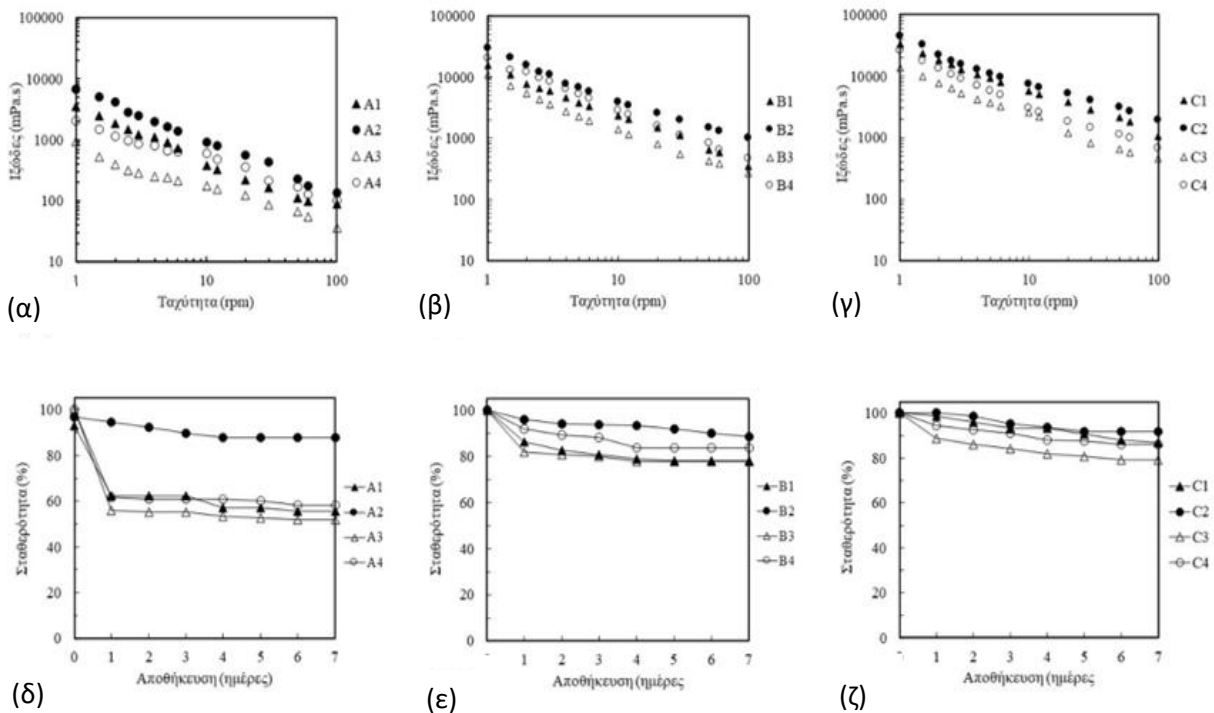
Επιπλέον, συγκρίνοντας τα διαγράμματα 3α, 3β και 3γ, φαίνεται ότι τα γαλακτώματα της ομάδας Α, παρουσιάζουν το χαμηλότερο ιξώδες (mPa.s), ακολουθούν αυτά της ομάδας Β ενώ, η υψηλότερη τιμή ιξώδους (mPa.s) εμφανίζεται στα δείγματα της ομάδας C, γεγονός που δείχνει ότι το ιξώδες (mPa.s), αυξάνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης των βιοπολυμερών, καθώς υψηλότερη συγκέντρωση τους, οδηγεί στη δημιουργία ισχυρότερου δικτύου, το οποίο εμφανίζει μεγαλύτερη αντίσταση στη ροή, δηλαδή μεγαλύτερο ιξώδες. Παρόμοια αποτελέσματα, βρέθηκαν και στην μελέτη των Wijaya et al. (2017) (116), στην οποία η αύξηση στη συγκέντρωση της πρωτεΐνης ορού γάλακτος και της πηκτίνης χαμηλής μεθυλίωσης, και επομένως των συμπλόκων ανάμεσά τους, οδήγησε στην αύξηση του ιξώδους του γαλακτώματος.

Ως προς τη ρεολογική τους συμπεριφορά, όλα τα δείγματα εμφάνισαν ψευδοπλαστική συμπεριφορά, καθώς το φαινόμενο ιξώδες (mPa.s) τους μειώθηκε, με την αύξηση του ρυθμού διάτμησης (rpm).

Έπειτα, εκτιμήθηκε η σταθερότητα των παραγόμενων γαλακτωμάτων NaCas, με βάση τη μεταβολή του ύψους τους, σε σχέση με το χρόνο αποθήκευσης και τα αποτελέσματά της απεικονίζονται στο Σχήμα 3 (δ, ε και ζ). Αρχικά, στο διάγραμμα 3δ, φαίνεται ότι το δείγμα A₁ είναι περισσότερο σταθερό από το A₃, όπως και το A₂ σε σχέση με το A₄, με όμοια αποτελέσματα να παρατηρούνται και για τα δείγματα των ομάδων Β και C, γεγονός που δείχνει ότι η σταθερότητα των γαλακτωμάτων αυξάνεται με την προσθήκη HMP. Η ικανότητα της πηκτίνης να βελτιώνει τη

σταθερότητα του γαλακτώματος, σύμφωνα με τους Ngouémazong et al. (2015) (117), αποδίδεται στην ικανότητά της να αυξάνει το ιξώδες της συνεχούς υδατικής φάσης γαλακτωμάτων, ιδιαίτερα του τύπου έλαιο σε νερό, συμβάλλοντας έτσι, στον περιορισμό της κινητικότητας των διασκορπισμένων σταγονιδίων ελαίου, με την παρεμπόδιση ή την ελαχιστοποίηση της τάσης τους να μεταναστεύουν και να συνενώνονται. Επίσης, αρκετοί άλλοι ερευνητές, έχουν επιβεβαιώσει τη βελτιωμένη σταθερότητα των συμπλόκων μεταξύ πρωτεΐνης και πολυσακχαριτών, σε σύγκριση με αυτή της μεμονωμένης πρωτεΐνης, όπως οι Jourdain et al. (2008) (118), που ερεύνησαν τη σταθερότητα των γαλακτωμάτων, που περιέχουν σύμπλοκα NaCas και θειικής δεξτράνης σε διαφορετική οξύτητα, ιοντική ισχύ και αναλογία.

Επιπρόσθετα, από τη σύγκριση των διαγραμμάτων 3δ, 3ε και 3ζ, φαίνεται ότι τα γαλακτώματα της ομάδας Α, παρουσιάζουν τη μικρότερη τιμή σταθερότητας, ακολουθούν αυτά της ομάδας Β ενώ, τα περισσότερο σταθερά είναι τα δείγματα της ομάδας C. Επομένως, η σταθερότητα των γαλακτωμάτων, αυξάνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης των περιεχόμενων βιοπολυμερών, γεγονός που αναμένεται καθώς, η αυξημένη ποσότητα πρωτεΐνης, οδηγεί σε μικρότερη τάση στη διεπαφή ελαίου νερού, δηλαδή σε μικρότερη αντίσταση στην ανάμιξη της υδατικής φάσης με το έλαιο, και έτσι σε πιο σταθερά γαλακτώματα. Η παρατήρηση αυτή, συμφωνεί με τη μελέτη των Wijaya et al. (2017) (116), που αναφέρθηκε προηγουμένως, στην οποία, καθώς η συγκέντρωση της πρωτεΐνης ορού γάλακτος και της πηκτίνης χαμηλής μεθυλίωσης αυξανόταν, παρατηρούνταν μια πιο αποτελεσματική κάλυψη των σταγονιδίων ελαίου, που οδηγούσε σε μεγαλύτερη σταθερότητα των γαλακτωμάτων.



Σχήμα 4: Ιξώδες (mPa.s) και σταθερότητα γαλακτωμάτων PPI και PPI-HMP διαφορετικών συγκεντρώσεων

Παράλληλα, στο Σχήμα 4 (α, β και γ), απεικονίζεται το ιξώδες (mPa.s) των γαλακτωμάτων, που περιέχουν ως πρωτεΐνη PPI. Στα δείγματα αυτά, παρατηρείται όπως και στα δείγματα με NaCas, αύξηση του ιξώδους (mPa.s) με την προσθήκη HMP και με την αύξηση της συγκέντρωσης των περιεχόμενων βιοπολυμερών.

Επιπλέον, συγκρίνοντας τα Σχήματα 3 και 4, φαίνεται ότι το ιξώδες (mPa.s) όλων των δειγμάτων που περιέχουν ως πρωτεΐνη το PPI, έχει υψηλότερες τιμές από αυτό των γαλακτωμάτων που περιέχουν NaCas, δηλαδή, επηρεάζεται από τον τύπο της πρωτεΐνης.

Ως προς τη ρεολογική τους συμπεριφορά, τα γαλακτώματα με PPI επίσης, εμφάνισαν ψευδοπλαστική συμπεριφορά, με το φαινόμενο ιξώδες (mPa.s) τους να μειώνεται με την αύξηση του ρυθμού διάτμησης (rpm).

Παράλληλα, αναφορικά με τη σταθερότητα των γαλακτωμάτων, φαίνεται να ισχύει επίσης ότι τα γαλακτώματα των μιγμάτων βιοπολυμερών (PPI-HMP), είναι περισσότερο σταθερά από αυτά που περιέχουν μεμονωμένα βιοπολυμερή (PPI).

Τέλος, τα δείγματα των ομάδων Β και C με PPI, εμφανίζουν μεταξύ τους παρόμοιες τιμές, ενώ είναι περισσότερο σταθερά από τα αντίστοιχα δείγματα των ομάδων Β και C, που περιέχουν ως πρωτεΐνη, NaCas. Επομένως, συμπεραίνεται ότι σε αυξημένες συγκεντρώσεις βιοπολυμερών, η σταθερότητα των γαλακτωμάτων επηρεάζεται από τον τύπο της πρωτεΐνης.

