



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΗΧΑΝΙΚΗΣ & ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Διδακτορική Διατριβή

Ανάπτυξη και αξιοποίηση δομών ανθεκτικού αμύλου
και λειτουργικές ιδιότητες καινοτόμων αμυλούχων προϊόντων

Ευτύχιος Ι. Αποστολίδης

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια:

Μαντάλα Ιωάννα, Καθηγήτρια ΓΠΑ

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή:

Μαντάλα Ιωάννα, Καθηγήτρια ΓΠΑ

Στοφόρος Νικόλαος, Καθηγητής ΓΠΑ

Κακάλη Γλυκερία, Καθηγήτρια ΕΜΠ

ΑΘΗΝΑ
2023



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΗΧΑΝΙΚΗΣ & ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Διδακτορική Διατριβή

Ανάπτυξη και αξιοποίηση δομών ανθεκτικού αμύλου
και λειτουργικές ιδιότητες καινοτόμων αμυλούχων προϊόντων

“Development and utilization of resistant starch structures
and functional properties of innovative starch products”

Ευτύχιος Ι. Αποστολίδης

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή:

Μαντάλα Ιωάννα, Καθηγήτρια ΓΠΑ (επιβλέπουσα)

Στοφόρος Νικόλαος, Καθηγητής ΓΠΑ

Κακάλη Γλυκερία, Καθηγήτρια ΕΜΠ

Τσιρώνη Θεοφάνια, Επίκουρη Καθηγήτρια ΓΠΑ

Γιαννακούρου Μαρία, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΕΜΠ

Μοάτσου Γκόλφω, Καθηγήτρια ΓΠΑ

Καραθάνος Βάιος, Καθηγητής Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Ανάπτυξη και αξιοποίηση δομών ανθεκτικού αμύλου και λειτουργικές ιδιότητες καινοτόμων αμυλούχων προϊόντων

*Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων & Διατροφής του Ανθρώπου
Εργαστήριο Μηχανικής & Επεξεργασίας Τροφίμων*

Περίληψη

Στην παρούσα Διδακτορική Διατριβή, διερευνώνται φυσικές διεργασίες και μέθοδοι δημιουργίας νανο-δομών αμύλου. Οι δομές αυτές χρησιμοποιούνται ως σταθεροποιητές γαλακτωμάτων και ως μέσα σχηματισμού ή εμπλουτισμού υδρογελών αμύλου. Ένα κεντρικό θέμα που ερευνάται μέσα από τη διατριβή αυτή είναι η αξιοποίηση του ανθεκτικού αμύλου (Resistant Starch, RS) με χρήση διαφορετικών επεξεργασιών στον τομέα των τροφίμων, που δεν έχουν διερευνηθεί επαρκώς. Ο λόγος που μελετήθηκαν ερευνητικά ερωτήματα της συγκεκριμένης θεματικής ενότητας σχετίζεται με τη διαρκή στροφή της Βιομηχανίας, των καταναλωτών και της αγοράς σε καινοτόμα τρόφιμα, που συμβάλουν στην υγιεινή διατροφή και επισημαίνονται ως προϊόντα με “καθαρή ετικέτα” (clean label).

Στο πρώτο μέρος της Διατριβής, παρουσιάζεται η μελέτη της επεξεργασίας ανθεκτικού αμύλου με τη διεργασία της Υψηλούς Πίεσεως Ομογενοποίησης (High Pressure Homogenization, HPH) προς παραγωγή διασπορών (dispersions) ανθεκτικού αμύλου, χωρίς χρήση χημικών προσθέτων. Με τη διεργασία αυτή επιτυγχάνεται μείωση του μεγέθους των σωματιδίων του αρχικού αμύλου προς σωματίδια διαστάσεων στη νανοκλίμακα. Συγκεκριμένα, τα δείγματα επεξεργάστηκαν σε διαφορετικές συνθήκες πίεσης: 140 MPa, 200 MPa, 250 MPa και για ένα έως τέσσερις κύκλους ομογενοποίησης. Οι παράγοντες της πίεσης και του χρόνου επεξεργασίας αποδείχθηκαν κρίσιμοι για το μέγεθος, τη μορφολογία, το ποσοστό αμυλόζης και την κρυσταλλικότητα των δειγμάτων. Εκ των δύο παραμέτρων η πίεση είχε την πιο σημαντική επίδραση στη μείωση του μεγέθους των σωματιδίων αμύλου. Η μείωση του μεγέθους των σωματιδίων δεν επέφερε καταστροφή της δομής και το ανθεκτικό άμυλο διατήρησε την αρχική, τύπου Β, κρυσταλλικότητα. Μέσω της HPH, το μέγεθος των σωματιδίων ανθεκτικού αμύλου μειώθηκε από τα 7.5 μm στα 0.5 μm. Συμπερασματικά, διαπιστώθηκε πως η ομογενοποίηση με υψηλή πίεση αποτελεί μια απλή και αποτελεσματική φυσική κατεργασία για την παρασκευή νανο-σωματιδίων

ανθεκτικού αμύλου, μιας πρώτης ύλης με μεγάλο εύρος εφαρμογών στο πεδίο των τροφίμων.

Στο δεύτερο μέρος της παρούσας Διατριβής, παρουσιάζεται μια άλλη καινοτόμος φυσική διεργασία μείωσης του μεγέθους των σωματιδίων αμύλου σε νανο-κλίμακα, που συνίσταται από τρία επιμέρους στάδια: ζελατινοποίηση, νανο-καταβύθιση και επεξεργασία με υπερήχους. Το πλεονέκτημα έναντι της προηγούμενης μεθόδου (Υψηλούς Πιέσεως Ομογενοποίηση) είναι η περαιτέρω μείωση του μεγέθους των σωματιδίων αμύλου, με αυξημένο έλεγχο και μεγαλύτερη ομοιογένεια. Η τεχνική της νανο-καταβύθισης (nanoprecipitation) που εφαρμόστηκε, συνέβαλε καταλυτικά στην εύκολη απομόνωση των νανο-σωματιδίων, ενώ το τελικό βήμα της κατεργασίας μέσω υπερήχων παρήγαγε διασπορές ομοιόμορφα κατανεμημένων νανο-σωματιδίων αμύλου (170 nm) απαλλαγμένες από το σύνηθες αρνητικό φαινόμενο της συσσωμάτωσης. Η απουσία συσσωμάτωσης επαληθεύτηκε από τις διαδοχικές μετρήσεις μέσω της μεθόδου της Δυναμική Σκεδάσεως Φωτός (Dynamic Light Scattering, DLS), του Ζήτα Δυναμικού (Zeta-potential) και της εκπομπής φθορισμού. Επιπλέον, η αλληλουχία (φυσική διαδικασία) των τριών σταδίων οδήγησε σε (επέφερε) μείωση του μέγεθους των σωματιδίων του αμύλου σε νανο-κλίμακα χωρίς να καταστρέφεται η κρυσταλλική τους δομή, όπως επαληθεύτηκε από τη μελέτη της μέσω των μεθόδων Περίθλασης Ακτίνων Χ (X-Ray Diffraction, XRD) τόσο ευρείας (Wide Angle, WAXS) όσο και μικρής γωνίας (Small Angle, SAXS). Επίσης, η επεξεργασία τριών σταδίων δεν επηρέασε τη χημική σύσταση του αμύλου, όπως προέκυψε από τις αναλύσεις Υπέρυθρης Φασματοσκοπίας Μετασχηματισμού Fourier (Fourier Transform Infrared Spectroscopy, FTIR) και Θερμοβαρυμετρικής Ανάλυσης (Thermogravimetric Analysis, TGA). Στα νανο-σωματίδια παρατηρήθηκε μια αύξηση της υδροφοβικότητας συναρτήσει της μείωσης του μεγέθους. Εν συνόλω, η νέα μεθοδολογία που αναπτύχθηκε μπορεί να χαρακτηριστεί ως ένα εύχρηστο εργαλείο για την επιλεκτική μείωση του μεγέθους των σωματιδίων ανθεκτικού αμύλου αλλά και άλλων ειδών αμύλου, επιτρέποντας τη χρήση τους σε μια πληθώρα εφαρμογών σε μοντέλα τροφίμων.

Στο τρίτο μέρος της παρούσας Διατριβής, παρουσιάζεται η εφαρμογή των παραγόμενων νανο-σωματιδίων αμύλου μέσω της μεθοδολογίας των τριών σταδίων ως σταθεροποιητών σε γαλακτώματα τύπου Pickering. Αρχικά, παρουσιάζεται η σταθεροποίηση γαλακτωμάτων τύπου Pickering από τα παραχθέντα νανο-σωματίδια

αμύλου. Τα γαλακτώματα εμφάνισαν υψηλή σταθερότητα έως και για δύο μήνες σε συνθήκες αποθήκευσης. Τα φυσικώς παραγόμενα νανο-σωματίδια αμύλου έχουν σφαιρικό σχήμα, όπως διαπιστώθηκε από μελέτες Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας Σάρωσης (Scanning Electron Microscopy, SEM). Η αύξηση της συγκέντρωσης των σωματιδίων στο γαλάκτωμα Pickering επιφέρει μείωση της επιφανειακής και διεπιφανειακής τάσης, ενισχύοντας την ικανότητα των σωματιδίων να προσροφώνται στη διεπιφάνεια, σχηματίζοντας ένα οργανωμένο στρώμα στη διεπαφή, προσφέροντας με αυτό τον μηχανισμό σταθεροποίηση στα γαλάκτωμα. Η αύξηση της συγκέντρωσης των νανο-σωματιδίων αμύλου είχε σημαντική επίδραση στις φυσικές ιδιότητες του γαλακτώματος, ως προς τις ρεολογικές τους ιδιότητες, τη σταθερότητα και τη μικροδομή τους, όπως το μέγεθος των σταγονιδίων και το ζήτα δυναμικό. Η σταθεροποίηση των σωματιδίων διαφαίνεται από τη Συνεστιακή Μικροσκοπία Σάρωσης με ακτίνες Laser (Confocal Laser Scanning Microscopy, CLSM). Λόγω του δικτύου που σχηματίζουν τα νανο-σωματίδια, προσομοιάζουν σε συμπεριφορά με δομή υδρογέλης, σύμφωνα με τις ρεολογικές τους ιδιότητες. Η σταθερότητα όλων των δειγμάτων βελτιώθηκε με την αύξηση της συγκέντρωσης των νανο-σωματιδίων, παρουσιάζοντας μικρότερες τιμές στο μέγεθος των σωματιδίων και υψηλότερες τιμές Ζήτα Δυναμικού σε απόλυτη τιμή συγκριτικά με τα υπόλοιπα συστήματα. Συνοψίζοντας, αναπτύχθηκε μια νέα μέθοδος για τη δημιουργία γαλακτωμάτων τύπου Pickering για τρόφιμα, που δύναται να χρησιμοποιηθούν ως πιθανοί υποκαταστάτες λίπους.

Στο τέταρτο μέρος της Διατριβής, παρουσιάζεται η μελέτη της επίδρασης της συγκέντρωσης του φυσικού αμύλου (native starch) αραβόσιτου και των σωματιδίων ανθεκτικού αμύλου ως πληρωτικό μέσο (filler) στις ιδιότητες υφής υδρογελών αμύλου. Συγκεκριμένα, σε υδρογέλες φυσικού αμύλου με συγκέντρωση 8% w/v, 10% w/v, 12% w/v και 15% w/v μελετήθηκε η επίδραση της υποκατάστασης του φυσικού αμύλου με 2% και 10% ανθεκτικό άμυλο. Με την αύξηση της συγκέντρωσης του φυσικού αμύλου παρατηρήθηκαν οι μέγιστες τιμές σκληρότητας (Hardness), συνεκτικότητας (Cohesiveness) και κομμιάδους (Gumminess), ενώ η προσθήκη σωματιδίων ανθεκτικού αμύλου δεν επέδρασε στις ιδιότητες υφής των συστημάτων, παρουσιάζοντας ομοιότητες στα ρεολογικά προφίλ και στις ιδιότητες της υφής. Η ικανότητα συγκράτησης νερού (Water Holding Capacity, WHC) αυξήθηκε με αύξηση της συγκέντρωσης του φυσικού αμύλου, χαρακτηριστικό το οποίο αποδίδεται στο

πυκνότερο δίκτυο που σχημάτισαν οι υδρογέλες όπως απεικονίζεται από τις μικρογραφίες του SEM. Επιπροσθέτως, παρατηρήθηκε αύξηση της κρυσταλλικότητας με αύξηση της συγκέντρωσης του φυσικού αμύλου και του ανθεκτικού αμύλου (υψηλότερη υποκατάσταση). Οι υποκαταστάσεις με ανθεκτικό άμυλο φάνηκε πως δεν επηρεάζουν τις φυσικές ιδιότητες των υδρογελών, υποδεικνύοντας τον πιθανό ρόλο τους ως ανενεργά πληρωτικά μέσα (inactive fillers), προσδίδοντας όμως τα οφέλη του ανθεκτικού αμύλου που δύναται να επιδρά στη διατήρηση των φυσιολογικών επιπέδων γλυκόζης στο αίμα.

Επιστημονική περιοχή: Μηχανική Τροφίμων

Λέξεις Κλειδιά: Ανθεκτικό άμυλο, Νανο-σωματίδια, Γαλακτώματα τύπου Pickering, Δομή, Υδρογέλες

Development and utilization of resistant starch structures and functional properties of innovative starch products

*Department of Food Science & Human Nutrition
Laboratory of Food Process Engineering*

Abstract

In the present Dissertation, physical processes for the production of starch nanostructures and their potential use as emulsion stabilizers as well as the ability to form and enrich starch hydrogel systems are investigated. The main question investigated through this study is the potential use of resistant starch nanoparticles in novel natural food systems. There is an ever-growing interest towards the development of innovative foods that contribute to a healthy diet, with the consumers shifting towards products that are marked as "clean label".

In the first part of the Dissertation, the physical process of High-Pressure Homogenization (HPH) to produce resistant starch nanoparticles is presented. Samples were processed at different pressure conditions: 140 MPa, 200 MPa, 250 MPa and for one up to four homogenization cycles. The defining factors affecting size, morphology, amylose percentage and crystallinity were the number of cycles and the homogenization pressure. Of the two parameters, pressure had the most significant effect on size reduction compared to treatment time. Interestingly, reducing particle size did not disrupt the final structure, since the crystallinity of the resistant starch granules remained B-type. Particle size was successfully reduced from about 7.5 μm to 0.5 μm . In conclusion, it became clear that through the high-pressure homogenization process, nanoparticles with a wide range of applications in the food field can be produced.

In the second part of the present Dissertation, an innovative physical process (method) for starch size reduction up to nano scale is presented, consisting of three individual steps: gelatinization, nanoprecipitation, and ultrasonic treatment. The successfully applied nanoprecipitation technique contributes to the formation of nanoparticles, where the final step of ultrasound offers the synthesis of uniformly distributed starch nanoparticles (170 nm) free from agglomeration effects. This phenomenon was verified by sequential measurements with Dynamic Light Scattering (DLS), zeta potential and fluorescence. Specifically, the three-step physical process followed reduced the size of

the starch particles to the nanoscale without destroying their crystalline structure, as validated by X-Ray Diffraction (XRD) and X-ray Diffraction of Small Angle (Small Angle X-ray Scattering, SAXS). Also, the treatment had no effect on their composition, as verified by the Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) as well as through Thermogravimetric Analysis (TGA). Moreover, an increase in hydrophobicity as a function of size reduction was observed in the nanoparticles. Overall, the methodology we applied can be characterized as a tailor-made approach for the selective size reduction of resistant starch particles, allowing their use in a multitude of applications in food models.

In the third part of the Dissertation, the application of naturally produced starch nanoparticles through the three-step methodology as stabilizers in Pickering emulsions is presented. Firstly, starch nanoparticles successfully stabilized a Pickering emulsion model even for two months of storage time. Physically produced starch nanoparticles are spherical in shape as observed by Scanning Electron Microscopy (SEM). The increase in particle concentration leads to a decrease in surface and interfacial tension, enhancing the ability of particles to adsorb at the interface, forming a strong layer at the interface, that enhances emulsion stability. Increasing the concentration of starch nanoparticles had a significant effect on the physical properties of the emulsion, in terms of their rheological properties, stability and microstructure, such as droplet size and zeta potential. Particle stabilization is visualized by Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM). Notably, the network formed by the nanoparticles, they simulate a behavior with a hydrogel structure, according to their rheological properties. The stability of all samples improved with increasing nano-particle concentration, showing smaller values in particle size and higher zeta potential values. Through this study, a new method is presented for the creation of Pickering-type emulsions for food, which can potentially be used as fat substitutes.

In the fourth and last part of the Dissertation, the effect of normal starch concentration of and resistant starch particles as fillers on the textural properties of starchy hydrogels is presented. Specifically, in normal starch hydrogels with a concentration of 8% w/v, 10% w/v, 12% w/v and 15% w/v, the effect of replacing normal starch with 2% and 10% resistant starch was studied. By increasing normal starch concentration, the maximum values of hardness, cohesiveness and gumminess were observed, while it was shown that the addition of resistant starch particles does not affect the textural

properties of the systems, presenting similarities in the rheological profiles and textural properties. The water holding capacity (WHC) showed an increase with the increase in the concentration of normal starch, a characteristic attributed to the denser network that they form as illustrated by the SEM micrographs. Additionally, an increase in crystallinity was observed with increasing concentration of normal starch and resistant starch (higher substitution). Substitutions with resistant starch did not affect the physical properties of the hydrogels, indicating their potential role as inactive fillers, conferring the benefits of resistant starch for the maintenance of normal blood glucose levels.

Scientific field: Food Engineering

Keywords: Resistant starch; Nano-particles; Pickering emulsions; Structure; Hydrogels

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα Διδακτορική Διατριβή εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Μηχανικής και Επεξεργασίας Τροφίμων του τμήματος Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, υπό την επίβλεψη της Καθηγήτριας Ιωάννας Μαντάλας.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Πρόεδρο του Τμήματος Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου και Διευθύντρια του Εργαστηρίου Μηχανικής και Επεξεργασίας Τροφίμων του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, Καθηγήτρια Ιωάννα Μαντάλα, και επιβλέπουσα της Διατριβής αυτής, που με συμπεριέλαβε ως Υποψήφιο Διδάκτορα στην ερευνητική ομάδα της. Είμαι ευγνώμων για την άριστη συνεργασία μας, τη συνεχή καθοδήγηση και έμπρακτη υποστήριξη της καθ' όλη τη διάρκεια της. Οι πολύτιμες συμβουλές της και η σοφία της, στον επιστημονικό κόσμο, διαδραμάτισαν καίριο ρόλο ηθικής και δεοντολογίας, αποτελώντας πηγή έμπνευσης για τα μετέπειτα βήματα μου.

Επίσης, επιθυμώ να εκφράσω τις θερμότερες ευχαριστίες μου στα υπόλοιπα μέλη της Συμβουλευτικής επιτροπής. Συγκεκριμένα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον μεγάλο “Δάσκαλο” Καθηγητή του τμήματος Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, Δρ. Στοφόρο Νικόλαο για την καθοδήγηση, και τον πολύτιμο χρόνο που αφιέρωσε να με διδάξει το πεδίο της μοντελοποίησης, δίνοντας μου συμβουλές καθ' όλη τη διάρκεια της Διατριβής. Ακόμα, ευχαριστώ θερμά την Καθηγήτρια Κακάλη Γλυκερία, Κοσμήτορα της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου για την άριστη συνεργασία, τη φιλοξενία και τη συνεχή υποστήριξη και παραχώρηση των εγκαταστάσεων του Εργαστηρίου Ανόργανης και Αναλυτικής Χημείας για την ολοκλήρωση της παρούσας Διδακτορικής Διατριβής.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά όλα τα μέλη του Εργαστηρίου και τον κ. Εμμανουήλ Αναγνωσταρά για την άριστη συνεργασία στον χώρο του εργαστηρίου και για την πολύτιμη βοήθειά του στην επίλυση ζητημάτων. Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους συνεργάτες που βοήθησαν στην ολοκλήρωση της Διατριβής αυτής, και ιδιαίτερα τους συνεργάτες Δρ. Στεργίου Αναστάσιο, Επίκουρο Καθηγητή Κιούπη Δημήτριο, τη Λέκτορα Παζιμαδά Παρασκευή στο Πανεπιστήμιο του Leeds και

την Καθηγήτρια Ορυκτολογίας Περράκη Μαρία της Σχολής Μηχανικών Μεταλλείων και Μεταλλουργών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στην οικογένειά μου και όλους τους κοντινούς μου ανθρώπους, που με κάθε τρόπο ανιδιοτελώς στάθηκαν δίπλα μου όλα αυτά τα χρόνια και με στήριξαν για να καταστεί δυνατή η επίτευξη αυτού του στόχου.

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

Περιεχόμενα

Κεφάλαιο 1. Εισαγωγή	1
1.1. Στόχος της Διατριβής.....	1
1.2. Δομή Διατριβής.....	2
Κεφάλαιο 2. Βιβλιογραφική Ανασκόπηση.....	3
2.1. Γαλακτώματα	3
2.1.1. Τύποι γαλακτωμάτων βάση της γωνίας επαφής.....	4
2.1.2. Τεχνικές σχηματισμού.....	8
2.1.3. Μηχανισμοί αποσταθεροποίησης γαλακτωμάτων.....	9
2.2. Γαλακτώματα τύπου Pickering.....	12
2.3. Άμυλο.....	15
2.3.1. Αρχιτεκτονική αμύλου	16
2.3.2. Κατηγοριοποίηση αμύλου.....	21
2.3.3 Κατηγοριοποίηση ανθεκτικού αμύλου	23
2.3.3. Το άμυλο σε μορφή σωματιδίων ως σταθεροποιητής γαλακτωμάτων	26
2.4. Φυσικές διεργασίες σύνθεσης νανο-σωματιδίων αμύλου για χρήση σε γαλακτώματα Pickering.....	30
2.4.1. Τεχνικές υψηλής πίεσης	32
2.4.2. Υψηλή υδροστατική πίεση	32
2.4.3. Ομογενοποίηση υψηλής πίεσης (High Pressure Homogenization, HPH)	33

2.4.4.	Τεχνολογία υπερήχων (Ultrasonication).....	35
2.4.5.	Άλεση-Λειοτρίβηση	37
2.4.6.	Καταβύθιση με εισαγωγή αντι-διαλύτη (anti-solvent precipitation)..	40
2.5.	Η φύση του ελαίου.....	44
2.6.	Ακατέργαστοι κόκκοι αμύλου ως σταθεροποιητές σε γαλακτώματα τύπου Pickering	46
2.7.	Μέτρηση μεγέθους σωματιδίων.....	48
Κεφάλαιο 3. Δημιουργία νανο-σωματιδίων αμύλου με χρήση επεξεργασίας ομογενοποίησης υψηλής πίεσης.....		
3.1.	Εισαγωγή.....	50
3.2.	Υλικά και Μέθοδοι.....	53
3.2.1	Υλικά	53
3.2.2	Επεξεργασία ομογενοποίησης με υψηλές πιέσεις	53
3.2.3.	Μέγεθος σωματιδίων	54
3.2.4.	Ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (Scanning Electron Microscopy, SEM).....	55
3.2.5.	Απομόνωση αμυλόζης	55
3.2.6.	Προσδιορισμός αμυλόζης	55
3.2.7.	Περίθλαση ακτίνων X (X-ray Diffraction, XRD).....	56
3.2.8.	Στατιστική ανάλυση.....	57
3.3.	Αποτελέσματα-Συζήτηση	58
3.3.1.	Μέγεθος σωματιδίων	58
3.3.2.	Μορφολογία κόκκων αμύλου	61

3.3.3. Κρυσταλλικότητα δειγμάτων.....	64
3.3.4. Περιεκτικότητα αμυλόζης	66
3.4. Συμπεράσματα.....	71
Κεφάλαιο 4. Δημιουργία νανο-σωματιδίων ανθεκτικού αμύλου χρησιμοποιώντας μια φυσική διαδικασία τριών σταδίων	72
4.1. Εισαγωγή.....	72
4.2. Υλικά και Μέθοδοι.....	75
4.2.1 Υλικά	75
4.2.2. Φυσική μέθοδος παρασκευής νανο-σωματιδίων αμύλου μέσω υδροθερμικής ζελατινοποίησης (χρήση αυτόκλειστού), καθίζησης και υπερήχων.....	75
4.2.3. Περιεκτικότητα σε αμυλόζη	77
4.2.4. Μέγεθος νανο-σωματιδίων	78
4.2.5. Ζήτα δυναμικό	78
4.2.6. Ανάλυση υπέρυθρης φασματοσκοπίας μετασχηματισμού Fourier.....	78
4.2.7. Διαλυτότητα και βαθμός διόγκωσης	79
4.2.8. Κρυσταλλικότητα σωματιδίων με χρήση περίθλασης ακτίνων X.....	80
4.2.9. Σκέδαση ακτίνων X μικρής γωνίας	81
4.2.10. Φασματοσκοπία φθορισμού σε σταθερή κατάσταση (steady-state) και χρόνο εξαρτώμενη φασματοσκοπία φθορισμού (time-resolved).....	83
4.2.11. Σταθερότητα αμύλου με χρήση θερμοβαρυμετρικής ανάλυσης	84
4.2.12. Μέτρηση γωνίας επαφής (contact angle)	84
4.3. Αποτελέσματα-Συζήτηση	85

4.3.1. Μέγεθος νανο-σωματιδίων	85
4.3.2. Περιεκτικότητα αμυλόζης	92
4.3.3. Ζήτα δυναμικό (Zeta Potential)	94
4.3.4. Ανάλυση φασματοσκοπίας υπέρυθρου μετασχηματισμού Fourier	96
4.3.5. Βαθμός διόγκωσης και διαλυτότητα	99
4.3.6. Κρυσταλλικότητα σωματιδίων αμύλου	103
4.3.7. Σκέδαση ακτίνων-X μικρής γωνίας.....	104
4.3.8. Φασματοσκοπία φθορισμού σε σταθερή κατάσταση και χρόνο εξαρτώμενη φασματοσκοπία φθορισμού	107
4.3.9. Σταθερότητα αμύλου με χρήση θερμοβαρυμετρικής ανάλυσης	109
4.3.10. Γωνία επαφής.....	111
4.4. Συμπεράσματα.....	113
Κεφάλαιο 5. Χρήση νανο-σωματιδίων ανθεκτικού αμύλου για τη σταθεροποίηση γαλακτωμάτων τύπου Pickering.....	114
5.1. Εισαγωγή.....	114
5.2. Υλικά και Μέθοδοι.....	118
5.2.1 Υλικά	118
5.2.2. Φυσική μέθοδος παρασκευής νανο-σωματιδίων αμύλου μέσω υδροθερμικής ζελατινοποίησης (χρήση αυτόκλειστού) και καθίζησης	118
5.2.3. Παρασκευή γαλακτωμάτων τύπου Pickering με χρήση νανο-σωματιδίων αμύλου (SNPs)	119
5.2.4. Μελέτη σταθερότητας γαλακτωμάτων τύπου Pickering, οπτική εμφάνιση και δείκτης γαλακτωματοποίησης (Emulsification Index, EI)	121

5.2.5. Μελέτη μεγέθους σωματιδίων και σταθερότητας γαλακτωμάτων τύπου Pickering με τη μέθοδο της δυναμικής σκέδασης φωτός (Dynamic Laser Scattering).....	122
5.2.6. Ζήτα Δυναμικό γαλακτωμάτων	122
5.2.7. Ρεολογικές Ιδιότητες.....	122
5.2.8. Επιφανειακή (surface tension) και Διεπιφανειακή τάση (interfacial tension)	123
5.2.9. Μέτρηση γωνίας επαφής 3 φάσεων (3 Phase Contact angle measurement)	124
5.2.10. Συνεστιακή μικροσκοπία σάρωσης με ακτίνες Laser.....	125
5.2.11. Στατιστική ανάλυση.....	126
5.3. Αποτελέσματα-Συζήτηση-	127
5.3.1 Επίδραση της συγκέντρωσης νανο-σωματιδίων αμύλου στη σταθερότητα γαλακτώματος.....	127
5.3.2. Κατανομή μεγέθους σταγονιδίων και ζήτα δυναμικό των γαλακτωμάτων	133
5.3.3. Μελέτη ρεολογικών ιδιοτήτων	135
5.3.4. Επιφανειακή (surface tension) και Διεπιφανειακή τάση (interfacial tension)	139
5.3.5. Μέτρηση γωνίας επαφής 3 φάσεων (3 Phase Contact angle measurement)	142
5.3.6. Συνεστιακή μικροσκοπία σάρωσης με ακτίνες Laser (Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM).....	144
5.4. Συμπεράσματα.....	147

Κεφάλαιο 6. Επίδραση της συγκέντρωσης αμύλου αραβόσιτου και προσθήκη ανθεκτικού αμύλου αραβόσιτου ως πληρωτικό μέσο (filler) στις φυσικές ιδιότητες υδρογέλης αμύλου	148
6.1. Εισαγωγή.....	148
6.2. Υλικά και Μέθοδοι.....	151
6.2.1 Υλικά	151
6.2.3. Δημιουργία υδρογελών αμύλου μέσω θέρμανσης (ζελατινοποίηση)	151
6.2.4. Μηχανικές Ιδιότητες- Ιδιότητες Υφής.....	152
6.2.5. Κρυσταλλικότητα σωματιδίων αμύλου με χρήση περίθλασης ακτίνων X (X-ray Diffraction, XRD).....	153
6.2.6. Ικανότητα συγκράτησης νερού (Water Holding Capacity, WHC).....	153
6.2.7. Ρεολογικές Ιδιότητες.....	154
6.2.8. Ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (Scanning Electron Microscopy, SEM).....	155
6.2.9. Στατιστική ανάλυση.....	155
6.3. Αποτελέσματα-Συζήτηση	156
6.3.1. Μηχανικές Ιδιότητες- Ιδιότητες Υφής.....	156
6.3.2. Κρυσταλλικότητα με χρήση περίθλασης ακτίνων X	164
6.3.3. Ρεολογικές Ιδιότητες.....	168
6.3.4. Ικανότητα συγκράτησης νερού (Water Holding Capacity, WHC).....	173
6.3.5. Μορφολογία υδρογελών, Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Σάρωσης (Scanning Electron Microscopy).....	177
6.4. Συμπεράσματα.....	180

Κεφάλαιο 7. Συμπεράσματα.....	181
Αναφορές.....	183
Βιογραφικό.....	231
Curriculum Vitae	235

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 1. Τύποι γαλακτωμάτων σύμφωνα με το μέγεθος των σταγονιδίων.....	7
Πίνακας 2. Τύποι ανθεκτικού αμύλου	25
Πίνακας 3. Σύνοψη ερευνητικών μελετών σε γαλακτώματα τύπου Pickering με χρήση φυσικώς παραγόμενων νανο-σωματιδίων αμύλου (Apostolidis, Stoforos, et al., 2023).	45
Πίνακας 4. Σύνοψη ερευνητικών μελετών για γαλακτώματα Pickering με χρήση φυσικού αμύλου (Apostolidis, Stoforos, et al., 2023).	47
Πίνακας 5. Μέγεθος κόκκων αμύλου αραβοσίτου (διάμετρος) που έχουν υποστεί επεξεργασία σε διαφορετικές συνθήκες ομογενοποίησης (μm) (Apostolidis & Mandala, 2020).	59
Πίνακας 6. Η επίδραση της πίεσης, των κύκλοι ομογενοποίησης και η αλληλεπίδρασή τους.....	60
Πίνακας 7. Κρυσταλλικότητα και ποσοστό αμυλόζης.....	65
Πίνακας 8. Συντελεστές που σχετίζονται με την Εξίσωση 14 για τις παραμέτρους της διαλυτότητας και του βαθμού διόγκωσης.....	101
Πίνακας 9. Παράμετροι που λαμβάνονται από το SAXS.....	106
Πίνακας 10. Ονομασία και αναλογίες των παραγόμενων γαλακτωμάτων Pickering	129
Πίνακας 11. Ιδιότητες υφής (TPA) και συναίρεσης.....	157
Πίνακας 12. Συντελεστές που σχετίζονται με την Εξίσωση 24 και Εξίσωση 25 για τις διαφορετικές παραμέτρους υφής	159
Πίνακας 13. Χαρακτηριστικά διαφορετικών τύπων υδρογέλης.....	160
Πίνακας 14. Κρυσταλλικότητα διαφόρων τύπων υδρογελών αμύλου	165

Πίνακας 15. Παράμετροι του μοντέλου δύναμης της συμπεριφοράς ροής των υδρογελών αμύλου.....171

Κατάλογος Σχημάτων

Σχήμα 1. Γωνία επαφής των σωματιδίων σε νανο-κλίμακα και τύπος γαλακτώματος.5

Σχήμα 2. Σχηματική απεικόνιση των πιο συνηθισμένων μηχανισμών αποσταθεροποίησης σε γαλακτώματα: (a) αναστροφή φάσης (phase inversion) (b) αποκορύφωση (creaming), (c) καθίζηση (sedimentation), (d) κροκίδωση (flocculation), (e) συνένωση (coalescence), (f) ωρίμανση Ostwald (Ostwald ripening). 10

Σχήμα 3. Αριθμός δημοσιεύσεων, με τους όρους αναζήτησης «food AND emulsions», «Pickering AND emulsions» και «Pickering AND food AND emulsions» στον τίτλο και την περίληψη/κυρίως κείμενο, με περιορισμένες παραμέτρους αναζήτησης σε ερευνητικά άρθρα., όπως ανακτήθηκε από Scopus 03/03/2022 (Apostolidis, Stoforos, et al., 2023). 13

Σχήμα 4. Χημική δομή αμυλόζης, αμυλοπηκτίνης και κόκκου αμύλου..... 18

Σχήμα 5. Σχηματική απεικόνιση της εσωτερικής τους δομής των κόκκων αμύλου...20

Σχήμα 6. Κατηγοριοποίηση μεθόδων επεξεργασίας αμύλου σε φυσικές, χημικές και ενζυμικές για την παραγωγή νανο-σωματιδίων.28

Σχήμα 7. Σχηματική απεικόνιση των φυσικών μεθόδων επεξεργασίας (υψηλή πίεση ομογενοποίησης “high pressure homogenization, HPH”, υψηλή υδροστατική πίεση «high hydrostatic pressure, HHP”, Υπερήχων, άλεση, κατακρήμνιση “precipitation”) που οδηγούν σε νανο-σωματίδια αμύλου για την παραγωγή γαλακτωμάτων Pickering (Apostolidis, Stoforos, et al., 2023). 31

Σχήμα 8. Σχηματική απεικόνιση της λειτουργίας υπερήχων, δημιουργία φυσαλίδας και της κατάρρευσης τους.....36

Σχήμα 9. Σχηματική απεικόνιση της τεχνικής Ομογενοποίησης Υψηλής Πίεσης (Apostolidis & Mandala, 2020).54

Σχήμα 10. Μορφολογία κόκκων αμύλου με χρήση ηλεκτρονικής μικροσκοπίας (SEM): (a) (1000 x) μεγέθυνση, (b) (5000 x) μεγέθυνση..... 62

Σχήμα 11. Μορφολογία των κόκκων αμύλου υψηλής αμυλόζης (RS) υπό διαφορετικές συνθήκες επεξεργασίας με χρήση ηλεκτρονικού μικροσκοπίου (SEM) (2000 x) μεγέθυνση. Τα κόκκινα βέλη στο διάγραμμα υποδεικνύουν τα μικρότερα νανο-σωματίδια.....	63
Σχήμα 12. Μοτίβα περίθλασης ακτίνων X, ακατέργαστου και επεξεργασμένων δειγμάτων με υψηλή πίεση ομογενοποίησης.	64
Σχήμα 13. Συσχέτιση κρυσταλλικότητας και μεγέθους σωματιδίων (Apostolidis & Mandala, 2020).	66
Σχήμα 14. Σχηματική απεικόνιση επεξεργασμένου κόκκου αμύλου και η αλληλεπίδρασή του με το ιώδιο.....	67
Σχήμα 15. Δείγματα αμυλόζης (%) (μίγματα με αμυλοπηκτίνη). Από αριστερά προς τα δεξιά έχουμε την αύξηση της περιεκτικότητας σε αμυλόζη και την αύξηση του μπλε χρώματος.....	68
Σχήμα 16. (a) Φάσμα απορρόφησης υπεριώδους-ορατού, της δέσμευσης ιωδίου σε διαφορετικές περιεκτικότητες αμυλόζης, (b) πρότυπη καμπύλη για τη μέτρηση της περιεκτικότητας σε αμυλόζη χρησιμοποιώντας διπλά μήκη κύματος 620 nm και 510 nm.	69
Σχήμα 17. Φάσμα απορρόφησης υπεριώδους-ορατού, δέσμευσης συμπλόκου ιωδίου-αμυλόζης επεξεργασμένων δειγμάτων αμύλου με υψηλή πίεση ομογενοποίησης (Apostolidis & Mandala, 2020).	70
Σχήμα 18. Σχηματική απεικόνιση της διαδικασίας σχηματισμού των νανο-σωματιδίων αμύλου.	77
Σχήμα 19. Υπολογισμός του βαθμού κρυσταλλικότητας, με λευκές είναι οι κρυσταλλικές περιοχές (CR) και με γκρι οι άμορφες (AM) αντίστοιχα.	81
Σχήμα 20. Κατανομή μεγέθους νανο-σωματιδίων και επίδραση της έκθεσης σε υπερήχους στο μέγεθος.....	88
Σχήμα 21. Σχηματική απεικόνιση της συμπεριφοράς των σωματιδίων σε μοριακό επίπεδο (Apostolidis, Stergiou, et al., 2023).....	89

Σχήμα 22. Φαινόμενο Tyndall: a) νερό, b) νανο-σωματίδια μετά από κατεργασία υπερήχων, c) νανο-σωματίδια χωρίς κατεργασία υπερήχων.	91
Σχήμα 23. Απεικόνιση του φασματικού προφίλ σάρωσης του υπολογισμού αμυλόζης. [68% Con A: τα δείγματα που έχουν επεξεργαστεί και έχουν 68% αμυλόζη; 68% Whole: τα μη επεξεργασμένα δείγματα με, 68% αμυλόζη; High amylose Con A: τα δείγματα που έχουν επεξεργαστεί και έχουν, υψηλή αμυλόζη (High amylose); High amylose Whole: τα μη επεξεργασμένα δείγματα με, υψηλή αμυλόζη (High amylose); a-SNP Con A: δείγματα που έχουν επεξεργαστεί και έχουν νανο-σωματίδια (a-SNP); a-SNP Whole: τα μη επεξεργασμένα δείγματα με, νανο-σωματίδια (a-SNP)].	93
Σχήμα 24. Ζήτα δυναμικό - μέγεθος σωματιδίων σε σχέση με τη διάρκεια κατεργασίας με υπερήχους.....	94
Σχήμα 25. Ηλεκτροφορητική κινητικότητα και μέγεθος σωματιδίων συναρτήσει του χρόνου υπερήχων.	95
Σχήμα 26. Φασματοσκοπία υπέρυθρου μετασχηματισμού Fourier διαφορετικών δειγμάτων: δείγματος αμύλου υψηλής περιεκτικότητας σε αμυλόζη (RS), νανο-σωματίδια μετά από νανο-καταβύθιση (a-SNPs), νανο-σωματίδια μετά από 30 λεπτά (a-SNPS 30 min) υπερήχους και τα τελικά νανο-σωματίδια μετά από χρήση υπερήχων για 60 λεπτά (US-SNPs).	98
Σχήμα 27. a) βαθμός διόγκωσης και b) διαλυτότητα ανθεκτικού αμύλου (υψηλής αμυλόζης) σε ένα διάστημα θερμοκρασίας.	100
Σχήμα 28. Γραφική απεικόνιση πειραματικών και προβλεπόμενων τιμών (a) διαλυτότητας, (b) βαθμού διόγκωσης σε ένα διάστημα θερμοκρασίας.....	102
Σχήμα 29. Κρυσταλλογραφία ακτίνων-X, αμύλου υψηλής περιεκτικότητας σε αμυλόζη (High amylose), συσσωματωμένων νανο-σωματιδίων a-SNPs και νανο-σωματιδίων US-SNPs.	103
Σχήμα 30. Σκέδαση ακτίνων X μικρής γωνίας: τα πειραματικά δεδομένα εμφανίζονται με ανοιχτούς κύκλους ενώ οι συμπαγείς γραμμές αντιπροσωπεύουν τις προσομοιωμένες (simulated) καμπύλες σκέδασης σύμφωνα με το ενοποιημένο μοντέλο.	105

Σχήμα 31. (a) Φάσματα φθορισμού των νανο-σωματιδίων a-SNPs, a-SNPs 30 min, US-SNPs και (b), (c), (d) φάσματα διάρκειας ζωής (εξασθένισης, decay) φθορισμού των δειγμάτων a-SNPs από νανο-καταβύθιση, των a-SNPs 30 min μετά από υπερήχους 30 λεπτών και τα τελικά US-SNPs.	108
Σχήμα 32. Θερμοβαρουμετρική ανάλυση ((TGA): (a) Απώλεια βάρους των σύνθετων υλικών, (b) Απώλεια βάρους παραγώγων των σύνθετων υλικών.....	110
Σχήμα 33. Εικόνες του παρασκευασμένου σε μορφή πέλετ (δισκίου) δείγματος αμύλου (a) και απεικόνιση της μεθόδου της σταθερής σταγόνας (sessile drop) στα δισκία άμυλου (b), γωνία επαφής σε δείγμα ακατέργαστου αμύλου με υψηλή περιεκτικότητα αμυλόζης (c) και σε νανο-σωματίδια αμύλου a-SNP (d) σε ποικίλους χρόνους.....	112
Σχήμα 34. Σχηματική απεικόνιση της συνολικής διαδικασίας σχηματισμού (a) των νανο-σωματιδίων και (b) των γαλακτωμάτων τύπου Pickering.....	120
Σχήμα 35. Μικρογραφίες μέσω ηλεκτρονικής μικροσκοπίας (SEM), του ακατέργαστου δείγματος αμύλου με μεγέθυνση ($\times 1000$) (αριστερά) και των νανο-σωματιδίων αμύλου δεξιά.....	128
Σχήμα 36. Επίδραση της συγκέντρωσης των σωματιδίων του ακατέργαστου δείγματος ανθεκτικού αμύλου: a) 1% w/v, b) 3% w/v, c) 5% w/v) στη σταθερότητα του συστήματος (ένα λεπτό).....	128
Σχήμα 37. Μελέτη σταθερότητας των γαλακτωμάτων τύπου Pickering με διαφορετικές συγκεντρώσεις νανο-σωματιδίων αμύλου (1%, 3%, 5%) και ελαίου (1%, 3%, 10%) αποθηκευμένα σε διαφορετικές συνθήκες θερμοκρασίας. Τα a-c είναι δείγματα που αποθηκεύονται στους 4°C ενώ τα d-f αποθηκεύονται στους 25°C.	130
Σχήμα 38. Σταθερότητα γαλακτωμάτων σε βάθος χρόνου σε συνθήκες αποθήκευσης στους 4 °C και 25 °C, σταθεροποιημένα με νανο-σωματίδια αμύλου: (a) δείγματα 1.1, 1.5, 1.10, (b) δείγματα 3.1, 3.5, 3.10, (c) δείγματα 5.1, 5.5, 5.10. από αριστερά προς τα δεξιά: 6 ώρες, 1, 2, 3, 6, 7, 9, 13, 14, 15, 17, 20, 22, 24, 30, 40, 50, 60 ημέρες ως χρόνος αποθήκευσης. Στην εικόνα (d) παρουσιάζονται τα διαφορετικά φαινόμενα αποσταθεροποίησης.....	131

- Σχήμα 39.** Σταθερότητα γαλακτωμάτων κατά τη διάρκεια αποθήκευσης στους 4 °C: (a) μέγεθος σταγονιδίων ελαίου, (b) μετρήσεις ζήτα δυναμικού..... 134
- Σχήμα 40.** Ιξώδες (η) με τον ρυθμό διάτμησης ($\dot{\gamma}$): (a) όλα τα δείγματα για την ημέρα 1 και την ημέρα 30 (b) αντίστοιχα, (c) συγκέντρωση νανο-σωματιδίων 3% αποθήκευσης και 5% για όλες τις ημέρες αποθήκευσης (e), συγκέντρωση ελαίου 1% (d), 5% (f) για όλες τις ημέρες αποθήκευσης. 136
- Σχήμα 41.** Ιξωδοελαστικές ιδιότητες των γαλακτωμάτων που σταθεροποιούνται από τα νανο-σωματίδια αμύλου για διαφορετικές περιόδους αποθήκευσης: 1 ημέρα (a), 5 ημέρες (b), 10 ημέρες (c), 15 ημέρες (d), 20 ημέρες (e), 25 ημέρες (f), 30 ημέρες (g). 138
- Σχήμα 42.** Επιφανειακή τάση συναρτήσει του χρόνου, μετρούμενη με γεωμετρία βελόνας σε διαφορετικές συγκεντρώσεις νανο-σωματιδίων: a) Σταγόνα μέτρησης επιφανειακής τάσης (ψηφιακή εικόνα), b) Χρονική εξάρτηση της επιφανειακής τάσης στη διεπαφή διαλύματος αμύλου-αέρα..... 140
- Σχήμα 43.** Διεπιφανειακή τάση συναρτήσει του χρόνου, μετρούμενη με γεωμετρία βελόνας σε διαφορετικές συγκεντρώσεις νανο-σωματιδίων: a) Σταγόνα μέτρησης επιφανειακής τάσης (ψηφιακή εικόνα), b) Χρονική εξάρτηση της επιφανειακής τάσης στη διεπαφή διαλύματος αμύλου-αέρα..... 141
- Σχήμα 44.** a) Ψηφιακή εικόνα της μεθόδου σταθερής σταγόνας (sessile drop) των δισκίων αμύλου βυθισμένου στην ελαιώδη φάση, b) γωνία επαφής τριών φάσεων (θ_{ow}) του αμύλου, c) γωνία επαφής τριών φάσεων (θ_{ow}) με το χρόνο..... 143
- Σχήμα 45.** Οπτική απεικόνιση χρώσεων αμύλου και ελαίου αντίστοιχα (a) και δειγματοφορέας με δείγμα γαλακτώματος (b)..... 144
- Σχήμα 46.** Μικρογραφίες από συνεστιακή μικροσκοπία (CLSM) (α) γαλακτωμάτων Pickering με 1% νανο-σωματίδια και 1% λάδι, (β) γαλακτωμάτων Pickering με 3% νανο-σωματίδια και 1% λάδι, απουσία και παρουσία αμύλου και λαδιού αντίστοιχα (εικόνες 2 και 3), σε κλίμακα (scale bar) 2 μm (με κόκκινο χρώμα απεικονίζονται τα νανο-σωματίδια αμύλου και με πράσινο τα σταγονίδια ελαίου). 146
- Σχήμα 47.** Σχηματική απεικόνιση της διαδικασίας σχηματισμού υδρογελών..... 152

Σχήμα 48. Διάγραμμα των πειραματικών και των προβλεπόμενων τιμών (predicted) της σκληρότητας (παρουσιάζονται με κουκίδες και με συμπαγή γραμμή αντίστοιχα) ως συνάρτηση του χρόνου αποθήκευσης (Days) και της συγκέντρωσης αμύλου. Η συγκέντρωση των υδρογελών εκφράζεται σε σχέση με τη συγκέντρωση του “φυσικού” αμύλου (NH) (Πίνακας 13)..... 158

Σχήμα 49. Διάγραμμα των πειραματικών και των προβλεπόμενων τιμών (predicted) του κομμώδους (παρουσιάζονται με κουκίδες και με συμπαγή γραμμή αντίστοιχα) ως συνάρτηση του χρόνου αποθήκευσης (Days) και της συγκέντρωσης αμύλου. Η συγκέντρωση των υδρογελών εκφράζεται σε σχέση με τη συγκέντρωση του “φυσικού” αμύλου (NH) (Πίνακας 13)..... 163

Σχήμα 50. Μοτίβα κρυσταλλικότητας (XRD) διαφορετικών δειγμάτων υδρογελών αμύλου με διαφορετικές συγκεντρώσεις και επίπεδα υποκατάστασης ανθεκτικού αμύλου (RS) (2 και 10%), συμπεριλαμβανομένου του φυσικού αμύλου (NS) και του ανθεκτικού αμύλου (RS). Στο διάγραμμά με το αστέρι συμβολίζεται η θέση της κορυφής που βρίσκεται στην περιοχή 2θ περίπου 5° για υδρογέλες με επίπεδο υποκατάστασης 10% (Apostolidis et al., 2021)..... 166

Σχήμα 51. Τάση διάτμησης (τ) με τον ρυθμό διάτμησης (γ) υδρογελών αμύλου (πάστες) με διαφορετικές συγκεντρώσεις και επίπεδα υποκατάστασης ανθεκτικού αμύλου RS σε 2% και 10%. Οι γραμμές είναι η προσαρμογή του μοντέλου δύναμης (Power law model) των πειραματικών δεδομένων. 169

Σχήμα 52. Διάγραμμα των πειραματικών και των προβλεπόμενων τιμών (predicted) του δείκτη συνεκτικότητάς (K) (παρουσιάζονται με κουκίδες και με συμπαγή γραμμή αντίστοιχα) ως συνάρτηση της συγκέντρωσης αμύλου. Η συγκέντρωση των υδρογελών και εκφράζεται σε σχέση με τη συγκέντρωση του φυσικού αμύλου, όπως παρουσιάζονται λεπτομερώς στον Πίνακα 13. 172

Σχήμα 53. Απελευθέρωση υγρού (FR) (%) προσδιορίζουσα ικανότητα συγκράτησης νερού (WHC) υδρογελών αμύλου σε διαφορετικές συγκεντρώσεις και επίπεδα υποκατάστασης ανθεκτικού αμύλου (RS) (2 και 10%) στις διαφορετικές ημέρες αποθήκευσης. (a) υδρογέλες αμύλου (8% w/v) με 2 και 10% RS, (b) υδρογέλες αμύλου (10% w/v) φυσικές πηκτές αμύλου με 2 και 10% RS, (c) υδρογέλες αμύλου (12% w/v) φυσικές πηκτές αμύλου με 2 και 10% RS, (d) υδρογέλες αμύλου (15% w/v) φυσικές

πηκτές αμύλου με 2 και 10% RS. Το ίδιο γράμμα υποδηλώνει μη στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων ($p > 0.05$). 174

Σχήμα 54. Διάγραμμα των πειραματικών και των προβλεπόμενων τιμών (predicted) της απελευθέρωσης υγρού (παρουσιάζονται με κουκίδες και με συμπαγή γραμμή αντίστοιχα) ως συνάρτηση του χρόνου αποθήκευσης (Days) και της συγκέντρωσης αμύλου. Η συγκέντρωση των υδρογελών εκφράζεται σε σχέση με τη συγκέντρωση του φυσικού αμύλου (NH), όπως παρουσιάζονται αναλυτικά στον Πίνακα 13. 176

Σχήμα 55. Ηλεκτρονικές μικρογραφίες σάρωσης επιλεγμένων λυοφιλιωμένων υδρογελών αμύλου ((a) μεγέθυνση 50 X και (b) 250 X). NH: Υδρογέλες φυσικού αμύλου. NRH: Υδρογέλες φυσικού και ανθεκτικού αμύλου. Οι δείκτες δείχνουν τη συγκέντρωση φυσικού αμύλου/ ποσοστό υποκατάστασης ανθεκτικού (Πίνακας 13). Με κόκκινα βέλη παρουσιάζονται οι κόκκοι ανθεκτικού αμύλου ως πληρωτικό μέσο. 179

Κατάλογος Συντομογραφιών

AAC	Apparent Amylose Content
ABS	Absorbance
AFM	Atomic Force Microscopy
AM	Amylose
AP	Amylopectin
a-SNPs	aggregated-Starch Nano-particles
CA	Contact Angle
ConA	Concavalin A
CLSM	Confocal Laser Scanning Microscopy
DHP	Dynamic High Pressure
DLVO	Derjaguin Landau Verwey Overbeek
DLS	Dynamic Light Scattering
EI	Emulsification Index
FDA	Food and Drug Administration
FR	Fluid Release

FTIR	Fourier Transformation Infrared Spectroscopy
GRAS	Generally Recognized As Safe
HA	High Amylose
HHP	High Hydrostatic Pressure
HPH	High Pressure Homogenization
IFT	Interfacial Tension
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
LCT	Long Chain Triacylglycerols
LVR	Linear Viscoelastic Region
MCT	Medium Chain Triacylglycerols
NH	Native Hydrogel
NRH	Native Resistant Hydrogel
OSA	Octenyl Succinic Anhydride
O/W	Oil in Water
PCS	Photon Correlation Spectroscopy
QELS	Quasi Elastic Light Scattering

RDS	Rapidly Digestible Starch
RS	Resistant Starch
RS1	Resistant Starch type 1
RS2	Resistant Starch type 2
RS3	Resistant Starch type 3
RS4	Resistant Starch type 4
RS5	Resistant Starch type 5
SAXS	Small Angle X-ray Scattering
SCT	Short Chain Triaglycerols
SD	Standard Deviation
SDS	Slowly Digestible Starch
SEM	Scanning Electron Microscopy
SNC	Starch Nano-Crystals
SNP	Starch Nano-particles
TAC	True Amylose Content
TGA	Thermogravimetric Analysis

TEM	Transmission Electron Microscopy
TPA	Texture Profile Analysis
TS	Total Starch
UHP	Ultra High Pressure
US-SNPs	Ultrasonicated-Starch Nano-particles
WAXS	Wide Angle Xray Scattering
WCA	Water Contact Angle
WHC	Water Holding Capacity
W/O	Water in Oil
XRD	X-ray Diffraction
Z	Z-average

Κατάλογος ονοματολογίας

D_h	Hydrodynamic Diameter
$d_{3,2}$	Surface mean diameter
G'	Storage modulus
G''	Loss Modulus
K	Consistency coefficient
n	Flow behavior index
$\dot{\gamma}$	Shear rate
Θ_{ow}	3 phase contact angle

Κεφάλαιο 1. Εισαγωγή

1.1. Στόχος της Διατριβής

Ο στόχος της παρούσας Διδακτορικής Διατριβής είναι η ανάπτυξη νέων μεθόδων φυσικής κατεργασίας του ανθεκτικού αμύλου (Resistant starch, RS) προς παραγωγή νανο-σωματιδίων με σκοπό την κατανόηση της δομής τους και των παραγόντων που επιδρούν σ' αυτή, τη μελέτη της συμπεριφοράς τους σε διασπορές (dispersions) και γαλακτώματα (emulsions) και περαιτέρω η αξιολόγηση της πιθανής χρήσης του σε αναπτυσσόμενες εφαρμογές της βιομηχανίας τροφίμων [προϊόντα με καθαρή ετικέτα (clean label)]. Το κίνητρο για την πραγματοποίηση έρευνας πάνω στο συγκεκριμένο πεδίο εδράζεται στο υπαρκτό κενό γνώσης (knowledge gap) στη διεθνή βιβλιογραφία, σε ό,τι αφορά σε μεθόδους ρύθμισης (συγκεκριμένα μείωσης) του μεγέθους των σωματιδίων του ανθεκτικού αμύλου και τις εφαρμογές αυτού. Συνοπτικά, τα ερευνητικά ερωτήματα και οι στόχοι που τέθηκαν και απαντήθηκαν συνοψίζονται ως εξής:

- Η χρήση της φυσικής, μη θερμικής μηχανικής επεξεργασίας της ομογενοποίησης με υψηλές πιέσεις χαρακτηρίζεται ως μια αποτελεσματική μέθοδος για τη μείωση του μεγέθους των σωματιδίων αμύλου αραβοσίτου με υψηλή περιεκτικότητα σε αμυλόζη από περίπου 7.5 μm (ακατέργαστο δείγμα) σε 500 nm. Στην παρούσα εργασία, μελετήθηκε η ικανότητα παραγωγής νανο-σωματιδίων μέσω της φυσικής μεθόδου ομογενοποίησης για χρήση σε διάφορες εφαρμογές.
- Ο σχηματισμός νανο-σωματιδίων αμύλου (170 nm) υψηλής περιεκτικότητας σε αμυλόζη (Hi-Maize260®), μιας ειδικής κατηγορίας ανθεκτικού τύπου αμύλου RS2 μέσω μιας διαδοχικής φυσικής μεθοδολογίας τριών σταδίων που αποτελείται από: υδροθερμική ζελατινοποίηση, νανο-καταβύθιση και χρήση υπερήχων.
- Ένα ραγδαίως εξελισσόμενο πεδίο στον τομέα των τροφίμων είναι τα γαλακτώματα. Για τον λόγο αυτό μελετήθηκε η ικανότητα δράσης των νανο-σωματιδίων ως σταθεροποιητές σε γαλακτώματα τύπου Pickering. Το μέγεθος των σωματιδίων όσο και η συγκέντρωσή τους είναι κρίσιμες παράμετροι οι οποίες δύνανται να επηρεάσουν τη σταθερότητα των γαλακτωμάτων Pickering (σταθεροποίηση με χρήση σωματιδίων).

- Η δυνατότητα προσθήκης του ανθεκτικού αμύλου ως πληρωτικό μέσω (filler) σε συστήματα υδρογελών από φυσικό άμυλο. Λόγω των ευεργετικών δράσεων του RS στη μείωση των μεταγευματικών γλυκαιμικών και ινσουλιναμικών αποκρίσεων, μελετήθηκε η αποτελεσματικότητα του ως πληρωτικό μέσο σε σύστημα υδρογέλης.

1.2. Δομή Διατριβής

Η Διατριβή διαρθρώνεται σε επτά αυτοτελή Κεφάλαια, που αποτελούνται από μία σύντομη εισαγωγική αναφορά στον σκοπό και το πεδίο εφαρμογής της παρούσας εργασίας, (Κεφάλαιο 1), ένα Κεφάλαιο με τη βιβλιογραφική ανασκόπηση (Κεφάλαιο 2) και τέσσερα Κεφάλαια (Κεφάλαια 3-6) “ανεξάρτητες εργασίες” σε δομή άρθρου με εισαγωγή, υλικά και μέθοδοι και τα πειραματικά ευρήματα, ακολουθούμενα από τα κύρια συμπεράσματα. (Κεφάλαιο 7). Συγκεκριμένα:

- Στο Κεφάλαιο 1 παρουσιάζεται ο σκοπός και τα ερευνητικά ερωτήματα που προέκυψαν από τη βιβλιογραφική ανασκόπηση.
- Στο Κεφάλαιο 2 παρουσιάζεται η Βιβλιογραφική ανασκόπηση, παραθέτοντας τις επιστημονικές γνώσεις που σχετίζονται με τα θέματα που αναφέρονται στην παρούσα διατριβή
- Το Κεφάλαιο 3 αποτελεί το πρώτο Κεφάλαιο αποτελεσμάτων, σχετικά με τη φυσική μέθοδο τροποποίησης του ανθεκτικού αμύλου μέσω ομογενοποίησης με υψηλές πιέσεις
- Το Κεφάλαιο 4 αποτελεί το δεύτερο Κεφάλαιο αποτελεσμάτων, σχετικά με τη φυσική διεργασία τροποποίησης του ανθεκτικού αμύλου μέσω της τεχνικής τριών σταδίων, που αποτελείται από: υδροθερμική ζελατινοποίηση, νανο-καθίζηση και χρήση υπερήχων για τον σχηματισμό νανο-σωματιδίων
- Το Κεφάλαιο 5 αποτελεί το τρίτο Κεφάλαιο αποτελεσμάτων, σχετικά με τη ικανότητα δράσης των νανο-σωματιδίων ως σταθεροποιητές σε γαλακτώματα τύπου Pickering
- Το Κεφάλαιο 6 αποτελεί το τέταρτο Κεφάλαιο αποτελεσμάτων, σχετικά με την προσθήκη του ανθεκτικού αμύλου ως πληρωτικό μέσω (filler) σε συστήματα υδρογελών από φυσικό άμυλο.
- Το Κεφάλαιο 7 αποτελεί τη σύνοψη και παράθεση όλων των συμπερασμάτων.

Κεφάλαιο 2. Βιβλιογραφική Ανασκόπηση

2.1. Γαλακτώματα

Τα γαλακτώματα είναι ετερογενή, θερμοδυναμικά ασταθή κολλοειδή συστήματα διασποράς, που αποτελούνται από δύο ή περισσότερα μη αναμίξιμα υγρά (μη “μιγνυόμενα” ή αδιάλυτα μεταξύ τους, κυρίως έλαιο και νερό), με το ένα από αυτά να διασπείρεται ομοιόμορφα ως λεπτά σταγονίδια στο άλλο (C. Tan & McClements, 2021). Ο όρος γαλάκτωμα (emulsion) προέρχεται από τη λατινική λέξη *emulgere*, που σημαίνει «βγάζω γάλα», σύμφωνα με τον Amboise Paré, ο οποίος παρατήρησε πρώτος ότι τα μίγματα (αιωρήματα) ενός μη πολικού ελαιώδους και ενός πολικού υδατικού διαλύματος σχηματίζουν μια λευκή και παχύρρευστη κρέμα που έχει τη μορφή γάλακτος. Παρόλο που ο όρος “γαλάκτωμα”, εισήχθη για πρώτη φορά τον 17^ο αιώνα η επιστημονική έρευνα είναι σχετικά πρόσφατη σύμφωνα με ένα έγγραφο του 1910, όπου περιγράφεται η ταξινόμηση των γαλακτωμάτων ως λάδι σε νερό ή νερό σε λάδι (Ostwald, 1910) και έκτοτε έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς στη βιομηχανία φαρμάκων και τροφίμων (Albert et al., 2019; L. Bai et al., 2021; Dickinson, 2010; Øye et al., 2023; Reiner et al., 2010). Η Διεθνής Ένωση (IUPAC) κατοχύρωσε και εισήγαγε τον ορισμό του γαλακτώματος (Everett., 1972)

Η ανάπτυξη της θεωρίας του ηλεκτρικού διπλού στρώματος, η αλλιώς θεωρία DLVO (Derjaguin–Landau–Verwey–Overbeek) μετά το Β' Παγκόσμιο Πόλεμο μπορεί να χαρακτηριστεί ως η θεωρητική θεμέλιος λίθος για την αποσαφήνιση των αλληλεπιδράσεων που χαρακτηρίζουν την κατηγορία των γαλακτωμάτων (Becher, 1991; Verwey, E J, 2023). Στη Βιομηχανία τροφίμων, τα γαλακτώματα συναντώνται σε μεγάλη ποικιλία διατροφικών προϊόντων όπως είναι το γάλα, ποτά, χυμοί, παγωτά, σάλτσες, μαγιονέζες και μαργαρίνες, προσδίδοντας τους και τα επιθυμητά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά όπως η υφή και η αίσθηση στο στόμα (mouthfeel) (C. Tan & McClements, 2021).

Χαρακτηριστικά, τα γαλακτώματα διαχωρίζονται μεταξύ τους σε απλά ή σύνθετα. Τα απλά γαλακτώματα στα οποία η συνεχής φάση είναι υδατικό διάλυμα χαρακτηρίζονται από το σύμβολο o/w (λάδι σε νερό), ενώ τα απλά γαλακτώματα στα οποία η συνεχής φάση είναι λάδι χαρακτηρίζονται από το σύμβολο w/o (νερό σε λάδι) (Trujillo-Cayado et al., 2016). Ο τύπος του γαλακτώματος είναι συνάρτηση της αναλογίας του όγκου των δύο υλικών, όπου η φάση που είναι σε μεγαλύτερη ποσότητα αποτελεί τη συνεχή

φάση, π.χ., το γάλα είναι ένα γαλάκτωμα τύπου o/w, όπου η συνεχής φάση είναι νερό, ενώ η μαγιονέζα εμπίπτει στην κατηγορία w/o, όπου η συνεχής φάση είναι το λάδι (Bajrai, 2018).

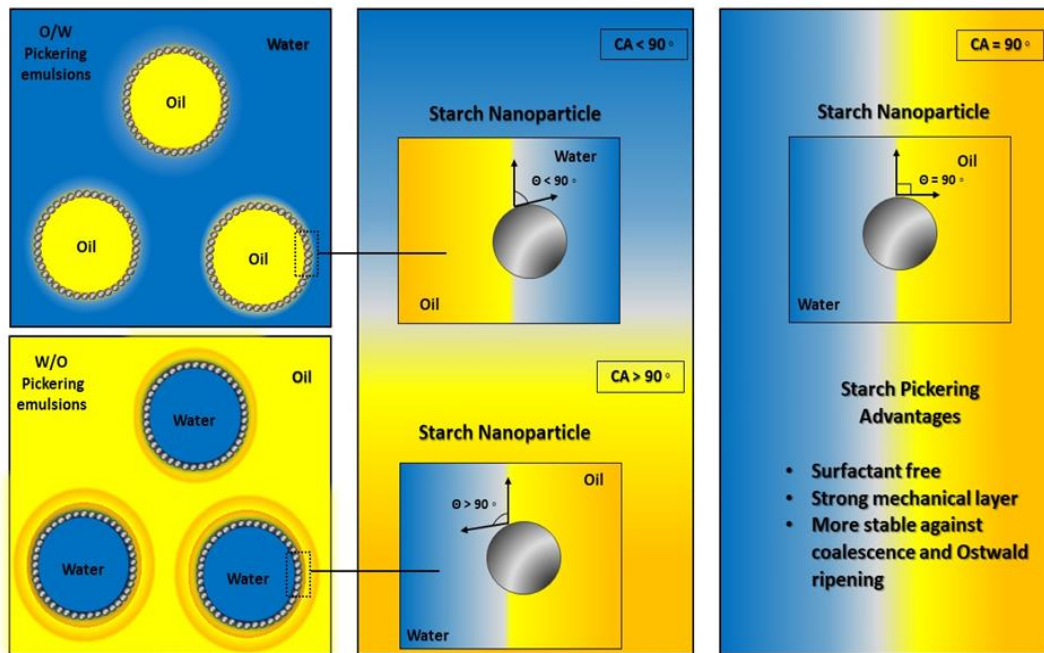
Στην κατηγορία των σύνθετων γαλακτωμάτων, τα πολλαπλά γαλακτώματα αναφέρονται ως "γαλακτώματα γαλακτωμάτων" (emulsions of emulsions) και αποτελούνται από μεγαλύτερες σταγόνες που εμπεριέχουν μονά ή και πολλαπλά εσωτερικά στρώματα και μπορούν να κατηγοριοποιηθούν αναλόγως ως διπλά, τριπλά και τετραπλά γαλακτώματα (Abate & Weitz, 2009; Muschiolik & Dickinson, 2017; Nie et al., 2006; Nisisako et al., 2014; Utada et al., 2005).

2.1.1. Τύποι γαλακτωμάτων βάση της γωνίας επαφής

Ο τύπος του γαλακτώματος που θα μπορεί να σχηματιστεί (τύπου o/w ή w/o) μπορεί να προβλεφθεί μέσω ενός εμπειρικού κανόνα (Finkle rule), για γαλακτώματα σταθεροποιημένα με επιφανειοδραστική ουσία, ενώ μέσω ενός ισοδύναμου κανόνα (Bancroft rule) για γαλακτώματα που σταθεροποιούνται με σωματίδια που ονομάζονται γαλακτώματα τύπου Pickering. Για τη μελέτη του τύπου, συσχετίζεται η γωνία επαφής (contact angle) ως μέτρο ικανότητας διαβροχής και παρέχει πολύ χρήσιμες πληροφορίες, όπως αποτυπώνεται στο Σχήμα 1.

Η σταθερότητα ενός γαλακτώματος είναι η αντίσταση στις φυσικές αλλαγές με την πάροδο του χρόνου. Πιο αναλυτικά, στην περίπτωση που έχουμε γαλακτώματα να σταθεροποιούνται από σωματίδια, αν η γωνία επαφής νερού (water contact angle, WCA) είναι μικρότερη από 90° , τα σωματίδια χαρακτηρίζονται ως υδρόφιλα και το γαλάκτωμα είναι πιο πιθανό να σταθεροποιηθεί σαν γαλάκτωμα ελαίου σε νερό (o/w). Επιπροσθέτως, υδρόφοβα σωματίδια με γωνία επαφής νερού (WCA) μεγαλύτερη από 90° έχουν την ικανότητα να σταθεροποιούν γαλακτώματα τύπου νερό σε λάδι (w/o). Εάν, τα σωματίδια παρουσιάζουν $WCA = 90^\circ$ (ή πολύ κοντά) δύναται να σχηματίσουν

διπλά γαλακτώματα, λόγω της ικανότητάς τους να προσροφούν και στις δύο διεπαφές: o/w και w/o.



Σχήμα 1. Γωνία επαφής των σωματιδίων σε νανο-κλίμακα και τύπος γαλακτώματος.

Το μέγεθος, το σχήμα και η μορφολογία των σωματιδίων επιδρούν σε μεγάλο βαθμό στη σταθερότητα των γαλακτωμάτων τύπου Pickering (Binks, 2002; C. Tan & McClements, 2021). Τα σωματίδια που χρησιμοποιούνται ως σταθεροποιητές, μπορούν να έχουν σχήμα σφαιρικό, πολυγωνικό, σχήμα ράβδου και κυβικό. Για τον λόγο αυτό είναι πολύ σημαντικό να μπορούν να υπολογιστούν οι απαιτούμενες συνθήκες για την αποσταθεροποίησή τους (S. Lam et al., 2014; Y. Yang et al., 2017). Αυτό επιτυγχάνεται μέσω του προσδιορισμού της απαιτούμενης ενέργειας για την απόσπαση (detachment) ενός σωματιδίου από τη διεπιφάνεια δύο ρευστών.

Όπως αναφέρθηκε, το σχήμα των σωματιδίων είναι πολύ σημαντικό και η απαιτούμενη ενέργεια μπορεί να προσδιοριστεί κατάλληλα. Αρχικά, για σωματίδια σφαιρικού σχήματος μπορεί να υπολογιστεί χρησιμοποιώντας την εξίσωση προσρόφησης της αλλαγής ελεύθερης ενέργειας Gibbs (Εξ. 1).

$$\Delta G = \pi r_p^2 \gamma_{ow} (1 - (\cos[\theta_{ow}]))^2 \quad (1)$$

Όπου ΔG είναι η ελεύθερη ενέργεια απόσπασης σε (J), r_p είναι η ακτίνα του σωματιδίου (radius Pickering, r_p) (μm), γ_{ow} η διεπιφανειακή τάση μεταξύ των δύο μη μιγνυόμενων φάσεων (mN m^{-1}), θ_{ow} η γωνία επαφής του σωματιδίου στη διεπιφάνεια (Apostolidis, Stoforos, et al., 2023; Binks, 2002; Levine et al., 1989; Chen Li et al., 2013; Rayner et al., 2014).

Η ενέργεια ΔG για ανισότροπα σωματίδια (μη σφαιρικά), εξαρτάται από τουλάχιστον δύο κλίμακες μήκους (Anjali & Basavaraj, 2016; Sarkar & Dickinson, 2020; C. Wang et al., 2022). Συγκεκριμένα, για σωματίδια σχήματος ράβδου (σφαίρο-κυλινδρικά), η ενέργεια ΔG υπολογίζεται έχοντας ως τη μεγάλη διάσταση του άξονα ως a και τη μικρότερη ως b , όπου ($a/b > 1$) και γωνία επαφής από 90° και κάτω ($0 = \theta \leq 90^\circ$) δηλαδή για γαλακτώματα τύπου o/w (Εξ. 2).

$$\Delta G_W = \gamma_{ow} \pi b^2 (1 - \cos[\theta])^2 \left[1 + \frac{4(a/b - 1)(\sin \theta - \theta \cos \theta)}{\pi(1 - \cos \theta)^2} \right] \quad (2)$$

Επιπλέον, για γαλακτώματα τύπου w/o όπου η γωνία επαφής των σωματιδίων είναι μεγαλύτερη η ίση με 90° ($90^\circ \leq \theta \leq 180^\circ$) η ενέργεια υπολογίζεται από την (Εξ. 3)

$$\Delta G_O = \Delta G_W + 4\gamma_{ow}\pi b^2(1 - \cos \theta)^2 \quad (3)$$

όπου η παράμετρος b μπορεί να εκφραστεί με βάση την ακτίνα (r) και τον λόγο διαστάσεων αντίστοιχα: (a/b) ως $b = r \left[1 + (3/2)((a/b) - 1) \right]^{-\frac{1}{3}}$

Για σωματίδια σχήματος δίσκου με γωνία επαφής $0 = \theta \leq 90^\circ$ (τύπου o/w) η ενέργεια δίνεται από την (Εξ. 4), ενώ με γωνία επαφής $90^\circ \leq \theta \leq 180^\circ$ (τύπου w/o) η ενέργεια δίνεται από την (Εξ. 5)

$$\Delta G_W = \gamma_{ow}\pi b^2(1 - \cos\theta^2) \left[1 + \frac{(a/b - 1)^2}{1 - \cos \theta} + \frac{2(a/b - 1)(\sin \theta - \theta \cos \theta)}{(1 - \cos \theta)^2} \right] \quad (4)$$

$$\Delta G_O = \Delta G_W + 2\gamma_{ow}\pi b^2 \cos \theta \left[\left(\frac{\alpha}{\beta} - 1\right)^2 + \pi \left(\frac{\alpha}{\beta} - 1\right) + 2 \right] \quad (5)$$

όπου η παράμετρος b μπορεί να εκφραστεί με βάση την ακτίνα (r) και τον λόγο διαστάσεων αντίστοιχα: (a/b) as $b = r \left[\frac{3(\alpha/\beta - 1)^2}{2} + \frac{3\pi(\alpha/\beta - 1)}{4} + 1 \right]$

Για σωματίδια σχήματος κύβου υπολογίζεται από την (Εξ. 6), όπου με a το μήκος της πλευράς και h το μήκος που εκτίθεται στην υδατική φάση.

$$\Delta G = \gamma_{OW} (a^2(a^2 + 4ah) \cos \theta) \quad (6)$$

Τα γαλακτώματα χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες με βάση το μέγεθος της διαμέτρου των σταγονιδίων που σχηματίζουν και τη σταθερότητα τους και διακρίνονται σε μακρο-γαλακτώματα (macro-emulsions), νανο-γαλακτώματα (nano-emulsions) και μικρο-γαλακτώματα (micro-emulsions) (Πίνακας 1).

Πίνακας 1. Τύποι γαλακτωμάτων σύμφωνα με το μέγεθος των σταγονιδίων

Γαλακτώματα	Μάκρο	Νάνο	Μίκρο
Μέγεθος (σταγονιδίων)	1-100 μm	10-500 nm	1-100 nm
Σταθερότητα	Θερμοδυναμικά ασταθή	Κινητικά σταθερά	Θερμοδυναμικά σταθερά

Τα μακρο-γαλακτώματα συνηθέστερα αναφέρονται και ως γαλακτώματα, και χαρακτηρίζονται ως θερμοδυναμικά ασταθή συστήματα με αποτέλεσμα τον διαχωρισμό των δύο φάσεων με την πάροδο του χρόνου. Η διαδικασία της γαλακτωματοποίησης απαιτεί την εισαγωγή ενέργειας συχνά με τη μορφή διατμητικών δυνάμεων. Συνήθως, σχηματίζονται μέσω διεργασιών “υψηλής ενέργειας”, χρησιμοποιώντας συσκευές υπερήχων ή ομογενοποιητές υψηλής πίεσης για τη δημιουργία “μικρότερων” σταγονιδίων. Τα νανο-γαλακτώματα είναι θερμοδυναμικά ασταθή, όμως θεωρούνται κινητικά σταθερά συστήματα, καθώς η αποσταθεροποίηση τους είναι πολύ αργή. Λόγω του πολύ μικρού τους μεγέθους, η τυχαία κίνηση Brown, υπερνικά τις βαρυτικές δυνάμεις με αποτέλεσμα την αποφυγή φαινομένων συνένωσης και κροκίδωσης αλλά και καθίζησης και αποκορύφωσης. Στην κατηγορία των νανο-γαλακτωμάτων το φαινόμενο ωρίμανσης κατά Ostwald είναι ο κυριότερος παράγοντας αποσταθεροποίησης. Τέλος, τα μικρο-γαλακτώματα, είναι θερμοδυναμικά σταθερά συστήματα, ενώ η δημιουργία ενός τέτοιου συστήματος απαιτεί ανάμειξη χαμηλής

ενέργειας (Anton & Vandamme, 2011; Kaur et al., 2023; McClements, 2007; Pal et al., 2023).

2.1.2. Τεχνικές σχηματισμού

Ο σχηματισμός και η δημιουργία ενός γαλακτώματος απαιτεί μια διαδικασία που ονομάζεται γαλακτωματοποίηση, και αυτή κατηγοριοποιείται σε δύο κύριες μεθόδους. Σύμφωνα με την ενέργεια που απαιτείται κατά την παρασκευή γαλακτωμάτων διακρίνονται σε υψηλής και χαμηλής ενέργειας (Jasmina et al., 2017; Tadros et al., 2004). Οι μέθοδοι που απαιτούν υψηλή ενέργεια βασίζονται στην εφαρμογή μηχανικής ενέργειας, έτσι ώστε να αναμιχθούν οι δύο ξεχωριστές φάσεις (ελαίου και νερού) και να διασπαστούν τα σταγονίδια λαδιού σχηματίζοντας πολύ μικρότερες δομές (McClements & Rao, 2011; Walker et al., 2014). Η μείωση του μεγέθους των σταγονιδίων επιτυγχάνεται με την αύξηση της ενέργειας καθώς και με τη διάρκεια της μεθόδου. Για την επίτευξη αυτού του στόχου είναι απαραίτητη προϋπόθεση να έχουν σχεδιαστεί κατάλληλα τόσο οι αναλογίες ελαίου νερού, όσο και οι ποσότητες του σταθεροποιητή, για τον σχηματισμό του επιθυμητού τελικού προϊόντος, το οποίο θα διαθέτει την επιθυμητή υφή, ιξώδες σταθερότητα και χρώμα. Οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες μηχανικές συσκευές που παράγουν σταγονίδια μικρού μεγέθους είναι: οι υπέρηχοι και οι ομογενοποιητές υψηλής πίεσης (McClements, 2011; Walker et al., 2014). Να σημειωθεί πως οι μέθοδοι αυτοί δεν είναι εφαρμόσιμες σε θερμοευαίσθητα υλικά, καθώς η ενέργεια που ασκείται πολλές φορές μετατρέπεται σε θερμότητα (Jasmina et al., 2017).

Οι μέθοδοι που απαιτούν χαμηλή ενέργεια, σχετίζονται στενά με τις φυσικές ιδιότητες του σταθεροποιητή και εξαρτώνται τόσο από την επιλογή του, όσο και από την κατάλληλη αναλογία του σε σχέση με το έλαιο και το νερό (Anton et al., 2008). Οι μέθοδοι χαμηλής ενέργειας για την παρασκευή γαλακτωμάτων είναι κυρίως η μέθοδος αυθόρμητης γαλακτωματοποίησης (spontaneous emulsification) και οι μέθοδοι αναστροφής φάσης (phase inversion) (Anton et al., 2008; C. Qian & McClements, 2011). Αυτές οι τεχνικές, γίνονται όλο και πιο δημοφιλείς επειδή μπορούν να δημιουργήσουν μικρότερα μεγέθη σωματιδίων σε σύγκριση με μεθόδους υψηλής ενέργειας με χαμηλότερο κόστος παρασκευής ενώ έχουν απλές και πρακτικές μεθόδους (McClements, 2011). Αυτές οι μέθοδοι όμως έχουν αρκετούς περιορισμούς, όπως η

απαίτηση μεγάλης ποσότητας σταθεροποιητών, το οποίο δυσχεραίνει τη βιομηχανική παραγωγή μεγάλης κλίμακας (Jafari et al., 2008; Seekkuarachchi et al., 2006).

2.1.3. Μηχανισμοί αποσταθεροποίησης γαλακτωμάτων

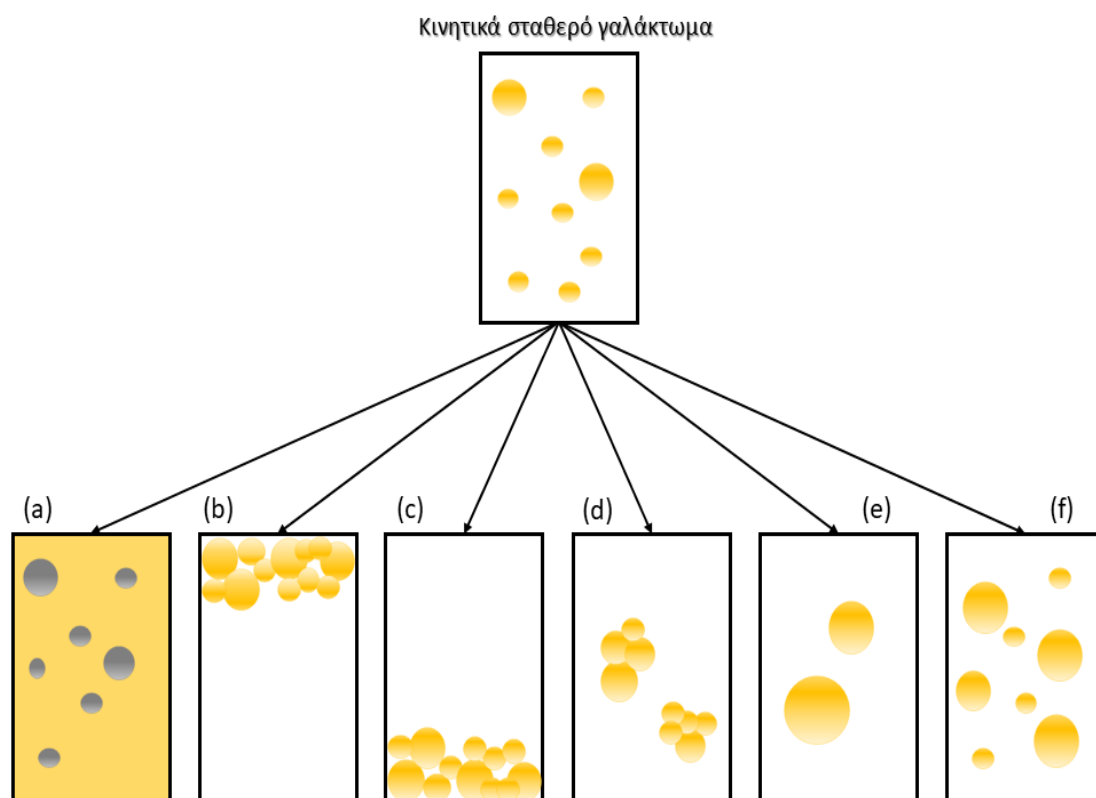
Τα γαλακτώματα είναι θερμοδυναμικά ασταθή συστήματα, όπου με την πάροδο του χρόνου διαχωρίζονται οι δύο φάσεις υπό την επίδραση φυσικών μηχανισμών, όπως είναι η βαρύτητα και η συσσωμάτωση. Επομένως, απώτερος στόχος είναι ο σχηματισμός γαλακτωμάτων όπου θα ανταποκρίνονται στις ανάγκες της βιομηχανίας, δηλαδή θα διατηρούν τη σταθερότητά τους με το πέρασ του χρόνου. Ο μηχανισμός αποσταθεροποίησης περιγράφεται σύμφωνα με τον νόμο του Stokes (Εξ. 7). Λόγω της διαφοράς πυκνότητας προκύπτει το φαινόμενο του βαρυτικού διαχωρισμού (ίζημα, sedimentation) όταν η πυκνότητα των σταγονιδίων είναι μεγαλύτερη από την πυκνότητα του μέσου. Αντιθέτως, το φαινόμενο της αποκορύφωσης (creaming) όπου τα σταγονίδια τείνουν να ανυψωθούν παρατηρείται όταν το σταγονίδιο έχει μικρότερη πυκνότητα από αυτή της συνεχούς υγρής φάσης (Spasic, 2018).

$$\frac{dy}{dx} = \frac{2r^2(\rho_2 - \rho_1)g}{9\eta} \quad (7)$$

όπου r είναι η διάμετρος σταγονιδίων (cm), ρ_2 είναι η πυκνότητα σταγονιδίων (g/cm^3), ρ_1 είναι η πυκνότητα της συνεχούς φάσης ή μέσου (g/cm^3), g είναι βαρυτική σταθερά (cm/s), η το ιξώδες της συνεχούς φάσης (g/cm sec).

Πέραν του διαχωρισμού λόγω βαρύτητας, η διαδικασία αποσταθεροποίησης και καταστροφής ενός γαλακτώματος μπορεί να γίνει σε διαφορετικά στάδια και μέσω φαινομένων όπως η αναστροφή φάσης (phase inversion), η κροκίδωση (flocculation), η συνένωση (coalescence) και η ωρίμανση Ostwald (Ostwald ripening). Στο Σχήμα 2 παρουσιάζονται σχηματικά τα φαινόμενα που πραγματοποιούνται κατά τη διάρκεια μιας διαδικασίας αποσταθεροποίησης. Η αναστροφή φάσης είναι η διαδικασία κατά την οποία ένα γαλάκτωμα τύπου ελαίου σε νερό (o/w) αλλάζει σε ένα γαλάκτωμα νερό σε λάδι (w/o) ή και αντίστροφα. Η κροκίδωση είναι η διαδικασία κατά την οποία δύο ή περισσότερα σταγονίδια λόγω ελκτικών δυνάμεων “κολλάνε” μεταξύ τους για να σχηματίσουν ένα σύνολο στο οποίο κάθε ένα από τα αρχικά σταγονίδια διατηρεί την ακεραιότητά του. Με τον όρο συνένωση ορίζεται η διαδικασία κατά την οποία δύο ή περισσότερα σταγονίδια συγχωνεύονται προς τον σχηματισμό ενός σταγονιδίου

μεγαλύτερου μεγέθους Τέλος, η ωρίμανση κατά Ostwald είναι η διαδικασία κατά την οποία τα μικρότερα σταγονίδια σχηματίζουν μεγαλύτερα σταγονίδια λόγω διάχυσης στη διεσπαρμένη φάση. Η ωρίμανση κατά Ostwald είναι από τους κυριότερους μηχανισμούς αποσταθεροποίησης που συναντώνται σε γαλακτώματα τύπου Pickering (Whitby & Wanless, 2016).



Σχήμα 2. Σχηματική απεικόνιση των πιο συνηθισμένων μηχανισμών αποσταθεροποίησης σε γαλακτώματα: (a) αναστροφή φάσης (phase inversion) (b) αποκορύφωση (creaming), (c) καθίζηση (sedimentation), (d) κροκίδωση (flocculation), (e) συνένωση (coalescence), (f) ωρίμανση Ostwald (Ostwald ripening).

Για την αντιμετώπιση του φαινομένου της ωρίμανσης κατά Ostwald γίνεται η χρήση ενώσεων που βοηθούν στη σταθεροποίηση της δομής, γνωστών ως σταθεροποιητές (McClements, 2007). Οι σταθεροποιητές διαχωρίζονται περαιτέρω σε γαλακτωματοποιητές (emulsifiers), πηκτικούς παράγοντες (thickening agents), πηκτωματογόνους παράγοντες (gelling agents) και παράγοντες αναστολής ωρίμανσης (ripening inhibitors). Πιο ευρέως χρησιμοποιούμενοι σταθεροποιητές είναι οι γαλακτωματοποιητές, που έχουν την ιδιότητα να σχηματίζουν σταθερές δομές με

μεγάλη διάρκεια ζωής. Πρόκειται για επιφανειοδραστικές ή τασιενεργές ουσίες, που μειώνουν την διεπιφανειακή τάση μεταξύ των δυο υγρών αποτρέποντας την συσσωμάτωση σταγονιδίων, ενώ παράλληλα είναι αμφίφιλα μόρια των οποίων οι υδρόφιλες κεφαλές προσκολλώνται στην υδατική φάση, ενώ οι λιπόφιλες ουρές στη λιπαρή φάση (Hasenhuettl & Hartel, 2008; Solans et al., 2005).

Σύμφωνα με δημοσιευμένες μελέτες, φαίνεται ότι η χρήση γαλακτωματοποιητών χημικής προέλευσης έχει συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης χρόνιων νοσημάτων, όπως το μεταβολικό σύνδρομο και οι φλεγμονώδεις παθήσεις του εντέρου (Badmus et al., 2021; Kralova & Sjöblom, 2009). Ως εκ τούτου, πρέπει να προστίθενται σε ελάχιστη συγκέντρωση, ώστε να μην επιφέρουν επιβλαβείς επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία. Επίσης, συντελούν στη ρύπανση του περιβάλλοντος καθώς χρησιμοποιούνται ευρέως σε πολλά καθημερινά είδη (εκτός από τρόφιμα), όπως είναι τα καθαριστικά και ανευρίσκονται σε μεγάλες ποσότητες στον υδροφόρο ορίζοντα που απορρίπτονται (Borthakur et al., 2012; Chassaing et al., 2017; Ivanković & Hrenović, 2010; Kralova & Sjöblom, 2009; McClements, 2007; Partridge et al., 2019). Λαμβάνοντας υπόψη τα ανωτέρω, η αντικατάσταση των συνθετικών, χημικών επιφανειοδραστικών ουσιών με πιο φυσικές, μη τοξικές, φιλικές προς το περιβάλλον, βιολογικής προέλευσης, ουσίες όπου θα έχουν θετικό αντίκτυπο στην ανθρώπινη υγεία, είναι ένα αναπτυσσόμενο επιστημονικό πεδίο με μεγάλο ενδιαφέρον (McClements et al., 2017; McClements & Gumus, 2016).

Αναλυτικότερα, ο κύριος παράγοντας που συμβάλλει στη μακροπρόθεσμη σταθερότητα (long-term stability) αυτών των κολλοειδών συστημάτων (γαλακτωμάτων), είναι η ικανότητα των εναλλακτικών φυσικών βιο-πολυμερών, οργανικής προελεύσεως (πρωτεϊνών και υδροκολλοειδών, συμπεριλαμβανομένων πολυμερών που προέρχονται από πολυσακχαρίτες όπως το άμυλο, η κυτταρίνη και η χιτοζάνη) να δημιουργούν ιξωδοελαστικά δομικά εμπόδια/ φράγματα στις διεπιφάνειες (Apostolidis, Stoforos, et al., 2023; Dickinson, 2015; Chunyi Li et al., 2022; X. Li et al., 2022; María Matos et al., 2013; McClements, 2015; Murray et al., 2011; Rigg et al., 2022; Hisfazilah Saari et al., 2016; Tabatabaei, Ebrahimi, et al., 2022; Tabatabaei, Rajaei, et al., 2022; Trinh et al., 2022).

Αυτά τα συστήματα ανταποκρίνονται στις αυξανόμενες ανάγκες των καταναλωτών για φυτικής προέλευσης προϊόντα και θεωρούνται ασφαλή (GRAS) από το διεθνή Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) λόγω της βιοσυμβατότητας και της ικανότητάς τους να βιοδιασπώνται (Choi et al., 2020; C. Tan & McClements, 2021). Τέτοιου είδους γαλακτωματοποιητές από φυσικά βιοπολυμερή, όπως οι πρωτεΐνες και οι πολυσακχαρίτες, μπορούν να χρησιμοποιηθούν κυρίως με μεθόδους υψηλής ενέργειας, όπως αναλύθηκε παραπάνω (C. Qian & McClements, 2011).

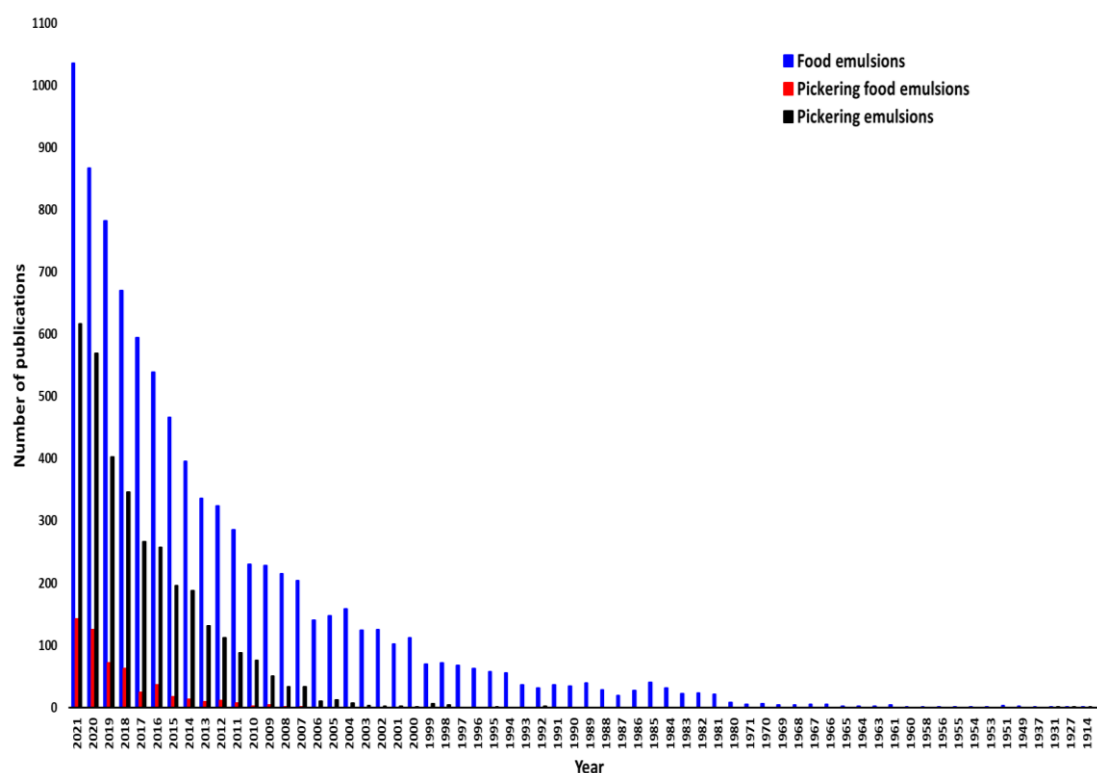
2.2. Γαλακτώματα τύπου Pickering

Η διαφοροποίηση των γαλακτωμάτων τύπου Pickering σε σχέση με τα γαλακτώματα που σχηματίζονται με τη χρήση κλασικών γαλακτωματοποιητών εντοπίζεται στο γεγονός ότι σταθεροποιούνται χρησιμοποιώντας στερεά σωματίδια (Murray, 2019). Συγκεκριμένα, ένα στρώμα από συσσωματωμένα στερεά σωματίδια προσροφάται στην επιφάνεια της εκάστοτε σταγόνας του γαλακτώματος, σχηματίζοντας ένα ισχυρό μηχανικό στρώμα εμποδίζοντας τη συνένωση και την ωρίμανση του Ostwald, οδηγώντας έτσι σε σταθερότερους σχηματισμούς (Berton-Carabin et al., 2018; Chevalier & Bolzinger, 2013; Gestranus et al., 2017; R. S. H. Lam & Nickerson, 2013; Μαρία Matos et al., 2017; Murray, 2019; Sarkar et al., 2019; Tcholakova et al., 2008).

Η μελέτη των γαλακτωμάτων εγείρει το Επιστημονικό ενδιαφέρον λόγω της αυξανόμενης ζήτησης για σταθερά γαλακτώματα που παρασκευάζονται με «βιολογικής προέλευσης» σταθεροποιητές και χωρίς τη χρήση επιφανειοδραστικών χημικών ουσιών. Παρά το γεγονός ότι πρόκειται για ένα επίκαιρο αντικείμενο στον τομέα των τροφίμων, καθώς οι καταναλωτές αναζητούν πιο ασφαλή και υγιεινά προϊόντα, το εν λόγω πεδίο χαρακτηρίζεται από μια μακρά Ιστορία. Χαρακτηριστικά, τα γαλακτώματα Pickering, περιγράφησαν για πρώτη φορά από τον Ramsden το 1904 (Ramsden, 1904), παρότι η ονομασία τους δόθηκε τελικά από τον Spencer Umfreville Pickering λίγα χρόνια αργότερα (Pickering, 1907).

Η έρευνα σχετικά με τα γαλακτώματα Pickering, έχει αυξηθεί σημαντικά λόγω της αυξημένης ανάγκης χρήσης τους από τη βιομηχανία τροφίμων. Προς επιβεβαίωση των ανωτέρω πραγματοποιήθηκε βιβλιογραφική αναζήτηση στη βάση δεδομένων Scopus με τους όρους: “Pickering emulsions”, “Pickering food emulsions” και “Food emulsions” και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται αναλυτικά στο Σχήμα 3.

Συγκεκριμένα, η κατηγορία «Pickering food emulsions» καλύπτει το 6.5% του συνόλου των δημοσιεύσεων που αφορούν τα γαλακτώματα με εφαρμογές σε τρόφιμα τα τελευταία 20 χρόνια. Επομένως, διαφαίνεται η αυξανόμενη ανάγκη περαιτέρω έρευνας των γαλακτωμάτων Pickering σε τρόφιμα, παρά το γεγονός ότι αυτή η τεχνολογία περιεγράφηκε για πρώτη φορά το 1903.



Σχήμα 3. Αριθμός δημοσιεύσεων, με τους όρους αναζήτησης «food AND emulsions», «Pickering AND emulsions» και «Pickering AND food AND emulsions» στον τίτλο και την περίληψη/κυρίως κείμενο, με περιορισμένες παραμέτρους αναζήτησης σε ερευνητικά άρθρα., όπως ανακτήθηκε από Scopus 03/03/2022 (Apostolidis, Stoforos, et al., 2023).

Άλλη μια πολύ σημαντική πτυχή στη μελέτη του σχηματισμού και σταθεροποίησης γαλακτωμάτων τύπου Pickering είναι ο τύπος του λαδιού που θα προστεθεί ως ελαιώδης φάση. Πιο αναλυτικά, μπορούν να χρησιμοποιηθούν διαφορετικοί τύποι ελαίων τα οποία κατηγοριοποιούνται ανάλογα με το μήκος της αλυσίδας των λιπαρών οξέων, ως μακράς αλύσου (Long Chains Triacylglycerols, LCT), μεσαίας αλύσου (Medium Chains Triacylglycerols, MCT) και μικρής αλύσου (Short Chains Triacylglycerols, SCT), ενώ επίσης χρησιμοποιούνται αρωματικά έλαια, αιθέρια έλαια, ορυκτέλαια, κηροί και διάφορα λιπόφιλα συστατικά (Liang et al., 2016; Marten et al., 2006; St-Onge & Jones, 2002; Velázquez et al., 1996).

Η επιλογή του λαδιού είναι ιδιαίτερα σημαντική, καθώς ο τύπος του ελαίου σχετίζεται με τον υπολογισμό της γωνίας επαφής (θ) που σχηματίζει το γαλάκτωμα (Σχήμα 1). Ειδικότερα, ο/w Pickering γαλακτώματα με διαφορετικού μεγέθους έλαια (MCT, LCT και SCT) παρουσιάζουν πολύ καλές ιδιότητες όπου σπάνια συμβαίνουν φαινόμενα αποσταθεροποίησης. Αξίζει να σημειωθεί πως έλαια χαμηλής διαλυτότητας, όπως για παράδειγμα τα αρωματικά και τα αιθέρια έλαια, εμφανίζουν αυξημένη αντίσταση στη γαλακτωματοποίηση (Yuhua Chang et al., 2012; Mikulcová et al., 2016). Έχει αποδειχθεί πειραματικά πως όταν όλες οι παράμετροι όπως ο τύπος σωματιδίου, η συγκέντρωση σωματιδίων, η αναλογία υδατικής φάσης/φάσης ελαίου, καθώς και οι συνθήκες ομογενοποίησης διατηρούνται σταθερές αλλά έχουμε αλλαγή στο λάδι αυτό μπορεί να οδηγήσει σε αποσταθεροποίηση (Albert et al., 2019; Y. He et al., 2013; Read et al., 2004). Χαρακτηριστικά, η πολικότητα του ελαίου δύναται να προκαλέσει αλλαγή στον τύπο του γαλακτώματος (o/w ή w/o) και αντίστοιχα στη σταθερότητά του (Albert et al., 2019; Ashby & Binks, 2000; Read et al., 2004).

Τα σωματίδια κατά κύριο λόγο απορροφώνται μη αντιστρεπτά στη διεπαφή ελαίου-νερού σχηματίζοντας ένα δίκτυο που σταθεροποιεί τα σταγονίδια (Gestranius et al., 2017; Kalashnikova et al., 2011). Για τη μεθοδολογία αυτή διαφορετικά σωματίδια έχει βρεθεί ότι χρησιμοποιούνται ως σταθεροποιητές, συμπεριλαμβανομένων οργανικών και ανόργανων σωματιδίων. Στον τομέα των τροφίμων, σωματίδια βιολογικής προέλευσης όπως το άμυλο, η κυτταρίνη και η χιτοζάνη είναι μια κατηγορία που παρουσιάζει μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον και συνεπώς θα πρέπει να έχουν την αντίστοιχη θέση στην κατηγορία τέτοιου είδους γαλακτωμάτων (López-Pedrouso et al., 2022).

