



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

“ΚΑΙΝΟΤΟΜΙΑ, ΠΟΙΟΤΗΤΑ & ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ”

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Φυσικά αντιοξειδωτικά ως συντηρητικά γαλακτωμάτων. Μελέτη αλληλεπίδρασης με τις βασικές πρώτες ύλες.

MSc Thesis

Natural antioxidants as emulsion preservatives. Interaction study with basic raw

Διευθυντής Καθ. Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων (ΠΑ.Δ.Α) Ιωάννης Τσάκνης



ΟΝΟΜΑ ΦΟΙΤΗΤΗ/NAME OF STUDENT

ΑΙΜΙΛΙΑ ΙΩΑΝΝΑ ΜΙΧΑΗΛ/AIMILIA IOANNA MICHAEL

ΟΝΟΜΑ ΕΙΣΗΓΗΤΗ/NAME OF THE SUPERVISOR

ΒΑΪΟΣ ΚΑΡΑΘΑΝΟΣ/VAIOS KARATHANOS

ΑΙΓΑΛΕΩ/AIGALEO 2022



UNIVERSITY OF
WEST ATTICA
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ

Master of Science

FOOD INNOVATION, QUALITY AND SAFETY

MSc Thesis

Natural antioxidants as emulsion preservatives. Interaction study with basic raw materials.



NAME OF STUDENT

AIMILIA IOANNA MICHAIL

20015

aimilianna.michail@gmail.com

NAME OF THE SUPERVISOR

VAIOS KARATHANOS

ΔΗΛΩΣΗ ΠΕΡΙ ΛΟΓΟΚΛΟΠΗΣ/COPYRIGHT

Έχοντας πλήρη επίγνωση των συνεπειών του νόμου περί πνευματικής ιδιοκτησίας, δηλώνω ότι είμαι αποκλειστική συγγραφέας της παρούσας διπλωματικής εργασίας. Δηλώνω, επίσης, ότι αναλαμβάνω όλες τις συνέπειες, όπως αυτές νομίμως ορίζονται, στην περίπτωση που διαπιστωθεί διαχρονικά ότι η εργασία μου αυτή ή τμήμα αυτής αποτελεί προϊόν λογοκλοπής.

Αιμιλία Ιωάννα Μιχαήλ

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Μιχαήλ Αιμιλία-Ιωάννα του Ευτυχίου, με αριθμό μητρώου 20015 φοιτήτρια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών «Καινοτομία, Ποιότητα και Ασφάλεια τροφίμων» του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας τροφίμων της Σχολής Επιστημών τροφίμων του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της μεταπτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της, είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Επιθυμώ την απαγόρευση πρόσβασης στο πλήρες κείμενο της εργασίας μου μέχρι 06/2023 και έπειτα από αίτηση μου στη Βιβλιοθήκη και έγκριση του επιβλέποντα καθηγητή.

Η Δηλούσα

Μιχαήλ Αιμιλία- Ιωάννα

Έγινε δεκτή

Ο Διευθυντής του ΠΜΣ: ΙΩΑΝΝΗΣ ΤΣΑΚΝΗΣ

Οι υπογράφοντες δηλώνουμε ότι έχουμε εξετάσει τη μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία (master thesis) με τίτλο **‘Φυσικά αντιοξειδωτικά ως συντηρητικά γαλακτωμάτων. Μελέτη αλληλεπίδρασης με τις βασικές πρώτες ύλες’** που παρουσιάστηκε από την **ΑΙΜΙΛΙΑ ΙΩΑΝΝΑ ΜΙΧΑΗΛ**, υποψηφίας για τον μεταπτυχιακό τίτλο σπουδών στην **ΚΑΙΝΟΤΟΜΙΑ, ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ** και βεβαιώνουμε ότι γίνεται δεκτή.

Ημερομηνία: 5/7/2022

Όνομα επιβλέποντος

Βάιος Καραθάνος

Ημερομηνία: 5/7/2022

Όνομα μέλους επιτροπής

Σπυρίδων Παπαδάκης

Ημερομηνία: 5/7/2022

Όνομα μέλους επιτροπής

Μαρία Γιαννακούρου

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Φυσικοχημείας στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο, με θέμα «Φυσικά αντιοξειδωτικά ως συντηρητικά γαλακτωμάτων. Μελέτη αλληλεπίδρασης με τις βασικές πρώτες ύλες.»

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή κ. Βάϊο Καραθάνο για την ευκαιρία που μου έδωσε να εργαστώ στην ομάδα του, για τις πολύτιμες συμβουλές του καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας αλλά και για την επιστημονική του καθοδήγηση. Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω την τριμελή επιτροπή και πιο συγκεκριμένα την κα. Μαρία Γιαννακούρου και κ. Σπύρο Παπαδάκη για το χρόνο που αφιέρωσαν αλλά και το ενδιαφέρον που έδειξαν.

Επίσης οφείλω ένα τεράστιο ευχαριστώ στην μεταδιδακτορική ερευνήτρια κα. Ευαγγελία Καρβέλα για την υπέροχη συνεργασία, την πολύτιμη καθοδήγηση, τις χρήσιμες συμβουλές και γνώσεις που μου παρείχε για την διεξαγωγή της πειραματικής εργασίας, για την συμβουλή της στην σωστή και ομαλή λειτουργία του εργαστηριακού πειράματος, αλλά και την άμεση υποστήριξή της σε κάθε επίπεδο, συμβάλλοντας ιδιαίτερα στην ομαλή εκπόνηση αυτής της εργασίας.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω τις υποψήφιες διδάκτωρ Ευγενία Νικολάου και Δήμητρα Ταγκούλη για τις πολύτιμες συμβουλές και την συνεργασία τους καθ' όλη την διάρκεια των εργαστηριακών πειραμάτων.

Τέλος, θα ήθελα να πω ένα μεγάλο ευχαριστώ στους φίλους και την οικογένεια μου που με στήριξαν καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου και με ενθάρρυναν να συνεχίσω.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα διπλωματική μελέτη πραγματοποιήθηκε η αξιολόγηση τεσσάρων διαφορετικών ειδών εμπορικών σκευασμάτων πρωτεΐνης φυτικής προέλευσης (σόγια, μπιζέλι, φάβα, ρύζι) για την χρήση τους ως γαλακτωματοποιητές με στόχο την παρασκευή σταθερών γαλακτωμάτων τύπου λάδι σε νερό. Ταυτόχρονα, εξετάστηκε η χρήση εκχυλίσματος φρούτων (βύσσινο) ως φυσικό αντιοξειδωτικό για την μελέτη αναστολής της οξειδωσης των λιπαρών των γαλακτωμάτων.

Οι παράγοντες που μελετήθηκαν στα γαλακτώματα αφορούν, τις συνθήκες παρασκευής τους (συγκέντρωση λαδιού, συγκέντρωση πρωτεΐνης και περιβαλλοντικές συνθήκες), την σταθερότητα τους στην διάρκεια του χρόνου αλλά και τους παράγοντες οξειδωσης των λιπαρών παρουσία ή μη αντιοξειδωτικών ενώσεων. Στην μέχρι τώρα βιβλιογραφία έχουν μελετηθεί οι τρόποι δημιουργίας των γαλακτωμάτων, οι διαφορετικοί τρόποι παραλαβής πρωτεϊνών φυτικής προέλευσης καθώς επίσης η σταθερότητα των γαλακτωμάτων σε διαφορετικούς χρόνους. Παρόλα αυτά δεν υπάρχει αρκετή βιβλιογραφία να αναφέρεται σε σκευάσματα εμπορικών πρωτεϊνών.

Κατά την πειραματική διαδικασία εξετάστηκαν η διαλυτότητα και η ικανότητα απορρόφησης των πρωτεϊνών σε λάδι, νερό και σε αντικατάσταση αυτού από υδραλκοολικό διάλυμα. Μετρήθηκαν επίσης οι δείκτες σταθερότητας των γαλακτωμάτων (ESI) και οι δείκτες ικανότητας δημιουργίας γαλακτωμάτων (EAI). Στην συνέχεια, για την αξιολόγηση των βέλτιστων γαλακτωμάτων χρησιμοποιήθηκαν τεχνικές όπως η μικροσκόπηση (παρατήρηση μεγέθους σταγονιδίων ελαίου) και φασματοφωτομετρία FT-IR με σκοπό τον προσδιορισμό των χαρακτηριστικών κορυφών των αμινοξέων που επηρεάζουν την γαλακτωματοποιητική ικανότητα. Πραγματοποιήθηκε ενσωμάτωση αντιοξειδωτικών στα βέλτιστα γαλακτώματα και μελέτη της κινητικής των οξειδωτικών φαινομένων με μετρήσεις για τον προσδιορισμό της υπεροξειδωσης των λιπιδίων με τις μεθόδους T-bars assay, peroxide value και συζυγή διένια.

Από τις παραπάνω αναλύσεις συμπεράναμε πως τα βέλτιστα (ποιοτικά) χαρακτηριστικά ήταν στα γαλακτώματα που παρασκευάστηκαν με πρωτεΐνη σόγιας και μπιζελιού σε περιοχές pH οι οποίες είναι απομακρυσμένες από το ισοηλεκτρικό τους σημείο (pH 2, 8). Η χρήση υδραλκοολικού διαλύματος σε αντικατάσταση της υδατικής φάση βοήθησε στην δημιουργία καλύτερων γαλακτωμάτων σε τιμές pH αντίστοιχες των υδατικών.

Ακολούθησε αξιολόγησή των βέλτιστων γαλακτωμάτων με μικροσκοπική παρατήρηση, προσδιορίστηκε η σταθερότητα τους στην διάρκεια του χρόνου και μετρήθηκαν δείκτες προσδιορισμού των μεταβολών των ποιοτικών τους χαρακτηριστικών σε διάρκεια 7 ημερών παρουσία ή μη βιοδραστικών συστατικών από την ύπαρξη του εκχυλίσματος.

Η μικροσκόπηση των γαλακτωμάτων αποτυπώνει με ευκρίνεια την κατάλληλη ή μη διασπορά των λιπαρών μέσα στην υδατική φάση μέσου του μεγέθους των σταγονιδίων αξιολογώντας τόσο τις διαφορετικές τιμές pH όσο και το είδος της χρησιμοποιούσας πρωτεΐνης σε διαφορετικές συγκεντρώσεις.

Σύμφωνα με την μέθοδο FT-IR σε συνδυασμό με το pH παρατηρούνται μεταβολές στις τιμές των κορυφών που αποδίδονται σε εύρος $3700-2955\text{ cm}^{-1}$, $2955-2700\text{ cm}^{-1}$ και $1800-1530\text{ cm}^{-1}$. Οι μεταβολές αυτές παρατηρούνται εντονότερα στην πρωτεΐνη σόγιας η οποία παρουσιάζει καλύτερες γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες.

Τέλος, η συνύπαρξη των πολυφαινολών σε συνδυασμό με την πρωτεΐνη σόγιας συνδράμει στην μείωση των οξειδωτικών φαινομένων ανεξάρτητα από το είδος του ελαίου. Αντίθετα η ποσότητα του ελαίου παίζει καθοριστικό ρόλο στην εμφάνιση των οξειδωτικών φαινομένων, το οποίο είναι λογικό καθώς αποτυπώνονται σε ποσοστό γαλακτώματος και όχι σε ποσοστό λιπαρής φάσης.

ABSTRACT

In this diplomatic study, four different types of commercial protein formulations of plant origin (soybeans, peas, faba beans, rice) were evaluated for their use as emulsifiers in the preparation of stable oil in water emulsions. Simultaneously, the use of fruit extract (sour cherries) as a natural antioxidant was investigated for the study of emulsion fat oxidation inhibition.

The factors investigated in the emulsions concern their preparation conditions (oil concentration, protein concentration and environmental conditions), their stability over time, and the oxidation factors of fats in the presence or absence of antioxidant compounds. So far, the methods of creating emulsions, the various methods of receiving plant-derived proteins, and the stability of the emulsions at different times have all been studied in the literature. However, there is not enough literature referring to commercial protein formulations.

The solubility and absorption capacity of proteins in oil, water, and their replacement by hydro alcoholic solution were investigated during the experiment. Indicators of emulsifying stability index (ESI) and emulsifying activity index (EAI) were also measured. Then, to determine the characteristic peaks of amino acids that affect emulsification capacity, techniques such as microscopy (oil droplet size observation) and FT-IR spectrophotometry were used to evaluate the optimal emulsions. The incorporation of antioxidants into optimal emulsions and the investigation of the kinetics of oxidative phenomena were carried out using measurements for lipid oxidation using the T-bars assay, peroxide value, and conjugate dienes.

Based on the results of the preceding analyses, we concluded that the best emulsions were those made with soy and pea protein in pH areas far from their isoelectric point (pH 2, pH 8). The use of a hydro alcoholic solution in place of the aqueous phase aided in the creation of better emulsions with aqueous pH values.

Following that, the optimal emulsions were evaluated using microscopic observation, their stability over time was determined, and indicators were measured to determine changes in their qualitative characteristics over a 7-day period in the presence or absence of non-bioactive components of the extract.

By evaluating both the different pH values and the type of protein used at different concentrations, emulsion microscopy clearly captures the appropriate or inappropriate dispersion of fats within the aqueous phase through the size of droplets.

According to the FT-IR method in combination with pH, changes in characteristic adsorption peaks are observed in the ranges of 3700-2955 cm⁻¹, 2955-2700 cm⁻¹ and 1800-1530 cm⁻¹. These changes are observed more intensely in soybean protein which shows better emulsifying properties.

Finally, the coexistence of polyphenols in combination with soy protein contributes to the reduction of oxidative phenomena regardless of the type of oil. On the contrary, the amount of oil has a decisive role in the occurrence of oxidative phenomena, which is logical as they are reflected in the percentage of emulsion and not in the percentage of fatty phase.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

1	ΓΑΛΑΤΩΜΑΤΑ.....	16
1.1	ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΑ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΑ	16
1.2	Η ΘΕΩΡΙΑ ΤΩΝ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΩΝ	17
1.3	ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΩΝ	18
2	ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΟΠΟΙΗΤΕΣ	19
2.1	ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΩΣ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΟΠΟΙΗΤΕΣ	21
2.2	ΦΥΤΙΚΕΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΩΣ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΟΠΟΙΗΤΕΣ.....	22
2.2.1	ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΜΠΙΖΕΛΙΟΥ	23
2.2.2	ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΦΑΒΑΣ	25
2.2.3	ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΣΟΦΙΑΣ.....	26
2.2.4	ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΡΥΖΙΟΥ.....	27
3	ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΟΣ.....	28
4	ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΩΝ.....	30
5	ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ	32
6	ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΚΑΙ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΑ	35
6.1	ΟΞΕΙΔΩΣΗ ΛΙΠΙΔΙΩΝ	37
7	ΣΚΟΠΟΣ	39
8	ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΩΝ.....	40
9	ΜΕΡΟΣ ΠΡΩΤΟ	41
9.1	ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	41
9.2	ΥΛΙΚΑ	41
9.3	ΜΕΘΟΔΟΙ	41
9.3.1	ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΝΕΡΟΥ- ΥΔΡΑΛΚΟΟΛΙΚΟΥ ΜΕΙΓΜΑΤΟΣ- ΛΑΔΙΟΥ 41	
9.3.2	ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΝΕΡΟΥ	41
9.3.3	ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΛΑΔΙΟΥ.....	42
9.3.4	ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΥΔΡΟΑΛΚΟΟΛΙΚΩΝ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ	42
9.3.5	ΔΙΑΛΥΤΟΤΗΤΑ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ	42
9.3.6	ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ	43
10	ΜΕΡΟΣ ΔΕΥΤΕΡΟ	44
10.1	ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	44

10.2	ΥΛΙΚΑ	44
10.3	ΜΕΘΟΔΟΙ	44
10.3.1	ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΩΝ.....	44
10.3.2	ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΟΣ.....	46
10.3.3	ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ FT-IR	46
10.3.4	ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟΣ BRANTFORD	46
11	ΜΕΡΟΣ ΤΡΙΤΟ.....	47
11.1	ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	47
11.2	ΥΛΙΚΑ	47
11.3	ΜΕΘΟΔΟΙ	48
11.3.1	T-BARS ASSAY (ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΜΕΤΡΗΣΗ ΑΠΕΥΘΕΙΑΣ ΣΕ ΛΙΠΟΣΩΜΑ).....	48
11.3.2	PEROXIDE VALUE	48
11.3.3	ΣΥΖΥΓΗ ΔΙΕΝΙΑ	49
12	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	50
12.1	ΜΕΡΟΣ ΠΡΩΤΟ	50
12.1.1	ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΣΚΟΝΩΝ- ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ	50
12.1.2	ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΝΕΡΟΥ- ΥΔΡΑΛΚΟΟΛΙΚΟΥ ΜΕΙΓΜΑΤΟΣ- ΛΑΔΙΟΥ 51	
12.1.3	ΔΙΑΛΥΤΟΤΗΤΑ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ	53
12.1.4	ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΟΠΟΙΗΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ	54
12.2	ΜΕΡΟΣ ΔΕΥΤΕΡΟ	58
12.2.1	ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΩΝ.....	58
12.2.2	ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΩΝ ΣΕ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ	60
12.3	FTIR	62
	ΜΕΡΟΣ ΤΡΙΤΟ.....	66
	12.3.1 ΣΥΖΥΓΗ ΔΙΕΝΙΑ	66
	12.3.2 PEROXIDE VALUE	67
	12.3.3 T-BARS	68
13	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	70
14	ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΥΡΕΝΑ.....	73
15	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	74

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

ΠΙΝΑΚΑΣ 1: ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΤΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΥΤΩΝ	ΣΦΑΛΜΑ! ΔΕΝ ΕΧΕΙ ΟΡΙΣΤΕΙ ΣΕΛΙΔΟΔΕΙΚΤΗΣ.
ΠΙΝΑΚΑΣ 2: ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΤΙΜΕΣ ΓΙΑ ΤΙΣ ΑΝΕΞΑΡΤΗΤΕΣ ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ ΠΟΥ ΜΕΛΕΤΗΘΗΚΑΝ ΓΙΑ ΤΟΝ 2 ³ ΠΛΗΡΗ ΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΟ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟ	45
ΠΙΝΑΚΑΣ 3: ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗΣ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΩΝ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΟ 2 ³ ΠΛΗΡΗ ΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ.	45
ΠΙΝΑΚΑΣ 4: ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ	50
ΠΙΝΑΚΑΣ 5: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΕΩΝ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ ΥΔΑΤΙΚΕΣ ΦΑΣΕΙΣ	52
ΠΙΝΑΚΑΣ 6: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΕΑΙ ΤΩΝ ΕΞΕΤΑΖΟΜΕΝΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΕ ΡΗ 2, 4, 6, 8 ΣΕ ΥΔΡΟΑΛΚΟΟΛΙΚΟ ΔΙΑΛΥΜΑ	55
ΠΙΝΑΚΑΣ 7: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΕΑΙ ΤΩΝ ΕΞΕΤΑΖΟΜΕΝΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΕ ΡΗ 2, 4, 6, 8 ΣΕ ΥΔΑΤΙΚΟ ΔΙΑΛΥΜΑ	57
ΠΙΝΑΚΑΣ 8: ΒΕΛΤΙΣΤΑ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΑ ΠΟΥ ΠΑΡΑΣΚΕΥΑΣΤΗΚΑΝ.....	60
ΠΙΝΑΚΑΣ 9: ΤΑΙΝΙΕΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΕΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΟΜΑΔΩΝ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΩΝ (ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ UV-VIS & IR, ΒΑΣΙΛΕΙΑΣ Ι. ΣΙΝΑΝΟΓΛΟΥ).....	63

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 1: ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΕΙΣ ΝΕΡΟΥ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ.....	51
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 2: ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΕΙΣ ΛΑΔΙΟΥ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ.....	52
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 3: ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ ΕΑΙ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΕ ΥΔΡΟΑΛΚΟΟΛΙΚΟ ΔΙΑΛΥΜΑ	55
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4: ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ ΕΑΙ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΕ ΥΔΑΤΙΚΟ ΔΙΑΛΥΜΑ	57
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 5:ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ ΠΟΥ ΑΦΟΡΟΥΝ ΤΟΝ ΔΕΙΚΤΗ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΩΝ ΠΟΥ ΠΑΡΑΣΚΕΥΑΣΤΗΚΑΝ ΜΕ ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΣΟΓΙΑΣ, ΜΠΙΖΕΛΙΟΥ, ΦΑΒΑΣ ΚΑΙ ΣΟΓΙΑΣ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ ΤΙΜΕΣ ΡΗ ΣΕ ΥΔΡΟΑΛΚΟΟΛΙΚΟ ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΚΟ ΔΙΑΛΥΜΑ.....	58
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6: ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΟΠΟΙΗΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΜΠΙΖΕΛΙΟΥ ΚΑΙ ΣΟΓΙΑΣ ΜΕ ΠΑΡΟΥΣΙΑ Η ΜΗ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΩΝ.....	59
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 7: ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ FT-IR ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ. (Α) ΣΟΓΙΑΣ, (Β) ΜΠΙΖΕΛΙΟΥ, (Γ) ΦΑΒΑΣ, (Δ) ΡΥΖΙΟΥ.....	64
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 8:ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ FT-IR ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ. (I) ΣΟΓΙΑΣ, (II) ΜΠΙΖΕΛΙΟΥ, (III) ΦΑΒΑΣ, (IV) ΡΥΖΙΟΥ ΣΕ ΜΕΓΑΛΥΤΕΡΗ ΕΣΤΙΑΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ ΤΩΝ ΦΑΣΜΑΤΩΝ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ ΤΙΜΕΣ ΡΗ.....	65
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 9: ΚΙΝΗΤΙΚΗ ΣΥΖΥΓΩΝ ΔΙΕΝΙΩΝ ΣΤΗΝ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΟΥ ΧΡΟΝΟΥ ΓΙΑ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΑ ΛΑΔΙ ΣΕ ΝΕΡΟ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ 10% ΚΑΙ 20% ΛΑΔΙΟΥ ΜΕ ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΣΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΜΠΙΖΕΛΙΟΥ	66
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 10:ΚΙΝΗΤΙΚΗ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΕΩΝ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΩΝ ΣΤΗΝ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΟΥ ΧΡΟΝΟΥ ΓΙΑ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΑ ΛΑΔΙ ΣΕ ΝΕΡΟ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ 10% ΚΑΙ 20% ΛΑΔΙΟΥ ΜΕ ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΣΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΜΠΙΖΕΛΙΟΥ	67
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 11:ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΕΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟ ΤΒΑΡΣ ΣΤΗΝ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΟΥ ΧΡΟΝΟΥ ΓΙΑ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΑ ΛΑΔΙ ΣΕ ΝΕΡΟ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ 10% ΚΑΙ 20% ΛΑΔΙΟΥ ΜΕ ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΣΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΜΠΙΖΕΛΙΟΥ.....	68

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

ΕΙΚΟΝΑ 1: ΕΛΚΤΙΚΕΣ ΔΥΝΑΜΕΙΣ ΠΟΥ ΑΣΚΟΥΝΤΑΙ ΣΤΑ ΜΟΡΙΑ ΣΤΗΝ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ ΝΕΡΟΥ/ΛΑΔΙΟΥ (ΔΕΞΙΑ) ΚΑΙ ΣΤΟ ΕΣΩΤΕΡΙΚΟ ΤΩΝ ΦΑΣΕΩΝ (ΑΡΙΣΤΕΡΑ)(ΛΟΥΓΚΟΒΟΗΣ ΒΛΑΔΙΜΗΡΟΣ, NO DATE).....	18
ΕΙΚΟΝΑ 2: ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΑ ΛΑΔΙ-ΣΕ-ΝΕΡΟ ΚΑΙ ΝΕΡΟ-ΣΕ-ΛΑΔΙ. ΤΑ ΝΑΝΟΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΑ ΕΙΝΑΙ ΜΗ ΙΣΟΡΡΟΠΗΜΕΝΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΝΕΡΟΥ-ΣΕ-ΛΑΔΙ (W/O) Η ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΑ ΛΑΔΙΟΥ-ΣΕ-ΝΕΡΟ (O/W). ΕΙΝΑΙ ΜΗ ΑΝΑΜΙΞΙΜΑ ΥΓΡΑ ΠΟΥ ΑΠΟΤΕΛΟΥΝΤΑΙ ΑΠΟ ΕΛΑΙΟ ΚΑΙ ΝΕΡΟ ΠΟΥ ΣΧΗΜΑΤΙΖΟΥΝ ΜΙΑ ΕΝΙΑΙΑ ΦΑΣΗ ΜΕ ΕΝΑ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΟΠΟΙΗΤΗ ΟΠΩΣ ΟΙ ΕΠΙΦΑΝΕΙΟΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΟΙ ΣΥΝ-ΕΠΙΦΑΝΕΙΟΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ, ΤΟ Ο ΣΥΝΔΥΑΣΜΟΣ ΤΩΝ ΟΠΟΙΩΝ ΠΡΟΣΔΙΔΕΙ ΥΨΗΛΗ ΘΕΡΜΟΔΥΝΑΜΙΚΗ, ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΛΛΟΥΣ ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΟΥΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΣΤΟ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑ(ΑΣΗΑΟΛΥ, 2021) ..	21
ΕΙΚΟΝΑ 3 ΔΟΜΗ ΦΑΙΝΟΛΗΣ	36
ΕΙΚΟΝΑ 4: ΣΚΟΝΕΣ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ. (ΣΟΓΙΑ, ΜΠΙΖΕΛΙ, ΡΥΖΙ, ΦΑΒΑ)	50
ΕΙΚΟΝΑ 5: ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΑ ΣΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΜΠΙΖΕΛΙ ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΚΗ ΦΑΣΗ ΜΕ ΝΕΡΟ.....	53
ΕΙΚΟΝΑ 6: ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΑ ΦΑΒΑΣ ΚΑΙ ΡΥΖΙΟΥ ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΚΗ ΦΑΣΗ ΚΑΘΑΡΟ ΑΠΟΣΤΑΓΜΑ	53
ΕΙΚΟΝΑ 7: ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΑ ΜΕ ΥΔΡΟΑΛΚΟΟΛΙΚΟ ΔΙΑΛΥΜΑ 25%-75% ΑΠΟΣΤΑΓΜΑ/ΝΕΡΟ, ΜΕ ΤΗΝ ΑΚΟΛΟΥΘΗ ΣΕΙΡΑ ΡΥΖΙ, ΦΑΒΑ, ΣΟΓΙΑ, ΜΠΙΖΕΛΙ.....	53
ΕΙΚΟΝΑ 8: ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΑ ΜΕ ΥΔΑΤΙΚΗ ΦΑΣΗ ΝΕΡΟ(W) ΣΕ ΡΗ 2,4,6,8 ΜΕ ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΣΟΓΙΑΣ (S), ΜΠΙΖΕΛΙΟΥ (P), ΦΑΒΑΣ (F) ΚΑΙ ΡΥΖΙΟΥ (R) ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΩΣ.....	54
ΕΙΚΟΝΑ 9: ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΑ ΜΕ ΥΔΑΤΙΚΗ ΦΑΣΗ ΥΔΡΟΑΛΚΟΟΛΙΚΟ ΔΙΑΛΥΜΑ(W/E) ΣΕ ΡΗ 2,4,6,8 ΜΕ ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΣΟΓΙΑΣ (S), ΜΠΙΖΕΛΙΟΥ (P), ΦΑΒΑΣ (F) ΚΑΙ ΡΥΖΙΟΥ (R) ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΩΣ.....	54
ΕΙΚΟΝΑ 10: ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΣΗ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΩΝ ΣΕ ΕΣΤΙΑΣΗ Χ40. ΠΑΡΑΠΑΝΩ ΕΧΟΥΜΕ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΑ ΜΕ (I)ΜΠΙΖΕΛΙ ΣΕ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ 0.5%, ΣΕ ΡΗ 2 ΜΕ 20% ΛΑΔΙ (II) ΜΠΙΖΕΛΙ ΣΕ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ 0.9%, ΣΕ ΡΗ 2 ΜΕ 10% ΛΑΔΙ (III) ΣΟΓΙΑ ΣΕ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ 0.5%, ΣΕ ΡΗ 2 ΜΕ 20% ΛΑΔΙ (IV) ΣΟΓΙΑ ΣΕ ΣΥΓΚΕ.....	61
ΕΙΚΟΝΑ 11: ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΣΗ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΩΝ ΣΕ ΡΗ 4 ΜΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΛΑΔΙΟΥ ΚΑΙ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟ ΕΙΔΟΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ. (1) ΣΟΓΙΑ ΣΕ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΛΑΔΙΟΥ 10%, (2) ΜΠΙΖΕΛΙ ΣΕ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΛΑΔΙΟΥ 10%, (3) ΦΑΒΑ ΣΕ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΛΑΔΙΟΥ 10%, (4) ΡΥΖΙ ΣΕ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΛΑΔΙΟΥ 10%, (5) ΣΟΓΙΑ ΣΕ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΛΑΔΙΟΥ 20%, (6) ΜΠΙΖΕΛΙ ΣΕ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΛΑΔΙΟΥ 20%, (7) ΦΑΒΑ ΣΕ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΛΑΔΙΟΥ 20% ΚΑΙ (8) ΡΥΖΙ ΣΕ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΛΑΔΙΟΥ 20%.....	62

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

Όροι	Εξήγηση στα Αγγλικά	Εξήγηση στα Ελληνικά
W/O	Water in oil emulsion	Γαλάκτωμα νερό σε λάδι
O/W	Oil-in-water emulsion	Γαλάκτωμα λάδι σε νερό
HLB	Hydrophilic-Lipophilic-Balance	Τιμή υδρόφιλης-λιπόφιλης ισορροπίας
Na-CAS	Sodium caseinate	Άλατα καζεϊνών
WPI	Whey protein isolate	Πρωτεΐνες ορού
WPC	Whey protein concentrate	Συμπυκνωμένη πρωτεΐνη ορού γάλακτος
SW	Sweet whey	Τυρόγαλο
SPI	Soy protein isolate	Απομονωμένη πρωτεΐνη σόγιας
LMWS	Low molecular weight	Χαμηλού μοριακού βάρους
UF	Ultrafiltration membranes	Μεμβράνη υπερδιήθησης
SE	Salt extraction	Εκχύλιση με αλάτι
AE-IP	Alkaline extraction- isoelectric precipitation	Αλκαλική εκχύλιση- Ισοηλεκτρική καθίζηση
FBPI	Faba bean protein isolates	Πρωτεΐνη φασολιού φάβας
pI	Isoelectric point	Ισοηλεκτρικό σημείο
PUFAs	Polysaturated fatty acid	Πολυακόρεστα λιπαρά οξέα
ESI	Emulsifying stability index	Δείκτες σταθερότητας των γαλακτωμάτων
EAI	Emulsifying activity index	Ικανότητας δημιουργίας γαλακτωμάτων

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1 ΓΑΛΑΤΩΜΑΤΑ

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΑ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΑ

Η βιομηχανία τροφίμων στις μέρες μας επιδιώκει την δημιουργία νέων προϊόντων υψηλής διατροφικής αξίας αλλά και υψηλής ποιότητας. Για να επιτευχθεί αυτό πρέπει να γίνουν κατανοητά τα κύρια φυσικοχημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τροφίμων που σχετίζονται με την σύνθεση και την μικροδομή των τροφίμων. Τα χαρακτηριστικά αυτά μπορεί να είναι ρεολογικά χαρακτηριστικά όπως είναι η υφή, το ιξώδες, τα οργανοληπτικά (εμφάνιση, η γεύση κ.α.) καθώς επίσης και η επίδραση αυτών στην διάρκεια ζωής των τροφίμων κ.α.

