



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

**Διδακτορική Διατριβή**

Μελέτη της παραλαβής πηκτινών από απόβλητα εσπεριδοειδών  
και της αξιοποίησής τους ως λειτουργικά συστατικά από τη βιομηχανία τροφίμων

**Μαριάνθη Κ. Ζιώγα**

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια:

Βασιλική Ευαγγελίου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Γ.Π.Α.

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή:

Βασιλική Ευαγγελίου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Γ.Π.Α.

Ιωάννα Μαντάλα, Καθηγήτρια Γ.Π.Α.

Απόστολος Κουτίνας, Αναπληρωτής Καθηγητής Γ.Π.Α.



**ΑΘΗΝΑ  
2023**

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

**Διδακτορική Διατριβή**

Μελέτη της παραλαβής πηκτινών από απόβλητα εσπεριδοειδών και της αξιοποίησής τους ως λειτουργικά συστατικά από τη βιομηχανία τροφίμων

“Study of the isolation of pectins from citrus waste and their valorisation as functional ingredients by the food industry”

**Μαριάνθη Κ. Ζιώγα**

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή:

Βασιλική Ευαγγελίου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Γ.Π.Α. (Επιβλέπουσα)

Ιωάννα Μαντάλα, Καθηγήτρια Γ.Π.Α.

Απόστολος Κουτίνας, Αναπληρωτής Καθηγητής Γ.Π.Α.

Χρυσανγή Γαρδέλη, Επίκουρη Καθηγήτρια Γ.Π.Α.

Θεοφανία Τσιρώνη, Επίκουρη Καθηγήτρια Γ.Π.Α.

Χρήστος Ριτζούλης, Καθηγητής Διεθνές Πανεπιστήμιο Ελλάδος

Περσεφόνη Γιαννούλη, Επίκουρη Καθηγήτρια Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

## Μελέτη της παραλαβής πηκτινών από απόβλητα εσπεριδοειδών και της αξιοποίησής τους ως λειτουργικά συστατικά από τη βιομηχανία τροφίμων

Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων & Διατροφής του Ανθρώπου  
Εργαστήριο Χημείας & Ανάλυσης Τροφίμων

### Περίληψη

Το πρώτο μέρος της παρούσας διατριβής (§ 4.1) ασχολήθηκε με τη μελέτη της δυνατότητας εκχύλισης της πηκτίνης από φλούδες πορτοκαλιών με πράσινες μεθόδους και την αξιοποίησή της ως λειτουργικό συστατικό σε εφαρμογές τροφίμων. Στο πλαίσιο αυτό, αρχικά (§ 4.1.1) πραγματοποιήθηκε παραλαβή πηκτινών από το μεσοκάρπιο ή ολόκληρη την φλούδα πορτοκαλιών, με τη χρήση υδροχλωρικού οξέος ή κιτρικού οξέος ή με τη βοήθεια της ενέργειας μικροκυμάτων ώστε να αξιολογηθεί εάν η πράσινη μέθοδος παραλαβής της πηκτίνης είναι ικανή να φέρει συγκρίσιμα αποτελέσματα απόδοσης παραλαβής και ποιότητας της προκύπτουσας πηκτίνης, σε σχέση με τις συμβατικές μεθόδους όπου χρησιμοποιείται οξύ. Η απόδοση παραλαβής κυμάνθηκε από 11 – 23%, το περιεχόμενο σε γαλακτουρονικό οξύ από 46 – 74%, το εσωτερικό ιξώδες από 0,3 – 0,8 dL/g, και το μοριακό βάρος από 5 – 15 kDa. Όλες οι πηκτίνες που προέκυψαν ήταν υψηλής μεθυλίωσης, καθώς είχαν βαθμό εστεροποίησης (DE) μεγαλύτερο του 50%, και τα υδατικά τους διαλύματα είχαν όξινο pH. Τόσο η πρώτη ύλη όσο οι συνθήκες παραλαβής επηρέασαν τις φυσικοχημικές ιδιότητες των πηκτινών που μελετήθηκαν. Η εκχύλιση με την βοήθεια μικροκυμάτων οδήγησε σε καλές αποδόσεις και για τις δύο πρώτες ύλες. Οι πηκτίνες που προέκυψαν από την μέθοδο αυτή, χαρακτηρίστηκαν από υψηλό DE και περιεχόμενο σε γαλακτουρονικό οξύ. Επίσης, αξιολογήθηκαν και οι πηκτωματοποιητικές και γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες των πηκτινών. Σχετικά με τις πρώτες, όλες οι πηκτίνες οδήγησαν σε σχηματισμό πηκτής κατόπιν ψύξης από τους 95°C στους 5°C, που ήταν θερμικά μη αντιστρεπτή. Σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των ~40°C, τα μέτρα G' και G'' παρέμειναν πρακτικά σταθερά για όλες τις πηκτές, εκτός από εκείνες των πηκτινών που παρελήφθησαν με την χρήση κιτρικού οξέος, στις οποίες παρατηρήθηκε αύξηση. Ακόμη, όταν οι πηκτές θερμάνθηκαν και επαναψύχθηκαν, παρατηρήθηκε συμπεριφορά θερμικής αναδιάταξης. Συναίρεση καταγράφηκε σε όλες τις πηκτές σε μεγάλο βαθμό. Σχετικά με τα γαλακτώματοποιητικές ιδιότητες των πηκτινών, όλες οι πηκτίνες σχημάτισαν γαλακτώματα με ψευδοπλαστική συμπεριφορά. Τα πιο σταθερά γαλακτώματα, με το υψηλότερο ιξώδες και την χαμηλότερη τιμή αγωγιμότητας ήταν εκείνα που περιείχαν πηκτίνη που παρελήφθη με την χρήση υδροχλωρικού οξέος. Συνολικά, όλες οι πηκτίνες θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως συστατικά τροφίμων προσδίδοντας συγκεκριμένες ιδιότητες (π.χ. ρεολογικές, υφής).

Στο επόμενο βήμα (§ 4.1.2), πραγματοποιήθηκε παραλαβή πηκτινών από μεσοκάρπια φλουδών πορτοκαλιού με εκχύλιση υποβοηθούμενη από μικροκύματα, υπερήχους ή τον συνδυασμό αυτών, υπό διάφορες πειραματικές συνθήκες. Ο DE των πηκτινών που προέκυψαν κυμάνθηκε από 45-75%. Ακολούθησε μελέτη των ιδιοτήτων δύο επιλεγμένων πηκτινών που προέκυψαν μέσω εκχύλισης με μικροκύματα ή με συνδυασμό υπερήχων-μικροκυμάτων, αλλά και μίας εμπορικής πηκτίνης. Οι παρεληφθείσες πηκτίνες είχαν πιο σκούρο χρώμα, ήταν λιγότερο επιφανειοδραστικές και είχαν μικρότερες τιμές εσωτερικού ιξώδους και ζ' – δυναμικού, σε σχέση με το εμπορικό δείγμα πηκτίνης. Τα υδατικά διαλύματα όλων των πηκτινών ήταν Νευτώνεια. Συνολικά, η μέθοδος εκχύλισης που χρησιμοποιήθηκε ήταν καθοριστικής σημασίας για τις ιδιότητες των πηκτινών που προέκυψαν. Κατόπιν, με τις ίδιες τρεις πηκτίνες παρασκευάστηκαν εδώδιμες μεμβράνες παρουσία εκχυλίσματος δίκταμου ή γλυκάνισου, με στόχο τη διερεύνηση της δυνατότητας αξιοποίησης αυτών για την παρασκευή

εδώδιμης συσκευασίας με αντιοξειδωτικές ικανότητες λόγω της παρουσίας του εκχυλίσματος των βοτάνων. Όλες οι μεμβράνες είχαν στατιστικά το ίδιο πάχος (~40 μm) και την ίδια περιεχόμενη υγρασία (~25%). Για τις περιπτώσεις με το ίδιο εκχύλισμα βοτάνου, όλες οι πηκτίνες οδήγησαν σε μεμβράνες με ίδια πυκνότητα (~1,0 και 1,2 g/cm<sup>3</sup>, για τις μεμβράνες δίκταμου και γλυκάνισου, αντίστοιχα). Σχετικά με τις μηχανικές ιδιότητες, τιμές των 2 – 4,7 N και ~77 – 191 kPa καταγράφηκαν για την μέγιστη δύναμη και την ελαστικότητα των μεμβρανών, αντίστοιχα. Η μεμβράνη εμπορικής πηκτίνης με εκχύλισμα γλυκάνισου ήταν η πιο ισχυρή και αυτή με εκχύλισμα δίκταμου, η πιο άκαμπτη. Ακόμη, προσδιορίστηκαν το ολικό φαινολικό περιεχόμενο και η αντιοξειδωτική ικανότητα των μεμβρανών αλλά και των διαλυμάτων σχηματισμού αυτών. Και για τις δυο περιπτώσεις, οι τιμές του ολικού φαινολικού περιεχομένου κυμάνθηκαν από 0,04 – 0,16 mg GAE/0,5 mL εκχυλίσματος, ενώ οι τιμές της αντιοξειδωτικής ικανότητας από ~62 – 91%. Οι μεμβράνες είχαν υψηλότερο φαινολικό περιεχόμενο αλλά χαμηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα σε σχέση με τα διαλύματα σχηματισμού. Συνολικά, και οι δύο πηκτίνες που παρελήφθησαν μέσω πράσινης μεθόδου εκχύλισης οδήγησαν σε σχηματισμό μεμβρανών που για τις περισσότερες υπό μελέτη ιδιότητες δε διέφεραν σε σημαντικό βαθμό από τις μεμβράνες εμπορικής πηκτίνης. Η παρουσία του εκχυλίσματος δίκταμου ή γλυκάνισου επηρέασε σε σημαντικό βαθμό τις παραπάνω παρατηρήσεις.

Στο δεύτερο μέρος της διατριβής (§ 4.2), μελετήθηκε η συμπεριφορά φάσης και η αξιοποίηση μιγμάτων πηκτίνης και πρωτεΐνης. Αρχικά, στην § 4.2.1, η μελέτη αφορούσε στις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις που αναπτύσσονται μεταξύ των μορίων πηκτίνης υψηλής μεθυλίωσης και των μορίων πρωτεΐνης [καζεϊνικό νάτριο (SC), υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών ορού γάλακτος (WPI) και υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών αρακά (PPI)], σε διαφορετικές αναλογίες πρωτεΐνης: πηκτίνης (1:1 έως 10:1) κατά τη διάρκεια οξίνισης. Η τελική συγκέντρωση της πηκτίνης ήταν σταθερή (0,1% w/w), ενώ της πρωτεΐνης κυμαινόταν ανάλογα με την αναλογία ανάμιξης των βιοπολυμερών. Η διαδικασία του σχηματισμού συμπλόκων διερευνήθηκε, κατά κύριο λόγο, μέσω της κατασκευής διαγραμμάτων φάσης και της καταγραφής των τιμών ζ – δυναμικού. Στα μίγματα και των τριών πρωτεϊνών, παρατηρήθηκε συνδιαλυτότητα και σχηματισμός διαλυτών και αδιάλυτων συμπλόκων σε συγκεκριμένες περιοχές pH, οι οποίες διέφεραν ανάλογα με τον τύπο πρωτεΐνης, την αναλογία ανάμιξης και το pH. Γενικά, οι μεγαλύτερες αναλογίες βιοπολυμερών οδήγησαν σε μεταβολές φάσης σε υψηλότερες τιμές pH. Επίσης, στην περιοχή pH όπου παρατηρείται ουδετεροποίηση του συνολικού φορτίου του μίγματος βιοπολυμερών, η οποία εντοπίστηκε εντός του εύρους pH 2,5 – 4,5, παρατηρήθηκε μέγιστη απόδοση σχηματισμού αδιάλυτων συμπλόκων. Βάσει του υπολογισμού της ισχύος της ηλεκτροστατικής αλληλεπίδρασης μεταξύ των βιοπολυμερών κάθε μίγματος, προέκυψε πως το μίγμα με SC εκδήλωσε την ισχυρότερη έλξη μεταξύ των βιοπολυμερών, ενώ το μίγμα με PPI, την ασθενέστερη. Κατόπιν, ακολούθησε απομόνωση και μελέτη των αδιάλυτων συμπλόκων που προέκυψαν από συστήματα με αναλογία πρωτεΐνης – πηκτίνης 6:1 και pH 4 για μίγμα πηκτίνης με SC ή WPI, και αναλογία πρωτεΐνης – πηκτίνης 6:1 και pH 3 για μίγμα πηκτίνης με PPI. Το μίγμα με SC σημείωσε την καλύτερη απόδοση απομόνωσης αδιάλυτων συμπλόκων (~92%) ενώ το μίγμα με PPI, την μικρότερη (~8%). Ενδιάμεση τιμή απόδοσης είχε το μίγμα με WPI (~51%). Τα σύμπλοκα είχαν μικρότερες τιμές διαλυτότητας, κινηματικού ιξώδους, πορώδους και ρευστότητας, αλλά μεγαλύτερες τιμές περιεχόμενης υγρασίας, φαινόμενης πυκνότητας, πυκνότητας στοιβάσεως και συνεκτικότητας, σε σχέση με τα μεμονωμένα βιοπολυμερή. Γενικά, παρατηρήθηκε πως, για τις υπό μελέτη ιδιότητες, η συμπεριφορά των μικτών συστημάτων διέφερε σε σχέση με εκείνη των μεμονωμένων βιοπολυμερών. Οι προκύπτουσες διαφορές μεταξύ των συμπλόκων διαφορετικών πρωτεϊνών αποδόθηκαν στην διαφορετική ισχύ των αλληλεπιδράσεων της πηκτίνης με κάθε μία εξ αυτών.

Σε επόμενο βήμα (§ 4.2.2), διερευνήθηκε η δυνατότητα δόμησης ηλιελαίου μέσω του σχηματισμού γαλακτωμάτων υψηλής εσωτερικής φάσης (HIPE) παρουσία πηκτίνης υψηλής μεθυλίωσης και πρωτεΐνης SC ή PPI. Γι' αυτόν τον λόγο, αρχικά, παρασκευάστηκαν γαλακτώματα με επιλεγμένα μίγματα πρωτεΐνης – πηκτίνης, σε αναλογία 2:1 ή 6:1, με τελική συγκέντρωση πηκτίνης 0,1 %, 0,5% ή 1,0% (w/w), τα οποία και συγκρίθηκαν με γαλακτώματα που περιείχαν μόνο πρωτεΐνη. Όλα τα γαλακτώματα είχαν ψευδοπλαστική συμπεριφορά, με τα γαλακτώματα υψηλότερης συνολικής συγκέντρωσης βιοπολυμερών να οδηγούν σε υψηλότερες τιμές ιξώδους. Τα γαλακτώματα μόνο πρωτεΐνης είχαν μικρότερες τιμές ιξώδους και σταθερότητας από τα γαλακτώματα μικτών συστημάτων ίδιας συνολικής συγκέντρωσης βιοπολυμερών. Ακόμη, τα μίγματα με PPI οδήγησαν σε γαλακτώματα υψηλότερου ιξώδους και μεγαλύτερης σταθερότητας συγκριτικά με τα μίγματα με SC. Συνεπώς, τόσο ο τύπος της πρωτεΐνης που χρησιμοποιήθηκε σε κάθε περίπτωση, όσο και η συγκέντρωση αυτής, αλλά και η παρουσία ή όχι πηκτίνης, επηρέασαν καθοριστικά τις τιμές των ιδιοτήτων που μελετήθηκαν. Έπειτα, βάσει των παραπάνω αποτελεσμάτων, τα μίγματα με αναλογία πρωτεΐνης – πηκτίνης 6:1 και τελική συγκέντρωση πηκτίνης 0,5% ή 1,0% (w/w), επιλέχθηκαν για την παρασκευή HIPE. Τα μίγματα με SC οδήγησαν σε πιο συγκροτημένες δομές, με μικρότερη απώλεια ελαίου, σε σχέση με τα μίγματα με PPI. Σε κάθε περίπτωση, όμως, η απώλεια ελαίου ήταν πολύ μεγάλη (83 – 95 %), γεγονός ενδεικτικό αδύναμων δικτύων και κατ' επέκταση, ακατάλληλων συνθηκών (π.χ. τύπος, συγκέντρωση και αναλογία βιοπολυμερών, συνθήκες pH) για τον σχηματισμό σταθερών HIPE. Η φύση της πρωτεΐνης καθώς και ο βαθμός αλληλεπίδρασής της με τα μόρια της πηκτίνης φαίνεται να έπαιξαν καθοριστικό ρόλο. Τέλος, τα ίδια μικτά συστήματα βιοπολυμερών αξιοποιήθηκαν και για την παρασκευή εδώδιμων μεμβρανών (§ 4.2.3). Όλες οι μεμβράνες που σχηματίστηκαν είχαν την ίδια πυκνότητα (~1,4 g/cm<sup>3</sup>). Η υψηλότερη συνολική συγκέντρωση βιοπολυμερών οδήγησε σε μεμβράνες με μεγαλύτερες τιμές βάρους, πάχους, αντοχής, ακαμψίας, διαπερατότητας υδρατμών και θολερότητας. Μεταξύ των δύο μιγμάτων, οι μεμβράνες με SC φάνηκαν να είναι πιο φωτεινές, ισχυρές και άκαμπτες από εκείνες με PPI, κι επιπλέον, είχαν μεγαλύτερη τιμή πάχους και βάρους. Συνολικά, οι ιδιότητες των μεμβρανών καθορίστηκαν τόσο από τον τύπο πρωτεΐνης όσο και από την συνολική συγκέντρωση βιοπολυμερών.

**Επιστημονική περιοχή:** Επιστήμη Τροφίμων

**Λέξεις-κλειδιά:** Πηκτίνη, Ηλεκτροστατικά σύμπλοκα, Γαλακτώματα, Πηκτές, Εδώδιμες μεμβράνες

# **Study of the isolation of pectins from citrus waste and their valorisation as functional ingredients by the food industry**

*Department of Food Science & Human Nutrition  
Laboratory of Food Chemistry & Analysis*

## **Abstract**

In the first part of the present thesis (§ 4.1), the possibility of extracting pectin using green methods and the utilization of the extracted pectin as a functional ingredient in food applications was studied. Thus, pectin was extracted from the albedo or the whole peel of oranges using hydrochloric acid, citric acid or microwave energy in order to evaluate whether the green method of pectin extraction can lead to comparable extraction yield and pectin quality results, compared to conventional methods using acid (§ 4.1.1). Extraction yield ranged from 11 – 23%, galacturonic acid content from 46 – 74%, intrinsic viscosity from 0.3 – 0.8 dL/g, and molecular weight from 5 – 15 kDa. All the isolated pectins were high methoxyl pectins as they had a degree of esterification (DE) greater than 50%. Their aqueous solutions had an acidic pH. Both the raw material and the extraction conditions affected the physicochemical properties of the isolated pectins. Microwave-assisted extraction led to high yields for both raw materials. The pectins obtained from this method were characterized by a high DE and galacturonic acid content. The gelling and emulsifying properties of each pectin were also evaluated. Regarding the former, all pectins led to the formation of a gel upon cooling from 95°C to 5°C, which was thermally irreversible. At temperatures higher than 40°C, both G' and G'' modules were practically constant for all pectin gels, except for those of pectins obtained using citric acid, in which an increase was observed. Furthermore, when the gels were heated and recooled, a thermal annealing behaviour was observed. Great syneresis was observed for all gels. Regarding the emulsifying properties of the isolated pectins, all pectins formed emulsions with pseudoplastic behaviour. The most stable emulsions, with the highest viscosity and the lowest conductivity values were those containing pectin isolated by means of hydrochloric acid. Overall, all pectins may be used as food ingredients offering specific properties, such as rheological and textural.

Subsequently, pectins were extracted from orange peel albedos using microwaves, ultrasound, or their combination, under various experimental conditions (§ 4.1.2). The DE of the resulting pectins varied from 45-75%. Two of these pectin (isolated using microwave or ultrasound-microwave extraction) were selected for further studying along with a commercial pectin, for comparison. The experimental pectins had a darker colour, were less surface-active and had lower intrinsic viscosity and  $\zeta$ -potential values, compared to the commercial pectin. The aqueous solutions of all pectins were Newtonian. Overall, the extraction method was important for the properties of the isolated pectins. Edible films were, then, prepared with the same three pectins in the presence of dittany or anise infusion in order to investigate their exploitation in pectin-based edible packaging with antioxidant properties as a result of the herbal infusions. All films had statistically the same thickness (~40  $\mu\text{m}$ ) and moisture content (~25%). For the films containing the same herbal infusion, all pectins resulted in films with the same density (~1.0 and 1.2  $\text{g}/\text{cm}^3$ , for the dittany and anise films, respectively). Regarding the mechanical properties, values of ~2 – 4.7 N and ~77 – 191 kPa were recorded for the maximum strength and elasticity of the films, respectively. The film of the commercial pectin in the anise infusion was the strongest, while that in the dittany infusion the stiffest. The total phenolics content and the antioxidant capacity of the films and their forming solutions were recorded. For both films and forming solutions, total phenolics content values ranged from 0.04

– 0.16 mg GAE/0.5 mL, whereas antioxidant capacity values ranged from ~62 – 91%. Films had higher phenolics content but lower antioxidant capacity than their forming solutions. Overall, both pectins obtained through green extraction methods, for the majority of the studied properties, led to films that did not differ significantly from commercial pectin films. The presence of both pectin and herbal infusion significantly affected our observations.

In the second part of the present thesis (§ 4.2), the electrostatic interactions between high methoxyl pectin and three selected proteins [sodium caseinate (SC), whey protein isolate (WPI) and pea protein isolate (PPI)] were studied. Firstly, in § 4.2.1, the formation of complexes during acidification, between pectin and the above mentioned proteins, was studied. The protein: pectin ratio varied from 1:1 to 10:1. The final concentration of pectin was constant (0.1% w/w), while that of protein varied according to the biopolymer ratio. Complex formation was investigated by constructing phase diagrams and recording the  $\zeta$ -potential values. For the mixtures of all three proteins, co-solubility and formation of soluble and insoluble complexes were observed in specific pH ranges, which varied with protein type, mixing ratio, and pH. In general, higher biopolymer ratios led to phase changes at higher pH values. Also, in the pH range of zero net charge of the biopolymer mixture (pH 2.5 – 4.5), a maximum efficiency of insoluble complex formation was observed. Based on the electrostatic interaction strength between the biopolymers of each mixture, the calculated values showed that the SC mixture exhibited the strongest attraction between the biopolymers, whereas the PPI mixture, the weakest. Selected insoluble complexes (protein – pectin ratio 6:1, pH 4 for the mixture of pectin with SC or WPI, or pH 3 for the mixture of pectin with PPI) were, then, isolated and studied. The mixture with SC showed the highest yield of insoluble complexes (~92%), whereas the mixture with PPI, the lowest (~8%). The mixture with WPI had an intermediate yield value (~51%). Overall, the complexes had lower values of solubility, kinematic viscosity, porosity and flowability, but higher values of moisture content, bulk density, tapped density and cohesiveness, than the individual biopolymers. In general, for the studied properties, the behavior of the mixtures differed from that of the individual biopolymers. The differences observed for the different protein complexes were attributed to the different strength of interactions between pectin and each of the proteins.

In the next step, the possibility of structuring sunflower oil through the formation of high internal phase emulsions (HIPE) in the presence of high methoxyl pectin and the protein SC or PPI was investigated (§ 4.2.2). Initially, emulsions were prepared with selected protein-pectin mixtures (protein: pectin ratio of 2:1 and 6:1), with a final pectin concentration of 0.1%, 0.5% or 1.0% (w/w), which were compared to emulsions with just the protein. Pseudoplastic behaviour was observed for all emulsions. Emulsions of higher final biopolymer concentration led to higher viscosity values. Protein-only emulsions had lower viscosity and stability values than the emulsions with the mixtures of the same final biopolymer concentration. Moreover, the PPI mixtures resulted in emulsions of higher viscosity and greater stability compared to those with SC mixtures. Therefore, both the protein type and the total biopolymer concentration, as well as the presence or absence of pectin, significantly affected the values of the studied properties. Based on these findings, selected mixtures [protein: pectin ratio of 6:1, final pectin concentration of 0.5% or 1.0% (w/w)] were used for the preparation of HIPE. Mixtures with SC resulted in more compact structures, with less oil loss, than mixtures with PPI. However, for all cases, the oil loss was very high (83 – 95 %), indicating weak networks and inappropriate conditions (e.g. biopolymer type, concentration and ratio, pH conditions) for the formation of stable HIPE. The type of the protein, as well as the extent of its interaction with the pectin molecules, seemed to have played a significant role. Finally, the same mixed biopolymer systems were utilized for the preparation of edible films, the physicochemical properties of which were studied (§ 4.2.3). All films had the same density (~1.4 g/cm<sup>3</sup>). Films of higher total biopolymer concentration resulted to greater values of weight, thickness,

strength, stiffness, water vapor permeability and turbidity. Between the two mixtures, the films with SC had higher thickness and weight values than those with PPI. Additionally, they appeared to be brighter, stronger and stiffer. Overall, the studied film properties were determined both by the protein type and the biopolymer final concentration, highlighting the different interaction strength of pectin with each protein, and thus, the formation of a different network during drying.

**Scientific field:** Food Science

**Keywords:** Pectin, Electrostatic complexes, Emulsions, Gels, Edible films



Η παρούσα διδακτορική διατριβή υποστηρίζεται από τις παρακάτω δημοσιεύσεις σε διεθνή επιστημονικά περιοδικά:

1. **Zioga, M.** & Evageliou, V. (2023). Formation and physicochemical properties of insoluble complexes resulted from high methoxyl pectin – protein interactions. *Food Hydrocolloids*, 108806. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108806>
2. **Zioga, M.**, Papantonopoulou, G. & Evageliou, V. (2023). High internal phase emulsions and edible films with high methoxyl pectin and pea protein isolate or sodium caseinate. *Food Hydrocolloids*, 108605. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108605>
3. **Zioga, M.**, Chroni, A. & Evageliou, V. (2022). Utilization of pectins extracted from orange peels by non – conventional methods in the formation of edible films in the presence of herbal infusions. *Polysaccharides*, 3, 574–588. <https://doi.org/10.3390/polysaccharides3030034>
4. **Zioga, M.**, Tsouko, E., Maina, S., Koutinas, A., Mandala, I. & Evageliou, V. (2022). Physicochemical and rheological characteristics of pectin extracted from renewable orange peel employing conventional and green technologies. *Food Hydrocolloids*, 107887. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107887>

## *Ευχαριστίες*

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Χημείας και Ανάλυσης Τροφίμων του Τμήματος Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Μέρος αυτής της μελέτης υποστηρίχθηκε από το έργο «Research Infrastructure on Food Bioprocessing Development and Innovation Exploitation – Food Innovation RI» (MIS 5027222), με επιστημονικό υπεύθυνο τον Αναπλ. Καθηγητή Α. Κουτίνα. Το έργο υλοποιήθηκε στο πλαίσιο της Δράσης «Ενίσχυση της Υποδομής Έρευνας και Καινοτομίας», χρηματοδοτήθηκε από το Επιχειρησιακό Πρόγραμμα «Ανταγωνιστικότητα, Επιχειρηματικότητα και Καινοτομία» (ΕΣΠΑ 2014-2020) και συγχρηματοδοτήθηκε από την Ελλάδα και την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Ταμείο Περιφερειακής Ανάπτυξης).

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω από καρδιάς την επιβλέπουσα Αναπλ. Καθηγήτρια Β. Ευαγγελίου, για την άριστη συνεργασία μας. Η πολύτιμη καθοδήγηση και η ειλικρινής υποστήριξη που μου προσέφερε σε κάθε μικρό και μεγάλο βήμα αυτού του ταξιδιού, συνέβαλαν καθοριστικά στην ολοκλήρωση της παρούσας διατριβής. Έπειτα, θα ήθελα να εκφράσω τις ιδιαίτερες ευχαριστίες μου στην Καθηγήτρια Ι. Μαντάλα και τον Αναπλ. Καθηγητή Απ. Κουτίνα για την εποικοδομητική συνεργασία μας και όλη τη συμβολή τους στην πραγματοποίηση της παρούσας διατριβής. Θα ήθελα, επίσης, να ευχαριστήσω όλα τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής, την Επίκ. Καθηγήτρια Χρ. Γαρδέλη (Γ.Π.Α.), την Επίκ. Καθηγήτρια Θ.Τσιρώνη (Γ.Π.Α.), τον Καθηγητή Χ. Ριζούλη (Δ.Π.Ε.) και την Επίκ. Καθηγήτρια Π. Γιαννούλη (Π.Θ.), για τον χρόνο που αφιέρωσαν για την μελέτη αυτής της διατριβής. Θερμές ευχαριστίες εκφράζονται, επίσης, προς όλους τους υποψήφιους διδάκτορες, μεταπτυχιακούς και προπτυχιακούς φοιτητές για τη στενή συνεργασία μας και την απλόχερη βοήθειά τους κατά τη διάρκεια εκπόνησης της διατριβής μου. Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στην οικογένειά μου, για την ατέρμονη υπομονή και τη διαρκή στήριξή τους όλα αυτά τα χρόνια, καθώς αποτελούν την κύρια πηγή δύναμης για να κατακτώ κάθε στόχο και να προχωράω μπροστά.

Μαριάνθη Ζιώγα

# Περιεχόμενα

<b>Κεφάλαιο 1.</b> Στόχοι και Δομή Διδακτορικής Διατριβής.....	1
<b>Κεφάλαιο 2.</b> Εισαγωγή.....	4
2.1. Βιοπολυμερή: Ορισμός, Ιδιότητες και Εφαρμογές στη Βιομηχανία Τροφίμων .....	5
2.1.1. Εισαγωγή στα Βιοπολυμερή.....	5
2.1.2. Μικτά Συστήματα Πολυσακχαρίτη-Πρωτεΐνης, Σύμπλοκα Πολυσακχαρίτη-Πρωτεΐνης... ..	6
2.1.3. Εφαρμογές Βιοπολυμερών στη Βιομηχανία Τροφίμων.....	9
2.2. Πηκτίνη.....	18
2.2.1. Προέλευση, Δομή, Ιδιότητες .....	18
2.2.2. Παραλαβή Πηκτίνης .....	24
2.2.3. Η Πηκτίνη ως Λειτουργικό Συστατικό.....	27
2.2.4. Πηκτές Πηκτινών.....	29
2.2.5. Γαλακτώματα παρουσία Πηκτινών.....	34
2.3. Λοιπά Βιοπολυμερή Διατριβής.....	37
2.3.1. Καζεΐνες.....	37
2.3.2. Πρωτεΐνες Ορού Γάλακτος.....	38
2.3.3. Πρωτεΐνες Αρακά .....	38
2.4. Κατηγορίες και Ιδιότητες Υλικών .....	40
2.4.1. Ρεολογική Συμπεριφορά .....	41
2.4.2. Μηχανική φασματοσκοπία .....	47
2.4.3. Πειράματα Μεγάλης Παραμόρφωσης.....	50
<b>Κεφάλαιο 3.</b> Υλικά και Μέθοδοι .....	53
3.1. Υλικά .....	54
3.1.1. Πηκτίνες.....	54
3.1.2. Πρωτεΐνες .....	54
3.1.3. Βότανα.....	55
3.1.4. Λοιπά Υλικά και Αντιδραστήρια.....	55
3.2. Μέθοδοι .....	55
3.2.1. Παραλαβή Πηκτίνης .....	55
3.2.2. Χαρακτηρισμός Πηκτίνης.....	58
3.2.3. Παρασκευή και Χαρακτηρισμός Γαλακτωμάτων.....	61
3.2.4. Παρασκευή και Χαρακτηρισμός Πηκτινών.....	63
3.2.5. Παρασκευή και Μελέτη Μικτών Συστημάτων Πηκτίνης – Πρωτεΐνης .....	64

3.2.6. Απομόνωση και Χαρακτηρισμός Αδιάλυτων Συμπλόκων Μικτών Συστημάτων Πηκτίνης – Πρωτεΐνης.....	66
3.2.7. Παρασκευή και Μελέτη Γαλακτωμάτων και ΗΙΡΕ παρουσία Μικτών Συστημάτων Πηκτίνης – Πρωτεΐνης.....	70
3.2.8. Παρασκευή και Μελέτη Εκχυλισμάτων Βοτάνων.....	72
3.2.9. Παρασκευή και Μελέτη Εδώδιμων Μεμβρανών.....	74
3.2.10. Στατιστική επεξεργασία.....	78
<b>Κεφάλαιο 4. Αποτελέσματα.....</b>	<b>79</b>
4.1. Παραλαβή, Μελέτη και Αξιοποίηση Πηκτινών από Φλούδες Πορτοκαλιών.....	80
4.1.1. Παραλαβή και Μελέτη Πηκτινών από Μεσοκάρπια και Ολικά Στερεά Φλουδών Πορτοκαλιών με τη Βοήθεια Υδροχλωρικού Οξέος, Κιτρικού Οξέος ή Μικροκυμάτων.....	80
4.1.2. Παραλαβή Πηκτινών με Πράσινες Μεθόδους Εκχύλισης και Αξιοποίηση Αυτών στην Παρασκευή Εδώδιμων Μεμβρανών.....	96
4.1.2.1. Παραλαβή Πηκτινών.....	96
4.2. Μελέτη και Αξιοποίηση Συστημάτων Πρωτεΐνης: Πηκτίνης.....	111
4.2.1. Σχηματισμός και μελέτη Συμπλόκων Πρωτεΐνης: Πηκτίνης.....	111
4.2.2. Παρασκευή Γαλακτωμάτων και Γαλακτωμάτων Υψηλής Εσωτερικής Φάσης με Μικτά Συστήματα Πρωτεΐνης – Πηκτίνης.....	130
4.2.3. Παρασκευή Εδώδιμων μεμβρανών με Μικτά Συστήματα Πρωτεΐνης – Πηκτίνης.....	137
<b>Κεφάλαιο 5. Συμπεράσματα και Προοπτικές.....</b>	<b>142</b>
<b>Κεφάλαιο 6. Βιβλιογραφία.....</b>	<b>148</b>

## Κατάλογος Συντομογραφιών

Συντομογραφία	Περιγραφή
A	Πηκτίνη που παρελήφθη μέσω HAE από PMA
B	Πηκτίνη που παρελήφθη μέσω CAE από PMA
C	Πηκτίνη που παρελήφθη μέσω MAE από PMA
CAE	Εκχύλιση με χρήση κιτρικού οξέος
CCP	Κολλοειδές φωσφορικό ασβέστιο
D	Πηκτίνη που παρελήφθη μέσω HAE από PWOW
DA	Βαθμός αμίδωσης
DE	Βαθμός εστεροποίησης
DPPH	Διφαινυλοπικρυλυδραζίλιο
E	Πηκτίνη που παρελήφθη μέσω CAE από PWOW
F	Πηκτίνη που παρελήφθη μέσω MAE από PWOW
FFS	Διάλυμα σχηματισμού μεμβρανών
G'	Μέτρο αποθήκευσης ή ελαστικότητας
G''	Μέτρο απωλειών ή ιξώδους
G*	Σύνθετο μέτρο
GalA	Γαλακτουρονικό οξύ
HAE	Εκχύλιση με χρήση υδροχλωρικού οξέος
HIPE	Γαλάκτωμα υψηλής εσωτερικής φάσης
HMP	Πηκτίνη υψηλής μεθυλίωσης
IEP	Τιμή pH ηλεκτροστατικής ουδετερότητας
K	Δείκτης συνεκτικότητας
LMP	Πηκτίνη χαμηλής μεθυλίωσης
MAE	Εκχύλιση υποβοηθούμενη από μικροκύματα
MP	Πηκτίνη που παρελήφθη μέσω MAE από PMA
MUP	Πηκτίνη που παρελήφθη μέσω UMAE από PMA
Mw	Μοριακό βάρος
n	Δείκτης ρεολογικής συμπεριφοράς
o/w	Έλαιο-σε-νερό γαλάκτωμα
o/w/o	Έλαιο-σε-νερό-σε-έλαιο γαλάκτωμα
pH <sub>c</sub>	Τιμή pH έναρξης σχηματισμού διαλυτών συμπλόκων μεταξύ βιοπολυμερών
pH <sub>opt</sub>	Τιμή pH μέγιστης απόδοσης σχηματισμού αδιάλυτων συμπλόκων
pH <sub>φ1</sub>	Τιμή pH έναρξης σχηματισμού αδιάλυτων συμπλόκων
pH <sub>φ2</sub>	Τιμή pH αποικοδόμησης συμπλόκων στα αρχικά βιοπολυμερή

$\rho I$	Ισοηλεκτρικό σημείο
PMA	Υλικό πηκτίνης από μεσοκάρπια αποβλήτων πορτοκαλιών
PMWOW	Υλικό πηκτίνης από ολικά στερεά αποβλήτων πορτοκαλιού
PPI	Υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών αρακά
SC	Καζεϊνικό νάτριο
SEI	Ισχύς ηλεκτροστατικής αλληλεπίδρασης
SLR	Αναλογία στερεού προς υγρό
$t$	Χρόνος
T	Θερμοκρασία
UAE	Εκχύλιση υποβοηθούμενη από υπερήχους
UMAE	Εκχύλιση υποβοηθούμενη από υπερήχους και μικροκύματα
w/o	Νερό-σε-έλαιο γαλάκτωμα
w/o/w	Νερό-σε-έλαιο-σε-νερό γαλάκτωμα
WPI	Υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών ορού γάλακτος
WVP	Διαπερατότητα σε υδρατμούς
$\gamma$	Παραμόρφωση
$\dot{\gamma}$	Ρυθμός διάτμησης
$\delta$	Γωνία φάσης
$\Delta G$	Μεταβολή ελεύθερης ενέργειας Gibbs
$\Delta H$	Μεταβολή ενθαλπίας
$\Delta S$	Μεταβολή εντροπίας
$\eta$	Ιξώδες
$\eta^*$	Σύνθετο ιξώδες
$[\eta]$	Εσωτερικό ιξώδες
$\eta_{rel}$	Σχετικό ιξώδες
$\eta_{sp}$	Ειδικό ιξώδες
$\nu$	Κινηματικό ιξώδες
$\rho$	Πυκνότητα
$\rho_{\sigma}$	Πυκνότητα στοιβάσεως
$\rho_{\phi}$	Φαινόμενη πυκνότητα
$\sigma$	Διατμητική τάση
$\sigma_0$	Τάση διαρροής
$\omega$	Συχνότητα ταλάντωσης

---

## Κατάλογος Πινάκων

<b>Πίνακας 2.1.</b> Παράμετροι που ασκούν επιρροή στην ικανότητα της πηκτίνης να σχηματίζει γαλακτώματα (προσαρμογή από Alba & Kontogiorgos, 2020) .....	36
<b>Πίνακας 2.2.</b> Χαρακτηριστικά υφής τροφίμων [προσαρμογή από Rosenthal (1999)].....	52
<b>Πίνακας 3.1.</b> Πρωτεΐνες που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα διατριβή.....	54
<b>Πίνακας 3.2.</b> Βότανα που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή εκχυλισμάτων.....	55
<b>Πίνακας 3.3.</b> Συνθήκες εκχύλισης πηκτίνης από μεσοκάρπια (PMA) ή ολικά απόβλητα (PMWOW) πορτοκαλιών, με τη βοήθεια μικροκυμάτων (MAE), υδροχλωρικού (HAE) ή κιτρικού οξέος (CAE).....	57
<b>Πίνακας 3.4.</b> Συνθήκες εκχύλισης πηκτίνης από μεσοκάρπια πορτοκαλιών (PMA) με τη βοήθεια μικροκυμάτων (MAE), υπερήχων (UAE) ή συνδυασμού αυτών (UMAE).....	58
<b>Πίνακας 3.5.</b> Κατηγοριοποίηση της ρευστότητας και της συνεκτικότητας των δειγμάτων σκόνης βάσει του δείκτη Carr και της αναλογίας Hausner, αντίστοιχα [προσαρμογή από Jinarong et al. (2008)] .....	68
<b>Πίνακας 3.6.</b> Συγκέντρωση πηκτίνης (HMP) και πρωτεΐνης ( $\alpha$ ) SC ή ( $\beta$ ) PPI των μιγμάτων των Ομάδων 1, 2 και 3.....	71
<b>Πίνακας 4.1.</b> Συνθήκες παραλαβής, απόδοση παραλαβής και φυσικοχημικές ιδιότητες πηκτινών που απομονώθηκαν μέσω όξινης εκχύλισης ή με τη βοήθεια μικροκυμάτων [PMA: μεσοκάρπια αποβλήτων πορτοκαλιών, και PMWOW: ολικά στερεά αποβλήτων πορτοκαλιών, HAE: εκχύλιση με υδροχλωρικό οξύ, CAE: εκχύλιση με κιτρικό οξύ, MAE: εκχύλιση με μικροκύματα].....	81
<b>Πίνακας 4.2.</b> Πειραματικές συνθήκες, απόδοση παραλαβής (%) και βαθμός εστεροποίησης (DE, %) των πηκτινών που απομονώθηκαν [MAE: εκχύλιση με μικροκύματα, UAE: εκχύλιση με υπερήχους, UMAE: εκχύλιση με υπερήχους-μικροκύματα] .....	97
<b>Πίνακας 4.3.</b> Φυσικοχημικές ιδιότητες των πηκτινών MP, UMP και HMP [Οι πηκτίνες MP και UMP παρελήφθησαν από φλούδες πορτοκαλιών μέσω MAE (620 W, 1:25 w/v, 3 min) και UMAE (50/850 W, 1:20 w/v, 30/3 min), αντίστοιχα. Η πηκτίνη HMP ήταν εμπορικό δείγμα.].....	101
<b>Πίνακας 4.4.</b> Φυσικοχημικές ιδιότητες των μεμβρανών με βάση εκχυλίσματα δίκταμου (D) ή γλυκάνισου (A) και πηκτίνη MP, UMP ή HMP [Οι πηκτίνες MP και UMP παρελήφθησαν από φλούδες πορτοκαλιών μέσω MAE (620 W, 1:25 w/v, 3 min) και UMAE (50/850 W, 1:20 w/v, 30/3 min), αντίστοιχα. Η πηκτίνη HMP ήταν εμπορικό δείγμα.].....	105
<b>Πίνακας 4.5.</b> Συνθήκες και απόδοση σχηματισμού συμπλόκων .....	123

<b>Πίνακας 4.6.</b> Διαλυτότητα, περιεχόμενη υγρασία, pH, αγωγιμότητα και κινηματικό ιξώδες των δειγμάτων σκόνης HMP, SC, WPI και PPI και των αδιάλυτων συμπλόκων αυτών (HMP: πηκτίνη υψηλής μεθυλίωσης, SC: καζεϊνικό νάτριο, WPI: υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών ορού γάλακτος, PPI: υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών αρακά).....	125
<b>Πίνακας 4.7.</b> Φαινόμενη πυκνότητα, πυκνότητα στοιβάσεως, πυκνότητα σωματιδίων, πορώδες, δείκτες Carr και αναλογία Hausner των δειγμάτων σκόνης HMP, SC, WPI και PPI και των αδιάλυτων συμπλόκων αυτών (HMP: πηκτίνη υψηλής μεθυλίωσης, SC: καζεϊνικό νάτριο, WPI: υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών ορού γάλακτος, PPI: υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών αρακά).....	127
<b>Πίνακας 4.8.</b> Περιεκτικότητα σε νερό και έλαιο μετά την ξήρανση των γαλακτωμάτων (αρχικού βάρους 100 g) και απώλεια ελαίου από τα HIPE που περιέχουν μίγματα πηκτίνης (HMP) με καζεϊνικό νάτριο (SC) ή με υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών αρακά (PPI), κατόπιν φυγοκέντρισης. [Οι συγκεντρώσεις κάθε βιοπολυμερούς αναφέρονται στο όνομα κάθε δείγματος, εντός παρενθέσεων, και είναι σε % (w/w).].....	135
<b>Πίνακας 4.9.</b> Σύσταση διαλύματος σχηματισμού μεμβρανών και φυσικοχημικές ιδιότητες μεμβρανών που παρασκευάστηκαν με πηκτίνη υψηλής μεθυλίωσης (HMP) και καζεϊνικό νάτριο (SC) ή υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών αρακά (PPI). [Οι συγκεντρώσεις κάθε βιοπολυμερούς αναφέρονται στο όνομα κάθε δείγματος, εντός παρενθέσεων, και είναι σε % (w/w).].....	138
<b>Πίνακας 4.10.</b> Μακροσκοπική εμφάνιση, χρωματικές παράμετροι [L*], [a*] και [b*], και θολερότητα των μεμβρανών με πηκτίνη υψηλής μεθυλίωσης (HMP) και καζεϊνικό νάτριο (SC) ή υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών αρακά (PPI). [Οι συγκεντρώσεις κάθε βιοπολυμερούς αναφέρονται στο όνομα κάθε δείγματος, εντός παρενθέσεων, και είναι σε % (w/w).] .....	138



## Κατάλογος Σχημάτων

<b>Σχήμα 2.1.</b> Πιθανές αλληλεπιδράσεις συστήματος δύο βιοπολυμερών (πρωτεΐνης – πολυσακχαρίτη) [προσαρμογή από Ye (2008)].....	7
<b>Σχήμα 2.2.</b> Σχηματική απεικόνιση των μεταβολών στη διαμόρφωση λόγω τροποποίησης φορτίου ως αποτέλεσμα της μεταβολής του pH σε συστήματα βιοπολυμερών και οι χαρακτηριστικές τιμές pH αυτών [προσαρμογή από Moschakis & Biliaderis (2017)].....	8
<b>Σχήμα 2.3.</b> Τύποι γαλακτωμάτων με συνεχή φάση την υδατική ή την φάση ελαίου [προσαρμογή από He et al. (2015)] .....	11
<b>Σχήμα 2.4.</b> Σχηματική αναπαράσταση των κοινών μηχανισμών αποσταθεροποίησης των γαλακτωμάτων τροφίμων [προσαρμογή από McClements (2007)] .....	13
<b>Σχήμα 2.5.</b> Σχηματική απεικόνιση του σχηματισμού γαλακτώματος υψηλής εσωτερικής φάσης (HIPE) και της ξήρανσης αυτού, με αποτέλεσμα τον εγκλεισμό ελαίου σε δίκτυο ελαιοπηκτικής [προσαρμογή από Tavernier et al. (2017) και Vélez-Erazo et al. (2020)].....	14
<b>Σχήμα 2.6.</b> Κύριες λειτουργίες των εδωδιμων συσκευασιών [προσαρμογή από Salgado et al. (2015)].....	17
<b>Σχήμα 2.7.</b> Σχηματική απεικόνιση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των αλυσίδων πολυσακχαρίτη (α) απουσία και (β) παρουσία γλυκερόλης [προσαρμογή από Costanza et al. (2019)].....	18
<b>Σχήμα 2.8.</b> (α) Η δομή του κυτταρικού τοιχώματος που περιέχει πηκτίνη, κυτταρίνη, ημικυτταρίνη και διαλυτές πρωτεΐνες [προσαρμογή από Sticklen (2008)] και (β) ο σκελετός πηκτίνης με τις α-1,4-συνδεδεμένες μονάδες γαλακτουρονικού οξέος (Chan et al., 2017)...	19
<b>Σχήμα 2.9.</b> Πηκτίνη (α) υψηλής μεθυλίωσης και (β) χαμηλής μεθυλίωσης (Belkheiri et al., 2021) .....	21
<b>Σχήμα 2.10.</b> Σχηματική αναπαράσταση της βασικής δομής της πηκτίνης στην οποία απεικονίζονται οι κύριες περιοχές της [προσαρμογή από Willats et al. (2006)].....	21
<b>Σχήμα 2.11.</b> Διαμορφώσεις της ομογαλακτουρονάνης, της ραμνογαλακτουρονάνης I και της ραμνογαλακτουρονάνης II σε δομές Angyal [προσαρμογή από Pawar et al. (2013)].....	23
<b>Σχήμα 2.12.</b> Σχηματική απεικόνιση των μεθόδων εκχύλισης πηκτίνης μέσω (α) μικροκυμάτων και (β) υπερήχων [προσαρμογή από Liew et al. (2016)].....	27
<b>Σχήμα 2.13.</b> Σχηματική απεικόνιση της σχέσης μεταξύ του βαθμού εστεροποίησης (DE, %) της πηκτίνης και της ικανότητας σχηματισμού πηκτής παρουσία ιόντων ασβεστίου ή οξέος και διαλυτών στερεών [προσαρμογή από BeMiller (2019)].....	29

<b>Σχήμα 2.14.</b> Σχηματική αναπαράσταση του μηχανισμού πηκτωματοποίησης των πηκτινών (α) υψηλής μεθυλίωσης [προσαρμογή από Li et al. (2019)] και (β) χαμηλής μεθυλίωσης [προσαρμογή Yaro & Gnakti (2015)] .....	31
<b>Σχήμα 2.15.</b> Εύρος εμπορικών, μη αμιδιωμένων, πηκτινών και τυπικές εφαρμογές [προσαρμογή από Endreß & Christensen (2009)] .....	32
<b>Σχήμα 2.16.</b> Απεικόνιση τεσσάρων μηχανισμών αγκίστρωσης της πηκτίνης στη διεπιφάνεια ελαίου – νερού [προσαρμογή από Alba & Kontogiorgos (2020)].....	34
<b>Σχήμα 2.17.</b> Τύποι παραμορφώσεων στερεών ως αποτέλεσμα εφαρμογής κάθετης ή οριζόντιας δύναμης [προσαρμογή από Kubo et al. (2019)].....	41
<b>Σχήμα 2.18.</b> Παραμόρφωση ρευστού που ανάμεσα σε δύο πλάκες λόγω εφαρμογής τάσης διάτμησης [προσαρμογή από Chhabra & Richardson (1999)] .....	42
<b>Σχήμα 2.19.</b> Κατηγοριοποίηση ρεολογικής συμπεριφοράς [προσαρμογή από Steffe (1996)] .....	43
<b>Σχήμα 2.20.</b> Ποιοτική απόκριση (α) της διατμητικής τάσης συναρτήσει του ρυθμού διάτμησης για Νευτώνεια υλικά, ψευδοπλαστικά, διασταλτικά και ιδανικά Bingham πλαστικά με τάσης υποχώρησης ( $\sigma_0$ ), καθώς και για ιδανικά υγρά και ιδανικά στερεά και (β) του ιξώδους συναρτήσει του ρυθμού διάτμησης για τις βασικές κατηγορίες ρευστών [προσαρμογή από Sahin & Sumnu (2006)].....	44
<b>Σχήμα 2.21.</b> (α) Συνδυασμός των εξισώσεων Huggins και Kraemer για τον υπολογισμό του εσωτερικού ιξώδους, και (β) διακύμανση του ειδικού ιξώδους ( $\eta_{sp}$ ) διαλυμάτων πολυσακχαρίτη με τον βαθμό κατάληψης του χώρου από τις αλυσίδες αυτού που χαρακτηρίζεται από την παράμετρο «coil-overlap» ( $c[\eta]$ ) [προσαρμογή από Morris et al. (1981)].....	46
<b>Σχήμα 2.22.</b> Αρχή μηχανικής φασματοσκοπίας [προσαρμογή από Kubo et al. (2019)] .....	47
<b>Σχήμα 2.23.</b> Βασικοί τύποι μηχανικού φάσματος (α) αραιού διαλύματος, (β) πυκνού διαλύματος, (γ) «ασθενούς πηκτής» και (δ) (πραγματικής) πηκτής, που δείχνει την μεταβολή των μέτρων $G'$ (Pa) και $G''$ (Pa), και του $\eta^*$ (Pa s) συναρτήσει της συχνότητας $\omega$ (rad/s) [Richardson & Kasapis (1998)] .....	50
<b>Σχήμα 4.1.</b> Χρωματικές παράμετροι ( $[L^*]$ , $[a^*]$ , $[b^*]$ ) των διαλυμάτων των πηκτινών A – F. [Οι τιμές με διαφορετικό εκθέτη για κάθε ιδιότητα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά ( $p < 0,05$ ).].....	81
<b>Σχήμα 4.2.</b> Διακύμανση των μέτρων $G'$ (γεμάτα σύμβολα) και $G''$ (κενά σύμβολα) των δειγμάτων 1% w/w πηκτίνης (A – F), παρουσία 65% w/w σακχαρόζης και σε pH 3, κατά την	

ψύξη από τους 95°C έως τους 5°C (●, ○), την θέρμανση έως τους 90°C (■, □) και την επαναψύξη μέχρι τους 5°C (▲, Δ). .....	86
<b>Σχήμα 4.3.</b> Μηχανικά φάσματα που παρουσιάζουν την μεταβολή των $G'$ (●), $G''$ (○) και του $\eta^*$ (Δ) συναρτήσει της συχνότητας, για τα δείγματα 1% w/w πηκτίνης (A – F) σε pH 3, παρουσία 65% w/w σακχαρόζης, στο τέλος των σταδίων αρχικής ψύξης [5°C (α)], θέρμανσης (90°C) και επαναψύξης [5°C (β)]. .....	87
<b>Σχήμα 4.4.</b> Χρωματικές παράμετροι ( $[L^*]$ , $[a^*]$ , $[b^*]$ ) των πηκτών. [Οι τιμές με διαφορετικό εκθέτη για κάθε ιδιότητα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά ( $p < 0,05$ ).].....	90
<b>Σχήμα 4.5.</b> Συναίρεση των πηκτών των δειγμάτων πηκτίνης A – F. [Οι τιμές με διαφορετικό εκθέτη για κάθε ιδιότητα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά ( $p < 0,05$ ).].....	90
<b>Σχήμα 4.6.</b> Χρωματικές παράμετροι ( $[L^*]$ , $[a^*]$ , $[b^*]$ ) των γαλακτωμάτων. [Οι τιμές με διαφορετικό εκθέτη για κάθε ιδιότητα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά ( $p < 0,05$ ).].....	93
<b>Σχήμα 4.7.</b> (α) Η αγωγιμότητα ( $mS\ cm^{-1}$ ), (β) το ιζώδες (mPas) και (γ) η σταθερότητα (%) κατά την αποθήκευση των ο/w γαλακτωμάτων που παρασκευάστηκαν με πηκτίνες A – F. [Οι τιμές με διαφορετικό εκθέτη για κάθε ιδιότητα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά ( $p < 0,05$ ).].....	93
<b>Σχήμα 4.8.</b> (α) Καμπύλες ροής των διαλυμάτων πηκτίνης (0,5% w/w) και (β) μεταβολή του $\eta_{sp}$ συναρτήσει του $c[\eta]$ για τις πηκτίνες MP, UMP και HMP. [Οι πηκτίνες MP και UMP παρελήφθησαν από φλούδες πορτοκαλιών μέσω MAE (620 W, 1:25 w/v, 3 min) και UMAE (50/850 W, 1:20 w/v, 30/3 min), αντίστοιχα. Η πηκτίνη HMP ήταν εμπορικό δείγμα.] .....	101
<b>Σχήμα 4.9.</b> (α) Ολικό φαινολικό περιεχόμενο (mg GAE/0,5mL) και (β) αντιοξειδωτική ικανότητα (%) των διαλυμάτων σχηματισμού μεμβρανών (FFS) και των αντίστοιχων μεμβρανών που περιείχαν εκχύλισμα δίκταμου (D) ή γλυκάνισου (A) και πηκτίνη MP, UMP ή HMP (Οι πηκτίνες MP και UMP παρελήφθησαν από φλούδες πορτοκαλιών μέσω MAE (620 W, 1:25 w/v, 3 min) και UMAE (50/850 W, 1:20 w/v, 30/3 min), αντίστοιχα, ενώ η πηκτίνη HMP ήταν εμπορικό δείγμα). .....	109
<b>Σχήμα 4.10.</b> Καμπύλες απορρόφησης (600nm) για μίγματα πρωτεΐνης (SC, WPI ή PPI) - πηκτίνης (HMP) αναλογίας 1:1 έως 4:1, και για τα διαλύματα 0,1% (w/w) πρωτεΐνης (single protein, sp) και πηκτίνης, συναρτήσει του pH [HMP: πηκτίνη υψηλής μεθυλίωσης, SC: καζεϊνικό νάτριο, WPI: υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών ορού γάλακτος, PPI: υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών αρακά].....	113
<b>Σχήμα 4.11.</b> (α-γ) Διαγράμματα φάσης και (δ-στ) μακροσκοπική εμφάνιση για τα μίγματα πρωτεΐνης (SC, WPI ή PPI) - πηκτίνης (HMP) και για τα διαλύματα πρωτεΐνης (single protein, sp, 0,1% w/w), συναρτήσει του pH [HMP: πηκτίνη υψηλής μεθυλίωσης, SC: καζεϊνικό νάτριο,	

WPI: υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών ορού γάλακτος, PPI: υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών αρακά]	116
.....	
<b>Σχήμα 4.12.</b> Καμπύλες ζ – δυναμικού (mV) συναρτήσεως του pH, για μίγματα πρωτεΐνης (SC, WPI ή PPI) με πηκτίνη (HMP) σε αναλογία 1:1 έως 10:1, και για τα διαλύματα 0,1% (w/w) πρωτεΐνης (single protein, sp) και HMP [HMP: πηκτίνη υψηλής μεθυλίωσης, SC: καζεϊνικό νάτριο, WPI: υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών ορού γάλακτος, PPI: υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών αρακά]	118
.....	
<b>Σχήμα 4.13. (α)</b> Ισχύς ηλεκτροστατικής αλληλεπίδρασης μίγματος πρωτεΐνης (SC, WPI ή PPI) με πηκτίνη (HMP) συναρτήσεως του pH, και <b>(β)</b> ισοηλεκτρικό σημείο (IEP) μίγματος SC, WPI ή PPI με HMP συναρτήσεως της αναλογίας ανάμιξης πρωτεΐνης: πηκτίνης (1:1 έως 10:1), αλλά και του διαλύματος πρωτεΐνης (single protein, sp) [HMP: πηκτίνη υψηλής μεθυλίωσης, SC: καζεϊνικό νάτριο, WPI: υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών ορού γάλακτος, PPI: υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών αρακά]	120
.....	
<b>Σχήμα 4.14.</b> Οι χρωματικές παράμετροι [L*], [a*] και [b*] των δειγμάτων σκόνης των βιοπολυμερών HMP, SC, WPI και PPI και των μεταξύ τους συμπλόκων. (HMP: πηκτίνη υψηλής μεθυλίωσης, SC: καζεϊνικό νάτριο, WPI: υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών ορού γάλακτος, PPI: υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών αρακά)	123
.....	
<b>Σχήμα 4.15.</b> Ιξώδες (mPa s) και σταθερότητα (%) γαλακτωμάτων που παρασκευάστηκαν με μικτά συστήματα (α, β) πηκτίνης (HMP) με καζεϊνικό νάτριο (SC) ή (γ, δ) πηκτίνης με υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών αρακά (PPI), ή μόνο με πρωτεΐνη, διαφορετικών συγκεντρώσεων και αναλογιών [Οι συγκεντρώσεις κάθε βιοπολυμερούς αναφέρονται στο όνομα κάθε δείγματος, εντός παρενθέσεων, και είναι σε % (w/w).]	132
.....	

## Κατάλογος Εικόνων

<b>Εικόνα 4.1.</b> Πηκτές από τις πηκτίνες A – F .....	90
<b>Εικόνα 4.2.</b> Μεμβράνες με εκχύλισμα δίκταμου (D) ή γλυκάνισου (A) και πηκτίνη MP, UMP ή HMP (Οι πηκτίνες MP και UMP παρελήφθησαν από φλούδες πορτοκαλιών μέσω MAE (620 W, 1:25 w/v, 3 min) και UMAE (50/850 W, 1:20 w/v, 30/3 min), αντίστοιχα, ενώ η HMP ήταν εμπορικό δείγμα).....	106
<b>Εικόνα 4.3.</b> Μακροσκοπική εμφάνιση (α) των γαλακτωμάτων και (β) των αποξηραμένων προϊόντων (HIPE) παρουσία μιγμάτων πηκτίνης (HMP) με καζεϊνικό νάτριο (SC) ή με υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών αρακά (PPI) [Οι συγκεντρώσεις κάθε βιοπολυμερούς αναφέρονται στο όνομα κάθε δείγματος, εντός παρενθέσεων, και είναι σε % (w/w)] .....	134

*Κεφάλαιο 1*

## Στόχοι και Δομή Διδακτορικής Διατριβής

Η πηκτίνη προσελκύει ολοένα και περισσότερο, το ενδιαφέρον του κλάδου της βιομηχανίας τροφίμων, όσο και της βιομηχανίας φαρμάκων. Η φυτική προέλευση, οι πολυεπίπεδες λειτουργικές ιδιότητες, το χαμηλό κόστος παραγωγής και το μεγάλο εύρος δυνατοτήτων εφαρμογής σε εδάδιμα, και όχι μόνο, προϊόντα, αποτελούν μερικά μόνο από τα χαρακτηριστικά που κάνουν την πηκτίνη να υπερέχει έναντι άλλων πηκτικών παραγόντων. Οι συμβατικές μέθοδοι απομόνωσης της πηκτίνης έχουν μεγάλες απαιτήσεις σε ενέργεια και διαλύτες (π.χ. ισχυρά οξέα), κι ενώ μπορεί να έχουν ικανοποιητικές αποδόσεις, η ποιότητα είναι συχνά χαμηλή. Συνεπώς, επιτακτική ανάγκη αποτελεί η αντικατάσταση των συμβατικών μεθόδων απομόνωσης της πηκτίνης με μεθόδους φιλικότερες προς το περιβάλλον, με παρόμοια ή ακόμα και υψηλότερη απόδοση. Επιπλέον, η πηκτίνη χρησιμοποιείται, κατά κύριο λόγο, ως πηκτικός παράγοντας, μη αξιοποιώντας τις ποικίλες άλλες δυνατότητές της, η εξερεύνηση των οποίων είναι πολλά υποσχόμενη. Έτσι, ο σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν η μελέτη της παραλαβής πηκτινών από απόβλητα εσπεριδοειδών μέσω εναλλακτικών μεθόδων και η αξιοποίησή τους σε παραδοσιακές και πιο πρόσφατες εφαρμογές. Οι επιμέρους στόχοι παρουσιάζονται στη συνέχεια.

Πέρα από τα εισαγωγικά **Κεφάλαια 1 και 2**, το **Κεφάλαιο 3** παρουσιάζει το πειραματικό μέρος, με την **§ 3.1** να περιέχει τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν και την **§ 3.2**, τις μεθόδους. Τα αποτελέσματα όλων των ερευνητικών μελετών περιλαμβάνονται στο **Κεφάλαιο 4**. Η **§ 4.1** ξεκινά με τα αποτελέσματα της μελέτης της παραλαβής πηκτινών μέσω εκχύλισης από απόβλητα πορτοκαλιών. Αρχικά, στην **§ 4.1.1**, πηκτίνες απομονώθηκαν από το μεσοκάρπιο ή το ολικό στερεό φλούδων πορτοκαλιών, με συμβατικές μεθόδους, δηλαδή μέσω της χρήσης οξέων (υδροχλωρικού ή κιτρικού οξέος) ή με την πράσινη μέθοδο εκχύλισης μέσω μικροκυμάτων. Ο στόχος της μελέτης αυτής ήταν η εκτίμηση της απόδοσης της φιλικής προς το περιβάλλον μεθόδου εκχύλισης για την παραγωγή πηκτίνης υψηλής ποιότητας αλλά χαμηλού περιβαλλοντικού αντίκτυπου, σε σύγκριση με τις συμβατικές μεθόδους, και η αξιολόγηση των φυσικοχημικών ιδιοτήτων των πηκτινών που απομονώθηκαν. Έπειτα, στην **§ 4.1.2**, πηκτίνες απομονώθηκαν από το μεσοκάρπιο φλούδων πορτοκαλιών μόνο με πράσινες μεθόδους, δηλαδή μέσω εκχύλισης μικροκυμάτων, υπερήχων ή συνδυασμού αυτών, εκ των οποίων, δύο πηκτίνες, αλλά και ένα δείγμα εμπορικής πηκτίνης ως δείγμα αναφοράς, χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή εδάδιμων μεμβρανών εμπλουτισμένων με εκχυλίσματα βοτάνων, με στόχο την αξιολόγηση της δυνατότητας παρασκευής εδάδιμης συσκευασίας με αντιοξειδωτικές ικανότητες που θα έχει ως βάση την πηκτίνη.

Στην § 4.2 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της μελέτης της συμπεριφοράς φάσης των μιγμάτων πρωτεΐνης – πηκτίνης και της αξιοποίησης αυτών. Συγκεκριμένα, στην § 4.2.1, η μελέτη εστίασε στις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ τριών διαφορετικών πρωτεϊνών (καζεϊνικό νάτριο, υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών ορού γάλακτος ή υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών αρακά) και πηκτίνης υψηλής μεθυλίωσης, που οδήγησαν στον σχηματισμό συμπλόκων, διαλυτών και αδιάλυτων. Ο στόχος αυτής της μελέτης ήταν η διερεύνηση της δυνατότητας σχηματισμού συμπλόκων μεταξύ των παραπάνω βιοπολυμερών, και ο προσδιορισμός των συνθηκών για τον σχηματισμό τους. Ακολούθησε απομόνωση και μελέτη επιλεγμένων αδιάλυτων συμπλόκων για κάθε μίγμα πρωτεΐνης – πηκτίνης. Τέλος, συγκεκριμένα μικτά συστήματα βιοπολυμερών, χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή γαλακτωμάτων υψηλής εσωτερικής φάσης (§ 4.2.2) και εδώδιμων μεμβρανών (§ 4.2.3), με στόχο τη διερεύνηση της δυνατότητας αξιοποίησης των συστημάτων αυτών σε πιο πρόσφατες εφαρμογές.

Το **Κεφάλαιο 5** περιλαμβάνει τα συμπεράσματα που προέκυψαν από τις παραπάνω μελέτες, καθώς και τις προοπτικές για μελλοντική έρευνα. Η διατριβή ολοκληρώνεται με την παράθεση της βιβλιογραφίας στο **Κεφάλαιο 6**.



*Κεφάλαιο 2*  
Εισαγωγή

## 2.1. Βιοπολυμερή: Ορισμός, Ιδιότητες και Εφαρμογές στη Βιομηχανία Τροφίμων

### 2.1.1. Εισαγωγή στα Βιοπολυμερή

Πολυμερή καλούνται τα μακρομόρια που αποτελούνται από πολλά μικρότερα μόρια, τα μονομερή, τα οποία μπορεί να είναι ενός είδους ή περισσότερων. Γενικά, παράγονται από ζωντανούς οργανισμούς (π.χ. φυτά, ζώα, μικροοργανισμοί) ή παρασκευάζονται με τεχνητά μέσα και ως εκ τούτου, διακρίνονται σε φυσικά πολυμερή ή βιοπολυμερή και σε συνθετικά πολυμερή. Τα βιοπολυμερή χαρακτηρίζονται ως ενώσεις υψηλού μοριακού βάρους, και χρησιμοποιούνται ως λειτουργικά συστατικά στη βιομηχανία τροφίμων για τη διαμόρφωση της μικροδομής, της υφής και της γεύσης, καθώς και για τη διάρκεια ζωής των προϊόντων. Τυπικά παραδείγματα βιοπολυμερών που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων, είναι οι πολυσακχαρίτες, που αποτελούνται από σάκχαρα συνδεδεμένα μεταξύ τους με γλυκοζιτικούς δεσμούς, αλλά και οι πρωτεΐνες, που αποτελούνται από αμινοξέα συνδεδεμένα μεταξύ τους με πεπτιδικούς δεσμούς (Bealer et al., 2020). Χαρακτηριστικές ιδιότητες των βιοπολυμερών των τροφίμων είναι η ενυδάτωση και η ικανότητα κατακράτησης νερού, το ιξώδες, η πηκτωματοποίηση και η ικανότητα να δρουν ως γαλακτωματοποιητικοί ή αφριστικοί παράγοντες (Dickinson, 2003, Li & Nie, 2016, Saha & Bhattacharya, 2010). Κατά συνέπεια, χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων, κατά βάση, για τη διαμόρφωση των φυσικοχημικών, δομικών και οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των προϊόντων τροφίμων.

Επιπλέον, τα τελευταία χρόνια οι μελέτες σχετικά με τη διερεύνηση της δυνατότητας αντικατάστασης των συνθετικών πολυμερών από φυσικά πολυμερή ολοένα και αυξάνονται, με στόχο την παραγωγή προϊόντων με λειτουργικές ιδιότητες ισοδύναμες με εκείνες των αντίστοιχων συνθετικών, αλλά και με τα πλεονεκτήματα της βιοαποικοδομησιμότητας, της μη τοξικότητας, της υψηλής διαθεσιμότητας, του μικρότερου περιβαλλοντικού αντίκτυπου της παραγωγής τους, και της προστασίας ή βελτίωσης των χαρακτηριστικών του τροφίμου. Συνεπώς, η έρευνα σχετικά με την παραγωγή και τις δυνατότητες των βιοπολυμερών (π.χ. ανάπτυξη νέων μεθόδων απομόνωσης ή βελτιστοποίηση των υπαρχόντων, επέκταση της χρησιμοποίησης των βιοπολυμερών σε καινοτόμες εφαρμογές) ελκύει αυξανόμενο ενδιαφέρον λόγω των πολλών προοπτικών ανάπτυξης (Prameela et al., 2018).

## 2.1.2. Μικτά Συστήματα Πολυσακχαρίτη – Πρωτεΐνης,

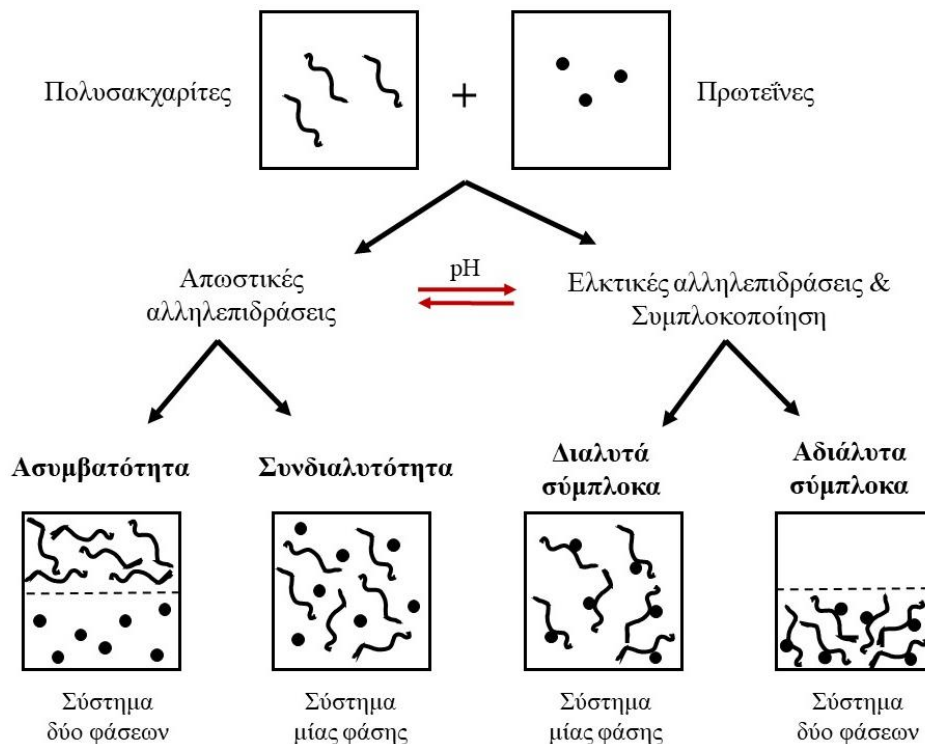
### Σύμπλοκα Πολυσακχαρίτη – Πρωτεΐνης

Ο συνδυασμός βιοπολυμερών μπορεί να οδηγήσει στη δημιουργία ενός προηγμένου συστήματος, με νέο προφίλ ιδιοτήτων και πληθώρα πιθανών εφαρμογών (Dragan, 2014, Lara-Espinoza et al., 2018). Για παράδειγμα, συστήματα πρωτεΐνης – πολυσακχαρίτη χρησιμοποιούνται σε τρόφιμα για την σταθεροποίηση προϊόντων (π.χ. γαλακτοκομικών), την ενίσχυση της σταθερότητας γαλακτωμάτων κι αφρών, την προστασία και μεταφορά ευαίσθητων λειτουργικών συστατικών ή προβιοτικών (μικροβιακά κύτταρα) ή και για την κάλυψη ανεπιθύμητων γεύσεων που μπορεί να προσδίδουν κάποια βιοενεργά συστατικά, καθώς και ως υποκατάστατα λίπους και υποκατάστατα κρέατος (Cheng et al., 2015, Dickinson, 2008, Ghosh & Bandyopadhyay, 2012, Narchi et al., 2009, Ren et al., 2022, Sakai et al., 2021, Schmitt et al., 1998, Sogut et al., 2022, Sun et al., 2022, Tolstoguzov, 1991).

Ο συνδυασμός πρωτεϊνών - ανιονικών πολυσακχαριτών και ο σχηματισμός συμπλόκων μεταξύ τους μελετήθηκε για πρώτη φορά στις αρχές του 20<sup>ου</sup> αιώνα από τους Tiebackx (1911) και Bungenberg de Jong και Kruyt (1929), οι οποίοι μελέτησαν τον διαχωρισμό φάσεων ενός συστήματος με ζελατίνη και αραβικό κόμμι σε μία συμπυκνωμένη φάση βιοπολυμερών και σε μία φάση που περιέχει κυρίως διαλύτη. Η συμπυκνωμένη φάση ονομάστηκε φάση συμπλόκων συγκαταβύθισης (complex coacervate phase), και το φαινόμενο του διαχωρισμού φάσεων, συγκαταβύθιση συμπλόκων βιοπολυμερών (complex coacervation).

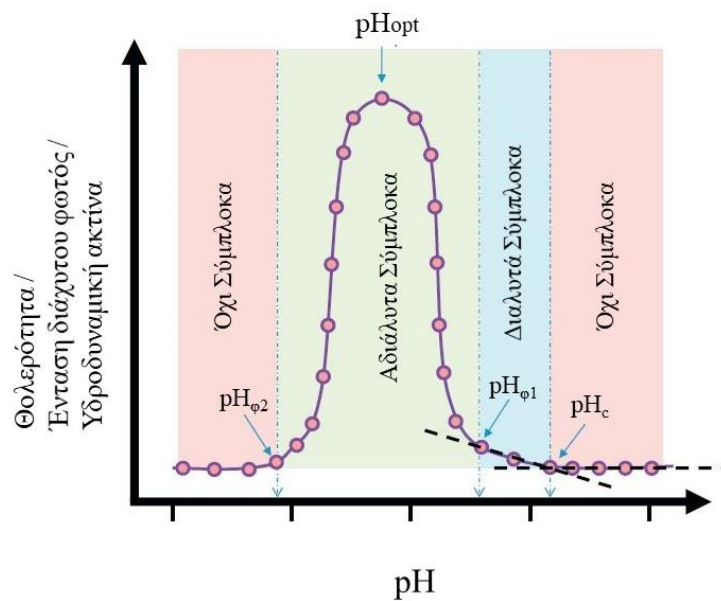
Γενικά, η ανάμιξη δύο βιοπολυμερών οδηγεί στην αλληλεπίδραση μεταξύ τους και τον σχηματισμό συστημάτων μίας ή δύο φάσεων (**Σχήμα 2.1**). Τα βιοπολυμερή, κατόπιν ανάμιξης, μπορεί να σχηματίζουν σταθερό τελικό διάλυμα, στο οποίο και τα δύο είναι συνδιαλυτά και υφίστανται στο σύστημα μεμονωμένα αλλά ομοιογενώς κατανεμημένα. Η συνύπαρξη των πολυμερών παρατηρείται, συνήθως, σε χαμηλές συγκεντρώσεις βιοπολυμερών. Τελικά, προκύπτει, λόγω αυθόρμητης ανάμιξης, σύστημα μίας φάσης, που μοιάζει με την ανάμιξη όμοιων βιοπολυμερών. Η ανάμιξη βιοπολυμερών μπορεί να οδηγήσει, όμως, και σε διαχωρισμό φάσεων λόγω θερμοδυναμικής ασυμβατότητας ή σε δημιουργία συμπλόκων λόγω συνεργιστικών αλληλεπιδράσεων, και παρατηρείται συνήθως σε υψηλότερες συγκεντρώσεις (Dickinson, 2003). Ο διαχωρισμός φάσεων λόγω θερμοδυναμικής ασυμβατότητας προκύπτει όταν δεν υφίστανται συσχετιστικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μορίων, δηλαδή όταν τα βιοπολυμερή έχουν παρόμοια ηλεκτρικά φορτία ή είναι ουδέτερα. Το φαινόμενο αυτό βασίζεται στο γεγονός ότι το κάθε βιοπολυμερές περιβάλλεται από άλλα του ίδιου τύπου με

αποτέλεσμα την αμοιβαία εκτόπιση. Κατά την ανάμιξη σχετικά πυκνών διαλυμάτων βιοπολυμερών, το φαινόμενο αυτό γίνεται εύκολα αντιληπτό λόγω ανάπτυξης θολερότητας καθώς η μία φάση διασπείρεται στην άλλη με τη μορφή σταγονιδίων. Κατόπιν, οι δύο φάσεις αρχίζουν να ξεχωρίζουν και τελικά, παρατηρούμε δύο διακριτές, μη αναμειγνυόμενες φάσεις. Η κάθε φάση περιέχει κυρίως το ένα βιοπολυμερές και μία μικρή μόνο ποσότητα του άλλου (Moschakis & Biliaderis, 2017). Αντίθετα, όταν υφίστανται ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πολυανιόντων και των πολυκατιόντων, παρατηρείται σχηματισμός συμπλόκων λόγω συνεργιστικών αλληλεπιδράσεων. Τα βιοπολυμερή αντίθετου φορτίου συσχετίζονται μεταξύ τους μέσω σχετικά ισχυρών ελκτικών δυνάμεων και δημιουργούνται σύμπλοκα, διαλυτά ή αδιάλυτα. Τα διαλυτά σύμπλοκα κατανέμονται ομοιόμορφα σε όλο το σύστημα και γίνονται αντιληπτά σε μακροσκοπικό επίπεδο, ως μία φάση. Τα αδιάλυτα χαρακτηρίζονται από καταβύθιση ή συσσωμάτωση που οδηγεί σε διαχωρισμό φάσεων, με τη μία φάση να είναι πλούσια στα δύο βιοπολυμερή και την άλλη να περιέχει κυρίως διαλύτη (Moschakis & Biliaderis, 2017, Schmitt et al., 1998).



**Σχήμα 2.1.** Πιθανές αλληλεπιδράσεις συστήματος δύο βιοπολυμερών (πρωτεΐνης – πολυσακχαρίτη) [προσαρμογή από Ye (2008)]

Όσον αφορά στον σχηματισμό συμπλόκων, οι παράμετροι που ασκούν ισχυρότερη επιρροή είναι το pH, η ιονική ισχύς, τα εκάστοτε βιοπολυμερή (π.χ. μοριακό βάρος, διακλάδωση, ευελιξία και κινητικότητα αλυσίδων, πυκνότητα και κατανομή φορτίου), η αναλογία και η συνολική συγκέντρωση των βιοπολυμερών, η θερμοκρασία και οι συνθήκες διάτμησης. Οι παράμετροι αυτές σχετίζονται κυρίως με τις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των δύο αντίθετα φορτισμένων βιοπολυμερών οι οποίες αποτελούν τις κινητήριες δυνάμεις του φαινομένου. Σχετικά με το pH, ορίζονται τέσσερις κρίσιμες τιμές (**Σχήμα 2.2**), οι οποίες καταγράφονται συνήθως με την μέτρηση της θολερότητας, της έντασης του διάχυτου φωτός ή της υδροδυναμικής ακτίνας συναρτήσεως του pH, για την περιγραφή των φαινομένων που πραγματοποιούνται μεταξύ των φορτισμένων βιοπολυμερών (Mekloufi et al., 2005, Moschakis & Biliaderis, 2017).



**Σχήμα 2.2.** Σχηματική απεικόνιση των μεταβολών στη διαμόρφωση λόγω τροποποίησης φορτίου ως αποτέλεσμα της μεταβολής του pH σε συστήματα βιοπολυμερών και οι χαρακτηριστικές τιμές pH αυτών [προσαρμογή από Moschakis & Biliaderis (2017)]

Σύμφωνα με το **Σχήμα 2.2**, η πρώτη τιμή είναι το pH<sub>c</sub> που αντιστοιχεί στην πρώτη μεταβολή της κλίσης, και παρατηρείται σε τιμή pH κοντά στο ισοηλεκτρικό σημείο της εκάστοτε πρωτεΐνης, σχετίζεται με την έναρξη σχηματισμού διαλυτών συμπλόκων καθώς σε τιμές pH > pH<sub>c</sub> τα πολυμερή δεν αλληλεπιδρούν σημαντικά μεταξύ τους. Η δεύτερη τιμή είναι το pH<sub>φ1</sub> που αντιστοιχεί στην απότομη αύξηση της θολερότητας και σχετίζεται με τον

σηματισμό αδιάλυτων συμπλόκων και την εμφάνιση μακροσκοπικού διαχωρισμού φάσεων. Η επόμενη τιμή είναι η  $pH_{opt}$ , δηλαδή η μέγιστη τιμή της θολερότητας, όπου παρατηρείται η μέγιστη απόδοση σχηματισμού συμπλόκων λόγω στοιχειομετρίας φορτίων βιοπολυμερών 1:1. Η τελευταία τιμή είναι η  $pH_{\phi 2}$  που αντιστοιχεί στην αποικοδόμηση των συμπλόκων και την απελευθέρωση των βιοπολυμερών. Σε κάποιες περιπτώσεις, η αποικοδόμηση των συμπλόκων μπορεί να παρεμποδίζεται από την παρουσία κάποιων ελκτικών δυνάμεων (π.χ. van der Waals, δεσμοί υδρογόνου, υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις) που μπορεί να υπάρχουν ακόμη (Bosnea et al., 2014, deKruif et al., 2004, Liu et al., 2009, Liu et al., 2015, Moschakis & Biliaderis, 2017). Γενικά, τα σύμπλοκα αποτελούν δομές, αντιστρεπτές, που οργανώνονται, αναδιαμορφώνονται και αποδιοργανώνονται ανάλογα με τις ισχύουσες συνθήκες του διαλύματος αλλά και του περιβάλλοντος (Cooper et al., 2005, Schmitt & Turgeon, 2011).