2.3. Άμυλο

Για την παραγωγή γαλακτωμάτων τύπου Pickering αποτελούμενων από πολυσακχαρίτες, το άμυλο ξεχωρίζει ως ένα από τα σημαντικότερα στοιχεία στη βιομηχανία τροφίμων. Είναι το πιο κοινό φυσικό βιοπολυμερές που βρίσκεται σε αφθονία και είναι αποδεκτό ως πρόσθετο τροφίμων. Ιστορικά, η προέλευση του χρονολογείται εκατομμύρια χρόνια πριν, όπου η ενδοσυμβίωση (endosymbiosis) ανέπτυξε τα πρώτα πλαστίδια, όπου οδήγησαν στον σχηματισμό των υδατανθράκων ως μέσο κυτταρικής επιβίωσης τόσο σε φύκη όσο και σε πράσινα φυτά (Jackson et al., 2015). Τα πράσινα φυτά αποτελούν την κύρια πηγή αμύλου, το οποίο συμβάλλει σημαντικά στις ανθρώπινες δίαιτες για πάνω από 300,000 χρόνια όπου αποτελούσε βασική τροφή του πρώιμου *Homo sapiens* (Larbey et al., 2019). Το άμυλο διαχωρίζεται σε συμβατικές ή μη πηγές προέλευσης. Οι κύριες συμβατικές πηγές αμύλου είναι τα δημητριακά (40-90%), οι ρίζες (30-70%), οι κόνδυλοι (65-85%), και τα όσπρια (25-50%) ενώ οι μη συμβατικές πηγές περιλαμβάνουν τα κάστανα και ανώριμα φρούτα, όπως οι μπανάνες και μάνγκο (70%) (Alcázar-Alay & Meireles, 2015; Santana et al., 2014).

Η παγκόσμια παραγωγή αμύλου το έτος 2020 υπολογίστηκε μεταξύ 88.1 και 97.7 εκατομμυρίων τόνων. Από αυτά, το 75% προέρχεται από αραβόσιτο και ακολουθούν η κασσάβα (cassava) (14%), το σιτάρι (7%) και οι πατάτες (4%). Η Κίνα και οι Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής είναι οι κύριοι παραγωγοί, κυρίως σε άμυλο από αραβόσιτο, η Ευρώπη σε άμυλο σίτου και πατάτας και η Ταϊλάνδη είναι ο κύριος παραγωγός αμύλου κασσάβας (Vilproux & Santos Silveira Junior, 2023). Μέχρι το 2028, αναμένεται αύξηση της παραγωγής παγκοσμίως σε 168 εκατομμύρια τόνοι αμύλου και παραγώγων, με αγοραία αξία 98 δισεκατομμυρίων δολαρίων (USD) (The insight, 2023).

Η εύρεση εναλλακτικών πηγών αμύλου γίνεται ολοένα και πιο σημαντική προκειμένου να ικανοποιηθεί η αυξανόμενη παγκόσμια ζήτηση, η οποία οφείλεται κυρίως στον αυξανόμενο παγκόσμιο πληθυσμό, στη μείωση των υδάτινων πόρων και στην ανάγκη διαφοροποίησης των ήδη καλλιεργούμενων καλλιεργειών. Υπό αυτό το πρίσμα, πρέπει να επιζητείται ο σχεδιασμός καλλιεργειών που θα απαιτούν “μικρότερη” έκταση γης και θα έχουν χαμηλό αποτύπωμα νερού με θετικό αντίκτυπο στην ανθρώπινη υγεία. Ένα τέτοιο παράδειγμα είναι η καλλιέργεια φυκιών (seaweeds), ή θαλάσσιων

μακροφυκών (marine microalgae), τα οποία είναι εξαιρετικά παραγωγικά, ευδοκιμούν κοντά στις ακτές, και αποτελούν μια αναπτυσσόμενη πηγή αμύλου (Prabhu et al., 2019). Επιπλέον, η χρήση τόσο υποπροϊόντων όσο και αποβλήτων από διάφορες καλλιέργειες ως πρώτες ύλες για την ανάπτυξη ενός βιοδιωλιστηρίου με απώτερο στόχο την παραγωγή αμύλου ή προϊόντων με εμπορική σημασία εγείρει το ενδιαφέρον σε παγκόσμια κλίμακα. Απώτερος στόχος των επόμενων γενιών είναι η θεμελίωση αρχών που διέπουν την κυκλική βιοοικονομία (Octave & Thomas, 2009).

Το άμυλο χαρακτηρίζεται ως το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο φυσικό βιοαποικοδομήσιμο βιοπολυμερές (Marefati & Rayner, 2020; Xu et al., 2020). Αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους και σε αφθονία πολυσακχαρίτες και συναντάται αποθηκευμένος υπό μορφή κόκκων στους χλωροπλάστες των πράσινων φύλλων και στους αμυλοπλάστες των σπόρων και των κονδύλων. Αποτελεί μια ανανεώσιμη πηγή λόγω της σύνθεσής του μέσω του μετασχηματισμού του διοξειδίου του άνθρακα (CO₂) και του νερού από την ηλιακή ενέργεια με τη διαδικασία της φωτοσύνθεσης, μια φιλική προς το περιβάλλον βιώσιμη σύνθεση (Teramoto et al., 2003).

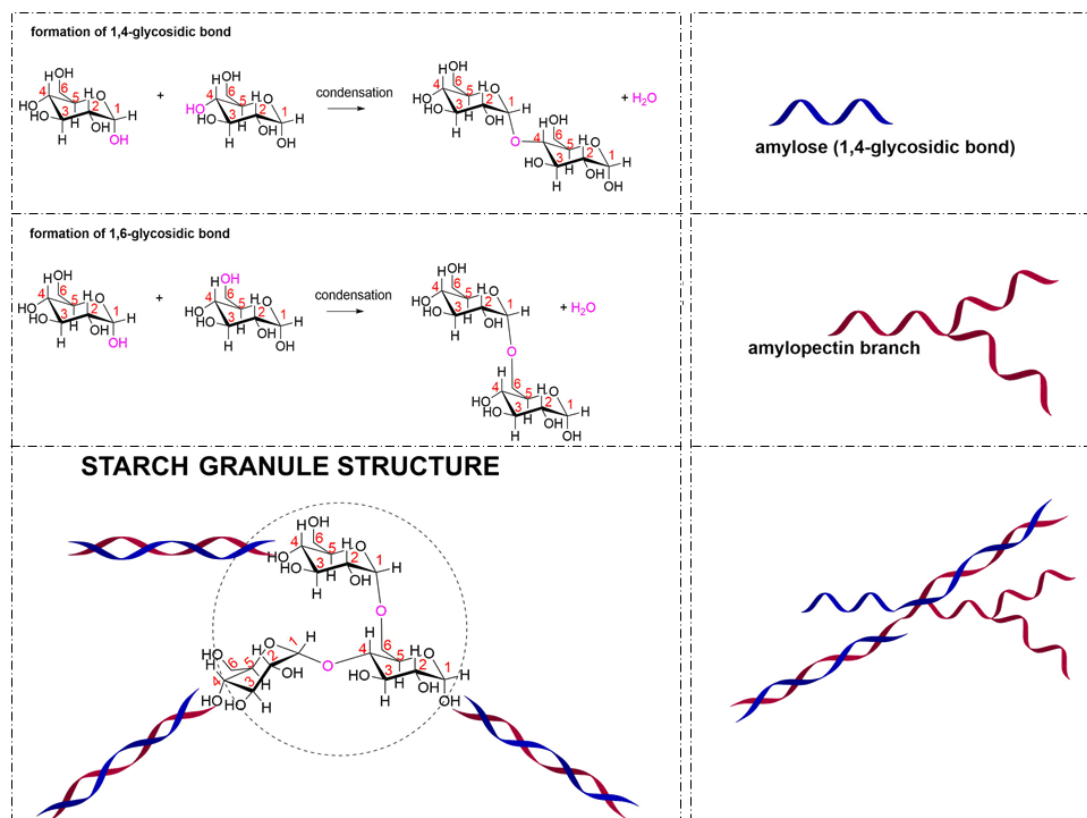
2.3.1. Αρχιτεκτονική αμύλου

Πρόκειται για έναν φυσικό σύνθετο υδατάνθρακα που αποτελείται από διαφορετικές αναλογίες δύο διακριτών μορίων γλυκόζης, της αμυλόζης και της αμυλοπηκτικής ανάλογα με τη βοτανική προέλευση (Junejo et al., 2022). Τα δύο αυτά μόρια που αποτελούν τον αμυλόκοκκο συναντώνται σε διαφορετικές περιεκτικότητες. Αναφορικά με τα ποσοστά, η αναλογία αμυλόζης/αμυλοπηκτικής διαφέρει μεταξύ των αμύλων, αλλά τα τυπικά επίπεδα αμυλόζης και αμυλοπηκτικής είναι συνήθως μεταξύ 20~30% αμυλόζη και 70~80% αμυλοπηκτική αντίστοιχα (Van Hung et al., 2006). Παράλληλα, συναντώνται και άμυλα με κάποιες γονοτυπικές αλλαγές που περιέχουν είτε πολύ αυξημένα ποσοστά αμυλόζης με έως και 70% αμυλόζη (high amylose starches), είτε αυξημένα ποσοστά αμυλοπηκτικής, όπως είναι τα κηρώδη άμυλα (waxy starches) με 99% αμυλοπηκτική (Cheetham & Tao, 1998; Matveev et al., 2001; Van Hung et al., 2006). Οι διαφορετικές αναλογίες αμυλόζης/αμυλοπηκτικής έχουν ως αποτέλεσμα το σχηματισμό διαφορετικών αρχιτεκτονικών δομών στους κόκκους, αλλαγές στις φυσικές και λειτουργικές ιδιότητες, όπως η θερμοκρασία ζελατινοποίησης, το ιξώδες, ο σχηματισμός και η σταθερότητα γέλης, η

υδατοδιαλυτότητα και ο βαθμός αντίστασης των κόκκων αμύλου στην «in vitro» πέψη από αμυλάσες. Όλα τα ανωτέρω με τη σειρά τους επηρεάζουν το εύρος των βιομηχανικών εφαρμογών ενός αμύλου και τέλος την ποιότητα αυτών των προϊόντων (Cheetham & Tao, 1998; Van Hung et al., 2006).

Πιο αναλυτικά, το άμυλο είναι ένα ημι-κρυσταλλικό βιοπολυμερές D-γλυκόζης, ένας ομοπολυσακχαρίτης δομικά αποτελούμενος από ένα μείγμα δύο γλυκανών. Συγκεκριμένα, είναι ένα διακλαδισμένο πολυμερές γλυκόζης που αποτελείται από δύο τύπους μορίων, της αμυλόζης (AM) και της αμυλοπηκτίνης (AP), ενωμένες με α -(1-4) γλυκοζιτικό δεσμό, το οποίο υπάρχει φυσικά με τη μορφή αδιάλυτων ημι-κρυσταλλικών κόκκων σε πληθώρα τροφίμων, όπως δημητριακά, όσπρια, ρίζες και κόνδυλοι (Gilbert et al., 2013; Tayade et al., 2019). Οι ορισμοί αμυλόζη και αμυλοπηκτίνη δόθηκαν το 1940 από τους πρωτοπόρους στον τομέα του αμύλου Meyer και Bernfeld (Meyer & Bernfeld, 1940).

Χαρακτηριστικά, η αμυλόζη συντίθεται από μόρια γλυκόζης με α -(1,4)-γλυκοζιτικό δεσμό με λίγα σημεία διακλάδωσης και μοριακό βάρος 10^{5-6} Da. Η αμυλοπηκτίνη είναι ένα μόριο που χαρακτηρίζεται από αρκετές διακλαδισμένες αλυσίδες με α -(1,4)-γλυκοζιτικούς δεσμούς στην αλυσίδα και α -(1,6) γλυκοζιτικούς δεσμούς στα σημεία διακλάδωσης με αρκετά μεγαλύτερο μοριακό βάρος της τάξεως 10^{7-8} Da (Gilbert et al., 2013; Pigman et al., 1975; Sattelle & Almond, 2014). Η δομή της αμυλόζης χαρακτηρίζεται κυρίως ως γραμμική. Όμως, αυτός ο ορισμός δεν είναι ο πιο αντιπροσωπευτικός λόγω του ότι συναντάται να έχει α -(1,4) γραμμικές αλυσίδες με μερικά σημεία διακλάδωσης στο σημείο α -(1,6) (Gilbert et al., 2013; Seung, 2020). Η χαρακτηριστική μορφή της αμυλοπηκτίνης και της αμυλόζης αποτυπώνεται στο Σχήμα 4, όπου όπως διαφαίνεται το μόριο αυτοοργανώνεται σε ελικοειδής μορφή συνήθως μονής ή διπλής έλικας, με έξι μόρια γλυκόζης ανά στροφή.



Σχήμα 4. Χημική δομή αμυλόζης, αμυλοπηκτίνης και κόκκου αμύλου.

Οι κόκκοι αμύλου εμφανίζονται σε διαφορετικά σχήματα (σφαιρικό, ωσειδές, ελλειψοειδές, πολύγωνο, πεπλατυσμένα και ακανόνιστα σωληνάρια “platelets and irregular tubules”) και ποικίλλουν σε μέγεθος από λιγότερο του 1 μm έως περισσότερο των 100 μm ανάλογα με τη βοτανική τους προέλευση (Buléon & Perez, 1992; Hoover, 2001; M. Li et al., 2021; Pérez & Bertoft, 2010; Tester et al., 2004b). Δομικά το άμυλο μπορεί να χωριστεί σε πέντε ιεραρχίες: μόρια, κρυσταλλικές και άμορφες φυλλώδεις δομές (lamella), “blocklets”, δακτυλίους (growth rings) και κόκκους. Αρχικά, η σύνδεση πολλών εκατοντάδων δομικών στοιχείων (αμυλόζης-αμυλοπηκτίνης) έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό πυκνών “πακεταρισμένων” δομών. Αυτές οι δομές είναι φυλλώδεις (lamella), κρυσταλλικές και άμορφες. Εμφανίζουν περιοδικότητα 9-10 nm και μπορούν να προσδιοριστούν μέσω κρυσταλλογραφίας με χαμηλές γωνίες (Small Angle X-ray Scattering, SAXS). Η επόμενη δομική οργάνωση που παρατηρείται, είναι ο σχηματισμός σε ημι-κρυσταλλικούς δακτυλίους ανάπτυξης 120–140 nm πάχους με περίπου 16 επαναλαμβανόμενες μονάδες. Αυτές οι ακτινωτές περιοχές αποτελούν τον

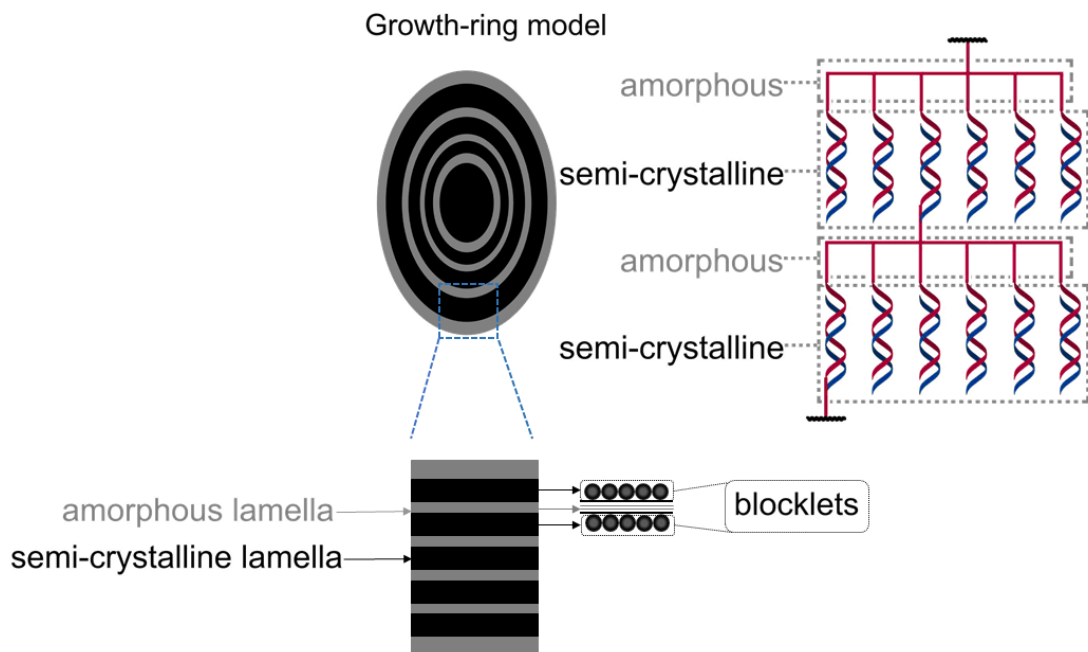
σκελετό του αμυλόκοκκου, με είτε συμπαγείς είτε λιγότερο πυκνούς δακτυλίους, βάση της κρυσταλλικότητας.

Πιο συγκεκριμένα, οι όροι “κρυσταλλικοί” και “άμορφοι/ημι-κρυσταλλικοί” σχηματισμοί περιγράφουν αυτές τις περιοχές. Οι κρυσταλλικές φυλλώδεις δομές αποτελούνται κυρίως από διπλές έλικες αμυλοπηκτίνης (κοντές αλυσίδες) και οι άμορφες σχηματίζονται από διακλαδισμένα μόρια αμυλοπηκτίνης και αμυλόζης. Στην πραγματικότητα, οι κόκκοι αμύλου αποτελούνται από αυτούς τους διατεταγμένους κρυσταλλικούς και άμορφους δακτυλίους. Ενδιάμεσα των φυλλωδών περιοχών με επανάληψη των 9 nm και των “δακτυλίων ανάπτυξης”, υπάρχει ένα επίπεδο οργάνωσης, που αναφέρεται ως “blocklet” που έχει παρατηρηθεί μέσω μικροσκοπίας (TEM, SEM, AFM) και παρουσιάζεται στο Σχήμα 5 (Meimoun et al., 2018; Spinozzi et al., 2020; X. Yu et al., 2021).

Οι κόκκοι αμύλου έχουν ένα πυκνό πακετάρισμα αποτελούμενο από τις ημι-κρυσταλλικές δομές. Ανάλογα με τη βοτανική προέλευσή τους, τα επίπεδα της κρυσταλλικότητας κυμαίνονται μεταξύ 15 και 45% (Pérez & Bertoft, 2010; Zobel, 1988). Η κρυσταλλικότητα οφείλεται κυρίως στο πακετάρισμα που κάνει η αμυλοπηκτίνη, όμως και η αμυλόζη μπορεί να έχει αντίκτυπο στην κρυσταλλικότητα λόγω της παρουσίας της στα “blocklet” όπου μπορεί δυνητικά να διαταράξει το πακετάρισμα της αμυλοπηκτίνης. Συνήθως, η αμυλόζη μπορεί να απομακρυνθεί (leach out) από τον κόκκο χωρίς να συντελείται απώλεια κρυσταλλικότητας. Με βάση την κρυσταλλικότητα κατηγοριοποιείται σε A, B, C και V. Η μορφή A συναντάται κυρίως σε δημητριακά, ενώ η B σε κονδύλους. Το μοτίβο C προκύπτει ως ένα μείγμα των δύο διαφορετικών μοτίβων, του μοτίβου τύπου A και του μοτίβου τύπου B. Η κρυσταλλικότητα τύπου V του αμύλου σχετίζεται με σύμπλοκα που μπορεί να σχηματίσει η αμυλόζη με άλλα συστατικά όπως η αλειφατική ουρά των λιπιδίων (Cheetham & Tao, 1998; French, 1984; Putseys et al., 2010; X. Yu et al., 2021).

Τέλος, έχει αποδειχθεί πως υπάρχει σύνδεση μεταξύ της κρυσταλλικής μορφής των κόκκων αμύλου και του μέσου βάρους μήκους της αλυσίδας της αμυλοπηκτίνης. Συγκεκριμένα, η κρυσταλλικότητα τύπου A παρατηρείται σε μικρού μήκους αλυσίδες, ενώ η κρυσταλλικότητα τύπου B εμφανίζεται σε μεγάλου μήκους αλυσίδες και η κρυσταλλικότητα τύπου C εμφανίζεται σε ενδιάμεσα μήκη αλυσίδων. Μέσω περίθλασης ακτίνων X (X-ray-Diffraction pattern) οι χαρακτηριστικές κορυφές για

κρυσταλλικότητα τύπου A, παρουσιάζουν δύο ισχυρές κορυφές περίθλασης 2θ στις 15° και 23° , και ένα διπλή στις 17° και 18° . Εν αντιθέσει, η κρυσταλλικότητα τύπου B παρουσιάζει μία ισχυρή κορυφή περίθλασης 2θ στις 17° , κάποιες μικρές κορυφές περίπου στις 15° , 22° και 24° , και μια χαρακτηριστική κορυφή περίπου στις 5.6° . Ωστόσο, η κρυσταλλικότητα τύπου C έχει τις κορυφές που παρουσιάζουν οι ι τύπου A και B (W. He & Wei, 2017; Hizukuri, 1985; Hizukuri et al., 1983).



Σχήμα 5. Σχηματική απεικόνιση της εσωτερικής τους δομής των κόκκων αμύλου.

2.3.2. Κατηγοριοποίηση αμύλου

Η πέψη του αμύλου στον άνθρωπο πραγματοποιείται στο γαστρεντερικό σωλήνα, όπου οι α-αμυλάσες του σάλιου και του παγκρέατος διασπούν τα μόρια του αμύλου σε μικρότερους ολιγοσακχαρίτες, όπως τη μαλτόζη (maltose), τη μαλτριόζη (maltotriose) και τις δεξτρίνες (dextrines). Η διάσπαση των ολιγοσακχαριτών για τη μετατροπή τους σε γλυκόζη γίνεται με τη δράση των ενζύμων μαλτάση-γλυκοαμυλάση (Maltase-Glucoamylase, MGAM) και σακχαρόζη-ισομαλτάση (Sucrose-Isomaltase, SI) (Quezada-Calvillo et al., 2007)

Η πέψη του αμύλου δεν επηρεάζεται μόνο από τη βοτανική πηγή προέλευσης, αλλά και από τις μεθόδους επεξεργασίας που τροποποιούν τα φυσικά και χημικά χαρακτηριστικά του μορίου. Χαρακτηριστικά, ο ρυθμός και ο βαθμός πέψης του αμύλου στο λεπτό έντερο διαμορφώνεται από ποικίλους παράγοντες. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται η διάρκεια της μάσησης προτού ο βλωμός προωθηθεί προς τον οισοφάγο, ο ρυθμός της γαστρικής εκκένωσης, ο χρόνος διέλευσης της τροφής κατά μήκος του λεπτού εντέρου, η συγκέντρωση της αμυλάσης που παράγεται από το πάγκρεας, η ποσότητα του αμύλου που έχει καταναλωθεί και η επίδραση άλλων συστατικών που εμπεριέχονται στα τρόφιμα και μπορεί να επηρεάζουν την ενζυμική υδρόλυση (Hans N. Englyst et al., 1992a).

Ο ρυθμός και η έκταση της πέψης του αμύλου *in vivo* είναι μια μεταβλητή συνιστώσα και μπορεί να αποδοθεί από τον ορισμό του ανθεκτικού αμύλου, σύμφωνα με τον οποίο ανθεκτικό ορίζεται το κλάσμα αμύλου που καταλήγει στο παχύ έντερο, διαπερνώντας αμετάβλητο το λεπτό έντερο.. Επίσης, έχει κατηγοριοποιηθεί ανάλογα με την πέψη του, χρησιμοποιώντας δοκιμές *in vitro*. Σύμφωνα, με τις δοκιμές αυτές, το άμυλο υδρολύεται ενζυμικά από την παγκρεατική αμυλάση, κατά τη διαδικασία της πέψης όπου μπορεί να ταξινομηθεί περαιτέρω σε ταχέως εύπεπτο άμυλο (Rapidly Digestible Starch, RDS), βραδέως εύπεπτο άμυλο (Slowly Digestible Starch, SDS) και σε ανθεκτικό άμυλο (Resistant Starch, RS), σύμφωνα με το ρυθμό της υδρόλυσης (Hans N. Englyst et al., 1992a; Hans N. Englyst & Kingman, 1990; K. N. Englyst et al., 1999).

- Ως ταχέως εύπεπτο άμυλο (RDS), ορίζεται το κλάσμα αμύλου που μετατρέπεται σε μόρια γλυκόζης εντός 20 λεπτών μέσω της ενζυματικής πέψης.
- Ως βραδέως εύπεπτο άμυλο (SDS), ορίζεται το κλάσμα αμύλου που μετατρέπεται σε μόρια γλυκόζης, μετά την πάροδο 120 λεπτών μέσω της ενζυματικής πέψης.
- Ως ανθεκτικό άμυλο (RS), ορίζεται το συνολικό άμυλο (Total Starch, TS) εάν αφαιρεθεί το βραδέως (SDS) και το ταχέως (RDS) εύπεπτο άμυλο (Εξ. 8).

$$RS = TS - (RDS + SDS) \quad (8)$$

Τα ταχέως (RDS) και βραδέως (SDS) εύπεπτα κλάσματα αμύλου αντιπροσωπεύουν το άμυλο που είναι πιθανό να πέπτεται πλήρως στο ανθρώπινο λεπτό έντερο και να απορροφάται ως γλυκόζη, με οποιοδήποτε υπόλοιπο άμυλο να ορίζεται ως το κλάσμα ανθεκτικού αμύλου (RS).

Το ταχέως εύπεπτο άμυλο (RDS) είναι ο τύπος αμύλου που πέπτεται γρήγορα στον γαστρεντερικό σωλήνα και έχει συσχετιστεί με αύξηση του σακχάρου στον άνθρωπο. Αναλυτικότερα, υψηλή περιεκτικότητα RDS σε τρόφιμα έχει συσχετιστεί με μεταγευματική υπεργλυκαιμία και παχυσαρκία (Giuberti et al., 2016; Guo et al., 2023; Shiyao Yu et al., 2022). Το βραδέως εύπεπτο άμυλο (SDS) είναι ο τύπος αμύλου που πέπτεται πλήρως στον γαστρεντερικό σωλήνα αλλά με βραδύτερο ρυθμό με αποτέλεσμα μια αργή και παρατεταμένη απελευθέρωση γλυκόζης, συμβάλλοντας στη διατήρηση των επιπέδων γλυκόζης στο πλάσμα. Η οποία συνδέεται με μια χαμηλή γλυκαιμική απόκριση, αποτρέποντας φαινόμενα με μεταγευματική υπεργλυκαιμία και υπερινσουλιναϊκές εξάρσεις, μείωση του κινδύνου διαφόρων χρόνιων εκφυλιστικών ασθενειών, όπως ο διαβήτης τύπου 2 και η παχυσαρκία (Brand-Miller et al., 2002; D. J. A. Jenkins et al., 2002; Lehmann & Robin, 2007; Yanli Wang et al., 2022; Zhong et al., 2018)

Το ανθεκτικό άμυλο (RS) είναι το κλάσμα αμύλου που είναι ανθεκτικό στην ενζυμική πέψη και περνάει κατά μήκος του λεπτού εντέρου και καταλήγει στο παχύ έντερο, όπου μπορεί να λειτουργήσει ως υπόστρωμα από τη μικροχλωρίδα για την επιλεκτική ανάπτυξη προβιοτικών βακτηρίων όπως οι λακτοβάκιλλοι (lactobacilli), bifidobacteria και οι στρεπτόκοκκοι (streptococci). Η ανάπτυξη της φυσιολογικής μικροχλωρίδας του εντέρου κατηγοριοποιεί το ανθεκτικό άμυλο ως πρεβιοτικό. Μια υγιής μικροχλωρίδα

του εντέρου παίζει σημαντικό ρόλο, καθώς μπορεί να βελτιώσει την ανθρώπινη υγεία, γεγονός που τονίζει τη διατροφική σημασία του ανθεκτικού αμύλου (RS). Επιπλέον, η κατανάλωσή του έχει συσχετιστεί με μειωμένη πιθανότητα εμφάνισης ορθοκολικού καρκίνου, με μείωση των επιπέδων της χοληστερόλης και των τριγλυκεριδίων στο πλάσμα, καθώς και με μείωση των επιπέδων γλυκόζης (Birt et al., 2013; Giuberti et al., 2016; González-Soto et al., 2006; Keenan et al., 2015; Magallanes-Cruz et al., 2017; Sajilata et al., 2006; Van Hung et al., 2016; Zhong et al., 2018). Συνοψίζοντας, τα κλάσματα αμύλων βραδέως εύπεπτου (SDS) και ανθεκτικού (RS) έχουν σημαντικές επιδράσεις στην ανθρώπινη υγεία, και για τον λόγο αυτό τρόφιμα με υψηλή περιεκτικότητα σε δύσπεπτους υδατάνθρακες και χαμηλή μεταγευματική γλυκαιμική απόκριση ενδιαφέρουν τόσο τους καταναλωτές όσο και τη βιομηχανία τροφίμων.

2.3.3 Κατηγοριοποίηση ανθεκτικού αμύλου

Η κύρια ταξινόμηση του ανθεκτικού αμύλου προτάθηκε με βάση τη φύση και τη βοτανική προέλευση του αμύλου σε πέντε κατηγορίες όπως φαίνεται στον Πίνακα 2:

Το ανθεκτικό άμυλο τύπου I (RS1) περιλαμβάνει άμυλα που δεν έρχονται σε επαφή και δεν αλληλοεπιδρούν με την αμυλάση λόγω των φυσικών φραγμών που σχηματίζονται από τα κυτταρικά τοιχώματα ή ιστούς, καθιστώντας τα φυσικά απρόσιτα στην πέψη. Συγκριτικά με τις υπόλοιπες κατηγορίες είναι το λιγότερο ανθεκτικό στην πέψη (Fuentes-Zaragoza et al., 2010; Oladele, 2017).

Το ανθεκτικό άμυλο τύπου II (RS2), χαρακτηρίζεται από συμπαγή δομή που δεν επηρεάζεται από τα ένζυμα της πέψης και συναντάται σε μη ζελατινοποιημένους κόκκους αμύλου, όπως ακατέργαστα άμυλα πατάτας, μπανάνας ή άμυλα με υψηλή περιεκτικότητα αμυλόζης. Η κρυσταλλική δομή του RS2, παρουσιάζει ένα χαρακτηριστικό μοτίβο περίθλασης ακτίνων X τύπου B (Hans N. Englyst et al., 1992a; Sajilata et al., 2006).

Το ανθεκτικό άμυλο τύπου III (RS3), είναι το πιο ανθεκτικό κλάσμα αμύλου και αποτελείται κυρίως από αναδιατεταγμένη αμυλόζη, η οποία δημιουργείται κατά την ψύξη του ζελατινοποιημένου αμύλου. Χαρακτηριστικά, κατά την αναδιάταξη του αμύλου η αμυλόζη σχηματίζει μια πιο συμπαγή κρυσταλλική περιοχή, η οποία παραμένει ανεπηρέαστη από την διαδικασία της πέψης. Ως εκ τούτου, ανθεκτικό άμυλο τύπου RS3 μπορεί να βρεθεί στην πλειονότητα των τροφίμων που έχουν θερμανθεί

(μαγειρευτεί) με υγρασία και μετά αφού κρυώσουν προκαλούν την αναδιάταξη του αμύλου (Sajilata et al., 2006; J. Xia et al., 2018).

Το ανθεκτικό άμυλο τύπου IV (RS4), ορίζεται ως το χημικά τροποποιημένο κλάσμα αμύλου. Δομικά σχηματίζεται με διαφορετικούς τρόπους χημικών επεξεργασιών μέσω όξινης υδρόλυση, φωσφορυλίωσης (phosphorylation), ακετυλίωσης (acetylation), διασταυρούμενης σύνδεση (cross-linking) με (OSA). Η προσθήκη αλυσίδων όπως η OSA αλλάζει τη δομή του αμύλου, περιορίζοντας την ενζυμική υδρόλυση, με αποτέλεσμα το χαρακτηρισμό του ως ανθεκτικό άμυλο (Ashwar et al., 2017; Birt et al., 2013; Nunes et al., 2016; Sajilata et al., 2006; J. Xia et al., 2018).

Το ανθεκτικό άμυλο τύπου V (RS5) αποτελείται δομικά από σύμπλοκα αμυλόζης-λιπιδίων. Τα λιπίδια (μικρά μη πολικά μόρια, υδρόφοβες περιοχές αμφίφιλων μορίων όπως λιπαρά οξέα, μονογλυκερίδια και τασιενεργά) σχηματίζουν σύμπλοκα μεταξύ των υδρογονανθρακικών τμημάτων (hydrocarbon portions) των λιπιδίων που βρίσκονται στην ελικοειδή κοιλότητα της αμυλόζης. Όταν η γραμμική αλυσίδα αμύλου ανευρίσκεται σε δομή συμπλόκου ελικοειδούς, αποτρέπει τη δέσμευση και τη διάσπαση του αμύλου από την αμυλάση. (Birt et al., 2013; Hasjim et al., 2013; Okumus et al., 2018; J. Xia et al., 2018).

Πίνακας 2. Τύποι ανθεκτικού αμύλου

Τύπος	Περιγραφή	Παράδειγμα
RS I	Φυσικοί φραγμοί το καθιστούν άπεπτο	Χοντροαλεσμένοι ή ολικής αλέσεως κόκκοι (ψωμιά, είδη αρτοποιίας, όσπρια)
RS II	Μη ζελατινοποιημένοι κόκκοι ανθεκτικού αμύλου, κυρίως κρυσταλλικότητας τύπου B	Άμυλο αραβοσίτου με υψηλή περιεκτικότητα σε αμυλόζη, ωμές πατάτες, άγουρες μπανάνες
RS III	Αναδιατεταγμένο άμυλο	Μαγειρεμένα τρόφιμα που στη συνέχεια έχουν κρυώσει (πατάτες, ρύζι, είδη αρτοποιίας, ζυμαρικά, δημητριακά)
RS IV	Χημικά τροποποιημένα άμυλα	Τρόφιμα με cross-linked άμυλο κυρίως μέσω οxa (π.χ., ψωμί, κέικ, γαλακτώματα)
RS V	Σύμπλοκα αμυλόζης-λιπιδίων	Σύμπλοκα αμύλου υψηλής αμυλόζης με στεατικό οξύ (stearic acid) και είδη αρτοποιίας που περιέχουν λίπος.

2.3.3. Το άμυλο σε μορφή σωματιδίων ως σταθεροποιητής γαλακτωμάτων

Λόγω της δομής του, το άμυλο στη φυσική του μορφή είναι υδρόφιλο (απαρτίζεται από ομάδες υδροξυλίου), με την ιδιαιτερότητα ότι παραμένει αδιάλυτο στο νερό σε θερμοκρασία δωματίου. Ως εκ τούτου δεν δύναται να χρησιμοποιηθεί ως γαλακτωματοποιητής (Basiak et al., 2017; L. Chen et al., 2020). Για τον λόγο αυτό, υπάρχει η δυνατότητα τροποποίησης μέσω φυσικών ή χημικών μεθόδων, όπου ελεγχόμενα μπορούν να αποδώσουν διαφορετικές δομές αμύλου, με απώτερο στόχο τη βέλτιστη ικανότητα γαλακτωματοποίησης (W. Deng et al., 2022; Marefati et al., 2017; Ke Wang et al., 2020; F. Zhu, 2019). Η χημική τροποποίηση των κόκκων αμύλου με τη χρήση οκτένυλο-ηλεκτρικού ανυδρίτη (octenyl succinic anhydride, OSA) είναι μια από τις πλέον ευρέως χρησιμοποιούμενες μεθόδους, αφού έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό ενός αμφίφιλου μορίου, με υψηλή ικανότητα γαλακτωματοποίησης, που αποτελείται από έναν υδρόφιλο σκελετό αμύλου με υδρόφοβες αλυσίδες OSA (Agama-Acevedo & Bello-Perez, 2017; Ai et al., 2013; Bist et al., 2022; Caldwell & Wurzburg, 1953; W. Deng et al., 2022; Gong et al., 2022; Xiao Liu et al., 2021; Lopez-Silva et al., 2022; M. Matos et al., 2018; Song et al., 2020, 2022; Rui Wang et al., 2023; W. Zhu et al., 2020). Η χρήση OSA σε τρόφιμα έχει εγκριθεί από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA), με την προϋπόθεση ότι δεν ξεπερνά το 3% (Guida et al., 2021; Linke & Drusch, 2018; Marefati et al., 2017; Shweta et al., 2021).

Το άμυλο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη δημιουργία γαλακτωμάτων τροφίμων υψηλής ποιότητας, ακόμα και χωρίς τη χρήση χημικών ουσιών, περιλαμβανομένων επιφανειοδραστικών παραγόντων όπως η τροποποίηση με OSA. Όπως περιγράφεται ανωτέρω, οι κόκκοι άμυλου στη φυσική τους μορφή δεν χαρακτηρίζονται ως οι καταλληλότεροι σταθεροποιητές σε γαλακτώματα στερεών σωματιδίων (Pickering), λόγω του αρκετά μεγάλου μεγέθους τους (Ge et al., 2017; Chen Li et al., 2013; Hisfazilah Saari et al., 2016). Το μέγεθος των σωματιδίων είναι ένας σημαντικός παράγοντας για τον προσδιορισμό της σταθερότητας ενός συστήματος. Το εν λόγω μέγεθος πρέπει να είναι σημαντικά μικρότερο από το μέγεθος των σταγονιδίων της διεσπαρμένης φάσης του γαλακτώματος, επιτρέποντας έτσι την κάλυψη μεγαλύτερης επιφάνειας ανά μονάδα μάζας.

Η μέση διάμετρος επιφάνειας των σταγονιδίων συσχετίζεται με τη μέση διάμετρο των σωματιδίων που συνθέτουν ένα γαλάκτωμα τύπου Pickering μέσω της Εξίσωσης 9 (Chen Li et al., 2013; Rayner, Sjöö, et al., 2012).

$$d_{3,2d} = \frac{4 \rho_{sg} \Phi d_{sg}}{C_{SO}} \quad (9)$$

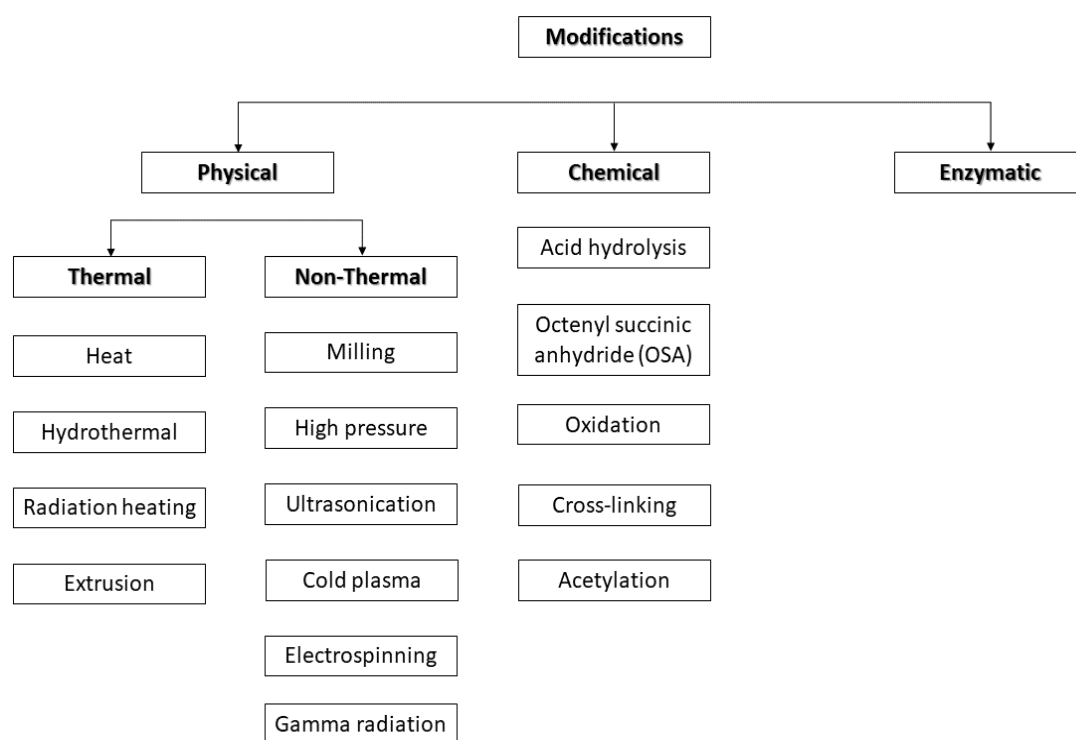
Όπου $d_{3,2d}$ είναι η μέση επιφανειακή διάμετρος (the surface mean diameter) των σταγονιδίων (μm), C_{SO} είναι η αναλογία αμύλου/ελαίου (mg/mL), ρ_{sg} είναι η πυκνότητα του αμύλου (1550 kg m^{-3}), d_{sg} είναι ο μέσος όρος της μέσης διαμέτρου (average mean diameter) σωματιδίων αμύλου (μm), and Φ είναι η πυκνότητα πακεταρίσματος (packing density), δηλαδή ο όγκος που καταλαμβάνουν σε σχέση με το συνολικό. Η εξίσωση μπορεί να χρησιμοποιηθεί με την υπόθεση ότι τα σωματίδια αμύλου έχουν σφαιρικό σχήμα, $\Phi = 0.907$ (θεωρητική μέγιστη κάλυψη) και η γωνία επαφής είναι 90° , συμπεραίνοντας ότι η απαιτούμενη ποσότητα αμύλου για την κάλυψη της διεσπαρμένης φάσης επηρεάζεται από το μέγεθος αυτών των σωματιδίων. Επιπλέον, το μέγεθος των κόκκων αμύλου για τα γαλακτώματα Pickering πρέπει να είναι μικρό (nm), καθώς αυτή η παράμετρος οδηγεί στον σχηματισμό μικρότερων σταγονιδίων διεσπαρμένης φάσης (Apostolidis, Stoforos, et al., 2023).

Το άμυλο, όπως προαναφέρθηκε, αποτελείται από ημι-κρυσταλλικές περιοχές και η επεξεργασία του για την παρασκευή νανο-σωματιδίων κυρίως μέσω φυσικών διεργασιών, έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία άμορφων δομών, με εξαίρεση τους νανο-κρυστάλλους αμύλου όπου διατηρείται η ημι-κρυσταλλική μορφή τους (Altaf et al., 2022; H. Y. Kim, Park, et al., 2013; Le Corre & Angellier-Coussy, 2014; N. Lin et al., 2011; Qiu et al., 2019). Τα νανο-σωματίδια αμύλου αποτελούν μια καινοτόμο τεχνολογικά προσέγγιση. Αναφορικά, όλα ξεκίνησαν το 1996, όταν η ερευνητική ομάδα των Dufresne et al. (1996) μέσω της ελεγχόμενης όξινης υδρόλυσης του αμύλου, δημιούργησαν σωματίδια αμύλου σε νανο-κλίμακα τα οποία χαρακτηρίζονταν ως κρυσταλλικές δομές (Dufresne et al., 1996).

Μελέτες υποδεικνύουν ότι διαφορετικοί κρυσταλλικοί τύποι αμύλων έχουν ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό νανο-κρυστάλλων με διαφορετικά σχήματα, είτε κυβικού είτε σφαιρικού σωματιδίου (LeCorre et al., 2011). Για την παρασκευή νανο-σωματιδίων και νανο-κρυστάλλων αμύλου μπορούν να χρησιμοποιηθούν διαφορετικές μέθοδοι επεξεργασίας (Σχήμα 6). Χαρακτηριστικά, οι νανο-κρύσταλλοι

παρασκευάζονται κυρίως μέσω χημικών μεθόδων όπως η όξινη υδρόλυση. Η μεθοδολογία της όξινης υδρόλυσης έχει συνήθως χαμηλές αποδόσεις, και για τον λόγο αυτό μπορεί να βελτιστοποιηθεί με την εφαρμογή πρόσθετων σταδίων. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν η χρήση υπερήχων, η προσθήκη εναλλακτικών ή και επιπρόσθετων οξέων, και τέλος η συνθήκη του χρόνου επεξεργασίας.

Οι νανο-κρύσταλλοι αμύλου (SNCs), αποτελούν μια ξεχωριστή υποκατηγορία νανο-σωματιδίων αμύλου και χρησιμοποιούνται ως αποτελεσματικοί σταθεροποιητές σε γαλακτώματα Pickering (Azfaralariff et al., 2020, 2021; S. Chang et al., 2020; Haaj, Thielemans, et al., 2014; Haaj et al., 2016; Jo et al., 2018, 2019, 2021, 2023; Kamwilaisak et al., 2022; Chen Li et al., 2012, 2014; Liang et al., 2016; López-Hernández et al., 2022; X. Qian, Lu, Xie, et al., 2020; X. Qian, Lu, Ge, et al., 2020; X. Qian et al., 2022; Rigg et al., 2022; Tao et al., 2021; Ke Wang et al., 2020; Q. Wang et al., 2023).



Σχήμα 6. Κατηγοριοποίηση μεθόδων επεξεργασίας αμύλου σε φυσικές, χημικές και ενζυμικές για την παραγωγή νανο-σωματιδίων.

Η χρήση ισχυρών οξέων, μπορεί να οδηγήσει σε ολική υδρόλυση των αλυσίδων αμύλου, όμως απαιτείται μια ισχυρή βάση για την εξουδετέρωση στο τέλος της διαδικασίας, ακολουθούμενη από διαδοχικές πλύσεις για την απομάκρυνση του άλατος που σχηματίστηκε. Κατ' επέκταση, κρίνεται αναγκαία η χρήση δραστικού οξέος και βάσης για την επίτευξη της μεθόδου, καθώς θα πρέπει να αποτραπεί ο σχηματισμός αδιάλυτων αλάτων που μπορεί να επηρεάσουν τον πλήρη διαχωρισμό των νανοσωματιδίων του αμύλου. Από την άλλη πλευρά, η υψηλότερη απόδοση και η έλλειψη προσθήκης χημικών ουσιών μέσω των φυσικών διεργασιών, τις καθιστούν συγκριτικά ως μια πιο ελκυστική και πολλά υποσχόμενη επιλογή, καθώς δεν περιέχουν δυνητικά επιβλαβή χημικά υπολείμματα για την ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον (Altaf et al., 2022; Azfaralariff et al., 2020; Campelo et al., 2020).

Σε αυτά τα πλαίσια, οι σύγχρονες στρατηγικές που χρησιμοποιούνται για την αλλαγή του μεγέθους του αμύλου, με σκοπό την επίτευξη σταθερότητας σε γαλακτώματα, βασίζονται κυρίως σε “πράσινες” τεχνολογικές προσεγγίσεις. Οι φυσικές επεξεργασίες προκαλούν μορφολογικές και μοριακές δομικές αλλαγές στη δομή του αμύλου με αποτέλεσμα την παραγωγή κόκκων αμύλου που δυνητικά θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως σταθεροποιητές γαλακτωμάτων Pickering. Οι κύριες φυσικές διεργασίες κατηγοριοποιούνται σε θερμικές (συμβατική θέρμανση, θέρμανση με ακτινοβολία υδροθερμική επεξεργασία) και σε μη θερμικές διεργασίες (μηχανική επεξεργασία-άλεσης, υψηλές πιέσεις, χρήση υπερήχων, ψυχρό πλάσμα, ακτινοβολία γ, ηλεκτρονηματοποίηση) (Apostolidis, Stoforos, et al., 2023; Campelo et al., 2020; Hassan et al., 2022; Marta et al., 2023; Yun Wang & Zhang, 2021). Οι προαναφερθείσες μέθοδοι παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον για τη βιομηχανία τροφίμων καθώς το τελικό προϊόν αμύλου δεν χρειάζεται να αναφέρεται ως τροποποιημένο άμυλο, αφού δεν χρησιμοποιήθηκαν χημικές ουσίες για την παρασκευή του (Carcelli et al., 2020; Maniglia et al., 2020). Αυτός ο χαρακτηρισμός σε μια αναγραφόμενη συσκευασία μπορεί να αποτρέψει ορισμένες ομάδες καταναλωτών (go clean label movement) οι οποίοι επιθυμούν πιο φυσικά προϊόντα.

2.4. Φυσικές διεργασίες σύνθεσης νανο-σωματιδίων αμύλου για χρήση σε γαλακτώματα Pickering

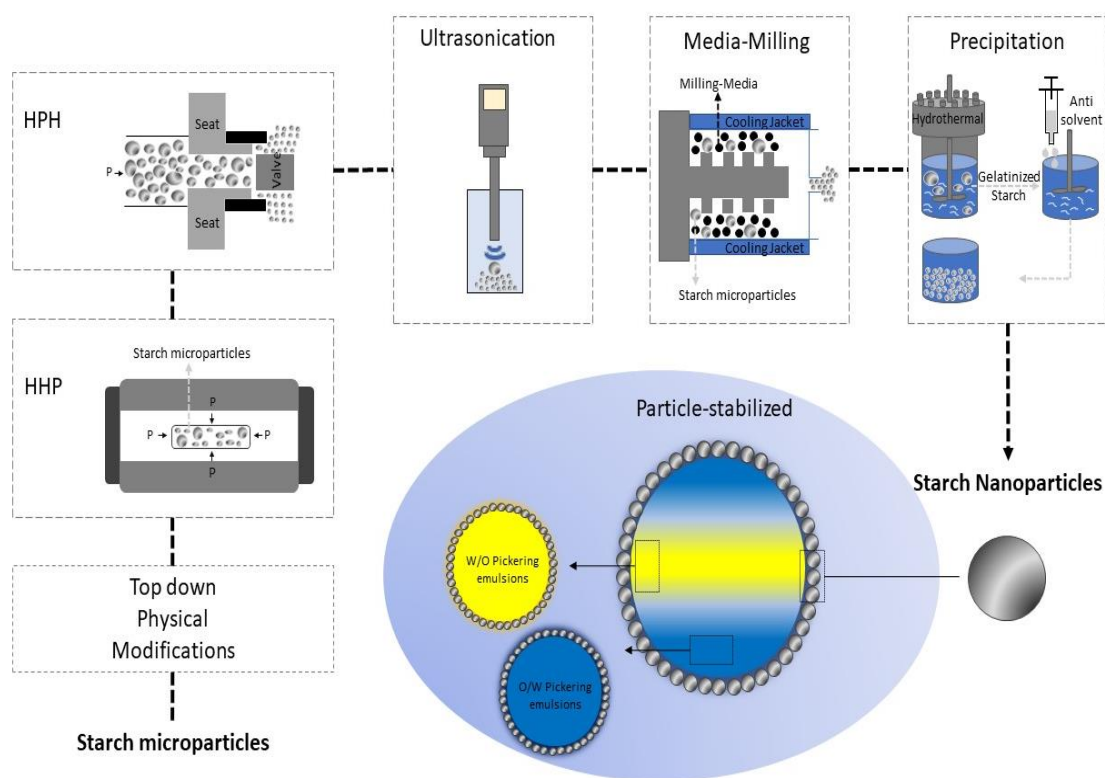
Οι μέθοδοι φυσικής επεξεργασίας δεν περιλαμβάνουν τη χρήση χημικών ουσιών γεγονός που τις καθιστά επιθυμητές στον τομέα των τροφίμων. Ως εκ τούτου το τελικό προϊόν αμύλου δεν χρειάζεται να επισημαίνεται στη συσκευασία ως τροποποιημένο άμυλο και να φέρει έναν κωδικοποιημένο αριθμό E σύμφωνα με το Διεθνές Σύστημα Αριθμής (International numbering system, INS) (BeMiller & Huber, 2015; Maniglia et al., 2020; Park & Kim, 2021). Οι μέθοδοι φυσικής επεξεργασίας μπορούν να ταξινομηθούν σε μεθόδους θερμικής και μη θερμικής φυσικής επεξεργασίας (Punia, 2020; Raghunathan et al., 2021; X. Yu et al., 2021). Οι φυσικές μέθοδοι επεξεργασίας αναπτύχθηκαν για την κάλυψη της ανάγκης για συντήρηση και επεξεργασία τροφίμων αλλάζοντας τη χημική σύνθεση των μορίων του αμύλου αλλά διατηρώντας τη θρεπτική του αξία. Οι θερμικές μέθοδοι επεξεργασίας είναι οι πιο συχνά εφαρμοζόμενες φυσικές τεχνικές, οι οποίες βασίζονται στη μεταφορά θερμότητας από ένα μέσο επεξεργασίας έως την πιο απομακρυσμένη περιοχή θέρμανσης (slowest heating zone, SHZ) του προϊόντος (Rinaldi et al., 2018).

Για πολλά χρόνια, η θερμική επεξεργασία θεωρούνταν ως μια αποτελεσματική στρατηγική για την αδρανοποίηση των μικροοργανισμών διασφαλίζοντας την ασφάλεια και τη συντήρηση, αυξάνοντας τον χρόνο ζωής των τροφίμων. Ωστόσο, αυτή η παραδοσιακή μέθοδος επεξεργασίας μπορεί να διανθιστεί ή να αντικατασταθεί από αναδυόμενες τεχνολογίες, καθώς στην περίπτωση του αμύλου μπορεί να αποικοδομηθεί κατά τη θερμική επεξεργασία (Tabasum et al., 2019; Yi Wang et al., 2021). Ως εκ τούτου, η κατανόηση του μηχανισμού μεταφοράς θερμότητας και μάζας κατά τη διαδικασία θέρμανσης αμυλούχων προϊόντων στη δομή του πολυμερούς είναι πολύ σημαντική. Για τον λόγο αυτό ο κατάλληλος σχεδιασμός θερμικών διεργασιών ή νέων καινοτόμων τεχνολογιών, οδηγούν σε τρόφιμα καλύτερης ποιότητας, που ανταποκρίνονται στις ανάγκες των σύγχρονων καταναλωτών (Fuentes-Zaragoza et al., 2011; Baoshi Wang et al., 2023).

Μια ιδιαίτερη και καινοτόμος προσέγγιση για τη σύνθεση γαλακτώματος τύπου Pickering περιλαμβάνει την ακόλουθη διαδικασία πολλαπλών βημάτων. Αναλυτικότερα, το πρώτο βήμα περιλαμβάνει την επιλογή φυσικής μεθόδου επεξεργασίας για τη μείωση του μεγέθους του αμύλου σε νανο-σωματίδια. Το δεύτερο

βήμα αφορά τη διαδικασία παρασκευής του γαλακτώματος μέσω του σταδίου της γαλακτωματοποίησης. Στο Σχήμα 7 περιγράφονται σχηματικά οι κύριες φυσικές μέθοδοι επεξεργασίας που έχουν εφαρμοστεί επιτυχώς για την παραγωγή νανοσωματιδίων αμύλου και έχουν παράλληλα χρησιμοποιηθεί για τη σταθεροποίηση γαλακτωμάτων τύπου Pickering (Apostolidis, Stoforos, et al., 2023).

Όλες αυτές οι φυσικές μέθοδοι επεξεργασίας και η χρήση πράσινης χημείας (μη επιβλαβείς διαλύτες, εφαρμόσιμοι σε τρόφιμα) για την παρασκευή νανοσωματιδίων αμύλου και για τη σταθεροποίηση γαλακτωμάτων Pickering περιγράφονται εκτενώς στα επόμενα υπό-κεφάλαια. Τέλος, τα κύρια χαρακτηριστικά των φυσικών διεργασιών που αναφέρθηκαν για την παραγωγή γαλακτωμάτων τύπου Pickering με χρήση νανοσωματιδίων αμύλου παρατίθενται στον Πίνακα 3. Επίσης, παρουσιάζονται οι δομικές και λειτουργικές ιδιότητες των σωματιδίων, ο τύπος ελαίου, τα πλεονεκτήματά των τεχνικών και ο χρόνος διεργασίας.



Σχήμα 7. Σχηματική απεικόνιση των φυσικών μεθόδων επεξεργασίας (υψηλή πίεση ομογενοποίησης “high pressure homogenization, HPH”, υψηλή υδροστατική πίεση «high hydrostatic pressure, HHP”, Υπερήχων, άλεση, κατακρήμνιση “precipitation”) που οδηγούν σε νανο-σωματίδια αμύλου για την παραγωγή γαλακτωμάτων Pickering (Apostolidis, Stoforos, et al., 2023).

2.4.1. Τεχνικές υψηλής πίεσης

Οι διεργασίες επεξεργασίας μέσω υψηλής πίεσης, αποτελούν μια ελκυστική εναλλακτική φυσική μέθοδο τροποποίησης του αμύλου και χωρίζονται σε δύο κύριες κατηγορίες. Η μία μέθοδος είναι η εφαρμογή υψηλής υδροστατικής πίεσης (High Hydrostatic Pressure, HHP), που συνήθως αναφέρεται στη βιβλιογραφία ως επεξεργασία υψηλής πίεσης (High Pressure Processing, HPP). Επίσης, χαρακτηρίζεται και ως στατική διαδικασία υψηλής πίεσης (static high pressure process). Η δεύτερη μέθοδος είναι η διαδικασία ομογενοποίησης υψηλής πίεσης (High Pressure Homogenization, HPH), που αναφέρεται στη βιβλιογραφία και ως δυναμική υψηλή πίεση (Dynamic High Pressure, DHP). Αυτές οι μη θερμικές διεργασίες εφαρμόζονται με επιτυχία για τη δημιουργία φυσικών κόκκων αμύλου που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως σταθεροποιητές γαλακτωμάτων τύπου Pickering, ενώ παράλληλα χαρακτηρίζονται και ως “πράσινες” διεργασίες (Balasubramaniam & Farkas, 2008; Chakraborty et al., 2022; Jafari et al., 2017; H. S. Kim et al., 2011; Stolt et al., 1999; Z. Wu et al., 2022; F. Zhu, 2021).

2.4.2. Υψηλή υδροστατική πίεση

Προκειμένου να εφαρμοστεί η τεχνική της μη θερμικής επεξεργασίας υψηλής υδροστατικής πίεσης, το δείγμα συσκευάζεται σε κατάλληλο δοχείο υψηλής πίεσης όπου και διατηρείται για καθορισμένο χρονικό διάστημα.

Εκτός από το δοχείο πίεσης, μια τυπική διάταξη HHP αποτελείται από τέσσερα κύρια μέρη: το σύστημα παραγωγής πίεσης, το δοχείο πίεσης, μια συσκευή ελέγχου θερμοκρασίας (μονάδα θέρμανσης/ψύξης) και ένα σύστημα χειρισμού υλικών (N. Datta & Deeth, 1999; Martín et al., 2002; Yaldagard et al., 2010). Η υψηλή πίεση χρησιμοποιείται κυρίως στη βιομηχανία τροφίμων για μικροβιακή αδρανολοποίηση, για τη συντήρηση τροφίμων και την αύξηση της διάρκειας ζωής τους (shelf life extension) και παρουσιάστηκε για πρώτη φορά το 1899 (Gokul Nath et al., 2023; Hite et al., 1914). Με τη μέθοδο αυτή επιτυγχάνεται η διατήρηση των οργανοληπτικών και διασφάλιση των διατροφικών χαρακτηριστικών των προϊόντων με ελάχιστη ποιοτική υποβάθμιση (Aganovic et al., 2021; Santos et al., 2017; Yaldagard et al., 2010).

Στην επεξεργασία αμύλου η διεργασία αυτή αποτελεί ένα νέο και πολλά υποσχόμενο εργαλείο, καθώς έχει αξιοσημείωτα αποτελέσματα στη μερική ή πλήρη ζελατινοποίηση

του αμύλου (Larrea-Wachtendorff et al., 2022; Pei-Ling et al., 2010; Z. Yang et al., 2017). Ωστόσο, από όσο γνωρίζουμε, η αποτελεσματικότητα αυτής της μεθόδου για την παραγωγή ενός αποτελεσματικού σταθεροποιητή (σωματίδιο αμύλου) σε γαλάκτωμα τύπου Pickering έχει μελετηθεί σε μία μόνο μελέτη, η οποία επικεντρώνεται κυρίως στο επεξεργασμένο άμυλο καλαμποκιού με υψηλή πίεση για τον σχηματισμό και τη σταθεροποίηση γαλακτώματος (Villamonte et al., 2016). Τα επεξεργασμένα σωματίδια με υψηλή πίεση δημιούργησαν σταθερά γαλακτώματα συγκριτικά με μη επεξεργασμένα. Συνολικά, η σταθερότητα του γαλακτώματος μπορεί να υποβοηθηθεί από την ικανότητα σχηματισμού ενός πλέγματος ή δικτύου των σωματιδίων με αποτέλεσμα την καλύτερη συγκράτηση των σταγονιδίων λαδιού.

2.4.3. Ομογενοποίηση υψηλής πίεσης (High Pressure Homogenization, HPH)

Η ομογενοποίηση υψηλής πίεσης (High Pressure Homogenization, HPH) είναι μια ευρέως χρησιμοποιούμενη φυσική μη θερμική μέθοδος για την επεξεργασία αμύλου. Η λέξη ομογενοποίηση αναφέρεται στην ικανότητα παραγωγής σωματιδίων με ομοιόμορφη κατανομή μεγέθους, διεσπαρμένα σε υδατική φάση, οδηγώντας το υγρό υπό την επίδραση πίεσης μέσω μιας ειδικά σχεδιασμένης βαλβίδας ομογενοποίησης (disruption valve) (Bevilacqua et al., 2019; Patrignani & Lanciotti, 2016). Ο εφευρέτης αυτής της διαδικασίας ήταν ο Gaulin το 1900 (Diels & Michiels, 2008; Gaulin, 1902). Έκτοτε, η ομογενοποίηση έχει εισαχθεί στη βιομηχανία τροφίμων για διαφορετικούς σκοπούς (όπως προετοιμασία και σταθεροποίηση γαλακτωμάτων, δημιουργία φυσικών αλλαγών και διάσπαση των κυττάρων). Τα επίπεδα πίεσης που χρησιμοποιούνται κυρίως είναι της τάξεως των 20 έως 200 MPa (για συμβατικές τεχνικές) και μπορεί να φτάσουν τα 400 MPa για ομογενοποίηση με υπερ-υψηλές πιέσεις (Patrignani & Lanciotti, 2016).

Μια τυπική διάταξη ενός ομογενοποιητή αποτελείται από μια αντλία υψηλής πίεσης (αντλία θετικής μετατόπισης) και μια βαλβίδα ομογενοποίησης (Nivedita Datta et al., 2005; Schultz et al., 2004). Όσον αφορά την αρχή λειτουργίας της τεχνικής, το υγρό εναιώρημα αρχικά συμπιέζεται από την αντλία και στη συνέχεια ωθείται και περνά μέσα από τη βαλβίδα ομογενοποίησης (ακροφύσιο, “nozzle”). Η ταχεία διέλευση από το ακροφύσιο προκαλεί μείωση της εφαρμοζόμενης πίεσης στο δείγμα, ανάλογη με τη διατμητική τυρβώδη ροή και τη σπηλαίωση που προκαλείται. Η πίεση που ασκείται εσωτερικά στο υγρό είναι πολύ υψηλή και ελέγχεται ρυθμίζοντας το άνοιγμα της

βαλβίδας ομογενοποίησης, αφήνοντας το υγρό να περάσει μεταξύ του κενού που δημιουργείται. Επιπλέον, λόγω της τριβής που παράγεται από την υψηλή ταχύτητα του υγρού, η θερμοκρασία μπορεί να αυξηθεί περίπου 2.0 έως 2.5°C ανά 10 MPa. Για τον λόγο αυτό θα πρέπει να διατηρείται σταθερή η θερμοκρασία του προϊόντος ψύχοντας τη γεωμετρία (Dumay et al., 2013; Popper & Knorr, 1990; Ravichandran et al., 2020; Schultz et al., 2004).

Κατά τη διαδικασία της ομογενοποίησης παράγονται υψηλές δυνάμεις κρούσης μεταξύ των σωματιδίων που έχουν ως αποτέλεσμα τη δημιουργία μικρότερων δομών όπως ο σχηματισμός νανο-σωματιδίων. Είναι πολύ σημαντικό να αναφερθεί ότι τόσο οι παράμετροι της διεργασίας, όπως ο αριθμός των περασμάτων, η τιμή της πίεσης και η θερμοκρασία, όσο και η συγκέντρωση του εναιωρήματος παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στην παραγωγή του επιθυμητού μεγέθους (Apostolidis & Mandala, 2020; Diels & Michiels, 2008). Τέλος, πρόκειται για μια συνεχή διαδικασία που έχει ευρέως χρησιμοποιηθεί για τη μείωση μεγέθους σωματιδίων αμύλου από μικρο σε νανοκλίμακα και χαρακτηρίζεται ως top-down τεχνική (A. N. Ahmad et al., 2020; Apostolidis & Mandala, 2020; D. Liu et al., 2009; Bailong Wang et al., 2021).

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα ερευνών που εφάρμοσαν την τεχνική της ομογενοποίησης για τη μείωση του μεγέθους αμύλου και μελέτησαν την ικανότητα δράσης του ως σταθεροποιητής, αναφέρουν ότι είναι αποτελεσματικότερη η χρήση κάποιων επιπρόσθετων βημάτων, όπως η χρήση υπερήχων (Calligaris et al., 2016; Chutia & Mahanta, 2021), ή η θέρμανση μεταξύ 30 °C και 80 °C (Lahtinen & Vuoti, 2015). Σύμφωνα με τους Chutia & Mahanta, (2021), η χρήση υπερήχων για 90 λεπτά επέφερε μέγεθος κόκκου αμύλου 340 nm και η μετέπειτα χρήση ομογενοποιητή (HPH) σε πίεση 300 bar οδήγησε σε περαιτέρω μείωση του μεγέθους από 340 nm σε 96-38 nm. Τα επεξεργασμένα σωματίδια με υψηλή πίεση αποδείχθηκαν άριστοι σταθεροποιητές δίνοντας την ικανότητα υψηλής σταθερότητας μετά από πέντε εβδομάδες αποθήκευσης στους 6 °C και αντιοξειδωτικής δράσης (έλαιο εμπλουτισμένο με καροτενοειδή) (Chutia & Mahanta, 2021).

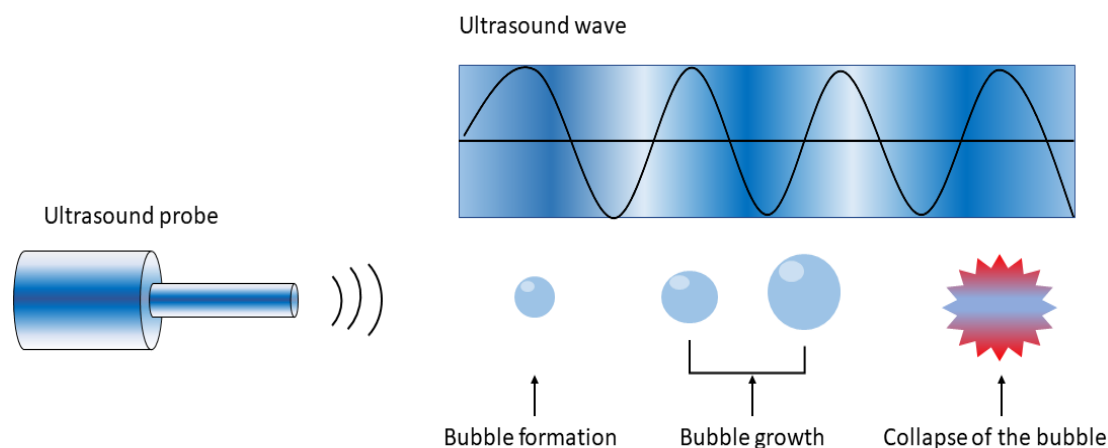
2.4.4. Τεχνολογία υπερήχων (Ultrasonication)

Οι υπέρηχοι είναι ακουστικά κύματα που μεταφέρουν ενέργεια στον χώρο και έχουν συχνότητες που υπερβαίνουν το όριο της ανθρώπινης ακοής (>16–18 kHz). Η τεχνολογία των υπερήχων εισήχθη τη δεκαετία του 1880, όπου όπως αναφέρεται ο Lazzaro Spallanzani (1729 - 1799) μελέτησε προσεκτικά τις νυχτερίδες και ανακάλυψε ότι δεν χρησιμοποίησαν την οπτική τους ικανότητα για να κινούνται, αλλά μάλλον την ακουστική τους ικανότητα. Η πρώτη εμπορική εφαρμογή καταγράφεται το 1917 με την τεχνική του ηχητικού-ήχου (echo-sounding technique) (Lorimer & Mason, 1987).

Ένα σύστημα υπερήχων αποτελείται από μια γεννήτρια, έναν μετατροπέα ενέργειας και έναν συζευκτήρα. Τα παραγόμενα κύματα υπερήχων έχουν την ικανότητα να διαχέονται μέσα από το υγρό μέσο διάδοσης με συγκεκριμένο ρυθμό. Συγκεκριμένα, η υπερηχητική ακτινοβολία προκαλεί τον σχηματισμό φυσαλίδων μεγέθους της τάξης μικρο, οι οποίες, στη συνέχεια καταρρέουν, προκαλώντας το φαινόμενο της σπηλαίωσης. Για την εφαρμογή υπερήχων σε συστήματα αμύλου απαιτείται η χρήση ενός διαφασικού συστήματος υγρού-στερεού με το νερό ως μέσο. Το νερό χαρακτηρίζεται από χαμηλό ιξώδες, καθώς και χαμηλή τάση ατμών, ιδιότητες που το καθιστούν εξαιρετικό μέσο για τη δημιουργία φυσαλίδων σπηλαίωσης και για τον λόγο αυτό, τα υδατικά συστήματα χρησιμοποιούνται ευρέως για την επεξεργασία αμύλου.

Τα παραγόμενα κύματα περνούν μέσα από το υδατικό μέσο με αποτέλεσμα μια συνεχή κίνηση τύπου κύματος. Η ακουστική ενέργεια των υπερήχων δεν μπορεί να απορροφηθεί από τα μόρια και έτσι μετατρέπεται σε χημικά χρησιμοποιήσιμη μορφή μέσω του φαινομένου της σπηλαίωσης (Kardos & Luche, 2001). Πιο αναλυτικά, η κατάρρευση αυτών των φυσαλίδων οφείλεται σε δια-σωματιδιακές συγκρούσεις υψηλής ταχύτητας και στον σχηματισμό πίδακα υγρού που χτυπά στην επιφάνεια των σωματιδίων με υψηλή ένταση δημιουργώντας οπές και πόρους (Σχήμα 8). Η προαναφερθείσα διεργασία είναι μια φυσική μη θερμική επεξεργασία για τη διάσπαση των κυτταρικών δομών (disrupting cellular structures) και επομένως έχει χρησιμοποιηθεί στην επεξεργασία τροφίμων για την αδρανοποίηση μικροοργανισμών. Επίσης, έχει ένα ευρύ φάσμα εφαρμογών ως μια φυσική μέθοδος επεξεργασίας τροφίμων, συμπεριλαμβανομένης της μείωσης του μεγέθους των σωματιδίων, της παρασκευής γαλακτωμάτων, διασποράς και από-συσσωμάτωσης (deagglomeration)

(BeMiller & Huber, 2015; Singla & Sit, 2021; Soria & Villamiel, 2010; L. Zhou et al., 2021).



Σχήμα 8. Σχηματική απεικόνιση της λειτουργίας υπερήχων, δημιουργία φυσαλίδας και της κατάρρευσης τους.

Οι υπερήχοι χαρακτηρίζονται ως top-down τεχνική και έχουν ευρέως χρησιμοποιηθεί για τη μείωση μεγέθους σωματιδίων αμύλου από μικρο σε νανο-κλίμακα (Boufi et al., 2018; Yanjiao Chang, Xiaoxia, et al., 2017; Haaj et al., 2013, 2016; Chengzhen Liu et al., 2017). Ωστόσο, υπάρχουν μόνο λίγες έρευνες που αξιολογούν την τεχνική των υπερήχων για την παραγωγή νανο-σωματιδίων αμύλου για τη χρήση τους ως σταθεροποιητές γαλακτώματος χωρίς την προσθήκη χημικών πρόσθετων. Πιο συγκεκριμένα, ο Haaj και οι συνεργάτες του (Haaj, Magnin, et al., 2014) ανέφεραν ότι η χρήση υπερήχων σε κηρώδες άμυλο σε νερό στους 8–10 °C για 75 λεπτά, παρήγαγε σφαιρικά νανο-σωματίδια αμύλου μεγέθους περίπου 40 nm. Η τεχνική αυτή χαρακτηρίζεται ως μια “απλή” και φιλική προς το περιβάλλον μέθοδος με υψηλή απόδοση. Τέλος, τα παραγόμενα γαλακτώματα κρίνονται σταθερά, χωρίς να παρατηρείται αλλαγή στο μέγεθος των σωματιδίων μετά από αποθήκευση σε θερμοκρασία δωματίου για περισσότερους από 8 μήνες, παρουσιάζοντας μονοκόρυφη κατανομή (unimodal distribution) μεγέθους στα 195 nm (Haaj, Magnin, et al., 2014).

Είναι πολύ σημαντικό να αναφερθεί πως η χρήση υπερήχων σε εναιώρημα αμύλου για 90 min έδωσαν νανο-σωματίδια με μέσο μέγεθος 340 nm. Τα σωματίδια παρουσίαζαν διπλή κατανομή μεγέθους, που οφείλεται στην ομόκεντρη ένταση ισχύος που

συγκεντρώνεται κοντά στην ακίδα (probe). Χαρακτηριστικά, τα σωματίδια κοντά στην ακίδα επηρεάζονται περισσότερο από εκείνα που είναι μακριά. Για τον λόγο αυτό, η χρήση περισσότερων σταδίων κατεργασίας αξιολογήθηκε, χρησιμοποιώντας την ομογενοποίηση με υψηλές πιέσεις για περαιτέρω ανάλυση. Τα νανο-σωματίδια αμύλου μορφολογικά υποβλήθηκαν σε πλήρη μετατροπή στο σχήμα που παρουσιάζουν σε πολυεδρικές νανο-δομές, λόγω της καταστροφής της κρυσταλλικής δομής και της αποδυνάμωσης των ισχυρών κρυσταλλικών περιοχών από τη χρήση υπερήχων. Μετά από παραμονή στους 6 °C για 5 εβδομάδες, τα νανο-σωματίδια αμύλου χαρακτηρίστηκαν από υψηλή σταθερότητα καθώς και από αντιοξειδωτική δράση (Chutia & Mahanta, 2021).

2.4.5. Άλεση-Λειοτρίβηση

Ο όρος "λειοτρίβηση" περιγράφει μια μηχανική επεξεργασία που χρησιμοποιείται για τη μείωση του μεγέθους κυρίως στερεών αντικειμένων με επακόλουθες αλλαγές στις ιδιότητες τους. Η επεξεργασία των σιτηρών είναι η παλαιότερη τεχνολογία που χρησιμοποιείται από τον άνθρωπο για την παραγωγή τροφίμων. Για τη λειοτρίβηση σπόρων (grains) και τη βελτίωση των διεργασιών χρησιμοποιούνται διαφορετικοί μύλοι, όπως με πέτρες, δίσκους, κυλίνδρους, σφυριά και υπέρ-λεπτή άλεση (ultra-fine) (Kihlberg et al., 2004; Chong Liu et al., 2015). Οι πετρόμυλοι και οι σφυρόμυλοι συνήθως χρησιμοποιούνται ως συστήματα μονής διέλευσης του προϊόντος, ενώ οι κυλινδρόμυλοι είναι συστήματα πολλαπλών διελεύσεων με κυματοειδείς κυλίνδρους θραύσης και ρολά μείωσης (L. Deng & Manthey, 2017). Επίσης, υπάρχει και μία ειδική κατηγορία λειοτρίβησης με σφαιρόμυλο (ball mill). Η λειοτρίβηση με σφαίρες χρησιμοποιείται κυρίως ως φυσική επεξεργασία για την τροποποίηση του αμύλου και βρίσκεται συνήθως στην παραγωγή αλεύρου από δημητριακά (Bangar et al., 2023).

Η λειοτρίβηση με σφαιρόμυλο είναι μια απλή, μη θερμική επεξεργασία, οικονομική και φιλική προς το περιβάλλον, για την παρασκευή βιοϋλικών σε μέγεθος της κλίμακας μικρο και νάνο. Οι σφαιρόμυλοι κατηγοριοποιούνται σε τέσσερις τύπους ανάλογα με τον τύπο κίνησης που δημιουργείται για την παραγωγή ορμής στις σφαίρες και την ενεργοποίηση του υλικού με διάφορες δυνάμεις άλεσης: συμβατικός σφαιρόμυλος (conventional tumbling ball-mill), δονούμενος σφαιρόμυλος (vibratory ball-mill), πλανητικός σφαιρόμυλος (planetary ball-mill) και σφαιρόμυλος ανάδευσης μέσω (stirred media mill) (Bangar et al., 2023; Mucsi, 2019).

Από όλες αυτές τις κατηγορίες, η λειοτριβήση με χρήση σφαιρόμυλου ανάδευσης μέσων (media mill), έχει πολύ υψηλή απόδοση λόγω της χρήσης πυκνών και ταχέως περιστρεφόμενων μέσων. Αυτή η τεχνική εισήχθη για πρώτη φορά εμπορικά το 1948 από τον Du Pont ως μύλος άμμου (sand mill) που χρησιμοποιήθηκε κυρίως στη βιομηχανία χρωμάτων (Stehr, 1988) και αποτελείται από ένα κυλινδρικό θάλαμο κατασκευασμένου από ανοξείδωτο χάλυβα ή Teflon, ο οποίος πραγματοποιεί περιστροφές γύρω από τον άξονά του. Προκειμένου να πραγματοποιηθεί η άλεση, το εσωτερικό του θαλάμου γεμίζεται με σφαίρες ανοξείδωτου χάλυβα, κεραμικές σφαίρες ή σφαίρες από καοτσούκ. Η άλεση πραγματοποιείται από την πρόσκρουση μεταξύ των μέσων άλεσης, που ωθούνται από φυγόκεντρες και δυνάμεις Coriolis, με τα σωματίδια (Bangar et al., 2023; Broseghini et al., 2016). Επιπλέον, το σύστημα περιλαμβάνει σύστημα ψύξης, για τη μείωση της θερμοκρασίας που αυξάνεται από δυνάμεις τριβής στον θάλαμο άλεσης (Mucsi, 2019; Taylor et al., 2020).

Η φυσική μέθοδος αυτή είναι χαμηλού κόστους και χρησιμοποιείται επιτυχώς για την αλλαγή της δομής του αμύλου, καθώς περιλαμβάνει διάφορες μηχανικές ενέργειες όπως κρούση (impact), πρόσκρουση (impingement) και υψηλές διατμητικές δυνάμεις (shear forces) που σχετίζονται με τριβή (friction) και σύγκρουση (collision) μεταξύ των μέσων (μπάλες άλεσης) και του τοιχώματος του δοχείου. Είναι μια τεχνική που έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως για τη μείωση του μεγέθους των σωματιδίων και τον σχηματισμό νανο-δομών αμύλου (M. Ahmad et al., 2020; Apostolidis, Stoforos, et al., 2023; BeMiller & Huber, 2015; Broseghini et al., 2016; C. J. Chen et al., 2010; Juarez-Arellano et al., 2021; H. Lin et al., 2016; Patel et al., 2016).

Παρά το γεγονός ότι δεν υπάρχουν αρκετές δημοσιευμένες μελέτες που να επικεντρώνονται στην εφαρμογή της άλεσης αμύλου για την παρασκευή νανο-σωματιδίων και για τη χρήση τους ως αποτελεσματικοί σταθεροποιητές σε γαλάκτωμα, η ομάδα των Lu et al., (2018) μελέτησε τον ρόλο των λειοτριβημένων κόκκων αμύλου στη σταθεροποίηση γαλακτωμάτων τύπου Pickering. Συγκεκριμένα, μελετήθηκαν τρεις τύποι άμμου από αραβόσιτο με διαφορετικά ποσοστά αμυλόζης. Ο χρόνος κατεργασίας των δειγμάτων ήταν 25 ώρες και το μέσο μέγεθος κόκκου που προέκυψε ήταν 873 nm σε δείγματα υψηλής περιεκτικότητας σε αμυλόζη (high amylose), 757 nm σε δείγματα “κανονικής” περιεκτικότητας σε αμυλόζη (native starch) και 492 nm σε δείγματα χαμηλής περιεκτικότητας σε αμυλόζη (κηρώδες άμυλο, waxy starch).

Επιπλέον, η σταθερότητα των γαλακτωμάτων ήταν ανάλογη της περιεκτικότητας των σωματιδίων σε αμυλόζη (X. Lu, Wang, et al., 2018).

Μια ακόμη μελέτη της ομάδας των Lu et al., (2018) όπου χρησιμοποιήθηκαν οι ίδιες πειραματικές συνθήκες για την άλεση κόκκων αμύλου με “κανονικό” ποσοστό αμυλόζης, κατέληξε στο συμπέρασμα ότι τα παραγόμενα σωματίδια διατηρούσαν τη σταθεροποιητική τους ιδιότητα (ως προς το γαλάκτωμα) για μια περίοδο έξι μηνών (X. Lu, Xiao, et al., 2018). Σε μια μεταγενέστερη εργασία των Lu et al. (2019), όπου εφαρμόστηκε η ίδια μεθοδολογία και οι ίδιες πειραματικές διαδικασίες για την παραγωγή νανο-σωματιδίων αμύλου αραβόσιτου, αξιολογήθηκε η ικανότητα ενθυλάκωσης κουρκουμίνης εντός του συστήματος του γαλακτώματος. Τα γαλακτώματα παρέμεναν σταθερά σε θερμοκρασία δωματίου σε μια περίοδο δύο μηνών, ενώ η κουρκουμίνη παρέμενε ενθυλακωμένη, σε σταθερή μορφή εντός της λιπαρής φάσης (X. Lu, Li, et al., 2019; X. Lu, Zhu, et al., 2019).

Σε μια πρόσφατη εργασία κατά την οποία εφαρμόστηκε διεργασία άλεσης δειγμάτων αμύλου από μωβ γλυκοπατάτα διάρκειας 240 λεπτών, το μέσο μέγεθος των κόκκων που προέκυψαν υπολογίστηκε στα 312 nm με το σχήμα τους να χαρακτηρίζεται “ακανόνιστό” και με τραχεία επιφάνεια. Η συγκεκριμένη διεργασία μπορεί να χαρακτηριστεί ως υψηλής απόδοσης, ενώ τα γαλακτώματα που σχηματίστηκαν παρέμειναν σταθερά μετά από περίοδο 40 ημερών σε διαφορετικές συνθήκες αποθήκευσης (pH, ιοντική ισχύς) (Huang et al., 2022).

Τέλος, σε μια πρόσφατη μελέτη, όπου εφαρμόστηκε κατεργασία κόκκων αμύλου *aroca taro* για 5 ώρες, τα πολυγωνικά σωματίδια αμύλου που προέκυψαν είχαν διάμετρο από 1 έως 5 μm και τραχεία επιφάνεια. Η απόδοση αυτής της μεθόδου ήταν εξαιρετικά υψηλή (100%) και η κατανομή μεγέθους εξαιρετικά ανομοιόμορφη. Τα γαλακτώματα που σχηματίστηκαν παρέμειναν σταθερά για μια περίοδο 30 ημερών, λόγω της υψηλής ενέργειας απόσπασης (detachment), ήταν δύσκολο να αφαιρεθούν τα σωματίδια αμύλου από τη διεπαφή ελαίου-νερού, σε αντίθεση με τα δείγματα που δεν είχαν υποστεί κατεργασία (Cancan Liu et al., 2018).

2.4.6. Καταβύθιση με εισαγωγή αντι-διαλύτη (anti-solvent precipitation)

Η μέθοδος καταβύθισης με εισαγωγή αντι-διαλύτη (anti-solvent precipitation), περιεγράφηκε για πρώτη φορά από τους Fessi et al. (1989) και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή νανο-σωματιδίων σε μια ποικιλία διαιτητικών συστατικών όπως η. κυτταρίνη, η χιτοζάνη και το άμυλο (Apostolidis, Stergiou, et al., 2023; El Seoud et al., 2020; Rampino et al., 2013; Y. Tan et al., 2009), όπου. Αυτή η τεχνική αναφέρεται επίσης και ως νανο-καταβύθιση (nano-precipitation) (Fessi et al., 1989, 1992) αλλά και ως “flash nano-precipitation”, “solvent displacement”, “solvent diffusion”, “solvent injection”, “interfacial deposition”, “coacervation”, “desolvation”, και “solvent shifting” (Beck-Broichsitter et al., 2010; Dong et al., 2022; Iván Martínez-Muñoz et al., 2021; Joye & McClements, 2013; Schubert & Müller-Goymann, 2003). Ανεξάρτητα από την ορολογία, το κύριο πλεονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι η ικανότητά της να παράγει επιθυμητού μεγέθους σωματίδια (Apostolidis, Stoforos, et al., 2023).

Η διεργασία αυτή της νανο-καταβύθισης (nano-precipitation) απαιτεί δύο μη-αναμίξιμους διαλύτες (immiscible solvents). Για τη χρήση αυτής της τεχνικής ως φυσικής μεθόδου νανο-καταβύθισης σε κόκκους αμύλου, χρησιμοποιείται νερό ως διαλύτης. Στο πρώτο στάδιο, απαιτείται η πλήρης διάλυση (dissolution) των κόκκων αμύλου. Αρχικά, οι κόκκοι αμύλου είναι αδιάλυτοι σε κρύο νερό, λόγω των δεσμών υδρογόνου μεταξύ των αλυσίδων και για αυτό τον λόγο, θα πρέπει να προηγηθεί η διαδικασία της ζελατινοποίησης. Το στάδιο της ζελατινοποίησης, μπορεί να πραγματοποιηθεί με προσθήκη νερού, παρουσία θερμότητας (hot gelatinization) σε συνδυασμό με μηχανική ανάδευση για τη διάρρηξη των ένδομοριακών και διαμοριακών δεσμών υδρογόνου, αποτρέποντας έτσι την προσθήκη χημικού διαλύτη (κρύα ζελατινοποίηση) και διασφαλίζοντας τη φυσική “ταυτότητα” αυτής της μεθόδου (Griebel et al., 2019; Perez-Rea et al., 2015; Hisfazilah Saari et al., 2019). Στο επόμενο βήμα, γίνεται εισαγωγή αντι-διαλύτη (non-solvent), όπου συνήθως χρησιμοποιούνται οργανικές ουσίες όπως η αιθανόλη ή η ακετόνη. Μετά την προσθήκη ενός αντι-διαλύτη που είναι αναμίξιμος (miscible) με τον προαναφερθέντα διαλύτη (νερό), έχει ως αποτέλεσμα τη μετάβαση του πολυμερούς από τη διαλυμένη του κατάσταση, στη στερεή του κατάσταση.

Συνεπώς, όταν το διάλυμα του πολυμερούς προστίθεται στον αντι-διαλύτη, διαλύεται ταχέως και λαμβάνει χώρα το φαινόμενο της νανο-καταβύθισης. Η καταβύθιση με εισαγωγή αντι-διαλύτη οδηγεί στον σχηματισμό νέα σωματιδίων μικρότερου μεγέθους τα οποία προέρχονται από τα διαλυμένα μόρια αμύλου, λόγω της ανάμιξης διαλύτη και αντι-διαλύτη και της διαφοράς της μεταξύ τους επιφανειακής τάσης. Επομένως, η συγκεκριμένη κατεργασία που βασίζεται στο φαινόμενο Gibbs-Marangoni μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μια απλή και γρήγορη τεχνική για την παραγωγή νανο-σωματιδίων.

Το φαινόμενο Gibbs-Marangoni περιγράφει τις διεπιφανειακές αλληλεπιδράσεις που συμβαίνουν στη διεπιφάνεια του διαλύτη και του αντι-διαλύτη και προκύπτει από τον συνδυασμό διαφορετικών φαινομένων όπως η ροή (flow), η διάχυση (diffusion) και η διακύμανση της επιφανειακής τάσης (surface tension fluctuation) (Quintanar-Guerrero et al., 2008; Sternling & Scriven, 1959). Το δεύτερο βήμα της νανο-καταβύθισης μπορεί να επιτευχθεί μέσω δύο εναλλακτικών διεργασιών: την παρασκευή νανο-σωματιδίων μέσω διαπίδυσης (dialysis) και της στάγδην εναπόθεσης (dropping technique).

Πληθώρα μελετών έχουν εστιάσει στην παραγωγή νανο-σωματιδίων αμύλου μέσω της τεχνικής της νανο-καταβύθισης με τελικό στόχο τη σταθεροποίηση γαλακτωμάτων Pickering. Όμως, η πλειοψηφία των ερευνητικών πρωτοκόλλων που περιγράφονται στην τρέχουσα διεθνή βιβλιογραφία αφορούν χημικές και όχι φυσικές μεθόδους τροποποίησης, καθώς χρησιμοποιούνται χημικοί διαλύτες κατά τη διάρκεια του σταδίου της ζελατινοποίησης (Gutiérrez et al., 2020; Harsanto et al., 2021; Ko & Kim, 2021; Ruan et al., 2022; Hisfazilah Saari et al., 2019; Y. Tan et al., 2012; Zhai et al., 2019). Όσον αφορά στη φυσική τροποποίηση αμύλων για την παρασκευή νανο-σωματιδίων μέσω της τεχνικής της νανο-καταβύθισης, ο αριθμός των ερευνητικών μελετών είναι περιορισμένος.

Η ομάδα των Ge et al. (2017), μελέτησε την εφαρμογή της μεθόδου νανο-καταβύθισης σε δείγματα αμύλου ταπιόκας, γλυκοπατάτας και καλαμποκιού, με περιεκτικότητα αμυλόζης μεταξύ 18.9% έως 26.4%. Χαρακτηριστικά, τα δείγματα αμύλου διαλύθηκαν σε νερό μέσω ζελατινοποίησης υπό θέρμανση με ανάδευση, και η χρήση αιθανόλης ως αντι-διαλύτη προστέθηκε στο ζελατινοποιημένο δείγμα στάγδην. Εν συνεχεία, το δείγμα αναδευόταν για 2 ώρες. Η τεχνική επιτυχώς παρήγαγε νανο-σωματίδια με μέσο μέγεθος 100 έως 220 nm, με σφαιρικό ή ελλειπτικό σχήμα. Όσον αφορά τη γωνία

επαφής των σωματιδίων, παρουσίασαν ενδιάμεση διαβρεξιμότητα (wettability) ($\theta_{ow}=90^\circ$). Η συμπεριφορά τους αυτή, βοηθά στην προσρόφηση της διεπιφάνειας λαδιού-νερού, λόγω των υδρόφοβων περιοχών των σωματιδίων που διεισδύουν στην ελαιώδη φάση και των υδρόφιλων στην υδατική φάση παρέχοντας στερική σταθεροποίηση (steric stabilization), καθιστώντας τα ιδανικά για τη σταθεροποίηση των γαλακτωμάτων Pickering (Ge et al., 2017).

Επιπλέον, μια ακόμη πρόσφατα δημοσιευμένη εργασία της ομάδας των Saari et al., (2018) μελέτησε την ικανότητα σχηματισμού σταθερών γαλακτωμάτων τύπου Pickering με τη χρήση νανο-σωματιδίων αμύλου μέσω φυσικής μεθόδου νανο-καταβύθισης (nano-precipitation). Η φυσική μεθοδολογία που ακολουθήθηκε αφορούσε την πλήρη ζελατινοποίηση κηρώδους αμύλου μέσω θέρμανσης σε αυτόκλειστο σύστημα (autoclave chamber) στους 140°C . Στη συνέχεια, έγινε η άμεση ανάμιξη της αιθανόλης (ως αντι-διαλύτης) με το ζελατινοποιημένο άμυλο σε αναλογία 1:1. Τόσο η συγκέντρωση του εναιωρήματος όσο και ο τρόπος εισαγωγής και η αναλογία του αντι-διαλύτη επηρεάζουν σημαντικά τα τελικά αποτελέσματα. Για τον λόγο αυτό αυτή τους η πειραματική διαδικασία οδήγησε στον σχηματισμό σφαιρικού σχήματος νανο-σωματιδίων αμύλου με πολύ μικρό μέγεθος στα 200 nm. Συμπερασματικά, τα παραγόμενα νανο-σωματίδια χαρακτηρίζονται ικανά να σταθεροποιήσουν ένα σύστημα γαλακτώματος, με δείκτη γαλακτωματοποίησης (emulsification index) που υπολογίστηκε ίσο με 1 και με χαμηλό μέσο μέγεθος σταγονιδίων, ίσο προς 10 μm (Hisfazilah Saari et al., 2017b).

Η τεχνική της νανο-καταβύθισης έχει επιτυχώς χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή νανο-σωματιδίων αμύλου από αραβόσιτο όπως προαναφέρθηκε (Ge et al., 2017). Η ομάδα των Bu et al., (2020) μελέτησε και αυτή με τη σειρά τους την εφαρμογή της νανο-καταβύθισης σε άμυλο καλαμποκιού αλλά με διαφορετικό πειραματικό πρωτόκολλο. Η ζελατινοποίηση του εναιωρήματος αμύλου πραγματοποιήθηκε μετά από θέρμανση για 30 λεπτά στους 100°C για 30 λεπτά. Στη συνέχεια, στο εναιώρημα αμύλου προστέθηκε στάγδην αιθανόλη (σε αναλογία όγκου 1:1, ως προς τον διαλύτη) και αφέθηκε υπό μηχανική ανάδευση για 6 ώρες στους 25°C . Η πειραματική διαδικασία οδήγησε στον σχηματισμό σφαιρικού και ελλειψοειδούς σχήματος νανο-σωματιδίων αμύλου με μέγεθος στα 190 nm. Η γωνία επαφής τριών φάσεων (3-phase contact angle) των νανο-σωματιδίων υπολογίστηκε ίση προς 95° . Η σχεδόν ουδέτερη διαβρεξιμότητα που παρουσιάζουν, υποδεικνύει ότι τα παραγόμενα νανο-σωματίδια

μπορούν επιτυχώς να σταθεροποιούν γαλακτώματα τύπου Pickering. Χαρακτηριστικά, τα γαλακτώματα που προέκυψαν από όλα τα συστήματα που μελετήθηκαν χαρακτηρίστηκαν από σταθερότητα και το μέσο μέγεθος σταγονιδίων υπολογίστηκε να είναι 54.30 μm (Bu et al., 2020).

Η μέθοδος της νανο-καταβύθισης έχει χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για την παραγωγή νανο-σωματιδίων αμύλου από κηρώδες αραβόσιτο (Hisfazilah Saari et al., 2017b). Η ομάδα των Wang et al. (2022) μελέτησε και αυτή με τη σειρά της την εφαρμογή της νανο-καταβύθισης σε κηρώδες άμυλο αλλά με διαφορετικό πειραματικό πρωτόκολλο. Όσον αφορά τη μεθοδολογία που ακολουθήθηκε, κηρώδες άμυλο (2% w/v) ζελατινοποιήθηκε σε για 40 λεπτά και αιθανόλη (5 φορές ο όγκος της διασποράς αμύλου) προστέθηκε στάγδην υπό ανάδευση. Τα σωματίδια παρουσίασαν ραβδοειδές σχήμα (rod like shape) με μέσο μέγεθος 190 nm. Πολύ σημαντικό να αναφερθεί είναι πως στη μελέτη χρησιμοποιήθηκε στο στάδιο της δημιουργίας τους εναιωρήματος και πολυφαινόλες (tea polyphenols), οι οποίες είχαν επίδραση τόσο στο μέγεθος των νανο-σωματιδίων αυξάνοντάς το (290 nm), όσο και στην υδροφοβικότητα, αυξάνοντάς την (contact angle 75°). Τα γαλακτώματα με νανο-σωματίδια χωρίς πολυφαινόλες παρουσίασαν χαμηλή σταθερότητα. Ωστόσο, τα νανο-σωματίδια με αυξημένη υδροφοβικότητα επιδεικνύουν καλή σταθερότητα και οξειδωτική προστασία. Συμπερασματικά, η υδροφοβικότητα των νανο-σωματιδίων αυξήθηκε με την προσθήκη πολυφαινόλων, ενώ ταυτόχρονα ενισχύθηκε ο βαθμός απορρόφησης της διεπαφής λαδιού-νερού, δημιουργώντας ένα φυσικό φραγμό που εμποδίζει τη συνένωση των σταγονιδίων λαδιού (Ran Wang & Zhou, 2022).

Αξιολογώντας, τη φυσική διεργασία που χρησιμοποιείται προς παραγωγή νανο-σωματιδίων για τη σταθεροποίηση γαλακτωμάτων τύπου Pickering, το οικονομικό αντίκτυπο της είναι ο κύριος παράγοντας που επηρεάζει τόσο το πειραματικό όσο και το βιομηχανικό σχεδιασμό της. Πιο συγκεκριμένα, η φυσική μέθοδος που χρησιμοποιείται για τη δημιουργία των νανο-σωματιδίων κυρίως επηρεάζει το κόστος παραγωγής, καθώς η τεχνική στο στάδιο της ομογενοποίησης μπορεί να είναι πανομοιότυπη. Η κατανόηση των εγκαταστάσεων που ήδη διαθέτει μια βιομηχανία είναι πολύ σημαντικός παράγοντας, για να μπορεί να σχεδιαστεί ή να αποφασιστεί εάν είναι συμφέρουσα η χρήση ή η βελτίωση μιας υπάρχουσας υποδομής. Επιπλέον, θα πρέπει να σχεδιάζονται τεχνικές διαχείρισης αποβλήτων, στοχεύοντας τόσο στη μείωση των αποβλήτων όσο και στη βελτίωση της χρήσης τους, π.χ., κατά τη νανο-

καταβύθιση θα μπορούσε να χρησιμοποιείται ανακυκλωμένο νερό ή διαλύτες, μειώνοντας έτσι το κόστος και την κατανάλωση ενέργειας.

2.5. Η φύση του ελαίου

Ο τύπος λαδιού είναι πολύ σημαντικός για τη δημιουργία ενός συστήματος γαλακτώματος, καθώς το ιξώδες του λαδιού επηρεάζει τόσο το τελικό ιξώδες του γαλακτώματος όσο και το μέγεθος των σταγονιδίων (Mandala & Apostolidis, 2020). Η χρήση μη-πολικών (non-polar) και μεγάλου μοριακού όγκου ενώσεων, όπως τριγλυκερίδια μέσης (MCT, Medium Chain Triglycerides) ή μακράς αλυσίδας (LCT, Long Chain Triglycerides) που αναφέρονται ως "αναστολείς ωρίμανσης" (ripening inhibitors), επιβραδύνουν το φαινόμενο της ωρίμανσης κατά Ostwald (Pavoni et al., 2020). Τα MCT και LCT λάδια λόγω της χαμηλής πολικότητας, της υψηλής διεπιφανειακής τάσης και του υψηλού ιξώδους τους, είναι δύσκολο να δημιουργήσουν νανο-γαλακτώματα (McClements & Rao, 2011). Αυτό το φαινόμενο προκαλείται κατά το στάδιο της δημιουργία των γαλακτωμάτων, όπου η διάσπαση των σταγονιδίων λόγω του ιξώδους του λαδιού οδηγεί σε μεγαλύτερα μεγέθη. Η δημιουργία όμως νανο-γαλακτωμάτων με αυτό το είδος ελαίων προσδίδει πολύ σταθερές δομές.

Η χρήση αυτών των λαδιών, συνήθως οδηγούν στον σχηματισμό γαλακτωμάτων με μεγαλύτερα μεγέθη σταγονιδίων. Τα γαλακτώματα που μπορούν να σχηματιστούν και απαρτίζονται από μεγάλο μεγέθους σταγονιδίων ελαίου, χρειάζονται περισσότερη ενέργεια και μεγαλύτερες περιόδους για να διαταραχθεί η σταθερότητά τους (Ryu et al., 2018; Wooster et al., 2008). Και οι 3 διαθέσιμες μορφές λιπιδίων μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παρασκευή γαλακτωμάτων. Ωστόσο, λάδια μακράς αλυσίδας χρησιμοποιούνται στη συντριπτική πλειοψηφία των μελετών που παρουσιάστηκαν. Οι φυσικές διεργασίες που αναφέρθηκαν στους διαφορετικούς τύπους αμύλου, τα παραγόμενα νανο-σωματίδια και τα γαλακτώματα Pickering που έχουν μελετηθεί, καθώς και τα εκτιμώμενα κόστη συνοψίζονται στον Πίνακα 3.