Ως γαλάκτωμα ορίζεται το προϊόν που δημιουργείται από την ανάμιξη λιπαρής και υδατικής φάσης. Γαλακτώματα απατώνται τόσο στα τρόφιμα όσο και στην κοσμετολογία αλλά και στην ιατρική. Όσον αφορά, τα τρόφιμα γαλακτώματα θεωρούνται τόσο φυσικά προϊόντα αλλά και τρόφιμα που έχουν δημιουργηθεί με ανάμιξη των 2 φάσεων (υδατική και λιπαρή) σε διαφορετικές κάθε φορά αναλογίες χρησιμοποιώντας είτε φυσικές πρώτες ύλες (πρωτεΐνες φυτικής ή ζωικής προέλευσης) είτε πρόσθετα τροφίμων (όπως γαλακτωματοποιητές). Παραδείγματα τέτοιων τροφίμων είναι το γάλα, η μαγιονέζα, οι κρέμες, διάφορα είδη σαλτσών, το παγωτό, το βούτυρο και πολλά άλλα.

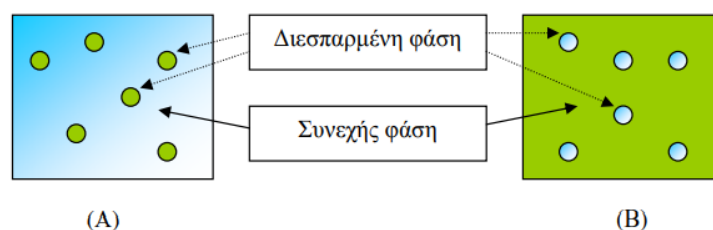
Ένα γαλάκτωμα δημιουργείται από ένα διφασικό σύστημα αποτελούμενο από την λιπαρή και υδατική φάση. Μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε τα συστήματα αυτά ως φορείς βιοδραστικών ουσιών τόσο υδατοδιαλυτών όσο και λιποδιαλυτών αυξάνοντας έτσι την βιωσιμότητα του τελικού προϊόντος είτε την θρεπτική του αξία. Τέτοια συστατικά μπορεί να είναι είτε αντιοξειδωτικά, βιταμίνες, λιπαρά οξέα κ.α.

Οι φυσικοχημικές ιδιότητες και η σταθερότητα των γαλακτωμάτων εξαρτάται από τον συνδυασμό πολλαπλών παραγόντων όπως το είδος και τη συγκέντρωση των συστατικών για την παρασκευή του γαλακτώματος, το pH, τον χρόνο και οι τεχνικές της ομογενοποίησης. Τα συστατικά για την παρασκευή των γαλακτωμάτων μπορούν να ποικίλουν ανάλογα με το είδος τους. Πιο συγκεκριμένα για υδατική φάση συνήθως χρησιμοποιείται νερό ή ακόμα και κάποιο υδραλκοολικό διάλυμα, για την λιπαρή φάση κάποιο έλαιο όπως ηλιέλαιο, ελαιόλαδο κ.α. ενώ απαραίτητη είναι η προσθήκη κάποιου γαλακτωματοποιητή. Οι γαλακτωματοποιητές συνήθως είναι ανιοντικοί για παράδειγμα λεκιθίνη, άλατα λιπαρών οξέων κ.ά. ή μη ιοντικοί όπως μονογλυκερίδια, οξικοί εστέρες κ.ά.

Κατ' επέκταση τα γαλακτώματα περιέχουν μία ποικιλία συστατικών, όπως νερό, λιπίδια, πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, γαλακτωματοποιητές καθώς επίσης και συστατικά εμπλουτισμού όπως αντιοξειδωτικά. Ο συνδυασμός αυτών των συστατικών ευθύνεται για τη δημιουργία του γαλακτώματος, ώστε το τελικό προϊόν να αποκτήσει τα επιθυμητά φυσικοχημικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά. Μερικά από τα βασικά αυτά χαρακτηριστικά είναι το μέγεθος των σταγονιδίων, η σταθερότητα, τα ρεολογικά χαρακτηριστικά και κυρίως το ιξώδες του γαλακτώματος, το κλάσμα όγκου της φάσης διασποράς, οι ιδιότητες διεπιφάνειας των σταγονιδίων και οι αλληλεπιδράσεις των σταγονιδίων.

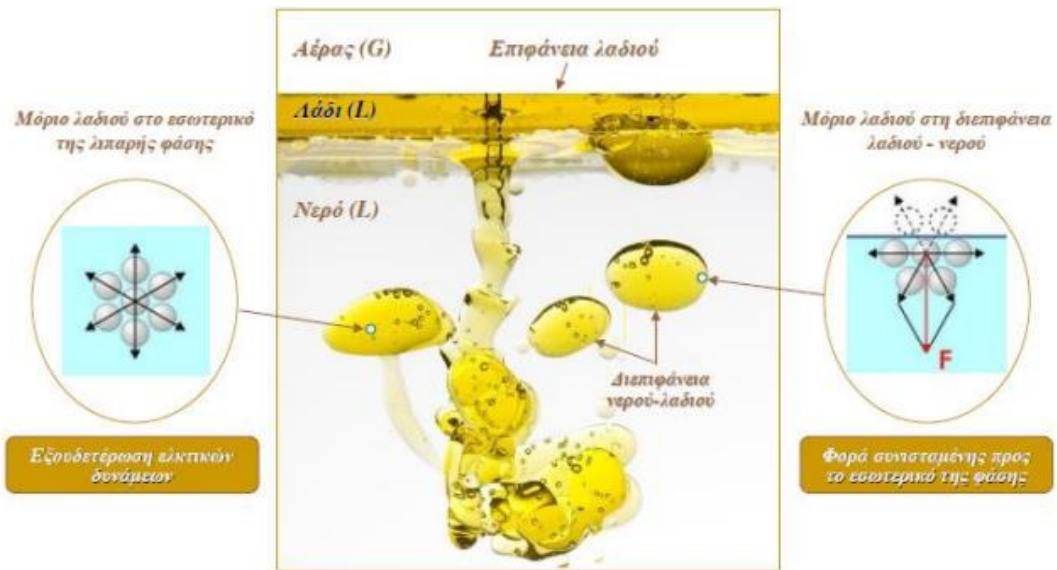
1.2 Η ΘΕΩΡΙΑ ΤΩΝ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΩΝ

Ως γαλακτώμα ορίζεται ένα σύστημα δυο μη αναμίξιμων υγρών το ένα εκ των οποίων βρίσκεται σε διασπορά εντός του άλλου με την μορφή μικρών σφαιρικών σταγονιδίων. Στη βιομηχανία τροφίμων, τα δύο μη αναμίξιμα υγρά είναι συνήθως λάδι και νερό και η μέση διάμετρος των σταγονιδίων στα γαλακτώματα κυμαίνεται από 0,1 έως 50 nm. Το υγρό που είναι διεσπαρμένο με τη μορφή σταγονιδίων, ονομάζεται διεσπαρμένη ή εσωτερική ή ασυνεχής φάση του γαλακτώματος, ενώ αυτό που αποτελεί το μέσο που περιβάλλει τα σταγονίδια, ονομάζεται διασπείρουσα ή εξωτερική ή συνεχή φάση του γαλακτώματος (Λουγκοβόης Βλαδίμηρος, Εργαστηριακές σημειώσεις).



Με βάση τις αρχές που ακολουθούν τα συστήματα αυτά (διεπιφανειακά φαινόμενα) θα μπορούσε να μελετηθεί και να γίνει κατανοητός ο τρόπος από τον οποίο επηρεάζεται ο σχηματισμός των γαλακτωμάτων, οι φυσικοχημικές τους ιδιότητες αλλά και η σταθερότητα τους. Πιο συγκεκριμένα η οριακή επιφάνεια μεταξύ δύο μη-αναμίξιμων φάσεων ορίζεται ως διεπιφάνεια ή μεσεπιφάνεια. Τα μόρια που βρίσκονται στο εσωτερικό των επιμέρους φάσεων και αυτά που βρίσκονται στην διεπιφάνεια έχουν διαφορετική συμπεριφορά.

Αναλυτικότερα, ένα μόριο που βρίσκεται στο εσωτερικό μιας φάσης έλκεται από τα μόρια του άμεσου περιβάλλοντος ομοιόμορφα με αποτέλεσμα να εξουδετερώνονται όλες οι ελκτικές δυνάμεις. Εν αντιθέσει με τα μόρια που βρίσκονται στην διεπιφάνεια, τα οποία δεν περιβάλλονται από μόρια του ίδιου τύπου, συνεπώς η συνισταμένη των ελκτικών δυνάμεων που ασκούνται σε αυτό να έχει κατεύθυνση ως προς το εσωτερικό της αντίστοιχης φάσης. Αυτή η ελκτική δύναμη αντικατοπτρίζεται ως διεπιφανειακή τάση και εκφράζεται σε dynes/cm σε σταθερή θερμοκρασία, συγκέντρωση και πίεση. Τέλος αυτή τείνει να μειώσει στο ελάχιστο τον αριθμό των μορίων που βρίσκονται στην διεπιφάνεια και κατ'επέκταση και το εμβαδόν της.



Εικόνα 1: Ελκτικές δυνάμεις που ασκούνται στα μόρια στην επιφάνεια νερού/λαδιού (δεξιά) και στο εσωτερικό των φάσεων (αριστερά) (Λουγκοβόης Βλαδίμηρος, Εργαστηριακές σημειώσεις)

1.3 ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΩΝ

Τα γαλακτώματα μπορούν να ταξινομηθούν ανάλογα με τη σχετική κατανομή των διαφόρων φάσεων αλλά και με βάση την διάμετρο των σταγονιδίων τους.

Σύμφωνα με την σχετική κατανομή της φάσης διαχωρίζονται σε:

- I. Γαλάκτωμα τύπου νερό σε λάδι (N/L - water-in-oil emulsion – w/o), στο οποίο τα σταγονίδια του νερού διασπείρονται στην λιπαρή φάση π.χ. βούτυρο, μαργαρίνη.
- II. Γαλάκτωμα τύπου λάδι σε νερό (L/N – oil-in-water emulsion – o/w), στο οποίο η λιπαρή φάση διασπείρεται στην υδατική π.χ. μαγιονέζα, γάλα, κρέμα.

Επιπλέον υπάρχουν και τα πολλαπλά γαλακτώματα, δηλαδή λάδι σε νερό σε λάδι L/N/L, νερό σε λάδι σε νερό N/L/N ή ακόμα και λάδι σε νερό σε νερό L/N/N. Για παράδειγμα σε ένα γαλάκτωμα του τύπου N/L/N, η διεσπαρμένη φάση είναι ένα γαλάκτωμα τύπου N/L που έχει «γαλακτωματοποιηθεί» σε νερό (Friberg et al., 2004- Garti, 1997a- Garti, 1997b- Garti & Bisperink, 1998- Kim, Decker & McClements, 2006). Τέτοιου είδους γαλακτώματα χρησιμοποιούνται για προστασία βιοδραστικών (ευαίσθητων) συστατικών και την ελεγχόμενη απελευθέρωσή τους ή ακόμα και για την δημιουργία τροφίμων χαμηλών σε λιπαρά. (Λουγκοβόης Βλαδίμηρος, Εργαστηριακές σημειώσεις).

Με βάση το μέγεθος των σωματιδίων τους διαχωρίζονται όπως στο περιγράφεται στην παρακάτω πίνακα.

Τύπος γαλακτώματος	Εύρος διαμέτρου σταγονιδίων	Θερμοδυναμική κατάσταση	Αναλογία επιφάνειας/μάζας (m^2/g)	Εμφάνιση
Μακρογαλακτώματα	1-100 μ m	Ασταθή	0.07-70	Θολό/αδιαφανές
Νανογαλακτώματα	20-500 nm	Ασταθή	70-330	Διαφανής
Μικρογαλακτώματα	10-100nm	Σταθερή	330-1300	Διαφανής

Πίνακας 1: Κατηγορίες γαλακτωμάτων και τα χαρακτηριστικά αυτών (Gurta et al., 2016)-Article “Nanoemulsions: formation, properties and applications “

Σε αντίθεση με τα μικρογαλακτώματα, τα συμβατικά (μακρο)γαλακτώματα είναι εγγενώς θερμοδυναμικά ασταθή συστήματα, επειδή η διασπορά του ενός υγρού στο άλλο παρουσιάζει μεγαλύτερο βαθμό δυσκολίας (McClements and Decker, 2000). Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι τείνουν να δημιουργηθούν ολόένα και μεγαλύτερες σταγόνες από την συνένωση των σταγονιδίων του διεσπαρμένου υγρού. Έτσι, με την πάροδο του χρόνου το γαλάκτωμα θα διαχωριστεί (Aoki, Decker and McClements, 2005). Για την παρασκευή γαλακτωμάτων που είναι κινητικά σταθερά για ένα χρονικό διάστημα (π.χ. μερικές ημέρες, εβδομάδες, μήνες ή χρόνια) απαιτείται η ενσωμάτωση ουσιών που είναι γνωστές ως γαλακτωματοποιητικοί παράγοντες. (McClements, 2007).

2 ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΟΠΟΙΗΤΕΣ

Οι γαλακτωματοποιητές είναι τασιενεργές ουσίες που προσκολλώνται στην επιφάνεια των σταγονιδίων και δημιουργούν ένα προστατευτικό στρώμα, παρεμποδίζοντας έτσι τη συσσωμάτωση των σταγονιδίων π.χ. πρωτεΐνες, (Dickinson, 2009). Οι γαλακτωματοποιητές ορίζονται ως οι ουσίες που μειώνουν την επιφανειακή τάση μεταξύ του ελαίου και του νερού, ενισχύοντας έτσι τη γαλακτωματοποίηση και αυξάνοντας τη σταθερότητα του γαλακτώματος.

Συνεπώς, χρήση των γαλακτωματοποιητών μειώνει τη διεπιφανειακή τάση και επομένως διευκολύνει τη διάσπαση των σταγονιδίων γαλακτώματος κατά την ομογενοποίηση, γεγονός που βοηθά στο σχηματισμό γαλακτωμάτων που περιέχουν μικρότερα σταγονίδια. Γενικότερα, οι ιδιότητες των γαλακτωματοποιητών ελέγχουν το μέγεθος των σταγονιδίων, τη ρεολογία, το pH και την ιοντική ισχύ των νανογαλακτωμάτων (Chen, Remondetto and Subirade, 2006). Η αποτελεσματικότητα ενός γαλακτωματοποιητή σχετίζεται με τη διαλυτότητα του στη εκάστοτε φάση (νερού ή ελαίου ή/και υδραλκοολικού διαλύματος).

Το βασικό χαρακτηριστικό ενός γαλακτωματοποιητή είναι ότι στο μόριο του περιέχει τόσο υδρόφιλες όσο και λιπόφιλες ομάδες με αποτέλεσμα να έχει την δυνατότητα να συνδεθεί τόσο με την λιπαρή ύλη όσο και με το νερό. Η αναλογία μεταξύ λιπόφιλων και υδρόφιλων ομάδων σχετίζεται με την συμπεριφορά του γαλακτωματοποιητή στην μεσεπιφάνεια νερού/ελαίου και εκφράζεται με την τιμή υδρόφιλης-λιπόφιλης ισορροπίας (HLB - Hydrophilic-Lipophilic-Balance). Οι τιμές ισορροπίας των γαλακτωματοποιητών κυμαίνονται από 1-20. Ο σχηματισμός ενός γαλακτώματος τύπου Ν/Λ ευνοείται όταν ο γαλακτωματοποιητής είναι λιπόφιλος, έτσι, όσο χαμηλότερη είναι η τιμή Η.Λ.Β τόσο πιο

ευνοϊκός ο σχηματισμός του γαλακτώματος και οι τιμές HLB κυμαίνονται σε τιμές 4-6. Αντιθέτως σε τιμές H.L.B. 8-18 ευνοείται ο σχηματισμός γαλακτώματος τύπου Λ/Ν καθώς χρησιμοποιούνται υδρόφιλοι γαλακτωματοποιητές (Λουγκοβόης Βλαδίμηρος, Εργαστηριακές σημειώσεις).

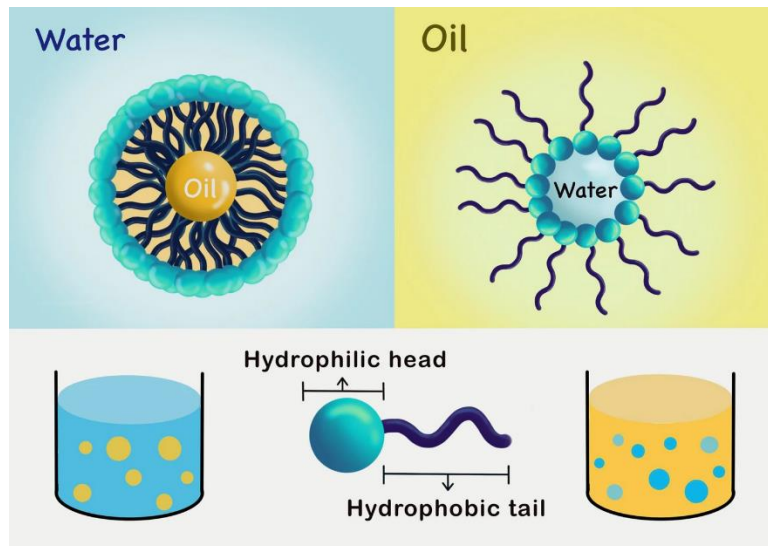
Η σωστή επιλογή ενός γαλακτωματοποιητή δεν είναι τόσο εύκολη γι' αυτό και είναι απαραίτητο να λαμβάνεται υπόψη ένας μεγάλος αριθμός παραγόντων, όπως η ενυδάτωση των πολικών ομάδων και οι αλληλεπιδράσεις με τα άλλα συστατικά του τροφίμου (ιόντα, άλλα πολικά λιπίδια, πρωτεΐνες κτλ.), οι οποίοι συχνά αλλάζουν δραστικά τις φυσικοχημικές ιδιότητες του γαλακτωματοποιητή.

Υπάρχουν πολλά είδη γαλακτωματοποιητών, τα οποία μπορούν να διαχωριστούν σε δύο κατηγορίες σε φυσικούς και συνθετικούς. Τέτοιες ουσίες μπορεί να είναι είτε γαλακτωματοποιητές χαμηλού μοριακού βάρους όπως μονο- και δι-γλυκερίδια, πολυσορβικοί εστέρες (Tweens), μονοσορβικοί εστέρες (Spans) και φωσφολιπίδια, π.χ. λεκιθίνη, είτε μακρομοριακά πολυμερή (π.χ. πρωτεΐνες). Οι γαλακτωματοποιητές χαμηλού μοριακού βάρους έχουν μία μικρο-υδρόφιλη ομάδα και μία ή περισσότερες αλυσίδες υδρογονάνθρακα οι οποίες αποτελούνται από λεκιθίνες, μονογλυκερίδια και διγλυκερίδια, οξικούς εστέρες, εστέρες πολυγλυκερόλης, εστέρες σακχαρόζης, εστέρες σορβιτάνης και πολυσορβικούς εστέρες προπυλενογλυκόλης λιπαρών οξέων (Krog and Sparsø, 2004). Ωστόσο καθώς οι καταναλωτές απαιτούν ολοένα και περισσότερο «καθαρές» ετικέτες σε προϊόντα τροφίμων και ποτών, η βιομηχανία τροφίμων προσπαθεί να αντικαταστήσει πολλές συνθετικές επιφανειοδραστικές ουσίες με φυσικές εναλλακτικές ουσίες ή να διαμορφώσει νέα προϊόντα εξ ολοκλήρου από φυσικές ά υλες και συστατικά (Mota da Silva, Souza Almeida and Kawazoe Sato, 2021).

Επιπρόσθετα είναι δυνατόν δύο γαλακτωματοποιητικοί παράγοντες με την ίδια τιμή ισορροπίας να μην έχουν τις ίδιες λειτουργικές ιδιότητες πιο ενδεικτική είναι η τιμή του δείκτη HLB, αφού δεν μπορεί να προβλεφθεί απολύτως η αποτελεσματικότητα των γαλακτωματοποιητών, αν αυτοί δεν δοκιμαστούν πρώτα πειραματικά (McClements, Decker and Weiss, 2007).

Η αποτελεσματικότητα των γαλακτωματοποιητών καθορίζεται από:

- α) την ταχύτητα με την οποία προσροφώνται στην επιφάνεια των σταγονιδίων κατά τη διάρκεια της ομογενοποίησης
- β) τη μείωση της επιφανειακής τάσης
- γ) το σχηματισμό μίας μεμβράνης γύρω από τα σταγονίδια, η οποία αποτρέπει τη συσσωμάτωση τους (McClements and Jafari, 2018).



Εικόνα 2: Γαλακτώματα λάδι-σε-νερό και νερό-σε-λάδι. Τα νανογαλακτώματα είναι μη ισορροπημένα συστήματα νερού-σε-λάδι (W/O) ή γαλακτώματα λαδιού-σε-νερό (O/W). Είναι μη αναμίξιμα υγρά που αποτελούνται από έλαιο και νερό που σχηματίζουν μια ενιαία φάση με ένα γαλακτωματοποιητή όπως οι επιφανειοδραστικές και οι συν-επιφανειοδραστικές ουσίες, το ο συνδυασμός των οποίων προσδίδει υψηλή θερμοδυναμική, σταθερότητα και άλλους φυσικοχημικούς ιδιότητες στο γαλακτώμα (Ashaolu, 2021).

2.1 ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΩΣ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΟΠΟΙΗΤΕΣ

Οι πρωτεΐνες είναι μακρομόρια, που αποτελούνται από μία ή περισσότερες αλυσίδες αμινοξέων. Όλες οι πρωτεΐνες στην αρχική τους κατάσταση διαθέτουν ειδικές τρισδιάστατες δομές, οι οποίες διατηρούνται σε μορφή διαλύματος, εκτός εάν υποβληθούν σε ακραίες συνθήκες, όπως η εντατική θέρμανση ή ανάδευση. Τα βιο-πολυμερή όπως οι πρωτεΐνες είναι αποτελεσματικά ως γαλακτωματοποιητές, όταν προσροφώνται άμεσα στη διεπιφάνεια των σταγονιδίων κατά τη διάρκεια της ομογενοποίησης. Οι μεμβράνες που σχηματίζονται από τα βιοπολυμερή, σταθεροποιούν τα σταγονίδια των γαλακτωμάτων μέσω ποικίλων μηχανισμών. Όλα τα βιοπολυμερή παρέχουν μικρού εύρους στερικές, αποστικές δυνάμεις, οι οποίες είναι αρκετά ισχυρές, ώστε να αποτρέπουν τη συνένωση ή συσσωμάτωση των σταγονιδίων (McClements, Lu and Grossmann, 2022).

Επίσης, εάν το πάχος της μεμβράνης είναι ικανοποιητικό, αποτρέπεται το φαινόμενο της κροκίδωσης των σταγονιδίων. Διαφορετικά, πρέπει το σταγονίδιο να είναι ηλεκτρικά φορτισμένο, ώστε η κροκίδωση να αποτρέπεται λόγω ηλεκτροστατικής άπωσης. Τα γαλακτώματα που σταθεροποιούνται από φορτισμένα βιοπολυμερή είναι ιδιαιτέρως ευαίσθητα στις αλλαγές του pH και της ιοντικής ισχύος του υδατικού διαλύματος. Σε τιμές pH, υψηλότερες από το ισοηλεκτρικό σημείο της πρωτεΐνης, ή σε κατάσταση υψηλής τιμής ιοντικής ισχύος, η ηλεκτροστατική άπωση μεταξύ των σταγονιδίων μπορεί να μην είναι αρκετά μεγάλη, ώστε να αποτρέπει τη συσσωμάτωση των σταγονιδίων. (McClements and Gumus, 2016)

Η αμφίφυλη φύση των πρωτεϊνών, τους επιτρέπει να χρησιμοποιούνται ως γαλακτωματοποιητές για να βοηθήσουν στη μείωση της διεπιφανειακής τάσης και στη σταθεροποίηση της διεπαφής λαδιού/νερού. Κατά τον σχηματισμό του γαλακτώματος, αναπροσανατολίζονται στη διεπιφάνεια έτσι ώστε τα υδρόφοβα τμήματα τους να βρίσκονται προς την ελαιώδη φάση και τα υδρόφιλα υπολείμματα να είναι στραμμένα προς την υδατική φάση. Για να είναι οι πρωτεΐνες αποτελεσματικοί γαλακτωματοποιητές πρέπει να μπορούν

να μετακινούνται γρήγορα στη διεπιφάνεια και να έχουν ευελιξία να ξεδιπλώνονται και να απορροφώνται στη διεπιφάνεια και στη συνέχεια να σχηματίζουν ένα ιξωδοελαστικό φιλμ για να περιβάλλει τις σταγόνες ελαίου και να επιβραδύνει τη συνένωση και την κροκίδωση (Karaca, Low and Nickerson, 2011a).

Οι πρωτεΐνες χρησιμοποιούνται ευρέως στα τρόφιμα ως γαλακτωματοποιητές, διότι πολλές από αυτές περιέχουν στο μόριό τους υψηλό ποσοστό μη πολικών ομάδων. Στη σταθεροποίηση των γαλακτωμάτων πολύ συχνά χρησιμοποιούνται οι πρωτεΐνες γάλακτος, άλατα καζεϊνών (Na-CAS - sodium caseinate), πρωτεΐνες ορού (WPI - whey protein isolate, WPC - whey protein concentrate, SW - sweet whey, α -lactalbumin - α -γαλακτοαλβουμίνη, β -galactoglobulin - β -γαλακτογλοβουλίνη), και οι πρωτεΐνες σόγιας (SPI - soy protein isolate). Αν και μερικές πρωτεΐνες είναι εξαιρετικοί γαλακτωματοποιητές, δεν μπορούν όλες οι πρωτεΐνες να απορροφηθούν έντονα σε μια διεπιφάνεια λάδι/νερό, επειδή οι πλευρικές τους αλυσίδες είναι ισχυρά υδρόφιλες ή επειδή έχουν άκαμπτες δομές που δεν επιτρέπουν στην πρωτεΐνη να συνδεθεί με τη διεπιφάνεια. Η ζελατίνη δρα με αυτόν τον τρόπο λόγω του υδρόφιλου χαρακτήρα της και επίσης λόγω της μεγάλης και ιδιαίτερα άκαμπτης δομής της. Για παράδειγμα η λυσοζύμη, αν και μπορεί να απορροφηθεί από τη διεπιφάνεια των σταγονιδίων, δεν είναι ένας καλός γαλακτωματοποιητής πιθανώς λόγω της σχετικά ανελαστικής δομής της.