### 2.1.3. Εφαρμογές Βιοπολυμερών στη Βιομηχανία Τροφίμων

#### 2.1.3.1. Πηκτές

Η διαδικασία σχηματισμού πηκτής βιοπολυμερών έχει ως αφετηρία ένα διάλυμα των αλυσίδων τους. Αρχικά, σχηματίζονται διάφορες διασταυρώσεις μεταξύ των αλυσίδων (λόγω κάποιας μεταβολής, π.χ. στη θερμοκρασία, στο pH, στην ιονική ισχύ, κτλ.), οι οποίες οδηγούν σε διασταυρούμενες πολυμερικές αλυσίδες αυξανόμενου μήκους. Έως ένα σημείο, οι επεκτεινόμενες αλυσίδες παραμένουν διαλυτές και το σύστημα αναφέρεται ως διάλυμα (sol). Σε ένα κρίσιμο σημείο (gel point), όμως, η έκταση των διασταυρώσεων είναι τόσο μεγάλη που προκύπτει τουλάχιστον ένα μεγάλο μόριο πολυμερών «άπειρου μοριακού βάρους», που αναφέρεται ως τρισδιάστατο δίκτυο πηκτής ή πηκτή (gel), και περιβάλλεται συνήθως από πεπερασμένου μήκους διαλυτές πολυμερικές αλυσίδες. Η μετατροπή του διαλύματος πολυμερών σε πηκτή (sol-gel transition) ονομάζεται πηκτωματοποίηση (gelation) (Rubinstein & Colby, 2003).

Η πηκτωματοποίηση μπορεί να γίνει με φυσικές ή χημικές συνδέσεις, οδηγώντας σε φυσικές ή χημικές πηκτές, αντίστοιχα. Στις φυσικές πηκτές, τμήματα των αλυσίδων έρχονται σε επαφή σε εκτεταμένες ζώνες διασταύρωσης και σταθεροποιούνται μέσω μη ομοιοπολικών δεσμών (π.χ. δεσμοί υδρογόνου, δυνάμεις Van der Waals, υδρόφοβοι δεσμοί). Οι δεσμοί που σχηματίζονται είναι πολύ ασθενείς σε ατομικό επίπεδο, υποδηλώνοντας την ανάγκη συνεργιστικής δράσης (π.χ. τουλάχιστον ~20 μονοσακχαρίτες για την περίπτωση των

πολυσακχαριτών) σε κάθε αλυσίδα. Στις χημικές πηκτές, οι αλυσίδες διασταυρώνονται μέσω ομοιοπολικών δεσμών σε συγκεκριμένα σημεία της αλυσίδας. Οι πηκτές αυτές δεν λιώνουν με την θέρμανση καθώς οι δεσμοί που σχηματίζονται είναι μόνιμοι (Rubinstein & Colby, 2003).

Ο σχηματισμός πηκτής, δηλαδή η μετάβαση από το διάλυμα πολυμερών (κατάσταση αταξίας) στην πηκτή (κατάσταση τάξης), εξαρτάται θερμοδυναμικά από την **Εξίσωση (2.1)**, όπου το  $\Delta G$  πρέπει να έχει αρνητική τιμή, υποδηλώνοντας αυθόρμητη αντίδραση (Yu et al., 2021).

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (2.1)$$

Το  $\Delta G$  είναι η μεταβολή της ελεύθερης ενέργειας Gibbs, δηλαδή η μεταβολή της ενέργειας του συστήματος υπό σταθερή πίεση και θερμοκρασία, και αντιστοιχεί στην διαθέσιμη ενέργεια που μπορεί να μετατραπεί σε έργο κατά τη διάρκεια μίας χημικής αντίδρασης. Το  $\Delta H$  είναι η μεταβολή της ενθαλπίας, δηλαδή η θερμότητα που απορροφάται ή εκλύεται κατά τη διάρκεια χημικής αντίδρασης υπό σταθερή πίεση. Το  $T$  είναι η θερμοκρασία, και το  $\Delta S$  είναι η μεταβολή της εντροπίας, δηλαδή της θερμοδυναμικής ποσότητας που μετρά την αταξία ενός συστήματος (Roos, 1995).

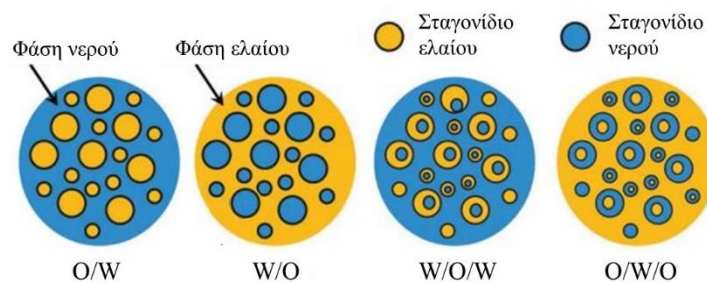
Γενικά, η εντροπία ευνοεί την αταξία, στην οποία συμβάλλουν σημαντικά και οι ηλεκτροστατικές απώσεις μεταξύ των αλυσίδων, καθώς και δομικά χαρακτηριστικά αυτών (π.χ. δομικές ανωμαλίες και διακλαδώσεις). Από την άλλη, οι ηλεκτροστατικές έλξεις, οι αλληλεπιδράσεις με το νερό και ο σχηματισμός μη ομοιοπολικών δεσμών (π.χ. δεσμοί υδρογόνου, υδροφοβικοί δεσμοί) μεταξύ των αλυσίδων, ευνοούν, μεταξύ άλλων, την μετάβαση στην τάξη, η οποία τελικά προκύπτει κατόπιν επίτευξης ισορροπίας μεταξύ των ανταγωνιστικών επιδράσεων (Yu et al., 2021).

Στις πηκτές μπορεί να παρατηρηθεί συναίρεση, δηλαδή το φαινόμενο αποβολής από το δίκτυο κάποιας ποσότητας διαλύτη, που οδηγεί σε μείωση του όγκου της πηκτής (Guo et al., 2022). Οι βασικοί παράγοντες που επηρεάζουν το φαινόμενο αυτό σε μία πηκτή βιοπολυμερών είναι η ωσμωτική πίεση, που χρησιμοποιείται συνήθως για την εκτίμηση της κινητήριας δύναμης πίσω από τη μεταφορά νερού από τη μία φάση στην άλλη, και ο βαθμός ελαστικότητας της πηκτής. Καθώς τα πολυμερή του δικτύου πηκτής ασκούν ωσμωτική πίεση, ωθούν τα μόρια νερού να εισέλθουν στην πηκτή προκαλώντας επέκταση (τέντωμα) του δικτύου. Τότε, οι πολυμερικές αλυσίδες παρουσιάζουν ελαστική αντίδραση, με στόχο την συρρίκνωση του δικτύου στην αρχική του κατάσταση. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την άσκηση εσωτερικής πίεσης στο υγρό που βρίσκεται εντός του δικτύου, γνωστή και ως πίεση δικτύου,

η οποία εξουδετερώνει την ωσμωτική πίεση και το σύστημα έρχεται σε ισορροπία (Mizrahi, 2010).

### 2.1.3.2. Γαλακτώματα

Γαλάκτωμα είναι το τελικό προϊόν της ανάμιξης μη αναμίξιμων υγρών, όπως είναι το νερό και το λάδι, με τη βοήθεια γαλακτωματοποιητή, που δρα ως επιφανειοδραστική ουσία στο όριο μεταξύ των υγρών. Τα σταγονίδια του ενός υγρού (διασπειρόμενη φάση), βρίσκονται ομοιόμορφα διεσπαρμένα στο άλλο υγρό (συνεχής φάση), παραμένοντας μη αναμίξιμα (Dickinson, 1992). Διακρίνονται δύο βασικές κατηγορίες γαλακτωμάτων (**Σχήμα 2.3**), (α) έλαιο-σε-νερό (oil-in-water, o/w), όπου το έλαιο διασπείρεται στο νερό υπό τη μορφή σταγονιδίων, με χαρακτηριστικά παραδείγματα την μαγιονέζα και το γάλα, και νερό-σε-έλαιο (water-in-oil, w/o), όπου το νερό διασπείρεται στο έλαιο υπό τη μορφή σταγονιδίων, με τυπικά παραδείγματα το βούτυρο και την μαργαρίνη (McClements et al., 2007). Συναντάμε και πολυπλοκότερους τύπους γαλακτωμάτων (**Σχήμα 2.3**), όπως είναι τα γαλακτώματα νερό-σε-έλαιο-σε-νερό (water-in-oil-in-water, w/o/w), τα οποία μπορούν να αξιοποιηθούν στην παρασκευή προϊόντων τροφίμων μειωμένων λιπαρών (π.χ. μαγιονέζα), καθώς έχουν παρόμοια ρεολογικά χαρακτηριστικά με τα o/w γαλακτώματα αλλά μικρότερο ολικό περιεχόμενο σε έλαιο. Ένας άλλος τύπος είναι τα γαλακτώματα έλαιο-σε-νερό-σε-έλαιο (oil-in-water-in-oil, o/w/o), τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως συστήματα ασφαλούς μεταφοράς και στοχευμένης παράδοσης ευαίσθητων ουσιών. Για παράδειγμα, βιοενεργά συστατικά θα μπορούσαν να ενθυλακωθούν στην εσωτερική υδατική φάση του συστήματος και να απελευθερωθούν με την πάροδο του χρόνου ή υπό συγκεκριμένες συνθήκες (π.χ. θερμοκρασία, pH) (Leister & Karbstein, 2020).



**Σχήμα 2.3.** Τύποι γαλακτωμάτων με συνεχή φάση την υδατική ή την φάση ελαίου [προσαρμογή από He et al. (2015)]

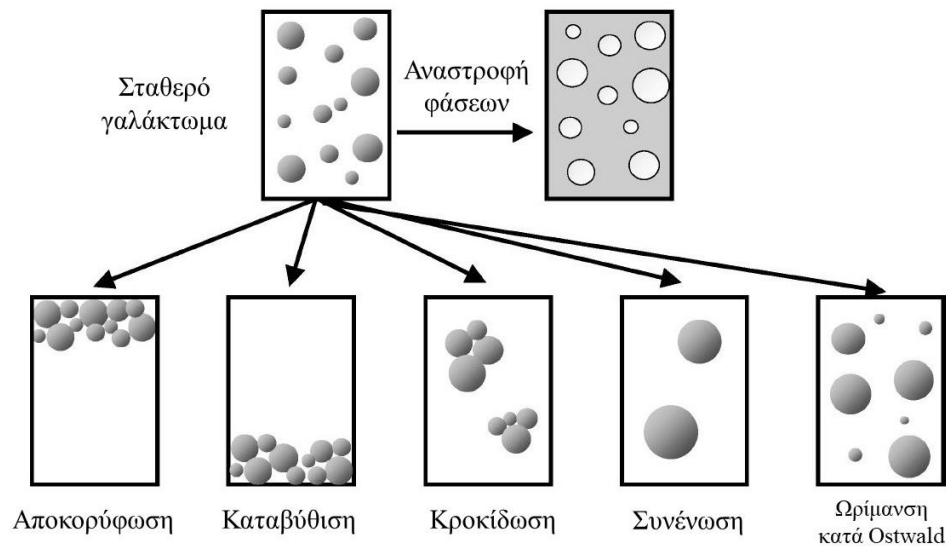


Ο σχηματισμός ενός γαλακτώματος προϋποθέτει τη διάσπαση των μεγάλων σταγονιδίων σε μικρότερα, μέσω της εφαρμογής μηχανικής ενέργειας υψηλής έντασης, από την οποία προκύπτει μία νέα διεπιφάνεια. Είναι απαραίτητη η παρουσία γαλακτωματοποιητή σε αυτή τη διαδικασία, για την ταχεία προσρόφηση στη διεπιφάνεια ελαίου – νερού και την μείωση της διεπιφανειακής τάσης, δηλαδή της ελκτικής δύναμης μεταξύ των μορίων στη διεπιφάνεια, διευκολύνοντας τη διάσπαση των σταγονιδίων κι εμποδίζοντας την ένωση με τα γειτονικά σταγονίδια και τον επανασχηματισμό μεγάλων σταγονιδίων (Dickinson, 2003).

Οι γαλακτωματοποιητές είναι ουσίες που προωθούν τον σχηματισμό γαλακτωμάτων και την βραχυπρόθεσμη σταθεροποίησή τους. Διακρίνονται δύο είδη γαλακτωματοποιητικών παραγόντων που χρησιμοποιούνται σε προϊόντα τροφίμων: (α) μικρά επιφανειοδραστικά μόρια όπως λεκιθίνες, παράγωγα λιπαρών οξέων και παράγωγα μόνο- και δι- γλυκεριδίων, και (β) μεγαλύτερα μόρια, συνήθως πρωτεΐνες. Οι πρωτεΐνες είναι επιφανειοδραστικά μόρια με ικανότητα μείωσης της διεπιφανειακής τάσης στις διεπιφάνειες μεταξύ δύο υγρών. Για την επίτευξη ουσιαστικής διάρκειας ζωής των γαλακτωμάτων, απαιτείται η παρουσία σταθεροποιητών δηλαδή ουσιών, που συνήθως είναι πολυσακχαρίτες, που προσδίδουν ιξώδες στη συνεχή φάση, μειώνοντας την κίνηση των σταγονιδίων, με αποτέλεσμα την καταστολή του διαχωρισμού φάσεων και την αύξηση της σταθερότητας των γαλακτωμάτων που δημιουργούνται. Έτσι, οι πρωτεΐνες τείνουν να λειτουργούν ως άγκυρα και να προσροφώνται στην επιφάνεια μεταξύ ελαίου και νερού, λόγω της υψηλής συγγενείας τους προς αυτή και κατόπιν, σχηματίζουν σταθεροποιητικό στρώμα γύρω από τα σταγονίδια ελαίου, ενώ οι πολυσακχαρίτες δρουν κυρίως μέσω του σχηματισμού συσχετιστικών ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων με την πρωτεϊνική στρώση (Dickinson, 2003, Guo et al., 2014, Siew et al 2008).

Αποσταθεροποίηση μπορεί να προκύψει φυσικά στο γαλάκτωμα μέσω καταβύθισης (sedimentation) ή αποκορύφωσης (creaming), συνένωσης (coalescence), κροκίδωσης (flocculation), ωρίμανσης κατά Ostwald (Ostwald ripening) και αναστροφής φάσεων (phase inversion) (**Σχήμα 2.4**). Η καταβύθιση (σε w/o γαλακτώματα) και η αποκορύφωση (σε o/w γαλακτώματα) οφείλονται στην μεγαλύτερη ή μικρότερη πυκνότητα των σταγονιδίων της διεσπαρμένης φάσης σε σχέση με αυτή της συνεχούς φάσης, με αποτέλεσμα τα σταγονίδια να κινούνται προς τα κάτω ή πάνω, εξαιτίας των δυνάμεων βαρύτητας ή άνωσης, αντίστοιχα. Κατά τη συνένωση, δύο ή περισσότερα σταγονίδια έρχονται κοντά λόγω ανεπαρκούς απόθησης μεταξύ τους, σχηματίζοντας, τελικά, ένα μεγαλύτερο ενιαίο σταγονίδιο. Από την άλλη μεριά, όταν τα σταγονίδια έρθουν κοντά χωρίς να συγχωνευτούν, αλλά διατηρώντας την

ακεραιότητά τους, τότε πρόκειται για κροκίδωση. Η ωρίμανση κατά Ostwald περιγράφει τη διαδικασία μεταφοράς μάζας ασυνεχούς φάσης μέσω της συνεχούς φάσεως λόγω διάχυσης, με αποτέλεσμα την αύξηση του μεγέθους των μεγαλύτερων σταγονιδίων εις βάρος των μικρότερων. Τέλος, η αναστροφή φάσεων περιλαμβάνει την μετατροπή ενός ο/w γαλακτώματος σε w/o γαλάκτωμα, ή το αντίστροφο (McClements, 2007).

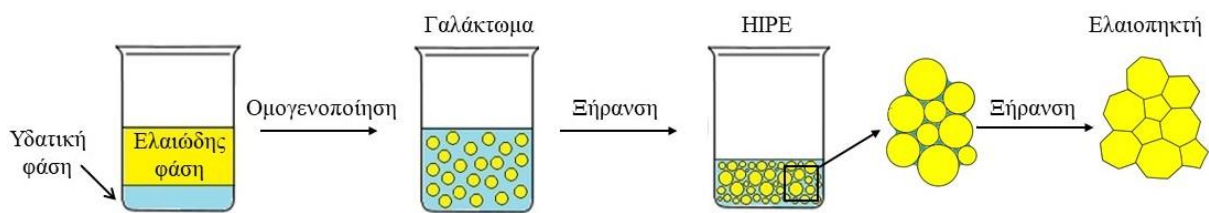


**Σχήμα 2.4.** Σχηματική αναπαράσταση των κοινών μηχανισμών αποσταθεροποίησης των γαλακτωμάτων τροφίμων [προσαρμογή από McClements (2007)]

### 2.1.3.3. Γαλακτώματα Υψηλής Εσωτερικής Φάσης

Τα κορεσμένα και *trans*- λιπαρά χρησιμοποιούνται σε πληθώρα προϊόντων τροφίμων καθώς παρέχουν δομή, υφή και οργανοληπτικές ιδιότητες που χαρακτηρίζουν το τελικό προϊόν. Τα τελευταία χρόνια, όμως, οι αρνητικές συνέπειες της κατανάλωσης των λιπαρών αυτών στην υγεία του ανθρώπου, προβάλλονται έντονα στα μέσα ενημέρωσης, επιστημονικά και μη. Η αρνητική αυτή δημοσιότητα ασκεί πίεση στη βιομηχανία τροφίμων να κινηθεί προς την κατεύθυνση εναλλακτικών μεθόδων δόμησης των τροφίμων με βάση τα λιπίδια, απουσία όλων ή μεγάλου ποσοστού των ανεπιθύμητων λιπαρών. Καινοτόμες εναλλακτικές αποτελούν τα γαλακτώματα υψηλής εσωτερικής φάσης (high internal phase emulsions, HIPE) και οι ελαιοπηκτές (oleogels). Τα HIPE αποτελούν ημι – στερεές δομές, με υψηλό ποσοστό εσωτερικής φάσης (συνήθως πάνω από 74%), και παρουσιάζουν τόσο ελαστικές όσο και ιξώδεις ιδιότητες. Τα ημιστερεά χαρακτηριστικά προκύπτουν από το γεγονός ότι τα σταγονίδια

ελαίου είναι τοποθετημένα πολύ κοντά το ένα με το άλλο. Έτσι, τα HIPE μπορούν να διατηρούν το σχήμα τους και εκτός του δοχείου παρασκευής τους, χαρακτηριστικό σημαντικό για αρκετές εφαρμογές (π.χ. σάλτσες, αλοιφές, κρέμες, επιδόρπια). Τα σταγονίδια στα συμβατικά γαλακτώματα τείνουν να είναι σφαιρικά αφού υπάρχει αρκετός χώρος για να υιοθετήσουν το σχήμα με την ελάχιστη επιφάνεια. Αντίθετα, τα σταγονίδια στα HIPE τείνουν να παίρνουν σχήματα πολυέδρων λόγω του συνωστισμού. Η διαδικασία παραγωγής περιλαμβάνει την παρασκευή (και πιθανώς την ξήρανση) γαλακτώματος, η υδατική φάση του οποίου περιέχει τα κατάλληλα βιοπολυμερή (**Σχήμα 2.5**). Η ποικιλία των διαθέσιμων πρωτεϊνών και πολυσακχαριτών είναι μεγάλη, άρα και τα χημικά, φυσικά και ρεολογικά χαρακτηριστικά τόσο των ίδιων όσο και των διάφορων συνδυασμών μεταξύ τους. Συνεπώς, η μελέτη των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των βιοπολυμερών κρίνεται απαραίτητη για την επιλογή του βέλτιστου συνδυασμού (Gao et al., 2021, Li et al., 2019).



**Σχήμα 2.5.** Σχηματική απεικόνιση του σχηματισμού γαλακτώματος υψηλής εσωτερικής φάσης (HIPE) και της ξήρανσης αυτού, με αποτέλεσμα τον εγκλεισμό ελαίου σε δίκτυο ελαιοπηκτής [προσαρμογή από Tavernier et al. (2017) και Vélez-Eraza et al. (2020)]

Τα HIPE παρέχουν πολλές δυνατότητες εφαρμογής. Για παράδειγμα, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως υποκατάστατα λιπιδίων, ως φορείς υδρόφοβων βιοενεργών συστατικών, ακόμη και ως βάση για μελάνια τρισδιάστατων εκτυπωτών τροφίμων. Επιπλέον, αντιστέκονται αποτελεσματικά στην αποκορύφωση και την καταβύθιση καθώς τα σταγονίδια ελαίου είναι τόσο κοντά τοποθετημένα που δεν έχουν τη δυνατότητα να κινηθούν προς τα πάνω ή κάτω, αντίστοιχα. Ακόμη, τα HIPE μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πρότυπο για την παρασκευή ελαιοπηκτών, ενός προϊόντος πολύ χαμηλής υγρασίας αλλά πολύ υψηλής περιεκτικότητας σε έλαιο (ακόμη και περισσότερο από 95%) (**Σχήμα 2.5**) (Patel, 2018). Η δομή του υγρού ελαίου μετατρέπεται σε δομή που μοιάζει με πηκτή (gel – like), κατέχοντας ιξωδοελαστικές ιδιότητες και το τελικό αποτέλεσμα είναι ένα οργανωμένο δίκτυο πηκτής που περιέχει μεγάλη ποσότητα εδώδιμου υγρού ελαίου. Οι συνήθειες εφαρμογές των ελαιοπηκτών είναι ως αντικαταστάτες των στερεών λιπαρών ή τρόπο αποφυγής της μετανάστευσης ελαίων. Επιπροσθέτως, λόγω του

μοναδικού υδρόφοβου περιβάλλοντος που προσφέρουν, μπορούν να αξιοποιηθούν και ως φορείς υδρόφοβων βιοενεργών συστατικών, αυξάνοντας τη βιοδιαθεσιμότητα τους κατά την δια του στόματος χορήγησή τους (Davidovich – Pinhas, 2018, Patel, 2018, Patel et al., 2014, Vélez– Erazo et al., 2020).

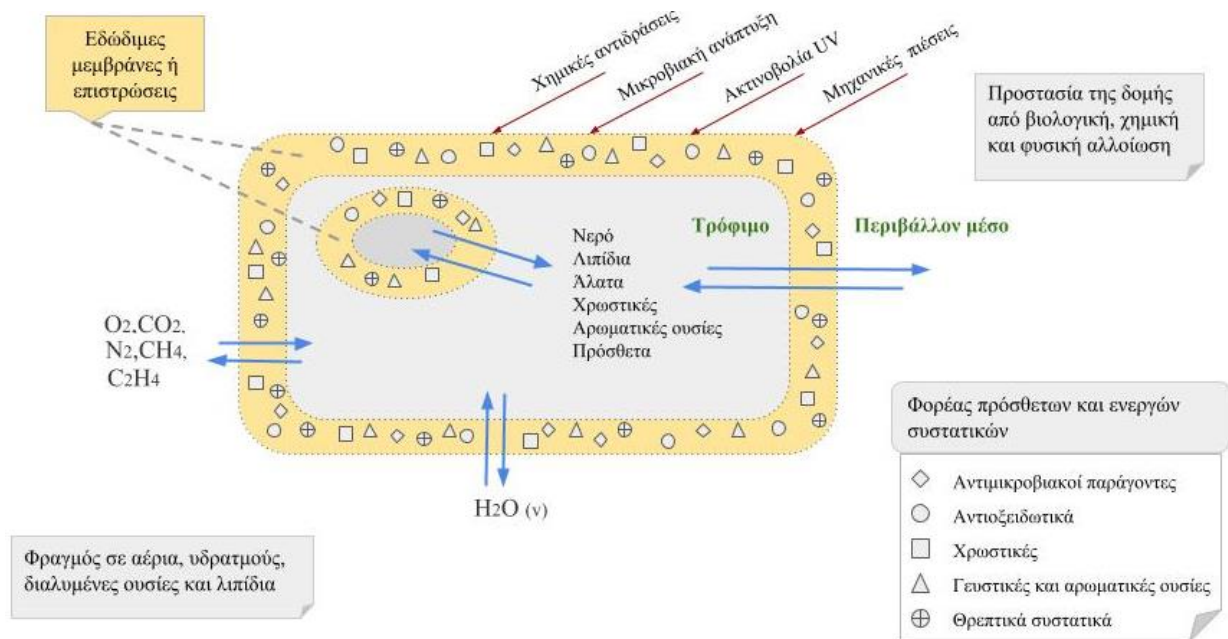
Η παρασκευή ελαιοπηκτής μέσω ΗΙΡΕ χαρακτηρίζεται ως έμμεση μέθοδος δόμησης υγρού ελαίου, αφού περιλαμβάνει και το ενδιάμεσο στάδιο της γαλακτωματοποίησης. Οι πρωτεΐνες και οι πολυσακχαρίτες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον ρόλο του δομικού παράγοντα. Ο σχηματισμός ελαιοπηκτής μπορεί να γίνει και με την άμεση διασπορά του δομικού παράγοντα (π.χ. κηροί, λιπαρά οξέα, μονογλυκερίδια, κ. ά.) στην φάση ελαίου. Κάποιοι δομικοί παράγοντες, όμως, μπορεί να μην επιτρέπονται ή να επιδέχονται περιορισμούς, καθιστώντας δύσκολη την εφαρμογή τους σε βιομηχανική κλίμακα, προωθώντας την ανάπτυξη έμμεσων μεθόδων, όπως η παραπάνω (Gao et al., 2021, Patel, 2018, Patel et al., 2014, Vélez – Erazo et al., 2020).

#### *2.1.3.4. Εδώδιμες Μεμβράνες*

Οι μεμβράνες αποτελούν τύπο εδώδιμης συσκευασίας, και διακρίνονται από τις επικαλύψεις καθώς αποτελούνται από ένα αποξηραμένο, αυτόνομο υπόστρωμα βιοπολυμερούς που προστίθεται ξεχωριστά στο τρόφιμο ως κάλυμμα, περιτύλιγμα, περίβλημα ή στρώση διαχωρισμού σε προϊόντα πολλών συστατικών. Από την άλλη, οι επικαλύψεις ορίζονται ως ένα λεπτό στρώμα σχηματιζόμενο απευθείας στην επιφάνεια του τροφίμου και θεωρούνται μέρος του τελικού προϊόντος (Falguera et al., 2011, Lazaridou & Biliaderis, 2020). Σχετικά με τον σχηματισμό και των δύο, αρχικά, τα βιοπολυμερή ενυδατώνονται σε νερό και δεσμοί υδρογόνου δημιουργούνται μεταξύ των βιοπολυμερών και των μορίων νερού, με αποτέλεσμα οι πολυμερικές αλυσίδες να αποκτούν μία πιο ανοιχτή διευθέτηση στον χώρο. Κατόπιν, μετά την εξάτμιση του διαλύτη, σχηματίζεται μία σταθερή τρισδιάστατη δομή, στην οποία εμπεριέχονται στενά κατανεμημένες αλυσίδες που αλληλεπιδρούν ομοιοπολικά ή μη ομοιοπολικά (κυρίως δεσμοί υδρογόνου, υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις, ηλεκτροστατικοί και ιονικοί δεσμοί), ανάλογα με την αρχική δομή του βιοπολυμερούς (Cerqueira et al., 2015, Dhumal & Sarkar, 2018, Lazaridou & Biliaderis, 2020).

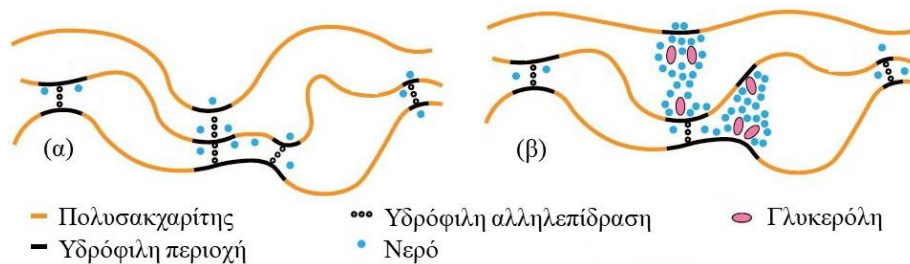
Οι μέθοδοι παραγωγής εδώδιμων επικαλύψεων και μεμβρανών ποικίλουν. Επικαλύψεις εναποτίθενται στην επιφάνεια του τροφίμου κυρίως μέσω εμβάπτισης σε κατάλληλο διάλυμα ή μέσω ψεκασμού. Μεμβράνες μπορούν να παραχθούν μέσω νωπών ή ξηρών διαδικασιών. Οι νωπές διαδικασίες χρησιμοποιούν διαλύτες για τη διασπορά των συστατικών, οι οποίοι απομακρύνονται στη συνέχεια, μέσω εξάτμισης, ώστε να σχηματιστεί η δομή της μεμβράνης. Συνήθως, ο διαλύτης είναι νερό ή μίγμα νερού – αιθανόλης, ώστε το τελικό προϊόν να είναι εδώσιμο και βιοαποικοδομήσιμο (Campos et al., 2011). Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η μέθοδος χύτευσης, η οποία περιλαμβάνει την εφαρμογή του διαλύματος βιοπολυμερούς σε μία επίπεδη επιφάνεια και κατόπιν, την εξάτμιση του διαλύτη υπό ελεγχόμενες συνθήκες ώστε να σχηματιστούν οι μεμβράνες. Η διαδικασία αυτή μπορεί εύκολα να εφαρμοστεί στο εργαστήριο, αλλά δεν προτιμάται σε βιομηχανική κλίμακα λόγω της υψηλής κατανάλωσης ενέργειας. Εκεί, είναι πιο πιθανό να χρησιμοποιηθεί η μέθοδος συνεχούς χύτευσης, κατά την οποία το διάλυμα σχηματισμού μεμβράνης περνάει από συνεχείς ταινίες μεταφοράς με δυνατότητα ελέγχου του πάχους της μεμβράνης (Espitia et al., 2014) και η ξήρανση γίνεται μέσω θέρμανσης ή ακτινοβολίας σύντομου χρονικού διαστήματος (de Moraes et al., 2013). Οι ξηρές διαδικασίες παραγωγής μεμβρανών δεν περιλαμβάνουν υγρούς διαλύτες. Η παραγωγή εδώδιμων μεμβρανών με εξώθηση (extrusion) αποτελεί ένα τυπικό παράδειγμα, η οποία περιλαμβάνει την ανάμειξη όλων των συστατικών (υγρών και στερεών) σε συγκεκριμένη θερμοκρασία και ταχύτητα, και την μεταβίβαση του μίγματος υπό συνθήκες υψηλής πίεσης και θερμοκρασίας, προς μία μήτρα από την οποία εξωθείται η μεμβράνη. Ακολουθεί ξήρανση για την στερεοποίηση της μεμβράνης (Chen et al., 2021, Lazaridou & Biliaderis, 2020).

Οι εδώδιμες μεμβράνες και επικαλύψεις χρησιμοποιούνται κυρίως ως φραγμός έναντι της διάχυσης αερίων (π.χ. O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>) και της μετανάστευσης υγρασίας ή πτητικών συστατικών (**Σχήμα 2.6**). Επιπλέον, μπορούν να αξιοποιηθούν και ως φορείς ενεργών συστατικών, όπως είναι οι αντιμικροβιακοί παράγοντες, οι χρωστικές, τα μικροθρεπτικά συστατικά, οι αρωματικές ουσίες και τα βιοενεργά μόρια. Έτσι, μπορούν να αποτρέψουν ή να περιορίσουν τη μικροβιακή μόλυνση και ανάπτυξη, να αυξήσουν τη διατροφική αξία, να βελτιώσουν τις οργανοληπτικές ιδιότητες, να μειώσουν τον ρυθμό οξείδωσης και αποχρωματισμού, να βελτιώσουν τις ιδιότητες φραγμού, να μεταβάλλουν τη δομική ακεραιότητα και υφή του προϊόντος, και να επεκτείνουν τη διάρκεια ζωής του τροφίμου (Campos et al., 2011, Lacroix, 2009, Valdés et al., 2015).



**Σχήμα 2.6.** Κύριες λειτουργίες των εδώδιμων συσκευασιών [προσαρμογή από Salgado et al. (2015)]

Οι πολυσακχαρίτες, οι πρωτεΐνες και τα λιπίδια, μεμονωμένα ή σε συνδυασμό (ως μίγματα ή στρώσεις) αποτελούν τα κύρια συστατικά των μεμβρανών και των επικαλύψεων. Ακόμη ένα σημαντικό συστατικό είναι οι πλαστικοποιητές, μόρια συνήθως μικρού μοριακού βάρους, που αυξάνουν τις αποστάσεις μεταξύ των αλυσίδων (ελεύθερος όγκος) οδηγώντας σε μεμβράνες με αυξημένη επεκτασιμότητα και ευελιξία. Το νερό αποτελεί έναν πολύ καλό πλαστικοποιητή, αλλά εύκολα εξατμίζεται σε συνθήκες χαμηλής σχετικής υγρασίας (Guilbert & Gontard, 1995). Έτσι, συχνά χρησιμοποιούνται και άλλοι πλαστικοποιητές, όπως είναι η γλυκερόλη και η σορβιτόλη. Απουσία πλαστικοποιητή, οι υδρόφιλες περιοχές του βιοπολυμερούς τείνουν να σχηματίζουν δεσμούς υδρογόνου, ενώ παρουσία αυτού, οι υδρόφιλες περιοχές έλκονται από τα μόρια του πλαστικοποιητή με αποτέλεσμα τη μείωση της ηλεκτροστατικής έλξης μεταξύ των αλυσίδων, την αύξηση της κινητικότητας των τμημάτων της αλυσίδας και την αύξηση της απορρόφησης νερού. Μία σχηματική απεικόνιση αυτού παρουσιάζει το **Σχήμα 2.7**, όπου το βιοπολυμερές είναι ένας πολυσακχαρίτης και ο πλαστικοποιητής είναι η γλυκερόλη. Η αποτελεσματικότητα των πλαστικοποιητών εξαρτάται από τον τύπο και την ποσότητα αυτών στο διάλυμα σχηματισμού μεμβρανών. Η πολικότητά τους, επίσης, φαίνεται να συμβάλλει σημαντικά καθώς όσο μεγαλύτερη είναι τόσο περισσότερο αποδυναμώνονται οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των αλυσίδων που εμπλέκουν δεσμούς υδρογόνου (Costanza et al., 2019).



**Σχήμα 2.7.** Σχηματική απεικόνιση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των αλυσίδων πολυσακχαρίτη (α) απουσία και (β) παρουσία γλυκερόλης [προσαρμογή από Costanza et al. (2019)]

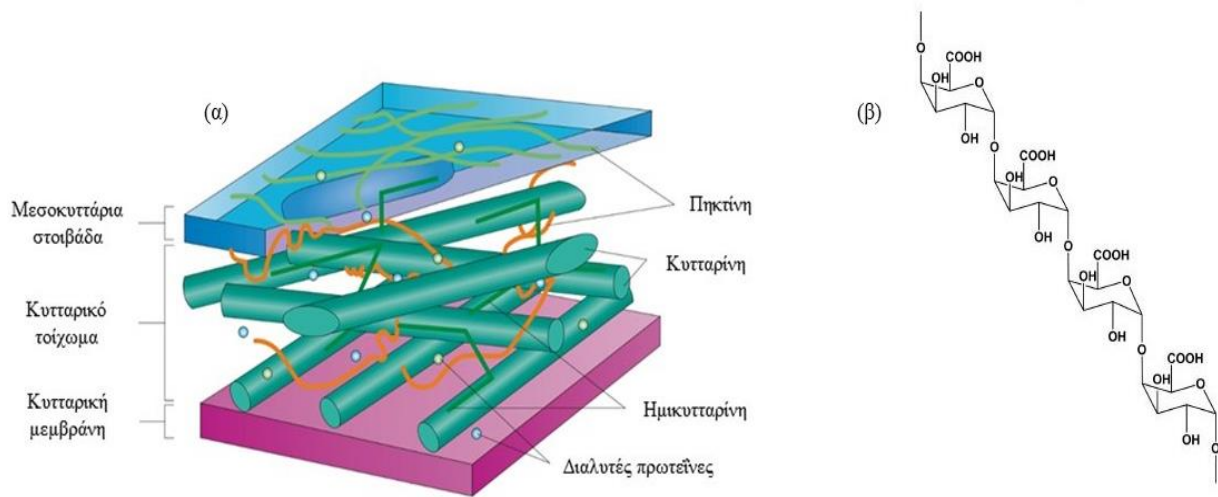
## 2.2. Πηκτίνη

### 2.2.1. Προέλευση, Δομή, Ιδιότητες

Η πηκτίνη αποτελεί ένα από τα κύρια συστατικά του κυτταρικού τοιχώματος των φυτικών κυττάρων και ένα από τα πολυπλοκότερα μακρομόρια στη φύση, καθώς μπορεί να αποτελείται από έως και 17 διαφορετικούς μονοσακχαρίτες που περιέχουν περισσότερους από 20 δεσμούς (Ciriminna et al., 2022, Mohnen, 1999). Η πηκτίνη συναντάται στο πρωτογενές κυτταρικό τοίχωμα και στη μεσοκυττάρια στρώση, όπως φαίνεται στο **Σχήμα 2.8 (α)**, όπου εναποτίθεται στα πρώτα στάδια ανάπτυξης, κατά τη διάρκεια επέκτασης των κυττάρων (Crombie et al., 2003). Η πολυμερική σύσταση των πρωτογενών κυτταρικών τοιχωμάτων των δικοτυλήδων φυτών αποτελείται από περίπου 35% πηκτίνη, 30% κυτταρίνη, 30% ημικυτταρίνη και 5% πρωτεΐνη (Albersheim et al., 1996, Voragen et al., 2009). Η σύσταση αυτή μπορεί να ποικίλλει αισθητά στο κυτταρικό τοίχωμα κάποιων φρούτων και λαχανικών, με την περιεκτικότητα σε πηκτίνη να είναι σημαντικά υψηλή, σε αντίθεση με την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη (Fischer & Bennett, 1991).

Η πηκτίνη παρέχει δομική ακεραιότητα, αντοχή και ευελιξία στο κυτταρικό τοίχωμα, δρώντας παράλληλα και ως άμυνα απέναντι στις προκλήσεις του εξωτερικού περιβάλλοντος. Παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη και τη λειτουργία των φυτών, γεγονός που προκύπτει από τις πολλαπλές λειτουργίες της σε κυτταρικό επίπεδο. Μεταξύ άλλων, συμβάλλει στην επιμήκυνση των οργάνων στα υποκοτύλια, τις ρίζες και τους μίσχους, και ρυθμίζει τη μορφογένεση οργάνων, όπως είναι τα φύλλα και τα άνθη. Ακόμη, η πηκτίνη είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη των αρσενικών και θηλυκών γαμετοφύτων, αλλά και για την ωρίμανση και αποκοπή των καρπών. Η ποσότητα, η κατανομή και η δομή της πηκτίνης, όταν συνδυάζονται

κατάλληλα, φαίνεται να ευνοούν δυναμικές κυτταρικές διαδικασίες, όπως είναι η κίνηση των στομάτων με καθοριστικό ρόλο στη ρύθμιση της ανταλλαγής αερίων μεταξύ του φυτού και του περιβάλλοντος (Palin & Geitmann, 2012, Yang & Anderson, 2020).



**Σχήμα 2.8.** (α) Η δομή του κυτταρικού τοιχώματος που περιέχει πηκτίνη, κυτταρίνη, ημικυτταρίνη και διαλυτές πρωτεΐνες [προσαρμογή από Sticklen (2008)] και (β) ο σκελετός πηκτίνης με τις α-1,4-συνδεδεμένες μονάδες γαλακτουρονικού οξέος (Chan et al., 2017).

Σχετικά με τις αλληλεπιδράσεις φυτού – περιβάλλοντος, η πηκτίνη εμπλέκεται στην ανοσοαπόκριση του φυτικού οργανισμού σε αβιοτικές και βιοτικές καταπονήσεις. Κατά την εισβολή παθογόνου ή παρασιτικού οργανισμού στο φυτό, το κυτταρικό τοίχωμα του ξενιστή λειτουργεί ως το πρώτο εμπόδιο στην εισβολή και αποικοδομείται από εξωγενή ένζυμα που τροποποιούν την πηκτίνη. Μικρά τμήματα αποδομημένης πηκτίνης λειτουργούν ως σήματα εισβολής με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση αμυντικών αποκρίσεων, όπως είναι για παράδειγμα η παραγωγή φυτοαλεξίνης, η οποία έχει μεγάλο εύρος αντιμικροβιακής δράσης, και η επαγωγή έκφρασης γονιδίων που σχετίζονται με παθογόνα. Ως το πιο κινούμενο συστατικό του κυτταρικού τοιχώματος, η πηκτίνη χρησιμεύει ως αισθητήρας, αλλά μπορεί να συνδέεται και με άλλους τύπους υποδοχέων, πυροδοτώντας σηματοδοτικά μονοπάτια με στόχο τη διατήρηση της ακεραιότητας του κυτταρικού τοιχώματος κατά τη διάρκεια καταπονήσεων (Wormit & Usadel, 2018, Yang & Anderson, 2020).

Η ονομασία «πηκτίνη» χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά το 1825 από τον Braconnot (1825 a,b), ο οποίος συνέχισε την έρευνα του Vauquelin (1790), και ήταν ο πρώτος που χρησιμοποίησε την πηκτίνη ως παράγοντα πηκτωματοποίησης. Σχεδόν έναν αιώνα αργότερα, ο Smolenski (1923) περιέγραψε πρώτος την πηκτίνη ως ένα πολυμερές γαλακτουρονικού

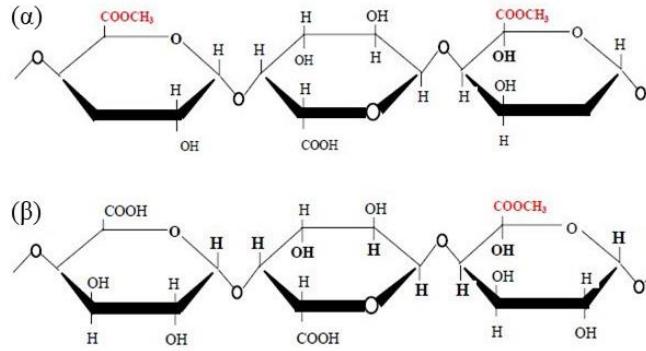


οξέος (Galacturonic acid, GalA), ενώ μερικά χρόνια αργότερα, ο Kertesz (1951) εμπλούτισε την περιγραφή αναφέροντας την πηκτίνη ως έναν ετεροπολυσακχαρίτη που περιέχει κυρίως μερικώς μεθυλεστεροποιημένα GalA και κάποια ουδέτερα σάκχαρα. Στη συνέχεια, οι de Vries et al. (1981) έδειξαν πως τα ουδέτερα σάκχαρα υφίστανται ως πλευρικές αλυσίδες.

Η πηκτίνη χαρακτηρίζεται ως υδροκολλοειδές (Seisun & Zalesny, 2021). Αποτελεί, δηλαδή, υδρόφιλο βιοπολυμερές με ικανότητα σχηματισμού διαλύματος υψηλού ιξώδους ή/και πηκτής, κατόπιν διάλυσης σε νερό (Dickinson, 2003). Τα υδατικά διαλύματα πηκτίνης παρουσιάζουν χαρακτηριστικά κολλοειδούς συστήματος. Το κύριο συστατικό των πηκτινών είναι οι  $\alpha$ -1,4-συνδεδεμένες μονάδες D – GalA, όπως φαίνεται στο **Σχήμα 2.8 (β)** (Chan et al., 2017). Η πηκτίνη, ως ετερογενές μόριο, αποτελείται από αλληλένδετες, διακριτές περιοχές, η σχετική ποσότητα και δομή των οποίων ποικίλει ανάλογα με τη πηγή προέλευσης (π.χ. είδος φυτού, τύπος οργάνου, ιστού ή κυττάρου, στάδιο κυτταρικής ανάπτυξης και ακριβής θέση εντός του κυτταρικού τοιχώματος). Πέρα όμως, από την βιολογική ποικιλομορφία της πηκτίνης, η δομή της ποικίλει ευρέως ανάλογα και με τη μέθοδο απομόνωσης που χρησιμοποιείται σε κάθε περίπτωση (Voragen, 2009). Το μοριακό βάρος της πηκτίνης κυμαίνεται από 20 – 200 kDa (Harding et al., 1991, Morris et al., 2000, Morris et al., 2008). Ο μέσος βαθμός πολυμερισμού (degree of polymerization) υπολογίζεται στις 200 – 1000 επαναλαμβανόμενες μονάδες (Rolin & de Vries, 1990).

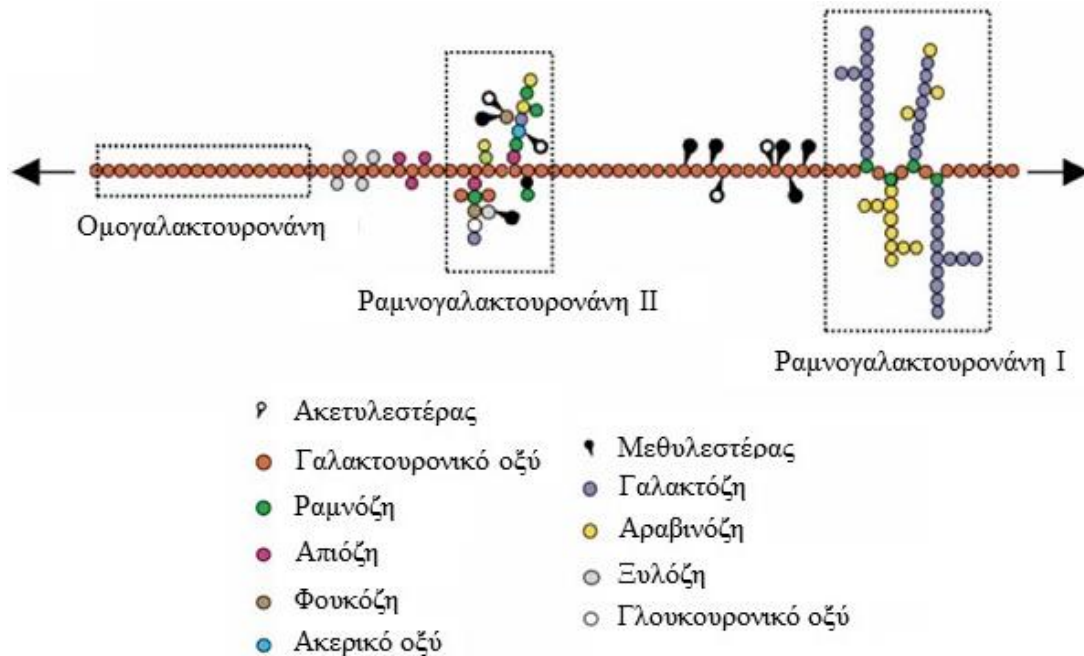
Σημαντικό χαρακτηριστικό της πηκτίνης αποτελεί το ποσοστό των μεθυλεστεροποιημένων καρβοξυλομάδων των γαλακτουρονικών οξέων, το οποίο ονομάζεται βαθμός εστεροποίησης [degree of esterification, DE (%)]. Οι πηκτίνες με DE υψηλότερο του 50%, δηλαδή με πάνω από τις μισές καρβοξυλομάδες στη μορφή μεθυλεστέρα [-COOCH<sub>3</sub>]), ονομάζονται πηκτίνες υψηλής μεθυλίωσης (high methoxyl pectin, HMP) [**Σχήμα 2.9 (α)**]. Αντίστοιχα, οι πηκτίνες με DE χαμηλότερο του 50% καλούνται πηκτίνες χαμηλής μεθυλίωσης (low methoxyl pectin, LMP) [**Σχήμα 2.9 (β)**] (Belkheiri et al., 2021).

Η επεξεργασία της πηκτίνης με αμμωνία διαλυμένη σε μεθανόλη, έχει ως αποτέλεσμα την μετατροπή κάποιων ομάδων μεθυλεστέρα σε ομάδες καρβοξαμιδίου (-CONH<sub>2</sub>). Κατά συνέπεια, οι ομάδες μεθυλεστέρα χάνονται κι έτσι, προκύπτει πηκτίνη χαμηλής μεθυλίωσης. Το ποσοστό των καρβοξυλικών ομάδων που έχουν μετατραπεί σε ομάδες καρβοξαμιδίου εκφράζεται από τον βαθμό αμιδίωσης (degree of amidation, DA) και στις αμιδιωμένες LMP κυμαίνεται από 15 – 25% (BeMiller, 2019).



**Σχήμα 2.9.** Πηκτίνη (α) υψηλής μεθυλίωσης και (β) χαμηλής μεθυλίωσης (Belkheiri et al., 2021)

Οι διακριτές περιοχές που συναντώνται στα μόρια πηκτίνης ποικίλλουν. Οι βασικότερες εξ αυτών είναι η ομογαλακτουρονάνη (homogalacturonan), η ραμνογαλακτουρονάνη I (rhamnogalacturonan I) και η ραμνογαλακτουρονάνη II (rhamnogalacturonan II) (**Σχήμα 2.10**), ενώ μπορεί να περιλαμβάνεται και η ξυλογαλακτουρονάνη (xylogalacturonan), η απιογαλακτουρονάνη (apiogalacturonan), η αραβινάνη (arabinan), η γαλακτάνη (galactan), η αραβινογαλακτάνη I (arabinogalactan I) και η αραβινογαλακτάνη II (arabinogalactan II) (Voragen et al., 2009).



**Σχήμα 2.10.** Σχηματική αναπαράσταση της βασικής δομής της πηκτίνης στην οποία απεικονίζονται οι κύριες περιοχές της [προσαρμογή από Willats et al. (2006)]

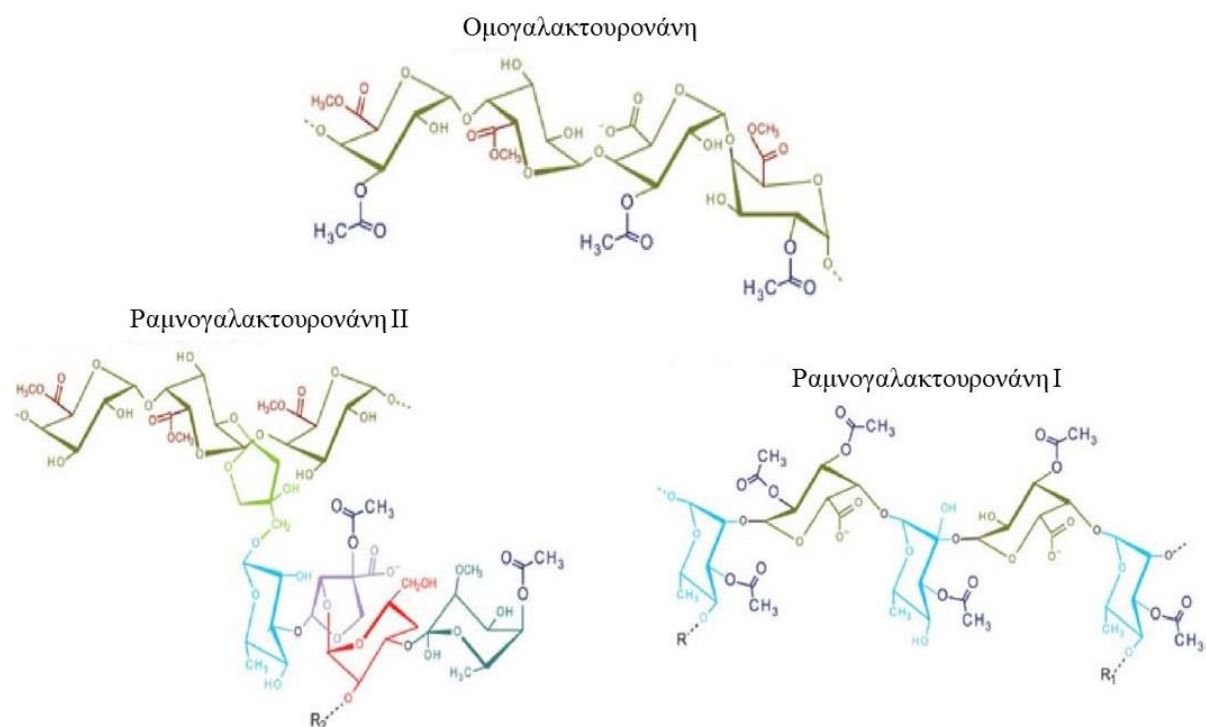
Η ομογαλακτουρονάνη αποτελεί την αφθονότερη δομή στο μακρομόριο της πηκτίνης αφού αντιστοιχεί, στις περισσότερες περιπτώσεις, περίπου στο 60% της συνολικής ποσότητας πηκτίνης των κυτταρικών τοιχωμάτων (Mohnen, 2008, Voragen et al., 2009). Το μόριο ομογαλακτουρονάνης αποτελείται από έναν γραμμικό σκελετό α-(1,4)-συνδεδεμένων μονάδων GalA, εκ των οποίων κάποιες είναι μεθυλεστεροποιημένες στη θέση C-6 (Mort et al., 1993) ή/και Ο-ακετυλοποιημένες στη θέση Ο-2 ή/και Ο-3 (Ishii, 1995) (**Σχήμα 2.11**). Ο μέσος βαθμός πολυμερισμού των περιοχών αυτών κυμαίνεται μεταξύ 72 και 300 μονάδων D – GalA (Ropartz & Ralet, 2020).

Η ραμνογαλακτουρονάνη I αντιστοιχεί, συνήθως, στο 20% – 35% της ολικής ποσότητας πηκτίνης (Mohnen, 2008). Ο σκελετός της σχηματίζεται από τον επαναλαμβανόμενο δισακχαρίτη ραμνόζης (Rha) και GalA [2-α-L-Rha-(1,4)-α-D-GalA-(1)] (Lau et al., 1985) (**Σχήμα 2.11**). Οι μονάδες GalA είναι συνήθως μη μεθυλεστεροποιημένες (Kravtchenko et al., 1992), ενώ η πλειονότητα των μονάδων Rha συνδέονται στη θέση C-4, με πλευρικές αλυσίδες ουδέτερων σακχάρων, που αποτελούνται από απλά σάκχαρα ή συνδυασμό αλυσίδων αραβινάνης, γαλακτάνης, αραβινογαλακτάνης I και αραβινογαλακτάνης II (Ngouémazong et al., 2012). Ο μέσος βαθμός πολυμερισμού των περιοχών ραμνογαλακτουρονάνης I εκτιμάται σε 60 – 300 μονάδες (McNeil et al., 1984, Thibault & Ralet, 2009), ενώ το ποσοστό των διακλαδισμένων μονάδων κυμαίνεται μεταξύ 20% – 80%, ανάλογα με την πηγή προέλευσης του πολυσακχαρίτη (Albersheim et al., 1996).

Η ραμνογαλακτουρονάνη II αποτελεί μία δομή σημαντικά αμετάβλητη στο φυτικό βασίλειο, απαρτίζεται από έναν σκελετό 7-9 μονάδων GalA στον οποίο συνδέονται 4 πλευρικές αλυσίδες στις θέσεις C-2 και C-3, με έως και 13 διαφορετικά σάκχαρα (π.χ. αραβινόζη, απιόζη, φουκόζη, γαλακτόζη, ραμνόζη κ.ά.) (O'Neill et al., 2001) (**Σχήμα 2.11**). Οι πλευρικές αλυσίδες επηρεάζουν τη συνολική δομή του πολυμερούς και μπορεί να περιορίζουν τον βαθμό αλληλεπίδρασης μεταξύ δύο πηκτινικών αλυσίδων (BeMiller, 2019).

Η παρουσία των διαφόρων περιοχών στην πηκτινική αλυσίδα έχει περιγραφεί από έναν αριθμό μοντέλων, τα δύο δημοφιλέστερα των οποίων είναι το μοντέλο των λείων και τριχωτών περιοχών των de Vries et al. (1981) που ανανεώθηκε από τους Schols & Voragen (1996), και το μοντέλο του σκελετού ραμνογαλακτουρονάνης I των Vincken et al. (2003). Ως λείες περιοχές της πηκτίνης θεωρούνται οι περιοχές ομογαλακτουρονάνης λόγω της γραμμικότητας της δομής τους. Αντίθετα, λόγω των διακλαδώσεων, οι περιοχές ραμνογαλακτουρονάνης I και II είναι γνωστές ως τριχωτές περιοχές της πηκτίνης (Schols & Voragen, 2003). Το πρώτο προτείνει πως οι λείες περιοχές εναλλάσσονται με τις τριχωτές (Schols & Voragen, 1996).

Αντίθετα, το δεύτερο μοντέλο υποστηρίζει πως οι περιοχές ομογαλακτουρονάνης αποτελούν πλευρικές αλυσίδες της ραμνογαλακτουρονάνης I (Vincken et al., 2003). Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, το μοντέλο των λείων και τριχωτών περιοχών φαίνεται να υποστηρίζεται από περισσότερα πειραματικά δεδομένα, χωρίς αυτό να αποκλείει το ενδεχόμενο του δεύτερου μοντέλου (Ropartz & Ralet, 2020).



**Σχήμα 2.11.** Διαμορφώσεις της ομογαλακτουρονάνης, της ραμνογαλακτουρονάνης I και της ραμνογαλακτουρονάνης II σε δομές Angyal [προσαρμογή από Pawar et al. (2013)]

Η σχετική ποσότητα, η κατανομή και η διαμόρφωση των δομικών περιοχών στην πηκτίνη έχουν σημαντική επιρροή στη διαμόρφωση και τις λειτουργικές ιδιότητες του πολυσακχαρίτη ως σύνολο, με αντίκτυπο στις αλληλεπιδράσεις των αλυσίδων πηκτίνης μεταξύ τους, αλλά και με άλλα βιομόρια (Gawkowska et al., 2018). Η μοριακή αρχιτεκτονική και το μοριακό βάρος καθορίζουν, συνεπώς, σε μεγάλο βαθμό τη διαλυτότητα της πηκτίνης. Ο πολυσακχαρίτης αυτός είναι διαλυτός στο νερό, αλλά αδιάλυτος στους περισσότερους οργανικούς διαλύτες. Ο ρυθμός διαλυτοποίησης της πηκτίνης στο νερό επηρεάζεται κυρίως από τον βαθμό πολυμερισμού, τον αριθμό και την κατανομή των μεθυλεστερομάδων. Το pH, η θερμοκρασία και η ιονική ισχύς του διαλύματος ασκούν σημαντική επιρροή, επίσης. Ακόμη και το περιεχόμενο σε ασβέστιο του νερού στο οποίο θα διαλυθεί η πηκτίνη παίζει σημαντικό

ρόλο, καθώς σε νερό υψηλής σκληρότητας, ο πολυσακχαρίτης θα διαλυθεί μερικώς (Flutto, 2003).

Η έκθεση της πηκτίνης σε ακατάλληλες συνθήκες pH και θερμοκρασίας μπορεί να οδηγήσει σε ραγδαία υποβάθμιση μέσω αποεστεροποίησης και αποπολυμερισμού. Η βέλτιστη σταθερότητα του πολυμερούς παρατηρείται σε pH 3,5 – 4,0 κι εκτός αυτού του εύρους ξεκινά να υποβαθμίζεται, ενώ είναι ιδιαίτερα ασταθής σε υψηλές θερμοκρασίες. Σε ουδέτερο και αλκαλικό περιβάλλον, ο σκελετός ομογαλακτουρονάνης αποπολυμερίζεται (β-απόσπαση, β-elimination) λόγω διάσπασης γλυκοσιδικών δεσμών. Σε υψηλές θερμοκρασίες, ο αποπολυμερισμός του πηκτινικού σκελετού ξεκινάει σε pH 5, ενώ σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, η πηκτίνη είναι πιο ανθεκτική. Η σταθερότητα της δομής της πηκτίνης υπό θέρμανση βελτιώνεται σημαντικά όταν η ενεργότητα νερού του συστήματος μειώνεται με την προσθήκη σακχαρόζης (Brejnholt, 2009, Flutto, 2003, Gawkowska et al., 2018).

## 2.2.2. Παραλαβή Πηκτίνης

Η πρώτη καταγεγραμμένη εμπορική παραλαβή πηκτίνης χρονολογείται στα 1908, στη Γερμανία, ενώ ακολούθησε η διάδοση της διαδικασίας στις Η.Π.Α. όπου ο Robert Douglas (1913) κατέκτησε την πατέντα λίγα χρόνια αργότερα. Σήμερα, η παραλαβή πηκτίνης γνωρίζει μεγάλη εμπορική επιτυχία καθώς, πέρα από την ποικιλία δυνατοτήτων αξιοποίησής της σε προϊόντα τροφίμων κι όχι μόνο, αποτελεί κι έναν επικερδή τρόπο διαχείρισης φυτικών αποβλήτων και παραπροϊόντων. Αξίζει να σημειωθεί πως η μισή ποσότητα των τροφίμων που απορρίπτονται ετησίως, προέρχεται από φρούτα και λαχανικά (Maric et al., 2018).

Πληθώρα φρούτων και λαχανικών περιέχουν πηκτίνη (Belkheiri et al., 2021, Chan et al., 2017, Gawkowska et al., 2018). Σε πολλές περιπτώσεις, όμως, η πηκτίνη αυτή δεν είναι ιδανική ως πρόσθετο τροφίμων, καθώς λόγω των ουδέτερων σακχάρων (π.χ. αραβινόζη, γαλακτόζη, ραμνόζη) που περιέχει σε μεγάλες ποσότητες, η περιεκτικότητα σε GalA είναι ανεπαρκής (< 65 %) (Flutto, 2003). Σήμερα, οι εμπορικές πηκτίνες προέρχονται από πολύ συγκεκριμένες πηγές (85% από φλούδες εσπεριδοειδών, 14% από πούλπα μήλων, 1% από πολτό ζαχαρότευτλων) (Ciriminna et al., 2016). Η γενετική ποικιλομορφία (Kpodo et al., 2017) και το στάδιο ωρίμανσης (Deng et al., 2019) επηρεάζουν την απόδοση, τη χημική σύσταση και το μοριακό βάρος της πηκτίνης, κι έτσι, οι παράγοντες αυτοί συμβάλλουν στη διαδικασία επιλογής της πηγής προέλευσης της πηκτίνης. Επιπλέον, η μέθοδος παραλαβής επηρεάζει

καθοριστικά την ποιότητα και την ποσότητα του τελικού προϊόντος πηκτίνης. Ο ποιοτικός έλεγχος και η τυποποίηση των πηκτινών αποτελούν κρίσιμα στάδια της παραγωγικής διαδικασίας της πηκτίνης καθώς η απόδοση, η σύσταση και οι ιδιότητες κάθε πηκτίνης αναμένεται να διαφέρουν ανάλογα με την εκάστοτε πρώτη ύλη (π.χ. είδος φυτού, στάδιο ανάπτυξης) και την μέθοδο παραλαβής (Gawkowska et al., 2018).

Σχετικά με τη διαδικασία παραλαβής της πηκτίνης, το πρώτο βήμα είναι η προστασία του πολυσακχαρίτη από την ενζυμική αποικοδόμηση. Η πηκτίνη είναι επιρρεπής τόσο σε ενδογενή (φυτικά) όσο και σε εξωγενή (μικροβιακά) ένζυμα, τα οποία ξεκινούν την αποικοδόμηση του πολυμερούς αμέσως μετά την επεξεργασία του φυτικού ιστού. Συνεπώς, είναι κρίσιμης σημασίας η άμεση απομόνωση της πηκτίνης από το φρέσκο φυτικό υλικό ή εναλλακτικά, η απενεργοποίηση των ενζύμων μέσω ξήρανσης της πρώτης ύλης, κατόπιν απομάκρυνσης των σακχάρων (Rolin et al., 1998). Καθώς τα περισσότερα υδατοδιαλυτά μόρια πηκτίνης έχουν συλλεχθεί κατά την επεξεργασία των καρπών, π.χ. κατά την παραγωγή χυμού από εσπεριδοειδή και μήλα, η πηκτίνη που μένει στις φλούδες και την πούλπα των φρούτων αυτών είναι σε αδιάλυτη μορφή. Έτσι, η εκχύλιση της πηκτίνης από τους φυτικούς ιστούς ξεκινάει με τη διαλυτοποίηση των πρόδρομων πηκτινικών μορίων, ακολουθούμενη από μία δεύτερη υδρόλυση που υποβαθμίζει περαιτέρω τη δομή τους με στόχο την αύξηση της απόδοσης απομόνωσης (Pagan & Ibarz, 1999). Η διαλυτότητα της πηκτίνης εξαρτάται από διάφορες παραμέτρους, όπως είναι τα διαλυτά στερεά, η ιονική ισχύς, το pH και η θερμοκρασία, οι οποίες θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη κατά τη διαδικασία παραλαβής (Brehnholt, 2010).

Η παραδοσιακή μέθοδος παραλαβής πηκτίνης είναι μέσω όξινης εκχύλισης και περιλαμβάνει την ανάμειξη της πρώτης ύλης με υδατικό διάλυμα οξέος (συνήθως HNO<sub>3</sub> ή HCl, pH 1,0 – 3,0) σε αναλογία στερεού προς υγρό 1:10 – 1:50 (w/v), υπό θέρμανση (60 – 100 °C) για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα (30 min – 24 h). Οι συνθήκες όξινης εκχύλισης οδηγούν σε μερικό αποπολυμερισμό των αλυσίδων πηκτίνης και των άλλων πολυμερών του κυτταρικού τοιχώματος. Λόγω του όξινου pH, οι ιονικοί δεσμοί που συγκρατούν την πηκτίνη στον φυτικό ιστό σπάζουν κι ο πολυσακχαρίτης απελευθερώνεται στον διαλύτη. Επιπλέον, και οι εστερικοί δεσμοί σπάζουν κι έτσι, χάνεται ένα μέρος των μεθυλ- και ακετυλ- ομάδων της πηκτίνης. Τα ουδέτερα σάκχαρα, επίσης, υπόκεινται σε αποικοδόμηση. Η βελτιστοποίηση της απόδοσης παραλαβής επιτυγχάνεται με τον κατάλληλο συνδυασμό των παραμέτρων της εκχύλισης (π.χ. όγκος διαλύτη, θερμοκρασία, διάρκεια). Ακολουθεί ο καθαρισμός του υγρού εκχυλίσματος με φιλτράρισμα, κατακρήμνιση της πηκτίνης του διαλύματος (συνήθως με

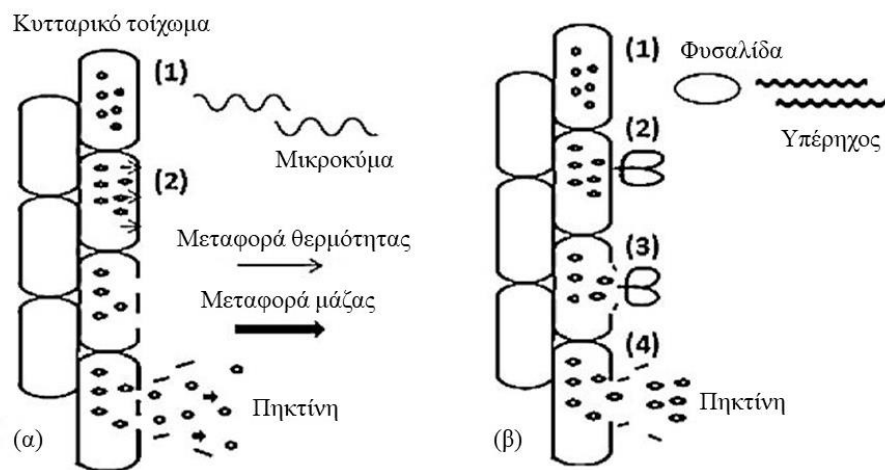
οργανικό διαλύτη στον οποίο είναι αδιάλυτη η πηκτίνη αλλά διαλυτές πολλές από τις ακαθαρσίες) και απομάκρυνση του διαλύτη, ξήρανση και κονιορτιοποίηση του τελικού προϊόντος. Οι οργανικοί διαλύτες που επιτρέπονται από τα διεθνή πρότυπα τροφίμων είναι η μεθανόλη, η αιθανόλη και η ισοπροπανόλη. Περαιτέρω αποεστεροποίηση των μεθυλεστερομάδων μπορεί να πραγματοποιηθεί, με τη χρήση οξέος/βάσης ή αμμωνίας σε αλκοολικό μέσο, ανάλογα το επιθυμητό τελικό προϊόν πηκτίνης (Belkheiri et al., 2021, BeMiller, 2019, May, 1990, Rolin et al., 1998, Yapo & Gnakri, 2015). Αυτός ο τρόπος εκχύλισης απαιτεί παρατεταμένους χρόνους θέρμανσης και μεγάλες ποσότητες ισχυρών οξέων, η απόρριψη των οποίων οδηγεί σε περιβαλλοντικά ζητήματα (Minjares – Fuentes et al., 2014). Οι έντονες συνθήκες εκχύλισης μπορεί, λόγω εκτενούς υδρόλυσης, να αποφέρουν μεγάλες ποσότητες τελικού προϊόντος, χαμηλής, όμως, ποιότητας (Pagan & Ibarz, 1999).

Έτσι, το ενδιαφέρον πολλών ερευνητών έχει προσελκύσει η αναζήτηση εναλλακτικών μεθόδων, που θα είναι περισσότερο φιλικές προς τον πολυσακχαρίτη, αλλά και προς το περιβάλλον. Για παράδειγμα, έχουν γίνει μελέτες σχετικά με την παραλαβή της πηκτίνης μέσω εκχύλισης με ασθενή οξέα (Oliveira et al., 2016, Pereira et al., 2016, Pinheiro et al., 2008, Vriesmann et al., 2012), με ένζυμα (Bayar, 2018, Dominiak et al., 2014, Jeong et al., 2014, Sabater et al., 2018, Vasco-Correa & Zapata Zapata, 2017), με μικροκύματα (Hosseini et al., 2016, Košťálová et al., 2016, Prakash Maran et al., 2014), με υπερήχους (Grassino et al., 2016, Kazemi et al., 2019, Patience, 2021, Sengar et al., 2020) και με αρκετές ακόμη μεθόδους και συνδυασμούς των παραπάνω (Akhtar, 2002, Bagherian et al., 2011, Marić et al., 2018, Minjares-Fuentes et al., 2014, Sari et al., 2018).

Η μέθοδος εκχύλισης με τη χρήση μικροκυμάτων βασίζεται στην περιστροφή των πολικών μορίων ως αποτέλεσμα της έκθεσης του υλικού ή/και του διαλύτη σε ενέργεια μικροκυμάτων και τελικά, στη θέρμανση του συστήματος. Κατά τη διαδικασία εκχύλισης, κάποιοι δεσμοί σπάνε, και το κυτταρικό τοίχωμα αμβλύνεται οδηγώντας σε ρήξη των παρεγγυματικών κυττάρων και κατά συνέπεια, του φυτικού ιστού [**Σχήμα 2.12 (α)**]. Έτσι, ο διαλύτης αλληλεπιδρά πιο γρήγορα και σε μεγαλύτερο βαθμό με το φυτικό υλικό κατά τη διάρκεια της εκχύλισης, αυξάνοντας τη διαπερατότητα του εκχυλίστου υλικού και κατ' επέκταση, την απόδοση της εκχύλισης (Adetunji et al., 2017, Liew et al., 2016).

Η μέθοδος εκχύλισης μέσω υπερήχων βασίζεται στο φαινόμενο της σπηλαίωσης, μία σύντομη διαδικασία (~ 400 μs) κατά την οποία οι υπερήχοι ταξιδεύοντας στο υγρό μέσο εκχύλισης σχηματίζουν φυσαλίδες ή κοιλότητες, οι οποίες επεκτείνονται και τελικά, καταρρέουν [**Σχήμα 2.12 (β)**]. Το φαινόμενο αυτό μπορεί να οδηγήσει σε πολύ υψηλές πιέσεις

και θερμοκρασίες προάγοντας τη διόγκωση και ενυδάτωση του υλικού καθώς οι πόροι του διερύνονται και ευνοείται η είσοδος του διαλύτη μέσω διάχυσης στα κύτταρα. Ως αποτέλεσμα, τα μόρια περνούν από τα φυτικά κύτταρα στο μέσο διάλυσης με υψηλότερο ρυθμό μεταφοράς μάζας. Η χρήση μικροκυμάτων ή/και υπερήχων μπορεί να μειώσει τον χρόνο εκχύλισης αλλά και την απαιτούμενη ποσότητα διαλύτη. Η βελτιστοποίηση της μεθόδου εκχύλισης βασίζεται στον κατάλληλο συνδυασμό πειραματικών συνθηκών, όπως είναι η ισχύς της ενέργειας και ο χρόνος έκθεσης σε αυτή, ο τύπος και το pH του διαλύτη και η αναλογία στερεού προς υγρό. Σε βιομηχανική κλίμακα, όμως, η πρακτικότητα των μεθόδων αυτών μένει να αποδειχθεί (Adetunji et al., 2017, Liew et al., 2016).



**Σχήμα 2.12.** Σχηματική απεικόνιση των μεθόδων εκχύλισης πηκτίνης μέσω (α) μικροκυμάτων και (β) υπερήχων [προσαρμογή από Liew et al. (2016)]

### 2.2.3. Η Πηκτίνη ως Λειτουργικό Συστατικό

Η πηκτίνη αποτελεί ένα πολύ κοινό συστατικό της Δυτικής διαίτας, με την κατανάλωσή της να υπολογίζεται περίπου στα 4 – 5 g ημερησίως (Willats et al., 2006). Υπάρχει σε αφθονία στα φρούτα και στα λαχανικά, αλλά προσλαμβάνεται και μέσω της κατανάλωσης τροφίμων στα οποία υφίσταται ως πηκτικός ή σταθεροποιητικός παράγοντας, όπως για παράδειγμα σε ροφήματα (Nakamura et al., 2004, Zulueta et al., 2007), προϊόντα ζαχαροπλαστικής (Abid et al., 2018, Basu & Shivhare, 2010), γαλακτοκομικά προϊόντα (Arioui et al., 2017, Joudaki et al., 2013), ακόμη και σε προϊόντα κρέατος (Pereira et al., 2010, Santiaguin-Padilla et al., 2019) και εδώδιμες μεμβράνες (Chakravartula et al., 2019, Rodsamran & Sothornvit, 2019).



Η πηκτίνη αναγνωρίζεται ως ασφαλές πρόσθετο τροφίμων, με τον κωδικό E440 (Witkamp, 2010), αλλά και ως λειτουργικό συστατικό τροφίμων (Naqash et al., 2017). Λειτουργικό χαρακτηρίζεται ένα τρόφιμο ή ένα συστατικό αυτού που παρέχει, εκτός από θρεπτικά συστατικά και ενέργεια, περαιτέρω οφέλη για την υγεία του ανθρώπου που το καταναλώνει (IOM/NAS, 1994).

Ο χαρακτηρισμός της πηκτίνης ως λειτουργικό συστατικό προκύπτει λόγω των διαφόρων δυνατοτήτων που παρουσιάζει, όπως αυτή της συμβολής της στην αντιμετώπιση διάφορων καρκινικών τύπων. Οι αντικαρκινικές ιδιότητες της πηκτίνης αποδίδονται σε μηχανισμούς που σχετίζονται με την αναστολή της ανάπτυξης όγκου, την καταστολή μετάστασης και την ρύθμιση ανοσολογικών αποκρίσεων (Fan et al., 2018, Khotimchenko, 2010, Lara-Espinoza et al., 2018, Leclere et al., 2013, Meng et al., 2020, Popov & Onodov, 2013). Οι αντικαρκινικοί μηχανισμοί μπορεί να συνδέονται, άμεσα ή έμμεσα, με τις αντιβακτηριακές, αντιφλεγμονώδεις και ανοσοδιεγερτικές ιδιότητες της πηκτίνης (Chen et al., 2006, Flint et al., 2008, Gharibzahedi et al., 2019a, Georgiev et al. 2012, Kim et al., 2017, Lee et al., 2016, Tan et al., 2018). Μελέτες έχουν δείξει, επίσης, πως η πηκτίνη μπορεί να έχει και γαστροπροστατευτικές, αντιπηκτικές και πρεβιοτικές ιδιότητες (Austarheim et al., 2014, Cipriani et al., 2009, Fan et al., 2012, Larsen et al., 2019, Maria-Ferreira et al., 2014, Naqash et al., 2017, Nascimento et al., 2013, Ndeh et al., 2017, Zhu et al., 2019).

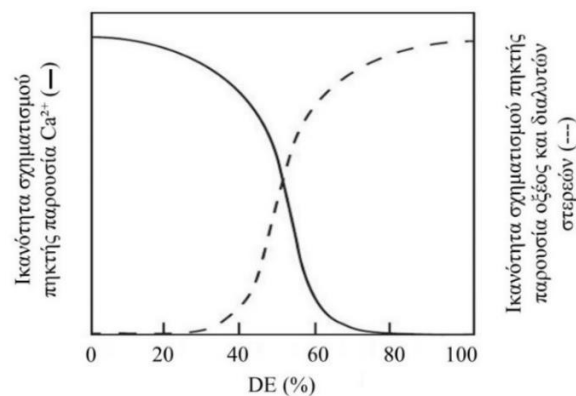
Ταυτόχρονα, η πηκτίνη αποτελεί διαιτητική ίνα, σύμφωνα με τους επιστημονικούς οργανισμούς ποιότητας και ασφάλειας τροφίμων EFSA (EFSA Panel on Dietetic Products, 2006) και FDA (U.S. Food and Drug Administration, 2018), με πολλαπλά οφέλη για τη γαστρεντερική οδό. Οι διαλυτές διαιτητικές ίνες, μέσω της ικανότητάς τους να συγκρατούν νερό και να προβάλλουν αντίσταση στα πεπτικά ένζυμα του λεπτού εντέρου, καθυστερούν την αποικοδόμηση της τροφής ρυθμίζοντας την απορρόφηση της γλυκόζης και των λιπιδίων (Haider & Wilde, 2020). Στο παχύ έντερο οι διαιτητικές ίνες αποικοδομούνται από την μικροχλωρίδα παράγοντας χρήσιμους μεταβολίτες, όπως τα λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου (π.χ. οξικό οξύ, προπιονικό οξύ, βουτυρικό οξύ), που κατά κύριο λόγο απορροφούνται από το εντερικό τοίχωμα, ενώ παράλληλα αποτελούν πηγή ενέργειας για τα βακτήρια (Slavin, 2013). Τα λιπαρά αυτά οξέα δημιουργούν ένα περιβάλλον χαμηλού pH, δυσμενές για τα παθογόνα μικρόβια, ενώ ενισχύουν το έντερο μέσα από τον σχηματισμό ισχυρού φράγματος απέναντι στην είσοδο επιβλαβών ουσιών. Επίσης, λειτουργούν ως σηματοδοτικά μόρια που βελτιώνουν διάφορες φυσιολογικές λειτουργίες, όπως η ευαισθησία στην ινσουλίνη, ο μεταβολισμός των

λιπιδίων και ο κορεσμός, συμβάλλοντας στον έλεγχο του σωματικού βάρους (Haider & Wilde, 2020).

Εκτός από τη βιομηχανία τροφίμων, η πηκτίνη έχει προσελκύσει το ενδιαφέρον κι άλλων βιομηχανιών, όπως αυτή των φαρμάκων (Günter & Poreyko, 2016, Ji et al., 2017) και των καλλυντικών (Luri et al., 2015) καθώς, μεταξύ άλλων, αποτελεί έναν πολλά υποσχόμενο φορέα ή υπόστρωμα ενθυλάκωσης για στοχευμένη παράδοση λειτουργικών συστατικών και μπορεί να επηρεάσει την απελευθέρωση και βιοδιαθεσιμότητα βιοενεργών συστατικών (Gence et al., 2018, Hollands et al., 2013, Krivorotova et al., 2017, Munarin et al., 2011, Sande, 2005, Tummalapalli et al., 2016).

#### 2.2.4. Πηκτές Πηκτινών

Η πιο γνωστή φυσικοχημική ιδιότητα της πηκτίνης είναι η ικανότητά της να σχηματίζει πηκτές. Ο μηχανισμός σχηματισμού πηκτών διαφέρει για τις HM και τις LM πηκτίνες. Οι HM πηκτίνες σχηματίζουν πηκτές σε όξινες συνθήκες, παρουσία σακχάρων (συνήθως σακχαρόζης) σε υψηλή συγκέντρωση, ενώ οι LM πηκτίνες σχηματίζουν πηκτές μόνο παρουσία κατιόντων, που στην περίπτωση των τροφίμων, είναι κατιόντα ασβεστίου (BeMiller, 2019, Flutto, 2003). Το **Σχήμα 2.13** παρουσιάζει μία απλουστευμένη απεικόνιση της σχέσης μεταξύ του βαθμού εστεροποίησης της πηκτίνης και των συνθηκών που απαιτούνται για τον σχηματισμό πηκτών.

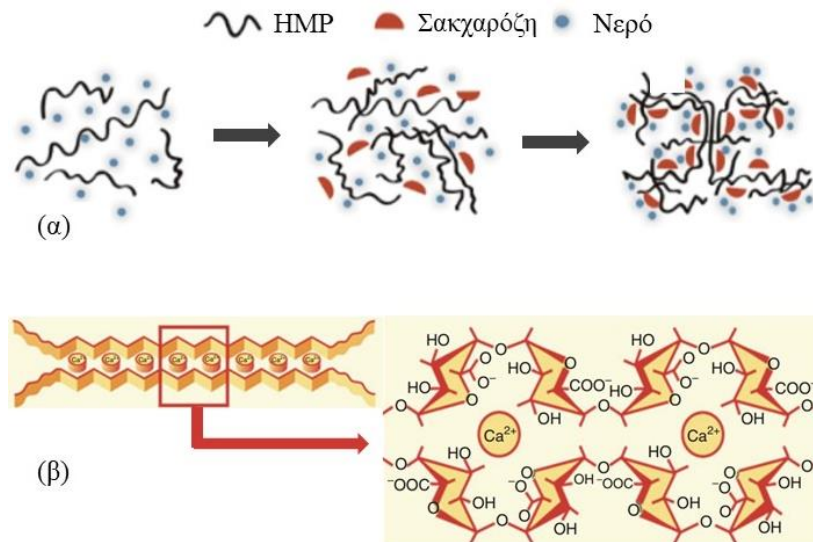


**Σχήμα 2.13.** Σχηματική απεικόνιση της σχέσης μεταξύ του βαθμού εστεροποίησης (DE, %) της πηκτίνης και της ικανότητας σχηματισμού πηκτής παρουσία ιόντων ασβεστίου ή οξέος και διαλυτών στερεών [προσαρμογή από BeMiller (2019)]

Σχετικά με την ΗΜ πηκτίνη, κατά κανόνα, όσο υψηλότερος ο DE, τόσο ταχύτερα σχηματίζεται το δίκτυο πηκτής. Η σακχαρόζη (συνήθως 55% – 65%), ως μία υδρόφιλη ουσία, ανταγωνίζεται με την πηκτίνη για το νερό του διαλύματος. Έτσι, ελαττώνει τη διαθέσιμη ποσότητα του νερού που θα χρησίμευε στα μόρια πηκτίνης για τον σχηματισμό δεσμών υδρογόνου κι έτσι, η διαλυτότητα της πηκτίνης μειώνεται. Το γεγονός αυτό ευνοεί περισσότερες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μορίων πηκτίνης, αντί για αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μορίων πηκτίνης – νερού, οδηγώντας σε περισσότερους διαμοριακούς δεσμούς και τελικά, στη δημιουργία ζωνών διασταύρωσης και τον σχηματισμό δικτύου [Σχήμα 2.14 (α)]. Οι ζώνες διασταύρωσης είναι ζωτικής σημασίας για τον σχηματισμό πηκτών καθώς αποτελούν την βάση για το τρισδιάστατο δίκτυο πηκτής που προκύπτει. Παράλληλα, καθώς το διάλυμα πηκτίνης γίνεται πιο όξινο (συνήθως pH 2,5 – 3,8), οι ιδιαίτερα υδρόφιλες καρβοξυλικές ομάδες ( $-COO^-$ ) μετατρέπονται σε μη ιονικές κι, έτσι, η ηλεκτροστατική άπωση μειώνεται και τμήματα πολυμερών πηκτίνης έρχονται πιο κοντά. Τελικά, προκύπτει ένα δίκτυο πολυμερικών αλυσίδων με ικανότητα παγίδευσης ποσοτήτων υδατικού διαλύματος. Ο μηχανισμός πηκτωματοποίησης φαίνεται να βασίζεται στους δεσμούς υδρογόνου μεταξύ των αδιάστατων καρβοξυλικών ομάδων και των δευτερογενών αλκοολικών ομάδων, και στις υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μεθυλεστερομάδων των τμημάτων αλυσίδας ομογαλακτουρονάνης. Η θερμοκρασία πηκτωματοποίησης ενός διαλύματος ΗΜ πηκτίνης κυμαίνεται από  $\sim 35^\circ C$  -  $90^\circ C$  και γενικά, οι πηκτές είναι θερμικά μη αντιστρεπτές (BeMiller, 2019, Brejnholt, 2010, Fishman & Cooke, 2009, Yapo & Gnakri, 2015, Zhang et al., 2020). Οι πηκτές με βάση την πηκτίνη υψηλής μεθυλίωσης, σπάνια παρουσιάζουν συναίρεση όσο παραμένουν αδιάσπαστες, καθώς η έντονη παρουσία διαλυτών στερεών αποτρέπει την συρρίκνωσή τους. Γενικά, η μείωση των διαλυτών στερεών αυξάνει την τάση για συναίρεση. Μετά τη μηχανική διάσπαση των πηκτών (π.χ. λόγω ανάδευσης), παρατηρείται συναίρεση, συνήθως μικρού βαθμού, η οποία μπορεί να γίνει πιο έντονη με το πέρασμα του χρόνου, καθώς η αρχική δομή δεν επανακτάται (Somogyi et al., 1996).