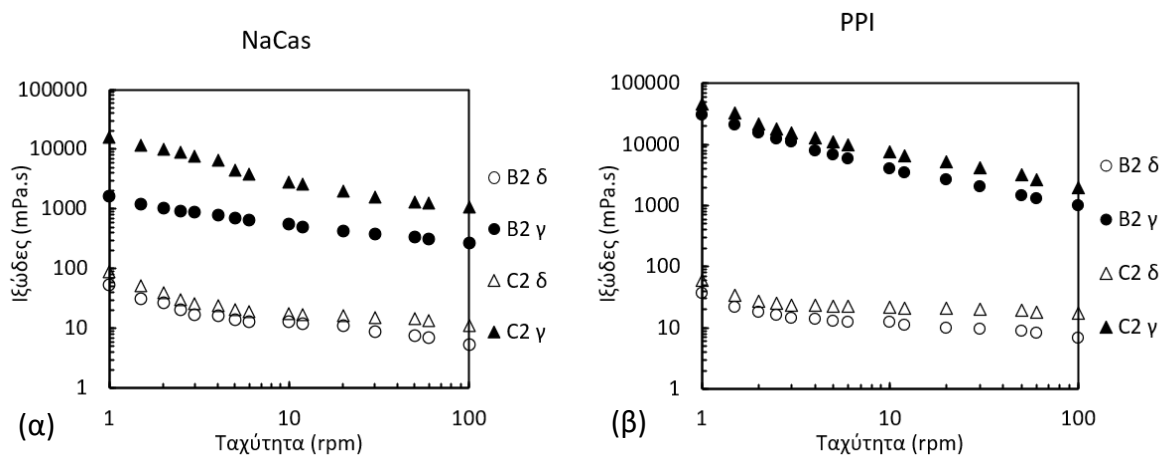
Έπειτα, με βάση τα αποτελέσματα της εκτίμησης του ιξώδους και της σταθερότητας των δειγμάτων, για τη συνέχεια των μετρήσεων του πειράματος, επιλέχθηκαν δύο δείγματα, το B₂ και το C₂, ενώ τα δείγματα της ομάδας Α, που εμφάνισαν πολύ χαμηλές τιμές ιξώδους και σταθερότητας, δεν χρησιμοποιήθηκαν για περαιτέρω μετρήσεις.

Στη συνέχεια, μετρήθηκε η επιφανειακή (mN/m) και η διεπιφανειακή τάση (mN/m) των υδατικών φάσεων των μιγμάτων πρωτεΐνης-HMP (NaCas-HMP και PPI-HMP), συγκέντρωσης 3,0% (w/w)-0,5% (w/w) (Δείγμα B₂) και 6,0% (w/w)- 1,0% (w/w) (Δείγμα C₂), προκειμένου να μελετηθεί η επίδραση των μιγμάτων πρωτεΐνης-πολυσακχαρίτη στις παραμέτρους αυτές, για την επαλήθευση της δυνατότητας χρήσης τους, ως σταθεροποιητές. Τα αποτελέσματά τους, παρουσιάζονται στον Πίνακα 2, όπου φαίνεται ότι οι τιμές επιφανειακής τάσης (mN/m) των δειγμάτων B₂ και C₂, διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά μεταξύ τους (p-value <0,05) και στους δύο τύπους πρωτεϊνών, δεδομένο που παρατηρείται και στις τιμές διεπιφανειακής τάσης (mN/m). Έτσι, συμπεραίνεται, ότι η διαφορετική συγκέντρωση των βιοπολυμερών, επιδρά σε αυτές τις παραμέτρους και συγκεκριμένα, η αύξησή της οδηγεί σε χαμηλότερες τιμές τους. Αυτό συμβαίνει, καθώς τα δείγματα C₂, περιέχουν υψηλότερη συγκέντρωση βιοπολυμερών και ειδικά πρωτεϊνών, καθώς οι πολυσακχαρίτες που περιέχουν, εμφανίζουν χαμηλότερη επιφανειακή δραστηριότητα από αυτές (111). Έτσι, η αύξηση των πρωτεϊνών, οι οποίες είναι επιφανειοδραστικά μόρια, οδηγεί σε μείωση της επιφανειακής και διεπιφανειακής τάσης, λόγω εξασθένησης των δυνάμεων μεταξύ των μορίων του διαλύματος και παρέχει τη δυνατότητα χρήσης τους, ως σταθεροποιητές. Πιο συγκεκριμένα, σύμφωνα με τους Singh et al. (2011) (112), οι πρωτεΐνες μπιζελιού έχει αποδειχθεί ότι μειώνουν τη διεπιφανειακή τάση μεταξύ των επιφανειών νερού και ελαίου, σχηματίζοντας μια άκαμπτη μεμβράνη στη διεπαφή ελαίου-νερού, γεγονός που οφείλεται στις επιφανειακές ιδιότητες των πρωτεϊνικών κλασμάτων που διαθέτουν, της βισιλίνης και της λεγκουμίνης ενώ, οι πρωτεΐνες γάλακτος, όπως η καζεΐνη, εμφανίζουν καλές επιφανειοδραστικές ιδιότητες, μειώνοντας την τάση στη διεπιφάνεια ελαίου-νερού και σχηματίζουν διεπιφανειακές μεμβράνες, με ποικίλες ρεολογικές ιδιότητες.

Πίνακας 2: Επιφανειακή (mN/m) και διεπιφανειακή τάση (mN/m) δειγμάτων B₂ και C₂, υδατικών διαλυμάτων μιγμάτων πρωτεΐνης-HMP (NaCas-HMP και PPI-HMP)

NaCas	Επιφανειακή τάση (mN/m)	Διεπιφανειακή τάση (mN/m)	PPI	Επιφανειακή τάση (mN/m)	Διεπιφανειακή τάση (mN/m)
B ₂	14,23 ^a ± 0,08	3,42 ^a ± 0,12	B ₂	14,91 ^a ± 0,05	4,23 ^a ± 0,03
C ₂	14,06 ^b ± 0,09	5,98 ^b ± 0,02	C ₂	14,27 ^b ± 0,19	4,38 ^b ± 0,01
p-value	0,0195	0,0002	p-value	0,0000	0,0000

Παράλληλα, τα αποτελέσματα της μέτρησης του ιξώδους των υδατικών διαλυμάτων (δ) μικτών συστημάτων πρωτεΐνης-πηκτικής (NaCas-HMP και PPI-HMP) της ομάδας Β (B₂) και C (C₂) και η σύγκριση του με το ιξώδες (mPa.s) των αντίστοιχων γαλακτωμάτων (γ), απεικονίζονται στο Σχήμα 5 (α και β). Αρχικά, στο γράφημα των δειγμάτων που περιέχουν NaCas (5α), παρατηρείται ότι τα γαλακτώματα B_{2γ} και C_{2γ} εμφανίζουν υψηλότερο ιξώδες (mPa.s), από τα υδατικά διαλύματα B_{2δ} και C_{2δ}, με την ίδια τάση να εμφανίζεται και στα δείγματα με PPI (5β), αποδεικνύοντας ότι τα γαλακτώματα έχουν υψηλότερο ιξώδες (mPa.s) από τα διαλύματα. Το γεγονός αυτό ήταν αναμενόμενο, καθώς τα γαλακτώματα διαθέτουν πιο συνεκτική δομή, απαιτώντας την εφαρμογή μεγαλύτερης δύναμης, για τη ροή τους. Επιπλέον, το ιξώδες (mPa.s) των διαλυμάτων B_{2δ} και C_{2δ}, εμφανίζει ιδιαίτερα χαμηλή και παρόμοια τιμή και για τους δύο τύπους πρωτεϊνών, κάτι που δεν παρατηρείται στα γαλακτώματα και οδηγεί στο συμπέρασμα, ότι το ιξώδες (mPa.s) των υδατικών διαλυμάτων, δεν επηρεάζεται σημαντικά από τη συγκέντρωση των βιοπολυμερών και από τον τύπο των πρωτεϊνών. Τέλος, ως προς τη ρεολογική τους συμπεριφορά, όλα τα δείγματα (υδατικά διαλύματα και γαλακτώματα), εμφάνισαν ψευδοπλαστική συμπεριφορά, καθώς το φαινόμενο ιξώδες (mPa.s) τους, μειώθηκε με την αύξηση του ρυθμού διάτμησης (rpm).



Σχήμα 5: Ιξώδες (mPa.s) γαλακτωμάτων (γ) και υδατικών διαλυμάτων (δ) πρωτεΐνης-HMP σε διαφορετικές συγκεντρώσεις

Σε επόμενο βήμα, τα παραπάνω γαλακτώματα ελαίου σε νερό (o/w), αναλογίας 60:40, των δειγμάτων B₂ και C₂, που περιέχουν μικτά συστήματα πρωτεΐνης-HMP (NaCas-HMP και PPI-HMP), ξηράνθηκαν σε φούρνο, με σκοπό την παρασκευή ελαιοπηκτών. Ωστόσο, καθώς τα συστήματα γαλακτώματος, δεν κατάφεραν να αποξηρανθούν πλήρως, παράχθηκαν γαλακτώματα υψηλής εσωτερικής φάσης (HIPE) και τα αποτελέσματα των μετρήσεων των δειγμάτων B₂ και C₂, κατά τα στάδια παρασκευής HIPE, παρουσιάζονται στους Πίνακες 3-6.

Αρχικά, τα γαλακτώματα πρωτεΐνης-HMP, αποξηράνθηκαν και όπως φαίνεται στην Εικόνα 6β, τα συστήματα που περιείχαν PPI, εμφάνισαν μια μαλακή δομή ξηρών προϊόντων, με εκτεταμένη ορατή απώλεια ελαίου, σε σχέση με αυτά που περιέχουν NaCas, τα οποία παρουσίασαν πιο σταθερή δομή, ενώ δεν παρατηρούνται ορατές διαφορές στη δομή μεταξύ των δειγμάτων της ίδιας ομάδας (B₂ ή C₂). Μετά την ξήρανση, υπολογίστηκε η απώλεια νερού του αρχικού γαλακτώματος και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.

Πίνακας 3: Απώλεια νερού του αρχικού γαλακτώματος μετά την ξήρανση

Σύστημα	Μάζα νερού		Απώλεια νερού
	Αρχική	Τελική	

		g	g	g	%
NaCas	B ₂	38,6	2,6	36	93,3
	C ₂	37,2	5,1	32,1	86,3
PPI	B ₂	38,6	2,63	35,97	93,2
	C ₂	37,2	6	31,2	83,9

Όπου αρχική μάζα (g) νερού είναι το νερό στο γαλάκτωμα πριν τον φούρνο και τελική μάζα (g) νερού είναι το νερό που έμεινε μετά τον φούρνο.