Οι ιδιότητες και η σύσταση των γαλακτωμάτων που έχουν χρησιμοποιήσει πρωτεΐνες ως γαλακτωματοποιητές εξαρτώνται από: τον χαρακτήρα των πρωτεϊνών (π.χ. πηγή πρωτεΐνης, συγκέντρωση, μέγεθος, επιφανειακή τάση, υδρόφιλες/ υδρόφοβες ιδιότητες και διαλυτότητα), την επεξεργασία (π.χ. επίπεδο και διάρκεια της διάτμησης), τις περιβαλλοντικές συνθήκες (π.χ. θερμοκρασία, pH και ιοντική ισχύς), την αναλογία ανάμιξης, τις ιδιότητες σταγονιδίων γαλακτώματος (π.χ μέγεθος και κατανομή μεγέθους, επίπεδο συνένωσης και διάταξη των σταγονιδίων), το ιξώδες του γαλακτώματος και τον χρόνο (Dickinson, 2001, McClements, 2004).

Επομένως, οι βασικότερες πρωτεΐνες που χρησιμοποιούνται από τη βιομηχανία τροφίμων για τις γαλακτωματοποιητικές τους ικανότητες προέρχονται κυρίως από γάλα (ή ορό γάλακτος), σόγια, αυγό κ.λπ. Αυτές οι πρωτεΐνες χρησιμοποιούνται ευρέως λόγω της εμπορικής τους διαθεσιμότητας, της υψηλής θρεπτικής αξίας και των εξαιρετικών λειτουργικών τους ιδιοτήτων. Το κύριο μειονέκτημά τους είναι ότι η πλειοψηφία τους έχει αναγνωριστεί ως κοινά αλλεργιογόνα τρόφιμα (O'Sullivan *et al.*, 2016). Παράλληλα στην περίπτωση των πρωτεϊνών γάλακτος και αυγού υπάρχουν αυξανόμενες ανησυχίες σχετικά με τους διατροφικούς περιορισμούς που αφορούν, την εξάπλωση ασθενειών όπως η σπογγώδης εγκεφαλίτιδα των βοοειδών και τα ανθεκτικά παθογόνα που μεταδίδονται στα τρόφιμα.

2.2 ΦΥΤΙΚΕΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΩΣ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΟΠΟΙΗΤΕΣ

Τα τελευταία χρόνια το ενδιαφέρον έχει στραφεί στην εύρεση φυτικών πρωτεϊνών φιλικών προς τον καταναλωτή για να αντικαταστήσουν αυτές που προέρχονται από αλλεργιογόνες ουσίες ή ζωικής προέλευσης πηγές οι οποίες θα μπορούν να δίνουν εξίσου ή/και καλύτερα χαρακτηριστικά στα παραγόμενα προϊόντα. Μεγάλο ενδιαφέρον υπάρχει γύρω από τις πρωτεΐνες οσπρίων, όχι μόνο για την γαλακτωματοποιητική τους ικανότητα αλλά και για την θρεπτική τους αξία, την βιοδιαθεσιμότητά τους, το χαμηλό κόστος και την ευεργετική συνεισφορά στην υγεία. Οι πρωτεΐνες από διάφορα όσπρια, όπως

φάβα, φακή, φασόλι, μπιζέλι έχουν μελετηθεί για τις γαλακτωματοποιητικές τους ιδιότητες, με σκοπό την αντικατάσταση των ζωικών πρωτεϊνών, χωρίς ωστόσο να έχει εξολοκλήρου καταστεί δυνατό μέχρι στιγμής.

Οι λειτουργικές ιδιότητες των φυτικών πρωτεϊνών επηρεάζονται από τη διαμόρφωση της πρωτεΐνης, η οποία εξαρτάται από τη μέθοδο διαχωρισμού και τις συνθήκες επεξεργασίας, συμπεριλαμβανομένου του pH, της ιοντικής ισχύος, του τύπου του διαλύτη και της θερμοκρασίας κατά τη διαδικασία ανάκτησης. Η εκχύλιση πρωτεϊνών από φυτικές μήτρες έχει διερευνηθεί με διάφορες μεθόδους (Karaca et al., 2011; Wang et al., 2016). Εξ' όσων γνωρίζουμε, η ξηρή κλασμάτωση και η αλκαλική εκχύλιση ακολουθούμενη από ισοηλεκτρική καταβύθιση και ξήρανση είναι οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενες μέθοδοι σε βιομηχανική κλίμακα για την ανάκτηση πρωτεϊνών από φυτικές πηγές. Ενώ η ξηρή κλασμάτωση οδηγεί σε συμπυκνώματα με χαμηλή ποσότητα πρωτεΐνης (46-59% ξηρής βάσης) (Pelgrom et al., 2015), απαιτεί μεγάλους όγκους διαλυτών και μια επακόλουθη διαδικασία ξήρανσης που συνδέεται με σκληρές συνθήκες επεξεργασίας (Stone et al., 2015). Συχνά, οι πρωτεΐνες αυτές ανακτώνται σε μετουσιωμένη κατάσταση, η οποία τις καθιστά ελάχιστα διαλυτές και με περιορισμένες τεχνολογικές εφαρμογές (Mota da Silva, Souza Almeida and Kawazoe Sato, 2021).

Οι επιφανειοδραστικές ουσίες χαμηλού μοριακού βάρους (LMWS- low molecular weight) χρησιμοποιούνται επίσης ευρέως στη βιομηχανία τροφίμων για τη συμβολή τους στο σχηματισμό και τη σταθεροποίηση των γαλακτωμάτων λάδι/νερό. Συνήθως ταξινομούνται σύμφωνα με την υδρόφιλη-λιπόφιλη ισορροπία τους (HLB), ένα μέτρο του βαθμού υδρόφιλης ή υδροφοβικής συμπεριφοράς ενός γαλακτωματοποιητή. Οι LMWS που χρησιμοποιούνται συνήθως σε σκευάσματα τροφίμων περιλαμβάνουν μονο- και διγλυκερίδια, εστέρες οξέων μονο- και διγλυκεριδίων, όπως εστέρες κιτρικού οξέος μονο- και διγλυκεριδίων λιπαρών οξέων και εστέρες μονο- και διακετυλο- τρυγικού οξέος μονο- και διγλυκεριδίων λιπαρών οξέων και λεκιθίνες. Τα μονο- και διγλυκερίδια είναι μη ιοντικά επιφανειοδραστικά, που έχουν λιπόφιλο χαρακτήρα και συνεπώς χαμηλές τιμές HLB (3-6) (Amagliani et al., 2022).

2.2.1 ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΜΠΙΖΕΛΙΟΥ

Το μπιζέλι περιέχει 20-30% πρωτεΐνες, εκ των οποίων το 65-80% αποτελείται από σφαιρίνες και το 10-20% από αλβουμίνες (Karaca et al., 2011). Οι αλβουμίνες είναι υδατοδιαλυτές και θεωρούνται μεταβολικές και ενζυμικές πρωτεΐνες, ενώ οι σφαιρίνες είναι διαλυτές σε άλατα και λειτουργούν ως αποθηκευτικές πρωτεΐνες του σπόρου (McCarthy et al., 2016). Οι σφαιρίνες έχουν δύο κύρια κλάσματα, τη λεγουμίνη (pI 5-6) και τη βικιλίνη (pI 4-6), οι οποίες ανήκουν στις κατηγορίες των αποθηκευτικών πρωτεϊνών των σπόρων 11S και 7S, αντίστοιχα (Rubio et al., 2014).

Η αναλογία μεταξύ σφαιρίνης αλβουμίνης και η λεγουμίνη βικιλίνης μπορεί να ποικίλλει ανάλογα με το είδος και τις μεθόδους παραγωγής (Karaca, Low and Nickerson, 2011b). Οι διαφορές στην αναλογία και τη δομή μπορούν να οδηγήσουν σε διαφορές λειτουργικότητας. Για παράδειγμα, μια υψηλότερη περιεκτικότητα σε σφαιρίνες μπορεί να οδηγήσει σε καλύτερες ιδιότητες γαλακτωματοποίησης. Εκτός από τις πρωτεΐνες, τα απομονωμένα ή συμπυκνωμένα πρωτεϊνικά προϊόντα μπιζελιού περιέχουν συνήθως 3-10% υδατάνθρακες, 0,5-3,5% λιπίδια και 4-9% υγρασία. (Burger and Zhang, 2019).

Δεδομένου ότι οι γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες της πρωτεΐνης μπιζελιού σχετίζονται με τις φυσικοχημικές της ιδιότητες, η αλλαγή των περιβαλλοντικών συνθηκών μπορεί να επηρεάσει έντονα τον σχηματισμό και τη σταθερότητα του γαλακτώματος. Επιπλέον, η συγκέντρωση της πρωτεΐνης μπορεί επίσης να επηρεάσει τις ιδιότητες του γαλακτώματος. Οι ερευνητές έχουν διερευνήσει τους κύριους παράγοντες που καθορίζουν τις ιδιότητες του γαλακτώματος οι οποίοι είναι οι ακόλουθοι:

- pH
- Συγκέντρωση πρωτεΐνης
- Θερμοκρασία
- Ιοντική ισχύς
- Επιπτώσεις προέλευσης και καλλιέργειας (πχ. καλλιέργεια, κλάσμα σφαιρίνης, μέθοδος απομόνωσης, κλίμακα παραγωγής)

Πιο συγκεκριμένα από τους σημαντικότερους παράγοντες που καθορίζουν τη λειτουργικότητα της πρωτεΐνης μπιζελιού είναι η σύνθεση και η δομή της. Στην πρωτεΐνη μπιζελιού, αυτό σημαίνει συνήθως τη αναλογία της λεγουμίνης και της βικιλίνης, η οποία μπορεί να επηρεάζεται από την ποικιλία και τη μέθοδο απομόνωσης (Karaca, Low and Nickerson, 2011b). Ενώ υπάρχουν περιορισμένες μελέτες που μετρούν την επίδραση της αναλογίας λεγουμίνης/βικιλίνης, πολλές μελέτες έχουν χαρακτηρίσει τις διαφορές μεταξύ των καθαρών κλασμάτων.

Επιπλέον η μέθοδος απομόνωσης μπορεί να επηρεάσει τη λειτουργικότητα της πρωτεΐνης, επηρεάζοντας την αναλογία σφαιρίνης/αλβουμίνης ή λεγουμίνης /βικιλίνης, καθώς και τις φυσικοχημικές της ιδιότητες. Η αλκαλική εκχύλιση-ισοηλεκτρική καταβύθιση (AE-IP) είναι μία από τις πιο συνηθισμένες μεθόδους. Βασίζεται στη διαλυτότητα της πρωτεΐνης σε διαφορετικές τιμές pH για την εκχύλιση της πρωτεΐνης. Τυπικά απομονώνει κυρίως σφαιρίνες, με απόδοση 60,7%. Με τη χρήση μεμβρανών υπερδιήθησης (UF), μπορούν να εξαχθούν τόσο οι σφαιρίνες (60,7%) όσο και οι αλβουμίνες (20,5%) με συνολική απόδοση 81,2%. Η εκχύλιση με αλάτι (SE) μπορεί επίσης να συλλάβει τόσο τις σφαιρίνες όσο και τις αλβουμίνες, χρησιμοποιώντας ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού νατρίου 0,1 M (pH 8,00) που περιέχει 6,4% KCl σε απολιπασμένο αλεύρι μπιζελιού, ακολουθούμενο από παραλαβή στο υπερκείμενο. Μέθοδοι ξηρής άλεσης έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί για τον διαχωρισμό της πρωτεΐνης από το άμυλο, αλλά η καθαρότητα είναι χαμηλή, οπότε συνήθως απαιτείται περαιτέρω επεξεργασία με μία από τις άλλες μεθόδους (Boye et al., 2010).

Οι Stone et al. συνέκριναν την ικανότητα γαλακτώματος και την εκχύλιση με αλάτι τριών ποικιλιών μπιζελιού, κάθε μία από τις οποίες παρασκευάστηκε είτε με AE-IP (Alkaline extraction-isoelectric precipitation), είτε με εκχύλιση με αλάτι, είτε με καταβύθιση με μικροκύτταρα. Κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τόσο η ποικιλία όσο και η μέθοδος απομόνωσης επηρέασαν τη λειτουργικότητα των πρωτεϊνών και η SE έδωσε την καλύτερη λειτουργικότητα από τις μεθόδους απομόνωσης. (Stone, Karalash, et al., 2015) Ωστόσο, οι Karaca et al. βρήκαν αντίθετα αποτελέσματα κατά τη σύγκριση των γαλακτωματοποιητικών ιδιοτήτων διαφόρων πρωτεϊνών που απομονώθηκαν με AE-IP και SE (Karaca et al., 2011, Burger and Zhang, 2019).

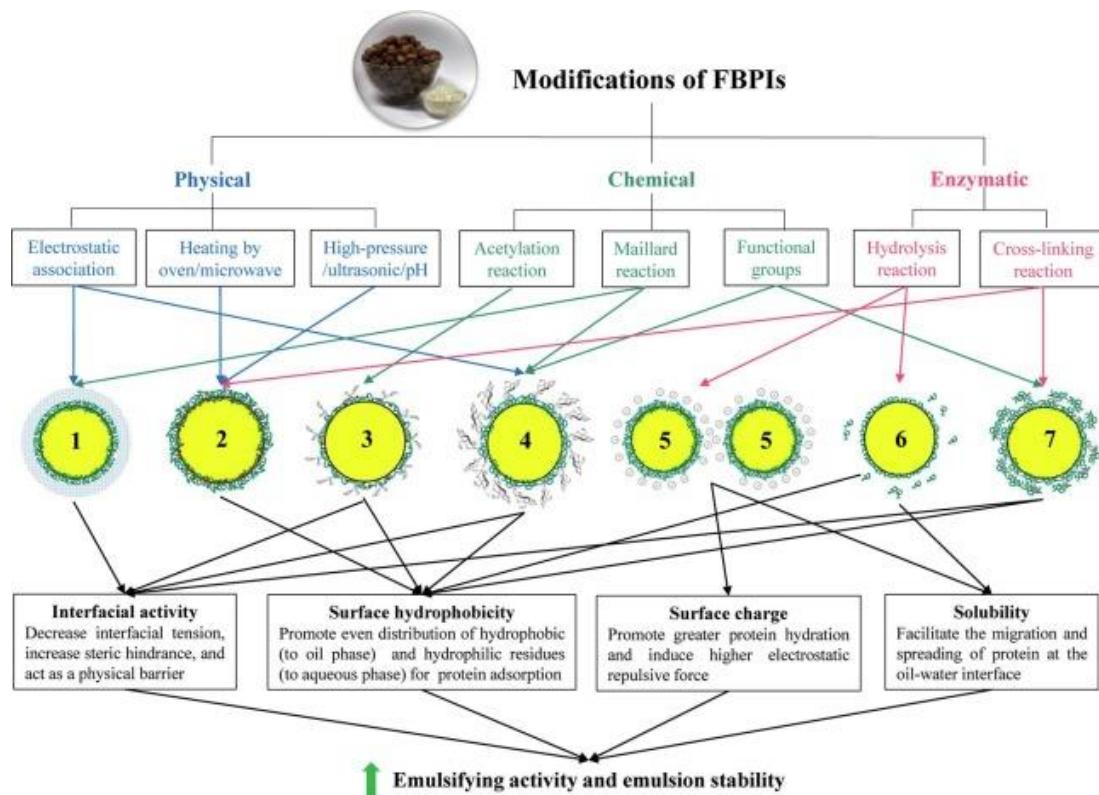
Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκε εμπορική πρωτεΐνη μπιζελιού, της οποίας το ~80% της σύνθεσης είναι πρωτεΐνη, σύμφωνα με την μέχρι τώρα βιβλιογραφία η πρωτεΐνη μπιζελιού περιλαμβάνει κυρίως σφαιρίνης και αλβουμίνης ενώ το υπόλοιπο είναι οι μη αμυλούχοι υδατάνθρακες, ιδιαίτερα οι ίνες από το κυτταρικό τοίχωμα των κοτυληδόνων, κυριαρχούν στη σύνθεση, εκτός από ένα ίχνος τέφρας και λιπιδίων (Gao, Rao and Chen, 2022).

2.2.2 ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΦΑΒΑΣ

Οι αποθηκευτικές πρωτεΐνες των φασολιών φάβας (Faba bean protein isolates (FBPIs)) αποτελούνται κυρίως από σφαιρίνες που μοιάζουν με τις σφαιρίνες των λεγουμινών (11S) και τις σφαιρίνες που μοιάζουν με τις σφαιρίνες της βικιλίνης (7S), καθώς και από μικρότερη ποσότητα αλβουμινών (2S), γλουτελίνες και πολυαμίνες (El Fiel, El Tinay, & Elsheikh, 2002). Με ισοηλεκτρικό σημείο (pI) ~ 4,5, η διαλυτότητα των FBPIs μειώνεται αισθητά κοντά στο pH 4 με 6 και διαλύεται κυρίως σε pH 8-9 (Otegui, Fernandez-Quintela, De Diego, Cid, Macarulla, & Partearroyo, 1997). Η διαλυτότητα είναι απαραίτητη για τη γαλακτωματοποίηση διευκολύνοντας τη μετανάστευση των πρωτεϊνών προς τη διεπιφάνεια ελαίου-νερού και την εξάπλωσή τους σε αυτήν (Wu, Hettiarachchy, & Qi, 1998).

Σύμφωνα με τους Lui et al. υδρόλυση των FBPIs από την αλκαλάση βελτιώνει τη διαλυτότητα κατά 6-10% σε pH 8. Αντίστοιχα, τα μέτρια υδρολυμένα FBPIs (βαθμός υδρόλυσης στο 4%) παρουσίασαν αυξημένο επιφανειακό φορτίο και επιφανειακή υδροφοβικότητα, τα οποία ευνοούσαν τη γαλακτωματοποιητική δράση (Liu, Bhattarai, et al., 2019). Παρομοίως, οι Xu κ.ά. (2016) ανέφεραν ότι η υδρόλυση της γλουτελίνης ρυζιού από θρυψίνη άλλαξε τα μοριακά βάρη, αύξησε την ευελιξία, άλλαξε την επιφανειακή υδροφοβικότητα και αύξησε σημαντικά τη διαλυτότητα (από < 10% σε > 60%), η οποία με τη σειρά της αύξησε τη σταθερότητα των γαλακτωμάτων (Liu, Pei and Heinonen, 2022).

Επιπρόσθετα οι υδρόφοβες ομάδες των πρωτεϊνών, οι οποίες σχετίζονται με τα υδρόφοβα κατάλοιπα αμινοξέων που εκτίθενται στην επιφάνεια, αποτελούν την προϋπόθεση για την προσρόφηση των πρωτεϊνών στη διεπιφάνεια ελαίου-νερού (Jiang, Cheng, & Sun, 2020). Οι Johnston et al. (2015) ανέφεραν την υδροφοβικότητα σε φθίνουσα σειρά με: ρεβίθι (~137 αυθαίρετες μονάδες, AU) > φακή = σόγια (~70 AU) > FBPI (~24 AU), γεγονός που μπορεί να εξηγεί εν μέρει τη σχετικά φτωχότερη γαλακτωματοποιητική ικανότητα του μη τροποποιημένου FBPI (Liu, Pei and Heinonen, 2022).



2.2.3 ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΣΟΓΙΑΣ

Η πρωτεΐνη σόγιας, λόγω της τεταρτοταγούς και συμπαγούς τριτοταγούς δομής της, έχει περιορισμένες γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες. Η απομονωμένη πρωτεΐνη σόγιας (SPI) είναι ένα σημαντικό εμπορικό προϊόν πρωτεΐνης που περιέχει τουλάχιστον 90% πρωτεΐνη (ξηρή βάση). Κατά τη διάρκεια της βιομηχανικής παραγωγής του SPI, ορισμένες ακραίες συνθήκες, π.χ. καταβύθιση οξέων και υψηλή θερμοκρασία, μπορούν να προκαλέσουν μετουσίωση της πρωτεΐνης, οδηγώντας σε κακή διαλυτότητα, γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες και άλλες λειτουργικές ιδιότητες.

Επειδή οι φυσικοχημικές και δομικές ιδιότητες των πρωτεϊνών είναι θεμελιώδεις για τις γαλακτωματοποιητικές τους ιδιότητες, έχουν εφαρμοστεί πολυάριθμες μέθοδοι, συμπεριλαμβανομένων φυσικών, χημικών και ενζυμικών τροποποιήσεων, για την τροποποίηση τους, προκειμένου να βελτιωθούν οι γαλακτωματοποιητικές της ιδιότητες και άλλες λειτουργίες. Η επιφανειακή υδροφοβία και η διαλυτότητα είναι οι κύριοι παράγοντες που καθορίζουν τη γαλακτωματοποιητική ικανότητα, ενώ η μοριακή ευκαμψία των πρωτεϊνών είναι σημαντική για τη σταθερότητα του γαλακτώματος. Η πρωτεΐνη σόγιας παρουσιάζει υψηλές γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες σε σύγκριση με άλλες φυτικές πρωτεΐνες (Yang *et al.*, 2018).

Η σόγια περιέχει περίπου 40% πρωτεΐνες και 20% λάδι σε μέση βάση ξηρής ύλης. Με την απομάκρυνση του ελαίου σε χαμηλότερες θερμοκρασίες, λαμβάνεται η απομονωμένη πρωτεΐνη σόγιας (SPI), η οποία χρησιμοποιείται ευρέως στη βιομηχανία τροφίμων. Ολόκληρες υδατικές εκχυλίσιμες πρωτεΐνες σόγιας μπορούν να διαχωριστούν σε κλάσματα σφαιρίνης και ορού γάλακτος με οξίνιση σε pH 4,5-4,8. Το κλάσμα που κατακρημνίζεται με οξύ περιλαμβάνει τις κύριες αποθηκευτικές πρωτεΐνες της σόγιας (Nishinari *et al.*, 2014).

Η απομονωμένη πρωτεΐνη σόγιας είναι ένα μείγμα διαφόρων πρωτεϊνών και τα κύρια συστατικά ταξινομούνται σε τέσσερις κατηγορίες πρωτεϊνών σύμφωνα με τους συντελεστές καθίζησης 2S, 7S, 11S και 15S, οι οποίες καθιζάνουν σε διαφορετικές βαρυτικές δυνάμεις όταν το διάλυμα υποβάλλεται σε φυγοκεντρικό πεδίο (Nishinari *et al.*, 2014).

Η σφαιρίνη 7S αποτελείται από τρεις υπομονάδες α (περίπου 67 kDa), α' (περίπου 71 kDa) και β (περίπου 50 kDa). Η 11S σφαιρίνη είναι εξαμερές και αποτελείται από πέντε διαφορετικές υπομονάδες, καθεμία από τις οποίες αποτελείται από μια όξινη υπομονάδα A (όξινος pI) με μοριακή μάζα περίπου 35 kDa και μια βασική υπομονάδα B (βασικός pI) μοριακής μάζας περίπου 20 kDa, που συνδέονται με δισουλφιδικό δεσμό. Οι υπομονάδες AB πιστεύεται ότι συνδέονται σε δύο εξαγωνικούς δακτυλίους σχηματίζοντας έναν κοίλο κύλινδρο μέσω ηλεκτροστατικών δεσμών και δεσμών υδρογόνου. Η γλυκίνη (11S) βρέθηκε να διαχωρίζεται σε μορφές 2S, 3S ή 7S σε διάφορα pH και ιοντικές εντάσεις (Molina, Papadopoulou and Ledward, 2001).

2.2.4 ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΡΥΖΙΟΥ

Μεταξύ των πιθανών φυτικών πηγών πρωτεϊνών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως λειτουργικά συστατικά σε σκευάσματα τροφίμων, το ρύζι αποτελεί μια ενδιαφέρουσα επιλογή. Παρόλο που το ρύζι έχει σχετικά χαμηλή συγκέντρωση πρωτεΐνης (6-7% στο λευκασμένο ρύζι) σε σύγκριση με τα άλλα σημαντικά δημητριακά (δηλ. σιτάρι, καλαμπόκι και κριθάρι), η διαθεσιμότητα της πρωτεΐνης του ρυζιού είναι δυνητικά υψηλή, δεδομένου ότι η ετήσια παραγωγή λευκασμένου ρυζιού παγκοσμίως ανέρχεται σε περίπου 490 εκατομμύρια μετρικούς τόνους (USDA, 2018) (Amagliani *et al.*, 2022). Οι πρωτεΐνες βρίσκονται σε διαφορετικά μέρη του κόκκου του ρυζιού, συμπεριλαμβανομένου του ενδοσπερμίου, του γυαλίσματος και του πίτουρου όμως οι περισσότερες είναι μέσα στα κύτταρα του ενδοσπερμίου (πρωτεΐνες αποθήκευσης), που βρίσκονται σε πρωτεϊνικά σώματα μεταξύ των κόκκων αμύλου (Agboola, Ng and Mills, 2005). Έχει αναφερθεί ότι οι πρωτεΐνες ενδοσπερμίου ρυζιού και πίτουρου ρυζιού έχουν ικανότητα πέψης έως (90,8-94,8%) συγκρίσιμη με εκείνη των πρωτεϊνών σόγιας, καζέϊνης και ορού γάλακτος (91,7-94,8%) και, μεταξύ αυτών των συστατικών, η βιολογική τους αξία (66,7-72,6%) είναι δεύτερη μετά από εκείνη της πρωτεΐνης ορού γάλακτος (78,8%) (Han *et al.*, 2015).

Επίσης η πρωτεΐνη ρυζιού θεωρείται ως μία από τις σημαντικότερες φυτικές πρωτεΐνες λόγω των ιδιαίτερα θρεπτικών ιδιοτήτων της, όπως η περιεκτικότητα σε ισορροπημένα αμινοξέα και οι αντικαρκινικές δραστηριότητες (Jia *et al.*, 2019). Εκτός αυτού, η πρωτεΐνη ρυζιού είναι φυσικά ελεύθερη γλουτένης και χαμηλής αλλεργίας, η οποία έχει εφαρμοστεί ευρέως σε βρεφικές τροφές και προϊόντα χωρίς γλουτένη (Zheng *et al.*, 2019).

Σύμφωνα με τη μέθοδο εκχύλισης Osborne, η οποία παρακολουθεί τις ιδιότητες διαλυτότητας πρωτεϊνών, η πρωτεΐνη ρυζιού αποτελείται από τέσσερα κλάσματα:

- Λευκωματίνη (υδατοδιαλυτή, περίπου 5%)
- Σλοβουλίνη (αλατοδιαλυτή, περίπου 12%)
- Γλουτελίνη (αλκαλοδιαλυτή, περίπου 80%)
- Προλαμίνη (αλκοολοδιαλυτή, περίπου 3%)

Η πρωτεΐνη ρυζιού είναι άχρωμη και έχει μια ήπια γεύση (Romero *et al.*, 2012).

Ωστόσο, η κακή διαλυτότητα στο νερό των ακέραιων συστατικών πρωτεϊνών ρυζιού σε ή γύρω από το ουδέτερο pH, λόγω της εκτεταμένης συσσωμάτωσης και της διασύνδεσης μέσω δισουλφιδικών δεσμών της γλουτελίνης (δηλαδή του κύριου κλάσματος πρωτεΐνης ρυζιού), περιορίζει σημαντικά το φάσμα των πιθανών εφαρμογών τους στα τρόφιμα. Τα υδρολυμένα συστατικά πρωτεϊνών ρυζιού εμφανίζουν συνήθως καλύτερη διαλυτότητα και διεπιφανειακές ιδιότητες από τα αντίστοιχα άθικτα συστατικά τους, γεγονός που τα καθιστά την προτιμώμενη επιλογή για την παρασκευή ρευστών και ημίρρευστων τροφίμων (Amagliani et al., 2022).

3 ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΟΣ

Γενικά, ο όρος "σταθερότητα γαλακτώματος" αναφέρεται στην ικανότητα ενός γαλακτώματος να αντιστέκεται στις μεταβολές των φυσικοχημικών ιδιοτήτων του με την πάροδο του χρόνου (McClements, 2007). Από την θερμοδυναμική, τους πλευρά τα γαλακτώματα θεωρούνται ασταθή συστήματα. Έτσι με την πάροδο του χρόνου ένα γαλάκτωμα τείνει να διαχωριστεί σε δύο φάσεις την υδατική και την λιπαρή.