Πίνακας 3. Σύνοψη ερευνητικών μελετών σε γαλακτώματα τύπου Pickering με χρήση φυσικώς παραγόμενων νανο-σωματιδίων αμύλου (Apostolidis, Stoforos, et al., 2023).

Treatment	Source of starch	Oil phase	Emulsion Type	Treated Starch size d (nm)	cost production	Advantages/ Disadvantages	Reference
High Hydrostatic Pressure (HHP)	Maize	Sunflower oil ^a	O/W	107	0.05 US\$ per liter	Gelatinization is conducted in a short period (6min), allowing to proceed rapidly to the next-step, in which homogenization pressure disrupts starch granules.	(Villamonte et al., 2016)
High Pressure Homogenization (HPH)	Maize	Olive oil ^a	O/W	38-96	0.03 US\$ per liter	Effective in producing starch nano-particles characterized by a uniform size distribution.	(Chutia & Mahanta, 2021)
Ultrasound	Waxy maize	Butyl methacrylate	O/W	40	0.01 US\$	Efficient for the production of waxy maize nano-particles of 40nm size, after a 75 min treatment. Size reduction was not as effective in maize starch samples, despite being processed for a longer period (90 min).	(Haaj, Magnin, et al., 2014)
	Maize	Olive oil ^a	O/W	340			(Chutia & Mahanta, 2021)
Media Mill	Maize			757	2\$/kg	Media milling effectively used in size reduction of different starches. Simple and practical method for the production of nano-sized particles. One disadvantage of the process is the prolonged operation time (25 hrs).	(X. Lu, Wang, et al., 2018)
	High amylose maize	Soy bean oil ^a	O/W (1:1)	873			
	Waxy maize			492			
	Maize	Corn oil ^a	O/W	757			
	Maize	Soy bean oil ^a	O/W	700			
	Maize	Corn oil ^a	O/W	700			
	Purple sweet potato	Flaxseed oil ^a	O/W-W/O	312			(Huang et al., 2022)
	Areca taro	Soy bean oil ^a	O/W	-			(Cancan Liu et al., 2018)
Nano-precipitation	Maize				Not estimated	Effective and time saving method with high yields for the production of tailor-made starch nano-particles.	(Ge et al., 2017)
	Tapioca Sweet potato	Soy Bean oil ^a	O/W-W/O	100-220			
	Waxy maize	Miglyol 812 ^b	O/W	10-900			
	Maize	Soy bean oil ^a	O/W	190			
	Waxy maize	camellia seed oil ^a	O/W	190-280			(Ran Wang & Zhou, 2022)

No data (-).

^a refers to the Long Chain Triglycerides (LCT)

^b refers to the Medium Chain Triglycerides (MCT)

2.6. Ακατέργαστοι κόκκοι αμύλου ως σταθεροποιητές σε γαλακτώματα τύπου Pickering

Το άμυλο μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως αποτελεσματικός σταθεροποιητής, σε γαλακτώματα τύπου Pickering, όχι μόνο μετά από φυσική επεξεργασία, όπως παρουσιάστηκε εκτενώς, αλλά και χωρίς να έχει υποστεί κάποια τροποποίηση. Για τον λόγο αυτό, είναι σημαντικό να παρουσιαστούν όλες οι περιπτώσεις όπου το άμυλο στη φυσική του μορφή έχει χρησιμοποιηθεί για να σταθεροποιήσει αποτελεσματικά ένα σύστημα γαλακτώματος (Πίνακας 4).

Σε μια πρόσφατη εργασία (Leal-Castañeda et al., 2018), το μη επεξεργασμένο άμυλο από σπόρους αμάρανθου, μελετήθηκε ως προς την ικανότητα του να σταθεροποιήσει επιτυχώς ένα γαλάκτωμα. Αρχικά, το άμυλο που προέρχεται από αυτή την πηγή αποτελούνταν από μικρού μέγεθος σωματιδίων με μέση διάμετρο περίπου 1.13 μm (0.6 έως 1.7 μm). Το σύστημα γαλακτώματος που μελέτησαν ήταν σταθερό έναντι του φαινομένου της συνένωσης (coalescence) με μέσο μέγεθος σταγονιδίων ελαίου 9.8 μm . Τέλος, τα γαλακτώματα ήταν σταθερά χωρίς εμφανή διαχωρισμό φάσεων για 6 ώρες.

Επιπλέον, σε μια ακόμη μελέτη (Chen Li et al., 2013) αναφέρεται ότι μη επεξεργασμένα φυσικά άμυλα που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως σταθεροποιητές σε γαλακτώματα Pickering είναι το κηρώδες καλαμπόκι Prima 600 (waxy maize Prima 600), το κηρώδες ρύζι (waxy rice) και τα μη κηρώδη άμυλα ρυζιού (non-waxy rice starches), με περιεκτικότητα σε αμυλόζη από 1.2% έως 31.6%. Τα άμυλα αυτά κατάφεραν επιτυχώς να σταθεροποιήσουν ένα γαλάκτωμα για τουλάχιστον 3 μήνες στους 20 °C. Αυτή η ερευνητική προσέγγιση υποδηλώνει τη σημασία και τη σκοπιμότητα της χρήσης φυσικών αμύλων, και τελικών προϊόντων με καθαρή ετικέτα, για τη διεπιφανειακή σταθεροποίηση γαλακτωμάτων ως μια εναλλακτική μέθοδος αντικαθιστώντας τη χρήση εστεροποιημένων αμύλων μέσω OSA και άλλους συνθετικούς γαλακτωματοποιητές τροφίμων (Kasprzak et al., 2018). Το κηρώδες άμυλο ρυζιού λόγω του μικρού μεγέθους σωματιδίων του (2.5 μm), χαρακτηρίστηκε ως αποτελεσματικός σταθεροποιητής και είχε την ικανότητα να σταθεροποιεί συστήματα με αναλογία ελαίου προς νερό 1:1. Μετά από δοκιμή σταθερότητας σε χρονική περίοδο ενός έτους, το σύστημα παρουσίασε την υψηλότερη σταθερότητα στη μέγιστη συγκέντρωση αμύλου (45%) για αρκετούς μήνες.

Τέλος, μια ακόμη προέλευση αμύλου, το άμυλο από taro στη φυσική του μορφή διαθέτει το κατάλληλο μέγεθος σωματιδίων (467.93 nm) και ήπια αμφίφιλα χαρακτηριστικά (γωνία επαφής 81.5°), χωρίς να απαιτείται προηγούμενη τροποποίηση του για τη χρήση του ως σταθεροποιητή. Η συγκέντρωση αμύλου, επηρεάζει σημαντικά το μέγεθος των σταγονιδίων. Αυξάνοντας τη συγκέντρωση, τα σταγονίδια του γαλακτώματος παρουσιάζουν μικρότερο μέγεθος οδηγώντας σε μια πιο σταθερή δομή, όπου παρουσίασε σταθερότητα κατά τη διάρκεια μιας περιόδου αποθήκευσης 28 ημερών. Επιπλέον, τα γαλακτώματα έχουν την ικανότητα να ενθυλακώσουν πολυφαινόλες (tea polyphenols), οι οποίες παρέμειναν σταθερές για 24 ώρες σε ποσοστό περίπου 67%, υποδεικνύοντας ότι τα θα μπορούσαν να χαρακτηριστούν ως φορέας ενθυλάκωσης (Shao et al., 2018).

Πίνακας 4. Σύνοψη ερευνητικών μελετών για γαλακτώματα Pickering με χρήση φυσικού αμύλου (Apostolidis, Stoforos, et al., 2023).

Treat ment	Source of starch	Oil phase	Emulsion Type	Starch size d (nm)	Reference
	Waxy rice	Paraffin liquid	O/W	2500	(Chen Li et al., 2013)
	Waxy maize Prima 600				
No	Waxy rice	Sunflower oil ^a	O/W	-	(Kasprzak et al., 2018)
	Non- Waxy rice				
	Amaranth	Canola oil ^a and a-tocopherol	O/W	600-1700	(Leal-Castañeda et al., 2018)
	Taro	58 wt% C8 fatty acid and 42 wt% C10 fatty acid ^b	O/W	460	(Shao et al., 2018)

No data (-).

^a refers to the Long Chain Triglycerides (LCT)

^b refers to the Medium Chain Triglycerides (MCT)

2.7. Μέτρηση μεγέθους σωματιδίων

Η δυναμική σκέδαση φωτός (Dynamic Light Scattering, DLS), είναι μια από τις πιο δημοφιλείς και ευρέως χρησιμοποιούμενες μεθόδους, για τον ποσοτικό προσδιορισμό του μεγέθους κολλοειδών νανο-σωματιδίων. Οι μέθοδοι δυναμικής σκέδασης φωτός έχουν καθιερωθεί ως σημαντικά εργαλεία μέτρησης μεγέθους νανο-σωματιδίων για τη και τον υπολογισμό της κατανομής του μεγέθους των σωματιδίων σε εναιώρημα, σε μικρό χρόνο. Η μόνη απαίτηση είναι να μπορεί να σκεδάζεται αρκετό φως για να επιτευχθεί επαρκής στατιστική ακρίβεια/ορθότητα (accuracy) της συνάρτησης συσχέτισης. Η τεχνική αναφέρεται και ως φασματοσκοπία συσχέτισης φωτονίων (Photon Correlation Spectroscopy, PCS) ή ελαστική σκέδαση φωτός (Quasi Elastic Light Scattering, QELS) (Bhattacharjee, 2016; Makowska et al., 2022).

Η τεχνική DLS μετρά την κίνηση Brown των νανο-σωματιδίων και τη συσχετίζει σε μια ανάλογη υδροδυναμική διάμετρο. Χαρακτηριστικά, καθώς φως διέρχεται από ένα διάλυμα που περιέχει σωματίδια, ανάλογα με τις οπτικές παραμέτρους του συστήματος, μέρος του φωτός θα σκεδαστεί. Λόγω της τυχαίας κίνησης Brown των μορίων στο διάλυμα ένας κατάλληλος ανιχνευτής καταγράφει τη συχνότητα της διακύμανσης της σκέδασης. Η κίνηση Brown των σωματιδίων εξαρτάται κυρίως από το μέγεθος (όσο μικρότερα τα σωματίδια τόσο γρηγορότερη είναι η τυχαία κίνηση Brown) και από το ιξώδες του διαλύτη. Επειδή το ιξώδες ενός υγρού σχετίζεται με τη θερμοκρασία του, οι μετρήσεις της κινητικότητας των σωματιδίων σε ένα διάλυμα πρέπει να γίνονται σε μια γνωστή και σταθερή θερμοκρασία (Brar & Verma, 2011; Nobbmann et al., 2007).

Λόγω της ενισχυτικής και ακυρωτικής συμβολής του κύματος του φωτός στο σωματίδιο, εμφανίζονται σκοτεινές και φωτεινές περιοχές οδηγώντας σε ένα ευδιάκριτο σήμα που αναλύεται. Το διάνυσμα κύματος καθορίζει την κλίμακα μήκους κατά την οποία ανιχνεύονται μοριακές κινήσεις όπως φαίνεται στην Εξίσωση 10:

$$q = 2 \pi n \sin(\theta/2) / \lambda \quad (10)$$

όπου n είναι ο δείκτης διάθλασης (refractive index) του εναιωρήματος, λ το μήκος κύματος της ακτινοβολίας και θ η γωνία σκέδασης.

Η ανάλυση της χρονικής εξάρτησης της διακύμανσης/συσχέτισης του μοτίβου σκέδασης μπορεί επομένως να αποδώσει τον συντελεστή διάχυσης των σωματιδίων D . Μέσω της εξίσωσης Stokes-Einstein, μπορεί να υπολογιστεί η υδροδυναμική διάμετρος των σωματιδίων D_h . Η διάμετρος που μετριέται μέσω της τεχνικής DLS ονομάζεται υδροδυναμική διάμετρος και είναι η διάμετρος μιας ιδεατής σφαίρας που έχει τον ίδιο συντελεστή διάχυσης με το σωματίδιο και δίνεται από τον ακόλουθο τύπο (Εξ. 11):

$$D = \frac{K T}{3 \pi \eta D_h} \quad (11)$$

D_h = υδροδυναμική διάμετρος (hydrodynamic diameter), K = η σταθερά Boltzmann ($1.38 \times 10^{-23} \text{N m K}^{-1}$), η = το ιξώδες του διαλύτη (N s m^{-2}), D = συντελεστής διάχυσης (diffusion coefficient) ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$), T = απόλυτη θερμοκρασία (absolute temperature) (K).

Οι κύριοι παράμετροι που επηρεάζουν τις μετρήσεις μέσω DLS, είναι η θερμοκρασία (όσο πιο ψηλή είναι η θερμοκρασία τόσο γρηγορότερα κινούνται τα σωματίδια), ο δείκτης διάθλασης, το ιξώδες και το μέγεθος των σωματιδίων (όσο μεγαλύτερο το μέγεθος και το ιξώδες του δείγματος τόσο πιο αργή είναι η κίνησή τους).

Κεφάλαιο 3. Δημιουργία νανο-σωματιδίων αμύλου με χρήση επεξεργασίας ομογενοποίησης υψηλής πίεσης

3.1. Εισαγωγή

Ως βιοπολυμερή ορίζονται τα μακρομόρια (πολυμερή) που παράγονται από φυσικές πηγές και ο όρος βιοπολυμερές προέρχεται από τις ελληνικές λέξεις βίο και πολυμερές, όπου δηλώνουν το φυσικό καθώς βιοσυντίθενται από ζωντανούς οργανισμούς. Τα μακρομόρια της αναφερόμενης κατηγορία που αποτελούνται από πολλές επαναλαμβανόμενες μονάδες αναφέρονται ως βιοπολυμερή (Ezeoha & Ezenwanne, 2013). Το άμυλο είναι ένα από τα πιο άφθονα βιοπολυμερή στη φύση, το οποίο τυπικά βρίσκεται στους αμυλοπλάστες των σπόρων φυτών και απομονώνεται υπό μορφή κόκκων (Burrell, 2003; H. Y. Kim et al., 2015). Οι κόκκοι αμύλου αποτελούνται από δύο τύπους γλυκάνης, την αμυλόζη και την αμυλοπηκτίνη, σε διαφορετικές αναλογίες ανάλογα με τη βοτανική τους προέλευση (Smith, 2001; Tester et al., 2004a)

Ένα πολύ σημαντικό χαρακτηριστικό γνώρισμα των κόκκων είναι η κρυσταλλικότητα. Η ιδιότητα της απορρέει από το γεγονός ότι οι αλυσίδες της αμυλοπηκτίνης μπορούν να συνδέονται μεταξύ τους και να δημιουργούν πολύ καλά “πακεταρισμένες” δομές, ενώ το άμορφο στοιχείο αποτυπώνεται κυρίως στις όχι καλά οργανωμένες δομές της αμυλόζης και στα σημεία διακλάδωσης της αμυλοπηκτίνης (Copeland et al., 2009; Tang et al., 2006). Διατροφικά, ταξινομείται σύμφωνα με τον ρυθμό που πέπτεται. Χαρακτηριστικά, τα κλάσματα αμύλου ορίζονται ως ταχέως εύπεπτα (Rapidly digestive starch, RDS), βραδέως εύπεπτα (Slowly digestive starch, SDS) και ανθεκτικά στη πέψη (Resistant starch, RS) (Hans N. Englyst et al., 1992b)

Ως ανθεκτικό άμυλο ορίζεται το κλάσμα αμύλου που δεν απορροφάται ούτε πέπτεται στο λεπτό έντερο από τις αμυλάσες αλλά αντ' αυτού μπορεί και μεταφέρεται ανέπαφο στο παχύ έντερο όπου ζυμώνεται από τα εντερικά βακτήρια (H. N. Englyst & Cummings, 1985). Η εν λόγω ιδιότητα, προσδιορίζει το ανθεκτικό άμυλο ως μία ζυμώσιμη μορφή ίνας, και η δημοτικότητά του τα τελευταία χρόνια ως ένα προϊόν με υψηλή διατροφική αξία, όπου μπορεί να θεωρηθεί και ως πρεβιοτικό (Fuentes-Zaragoza et al., 2011; Keenan et al., 2015; Zaman & Sarbini, 2015). Μια ειδική κατηγορία ανθεκτικού αμύλου, το ανθεκτικό άμυλο τύπου 2 (RS2), συνήθως αναφέρεται ως άμυλο με υψηλή περιεκτικότητα σε αμυλόζη (High Amylose, HA), έχει ισχυρισμό υγείας από την Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA)

λόγω της επίδρασής του, στη διατήρηση των φυσιολογικών επιπέδων γλυκόζης στο αίμα (Agostoni et al., 2011)

Το άμυλο στη φυσική του μορφή είναι ένα υδρόφιλο μόριο το οποίο όμως είναι αδιάλυτο στο νερό λόγω του μεγάλου του μεγέθους. Για να διασφαλιστεί ότι το φυσικό άμυλο δύναται να χρησιμοποιηθεί σε βιομηχανικές εφαρμογές, μέσω της δομικής τροποποίησης του, μπορεί αν επιτευχθεί αλλαγή των φυσικών του ιδιοτήτων. Διαφορετικές μέθοδοι τροποποίησης στοχεύουν αντίστοιχα στη μείωση ή αύξηση του βαθμού αναδιάταξης (σχηματισμός υδρογέλης), τον έλεγχο του ποσοστού συναίρεσης, αλλά και στην ενίσχυση της διαύγειας και της υφής των υδρογελών, καθώς και στον σχηματισμό φίλμ (Bemiller, 1997). Επιπλέον, η δομική τροποποίηση χρησιμοποιείται για τον σχηματισμό μη τοξικών νανο-σωματιδίων αμύλου, τα οποία έχουν ευρεία χρήση στον τομέα των τροφίμων καθώς αποτελούν μια φθηνή πρώτη ύλη, με πολύ μικρό μέγεθος, με βελτιωμένες ιδιότητες διαλυτότητας από τα κοινά βιοπολυμερή (R. Singh & Lillard, 2009; Tharanathan, 2007). Συγκεκριμένα, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως υποκαταστάτες λίπους, ως πηκτικά μέσα, ως σταθεροποιητές σε γαλακτώματα, ως υλικά συσκευασίας, καθώς και ως φορείς ενθυλάκωσης λόγω των ιδιοτήτων που δύναται να αποκτήσουν (R. Chang et al., 2020; H. Y. Kim, Han, et al., 2013; Magallanes-Cruz et al., 2017)

Ένα ευρύ φάσμα τεχνολογιών έχει αναπτυχθεί με απώτερο σκοπό την τροποποίηση του αμύλου, για τη βελτιστοποίηση των τελικών εφαρμογών του. Η τροποποίηση του αμύλου κυρίως επιτυγχάνεται με φυσικές ή χημικές μεθόδους, επιτυγχάνοντας με αυτό τον τρόπο διασταυρούμενη σύνδεση των αλυσίδων του (χημική μέθοδος) και τη διόγκωση του με κρύο νερό (φυσική μέθοδος) (Apostolidis, Stoforos, et al., 2023). Οι περιβαλλοντικές ανησυχίες και οι επιπτώσεις τόσο των κλασικών μεθόδων τροποποίησης στον τομέα των τροφίμων όσο και των ενζυματικών μεθόδων όπως η ενζυματική υδρόλυση για τη δημιουργία νανο-σωματιδίων αμύλου, έχουν περιοριστεί (B. Chen et al., 2018). Για τον σχηματισμό νανο-σωματιδίων αμύλου, νέες τεχνολογίες με χρήση μη θερμικών μεθόδων χρησιμοποιούνται ως χρήσιμα “εργαλεία” για τον σκοπό αυτό (Cappato et al., 2018; D. Liu et al., 2009).

Η χρήση φυσικών μεθόδων επεξεργασίας για την τροποποίηση της δομής του αμύλου, οδηγεί στη δημιουργία ενός τελικού προϊόντος με “καθαρή ετικέτα”, καθώς δεν υπάρχουν χημικές ουσίες, κάτι που χαρακτηρίζεται ως πολύ σημαντικό στον τομέα των

τροφίμων. Επιπλέον, οι φυσικές μέθοδοι επεξεργασίας επιλέγονται έναντι άλλων καθώς συνήθως είναι αρκετά απλές και λιγότερο δαπανηρές (Bemiller & Huber, 2015). Οι μη θερμικές φυσικές μέθοδοι επεξεργασίας αποτελούν ένα σημαντικό μηχανισμό για την τροποποίηση του αμύλου, και μεταξύ αυτών, η μηχανική τροποποίηση αποτελεί μια ειδική κατηγορία επεξεργασίας που χρησιμοποιείται σε διαφορετικά πεδία.

Η τροποποίηση του αμύλου με μηχανική επεξεργασία επιτυγχάνεται μέσω διαφορετικών τεχνικών. Χαρακτηριστικά, βιβλιογραφικά έχει αναφερθεί η χρήση συσκευής ρότορα (πτερωτής)-στάτορα (rotor-stator) σύμφωνα με μια πρόσφατη μελέτη (Shahbazi & Majzoobi, 2017), με μικρορευστοποίηση (Augustin et al., 2008; D. Liu et al., 2009), υψηλή πίεση ομογενοποίησης (Leite et al., 2017; Stolt et al., 1999; Bao Wang et al., 2008; Wei et al., 2018; Z. Yang et al., 2013), καθώς και μέσω ομογενοποίησης με υψηλούς ρυθμούς διάτμησης (W. Xia et al., 2019).

Η χρήση της ομογενοποίησης με υψηλές πιέσεις (HPH), χρησιμοποιείται για την αλλαγή των λειτουργικών χαρακτηριστικών του αμύλου (παραγωγή νέων δομών) (Wei et al., 2018). Η εφαρμογή της τεχνικής HPH έχει αναφερθεί κυρίως σε κλάσμα αμύλου από ταχέως εύπεπτο άμυλο. Επιπλέον, αρκετές μελέτες έχουν δώσει έμφαση στην επίδραση της μεθόδου στη ζελατινοποίηση του αμύλου συγκριτικά με την υδρόθερμη διαδικασία, ενώ κάποιες άλλες εστίασαν στη μορφολογία των αμυλόκόκκων και τις δομικές αλλαγές που δύναται να συμβούν (W. Xia et al., 2019). Η τεχνική της ομογενοποίησης HPH δεν έχει ερευνηθεί για την παραγωγή νανο-σωματιδίων από ανθεκτικό άμυλο (RS). Παράλληλα, εξακολουθεί να έχει ενδιαφέρον το πώς η υψηλή πίεση επηρεάζει το σχήμα και το μέγεθος των κόκκων, αφήνοντας ανεπηρέαστες τις λειτουργικές του ιδιότητες ως προς τον ρυθμό πέψης.

Ο στόχος αυτής της μελέτης ήταν η αξιολόγηση της χρήσης της τεχνικής HPH στην παραγωγή νανο-σωματιδίων αμύλου αραβοσίτου με υψηλή αμυλόζη και συγκεκριμένα, η μελέτη επικεντρώθηκε στις αλλαγές του μεγέθους, της δομής, της κρυσταλλικότητας, τη διαλυτότητας και του βαθμού διόγκωσης.

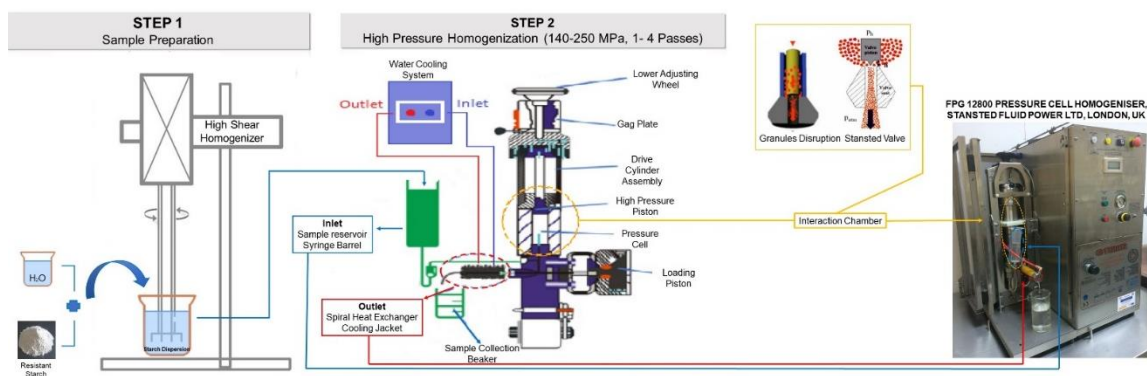
3.2. Υλικά και Μέθοδοι

3.2.1 Υλικά

Το άμυλο που μελετήθηκε ήταν, άμυλο αραβοσίτου με υψηλή περιεκτικότητα σε αμυλόζη της εταιρείας HI-MAIZE®260 της εταιρίας Ingredion EMEA (Manchester, UK). Η περιεκτικότητά σε υγρασία ήταν 12.5% w/w και το ποσοστό αμυλόζης 63.5%.

3.2.2 Επεξεργασία ομογενοποίησης με υψηλές πιέσεις

Εναιώρημα αμύλου αραβοσίτου με υψηλή περιεκτικότητα σε αμυλόζη (2%, w/w, ξηρού αμύλου σε υπερκάθαρο νερό) παρασκευάστηκε με μηχανική ανάδευση (ταχύτητα 1000 rpm) σε σταθερή θερμοκρασία δωματίου ($27 \pm 10^{\circ}\text{C}$) με χρήση μαγνητικού αναδευτήρα RCT Basic S1 Digital Hot Plate Magnetic stirrer (IKA®-Werke GmbH & Co. KG, Germany, Staufen). Η τεχνική πραγματοποιήθηκε για έναν, δύο, τρεις και τέσσερις κύκλους, σε πιέσεις 140 MPa 200 MPa και 250 MPa προκειμένου να μελετηθούν οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ του αριθμού των κύκλων και της πίεσης. Τα εναιωρήματα ομογενοποιήθηκαν με τη χρήση ομογενοποιητή υψηλής πίεσης (FPG 12800 pressure cell homogenizer, STANSTED Co., London, England) συνδεδεμένο με σύστημα ψύξης νερού (20°C), για να μειωθεί η επίδραση της θερμοκρασίας, προκειμένου να προστατευθούν τα δείγματα από σοβαρή ζημιά λόγω θερμότητας. Η τεχνική της ομογενοποίησης παρουσιάζεται διαγραμματικά στο Σχήμα 9. Τέλος, τα επεξεργασμένα δείγματα πριν λυοφιλιωθούν σε σκόνη, για την απομάκρυνση του νερού συμπυκνώθηκαν υπό κενό στους 45°C .



Σχήμα 9. Σχηματική απεικόνιση της τεχνικής Ομογενοποίησης Υψηλής Πίεσης (Apostolidis & Mandala, 2020).

3.2.3. Μέγεθος σωματιδίων

Το μέγεθος των σωματιδίων τόσο των επεξεργασμένων και μη δειγμάτων προσδιορίστηκαν με τη χρήση της τεχνική της δυναμικής σκέδασης φωτός (Dynamic Light Scattering, DLS) χρησιμοποιώντας το μηχάνημα Zetasizer nano Zs (Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, UK). Για την μέτρηση ορίστηκαν οι δείκτες διάθλασης για το νερό και για το αμύλο στα 1.33 και 1.53 αντίστοιχα, ενώ η απορρόφηση των κόκκων αμύλου ορίστηκε στα 0.1. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν αμέσως μετά την επεξεργασία της ομογενοποίησης με χρήση υψηλής πίεσης, ενώ τα δείγματα αναδεύονταν για να αποφευχθούν φαινόμενα συσσωμάτωσης και καθίζησης.. Μια πρόσθετη παράμετρος που υπολογίστηκε ήταν η τιμή του αριθμού απόκλισης (Span number), το οποίο δείχνει το εύρος της κατανομής του μεγέθους. Συγκεκριμένα, η μέτρηση του εύρους κατανομής μεγέθους, υποδεικνύει πόσο απέχει το η τιμή του μεγέθους στο 10% βάσει όγκου από το 90% βάσει όγκου χρησιμοποιώντας το 50% (Εξ. 12).

$$Span = \frac{D_V 0.9 - D_V 0.10}{D_V 0.5} \quad (12)$$

3.2.4. Ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (Scanning Electron Microscopy, SEM)

Για την αξιολόγηση της μορφολογίας των κόκκων αμύλου έγινε χρήση ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης (SEM, JEOL, JSM-6380LV, Tokyo, Japan). Τα λυοφιλιωμένα δείγματα τοποθετήθηκαν σε αγωγήμη ταινία άνθρακα διπλής όψεως, η οποία ήταν προσαρτημένη στο δειγματοφορέα και εν συνεχεία τα δείγματα επικαλύφθηκαν με πλατίνα, υπό κενό με χρήση της συσκευής (Agar Auto Sputter Coater, Agar Scientific, UK). Οι πειραματικές παράμετροι της τάσης ορίστηκαν σε 15 kV και για την καλύτερη οπτική παρατήρηση των δειγμάτων, ελέγχθηκαν διαφορετικές αποστάσεις εργασίας (working distances) 500×, 800×, 1000× και 2000×.

3.2.5. Απομόνωση αμυλόζης

Για την απομάκρυνση και απομόνωση της αμυλόζης από το δείγμα αμύλου, αρχικά σχηματίστηκε εναιώρημα αμύλου αραβοσίτου HA (4% w/v, τελικού όγκου 3 L), αφού τοποθετήθηκε σε μαγνητικό αναδευτήρα, και θερμάνθηκε για 1 ώρα στους 95 °C, υπό συνεχή ανάδευση. Στη συνέχεια το δείγμα φυγοκεντρήθηκε (3000 g για 10 λεπτά), και το διαχωριζόμενο κλάσμα του υπερκείμενου διατηρήθηκε και αντιπροσωπεύει το τμήμα της αμυλόζης, ενώ το κατακρημνισμένο ίζημα στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκε για να ληφθεί το κλάσμα της αμυλοπηκτινής του αμύλου. Για την απομόνωση της αμυλόζης από το κλάσμα του υπερκείμενου, αρχικά προστέθηκε I-Butanol (1:3 v/v) και αναμίχθηκε και το δείγμα αφέθηκε να ηρεμήσει όλη τη νύχτα. Το διάλυμα φυγοκεντρήθηκε στις 3000 rpm και στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε λυοφιλίωση, για να συλλεχθεί η σκόνη που αποτελεί το κλάσμα της αμυλόζης. Για να ληφθεί το κλάσμα αμυλοπηκτινής, το αρχικό ίζημα που καταβυθίστηκε επαναδιαλυτοποιήθηκε, θερμάνθηκε στους 95 °C για μισή ώρα υπό συνεχή ανάδευση και εν συνεχεία φυγοκεντρήθηκε για 10 λεπτά στις 3000rpm. Για τον πλήρη διαχωρισμό του κλάσματος της αμυλοπηκτινής, η προαναφερθείσα διαδικασία διεξήχθη πέντε φορές και στο τελικό ίζημα έγινε λυοφιλίωση.

3.2.6. Προσδιορισμός αμυλόζης

Η περιεκτικότητα σε αμυλόζη υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας την τεχνική διπλού μήκους κύματος δέσμησης ιωδίου (dual wavelength iodine binding) (T. Zhu et al., 2008). Αρχικά, τα υπό μελέτη δείγματα αμύλου ζυγίστηκαν (100 ± 0.1 mg ξηρής

βάσης) και διαλύθηκαν σε 1 mL αιθυλικής αλκοόλης. Στο επόμενο βήμα έγινε προσθήκη 10 mL NaOH (1N) υπό συνεχή ανάδευση του μίγματος για περίπου μία ώρα μέχρις ότου το διάλυμα γίνει διαυγές χωρίς να υπάρχουν σβόλοι. Έπειτα, με χρήση υπερκάθαρου νερού το διάλυμα αραιώθηκε στα 100 mL. Στη συνέχεια 2 mL του διαλύματος αραιώθηκαν περαιτέρω με 50 mL υπερκάθαρου νερού. Για την εξουδετέρωση του δείγματος, χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της τιτλοδότησης μέσω HCl (0.1N) με φαινολοφθαλείνη ως δείκτη. Μετέπειτα, 2 mL διαλύματος ιωδίου 0.2% (2 g KI και 0.2 g I₂ διαλυμένα σε 100 mL υπερκάθαρο νερό) προστέθηκαν. Το τελικό διάλυμα αραιώθηκε στα 100 mL με προσθήκη απεσταγμένου-απιονισμένου νερού και αφέθηκε να αποκτήσει χρώμα για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Τέλος, με τη βοήθεια φασματοφωτόμετρου UV (model Lambda19, Perkin-Elmer, Norwalk, CT, USA) έγινε ο προσδιορισμός της απορρόφησης με σάρωση μέσω του ορατού και κοντά σε υπέρυθρες περιοχές (400–900 nm σε διαστήματα 2 nm) με χρήση κυψελίδας (quartz) με οπτική διαδρομή (εσωτερικό βάθος κυψελίδας) 1 cm. Τελικά, με βάση τα μίγματα αμυλόζης και αμυλοπηκτίνης που απομονώθηκαν έγινε η πρότυπη καμπύλη, όπως περιεγράφηκε παραπάνω. Για τον υπολογισμό της περιεκτικότητας σε αμυλόζη χρησιμοποιήθηκε η Εξίσωση 13.

$$\% \text{ Αμυλόζη} = (\Delta A \text{ ABS} - 0.01526) / 0.0028 \quad (13)$$

όπου το $\Delta A \text{ ABS}$ ($\text{ABS } 620 - \text{ABS } 510$) δείχνει τη διαφορά μεταξύ της τιμής απορρόφησης στα 620 nm και 510 nm.

3.2.7. Περίθλαση ακτίνων X (X-ray Diffraction, XRD)

Η κρυσταλλικότητα τόσο του ακατέργαστου δείγματος αμύλου, όσο και των επεξεργασμένων με ύψηλή πίεση δειγμάτων, υπολογίστηκε μέσω της συσκευής X-ray Diffractometer (D8 Adv., Bruker, Germany), που ρυθμίστηκε να λειτουργεί στα 40 Kv και 40 mA, χρησιμοποιώντας μια ακτινοβολία Cu K α με μήκος κύματος 0.1542 nm ως πηγή ακτίνων X και να λειτουργεί σε γωνία περίθλασης (2θ) 3°–35° με μέγεθος βήματος 0.05°/sec.

Για τον υπολογισμό του ποσοστού κρυσταλλικότητας των δειγμάτων, μια ομαλή καμπύλη συνδεδεμένη με τη γραμμή βάσης (base line) των κορυφών, με χρήση ειδικού λογισμικού προσαρμόστηκε και απεικονίζεται στο τυπικό γράφημα περίθλασης

(Σχήμα 12). Βάση του λογισμικού υπολογίστηκαν η κρυσταλλική και άμορφη περιοχή Bruker Diffrac. Eva software (version 3.1).

3.2.8. Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του λογισμικού SPSS V.25.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) μέσω ανάλυση διακύμανσης (ANOVA), όπου η μέση τιμή και η τυπική απόκλιση καταγράφηκαν.

3.3. Αποτελέσματα-Συζήτηση

3.3.1. Μέγεθος σωματιδίων

Το μέγεθος των ακατέργαστων κόκκων αμύλου αραβοσίτου (Z-average, υγροσκοπική διάμετρος) που χρησιμοποιήθηκαν σε αυτή τη μελέτη ήταν $7.2 \pm 0.8 \mu\text{m}$. Το μέγεθος των κόκκων αντιστοιχούν σε κόκκους αμύλου με Β τύπου κρυσταλλικότητα, και σαν μέγεθος είναι παρόμοια με τις τιμές που ελήφθησαν από προηγούμενη εργασία της ερευνητικής μας ομάδας (X. Zhang et al., 2017). Στον Πίνακα 7 παρουσιάζονται οι τιμές των διαμέτρων σε μορφές ποσοστών επι του συνολικού δείγματος: d (0.1), d (0.5) και d (0.9) καθώς και ο αριθμός του εύρους (span number).

Η κατανομή του μεγέθους των σωματιδίων παρουσίαζε στενή και μοναδική συμπεριφορά σύμφωνα με τις τιμές του εύρους (span number). Ενώ γίνεται λιγότερο ομοιόμορφη καθώς αυξάνεται η πίεση μαζί και ο αριθμός των περασμάτων ομογενοποίησης (3 ή 4 κύκλους ομογενοποίησης) και αντίστοιχα ο χρόνος επεξεργασίας, όπως φαίνεται στον Πίνακα 5.

Προκειμένου να διερευνηθεί πώς η επεξεργασία υψηλής πίεσης επηρεάζει το δείγμα, καθώς και πως επιδρούν τόσο οι επιμέρους κύκλοι επεξεργασίας ομογενοποίησης υψηλής πίεσης στις επιμέρους πιέσεις που εξετάστηκαν χρησιμοποιήθηκε ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα (one-way ANOVA). Κατά τη διεργασία αυτή επιτυγχάνεται μείωση του μεγέθους των σωματιδίων του αμύλου παρουσιάζοντας στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των διαφόρων συνθηκών πίεσης ($p < 0.001$), καθώς επίσης και μεταξύ του αριθμού των κύκλων ομογενοποίησης ($p < 0.05$).

Πίνακας 5. Μέγεθος κόκκων αμύλου αραβοσίτου (διάμετρος) που έχουν υποστεί επεξεργασία σε διαφορετικές συνθήκες ομογενοποίησης (μm) (Apostolidis & Mandala, 2020).

Υψηλή Πίεση (MPa)	Κύκλοι	Z-average (μm)	d (0.9) (μm)	d (0.5) (μm)	d (0.1) (μm)	Span (μm)	
HA starch		7.17±0.82	6.53±0.12	5.47±0.01	4.53±0.15	0.37±0.01	
	1	5.56 ^a ±0.79	6.29±0.06	4.91±0.29	4.13±0.11	0.44±0.04	
	140	2	5.14 ^a ±1.48	5.22±1.54	4.38±1.14	0.61±0.12	1.04±0.28
		3	3.55 ^b ±1.57	3.67±1.29	3.52±1.04	0.12±0.04	1.02±0.20
200	4	3.54 ^b ±1.28	2.81±1.07	2.29±0.70	0.09±0.01	1.17±0.17	
	1	4.27 ^a ±0.65	4.83±1.83	3.68±1.29	0.16±0.09	1.25±0.13	
	2	4.00 ^a ±1.25	3.71±1.04	2.10±0.51	0.10±0.04	1.74±0.40	
	3	2.69 ^b ±0.87	1.91±0.71	1.35±0.34	0.09±0.02	1.31±0.24	
250	4	1.27 ^c ±0.34	1.15±0.35	0.91±0.20	0.04±0.02	1.21±0.22	
	1	1.75 ^a ±0.36	1.56±0.36	1.09±0.29	0.09±0.02	1.53±0.83	
	2	0.90 ^b ±0.20	0.90±0.23	0.90±0.30	0.08±0.05	0.95±0.16	
	3	0.58 ^c ±0.13	0.61±0.12	0.26±0.12	0.07±0.03	2.47±1.48	
	4	0.54 ^c ±0.07	0.41±0.10	0.18±0.07	0.03±0.01	2.41±1.37	

Οι τιμές των παραμέτρους d (0.1), d (0.5) και d (0.9) αναφέρονται στο ποσοστό επί του συνολικού όγκου όπου βρίσκεται το 10%, 50% και 90% αντίστοιχα, των σωματιδίων.

Η τιμή z-average αναφέρεται ως υδροδυναμική διάμετρος.

Τα δείγματα στην ίδια στήλη (z-average) για την ίδια πίεση με διαφορετικά γράμματα διαφέρουν σημαντικά (* $p < 0.05$)

Τα δείγματα σε διαφορετικές πιέσεις και στους ίδιους κύκλους διαφέρουν σημαντικά σε όλες τις περιπτώσεις (** $p < 0.001$)

Επιπλέον, εξετάστηκαν ταυτόχρονα ως δύο ανεξάρτητοι παράγοντες η πίεση και οι κύκλοι ομογενοποίησης προκειμένου να προσδιοριστεί ποιος είχε μεγαλύτερη επίδραση στη μείωση του μεγέθους του αμύλου, χρησιμοποιώντας την ανάλυση διακύμανσης κατά δύο παράγοντες (Two-Way ANOVA).

Ο παράγοντας πίεση είχε μεγαλύτερη επίδραση στη μείωση του μεγέθους των σωματιδίων παρουσιάζοντας στατιστικά σημαντική διαφορά (Πίνακας 6). Η επίδραση της πίεσης ήταν 1.5 φορές μεγαλύτερη από την επίδραση των κύκλων ομογενοποίησης όπως παρατηρείται στον Πίνακα 6 και συγκεκριμένα 1.5 φορά μεγαλύτερη. Συμπερασματικά, ο παράγοντας πίεση είναι πιο αποτελεσματικός ως προς τη μείωση του μεγέθους των κόκκων αμύλου, συγκριτικά με την εφαρμογή πολλών κύκλων ομογενοποίησης σε χαμηλότερες συνθήκες πίεσης.

Πίνακας 6. Η επίδραση της πίεσης, των κύκλων ομογενοποίησης και η αλληλεπίδρασή τους

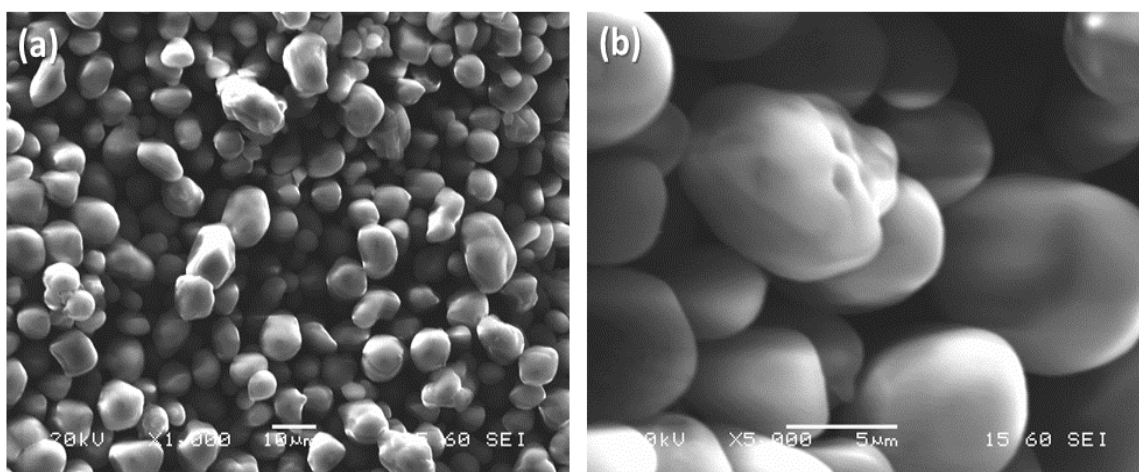
Tests of Between-Subjects Effects						
Dependent Variable: starch granule diameter						
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	314276161.347 ^a	12	26189680.1	31.9	.000	.855
Intercept	878770259.484	1	878770259.5	1070.8	.000	.943
Homogenization Pressure	149423787.801	2	74711893.9	91.0	.000	.737
Homogenization cycles	49132258.726	3	16377419.6	19.95	.000	.479
Homogenization Pressure *	10780267.679	6	1796711.3	2.2	.055	.168
Error	53344531.627	65	820685.1			
Total	1141886944.260	78				
Corrected Total	367620692.973	77				

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

Η χρήση της ομογενοποίησης με χρήση υψηλών πιέσεων ως τεχνική για τη μείωση του μεγέθους των κόκκων αμύλου έχει επιτυχώς χρησιμοποιηθεί σε δείγματα αμύλου από πίτυρο και σε άμυλο αραβόσιτου με υψηλή περιεκτικότητα αμυλόζης. Ο αριθμός των κύκλων επεξεργασίας φάνηκε πως επηρεάζει σημαντικά, όπου 20 περάσματα είχαν ως αποτέλεσμα μείωση του μεγέθους των σωματιδίων (De Bondt et al., 2020; D. Liu et al., 2009). Ωστόσο, τα αποτελέσματα μας συμφωνούν με τα ευρήματα της μελέτης των Wei et al. (2018), όπου παρατηρήθηκε πως η αύξηση της πίεσης της διεργασίας ήταν πιο αποτελεσματική για τη θραύση κηρώδους αμύλου, συγκριτικά με τον αριθμό των κύκλων ομογενοποίησης (Wei et al., 2018). Η αποτελεσματικότητα της μεθόδου μπορεί να διαφέρει ανάλογα τη δομή του αμύλου. Άμυλα με κρυσταλλικότητα τύπου Β χαρακτηρίζονται ως ασυμπιεστά, λόγω της κρυσταλλικής του δομής, και είναι πιο ανθεκτικά σε διάσπαση υπό πίεση, συγκριτικά με άμυλα τύπου Α (Oh et al., 2008; Y. Hibi et al., 1993).

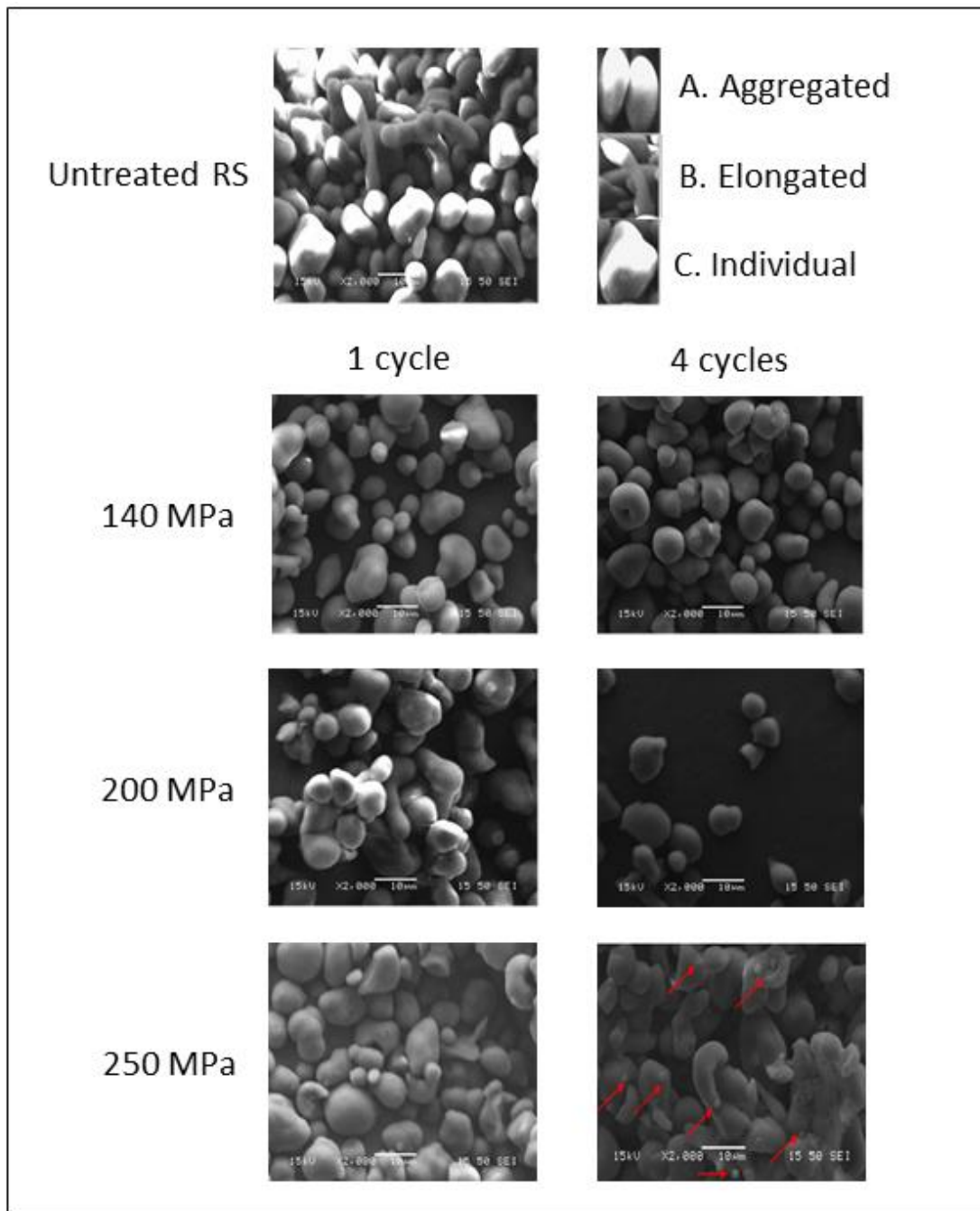
3.3.2. Μορφολογία κόκκων αμύλου

Το μέγεθος των κόκκων που υπολογίστηκε με την τεχνική του DLS χαρακτηρίστηκε και μέσω της ηλεκτρονικής μικροσκοπίας SEM όπως φαίνεται στο Σχήμα 10 για το ακατέργαστο δείγμα. Οι ακατέργαστοι κόκκοι αμύλου παρουσιάζουν σημαντική ετερογένεια καθώς αποτελούνται από τρεις διαφορετικούς τύπους κόκκων αμύλου: μεμονωμένους (σφαιρικού και ακανόνιστου-πολύγωνου σχήματος), συσσωματώματα και επιμήκεις, όπως διαφαίνεται στο Σχήμα 11. Επίσης, όσον αφορά στο σχήμα των κόκκων αμύλου με υψηλή περιεκτικότητα σε αμυλόζη, τα σωματίδια κατηγοριοποιήθηκαν σύμφωνα και με τα αποτελέσματα μιας επιστημονικής έρευνας (C. Cai et al., 2014). Μορφολογικά, οι κόκκοι παρουσιάζουν τραχιές, σφαιρικές επιφάνειες, χωρίς να έχουν πόρους.



Σχήμα 10. Μορφολογία κόκκων αμύλου με χρήση ηλεκτρονικής μικροσκοπίας (SEM): (a) (1000 x) μεγέθυνση, (b) (5000 x) μεγέθυνση.

Για τα δείγματα που επεξεργάστηκαν με υψηλή πίεση ομογενοποίησης, μόνο τα δείγματα που λαμβάνονται μετά από έναν και τέσσερις κύκλους ομογενοποίησης επιλέχθηκαν να παρουσιαστούν, ως οι ακραίες τιμές. Από το Σχήμα 11 διαφαίνεται πως η αύξηση της πίεσης και ο αριθμός των κύκλων, έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό μικρότερων σωματιδίων, οι οποίοι αποτελούνται από πόρους, βαθιές σχισμές, συσσωματώματα καθώς και από κατεστραμμένους κόκκους. Η αύξηση της πίεσης ομογενοποίησης οδήγησε στη μείωση του μεγέθους και στην αλλαγή της μορφολογίας των κόκκων (Tu et al., 2013; Z. Yang et al., 2013).

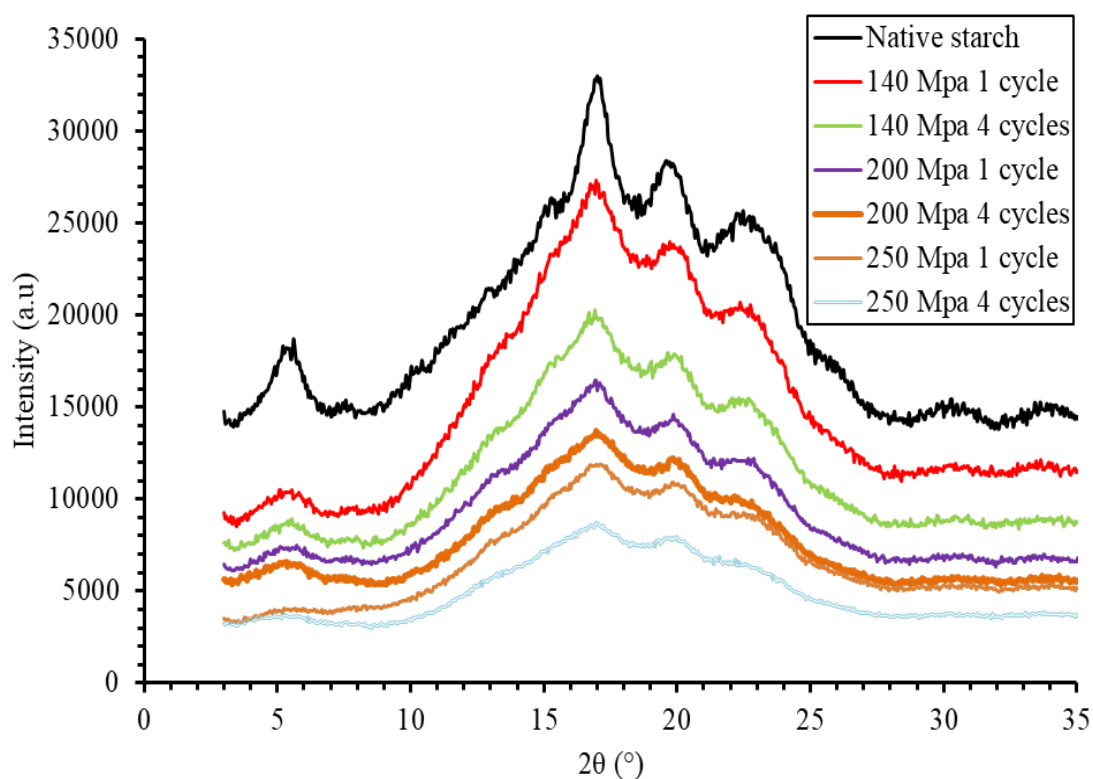


Σχήμα 11. Μορφολογία των κόκκων αμύλου υψηλής αμυλόζης (RS) υπό διαφορετικές συνθήκες επεξεργασίας με χρήση ηλεκτρονικού μικροσκοπίου (SEM) (2000 x) μεγέθυνση. Τα κόκκινα βέλη στο διάγραμμα υποδεικνύουν τα μικρότερα νανο-σωματίδια.

3.3.3. Κρυσταλλικότητα δειγμάτων

Η κρυσταλλικότητα των δειγμάτων υπολογίστηκε ποσοτικά με χρήση της τεχνικής της περίθλασης ακτίνων X (X-ray Diffraction, XRD) και διαγραμματικά παρουσιάζονται στο Σχήμα 12 τα μοτίβα περίθλασης (diffraction patterns) ακτίνων X των κόκκων αμύλου σε διαφορετικές συνθήκες επεξεργασίας.

Οι κύριες κορυφές περίθλασης (2θ) του ακατέργαστου δείγματος στις 5.4° , 17° , 20° και 23° , δείχνουν ότι η δομή του αραβοσίτου με υψηλή αμυλόζη είναι τύπου B, σύμφωνα και με μια ακόμη επιστημονική εργασία (D. Liu et al., 2009) όπου η κύρια κορυφή για δείγμα αμύλου με υψηλό ποσοστό αμυλόζης και κρυσταλλικότητας τύπου B ήταν στους 17° με κάποιες επιπλέον κορυφές σε τιμές (2θ) περίπου στις 20° , 22° και 24° . Επιπροσθέτως, σε όλες τις συνθήκες επεξεργασίας οι κύριες κορυφές των δειγμάτων παρέμειναν ίδιες, γεγονός που υποδηλώνει ότι η δομή του αμύλου παρέμενε B τύπου αλλά με μειωμένη κρυσταλλικότητα (Σχήμα 12). Λόγω της δομής του (πυκνά μοριακά μοτίβα), το άμυλο με υψηλή περιεκτικότητα σε αμυλόζη (RS) κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας τείνει να διατηρεί τη δομή του που είναι ανθεκτική στην πέψη της αμυλάσης, διατηρώντας τα σημαντικά οφέλη για την υγεία (H. Li et al., 2019).



Σχήμα 12. Μοτίβα περίθλασης ακτίνων X, ακατέργαστου και επεξεργασμένων δειγμάτων με υψηλή πίεση ομογενοποίησης.

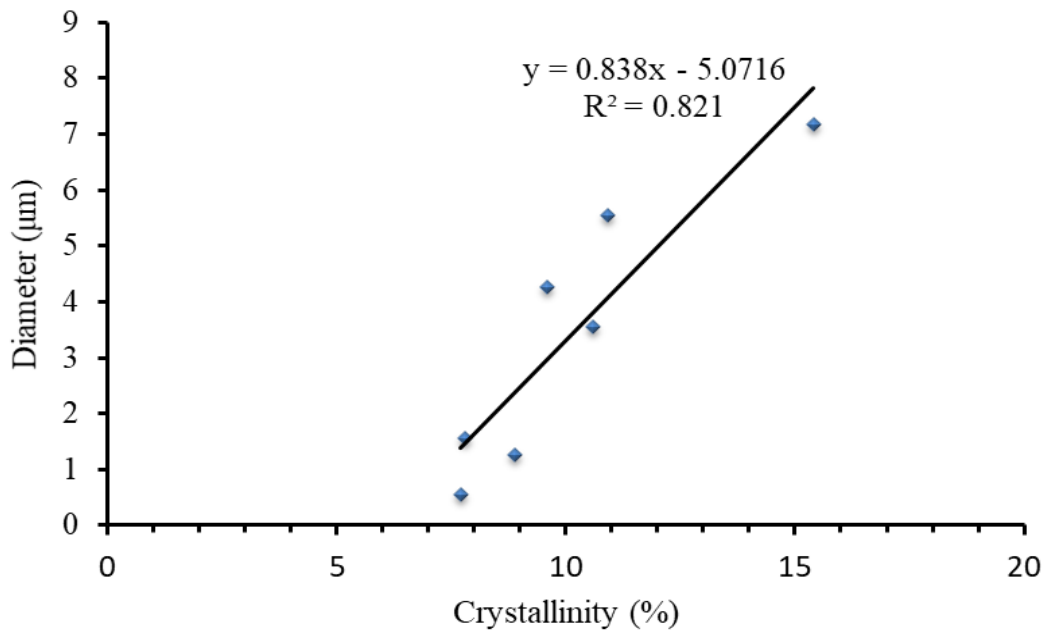
Η κρυσταλλικότητα του ακατέργαστου δείγματος υπολογίστηκε 15.4%, η τιμή της οποίας ήταν σύμφωνη με την προηγούμενη έρευνα των Copeland et al. (2009) όπου η κρυσταλλικότητα κόκκων αμύλου με υψηλή αμυλόζη (HA) βρέθηκε περίπου 15% (Copeland et al., 2009). Οι συνθήκες επεξεργασίας στις οποίες το δείγμα ομογενοποιήθηκε έχουν σημαντική επίδραση στην κρυσταλλική δομή του. Πιο συγκεκριμένα, από τα αποτελέσματα του Πίνακα 7, διαφαίνεται ότι η αύξηση της πίεσης έχει ως συνέπεια τη μείωση της κρυσταλλικότητας των δειγμάτων.

Πίνακας 7. Κρυσταλλικότητα και ποσοστό αμυλόζης

Treatment		Crystallinity (%)	Amylose content (% w/w)
Pressure (MPa)	Number of cycles		
Untreated starch		15.4	59.50
140	1	10.9	59.20
	4	10.6	67.28
200	1	9.6	59.70
	4	8.9	75.25
250	1	7.8	62.99
	4	7.7	87.04

Η καταστροφή της δομής της αμυλοπηκτίνης που προκαλείται από την αύξηση της πίεσης προκάλεσε μείωση της κρυσταλλικότητας των κόκκων αμύλου (Cheetham & Tao, 1998). Η μείωση της κρυσταλλικότητας με την αύξηση της πίεσης ομογενοποίησης, παρατηρήθηκε λόγω αύξησης της ελεύθερης αμυλόζης από την κατεργασία.

Προκειμένου να διερευνηθεί η ύπαρξη ή μη στατιστικά σημαντικής γραμμικής συσχέτισης μεταξύ του μεγέθους των σωματιδίων (διάμετρος) και της κρυσταλλικότητας, χρησιμοποιήθηκε ο συντελεστής συσχέτισης Pearson (Pearson's Correlation Coefficient, r), και διαπιστώθηκε, όπως φαίνεται στο Σχήμα 13, ότι υπάρχει μια ισχυρή θετική γραμμική συσχέτιση μεταξύ τους ($r = 0.906$ και $p \text{ value} < 0.01$).



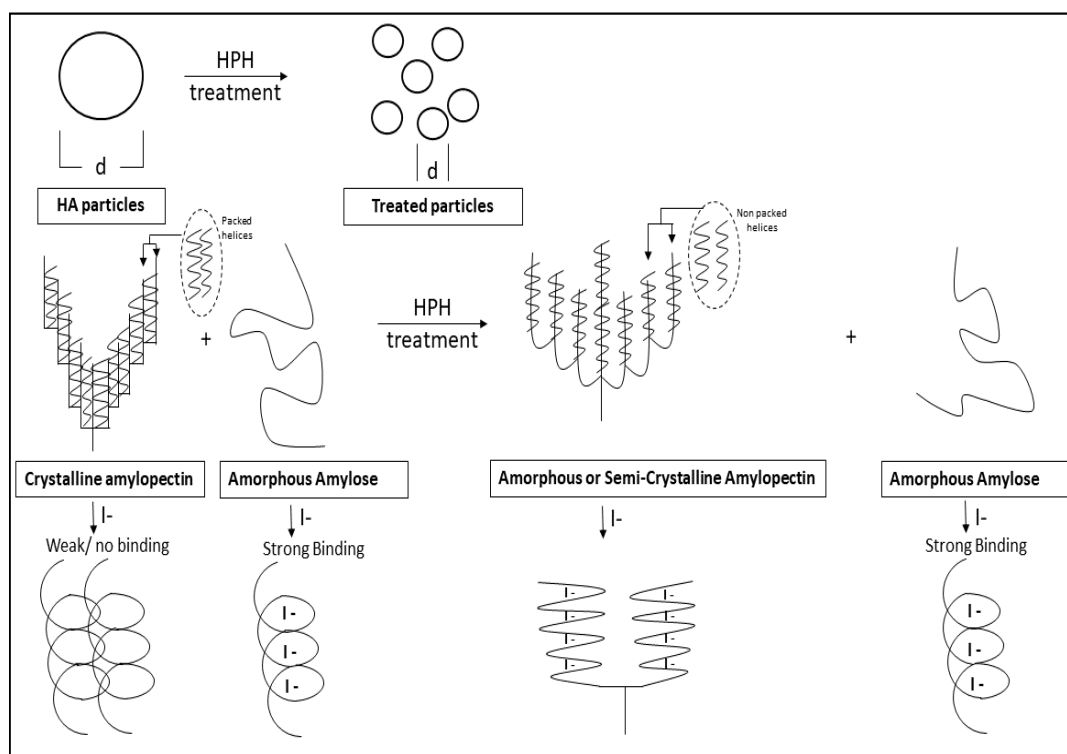
Σχήμα 13. Συσχέτιση κρυσταλλικότητας και μεγέθους σωματιδίων (Apostolidis & Mandala, 2020).

3.3.4. Περιεκτικότητα αμυλόζης

Για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας της αμυλόζης γίνεται χρήση του ιωδίου καθώς μπορεί να αλληλοεπιδρά μαζί του παράγοντας, όπου το ιώδιο προσδένεται στο κέντρο της έλικας της αμυλόζης. Επίσης το ιώδιο σε χαμηλότερο βαθμό μπορεί να προσδεθεί με τις μακριές αλυσίδες της αμυλοπηκτίνης (Σχήμα 14) (Rundle & French, 1943). Οι κρυσταλλικές περιοχές των κόκκων αμύλου οφείλονται στις καλά πακεταρισμένες διακλαδισμένες περιοχές της αμυλοπηκτίνης, ενώ η ελεύθερη αμυλόζη και τα σημεία διακλάδωσης της αμυλοπηκτίνης βρίσκονται στην άμορφη περιοχή.

Η μέθοδος που χρησιμοποιήσαμε για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε αμυλόζη ήταν μέσω ανίχνευσης διπλού μήκους κύματος (dual wavelength) της δέσμησης ιωδίου αμυλόζης, το οποίο αποδίδει μπλε χρωματισμό (T. Zhu et al., 2008). Χαρακτηριστικά, χρησιμοποιήθηκε φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώδους-ορατού (UV-Vis) για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε αμυλόζη. Σύμφωνα με το πειραματικό πρωτόκολλο, αρχικά τα δείγματα ζελατινοποιούνται προκειμένου να διαχωριστεί η αμυλόζη από τη σταθερή κατάσταση που βρίσκεται δομικά στη μορφή

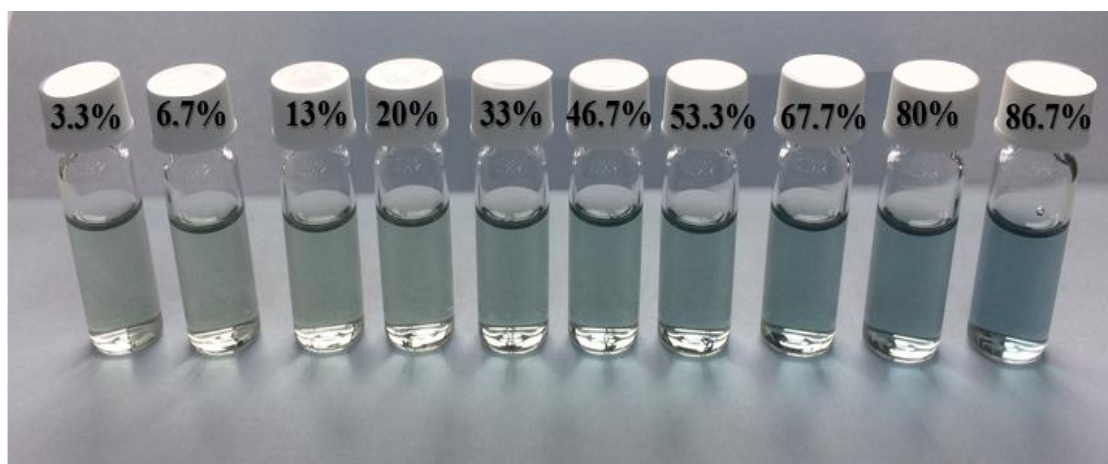
του κόκκου με τη μέθοδο της “κρύας ζελατινοποίησης” (cold gelatinization). Η κρυσταλλική περιοχή του αμύλου διογκώνεται κατά τη διάρκεια της αλκαλικής επεξεργασίας (alkali treatment) με NaOH (κρύα ζελατινοποίηση), η οποία διευκολύνει την απομάκρυνση (leaching) αμυλόζης από τον κόκκο κατά τη διαδικασία της ζελατινοποίησης (Karim et al., 2008; S. Wang & Copeland, 2012).



Σχήμα 14. Σχηματική απεικόνιση επεξεργασμένου κόκκου αμύλου και η αλληλεπίδρασή του με το ιώδιο.

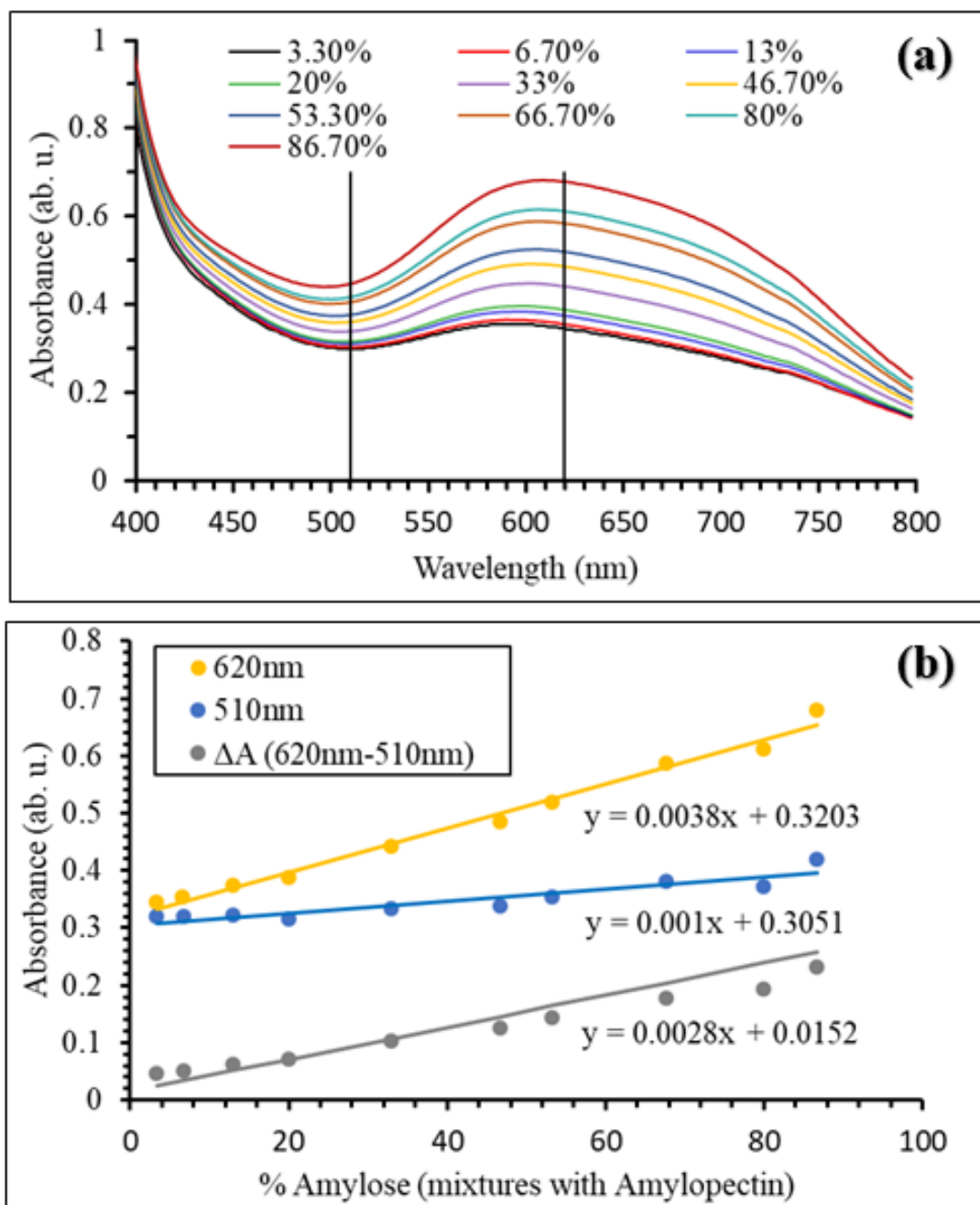
Αρχικά, για τον υπολογισμό της αμυλόζης κατασκευάστηκε μια πρότυπη καμπύλη με διαφορετικές περιεκτικότητες σε αμυλόζη, η οποία είχε πρώτα απομονωθεί από το αρχικό μας δείγμα. Τα δύο κλάσματα (αμυλόζης και αμυλοπηκτίνης) αναμίχθηκαν για τον σχηματισμό διαφορετικών συγκεντρώσεων 3.3%, 6.7%, 13%, 20%, 33%, 46.7%, 53.3%, 67.7%, 80%, 86.7% (w/w ξηρής βάσης) δειγμάτων αμυλόζης. Η απορρόφηση των διαλυμάτων στην ορατή περιοχή, όπου η αμυλόζη-ιώδιο απορροφά το φως, μετρήθηκε με τη βοήθεια φασματόφωτομέτρου όπου έγινε μέτρηση στο δείγματα από τα 400 nm έως 800 nm.

Όπως φαίνεται στο Σχήμα 15, όσο μεγαλύτερη είναι η περιεκτικότητα σε αμυλόζη, τόσο πιο έντονο είναι το χρώμα, προσφέροντας ένα ποιοτικό εργαλείο για την ανίχνευση της αμυλόζης σε δείγματα αμύλου. Από το Σχήμα 16 (διαφορετικές αναλογίες αμυλόζης) διαφαίνεται ότι αυξάνοντας τη συγκέντρωση αμυλόζης, τα μήκη κύματος του συμπλόκου αμυλόζης-ιωδίου και οι τιμές απορρόφησης αυξάνονται. Εν συνεχεία, η μέθοδος που χρησιμοποιήσαμε για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε αμυλόζη ήταν μέσω ανίχνευσης διπλού μήκους κύματος (dual wavelength) σε τιμές απορρόφησης στα 620 nm και 510 nm (Σχήμα 16 (a)), όπου χρησιμοποιήθηκαν για τη δημιουργία μιας πρότυπης καμπύλης (standard curve) (Σχήμα 16 (b)).



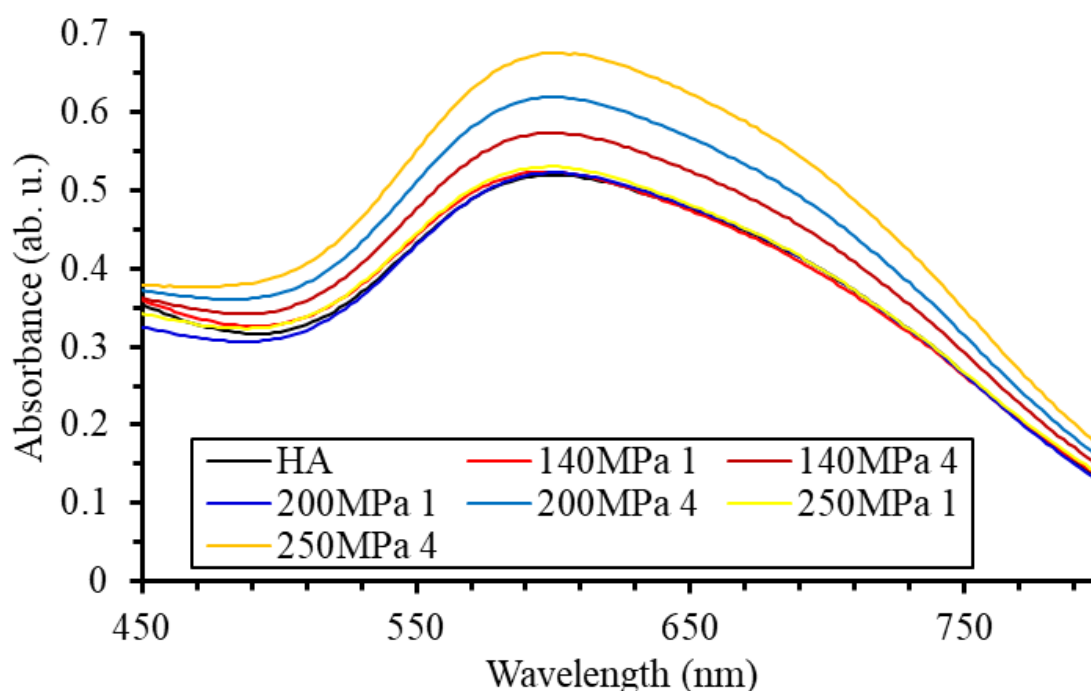
Σχήμα 15. Δείγματα αμυλόζης (%) (μίγματα με αμυλοπηκτίνη). Από αριστερά προς τα δεξιά έχουμε την αύξηση της περιεκτικότητας σε αμυλόζη και την αύξηση του μπλε χρώματος.

Από την πρότυπη καμπύλη προκύπτει η Εξίσωση 13, που δείχνει πώς τα καταγεγραμμένα δεδομένα μπορούν να προσαρμοστούν γραμμικά και που χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό της περιεκτικότητας σε αμυλόζη των επεξεργασμένων δειγμάτων.



Σχήμα 16. (a) Φάσμα απορρόφησης υπεριώδους-ορατού, της δέσμευσης ιωδίου σε διαφορετικές περιεκτικότητες αμυλόζης, (b) πρότυπη καμπύλη για τη μέτρηση της περιεκτικότητας σε αμυλόζη χρησιμοποιώντας διπλά μήκη κύματος 620 nm και 510 nm.

Στο Σχήμα 17 παρουσιάζονται τα φάσματα απορρόφησης των δειγμάτων αμύλου που έχουν υποστεί επεξεργασία με υψηλή πίεση. Η εξίσωση 13 χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό της απορρόφησης των συμπλοκών αμυλόζης-ιωδίου σε κάθε επεξεργασμένο δείγμα χρησιμοποιώντας τις τιμές απορρόφησης στα 620 nm και 510 nm. Η περιεκτικότητα σε αμυλόζη του μη επεξεργασμένου δείγματος υπολογίστηκε 59.5%, που είναι πολύ κοντά στο θεωρητικό της ποσοστό (64.37%), επικυρώνοντας τη χρήση του πρωτοκόλλου δέσμησης ιωδίου ως ποιοτικού εργαλείου για την εξέταση της επίδρασης της επεξεργασίας στα διαφορετικά δείγματα (X. Zhang et al., 2017).



Σχήμα 17. Φάσμα απορρόφησης υπεριώδους-ορατού, δέσμησης συμπλόκου ιωδίου-αμυλόζης επεξεργασμένων δειγμάτων αμύλου με υψηλή πίεση ομογενοποίησης (Apostolidis & Mandala, 2020).

Η περιεκτικότητα σε αμυλόζη (επίσης γνωστή ως η συγκέντρωση του συμπλόκου αμυλόζης-ιωδίου) των επεξεργασμένων αμύλων παρουσιάζονται στον Πίνακα 7 με βάση τα καταγεγραμμένα φάσματα απορρόφησης των διαλυμάτων. Αυτό που παρατηρείται είναι ότι στα δείγματα που επεξεργάστηκαν με υψηλότερη πίεση και περισσότερους κύκλους ομογενοποίησης, παρατηρήθηκε πως είχαν περισσότερο ποσοστό αμυλόζης, υποδεικνύοντας ότι σε μικρότερους κόκκους η κρυσταλλική περιοχή είναι πιο αδύναμη και έτσι μπορεί να υπάρχουν περισσότερες αλυσίδες αμυλόζης να απελευθερωθούν (leach) ώστε να αλληλοεπιδράσουν με το ιώδιο.

Κατά τη διεργασία της ομογενοποίησης (HPH), μπορεί να συμβεί αναδιοργάνωση (reorganization) της αμυλόζης και της αμυλοπηκτίνης στις άμορφες και κρυσταλλικές περιοχές του κόκκου με αποτέλεσμα την απελευθέρωση αμυλόζης. Επίσης, η υψηλότερη τιμή της συγκέντρωσης αμυλόζη-ιώδιου μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι η αμυλόζη, αρχικά προσκολλήθηκε σε διακλαδισμένες αλυσίδες αμυλοπηκτίνης, όπου μπορεί να απελευθερωθεί από τον κόκκο με συνέπεια περισσότερες αλυσίδες αμυλόζης είναι διαθέσιμες να αλληλοεπιδράσουν με το ιώδιο, σε επαναλαμβανόμενους κύκλους και υπό την αύξηση της πίεσης. Σύμφωνα με τα ευρήματά μας, και οι δύο παράμετροι (πίεση και κύκλοι) είχαν επίδραση στην περιεκτικότητα σε αμυλόζη. Ωστόσο, μεγαλύτερη ήταν η επίδραση στα επεξεργασμένα δείγματά μας όταν η πίεση και οι κύκλοι εφαρμόστηκαν σε μεγαλύτερες τιμές (Πίνακας 7).

Μια νέα δομική περιοχή της απελευθερωμένης αμυλόζης μπορεί να έχει αναπτυχθεί ως αποτέλεσμα της επαναλαμβανόμενης επεξεργασίας. Τα ευρήματά από τη μελέτη της κρυσταλλογραφίας (XRD) και το μέγεθος σωματιδίων του αμύλου που υπολογίστηκε μέσω της τεχνικής DLS, χρησιμοποιηθήκαν για την ερμηνεία της αύξησης της συγκέντρωσης της αμυλόζης που ανιχνεύθηκε από την τεχνική της φασματοφωτομετρίας.

3.4. Συμπεράσματα

Η φυσική, μη θερμική μηχανική επεξεργασία της ομογενοποίησης με υψηλές πιέσεις χαρακτηρίζεται ως μια αποτελεσματική μέθοδος για τη μείωση του μεγέθους των σωματιδίων αμύλου αραβοσίτου με υψηλή περιεκτικότητα σε αμυλόζη από περίπου 7.5 μm (ακατέργαστο δείγμα) σε 500 nm. Σε πιέσεις της τάξης των 250 MPa, παρατηρήθηκε δομική διάσπαση της αμυλοπηκτίνης και κατεστραμμένοι αμυλόκόκκοι. Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκε καμία μεταβολή στην κρυσταλλικότητά. Επιπροσθέτως, χρησιμοποιήθηκαν συσχετίσεις μεταξύ του μεγέθους των κόκκων, της κρυσταλλικότητας και της περιεκτικότητας σε αμυλόζη, υποδεικνύοντας ότι μια σειρά επιστημονικών τεχνικών μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον έλεγχο τυχόν αλλαγών στο μέγεθος των σωματιδίων. Μέσω αυτής της εργασίας, μελετήθηκε η ικανότητα παραγωγής νανο-σωματιδίων μέσω της φυσικής μεθόδου ομογενοποίησης για χρήση σε διάφορες εφαρμογές.

Κεφάλαιο 4. Δημιουργία νανο-σωματιδίων ανθεκτικού αμύλου χρησιμοποιώντας μια φυσική διαδικασία τριών σταδίων

4.1. Εισαγωγή

Το άμυλο αποτελείται από δύο διαφορετικά μόρια γλυκόζης, την αμυλόζη και την αμυλοπηκτίνη, σε διαφορετικές αναλογίες ανάλογα με τη βοτανική προέλευση. Ο αμυλόκοκκος συντίθεται από την αμυλοπηκτίνη, ένα διακλαδισμένο πολυμερές με α -(1,4)-γλυκοζιτικούς δεσμούς στην αλυσίδα γλυκάνης και α -(1,6)-γλυκοζιτικούς δεσμούς στα σημεία διακλάδωσης, και την αμυλόζη, ένα γραμμικό πολυμερές που συνδέεται με α -(1,4)-γλυκοζιτικό δεσμό (Junejo et al., 2022; Vamadevan & Bertoft, 2015; Zailani et al., 2023). Σε αυτά τα δύο δομικά συστατικά προσδίδεται η ημικρυσταλλική συμπεριφορά του κόκκου (Lawal, 2019; Yuzi Wang et al., 2023; Zhong et al., 2020). Οι κόκκοι αμύλου περιλαμβάνουν ημικρυσταλλικούς δακτυλίους, όπου εναλλάσσονται άμορφα και κρυσταλλικά φυλλώδεις δομές (lamella), και τελικά η κρυσταλλικότητα του αποδίδεται κυρίως στη συσσωμάτωση των αλυσίδων αμυλοπηκτίνης (Angellier et al., 2005; Bertoft, 2017; Copeland et al., 2009; Han et al., 2023; Hernandez-Hernandez et al., 2022; Yuzi Wang et al., 2023).

Διατροφικά, το άμυλο χωρίζεται σε τρεις κατηγορίες σύμφωνα με τον ρυθμό πέψης: σε ταχέως εύπεπτο (RDS), βραδέως εύπεπτο (SDS) και ανθεκτικό άμυλο (RS) (Hans N. Englyst et al., 1982, 1992a). Το ανθεκτικό άμυλο λόγω των ευεργετικών του δράσεων (ισχυρισμός υγείας από την EFSA) αποτελεί ένα πολύ σημαντικό συστατικό για τη βιομηχανία τροφίμων. Η αναλογία αμυλόζης/αμυλοπηκτίνης, διαμορφώνει την τελική δομή (κρυσταλλικότητα, σχήμα, μέγεθος) και μορφολογία του κόκκου, που είναι παράγοντες που επηρεάζουν τις θερμικές του ιδιότητες, τη διαλυτότητα και την τελική συμπεριφορά του ως προς του πέψη (Benmoussa et al., 2007; Chung et al., 2011; Yuzi Wang et al., 2023; L. J. Zhu et al., 2011). Στοχευμένες μελέτες αποσκοπούν στην προσαρμογή όλων αυτών των παραμέτρων που δύναται να επηρεάζουν τον ρυθμό της πέψης των κόκκων αμύλου, για τη βέλτιστη δυνατή χρήση υλικών με ενισχυμένες ιδιότητες.

Ως μια φυσική ανανεώσιμη πηγή με χαμηλό κόστος, το άμυλο βρίσκει πολλές εφαρμογές στη βιομηχανία τροφίμων ως πηκτικό μέσο, σταθεροποιητής παράγοντας

υφής, ενώ για την πλήρη αξιοποίηση του διαφορετικές μέθοδοι επεξεργασίας έχουν επιτυχώς εφαρμοστεί όπως φυσικές, χημικές, γενετικές και ενζυμικές (Apostolidis, Stergiou, et al., 2023; Q. Lin et al., 2022; X. Lu, Wang, et al., 2018; Torres & De-la-Torre, 2022; Troncoso & Torres, 2020). Η φυσική μέθοδος επεξεργασίας, είναι μια διαδεδομένη απλή και ασφαλής τεχνική, όπου λόγω της βιωσιμότητάς της είναι μια φιλική προς το περιβάλλον μέθοδος για τη δημιουργία καινοτόμων υλικών αμύλου σε μέγεθος νάνο. Πιο συγκεκριμένα, αμυλούχα συστήματα μπορούν να επεξεργαστούν με φυσικές μεθόδους, για τον σχηματισμό δομών με την κατάλληλη διαλυτότητα και μέγεθος ώστε να χρησιμοποιηθούν ως σταθεροποιητές γαλακτωμάτων τύπου Pickering (Ko & Kim, 2021; Timgren et al., 2013; F. Zhu, 2019).

Πληθώρα φυσικών τεχνικών, όπως ακτινοβόληση (gamma, cold plasma), νανοκαταβύθιση, ηλεκτρονηματοποίηση, χρήση εξώθησης, ομογενοποίηση με υψηλές πιέσεις, υπέρηχοι και άλεση, μπορούν να εφαρμοστούν για τη δημιουργία νανοσωματιδίων (Acevedo-Guevara et al., 2018; Apostolidis & Mandala, 2020; Dong et al., 2021; Fathi et al., 2014; Huang et al., 2022; Q. Lin et al., 2022). Λόγω της απλότητας της σύνθεσης, του χαμηλού κόστους, οι νανο-δομές χαρακτηρίζονται ως “φιλικές” προς το περιβάλλον και βρίσκουν ένα ευρύ φάσμα εφαρμογών σε συστήματα τροφίμων καθώς και ως δείκτες φθορισμού και ανιχνευτές για βιολογικές εφαρμογές ή για την ανίχνευση χημικών σε συσκευασίες τροφίμων (Chao et al., 2020; Chavan et al., 2022; Guida et al., 2021; Xinghua Liu et al., 2018; Nieto-Suaza et al., 2019; Shibata et al., 2022; Yan et al., 2015).

Στην παρούσα μελέτη, τη φυσική κατεργασία ζελατινοποίησης ακολούθησε η νανοκαταβύθιση και η τελική κατεργασία με υπέρηχους. Κατά το πρώτο στάδιο το ανθεκτικό άμυλο επεξεργάστηκε μέσω υδρόθερμης ζελατινοποίησης, σε περίσσια νερού με χρήση αυτόκλειστου αντιδραστήρα. Η θερμοκρασία και τη διάρκεια της επεξεργασίας, ενισχύει την υδατοδιαλυτότητα και προάγει τη ζελατινοποίηση του αμύλου (Cheng et al., 2022; Dundar & Gocmen, 2013; Ratnayake & Jackson, 2006). Σε ανθεκτικό άμυλο η χρήση υψηλής θερμοκρασίας αυξάνει τον βαθμό διόγκωσης ενώ επίσης σε άμυλο από αρακά δημιουργεί τον σχηματισμό κρυσταλλικών περιοχών, όπως διαφαίνεται με τη χρήση κρυσταλλογραφίας (Q. Yang et al., 2021; D. Zhou et al., 2019).

Επιπλέον, η φυσική μέθοδος υδρόθερμης επεξεργασίας με χρήση αυτόκλειστου έχει θετική επίδραση στον ρυθμό πέψης του αμύλου, παρά το γεγονός ότι οι κινητικές της πέψης είναι εκτός του πεδίου μελέτης της παρούσας εργασίας (Akanbi et al., 2019). Η τεχνική της νανο-καταβύθισης έχει εφαρμοστεί επιτυχώς σε διαφορετικούς τύπους αμύλου, συμπεριλαμβανομένου του αμύλου από αραβόσιτο με υψηλή περιεκτικότητα σε αμυλόζη, το άμυλο πατάτας, γλυκοπατάτας και αρακά (Chin et al., 2011; Qin et al., 2016; Y. Tan et al., 2009). Ωστόσο, έχει αποδειχθεί τα μεμονωμένα νανο-σωματίδια έχουν την τάση να συσσωματώνονται κατά τη διαδικασία της νανο-καταβύθισης. Για την αποφυγή αυτού του φαινομένου δημιουργείται η ανάγκη για πρόσθετη κατεργασία, για τη δημιουργία ομοιόμορφα κατανεμημένων σωματιδίων. Το τελευταίο στάδιο του στόχου μας ήταν η χρήση υπερήχων στα συσσωματωμένα νανο-σωματίδια που απομονώθηκαν μέσω της υδρόθερμης ζελατινοποίησης και νανο-καταβύθισης.

Η χρήση της τεχνικής της νανο-καταβύθισης σε συνδυασμό με τη χρήση υπερήχων για την επεξεργασία αμυλούχων δομών έχει αποδειχθεί ως μια αποτελεσματική και με χαμηλό κόστος προσέγγιση (Agi et al., 2019; Yanjiao Chang, Yan, et al., 2017; Hedayati et al., 2020; Ran Wang & Zhou, 2022). Η επεξεργασία αμύλου με υπερήχους δύναται να αυξήσει την κρυσταλλικότητα χωρίς να καταστρέφει τη δομή, ενώ παράλληλα βελτιώνει τις φυσικές ιδιότητες του αμύλου (Babu et al., 2019; Hu et al., 2014; Noor et al., 2021; Q. Y. Yang et al., 2019; J. Zhu et al., 2012)

Η φυσική τεχνική των τριών σταδίων που επιλέχθηκε συνδυάζει και προσφέρει τα πλεονεκτήματα της κάθε μεμονωμένης μεθόδου. Η εν λόγω στρατηγική με στόχο τη μείωση του μεγέθους των κόκκων δεν έχει δοκιμαστεί σε ανθεκτικό άμυλο (τύπου 2). Ακολουθώντας την ανωτέρω προσέγγιση, καθίσταται δυνατή η κατανόηση των μηχανισμών που λαμβάνουν χώρα κατά τη μείωση του μεγέθους των σωματιδίων μέσω των διαδοχικών βημάτων της εκάστοτε μεθόδου φυσικής επεξεργασίας.

4.2. Υλικά και Μέθοδοι

4.2.1 Υλικά

Το άμυλο που μελετήθηκε ήταν, άμυλο αραβοσίτου με υψηλή περιεκτικότητα σε αμυλόζη (HI-MAIZE®260) της εταιρίας Ingredion EMEA (Manchester, UK). Το ποσοστό αμυλόζης ήταν 65.2%, υπολογισμένο με τη μέθοδο που περιγράφεται στο υπόκεφάλαιο αυτού του Παραρτήματος και η περιεκτικότητά του σε υγρασία ήταν 12.5% w/w. Επίσης, σε όλες τις πειραματικές διαδικασίες χρησιμοποιήθηκε νερό Milli-Q και αιθανόλη (καθαρότητα ~98%) της εταιρείας Sigma-Aldrich.

4.2.2. Φυσική μέθοδος παρασκευής νανο-σωματιδίων αμύλου μέσω υδροθερμικής ζελατινοποίησης (χρήση αυτόκλειστου), καθίζησης και υπερήχων

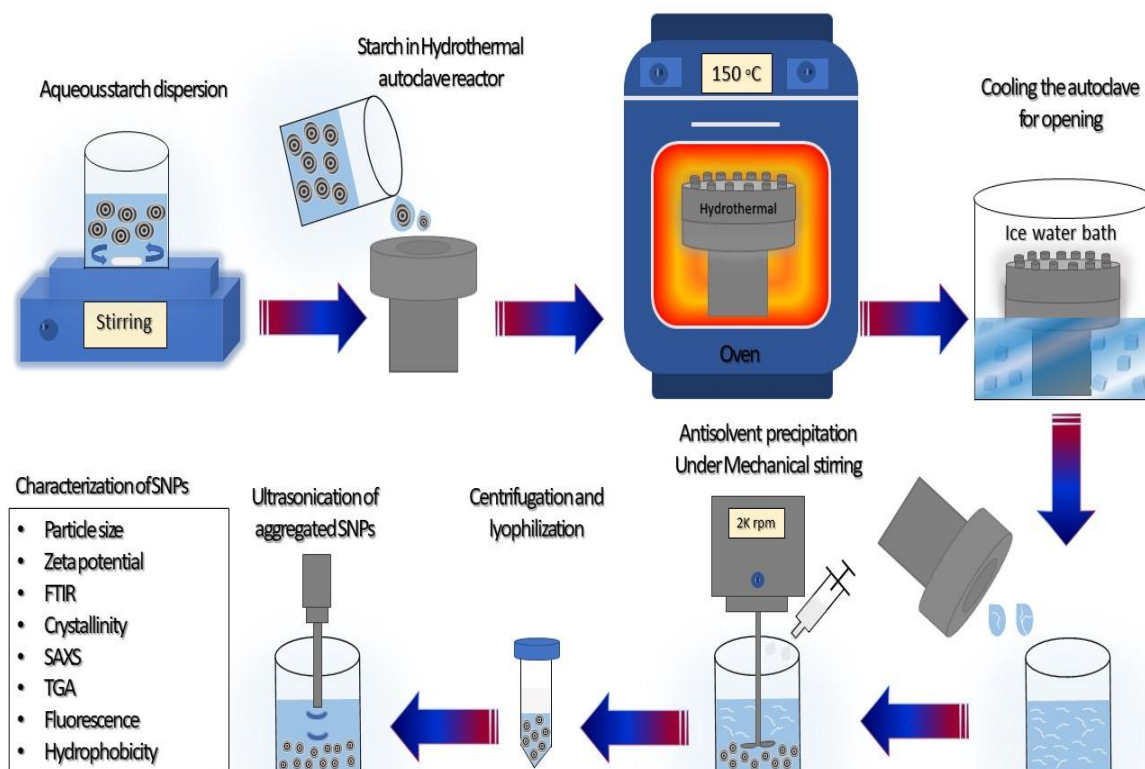
Αρχικά, παρασκευάστηκε εναιώρημα αμύλου (5% w/v) σε νερό υπό μαγνητική ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου (RCT Basic S1 Digital Hot Plate Magnetic Stirrer, IKA®-Werke GmbH & Co. KG, Germany). Στη συνέχεια, το εναιώρημα αμύλου, προκειμένου να ζελατινοποιηθεί, τοποθετήθηκε σε υδροθερμικό αντιδραστήρα υψηλών πιέσεων και μεταφέρθηκε για 30 λεπτά σε φούρνο που είχε σταθερή θερμοκρασία στους 150 °C

Μετά τη θέρμανση, το αυτόκλειστο μεταφέρθηκε σε αυτοσχέδιο σύστημα ψύξης με ανα-κυκλοφορία νερού και πάγου για 5 λεπτά για να ψυχθεί. Στη συνέχεια, στο ζελατινοποιημένο δείγμα προστέθηκε στάγδην και υπό ανάδευση, αιθανόλη ως αντιδιαλύτης σε αναλογία 1:1 μέχρι εμφάνισης ιζήματος και η μηχανική ανάδευση του διαλύματος συνεχίστηκε για 2 ώρες. IKA Eurostar (IKA Labortechnik Janke & Kunkel, Staufen, Germany). Έπειτα, το δείγμα φυγοκεντρήθηκε στους 4 °C για 10 λεπτά στις 9000 στροφές (Hettich Universal 320-R, Tuttlingen, Germany). Μετά τη φυγοκέντρωση, τα νανο-σωματίδια αμύλου που απομονώθηκαν από το ίζημα, λυοφιλιώθηκαν για 48 ώρες στους -60 °C (MC4L, UNICRYO, Germany) και στη συνέχεια κονιορτοποιήθηκαν. Τα συσσωματώματα νανο-σωματιδίων που προέκυψαν ονομάστηκαν aggregated-SNPs, a-SNPs.

Στο επόμενο βήμα, παρασκευάστηκε εναιώρημα 1% w/v νανο-σωματιδίων (a-SNPs) σε υπερκάθαρο νερό, το οποίο τοποθετήθηκε σε λουτρό πάγου και ομογενοποιήθηκε με

χρήση υπερήχων για συνολικά 75 λεπτά. Κατά τη διάρκεια της κατεργασίας με υπερήχους συλλέχθηκαν δείγματα περιοδικά, ανά 15 λεπτά (συνολικά 5 διαφορετικά δείγματα), προκειμένου να πραγματοποιηθούν οι αντίστοιχες μετρήσεις μεγέθους των σωματιδίων.

Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκε ένα σύστημα υπερήχων με ακίδα (probe sonicator, 100% = 20 KHz) (Sonopuls HD 3200, Bandelin Electroni, Berlin, Germany) με εφαρμοζόμενο πλάτος 40% σε παλμό διακοπτόμενο ανά 3 δευτερόλεπτα. Τα δείγματα των νανο-σωματιδίων που υποβλήθηκαν σε κατεργασία υπερήχων για 30 λεπτά ονομάστηκαν a-SNPs 30 min, ενώ τα δείγματα που υποβλήθηκαν σε κατεργασία υπερήχων για 60 λεπτά ονομάστηκαν US-SNPs. Τέλος τα δείγματα μετά την επεξεργασία με υπερήχους λυοφιλιώθηκαν για να ληφθούν ξηρά δείγματα για τον χαρακτηρισμό τους όπως φαίνεται στο Σχήμα 18.



Σχήμα 18. Σχηματική απεικόνιση της διαδικασίας σχηματισμού των νανο-σωματιδίων αμύλου.

4.2.3. Περιεκτικότητα σε αμυλόζη

Η περιεκτικότητα σε αμυλόζη τόσο στο μη επεξεργασμένο δείγμα αμύλου όσο και των νανο-σωματιδίων αμύλου προσδιορίστηκε με τη χρήση της μεθόδου κονκαναβαλίνης Α (concanavalin A) χρησιμοποιώντας το κιτ προσδιορισμού αμυλόζης/αμυλοπηκτικής της εταιρείας Megazyme. Για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας των δειγμάτων σε αμυλόζη, η απορρόφησή τους μετρήθηκε σε φασματοφωτόμετρο υπεριώδους-ορατού (Shimadzu, UV-2600, Kyoto, Ιαπωνία) στα 510 nm και το ποσοστό αμυλόζης υπολογίστηκε μέσω της αντίστοιχης εξίσωσης που παρέιχε το κιτ (Εξ. 14).

$$\text{Περιεκτικότητα αμυλόζης} = \frac{\text{Απορρόφηση (Con A Υπερκείμενο)}}{\text{Απορρόφηση (Ολικό κλάσμα αμύλου)}} \times 66.8 \quad (14)$$

4.2.4. Μέγεθος νανο-σωματιδίων

Για τον προσδιορισμό της κατανομής του μεγέθους των σωματιδίων τόσο του ακατέργαστου δείγματος όσο και των παραγόμενων νανο-σωματιδίων εφαρμόστηκε η τεχνική της Δυναμικής Σκέδασης Φωτός. Ο δείκτης διάθλασης για το νερό ορίστηκε στο 1.33, ο δείκτης διάθλασης του αμύλου ορίστηκε στο 1.53 ,και η απορρόφηση των κόκκων αμύλου ορίστηκε στο 0.1(Zetasizer nano Zs, Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, UK). Για το μέγεθος των σωματιδίων χρησιμοποιήθηκε η μέση υδροδυναμική διάμετρος (Z-average), μετρούμενα με συγκέντρωση 0.01% w/v σε υπερκάθαρο νερό. Επιπλέον, μετρήθηκε ο βαθμός αποσυσσωμάτωση νανο-σωματιδίων , μέσω του προσδιορισμού του μεγέθους των κόκκων αμύλου ως συνάρτηση του χρόνου επεξεργασίας με υπερήχους. Για την επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκαν 3 επαναληπτικές μετρήσεις για κάθε δείγμα.

4.2.5. Ζήτα δυναμικό

Η μέτρηση του ζήτα δυναμικού πραγματοποιήθηκε σε διασπορές αμύλου 0.01% w/v σε υπερκάθαρο νερό, μέσω ηλεκτροφόρησης (Zetasizer nano Zs, Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, UK). Τέλος, για την επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκαν 3 επαναληπτικές μετρήσεις για κάθε δείγμα..