Επιπλέον, υπολογίστηκε το περιεχόμενο νερού και ελαίου, που παρέμεινε στο δείγμα μετά την ξήρανση, τα οποία απεικονίζονται στον Πίνακα 4, όπου παρατηρείται, ότι τα αποξηραμένα γαλακτώματα C₂, είχαν υψηλότερη ολική μάζα (g) και επομένως περιείχαν υψηλότερη περιεκτικότητα σε νερό σε σχέση με τα δείγματα B₂, δεδομένου ότι οι ποσότητες ελαίου και μίγματος πρωτεΐνης-HMP, παρέμειναν σταθερές σε όλα τα δείγματα. Επίσης, φαίνεται ότι τα αποξηραμένα γαλακτώματα που περιέχουν PPI, εμφάνισαν υψηλότερη ολική μάζα (g) και επομένως υψηλότερη περιεκτικότητα σε νερό, από αυτά με NaCas. Επομένως, τα γαλακτώματα με υψηλότερη συγκέντρωση βιοπολυμερών και τα γαλακτώματα με πρωτεΐνη PPI, συγκρατούν υψηλότερη ποσότητα νερού, μετά την ξήρανση τους.

Πίνακας 4: Περιεκτικότητα των γαλακτωμάτων σε νερό, έλαιο και μίγμα πρωτεΐνης-πηκτίνης μετά την ξήρανση (60°C, 18h)

Σύστημα		Ολική μάζα	Νερό		Έλαιο		Πρωτεΐνη και Πηκτίνη	
		g	g	%	g	%	g	%
NaCas	B ₂	62,60	2,60	4,16	60	95,84	1,40	2,24
	C ₂	65,10	5,10	7,84	60	92,16	2,80	4,30
PPI	B ₂	62,63	2,63	4,21	60	95,79	1,40	2,24
	C ₂	66,00	6,00	9,09	60	90,91	2,80	4,24

Στη συνέχεια, τα αποξηραμένα προϊόντα πέρασαν από μύλο, φυγοκεντρήθηκαν και παρουσίασαν διαφορετικές συμπεριφορές, όπως φαίνονται στην Εικόνα 6γ. Στο στάδιο αυτό, προσδιορίστηκε η απώλειά τους σε έλαιο, και υπολογίστηκε η μάζα (g) της στερεής φάσης (HIPE) που συλλέχθηκε, τα αποτελέσματα των οποίων παρουσιάζονται στον Πίνακα 5. Εκεί παρατηρείται, ότι τα δείγματα που

περιέχουν PPI, εμφάνισαν μεγαλύτερη απώλεια ελαίου και μικρότερη μάζα HIPE, σε σχέση με αυτά που περιέχουν NaCas, τα οποία παρουσίασαν ένα περισσότερο δομημένο σύστημα. Επομένως, ο τύπος της περιεχόμενης πρωτεΐνης, επιδρά στην απώλεια ελαίου και στη μάζα των παραγόμενων HIPE, λόγω των διαφορετικών αλληλεπιδράσεων της HMP με την NaCas και το PPI, αντίστοιχα. Επίσης τα δείγματα της ομάδας C₂, τα οποία περιέχουν υψηλότερη συγκέντρωση βιοπολυμερών, εμφάνισαν μικρότερη απώλεια ελαίου και μεγαλύτερη μάζα HIPE, από αυτά της ομάδας B₂, γεγονός που συμφωνεί με τη μελέτη των Liu et al. (2021) (119), σύμφωνα με την οποία, σε υψηλές συγκεντρώσεις καζεΐνης, τα γαλακτώματα που προέκυψαν, τείνουν να είναι πιο ομοιογενή και σταθερά, καθώς περιέχουν επαρκή σωματίδια πρωτεΐνης, για να καλύψουν πλήρως την επιφάνεια των σταγονιδίων ελαίου, που σχηματίστηκαν κατά την ομογενοποίηση, αποτρέποντας έτσι, τη συγχώνευση ορισμένων σταγονιδίων ελαίου και την επακόλουθη απώλεια τους.

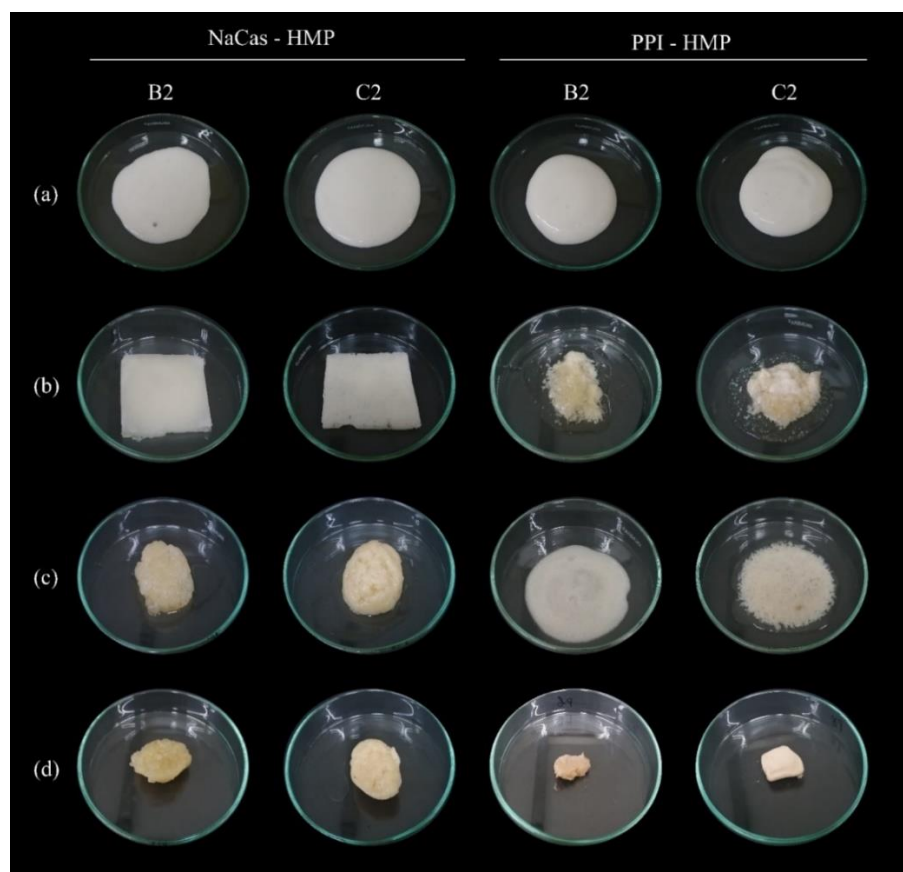
Πίνακας 5: Απώλεια ελαίου αποξηραμένου προϊόντος μετά από άλεση σε μύλο και μάζα στερεής φάσης (HIPE)

Σύστημα		Πριν τη φυγοκέντρηση	Μετά τη φυγοκέντρηση			
			Έλαιο		HIPE	
Ολική μάζα		g	g	%	g	%
g						
NaCas	B ₂	29,36	24,79	84,43	4,57	15,57
	C ₂	29,59	24,36	82,33	5,23	17,67
PPI	B ₂	26,35	25,17	95,52	1,18	4,48
	C ₂	23,04	21,15	91,80	1,89	8,20

Έπειτα τα HIPE που συλλέχθηκαν, αποξηράνθηκαν και προδιορίστηκε η τελική μάζα (g) και η απώλεια νερού που εμφάνισαν (Πίνακας 6), όπου παρατηρείται ότι τα δείγματα που περιέχουν PPI, εμφάνισαν μεγαλύτερη απώλεια νερού και μικρότερη μάζα (g) αποξηραμένου HIPE, σε σχέση με αυτά που περιέχουν NaCas και ότι τα αποξηραμένα HIPE της ομάδας C₂, παρουσίασαν μεγαλύτερη τελική ολική μάζα (g) και απώλεια νερού, από αυτά της ομάδας B₂.

Πίνακας 6: Περιεχόμενο νερό μετά την ξήρανση των HIPE (60°C, 24h)

Σύστημα		Αρχική ολική μάζα	Τελική ολική μάζα	Απώλεια νερού	
		g	g	g	%
NaCas	B ₂	4,17	3,98	0,19	4,56
	C ₂	4,85	4,34	0,51	10,52
PPI	B ₂	0,86	0,75	0,11	12,79
	C ₂	1,55	0,96	0,59	38,06



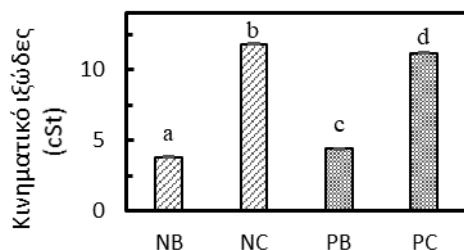
Εικόνα 6: Φωτογραφίες από: (α) το γαλάκτωμα πριν μπει στον φούρνο, (β) το αποξηραμένο προϊόν (δηλαδή το γαλάκτωμα μετά τον φούρνο (60°C, 18h)), (γ) το αποξηραμένο προϊόν μετά από επεξεργασία σε μύλο (30s) και συλλογή της στερεής φάσης (HIPE), (δ) το αποτέλεσμα της αποξήρανσης της στερεής φάσης

Η πειραματική διαδικασία, συνεχίστηκε με την ανάμιξη των υδατικών διαλυμάτων των δειγμάτων B₂ και C₂, που περιέχουν μικτά συστήματα πρωτεΐνης-HMP (NaCas-HMP και PPI-HMP), με την κατάλληλη ποσότητα γλυκερόλης, 30% (w/w βιοπολυμερών), με σκοπό την παρασκευή εδώδιμων μεμβρανών. Τα δείγματα, κωδικοποιήθηκαν με βάση το είδος και τη συγκέντρωση βιοπολυμερών που περιέχουν, όπως φαίνεται στον Πίνακα 7.

Πίνακας 7: Κωδικοποίηση δειγμάτων μεμβρανών

Περιγραφή	Κωδικός (γενικά)	Κωδικός (για τις μεμβράνες)
Nacas 6:1 (B)	B ₂	NB
Nacas 6:1 (C)	C ₂	NC
PPI 6:1 (B)	B ₂	PB
PPI 6:1 (C)	C ₂	PC

Στη συνέχεια, ακολούθησε μέτρηση του κινηματικού ιξώδους (cSt) των υδατικών διαλυμάτων των δειγμάτων, πριν την είσοδο τους στο φούρνο. Τα αποτελέσματα εμφανίζονται στο Σχήμα 6 και δείχνουν ότι τα δείγματα της ομάδας B₂ (NB και PB), παρουσιάζουν αισθητά χαμηλότερες τιμές από τα δείγματα της ομάδας C₂ (NC και PC), ενώ, επίσης το δείγμα NB έχει παρόμοιες τιμές με το PB, όπως και το NC με το δείγμα PC. Επομένως, προκύπτει το συμπέρασμα, ότι το κινηματικό ιξώδες (cSt) των υδατικών διαλυμάτων, αυξάνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης των βιοπολυμερών και είναι ανεξάρτητο από τον τύπο της πρωτεΐνης. Αυτό συμβαίνει, καθώς όπως αναφέρουν οι Guimaraes et al. (2009) (120), όταν η συγκέντρωση των βιοπολυμερών αυξάνεται, οδηγεί στη δημιουργία ισχυρότερου δικτύου, με περισσότερες αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους και επομένως, στην παραμόρφωση στο μοτίβο ταχύτητας του διαλύματος από ενυδατωμένα μόρια της διαλυμένης ουσίας.