Είναι πάντα σημαντικό να προσδιορίζονται με σαφήνεια οι κυρίαρχοι φυσικοί και οι χημικοί μηχανισμοί που ευθύνονται για την αστάθεια ενός συγκεκριμένου γαλακτώματος, δεδομένου ότι αυτό θα καθορίσει τις διορθωτικές ενέργειες που θα πραγματοποιηθούν ώστε να βελτιωθεί της σταθερότητά του.

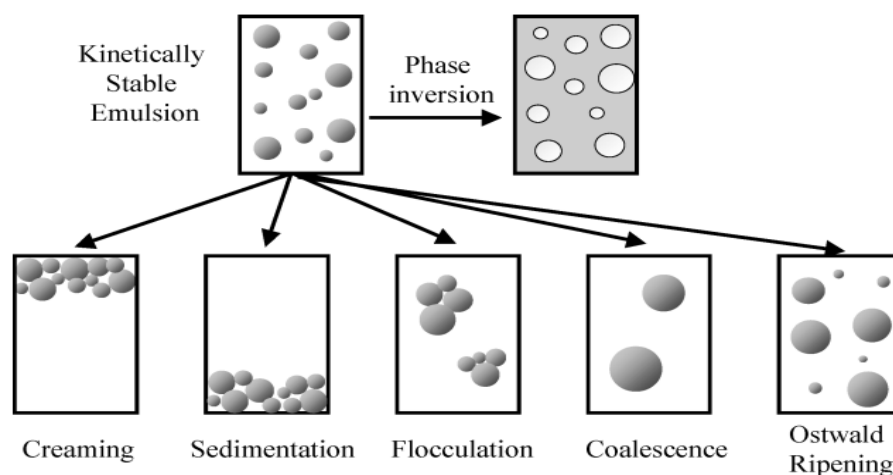
Επομένως, η αποσταθεροποίηση των γαλακτωμάτων μπορεί να προκύψει ως αποτελέσματα κάποιων φυσικοχημικών μηχανισμών, συμπεριλαμβανομένων του βαρυτικού διαχωρισμού (δημιουργίας κρέμας / καθίζησης), της κροκίδωσης, της συνένωσης ή της μερικής συνένωσης, ωρίμανση κατά Ostwald και η αναστροφή φάση (McClements, 2007)).

Πιο συγκεκριμένα διακρίνουμε τους παρακάτω τύπους:

- I. Βαρυτικός διαχωρισμός στον οποίο έχουμε δύο περιπτώσεις:
 - a. Την αποκορύφωση του λίπους λόγω διαφορετικής πυκνότητας των δύο φάσεων (Creaming ή σχηματισμός κρέμας)
 - b. Την καθίζηση η οποία είναι η αντίστροφη διαδικασία της αποκορύφωσης και λαμβάνει χώρα όταν οι δύο φάσεις έχουν μεγαλύτερη πυκνότητα από το περιβάλλον υγρό (Sedimentation ή καθίζηση). Έτσι, η διεσπαρμένη φάση διαχωρίζεται από το γαλάκτωμα.
- II. Κροκίδωση (Flocculation) είναι η διαδικασία κατά την οποία δύο ή περισσότερα σταγονίδια ενώνονται μεταξύ τους για να σχηματίσουν ένα σύστημα στο οποίο κάθε ένα από αυτά διατηρεί την ατομική του ακεραιότητα.
- III. Συνένωση (Coalescence), είναι η διαδικασία κατά την οποία δύο ή περισσότερα σταγονίδια συγχωνεύονται μεταξύ τους για να σχηματίσουν ένα ενιαίο μεγαλύτερο σταγονίδιο. Εκτός της συνένωσης υπάρχει και η μερική συνένωση, διαδικασία κατά την οποία δύο ή περισσότερα μερικώς κρυσταλλικά σταγονίδια συγχωνεύονται. Έτσι δημιουργείται ο σχηματισμός ενός ακανόνιστου σχήματος, λόγω της διεύθυνσης των στερεών κρυστάλλων από ένα σταγονίδιο στην περιοχή υγρού ενός άλλου σταγονιδίου. Η εκτεταμένη συνένωση σταγονιδίων μπορεί τελικά να οδηγήσει στο

σχηματισμό μίας ξεχωριστής στοιβάδας ελαίου στην κορυφή του γαλακτώματος, η οποία είναι γνωστή ως "oiling-off."

- IV. Ωρίμανση Ostwald (Ostwald ripening), είναι η διαδικασία κατά την οποία τα μεγαλύτερα σταγονίδια αναπτύσσονται εις βάρος των μικρότερων σταγονιδίων λόγω της μεταφοράς μάζας του υλικού της διασκορπισμένης φάσης μέσω της συνεχούς φάσης.
- V. Αντιστροφή φάσης είναι η διαδικασία κατά την οποία ένα γαλάκτωμα ελαίου σε νερό αλλάζει σε γαλάκτωμα νερού σε λάδι ή το αντίστροφο. Αυτό πραγματοποιείται μεταξύ με την μεταφορά της φάσης διασποράς με του μέσου. Τα ο/w γαλακτώματα μετατρέπονται σε w/o και αντιστρόφως. Σε πολλές περιπτώσεις, η αναστροφή φάσης περνά μέσα από μία μεταβατική κατάσταση όπου παράγονται πολλαπλά γαλακτώματα.



Εικόνα 5: Σχηματική αναπαράσταση των πιο κοινών μηχανισμών αστάθειας γαλακτωμάτων (McClements 2007).

Θα πρέπει επίσης να τονιστεί ότι αυτοί οι διάφοροι φυσικοχημικοί μηχανισμοί αστάθειας είναι συχνά αλληλένδετοι μεταξύ τους. Για παράδειγμα, η αύξηση του μέσου μεγέθους των σωματιδίων λόγω κροκίδωσης, συνένωσης ή ωρίμανσης Ostwald οδηγεί συνήθως σε αύξηση της αστάθειας των σταγονιδίων στον βαρυτικό διαχωρισμό. Αντίθετα, εάν τα σταγονίδια έρθουν σε παρατεταμένη στενή επαφή λόγω βαρυτικού διαχωρισμού ή κροκίδωσης τότε είναι συχνά πιο επιρρεπή στη συνένωση. Κατά συνέπεια, ο μηχανισμός αστάθειας που ευθύνεται για την ορατή εκδήλωση του διαχωρισμού του γαλακτώματος μπορεί να μην είναι απαραίτητα ο λόγος που το γαλάκτωμα έγινε ασταθές εξ αρχής.

Τέλος αξίζει να σημειωθεί ότι οι φυσικοχημικές ιδιότητες των γαλακτωμάτων επηρεάζονται έντονα από τα χαρακτηριστικά των σταγονιδίων που περιέχουν. Πιο συγκεκριμένα τη συγκέντρωση των συστατικών τους, το μέγεθος, το φορτίο, τις διεπιφανειακές τάσεις και αλληλεπιδράσεις τους (McClements, 2007).

4 ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΩΝ

Η διαδικασία παρασκευής γαλακτωμάτων μπορεί να απαιτεί ένα ή και παραπάνω διαδοχικά στάδια. Ο αριθμός των σταδίων που θα περιλαμβάνει η διαδικασία σχηματισμού τους μπορεί να διαφοροποιείται ανάλογα την φύση του αρχικού υλικού, τον χρησιμοποιούμενο εξοπλισμό αλλά ακόμα και τις επιθυμητές ιδιότητες που θα έχει το τελικό προϊόν. Συνήθως προηγείται η διάλυση των διάφορων συστατικών στην λιπαρή ή υδατική φάση και στην συνέχεια ακολουθεί η ανάμιξη των 2 φάσεων.

Ομογενοποίηση (homogenization) ονομάζεται η διαδικασία ανάμιξης δύο μη αναμίξιμων υγρών προς σχηματισμό γαλακτώματος και ο εξοπλισμός με το οποίο αυτό επιτυγχάνεται ονομάζεται ομογενοποιητής (homogenizer). Η ομογενοποίηση μπορεί να διακριθεί σε δύο κατηγορίες. Η πρώτη περιλαμβάνει τη δημιουργία ενός γαλακτώματος απευθείας από τα δύο υγρά και είναι γνωστή ως «πρωτογενής ομογενοποίηση (primary homogenization)», ενώ η μείωση του μεγέθους των λιποσφαιρίων σε ένα υπάρχον γαλάκτωμα είναι γνωστή ως «δευτερογενής ομογενοποίηση (secondary homogenization)». Η παρασκευή ενός τροφίμου τύπου γαλακτώματος μπορεί να περιλαμβάνει τον ένα ή τον άλλο τύπο ομογενοποίησης ή συνδυασμό και των δύο. Οι περισσότερες διεργασίες παραγωγής γαλακτωμάτων, τόσο σε βιομηχανική όσο και εργαστηριακή κλίμακα, περιλαμβάνουν την παραγωγή γαλακτώματος σε δύο στάδια. Τα δύο στάδια ομογενοποίησης μπορεί να επιτευχθούν είτε με χρήση του ίδιου είτε διαφορετικού ομογενοποιητή. Αρχικά τα δύο μη αναμίξιμα υγρά, έλαιο και νερό, μετατρέπονται σε ένα «ακατέργαστο γαλάκτωμα – προ - γαλάκτωμα (coarse emulsion)», το οποίο στη συνέχεια υφίσταται μείωση του μεγέθους των σταγονιδίων του(Δημάκου Χαρίκλεια,2010).

Η επιλογή ενός συγκεκριμένου ομογενοποιητή εξαρτάται από το αν το γαλάκτωμα γίνεται σε εργοστασιακή ή εργαστηριακή κλίμακα, από το διαθέσιμο εξοπλισμό, τον όγκο του υλικού που πρόκειται να ομογενοποιηθεί, την επιθυμητή απόδοση, τη φύση των αρχικών υλικών, και επίσης πρέπει να ληφθεί υπόψη η επιθυμητή κατανομή μεγέθους σταγονιδίων, οι απαιτούμενες φυσικοχημικές ιδιότητες του τελικού προϊόντος, και το κόστος αγοράς και λειτουργίας του εξοπλισμού(Garti and Bisperink, 1998).

Τα μηχανήματα που χρησιμοποιούνται στην παρασκευή γαλακτωμάτων είναι κυρίως:

1. Ομογενοποιητές υψηλής ταχύτητας,
2. Ομογενοποιητές υψηλής πίεσης,
3. Ομογενοποιητές με υπέρηχους,
4. Περιστροφικοί αναδευτήρες (rotor-stator),
5. Συστήματα μεμβρανών
6. Μικρορευστοποιητές.

Σε βιομηχανικό επίπεδο η συσκευή που χρησιμοποιείται ευρέως για την ανάμιξη μιας λιπαρής και μιας υδατικής ύλης είναι ο ομογενοποιητής υψηλής ταχύτητας. Ουσιαστικά πραγματοποιείται ανάδευση με μια κεφαλή ανάμιξης η οποία περιστρέφεται σε υψηλές ταχύτητες. Τα συστατικά μπορούν να προστεθούν είτε σταδιακά είτε όλα μαζί στην αρχή της διαδικασίας. Ο σχεδιασμός της κεφαλής ανάμιξης καθορίζει την αποτελεσματικότητα της διαδικασίας ομογενοποίησης και για αυτό υπάρχουν πολλών ειδών κεφαλές. Κατά την

ανάμειξη παρατηρείται μια μικρή αύξηση της θερμοκρασίας, αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι μέρος της μηχανικής ενέργειας μετατρέπεται σε θερμότητα λόγω της ιξώδους διάχυσης. Οι ομογενοποιητές υψηλής ταχύτητας εφαρμόζονται κυρίως για την παρασκευή γαλακτωμάτων με χαμηλό ή μέτριο ιξώδες. Το μέγεθος των σταγονιδίων μειώνεται συνήθως, όταν ο χρόνος ομογενοποίησης ή η ταχύτητα περιστροφής της κεφαλής ανάμειξης αυξάνεται, μέχρι να φτάσει σε ένα κατώτερο όριο το οποίο εξαρτάται από τη φύση και τη συγκέντρωση των συστατικών που χρησιμοποιούνται αλλά και την πυκνότητα ισχύος του ομογενοποιητή (Xu, Mukherjee and Chang, 2018) .

Οι περιστροφικοί αναδευτήρες (rotor-stator) αποτελούνται από ένα εσωτερικό στροφέιο υψηλής ταχύτητας και ένα εξωτερικό σταθερό στροφέιο. Αυτός ομογενοποιεί γαλακτώματα μέσω μηχανικού σκισίματος των σταγονιδίων, σπάσιμο των fluid forces ή /και σπηλαιώσης. Η διακοπή σταγονιδίων στα συστήματα ρότορα-στάτορα είναι γενικά λιγότερο αποτελεσματική από τις συσκευές υψηλής πίεσης επειδή, οι ζώνες διασποράς των συστημάτων ρότορα-στάτορα έχουν συνήθως μεγαλύτερους όγκους, σύμφωνα με τους Stang et al. (2001).

Οι ομογενοποιητές ρότορα-στάτορα δεν ενδείκνυνται για πολλαπλά δείγματα και υψηλής παραγωγικότητας διαδικασίες. Υπάρχουν ανταλλακτικά μιας χρήσης για την μείωση της επιμόλυνσης των δειγμάτων, καθώς απαιτείται πλύσιμο πριν από κάθε χρήση. Ακόμη υπάρχουν αυτόματοι ομογενοποιητές ρότορα-στάτορα, οι οποίοι γενικά είναι ακριβότεροι από έναν bead mill ίδιας παραγωγικότητας. Λόγω της υψηλής τους ταχύτητας, δεν μπορούν να χρησιμοποιούνται συνεχόμενα, οπότε αν απαιτείται μεγάλος χρόνος χρήσης ή συνεχόμενη χρήση, χρειάζεται να επιλεγεί άλλο είδος ομογενοποιητή (Maa and Hsu, 1996).

Σχετικά με τη γαλακτωματοποίηση με υπερήχους, ορισμένες μελέτες από τους Abismail et al. έδειξαν ότι με την μέθοδο αυτή δημιουργούνται μικρότερα σταγονίδια με αποτέλεσμα να είναι πιο αποτελεσματική από τα συστήματα ρότορα-στάτορα. Ο ομογενοποιητής με υπερήχους διακόπτει τους ιστούς και τα κύτταρα μέσω σπηλαιώσης και υπερηχητικά κύματα ή μπορεί να προκαλέσει σπηλαιώση σε ένα υγρό δηλαδή να έχει ως αποτέλεσμα την διαστολή των φυσαλίδων του υγρού. Όταν η σπηλαιώση λαμβάνει χώρα στη διεπιφάνεια μεταξύ δύο μη αναμίξιμων υγρών, η μία φάση θα διασπείρεται στην άλλη με άμεσο αποτέλεσμα τον σχηματισμό γαλακτώματος. Ουσιαστικά από δύο ξεχωριστές φάσεις, οι υπέρηχοι μπορούν να χρησιμοποιηθούν άμεσα για την παραγωγή γαλακτωμάτων, αλλά δεδομένου ότι για το σπάσιμο μίας διεπιφάνειας απαιτείται μεγάλη ποσότητα ενέργειας, είναι καλύτερα να προετοιμαστεί πρώτα ένα χονδροειδές γαλακτωμα πριν από την εφαρμογή των υπερηχητικών κυμάτων. Το κύριο ζήτημα είναι ότι ο υπέρηχος αποδεικνύεται κατάλληλος μόνο σε εργαστηριακή κλίμακα και η θεμελιώδης έρευνα στους μηχανισμούς και τους κύριους παράγοντες που επηρεάζουν τη διάσπαση των σταγονιδίων μαζί με τα προβλήματα της κλιμάκωσης πρέπει να διερευνηθούν (Behrend et al., 2000 Abismail, Canselier, Wilhelm, Delmas, and Gourdon (1999) και abismail et al 2000).

Σε συστήματα υψηλής πίεσης, χρησιμοποιούνται έτσι ώστε να παραχθούν γαλακτώματα με υψηλές αποδόσεις ενώ ταυτόχρονα μειώνει το μέγεθος των σταγονιδίων τους (McClements, 2005). Οι ομογενοποιητές υψηλής πίεσης μπορεί να διακριθούν σε ομογενοποιητές ενός σταδίου και σε ομογενοποιητές δύο σταδίων. Η ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος είναι η ομογενοποίηση των δύο σταδίων, καθώς επιτυγχάνει καλύτερα αποτελέσματα ομογενοποίησης, γιατί τα πιθανά συσσωματώματα τα οποία μπορούν να προκύψουν στην ομογενοποίηση ενός σταδίου αποφεύγονται με τη χρήση της δεύτερης βαλβίδας ομογενοποίησης. Η ομογενοποίηση ενός σταδίου χρησιμοποιείται για ομογενοποίηση προϊόντων στα οποία απαιτείται υψηλό ιξώδες, ενώ η ομογενοποίηση δύο

σταδίων χρησιμοποιείται σε προϊόντα με υψηλό περιεχόμενο σε λιπαρά και σε εκείνα που είναι επιθυμητή η υψηλή απόδοση ομογενοποίησης, όπως το γάλα (Robins et al. 1998, Das et al. 1990). Κάποιοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι η μικρορρευστοποίηση είναι ανώτερη από άλλες διαδικασίες γαλακτωματοποίησης, δεδομένου ότι οι κατανομές των μεγεθών των σταγονιδίων στο γαλάκτωμα φαίνονται να είναι μικρότερες στα γαλακτώματα που παρασκευάζονται με αυτόν τον τρόπο από ό,τι στις παραδοσιακές συσκευές γαλακτωματοποίησης (Dalglish et al., 1996 ; Pinnamaneni et al., 2003 ; Robin et al., 1992 ;Strawbridge et al., 1995).

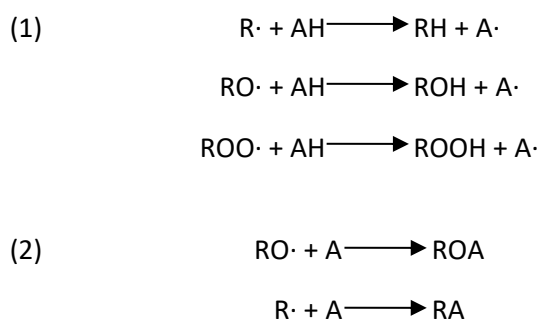
Οι Perrier-Cornet et al. διαπίστωσαν ότι οι μικρορρευστοποιητές έδωσαν μικρότερο μέγεθος σταγονιδίων με στενότερες κατανομές από τον πίδακα υψηλής πίεσης όταν η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη των γαλακτωμάτων αυξήθηκε έως και 2% w/w. Επίσης, οι Stang et al. έδειξαν ότι η διακοπή με τον μικρορρευστοποιητή ήταν ουσιαστικά πιο αποτελεσματική από ό,τι με το τυπικό ακροφύσιο σε σταθερή ενεργειακή πυκνότητα, καθώς είχε ως αποτέλεσμα μικρότερο μέγεθος σταγονιδίων (περίπου 10 φορές) για ένα λάδι χαμηλού ιξώδους λόγω του μικρότερου όγκου διασποράς του μικρορρευστοποιητή. Ένα άλλο πλεονέκτημα, σύμφωνα με τους Pinnamaneni et al. , είναι ο όγκος του δείγματος που μπορεί να είναι εξαιρετικά σημαντικός για ακριβά φάρμακα. 50ml γαλακτώματος ήταν αρκετά μεγάλο για να μικρορρευστοποιηθεί, ενώ ήταν πολύ μικρό για γαλακτωματοποίηση με ρότορα-στάτορα, όπου ο ελάχιστος όγκος διεργασίας έπρεπε να είναι 100 mL (Perrier-Cornet et al. (2005), Stang et al. (2001), Pinnamaneni et al. (2003)).

Από την άλλη πλευρά, αποδεικνύεται ότι η μικρορρευστοποίηση είναι δυσμενής σε συγκεκριμένες περιστάσεις όπως υψηλότερες πιέσεις και μεγαλύτεροι χρόνοι γαλακτωματοποίησης. Για παράδειγμα, οι Olson et al. εξήγησαν ότι η μικρορρευστοποίηση σε πιέσεις πάνω από 100 MPa είχε μικρή πρόσθετη επίδραση στη μείωση του EDS στα άπαχα και 2% λιπαρά γάλατα, ακόμη και το μέγεθος των σταγονιδίων στο πλήρες γάλα και την κρέμα γάλακτος αυξήθηκε μετά από μια ορισμένη πίεση. Οι Lobo and Svereika έδειξε ότι για τον μικρορρευστοποιητή, ποτέ δεν επιτεύχθηκε μηδενικός ρυθμός συνένωσης λόγω της πολύ υψηλής έντασης αναταράξεων και η διεπιφανειακή τάση παίζει ασήμαντο ρόλο στη δημιουργία μικρότερων σταγονιδίων μέσω μικρορρευστοποίησης. Επίσης, σε μια συγκριτική μελέτη οι Maa and Hsu διαπίστωσαν ότι η μικρορρευστοποίηση δεν ήταν τόσο βολική όσο η χρήση ενός κλασικού ομογενοποιητή ή αυτή των υπερήχων. Επιπλέον, περιλαμβάνει πολύ πιο ακριβό εξοπλισμό. Οι Maa και Hsu ισχυρίστηκαν ότι συνολικά, η τυπική ομογενοποίηση ήταν βολική στη λειτουργία, εύκολης κλιμάκωσης, επέβαλε μια σχετικά ήπια επίδραση στους θερμοευαίσθητους παράγοντες και το πιο σημαντικό, παρείχε τον καλύτερο έλεγχο του μεγέθους των σταγονιδίων (Olson et al. (2004), Lobo and Svereika (2003), Maa and Hsu (1999)).

5 ANΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ

Αντιοξειδωτικό, ορίζεται οποιαδήποτε ουσία που όταν βρίσκεται σε χαμηλές συγκεντρώσεις, σε σχέση με τη συγκέντρωση του οξειδωμένου υποστρώματος, έχει σημαντική καθυστέρηση ή παρεμπόδιση στην οξείδωση του υποστρώματος. Ένα αντιοξειδωτικό έχει επίσης την ικανότητα να παρεμποδίζει αντιδράσεις ελεύθερων ριζών, προστατεύοντας έτσι τον οργανισμό (Madhavi et al., 1996).

Οι αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα είναι οι εξής:



Τα αντιοξειδωτικά μπορεί να αντιδρούν είτε με μια ρίζα λιπιδίου (1) είτε με υπερόξυ- ή αλκόξυ ρίζες (2). Στην κατηγορία αυτή ανήκουν τα παρεμποδίζοντα ή φαινολικά (π.χ. BHT, BHA, TBHQ και οι τοκοφερόλες) και τα πολυυδροξύφαινολικά αντιοξειδωτικά (π.χ. γαλλικό οξύ).

Τα αντιοξειδωτικά ταξινομούνται συνήθως ως πρωτογενή ή αντιοξειδωτικά «σπάσης αλυσίδων» και είναι μόρια δέκτες ελεύθερων ριζών που καθυστερούν, αναστέλλουν ή διακόπτουν το στάδιο διάδοσης παγιδευόμενες λιπιδικές ρίζες μόλις ξεκινήσει η αλυσίδα υπεροξείδωσης. Τα πρωτογενή αντιοξειδωτικά περιλαμβάνουν κυρίως μονο- και πολύ-υδροξυ φαινόλες με διαφορετικούς δακτυλίους υποκαταστάτες σε διαφορετικές θέσεις.

Τα πρωτογενή αντιοξειδωτικά σβήνουν τις ελεύθερες ρίζες μέσω τεσσάρων κύριων μηχανισμών:

- (1) Μεταφορά ατόμων H σε ρίζες υπεροξυλίου (μεταφορά ατόμου υδρογόνου, HAT, μηχανισμός)
- (2) Μονή μεταφορά ηλεκτρονίων-μεταφορά πρωτονίων (μηχανισμός SETPT)
- (3) Της διαδοχικής απώλειας πρωτονίων-μεταφορά ηλεκτρονίων (SPLET)
- (4) Της μεταφοράς ηλεκτρονίων-μεταφορά πρωτονίων (ETPT) (Ingold and Pratt, 2014a), απεικονίζει τους πιο συνηθισμένους μηχανισμούς HAT και SPLET (Ingold and Pratt, 2014b).

Παραδείγματα πρωτογενών αντιοξειδωτικών περιλαμβάνουν πολλά φυσικά μόρια όπως τοκοφερόλες (βιταμίνη E) και πολλά φλαβονοειδή και φαινολικά οξέα καθώς και συνθετικά αντιοξειδωτικά όπως βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη, γαλλικός προπυλεστέρας και terc- βουτυλυδροκινόνη.

Τα δευτερογενή αντιοξειδωτικά είναι μόρια που είναι ικανά να αποτρέψουν το σχηματισμό ριζών ή να απενεργοποιήσουν τις ρίζες πριν εισέλθουν στο στάδιο της διάδοσης των ριζών. Συνήθως περιλαμβάνουν πολύπλοκα ενζυμικά μόρια όπως η καταλάση, η υπεροξειδική δισμουτάση και η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης και οι χηλικές ουσίες μετάλλων. Ορισμένα πρωτογενή και προληπτικά αντιοξειδωτικά είναι συνεργιστικά επειδή είναι σε θέση να αναγεννήσουν τα πρωτογενή αντιοξειδωτικά που καταναλώνονται κατά την αντίδραση αναστολής. Το κιτρικό οξύ, το ασκορβικό οξύ, ο παλμιτικός ασκορβυλεστέρας και η λεκιθίνη είναι χαρακτηριστικά παραδείγματα συνεργιστικών αντιοξειδωτικών.

Η αύξηση της αντιοξειδωτικής δράσης οφείλεται αφενός στην πιθανότητα σταθεροποίησης της ρίζας που σχηματίζεται από μια γέφυρα υδρογόνου με τη δεύτερη ομάδα υδροξυλίου και αφετέρου, στην ικανότητα των ενώσεων να παρέχουν ένα επιπλέον υδρογόνο που μπορεί να εξουδετερώνουν μια άλλη ρίζα, με την παραγωγή μιας μη ριζικής κινόνης, και επομένως την καθιστούν μη αντιδραστική (Costa *et al.*, 2021).

Η αντίδραση οξείδωσης λιπιδίων μπορεί να ελαχιστοποιηθεί όταν υπάρχουν αντιοξειδωτικά (ArOH). Τα αντιοξειδωτικά είναι μόρια είναι ικανά να δωρίσουν ένα άτομο H σε μια λιπιδική ρίζα για να αναγεννήσουν το μητρικό μόριο λιπιδίου, αποδίδοντας μια πολύ λιγότερο δραστική ρίζα από αυτή που μπορεί να εξουδετερωθεί από αντιδράσεις με άλλα λιπίδια ή αντιοξειδωτικές ρίζες. Τα αντιοξειδωτικά (AOs) προστίθενται κυρίως σε γαλακτώματα τροφίμων για την ελαχιστοποίηση της οξείδωσης των λιπιδίων, αλλά μπορούν επίσης να προστεθούν λόγω της ενεργητικής επίδρασης στην υγεία.

Δεδομένου ότι οι πρωτεΐνες (πχ ζελατίνη, πρωτεΐνη σόγιας, πρωτεΐνη ορού γάλακτος) και τα υδρολύματα τους έχουν ισχυρές αντιοξειδωτικές δραστηριότητες, μπορούν να λειτουργήσουν τόσο ως γαλακτωματοποιητές όσο και ως αντιοξειδωτικά. Η αντιοξειδωτική τους δράση αποδίδεται στην ικανότητά τους να δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες και τα χηλικά μέταλλα μετάπτωσης.

Οι πρωτεΐνες μπορούν να αναστέλλουν την οξείδωση των λιπιδίων με βιολογικά σχεδιασμένους μηχανισμούς (π.χ. αντιοξειδωτικά ένζυμα και πρωτεΐνες που δεσμεύουν σίδηρο) ή με μη ειδικούς μηχανισμούς. Και οι δύο αυτοί τύποι αντιοξειδωτικών πρωτεϊνών συμβάλλουν στην ενδογενή αντιοξειδωτική ικανότητα των τροφίμων και θα μπορούσαν επίσης να χρησιμοποιηθούν ως δυναμικά αντιοξειδωτικά πρόσθετα. Συνολικά, η αντιοξειδωτική δράση των πρωτεϊνών οφείλεται σε πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις μεταξύ της ικανότητάς τους να αδρανολογούν τις δραστικές μορφές οξυγόνου, να απομακρύνουν ελεύθερες ρίζες, να χηλικοποιούν προοξειδωτικά μεταβατικά μέταλλα, να μειώνουν υδροϋπεροξειδία, να εξαλείφουν ενζυματικά συγκεκριμένα οξειδωτικά και να μεταβάλλουν τις φυσικές ιδιότητες των συστημάτων τροφίμων κατά τρόπο που να διαχωρίζουν τις δραστικές μορφές. Η δράση των πρωτεϊνών είναι ιδιαίτερη σε σχέση με άλλα αντιοξειδωτικά τροφίμων, δεδομένου ότι μπορούν δυναμικά να δράσουν ως πολυλειτουργικά αντιοξειδωτικά που μπορούν να αναστείλουν πολλές διαφορετικές οδούς οξείδωσης των λιπιδίων.