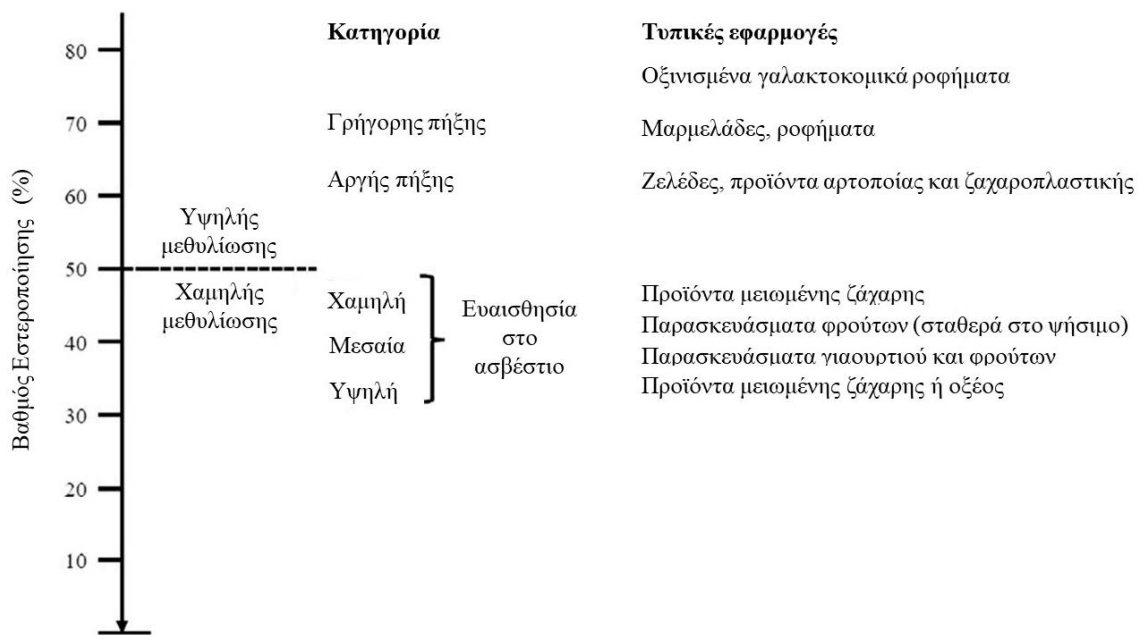
Ο βαθμός εστεροποίησης επηρεάζει τόσο την πυκνότητα του φορτίου του πολυσακχαρίτη όσο και τον αριθμό των θέσεων που είναι διαθέσιμες για υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις. Μόρια πηκτίνης υψηλού βαθμού εστεροποίησης είναι λιγότερο φορτισμένα και μπορούν να σχηματίζουν πηκτές σε υψηλότερες τιμές pH, κι επιπλέον, η πηκτωματοποίηση ξεκινάει σε υψηλότερες θερμοκρασίες. Οι ΗΜ πηκτίνες κατηγοριοποιούνται, γενικά, σε γρήγορης και αργής πηκτωματοποίησης (Σχήμα 2.15), ενώ συναντάται και πιο λεπτομερής κατηγοριοποίηση σε πολύ γρήγορης, γρήγορης, μεσαίας, αργής και πολύ αργής

πηκτωματοποίησης με τον βαθμό εστεροποίησης να κυμαίνεται από 74% – 77% έως και 58% – 60% για την πρώτη και τελευταία κατηγορία, αντίστοιχα (BeMiller, 2019, Brejnholt, 2010, Flutto, 2003, Yaro & Gnakri, 2015, Zhang et al., 2020).



**Σχήμα 2.14.** Σχηματική αναπαράσταση του μηχανισμού πηκτωματοποίησης των πηκτινών (α) υψηλής μεθυλίωσης [προσαρμογή από Li et al. (2019)] και (β) χαμηλής μεθυλίωσης [προσαρμογή Yaro & Gnakri (2015)]

Οι LM πηκτίνες μπορούν να σχηματίσουν πηκτές σε μεγαλύτερο εύρος pH και χαμηλότερη ή μηδενική συγκέντρωση σακχάρων, αλλά μόνο παρουσία ιόντων ασβεστίου (Belkheiri et al., 2021, Brejnholt, 2010). Τα ιόντα ασβεστίου θα λειτουργήσουν ως γέφυρες μεταξύ των ζευγών μη εστεροποιημένων καρβοξυλικών ομάδων (COO<sup>-</sup>) που βρίσκονται σε γειτονικές πολυμερικές αλυσίδες, οι οποίες, τελικά, σταθεροποιούνται κυρίως από ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις, αλλά και από δυνάμεις van der Waals και δεσμούς υδρογόνου. Ο μηχανισμός αυτός και είναι γνωστός ως «egg box μοντέλο» [Σχήμα 2.14 (β)] (Grant et al., 1973). Το μοντέλο βασίζεται στο γεγονός ότι κάθε αλυσίδα πηκτινής έχει διπλή συμμετρία σχηματίζοντας μια σειρά ηλεκτραρνητικών κενών στα οποία συνδέονται δισθενή κατιόντα (Thibault & Rinaudo, 1986).



**Σχήμα 2.15.** Εύρος εμπορικών, μη αμιδιωμένων, πηκτινών και τυπικές εφαρμογές [προσαρμογή από Endreß & Christensen (2009)]

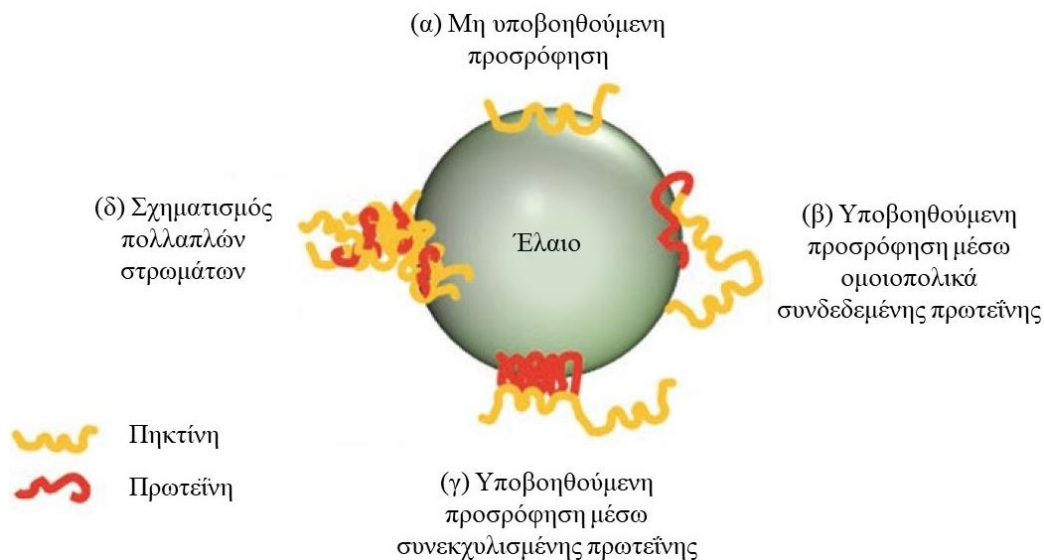
Ο βαθμός εστεροποίησης των LM πηκτινών επηρεάζει το τελικό προϊόν της πηκτωματοποίησης καθώς δεσμοί με ιόντα ασβεστίου μπορούν να δημιουργηθούν μόνο στις περιοχές χωρίς εστεροποίηση, με αποτέλεσμα, η μείωση του βαθμού εστεροποίησης να οδηγήσει σε αύξηση της ισχύος της πηκτής. Η ευαισθησία στο ασβέστιο, γενικά, αυξάνεται με την αύξηση του βαθμού εστεροποίησης (**Σχήμα 2.15**). Το χαμηλό pH (συνήθως 2,6) μπορεί να ευνοεί την πηκτωματοποίηση, αλλά πηκτές έχουν σχηματισθεί και σε υψηλότερες τιμές pH (έως 6,5). Η παρουσία σακχάρων δεν είναι απαραίτητη για τον σχηματισμό πηκτής. Στην περίπτωση προσθήκης, όμως, η προστιθέμενη ποσότητα αυτών καθορίζει την απαιτούμενη συγκέντρωση ιόντων  $Ca^{2+}$ . Το φαινόμενο της συναίρεσης στις LM πηκτίνες μετριάζεται σε ένα βαθμό, λόγω της ικανότητάς τους να επαναφέρουν τη δομή του δικτύου έπειτα από μηχανική διάσπαση, ειδικά όταν το περιεχόμενο σε ασβέστιο είναι σχετικά χαμηλό. Η θερμοκρασία πηκτωματοποίησης ενός διαλύματος LM πηκτίνης μπορεί να ποικίλει από  $\sim 40^{\circ}C$  -  $100^{\circ}C$  και οι πηκτές, γενικά, είναι θερμικά αντιστρεπτές, δηλαδή μπορούν να λιώνουν και να επανασχηματίζονται (BeMiller, 2019, Brejnholt, 2010, Somogyi et al., 1996, Yapo & Gnakri, 2015, Zhang et al., 2020). Οι αμιδιωμένες LM πηκτίνες σχηματίζουν πηκτές παρουσία ιόντων ασβεστίου, επίσης, αλλά σε αυτή τη διαδικασία απαιτούνται λιγότερα ιόντα συγκριτικά με την αντίστοιχη διαδικασία των συμβατικών LM πηκτινών. Η παρουσία αμιδομάδων, υπό συνθήκες όξινου pH, βελτιώνει την ικανότητα πηκτωματοποίησης των πηκτινών αυτών και την

σταθερότητα και ελαστικότητα των σχηματιζόμενων πηκτών, και μειώνει την τάση προς συναίρεση λόγω των επιπρόσθετων δεσμών υδρογόνου που δημιουργούνται (May, 1990, Yapo & Gnakri, 2015).

Συνολικά για τις πηκτίνες, οι παράγοντες που επηρεάζουν τον σχηματισμό των πηκτών τους αλλά και την τελική δομή του δικτύου τους είναι πολυάριθμοι. Εκτός από τον βαθμό εστεροποίησης, άλλοι σημαντικοί παράγοντες είναι η συγκέντρωση της πηκτίνης, το μοριακό βάρος, η ακετυλίωση, η παρουσία και κατανομή διακλαδώσεων στις πηκτινικές αλυσίδες, το pH, η ιονική ισχύς, η ενεργότητα του νερού, ο τύπος των προστιθέμενων σακχάρων και ο ρυθμός ψύξης. Η αύξηση της συγκέντρωσης της πηκτίνης έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση των ζωνών διασταύρωσης, γεγονός που οδηγεί σε ισχυρότερη πηκτή. Επίσης, η αύξηση της συγκέντρωσης συνδέεται με την ταχύτερη πηκτωματοποίηση του συστήματος. Το μοριακό βάρος επιδρά παρόμοια, καθώς αλυσίδες μεγαλύτερου μοριακού βάρους είναι ικανές να συμμετέχουν σε περισσότερες ζώνες διασταύρωσης αυξάνοντας, έτσι, την ισχύ της πηκτής. Η ακετυλίωση μειώνει κατακόρυφα την ικανότητα πηκτωματοποίησης της πηκτίνης καθώς το μέγεθος των ακετυλομάδων στέκεται εμπόδιο, μην επιτρέποντας στις πηκτινικές αλυσίδες να πλησιάσουν και να αλληλεπιδράσουν. Η ύπαρξη ουδέτερων σακχάρων με τη μορφή διακλαδώσεων μπορεί να έχει διπλή επιρροή. Από τη μία, τα ουδέτερα σάκχαρα που υπάρχουν στο μόριο της πηκτίνης μπορεί να οδηγήσουν σε στερική παρεμπόδιση των διαμοριακών αλληλεπιδράσεων, μειώνοντας την ικανότητα της πηκτίνης να σχηματίζει πηκτές. Από την άλλη, όμως, είναι πιθανό να συμμετέχουν στην πηκτωματοποίηση μέσω υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων συμβάλλοντας στην αύξηση της συνοχής του δικτύου πηκτής. Σχετικά με το pH, όσο χαμηλότερη η τιμή του τόσο ασθενέστερη είναι η άπωση μεταξύ των πηκτινικών μορίων, διευκολύνοντας, έτσι, την αλληλεπίδραση μεταξύ τους. Η βέλτιστη τιμή pH για τον σχηματισμό καλά οργανωμένης πηκτής καθορίζεται από τον βαθμό εστεροποίησης της πηκτίνης, αλλά και από τη συγκέντρωση των διαλυτών στερεών στο σύστημα. Τα προστιθέμενα σάκχαρα μειώνουν την ενεργότητα νερού ευνοώντας τον σχηματισμό υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων, με αποτέλεσμα την ανάπτυξη περισσότερων αλληλεπιδράσεων μεταξύ των αλυσίδων πηκτίνης παρά μεταξύ πηκτίνης και διαλύτη. Τέλος, η ψύξη μειώνει την κίνηση των μορίων επιτρέποντας στα βιοπολυμερή να αλληλεπιδράσουν σε κοντινότερες αποστάσεις. Επιπλέον, καθώς ο ρυθμός ψύξης αυξάνεται, ο ρυθμός πηκτωματοποίησης αυξάνεται, επίσης (BeMiller, 2019, Brejnholt, 2010, Flutto, 2003, Yapo & Gnakri, 2015, Zhang et al., 2020).

### 2.2.5. Γαλακτώματα παρουσία Πηκτινών

Η πηκτίνη θεωρείται κατά βάση σταθεροποιητικός παράγοντας γαλακτωμάτων, κυρίως λόγω της ικανότητάς της να αυξάνει το ιξώδες της συνεχούς φάσης (Dickinson, 2003). Η ικανότητα αυτή σχετίζεται, μεταξύ άλλων, με τις περιοχές ομογαλακτουρονάνης, καθώς πηκτίνες πλούσιες σε τέτοιες περιοχές παρουσιάζουν υψηλότερο ιξώδες σε σύγκριση με πηκτίνες πλούσιες σε περιοχές ραμνογαλακτουρονάνης I (Morris et al., 2000). Επίσης, η πηκτίνη μπορεί να επιδείξει και γαλακτωματοποιητική ικανότητα αφού μπορεί να συνδεθεί στη διεπιφάνεια ελαίου – νερού μέσω διάφορων μηχανισμών που δρουν ταυτόχρονα (**Σχήμα 2.16**) (Alba & Kontogiorgos, 2020).



**Σχήμα 2.16.** Απεικόνιση τεσσάρων μηχανισμών αγκίστρωσης της πηκτίνης στη διεπιφάνεια ελαίου – νερού [προσαρμογή από Alba & Kontogiorgos (2020)]

Αρχικά, η πηκτίνη μπορεί να αγκιστρωθεί στη διεπιφάνεια μόνο με τη βοήθεια των υδρόφοβων ομάδων που βρίσκονται κατά μήκος του σκελετού της (π.χ. μεθυλικές, ακετυλικές, φερουλικές). Ο μηχανισμός αυτός είναι ιδιαίτερα σημαντικός στις πηκτίνες υψηλής μεθυλίωσης ή υψηλής ακετυλίωσης. Σημαντικό ρόλο παίζουν και οι πλευρικές αλυσίδες, όπου συναντώνται συνήθως τα φερουλικά οξέα, καθώς προωθούν τη στερική σταθεροποίηση. Έτσι, πηκτίνες πλούσιες σε πλευρικές αλυσίδες (π.χ. περιοχές ραμνογαλακτουρονάνης I) θεωρούνται, γενικά, καλύτεροι γαλακτωματοποιητές. Παράλληλα, οι ομοιοπολικά συνδεδεμένες πρωτεΐνες που μπορεί να περιέχουν, βοηθούν καταλυτικά στην αγκίστρωση της

πηκτίνης. Πρωτεΐνες μπορεί να υπάρχουν, όμως, και λόγω συνεκχύλισης κατά τη διαδικασία απομόνωσης, και να μην συνδέονται με την πηκτίνη. Σε αυτήν την περίπτωση, οι πρωτεΐνες προσροφώνται στη διεπιφάνεια πρώτες, σχηματίζοντας στρώματα και οι πηκτίνες ακολουθούν, χωρίς τελικά, οι ίδιες να αλληλεπιδρούν με τη διεπιφάνεια. Ακόμη, είναι πιθανός ο σχηματισμός πολλαπλών στρωμάτων, και πυροδοτείται από τις ισχυρές ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των θετικά φορτισμένων πρωτεϊνών και των αρνητικά φορτισμένων καταλοίπων GalA των πηκτινών. Το πάχος των στρωμάτων δεν είναι πάντα ομοιόμορφο σε όλη τη διεπιφάνεια, γεγονός που επηρεάζει τον βαθμό και την αποτελεσματικότητα της σταθεροποίησης του γαλακτώματος, καθώς οι περιοχές με λεπτότερο διεπιφανειακό στρώμα είναι συνήθως περισσότερο ευάλωτες στην αποσταθεροποίηση. Η επικράτηση κάποιων μηχανισμών έναντι άλλων εξαρτάται από το μοριακό βάρος και τη σύνθεση της πηκτίνης, την ισχύ των αλληλεπιδράσεων μεταξύ πολυμερούς και συνεχούς φάσης, τις χημικές ιδιότητες της διεπιφάνειας (π.χ. τριγλυκερίδια ή τερπένια) και την υπάρχουσα ποσότητα πρωτεϊνών. Τελικά, παρατηρείται πως τα γαλακτώματα με πηκτίνη σταθεροποιούνται κατά βάση μέσω στερικών και ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων (Alba & Kontogiorgos, 2020).

Οι παράμετροι που μπορεί να επηρεάσουν την γαλακτωματοποιητική ικανότητα της πηκτίνης παρουσιάζονται στον **Πίνακα 2.1**. Οι μεθυλικές, ακετυλικές και φερουλικές ομάδες, ενισχύουν τη διεπιφανειακή δραστηριότητα της πηκτίνης οδηγώντας σε σταγονίδια μικρότερου μεγέθους κατά την γαλακτωματοποίηση. Επίσης, η παρουσία πρωτεϊνών ενισχύει την ικανότητα της πηκτίνης να σχηματίζει σταθερά γαλακτώματα. Γενικά, η συγκέντρωση, η χημική δομή (σύσταση και διαμόρφωση αμινοξέων) και η προσβασιμότητα των πρωτεϊνών αλλά και των υπόλοιπων επιφανειοδραστικών ουσιών (που πιθανώς να σχετίζεται με το μοριακό βάρος της πηκτίνης) είναι καθοριστικής σημασίας. Μόρια πηκτίνης με υψηλό μοριακό βάρος μπορεί να παρεμποδίσουν την πρόσβαση, ενώ μόρια πολύ μικρού μοριακού βάρους ίσως δεν καταφέρουν να παρέχουν στερική σταθεροποίηση λόγω του μικρού μήκους των αλυσίδων. Σημαντική επιρροή στις γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες ασκούν και οι πλευρικές αλυσίδες καθώς σχετίζονται τόσο με την αγκίστρωση στη διεπιφάνεια (μέσω πρωτεϊνών και φερουλικών οξέων) όσο και με τη μακροπρόθεσμη στερική σταθεροποίηση. Ακόμη, το pH και η ιονική ισχύς επηρεάζουν τα παραγόμενα με πηκτίνη γαλακτώματα μέσω επιρροής τόσο των μορίων πηκτίνης όσο και των μορίων πρωτεΐνης. Σε τιμές pH υψηλότερες του 3,5 (δηλαδή σε  $\text{pH} > \text{pK}_a$  του GalA), οι καρβοξυλικές ομάδες της πηκτίνης ιονίζονται με αποτέλεσμα, την επέκταση των βιοπολυμερικών αλυσίδων λόγω ηλεκτροστατικών απώσεων. Ο αριθμός των αρνητικών φορτίων καθορίζεται από τον βαθμό εστεροποίησης. Σε τιμές pH μικρότερες του 3,5, οι πηκτινικές αλυσίδες υιοθετούν πολύ συμπαγείς διαμορφώσεις λόγω



ασθενέστερου ιονισμού, με αποτέλεσμα τον σχηματισμό διεπιφανειακών στρωμάτων μεγαλύτερου πάχους και την αποδοτικότερη στερική σταθεροποίηση. Σχετικά με τις πρωτεΐνες, η διαλυτότητα, το επιφανειακό φορτίο και η επιφανειακή υδροφοβικότητα της πρωτεΐνης μεταβάλλονται με την αλλαγή του pH, με τις ασθενέστερες γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες να καταγράφονται κοντά στο pI της. Και τέλος, ανάλογα με τη συγκέντρωση των ιόντων, μπορεί να προκύψει μείωση της προσρόφησης στη διεπιφάνεια ελαίου – νερού και πρόωθηση της συσσωμάτωσης (Alba & Kontogiorgos, 2020).

**Πίνακας 2.1.** Παράμετροι που ασκούν επιρροή στην ικανότητα της πηκτίνης να σχηματίζει γαλακτώματα (προσαρμογή από Alba & Kontogiorgos, 2020)

Παράμετρος	Σχόλια	Επίδραση στην γαλακτωματοποιητική ικανότητα
Βαθμός εστεροποίησης (DE, %)	> ~ 70 ~ 40 < DE < ~ 70 < ~ 40	Γενικά ευνοϊκή Μη ευνοϊκή Γενικά ευνοϊκή
Βαθμός ακετυλίωσης (DA, %)	> ~ 10	Ευνοϊκή
Φερουλικοί εστέρες	Σε πηκτίνη ζαχαρότευτλου	Ευνοϊκή
Περιεχόμενη πρωτεΐνη (%)	> ~ 3	Ευνοϊκή
Μοριακό βάρος ( $\times 10^3$ g/mol)	> 200 100 - 200 < 100	Γενικά μη ευνοϊκή Γενικά ευνοϊκή Μη ευνοϊκή
Μήκος διακλαδώσεων στις RGI περιοχές ( $R_3 = (Ara + Gal) / Rha$ )	( $R_3 < 2$ ) <sup>a</sup> $2 < R_3 < 3$ $R_3 > 3$	Μη ευνοϊκή Ευνοϊκή Μη ευνοϊκή
pH	< ~ 3,5 > ~ 3,5	Ευνοϊκή Μη ευνοϊκή
Άλατα	Προσθήκη μονο- και δισθενών κατιόντων	Μη ευνοϊκή

Η λέξη «γενικά» στην τρίτη στήλη δείχνει πως δεν υπάρχει άμεση επίδραση αλλά είναι αναγκαίο να ληφθούν υπ' όψιν και άλλες παράμετροι. Οι υψηλότερες τιμές  $R_3$  στο μήκος διακλαδώσεων υποδεικνύουν μακρύτερες διακλαδώσεις.

## 2.3. Λοιπά Βιοπολυμερή Διατριβής

### 2.3.1. Καζεΐνες

Οι καζεΐνες είναι βασικές πρωτεΐνες του αγελαδινού γάλακτος, αντιπροσωπεύοντας το 70% – 80% της συνολικής πρωτεΐνης, και ευθύνονται για το λευκό χρώμα του γάλακτος (Hoffman & Falvo, 2004). Παραλαμβάνονται μέσω καθίζησης του γάλακτος σε pH 4,6, με το υπερκείμενο κλάσμα να περιέχει ένα ακόμη σημαντικό συστατικό, τις πρωτεΐνες ορού γάλακτος (βλ. § 2.3.2) (Kern et al., 2020). Οι καζεΐνες δεν έχουν καλά καθορισμένες τριτοταγείς δομές, και χαρακτηρίζονται γενικά από πιο εκτεταμένες και ευέλικτες διαμορφώσεις (Holt & Sawyer, 1993). Η ομάδα περιλαμβάνει, κυρίως, τέσσερις φωσφοπρωτεΐνες, τις  $\alpha_{s1}$ -,  $\alpha_{s2}$ -,  $\beta$ -, και  $\kappa$ - καζεΐνες, που υφίστανται στο αγελαδινό γάλα σε μοριακή αναλογία περίπου 4:1:4:1 (De Kruif & Holt, 2003, Goulding et al., 2020). Το μοριακό βάρος των κλασμάτων αυτών κυμαίνεται από 19 έως 25 kDa, και το ισοηλεκτρικό σημείο βρίσκεται μεταξύ του pH 4,1 και 5,3, ενώ χαρακτηρίζονται ως αμφίφιλα μόρια (Broyard & Gaucheron, 2015, Wong et al., 1996).

Η καζεΐνη αποτελείται κυρίως από πρωτεΐνη (94% επί ξηρού βάρους) αλλά και από συστατικά μικρού μοριακού βάρους (6% επί ξηρού βάρους) που συνολικά καλούνται κολλοειδές φωσφορικό ασβέστιο (colloidal calcium phosphate, CCP), και δεσμεύονται στα κατάλοιπα φωσφοσερίνης των καζεϊνικών πλευρικών αλυσίδων (Horne, 2006). Στο γάλα, οι τέσσερις φωσφοπρωτεΐνες συγκρατούνται μεταξύ τους ισχυρά μέσω υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων, αλλά και με τη γεφύρωση του CCP ανάμεσα στις φωσφορικές ομάδες διαφορετικών μορίων καζεΐνης, και τελικά, οργανώνονται σε περίπου σφαιρικά σωματίδια, μεγέθους κλίμακας κολλοειδούς, που αιωρούνται ως μία σχετικά σταθερή διασπορά, και ονομάζονται καζεϊνικά μικύλλια (Elzoghby et al., 2011, Goulding et al., 2020). Το καζεϊνικό νάτριο ή κάλιο παράγεται μέσω όξινης καθίζησης των μικυλλίων καζεΐνης, ακολουθούμενη από εξουδετέρωση με υδροξείδιο του νατρίου ή καλίου, αντίστοιχα, και ξήρανση (Wusigale et al., 2020).

Το καζεϊνικό νάτριο (sodium caseinate, SC), το οποίο είναι το πιο διαδεδομένο εμπορικά, αποτελεί μίγμα των τεσσάρων κλασμάτων κι έχει παρόμοια σύνθεση με τα μικύλλια καζεΐνης, διαφέροντας στην ποσότητα του CCP αφού απομακρύνεται σε μεγάλο βαθμό κατά τη διαδικασία παραγωγής του, με αποτέλεσμα να έχει μικρότερο μοριακό βάρος και υψηλότερη υδατοδιαλυτότητα (Walstra et al., 2005). Το υδατικό εναιώρημα SC περιέχει

σωματίδια με μοριακό βάρος μεταξύ 1200 και 4700 kDa και διάμετρο μεταξύ 50 και 120 nm (Lucey et al., 2000).

### 2.3.2. Πρωτεΐνες Ορού Γάλακτος

Οι πρωτεΐνες του ορού γάλακτος αντιπροσωπεύουν περίπου το 20% των συνολικών πρωτεϊνών του αγελαδινού γάλακτος. Ο ορός του γάλακτος (0,6% πρωτεΐνη) προκύπτει κυρίως ως παραπροϊόν της παραγωγικής διαδικασίας τυροκομικών προϊόντων, και μετά την παραλαβή, καθαρίζεται και ξηραίνεται οδηγώντας στο τελικό προϊόν πρωτεΐνης υπό τη μορφή σκόνης (whey powder: 11% – 15% πρωτεΐνη, whey protein concentrate: 25% – 80% πρωτεΐνη, whey protein isolate:  $\geq$  90% πρωτεΐνη). Η βασικότερη πρωτεΐνη του ορού αγελαδινού γάλακτος είναι η  $\beta$  – λακτοσφαιρίνη (~ 50% των ολικών πρωτεϊνών), και ως εκ τούτου ασκεί τη σημαντικότερη επιρροή στα προϊόντα με πρωτεΐνες ορού. Χαρακτηρίζεται από συμπαγή σφαιρική δομή, το μοριακό βάρος της είναι περίπου 18 kDa, και το ισοηλεκτρικό σημείο της σημείο βρίσκεται περίπου στην τιμή pH 5,2. Η δεύτερη πιο άφθονη πρωτεΐνη είναι η  $\alpha$  – λακταλβουμίνη (~ 20% των ολικών πρωτεϊνών), με πολύ οργανωμένη δομή, επίσης σφαιρική, η οποία περιέχει και δύο μόρια  $\text{Ca}^{2+}$  ανά μόριο. Το μοριακό της βάρος έχει υπολογιστεί στα 14 kDa, και το ισοηλεκτρικό της σημείο κυμαίνεται μεταξύ των τιμών pH 4,2 και 4,5. Σε χαμηλότερη συγκέντρωση συναντάται η αλβουμίνη (~ 8% των ολικών πρωτεϊνών) με μοριακό βάρος 66 kDa, και ισοηλεκτρικό σημείο μεταξύ pH 4,7 και 4,9. Την ομάδα των πρωτεϊνών ορού γάλακτος συμπληρώνουν και δέκα ακόμη πρωτεΐνες (π.χ. ανοσοσφαιρίνες, λακτοσφαιρίνη, κ.ά.) (Deeth & Bansal, 2019, Foegeding et al., 2011, Goulding et al., 2020).

### 2.3.3. Πρωτεΐνες Αρακά

Ο αρακάς (*Pisum sativum* L.) ανήκει στα όσπρια με παγκόσμια κατανάλωση χάρη στην υψηλή θρεπτική του αξία (Lu et al., 2019) και την αντιοξειδωτική του δράση (Dahl et al., 2012). Ο αρακάς περιέχει 20 – 30% πρωτεΐνη, εκ της οποίας το 65 – 80% αντιστοιχεί σε γλοβουλίνες, οι οποίες είναι διαλυτές σε άλατα και έχουν αποθηκευτικό ρόλο, και το 10 – 20% σε αλβουμίνες, οι οποίες είναι υδατοδιαλυτές, με ρόλο μεταβολικό κι ενζυμικό (Karaca et al., 2011, McCarthy et al., 2016). Στις γλοβουλίνες κυριαρχούν δύο πρωτεΐνες, η λεγκουμίνη, μία εξαμερική 11S πρωτεΐνη με δισουλφιδικές γέφυρες, μοριακό βάρος 320 – 400 kDa και

ισοηλεκτρικό σημείο σε pH 5 - 6, και η βισιλίνη, μία τριμερική 7S πρωτεΐνη με μοριακό βάρος 150 - 200 kDa και ισοηλεκτρικό σημείο σε pH 4 - 6 (Ducel et al., 2004, Stone et al., 2015). Το S προέρχεται από τη λέξη Svedberg, αποτελεί τη μονάδα μέτρησης της ταχύτητας καθίζησης ενός μακρομορίου με υπερφυγοκέντριση, και όσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός Svedberg, τόσο μεγαλύτερο είναι το μοριακό βάρος του μακρομορίου. Η αναλογία γλοβουλίνης/αλβουμίνης ή/και λεγκουμίνης/βισιλίνης ποικίλει ανάλογα με το είδος και τη μέθοδο παραγωγής (Karaca et al., 2011), γεγονός που οδηγεί σε διαφορές της λειτουργικότητας του τελικού προϊόντος. Για παράδειγμα, μία υψηλότερη περιεκτικότητα σε σφαιρίνες μπορεί να συσχετιστεί με καλύτερες ιδιότητες γαλακτωματοποίησης (Makri et al., 2005). Το τελικό προϊόν καλείται απομονωμένη ή συμπυκνωμένη πρωτεΐνη αρακά (pea protein isolate και pea protein concentrate, αντίστοιχα), με την πρώτη να χαρακτηρίζεται από μεγαλύτερη πρωτεϊνική περιεκτικότητα (>90%) σε σχέση με τη δεύτερη. Εκτός από πρωτεΐνες, το τελικό προϊόν μπορεί να περιέχει υδατάνθρακες (3 – 10%), λιπίδια (0,5 – 3,5%) και μόρια νερού (4 – 9%) (Karaca et al., 2011 McCarthy et al., 2016 Stone et al., 2015).

Οι πρωτεΐνες του αρακά έχουν παρόμοιες λειτουργικές ιδιότητες με τις πρωτεΐνες σόγιας (π.χ. ικανότητα γαλακτωματοποίησης), χωρίς όμως να προκαλούν αλλεργίες (Aluko et al., 2009), σε αντίθεση με τις κοινές φυτικές πρωτεΐνες (π.χ. σόγιας, σιταριού) και τις πρωτεΐνες γάλακτος (π.χ. καζεΐνη, πρωτεΐνη ορού γάλακτος) (Stone, Avarmenko et al., 2015). Χάρη στη χαμηλή αλλεργιογένεση, αλλά και στην υψηλή διατροφική αξία, το χαμηλό κόστος παραγωγής και την υψηλή περιβαλλοντική βιωσιμότητα (Boukid et al., 2021), οι πρωτεΐνες αρακά λαμβάνουν αυξανόμενο ενδιαφέρον τόσο από τους καταναλωτές που επιδιώκουν την αντικατάσταση όλο και περισσότερων ζωικών προϊόντων στη διατροφή τους με φυτικά (π.χ. για λόγους ηθικής ή/και υγείας, περιβαλλοντικής ευαισθησίας), όσο και από τη βιομηχανία τροφίμων που επιθυμεί να ακολουθήσει την τάση αυτή αναζητώντας νέα συστατικά φυτικής προέλευσης για την ανάπτυξη νέων προϊόντων (McClements & Grossman, 2021). Η αξιοποίηση των πρωτεϊνών αρακά, όμως, σε ευρεία κλίμακα, ως συστατικό τροφίμων είναι ακόμη περιορισμένη, κυρίως λόγω της ανεπαρκούς κατανόησης της μοριακής βάσης της συμπεριφοράς των πρωτεϊνών αυτών σε ένα τρόφιμο (Burger & Zhang, 2019, Jiang et al., 2017).

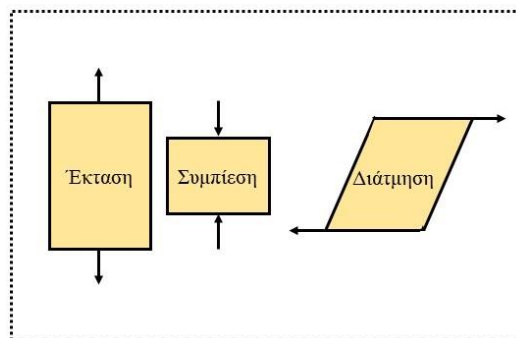
## 2.4. Κατηγορίες και Ιδιότητες Υλικών

Η κατάσταση της ύλης ενός σώματος περιγράφει την ευκολία μεταβολής του σχήματος και του μεγέθους του. Έτσι, ανάλογα με την θερμοκρασία και την πίεση του περιβάλλοντος, τα υλικά μπορούν να βρεθούν σε τρεις καταστάσεις ύλης, την στερεά, την υγρή και την αέρια. Τα υγρά και τα αέρια υλικά ονομάζονται γενικά και ρευστά, και διαφέρουν από τα στερεά ως προς την απόκρισή τους στην εφαρμογή εξωτερικής δύναμης. Τα ρευστά δεν μπορούν να αντισταθούν στη δύναμη παραμόρφωσης που δέχονται, με αποτέλεσμα να ρέουν αλλάζοντας το σχήμα τους συνεχώς καθ' όλη τη διάρκεια άσκησης της δύναμης αυτής, ενώ, τα στερεά υλικά επιδεικνύουν μικρή παραμόρφωση που δεν αλλάζει στον χρόνο (Bi, 2018).

Τα μόρια σε ένα στερεό συγκρατούνται μεταξύ τους με ισχυρές δυνάμεις που αποτρέπουν την κίνηση τους σε άλλες θέσεις. Η άσκηση εξωτερικής δύναμης αναγκάζει τα μόρια να εκτοπιστούν από τις θέσεις ισορροπίας τους, με αποτέλεσμα να αποθηκεύουν την ενέργεια των δεσμών τους ως δυναμική ενέργεια. Μετά την απομάκρυνση της δύναμης, τα μόρια χαλαρώνουν κι επανέρχονται στην ελάχιστη ενεργειακή τους διαμόρφωση. Η συμπεριφορά αυτή χαρακτηρίζεται ως ελαστική. Αντίθετα, στα ρευστά δεν υπάρχει η ανάγκη επέκτασης των δεσμών, καθώς οι διαμοριακές δυνάμεις είναι λιγότερο ισχυρές επιτρέποντας στα μόρια να αλλάζουν θέσεις. Έτσι, τα μόρια επαναπροσανατολίζονται προς την κατεύθυνση της εφαρμοζόμενης δύναμης, χωρίς, όμως, τη δυνατότητα επαναφοράς στην αρχική τους κατάσταση. Η συμπεριφορά αυτή είναι γνωστή ως ιξώδης. Ποιοτικά, οι δύο συμπεριφορές διαφέρουν ως προς τη διαχείριση της ενέργειας που δέχονται, καθώς στην πρώτη περίπτωση, η ενέργεια απορροφάται και είναι ανακτήσιμη, ενώ στη δεύτερη, διαχέεται. Τα ιδανικά στερεά υπακούουν στον νόμο του Hooke και παρουσιάζουν απόλυτα ελαστική συμπεριφορά, δηλαδή επιστρέφουν πλήρως στην αρχική τους κατάσταση κατόπιν απομάκρυνσης της δύναμης παραμόρφωσης. Τα ιδανικά ρευστά ακολουθούν τον νόμο του Νεύτωνα και επιδεικνύουν καθαρά ιξώδη συμπεριφορά, δηλαδή διατηρούν την παραμόρφωση ακόμη και μετά την απομάκρυνση της δύναμης παραμόρφωσης. Ιξωδοελαστικά καλούνται τα υλικά που παρουσιάζουν και ελαστική και ιξώδη συμπεριφορά (Chhabra & Richardson, 1999, Peker et al., 2008).

### 2.4.1. Ρεολογική Συμπεριφορά

Οι ρεολογικές ιδιότητες του υλικού καθορίζονται μέσα από τη μελέτη της παραμόρφωσής του ( $\gamma$ ) κατά την εφαρμογή τάσης ( $\sigma$ ), δηλαδή κατά την εφαρμογή δύναμης σε συγκεκριμένη επιφάνεια. Η δύναμη αυτή μπορεί να είναι κάθετη προκαλώντας έκταση ή συμπίεση του υλικού, ή παράλληλη οδηγώντας σε διάτμηση του υλικού (**Σχήμα 2.17**) (Chhabra & Richardson, 1999, Kubo et al., 2019).

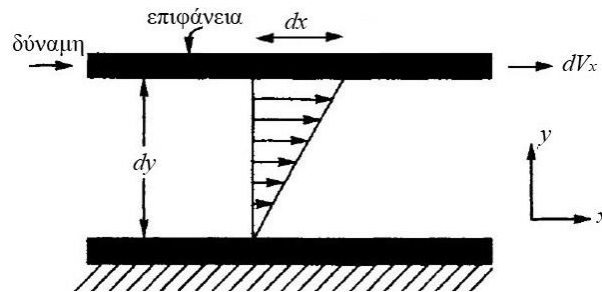


**Σχήμα 2.17.** Τύποι παραμορφώσεων στερεών ως αποτέλεσμα εφαρμογής κάθετης ή οριζόντιας δύναμης [προσαρμογή από Kubo et al. (2019)]

Η ρεολογική συμπεριφορά των ρευστών αξιολογείται συνήθως με την εφαρμογή διατμητικής τάσης, και αποτελεί συνάρτηση των δεσμών μεταξύ των περιεχόμενων συστατικών του, η διατάραξη ή η διάσπαση των οποίων (π.χ. λόγω ανάμιξης) μπορεί να φέρει αλλαγές στις ιδιότητες ροής του συστήματος αυτού. Το **Σχήμα 2.18** απεικονίζει την απλή ροή ενός λεπτού στρώματος ρευστού μεταξύ δύο παράλληλων πλακών που απέχουν μεταξύ τους κατά  $dy$ . Υπό σταθερές συνθήκες, η κάτω πλευρά παραμένει ακίνητη και η πάνω κινείται με σταθερή ταχύτητα  $V$  λόγω της εφαρμογής δύναμης επάνω στην επιφάνεια, με αποτέλεσμα την δημιουργία βαθμίδας ταχύτητας, γνωστή και ως ρυθμός διάτμησης ( $\dot{\gamma}$ ) και την επιμήκη μετατόπιση κατά  $dx$ . Ο ρυθμός διάτμησης αντιπροσωπεύει την παραμόρφωση ανά μονάδα χρόνου (Chhabra & Richardson, 1999, Kubo et al., 2019).

Το ρευστό υπόκειται σε διάτμηση και η ασκούμενη σε αυτό δύναμη εξισορροπείται από μία αντίθετη δύναμη εσωτερικής τριβής σε ροή μονής κατεύθυνσης. Η διατμητική τάση ( $\sigma$ ) ορίζεται ως ο λόγος της δύναμης που ασκείται στο υλικό προς τη μονάδα επιφάνειας, η παραμόρφωση ( $\gamma$ ) ισούται με τον λόγο της μεταβολής  $dx$  προς την απόσταση  $dy$ , και ο ρυθμός διάτμησης ( $\dot{\gamma}$ ) προκύπτει από τον λόγο της μεταβολής  $dV$  προς την απόσταση  $dy$ . Το μέτρο

αντίστασης του ρευστού στην κίνηση καλείται ιξώδες ( $\eta$ ), που συχνά αναφέρεται και ως δυναμικό ιξώδες, και περιγράφει την εσωτερική τριβή των μορίων του κινούμενου ρευστού όταν η μία πλάκα εξαναγκάζεται να κινηθεί σε σχέση με την άλλη (Chhabra & Richardson, 1999).

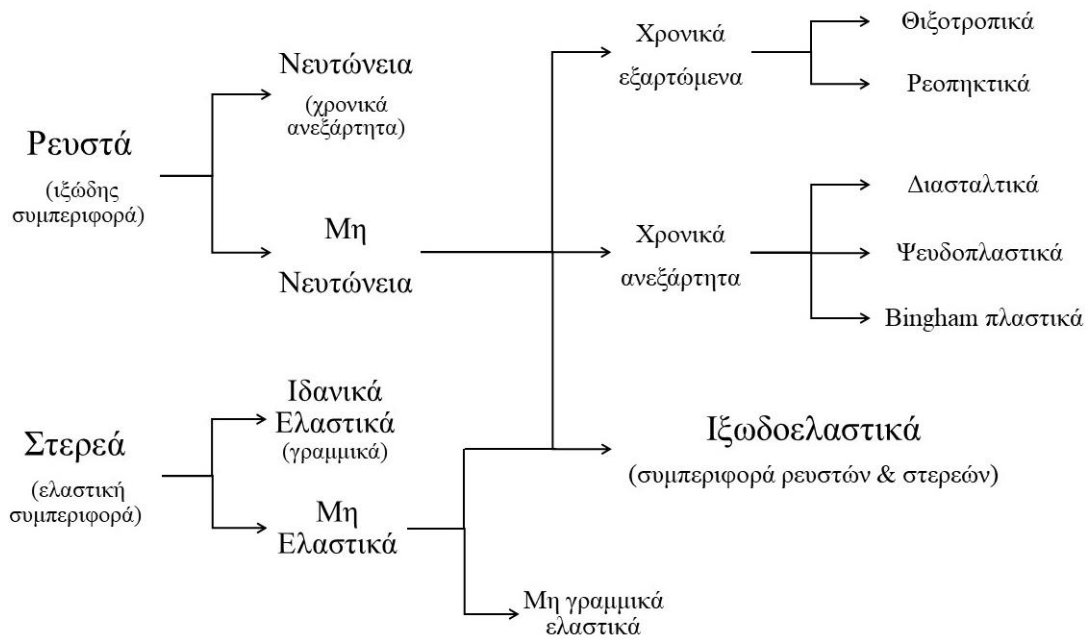


**Σχήμα 2.18.** Παραμόρφωση ρευστού που ανάμεσα σε δύο πλάκες λόγω εφαρμογής τάσης διάτμησης [προσαρμογή από Chhabra & Richardson (1999)]

Βάσει της μεταβολής του ιξώδους ως συνάρτηση του ρυθμού διάτμησης και της τάσης διάτμησης, τα ρευστά κατηγοριοποιούνται σε Νευτώνεια, δηλαδή εκείνα που υπακούουν στον νόμο του Νεύτωνα [**Εξίσωση (2.2)**] και σε μη Νευτώνεια (Chhabra & Richardson, 1999, Kubo et al., 2019).

$$\sigma = \eta \cdot \dot{\gamma} \quad (2.2)$$

Για ένα Νευτώνειο ρευστό, υπό συνθήκες σταθερής θερμοκρασίας και πίεσης, το ιξώδες παραμένει σταθερό και ανεξάρτητο του ρυθμού και της τάσης διάτμησης. Σε αυτή την περίπτωση, το ιξώδες αποτελεί ιδιότητα του υλικού κι εξαρτάται μόνο από το ίδιο, την θερμοκρασία και την πίεσή του. Συνεπώς, η σχέση μεταξύ της εφαρμοζόμενης τάσης και του ρυθμού διάτμησης, ή αλλιώς η καμπύλη ροής, είναι γραμμική. Αντίθετα, για ένα μη Νευτώνειο ρευστό, η σχέση αυτή δεν είναι γραμμική, λόγω της ύπαρξης εσωτερικής δομής η οποία αντιστέκεται στην παραμόρφωση. Σε αυτή την περίπτωση, το ιξώδες δεν κατέχει μία σταθερή τιμή αλλά μεταβάλλεται συναρτήσει των παραμέτρων της διάτμησης (π.χ. τάση, ρυθμός). Έτσι, το ιξώδες εκφράζεται πιο σωστά ως «φαινόμενο ιξώδες». Τα μη Νευτώνεια ρευστά μπορούν να υποδιαιρεθούν, με κριτήριο την χρονική εξάρτηση που παρουσιάζουν, σε δύο γενικές κατηγορίες, τα χρονικά εξαρτώμενα και τα χρονικά ανεξάρτητα, και τις αντίστοιχες υποκατηγορίες τους, όπως φαίνεται στο **Σχήμα 2.19** (Chhabra & Richardson, 1999, Kubo et al., 2019, Sochi, 2010, Steffe, 1996).



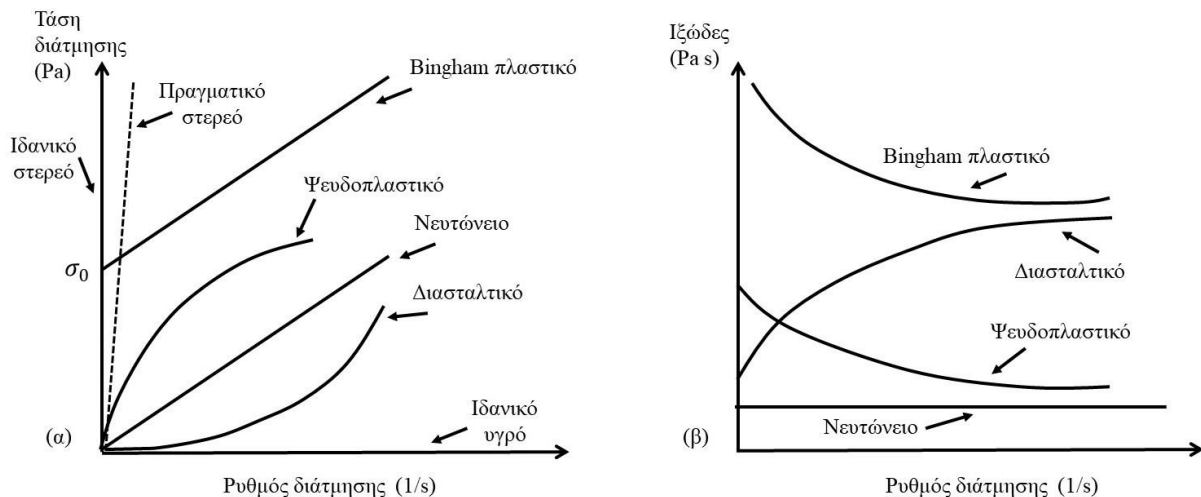
**Σχήμα 2.19.** Κατηγοριοποίηση ρεολογικής συμπεριφοράς [προσαρμογή από Steffe (1996)]

Χρονικά εξαρτώμενα, μη Νευτώνεια ρευστά είναι εκείνα που παρουσιάζουν δομικές αλλαγές με το πέρασμα του χρόνου, κατά τη διάρκεια ροής τους. Για παράδειγμα, κάποια σωματίδια του ρευστού μπορεί να ενωθούν ή να διασπαστούν σχηματίζοντας μεγαλύτερα ή μικρότερα σωματίδια, αντίστοιχα, μεταβάλλοντας, έτσι, τη ρεολογική συμπεριφορά του ρευστού, ενώ αυτό ρέει. Για τα ρευστά αυτά, ο ρυθμός διάτμησης αποτελεί συνάρτηση τόσο του μεγέθους όσο και της διάρκειας της τάσης διάτμησης, και πιθανώς και του χρονικού διαστήματος μεταξύ διαδοχικών εφαρμογών τάσης. Διακρίνονται δύο βασικοί τύποι χρονικά εξαρτώμενων ρευστών, τα θιξοτροπικά, το ιξώδες των οποίων μειώνεται κατά τη διάρκεια διάτμησης ως αποτέλεσμα της ρήξης ή της αποσύνθεσης των αιωρούμενων σωματιδίων και των μορίων του συστήματος, και τα ρεοπηκτικά, που συμπεριφέρονται αντίστροφα, εξαιτίας της δομικής αναδιοργάνωσης κατά τη διάρκεια της ροής. Και στις δύο αυτές περιπτώσεις, το ιξώδες επανέρχεται στην αρχική του τιμή μετά το πέρας εφαρμογής της τάσης διάτμησης (Chhabra & Richardson 1999, Hallström et al., 1998, Kubo et al., 2019, Sochi, 2010).

Τα χρονικά ανεξάρτητα μη Νευτώνεια ρευστά είναι εκείνα για τα οποία ο ρυθμός διάτμησης σε δεδομένο σημείο καθορίζεται μόνο από την τιμή της τάσης διάτμησης στο σημείο αυτό, τη δεδομένη χρονική στιγμή. Έτσι, το ιξώδες, υπό συνθήκες σταθερής θερμοκρασίας και πίεσης, εξαρτάται μόνο από το μέγεθος του ρυθμού διάτμησης [Σχήμα 2.20 (α)]. Εάν το ιξώδες ξεκινήσει να αυξάνεται με την αύξηση του ρυθμού διάτμησης (shear thickening), τότε πρόκειται για διασταλτικό ρευστό, η συμπεριφορά του οποίου οφείλεται στην



σύγκρουση των αιωρούμενων σωματιδίων κατά τη διάρκεια διάτμησης του ρευστού, με αποτέλεσμα την αύξηση της αντίστασης στη ροή, άρα και του ιξώδους. Αντίθετα, εάν το ιξώδες αρχίσει να μειώνεται με την αύξηση του ρυθμού διάτμησης (shear thinning), τότε το ρευστό καλείται ψευδοπλαστικό [Σχήμα 2.20 (β)]. Η συμπεριφορά αυτή παρατηρείται λόγω της ευθυγράμμισης των αιωρούμενων σωματιδίων κατά τη διάτμηση του ρευστού (Chhabra & Richardson, 1999, Kubo et al., 2019, Sochi, 2010).



**Σχήμα 2.20.** Ποιοτική απόκριση (α) της διατμητικής τάσης συναρτήσει του ρυθμού διάτμησης για Νευτώνεια υλικά, ψευδοπλαστικά, διασταλτικά και ιδανικά Bingham πλαστικά με τάσης υποχώρησης ( $\sigma_0$ ), καθώς και για ιδανικά υγρά και ιδανικά στερεά και (β) του ιξώδους συναρτήσει του ρυθμού διάτμησης για τις βασικές κατηγορίες ρευστών [προσαρμογή από Sahin & Sumnu (2006)]

Οι δύο αυτές κατηγορίες ρευστών μπορούν να περιγραφούν από την **Εξίσωση (2.3)**, γνωστή και ως μοντέλο Ostwald–de Waele ή μοντέλο εκθετικού νόμου. Στην εξίσωση αυτή, το  $K$  αντιπροσωπεύει τον δείκτη συνεκτικότητας και το  $n$ , τον δείκτη ρεολογικής συμπεριφοράς, ο οποίος δείχνει σε ποιο βαθμό το ρευστό είναι μη Νευτώνειο. Έτσι, για τα Νευτώνεια ρευστά το  $n$  ισούται με 1, για τα διασταλτικά ισχύει  $n > 1$ , και για τα ψευδοπλαστικά ισχύει  $n < 1$ .

$$\sigma = K \cdot \dot{\gamma}^n \quad (2.3)$$

Πειραματικά, υπάρχουν διάφορα είδη συντελεστών ιξώδους. Ένα από αυτά είναι το κινηματικό ιξώδες ( $\nu$ ), που ισούται με τον λόγο του δυναμικού ιξώδους προς την πυκνότητα ( $\rho$ ) [Εξίσωση (2.4)]. Το δυναμικό ιξώδες και το κινηματικό ιξώδες περιγράφουν την

αντίσταση του ρευστού στη ροή, το πρώτο υπό συνθήκες διατμητικής τάσης, ενώ το δεύτερο υπό την έλξη της βαρύτητας. Ο προσδιορισμός του κινηματικού ιξώδους γίνεται με την χρήση ενός τριχοειδούς ιξωδόμετρου, όπου το υγρό ρέει λόγω βαρύτητας, και ο χρόνος ροής ( $t$ ) από το αρχικό στο τελικό σημείο καταγράφεται και συμπληρώνεται στην **Εξίσωση (2.5)**. Η σταθερά  $K$  ορίζεται από το ιξωδόμετρο που χρησιμοποιείται στην εκάστοτε περίπτωση. Για τα διαλύματα χρησιμοποιούνται και το σχετικό και το ειδικό ιξώδες. Το σχετικό ιξώδες ( $\eta_{rel}$ ) ισούται με τον λόγο του απόλυτου ιξώδους του διαλύματος ( $\eta_{\text{διαλύματος}}$ ) προς εκείνο του διαλύτη ( $\eta_{\text{διαλύτη}}$ ) [**Εξίσωση (2.6)**]. Το ειδικό ιξώδες ( $\eta_{sp}$ ) προκύπτει από το σχετικό ιξώδες, όπως φαίνεται στην **Εξίσωση (2.7)**, και αποτελεί την κλασματική ενίσχυση του ιξώδους λόγω του διαλύτη (Chhabra & Richardson, 1999, Kubo et al., 2019).

$$\text{Δυναμικό ιξώδες:} \quad \eta = v \times \rho \quad (2.4)$$

$$\text{Κινηματικό ιξώδες:} \quad v = t \times K \quad (2.5)$$

$$\text{Σχετικό ιξώδες:} \quad \eta_{rel} = \frac{\eta_{\text{διαλύματος}}}{\eta_{\text{διαλύτη}}} \quad (2.6)$$

$$\text{Ειδικό ιξώδες:} \quad \eta_{sp} = \eta_{rel} - 1 \quad (2.7)$$

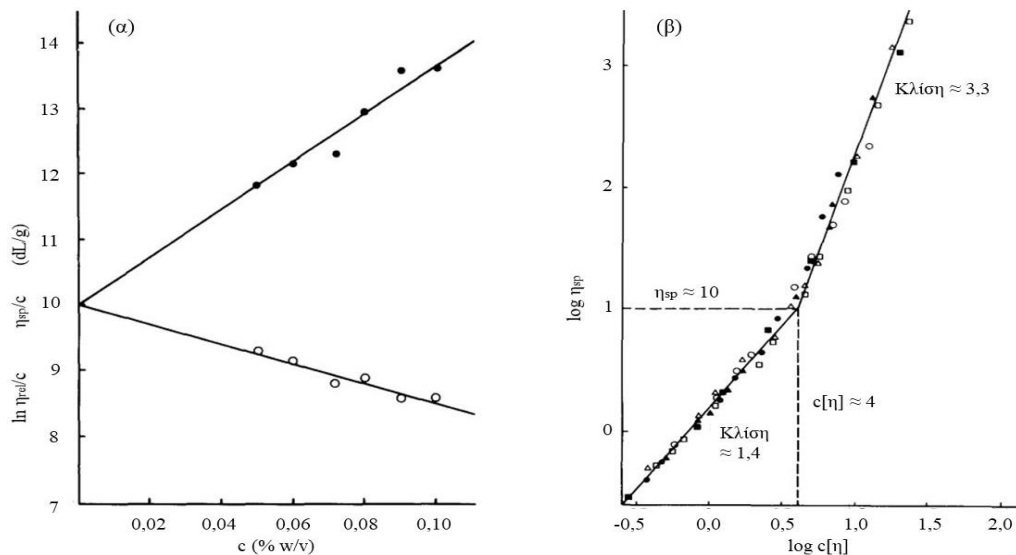
Το εσωτερικό ιξώδες ( $[\eta]$ ), που απαντάται και στα βιοπολυμερή, αντανακλά τον όγκο που καταλαμβάνει κάθε μόριο μόνο του, και αποτελεί μέτρο της ικανότητας ενός πολυμερούς να αυξήσει το ιξώδες του διαλύτη (Morris et al., 1981). Αποτελεί μία από τις πιο συχνά χρησιμοποιούμενες ιδιότητες χαρακτηρισμού ενός πολυμερούς, καθώς στην περίπτωση γραμμικών πολυμερών, το εσωτερικό ιξώδες σχετίζεται με το μοριακό βάρος ή τον βαθμό πολυμερισμού (Lyulin et al., 2000). Οι δύο βασικοί παράγοντες που επηρεάζουν το μέγεθος του εσωτερικού ιξώδους είναι το μήκος και η ακαμψία των αλυσίδων. Στην περίπτωση των πολυσακχαριτών, οι αλυσίδες χαρακτηρίζονται συνήθως από μικρότερο μοριακό βάρος και μεγαλύτερη ακαμψία σε σχέση με τις αλυσίδες συνθετικών πολυμερών. Έτσι, υιοθετούν πιο εκτεταμένες δομές στον χώρο, έχοντας μεγαλύτερες τιμές εσωτερικού ιξώδους, αντίστοιχα. Κατ' επέκταση, χαμηλές συγκεντρώσεις πολυσακχαριτών μπορούν να οδηγήσουν σε διαλύματα υψηλού ιξώδους (Morris et al., 1981). Το εσωτερικό ιξώδες ορίζεται από την **Εξίσωση (2.8)** και είναι είναι το όριο του  $\frac{\eta_{sp}}{c}$  όταν η αραιώση του διαλύματος του μακρομορίου τείνει στο άπειρο (δηλαδή η συγκέντρωσή του τείνει στο μηδέν), οπότε και δεν

υπάρχουν αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μακρομορίων. Πειραματικά προσδιορίζεται από μετρήσεις του ιξώδους διαλυμάτων σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις και υπολογίζεται γραφικά ως το σημείο τομής των εξισώσεων Huggins [Εξίσωση (2.9)] και Kraemer [Εξίσωση (2.10)], όπως φαίνεται και στο **Σχήμα 2.21**, όπου  $c$  η συγκέντρωση,  $k'$  η σταθερά Huggins και  $k''$  η σταθερά Kraemer, που συνδέονται με τη σχέση  $k' - k'' = 0,5$  (Morris et al., 1981).

$$\text{Εσωτερικό ιξώδες: } [\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \left( \frac{\eta_{sp}}{c} \right) \quad (2.8)$$

$$\text{Εξίσωση Huggins: } \frac{\eta_{sp}}{c} = [\eta] + k' [\eta]^2 \cdot c \quad (2.9)$$

$$\text{Εξίσωση Kraemer: } \frac{\ln(\eta_{rel})}{c} = [\eta] + k'' [\eta]^2 \cdot c \quad (2.10)$$



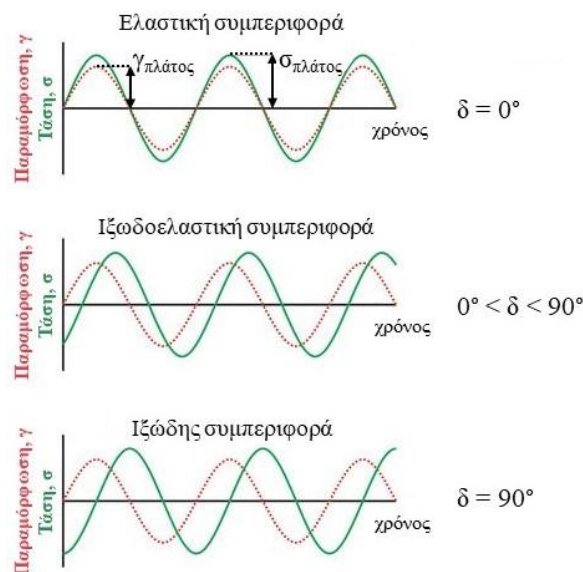
**Σχήμα 2.21.** (α) Συνδυασμός των εξισώσεων Huggins και Kraemer για τον υπολογισμό του εσωτερικού ιξώδους, και (β) διακύμανση του ειδικού ιξώδους ( $\eta_{sp}$ ) διαλυμάτων πολυσακχαρίτη με τον βαθμό κατάληψης του χώρου από τις αλυσίδες αυτού που χαρακτηρίζεται από την παράμετρο «coil-overlap» ( $c[\eta]$ ) [προσαρμογή από Morris et al. (1981)]

Η αδιάστατη παράμετρος  $c[\eta]$  («coil-overlap») περιγράφει την έκταση της επικάλυψης μεταξύ των μορίων του πολυμερούς. Η κρίσιμη συγκέντρωση  $c^*$  ορίζεται ως η συγκέντρωση στην οποία η συμπεριφορά του αραιού διαλύματος μετατρέπεται σε εκείνη του ημιαραιού, και γίνεται αντιληπτή από μια αλλαγή στην κλίση στα διαγράμματα  $\eta_{sp}$  έναντι  $c[\eta]$ . Για τους περισσότερους από τους γραμμικούς πολυσακχαρίτες, στα διαγράμματα αυτά υπάρχουν δύο

γραμμικές περιοχές με απότομη αλλαγή στην κλίση από ~1,4 σε 3,3 σε  $\eta_{sp} \sim 10$  και  $c[\eta] \sim 4$  (Σχήμα 2.21) (Morris et al., 1981).

#### 2.4.2. Μηχανική φασματοσκοπία

Τα διαλύματα και οι πηκτές βιοπολυμερών, καθώς και τα προϊόντα τροφίμων που τα περιέχουν, χαρακτηρίζονται ως ιξωδοελαστικά υλικά, καθώς ανάλογα με τον τύπο και τη διάρκεια των εξωτερικών δυνάμεων που εφαρμόζονται σε αυτά, παρουσιάζουν χαρακτήρα τόσο στερεού όσο και υγρού. Η μελέτη των ιξωδοελαστικών υλικών γίνεται συνήθως με τη διαδικασία της δυναμικής ταλάντωσης, γνωστή και ως τεχνική της «μηχανικής φασματοσκοπίας». Η τεχνική αυτή συνίσταται στην εφαρμογή ημιτονοειδούς διατμητικής τάσης καθορισμένης τιμής πλάτους. Οι παράμετροι που εμπλέκονται στη διαδικασία είναι η διατμητική τάση ( $\sigma$ ), η παραμόρφωση ( $\gamma$ ) και η συχνότητα ταλάντωσης ( $\omega$ ). Εξ αυτών, μία μένει σταθερή, μία μεταβάλλεται και μία καταγράφεται. Στις περισσότερες περιπτώσεις, μία κίνηση ταλάντωσης ασκείται στο προϊόν και η απόκριση που καταγράφεται είναι η παραμόρφωση. Ανάλογα με τη διαφορά φάσης ή αλλιώς, γωνία φάσης ( $\delta$ ), μεταξύ τάσης και παραμόρφωσης (Σχήμα 2.22), προσδιορίζονται οι ιξωδοελαστικές ιδιότητες. Έτσι, σε μηδενική διαφορά φάσης μεταξύ της παραμόρφωσης και της τάσης, το προϊόν επιδεικνύει συμπεριφορά στερεού. Αντίθετα, όταν η διαφορά φάσης είναι  $90^\circ$ , τότε το προϊόν συμπεριφέρεται ως υγρό. Κατά συνέπεια, σε ενδιάμεση διαφορά φάσης ( $0^\circ < \delta < 90^\circ$ ), παρατηρείται ιξωδοελαστική συμπεριφορά (Kubo et al., 2019, Peker et al., 2008).



Σχήμα 2.22. Αρχή μηχανικής φασματοσκοπίας [προσαρμογή από Kubo et al. (2019)]

Τα ιξωδοελαστικά υλικά μπορούν να περιγραφούν από την **Εξίσωση (2.11)**, όπου  $\omega$  είναι η συχνότητα και  $t$  ο χρόνος. Η εξίσωση αυτή εισάγει δύο ακόμη παραμέτρους, το  $G'$  [**Εξίσωση (2.12)**], γνωστό και ως μέτρο αποθήκευσης ή ελαστικότητας, που εκφράζει την ποσότητα της ενέργειας που αποθηκεύεται (ή ανακτάται) στο υλικό ανά κύκλο παραμόρφωσης, περιγράφοντας την ελαστική συμπεριφορά, και το  $G''$  [**Εξίσωση (2.13)**], δηλαδή το μέτρο απωλειών ή ιξώδους, που εκφράζει την ποσότητα της ενέργειας που χάνεται από το υλικό ανά κύκλο παραμόρφωσης, περιγράφοντας την ιξώδη συμπεριφορά. Ο λόγος του μέτρου ιξώδους προς το μέτρο ελαστικότητας ισούται με την εφαπτόμενη της γωνίας φάσης ( $\tan \delta$ ), η οποία χρησιμεύει στην ποσοτικοποίηση της ελαστικότητας που προβάλλει το ρευστό. Έτσι, όταν  $\tan \delta < 1$ , τότε επικρατεί η ελαστική συμπεριφορά (solid – like), κι αντίστροφα, σε τιμές  $\tan \delta > 1$ , επικρατεί η ιξώδης συμπεριφορά (liquid – like). Βάσει των παραμέτρων  $G'$  και  $G''$  υπολογίζεται το σύνθετο μέτρο ( $G^*$ ) σύμφωνα με την **Εξίσωση (2.14)**, και έπειτα, το σύνθετο ιξώδες ( $\eta^*$ ) χρησιμοποιώντας την **Εξίσωση (2.15)**, που αντιπροσωπεύουν την συνολική αντίσταση του υλικού στη ροή (Kubo et al., 2019, Kulkarni & Shaw, 2016, Peker et al., 2008).

$$\sigma(t) = \gamma_{\text{πλάτος}} \cdot G' \cdot \sin(\omega \cdot t) + \gamma_{\text{πλάτος}} \cdot G'' \cdot \cos(\omega \cdot t) \quad (2.11)$$

$$G' = \left( \frac{\sigma_{\text{πλάτος}}}{\gamma_{\text{πλάτος}}} \right) \cdot \cos \delta \quad (2.12)$$

$$G'' = \left( \frac{\sigma_{\text{πλάτος}}}{\gamma_{\text{πλάτος}}} \right) \cdot \sin \delta \quad (2.13)$$

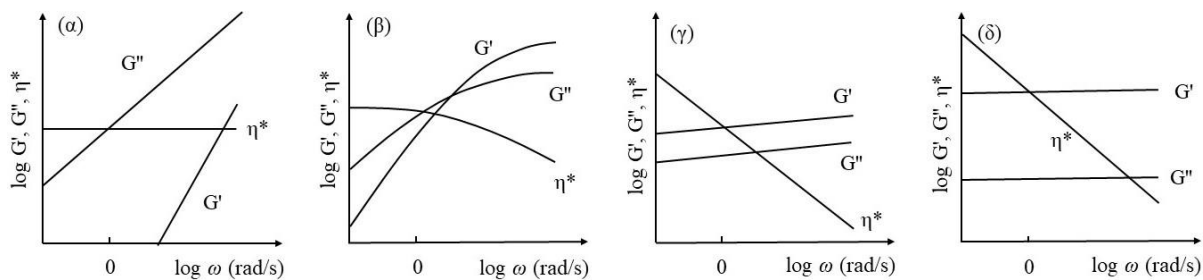
$$G^* = \sqrt{(G')^2 + (G'')^2} \quad (2.14)$$

$$\eta^* = G^* / \omega \quad (2.15)$$

Η καταγραφή των παραπάνω παραμέτρων για ένα δείγμα γίνεται με τη βοήθεια ρεομέτρου, με μία (ή συνδυασμό περισσότερων) από τις εξής ρεολογικές μετρήσεις μικρής παραμόρφωσης: σάρωση θερμοκρασιών, σάρωση χρόνου, σάρωση παραμόρφωσης και σάρωση συχνότητας. Κατά την πρώτη διαδικασία, το δείγμα υπόκειται σε μεταβολή θερμοκρασίας (αύξηση ή μείωση), υπό συνθήκες σταθερής συχνότητας και παραμόρφωσης. Για τη δεύτερη διαδικασία, το δείγμα παραμένει σε συγκεκριμένη θερμοκρασία για ένα χρονικό διάστημα, με τη συχνότητα και την παραμόρφωση να μένουν σταθερές, και οι μετρήσεις λαμβάνονται ανά τακτά χρονικά διαστήματα. Η τρίτη σάρωση περιλαμβάνει την

εφαρμογή συνεχώς αυξανόμενης παραμόρφωσης στο δείγμα, υπό συνθήκες σταθερής συχνότητας και θερμοκρασίας. Τέλος, στην τέταρτη σάρωση εξετάζεται η απόκριση του δείγματος σε μία περιοχή συχνοτήτων, υπό συνθήκες σταθερής παραμόρφωσης και θερμοκρασίας (Kulkarni & Shaw, 2016).

Οι γραφικές παραστάσεις που προκύπτουν από την σάρωση συχνοτήτων ( $G'$ ,  $G''$  και  $\eta^*$  συναρτήσει της συχνότητας  $\omega$ ) ονομάζονται μηχανικά φάσματα, και αποκαλύπτουν τα διαφορετικά μοτίβα που επιδεικνύει κάθε σύστημα εξυπηρετώντας την κατηγοριοποίηση τους σε αραιά διαλύματα, πυκνά διαλύματα, «ασθενείς» πηκτές και (πραγματικές) πηκτές, που αποτελούν συστήματα με αυξανόμενη δομική πολυπλοκότητα και ισχύ. Στα αραιά διαλύματα [Σχήμα 2.23 (α)], ο πληθυσμός των μορίων είναι τόσο μικρός που θεωρείται πως δρουν ανεξάρτητα μεταξύ τους, επηρεάζοντας, όμως, τη ροή του διαλύτη. Στο μεγαλύτερο μέρος του εύρους συχνοτήτων που εξετάζεται, το μέτρο  $G''$  είναι μεγαλύτερο του  $G'$  και το  $\eta^*$  παραμένει σταθερό, αλλά οι τιμές έρχονται πιο κοντά σε υψηλότερες συχνότητες όπου παρατηρείται ελαστική παραμόρφωση. Καθώς η συγκέντρωση αυξάνεται, τα μόρια αρχίζουν να αλληλεπιδρούν και τελικά να αλληλοδιαπερνώνται. Οι περιπλέξεις αρχίζουν να γίνονται αισθητές και το σύστημα καλείται πυκνό διάλυμα. Τα πυκνά διαλύματα [Σχήμα 2.23 (β)] προβάλλουν χαρακτηριστικά υγρού (liquid – like) με  $G'' > G'$  σε χαμηλές συχνότητες, αλλά σε υψηλότερες η σχέση αυτή αντιστρέφεται ( $G' > G''$ ), δείχνοντας μία τάση για συμπεριφορά στερεού (solid – like). Αυτό συμβαίνει διότι σε υψηλές συχνότητες, ο χρόνος ταλάντωσης δεν επαρκεί για την απομάκρυνση των μορίων με αποτέλεσμα την κυριαρχία του ελαστικού χαρακτήρα και την απότομη μείωση του  $\eta^*$ . Το σημείο διασταύρωσης των δύο μέτρων αντανακλά τον χρόνο ζωής των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μορίων εντός του συστήματος. Η πολυπλοκότερη μοριακή δομή αντιστοιχεί στις (πραγματικές) πηκτές [Σχήμα 2.23 (δ)], όπου τα μέτρα  $G'$  και  $G''$  παραμένουν ανεξάρτητα από τη συχνότητα, ισχύει  $G' \gg G''$  για όλο το εύρος συχνοτήτων και το  $\eta^*$  μειώνεται με κλίση -1. Στη βιομηχανία τροφίμων χρησιμοποιούνται ευρέως, εδώ και αρκετά χρόνια, κάποια βιοπολυμερή, όπως η ξανθάνη, που επιδεικνύουν μια συμπεριφορά ενδιάμεσης αυτής της πραγματικής πηκτής και του πυκνού διαλύματος, και ρεολογικά, περιγράφονται ως «ασθενείς πηκτές». Στο μηχανικό τους φάσμα [Σχήμα 2.23 (γ)], τα μέτρα  $G'$  και  $G''$  παραμένουν εξαρτημένα από τη συχνότητα, αν και σε μικρότερο βαθμό σε σχέση με τα αραιά και τα πυκνά διαλύματα, ισχύει  $G' > G''$  για όλο το εξεταζόμενο εύρος συχνοτήτων, και η απόσταση των μέτρων  $G'$  και  $G''$  είναι σαφώς μικρότερη από την αντίστοιχη των ισχυρών πηκτών (Steffe, 1996, Richardson & Kasapis, 1998).



**Σχήμα 2.23.** Βασικοί τύποι μηχανικού φάσματος (α) αραιού διαλύματος, (β) πυκνού διαλύματος, (γ) «ασθενούς πηκτής» και (δ) (πραγματικής) πηκτής, που δείχνει την μεταβολή των μέτρων  $G'$  (Pa) και  $G''$  (Pa), και του  $\eta^*$  (Pa s) συναρτήσει της συχνότητας  $\omega$  (rad/s) [Richardson & Kasapis (1998)]

### 2.4.3. Πειράματα Μεγάλης Παραμόρφωσης

Η μελέτη της υφής του τροφίμου, η οποία ανάγεται στη μελέτη της μικρο- και μακροδομής του και στις ιδιότητες ροής και παραμόρφωσής του, κρίνεται σημαντική καθώς βάσει αυτής καθορίζεται η μηχανική συμπεριφορά του τροφίμου κατά την κατανάλωσή του, κι έτσι, αποτελεί σημαντικό κριτήριο αποδοχής ή απόρριψης του προϊόντος από τον καταναλωτή. Πέρα από αυτό, όμως, η υφή σχετίζεται με την αντίσταση του προϊόντος σε μηχανικές καταπονήσεις (π.χ. μηχανική συγκομιδή, κατεργασία, διακίνηση, αποθήκευση) (Rahman et al., 2021). Τα χαρακτηριστικά της υφής μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε μηχανικά (π.χ. μαλακό, τραγανό, ελαστικό), γεωμετρικά (π.χ. λείο, ινώδες, κοκκώδες) και λοιπά (π.χ. υγρό, ελαιώδες) (Szczesniak & Kleyn, 1963).



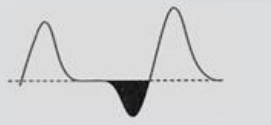
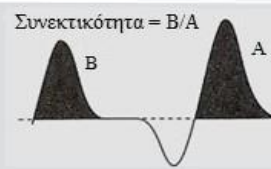
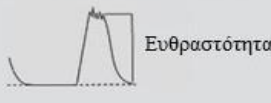
Ο προσδιορισμός των μηχανικών ιδιοτήτων ενός τροφίμου μπορεί να γίνει με πειράματα μεγάλης παραμόρφωσης (Rosenthal, 2010), χρησιμοποιώντας όργανο ανάλυσης υφής για την εφαρμογή δυνάμεων συμπίεσης, έκτασης, διείδυσης, κ.ά.. Το όργανο που χρησιμοποιείται ευρέως για την μέτρηση της μηχανικής αντοχής και άλλων παραμέτρων, είναι το Instron Universal Testing Machine, το οποίο ανήκει στην κατηγορία των οργάνων πολλαπλών μετρήσεων. Χρησιμοποιείται σε πληθώρα υλικών, με σκοπό την καταγραφή της απόκρισης κάθε υλικού στην εφαρμογή καταπονήσεων. Κατά τις μετρήσεις αυτές, συνήθως καταγράφεται ένα γράφημα τάσης – παραμόρφωσης (Rahman et al., 2021). Η τάση και η παραμόρφωση στο μέγιστο σημείο της καμπύλης ονομάζονται τάση και παραμόρφωση στο σημείο κατάρρευσης, αντίστοιχα. Η τάση στο σημείο κατάρρευσης σχετίζεται με την ισχύ του δείγματος, ενώ η παραμόρφωση στο σημείο κατάρρευσης με την ελαστικότητά αυτού, που πρακτικά δείχνουν την αντίσταση που προβάλλει το υλικό στις δυνάμεις που του ασκούνται

και τη δυνατότητα επαναφοράς του στην αρχική κατάσταση, αντίστοιχα, κατόπιν απομάκρυνσης των δυνάμεων αυτών. Ακόμη, υπολογίζεται και το μέτρο ελαστικότητας (Young's modulus), το οποίο αποτελεί μέτρο της ικανότητας του υλικού να υποστεί αλλαγές στο μήκος του όταν εφαρμόζεται κατά μήκος δύναμη σε αυτό, και κατ' επέκταση, είναι ενδεικτικό της ακαμψίας του υλικού. Ορίζεται ως ο λόγος της τάσης (που εφαρμόζεται κατά μήκος) προς την παραμόρφωση (Steffe, 1996), και μετράται ως η κλίση της αρχικής γραμμικής περιοχής του γραφήματος τάσης – παραμόρφωσης (Sinha & Bhargav, 2020).

Τα πειράματα συμπίεσης είναι, ίσως, τα πιο γνωστά πειράματα μεγάλης παραμόρφωσης, και χρησιμοποιούνται για την μέτρηση της μηχανικής αντοχής των δειγμάτων. Πιο συγκεκριμένα, εφαρμόζεται δύναμη στο δείγμα με σταθερό ρυθμό, τόση ώστε αυτό να διατηρήσει την ακεραιότητά του, να υποστεί παραμόρφωση ή ακόμα και κατάρρευση. Η μεταβολή του όγκου του δείγματος κατά την συμπίεση χρησιμοποιείται για την έκφραση της αντοχής του στην εφαρμοζόμενη σε αυτό δύναμη. Τα πειράματα μίμησης της μάσησης αποτελούν, έναν ακόμη τύπο πειραμάτων μεγάλης παραμόρφωσης, και χρησιμοποιούνται για την προσομοίωση της μάσησης με μηχανικούς τρόπους. Κατά τη διάρκεια των πειραμάτων αυτών, το δείγμα (καθορισμένων διαστάσεων) υποβάλλεται σε δύο διαδοχικές συμπίεσεις (συμπίεση – απομάκρυνση – συμπίεση) και καταγράφεται η δύναμη συμπίεσης συναρτήσει του ποσοστού συμπίεσης (Rahman et al., 2021). Οι παράμετροι που μπορούν να μετρηθούν (ή να υπολογισθούν) είναι η σκληρότητα, η ελαστικότητα, η συνάφεια, η συνεκτικότητα, η ευθραστότητα, η ικανότητα μάσησης και η ικανότητα μετατροπής σε κολλώδη μάζα, όπως φαίνονται στον **Πίνακα 1.2** (Rosenthal, 1999). Η καταγραφή των ιδιοτήτων αυτών συμβάλλουν στον προσδιορισμό της υφής του τροφίμου.



**Πίνακας 2.2.** Χαρακτηριστικά υφής τροφίμων [προσαρμογή από Rosenthal (1999)]

Παράμετρος	Ορισμός	Γράφημα
Σκληρότητα (Hardness)	Η δύναμη που απαιτείται για την συμπίεση του τροφίμου μεταξύ των γομφίων	
Ελαστικότητα (Elasticity)	Ο βαθμός στον οποίο το συμπιεσμένο τρόφιμο επιστρέφει στο αρχικό του μέγεθος όταν το φορτίο απομακρυνθεί	
Συνάφεια (Adhesiveness)	Η ενέργεια που απαιτείται για την υπερνίκηση των δυνάμεων μεταξύ της επιφάνειας του υλικού και της επιφάνειας με την οποία το υλικό έρχεται σε επαφή	
Συνεκτικότητα (Cohesiveness)	Η δύναμη των εσωτερικών δεσμών του τροφίμου	
Ευθραστότητα (Brittleness)	Η δύναμη που απαιτείται για τμήση του υλικού	
Ικανότητα μάρσησης (Chewiness)	Η ενέργεια που απαιτείται για την μάρσηση στερεού έως ότου καταστεί έτοιμο προς κατάποση	= Σκληρότητα × Συνεκτικότητα × Ελαστικότητα
Ικανότητα μετατροπής σε κολλώδη μάζα (Gumminess)	Η ενέργεια που απαιτείται για την μετατροπή ημιστερεού τροφίμου σε κολλώδη μάζα έτοιμη προς κατάποση	= Σκληρότητα × Συνεκτικότητα

*Κεφάλαιο 3*

**Υλικά και Μέθοδοι**

### 3.1. Υλικά

#### 3.1.1. Πηκτίνες

Για την πραγματοποίηση της παρούσας διατριβής, χρησιμοποιήθηκε δείγμα εμπορικής πηκτίνης υψηλής μεθυλίωσης (HMP) από μήλα, με DE 70-75%, η οποία αγοράστηκε από την Sigma – Aldrich (Steinheim, Germany). Επίσης, χρησιμοποιήθηκαν και πηκτίνες που απομονώθηκαν στο Εργαστήριο Χημείας και Ανάλυσης Τροφίμων του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, από φλούδες πορτοκαλιών που ελήφθησαν μετά από επεξεργασία για την παραγωγή χυμού, από τις υπηρεσίες εστίασης του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Η παραλαβή των πηκτινών αυτών έγινε μέσω συμβατικών και πράσινων μεθόδων εκχύλισης, υπό διάφορες πειραματικές συνθήκες, οι οποίες παρουσιάζονται αναλυτικά στην § 3.2.1 (Πίνακες 3.3 & 3.4).