4.2.6. Ανάλυση υπέρυθρης φασματοσκοπίας μετασχηματισμού Fourier

Τα υπέρυθρα φάσματα FTIR ελήφθησαν με τη χρήση ενός φασματοφωτόμετρου υπέρυθρου μετασχηματισμού Fourier, JASCO 4200 Type A (Jasco, Easton, MD, USA) χρησιμοποιώντας την τεχνική Δισκίων Βρωμιούχου Καλίου σε λειτουργία διαπερατότητας, ενώ το μήκος κύματος ορίστηκε σε ένα εύρος μεταξύ 400 cm^{-1} έως 4000 cm^{-1} και η διακριτική ικανότητα ρυθμίστηκε στα 4 cm^{-1} . Συγκεκριμένα, τα υπό μελέτη δείγματα συνδυάστηκαν (αναμίχθηκαν) με αποξηραμένο βρωμιούχο κάλιο ποιότητας FTIR (10 mg δείγματος σε 300 mg KBr) χρησιμοποιώντας γουδί και γουδοχέρι και τα μίγματα συμπιέστηκαν για να σχηματίσουν πέλετ σε σχήμα δισκίου χρησιμοποιώντας μια χειροκίνητη υδραυλικής πρέσα σε 10 tn/cm^2 (PE-MAN, Perkin Elmer, Germany).

4.2.7. Διαλυτότητα και βαθμός διόγκωσης

Για τον υπολογισμό της διαλυτότητας και του βαθμού διόγκωσης, παρασκευάστηκαν εναιωρήματα αμύλου 2% w/v σε υπερκάθαρο νερό, σε γυάλινες φιάλες DURAN® 250 mL, σφραγίστηκαν με ειδικό καπάκι με φλάντζα και τοποθετήθηκαν σε ελαιόλουτρο για θέρμανση, υπό ανάδευση στις 300 rpm (RCT Basic S1 Digital Hot Plate Magnetic Stirrer (IKA®-Werke GmbH & Co. KG, Germany), συνολικής διάρκειας 30 λεπτών. Η συμπεριφορά των δειγμάτων μελετήθηκε σε διαφορετικές συνθήκες θερμοκρασίας μεταξύ 50 °C και 140 °C. Συγκεκριμένα, συλλέχθηκαν διαφορετικά δείγματα κάθε 10 °C αύξησης της θερμοκρασίας τα οποία παρέμεναν στην συγκεκριμένη θερμοκρασία υπό ανάδευση για 30 λεπτά. Κάθε δείγμα που συλλέχθηκε στις διαφορετικές συνθήκες θερμοκρασίας, αφέθηκε στη συνέχεια σε θερμοκρασία δωματίου για επιπλέον για 30 λεπτά, και φυγοκεντρήθηκε στους 4 °C για 15 λεπτά στις 5000 στροφές. Με τη φυγοκέντρωση διαχωρίστηκε το ίζημα από το υπερκείμενο, και το βάρος τους μετρήθηκε μετά από ξήρανση και των δύο φάσεων στους 130 °C για 1 ώρα σε φούρνο αέρα. Πριν από τη ζύγιση των γυάλινων τρυβλίων Petri που περιείχαν τα δείγματα (W_p και W_s), τα δείγματα αποθηκεύτηκαν σε ξηραντήρα για 30 λεπτά. Το κλάσμα της ξηρής μάζας των διαλυτών στο υπερκείμενο (W_s), προς την ξηρή μάζα όλου του δείγματος αμύλου (W_0) εκφράζεται ως διαλυτότητα και υπολογίζεται από την Εξίσωση 15:

$$\text{Διαλυτότητα} = \frac{W_s}{W_0} \times 100 \% \quad (15)$$

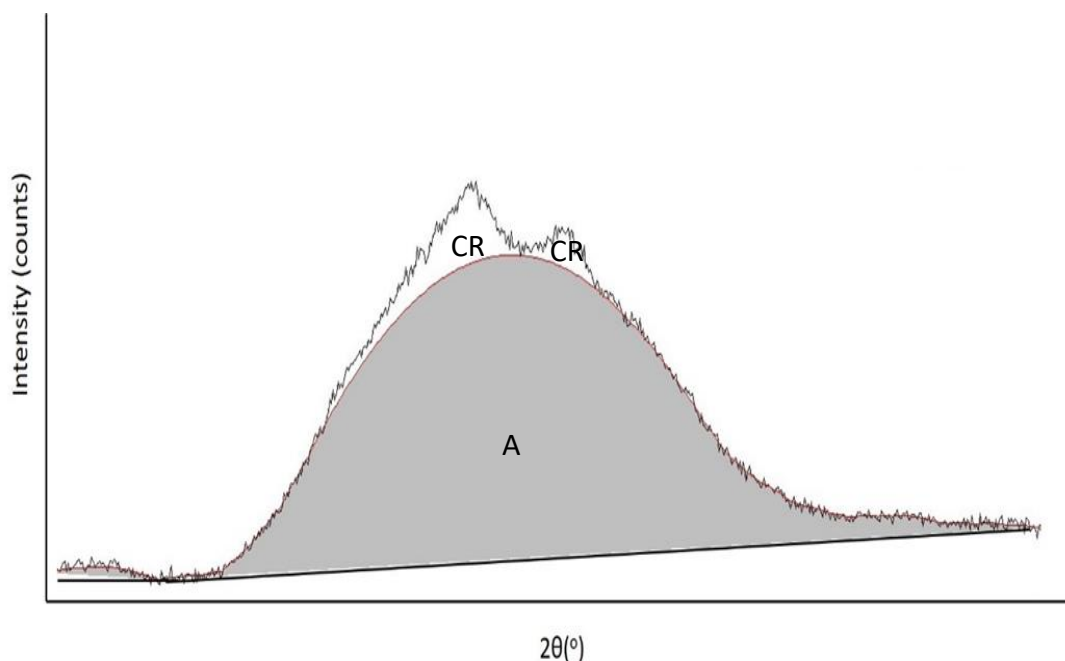
Ο λόγος του βάρους των διογκωμένων κόκκων αμύλου μετά τη φυγοκέντρωση (W_p) (g) προς την ξηρή μάζα τους (W_{ps}) (g) εκφράζεται ως Βαθμός διόγκωσης και υπολογίζεται από την Εξίσωση 16:

$$\text{Βαθμός διόγκωσης} = \frac{W_p}{W_{ps}} \quad (16)$$

4.2.8. Κρυσταλλικότητα σωματιδίων με χρήση περίθλασης ακτίνων X

Η ανάλυση της κρυσταλλικότητας για το ακατέργαστο δείγμα αμύλου, και των νανο-σωματιδίων (a-SNP και U-SNP) πραγματοποιήθηκε μέσω της περίθλασης ακτίνων-X (XRD). Για την ανάλυση, χρησιμοποιήθηκε η συσκευή X-ray Diffractometer (D8 Adv., Bruker, Germany), που ρυθμίστηκε να λειτουργεί στα 40 Kv και 40 mA. Αρχικά, η σάρωση των δειγμάτων ρυθμίστηκε να χρησιμοποιεί ακτινοβολία Cu Ka με μήκος κύματος 0.1542 nm ως πηγή ακτίνων X και να λειτουργεί σε γωνία περίθλασης (2θ) 3° – 35° με μέγεθος βήματος $0.05^{\circ}/\text{sec}$. Αναλυτικότερα, για τον υπολογισμό του ποσοστού κρυσταλλικότητας των δειγμάτων με βάση το πρότυπο XRD, χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό Bruker Diffrac. Eva software (version 3.1). Αρχικά, κατασκευάστηκε μια γραφική παράσταση αποτελούμενη από τη γραμμή βάσης της καμπύλης, που απεικονίζεται με μαύρη γραμμή, και του φόντου των κρυσταλλικών κορυφών που απεικονίζεται με κόκκινη γραμμή αντίστοιχα. Στη συνέχεια, όπως φαίνεται στο Σχήμα 19, υπολογίστηκαν η λευκή περιοχή των κρυσταλλικών κορυφών καθώς και η γκρι άμορφη επιφάνεια. Το ποσοστό της κρυσταλλικότητας υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας την Εξίσωση 17:

$$\% \text{Κρυσταλλικότητα} = \frac{\text{area of crystalline peaks}}{\text{total area of the peaks}} \times 100 \quad (17)$$



Σχήμα 19. Υπολογισμός του βαθμού κρυσταλλικότητας, με λευκές είναι οι κρυσταλλικές περιοχές (CR) και με γκρι οι άμορφες (AM) αντίστοιχα.

4.2.9. Σκέδαση ακτίνων X μικρής γωνίας

Η πειραματική διαδικασία της σκέδασης ακτίνων-X μικρής γωνίας (SAXS) με τη χρήση του εξοπλισμού SAXSpace small angle X-ray camera from Anton Paar (Graz, Austria). Η μεθοδολογία και οι ρυθμίσεις των παραμέτρων ακολούθησαν την πειραματική διαδικασία της ομάδας των (Sanver et al., 2020). Χαρακτηριστικά, χρησιμοποιήσαμε μια εστιασμένη δέσμη ακτίνων X σε ευθυγραμμισμένη γραμμή με μήκος και πλάτος δέσμης 20 mm και 0.5 mm αντίστοιχα. Η απόσταση του δείγματος από τον ανιχνευτή ρυθμίστηκε περίπου 317 mm, αν και η ακριβής απόσταση υπολογίστηκε με τη χρήση σκόνης βεχινικού αργύρου (silver behenate). Κάθε δείγμα τοποθετήθηκε σε ειδικά γυάλινα σωληνάκια (capillary) 1.5 mm και μελετήθηκαν για 3600 δευτερόλεπτα. Η γεννήτρια παραγωγής ακτίνων X ανόδου Cu στεγανού σωλήνα, του οργάνου, ρυθμίστηκε στα 40 kV και 50 mA, ώστε το μήκος κύματος των παραγόμενων ακτίνων X να είναι 0.154 nm. Η τεχνική ρυθμίστηκε σε λειτουργία υψηλής έντασης παρέχοντάς ελάχιστη προσιτή τιμή διανύσματος σκέδασης, q_{\min} 0.12 nm^{-1} ($q = 4\pi/\lambda \sin(\theta)$, όπου 2θ είναι η γωνία σκέδασης). Επίσης, όλη η πειραματική διαδικασία πραγματοποιήθηκε σε θερμοκρασία τους 25 °C.

Στα πειραματικά προφίλ της σκέδασης έγινε χρήση μιας ενοποιημένης εξίσωση που περιγράφεται από τον Beaucage και τους συνεργάτες του για τη μαθηματική μοντελοποίηση των πειραματικών δεδομένων (Beaucage, 2004; Beaucage & Schaefer, 1994). Η σκέδαση των κόκκων αμύλου σε διαφορετικά δομικά μοτίβα περιγράφεται μέσω των συναρτήσεων του μοντέλου. Οι εκθετικές συναρτήσεις του μοντέλου δύναμης χρησιμοποιούνται για να περιγράψουν τη εξασθένιση (decay) σε εξαιρετικά μικρές γωνίες και οι συναρτήσεις Lorentzian εφαρμόζονται για την προσομοίωση και τη συσχέτιση των κορυφών περίθλασης από τις φυλλώδεις (lamellae) και ελικοειδής δομές. Η γενική μορφή της ενοποιημένης συνάρτησης αποτυπώνεται στην Εξίσωση 18:

$$I(q) = \sum_{levels} B_i \exp\left(\frac{-q^2 R_i^2}{3}\right) \left\{ \frac{[\operatorname{erf}(q R_i / \sqrt{6})]^3}{q} \right\}^p + \frac{L_i}{1 + \left[\frac{(q - q_i)}{w} \right]^2} \quad (18)$$

Ο πρώτος όρος της εξίσωσης αντιπροσωπεύει την εξασθένιση της έντασης σκέδασης δύο ορίων. Η συνάρτηση του σφάλματος χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό του χαμηλού ορίου q , ενώ οι εκθετικές συναρτήσεις χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό του υψηλού ορίου q αντίστοιχα. Τα δύο όρια σχετίζονται με τη χαρακτηριστική ακτίνα περιστροφής R_i , η οποία καθορίζει και το σημείο κάμψης, σύμφωνα με τον νόμο του Porod. Οι πλατιές κορυφές περίθλασης περιγράφονται από τον δεύτερο όρο της εξίσωσης. Χαρακτηριστικά, χρησιμοποιήθηκαν δύο Lorentzian όροι, ο πρώτος προσομοιώνει την περίθλαση της απόσταση μεταξύ των φυλλωδών περιοχών που αντιπροσωπεύει τις εναλλασσόμενες άμορφες και ημι-κρυσταλλικές περιοχές της αμυλοπηκτίνης και εμφανίζεται περίπου στα 0.4 nm^{-1} , ενώ ο δεύτερος προσομοιώνει την περίθλαση από τις ελικοειδής συσχετίσεις αμύλου κρυσταλλικότητας τύπου B και εμφανίζεται περίπου στα 3.9 nm^{-1} .

Για τον υπολογισμό της απόστασης (d) μεταξύ των πολυμερικών συσσωματωμάτων χρησιμοποιήθηκε η εξίσωση Bragg (Εξ. 19), όπου q_0 η θέση κορυφής.

$$d = \frac{2\pi}{q_0} \quad (19)$$

Για του υπολογισμό του μέσου πάχους (h) των πολυμερικών συσσωματωμάτων χρησιμοποιήθηκε η εξίσωση Scherrer (Εξ. 20), όπου k ο παράγοντας σχήματος και w το πλάτος της κορυφής της συσχέτισης

$$h = k * \frac{2\pi}{w} \quad (20)$$

4.2.10. Φασματοσκοπία φθορισμού σε σταθερή κατάσταση (steady-state) και χρόνο εξαρτώμενη φασματοσκοπία φθορισμού (time-resolved).

Τρία διαφορετικά δείγματα (το μη επεξεργασμένο νανο-άμυλο a-SNP, καθώς και τα νανο-σωματίδια που παρασκευάστηκαν με υπερήχους για 30 a-SNP 30 min και 60 λεπτά U-SNP) παρασκευάστηκαν και αναλύθηκαν με φθορισμό σε σταθερή κατάσταση και σε χρονική ανάλυση. Αρχικά παρασκευάστηκε εναιώρημα νανο-αμύλου σε νερό 0.01 w/v. Στη συνέχεια 3 mL κάθε δείγματος τοποθετήθηκαν σε κυψελίδα χαλαζία με μήκος διαδρομής 1 cm. Τα φάσματα εκπομπής σε σταθερή κατάσταση καταγράφηκαν με τη χρήση ενός φασματο-φθορισόμετρου της εταιρείας Horiba GL3-21 Fluorolog-3 Jobin-Yvon-Spex spectrofluorometer (Horiba, Kyoto, Japan), εξοπλισμένο με μια λυχνία Xenon (450 W) ως πηγή διέγερσης και ως ανιχνευτή έναν φωτοπολλαπλασιαστή TBX (250-850 nm), για μετρήσεις φωτοφωταύγειας (Photoluminescence, PL). Πραγματοποιήθηκε διέγερση των νανο-σωματιδίων στα 320 nm και χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό Horiba Fluorescence V3 για την καταγραφή των δεδομένων. Για τα φάσματα φθορισμού σε χρονική ανάλυση με χρονική διακριτική ικανότητα σε δευτερόλεπτα pico (pico-second), ακολουθήθηκε η τεχνική της συσχέτισης του χρόνου μέτρησης με απλά φωτόνια (time-correlated single-photon-

counting, TCSPC), η διάταξη αποτελούνταν από έναν ελεγκτή μέτρησης ενός φωτονίου (Fluorohub single-photon counting controller), μια δίοδο λείζερ ως πηγή (NanoLED, 376 nm, εύρος παλμού < 200 ps) και έναν ανιχνευτή TBX-PMT (250-850 nm) από την εταιρεία Horiba Ltd., Kyoto, Japan. Τα δεδομένα καταγράφηκαν και συλλέχθηκαν με το λογισμικό Data Station, ενώ οι χρόνοι ζωής φωτονίων προσδιορίστηκαν από το λογισμικό λήψης δεδομένων (Data Acquisition Software, DAS) (Horiba Scientific, Piscataway, NJ, USA).

4.2.11. Σταθερότητα αμύλου με χρήση θερμοβαρουμετρικής ανάλυσης

Για τη θερμοβαρουμετρική ανάλυση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε το όργανο TGA/DTA, (Mettler Toledo, Schwerzenbach, Switzerland). Τα δείγματα τοποθετήθηκαν στον θάλαμο αδρανούς ατμόσφαιρας με ροή αζώτου 20 mL/min. και θερμάνθηκαν σταδιακά ανά 10 °C από τη θερμοκρασία δωματίου έως τους 600 °C.

4.2.12. Μέτρηση γωνίας επαφής (contact angle)

Για τον προσδιορισμό της γωνίας επαφής των δειγμάτων αμύλου εφαρμόστηκε η μέθοδος της σταθερής σταγόνας, χρησιμοποιώντας το όργανο μέτρησης επιφανειακής τάσης OCA 20 drop-shape tensiometer (Data Physics Instruments, GmbH, Germany). Τα σωματίδια μορφοποιήθηκαν σε μορφή πέλετ (δισκίου) με μια υδραυλική πρέσα υπό πίεση 6 μετρικών τόνων για τη δημιουργία μιας κατάλληλης επιφάνειας υποστρώματος-δίσκου σωματιδίων (πάχους περίπου 2 mm) και μεταφέρθηκαν σε γυάλινη κυψελίδα μέτρησης. Με τη βοήθεια μιας μικρο-σύριγγας υψηλής ακρίβειας (Hamilton 500 µL DS 500/GT), που διαθέτει μια ευθεία βελόνα από ανοξείδωτο χάλυβα με εξωτερική διάμετρο 0.52 mm και εσωτερική διάμετρο 0.26 mm, έγινε η δημιουργία σταγόνας υπερκάθαρου νερού (5 µL, με ρυθμό 2 µL/s) στις επιφάνειες των δισκίων. Η γωνία επαφής προσδιορίστηκε μέσω της κάμερας υψηλής ταχύτητας που με την οποία ήταν εξοπλισμένο το όργανο. και η οποία κατέγραφε ανά 10 δευτερόλεπτα την αλλαγή των σχημάτων των σταγονιδίων νερού. Μέσω του λογισμικού SCA έγινε η προσαρμογή του περιγράμματος των σταγονιδίων. και η γωνία επαφής υπολογίστηκε μέσω της εξίσωσης Laplace.

4.3. Αποτελέσματα-Συζήτηση

4.3.1. Μέγεθος νανο-σωματιδίων

Αρχικά, το υπό μελέτη δείγμα αμύλου καλαμποκιού υψηλής αμυλόζης (Hi-Maize260®) υποβλήθηκε σε υδροθερμική ζελατινοποίηση (hydrothermal gelatinization) χρήση αυτόκλειστου αντιδραστήρα (autoclave reactor). Παρασκευάστηκαν εναιωρήματα αμύλου σε νερό σε διαφορετικές συγκεντρώσεις, ενώ επίσης διερευνήθηκε και η πιθανή επίδραση των διαφορετικών συνθηκών θερμοκρασίας ή και του χρόνου κατεργασίας σε αυτά. Σε θερμοκρασία 150 °C τα εναιωρήματα αμύλου διατηρούνται σταθερά ώστε να επιτευχθεί η πλήρης ζελατινοποίησή τους μετά από 30 λεπτά θέρμανσης. Η θέρμανση για περισσότερο από 30 λεπτά στους 150 °C δεν βελτίωσε περαιτέρω τη ζελατινοποίηση, ενώ χαρακτηριστικά το άμυλο άρχισε να αποσυντίθεται μετά από 1 ώρα στους 150 °C. Σε χαμηλότερες θερμοκρασίες παρατηρήθηκαν ζελατινοποιημένα μίγματα χαμηλής ποιότητας, ενώ σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 160 °C παρατηρήθηκε ότι το άμυλο καταστρέφεται.

Στη συνέχεια, το καταβυθισμένο άμυλο μέσω της προσθήκης αιθανόλης, συλλέχθηκε μετά από φυγοκέντριση και αποθηκεύτηκε υπό μορφή σκόνης με λυοφιλίωση. Η αιθανόλη επιλέχθηκε ως αντι-διαλύτης καθώς είναι ένα βιο-συμβατό υλικό. Επιπλέον, η προσθήκη αιθανόλης πραγματοποιήθηκε στάγδην, αφού παρατηρήθηκε ότι η ταχεία προσθήκη του διαλύτη είχε ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό ανομοιογενών μειγμάτων.

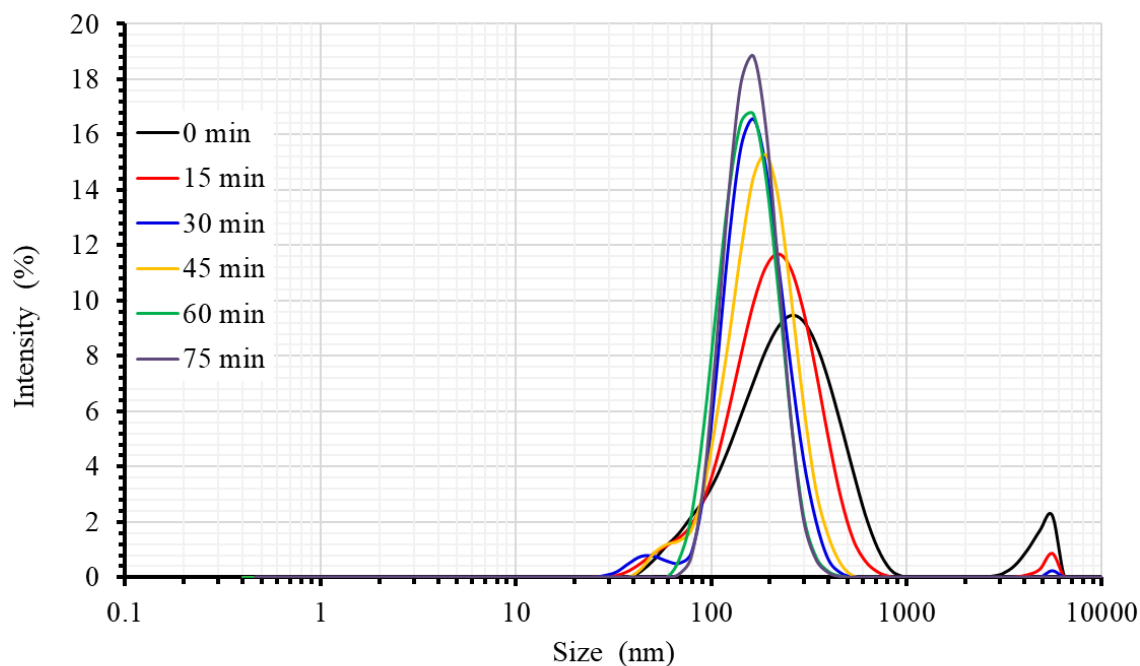
Τέλος, τα παραγόμενα σωματίδια αμύλου (νανο-καταβυθισμένες δομές) υπό μορφή πούδρας επαναδιαλυτοποιούνται σε νερό και επεξεργάζονται με χρήση υπερήχων. Η μεθοδολογία των υπερήχων για πλάτος έως 40 % (amplitude) είχε ως αποτέλεσμα να μην δημιουργεί καμία υποβάθμιση στο εναιώρημα ακόμη και για τη χρονική περίοδο των 2 ωρών διασφαλίζοντας την κατάλληλη θερμοκρασία του δείγματος. Αντίθετα, λιγότερο ομοιόμορφες διασπορές και μεγαλύτεροι σβώλοι (lumps) ή συσσωματώματα ήταν ορατά σε χαμηλότερα πλάτη (amplitudes).

Με τη μέθοδο της δυναμικής σκέδασης φωτός, διερευνήθηκε το μέγεθος και η κατανομή του μεγέθους των επεξεργασμένων σωματιδίων αμύλου με την τεχνική της νανο-καθίζησης, (nano-precipitated starch) μετά από την υδροθερμική ζελατινοποίηση (hydrothermal gelatinization) και λυοφιλίωσή τους. Από την ανάλυση της δυναμικής σκέδασης φωτός σε εναιωρήματα αμύλου 0.1% w/v, παρατηρήθηκαν δύο κορυφές, μια

κύρια περίπου στα 200 nm και μια δευτερεύουσα περίπου στο 1 μm , ενώ μετά από κατεργασία , του νανο-καταβυθισμένου δείγματος αμύλου με υπερήχους για διαφορετικά χρονικά διαστήματα παρατηρήθηκε ομοιόμορφη κατανομή περίπου στα 200 nm.

Μετά από μελέτη διαφορετικών συγκεντρώσεων εναιωρημάτων αμύλου σε νερό, παρατηρήθηκε ότι η μέγιστη συγκέντρωση αμύλου των δειγμάτων στα οποία πραγματοποιήθηκε νανο-καταβύθιση ήταν 5% w/v, ενώ στα δείγματα με συγκέντρωση άνω του 6% w/v, δεν μπορούσε να πραγματοποιηθεί καταβύθιση καθώς σε αυτές τις περιπτώσεις παρατηρήθηκε σχηματισμός υδρογελών. Η κατανομή του μεγέθους των σωματιδίων των δειγμάτων που έχουν επεξεργαστεί με υπερήχους και που προέρχονται από τα στάδια της υδροθερμικής ζελατινοποίησης/νανο-καθίζησης απεικονίζονται στο Σχήμα 20. Από την ανάλυση της δυναμικής σκέδασης φωτός του νανο-καταβυθισμένου και ζελατινοποιημένου αμύλου με συγκέντρωση 5% w/v, παρατηρήθηκαν δύο κορυφές, μια κύρια στα 200 nm περίπου και μια δευτερεύουσα στα περίπου 5 μm , παρόμοια με το νανο-καταβυθισμένο και ζελατινοποιημένο άμυλο με συγκέντρωση 0.1% w/v. Σύμφωνα με αυτή την παρατήρηση, είναι εμφανές πως το ζελατινοποιημένο διάλυμα μπορεί να αυξηθεί έως και 50 φορές η συγκέντρωσή του, δημιουργώντας νανο-καταβυθισμένα σωματίδια του ίδιου μεγέθους. Επιπλέον, το αρχικό δείγμα αμύλου με υψηλή περιεκτικότητα σε αμυλόζη αποτελείται από μεγάλους κόκκους $\sim 8 \mu\text{m}$ (Apostolidis & Mandala, 2020) και τα νανο-καταβυθισμένα σωματίδια που παρουσιάζουν μια κορυφή στα $\sim 5 \mu\text{m}$ θα μπορούσαν να είναι ενδεικτικά της συσσωμάτωσης των μικρότερων ($\sim 200 \text{ nm}$). Υπό αυτό το πρίσμα, η χρήση των υπερήχων αποτελεί μια φυσική επεξεργασία για την ομογενοποίηση των νανο-σωματιδίων αμύλου. Το μέγεθος των νανο-σωματιδίων αμύλου μειώθηκε περαιτέρω μετά τη χρήση υπερήχων, παρουσιάζοντας μια ομοιόμορφη κατανομή (170 nm, σε 60 λεπτά υπερήχων), χωρίς συσσωμάματα. Μετά από 15 λεπτά κατεργασίας με υπερήχους η δευτερεύουσα κορυφή εμφανίζονταν στα 5 μm και παρέμενε ορατή ακόμα και μετά από αντίστοιχη κατεργασία 30 λεπτών, πιθανά λόγω της παρουσίας συσσωματωμάτων. λόγω της συσσωμάτωσης των σωματιδίων, ενώ μετά από 60 λεπτά κατεργασίας με υπερήχους, παρατηρήθηκε μόνο η κύρια κορυφή. Με την πάροδο του χρόνου, η επεξεργασία με υπερήχους έδωσε ένα στενότερο εύρος στην κατανομή του μεγέθους (narrow size distribution). Οι υδροδυναμικές διαμέτροι των νανο-σωματιδίων που υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με υπερήχους δεν εμφάνισαν στατιστικά σημαντική

διαφορά μεταξύ 60 λεπτών (169.9 nm) και 75 λεπτών (169.4 nm) επεξεργασία με υπερήχους και για τον λόγο αυτό θεωρήθηκαν τα 60 λεπτά ως η κατάλληλη περίοδος για πλήρη εξατομίκευση. Επιπλέον, τα νανο-καταβυθισμένα νανο-σωματίδια αμύλου χαρακτηρίστηκαν ως συσσωματωμένα (aggregated) νανο-σωματίδια αμύλου (aggregated starch nano-particles, a-SNPs), ενώ αυτά που παράγονται μέσω υπερήχων 60 λεπτών θεωρούνται νανο-σωματίδια αμύλου (ultrasonicated starch nano-particles, US-SNPs).



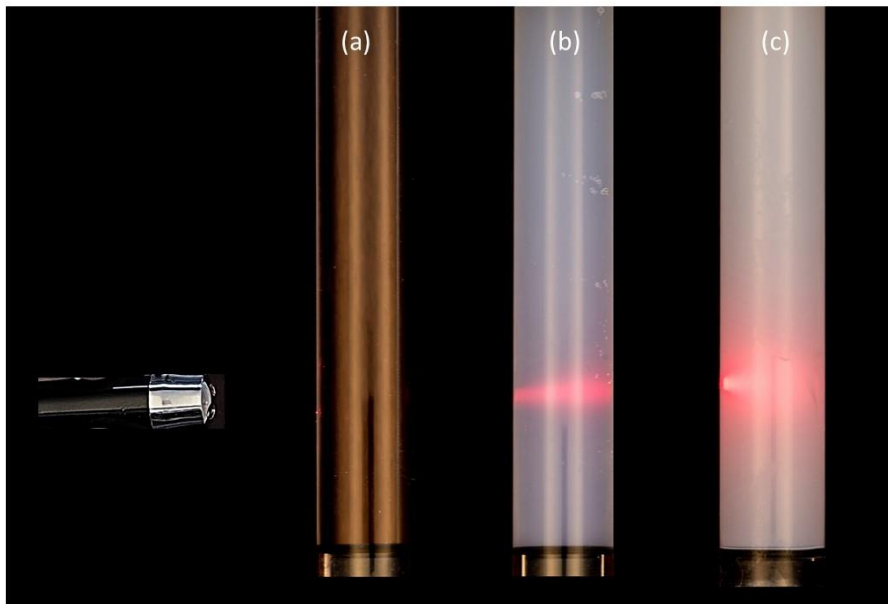
Σχήμα 20. Κατανομή μεγέθους νανο-σωματιδίων και επίδραση της έκθεσης σε υπερήχους στο μέγεθος.

Στο Σχήμα 21, παρουσιάζεται σχηματικά η συμπεριφορά των σωματιδίων σε μοριακό επίπεδο. Το άμυλο αποτελείται από άμορφες περιοχές (γύρω από τις διακλαδισμένη αμυλοπηκτίνη) και ημι-κρυσταλλικές περιοχές αποτελούμενες από τον σχηματισμό διπλής έλικας (αμυλοπηκτίνη-αμυλόζη), οι οποίες σταθεροποιούνται μέσω δεσμών υδρογόνου μεταξύ έλικας-έλικας. Οι δεσμοί υδρογόνου έλικας-έλικας μετατοπίζονται και σχηματίζονται δεσμοί υδρογόνου έλικας-νερού καθώς μόρια νερού εισχωρούν στους κόκκους αμύλου κατά τη ζελατινοποίηση. (P. J. Jenkins & Donald, 1998; Ren et al., 2021).

Τα νανο-σωματίδια παρουσιάζουν μια ομοιόμορφη κατανομή λόγω των δεσμών υδρογόνου μεταξύ σωματιδίου-σωματιδίου των συσσωματωμάτων που σχηματίστηκαν από την καθίζηση των σωματιδίων με την προσθήκη αιθανόλης. Στο άμυλο υπάρχει μεγάλος αριθμός ομάδων υδρογόνου, οξυγόνου και υδροξυλίων που μέσω του σχηματισμού διαφορετικών δεσμών υδρογόνου μπορούν να το ανασχηματίσουν δομικά (Qiu et al., 2016; Wei et al., 2014). Όπως έχει μελετηθεί, σε άμυλο κινόας και άμυλο υψηλής αμυλόζης, η διεργασία της νανο-καταβύθισης είχε σημαντική επίδραση στη μείωση του μεγέθους των σωματιδίων του αμύλου, παρά την τάση τους να δημιουργούν συσσωματώματα. (F. Jiang et al., 2022; Ruan et al., 2022). Στην παρούσα μελέτη παρατηρήθηκε πως μια απλή επεξεργασία με υπερήχους σε νανο-σωματίδια αμύλου που έχουν συσσωματωθεί (a-SNPs) είχε ως αποτέλεσμα τη φυσική διάσπαση (disintegration) των συσσωματωμάτων, γεγονός που οδήγησε σε ένα στενότερο εύρος στην κατανομή του μεγέθους (narrow size distribution).

Στο Σχήμα 22 παρουσιάζονται οι ψηφιακές εικόνες των εναιωρημάτων αμύλου που υποβάλλονται στο φαινόμενο Tyndall. Ενδιαφέρον προκαλεί το γεγονός ότι το φαινόμενο Tyndall στα νανο-σωματίδια αμύλου χρησιμοποιείται στην τεχνολογία ανίχνευσης της σηματοδότησης κατά τη διάχυση του φωτός κατά τη μακροσκοπική παρατήρηση. Χαρακτηριστικά, το φως μπορεί να ταξιδέψει μέσω καθαρού νερού χωρίς να σκεδάζεται και να μην παρατηρείται το φαινόμενο Tyndall, όμως στα εναιωρήματα φυσικού αμύλου παρατηρείται μια ορατή δέσμη από τη σκέδαση Tyndall. Χαρακτηριστικά, στα συσσωματωμένα νανο-σωματίδια (a-SNPs) παρατηρείται μια στενή φωτεινή διαδρομή με χαμηλή διαπερατότητα. Η περιοχή της κωνικής δέσμης μειώθηκε με την αύξηση του χρόνου επεξεργασίας με υπερήχους, ενώ η οπτική διαδρομή επιμηκύνθηκε, καθώς η θολότητα και η διαφάνεια στο εναιώρημα αμύλου άλλαξαν. Μια έντονη και μακριά φωτεινή διαδρομή ανιχνεύθηκε καθώς ο χρόνος αυξήθηκε στα 60 λεπτά, με μια ανεμπόδιστη (unobstructed) διαδρομή της δέσμης φωτός του λέιζερ υποδεικνύει την παρουσία σωματιδίων σε νανο-κλίμακα. Συνοψίζοντας, η χρήση της επεξεργασίας με υπερήχους μετά τη νανο-καταβύθιση, αποτελεί μια αποτελεσματική προσέγγιση για την παραγωγή νανο-σωματιδίων κατάλληλα προσαρμοσμένου (tailor-made) μεγέθους, ενώ το φαινόμενο Tyndall

μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μια απλή και γρήγορη μέθοδος για την ταυτοποίηση νανο-σωματιδίων.



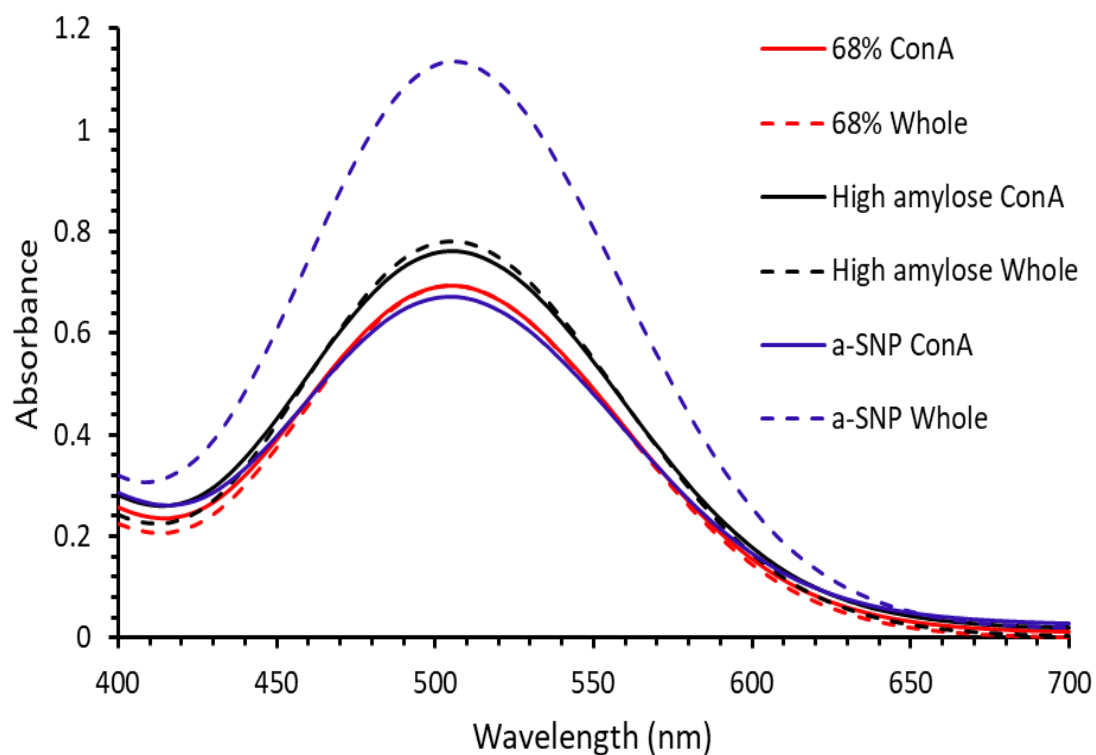
Σχήμα 22. Φαινόμενο Tyndall: a) νερό, b) νανο-σωματίδια μετά από κατεργασία υπερήχων, c) νανο-σωματίδια χωρίς κατεργασία υπερήχων.

4.3.2. Περιεκτικότητα αμυλόζης

Η περιεκτικότητα σε αμυλόζη έχει σημαντικό αντίκτυπο τόσο στη δομή όσο και στον ρυθμό πέψης του αμύλου (Zhao et al., 2022). Συχνά, η συγκέντρωση αμυλόζης υπερεκτιμάται, κυρίως λόγω των διακλαδισμένων αλυσίδων της αμυλοπηκτίνης που μπορούν να δεσμεύουν το ιώδιο. Για την αποφυγή αυτού του φαινομένου, χρησιμοποιείται μια χρωματομετρική τεχνική σε δύο μήκη κύματος (T. Zhu et al., 2008). Ωστόσο, παρά τις προσπάθειες για την επίτευξη πιο ακριβών μετρήσεων, αυτές οι δύο χρωματομετρικές τεχνικές μπορούν να αξιολογήσουν μόνο τη φαινομενική περιεκτικότητα σε αμυλόζη (Apparent Amylose Content, AAC), ενώ ως εναλλακτική λύση έχει προταθεί μια διαδικασία βασισμένη στην επεξεργασία μέσω Concanavalin A (ConA), επιτρέποντας τον προσδιορισμό της πραγματικής περιεκτικότητας σε αμυλόζη (Yibo Li et al., 2022).

Η πραγματική περιεκτικότητα σε αμυλόζη (TAC) του ακατέργαστου δείγματος (άμυλο υψηλής περιεκτικότητας σε αμυλόζη) υπολογίστηκε 65.2%, τιμή παρόμοια με την εκτιμώμενη φαινομενική περιεκτικότητά του σε αμυλόζη (AAC) (59.5%), όπως περιγράφεται σε προηγούμενη εργασία ερευνητικής μας ομάδα και στο Κεφάλαιο 3.5 (Apostolidis & Mandala, 2020). Η εκτίμηση της πραγματικής περιεκτικότητας σε αμυλόζη (TAC) υπολογίστηκε από τα φάσματα UV όπου παρουσιάζονται στο Σχήμα 23. Όσον αφορά τα δείγματα νανο-σωματιδίων χωρίς να έχουν επεξεργαστεί με υπερήχους (a-SNPs), η πραγματική περιεκτικότητα σε αμυλόζη (TAC) ανιχνεύθηκε σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις και ίση με 39.4%. Η μείωση της περιεκτικότητας σε αμυλόζη οφείλεται στην ενδεχόμενη απομάκρυνση της αμυλόζης ως αποτέλεσμα της ζελατινοποίησης, καταλήγοντας σε διάρρηξη των δεσμών υδρογόνου στις έλικες με συνέπεια την απελευθέρωση αμυλόζης.

Αυτή η διαδικασία οδηγεί στη δημιουργία αλληλεπιδράσεων αμυλόζης-αμυλόζης και αμυλόζης-αμυλοπηκτίνης που οδηγούν σε υποεκτίμηση της περιεκτικότητας σε αμυλόζη (TAC.), όπως έχει ήδη αναφερθεί από τον Aaliya και τους συνεργάτες (Aaliya et al., 2022). Οι αλλαγές στην κρυσταλλικότητα αναλύονται σε επόμενο κεφάλαιο για να βρεθούν οι δομικές αλλαγές του ανθεκτικού αμύλου σύμφωνα με τις διαδικασίες της ζελατινοποίησης μέσω αυτόκλειστου, της νανο-καθίζησης και τω υπερήχων που χρησιμοποιήθηκαν.

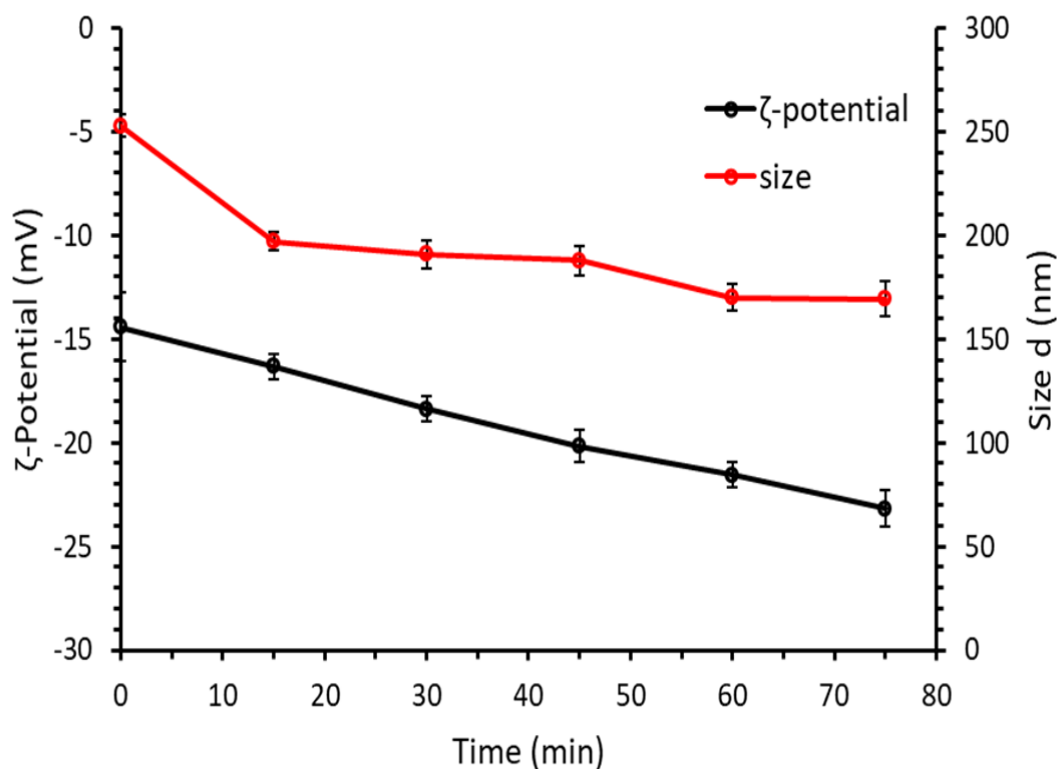


Σχήμα 23. Απεικόνιση του φασματικού προφίλ σάρωσης του υπολογισμού αμυλόζης. [68% Con A: τα δείγματα που έχουν επεξεργαστεί και έχουν 68% αμυλόζη; 68% Whole: τα μη επεξεργασμένα δείγματα με, 68% αμυλόζη; High amylose Con A: τα δείγματα που έχουν επεξεργαστεί και έχουν, υψηλή αμυλόζη (High amylose); High amylose Whole: τα μη επεξεργασμένα δείγματα με, υψηλή αμυλόζη (High amylose); a-SNP Con A: δείγματα που έχουν επεξεργαστεί και έχουν νανο-σωματίδια (a-SNP); a-SNP Whole: τα μη επεξεργασμένα δείγματα με, νανο-σωματίδια (a-SNP)].

4.3.3. Ζήτα δυναμικό (Zeta Potential)

Το ζήτα-δυναμικό αποτελεί μια αξιόπιστη μέθοδο εκτίμησης της σταθερότητας κολλοειδών εναιωρημάτων (Hassan et al., 2022; Jhan et al., 2020; Ullah et al., 2018). Χαρακτηριστικά, μια αύξηση στην τιμή του δυναμικού ζήτα είναι ενδεικτική του αυξημένου επιφανειακού φορτίου, το οποίο ελέγχει τη διασπορά και τη συσσωμάτωση, και συνεπώς ενδεικτική της σταθερότητας των κολλοειδών.

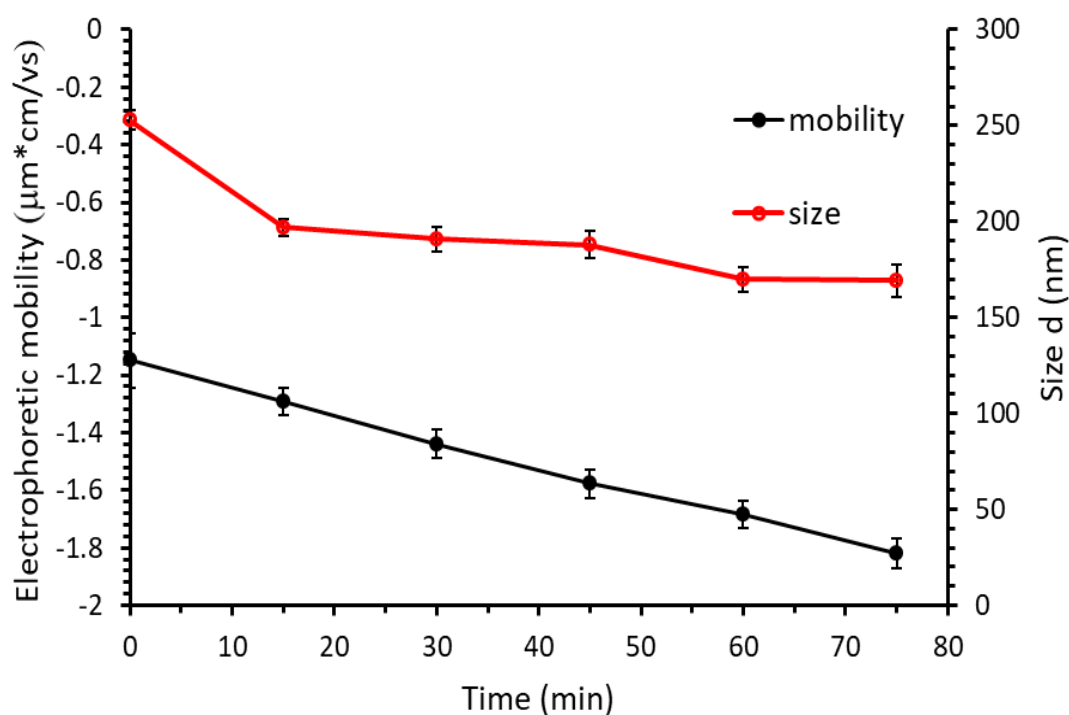
Όλα τα δείγματα παρουσιάζουν αρνητικές τιμές δυναμικού ζήτα, όπως διαφαίνεται στο Σχήμα 24. Το ζήτα δυναμικό των νανο-σωματιδίων αμύλου που επεξεργάστηκαν και με υπερήχους ανάλογα με τη διάρκεια κατεργασίας παρουσίαζε σταδιακά χαμηλότερες τιμές.



Σχήμα 24. Ζήτα δυναμικό - μέγεθος σωματιδίων σε σχέση με τη διάρκεια κατεργασίας με υπερήχους.

Αναλυτικότερα, η τιμή του ζήτα δυναμικού στο φυσικό δείγμα αμύλου ήταν -13.34 ± 0.63 mV ενώ η αντίστοιχη τιμή του ζήτα δυναμικού των συσσωματωμένων νανοσωματιδίων -14.4 ± 0.54 mV. Η κατεργασία των νανο-σωματιδίων (a-SNPs) με υπερήχους για 60 λεπτά, όπως ήταν αναμενόμενο, οδήγησε σε χαμηλότερη τιμή ζήτα δυναμικού και συγκεκριμένα ίση με -21.56 mV (US-SNPs). Η σταδιακή αρνητική αύξηση του ζήτα δυναμικού υποδηλώνει ότι η φυσική επεξεργασία με υπερήχους ελαχιστοποιεί την τάση των νανο-σωματιδίων (SNP) να συσσωματώνονται λόγω των ελκτικών δυνάμεων Van der Waals στις διεπαφές σωματιδίων-σωματιδίων.

Τα δεδομένα της ηλεκτροφορητικής κινητικότητας, δηλαδή της ταχύτητας των σωματιδίων σε ένα εξωτερικό ηλεκτρικό πεδίο, όπως αντίστοιχα και οι τιμές ζήτα δυναμικού, παρουσιάζουν πτωτική τάση προς πιο αρνητικές τιμές καθώς αυξάνεται η διάρκεια της κατεργασίας των δειγμάτων με υπερήχους Σχήμα 25.



Σχήμα 25. Ηλεκτροφορητική κινητικότητα και μέγεθος σωματιδίων συναρτήσει του χρόνου υπερήχων.

Η κατεργασία με υπερήχους μπορεί να προκαλέσει δομικές αλλαγές στα δείγματα, λόγω των οποίων φορτισμένες ομάδες (OH⁻) μπορεί να προκαλούν αύξηση της ηλεκτροστατικής απόθησης των νανο-σωματιδίων, με συνέπεια την αύξηση της απόλυτης τιμής του ζήτα δυναμικού. Επιπροσθέτως, η αύξηση της απόλυτης τιμής του ζήτα δυναμικού μπορεί να οφείλεται και στη μειωμένη υδροδυναμική διάμετρο των σωματιδίων τα οποία μειώνουν τον συντελεστή τριβής (λόγω μικρότερης επιφάνειας) και λόγω αυτού αποκτούν μεγαλύτερη κινητικότητα όταν εκτίθενται σε εξωτερικό ηλεκτρικό πεδίο. Η υψηλότερη απόλυτη τιμή ζήτα δυναμικού (-21.56 mV) που καταγράφηκε για τα μικρότερα νανο-σωματίδια (169.9 nm), χαρακτηρίζει το σύστημα ως “μέτρια-ενδιάμεσα” σταθερό με τον χρόνο, εμποδίζοντας όμως τη γρήγορη συσσωμάτωση σωματιδίων. Αντίθετα, τα παραγόμενα νανο-σωματίδια μέσω νανο-καθίζησης (252.8 nm), για τα οποία καταγράφηκε χαμηλότερη απόλυτη τιμή ζήτα δυναμικού (-14.4 mV), οδηγούν σε ομαδοποιημένα σωματίδια που λόγω των αυξημένων ελκτικών δυνάμεων Van der Waals. Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι η διαδοχική υδροθερμική ζελατινοποίηση, νανο-καταβύθιση και η χρήση υπερήχων σχημάτισαν αποτελεσματικά νανο-σωματίδια αμύλου, που παρουσιάζουν καλή σταθερότητα εναιωρήματος και παρέχουν μια συσχέτιση μεταξύ του δυναμικού ζήτα και του μεγέθους των σωματιδίων.

4.3.4. Ανάλυση φασματοσκοπίας υπέρυθρου μετασχηματισμού Fourier

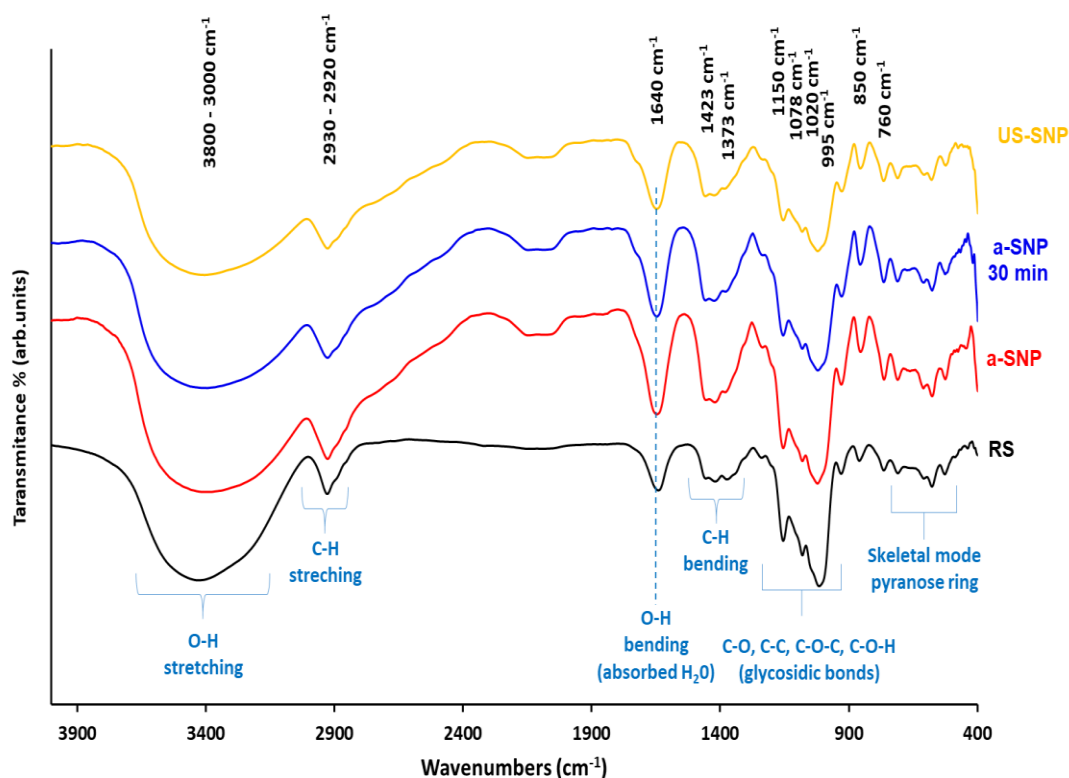
Τα φάσματα FTIR χρησιμοποιήθηκαν για την εξέταση της μοριακής δομής του ανθεκτικού αμύλου μετά τις φυσικές μεθόδους νανο-καταβύθισης και επεξεργασίας με υπερήχους, όπως χαρακτηριστικά παρουσιάζονται στο Σχήμα 26. Για κάθε δείγμα, οι πέντε κύριες ζώνες, που ανέδειξε η φασματοσκοπία FTIR, καταγράφηκαν περίπου στους ίδιους κυματοαριθμούς.

Το μη επεξεργασμένο δείγμα αμύλου, το δείγμα a-SNP, το a-SNP 30 min και το US-SNP παρουσιάζουν χαρακτηριστικές ζώνες στα 3800-3000 cm⁻¹ που σχετίζονται με τις δονήσεις του δεσμού O-H (διαμοριακές, ελεύθερες και ενδομοριακές υδροξυλομάδες) (Dong et al., 2022; Fang et al., 2002; Nain et al., 2022). Σε σύγκριση με το ακατέργαστο δείγμα αμύλου, οι κορυφές της δονητικής έκτασης του δεσμού O-H μετατοπίστηκαν για όλα τα δείγματα νανο-σωματιδίων σε χαμηλότερους κυματοαριθμούς. Αυτή η αλλαγή ανέδειξε ότι οι δεσμοί υδρογόνου στα δείγματα νανο-σωματιδίων ήταν ισχυρότεροι συγκριτικά με τους δεσμούς υδρογόνου του φυσικού αμύλου, γεγονός που

επιβεβαιώνεται και από προηγούμενες σχετικές αναφορές (Mudasir Ahmad et al., 2020; Ma et al., 2007). Η περιοχή απορρόφησης (absorption bands) σε περίπου 2930 cm^{-1} ήταν χαρακτηριστική για τις ασύμμετρες εκτάσεις (asymmetric stretches) C-H που σχετίζονται με τους δακτυλίους πυρανόζης (pyranose rings) τόσο του ακατέργαστου δείγματος όσο και των νανο-σωματιδίων αμύλου. Επιπλέον, παρατηρήθηκε μια περιοχή απορρόφησης στα 1640 cm^{-1} , η οποία είναι πιθανότατα αποτέλεσμα του στενά δεσμευμένου νερού (tightly bound water) στο άμυλο, όπως προτείνεται από προηγούμενες αναφορές, και δεν παρουσιάζει εμφανείς διαφορές στην ένταση κορυφής μετά τη μείωση του μεγέθους του αμύλου (Mudasir Ahmad et al., 2020; Nain et al., 2022). Επιπλέον, η περιοχή του φάσματος μεταξύ 1450 και 1300 cm^{-1} εμφανίζει ένα μοτίβο που αντιπροσωπεύει την κάμψη C-H. Συγκεκριμένα, η περιοχή του φάσματος στα 1423 cm^{-1} σχετίζεται με κάμψεις CH_2 , ενώ αντίστοιχη περιοχή στα 1373 cm^{-1} σχετίζεται με κάμψεις C-O-H (Kaczmarska et al., 2018). Η περιοχή της ζώνης υπέρυθρων ($1200\text{-}900\text{ cm}^{-1}$) περιλαμβάνει δονήσεις δεσμού που είναι αρκετά ευαίσθητες για τη δομή του αμύλου, οι οποίες όμως επικαλύπτονται σε μεγάλο βαθμό, καθιστώντας την αντιστοίχιση μεμονωμένων ζωνών πολύ δύσκολη. Ωστόσο, οι κύριες κορυφές απορρόφησης στα 1150 cm^{-1} , 1078 cm^{-1} και 1020 cm^{-1} μπορούν να αποδοθούν στη δονητική έκταση (vibrational stretching) του C-O του δακτυλίου άνυδρο-γλυκόζης (anhydroglucose ring) ενώ στα 930 cm^{-1} αποδίδονται σε σκελετικές δονήσεις (skeletal mode vibrations) του $\alpha\text{-}1,4$ -γλυκοσιδικού δεσμού C-O-C ενωμένα (930 cm^{-1}) (Nain et al., 2022; Warren et al., 2016). Η ζώνη IR στα 850 cm^{-1} - 760 cm^{-1} αποδίδεται στη δόνηση C-H της παραμόρφωσης CH_2 και τη δονητική έκταση C-C, ενώ η ζώνη IR στα $760\text{-}550\text{ cm}^{-1}$ αποδίδεται στη σκελετική δόνηση του δακτυλίου πυρανόζης (Kizil et al., 2002; Warren et al., 2016).

Προκειμένου να έχουμε μια ένδειξη της οργανωμένης μοριακής δομής σε μικρή εμβέλεια των υπό μελέτη αμύλων, υπολογίστηκε η αναλογία των κορυφών (peak ratio) $995:1020\text{ cm}^{-1}$. Οι τιμές της σχέσης των χαρακτηριστικών κορυφών μειώθηκαν μετά τον σχηματισμό των νανο-σωματιδίων. Συγκεκριμένα, το ακατέργαστο δείγμα αμύλου παρουσιάζει μια τιμή 0.96 (peak ratio) ενώ όλα τα δείγματα διαφορετικά δείγματα νανο-σωματιδίων παρουσιάζουν τιμή 0.93 (peak ratio). Τα προαναφερθέντα αποτελέσματα συνάδουν με την ανάλυση της κρυσταλλικότητας (XRD). όπου παρατηρήθηκε μείωση της κρυσταλλικότητας στα δείγματα νανο-σωματιδίων. Συνολικά, η φασματοσκοπία FTIR αποδεικνύεται ένα χρήσιμο εργαλείο για την

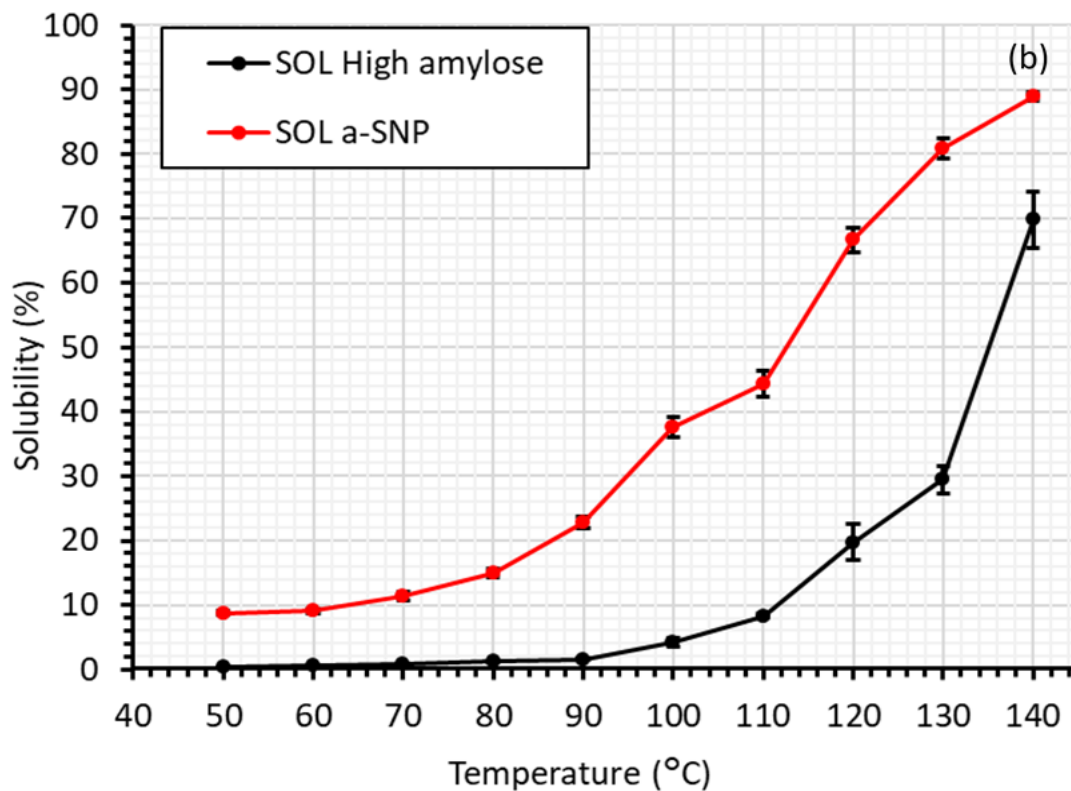
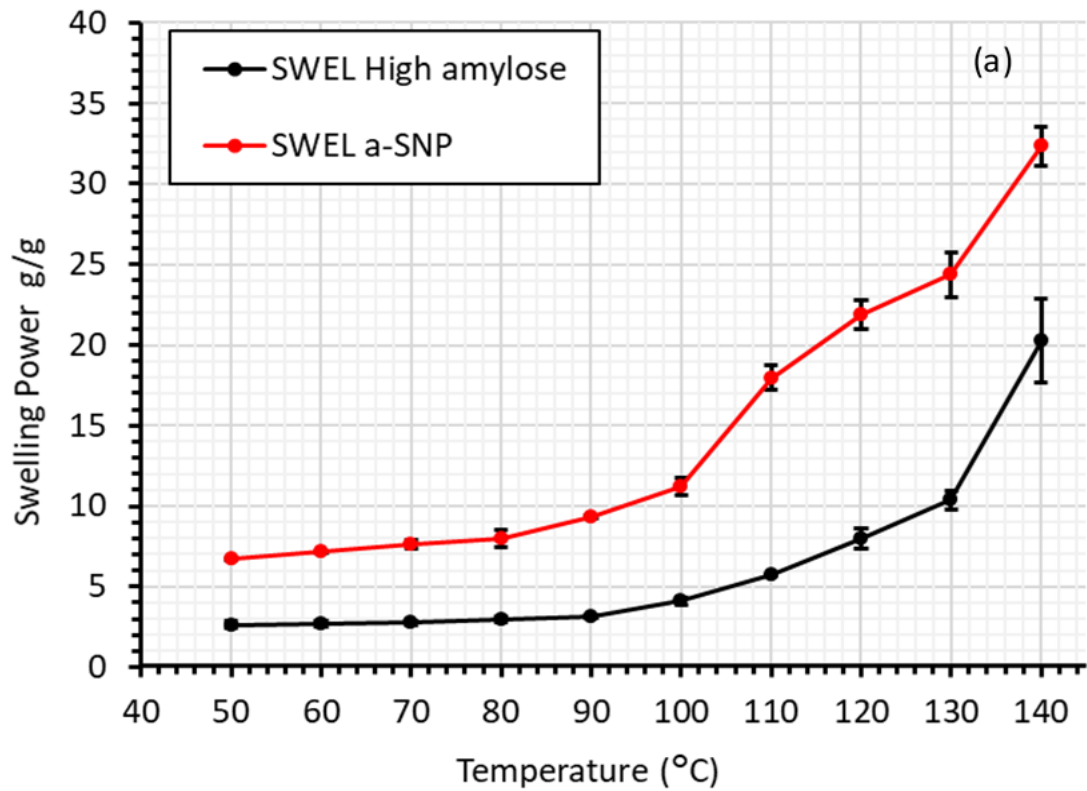
επικύρωση της χημικής ακεραιότητας (chemical integrity) των νανο-δομών αμύλου. Εντούτοις, είναι προφανές ότι δεν έλαβαν χώρα μηχανισμοί χημικής υποβάθμισης (chemical degradation) κατά τη διαδικασία παρασκευής νανο-δομών, όπου τα παραγόμενα νανο-σωματίδια είναι απαλλαγμένα από οποιοδήποτε οξειδωμένο χημικό είδος (δηλαδή ομάδες COOH και C=C).



Σχήμα 26. Φασματοσκοπία υπέρυθρου μετασχηματισμού Fourier διαφορετικών δειγμάτων: δείγματος αμύλου υψηλής περιεκτικότητας σε αμυλόζη (RS), νανο-σωματίδια μετά από νανο-καταβύθιση (a-SNPs), νανο-σωματίδια μετά από 30 λεπτά (a-SNPs 30 min) υπερήχων και τα τελικά νανο-σωματίδια μετά από χρήση υπερήχων για 60 λεπτά (US-SNPs).

4.3.5. Βαθμός διόγκωσης και διαλυτότητα

Τα προφίλ του βαθμού διόγκωσης των δειγμάτων φυσικού αμύλου καθώς και των νανο-σωματιδίων αμύλου παρουσιάζονται αναλυτικά στο Σχήμα 27 α. Όπως παρατηρείται, ο βαθμός διόγκωσης των νανο-σωματιδίων (a-SNPS) και του ακατέργαστου δείγματος αμύλου αυξάνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας. Η διάσπαση του εκτεταμένου πλέγματος των δεσμών υδρογόνου που συγκρατούν την αμυλόζη και την αμυλοπηκτίνη στη μορφή του αμυλόκοκκου συμβαίνει σε περίσσεια νερού και διάμεσό υψηλών θερμοκρασιών, οι οποίες καταστρέφουν τις κρυσταλλικές περιοχές και προκαλούν διόγκωση των κόκκων αμύλου, οδηγώντας σε αύξηση του βαθμού διόγκωσης του αμύλου. Όσον αφορά το ακατέργαστο δείγμα αμύλου, παρατηρήθηκε σταδιακή αύξηση της συμπεριφοράς του βαθμού διόγκωσης στους 100 °C έως 140 °C. Συγκριτικά, οι αλλαγές που σημειώθηκαν στον βαθμό διόγκωσης των νανο-σωματιδίων που μελετήθηκαν, υποδηλώνουν τη σταδιακή αύξηση του βαθμού διόγκωσης σε ένα εύρος θερμοκρασίας από 90 έως 140 °C. Επιπροσθέτως, τα νανο-σωματίδια παρουσιάζουν υψηλότερες τιμές του βαθμού διόγκωσης σε όλα τα εύρη θερμοκρασίας σε σύγκριση με τα μη επεξεργασμένα σωματίδια αμύλου, έχοντας στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους ($p \leq 0.05$). Αυτό το φαινόμενο αποδίδεται στη μείωση της περιεκτικότητας σε αμυλόζη στα δείγματα a-SNPs, γεγονός που υποδηλώνει ότι λόγω των ασθενών διαμοριακών δυνάμεων που αναπτύσσονται μεταξύ των μορίων της αμυλοπηκτίνης, η ικανότητα απορρόφησης υγρασίας αλλά και η ικανότητα συγκράτησης εξασθενούν (Navaf et al., 2020; Xing et al., 2017). Η παρατηρούμενη αύξηση του βαθμού διόγκωσης των δειγμάτων a-SNP, σε σύγκριση με αυτά του φυσικού αμύλου, μπορεί να αποδοθεί στην κατεργασία των δειγμάτων με την τεχνική της νανο-καταβύθισης, κατά την οποία προκαλείται μείωση της συγκέντρωσης αμυλόζης στις άμορφες περιοχές, με αποτέλεσμα την αύξηση της περιεκτικότητας σε αμυλοπηκτίνη, η οποία τελικά επηρεάζει τη διόγκωση. Υπό το πρίσμα αυτό, αναφέρεται ότι η αμυλοπηκτίνη είναι κυρίως υπεύθυνη για τον βαθμό διόγκωσης των αμυλόκοκκων (Xing et al., 2017).



Σχήμα 27. a) βαθμός διόγκωσης και b) διαλυτότητα ανθεκτικού αμύλου (υψηλής αμυλόζης) σε ένα διάστημα θερμοκρασίας.

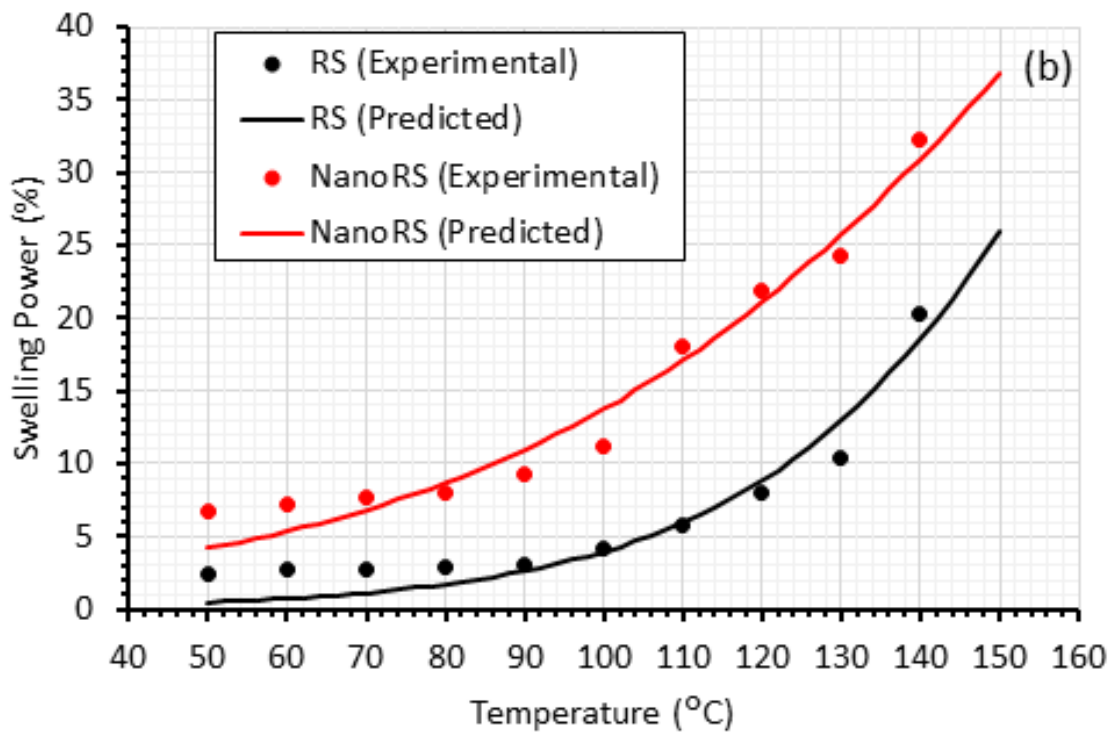
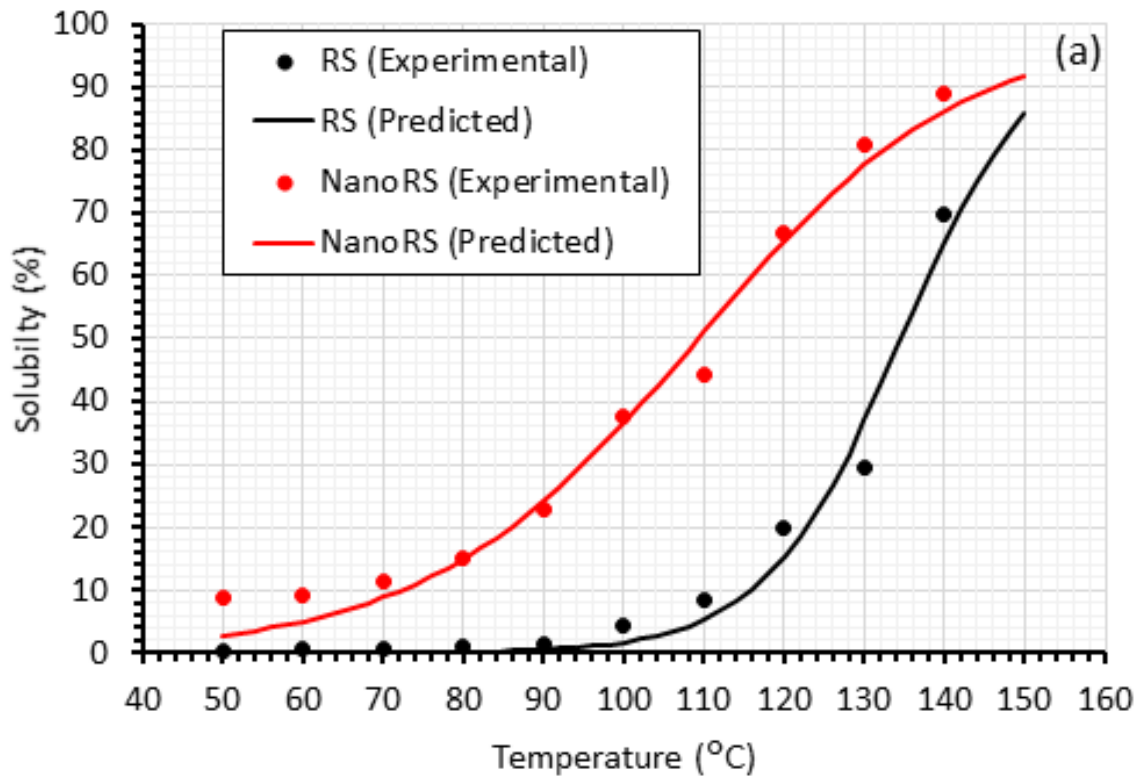
Όσον αφορά στη διαλυτότητα (solubility), αποδείχθηκε ότι ακολουθεί παρόμοια τάση με τον βαθμό διόγκωσης του αμύλου, συναρτήσει της θερμοκρασίας (Εικόνα 27. b). Σε όλο το εύρος θερμοκρασιών, τα νανο-σωματίδια (a-SNP) παρουσίαζαν υψηλότερες τιμές διαλυτότητας, συγκριτικά με τα μη επεξεργασμένα δείγματα. Ενδιαφέρον παρουσιάζει επίσης η συμπεριφορά του ακατέργαστου δείγματος, το οποίο στη χαμηλότερη θερμοκρασία των 40 °C, δεν παρουσίασε κάποια διαλυτότητα, ενώ τα νανο-σωματίδια a-SNP παρουσίασαν μια τιμή γύρω στο 10%. Επιπλέον, στην υψηλότερη θερμοκρασία, η διαλυτότητα των νανο-σωματιδίων συγκριτικά με αυτή των φυσικών δειγμάτων αμύλου αυξήθηκε κατά 27.5. Το ακατέργαστο άμυλο, στις θερμοκρασίες από 50 °C έως 90 °C, δεν παρουσίασε κάποια διαλυτότητα και υπολογίστηκε μια μικρή αύξηση περίπου 1.57% στο θερμοκρασιακό αυτό εύρος.

Τέλος, παρουσιάζεται μέσω του Σχήματος 28 η προσαρμογή ενός μαθηματικού μοντέλου σύμφωνα με την Εξίσωση 21, ώστε να μπορούν να προβλεφθούν τιμές διαλυτότητας και βαθμού διόγκωσης εναιωρημάτων 1% w/v για ενδιάμεσες θερμοκρασίες, ή δοσμένης μιας τιμής διαλυτότητας ή βαθμού διόγκωσης να μπορεί να επαληθευτεί η θερμοκρασία του δείγματος. Επιπλέον, στον Πίνακα 8 παρατίθενται οι παράμετροι της εξίσωσης. Συμπερασματικά, καθώς η θερμοκρασία αυξανόταν από τους 50 °C στους 140 °C, ο βαθμός διόγκωσης και η διαλυτότητα τόσο του ακατέργαστου αμύλου όσο και των νανο-σωματιδίων (a-SNP) αυξάνονταν συνεχώς, ενώ αξιοσημείωτες διαφορές μεταξύ των δειγμάτων παρατηρήθηκαν.

$$y = \frac{a}{(1 + c * e^{(-b*T)})} \quad (21)$$

Πίνακας 8. Συντελεστές που σχετίζονται με την Εξίσωση 14 για τις παραμέτρους της διαλυτότητας και του βαθμού διόγκωσης.

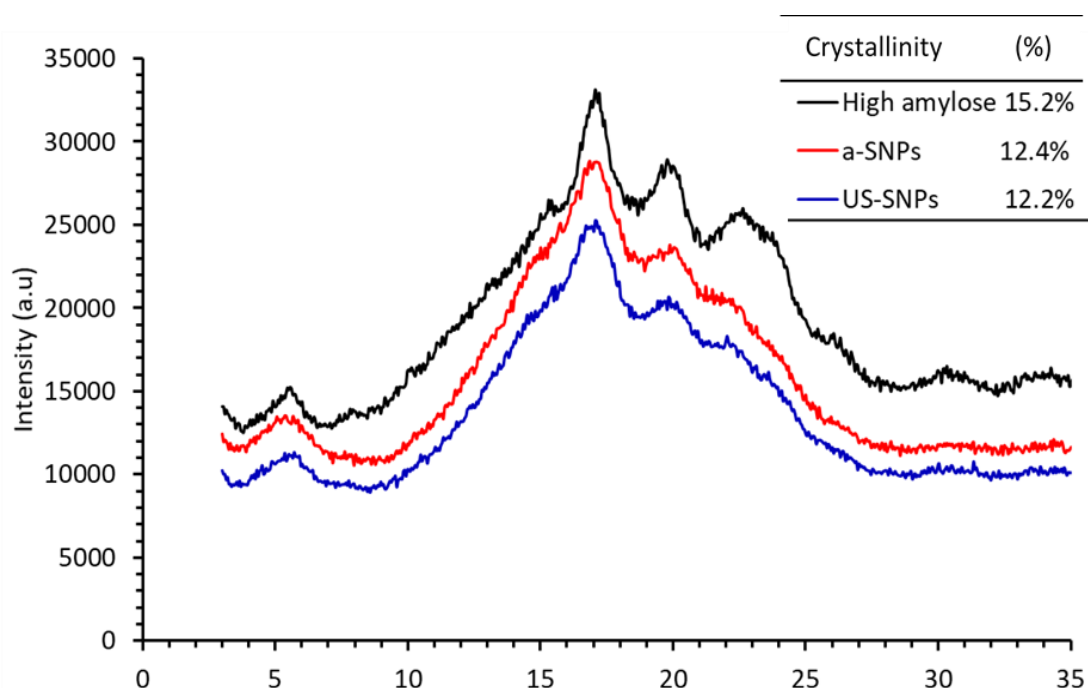
Συντελεστές	Διαλυτότητα		Βαθμός διόγκωσης	
	RS	a-SNP	RS	a-SNP
a	100	100	100	100
b	0.117	0.059	0.043	0.026
c	7,090,033	662.925	1,728	83.134
R ²	0.977	0.922	0.943	0.864



Σχήμα 28. Γραφική απεικόνιση πειραματικών και προβλεπόμενων τιμών (a) διαλυτότητας, (b) βαθμού διόγκωσης σε ένα διάστημα θερμοκρασίας.

4.3.6. Κρυσταλλικότητα σωματιδίων αμύλου

Στο Σχήμα 29 παρουσιάζονται αναλυτικά τα μοτίβα περίθλασης ακτίνων X, των νανο-σωματιδίων α-SNPs, των νανο-σωματιδίων US-SNP καθώς και του ακατέργαστου αμύλου. Οι κύριες κορυφές περίθλασης (2θ) στις 5.4° , 17° , 20° και 23° (2θ) επιβεβαιώνουν την τύπου B κρυσταλλικότητα του ανθεκτικού αμύλου (Apostolidis et al., 2021; Apostolidis & Mandala, 2020). Το γεγονός ότι σε όλα τα δείγματα οι κύριες κορυφές που ανιχνεύθηκαν ήταν παρόμοιες, υποδηλώνει ότι η δομή του αμύλου αραβόσιτο είναι ανεξάρτητη του μεγέθους των σωματιδίων, ενώ παράλληλα διαφαίνεται ότι διατηρείται ένα μοτίβο τύπου B, αν και με χαμηλότερη κρυσταλλικότητα. Πιο συγκεκριμένα, το φυσικό άμυλο παρουσιάζει μια κρυσταλλικότητα ίση με 15.2%, ενώ τα συσσωματωμένα νανο-σωματίδια α-SNPs και τα νανο-σωματίδια US-SNPs. παρουσίασαν κρυσταλλικότητα ίση με 12.4% και 12.2% αντίστοιχα

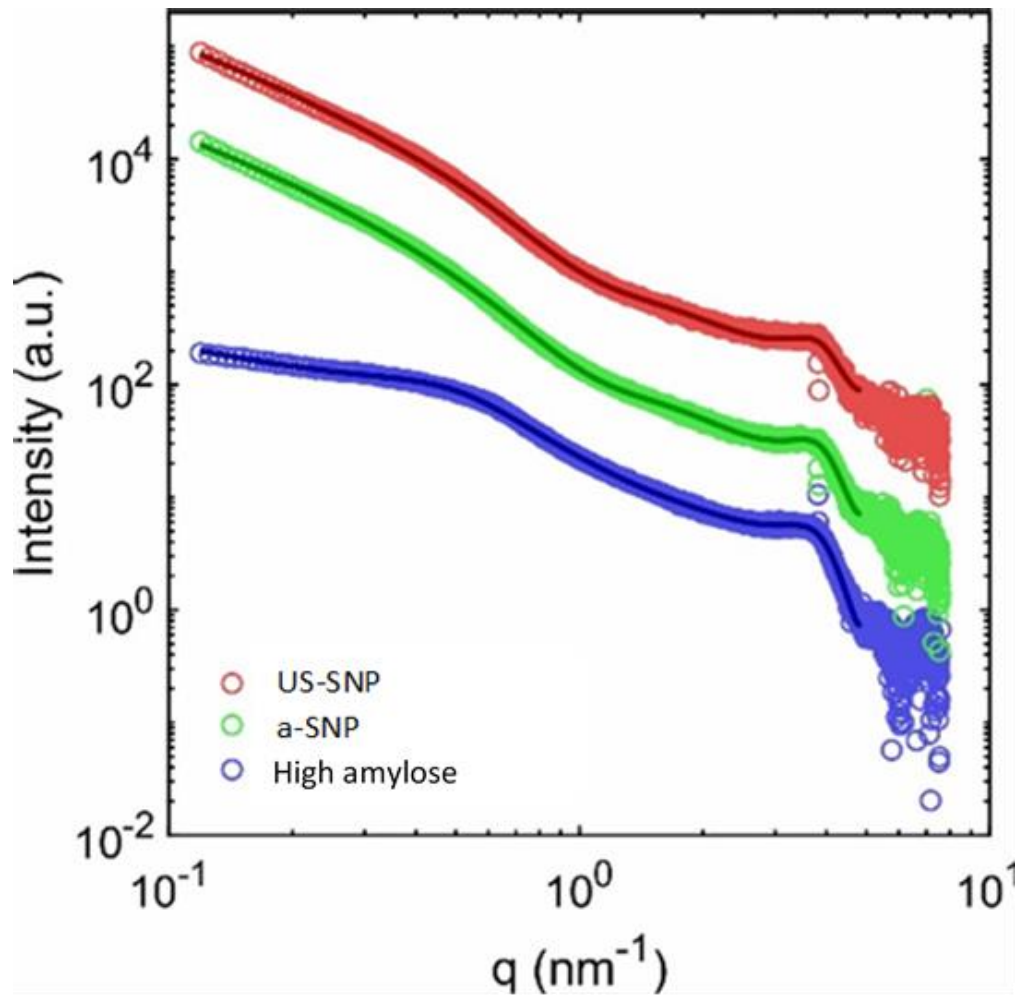


Σχήμα 29. Κρυσταλλογραφία ακτίνων-X, αμύλου υψηλής περιεκτικότητας σε αμυλόζη (High amylose), συσσωματωμένων νανο-σωματιδίων α-SNPs και νανο-σωματιδίων US-SNPs.

Επιπρόσθετα, στα επεξεργασμένα δείγματα διαφαίνεται ότι η χρήση υπερήχων δεν επέφερε κάποια δομική αλλαγή, καθώς όλες οι κορυφές διάθλασης παρουσιάζουν παρόμοια ένταση. Η φυσική μέθοδος επεξεργασίας με υπερήχους αποτελεί μια σχετικά ήπια διεργασία, διέποντας στο συμπέρασμα ότι για αυτό τον λόγο δεν προκαλούνται αλλαγές στην κρυσταλλική δομή, όπως έχει αναφερθεί και βιβλιογραφικά (Carmona-García et al., 2016; Falsafi et al., 2019; Monroy et al., 2018; Rahaman et al., 2021). Αυτό το μοτίβο οφείλεται στην επίδραση της διεργασίας στις φυλλώδεις (lamellar) διατάξεις που αποτελούν τον κόκκο αμύλου. Συγκεκριμένα, όπως περιγράφηκε πρόσφατα από τον Jiang και τους συνεργάτες του, η αμυλοπηκτίνη καθορίζει τη διάταξη των κρυσταλλικών περιοχών του αμύλου, σε αντίθεση με την αμυλόζη που καθορίζει τις άμορφες περιοχές (F. Jiang et al., 2022). Τα δείγματά των νανοσωματιδίων παρουσιάζουν μειωμένη κρυσταλλικότητα, παρά το γεγονός ότι η περιεκτικότητά τους σε αμυλόζη ήταν χαμηλότερη. Συμπερασματικά, η μειωμένη κρυσταλλικότητα είναι ένα συνεργιστικό φαινόμενο της χαμηλής περιεκτικότητας σε αμυλόζη καθώς και της μείωσης του μεγέθους των σωματιδίων, με το μέγεθος των σωματιδίων να αποτελεί τον σημαντικότερο παράγοντα που επιδρά στην κρυσταλλικότητα (D. Liu et al., 2009).

4.3.7. Σκέδαση ακτίνων-X μικρής γωνίας

Το πιο κοινό δομικό χαρακτηριστικό στους κόκκους αμύλου είναι η απόσταση (μερικά νανόμετρα) μεταξύ των φυλλωδών δομών (lamellar spacing) που σχηματίζονται από τις εναλλασσόμενες άμορφες και ημι-κρυσταλλικές περιοχές της αμυλοπηκτίνης, παρουσιάζοντας συνήθως μια χαρακτηριστική κορυφή (SAXS) μεταξύ $0.6-0.8 \text{ nm}^{-1}$ (Luo et al., 2021). Αυτή η φυλλώδης διάταξη παρατηρείται σε πολύ υψηλές εντάσεις σε άμυλα τόσο από αραβόσιτο όσο και από πατάτα (Doutch & Gilbert, 2013). Όσον αφορά στο ακατέργαστο δείγμα αμύλου υψηλής περιεκτικότητας σε αμυλόζη, η χαρακτηριστική κορυφή της φυλλώδους δομής αποτυπώνεται στα 0.47 nm^{-1} που αντιστοιχεί σε απόσταση 13.6 nm και παρουσιάζεται στο Σχήμα 30. Παρόλο που η κορυφή είναι πολύ έντονη για το μη επεξεργασμένο δείγμα αμύλου, η έντασή της μειώνεται σημαντικά όσον αφορά στα δείγματα νανο-σωματιδίων (a-SNP) και εξαφανίζεται εντελώς στα δείγματα που έχουν επεξεργαστεί περαιτέρω με υπερήχους και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 9..



Σχήμα 30. Σκέδαση ακτίνων X μικρής γωνίας: τα πειραματικά δεδομένα εμφανίζονται με ανοιχτούς κύκλους ενώ οι συμπαγείς γραμμές αντιπροσωπεύουν τις προσομοιωμένες (simulated) καμπύλες σκέδασης σύμφωνα με το ενοποιημένο μοντέλο.

Από το μοτίβο σκέδασης ακτίνων X, παρατηρείται μια ακόμη χαρακτηριστική κορυφή περίθλασης γύρω στα 3.8 nm^{-1} , η οποία είναι χαρακτηριστική κορυφή για δείγματα αμύλου κρυσταλλικότητας τύπου B. Επιπροσθέτως, θέση αυτής της κορυφής παραμένει σχεδόν η ίδια σε όλα τα υπό μελέτη δείγματα και αντιπροσωπεύει την εξαγωνική διάταξη του πλέγματος των ελίκων από υδρογονάνθρακικές αλυσίδες. Η κορυφή αυτή συσχετίζεται με την ελικοειδή απόσταση και ισοδυναμεί με απόσταση 1.65 nm . Η θέση της χαρακτηριστικής αυτής κορυφής παραμένει σχεδόν η ίδια σε όλα τα δείγματα, υποδηλώνοντας ότι τόσο η τεχνική της νανο-καταβύθισης όσο και η επεξεργασία με υπερήχους δεν επηρεάζει το “πακετάρισμα” των αλυσίδων.

Πίνακας 9. Παράμετροι που λαμβάνονται από το SAXS

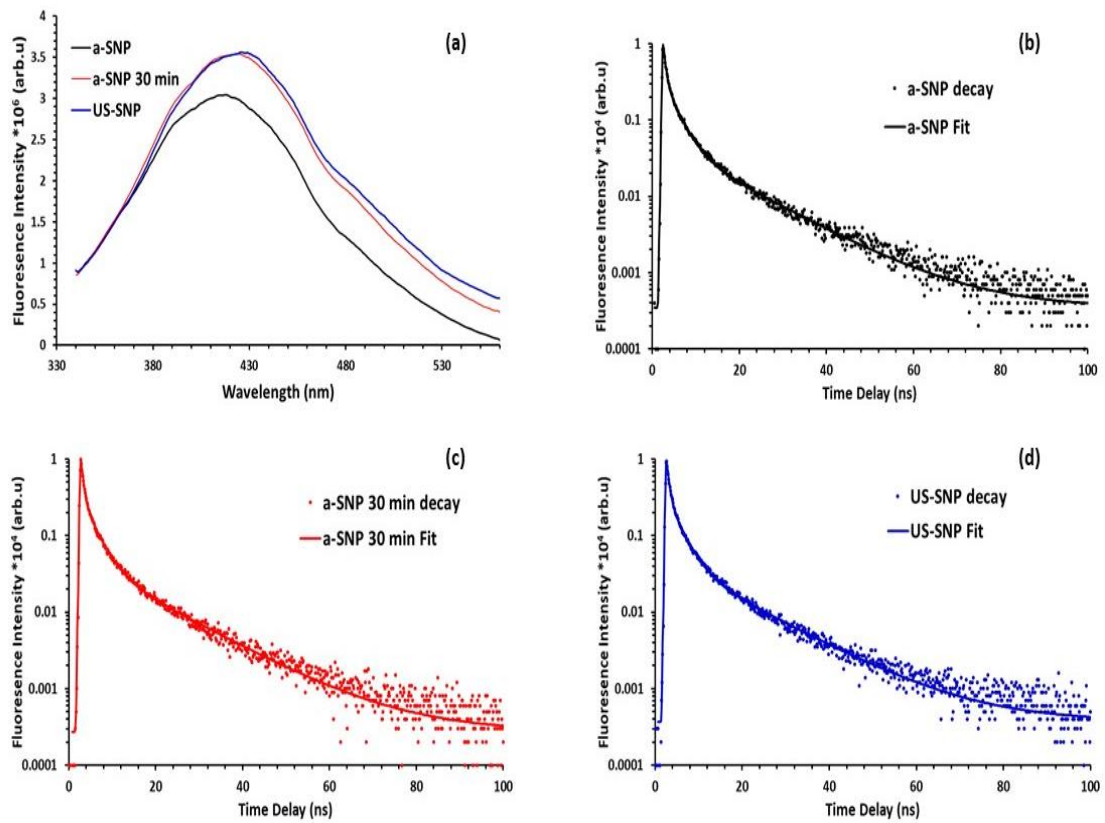
Peaks	Parameters	Samples		
		High-amylose	a-SNP	US-SNP
Peak L	$q_{\text{peak}} (\text{nm}^{-1})$	0.4654	0.4654	0.4654
	width (nm^{-1})	0.2266	0.2290	0.2088
	d (nm)	13.499	13.499	13.499
	h (nm)	8.2505	9.6767	9.2538
Peak B	$q_{\text{peak}} (\text{nm}^{-1})$	3.8290	3.9106	3.9106
	width (nm^{-1})	1.6409	1.6067	1.6067
	d (nm)	1.6409	1.6067	1.6067
	h (nm)	3.3159	3.3866	3.3866

h: average thickness of semi-crystalline lamellae

d: average d-spacing between polymer aggregates

4.3.8. Φασματοσκοπία φθορισμού σε σταθερή κατάσταση και χρόνο εξαρτώμενη φασματοσκοπία φθορισμού

Το άμυλο έχει μελετηθεί ως αθόρυβη μήτρα φθορισμού για να χρησιμοποιηθεί ως ανιχνευτής εκπομπής φωτός, δεδομένου ότι η μέγιστη απορρόφησή του εμφανίζεται στα ~340 nm, ενώ παράλληλα η ικανότητα φθορισμού σε στερεά κατάσταση είναι σχεδόν αμελητέα (Sun et al., 2014). Εν τούτοις, η διέγερση των νανο-σωματιδίων αμύλου a-SNP (διασπορά σε νερό 0,01 w/v) στα 340 nm υποδεικνύει μια έντονη και ευρεία εκπομπή φθορισμού, με ανώτατο όριο κορυφής τα 417 nm (Σχήμα 31). Η μέση διάρκεια ζωής - φθορισμού των συσσωματωμένων νανο-σωματιδίων (a-SNP) υπολογίστηκε στα 5.64 ns μέσω τριών εκθετικών μεταβλητών ($\tau_1 = 2.75$ ns, 42.85%; $\tau_2 = 13.72$ ns, 31.81%; $\tau_3 = 400$ ns, 25.34%),. Οι ιδιότητες της εκπομπής φθορισμού των νανο-σωματιδίων (a-SNPs), πιθανά οφείλεται στο συνδυασμό της δομικής παραμόρφωσης (structural deformation), των δεσμών υδρογόνου και του μεγέθους των σωματιδίων. Τα παραγόμενα νανο-σωματίδια (a-SNPs) από τη φυσικής διαδικασία της νανο-καταβύθισης μέσω υδροθερμικής ζελατινοποίησης, μπορούν να σχηματίσουν ένα πυκνό δίκτυο δεσμών υδρογόνου όταν είναι διασκορπισμένα σε νερό (Σχήμα 21). Λόγω αυτού του φαινομένου μπορεί να δημιουργηθεί μια μετατόπιση (delocalization) φορτίου μικρής εμβέλειας που είναι υπεύθυνη για τον φθορισμό που προκύπτει. Ανάλογες φωτοφυσικές (photo-physical) ιδιότητες έχουν αναφερθεί και σε άλλα φυσικά μη αρωματικά βιομόρια, στα οποία ευνοείται ο σχηματισμός δικτύου δεσμών υδρογόνου σε υδατικά μέσα (Pinotsi et al., 2016).

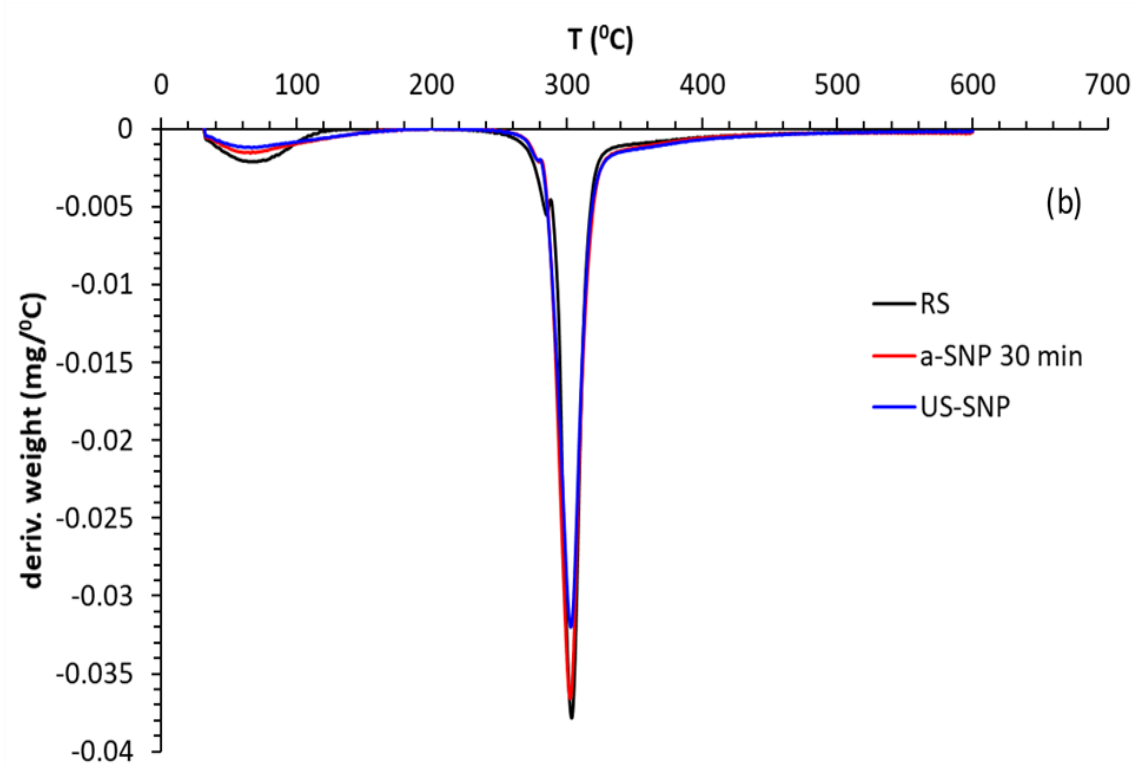
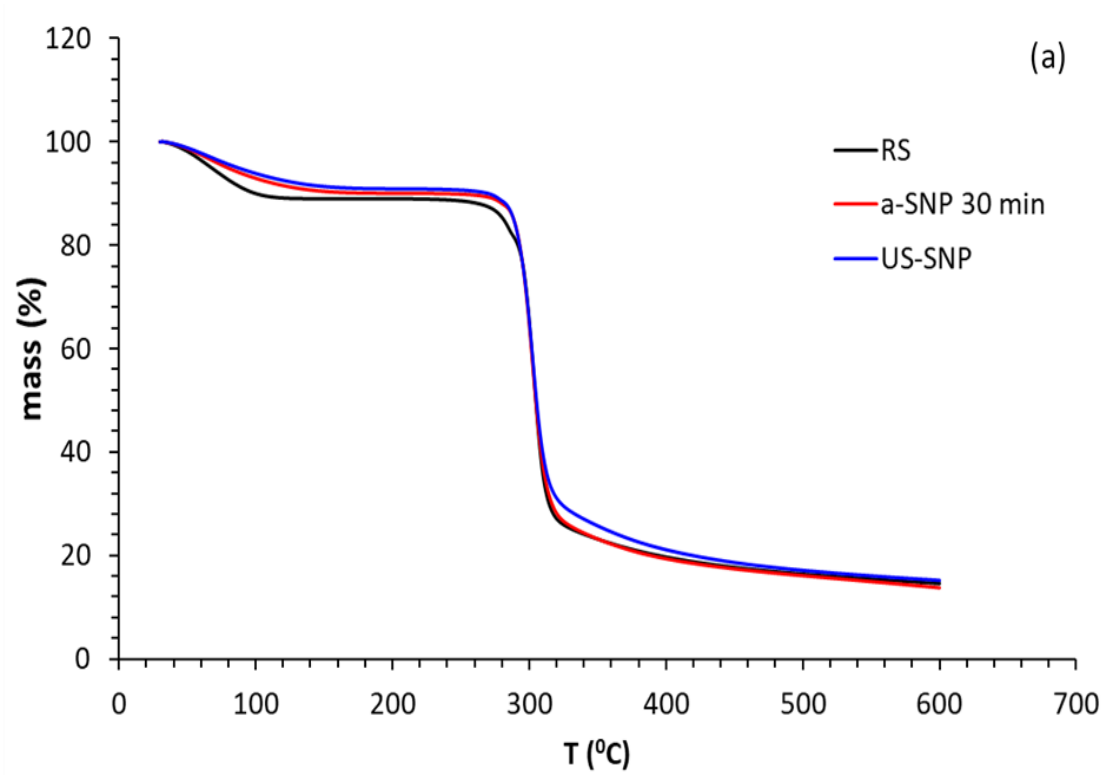


Σχήμα 31. (α) Φάσματα φθορισμού των νανο-σωματιδίων a-SNPs, a-SNPs 30 min, US-SNPs και (β), (γ), (δ) φάσματα διάρκειας ζωής (εξασθένισης, decay) φθορισμού των δειγμάτων a-SNPs από νανο-καταβύθιση, των a-SNPs 30 min μετά από υπερήχους 30 λεπτών και τα τελικά US-SNPs.