Για παράδειγμα έχει βρεθεί ότι οι πρωτεΐνες ορού γάλακτος αναστέλλουν την οξείδωση των λιπιδίων σε γαλακτώματα ελαίου σε νερό (Taylor and Richardson, 1980- Allen and Wrieden, 1981a και b- Donnelly *et al.*, 1998- Tong *et al.*, 2000- Eliaset *et al.*, 2005). Έχει αποδειχθεί ότι τα υδρολύματα ορού γάλακτος, καζεΐνης, σόγιας και κρόκου αυγού αναστέλλουν την οξείδωση των λιπιδίων σε διάφορα μυϊκά τρόφιμα, όπως μοσχάρι, χοιρινό και τόνος (Sakanaka and Tachibana, 2006- Diaz *et al.*, 2005- Sakanaka *et al.*, 2005- Pena-Ramos). Οι Park *et al.* διαπίστωσαν ότι η πρωτεΐνη σόγιας ανέστειλε την οξείδωση των αιθυλεστέρων του εικοσιπεντανοϊκού οξέος σε σταθεροποιημένο με α -μαλτοδεξτρίνη, σύστημα, κονιορτοποιημένου γαλακτώματος, το οποίο έχει ξηραθεί με λυοφιλοποίηση (Park *et al.*, 2005). Τα πεπτίδια μπορούν επίσης να αναστείλουν την οξείδωση των λιπιδίων στα τρόφιμα. Τα ενδογενή πεπτίδια που βρίσκονται στα τρόφιμα μπορούν επίσης να δράσουν ως αντιοξειδωτικά.

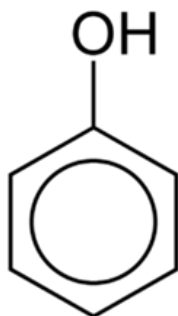
Επιπλέον σε πολλά τρόφιμα, οι αντιδράσεις οξείδωσης των λιπιδίων δεν συμβαίνουν ομαλά, αλλά σε συγκεκριμένες θέσεις με βάση τις φυσικοχημικές ιδιότητες της μήτρας του τροφίμου. Αυτό αποδεικνύεται στην περίπτωση της οξείδωσης που καταλύεται από μέταλλα σε λιπιδικές διασπορές, όπου τα επιφανειακά ενεργά υδροϋπεροξειδία των λιπιδίων συγκεντρώνονται στις επιφάνειες μεταξύ ελαίου και νερού. Στη συνέχεια, τα μεταβατικά μέταλλα υδατικής φάσης μπορούν να καταλύσουν τη διάσπαση αυτών των υδροϋπεροξειδίων, παράγοντας ριζικά είδη. Οι πρωτεΐνες μπορούν να αναστείλουν την οξείδωση των λιπιδίων σε τέτοιες λιπιδικές διασπορές παρεμποδίζοντας την πρόσβαση των μετάλλων στη διεπιφάνεια νερού-ελαίου μέσω ηλεκτροστατικής απώθησης. Σε σταθεροποιημένα με πρωτεΐνες γαλακτώματα ελαίου σε νερό, οι ρυθμοί οξείδωσης των λιπιδίων είναι σημαντικά βραδύτεροι σε τιμές pH κάτω από το ισοηλεκτρικό σημείο των πρωτεϊνών. Ένα καθαρό κατιονικό φορτίο εγκαθίσταται στη διεπιφάνεια νερού-ελαίου, απωθεί το σίδηρο και εμποδίζει φυσικά την ικανότητα των κατιόντων να συνδεθούν στην εσωτερική επιφάνεια των σταγονιδίων (Donnelly et al., 1998- Hu et al., 2003a- Hu et al., 2003b- Kellerby et al., 2006). Ένας άλλος παράγοντας που μπορεί να επηρεάσει την κινητική της οξείδωσης των λιπιδίων στα γαλακτώματα λάδι/νερό είναι τόσο η ύπαρξη όσο και το πάχος της στρώσης της διεπιφάνειας σταγονιδίων του γαλακτώματος που εμποδίζει την ικανότητα του σιδήρου να έχει πρόσβαση στα υδροϋπεροξειδία των λιπιδίων στην επιφάνεια των σταγονιδίων. Επίσης σε σταθεροποιημένα με πρωτεΐνες γαλακτώματα ελαίου-σε-νερό, οι πρωτεΐνες μπορούν να σχηματίσουν παχύ διεπιφανειακό στρώμα που αναστέλλει τις αλληλεπιδράσεις μετάλλου-λιπιδίων. Για παράδειγμα, η καζεΐνη σχηματίζει ένα διεπιφανειακό στρώμα γύρω από τα διασκορπισμένα σταγονίδια ελαίου έως και 10 nm σε σύγκριση με 1-2 nm για τις πρωτεΐνες ορού γάλακτος (Elias, Kellerby and Decker, 2008).

Σε ορισμένες περιπτώσεις, οι πρωτεΐνες μπορούν να σχηματίσουν μια παχιά επικάλυψη γύρω από τα σταγονίδια ελαίου και να δημιουργήσουν ένα φράγμα που εμποδίζει τα προοξειδωτικά φαινόμενα στην υδατική φάση να έρθουν σε επαφή με τα λιπίδια μέσα στα σταγονίδια (Elias, Kellerby and Decker, 2008). Η οξείδωση των λιπιδίων μπορεί να προάγει την οξείδωση των γειτονικών πρωτεϊνικών μορίων, ειδικά εκείνων που βρίσκονται στις επιφάνειες των σταγονιδίων του ελαίου. Η οξείδωση μπορεί να προκαλέσει πολυμερισμό των μορίων πρωτεΐνης που μεταβάλλει τη δομή και τις λειτουργικές τους ιδιότητες μειώνοντας τη διαλυτότητα, επηρεάζοντας την υφή, την πέψη και τη θρεπτική αξία των πρωτεϊνών. Είναι σημαντικό να ληφθούν τα κατάλληλα μέτρα για την πρόληψη της οξείδωσης των λιπιδίων και των πρωτεϊνών σε γαλακτώματα τροφίμων, ειδικά σε αυτά που περιέχουν PUFAs (Elias, Kellerby and Decker, 2008).

6 ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΚΑΙ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΑ

Με τον όρο φαινολικά συστατικά ή πολυφαινόλες αναφερόμαστε σε εκείνες τις αρωματικές ενώσεις και τα παράγωγα τους (π.χ. γλυκοζίτες) που έχουν στο βενζολικό δακτύλιο τουλάχιστον ένα υδροξύλιο. Οι φαινολικές ενώσεις μπορούν να επηρεάζουν την οργανοληπτική και διατροφική αξία των τροφίμων.

Οι πολυφαινόλες χωρίζονται σε διάφορες κατηγορίες ανάλογα με τον αριθμό των δακτυλίων βενζολίου που περιέχουν και με τα δομικά στοιχεία που συνδέουν αυτούς τους δακτυλίους μεταξύ τους. Οι κύριες ομάδες πολυφαινολών είναι: φλαβονοειδή (π.χ. ανθοκυανίνες, κατεχίνες, ισοφλαβόνες), φαινολικά οξέα, φαινολικές αλκοόλες, στυλβένια (π.χ. ρεσβερατρόλη) και λιγνάνες.



Εικόνα 3 Δομή Φαινόλης

Η επίδραση αυτή δεν είναι πάντοτε ανεπιθύμητη (π.χ. αμαύρωση φρούτων), αλλά αντίθετα μπορεί να επιζητείται από τη βιομηχανία τροφίμων. Τα τελευταία χρόνια μελετώνται οι τυχόν ευεργετικές δράσεις των φαινολικών συστατικών στον οργανισμό, δεδομένου ότι οι ενώσεις αυτές παρουσίασαν αντιοξειδωτικές και άλλες ιδιότητες συντήρησης των υποστρωμάτων (κυρίως λιπαρών ουσιών) στα οποία προστίθενται. Τα οφέλη των φαινολικών συστατικών έχουν λάβει αυξανόμενο ενδιαφέρον λόγω της αντιοξειδωτικής τους δράσης καθώς ενισχύουν τη σταθερότητα των λιπιδίων που περιέχονται στα τρόφιμα και επιδρούν ευεργετικά στην υγεία του ανθρώπου.

Βασικό στόχο κατά την παρασκευή των γαλακτωμάτων η δημιουργία οξειδωτικής αλλά και φυσικής σταθερότητας κατά την αποθήκευση. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με την επίτευξη της κατάλληλης δομής στο γαλάκτωμα. Η προσθήκη των αντιοξειδωτικών είναι μία από τις μεθόδους που εφαρμόζονται ευρέως για να καθυστερήσει τις αντιδράσεις οξείδωσης των λιπιδίων, με την προϋπόθεση ότι δεν πραγματοποιείται ταυτόχρονα καμία τροποποίηση στις συνολικές ιδιότητες του γαλακτωματοποιημένου συστήματος. Η χημική σταθερότητα της λιπαρής φάσης συσχετίζεται αυστηρά με τη σύνθεση των λιπαρών οξέων και την ύπαρξη προ-οξειδωτικών. Έτσι τα αντιοξειδωτικά δεν είναι ο μόνος παράγοντας που επηρεάζουν την οξείδωση των λιπιδίων σε διεσπαρμένα συστήματα (Κατσούλη, 2015).

Τα τελευταία χρόνια η χρήση των φυσικών αντιοξειδωτικών αυξάνεται λόγω της ανησυχίας για την ασφάλεια των συνθετικών αντιοξειδωτικών. Αυτά συστατικά μαζί με εναλλακτικά συστατικά όπως είναι οι φαινόλες φαίνεται να έχουν παρόμοια αντιοξειδωτική ικανότητα ή ακόμα και υψηλότερη από αυτή των συνθετικών (Costa *et al.*, 2015).

Τα πολυφαινολικά αντιοξειδωτικά λαμβάνονται ως επί το πλείστον από φυσικούς πόρους (φρούτα, λαχανικά κ.λπ.) και χρησιμοποιούνται ευρέως για να καθυστερήσουν ή να αποτρέψουν την οξείδωση των βιομορίων ενώ ταυτόχρονα προστατεύουν και τα κυτταρικά συστατικά από την οξειδωτική βλάβη που προκαλείται από ROS και μέταλλα μετάπτωσης (Costa *et al.*, 2021). Ωστόσο, υπό ορισμένες συνθήκες (πχ συνέργεια συστατικών), μπορούν να ασκήσουν έντονη προοξειδωτική δράση, με την παραγωγή τόσο προοξειδωτικών καταλυτών όσο και ελεύθερων ριζών.

Μελέτες έχουν δείξει ότι τα εκχυλίσματα που περιείχαν τα υψηλότερα ολικά φαινολικά εμφάνισαν την ισχυρότερη συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα και δράση αναστολής του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων (Hertog *et al.*, 1993 , Hertog and Hollman, 1996 , Knekt *et al.*, 1996 , McCullough *et al.*, 2012 ,Steinmetz and Potter, 1991). Τα εκχυλίσματα κερασιού αναστέλλουν ιδιαίτερα τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων του παχέος εντέρου. Τα εκχυλίσματα γλυκού κερασιού (*Prunus avium*) παρουσίασαν αντι-πολλαπλασιαστική δράση σε καρκινικά κύτταρα του παχέος εντέρου (Serra *et al.*, 2010). Στην παρούσα ερευνά χρησιμοποιήθηκε εκχύλισμα από βύσσινο με το οποίο εμπλουτίστηκαν τα γαλακτώματα. Τα εκχυλίσματα βύσσινου περιέχουν υψηλή περιεκτικότητα σε φαινολικά αντιοξειδωτικά έναντι άλλων φρούτων που εξετάστηκαν εργαστηριακά ενώ ταυτόχρονα παρουσίασαν την υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση σε *In vitro* μελέτες.

6.1 ΟΞΕΙΔΩΣΗ ΛΙΠΙΔΙΩΝ

Η "οξείδωση των λιπιδίων" είναι ένας γενικός όρος που χρησιμοποιείται για να περιγράψει μια σύνθετη ακολουθία χημικών αλλαγών που προκύπτουν από την αλληλεπίδραση των λιπιδίων με δραστικά είδη. Αναλυτικότερα, οδηγεί σε τάγγιση και αλλοίωση των λιπών μέσω αλυσιδωτών αντιδράσεων με ελεύθερες ρίζες. Οι ελεύθερες ρίζες σχηματίζονται από την αντίδραση ακόρεστων λιπαρών οξέων με μοριακό οξυγόνο και ίχνη άλλων οξειδωτικών, όπως ιόντα μετάλλων (Fe^{3+} και Cu^{2+} είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικά) και H_2O_2 , καθώς και υπεριώδες φως. Η πρωτογενής οξείδωση των λιπιδίων παράγει υδροϋπεροξειδία που ξεκινούν μια ποικιλία δευτερογενών αντιδράσεων με την ανάπτυξη αλδεϋδών, κετονών, οξέων και άλλων πτητικών ουσιών χαμηλού μοριακού βάρους.

Επιπλέον μελέτες για την οξείδωση των λιπιδίων σε γαλακτώματα ελαίου σε νερό και σε υδατικά κολλοειδή συστήματα δείχνουν ότι η αλληλεπίδραση μεταξύ των υδροϋπεροξειδίων των λιπιδίων που βρίσκονται στην επιφάνεια των σταγονιδίων και των μεταβατικών μετάλλων που προέρχονται από την υδατική φάση είναι η πιο κοινή αιτία της οξειδωτικής αστάθειας (Yoshida and Niki 1992, Mei et al 1998a, 1998b). Τα γαλακτώματα μπορούν να αλλοιωθούν λόγω χημικών αλλαγών κατά την αποθήκευση. Για παράδειγμα, η οξείδωση του ελαίου σε ένα γαλάκτωμα θα υποβαθμίσει τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, την ποιότητα και τη θρεπτική αξία του προϊόντος (Zhu et al., 2018).

Ο πιο πιθανός μηχανισμός για την επιτάχυνση της οξείδωσης των λιπιδίων σε ένα γαλάκτωμα είναι η διάσπαση των υδροϋπεροξειδίων των λιπιδίων (ROOH) σε υψηλά αναγωγικές υπεροξυδικές και αλκοξυλικές ρίζες από την μεταφορά μετάλλων ή την παρουσία άλλων οξειδωτικών. Οι ρίζες αυτές αντιδρούν με ακόρεστα λιπίδια (LH) εντός των σταγονιδίων ή στη διεπιφάνεια ελαίου-νερού, γεγονός που οδηγεί στη δημιουργία λιπιδικών ριζών (L^\cdot και LOO^\cdot). Η αλυσιδωτή αντίδραση οξείδωσης των λιπιδίων πολλαπλασιάζεται καθώς αυτές οι ρίζες λιπιδίων αντιδρούν και με άλλα λιπίδια. (McClements and Decker, 2000).

Για την καλύτερη κατανόηση των παραγόντων που καθορίζουν την οξείδωση των λιπιδίων στα γαλακτώματα τροφίμων, είναι σημαντικό να χαρακτηριστούν επαρκώς οι φυσικές ιδιότητες των χρησιμοποιούμενων συστημάτων.

Οι σημαντικότερες συνεπώς είναι:

- I. το μέγεθος
- II. η συγκέντρωση
- III. η φυσική κατάσταση των σταγονιδίων γαλακτώματος
- IV. ο τύπος της μεμβράνης του γαλακτωματοποιητή (δηλ. πάχος, ηλεκτρικό φορτίο, σύνθεση)
- V. η έκταση των αλληλεπιδράσεων σταγονιδίων-σταγονιδίων (Kober et al., 1917).

Τέλος η αυτοοξείδωση των λιπιδίων προκαλείται από την αντίδραση των ακόρεστων λιπαρών οξέων με μοριακό οξυγόνο και ολοκληρώνεται μέσω μιας αυτοκαταλυόμενης διαδικασίας, ακολουθώντας μηχανισμό αλυσιδωτών αντιδράσεων μέσω ελευθέρων ριζών (Sun et al., 2011). Ο βασικός μηχανισμός της αντίδρασης έχει ευρέως μελετηθεί (Frankel, 1980; Gunstone, 1996; Choe & Min, 2006) και περιλαμβάνει βασικά τρία στάδια (Α) την έναρξη, (Β) τη διάδοση και (Γ) τον τερματισμό.

Η οξειδωτική σταθερότητα είναι σημαντική σε γαλακτώματα τροφίμων που περιέχουν λιπίδια ή /και πρωτεΐνες. Τα γαλακτωματοποιημένα λιπίδια, ιδιαίτερα τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFAs), είναι πολύ ευαίσθητα στην οξείδωση από τις ελεύθερες ρίζες . Η οξείδωση των λιπιδίων επηρεάζει αρνητικά την ποιότητα των τροφίμων και μειώνει το διατροφικό προφίλ τους. Μπορεί επίσης να μειώσει την ασφάλεια των τροφίμων δημιουργώντας προϊόντα τοξικής αντίδρασης (Schröder, Sprakel, Boerkamp, Schroen, & Berton-Carabin, 2019).

7 ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η αξιολόγηση τεσσάρων διαφορετικών ειδών εμπορικών σκευασμάτων φυτικής πρωτεΐνης για την χρήση τους ως γαλακτωματοποιητές κατά την παρασκευή γαλακτωμάτων λαδιού/νερού. Επιπρόσθετα, θα μελετηθεί η προσθήκη φυσικών αντιοξειδωτικών από εκχυλίσματα φρούτων καθώς και η μελέτη αυτών ως φυσικά αντιοξειδωτικά.

Στόχοι της παρούσας διπλωματικής:

- A) η εύρεση των καταλληλότερων πρωτεϊνών για την δημιουργία γαλακτώματος
- B) η εύρεση των κατάλληλων συγκεντρώσεων πρωτεϊνών και ελαίων με σκοπό την παρασκευή σταθερών γαλακτωμάτων
- Γ) η επίδραση των περιβαλλοντικών συνθηκών του γαλακτώματος στην επίδραση τους στην σταθερότητα αυτών
- Δ) η προσθήκη φυσικών αντιοξειδωτικών από φρούτα και μελέτη της ικανότητάς τους ως φυσικά αντιοξειδωτικά.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

8 ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΩΝ

Προκειμένου να μελετηθεί η γαλακτωματοποιητική ικανότητα των πρωτεϊνών αξιολογήθηκαν συστήματα διασποράς μεταβάλλοντας τρεις βασικούς παράγοντες την συγκέντρωση πρωτεΐνης, την συγκέντρωση λαδιού και το pH. Ο σχεδιασμός των δοκιμών βασίστηκε στον συνδυασμό των διαφορετικών παραγόντων δίνοντας 29 διαφορετικούς συνδυασμούς. Αναλυτικότερα, εξετάστηκαν διαφορετικές συγκεντρώσεις λαδιού (5% , 10% και 20%), πρωτεΐνης (0,5%, 0,7% , 0,9%) και pH (2, 4, 6, 8). Έγινε επανάληψη των βέλτιστων δοκιμών με προσθήκη εκχυλίσματος βύσσινου σταθερής συγκέντρωσης.

Οι χρησιμοποιούμενες πρωτεΐνες ήταν οι ακόλουθες:

1. Σόγιας
2. Μπιζέλι
3. Φάβας
4. Ρυζιού

Η διαδικασία παρασκευής των γαλακτωμάτων που ακολουθήθηκε ήταν πανομοιότυπη για όλα τα είδη της πρωτεΐνης ανεξάρτητα της καθαρότητας τους και παρουσιάζεται παρακάτω.

- 1) Ζύγιση πρωτεΐνης
- 2) Διασπορά της πρωτεΐνης σε ρυθμιστικό διάλυμα
- 3) Ανάδευση στο vortex
- 4) Σταδιακή προσθήκη λαδιού υπό ανάδευση στο Ultra- Turrax (8000 στροφές για 1min)
- 5) Ομογενοποίηση με υπερήχους (1 min, κύκλο 6, απόδοση 70-75%).

Μετά την η παρασκευή όλων των γαλακτωμάτων, αξιολογήθηκαν ως προς τα ποιοτικά χαρακτηριστικά τους τόσο σε χρόνο μηδέν όσο και κατά την διάρκεια 7 ημερών με ταυτόχρονη επώαση σε υδατόλουτρο στους 45°C.

9 ΜΕΡΟΣ ΠΡΩΤΟ

9.1 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

9.2 ΥΛΙΚΑ

Ο εξοπλισμός που χρησιμοποιήθηκε είναι ο ακόλουθος:

A) Συσκευές-Σκεύη

- Αναλυτικός ζυγός «Kern & Sohn GmbH, ACJ 220-4M»
- Vortex «Velp scientifica, Europe»
- Υδατόλουτρο «Memert GmbH-Co.KG D-91126 Schwabach FRG, WNB14, Germany»
- Φυγόκεντρος «Hermle Z320»
- Ομογενοποιητής υψηλής ταχύτητας «Janke & Kunkel Ika-Labortechnik, Ultra turrax T25»
- Ομογενοποιητής υπερήχων «Bandelin electronic, UW2070, Berlin».

B) Πρώτες ύλες & αντιδραστήρια

- Εμπορικές πρωτεΐνες (σόγια, μπιζέλι, φάβα, ρύζι)
- Λάδι (αραβοσιτέλαιο, ελαιόλαδο, έξτρα παρθένο ελαιόλαδο)
- Απόσταγμα καθαρότητας 42%
- Διάλυμα SDS (Sodium dodecyl sulfate).

9.3 ΜΕΘΟΔΟΙ

9.3.1 ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΝΕΡΟΥ- ΥΔΡΑΛΚΟΟΛΙΚΟΥ ΜΕΙΓΜΑΤΟΣ- ΛΑΔΙΟΥ

Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό της ικανότητας απορρόφησης νερού/ υδροαλκοολικού μείγματος/ λαδιού των χρησιμοποιούμενων πρωτεϊνών για να αξιολογηθεί το πόσο καλά μπορεί να προσροφήσει στα εκάστοτε διαφορετικά μέσα. Για τον προσδιορισμό της ικανότητας απορρόφησης υδροαλκοολικού μείγματος έγινε τροποποίηση της μεθόδου προσδιορισμού απορρόφησης νερού όπως περιγράφεται από τον (Vioque, Alaiz and Girón-Calle, 2012).

Οι διαδικασίες που ακολουθήθηκαν για την υλοποίηση των παραπάνω μεθόδων έχουν ως εξής:

9.3.2 ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΝΕΡΟΥ

1. Ζύγιση 0,5000g δείγματος σε falcon 12,5ml
2. Προσθήκη απεσταγμένου νερού (6,0ml)
3. Ανάδευση με vortex για 15sec
4. Φυγοκέντρηση 4000 rpm, για 15min
5. Αναμονή για 30min

6. Παραλαβή και ζύγιση υπερκείμενου νερού

Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε γραμμάρια νερού ανά γραμμάρια πρωτεΐνης (g/g)

9.3.3 ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΛΑΔΙΟΥ

1. Ζύγιση 0,5000g δείγματος σε falcon 12,5ml
2. Προσθήκη λαδιού (6,0ml)
3. Ζύγιση λαδιού
4. Ανάδευση με vortex για 60 sec
5. Αναμονή για 30min στο περιβάλλον
6. Φυγοκέντρηση (4000 rpm , για 25min)
7. Παραλαβή και ζύγιση υπερκείμενου λαδιού

Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε γραμμάρια λαδιού σε γραμμάρια πρωτεΐνης (g/g)

9.3.4 ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΥΔΡΟΑΛΚΟΟΛΙΚΩΝ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ

Στην συνέχεια παρασκευάστηκαν υδροαλκοολικά διαλύματα και εξετάστηκε η απορρόφηση αυτών από τις πρωτεΐνες, χρησιμοποιώντας την ίδια μέθοδο που ακολουθήθηκε για την απορρόφηση του νερού.

Ακολουθήθηκε η ίδια πειραματική πορεία με την ικανότητα απορρόφησης νερού και λαδιού όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, συνεπώς :

1. Ζύγιση 0,5000g δείγματος σε falcon 12,5ml
2. Προσθήκη υδροαλκοολικού διαλύματος 42% (6,0ml)
3. Ανάδευση με vortex για 15sec
4. Φυγοκέντρηση 4000 rpm, για 15min
5. Αναμονή για 30min
6. Παραλαβή και ζύγιση υπερκείμενου υδροαλκοολικού διαλύματος

Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε γραμμάρια νερού-αιθανόλης ανά γραμμάρια πρωτεΐνης

Η ικανότητα απορρόφησης υδροαλκοολικού διαλύματος μελετήθηκε καθώς στην συνέχεια θα γίνει εμπλουτισμός των γαλακτωμάτων με εκχυλίσματα φρούτων. Επομένως γίνεται έλεγχος εάν η παρουσία της αλκοόλης ως οργανικός διαλύτης βοηθάει ή όχι στην διαλυτοποίηση των φυσικών πρωτεϊνών και μειώνει τον χρόνο παρασκευής τους γαλακτώματος. Αναλυτικότερα χρησιμοποιήθηκαν 4 διαφορετικά διαλύματα.

- | | |
|--------------------------------|-----------------------------|
| 1) 100% απόσταγμα (42% αλκοόλ) | 3) 25% απόσταγμα & 75% νερό |
| 2) 50% απόσταγμα & 50% νερό | 4) 75% απόσταγμα & 25% νερό |

9.3.5 ΔΙΑΛΥΤΟΤΗΤΑ ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ

Για τον προσδιορισμό της διαλυτότητας των πρωτεϊνών σε διαφορετικά pH ακολουθήθηκε η παρακάτω μέθοδος έτσι όπως εκφράζεται σύμφωνα με τους (Barac et al., 2010).

- Ζύγιση 0,020g πρωτεΐνης (για κάθε είδος πρωτεΐνης)
- Προσθήκη 20,0ml υδατικού διαλύματος

- Ανάδευση με μαγνητικό αναδευτήρα για 30min μέχρι παραλαβής ομοιόμορφου διαλύματος
- Το pH των εναιωρημάτων ρυθμίστηκε σε pH 2, 4, 6, 8 με NaOH και HCl
- Ανάδευση με μαγνητικό αναδευτήρα για 1h
- Φυγοκέντριση στις 3.700 rpm για 15 min

Το περιεχόμενο των διαλυτών πρωτεϊνών προσδιοριστικέ με βάση την μέθοδο Bradford σύμφωνα με τους (Bradford, 1976). Η διαλυτότητα των πρωτεϊνών εκφράζεται σε gr διαλυτών πρωτεϊνών ανά Kg εμπορικής πρωτεΐνης.

Όμοια διαδικασία πραγματοποιήθηκε για το υδροαλκοολικό διάλυμα.

9.3.6 ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ

Για τον προσδιορισμό της γαλακτωματοποιητικής ικανότητας των πρωτεϊνών υπολογίστηκαν οι τιμές ESI και EAI, δηλαδή οι δείκτες γαλακτωματοποιητικής σταθερότητας και ικανότητας δημιουργίας γαλακτωμάτων. Ο δείκτης ικανότητας δημιουργίας γαλακτωμάτων (EAI) και ο δείκτης (ESI) των γαλακτωμάτων προσδιορίστηκαν με βάση την θολρότητα τους (Pearce and Kinsella, 1978).

Αναμείχθηκαν 15ml σπορέλαιου με 45ml διαλύματος πρωτεΐνης 1g/kg όπως περιγράφεται στην παραπάνω. 10 μL γαλακτώματος αφού παρελήφθησαν από την βάση σε χρόνο 0 και 10min από την ομογενοποίηση αραιώθηκαν αμέσως σε διάλυμα SDS 0,1% (2mL). Η απορρόφηση των αραιωμένων γαλακτωμάτων μετρήθηκε στα 500 nm.