Σχήμα 6: Κινηματικό ιξώδες (cSt) υδατικών διαλυμάτων με NaCas ή PPI σε διαφορετικές συγκεντρώσεις

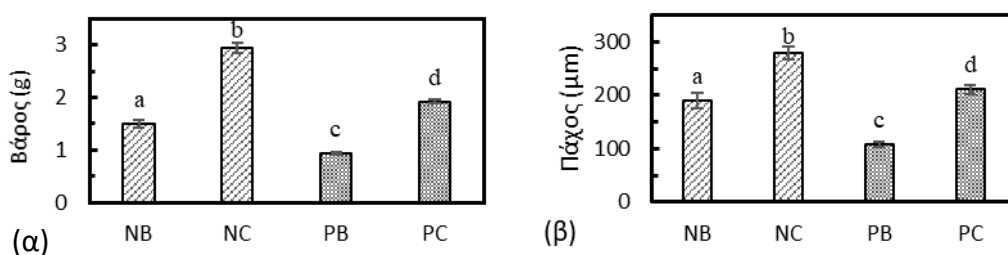
Σε επόμενο στάδιο, τα δείγματα αποξηράνθηκαν για την παραγωγή εδώδιμων μεμβρανών, οι φωτογραφίες των οποίων, μετά την εξαγωγή τους από τα τρυβλία και την τοποθέτησή τους σε λευκό φόντο, παρουσιάζονται στην Εικόνα 7. Όλες οι μεμβράνες που ελήφθησαν, ήταν ορατά διάφανες έως ημιδιάφανες, εύκαμπτες και εύκολα αποσπώμενες από τα τρυβλία, χωρίς εμφανή ελαττώματα με τη μορφή ρωγμών ή πόρων.



Εικόνα 7: Φωτογραφίες των μεμβρανών του πειράματος σε λευκό φόντο

Κατόπιν, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις του βάρους (g) (Σχήμα 7α) και του πάχους (μm) (Σχήμα 7β), των μεμβρανών των δειγμάτων B₂ και C₂, που περιέχουν NaCas-HMP ή PPI-HMP, οι οποίες απεικονίζονται στο Σχήμα 7. Αρχικά, αναφορικά με το βάρος (g), παρατηρείται ότι οι τιμές των δειγμάτων C₂ (NC και PC), είναι διπλάσιες από αυτές των δειγμάτων B₂ (NB και PB), γεγονός που αναμένεται καθώς, τα δείγματα C₂ περιέχουν διπλάσια ποσότητα βιοπολυμερών, από τα δείγματα B₂. Το αυξημένο αυτό βάρος των μεμβρανών C₂ συγκριτικά με τις B₂, επηρεάζει κατ' επέκταση και το πάχος (μm) τους, για το λόγο αυτό υπάρχει παρόμοια τάση και στις τιμές πάχους (μm) των δειγμάτων. Τα δεδομένα αυτά, συμφωνούν με τη μελέτη των Eghbal et al. (2017) (121), για το σχηματισμό σύνθετων μεμβρανών με NaCas και πηκτίνης χαμηλής μεθυλίωσης (LMP), στην οποία η προσθήκη διαφορετικών συγκεντρώσεων NaCas, σε υδατικά διαλύματα σχηματισμού

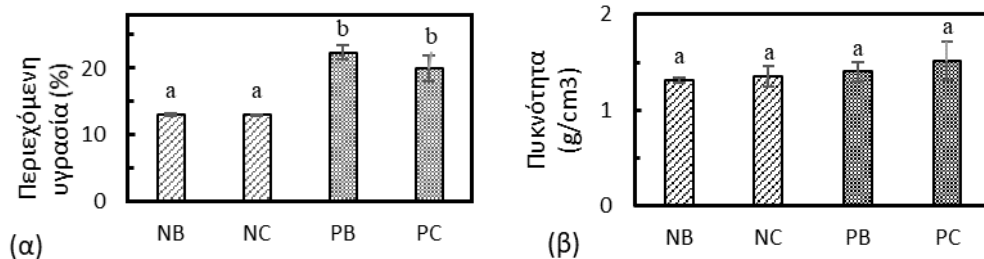
μεμβρανών (FFS) πηκτικής, είχε σημαντική επίδραση στο μέσο πάχος των μεμβρανών, η οποία σχετίζεται κυρίως με την αυξημένη συνολική συγκέντρωση βιοπολυμερών, όταν η αναλογία καζεΐνης: πηκτικής χαμηλής μεθυλίωσης, αυξήθηκε. Παράλληλα, οι μεμβράνες που περιείχαν NaCas (NB και NC), εμφάνισαν υψηλότερες τιμές από αυτές που περιείχαν PPI (PB και PC), δείχνοντας ότι οι παράγοντες αυτοί, επηρεάζονται και από τον τύπο της πρωτεΐνης.



Σχήμα 7 : Βάρος (g) και πάχος (μm) μεμβρανών με NaCas ή PPI σε διαφορετικές συγκεντρώσεις

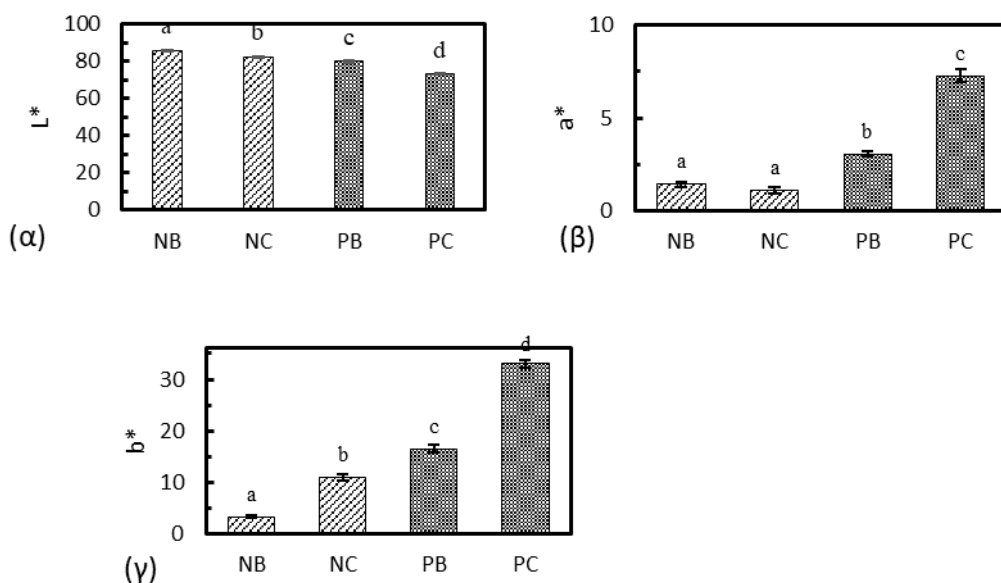
Παράλληλα, υπολογίστηκε η περιεχόμενη υγρασία (%) των μεμβρανών των δειγμάτων B₂ και C₂ (Σχήμα 8α), όπου προέκυψε ότι οι μεμβράνες που περιέχουν NaCas (NB και NC), έχουν αρκετά χαμηλότερες τιμές από αυτές που περιέχουν PPI, δηλαδή ο τύπος της πρωτεΐνης, επιδρά σημαντικά στην παράμετρο αυτή. Παράλληλα, τα δείγματα της ομάδας ομάδας C₂ (NC και PC), εμφάνισαν μικρότερο ποσοστό υγρασίας (%), από τις μεμβράνες της ομάδας B₂ (NB και PB), καθώς η αυξημένη συγκέντρωση βιοπολυμερών, σύμφωνα με τους Eghbal et al. (2017) (121), μπορεί να οδηγήσει στη μειωμένη διαθεσιμότητα ενεργών πολικών θέσεων, για προσρόφηση νερού, λόγω αυξημένων αλληλεπιδράσεων μεταξύ των βιοπολυμερών ενώ, επίσης η αυξημένη ποσότητα πρωτεΐνης, μπορεί να μειώσει την πρόσληψη νερού, λόγω του πιο υδρόφοβου χαρακτήρα της.

Οι παραγόμενες μεμβράνες των δειγμάτων B₂ και C₂, υποβλήθηκαν επίσης, σε μέτρηση της πυκνότητάς (g/cm³) τους (Σχήμα 8β), όπου φανερώθηκε ότι η παράμετρος αυτή, παρουσιάζει παρόμοιες τιμές για όλα τα δείγματα, ανεξάρτητα από τη συγκέντρωση και τον τύπο των βιοπολυμερών, που περιέχουν. Το γεγονός αυτό είναι αναμενόμενο, καθώς όπως φαίνεται στο Σχήμα 7 (α και β), τα δείγματα που εμφάνισαν υψηλές τιμές βάρους, είχαν επίσης υψηλό πάχος και καθώς η επιφάνεια τους είχε ίδια τιμή σε όλα, τότε η πυκνότητα δεν παρουσίασε σημαντικές διαφορές.