Επιπροσθέτως, η επεξεργασία των νανο-σωματιδίων a-SNP με υπερήχους για 30 λεπτά, είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της εκπομπής φθορισμού κατά 14% ενώ παράλληλα η μέγιστη κορυφή εμφανίστηκε στα 424 nm, μετατοπισμένη κατά 7 nm στην περιοχή προς το κόκκινο. Τα αποτελέσματα από τη δυναμική σκέδαση φωτός υποδεικνύουν ότι τα νανο-σωματίδια διασπώνται σταδιακά κατά τη διάρκεια της φυσικής επεξεργασίας με υπερήχους. Η αποσυσσωμάτωση (dismantling) των νανο-σωματιδίων (a-SNP) αύξησε την ένταση φθορισμού, φαινόμενο που αποτελείται στη μειωμένη στατική απόσβεση (static quenching) λόγω των αλληλεπιδράσεων σωματιδίων-σωματιδίων. Επιπλέον, η παρατηρούμενη μετατόπιση στην περιοχή του κόκκινου αποδίδεται στην κάλυψη της επιφάνειας των σωματιδίων με μόρια νερού. Τέλος, τα επεξεργασμένα με υπερήχους για 60 λεπτά νανο-σωματίδια (US-SNPs) εμφάνισαν μια περαιτέρω μετατόπιση προς την περιοχή του κόκκινου στο μέγιστο του φάσματος εκπομπής φθορισμού (428 nm) συνοδευόμενη από μια ελαφρά αύξηση της έντασης (2%), ενώ η αντίστοιχη μέση διάρκεια ζωής (t_{av}) υπολογίστηκε σε 5.62 ns. Η μέση διάρκεια ζωής φθορισμού τόσο των συσσωματωμένων νανο-σωματιδίων (a-SNPs) όσο και των ομοιογενών νανο-σωματιδίων (US-SNPs) είναι πρακτικά αμετάβλητη, οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι η μέθοδος των υπερήχων εμπλέκεται κυρίως στην αποσυσσωμάτωση (dismantling) των νανο-σωματιδίων (a-SNPs), τα οποία οδηγούν σε μια αύξηση της έντασης εκπομπής φθορισμού.

4.3.9. Σταθερότητα αμύλου με χρήση θερμοβαρυμετρικής ανάλυσης

Οι καμπύλες από τη θερμοβαρυμετρικής ανάλυσης (TGA) τόσο για ακατέργαστο δείγμα αμύλου και όσο και για τα νανο-σωματίδια αμύλου απεικονίζονται στο Σχήμα 32 α. Από την ανάλυση (TGA) αποκομίσαμε σημαντικές πληροφορίες σχετικά με τη θερμική σταθερότητα των δειγμάτων αμύλου. Συγκεκριμένα, οι καμπύλες (TGA) παρουσίασαν παρόμοια συμπεριφορά για τα δείγματα, αποτελούμενες από δύο βασικά στάδια απώλειας βάρους που αφορούν: α) στην εξάτμιση του απορροφημένου νερού στους $T < 120$ °C που υποδηλώνει την αφυδάτωση του αμύλου (απώλεια βάρους ~ 10%) και β) στην υποβάθμιση (degradation) της αμυλόζης και της αμυλοπηκτίνης και σχετίζεται με την κυριότερη απώλεια βάρους (~ 60%) στους ~ 280 °C έως 340 °C (Azad et al., 2022; Chinnasamy et al., 2022; S. Jiang et al., 2016).



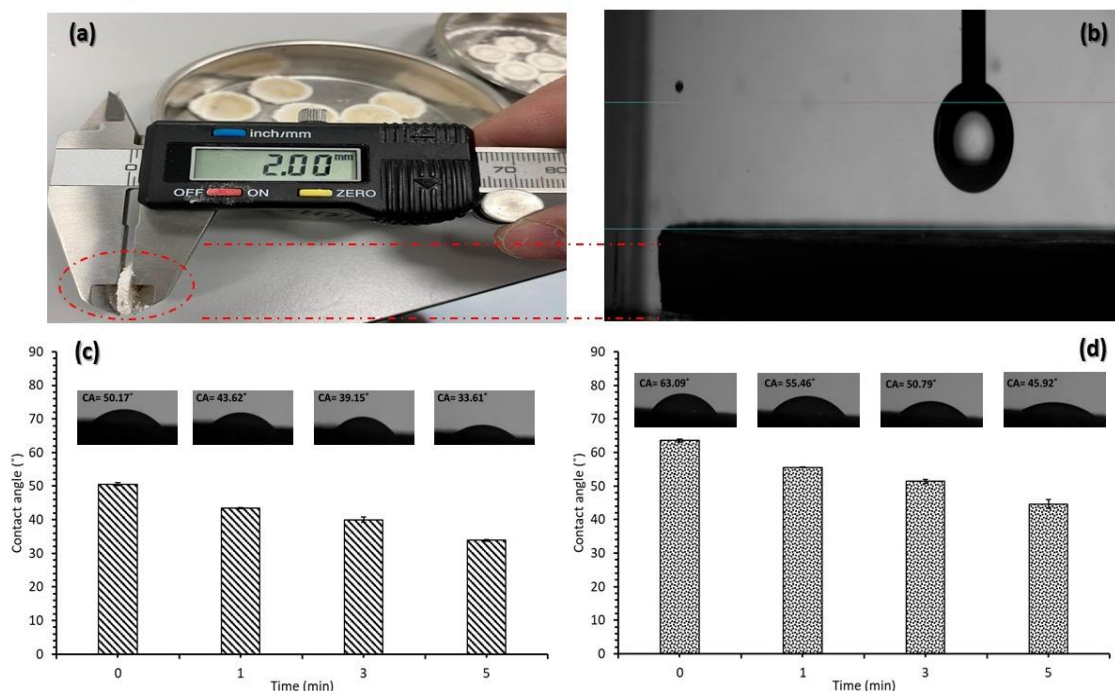
Σχήμα 32. Θερμοβαρουμετρική ανάλυση ((TGA): (a) Απώλεια βάρους των σύνθετων υλικών, (b) Απώλεια βάρους παραγώγων των σύνθετων υλικών.

Επιπλέον, οι καμπύλες από τη θερμοβαρυμετρική ανάλυση (TGA) μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον προσδιορισμό της μέγιστης θερμοκρασίας (Tmax) στην οποία αυτά τα βιο-πολυμερή αμύλου χάνουν το μεγαλύτερο βάρος κατά τη θερμική υποβάθμιση (degradation). Η θερμοκρασία αυτή υπολογίστηκε περίπου στους 300°C για το ακατέργαστο δείγμα και για τα νανο-σωματίδια αμύλου.

Για τα δείγματα αμύλου, η πρώτη παράγωγος της καμπύλης των σημάτων της θερμοβαρυμετρικής ανάλυσης (DTGA) αποτελείται από δύο περιοχές, ως αποτέλεσμα της απώλειας των μορίων του νερού που διαφεύγουν από το δίκτυο του αμύλου (απορροφημένο νερό, absorbed water) στους 67 °C και της επακόλουθης αποσύνθεσης (decomposition) του αμύλου στους 300 °C. Είναι αξιοσημείωτο ότι τα ομοιογενή νανο-σωματίδια (US-SNP) εμφάνισαν μια σχετικά βελτιωμένη εικόνα θερμικής αντίστασης, παρουσιάζοντας χαμηλότερο ρυθμό κατά το δεύτερο στάδιο της αποικοδόμησης (Σχήμα 32 b). Ενώ οι διαστάσεις των σωματιδίων μειώθηκαν σε νανο-κλίμακα, δεν παρατηρήθηκε αλλαγή της χημικής σύστασης τους και φαίνεται να ακολουθούν την τάση αποσύνθεσης του φυσικού αμύλου, όπως επιβεβαιώνεται και από τα αποτελέσματα της FTIR και XRD.

4.3.10. Γωνία επαφής

Οι γωνίες επαφής του φυσικού αμύλου και των συσσωματωμένων νανο-σωματιδίων υπολογίστηκαν μέσω της υδατικής φάσης στις 50.17° και 63.09° αντίστοιχα, όπως παρουσιάζεται στο Σχήμα 33. Οι γωνίες επαφής που είναι μεγαλύτερες από 90 μοίρες χαρακτηρίζουν μια επιφάνεια ή ένα υλικό ως υδρόφοβο, λόγω της αλληλεπίδρασης και της προσρόφησης (adhesion) νερού και υλικού. Επιπλέον, η διαβρεξιμότητα αυξάνεται με τη μείωση της γωνίας επαφής.



Σχήμα 33. Εικόνες του παρασκευασμένου σε μορφή πέλετ (δισκίου) δείγματος αμύλου (a) και απεικόνιση της μεθόδου της σταθερής σταγόνας (sessile drop) στα δισκία άμυλου (b), γωνία επαφής σε δείγμα ακατέργαστου αμύλου με υψηλή περιεκτικότητα αμυλόζης (c) και σε νανο-σωματίδια αμύλου a-SNP (d) σε ποικίλους χρόνους.

Η επιφάνεια του ακατέργαστου δείγματος αμύλου ήταν γεμάτη από μακρομόρια πλούσια σε υδροξύλια (OH) και λόγω αυτού είναι δυνατό να δημιουργηθούν δεσμοί υδρογόνου με το νερό που εναποτίθεται. Αυτά τα ευρήματα, όταν συνδυάζονται με τα αποτελέσματα της μελέτης του ζήτα-δυναμικού, υποδεικνύουν ότι η μείωση του μεγέθους των σωματιδίων του ακατέργαστου δείγματος αμύλου προκαλεί υψηλότερους αντισταθμιστικούς (compensatory) δεσμούς υδρογόνου (H), οι οποίοι αποτελούν συνδέσεις μεταξύ της μήτρας των νανο-σωματιδίων (συσσωματώματα) (a-SNPs), καταλήγοντας έτσι σε ένα βιο-νανο-σύνθετο δισκίο με λιγότερες προσβάσιμες ομάδες υδροξυλίων (OH).

4.4. Συμπεράσματα

Συμπερασματικά, μια διαδοχική φυσική μεθοδολογία τριών σταδίων που αποτελείται από: υδροθερμική ζελατινοποίηση, νανο-καταβύθιση και χρήση υπερήχων για τον σχηματισμό νανο-σωματιδίων αμύλου υψηλής περιεκτικότητας σε αμυλόζη (Hi-Maize260®), μιας ειδικής κατηγορίας ανθεκτικού τύπου RS2. Η διαδοχική υδροθερμική ζελατινοποίηση και μετέπειτα νανο-καταβύθιση παρήγαγε σωματίδια αμύλου τύπου RS2 σε νανο-κλίμακα. Τα σωματίδια εμφάνισαν δύο κύριες κορυφές υποδηλώνοντας δύο πληθυσμούς στα 200 nm και 5μm, ενώ μετά το τελευταίο στάδιο της χρήσης υπερήχων, τα συσσωματωμένα σωματίδια έδωσαν ομοιόμορφα νανο-σωματίδια των 170 nm. Επίσης, στα παραγόμενα νανο-σωματίδια η περιεκτικότητα σε αμυλόζη μειώθηκε από 65.2% σε 39.4%, λόγω της απομάκρυνσης (leaching) της αμυλόζης, ως αποτέλεσμα της υδροθερμικής επεξεργασίας (στάδιο ζελατινοποίησης). Αξίζει να τονιστεί ότι μια ελάχιστη αλλαγή στην κρυσταλλικότητα παρατηρήθηκε μέσω της τεχνικής XRD, ενώ αντίστοιχα μια ελαφρά μείωση της έντασης της σκέδασης στο φάσμα της τεχνικής SAXS που είναι πιθανό να προέρχεται από τη μείωση του μεγέθους των σωματιδίων αμύλου. Επιπλέον, με τη χρήση φασματοσκοπίας FT-IR επιβεβαιώθηκε ότι η χημική δομή των σωματιδίων αμύλου δεν μεταβλήθηκε κατά τη διάρκεια της διαδικασίας των τριών σταδίων. Όσον αφορά τη διαλυτότητα και τον βαθμό διόγκωσης των νανο-σωματιδίων “βελτιώθηκε” με την αύξηση της θερμοκρασίας, συγκριτικά με το ακατέργαστο δείγμα αμύλου. Τα νανο-σωματίδια παρουσίασαν μια μειωμένη υδρόφιλη συμπεριφορά με αυξημένη θερμική σταθερότητα. Συγκεκριμένα, η μείωση του μεγέθους και η αποσυσσωμάτωση των παραγόμενων σωματιδίων αντανακλάται στην αυξημένη ένταση του φθορισμού. Συνοψίζοντας, αυτή τη μεθοδολογία μπορεί να χαρακτηριστεί ως μια εύχρηστη φυσική διαδικασία τριών σταδίων, που πιθανά να συμβάλλει στον συνεχώς εξελισσόμενο τομέα των γαλακτωμάτων Pickering με βάση το άμυλο.

Κεφάλαιο 5. Χρήση νανο-σωματιδίων ανθεκτικού αμύλου για τη σταθεροποίηση γαλακτωμάτων τύπου Pickering

5.1. Εισαγωγή

Τα γαλακτώματα είναι κολλοειδείς διασπορές που αποτελούνται από τουλάχιστον δύο μη αναμίξιμα υγρά (κυρίως νερό και λάδι), όπου το ένα βρίσκεται διεσπαρμένο υπό μορφή σταγονιδίων στο άλλο υγρό (Everett, 1972; C. Tan & McClements, 2021). Η τεχνολογία των γαλακτωμάτων αποτελεί ένα πολύ σημαντικό τύπο δομής και χρησιμοποιείται για διάφορους σκοπούς στην καθημερινή ζωή, συμπεριλαμβανομένων των τροφίμων, όπως είναι το γάλα, οι χυμοί, οι μαγιονέζες, οι μαργαρίνες και των προϊόντων προσωπικής φροντίδας όπως οι κρέμες περιποίησης του δέρματος, προσδίδοντάς τους τα επιθυμητά χαρακτηριστικά όπως η υφή, η κατάλληλη σύσταση και την ικανότητα ενθυλάκωσης και προστασίας διαφορετικών βιοδραστικών ουσιών, όπως βιταμίνες και θρεπτικά συστατικά (Bortnowska, 2012; Hisfazilah Saari et al., 2016; Silva & Loh, 2022; C. Tan & McClements, 2021).

Τα γαλακτώματα χαρακτηρίζονται ως θερμοδυναμικά ασταθή συστήματα με την πάροδο του χρόνου, καθώς οι δύο φάσεις επιχειρούν να συνενωθούν, το οποίο οφείλεται σε διαφορετικούς μηχανισμούς αστάθειας, όπως η κροκίδωση (flocculation), ο βαρυτικός διαχωρισμός (gravitational separation), η συνένωση (coalescence) και η ωρίμανση κατά Ostwald (Ostwald ripening) (Z. Cai et al., 2023). Για τον λόγο αυτό απαιτείται η χρήση επιφανειοδραστικών ουσιών, που προσροφώνται στη διεπιφάνεια των σταγονιδίων, μειώνοντας τη διεπιφανειακή τάση μεταξύ των δυο υγρών αποτρέποντας την συσσωμάτωση σταγονιδίων, μέσω του μηχανισμού της στερικής παρεμπόδισης ή μέσω ηλεκτροστατικής απώθησης. Μέσω αυτής της μεθοδολογίας μειώνεται το μέγεθος των σταγονιδίων που έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της σταθερότητας του συστήματος έναντι σε φαινόμενα συνένωσης (coalescence) και αποκορύφωσης (creaming) (Z. Cai et al., 2023; Hisfazilah Saari et al., 2016; Tesch et al., 2002).

Οι επιφανειοδραστικές ουσίες είναι κυρίως χημικής προέλευσης, και υπάρχει αυξανόμενη ζήτηση για χρήση φυσικών, μη τοξικών πολυμερών για τη σταθεροποίηση των συστημάτων, όπως πολυσακχαρίτες λόγω της βιοσυμβατότητας και της βιοαποικοδομησιμότητας τους. Χαρακτηριστικά, βάση των αναγκών των καταναλωτών για φυτικής προέλευσης προϊόντα (plant based), ενδιαφέρον έχει δοθεί

σε μια νέα κατηγορία γαλακτωμάτων, που σταθεροποιούνται με χρήση αυτοτελών σωματιδίων (Hisfazilah Saari et al., 2016). Μεταξύ των πολυσακχαριτών, το άμυλο χρησιμοποιείται συχνά για την παραγωγή γαλακτωμάτων καθώς βρίσκεται σε αφθονία, είναι μια φθηνή πρώτη ύλη και χαρακτηρίζεται ως μη αλλεργιογόνο υλικό GRAS (γενικά αναγνωρισμένο ως ασφαλές) (F. Zhu, 2019).

Η κατηγορία των γαλακτωμάτων που σταθεροποιείται με χρήση σωματιδίων είναι γνωστή ως γαλακτώματα Pickering. Τα γαλακτώματα τύπου Pickering παρουσιάζουν υψηλή σταθερότητα με την πάροδο του χρόνου σε φαινόμενα συνένωσης (coalescence) και ωρίμανσης κατά Ostwald (Ostwald ripening) (C. Tan & McClements, 2021). Τα γαλακτώματα αυτού του τύπου, μελετήθηκαν από τους Ramsden (1903) και Pickering (1907), όπου και τελικώς πήραν το όνομά τους από το δεύτερο κατά σειρά ερευνητή (Pickering, 1907; Ramsden, 1904). Η χρήση σωματιδίων όπως το άμυλο, η κυτταρίνη και η χιτοζάνη που μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε μοντέλα τροφίμων, έχουν πολύ πρόσφατα εγείρει το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας (Apostolidis, Stoforos, et al., 2023; Sarkar & Dickinson, 2020; F. Zhu, 2019). Μόλις τα σωματίδια προσκολληθούν στη διεπιφάνεια προσροφώνται μη αναστρέψιμα και δρουν ως φυσικοί φραγμοί, εμποδίζοντας τη συνένωση μεταξύ των σταγονιδίων προσδίδοντας την τελική σταθερότητα (Dickinson, 2010; Rayner et al., 2014).

Οι αμυλόκοκκοι στη φυσική τους μορφή λόγω της υδοφιλικότητας τους, δεν μπορούν να προσροφηθούν στη διεπιφάνεια ελαίου-νερού κατά τη διάρκεια της γαλακτωματοποίησης. Για τον λόγο αυτό, γίνεται χρήση οκτένυλ-ηλεκτρικού ανυδρίτη (OSA) σε ποσοστά 3% (βαθμός υποκατάστασης) σύμφωνα με τον οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) για χρήση σε τρόφιμα, δημιουργώντας αμφίφιλα σωματίδια προσδίδοντας με αυτό τον τρόπο σταθεροποίηση (Park & Kim, 2021; Timgren et al., 2013; Trubiano, 1997; H. Zhang et al., 2018). Η χημική τροποποίηση με OSA δεν μπορεί να αποδώσει ένα τελικό προϊόν με καθαρή ετικέτα (Go Clean Label™), οδηγώντας στην αντικατάσταση αυτής της τεχνολογίας. Πρόκειται για ένα κίνημα των καταναλωτών για τρόφιμα που περιέχουν γνωστά φυσικά και απλά συστατικά όπου μπορούν εύκολα να τα κατανοούν, απαλλαγμένα από τεχνητές ή σύνθετες χημικές ουσίες (Park & Kim, 2021).

Επιπλέον, στη φυσική τους μορφή οι κόκκοι αμύλου δεν χρησιμοποιούνται επιτυχώς ως γαλακτωματοποιητές λόγω του ότι έχουν μεγάλο μέγεθος. Απαιτείται να έχουν

σημαντικά μικρότερο μέγεθος σε σχέση με τη σταγόνα του λαδιού για να μπορέσουν να τη συγκρατήσουν (Ge et al., 2017). Εξαιρέση αποτελεί το άμυλο από κινόα και αμάραντο όπου λόγω του μικρού του μεγέθους μπορεί επιτυχώς να δρα ως σταθεροποιητής (Leal-Castañeda et al., 2018; Rayner, Sjö, et al., 2012; Rayner, Timgren, et al., 2012). Συνεπώς, η μείωση του μεγέθους των σωματιδίων αμύλου δύναται να ενισχύσει τη δράση τους ως σταθεροποιητές με την προϋπόθεση ότι το σχήμα και η υδροφοβικότητα του δεν επηρεάζονται (Hisfazilah Saari et al., 2017a; F. Zhu, 2019).

Το άμυλο αποτελείται από την αμυλόζη και την αμυλοπηκτίνη, οι οποίες συνδέονται μεταξύ τους σε άμορφες και κρυσταλλικές περιοχές δημιουργώντας τον αμυλόκοκκο (Ojogbo et al., 2020). Η κρυσταλλικότητα των κόκκων, εξαρτάται από την αναλογία των αλυσίδων αμυλόζης αμυλοπηκτίνης, και επηρεάζει σημαντικά τις ιδιότητες του (H. Y. Kim et al., 2015). Το άμυλο κατηγοριοποιείται με βάση τη συμπεριφορά του κατά τη διαδικασία της πέψης ως ταχέως εύπεπτο άμυλο (RDS), βραδέως εύπεπτο άμυλο (SDS) ή ανθεκτικό άμυλο (RS). Πιο συγκεκριμένα ως ανθεκτικό άμυλο (RS) ορίζεται το κλάσμα του διαιτητικού αμύλου που διαφεύγει της πέψης στο λεπτό έντερο και φτάνοντας στο παχύ έντερο μπορεί να ζυμωθεί από τη μικροχλωρίδα (Hans N. Englyst et al., 1996). Διατροφικά το ανθεκτικό άμυλο ανήκει στην ευρύτερη κατηγορία των φυτικών ινών με αποτέλεσμα να επιδρά ευεργετικά στη γλυκαιμική απόκριση των τροφίμων. Η συμβολή του χαρακτηρίζεται τόσο σημαντική που του έχει αποδοθεί αντίστοιχος διατροφικός ισχυρισμός από την Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων (Agostoni et al., 2011; Birt et al., 2013).

Η μείωση του μεγέθους των κόκκων του αμύλου μπορεί να πραγματοποιηθεί με τη χρήση διαφορετικών τεχνικών που μπορούν να κατηγοριοποιηθούν είτε ως φυσικές είτε ως χημικές μέθοδοι. Μεταξύ αυτών των μεθόδων, η νανο-καταβύθιση έχει χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για τη μείωση του μεγέθους των σωματιδίων του αμύλου κυρίως όμως μέσω χημικής ζελατινοποίησης. Όμως η φυσική μέθοδος επεξεργασίας της νανο-καταβύθισης (nano-precipitation) αποτελεί μια απλή και γρήγορη μέθοδο για την παραγωγή νανο-σωματιδίων αμύλου, η οποία επιτυγχάνεται σε 2 στάδια. Στο πρώτο στάδιο, οι κόκκοι διαλύονται (φυσικά με χρήση θερμότητας σε συνδυασμό με μηχανική ανάδευση (ζελατινοποίηση) ώστε να διαρρηχθούν πλήρως οι ενδομοριακοί και διαμοριακοί δεσμοί υδρογόνου. Στο δεύτερο στάδιο γίνεται η προσθήκη μιας ουσίας η οποία δρα ως αντι-διαλύτης με αποτέλεσμα την καταβύθιση και τη δημιουργία

σωματιδίων στην κλίμακα του νάνο (Apostolidis, Stoforos, et al., 2023; H Saari et al., 2017).

Ο στόχος της παρούσας έρευνας ήταν η μελέτη της επίδρασης της φυσικής επεξεργασίας στο μέγεθος των σωματιδίων ανθεκτικού αμύλου (RS2) για τη δημιουργία νανο-σωματιδίων, που μελετώνται ως σταθεροποιητές σε γαλακτώματα τύπου Pickering. Παράλληλα, ερευνήθηκε η επίδραση της νανο-καταβύθισης στις ιδιότητες των κόκκων αμύλου, συμπεριλαμβανομένων των φυσικών του ιδιοτήτων όπως είναι το μέγεθος, η διαλυτότητα, η κρυσταλλικότητα και η υδροφοβικότητα.

5.2. Υλικά και Μέθοδοι

5.2.1 Υλικά

Το άμυλο που μελετήθηκε ήταν, άμυλο αραβοσίτου με υψηλή περιεκτικότητα σε αμυλόζη (HI-MAIZE®260) της εταιρίας Ingredion EMEA (Manchester, UK). Με ποσότητα αμυλόζης 65.2%, και περιεκτικότητά σε υγρασία 12.44% w/w υπολογιζόμενη από την πρότυπη μέθοδο AACC (AACC, 2000). Επίσης, χρησιμοποιήθηκε καθαρή αιθανόλη (98%), βήτα-καροτένιο (beta-Carotene, 97% UV), αζίδιο του νατρίου (Sodium azide, $\geq 99\%$), ισοπροπανόλη, χρωστικές Nile red και Nile blue A από την Sigma-Aldrich. Το έλαιο (MCT) ήταν δωρεά από την εταιρεία Paxman και επίσης χρησιμοποιήθηκε υπερκάθαρο νερό Milli-Q σε όλες τις πειραματικές διαδικασίες.

5.2.2. Φυσική μέθοδος παρασκευής νανο-σωματιδίων αμύλου μέσω υδροθερμικής ζελατινοποίησης (χρήση αυτόκλειστού) και καθίζησης

Τα νανο-σωματίδια αμύλου παρασκευάστηκαν χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της νανο-καταβύθισης, που περιεγράφηκε προηγουμένως στο Παράρτημα του Κεφαλαίου 4 (Apostolidis et al., 2022). Αρχικά, παρασκευάστηκε διάλυμα αμύλου αραβοσίτου με υψηλή περιεκτικότητα σε αμυλόζη 5% (w/v), διαλύοντας 5 g σκόνης αμύλου σε 100 mL υπερκάθαρου νερού, χρησιμοποιώντας έναν αυτόκλειστο αντιδραστήρα με γεωμετρία βόμβας, θερμαίνοντας στους 150 °C το ελαιώρημα μέχρι να ζελατινοποιηθεί πλήρως για 30 λεπτά. Στη συνέχεια προστέθηκε στάγδην αιθανόλη στο ζελατινοποιημένο διάλυμα αμύλου, το οποίο αναδεύτηκε στις 1500 rpm, ενώ η τελική του συγκέντρωση ήταν 1:1 (αιθανόλη-διάλυμα αμύλου). Το μίγμα αναδεύτηκε για 2 ώρες με χρήση μαγνητικού μηχανικού αναδευτήρα IKA Eurostar (IKA Labortechnik Janke & Kunkel, Staufen, Germany). Τελικά, ο πολτός αμύλου φυγοκεντρήθηκε για 10 λεπτά στις 9000 στροφές και στους 4 °C (Hettich Universal 320-R, Germany) και λυοφιλιώθηκε στους -60°C για 48 ώρες (MC4L, UNICRYO, Γερμανία).

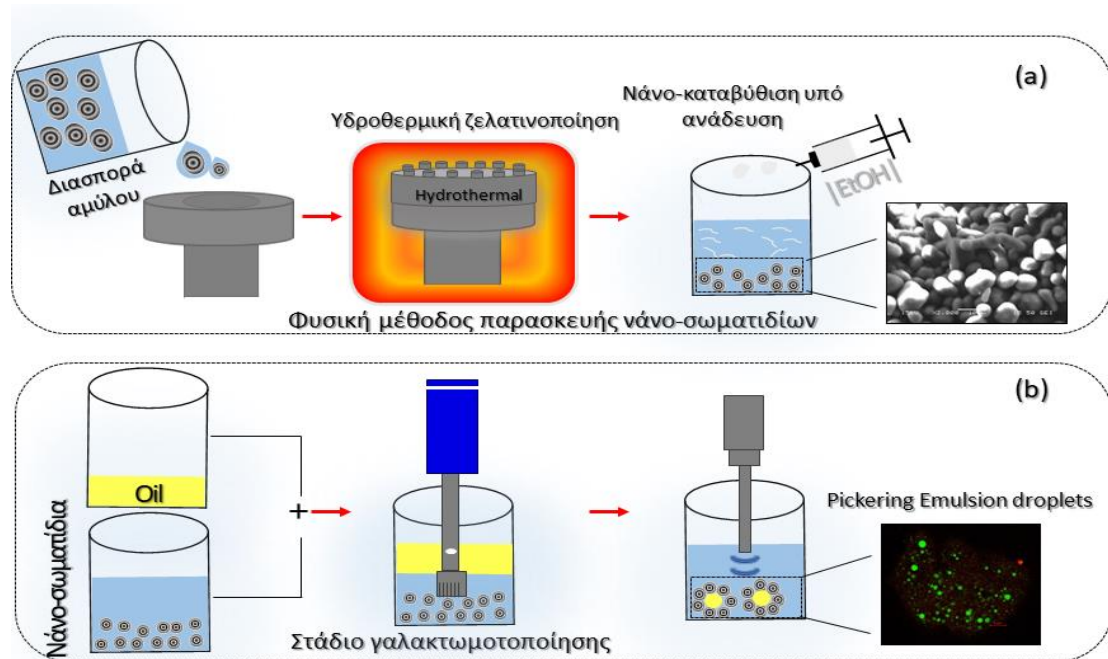
5.2.3. Παρασκευή γαλακτωμάτων τύπου Pickering με χρήση νανο-σωματιδίων αμύλου (SNPs)

Τα νανο-σωματίδια αρχικά διαλύθηκαν σε υπερκάθαρο νερό (Milli-Q) σε διαφορετικές συγκεντρώσεις 1% w/v, 3% w/v και 5% w/v και αναδεύτηκαν για 24 ώρες με τη χρήση μαγνητικού αναδευτήρα RCT Basic S1 Digital Hot Plate (IKA®-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Germany). Στη συνέχεια, οι διασπορές με τα νανο-σωματίδια αμύλου τοποθετήθηκαν σε λουτρό πάγου και υποβλήθηκαν σε υπερήχους χρησιμοποιώντας μια συσκευή υπερήχων με ακίδα (probe sonicator, 100% = 20 KHz) (Sonopuls 3200, Bandelin GmbH & Co, Berlin, Germany) για 60 λεπτά (3sec on/3sec απενεργοποίηση παλμών, 40% πλάτος) μέχρι την πλήρη αποσυσσωμάτωση, αποφεύγοντας την ανάπτυξη υψηλών Θερμοκρασιών.

Για τον σχηματισμό της ελαιώδους φάσης, 20 mL MCT ελαίου (φοινικέλαιο) τοποθετήθηκαν σε ένα ποτήρι ζέσεως και στη συνέχεια, προστέθηκαν 20 mg β-καροτένιου για τον χρωματισμό της ελαιώδους φάσης και 4 mg (0.02% w/v) αζιδίου του νατρίου (sodium azide) ως αντιμικροβιακός παράγοντας αντίστοιχα. Το διάλυμα στη συνέχεια αναδεύτηκε ήπια για 20 λεπτά. Τόσο η χρώση όσο και το αζίδιο του νατρίου χρησιμοποιήθηκαν μόνο για οπτική αξιολόγηση των μετρήσεων σταθερότητας.

Στο τελικό στάδιο, οι υδατικές φάσεις (1% w/v, 3% w/v, 5% w/v) αναμίχθηκαν με διαφορετικά ποσοστά λαδιού (διεσπαρμένη φάση) για την παρασκευή γαλακτωμάτων τύπου Pickering με συγκέντρωση ελαίου 1% v/v, 5% v/v και 10% v/v. Χαρακτηριστικά, οι κατάλληλες ποσότητες των δύο φάσεων προστέθηκαν σε φυγοκεντρικούς σωλήνες των 50 mL σε τελικό όγκο 16 mL. Η διαδικασία της γαλακτωματοποίησης πραγματοποιήθηκε σε δύο στάδια. Αρχικά, πραγματοποιήθηκε ένα στάδιο προ-γαλακτωματοποίησης με τη χρήση ομογενοποιητή υψηλών διατμητικών δυνάμεων Ultra Turax T25 (IKA WERKE, Germany), όπου χαρακτηριστικά το δείγμα ομογενοποιήθηκε στις 20000 στροφές για 5.30 λεπτά. Εν συνεχεία η γαλακτωματοποίηση ολοκληρώθηκε με χρήση υπερήχων για δύο λεπτά (3sec on/3sec off παλμός, σε πλάτος 40%) (Σχήμα 34). Στον Πίνακα 10 παρουσιάζονται αναλυτικά όλοι οι διαφορετικοί συνδυασμοί των παραγόμενων γαλακτωμάτων. Τα γαλακτώματα ονομάζονται χρησιμοποιώντας δύο αριθμούς (π.χ., 3.1). Ο πρώτος

αριθμός εκφράζει τη συγκέντρωση των νανο-σωματιδίων (SNP) (3%) του γαλακτώματος, και ο δεύτερος την περιεκτικότητα σε λάδι (1%).



Σχήμα 34. Σχηματική απεικόνιση της συνολικής διαδικασίας σχηματισμού (a) των νανο-σωματιδίων και (b) των γαλακτωμάτων τύπου Pickering.

5.2.4. Μελέτη σταθερότητας γαλακτωμάτων τύπου Pickering, οπτική εμφάνιση και δείκτης γαλακτωματοποίησης (Emulsification Index, EI)

Η μελέτη της σταθερότητας των παραγόμενων γαλακτωμάτων τύπου Pickering αξιολογήθηκε οπτικά κατά την αποθήκευσή τους βασισμένη σε μια παρόμοια μέθοδο (Lopez-Silva et al., 2022). Χαρακτηριστικά, 6 mL από κάθε παρασκευασμένο γαλακτώμα τοποθετήθηκαν σε γυάλινους κυλινδρικούς σωλήνες (ύψος 140 mm, εσωτερική διάμετρος 12 mm) οι οποίοι είχαν την ικανότητα να κλείνουν καλά με τη βοήθεια πλαστικού πώματος (καπάκι) και ειδικής φλάντζας. Τα δοχεία αποθηκεύτηκαν σε ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκρασίας στους 4 °C και 25 °C, για τον απαιτούμενο χρόνο σε συνθήκες χωρίς έκθεση στο φως, προκειμένου να πραγματοποιηθεί σταθερότητα κατά την αποθήκευση. Για την οπτική απεικόνιση των δειγμάτων, αυτά τοποθετήθηκαν μπροστά από μαύρο φόντο (μαύρο χαρτόνι) και φωτογραφήθηκαν χρησιμοποιώντας μια ψηφιακή φωτογραφική μηχανή 2D Nikon D800 (Nikon Corporation, Tokyo, Japan) εξοπλισμένη με φακό Nikon AF-S Micro NIKKOR 60mm f/2,8G ED (Nikon Corporation, Tokyo, Japan), κάθε 5 ημέρες για περίοδο 60 ημερών συνολικά.

Ο διαχωρισμός φάσης των γαλακτωμάτων παρατηρήθηκε και αποτυπώθηκε στις εικόνες, και μέσω αυτών γίνεται η αξιολόγηση της φυσικής σταθερότητας κατά την αποθήκευση. Η σταθερότητα εκφράζεται μέσω της τιμής του δείκτη γαλακτωματοποίησης (EI), όπου υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας το ύψος του στρώματος που σχηματίστηκε (διαχωρισμένη φάση) και το συνολικό ύψος του γαλακτώματος στο σωλήνα, σύμφωνα με την Εξίσωση 22:

$$EI (\%) = \frac{H_{ER}}{H_E} * 100 \quad (22)$$

όπου, H_E : το συνολικό ύψος του γαλακτώματος, H_S είναι το ύψος των διαχωρισμένων φάσεων που σχηματίζονται (Ύψος ιζήματος (Sediment) + Ύψος υπερκειμένου (Supernatant)) και H_{ER} είναι το ύψος του γαλακτώματος (Emulsion Region) ($H_E - H_S$).

5.2.5. Μελέτη μεγέθους σωματιδίων και σταθερότητας γαλακτωμάτων τύπου Pickering με τη μέθοδο της δυναμικής σκέδασης φωτός (Dynamic Laser Scattering)

Το μέγεθος των νανο-σωματιδίων αμύλου και η διάμετρος των σταγονιδίων ελαίου του γαλακτώματος μετρήθηκαν σε σταθερή θερμοκρασία στους 25°C με την τεχνική της δυναμικής σκέδασης φωτός (Dynamic Laser Scattering, DLS) με τη χρήση του εξοπλισμού Zetasizer nano Zs (Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, UK). Για τη μέτρηση του μεγέθους των νανο-σωματιδίων ή των σταγονιδίων του γαλακτώματος, σταθερή ποσότητα του δείγματος (0.01 gr) αραιώθηκε με 100 mL υπερκάθαρο νερό (Milli-Q) (περίπου 0,01 wt%) για την αποφυγή πολλαπλών φαινομένων σκέδασης. Ο δείκτης διάθλασης του αμύλου ορίστηκε στο 1.54 και του νερού στο 1.33. Επιπλέον, μελετήθηκε η σταθερότητα των γαλακτωμάτων που αποθηκεύτηκαν στους 4 °C για διαφορετικά χρονικά διαστήματα, από μία έως 30 ημέρες αποθήκευσης, μετρώντας το μέγεθος των σταγονιδίων.

5.2.6. Ζήτα Δυναμικό γαλακτωμάτων

Η μέτρηση του ζήτα δυναμικού γαλακτωμάτων πραγματοποιήθηκε σε σταθερή θερμοκρασία στους 25°C, χρησιμοποιώντας μια συσκευή ηλεκτροφόρησης λέιζερ Zetasizer nano Zs laser Doppler electrophoresis apparatus (Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, UK). Για την προετοιμασία των δειγμάτων 0.01% w/v, τα γαλακτώματα τύπου Pickering διασπείρονται σε υπερκάθαρο νερό. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν εις τριπλούν για κάθε δείγμα, ενώ τα δείγματα μετρήθηκαν και αναλύθηκαν σε συνθήκες αποθήκευσης στους 4 °C, όπου σε αυτές τις συνθήκες είχαμε τα πιο σταθερά συστήματα (από οπτική παρατήρηση).

5.2.7. Ρεολογικές Ιδιότητες

Οι ρεολογικές ιδιότητες των νανο-σωματιδίων αμύλου (δισπαρμένα σε νερό) μετρήθηκαν αμέσως μετά την παρασκευή τους, ενώ για την αξιολόγηση της σταθερότητας των γαλακτωμάτων οι μετρήσεις ξεκίνησαν μετά από αποθήκευση 24 ωρών. Στη συνέχεια, για την αξιολόγηση της σταθερότητας κατά την αποθήκευση των γαλακτωμάτων, ακολούθησαν μετρήσεις των ρεολογικών ιδιοτήτων για 30 διαδοχικές ημέρες αποθήκευσης στους 4°C (καλύτερη σταθερότητα). Ένα περιστροφικό ρεόμετρο

ελεγχόμενης τάσης (Discovery HR-3, TA Instruments, New Castle, DE, USA) με γεωμετρία παράλληλων-πλακών (διάμετρος άνω πλάκας 40 mm) χρησιμοποιήθηκε για την μέτρηση των δειγμάτων. Κατά την πειραματική διαδικασία η θερμοκρασία διατηρήθηκε σταθερή ($25.0 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.1 \text{ }^{\circ}\text{C}$). με τη χρήση συστήματος κυκλοφορίας ψυκτικού μέσου (σύστημα ελέγχου θερμοκρασίας Peltier) και το διάκενο ρυθμίστηκε στα 1000 μm . Τα δείγματα αφού τοποθετούνταν στη γεωμετρία αφέθηκαν για 2 λεπτά για να επιτευχθεί θερμική ισορροπία πριν ξεκινήσουν οι μετρήσεις. Όλες οι τιμές των ρεολογικών δεδομένων παρουσιάζονται ως ο μέσος όρος των μετρήσεων που έγιναν εις τριπλούν.

Όσον αφορά τις ρεολογικές ιδιότητες μόνιμης διάτμησης (Steady shear) (δοκιμή αντοχής σε διατμητικές τάσεις) μέσω της διατμητικής τάσης και του ρυθμού διάτμησης υπολογίστηκε το φαινομενικό ιξώδες (η) σε εύρος ρυθμού διάτμησης από 0.1 έως 1000 s^{-1} . Η σχέση μεταξύ διατμητικής τάσης και ρυθμού διάτμησης μπορεί να περιγράψει από το μοντέλο δύναμης (Power law model) (Εξ. 23)..

$$\tau = K \times \dot{\gamma}^n \quad (23)$$

Χαρακτηριστικά, με το δείκτη τ συμβολίζεται η διατμητική τάση, με K είναι ο δείκτης συνεκτικότητας, με $\dot{\gamma}$ είναι ο ρυθμός διάτμησης και με n ο δείκτης συμπεριφοράς στη ροή.

Επιπλέον, Η ιξωδοελαστική συμπεριφορά των γαλακτωμάτων υπολογίστηκε μέσω δυναμικών πειραμάτων σάρωσης συχνοτήτων (dynamic frequency sweep) με την εφαρμογή σταθερής τάσης (εντός της ιξωδοελαστικής περιοχής, Linear viscoelastic region, LVR), με εύρος συχνοτήτων 0.1–100 Hz. Όπου, το δυναμικό ιξώδες (η^*), και η παράμετρος $G'(\omega)$ του μέτρου αποθήκευσης (storage modulus) και του μέτρου απώλειας $G''(\omega)$ (loss modulus) υπολογίστηκαν.

5.2.8. Επιφανειακή (surface tension) και Διεπιφανειακή τάση (interfacial tension)

Για τον υπολογισμό της επιφανειακής και διεπιφανειακής τάσης του ελαίου και του νερού με ή χωρίς νανο-σωματίδια αμύλου χρησιμοποιήθηκε η τεχνική pendant drop μέσω του κατάλληλου εξοπλισμού OCA 20 drop-shape tensiometer (Data Physics

Instruments, GmbH, Germany) (Gómez-Luría et al., 2019). Όλες οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε σταθερή θερμοκρασία σταθερή ($25.0\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$). με τη χρήση συστήματος κυκλοφορίας ψυκτικού μέσου (σύστημα ελέγχου θερμοκρασίας Peltier).

Για τις πειραματικές μετρήσεις της επιφανειακής τάσης, κάθε δείγμα ελαίου και νανοσωματιδίων αμύλου διεσπαρμένα σε υπερκάθαρο νερό Milli-Q (1% w/v, 3% w/v και 5% w/v) τοποθετήθηκε σε μια σύριγγα (Hamilton 500 L DS 500/GT) η οποία διέθετε μια ανοξειδωτή χαλύβδινη βελόνα. Στη συνέχεια για τον σχηματισμό μιας σταγόνας (στον αέρα/περιβάλλον) η οποία ήταν ευδιάκριτη και ικανή να μετρηθεί, ρυθμίστηκε η κατάλληλη παροχή μέσω της σύριγγας στα 5 μL , με ρυθμό 2 $\mu\text{L/s}$. Για τον προσδιορισμό της επιφανειακής τάσης, με τη βοήθεια μια υψηλής ευκρίνειας και ταχύτητας κάμερας, η οποία ρυθμίστηκε να αποτυπώνει τα στιγμιότυπα με ρυθμό δέκα καρέ (frames) ανά δευτερόλεπτο, όπου με τη βοήθεια του λογισμικού (SCA) του οργάνου αφού ορίστηκαν τα όρια της σταγόνας υπολογιζόταν αντίστοιχα για κάθε καρέ η επιφανειακή τάση.

Για τη μέτρηση της διεπιφανειακής τάσης, ακολουθήθηκε η εξής πειραματική διαδικασία: αρχικά σε μια τετράγωνη γυάλινη κυψελίδα (Σχήμα 43 a) ήταν τοποθετημένη η ελαιώδης φάση (MCT), και μέσω της σύριγγας σχηματίστηκε στην άκρη της βελόνας μέσα στην ελαιώδη φάση η κατάλληλη σταγόνα τόσο από νερό όσο και από τα διεσπαρμένα νανο-σωματίδια. Μέσω του λογισμικού του οργάνου και των λήψεων της κάμερας υπολογίστηκε από την εξίσωση Young-Laplace η διεπιφανειακή τάση. Τέλος, μελετήθηκε η αλλαγή της διεπιφανειακής τάσης μεταξύ του ελαίου και του νερού (με ή χωρίς νανο-σωματίδια) με την πάροδο του χρόνου (t) (drop aging).

5.2.9. Μέτρηση γωνίας επαφής 3 φάσεων (3 Phase Contact angle measurement)

Για την μέτρηση της γωνίας επαφής τριών φάσεων (θ_{ow}) του ακατέργαστου δείγματος αμύλου και των νανο-σωματιδίων, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της σταθερής σταγόνας (sessile drop) μέσω του κατάλληλου εξοπλισμού μέτρησης επιφανειακής τάσης OCA 20 drop-shape tensiometer (Data Physics Instruments, GmbH, Germany), εξοπλισμένο με κάμερα υψηλής ταχύτητας, μια μικρο-σύριγγα και ένα σύστημα ψύξης Peltier, που διασφαλίζει ότι οι μετρήσεις μπορούν να λαμβάνονται σε σταθερή θερμοκρασία (συγκεκριμένα οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στους $25\text{ }^{\circ}\text{C}$) (Zou et al., 2015).

Τα σωματίδια μορφοποιήθηκαν κατάλληλα σε μορφή πέλετ (δισκίου) (διάμετρος 13.0 mm, πάχος 2.0 mm) σε μια υδραυλική πρέσα (6 μετρικών τόνων) για τον σχηματισμό μιας κατάλληλης επιφάνειας ως υπόστρωμα. Στη συνέχεια, τα δισκία βυθίστηκαν σε μια ορθογώνια γυάλινη κυψελίδα που περιείχε το έλαιο, όπου στην επιφάνεια αυτή μέσω της σύριγγας σχηματίστηκε (5 μL , με ρυθμό 2 $\mu\text{L/s}$) και εναποτέθηκε μια σταγόνα υπερκάθαρου νερού πάνω την επιφάνεια (δισκίο σωματιδίων).

Η δημιουργία της σταγόνας υπερκάθαρου νερού στις επιφάνειες των δισκίων έγινε με τη βοήθεια μιας κατάλληλης μικρο-σύριγγας υψηλής ακρίβειας (Hamilton 500 μL DS 500/GT), που διαθέτει μια ευθεία βελόνα από ανοξείδωτο χάλυβα με εξωτερική διάμετρο 0.52 mm και εσωτερική διάμετρο 0.26 mm. Τέλος, για τον προσδιορισμό της γωνίας επαφής 3 φάσεων μια κάμερα υψηλής ταχύτητας και ευκρίνειας που ήταν συνδεδεμένη στο όργανο κατέγραψε την αλλαγή των σταγονιδίων νερού με ρυθμό δέκα καρέ (frame) ανά δευτερόλεπτο και με τη χρήση του λογισμικού SCA έγινε η προσαρμογή του περιγράμματος των σταγονιδίων, όπου χρησιμοποιώντας την εξίσωση Young-Laplace υπολογίστηκε το προφίλ των σταγονιδίων με το χρόνο (drop aging).

5.2.10. Συνεστιακή μικροσκοπία σάρωσης με ακτίνες Laser

Για το χαρακτηρισμό της μικροδομής των σταγονιδίων των γαλακτωμάτων Pickering χρησιμοποιήθηκε η συνεστιακή μικροσκοπία (CLSM) (Zeiss LSM700 inverted, Germany). Η μικροσκοπική ανάλυση στηρίχτηκε στην προσθήκη των κατάλληλων χρωστικών σύμφωνα με μια πρόσφατη πειραματική μέθοδο (Ge et al., 2017). Αρχικά, παρασκευάστηκε κάθε φάση ξεχωριστά και χρωματίστηκαν ως εξής: η ελαιώδης φάση χρωματίστηκε με την ουσία Nile Red και η συνεχής φάσης (νανο-σωματίδια αμύλου) με την ουσία Nile Blue (Σχήμα 45). Χαρακτηριστικά για την δημιουργία των χρωστικών παρασκευάστηκαν οι κατάλληλες συγκεντρώσεις του, κρατώντας τελική συγκέντρωση 1 mg/mL για την ουσία Nile Red σε ισοπροπυλική αλκοόλη και για την ουσία Nile Blue σε υπερκάθαρο νερό Milli-Q. Στη συνέχεια, τα βαμμένα δείγματα ομογενοποιήθηκαν κατάλληλα όπως περιεγράφηκε παραπάνω στον σχηματισμό των γαλακτωμάτων. Τα δείγματα τοποθετήθηκαν στις κατάλληλες αντικειμενοφόρους πλάκες που προσαρμόζονταν στο όργανο και σκεπάζονταν με τις ειδικές αντίστοιχες καλυπτρίδες (Σχήμα 45). Η ανάλυση έγινε σε θερμοκρασία δωματίου (25 ± 1 °C) για τον προσδιορισμό της χρωστικών με σάρωση λέιζερ αργού στα 488 nm για την ουσία Nile Blue και λέιζερ νέον ηλίου (He/Ne) στα 633 nm για την ουσία Nile Red ώστε να

διεγείρουν τις φθορίζουσες χρωστικές και να μπορέσουμε να πάρουμε την οπτική παρατήρηση.

5.2.11. Στατιστική ανάλυση

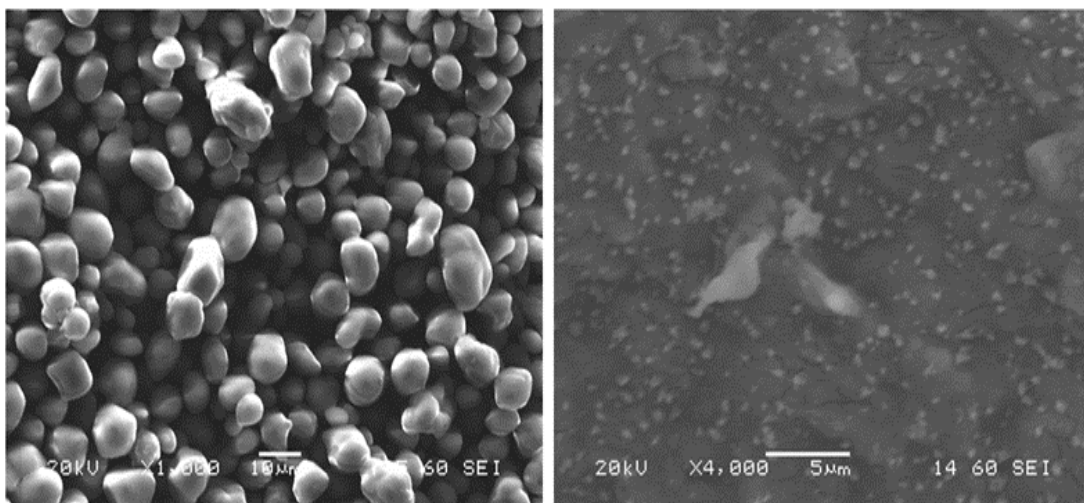
Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με χρήση του λογισμικού SPSS V.25.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA), με ανάλυση διακύμανσης ενός παράγοντα (ANOVA) με έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων (post hoc test) Duncan με βαθμό στατιστικής σημαντικότητας 95% ($p < 0.05$). Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση (SD).

5.3. Αποτελέσματα-Συζήτηση-

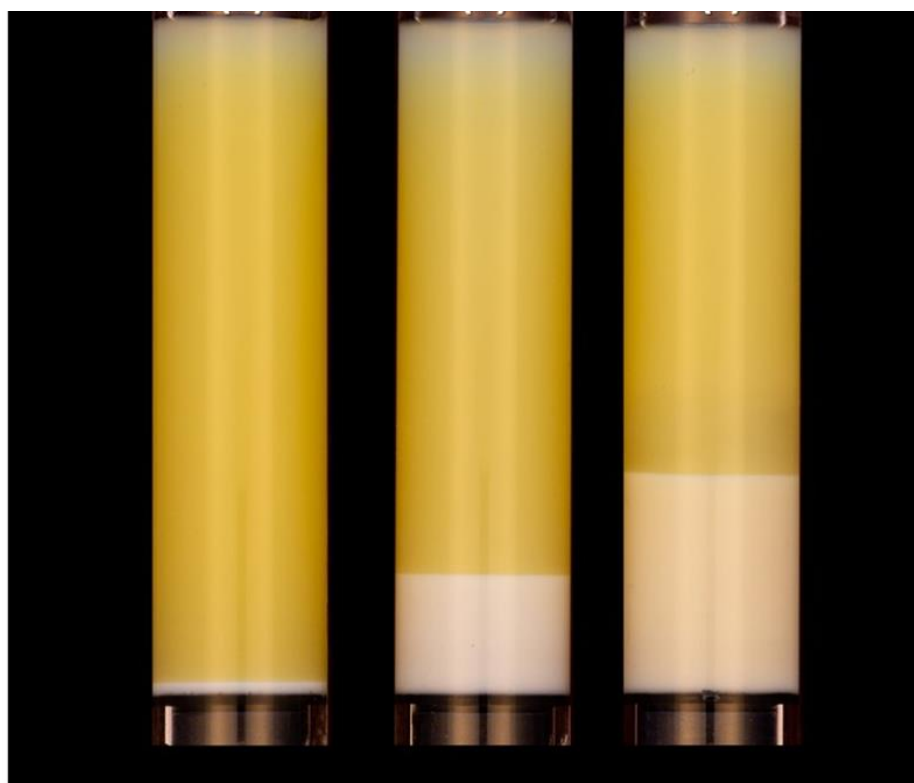
5.3.1 Επίδραση της συγκέντρωσης νανο-σωματιδίων αμύλου στη σταθερότητα γαλακτώματος

Τα παραγόμενα νανο-σωματίδια αμύλου μέσω της φυσικής μεθοδολογίας που παρουσιάστηκε στο Κεφάλαιο 3, έχουν μέγεθος σωματιδίων 170 nm (υδροδυναμική διάμετρος) παρουσιάζοντας ομοιόμορφη κατανομή (μετά από επεξεργασία με υπερήχους για 60 λεπτά των παρασκευασμένων νανο-σωματιδίων προκειμένου να από-συσσωματωθούν) και τελικώς αποτελούνται από μια ομοιόμορφη λευκή σκόνη μετά τη λυοφιλίωση τους. Επιπλέον, τα νανο-σωματίδια παρουσιάζουν μια ομοιόμορφη κατανομή σε σφαιρικό σχήμα όπως φαίνεται στις εικόνες από την ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (SEM) (Σχήμα 35). Γενικά, τα νανο-σωματίδια αμύλου τείνουν να συσσωματώνονται σε ξηρή βάση μετά τη λυοφιλίωση και για αυτό τον λόγο μπορεί να χρησιμοποιηθεί η υπόθεση ότι σε χαμηλές συγκεντρώσεις τα αποτελέσματα της κατανομής του μεγέθους (τεχνική DLS) είναι καλύτερα σε σύγκριση με μετρήσεις με υψηλές συγκεντρώσεις που οδηγούν σε αύξηση του ιξώδους, το οποίο με τη σειρά του μπορεί να περιορίσει την κινητικότητα των μορίων αμύλου, με αποτέλεσμα υψηλότερες τιμές λόγω συσσωμάτωσης (Mohammad Amini & Razavi, 2016; Y. Tan et al., 2009). Τα προαναφερθέντα αποτελέσματα παρουσιάζονται με πλήρη λεπτομέρεια στο Κεφάλαιο 4.1 και στην πρόσφατη δημοσίευση της ερευνητικής μας ομάδας (Apostolidis, Stergiou, et al., 2023).

Αρχικά, το ακατέργαστο δείγμα ανθεκτικού αμύλου δεν μπορούσε να σταθεροποιήσει τα σταγονίδια ελαίου όπως απεικονίζεται στο Σχήμα 36. Στην προσπάθεια δημιουργίας γαλακτωμάτων, συστήματα με συγκεντρώσεις 1% w/v, 3 % w/v και 5% w/v σωματιδίων αμύλου διαχωρίστηκαν πλήρως σε πολύ μικρό χρονικό διάστημα (μετά από ένα λεπτό), επιδεικνύοντας περιορισμένη σταθερότητά λόγω του διαχωρισμού φάσεων που παρατηρήθηκε στα συστήματα αυτά. Αναλύοντας τα συστήματα, αυτό που παρατηρήθηκε ήταν ένα λευκό στρώμα αμύλου στο κάτω μέρος του σωλήνα. Ο βαρυστικός διαχωρισμός που σχηματίζεται οφείλεται στο μεγάλο μέγεθος των σωματιδίων. Επιπλέον, παρατηρείται ένα παχύ στρώμα ελαίου στο πάνω μέρος του δοχείου λόγω του φαινομένου της αποκορύφωσης (creaming).



Σχήμα 35. Μικρογραφίες μέσω ηλεκτρονικής μικροσκοπίας (SEM), του ακατέργαστου δείγματος αμύλου με μεγέθυνση ($\times 1000$) (αριστερά) και των νανο-σωματιδίων αμύλου δεξιά.



Σχήμα 36. Επίδραση της συγκέντρωσης των σωματιδίων του ακατέργαστου δείγματος ανθεκτικού αμύλου: a) 1% w/v, b) 3% w/v, c) 5% w/v) στη σταθερότητα του συστήματος (ένα λεπτό).

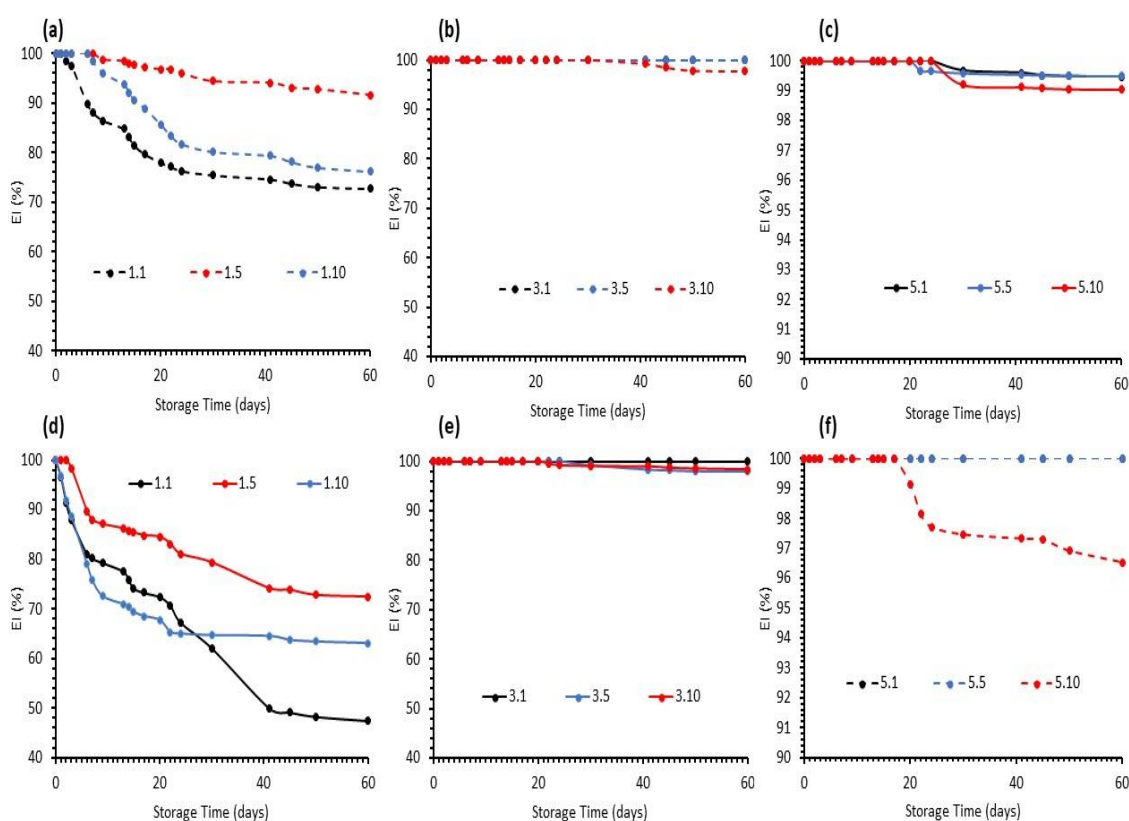
Τόσο το μέγεθος των σωματιδίων όσο και η συγκέντρωση τους είναι κρίσιμες παράμετροι οι οποίες δύνανται να επηρεάσουν τη σταθερότητα των γαλακτωμάτων Pickering (σταθεροποίηση με χρήση σωματιδίων) (Song et al., 2015). Για τον λόγο αυτό, η μελέτη εστιάστηκε στο πώς το μέγεθος των σωματιδίων και η συγκέντρωση των νανο-σωματιδίων επηρεάζουν τη σταθερότητα σε διαφορετικές αναλογίες ελαίου/νερού. Συγκεκριμένα, μελετήθηκε η συγκέντρωση των νανο-σωματιδίων αμύλου από 1 έως 5.0% w/v (στην υδατική φάση) ενώ το κλάσμα ελαίου ήταν από 1 έως 10% κατ' όγκο (σε αναλογία με το μίγμα λαδιού/νερού). Η συγκέντρωση των νανο-σωματιδίων (SNP) και οι ποσότητες του ελαίου των διαφορετικών συστημάτων παρουσιάζονται στον Πίνακα 10, μαζί με τις σημειώσεις που χρησιμοποιούνται για την αναγνώριση των γαλακτωμάτων.

Πίνακας 10. Ονομασία και αναλογίες των παραγόμενων γαλακτωμάτων Pickering

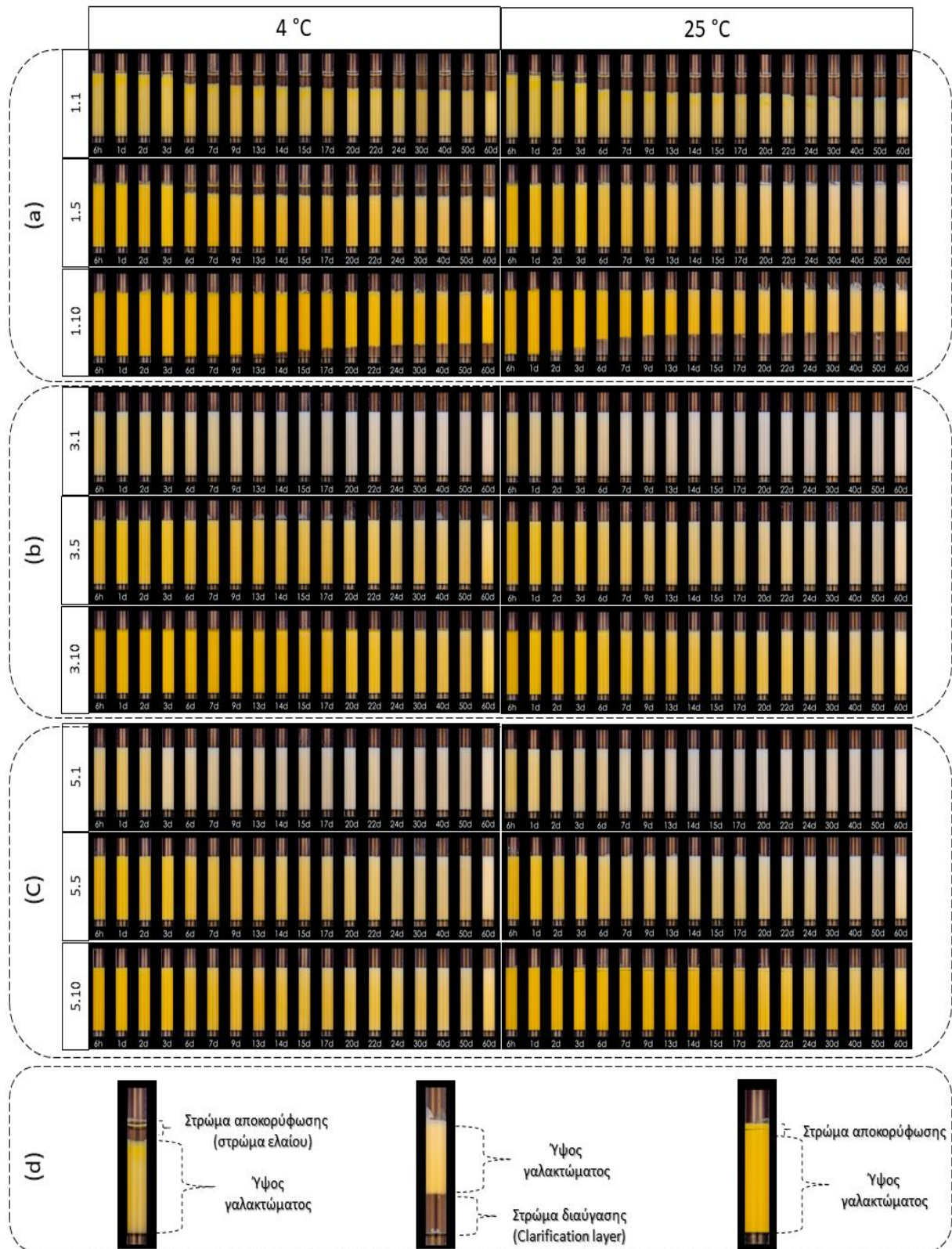
Γαλάκτωμα (κωδικοποιημένα)	% SNP	% Ελαίου
1.1	1	1
1.5	1	5
1.10	1	10
3.1	3	1
3.5	3	5
3.10	3	10
5.1	5	1
5.5	5	5
5.10	5	10

Αναλυτικότερα, για το χαρακτηρισμό της σταθερότητας των διαφορετικών γαλακτωμάτων, πραγματοποιήθηκε η μελέτη της αποθήκευσης των γαλακτωμάτων τύπου Pickering που παρασκευάστηκαν με διαφορετικές συγκεντρώσεις σωματιδίων (SNP) και τα αποτελέσματα απεικονίζονται στο Σχήμα 37. Επιπλέον, αξιολογήθηκε η σταθερότητα των γαλακτωμάτων τύπου Pickering σε βάθος χρόνου (long-term stability) με χρήση νανο-σωματιδίων αμύλου. Στο Σχήμα 38 παρουσιάζονται οι ψηφιακές εικόνες των γαλακτωμάτων καθώς και η έκταση των φαινομένων αποκορύφωσης (creaming) και αποσταθεροποίησης που παρατηρούνται σε

συγκεκριμένα συστήματα και χρονικές περιόδους. Τα γαλακτώματα Pickering επιτυχώς σταθεροποιήθηκαν σε διαφορετικά ποσοστά αμύλου σε όλες τις συνθήκες που εξετάστηκαν, βάση της οπτικής παρατήρησης. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του προφίλ σταθερότητας από την αποθήκευση, τα γαλακτώματα με συγκέντρωσης αμύλου 1% παρουσίαζαν ένα αποκορυφωμένο στρώμα στην κορυφή του γαλακτώματος (διαύγηση (clarification) της περιοχής).



Σχήμα 37. Μελέτη σταθερότητας των γαλακτωμάτων τύπου Pickering με διαφορετικές συγκεντρώσεις νανο-σωματιδίων αμύλου (1%, 3%, 5%) και ελαίου (1%, 3%, 10%) αποθηκευμένα σε διαφορετικές συνθήκες θερμοκρασίας. Τα a-c είναι δείγματα που αποθηκεύονται στους 4°C ενώ τα d-f αποθηκεύονται στους 25°C.



Σχήμα 38. Σταθερότητα γαλακτωμάτων σε βάθος χρόνου σε συνθήκες αποθήκευσης στους 4 °C και 25 °C, σταθεροποιημένα με νανο-σωματίδια αμύλου: (a) δείγματα 1.1, 1.5, 1.10, (b) δείγματα 3.1, 3.5, 3.10, (c) δείγματα 5.1, 5.5, 5.10. από αριστερά προς τα δεξιά: 6 ώρες, 1, 2, 3, 6, 7, 9, 13, 14, 15, 17, 20, 22, 24, 30, 40, 50, 60 ημέρες ως χρόνος αποθήκευσης. Στην εικόνα (d) παρουσιάζονται τα διαφορετικά φαινόμενα αποσταθεροποίησης.

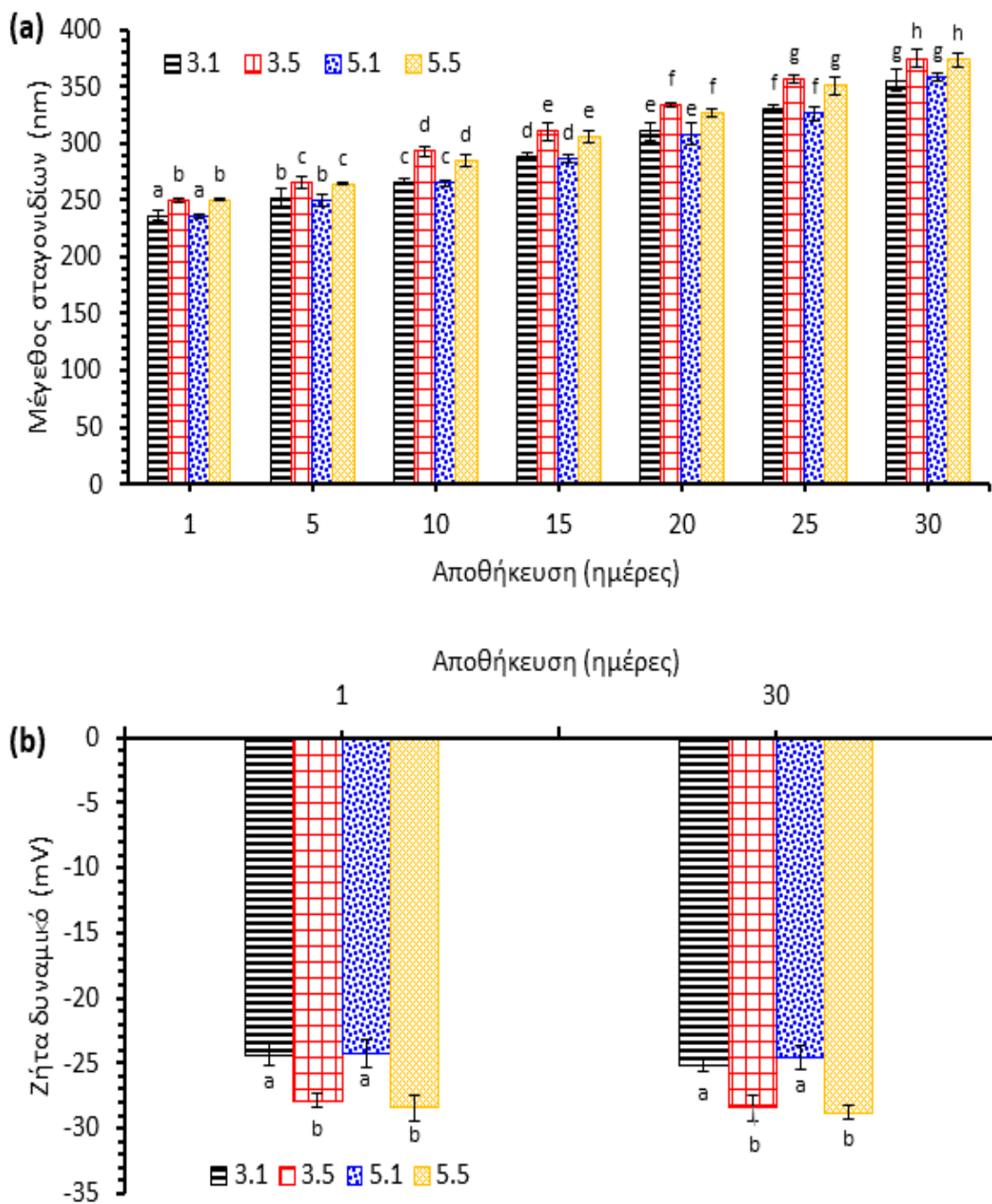
Η ικανότητα σχηματισμού και σταθεροποίησης ενός γαλακτώματος περιγράφεται ποσοτικά από το δείκτη γαλακτωματοποίησης (Emulsification Index, EI). Χαρακτηριστικά, στα γαλακτώματα που σχηματίστηκαν με τη χαμηλότερη συγκέντρωση νανο-σωματιδίων 1% (1.1, 1.5 και 1.10), παρατηρήθηκε αποσταθεροποίηση τόσο στους 4 °C όσο και στους 25 °C. Συμπερασματικά, η συγκέντρωση αυτή των σωματιδίων δεν ήταν ικανή να σχηματίσει ένα σταθερό γαλάκτωμα τύπου Pickering με την πάροδο του χρόνου, καθώς το φαινόμενο της αποσταθεροποίησης γίνεται άμεσα αντιληπτό από τον σχηματισμό στρώματος αποκορύφωσης των σταγονιδίων. Καθώς η συγκέντρωση αυξήθηκε σε 3% w/v και 5% w/v, τα γαλακτώματα παρουσίαζαν παρόμοια συμπεριφορά με αυξημένη συνεκτικότητα προσομοιώνοντας δομή γέλης (gel-like).

Όπως φαίνεται στο Σχήμα 38, τα γαλακτώματα που σταθεροποιήθηκαν τόσο με 3% w/v όσο και 5% w/v νανο-σωματίδια και 1% v/v και 5% v/v λάδι παρουσίασαν υψηλή σταθερότητα (~2 μήνες) σε βάθος χρόνου ακόμη και σε θερμοκρασία δωματίου (25°C). Αναλυτικότερα, στους 4 °C, τα παραγόμενα γαλακτώματα (για 3% και 5%) παρουσίασαν μια πολύ υψηλή τιμή για το δείκτη γαλακτωματοποίησης (EI) 99% μετά από 30 ημέρες και παρέμεναν σταθερά έως και δύο μήνες. Χαρακτηριστικά, ο δείκτης γαλακτωματοποίησης είναι το ύψος της διαχωρισμένης φάσης που σχηματίζεται προς το συνολικό ύψος του γαλακτώματος, δηλώνοντας πως αν δεν υπάρχει διαχωρισμός ένα γαλάκτωμα θα μας δώσει ένα δείκτη 100%. Ωστόσο, σε συνθήκες αποθήκευσης σε θερμοκρασία δωματίου 25 °C, ο δείκτης γαλακτωματοποίησης (EI) για τη μέγιστη συγκέντρωση ελαίου 10% και σωματιδίων 5% μετρήθηκε λίγο χαμηλότερα στο 96% μετά από 20 ημέρες. Συμπερασματικά, η προσθήκη νανο-σωματιδίων αμύλου με συγκέντρωση μεγαλύτερη από 1% w/v, οδηγεί σε ενισχυμένη σταθερότητα των συστημάτων.

5.3.2. Κατανομή μεγέθους σταγονιδίων και ζήτα δυναμικό των γαλακτωμάτων

Στα γαλακτώματα τύπου Pickering, το μέγεθος των σταγονιδίων εξαρτάται από τη συγκέντρωση των σωματιδίων, τα οποία επηρεάζουν σημαντικά τις ιδιότητες σταθερότητας των γαλακτωμάτων (Aveyard et al., 2003; Z. Cai et al., 2023). Συγκεκριμένα, η ικανότητα σχηματισμού μικρών σταγονιδίων ελαίου έχει ως αποτέλεσμα την αποφυγή ανεπιθύμητων φαινομένων όπως είναι ο βαρυτικός διαχωρισμός, η συσσωμάτωση (droplet aggregation), η κροκίδωση (flocculation) και συνένωση (coalescence) των σταγονιδίων (Degner et al., 2014; Songnan Li et al., 2019; X. Lin et al., 2020; Mikulcová et al., 2016). Η συγκέντρωση των νανο-σωματιδίων αμύλου και ελαίου επιδρούν σημαντικά στη σταθερότητα των συστημάτων. Για τον λόγο αυτό, τα γαλακτώματα τύπου Pickering με συγκέντρωση νανο-σωματιδίων αμύλου 3% και 5% και ελαίου 1% και 5% αντίστοιχα, επιλέχθηκαν λόγω της αυξημένης τους σταθερότητας για να χαρακτηριστούν περαιτέρω. Συγκεκριμένα, υπολογίστηκε το μέγεθος των σταγονιδίων ελαίου των γαλακτωμάτων στα συστήματα 3.1, 3.5, 5.1, 5.5 για να εκτιμηθεί η σταθερότητα τους.

Τα γαλακτώματα που σταθεροποιήθηκαν με 3.0% νανο-σωματίδια αμύλου παρουσίασαν τη μεγαλύτερη τιμή στο μέγεθος των σταγονιδίων (237 nm) ενώ δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά στο μέγεθος των σταγονιδίων όταν η συγκέντρωση σωματιδίων αυξήθηκε από 3 σε 5% κατά βάρος σε όλες τις ημέρες αποθήκευσης (Σχήμα 39 a). Η αύξηση της συγκέντρωσης των σωματιδίων είχε ως αποτέλεσμα την ταχεία σύνδεση περισσότερων μικρών σωματιδίων στις σχηματισμένες διεπαφές λαδιού-νερού, συμβάλλοντας στη μείωση της διεπιφανειακής τάσης. Λόγω αυτού του φαινομένου, η δημιουργία μικρών σταγονιδίων ελαίου επιταχύνεται προσδίδοντας χρόνο στα σωματίδια αμύλου να μετακινηθούν στη διεπιφάνεια και να μπορέσουν να τα καλύψουν, δημιουργώντας με αυτό τον τρόπο στην σταθεροποίησή τους (Apostolidis, Stoforos, et al., 2023; Yue Li et al., 2023). Επιπλέον, το μέγεθος των σταγονιδίων ελαίου αυξήθηκε από 237 nm σε 253 nm αυξάνοντας την ελαιώδη φάση από 1% σε 5% για τα γαλακτώματα που σταθεροποιήθηκαν με 3% σωματίδια αμύλου και από 235 nm σε 248 nm για 5% σωματίδια αμύλου αντίστοιχα. Σημαντικό είναι να αναφερθεί πως με την πάροδο του χρόνου (μέρες αποθήκευσης) το μέγεθος των σωματιδίων παρουσίασε το ίδιο μοτίβο σχετικά με τις συγκεντρώσεις ελαίου και σωματιδίων.

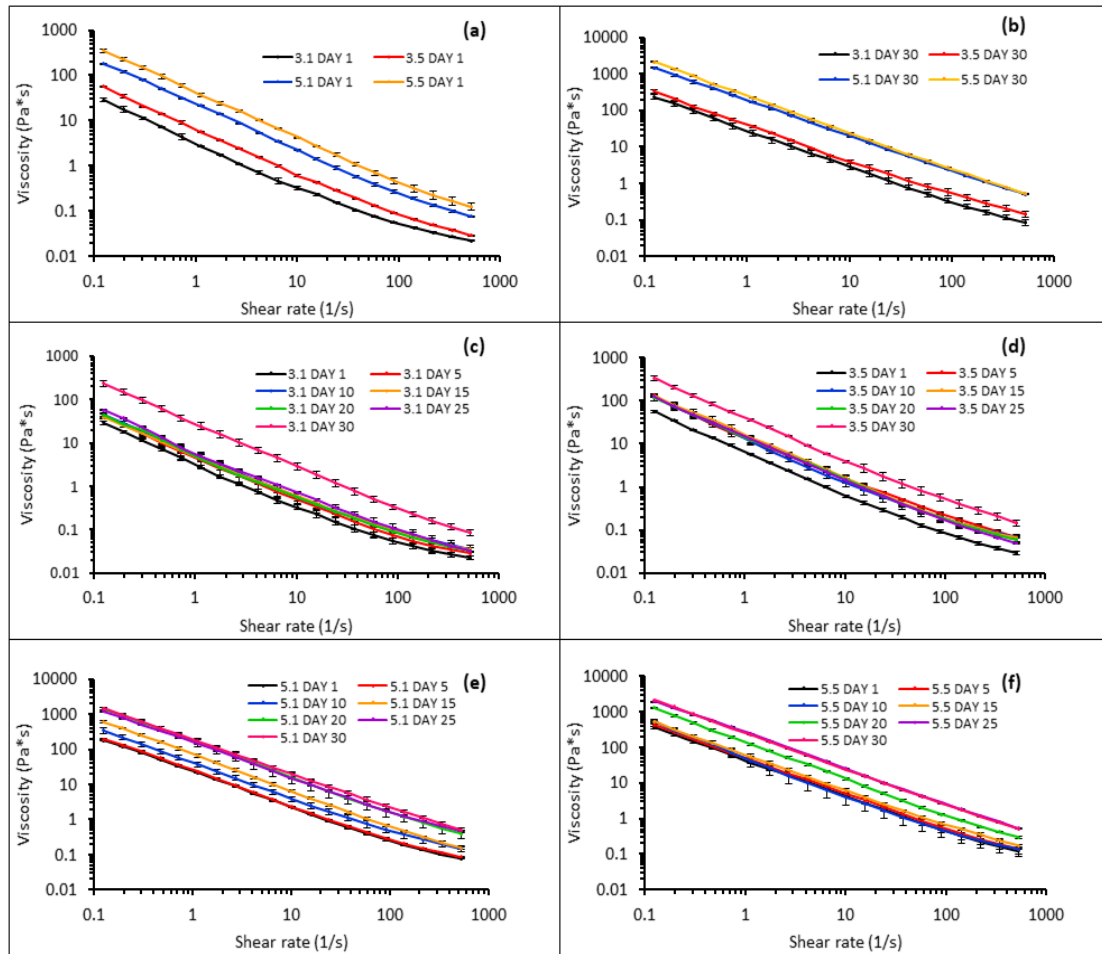


Σχήμα 39. Σταθερότητα γαλακτωμάτων κατά τη διάρκεια αποθήκευσης στους 4 °C: (a) μέγεθος σταγονιδίων ελαίου, (b) μετρήσεις ζήτα δυναμικού.

Προκειμένου να εκτιμηθεί η σταθερότητα των γαλακτωμάτων, η τεχνική της μέτρησης του ζήτα δυναμικού (ζ) αποτελεί ένα χρήσιμο εργαλείο. Συγκεκριμένα, αποτελεί ένα χρήσιμο δείκτη του επιφανειακού φορτίου της διεπιφανειακής περιοχής όπου βρίσκεται η σταγόνα ελαίου/σωματίδιο (McClements & Rao, 2011; Mitri et al., 2011; Y. Zhang et al., 2021). Σε όλες τις υπό μελέτη περιπτώσεις, το ζήτα δυναμικό παρουσίασε αρνητικές τιμές (Σχήμα 39 b). Από τα αποτελέσματα των μετρήσεων του ζήτα δυναμικού, τα συστήματα με τις υψηλότερες συγκεντρώσεις νανο-σωματιδίων παρουσίασαν μεγαλύτερες απόλυτες τιμές δυναμικού (ζ), υποδεικνύοντας μέσω αυτού υψηλότερη σταθερότητα έναντι του φαινομένου της συνένωσης (coalescence). Επιπλέον, από τα αποτελέσματα διαφαίνεται ότι ο βαθμός της απόθησης μεταξύ των γειτονικών σταγονιδίων του γαλακτώματος είναι επαρκής, επιτυγχάνοντας να σταθεροποιούνται μακριά το ένα από το άλλο αφού η απόλυτη τιμή του δυναμικού ζήτα πλησιάζει την τιμή 30. Συμπερασματικά, σύμφωνα με την κλασική θεωρία DLVO (Derjaguin–Landau–Verwey–Overbeek) και τον κανόνα της τιμής των 25 mV (κατώτατο όριο η τιμή 25), οι τιμές των δειγμάτων μας, αποτυπώνουν σταθερότητα, πράγμα που σημαίνει ότι το διάλυμα ή η διασπορά θα αντιστέκονται σε φαινόμενα συσσωμάτωσης και κροκίδωσης (Clogston & Patri, 2011; Vallar et al., 1999; X. Y. Wang et al., 2023).

5.3.3. Μελέτη ρεολογικών ιδιοτήτων

Η σταθερότητα των γαλακτωμάτων σε βάθος χρόνου και οι τομείς των εφαρμογών τους επηρεάζονται σημαντικά από τα ρεολογικά χαρακτηριστικά αυτών των συστημάτων (Kaganyuk & Mohraz, 2019; F. Zhu, 2019). Για τον λόγο αυτό, στα πιο σταθερά συστήματα γαλακτωμάτων μελετήθηκε το ιξώδες τους. Συγκεκριμένα στο Σχήμα 40 παρουσιάζεται το ιξώδες των γαλακτωμάτων που σταθεροποιούνται από νανο-σωματίδια αμύλου για συγκεντρώσεις αμύλου 3% και 5% και συγκεντρώσεις ελαίου 1% και 5% αντίστοιχα. Σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις αμύλου (1%), το γαλάκτωμα παρουσιάζει συμπεριφορά ενός λεπτόρρευστου υγρού που μπορεί να ρέει εύκολα, ενώ σε υψηλότερες συγκεντρώσεις σωματιδίων 3% και 5%, αποκτά μια παχύρρευστη συμπεριφορά που μοιάζει με γέλης (gel-like behavior). Επιπλέον, τα συστήματα με τη χαμηλή συγκέντρωση νάνο-σωματιδίων (1%) εμφάνισαν την πιο αδύναμη σταθερότητα και για τον λόγο αυτό δεν κρίνεται απαραίτητη η περαιτέρω αξιολόγηση των ρεολογικών τους ιδιοτήτων στο πλαίσιο αυτής της μελέτης.

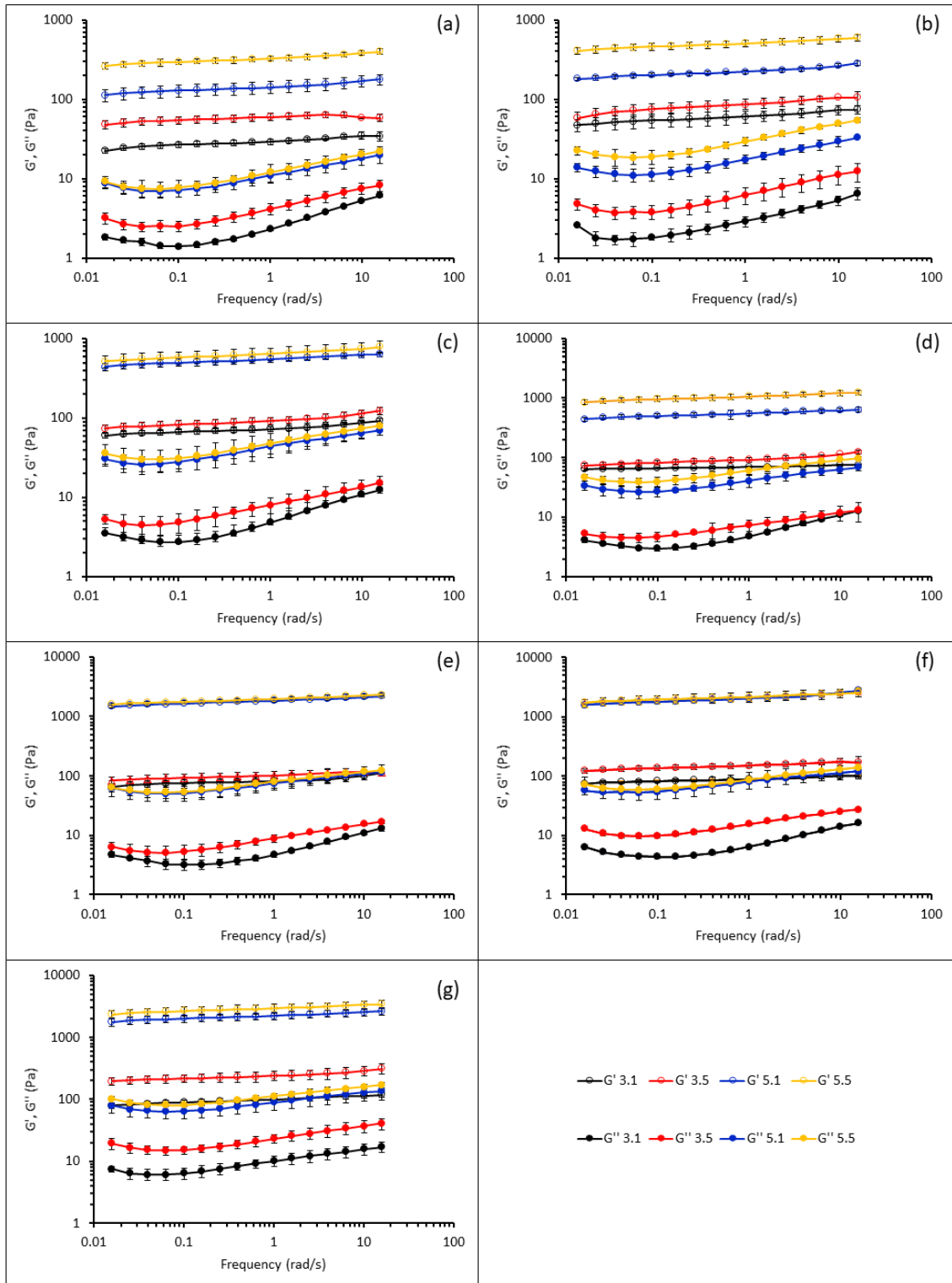


Σχήμα 40. Ιξώδες (η) με τον ρυθμό διάτμησης ($\dot{\gamma}$): (a) όλα τα δείγματα για την ημέρα 1 και την ημέρα 30 (b) αντίστοιχα, (c) συγκέντρωση νανο-σωματιδίων 3% αποθήκευσης και 5% για όλες τις ημέρες αποθήκευσης (e), συγκέντρωση ελαίου 1% (d), 5% (f) για όλες τις ημέρες αποθήκευσης.

Παράλληλα, όλα τα υπό μελέτη γαλακτώματα τύπου Pickering παρουσιάζουν μη νευτώνεια, ψευδοπλαστική (pseudoplastic) συμπεριφορά με διατμητική λέπτυνση (shear-thinning) ως αποτέλεσμα της διάσπασης των συσσωματωμένων σταγονιδίων (droplet clusters) κατά την εφαρμογή διατμητικών δυνάμεων. Η συμπεριφορά αυτή οφείλεται στο γεγονός ότι το ιξώδες τους μειώνεται με την αύξηση του ρυθμού παραμόρφωσης (αύξηση ρυθμού διάτμησης). Επιπλέον, η προσθήκη του ελαίου επηρεάζει σημαντικά την συμπεριφορά της ροής των γαλακτωμάτων. Το ιξώδες των σταθεροποιημένων γαλακτωμάτων με νανο-σωματίδια αυξήθηκε τόσο με την αύξηση της συγκέντρωσης των σωματιδίων όσο και με την αύξηση του ελαίου οδηγώντας στον σχηματισμό ενός πιο παχύρευστου συστήματος (Σχήμα 40 a, b). Τέλος, με την πάροδο του χρόνου (ημέρα 1 έως 30) παρατηρείται μια σταδιακή αύξηση του ιξώδους (Σχήμα 40 c- f).

Η ιξωδοελαστική (viscoelastic) συμπεριφορά των γαλακτώματων παρουσιάζεται στο Σχήμα 41, και είναι η ιδιότητα των υλικών αυτών να παρουσιάζουν τόσο ιξώδη όσο και ελαστικά χαρακτηριστικά. Η αλληλεπίδραση των σταγονιδίων ελαίου στην ιξωδοελαστική συμπεριφορά των συστημάτων αποτελεί έναν από τους μηχανισμούς που εξηγεί την αύξηση του ιξώδους των συστημάτων. Η παράμετρος $G'(\omega)$ του μέτρου αποθήκευσης (storage modulus) εκφράζει την ποσότητα ενέργειας που είτε ανακτάται είτε αποθηκεύεται στο υλικό κατά τη διάρκεια κάθε κύκλου παραμόρφωσης, ενώ η παράμετρος $G''(\omega)$ του μέτρου απώλειας (loss modulus) εκφράζει την ποσότητα ενέργειας που χάνεται από την ιξώδη ανάλωση (viscous dissipation) σε κάθε κύκλο παραμόρφωσης. (Bortnowska et al., 2014; Song et al., 2015). Για τον λόγο αυτό μελετήθηκαν και προσδιορίστηκαν οι παράμετροι G' και G'' που εκφράζουν πόσο ελαστικό ή πλαστικό είναι ένα υλικό αντίστοιχα, για να προσδιοριστεί η επίδραση της συγκέντρωσης των νανο-σωματιδίων και ελαίου. Η μεταβολή των παραμέτρων G' και G'' για τα γαλακτώματα με συγκέντρωση νανο-σωματιδίων 3% και 5% και συγκέντρωση ελαίου 1% και 3% για ένα εύρος γωνιακής συχνότητας 0.1–100 rad/s για χρονική περίοδο αποθήκευσης έως 30 ημέρες παρουσιάζουν τη συμπεριφορά ενός στερεού γαλακτώματος.

Από το Σχήμα 41 a-g, η παράμετρος G' ήταν πάντα σημαντικά υψηλότερη από τη αντίστοιχη G'' ($\tan\delta < 1$), χωρίς διασταύρωση (crossover, $G'=G''$) σε όλο το εύρος των διαστημάτων σάρωσης γωνιακής συχνότητας, υποδεικνύοντας ότι όλα τα γαλακτώματα εμφάνιζαν ελαστική συμπεριφορά που μοιάζει με γέλης (gel-like behavior). Επιπλέον, οι παράμετροι G' και G'' αυξήθηκαν με την αύξηση της συγκέντρωσης ελαίου και νανο-σωματιδίων αμύλου αντίστοιχα σε όλο το εύρος συχνοτήτων, υποδηλώνοντας συμπεριφορά γέλης με αυξημένη αντοχή, (Ge et al., 2017). Επιπλέον, σε όλα τα γαλακτώματα τύπου Pickering σε όλους τους χρόνους αποθήκευσης, τόσο το G' όσο και το G'' είχαν μια ελάχιστη εξάρτηση σε ολόκληρο το εύρος σάρωσης συχνοτήτων, υποδηλώνοντας ότι φυσικές αλληλεπιδράσεις (non-covalent) ήταν κυρίως υπεύθυνες για την ανάπτυξη αυτού του ισχυρού δικτύου γαλακτώματος που προσομοιάζει δομή γέλης (X. M. Li et al., 2019).



Σχήμα 41. Ιξωδοελαστικές ιδιότητες των γαλακτωμάτων που σταθεροποιούνται από τα νανο-σωματίδια αμύλου για διαφορετικές περιόδους αποθήκευσης: 1 ημέρα (a), 5 ημέρες (b), 10 ημέρες (c), 15 ημέρες (d), 20 ημέρες (e), 25 ημέρες (f), 30 ημέρες (g).

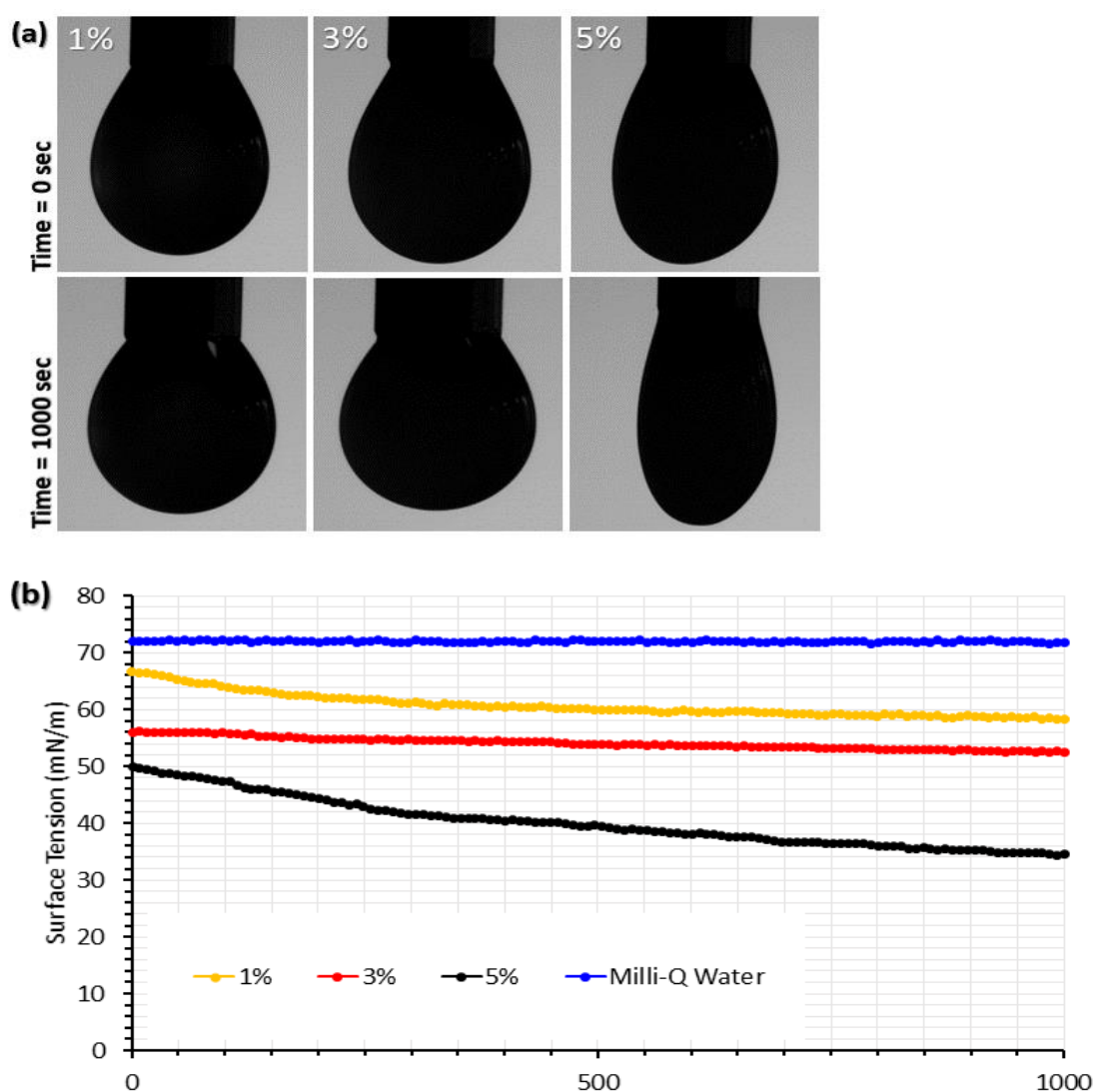
5.3.4. Επιφανειακή (surface tension) και Διεπιφανειακή τάση (interfacial tension)

Η μικροδομή και η σταθερότητα των γαλακτωμάτων τύπου Pickering μπορούν να επηρεαστούν σημαντικά από την επιφανειακή τάση αέρα-νερού και της διεπαφής ελαίου-νερού. Θερμοδυναμικά, τα σωματίδια έλκονται στη διεπιφάνεια ελαίου-νερού, μειώνοντας τη διεπιφανειακή τάση (interfacial tension) επιτυγχάνοντας τη βελτίωση της σταθερότητας του γαλακτώματος (Komura et al., 2006). Μέσω του υπολογισμού της επιφανειακής και διεπιφανειακής τάσης, αξιολογήθηκε η αποτελεσματικότητα των νανο-σωματιδίων αμύλου ως σταθεροποιητές σε συστήματα γαλακτώματος, αναδεικνύοντας ότι τα νανο-σωματίδια μείωσαν την επιφανειακή και τη διεπιφανειακή τάση των γαλακτωμάτων αντίστοιχα.