Η γαλακτωματοποιητική ικανότητα υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας τις ακόλουθες εξισώσεις:

$$EAI = 2 \times T \left(A_0 \times \frac{F}{C} \times \varphi \times 10.000 \right) \quad (m^2/g) \quad (3)$$

Όπου:

T : είναι η θολρότητα του γαλακτώματος (m^{-1}) η οποία είναι 2,303

A_0 : η απορρόφηση σε χρόνο $t=0$

F: συντελεστής αραιώσης όπου είναι 200

C: βάρος της πρωτεΐνης

φ : κλάσμα όγκου του λαδιού στο γαλάκτωμα

Ομοίως

$$ESI = A_0 \times \frac{\Delta\tau}{\Delta A} \quad , \quad \text{με } \Delta A = A_0 - A_{10} \quad (\text{min}) \quad (4)$$

Όπου:

$\Delta\tau$: είναι ο χρόνος μεταξύ των δυο απορροφήσεων

A_0 : η απορρόφηση σε χρόνο μηδέν

A_{10} : η απορρόφηση μετά από 10 λεπτά

10 ΜΕΡΟΣ ΔΕΥΤΕΡΟ

10.1 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

10.2 ΥΛΙΚΑ

Ο εξοπλισμός που χρησιμοποιήθηκε είναι ο ακόλουθος:

A) Συσκευές-Σκεύη

- Αναλυτικός ζυγός «Kern & Sohn GmbH, ACJ 220-4M, »
- Vortex «Velp scientifica, Europe»
- Υδατόλουτρο «Memert GmbH-Co.KG D-91126 Schwabach FRG, WNB14, Germany»
- Φυγόκεντρος «Hermle Z320»
- Ομογενοποιητής υψηλής ταχύτητας «Janke & Kunkel Ika-Labortechnik, Ultra turrax T25»
- Ομογενοποιητής υπερήχων «Bandelin electronic, UW2070, Berlin»
- Φωτόμετρο διπλής δέσμης «Analytikjena, Specord 200»
- Zeiss Primo Star ψηφιακό μικροσκόπιο τριόφθαλμο

B) Πρώτες ύλες & αντιδραστήρια

- Εμπορικές πρωτεΐνες (σόγια, μπιζέλι, φάβα, ρύζι)
- Λάδι (αραβοσιτέλαιο, ελαιόλαδο, έξτρα παρθένο ελαιόλαδο)
- Απόσταγμα καθαρότητας 42%
- Διάλυμα SDS
- Εκχύλισμα βύσσινου
- Coomassie Brilliant Blue G 250
- H₃PO₄
- BSA (Bovine Serum Albumin)

10.3 ΜΕΘΟΔΟΙ

10.3.1 ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΩΝ

Οι πρωτεΐνες με την βέλτιστη γαλακτωματοποιητική ικανότητα χρησιμοποιήθηκαν για την ενσωμάτωση βιοδραστικών συστατικών προερχόμενων από εκχυλίσματα φρούτου. Οι παράγοντες που αξιολογήθηκαν ήταν η συγκέντρωση πρωτεΐνης, η συγκέντρωση λαδιού και το pH, με προσθήκη σταθερής συγκέντρωσης πολυφαινόλων. Ακολουθήθηκε ένα πλήρες παραγοντικό σύστημα 2³ έτσι ώστε να βρεθούν οι ελάχιστοι πιθανοί συνδυασμοί και να εξεταστούν όλοι οι πιθανοί συνδυασμοί αναλογιών όπως περιγράφεται στον πίνακα 2.

Πίνακας 1: Κωδικοποίηση και πειραματικές τιμές για τις ανεξάρτητες μεταβλητές που μελετήθηκαν για τον 2³ πλήρη παραγοντικό σχεδιασμό

Ανεξάρτητες Μεταβλητές	Κωδικοί Μεταβλητών	Επίπεδα κωδικοποιημένων μεταβλητών		
		-1	0	1
Ποσοστό πρωτεΐνης (%)	X ₁	0,5	0,7	0,9
Ποσοστό λαδιού (%)	X ₂	5	10	20
pH	X ₃	2	6	8

Στον πίνακα φαίνεται πως ως πρώτη παράμετρος έχει οριστεί η συγκέντρωση πρωτεΐνης σε αναλογίες 0,5%, 0,7% και 0,9%. Συνεχίζουμε με την δεύτερη που είναι το pH σε τιμές 2, 6 και 8. Τέλος έχουμε την συγκέντρωση που ελαίου σε αναλογίες 5%, 10% και 20%. Οι παραπάνω συνδυασμοί εξετάστηκαν για 4 είδη πρωτεΐνης.

Συνολικά παρασκευαστήκαν 19 διαφορετικοί συνδυασμοί για την δημιουργία των γαλακτωμάτων για κάθε είδος πρωτεΐνης όπως περιγράφεται στον πίνακα 3.

Πίνακας 2: Σχεδιασμός παρασκευής γαλακτωμάτων σύμφωνα με το 2³ πλήρης παραγοντικός σχεδιασμός.

Πειραματικός σχεδιασμός	Ανεξάρτητες Μεταβλητές		
	X ₁	X ₂	X ₃
1	-1	1	1
2	0	0	0
3	-1	0	0
4	1	-1	1
5	1	-1	0
6	0	0	1
7	-1	1	-1
8	0	0	0
9	-1	-1	1
10	-1	-1	1

11		0	1	0
12		1	0	-1
13		0	-1	-1
14		1	1	1
15		1	1	-1
16		1	1	-1
17		1	-1	-1
18		-1	-1	-1

10.3.2 ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΟΣ

Για τον έλεγχο της σταθερότητας των γαλακτωμάτων χρησιμοποιήθηκαν τα γαλακτώματα που είχαν δώσει καλύτερα αποτελέσματα. Επομένως παρασκευάστηκαν γαλακτώματα μόνο από πρωτεΐνη σόγιας και μπιζελιού σε συγκεντρώσεις 0,5%, 0,7%, 0,9%. Για υδατική φάση χρησιμοποιήθηκαν ρυθμιστικά διαλύματα με pH 2, 6, 8 ενώ ως λιπαρή φάση προστέθηκε αραβοσιτέλαιο σε συγκεντρώσεις 5%, 10% και 20% του τελικού όγκου.

Παρασκευάστηκαν δύο σειρές δειγμάτων (blank & εμπλουτισμένη με πολυφαινόλες). Η πρώτη σειρά περιείχε καθαρό απόσταγμα ενώ η δεύτερη το εκχύλισμα βύσσινου. Μετά την παρασκευή των γαλακτωμάτων και αφού διατηρήθηκαν στο ψυγείο για 7 μέρες, σημειώθηκε ο διαχωρισμών που προέκυψε στο κάθε ένα από αυτά.

10.3.3 ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ FT-IR

Η υπέρυθη φασματοσκοπία βασίζεται στην αλληλεπίδραση μεταξύ ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας και υλικού. Η απορρόφηση ενέργειας εξαρτάται από τις λειτουργικές ομάδες των μορίων. Έτσι, μπορεί να επιτευχθεί ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός οργανικών ενώσεων. Η φασματοσκοπία υπέρυθρων μετασχηματισμού Fourier (FTIR) είναι ευρέως γνωστή ως γρήγορη, μη καταστροφική και απλή ανάλυση που δεν απαιτεί προετοιμασία δείγματος ή χρήση οργανικών διαλυτών. Οι πρόσφατες εξελίξεις στη φασματοσκοπία FTIR οδήγησαν σε αύξηση της εφαρμογής της για ανάλυση βρώσιμων ελαίων και λίπους. (Daoud *et al.*, 2019)

10.3.4 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟΣ BRANTFORD

Ο προσδιορισμός περισσειας του αζώτου προσδιορίζεται με την μέθοδο Bradford. Πιο συγκεκριμένα για την παρασκευή του διαλύματος Stock σε Eppendorf's tubes προστέθηκαν 0,5mg/ml Coomassie Blue G, 25% μεθανόλη και 42,5% H₃PO₄. Το τελικό διάλυμα που προκύπτει έχει βαθύ κόκκινο χρώμα. Το διάλυμα φυλάσσεται σε σκουρόχρωμη φιάλη στην συντήρηση και διατηρείται σταθερό για πολύ μεγάλο χρονικό διάστημα. Στην συνέχεια για το working διάλυμα πραγματοποιήθηκε αραιώση 1ml stock με 4ml H₂O. Το διάλυμα είναι

σκούρο καφέ με pH 1 και παραμένει σταθερό στην συντήρηση σε σκουρόχρωμη φιάλη. Πιο συγκεκριμένα για όλο το plate θα χρειαστούμε 6ml H₂O και 1,5ml stock.

Πρότυπη καμπύλη αναφοράς παρασκευάστηκε με BSA με εύρος συγκεντρώσεων 0 μg/ml, 0,625 μg/ml, 1,25 μg/ml, 2,5 μg/ml, 5,0 μg/ml, 7,5 μg/ml, 10,0 μg/ml.

Πειραματική πορεία:

1. Στα δείγματα πραγματοποιείται αραίωση 5/200 ή 10/200 με νερό. Με αποτέλεσμα ο τελικός όγκος να είναι 200ml.
2. Σε κάθε πηγάδι προστίθενται 50ml working διαλύματος Bradford.
3. Γίνεται επώαση για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου
4. Τέλος γίνεται φωτομέτρηση στα 595nm.

11 ΜΕΡΟΣ ΤΡΙΤΟ

11.1 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

11.2 ΥΛΙΚΑ

Ο εξοπλισμός που χρησιμοποιήθηκε είναι ο ακόλουθος:

A) Συσκευές-Σκεύη

- Αναλυτικός ζυγός «Kern & Sohn GmbH, ACJ 220-4M, »
- Vortex «Velp scientifica, Europe»
- Υδατόλουτρο «Memert GmbH-Co.KG D-91126 Schwabach FRG, WNB14, Germany»
- Φυγόκεντρος «Hermle Z320»
- Ομογενοποιητής υψηλής ταχύτητας «Janke & Kunkel Ika-Labortechnik, Ultra turrax T25»
- Ομογενοποιητής υπερήχων «Bandelin electronic, UW2070, Berlin»
- Φωτόμετρο διπλής δέσμης «Analytikjena, Specord 200»
- Zeiss Primo Star ψηφιακό μικροσκόπιο τριόφθαλμο.

B) Πρώτες ύλες & αντιδραστήρια

- Εμπορικές πρωτεΐνες (σόγια, μπιζέλι, φάβα, ρύζι)
- Λάδι (αραβοσιτέλαιο, ελαιόλαδο, έξτρα παρθένο ελαιόλαδο)
- Απόσταγμα καθαρότητας 42%
- Διάλυμα SDS
- Εκχύλισμα βύσσινου
- 1-Βουτανόλη
- BHT: βουτυλιομένο υδρόξυ τολουένιο
- 1,1,3,3- Τετραεθυλοπροπάνιο (MDA: μαλο-δι-αλδεΐδη)
- Θειοβαρβουτουρικό οξύ (TBA)
- Χλωροφόρμιο αλδεΐδη
- Αιθανόλη
- Θειοκυανιούχο αμμώνιο

- Χλωριούχος σίδηρος
- Μεθανόλη
- Φωσφορικό οξύ

11.3 ΜΕΘΟΔΟΙ

11.3.1 T-BARS ASSAY (ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΜΕΤΡΗΣΗ ΑΠΕΥΘΕΙΑΣ ΣΕ ΛΙΠΟΣΩΜΑ)

Με την μέθοδο αυτή προσδιορίζονται τα δευτερογενή προϊόντα της οξειδωσης. Ουσιαστικά η δοκιμή αυτή βασίζεται στην αντίδραση της μηλονικής διαλδεΐδης, η οποία προκύπτει ως προϊόν οξειδωσης των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων που έχουν αντιδράσει με το θειοβαρβουτορικό οξύ. Έτσι σχηματίζονται συζυγείς διπλοί δεσμού που ανιχνεύονται με φασματομετρία UV στα 535nm. (Gray et al., 2010, Chen et al., 2012, Fisk et al. 2008).

Σε Eppendorf's tubes των 2,0ml τοποθετούνται:

- 400μL H₃PO₄,
- 50μL BHT,
- 400μL δείγμα
- 50μL TBA

Επιάζουμε 120 λεπτά στους 95°C.

- προσθέτουμε 1000μL βουτανόλης,
- αναδεύουμε με vortex
- φυγοκέντρηση για 10min σε 12.000 rpm
- λαμβάνουμε το υπερκείμενο
- φυγοκέντρηση για 10min σε 12.000 rpm.

Απορρόφησης της οργανικής φάσης στα 532nm, η έκφραση των αποτελεσμάτων γίνεται σε μM MDA.

Για την προετοιμασία του τυφλού δείγματος προστέθηκε νερό αντί για δείγμα.

Η καμπύλη αναφοράς δημιουργήθηκε με πρότυπο διάλυμα MDA (στην θέση του δείγματος) γνωστών συγκεντρώσεων (0,1, 0,5, 1,0, 2,0, 2,5).

11.3.2 PEROXIDE VALUE

Το πιο συχνή μέθοδο για την ποσοτική δοκιμή και ανίχνευση υδροϋπεροξειδίων είναι η δοκιμή προσδιορισμού του αριθμού υπεροξειδίων. Οι λιπαρές ουσίες που οξειδώνονται κατά την αποθήκευση παράγουν ασταθή υδροϋπεροξείδια. Το υπεροξείδιο που περιέχεται στο έλαιο θα οξειδώσει τα ιόντα σιδήρου(Fe²⁺) σε ιόντα σιδήρου (Fe³⁺), τα οποία στη συνέχεια θα σχηματίσουν σύμπλοκο Fe(SCN) κόκκινου χρώματος λόγω της αντίδρασης με NH₄SCN δημιουργώντας κόκκινο χρώμα.

Σε Eppendorf's των 2,0 mL προσθέτουμε:

- 30μl δείγματος,
- 970μlτ διαλύτη (70% χλωροφόρμιο και 30% αιθανόλη)
- 0,02ml του παραπάνω διαλύματος

- 1,40ml αιθανόλη
- 0,02ml HCl 10% (σε νερό)
- 0,03ml Θειοκυανιούχο αμμώνιο (NH₄SCN), 1,93M
- 0,03ml FeCl₂, 10mM

Απορρόφηση στα 500nm, η έκφραση των αποτελεσμάτων αποτυπώνεται σε A₅₀₀/mgr γαλακτώματος.

11.3.3 ΣΥΖΥΓΗ ΔΙΕΝΙΑ

Η μέτρηση των συζυγών διενίων μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης της οξειδωτικής σταθερότητας μίας λιπαρής ύλης, σε αντικατάσταση ή επιπρόσθετα του αριθμού υπεροξειδίων (Shahidi & Wanasudara, 2002). Πιο συγκεκριμένα κατά τα πρώτα στάδια της οξειδωσης γίνεται μετατόπιση διπλών δεσμών. Έτσι χάνεται ένα άτομο υδρογόνου από την μεθυλομάδα η οποία ταυτόχρονα βρίσκεται μεταξύ δύο διπλών δεσμών της ανθρακικής αλυσίδας με αποτέλεσμα να μετατοπίζεται το ηλεκτρόνιο της ενδιάμεσης ρίζας και να προκύπτει η δομή των συζυγών διενίων.

Για την μέτρηση των συζυγών διενίων λαμβάνουμε σε erpendorfs των 2,0ml:

- 25μl δείγματος
- 2ml διαλυτών (μεθανόλη/βουτανόλη σε αναλογία 2:1 v/v)
- Ανάδευση σε vortex για 30 δευτερόλεπτα
- Φυγοκέντρηση για 5 λεπτά σε 2000rpm.

Μέτρηση απορρόφησης στην οργανική φάση στα 232nm.

Ο υπολογισμός συζυγών διενίων υπολογίζεται σύμφωνα με την σχέση:

$$K_{232} = \frac{A_{232}}{C_{\text{δείγματος}} \times d}, \quad (5)$$

A₂₃₂: η απορρόφηση του δείγματος στα 232nm

C: η συγκέντρωση του δείγματος σε (g/100ml)

d: το μήκος της κυψελίδας (d=1cm)

12 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

12.1 ΜΕΡΟΣ ΠΡΩΤΟ

12.1.1 ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΣΚΟΝΩΝ- ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ

Αξιοσημείωτες διαφορές παρατηρήθηκαν μεταξύ των διαφορετικών πρωτεϊνών. Οι διαφορές αυτές φαίνονται τόσο στα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά αλλά όσο και στην συμπεριφορά κατά την ανάμειξη τους με την υδατική/υδροαλκοολική και την λιπαρή φάση. Πιο συγκεκριμένα οι πρωτεΐνες παρουσίαζαν τα εξής χαρακτηριστικά.

Πίνακας 3: Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των πρωτεϊνών που χρησιμοποιήθηκαν.

ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΣΚΟΝΩΝ – ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ

	ΕΜΦΑΝΙΣΗ/ ΥΦΗ	ΧΡΩΜΑ	ΟΣΜΗ	ΚΑΘΑΡΟΤΗΤΑ
ΣΟΓΙΑ	Λεπτόκοκκη, Αλευρώδη	Λευκό	Ηπία	92,6%
ΜΠΙΖΕΛΙ	Κοκκώδη, Πούδρα	Μπεζ	Έντονη	80%
ΦΑΒΑ	Αμμώδη	Λευκό	Ηπία	55%
ΡΥΖΙ	Αμμώδη	Λευκό	Ηπία	80%

Συγκρίνοντας τις εμπορικές πρωτεΐνες από τα 4 διαφορετικά ήδη και σύμφωνα με τον παραπάνω πίνακα (Πίνακας 4) παρατηρούμε ότι η σόγια ήταν η πιο λεπτόκοκκη πρωτεΐνη έχοντας αλευρώδη υφή. Ταυτόχρονα παρατηρείται ότι η πρωτεΐνη μπιζελιού ήταν πολύ κοκκώδης και σχημάτιζε μεγάλα συσσωματώματα μεταξύ των κόκκων ενώ η πρωτεΐνη φάβας δημιουργούσε μικρότερα συσσωματώματα. Τέλος η πρωτεΐνη ρυζιού ήταν λεπτόκοκκη με αμμώδη υφή. Ανάλογα με το είδος της πρωτεΐνης που χρησιμοποιήθηκε παρατηρήθηκαν σημαντικές αποκλίσεις μεταξύ τους στην παρασκευή των γαλακτωμάτων. Οι διαφορές που προέκυψαν μπορεί να οφείλονται στην σύσταση τους, στον τρόπο παραλαβής τους καθώς επίσης και στην διαφορετική προέλευση του εκάστοτε φυτού.



Εικόνα 4: Σκόνες πρωτεϊνών. (Σόγια, Μπιζέλι, Ρύζι, Φάβα)

Γενικότερα η διαλυτότητα της πρωτεΐνης σχετίζεται με την ισορροπία των αλληλεπιδράσεων πρωτεΐνης-πρωτεΐνης και πρωτεΐνης-διαλύτη. Το πρώτο επιτυγχάνεται μέσω υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων και οδηγεί σε καθίζηση, ενώ το δεύτερο προάγει την ενυδάτωση και τη διαλυτότητα των πρωτεϊνών ((Bogahawaththa *et al.*, 2019a). Οι αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης-διαλύτη επηρεάζονται επίσης από περιβαλλοντικούς παράγοντες (π.χ. pH, ιοντική ισχύ και θερμοκρασία), τον τύπο διαλύτη (Davidov-Pardo, Joye and McClements, 2015) και από την επεξεργασία (π.χ. εκχύλιση ή επεξεργασίες μετά την εκχύλιση (Kinsella, 1981).

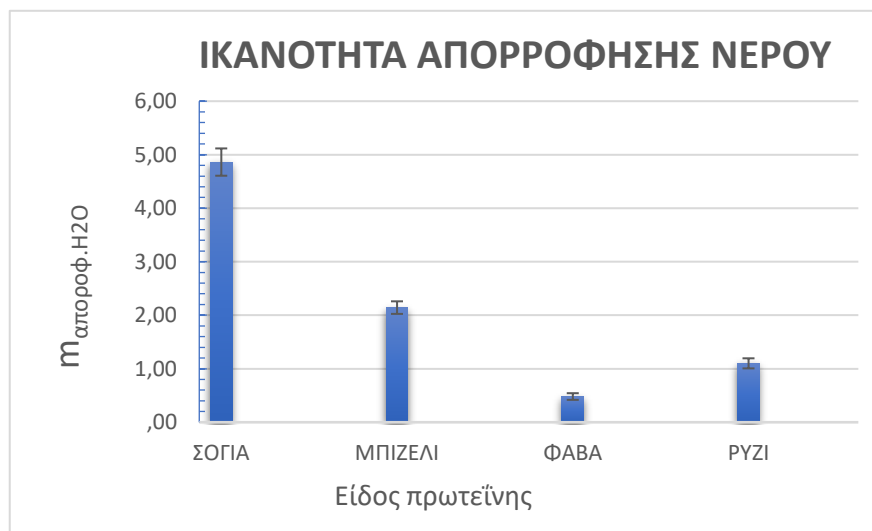
Στην διαλυτότητα της εκάστοτε πρωτεΐνης αλλά και στις γαλακτωματοποιητικές της ικανότητες έχει συμβάλει σε μεγάλο βαθμό το ποσοστό καθαρότητας της πρωτεΐνης.

12.1.2 ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΝΕΡΟΥ- ΥΔΡΑΛΚΟΟΛΙΚΟΥ ΜΕΙΓΜΑΤΟΣ- ΛΑΔΙΟΥ

12.1.2.1 ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΝΕΡΟΥ

Με την μέθοδο ικανότητας απορρόφησης νερού μπορούμε προσδιορίσουμε την ποσότητα της υδατικής φάσης που μπορεί να προσροφήσει η κάθε πρωτεΐνη. Όπως φαίνεται στο διάγραμμα 1 η σόγια παρουσίασε πολύ καλή ικανότητα συγκράτησης νερού καθώς η ποσότητα του υπερκείμενου νερού ήταν πολύ μικρή συγκριτικά με των άλλων πρωτεϊνών. Η ικανότητα συγκράτησης νερού των υπόλοιπων πρωτεϊνών ήταν μικρότερη από εκείνη της σόγιας και πιο συγκεκριμένα η πρωτεΐνη που απορρόφησε την αμέσως μεγαλύτερη ποσότητα νερού ήταν αυτή του μπιζελιού και ύστερα του ρυζιού. Αντίθετα η πρωτεΐνη φάβας είχε την μικρότερη απορρόφηση συγκριτικά με τα υπόλοιπα είδη.

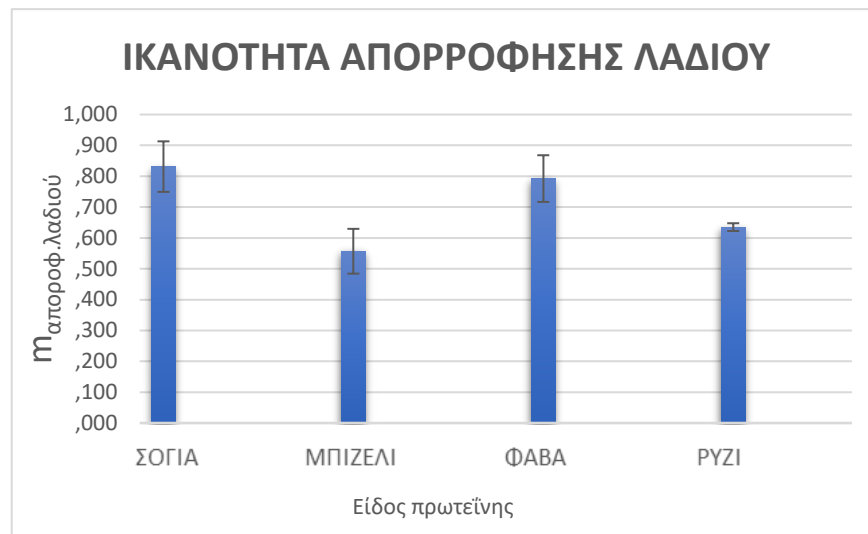
Διάγραμμα 1: Απορροφήσεις νερού των πρωτεϊνών



12.1.2.2 ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΛΑΔΙΟΥ

Η μελέτη απορρόφησης λαδιού πραγματοποιήθηκε για να εξεταστεί η ικανότητα της εκάστοτε πρωτεΐνης. Σε συνδυασμό με την ικανότητα απορρόφησης νερού μπορούμε να διαπιστώσουμε τις πρώτες ενδείξεις για την γαλακτωματοποιητική ικανότητα των πρωτεϊνών. Από τις πρωτεΐνες που εξετάστηκαν διαπιστώθηκε σημαντική διαφορά στις απορροφήσεις των περισσότερων πρωτεϊνών συγκριτικά με αυτές του νερού. Την μεγαλύτερη απορρόφηση την είχαν οι πρωτεΐνες σόγιας και φάβας ενώ την μικρότερη το μπιζέλι. Όπως φαίνεται στο διάγραμμα 2, η μεγαλύτερη διαφορά διαπιστώθηκε στην πρωτεΐνη φάβας που ενώ είχε την χαμηλότερη απορρόφηση νερού, στην απορρόφηση λαδιού έδωσε το δεύτερο καλύτερο αποτέλεσμα μετά την σόγια. Ακολουθούν οι πρωτεΐνες ρυζιού και αρακά.

Διάγραμμα 2: Απορροφήσεις λαδιού των πρωτεϊνών



12.1.2.3 ΥΔΡΟΑΛΚΟΟΛΙΚΑ ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ

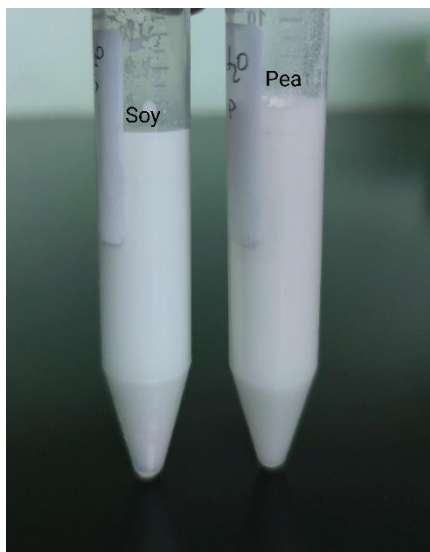
Τα αποτελέσματα των απορροφήσεων από τις δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν για την μελέτη απορρόφησης νερού και υδροαλκοολικού διαλύματος συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα ενώ ταυτόχρονα συγκρίθηκαν και με αυτές του νερού. Προκειμένου να γίνει η άμεση χρήση του εκχυλίσματος μελετήθηκε η διαλυτότητα σε υδροαλκοολικό μείγμα έτσι ώστε να διαπιστωθεί η πιθανή επίδραση της αιθανόλης στην απορροφητική ικανότητα των πρωτεϊνών.

Πίνακας 4: Αποτελέσματα απορροφήσεων των πρωτεϊνών σε διαφορετικές υδατικές φάσεις.

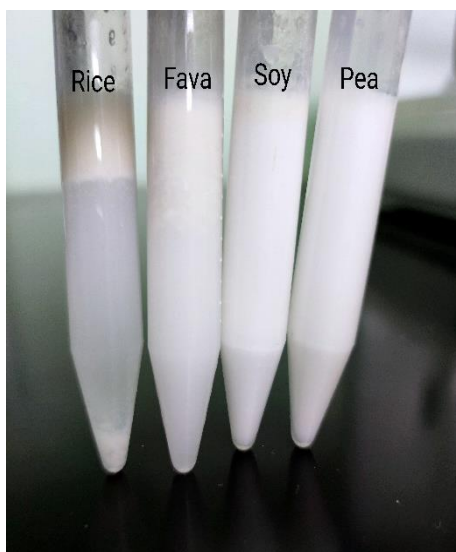
	ΣΟΓΙΑ		ΜΠΙΖΕΛΙ		ΦΑΒΑ		ΡΥΖΙ	
	Μ.Ο _{ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ}	STDEV	Μ.Ο _{ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ}	STDEV	Μ.Ο _{ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ}	STDEV	Μ.Ο _{ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ}	STDEV
ΑΠΟΣΤΑΓΜΑ	1,7709	0,3395	1,3125	0,0073	2,5833	0,0204	1,2256	0,0382
ΝΕΡΟ	4,8620	0,2551	2,1425	0,1174	0,4809	0,0622	1,1008	0,0943
50-50	3,3661	0,1259	1,6722	0,0340	2,1739	0,0207	1,1597	0,0164
25-75% ΑΠΟΣΤΑΓΜΑ/ΝΕΡΟ	3,9654	0,0175	1,9037	0,0283	1,9865	0,0113	1,1962	0,0543
75-25% ΑΠΟΣΤΑΓΜΑ/ΝΕΡΟ	2,3068	0,0191	1,4328	0,0110	2,5187	0,0506	1,1705	0,0200

Από τον πίνακα 5 συμπεραίνουμε πως η σόγια και το μπιζέλι είχαν μέγιστη απορρόφηση στο νερό ενώ ελάχιστη στο καθαρό απόσταγμα. Αντιθέτως η φάβα και το ρύζι είχαν μέγιστη απορρόφηση στο καθαρό απόσταγμα ενώ ελάχιστη στο νερό. Συνολικά όμως οι καλύτερες απορροφήσεις εμφανίστηκαν στο υδραλκοολικό διάλυμα 25% απόσταγμα – 75% νερό.