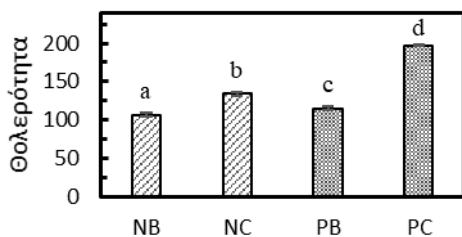
Σχήμα 8: Περιεχόμενη υγρασία (%) και πυκνότητα (g/cm^3) μεμβρανών με NaCas ή PPI σε διαφορετικές συγκεντρώσεις

Έπειτα, μελετήθηκαν οι παράμετροι χρώματος L^* , a^* και b^* των δειγμάτων B_2 και C_2 και τα αποτελέσματά τους παρατίθενται στο Σχήμα 9. Πιο συγκεκριμένα, η παράμετρος της φωτεινότητας L^* (Σχήμα 9α), βρέθηκε να έχει ιδιαίτερα υψηλές όμως, διαφορετικές τιμές σε όλα τα δείγματα, με τις μεμβράνες που περιέχουν NaCas (NB και NC), να είναι φωτεινότερες από αυτές με PPI (PB και PC). Όπως παρατηρείται στην Εικόνα 4, οι σκόνες HMP και PPI, διαθέτουν περισσότερο πορτοκαλί χρώμα, το οποίο αποτελεί συνδυασμό του κίτρινου και κόκκινου χρώματος ενώ, η σκόνη NaCas είναι πιο λευκή. Έτσι, οι τιμές της παραμέτρου a^* (Σχήμα 9β), ήταν θετικές και ιδιαίτερα χαμηλές, για τα δείγματα που περιέχουν NaCas (NB και NC) ενώ, τα δείγματα με PPI (PB και PC), παρουσίασαν αρκετά υψηλότερες τιμές. Ειδικότερα, το PC εμφάνισε ιδιαίτερα υψηλή τιμή, σε σχέση με το PB, δηλαδή περισσότερο ερυθρό χρώμα, συμπεριφορά που οφείλεται πιθανώς στη συμπύκνωσή του, καθώς περιέχει μεγαλύτερη συγκέντρωση HMP και PPI, τα οποία διαθέτουν περισσότερο πορτοκαλί χρώμα. Αναφορικά με τη χρωματική παράμετρο b^* (Σχήμα 9γ), τα δείγματα που περιέχουν NaCas (NB και NC), εμφανίζουν θετικές και χαμηλότερες τιμές, από αυτά που περιέχουν PPI (PB και PC) ενώ, γενικά, οι μεμβράνες της ομάδας C_2 (NC και PC) εμφανίζουν υψηλότερες τιμές από αυτές της ομάδας B_2 (NB και NC), κι έτσι, πιο κίτρινη απόχρωση, για τον ίδιο πιθανό λόγο, αντίστοιχης αύξησης της παραμέτρου a^* . Επομένως, από τον συνδυασμό των παραμέτρων a^* και b^* , προκύπτει, ότι οι μεμβράνες που περιέχουν PPI (PB και PC), έχουν περισσότερο πορτοκαλί χρώμα, σε σχέση με τις NaCas (NB και NC). Έτσι, συμπεραίνεται, ότι η συγκέντρωση και ο τύπος των περιεχόμενων βιοπολυμερών, επιδρά σημαντικά στις χρωματικές παραμέτρους L^* , a^* και b^* των μεμβρανών.



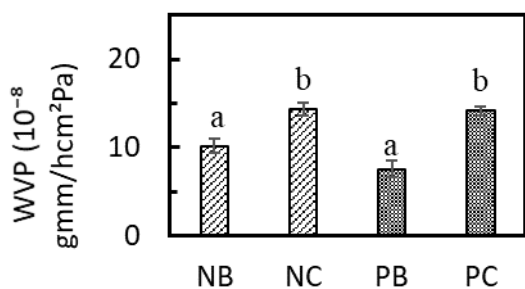
Σχήμα 9: Παράμετροι χρώματος L^* , a^* , b^* μεμβρανών με NaCas ή PPI σε διαφορετικές συγκεντρώσεις

Η εκτίμηση της θολερότητας των μεμβρανών του πειράματος, όπως φαίνεται στο Σχήμα 10, έδειξε ότι τα δείγματα της ομάδας C_2 (NC και PC), έχουν υψηλότερη τιμή από αυτά της ομάδας B_2 (NB και PB), με το δείγμα NC να εμφανίζει ελαφρά υψηλότερη τιμή από το NB, ενώ το PC, παρουσιάζει μεγάλη διαφορά συγκριτικά με το NC. Αυτή η αυξανόμενη τιμή θολερότητας, με την αύξηση της συγκέντρωσης των βιοπολυμερών, μπορεί να συσχετιστεί με το σχηματισμό συμπλοκών, μεταξύ της πρωτεΐνης και της HMP σε pH 7,0. Ο σχηματισμός αυτός, σύμφωνα με τα αποτελέσματα που έλαβαν οι Eghbal et al. (2017) (121), κατά τη δημιουργία σύνθετων μεμβρανών με NaCas και LMP, μπορεί να αποδοθεί σε ελκτικές δυνάμεις μεταξύ των αρνητικά φορτισμένων καρβοξυλικών ομάδων της HMP και των θετικά φορτισμένων τμημάτων της πρωτεΐνης, όπως επίσης και στην ύπαρξη μερικών υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων, μεταξύ των δύο βιοπολυμερών. Παράλληλα, σύμφωνα με τους Sun et al. (2013) (122), το χρώμα και το πάχος των μεμβρανών είναι πολύ σημαντικοί παράγοντες για τη θολερότητα, γεγονός το οποίο επαληθεύεται από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, καθώς όσο παχύτερες ήταν οι μεμβράνες, τόσο μεγαλύτερη βρέθηκε η τιμή της θολερότητάς τους (Σχήμα 7β) ενώ, οι σκουρόχρωμες μεμβράνες είχαν υψηλότερη θολερότητα (Σχήμα 9α).



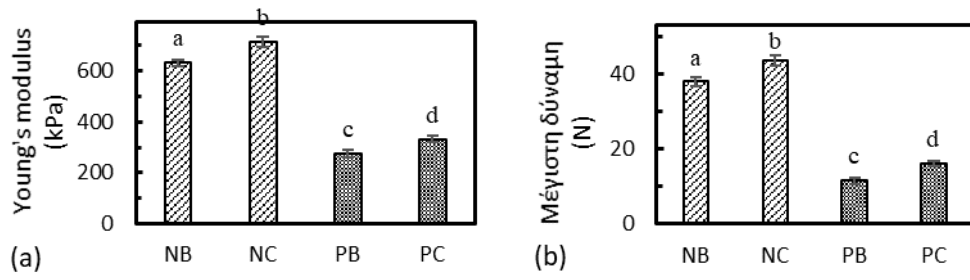
Σχήμα 10: Θολερότητα μεμβρανών με NaCas ή PPI σε διαφορετικές συγκεντρώσεις

Έπειτα, προσδιορίστηκε η διαπερατότητα υδρατμών (WVP) ($\text{gmm}/\text{hcm}^2\text{Pa}$) των δειγμάτων (Σχήμα 11), τα αποτελέσματα των οποίων έδειξαν ότι οι μεμβράνες του πειράματος, παρουσιάζουν διαφορές στις τιμές της. Αναλυτικότερα, τα δείγματα της ομάδας C₂ (NC και PC), τα οποία περιέχουν υψηλότερη ποσότητα βιοπολυμερών, εμφανίζουν υψηλότερες τιμές από αυτά της ομάδας B₂ (NB και NC), γεγονός που θα μπορούσε να αποδοθεί, σύμφωνα με τους Chakravartula et al. (2019) (123), στον μεγαλύτερο αριθμό ελεύθερων υδροξυλομάδων, ενισχύοντας έτσι την αλληλεπίδραση με το νερό και ευνοώντας τη μετάδοση υδρατμών. Επιπλέον, οι μεμβράνες που περιέχουν NaCas, έχουν υψηλότερη WVP ($\text{gmm}/\text{hcm}^2\text{Pa}$) από αυτές με PPI, δείχνοντας μία συσχέτιση του τύπου των περιεχόμενων πρωτεϊνών των μεμβρανών, με τη WVP ($\text{gmm}/\text{hcm}^2\text{Pa}$). Παράλληλα, οι διαφορές στην τιμή της WVP ($\text{gmm}/\text{hcm}^2\text{Pa}$), θα μπορούσαν να εξηγηθούν από το διαφορετικό πάχος των μεμβρανών, όπως φαίνεται από τη μελέτη των Cuq et al. (1996) (124), σύμφωνα με την οποία, η επίδραση του πάχους είναι μια σημαντική μεταβλητή, όταν λαμβάνονται υπόψη οι ιδιότητες φραγμού. Επίσης, οι McHugh et al. (1993) (125), απέδωσαν τα αποτελέσματα πάχους στη σχετική υγρασία, καθώς παρατήρησαν ότι όταν το πάχος της μεμβράνης αυξανόταν, υπήρχε μειωμένη αντίσταση στη μεταφορά υδρατμών, με συνέπεια, το σχηματισμό ενός στάσιμου στρώματος αέρα, που χαρακτηρίζεται από υψηλή μερική πίεση υδρατμών, στην εσωτερική επιφάνεια της μεμβράνης.



Σχήμα 11: Διαπερατότητα υδρατμών (WVP) (gmm/hcm²Pa) μεμβρανών με NaCas ή PPI σε διαφορετικές συγκεντρώσεις

Τέλος, οι παραγόμενες μεμβράνες, υποβλήθηκαν σε δοκιμές διάτρησης και τα αποτελέσματα των μετρήσεων αυτών, παρατίθενται στο Σχήμα 15 (α και β). Εκεί, παρατηρείται ότι ο συντελεστή ακαμψίας Young's modulus (kPa), των μεμβρανών που περιέχουν NaCas (NB και NC), έχει υψηλότερες τιμές από αυτόν στις PPI (PB και PC) ενώ, τα δείγματα της ομάδας B₂ (NB και PB), παρουσιάζουν χαμηλότερες τιμές, από τα δείγματα της ομάδας C₂ (NC και PC), με παρόμοια τάση να εμφανίζεται και στις τιμές μέγιστης δύναμης (N), που απαιτείται για τη διάτρησή τους. Τα αποτελέσματα αυτά, μπορούν να αποδοθούν στην περιεχόμενη υγρασία των δειγμάτων (Σχήμα 8α), καθώς σε χαμηλές τιμές της παραμέτρου αυτής, η περιορισμένη περιεκτικότητα των μεμβρανών σε νερό, το οποίο δρα σαν πλαστικοποιητής, τις καθιστά λιγότερο ελαστικές και ευέλικτες, απαιτώντας μεγαλύτερη δύναμη για τη διάτρησή τους. Έτσι, προκύπτει ότι οι μηχανικές ιδιότητες των μεμβρανών που μελετήθηκαν, επηρεάζονται από τον τύπο και τη συγκέντρωση των πρωτεϊνών, με παρόμοια αποτελέσματα να παρατηρούνται στην έρευνα των Eghbal et al. (2017) (121), όπου διαπιστώθηκε ότι με την αύξηση της συγκέντρωσης του NaCas, οι τιμές Young's modulus των σύνθετων μεμβρανών, αυξήθηκαν σημαντικά, γεγονός που μπορεί να αποδοθεί στην ύπαρξη αλληλεπιδράσεων μεταξύ των δύο βιοπολυμερών, όπως φαίνεται από την αυξημένη τιμή θολερότητας τους. Άλλες μελέτες, όπως αυτή των Pereda et al. (2011) (126), έδειξαν ότι η ενίσχυση των NaCas μεμβρανών, με την προσθήκη τροποποιημένων παραγώγων κυτταρίνης, αύξησε την αντοχή στον εφελκυσμό και το συντελεστή Young's modulus και μείωσε την ευκαμψία τους.