#### 3.1.2. Πρωτεΐνες

Οι πρωτεΐνες που χρησιμοποιήθηκαν στα πλαίσια της παρούσας διατριβής, παρουσιάζονται αναλυτικά στον Πίνακα 3.1, που ακολουθεί.

**Πίνακας 3.1.** Πρωτεΐνες που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα διατριβή

Ελληνικό Όνομα	Αγγλικό Όνομα	Κωδικός	Προϊόν	Προμηθευτής
Καζεϊνικό Νάτριο	Sodium Caseinate	SC	Excellion® EM-7, 93% πρωτεΐνη σε ξηρή βάση	Alteco S.A. Foods Ingredients (Αθήνα, Ελλάδα)
Υπερσυμπύκνωμα Πρωτεϊνών Ορού Γάλακτος	Whey Protein Isolate	WPI	Lacprodan® DI-9224, 92% πρωτεΐνη σε ξηρή βάση	Arla Foods Ingredients Hellas (Αθήνα, Ελλάδα)
Υπερσυμπύκνωμα Πρωτεϊνών Αρακά	Pea Protein Isolate	PPI	NUTRALYS® F85F, 84% πρωτεΐνη σε ξηρή βάση	Roquette (Lestrem, France)

### 3.1.3. Βότανα

Τα βότανα που χρησιμοποιήθηκαν στο πειραματικό μέρος της διατριβής αγοράστηκαν από τοπική αγορά, και παρουσιάζονται στον **Πίνακα 3.2**, που ακολουθεί.

**Πίνακας 3.2.** Βότανα που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή εκχυλισμάτων

Ελληνικό Όνομα	Αγγλικό Όνομα	Είδος	Προμηθευτής
Γλυκάνισος	Anise	<i>Pimpinella anisum</i>	Εύριπος Λαδερός Βότανα Ι.Κ.Ε. (Μεταμόρφωση, Αττική, Ελλάδα)
Δίκταμος	Dittany	<i>Origanum dictamnus</i>	Αραπάκος και Κογχυλάκη Ο.Ε. (Χανιά, Κρήτη, Ελλάδα)

### 3.1.4. Λοιπά Υλικά και Αντιδραστήρια

Το ηλιέλαιο, που ήταν της SUNOΛΑ (ΚΟΡΕ, Κορωπί, Ελλάδα), και η κρυσταλλική λευκή ζάχαρη (Ελληνική Βιομηχανία Ζάχαρης Α.Ε., Θεσσαλονίκη, Ελλάδα) αγοράστηκαν από την τοπική αγορά. Η γλυκερόλη ήταν από την Merck (Darmstadt, Germany), το χλωριούχο νάτριο από την Panreac Quimica S.A. (Barcelona, Spain), και η αιθανόλη (99,8%) από την PanReac AppliChem GmbH (Darmstadt, Germany). Τα υπόλοιπα αντιδραστήρια αγοράστηκαν από την Sigma – Aldrich (Steinheim, Germany). Απεσταγμένο νερό χρησιμοποιήθηκε σε όλο το πειραματικό μέρος.

## 3.2. Μέθοδοι

### 3.2.1. Παραλαβή Πηκτίνης

Οι πηκτίνες απομονώθηκαν από φλούδες πορτοκαλιών μέσω διαφορετικών μεθόδων εκχύλισης. Αρχικά, οι φλούδες πορτοκαλιών υποβλήθηκαν σε επεξεργασία για την ανάκτηση υδατοδιαλυτών σακχάρων και αντιοξειδωτικών ενώσεων, όπως προτείνεται από τους Tsouko et al. (2020). Τα εναπομείναντα στερεά ξηράθηκαν σε φούρνο (Memmert, Schwabach, Germany), σε θερμοκρασία 45°C. Σε ένα δεύτερο πείραμα, με κοφτερό μαχαίρι αφαιρέθηκαν

τα μεσοκάρπια από τις φλούδες και ξηράθηκαν σε φούρνο, στους 45°C. Και για τα δύο πειράματα, τα αποξηραμένα προϊόντα κονιοροποιήθηκαν και πέρασαν από κόσκινο προκειμένου να συλλεχθούν σωματίδια μικρότερα του 1 mm. Οι σκόνες που προέκυψαν, αναφέρονται στο εξής ως υλικό πηκτίνης από ολικά στερεά αποβλήτων πορτοκαλιού (pectin material from whole orange waste, PMWOW) και υλικό πηκτίνης από μεσοκάρπια αποβλήτων πορτοκαλιών (pectin material from orange albedos, PMA), αντίστοιχα. Οι σκόνες αποθηκεύτηκαν σε αεροστεγή δοχεία και διατηρήθηκαν σε σκοτεινό και ξηρό περιβάλλον μέχρι την χρησιμοποίησή τους για την παραλαβή των πηκτινών.

Η παραλαβή πηκτίνης πραγματοποιήθηκε μέσω της συμβατικής μεθόδου όξινης εκχύλισης, με τη χρήση υδροχλωρικού (hydrochloric acid extraction, HAE) ή κιτρικού οξέος (citric acid extraction, CAE), είτε μέσω πράσινων μεθόδων, δηλαδή της εκχύλισης με μικροκύματα (microwave-assisted extraction, MAE) ή υπερήχους (ultrasound-assisted extraction, UAE) ή του συνδυασμού αυτών (ultrasound and microwave-assisted extraction, UMAE).

Για το πρώτο ερευνητικό κομμάτι (§ 4.1.1), η παραλαβή των πηκτινών πραγματοποιήθηκε με πρώτη ύλη τόσο το PMA όσο και το PMWOW μέσω των μεθόδων όξινης εκχύλισης HAE και CAE, και μέσω της μεθόδου MAE. Για τις όξινες εκχυλίσεις, σε ποτήρι ζέσεως προστέθηκε σκόνη PMA ή PMWOW μαζί με οξιτισμένο νερό, με τη χρήση υδροχλωρικού ή κιτρικού οξέος, σε αναλογία στερεού προς υγρό (solid to liquid ratio, SLR) 1:30 (w/v). Οι εκχυλίσεις πραγματοποιήθηκαν σε pH 1,6, για 117 min, για την HAE (Fakayode & Abobi, 2018) και σε pH 2, για 160 min, για την CAE (Oliveira et al., 2016), υπό ήπια ανάδευση, στους ~90°C. Η εκχύλιση με μικροκύματα (MAE) πραγματοποιήθηκε με έναν οικιακό φούρνο μικροκυμάτων (KOG-3767, edition II, Daewoo Electronics Co., Ltd, Seoul, South Korea) που λειτουργεί στα 2450 MHz. Για την παραλαβή, σε ποτήρι ζέσεως προστέθηκε σκόνη PMA ή PMWOW μαζί με οξιτισμένο, με τη χρήση HCl, νερό (pH 1,5), με SLR 1:25 (w/v). Το ποτήρι καλύφθηκε μερικώς με γυάλινο πώμα και τοποθετήθηκε στο κέντρο του φούρνου μικροκυμάτων, όπου εκτέθηκε σε ενέργεια μικροκυμάτων ισχύος 620 W, για 3 min.

Με το πέρας της διαδικασίας εκχύλισης, τα μίγματα μεταφέρθηκαν σε υδατόλουτρο με πάγο, ώστε να έρθουν άμεσα σε θερμοκρασία δωματίου. Τυχόν απώλειες νερού λόγω εξάτμισης, αναπληρώθηκαν με την προσθήκη νερού. Ακολούθησε φυγοκέντριση των εκχυλισμάτων στα 9000 ×g, για 15 min, στους 4°C, με τη χρήση φυγοκέντρου (Z 326 K, Hermle Labortechnik GmbH, Vaihingen, Germany). Τα υπερκείμενα συλλέχθηκαν και αναμίχθηκαν δυο φορές με ίσο όγκο (1:1 v/v) αιθανόλης 98% (v/v). Ύστερα από παραμονή σε

θερμοκρασία δωματίου για 24 h, η πηκτίνη απομονώθηκε μέσω διήθησης και ξηράνθηκε σε φούρνο, στους 40°C. Ακολούθησε κονιορτιοποίηση με μύλο και αποθήκευση κάθε σκόνης πηκτίνης σε αεροστεγές δοχείο, και διατήρηση σε σκοτεινό και ξηρό περιβάλλον. Συνολικά πραγματοποιήθηκαν 6 διαφορετικές εκχυλίσεις, οι συνθήκες των οποίων παρουσιάζονται στον **Πίνακα 3.3**.

**Πίνακας 3.3.** Συνθήκες εκχύλισης πηκτίνης από μεσοκάρπια (PMA) ή ολικά απόβλητα (PMWOW) πορτοκαλιών, με τη βοήθεια μικροκυμάτων (MAE), υδροχλωρικού (HAE) ή κιτρικού οξέος (CAE)

Πείραμα	Πρώτη ύλη	Μέθοδος	pH	Ισχύς (W) / Θερμοκρασία (°C)	SLR (w/v)	Διάρκεια (min)
1	PMA	HAE	1,6	93 °C	1:30	117
2	PMA	CAE	2,0	87 °C	1:30	160
3	PMA	MAE	1,5	620 W	1:25	3
4	PMWOW	HAE	1,6	93 °C	1:30	117
5	PMWOW	CAE	2,0	87 °C	1:30	160
6	PMWOW	MAE	1,5	620 W	1:25	3

Για το δεύτερο ερευνητικό κομμάτι (§ 4.1.2), η παραλαβή των πηκτινών πραγματοποιήθηκε με πρώτη ύλη μόνο το PMA, με τη βοήθεια μικροκυμάτων ή/και υπερήχων. Η εκχύλιση MAE πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τα όσα περιγράφηκαν νωρίτερα σε pH 1,5 και SLR από 1:15 έως και 1:30 (w/v), και τα δείγματα εκτέθηκαν σε ενέργεια μικροκυμάτων των 620, 750 ή 850 W για 3 ή 6 min. Η εκχύλιση UAE πραγματοποιήθηκε με έναν ομογενοποιητή υπερήχων (SONOPULS HD 3200, Bandelin Electronic GmbH & Co. KG, Berlin, Germany), που λειτουργεί στα 20 kHz (διάμετρος πομπού 13 mm). Για το συγκεκριμένο πείραμα, σκόνη PMA προστέθηκε σε ποτήρι ζέσεως μαζί με οξιμισμένο με HCl νερό (pH 1,5) σε SLR 1:20 (w/v). Το ποτήρι τοποθετήθηκε εντός του θαλάμου της συσκευής και ο πομπός υπερήχων εισήλθε εντός του μίγματος κατά 15 mm, και εξέπεμψε στα 50 ή 100 W για 15 ή 30 min, με κύκλο λειτουργίας 50% (2s on, 2s off). Ο θάλαμος παρέμεινε κλειστός καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας. Για τη διερεύνηση της επίδρασης και των δύο ακτινοβολιών στην διαδικασία εκχύλισης της πηκτίνης, πραγματοποιήθηκε και η εκχύλιση UMAE. Συγκεκριμένα, σκόνη PMA προστέθηκε σε ποτήρι ζέσεως μαζί με οξιμισμένο νερό

(pH 1,5, με HCl) σε SLR 1:20 (w/v) και ακτινοβολήθηκε, αρχικά, με υπερήχους (50 W, 30 min) και στη συνέχεια, με μικροκύματα (620, 750 ή 850 W, 3 min). Το σύνολο των δοκιμών και των τριών μεθόδων, παρουσιάζονται στον **Πίνακα 3.4**. Μετά το τέλος κάθε εκχύλισης, η απομόνωση της πηκτίνης πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τα όσα περιγράφηκαν παραπάνω.

**Πίνακας 3.4.** Συνθήκες εκχύλισης πηκτίνης από μεσοκάρπια πορτοκαλιών (PMA) με τη βοήθεια μικροκυμάτων (MAE), υπερήχων (UAE) ή συνδυασμού αυτών (UMAE)

Πείραμα	Προέλευση	Μέθοδος	pH	Ισχύς (W)	SLR	Διάρκεια (min)
1	PMA	MAE	1,5	620 W	1:15	3
2	PMA	MAE	1,5	620 W	1:20	3
3	PMA	MAE	1,5	620 W	1:25	3
4	PMA	MAE	1,5	620 W	1:30	3
5	PMA	MAE	1,5	620 W	1:20	6
6	PMA	MAE	1,5	750 W	1:20	3
7	PMA	MAE	1,5	850 W	1:20	3
8	PMA	UAE	1,5	50 W	1:20	15
9	PMA	UAE	1,5	50 W	1:20	30
10	PMA	UAE	1,5	100 W	1:20	15
11	PMA	UAE	1,5	100 W	1:20	30
12	PMA	UMAE	1,5	50 W / 620 W	1:20	30/3
13	PMA	UMAE	1,5	50W / 750 W	1:20	30/3
14	PMA	UMAE	1,5	50W / 850 W	1:20	30/3

### 3.2.2. Χαρακτηρισμός Πηκτίνης

#### 3.2.2.1. Απόδοση εκχύλισης

Η απόδοση εκχύλισης της πηκτίνης υπολογίστηκε βάσει της **Εξίσωσης (3.1)**, όπου  $w_1$  και  $w_2$  το αρχικό βάρος της πρώτης ύλης και το τελικό βάρος της προκύπτουσας πηκτίνης, αντίστοιχα.

$$\text{Απόδοση (\%)} = \frac{w_2}{w_1} \times 100 \quad (3.1)$$

### 3.2.2.2. Βαθμός Εστεροποίησης & Περιεχόμενο σε Γαλακτουρονικό Οξύ

Ο βαθμός εστεροποίησης των πηκτινών προσδιορίστηκε βάσει της μεθόδου που προτάθηκε από τους Hosseini et al. (2016). Αναλυτικά, 100 mg πηκτίνης προστέθηκαν αρχικά σε 2 mL αιθανόλης και ακολούθως, διαλυτοποιήθηκαν σε 20 mL νερού χωρίς διοξείδιο του άνθρακα, στους 40°C. Το διάλυμα, στο οποίο προστέθηκαν 5 σταγόνες φαινολοφθαλεΐνης, τιτλοδοτήθηκε με 0,1 N NaOH ( $V_1$ ). Κατόπιν, προστέθηκαν 10 mL διαλύματος 0,5 N NaOH, ακολούθησε έντονη ανάδευση και το διάλυμα αφήθηκε σε ηρεμία για 20 min, προς υδρόλυση. Έπειτα, προστέθηκαν 10 mL διαλύματος 0,5 N HCl και το διάλυμα ανακινήθηκε μέχρι το ροζ χρώμα να εξαφανιστεί. Τέλος, το διάλυμα, έπειτα από την προσθήκη 5 σταγόνων φαινολοφθαλεΐνης, τιτλοδοτήθηκε με 0, 5 N NaOH ( $V_2$ ). Ο βαθμός εστεροποίησης (DE, %) υπολογίστηκε με την **Εξίσωση (3.2)**, εις τριπλούν για κάθε δείγμα.

$$DE (\%) = \frac{V_2}{V_1 + V_2} \times 100 \quad (3.2)$$

Το περιεχόμενο σε γαλακτουρονικό οξύ (GalA, %) προσδιορίστηκε σύμφωνα με την τροποποιημένη μέθοδο του m-υδροξυδιφαινυλίου, όπως περιγράφεται από τους Tsouko et al. (2020), η οποία βασίζεται στη μέθοδο των Melton & Smith (2001). Αναλυτικά, 5 mg πηκτίνης αναμείχθηκαν με 1 mL απεσταγμένο νερό και το μίγμα τοποθετήθηκε σε λουτρό πάγου, υπό ανάδευση για 10 min. Κατόπιν, προστέθηκε 1 mL 12M θειικού οξέος, που ήταν αποθηκευμένο στους 4°C, και το μίγμα αναδεύτηκε για 5 min (το βήμα αυτό πραγματοποιήθηκε εις διπλούν). Έπειτα, προστέθηκε 1 mL νερού και το μίγμα αναδεύτηκε για 5 min. Ακολούθησε αραίωση με προσθήκη νερού έως τα 10 mL και φυγοκέντριση για 10 min στα 2000×g, σε θερμοκρασία δωματίου. Έπειτα, κλάσματα (400 μL) από το υπερκείμενο κάθε δείγματος αναμείχθηκαν με 40 μL διαλύματος 4M σουλφαμικού οξέος/σουλφαμικού καλίου (pH 1,6) και 2,4 mL διαλύματος 75 mM τετραβορικού νατρίου σε θειικό οξύ, με ανάδευση μετά από την προσθήκη κάθε αντιδραστηρίου. Τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε υδατόλουτρο (100°C) για 20 min και μετά, σε λουτρό πάγου για 10 min. Στη συνέχεια, προστέθηκαν 80 μL διαλύματος m-υδροξυδιφαινυλίου. Η απορρόφηση των δειγμάτων καταγράφηκε στα 525 nm μετά από 10 min, σε φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης UV – Vis (UV1800, Shimadzu Europa GmbH, Duisburg, Germany), με πλαστικές κυψελίδες (με οπτική διαδρομή 1 cm). Το περιεχόμενο σε GalA υπολογίστηκε βάσει πρότυπης καμπύλης D-GalA.



### 3.2.2.3. Εσωτερικό Ιξώδες & Μοριακό Βάρος

Το εσωτερικό ιξώδες ( $[\eta]$ ) υπολογίστηκε πειραματικά μέσω της διαδικασίας που περιγράφεται από τους Jiang et al. (2020). Αρχικά, παρασκευάστηκε διάλυμα πηκτίνης 1% (w/w) μέσω διαλυτοποίησης της κατάλληλης ποσότητας πηκτίνης σε υδατικό διάλυμα χλωριούχου νατρίου (NaCl, 0,1 N), υπό θέρμανση (90°C) και ήπια ανάδευση. Ακολούθησε αραίωση του αρχικού διαλύματος πηκτίνης με διάλυμα 0,1 N NaCl, ώστε να προκύψουν συγκεκριμένες συγκεντρώσεις (C) μεταξύ 0,70% και 0,125% (w/w). Η χρήση του διαλύματος NaCl εξυπηρετεί στη διατήρηση της ιονικής ισχύος των διαλυμάτων σε σταθερή τιμή. Στη συνέχεια, με τη βοήθεια ιξωδόμετρου (διάμετρος 1,36 mm,  $K = 0,3062 \text{ cSt/s}$ , SUNLEX, Shanghai, China), μετρήθηκε ο χρόνος ροής  $t$  (s) των διαλυμάτων πηκτίνης όλων των συγκεντρώσεων μέσα από το ιξωδόμετρο, εις τριπλούν, και η μέση τιμή χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό του κινηματικού ιξώδους [Εξίσωση (2.5), § 2.4.1]. Το εσωτερικό ιξώδες προσδιορίστηκε ως το σημείο τομής των γραφικών παραστάσεων Huggins και Kraemer [Εξίσωση (2.9) και (2.10), αντίστοιχα, § 2.4.1], που παρατηρείται σε μηδενική συγκέντρωση.

Το μοριακό βάρος ( $M_w$ ) υπολογίστηκε βάσει της μεθόδου των Venzon et al. (2015), με την εξίσωση Mark-Houwink-Sakurada [Εξίσωση (3.3)]. Στην περίπτωση του διαλύματος πηκτίνης σε 0,1 NaCl, στους 25°C και σε pH 7, θεωρήθηκε πως η τιμή της παραμέτρου  $K$  είναι  $4,36 \times 10^{-3} \text{ L/g}$ , και η τιμή της παραμέτρου  $a$  είναι 0,78 (Garnier et al., 1993).

$$[\eta] = K \times M_w^a \quad (3.3)$$

### 3.2.2.4. pH & Χρώμα

Διάλυμα πηκτίνης 1% (w/w) παρασκευάστηκε διαλύοντας την απαιτούμενη ποσότητα πηκτίνης σε απεσταγμένο νερό στους 90°C, υπό ήπια ανάδευση. Το pH του διαλύματος μετρήθηκε με τη χρήση μετρητή pH (HI 2211, Hanna Instruments, Rhode Island, USA), σε θερμοκρασία δωματίου.

Το χρώμα του διαλύματος προσδιορίστηκε με τη βοήθεια χρωματόμετρου (LC 100, Lovibond, Dortmund, Germany), με βάση τις χρωματικές παραμέτρους του συστήματος CIELAB, σε θερμοκρασία δωματίου. Οι παράμετροι που καταγράφηκαν ήταν η φωτεινότητα  $[L^*]$  ( $[L^*] = 0 - 100$ , δηλαδή από μαύρο έως λευκό), η παράμετρος  $[a^*]$  (ενδεικτική του

κόκκινου χρώματος όταν είναι θετική, και του πράσινου όταν είναι αρνητική) και η παράμετρος [ $b^*$ ] (ενδεικτική του κίτρινου χρώματος όταν είναι θετική, και του μπλε όταν είναι αρνητική). Τρεις επαναλήψεις πραγματοποιήθηκαν για κάθε δείγμα.

### 3.2.2.5. Καμπύλες Ροής

Οι καμπύλες ροής διαλύματος πηκτίνης συγκέντρωσης 0,5% (w/w), καταγράφηκαν με την χρήση ρεομέτρου (Discovery HR3 Hybrid Rheometer, TA Instruments, Delaware, USA) εξοπλισμένο με γεωμετρία ομόκεντρων κυλίνδρων (διάμετρος κάτω μέρους 30 mm, διάμετρος άνω μέρους 28 mm), σε ρυθμούς διάτμησης από 1 έως 100  $s^{-1}$ , στους 25°C. Οι μετρήσεις έγιναν χωρίς προκατεργασία. Τρεις επαναλήψεις πραγματοποιήθηκαν για κάθε δείγμα.

### 3.2.2.6. $\zeta$ – δυναμικό & Επιφανειακή Τάση

Το  $\zeta$  – δυναμικό διαλύματος πηκτίνης (0,1% w/w) μετρήθηκε με το όργανο Zetasizer Nano ZS90 (Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, UK), στους 25°C. Η επιφανειακή τάση μετρήθηκε σε διάλυμα πηκτίνης (1,0% w/w) με μηχανήμα μέτρησης επιφανειακής τάσης (Tensiometer Sigma 701, KSV Instruments Ltd., Helsinki, Finland) με την χρήση δακτυλίου Du Nouy. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν τρεις φορές για κάθε διάλυμα, και οι μέσοι όροι των τιμών ελήφθησαν υπόψη.

## 3.2.3. Παρασκευή και Χαρακτηρισμός Γαλακτωμάτων

### 3.2.3.1. Παρασκευή Γαλακτωμάτων

Για την παρασκευή γαλακτωμάτων ελαίου-σε-νερό (o/w), η οποία βασίστηκε στη μέθοδο των Huang et al. (2001) με κάποιες τροποποιήσεις, ηλιέλαιο αναμίχθηκε με διάλυμα πηκτίνης (1,0% w/w) σε αναλογία 40:60 (w/w). Ακολούθησε ομογενοποίηση χρησιμοποιώντας ομογενοποιητή (CAT X 120, M. Zipperer GmbH, Ballrechten-Dottingen, Germany) στα 18000 rpm, για 2 min, σε θερμοκρασία δωματίου. Κατόπιν, προσδιορίστηκαν βασικές ιδιότητες των γαλακτωμάτων που προέκυψαν, όπως είναι το χρώμα, η αγωγιμότητα, το ιξώδες και η σταθερότητα κατά την αποθήκευση.

### 3.2.3.2. Χρώμα

Το χρώμα των γαλακτωμάτων προσδιορίστηκε με χρωματόμετρο (LC 100, Lovibond, Dortmund, Germany), με βάση τις χρωματικές παραμέτρους του συστήματος CIELAB, όπως περιγράφεται στην § 3.2.2.4.

### 3.2.3.3. Αγωγιμότητα

Η αγωγιμότητα των γαλακτωμάτων μετρήθηκε σε αραιωμένα δείγματα (1:10 v/v) χρησιμοποιώντας αγωγιμόμετρο (SensoDirect Con 110, Lovibond, Dortmund, Germany), σε θερμοκρασία δωματίου. Τρεις επαναλήψεις πραγματοποιήθηκαν για κάθε δείγμα.

### 3.2.3.4. Ιξώδες

Η μέτρηση του ιξώδους τους έγινε με περιστροφικό ιξωδόμετρο (Viscoload One, Fungilab S.A., Barcelona, Spain), με ταχύτητες περιστροφής από 1 – 100 rpm, σε θερμοκρασία δωματίου. Για κάθε δείγμα, πραγματοποιήθηκαν τρεις επαναλήψεις.

### 3.2.3.5. Σταθερότητα

Η εκτίμηση της σταθερότητας των γαλακτωμάτων πραγματοποιήθηκε με την αξιολόγηση του διαχωρισμού φάσεων κατά την αποθήκευσή τους, σύμφωνα με τη μέθοδο που προτάθηκε από τους Huang et al. (2001). Αμέσως μετά την παρασκευή τους, μικρή ποσότητα γαλακτωμάτων (~10 mL) μεταφέρθηκε σε αεροστεγή φιαλίδια των 15 mL, τα οποία αποθηκεύτηκαν στους 4°C, για 7 ημέρες. Το ύψος (height, H) των γαλακτωμάτων καταγράφηκε, και η σταθερότητα του γαλακτώματος ως προς την αποκορύφωση υπολογίστηκε μέσω της **Εξίσωσης (3.4)**, όπου  $H_0$  το αρχικό ύψος, και  $H_{απ}$  το ύψος της υπολειπόμενης φάσης γαλακτώματος κατά την τελευταία ημέρα αποθήκευσης. Τρεις επαναλήψεις πραγματοποιήθηκαν για κάθε περίπτωση.

$$\text{Σταθερότητα (\%)} = \frac{H_{απ}}{H_0} \times 100 \quad (3.4)$$

### 3.2.4. Παρασκευή και Χαρακτηρισμός Πηκτών

#### 3.2.4.1. Παρασκευή Πηκτών

Οι πηκτές παρασκευάστηκαν με την προσθήκη 65 g σακχαρόζης (εμπορική ζάχαρη) σε 33,3 g διαλύματος πηκτίνης 3% (w/w), στους 90°C, υπό συνεχή ανάδευση και όξινο pH (2,7 - 3,0) (Evageliou et al., 2000). Το τελικό βάρος του δείγματος ρυθμίστηκε στα 100 g με προσθήκη νερού. Η τελική συγκέντρωση της πηκτίνης ήταν 1% (w/w), ενώ η τελική συγκέντρωση σακχάρων ήταν 65% (w/w). Το pH των διαλυμάτων πηκτίνης προσαρμόστηκε πριν την προσθήκη της σακχαρόζης, με τη χρήση διαλύματος HCl (0,1 N) ώστε όλα τα δείγματα να βρίσκονται στην ίδια περιοχή. Οι πηκτές που προέκυψαν χαρακτηρίστηκαν ως προς το χρώμα, τη ρεολογική τους συμπεριφορά σε ρεολογικά πειράματα μικρής παραμόρφωσης και τη συναίρεση.

#### 3.2.4.2. Χρώμα

Το χρώμα των πηκτών προσδιορίστηκε βάσει του συστήματος CIELAB με χρωματόμετρο (LC 100, Lovibond, Dortmund, Germany), όπως περιγράφεται στην § 3.2.2.4. Αμέσως μετά την παρασκευή κάθε δείγματος στους 90°C, μικρή ποσότητα μεταφέρθηκε σε γυάλινες κυψελίδες (οπτικής διαδρομής 1 cm) και αφότου έφτασε σε θερμοκρασία δωματίου, έγινε μέτρηση του χρώματος. Τρεις μετρήσεις καταγράφηκαν σε κάθε περίπτωση.

#### 3.2.4.3. Ρεολογικές Ιδιότητες

Οι ρεολογικές μετρήσεις αναφορικά με τη συμπεριφορά των πηκτών των πηκτινών κατά την ψύξη και την θέρμανση έγιναν σύμφωνα με την μέθοδο των Evageliou et al. (2000). Ρεολογικές μετρήσεις μικρής παραμόρφωσης (0,5% παραμόρφωση) πραγματοποιήθηκαν με ρεόμετρο (Discovery HR3, TA Instruments, Delaware, USA) με τη χρήση της γεωμετρίας παράλληλης πλάκας (διαμέτρου 40mm). Η μεταβολή της θερμοκρασίας έγινε με σταθερό ρυθμό 1°C/min μέσω συστήματος Peltier. Κατά την ψύξη και τη θέρμανση, μετρήθηκε το μέτρο αποθήκευσης ( $G'$ ) και το μέτρο απωλειών ( $G''$ ) σε συχνότητα 1 rad/s. Τα δείγματα τοποθετήθηκαν στο ρεόμετρο στους 95°C, καλύφθηκαν περιμετρικά με σιλικόνη για την

ελαχιστοποίηση της εξάτμισης, ψύχθηκαν στους 5°C, θερμάνθηκαν στους 90°C και επαναψύχθηκαν στους 5°C. Στο τέλος κάθε σταδίου ψύξης ή θέρμανσης (δηλαδή στους 5°C, στους 90°C και στους 5°C), ελήφθησαν μηχανικά φάσματα.

### 3.2.7.3. Συναίρεση

Η συναίρεση μετρήθηκε ως η απώλεια νερού από τις πηκτές κατά τη διάρκεια των πρώτων 24 h μετά την παρασκευή τους, σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολουθώντας τη μέθοδο των Figueroa & Genovese (2018), ποσότητα 10 g κάθε δείγματος τοποθετήθηκε σε χάρτινο φίλτρο πάνω σε χωνί, το οποίο στη συνέχεια στερεώθηκε σε κωνική φιάλη για τη συλλογή του νερού που εξήλθε από το δείγμα. Μετά από 24 h, το δείγμα απομακρύνθηκε, ώστε να μετρηθεί η ποσότητα του νερού που συλλέχθηκε. Η συναίρεση υπολογίστηκε βάσει της **Εξίσωσης (3.5)**, όπου  $w_1$  και  $w_2$ , το αρχικό και τελικό βάρος του δείγματος, αντίστοιχα.

$$\text{Συναίρεση} = \frac{w_1 - w_2}{w_1} \times 100 \quad (3.5)$$

### 3.2.5. Παρασκευή και Μελέτη Μικτών Συστημάτων Πηκτίνης – Πρωτεΐνης

#### 3.2.5.1. Παρασκευή Μικτών Συστημάτων Πηκτίνης – Πρωτεΐνης

Πυκνά διαλύματα (5% w/w) πρωτεϊνών, δηλαδή καζεϊνικού νατρίου (SC), υπερσυμπυκνώματος πρωτεϊνών ορού γάλακτος (WPI) ή υπερσυμπυκνώματος πρωτεϊνών αρακά (PPI) (§ 3.1.2), παρασκευάστηκαν με τη διαλυτοποίηση της κατάλληλης ποσότητας πρωτεϊνών σε νερό και την ανάδυσή της για 4 h, σε θερμοκρασία δωματίου. Πυκνό διάλυμα (2% w/w) πηκτίνης υψηλής μεθυλίωσης (HMP, § 3.1.1) παρασκευάστηκε με την διαλυτοποίηση της απαιτούμενης ποσότητας πηκτίνης σε νερό υπό ανάδυσση, στους 90°C. Η απώλεια νερού στο διάλυμα πηκτίνης, λόγω εξάτμισης, διορθώθηκε με την προσθήκη νερού. Όλα τα διαλύματα διατηρήθηκαν στους 4°C, μέχρι την χρήση τους.

Τα μίγματα πηκτίνης – πρωτεΐνης παρασκευάστηκαν βάσει της μεθόδου που πρότειναν οι Lan et al. (2018). Συγκεκριμένη ποσότητα πυκνών διαλυμάτων κάθε πρωτεΐνης αναμίχθηκε με σταθερή ποσότητα πυκνού διαλύματος πηκτίνης ώστε να προκύψουν μίγματα με αναλογία

πρωτεΐνης: πηκτίνης από 1:1 έως και 10:1 (1:1, 2:1, 4:1, 6:1, 8:1, 10:1). Η τελική συγκέντρωση της πηκτίνης ήταν σταθερή (0,1% w/w), ενώ η τελική συγκέντρωση της πρωτεΐνης κυμάνθηκε από 0,1% έως και 1,0% w/w (0,1%, 0,2%, 0,4%, 0,6%, 0,8% και 1,0% w/w). Διαλύματα που περιείχαν μόνο πρωτεΐνη (0,1% w/w) ή μόνο πηκτίνη (0,1% w/w) παρασκευάστηκαν, επίσης, ώστε να χρησιμοποιηθούν ως δείγματα ελέγχου.

Το pH κάθε μίγματος ρυθμίστηκε στο 7 με την προσθήκη σταγόνων διαλυμάτων NaOH (0,1 N και 1 N), και κατόπιν, ελαττώθηκε έως και την τιμή 2 σταδιακά (με μείωση μίας μονάδας τη φορά) με την προσθήκη σταγόνων διαλυμάτων HCl (0,1 N και 1 N). Η χρησιμοποίηση διάφορων συγκεντρώσεων NaOH και HCl ελαχιστοποίησε τις συνέπειες των αραιώσεων στα μίγματα. Επίσης, η οξίνιση έγινε μετά την ανάμιξη, καθώς αυτό θεωρείται πως οδηγεί, σύμφωνα με τους Bédidé et al. (2008), σε σταθερό και μικρότερο μέγεθος συμπλοκών, σε σύγκριση με την περίπτωση που η οξίνιση γίνει πριν από την ανάμιξη.

### 3.2.5.2. Μελέτη Μικτών Συστημάτων Πηκτίνης – Πρωτεΐνης

#### 3.2.5.2.1. Θολερομετρία

Η θολερομετρική μέθοδος βασίζεται στη μέτρηση της απορρόφησης των συστημάτων πολυσακχαρίτη – πρωτεΐνης στα 600 nm συναρτήσει του pH. Για όλα τα μιγμάτων πηκτίνης – πρωτεΐνης της παρούσας διατριβής, καταγράφηκαν οι τιμές της απορρόφησης για κάθε μεταβολή του pH κατά μία μονάδα με τη χρήση φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης UV – Vis (UV1800, Shimadzu Europa GmbH, Duisburg, Germany), χρησιμοποιώντας πλαστικές κυψελίδες (οπτικής διαδρομής 1 cm), και απεσταγμένο νερό ως δείγμα – μάρτυρα.

#### 3.2.5.2.2. ζ – δυναμικό

Το ζ – δυναμικό των πρωτεϊνών, της πηκτίνης και των μεταξύ τους μιγμάτων, μετρήθηκε εις τριπλούν, για κάθε μεταβολή του pH κατά μία μονάδα, με τη βοήθεια του Zetasizer Nano ZS90 (Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, UK), σε θερμοκρασία δωματίου.

### 3.2.5.2.3. Διαγράμματα Φάσης

Για την κατασκευή διαγραμμάτων φάσης, παρελήφθησαν, για κάθε μεταβολή του pH κατά μία μονάδα, κλάσματα για κάθε δείγμα, τα οποία αφήθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για 24 h, πριν την οπτική παρατήρηση τους. Η μακροσκοπική εμφάνιση κάθε δείγματος χαρακτηρίστηκε ως διαφανές/ημιδιαφανές διάλυμα, διαυγές διάλυμα με ίζημα, γαλακτώδες/θολό διάλυμα και θολό διάλυμα με ίζημα.

### 3.2.6. Απομόνωση και Χαρακτηρισμός Αδιάλυτων Συμπλόκων Μικτών Συστημάτων Πηκτίνης – Πρωτεΐνης

Από τα αποτελέσματα της § 3.2.5, επιλέχθηκαν οι συνθήκες για τον σχηματισμό αδιάλυτων συμπλόκων. Τα επιλεγέντα δείγματα (αναλογία πρωτεΐνης: πηκτίνης 6:1, και pH 4 για τις πρωτεΐνες SC και WPI ή pH 3 για την πρωτεΐνη PPI) φυγοκεντρήθηκαν με τη χρήση φυγοκέντρου (Z 326 K, Hermle Labortechnik GmbH, Vaihingen, Germany), στα 6000 rpm για 10 min, σε θερμοκρασία δωματίου. Τα ιζήματα συλλέχθηκαν, ξηράθηκαν στους 50°C, ζυγίστηκαν με αναλυτικό ζυγό ακρίβειας 0,01g (EMB 2000 – 2, Kern & Sohn GmbH, Balingen, Germany), και κονιοροποιήθηκαν. Οι σκόνες που προέκυψαν αποθηκεύτηκαν σε αεροστεγώς κλειστά δοχεία, σε ξηρό και σκοτεινό μέρος. Η απόδοση σχηματισμού συμπλόκων υπολογίστηκε βάσει της **Εξίσωσης (3.1) (§ 3.2.2.1)**, όπου, στην περίπτωση των συμπλόκων, το  $w_1$  ήταν το βάρος των αρχικών βιοπολυμερών και  $w_2$  ήταν το βάρος των ξηρών ιζημάτων.

#### 3.2.6.1. Χρώμα

Για την εκτίμηση του χρώματος των δειγμάτων σκόνης, μικρή ποσότητα αυτών μεταφέρθηκε σε πλαστικές κυψελίδες και το χρώμα προσδιορίστηκε εις τριπλούν, σύμφωνα με το σύστημα CIELAB, όπως περιγράφεται στην § 3.2.2.4.

### 3.2.6.2. Δείκτες Ποής

Η φαινόμενη πυκνότητα (bulk density,  $\rho_{\phi}$ ) και η πυκνότητα στοιβάσεως (tapped density,  $\rho_{\sigma\tau}$ ) των ξηρών συμπλόκων με τη μορφή σκόνης, μετρήθηκαν σύμφωνα με τη μέθοδο που προτάθηκε από τους Jinarong et al. (2008). Ποσότητα δείγματος σκόνης των 2 g εισήχθη με ήπιο τρόπο σε στεγνό βαθμονομημένο κύλινδρο των 10 mL, ισιώνοντας την επιφάνεια χωρίς συμπίεση. Η φαινόμενη πυκνότητα της σκόνης προσδιορίστηκε ως το βάρος ανά μονάδα ασυμπίεστου όγκου, όπως φαίνεται και στην **Εξίσωση (3.6)**. Η πυκνότητα στοιβάσεως προέκυψε έπειτα από ήπιο χτύπημα του κυλίνδρου που περιείχε τη σκόνη, επάνω σε σταθερή επιφάνεια με σταθερό ρυθμό (100 φορές, με το χέρι). Υπολογίστηκε από την αναλογία του βάρους προς τον τελικό όγκο, με την **Εξίσωση (3.7)**.

Η πυκνότητα σωματιδίων υπολογίστηκε σύμφωνα με τη μέθοδο των Jinarong et al. (2008), με τροποποιήσεις. Συγκεκριμένα, 1 g κάθε δείγματος σκόνης μεταφέρθηκε σε στεγνό ογκομετρικό κύλινδρο των 10 mL, στον οποίο προστέθηκαν 4 mL πετρελαϊκού αιθέρα. Ακολούθησε ήπια ανάδευση για την διαβροχοποίηση όλων των σωματιδίων του δείγματος. Ακόμη 2 mL πετρελαϊκού αιθέρα προστέθηκαν στον κύλινδρο (6 mL συνολικά) για τον καθαρισμό των τοιχωμάτων αυτού από τα εναπομείναντα σωματίδια. Ο τελικός όγκος που κατέλαβε ο πετρελαϊκός αιθέρας με το δείγμα καταγράφηκε και χρησιμοποιήθηκε στον υπολογισμό της πυκνότητας σωματιδίων με τη βοήθεια της **Εξίσωσης (3.8)**.

Το πορώδες ( $\varepsilon$ ) υπολογίστηκε μέσω της **Εξίσωσης (3.9)**, χρησιμοποιώντας τις τιμές των πυκνοτήτων στοιβάσεως και σωματιδίων. Η αναλογία Hausner (Hausner, 1967) προέκυψε από την **Εξίσωση (3.10)** και ο δείκτης συμπιεστότητας Carr (Carr, 1965) από την **Εξίσωση (3.11)**, και είναι ενδεικτικά της συνεκτικότητας και της ρευστότητας των σωματιδίων, αντίστοιχα. Με την βοήθεια του **Πίνακα 3.5**, τα δείγματα χαρακτηρίστηκαν ως προς τις ιδιότητες αυτές. Τρεις επαναλήψεις πραγματοποιήθηκαν για κάθε δείγμα.

$$\rho_{\phi} = \frac{\text{βάρος δείγματος}}{\text{ασυμπίεστος όγκος}} \quad (3.6)$$

$$\rho_{\sigma\tau} = \frac{\text{βάρος δείγματος}}{\text{συμπιεσμένος όγκος}} \quad (3.7)$$



$$\rho_{\sigma\omega\mu} = \frac{\text{βάρος δείγματος}}{\text{όγκος πετρελαϊκού αιθέρα με δείγμα} - 6} \quad (3.8)$$

$$\varepsilon = \frac{\rho_{\sigma\omega\mu} - \rho_{\sigma\tau\omicron\iota\beta}}{\rho_{\sigma\omega\mu}} \times 100 \quad (3.9)$$

$$\text{Αναλογία Hausner} = \frac{\rho_{\sigma\tau\omicron\iota\beta}}{\rho_{\phi\alpha\iota\nu}} \quad (3.10)$$

$$\text{Δείκτης Carr} = \frac{\rho_{\sigma\tau\omicron\iota\beta} - \rho_{\phi\alpha\iota\nu}}{\rho_{\sigma\tau\omicron\iota\beta}} \times 100 \quad (3.11)$$

**Πίνακας 3.5.** Κατηγοριοποίηση της ρευστότητας και της συνεκτικότητας των δειγμάτων σκόνης βάσει του δείκτη Carr και της αναλογίας Hausner, αντίστοιχα [προσαρμογή από Jinarong et al. (2008)]

Δείκτης Carr (%)	Ρευστότητα	Αναλογία Hausner	Συνεκτικότητα
< 15	Πολύ καλή	< 1,2	Χαμηλή
15 – 20	Καλή		
20 – 35	Μέτρια	1,2 – 1,4	Μέτρια
35 – 45	Κακή		
> 45	Πολύ κακή	> 1,4	Υψηλή

### 3.2.6.3. Διαλυτότητα

Η διαλυτότητα των δειγμάτων σκόνης μετρήθηκε σύμφωνα με τη μέθοδο των Ghasemi et al. (2017), με τροποποιήσεις. Δείγμα σκόνης (250 mg) αναμίχθηκε με νερό (25 mL), και το μίγμα αυτό αναδεύτηκε ήπια για 1 h, σε θερμοκρασία δωματίου, πριν φυγοκεντρηθεί στα 6000 rpm, για 5 min, σε θερμοκρασία δωματίου, με τη χρήση φυγοκέντρου (Z 326 K, Hermle Labortechnik GmbH, Vaihingen, Germany). Το υπερκείμενο συλλέχθηκε, ξηράνθηκε στους 105°C έως την απόκτηση σταθερού βάρους, και ζυγίστηκε, με αναλυτικό ζυγό ακρίβειας 0,01g (EMB 2000 – 2, Kern & Sohn GmbH, Balingen, Germany). Η διαλυτότητα (%) υπολογίστηκε με γνώμονα την ποσότητα σκόνης που διαλύθηκε στο νερό, χρησιμοποιώντας την **Εξίσωση (3.12)**. Τρεις μετρήσεις καταγράφηκαν για κάθε δείγμα.

$$\text{Διαλυτότητα (\%)} = \frac{\text{ξηρό βάρος}}{\text{βάρος αρχικών βιοπολυμερών}} \times 100 \quad (3.12)$$

#### 3.2.6.4. Περιεχόμενη Υγρασία

Η περιεχόμενη υγρασία προσδιορίστηκε σύμφωνα με τη μέθοδο των Ghasemi et al. (2017), με τροποποιήσεις. Δείγμα σκόνης (100 mg) αφυδατώθηκε σε φούρνο στους 105°C έως την απόκτηση σταθερού βάρους, και επαναζυγίστηκε σε αναλυτικό ζυγό ακρίβειας 0,1 mg (ABS, Kern & Sohn GmbH, Balingen, Germany) αφού έφθασε σε θερμοκρασία δωματίου. Η περιεχόμενη υγρασία προέκυψε από την **Εξίσωση (3.13)**, όπου το  $w_1$  και το  $w_2$  είναι το αρχικό και τελικό βάρος του δείγματος, αντίστοιχα. Τρεις επαναλήψεις έλαβαν χώρα σε κάθε περίπτωση.

$$\text{Περιεχόμενη υγρασία (\%)} = \frac{w_1 - w_2}{w_1} \times 100 \quad (3.13)$$

#### 3.2.6.5. pH

Διαλύματα (1% w/w) παρασκευάστηκαν με την προσθήκη της απαιτούμενης ποσότητας δείγματος σκόνης σε απεσταγμένο νερό, υπό ήπια ανάδευση για 1 h. Κατόπιν, το pH των διαλυμάτων μετρήθηκε με τη χρήση μετρητή pH (HI 2211, Hanna Instruments, Rhode Island, USA). Τρεις μετρήσεις έγιναν για κάθε δείγμα.

#### 3.2.6.6. Αγωγιμότητα

Ποσότητα δείγματος σκόνης προστέθηκε σε νερό για την παρασκευή διαλύματος 1% (w/w), υπό ήπια ανάδευση για 1 h. Έπειτα, η αγωγιμότητα των διαλυμάτων μετρήθηκε, εις τριπλούν, με αγωγιμόμετρο (SensoDirect Con 110, Lovibond, Dortmund, Germany).

### 3.2.6.7. Κινηματικό Ιξώδες

Το κινηματικό ιξώδες [**Εξίσωση (2.5)**] μετρήθηκε σε διαλύματα (1% w/w), τα οποία παρασκευάστηκαν με την προσθήκη της απαιτούμενης ποσότητας δείγματος σκόνης σε νερό (ήπια ανάδευση, 1 h), με τη βοήθεια τριχοειδούς ιξωδόμετρου (διαμέτρου 1,36 mm,  $K = 0,3062$  cSt/s, SUNLEX, Shanghai, China), σε θερμοκρασία δωματίου. Τρεις επαναλήψεις πραγματοποιήθηκαν για κάθε δείγμα.

### 3.2.7. Παρασκευή και Μελέτη Γαλακτωμάτων και HIPE παρουσία Μικτών Συστημάτων Πηκτίνης – Πρωτεΐνης

#### 3.2.7.1. Παρασκευή και Μελέτη Γαλακτωμάτων

Πυκνά διαλύματα πρωτεΐνης (SC και PPI, 12% w/w) και πυκνό διάλυμα πηκτίνης (HMP, 2% w/w), παρασκευάστηκαν όπως περιγράφεται στην **§ 3.2.5.1**. Τα μίγματα πρωτεΐνης – πηκτίνης προέκυψαν από την προσθήκη συγκεκριμένων ποσοτήτων πυκνών διαλυμάτων πρωτεΐνης σε σταθερή ποσότητα πυκνού διαλύματος πηκτίνης ώστε να προκύψουν μίγματα με αναλογία πρωτεΐνης: πηκτίνης 2:1 ή 6:1, με την τελική συγκέντρωση της πηκτίνης να είναι 0,1% (w/w) (Ομάδα 1), 0,5% (w/w) (Ομάδα 2) ή 1,0% (w/w) (Ομάδα 3). Επιπλέον, παρασκευάστηκαν διαλύματα που περιείχαν μόνο πρωτεΐνη με συγκέντρωση ίση με την συνολική συγκέντρωση βιοπολυμερών σε κάθε περίπτωση, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν ως δείγματα αναφοράς. Το σύνολο των δειγμάτων παρουσιάζεται στον **Πίνακα 3.6**.

Το pH όλων των μιγμάτων ρυθμίστηκε στην τιμή 6 με την προσθήκη σταγόνων υδατικού διαλύματος 0,1 N HCl. Τα διαλύματα βιοπολυμερών και των τριών ομάδων χρησιμοποιήθηκαν ως υδατική φάση για την παρασκευή γαλακτωμάτων, σύμφωνα με την μέθοδο των Tavernier et al. (2017). Αρχικά, ηλιέλαιο (60% w/w) προστέθηκε σε διάλυμα πρωτεΐνης – πηκτίνης ή διαλύματος μόνο πρωτεΐνης (40% w/w). Ακολούθησε ομογενοποίηση με τη χρήση ομογενοποιητή (CAT X 120, M. Zipperer GmbH, Ballrechten-Dottingen, Germany) στα 18000 rpm, για 5 min, σε θερμοκρασία δωματίου. Τα γαλακτώματα μελετήθηκαν ως προς το ιξώδες και την σταθερότητά τους.

**Πίνακας 3.6.** Συγκέντρωση πηκτίνης (HMP) και πρωτεΐνης (α) SC ή (β) PPI των μιγμάτων των Ομάδων 1, 2 και 3

		(α)			(β)		
		Δείγμα	HMP (% w/w)	SC (% w/w)	Δείγμα	HMP (% w/w)	PPI (% w/w)
<b>Ομάδα 1</b>		HMP-SC(0,1-0,2)	0,1	0,2	HMP-PPI(0,1-0,2)	0,1	0,2
		HMP-SC(0,1-0,6)	0,1	0,6	HMP-PPI (0,1-0,6)	0,1	0,6
		HMP-SC(0-0,3)	-	0,3	HMP-PPI(0-0,3)	-	0,3
		HMP-SC(0-0,7)	-	0,7	HMP-PPI(0-0,7)	-	0,7
<b>Ομάδα 2</b>		HMP-SC(0,5-1)	0,5	1,0	HMP-PPI(0,5-1)	0,5	1,0
		HMP-SC(0,5-3)	0,5	3,0	HMP-PPI(0,5-3)	0,5	3,0
		HMP-SC(0-1,5)	-	1,5	HMP-PPI(0-1,5)	-	1,5
		HMP-SC(0-3,5)	-	3,5	HMP-PPI(0-3,5)	-	3,5
<b>Ομάδα 3</b>		HMP-SC(1-2)	1,0	2,0	HMP-PPI(1-2)	1,0	2,0
		HMP-SC(1-6)	1,0	6,0	HMP-PPI(1-6)	1,0	6,0
		HMP-SC(0-3)	-	3,0	HMP-PPI(0-3)	-	3,0
		HMP-SC(0-7)	-	7,0	HMP-PPI(0-7)	-	7,0

### 3.2.7.1.1. Ιξώδες

Το ιξώδες των γαλακτωμάτων μετρήθηκε με τη χρήση περιστροφικού ιξωδόμετρου (Viscolead One, Fungilab S.A., Barcelona, Spain) σε ταχύτητες περιστροφής από 0,6 έως και 100 rpm, σε θερμοκρασία δωματίου.

### 3.2.7.1.2. Σταθερότητα

Η σταθερότητα των γαλακτωμάτων εκτιμήθηκε όπως περιγράφεται στην § 3.2.3.5.

### 3.2.7.2. Παρασκευή και Μελέτη Γαλακτωμάτων Υψηλής Εσωτερικής Φάσης

Ποσότητα γαλακτωμάτων των 30 g, μεταφέρθηκε σε τρυβλίο Petri και αφυδατώθηκε σε φούρνο (Memmert, Schwabach, Germany) στους 60°C, για 18 h. Η απώλεια νερού προσδιορίστηκε σύμφωνα με την μέθοδο που προτάθηκε από τους Vélez-Eraza et al. (2020), υπολογίζοντας το βάρος του νερού που περιλάμβανε το γαλάκτωμα πριν την ξήρανση, και το βάρος του νερού που απέμεινε μετά από αυτή. Έπειτα, υπολογίστηκε το ποσοστό απώλειας νερού με τη βοήθεια της **Εξίσωσης (3.14)**, όπου  $w_1$  και  $w_2$  είναι το αρχικό και τελικό βάρος του περιεχόμενου νερού, αντίστοιχα. Ακολούθησε επεξεργασία με μύλο (3 κύκλοι, διάρκειας 10 s ο καθένας). Η απώλεια ελαίου προσδιορίστηκε βάσει της μεθόδου που προτάθηκε από τους Vélez-Eraza et al. (2020). Συγκεκριμένα, κλάσματα γαλακτωμάτων υψηλής εσωτερικής φάσης ζυγίστηκαν ( $w_1$ ), με αναλυτικό ζυγό ακρίβειας 0,01g (EMB 2000 – 2, Kern & Sohn GmbH, Balingen, Germany), πριν φυγοκεντρηθούν στα 6000 rpm, για 30 min, στους 5°C, με την χρήση φυγοκέντρου (Z 326 K, Hermle Labortechnik GmbH, Vaihingen, Germany). Κατόπιν, το έλαιο που απεβλήθη από το γαλάκτωμα απομακρύνθηκε και το υπόλοιπο προϊόν ζυγίστηκε ( $w_2$ ), ώστε με τη βοήθεια της **Εξίσωσης (3.14)**, να γίνει ο υπολογισμός του ποσοστού απώλειας ελαίου.

$$\text{Απώλεια (νερού ή ελαίου) (\%)} = \frac{w_1 - w_2}{w_1} \times 100 \quad (3.14)$$

### 3.2.8. Παρασκευή και Μελέτη Εκχυλισμάτων Βοτάνων

Για την παρασκευή εκχυλισμάτων βοτάνων (1% w/w), συγκεκριμένη ποσότητα βοτάνου προστέθηκε σε βραστό νερό όπου παρέμεινε για 10 min, υπό συνεχή ανάδευση (Soultani et al., 2014). Αμέσως μετά, τα μίγματα μεταφέρθηκαν σε υδατόλουτρο με πάγο μέχρι την απόκτηση θερμοκρασίας περιβάλλοντος. Ακολούθησε διήθηση για την απομάκρυνση των στερεών, και διόρθωση του τελικού βάρους των εκχυλισμάτων με την προσθήκη νερού.

#### 3.2.8.1. Αντιοξειδωτική Ικανότητα

Η αντιοξειδωτική ικανότητα προσδιορίστηκε βάσει της χρωματομετρικής μεθόδου DPPH (δифαινυλοπικρυλυδραζύλιο, 2,2-diphenyl –1- picrylhydrazyl radical) που προτάθηκε

από τους Brand – Williams et al. (1995), με κάποιες τροποποιήσεις. Το DPPH αποτελεί μία σταθερή ρίζα αζώτου, η οποία καταναλώνεται από τα αντιοξειδωτικά με αποτέλεσμα τον αποχρωματισμό του διαλύματος από ιώδες σε κίτρινο, και ο βαθμός του αποχρωματισμού καταγράφεται στα 517 nm (Balentine et al., 1997).

Για τον προσδιορισμό, ποσότητα δείγματος ίση με 0,5 mL αναμίχθηκε με 1,5 mL νερού και 2 mL διαλύματος 0,1 mM DPPH σε διάλυμα αιθανόλης (80% v/v). Τα διαλύματα που προέκυψαν, καθώς και το διάλυμα που χρησιμοποιήθηκε ως τυφλό (2 mL νερό και 2 mL διαλύματος DPPH), παρέμειναν σε απόλυτο σκοτάδι για 30 min, σε θερμοκρασία δωματίου, πριν φωτομετρηθούν στα 517 nm με τη χρήση φασματοφωτομέτρου διπλής δέσμης UV – Vis (UV1800, Shimadzu Europa GmbH, Duisburg, Germany). Η μέθοδος εφαρμόστηκε τρεις φορές για κάθε δείγμα. Το ποσοστό δέσμησης της ρίζας (scavenging activity) υπολογίζεται βάσει των μετρήσεων απορρόφησης (absorbance, Abs) του μάρτυρα ( $Abs_{\mu}$ ) και του εκάστοτε εκχυλίσματος ( $Abs_{\varepsilon}$ ), και δίνεται από την **Εξίσωση (3.15)**.

$$\text{Δέσμηση (\%)} = \frac{Abs_{\mu} - Abs_{\varepsilon}}{Abs_{\mu}} \times 100\% \quad (3.15)$$

### 3.2.8.3. Ολικό Φαινολικό Περιεχόμενο

Το ολικό φαινολικό περιεχόμενο προσδιορίστηκε με τη φωτομετρική μέθοδο Folin – Ciocalteu που προτάθηκε από τους Singleton & Rossi (1965). Το αντιδραστήριο Folin – Ciocalteu αποτελεί ένα μίγμα μολυβδαινικού νατρίου, βολφραμικού νατρίου και άλλων αντιδραστηρίων, το οποίο κατά την αντίδραση του με φαινολικές ουσίες, παράγει ένα μπλε χρώμα που απορροφάται στα 765 nm (Everette et al., 2010).

Για τον προσδιορισμό του ολικού φαινολικού περιεχομένου, ποσότητα δείγματος (0,5 mL) αναμίχθηκε με νερό (2,25 mL) και αντιδραστήριο Folin – Ciocalteu (0,25 mL). Ακολούθησε έντονη ανάδευση του μίγματος χρησιμοποιώντας Vortex, και παραμονή στο σκοτάδι για 8 min πριν την προσθήκη διαλύματος  $Na_2CO_3$  7,5% w/v (2 mL). Το μίγμα αναδεύτηκε ξανά με Vortex και παρέμεινε στο σκοτάδι για 60 min, σε θερμοκρασία δωματίου. Η απορρόφηση μετρήθηκε με φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης UV – Vis (UV1800, Shimadzu Europa GmbH, Duisburg, Germany) στα 765 nm, με τη βοήθεια δείγματος μάρτυρα. Η μέθοδος εφαρμόστηκε τρεις φορές για κάθε δείγμα και το ολικό φαινολικό περιεχόμενο προσδιορίστηκε με τη χρήση πρότυπης καμπύλης αναφοράς γαλλικού οξέος. Τα

αποτελέσματα εκφράστηκαν ως mg ισοδύναμα γαλλικού οξέος (gallic acid equivalent, GAE) ανά 0,5mL δείγματος (mg GAE/ 0,5 mL).

### 3.2.9. Παρασκευή και Μελέτη Εδώδιμων Μεμβρανών

#### 3.2.9.1. Παρασκευή Εδώδιμων Μεμβρανών

Η διαδικασία παρασκευής εδώδιμων μεμβρανών ξεκίνησε με την παρασκευή του διαλύματος σχηματισμού μεμβρανών (film forming solution, FFS), που περιείχε ως δομικό συστατικό βιοπολυμερή, η συγκέντρωση των οποίων διέφερε, ανάλογα με την εκάστοτε μελέτη. Πιο συγκεκριμένα, για την § 4.1.2.2, τα FFS προέκυψαν από την διαλυτοποίηση κατάλληλης ποσότητας πηκτίνης (0,5% w/w) σε εκχύλισμα δίκταμου ή γλυκάνισου, υπό θέρμανση (90°C) και ήπια ανάδευση. Οι πηκτίνες που χρησιμοποιηθήκαν προέκυψαν από εκχύλιση στο εργαστήριο, με τη βοήθεια μικροκυμάτων και υπερήχων-μικροκυμάτων, αντίστοιχα (Πίνακας 3.4, § 3.2.1) ή ήταν πηκτίνη εμπορικής προέλευσης (§ 3.1.1). Τα εκχυλίσματα παρασκευάστηκαν όπως περιγράφεται στην § 3.2.8. Στη συνέχεια, προστέθηκε, ως πλαστικοποιητής, ποσότητα γλυκερόλης (30% w/w βιοπολυμερών) και ακολούθησε ολιγόλεπτη ανάδευση (5 min), σε θερμοκρασία δωματίου.

Στην § 4.2.3, τα FFS προέκυψαν από μικά συστήματα πηκτίνης υψηλής μεθυλίωσης (HMP, § 3.1.1) και καζεϊνικού νατρίου (SC, § 3.1.2) ή υπερσυμπυκνώματος πρωτεϊνών αρακά (PPI, § 3.1.2). Πυκνά διαλύματα πρωτεΐνης (12% w/w) και πηκτίνης (2% w/w) παρασκευάστηκαν όπως περιγράφεται στην § 3.2.5.1. Συγκεκριμένες ποσότητες διαλύματος πρωτεΐνης αναμίχθηκαν με σταθερή ποσότητα διαλύματος πηκτίνης ώστε να προκύψουν μίγματα με αναλογία πρωτεΐνης: πηκτίνης 2:1 και 6:1. Η τελική συγκέντρωση της πηκτίνης ήταν 0,5% ή 1,0% (w/w). Στη συνέχεια, προστέθηκε γλυκερόλη (30% w/w βιοπολυμερών) ως πλαστικοποιητής. Ακολούθησε ήπια ανάδευση, σε θερμοκρασία δωματίου, για 5 min.

Έπειτα, και για τις δύο περιπτώσεις μεμβρανών, 30g από κάθε FFS μεταφέρθηκαν σε γυάλινα τρυβλία Petri (διαμέτρου 9 cm) ώστε να ξηρανθούν σε φούρνο (Memmert, Schwabach, Germany) στους 50°C, για ~20 h. Οι μεμβράνες που προέκυψαν, αποκολλήθηκαν από τα τρυβλία και διατηρήθηκαν σε ξηραντήρα. Τέσσερις μεμβράνες παρασκευάστηκαν ανά σύσταση μεμβράνης.

### 3.2.9.2. Μελέτη Εδώδιμων Μεμβρανών

#### 3.2.9.2.1. Βάρος

Το βάρος κάθε μεμβράνης μετρήθηκε με αναλυτικό ζυγό ακρίβειας 0,01g (EMB 2000-2, Kern & Sohn GmbH, Balingen, Germany). Τρεις μεμβράνες μετρήθηκαν ανά σύσταση μεμβράνης.

#### 3.2.9.2.2. Πάχος

Το πάχος κάθε μεμβράνης μετρήθηκε με μικρόμετρο (Holex, Munich, Germany), ακρίβειας 0,01 mm, και υπολογίστηκε η μέση τιμή δέκα τυχαίων μετρήσεων. Τρεις μεμβράνες μετρήθηκαν ανά σύσταση μεμβράνης.

#### 3.2.9.2.3. Πυκνότητα και Περιεχόμενη Υγρασία

Για τον προσδιορισμό της πυκνότητας των μεμβρανών, δείγματα μεμβρανών κόπηκαν σε τετράγωνα κομμάτια, επιφάνειας (A) 4 cm<sup>2</sup>, και ζυγίστηκαν (m<sub>1</sub>) με αναλυτικό ζυγό ακρίβειας 0,1 mg (ABS, Kern & Sohn GmbH, Balingen, Germany). Έπειτα, καταγράφηκε το πάχος τους (x) ως η μέση τιμή τριών τυχαίων μετρήσεων. Η πυκνότητα υπολογίστηκε εις τριπλούν, από την **Εξίσωση (3.16)** (Sartori et al., 2018).

$$\text{Πυκνότητα} = \frac{m_1}{V} = \frac{m_1}{x \times A} \quad (3.16)$$

Κατόπιν, για τον προσδιορισμό της περιεχόμενης υγρασίας, τα δείγματα αυτά ξηράνθηκαν σε φούρνο (Mettler, Schwabach, Germany) στους 105°C, για 18 h, και επαναζυγίστηκαν (m<sub>2</sub>) (Drakos et al., 2018). Η περιεχόμενη υγρασία (%) υπολογίστηκε, εις τριπλούν, με τη βοήθεια της **Εξίσωσης (3.13)** (§ 3.2.6.4), όπου w<sub>1</sub> και w<sub>2</sub> το αρχικό και τελικό βάρος των δειγμάτων, αντίστοιχα.



#### 3.2.9.2.4. Χρώμα

Οι χρωματικές παράμετροι του CIELAB συστήματος μετρήθηκαν με χρωματόμετρο (LC 100, Lovibond, Dortmund, Germany). Πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις σε πέντε τυχαία σημεία της επιφάνειας των μεμβρανών, κατά τις οποίες καταγράφηκαν τιμές για την φωτεινότητα [ $L^*$ ], την παράμετρο [ $a^*$ ] και την παράμετρο [ $b^*$ ] (§ 3.2.2.4). Τρεις μεμβράνες μετρήθηκαν ανά σύσταση μεμβράνης.

#### 3.2.9.2.5. Θολερότητα

Η θολερότητα των μεμβρανών προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης UV – Vis (UV1800, Shimadzu Europa GmbH, Duisburg, Germany) βάσει της μεθόδου των Drakos et al. (2018). Εν συντομία, ορθογώνιες λωρίδες μεμβράνης (1 cm × 4 cm) τοποθετήθηκαν απευθείας σε πλαστική κυψελίδα και το φάσμα (400 – 800 nm) της διαπερατότητας φωτός (transmittance, %) καταγράφηκε, έχοντας ως αναφορά μία άδεια κυψελίδα. Το εμβαδόν κάτω από την καμπύλη του φάσματος σχετίζεται με την θολερότητα, με μία μεγάλη τιμή εμβαδού να αντιστοιχεί σε μικρή θολερότητα. Τρεις επαναλήψεις πραγματοποιήθηκαν ανά σύσταση μεμβράνης.

#### 3.2.9.2.6. Μηχανικές Ιδιότητες

Οι μηχανικές ιδιότητες των μεμβρανών μελετήθηκαν βάσει της μεθόδου των Drakos et al. (2018). Η μέγιστη δύναμη, που αντιστοιχεί στην τάση στο σημείο διάτρησης, και το μέτρο ελαστικότητας (Young's modulus), μετρήθηκαν με το όργανο μέτρησης συμπίεσης και εφελκυσμού (Instron 1011, Massachusetts, USA), το οποίο ήταν εξοπλισμένο με φορτίο 50 N και έμβολο διάτρησης διαμέτρου 3 mm. Η κίνηση του εμβόλου ήταν κάθετη προς την επιφάνεια της μεμβράνης και είχε σταθερή ταχύτητα 1 mm/s. Μετρήσεις έγιναν σε πέντε τυχαία σημεία της μεμβράνης, κατά την πέμπτη ημέρα αποθήκευσης.

### 3.2.9.2.7. Αντιοξειδωτική Ικανότητα και Ολικό Φαινολικό Περιεχόμενο

Για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας και του ολικού φαινολικού περιεχομένου, συγκεκριμένη ποσότητα κάθε μεμβράνης (125 mg) προστέθηκε σε 15 mL νερού. Τα μίγματα αφέθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου, για 24 h, πριν την ανάλυση. Η αντιοξειδωτική ικανότητα και το ολικό φαινολικό περιεχόμενο προσδιορίστηκαν όπως περιγράφεται στις § 3.2.8.1 και 3.2.8.2, αντίστοιχα.

### 3.2.9.2.8. Διαπερατότητα Υδρατμών

Η διαπερατότητα των μεμβρανών σε υδρατμούς (water vapor permeability, WVP) προσδιορίστηκε σύμφωνα με την μέθοδο των Sobral et al. (2001). Δείγματα κυκλικού σχήματος, διαμέτρου 3 cm, τοποθετήθηκαν επάνω στο ανοιχτό άκρο προζυγισμένων γυάλινων δοχείων (ύψους 2,9 cm και διαμέτρου 3 cm), το οποίο και σφράγισαν με τη βοήθεια αδιάβροχης συγκολλητικής ουσίας (βαζελίνη). Εντός των δοχείων υπήρχαν 5 g silica gel που χρησιμοποιήθηκαν ως ξηραντικό μέσο προκειμένου να παραχθούν συνθήκες μηδενικής σχετικής υγρασίας κάτω από την μεμβράνη. Τα δοχεία τοποθετήθηκαν εντός ξηραντήρα που περιείχε νερό παρέχοντας συνθήκες 100% σχετικής υγρασίας. Μετά την εκκίνηση της δοκιμής, το βάρος των δειγμάτων ( $w$ ) καταγράφηκε σε συγκεκριμένες χρονικές στιγμές  $t$  (4, 24, 48 και 72 h). Η διαπερατότητα υδρατμών, η οποία εκφράστηκε σε  $10^{-8}$  g mm cm<sup>-2</sup> h<sup>-1</sup> Pa<sup>-1</sup>, υπολογίστηκε με την βοήθεια της **Εξίσωσης (3.16)**.

$$WVP = \frac{w}{t} \frac{x}{A \Delta P} \quad (3.16)$$

Όπου  $x$  είναι το μέσο πάχος (mm) και  $A$  είναι η επιφάνεια των δειγμάτων μεμβράνης που σφράγισαν κάθε δοχείο (7,065 cm<sup>2</sup>),  $\Delta P$  είναι η διαφορά της μερικής πίεσης υδρατμών της ατμόσφαιρας στις δεδομένες συνθήκες (2642 Pa, στους 22 °C), ενώ ο όρος  $w/t$  υπολογίστηκε με γραμμική παλινδρόμηση από το διάγραμμα αύξησης βάρους συναρτήσει του χρόνου. Μόνο μεμβράνες χωρίς ελαττώματα (π.χ. σχισμές, φυσαλίδες αέρα) χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό της διαπερατότητας υδρατμών. Τρεις επαναλήψεις πραγματοποιήθηκαν παράλληλα για κάθε σύσταση μεμβράνης.

### 3.2.10. Στατιστική επεξεργασία

Η στατιστική επεξεργασία όλων των αποτελεσμάτων έγινε με τη βοήθεια του πακέτου Statgraphics Centurion XVI (StatPoint Technologies, Inc., USA) εφαρμόζοντας ανάλυση διασποράς (analysis of variance, ANOVA) με στόχο τη σύγκριση των μέσων τιμών των εξεταζόμενων ιδιοτήτων, και την αποκάλυψη σημαντικών διαφορών μεταξύ των δειγμάτων με το τεστ LSD (Least Significant Differences), σε 95% βαθμό εμπιστοσύνης ( $p - \text{value} < 0,05$ ). Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέση τιμή  $\pm$  τυπική απόκλιση τουλάχιστον τριών μετρήσεων, εάν δεν γίνεται άλλη αναφορά.

*Κεφάλαιο 4*  
*Αποτελέσματα*

#### 4.1. Παραλαβή, Μελέτη και Αξιοποίηση Πηκτινών από Φλούδες Πορτοκαλιών

##### 4.1.1. Παραλαβή και Μελέτη Πηκτινών από Μεσοκάρπια και Ολικά Στερεά Φλουδών Πορτοκαλιών με τη Βοήθεια Υδροχλωρικού Οξέος, Κιτρικού Οξέος ή Μικροκυμάτων

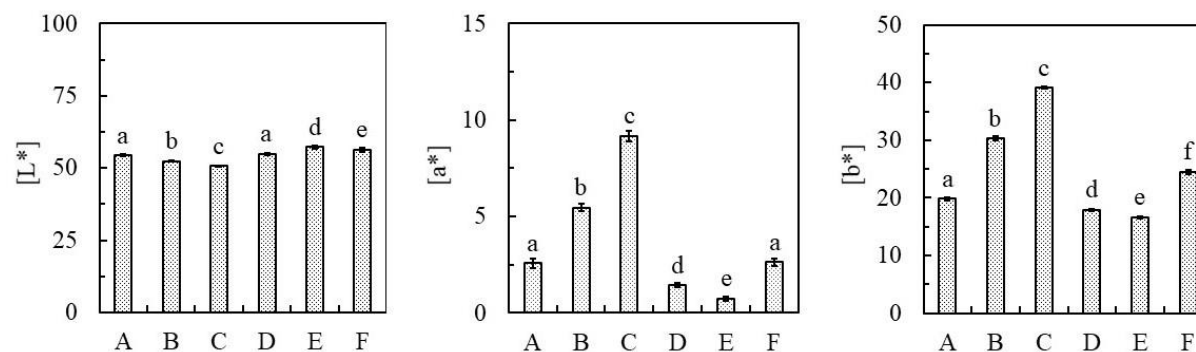
Σκοπός της παρούσας ενότητας ήταν η παραλαβή πηκτινών από φλούδες πορτοκαλιών μέσω όξινης εκχύλισης και μέσω εκχύλισης με τη βοήθεια μικροκυμάτων, προκειμένου να συγκριθούν οι μέθοδοι παραλαβής που χρησιμοποιήθηκαν τόσο ως προς την απόδοσή τους σε πηκτίνη όσο και ως προς την ποιότητα των πηκτινών που απομονώθηκαν. Για την όξινη εκχύλιση χρησιμοποιήθηκαν ένα ανόργανο κι ένα οργανικό οξύ. Ακολούθως, οι παραληφθείσες πηκτίνες αξιολογήθηκαν ως προς τις γαλακτωματοποιητικές και πηκτωματοποιητικές ιδιότητές τους. Πιο συγκεκριμένα, πηκτίνες απομονώθηκαν από μεσοκάρπια αποβλήτων πορτοκαλιών (PMA) ή από ολικά στερεά αποβλήτων πορτοκαλιών (PMWOW) μέσω έξι διαφορετικών συνθηκών εκχύλισης με αποτέλεσμα να απομονωθούν έξι πηκτίνες, που για την παρουσίαση των αποτελεσμάτων, θα ονομαστούν Α – F. Ο **Πίνακας 4.1** παρουσιάζει τις συνθήκες παραλαβής για την κάθε πηκτίνη μαζί με την απόδοση της εκχύλισης (%) και τις φυσικοχημικές ιδιότητές τους. Όπως φαίνεται από τον **Πίνακα 4.1**, οι πηκτίνες Α – C παρελήφθησαν μέσω εκχύλισης από PMA, ενώ οι πηκτίνες D – F από PMWOW. Ταυτόχρονα, οι Α και D προέκυψαν από εκχύλιση με υδροχλωρικό οξύ (HAE), οι Β και Ε από εκχύλιση με κιτρικό οξύ (CAE) και οι C και F από εκχύλιση με μικροκύματα (MAE). Όσον αφορά τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των πηκτινών, προσδιορίστηκαν το περιεχόμενο σε γαλακτουρονικό οξύ (GalA), ο βαθμός εστεροποίησης (DE), το εσωτερικό ιξώδες  $[\eta]$ , το μοριακό βάρος ( $M_w$ ) και το pH.

Σχετικά με την απόδοση κάθε μεθόδου, οι τιμές κυμάνθηκαν από 10,6% έως και 22,8%, με την υψηλότερη απόδοση παραλαβής πηκτίνης να παρατηρείται στις εκχυλίσεις με πρώτη ύλη τα PMWOW (**Πίνακας 4.1**). Οι πηκτίνες που προήλθαν από εκχυλίσεις με πρώτη ύλη το PMA, εμφάνισαν χαμηλότερες τιμές απόδοσης, με εξαίρεση την πηκτίνη C που παρουσίασε στατιστικά ίδια τιμή με τις πηκτίνες D και F (~19%). Ακόμη, η απόδοση παραλαβής της πηκτίνης E, η εκχύλιση της οποίας έγινε με τη χρήση κιτρικού οξέος και με πρώτη ύλη το PMWOW, είχε την υψηλότερη τιμή. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν πως τόσο η μέθοδος όσο και από η πρώτη ύλη επηρέασαν την απόδοση εκχύλισης της πηκτίνης.

**Πίνακας 4.1.** Συνθήκες παραλαβής, απόδοση παραλαβής και φυσικοχημικές ιδιότητες πηκτινών που απομονώθηκαν μέσω όξινης εκχύλισης ή με τη βοήθεια μικροκυμάτων [PMA: μεσοκάρπια αποβλήτων πορτοκαλιών, και PMWOW: ολικά στερεά αποβλήτων πορτοκαλιών, HAE: εκχύλιση με υδροχλωρικό οξύ, CAE: εκχύλιση με κιτρικό οξύ, MAE: εκχύλιση με μικροκύματα].

Πηκτίνη	Συνθήκες παραλαβής	Απόδοση (%)	DE (%)	GalA (%)	[η] (dL/g)	M <sub>w</sub> (kg/mol)	pH
A	PMA, HAE, 1:30 w/v, pH 1.6, 90°C, 117 min	12,9 <sup>a</sup> ± 0,54	78,4 <sup>a</sup> ± 1,7	68,4 <sup>a</sup> ± 0,25	0,420 <sup>a</sup> ± 0,003	6,7 <sup>a</sup> ± 0,1	4,4 <sup>a</sup> ± 0,0
B	PMA, CAE, 1:30 w/v, pH 2, 90°C, 160 min	10,6 <sup>b</sup> ± 0,16	57,4 <sup>b</sup> ± 1,6	49,9 <sup>b</sup> ± 0,53	0,326 <sup>b</sup> ± 0,001	4,8 <sup>b</sup> ± 0,0	2,6 <sup>b</sup> ± 0,0
C	PMA, MAE, 1:25 w/v, pH 1.5, 620 W, 3 min	19,3 <sup>c</sup> ± 0,16	74,1 <sup>c</sup> ± 1,3	73,5 <sup>c</sup> ± 0,65	0,734 <sup>c</sup> ± 0,017	13,7 <sup>c</sup> ± 0,4	2,7 <sup>b,c</sup> ± 0,1
D	PMWOW, HAE, 1:30 w/v, pH 1.6, 90°C, 117 min	18,5 <sup>c</sup> ± 0,32	77,9 <sup>a</sup> ± 1,7	56,4 <sup>d</sup> ± 0,15	0,774 <sup>c</sup> ± 0,033	14,6 <sup>c</sup> ± 0,8	3,5 <sup>c</sup> ± 0,1
E	PMWOW, CAE, 1:30 w/v, pH 2, 90°C, 160 min	22,8 <sup>d</sup> ± 0,51	55,5 <sup>b</sup> ± 1,9	46,7 <sup>e</sup> ± 0,65	0,397 <sup>a</sup> ± 0,014	6,2 <sup>a</sup> ± 0,3	3,1 <sup>d</sup> ± 0,0
F	PMWOW, MAE, 1:25 w/v, pH 1.5, 620 W, 3 min	18,3 <sup>c</sup> ± 0,51	73,5 <sup>c</sup> ± 1,9	65,7 <sup>f</sup> ± 0,28	0,570 <sup>d</sup> ± 0,008	9,9 <sup>d</sup> ± 0,2	2,7 <sup>e</sup> ± 0,0

[Οι τιμές που φέρουν διαφορετικό εκθέτη για κάθε ιδιότητα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά (p < 0,05).]



**Σχήμα 4.1.** Χρωματικές παράμετροι ([L\*], [a\*], [b\*]) των διαλυμάτων των πηκτινών A – F. [Οι τιμές με διαφορετικό εκθέτη για κάθε ιδιότητα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά (p < 0,05).]

Δύο από τις βασικότερες παραμέτρους για τις πηκτίνες, καθοριστικές για την ποιότητά τους, είναι το περιεχόμενο σε γαλακτουρονικό οξύ (GalA) και ο βαθμός εστεροποίησης (DE). Οι παράμετροι αυτές ασκούν σημαντική επιρροή στις ιδιότητες γαλακτωματοποίησης και πηκτωματοποίησης. Η πηκτίνη που χρησιμοποιείται σε τρόφιμα (food-grade) πρέπει, σύμφωνα με τον FAO, να χαρακτηρίζεται από τουλάχιστον 65% περιεκτικότητα σε GalA, γεγονός άμεσα σχετιζόμενο με την ικανότητα του πολυσακχαρίτη να σχηματίζει πηκτές (de Oliveira et al., 2015). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον **Πίνακα 4.1**, οι πηκτίνες που προήλθαν από PMA είχαν υψηλότερο περιεχόμενο σε GalA. Συνεπώς, το περιεχόμενο σε GalA φάνηκε να επηρεάζεται από τη δομική σύσταση της πρώτης ύλης. Και στις δύο περιπτώσεις πρώτης ύλης, η μέθοδος MAE είχε ως αποτέλεσμα την παραλαβή πηκτινών με το υψηλότερο περιεχόμενο σε GalA (65,7% και 73,5% για τις πηκτίνες F και C, αντίστοιχα). Ακόμη, η μέθοδος HAE οδήγησε σε υψηλότερο περιεχόμενο σε GalA (56,4% και 68,4% για τις πηκτίνες D και A, αντίστοιχα) συγκριτικά με τη μέθοδο CAE, που οδήγησε σε ποσοστά μικρότερα του 50% και για τις δύο πηκτίνες (B και E).

Σχετικά με τον DE (**Πίνακας 4.1**), όλες οι πηκτίνες χαρακτηρίστηκαν ως πηκτίνες υψηλής μεθυλίωσης αφού είχαν τιμές υψηλότερες του 50%. Γενικά, οι όξινες συνθήκες pH κατά την εκχύλιση οδηγούν σε πηκτίνες υψηλής μεθυλίωσης (Alba & Kontogiorgos, 2017). Η πρώτη ύλη που χρησιμοποιήθηκε δεν ήταν στατιστικά σημαντικός παράγοντας για τον καθορισμό του DE. Αντίθετα, οι διαφορετικές συνθήκες εκχύλισης που επιλέχθηκαν σε κάθε μέθοδο, έπαιξαν σημαντικό ρόλο καθώς η μέθοδος CAE είχε ως αποτέλεσμα πηκτίνες χαμηλότερου DE (~56%), ενώ οι μέθοδοι HAE και MAE οδήγησαν σε πηκτίνες υψηλότερου DE (~78,2% και ~73,8%, αντίστοιχα).

Συνολικά, η μέθοδος MAE οδήγησε σε καλές αποδόσεις και για τις δύο πρώτες ύλες (18,3% και 19,3% για τα PMWOW και τα PMA, αντίστοιχα). Και άλλες μελέτες φαίνεται να επιβεβαιώνουν αυτήν την επίδραση των μικροκυμάτων στις τιμές απόδοσης της παραλαβής πηκτίνης μέσω εκχύλισης από απόβλητα εσπεριδοειδών και μήλων (π.χ. Fishman et al., 1999, Fishman et al., 2003). Οι Kratchanova et al. (2004) διατύπωσαν πως η θέρμανση μέσω μικροκυμάτων διευκόλυνε την εκχύλιση των μορίων πηκτίνης, καθώς, μεταξύ άλλων, η ακτινοβολία μικροκυμάτων οδήγησε σε απενεργοποίηση των ενδογενών ενζύμων πηκτινестεράσης. Επιπλέον, η ικανότητα των φυτικών κυττάρων να απορροφούν νερό, αυξήθηκε χάρη στην αποσύνθεση των παρεγχυματικών κυττάρων (Sandarini, 2017). Η διευκόλυνση της διείδυσης του διαλύτη μπορεί, ακόμη, να εξηγήσει το υψηλό περιεχόμενο

σε GalA που παρατηρήθηκε στις πηκτίνες που προέκυψαν από MAE (Dranca et al., 2021, Koh et al., 2014).