Αρχικά η επιφανειακή τάση του υπερκάθαρου νερού (Milli-Q) και του ελαίου (MCT) που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα μετρήθηκαν 72.21 ± 0.21 mN/m και 31.26 ± 0.18 mN/m αντίστοιχα στους 25°C . Τα αποτελέσματά μας είναι παρόμοια με τις τιμές της βιβλιογραφίας (φαινόμενο που μας βοηθάει να αντιληφθούμε την απόκλιση του οργάνου σε σχέση με τις τιμές που παρουσιάζονται στη βιβλιογραφία) (Bhatluri et al., 2015; Ogunlaja et al., 2018). Στη συνέχεια αξιολογήθηκε η επιφανειακή τάση των διασπορών νανο-σωματιδίων αμύλου σε διαφορετικές συγκεντρώσεις προκειμένου να κατανοηθεί πώς τα νανο-σωματίδια αμύλου σταθεροποιούν τις σταγόνες ελαίου. Χαρακτηριστικά, στο Σχήμα 42 b αποτυπώνεται η συμπεριφορά των νανο-σωματιδίων αμύλου, όπου με την αύξηση από 1 wt%, σε 5 wt%, η επιφανειακή τάση των διασπορών μειώθηκε από 72 σε 35 mN/m. Χαρακτηριστικά όταν η συγκέντρωση των νανο-σωματιδίων αυξάνεται, η τιμή της επιφανειακής τάσης μειώνεται ως αποτέλεσμα της συσσωμάτωσης και της συγκέντρωσης των νανο-σωματιδίων στη διεπιφάνεια υγρού-αέρα Σχήμα 42 a. Επιπλέον, παρόμοια αποτελέσματα του μοτίβου της επιφανειακής τάσης έχουν αποτυπωθεί σε υδατικές διασπορές νανο-κρυστάλλων αμύλου (Chen Li et al., 2012).

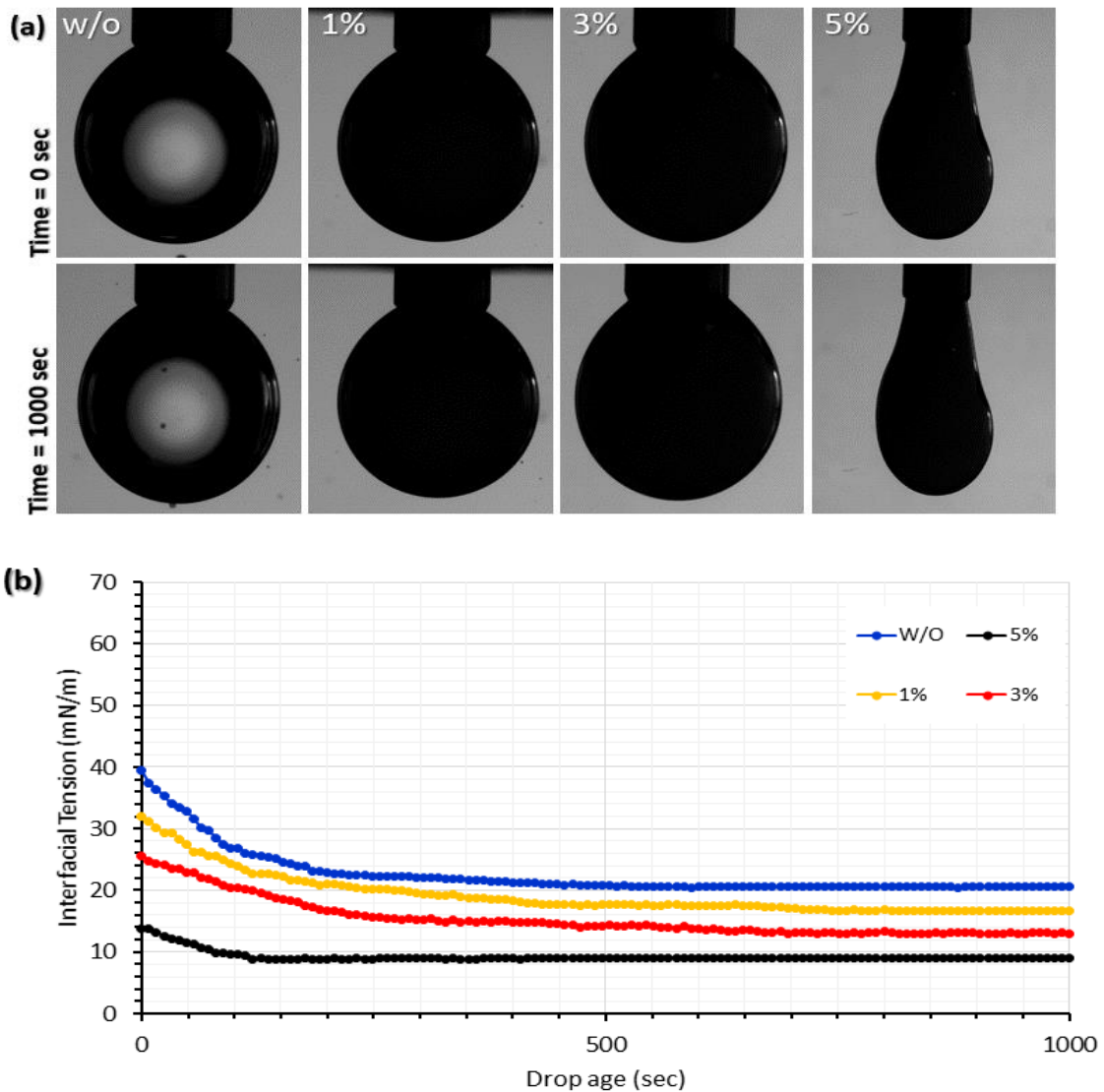
Για την περαιτέρω αξιολόγηση των νανο-σωματιδίων ως προς την αποτελεσματικότητά τους να δρουν ως σταθεροποιητές, η μέτρηση της διεπιφανειακής τάσης (IFT) αποτελεί ένα σημαντικό εργαλείο και η πιο αποτελεσματική προσέγγιση αυτής της μεθόδου αποτελεί η μέθοδος της ανάλυσης σχήματος σταγόνας (drop shape analysis) (Alnoush et al., 2019). Αναλυτικότερα, υπολογίστηκαν οι διεπιφανειακές

τάσεις μεταξύ των διαλυμάτων αμύλου σε διαφορετικές συγκεντρώσεις (1%, 3%, 5%) και του ελαίου (MCT) που σχηματίστηκαν τα γαλακτώματα. Από τις μετρήσεις διαφαίνεται ότι η διεπιφανειακή τάση (στην ισορροπία) μετρήθηκε να επηρεάζεται από την συγκέντρωση του αμύλου. Συγκεκριμένα, χωρίς άμυλο στο νερό υπολογίστηκε (20.5 mN/m), ενώ η προσθήκη νανο-σωματιδίων από 1% σε 5% μειώθηκε από 17.5 mN/m (3%) σε 9.0 mN/m (Σχήμα 42 b). Η διεπιφανειακή τάση σε όλα τα δείγματα αρχικά μειώθηκε γρήγορα πριν φτάσει τελικά σε ισορροπία και αποκτήσει ένα πλατό. Η προσρόφηση των νανο-σωματιδίων στη διεπιφάνεια των σταγονιδίων-ελαίου, έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της διεπιφανειακής τάσης με την πάροδο του χρόνου.



Σχήμα 42. Επιφανειακή τάση συναρτήσεως του χρόνου, μετρούμενη με γεωμετρία βελόνας σε διαφορετικές συγκεντρώσεις νανο-σωματιδίων: a) Σταγόνα μέτρησης επιφανειακής τάσης (ψηφιακή εικόνα), b) Χρονική εξάρτηση της επιφανειακής τάσης στη διεπαφή διαλύματος αμύλου-αέρα.

Τα παραπάνω αποτελέσματα βρίσκονται σε συμφωνία με τις αναφορές της βιβλιογραφίας για τη συμβολή των νανο-σωματιδίων στη μείωση της διεπιφανειακής τάσης σε συστήματα ελαίου-νερού (Prochaska et al., 2009; Whitby et al., 2012). Πιο αναλυτικά, η αύξηση της συγκέντρωσης των νανο-σωματιδίων οδήγησε στη μείωση της διεπιφανειακής τάσης αντίστοιχα.



Σχήμα 43. Διεπιφανειακή τάση συναρτήσει του χρόνου, μετρούμενη με γεωμετρία βελόνας σε διαφορετικές συγκεντρώσεις νανο-σωματιδίων: a) Σταγόνα μέτρησης επιφανειακής τάσης (ψηφιακή εικόνα), b) Χρονική εξάρτηση της επιφανειακής τάσης στη διεπαφή διαλύματος αμύλου-αέρα.

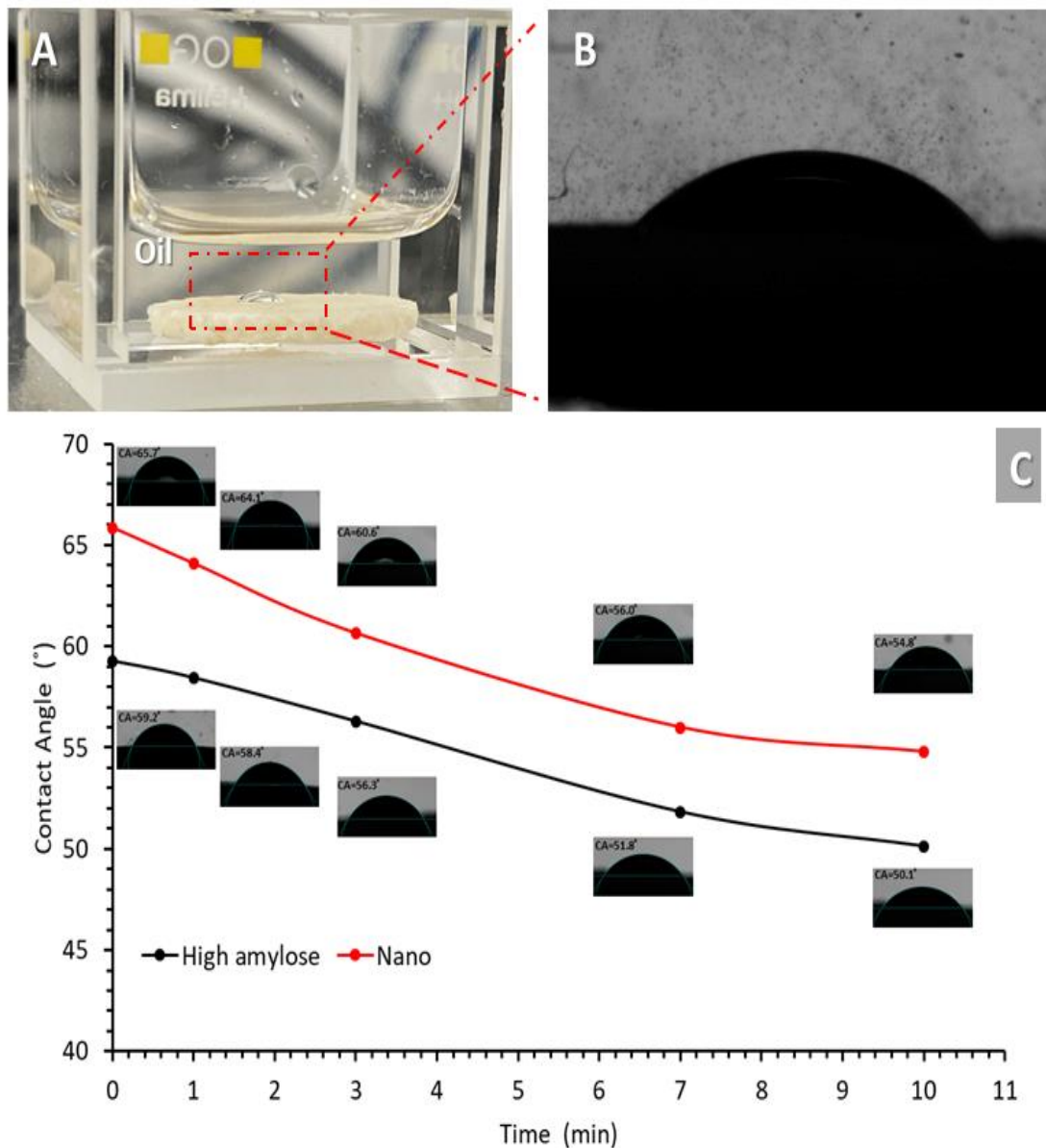
Παράλληλα, μειώνοντας τη διεπιφανειακή τάση του συστήματος, η προσκόλληση στη διεπιφάνεια των νανο-σωματιδίων αμύλου μπορεί να αποτρέψει τη συσσωμάτωση των σταγονιδίων ελαίου, συμβάλλοντας στη μείωση του μεγέθους των σταγονιδίων οδηγώντας τη δημιουργία πιο σταθερών συστημάτων. Από τα Σχήματα 42 a και 43 a, οι επιφανειακές και διεπιφανειακές τάσεις των υδατικών διαλυμάτων των νανο-σωματιδίων σε σχέση με το δείγμα του νερού μειώθηκαν σημαντικά όπως απεικονίζεται σε σχέση με τον όγκο της σταγόνας που μειώνεται. Η φυσική μέθοδος παραγωγής νανο-σωματιδίων είχε ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό δομών που επιτυχώς σχημάτισαν ένα γαλάκτωμα τύπου Pickering και είχαν ισχυρότερη συγγένεια με τη διεπαφή ελαίου-νερού. Επιπλέον, το μέγεθος των σταγονιδίων μειώθηκε με τη αύξηση της συγκέντρωσης των νανο-σωματιδίων, κάτι που μπορεί να οφείλεται και στο ίδιο μοτίβο που ακολουθεί η αλλαγή της διεπιφανειακής τάσης.

5.3.5. Μέτρηση γωνίας επαφής 3 φάσεων (3 Phase Contact angle measurement)

Η ικανότητά διαβροχής και προσρόφησης της διεπαφής μπορεί να υπολογιστεί χρησιμοποιώντας τη μέτρηση της γωνίας επαφής 3 φάσεων (θ_{ow}), η οποία χαρακτηρίζει την υδροφοβικότητα των σωματιδίων (Xu et al., 2020). Πιο αναλυτικά, η γωνία επαφής τριών φάσεων (θ_{ow}) χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση της ικανότητας διαβρεξιμότητας των σωματιδίων στη διεπιφάνεια ελαίου/νερού (O/W) και μπορεί να δώσει συμπεράσματα ως προς τη σταθερότητα των σωματιδίων. Τα σωματίδια που χαρακτηρίζονται από τιμές υψηλής υδροφιλικότητας ($\theta_{ow} < 90^\circ$) μπορούν να δημιουργήσουν ένα σύστημα γαλακτώματος τύπου ελαίου σε νερό (O/W Pickering). Ενώ ο τύπος του γαλακτώματος Pickering μπορεί να αλλάξει σε W/O για τιμές γωνίας επαφής ($\theta_{ow} > 90^\circ$) λόγω αύξησης της υδροφοβικότητας τους και αύξησης της λιποφιλικότητας των σωματιδίων.

Χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της σταθερής σταγόνας (sessile drop), προσδιορίστηκαν οι γωνίες επαφής τριών φάσεων για το ακατέργαστο δείγμα αμύλου και των νανο-σωματιδίων αμύλου, προκειμένου να εκτιμηθεί πόσο υδρόφοβες ήταν οι επιφάνειες των δειγμάτων αμύλου. Στο Σχήμα 44 διαφαίνονται οι γωνίες επαφής καθώς και οι αντιπροσωπευτικές εικόνες των σταγονιδίων νερού στα δισκία αμύλου. Προχωρώντας στα αποτελέσματα της μεθόδου, η γωνία επαφής τριών φάσεων των 49.6° για το ακατέργαστο δείγμα αμύλου άμυλο υποδεικνύει ότι πρόκειται για ένα υδρόφιλο υλικό.

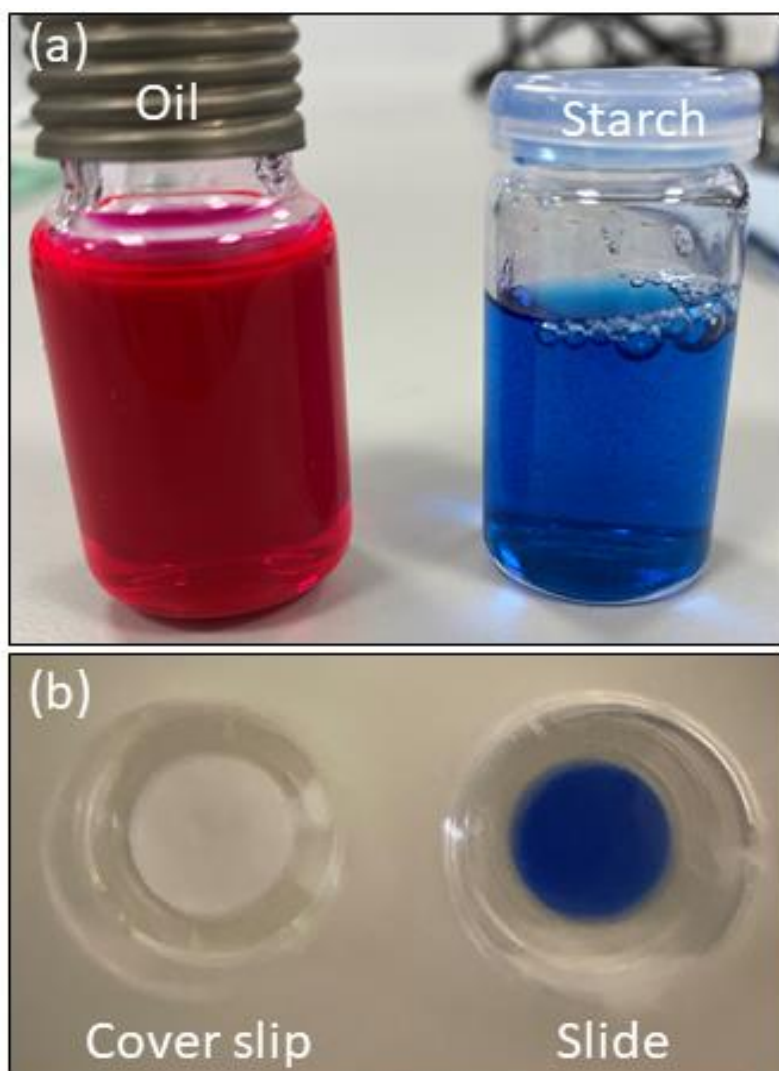
Συμπερασματικά, η υδρόφιλη συμπεριφορά του ακατέργαστου δείγματος αμύλου οφείλεται στη δημιουργία δεσμών υδρογόνου μεταξύ του νερού και των αρκετών ελεύθερων υδροξυλομάδων (OH) στην επιφάνεια του δισκίου. Όσον αφορά τα υπό μελέτη νανο-σωματίδια, η γωνία επαφής αυξήθηκε, αλλά τα νανο-σωματίδια (SNP) εξακολουθούσαν να είναι κυρίως υδρόφιλα ($\theta_{ow} < 90^\circ$). Τέλος, τα σωματίδια απορροφώνται στη διεπιφάνεια ελαίου/νερού, υποδεικνύοντας ότι οι γωνίες επαφής είναι εντός του ενδιάμεσου εύρους διαβρεξιμότητας δημιουργώντας με τη σειρά τους σταθερά γαλακτώματα.



Σχήμα 44. a) Ψηφιακή εικόνα της μεθόδου σταθερής σταγόνας (sessile drop) των δισκίων αμύλου βυθισμένων στην ελαιώδη φάση, b) γωνία επαφής τριών φάσεων (θ_{ow}) του αμύλου, c) γωνία επαφής τριών φάσεων (θ_{ow}) με το χρόνο.

5.3.6. Συνεστιακή μικροσκοπία σάρωσης με ακτίνες Laser (Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM))

Η διεπιφανειακή μικροδομή των γαλακτωμάτων καθώς και η θέση των νανοσωματιδίων στη διφασική διεπιφάνεια προσδιορίστηκε με τη συνεστιακή μικροσκοπία φθορισμού (CSLM). Για την επίτευξη αυτής της τεχνικής, οι δύο φάσεις παρασκευάστηκαν ξεχωριστά και χρωματίστηκαν κατάλληλα. Εν συνεχεία, οι δύο φάσεις ενώθηκαν και ομογενοποιήθηκε το γαλάκτωμα κατάλληλα, δίνοντας οπτικά ένα μπλε χρώμα που οφειλόταν στη χρώση της συνεχούς φάσης (δισπαρμένα νανοσωματίδια), δίχως να φαίνεται το κόκκινο χρώμα που έχουν τα σταγονίδια ελαίου (Σχήμα 45).

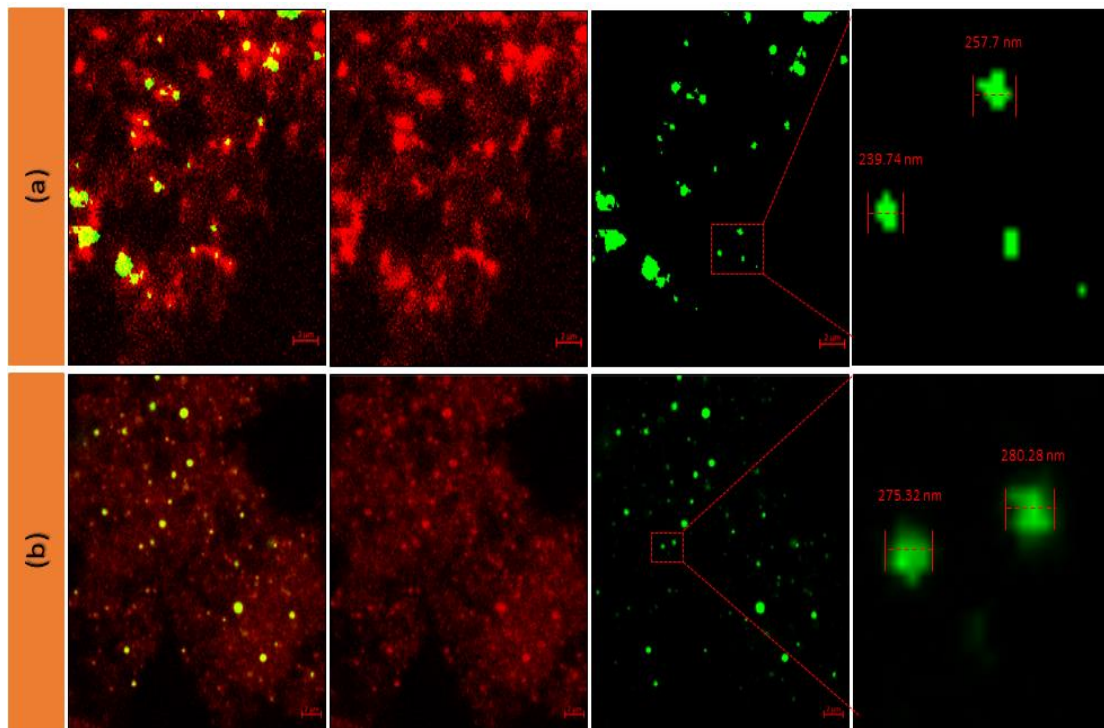


Σχήμα 45. Οπτική απεικόνιση χρώσεων αμύλου και ελαίου αντίστοιχα (a) και δειγματοφορέας με δείγμα γαλακτώματος (b).

Ο χαρακτηρισμός της μικροδομής απεικονίζεται στο Σχήμα 46, όπου χαρακτηριστικά οι δύο φάσεις απέδωσαν διαφορετικό οπτικό αποτέλεσμα. Αρχικά, οι διασπορές των νανο-σωματιδίων αμύλου παρήγαγαν κόκκινο φθορισμό μετά τη χρώση με Nile Blue A, ενώ τα σταγονίδια ελαίου παρήγαγαν πράσινο φθορισμό μετά τη χρώση με Nile Red. Οι εικόνες από τη συνεστιακή μικροσκοπία (CSLM) καθιστούν εμφανές ότι τα υπό μελέτη γαλακτώματα μπορούν να χαρακτηριστούν ως τυπικά γαλακτώματα ελαίου σε νερό (o/w) επειδή οι κόκκινοι κύκλοι των νανο-σωματιδίων αμύλου διαχέονταν συνεχώς γύρω από το ζωηρό πράσινο φθορισμό των σφαιρικών σταγονιδίων λαδιού.

Επιπλέον, εμφανίζονται περιοχές (κόκκινες κουκίδες) με πολύ έντονο το στοιχείο συσσωματωμένων νανο-σωματιδίων, δημιουργώντας ένα δίκτυο γέλης, που ήταν ευδιάκριτο ως ένα περίβλημα γύρω από τα σταγονίδια ελαίου (πράσινα σταγονίδια, ελαιώδης φάση), υποδεικνύοντας ότι τα γαλακτώματα Pickering ελαίου σε νερό σχηματίστηκαν επιτυχώς και λόγω αυτών των διατάξεων μπορούν και έχουν σταθερότητα. Όπως υπολογίστηκε από τη διεπιφανειακή τάση, τα σωματίδια βρέθηκαν να έχουν την τάση να προσροφώνται στη διεπιφάνεια ελαίου-νερού, δημιουργώντας ένα καλά πακεταρισμένο στρώμα στην επιφάνεια των σφαιρικών σταγονιδίων ελαίου.

Οι σταγόνες ελαίου ήταν πολύ καλά διεσπαρμένες και ακινητοποιημένες, μέσα σε μια δομή που μοιάζει με δικτύου γέλης. Λόγω αυτής της πολύ στιβαρής δομής στη διεπαφή, δημιουργείται μια πολύ καλή σταθερότητα που συμβάλει στην αποφυγή της συνένωσης των σταγονιδίων ελαίου. (Q. Li et al., 2022). Συμπερασματικά, τα γαλακτώματα τύπου Pickering λόγω των αγκυρώσεων των σωματιδίων στη διεπαφή και του σχηματισμού αυτής της δομής του πλέγματος, καταφέρνουν να εμποδίζουν με φυσικό τρόπο ανεπιθύμητα φαινόμενα όπως η κροκίδωση (flocculation), η συνένωση (coalescence) και η ωρίμανση Ostwald (Ostwald ripening). Ανάλογα ευρήματα υπάρχουν βιβλιογραφικά σε παλαιότερες έρευνες σχετικά με τη δημιουργία τέτοιων δομών πλέγματος (Dai et al., 2018; Ge et al., 2017).



Σχήμα 46. Μικρογραφίες από συνεστιακή μικροσκοπία (CLSM) (α) γαλακτωμάτων Pickering με 1% νανο-σωματίδια και 1% λάδι, (β) γαλακτωμάτων Pickering με 3% νανο-σωματίδια και 1% λάδι, απουσία και παρουσία αμύλου και λαδιού αντίστοιχα (εικόνες 2 και 3), σε κλίμακα (scale bar) 2 μm (με κόκκινο χρώμα απεικονίζονται τα νανο-σωματίδια αμύλου και με πράσινο τα σταγονίδια ελαίου).

5.4. Συμπεράσματα

Ένα καινοτόμο γαλακτώμα τύπου Pickering το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε συστήματα τροφίμων σταθεροποιήθηκε επιτυχώς μέσω των παραγόμενων νανο-σωματιδίων αμύλου. Τα φυσικώς παραγόμενα νανο-σωματίδια αμύλου μορφολογικά παρουσίασαν σφαιρικό σχήμα. Η αύξηση της συγκέντρωσης των νανο-σωματιδίων οδήγησε σε μείωση της επιφανειακής και διεπιφανειακής τάσης, παρουσιάζοντας με αυτό τον τρόπο την ικανότητα των σωματιδίων να προσροφώνται στη διεπιφάνεια. Τα γαλακτώματα παρουσίασαν πολύ καλή σταθερότητα με την πάροδο του χρόνου αποθήκευσης ακόμη και μετά από δύο μήνες. Η συγκέντρωση τόσο των νανο-σωματιδίων αμύλου όσο και της ελαιώδους φάσης είχαν σημαντική επίδραση στις φυσικές ιδιότητες, τις ρεολογικές, τη σταθερότητα και τη μικροδομή των γαλακτωμάτων, όπως το μέγεθος, το ζήτα δυναμικό, την επιφανειακή και διεπιφανειακή τάση. Τα φυσικώς παραγόμενα νανο-σωματίδια αμύλου απορροφήθηκαν γύρω από τα σταγονίδια ελαίου σχηματίζοντας μια οργανωμένο στρώμα στη διεπαφή προσφέροντας με αυτό τον μηχανισμό σταθεροποίηση στα γαλακτώματα τύπου Pickering, όπως διαφαίνεται από τη συνεστιακή μικροσκοπία σάρωσης με ακτίνες Laser. Περαιτέρω, τα γαλακτώματα είχαν συμπεριφορά με διατμητική λέπτυνση (shear-thinning), λόγω του δικτύου που σχηματίζουν τα νανο-σωματίδια, προσδίδοντας μια συμπεριφορά με δομή που προσομοιάζει υδρογέλης, σύμφωνα με τα ρεολογικά ευρήματα. Επιπλέον, η σταθερότητα όλων των δειγμάτων βελτιώθηκε με την αύξηση της συγκέντρωσης των νανο-σωματιδίων, παρουσιάζοντας μικρότερες τιμές στο μέγεθος των σωματιδίων και υψηλότερες τιμές ζήτα δυναμικού σε απόλυτη τιμή συγκριτικά με τα υπόλοιπα συστήματα. Μέσω αυτής της μελέτης παρουσιάζεται μια νέα μέθοδος για τη δημιουργία γαλακτωμάτων τύπου Pickering για τρόφιμα, τα οποία έχουν πολύ καλή σταθερότητα προσδίδοντας επίσης και θετικές επιπτώσεις στην υγεία, λόγω του ανθεκτικού αμύλου. Τέλος, αυτά τα γαλακτώματα δύναται να χρησιμοποιηθούν πιθανά ως υποκαταστάτες λίπους ή ως ενδιάμεσο προϊόν που μπορεί να μετατραπεί σε διάφορα τελικά διατροφικά προϊόντα.

Κεφάλαιο 6. Επίδραση της συγκέντρωσης αμύλου αραβόσιτου και προσθήκη ανθεκτικού αμύλου αραβόσιτου ως πληρωτικό μέσο (filler) στις φυσικές ιδιότητες υδρογέλης αμύλου

6.1. Εισαγωγή

Οι υδρογέλες χαρακτηρίζονται ως υδρόφιλα τρισδιάστατα δίκτυα πολυμερών και διαθέτουν την ικανότητα να συγκρατούν ύδωρ χωρίς να αποδομούνται (Kabiri et al., 2011; Motamedi et al., 2020; Qamruzzaman et al., 2022). Η μοριακή δομή του πλέγματος των υδρογελών αποτελείται από επαναλαμβανόμενες μονάδες μονομερών ενωμένες είτε με ομοιοπολικούς δεσμούς, στα οποία ανήκει η κατηγορία των υπέρ-απορροφητικών πολυμερών (superabsorbent polymer με ικανότητα απορρόφησης νερού 10–1000 g/g), είτε σύνδεση μέσω δεσμών είτε με ασθενέστερους μεταξύ των μονομερών όπως υδρογόνου και van der Waals (ικανότητα απορρόφησης νερού 1g/g) (Cui et al., 2022; Motamedi et al., 2020). Τα τελευταία χρόνια ποικίλες ερευνητικές προσεγγίσεις στη διεθνή βιβλιογραφία εστιάζουν στη χρήση φυσικών πολυμερών όπως το άμυλο, η κυτταρίνη και η ζελατίνη για τον σχηματισμό δομών υδρογέλης (Alishahi et al., 2015; Patarroyo et al., 2020). Η χρήση υδρογελών από φυσικά βιοπολυμερή σε τρόφιμα παρουσιάζει πλεονεκτήματα, λόγω της ασφάλειας και της βιοδιασπασιμότητάς τους (Cao & Mezzenga, 2020; Cui et al., 2022). Ο σχηματισμός τρισδιάστατων δομών με βάση το άμυλο παρουσιάζει ερευνητικό ενδιαφέρον, καθώς πρόκειται για ένα υλικό που επιτρέπει την ανάπτυξη προϊόντων με “καθαρή ετικέτα”.

Σε αμυλούχες δομές υδρογελών, συχνά συναντώνται κάποια πληρωτικά μέσα (fillers), όπου συνήθως πρόκειται για στερεά σωματίδια που χρησιμοποιούνται για να προσδώσουν δομική σταθερότητα (Dille et al., 2015; Shanshan Li et al., 2018; López Córdoba et al., 2013). Ορισμένα πληρωτικά μέσα έχουν υψηλή αλληλεπίδραση με το πολυμερικό δίκτυο και συμβάλλοντας στην ενίσχυση της δομής. Μηχανική υποστήριξη μπορεί επίσης να παρέχεται από ανενεργά μέσα πλήρωσης (inactive fillers), συνήθως σε μικρότερο βαθμό λόγω των ασθενέστερων δεσμών τους με το δίκτυο (J. Chen & Dickinson, 1999; Y. Lu et al., 2019). Σωματίδια ανθεκτικού αμύλου μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πληρωτικά μέσα, λόγω των φυσικών τους ιδιοτήτων, και συγκεκριμένα της συμπαγής τους δομής η οποία απαιτεί υψηλές θερμοκρασίες (< 144 °C) για να επιτευχθεί ζελατινοποίηση (X. Wu et al., 2006). Για τη μείωση των

μεταγευματικών γλυκαιμικών αποκρίσεων, το ανθεκτικό άμυλο αποτελεί μια εναλλακτική αντικατάσταση των εύπεπτων κλασμάτων άμυλου στα τρόφιμα. Για τον λόγο αυτό, το ανθεκτικό άμυλο αποτελεί μια καλή επιλογή για την ενίσχυση της δομής της υδρογέλης βοηθώντας στη διατήρηση των κατάλληλων επιπέδων γλυκόζης στο αίμα (Agostoni et al., 2011).

Το άμυλο στη φυσική του μορφή είναι αδιάλυτο στο κρύο νερό και για τον λόγο αυτό έχει περιορισμένο εύρος εφαρμογών (Odeku, 2013; Shi et al., 2011). Προκειμένου να μπορέσει να διαλυθεί το άμυλο στο νερό, θα πρέπει να διαταραχθεί η συμπαγής δομή του κόκκου μέσω της διαδικασίας της ζελατινοποίησης (Lelievre, 1976; S. Wang et al., 2014). Η θέρμανση του αμύλου σε περίσσεια νερού, σε θερμοκρασία ζελατινοποίησης προκαλεί τη διάσπαση των δεσμών υδρογόνου στους κόκκους προκαλώντας την απορρόφηση του νερού. Ανάλογα με το είδος του αμύλου, απαιτείται διαφορετική θερμοκρασία για τη ζελατινοποίηση. Για παράδειγμα, για το άμυλο καλαμποκιού η θερμοκρασία ζελατινοποίησης είναι μεταξύ 62 °C και 90 °C, ενώ για το άμυλο καλαμποκιού με υψηλή περιεκτικότητα σε αμυλόζη είναι πολύ υψηλότερη μεταξύ 144 °C και 171 °C (Colonna & Mercier, 1985; Jing-ming & Sen-lin, 1990; N. Singh et al., 2003; Srichuwong et al., 2005; X. Wu et al., 2006).

Η διαδικασία της ζελατινοποίησης ολοκληρώνεται όταν η αμυλόζη τελικά διαφύγει από τους κόκκους του αμύλου, αυξάνοντας το τελικό ιξώδες του συστήματος (Ai & Jane, 2015; Atkin et al., 1998). Μετά τη ζελατινοποίηση ακολουθεί το στάδιο της αναδιάταξης, η οποία πραγματοποιείται κατά τη διαδικασία της ψύξης του ζελατινοποιημένου αμύλου δημιουργείται ένα τριδιάστατο δίκτυο (Ai & Jane, 2015; Bemiller, 2011; García-Alonso et al., 1999). Οι φυσικές διασταυρώσεις, μέσω δεσμών υδρογόνου και van der Waals, δημιουργούνται μεταξύ των πολυμερικών αλυσίδων και προσδίδουν τη δομική σταθερότητα των σχηματιζόμενων δομών (Ismail et al., 2013; Noè et al., 2020). Τόσο ο τύπος του αμύλου, όσο και η συγκέντρωση του αμύλου επηρεάζουν το ρυθμό της αναδιάταξης. Για τον σχηματισμό υδρογέλης, η συγκέντρωση του αμύλου θα πρέπει να είναι συνήθως υψηλότερη από 6% (Ai & Jane, 2015; Cui et al., 2022; Ring, 1985).

Το ερευνητικό πεδίο που πραγματεύεται την επίδραση των θερμομηχανικών μεθόδων επεξεργασίας σε συνδυασμούς αμύλου-υδροκολλοειδών και τη διαφοροποίηση των

ιδιοτήτων τους κατά τη ζελατινοποίηση βρίσκεται σε άνθιση. Ωστόσο, η βιβλιογραφία που εστιάζει στην μελέτη της επίδρασης της συγκέντρωσης αμύλου στις φυσικές ιδιότητες των υδρογελών χρησιμοποιώντας μαθηματικά μοντέλα είναι περιορισμένη. Σε αυτά τα πλαίσια, η παρούσα διατριβή έχει ως επιμέρους στόχο τον χαρακτηρισμό της επίδρασης των σωματιδίων RS2 στην υφή των υδρογελών αμύλου (NRH), όταν προστίθενται σε διαφορετικές συγκεντρώσεις και διατηρούνται σε διαφορετικούς χρόνους αποθήκευσης. Επιπροσθέτως, στόχος είναι η ανάδειξη του RS2 ως ένα μη-ενεργό πληρωτικό μέσο, όταν προστίθεται σε ένα σύνθετο πλέγμα υδρογέλης, στρατολογώντας απλές μαθηματικές εξισώσεις για τη μοντελοποίηση των παραμέτρων.

6.2. Υλικά και Μέθοδοι

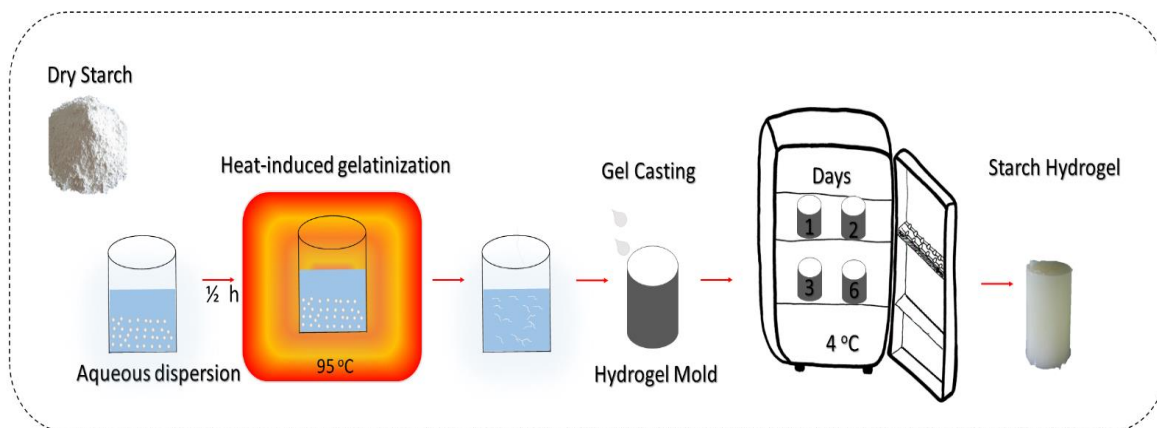
6.2.1 Υλικά

Τα δείγματα αμύλου που μελετήθηκαν ήταν, φυσικό άμυλο αραβοσίτου (native maize starch) δωρεά από την εταιρεία Παπαδοπούλου και άμυλο αραβόσιτο με υψηλή περιεκτικότητα σε αμυλόζη (HI-MAIZE®260) της εταιρίας Ingredion EMEA (Manchester, UK).

6.2.3. Δημιουργία υδρογελών αμύλου μέσω θέρμανσης (ζελατινοποίηση)

Αρχικά, παρασκευάστηκαν διασπορές αμύλου με διαφορετικές συγκεντρώσεις. Πιο αναλυτικά, το φυσικό άμυλο αραβόσιτου ζυγίστηκε και στη συνέχεια προστέθηκε απιονισμένο νερό μέχρι τελικού όγκου 100 mL. Συγκεκριμένα, σχηματίστηκαν δείγματα με φυσικό άμυλο 8% w/v, 10 % w/v, 12% w/v και 15% w/v τα οποία συμβολίζονται ως NH₈, NH₁₀, NH₁₂ και NH₁₅ αντίστοιχα. Επιπλέον, σε κάθε μία από τις διασπορές, μέρος του φυσικού αμύλου υποκαταστάθηκε από άμυλο με υψηλό ποσοστό αμυλόζης. Οι υποκαταστάσεις του φυσικού αμύλου με άμυλο RS που έγιναν ήταν 2% και 10% και τα δείγματα συμβολίζονται ως NRH_{8/2}, NRH_{10/2}, NRH_{12/2}, NRH_{15/2} και NRH_{8/10}, NRH_{10/10}, NRH_{12/10}, NRH_{15/10} αντίστοιχα. Οι πληροφορίες των δειγμάτων παρουσιάζονται αναλυτικά στον Πίνακα 13.

Ακολούθως, οι διασπορές θερμάνθηκαν στους 95 °C για 30 λεπτά υπό συνεχή ανάδευση (1500 rpm), με τη χρήση μαγνητικού αναδευτήρα RCT Basic S1 Digital Hot Plate (IKA®-Werke GmbH & Co. KG, Germany). Για την αποφυγή εξάτμισης του νερού κατά τη θέρμανση τα δοχεία ήταν κλεισμένα. Στο επόμενο βήμα μετά τη ζελατινοποίηση, οι πάστες αμύλου τοποθετήθηκαν σε κυλινδρικά καλούπια αλουμινίου (12 cm ύψος και 3 mm εσωτερικής διαμέτρου) αποτελούμενα από δύο μέρη για να διαχωρίζονται το ένα από το άλλο επιτρέποντας να ξεκαλουπώνονται εύκολα. Στη συνέχεια, τα δείγματα αφήνονταν να ισορροπήσουν σε θερμοκρασία δωματίου για 30 λεπτά και τέλος αποθηκεύονταν στους 4 °C για τουλάχιστον 24 ώρες για να διασφαλιστεί ότι όλα τα δείγματα υδρογελών αμύλου έχουν υποβληθεί στις ίδιες συνθήκες ψύξης και ζελατινοποίησης (Σχήμα 47).



Σχήμα 47. Σχηματική απεικόνιση της διαδικασίας σχηματισμού υδρογελών.

6.2.4. Μηχανικές Ιδιότητες- Ιδιότητες Υφής

Οι μηχανικές ιδιότητες της υφής των υδρογελών αμύλου μελετήθηκαν με τη χρήση της ανάλυσης του προφίλ υφής (Texture Profile Analysis, TPA) χρησιμοποιώντας τον εξοπλισμό Instron Universal Texture Machine, Model 3343 (Instron, Norwood, MA, USA). Για τις μετρήσεις της υφής, όλα τα δείγματα υδρογέλης κόπηκαν στο ίδιο μέγεθος (3 cm ύψος) και μετρήθηκαν αφού είχαν αποθηκευτεί για μία (1), δύο (2), τρεις (3) ή έξι (6) ημέρες στους 4 °C.

Όλα τα δείγματα συμπιέστηκαν δύο φορές στο 40% του ύψους τους, με περίοδο αναμονής 10 sec ανάμεσα σε κάθε συμπίεση, χρησιμοποιώντας μια κυλινδρική κεφαλή (γεωμετρία) με διάμετρο 4 cm και ταχύτητα συμπίεσης 100 mm/min,

Οι τιμές της δύναμης συναρτήσει του χρόνου υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας το λογισμικό Bluehill® Universal και χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό ενός συνόλου διαφορετικών παραμέτρων που αντικατοπτρίζουν το προφίλ υφής: Με τον όρο σκληρότητα (Hardness), ορίζεται ως η πρώτη δύναμη που χρειάζεται για το δάγκωμα, και είναι η μέγιστη δύναμη κατά την πρώτη συμπίεση. Η συνεκτικότητα υπολογίστηκε από τον λόγο των εμβαδών των δύο διαδοχικών συμπίεσεων (2η / 1η). Το κομμωδες (Gumminess) προσδιορίστηκε πολλαπλασιάζοντας τις τιμές της σκληρότητας και της συνεκτικότητας, και είναι μια παράμετρος που μετριέται συνήθως σε ημι-στερεά προϊόντα (semi-solid) (Alvarez et al., 2002; Mitchell, 2003; Teng et al., 2013).

6.2.5. Κρυσταλλικότητα σωματιδίων αμύλου με χρήση περίθλασης ακτίνων X (X-ray Diffraction, XRD)

Η ανάλυση της κρυσταλλικότητας μέσω της περίθλασης ακτίνων-X (XRD) τόσο των ακατέργαστων δειγμάτων αμύλου, όσο και των υδρογελών πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με προηγούμενη μεθοδολογία της ερευνητικής μας ομάδας (Apostolidis et al., 2021; Apostolidis & Mandala, 2020). Όλα τα δείγματα υδρογελών αμύλου υποβλήθηκαν αρχικά σε λυοφιλίωση και τέλος κάθε δείγμα αλέστηκε χρησιμοποιώντας γουδί και γουδοχέρι. Για την ανάλυση, χρησιμοποιήθηκε η συσκευή X-ray Diffractometer (D8 Adv., Bruker, Germany), που ρυθμίστηκε να λειτουργεί στα 40 kV και 40 mA. Αρχικά, η σάρωση των δειγμάτων ρυθμίστηκε να χρησιμοποιεί ακτινοβολία Cu K α με μήκος κύματος 0.1542 nm ως πηγή ακτίνων X και να λειτουργεί σε γωνία περίθλασης (2θ) 3°–35° με μέγεθος βήματος 0.05°/sec. Αναλυτικότερα, για τον υπολογισμό του ποσοστού της κρυσταλλικότητας των δειγμάτων με βάση το πρότυπο XRD, χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό (Bruker Diffrac. Eva Version 3.1). Αρχικά, κατασκευάστηκε μια γραφική παράσταση αποτελούμενη από τη γραμμή βάσης της καμπύλης, που απεικονίζεται με μαύρη γραμμή, και του φόντου των κρυσταλλικών κορυφών που απεικονίζεται με κόκκινη γραμμή αντίστοιχα. Στη συνέχεια, όπως φαίνεται στο Σχήμα 19, υπολογίστηκαν η λευκή περιοχή των κρυσταλλικών κορυφών καθώς και η γκρι άμορφη επιφάνεια. Το ποσοστό της κρυσταλλικότητας υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας την Εξίσωση 17

6.2.6. Ικανότητα συγκράτησης νερού (Water Holding Capacity, WHC)

Η ικανότητα συγκράτησης νερού (WHC) των υδρογελών υπολογίστηκε ακολουθώντας τη μεθοδολογία συμπίεσης με χρήσης διηθητικού φίλτρου χαρτιού όπως περιεγράφηκε προηγουμένως στη βιβλιογραφία με μερικές τροποποιήσεις (Wang et al., 2009). Κάθε δείγμα τοποθετήθηκε ανάμεσα σε δύο διηθητικά χαρτιά και συμπίεστηκε για 4 λεπτά. Στη συνέχεια, ζυγίστηκαν τα διηθητικά χαρτιά με χρήση αναλυτικού ζυγού (Kern & Sohn GmbH, Balingen, Germany), για τον υπολογισμό της απώλειας υγρασίας. Η ικανότητα συγκράτησης νερού (WHC) υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας της Εξίσωση 24. Τέλος, η απελευθέρωση υγρού (FR) έχει αντίστροφη έννοια με την ικανότητα συγκράτησης νερού.

$$Fluid\ Release = \frac{Το\ νερό\ που\ απομακρύνθηκε\ (gr)}{Συνολικό\ βάρος\ του\ δείγματος} \quad (24)$$

6.2.7. Ρεολογικές Ιδιότητες

Οι ρεολογικές ιδιότητες των υδρογελών αμύλου (δισπαρμένα σε νερό) μετρήθηκαν αμέσως μετά την παρασκευή τους (τα δείγματα αφού τοποθετούνταν στη γεωμετρία αμέσως μετά τη ζελατινοποίηση τους αφέθηκαν για 2 λεπτά για να επιτευχθεί θερμική ισορροπία πριν ξεκινήσουν οι μετρήσεις). Οι μετρήσεις των ρεολογικών ιδιοτήτων των δειγμάτων ελήφθησαν χρησιμοποιώντας ένα περιστροφικό ρεόμετρο ελεγχόμενης τάσης (Discovery HR-3, TA Instruments, New Castle, DE, USA) εξοπλισμένο με γεωμετρία παράλληλων-πλακών (διάμετρος άνω πλάκας 40 mm) με διάκενο που ορίστηκε στα 1000 μm. Κατά την πειραματική διαδικασία η θερμοκρασία διατηρήθηκε σταθερή ($25.0^{\circ}C \pm 0.1^{\circ}C$). με τη χρήση συστήματος κυκλοφορίας ψυκτικού μέσου (σύστημα ελέγχου θερμοκρασίας Peltier). Όλες οι τιμές των ρεολογικών δεδομένων παρουσιάζονται ως ο μέσος όρος των μετρήσεων που έγιναν εις τριπλούν.

Όσον αφορά τις ρεολογικές ιδιότητες μόνιμης διάτμησης (Steady shear) (δοκιμή αντοχής σε διατμητικές τάσεις) μέσω της διατμητικής τάσης και του ρυθμού διάτμησης υπολογίστηκε το φαινομενικό ιξώδες (η) σε ένα εύρος ρυθμού διάτμησης από 0.1 έως $10\ s^{-1}$. Η σχέση μεταξύ διατμητικής τάσης και ρυθμού διάτμησης μπορεί να περιγράψει από το μοντέλο δύναμης (Power law model) (Εξ. 25).

$$\tau = K \times \dot{\gamma}^n \quad (25)$$

Χαρακτηριστικά, με το δείκτη τ συμβολίζεται η διατμητική τάση, με K είναι ο δείκτης συνεκτικότητας, με $\dot{\gamma}$ είναι ο ρυθμός διάτμησης και με n ο δείκτης συμπεριφοράς στη ροή.

6.2.8. Ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (Scanning Electron Microscopy, SEM)

Για την αξιολόγηση της μορφολογίας των υδρογελών αμύλου έγινε χρήση ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης (SEM, JEOL, JSM-6380LV, Tokyo, Japan). Τα λυοφιλομένα δείγματα, κόπηκαν σε κομμάτια και τοποθετήθηκαν σε αγώγιμη ταινία άνθρακα διπλής όψεως, η οποία ήταν προσαρτημένη στον δειγματοφορέα και εν συνεχεία τα δείγματα επικαλύφθηκαν με πλατίνα, υπό κενό με χρήση της συσκευής (Agar Auto Sputter Coater, Agar Scientific, UK). Οι πειραματικές παράμετροι της τάσης ορίστηκαν σε 15 kV. Για την καλύτερη οπτική παρατήρηση των δειγμάτων, ελέγχθηκαν διαφορετικές αποστάσεις εργασίας (working distances) 500×, 800×, 1000× και 2000×.

6.2.9. Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με χρήση του λογισμικού SPSS V.25.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA), με ανάλυση διακύμανσης ενός παράγοντα (ANOVA) με έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων (post hoc test) Duncan με βαθμό στατιστικής σημαντικότητας 95% ($p < 0.05$). Όλα τα δείγματα αναλύθηκαν τουλάχιστον εις τριπλούν και τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση (SD).

Επιπρόσθετα, τα πειραματικά δεδομένα της σκληρότητα, του κομμώδους, του δείκτη συμπεριφοράς στη ροή και της ικανότητας συγκράτησης νερού ως συνάρτηση του χρόνου αποθήκευσης και της συγκέντρωσης προσαρμόστηκαν μέσω κατάλληλων εξισώσεων παλινδρόμησης, χρησιμοποιώντας το λογισμικό Systat 10.2 (Systat Software, Inc, Richmond, CA) μέσω πολλαπλών γραμμικών (LIN) και μη γραμμικών διαδικασιών (NLIN) και οι κατάλληλες παράμετροι εκτιμήθηκαν αναλόγως, ορίζοντας όλα τα δεδομένα ως ένα ενιαίο σύνολο δεδομένων.

6.3. Αποτελέσματα-Συζήτηση

6.3.1. Μηχανικές Ιδιότητες- Ιδιότητες Υφής

Για τον προσδιορισμό των μηχανικών ιδιοτήτων (mechanical properties) υδρογελών αμύλου (hydrogels), η τεχνική του προσδιορισμού της υφής (texture) μέσω ελέγχου (test) της ανάλυσης των ιδιοτήτων υφής (Texture Profile Analysis, TPA) εφαρμόστηκε σε όλα τα διαφορετικά δείγματα τα οποία παρουσιάζονται λεπτομερώς στον Πίνακα 11. Ο έλεγχος TPA αποτελεί μια μέθοδο προσομοίωσης μάσησης και πιο συγκεκριμένα διπλής μάσησης. Χαρακτηριστικά, το δείγμα συμπιέζεται εις διπλούν διαδοχικά με ακριβώς τις ίδιες συνθήκες τάσης και λόγω αυτού προκύπτουν δύο κορυφές που αντιστοιχούν στην πρώτη και δεύτερη μάσηση αντίστοιχα (Bourne, 1968; Breene, 1975; Peleg, 1976; Rosenthal, 2010).

Κατά την πρώτη συμπίεση ή αλλιώς πρώτο “δάγκωμα” (first bite), η μέγιστη δύναμη που προκύπτει ορίζεται ως σκληρότητα (hardness) του υλικού. Στα υπό μελέτη δείγματα υδρογελών η συγκέντρωση του αμύλου είχε σημαντική επίδραση στη σκληρότητα τους, όπως επίσης και ο χρόνος αποθήκευσης που φάνηκε πως επηρεάζει τη σκληρότητα των δειγμάτων. Στο Σχήμα 48 παρουσιάζονται τα πειραματικά δεδομένα της σκληρότητας των υδρογελών αμύλου σε διαφορετικές συγκεντρώσεις και χρόνους αποθήκευσης, καθώς και η κατάλληλη εξίσωση παλινδρόμησης (regression equation) για τον προσδιορισμό της σκληρότητας συναρτήσει της συγκέντρωσης και του χρόνου (Εξ. 26). Όπου ο χρόνος αντιπροσωπεύει τον χρόνο αποθήκευσης σε ημέρες και η συγκέντρωση την περιεκτικότητα σε άμυλο αραβόσιτου με κανονικό ποσοστό αμυλόζης.

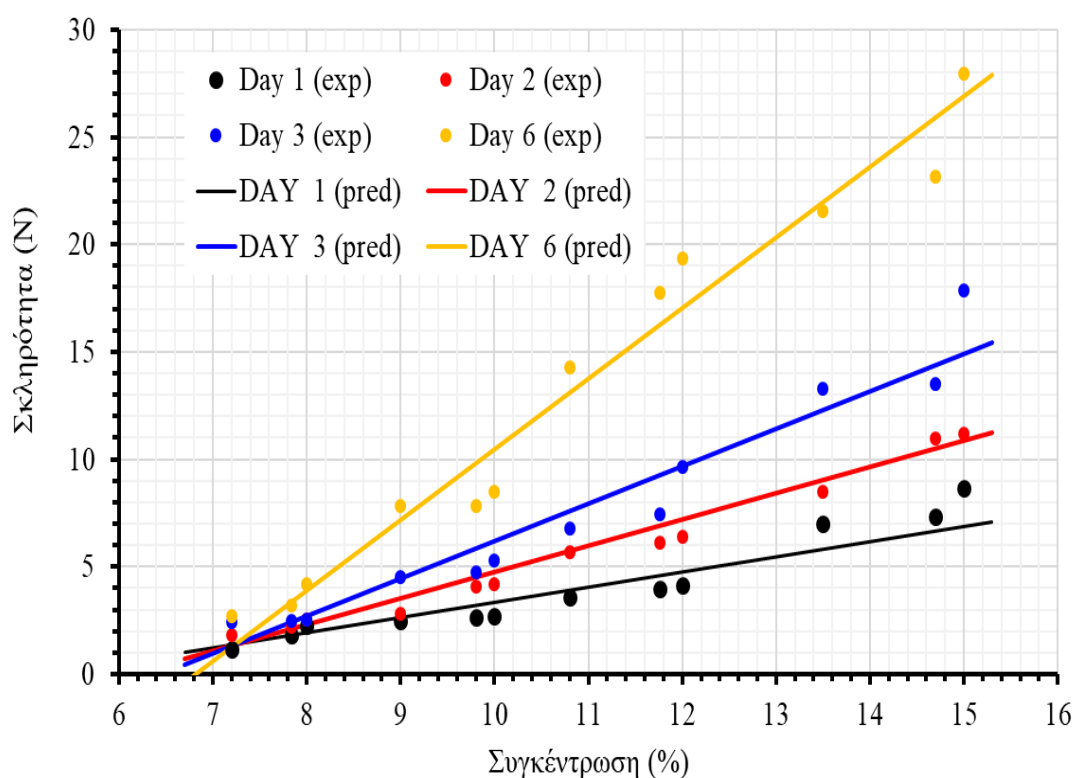
$$\text{Σκληρότητα} = (A_1 + A_2 * \text{Χρόνος}) * C + B_1 * \text{Χρόνος} \quad (26)$$

Πίνακας 11. Ιδιότητες υφής (TPA) και συναίρεσης

sample day	8			10			12			15								
	Συναίρεση	Σκληρότητα	Συνεπτικότητα	Κοιμώδες	Συναίρεση	Σκληρότητα	Συνεπτικότητα	Κοιμώδες	Συναίρεση	Σκληρότητα	Συνεπτικότητα	Κοιμώδες						
NH	1	1.24 ^a ± 0.07	2.25 ^{b,c} ± 0.07	0.91 ^a ± 0.04	1.99 ^{b,c} ± 0.06	0.63 ^a ± 0.06	2.69 ^b ± 0.01	0.92 ^a ± 0.01	2.48 ^a ± 0.04	0.48 ^a ± 0.01	4.15 ^a ± 0.40	0.92 ^c ± 0.03	3.75 ^{a,b} ± 0.35	0.35 ^a ± 0.01	8.66 ^a ± 1.10	0.93 ^b ± 0.04	7.52 ^{a,b} ± 0.64	
	2	1.31 ^b ± 0.05	2.53 ^{b,c} ± 0.07	0.89 ^a ± 0.04	2.35 ^{c,d} ± 0.01	0.75 ^b ± 0.06	4.18 ^{a,b} ± 0.20	0.90 ^a ± 0.00	3.76 ^{b,c} ± 0.19	0.49 ^{a,b} ± 0.04	6.37 ^{a,b} ± 1.49	0.90 ^{b,c} ± 0.03	5.64 ^{c,d} ± 1.17	0.39 ^{a,b} ± 0.03	11.21 ^{a,b} ± 0.84	0.89 ^{a,b} ± 0.00	9.98 ^a ± 0.74	
	3	1.43 ^{c,d} ± 0.05	2.53 ^{b,c} ± 0.20	0.87 ^a ± 0.03	2.22 ^{b,c,d} ± 0.12	0.81 ^{b,c} ± 0.03	5.30 ^{a,b,c} ± 0.37	0.89 ^a ± 0.03	4.65 ^c ± 0.28	0.62 ^a ± 0.01	9.63 ^c ± 1.67	0.86 ^{a,b,c} ± 0.07	8.26 ^a ± 1.14	0.42 ^{b,c} ± 0.03	17.85 ^c ± 3.63	0.86 ^{a,b} ± 0.01	15.24 ^d ± 1.36	
NRH ₂	6	1.50 ^d ± 0.02	4.19 ^a ± 0.43	0.87 ^a ± 0.03	3.77 ^a ± 0.25	0.87 ^{c,d} ± 0.03	8.46 ^c ± 0.08	0.88 ^a ± 0.02	7.39 ^d ± 0.03	0.65 ^{c,d} ± 0.02	19.34 ^a ± 3.98	0.83 ^{a,b} ± 0.05	16.86 ^{a,b} ± 0.84	0.43 ^{b,c} ± 0.01	0.01	27.94 ^a ± 1.99	0.83 ^a ± 0.02	22.81 ^e ± 1.21
	1	1.30 ^{a,b} ± 0.06	1.81 ^{a,b} ± 0.19	0.89 ^a ± 0.01	1.66 ^{a,b} ± 0.26	0.77 ^b ± 0.03	2.63 ^a ± 0.12	0.91 ^a ± 0.02	2.40 ^a ± 0.04	0.53 ^b ± 0.01	3.97 ^a ± 0.55	0.91 ^{b,c} ± 0.01	3.61 ^{a,b} ± 0.47	0.44 ^{b,c} ± 0.05	7.34 ^a ± 0.29	0.88 ^{a,b} ± 0.01	6.46 ^a ± 0.38	
	2	1.40 ^c ± 0.02	2.18 ^{b,c} ± 0.11	0.87 ^a ± 0.03	2.05 ^{b,c} ± 0.04	0.81 ^{b,c,d} ± 0.02	4.09 ^{a,b} ± 0.32	0.90 ^a ± 0.02	3.52 ^b ± 0.24	0.63 ^{c,d} ± 0.03	6.11 ^{a,b} ± 0.07	0.91 ^{b,c} ± 0.01	5.53 ^{c,d} ± 0.04	0.45 ^{b,c} ± 0.04	10.98 ^{a,b} ± 1.78	0.87 ^{a,b} ± 0.01	9.54 ^{b,c} ± 1.44	
NRH ₁₀	3	1.46 ^{c,d} ± 0.02	2.47 ^{b,c} ± 0.19	0.87 ^a ± 0.04	2.17 ^{b,c,d} ± 0.22	0.83 ^{b,c,d} ± 0.03	4.73 ^{a,b,c} ± 1.14	0.88 ^a ± 0.07	4.30 ^{b,c} ± 1.06	0.66 ^{c,d} ± 0.02	7.44 ^{b,c} ± 0.46	0.86 ^{a,b,c} ± 0.05	6.73 ^a ± 0.31	0.49 ^a ± 0.00	13.48 ^a ± 3.66	0.86 ^{a,b} ± 0.06	11.57 ^c ± 1.46	
	6	1.58 ^e ± 0.01	3.18 ^a ± 0.59	0.86 ^a ± 0.03	2.77 ^b ± 0.54	0.89 ^d ± 0.04	7.82 ^{b,c} ± 3.43	0.87 ^a ± 0.01	6.97 ^b ± 0.49	0.69 ^{c,f} ± 0.03	17.77 ^a ± 1.03	0.82 ^a ± 0.02	12.24 ^f ± 0.74	0.53 ^a ± 0.04	23.17 ^a ± 1.46	0.82 ^a ± 0.03	20.02 ^f ± 0.35	
	1	1.45 ^{c,d} ± 0.03	1.15 ^a ± 0.11	0.89 ^a ± 0.02	1.06 ^a ± 0.10	0.81 ^{b,c} ± 0.08	2.48 ^a ± 0.29	0.88 ^a ± 0.02	2.19 ^a ± 0.25	0.66 ^{c,d} ± 0.04	3.57 ^a ± 0.18	0.90 ^{b,c} ± 0.03	3.20 ^a ± 0.19	0.44 ^{b,c} ± 0.02	6.98 ^a ± 0.19	0.88 ^{a,b} ± 0.01	6.12 ^a ± 0.18	
NRH ₁₅	2	1.57 ^e ± 0.03	1.84 ^{a,b} ± 0.10	0.86 ^a ± 0.01	1.61 ^{a,b} ± 0.04	0.83 ^{b,c,d} ± 0.01	2.81 ^a ± 0.18	0.88 ^a ± 0.05	2.55 ^a ± 0.13	0.67 ^a ± 0.03	5.70 ^{a,b} ± 0.53	0.88 ^{a,b,c} ± 0.03	4.91 ^{b,c} ± 0.31	0.46 ^{c,d} ± 0.05	8.51 ^a ± 0.79	0.88 ^{a,b} ± 0.02	7.50 ^{a,b} ± 0.62	
	3	1.78 ^f ± 0.01	2.41 ^{b,c} ± 0.01	0.85 ^a ± 0.03	1.75 ^{b,c} ± 0.04	0.87 ^{c,d} ± 0.04	4.51 ^{a,b} ± 0.51	0.86 ^a ± 0.06	4.00 ^{b,c} ± 0.55	0.69 ^{c,f} ± 0.03	6.80 ^{a,b,c} ± 1.02	0.86 ^{a,b,c} ± 0.04	6.33 ^{c,d} ± 0.93	0.53 ^a ± 0.05	13.31 ^b ± 0.99	0.85 ^a ± 0.04	10.39 ^a ± 0.96	
	6	1.94 ^f ± 0.04	2.70 ^{c,d} ± 0.72	0.85 ^a ± 0.01	2.42 ^{c,d} ± 0.56	1.07 ^e ± 0.05	7.80 ^{b,c} ± 2.91	0.84 ^a ± 0.04	6.61 ^d ± 0.45	0.71 ^f ± 0.04	14.25 ^d ± 0.88	0.81 ^a ± 0.01	11.92 ^f ± 1.10	0.60 ^e ± 0.04	21.54 ^{c,d} ± 2.79	0.82 ^a ± 0.00	18.14 ^f ± 0.37	

Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση. Οι διαφορετικοί εκθέτες στην ίδια στήλη υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε $p < 0.05$ από τη δοκιμή Duncan (Apostolidis et al., 2021).

Από την ανάλυση παλινδρόμησης οι συντελεστές (coefficients) A_1 , A_2 , B_1 και R^2 παρουσιάζονται στον Πίνακα 12. Οι υδρογέλες που αποτελούνται από άμυλο αραβόσιτου με κανονικό ποσοστό αμυλόζης συμβολίζονται ως “ φυσικές υδρογέλες” (Native Hydrogels, NH) και παρουσιάζουν γραμμική αύξηση της τιμής της σκληρότητας συναρτήσει της αύξησης της συγκέντρωσης αμύλου ($NH_8 < NH_{10} < NH_{12} < NH_{15}$). Οι υδρογέλες με υποκατάσταση του φυσικού αμύλου με ανθεκτικό άμυλο συμβολίστηκαν με NRH (Native Resistant Hydrogel, NRH) (Πίνακας 13). Σε κάθε περίπτωση είναι ενδιαφέρον το εύρημα που προκύπτει, όπου σε χαμηλό ποσοστό υποκατάστασης με ανθεκτικό άμυλο, η σκληρότητα των υδρογελών αυτών παρουσίαζαν τιμές σκληρότητας παρόμοιες με αυτές των δειγμάτων μόνο με φυσικό άμυλο, υποδηλώνοντας πως ο τύπος αμύλου που επηρεάζει τη δομή και τη σκληρότητα των δειγμάτων είναι αυτός του φυσικού αμύλου.



Σχήμα 48. Διάγραμμα των πειραματικών και των προβλεπόμενων τιμών (*predicted*) της σκληρότητας (παρουσιάζονται με κουκίδες και με συμπαγή γραμμή αντίστοιχα) ως συνάρτηση του χρόνου αποθήκευσης (*Days*) και της συγκέντρωσης αμύλου. Η συγκέντρωση των υδρογελών εκφράζεται σε σχέση με τη συγκέντρωση του “φυσικού” αμύλου (NH) (Πίνακας 13).

Πίνακας 12. Συντελεστές που σχετίζονται με την Εξίσωση 24 και Εξίσωση 25 για τις διαφορετικές παραμέτρους υφής

Παράμετροι	A ₁	A ₂	B ₁	B ₂	R ²
Σκληρότητα (Εξ. 22)	0.193 ± 0.055*	0.515 ± 0.039	-3.068 ± 0.316	-	0.970
Κομμιώδες (Εξ. 22)	0.193 ± 0.044	0.421 ± 0.031	-3.731 ± 0.404	-	0.973
Δείκτης κ (Εξ. 22)	-	77.203 ± 12.169	-516.9 ± 134.99	-	0.952
Απελευθέρωση υγρού (Εξ. 23)	7.422 ± 1.319	-	0.229 ± 0.021	-0.00480 ± 0.00193	0.937

* Μέσες τιμές ± 95% διάστημα εμπιστοσύνης

Πιο συγκεκριμένα, η παρατήρηση μας αυτή μας επιτρέπει να υποθέσουμε ότι η σκληρότητα δεν επηρεάστηκε από τη συγκέντρωση του πληρωτικού μέσου (ανθεκτικό άμυλο), ανεξάρτητα από τη συγκέντρωση του, υποδηλώνοντας με αυτό τον τρόπο την απουσία συνεργιστικών φαινομένων μεταξύ του ανθεκτικού αμύλου και του σχηματιζόμενου δικτύου/πλέγματος (matrix) των υδρογελών. Από τη γραμμική τάση που προκύπτει μέσω της παλινδρόμησης, μπορούν να προταθούν διαφορετικοί συνδυασμοί πλήρωσης (συγκέντρωση ανθεκτικού αμύλου και μέσου που αποτελεί το δίκτυο (φυσικό άμυλο) που θα αποδίδουν παρόμοια χαρακτηριστικά υφής. Από το Σχήμα 48 διαφαίνεται πως ο χρόνος αποθήκευσης επηρεάζει τη σκληρότητα των δειγμάτων ακολουθώντας γραμμική τάση (linear trend), η οποία προέκυψε μέσω της Εξίσωσης 26. Επομένως, η χρήση αυτού του μοντέλου (εξίσωση) αποτελεί ένα πολύ χρήσιμο εργαλείο, καθώς μέσω αυτού μπορεί να εκτιμηθεί η σκληρότητα σε οποιοδήποτε χρόνο αποθήκευσης και συγκέντρωσης του φυσικού αμύλου, εντός του εύρους των δεδομένων που πραγματοποιήθηκαν τα πειράματα, και για μια συγκεκριμένη αναλογία πληρωτικού μέσου/δικτύου που δίνεται από το κλάσμα όγκου φ (Πίνακας 13).

Πίνακας 13. Χαρακτηριστικά διαφορετικών τύπων υδρογέλης

Υδρογέλη ^a	Φυσικό άμυλο	Ανθεκτικό άμυλο		Συνολικό άμυλο		Κλάσμα όγκου ^b
	g	(% w/w) c	(% w/v)	(% w/v)	V*	φ
NRH _{8/10}	7.2	10	0.8	8	13.73	0.137
NRH _{8/2}	7.84	2	0.16	8	13.80	0.138
NH ₈	8	-	-	8	13.81	0.138
NRH _{10/10}	9	10	1	10	16.60	0.166
NRH _{10/2}	9.8	2	0.2	10	16.67	0.166
NH ₁₀	10	-	-	10	16.69	0.166
NRH _{12/10}	10.8	10	1.2	12	19.28	0.192
NRH _{12/2}	11.76	2	0.24	12	19.36	0.193
NH ₁₂	12	-	-	12	19.38	0.193
NRH _{15/10}	13.5	10	1.5	15	22.99	0.229
NRH _{15/2}	14.7	2	0.3	15	23.08	0.230
NH ₁₅	15	-	-	15	23.11	0.231

^a Υδρογέλη από κανονικό άμυλο (Native starch hydrogels, NH); Υδρογέλη από κανονικό και ανθεκτικό άμυλο (Native and resistant starch hydrogels, NRH); Οι δείκτες υποδεικνύουν τη συγκέντρωση φυσικού αμύλου/ ποσοστό υποκατάστασης ανθεκτικού αμύλου

^b Κλάσμα όγκου (volume fraction) εκφρασμένο ως ο όγκος του συνολικού αμύλου προς τον συνολικό όγκο του μείγματος

^c g ανθεκτικού αμύλου/g συνολικού αμύλου

*Ο συνολικός όγκος (bulk volume) του δείγματος αμύλου υπολογίστηκε ως το κλάσμα του συνολικού όγκου του μείγματος, αφαιρώντας τον όγκο του προστιθέμενου νερού (Apostolidis et al., 2021).

Οι κόκκοι ανθεκτικού αμύλου παρατηρήθηκαν μεταξύ των απελευθερωμένων (leached) αλυσίδων αμυλόζης/αμυλοπηκτικής, χωρίς να διαταράσσουν τη συνεχόμενη δομή πλέγματος του ζελατινοποιημένης αμύλου, δρώντας ως μη ενεργά πληρωτικά μέσα (inactivate filler). Επίσης, συστήματα υδρογελών που αποτελούνται κυρίως από υψηλά ποσοστά αμυλόζης και μακριές αλυσίδες αμυλοπηκτικής έχουν την τάση να παράγουν σκληρότερα συστήματα, φαινόμενο που οφείλεται στα μόρια αμυλοπηκτικής που τείνουν στον σχηματισμό συσσωμάτων (clusters) αποτελούμενων από διατεταγμένες αλυσίδες που οδηγούν τελικά φυσικές διασταυρούμενες συνέσεις (crosslinks) (Biduski et al., 2018; Keetels et al., 1996; Mua & Jackson, 1997). Ως εκ τούτου, η ολοένα και υψηλότερη ποσότητα αμυλόζης και αμυλοπηκτικής που εμπεριέχεται στα δείγματα με την αύξηση της συγκέντρωσης του φυσικού αμύλου, είναι ο παράγοντας στον οποίο μπορεί να αποδοθεί η αύξηση της σκληρότητας των δειγμάτων.

Επιπλέον, η αύξηση της σκληρότητας της υδρογέλης με τον χρόνο αποθήκευσης αποδίδεται κυρίως στην αναδιάταξη (retrogradation) του αμύλου, η οποία είναι μια συνεχής διαδικασία και καθορίζει τον τελικό σχηματισμό της της σύνθετης δομής του πλέγματος (Biduski et al., 2018; J. Liu & Xu, 2019; S. Wang et al., 2015; Shifeng Yu et al., 2009). Μέσω αυτής της συνεχιζόμενης διαδικασίας μπορεί να αποδοθεί αυτή η γραμμική συσχέτιση που εφαρμόστηκε μέσω του σχεδιασμού του μοντέλου της παλινδρόμησης, μέσω του οποίου περιεγράφηκαν η επίδραση του χρόνου αποθήκευσης στη σκληρότητα.

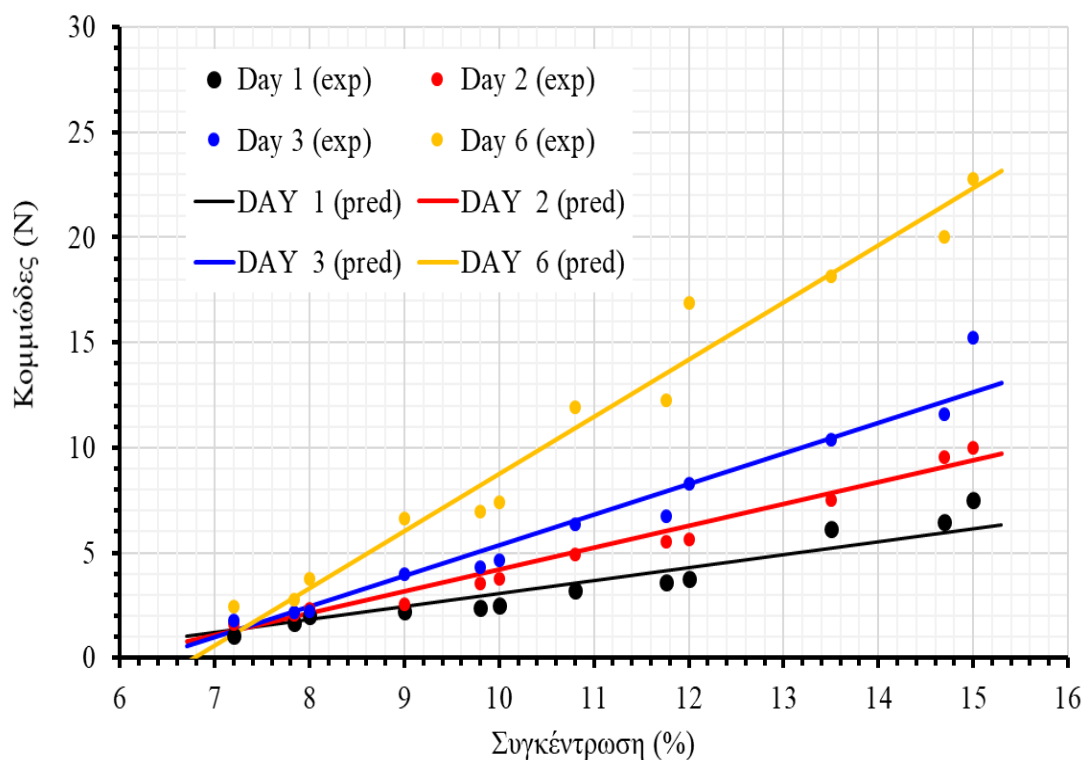
Με την αύξηση του χρόνου αποθήκευσης, τα δείγματα υδρογελών έγιναν πιο σκληρά, κάτι το οποίο βρίσκεται σε συμφωνία με προηγούμενα πειραματικά ευρήματα κατά τα οποία συσχετίστηκε η αύξηση της σκληρότητας με την ικανότητα επανακρυστάλλωσης της αμυλοπηκτικής και την παράλληλη απώλεια νερού μέσω του φαινομένου της συναίρεσης (Ji et al., 2003; Miles et al., 1985; Nguyen Doan et al., 2019; Singh et al., 2012). Η σκληρότητα που παρουσιάζουν οι υδρογέλες μπορεί να αποδοθεί στον μηχανισμό αναδιάταξης της αμυλοπηκτικής με την πάροδο του χρόνου, ο οποίος όπως προαναφέραμε είναι μια συνεχής διαδικασία που λαμβάνει χώρα με αργό όμως ρυθμό. Για τον λόγο αυτό, μετά από έξι ημέρες αποθήκευσης σε θερμοστατούμενο θάλαμο (4 °C), η σκληρότητα όλων των δειγμάτων αυξήθηκε στατιστικά σημαντικά ($p < 0.05$) παρουσιάζοντας γραμμικό μοτίβο σε σύγκριση με τη σκληρότητα των δειγμάτων κατά την ημέρα αποθήκευσης 1.

Σύμφωνα με την ανάλυση TPA (εφαρμογή διπλής συμπίεσης), η συνεκτικότητα (cohesiveness) ενός δείγματος αναφέρεται ως η ικανότητά του να διατηρεί το αρχικό του σχήμα μετά την αρχική συμπίεση που του ασκείται. Μια υψηλή τιμή συνεκτικότητας (0.78-0.94) υποδηλώνει ένα επιθυμητό χαρακτηριστικό για αμυλούχα υλικά σε 3-D διαμόρφωση πλέγματος (hydrogel) (Teng et al., 2013; Thanh-Blicharz & Lewandowicz, 2020). Αντιθέτως, συστήματα υδρογελών που παρουσιάζουν χαμηλό βαθμό συνεκτικότητας χαρακτηρίζονται ως ελλαττωματικά, αντιμετωπίζοντας σοβαρά προβλήματα ως προς τη δομική σταθερότητά τους (Gokhale et al., 2019; Larrea-Wachtendorff et al., 2021; Roopa & Bhattacharya, 2008).

Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας, σε όλα τα δείγματα υδρογελών αμύλου ο δείκτης της συνεκτικότητας ήταν υψηλός. Από τα δεδομένα που παρουσιάζονται στον Πίνακα 11, η τιμή της συνεκτικότητας των δειγμάτων που παρασκευάζονται με υποκατάσταση ανθεκτικού αμύλου ήταν μικρότερη συγκριτικά με εκείνη των δειγμάτων που παρασκευάζονται μόνο με φυσικό άμυλο. Χαρακτηριστικά, αξίζει να σημειωθεί ότι δεν υπήρξε καμία αισθητή αλλαγή στον παράγοντα της συνεκτικότητας κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης για 6 ημέρες. Ακολούθως, μια αύξηση στα επίπεδα υποκατάστασης του ανθεκτικού αμύλου φάνηκε να προκαλεί μείωση της συνεκτικότητας της σχηματιζόμενης υδρογέλης, για να μπορεί να γίνει πιο ξεκάθαρο πως επηρεάζεται δομικά στη μορφή του πλέγματος το σύστημα της υδρογέλης, θα μπορούσε να μελετηθεί σε μεγαλύτερο χρονικό διάστημα αποθήκευσης η επίπτωση της αναδιάταξης εξετάζοντας το δείγμα μέσω πειραμάτων συμπίεσης.

Σε συστήματα τροφίμων, η κατάποση είναι μια ιδιότητα που ενδιαφέρει πολύ την επιστημονική κοινότητα, για τον λόγο αυτό εξετάζεται μια παράμετρος που αναφέρεται ως κομμιώδες (gumminess). Ως κομμιώδες ορίζεται, η ενέργεια που απαιτείται για τη διάσπαση ενός ημι-στερεού (semi-solid) τρόφιμου έως ότου αποκτήσει χαμηλό βαθμό σκληρότητας και υψηλό βαθμό συνεκτικότητας (Kumar et al., 2022; Razavi & Karazhiyan, 2012; Szczesniak, 2002). Στο Σχήμα 49 παρουσιάζεται η παράμετρος του κομμιώδους των διαφορετικών υδρογελών όπως μετρήθηκε από τα πειραματικά δεδομένα για τις διαφορετικές συγκεντρώσεις αμύλου και τους διαφορετικούς χρόνους αποθήκευσης καθώς και το μοντέλο της γραμμικής παλινδρόμησης. Χαρακτηριστικά, παρατηρήθηκε πως η παράμετρος του κομμιώδους παρουσίασε παρόμοιο μοτίβο με αυτό που περιεγράφηκε για τη σκληρότητα. Σαν απόλυτες τιμές οι υδρογέλες με συγκέντρωση αμύλου 15% (NH₁₅) παρουσίασαν την υψηλότερη τιμή, ενώ για τη

συγκέντρωση 8% (NH₈) εμφάνισαν τη χαμηλότερη συγκριτικά τιμή. Η χρήση της εξίσωσης παλινδρόμησης (Εξ. 26) βρέθηκε ότι μπορεί να προβλέπει με ακρίβεια την παράμετρο του κομμιάδους των δειγμάτων υδρογέλης αμύλου ως συνάρτηση της συγκέντρωσης και του χρόνου αποθήκευσης, κάνοντας χρήση τις προβλεπόμενες παραμέτρους (Πίνακας 12, A₁, A₂, B₁, B₂), όπου ο χρόνος υποδηλώνει τη διάρκεια αποθήκευσης σε ημέρες και ο C τη συγκέντρωση της υδρογέλης.



Σχήμα 49. Διάγραμμα των πειραματικών και των προβλεπόμενων τιμών (predicted) του κομμιάδους (παρουσιάζονται με κουκίδες και με συμπαγή γραμμή αντίστοιχα) ως συνάρτηση του χρόνου αποθήκευσης (Days) και της συγκέντρωσης αμύλου. Η συγκέντρωση των υδρογελών εκφράζεται σε σχέση με τη συγκέντρωση του “φυσικού” αμύλου (NH) (Πίνακας 13).

6.3.2. Κρυσταλλικότητα με χρήση περίθλασης ακτίνων X

Για τον προσδιορισμό της δομής και της κρυσταλλικότητας διαφόρων υλικών, η τεχνική της περίθλαση ακτίνων X (XRD) έχει αποδειχθεί ότι είναι μια πολύ χρήσιμη μέθοδος η οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί επιτυχώς για τον προσδιορισμό και το χαρακτηρισμό της σύστασης σύνθετων υλικών (Ali et al., 2022; Lozano-Vazquez et al., 2021). Για τον λόγο αυτό, για τον προσδιορισμό της κρυσταλλικότητας των υπό μελέτη δειγμάτων έγινε χρήση της τεχνικής XRD. Χαρακτηριστικά, η κρυσταλλικότητα των κόκκων ανθεκτικού αμύλου υψηλής περιεκτικότητας σε αμυλόζη (High amylose, HA) υπολογίστηκε 15.2%, τιμή αρκετά παρόμοια με την προηγούμεως αναφερθείσα βιβλιογραφική τιμή του 15.0% (Apostolidis & Mandala, 2020; Copeland et al., 2009). Ενώ στο δείγμα του φυσικού αμύλου η τιμή της κρυσταλλικότητα ήταν 28.3%, η οποία ήταν σύμφωνη με τιμές κρυσταλλικότητας από άλλες επιστημονικές έρευνες (Y. Liu et al., 2015; Y. J. Wang et al., 2003). Λεπτομερώς, οι υπολογιζόμενες τιμές της κρυσταλλικότητας όλων των δειγμάτων υδρογελών με βάση τα δεδομένα από της Κρυσταλλογραφία (XRD) παρουσιάζονται στον Πίνακα 14.

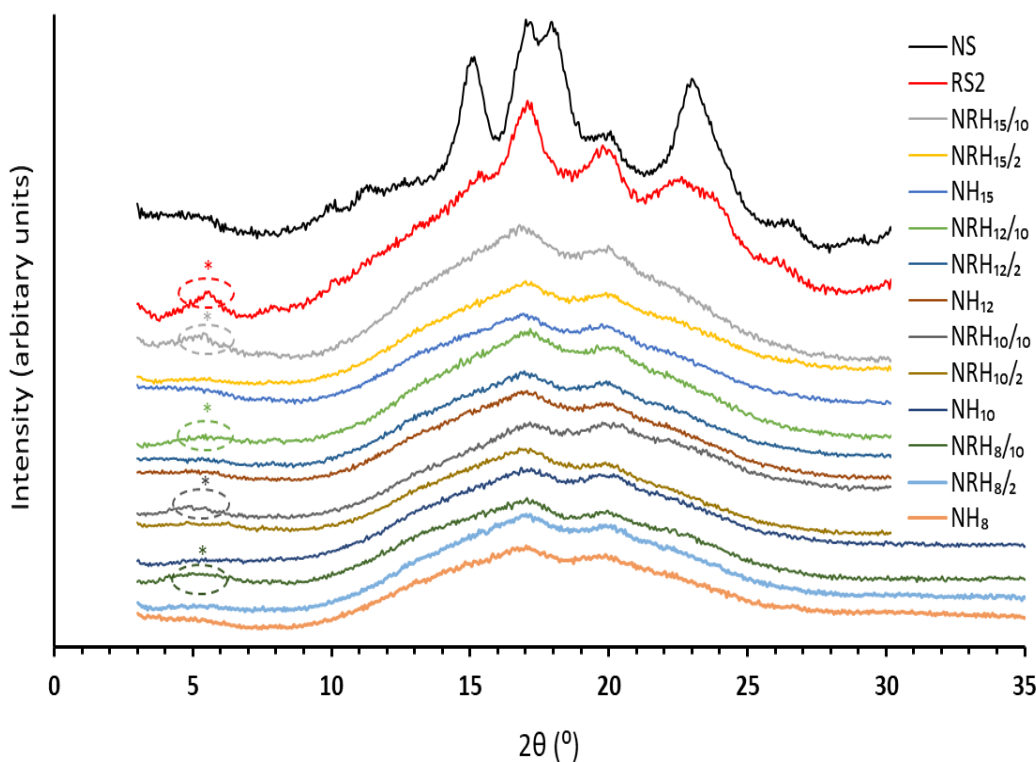
Τα μοτίβα περίθλασης (diffraction patterns) ακτίνων X των κόκκων αμύλου (φυσικού και ανθεκτικού τύπου) καθώς και των διαφορετικών δειγμάτων υδρογέλης (NH₈, NH_{8/2}, NH_{8/10}, NH₁₀, NH_{10/2}, NH_{10/10}, NH₁₂, NH_{12/2}, NH_{12/10}, NH₁₅, NH_{15/2}, NH_{15/10}) σε διαφορετικές αναλογίες αμύλου παρουσιάζονται στο Σχήμα 50. Οι κύριες κορυφές περίθλασης (2θ) στις 5.4°, 17°, 20° και 23°, δείχνουν ότι η δομή του αραβοσίτου με υψηλή αμυλόζη είναι τύπου B, (Apostolidis & Mandala, 2020).

Όσον αφορά το φυσικό άμυλο, από το μοτίβο περίθλασης (diffraction patterns) ακτίνων X των κόκκων του, παρουσιάζει μια κρυσταλλική δομή τύπου A, με ισχυρές κορυφές περίθλασης (2θ) περίπου στις 15.3°, 17.2° και 18.1° και μερικές πρόσθετες κορυφές περίθλασης σε (2θ) 9.9°, 11.2° και 23.3°. Οι κορυφές (2θ) στις 15° και 23° και η διπλή κορυφή στις 17° και 18°, είναι χαρακτηριστικές κορυφές της κρυσταλλικότητας τύπου A όπως έχει βιβλιογραφικός αποδειχθεί (X. Bai et al., 2013; Cheetham & Tao, 1998)

Πίνακας 14. Κρυσταλλικότητα διαφόρων τύπων υδρογελών αμύλου

Δείγμα ^a	Κρυσταλλικότητα (%)	Άμορφα (%)
NS	28.3	71.7
RS	15.2	84.8
NH ₈	6.8	93.2
NRH _{8/2}	7.1	92.9
NRH _{8/10}	7.9	92.1
NH ₁₀	7.4	92.6
NRH _{10/2}	7.9	92.1
NRH _{10/10}	8.1	91.9
NH ₁₂	8	92
NRH _{12/2}	8.2	91.8
NRH _{12/10}	8.4	91.6
NH ₁₅	8.3	91.7
NRH _{15/2}	8.4	91.6
NRH _{15/10}	8.7	91.3

^a Δείγμα φυσικού αμύλου, Δείγμα ανθεκτικού αμύλου (υψηλής περιεκτικότητας σε αμυλόζη), υδρογέλη από φυσικό άμυλο (NH), υδρογέλη από φυσικό και ανθεκτικό άμυλο (NRH); Οι δείκτες υποδεικνύουν τη συγκέντρωση φυσικού αμύλου/ποσοστό υποκατάστασης ανθεκτικού αμύλου (Apostolidis et al., 2021)



Σχήμα 50. Μοτίβα κρυσταλλικότητας (XRD) διαφορετικών δειγμάτων υδρογελών αμύλου με διαφορετικές συγκεντρώσεις και επίπεδα υποκατάστασης ανθεκτικού αμύλου (RS) (2 και 10%), συμπεριλαμβανομένου του φυσικού αμύλου (NS) και του ανθεκτικού αμύλου (RS). Στο διάγραμμα με το αστέρι συμβολίζεται η θέση της κορυφής που βρίσκεται στην περιοχή 2θ περίπου 5° για υδρογέλες με επίπεδο υποκατάστασης 10% (Apostolidis et al., 2021).

Ενδιαφέρον εγείρει το εύρημα ότι τα δείγματα υδρογελών που παρασκευάστηκαν μόνο με φυσικό άμυλο σε διαφορετικές συγκεντρώσεις αμύλου από 8% έως 15% w/v (NH₈, NH₁₀, NH₁₂, NH₁₅), παρουσίασαν κύριες κορυφές (2θ) στις 17° και 20° , οι οποίες είναι χαρακτηριστικές για κρυσταλλικότητα τύπου B. Το εύρημα αυτό έχει αναφερθεί και σε άλλες σχετικές ερευνητικές εργασίες, υποδηλώνοντας ότι στην πλειονότητα των περιπτώσεων, οι υδρογέλες αμύλου που παρασκευάστηκαν με το φυσικό σχεδιασμό (της υδρόθερμης ζελατινοποίησης και φυσικού σχηματισμού 3D πλέγματος μέσω της φυσικής αναδιάταξης) παρουσιάζουν μια κρυσταλλική δομή τύπου B, ανεξάρτητα από το αν οι κόκκοι αμύλου εμφάνιζαν κρυσταλλικότητα τύπου A ή B στη φυσική τους κατάσταση (Gudmundsson, 1994; Hoover et al., 2010).

Η κρυσταλλικότητα του τύπου A των κόκκων αμύλου, κατά τη διαδικασία της ζελατινοποίησης καταστρέφεται με θέρμανση σε περίσσεια νερού, όμως μετασχηματίζεται κατά την ψύξη (διαδικασία αναδιάταξης) και η κρυσταλλική δομή αναδομείται σε τύπου B, σύμφωνα με προηγούμενες αναφορές (Cheetham & Tao, 1998; Durrani & Donald, 1995). Η διατάραξη της οργανωμένης διάταξης των γραμμικών αλυσίδων αμυλόζης και των σημείων διακλάδωσης της αμυλοπηκτίνης κατά τη θέρμανση κατά τη φάση της ζελατινοποίησης (θέρμανση στους 95 °C), έχει ως αποτέλεσμα την επικράτηση της λιγότερο πυκνής άμορφης δομής, όπου στο φαινόμενο αυτό οφείλεται η εμφάνιση ενός μοτίβου ακτίνων X τύπου B κατά την αναδιάταξη (Miles et al., 1985; Todica et al., 2016; Villas-Boas et al., 2020). Ακολούθως, η αποθήκευση των δειγμάτων υδρογέλης στους 4 °C δημιουργεί τις κατάλληλες συνθήκες για την εμφάνιση κρυσταλλικών πολυμόρφων τύπου B, όπως έχει αναφερθεί από άλλες ερευνητικές ομάδες (Jiamjariyatam et al., 2015; Orford et al., 1987; Shamai et al., 2003; Suzuki et al., 1997).

Επιπρόσθετα, από το σχήμα περίθλασης ακτίνων τα δείγματα που παρασκευάστηκαν μόνο με φυσικό άμυλο (NH₈, NH₁₀, NH₁₂ και NH₁₅) εμφάνισαν μείωση στην ένταση των κορυφών, σε σχέση με τα πρότυπα περίθλασης των κόκκων του φυσικού αμύλου (Native Starch, NS, αλλά επίσης και με τη μείωση της συγκέντρωσης αμύλου των δειγμάτων υδρογέλης. Χαρακτηριστικά από τον Πίνακα 14 διαφαίνεται μια συσχέτιση μεταξύ αυτών των συγκεκριμένων μοτίβων περίθλασης ακτίνων-X και την επακόλουθη μείωση της κρυσταλλικότητας, φαινόμενο το οποίο περιγράφεται και σε προηγούμενες ερευνητικές μελέτες (Todica et al., 2016; Wojtasz et al., 2016).

Όσον αφορά τα δείγματα υδρογελών όπου το φυσικό άμυλο (NS) έχει υποκατασταθεί με ανθεκτικό άμυλο υψηλής αμυλόζης (RS) σε ποσοστό 2% (NRH_{8/2}, NRH_{10/2}, NRH_{12/2}, NRH_{15/2}), οι κορυφές περίθλασης (2θ) παρατηρήθηκαν στις 17° και 20° αποτελούν χαρακτηριστικές κορυφές κρυσταλλικότητας τύπου B.

Ένα ιδιαίτερα σημαντικό χαρακτηριστικό των δειγμάτων αυτών, είναι ότι παρουσίασαν ένα παρόμοιο μοτίβο XRD με τα δείγματα υδρογελών μόνο με φυσικό άμυλο. Ωστόσο, ο βαθμός κρυσταλλικότητας τους βρέθηκε να είναι υψηλότερος, γεγονός το οποίο οφείλεται στο ότι το άμυλο με υψηλή περιεκτικότητα σε αμυλόζη δεν μπορεί να ζελατινοποιηθεί στη θερμοκρασία παρασκευής που χρησιμοποιείται (95 °C), δρώντας πιθανώς ως μη ενεργό πληρωτικό μέσο (inactivate filler), όπως υποστηρίζεται

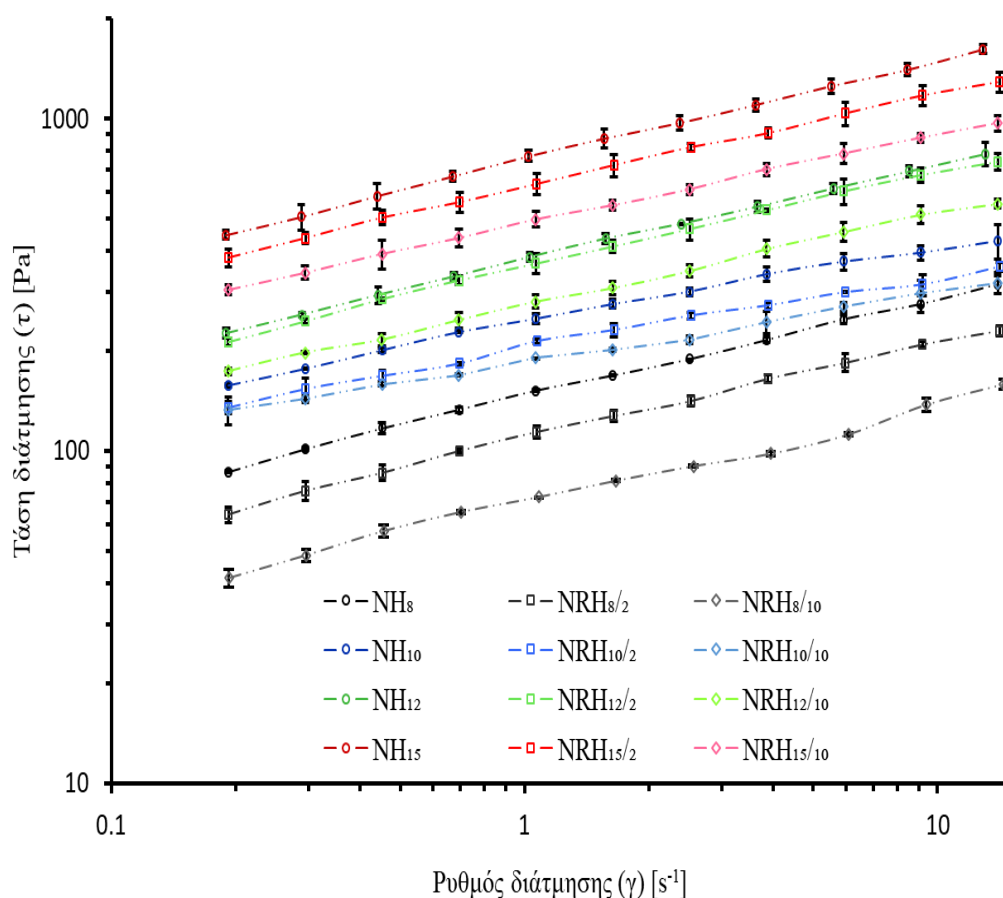
περαιτέρω και από τα αποτελέσματα της υφής (TPA) που παρουσιάζονται στην ενότητα 6.2.

Τέλος, τα δείγματα υδρογελών με υποκατάσταση 10% w/w ανθεκτικού αμύλου υψηλής αμυλόζης στο φυσικό άμυλο (NRH_{8/10}, NRH_{10/10}, NRH_{12/10}, NRH_{15/10}) παρουσίασαν μια επιπλέον κορυφή (2θ) περίπου στις 5° (τονίζεται με αστεράκι στο Σχήμα 50). Αναλυτικότερα, η χαρακτηριστική αυτή κορυφή εμφανίζεται σχετικά έντονη, το οποίο είναι ενδεικτικό των εναπομεινάντων άθικτων/μη-ζελατινοποιημένων κρυσταλλικών κόκκων αμύλου με υψηλή περιεκτικότητα σε αμυλόζη, οι οποίοι πακετάρονται σφιχτά μέσα στο πλέγμα/δίκτυο αλυσίδων της υδρογέλης. Επομένως, υποθέσαμε ότι η κορυφή σε αυτή τη θέση οφείλεται κυρίως στις διατεταγμένες διαμορφώσεις (κρυσταλλικότητα) της αμυλόζης του ανθεκτικού αμύλου (RS) μέσα στον κόκκο.

6.3.3. Ρεολογικές Ιδιότητες

Η επίδραση της συγκέντρωσης αμύλου και των επιπέδων υποκατάστασης στη ζελατινοποίηση και τη συμπεριφορά στη ροή των παστών αμύλου, αξιολογήθηκαν μέσω της μέτρησης των ρεολογικών τους ιδιοτήτων.

Συγκεκριμένα, στο Σχήμα 51 παρουσιάζεται το ιξώδες όλων των δειγμάτων αμέσως μετά τη ζελατινοποίηση τους. Όλα τα αμυλούχα συστήματα υδρογελών απέκτησαν μια παχύρρευστη συμπεριφορά που μοιάζει με γέλης (gel-like behavior), παρουσιάζοντας μη-νευτώνεια (non-Newtonian), ψευδοπλαστική (pseudoplasticity) συμπεριφορά με διατμητική λέπτυνση (shear-thinning) (Garcia-Diaz et al., 2016; Larrea-Wachtendorff et al., 2019, 2021; Kun Wang et al., 2022). Χαρακτηριστικά, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, τα αμυλούχα συστήματα υδρογελών παρουσιάζουν τυπική συμπεριφορά με διατμητική λέπτυνση (shear-thinning) (Gałkowska et al., 2014; B. Jiang et al., 2015; Xie et al., 2009). Επιπλέον, στις πειραματικές μας δοκιμές επιλέχθηκαν ως βασική παράμετρος, να πραγματοποιηθούν μετρήσεις σε χαμηλούς ρυθμούς διάτμησης (0.1 έως 10 s⁻¹) λόγω απώλειας ελαστικότητας της δομής των υδρογελών σε υψηλότερα επίπεδα γωνιακών ταχυτήτων.