Σχήμα 15: Μηχανικές ιδιότητες μεμβρανών με NaCas ή PPI σε διαφορετικές συγκεντρώσεις

III. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα μεταπτυχιακή εργασία, δημιουργήθηκαν και μελετήθηκαν εδώδιμες μεμβράνες και ελαιοπηκτές, προερχόμενες από διαλύματα μικτών συστημάτων HMP και πρωτεϊνών (NaCas και PPI), σε συγκεντρώσεις και pH, που προέκυψαν από προκαταρκτικά πειράματα.

Αρχικά, προσδιορίστηκε το ισοηλεκτρικό σημείο των μεμονωμένων πρωτεϊνών και μετρήθηκε η απορρόφηση των μικτών συστημάτων NaCas-HMP, PPI-HMP, για την εκτίμηση των αλληλεπιδράσεων πρωτεΐνης-HMP και του πιθανού σχηματισμού συμπλόκων.

Παράλληλα, όλες οι ιδιότητες των παραγόμενων συμβατικών γαλακτωμάτων, φαίνεται να επηρεάστηκαν από την παρουσία της HMP, από τον τύπο της πρωτεΐνης και από τη συγκέντρωση των περιεχόμενων βιοπολυμερών. Αναλυτικότερα, τα γαλακτώματα μικτών συστημάτων πρωτεΐνης-HMP (NaCas-HMP και PPI-HMP), παρουσίασαν υψηλότερο ιξώδες από τα γαλακτώματα μεμονωμένης πρωτεΐνης ενώ, η αύξηση της συγκέντρωσης των περιεχόμενων βιοπολυμερών, οδήγησε σε υψηλότερη τιμή ιξώδους. Επιπλέον, η παράμετρος αυτή, επηρεάστηκε από τον τύπο της πρωτεΐνης, με τα δείγματα που περιέχουν PPI, να έχουν υψηλότερες τιμές, από αυτά που περιέχουν NaCas.

Σε παρόμοια αποτελέσματα οδήγησαν και οι μετρήσεις σταθερότητας των γαλακτωμάτων. Σύμφωνα με αυτές, φάνηκε ότι η προσθήκη HMP και η αύξηση της συγκέντρωσης των βιοπολυμερών, συνέβαλε στη δημιουργία σταθερότερων γαλακτωμάτων, με μία επίσης σημαντική επίδραση του τύπου της πρωτεΐνης, στη σταθερότητα των τελικών προϊόντων.

Ως προς τη ρεολογική τους συμπεριφορά, όλα τα γαλακτώματα εμφάνισαν, μη νευτώνεια, ψευδοπλαστική συμπεριφορά.

Επιπλέον, από τις μετρήσεις ιξώδους των γαλακτωμάτων και των υδατικών διαλυμάτων των μικτών συστημάτων πρωτεΐνης-HMP, βρέθηκε ότι το ιξώδες των διαλυμάτων εμφανίζει ιδιαίτερα χαμηλή και παρόμοια τιμή και για τους δύο τύπους πρωτεϊνών, γεγονός που δεν παρατηρείται στα γαλακτώματα, αποδεικνύοντας ότι δεν επηρεάζεται σημαντικά από τη συγκέντρωση των βιοπολυμερών και από τον τύπο της πρωτεΐνης.

Επιπλέον, βρέθηκε μία επίδραση της διαφορετικής συγκέντρωσης βιοπολυμερών, στις παραμέτρους επιφανειακής και διεπιφανειακής τάσης, των υδατικών διαλυμάτων και συγκεκριμένα, η αύξησή της οδήγησε σε χαμηλότερες τιμές τους.

Η παρασκευή ελαιοπηκτών, δεν οδήγησε στα επιθυμητά αποτελέσματα, οδηγώντας στην δημιουργία γαλακτωμάτων υψηλής εσωτερικής φάσης (HIPE), τα οποία όπως και τα συμβατικά γαλακτώματα, παρουσίασαν εξάρτηση από τον τύπο της πρωτεΐνης και τη συγκέντρωση των περιεχόμενων πρωτεϊνών και HMP. Πιο συγκεκριμένα, τα δείγματα με PPI, εμφάνισαν μεγαλύτερη απώλεια ελαίου και μικρότερη μάζα, σε σχέση με αυτά που περιέχουν NaCas, με παρόμοια δεδομένα να παρατηρούνται και για τα HIPE, με χαμηλότερη συγκέντρωση βιοπολυμερών. Επιπλέον, τα δεδομένα των μετρήσεων τελικής μάζα και απώλειας νερού, των αποξηραμένων HIPE, έδειξαν μία επίσης επίδραση του τύπου της πρωτεΐνης και της συγκέντρωσης των περιεχόμενων βιοπολυμερών στις παραμέτρους αυτές, καθώς τα δείγματα που περιέχουν PPI, εμφάνισαν μεγαλύτερη απώλεια νερού και μικρότερη μάζα, σε σχέση με τα NaCas ενώ, τα αποξηραμένα HIPE με υψηλότερη ποσότητα βιοπολυμερών, παρουσίασαν μεγαλύτερη τελική ολική μάζα και απώλεια νερού.

Τέλος, όλες οι παράμετροι των μεμβρανών του πειράματος, φάνηκε ότι επηρεάστηκαν, σε διαφορετικό βαθμό, από τον τύπο της πρωτεΐνης και τη συγκέντρωση των περιεχόμενων βιοπολυμερών. Πιο αναλυτικά, οι μεμβράνες που περιείχαν NaCas, εμφάνισαν υψηλότερες τιμές πάχους, βάρους, διαπερατότητας υδρατμών (WVP), συντελεστή ακαμψίας Young's modulus και μέγιστης δύναμης (N), συγκριτικά με αυτές που περιείχαν PPI, όπως επίσης και τα δείγματα με μεγαλύτερη ποσότητα βιοπολυμερών. Σημαντική ήταν, επίσης, η επίδραση του τύπου της πρωτεΐνης, στις τιμές της υγρασίας των δειγμάτων, με τις NaCas μεμβράνες να έχουν αρκετά χαμηλότερες τιμές, από αυτές που περιέχουν PPI. Επιπλέον, η πυκνότητα, φάνηκε να μην επηρεάζεται σημαντικά από το διαφορετικό τύπο και τη συγκέντρωση βιοπολυμερών, καθώς όλες οι μεμβράνες εμφάνισαν παρόμοιες τιμές. Τέλος, παρατηρήθηκε αυξανόμενη τιμή θολερότητας, στις παραγόμενες μεμβράνες, με την αύξηση της συγκέντρωσης των βιοπολυμερών ενώ, αναφορικά με τις παραμέτρους χρώματος L^* , a^* και b^* , όλα τα δείγματα εμφάνισαν ιδιαίτερα υψηλές τιμές της παραμέτρου φωτεινότητας L^* και οι παράμετροι a^* και b^* , εμφάνισαν εξάρτηση από τη συγκέντρωση των βιοπολυμερών και κυρίως από τον τύπο της περιεχόμενης πρωτεΐνης, με τις μεμβράνες που περιέχουν PPI να έχουν περισσότερο πορτοκαλί χρώμα, σε σχέση με τις NaCas.

IV. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Chanda M. Introduction to polymer science and chemistry: A problem-solving approach. Introduction to Polymer Science and Chemistry: A Problem-Solving Approach. 2006. 1–629 p.
2. Παναγιώτου Κ. Επιστήμη και τεχνολογία πολυμερών. Θεσσαλονίκη: Εκδόσεις Πήγασος; 2000.
3. Ευαγγελίου Β. Εργαστηριακές Σημειώσεις Φυσικοχημείας Τροφίμων. Αθήνα: Εκδόσεις Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών; 2006.
4. Hoefler AC. Hydrocolloids. Hydrocolloids. 2004.
5. Bourne M. Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement. 2nd ed. San Diego: Academic Press; 2002.
6. Tabilo-Munizaga G, Barbosa-Cánovas G V. Rheology for the food industry. J Food Eng. 2005;67(1–2).
7. Rao MA. Rheology of Fluid and Semisolid Foods: Principles and Applications [Internet]. Inc, Maryland: Aspen Publications; 1999. Available from: <http://books.google.com/books?id=BLImimePW18C&pgis=1>
8. Rao MA. Flow and functional models for rheological properties of fluid foods. In: Food Engineering Series. 2007.
9. Steffe JF. Rheological methods in food process engineering. Second Edi. 2807 Still Valley Dr. East Lansing, USA.: Freeman Press; 1996.
10. H.A. Barnes, J.F. Hutton KW. Viscosity. In: An Introduction to Rheology. 1989. p. 11–35.
11. Παπαιωάννου Θ.Α. Μηχανική των Ρευστών. 2nd ed. Αθήνα; 2002.
12. Rao MA. Viscoelastic properties of foods. Steffe JF, editor. New York: Elsevier Applied Science; 1992. 355–370 p.
13. Damodaran S. Food Proteins and Their Applications. 1st ed. CRC Press; 1997.

14. Haque MA, Timilsena YP, Adhikari B. Food Proteins, Structure, and Function [Internet]. Reference Module in Food Science. Elsevier; 2016. 1–8 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.03057-2>
15. Zellner M, Winkler W, Hayden H, Diestinger M, Eliassen M, Gesslbauer B, et al. Quantitative validation of different protein precipitation methods in proteome analysis of blood platelets. *Electrophoresis*. 2005;26(12):2481–9.
16. John M. Principles of Food Chemistry Third Edition [Internet]. Science. 1999. 500 p. Available from: http://www.knovel.com/web/portal/browse/display?_EXT_KNOVEL_DISPLAY_bookid=1093
17. Kinsella JE. Functional properties of proteins in foods: A survey. *C R C Crit Rev Food Sci Nutr*. 1976;7(3):219–80.
18. T. Gunathilake. The comparative compositional analysis and the evaluation of functional properties of protein isolates of selected locally available low fat legume varieties. 2015;(July).
19. Haque MA, Timilsena YP, Adhikari B. Food Proteins, Structure, and Function [Internet]. Reference Module in Food Science. Elsevier; 2016. 1–8 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.03057-2>
20. Belitz HD, Grosch W, Schieberle P. Food chemistry, 4th revised and extended edn. Berlin (DE): Springer. 2009;
21. Ge J, Sun CX, Corke H, Gul K, Gan RY, Fang Y. The health benefits, functional properties, modifications, and applications of pea (*Pisum sativum* L.) protein: Current status, challenges, and perspectives. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2020;19(4).
22. Burger TG, Zhang Y. Recent progress in the utilization of pea protein as an emulsifier for food applications. Vol. 86, *Trends in Food Science and Technology*. 2019.
23. Lan Y, Chen B, Rao J. Pea protein isolate–high methoxyl pectin soluble complexes for improving pea protein functionality: Effect of pH, biopolymer ratio and concentrations. *Food Hydrocoll*. 2018;80.