Σχετικά με τις όξινες συνθήκες, σύμφωνα με μελέτες, όταν στην εκχύλιση χρησιμοποιείται υδροχλωρικό οξύ, αναμένεται υψηλότερη απόδοση εκχύλισης, και αυτό λόγω της υψηλότερης συγγένειας με τα κατιόντα που οδηγεί στη σταθεροποίηση της δομής της πηκτίνης (Celus et al., 2018). Επιπροσθέτως, όταν στην εκχύλιση χρησιμοποιείται οργανικό οξύ, εξαιτίας της χαμηλότερης σταθεράς διάστασης αυτού, αναμένεται χαμηλότερη ικανότητα υδρόλυσης, και κατ' επέκταση, χαμηλότερη απόδοση εκχύλισης (Picot-Allain et al., 2020). Στην παρούσα περίπτωση, αυτό παρατηρήθηκε μόνο στις εκχυλίσεις που πραγματοποιήθηκαν σε PMA. Από την άλλη, οι Yang et al. (2018) αναφέρουν υψηλότερες αποδόσεις για τις CAE λόγω των χηλικών ιδιοτήτων του κιτρικού οξέος. Τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής δείχνουν πως η δομή και η σύνθεση της πρώτης ύλης επηρέασαν τις μεθόδους εκχύλισης που πραγματοποιήθηκαν.

Οι CAE πηκτίνες παρουσίασαν χαμηλότερες τιμές περιεχόμενου σε GalA και DE από τις HAE πηκτίνες. Η χρήση ενός οργανικού οξέος, όπως είναι το κιτρικό οξύ, είναι πιθανό να προκαλέσει ηπιότερη αποικοδόμηση των αλυσίδων ουδέτερων σακχάρων σε σχέση με τη χρήση ενός ισχυρού οξέος, όπως είναι το υδροχλωρικό οξύ, οδηγώντας σε χαμηλότερο κλάσμα γαλακτουρονικού οξέος σε μεμονωμένες αλυσίδες (Seixas et al., 2014). Επιπλέον, δεδομένου ότι το περιεχόμενο σε GalA είναι ενδεικτικό της καθαρότητας της πηκτίνης (Devi et al., 2014), μία χαμηλή τιμή αυτού υποδεικνύει την ύπαρξη πρωτεϊνών, αμύλου ή σακχάρων στην απομονωμένη πηκτίνη (Thu Dao et al., 2021). Σχετικά με τον DE, όπως αναφέρεται στην βιβλιογραφία, τα ανόργανα οξέα είναι πιθανό να οδηγούν σε χαμηλότερες τιμές DE σε αντίθεση με τα οργανικά οξέα, μέσω απομεθυλίωσης και κατακερματισμού των πολυγαλακτουρονικών αλυσίδων (Belkheiri et al., 2021). Όταν, όμως, οι χαμηλότερες τιμές DE προκύπτουν από CAE και όχι από HAE, τότε πιθανολογείται πως η δομή της πηκτίνης και το πώς αυτή επηρεάζεται από τα διάφορα οξέα, αποτελεί τον σημαντικότερο παράγοντα (Yang et al., 2018).

Ακολούθως, προσδιορίστηκαν το εσωτερικό ιξώδες  $[\eta]$  και το μοριακό βάρος ( $M_w$ ) των πηκτινών (**Πίνακας 4.1**). Το εσωτερικό ιξώδες είχε χαμηλές τιμές, που κυμάνθηκαν από 0,3 έως 0,8 dL/g. Κατ' επέκταση, και το μοριακό βάρος είχε χαμηλές τιμές, οι οποίες κυμάνθηκαν από 5 έως 15 kg/mol. Στη βιβλιογραφία, το μοριακό βάρος εμπορικών πηκτινών διαφόρων DE αντιπροσωπεύεται από υψηλότερες τιμές, όπως για παράδειγμα τιμές των  $190 \pm$



30 kg/mol (Morris et al., 2000) και των  $195 \pm 5$  kg/mol (Morris et al., 2008). Οι Harding et al. (1991) ανέφεραν πως το μοριακό βάρος της πηκτικής εσπεριδοειδών ήταν από 20 έως 200 kg/mol. Στην παρούσα διατριβή, οι πηκτίνες που προέκυψαν από εκχύλιση οργανικού οξέος (B και E) είχαν μικρότερο μοριακό βάρος από εκείνες που απομονώθηκαν με τη βοήθεια ανόργανου οξέος. Το γεγονός αυτό μπορεί να προέκυψε ως αποτέλεσμα της μεγάλης χρονικής διάρκειας της μεθόδου CAE, η οποία μπορεί να οδήγησε σε αποικοδόμηση του μορίου της πηκτικής και μείωση του μοριακού βάρους (Bagherian et al., 2011, Fishman et al., 1999).

Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε μέτρηση του pH των διαλυμάτων (1% w/w) πηκτίνης A – F (Πίνακα 4.1). Το pH όλων το διαλυμάτων ήταν όξινο (2,6 – 4,4), γεγονός αναμενόμενο αφού η πηκτίνη είναι ένας ανιονικός ετεροπολυσακχαρίτης. Και για τις δύο πρώτες ύλες, οι MAE πηκτίνες παρουσίασαν τις χαμηλότερες τιμές pH (~2,7, χωρίς στατιστική διαφορά μεταξύ των δύο πρώτων υλών), και οι HAE πηκτίνες τις υψηλότερες (4,4 και 3,5 για την πηκτίνη A και D, αντίστοιχα). Ο DE των πηκτινών μπορεί να εξηγήσει μερικώς τη διακύμανση που παρατηρείται στις τιμές του pH. Επιπλέον, μελέτες έχουν δείξει ότι όταν έντονες συνθήκες, όπως η χρήση ισχυρού οξέος και η εφαρμογή υψηλών θερμοκρασιών για μεγάλο χρονικό διάστημα, χρησιμοποιούνται για την εκχύλιση πηκτινών, είναι πιθανό να εξαχθούν και άλλες ουσίες (Chan & Choo, 2013), οι οποίες θα συμβάλλουν κι αυτές στο pH κάθε δείγματος.

Το Σχήμα 4.1 παρουσιάζει τις χρωματικές παραμέτρους για τα διαλύματα (1% w/w) των πηκτινών A – F. Το [L\*] παρουσίασε μικρή διακύμανση μεταξύ των πηκτινών και κυμάνθηκε από ~50,7 έως ~57,3. Το [a\*] κυμάνθηκε από 0,7 έως 9,2 και το [b\*] από 16,7 έως 39. Για τις παραμέτρους [a\*] και [b\*], οι πηκτίνες A – C, που παρελήφθησαν από PMA, είχαν μεγαλύτερες τιμές από τις αντίστοιχες πηκτίνες που παρελήφθησαν από PMWOW. Επιπλέον, οι τιμές τους αρχικά αυξήθηκαν με την σειρά A<B<C και στη συνέχεια, μειώθηκαν με την σειρά C>D>E. Τα διαλύματα πηκτίνης F έδειξαν μεγαλύτερες τιμές [a\*] και [b\*] από τα διαλύματα πηκτίνης D και E. Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω, προκύπτει το συμπέρασμα πως η πηγή της πηκτικής και η μέθοδος παραλαβής της μέσω εκχύλισης, άσκησαν σημαντική επιρροή στο χρώμα της.

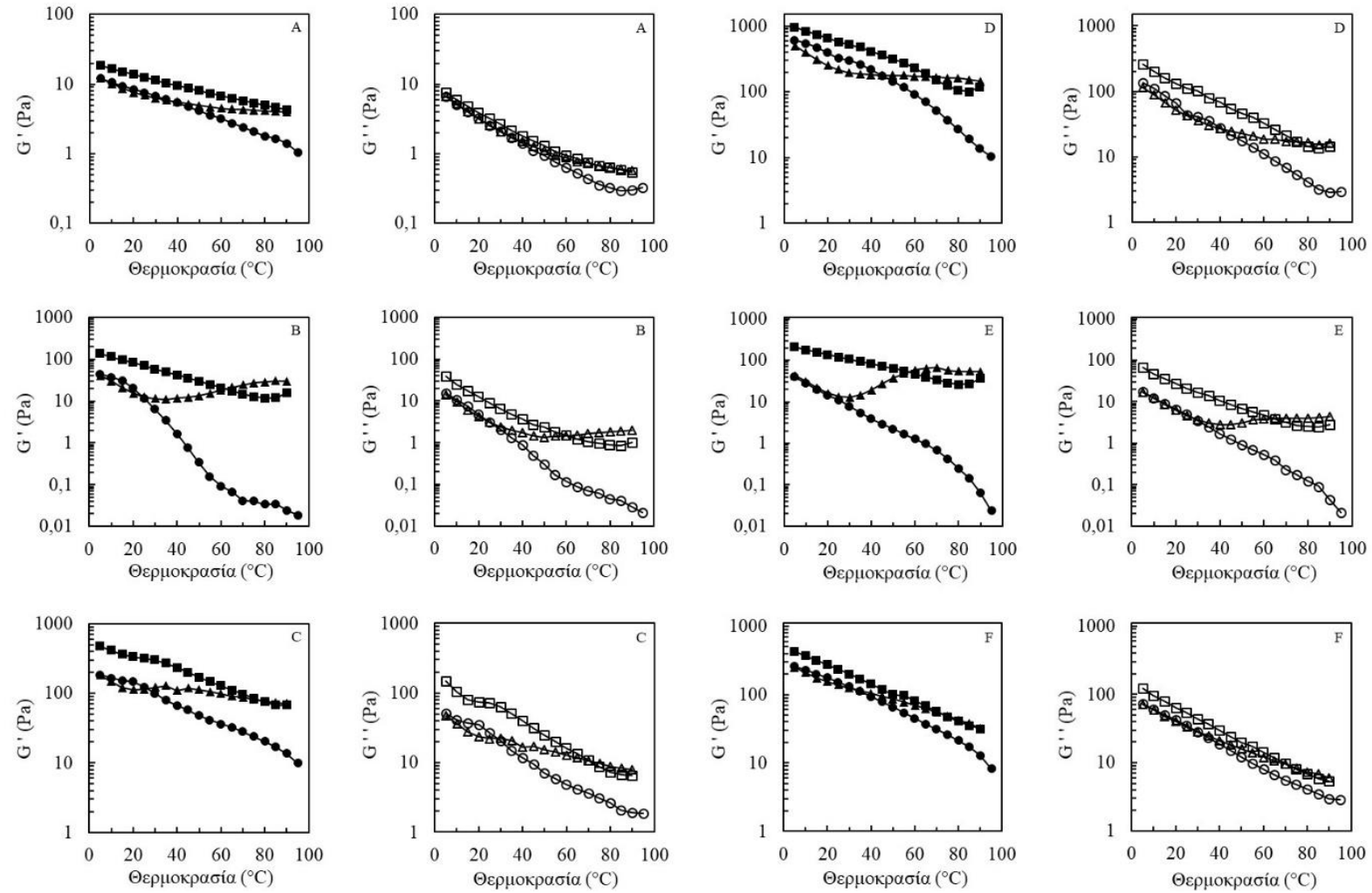
Στο επόμενο βήμα, πηκτές και γαλακτώματα με πηκτίνες A – F παρασκευάστηκαν και μελετήθηκαν. Οι πηκτίνες υψηλής μεθυσίωσης απαιτούν τουλάχιστον 55% διαλυτά στερεά, δηλαδή σάκχαρα και πολυόλες, και χαμηλό pH (< 4) για να σχηματίσουν δίκτυο πηκτικής. Συνήθως, οι συνθήκες που χρησιμοποιούνται είναι η παρουσία 65% w/w σακχαρόζης και όξινο pH (~3). Οι συνθήκες αυτές επιλέχθηκαν και για την παρούσα διατριβή, για τον σχηματισμό

πηκτών από διαλύματα (1% w/w) πηκτινών A – F. Ρεολογικά πειράματα μικρής παραμόρφωσης πραγματοποιήθηκαν για την μελέτη του σχηματισμού της δομής και της θερμικής σταθερότητας των πηκτών που προέκυψαν. Οι τιμές των μέτρων  $G'$  και  $G''$  καταγράφηκαν έπειτα από την αρχική ψύξη των δειγμάτων στους  $5^{\circ}\text{C}$ , την θέρμανση στους  $90^{\circ}\text{C}$  και την εκ νέου ψύξη στους  $5^{\circ}\text{C}$ . Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο **Σχήμα 4.2**. Επίσης, τα μηχανικά φάσματα που ελήφθησαν στο τέλος κάθε σταδίου, παρουσιάζονται στο **Σχήμα 4.3**.

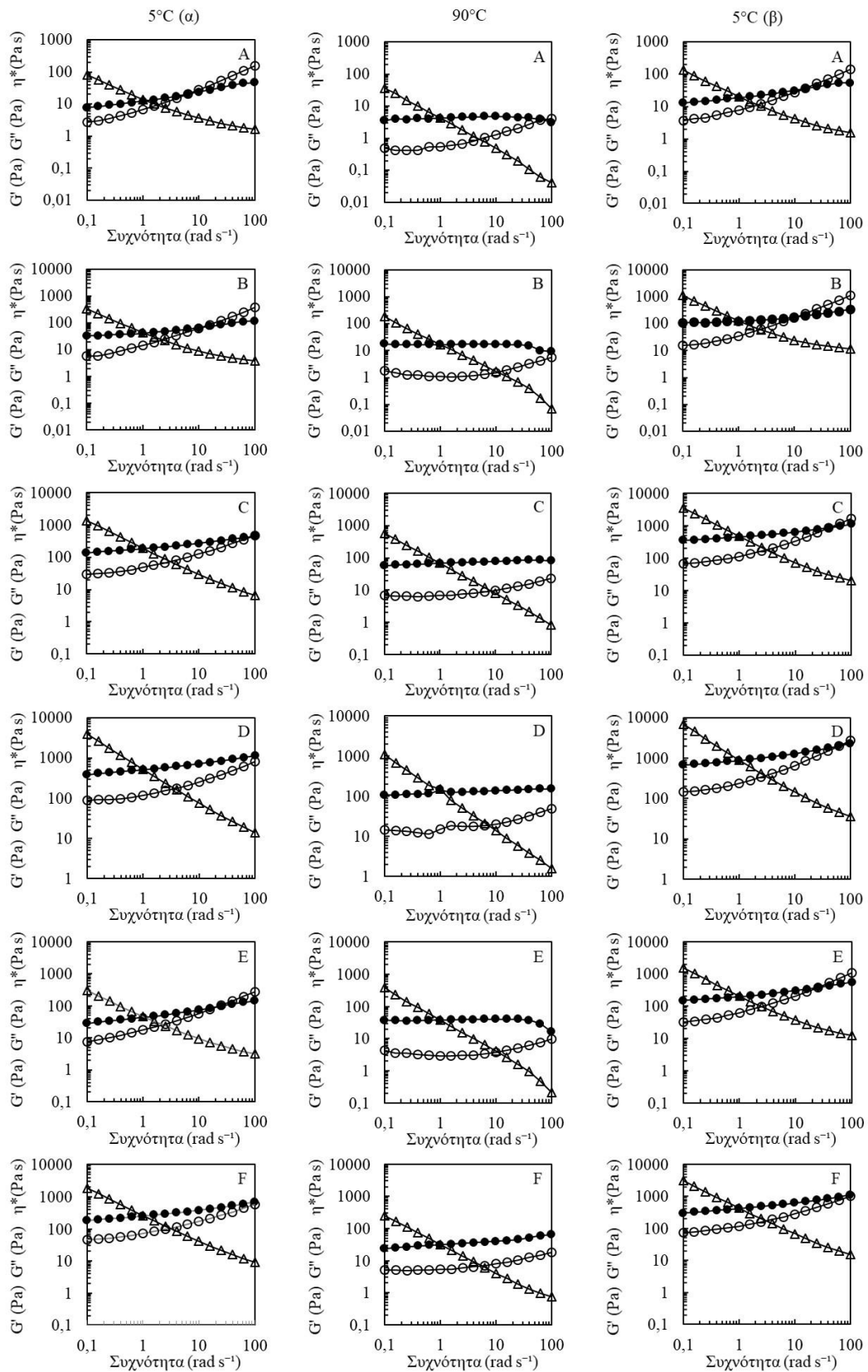
Τα δείγματα, κατά τη εισαγωγή τους στο ρεόμετρο ( $95^{\circ}\text{C}$ ), αν και ρευστά, έδειξαν χαρακτήρα που μοιάζει με πηκτή (gel-like), ο οποίος, όμως, ήταν δεν ήταν τόσο εμφανής για τις πηκτίνες E και B. Για όλες τις πηκτίνες, κατά την αρχική ψύξη, και τα μέτρα  $G'$  και  $G''$  αυξήθηκαν με τη μείωση της θερμοκρασίας λόγω της αύξησης του αριθμού των ζωνών διασταύρωσης και του σταδιακού σχηματισμού δικτύου (**Σχήμα 4.2**). Ταυτόχρονα, για όλες τις θερμοκρασίες, το  $G'$  ήταν μεγαλύτερο του  $G''$ , κι έτσι, στο τέλος της ψύξης, παρατηρήθηκε σχηματισμός πηκτής.

Κατά την επακόλουθη θέρμανση από τους  $5^{\circ}\text{C}$  στους  $90^{\circ}\text{C}$ , αρχικά, και για όλα τα δείγματα, τα μέτρα  $G'$  και  $G''$  μειώθηκαν με την αύξηση της θερμοκρασίας. Η μείωση αυτών αποδίδεται στο ότι οι ζώνες διασταύρωσης που είχαν σχηματιστεί κατά την ψύξη, ξεκίνησαν να αποικοδομούνται με την αύξηση της θερμοκρασίας. Σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των  $\sim 40^{\circ}\text{C}$ , και τα δύο μέτρα παρέμειναν πρακτικά σταθερά για τις πηκτές από πηκτίνες A, C, D και F. Οι πηκτές πηκτίνης υψηλής μεθυλίωσης είναι θερμικά μη αντιστρεπτές, δηλαδή δεν λιώνουν, γι' αυτό και η παρατήρηση αυτή ήταν αναμενόμενη. Για τις πηκτές από πηκτίνες B και E, όμως, σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των  $\sim 40^{\circ}\text{C}$ , και τα δύο μέτρα σημείωσαν αύξηση.

Σύμφωνα με τα μηχανικά φάσματα που φαίνονται στο **Σχήμα 4.3**, οι τιμές στους  $90^{\circ}\text{C}$  ήταν κοντινές ή υψηλότερες από εκείνες στους  $5^{\circ}\text{C}$ , μία παρατήρηση που συμφωνεί με τα ευρήματα του **Σχήματος 4.2**. Ωστόσο, για όλες τις πηκτίνες, το φάσμα στους  $90^{\circ}\text{C}$  είχε την τυπική μορφή πηκτής βιοπολυμερούς, ενώ το φάσμα στους  $5^{\circ}\text{C}$  εμφάνισε μειωμένο χαρακτήρα πηκτής, αφού η απόσταση μεταξύ των  $G'$  και  $G''$  ήταν μικρότερη, και τα δύο μέτρα φάνηκε να εξαρτώνται περισσότερο από την συχνότητα. Τα αποτελέσματα αυτά είναι ενδεικτικά του διαφορετικού χαρακτήρα του συστήματος σε χαμηλή και υψηλή θερμοκρασία ο οποίος σχετίζεται με τις μεταβολές που μπορεί να υφίστανται οι διαμοριακές αλληλεπιδράσεις κατά την θέρμανση. Παρόμοια ευρήματα έχουν παρουσιάσει και οι Evageliou et al. (2000).



**Σχήμα 4.2.** Διακύμανση των μέτρων  $G'$  (γεμάτα σύμβολα) και  $G''$  (κενά σύμβολα) των δειγμάτων 1% w/w πηκτινης (A – F), παρουσία 65% w/w σακχαρόζης και σε pH 3, κατά την ψύξη από τους 95°C έως τους 5°C (●, ○), την θέρμανση έως τους 90°C (■, □) και την επαναψύξη μέχρι τους 5°C (▲, Δ).



**Σχήμα 4.3.** Μηχανικά φάσματα που παρουσιάζουν την μεταβολή των  $G'$  (●),  $G''$  (○) και του  $\eta^*$  (Δ) συναρτήσει της συχνότητας, για τα δείγματα 1% w/w πηκτίνης (A – F) σε pH 3, παρουσία 65% w/w σακχαρόζης, στο τέλος των σταδίων αρχικής ψύξης [5°C (α)], θέρμανσης (90°C) και επαναψύξης [5°C (β)].

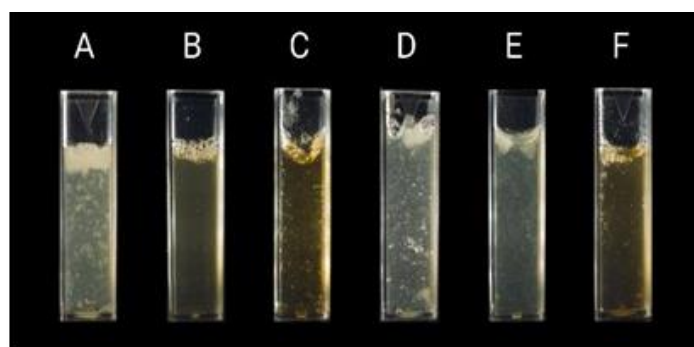
Όταν τα δείγματα που θερμάνθηκαν στους 90°C, επαναψύχθηκαν στους 5°C (**Σχήμα 4.2**), τόσο το G' όσο και το G'' όλων των δειγμάτων, σημείωσαν αύξηση με τη μείωση της θερμοκρασίας. Συνολικά, οι τελικές τιμές του G' στο τέλος της δεύτερης ψύξης ήταν υψηλότερες από τις αντίστοιχες τιμές στο τέλος της πρώτης ψύξης. Τα μηχανικά φάσματα όλων των πηκτινών στο τέλος της δεύτερης ψύξης έχουν την ίδια μορφή με αυτά στο τέλος της πρώτης ψύξης, αλλά με μεγαλύτερες τιμές των G' και G'' (**Σχήμα 4.3**).

Η πηκτωματοποίηση της πηκτίνης υψηλής μεθυλίωσης περιλαμβάνει τη δημιουργία ενός τρισδιάστατου δικτύου όπου συγκρατούνται μόρια νερού, σάκχαρα και άλλες διαλυμένες ουσίες. Η ίδια η πηκτίνη, δηλαδή η σύσταση, το μέγεθος και η δομή της, επηρεάζουν τον σχηματισμό του δικτύου αυτού (Axelos & Thibault, 1991). Το δίκτυο συγκρατείται με τη βοήθεια δεσμών υδρογόνου και υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων. Ο σχηματισμός δεσμών υδρογόνου σχετίζεται με τη διαμόρφωση των γειτονικών μονάδων GalA στην αλυσίδα της πηκτίνης, ενώ οι υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις προκύπτουν από τη μη ευνοϊκή αλληλεπίδραση μεταξύ των μη πολικών μεθυλεστερών της πηκτίνης και των μορίων νερού (Chan et al., 2017). Έτσι, ο DE επηρεάζει την τάση της πηκτίνης να σχηματίζει πηκτή. Ένας ακόμη σημαντικός παράγοντας είναι και το μοτίβο κατανομής των μεθυλεστεροποιημένων μονάδων. Οι πηκτίνες στις οποίες οι μεθυλεστερομάδες δεν είναι τυχαία κατανεμημένες αλλά βρίσκονται συγκεντρωμένες σε συγκεκριμένα τμήματα της αλυσίδας (blocks), σχηματίζουν ισχυρότερες πηκτές (Löfgren et al., 2005, Slavon et al., 2009). Άλλοι σημαντικοί παράγοντες για τη πηκτωματοποίηση της πηκτίνης αποτελούν ο χρόνος, το pH και η θερμοκρασία.

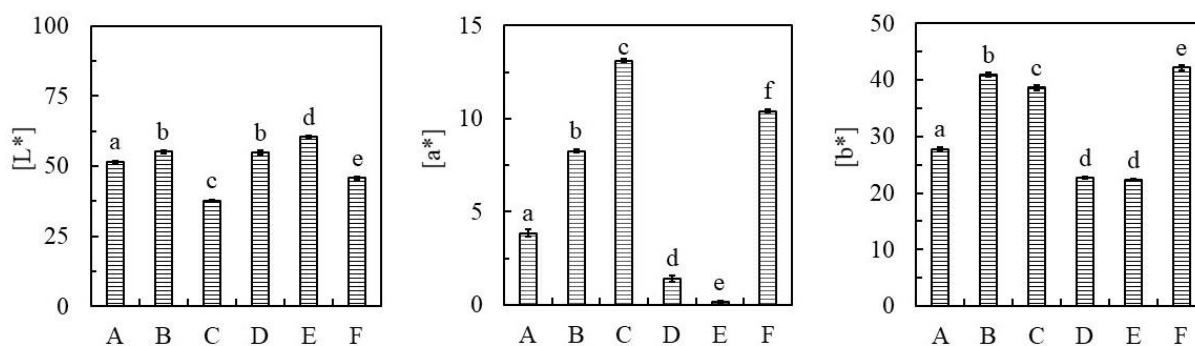
Σύμφωνα με τα παραπάνω ευρήματα, ο DE και το μοριακό βάρος επηρέασαν τις ιδιότητες των πηκτών. Έτσι, οι πηκτίνες C, D και F, που είχαν υψηλές τιμές DE, οδήγησαν σε ισχυρότερες πηκτές σε σύγκριση με τις πηκτίνες B και E, που είχαν χαμηλότερες τιμές DE. Ωστόσο, η πηκτίνη A (με DE ~78%) σχημάτισε αδύναμο δίκτυο, γεγονός που μπορεί να αποδοθεί στο χαμηλό μοριακό βάρος της πηκτίνης αυτής, όπως φαίνεται στον **Πίνακα 4.1**.

Μια άλλη παρατήρηση της παρούσας διατριβής είναι ότι οι πηκτές έγιναν ισχυρότερες όταν επαναψύχθηκαν στους 5°C. Αυτή η συμπεριφορά θερμικής αναδιάταξης (thermal annealing) έχει αναφερθεί και από τους Evageliou et al. (2000), οι οποίοι απέδωσαν τα ευρήματα αυτά στο διαχωρισμό των αλληλουχιών αλυσίδας με υψηλό και χαμηλό περιεχόμενο σε εστέρες, κατά τη διάρκεια του θερμικού κύκλου, με τις λιγότερο έντονα εστεροποιημένες περιοχές να δίνουν ισχυρότερες συνδέσεις πηκτινικού οξέος στους 5°C.

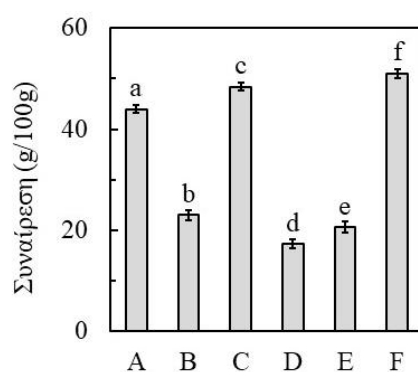
Σχετικά με την επίδραση της θέρμανσης στις πηκτές πηκτίνης υψηλής μεθυλίωσης, είναι γνωστό πως οι πηκτές αυτές είναι θερμικά μη αντιστρεπτές. Γενικά, η θερμική υστέρηση αποδίδεται στην παρουσία μεγάλων δομών που σταθεροποιούν το δίκτυο που σχηματίζεται κατά την ψύξη (Morris et al., 1980). Όπως έχει ήδη αναφερθεί, οι πηκτίνες A, C, D και F της παρούσας διατριβής παρουσίασαν αυτή τη θερμική σταθερότητα (**Σχήμα 4.2**). Αντίθετα, οι πηκτίνες B και E απέκλιναν από αυτήν την συμπεριφορά καθώς πάνω από συγκεκριμένη θερμοκρασία παρατηρήθηκε αύξηση των τιμών των μέτρων. Όπως αναφέρουν οι Evageliou et al. (2000), από τους δύο τύπους αλληλεπιδράσεων που σταθεροποιούν μια πηκτή πηκτίνης υψηλής μεθυλίωσης, ο ένας σταθεροποιείται με την αύξηση της θερμοκρασίας (υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις) ενώ ο άλλος αποσταθεροποιείται (δεσμοί υδρογόνου και άλλοι θερμικά ασταθείς, μη ομοιοπολικοί τύποι αλληλεπιδράσεων). Αυτές οι αλλαγές στη διαμοριακή σύνδεση κατά τη θέρμανση μπορούν, επίσης, να εξηγήσουν τις διαφορές στον χαρακτήρα του δικτύου σε χαμηλή και υψηλή θερμοκρασία, όπως υποδηλώνεται από τα αντίστοιχα μηχανικά φάσματα. Στην μελέτη των Evageliou et al. (2000), η συμπεριφορά αυτή επηρεαζόταν από το pH και την συγκέντρωση της σακχαρόζης. Στην παρούσα διατριβή, όμως, όλες οι πηκτές παρασκευάστηκαν σε pH 3 και παρουσία 65% (w/w) σακχαρόζης. Κατ' επέκταση, και άλλοι παράγοντες φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο. Όπως φαίνεται στον **Πίνακα 4.1**, οι CAE πηκτίνες που παρουσιάζουν αυτή τη συμπεριφορά, χαρακτηρίζονται από τις χαμηλότερες τιμές DE, περιεχόμενου σε GalA και μοριακού βάρους. Ακόμη, οι πηκτίνες αυτές είχαν διαφορετική πορεία σχηματισμού της δομής τους κατά την πρώτη ψύξη, καθώς ξεκίνησαν (στη θερμοκρασία εισαγωγής στο ρεόμετρο των 95°C) με χαμηλές τιμές G' και G'', το δίκτυο πηκτής σχηματίστηκε πιο σταδιακά, ενώ είχαν και τον λιγότερο εμφανή χαρακτήρα που μοιάζει με πηκτή (gel-like behaviour), σε σχέση με τις άλλες πηκτίνες. Τα αποτελέσματα αυτά μπορούν να αποδοθούν στον χαμηλό DE και το χαμηλό μοριακό βάρος των πηκτινών αυτών, καθώς είναι πιθανό να επηρέασαν τον σχηματισμό και την σταθερότητα των ζωνών διασταύρωσης. Η συμπεριφορά που επέδειξαν κατά τη θέρμανση είναι πιθανό να σχετίζεται με την κατανομή των μεθυλομάδων στην αλυσίδα της πηκτίνης, καθώς οι περιοχές της αλυσίδας με υψηλή περιεκτικότητα σε εστέρα αναμένεται να συμμετείχαν, κατά προτίμηση, στην υδρόφοβη αλληλεπίδραση, η οποία μπορεί να οδήγησε στη σταθερότητα του υδρόφοβου δικτύου σε υψηλή θερμοκρασία.



**Εικόνα 4.1.** Πηκτές από τις πηκτίνες A – F



**Σχήμα 4.4.** Χρωματικές παράμετροι ([L\*], [a\*], [b\*]) των πηκτών. [Οι τιμές με διαφορετικό εκθέτη για κάθε ιδιότητα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά ( $p < 0,05$ ).]



**Σχήμα 4.5.** Συναίρεση των πηκτών των δειγμάτων πηκτίνης A – F. [Οι τιμές με διαφορετικό εκθέτη για κάθε ιδιότητα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά ( $p < 0,05$ ).]

Οι χρωματικές παράμετροι των πηκτών καταγράφηκαν, επίσης, και παρουσιάζονται στο **Σχήμα 4.4**. Το [L\*] κυμάνθηκε από 37,7 έως 60,5, το [a\*] από 0,2 έως 13,1, και το [b\*] από 22,3 έως 42,2. Γενικά, οι πηκτές των διάφορων πηκτινών (**Εικόνα 4.1**) διέφεραν ως προς το χρώμα. Οι πηκτές που παρουσίασαν χρωματική ομοιότητα μεταξύ τους προέκυψαν από πηκτίνες που παρελήφθησαν μέσω της ίδιας μεθόδου εκχύλισης, ανεξάρτητα από την πρώτη ύλη. Όλες οι πηκτές, εκτός από την C και την F, δεν διέφεραν πολύ ως προς τη φωτεινότητα σε σύγκριση με τα διαλύματα πηκτίνης. Οι άλλες δύο παράμετροι χρώματος ήταν υψηλότερες στις πηκτές σε σχέση με τα διαλύματα.

Η συναίρεση είναι ένα φαινόμενο που μπορεί να παρατηρηθεί σε πηκτές βιοπολυμερών. Χαρακτηρίζεται από την αυθόρμητη απελευθέρωση του ακινητοποιημένου νερού από το δίκτυο πηκτής (Ako, 2015). Στην παρούσα μελέτη, για τις μετρήσεις της συναίρεσης, το ποσοστό της απώλειας νερού καταγράφηκε 24 h μετά την παρασκευή των πηκτών, και οι αντίστοιχες τιμές παρουσιάζονται στο **Σχήμα 4.5**. Η συναίρεση ακολούθησε την εξής σειρά:  $F > C > A > B > E > D$ . Γενικά, η συναίρεση αποτελεί ένα ανεπιθύμητο φαινόμενο, αλλά συνήθως γίνεται αποδεκτός ο συμβιβασμός της απώλειας 10 g νερού ανά 100 g δείγματος (Figueroa & Genovese, 2018). Όλα τα δείγματα, στην παρούσα περίπτωση, υπερέβησαν το αποδεκτό αυτό όριο, με τιμές συναίρεσης από ~17 έως ~52%.

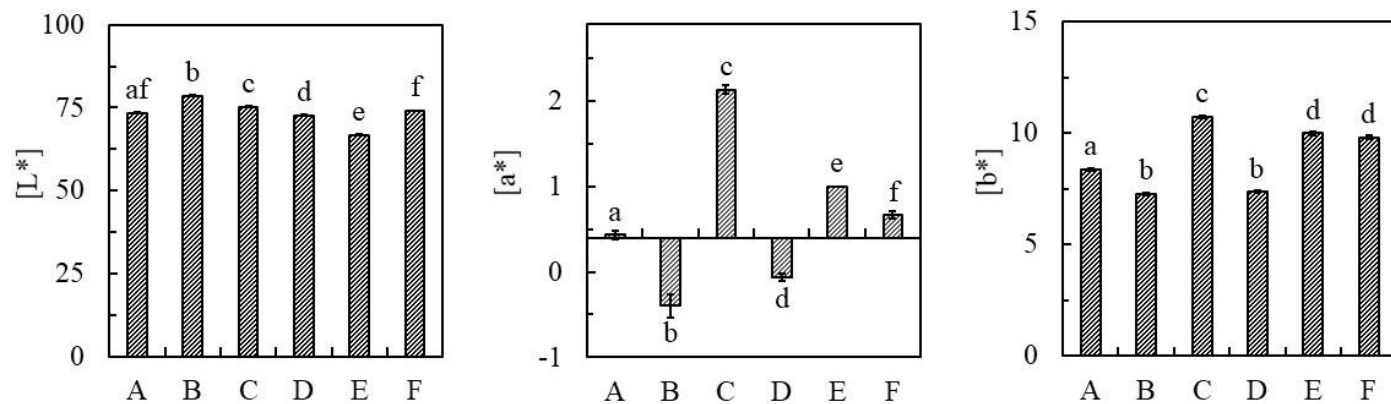
Τόσο οι συνθήκες εκχύλισης όσο και η πρώτη ύλη, επηρέασαν σημαντικά το φαινόμενο της συναίρεσης. Εντονότερη συναίρεση παρατηρήθηκε στις πηκτές των ΜΑΕ πηκτινών (C και F), ενώ οι χαμηλότερες τιμές αντιστοιχούν στις πηκτίνες E και D που προήλθαν από PMWOW. Είναι γνωστό πως οι πηκτές πηκτίνης παρουσιάζουν συναίρεση κατά την αποθήκευση ως αποτέλεσμα παλαίωσης (Rao et al., 1993). Η συναίρεση μπορεί να αποδοθεί στην αναδιοργάνωση κάποιων δεσμών εντός του δικτύου πηκτής, σε διαδικασίες επαναδόμησης μέσω αλληλεπιδράσεων διμερών ή αναδιάταξης (Kastner et al., 2014), καθώς επίσης και στη διάχυση του νερού στην επιφάνεια της πηκτής και την εξάτμισή του. Για τις πηκτές πηκτίνης, ενδογενείς και εξωγενείς παράγοντες φαίνεται να επηρεάζουν την ακινητοποίηση του νερού μέσα σε αυτές και έτσι, την συναίρεση. Ο DE, ο βαθμός αμίδωσης, το pH, και τα διαλυτά στερεά είναι μερικοί από τους ενδογενείς παράγοντες. Το εξωτερικό στρες και η θερμοκρασία αποτελούν κάποιους από τους εξωγενείς παράγοντες (Cardoso et al., 2003, Einhorn-Stoll, 2018, O'Brien et al., 2009). Τα δομικά συστατικά των φλοιών πορτοκαλιού, που εκχυλίστηκαν μαζί με την πηκτίνη, θα μπορούσαν να έχουν επηρεάσει την συναίρεση λόγω των αλληλεπιδράσεών τους με το νερό. Για άλλη μια φορά, η κατανομή των μεθυλομάδων στις πηκτίνες B και E μπορεί να αποτέλεσε παράγοντα για την ακινητοποίηση του νερού στις



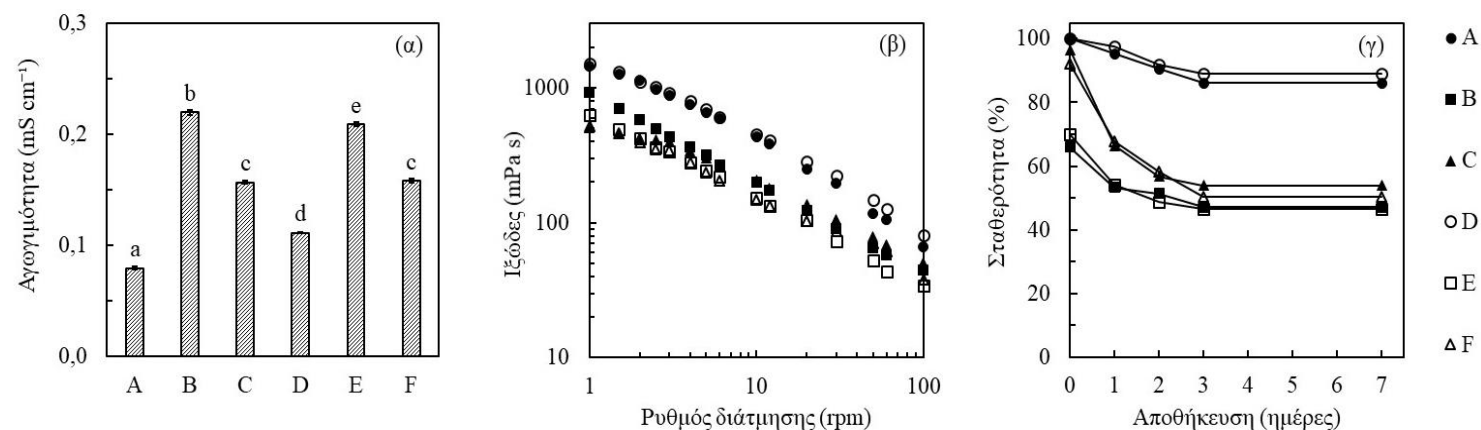
πηκτές τους. Οι μηχανικές ιδιότητες των πηκτών, οι οποίες καθορίζονται από τον τύπο, το πλήθος, το μήκος και την κατανομή των ζωνών διασταύρωσης που δημιουργούνται κατά τον σχηματισμό του δικτύου πηκτής, είναι επίσης σημαντικές, καθώς σχετίζονται με το μέγεθος των κενών που προκύπτουν στο δίκτυο, και επομένως, με την ποσότητα του νερού που υπάρχει σε αυτό. Το μέτρο απώλειας, δηλαδή το  $\tan\delta$  ( $= G''/G'$ ), μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση της συναίρεσης. Οι χαμηλές τιμές  $\tan\delta$  υποδηλώνουν πιο εύθραυστες πηκτές και επομένως, υψηλότερες τιμές συναίρεσης (Kastner et al., 2012). Βάσει των παραπάνω, η μικρή συναίρεση που παρατηρήθηκε στην ισχυρότερη πηκτή D, μπορεί να αποδοθεί στις υψηλές τιμές του DE και του μοριακού βάρους της πηκτικής D. Βάσει των τιμών  $\tan\delta$ , μπορεί να εξηγηθεί και η μεγαλύτερη συναίρεση της πηκτής F συγκριτικά με την E, αλλά και εκείνη της πηκτής C σε σύγκριση με τις A και B. Συνολικά, μπορούμε να υποθέσουμε πως κυρίαρχοι σε αυτό το φαινόμενο ήταν οι ενδογενείς παράγοντες, λαμβάνοντας υπόψη την απουσία των εξωγενών.

Το επόμενο βήμα περιελάμβανε την παρασκευή ο/w γαλακτωμάτων χρησιμοποιώντας τις πηκτίνες A – F (διάλυμα 1% w/w) και ηλιέλαιο. Η μελέτη των ιδιοτήτων τους ξεκίνησε με τον προσδιορισμό του χρώματος. Τα αποτελέσματα για όλες τις χρωματικές παραμέτρους παρουσιάζονται στο **Σχήμα 4.6**. Η φωτεινότητα [ $L^*$ ] κυμάνθηκε από 66,8 έως 78,6, το [ $a^*$ ] από -0,8 έως 1,7 και το [ $b^*$ ] από 7,3 έως 10,7. Συγκριτικά με τα διαλύματα (1% w/w) πηκτικής που παρουσιάζονται στο **Σχήμα 4.1**, τα γαλακτώματα ήταν φωτεινότερα. Επιπλέον, οι παράμετροι [ $a^*$ ] και [ $b^*$ ] σημείωσαν χαμηλότερες τιμές (και πλησιέστερες στο μηδέν) σε σχέση με τις αντίστοιχες τιμές των διαλυμάτων πηκτικής, προφανώς λόγω του χαρακτηριστικού λευκού χρώματος των γαλακτωμάτων. Σαφής τάση μεταξύ του χρώματος και της πρώτης ύλης ή/και της μεθόδου εκχύλισης πηκτικής δεν εντοπίστηκε.

Για την αξιολόγηση της επίδρασης των πηκτινών A–F στον σχηματισμό γαλακτωμάτων, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις του ιξώδους, της αγωγιμότητας και της σταθερότητας των γαλακτωμάτων που παρασκευάστηκαν παρουσία 1% (w/w) διαλύματος πηκτινών A – F. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο **Σχήμα 4.7**. Συγκεκριμένα, από το **Σχήμα 4.7 (α)**, το οποίο δείχνει την αγωγιμότητα των γαλακτωμάτων, προκύπτει πως οι συνθήκες εκχύλισης, και όχι η πρώτη ύλη που χρησιμοποιήθηκε για την εκχύλιση της πηκτικής, ήταν στατιστικά σημαντικός παράγοντας για την αγωγιμότητα των γαλακτωμάτων.



**Σχήμα 4.6.** Χρωματικές παράμετροι ( $[L^*]$ ,  $[a^*]$ ,  $[b^*]$ ) των γαλακτωμάτων. [Οι τιμές με διαφορετικό εκθέτη για κάθε ιδιότητα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά ( $p < 0,05$ ).]



**Σχήμα 4.7.** (α) Η αγωγιμότητα ( $\text{mS cm}^{-1}$ ), (β) το ιξώδες ( $\text{mPa s}$ ) και (γ) η σταθερότητα (%) κατά την αποθήκευση των ο/w γαλακτωμάτων που παρασκευάστηκαν με πηκτίνες A – F. [Οι τιμές με διαφορετικό εκθέτη για κάθε ιδιότητα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά ( $p < 0,05$ ).]

Η υψηλότερη αγωγιμότητα μετρήθηκε για τις πηκτίνες B και E από CAE (0,219 mS/cm και 0,209 mS/cm, αντίστοιχα), ακολουθούμενες από τις πηκτίνες C και F από το MAE (0,157 mS/cm και 0,158 mS/cm, αντίστοιχα) και τις πηκτίνες A και D από HAE (0,079 mS/cm και 0,111 mS/cm, αντίστοιχα), όπως φαίνεται στο **Σχήμα 4.7 (α)**. Έπειτα, στο **Σχήμα 4.7 (β)**, το οποίο δείχνει τις καμπύλες ροής, δηλαδή το ιξώδες συναρτήσει του ρυθμού διάτμησης, των γαλακτωμάτων σε θερμοκρασία δωματίου, παρατηρήθηκε πως όλα τα γαλακτώματα παρουσίασαν ψευδοπλαστική συμπεριφορά. Αυτό μπορεί να οφείλεται στην σταδιακή εξασθένηση της διαμοριακής αντοχής της πηκτίνης κατά τη διάρκεια της μέτρησης. Τα γαλακτώματα με πηκτίνες HAE (A, D) είχαν μεγαλύτερο ιξώδες από τα υπόλοιπα γαλακτώματα. Οι καμπύλες των B, C, E και F δεν ήταν στατιστικά διαφορετικές μεταξύ τους ( $p$ -value > 0,5).

Στο **Σχήμα 4.7 (γ)**, το οποίο δείχνει την σταθερότητα των γαλακτωμάτων κατά την αποθήκευσή τους στους 4°C για 7 ημέρες, εντοπίστηκε πως για άλλη μια φορά, η πρώτη ύλη που χρησιμοποιήθηκε για την εκχύλιση της πηκτίνης αποτέλεσε λιγότερο σημαντικό παράγοντα σε σύγκριση με τις συνθήκες εκχύλισης. Επιπλέον, τα γαλακτώματα με πηκτίνες HAE (A και D) ήταν πιο σταθερά από τα υπόλοιπα, καθώς η σταθερότητά τους ήταν ~90% μετά από 7 ημέρες αποθήκευσης. Οι πηκτίνες MAE (C και F) ακολούθησαν, με σταθερότητα ~55% στο τέλος της αποθήκευσης. Όταν οι πηκτίνες CAE (B και E) ενσωματώθηκαν στο γαλακτώμα, ο διαχωρισμός φάσεων ξεκίνησε αμέσως μετά την παρασκευή και η σταθερότητα έφτασε σε τιμή ~45 – 50% μετά από 7 ημέρες αποθήκευσης.

Ο σχηματισμός και η σταθερότητα των γαλακτωμάτων επιτυγχάνονται μέσω γαλακτωματοποιητών και σταθεροποιητών. Παρ' όλο που οι πρωτεΐνες αποτελούν τους πιο συχνά χρησιμοποιούμενους γαλακτωματοποιητές, και αρκετοί πολυσακχαρίτες μπορούν να έχουν καλή απόδοση ως γαλακτωματοποιητές, μεταξύ αυτών και η πηκτίνη. Η υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και ομάδες ακετυλίου και η εκτεταμένη διακλάδωση ενισχύουν τις γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες της πηκτίνης (Verkempinck et al., 2018). Οι πηκτίνες συμβάλλουν και στην σταθερότητα του γαλακτώματος, κυρίως μέσω αύξησης του ιξώδους της συνεχούς υδατικής φάσης του γαλακτώματος με αποτέλεσμα τη μείωση της κίνησης των σταγονιδίων ελαίου (Guo et al., 2014). Ο DE της πηκτίνης είναι σημαντικό χαρακτηριστικό αφού σχετίζεται με την παρουσία υδρόφοβων ομάδων μεθυλεστέρων. Οι Schmidt et al. (2015) ανέφεραν ότι η αύξηση του DE από ~70 σε ~80% οδήγησε σε αύξηση της ικανότητας γαλακτωματοποίησης μέσω μείωσης του μεγέθους των σωματιδίων. Η ιονική ισχύς και το pH είναι σημαντικά, επίσης, καθώς επηρεάζουν τον ιονισμό των καρβοξυλομάδων κι έτσι, τις

αλληλεπιδράσεις μεταξύ των αλυσίδων πηκτίνης. Για  $pH < pKa$  του γαλακτουρονικού οξέος (δηλαδή για  $pH < \sim 3,5$ ), οι αλυσίδες πηκτίνης είναι οργανωμένες σε συμπαγείς διαμορφώσεις επιτρέποντας την προσέγγιση των υδρόφοβων ομάδων στη διεπιφάνεια νερού - ελαίου και την προσρόφηση σε αυτή. Επιπλέον, αυτές οι διαμορφώσεις προσδίδουν στερική σταθεροποίηση (Alba & Kontogiorgos, 2017). Σημαντικό ρόλο παίζει και το μοριακό βάρος των πηκτινών. Έχει αναφερθεί (π.χ. Akhtar et al., 2002, Yapo et al., 2007) ότι οι πηκτίνες με πολύ χαμηλό ή πολύ υψηλό μοριακό βάρος δεν είχαν καλή απόδοση ως γαλακτωματοποιητές, αφού το μήκος της αλυσίδα τους ήταν μικρό ή μεγάλο, αντίστοιχα, για να είναι αποτελεσματικό.

Στην παρούσα διατριβή, τα πιο σταθερά γαλακτώματα ήταν εκείνα με το μεγαλύτερο ιξώδες και τη χαμηλότερη αγωγιμότητα. Οι αυξημένες τιμές αγωγιμότητας είναι ένδειξη διαχωρισμού φάσης, με τα διασκορπισμένα σταγονίδια ελαίου να συνενώνονται για να σχηματίσουν μια άνω φάση (Kato et al., 1985). Όπως έχει ήδη αναφερθεί, οι γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες της πηκτίνης επηρεάζονται από πολλούς παράγοντες. Συνολικά, λόγω της δομικής πολυπλοκότητας του μορίου της πηκτίνης, δεν μπορούν να γίνουν σαφείς συσχετίσεις μεταξύ της δομής και της ικανότητας γαλακτωματοποίησης. Στην παρούσα διατριβή, οι κρίσιμοι παράγοντες για τη σταθερότητα του γαλακτώματος φαίνεται να ήταν ο DE και η μέθοδος εκχύλισης, καθώς τα λιγότερο σταθερά γαλακτώματα σχηματίστηκαν με τις πηκτίνες C και F από CAE, οι οποίες είχαν τα χαμηλότερα DE, και τα πιο σταθερά γαλακτώματα σχηματίστηκαν με τις πηκτίνες A και D από HAE, που είχαν τα μεγαλύτερα DE.

#### 4.1.2. Παραλαβή Πηκτινών με Πράσινες Μεθόδους Εκχύλισης και Αξιοποίηση Αυτών στην Παρασκευή Εδώδιμων Μεμβρανών

##### 4.1.2.1. Παραλαβή Πηκτινών από Μεσοκάρπια Φλούδων Πορτοκαλιών με τη Βοήθεια Μικροκυμάτων, Υπερήχων ή Συνδυασμού Αυτών

Η παραλαβή πηκτίνης, σε εμπορική κλιμακα, μέσω εκχύλισης με οξινισμένο νερό υπό θέρμανση, συνδέεται με έναν αριθμό ζητημάτων, κυρίως περιβαλλοντικών, με αποτέλεσμα νέες μέθοδοι εκχύλισης να αρχίζουν να χρησιμοποιούνται. Ο σκοπός της παρούσας Ενότητας ήταν η διερεύνηση της επίδρασης των μεθόδων εκχύλισης με μικροκύματα (MAE), υπερήχους (UAE) και με υπερήχους-μικροκύματα (UMAE), στην απόδοση εκχύλισης αλλά και σε βασικά ποιοτικά χαρακτηριστικά των πηκτινών που προέκυψαν.

Πιο συγκεκριμένα, πηκτίνες απομονώθηκαν από μεσοκάρπια φλούδων πορτοκαλιών (PMA) μέσω MAE, UAE και UMAE, υπό 14 διαφορετικές πειραματικές συνθήκες (**Πίνακας 3.4, § 3.2.1**). Εκτός του τρόπου παραλαβής, οι παράγοντες που μελετήθηκαν ήταν η ισχύς των μικροκυμάτων και των υπερήχων, η αναλογία στερεού προς υγρό (SLR) και η διάρκεια της εκχύλισης. Ο **Πίνακας 4.2** παρουσιάζει την απόδοση παραλαβής των πηκτινών για κάθε μία από τις 14 πειραματικές συνθήκες καθώς και το βαθμό εστεροποίησης (DE) των πηκτινών που προέκυψαν. Για τη διευκόλυνση της παρουσίασης των αποτελεσμάτων ο Πίνακας επίσης παρουσιάζει περιληπτικά τις πειραματικές συνθήκες της κάθε παραλαβής.

Η απόδοση παραλαβής, σύμφωνα με τον **Πίνακα 4.2**, κυμάνθηκε από 10,33 – 19,30% για την MAE, 9,67 – 19,30% για την UAE και 11,60 – 18,47% για την UMAE. Επίσης, ο DE κυμάνθηκε από 50,63 – 74,91% για την MAE, 66,30 – 73,40% για την UAE και 45,30 – 72,41% για την UMAE.

Σχετικά με την MAE, σε δείγματα ίδιου SLR και pH (1:20 w/v και 1,5, αντίστοιχα) που ακτινοβολήθηκαν για 3 min με ισχύ 620, 750 ή 850 W, παρατηρήθηκε πως η αύξηση της ισχύος οδήγησε σε αύξηση της απόδοσης της εκχύλισης (**Πίνακας 4.2**). Υψηλότερες τιμές απόδοσης καταγράφηκαν, επίσης, όταν το SLR αυξήθηκε από 1:15 σε 1:30 (620 W, 3 min) (10 – 19%), ενώ το αντίθετο παρατηρήθηκε όταν ο χρόνος εκχύλισης αυξήθηκε από τα 3 στα 6 min (620 W, SLR 1:20 w/v).

**Πίνακας 4.2.** Πειραματικές συνθήκες, απόδοση παραλαβής (%) και βαθμός εστεροποίησης (DE, %) των πηκτινών που απομονώθηκαν [MAE: εκχύλιση με μικροκύματα, UAE: εκχύλιση με υπερήχους, UMAE: εκχύλιση με υπερήχους-μικροκύματα]

Δείγμα	Μέθοδος εκχύλισης	Πειραματικές συνθήκες	Απόδοση παραλαβής (%)	DE (%)
1	MAE	620 W, 1:15 w/v, 3 min	10,33	63,29
2	MAE	620 W, 1:20 w/v, 3 min	13,00	50,63
3* (MP)	MAE	620 W, 1:25 w/v, 3 min	19,30	74,10
4	MAE	620 W, 1:30 w/v, 3 min	19,30	56,00
5	MAE	620 W, 1:20 w/v, 6 min	10,33	60,81
6	MAE	750 W, 1:20 w/v, 3 min	14,67	53,06
7	MAE	850 W, 1:20 w/v, 3 min	16,50	74,91
8	UAE	50 W, 1:20 w/v, 15 min	9,67	73,40
9	UAE	50 W, 1:20 w/v, 30 min	16,00	67,80
10	UAE	100 W, 1:20 w/v, 15 min	17,60	66,30
11	UAE	100 W, 1:20 w/v, 30 min	19,30	67,30
12	UMAE	50 W/620 W, 1:20 w/v, 30 min/3 min	11,60	45,30
13	UMAE	50 W/750 W, 1:20 w/v, 30 min/3 min	15,60	47,54
14* (UMP)	UMAE	50 W/850 W, 1:20 w/v, 30 min/3 min	18,47	72,41

\*: Οι πηκτίνες που επιλέχθηκαν για περαιτέρω μελέτη και το κωδικό όνομα με το οποίο θα αναφέρονται στη μελέτη αυτή.

Η ισχύς της ενέργειας μικροκυμάτων έχει ήδη συσχετιστεί θετικά με την απόδοση εκχύλισης σε διάφορα απόβλητα ή παραπροϊόντα τροφίμων φυτικής προέλευσης (Marić et al., 2018). Όσο αυξάνεται η ισχύς των μικροκυμάτων, παρατηρείται μεγαλύτερη παραγωγή θερμότητας μέσα στο μείγμα αντίδρασης λόγω της αύξησης των περιστροφών των διπόλων. Ως εκ τούτου, περισσότεροι δεσμοί σπάνε, ο φυτικός ιστός γίνεται πιο μαλακός, η μεταφορά της πηκτίνης στον διαλύτη γίνεται πιο εύκολη και γενικά, η εκχύλιση γίνεται πιο αποδοτική (Ahmad et al., 2006, Lefsih et al., 2017).

Ένας άλλος βασικός παράγοντας για την εκχύλιση πηκτίνης είναι η αναλογία SLR. Σύμφωνα με μελέτες (π.χ. Li et al., 2010, Prakash Maran et al., 2013, Xu et al., 2014), έως μία ορισμένη τιμή SLR η απόδοση σημειώνει αύξηση, ενώ στη συνέχεια, μειώνεται. Αυτό συμβαίνει καθώς σε υψηλές αναλογίες, το στερεό υλικό απορροφά λιγότερη ενέργεια, αφού οι μεγάλες ποσότητες διαλυτών απορροφούν το μεγαλύτερο μέρος αυτής. Αυτό οδηγεί σε μείωση του ρυθμού μεταφοράς μάζας της πηκτίνης κι έτσι, σε μείωση της απόδοσης εκχύλισής της. Επιπλέον, η ανάκτηση πηκτίνης μέσω κατακρήμνισης με αλκοόλη χαρακτηρίζεται από έναν βαθμό πολυπλοκότητας εξαιτίας της επίδρασης των αραιώσεων (Lefsih et al., 2017). Συνεπώς, φαίνεται πως υπάρχει μία βέλτιστη τιμή SLR όπου επιτυγχάνονται υψηλές αποδόσεις εκχύλισης. Στην παρούσα περίπτωση, αύξηση της απόδοσης παρατηρήθηκε όταν η αναλογία SLR αυξήθηκε από 1:15 σε 1:25, ενώ η αναλογία 1:30 οδήγησε στην ίδια απόδοση με την αναλογία 1:25.

Ο χρόνος εκχύλισης αποτελεί μία ακόμη σημαντική παράμετρο. Η μέθοδος MAE πλεονεκτεί έναντι των υπολοίπων λόγω της μικρότερης χρονικής της διάρκειας. Ωστόσο, και ο χρόνος εκχύλισης χαρακτηρίζεται από μία βέλτιστη τιμή, προκειμένου να επιτευχθεί ικανοποιητική εκχύλιση. Όταν η διάρκεια εκχύλισης είναι πολύ μικρή, τα συστατικά που συνυπάρχουν στο κυτταρικό τοίχωμα μαζί με την πηκτίνη, όπως για παράδειγμα η κυτταρίνη και οι ημικυτταρίνες, ενδέχεται να μην απομακρυνθούν επαρκώς (Liew et al., 2016b). Μία μεγαλύτερη διάρκεια εκχύλισης, επιτρέπει την παραγωγή περισσότερης θερμότητας, γεγονός που μπορεί να ευνοήσει τη διαδικασία (Liew et al., 2016a). Ωστόσο, μελέτες αναφέρουν πως μεγαλύτερος χρόνος εκχύλισης οδήγησε σε χαμηλότερες αποδόσεις πηκτίνης (π.χ. Thirugnanasambandham & Sivakumar, 2015). Ο σχηματισμός ως παραπροϊόντος του πηκτικού οξέος αντί πηκτίνης θα μπορούσε να εξηγήσει, πιθανώς, αυτήν την παρατήρηση (Quoc et al., 2015). Στην παρούσα διατριβή, η διάρκεια των 6 min φαίνεται να ήταν πολύ μεγάλη για τη διαδικασία εκχύλισης. Όσον αφορά στον DE, παρατηρήθηκε αύξηση με την ισχύ μικροκυμάτων και τον χρόνο εκχύλισης, όπως αναμενόταν από τη βιβλιογραφία

(Bagherian et al., 2011). Οι τιμές DE ήταν μεγαλύτερες από 50% και έτσι, όλες οι πηκτίνες χαρακτηρίστηκαν ως πηκτίνες υψηλής μεθυλίωσης.

Σχετικά με την UAE, η εκχύλιση πραγματοποιήθηκε στα 50 και 100 W και διήρκεσε 15 ή 30 min. Η αναλογία SLR και το pH ήταν σταθερά για όλα τα πειράματα, δηλαδή 1:20 w/v και 1,5, αντίστοιχα. Ο διπλασιασμός του χρόνου επεξεργασίας από 15 σε 30 min, είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της απόδοσης, και για τις δύο τιμές ισχύος (~9,7 και 16% για τα δείγματα από εκχύλιση υπερήχων ισχύος 50 W και διάρκειας 15 και 30 min, αντίστοιχα, και ~17,6 και 19,3% για τα δείγματα από εκχύλιση υπερήχων ισχύος 100 W και διάρκειας 15 και 30 min, αντίστοιχα). Παρόμοιο αποτέλεσμα είχε και ο διπλασιασμός της ισχύος από τα 50 W στα 100 W, ανεξάρτητα από τη διάρκεια της εκχύλισης. Αυτό μπορεί να αποδοθεί στις μεγαλύτερες φυσαλίδες που προκύπτουν κατά τη διάρκεια της σπηλαιώσης, όταν η ισχύς είναι υψηλότερη, οι οποίες τροφοδοτούν την αντίδραση με μεγαλύτερη ενέργεια (Patience et al., 2021). Μεγαλύτερη ενέργεια παρέχεται, επίσης, και στην περίπτωση μεγαλύτερης διάρκειας. Όλες οι πηκτίνες από την UAE ήταν υψηλής μεθυλίωσης αφού οι τιμές DE ήταν μεγαλύτερες από 50%. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η έντονη εκχύλιση με υπερήχους οδηγεί σε μείωση του DE καθώς η λειτουργική ομάδα εστέρα επιδεικνύει μεγαλύτερη ευαισθησία σε ηχοχημικές επιδράσεις (Mao et al., 2019). Στην παρούσα περίπτωση, αυτό παρατηρήθηκε για πηκτίνες που εκχυλίστηκαν στα 50 W για 15 και 30 min (73 και 67%, αντίστοιχα) και για πηκτίνες που εκχυλίστηκαν για 15 min στα 50 και 100 W (73,4 και 66,3%, αντίστοιχα). Δεν εντοπίστηκε, όμως, σαφής επιρροή της ισχύος και της διάρκειας των υπερήχων στον DE.

Για την εκχύλιση UMAE, όπου οι δύο μέθοδοι έδρασαν συνδυαστικά, όλες οι παράμετροι ήταν σταθερές, εκτός από την ισχύ των μικροκυμάτων. Καθώς η ισχύς αυτή αυξήθηκε από 620 σε 750 και 850 W, καταγράφηκε αύξηση στην απόδοση εκχύλισης και στον DE. Η θετική επίδραση της ισχύος μικροκυμάτων παρατηρήθηκε κι εδώ. Ο DE των πηκτινών που παρελήφθησαν από UMAE στα 620 και 750 W ήταν 45,3 και 47,5%, αντίστοιχα, ενώ στα 850 W ήταν 72,4%. Οι Liew et al. (2016b) αναφέρουν ότι η πηκτίνη που απομονώθηκε χρησιμοποιώντας UMAE, είχε χαμηλότερο DE (59,8%) σε σύγκριση με την πηκτίνη η παραλαβή της οποίας έγινε με UAE (64,4%) ή MAE (64,1%). Άλλη μελέτη αναφέρει ότι ο συνδυασμός μεθόδων εκχύλισης οδηγεί σε υψηλότερες τιμές απόδοσης (Gharibzahedi et al., 2019b), παρατήρηση που δεν επιβεβαιώνει η παρούσα διατριβή.

Με βάση τα ευρήματά που παρουσιάζονται στον **Πίνακα 4.2**, επιλέχθηκαν δύο πηκτίνες βάσει της απόδοσης και του DE τους (Δείγματα 3 και 14). Η πρώτη πηκτίνη προέκυψε



από εκχύλιση με MAE (620 W, 1:25 w/v, 3 min) και η δεύτερη από εκχύλιση με UMAE (50W/850 W, 1:20 w/v, 30 min/ 3 min). Για τις πηκτίνες αυτές, που εφεξής θα ονομάζονται πηκτίνη MP (pectin from MAE) και UMP (pectin from UMAE), αντίστοιχα, αλλά και για μια εμπορική πηκτίνη (HMP, § 3.1.1), πραγματοποιήθηκε περαιτέρω μελέτη των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών. Ο DE όλων των πηκτινών (MP, UMP, HMP) ήταν της τάξης του 70-75%, όπως φαίνεται στον **Πίνακα 4.3**.

Αρχικά, αξιολογήθηκε το χρώμα των πηκτινών υπό τη μορφή σκόνης. Οι τιμές των χρωματικών παραμέτρων [L\*], [a\*] και [b\*] παρουσιάζονται στον **Πίνακα 4.3**. Οι πηκτίνες MP και UMP δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά ως προς το χρώμα. Συγκεκριμένα, οι παράμετροι [L\*], [a\*] και [b\*] ήταν περίπου 11,6 και 3,6, και 4,0, αντίστοιχα, και για τις δύο πηκτίνες. Η πηκτίνη HMP, ήταν πιο φωτεινή αφού η τιμή [L\*] ήταν η υψηλότερη (~57), ενώ παρουσίασε και υψηλότερες τιμές [a\*] και [b\*]. Συνεπώς, η επεξεργασία της εκάστοτε μεθόδου εκχύλισης έπαιξε σημαντικό ρόλο στο χρώμα της πηκτίνης.

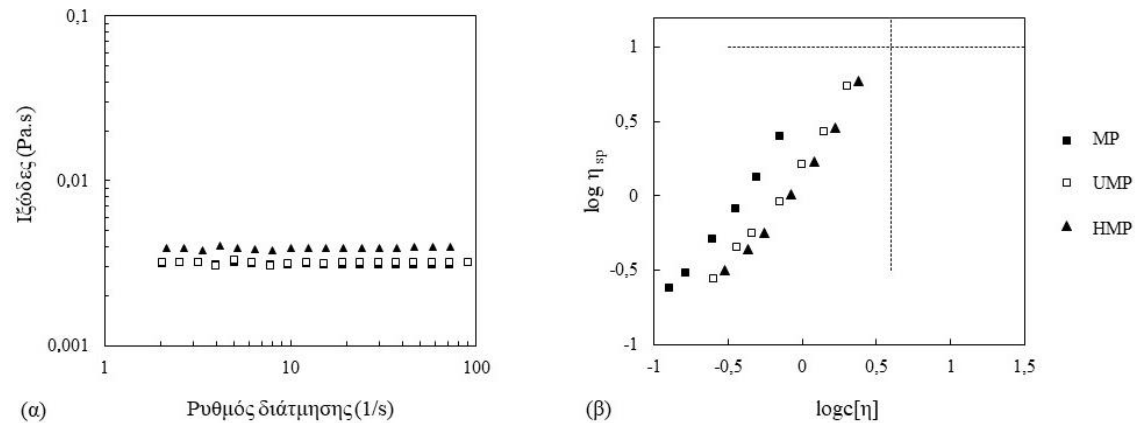
Έπειτα, μετρήθηκε το εσωτερικό ιξώδες [ $\eta$ ], το οποίο είναι ενδεικτικό του χώρου που καταλαμβάνει το βιοπολυμερές (Evageliou et al., 2005). Οι τιμές [ $\eta$ ] ήταν 0,7, 2,0 και 2,4 dL/g, για τις πηκτίνες MP, UMP και HMP, αντίστοιχα (**Πίνακας 4.3**). Αυτό σημαίνει πως ο όγκος που κατέλαβαν τα μόρια της HMP, σε απομόνωση, ήταν μεγαλύτερος από τον όγκο που κατέλαβαν τα μόρια των MP και UMP. Επομένως, το ίδιο ισχύει και για το μοριακό τους βάρος, το οποίο κυμάνθηκε από 13,7 - 69,9 kg/mol (**Πίνακας 4.3**). Τόσο η MAE όσο και η UAE είναι γνωστό ότι οδηγούν σε πηκτίνες με χαμηλότερο μοριακό βάρος και εσωτερικό ιξώδες (Ighami et al., 2015, Li et al., 2012), γι' αυτό και το χαμηλότερο μοριακό βάρος των πηκτινών MP και UMP ήταν αναμενόμενο.

Η επόμενη ιδιότητα που μετρήθηκε ήταν το  $\zeta$  – δυναμικό, το οποίο σχετίζεται με το φορτίο ενός κolloειδούς σώματος, περιγράφοντας το μέγεθός του και υποδεικνύοντας την σταθερότητά του (Muñoz-Almagro et al., 2021). Σύμφωνα με τον **Πίνακα 4.3**, οι τιμές  $\zeta$  – δυναμικού ήταν αρνητικές για όλες τις πηκτίνες, γεγονός αναμενόμενο καθώς η πηκτίνη είναι ένας ανιονικός πολυσακχαρίτης (Nep & Conway, 2011). Η υψηλότερη απόλυτη τιμή καταγράφηκε για την HMP (-30,2 mV), ακολουθούμενη από την τιμή της πηκτίνης UMP (-19,4 mV) και της MP (-17,3 mV).

**Πίνακας 4.3.** Φυσικοχημικές ιδιότητες των πηκτινών MP, UMP και HMP [Οι πηκτίνες MP και UMP παρελήφθησαν από φλούδες πορτοκαλιών μέσω MAE (620 W, 1:25 w/v, 3 min) και UMAE (50/850 W, 1:20 w/v, 30/3 min), αντίστοιχα. Η πηκτίνη HMP ήταν εμπορικό δείγμα.]

Πηκτίνη	DE (%)	[η] (dL/g)	M <sub>w</sub> (kg/mol)	ζ - δυναμικό (mV)	Επιφανειακή τάση (mN/m)	Σταθερότητα γαλακτώματος (%)	Χρώμα		
							[L*]	[a*]	[b*]
MP	74,1	0,7	13,7	-17,3 <sup>a</sup> ± 0,3	53,8 <sup>a</sup> ± 0,1	41,4 <sup>a</sup> ± 2,3	10,9 <sup>a</sup> ± 0,9	3,3 <sup>a</sup> ± 0,2	3,8 <sup>a</sup> ± 0,4
UMP	72,4	2,0	49,0	-19,4 <sup>b</sup> ± 0,5	53,5 <sup>ab</sup> ± 0,2	44,1 <sup>a</sup> ± 0,6	12,2 <sup>a</sup> ± 0,6	3,8 <sup>a</sup> ± 0,3	4,1 <sup>a</sup> ± 0,4
HMP	70-75	2,4	69,9	-30,2 <sup>c</sup> ± 0,3	53,3 <sup>b</sup> ± 0,1	51,3 <sup>b</sup> ± 1,3	57,2 <sup>b</sup> ± 0,9	10,0 <sup>b</sup> ± 0,4	18,7 <sup>b</sup> ± 0,4

[Οι τιμές που φέρουν διαφορετικό εκθέτη για κάθε ιδιότητα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά (p < 0,05).]



**Σχήμα 4.8.** (α) Καμπύλες ροής των διαλυμάτων πηκτίνης (0,5% w/w) και (β) μεταβολή του η<sub>sp</sub> συναρτήσει του c[η] για τις πηκτίνες MP, UMP και HMP. [Οι πηκτίνες MP και UMP παρελήφθησαν από φλούδες πορτοκαλιών μέσω MAE (620 W, 1:25 w/v, 3 min) και UMAE (50/850 W, 1:20 w/v, 30/3 min), αντίστοιχα. Η πηκτίνη HMP ήταν εμπορικό δείγμα.]

Στην περίπτωση των πηκτινών, το  $\zeta$  – δυναμικό σχετίζεται με τα αρνητικά φορτία των καρβοξυλομάδων. Κατ' επέκταση, όσο μειώνεται ο DE, η απόλυτη τιμή του αναμένεται να αυξηθεί. Στην προκειμένη περίπτωση, δεδομένου ότι όλες οι πηκτίνες είχαν παρόμοιο DE, οι διαφορετικές τιμές του  $\zeta$  – δυναμικού μπορούν να αποδοθούν στο διαφορετικό μοριακό τους βάρος και το μήκος της αλυσίδας τους, το οποίο σχετίζεται με τον αριθμό των καρβοξυλομάδων (Liang et al., 2022). Ένα πιο αρνητικό  $\zeta$  – δυναμικό μπορεί να προέκυψε λόγω μεγαλύτερης έκθεσης των καρβοξυλομάδων, και κατανομής τους σε όλη την αλυσίδα, ως αποτέλεσμα ενός μεγαλύτερου μοριακού βάρους (Aguas et al., 2021).

Κατόπιν, μετρήθηκε το ιξώδες, το οποίο επηρεάζεται από τον DE, το φορτίο και το μοριακό βάρος (Liang et al., 2022). Για τον προσδιορισμό του, κατασκευάστηκαν καμπύλες ροής των διαλυμάτων πηκτίνης (0,5% w/w), οι οποίες παρουσιάζονται στο **Σχήμα 4.8 (α)**. Όλα τα διαλύματα παρουσίασαν Νευτώνεια συμπεριφορά και είχαν, γενικά, μικρές τιμές ιξώδους, με τις τιμές για το διάλυμα πηκτίνης HMP να είναι οι υψηλότερες, και για τα διαλύματα πηκτίνης MP και UMP να είναι παρόμοιες μεταξύ τους, και χαμηλότερες. Η διαφορά αυτή μπορεί να αποδοθεί στο υψηλότερο μοριακό βάρος της HMP. Η συμπεριφορά ενός διαλύματος επηρεάζεται σε σημαντικό βαθμό από την συγκέντρωσή του (c). Όπως ήδη αναφέρθηκε, όσο αυξάνεται η συγκέντρωση των μορίων, τόσο πιο συχνή είναι η επικάλυψη και η αλληλοδιείσδυση μεταξύ τους, οδηγώντας σε ένα περιπλεγμένο δίκτυο. Το **Σχήμα 4.8 (β)** παρουσιάζει τις γραφικές παραστάσεις του  $\eta_{sp}$  συναρτήσει του c[η] για τις πηκτίνες MP, UMP και HMP. Οι συγκεντρώσεις υπό μελέτη (0,125 – 0,7 % w/w) ήταν στην περιοχή των αραιών διαλυμάτων για όλες τις πηκτίνες. Η κλίση στην πρώτη γραμμική περιοχή για τις πηκτίνες MP, UMP και HMP ήταν 1,33 ( $r^2= 0,9937$ ), 1,40 ( $r^2= 0,9891$ ) και 1,41 ( $r^2= 0,9865$ ), αντίστοιχα.

Ακολούθως, μετρήθηκε η επιφανειακή τάση. Όλες οι πηκτίνες παρουσίασαν τιμές (53,3 - 53,8 mN/m) (**Πίνακας 4.3**) χαμηλότερες από αυτές του νερού, με την πηκτίνη HMP να είναι πιο επιφανειακά ενεργή από την MP, ενώ η UMP δεν διέφερε στατιστικά σημαντικά ούτε από την MP αλλά ούτε και από την HMP. Η επιφανειακή δραστηριότητα της πηκτίνης προκύπτει από την υδροφοβικότητά της, η οποία οφείλεται στην παρουσία ορισμένων υδρόφοβων τμημάτων, όπως είναι για παράδειγμα, οι πρωτεΐνες, οι ομάδες ακετυλίου, τα φερουλικά οξέα, κ.ά. (Lin et al., 2020). Επιπλέον, το μοριακό βάρος και ο DE της πηκτίνης ασκούν επιρροή στην επιφανειακή τάση. Στην παρούσα διατριβή, όπου όλες οι πηκτίνες είχαν παρόμοιο DE, η επιφανειακή τάση σημείωσε μείωση με την αύξηση του μοριακού βάρους. Η δυσκολότερη διασπορά και διάχυση των μεγαλύτερων μορίων πηκτίνης προς τη διεπιφάνεια μπορούν να δώσουν μία εξήγηση για την παρατήρηση αυτή (Hua et al., 2021).

Στη συνέχεια, αξιολογήθηκε η σταθερότητα των γαλακτωμάτων που παρασκευάστηκαν με τις υπό μελέτη πηκτίνες (**Πίνακας 4.3**). Οι τιμές της κυμάνθηκαν από 41,4 - 51,3%, με την μεγαλύτερη σταθερότητα γαλακτώματος να καταγράφεται για την πηκτίνη HMP, γεγονός αναμενόμενο λαμβάνοντας υπόψη τις τιμές της επιφανειακής τάσης. Οι τιμές σταθερότητας για τις πηκτίνες MP και UMP δεν διέφεραν σε στατιστικά σημαντικό βαθμό. Στον σχηματισμό σταθερού γαλακτώματος, οι πηκτίνες έχουν συνήθως τον ρόλο του σταθεροποιητικού παράγοντα, αλλά φαίνεται να συνεισφέρουν και ως γαλακτωματοποιητικοί παράγοντες, όπως αναφέρουν ορισμένες μελέτες (π.χ. Weerakkody et al., 2010). Ποικίλες παράμετροι επηρεάζουν την γαλακτωματοποιητική ικανότητα των πηκτινών, όπως είναι ο DE, η δομή και οι τυχόν διακλαδώσεις, το μοριακό βάρος, η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες, η συγκέντρωση, το pH και η ιονική ισχύς (Psomiadou et al., 1996). Για παράδειγμα, μόρια πηκτίνης υψηλού DE, εκτεταμένων διακλαδώσεων και υψηλού πρωτεϊνικού περιεχομένου αναφέρεται πως οδήγησαν σε καλύτερη γαλακτωματοποιητική ικανότητα (Ribeiro et al., 2021). Άλλη μελέτη αναφέρει πως το πολύ μικρό ή μεγάλο μοριακό βάρος υποδηλώνει πολύ μικρό ή μεγάλο μήκος αλυσίδας, αντίστοιχα, που σε κάθε περίπτωση δεν επαρκεί, οδηγώντας σε μέτρια απόδοση ως γαλακτωματοποιητής (π.χ. Shivangi et al., 2021). Επίσης, το pH και η ιονική ισχύς επηρεάζουν τη διαμόρφωση των πηκτινικών αλυσίδων αφού επηρεάζουν τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους (Psomiadou et al., 1996). Στην παρούσα εργασία, οι πηκτίνες είχαν παρόμοια DE αλλά διαφορετικά μοριακά βάρη κι έτσι, για άλλη μια φορά, το μοριακό βάρος φαίνεται να ήταν ο κρίσιμος παράγοντας. Παρόλ' αυτά, η συσχέτιση της δομής με την γαλακτωματοποιητική ικανότητα μπορεί να γίνει μόνο με περαιτέρω μελέτη, και συγκεκριμένα με πειράματα προσδιορισμού της δομής των μορίων πηκτίνης.

#### 4.1.2.2. Αξιοποίηση πηκτινών που παρελήφθησαν με πράσινες μεθόδους εκχύλισης στην παρασκευή μεμβρανών με εκχυλίσματα βοτάνων

Η χρήση εδώδιμων μεμβρανών ως εναλλακτική πρόταση στην πλαστική συσκευασία, λαμβάνει αυξανόμενο ερευνητικό ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια. Η παρουσία δε, σε αυτές, φυσικών αντιοξειδωτικών προσφέρει κι άλλα πλεονεκτήματα, πέρα των περιβαλλοντικών. Για την περίπτωση αυτή, η πλειονότητα των βιβλιογραφικών αναφορών αναφέρεται σε μεμβράνες εμπλουτισμένες με αιθέρια έλαια, ενώ ελάχιστες μελέτες έχουν γίνει σχετικά με μεμβράνες πηκτικής – βοτανικών εκχυλισμάτων. Για το λόγο αυτό, η παρούσα ενότητα της διατριβής ασχολήθηκε με την παρασκευή και την μελέτη μεμβρανών με πηκτίνες και εκχυλίσματα βοτάνων.

Για την παρασκευή των διαλυμάτων σχηματισμού μεμβρανών (film forming solutions, FFS) χρησιμοποιήθηκαν οι πηκτίνες MP, UMP και HMP της προηγούμενης ενότητας (§ 4.1.2.1), οι οποίες διαλυτοποιήθηκαν σε εκχυλίσματα γλυκάνισου (A) ή δίκταμου (D), και οι μεμβράνες σχηματίστηκαν στη συνέχεια, όπως περιγράφεται στην § 3.2.9. Οι φυσικοχημικές ιδιότητες των μεμβρανών προσδιορίστηκαν και παρουσιάζονται στον **Πίνακα 4.4**. Το ολικό φαινολικό περιεχόμενο και η αντιοξειδωτική ικανότητα τόσο των διαλυμάτων σχηματισμού μεμβρανών όσο και των ίδιων των μεμβρανών μετρήθηκαν και παρουσιάζονται στο **Σχήμα 4.9**.

Όλες οι μεμβράνες είχαν στατιστικά το ίδιο πάχος (~40 μm) και την ίδια περιεχόμενη υγρασία (~25%), όπως φαίνεται στον **Πίνακα 4.4**. Η δέσμευση του νερού επηρεάζεται κυρίως από την πυκνότητα και τη διευθέτηση των αλυσίδων πολυσακχαρίτη στον χώρο (Psomiadou et al., 1996). Έτσι, η διευκόλυνση της απομάκρυνσης του νερού σε παρόμοιο βαθμό για όλες τις μεμβράνες μπορεί να εξηγηθεί από το γεγονός ότι όλες οι πηκτίνες που χρησιμοποιήθηκαν, ήταν μικρά μόρια. Στο γεγονός αυτό μπορούν να αποδοθούν, επίσης, και τα χαμηλότερα ποσοστά περιεχόμενης υγρασίας που καταγράφηκαν στην παρούσα διατριβή, σε σύγκριση με τη βιβλιογραφία (π.χ. Ribeiro et al., 2021). Για το ίδιο εκχύλισμα βοτάνου, οι μεμβράνες όλων των πηκτινών είχαν την ίδια πυκνότητα, δηλαδή ~1,01 για τις μεμβράνες δίκταμου και ~1,19 g/cm<sup>3</sup> για τις μεμβράνες γλυκάνισου. Για την ίδια πηκτίνη, μόνο οι μεμβράνες με πηκτίνη MP είχαν στατιστικά διαφορετικές πυκνότητες για τα δύο εκχυλίσματα βοτάνων (0,95 g/cm<sup>3</sup> και 1,27 g/cm<sup>3</sup> για τις μεμβράνες δίκταμου και γλυκάνισου, αντίστοιχα).

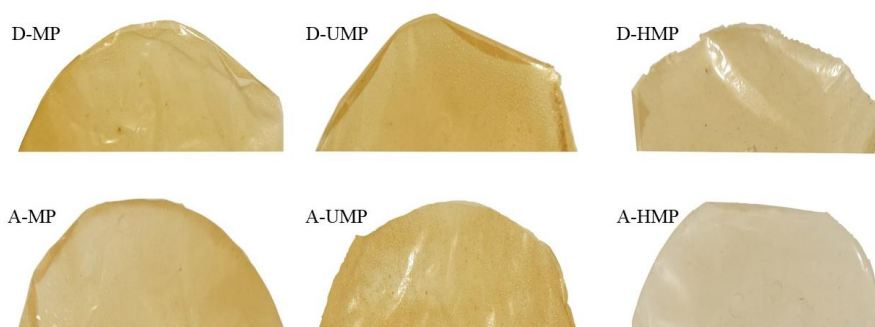
**Πίνακας 4.4.** Φυσικοχημικές ιδιότητες των μεμβρανών με βάση εκχυλίσματα δίκταμου (D) ή γλυκάνισου (A) και πηκτίνη MP, UMP ή HMP [Οι πηκτίνες MP και UMP παρελήφθησαν από φλούδες πορτοκαλιών μέσω MAE (620 W, 1:25 w/v, 3 min) και UMAE (50/850 W, 1:20 w/v, 30/3 min), αντίστοιχα. Η πηκτίνη HMP ήταν εμπορικό δείγμα.]