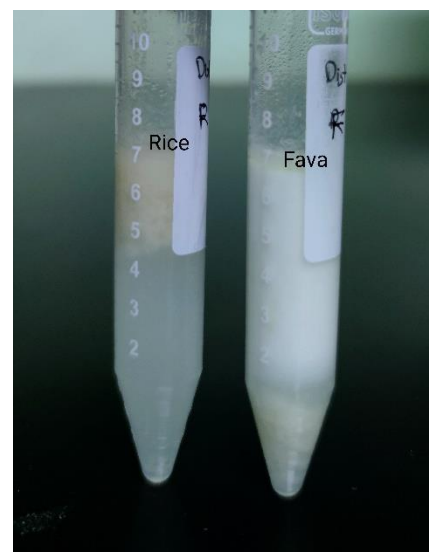
Τα βέλτιστα γαλακτώματα δημιουργήθηκαν με την πρωτεΐνη σόγιας καθώς δεν υπήρχε καθόλου διαχωρισμός των γαλακτωμάτων. Αντίθετα στα γαλακτώματα με πρωτεΐνη φάβας και ρυζιού στο καθαρό απόσταγμα υπήρξε πλήρης διαχωρισμός. Ωστόσο στο υδραλκοολικό διάλυμα η φάβα έδωσε λίγο καλύτερα αποτελέσματα συγκριτικά με αυτά του ρυζιού, όμως εξακολουθούσε να υπάρχει διαχωρισμός των γαλακτωμάτων όπως φαίνεται στις εικόνες 7, 8 & 9.



Εικόνα 6: Γαλακτώματα σόγιας και μπιζέλι και υδατική φάση με νερό



Εικόνα 7: Γαλακτώματα με υδραλκοολικό διάλυμα 25%-75% απόσταγμα/νερό, με την ακόλουθη σειρά Ρύζι, Φάβα, Σόγια, Μπιζέλι.



Εικόνα 5: Γαλακτώματα φάβας και ρυζιού και υδατική φάση καθαρό απόσταγμα

12.1.3 ΔΙΑΛΥΤΟΤΗΤΑ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ

Η διαλυτότητα των πρωτεϊνών είναι μια από τις σημαντικές λειτουργικές ιδιότητες που σχετίζονται με τις πρωτεΐνες (Zhu *et al.*, 2018). Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι οι λειτουργικές ιδιότητες, όπως η γαλακτωματοποίηση, ο αφρισμός, το ιξώδες και τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά, συνδέονται στενά με τη διαλυτότητα των πρωτεϊνών και με την αύξηση της διαλυτότητας τους, βελτιώνονται αντίστοιχα και αυτές οι ιδιότητες ((Toews and Wang, 2013). Ως εκ τούτου, έχει μεγάλη σημασία η μελέτη της διαλυτότητας των πρωτεϊνών (Tang *et al.*, 2020)

Η σταθερότητα των γαλακτωμάτων είναι μία ιδιότητα η οποία επηρεάζεται όχι μόνο από την σύσταση του γαλακτώματος αλλά και από την πάροδο του χρόνου σε αυτό. Στην παρούσα μελέτη τα γαλακτώματα αξιολογήθηκαν σε χρόνο μηδέν και στην διάρκεια επτά ημερών. Αναλυτικότερα σε χρόνο μηδέν έχουμε καλή γαλακτωματοποιητική σταθερότητα σε pH 2 και 8 ενώ με την πάροδο του χρόνου (t= 7 ημέρες) στο pH 2 φαίνεται να δημιουργούνται πιο σταθερά γαλακτώματα άσχετα με την προέλευση της πρωτεΐνης.

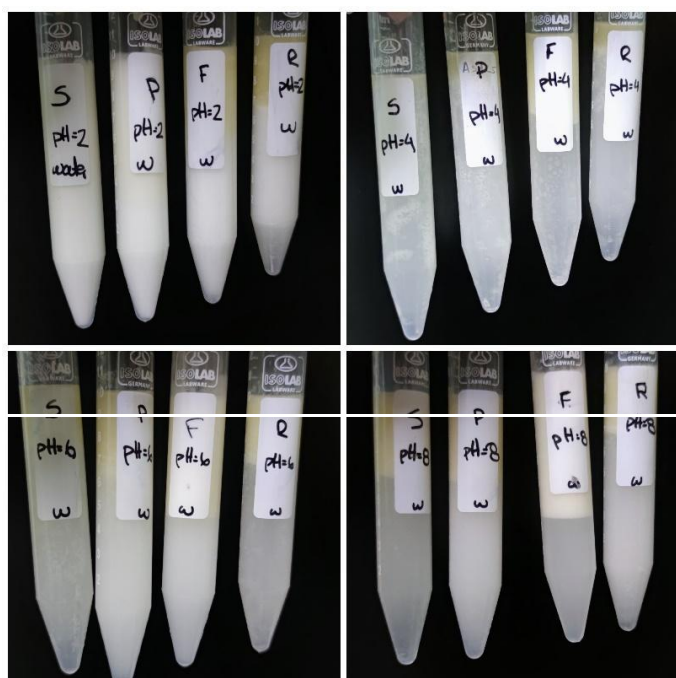
Όπως φαίνεται και στις παρακάτω εικόνες (11 & 12), τόσο με υδατικό διάλυμα όσο και με υδραλκοολικό σε pH 4, 6, 8 είχαμε πλήρη διαχωρισμό των γαλακτωμάτων μετά τις 7 ημέρες. Άμεσος διαχωρισμός παρατηρήθηκε στο pH 4 και 6 όπου είναι πολύ κοντά στο ισοηλεκτρικό σημείο των χρησιμοποιούμενων πρωτεϊνών. Γαλακτώματα που

παρασκευάζονται σε pH 8 παρουσιάζουν διαφορετικές συμπεριφορές ανάλογα με το είδος της πρωτεΐνης. Έτσι παρατηρούμε για τις πρωτεΐνες σόγια και μπιζέλι σταθερότητα ακόμα και μέχρι την 4^η μέρα ενώ για την φάβα και το ρύζι ο διαχωρισμός σε pH 8 εμφανίζεται από τις πρώτες κιόλας ώρες μετά την παρασκευή τους.

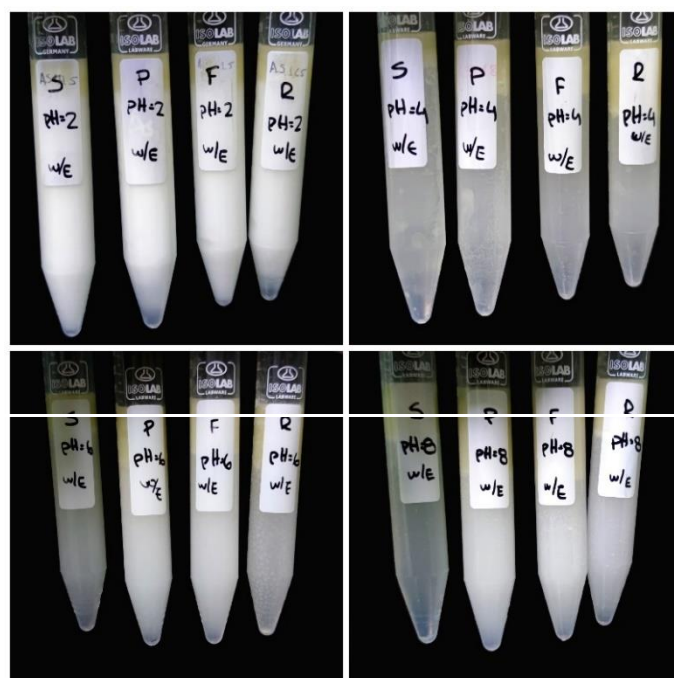
Αντιθέτως σε pH 2 είχαμε καλύτερα αποτελέσματα. Πιο συγκεκριμένα η πρωτεΐνη σόγιας και μπιζελιού με υδατικό διάλυμα έδωσε άρτια γαλακτώματα. Τα γαλακτώματα αυτά είχαν παρασκευαστεί με συγκέντρωση πρωτεΐνης 0,5% και λαδιού 10% αντιστοίχως. Το γαλάκτωμα που παρασκευάστηκε από πρωτεΐνη φάβας εμφάνισε διαχωρισμό ελαίου 31,25% του γαλακτώματος ενώ σε αυτό από την πρωτεΐνη ρυζιού είχαμε μεγαλύτερο διαχωρισμό καθώς απέβαλε 10% νερού και 20% λαδιού.

Ομοίως τα γαλακτώματα που παρασκευάστηκαν με υδραλκοολικό είχαν συγκέντρωση πρωτεΐνης 0,5% και λαδιού 10%. Παρατηρήθηκε πως το γαλάκτωμα σόγιας σε pH 2 δεν κατάφερε να απορροφήσει όλη την ποσότητα λαδιού καθώς απέβαλε 27,5% του προστιθέμενου λαδιού στο υπερκείμενο. Το γαλάκτωμα από το μπιζέλι έδωσε διαχωρισμό 4,5% νερού και 22,5% λαδιού. Στην συνέχεια η πρωτεΐνη φάβας δεν είχε απορροφήσει 27,5% του λαδιού και τέλος το γαλάκτωμα με την πρωτεΐνη ρυζιού είχε αποβάλλει 22,5% λαδιού της και 1,5% νερό. Όλα τα παραπάνω φαίνονται και στις εικόνες 10 και 11.

12.1.4 ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΟΠΟΙΗΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ



Εικόνα 9: Γαλακτώματα με υδατική φάση νερό(w) σε pH 2,4,6,8 με πρωτεΐνη σόγιας (S), μπιζελιού (P), φάβας (F) και ρυζιού (R) αντιστοίχως.



Εικόνα 8: Γαλακτώματα με υδατική φάση υδραλκοολικό διάλυμα(w/e) σε pH 2,4,6,8 με πρωτεΐνη σόγιας (S), μπιζελιού (P), φάβας (F) και ρυζιού (R) αντιστοίχως.

Κατά τον προσδιορισμό της γαλακτωματοποιητικής ικανότητας των πρωτεϊνών υπολογίστηκαν οι τιμές ESI και EAI, δηλαδή ο δείκτης σταθερότητας των γαλακτωμάτων και ο δείκτης ικανότητας δημιουργίας γαλακτωμάτων. Αρχικά εξετάστηκαν με υδραλκοολικό διάλυμα ως υδατική φάση και στην συνέχεια με καθαρό νερό και μετρήθηκαν οι απορροφήσεις σε χρόνο μηδέν και μετά από δέκα λεπτά.

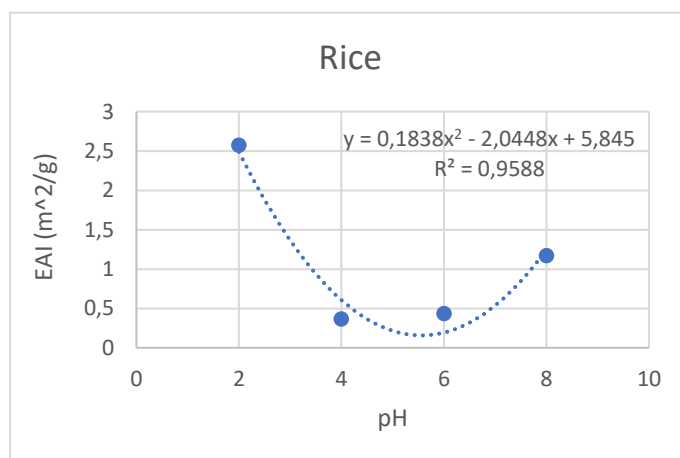
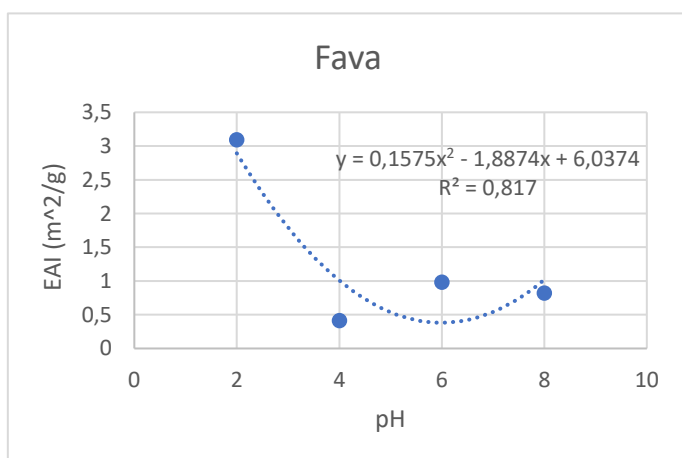
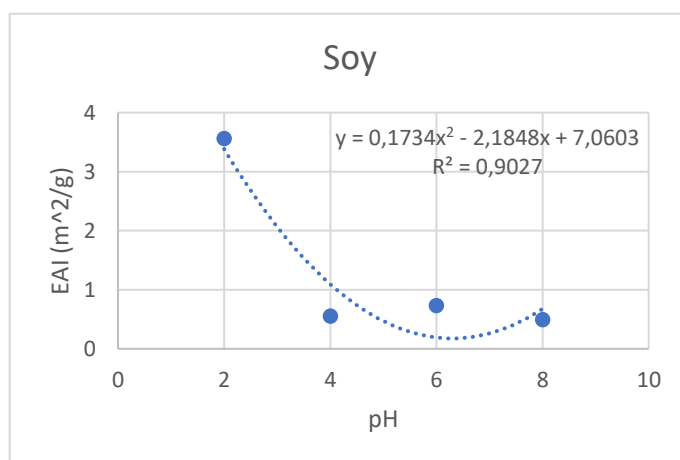
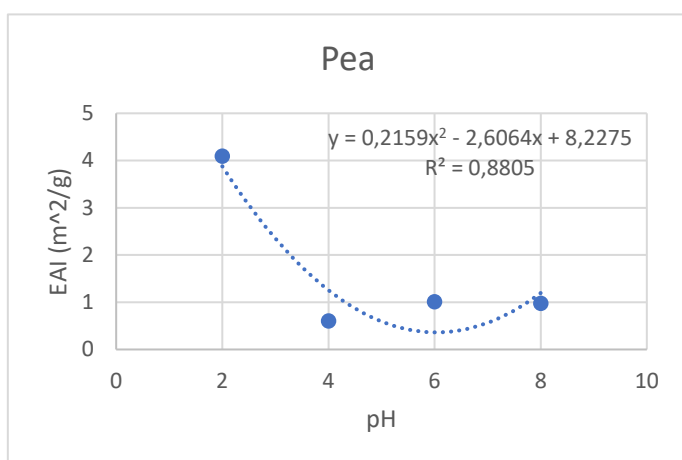
Οι τιμές EAI και ESI παρουσιάζονται στον παρακάτω .

A) ΝΕΡΟ/ΕΘΑΝΟΛΗ

Πίνακας 5: Αποτελέσματα EAI των εξεταζόμενων πρωτεϊνών σε pH 2, 4, 6, 8 σε υδραλκοολικό διάλυμα

	EAI Average(m ² /g)			
	pH 2	pH 4	pH 6	pH 8
Soy	3,5639	0,5555	0,7318	0,4971
Pea	4,0961	0,6038	1,0157	0,9783
fava	3,0916	0,4103	0,9801	0,8189
Rice	2,5712	0,3651	0,4345	1,1689

Διάγραμμα 3: Διαγράμματα EAI πρωτεϊνών σε υδραλκοολικό διάλυμα



Τα παραπάνω διαγράμματα εκφράζουν την ικανότητα απορρόφησης των πρωτεϊνών σε υδραλκοολικό διάλυμα συναρτήσεως του pH σε κάθε είδος πρωτεΐνης αντίστοιχα.

Η γαλακτωματοποιητική ικανότητα όλων των πρωτεϊνών συσχετίζεται ισχυρά με το pH με αποτέλεσμα σε pH το οποίο βρίσκεται κοντά στο ισοηλεκτρικό σημείο να μειώνεται ενώ όσο απομακρύνεται από αυτή να αυξάνεται. Η συσχέτιση αυτή έχει μεγάλη σημαντικότητα καθώς σε όλα τα παραπάνω διαγράμματα το $R^2 > 0,6$.

Για τις πρωτεΐνες που έχουν χρησιμοποιηθεί η ικανότητα απορρόφησης του ελαίου ακολουθεί λογαριθμική συσχέτιση με το pH και παρουσιάζονται παρακάτω σύμφωνα με τις εξισώσεις:

Σόγια:

$$y = 0,1734x^2 - 2,1848x + 7,0603 \text{ και με συντελεστή σημαντικότητας } R^2 = 0,9027$$

Μπιζέλι:

$$y = 0,2159x^2 - 2,6064x + 8,2275 \text{ και με συντελεστή σημαντικότητας } R^2 = 0,8805$$

Φάβα:

$$y = 0,1575x^2 - 1,8874x + 6,0374 \text{ και με συντελεστή σημαντικότητας } R^2 = 0,8170$$

Ρύζι:

$$y = 0,1838x^2 - 2,0448x + 5,845 \text{ και με συντελεστή σημαντικότητας } R^2 = 0,9588$$

Αντίστοιχα στα διαγράμματα 4 παρουσιάζεται η ικανότητα απορρόφησης στην υδατική φάση η οποία παρουσιάζει αντίστοιχες λογαριθμικές συσχετίσεις συναρτήσεως του pH για κάθε είδος πρωτεΐνης.

Η μεγαλύτερη συσχέτιση εμφανίζεται στις πρωτεΐνες σόγιας και ρυζιού ενώ για την πρωτεΐνη μπιζελιού και φάβας τα αποτελέσματα παρουσιάζουν μικρή συσχέτιση καθώς $R^2 < 0,6$.

Πιο συγκεκριμένα προέκυψαν οι παρακάτω εξισώσεις:

Σόγια:

$$y = 0,2665x^2 - 3,2656x + 9,7423 \text{ και με συντελεστή σημαντικότητας } R^2 = 0,9378$$

Μπιζέλι:

$$y = 0,0085x^2 - 0,0916x + 0,8562 \text{ και με συντελεστή σημαντικότητας } R^2 = 0,0406$$

Φάβα:

$$y = 0,0784x^2 - 0,9551x + 3,496 \text{ και με συντελεστή σημαντικότητας } R^2 = 0,5928$$

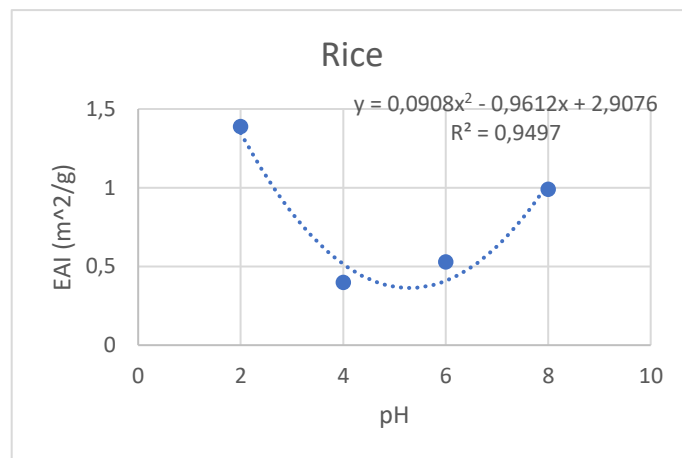
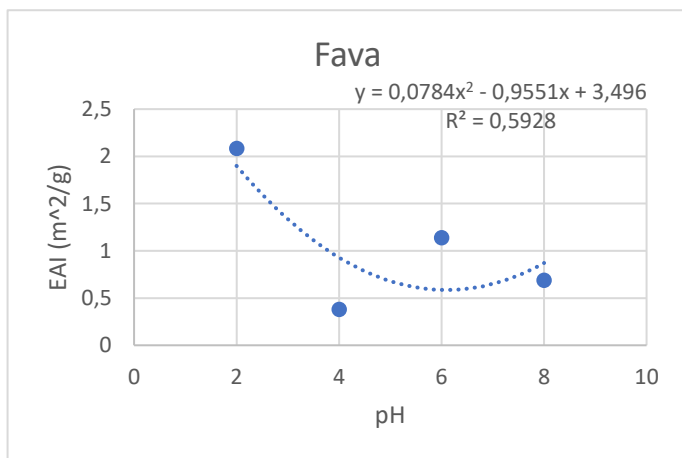
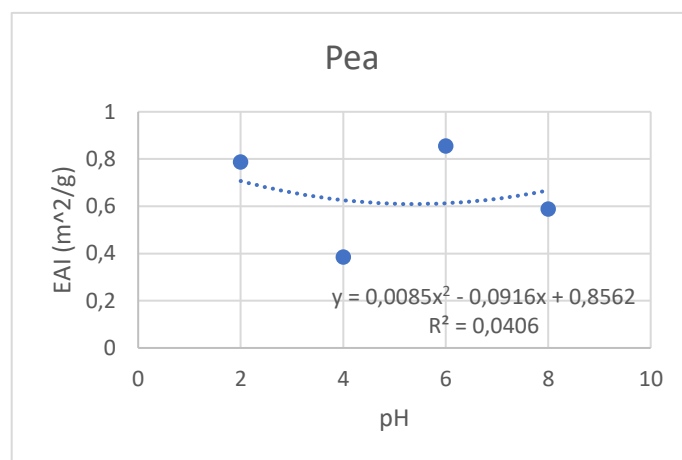
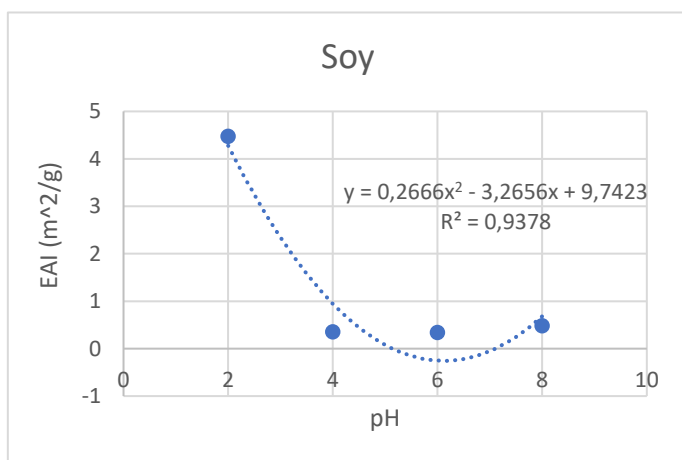
Ρύζι:

$$y = 0,0908x^2 - 0,9612x + 2,9076 \text{ και με συντελεστή σημαντικότητας } R^2 = 0,9497$$

Πίνακας 6: Αποτελέσματα EAI των εξεταζόμενων πρωτεϊνών σε pH 2, 4, 6, 8 σε υδατικό διάλυμα

	EAI (m ² /g)			
	pH=2	pH=4	pH=6	pH=8
Soy	4,4750	0,3546	0,3399	0,4858
Pea	0,7876	0,3842	0,8545	0,5873
Fava	2,0828	0,3789	1,1372	0,6872
Rice	1,3879	0,3974	0,5270	0,9895

Διάγραμμα 4: Διαγράμματα EAI πρωτεϊνών σε υδατικό διάλυμα



Η μεταβολή της ικανότητας απορρόφησης των πρωτεϊνών σε χρόνο 0 και 10 λεπτά παρουσιάζεται στα αραχνοειδή διάγραμμα. Είναι ευδιάκριτο πως η απορρόφηση της φάβας έχει την μεγαλύτερη διακύμανση ανάλογα τιμή του pH στην οποία θα βρίσκεται τόσο με στην υδατική όσο και στην υδραλκοολική φάση. Επιπλέον, σε pH 2 όλα τα είδη των πρωτεϊνών παρουσιάζουν καλύτερη γαλακτωματοποιητική ικανότητα όταν βρίσκονται σε υδατικό διάλυμα ενώ σε υδραλκοολικό διάλυμα επηρεάζεται κυρίως η πρωτεΐνη φάβας καθώς παρουσιάζει τις μεγαλύτερες μεταβολές συγκριτικά με τις υπόλοιπες τιμές pH.

Διάγραμμα 5: Διαγράμματα που αφορούν τον δείκτη σταθερότητας των γαλακτωμάτων που παρασκευάστηκαν με πρωτεΐνη σόγιας, μπιζελιού, φάβας και σόγιας σε διαφορετικές τιμές pH σε υδραλκοολικό και υδατικό διάλυμα.



12.2 ΜΕΡΟΣ ΔΕΥΤΕΡΟ

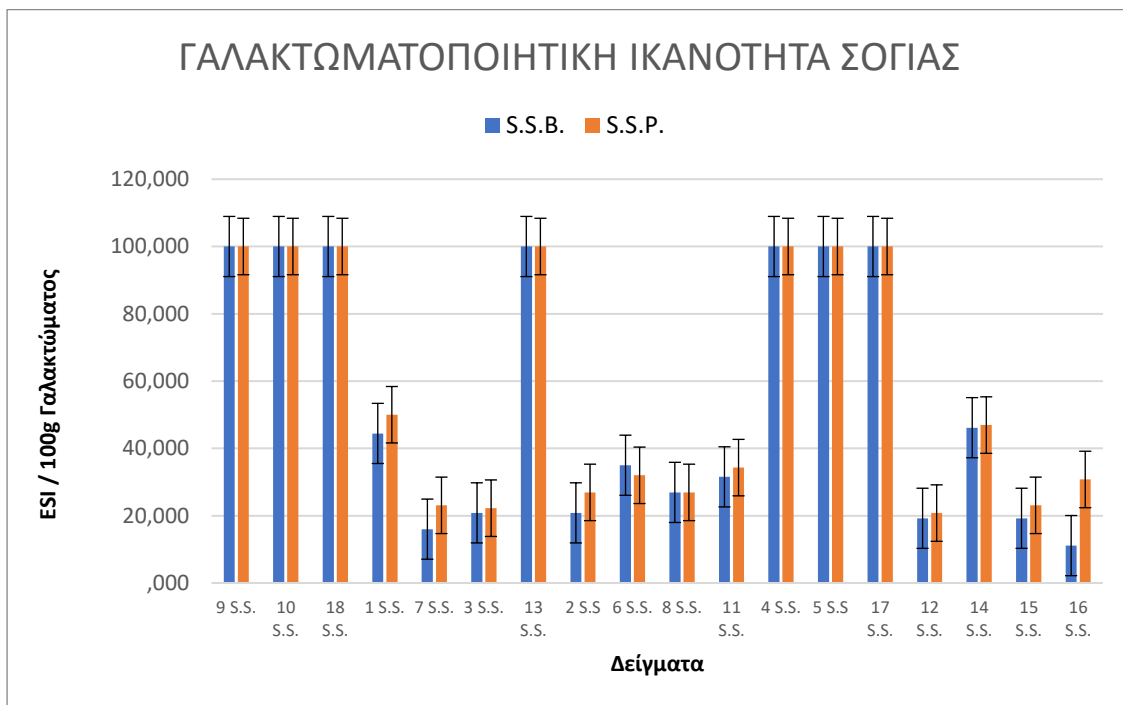
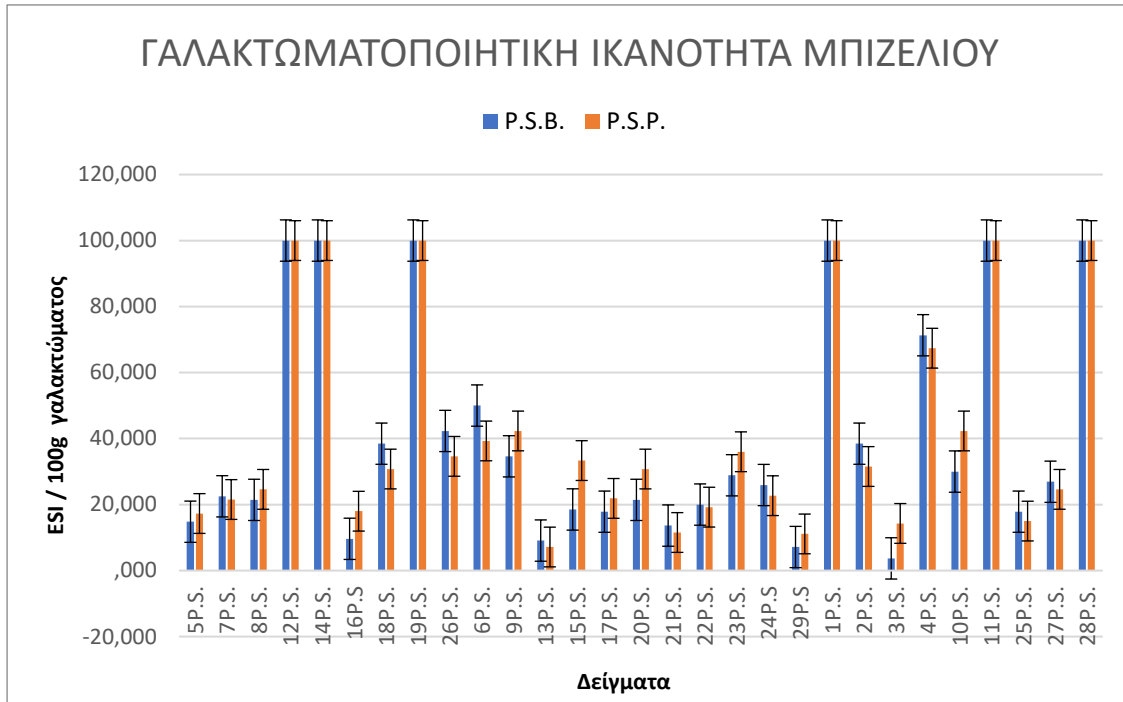
12.2.1 ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΩΝ.