24. Gharsallaoui A, Yamauchi K, Chambin O, Cases E, Saurel R. Effect of high methoxyl pectin on pea protein in aqueous solution and at oil/water interface. *Carbohydr Polym.* 2010;80(3).
25. Aluko RE, Mofolasayo OA, Watts BM. Emulsifying and foaming properties of commercial yellow pea (*Pisum sativum* L.) seed flours. *J Agric Food Chem.* 2009;57(20):9793–800.
26. Dalgleish D. Milk proteins-Chemistry and physics. In: *Food proteins.* Applied Sciences Publisher; 1982. p. 155–78.
27. Walstra P, Wouters JTM, Geurts TJ. *Dairy science and technology, second edition.* Dairy Science and Technology, Second Edition. 2005.
28. Chandan RC, Kilara A. Dairy-Based Ingredients. 2016;197–219.
29. Wusigale, Liang L, Luo Y. Casein and pectin: Structures, interactions, and applications. Vol. 97, *Trends in Food Science and Technology.* 2020.
30. Bhat MY, Dar TA, Singh LR. Casein Proteins: Structural and Functional Aspects. *Milk Proteins - From Struct to Biol Prop Heal Asp.* 2016;3–18.
31. Singh H. Milk Protein Products: Functional Properties of Milk Proteins. *Encycl Dairy Sci* Second Ed. 2011;887–93.
32. Green ML. The formation and structure of milk protein gels. *Food Chem.* 1980;6(1):41–9.
33. Singh H, Ye A. Interactions and Functionality of Milk Proteins in Food Emulsions [Internet]. Second Edi. *Milk Proteins.* Elsevier Inc.; 2014. 359–386 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-405171-3/00012-X>
34. Yang X, Li A, Li X, Sun L, Guo Y. An overview of classifications, properties of food polysaccharides and their links to applications in improving food textures. *Trends Food Sci Technol* [Internet]. 2020;102(June):1–15. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.05.020>
35. Noreen A, Nazli Z i. H, Akram J, Rasul I, Mansha A, Yaqoob N, et al. Pectins functionalized biomaterials; a new viable approach for biomedical applications: A review. Vol. 101, *International Journal of Biological Macromolecules.* 2017.

36. Stephen AM, Phillips GO, Williams PA. Food Polysaccharides and Their Applications: Second Edition. Food Polysaccharides and Their Applications: Second Edition. 2016. 1–733 p.
37. Patova OA, Golovchenko V V., Ovodov YS. Pectic polysaccharides: Structure and properties. Russ Chem Bull. 2014;63(9):1901–24.
38. Handbook of Food Enzymology. Handbook of Food Enzymology. 2002.
39. Espitia PJP, Du WX, Avena-Bustillos R de J, Soares N de FF, McHugh TH. Edible films from pectin: Physical-mechanical and antimicrobial properties - A review. Vol. 35, Food Hydrocolloids. 2014.
40. Flutto L. PECTIN-Properties and Determination. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition. Danisco, New Century, KS, USA; 2003. 4442–4449 p.
41. De Kruif CG, Tuinier R. Polysaccharide protein interactions. Food Hydrocoll. 2001;15(4–6).
42. Benichou A, Aserin A, Garti N. Protein-polysaccharide interactions for stabilization of food emulsions. J Dispers Sci Technol. 2002;23(1–3):93–123.
43. K. A, Bandyopadhyay P. Polysaccharide-Protein Interactions and Their Relevance in Food Colloids. In: The Complex World of Polysaccharides. 2012.
44. Schmitt C, Turgeon SL. Protein/polysaccharide complexes and coacervates in food systems. Adv Colloid Interface Sci [Internet]. 2011;167(1–2):63–70. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cis.2010.10.001>
45. S. Tcholakova NDD and AL. Comparison of solid particles, globular proteins and surfactants as emulsifiers. Phys Chem Chem Phys. 2008;10:1608–27.
46. Kabalnov A. Ostwald ripening and related phenomena. J Dispers Sci Technol. 2001;22(1):1–12.
47. Papon P, Leblond J, Meijer PHE. Gelation and Transitions in Biopolymers. In: The Physics of Phase Transitions. 2007.
48. Stokes JR. Food Biopolymer Gels, Microgel and Nanogel Structures, Formation and Rheology. In: Food Materials Science and Engineering. 2012.

49. McClements DJ. Food emulsions: Principles, practices, and techniques: Second edition. Food Emulsions: Principles, Practices, and Techniques, Second Edition. 2004.
50. Serdaroğlu M, Öztürk B, Kara A. An Overview of Food Emulsions: Description, Classification and Recent Potential Applications. Turkish J Agric - Food Sci Technol. 2015;3(6).
51. McClements DJ. Food Emulsions Principles, Practices, and Techniques. Third Edit. CRC Press; 2005.
52. McClements DJ. Critical review of techniques and methodologies for characterization of emulsion stability. Vol. 47, Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2007.
53. Vankova N, Tcholakova S, Denkov ND, Ivanov IB, Vulchev VD, Danner T. Emulsification in turbulent flow. 1. Mean and maximum drop diameters in inertial and viscous regimes. J Colloid Interface Sci. 2007;312(2).
54. Wilde PJ. Improving Emulsion Stability Through Selection of Emulsifiers and Stabilizers. In: Reference Module in Food Science. 2019.
55. Lissant KJ. Food emulsions. In: Dekker M, editor. Emulsions and emulsion technology. New York; 1974. p. 253–8.
56. Lyklema J, Van Leeuwen HP, Minor M. DLVO-theory, a dynamic re-interpretation. Vol. 83, Advances in Colloid and Interface Science. 1999.
57. Derkach SR. Rheology of emulsions. Vol. 151, Advances in Colloid and Interface Science. 2009.
58. Dickinson E. Flocculation of protein-stabilized oil-in-water emulsions. Colloids Surfaces B Biointerfaces [Internet]. 2010;81(1):130–40. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2010.06.033>
59. Dickinson E. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. Food Hydrocoll. 2003;17(1):25–39.
60. McClements DJ. Comments on viscosity enhancement and depletion flocculation by polysaccharides. Food Hydrocoll. 2000;14(2).

61. Julian McClements D, Henson L, Popplewell LM, Decker EA, Jun Choi S. Inhibition of Ostwald ripening in model beverage emulsions by addition of poorly water soluble triglyceride oils. *J Food Sci.* 2012;77(1).
62. Siri-Tarino PW, Chiu S, Bergeron N, Krauss RM. Saturated Fats Versus Polyunsaturated Fats Versus Carbohydrates for Cardiovascular Disease Prevention and Treatment. *Annu Rev Nutr.* 2015;35(1):517–43.
63. Stortz TA, Zetzl AK, Barbut S, Cattaruzza A, Marangoni AG. Edible oleogels in food products to help maximize health benefits and improve nutritional profiles. *Lipid Technol.* 2012;24(7):151–4.
64. Patel AR, Dewettinck K. Edible oil structuring: An overview and recent updates. *Food Funct.* 2016;7(1):20–9.
65. Marangoni, A. G., Garti N. *Edible Oleogels: Structure and Health Implications.* Academic Press and AOCS Press; 2001. 352 p.
66. Patel AR. *Formation and Properties of Biopolymer - Based Oleogels Formation of Polymer - Based Oleogels.* 2018;
67. Patel AR, Cludts N, Sintang MD Bin, Lesaffer A, Dewettinck K. Edible oleogels based on water soluble food polymers: Preparation, characterization and potential application. *Food Funct.* 2014;5(11):2833–41.
68. Gravelle AJ, Barbut S, Marangoni AG. Ethylcellulose oleogels: Manufacturing considerations and effects of oil oxidation. *Food Res Int* [Internet]. 2012;48(2):578–83. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2012.05.020>
69. Sánchez, R., Stringari, G. B., Franco, J. M., Valencia, C., & Gallegos C. Use of chitin, chitosan and acylated derivatives as thickener agents of vegetable oils for bio-lubricant applications. *Carbohydr Polym.* 2011;705–14.
70. Patel A. Alternative routes to oil structuring. In: *pringer Briefs in Food, Health, and Nutrition.* Cham, Switzerland: Springer; 2015. p. 70.
71. De Vries A, Hendriks J, Van Der Linden E, Scholten E. Protein Oleogels from Protein Hydrogels

via a Stepwise Solvent Exchange Route. *Langmuir*. 2015;31(51):13850–9.

72. Romoscanu AI, Mezzenga R. Emulsion-templated fully reversible protein-in-oil gels. *Langmuir*. 2006;22(18):7812–8.
73. Turgeon SL, Schmitt C, Sanchez C. Protein-polysaccharide complexes and coacervates. *Curr Opin Colloid Interface Sci*. 2007;12(4–5):166–78.
74. Patel AR, Rajarethinem PS, Cludts N, Lewille B, De Vos WH, Lesaffer A, et al. Biopolymer-based structuring of liquid oil into soft solids and oleogels using water-continuous emulsions as templates. *Langmuir*. 2015;31(7):2065–73.
75. Tavernier I, Patel AR, Van der Meeren P, Dewettinck K. Emulsion-templated liquid oil structuring with soy protein and soy protein: κ -carrageenan complexes. *Food Hydrocoll* [Internet]. 2017;65:107–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.11.008>
76. Nikiforidis C V., Scholten E. Polymer organogelation with chitin and chitin nanocrystals. *RSC Adv* [Internet]. 2015;5(47):37789–99. Available from: <http://dx.doi.org/10.1039/C5RA06451A>
77. Gao H, Ma L, Cheng C, Liu J, Liang R, Zou L, et al. Review of recent advances in the preparation, properties, and applications of high internal phase emulsions. Vol. 112, *Trends in Food Science and Technology*. 2021.
78. Ma L, Zou L, McClements DJ, Liu W. One-step preparation of high internal phase emulsions using natural edible Pickering stabilizers: Gliadin nanoparticles/gum Arabic. *Food Hydrocoll*. 2020;100.
79. Jiang Y, Zhang C, Yuan J, Wu Y, Li F, Li D, et al. Effects of pectin polydispersity on zein/pectin composite nanoparticles (ZAPs) as high internal-phase Pickering emulsion stabilizers. *Carbohydr Polym*. 2019;219.
80. Tripathi S, Bhattacharya A, Singh R, Tabor RF. Rheological behavior of high internal phase water-in-oil emulsions: Effects of droplet size, phase mass fractions, salt concentration and aging. *Chem Eng Sci*. 2017;174.