Δείγμα	Πάχος (μm)	Πυκνότητα (g/cm <sup>3</sup> )	Περιεχόμενη υγρασία (%)	Χρώμα			Θολερότητα	Μέγιστη δύναμη (N)	Μέτρο ελαστικότητας (kPa)
				[L*]	[a*]	[b*]			
D-MP	41 <sup>a</sup> ± 5	0,95 <sup>a</sup> ± 0,04	24,74 <sup>a</sup> ± 1,94	78,85 <sup>ab</sup> ± 4,01	3,90 <sup>ab</sup> ± 0,80	31,50 <sup>a</sup> ± 1,45	26761 <sup>a</sup> ± 1353	-	-
D-UMP	40 <sup>a</sup> ± 7	1,10 <sup>ab</sup> ± 0,13	25,50 <sup>a</sup> ± 0,96	75,67 <sup>a</sup> ± 2,15	5,05 <sup>a</sup> ± 1,63	29,43 <sup>ab</sup> ± 3,61	24495 <sup>b</sup> ± 87	3,80 <sup>a</sup> ± 0,08	91,30 <sup>a</sup> ± 2,75
D-HMP	39 <sup>a</sup> ± 7	0,97 <sup>ab</sup> ± 0,09	24,78 <sup>a</sup> ± 0,07	76,74 <sup>ab</sup> ± 0,84	1,06 <sup>c</sup> ± 0,30	27,42 <sup>bc</sup> ± 0,91	28246 <sup>c</sup> ± 268	2,04 <sup>b</sup> ± 0,33	191,80 <sup>b</sup> ± 4,96
A-MP	40 <sup>a</sup> ± 4	1,29 <sup>b</sup> ± 0,02	25,09 <sup>a</sup> ± 0,08	79,70 <sup>b</sup> ± 1,83	2,65 <sup>d</sup> ± 0,35	25,70 <sup>c</sup> ± 1,28	26327 <sup>a</sup> ± 118	2,00 <sup>b</sup> ± 0,06	78,38 <sup>ac</sup> ± 4,08
A-UMP	39 <sup>a</sup> ± 7	1,27 <sup>ab</sup> ± 0,20	25,54 <sup>a</sup> ± 2,38	78,20 <sup>b</sup> ± 0,95	2,96 <sup>bd</sup> ± 0,46	26,18 <sup>c</sup> ± 1,34	25900 <sup>a</sup> ± 256	3,00 <sup>c</sup> ± 0,28	76,62 <sup>c</sup> ± 1,77
A-HMP	40 <sup>a</sup> ± 6	1,00 <sup>ab</sup> ± 0,22	25,30 <sup>a</sup> ± 0,01	84,82 <sup>c</sup> ± 0,44	-0,16 <sup>c</sup> ± 0,05	9,27 <sup>d</sup> ± 0,55	28133 <sup>c</sup> ± 633	4,65 <sup>d</sup> ± 0,20	155,09 <sup>d</sup> ± 14,45

[Οι τιμές με διαφορετικό εκθέτη για κάθε ιδιότητα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά (p - value < 0,05).]

Η υψηλότερη πυκνότητα είναι ενδεικτική μιας πιο συμπαγούς δομής, η οποία προκύπτει ως αποτέλεσμα των ισχυρότερων αλληλεπιδράσεων πηκτικής – φαινολικών, οδηγώντας σε πιο σταθερή σύνδεση (Shivangi et al., 2021). Στην παρούσα διατριβή, ο ρόλος των φαινολικών στην πυκνότητα ήταν εμφανής καθώς τα δύο εκχυλίσματα οδήγησαν σε μεμβράνες με την ίδια πυκνότητα, ανεξάρτητα από την πηκτική που χρησιμοποιήθηκε. Έτσι, η συγκέντρωση των φαινολικών έπαιξε σημαντικό ρόλο (Lei et al., 2019, Sun et al., 2017).

Έπειτα, αξιολογήθηκε το χρώμα και παρουσιάζεται στον **Πίνακα 4.4**. Η φωτεινότητα ( $[L^*]$ ) κυμάνθηκε από 75,67 έως 84,82, με την μεμβράνη εκχυλίσματος γλυκάνισου - HMP (A-HMP) να είναι η φωτεινότερη. Όλες οι μεμβράνες με εκχύλιμα δίκταμου είχαν στατιστικά την ίδια φωτεινότητα ( $[L^*] \sim 77,09$ ). Για τις μεμβράνες με εκχύλιμα γλυκάνισου, το  $[L^*]$  είχε στατιστικά την ίδια τιμή ( $[L^*] \sim 79$ ) για τις πηκτίνες MP και UMP, η οποία ήταν χαμηλότερη από αυτή της HMP. Για τις υπόλοιπες χρωματικές παραμέτρους, οι τιμές του  $[a^*]$  κυμάνθηκαν από -0,16 έως 5,05, και οι τιμές του  $[b^*]$  κυμάνθηκαν από 9,27 έως 31,50. Όπως αναμένεται από τις τιμές του  $[b^*]$ , οι μεμβράνες ήταν αρκετά κιτρινωπές, γεγονός σύμφωνο με όσα αναφέρονται στη βιβλιογραφία (Dou et al., 2018, Lei et al., 2019), αλλά και με την εικόνα των δειγμάτων, όπως φαίνονται στην **Εικόνα 4.2**. Και οι δύο χρωματικές παράμετροι είχαν χαμηλότερες τιμές στις μεμβράνες γλυκάνισου, για κάθε πηκτική. Οι μεμβράνες A – HMP είχαν τις χαμηλότερες τιμές από όλες τις μεμβράνες, και για τις δύο παραμέτρους. Η ενσωμάτωση των εκχυλισμάτων βοτάνων και η προκύπτουσα αραίωση, φαίνεται να ήταν ο κυρίαρχος παράγοντας για το χρώμα, λαμβάνοντας υπόψη και την παρατήρησή σχετικά με το χρώμα της σκόνης πηκτικής (**Πίνακας 4.3, § 4.1.2.1**).



**Εικόνα 4.2.** Μεμβράνες με εκχύλιμα δίκταμου (D) ή γλυκάνισου (A) και πηκτική MP, UMP ή HMP (Οι πηκτίνες MP και UMP παρελήφθησαν από φλούδες πορτοκαλιών μέσω MAE (620 W, 1:25 w/v, 3 min) και UMAE (50/850 W, 1:20 w/v, 30/3 min), αντίστοιχα, ενώ η HMP ήταν εμπορικό δείγμα).

Όσον αφορά στην θολερότητα (**Πίνακας 4.4**), οι μεμβράνες με πηκτίνες MP και HMP είχαν στατιστικά την ίδια θολερότητα ανεξάρτητα από το εκχύλισμα βοτάνων (~26500 και ~28190, για τις πηκτίνες MP και HMP, αντίστοιχα). Οι μεμβράνες D –UMP ήταν λιγότερο αδιαφανείς από τις A –UMP, και συνολικά, ήταν οι πιο θολές από όλες. Οι μεμβράνες βιοπολυμερών με προστιθέμενες φαινολικές ουσίες είναι συνήθως πιο αδιαφανείς από τις μεμβράνες που περιέχουν μόνο τα βιοπολυμερή. Εκτός από το ότι περιλαμβάνουν δύο φάσεις με διαφορετικούς δείκτες διάθλασης, η ενσωμάτωση των φαινολικών ενώσεων στους διαμοριακούς χώρους του διαλύματος σχηματισμού μεμβρανών, μπορεί να οδηγήσει σε μειωμένη μετάδοση του φωτός (Lei et al., 2019, Wang et al., 2013). Στην παρούσα διατριβή, η πηκτίνη που περιέχεται, συμβάλλει και αυτή σε σημαντικό βαθμό στην αδιαφάνεια πιθανώς λόγω των δομικών και φυσικοχημικών χαρακτηριστικών της σε κάθε περίπτωση, τα οποία επηρεάζουν τα διαλύματα σχηματισμού μεμβρανών και κατ' επέκταση, τις μεμβράνες που προκύπτουν.

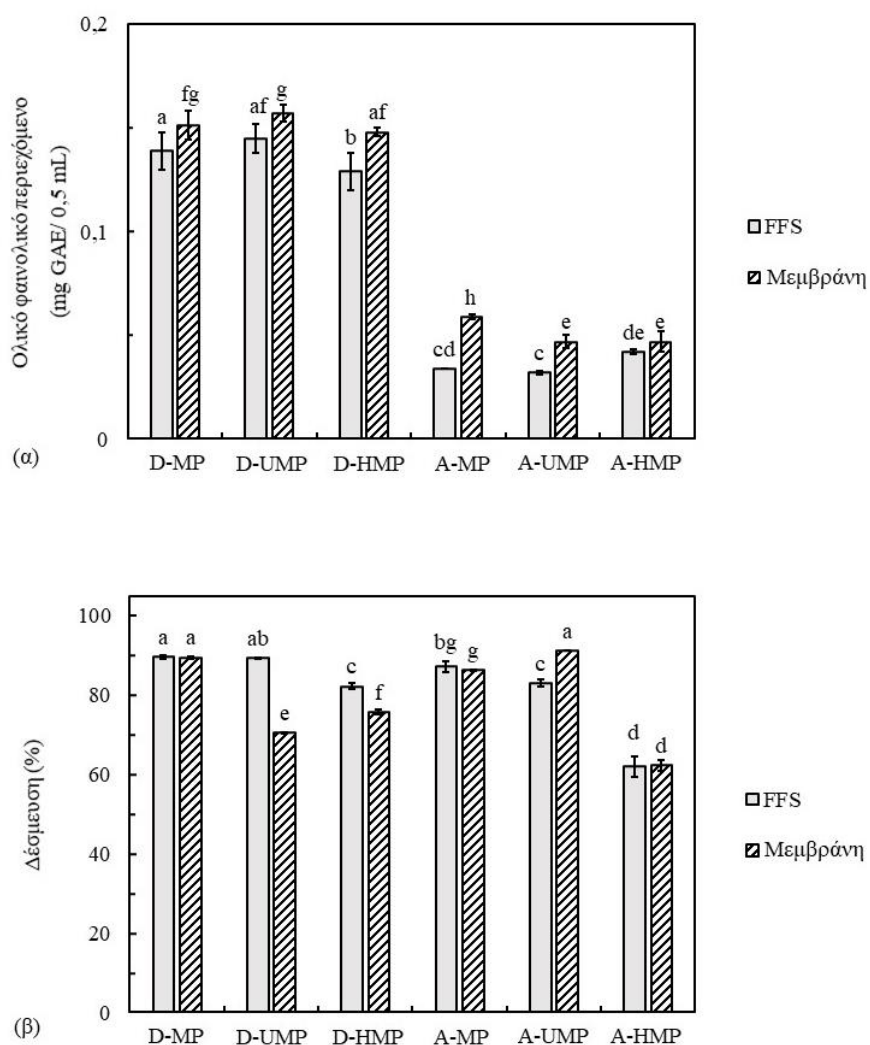
Στη συνέχεια, αξιολογήθηκαν οι μηχανικές ιδιότητες των μεμβρανών, δηλαδή η μέγιστη δύναμη, που αντιστοιχεί στην τάση στο σημείο διάτρησης και σχετίζεται με την αντοχή της μεμβράνης, και το μέτρο ελαστικότητας, που είναι ενδεικτικό της ακαμψίας της μεμβράνης. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον **Πίνακα 4.4**. Σχετικά με τις μηχανικές ιδιότητες, οι μεμβράνες D – MP δεν ήταν δυνατόν να μετρηθούν λόγω προβλημάτων χειρισμού. Για τα υπόλοιπα δείγματα μεμβρανών, οι τιμές της μέγιστης δύναμης και του μέτρου ελαστικότητας κυμάνθηκαν από 2,00 έως 4,65 N και από 76,62 έως 191,80 kPa, αντίστοιχα. Η μεμβράνη A - HMP ήταν η ισχυρότερη, ενώ η μεμβράνη D – HMP ήταν η πιο άκαμπτη. Η πηκτίνη UMP σχημάτισε ισχυρότερες και πιο άκαμπτες μεμβράνες όταν συνδυάστηκε με εκχύλισμα δίκταμου. Οι μεμβράνες A – MP δεν ήταν τόσο ισχυρές και άκαμπτες όσο οι υπόλοιπες μεμβράνες. Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των αλυσίδων των μορίων πηκτίνης μπορούν να επηρεάσουν τις μηχανικές ιδιότητες. Στην παρούσα διατριβή, η εμπορική πηκτίνη, για άλλη μια φορά, συμπεριφέρθηκε διαφορετικά από τις πηκτίνες που προέκυψαν από εκχύλιση στο εργαστήριο, υποδηλώνοντας διαφορές στη δομή. Επίσης, και οι προστιθέμενες ουσίες (π.χ. τύπος, συγκέντρωση) μπορεί να έχουν σημαντική επιρροή στο δίκτυο μίας μεμβράνης και κατ' επέκταση, στις μηχανικές της ιδιότητες (Talón et al., 2017). Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, οι φαινολικές ενώσεις έχουν θετική επίδραση στις μηχανικές ιδιότητες των εδώδιμων μεμβρανών με βάση την πηκτίνη (π.χ. Lei et al., 2019, Shivangi et al., 2021). Το γεγονός αυτό αποδίδεται στην ισχυρή αλληλεπίδραση δεσμών



υδρογόνου μεταξύ των ομάδων υδροξυλίου και καρβοξυλίου των μορίων πηκτίνης και των φαινολικών ομάδων υδροξυλίου (Lei et al., 2019).

Τα αποτελέσματα του ολικού φαινολικού περιεχομένου παρουσιάζονται στο **Σχήμα 4.9 (α)**. Οι τιμές κυμάνθηκαν από 0,035 έως 0,157 mg GAE/0,5 mL. Για όλα τα δείγματα, οι μεμβράνες είχαν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε φαινολικά από τα αντίστοιχα διαλύματα σχηματισμού μεμβρανών. Επιπλέον, η παρουσία γλυκάνισου οδήγησε σε χαμηλότερη περιεκτικότητα σε φαινολικές ουσίες για τα διαλύματα και για τις μεμβράνες, για όλες τις πηκτίνες. Όλα τα διαλύματα με γλυκάνισο είχαν στατιστικά την ίδια περιεκτικότητα σε φαινολικά, δηλαδή 0,036 mg GAE/0,5 mL. Οι αντίστοιχες μεμβράνες είχαν τιμή 0,047 mg GAE/0,5 mL για τις πηκτίνες UMP και HMP και 0,059 mg GAE/0,5 mL για την MP. Όταν συνδυάστηκε με δίκταμο, η πηκτίνη HMP παρουσίασε χαμηλότερες τιμές ολικού φαινολικού περιεχομένου για τα διαλύματα και τις μεμβράνες, σε σχέση με την πηκτίνη UMP. Η πηκτίνη MP είχε στατιστικά την ίδια τιμή με τις πηκτίνες UMP και HMP, για τα διαλύματα και τις μεμβράνες.

Όσον αφορά στην αντιοξειδωτική ικανότητα [**Σχήμα 4.9 (β)**], ο προσδιορισμός έγινε με την μέθοδο DPPH (διφαινυλοπικρυλυδραζύλιο, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical), μία από τις συχνότερες μεθόδους προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής ικανότητας καθώς αποτελεί μία απλή μέθοδο με εξαιρετική επαναληψιμότητα υπό δεδομένες συνθήκες. Οι τιμές αντιοξειδωτικής ικανότητας (%) που καταγράφηκαν ήταν από ~62 έως 91%. Για το FFS, το εκχύλισμα βοτάνου ήταν σημαντικό για τις πηκτίνες UMP και HMP, καθώς είχαν χαμηλότερες τιμές όταν διαλύθηκαν σε γλυκάνισο από ό,τι σε δίκταμο. Αντίθετα, η πηκτίνη MP είχε στατιστικά την ίδια αντιοξειδωτική ικανότητα και για τα δύο εκχυλίσματα βοτάνων (~88%). Η πηκτίνη HMP είχε τη χαμηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα μεταξύ των FFS, και για τα δύο εκχυλίσματα (~82 και ~62% για τις μεμβράνες δίκταμου και γλυκάνισου, αντίστοιχα). Οι αντίστοιχες τιμές για την πηκτίνη UMP ήταν ~90 και 83%. Στην περίπτωση των μεμβρανών, οι πηκτίνες MP και HMP είχαν χαμηλότερες τιμές όταν χρησιμοποιήθηκε γλυκάνισος ενώ η πηκτίνη UMP, το αντίθετο. Η μεμβράνη A – UMP είχε τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα (~91%) ενώ η μεμβράνη A – HMP είχε τη χαμηλότερη (~62%). Για μεμβράνες δίκταμου, η πηκτίνη MP είχε μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα (~89%). Με εξαίρεση το δείγμα A – UMP, οι μεμβράνες είχαν χαμηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα από τα FFS τους.



**Σχήμα 4.9.** (α) Ολικό φαινολικό περιεχόμενο (mg GAE/0,5mL) και (β) αντιοξειδωτική ικανότητα ( %) των διαλυμάτων σχηματισμού μεμβρανών (FFS) και των αντίστοιχων μεμβρανών που περιείχαν εκχύλισμα δίκταμου (D) ή γλυκάνισου (A) και πηκτίνη MP, UMP ή HMP (Οι πηκτίνες MP και UMP παρελήφθησαν από φλούδες πορτοκαλιών μέσω MAE (620 W, 1:25 w/v, 3 min) και UMAE (50/850 W, 1:20 w/v, 30/3 min), αντίστοιχα, ενώ η πηκτίνη HMP ήταν εμπορικό δείγμα).

[Οι τιμές με διαφορετικό εκθέτη για κάθε ιδιότητα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά (p - value < 0,05).]

Η προέλευση των φαινολικών ενώσεων φαίνεται να επηρέασε τις μετρήσεις, καθώς τα FFS και οι μεμβράνες γλυκάνισου είχαν χαμηλότερο ολικό φαινολικό περιεχόμενο από τα FFS και τις μεμβράνες με δίκταμο. Ο τύπος και η ποσότητα των φαινολικών ενώσεων διαφέρει μεταξύ των βοτάνων, κι ως εκ τούτου, η συνολική περιεκτικότητα σε φαινολικές ουσίες και η αντιοξειδωτική ικανότητα, αναμένεται να διαφέρουν από βότανο σε βότανο (Katalinic et. al., 2006). Επιπλέον, λόγω των πιθανών αλληλεπιδράσεων πηκτίνης – φαινολικών ενώσεων, σημαντικές είναι και οι ιδιότητες των πηκτινών που χρησιμοποιήθηκαν, π.χ. οι ομάδες που υπήρχαν στα μόριά τους και οι διάφορες χημικές αντιδράσεις στις οποίες αυτές θα μπορούσαν να συμμετέχουν. Αυτό μπορεί να εξηγήσει, τη χαμηλή αντιοξειδωτική ικανότητα των δειγμάτων με την πηκτίνη HMP. Επίσης, η ξήρανση των FFS για τον σχηματισμό μεμβρανών είχε θετική επίδραση στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο, υποδηλώνοντας ότι οι συνθήκες που εφαρμόστηκαν δεν ήταν καταστρεπτικές για τις ενώσεις. Επιπλέον, αναμενόταν μία γραμμική θετική σχέση μεταξύ του ολικού φαινολικού περιεχομένου και της αντιοξειδωτικής ικανότητας, καθώς οι φαινολικές ουσίες δρουν αντιοξειδωτικά μέσω της καταστολής της δράσης των ελεύθερων ριζών, κάτι που δεν προέκυψε, όμως, από τα παραπάνω αποτελέσματα. Αυτό μπορεί να αποδοθεί πιθανώς στη διαφορετική αντιοξειδωτική ικανότητα των μεμονωμένων φαινολικών ενώσεων ανάλογα με την ικανότητα δότη – πρωτονίου (Rice-Evans et al., 1996).

## 4.2. Μελέτη και Αξιοποίηση Συστημάτων Πρωτεΐνης: Πηκτίνης

### 4.2.1. Σχηματισμός και μελέτη Συμπλόκων Πρωτεΐνης: Πηκτίνης

#### 4.2.1.1. Αλληλεπιδράσεις Πρωτεΐνης – Πηκτίνης: Επίδραση του pH και της Αναλογίας Ανάμιξης των Βιοπολυμερών

Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ πρωτεϊνών και πολυσακχαριτών αξιοποιούνται σε πληθώρα εφαρμογών, όπως είναι τα γαλακτώματα, οι αφροί, οι πηκτές, οι εδώδιμες μεμβράνες και η ενθυλάκωση (Weiss et al., 2019, Timilsena et al., 2019). Στην υπάρχουσα βιβλιογραφία, οι αναφορές εστιάζουν κυρίως σε αλληλεπιδράσεις μεταξύ βιοπολυμερών χαμηλών συγκεντρώσεων (συνήθως μικρότερες του 0,3% w/w) (Aryee & Nickerson, 2012, Rocha et al., 2014). Σε πολλές εφαρμογές, όμως, χρησιμοποιούνται μεγαλύτερες συγκεντρώσεις (π.χ. ενθυλάκωση, αντικατάσταση λιπαρών) (Klemmer et al., 2012, Stenger et al., 2017), καθιστώντας απαραίτητη την μελέτη των αλληλεπιδράσεων μεταξύ βιοπολυμερών μεγαλύτερων συγκεντρώσεων.

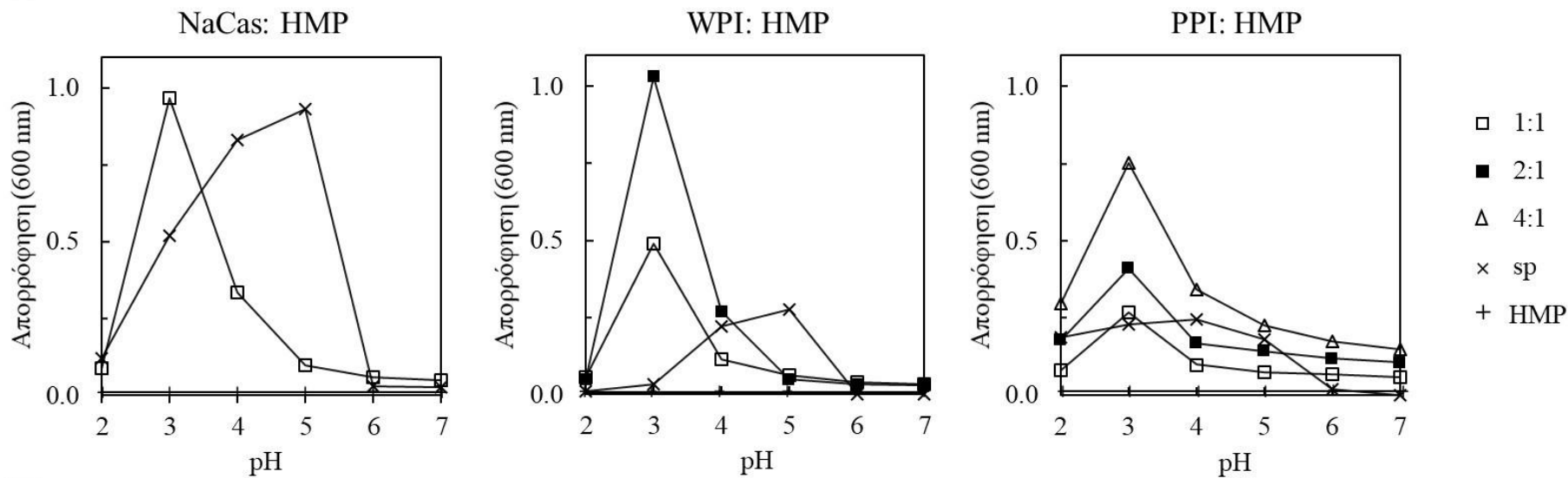
Στην παρούσα διατριβή μελετήθηκε η αλληλεπίδραση μεταξύ ενός πολυσακχαρίτη, της πηκτίνης υψηλής μεθυλίωσης (HMP), και τριών πρωτεϊνών, δηλαδή του καζεϊνικού νατρίου (SC), του υπερσυμπυκνώματος πρωτεϊνών ορού γάλακτος (WPI) ή του υπερσυμπυκνώματος πρωτεϊνών αρακά (PPI), με σκοπό την μελέτη της επίδρασης της αναλογίας βιοπολυμερών και του pH του συστήματος στο σχηματισμό συμπλόκων. Για το λόγο αυτό, παρασκευάστηκαν δείγματα έξι διαφορετικών αναλογιών πρωτεΐνης – πηκτίνης, από 1:1 έως και 10:1, με συγκέντρωση πηκτίνης 0,1% (w/w) (§ 3.2.5.1). Το pH αυτών μειώθηκε σταδιακά από την τιμή 7 στην τιμή 2. Επιπλέον, παρασκευάστηκαν και διαλύματα μόνο πηκτίνης ή μόνο πρωτεΐνης (0,1% w/w) ως δείγματα αναφοράς.

Αρχικά, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις της απορρόφησης (600 nm) κάθε δείγματος, καθώς η θολερομετρική μέθοδος αποτελεί έναν εύκολο τρόπο παρακολούθησης των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των βιοπολυμερών, αλλά και του σχηματισμού συμπλόκων (Aryee & Nickerson, 2012), και βοηθά, επίσης, στην εκτίμηση των βέλτιστων συνθηκών pH και αναλογίας πρωτεΐνης: πηκτίνης για τον σχηματισμό συμπλόκων (Devi et al., 2017). Στο **Σχήμα 4.10** παρουσιάζονται οι τιμές απορρόφησης του διαλύματος πηκτίνης, οι οποίες μεταβλήθηκαν ελάχιστα σε όλο το εύρος pH, υποδεικνύοντας πως η πηκτίνη δεν σχημάτισε συσσωματώματα

που θα οδηγούσαν σε σκέδαση του φωτός. Η πηκτίνη αποτελεί ανιονικό πολυσακχαρίτη σε όλο το εύρος pH που μελετήθηκε ( $pK_a \approx 3,5$ ). Οι ανιονικοί πολυσακχαρίτες χαρακτηρίζονται ως ασθενή οξέα, και σε τιμές pH μεγαλύτερες του  $pK_a$ , είναι αρνητικά φορτισμένοι, ενώ το φορτίο γίνεται εντονότερα αρνητικό όσο το pH αυξάνεται. Έτσι, στη δεδομένη περίπτωση, είναι πιθανό να υπήρχε μία σχετικά έντονη ηλεκτροστατική άπωση μεταξύ των μορίων πηκτίνης, που τα εμπόδιζε να έρθουν σε επαφή και να σχηματίσουν συσσωματώματα (Lan et al., 2018).

Διαφορετική απόκριση στην μείωση του pH καταγράφηκε στα διαλύματα πρωτεΐνης (SC, WPI ή PPI), οι τιμές απορρόφησης των οποίων παρουσιάζονται, επίσης, στο **Σχήμα 4.10**. Συγκεκριμένα, η απορρόφηση παρέμεινε χαμηλή σε pH 2 – 3 και σε pH 6 – 7. Σε ενδιάμεσες τιμές pH, η απορρόφηση αυξήθηκε έως μία συγκεκριμένη τιμή pH και κατόπιν, μειώθηκε. Η συμπεριφορά αυτή, που έχει παρατηρηθεί και για διαλύματα άλλων πρωτεϊνών (π.χ. Huang et al., 2012, Liu et al., 2017), προκύπτει λόγω σχηματισμού συσσωματωμάτων πρωτεΐνης – πρωτεΐνης, που φτάνει σε μία μέγιστη τιμή στο ισοηλεκτρικό σημείο (isoelectric point, pI), δηλαδή στην τιμή του pH του διαλύματος πρωτεΐνης όπου παρατηρείται μηδενικό συνολικό φορτίο. Στην παρούσα περίπτωση, η μέγιστη απορρόφηση και για τις τρεις πρωτεΐνες καταγράφηκε σε pH ~4,5. Βιβλιογραφικά αναφέρεται πως το ισοηλεκτρικό σημείο και για τις τρεις πρωτεΐνες είναι 4,6 (Burger & Zhang, 2019, Raei et al., 2018, Zhang & Zhong, 2013). Κάτω από το σημείο αυτό, το συνολικό φορτίο της πρωτεΐνης είναι θετικό και πάνω από το σημείο αυτό, είναι αρνητικό (Pace et al., 2009).

Σχετικά με τα μικτά συστήματα πρωτεΐνης - πηκτίνης, οι μετρήσεις απορρόφησης στα συστήματα υψηλής συγκέντρωσης είχαν, εξ' αρχής, υψηλές τιμές (μεγαλύτερες του 1), γεγονός που έκανε δύσκολη την καταγραφή από το φασματοφωτόμετρο, των μικρών μεταβολών στην απορρόφηση κατά τον σχηματισμό των διαλυτών συμπλόκων. Αυτό άλλωστε, είναι και το μειονέκτημα της θολερομετρικής μεθόδου. Κατά συνέπεια, στο **Σχήμα 4.10** παρουσιάζονται οι καμπύλες απορρόφησης μόνο για τα μικτά συστήματα με τιμές απορρόφησης έως ~ 1, και αφορούν σε μίγματα πρωτεΐνης – πηκτίνης μικρότερης αναλογίας και συνολικής συγκέντρωσης. Σε αυτά τα συστήματα, εντοπίστηκαν οι κρίσιμες τιμές pH ( $pH_c$ ,  $pH_{\phi 1}$ ,  $pH_{opt}$ ,  $pH_{\phi 2}$ ) και οι αντίστοιχες φάσεις (δηλαδή σε  $pH > pH_c$ : συνδιαλυτότητα βιοπολυμερών, στην περιοχή  $pH_c - pH_{\phi 1}$ : σχηματισμός διαλυτών συμπλόκων, στην περιοχή  $pH_{\phi 1} - pH_{\phi 2}$ : σχηματισμός συμπλόκων συγκαταβύθισης και σε  $pH < pH_{\phi 2}$ : αποικοδόμηση συμπλόκων), όπως αυτές ορίστηκαν και περιγράφηκαν στην Εισαγωγή (§ 2.1.2, σελ. 26).



**Σχήμα 4.10.** Καμπύλες απορρόφησης (600nm) για μίγματα πρωτεΐνης (SC, WPI ή PPI) - πηκτίνης (HMP) αναλογίας 1:1 έως 4:1, και για τα διαλύματα 0,1% (w/w) πρωτεΐνης (single protein, sp) και πηκτίνης, συναρτήσει του pH [HMP: πηκτίνη υψηλής μεθυλίωσης, SC: καζεϊνικό νάτριο, WPI: υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών ορού γάλακτος, PPI: υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών αρακά]

Στο ανώτερο άκρο των τιμών pH που μελετήθηκαν (~6-7), τα βιοπολυμερή φάνηκε να μην αλληλεπιδρούν σημαντικά μεταξύ τους λόγω της ομοιότητας των φορτίων τους (αρνητικό φορτίο). Στη συνέχεια, το pH μειώθηκε και η απορρόφηση ακολούθησε ανοδική πορεία. Η επιφάνεια των πρωτεϊνών απέκτησε σταδιακά θετικό φορτίο και ξεκίνησε να έλκει, αρχικά σε μικρό βαθμό, τα μόρια της πηκτίνης, κι έτσι, αναπτύχθηκαν ασθενείς ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους. Έτσι, η οξίνιση του συστήματος πυροδότησε τον σχηματισμό διαλυτών συμπλόκων από τα αρχικά συνδιαλυτά βιοπολυμερή (Lan et al., 2020, Zhang et al., 2018). Τα διαλυτά σύμπλοκα είναι, γενικά, μικρά σε μέγεθος και αποτελούν τις πρόδρομες δομές των μεγαλύτερων σωματιδίων συμπλόκων συγκαταβύθισης (coacervate particles). Καθώς το pH συνέχισε να μειώνεται, σχηματίστηκαν αδιάλυτα σύμπλοκα από τα αρχικώς διαλυτά σύμπλοκα, και η απορρόφηση αυξήθηκε, έως τη μέγιστη τιμή της. Σε αυτό το σημείο, τα μακρομόρια απέκτησαν το ηλεκτρικό τους ισοδύναμο με αποτέλεσμα την ουδετεροποίηση του συνολικού φορτίου των συμπλόκων που προέκυψαν, λόγω της αμοιβαίας ακύρωσης των φορτίων (Liu et al., 2009). Καθώς το pH μειώθηκε περαιτέρω, προσέγγισε το pKa του πολυσακχαρίτη. Σε τόσο όξινο pH, οι καρβοξυλομάδες των πηκτινικών αλυσίδων εισήλθαν στη διαδικασία σταδιακής πρωτονίωσης. Σε  $\text{pH} < \text{pKa}$ , οι πολυσακχαρίτες δεν έφεραν πλέον φορτίο, με αποτέλεσμα οι ηλεκτροστατικές ελκτικές δυνάμεις μεταξύ των μακρομορίων να εξασθενήσουν και τελικά, να εξαφανιστούν. Ως εκ τούτου, τα βιοπολυμερή απελευθερώθηκαν και έγιναν και πάλι συνδιαλυτά, γεγονός που έγινε αντιληπτό με τη μείωση της απορρόφησης.

Ο σχηματισμός συμπλόκων μεταξύ πρωτεϊνών και πολυσακχαριτών έχει αναφερθεί για μίγματα SC – HMP, WPI – HMP και PPI – HMP (Cho et al., 2016, Lan et al, 2018, Raei et al., 2018), αλλά και για μίγματα άλλων βιοπολυμερών (Ach et al., 2015, Aryee & Nickerson, 2012, Liu et al., 2009, Mirpoor et al., 2017, Wang & Heuzey, 2016, Weinbreck et al., 2004, Zhang et al., 2018). Πέρα από την σημαντική συμβολή των ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων στη δημιουργία και την σταθεροποίηση των συμπλόκων, συμμετέχουν κι άλλες αλληλεπιδράσεις, όπως είναι οι στερικές, οι δυνάμεις van der Waals και οι υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις (Sing, 2017).

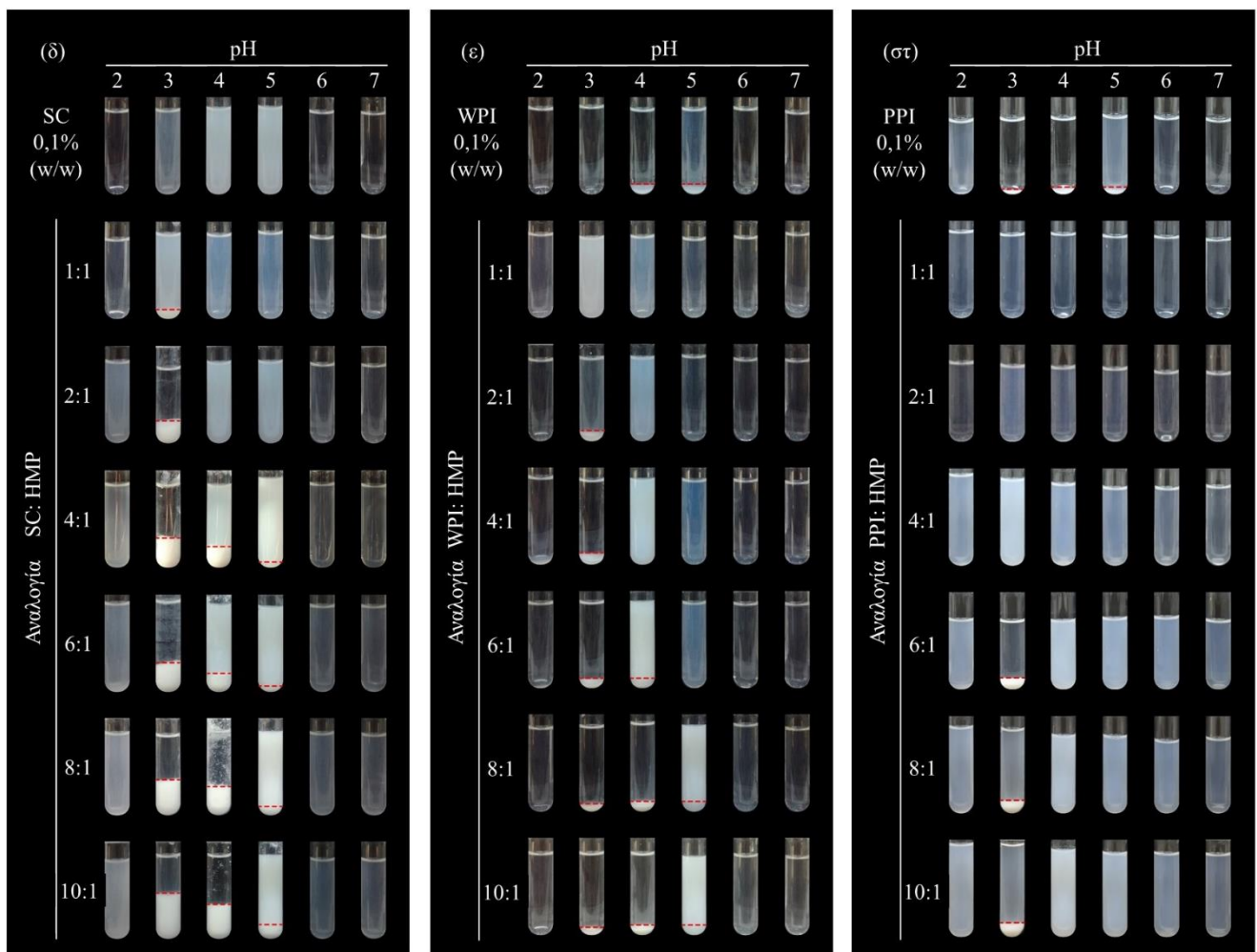
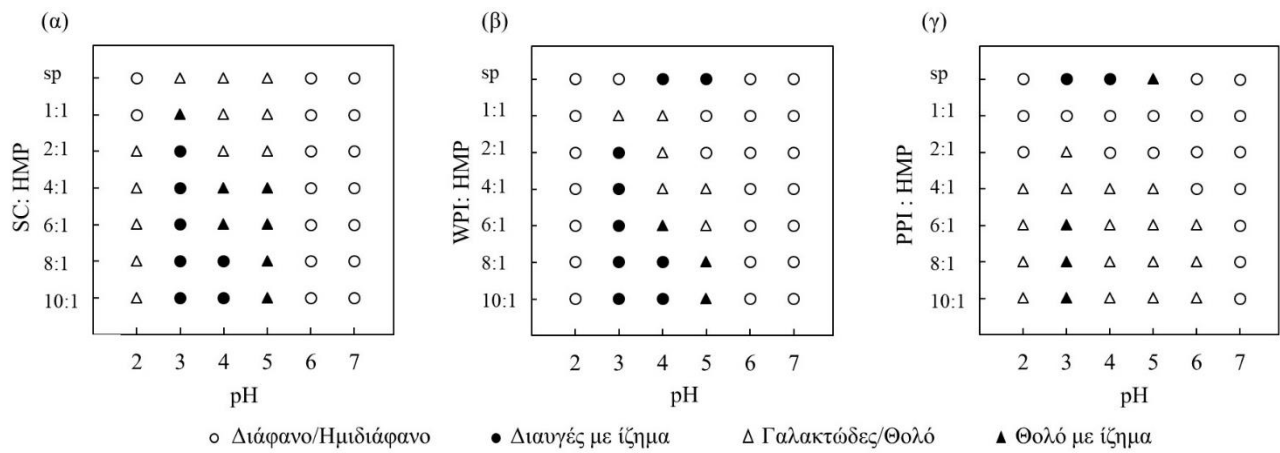
Γενικά, παρατηρείται πως τόσο το pH όσο και η αναλογία ανάμιξης των βιοπολυμερών είχαν σημαντική επίδραση στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πρωτεϊνών και των πολυσακχαριτών, καθώς και στον μηχανισμό σχηματισμού συμπλόκων. Συγκεκριμένα, η αύξηση της συγκέντρωσης της πρωτεΐνης οδήγησε σε αύξηση της απορρόφησης. Τα διαμοριακά σύμπλοκα που σχηματίστηκαν μεταξύ των βιοπολυμερών παρείχαν περισσότερο αρνητικό φορτίο στην επιφάνεια των πρωτεϊνών αποτρέποντας την συσσωμάτωση αυτών σε

όξινο pH (Liu et al., 2009, Ru et al., 2012). Η αναλογία βιοπολυμερών αλλά και ο τύπος της πρωτεΐνης που χρησιμοποιήθηκε σε κάθε περίπτωση, επηρέασαν την έκταση των διαμοριακών αλληλεπιδράσεων οδηγώντας σε διαφορετικές τιμές απορρόφησης.

Προκειμένου να ξεπεραστούν οι περιορισμοί της θολερομετρικής μεθόδου και να μελετηθούν οι αλληλεπιδράσεις πηκτίνης – πρωτεΐνης για κάθε αναλογία ανάμιξης και για κάθε τιμή pH, όπως αυτά καθορίστηκαν στα πλαίσια της παρούσας διατριβής, κατασκευάστηκαν διαγράμματα φάσης, τα οποία παρουσιάζονται στο **Σχήμα 4.11 (α - γ)**. Τα διαγράμματα φάσης αποτελούν έναν εύχρηστο τρόπο απεικόνισης των διάφορων φάσεων που λαμβάνουν τα μίγματα πρωτεΐνης – πηκτίνης υψηλής συγκέντρωσης σε κάθε pH. Βοηθούν, επίσης, στον προσδιορισμό του εύρους pH της συνδιαλυτότητας των βιοπολυμερών και του σχηματισμού διαλυτών και αδιάλυτων συμπλόκων (Chun et al., 2014, Dai et al., 2017).

Τα διαγράμματα φάσης προέκυψαν κατόπιν οπτικής παρατήρησης όλων των μιγμάτων έπειτα από την παραμονή τους για 24h σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Η μακροσκοπική εμφάνιση των μιγμάτων παρουσιάζεται στο **Σχήμα 4.11 (δ - στ)**. Κάθε διάγραμμα περιλαμβάνει τέσσερις διακριτές φάσεις: διαφανές/ημιδιαφανές διάλυμα (ο), διαυγές διάλυμα με ίζημα (●), γαλακτώδες/θολό διάλυμα (Δ) και θολό διάλυμα με ίζημα (▲). Για λόγους σύγκρισης, στα διαγράμματα παρουσιάζονται και οι μεταβολές φάσεων για τα διαλύματα των πρωτεϊνών συναρτήσει του pH, αλλά όχι για το διάλυμα πηκτίνης, καθώς αυτό παρέμεινε διαυγές σε όλο το εύρος pH που μελετήθηκε. Από τα διαγράμματα του **Σχήματος 4.11**, προκύπτει πως και οι τρεις παράμετροι υπό μελέτη (pH, αναλογία ανάμιξης και τύπος πρωτεΐνης), είχαν σημαντική επίδραση στην συμπεριφορά των μιγμάτων. Η συνδιαλυτότητα και ο σχηματισμός διαλυτών και αδιάλυτων συμπλόκων ήταν εμφανείς σε συγκεκριμένες περιοχές, σε όλα τα διαγράμματα φάσης. Η περιοχή των διαλυτών συμπλόκων [γαλακτώδη και θολά διαλύματα χωρίς ίζημα (Δ)] διέφερε ανάλογα με τον τύπο πρωτεΐνης. Για παράδειγμα, στην περίπτωση των μιγμάτων SC-HMP [**Σχήμα 4.11 (α)**], διαλυτά σύμπλοκα παρατηρήθηκαν σε pH 4 – 5 για τις αναλογίες ανάμιξης 1:1 και 2:1, ενώ σε pH 2 για όλες τις αναλογίες ανάμιξης εκτός από την 1:1. Για τα μίγματα WPI – HMP [**Σχήμα 4.11 (β)**], διαλυτά σύμπλοκα φαίνεται να σχηματίστηκαν στις εξής αναλογίες, 1:1 (pH 3 και 4), 2:1 (pH 3), 4:1 (pH 4 και 5) και 6:1 (pH 5). Τέλος, για τα μίγματα PPI – HMP [**Σχήμα 4.11 (γ)**], διαλυτά σύμπλοκα παρατηρήθηκαν σε όλες τις αναλογίες ανάμιξης (εκτός της 1:1), με τις αναλογίες 4:1 έως 10:1 να εμφανίζουν μεγαλύτερο εύρος pH. Όπως προαναφέρθηκε, ο σχηματισμός διαλυτών συμπλόκων υποδηλώνει πως οι αλληλεπιδράσεις πηκτίνης - πρωτεΐνης ήταν ασθενείς.



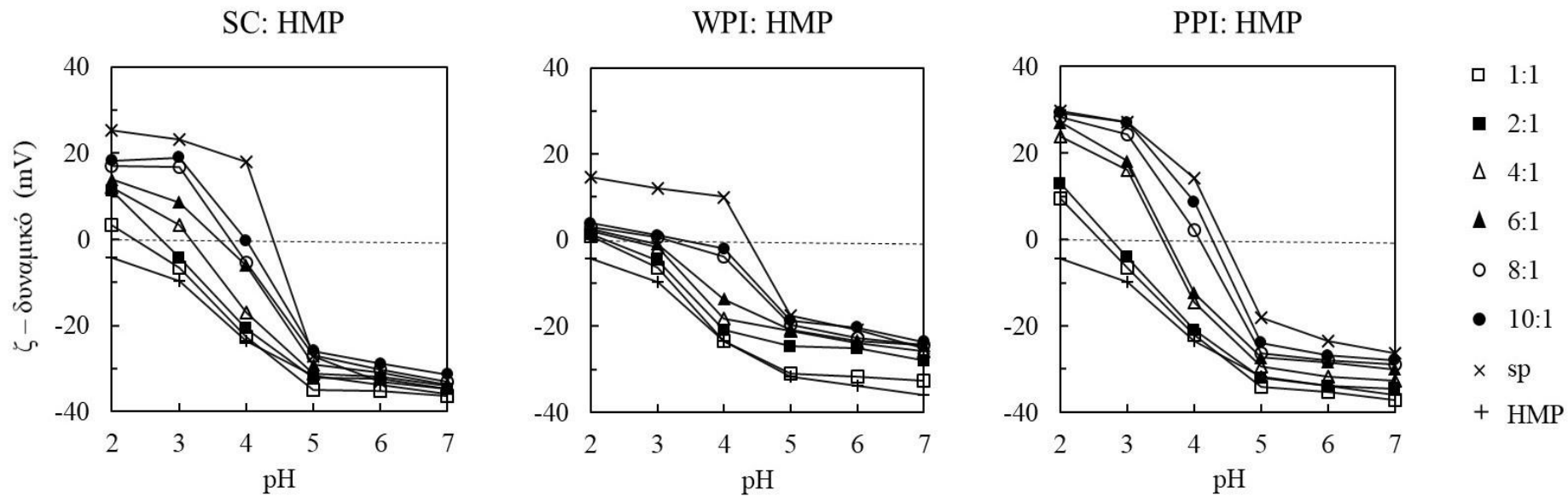


**Σχήμα 4.11.** (α-γ) Διαγράμματα φάσης και (δ-στ) μακροσκοπική εμφάνιση για τα μίγματα πρωτεΐνης (SC, WPI ή PPI) - πηκτίνης (HMP) και για τα διαλύματα πρωτεΐνης (single protein, sp, 0,1% w/w), συναρτήσει του pH [HMP: πηκτίνη υψηλής μεθυσίωσης, SC: καζεϊνικό νάτριο, WPI: υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών ορού γάλακτος, PPI: υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών αρακά]

Σχετικά με τα αδιάλυτα σύμπλοκα, αυτά αντιστοιχούν σε δύο διακριτές φάσεις (▲, ●), και η περιοχή εμφάνισής τους διέφερε, και πάλι, ανάλογα με τον τύπο πρωτεΐνης. Για τα μίγματα SC – HMP [Σχήμα 4.11 (α)], ο σχηματισμός αδιάλυτων συμπλόκων παρατηρήθηκε σε pH 3 για όλες τις αναλογίες, και σε pH 4 και 5 για τις αναλογίες 4:1 έως 10:1. Για τα μίγματα WPI – HMP [Σχήμα 4.11 (β)], αδιάλυτα σύμπλοκα φαίνεται να σχηματίστηκαν σε pH 3 για τις αναλογίες 2:1 έως 10:1, σε pH 4 για τις αναλογίες 6:1 έως 10:1, και σε pH 5 για τις αναλογίες 8:1 και 10:1. Μικρότερο εύρος παρατηρήθηκε για τα μίγματα PPI – HMP [Σχήμα 4.11 (γ)], καθώς ο σχηματισμός αδιάλυτων συμπλόκων περιορίστηκε στο pH 3, και μόνο για τις αναλογίες 6:1 έως 10:1. Σε pH 7, όλα τα μίγματα ήταν διαυγή για κάθε αναλογία ανάμιξης, γεγονός ενδεικτικό της συνδιαλυτότητας πρωτεϊνών – πηκτίνης (Liu et al., 2015, Zhang et al., 2018). Συνδιαλυτότητα παρατηρήθηκε και σε άλλες τιμές pH, όπως για παράδειγμα, στα μίγματα PPI – HMP με αναλογία 1:1 σε όλο το εύρος pH, και με αναλογία 2:1 σε όλο το εύρος pH εκτός της τιμής 3. Ακόμη, στα μίγματα WPI – HMP, διαυγή διαλύματα καταγράφηκαν σε pH 2 και 6 για όλες τις αναλογίες. Σχετικά με τα μίγματα SC – HMP, διαυγή διαλύματα παρατηρήθηκαν σε pH 2 για την αναλογία 1:1, και σε pH 6 για τις όλες τις αναλογίες.

Συνολικά, οι μικρότερες αναλογίες πρωτεΐνης – πηκτίνης εμφάνισαν σε μεγαλύτερο βαθμό, περιοχή μίας φάσης συγκριτικά με τις μεγαλύτερες αναλογίες, γεγονός περισσότερο εμφανές για τα μίγματα PPI – HMP. Συνεπώς, η υψηλότερη συγκέντρωση πρωτεΐνης αποδείχθηκε περισσότερο ευνοϊκή για τον σχηματισμό αδιάλυτων συμπλόκων, παρά διαλυτών, καθώς περισσότερα συσσωματώματα πρωτεΐνης – πηκτίνης ήταν διαθέσιμα για συμπλοκοποίηση με μόρια πηκτίνης (Pillai et al., 2019). Επιπροσθέτως, η συσσωμάτωση των πρωτεϊνών σημείωσε σταδιακή αύξηση με την μείωση του pH, και ιδιαίτερα σε pH πλησίον του pI (Lan et al., 2018).

Καθώς ο σχηματισμός συμπλόκων πρωτεΐνης – πολυσακχαρίτη, τόσο διαλυτών όσο και αδιάλυτων, αποδίδεται κυρίως στις ηλεκτροστατικές ελκτικές δυνάμεις μεταξύ των βιοπολυμερών (Yang et al., 2012), κρίθηκε απαραίτητη η καταγραφή του ζ – δυναμικού των μιγμάτων συναρτήσει της αναλογίας βιοπολυμερών και του pH, και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο Σχήμα 4.12. Σε αυτό συμπεριλαμβάνονται και οι αντίστοιχες καμπύλες των διαλυμάτων απλών βιοπολυμερών. Το ζ – δυναμικό του διαλύματος πηκτίνης, ήταν σταθερά αρνητικό όσο το pH μειωνόταν από το 7 έως το 2 (-36,0 έως -4,3 mV), μία παρατήρηση που αναμενόταν καθώς η πηκτίνη είναι ανιονικός πολυσακχαρίτης (Nep & Conway, 2011).

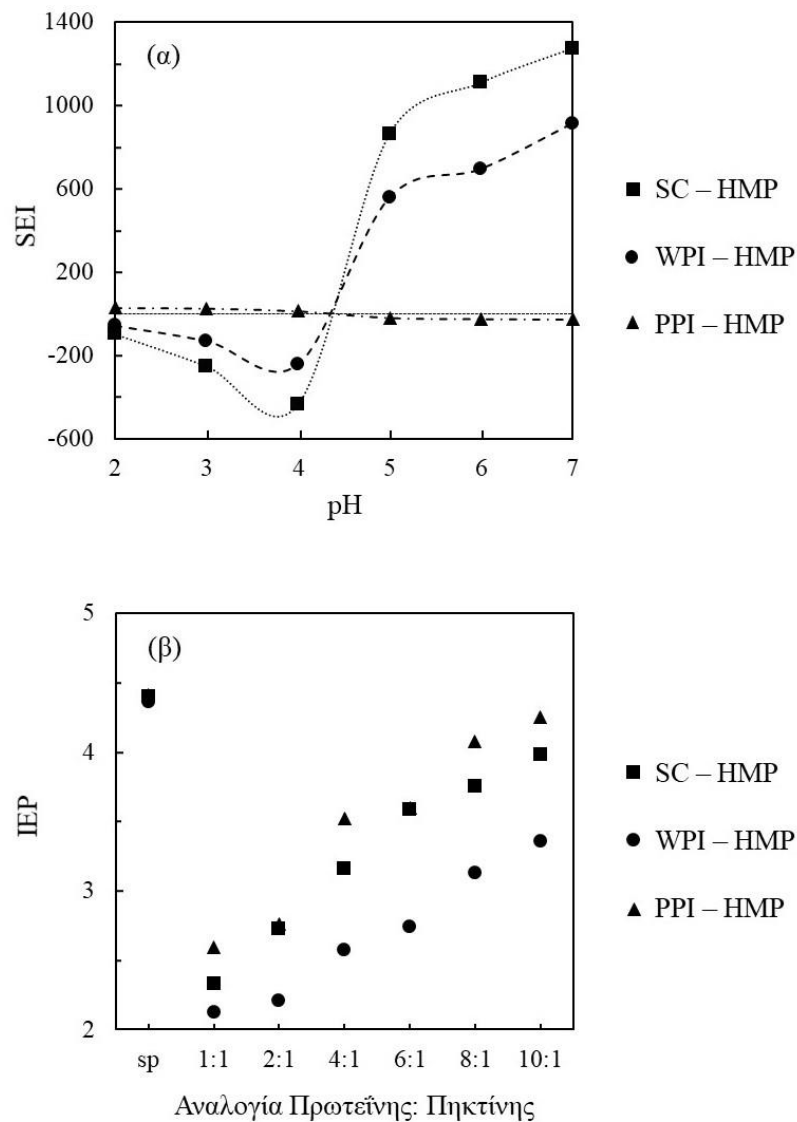


**Σχήμα 4.12.** Καμπύλες ζ – δυναμικού (mV) συναρτήσει του pH, για μίγματα πρωτεΐνης (SC, WPI ή PPI) με πηκτίνη (HMP) σε αναλογία 1:1 έως 10:1, και για τα διαλύματα 0,1% (w/w) πρωτεΐνης (single protein, sp) και HMP [HMP: πηκτίνη υψηλής μεθυλίωσης, SC: καζεϊνικό νάτριο, WPI: υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών ορού γάλακτος, PPI: υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών αρακά]

Στα διαλύματα πρωτεΐνης (**Σχήμα 4.12**), όσο το pH μειωνόταν το ζ – δυναμικό αυξανόταν, γεγονός αναμενόμενο όταν το pH πλησιάζει στο pI των πρωτεϊνών. Συγκεκριμένα, το ζ-δυναμικό των διαλυμάτων πρωτεΐνης ήταν αρνητικό σε pH 7 (-34,8 mV για την πρωτεΐνη SC, -25,0 mV για την WPI και -26,4 mV για την PPI), αλλά σταδιακά αυξήθηκε έως ότου μετατράπηκε σε θετικό σε pH 2 (25,2 mV για την πρωτεΐνη SC, 14,5 mV για την WPI και 29,7 mV για την PPI), με το σημείο μηδενικού φορτίου να βρίσκεται πλησίον του ισοηλεκτρικού τους σημείου (pH ~4,5). Η χαμηλότερη τιμή ζ-δυναμικού της πηκτίνης σε pH 2 συγκριτικά με τις αντίστοιχες τιμές των πρωτεϊνών, μπορεί να εξηγήσει την παρατηρούμενη συνδιαλυτότητα που ακολουθεί την αποικοδόμηση των αδιάλυτων συμπλόκων που είχαν σχηματιστεί σε υψηλότερο pH (Lan et al., 2020).

Το ζ – δυναμικό των μιγμάτων ήταν λιγότερο αρνητικό από το διάλυμα πηκτίνης αλλά περισσότερο αρνητικό από το διάλυμα της αντίστοιχης πρωτεΐνης (**Σχήμα 4.12**). Επιπλέον, για όλα τα μίγματα, το ζ- δυναμικό αυξήθηκε με την μείωση του pH. Σε όλα τα pH, το ζ – δυναμικό αυξήθηκε με την αύξηση της αναλογίας πρωτεΐνης – πηκτίνης. Καθώς το ζ – δυναμικό των μιγμάτων αντιπροσωπεύει το ζ – δυναμικό των συμπλόκων των βιοπολυμερών αλλά και των μεμονωμένων βιοπολυμερών που δεν αλληλεπιδρούν, η αύξηση αυτή μπορεί να προέκυψε από τις υψηλότερες τιμές ζ – δυναμικού που καταγράφηκαν για τις πρωτεΐνες σε σύγκριση με τις τιμές του πολυσακχαρίτη (Duhoranimana et al., 2018, Liu et al., 2015). Σε υψηλότερες αναλογίες πρωτεΐνης – πηκτίνης, περισσότερα πρωτεϊνικά μόρια είναι διαθέσιμα στο σύστημα κι έτσι, προκύπτουν περισσότεροι δεσμοί μεταξύ πρωτεΐνης και πηκτίνης, εξουδετερώνοντας το αρνητικό φορτίο της πηκτίνης και κάνοντας το ζ – δυναμικό λιγότερο αρνητικό (Yang et al., 2012).

Για τον προσδιορισμό του τύπου (ελκτικές ή απωστικές) και της έντασης των αλληλεπιδράσεων ως συνάρτηση του pH, η ισχύς της ηλεκτροστατικής αλληλεπίδρασης (strength of electrostatic interaction, SEI) μεταξύ πρωτεΐνης και πηκτίνης υπολογίσθηκε μέσω του πολλαπλασιασμού των τιμών του ζ-δυναμικού των μεμονωμένων βιοπολυμερών σε κάθε pH (π.χ. Timilsena et al., 2016) και παρουσιάζεται στο **Σχήμα 4.13 (α)**. Αρνητικές τιμές SEI υποδηλώνουν ελκτικές δυνάμεις μεταξύ των βιοπολυμερών. Επίσης, στην περιοχή pH όπου συναντώνται οι υψηλότερες τιμές SEI, παρατηρείται εντονότερη έλξη μεταξύ των αντίθετα φορτισμένων βιοπολυμερών (Espinosa-Andrews et al., 2013).



**Σχήμα 4.13.** (α) Ισχύς ηλεκτροστατικής αλληλεπίδρασης μίγματος πρωτεΐνης (SC, WPI ή PPI) με πηκτίνη (HMP) συναρτήσει του pH, και (β) ισοηλεκτρικό σημείο (IEP) μίγματος SC, WPI ή PPI με HMP συναρτήσει της αναλογίας ανάμιξης πρωτεΐνης: πηκτίνης (1:1 έως 10:1), αλλά και του διαλύματος πρωτεΐνης (single protein, sp) [HMP: πηκτίνη υψηλής μεθυλίωσης, SC: καζεϊνικό νάτριο, WPI: υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών ορού γάλακτος, PPI: υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών αρακά]

Σύμφωνα με το **Σχήμα 4.13 (α)**, οι ελκτικές δυνάμεις για τα μίγματα SC – HMP και WPI – HMP εντοπίστηκαν σε pH ~2,5 – 4,5, ενώ για το μίγμα PPI – HMP, σε pH 4 – 7, με τις υψηλότερες τιμές να παρατηρούνται σε pH 3 – 4 και 4 – 5, αντίστοιχα. Το μίγμα SC – HMP παρουσίασε την ισχυρότερη έλξη μεταξύ των περιεχόμενων βιοπολυμερών, ενώ το μίγμα PPI – HMP την ασθενέστερη. Η μικρότερη συγκέντρωση πρωτεΐνης (84%) της PPI συγκριτικά με τις άλλες δύο πρωτεΐνες, πιθανώς να επηρέασε την παρατηρούμενη συμπεριφορά των μιγμάτων με PPI.

Σχετικά με τις κρίσιμες τιμές pH στα μίγματα υψηλής συνολικής συγκέντρωσης βιοπολυμερών, μόνο το  $pH_{\phi_1}$  και το  $pH_{\phi_2}$  μπορούν να προσδιοριστούν, εντοπίζοντας στα διαγράμματα φάσης τις τιμές pH όπου το σύστημα μεταβαίνει από τη φάση  $\blacktriangle$  στη φάση  $\bullet$ . Το  $pH_{opt}$  δεν είναι δυνατόν να προσδιοριστεί μέσω των διαγραμμάτων φάσης, αλλά προσεγγιστικά μπορεί να προκύψει από τα διαγράμματα ζ-δυναμικού ως η τιμή pH που αντιστοιχεί σε ηλεκτροστατική ουδετερότητα, δηλαδή μηδενικό ζ-δυναμικό, και αναφέρεται ως ισοηλεκτρικό σημείο (IEP) (Anema & de Kruif, 2014).

Σύμφωνα με την βιβλιογραφία (π.χ. Plati et al., 2021), οι ισχυρότερες αλληλεπιδράσεις μεταξύ πρωτεΐνης και πολυσακχαρίτη λαμβάνουν χώρα στο σημείο όπου το ηλεκτρικό φορτίο των μιγμάτων βιοπολυμερών έχει ουδετεροποιηθεί. Το σύνολο των ισοηλεκτρικών σημείων όλων των μιγμάτων παρουσιάζεται στο **Σχήμα 4.13 (β)**. Παρατηρείται μία μετακίνηση του σημείου σε μικρότερες τιμές pH, εντός της περιοχής pH 2,5 – 4,5, όσο μειώνεται η αναλογία πρωτεΐνης: πηκτίνης. Σε αυτό το εύρος pH, τα δύο βιοπολυμερή κάθε μίγματος είναι αντίθετα φορτισμένα, με αποτέλεσμα τη δημιουργία ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των αρνητικά φορτισμένων ομάδων καρβοξυλίου των μορίων πηκτίνης και των θετικά φορτισμένων αμινομάδων της επιφάνειας των πρωτεϊνικών μορίων, και τελικά, τον σχηματισμό συμπλόκων.

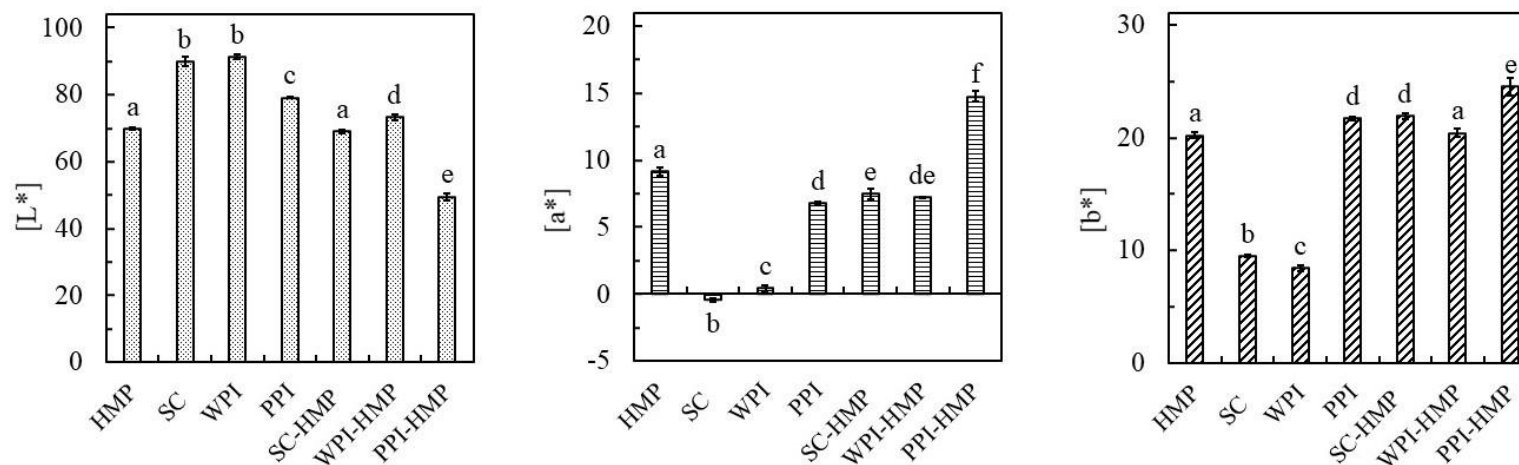
#### 4.2.1.2. Μελέτη των Φυσικοχημικών Ιδιοτήτων των Αδιάλυτων Συμπλόκων Πρωτεΐνης – Πηκτίνης

Σύμφωνα με τα ευρήματα της § 4.2.1.1, αδιάλυτα σύμπλοκα σχηματίστηκαν σε αναλογία 6:1 και pH 4 για τα μίγματα SC – HPM και WPI – HPM, και σε αναλογία 6:1 και pH 3 για τα μίγματα PPI – HPM, τα οποία και επιλέχθηκαν για περαιτέρω μελέτη των φυσικοχημικών ιδιοτήτων τους. Τα απομονωμένα σύμπλοκα υπό την μορφή σκόνης, μελετήθηκαν ως προς ορισμένες φυσικοχημικές ιδιότητες, οι οποίες σχετίζονται με τα χαρακτηριστικά και τη συμπεριφορά των δειγμάτων κατά την επεξεργασία και την αποθήκευση (Jaya & Das, 2004, Seerangurayar et al., 2017). Για συγκριτικούς λόγους, οι σκόνες των απλών βιοπολυμερών (HMP, SC, WPI και PPI) μελετήθηκαν, επίσης.

Η απόδοση σχηματισμού συμπλόκων, που παρουσιάζεται στον **Πίνακα 4.5**, ήταν ~92% για το μίγμα SC – HMP, ~51% για το μίγμα WPI – HMP και ~8% για το μίγμα PPI – HMP. Τα ποσοστά αυτά είναι ενδεικτικά της ισχύος των ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων (ισχυρότερες για τα μίγματα με SC και ασθενέστερες για τα μίγματα με PPI), δεδομένου πως η συνολική συγκέντρωση βιοπολυμερών ήταν σταθερή για όλα τα μίγματα. Έπειτα, καταγράφηκε το χρώμα, με τις παραμέτρους  $[L^*]$ ,  $[a^*]$  και  $[b^*]$  να παρουσιάζονται στο **Σχήμα 4.14**. Σχετικά με την φωτεινότητα ( $[L^*]$ ), οι τιμές κυμάνθηκαν από ~50 έως ~90. Η φωτεινότητα της πηκτίνης ( $[L^*]$  ~70) ήταν μικρότερη από αυτή των πρωτεϊνών ( $[L^*]$  ~ 79-91). Οι πρωτεΐνες SC και WPI είχαν στατιστικά την ίδια φωτεινότητα, η οποία ήταν μεγαλύτερη από αυτή της PPI. Η παρουσία πηκτίνης επηρέασε την φωτεινότητα των μιγμάτων καθώς εμφάνισαν τιμές φωτεινότητας χαμηλότερες από εκείνες των πρωτεϊνών. Το μίγμα WPI – HMP είχε την υψηλότερη τιμή, ακολουθούμενο από το SC – HMP ( $[L^*]$  ~73 και ~69, αντίστοιχα). Οι χρωματικές παράμετροι  $[a^*]$  και  $[b^*]$  διέφεραν μεταξύ των δειγμάτων. Συγκεκριμένα, σχετικά με την παράμετρο  $[a^*]$ , οι πρωτεΐνες SC και WPI είχαν  $[a^*]$  ~ 0, ενώ η HMP και η PPI είχαν  $[a^*]$  ~ 9 και 7, αντίστοιχα. Τα μίγματα αυτών παρουσίασαν, για την παράμετρο  $[a^*]$ , τιμή πλησιέστερη προς την πηκτίνη παρά προς την αντίστοιχη πρωτεΐνη (~ 7 για τα σύμπλοκα SC – HMP και WPI – HMP, και ~ 15 για το σύμπλοκο PPI – HMP). Σχετικά με την παράμετρο  $[b^*]$ , οι πρωτεΐνες SC και WPI είχαν  $[b^*]$  ~ 9, ενώ η πηκτίνη και η πρωτεΐνη PPI είχαν τιμή  $[b^*]$  ~ 20 και 22, αντίστοιχα. Τα μίγματα παρουσίασαν και πάλι τιμές  $[b^*]$  πλησιέστερες προς την πηκτίνη (~ 22 για το σύμπλοκο SC – HMP και ~20 για το σύμπλοκο WPI – HMP και ~ 25 για το σύμπλοκο PPI – HMP). Συνολικά, παρατηρούμε πως η πηκτίνη έπαιξε σημαντικό ρόλο στο χρώμα των συμπλόκων.

**Πίνακας 4.5.** Συνθήκες και απόδοση σχηματισμού συμπλόκων

Βιοπολυμερή (πρωτεΐνη, πηκτίνη)	Αναλογία ανάμιξης πρωτεΐνης : πηκτίνης	pH	Απόδοση σχηματισμού συμπλόκων (%)
SC, HMP	6:1	4	91,6
WPI, HMP	6:1	4	51,4
PPI, HMP	6:1	3	7,6



**Σχήμα 4.14.** Οι χρωματικές παράμετροι [L\*], [a\*] και [b\*] των δειγμάτων σκόνης των βιοπολυμερών HMP, SC, WPI και PPI και των μεταξύ τους συμπλόκων. (HMP: πηκτίνη υψηλής μεθυλίωσης, SC: καζεϊνικό νάτριο, WPI: υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών ορού γάλακτος, PPI: υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών αρακά)

[Οι τιμές που φέρουν διαφορετικό εκθέτη για κάθε ιδιότητα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά ( $p < 0,05$ ).]



Επόμενες παράμετροι που μετρήθηκαν ήταν η διαλυτότητα στο νερό και η περιεχόμενη υγρασία, και παρουσιάζονται στον **Πίνακα 4.6**. Η συμπεριφορά των μικτών συστημάτων διέφερε κι εδώ, σε σχέση με αυτή των απλών βιοπολυμερών. Συγκεκριμένα, τα απλά βιοπολυμερή χαρακτηρίστηκαν από υψηλότερη διαλυτότητα στο νερό και μικρότερη περιεχόμενη υγρασία συγκριτικά με τα μίγματα. Όλες οι τιμές περιεχόμενης υγρασίας ήταν εντός ή πλησίον του εύρους 1 – 5%, που είναι γενικά αποδεκτό για τις εδώδιμες σκόνες (Oraliński et al., 2016). Η HMP και η πρωτεΐνη SC είχαν την χαμηλότερη τιμή περιεχόμενης υγρασίας (~3,4%), ακολουθούμενη από την PPI (~4%) και την WPI (~5%). Οι τιμές για τα μίγματα PPI-HMP, WPI-HMP και SC-HMP ήταν ~5,3, 6,1 και 7%, αντίστοιχα. Η ισχύς των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των βιοπολυμερών κάθε μίγματος μπορεί να εξηγήσει τα αποτελέσματα αυτά. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, το μίγμα SC – HPM φαίνεται να είχε τις ισχυρότερες αλληλεπιδράσεις και το μίγμα PPI – HMP τις ασθενέστερες, οδηγώντας σε ισχυρά και ασθενή σύμπλοκα, αντίστοιχα. Σε ένα ισχυρό δίκτυο, η ικανότητα δέσμευσης νερού αυξάνεται και η κινητικότητα των μορίων νερού μειώνεται. Αντίθετα, σε ένα ασθενές δίκτυο, τα μόρια νερού του συμπλόκου μπορούν να απομακρυνθούν με μεγαλύτερη ευκολία κατά την ξήρανση (Ghasemi et al., 2017).

Η διαλυτότητα στο νερό της HMP και των SC και WPI ήταν πάνω από 90%, της PPI ήταν ~ 27%, ενώ η διαλυτότητα των συμπλόκων κυμάνθηκε από ~1,8 – 6,2%, με τα σύμπλοκα με PPI να είναι τα πιο ευδιάλυτα (**Πίνακας 4.6**). Τα σύμπλοκα, κατά την παρασκευή τους, απομονώθηκαν σε συνθήκες ηλεκτροστατικής ουδετερότητας. Συνεπώς, η αλληλεπίδρασή τους με τα μόρια του νερού αναμένεται να είναι ελάχιστη, σε αντίθεση με τα υδρόφιλα βιοπολυμερή. Η δυσκολία διάσπασης των δεσμών κατά την διαλυτοποίηση της σκόνης συμπλόκων σε νερό ήταν μεγαλύτερη για την περίπτωση του SC – HMP μίγματος, γεγονός που προκύπτει από την μικρότερη τιμή διαλυτότητας για το δείγμα αυτό. Επίσης, στα ισχυρά δίκτυα, λόγω του σχηματισμού μεγαλύτερων σωματιδίων, απαιτείται συνήθως περισσότερος χρόνος για τη διαλυτοποίησή τους σε νερό (Ghasemi et al., 2017).

Η επόμενη παράμετρος που αξιολογήθηκε ήταν η αγωγιμότητα διαλυμάτων (1% w/w) κάθε δείγματος, η οποία εκφράζει την ευκολία μεταφοράς ηλεκτρικού ρεύματος μέσα από αυτά. Δεδομένου ότι το ρεύμα μεταφέρεται με τη βοήθεια των ιόντων, όσο υψηλότερη είναι η συγκέντρωση των ιόντων στο διάλυμα, τόσο μεγαλύτερη θα είναι και η τιμή της αγωγιμότητας αυτού (Zhuiykon, 2018). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η πηκτική είχε την υψηλότερη αγωγιμότητα (0,54 mS/cm) ακολουθούμενη από τις πρωτεΐνες (0,27 – 0,30 mS/cm), ενώ τα σύμπλοκα παρουσίασαν πολύ μικρότερη αγωγιμότητα (0,02 – 0,13 mS/cm).

**Πίνακας 4.6.** Διαλυτότητα, περιεχόμενη υγρασία, pH, αγωγιμότητα και κινηματικό ιξώδες των δειγμάτων σκόνης HMP, SC, WPI και PPI και των αδιάλυτων συμπλόκων αυτών (HMP: πηκτίνη υψηλής μεθυλίωσης, SC: καζεϊνικό νάτριο, WPI: υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών ορού γάλακτος, PPI: υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών αρακά)

Δείγμα	Διαλυτότητα (%)	Περιεχόμενη υγρασία (%)	pH	Αγωγιμότητα (mS/cm)	Κινηματικό ιξώδες (cSt)
HMP	90,96 <sup>a</sup> ± 0,64	3,09 <sup>a</sup> ± 0,18	2,71 <sup>a</sup> ± 0,02	0,54 <sup>a</sup> ± 0,00	3,86 <sup>a</sup> ± 0,02
SC	93,36 <sup>b</sup> ± 1,00	3,45 <sup>a</sup> ± 0,07	6,90 <sup>b</sup> ± 0,04	0,27 <sup>b</sup> ± 0,01	1,58 <sup>b</sup> ± 0,01
WPI	92,10 <sup>ab</sup> ± 1,31	4,91 <sup>b</sup> ± 0,13	6,83 <sup>b</sup> ± 0,04	0,30 <sup>c</sup> ± 0,01	1,43 <sup>c</sup> ± 0,01
PPI	27,36 <sup>c</sup> ± 0,80	4,05 <sup>c</sup> ± 0,18	7,94 <sup>c</sup> ± 0,04	0,27 <sup>b</sup> ± 0,00	1,47 <sup>d</sup> ± 0,01
SC-HMP	1,76 <sup>d</sup> ± 0,07	6,96 <sup>d</sup> ± 0,10	3,85 <sup>d</sup> ± 0,05	0,06 <sup>d</sup> ± 0,01	1,39 <sup>e</sup> ± 0,00
WPI-HMP	2,42 <sup>d</sup> ± 0,02	6,23 <sup>c</sup> ± 0,17	4,22 <sup>c</sup> ± 0,04	0,02 <sup>c</sup> ± 0,00	1,39 <sup>e</sup> ± 0,01
PPI-HMP	6,19 <sup>e</sup> ± 0,17	5,28 <sup>b</sup> ± 0,27	3,40 <sup>f</sup> ± 0,02	0,13 <sup>f</sup> ± 0,01	1,45 <sup>cd</sup> ± 0,01

[Οι τιμές που φέρουν διαφορετικό εκθέτη για κάθε ιδιότητα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά ( $p < 0,05$ ).]

Συνεπώς, η συγκέντρωση των ιόντων στα διαλύματα συμπλόκων φαίνεται να είναι σημαντικά μικρότερη συγκριτικά με την αντίστοιχη συγκέντρωση στα διαλύματα βιοπολυμερών. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι τα σύμπλοκα προέκυψαν σε συνθήκες ηλεκτρικής ουδετερότητας, όπως προαναφέρθηκε, και επιβεβαιώνει την πολύ χαμηλή διαλυτότητα στο νερό που έδειξαν οι σκόρες συμπλόκων.

Το pH διαλυμάτων (1% w/w) κάθε δείγματος μετρήθηκε και οι τιμές παρουσιάζονται στον **Πίνακα 4.6**. Το pH της πηκτίνης ήταν κοντά στην τιμή 3, ενώ των πρωτεϊνών ήταν πιο κοντά στην τιμή 7. Τα μίγματα εμφάνισαν ενδιάμεσες τιμές (pH 3,4 – 4,2). Τέλος, το κινηματικό ιξώδες των υδατικών διαλυμάτων (1% w/w) επίσης μετρήθηκε, σε θερμοκρασία δωματίου, και οι τιμές του παρουσιάζονται στον **Πίνακα 4.6**. Οι τιμές του επηρεάστηκαν από το εκάστοτε δείγμα και το pH. Το διάλυμα πηκτίνης είχε υψηλότερο κινηματικό ιξώδες (~ 3,9 cSt) πιθανώς λόγω των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των αλυσίδων πηκτίνης. Οι Guimarães et al. (2009) βρήκαν πως σε όξινο pH, οι υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μεθυλεστερικών ομάδων (-COOCH<sub>3</sub>) είναι περισσότερες απ' ό τι σε υψηλότερα pH, και μάλιστα συμβάλλουν στον σχηματισμό δικτύου, το οποίο ευθύνεται για το αυξημένο ιξώδες λόγω της αντίστασης που προβάλλουν στην ροή. Στα διαλύματα των πρωτεϊνών, το κινηματικό ιξώδες είχε μικρότερες τιμές (~ 1,4 – 1,6 cSt). Σε pH > pI, τα πρωτεϊνικά μόρια έχουν αρνητικό ολικό φορτίο, γι' αυτό και απωθούνται μεταξύ τους. Η ηλεκτροστατική αυτή αλληλεπίδραση, η οποία είναι και η κύρια αλληλεπίδραση σε διαλύματα μικρής συγκέντρωσης, καταστέλλει την κινητικότητα των μορίων πρωτεΐνης, οδηγώντας σε αύξηση του ιξώδους του διαλύματος (Hong et al., 2018). Συνολικά, όλα τα διαλύματα απλών βιοπολυμερών εμφάνισαν υψηλότερο κινηματικό ιξώδες από αυτό του νερού (1,37 cSt ± 0,01). Στα διαλύματα των συμπλόκων, το κινηματικό ιξώδες πήρε τιμές από 1,39 – 1,45 cSt. Τα μίγματα, με εξαίρεση το PPI – HMP, είχαν μικρότερο κινηματικό ιξώδες από εκείνο της αντίστοιχης πρωτεΐνης. Η χαμηλή αγωγιμότητα και διαλυτότητα στο νερό μπορούν να εξηγήσουν αυτό το αποτέλεσμα.

Σχετικά με τη συμπεριφορά ροής κάθε δείγματος σκόνης, πληροφορίες μπορούν να αντληθούν από τους δείκτες ροής, δηλαδή την φαινόμενη πυκνότητα, την πυκνότητα στοιβάσεως και την πυκνότητα σωματιδίων, από τις οποίες προκύπτουν το πορώδες, ο δείκτης Carr (%) και η αναλογία Hausner, οι τιμές των οποίων παρουσιάζονται στον **Πίνακα 4.7**.

**Πίνακας 4.7.** Φαινόμενη πυκνότητα, πυκνότητα στοιβάσεως, πυκνότητα σωματιδίων, πορώδες, δείκτης Carr και αναλογία Hausner των δειγμάτων σκόνης HMP, SC, WPI και PPI και των αδιάλυτων συμπλόκων αυτών (HMP: πηκτίνη υψηλής μεθυλίωσης, SC: καζεϊνικό νάτριο, WPI: υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών ορού γάλακτος, PPI: υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών αρακά)

Δείγμα	Φαινόμενη πυκνότητα (g/cm <sup>3</sup> )	Πυκνότητα στοιβάσεως (g/cm <sup>3</sup> )	Πυκνότητα σωματιδίων (g/cm <sup>3</sup> )	Πορώδες (%)	Δείκτης Carr (%)	Αναλογία Hausner
HMP	0,45 <sup>a</sup> ± 0,00	0,65 <sup>a</sup> ± 0,00	2,36 <sup>a</sup> ± 0,14	72,69 <sup>a</sup> ± 0,00	30,07 <sup>a</sup> ± 0,74	1,43 <sup>a</sup> ± 0,02
SC	0,36 <sup>b</sup> ± 0,00	0,48 <sup>b</sup> ± 0,01	1,25 <sup>bc</sup> ± 0,00	61,60 <sup>b</sup> ± 0,44	25,15 <sup>b</sup> ± 0,21	1,34 <sup>b</sup> ± 0,00
WPI	0,30 <sup>c</sup> ± 0,00	0,36 <sup>c</sup> ± 0,00	0,92 <sup>c</sup> ± 0,08	60,57 <sup>c</sup> ± 0,33	15,73 <sup>c</sup> ± 0,67	1,19 <sup>c</sup> ± 0,01
PPI	0,43 <sup>d</sup> ± 0,00	0,61 <sup>d</sup> ± 0,00	1,00 <sup>cd</sup> ± 0,00	39,39 <sup>d</sup> ± 0,00	29,28 <sup>ad</sup> ± 0,72	1,41 <sup>ad</sup> ± 0,01
SC-HMP	0,48 <sup>e</sup> ± 0,01	0,67 <sup>e</sup> ± 0,00	1,46 <sup>b</sup> ± 0,04	54,47 <sup>e</sup> ± 0,00	27,99 <sup>d</sup> ± 0,82	1,39 <sup>d</sup> ± 0,02
WPI-HMP	0,47 <sup>f</sup> ± 0,01	0,73 <sup>f</sup> ± 0,01	1,18 <sup>de</sup> ± 0,07	38,00 <sup>f</sup> ± 1,06	35,94 <sup>e</sup> ± 0,96	1,56 <sup>e</sup> ± 0,02
PPI-HMP	0,45 <sup>a</sup> ± 0,00	0,69 <sup>g</sup> ± 0,00	1,14 <sup>cde</sup> ± 0,03	39,70 <sup>d</sup> ± 0,00	34,58 <sup>e</sup> ± 0,69	1,53 <sup>f</sup> ± 0,02

[Οι τιμές που φέρουν διαφορετικό εκθέτη για κάθε ιδιότητα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά (p < 0,05).]