Σχήμα 51. Τάση διάτμησης (τ) με τον ρυθμό διάτμησης ($\dot{\gamma}$) υδρογελών αμύλου (πάστες) με διαφορετικές συγκεντρώσεις και επίπεδα υποκατάστασης ανθεκτικού αμύλου RS σε 2% και 10%. Οι γραμμές είναι η προσαρμογή του μοντέλου δύναμης (Power law model) των πειραματικών δεδομένων.

Ο σχηματισμός των 3D μοντέλων οφείλεται στο πολύ καλό πακετάρισμα των πλεγμάτων σε όλο το φάσμα της δομής των υδρογελών. Όμως το δίκτυο αυτό θεωρείται παροδικό και μπορεί να καταρρεύσει σε συνθήκες που ασκούνται υψηλές διατμητικές τάσεις (Fall et al., 2012; Ferry, 1980). Με την αύξηση της διατμητικής τάσης καθώς η συγκέντρωση του αμύλου αυξάνεται από 8% σε 15%, παρατηρήθηκε, πως η αύξηση της προσθήκης αμύλου ενίσχυσε δομικά τις υδρογέλες, όπως περιεγράφηκε λεπτομερώς στην προηγούμενη Ενότητα 6.2, όπου αποδείχθηκε ότι οι τιμές της σκληρότητας ακολουθούν ένα παρόμοιο μοτίβο ($NH_8 < NH_{10} < NH_{12} < NH_{15}$). Επίσης, παρατηρείται αύξηση της διατμητικής τάσης με την αύξηση της συγκέντρωσης του αμύλου. Αυτό υποστηρίζεται περαιτέρω από την αύξηση της διατμητικής τάσης καθώς

η συγκέντρωση αμύλου αυξάνεται από 8% σε 15%. Σύμφωνα με την τρέχουσα βιβλιογραφία, οι υδρογέλες αμύλου διασπώνται με μη αναστρέψιμο τρόπο υπό την επίδραση διατμητικών δυνάμεων και η μείωση τελικά των διαμοριακών αντιστάσεων στη ροή έχει ως αποτέλεσμα η ροή να εξαρτάται από το μέτρο διάτμησης (Coria-Hernández et al., 2018; Nurul I. et al., 1999).

Από τη γραμμική τάση που προκύπτει μέσω της παλινδρόμησης (Power law model), ένας από τους βασικούς συντελεστές που προκύπτει είναι ο δείκτης συμπεριφοράς στη ροή (n) (flow behavior index), όπου μέσω του Πίνακα 15, παρατηρείται ότι όλα τα δείγματα παρουσιάζουν χαμηλές τιμές (0.2077 – 0.3015) επιβεβαιώνοντας ότι όλες οι υδρογέλες αμύλου εμφάνισαν ψευδοπλαστική συμπεριφορά.

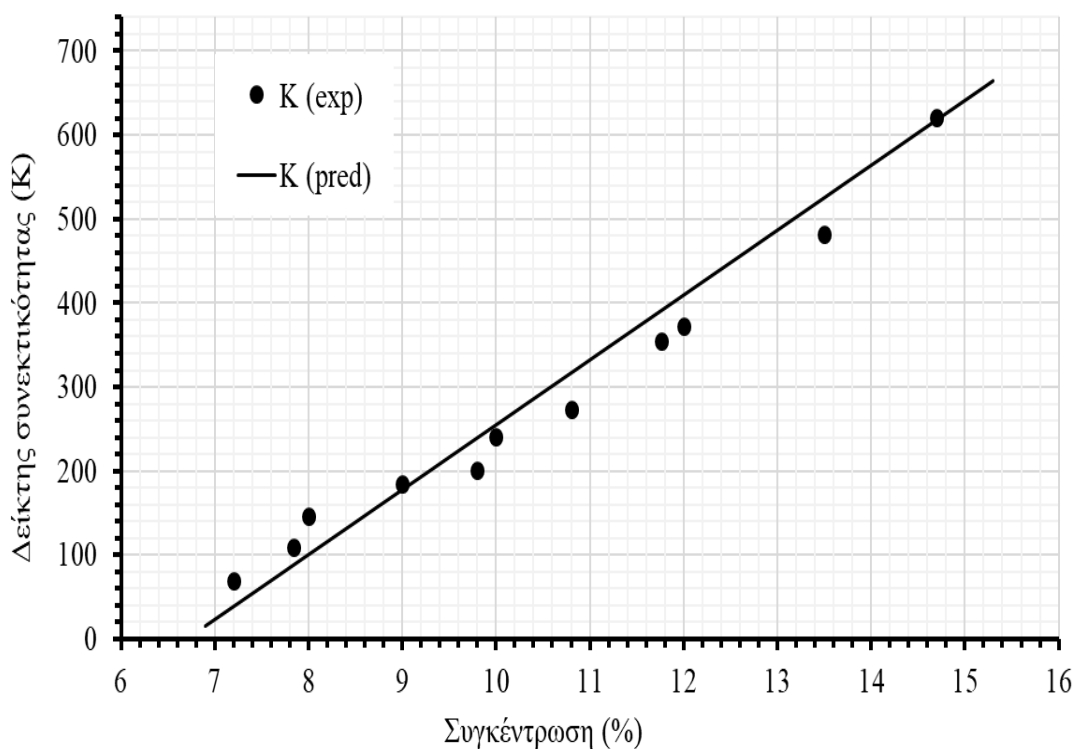
Επιπροσθέτως, η αύξηση στη συγκέντρωση του αμύλου είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση των τιμών του δείκτη συνεκτικότητας K , (69.61-747.91, Πίνακας 15). Οι υψηλότερες τιμές του δείκτη συνεκτικότητας υποδεικνύουν ότι η προσθήκη αμύλου οδηγεί σε πιο σταθερές δομές που αποτελούνται από πιο πυκνά 3D πλέγματα. Αυτό το φαινόμενο μπορεί να αποδοθεί στην αύξηση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των απελευθερωμένων (leached) αλυσίδων στις ζελατινοποιημένες διασπορές αμύλου (μορφή υδρογέλης), οδηγώντας τελικά στον σχηματισμό πιο σταθερών δικτύων. Όσο πιο πυκνό, τόσο πιο σταθερό θεωρείται το 3-D δίκτυο το οποίο μπορεί να αποδοθεί και χαρακτηρίζεται από πιο ιξώδη συμπεριφορά (Lagarrigue & Alvarez, 2001; Miller et al., 1973; Steeneken, 1989; Zheng et al., 2022).

Η αύξηση στις τιμές του δείκτη συνεκτικότητας (K) ακολουθεί ένα παρόμοιο μοτίβο με τη μηχανική ιδιότητα της σκληρότητας που περιγράφεται και παρουσιάζεται στην Ενότητα 6.3.1. Στο Σχήμα 52 παρουσιάζεται η επίδραση της συγκέντρωσης του αμύλου στον δείκτη συνεκτικότητας (K) των υδρογέλης. Πιο αναλυτικά, συμβολίζονται από τα πειραματικά δεδομένα του ιξώδους οι δείκτες συνεκτικότητας (K) των υδρογελών αμύλου (υπολογιζόμενοι μέσω του μοντέλου δύναμης) στις διαφορετικές συγκεντρώσεις, καθώς και η κατάλληλη εξίσωση παλινδρόμησης (regression equation) για τον προσδιορισμό του δείκτη συνεκτικότητας συναρτήσει της συγκέντρωσης (Εξ. 26) Χρησιμοποιώντας τις προβλεπόμενες κινητικές παραμέτρους (Πίνακας 12), η εξίσωση παλινδρόμησης (Εξ. 26) βρέθηκε ότι προβλέπει επαρκώς τον δείκτη συνεκτικότητας (K) των υδρογελών ως συνάρτηση της συγκέντρωσης, όπου το C αντιπροσωπεύει τη συγκέντρωση υδρογέλης.

Πίνακας 15. Παράμετροι του μοντέλου δύναμης της συμπεριφοράς ροής των υδρογελών αμύλου

Δείγμα ^a	K (Pa s ⁿ)	n (-)	R ²
NH ₈	145.666	0.295	0.999
NRH _{8/2}	108.683	0.295	0.997
NRH _{8/10}	69.610	0.293	0.992
NH ₁₀	241.032	0.235	0.993
NRH _{10/2}	201.263	0.222	0.993
NRH _{10/10}	185.046	0.208	0.996
NH ₁₂	372.806	0.293	0.999
NRH _{12/2}	354.861	0.291	0.998
NRH _{12/10}	273.832	0.277	0.998
NH ₁₅	747.915	0.302	0.999
NRH _{15/2}	620.194	0.284	0.999
NRH _{15/10}	481.318	0.270	0.999

^a Υδρογέλη από φυσικό άμυλο (NH); Υδρογέλη από φυσικό και ανθεκτικό άμυλο (NRH); Οι δείκτες υποδεικνύουν τη συγκέντρωση φυσικού αμύλου/ ποσοστό υποκατάστασης ανθεκτικού αμύλου (Apostolidis et al., 2021)



Σχήμα 52. Διάγραμμα των πειραματικών και των προβλεπόμενων τιμών (predicted) του δείκτη συνεκτικότητας (K) (παρουσιάζονται με κουκίδες και με συμπαγή γραμμή αντίστοιχα) ως συνάρτηση της συγκέντρωσης αμύλου. Η συγκέντρωση των υδρογελών και εκφράζεται σε σχέση με τη συγκέντρωση του φυσικού αμύλου, όπως παρουσιάζονται λεπτομερώς στον Πίνακα 13.

Από το γράφημα του δείκτη συνεκτικότητας (K) συναρτήσει της συγκέντρωσης αμύλου C (Σχήμα 52) παρατηρήθηκε ότι ο δείκτης συνεκτικότητας αυξήθηκε με την αύξηση της συγκέντρωσης αμύλου. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει, ότι το προτεινόμενο μοντέλο, σε συνδυασμό με τις πληροφορίες που παρέχονται από τον Πίνακα 12, αποτελεί ένα χρήσιμο εργαλείο για την πρόβλεψη του δείκτη συνεκτικότητας των μοντέλων υδρογελών (K), καθώς και του βαθμού υποκατάστασης (ανθεκτικού αμύλου), σε οποιαδήποτε δεδομένη συγκέντρωση αμύλου.

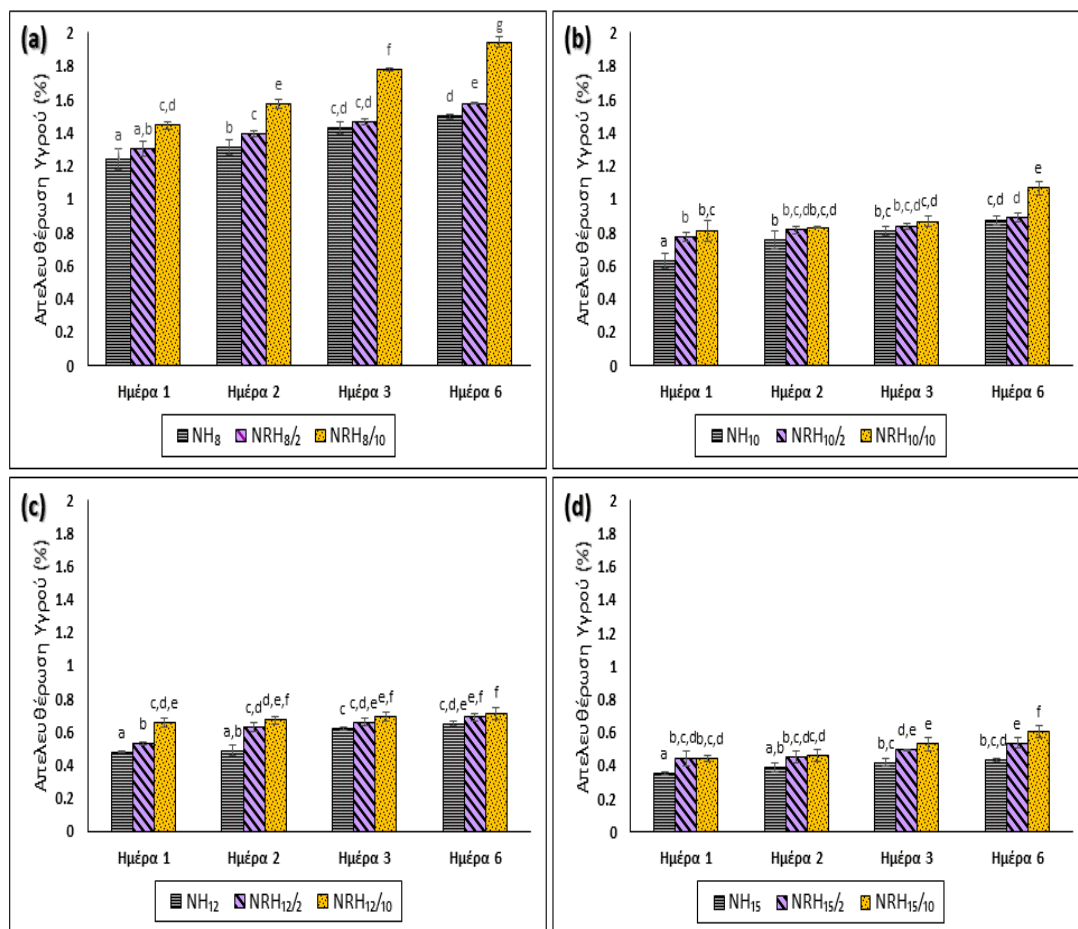
6.3.4. Ικανότητα συγκράτησης νερού (Water Holding Capacity, WHC)

Η ικανότητα συγκράτησης νερού (Water Holding Capacity, WHC) είναι φυσική ιδιότητα των υδρογελών αμύλου που επιτρέπει την εξαγωγή συμπερασμάτων σχετικά με την τάση των δειγμάτων για συναίρεση. Επιπλέον, αποτελεί μια σημαντική ιδιότητα που υποδεικνύει τη σταθερότητά του, την ασφάλεια του, τα λειτουργικά του χαρακτηριστικά και τις μηχανικές του ιδιότητες (Kees de Kruif et al., 2015). Ο δείκτης που ορίζεται ως απελευθέρωση υγρού (Fluid Release, FR) χρησιμοποιήθηκε για την περιγραφή της ικανότητας συγκράτησης νερού των υδρογελών αμύλου για τις ημέρες αποθήκευσης (ημέρες 1 έως 6) και παρουσιάζεται λεπτομερώς στο Σχήμα 53.

Συγκεκριμένα, σε κάθε περίοδο αποθήκευσης των δειγμάτων υδρογελών σε συνθήκες ψύξης (4 °C), η ικανότητα απελευθέρωσης υγρού (FR) βρέθηκε να μειώνεται σημαντικά με την αύξηση της συγκέντρωσης αμύλου ($p < 0.001$) (Σχήμα 53), υποδηλώνοντας ότι οι υδρογέλες με την υψηλότερη συγκέντρωση φυσικού αμύλου (NH₁₅) είχαν το πυκνότερο δίκτυο (3D πλέγμα) μεταξύ των υπόλοιπων δειγμάτων, συγκρατώντας μέσα σε αυτό πιο αποτελεσματικά το νερό. Αυτή η παρατήρηση υποστηρίζεται περαιτέρω από τα αποτελέσματα των μετρήσεων των μηχανικών ιδιοτήτων (ιδιότητες υφής) (Πίνακας 11), που υποδεικνύουν ότι μεταξύ των διαφορετικών δειγμάτων, το σύστημα υδρογέλης με την περισσότερη συγκέντρωση φυσικού αμύλου (NH₁₅) είχε την πιο καλά πακεταρισμένη και άκαμπτη (rigid) δομή, όπως αποκαλύπτεται από την ενισχυμένη αντοχή της γέλης (από τα αποτελέσματα TPA).

Με την πάροδο των ημερών αποθήκευσης, η έκκριση νερού από όλα τα δείγματα υδρογελών αμύλου από φυσικό άμυλο αυξήθηκε σημαντικά. Επιπροσθέτως, η μείωση της ικανότητας συγκράτησης (WHC) συσχετίζεται με την παρατηρούμενη αύξηση της αντοχής όλων των δειγμάτων υδρογελών (NH), καθώς αυξάνονται οι ημέρες αποθήκευσης. Η αύξηση της συγκέντρωσης αμύλου ενισχύει τις μηχανικές ιδιότητες, όπως παρουσιάζονται στον Πίνακα 11, λόγω της παρουσίας νερού που δρα ως πλαστικοποιητής, μειώνοντας την εφελκυστική δύναμη σκληρότητας. Πιο αναλυτικά, παρατηρήθηκε αύξηση της σκληρότητας των υδρογελών με την πρόοδο των ημερών αποθήκευσης λόγω της συνεχιζόμενης αναδιάταξης των φυσικών υδρογελών αμύλου, η οποία σχετίζεται σημαντικά με την επανακρυστάλλωση και την επακόλουθη απώλεια

νερού, οδηγώντας με αυτό τον τρόπο σε σκληρότερες υδρογέλες αμύλου (Ji et al., 2003; Miles et al., 1985; S. Wang et al., 2015).



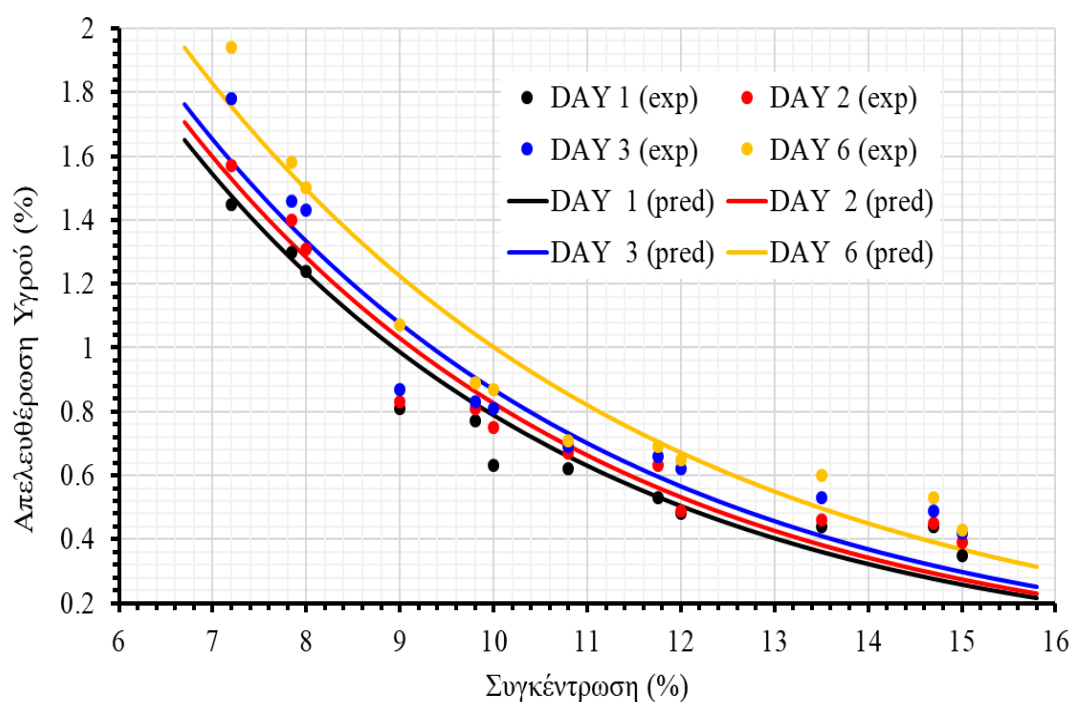
Σχήμα 53. Απελευθέρωση υγρού (FR) (%) προσδιορίζουσα ικανότητα συγκράτησης νερού (WHC) υδρογελών αμύλου σε διαφορετικές συγκεντρώσεις και επίπεδα υποκατάστασης ανθεκτικού αμύλου (RS) (2 και 10%) στις διαφορετικές ημέρες αποθήκευσης. (a) υδρογέλες αμύλου (8% w/v) με 2 και 10% RS, (b) υδρογέλες αμύλου (10% w/v) φυσικές πηκτές αμύλου με 2 και 10% RS, (c) υδρογέλες αμύλου (12% w/v) φυσικές πηκτές αμύλου με 2 και 10% RS, (d) υδρογέλες αμύλου (15% w/v) φυσικές πηκτές αμύλου με 2 και 10% RS. Το ίδιο γράμμα υποδηλώνει μη στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων ($p > 0.05$).

Στα δείγματα υδρογελών που είχαν υποκατάσταση με ανθεκτικού τύπου άμυλου (RS), παρατηρήθηκε ότι η αύξηση των επιπέδων υποκατάστασης RS, από 0% σε 2% και 10%, είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της ικανότητας συγκράτησης νερού (WHC). Ωστόσο, είχαν στατιστικά σημαντική διαφορά σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις όταν το επίπεδο της υποκατάστασης έφτανε το 10% ($p < 0.001$). Ο τύπος άμυλου με υψηλό ποσοστό αμυλόζης που επιλέχθηκε να ενσωματωθεί στο σύστημα ως πληρωτικό μέσο (filler), θα μπορούσε να αλλάξει το δίκτυο της γέλης επηρεάζοντας την κρυσταλλικότητα της σχηματιζόμενης αμυλούχας δομής, τροποποιώντας τις διαμοριακές αλληλεπιδράσεις.

Επομένως, τα υψηλότερα ποσοστά απελευθέρωσης υγρού των δειγμάτων υδρογέλης με υποκατάσταση RS θα μπορούσε να σχετίζεται με την υψηλότερη κρυσταλλικότητα τους, καθώς οι επεξεργασμένοι κόκκοι μπορεί να έχουν μειωμένη ικανότητα να συγκρατούν νερό μέσα στη δομή του πλέγματος. Επιπλέον, ανεξάρτητα από το ποσοστό υποκατάστασης σε RS, όλα τα δείγματα υδρογελών άμυλου NRH παρουσίασαν μείωση στα επίπεδα ικανότητας συγκράτησης νερού καθώς αυξανόταν ο χρόνος αποθήκευσης, σε παρόμοια επίπεδα με τις υδρογέλες NH που αναφέρονται παραπάνω. Συμπερασματικά, η συγκέντρωση του φυσικού άμυλου, ανεξάρτητα από τον χρόνο αποθήκευσης, φάνηκε να είναι ο καθοριστικός παράγοντας για το φαινόμενο της συναίρεσης. Από αυτή την παρατήρηση, σχεδιάστηκε ένα κατάλληλο μοντέλο που συνδυάζει την απελευθέρωση υγρού (FR) ως συνάρτηση της συγκέντρωσης (C) και του χρόνου (t) όπως έγινε και στις προαναφερθείσες μηχανικές ιδιότητες υφής (Εξ. 27).

$$\text{Fluid Release} = A_1 e^{-c*(B_1+B_2*t)} \quad (27)$$

Στον Πίνακα 12 παρουσιάζονται οι παράμετροι της Εξίσωσης 27 που υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας ανάλυση μη-γραμμικής παλινδρόμησης. Οι τιμές του προτεινόμενου μοντέλου (Εξ. 27) και τα πειραματικά δεδομένα παρουσίασαν εξαιρετική συσχέτιση ($R^2 = 0.937$). Στο Σχήμα 54 παρουσιάζονται τα πειραματικά δεδομένα της απελευθέρωσης υγρού συναρτήσει των διαφορετικών συγκεντρώσεων και χρόνων αποθήκευσης, καθώς και το κατάλληλο μοντέλο παλινδρόμησης (Εξ. 27). Συγκεκριμένα, το μοντέλο είχε την ικανότητα προσαρμογής στα πειραματικά δεδομένα και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να εξηγήσει με ακρίβεια τις προβλεπόμενες τιμές απελευθέρωσης υγρού (FR) για κάθε συγκέντρωση αμύλου και χρόνο αποθήκευσης.



Σχήμα 54. Διάγραμμα των πειραματικών και των προβλεπόμενων τιμών (predicted) της απελευθέρωσης υγρού (παρουσιάζονται με κουκίδες και με συμπαγή γραμμή αντίστοιχα) ως συνάρτηση του χρόνου αποθήκευσης (Days) και της συγκέντρωσης αμύλου. Η συγκέντρωση των υδρογελών εκφράζεται σε σχέση με τη συγκέντρωση του φυσικού αμύλου (NH), όπως παρουσιάζονται αναλυτικά στον Πίνακα 13.

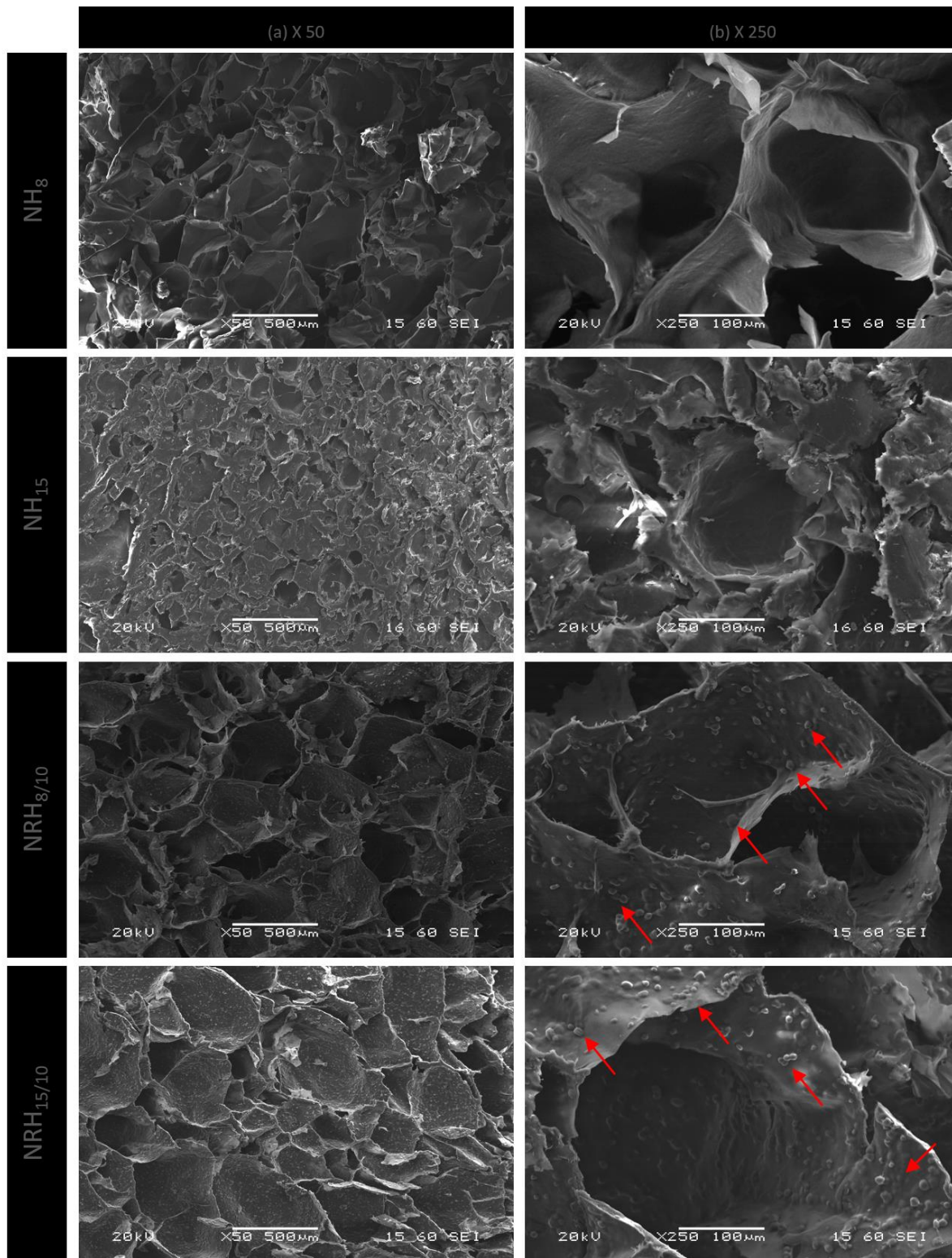
Η συγκέντρωση του αμύλου φάνηκε πως έχει σημαντικό αντίκτυπο στον ρυθμό της απελευθέρωσης υγρού (FR). Χαρακτηριστικά, όσο υψηλότερη ήταν η συγκέντρωση του αμύλου, τόσο χαμηλότερος ήταν ο ρυθμός απελευθέρωσης υγρού (FR). Το φαινόμενο της απελευθέρωσης υγρού (FR) ήταν πιο έντονο τις πρώτες μέρες αποθήκευσης, παρατηρώντας πως η παράμετρος του χρόνου επηρέαζε σε μικρότερο βαθμό στα δείγματα που αποτελούνταν από μεγαλύτερες συγκεντρώσεις αμύλου. Συμπερασματικά, η απελευθέρωση υγρού δεν αλλάζει με το ίδιο μοτίβο με τις παραμέτρους υφής. Λεπτομερώς, μπορεί να χαρακτηριστεί ως μια γρήγορη διαδικασία που συντελείται στην αρχή της αποθήκευσης και ακολουθείται από πιο αργές αλλαγές στη συνέχεια.

6.3.5. Μορφολογία υδρογελών, Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Σάρωσης (Scanning Electron Microscopy)

Η μελέτη της μικροδομής των υλικών (υδρογελών) πραγματοποιήθηκε μέσω ηλεκτρονικής μικροσκοπίας, αφού πρώτα είχε αφαιρεθεί το νερό από τα δείγματα μέσω λυοφιλίωσης Όλα τα δείγματα αμύλου σχημάτισαν ένα τρισδιάστατο δίκτυο, το οποίο ήταν ορατό όταν χρησιμοποιήθηκε δευτερεύουσα εκπομπή ηλεκτρονίων (Secondary Electron Emission, SEI) για τη μελέτη των κατακόρυφων τμημάτων εντός των αποξηραμένων υδρογελών με την τεχνική της ηλεκτρονικής μικροσκοπίας SEM.

Η έρευνά μας εστίασε το ενδιαφέρον της στο χαρακτηρισμό και την απεικόνιση των πλεγμάτων της τρισδιάστατης δομής που σχηματίζουν με φυσικό τρόπο οι αλυσίδες του αμύλου. Στο Σχήμα 55 παρουσιάζονται ενδεικτικές μικρογραφίες των δειγμάτων υδρογελών στις ακραίες συγκεντρώσεις μόνο με φυσικό άμυλο (NH , NH_8 , NH_{15}) και με υποκατάσταση ανθεκτικού αμύλου (NRH , $\text{NRH}_{8/10}$, $\text{NRH}_{15/10}$). Στο σημείο αυτό, αξίζει να τονιστεί ιδιαίτερα το σημαντικό εύρημα από την ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης δευτερογενών ηλεκτρονίων, στην επιφάνεια των αποξηραμένων δειγμάτων που αποτύπωσαν μια σπογγώδης δομή (sponge-like). Η δομή αυτή αποτελεί χαρακτηριστικό γνώρισμα μιας τυπικής υδρογέλης αμύλου, που σχηματίζει φυσικές διασταυρούμενες συνδέσεις (cross-link), λόγω των δεσμών μεταξύ των αλυσίδων. Πιο αναλυτικά, οι κυψέλες αέρα στη σπογγώδη αυτή δομή (sponge-like) που αποτυπώνονται στις μικρογραφίες (χώρος που συγκρατείται το νερό πριν την απομάκρυνσή του) φαίνεται να συρρικνώνονται καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση του αμύλου στο δείγμα.

Οι μικρογραφίες των δειγμάτων υδρογελών που περιείχαν RS (υποκατάσταση σε βαθμό 10%) φανέρωσαν την ύπαρξη μιας πιο χαλαρής σπογγώδους δομής (sponge-like), όπου εντοπίστηκαν μεγαλύτερες κυψέλες αέρα (μεγαλύτερο μέγεθος πόρων), ενώ αντίστοιχα τα δείγματα μόνο με φυσικό άμυλο είχαν πιο συμπαγείς απεικονίσεις και μικρότερα μεγέθη κυψελών. Επιπλέον, πολύ σημαντικό εύρημα αποτελεί το γεγονός ότι οι κόκκοι ανθεκτικού αμύλου (RS) παρατηρούνται εντός της δομής της υδρογέλης (ανέπαφοι στο πλέγμα της υδρογέλης) στα δείγματα με υποκαταστάσεις (NRH_{8/10}, NRH_{15/10}), τεκμηριώνοντας περαιτέρω την αρχική μας εκτίμηση ότι δρουν ως μη ενεργά πληρωτικά μέσα. Συμπερασματικά, στις κυψελώδεις δομές με την υποκατάσταση ανθεκτικού αμύλου (RS), η αύξηση της συγκέντρωσης του φυσικού αμύλου είχε ως αποτέλεσμα πυκνότερες κυψελώδεις δομές.



Σχήμα 55. Ηλεκτρονικές μικρογραφίες σάρωσης επιλεγμένων λυοφιλομένων υδρογελών αμύλου ((a) μεγέθυνση 50 X και (b) 250 X). NH: Υδρογέλες φυσικού αμύλου. NRH: Υδρογέλες φυσικού και ανθεκτικού αμύλου. Οι δείκτες δείχνουν τη συγκέντρωση φυσικού αμύλου/ ποσοστό υποκατάστασης ανθεκτικού (Πίνακας 13). Με κόκκινα βέλη παρουσιάζονται οι κόκκοι ανθεκτικού αμύλου ως πληρωτικό μέσο.

6.4. Συμπεράσματα

Συμπερασματικά, αυτή η μελέτη υποδεικνύει τον ρόλο που έχει τόσο ο τύπος όσο και η συγκέντρωση του αμύλου στην τελική υφή των σχηματιζόμενων δομών υδρογέλης, που βασίζονται αποκλειστικά σε μίγματα αμύλου αραβοσίτου/νερού και χαρακτηρίζονται για αυτό τον λόγο ως υλικά φιλικά προς το περιβάλλον. Ο κύριος στόχος αυτής της μελέτης ήταν η προσθήκη σωματιδίων ανθεκτικού αμύλου (RS2), τα οποία έχουν ευεργετική φυσιολογική επίδραση στη μείωση των μεταγευματικών γλυκαιμικών και ινσουλιναιμικών αποκρίσεων, για τη χρήση τους ως πληρωτικά μέσα στις υδρογέλες από φυσικό άμυλο καλαμποκιού προκειμένου να εξεταστεί εάν και πώς επηρεάζουν την τελική δομή της υδρογέλης. Οι φυσικές ιδιότητες των σχηματιζόμενων δομών, συμπεριλαμβανομένης της υφής, του ιξώδους, της κρυσταλλικότητας και της συναίρεσης μετρήθηκαν για τη διερεύνηση της επίδρασης της συγκέντρωσης του αμύλου μελετώντας παράλληλα και τον παράγοντα του χρόνου αποθήκευσης στη δομή των υδρογελών.

Από τα αποτελέσματα των πειραματικών διαδικασιών παρατηρήθηκε πως η προσθήκη των σωματιδίων ανθεκτικού αμύλου δεν είχε επίδραση στη δομή των υδρογελών αμύλου ανεξαρτήτως της συγκέντρωσης που χρησιμοποιήθηκε. Αυτό το φαινόμενο επαληθεύτηκε περαιτέρω από όλες τις μετρήσεις του πειραματικού σχεδιασμού και στη συνέχεια έγινε χρήση μαθηματικών μοντέλων που μπορούσαν να προβλέψουν αυτή τη συμπεριφορά. Εν κατακλείδι, τα πειραματικά αποτελέσματα αποτέλεσαν το στοιχείο πάνω στο οποίο μπόρεσε να γίνει εφικτή η μαθηματική μοντελοποίηση και να μπορούν να αντληθούν οι σωστές προβλεπόμενες τιμές, σε διαφορετικούς συνδυασμούς χρόνου και συγκέντρωσης αμύλου. Η μελέτη των αποτελεσμάτων αποσκοπεί στην περαιτέρω αποσαφήνιση των μηχανισμών της αναδιάταξης, όπου μέσω αυτών μπορούν τελικώς να παραχθούν τρόφιμα με επιθυμητές λειτουργικές και θρεπτικές ιδιότητες. Ως εκ τούτου, η μελέτη αυτών των ιδιοτήτων μπορεί να λειτουργήσει ως βάση για την αξιολόγηση διαφορετικών μοντέλων δομών υδρογέλης, προκειμένου να διερευνηθεί ο ρόλος τους ως παράγοντες που αλλάζουν τη δομή, συμβάλλοντας έτσι στην παραγωγή τελικών προϊόντων τροφίμων με τις επιθυμητές λειτουργικές ιδιότητες.

Κεφάλαιο 7. Συμπεράσματα

Η επεξεργασία του ανθεκτικού αμύλου με τη διεργασία της Υψηλούς Πίεσεως Ομογενοποίησης (High Pressure Homogenization, HPH), επέφερε μείωση του μεγέθους των κόκκων σε νανο-κλίμακα (500 nm). Τα δείγματα επεξεργάστηκαν σε διαφορετικές συνθήκες πίεσης: 140 MPa, 200 MPa, 250 MPa. Όπου οι παράγοντες της πίεσης και του χρόνου επεξεργασίας αποδείχθηκαν κρίσιμοι για το μέγεθος, τη μορφολογία, το ποσοστό αμυλόζης και την κρυσταλλικότητα των δειγμάτων. Συγκεκριμένα, η πίεση είχε την πιο σημαντική επίδραση στη μείωση του μεγέθους των σωματιδίων αμύλου. Η εφαρμογή πίεσης της τάξεως των 250 MPa ήταν ικανή να διασπάσει το σταθερό πλέγμα της αμυλοπηκτίνης και στη συνέχεια να μειώσει το μέγεθος των σωματιδίων. Επιπλέον, η τεχνική αυτή αποτελεί μια απλή και αποτελεσματική μέθοδο επεξεργασίας για τη μείωση του μεγέθους του αμύλου χωρίς όμως να καταστρέφει την κρυσταλλικότητα του, η οποία παρέμεινε τύπου Β.

Η φυσική επεξεργασία τριών σταδίων που αποτελείται από: υδροθερμική ζελατινοποίηση, νανο-καταβύθιση και χρήση υπερήχων, αποδείχθηκε μια καινοτόμος μεθοδολογία για τη μείωση του μεγέθους των σωματιδίων σε νανο-κλίμακα. Μετά τη νανο-καταβύθιση, τα σωματίδια εμφάνισαν δύο κύριες κορυφές υποδηλώνοντας δύο πληθυσμούς στα 200 nm και 5 μm (συσσωματώματα), ενώ μετά το τελευταίο στάδιο της χρήσης υπερήχων, παρήχθησαν ομοιόμορφα νανο-σωματίδια μεγέθους 170 nm. Από τις μετρήσεις της κρυσταλλικότητας μέσω WAXS και SAXS παρατηρήθηκε πως η δομή του αμύλου δεν μεταβλήθηκε και παρέμεινε τύπου Β (με μικρότερες εντάσεις, λόγω της μείωσης του μεγέθους). Η επεξεργασία δεν προκάλεσε υποβάθμιση, καθώς δεν σχηματίστηκε κανένα νέο χημικό είδος όπως αναγνωρίστηκε με τη χρήση φασματοσκοπίας FT-IR. Επιπλέον, τα νανο-σωματίδια παρουσίασαν μειωμένη υδρόφιλη συμπεριφορά με αυξημένη θερμική σταθερότητα (TGA). Τέλος, η μείωση του μεγέθους πιστοποιήθηκε και από την αυξημένη ένταση φθορισμού.

Τα νανο-σωματίδια αμύλου (σφαιρικού σχήματος, SEM), μέσω της επεξεργασίας των τριών σταδίων, χρησιμοποιήθηκαν ως σταθεροποιητές σε γαλακτώματα τύπου Pickering. Τα γαλακτώματα εμφάνισαν υψηλή σταθερότητα (έως και για δύο μήνες) σε συνθήκες αποθήκευσης. Η αύξηση της συγκέντρωσης των σωματιδίων επέφερε μείωση της επιφανειακής και διεπιφανειακής τάσης, ενισχύοντας την ικανότητά τους να προσροφώνται στη διεπιφάνεια, σχηματίζοντας ένα οργανωμένο στρώμα στη

διεπαφή, προσφέροντας με αυτό τον μηχανισμό σταθεροποίηση στο γαλάκτωμα, όπως παρατηρήθηκε από την Συνεστιακή Μικροσκοπία Σάρωσης με ακτίνες Laser (Confocal Laser Scanning Microscopy, CLSM). Λόγω του δικτύου που σχηματίζουν τα νανοσωματίδια, προσομοιάζουν σε συμπεριφορά τη δομή υδρογέλης, σύμφωνα με τις ρεολογικές τους ιδιότητες. Τέλος, η σταθερότητα όλων των δειγμάτων βελτιώθηκε με την αύξηση της συγκέντρωσης των νανο-σωματιδίων, παρουσιάζοντας μικρότερες τιμές στο μέγεθος των σταγονιδίων και υψηλότερες τιμές Ζήτα Δυναμικού σε απόλυτη τιμή συγκριτικά με τα υπόλοιπα συστήματα.

Από τη μελέτη της επίδρασης της υποκατάστασης του φυσικού αμύλου με 2% και 10% ανθεκτικού αμύλου σε υδρογέλες με συγκέντρωση 8% w/v, 10% w/v, 12% w/v και 15% w/v φυσικού αμύλου, παρατηρήθηκε πως με την αύξηση της συγκέντρωσης του φυσικού αμύλου σημειώθηκαν οι μέγιστες τιμές σκληρότητας (Hardness), συνεκτικότητας (Cohesiveness) και κομμιάδους (Gumminess). Η προσθήκη σωματιδίων ανθεκτικού αμύλου δεν επέδρασε στη δομή των υδρογελών, παρουσιάζοντας παρόμοια ρεολογικά προφίλ και ιδιότητες της υφής, δρώντας ως ανενεργά πληρωτικά μέσα (inactive fillers). Η ικανότητα συγκράτησης νερού των υδρογελών αυξήθηκε με την αύξηση της συγκέντρωσης του φυσικού αμύλου, χαρακτηριστικό το οποίο αποδίδεται στο πυκνότερο δίκτυο που σχημάτισαν οι υδρογέλες, όπως απεικονίζεται από τις μικρογραφίες του SEM. Επιπροσθέτως, παρατηρήθηκε αύξηση της κρυσταλλικότητας με την αύξηση της συγκέντρωσης του φυσικού αμύλου και του ανθεκτικού αμύλου (υψηλότερη υποκατάσταση). Τα πειραματικά αποτελέσματα αποτέλεσαν το στοιχείο πάνω στο οποίο μπόρεσε να γίνει εφικτή η μαθηματική μοντελοποίηση ώστε να μπορούν να αντληθούν οι σωστές προβλεπόμενες τιμές, σε διαφορετικούς συνδυασμούς χρόνου και συγκέντρωσης αμύλου.

Αναφορές

- Aaliya, B., Sunooj, K. V., Navaf, M., Akhila, P. P., Sudheesh, C., Sabu, S., Sasidharan, A., Sinha, S. K., & George, J. (2022). Influence of plasma-activated water on the morphological, functional, and digestibility characteristics of hydrothermally modified non-conventional talipot starch. *Food Hydrocolloids*, *130*, 107709. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2022.107709>
- Abate, A. R., & Weitz, D. A. (2009). High-order multiple emulsions formed in poly(dimethylsiloxane) microfluidics. *Small*, *5*(18), 2030–2032. <https://doi.org/10.1002/sml.200900569>
- Acevedo-Guevara, L., Nieto-Suaza, L., Sanchez, L. T., Pinzon, M. I., & Villa, C. C. (2018). Development of native and modified banana starch nanoparticles as vehicles for curcumin. *International Journal of Biological Macromolecules*, *111*, 498–504. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2018.01.063>
- Agama-Acevedo, E., & Bello-Perez, L. A. (2017). Starch as an emulsions stability: the case of octenyl succinic anhydride (OSA) starch. In *Current Opinion in Food Science* (Vol. 13, pp. 78–83). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.02.014>
- Aganovic, K., Hertel, C., Vogel, R. F., Johne, R., Schlüter, O., Schwarzenbolz, U., Jäger, H., Holzhauser, T., Bergmair, J., Roth, A., Sevenich, R., Bandick, N., Kulling, S. E., Knorr, D., Engel, K. H., & Heinz, V. (2021). Aspects of high hydrostatic pressure food processing: Perspectives on technology and food safety. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *20*(4), 3225–3266. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12763>
- Agi, A., Junin, R., Gbadamosi, A., Abbas, A., Azli, N. B., & Oseh, J. (2019). Influence of nanoprecipitation on crystalline starch nanoparticle formed by ultrasonic assisted weak-acid hydrolysis of cassava starch and the rheology of their solutions. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, *142*, 107556. <https://doi.org/10.1016/J.CEP.2019.107556>
- Agostoni, C., Bresson, J.-L., Fairweather-Tait, S., Flynn, A., Golly, I., Korhonen, H., Lagiou, P., Løvik, M., Marchelli, R., Martin, A., Moseley, B., Neuhäuser-Berthold, M., Przyrembel, H., Salminen, S., Sanz, Y., Strain, S., Strobel, S., Tetens, I., Tomé, D., ... Verhagen, H. (2011). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to resistant starch and reduction of post-prandial glycaemic responses (ID 681), “digestive health benefits” (ID 682) and “favours a normal colon metabolism” (ID 783) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal*, *9*(4), 2024. <https://doi.org/10.2903/J.EFSA.2011.2024>
- Ahmad, A. N., Lim, S. A., Navaranjan, N., Hsu, Y. I., & Uyama, H. (2020). Green sago starch nanoparticles as reinforcing material for green composites. *Polymer*, *202*, 122646. <https://doi.org/10.1016/J.POLYMER.2020.122646>
- Ahmad, M., Gani, A., Masoodi, F. A., & Rizvi, S. H. (2020). Influence of ball milling on the production of starch nanoparticles and its effect on structural, thermal and functional properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, *151*,

- Ahmad, Mudasir, Gani, A., Hassan, I., Huang, Q., & Shabbir, H. (2020). Production and characterization of starch nanoparticles by mild alkali hydrolysis and ultrasonication process. *Scientific Reports 2020 10:1*, 10(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60380-0>
- Ai, Y., & Jane, J. L. (2015). Gelatinization and rheological properties of starch. *Starch - Stärke*, 67(3–4), 213–224. <https://doi.org/10.1002/STAR.201400201>
- Ai, Y., Nelson, B., Birt, D. F., & Jane, J. L. (2013). In vitro and in vivo digestion of octenyl succinic starch. *Carbohydrate Polymers*, 98(2), 1266–1271. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.07.057>
- Akanbi, C. T., Kadiri, O., & Gbadamosi, S. O. (2019). Kinetics of starch digestion in native and modified sweetpotato starches from an orange fleshed cultivar. *International Journal of Biological Macromolecules*, 134, 946–953. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2019.05.035>
- Albert, C., Beladjine, M., Tsapis, N., Fattal, E., Agnely, F., & Huang, N. (2019). Pickering emulsions: Preparation processes, key parameters governing their properties and potential for pharmaceutical applications. *Journal of Controlled Release*, 309, 302–332. <https://doi.org/10.1016/J.JCONREL.2019.07.003>
- Alcázar-Alay, S. C., & Meireles, M. A. A. (2015). Physicochemical properties, modifications and applications of starches from different botanical sources. *Food Science and Technology*, 35(2), 215–236. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.6749>
- Ali, A., Chiang, Y. W., & Santos, R. M. (2022). X-ray Diffraction Techniques for Mineral Characterization: A Review for Engineers of the Fundamentals, Applications, and Research Directions. *Minerals 2022, Vol. 12, Page 205*, 12(2), 205. <https://doi.org/10.3390/MIN12020205>
- Alishahi, A., Farahnaky, A., Majzoobi, M., & Blanchard, C. L. (2015). Physicochemical and textural properties of corn starch gels: Effect of mixing speed and time. *Food Hydrocolloids*, 45, 55–62. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.11.005>
- Alnoush, W., Sayed, A., & Alyafei, N. (2019). Optimization of contact angle and interfacial tension measurements for fluid/rock systems at ambient conditions. *MethodsX*, 6, 1706–1715. <https://doi.org/10.1016/J.MEX.2019.07.009>
- Altaf, A., Usmani, Z., Aamir, , Dar, H., Kshirod, , & Dash, K. (2022). A comprehensive review of polysaccharide-based bionanocomposites for food packaging applications. *Discover Food 2022 2:1*, 2(1), 1–13. <https://doi.org/10.1007/S44187-022-00011-X>
- Alvarez, M. D., Canet, W., & López, M. E. (2002). Influence of deformation rate and degree of compression on textural parameters of potato and apple tissues in texture profile analysis. *European Food Research and Technology*, 215(1), 13–20. <https://doi.org/10.1007/s00217-002-0515-0>

- Angellier, H., Putaux, J. L., Molina-Boisseau, S., Dupeyre, D., & Dufresne, A. (2005). Starch Nanocrystal Fillers in an Acrylic Polymer Matrix. *Macromolecular Symposia*, 221(1), 95–104. <https://doi.org/10.1002/MASY.200550310>
- Anjali, T. G., & Basavaraj, M. G. (2016). Contact angle and detachment energy of shape anisotropic particles at fluid-fluid interfaces. *Journal of Colloid and Interface Science*, 478, 63–71. <https://doi.org/10.1016/J.JCIS.2016.05.060>
- Anton, N., Benoit, J. P., & Saulnier, P. (2008). Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates-a review. *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society*, 128(3), 185–199. <https://doi.org/10.1016/J.JCONREL.2008.02.007>
- Anton, N., & Vandamme, T. F. (2011). Nano-emulsions and micro-emulsions: Clarifications of the critical differences. *Pharmaceutical Research*, 28(5), 978–985. <https://doi.org/10.1007/S11095-010-0309-1/FIGURES/2>
- Apostolidis, E., Kioupis, D., Kakali, G., Stoforos, N. G., & Mandala, I. (2021). Effect of starch concentration and resistant starch filler addition on the physical properties of starch hydrogels. *Journal of Food Science*, 86(12), 5340–5352. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15954>
- Apostolidis, E., & Mandala, I. (2020). Modification of resistant starch nanoparticles using high-pressure homogenization treatment. *Food Hydrocolloids*, 103, 105677. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105677>
- Apostolidis, E., Stergiou, A., Kioupis, D., Amin, S., Paximada, P., Kakali, G., & Mandala, I. (2023). Production of nanoparticles from resistant starch via a simple three-step physical treatment. *Food Hydrocolloids*, 137, 108412. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2022.108412>
- Apostolidis, E., Stoforos, G. N., & Mandala, I. (2023). Starch physical treatment, emulsion formation, stability, and their applications. *Carbohydrate Polymers*, 305, 120554. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2023.120554>
- Ashby, N. P., & Binks, B. P. (2000). Pickering emulsions stabilised by Laponite clay particles. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2(24), 5640–5646. <https://doi.org/10.1039/B007098J>
- Ashwar, B. A., Gani, A., Shah, A., & Masoodi, F. A. (2017). Production of RS4 from rice by acetylation: Physico-chemical, thermal, and structural characterization. *Starch - Stärke*, 69(1–2), 1600052. <https://doi.org/10.1002/STAR.201600052>
- Atkin, N. J., Abeysekera, R. M., & Robards, A. W. (1998). The events leading to the formation of ghost remnants from the starch granule surface and the contribution of the granule surface to the gelatinization endotherm. *Carbohydrate Polymers*, 36(2–3), 193–204. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(98\)00002-2](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(98)00002-2)
- Augustin, M. A., Sanguansri, P., & Htoon, A. (2008). Functional performance of a resistant starch ingredient modified using a microfluidiser. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(2), 224–231. <https://doi.org/10.1016/J.IFSET.2007.11.003>

- Aveyard, R., Binks, B. P., & Clint, J. H. (2003). Emulsions stabilised solely by colloidal particles. *Advances in Colloid and Interface Science*, 100–102(SUPPL.), 503–546. [https://doi.org/10.1016/S0001-8686\(02\)00069-6](https://doi.org/10.1016/S0001-8686(02)00069-6)
- Azad, M. M., Ejaz, M., Shah, A. ur R., Afaq, S. K., & Song, J. (2022). A bio-based approach to simultaneously improve flame retardancy, thermal stability and mechanical properties of nano-silica filled jute/thermoplastic starch composite. *Materials Chemistry and Physics*, 289, 126485. <https://doi.org/10.1016/J.MATCHEMPHYS.2022.126485>
- Azfaralariff, A., Farahfaiqah, F., Joe, L. S., Fazry, S., Mohamed, M., Nazar, M. F., & Lazim, A. M. (2021). Sago starch nanocrystal-stabilized Pickering emulsions: Stability and rheological behavior. *International Journal of Biological Macromolecules*, 182, 197–206. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2021.03.132>
- Azfaralariff, A., Fazial, F. F., Sontanosamy, R. S., Nazar, M. F., & Lazim, A. M. (2020). Food-grade particle stabilized pickering emulsion using modified sago (Metroxylon sago) starch nanocrystal. *Journal of Food Engineering*, 280, 109974. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2020.109974>
- Babu, A. S., Mohan, R. J., & Parimalavalli, R. (2019). Effect of single and dual-modifications on stability and structural characteristics of foxtail millet starch. *Food Chemistry*, 271, 457–465. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2018.07.197>
- Badmus, S. O., Amusa, H. K., Oyehan, T. A., & Saleh, T. A. (2021). Environmental risks and toxicity of surfactants: overview of analysis, assessment, and remediation techniques. *Environmental Science and Pollution Research* 2021 28:44, 28(44), 62085–62104. <https://doi.org/10.1007/S11356-021-16483-W>
- Bai, L., Huan, S., Rojas, O. J., & McClements, D. J. (2021). Recent Innovations in Emulsion Science and Technology for Food Applications. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(32), 8944–8963. https://doi.org/10.1021/ACS.JAFC.1C01877/SUPPL_FILE/JF1C01877_SI_001.PDF
- Bai, X., Dong, Z., Wu, X., Tong, J., & Zhou, J. (2013). Changes in crystalline structure of microspheres of corn starch and amylose under isothermal and temperature cycling treatments. *Industrial Crops and Products*, 51, 220–223. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.09.007>
- Bajpai, P. (2018). Colloid and Surface Chemistry. *Biermann's Handbook of Pulp and Paper*, 381–400. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814238-7.00019-2>
- Balasubramaniam, V. M., & Farkas, D. (2008). High-pressure Food Processing: [Http://Dx.Doi.Org/10.1177/1082013208098812](http://Dx.Doi.Org/10.1177/1082013208098812), 14(5), 413–418. <https://doi.org/10.1177/1082013208098812>
- Bangar, S. P., Singh, A., Ashogbon, A. O., & Bobade, H. (2023). Ball-milling: A sustainable and green approach for starch modification. *International Journal of Biological Macromolecules*, 237, 124069. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2023.124069>

- Basiak, E., Lenart, A., & Debeaufort, F. (2017). Effect of starch type on the physico-chemical properties of edible films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 98, 348–356. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2017.01.122>
- Beaucage, G. (2004). Determination of branch fraction and minimum dimension of mass-fractal aggregates. *Physical Review E - Statistical Physics, Plasmas, Fluids, and Related Interdisciplinary Topics*, 70(3), 10. <https://doi.org/10.1103/PHYSREVE.70.031401/FIGURES/6/MEDIUM>
- Beaucage, G., & Schaefer, D. W. (1994). Structural studies of complex systems using small-angle scattering: a unified Guinier/power-law approach. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 172–174(PART 2), 797–805. [https://doi.org/10.1016/0022-3093\(94\)90581-9](https://doi.org/10.1016/0022-3093(94)90581-9)
- Becher, P. (1991). *Chapter 1 Food Emulsions An Introduction*. <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>
- Beck-Broichsitter, M., Rytting, E., Lehardt, T., Wang, X., & Kissel, T. (2010). Preparation of nanoparticles by solvent displacement for drug delivery: A shift in the “ouzo region” upon drug loading. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 41(2), 244–253. <https://doi.org/10.1016/J.EJPS.2010.06.007>
- Bemiller, J. N. (1997). Starch Modification: Challenges and Prospects. *Starch - Stärke*, 49(4), 127–131. <https://doi.org/10.1002/star.19970490402>
- Bemiller, J. N. (2011). Pasting, paste, and gel properties of starch-hydrocolloid combinations. In *Carbohydrate Polymers* (Vol. 86, Issue 2, pp. 386–423). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.05.064>
- Bemiller, J. N., & Huber, K. C. (2015). Physical Modification of Food Starch Functionalities. <https://doi.org/10.1146/Annurev-Food-022814-015552>, 6, 19–69. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-FOOD-022814-015552>
- BeMiller, J. N., & Huber, K. C. (2015). Physical Modification of Food Starch Functionalities. *Annual Review of Food Science and Technology*, 6, 19–69. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-FOOD-022814-015552>
- Benmoussa, M., Moldenhauer, K. A. K., & Hamaker, B. R. (2007). Rice amylopectin fine structure variability affects starch digestion properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(4), 1475–1479. <https://doi.org/10.1021/JF062349X/ASSET/IMAGES/LARGE/JF062349XF00001.JPEG>
- Bertoft, E. (2017). Understanding Starch Structure: Recent Progress. *Agronomy 2017*, Vol. 7, Page 56, 7(3), 56. <https://doi.org/10.3390/AGRONOMY7030056>
- Berton-Carabin, C. C., Sagis, L., & Schroën, K. (2018). Formation, Structure, and Functionality of Interfacial Layers in Food Emulsions. In *Annual Review of Food Science and Technology* (Vol. 9, pp. 551–587). Annual Reviews Inc. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030117-012405>
- Bevilacqua, A., Campaniello, D., Speranza, B., Altieri, C., Sinigaglia, M., & Corbo, M. R. (2019). Two Nonthermal Technologies for Food Safety and Quality—

- Ultrasound and High Pressure Homogenization: Effects on Microorganisms, Advances, and Possibilities: A Review. *Journal of Food Protection*, 82(12), 2049–2064. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-19-059>
- Bhatluri, K. K., Chakraborty, S., Manna, M. S., Ghoshal, A. K., & Saha, P. (2015). Separation of toxic heavy metals from its aqueous solution using environmentally benign vegetable oil as liquid membrane. *RSC Advances*, 5(107), 88331–88338. <https://doi.org/10.1039/C5RA13260F>
- Bhattacharjee, S. (2016). DLS and zeta potential – What they are and what they are not? *Journal of Controlled Release*, 235, 337–351. <https://doi.org/10.1016/J.JCONREL.2016.06.017>
- Biduski, B., Silva, W. da, & Colussi, R. (2018). Starch hydrogels: The influence of the amylose content and gelatinization method. *Int J Biol Macromol*, 113, 443–449.
- Binks, B. P. (2002). Particles as surfactants—similarities and differences. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 7(1–2), 21–41. [https://doi.org/10.1016/S1359-0294\(02\)00008-0](https://doi.org/10.1016/S1359-0294(02)00008-0)
- Birt, D. F., Boylston, T., Hendrich, S., Jane, J. L., Hollis, J., Li, L., McClelland, J., Moore, S., Phillips, G. J., Rowling, M., Schalinske, K., Paul Scott, M., & Whitley, E. M. (2013). Resistant Starch: Promise for Improving Human Health. *Advances in Nutrition*, 4(6), 587–601. <https://doi.org/10.3945/AN.113.004325>
- Bist, Y., Kumar, Y., & Saxena, D. C. (2022). Enhancing the storage stability of Pickering emulsion using esterified buckwheat starch with improved structure and morphology. *LWT*, 161, 113329. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2022.113329>
- Borthakur, A., Bhattacharyya, S., Anbazhagan, A. N., Kumar, A., Dudeja, P. K., & Tobacman, J. K. (2012). Prolongation of carrageenan-induced inflammation in human colonic epithelial cells by activation of an NFκB-BCL10 loop. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1822(8), 1300–1307. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2012.05.001>
- Bortnowska, G. (2012). Effects of pH and ionic strength of NaCl on the stability of diacetyl and (–)- α -pinene in oil-in-water emulsions formed with food-grade emulsifiers. *Food Chemistry*, 135(3), 2021–2028. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2012.06.082>
- Bortnowska, G., Balejko, J., Tokarczyk, G., Romanowska-Osuch, A., & Krzemińska, N. (2014). Effects of pregelatinized waxy maize starch on the physicochemical properties and stability of model low-fat oil-in-water food emulsions. *Food Hydrocolloids*, 36, 229–237. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2013.09.012>
- Boufi, S., Bel Haaj, S., Magnin, A., Pignon, F., Impéror-Clerc, M., & Mortha, G. (2018). Ultrasonic assisted production of starch nanoparticles: Structural characterization and mechanism of disintegration. *Ultrasonics Sonochemistry*, 41, 327–336. <https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2017.09.033>
- Bourne, M. C. (1968). Texture Profile of Ripening Pears. *Journal of Food Science*, 33(2), 223–226. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2621.1968.TB01354.X>

- Brand-Miller, J. C., Holt, S. H. A., Pawlak, D. B., & McMillan, J. (2002). Glycemic index and obesity. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 76(1), 281S-285S. <https://doi.org/10.1093/AJCN/76.1.281S>
- Brar, S. K., & Verma, M. (2011). Measurement of nanoparticles by light-scattering techniques. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 30(1), 4–17. <https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2010.08.008>
- Breene, W. M. (1975). APPLICATION OF TEXTURE PROFILE ANALYSIS TO INSTRUMENTAL FOOD TEXTURE EVALUATION*. *Journal of Texture Studies*, 6(1), 53–82. <https://doi.org/10.1111/J.1745-4603.1975.TB01118.X>
- Broseghini, M., Gelisio, L., D’Incau, M., Azanza Ricardo, C. L., Pugno, N. M., & Scardi, P. (2016). Modeling of the planetary ball-milling process: The case study of ceramic powders. *Journal of the European Ceramic Society*, 36(9), 2205–2212. <https://doi.org/10.1016/J.JEURCERAMSOC.2015.09.032>
- Bu, X., Wang, X., Dai, L., Ji, N., Xiong, L., & Sun, Q. (2020). The combination of starch nanoparticles and Tween 80 results in enhanced emulsion stability. *International Journal of Biological Macromolecules*, 163, 2048–2059. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2020.09.111>
- Buléon, A., & Perez, S. (1992). Physical properties of starch granules and susceptibility to enzymatic degradation. *Article in European Journal of Clinical Nutrition*. <https://www.researchgate.net/publication/21824237>
- Burrell, M. M. (2003). Starch: the need for improved quality or quantity—an overview. *Journal of Experimental Botany*, 54(382), 451–456. <https://doi.org/10.1093/JXB/ERG049>
- Cai, C., Zhao, L., Huang, J., Chen, Y., & Wei, C. (2014). Morphology, structure and gelatinization properties of heterogeneous starch granules from high-amylose maize. *Carbohydrate Polymers*, 102(1), 606–614. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2013.12.010>
- Cai, Z., Wei, Y., Shi, A., Zhong, J., Rao, P., Wang, Q., & Zhang, H. (2023). Correlation between interfacial layer properties and physical stability of food emulsions: current trends, challenges, strategies, and further perspectives. *Advances in Colloid and Interface Science*, 313, 102863. <https://doi.org/10.1016/J.CIS.2023.102863>
- Caldwell, G. C., & Wurzburg, B. O. (1953). Polysaccharide derivatives of substituted dicarboxylic acids. *U.S. Patent No. 2,661,349*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office. <https://patents.google.com/patent/US2661349A/en>
- Calligaris, S., Plazzotta, S., Bot, F., Grasselli, S., Malchiodi, A., & Anese, M. (2016). Nanoemulsion preparation by combining high pressure homogenization and high power ultrasound at low energy densities. *Food Research International*, 83, 25–30. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2016.01.033>
- Campelo, P. H., Sant’Ana, A. S., & Pedrosa Silva Clerici, M. T. (2020). Starch nanoparticles: production methods, structure, and properties for food applications. *Current Opinion in Food Science*, 33, 136–140.

<https://doi.org/10.1016/J.COFS.2020.04.007>

- Cao, Y., & Mezzenga, R. (2020). Design principles of food gels. *Nature Food*, *1*(2), 106–118. <https://doi.org/10.1038/s43016-019-0009-x>
- Cappato, L. P., Ferreira, M. V. S., Pires, R. P. S., Cavalcanti, R. N., Bisaggio, R. C., Freitas, M. Q., Silva, M. C., & Cruz, A. G. (2018). Whey acerola-flavoured drink submitted ohmic heating processing: Is there an optimal combination of the operational parameters? *Food Chemistry*, *245*, 22–28. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2017.10.019>
- Carcelli, A., Masuelli, E., Diantom, A., Vittadini, E., & Carini, E. (2020). Probing the Functionality of Physically Modified Corn Flour as Clean Label Thickening Agent with a Multiscale Characterization. *Foods 2020, Vol. 9, Page 1105*, *9*(8), 1105. <https://doi.org/10.3390/FOODS9081105>
- Carmona-García, R., Bello-Pérez, L. A., Aguirre-Cruz, A., Aparicio-Saguilán, A., Hernández-Torres, J., & Alvarez-Ramirez, J. (2016). Effect of ultrasonic treatment on the morphological, physicochemical, functional, and rheological properties of starches with different granule size. *Starch - Stärke*, *68*(9–10), 972–979. <https://doi.org/10.1002/STAR.201600019>
- Chakraborty, I., Pooja, N., Mal, S. S., Paul, U. C., Rahman, M. H., & Mazumder, N. (2022). An Insight into the Gelatinization Properties Influencing the Modified Starches Used in Food Industry: A review. *Food and Bioprocess Technology* *2022, 1*, 1–29. <https://doi.org/10.1007/S11947-022-02761-Z>
- Chang, R., Lu, H., Tian, Y., Li, H., Wang, J., & Jin, Z. (2020). Structural modification and functional improvement of starch nanoparticles using vacuum cold plasma. *International Journal of Biological Macromolecules*, *145*, 197–206. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2019.12.167>
- Chang, S., Chen, X., Liu, S., & Wang, C. (2020). Novel gel-like Pickering emulsions stabilized solely by hydrophobic starch nanocrystals. *International Journal of Biological Macromolecules*, *152*, 703–708. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2020.02.175>
- Chang, Yanjiao, Xiaoxia, Y., Qian, W., Lili, R., Jin, T., & Jiang, Z. (2017). High efficiency and low cost preparation of size controlled starch nanoparticles through ultrasonic treatment and precipitation. *Food Chemistry*, *227*, 369–375. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.111>
- Chang, Yanjiao, Yan, X., Wang, Q., Ren, L., Tong, J., & Zhou, J. (2017). High efficiency and low cost preparation of size controlled starch nanoparticles through ultrasonic treatment and precipitation. *Food Chemistry*, *227*, 369–375. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2017.01.111>
- Chang, Yuhua, McLandsborough, L., & McClements, D. J. (2012). Physical properties and antimicrobial efficacy of thyme oil nanoemulsions: Influence of ripening inhibitors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *60*(48), 12056–12063. <https://doi.org/10.1021/jf304045a>
- Chao, D., Chen, J., Dong, Q., Wu, W., Qi, D., & Dong, S. (2020). Ultrastable and

- ultrasensitive pH-switchable carbon dots with high quantum yield for water quality identification, glucose detection, and two starch-based solid-state fluorescence materials. *Nano Research* 2020 13:11, 13(11), 3012–3018. <https://doi.org/10.1007/S12274-020-2965-8>
- Chassaing, B., Van De Wiele, T., De Bodt, J., Marzorati, M., & Gewirtz, A. T. (2017). Dietary emulsifiers directly alter human microbiota composition and gene expression ex vivo potentiating intestinal inflammation. *Gut*, 66(8), 1414–1427. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2016-313099>
- Chavan, P., Sinhmar, A., Sharma, S., Dufresne, A., Thory, R., Kaur, M., Sandhu, K. S., Nehra, M., & Nain, V. (2022). Nanocomposite Starch Films: A New Approach for Biodegradable Packaging Materials. *Starch - Stärke*, 74(5–6), 2100302. <https://doi.org/10.1002/STAR.202100302>
- Cheetham, N. W. H., & Tao, L. (1998). Variation in crystalline type with amylose content in maize starch granules: an X-ray powder diffraction study. *Carbohydrate Polymers*, 36(4), 277–284. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(98\)00007-1](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(98)00007-1)
- Chen, B., Guo, Z., Miao, S., Zeng, S., Jia, X., Zhang, Y., & Zheng, B. (2018). Preparation and characterization of lotus seed starch-fatty acid complexes formed by microfluidization. *Journal of Food Engineering*, 237, 52–59. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2018.05.020>
- Chen, C. J., Shen, Y. C., & Yeh, A. I. (2010). Physico-Chemical Characteristics of Media-Milled Corn Starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(16), 9083–9091. <https://doi.org/10.1021/JF1020945>
- Chen, J., & Dickinson, E. (1999). Effect of surface character of filler particles on rheology of heat-set whey protein emulsion gels. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 12(3–6), 373–381. [https://doi.org/10.1016/S0927-7765\(98\)00091-5](https://doi.org/10.1016/S0927-7765(98)00091-5)
- Chen, L., Ao, F., Ge, X., & Shen, W. (2020). Food-Grade Pickering Emulsions: Preparation, Stabilization and Applications. *Molecules* 2020, Vol. 25, Page 3202, 25(14), 3202. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES25143202>
- Cheng, H., Wang, H., Ma, S., Xue, M., Li, J., & Yang, J. (2022). Development of a water solubility model of extruded feeds by utilizing a starch gelatinization model. <https://doi.org/10.1080/10942912.2022.2046055>, 25(1), 463–476. <https://doi.org/10.1080/10942912.2022.2046055>
- Chevalier, Y., & Bolzinger, M. A. (2013). Emulsions stabilized with solid nanoparticles: Pickering emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 439, 23–34. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2013.02.054>
- Chin, S. F., Pang, S. C., & Tay, S. H. (2011). Size controlled synthesis of starch nanoparticles by a simple nanoprecipitation method. *Carbohydrate Polymers*, 86(4), 1817–1819. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2011.07.012>
- Chinnasamy, G., Dekeba, K., Sundramurthy, V. P., & Dereje, B. (2022). Physicochemical properties of tef starch: morphological, thermal,

- thermogravimetric, and pasting properties.
<https://doi.org/10.1080/10942912.2022.2098973>, 25(1), 1668–1682.
<https://doi.org/10.1080/10942912.2022.2098973>
- Choi, H. D., Hong, J. S., Pyo, S. min, Ko, E. B., Shin, H. Y., & Kim, J. Y. (2020). Starch nanoparticles produced via acidic dry heat treatment as a stabilizer for a Pickering emulsion: Influence of the physical properties of particles. *Carbohydrate Polymers*, 239, 116241.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116241>
- Chung, H. J., Liu, Q., Lee, L., & Wei, D. (2011). Relationship between the structure, physicochemical properties and in vitro digestibility of rice starches with different amylose contents. *Food Hydrocolloids*, 25(5), 968–975.
<https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2010.09.011>
- Chutia, H., & Mahanta, C. L. (2021). Properties of starch nanoparticle obtained by ultrasonication and high pressure homogenization for developing carotenoids-enriched powder and Pickering nanoemulsion. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 74, 102822.
<https://doi.org/10.1016/J.IFSET.2021.102822>
- Clogston, J. D., & Patri, A. K. (2011). Zeta Potential Measurement. *Methods in Molecular Biology*, 697, 63–70. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-198-1_6/COVER
- Colonna, P., & Mercier, C. (1985). Gelatinization and melting of maize and pea starches with normal and high-amylose genotypes. *Phytochemistry*, 24(8), 1667–1674.
[https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)82532-7](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)82532-7)
- Copeland, L., Blazek, J., Salman, H., & Tang, M. C. (2009). Form and functionality of starch. *Food Hydrocolloids*, 23(6), 1527–1534.
<https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2008.09.016>
- Coria-Hernández, J., Méndez-Albores, A., Meléndez-Pérez, R., Rosas-Mendoza, M. E., & Arjona-Román, J. L. (2018). Thermal, Structural, and Rheological Characterization of Waxy Starch as a Cryogel for Its Application in Food Processing. *Polymers* 2018, Vol. 10, Page 359, 10(4), 359.
<https://doi.org/10.3390/POLYM10040359>
- Cui, C., Jia, Y., Sun, Q., Yu, M., Ji, N., Dai, L., Wang, Y., Qin, Y., Xiong, L., & Sun, Q. (2022). Recent advances in the preparation, characterization, and food application of starch-based hydrogels. *Carbohydrate Polymers*, 291, 119624.
<https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2022.119624>
- Dai, L., Zhan, X., Wei, Y., Sun, C., Mao, L., McClements, D. J., & Gao, Y. (2018). Composite zein - propylene glycol alginate particles prepared using solvent evaporation: Characterization and application as Pickering emulsion stabilizers. *Food Hydrocolloids*, 85, 281–290.
<https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2018.07.013>
- Datta, N., & Deeth, H. (1999). High pressure processing of milk and dairy products. *Australian Journal of Dairy Technology*.

- Datta, Nivedita, Hayes, M. G., Deeth, H. C., & Kelly, A. L. (2005). Significance of frictional heating for effects of high pressure homogenisation on milk. *Journal of Dairy Research*, 72(4), 393–399. <https://doi.org/10.1017/S0022029905001056>
- De Bondt, Y., Rosa-Sibakov, N., Liberloo, I., Roye, C., Van de Walle, D., Dewettinck, K., Goos, P., Nordlund, E., & Courtin, C. M. (2020). Study into the effect of microfluidisation processing parameters on the physicochemical properties of wheat (*Triticum aestivum* L.) bran. *Food Chemistry*, 305, 125436. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2019.125436>
- Degner, B. M., Chung, C., Schlegel, V., Hutkins, R., & McClements, D. J. (2014). Factors Influencing the Freeze-Thaw Stability of Emulsion-Based Foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(2), 98–113. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12050>
- Deng, L., & Manthey, F. A. (2017). Effect of Single-Pass and Multipass Milling Systems on Whole Wheat Durum Flour and Whole Wheat Pasta Quality. *Cereal Chemistry*, 94(6), 963–969. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-05-17-0087-R>
- Deng, W., Li, Y., Wu, L., & Chen, S. (2022). Pickering emulsions stabilized by polysaccharides particles and their applications: a review. *Food Science and Technology*, 42, e24722. <https://doi.org/10.1590/FST.24722>
- Dickinson, E. (2010). Food emulsions and foams: Stabilization by particles. In *Current Opinion in Colloid and Interface Science* (Vol. 15, Issues 1–2, pp. 40–49). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2009.11.001>
- Dickinson, E. (2015). Microgels — An alternative colloidal ingredient for stabilization of food emulsions. *Trends in Food Science & Technology*, 43(2), 178–188. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2015.02.006>
- Diels, A. M. J., & Michiels, C. W. (2008). High-Pressure Homogenization as a Non-Thermal Technique for the Inactivation of Microorganisms. *Http://Dx.Doi.Org/10.1080/10408410601023516*, 32(4), 201–216. <https://doi.org/10.1080/10408410601023516>
- Dille, M. J., Draget, K. I., & Hattrem, M. N. (2015). The effect of filler particles on the texture of food gels. In *Modifying Food Texture: Novel Ingredients and Processing Techniques* (pp. 183–200). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-333-1.00009-7>
- Dong, H., Zhang, Q., Gao, J., Chen, L., & Vasanthan, T. (2021). Comparison of morphology and rheology of starch nanoparticles prepared from pulse and cereal starches by rapid antisolvent nanoprecipitation. *Food Hydrocolloids*, 119, 106828. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2021.106828>
- Dong, H., Zhang, Q., Gao, J., Chen, L., & Vasanthan, T. (2022). Preparation and characterization of nanoparticles from field pea starch by batch versus continuous nanoprecipitation techniques. *Food Hydrocolloids*, 122, 107098. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2021.107098>
- Doutch, J., & Gilbert, E. P. (2013). Characterisation of large scale structures in starch granules via small-angle neutron and X-ray scattering. *Carbohydrate Polymers*,

91(1), 444–451. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2012.08.002>

- Dufresne, A., Cavaille, J. Y., & Helbert, W. (1996). New nanocomposite materials: Microcrystalline starch reinforced thermoplastic. *Macromolecules*, 29(23), 7624–7626. <https://doi.org/10.1021/MA9602738/ASSET/IMAGES/MEDIUM/MA9602738E00004.GIF>
- Dumay, E., Chevalier-Lucia, D., Picart-Palmade, L., Benzaria, A., Gràcia-Julià, A., & Blayo, C. (2013). Technological aspects and potential applications of (ultra) high-pressure homogenisation. *Trends in Food Science & Technology*, 31(1), 13–26. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2012.03.005>
- Dundar, A. N., & Gocmen, D. (2013). Effects of autoclaving temperature and storing time on resistant starch formation and its functional and physicochemical properties. *Carbohydrate Polymers*, 97(2), 764–771. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2013.04.083>
- Durrani, C. M., & Donald, A. M. (1995). Physical characterisation of amylopectin gels. *Polymer Gels and Networks*, 3(1), 1–27. [https://doi.org/10.1016/0966-7822\(94\)00005-R](https://doi.org/10.1016/0966-7822(94)00005-R)
- El Seoud, O. A., Kostag, M., Jedvert, K., Malek O A El Seoud, N. I., Kostag, M., Jedvert, K., & Malek, N. I. (2020). Cellulose Regeneration and Chemical Recycling: Closing the “Cellulose Gap” Using Environmentally Benign Solvents. *Macromolecular Materials and Engineering*, 305(4), 1900832. <https://doi.org/10.1002/MAME.201900832>
- Englyst, H. N., & Cummings, J. H. (1985). Digestion of the polysaccharides of some cereal foods in the human small intestine. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 42(5), 778–787. <https://doi.org/10.1093/AJCN/42.5.778>
- Englyst, Hans N., & Kingman, S. M. (1990). Dietary Fiber and Resistant Starch. *Dietary Fiber*, 49–65. https://doi.org/10.1007/978-1-4613-0519-4_4
- Englyst, Hans N., Kingman, S. M., & Cummings, J. H. (1992a). Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *European Journal of Clinical Nutrition*, 46 Suppl 2(SUPPL. 2), S33-50. <https://europepmc.org/article/med/1330528>
- Englyst, Hans N., Kingman, S. M., & Cummings, J. H. (1992b). Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *European Journal of Clinical Nutrition*, 46 Suppl 2(SUPPL. 2), S33-50. <https://europepmc.org/article/med/1330528>
- Englyst, Hans N., Kingman, S. M., Hudson, G. J., & Cummings, J. H. (1996). Measurement of resistant starch in vitro and in vivo . *British Journal of Nutrition*, 75(5), 749–755. <https://doi.org/10.1079/bjn19960178>
- Englyst, Hans N., Wiggins, H. S., & Cummings, J. H. (1982). Determination of the non-starch polysaccharides in plant foods by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates. *Analyst*, 107(1272), 307–318. <https://doi.org/10.1039/AN9820700307>

- Englyst, K. N., Englyst, H. N., Hudson, G. J., Cole, T. J., & Cummings, J. H. (1999). Rapidly available glucose in foods: an in vitro measurement that reflects the glycemic response. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 69(3), 448–454. <https://doi.org/10.1093/AJCN/69.3.448>
- Everett, D. H. (1972). Manual of symbols and terminology for physicochemical quantities and units. *Pure and Applied Chemistry*, 31(4), 577–638. <https://doi.org/10.1351/pac197231040577>
- Ezeoha, S., & Ezenwanne, J. (2013). Production of biodegradable plastic packaging film from cassava starch. *IOSR Journal of Engineering (IOSRJEN)*. <https://www.academia.edu/download/32242761/C031051420.pdf>
- Fall, A., Bertrand, F., Ovarlez, G., & Bonn, D. (2012). Shear thickening of cornstarch suspensions. *Journal of Rheology*, 56(3), 575–591. <https://doi.org/10.1122/1.3696875>
- Falsafi, S. R., Maghsoudlou, Y., Rostamabadi, H., Rostamabadi, M. M., Hamed, H., & Hosseini, S. M. H. (2019). Preparation of physically modified oat starch with different sonication treatments. *Food Hydrocolloids*, 89, 311–320. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2018.10.046>
- Fang, J. M., Fowler, P. A., Tomkinson, J., & Hill, C. A. S. (2002). The preparation and characterisation of a series of chemically modified potato starches. *Carbohydrate Polymers*, 47(3), 245–252. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(01\)00187-4](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(01)00187-4)
- Fathi, M., Martín, Á., & McClements, D. J. (2014). Nanoencapsulation of food ingredients using carbohydrate based delivery systems. *Trends in Food Science & Technology*, 39(1), 18–39. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2014.06.007>
- Ferry, J. D. (1980). Viscoelastic properties of polymers, 3rd edition. *Wiley, New York*, 672.
- Fessi, H., Puisieux, F., & Devissaguet, J. P. (1992). Procédé de préparation de systèmes colloïdaux dispersibles d'une substance, sous forme de nanocapsules. *European Patent Office, No. 874029*.
- Fessi, H., Puisieux, F., Devissaguet, J. P., Ammoury, N., & Benita, S. (1989). Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement. *International Journal of Pharmaceutics*, 55(1), R1–R4. [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(89\)90281-0](https://doi.org/10.1016/0378-5173(89)90281-0)
- French, D. (1984). Organization of starch granules. *Starch: Chemistry and Technology*, 183–247. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-746270-7.50013-6>
- Fuentes-Zaragoza, E., Riquelme-Navarrete, M. J., Sánchez-Zapata, E., & Pérez-Álvarez, J. A. (2010). Resistant starch as functional ingredient: A review. *Food Research International*, 43(4), 931–942. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2010.02.004>
- Fuentes-Zaragoza, E., Sánchez-Zapata, E., Sendra, E., Sayas, E., Navarro, C., Fernández-López, J., & Pérez-Alvarez, J. A. (2011). Resistant starch as prebiotic: A review. *Starch - Stärke*, 63(7), 406–415.

<https://doi.org/10.1002/STAR.201000099>

- Gałkowska, D., Pycia, K., Juszczak, L., & Pająk, P. (2014). Influence of cassia gum on rheological and textural properties of native potato and corn starch. *Starch/Staerke*, 66(11–12), 1060–1070. <https://doi.org/10.1002/star.201400078>
- García-Alonso, A., Jiménez-Escrig, A., Martín-Carrón, N., Bravo, L., & Saura-Calixto, F. (1999). Assessment of some parameters involved in the gelatinization and retrogradation of starch. *Food Chemistry*, 66(2), 181–187. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00261-1](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00261-1)
- García-Díaz, S., Hernández-Jaimes, C., Escalona-Buendía, H. B., Bello-Pérez, L. A., Vernon-Carter, E. J., & Álvarez-Ramírez, J. (2016). Effects of CaCO₃ treatment on the morphology, crystallinity, rheology and hydrolysis of gelatinized maize starch dispersions. *Food Chemistry*, 207, 139–147. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.095>
- Gaulin, A. (1902). *System for intimately mixing milk*.
- Ge, S., Xiong, L., Li, M., Liu, J., Yang, J., Chang, R., Liang, C., & Sun, Q. (2017). Characterizations of Pickering emulsions stabilized by starch nanoparticles: Influence of starch variety and particle size. *Food Chemistry*, 234, 339–347. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2017.04.150>
- Gestranius, M., Stenius, P., Kontturi, E., Sjöblom, J., & Tammelin, T. (2017). Phase behaviour and droplet size of oil-in-water Pickering emulsions stabilised with plant-derived nanocellulosic materials. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 519, 60–70. <https://doi.org/10.1016/J.COLSURFA.2016.04.025>
- Gilbert, R. G., Witt, T., & Hasjim, J. (2013). What is being learned about starch properties from multiple-level characterization. *Cereal Chemistry*, 90(4), 312–325. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-11-12-0141-FI>
- Giuberti, G., Gallo, A., Fortunati, P., & Rossi, F. (2016). Influence of high-amylose maize starch addition on in vitro starch digestibility and sensory characteristics of cookies. *Starch - Stärke*, 68(5–6), 469–475. <https://doi.org/10.1002/STAR.201500228>
- Gokhale, J. P., Mahajan, H. S., & Surana, S. S. (2019). Quercetin loaded nanoemulsion-based gel for rheumatoid arthritis: In vivo and in vitro studies. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 112, 108622. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2019.108622>
- Gokul Nath, K., Pandiselvam, R., & Sunil, C. K. (2023). High-pressure processing: Effect on textural properties of food- A review. *Journal of Food Engineering*, 351, 111521. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2023.111521>
- Gómez-Luría, D., Vernon-Carter, E. J., Álvarez-Ramírez, J., & Cruz-Sosa, F. (2019). Insights of the ability of gelatinized fractions from non-chemical modified corn, rice, wheat, and waxy corn starches to stabilize O/W emulsions. *Food Hydrocolloids*, 89, 726–734. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2018.11.045>
- Gong, H., Song, X., Zhang, J., Zhang, B., & Zhu, W. (2022). Effects of Dry Heat

- Treatment on Characteristics of Hydrophobically Modified Rice Starch and its Emulsification in Pickering Emulsion. *Starch - Stärke*, 74(1–2), 2100131. <https://doi.org/10.1002/STAR.202100131>
- González-Soto, R. A., Sánchez-Hernández, L., Solorza-Feria, J., Núñez-Santiago, C., Flores-Huicochea, E., & Bello-Pérez, L. A. (2006). *Resistant Starch Production from Non-conventional Starch Sources by Extrusion*. <https://doi.org/10.1177/1082013206060735>
- Griebel, S., Webb, M. M., Campanella, O. H., Craig, B. A., Weil, C. F., & Tuinstra, M. R. (2019). The alkali spreading phenotype in *Sorghum bicolor* and its relationship to starch gelatinization. *Journal of Cereal Science*, 86, 41–47. <https://doi.org/10.1016/J.JCS.2019.01.002>
- Gudmundsson, M. (1994). Retrogradation of starch and the role of its components. *Thermochimica Acta*, 246(2), 329–341. [https://doi.org/10.1016/0040-6031\(94\)80100-2](https://doi.org/10.1016/0040-6031(94)80100-2)
- Guida, C., Aguiar, A. C., & Cunha, R. L. (2021). Green techniques for starch modification to stabilize Pickering emulsions: a current review and future perspectives. In *Current Opinion in Food Science* (Vol. 38, pp. 52–61). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.10.017>
- Guo, J., Gutierrez, A., Tan, L., & Kong, L. (2023). Considerations and strategies for optimizing health benefits of resistant starch. *Current Opinion in Food Science*, 51, 101008. <https://doi.org/10.1016/J.COFS.2023.101008>
- Gutiérrez, G., Morán, D., Marefati, A., Puhagen, J., Rayner, M., & Matos, M. (2020). Synthesis of controlled size starch nanoparticles (SNPs). *Carbohydrate Polymers*, 250, 116938. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2020.116938>
- Haaj, S. B., Magnin, A., & Boufi, S. (2014). Starch nanoparticles produced via ultrasonication as a sustainable stabilizer in Pickering emulsion polymerization. *RSC Advances*, 4(80), 42638–42646. <https://doi.org/10.1039/C4RA06194B>
- Haaj, S. B., Magnin, A., Pétrier, C., & Boufi, S. (2013). Starch nanoparticles formation via high power ultrasonication. *Carbohydrate Polymers*, 92(2), 1625–1632. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.11.022>
- Haaj, S. B., Thielemans, W., Magnin, A., & Boufi, S. (2014). Starch nanocrystal stabilized pickering emulsion polymerization for nanocomposites with improved performance. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 6(11), 8263–8273. https://doi.org/10.1021/AM501077E/ASSET/IMAGES/MEDIUM/AM-2014-01077E_0012.GIF
- Haaj, S. B., Thielemans, W., Magnin, A., & Boufi, S. (2016). Starch nanocrystals and starch nanoparticles from waxy maize as nanoreinforcement: A comparative study. *Carbohydrate Polymers*, 143, 310–317. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2016.01.061>
- Han, L., Huang, J., Yu, Y., Thakur, K., Wei, Z., Xiao, L., & Yang, X. (2023). The alterations in granule, shell, blocklets, and molecular structure of pea starch induced by ultrasound. *International Journal of Biological Macromolecules*, 240,

124319. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2023.124319>

- Harsanto, B. W., Pranoto, Y., Supriyanto, & Kartini, I. (2021). Breadfruit-Based Starch Nanoparticles Prepared Using Nanoprecipitation to Stabilize a Pickering Emulsion. *Journal of Southwest Jiaotong University*, 56(3), 372–383. <https://doi.org/10.35741/ISSN.0258-2724.56.3.31>
- Hasenhuettl, G., & Hartel, R. (2008). *Food emulsifiers and their applications*. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-75284-6>
- Hasjim, J., Ai, Y., & Jane, J. (2013). Novel Applications of Amylose-Lipid Complex as Resistant Starch Type 5. *Resistant Starch*, 79–94. <https://doi.org/10.1002/9781118528723.CH4>
- Hassan, N. A., Darwesh, O. M., Smuda, S. S., Altemimi, A. B., Hu, A., Cacciola, F., Haoujar, I., & Abdelmaksoud, T. G. (2022). Recent Trends in the Preparation of Nano-Starch Particles. *Molecules* 2022, Vol. 27, Page 5497, 27(17), 5497. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES27175497>
- He, W., & Wei, C. (2017). Progress in C-type starches from different plant sources. *Food Hydrocolloids*, 73, 162–175. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2017.07.003>
- He, Y., Wu, F., Sun, X., Li, R., Guo, Y., Li, C., Zhang, L., Xing, F., Wang, W., & Gao, J. (2013). Factors that affect pickering emulsions stabilized by graphene oxide. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 5(11), 4843–4855. https://doi.org/10.1021/AM400582N/SUPPL_FILE/AM400582N_SI_001.PDF
- Hedayati, S., Niakousari, M., & Mohsenpour, Z. (2020). Production of tapioca starch nanoparticles by nanoprecipitation-sonication treatment. *International Journal of Biological Macromolecules*, 143, 136–142. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2019.12.003>
- Hernandez-Hernandez, O., Julio-Gonzalez, L. C., Doyagüez, E. G., & Gutiérrez, T. J. (2022). Structure-digestibility relationship from noodles based on organocatalytically esterified regular and waxy corn starch obtained by reactive extrusion using sodium propionate. *Food Hydrocolloids*, 131, 107825. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2022.107825>
- Hite, B. H., Giddings, N. J., & Weakley, C. E. (1914). The Effect of Pressure on Certain Micro-Organisms Encountered in the Preservation of Fruits and Vegetables Digital Commons Citation. *West Virginia Agricultural and Forestry Experiment Station Bulletins*. https://researchrepository.wvu.edu/wv_agricultural_and_forestry_experiment_station_bulletins/146
- Hizukuri, S. (1985). Relationship between the distribution of the chain length of amylopectin and the crystalline structure of starch granules. *Carbohydrate Research*, 141(2), 295–306. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)90461-0](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)90461-0)
- Hizukuri, S., Kaneko, T., & Takeda, Y. (1983). Measurement of the chain length of amylopectin and its relevance to the origin of crystalline polymorphism of starch granules. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 760(1), 188–

191. [https://doi.org/10.1016/0304-4165\(83\)90142-3](https://doi.org/10.1016/0304-4165(83)90142-3)

- Hoover, R. (2001). Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: a review. *Carbohydrate Polymers*, 45(3), 253–267. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(00\)00260-5](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(00)00260-5)
- Hoover, R., Hughes, T., Chung, H. J., & Liu, Q. (2010). Composition, molecular structure, properties, and modification of pulse starches: A review. In *Food Research International* (Vol. 43, Issue 2, pp. 399–413). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.001>
- Hu, A., Li, L., Zheng, J., Lu, J., Meng, X., & Liu, Y. (2014). Different-frequency ultrasonic effects on properties and structure of corn starch. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(14), 2929–2934. <https://doi.org/10.1002/JSFA.6636>
- Huang, Q., Huang, Q., Wang, Y., & Lu, X. (2022). Development of wet media milled purple sweet potato particle-stabilized pickering emulsions: The synergistic role of bioactives, starch and cellulose. *LWT*, 155, 112964. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2021.112964>
- Ismail, H., Irani, M., & Ahmad, Z. (2013). Starch-based hydrogels: Present status and applications. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 62(7), 411–420. <https://doi.org/10.1080/00914037.2012.719141>
- Iván Martínez-Muñoz, O., Fernando Ospina-Giraldo, L., & Elizabeth Mora-Huertas, C. (2021). Nanoprecipitation: Applications for Entrapping Active Molecules of Interest in Pharmaceuticals. *Nano- and Microencapsulation - Techniques and Applications*. <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.93338>
- Ivanković, T., & Hrenović, J. (2010). Surfactants in the Environment. *Arhiv Za Higijenu Rada i Toksikologiju*, 61(1), 95–109. <https://doi.org/10.2478/10004-1254-61-2010-1943>
- Jackson, C., Clayden, S., & Reyes-Prieto, A. (2015). The Glaucophyta: the blue-green plants in a nutshell. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 84(2), 149–165. <https://doi.org/10.5586/ASBP.2015.020>
- Jafari, S. M., Assadpour, E., He, Y., & Bhandari, B. (2008). Re-coalescence of emulsion droplets during high-energy emulsification. *Food Hydrocolloids*, 22(7), 1191–1202. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2007.09.006>
- Jafari, S. M., Paximada, P., Mandala, I., Assadpour, E., & Mehrnia, M. A. (2017). Encapsulation by nanoemulsions. *Nanoencapsulation Technologies for the Food and Nutraceutical Industries*, 36–73. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809436-5.00002-1>
- Jasmina, H., Džana, O., Alisa, E., Edina, V., & Ognjenka, R. (2017). Preparation of nanoemulsions by high-energy and lowenergy emulsification methods. *IFMBE Proceedings*, 62, 317–322. https://doi.org/10.1007/978-981-10-4166-2_48/COVER
- Jenkins, D. J. A., Kendall, C. W. C., Augustin, L. S. A., Franceschi, S., Hamidi, M., Marchie, A., Jenkins, A. L., & Axelsen, M. (2002). Glycemic index: overview of

- implications in health and disease,,,. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 76(1), 266S-273S. <https://doi.org/10.1093/AJCN/76.1.266S>
- Jenkins, P. J., & Donald, A. M. (1998). Gelatinisation of starch: a combined SAXS/WAXS/DSC and SANS study. *Carbohydrate Research*, 308(1–2), 133–147. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(98\)00079-2](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(98)00079-2)
- Jhan, F., Shah, A., Gani, A., Ahmad, M., & Noor, N. (2020). Nano-reduction of starch from underutilised millets: Effect on structural, thermal, morphological and nutraceutical properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 159, 1113–1121. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2020.05.020>
- Ji, Y., Wong, K., Hasjim, J., Pollak, L. M., Duvick, S., Jane, J., & White, P. J. (2003). Structure and function of starch from advanced generations of new corn lines. *Carbohydrate Polymers*, 54(3), 305–319. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(03\)00181-4](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(03)00181-4)
- Jiamjariyatam, R., Kongpensook, V., & Pradipasena, P. (2015). Effects of amylose content, cooling rate and aging time on properties and characteristics of rice starch gels and puffed products. *Journal of Cereal Science*, 61, 16–25. <https://doi.org/10.1016/J.JCS.2014.10.001>
- Jiang, B., Li, W., Shen, Q., Hu, X., & Wu, J. (2015). Effects of high hydrostatic pressure on rheological properties of rice starch. *International Journal of Food Properties*, 18(6), 1334–1344. <https://doi.org/10.1080/10942912.2012.709209>
- Jiang, F., Du, C., Zhao, N., Jiang, W., Yu, X., & Du, S. kui. (2022). Preparation and characterization of quinoa starch nanoparticles as quercetin carriers. *Food Chemistry*, 369, 130895. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2021.130895>
- Jiang, S., Dai, L., Qin, Y., Xiong, L., & Sun, Q. (2016). Preparation and Characterization of Octenyl Succinic Anhydride Modified Taro Starch Nanoparticles. *PLOS ONE*, 11(2), e0150043. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0150043>
- Jing-ming, L., & Sen-lin, Z. (1990). Scanning Electron Microscope Study on Gelatinization of Starch Granules in Excess Water. *Starch - Stärke*, 42(3), 96–98. <https://doi.org/10.1002/star.19900420305>
- Jo, M., Ban, C., Goh, K. K. T., & Choi, Y. J. (2018). Gastrointestinal digestion and stability of submicron-sized emulsions stabilized using waxy maize starch crystals. *Food Hydrocolloids*, 84, 343–352. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2018.06.026>
- Jo, M., Ban, C., Goh, K. K. T., & Choi, Y. J. (2019). Influence of chitosan-coating on the stability and digestion of emulsions stabilized by waxy maize starch crystals. *Food Hydrocolloids*, 94, 603–612. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2019.04.010>
- Jo, M., Ban, C., Goh, K. K. T., & Choi, Y. J. (2021). Enhancement of the gut-retention time of resveratrol using waxy maize starch nanocrystal-stabilized and chitosan-coated Pickering emulsions. *Food Hydrocolloids*, 112, 106291. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2020.106291>

- Jo, M., Ban, C., Goh, K. K. T., & Choi, Y. J. (2023). Enhancement of the intestinal permeability of curcumin using Pickering emulsions stabilized by starch crystals and chitosan. *Food Chemistry*, 405, 134889. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2022.134889>
- Joye, I. J., & McClements, D. J. (2013). Production of nanoparticles by anti-solvent precipitation for use in food systems. *Trends in Food Science & Technology*, 34(2), 109–123. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2013.10.002>
- Juarez-Arellano, E. A., Urzua-Valenzuela, M., Peña-Rico, M. A., Aparicio-Saguilan, A., Valera-Zaragoza, M., Huerta-Heredia, A. A., & Navarro-Mtz, A. K. (2021). Planetary ball-mill as a versatile tool to controlled potato starch modification to broaden its industrial applications. *Food Research International*, 140, 109870. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2020.109870>
- Junejo, S. A., Flanagan, B. M., Zhang, B., & Dhital, S. (2022). Starch structure and nutritional functionality – Past revelations and future prospects. *Carbohydrate Polymers*, 277, 118837. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2021.118837>
- Kabiri, K., Omidian, H., Zohuriaan-Mehr, M. J., & Doroudiani, S. (2011). Superabsorbent hydrogel composites and nanocomposites: A review. In *Polymer Composites* (Vol. 32, Issue 2, pp. 277–289). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/pc.21046>
- Kaczmarek, K., Grabowska, B., Spychaj, T., Zdanowicz, M., Sitarz, M., Bobrowski, A., & Cukrowicz, S. (2018). Effect of microwave treatment on structure of binders based on sodium carboxymethyl starch: FT-IR, FT-Raman and XRD investigations. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 199, 387–393. <https://doi.org/10.1016/J.SAA.2018.03.047>
- Kaganyuk, M., & Mohraz, A. (2019). Role of particles in the rheology of solid-stabilized high internal phase emulsions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 540, 197–206. <https://doi.org/10.1016/J.JCIS.2018.12.098>
- Kalashnikova, I., Bizot, H., Cathala, B., & Capron, I. (2011). New pickering emulsions stabilized by bacterial cellulose nanocrystals. *Langmuir*, 27(12), 7471–7479. https://doi.org/10.1021/LA200971F/SUPPL_FILE/LA200971F_SI_001.PDF
- Kamwilaisak, K., Rittiwut, K., Jutakradsada, P., Iamamorphanth, W., Pimsawat, N., Knijnenburg, J. T. N., & Theerakulpisut, S. (2022). Rheology, stability, antioxidant properties, and curcumin release of oil-in-water Pickering emulsions stabilized by rice starch nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*, 214, 370–380. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2022.06.032>
- Kardos, N., & Luche, J. L. (2001). Sonochemistry of carbohydrate compounds. *Carbohydrate Research*, 332(2), 115–131. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(01\)00081-7](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(01)00081-7)
- Karim, A. A., Nadiha, M. Z., Chen, F. K., Phuah, Y. P., Chui, Y. M., & Fazilah, A. (2008). Pasting and retrogradation properties of alkali-treated sago (Metroxylon sago) starch. *Food Hydrocolloids*, 22(6), 1044–1053. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2007.05.011>

- Kasprzak, M. M., Macnaughtan, W., Harding, S., Wilde, P., & Wolf, B. (2018). Stabilisation of oil-in-water emulsions with non-chemical modified gelatinised starch. *Food Hydrocolloids*, *81*, 409–418. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2018.03.002>
- Kaur, K., Tandon, R., Kalia, A., & Babu, J. N. (2023). Fabrication of Monarda citriodora essential oil nanoemulsions: characterization and antifungal activity against *Penicillium digitatum* of kinnow. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 1–17. <https://doi.org/10.1007/S11694-023-01821-Y/FIGURES/11>
- Keenan, M. J., Zhou, J., Hegsted, M., Pelkman, C., Durham, H. A., Coulon, D. B., & Martin, R. J. (2015). Role of Resistant Starch in Improving Gut Health, Adiposity, and Insulin Resistance. *Advances in Nutrition*, *6*(2), 198–205. <https://doi.org/10.3945/AN.114.007419>
- Kees de Kruif, C. G., Anema, S. G., Zhu, C., Havea, P., & Coker, C. (2015). Water holding capacity and swelling of casein hydrogels. *Food Hydrocolloids*, *44*, 372–379. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2014.10.007>
- Keetels, C. J. A. M., Oostergetel, G. T., & Van Vliet, T. (1996). Recrystallization of amylopectin in concentrated starch gels. *Carbohydrate Polymers*, *30*(1), 61–64. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(96\)00057-4](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(96)00057-4)
- Kihlberg, I., Johansson, L., Kohler, A., & Risvik, E. (2004). Sensory qualities of whole wheat pan bread—influence of farming system, milling and baking technique. *Journal of Cereal Science*, *39*(1), 67–84. [https://doi.org/10.1016/S0733-5210\(03\)00067-5](https://doi.org/10.1016/S0733-5210(03)00067-5)
- Kim, H. S., Kim, B. Y., & Baik, M. Y. (2011). Application of Ultra High Pressure (UHP) in Starch Chemistry. [Http://Dx.Doi.Org/10.1080/10408398.2010.498065](http://Dx.Doi.Org/10.1080/10408398.2010.498065), *52*(2), 123–141. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.498065>
- Kim, H. Y., Han, J. A., Kweon, D. K., Park, J. D., & Lim, S. T. (2013). Effect of ultrasonic treatments on nanoparticle preparation of acid-hydrolyzed waxy maize starch. *Carbohydrate Polymers*, *93*(2), 582–588. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2012.12.050>
- Kim, H. Y., Park, D. J., Kim, J. Y., & Lim, S. T. (2013). Preparation of crystalline starch nanoparticles using cold acid hydrolysis and ultrasonication. *Carbohydrate Polymers*, *98*(1), 295–301. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2013.05.085>
- Kim, H. Y., Park, S. S., & Lim, S. T. (2015). Preparation, characterization and utilization of starch nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *126*, 607–620. <https://doi.org/10.1016/J.COLSURFB.2014.11.011>
- Kizil, R., Irudayaraj, J., & Seetharaman, K. (2002). Characterization of Irradiated Starches by Using FT-Raman and FTIR Spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(14), 3912–3918. <https://doi.org/10.1021/JF011652P>
- Ko, E. B., & Kim, J. Y. (2021). Application of starch nanoparticles as a stabilizer for Pickering emulsions: Effect of environmental factors and approach for enhancing its storage stability. *Food Hydrocolloids*, *120*, 106984.