81. Tan H, Sun G, Lin W, Mu C, Ngai T. Gelatin particle-stabilized high internal phase emulsions as nutraceutical containers. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2014;6(16).
82. Calderó G, Llinàs M, García-Celma MJ, Solans C. Studies on controlled release of hydrophilic drugs from W/O high internal phase ratio emulsions. *J Pharm Sci*. 2010;99(2).
83. Albert C, Beladjine M, Tsapis N, Fattal E, Agnely F, Huang N. Pickering emulsions: Preparation processes, key parameters governing their properties and potential for pharmaceutical applications. Vol. 309, *Journal of Controlled Release*. 2019.
84. Cui R, Zhu F. Ultrasound modified polysaccharides: A review of structure, physicochemical properties, biological activities and food applications. Vol. 107, *Trends in Food Science and Technology*. 2021.
85. Zhang T, Xu J, Zhang Y, Wang X, Lorenzo JM, Zhong J. Gelatins as emulsifiers for oil-in-water emulsions: Extraction, chemical composition, molecular structure, and molecular modification. Vol. 106, *Trends in Food Science and Technology*. 2020.
86. Cheng C, Wu Z, Wang Y, Chen J, Zhong Y, Liang R, et al. Tunable high internal phase emulsions (HIPEs) formulated using lactoferrin-gum Arabic complexes. *Food Hydrocoll*. 2021;113.
87. Xiao Z, Wang L, Lv C, Guo S, Lu X, Tao L, et al. Preparation and characterization of pH-responsive Pickering emulsion stabilized by grafted carboxymethyl starch nanoparticles. *Int J Biol Macromol*. 2020;143.
88. Yang T, Zheng J, Zheng BS, Liu F, Wang S, Tang CH. High internal phase emulsions stabilized by starch nanocrystals. *Food Hydrocoll*. 2018;82.
89. Yan C, McClements DJ, Zou L, Liu W. A stable high internal phase emulsion fabricated with OSA-modified starch: An improvement in β -carotene stability and bioaccessibility. *Food Funct*. 2019;10(9).
90. Liang L, Chen F, Wang X, Jin Q, Decker EA, McClements DJ. Physical and Oxidative Stability of Flaxseed Oil-in-Water Emulsions Fabricated from Sunflower Lecithins: Impact of Blending Lecithins with Different Phospholipid Profiles. *J Agric Food Chem*. 2017;65(23).

91. Zeng T, Wu Z ling, Zhu JY, Yin SW, Tang CH, Wu LY, et al. Development of antioxidant Pickering high internal phase emulsions (HIPEs) stabilized by protein/polysaccharide hybrid particles as potential alternative for PHOs. *Food Chem.* 2017;231.
92. Tan C, Lee MC, Pajoumshariati S, Abbaspourrad A. Sonochemically Synthesized Ultrastable High Internal Phase Emulsions via a Permanent Interfacial Layer. *ACS Sustain Chem Eng.* 2018;6(11).
93. Milda E. Embuscado KCH. *Edible Films and Coatings for Food Applications.* Edible Films and Coatings for Food Applications. 2009.
94. Sánchez-Ortega I, García-Almendárez BE, Santos-López EM, Amaro-Reyes A, Barboza-Corona JE, Regalado C. Antimicrobial edible films and coatings for meat and meat products preservation. Vol. 2014, *Scientific World Journal.* 2014.
95. Kong M, Chen XG, Xing K, Park HJ. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. Vol. 144, *International Journal of Food Microbiology.* 2010.
96. Barnes HA. *A Handbook of Elementary Rheology.* Vol. 6, Polymer Composites. 2000.
97. Αμπατζίδης Χ. Ρεολογικός χαρακτηρισμός διεπιφανειών για τη μελέτη σταθερότητας γαλακτωμάτων με χρήση μη συμβατικών τασενεργών. Θεσσαλονίκη: Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης-Τμήμα Χημείας; 2014.
98. Yapo BM, Robert C, Etienne I, Wathelet B, Paquot M. Effect of extraction conditions on the yield, purity and surface properties of sugar beet pulp pectin extracts. *Food Chem.* 2007;100(4):1356–64.
99. Vélez-Erazo EM, Bosqui K, Rabelo RS, Kurozawa LE, Hubinger MD. High internal phase emulsions (HIPE) using pea protein and different polysaccharides as stabilizers. *Food Hydrocoll.* 2020;105.
100. Viswanath DS, Ghosh TK, Prasad DHL, Dutt NVK, Rani KY. Viscosity of liquids: Theory, estimation, experiment, and data. *Viscosity of Liquids: Theory, Estimation, Experiment, and Data.* 2007.
101. Drakos A, Pelava E, Evageliou V. Properties of flour films as affected by the flour's source and

- particle size. *Food Res Int.* 2018;107.
102. Sartori, T., Feltre, G., Sobral, P. J. A., Cunha, R. L., & Menegalli FC. "Properties of films produced from blends of pectin and gluten." *Food Packag shelf life.* 2019;18(4):221–9.
 103. Αρβανιτογιάννης, Ι.Σ., Βαρζάκης, Θ.Χ. και Τζίφα Κ. Έλεγχος Ποιότητας Τροφίμων. Αθήνα: Εκδόσεις Σταμούλης Α.Ε.; 2008. 187–188 p.
 104. CIELAB Chroma Coordinates Figure [Internet]. Available from: <http://meterglobal.com/info-1.html>
 105. Gontard N, Duchez C, Cuq J, Guilbert S. Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapour permeability and other physical properties. *Int J Food Sci Technol.* 1994;29(1):39–50.
 106. Sobral PJA, Menegalli FC, Hubinger MD, Roques MA. Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. *Food Hydrocoll.* 2001;15(4–6).
 107. O’Kennedy BT. Caseins. *Handb Food Proteins.* 2011;13–29.
 108. Doan CD, Ghosh S. Formation and stability of pea proteins nanoparticles using ethanol-induced desolvation. *Nanomaterials.* 2019;9(7).
 109. Liu S, Elmer C, Low NH, Nickerson MT. Effect of pH on the functional behaviour of pea protein isolate-gum Arabic complexes. *Food Res Int* [Internet]. 2010;43(2):489–95. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2009.07.022>
 110. De Kruif CG, Weinbreck F, De Vries R. Complex coacervation of proteins and anionic polysaccharides. *Curr Opin Colloid Interface Sci.* 2004;9(5):340–9.
 111. K. A, Bandyopadhyay P. Polysaccharide-Protein Interactions and Their Relevance in Food Colloids. *The Complex World of Polysaccharides.* 2012;
 112. Singh H, Sarkar A. Behaviour of protein-stabilised emulsions under various physiological conditions. *Adv Colloid Interface Sci* [Internet]. 2011;165(1):47–57. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cis.2011.02.001>
 113. Wagoner TB, Foegeding EA. Whey protein–pectin soluble complexes for beverage

- applications. *Food Hydrocoll* [Internet]. 2017;63:130–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.08.027>
114. Stone AK, Cheung L, Chang C, Nickerson MT. Formation and functionality of soluble and insoluble electrostatic complexes within mixtures of canola protein isolate and (κ -, ι - and λ -type) carrageenan. *Food Res Int* [Internet]. 2013;54(1):195–202. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2013.06.009>
 115. Mao L, Roos YH, Miao S. Study on the rheological properties and volatile release of cold-set emulsion-filled protein gels. *J Agric Food Chem*. 2014;62(47):11420–8.
 116. Wijaya W, Van der Meeren P, Patel AR. Cold-set gelation of whey protein isolate and low-methoxyl pectin at low pH. *Food Hydrocoll* [Internet]. 2017;65:35–45. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.10.037>
 117. Ngouémazong ED, Christiaens S, Shpigelman A, Van Loey A, Hendrickx M. The Emulsifying and Emulsion-Stabilizing Properties of Pectin: A Review. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2015;14(6):705–18.
 118. Jourdain L, Leser ME, Schmitt C, Michel M, Dickinson E. Stability of emulsions containing sodium caseinate and dextran sulfate: Relationship to complexation in solution. *Food Hydrocoll*. 2008;22(4):647–59.
 119. Liu Y, Fu D, Bi A, Wang S, Li X, Xu X, et al. Development of a high internal phase emulsion of antarctic krill oil diluted by soybean oil using casein as a co-emulsifier. *Foods*. 2021;10(5).
 120. Guimarães GC, Júnior MCC, Rojas EEG. Density and kinematic viscosity of pectin aqueous solution. *J Chem Eng Data*. 2009;54(2):662–7.
 121. Eghbal N, Degraeve P, Oulahal N, Yarmand MS, Mousavi ME, Gharsallaoui A. Low methoxyl pectin/sodium caseinate interactions and composite film formation at neutral pH. *Food Hydrocoll* [Internet]. 2017;69:132–40. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.01.033>
 122. Sun Q, Sun C, Xiong L. Mechanical, barrier and morphological properties of pea starch and peanut protein isolate blend films. *Carbohydr Polym* [Internet]. 2013;98(1):630–7. Available

from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.06.040>

123. Chakravartula SSN, Soccio M, Lotti N, Balestra F, Dalla Rosa M, Siracusa V. Characterization of composite edible films based on pectin/alginate/whey protein concentrate. *Materials (Basel)*. 2019;12(15):1–19.
124. Cuq B, Gontard N, Cuq JL, Guilbert S. Functional properties of myofibrillar protein-based biopackaging as affected by film thickness. *J Food Sci*. 1996;61(3):580–4.
125. McHUGH TH, AVENA-BUSTILLOS R, KROCHTA JM. Hydrophilic Edible Films: Modified Procedure for Water Vapor Permeability and Explanation of Thickness Effects. *J Food Sci*. 1993;58(4):899–903.
126. Pereda M, Amica G, Rácz I, Marcovich NE. Preparation and characterization of sodium caseinate films reinforced with cellulose derivatives. *Carbohydr Polym* [Internet]. 2011;86(2):1014–21. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.05.063>