Η φαινόμενη πυκνότητα κυμάνθηκε μεταξύ 0,30 και 0,48 g/cm<sup>3</sup>, ενώ η πυκνότητα στοιβάσεως από 0,36 έως 0,73 g/cm<sup>3</sup>. Για τα μεμονωμένα βιοπολυμερή, η HMP σημείωσε τις υψηλότερες τιμές και για τις δύο πυκνότητες, ακολουθούμενη από την PPI, την SC και την WPI. Μεταξύ των μιγμάτων, το SC – HMP είχε την μεγαλύτερη φαινόμενη πυκνότητα, ενώ το WPI – HMP είχε την μεγαλύτερη πυκνότητα στοιβάσεως. Σε κάθε περίπτωση, η τιμή της πυκνότητας στοιβάσεως ήταν υψηλότερη από την τιμή της φαινόμενης πυκνότητας. Ο όγκος που καταλαμβάνει το υλικό εντός του κυλίνδρου αντιστοιχεί στον όγκο των σωματιδίων και στον όγκο των κενών χώρων μεταξύ των σωματιδίων (Jinapong et al., 2008). Μετά το χτύπημα του κυλίνδρου, ο κενός χώρος μεταξύ των σωματιδίων ήταν συνολικά λιγότερος αφού τα μικρότερα σωματίδια μετακινήθηκαν σε σημεία μεταξύ των μεγάλων σωματιδίων, οδηγώντας σε πιο πυκνή χωρική κατανομή (Hernández-Nava et al., 2020).

Ο δείκτης Carr (%) είναι ενδεικτικός της ρευστότητας των σωματιδίων, κι όσο μικρότερη είναι η τιμή του, τόσο πιο ελεύθερα ρέουν τα σωματίδια. Η αναλογία Hausner σχετίζεται με τη συνεκτικότητα της σκόνης, κι όσο μειώνεται, τόσο μειώνεται και η διασωματιδιακή τριβή, και κατ' επέκταση, γίνεται πιο εύκολη η ροή των σωματιδίων. Για τα δείγματα της παρούσας διατριβής, ο δείκτης Carr και η αναλογία Hausner παρουσιάζονται στον **Πίνακα 4.6**. Ο δείκτης Carr ήταν ~ 16 % για την WPI, τιμή ενδεικτική καλής ρευστότητας σύμφωνα με τον **Πίνακα 3.5** (§ 3.2.6.2, σελ. 86), ενώ κυμάνθηκε από 25 – 30% για τις υπόλοιπες πρωτεΐνες και την πηκτίνη, δεικνύοντας μέτρια ρευστότητα. Για τα σύμπλοκα, ο δείκτης Carr κυμάνθηκε από 28 – 36%, κι έτσι, χαρακτηρίστηκαν από μέτρια ρευστότητα. Η αναλογία Hausner ήταν ~ 1,2 – 1,4 για τις πρωτεΐνες και ~ 1,4 για την πηκτίνη, που αντιστοιχεί σε μέτρια συνεκτικότητα σύμφωνα με τον **Πίνακα 3.5** (§ 3.2.6.2, σελ. 86), ενώ ήταν ~1,4 – 1,6 για τα σύμπλοκα και άρα, αυτά παρουσιάζουν υψηλή συνεκτικότητα. Τα σύμπλοκα χαρακτηρίστηκαν, λοιπόν, από μεγαλύτερη συνεκτικότητα και μικρότερη ρευστότητα σε σχέση με τις αντίστοιχες μεμονωμένες πρωτεΐνες, που μπορεί να μεταφραστεί ως μεγαλύτερη δυσκολία στη ροή. Η HMP παρουσίασε μικρότερη συνεκτικότητα και μεγαλύτερη ρευστότητα από τα μίγματα WPI – HMP και PPI – HMP, ενώ το αντίστροφο παρατηρήθηκε συγκριτικά με το μίγμα SC – HMP.

Η πυκνότητα σωματιδίων (**Πίνακας 4.6**) των μεμονωμένων βιοπολυμερών κυμάνθηκε από ~1 έως 2,36 g/cm<sup>3</sup>. Η HMP είχε την υψηλότερη τιμή, ακολουθούμενη από την SC, και τις WPI και PPI (και οι δύο πρωτεΐνες: ~1 g/cm<sup>3</sup>). Τα μίγματα με WPI ή PPI είχαν στατιστικά την ίδια πυκνότητα σωματιδίων (~1,16 g/cm<sup>3</sup>), τιμή χαμηλότερη της αντίστοιχης του μίγματος με SC. Παρόμοιες ήταν και οι παρατηρήσεις σχετικά με το πορώδες (**Πίνακας 4.6**). Οι τιμές του

πορώδους για τα μεμονωμένα βιοπολυμερή κυμάνθηκαν από ~39 – 73%, με την HMP και την PPI να έχουν την υψηλότερη και την χαμηλότερη τιμή, αντίστοιχα. Το μίγμα με SC είχε το υψηλότερο πορώδες (~54%), ενώ ακολούθησαν τα μίγματα με PPI και WPI (~40% και 38%, αντίστοιχα).

Όλες οι παραπάνω παράμετροι επηρεάζονται από το μέγεθος των σωματιδίων και την κατανομή αυτού, καθώς και από την περιεχόμενη υγρασία κάθε δείγματος σκόνης (Jaya & Das, 2004, Seerangurayar et al., 2017). Έτσι, η παρατηρηθείσα συμπεριφορά των μιγμάτων, συγκριτικά με αυτή των μεμονωμένων βιοπολυμερών, μπορεί να σχετίζεται με ένα μικρότερο μέγεθος σωματιδίων, καθώς σε αυτήν την περίπτωση, ο κενός χώρος μεταξύ των σωματιδίων είναι μικρότερος οδηγώντας σε πιο πυκνή τοποθέτηση των σωματιδίων στον χώρο (Seerangurayar et al., 2017), και κατ' επέκταση σε υψηλότερες τιμές πυκνότητας στοιβάσεως, αλλά χαμηλότερες τιμές πορώδους. Επιπροσθέτως, η επιφάνεια επαφής μεταξύ των σωματιδίων είναι μεγαλύτερη προωθώντας την ανάπτυξη ισχυρότερων διασωματιδιακών δυνάμεων και κατ' επέκταση, ισχυρότερη αντίσταση στη ροή (Fitzpatrick, 2005). Σχετικά με την περιεκτικότητα των σωματιδίων σε νερό, το αυξημένο βάρος των δειγμάτων σκόνης λόγω της παρουσίας νερού μπορεί να οδηγήσει σε υψηλότερες τιμές πυκνότητας (Chegini & Ghobadian, 2005). Όπως έχει ήδη αναφερθεί, τα μίγματα είχαν υψηλότερη περιεχόμενη υγρασία από τα μεμονωμένα βιοπολυμερή. Τέλος, για τα μίγματα, η ισχύς των ελκτικών δυνάμεων αποτέλεσε βασικό παράγοντα για τις παρατηρήσεις που προέκυψαν, καθώς επηρέασε αρκετές από τις ιδιότητες των δειγμάτων σκόνης που μελετήθηκαν. Για παράδειγμα, το ασθενέστερο σύμπλοκο PPI-HMP είχε μικρότερη περιεκτικότητα σε νερό και υψηλότερη πυκνότητα στοιβάσεως, ενώ έφερε αντίσταση στη ροή.

#### 4.2.2. Παρασκευή Γαλακτωμάτων και Γαλακτωμάτων Υψηλής Εσωτερικής Φάσης με Μικτά Συστήματα Πρωτεΐνης – Πηκτίνης

Η παρούσα ενότητα αφορά στη διερεύνηση της ικανότητας αξιοποίησης μικτών συστημάτων πηκτίνης – πρωτεΐνης στην παρασκευή γαλακτωμάτων και γαλακτωμάτων υψηλής εσωτερικής φάσης με σκοπό τη διερεύνηση της δυνατότητας δόμησης ηλιελαίου μέσω σχηματισμού ελαιοπηκτών, με την αξιοποίηση των συστημάτων αυτών. Αρχικά, μίγματα πρωτεΐνης, δηλαδή καζεϊνικό νάτριο (SC) ή υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών αρακά (PPI), και πηκτίνης υψηλής μεθυλίωσης (HMP) με αναλογία πρωτεΐνης: πηκτίνης 2:1 ή 6:1, παρασκευάστηκαν σε τρεις ομάδες, με την τελική συγκέντρωση της πηκτίνης να είναι 0,1 %, 0,5% και 1,0% (w/w) για την ομάδα 1, 2 και 3, αντίστοιχα. Επίσης, παρασκευάστηκαν και δείγματα αναφοράς, περιέχοντας μόνο πρωτεΐνη σε συγκέντρωση ίση με την συνολική συγκέντρωση βιοπολυμερών ανά περίπτωση. Το σύνολο των δειγμάτων παρουσιάζεται στον **Πίνακα 3.6** (§ 3.2.7.1). Το pH όλων των δειγμάτων ήταν ~ 6. Κατόπιν, παρασκευάστηκαν γαλακτώματα (w/o) των οποίων το ιξώδες (mPa s) και η σταθερότητα (%) σε περίοδο επτά ημερών, καταγράφηκαν και παρουσιάζονται στο **Σχήμα 4.15**.

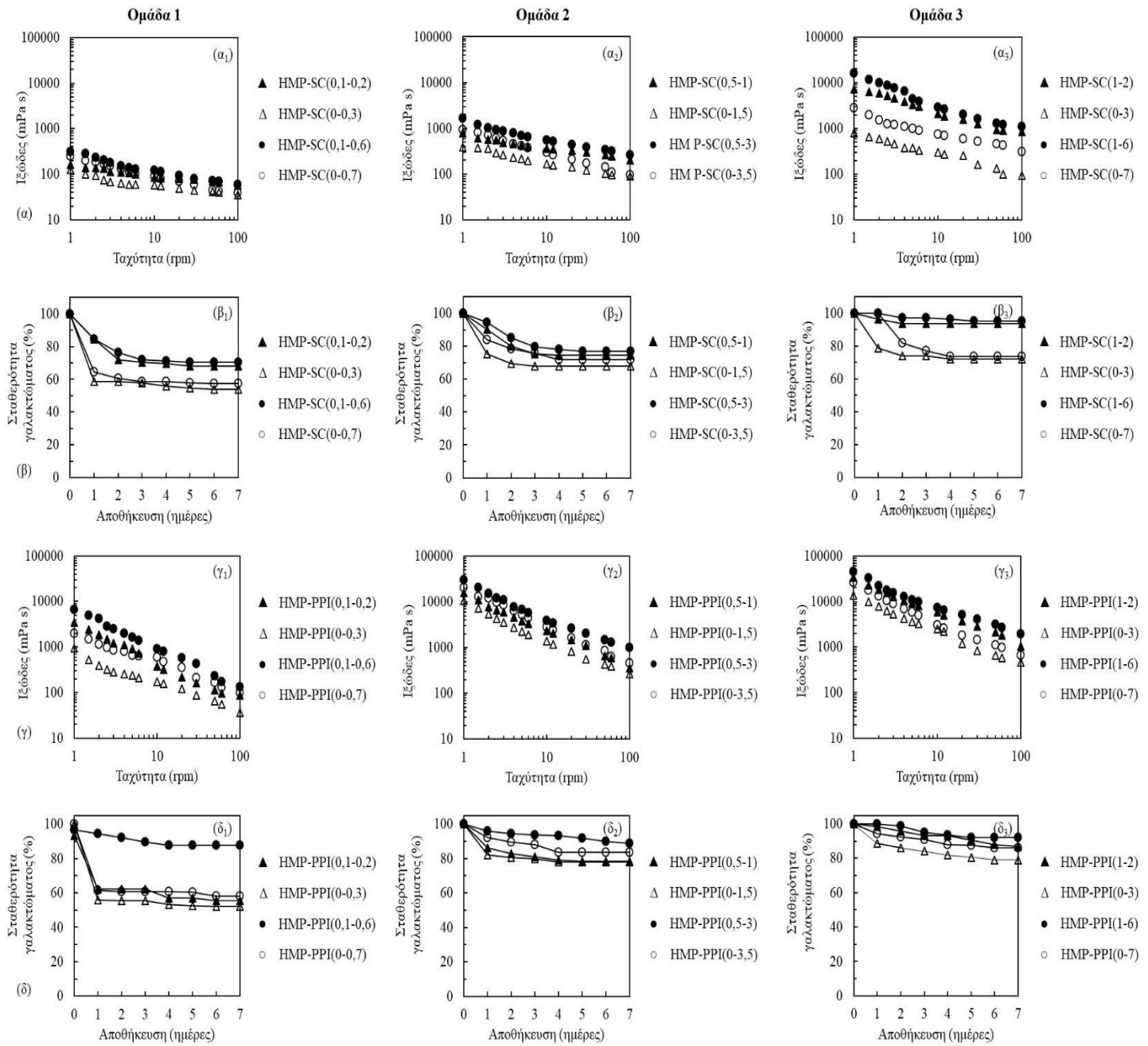
Σχετικά με το ιξώδες των γαλακτωμάτων με SC ή μίγματα SC και HMP, στην περίπτωση που η συγκέντρωση της πηκτίνης ήταν 0,1% (w/w) [**Σχήμα 4.15 (α1)**], όλα τα γαλακτώματα είχαν ψευδοπλαστική συμπεριφορά, δηλαδή το ιξώδες μειώνεται όσο αυξάνεται η ταχύτητα περιστροφής. Τα γαλακτώματα με μίγματα [HMP-SC(0,1-0,2) και HMP-SC(0,1-0,6)] είχαν υψηλότερες τιμές ιξώδους από τα γαλακτώματα με πρωτεΐνη [HMP-SC(0-0,3) και HMP-SC(0-0,7)]. Ακόμη, η συνολική συγκέντρωση βιοπολυμερών έπαιξε καθοριστικό ρόλο καθώς τα γαλακτώματα HMP-SC(0,1-0,6) και HMP-SC(0-0,7) [με συνολική συγκέντρωση βιοπολυμερών 0,7% (w/w)] είχαν μεγαλύτερο ιξώδες συγκριτικά με τα γαλακτώματα HMP-SC(0,1-0,2) και HMP-SC(0-0,3) [με συνολική συγκέντρωση βιοπολυμερών 0,3% (w/w)]. Παρόμοιες παρατηρήσεις έγιναν και για το ιξώδες των γαλακτωμάτων στην περίπτωση που η συγκέντρωση της πηκτίνης ήταν 0,5% (w/w) [**Σχήμα 4.15 (α2)**] και 1% (w/w) [**Σχήμα 4.15 (α3)**]. Τα γαλακτώματα με την υψηλότερη συνολική συγκέντρωση βιοπολυμερών [3% και 7% (w/w) για τις αναλογίες 2:1 και 6:1, αντίστοιχα], είχαν τις υψηλότερες τιμές ιξώδους. Σε ρυθμό διάτμησης 100 rpm, το ιξώδες κυμάνθηκε από ~35 έως 60 mPa s για τα γαλακτώματα της Ομάδας 1, από ~90 έως 266 mPa s για την Ομάδα 2 και από ~93 έως 1093 mPa s για την Ομάδα 3.

Η σταθερότητα κατά τη διάρκεια επτά ημερών καταγράφηκε και οι τιμές για τα γαλακτώματα με SC ή μίγματα SC και HMP παρουσιάζονται στο **Σχήμα 4.15 (β)**. Για όλα τα γαλακτώματα, με συγκέντρωση πηκτίνης 0,1%, 0,5% και 1% (w/w), η παρουσία των μιγμάτων πρωτεΐνης – πηκτίνης, παρά η παρουσία μόνο πρωτεΐνης, οδήγησε σε μεγαλύτερη σταθερότητα. Τα γαλακτώματα HMP-SC(0,1-0,6), HMP-SC(0,5-3) και HMP-SC(1-6), με την υψηλότερη αναλογία πρωτεΐνης: πηκτίνης (6:1), είχαν την υψηλότερη σταθερότητα μεταξύ των γαλακτωμάτων ίδιας συγκέντρωσης πηκτίνης, με τιμές σταθερότητας ~70, ~77% και ~95%, αντίστοιχα, ενώ τα γαλακτώματα HMP-SC(0-0,3), P-SC(0-1,5) και HMP-SC(0-3), που περιείχαν μόνο πρωτεΐνη, ήταν τα λιγότερο σταθερά με τιμές σταθερότητας ~54%, ~68% και ~72%, αντίστοιχα, στο τέλος της περιόδου αποθήκευσης. Συνολικά, τα γαλακτώματα HMP-SC(1-2) και HMP-SC(1-6) ήταν τα πιο σταθερά από όλα τα υπό μελέτη γαλακτώματα.

Το **Σχήμα 4.15 (γ, δ)** παρουσιάζει το ιξώδες και την σταθερότητα των γαλακτωμάτων με PPI ή μίγματα PPI και HMP. Παρόμοιες παρατηρήσεις προκύπτουν για τα γαλακτώματα με PPI, όπως και για εκείνα με SC, με τα γαλακτώματα με μίγματα βιοπολυμερών να έχουν υψηλότερες τιμές ιξώδους και σταθερότητας από τα γαλακτώματα που περιείχαν μόνο πρωτεΐνη. Τα γαλακτώματα της Ομάδας 3 είχαν υψηλότερες τιμές ιξώδους από εκείνα της Ομάδας 2 και της Ομάδας 1. Σε ρυθμό διάτμησης 100 rpm, το ιξώδες κυμάνθηκε από ~36 έως 133 mPa s, από ~268 έως 1012 mPa s και από ~ 460 έως 1946 mPa s για τα γαλακτώματα της Ομάδας 1, 2 και 3, αντίστοιχα. Κι εδώ, τα γαλακτώματα με την υψηλότερη αναλογία πρωτεΐνης: πηκτίνης (6:1), δηλαδή τα HMP-PPI(0,1-0,6), HMP-PPI (0,5-3) και HMP-PPI (1-6), είχαν την υψηλότερη σταθερότητα μεταξύ των γαλακτωμάτων ίδιας συγκέντρωσης πηκτίνης, με τιμές σταθερότητας ~88, ~89% και ~92%, αντίστοιχα, ενώ τα γαλακτώματα HMP-PPI (0-0,3), HMP-PPI (0-1,5) και HMP-PPI(0-3), που περιείχαν μόνο πρωτεΐνη, ήταν τα λιγότερο σταθερά με τιμές σταθερότητας ~52%, ~78% και ~79%, αντίστοιχα, στο τέλος της περιόδου αποθήκευσης.

Βάσει των παραπάνω, προκύπτει το συμπέρασμα πως ο τύπος της πρωτεΐνης που χρησιμοποιήθηκε σε κάθε περίπτωση, επηρέασε καθοριστικά τις τιμές που καταγράφηκαν για τις ιδιότητες που μελετήθηκαν. Συνολικά, τα μίγματα με PPI οδήγησαν σε γαλακτώματα υψηλότερου ιξώδους και μεγαλύτερης σταθερότητας συγκριτικά με τα μίγματα με SC. Για τα γαλακτώματα όπου η συγκέντρωση πηκτίνης ήταν 0,1% ή 0,5% (w/w), τα γαλακτώματα με PPI είχαν μεγαλύτερες τιμές ιξώδους αλλά ήταν και πιο σταθερά από τα γαλακτώματα με SC, ενώ για τα δείγματα όπου η συγκέντρωση πηκτίνης ήταν 1% (w/w), τα γαλακτώματα είχαν συγκρίσιμες τιμές για τις δύο αυτές ιδιότητες, και για τις δύο πρωτεΐνες.





**Σχήμα 4.15.** Ιξώδες (mPa s) και σταθερότητα (%) γαλακτωμάτων που παρασκευάστηκαν με μικτά συστήματα (α, β) πηκτίνης (HMP) με καζεϊνικό νάτριο (SC) ή (γ, δ) πηκτίνης με υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών αρακά (PPI), ή μόνο με πρωτεΐνη, διαφορετικών συγκεντρώσεων και αναλογιών [Οι συγκεντρώσεις κάθε βιοπολυμερούς αναφέρονται στο όνομα κάθε δείγματος, εντός παρενθέσεων, και είναι σε % (w/w).]

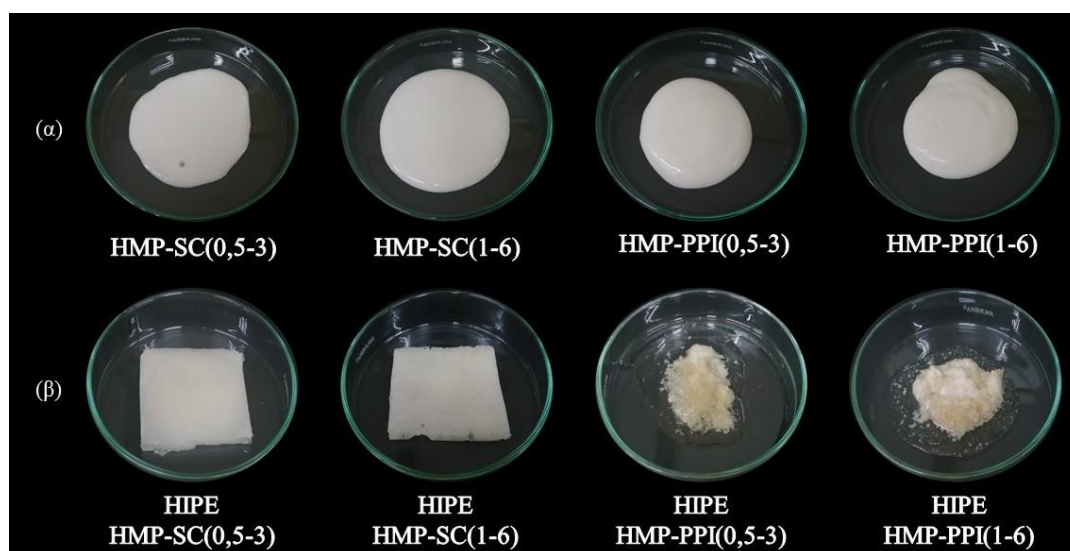
Σχετικά με την επίδραση της συγκέντρωσης βιοπολυμερών στις υπό μελέτη παραμέτρους, οι παρατηρήσεις που προέκυψαν για τις μετρήσεις του ιξώδους των γαλακτωμάτων ήταν αναμενόμενες, καθώς στην περίπτωση υψηλότερης συγκέντρωσης βιοπολυμερών, υπάρχουν περισσότερα μόρια που διαταράσσουν την ροή του διαλύτη, με αποτέλεσμα μία υψηλότερη τιμή ιξώδους. Παρομοίως, καθώς οι πρωτεΐνες προσροφώνται στην επιφάνεια των σταγονιδίων ελαίου σχηματίζοντας μία προστατευτική μεμβράνη που αποτρέπει την συσσωμάτωση των σταγονιδίων, υψηλότερες συγκεντρώσεις απαιτούνται για την σταθεροποίηση των σταγονιδίων λόγω της αύξησης της ειδικής επιφάνειάς τους (Panagoroulou et al., 2015). Η σταθεροποιητική επίδραση της πηκτίνης παρατηρήθηκε, επίσης, καθώς τα γαλακτώματα με μίγματα πηκτίνης – πρωτεΐνης είχαν καλύτερη απόδοση από τα γαλακτώματα μόνο πρωτεΐνης, γεγονός που μπορεί να αποδοθεί στην γαλακτωματοποιητική και σταθεροποιητική ικανότητα της πηκτίνης (π.χ. Krodou et al., 2017).

Οι πρωτεΐνες PPI, οι οποίες είναι φυτικής προέλευσης, αναδεικνύονται ως μια δημοφιλής εναλλακτική λύση για την αντικατάσταση των συμβατικών πρωτεϊνών, όπως είναι, για παράδειγμα, οι ζωικές πρωτεΐνες. Μελέτες υποστηρίζουν, όμως, πως χαρακτηρίζονται από υποδεέστερες λειτουργικές ιδιότητες (π.χ. ικανότητα συγκράτησης νερού, ικανότητα αφρισμού, γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες) σε σχέση με άλλες πρωτεΐνες (π.χ. σόγιας, ορού γάλακτος) (π.χ. Cheng et al., 2022). Τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής φάνηκε να αποκλίνουν από αυτές τις αναφορές καθώς η πρωτεΐνη PPI οδήγησε σε γαλακτώματα που υπερείχαν ως προς την τιμή ιξώδους και σταθερότητας στον χρόνο, σε σχέση με τα γαλακτώματα με SC, κι αυτό πιθανώς να οφείλεται στην προέλευση και την επεξεργασία κατά την μέθοδο απομόνωσης της κάθε πρωτεΐνης.

Κατά τη διάρκεια της γαλακτωματοποίησης, οι σφαιρικές πρωτεΐνες λόγω του ιδιαίτερου προσανατολισμού και του μεγαλύτερου μεγέθους τους, σχηματίζουν πιο συμπαγή μεμβράνη σε σύγκριση με τις εύκαμπτες πρωτεΐνες, που αποτρέπει την αποσταθεροποίηση των γαλακτωμάτων μέσω ηλεκτροστατικής απόθησης. Επιπλέον, η κινητικότητα των σφαιρικών πρωτεϊνών μεταξύ μεμβράνης προσρόφησης και υδατικής φάσης είναι πολύ περιορισμένη λόγω των έντονων διαμοριακών δυνάμεων (ελκτικών και απωστικών) στη διεπιφάνεια. οδηγώντας σε υψηλότερο ιξώδες σε σύγκριση με τις εύκαμπτες πρωτεΐνες (Dickinson, 1994). Το γεγονός αυτό μπορεί να δώσει μία εξήγηση για τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής, λαμβάνοντας υπόψη πως οι πρωτεΐνες αρακά και οι καζεΐνες ανήκουν στις σφαιρικές και τις εύκαμπτες πρωτεΐνες, αντίστοιχα (Sim et al., 2021).

Συνολικά, παρατηρήθηκε πως η παρουσία ή όχι της πηκτίνης επηρέασε το τελικό αποτέλεσμα, αφού στην περίπτωση ύπαρξης μίγματος, τα γαλακτώματα παρουσίασαν υψηλότερο ιξώδες και ήταν πιο σταθερά κατά την αποθήκευση, σε σύγκριση με τα γαλακτώματα ίδιας συνολικής συγκέντρωσης, αλλά απουσία πηκτίνης. Το γεγονός αυτό επιβεβαιώνει τις γαλακτωματοποιητικές και σταθεροποιητικές ικανότητες της πηκτίνης (π.χ. Kprodo et al., 2017) αλλά και την πιθανή συνεργιστική προσρόφηση του πολυσακχαρίτη και της εκάστοτε πρωτεΐνης (δηλαδή όταν τα διαφορετικά μόρια βρίσκονται ταυτόχρονα στη διεπιφάνεια) (Dickinson, 1994), η οποία φαίνεται να ενίσχυσε την σταθερότητα των γαλακτωμάτων.

Ακολούθως, και βάσει των προηγούμενων αποτελεσμάτων, τα γαλακτώματα και των δύο πρωτεϊνών, με συγκέντρωση πηκτίνης 0,5% ή 1% (w/w) και αναλογία πρωτεΐνης: πηκτίνης 6:1, τα οποία φαίνονται στην **Εικόνα 4.3 (α)**, ξηράθηκαν προκειμένου να σχηματιστούν ελαιοπηκτές. Πλήρης ξήρανση δεν επετεύχθη, οδηγώντας, τελικά, σε γαλακτώματα υψηλής εσωτερικής φάσης (HIPE), που ονομάστηκαν HIPE HMP-SC(0,5-3), HIPE HMP-SC(1-6), HIPE HMP-PPI(0,5-3) και HIPE HMP-PPI(1-6), και παρουσιάζονται στην **Εικόνα 4.3 (β)**. Η περιεκτικότητα των δειγμάτων σε νερό και έλαιο κατόπιν ξήρανσης, καθώς και η απώλεια ελαίου από τα HIPE παρουσιάζονται στον **Πίνακα 4.8**.



**Εικόνα 4.3.** Μακροσκοπική εμφάνιση (α) των γαλακτωμάτων και (β) των αποξηραμένων προϊόντων (HIPE) παρουσία μιγμάτων πηκτίνης (HMP) με καζεϊνικό νάτριο (SC) ή με υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών αρακά (PPI) [Οι συγκεντρώσεις κάθε βιοπολυμερούς αναφέρονται στο όνομα κάθε δείγματος, εντός παρενθέσεων, και είναι σε % (w/w)]

Τα HIPE με SC παρουσίασαν πιο συγκροτημένες δομές από τα αντίστοιχα με PPI, όπως φαίνεται στην **Εικόνα 4.3 (β)**. Επιπλέον, η απώλεια ελαίου ήταν μικρότερη στα HIPE με SC (~83%) απ' ό τι σε εκείνα με PPI (~93%), όπως φαίνεται στον **Πίνακα 4.8**. Σε όλες τις περιπτώσεις, όμως, η απώλεια ελαίου ήταν πολύ μεγάλη, υποδηλώνοντας πως ο συγκεκριμένος συνδυασμός βιοπολυμερών δεν κατάφερε να οδηγήσει σε μία ισχυρή δομή, ικανή συγκράτησης του ελαίου. Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, η σταθερότητα του HIPE ποικίλει ανάλογα με την ποσότητα και τον τύπο των επιφανειοδραστικών και σταθεροποιητικών μορίων, της αναλογίας αυτών, και του pH. Για παράδειγμα, οι Meng et al. (2018 a, b) παρασκεύασαν HIPE με απώλεια ελαίου μεγαλύτερη του 6% ή 12% παρουσία 1% υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνης ή 0,6% υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνης και 0,3% κόμμος ξανθάνης. Οι Gaudino et al. (2019) παρουσίασαν ένα πολύ σταθερό HIPE με μηδενική απώλεια ελαίου, το οποίο παρασκευάστηκε με λεκιθίνη σόγιας και στεαρικό οξύ σε αρκετά υψηλές συγκεντρώσεις (~20 και 30%, αντίστοιχα).

**Πίνακας 4.8.** Περιεκτικότητα σε νερό και έλαιο μετά την ξήρανση των γαλακτωμάτων (αρχικού βάρους 100 g) και απώλεια ελαίου από τα HIPE που περιέχουν μίγματα πηκτίνης (HMP) με καζεϊνικό νάτριο (SC) ή με υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών αρακά (PPI), κατόπιν φυγοκέντρισης. [Οι συγκεντρώσεις κάθε βιοπολυμερούς αναφέρονται στο όνομα κάθε δείγματος, εντός παρενθέσεων, και είναι σε % (w/w).]

Δείγμα	Σύσταση υδατικής φάσης αρχικού γαλακτώματος	Ολικό βάρος	Περιεκτικότητα σε νερό		Περιεκτικότητα σε έλαιο		Ολικά Βιοπολυμερή (Πρωτεΐνη + Πηκτίνη)		Απώλεια ελαίου
		g	g	%	g	%	g	%	%
HIPE HMP-SC(0,5-3)	0,5% HMP + 3% SC	62,60	1,20	1,92	60	95,84	1,40	2,24	84,43
HIPE HMP-SC(1-6)	1% HMP + 6% SC	65,10	2,30	3,53	60	92,16	2,80	4,30	82,33
HIPE HMP-PPI(0,5-3)	0,5% HMP + 3% PPI	62,63	1,23	1,96	60	95,79	1,40	2,24	95,52
HIPE HMP-PPI(1-6)	1% HMP + 6% PPI	66,00	3,20	4,85	60	90,91	2,80	4,24	91,80

Για τον σχηματισμό HIPE έχουν χρησιμοποιηθεί, επίσης, μίγματα καζεϊνικού και αλγινικού νατρίου, σε διάφορες αναλογίες βιοπολυμερών και τιμές pH. Σε αυτήν την περίπτωση, η απώλεια ελαίου κυμάνθηκε μεταξύ ~2 έως 35%, και οι ιδιότητες των HIPE επηρεάστηκαν και από τις δύο παραμέτρους που μελετήθηκαν. HIPE από πρωτεΐνες αρακά σε συνδυασμό με πολυσακχαρίτες σε σταθερή αναλογία 4:1, και συνολική συγκέντρωση βιοπολυμερών 2%, παρασκευάστηκαν και μελετήθηκαν από τους Vélez-Erazo et al. (2020). Η

συμπεριφορά κάθε συστήματος διέφερε ανάλογα με τον πολυσακχαρίτη, και η απώλεια ελαίου πήρε τιμές από 0,5% έως και 75%.

Στην παρούσα διατριβή, τα μίγματα βιοπολυμερών που μελετήθηκαν περιείχαν δύο διαφορετικές πρωτεΐνες (SC ή PPI), αλλά τον ίδιο πολυσακχαρίτη (HMP). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, και για τις δύο πρωτεΐνες, τα γαλακτώματα με 1% (w/w) HMP, τα οποία είχαν υψηλότερο ιξώδες, συγκράτησαν περισσότερο νερό κατά την ξήρανση, σε σχέση με τα γαλακτώματα με 0,5% (w/w) HMP (**Πίνακας 4.8**). Το γεγονός αυτό υποδεικνύει πως τα γαλακτώματα υψηλότερου ιξώδους οδήγησαν σε HIPE με μικρότερη απώλεια νερού κατά την αφυδάτωση. Επίσης, παρόλο που τα γαλακτώματα χαρακτηρίστηκαν από καλή σταθερότητα στον χρόνο, τα HIPE που προέκυψαν από αυτά, δεν ήταν σταθερά. Παρόμοιες παρατηρήσεις διατύπωσαν σε πρόσφατη μελέτη και οι Vélez-Eraza et al. (2020).

Η δομή των γαλακτωμάτων πριν την ξήρανση φαίνεται να έπαιξε σημαντικό ρόλο σε αυτά τα αποτελέσματα. Η δομή σχετίζεται με τη διεπιφανειακή συμπεριφορά του εκάστοτε μίγματος πρωτεΐνης – πηκτίνης. Στην παρούσα διατριβή, το pH των μιγμάτων ήταν 6, δηλαδή πάνω από το pI των πρωτεϊνών που χρησιμοποιήθηκαν (~4,6) (Burger & Zhang, 2019), αλλά και πάνω από το pKa της πηκτίνης (~3,5) (Lan et al., 2018). Ως εκ τούτου, οι συνθήκες αυτές δεν ήταν ευνοϊκές για τον σχηματισμό συμπλόκων μεταξύ πρωτεϊνών και πηκτίνης. Καθώς, όμως, η συνολική συγκέντρωση βιοπολυμερών ήταν 3,5% και 7% (w/w) για τα γαλακτώματα με 0,5% και 1% (w/w) HMP, αντίστοιχα, η πιθανότητα θερμοδυναμικής ασυμβατότητας στην υδατική φάση υπήρχε, και επιπλέον, και τα δύο βιοπολυμερή μπορούσαν να προσροφηθούν στη διεπιφάνεια εάν υπήρχε αρκετός χώρος (Patino & Pilosof, 2011). Ακόμη, ο τύπος πρωτεΐνης που χρησιμοποιήθηκε επηρέασε σημαντικά τον σχηματισμό HIPE, καθώς τα HIPE με SC είχαν πιο συγκροτημένη δομή υποδεικνύοντας ανθεκτικότητα στις διαδικασίες ξήρανσης και ομογενοποίησης που περιελάμβανε ο σχηματισμός τους. Σύμφωνα με τους Vélez-Eraza et al. (2021), το γεγονός αυτό μπορεί να σχετίζεται με μία δομή μεγαλύτερης ευελιξίας που εξαρτάται από την έκταση των αλληλεπιδράσεων πρωτεΐνης – πολυσακχαρίτη.

Συνολικά, όλα τα HIPE που προέκυψαν, χαρακτηρίστηκαν από αδυναμία δόμησης ελαίου. Τα μόρια της πηκτίνης δεν κατάφεραν να συγκρατήσουν τα μόρια του νερού εντός του συστήματος, γεγονός που πιθανώς να αποσταθεροποίησε το σταθερό δίκτυο που παρατηρήθηκε όταν το σύστημα ήταν στη φάση του γαλακτώματος, οδηγώντας σε διαχωρισμό φάσεων κατά την μετέπειτα επεξεργασία των HIPE με μύλο.

### 4.2.3. Παρασκευή Εδώδιμων μεμβρανών με Μικτά Συστήματα Πρωτεΐνης – Πηκτίνης

Στην παρούσα ενότητα, τα μικτά συστήματα βιοπολυμερών της προηγούμενης Ενότητας (§ 4.2.2) αξιοποιήθηκαν για την παρασκευή εδώδιμων μεμβρανών. Πιο συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκαν υδατικά διαλύματα πρωτεΐνης-πηκτίνης (SC/PPI-HMP) σε αναλογία 6:1, με συγκέντρωση πηκτίνης 0,5% ή 1,0% (w/w). Μετά την παρασκευή των μιγμάτων, ακολούθησε προσθήκη γλυκερόλης και ξήρανση. Οι μεμβράνες που προέκυψαν ονομάστηκαν F HMP-SC(0,5-3), F HMP-SC(1-6), F HMP-PPI(0,5-3) και F HMP-PPI(1-6) (**Πίνακας 4.9**). Όλες οι μεμβράνες αποκολλήθηκαν ακέραιες, ενώ στην επιφάνειά τους δεν εντοπίστηκαν φυσαλίδες ή ρωγμές. Οι ιδιότητες των μεμβρανών που μελετήθηκαν, δηλαδή το βάρος, το πάχος, η πυκνότητα, η περιεχόμενη υγρασία, η διαπερατότητα σε υδρατμούς (WVP) και οι μηχανικές ιδιότητες, παρουσιάζονται στον **Πίνακα 4.9**, ενώ η εικόνα των μεμβρανών, οι χρωματικές παράμετροι και η θολερότητα αυτών παρουσιάζονται στον **Πίνακα 4.10**.

Οι τιμές του βάρους των μεμβρανών κυμάνθηκαν από ~1 έως ~3 g, και της πυκνότητας από ~107 έως 278 μm, όπως φαίνεται στον **Πίνακα 4.9**. Και για τις δύο πρωτεΐνες, οι μεμβράνες με 1% (w/w) HMP [F HMP-SC(1-6) και F HMP-PPI(1-6)] είχαν μεγαλύτερες τιμές βάρους και πάχους σε σχέση με τις μεμβράνες με 0,5% (w/w) HMP [F HMP-SC(0,5-3) και F HMP-PPI(0,5-3)], πιθανώς λόγω της μεγαλύτερης συνολικής συγκέντρωσης βιοπολυμερών. Δεδομένου ότι κάθε μεμβράνη προέκυψε από ξήρανση σταθερής ποσότητας διαλύματος, η προσθήκη μεγαλύτερης συγκέντρωσης βιοπολυμερών στη μία περίπτωση, οδήγησε σε μεγαλύτερες τιμές ξηρού βάρους (Eghbal et al., 2017). Ταυτόχρονα, το πάχος των μεμβρανών επηρεάζεται από τη συγκέντρωση του πλαστικοποιητή, που στην προκειμένη περίπτωση ήταν η γλυκερόλη, καθώς τα μόριά του διασκορπίζονται στο δίκτυο της μεμβράνης αυξάνοντας τον διάμεσο χώρο μεταξύ των πολυμερικών αλυσίδων (Farhan & Hani, 2017). Στην παρούσα διατριβή, οι μεμβράνες F HMP-SC(1-6) και F HMP-PPI(1-6) περιείχαν μεγαλύτερη ποσότητα γλυκερόλης απ' ό,τι οι μεμβράνες F HMP-SC(0,5-3) και F HMP-PPI(0,5-3). Ο τύπος της πρωτεΐνης που χρησιμοποιήθηκε σε κάθε περίπτωση, επηρέασε, επίσης, το βάρος και το πάχος των δειγμάτων. Για την ίδια συνολική συγκέντρωση βιοπολυμερών, οι μεμβράνες με SC είχαν μεγαλύτερη τιμή βάρους και πάχους από τις μεμβράνες με PPI, γεγονός ενδεικτικό σχηματισμού διαφορετικού δικτύου κατά την ξήρανση.

**Πίνακας 4.9.** Σύσταση διαλύματος σχηματισμού μεμβρανών και φυσικοχημικές ιδιότητες μεμβρανών που παρασκευάστηκαν με πηκτίνη υψηλής μεθυλίωσης (HMP) και καζεϊνικό νάτριο (SC) ή υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών αρακά (PPI). [Οι συγκεντρώσεις κάθε βιοπολυμερούς αναφέρονται στο όνομα κάθε δείγματος, εντός παρενθέσεων, και είναι σε % (w/w).]

Δείγμα	Σύσταση διαλύματος σχηματισμού μεμβρανών	Βάρος (g)	Πάχος (μm)	Ποκνότητα (g/cm <sup>3</sup> )	Περιεχόμενη υγρασία (%)	WVP (10 <sup>-8</sup> gmm/hcm <sup>2</sup> Pa)	Μέγιστη δύναμη (N)	Μέτρο ελαστικότητας (kPa)
F HMP-SC(0,5-3)	0,5% HMP - 3% SC + γλυκερόλη (30% w/w βιοπολ.)	1,50 <sup>a</sup> ± 0,09	190,00 <sup>a</sup> ± 14,14	1,32 <sup>a</sup> ± 0,03	13,06 <sup>a</sup> ± 0,13	10,17 <sup>a</sup> ± 0,82	37,98 <sup>a</sup> ± 1,28	632,03 <sup>a</sup> ± 13,88
F HMP-SC(1-6)	1% HMP - 6% SC + γλυκερόλη (30% w/w βιοπολ.)	2,94 <sup>b</sup> ± 0,10	277,87 <sup>b</sup> ± 12,00	1,36 <sup>a</sup> ± 0,11	13,06 <sup>a</sup> ± 0,01	14,30 <sup>b</sup> ± 0,74	43,73 <sup>b</sup> ± 1,37	714,43 <sup>b</sup> ± 21,39
F HMP-PPI(0,5-3)	0,5% HMP - 3% PPI + γλυκερόλη (30% w/w βιοπολ.)	0,93 <sup>c</sup> ± 0,03	107,63 <sup>c</sup> ± 5,00	1,40 <sup>a</sup> ± 0,10	22,33 <sup>b</sup> ± 1,07	7,52 <sup>a</sup> ± 0,97	11,52 <sup>c</sup> ± 0,93	273,46 <sup>c</sup> ± 14,70
F HMP-PPI(1-6)	1% HMP - 6% PPI + γλυκερόλη (30% w/w βιοπολ.)	1,92 <sup>d</sup> ± 0,04	210,70 <sup>d</sup> ± 9,00	1,51 <sup>a</sup> ± 0,21	20,05 <sup>b</sup> ± 1,92	14,15 <sup>b</sup> ± 0,49	16,04 <sup>d</sup> ± 0,61	332,23 <sup>d</sup> ± 12,88

[Οι τιμές με διαφορετικό εκθέτη για κάθε ιδιότητα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά (p-value < 0,05).]

**Πίνακας 4.10.** Μακροσκοπική εμφάνιση, χρωματικές παράμετροι [L\*], [a\*] και [b\*], και θολερότητα των μεμβρανών με πηκτίνη υψηλής μεθυλίωσης (HMP) και καζεϊνικό νάτριο (SC) ή υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών αρακά (PPI). [Οι συγκεντρώσεις κάθε βιοπολυμερούς αναφέρονται στο όνομα κάθε δείγματος, εντός παρενθέσεων, και είναι σε % (w/w).]

Δείγμα	Μακροσκοπική εμφάνιση			
	F HMP-SC(0,5-3)	F HMP-SC(1-6)	F HMP-PPI(0,5-3)	F HMP-PPI(1-6)
[L*]	85,92 <sup>a</sup> ± 0,55	82,42 <sup>b</sup> ± 0,42	79,92 <sup>c</sup> ± 0,60	73,22 <sup>d</sup> ± 0,48
[a*]	1,40 <sup>a</sup> ± 0,17	1,10 <sup>a</sup> ± 0,18	3,06 <sup>b</sup> ± 0,12	7,28 <sup>c</sup> ± 0,35
[b*]	3,30 <sup>a</sup> ± 0,23	10,94 <sup>b</sup> ± 0,60	16,48 <sup>c</sup> ± 0,75	33,06 <sup>d</sup> ± 0,75
Θολερότητα	106,67 <sup>a</sup> ± 0,11	133,89 <sup>b</sup> ± 2,10	115,27 <sup>c</sup> ± 2,07	197,48 <sup>d</sup> ± 1,27

[Οι τιμές με διαφορετικό εκθέτη για κάθε ιδιότητα διαφέρουν στατιστικά σημαντικά (p-value < 0,05).]

Σύμφωνα με τον **Πίνακα 4.9**, η πυκνότητα όλων των μεμβρανών, ανεξάρτητα από τον τύπο πρωτεΐνης και συγκέντρωσης βιοπολυμερών, ήταν η ίδια ( $\sim 1,4 \text{ g/cm}^3$ ), υποδηλώνοντας μία παρόμοια συμπαγή δομή. Η περιεχόμενη υγρασία, μία ακόμη σημαντική παράμετρος που επηρεάζει τις λειτουργικές ιδιότητες της μεμβράνης, ήταν ίδια για το ίδιο μίγμα πρωτεΐνης – πηκτίνης, δηλαδή  $\sim 13\%$  και  $\sim 21\%$  για τις μεμβράνες με SC και PPI, αντίστοιχα. Έτσι, φαίνεται πως ο τύπος της πρωτεΐνης επηρέασε σε σημαντικό βαθμό και την περιεχόμενη υγρασία. Το μίγμα βιοπολυμερών που χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή των μεμβρανών περιείχε μία αμφίφιλη πρωτεΐνη (SC ή PPI), που προσέδωσε υδροφοβικότητα στις μεμβράνες, και την HMP, που είναι περισσότερο υδρόφιλη από τις πρωτεΐνες (Eghbal et al., 2016). Δεδομένου πως όλες οι μεμβράνες περιείχαν βιοπολυμερή στην ίδια αναλογία (6:1), φαίνεται πως η αναλογία και όχι η συνολική συγκέντρωση βιοπολυμερών, ήταν καθοριστική για την υδροφοβικότητα των μεμβρανών, και κατ' επέκταση για την ικανότητα πρόσληψης νερού (Eghbal et al., 2017), η οποία αντικατοπτρίζεται στις τιμές περιεχόμενης υγρασίας.

Ακολούθως, εξετάστηκε η διαπερατότητα στο νερό (WVP). Όπως φαίνεται στον **Πίνακα 4.9**, οι μεμβράνες με 1% (w/w) HMP είχαν μεγαλύτερη διαπερατότητα στο νερό από τις μεμβράνες με 0,5% (w/w) HMP. Ο τύπος της πρωτεΐνης δεν επηρέασε σε στατιστικά σημαντικό βαθμό τα αποτελέσματα. Η διαπερατότητα στο νερό εξαρτάται από τη διαλυτότητα των μορίων νερού στο δίκτυο της μεμβράνης (Chakravartula et al., 2019). Στην παρούσα διατριβή, η συνολική συγκέντρωση βιοπολυμερών αποτέλεσε κρίσιμο παράγοντα για την ιδιότητα αυτή, καθώς η μεγαλύτερη συγκέντρωση ευνόησε την αλληλεπίδραση με το νερό και κατ' επέκταση, την μεταφορά των υδρατμών. Σε αυτό συνέβαλε και η αυξημένη συγκέντρωση γλυκερόλης. Παρατηρείται, λοιπόν, πως οι μεμβράνες μικρότερης συγκέντρωσης ήταν καλύτεροι φραγμοί στην υγρασία σε σχέση με τις μεμβράνες υψηλότερης συγκέντρωσης, και στις δύο περιπτώσεις πρωτεϊνών. Ακόμη, οι μεμβράνες χαμηλότερης συγκέντρωσης ήταν πιο λεπτές, κι όπως αναφέρει η βιβλιογραφία (π.χ. Kocira et al., 2021, Kokoszka et al., 2010), όσο μικρότερο είναι το πάχος της μεμβράνης, τόσο υψηλότερη είναι η αντίσταση στην μεταφορά μορίων νερού μέσα από αυτή, μειώνοντας τη διαπερατότητα υδρατμών, γεγονός που παρατηρήθηκε και στην παρούσα διατριβή.

Η μέγιστη δύναμη στο σημείο διάτρησης και το μέτρο ελαστικότητας σχετίζονται με την αντοχή και την ακαμψία της μεμβράνης, αντίστοιχα, και οι τιμές τους παρουσιάζονται στον **Πίνακα 4.9**. Η μέγιστη δύναμη κυμάνθηκε από  $\sim 12$  έως  $44 \text{ N}$ , ενώ το μέτρο ελαστικότητας από



~273 έως 714 kPa. Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, η μηχανική συμπεριφορά της μεμβράνης εξαρτάται από τα περιεχόμενα συστατικά της, τον τύπο και την συγκέντρωση αυτών, και από το σχηματιζόμενο δίκτυο (Talón et al., 2017). Όπως φαίνεται στον **Πίνακα 4.9**, οι μεμβράνες μεγαλύτερης συνολικής συγκέντρωσης βιοπολυμερών και για τις δύο πρωτεΐνες [F HMP-SC(1-6) και F HMP-PPI(1-6)] ήταν πιο ισχυρές και άκαμπτες από εκείνες μικρότερης συγκέντρωσης βιοπολυμερών [F HMP-SC(0,5-3) και F HMP-PPI(0,5-3)]. Ακόμη, οι μεμβράνες με SC, και των δύο συγκεντρώσεων βιοπολυμερών, έδειξαν μεγαλύτερη αντοχή και ακαμψία. Πιθανώς, η μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε νερό των μεμβρανών με PPI συνέβαλε στο γεγονός ότι οι μεμβράνες αυτές ήταν περισσότερο εύκαμπτες, μιας και το νερό δρα ως πλαστικοποιητής.

Οι χρωματικές παράμετροι και η θολερότητα των μεμβρανών συμβάλλουν σε σημαντικό βαθμό στην αποδοχή του τελικού προϊόντος από τον καταναλωτή. Η αξιολόγηση του χρώματος των μεμβρανών της παρούσας διατριβής καθώς και η εικόνα αυτών, παρουσιάζονται στον **Πίνακα 4.10**. Η φωτεινότητα [ $L^*$ ] πήρε τιμές από ~73 έως 86, με την μεμβράνη F HMP-SC(0,5-3) να είναι η φωτεινότερη και η F HMP-PPI(1-6), η λιγότερο φωτεινή. Συνολικά, οι μεμβράνες με SC ήταν πιο φωτεινές από εκείνες με PPI. Επίσης, οι μεμβράνες μικρότερης συνολικής συγκέντρωσης βιοπολυμερών [F HMP-SC(0,5-3) και F HMP-PPI(0,5-3)] ήταν πιο φωτεινές από εκείνες μεγαλύτερης συγκέντρωσης [F HMP-SC(1-6) και F HMP-PPI(1-6), αντίστοιχα]. Οι τιμές της χρωματικής παραμέτρου [ $a^*$ ] ήταν θετικές σε κάθε περίπτωση. Οι μεμβράνες με SC είχαν ίδια τιμή (~1,25). Οι μεμβράνες με PPI είχαν υψηλότερες τιμές [~ 3 και 7 για τις μεμβράνες F HMP-PPI(0,5-3) και F HMP-PPI(1-6), αντίστοιχα]. Οι τιμές της χρωματικής παραμέτρου [ $b^*$ ] ήταν, επίσης, θετικές για όλα τα δείγματα με τις μεμβράνες με SC να έχουν μικρότερες τιμές [~3,3 και 11 για τις μεμβράνες F HMP-SC(0,5-3) και F HMP-SC(1-6), αντίστοιχα] από τις μεμβράνες με PPI [~16,5 και 33 για τις μεμβράνες F HMP-PPI(0,5-3) και F HMP-PPI(1-6), αντίστοιχα]. Το χρώμα των μεμονωμένων βιοπολυμερών φαίνεται να επηρέασε σε σημαντικό βαθμό τα αποτελέσματα αυτά, καθώς οι τιμές των χρωματικών παραμέτρων ήταν ~70, 90 και 79 για το [ $L^*$ ], ~9, 0 και 7 για το [ $a^*$ ], και ~20, 10 και 22 για το [ $b^*$ ] για τα βιοπολυμερή HMP, SC και PPI, αντίστοιχα (**Σχήμα 4.14**, § **4.2.1.2**, σελ. 142).

Σχετικά με την θολερότητα, οι τιμές κυμάνθηκαν από ~106 έως 198. Για την ίδια πρωτεΐνη, οι μεμβράνες μεγαλύτερης συγκέντρωσης βιοπολυμερών [F HMP-SC(1-6) και F HMP-PPI(1-6)] ήταν πιο θολές από εκείνες μικρότερης συγκέντρωσης [F HMP-SC(0,5-3) και F HMP-PPI(0,5-3)],

αντίστοιχα]. Η θολερότητα σχετίζεται με το πάχος των μεμβρανών, με τις μεμβράνες μεγαλύτερου πάχους να είναι πιο θολές (π.χ. Andrade-Mahecha et al., 2012). Στην παρούσα διατριβή, για την ίδια πρωτεΐνη, εντοπίστηκε μία θετική συσχέτιση πάχους – θολερότητας. Επιπλέον, για την ίδια συγκέντρωση βιοπολυμερών, οι μεμβράνες με PPI ήταν πιο θολές από εκείνες με SC. Γενικά, οι μεμβράνες με μεγαλύτερη θολερότητα παρουσιάζουν καλύτερες ιδιότητες φραγμού έναντι του φωτός σε σχέση με τις πιο διάφανες μεμβράνες, προστατεύοντας, έτσι, το τρόφιμο από τυχόν οξειδωτικές αντιδράσεις (Nouraddini et al., 2018). Συνεπώς, η εντονότερη θολερότητα των μεμβρανών με PPI ενδεχομένως να εξυπηρετεί καλύτερα αυτόν τον σκοπό κατά την εφαρμογή του σε κάποιο προϊόν.

Συνολικά, φαίνεται πως ο τύπος πρωτεΐνης επηρέασε τις ιδιότητες κάθε μεμβράνης που μελετήθηκε, υποδηλώνοντας διαφορές μεταξύ των δικτύων που σχηματίστηκαν, οι οποίες μπορεί να αποτελούν αποτέλεσμα ποικίλων παραγόντων. Σχετικά με τις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ πρωτεΐνης και πηκτίνης, ένας περιορισμένος αριθμός αυτών είναι πιθανό να προέκυψαν, και αυτό, όπως έχει ήδη αναφερθεί, λόγω των συγκεκριμένων συνθηκών που επιλέχθηκαν (pH 6, αναλογία πρωτεΐνης: πηκτίνης 6:1). Επίσης, οι αλληλεπιδράσεις αυτές μπορεί να διαφέρουν σε πλήθος και ισχύ ανάλογα με την πρωτεΐνη κάθε μικτού συστήματος. Η χαμηλότερη συγκέντρωση πρωτεΐνης στο PPI (84%) σε σχέση με το SC (93%) μπορεί να αποτέλεσε έναν ακόμα καθοριστικό παράγοντα για τα αποτελέσματα. Επιπροσθέτως, η κινητική της διαδικασίας ξήρανσης για τον σχηματισμό μεμβράνης είναι πιθανό να επηρέασε τη δομή και τις ιδιότητες της μεμβράνης (Kokoszka et al., 2010). Για παράδειγμα, σχετικά με το PPI, έχουν αναφερθεί δομικές αλλαγές και διαμοριακές αλληλεπιδράσεις των πολυπεπτιδικών αλυσίδων στο πρωτεϊνικό δίκτυο, κατά την ξήρανση (Gueguen et al., 1998). Έτσι, είναι πιθανό οι διάφορες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των βιοπολυμερών και η αναδιάταξη του δικτύου κατά την ξήρανση να άσκησαν επιρροή στα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής.

*Κεφάλαιο 5*

Συμπεράσματα και Προοπτικές

Πρώτος στόχος της παρούσας διατριβής ήταν η εκτίμηση της απόδοσης φιλικών προς το περιβάλλον μεθόδων εκχύλισης για την παραλαβή πηκτίνης υψηλής ποιότητας αλλά χαμηλού περιβαλλοντικού αντίκτυπου, σε σύγκριση με τις συμβατικές μεθόδους. Συνεπώς, στο πρώτο μέρος (§ 4.1.1), πραγματοποιήθηκε παραλαβή πηκτινών από φλούδες πορτοκαλιών με την πράσινη μέθοδο εκχύλισης μέσω μικροκυμάτων και με τις συμβατικές μεθόδους εκχύλισης μέσω της χρήσης υδροχλωρικού ή κιτρικού οξέος. Όλες οι πηκτίνες που παρελήφθησαν ήταν υψηλής μεθυλίωσης, αλλά χαμηλού μοριακού βάρους. Η πρώτη ύλη που χρησιμοποιήθηκε (μεσοκάρπια ή ολική φλούδα πορτοκαλιών) δεν ήταν στατιστικά σημαντικός παράγοντας για τον καθορισμό του βαθμού εστεροποίησης, σε αντίθεση με τις συνθήκες εκχύλισης. Η μέθοδος εκχύλισης με κιτρικό οξύ οδήγησε στις πηκτίνες με τον χαμηλότερο βαθμό εστεροποίησης. Από την άλλη, η δομική σύσταση της πρώτης ύλης έπαιξε σημαντικό ρόλο στο περιεχόμενο σε γαλακτουρονικό οξύ των πηκτινών, καθώς εκείνες που προήλθαν από μεσοκάρπια, είχαν υψηλότερη τιμή. Οι υπόλοιπες ιδιότητες που μελετήθηκαν επηρεάστηκαν τόσο από τη μέθοδο εκχύλισης όσο και από την πρώτη ύλη που χρησιμοποιήθηκε. Η εκχύλιση με την βοήθεια μικροκυμάτων οδήγησε σε καλές αποδόσεις και για τις δύο πρώτες ύλες, και σε πηκτίνες υψηλού βαθμού εστεροποίησης και περιεχομένου σε γαλακτουρονικό οξύ. Όλες οι πηκτίνες σχημάτισαν πηκτές κατά την ψύξη, η ισχύς των οποίων διέφερε, πιθανώς λόγω των διαφορετικών τιμών βαθμών εστεροποίησης και μοριακού βάρους κάθε δείγματος. Οι πηκτίνες υψηλότερου βαθμού εστεροποίησης οδήγησαν σε ισχυρότερες πηκτές. Επιπλέον, παρατηρήθηκε αύξηση της ισχύος των πηκτών κατά τη δεύτερη ψύξη και γενικότερα, θερμική σταθερότητα. Η συναίρεση όλων των πηκτών ήταν πάνω από το αποδεκτό όριο, με εντονότερη συναίρεση να παρατηρείται στις πηκτές πηκτινών από εκχύλιση μικροκυμάτων, ενώ οι χαμηλότερες τιμές σημειώθηκαν στις πηκτίνες που προήλθαν από ολικά απόβλητα πορτοκαλιών. Τόσο οι συνθήκες εκχύλισης όσο και η πρώτη ύλη, επηρέασαν σημαντικά το φαινόμενο της συναίρεσης. Κατόπιν, παρασκευάστηκαν γαλακτώματα με τις υπό μελέτη πηκτίνες, τα οποία παρουσίασαν συμπεριφορά ψευδοπλαστικού. Τα γαλακτώματα πηκτινών από εκχύλιση υδροχλωρικού οξέος, είχαν την χαμηλότερη αγωγιμότητα, το υψηλότερο ιξώδες και τη μεγαλύτερη σταθερότητα στον χρόνο. Γενικά, παρατηρήθηκε πως η μέθοδος εκχύλισης έπαιξε σημαντικότερο ρόλο σε σύγκριση με την πρώτη ύλη που χρησιμοποιήθηκε. Επιπλέον, ο βαθμός εστεροποίησης είχε κι εδώ σημαντική επίδραση καθώς οι πηκτίνες υψηλότερου βαθμού εστεροποίησης οδήγησαν σε ισχυρότερα και σταθερότερα γαλακτώματα, και το αντίστροφο. Συνολικά, δεν ήταν δυνατόν να γίνουν σαφείς συσχετίσεις μεταξύ της δομής των μορίων πηκτίνης

και της ικανότητας πηκτωματοποίησης και γαλακτωματοποίησης, λόγω της πολυπλοκότητας που την χαρακτηρίζει. Συνεπώς, για βαθύτερη κατανόηση προτείνεται η μελέτη της δομής των πηκτινών. Συνολικά, προέκυψε το συμπέρασμα πως η πράσινη μέθοδος εκχύλισης μέσω μικροκυμάτων μπορεί να παράγει συγκρίσιμα, ή ακόμα και καλύτερα, αποτελέσματα απόδοσης παραλαβής και ποιότητας της πηκτίνης, σε σχέση με τις συμβατικές μεθόδους. Η μέθοδος αυτή φάνηκε να υπερτερεί χάρη στην πολύ σύντομη διάρκεια των μερικών λεπτών, έναντι των μερικών ωρών που απαιτεί η μέθοδος της όξινης υδρόλυσης, οδηγώντας, ωστόσο, σε παρόμοια αποτελέσματα. Ως εκ τούτου, μπορεί να προσφέρει πολλαπλά οφέλη στη εκχύλιση πηκτινών σε βιομηχανική κλίμακα. Περαιτέρω βελτιώσεις στις μεθόδους εκχύλισης κρίνονται απαραίτητες, έτσι ώστε να μπορούν να εφαρμοστούν σε μεγάλη κλίμακα για την παραγωγή πηκτίνης στην βέλτιστη δυνατή ποιότητα, αλλά με σχετικά χαμηλό κόστος και περιβαλλοντικό αντίκτυπο. Επιπλέον, κρίσιμη είναι η διερεύνηση και άλλων φυτικών παραπροϊόντων ως νέες πηγές πηκτίνης, καθώς παρά την μεγάλη διαθεσιμότητα του πολυσακχαρίτη στο φυτικό βασίλειο, η εμπορική πηκτίνη προέρχεται σήμερα από περιορισμένο αριθμό ειδών.

Σε συνέχεια του προηγούμενου στόχου, σε ένα επόμενο βήμα της διατριβής μελετήθηκαν και συγκρίθηκαν δυο μη συμβατικές μέθοδοι εκχύλισης (μικροκύματα, υπέρηχοι) καθώς και ο συνδυασμός τους ως προς την απόδοση παραλαβής και τον βαθμό εστεροποίησης πηκτίνης που απομονώθηκε από μεσοκάρπια φλουδών πορτοκαλιού (§ 4.1.2). Τα αποτελέσματα έδειξαν μία θετική συσχέτιση ισχύος ενέργειας και απόδοσης εκχύλισης, και για τις δύο μεθόδους. Επίσης, η αύξηση έως ένα σημείο της αναλογίας διαλύτη προς πρώτη ύλη οδήγησε σε μεγαλύτερες αποδόσεις, ενώ η αύξηση της διάρκειας ακτινοβολίας δεν είχε θετική επίδραση. Σε γενικές γραμμές, μεταξύ των μεθόδων, δεν καταγράφηκαν σημαντικές αποκλίσεις ως προς την απόδοση παραλαβής ενώ οι πηκτίνες που απομονώθηκαν σε όλες τις περιπτώσεις εκτός μίας, ήταν υψηλής μεθυλίωσης. Σε επόμενο στάδιο της ίδιας μελέτης, διερευνήθηκε η δυνατότητα παρασκευής εδώδιμης συσκευασίας με βάση την πηκτίνη, χρησιμοποιώντας δυο πηκτίνες που επιλέχθηκαν βάσει των παραπάνω παρατηρήσεων, καθώς και μία εμπορική πηκτίνη ως δείγμα αναφοράς, για την παρασκευή εδώδιμων μεμβρανών με εκχυλίσματα βοτάνων. Συνολικά, οι δυο εργαστηριακές πηκτίνες οδήγησαν σε σχηματισμό μεμβρανών, οι οποίες δε διέφεραν σημαντικά από τις μεμβράνες εμπορικής πηκτίνης, ως προς τις περισσότερες ιδιότητες που μελετήθηκαν. Επιπροσθέτως, όλες οι μεμβράνες παρουσίασαν καλή αντιοξειδωτική ικανότητα. Προκύπτει, λοιπόν, το συμπέρασμα πως οι εκχυλισμένες με τη βοήθεια πράσινων μεθόδων πηκτίνες μπορούν

να αξιοποιηθούν για την παρασκευή εδώδιμης συσκευασίας με βάση την πηκτίνη, που λόγω της παρουσίας εκχυλισμάτων βοτάνων θα παρουσιάζουν και αντιοξειδωτικές ιδιότητες.

Επόμενος στόχος της παρούσας διατριβής ήταν η διερεύνηση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ πηκτίνης υψηλής μεθυλίωσης και τριών πρωτεϊνών (καζεϊνικό νάτριο, υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών ορού γάλακτος ή υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών αρακά) (§ 4.2.1), σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες αυτών που συνηθέστερα βρίσκονται στη βιβλιογραφία, καθώς αυτές σχετίζονται με την αξιοποίηση συστημάτων πρωτεΐνης-πολυσακχαρίτη στην ενθυλάκωση και στη δομή των τροφίμων στα οποία περιέχονται. Συγκεκριμένα, αξιολογήθηκε η επίδραση του pH, του τύπου της πρωτεΐνης και της αναλογίας βιοπολυμερών στην συμπεριφορά των μικτών συστημάτων, υποθέτοντας πως η διαφορετική προέλευση (ζωική ή φυτική) και σύσταση κάθε πρωτεΐνης ασκεί σημαντική επιρροή στις αλληλεπιδράσεις πηκτίνης – πρωτεΐνης, και κατ' επέκταση, στα σύμπλοκα τους. Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των βιοπολυμερών αυτών οδήγησαν στον σχηματισμό διαλυτών και αδιάλυτων συμπλόκων, ο οποίος αποδόθηκε κυρίως σε ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των αμινομάδων των πρωτεϊνών και των καρβοξυλομάδων των πηκτινών, με όλες τις παραμέτρους να είναι σημαντικές για τον σχηματισμό των συμπλόκων. Και οι τρεις παράμετροι υπό μελέτη συνέβαλαν καθοριστικά στη διαδικασία σχηματισμού συμπλόκων, όπως και η ισχύς των αλληλεπιδράσεων μεταξύ πηκτίνης και πρωτεΐνης. Το μίγμα πηκτίνης – καζεϊνικού νατρίου παρουσίασε την ισχυρότερη έλξη μεταξύ των βιοπολυμερών. Συμπερασματικά, η ανάμιξη πηκτίνης με πρωτεΐνη μπορεί να οδηγήσει σε σχηματισμό συμπλόκων, διαλυτών και αδιάλυτων, υπό τις κατάλληλες συνθήκες αναλογίας βιοπολυμερών και pH. Ακολούθησε απομόνωση και χαρακτηρισμός των αδιάλυτων συμπλόκων που προέκυψαν σε συνθήκες μέγιστης συμπλοκοποίησης. Η απόδοση απομόνωσης ήταν ανάλογη της ισχύος των ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των βιοπολυμερών κάθε μικτού συστήματος, καθώς η καλύτερη απόδοση προέκυψε από το μίγμα με τις εντονότερες αλληλεπιδράσεις μεταξύ πηκτίνης και πρωτεΐνης. Γενικά, τα μικτά συστήματα διέφεραν σε σχέση με τα μεμονωμένα βιοπολυμερή ως προς τις ιδιότητες που μελετήθηκαν. Η παρουσία της πηκτίνης έπαιξε σημαντικό ρόλο στις ιδιότητες του μίγματος. Τα μίγματα είχαν μικρότερη διαλυτότητα στο νερό, μεγαλύτερη περιεχόμενη υγρασία, μικρότερη αγωγιμότητα και μικρότερο κινηματικό ιξώδες σε σχέση με τα μεμονωμένα βιοπολυμερή. Μεταξύ των μιγμάτων, το μίγμα με καζεϊνικό νάτριο είχε την μικρότερη διαλυτότητα στο νερό, την μεγαλύτερη περιεχόμενη υγρασία και την μεγαλύτερη φαινόμενη πυκνότητα. Τα παραπάνω αποτελέσματα μπορεί να αποτελέσουν ένα

πρώτο βήμα στη διαμόρφωση συμπλοκών βιοπολυμερών που βασίζονται σε πηκτίνη υψηλής μεθυλίωσης, με στόχο την μελλοντική χρήση αυτών ως δομικοί παράγοντες ή παράγοντες ενθυλάκωσης σε προϊόντα τροφίμων.

Τελικός στόχος ήταν η διερεύνηση της δυνατότητας αξιοποίησης των μικτών συστημάτων βιοπολυμερών (πηκτίνη και καζεϊνικό νάτριο ή υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών αρακά) σε πιο πρόσφατες εφαρμογές, όπως είναι οι ελαιοπηκτές και οι εδώδιμες μεμβράνες. Αρχικά, παρασκευάστηκαν γαλακτώματα με μικτά συστήματα πηκτίνης – πρωτεΐνης, αλλά και μόνο πρωτεΐνης (§ 4.2.2). Η ενσωμάτωση πηκτίνης οδήγησε σε γαλακτώματα υψηλότερου ιξώδους και σταθερότητας. Ακόμη, ο τύπος και η συγκέντρωση της πρωτεΐνης που χρησιμοποιήθηκε, επηρέασαν καθοριστικά τις τιμές των ιδιοτήτων των γαλακτωμάτων που μελετήθηκαν. Στη συνέχεια, γαλακτώματα επιλεγμένων μιγμάτων δοκιμάστηκαν για τη δόμηση ηλιελαίου μέσω του σχηματισμού ελαιοπηκτών. Πλήρης ξήρανση δεν επετεύχθη, με αποτέλεσμα τον σχηματισμό γαλακτωμάτων υψηλής εσωτερικής φάσης. Τα μίγματα με καζεϊνικό νάτριο οδήγησαν σε πιο συγκροτημένες δομές, με μικρότερη απώλεια ελαίου. Σε κάθε περίπτωση, όμως, η απώλεια ελαίου ήταν πολύ μεγάλη, γεγονός ενδεικτικό ακατάλληλων συνθηκών για τον σχηματισμό σταθερών δικτύων. Η φύση της πρωτεΐνης καθώς και ο βαθμός αλληλεπίδρασής της με τα μόρια της πηκτίνης φαίνεται να έπαιξαν καθοριστικό ρόλο. Επιπλέον, εντοπίστηκε μία αρνητική συσχέτιση μεταξύ των τιμών ιξώδους και σταθερότητας με το ποσοστό του νερού που εξατμίστηκε από τα γαλακτώματα υψηλής εσωτερικής φάσης, κατά την ξήρανση. Η δυνατότητα μετατροπής υγρών ελαίων σε ημι-στερεές δομές, με τη χρήση βιοπολυμερών ως σταθεροποιητές και την ξήρανση της υδατικής φάσης, χρήζει περαιτέρω μελέτης (π.χ. μεγαλύτερη διάρκεια ξήρανσης, διαφορετικές συγκεντρώσεις βιοπολυμερών, διαφορετικές πρωτεΐνες), με στόχο την βελτιστοποίηση των συνθηκών για την παραγωγή σταθερών γαλακτωμάτων υψηλής εσωτερικής φάσης ή/και ελαιοπηκτών, καθώς φαίνεται να είναι πολλά υποσχόμενη για πληθώρα εφαρμογών σε προϊόντα τροφίμων και όχι μόνο (π.χ. φαρμακευτικά προϊόντα και καλλυντικά).

Σχετικά με τις εδώδιμες μεμβράνες που παρασκευάστηκαν μέσω της ξήρανσης των υδατικών διαλυμάτων των ίδιων επιλεγμένων μιγμάτων πρωτεΐνης – πηκτίνης, παρατηρήθηκε ο σχηματισμός διαφορετικού δικτύου κατά την ξήρανση για κάθε μίγμα διαφορετικής πρωτεΐνης, που έγινε αντιληπτό μέσω των διάφορων φυσικοχημικών ιδιοτήτων που καταγράφηκαν. Οι μεμβράνες με καζεϊνικό νάτριο είχαν μεγαλύτερες τιμές βάρους, πάχους, φωτεινότητας, αντοχής

και ακαμψίας, αλλά χαμηλότερες τιμές περιεχόμενης υγρασίας και θολερότητας, σε σχέση με τις μεμβράνες με υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών αρακά. Γενικά, παρατηρήθηκε πως όχι τόσο η συνολική συγκέντρωση βιοπολυμερών, όσο η αναλογία βιοπολυμερών ήταν καθοριστική για την περιεκτικότητα σε υγρασία, μέσω της επίδρασής της στην ικανότητα του δικτύου να προσλαμβάνει νερό. Επίσης, και για τις δύο περιπτώσεις πρωτεϊνών, οι μεμβράνες μικρότερης συγκέντρωσης ήταν καλύτεροι φραγμοί στην υγρασία σε σχέση με τις μεμβράνες υψηλότερης συγκέντρωσης, αλλά έδειξαν μικρότερη αντοχή και ακαμψία. Μεταξύ των δύο μιγμάτων, οι μεμβράνες με καζεϊνικό νάτριο φάνηκε να είναι πιο ισχυρές και λιγότερο εύκαμπτες. Οι πιθανές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των βιοπολυμερών, η διαφορετική περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη των δειγμάτων πρωτεΐνης (το καζεϊνικό νάτριο περιείχε πρωτεΐνη σε υψηλότερο ποσοστό από το υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών αρακά), ακόμη και η κινητική της διαδικασίας ξήρανσης για τον σχηματισμό της μεμβράνης, συμπεριλαμβανομένων των αναδιατάξεων του δικτύου που αυτό συνεπάγεται, αποτελούν παράγοντες που πιθανόν να επηρέασαν τη δομή και τις ιδιότητες κάθε μεμβράνης. Συνολικά, όμως, τα υπό μελέτη μίγματα πρωτεΐνης - πηκτίνης θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν στη δημιουργία εδώδιμης συσκευασίας. Γενικά, οι εδώδιμες μεμβράνες θα μπορούσαν να αποτελέσουν μία εξαιρετική εναλλακτική στις συνθετικές συσκευασίες. Φυσικά βιοπολυμερή, όπως είναι η πηκτίνη και οι πρωτεΐνες που μελετήθηκαν, τα οποία υπάρχουν σε αφθονία στην φύση ή προκύπτουν μέσω αξιοποίησης αποβλήτων και παραπροϊόντων, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δομικά συστατικά των εδώδιμων μεμβρανών. Τα κυριότερα μειονεκτήματα των μεμβρανών αυτών, είναι η υψηλή υδροφιλικότητά τους και η μικρή μηχανική ισχύς σε σχέση με τις μεμβράνες από συνθετικά πολυμερή. Συνεπώς, η βελτιστοποίηση της σύστασης των εδώδιμων μεμβρανών (π.χ. τύπος και συγκέντρωση βιοπολυμερών και πλαστικοποιητών, προσθήκη λιπιδίων) μπορεί να οδηγήσει στις επιθυμητές φυσικοχημικές και μηχανικές ιδιότητες. Αν και πολλές πρόσφατες μελέτες έχουν γίνει σχετικά με την παρασκευή εδώδιμων μεμβρανών με βάση, κυρίως, φυσικά βιοπολυμερή, υπάρχει, σίγουρα, ανάγκη για εκτενέστερες μελέτες που θα συμβάλλουν στην αντιμετώπιση των μειονεκτημάτων των εδώδιμων μεμβρανών, πλησιάζοντας όλο και περισσότερο στις επιθυμητές ιδιότητες των συνθετικών μεμβρανών. Η μελέτη και η κατανόηση σε βάθος των περίπλοκων αλληλεπιδράσεων μεταξύ των βιοπολυμερών και των άλλων συστατικών κατά τη διάρκεια σχηματισμού μεμβρανών, μπορεί να βοηθήσει σημαντικά στις επόμενες ερευνητικές μελέτες σχετικά με την παραγωγή σε βιομηχανική κλίμακα, εδώδιμης συσκευασίας τροφίμων, με βάση τα βιοπολυμερή.



*Κεφάλαιο 6*  
Βιβλιογραφία

- Abid, M., Yaich, H., Hidouri, H., Attia, H., & Ayadi, M. A. (2018). Effect of substituted gelling agents from pomegranate peel on colour, textural and sensory properties of pomegranate jam. *Food Chemistry*, 239, 1047–1054. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.006>
- Ach, D., Briançon, S., Dugas, V., Pelletier, J., Broze, G., & Chevalier, Y. (2015). Influence of main whey protein components on the mechanism of complex coacervation with Acacia gum. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 481, 367–374. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2015.06.006>
- Adetunji, L. R., Adekunle, A., Orsat, V., & Raghavan, V. (2017). Advances in the pectin production process using novel extraction techniques: A review. *Food Hydrocolloids*, 62, 239–250. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.08.015>
- Ahmad, M. M., Iqbal, Z., Anjum, F., & Sultan, J. (2006). Genetic variability to essential oil composition in four citrus fruit species. *Pakistan Journal of Botany*, 38(2), 319–324.
- Akhtar, M., Dickinson, E., Mazoyer, J., & Langendorff, V. (2002). Emulsion stabilizing properties of depolymerized pectin. *Food Hydrocolloids*, 16(3), 249–256. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(01\)00095-9](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(01)00095-9)
- Ako, K. (2015). Influence of elasticity on the syneresis properties of  $\kappa$ -carrageenan gels. *Carbohydrate Polymers*, 115, 408–414. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.08.109>
- Alba, K., & Kontogiorgos, V. (2020). Emulsification Properties of Pectin. In V. Kontogiorgos (Ed.), *Pectin: Technological and Physiological Properties* (pp. 83–97). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-53421-9\\_5](https://doi.org/10.1007/978-3-030-53421-9_5)
- Albersheim, P., Darvill, A. G., O'Neill, M. A., Schols, H. A., & Voragen, A. G. J. (1996). An hypothesis: The same six polysaccharides are components of the primary cell walls of all higher plants. In *Progress in Biotechnology* (Vol. 14, pp. 47–55). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0921-0423\(96\)80245-0](https://doi.org/10.1016/S0921-0423(96)80245-0)
- Aluko, R. E., Mofolasayo, O. A., & Watts, B. M. (2009). Emulsifying and Foaming Properties of Commercial Yellow Pea (*Pisum sativum* L.) Seed Flours. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(20), 9793–9800. <https://doi.org/10.1021/jf902199x>
- Andrade-Mahecha, M. M., Tapia-Blácido, D. R., & Menegalli, F. C. (2012). Physical-chemical, thermal, and functional properties of achira (*Canna indica* L.) flour and starch from different geographical origin. *Starch - Stärke*, 64(5), 348–358. <https://doi.org/10.1002/star.201100149>
- Anema, S. G., & de Kruif, C. G. (2014). Complex coacervates of lactotransferrin and  $\beta$ -lactoglobulin. *Journal of Colloid and Interface Science*, 430, 214–220. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2014.05.036>
- Arias, D., Rodríguez, J., López, B., & Méndez, P. (2021). Evaluation of the physicochemical properties of pectin extracted from Musa paradisiaca banana peels at different pH conditions in the formation of nanoparticles. *Heliyon*, 7(1), e06059. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06059>
- Arioui, F., Ait Saada, D., & Cheriguene, A. (2017). Physicochemical and sensory quality of yogurt incorporated with pectin from peel of *Citrus sinensis*. *Food Science & Nutrition*, 5(2), 358–364. <https://doi.org/10.1002/fsn3.400>

- Aryee, F. N. A., & Nickerson, M. T. (2012). Formation of electrostatic complexes involving mixtures of lentil protein isolates and gum Arabic polysaccharides. *Food Research International*, 48(2), 520–527. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.05.012>
- Austarheim, I., Christensen, B. E., Aas, H. T. N., Thøle, C., Diallo, D., & Paulsen, B. S. (2014). Chemical characterization and complement fixation of pectins from *Cola cordifolia* leaves. *Carbohydrate Polymers*, 102, 472–480. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.11.046>
- Axelos, M. A. V., & Thibault, J.-F. (1991). Influence of the substituents of the carboxyl groups and of the rhamnose content on the solution properties and flexibility of pectins. *International Journal of Biological Macromolecules*, 13(2), 77–82. [https://doi.org/10.1016/0141-8130\(91\)90052-V](https://doi.org/10.1016/0141-8130(91)90052-V)
- Azevedo, V. M., De Oliveira, A. C. S., Borges, S. V., Raguzzoni, J. C., Dias, M. V., & Costa, A. L. R. (2020). Pea protein isolate nanocomposite films for packaging applications: Effect of starch nanocrystals on the structural, morphological, thermal, mechanical and barrier properties. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 495. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2020.v32.i7.2124>
- Bagherian, H., Zokaee Ashtiani, F., Fouladitajar, A., & Mohtashamy, M. (2011). Comparisons between conventional, microwave- and ultrasound-assisted methods for extraction of pectin from grapefruit. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 50(11–12), 1237–1243. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2011.08.002>
- Balentine, D. A., Wiseman, S. A., & Bouwens, L. C. M. (1997). The chemistry of tea flavonoids. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37(8), 693–704. <https://doi.org/10.1080/10408399709527797>
- Basu, S., & Shivhare, U. S. (2010). Rheological, textural, micro-structural and sensory properties of mango jam. *Journal of Food Engineering*, 100(2), 357–365. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.04.022>
- Bayar, N., Friji, M., & Kammoun, R. (2018). Optimization of enzymatic extraction of pectin from *Opuntia ficus indica* cladodes after mucilage removal. *Food Chemistry*, 241, 127–134. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.051>
- Bealer, E. J., Onissema-Karimu, S., Rivera-Galletti, A., Francis, M., Wilkowski, J., Salas-de la Cruz, D., & Hu, X. (2020). Protein–Polysaccharide Composite Materials: Fabrication and Applications. *Polymers*, 12(2), 464. <https://doi.org/10.3390/polym12020464>
- Bédié, G. K., Turgeon, S. L., & Makhlof, J. (2008). Formation of native whey protein isolate–low methoxyl pectin complexes as a matrix for hydro-soluble food ingredient entrapment in acidic foods. *Food Hydrocolloids*, 22(5), 836–844. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.03.010>
- Belkheiri, A., Forouhar, A., Ursu, A. V., Dubessay, P., Pierre, G., Delattre, C., Djelveh, G., Abdelkafi, S., Hamdami, N., & Michaud, P. (2021). Extraction, Characterization, and Applications of Pectins from Plant By-Products. *Applied Sciences*, 11(14), 6596. <https://doi.org/10.3390/app11146596>
- BeMiller, J. N. (2019). Pectins. In *Carbohydrate Chemistry for Food Scientists* (pp. 303–312). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812069-9.00015-7>
- Bosnea, L. A., Moschakis, T., & Biliaderis, C. G. (2014). Complex Coacervation as a Novel Microencapsulation Technique to Improve Viability of Probiotics Under Different Stresses. *Food and Bioprocess Technology*, 7(10), 2767–2781. <https://doi.org/10.1007/s11947-014-1317-7>

- Boukid, F., Rosell, C. M., & Castellari, M. (2021). Pea protein ingredients: A mainstream ingredient to (re)formulate innovative foods and beverages. *Trends in Food Science & Technology*, 110, 729–742. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.040>
- Braconnot, H. (1825a). Nouvelles observations sur l'acide pectique. *Annales de Chimie et de Physique*, 30, 96–102.
- Braconnot, H. (1825b). Recherches sur un nouvel acide universellement répandu dans tous les végétaux. *Annales de Chimie et de Physique*, 28, 173–178.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Brejnholt, S. M. (2009). Pectin. In A. Imeson (Ed.), *Food Stabilisers, Thickeners and Gelling Agents* (pp. 237–265). Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1002/9781444314724.ch13>
- Broyard, C., & Gaucheron, F. (2015). Modifications of structures and functions of caseins: A scientific and technological challenge. *Dairy Science & Technology*, 95(6), 831–862. <https://doi.org/10.1007/s13594-015-0220-y>
- Bungenberg De Jong, H.G., Kruyt, H.R. Coacervation (1929). Partial miscibility in colloid systems. *Proceedings of the Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen*, 32, 849–856.
- Burger, T. G., & Zhang, Y. (2019). Recent progress in the utilization of pea protein as an emulsifier for food applications. *Trends in Food Science & Technology*, 86, 25–33. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.02.007>
- Campos, C. A., Gerschenson, L. N., & Flores, S. K. (2011). Development of Edible Films and Coatings with Antimicrobial Activity. *Food and Bioprocess Technology*, 4(6), 849–875. <https://doi.org/10.1007/s11947-010-0434-1>
- Cardoso, S. M., Coimbra, M. A., & Lopes da Silva, J. A. (2003). Calcium-mediated gelation of an olive pomace pectic extract. *Carbohydrate Polymers*, 52(2), 125–133. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(02\)00299-0](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(02)00299-0)
- Carr, R. L. (1965). Evaluating flow properties of solids. *Chemical Engineering*, 72, 163–168.
- Celus, M., Kyomugasho, C., Van Loey, A. M., Grauwet, T., & Hendrickx, M. E. (2018). Influence of Pectin Structural Properties on Interactions with Divalent Cations and Its Associated Functionalities: Pectin structure and related functionalities.... *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(6), 1576–1594. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12394>
- Cerqueira, M., Pereira, R., Ramos, O., Teixeira, J., & Vicente, A. (2015). *Edible food packaging*. CRC Press.
- Chakravartula, S. S. N., Soccio, M., Lotti, N., Balestra, F., Dalla Rosa, M., & Siracusa, V. (2019). Characterization of Composite Edible Films Based on Pectin/Alginate/Whey Protein Concentrate. *Materials*, 12(15), 2454. <https://doi.org/10.3390/ma12152454>

- Chan, S. Y., Choo, W. S., Young, D. J., & Loh, X. J. (2017). Pectin as a rheology modifier: Origin, structure, commercial production and rheology. *Carbohydrate Polymers*, *161*, 118–139. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.12.033>
- Chan, S.-Y., & Choo, W.-S. (2013). Effect of extraction conditions on the yield and chemical properties of pectin from cocoa husks. *Food Chemistry*, *141*(4), 3752–3758. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.097>
- Chegini, G. R., & Ghobadian, B. (2005). Effect of Spray-Drying Conditions on Physical Properties of Orange Juice Powder. *Drying Technology*, *23*(3), 657–668. <https://doi.org/10.1081/DRT-200054161>
- Chen, C.-H., Sheu, M.-T., Chen, T.-F., Wang, Y.-C., Hou, W.-C., Liu, D.-Z., Chung, T.-C., & Liang, Y.-C. (2006). Suppression of endotoxin-induced proinflammatory responses by citrus pectin through blocking LPS signaling pathways. *Biochemical Pharmacology*, *72*(8), 1001–1009. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2006.07.001>
- Chen, W., Ma, S., Wang, Q., McClements, D. J., Liu, X., Ngai, T., & Liu, F. (2021). Fortification of edible films with bioactive agents: A review of their formation, properties, and application in food preservation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–27. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1881435>
- Cheng, J., Li, Z., Wang, J., Zhu, Z., Yi, J., Chen, B. & Cui, L. (2022). Structural characteristics of pea protein isolate (PPI) modified by high-pressure homogenization and its relation to the packaging properties of PPI edible film. *Food Chemistry*, *388*, 132974. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132974>
- Cheng, J., Ma, Y., Li, X., Yan, T., & Cui, J. (2015). Effects of milk protein-polysaccharide interactions on the stability of ice cream mix model systems. *Food Hydrocolloids*, *45*, 327–336. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.11.027>
- Chhabra, R. P., & Richardson, J. F. (1999). Non-Newtonian fluid behaviour. In *Non-Newtonian Flow in the Process Industries* (pp. 1–36). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-075063770-1/50002-6>
- Cho, H., Jung, H., Lee, H., Kwak, H.-K., & Hwang, K. T. (2016). Formation of electrostatic complexes using sodium caseinate with high-methoxyl pectin and carboxymethyl cellulose and their application in stabilisation of curcumin. *International Journal of Food Science & Technology*, *51*(7), 1655–1665. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13137>
- Chun, J.-Y., Hong, G.-P., Surassmo, S., Weiss, J., Min, S.-G., & Choi, M.-J. (2014). Study of the phase separation behaviour of native or preheated WPI with polysaccharides. *Polymer*, *55*(16), 4379–4384. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2014.06.082>
- Cipriani, T. R., Gracher, A. H. P., de Souza, L. M., Fonseca, R. J. C., Belmiro, C. L. R., Gorin, P. A. J., Sasaki, G. L., & Iacomini, M. (2009). Influence of molecular weight of chemically sulfated citrus pectin fractions on their antithrombotic and bleeding effects. *Thrombosis and Haemostasis*, *101*(5), 860–866.
- Ciriminna, R., Fidalgo, A., Delisi, R., Ilharco, L. M., & Pagliaro, M. (2016). Pectin production and global market. *Agro Food Industry Hi Tech*, *27*(5), 17–20.