<https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2021.106984>

- Komura, S., Hirose, Y., & Nonomura, Y. (2006). Adsorption of colloidal particles to curved interfaces. *The Journal of Chemical Physics*, *124*(24), 241104. <https://doi.org/10.1063/1.2216697>
- Kralova, I., & Sjöblom, J. (2009). Surfactants Used in Food Industry: A Review. <https://doi.org/10.1080/01932690902735561>, *30*(9), 1363–1383. <https://doi.org/10.1080/01932690902735561>
- Kumar, S., Arora, S., Kumar, V., Joshi, S., Naik, B., Bisht, B., Tomar, M. S., & Gururani, P. (2022). Physicochemical, nutritional, and sensory characteristics of *Chenopodium album*, ashwagandha, flaxseed, and Giloy fortified bun. *Journal of Food Processing and Preservation*, *46*(12), e17265. <https://doi.org/10.1111/JFPP.17265>
- Lagarrigue, S., & Alvarez, G. (2001). The rheology of starch dispersions at high temperatures and high shear rates: a review. *Journal of Food Engineering*, *50*(4), 189–202. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(00\)00239-9](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(00)00239-9)
- Lahtinen, P., & Vuoti, S. (2015). Starch nanoparticles and process for the manufacture thereof. *WO2015144983A1*, *PCT/FI2015*(WO 2015/144983).
- Lam, R. S. H., & Nickerson, M. T. (2013). Food proteins: A review on their emulsifying properties using a structure-function approach. In *Food Chemistry* (Vol. 141, Issue 2, pp. 975–984). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.038>
- Lam, S., Velikov, K. P., & Velev, O. D. (2014). Pickering stabilization of foams and emulsions with particles of biological origin. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, *19*(5), 490–500. <https://doi.org/10.1016/J.COCIS.2014.07.003>
- Larbey, C., Mentzer, S. M., Ligouis, B., Wurz, S., & Jones, M. K. (2019). Cooked starchy food in hearths ca. 120 kya and 65 kya (MIS 5e and MIS 4) from Klasies River Cave, South Africa. *Journal of Human Evolution*, *131*, 210–227. <https://doi.org/10.1016/J.JHEVOL.2019.03.015>
- Larrea-Wachtendorff, D., Grosso, V. Del, & Ferrari, G. (2022). Evaluation of the Physical Stability of Starch-Based Hydrogels Produced by High-Pressure Processing (HPP). *Gels* 2022, Vol. 8, Page 152, *8*(3), 152. <https://doi.org/10.3390/GELS8030152>
- Larrea-Wachtendorff, D., Sousa, I., & Ferrari, G. (2021). Starch-Based Hydrogels Produced by High-Pressure Processing (HPP): Effect of the Starch Source and Processing Time. *Food Engineering Reviews*, *13*(3), 622–633. <https://doi.org/10.1007/S12393-020-09264-7/FIGURES/5>
- Larrea-Wachtendorff, D., Tabilo-Munizaga, G., & Ferrari, G. (2019). Potato starch hydrogels produced by high hydrostatic pressure (HHP): A first approach. *Polymers*, *11*(10), 1673. <https://doi.org/10.3390/polym11101673>
- Lawal, M. V. (2019). Modified Starches as Direct Compression Excipients – Effect of Physical and Chemical Modifications on Tablet Properties: A Review. *Starch - Stärke*, *71*(1–2), 1800040. <https://doi.org/10.1002/STAR.201800040>

- Le Corre, D., & Angellier-Coussy, H. (2014). Preparation and application of starch nanoparticles for nanocomposites: A review. *Reactive and Functional Polymers*, 85, 97–120. <https://doi.org/10.1016/J.REACTFUNCTPOLYM.2014.09.020>
- Leal-Castañeda, E. J., García-Tejeda, Y., Hernández-Sánchez, H., Alamilla-Beltrán, L., Téllez-Medina, D. I., Calderón-Domínguez, G., García, H. S., & Gutiérrez-López, G. F. (2018). Pickering emulsions stabilized with native and lauroylated amaranth starch. *Food Hydrocolloids*, 80, 177–185. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2018.01.043>
- LeCorre, D., Bras, J., & Dufresne, A. (2011). Influence of botanic origin and amylose content on the morphology of starch nanocrystals. *Journal of Nanoparticle Research*, 13(12), 7193–7208. <https://doi.org/10.1007/S11051-011-0634-2/FIGURES/12>
- Lehmann, U., & Robin, F. (2007). Slowly digestible starch – its structure and health implications: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 18(7), 346–355. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2007.02.009>
- Leite, T. S., de Jesus, A. L. T., Schmiele, M., Tribst, A. A. L., & Cristianini, M. (2017). High pressure processing (HPP) of pea starch: Effect on the gelatinization properties. *LWT - Food Science and Technology*, 76, 361–369. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2016.07.036>
- Lelievre, J. (1976). Theory of gelatinization in a starch-water-solute system. *Polymer*, 17(10), 854–858. [https://doi.org/10.1016/0032-3861\(76\)90250-0](https://doi.org/10.1016/0032-3861(76)90250-0)
- Levine, S., Bowen, B. D., & Partridge, S. J. (1989). Stabilization of emulsions by fine particles I. Partitioning of particles between continuous phase and oil/water interface. *Colloids and Surfaces*, 38(2), 325–343. [https://doi.org/10.1016/0166-6622\(89\)80271-9](https://doi.org/10.1016/0166-6622(89)80271-9)
- Li, Chen, Li, Y., Sun, P., & Yang, C. (2013). Pickering emulsions stabilized by native starch granules. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 431, 142–149. <https://doi.org/10.1016/J.COLSURFA.2013.04.025>
- Li, Chen, Li, Y., Sun, P., & Yang, C. (2014). Starch nanocrystals as particle stabilisers of oil-in-water emulsions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(9), 1802–1807. <https://doi.org/10.1002/JSFA.6495>
- Li, Chen, Sun, P., & Yang, C. (2012). Emulsion stabilized by starch nanocrystals. *Starch/Staerke*, 64(6), 497–502. <https://doi.org/10.1002/STAR.201100178>
- Li, Chunyi, Wang, Q., Zhang, C., Lei, L., Lei, X., Zhang, Y., Li, L., Wang, Q., & Ming, J. (2022). Effect of simultaneous treatment combining ultrasonication and rutin on gliadin in the formation of nanoparticles. *Journal of Food Science*, 87(1), 80–93. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15993>
- Li, H., Gidley, M. J., & Dhital, S. (2019). High-Amylose Starches to Bridge the “Fiber Gap”: Development, Structure, and Nutritional Functionality. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(2), 362–379. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12416>

- Li, M., Daygon, V. D., Solah, V., & Dhital, S. (2021). Starch granule size: Does it matter? <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1992607>
- Li, Q., Huang, Y., Du, Y., Chen, Y., Wu, Y., Zhong, K., Huang, Y., & Gao, H. (2022). Food-grade olive oil Pickering emulsions stabilized by starch/ β -cyclodextrin complex nanoparticles: Improved storage stability and regulatory effects on gut microbiota. *LWT*, *155*, 112950. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2021.112950>
- Li, Shanshan, Xia, Y., Qiu, Y., Chen, X., & Shi, S. (2018). Preparation and property of starch nanoparticles reinforced aldehyde–hydrazide covalently crosslinked PNIPAM hydrogels. *Journal of Applied Polymer Science*, *135*(5), 45761. <https://doi.org/10.1002/APP.45761>
- Li, Songnan, Li, C., Yang, Y., He, X., Zhang, B., Fu, X., Tan, C. P., & Huang, Q. (2019). Starch granules as Pickering emulsifiers: Role of octenylsuccinylation and particle size. *Food Chemistry*, *283*, 437–444. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2019.01.020>
- Li, X., Kuang, Y., Jiang, Y., Dong, H., Han, W., Ding, Q., Lou, J., Wang, Y., Cao, T., Li, J., & Jiao, W. (2022). In vitro gastrointestinal digestibility of corn oil-in-water Pickering emulsions stabilized by three types of nanocellulose. *Carbohydrate Polymers*, *277*, 118835. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2021.118835>
- Li, X. M., Xie, Q. T., Zhu, J., Pan, Y., Meng, R., Zhang, B., Chen, H. Q., & Jin, Z. Y. (2019). Chitosan hydrochloride/carboxymethyl starch complex nanogels as novel Pickering stabilizers: Physical stability and rheological properties. *Food Hydrocolloids*, *93*, 215–225. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2019.02.021>
- Li, Yibo, Zhao, L., Shi, L., Lin, L., Cao, Q., & Wei, C. (2022). Sizes, Components, Crystalline Structure, and Thermal Properties of Starches from Sweet Potato Varieties Originating from Different Countries. *Molecules* *2022*, Vol. 27, Page 1905, *27*(6), 1905. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES27061905>
- Li, Yue, Yang, Y., Zhu, S., Liu, B., Zhong, F., & Huang, D. (2023). Tea polyphenols-OA starch interaction and its impact on interface properties and oxidative stability of O/W emulsion. *Food Hydrocolloids*, *135*, 108187. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2022.108187>
- Liang, R., Jiang, Y., Yokoyama, W., Yang, C., Cao, G., & Zhong, F. (2016). Preparation of Pickering emulsions with short, medium and long chain triacylglycerols stabilized by starch nanocrystals and their: In vitro digestion properties. *RSC Advances*, *6*(101), 99496–99508. <https://doi.org/10.1039/c6ra18468e>
- Lin, H., Qin, L., Hong, H., & Li, Q. (2016). Preparation of Starch Nanoparticles via High-Energy Ball Milling. *Journal of Nano Research*, *40*, 174–179. <https://doi.org/10.4028/WWW.SCIENTIFIC.NET/JNANOR.40.174>
- Lin, N., Huang, J., Chang, P. R., Anderson, D. P., & Yu, J. (2011). Preparation, modification, and application of starch nanocrystals in nanomaterials. *Journal of Nanomaterials*, *2011*, 13. <https://doi.org/10.1155/2011/573687>

- Lin, Q., Liu, Y., Zhou, L., Ji, N., Xiong, L., & Sun, Q. (2022). Green preparation of debranched starch nanoparticles with different crystalline structures by electrostatic spraying. *Food Hydrocolloids*, *127*, 107513. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2022.107513>
- Lin, X., Li, S., Yin, J., Chang, F., Wang, C., He, X., Huang, Q., & Zhang, B. (2020). Anthocyanin-loaded double Pickering emulsion stabilized by octenylsuccinate quinoa starch: Preparation, stability and in vitro gastrointestinal digestion. *International Journal of Biological Macromolecules*, *152*, 1233–1241. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2019.10.220>
- Linke, C., & Drusch, S. (2018). Pickering emulsions in foods - opportunities and limitations. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *58*(12), 1971–1985. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1290578>
- Liu, Cancan, An, F., He, H., He, D., Wang, Y., & Song, H. (2018). Pickering emulsions stabilized by compound modified areca taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) starch with ball-milling and OSA. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, *556*, 185–194. <https://doi.org/10.1016/J.COLSURFA.2018.08.032>
- Liu, Chengzhen, Li, M., Ji, N., Liu, J., Xiong, L., & Sun, Q. (2017). Morphology and characteristics of starch nanoparticles self-assembled via a rapid ultrasonication method for peppermint oil encapsulation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *65*(38), 8363–8373. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b02938>
- Liu, Chong, Liu, L., Li, L., Hao, C., Zheng, X., Bian, K., Zhang, J., & Wang, X. (2015). Effects of different milling processes on whole wheat flour quality and performance in steamed bread making. *LWT - Food Science and Technology*, *62*(1), 310–318. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2014.08.030>
- Liu, D., Wu, Q., Chen, H., & Chang, P. R. (2009). Transitional properties of starch colloid with particle size reduction from micro- to nanometer. *Journal of Colloid and Interface Science*, *339*(1), 117–124. <https://doi.org/10.1016/J.JCIS.2009.07.035>
- Liu, J., & Xu, B. (2019). A comparative study on texture, gelatinisation, retrogradation and potential food application of binary gels made from selected starches and edible gums. *Food Chemistry*, *296*, 100–108. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2019.05.193>
- Liu, Xiao, Ding, S., Wu, J., Liu, G., Wei, J., Yang, F., & Liu, X. (2021). Molecular structures of octenyl succinic anhydride modified starches in relation to their ability to stabilize high internal phase emulsions and oleogels. *Food Hydrocolloids*, *120*, 106953. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2021.106953>
- Liu, Xinghua, Zheng, J., Yang, Y., Chen, Y., & Liu, X. (2018). Preparation of N-doped carbon dots based on starch and their application in white LED. *Optical Materials*, *86*, 530–536. <https://doi.org/10.1016/J.OPTMAT.2018.10.057>
- Liu, Y., Xu, Y., Yan, Y., Hu, D., Yang, L., & Shen, R. (2015). Application of Raman spectroscopy in structure analysis and crystallinity calculation of corn starch. *Starch/Staerke*, *67*(7–8), 612–619. <https://doi.org/10.1002/star.201400246>

- López-Hernández, R. E., García-Solís, S. E., Monroy-Rodríguez, I., Cornejo-Mazón, M., Calderón-Domínguez, G., Alamilla-Beltrán, L., Hernández-Sánchez, H., & Gutiérrez-López, G. F. (2022). Preparation and characterization of canola oil-in-water Pickering emulsions stabilized by barley starch nanocrystals. *Journal of Food Engineering*, *326*, 111037. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2022.111037>
- López-Pedrouso, M., Lorenzo, J. M., Moreira, R., & Franco, D. (2022). Potential applications of Pickering emulsions and high internal-phase emulsions (HIPEs) stabilized by starch particles. *Current Opinion in Food Science*, *46*, 100866. <https://doi.org/10.1016/J.COFS.2022.100866>
- Lopez-Silva, M., Agama-Acevedo, E., Yee-Madeira, H., Bello-Perez, L. A., & Alvarez-Ramirez, J. (2022). Effect of gelatinization degree on emulsification capacity of corn starch esterified with octenyl succinic acid. *Food Chemistry*, *375*, 131657. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2021.131657>
- López Córdoba, A., Deladino, L., & Martino, M. (2013). Effect of starch filler on calcium-alginate hydrogels loaded with yerba mate antioxidants. *Carbohydrate Polymers*, *95*(1), 315–323. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.03.019>
- Lorimer, J. P., & Mason, T. J. (1987). Sonochemistry. Part 1—The physical aspects. *Chemical Society Reviews*, *16*(0), 239–274. <https://doi.org/10.1039/CS9871600239>
- Lozano-Vazquez, G., Alvarez-Ramirez, J., Lobato-Calleros, C., Vernon-Carter, E. J., & Hernández-Marín, N. Y. (2021). Characterization of Corn Starch-Calcium Alginate Xerogels by Microscopy, Thermal, XRD, and FTIR Analyses. *Starch - Stärke*, *73*(7–8), 2000282. <https://doi.org/10.1002/STAR.202000282>
- Lu, X., Li, C., & Huang, Q. (2019). Combining in vitro digestion model with cell culture model: Assessment of encapsulation and delivery of curcumin in milled starch particle stabilized Pickering emulsions. *International Journal of Biological Macromolecules*, *139*, 917–924. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2019.08.078>
- Lu, X., Wang, Y., Li, Y., & Huang, Q. (2018). Assembly of Pickering emulsions using milled starch particles with different amylose/amylopectin ratios. *Food Hydrocolloids*, *84*, 47–57. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2018.05.045>
- Lu, X., Xiao, J., & Huang, Q. (2018). Pickering emulsions stabilized by media-milled starch particles. *Food Research International*, *105*, 140–149. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2017.11.006>
- Lu, X., Zhu, J., Pan, Y., & Huang, Q. (2019). Assessment of dynamic bioaccessibility of curcumin encapsulated in milled starch particle stabilized Pickering emulsions using TNO's gastrointestinal model. *Food & Function*, *10*(5), 2583–2594. <https://doi.org/10.1039/C8FO02495B>
- Lu, Y., Mao, L., Hou, Z., Miao, S., & Gao, Y. (2019). Development of Emulsion Gels for the Delivery of Functional Food Ingredients: from Structure to Functionality. *Food Engineering Reviews*, *11*(4), 245–258. <https://doi.org/10.1007/S12393-019-09194-Z/TABLES/2>

- Luo, X., Cheng, B., Zhang, W., Shu, Z., Wang, P., & Zeng, X. (2021). Structural and functional characteristics of Japonica rice starches with different amylose contents. *Http://Mc.Manuscriptcentral.Com/Tcyt*, 19(1), 532–540. <https://doi.org/10.1080/19476337.2021.1927194>
- Ma, X., Yu, J., He, K., & Wang, N. (2007). The Effects of Different Plasticizers on the Properties of Thermoplastic Starch as Solid Polymer Electrolytes. *Macromolecular Materials and Engineering*, 292(4), 503–510. <https://doi.org/10.1002/MAME.200600445>
- Magallanes-Cruz, P. A., Flores-Silva, P. C., & Bello-Perez, L. A. (2017). Starch Structure Influences Its Digestibility: A Review. *Journal of Food Science*, 82(9), 2016–2023. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13809>
- Makowska, A., Dwiecki, K., Kubiak, P., Baranowska, H. M., & Lewandowicz, G. (2022). Polymer-Solvent Interactions in Modified Starches Pastes—Electrokinetic, Dynamic Light Scattering, Rheological and Low Field Nuclear Magnetic Resonance Approach. *Polymers*, 14(15), 2977. <https://doi.org/10.3390/POLYM14152977/S1>
- Mandala, I., & Apostolidis, E. (2020). Rheological characterization of liquid nanoencapsulated food ingredients by viscometers. In *Characterization of Nanoencapsulated Food Ingredients* (pp. 529–545).
- Maniglia, B. C., Castanha, N., Le-Bail, P., Le-Bail, A., & Augusto, P. E. D. (2020). Starch modification through environmentally friendly alternatives: a review. *Https://Doi.Org/10.1080/10408398.2020.1778633*, 61(15), 2482–2505. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1778633>
- Marefati, A., Wiege, B., Haase, N. U., Matos, M., & Rayner, M. (2017). Pickering emulsifiers based on hydrophobically modified small granular starches – Part I: Manufacturing and physico-chemical characterization. *Carbohydrate Polymers*, 175, 473–483. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.07.044>
- Marta, H., Rizki, D. I., Mardawati, E., Djali, M., Mohammad, M., & Cahyana, Y. (2023). Starch Nanoparticles: Preparation, Properties and Applications. *Polymers 2023, Vol. 15, Page 1167, 15(5)*, 1167. <https://doi.org/10.3390/POLYM15051167>
- Marten, B., Pfeuffer, M., & Schrezenmeir, J. (2006). Medium-chain triglycerides. *International Dairy Journal*, 16(11), 1374–1382. <https://doi.org/10.1016/J.IDAIRYJ.2006.06.015>
- Martín, M. F. S., Barbosa-Cánovas, G. V., & Swanson, B. G. (2002). Food Processing by High Hydrostatic Pressure. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 42(6), 627–645. <https://doi.org/10.1080/20024091054274>
- Matos, M., Laca, A., Rea, F., Iglesias, O., Rayner, M., & Gutiérrez, G. (2018). O/W emulsions stabilized by OSA-modified starch granules versus non-ionic surfactant: Stability, rheological behaviour and resveratrol encapsulation. *Journal of Food Engineering*, 222, 207–217. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2017.11.009>
- Matos, María, Marefati, A., Bordes, R., Gutiérrez, G., & Rayner, M. (2017). Combined

- emulsifying capacity of polysaccharide particles of different size and shape. *Carbohydrate Polymers*, 169, 127–138. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.04.006>
- Matos, María, Timgren, A., Sjöö, M., Dejmek, P., & Rayner, M. (2013). Preparation and encapsulation properties of double Pickering emulsions stabilized by quinoa starch granules. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 423, 147–153. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2013.01.060>
- Matveev, Y. I., Van Soest, J. J. G., Nieman, C., Wasserman, L. A., Protserov, V. A., Ezernitskaja, M., & Yuryev, V. P. (2001). The relationship between thermodynamic and structural properties of low and high amylose maize starches. *Carbohydrate Polymers*, 44(2), 151–160. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(00\)00211-3](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(00)00211-3)
- McClements, D. J. (2007). Critical review of techniques and methodologies for characterization of emulsion stability. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* (Vol. 47, Issue 7, pp. 611–649). David Julian McClements. <https://doi.org/10.1080/10408390701289292>
- McClements, D. J. (2011). Edible nanoemulsions: fabrication, properties, and functional performance. *Soft Matter*, 7(6), 2297–2316. <https://doi.org/10.1039/C0SM00549E>
- McClements, D. J. (2015). *Food emulsions: principles, practices, and techniques*. https://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=YOGYCgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR7&ots=drI1GP_1mi&sig=g7iXIPmv5eyF3RTh__IPqJWKVYQ
- McClements, D. J., Bai, L., & Chung, C. (2017). Recent Advances in the Utilization of Natural Emulsifiers to Form and Stabilize Emulsions. *Annual Review of Food Science and Technology*, 8, 205–236. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-FOOD-030216-030154>
- McClements, D. J., & Gumus, C. E. (2016). Natural emulsifiers — Biosurfactants, phospholipids, biopolymers, and colloidal particles: Molecular and physicochemical basis of functional performance. In *Advances in Colloid and Interface Science* (Vol. 234, pp. 3–26). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2016.03.002>
- McClements, D. J., & Rao, J. (2011). Food-Grade Nanoemulsions: Formulation, Fabrication, Properties, Performance, Biological Fate, and Potential Toxicity. *https://Doi.Org/10.1080/10408398.2011.559558*, 51(4), 285–330. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.559558>
- Meimoun, J., Wiatz, V., Saint-Loup, R., Parcq, J., Favrelle, A., Bonnet, F., & Zinck, P. (2018). Modification of starch by graft copolymerization. *Starch - Stärke*, 70(1–2), 1600351. <https://doi.org/10.1002/STAR.201600351>
- Meyer, K. H., & Bernfeld, P. (1940). Recherches sur l'amidon V. L'amylopectine. *Helvetica Chimica Acta*, 23(1), 875–885. <https://doi.org/10.1002/HLCA.194002301112>
- Mikulcová, V., Bordes, R., & Kašpárková, V. (2016). On the preparation and

- antibacterial activity of emulsions stabilized with nanocellulose particles. *Food Hydrocolloids*, 61, 780–792. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.06.031>
- Miles, M. J., Morris, V. J., Orford, P. D., & Ring, S. G. (1985). The roles of amylose and amylopectin in the gelation and retrogradation of starch. *Carbohydrate Research*, 135(2), 271–281. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)90778-X](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)90778-X)
- Miller, B. S., Derby, R. I., & Trimbo, H. B. (1973). A pictorial explanation for the increase in viscosity of a heated wheat starch - water suspension. *Cereal Chemistry*, 50, 271–280.
- Mitchell, J. (2003). Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement. *International Journal of Food Science and Technology*, 38(7), 839–840. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2003.00667.x>
- Mitri, K., Shegokar, R., Gohla, S., Anselmi, C., & Müller, R. H. (2011). Lipid nanocarriers for dermal delivery of lutein: Preparation, characterization, stability and performance. *International Journal of Pharmaceutics*, 414(1–2), 267–275. <https://doi.org/10.1016/J.IJPHARM.2011.05.008>
- Mohammad Amini, A., & Razavi, S. M. A. (2016). A fast and efficient approach to prepare starch nanocrystals from normal corn starch. *Food Hydrocolloids*, 57, 132–138. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2016.01.022>
- Monroy, Y., Rivero, S., & García, M. A. (2018). Microstructural and techno-functional properties of cassava starch modified by ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 42, 795–804. <https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2017.12.048>
- Motamedi, E., Motesharezedeh, B., Shirinfekr, A., & Samar, S. M. (2020). Synthesis and swelling behavior of environmentally friendly starch-based superabsorbent hydrogels reinforced with natural char nano/micro particles. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(1), 103583. <https://doi.org/10.1016/J.JECE.2019.103583>
- Mua, J. P., & Jackson, D. S. (1997). Relationships between Functional Attributes and Molecular Structures of Amylose and Amylopectin Fractions from Corn Starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(10), 3848–3854. <https://doi.org/10.1021/jf9608783>
- Mucsi, G. (2019). A review on mechanical activation and mechanical alloying in stirred media mill. *Chemical Engineering Research and Design*, 148, 460–474. <https://doi.org/10.1016/J.CHERD.2019.06.029>
- Murray, B. S. (2019). Pickering emulsions for food and drinks. *Current Opinion in Food Science*, 27, 57–63. <https://doi.org/10.1016/J.COFS.2019.05.004>
- Murray, B. S., Durga, K., Yusoff, A., & Stoyanov, S. D. (2011). Stabilization of foams and emulsions by mixtures of surface active food-grade particles and proteins. *Food Hydrocolloids*, 25(4), 627–638. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.07.025>
- Muschiolik, G., & Dickinson, E. (2017). Double Emulsions Relevant to Food Systems: Preparation, Stability, and Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science*

and *Food Safety*, 16(3), 532–555. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12261>

- Nain, V., Kaur, M., Sandhu, K. S., Thory, R., & Sinhmar, A. (2022). Development of Starch Nanoparticle from Mango Kernel in Comparison with Cereal, Tuber, and Legume Starch Nanoparticles: Characterization and Cytotoxicity. *Starch - Stärke*, 74(3–4), 2100252. <https://doi.org/10.1002/STAR.202100252>
- Navaf, M., Sunooj, K. V., Aaliya, B., Sudheesh, C., & George, J. (2020). Physico-chemical, functional, morphological, thermal properties and digestibility of Talipot palm (*Corypha umbraculifera* L.) flour and starch grown in Malabar region of South India. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(3), 1601–1613. <https://doi.org/10.1007/S11694-020-00408-1>
- Nguyen Doan, H. X., Song, Y., Lee, S., Lee, B. H., & Yoo, S. H. (2019). Characterization of rice starch gels reinforced with enzymatically-produced resistant starch. *Food Hydrocolloids*, 91, 76–82. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.01.014>
- Nie, Z., Li, W., Seo, M., Xu, S., & Kumacheva, E. (2006). Janus and ternary particles generated by microfluidic synthesis: Design, synthesis, and self-assembly. *Journal of the American Chemical Society*, 128(29), 9408–9412. https://doi.org/10.1021/JA060882N/SUPPL_FILE/JA060882NSI20060517_043933.PDF
- Nieto-Suaza, L., Acevedo-Guevara, L., Sánchez, L. T., Pinzón, M. I., & Villa, C. C. (2019). Characterization of Aloe vera-banana starch composite films reinforced with curcumin-loaded starch nanoparticles. *Food Structure*, 22, 100131. <https://doi.org/10.1016/J.FOOSTR.2019.100131>
- Nisisako, T., Ando, T., & Hatsuzawa, T. (2014). Capillary-Assisted Fabrication of Biconcave Polymeric Microlenses from Microfluidic Ternary Emulsion Droplets. *Small*, 10(24), 5116–5125. <https://doi.org/10.1002/SMLL.201401269>
- Nobbmann, U., Connah, M., Fish, B., Varley, P., Gee, C., Mulot, S., Chen, J., Zhou, L., Lu, Y., Sheng, F., Yi, J., & Harding, S. E. (2007). Dynamic light scattering as a relative tool for assessing the molecular integrity and stability of monoclonal antibodies. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 24(1), 117–128. <https://doi.org/10.1080/02648725.2007.10648095>
- Noè, C., Tonda-Turo, C., Chiappone, A., Sangermano, M., & Hakkarainen, M. (2020). Light Processable Starch Hydrogels. *Polymers 2020*, Vol. 12, Page 1359, 12(6), 1359. <https://doi.org/10.3390/POLYM12061359>
- Noor, N., Gani, A., Jhan, F., Jenno, J. L. H., & Arif Dar, M. (2021). Resistant starch type 2 from lotus stem: Ultrasonic effect on physical and nutraceutical properties. *Ultrasonics Sonochemistry*, 76, 105655. <https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2021.105655>
- Nunes, F. M., Lopes, E. S., Moreira, A. S. P., Simões, J., Coimbra, M. A., & Domingues, R. M. (2016). Formation of type 4 resistant starch and maltodextrins from amylose and amylopectin upon dry heating: A model study. *Carbohydrate Polymers*, 141, 253–262. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2016.01.002>

- Nurul I., M., Mohd. Azemi, B. M. N., & Manan, D. M. A. (1999). Rheological behaviour of sago (Metroxylon sago) starch paste. *Food Chemistry*, 64(4), 501–505. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00145-9](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00145-9)
- Octave, S., & Thomas, D. (2009). Biorefinery: Toward an industrial metabolism. *Biochimie*, 91(6), 659–664. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCHI.2009.03.015>
- Odeku, O. A. (2013). Potentials of tropical starches as pharmaceutical excipients: A review. *Starch - Stärke*, 65(1–2), 89–106. <https://doi.org/10.1002/STAR.201200076>
- Ogunlaja, S. B., Pal, R., & Sarikhani, K. (2018). Effects of starch nanoparticles on phase inversion of Pickering emulsions. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 96(5), 1089–1097. <https://doi.org/10.1002/CJCE.23078>
- Oh, H. E., Pinder, D. N., Hemar, Y., Anema, S. G., & Wong, M. (2008). Effect of high-pressure treatment on various starch-in-water suspensions. *Food Hydrocolloids*, 22(1), 150–155. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2007.01.028>
- Ojogbo, E., Ogunsona, E. O., & Mekonnen, T. H. (2020). Chemical and physical modifications of starch for renewable polymeric materials. *Materials Today Sustainability*, 7–8, 100028. <https://doi.org/10.1016/J.MTSUST.2019.100028>
- Okumus, B. N., Tacer-Caba, Z., Kahraman, K., & Nilufer-Erdil, D. (2018). Resistant starch type V formation in brown lentil (*Lens culinaris* Medikus) starch with different lipids/fatty acids. *Food Chemistry*, 240, 550–558. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2017.07.157>
- Oladele, E. O. (2017). The Implications of Sample Preparation on the Quantification of Resistant Starch Type 1 and Related Nutritional Starch Fractions in Plantain (*Musa AAB*). *Food Analytical Methods*, 10(6), 1909–1913. <https://doi.org/10.1007/S12161-016-0761-6/FIGURES/1>
- Orford, P. D., Ring, S. G., Carroll, V., Miles, M. J., & Morris, V. J. (1987). The effect of concentration and botanical source on the gelation and retrogradation of starch. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 39(2), 169–177. <https://doi.org/10.1002/JSFA.2740390210>
- Ostwald, W. (1910). Beiträge zur Kenntnis der Emulsionen. *Zeitschrift Für Chemie Und Industrie Der Kolloide*, 6(2), 103–109. <https://doi.org/10.1007/BF01465754/METRICS>
- Øye, G., Simon, S., Rustad, T., & Paso, K. (2023). Trends in food emulsion technology: Pickering, nano-, and double emulsions. *Current Opinion in Food Science*, 50, 101003. <https://doi.org/10.1016/J.COFS.2023.101003>
- Pal, N., Alzahid, Y., AlSofi, A. M., Ali, M., & Hoteit, H. (2023). Review on Microemulsions for Conformance Improvement Technology: Fundamentals, Design Considerations, and Perspectives. *Energy and Fuels*, 37(2), 858–875. https://doi.org/10.1021/ACS.ENERGYFUELS.2C03148/ASSET/IMAGES/MEDIUM/EF2C03148_0013.GIF
- Park, S., & Kim, Y. R. (2021). Clean label starch: production, physicochemical

- characteristics, and industrial applications. *Food Science and Biotechnology*, 30(1), 1–17. <https://doi.org/10.1007/S10068-020-00834-3/FIGURES/1>
- Partridge, D., Lloyd, K. A., Rhodes, J. M., Walker, A. W., Johnstone, A. M., & Campbell, B. J. (2019). Food additives: Assessing the impact of exposure to permitted emulsifiers on bowel and metabolic health – introducing the FADiets study. *Nutrition Bulletin*, 44(4), 329–349. <https://doi.org/10.1111/nbu.12408>
- Patarroyo, J. L., Florez-Rojas, J. S., Pradilla, D., Valderrama-Rincón, J. D., Cruz, J. C., & Reyes, L. H. (2020). Formulation and characterization of gelatin-based hydrogels for the encapsulation of *kluveromyces lactis*-Applications in packed-bed reactors and probiotics delivery in humans. *Polymers*, 12(6), 1287. <https://doi.org/10.3390/POLYM12061287>
- Patel, C. M., Chakraborty, M., & Murthy, Z. V. P. (2016). Fast and scalable preparation of starch nanoparticles by stirred media milling. *Advanced Powder Technology*, 27(4), 1287–1294. <https://doi.org/10.1016/J.APT.2016.04.021>
- Patrignani, F., & Lanciotti, R. (2016). Applications of high and ultra high pressure homogenization for food safety. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1132. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2016.01132/BIBTEX>
- Pavoni, L., Perinelli, D. R., Bonacucina, G., Cespi, M., & Palmieri, G. F. (2020). An Overview of Micro- and Nanoemulsions as Vehicles for Essential Oils: Formulation, Preparation and Stability. *Nanomaterials 2020, Vol. 10, Page 135*, 10(1), 135. <https://doi.org/10.3390/NANO10010135>
- Pei-Ling, L., Xiao-Song, H., & Qun, S. (2010). Effect of high hydrostatic pressure on starches: A review. *Starch - Stärke*, 62(12), 615–628. <https://doi.org/10.1002/STAR.201000001>
- Peleg, M. (1976). TEXTURE PROFILE ANALYSIS PARAMETERS OBTAINED BY AN INSTRON UNIVERSAL TESTING MACHINE. *Journal of Food Science*, 41(3), 721–722. https://doi.org/10.1111/J.1365-2621.1976.TB00710_41_3.X
- Perez-Rea, D., Bergenståhl, B., & Nilsson, L. (2015). Development and evaluation of methods for starch dissolution using asymmetrical flow field-flow fractionation. Part I: Dissolution of amylopectin. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407(15), 4315–4326. <https://doi.org/10.1007/S00216-015-8611-8/TABLES/3>
- Pérez, S., & Bertoft, E. (2010). The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: A comprehensive review. *Starch - Stärke*, 62(8), 389–420. <https://doi.org/10.1002/STAR.201000013>
- Pickering, S. U. (1907). CXCVI. - Emulsions. In *Journal of the Chemical Society, Transactions* (Vol. 91, Issue 0, pp. 2001–2021). The Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/CT9079102001>
- Pigman, T., Horton, W., Foster, D., Whistler, J. F., Paschall, R. L., Schoch, E. F., & Muetgeert, T. J. (1975). Which starch fraction is water-soluble, amylose or amylopectin? *Journal of Chemical Education*, 52(11), 729–730. <https://doi.org/10.1021/ED052P729>

- Pinotsi, D., Grisanti, L., Mahou, P., Gebauer, R., Kaminski, C. F., Hassanali, A., & Kaminski Schierle, G. S. (2016). Proton Transfer and Structure-Specific Fluorescence in Hydrogen Bond-Rich Protein Structures. *Journal of the American Chemical Society*, *138*(9), 3046–3057. https://doi.org/10.1021/JACS.5B11012/SUPPL_FILE/JA5B11012_SI_004.AVI
- Popper, L., & Knorr, D. (1990). Applications of high-pressure homogenization for food preservation : high-pressure homogenization can be used alone or combined with lytic enzyme or chitosan to reduce the microbial population and heat treatment damage in foods. *Food Technology (Chicago)*, *44*(7), 84–89.
- Prabhu, M., Chemodanov, A., Gottlieb, R., Kazir, M., Nahor, O., Gozin, M., Israel, A., Livney, Y. D., & Golberg, A. (2019). Starch from the sea: The green macroalga *Ulva ohnoi* as a potential source for sustainable starch production in the marine biorefinery. *Algal Research*, *37*, 215–227. <https://doi.org/10.1016/J.ALGAL.2018.11.007>
- Prochaska, K., Konował, E., Sulej-Chojnacka, J., & Lewandowicz, G. (2009). Physicochemical properties of cross-linked and acetylated starches and products of their hydrolysis in continuous recycle membrane reactor. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *74*(1), 238–243. <https://doi.org/10.1016/J.COLSURFB.2009.07.034>
- Punia, S. (2020). Barley starch modifications: Physical, chemical and enzymatic - A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, *144*, 578–585. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2019.12.088>
- Putseys, J. A., Lamberts, L., & Delcour, J. A. (2010). Amylose-inclusion complexes: Formation, identity and physico-chemical properties. *Journal of Cereal Science*, *51*(3), 238–247. <https://doi.org/10.1016/J.JCS.2010.01.011>
- Qamruzzaman, M., Ahmed, F., & Mondal, M. I. H. (2022). An Overview on Starch-Based Sustainable Hydrogels: Potential Applications and Aspects. *Journal of Polymers and the Environment*, *30*(1), 19–50. <https://doi.org/10.1007/S10924-021-02180-9/FIGURES/11>
- Qian, C., & McClements, D. J. (2011). Formation of nanoemulsions stabilized by model food-grade emulsifiers using high-pressure homogenization: Factors affecting particle size. *Food Hydrocolloids*, *25*(5), 1000–1008. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2010.09.017>
- Qian, X., Lu, Y., Ge, L., Yin, S., & Wu, D. (2020). Starch nanocrystals as the particle emulsifier to stabilize caprylic/capric triglycerides-in-water emulsions. *Carbohydrate Polymers*, *245*, 116561. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2020.116561>
- Qian, X., Lu, Y., Xie, W., & Wu, D. (2020). Viscoelasticity of olive oil/water Pickering emulsions stabilized with starch nanocrystals. *Carbohydrate Polymers*, *230*, 115575. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2019.115575>
- Qian, X., Peng, G., Ge, L., & Wu, D. (2022). Water-in-water Pickering emulsions stabilized by the starch nanocrystals with various surface modifications. *Journal of Colloid and Interface Science*, *607*, 1613–1624.

<https://doi.org/10.1016/J.JCIS.2021.09.085>

- Qin, Y., Liu, C., Jiang, S., Xiong, L., & Sun, Q. (2016). Characterization of starch nanoparticles prepared by nanoprecipitation: Influence of amylose content and starch type. *Industrial Crops and Products*, 87, 182–190. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2016.04.038>
- Qiu, C., Hu, Y., Jin, Z., McClements, D. J., Qin, Y., Xu, X., & Wang, J. (2019). A review of green techniques for the synthesis of size-controlled starch-based nanoparticles and their applications as nanodelivery systems. *Trends in Food Science & Technology*, 92, 138–151. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2019.08.007>
- Qiu, C., Yang, J., Ge, S., Chang, R., Xiong, L., & Sun, Q. (2016). Preparation and characterization of size-controlled starch nanoparticles based on short linear chains from debranched waxy corn starch. *LWT*, 74, 303–310. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2016.07.062>
- Quezada-Calvillo, R., Robayo-Torres, C. C., Ao, Z., Hamaker, B. R., Quaroni, A., Brayer, G. D., Sterchi, E. E., Baker, S. S., & Nichols, B. L. (2007). Luminal substrate “brake” on mucosal maltase-glucoamylase activity regulates total rate of starch digestion to glucose. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 45(1), 32–43. <https://doi.org/10.1097/MPG.0B013E31804216FC>
- Quintanar-Guerrero, D., Allémann, E., Fessi, H., & Doelker, E. (2008). Preparation Techniques and Mechanisms of Formation of Biodegradable Nanoparticles from Preformed Polymers. [Http://Dx.Doi.Org/10.3109/03639049809108571](http://Dx.Doi.Org/10.3109/03639049809108571), 24(12), 1113–1128. <https://doi.org/10.3109/03639049809108571>
- Raghunathan, R., Pandiselvam, R., Kothakota, A., & Mousavi Khaneghah, A. (2021). The application of emerging non-thermal technologies for the modification of cereal starches. *LWT*, 138, 110795. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2020.110795>
- Rahaman, A., Kumari, A., Zeng, X. A., Adil Farooq, M., Siddique, R., Khalifa, I., Siddeeg, A., Ali, M., & Faisal Manzoor, M. (2021). Ultrasound based modification and structural-functional analysis of corn and cassava starch. *Ultrasonics Sonochemistry*, 80, 105795. <https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2021.105795>
- Rampino, A., Borgogna, M., Blasi, P., Bellich, B., & Cesàro, A. (2013). Chitosan nanoparticles: Preparation, size evolution and stability. *International Journal of Pharmaceutics*, 455(1–2), 219–228. <https://doi.org/10.1016/J.IJPHARM.2013.07.034>
- Ramsden, W. (1904). Separation of solids in the surface-layers of solutions and ‘suspensions’ (observations on surface-membranes, bubbles, emulsions, and mechanical coagulation).—Preliminary account. *Proceedings of the Royal Society of London*, 72(477–486), 156–164. <https://doi.org/10.1098/rspl.1903.0034>
- Ratnayake, W. S., & Jackson, D. S. (2006). Gelatinization and solubility of corn starch during heating in excess water: New insights. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(10), 3712–3716. <https://doi.org/10.1021/JF0529114/ASSET/IMAGES/LARGE/JF0529114F00003.JPEG>

- Ravichandran, C., Srinivasa Rao, P., & Upadhyay, A. (2020). Effect of high-pressure processing on starch modification: A review. *Emerging Technologies in Food Science: Focus on the Developing World*, 201–216. https://doi.org/10.1007/978-981-15-2556-8_17/TABLES/2
- Rayner, M., Marku, D., Eriksson, M., Sjöö, M., Dejmek, P., & Wahlgren, M. (2014). Biomass-based particles for the formulation of Pickering type emulsions in food and topical applications. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 458(1), 48–62. <https://doi.org/10.1016/J.COLSURFA.2014.03.053>
- Rayner, M., Sjöö, M., Timgren, A., & Dejmek, P. (2012). Quinoa starch granules as stabilizing particles for production of Pickering emulsions. *Faraday Discussions*, 158(0), 139–155. <https://doi.org/10.1039/C2FD20038D>
- Rayner, M., Timgren, A., Sjöö, M., & Dejmek, P. (2012). Quinoa starch granules: a candidate for stabilising food-grade Pickering emulsions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(9), 1841–1847. <https://doi.org/10.1002/JSFA.5610>
- Razavi, S. M. A., & Karazhiyan, H. (2012). Rheological and textural characteristics of date paste. *International Journal of Food Properties*, 15(2), 281–291. <https://doi.org/10.1080/10942912.2010.483615>
- Read, E. S., Fujii, S., Amalvy, J. I., Randall, D. P., & Armes, S. P. (2004). Effect of varying the oil phase on the behavior of pH-responsive latex-based emulsifiers: Demulsification versus transitional phase inversion. *Langmuir*, 20(18), 7422–7429. https://doi.org/10.1021/LA049431B/SUPPL_FILE/LA049431BSI20040510_104048.PDF
- Reiner, S. J., Reineccius, G. A., & Peppard, T. L. (2010). A comparison of the stability of beverage cloud emulsions formulated with different gum acacia- and starch-based emulsifiers. *Journal of Food Science*, 75(5). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01625.x>
- Ren, Y., Yuan, T. Z., Chigwedere, C. M., & Ai, Y. (2021). A current review of structure, functional properties, and industrial applications of pulse starches for value-added utilization. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(3), 3061–3092. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12735>
- Rigg, A., Champagne, P., & Cunningham, M. F. (2022). Polysaccharide-Based Nanoparticles as Pickering Emulsifiers in Emulsion Formulations and Heterogenous Polymerization Systems. *Macromolecular Rapid Communications*, 43(3), 2100493. <https://doi.org/10.1002/MARC.202100493>
- Rinaldi, M., Malavasi, M., Cordioli, M., & Barbanti, D. (2018). Investigation of influence of container geometry and starch concentration on thermal treated in-package food models by means of Computational Fluid Dynamics (CFD). *Food and Bioproducts Processing*, 108, 1–11. <https://doi.org/10.1016/J.FBP.2017.12.003>
- Ring, S. G. (1985). Some Studies on Starch Gelation. *Starch - Stärke*, 37(3), 80–83. <https://doi.org/10.1002/star.19850370303>

- Roopa, B. S., & Bhattacharya, S. (2008). Alginate gels: I. Characterization of textural attributes. *Journal of Food Engineering*, 85(1), 123–131. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.07.012>
- 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>
- Ruan, S., Tang, J., Qin, Y., Wang, J., Yan, T., Zhou, J., Gao, D., Xu, E., & Liu, D. (2022). Mechanical force-induced dispersion of starch nanoparticles and nanoemulsion: Size control, dispersion behaviour, and emulsified stability. *Carbohydrate Polymers*, 275, 118711. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2021.118711>
- Rundle, R. E., & French, D. (1943). The Configuration of Starch in the Starch-Iodine complex. III. X-Ray Diffraction Studies of the Starch—Iodine Complex. *Journal of the American Chemical Society*, 65(9), 1707–1710. https://doi.org/10.1021/JA01249A016/ASSET/JA01249A016.FP.PNG_V03
- Ryu, V., McClements, D. J., Corradini, M. G., & McLandsborough, L. (2018). Effect of ripening inhibitor type on formation, stability, and antimicrobial activity of thyme oil nanoemulsion. *Food Chemistry*, 245, 104–111. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2017.10.084>
- Saari, H, Fuentes, C., Sjöo, M., & Rayner, M. (2017). Production of starch nanoparticles by dissolution and non-solvent precipitation for use in food-grade Pickering emulsions. *Carbohydr Polym*, 157, 558–566.
- Saari, Hisfazilah, Fuentes, C., Sjöo, M., Rayner, M., & Wahlgren, M. (2017a). Production of starch nanoparticles by dissolution and non-solvent precipitation for use in food-grade Pickering emulsions. *Carbohydrate Polymers*, 157, 558–566. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.10.003>
- Saari, Hisfazilah, Fuentes, C., Sjöo, M., Rayner, M., & Wahlgren, M. (2017b). Production of starch nanoparticles by dissolution and non-solvent precipitation for use in food-grade Pickering emulsions. *Carbohydrate Polymers*, 157, 558–566. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2016.10.003>
- Saari, Hisfazilah, Heravifar, K., Rayner, M., Wahlgren, M., & Sjöo, M. (2016). *Preparation and Characterization of Starch Particles for Use in Pickering Emulsions*. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-05-15-0107-R>
- Saari, Hisfazilah, Wahlgren, M., Rayner, M., Sjöo, M., & Matos, M. (2019). A comparison of emulsion stability for different OSA-modified waxy maize emulsifiers: Granules, dissolved starch, and non-solvent precipitates. *PLOS ONE*, 14(2), e0210690. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0210690>
- Sajilata, M. G., Singhal, R. S., & Kulkarni, P. R. (2006). Resistant starch - A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5(1), 1–17. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2006.tb00076.x>
- Santana, Á., Angela, M., & Meireles, A. (2014). *New Starches are the Trend for Industry Applications: A Review Recovery of polyphenols and methylxanthines*

from guarana View project *Emerging Technologies for Dairy Product Development View project*. <https://doi.org/10.5923/j.fph.20140405.04>

- Santos, L. M. R., Oliveira, F. A., Ferreira, E. H. R., & Rosenthal, A. (2017). Application and possible benefits of high hydrostatic pressure or high-pressure homogenization on beer processing: A review. *Food Science and Technology International*, 23(7), 561–581. <https://doi.org/10.1177/1082013217714670>
- Sanver, D., Sadeghpour, A., Rappolt, M., Di Meo, F., & Trouillas, P. (2020). Structure and Dynamics of Dioleoyl-Phosphatidylcholine Bilayers under the Influence of Quercetin and Rutin. *Langmuir*, 36(40), 11776–11786. https://doi.org/10.1021/ACS.LANGMUIR.0C01484/SUPPL_FILE/LA0C01484_SI_002.ZIP
- Sarkar, A., & Dickinson, E. (2020). Sustainable food-grade Pickering emulsions stabilized by plant-based particles. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 49, 69–81. <https://doi.org/10.1016/J.COCIS.2020.04.004>
- Sarkar, A., Zhang, S., Holmes, M., & Ettelaie, R. (2019). Colloidal aspects of digestion of Pickering emulsions: Experiments and theoretical models of lipid digestion kinetics. In *Advances in Colloid and Interface Science* (Vol. 263, pp. 195–211). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2018.10.002>
- Sattelle, B. M., & Almond, A. (2014). Microsecond kinetics in model single- and double-stranded amylose polymers. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 16(17), 8119–8126. <https://doi.org/10.1039/C4CP00570H>
- Schubert, M. A., & Müller-Goymann, C. C. (2003). Solvent injection as a new approach for manufacturing lipid nanoparticles – evaluation of the method and process parameters. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 55(1), 125–131. [https://doi.org/10.1016/S0939-6411\(02\)00130-3](https://doi.org/10.1016/S0939-6411(02)00130-3)
- Schultz, S., Wagner, G., Urban, K., & Ulrich, J. (2004). High-Pressure Homogenization as a Process for Emulsion Formation. *Chemical Engineering & Technology*, 27(4), 361–368. <https://doi.org/10.1002/CEAT.200406111>
- Seekkuarachchi, I. N., Tanaka, K., & Kumazawa, H. (2006). *Formation and Characterization of Submicrometer Oil-in-Water (O/W) Emulsions, Using High-Energy Emulsification*. <https://doi.org/10.1021/IE050323>
- Seung, D. (2020). Amylose in starch: towards an understanding of biosynthesis, structure and function. *New Phytologist*, 228(5), 1490–1504. <https://doi.org/10.1111/NPH.16858>
- Shahbazi, M., & Majzoubi, M. (2017). Impact of shear force on functional properties of native starch and resulting gel and film. *Journal of Food Engineering*, 223(12), 10–21.
- Shamai, K., Bianco-Peled, H., & Shimoni, E. (2003). Polymorphism of resistant starch type III. *Carbohydrate Polymers*, 54(3), 363–369. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(03\)00192-9](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(03)00192-9)
- Shao, P., Zhang, H., Niu, B., & Jin, W. (2018). Physical stabilities of taro starch

- nanoparticles stabilized Pickering emulsions and the potential application of encapsulated tea polyphenols. *International Journal of Biological Macromolecules*, *118*, 2032–2039. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2018.07.076>
- Shi, A. M., Li, D., Wang, L. J., Li, B. Z., & Adhikari, B. (2011). Preparation of starch-based nanoparticles through high-pressure homogenization and miniemulsion cross-linking: Influence of various process parameters on particle size and stability. *Carbohydrate Polymers*, *83*(4), 1604–1610. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.10.011>
- Shibata, H., Abe, M., Sato, K., Uwai, K., Tokuraku, K., & Iimori, T. (2022). Microwave-assisted synthesis and formation mechanism of fluorescent carbon dots from starch. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, *3*, 100218. <https://doi.org/10.1016/J.CARPTA.2022.100218>
- Shweta, Kumar, Y., & Saxena, D. C. (2021). Valorization of unpopped Foxnut starch in stabilizing Pickering emulsion using OSA modification. *International Journal of Biological Macromolecules*, *191*, 657–667. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2021.09.148>
- Silva, C. E. P., & Loh, W. (2022). Fundamentals of emulsion formation and stability. *Developments in Clay Science*, *10*, 37–59. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91858-9.00009-4>
- Singh, H., Lin, J. H., Huang, W. H., & Chang, Y. H. (2012). Influence of amylopectin structure on rheological and retrogradation properties of waxy rice starches. *Journal of Cereal Science*, *56*(2), 367–373. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2012.04.007>
- Singh, N., Singh, J., Kaur, L., Sodhi, N. S., & Gill, B. S. (2003). Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. *Food Chemistry*, *81*(2), 219–231. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00416-8](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00416-8)
- Singh, R., & Lillard, J. W. (2009). Nanoparticle-based targeted drug delivery. *Experimental and Molecular Pathology*, *86*(3), 215–223. <https://doi.org/10.1016/J.YEXMP.2008.12.004>
- Singla, M., & Sit, N. (2021). Application of ultrasound in combination with other technologies in food processing: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, *73*, 105506. <https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2021.105506>
- Smith, A. M. (2001). The biosynthesis of starch granules. *Biomacromolecules*, *2*(2), 335–341. <https://doi.org/10.1021/BM000133C/ASSET/IMAGES/LARGE/BM000133CF00003.JPEG>
- Solans, C., Izquierdo, P., Nolla, J., Azemar, N., & Garcia-Celma, M. J. (2005). Nano-emulsions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, *10*(3–4), 102–110. <https://doi.org/10.1016/J.COCIS.2005.06.004>
- Song, X., Gong, H., Zhu, W., Wang, J., Zhai, Y., & Lin, S. (2022). Pickering emulsion stabilized by composite-modified waxy corn starch particles. *International*

- Journal of Biological Macromolecules*, 205, 66–75.
<https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2022.02.044>
- Song, X., Pei, Y., Qiao, M., Ma, F., Ren, H., & Zhao, Q. (2015). Preparation and characterizations of Pickering emulsions stabilized by hydrophobic starch particles. *Food Hydrocolloids*, 45, 256–263.
<https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2014.12.007>
- Song, X., Zheng, F., Ma, F., Kang, H., & Ren, H. (2020). The physical and oxidative stabilities of Pickering emulsion stabilized by starch particle and small molecular surfactant. *Food Chemistry*, 303, 125391.
<https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2019.125391>
- Soria, A., & Villamiel, C. M. (2010). Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: a review. *Trends in Food Science & Technology-Elsevier*, 21(7), 323–331. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.04.003>
- Spasic, A. M. (2018). Introduction. *Interface Science and Technology*, 22, 1–25.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813836-6.00001-5>
- Spinozzi, F., Ferrero, C., & Perez, S. (2020). The architecture of starch blocklets follows phyllotaxic rules. *Scientific Reports*, 10(1), 20093-1-20093–16.
<https://doi.org/10.1038/S41598-020-72218-W>
- Srichuwong, S., Sunarti, T. C., Mishima, T., Isono, N., & Hisamatsu, M. (2005). Starches from different botanical sources I: Contribution of amylopectin fine structure to thermal properties and enzyme digestibility. *Carbohydrate Polymers*, 60(4), 529–538. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2005.03.004>
- St-Onge, M. P., & Jones, P. J. H. (2002). Physiological Effects of Medium-Chain Triglycerides: Potential Agents in the Prevention of Obesity. *The Journal of Nutrition*, 132(3), 329–332. <https://doi.org/10.1093/JN/132.3.329>
- Steeneken, P. A. M. (1989). Rheological properties of aqueous suspensions of swollen starch granules. *Carbohydrate Polymers*, 11(1), 23–42.
[https://doi.org/10.1016/0144-8617\(89\)90041-6](https://doi.org/10.1016/0144-8617(89)90041-6)
- Stehr, N. (1988). Recent developments in stirred ball milling. *International Journal of Mineral Processing*, 22(1–4), 431–444. [https://doi.org/10.1016/0301-7516\(88\)90077-4](https://doi.org/10.1016/0301-7516(88)90077-4)
- Sternling, C. V., & Scriven, L. E. (1959). Interfacial turbulence: Hydrodynamic instability and the marangoni effect. *AIChE Journal*, 5(4), 514–523.
<https://doi.org/10.1002/AIC.690050421>
- Stolt, M., Stoforos, N. G., Taoukis, P. S., & Autio, K. (1999). Evaluation and modelling of rheological properties of high pressure treated waxy maize starch dispersions. *Journal of Food Engineering*, 40(4), 293–298. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(99\)00069-2](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(99)00069-2)
- Sun, M., Qu, S., Hao, Z., Ji, W., Jing, P., Zhang, H., Zhang, L., Zhao, J., & Shen, D. (2014). Towards efficient solid-state photoluminescence based on carbon-nanodots and starch composites. *Nanoscale*, 6(21), 13076–13081.

<https://doi.org/10.1039/C4NR04034A>

- Suzuki, T., Chiba, A., & Yano, T. (1997). Interpretation of small angle X-ray scattering from starch on the basis of fractals. *Carbohydrate Polymers*, *34*(4), 357–363. [https://doi.org/10.1016/s0144-8617\(97\)00170-7](https://doi.org/10.1016/s0144-8617(97)00170-7)
- Szczesniak, A. S. (2002). Texture is a sensory property. *Food Quality and Preference*, *13*(4), 215–225. [https://doi.org/10.1016/S0950-3293\(01\)00039-8](https://doi.org/10.1016/S0950-3293(01)00039-8)
- Tabasum, S., Younas, M., Zaeem, M. A., Majeed, I., Majeed, M., Noreen, A., Iqbal, M. N., & Zia, K. M. (2019). A review on blending of corn starch with natural and synthetic polymers, and inorganic nanoparticles with mathematical modeling. *International Journal of Biological Macromolecules*, *122*, 969–996. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2018.10.092>
- Tabatabaei, M., Ebrahimi, B., Rajaei, A., Movahednejad, M. H., Rastegari, H., Taghavi, E., Aghbashlo, M., Gupta, V. K., & Lam, S. S. (2022). Producing submicron chitosan-stabilized oil Pickering emulsion powder by an electrostatic collector-equipped spray dryer. *Carbohydrate Polymers*, *294*, 119791. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2022.119791>
- Tabatabaei, M., Rajaei, A., Hosseini, E., Aghbashlo, M., Gupta, V. K., & Lam, S. S. S. (2022). Effect of type of fatty acid attached to chitosan on walnut oil-in-water Pickering emulsion properties. *Carbohydrate Polymers*, *291*, 119566. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2022.119566>
- Tadros, T., Izquierdo, P., Esquena, J., & Solans, C. (2004). Formation and stability of nano-emulsions. *Advances in Colloid and Interface Science*, *108–109*, 303–318. <https://doi.org/10.1016/J.CIS.2003.10.023>
- Tan, C., & McClements, D. J. (2021). Application of Advanced Emulsion Technology in the Food Industry: A Review and Critical Evaluation. *Foods 2021, Vol. 10, Page 812*, *10*(4), 812. <https://doi.org/10.3390/FOODS10040812>
- Tan, Y., Xu, K., Li, L., Liu, C., Song, C., & Wang, P. (2009). Fabrication of Size-Controlled Starch-Based Nanospheres by Nanoprecipitation. *ACS Applied Materials and Interfaces*, *1*(4), 956–959. <https://doi.org/10.1021/AM900054F>
- Tan, Y., Xu, K., Liu, C., Li, Y., Lu, C., & Wang, P. (2012). Fabrication of starch-based nanospheres to stabilize pickering emulsion. *Carbohydrate Polymers*, *88*(4), 1358–1363. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2012.02.018>
- Tang, H., Mitsunaga, T., & Kawamura, Y. (2006). Molecular arrangement in blocklets and starch granule architecture. *Carbohydrate Polymers*, *63*(4), 555–560. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2005.10.016>
- Tao, S., Jiang, H., Gong, S., Yin, S., Li, Y., & Ngai, T. (2021). Pickering Emulsions Simultaneously Stabilized by Starch Nanocrystals and Zein Nanoparticles: Fabrication, Characterization, and Application. *Langmuir*, *37*(28), 8577–8584. https://doi.org/10.1021/ACS.LANGMUIR.1C01088/ASSET/IMAGES/LARGE/LA1C01088_0009.JPEG
- Tayade, R., Kulkarni, K. P., Jo, H., Song, J. T., & Lee, J. D. (2019). Insight Into the

- Prospects for the Improvement of Seed Starch in Legume—A Review. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1213. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2019.01213/BIBTEX>
- Taylor, L., Skuse, D., Blackburn, S., & Greenwood, R. (2020). Stirred media mills in the mining industry: Material grindability, energy-size relationships, and operating conditions. *Powder Technology*, 369, 1–16. <https://doi.org/10.1016/J.POWTEC.2020.04.057>
- Tcholakova, S., Denkov, N. D., & Lips, A. (2008). Comparison of solid particles, globular proteins and surfactants as emulsifiers. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 10(12), 1608–1627. <https://doi.org/10.1039/B715933C>
- Teng, L. Y., Chin, N. L., & Yusof, Y. A. (2013). Rheological and textural studies of fresh and freeze-thawed native sago starch-sugar gels. II. Comparisons with other starch sources and reheating effects. *Food Hydrocolloids*, 31(2), 156–165. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.11.002>
- Tesch, S., Gerhards, C., & Schubert, H. (2002). Stabilization of emulsions by OSA starches. *Journal of Food Engineering*, 54(2), 167–174. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(01\)00206-0](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(01)00206-0)
- Tester, R. F., Karkalas, J., & Qi, X. (2004a). Starch structure and digestibility Enzyme-Substrate relationship. *World's Poultry Science Journal*, 60(2), 186–195. <https://doi.org/10.1079/WPS200312>
- Tester, R. F., Karkalas, J., & Qi, X. (2004b). Starch composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science*, 39(2), 151–165. <https://doi.org/10.1016/J.JCS.2003.12.001>
- Thanh-Blicharz, J. Le, & Lewandowicz, J. (2020). Functionality of native starches in food systems: Cluster analysis grouping of rheological properties in different product matrices. *Foods*, 9(8), 1073. <https://doi.org/10.3390/foods9081073>
- Tharanathan, R. N. (2007). Starch — Value Addition by Modification. <Http://Dx.Doi.Org/10.1080/10408390590967702>, 45(5), 371–384. <https://doi.org/10.1080/10408390590967702>
- Timgren, A., Rayner, M., Dejmek, P., Marku, D., Sj, M., & Marilyn Rayner, C. (2013). Emulsion stabilizing capacity of intact starch granules modified by heat treatment or octenyl succinic anhydride. *Food Science & Nutrition*, 1(2), 157–171. <https://doi.org/10.1002/FSN3.17>
- Todica, M., Nagy, E. M., Niculaescu, C., Stan, O., Cioica, N., & Pop, C. V. (2016). XRD investigation of some thermal degraded starch based materials. *Journal of Spectroscopy*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/9605312>
- Torres, F. G., & De-la-Torre, G. E. (2022). Synthesis, characteristics, and applications of modified starch nanoparticles: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 194, 289–305. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2021.11.187>
- Trinh, B. M., Smith, M., & Mekonnen, T. H. (2022). A nanomaterial-stabilized starch-beeswax Pickering emulsion coating to extend produce shelf-life. *Chemical*

Engineering Journal, 431, 133905. <https://doi.org/10.1016/J.CEJ.2021.133905>

- Troncoso, O. P., & Torres, F. G. (2020). Bacterial Cellulose—Graphene Based Nanocomposites. *International Journal of Molecular Sciences* 2020, Vol. 21, Page 6532, 21(18), 6532. <https://doi.org/10.3390/IJMS21186532>
- Trubiano, P. C. (1997). *The Role of Specialty Food Starches in Flavor Encapsulation*. 244–253. <https://doi.org/10.1021/BK-1995-0610.CH019>
- Trujillo-Cayado, L. A., Santos, J., Alfaro, M. C., Calero, N., & Muñoz, J. (2016). A further step in the development of oil-in-water emulsions formulated with a mixture of green solvents. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 55(27), 7259–7266. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.6b01320>
- Tu, Z., Yin, Y., Wang, H., Liu, G., Chen, L., Zhang, P., Kou, Y., & Zhang, L. (2013). Effect of dynamic high-pressure microfluidization on the morphology characteristics and physicochemical properties of maize amylose. *Starch - Stärke*, 65(5–6), 390–397. <https://doi.org/10.1002/STAR.201200120>
- Ullah, I., Yin, T., Xiong, S., Huang, Q., Zia-ud-Din, Zhang, J., & Javaid, A. B. (2018). Effects of thermal pre-treatment on physicochemical properties of nano-sized okara (soybean residue) insoluble dietary fiber prepared by wet media milling. *Journal of Food Engineering*, 237, 18–26. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2018.05.017>
- Utada, A. S., Lorenceau, E., Link, D. R., Kaplan, P. D., Stone, H. A., & Weitz, D. A. (2005). Monodisperse double emulsions generated from a microcapillary device. *Science*, 308(5721), 537–541. https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1109164/SUPPL_FILE/UTADA.SOM.PDF
- Vallar, S., Houivet, D., El Fallah, J., Kervadec, D., & Haussonne, J. M. (1999). Oxide slurries stability and powders dispersion: optimization with zeta potential and rheological measurements. *Journal of the European Ceramic Society*, 19(6–7), 1017–1021. [https://doi.org/10.1016/S0955-2219\(98\)00365-3](https://doi.org/10.1016/S0955-2219(98)00365-3)
- Vamadevan, V., & Bertoft, E. (2015). Structure-function relationships of starch components. *Starch - Stärke*, 67(1–2), 55–68. <https://doi.org/10.1002/STAR.201400188>
- Van Hung, P., Chau, H. T., & Phi, N. T. L. (2016). In vitro digestibility and in vivo glucose response of native and physically modified rice starches varying amylose contents. *Food Chemistry*, 191, 74–80. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2015.02.118>
- Van Hung, P., Maeda, T., & Morita, N. (2006). Waxy and high-amylose wheat starches and flours—characteristics, functionality and application. *Trends in Food Science & Technology*, 17(8), 448–456. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2005.12.006>
- Velázquez, O. C., Seto, R. W., & Rombeau, J. L. (1996). The scientific rationale and clinical application of short-chain fatty acids and medium-chain triacylglycerols. *Proceedings of the Nutrition Society*, 55(1B), 49–78. <https://doi.org/10.1079/PNS19960011>

- Verwey, E J, W. (2023). *Theory of the stability of lyophobic colloids*. 10, 48. <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>
- Villamonte, G., Jury, V., & de Lamballerie, M. (2016). Stabilizing emulsions using high-pressure-treated corn starch. *Food Hydrocolloids*, 52, 581–589. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2015.07.031>
- Villas-Boas, F., Facchinatto, W. M., Colnago, L. A., Volanti, D. P., & Franco, C. M. L. (2020). Effect of amylolysis on the formation, the molecular, crystalline and thermal characteristics and the digestibility of retrograded starches. *International Journal of Biological Macromolecules*, 163, 1333–1343. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2020.07.181>
- Walker, R., Decker, E. A., & McClements, D. J. (2014). Development of food-grade nanoemulsions and emulsions for delivery of omega-3 fatty acids: opportunities and obstacles in the food industry. *Food & Function*, 6(1), 41–54. <https://doi.org/10.1039/C4FO00723A>
- Wang, Bailong, Lin, X., Zheng, Y., Zeng, M., Huang, M., & Guo, Z. (2021). Effect of homogenization-pressure-assisted enzymatic hydrolysis on the structural and physicochemical properties of lotus-seed starch nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*, 167, 1579–1586. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2020.11.113>
- Wang, Bao, Li, D., Wang, L. jun, Chiu, Y. L., Chen, X. D., & Mao, Z. huai. (2008). Effect of high-pressure homogenization on the structure and thermal properties of maize starch. *Journal of Food Engineering*, 87(3), 436–444. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2007.12.027>
- Wang, Baoshi, Zhong, Z., Wang, Y., Yuan, S., Jiang, Y., Li, Z., Li, Y., Yan, Z., Meng, L., & Qiu, L. (2023). Recent progress of starch modification assisted by ultrasonic wave. *Food Science and Technology*, 43, e107522. <https://doi.org/10.1590/FST.107522>
- Wang, C., Wu, J., Wang, C., Mu, C., Ngai, T., & Lin, W. (2022). Advances in Pickering emulsions stabilized by protein particles: Toward particle fabrication, interaction and arrangement. *Food Research International*, 157, 111380. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2022.111380>
- Wang, Ke, Hong, Y., Gu, Z., Cheng, L., Li, Z., & Li, C. (2020). Stabilization of Pickering emulsions using starch nanocrystals treated with alkaline solution. *International Journal of Biological Macromolecules*, 155, 273–285. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2020.03.219>
- Wang, Kun, Sui, J., Gao, W., Yu, B., Yuan, C., Guo, L., Cui, B., & Abd El-Aty, A. M. (2022). Effects of xanthan gum and sodium alginate on gelatinization and gels structure of debranched pea starch by pullulanase. *Food Hydrocolloids*, 130, 107733. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2022.107733>
- WANG, P., XU, X. lian, & ZHOU, G. hong. (2009). Effects of Meat and Phosphate Level on Water-Holding Capacity and Texture of Emulsion-Type Sausage During Storage. *Agricultural Sciences in China*, 8(12), 1475–1481. [https://doi.org/10.1016/S1671-2927\(08\)60361-2](https://doi.org/10.1016/S1671-2927(08)60361-2)

- Wang, Q., Tang, Z., Li, Z., Luan, Y., Gu, C., Liu, R., Ge, Q., Yu, H., & Wu, M. (2023). Effects of octenyl succinylation on the properties of starches with distinct crystalline types and their Pickering emulsions. *International Journal of Biological Macromolecules*, 230, 123183. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2023.123183>
- Wang, Ran, & Zhou, J. (2022). Waxy maize starch nanoparticles incorporated tea polyphenols to stabilize Pickering emulsion and inhibit oil oxidation. *Carbohydrate Polymers*, 296, 119991. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2022.119991>
- Wang, Rui, Yao, L., Peng, S., Liu, Z., Zhu, X., Li, H., Xu, D., Zhang, J., Mo, H., & Hu, L. (2023). An “intelligent -responsive” bactericidal system based on OSA-starch Pickering emulsion. *International Journal of Biological Macromolecules*, 235, 123808. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2023.123808>
- Wang, S., & Copeland, L. (2012). Effect of alkali treatment on structure and function of pea starch granules. *Food Chemistry*, 135(3), 1635–1642. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2012.06.003>
- Wang, S., Li, C., Copeland, L., Niu, Q., & Wang, S. (2015). Starch Retrogradation: A Comprehensive Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(5), 568–585. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12143>
- Wang, S., Li, C., Yu, J., Copeland, L., & Wang, S. (2014). Phase transition and swelling behaviour of different starch granules over a wide range of water content. *LWT - Food Science and Technology*, 59(2P1), 597–604. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.06.028>
- Wang, X. Y., Wang, J., Zhao, C., Ma, L., Rousseau, D., & Tang, C. H. (2023). Facile fabrication of chitosan colloidal films with pH-tunable surface hydrophobicity and mechanical properties. *Food Hydrocolloids*, 137, 108429. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2022.108429>
- Wang, Y. J., Truong, V. Den, & Wang, L. (2003). Structures and rheological properties of corn starch as affected by acid hydrolysis. *Carbohydrate Polymers*, 52(3), 327–333. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(02\)00323-5](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(02)00323-5)
- Wang, Yanli, Zhou, X., Xiang, X., & Miao, M. (2022). Association of Slowly Digestible Starch Intake with Reduction of Postprandial Glycemic Response: An Update Meta-Analysis. *Foods* 2023, Vol. 12, Page 89, 12(1), 89. <https://doi.org/10.3390/FOODS12010089>
- Wang, Yi, Chen, L., Yang, T., Ma, Y., McClements, D. J., Ren, F., Tian, Y., & Jin, Z. (2021). A review of structural transformations and properties changes in starch during thermal processing of foods. *Food Hydrocolloids*, 113, 106543. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2020.106543>
- Wang, Yun, & Zhang, G. (2021). The preparation of modified nano-starch and its application in food industry. *Food Research International*, 140, 110009. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2020.110009>
- Wang, Yuzi, Saulnier, L., Ral, J., Falourd, X., & Kansou, K. (2023). Determining

- whether granule structural or surface features govern the wheat starch digestion, a kinetic analysis. *Carbohydrate Polymers*, 315(April), 120966. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2023.120966>
- Warren, F. J., Gidley, M. J., & Flanagan, B. M. (2016). Infrared spectroscopy as a tool to characterise starch ordered structure—a joint FTIR–ATR, NMR, XRD and DSC study. *Carbohydrate Polymers*, 139, 35–42. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2015.11.066>
- Wei, B., Cai, C., Xu, B., Jin, Z., & Tian, Y. (2018). Disruption and molecule degradation of waxy maize starch granules during high pressure homogenization process. *Food Chemistry*, 240, 165–173. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2017.07.078>
- Wei, B., Hu, X., Li, H., Wu, C., Xu, X., Jin, Z., & Tian, Y. (2014). Effect of pHs on dispersity of maize starch nanocrystals in aqueous medium. *Food Hydrocolloids*, 36, 369–373. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2013.08.015>
- Whitby, C. P., Fornasiero, D., Ralston, J., Liggieri, L., & Ravera, F. (2012). Properties of fatty amine-silica nanoparticle interfacial layers at the hexane-water interface. *Journal of Physical Chemistry C*, 116(4), 3050–3058. https://doi.org/10.1021/JP210870V/ASSET/IMAGES/LARGE/JP-2011-10870V_0010.JPEG
- Whitby, C. P., & Wanless, E. J. (2016). Controlling Pickering Emulsion Destabilisation: A Route to Fabricating New Materials by Phase Inversion. *Materials*, 9(8). <https://doi.org/10.3390/MA9080626>
- Wojtasz, J., Carlstedt, J., Fyhr, P., & Kocherbitov, V. (2016). Hydration and swelling of amorphous cross-linked starch microspheres. *Carbohydrate Polymers*, 135, 225–233. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.08.085>
- Wooster, T. J., Golding, M., & Sanguansri, P. (2008). Impact of oil type on nanoemulsion formation and ostwald ripening stability. *Langmuir*, 24(22), 12758–12765. https://doi.org/10.1021/LA801685V/ASSET/IMAGES/LARGE/LA-2008-01685V_0008.JPEG
- Wu, X., Zhao, R., Wang, D., Bean, S. R., Seib, P. A., Tuinstra, M. R., Campbell, M., & O'Brien, A. (2006). Effects of amylose, corn protein, and corn fiber contents on production of ethanol from starch-rich media. *Cereal Chemistry*, 83(5), 569–575. <https://doi.org/10.1094/CC-83-0569>
- Wu, Z., Qiao, D., Zhao, S., Lin, Q., Zhang, B., & Xie, F. (2022). Nonthermal physical modification of starch: An overview of recent research into structure and property alterations. *International Journal of Biological Macromolecules*, 203, 153–175. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2022.01.103>
- Xia, J., Zhu, D., Wang, R., Cui, Y., & Yan, Y. (2018). Crop resistant starch and genetic improvement: a review of recent advances. *Theoretical and Applied Genetics* 2018 131:12, 131(12), 2495–2511. <https://doi.org/10.1007/S00122-018-3221-4>
- Xia, W., Chen, J., He, D., Wang, Y., Wang, F., Zhang, Q., Liu, Y., Cao, Y., Fu, Y., & Li, J. (2019). Changes in physicochemical and structural properties of tapioca

- starch after high speed jet degradation. *Food Hydrocolloids*, 95, 98–104. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2019.04.025>
- Xie, F., Yu, L., Su, B., Liu, P., Wang, J., Liu, H., & Chen, L. (2009). Rheological properties of starches with different amylose/amylopectin ratios. *Journal of Cereal Science*, 49(3), 371–377. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2009.01.002>
- Xing, J. jie, Liu, Y., Li, D., Wang, L. jun, & Adhikari, B. (2017). Heat-moisture treatment and acid hydrolysis of corn starch in different sequences. *LWT - Food Science and Technology*, 79, 11–20. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2016.12.055>
- Xu, T., Yang, J., Hua, S., Hong, Y., Gu, Z., Cheng, L., Li, Z., & Li, C. (2020). Characteristics of starch-based Pickering emulsions from the interface perspective. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 105, pp. 334–346). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.09.026>
- Y. Hibi, Matsumoto, T., & Hagiwara, S. (1993). *Effect of High Pressure on the Crystalline Structure of Various Starch Granules*. Cereal Chem. <https://www.cerealsgrains.org/publications/cc/backissues/1993/Documents/CC1993a159.html>
- Yaldagard, M., Mortazavi, A., & Tabatabaie, F. (2010). The principles of ultra high pressure technology and its application in food processing/preservation: A review of microbiological and quality aspects. *African Journal of Biotechnology*, 7(16), 2739–2767. <https://doi.org/10.4314/ajb.v7i16.59140>
- Yan, Z., Shu, J., Yu, Y., Zhang, Z., Liu, Z., & Chen, J. (2015). Preparation of carbon quantum dots based on starch and their spectral properties. *Luminescence*, 30(4), 388–392. <https://doi.org/10.1002/BIO.2744>
- Yang, Q., Liu, L., Li, X., Li, J., Zhang, W., Shi, M., & Feng, B. (2021). Physicochemical characteristics of resistant starch prepared from Job's tears starch using autoclaving–cooling treatment. *Http://Mc.Manuscriptcentral.Com/Tcyt*, 19(1), 316–325. <https://doi.org/10.1080/19476337.2021.1897688>
- Yang, Q. Y., Lu, X. X., Chen, Y. Z., Luo, Z. G., & Xiao, Z. G. (2019). Fine structure, crystalline and physicochemical properties of waxy corn starch treated by ultrasound irradiation. *Ultrasonics Sonochemistry*, 51, 350–358. <https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2018.09.001>
- Yang, Y., Fang, Z., Chen, X., Zhang, W., Xie, Y., Chen, Y., Liu, Z., & Yuan, W. (2017). An overview of pickering emulsions: Solid-particle materials, classification, morphology, and applications. *Frontiers in Pharmacology*, 8(MAY), 287. <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2017.00287/BIBTEX>
- Yang, Z., Chaib, S., Gu, Q., & Hemar, Y. (2017). Impact of pressure on physicochemical properties of starch dispersions. *Food Hydrocolloids*, 68, 164–177. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2016.08.032>
- Yang, Z., Gu, Q., & Hemar, Y. (2013). In situ study of maize starch gelatinization under ultra-high hydrostatic pressure using X-ray diffraction. *Carbohydrate Polymers*, 97(1), 235–238. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2013.04.075>

- Yu, Shifeng, Ma, Y., & Sun, D. W. (2009). Impact of amylose content on starch retrogradation and texture of cooked milled rice during storage. *Journal of Cereal Science*, 50(2), 139–144. <https://doi.org/10.1016/J.JCS.2009.04.003>
- Yu, Shiyao, Prakash, A., Bernard, |, Pora, L. R., & Hasjim, J. (2022). Using buckwheat starch to produce slowly digestible biscuits with good palatability. *Cereal Chemistry*, 99(5), 1166–1177. <https://doi.org/10.1002/CCHE.10571>
- Yu, X., Chen, L., Jin, Z., & Jiao, A. (2021). Research progress of starch-based biodegradable materials: a review. *Journal of Materials Science 2021 56:19*, 56(19), 11187–11208. <https://doi.org/10.1007/S10853-021-06063-1>
- Zailani, M. A., Kamilah, H., Husaini, A., Awang Seruji, A. Z. R., & Sarbini, S. R. (2023). Starch Modifications via Physical Treatments and the Potential in Improving Resistant Starch Content. *Starch - Stärke*, 75(1–2), 2200146. <https://doi.org/10.1002/STAR.202200146>
- Zaman, S. A., & Sarbini, S. R. (2015). The potential of resistant starch as a prebiotic. <Http://Dx.Doi.Org/10.3109/07388551.2014.993590>, 36(3), 578–584. <https://doi.org/10.3109/07388551.2014.993590>
- Zhai, K., Pei, X., Wang, C., Deng, Y., Tan, Y., Bai, Y., Zhang, B., Xu, K., & Wang, P. (2019). Water-in-oil Pickering emulsion polymerization of N-isopropyl acrylamide using starch-based nanoparticles as emulsifier. *International Journal of Biological Macromolecules*, 131, 1032–1037. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2019.03.107>
- Zhang, H., Schäfer, C., Wu, P., Deng, B., Yang, G., Li, E., Gilbert, R. G., & Li, C. (2018). Mechanistic understanding of the relationships between molecular structure and emulsification properties of octenyl succinic anhydride (OSA) modified starches. *Food Hydrocolloids*, 74, 168–175. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2017.08.009>
- Zhang, X., Guo, D., Xue, J., Yanniotis, S., & Mandala, I. (2017). The effect of salt concentration on swelling power, rheological properties and saltiness perception of waxy, normal and high amylose maize starch. *Food & Function*, 8(10), 3792–3802. <https://doi.org/10.1039/C7FO01041A>
- Zhang, Y., Yang, H., Zheng, H., Yuan, D., & Mao, L. (2021). Physical properties and salt release of potato starch-based emulsion gels with OSA starch-stabilized oil droplets. *LWT*, 141, 110929. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2021.110929>
- Zhao, T., Zhang, H., Chen, F., Tong, P., Cao, W., & Jiang, Y. (2022). Study on Structural Changes of Starches with Different Amylose Content during Gelatinization Process. *Starch - Stärke*, 2100269. <https://doi.org/10.1002/STAR.202100269>
- Zheng, L., Ren, A., Liu, R., Xing, Y., Yu, X., & Jiang, H. (2022). Effect of sodium chloride solution on quality of 3D-printed samples molded using wheat starch gel. *Food Hydrocolloids*, 123, 107197. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2021.107197>
- Zhong, Y., Bertoft, E., Li, Z., Blennow, A., & Liu, X. (2020). Amylopectin starch

- granule lamellar structure as deduced from unit chain length data. *Food Hydrocolloids*, *108*, 106053. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2020.106053>
- Zhong, Y., Zhu, H., Liang, W., Li, X., Liu, L., Zhang, X., Yue, H., Xue, J., Liu, X., & Guo, D. (2018). High-amylose starch as a new ingredient to balance nutrition and texture of food. *Journal of Cereal Science*, *81*, 8–14. <https://doi.org/10.1016/J.JCS.2018.02.009>
- Zhou, D., Ma, Z., Yin, X., Hu, X., & Boye, J. I. (2019). Structural characteristics and physicochemical properties of field pea starch modified by physical, enzymatic, and acid treatments. *Food Hydrocolloids*, *93*, 386–394. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2019.02.048>
- Zhou, L., Zhang, J., Xing, L., & Zhang, W. (2021). Applications and effects of ultrasound assisted emulsification in the production of food emulsions: A review. *Trends in Food Science & Technology*, *110*, 493–512. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2021.02.008>
- Zhu, F. (2019). Starch based Pickering emulsions: Fabrication, properties, and applications. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 85, pp. 129–137). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.01.012>
- Zhu, F. (2021). Structure and physicochemical properties of starch affected by dynamic pressure treatments: A review. *Trends in Food Science & Technology*, *116*, 639–654. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2021.07.036>
- Zhu, J., Li, L., Chen, L., & Li, X. (2012). Study on supramolecular structural changes of ultrasonic treated potato starch granules. *Food Hydrocolloids*, *29*(1), 116–122. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2012.02.004>
- Zhu, L. J., Liu, Q. Q., Wilson, J. D., Gu, M. H., & Shi, Y. C. (2011). Digestibility and physicochemical properties of rice (*Oryza sativa* L.) flours and starches differing in amylose content. *Carbohydrate Polymers*, *86*(4), 1751–1759. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2011.07.017>
- Zhu, T., Jackson, D. S., Wehling, R. L., & Geera, B. (2008). Comparison of Amylose Determination Methods and the Development of a Dual Wavelength Iodine Binding Technique. *Cereal Chemistry*, *85*(1), 51–58. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-85-1-0051>
- Zhu, W., Zheng, F., Song, X., Ren, H., & Gong, H. (2020). Influence of formulation parameters on lipid oxidative stability of Pickering emulsion stabilized by hydrophobically modified starch particles. *Carbohydrate Polymers*, *246*, 116649. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2020.116649>
- Zobel, H. F. (1988). Starch Crystal Transformations and Their Industrial Importance. *Starch - Stärke*, *40*(1), 1–7. <https://doi.org/10.1002/STAR.19880400102>
- Zou, Y., Guo, J., Yin, S. W., Wang, J. M., & Yang, X. Q. (2015). Pickering emulsion gels prepared by hydrogen-bonded zein/tannic acid complex colloidal particles.

Journal of Agricultural and Food Chemistry, 63(33), 7405–7414.
https://doi.org/10.1021/ACS.JAFC.5B03113/ASSET/IMAGES/MEDIUM/JF-2015-031133_0008.GIF

Βιογραφικό

Στοιχεία

Όνοματεπώνυμο: Αποστολίδης Ευτύχιος

Ημερομηνία γέννησης: 17/04/1990

Τόπος γέννησης: Αθήνα

Στοιχεία επικοινωνίας: apostolidis.eft@gmail.com

Εκπαιδευτική και ερευνητική εμπειρία

2008 – 2015: Πτυχίο Επιστήμης και τεχνολογίας Υλικών, Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Υλικών Πανεπιστήμιο Κρήτης

Διεύθυνση: Πανεπιστημιούπολη Βουτών, Βασιλικά Βουτών, Ηράκλειο, Ελλάδα

Ιστοσελίδα: <https://www.materials.uoc.gr>

2016 - 2018: Μεταπτυχιακό Δίπλωμα, Μεταπτυχιακό πρόγραμμα “**Επεξεργασία τροφίμων και συντήρηση αγροτικών προϊόντων**”, Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής του ανθρώπου, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Διεύθυνση: Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά οδός 78, Αθήνα, Ελλάδα

Ιστοσελίδα: <http://fst.aua.gr/en>

Μεταπτυχιακή Εργασία: “**Μελέτη νανο-κρυστάλλων αμύλου επεξεργασμένων με υπερύψηλή πίεση ομογενοποίησης και επίδραση στη σταθερότητα γαλακτωμάτων (Pickering emulsions)**” Επιβλέπουσα: Δρ. Μαντάλα Ιωάννα, Καθηγήτρια του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής του ανθρώπου, και Διευθύντρια του Εργαστηρίου Μηχανικής και Επεξεργασίας Τροφίμων, του Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

11/2018 – σήμερα: Υποψήφιος Διδάκτορας, Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής του ανθρώπου, Εργαστήριο Μηχανικής και Επεξεργασίας Τροφίμων, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Διδακτορική διατριβή: “**Ανάπτυξη και αξιοποίηση δομών ανθεκτικού αμύλου και λειτουργικές ιδιότητες καινοτόμων αμυλούχων προϊόντων**”, Επιβλέπουσα: Δρ. Μαντάλα Ιωάννα, Καθηγήτρια του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων

και Διατροφής του ανθρώπου, και Διευθύντρια του Εργαστηρίου Μηχανικής και Επεξεργασίας Τροφίμων, του Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Γλώσσες

- Ελληνικά
- Αγγλικά
- Γαλλικά

Ερευνητική εμπειρία

05/2018 - 07/2018: Πρακτική άσκηση στο τμήμα έρευνας και καινοτομίας της εταιρείας Γιώτης.

09/2019 – 04/2020: Βοηθός χημικού αναλυτή στο χημείο του Ελληνικού στρατού

04/2019 -12/2021: Βοηθός ερευνητή στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Εργαστήριο Μηχανικής και Επεξεργασίας Τροφίμων στα πλαίσια του Ερευνητικού προγράμματος, Αξιοποίηση του καρπού και του βλαστού του φραγκόσκου στοχεύοντας σε καινοτόμες χρήσεις σε τρόφιμα, Επιχειρησιακό Πρόγραμμα «Ανταγωνιστικότητα Επιχειρηματικότητα και Καινοτομία (ΕΠΑνΕΚ)

05/2022 – τώρα: Βοηθός ερευνητή στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Εργαστήριο Μηχανικής και Επεξεργασίας Τροφίμων στα πλαίσια του Ερευνητικού προγράμματος, “Σχεδιασμός και ανάπτυξη καινοτόμων υλικών συσκευασίας με ενισχυμένη προστατευτική δράση για αλιεύματα και βιοαποδομήσιμα υλικά που χρησιμοποιούν υποπροϊόντα ψαριών (Pack4fish), στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος Αλιείας και Θάλασσα 2014-2020”

05/2023 – τώρα: Βοηθός ερευνητή στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Εργαστήριο Μηχανικής και Επεξεργασίας Τροφίμων στα πλαίσια του Ερευνητικού προγράμματος, “Βιομηχανικά Υλικά Υψηλής Απόδοσης από Νανοκυτταρίνη”, Επιχειρησιακό Πρόγραμμα «Ανταγωνιστικότητα Επιχειρηματικότητα και Καινοτομία (ΕΠΑνΕΚ)

Δημοσιεύσεις

- 1) **Apostolidis, E.**, Stoforos, G. N., & Mandala, I. (2023). Starch physical treatment, emulsion formation, stability, and their applications. *Carbohydrate Polymers*, 120554.
- 2) **Apostolidis, E.**, Stergiou, A., Kioupis, D., Amin, S., Paximada, P., Kakali, G., & Mandala, I. (2023). Production of nanoparticles from resistant starch via a simple three-step physical treatment. *Food Hydrocolloids*, 137, 108412.
- 3) **Apostolidis, E.**, & Mandala, I. (2020). Modification of resistant starch nanoparticles using high-pressure homogenization treatment. *Food Hydrocolloids*, 103, 105677.
- 4) **Apostolidis, E.**, Kioupis, D., Kakali, G., Stoforos, N. G., & Mandala, I. (2021). Effect of starch concentration and resistant starch filler addition on the physical properties of starch hydrogels. *Journal of Food Science*, 86(12), 5340-5352.
- 5) Paximada, P., Kanavou, **E.**, **Apostolidis, E.**, & Mandala, I. G. (2021). Encapsulation of catechin in electrosprayed food-grade particles. *Food Hydrocolloids for Health*, 1, 100021.
- 6) Mandala, I., & **Apostolidis, E.** (2020). Rheological characterization of liquid nanoencapsulated food ingredients by viscometers. In *Characterization of nanoencapsulated food ingredients* (pp. 529-545). Academic Press.

Παρουσιάσεις σε Συνέδρια

- 1) **Apostolidis E.**, Gerogianni A., Paximada P., Anagnostaki E., Mandala I. (2023, June), Nanoparticles from Resistant starch as a candidate for Pickering emulsion gels. Oral presentation presented at the Food Hydrocolloids Trust 21st Gums & Stabilisers for the Food Industry Conference, 5/2022 Thessaloniki, Greece
- 2) **Apostolidis E.**, Karamouzi E., Bresta P., Mandala I., Tsironi T. (2023, June), Chitosan properties and electrospinning applications. Poster session presented at the Food Hydrocolloids Trust 21st Gums & Stabilisers for the Food Industry Conference, 5/2022 Thessaloniki, Greece
- 3) **Apostolidis E.**, Psomiadi T., Stoforos N., Mandala I. (2023, June), Starch based hydrogels: Formulation of self-assembled starchy hydrogels. Poster session

presented at the Food Hydrocolloids Trust 21st Gums & Stabilisers for the Food Industry Conference, 5/2022 Thessaloniki, Greece

- 4) **Apostolidis, E.**, Gerogiani, A., Kioupis, D., Kakali, G, Mandala, I. (2022, June), Use of Resistant starch nanoparticles for the creation of stable Pickering type emulsions. Poster session presented at the 13th PanHellenic Scientific Conference on Chemical Engineering, 06/2022, Patra, Greece.
- 5) **Apostolidis, E.**, Mandala, I., (2021, June), Prickly pear colorant in beverages, Oral presentation presented in webinar: Prickly pear processing techniques and applications in the food industry, 6/2021 Agricultural University of Athens, Greece.
- 6) **Apostolidis, E.**, Chaloulos, P., Evageliou, V., Mandala, I., (2021, June), Effect of Temperature and pH on color stability of prickly pear colorants used in beverages. Poster session presented at the 6 International ISEKI-Food Conference, 6/2021 Online.
- 7) **Apostolidis, E.**, Chaloulos, P., Mandala, I., (2019, June), Modification of Resistant Starch nanoparticles using High Pressure Homogenization Treatment. Poster session presented at the 20th Gums & Stabilizers for the Food Industry Conference, 6/2019 San Sebastian, Spain.
- 8) **Apostolidis, E.**, Mandala, I., (2019, May), Alteration of Resistant Starch nanoparticles using High Pressure Homogenization. Poster session presented at the 12th PanHellenic Scientific Conference on Chemical Engineering, 4/2019 Athens, Greece.

Curriculum Vitae

Personal information

Name: Apostolidis Eftychios

Date of Birth: 17/04/1990

Place of Birth: Athens, Greece

Contact: apostolidis.eft@gmail.com

Education and Research experience

2008 – 2015: Bachelor in Materials Science and Technology, Department of Materials Science and Technology, University of Crete,

Address: Campus Vasilika Vouton, Heraklion, Greece

Website: <https://www.materials.uoc.gr>

2016 - 2018: Master Degree, Post graduate student program “**Food processing and preservation of agricultural products**”, Department of Food Science and Human Nutrition, Agricultural University of Athens

Address: Agricultural University of Athens, Iera Odos 78, Athens, Greece

Website: <http://fst.aua.gr/en>

Master Thesis: “**Modification of starch nanocrystals using high pressure homogenization treatment and the effect on the stability of emulsions (pickering emulsions)**” Supervisor: Dr. Mandala Ioanna, Professor at the Department of Food Science and Human Nutrition, Head of Laboratory of Food Process Engineering, Agricultural University of Athens

11/2018 – now: PhD candidate, Department of Food Science and Human Nutrition, Laboratory of Food Process Engineering, Agricultural University of Athens

PhD thesis: “**Development and utilization of resistant starch structures and functional properties of innovative starch products**”, Supervisor: Dr. Mandala Ioanna, Professor at the Department of Food Science and Human Nutrition, Head of Laboratory of Food Process Engineering, Agricultural University of Athens

Languages

- Greek
- English
- French

Work experience

05/2018 - 07/2018: Internship in research and innovation, Jotis s.a

09/2019 – 04/2020: Chemical analysis assistant, Hellenic army chemical laboratory

04/2019 -12/2021: University research assistant Agricultural University of Athens, Laboratory of Food Process Engineering within the framework of the Research program, “Exploitation of cactus pear fruit and leaves focusing on innovative food applications Opuntia to new product development, co-financed by the European Union and Greek national funds through the Operational Program Competitiveness, Entrepreneurship and Innovation, under the call RESEARCH-CREATE-INNOVATE”

05/2022 – now: University research assistant Agricultural University of Athens, Laboratory of Food Process Engineering within the framework of the Research program, “Design and development of innovative packaging materials with enhanced protective effect for catches and biodegradable materials using fish by-products (Pack4fish), under the Operational Programme for Fisheries and the Sea 2014-2020”

05/2023 – now: University research assistant Agricultural University of Athens, Laboratory of Food Process Engineering within the framework of the Research program, “High Performance Industrial Materials based on Nanocellulose”, co-financed by the European Regional Development Fund of the European Union and Greek national funds through the Operational Programme “Competitiveness, Entrepreneurship and Innovation” (EPAnEK) 2014-2020, under the Call RESEARCH – CREATE – INNOVATE

Publications

- 1) **Apostolidis, E.**, Stoforos, G. N., & Mandala, I. (2023). Starch physical treatment, emulsion formation, stability, and their applications. *Carbohydrate Polymers*, 120554.
- 2) **Apostolidis, E.**, Stergiou, A., Kioupis, D., Amin, S., Paximada, P., Kakali, G., & Mandala, I. (2023). Production of nanoparticles from resistant starch via a simple three-step physical treatment. *Food Hydrocolloids*, 137, 108412.
- 3) **Apostolidis, E.**, & Mandala, I. (2020). Modification of resistant starch nanoparticles using high-pressure homogenization treatment. *Food Hydrocolloids*, 103, 105677.
- 4) **Apostolidis, E.**, Kioupis, D., Kakali, G., Stoforos, N. G., & Mandala, I. (2021). Effect of starch concentration and resistant starch filler addition on the physical properties of starch hydrogels. *Journal of Food Science*, 86(12), 5340-5352.
- 5) Paximada, P., Kanavou, **E.**, **Apostolidis, E.**, & Mandala, I. G. (2021). Encapsulation of catechin in electrosprayed food-grade particles. *Food Hydrocolloids for Health*, 1, 100021.
- 6) Mandala, I., & **Apostolidis, E.** (2020). Rheological characterization of liquid nanoencapsulated food ingredients by viscometers. In *Characterization of nanoencapsulated food ingredients* (pp. 529-545). Academic Press.

Presentations in Conference

- 1) **Apostolidis E.**, Gerogianni A., Paximada P., Anagnostaki E., Mandala I. (2023, June), Nanoparticles from Resistant starch as a candidate for Pickering emulsion gels. Oral presentation presented at the Food Hydrocolloids Trust 21st Gums & Stabilisers for the Food Industry Conference, 5/2022 Thessaloniki, Greece
- 2) **Apostolidis E.**, Karamouzi E., Bresta P., Mandala I., Tsironi T. (2023, June), Chitosan properties and electrospinning applications. Poster session presented at the Food Hydrocolloids Trust 21st Gums & Stabilisers for the Food Industry Conference, 5/2022 Thessaloniki, Greece
- 3) **Apostolidis E.**, Psomiadi T., Stoforos N., Mandala I. (2023, June), Starch based hydrogels: Formulation of self-assembled starchy hydrogels. Poster session

presented at the Food Hydrocolloids Trust 21st Gums & Stabilisers for the Food Industry Conference, 5/2022 Thessaloniki, Greece

- 4) **Apostolidis, E.**, Gerogiani, A., Kioupis, D., Kakali, G, Mandala, I. (2022, June), Use of Resistant starch nanoparticles for the creation of stable Pickering type emulsions. Poster session presented at the 13th PanHellenic Scientific Conference on Chemical Engineering, 06/2022, Patra, Greece.
- 5) **Apostolidis, E.**, Mandala, I., (2021, June), Prickly pear colorant in beverages, Oral presentation presented in webinar: Prickly pear processing techniques and applications in the food industry, 6/2021 Agricultural University of Athens, Greece.
- 6) **Apostolidis, E.**, Chaloulos, P., Evageliou, V., Mandala, I., (2021, June), Effect of Temperature and pH on color stability of prickly pear colorants used in beverages. Poster session presented at the 6 International ISEKI-Food Conference, 6/2021 Online.
- 7) **Apostolidis, E.**, Chaloulos, P., Mandala, I., (2019, June), Modification of Resistant Starch nanoparticles using High Pressure Homogenization Treatment. Poster session presented at the 20th Gums & Stabilizers for the Food Industry Conference, 6/2019 San Sebastian, Spain.
- 8) **Apostolidis, E.**, Mandala, I., (2019, May), Alteration of Resistant Starch nanoparticles using High Pressure Homogenization. Poster session presented at the 12th PanHellenic Scientific Conference on Chemical Engineering, 4/2019 Athens, Greece.