- Ciriminna, R., Fidalgo, A., Scurria, A., Ilharco, L. M., & Pagliaro, M. (2022). Pectin: New science and forthcoming applications of the most valued hydrocolloid. *Food Hydrocolloids*, *127*, 107483. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107483>
- Cooper, C. L., Dubin, P. L., Kayitmazer, A. B., & Turksen, S. (2005). Polyelectrolyte–protein complexes. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, *10*(1–2), 52–78. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2005.05.007>
- Costanza, V., Bonanomi, L., Moscato, G., Wang, L., Choi, Y. S., & Daraio, C. (2019). Effect of glycerol on the mechanical and temperature-sensing properties of pectin films. *Applied Physics Letters*, *115*(19), 193702. <https://doi.org/10.1063/1.5121710>
- Crombie, H. J., Scott, C., & Reid, J. S. G. (2003). Detergent-Solubilisation of a Homogalacturonan Galacturonosyltransferase from Mung Bean. In F. Voragen, H. Schols, & R. Visser (Eds.), *Advances in Pectin and Pectinase Research* (pp. 35–45). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-017-0331-4\\_3](https://doi.org/10.1007/978-94-017-0331-4_3)
- Dahl, W. J., Foster, L. M., & Tyler, R. T. (2012). Review of the health benefits of peas (*Pisum sativum* L.). *British Journal of Nutrition*, *108*(S1), S3–S10. <https://doi.org/10.1017/S0007114512000852>
- Dai, S., Jiang, F., Shah, N. P., & Corke, H. (2017). Stability and phase behavior of konjac glucomannan-milk systems. *Food Hydrocolloids*, *73*, 30–40. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.06.025>
- Davidovich - Pinhas, M. (2018). Oleogels. In K. Pal & I. Banerjee (Eds.), *Polymeric Gels* (pp. 231–249). Elsevier.
- de Moraes, J. O., Scheibe, A. S., Sereno, A., & Laurindo, J. B. (2013). Scale-up of the production of cassava starch based films using tape-casting. *Journal of Food Engineering*, *119*(4), 800–808. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.07.009>
- de Oliveira, C. F., Giordani, D., Gurak, P. D., Cladera-Olivera, F., & Marczak, L. D. F. (2015). Extraction of pectin from passion fruit peel using moderate electric field and conventional heating extraction methods. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *29*, 201–208. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.02.005>
- Deeth, H., & Bansal, N. (2019). Whey Proteins. In *Whey Proteins* (pp. 1–50). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812124-5.00001-1>
- Deng, L.-Z., Pan, Z., Zhang, Q., Liu, Z.-L., Zhang, Y., Meng, J.-S., Gao, Z.-J., & Xiao, H.-W. (2019). Effects of ripening stage on physicochemical properties, drying kinetics, pectin polysaccharides contents and nanostructure of apricots. *Carbohydrate Polymers*, *222*, 114980. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.114980>
- Devi, N., Sarmah, M., Khatun, B., & Maji, T. K. (2017). Encapsulation of active ingredients in polysaccharide–protein complex coacervates. *Advances in Colloid and Interface Science*, *239*, 136–145. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2016.05.009>
- Devi, W., Shukla, R. N., Bala, K. L., Mishra, A. A., & Yadav, K. C. (2014). Extraction of pectin from citrus fruit peel and its utilization in preparation of jelly. *International Journal of Engineering Research & Technology*, *3*(5), 1925–1932.

- de Vries, J. A., Voragen, A. G. J., Rombouts, F. M., & Pilnik, W. (1981). Extraction and purification of pectins from Alcohol Insoluble Solids from ripe and unripe apples. *Carbohydrate Polymers*, 1(2), 117–127. [https://doi.org/10.1016/0144-8617\(81\)90004-7](https://doi.org/10.1016/0144-8617(81)90004-7)
- Dhumal, C. V., & Sarkar, P. (2018). Composite edible films and coatings from food-grade biopolymers. *Journal of Food Science and Technology*, 55(11), 4369–4383. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3402-9>
- Dickinson, E. (1994). Protein-stabilized emulsions. *Journal of Food Engineering*, 22(1–4), 59–74. [https://doi.org/10.1016/0260-8774\(94\)90025-6](https://doi.org/10.1016/0260-8774(94)90025-6)
- Dickinson, E. (2003). Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, 17(1), 25–39. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(01\)00120-5](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(01)00120-5)
- Dickinson, E. (2008). Interfacial structure and stability of food emulsions as affected by protein–polysaccharide interactions. *Soft Matter*, 4(5), 932. <https://doi.org/10.1039/b718319d>
- Dominiak, M., Søndergaard, K. M., Wichmann, J., Vidal-Melgosa, S., Willats, W. G. T., Meyer, A. S., & Mikkelsen, J. D. (2014). Application of enzymes for efficient extraction, modification, and development of functional properties of lime pectin. *Food Hydrocolloids*, 40, 273–282. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.03.009>
- Dou, L., Li, B., Zhang, K., Chu, X., & Hou, H. (2018). Physical properties and antioxidant activity of gelatin-sodium alginate edible films with tea polyphenols. *International Journal of Biological Macromolecules*, 118, 1377–1383. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.06.121>
- Douglas, R. (1913). US1082682A, Food Product, United States Patent Office
- Dragan, E. S. (2014). Design and applications of interpenetrating polymer network hydrogels. A review. *Chemical Engineering Journal*, 243, 572–590. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.01.065>
- Drakos, A., Pelava, E., & Evageliou, V. (2018). Properties of flour films as affected by the flour’s source and particle size. *Food Research International*, 107, 551–558. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.03.005>
- Dranca, F., Talón, E., Vargas, M., & Oroian, M. (2021). Microwave vs. Conventional extraction of pectin from *Malus domestica* ‘Fälticeni’ pomace and its potential use in hydrocolloid-based films. *Food Hydrocolloids*, 121, 107026. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107026>
- Ducel, V., Richard, J., Saulnier, P., Popineau, Y., & Boury, F. (2004). Evidence and characterization of complex coacervates containing plant proteins: Application to the microencapsulation of oil droplets. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 232(2–3), 239–247. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2003.11.001>
- Duhoranimana, E., Yu, J., Mukeshimana, O., Habinshuti, I., Karangwa, E., Xu, X., et al. (2018). Thermodynamic characterization of gelatin–sodium carboxymethyl cellulose complex coacervation encapsulating conjugated linoleic acid (CLA). *Food Hydrocolloids*, 80, pp. 149–159. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.02.011>
- EFSA Panel on Dietetic Products. (2010). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to pectins and reduction of post-prandial glycaemic responses (ID 786), maintenance of normal blood cholesterol concentrations (ID 818) and increase in satiety leading to a reduction in

- energy intake (ID 4692) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal*, 8(10), 1747. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1747>
- Eghbal, N., Degraeve, P., Oulahal, N., Yarmand, M. S., Mousavi, M. E., & Gharsallaoui, A. (2017). Low methoxyl pectin/sodium caseinate interactions and composite film formation at neutral pH. *Food Hydrocolloids*, 69, 132–140. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.01.033>
- Eghbal, N., Yarmand, M. S., Mousavi, M., Degraeve, P., Oulahal, N., & Gharsallaoui, A. (2016). Complex coacervation for the development of composite edible films based on LM pectin and sodium caseinate. *Carbohydrate Polymers*, 151, 947–956. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.06.052>
- Einhorn-Stoll, U. (2018). Pectin-water interactions in foods – From powder to gel. *Food Hydrocolloids*, 78, 109–119. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.05.029>
- Elzoghby, A. O., Abo El-Fotoh, W. S., & Elgindy, N. A. (2011). Casein-based formulations as promising controlled release drug delivery systems. *Journal of Controlled Release*, 153(3), 206–216. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2011.02.010>
- Endreß, H.-U., & Christensen, S. H. (2009). Pectins. In *Handbook of Hydrocolloids* (pp. 274–297). Elsevier. <https://doi.org/10.1533/9781845695873.274>
- Espinosa-Andrews, H., Enríquez-Ramírez, K. E., García-Márquez, E., Ramírez-Santiago, C., Lobato-Calleros, C., & Vernon-Carter, J. (2013). Interrelationship between the zeta potential and viscoelastic properties in coacervates complexes. *Carbohydrate Polymers*, 95(1), 161–166. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.02.053>
- Espitia, P. J. P., Du, W.-X., Avena-Bustillos, R. de J., Soares, N. de F. F., & McHugh, T. H. (2014b). Edible films from pectin: Physical-mechanical and antimicrobial properties - A review. *Food Hydrocolloids*, 35, 287–296. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.06.005>
- Evageliou, V., Ptitchkina, N. M., & Morris, E. R. (2005). Solution viscosity and structural modification of pumpkin biopectin. *Food Hydrocolloids*, 19(6), 1032–1036. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2005.01.004>
- Evageliou, V., Richardson, R. K., & Morris, E. R. (2000). Effect of pH, sugar type and thermal annealing on high-methoxy pectin gels. *Carbohydrate Polymers*, 42(3), 245–259. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(99\)00191-5](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(99)00191-5)
- Everette, J. D., Bryant, Q. M., Green, A. M., Abbey, Y. A., Wangila, G. W., & Walker, R. B. (2010). Thorough Study of Reactivity of Various Compound Classes toward the Folin–Ciocalteu Reagent. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(14), 8139–8144. <https://doi.org/10.1021/jf1005935>
- Fakayode, O. A., & Abobi, K. E. (2018). Optimization of oil and pectin extraction from orange (*Citrus sinensis*) peels: A response surface approach. *Journal of Analytical Science and Technology*, 9(1), 20. <https://doi.org/10.1186/s40543-018-0151-3>
- Falguera, V., Quintero, J. P., Jiménez, A., Muñoz, J. A., & Ibarz, A. (2011). Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. *Trends in Food Science & Technology*, 22(6), 292–303. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.02.004>



- Fan, L., Gao, S., Wang, L., Wu, P., Cao, M., Zheng, H., Xie, W., & Zhou, J. (2012). Synthesis and anticoagulant activity of pectin sulfates. *Journal of Applied Polymer Science*, *124*(3), 2171–2178. <https://doi.org/10.1002/app.35239>
- Fan, Y., Sun, L., Yang, S., He, C., Tai, G., & Zhou, Y. (2018). The roles and mechanisms of homogalacturonan and rhamnogalacturonan I pectins on the inhibition of cell migration. *International Journal of Biological Macromolecules*, *106*, 207–217. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.004>
- Farhan, A., & Hani, N. M. (2017). Characterization of edible packaging films based on semi-refined kappa-carrageenan plasticized with glycerol and sorbitol. *Food Hydrocolloids*, *64*, 48–58. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.10.034>
- Figueroa, L. E., Genovese, D. B. (2018). Pectin Gels Enriched with Dietary Fibre for the Development of Healthy Confectionery Jams. *Food Technology and Biotechnology*, *56*(3). <https://doi.org/10.17113/ftb.56.03.18.5641>
- Fischer, R. L., & Bennett, A. B. (1991). Role of Cell Wall Hydrolases in Fruit Ripening. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, *42*(1), 675–703. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.42.060191.003331>
- Fishman, M. L., Chau, H. K., Coffin, D. R., & Hotchkiss, A. T. (2003). A Comparison of Lime and Orange Pectin Which Were Rapidly Extracted From Albedo. In F. Voragen, H. Schols, & R. Visser (Eds.), *Advances in Pectin and Pectinase Research* (pp. 107–122). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-017-0331-4\\_8](https://doi.org/10.1007/978-94-017-0331-4_8)
- Fishman, M. L., Chau, H. K., Hoagland, P., & Ayyad, K. (1999). Characterization of pectin, flash-extracted from orange albedo by microwave heating, under pressure. *Carbohydrate Research*, *323*(1–4), 126–138. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(99\)00244-X](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(99)00244-X)
- Fishman, M. L., & Cooke, P. H. (2009). The structure of high-methoxyl sugar acid gels of citrus pectin as determined by AFM. *Carbohydrate Research*, *344*(14), 1792–1797. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2008.09.031>
- Fitzpatrick, J. J. (2005). Food powder flowability. In C. Onwulata (Ed.), *Encapsulated and powdered foods* (pp. 247–260). Boca Raton, FL: CRC. <https://doi.org/10.1201/9781420028300>
- Flint, H. J., Bayer, E. A., Rincon, M. T., Lamed, R., & White, B. A. (2008). Polysaccharide utilization by gut bacteria: Potential for new insights from genomic analysis. *Nature Reviews Microbiology*, *6*(2), 121–131. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1817>
- Flutto, L. (2003). PECTIN | Properties and Determination. In *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* (pp. 4440–4449). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227055-X/00901-9>
- Foegeding, E. A., Luck, P., & Vardhanabhuti, B. (2011). Milk Protein Products | Whey Protein Products. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 873–878). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00350-2>
- Gao, H., Ma, L., Cheng, C., Liu, J., Liang, R., Zou, L., Liu, W., & McClements, D. J. (2021). Review of recent advances in the preparation, properties, and applications of high internal phase emulsions. *Trends in Food Science & Technology*, *112*, 36–49. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.03.041>

- Garnier, C., Axelos, M. A. V., & Thibault, J.-F. (1993). Phase diagrams of pectin-calcium systems: Influence of pH, ionic strength, and temperature on the gelation of pectins with different degrees of methylation. *Carbohydrate Research*, 240, 219–232. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(93\)84185-9](https://doi.org/10.1016/0008-6215(93)84185-9)
- Gaudino, N., Ghazani, S. M., Clark, S., Marangoni, A. G., & Acevedo, N. C. (2019). Development of lecithin and stearic acid based oleogels and oleogel emulsions for edible semisolid applications. *Food Research International*, 116, 79–89. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.12.021>
- Gawkowska, D., Cybulska, J., & Zdunek, A. (2018). Structure-Related Gelling of Pectins and Linking with Other Natural Compounds: A Review. *Polymers*, 10(7), 762. <https://doi.org/10.3390/polym10070762>
- Gence, L., Servent, A., Poucheret, P., Hiol, A., & Dhuique-Mayer, C. (2018). Pectin structure and particle size modify carotenoid bioaccessibility and uptake by Caco-2 cells in citrus juices vs. concentrates. *Food & Function*, 9(6), 3523–3531. <https://doi.org/10.1039/C8FO00111A>
- Georgiev, Y., Ognyanov, M., Yanakieva, I., Kussovski, V., & Kratchanova, M. (2012). Isolation, characterization and modification of citrus pectins. *Journal of BioScience and Biotechnology*, 1(3), 223–233.
- Gharibzahedi, S. M. T., Smith, B., & Guo, Y. (2019a). Pectin extraction from common fig skin by different methods: The physicochemical, rheological, functional, and structural evaluations. *International Journal of Biological Macromolecules*, 136, 275–283. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.06.040>
- Gharibzahedi, S. M. T., Smith, B., & Guo, Y. (2019b). Ultrasound-microwave assisted extraction of pectin from fig (*Ficus carica* L.) skin: Optimization, characterization and bioactivity. *Carbohydrate Polymers*, 222, 114992. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.114992>
- Ghasemi, S., Jafari, S. M., Assadpour, E., & Khomeiri, M. (2017). Production of pectin-whey protein nano-complexes as carriers of orange peel oil. *Carbohydrate Polymers*, 177, 369–377. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.09.009>
- Ghosh, K. A., & Bandyopadhyay, P. (2012). Polysaccharide-Protein Interactions and Their Relevance in Food Colloids. In D. N. Karunaratne (Ed.), *The Complex World of Polysaccharides*. InTech. <https://doi.org/10.5772/50561>
- Goulding, D. A., Fox, P. F., & O'Mahony, J. A. (2020). Milk proteins: An overview. In *Milk Proteins* (pp. 21–98). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815251-5.00002-5>
- Grant, G. T., Morris, E. R., Rees, D. A., Smith, P. J. C., & Thom, D. (1973). Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: The egg-box model. *FEBS Letters*, 32(1), 195–198. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(73\)80770-7](https://doi.org/10.1016/0014-5793(73)80770-7)
- Grassino, A. N., Brnčić, M., Vikić-Topić, D., Roca, S., Dent, M., & Brnčić, S. R. (2016). Ultrasound assisted extraction and characterization of pectin from tomato waste. *Food Chemistry*, 198, 93–100. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.095>
- Gueguen, J., Viroben, G., Noireaux, P., & Subirade, M. (1998). Influence of plasticizers and treatments on the properties of films from pea proteins. *Industrial Crops and Products*, 7(2–3), 149–157. [https://doi.org/10.1016/S0926-6690\(97\)00043-5](https://doi.org/10.1016/S0926-6690(97)00043-5)

- Guimarães, G. C., Coelho Júnior, M. C., & Garcia Rojas, E. E. (2009). Density and Kinematic Viscosity of Pectin Aqueous Solution. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 54(2), 662–667. <https://doi.org/10.1021/je800305a>
- Günter, E. A., & Popeyko, O. V. (2016). Calcium pectinate gel beads obtained from callus cultures pectins as promising systems for colon-targeted drug delivery. *Carbohydrate Polymers*, 147, 490–499. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.04.026>
- Guo, H., Ge, J., Wu, Q., He, Z., Wang, W., & Cao, G. (2022). Syneresis Behavior of Polymer Gels Aged in Different Brines from Gelants. *Gels*, 8(3), 166. <https://doi.org/10.3390/gels8030166>
- Guo, X., Zhao, W., Pang, X., Liao, X., Hu, X., & Wu, J. (2014). Emulsion stabilizing properties of pectins extracted by high hydrostatic pressure, high-speed shearing homogenization and traditional thermal methods: A comparative study. *Food Hydrocolloids*, 35, 217–225. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.05.010>
- Haider, K., & Wilde, P. (2020). Digestion and Metabolism of Pectin. In V. Kontogiorgos (Ed.), *Pectin: Technological and Physiological Properties* (pp. 149–164). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-53421-9\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-030-53421-9_8)
- Hallström, B., Skjöldebrand, C., & Trägårdh, C. (1998). *Heat transfer and food products*. Elsevier Applied Science.
- Harding, S. E., Berth, G., Ball, A., Mitchell, J. R., & de la Torre, J. G. (1991). The molecular weight distribution and conformation of citrus pectins in solution studied by hydrodynamics. *Carbohydrate Polymers*, 16(1), 1–15. [https://doi.org/10.1016/0144-8617\(91\)90069-O](https://doi.org/10.1016/0144-8617(91)90069-O)
- Hausner, H. H. (1967). Friction conditions in a mass of metal powder. *International Journal of Powder Metallurgy*, 3, 7–13.
- He, L., Lin, F., Li, X., Sui, H., & Xu, Z. (2015). Interfacial sciences in unconventional petroleum production: From fundamentals to applications. *Chemical Society Reviews*, 44(15), 5446–5494. <https://doi.org/10.1039/C5CS00102A>
- Hernández-Nava, R., López-Malo, A., Palou, E., Ramírez-Corona, N., & Jiménez-Munguía, M. T. (2020). Encapsulation of oregano essential oil (*Origanum vulgare*) by complex coacervation between gelatin and chia mucilage and its properties after spray drying. *Food Hydrocolloids*, 109, 106077. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106077>
- Hoffman, J. R., & Falvo, M. J. (2004). Protein—Which is Best? *Journal of Sports Science & Medicine*, 3(3), 118–130.
- Hollands, W. J., Hart, D. J., Dainty, J. R., Hasselwander, O., Tiihonen, K., Wood, R., & Kroon, P. A. (2013). Bioavailability of epicatechin and effects on nitric oxide metabolites of an apple flavanol-rich extract supplemented beverage compared to a whole apple puree: A randomized, placebo-controlled, crossover trial. *Molecular Nutrition & Food Research*, 57(7), 1209–1217. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201200663>
- Holt, C., & Sawyer, L. (1993). Caseins as rheomorphic proteins: Interpretation of primary and secondary structures of the  $\alpha_{S1}$ -,  $\beta$ - and  $\kappa$ -caseins. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, 89(15), 2683–2692. <https://doi.org/10.1039/FT9938902683>

- Hong, T., Iwashita, K., & Shiraki, K. (2018). Viscosity Control of Protein Solution by Small Solutes: A Review. *Current Protein & Peptide Science*, 19(8), 746–758. <https://doi.org/10.2174/1389203719666171213114919>
- Horne, D. S. (2006). Casein micelle structure: Models and muddles. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 11(2–3), 148–153. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2005.11.004>
- Hosseini, S. S., Khodaiyan, F., & Yarmand, M. S. (2016). Optimization of microwave assisted extraction of pectin from sour orange peel and its physicochemical properties. *Carbohydrate Polymers*, 140, 59–65. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.12.051>
- Hua, X., Liu, J., Guan, S., Tan, J., Wang, M., & Yang, R. (2021). Surface activity of ultrahigh methoxylated pectin of different size. *Food Hydrocolloids*, 113, 106495. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106495>
- Huang, X., Kakuda, Y., & Cui, W. (2001). Hydrocolloids in emulsions: Particle size distribution and interfacial activity. *Food Hydrocolloids*, 15(4–6), 533–542. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(01\)00091-1](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(01)00091-1)
- Huang, G. Q., Sun, Y. T., Xiao, J. X., & Yang, J. (2012). Complex coacervation of soybean protein isolate and chitosan. *Food Chemistry*, 135, 534–539. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.04.140>
- Ilgami, A., Ghanbarzadeh, S., & Hamishehkar, H. (2015). Optimization of the Ultrasonic-Assisted Extraction of Phenolic Compounds, Ferric Reducing Activity and Antioxidant Activity of the Beta vulgaris Using Response Surface Methodology. *Pharmaceutical Sciences*, 21(1), 46–50. <https://doi.org/10.15171/PS.2015.16>
- IOM/NAS (1994). In: Thomas PR, Earl R, editors. Opportunities in the nutrition and food sciences. Institute of Medicine/National Academy of Sciences. Washington, DC: National Academy Press. p. 109.
- Ishii, T. (1995). Pectic polysaccharides from bamboo shoot cell-walls. *Mokuzai Gakkai Shi*, 41(7), 669–676.
- Jaya, S., & Das, H. (2004). Effect of maltodextrin, glycerol monostearate and tricalcium phosphate on vacuum dried mango powder properties. *Journal of Food Engineering*, 63(2), 125–134. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(03\)00135-3](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(03)00135-3)
- Jeong, H.-S., Kim, H.-Y., Ahn, S. H., Oh, S. C., Yang, I., & Choi, I.-G. (2014). Optimization of enzymatic hydrolysis conditions for extraction of pectin from rapeseed cake (*Brassica napus* L.) using commercial enzymes. *Food Chemistry*, 157, 332–338. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.040>
- Ji, F., Li, J., Qin, Z., Yang, B., Zhang, E., Dong, D., Wang, J., Wen, Y., Tian, L., & Yao, F. (2017). Engineering pectin-based hollow nanocapsules for delivery of anticancer drug. *Carbohydrate Polymers*, 177, 86–96. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.08.107>
- Jiang, S., Ding, J., Andrade, J., Rababah, T. M., Almajwal, A., Abulmeaty, M. M., & Feng, H. (2017). Modifying the physicochemical properties of pea protein by pH-shifting and ultrasound combined treatments. *Ultrasonics Sonochemistry*, 38, 835–842. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.03.046>

- Jiang, W., Qi, J.-R., Huang, Y., Zhang, Y., & Yang, X.-Q. (2020). Emulsifying properties of high methoxyl pectins in binary systems of water-ethanol. *Carbohydrate Polymers*, 229, 115420. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115420>
- Jinapong, N., Suphantharika, M., & Jamnong, P. (2008). Production of instant soymilk powders by ultrafiltration, spray drying and fluidized bed agglomeration. *Journal of Food Engineering*, 84(2), 194–205. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.04.032>
- Joudaki, H., Mousavi, M., Safari, M., Razavi, S. H., Emam-Djomeh, Z., & Gharibzahedi, S. M. T. (2013). A practical optimization on salt/high-methoxyl pectin interaction to design a stable formulation for Doogh. *Carbohydrate Polymers*, 97(2), 376–383. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.05.056>
- Karaca, A. C., Low, N., & Nickerson, M. (2011). Emulsifying properties of chickpea, faba bean, lentil and pea proteins produced by isoelectric precipitation and salt extraction. *Food Research International*, 44(9), 2742–2750. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.06.012>
- Kastner, H., Einhorn-Stoll, U., & Senge, B. (2012). Structure formation in sugar containing pectin gels – influence of Ca<sup>2+</sup> on the gelation of low-methoxylated pectin at acidic pH. *Food Hydrocolloids*, 27(1), 42–49. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.09.001>
- Kastner, H., Kern, K., Wilde, R., Berthold, A., Einhorn-Stoll, U., & Drusch, S. (2014). Structure formation in sugar containing pectin gels – Influence of tartaric acid content (pH) and cooling rate on the gelation of high-methoxylated pectin. *Food Chemistry*, 144, 44–49. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.127>
- Katalinic, V., Milos, M., Kulisic, T., & Jukic, M. (2006). Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chemistry*, 94(4), 550–557. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.12.004>
- Kato, A., Fujishige, T., Matsudomi, N., & Kobayashi, K. (1985). Determination of Emulsifying Properties of Some Proteins by Conductivity Measurements. *Journal of Food Science*, 50(1), 56–58. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1985.tb13276.x>
- Kazemi, M., Khodaiyan, F., & Hosseini, S. S. (2019). Eggplant peel as a high potential source of high methylated pectin: Ultrasonic extraction optimization and characterization. *LWT*, 105, 182–189. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.01.060>
- Kern, L., Fabre, O., Scher, J., & Petit, J. (2020). Chemical fractionation of caseins by differential precipitation: Influence of pH, calcium addition, protein concentration and temperature on the depletion in  $\alpha$ - and  $\beta$ -caseins. *International Journal of Food Science & Technology*, 55(2), 542–552. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14283>
- Kertesz, Z. I. (1951). The Pectic Substances. Interscience Publishers, Inc., New York., *Journal of the American Pharmaceutical Association (Scientific Ed.)*, 41(1), 54. <https://doi.org/10.1002/jps.3030410132>
- Khotimchenko, Yu. S. (2010). Antitumor properties of nonstarch polysaccharides: Fucoidans and chitosans. *Russian Journal of Marine Biology*, 36(5), 321–330. <https://doi.org/10.1134/S1063074010050019>

- Kim, H., Yu, K.-W., Hong, H.-D., & Shin, K.-S. (2017). Effect of arabinoxylan- and rhamnogalacturonan I-rich polysaccharides isolated from young barley leaf on intestinal immunostimulatory activity. *Journal of Functional Foods*, 35, 384–390. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.05.052>
- Kocira, A., Kozłowicz, K., Panasiewicz, K., Staniak, M., Szpunar-Krok, E., & Hortyńska, P. (2021). Polysaccharides as Edible Films and Coatings: Characteristics and Influence on Fruit and Vegetable Quality—A Review. *Agronomy*, 11(5), 813. <https://doi.org/10.3390/agronomy11050813>
- Koh, P. C., Leong, C. M., & Noranizan, M. A. (2014). Microwave-assisted extraction of pectin from jackfruit rinds using different power levels. *International Food Research Journal*, 21(5), 2091–2097.
- Kokoszka, S., Debeaufort, F., Lenart, A., & Voilley, A. (2010). Water vapour permeability, thermal and wetting properties of whey protein isolate based edible films. *International Dairy Journal*, 20(1), 53–60. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.07.008>
- Košťálová, Z., Aguedo, M., & Hromádková, Z. (2016). Microwave-assisted extraction of pectin from unutilized pumpkin biomass. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 102, 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2015.12.009>
- Kpodo, F. M., Agbenorhevi, J. K., Alba, K., Bingham, R. J., Oduro, I. N., Morris, G. A., & Kontogiorgos, V. (2017). Pectin isolation and characterization from six okra genotypes. *Food Hydrocolloids*, 72, 323–330. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.06.014>
- Kratchanova, M., Pavlova, E., & Panchev, I. (2004). The effect of microwave heating of fresh orange peels on the fruit tissue and quality of extracted pectin. *Carbohydrate Polymers*, 56(2), 181–185. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.01.009>
- Kravtchenko, T. P., Arnould, I., Voragen, A. G. J., & Pilnik, W. (1992). Improvement of the selective depolymerization of pectic substances by chemical  $\beta$ -elimination in aqueous solution. *Carbohydrate Polymers*, 19(4), 237–242. [https://doi.org/10.1016/0144-8617\(92\)90075-2](https://doi.org/10.1016/0144-8617(92)90075-2)
- Krivorotova, T., Staneviciene, R., Luksa, J., Serviene, E., & Sereikaite, J. (2017). Impact of pectin esterification on the antimicrobial activity of nisin-loaded pectin particles. *Biotechnology Progress*, 33(1), 245–251. <https://doi.org/10.1002/btpr.2391>
- Kubo, M. T. K., Rojas, M. L., Miano, A. C., & Augusto, P. E. D. (2019). Chapter 1. Rheological Properties of Tomato Products. In S. Porretta (Ed.), *Food Chemistry, Function and Analysis* (pp. 1–25). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/9781788016247-00001>
- Kulkarni, V. S., & Shaw, C. (2016). Rheological Studies. In *Essential Chemistry for Formulators of Semisolid and Liquid Dosages* (pp. 145–182). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801024-2.00009-1>
- Lacroix, M. (2009). Mechanical and Permeability Properties of Edible Films and Coatings for Food and Pharmaceutical Applications. In K. C. Huber & M. E. Embuscado (Eds.), *Edible Films and Coatings for Food Applications* (pp. 347–366). Springer New York. [https://doi.org/10.1007/978-0-387-92824-1\\_13](https://doi.org/10.1007/978-0-387-92824-1_13)

- Lan, Y., Chen, B., & Rao, J. (2018). Pea protein isolate–high methoxyl pectin soluble complexes for improving pea protein functionality: Effect of pH, biopolymer ratio and concentrations. *Food Hydrocolloids*, *80*, 245–253. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.02.021>
- Lan, Y., Ohm, J.-B., Chen, B., & Rao, J. (2020). Phase behavior, thermodynamic and microstructure of concentrated pea protein isolate-pectin mixture: Effect of pH, biopolymer ratio and pectin charge density. *Food Hydrocolloids*, *101*, 105556. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105556>
- Lara-Espinoza, C., Carvajal-Millán, E., Balandrán-Quintana, R., López-Franco, Y., & Rascón-Chu, A. (2018). Pectin and Pectin-Based Composite Materials: Beyond Food Texture. *Molecules*, *23*(4), 942. <https://doi.org/10.3390/molecules23040942>
- Larsen, N., Bussolo de Souza, C., Krych, L., Barbosa Cahú, T., Wiese, M., Kot, W., Hansen, K. M., Blennow, A., Venema, K., & Jespersen, L. (2019). Potential of Pectins to Beneficially Modulate the Gut Microbiota Depends on Their Structural Properties. *Frontiers in Microbiology*, *10*, 223. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00223>
- Lau, J. M., McNeil, M., Darvill, A. G., & Albersheim, P. (1985). Structure of the backbone of rhamnogalacturonan I, a pectic polysaccharide in the primary cell walls of plants. *Carbohydrate Research*, *137*, 111–125. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(85\)85153-3](https://doi.org/10.1016/0008-6215(85)85153-3)
- Lazaridou, A., & Biliaderis, C. G. (2020). Edible Films and Coatings with Pectin. In V. Kontogiorgos (Ed.), *Pectin: Technological and Physiological Properties* (pp. 99–123). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-53421-9\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-030-53421-9_6)
- Leclere, L., Cutsem, P. V., & Michiels, C. (2013). Anti-cancer activities of pH- or heat-modified pectin. *Frontiers in Pharmacology*, *4*. <https://doi.org/10.3389/fphar.2013.00128>
- Lee, M.-H., Kim, M., Kim, M., Kwak, J. H., Chang, D. H., Yu, W. K., Lee, S.-H., & Lee, J. H. (2016). Consumption of dairy yogurt with the polysaccharide rhamnogalacturonan from the peel of the Korean citrus hallabong enhances immune function and attenuates the inflammatory response. *Food & Function*, *7*(6), 2833–2839. <https://doi.org/10.1039/C5FO01103E>
- Lefsih, K., Giacomazza, D., Dahmoune, F., Mangione, M. R., Bulone, D., San Biagio, P. L., Passantino, R., Costa, M. A., Guarrasi, V., & Madani, K. (2017). Pectin from *Opuntia ficus indica*: Optimization of microwave-assisted extraction and preliminary characterization. *Food Chemistry*, *221*, 91–99. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.073>
- Lei, Y., Wu, H., Jiao, C., Jiang, Y., Liu, R., Xiao, D., Lu, J., Zhang, Z., Shen, G., & Li, S. (2019). Investigation of the structural and physical properties, antioxidant and antimicrobial activity of pectin-konjac glucomannan composite edible films incorporated with tea polyphenol. *Food Hydrocolloids*, *94*, 128–135. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.03.011>
- Leister, N., & Karbstein, H. P. (2020). Evaluating the Stability of Double Emulsions—A Review of the Measurement Techniques for the Systematic Investigation of Instability Mechanisms. *Colloids and Interfaces*, *4*(1), 8. <https://doi.org/10.3390/colloids4010008>
- Li, D., Jia, X., Wei, Z., & Liu, Z. (2012). Box–Behnken experimental design for investigation of microwave-assisted extracted sugar beet pulp pectin. *Carbohydrate Polymers*, *88*(1), 342–346. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.12.017>

- Li, J., Zu, Y.-G., Fu, Y.-J., Yang, Y.-C., Li, S.-M., Li, Z.-N., & Wink, M. (2010). Optimization of microwave-assisted extraction of triterpene saponins from defatted residue of yellow horn (*Xanthoceras sorbifolia* Bunge.) kernel and evaluation of its antioxidant activity. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *11*(4), 637–643. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2010.06.004>
- Li, J.-M., & Nie, S.-P. (2016). The functional and nutritional aspects of hydrocolloids in foods. *Food Hydrocolloids*, *53*, 46–61. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.01.035>
- Li, X., Dong, Y., Guo, Y., Zhang, Z., Jia, L., Gao, H., Xing, Z., & Duan, F. (2019). Okra polysaccharides reduced the gelling-required sucrose content in its synergistic gel with high-methoxyl pectin by microphase separation effect. *Food Hydrocolloids*, *95*, 506–516. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.04.069>
- Liang, W., Liao, J., Qi, J.-R., Jiang, W., & Yang, X. (2022). Physicochemical characteristics and functional properties of high methoxyl pectin with different degree of esterification. *Food Chemistry*, *375*, 131806. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131806>
- Liew, S. Q., Chin, N. L., Yusof, Y. A., & Sowndhararajan, K. (2016a). Comparison of Acidic and Enzymatic Pectin Extraction from Passion Fruit Peels and Its Gel Properties: Acidic and Enzymatic Pectin Extraction from Fruit Peels. *Journal of Food Process Engineering*, *39*(5), 501–511. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12243>
- Liew, S. Q., Ngoh, G. C., Yusoff, R., & Teoh, W. H. (2016b). Sequential ultrasound-microwave assisted acid extraction (UMAE) of pectin from pomelo peels. *International Journal of Biological Macromolecules*, *93*, 426–435. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.08.065>
- Lin, J., Yu, S., Ai, C., Zhang, T., & Guo, X. (2020). Emulsion stability of sugar beet pectin increased by genipin crosslinking. *Food Hydrocolloids*, *101*, 105459. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105459>
- Liu, J., Shim, Y. Y., Wang, Y., & Reaney, M. J. T. (2015). Intermolecular interaction and complex coacervation between bovine serum albumin and gum from whole flaxseed (*Linum usitatissimum* L.). *Food Hydrocolloids*, *49*, 95–103. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.02.035>
- Liu, J., Shim, Y. Y., Shen, Y., Wang, Y., & Reaney, M. J. T. (2017). Whey protein isolate and flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) gum electrostatic coacervates: turbidity and rheology. *Food Hydrocolloids*, *64*, 18–27. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.10.006>
- Liu, S., Low, N. H., & Nickerson, M. T. (2009). Effect of pH, Salt, and Biopolymer Ratio on the Formation of Pea Protein Isolate–Gum Arabic Complexes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(4), 1521–1526. <https://doi.org/10.1021/jf802643n>
- Löfgren, C., Guillotin, S., Evenbratt, H., Schols, H., & Hermansson, A.-M. (2005). Effects of Calcium, pH, and Blockiness on Kinetic Rheological Behavior and Microstructure of HM Pectin Gels. *Biomacromolecules*, *6*(2), 646–652. <https://doi.org/10.1021/bm049619+>
- Lu, Z. X., He, J. F., Zhang, Y. C., & Bing, D. J. (2019). Composition, physicochemical properties of pea protein and its application in functional foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *60*(15), 2593–2605. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1651248>
- Lucey, J. A., Srinivasan, M., Singh, H., & Munro, P. A. (2000). Characterization of Commercial and Experimental Sodium Caseinates by Multiangle Laser Light Scattering and Size-Exclusion



- Chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1610–1616. <https://doi.org/10.1021/jf990769z>
- Lupi, F. R., Gabriele, D., Seta, L., Baldino, N., de Cindio, B., & Marino, R. (2015). Rheological investigation of pectin-based emulsion gels for pharmaceutical and cosmetic uses. *Rheologica Acta*, 54(1), 41–52. <https://doi.org/10.1007/s00397-014-0809-8>
- Lyulin, A. V., Davies, G. R., & Adolf, D. B. (2000). Brownian Dynamics Simulations of Dendrimers under Shear Flow. *Macromolecules*, 33(9), 3294–3304. <https://doi.org/10.1021/ma992128a>
- Makri, E., Papalamprou, E., & Doxastakis, G. (2005). Study of functional properties of seed storage proteins from indigenous European legume crops (lupin, pea, broad bean) in admixture with polysaccharides. *Food Hydrocolloids*, 19(3), 583–594. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2004.10.028>
- Mao, G., Wu, D., Wei, C., Tao, W., Ye, X., Linhardt, R. J., Orfila, C., & Chen, S. (2019). Reconsidering conventional and innovative methods for pectin extraction from fruit and vegetable waste: Targeting rhamnogalacturonan I. *Trends in Food Science & Technology*, 94, 65–78. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.11.001>
- Maria-Ferreira, D., da Silva, L. M., Mendes, D. A. G. B., Cabrini, D. de A., Nascimento, A. M., Iacomini, M., Cipriani, T. R., Santos, A. R. S., de Paula Werner, M. F., & Baggio, C. H. (2014). Rhamnogalacturonan from *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen: Gastroprotective and Ulcer Healing Properties in Rats. *PLoS ONE*, 9(1), e84762. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084762>
- Marić, M., Grassino, A. N., Zhu, Z., Barba, F. J., Brnčić, M., & Rimac Brnčić, S. (2018). An overview of the traditional and innovative approaches for pectin extraction from plant food wastes and by-products: Ultrasound-, microwaves-, and enzyme-assisted extraction. *Trends in Food Science & Technology*, 76, 28–37. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.03.022>
- May, C. D. (1990). Industrial pectins: Sources, production and applications. *Carbohydrate Polymers*, 12(1), 79–99. [https://doi.org/10.1016/0144-8617\(90\)90105-2](https://doi.org/10.1016/0144-8617(90)90105-2)
- McCarthy, N. A., Kennedy, D., Hogan, S. A., Kelly, P. M., Thapa, K., Murphy, K. M., & Fenelon, M. A. (2016). Emulsification properties of pea protein isolate using homogenization, microfluidization and ultrasonication. *Food Research International*, 89, 415–421. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.07.024>
- McClements, D. J. (2007). Critical Review of Techniques and Methodologies for Characterization of Emulsion Stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(7), 611–649. <https://doi.org/10.1080/10408390701289292>
- McClements, D. J., Decker, E. A., & Weiss, J. (2007). Emulsion-Based Delivery Systems for Lipophilic Bioactive Components. *Journal of Food Science*, 72(8), R109–R124. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00507.x>
- McClements, D. J., & Grossmann, L. (2021). A brief review of the science behind the design of healthy and sustainable plant-based foods. *Npj Science of Food*, 5(1), 17. <https://doi.org/10.1038/s41538-021-00099-y>

- McNeil, M., Darvill, A. G., Fry, S. C., & Albersheim, P. (1984). Structure and Function of the Primary Cell Walls of Plants. *Annual Review of Biochemistry*, 53(1), 625–663. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.53.070184.003205>
- Melton, L. D., & Smith, B. G. (2001). Determination of the Uronic Acid Content of Plant Cell Walls Using a Colorimetric Assay. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 00(1). <https://doi.org/10.1002/0471142913.fae0303s00>
- Meng, F., Kwon, S., Wang, J., & Yeo, Y. (2020). Immunoactive drug carriers in cancer therapy. In *Biomaterials for Cancer Therapeutics* (pp. 53–94). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102983-1.00003-X>
- Meng, Z., Qi, K., Guo, Y., Wang, Y., & Liu, Y. (2018a). Effects of thickening agents on the formation and properties of edible oleogels based on hydroxypropyl methyl cellulose. *Food Chemistry*, 246, 137–149. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.154>
- Meng, Z., Qi, K., Guo, Y., Wang, Y., & Liu, Y. (2018b). Macro-micro structure characterization and molecular properties of emulsion-templated polysaccharide oleogels. *Food Hydrocolloids*, 77, 17–29. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.09.006>
- Minjares-Fuentes, R., Femenia, A., Garau, M. C., Meza-Velázquez, J. A., Simal, S., & Rosselló, C. (2014). Ultrasound-assisted extraction of pectins from grape pomace using citric acid: A response surface methodology approach. *Carbohydrate Polymers*, 106, 179–189. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.02.013>
- Mirpoor, S. F., Hosseini, S. M. H., & Yousefi, G. H. (2017). Mixed biopolymer nanocomplexes conferred physicochemical stability and sustained release behavior to introduced curcumin. *Food Hydrocolloids*, 71, 216–224. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.05.021>
- Mizrahi, S. (2010). Syneresis in food gels and its implications for food quality. In *Chemical Deterioration and Physical Instability of Food and Beverages* (pp. 324–348). Elsevier. <https://doi.org/10.1533/9781845699260.2.324>
- Mohnen, D. (1999). Biosynthesis of Pectins and Galactomannans. In *Comprehensive Natural Products Chemistry* (pp. 497–527). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-091283-7.00099-0>
- Mohnen, D. (2008). Pectin structure and biosynthesis. *Current Opinion in Plant Biology*, 11(3), 266–277. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2008.03.006>
- Morris, E. R., Cutler, A. N., Ross-Murphy, S. B., Rees, D. A., & Price, J. (1981). Concentration and shear rate dependence of viscosity in random coil polysaccharide solutions. *Carbohydrate Polymers*, 1(1), 5–21. [https://doi.org/10.1016/0144-8617\(81\)90011-4](https://doi.org/10.1016/0144-8617(81)90011-4)
- Morris, E. R., Gidley, M. J., Murray, E. J., Powell, D. A., & Rees, D. A. (1980). Characterization of pectin gelation under conditions of low water activity, by circular dichroism, competitive inhibition and mechanical properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2(5), 327–330. [https://doi.org/10.1016/0141-8130\(80\)90058-6](https://doi.org/10.1016/0141-8130(80)90058-6)
- Morris, G. A., de al Torre, J. G., Ortega, A., Castile, J., Smith, A., & Harding, S. E. (2008). Molecular flexibility of citrus pectins by combined sedimentation and viscosity analysis. *Food Hydrocolloids*, 22(8), 1435–1442. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.09.005>

- Morris, G., Foster, T. J., & Harding, S. A. (2000). The effect of the degree of esterification on the hydrodynamic properties of citrus pectin. *Food Hydrocolloids*, 14(3), 227–235. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(00\)00007-2](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(00)00007-2)
- Morris, V. J. (1998). Gelation of polysaccharides. In S. E. Hill, D. A. Ledward, & J. R. Mitchell (Eds.), *Functional properties of food macromolecules* (pp. 143–226). Aspen.
- Mort, A. J., Qiu, F., & Maness, N. O. (1993). Determination of the pattern of methyl esterification in pectin. Distribution of contiguous nonesterified residues. *Carbohydrate Research*, 247, 21–35. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(93\)84238-2](https://doi.org/10.1016/0008-6215(93)84238-2)
- Moschakis, T. & Biliaderis, C. G. (2017). Biopolymer-based coacervates: Structures, functionality and applications in food products. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 28, 96–109. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2017.03.006>
- Munarin, F., Guerreiro, S. G., Grellier, M. A., Tanzi, M. C., Barbosa, M. A., Petrini, P., & Granja, P. L. (2011). Pectin-Based Injectable Biomaterials for Bone Tissue Engineering. *Biomacromolecules*, 12(3), 568–577. <https://doi.org/10.1021/bm101110x>
- Muñoz-Almagro, N., Vendrell-Calatayud, M., Méndez-Albiñana, P., Moreno, R., Cano, M. P., & Villamiel, M. (2021). Extraction optimization and structural characterization of pectin from persimmon fruit (*Diospyros kaki* Thunb. Var. Rojo brillante). *Carbohydrate Polymers*, 272, 118411. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118411>
- Nakamura, A., Yoshida, R., Maeda, H., Furuta, H., & Corredig, M. (2004). Study of the Role of the Carbohydrate and Protein Moieties of Soy Soluble Polysaccharides in Their Emulsifying Properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(17), 5506–5512. <https://doi.org/10.1021/jf049728f>
- Naqash, F., Masoodi, F. A., Rather, S. A., Wani, S. M., & Gani, A. (2017). Emerging concepts in the nutraceutical and functional properties of pectin—A Review. *Carbohydrate Polymers*, 168, 227–239. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.03.058>
- Narchi, I., Vial, Ch., & Djelveh, G. (2009). Effect of protein–polysaccharide mixtures on the continuous manufacturing of foamed food products. *Food Hydrocolloids*, 23(1), 188–201. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.12.010>
- Nascimento, A. M., de Souza, L. M., Baggio, C. H., Werner, M. F. de P., Maria-Ferreira, D., da Silva, L. M., Sasaki, G. L., Gorin, P. A. J., Iacomini, M., & Cipriani, T. R. (2013). Gastroprotective effect and structure of a rhamnogalacturonan from *Acmella oleracea*. *Phytochemistry*, 85, 137–142. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2012.08.024>
- Ndeh, D., Rogowski, A., Cartmell, A., Luis, A. S., Baslé, A., Gray, J., Venditto, I., Briggs, J., Zhang, X., Labourel, A., Terrapon, N., Buffetto, F., Nepogodiev, S., Xiao, Y., Field, R. A., Zhu, Y., O'Neill, M. A., Urbanowicz, B. R., York, W. S., ... Gilbert, H. J. (2017). Complex pectin metabolism by gut bacteria reveals novel catalytic functions. *Nature*, 544(7648), 65–70. <https://doi.org/10.1038/nature21725>
- Nep, E. I., & Conway, B. R. (2011). Physicochemical characterization of grewia polysaccharide gum: Effect of drying method. *Carbohydrate Polymers*, 84(1), 446–453. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.12.005>

- Ngouémazong, D. E., Tengweh, F. F., Fraeye, I., Duvetter, T., Cardinaels, R., Van Loey, A., Moldenaers, P., & Hendrickx, M. (2012). Effect of de-methylesterification on network development and nature of Ca<sup>2+</sup>-pectin gels: Towards understanding structure–function relations of pectin. *Food Hydrocolloids*, 26(1), 89–98. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.04.002>
- Nouraddini, M., Esmaili, M., & Mohtarami, F. (2018). Development and characterization of edible films based on eggplant flour and corn starch. *International Journal of Biological Macromolecules*, 120, 1639–1645. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.09.126>
- O'Brien, A. B., Philp, K., & Morris, E. R. (2009). Gelation of high-methoxy pectin by enzymic de-esterification in the presence of calcium ions: A preliminary evaluation. *Carbohydrate Research*, 344(14), 1818–1823. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2008.09.029>
- Oliveira, T. Í. S., Rosa, M. F., Cavalcante, F. L., Pereira, P. H. F., Moates, G. K., Wellner, N., Mazzetto, S. E., Waldron, K. W., & Azeredo, H. M. C. (2016). Optimization of pectin extraction from banana peels with citric acid by using response surface methodology. *Food Chemistry*, 198, 113–118. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.080>
- Opaliński, I., Chutkowski, M., & Hassanpour, A. (2016). Rheology of moist food powders as affected by moisture content. *Powder Technology*, 294, 315–322. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2016.02.049>
- Pace, C. N., Grimsley, G. R., & Scholtz, J. M. (2009). Protein Ionizable Groups: PK Values and Their Contribution to Protein Stability and Solubility. *Journal of Biological Chemistry*, 284(20), 13285–13289. <https://doi.org/10.1074/jbc.R800080200>
- Pagan, J., & Ibarz, A. (1999). Extraction and rheological properties of pectin from fresh peach pomace. *Journal of Food Engineering*, 39(2), 193–201.
- Palin, R., & Geitmann, A. (2012). The role of pectin in plant morphogenesis. *Biosystems*, 109(3), 397–402. <https://doi.org/10.1016/j.biosystems.2012.04.006>
- Panagopoulou, E., Tsouko, E., Kopsahelis, N., Koutinas, A., Mandala, I. & Evageliou, V. (2015). Olive oil emulsions formed by catastrophic phase inversion using bacterial cellulose and whey protein isolate. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 486, 203–210. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2015.09.056>
- Patel, A. R. (2018). Structuring Edible Oils with Hydrocolloids: Where Do we Stand? *Food Biophysics*, 13, 113–115.
- Patel, A. R., Cludts, N., Sintang, M. D. B., Lesaffer, A., & Dewettinck, K. (2014). Edible oleogels based on water soluble food polymers: Preparation, characterization and potential application. *Food & Function*, 5(11), 2833–2841. <https://doi.org/10.1039/c4fo00624k>
- Patience, N. A., Schiepati, D., & Boffito, D. C. (2021). Continuous and pulsed ultrasound pectin extraction from navel orange peels. *Ultrasonics Sonochemistry*, 73, 105480. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105480>
- Patino, J. M. R., & Pilosof, A. M. R. (2011). Protein–polysaccharide interactions at fluid interfaces. *Food Hydrocolloids*, 25(8), 1925–1937. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.02.023>

- Pawar, P. M.-A., Koutaniemi, S., Tenkanen, M., & Mellerowicz, E. J. (2013). Acetylation of woody lignocellulose: Significance and regulation. *Frontiers in Plant Science*, 4. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00118>
- Peker, S., Helvacı, S., Banu Yener, H., İközler, B., & Alparslan, A. (Eds.). (2008). *Solid-Liquid Two Phase Flow*. Elsevier B.V.
- Pereira, C. M., Marques, M. F., Hatano, M. K., & Castro, I. A. (2010). Effect of the Partial Substitution of Soy Proteins by Highly Methyl-esterified Pectin on Chemical and Sensory Characteristics of Sausages. *Food Science and Technology International*, 16(5), 401–407. <https://doi.org/10.1177/1082013210366888>
- Pereira, P. H. F., Oliveira, T. Í. S., Rosa, M. F., Cavalcante, F. L., Moates, G. K., Wellner, N., Waldron, K. W., & Azeredo, H. M. C. (2016). Pectin extraction from pomegranate peels with citric acid. *International Journal of Biological Macromolecules*, 88, 373–379. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.03.074>
- Picot-Allain, M. C. N., Ramasawmy, B., & Emmambux, M. N. (2020). Extraction, Characterisation, and Application of Pectin from Tropical and Sub-Tropical Fruits: A Review. *Food Reviews International*, 38(3), 282–312. <https://doi.org/10.1080/87559129.2020.1733008>
- Pillai, P. K. S., Stone, A. K., Guo, Q., Guo, Q., Wang, Q., & Nickerson, M. T. (2019). Effect of alkaline de-esterified pectin on the complex coacervation with pea protein isolate under different mixing conditions. *Food Chemistry*, 284, 227–235. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.122>
- Pinheiro, E. R., Silva, I. M. D. A., Gonzaga, L. V., Amante, E. R., Teófilo, R. F., Ferreira, M. M. C., & Amboni, R. D. M. C. (2008). Optimization of extraction of high-ester pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis flavicarpa*) with citric acid by using response surface methodology. *Bioresource Technology*, 99(13), 5561–5566. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.10.058>
- Plati, F., Ritzoulis, C., Pavlidou, E., & Paraskevopoulou, A. (2021). Complex coacervate formation between hemp protein isolate and gum Arabic: Formulation and characterization. *International Journal of Biological Macromolecules*, 182, 144–153. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.04.003>
- Popov, S. V., & Ovodov, Yu. S. (2013). Polypotency of the immunomodulatory effect of pectins. *Biochemistry (Moscow)*, 78(7), 823–835. <https://doi.org/10.1134/S0006297913070134>
- Prakash Maran, J., Sivakumar, V., Thirugnanasambandham, K., & Sridhar, R. (2013). Optimization of microwave assisted extraction of pectin from orange peel. *Carbohydrate Polymers*, 97(2), 703–709. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.05.052>
- Prameela, K., Murali Mohan, C., & Ramakrishna, C. (2018). Biopolymers for Food Design: Consumer-Friendly Natural Ingredients. In *Biopolymers for Food Design* (pp. 1–32). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811449-0.00001-3>
- Psomiadou, E., Arvanitoyannis, I., & Yamamoto, N. (1996). Edible films made from natural resources, microcrystalline cellulose (MCC), methylcellulose (MC) and corn starch and polyols—Part 2. *Carbohydrate Polymers*, 31(4), 193–204. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(96\)00077-X](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(96)00077-X)
- Quoc, L. P. T., Huyen, V. T. N., Hue, L. T. N., Hue, N. T. H., Thuan, N. H. D., Tam, N. T. T., Thuan, N. N., & Duy, T. H. (2015). Extraction of pectin from pomelo (*Citrus maxima*) peels with the

- assistance of microwave and tartaric acid. *International Food Research Journal*, 22(4), 1637–1641.
- Raei, M., Rafe, A., & Shahidi, F. (2018). Rheological and structural characteristics of whey protein-pectin complex coacervates. *Journal of Food Engineering*, 228, 25–31. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.02.007>
- Ralet, M. C., & Thibault, J. F. (2009). Hydrodynamic properties of isolated pectic domains: A way to figure out pectin macromolecular structure? In H. A. Schols, R. G. F. Visser, & A. G. J. Voragen (Eds.), *Pectins and pectinases* (pp. 35–48). Wageningen Academic Publishers.
- Rao, M. A., Buren, J. P., & Cooley, H. J. (1993). Rheological Changes During Gelation of High-Methoxyl Pectin/Fructose Dispersions: Effect of Temperature and Aging. *Journal of Food Science*, 58(1), 173–176. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1993.tb03237.x>
- Ren, Y., Huang, L., Zhang, Y., Li, H., Zhao, D., Cao, J., & Liu, X. (2022). Application of Emulsion Gels as Fat Substitutes in Meat Products. *Foods*, 11(13), 1950. <https://doi.org/10.3390/foods11131950>
- Ribeiro, A. C. B., Cunha, A. P., da Silva, L. M. R., Mattos, A. L. A., de Brito, E. S., de Souza Filho, M. de S. M., de Azeredo, H. M. C., & Ricardo, N. M. P. S. (2021). From mango by-product to food packaging: Pectin-phenolic antioxidant films from mango peels. *International Journal of Biological Macromolecules*, 193, 1138–1150. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.10.131>
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(7), 933–956. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)02227-9](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)02227-9)
- Richardson, R. K., & Kasapis, S. (1998). Rheological methods in the characterisation of food biopolymers. In *Developments in Food Science* (Vol. 39, pp. 1–48). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0167-4501\(98\)80006-X](https://doi.org/10.1016/S0167-4501(98)80006-X)
- Rodsamran, P., & Sothornvit, R. (2019). Lime peel pectin integrated with coconut water and lime peel extract as a new bioactive film sachet to retard soybean oil oxidation. *Food Hydrocolloids*, 97, 105173. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105173>
- Rolin, C., Nielsen, B. U., & Glahn, P. E. (1998). Pectin. In S. Dimitriu (Ed.), *Polysaccharides: Structural diversity and functional versatility* (pp. 377–431). Marcel Dekker Inc.
- Rolin, C., & De Vries, J. (1990). Pectin. In P. Harris (Ed.), *Food Gels* (pp. 401–434). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-009-0755-3\\_10](https://doi.org/10.1007/978-94-009-0755-3_10)
- Roos, Y. H. (1995). Introduction to Phase Transitions. In *Phase Transitions in Foods* (pp. 1–18). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-012595340-5/50001-8>
- Ropartz, D., & Ralet, M.-C. (2020). Pectin Structure. In V. Kontogiorgos (Ed.), *Pectin: Technological and Physiological Properties* (pp. 17–36). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-53421-9\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-030-53421-9_2)
- Rosenthal, A. J. (2010). Texture Profile Analysis - How important are the parameters? *Journal of Texture Studies*, 41(5), 672–684. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2010.00248.x>

- Rosenthal, A.J., 1999. Relation between instrumental and sensory measures of food texture. In: Rosenthal, A.J. (Ed.), *Food Texture Measurement and Perception*. Aspen Publication, Maryland, pp. 1–16.
- Ru, Q., Wang, Y., Lee, J., Ding, Y., & Huang, Q. (2012). Turbidity and rheological properties of bovine serum albumin/pectin coacervates: Effect of salt concentration and initial protein/polysaccharide ratio. *Carbohydrate Polymers*, 88(3), 838–846. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.01.019>
- Rubinstein, M., & Colby, R. H. (2003). *Polymer Physics*. Oxford University Press.
- Sabater, C., Corzo, N., Olano, A., & Montilla, A. (2018). Enzymatic extraction of pectin from artichoke (*Cynara scolymus* L.) by-products using Celluclast®1.5L. *Carbohydrate Polymers*, 190, 43–49. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.02.055>
- Saha, D., & Bhattacharya, S. (2010). Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: A critical review. *Journal of Food Science and Technology*, 47(6), 587–597. <https://doi.org/10.1007/s13197-010-0162-6>
- Sahin, S., & Sumnu, S. G. (2006). Rheological Properties of Foods. In *Physical Properties of Foods* (pp. 39–105). Springer New York. [https://doi.org/10.1007/0-387-30808-3\\_2](https://doi.org/10.1007/0-387-30808-3_2)
- Sakai, K., Sato, Y., Okada, M. *et al.* Improved functional properties of meat analogs by laccase catalyzed protein and pectin crosslinks. *Sci Rep* **11**, 16631 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-96058-4>
- Salgado, P. R., Ortiz, C. M., Musso, Y. S., Di Giorgio, L., & Mauri, A. N. (2015). Edible films and coatings containing bioactives. *Current Opinion in Food Science*, 5, 86–92. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.09.004>
- Sandarani, M. (2017). A Review: Different Extraction Techniques of Pectin. *Journal of Pharmacognosy & Natural Products*, 03(03). <https://doi.org/10.4172/2472-0992.1000143>
- Sande, S. A. (2005). Pectin-based oral drug delivery to the colon. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 2(3), 441–450. <https://doi.org/10.1517/17425247.2.3.441>
- Santiaguín-Padilla, A. J., Peña-Ramos, E. A., Pérez-Gallardo, A., Rascón-Chu, A., González-Ávila, M., González-Ríos, H., González-Noriega, J. A., & Islava-Lagarda, T. (2019). *In Vitro* Digestibility and Quality of an Emulsified Meat Product Formulated With Animal Fat Encapsulated With Pectin. *Journal of Food Science*, 84(6), 1331–1339. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14626>
- Sari, A. M., Ishartani, D., & Dewanty, P. S. (2018). Effects of microwave power and irradiation time on pectin extraction from watermelon rinds (*Citrullus lanatus*) with acetic acid using microwave assisted extraction method. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 102, 012085. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/102/1/012085>
- Sartori, T., Feltre, G., do Amaral Sobral, P. J., Lopes da Cunha, R., & Menegalli, F. C. (2018). Properties of films produced from blends of pectin and gluten. *Food Packaging and Shelf Life*, 18, 221–229. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.11.007>
- Schmidt, U. S., Koch, L., Rentschler, C., Kurz, T., Endreß, H. U., & Schuchmann, H. P. (2015). Effect of Molecular Weight Reduction, Acetylation and Esterification on the Emulsification Properties of Citrus Pectin. *Food Biophysics*, 10(2), 217–227. <https://doi.org/10.1007/s11483-014-9380-1>

- Schmitt, C., Sanchez, C., Desobry-Banon, S., & Hardy, J. (1998). Structure and Technofunctional Properties of Protein-Polysaccharide Complexes: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38(8), 689–753. <https://doi.org/10.1080/10408699891274354>
- Schmitt, C., & Turgeon, S. L. (2011). Protein/polysaccharide complexes and coacervates in food systems. *Advances in Colloid and Interface Science*, 167(1–2), 63–70. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2010.10.001>
- Schols, H. A., & Voragen, A. G. J. (1996). Complex Pectins: Structure elucidation using enzymes. In *Progress in Biotechnology* (Vol. 14, pp. 3–19). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0921-0423\(96\)80242-5](https://doi.org/10.1016/S0921-0423(96)80242-5)
- Schols, H. A., & Voragen, A. G. J. (2003). The chemical structure of pectins. In G. B. Seymour & J. B. Knox (Eds.), *Pectins and their Manipulation* (pp. 1–29). Blackwell Publishing.
- Seerangurayar, T., Manickavasagan, A., Al-Ismaili, A. M., & Al-Mulla, Y. A. (2017). Effect of carrier agents on flowability and microstructural properties of foam-mat freeze dried date powder. *Journal of Food Engineering*, 215, 33–43. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.07.016>
- Seisun, D., & Zalesny, N. (2021). Strides in food texture and hydrocolloids. *Food Hydrocolloids*, 117, 106575. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106575>
- Seixas, F. L., Fukuda, D. L., Turbiani, F. R. B., Garcia, P. S., Petkowicz, C. L. de O., Jagadevan, S., & Gimenes, M. L. (2014). Extraction of pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis* f. *Flavicarpa*) by microwave-induced heating. *Food Hydrocolloids*, 38, 186–192. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.12.001>
- Sengar, A. S., Rawson, A., Muthiah, M., & Kalakandan, S. K. (2020). Comparison of different ultrasound assisted extraction techniques for pectin from tomato processing waste. *Ultrasonics Sonochemistry*, 61, 104812. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104812>
- Shivangi, S., Dorairaj, D., Negi, P. S., & Shetty, N. P. (2021). Development and characterisation of a pectin-based edible film that contains mulberry leaf extract and its bio-active components. *Food Hydrocolloids*, 121, 107046. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107046>
- Siew, C. K., Williams, P. A., Cui, S. W., & Wang, Q. (2008). Characterization of the Surface-Active Components of Sugar Beet Pectin and the Hydrodynamic Thickness of the Adsorbed Pectin Layer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(17), 8111–8120. <https://doi.org/10.1021/jf801588a>
- Sim, S. Y. J., Srv, A., Chiang, J. H., & Henry, C. J. (2021). Plant Proteins for Future Foods: A Roadmap. *Foods*, 10(8), 1967. <https://doi.org/10.3390/foods10081967>
- Sing, C. E. (2017). Development of the modern theory of polymeric complex coacervation. *Advances in Colloid and Interface Science*, 239, 2–16. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2016.04.004>
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic—Phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144–158.
- Sinha, A., & Bhargav, A. (2020). Young's modulus estimation in food samples: Effect of experimental parameters. *Mechanics & Industry*, 21(4), 404. <https://doi.org/10.1051/meca/2020025>



- Slavin, J. (2013). Fiber and Prebiotics: Mechanisms and Health Benefits. *Nutrients*, 5(4), 1417–1435. <https://doi.org/10.3390/nu5041417>
- Slavov, A., Garnier, C., Crépeau, M.-J., Durand, S., Thibault, J.-F., & Bonnin, E. (2009). Gelation of high methoxy pectin in the presence of pectin methylesterases and calcium. *Carbohydrate Polymers*, 77(4), 876–884. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.03.014>
- Smolenski, K. (1923). Pectins. *Roczniki Chemki* 3: 86–152. [From Chem. Abstr.19: 41. 1925]
- Sobral, P. J. A., Menegalli, F. C., Hubinger, M. D., & Roques, M. A. (2001). Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. *Food Hydrocolloids*, 15(4–6), 423–432. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(01\)00061-3](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(01)00061-3)
- Sochi, T. (2010). Non-Newtonian flow in porous media. *Polymer*, 51(22), 5007–5023. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2010.07.047>
- Sogut, E., Filiz, B. E., & Seydim, A. C. (2022). Whey protein isolate- and carrageenan-based edible films as carriers of different probiotic bacteria. *Journal of Dairy Science*, 105(6), 4829–4842. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21245>
- Somogyi, L., Barrett, D. M., & Hui, Y. H. (1996). Grape juice: Factors that influence quality. In *Major Processed Products* (Vol. 2, p. 224). CRC Press.
- Soultani, G., Evageliou, V., Koutelidakis, A. E., Kapsokefalou, M., & Komaitis, M. (2014). The effect of pectin and other constituents on the antioxidant activity of tea. *Food Hydrocolloids*, 35, 727–732. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.08.005>
- Steffe, J. F. (1996). *Rheological Methods in Food Process Engineering* (2nd ed.). Freeman Press.
- Sticklen, M. B. (2008). Plant genetic engineering for biofuel production: Affordable cellulosic ethanol. *Nature Reviews Genetics*, 9, 433–443.
- Stone, A. K., Avarmenko, N. A., Warkentin, T. D., & Nickerson, M. T. (2015). Functional properties of protein isolates from different pea cultivars. *Food Science and Biotechnology*, 24(3), 827–833. <https://doi.org/10.1007/s10068-015-0107-y>
- Stone, A. K., Karalash, A., Tyler, R. T., Warkentin, T. D., & Nickerson, M. T. (2015). Functional attributes of pea protein isolates prepared using different extraction methods and cultivars. *Food Research International*, 76, 31–38. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.11.017>
- Sun, L., Sun, J., Chen, L., Niu, P., Yang, X., & Guo, Y. (2017). Preparation and characterization of chitosan film incorporated with thinned young apple polyphenols as an active packaging material. *Carbohydrate Polymers*, 163, 81–91. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.01.016>
- Sun, X., Wang, H., Li, S., Song, C., Zhang, S., Ren, J., & Udenigwe, C. C. (2022). Maillard-Type Protein–Polysaccharide Conjugates and Electrostatic Protein–Polysaccharide Complexes as Delivery Vehicles for Food Bioactive Ingredients: Formation, Types, and Applications. *Gels*, 8(2), 135. <https://doi.org/10.3390/gels8020135>
- Szczesniak, A. S., & Kleyn, D. H. (1963). Consumer awareness of texture and of other food attributes. *Food Technology*, 17, 74–77.

- Talón, E., Trifkovic, K. T., Nedovic, V. A., Bugarski, B. M., Vargas, M., Chiralt, A., & González-Martínez, C. (2017). Antioxidant edible films based on chitosan and starch containing polyphenols from thyme extracts. *Carbohydrate Polymers*, *157*, 1153–1161. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.10.080>
- Tan, H., Chen, W., Liu, Q., Yang, G., & Li, K. (2018). Pectin Oligosaccharides Ameliorate Colon Cancer by Regulating Oxidative Stress- and Inflammation-Activated Signaling Pathways. *Frontiers in Immunology*, *9*, 1504. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01504>
- Tavernier, I., Patel, A. R., Van der Meeren, P., & Dewettinck, K. (2017). Emulsion-templated liquid oil structuring with soy protein and soy protein:  $\kappa$ -carrageenan complexes. *Food Hydrocolloids*, *65*, 107–120. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.11.008>
- Thibault, J. F., & Rinaudo, M. (1986). Chain association of pectic molecules during calcium-induced gelation. *Biopolymers*, *25*(3), 455–468. <https://doi.org/10.1002/bip.360250306>
- Thibault, J.-F., & Ralet, M.-C. (2001). Pectins, their Origin, Structure and Functions. In B. V. McCleary & L. Prosky (Eds.), *Advanced Dietary Fibre Technology* (pp. 367–378). Blackwell Science Ltd. <https://doi.org/10.1002/9780470999615.ch32>
- Thirugnanasambandham, K., & Sivakumar, V. (2015). Application of D-optimal design to extract the pectin from lime bagasse using microwave green irradiation. *International Journal of Biological Macromolecules*, *72*, 1351–1357. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.09.054>
- Thu Dao, T. A., Webb, H. K., & Malherbe, F. (2021). Optimization of pectin extraction from fruit peels by response surface method: Conventional versus microwave-assisted heating. *Food Hydrocolloids*, *113*, 106475. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106475>
- Timilsena, Y. P., Wang, B., Adhikari, R., & Adhikari, B. (2016). Preparation and characterization of chia seed protein isolate–chia seed gum complex coacervates. *Food Hydrocolloids*, *52*, 554–563. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.07.033>
- Tiebackx, F.W. GleichzeitigeAusflockungzweierKolloide. *Zeitschr. F. Chem. Und Ind. Der Kolloide* 1911, *8*, 198–201.
- Tolstoguzov, V. B. (1991). Functional properties of food proteins and role of protein-polysaccharide interaction. *Food Hydrocolloids*, *4*(6), 429–468. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(09\)80196-3](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(09)80196-3)
- Tsouko, E., Maina, S., Ladakis, D., Kookos, I. K., & Koutinas, A. (2020). Integrated biorefinery development for the extraction of value-added components and bacterial cellulose production from orange peel waste streams. *Renewable Energy*, *160*, 944–954. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.05.108>
- Tummalapalli, M., Berthet, M., Verrier, B., Deopura, B. L., Alam, M. S., & Gupta, B. (2016). Drug loaded composite oxidized pectin and gelatin networks for accelerated wound healing. *International Journal of Pharmaceutics*, *505*(1–2), 234–245. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.04.007>
- U.S. Food and Drug Administration. (2018). Review of the scientific evidence on the physiological effects of certain non-digestible carbohydrates. *U.S. Department of Health and Human Services, Center for Food Safety and Applied Nutrition*.

- Valdés, A., Burgos, N., Jiménez, A., & Garrigós, M. (2015). Natural Pectin Polysaccharides as Edible Coatings. *Coatings*, 5(4), 865–886. <https://doi.org/10.3390/coatings5040865>
- Vasco-Correa, J., & Zapata Zapata, A. D. (2017). Enzymatic extraction of pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis* f. *Flavicarpa*) at laboratory and bench scale. *LWT - Food Science and Technology*, 80, 280–285. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.02.024>
- Vauquelin, L. N. (1790). Analyse du tamarin. *Annales de Chimie et de Physique*, 5, 92–106.
- Vélez-Eraza, E. M., Bosqui, K., Rabelo, R. S., Kurozawa, L. E., & Hubinger, M. D. (2020). High internal phase emulsions (HIPE) using pea protein and different polysaccharides as stabilizers. *Food Hydrocolloids*, 105, 105775. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105775>
- Venzon, S. S., Canteri, M. H. G., Granato, D., Junior, B. D., Maciel, G. M., Stafussa, A. P., & Haminiuk, C. W. I. (2015). Physicochemical properties of modified citrus pectins extracted from orange pomace. *Journal of Food Science and Technology*, 52(7), 4102–4112. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1419-2>
- Verkempinck, S. H. E., Kyomugasho, C., Salvia-Trujillo, L., Denis, S., Bourgeois, M., Van Loey, A. M., Hendrickx, M. E., & Grauwet, T. (2018). Emulsion stabilizing properties of citrus pectin and its interactions with conventional emulsifiers in oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*, 85, 144–157. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.07.014>
- Vincken, J.-P., Schols, H. A., Oomen, R. J. F. J., McCann, M. C., Ulvskov, P., Voragen, A. G. J., & Visser, R. G. F. (2003). If Homogalacturonan Were a Side Chain of Rhamnogalacturonan I. Implications for Cell Wall Architecture. *Plant Physiology*, 132(4), 1781–1789. <https://doi.org/10.1104/pp.103.022350>
- Voragen, A. G. J., Coenen, G.-J., Verhoef, R. P., & Schols, H. A. (2009). Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls. *Structural Chemistry*, 20(2), 263–275. <https://doi.org/10.1007/s11224-009-9442-z>
- Vriesmann, L. C., Teófilo, R. F., & Lúcia de Oliveira Petkowicz, C. (2012). Extraction and characterization of pectin from cacao pod husks (*Theobroma cacao* L.) with citric acid. *LWT - Food Science and Technology*, 49(1), 108–116. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.04.018>
- Walstra, P., Walstra, P., Wouters, J. T. M., & Geurts, T. J. (2005). *Dairy Science and Technology* (2nd ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420028010>
- Wang, L., Dong, Y., Men, H., Tong, J., & Zhou, J. (2013). Preparation and characterization of active films based on chitosan incorporated tea polyphenols. *Food Hydrocolloids*, 32(1), 35–41. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.11.034>
- Wang, X.-Y., & Heuzey, M.-C. (2016). Pickering emulsion gels based on insoluble chitosan/gelatin electrostatic complexes. *RSC Advances*, 6(92), 89776–89784. <https://doi.org/10.1039/C6RA10378B>
- Weerakkody, N. S., Caffin, N., Turner, M. S., & Dykes, G. A. (2010). In vitro antimicrobial activity of less-utilized spice and herb extracts against selected food-borne bacteria. *Food Control*, 21(10), 1408–1414. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.04.014>

- Weinbreck, F., Nieuwenhuijse, H., Robijn, G. W., & de Kruif, C. G. (2004). Complexation of Whey Proteins with Carrageenan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *52*(11), 3550–3555. <https://doi.org/10.1021/jf034969t>
- Weiss, J., Salminen, H., Moll, P., & Schmitt, C. (2019). Use of molecular interactions and mesoscopic scale transitions to modulate protein-polysaccharide structures. *Advances in Colloid and Interface Science*, *271*, Article 101987. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2019.07.008>
- Witkamp, R. F. (2010). Biologically Active Compounds in Food Products and Their Effects on Obesity and Diabetes. In *Comprehensive Natural Products II* (pp. 509–545). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-008045382-8.00063-0>
- Willats, W. G. T., Knox, J. P., & Mikkelsen, J. D. (2006). Pectin: New insights into an old polymer are starting to gel. *Trends in Food Science & Technology*, *17*(3), 97–104. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.10.008>
- Wong, D. W. S., Camirand, W. M., Pavlath, A. E., Parris, N., & Friedman, M. (1996). Structures and functionalities of milk proteins\*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *36*(8), 807–844. <https://doi.org/10.1080/10408399609527751>
- Wormit, A., & Usadel, B. (2018). The Multifaceted Role of Pectin Methyltransferase Inhibitors (PMEIs). *International Journal of Molecular Sciences*, *19*(10), 2878. <https://doi.org/10.3390/ijms19102878>
- Wusigale, Liang, L., & Luo, Y. (2020). Casein and pectin: Structures, interactions, and applications. *Trends in Food Science & Technology*, *97*, 391–403. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.01.027>
- Xu, Y., Zhang, L., Bailina, Y., Ge, Z., Ding, T., Ye, X., & Liu, D. (2014). Effects of ultrasound and/or heating on the extraction of pectin from grapefruit peel. *Journal of Food Engineering*, *126*, 72–81. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.11.004>
- Yang, J.-S., Mu, T.-H., & Ma, M.-M. (2018). Extraction, structure, and emulsifying properties of pectin from potato pulp. *Food Chemistry*, *244*, 197–205. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.059>
- Yang, Y., & Anderson, C. T. (2020). Biosynthesis, localization, and function of pectins in plants. In V. Kontogiorgos (Ed.), *Pectin: Technological and Physiological Properties* (pp. 1–16). Springer Nature.
- Yang, Y., Anvari, M., Pan, C.-H., & Chung, D. (2012). Characterisation of interactions between fish gelatin and gum arabic in aqueous solutions. *Food Chemistry*, *135*(2), 555–561. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.018>
- Yapo, B. M. (2011). Rhamnogalacturonan-I: A Structurally Puzzling and Functionally Versatile Polysaccharide from Plant Cell Walls and Mucilages. *Polymer Reviews*, *51*(4), 391–413. <https://doi.org/10.1080/15583724.2011.615962>
- Yapo, B. M., & Gnakri, D. (2015). Pectic Polysaccharides and Their Functional Properties. In K. G. Ramawat & J.-M. Mérillon (Eds.), *Polysaccharides* (pp. 1729–1749). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-16298-0\\_62](https://doi.org/10.1007/978-3-319-16298-0_62)
- Yapo, B. M., Robert, C., Etienne, I., Wathelet, B., & Paquot, M. (2007). Effect of extraction conditions on the yield, purity and surface properties of sugar beet pulp pectin extracts. *Food Chemistry*, *100*(4), 1356–1364. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.12.012>

- Yu, A. C., Lian, H., Kong, X., Lopez Hernandez, H., Qin, J., & Appel, E. A. (2021). Physical networks from entropy-driven non-covalent interactions. *Nature Communications*, *12*(1), 746. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21024-7>
- Zhang, H., Zhang, F., & Yuan, R. (2020). Applications of natural polymer-based hydrogels in the food industry. In *Hydrogels Based on Natural Polymers* (pp. 357–410). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816421-1.00015-X>
- Zhang, T., Xu, X., Li, Z., Wang, Y., Xue, Y., & Xue, C. (2018). Interactions and phase behaviors in mixed solutions of  $\kappa$ -carrageenan and myofibrillar protein extracted from Alaska Pollock surimi. *Food Research International*, *105*, 821–827. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.080>
- Zhang, Y. & Zhong, Q. (2013). Encapsulation of bixin in sodium caseinate to deliver the colorant in transparent dispersions. *Food Hydrocolloids*, *33*(1), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.02.009>
- Zhu, R., Wang, C., Zhang, L., Wang, Y., Chen, G., Fan, J., Jia, Y., Yan, F., & Ning, C. (2019). Pectin oligosaccharides from fruit of *Actinidia arguta*: Structure-activity relationship of prebiotic and antiglycation potentials. *Carbohydrate Polymers*, *217*, 90–97. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.04.032>
- Zhuykov, S. (2018). Semiconductor Nano-Crystals in Environmental Sensors. In *Nanostructured Semiconductors* (2nd ed., pp. 475–538). Woodhead Publishing
- Zulueta, A., Esteve, M. J., Frasquet, I., & Frígola, A. (2007). Vitamin C, vitamin A, phenolic compounds and total antioxidant capacity of new fruit juice and skim milk mixture beverages marketed in Spain. *Food Chemistry*, *103*(4), 1365–1374. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.10.052>