Στα παρακάτω διαγράμματα παρουσιάζεται η ποσότητα του γαλακτώματος που έχει δημιουργηθεί στα 100g γαλακτώματος με την χρήση πρωτεΐνης μπιζελιού και σόγιας. Τα δείγματα που παρασκευάστηκαν προέκυψαν από όλους τους δυνατούς συνδυασμούς των μεταβαλλόμενων παραγόντων που εξετάστηκαν.

Οι στήλες με πορτοκαλί χρώμα (P.S.P.) αντιπροσωπεύουν τα δείγματα στα οποία προστέθηκε εκχύλισμα βύσσινου ενώ με μπλε χρώμα (P.S.B.) είναι αυτά που περιείχαν καθαρό απόσταγμα.

Όπως φαίνεται στο διάγραμμα 6 η παρουσία του υδραλκοολικού εκχυλίσματος παρουσία πολυφαινολών δεν φαίνεται να επηρεάζει την γαλακτωματοποιητική ικανότητα των φυτικών πρωτεϊνών. Ο κύριος παράγοντας σταθερότητας ή μη των γαλακτωμάτων είναι το pH καθώς επίσης η συγκέντρωση πρωτεΐνης σε συνάρτηση με την συγκέντρωση του λαδιού.

Διάγραμμα 6: Γαλακτωματοποιητική ικανότητα μπιζελιού και σόγιας με παρουσία ή μη πολυφαινολών.



Οι βέλτιστοι συνδυασμοί των παραμέτρων που εξετάστηκαν για την παρασκευή των γαλακτωμάτων φαίνονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 8).

Πίνακας 7:Βέλτιστα γαλακτώματα που παρασκευάστηκαν

PEA				SOY			
Δείγμα	Cprot	pH	Coil	Δείγμα	Cprot	pH	Coil
P.S.	0,5	2	10	10 S.S.	0,5	2	20
18P.S.	0,5	2	5	18 S.S.	0,5	2	5
10P.S.	0,5	2	20	13 S.S.	0,7	2	5
4P.S.	0,9	2	20	4 S.S.	0,9	2	20
5P.S.	0,9	2	10	5 S.S.	0,9	2	10
18P.S.	0,9	2	5	17 S.S.	0,9	2	5

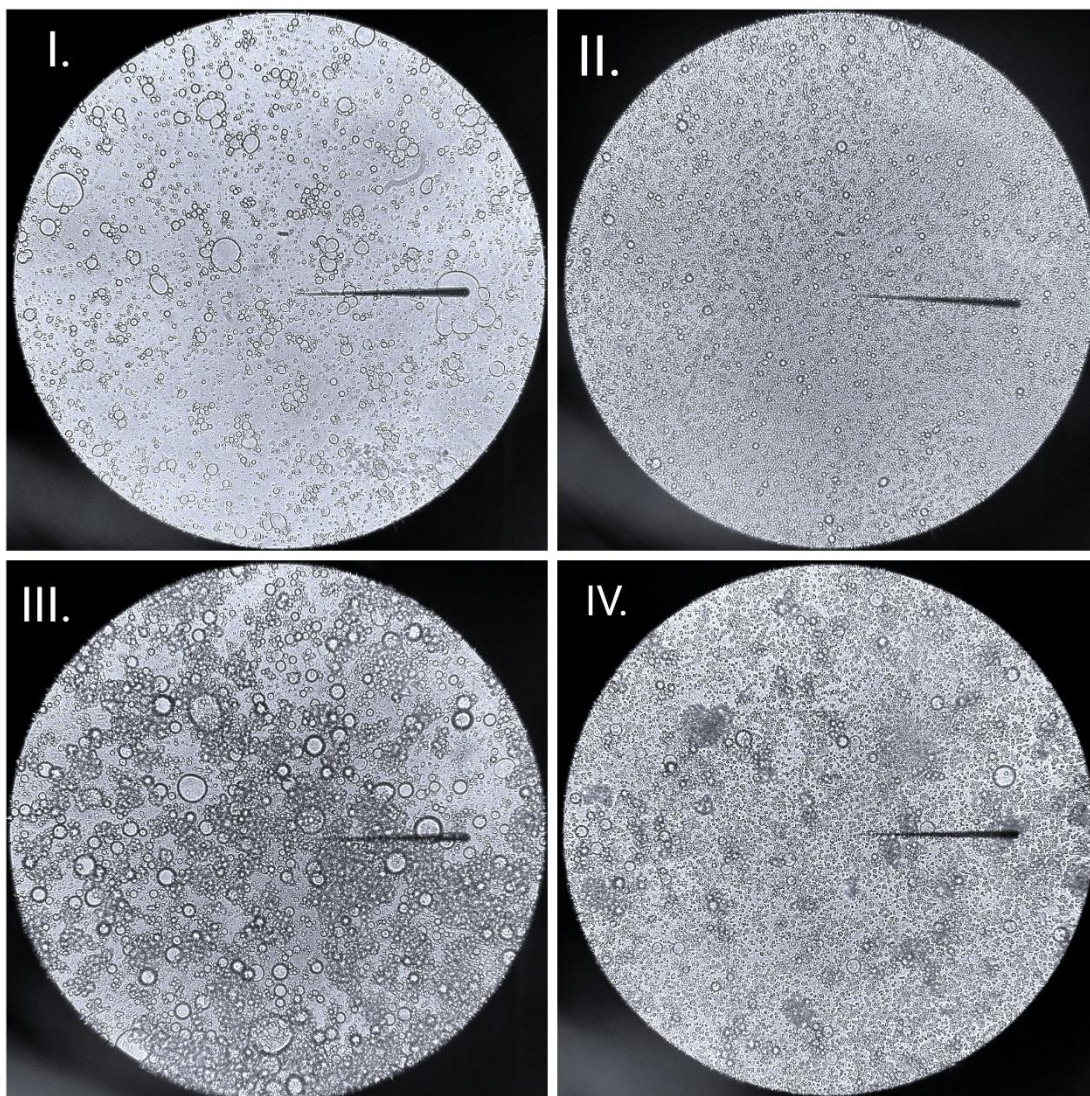
Σύμφωνα με τον παραπάνω πίνακα φαίνεται πως τόσο η σόγια όσο και το μπιζέλι δημιουργούν γαλακτώματα κάτω από τις ίδιες συνθήκες επομένως η γαλακτωματοποιητική τους ικανότητα είναι παραπλήσια. Η βασική τους διαφορά ήταν πως η σόγια έδωσε γαλάκτωμα χωρίς διαχωρισμό με συγκέντρωση πρωτεΐνης 0,7 σε pH 2 και συγκέντρωση λαδιού 5% σε αντίθεση με το μπιζέλι που είχε διαχωριστεί πλήρως.

Ακόμα διαπιστώθηκε πως όσο αυξάνεται η ποσότητα του λαδιού στο γαλάκτωμα τόσο αυξάνεται η ικανότητα αφρισμού του μπιζελιού αλλά επηρεάζει ταυτόχρονα και την ρευστότητα του γαλακτώματος δίνοντας πιο παχύρευστο γαλάκτωμα.

Τα γαλακτώματα που παρασκευάστηκαν παρατηρήθηκαν και στις 7 ημέρες. Σε αυτά με την πρωτεΐνη μπιζελιού παρατηρήθηκαν μικρές ποσότητες ιζημάτων. Μάλιστα διαπιστώθηκε πως τα δείγματα 18 P.S.B και 18 P.S.P είχαν μεγαλύτερο ίζημα καθώς είχαν την μικρότερη συγκέντρωση λαδιού συγκριτικά με τα υπόλοιπα στην ίδια τιμή pH. Επομένως η συγκέντρωση λαδιού και το ίζημα έχουν μια αντίστροφη σχέση καθώς δεν υπάρχει αρκετή ποσότητα ελαίου να διατηρήσει διεσπαρμένη την ποσότητα της περίσσιας πρωτεΐνης στο γαλάκτωμα.

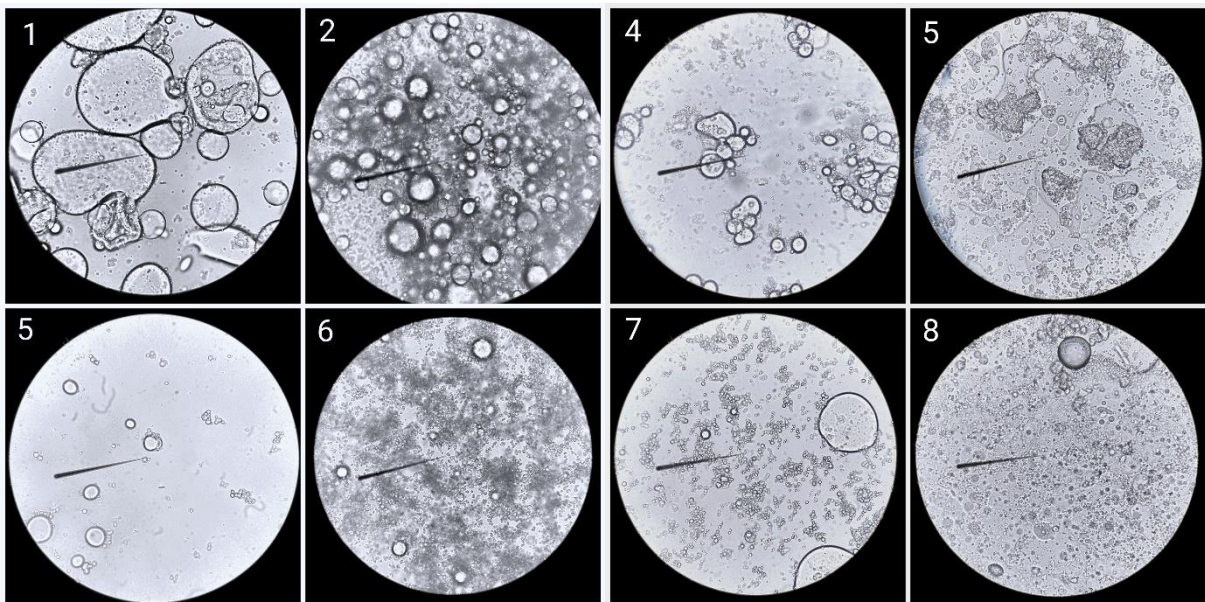
12.2.2 ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΩΝ ΣΕ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ

Μετά την παρασκευή των γαλακτωμάτων παρατηρήθηκαν στο μικροσκόπιο έτσι ώστε να αξιολογηθεί η δομή των γαλακτωμάτων. Μικροσκοπικά ο διαχωρισμός των γαλακτωμάτων αποτυπώνεται με την ύπαρξη μεγάλων κηλίδων λαδιού και μικρότερης εμφάνισης αυτών. Πιο συγκεκριμένα τα γαλακτώματα που παρουσίαζαν φαινομενικά σταθερότερα γαλακτώματα εμφανίζονταν στο μικροσκόπιο με μικρού μεγέθους σταγονίδια και καλή ομοιομορφία ακόμα και σε αραιώση (1/10). Αντίθετα τα διαχωρισμένα φαινομενικά γαλακτώματα παρουσίαζαν είτε μεγάλου μεγέθους σταγονίδια (σταγόνες λαδιού) είτε με κυρίαρχη την υδατική φάση και σχεδόν απουσίας της λιπαρής. Όπως βλέπουμε και στην εικόνα 12 με φακό μεγέθυνσης x40.



Εικόνα 10: Μικροσκόπηση γαλακτωμάτων σε εστίαση $\times 40$. Παραπάνω έχουμε γαλακτώματα με (I)μπιζέλι σε συγκέντρωση 0.5%, σε pH 2 με 20% λάδι (II) μπιζέλι σε συγκέντρωση 0.9%, σε pH 2 με 10% λάδι (III) σόγια σε συγκέντρωση 0.5%, σε pH 2 με 20% λάδι (IV) σόγια σε συγκέντρωση λαδιού 10%

Παρατηρήθηκε λοιπόν πως μεγαλύτερα σταγονίδια ελαίου αλλά και τα περισσότερα συσσωματώματα εμφανίστηκαν στο γαλάκτωμα που παρασκευάστηκε με πρωτεΐνη σόγιας 0,5% σε pH 2 και συγκέντρωση λαδιού 20%. Βέβαια αυξάνοντας το ποσοστό της πρωτεΐνης σε 0,9% φάνηκε πως δημιουργήθηκαν μικρότερα σταγονίδια ελαίου. Επομένως πραγματοποιήθηκε καλύτερη ομογενοποίηση του γαλακτώματος. Από την μικροσκόπηση των γαλακτωμάτων την καλύτερη ομογενοποίηση φαίνεται να την έχει το γαλάκτωμα (II.) καθώς έχει τα μικρότερα σταγονίδια χωρίς να εμφανίζει συσσωματώματα ή κηλίδες ελαίου που δεν έχουν πλήρως ομογενοποιηθεί.



Εικόνα 11: Μικροσκόπηση γαλακτωμάτων σε pH 4 με διαφορετική συγκέντρωση λαδιού και διαφορετικό είδος πρωτεΐνης. (1) σόγια σε συγκέντρωση λαδιού 10%, (2) μπιζέλι σε συγκέντρωση λαδιού 10%, (3) φάβα σε συγκέντρωση λαδιού 10%, (4) ρύζι σε συγκέντρωση λαδιού 10%, (5) σόγια σε συγκέντρωση λαδιού 20%, (6) μπιζέλι σε συγκέντρωση λαδιού 20%, (7) φάβα σε συγκέντρωση λαδιού 20% και (8) ρύζι σε συγκέντρωση λαδιού 20%.

Επιπρόσθετα στην εικόνα 11 έγινε μικροσκόπηση των γαλακτωμάτων που παρασκευάστηκαν από πρωτεΐνες σόγιας, μπιζελιού, φάβας και ρυζιού με συγκέντρωση λαδιού 10% και 20% σε τιμή pH 4. Σε αυτή την τιμή pH φαίνεται πως ανεξάρτητα με το είδος της πρωτεΐνης και την συγκέντρωση του λαδιού καμία πρωτεΐνη δεν παρουσιάζει ικανοποιητική γαλακτωματοποιητική ικανότητα με αποτέλεσμα να έχουμε πλήρη διαχωρισμό με το που σταματάει η ανάμειξη. Αυτό αποδίδεται κυρίως στο γεγονός πως η τιμή του pH (pH=4) είναι πολύ κοντά στο ισηλεκτρικό σημείο των πρωτεϊνών.

12.3 FTIR

Οι χαρακτηριστικές/ δραστικές ομάδες διάφορων ενώσεων απορροφούν και η αποτίμηση των φασμάτων τους πραγματοποιείται στην περιοχή των $4000-1500\text{ cm}^{-1}$. Οι απορροφήσεις σκελετού του δακτυλικού αποτυπώνονται στις περιοχές κάτω των 1500 cm^{-1} . Πιο συγκεκριμένα οι κορυφές που αφορούν κατά κύριο λόγο τα γαλακτώματα είναι αυτές που φαίνονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακα 9), (Εργαστηριακές σημειώσεις Φασματοφωτομετρία UV-VIS & IR, Βασιλειάς Ι. Σινάνογλου).

Πίνακας 8: Ταινίες απορροφήσεων χαρακτηριστικών ομάδων και μοριακών (Εργαστηριακές σημειώσεις Φασματοφωτομετρία UV-VIS & IR, Βασιλείας Ι. Σινάνογλου)

Αμίνες	N-H	3500 - 3200	(ν) ισχυρή συνήθως διπλή κορυφή
	N-H	1650-1590	(δ) μέτρια
	C-N	1230-1030	(ν) ισχυρή κυμαινόμενη
Αμίδια	N-H	3500 - 3100	(ν) ισχυρή συνήθως διπλή κορυφή
	N-H	1650-1590	(δ) μέτρια
	C=O	1690 – 1630	(ν) ισχυρή
	C-N	1230-1030	(ν) ισχυρή κυμαινόμενη

Εμφάνιση	Χαρακτηριστική ομάδα / μοριακός δεσμός	Κυματαριθμός (cm ⁻¹)	Είδος και ένταση δόνησης
Αλκάνια και κορεσμένες αλειφατικές αλυσίδες	C-H (CH ₃)	2950–2960	(ν) ασύμμετρη μέτρια
	C-H (CH ₂)	2854 και 2922	(ν) συμμετρική και ασύμμετρη ισχυρή
	C-H (CH ₂ ή CH ₃)	1430–1470	(δ) μέτρια ή ισχυρή
	C-C	1250 – 1000 Κυμαινόμενο	(ν) ένταση κυμαινόμενη
Αλκένια και ενώσεις με π-δεσμό	=C-H	3100 - 3000	(ν) μέτρια
	–CH=CH– cis	730-680	(δ) μέτρια
	–CH=CH– trans	966	(δ) ισχυρή
	C=C	1620-1680	(ν) μέτρια

Σύμφωνα με τον παραπάνω πίνακα αναμένουμε να δούμε χαρακτηριστικές κορυφές για τα γαλακτώματα που εξετάστηκαν σε εύρη κυματαριθμών 2950-2960 cm⁻¹ (αλκάνια και κορεσμένες αλειφατικές αλυσίδες), 3100-3000 cm⁻¹ (=C-H). Επιπλέον ο βασικός μοριακός δεσμός που θα αποδώσει χαρακτηριστικό φάσμα είναι αυτός των αμινών. Οι χαρακτηριστικές ομάδες που απορροφούν είναι: N-H στα 3500 - 3200 cm⁻¹, N-H στα 1650-1590 cm⁻¹ και C-N 1230-1030 cm⁻¹.

Αρχικά παρατηρείται πως μεταξύ των διαφορετικών πρωτεϊνών (σόγια, μπιζέλι, φάβα και ρύζι) οι διαφορές τους ως προς τις απορροφήσεις τους παρουσιάζουν μικρές αποκλίσεις. Οι αποκλίσεις αυτές μπορούν να οφείλονται στην διαφορετική σύσταση των πρωτεϊνών ως προς την καθαρότητα τους και την αλληλουχία των αμινοξέων τους.

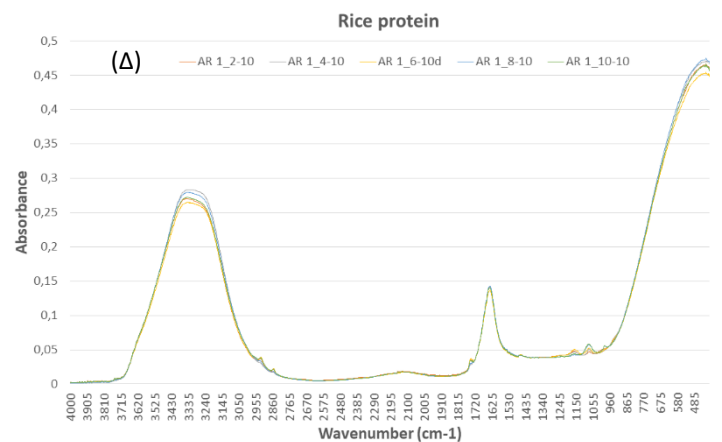
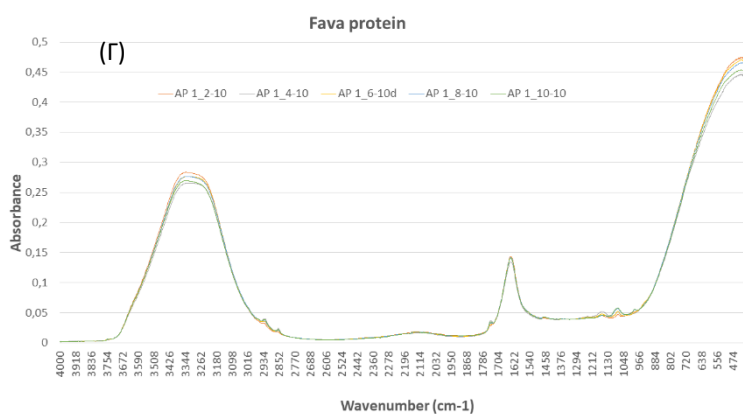
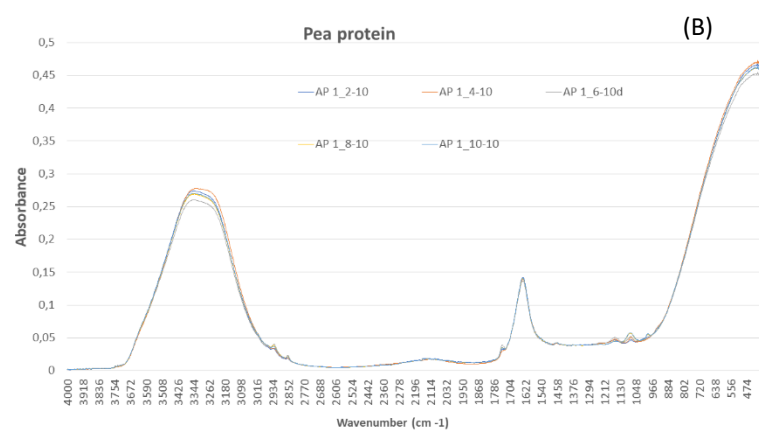
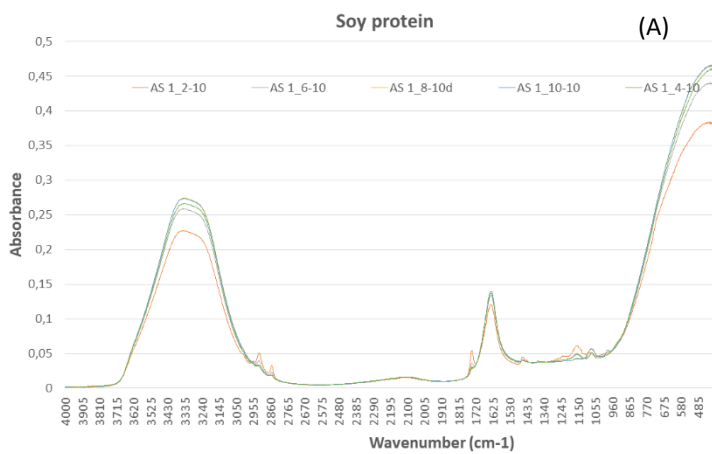
Η αυξημένη ποσότητα των υδατανθράκων θα μπορούσε να συνδράμει στην βελτίωση δημιουργίας γαλακτώματος μιας και απορροφάνε ανεξάρτητα από τις υπόλοιπες χαρακτηριστικές ομάδες τόσο το νερό όσο και το λάδι.

Πιο συγκεκριμένα όσο αναφορά την πρωτεΐνη σόγιας παρατηρούνται χαρακτηριστικές κορυφές στα 3700-2955 cm^{-1} , μια διπλή κορυφή στα 2955-2700 cm^{-1} και μία διπλή επίσης στα 1800-1530 cm^{-1} , η οποία μπορεί να αποδοθεί σε διπλό δεσμό άνθρακα με οξυγόνο ($\text{C}=\text{O}$).

Αντίστοιχα η πρωτεΐνη μπιζελιού παρουσιάζει κορυφές στα 3700-3000 cm^{-1} , μια διπλή κορυφή στα 2950-2800 cm^{-1} και μία διπλή επίσης στα 1750-1540 cm^{-1} .

Ομοίως η πρωτεΐνη ρυζιού δίνει όμοιες κορυφές με αυτές της σόγιας ενώ η πρωτεΐνη φάβας δίνει χαρακτηριστική κορυφή στα 3672-3016 cm^{-1} , και δύο διπλές κορυφές στα 2950-2852 cm^{-1} , 1786-1540 cm^{-1} .

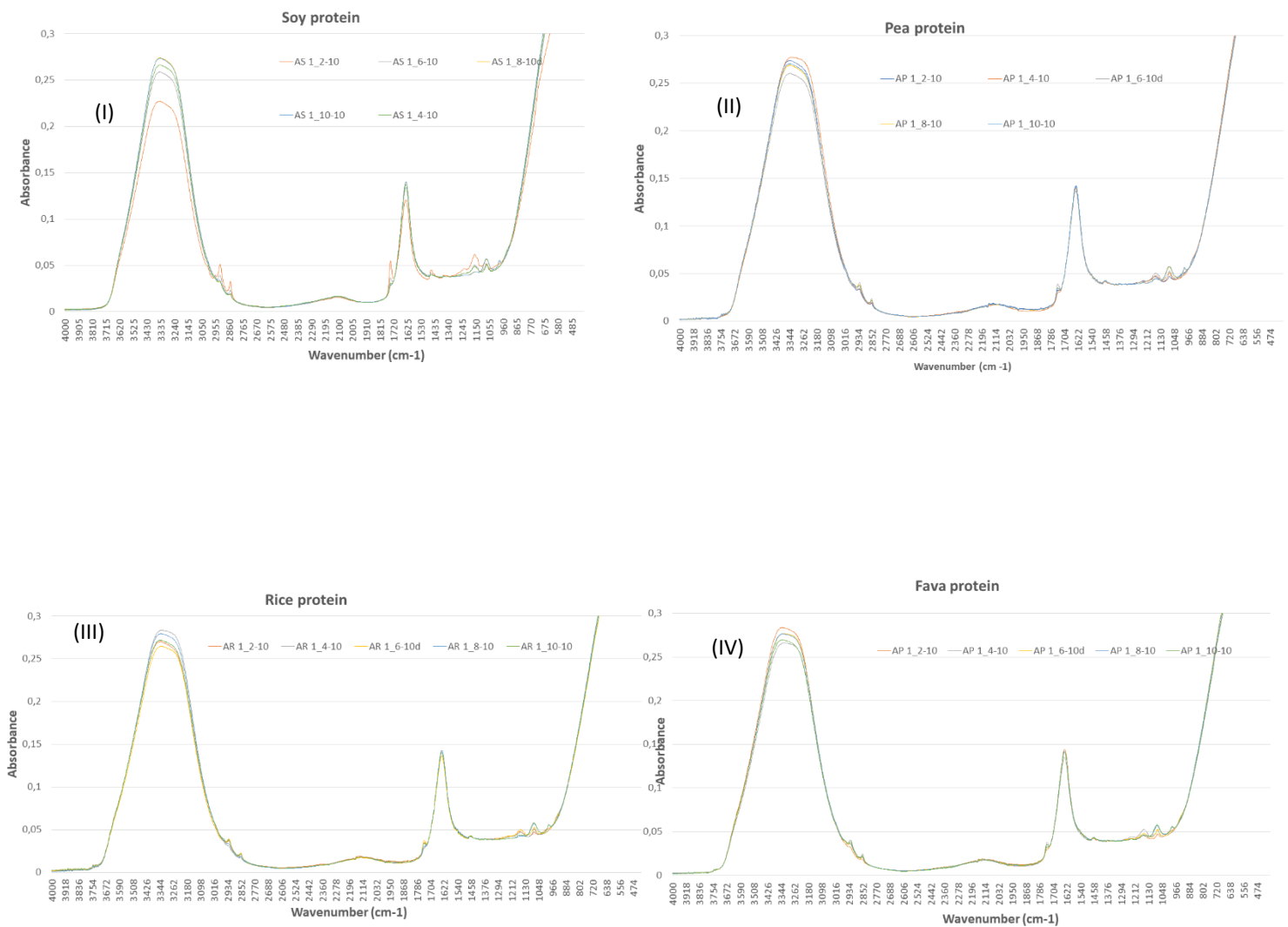
Διάγραμμα 7: Διαγράμματα FT-IR πρωτεϊνών. (Α) σόγιας, (Β) μπιζελιού, (Γ) φάβας, (Δ) ρυζιού.



Συγκρίνοντας τα γραφήματα παρατηρούνται ισχυρότερες κορυφές στην πρωτεΐνη σόγιας και του μπιζελιού με αυτές της πρωτεΐνης σόγιας να είναι σαφώς πιο διακριτές. Αντίθετα στην φάβα και στο ρύζι αν και παρουσιάζονται στο ίδιο μήκος κύματος κορυφές η έντασή τους είναι πολύ μικρότερη από τις άλλες δύο.

Επιπλέον φαίνονται αποκλίσεις και ως προς τις τιμές του pH που εξετάστηκαν. Φαίνεται πως η σόγια είχε μεγαλύτερη διακύμανση ως προς εύρος των κορυφών της σε διαφορετικές τιμές pH. Αντίθετα το μπιζέλι, η φάβα και το ρύζι δεν φαίνεται να επηρεάζονται στον ίδιο βαθμό.

Διάγραμμα 8: Διαγράμματα FT-IR πρωτεϊνών. (I) σόγιας, (II) μπιζελιού, (III) φάβας, (IV) ρυζιού σε μεγαλύτερη εστίαση για την παρατήρηση των φασμάτων σε διαφορετικές τιμές pH.



ΜΕΡΟΣ ΤΡΙΤΟ

12.3.1 ΣΥΖΥΓΗ ΔΙΕΝΙΑ

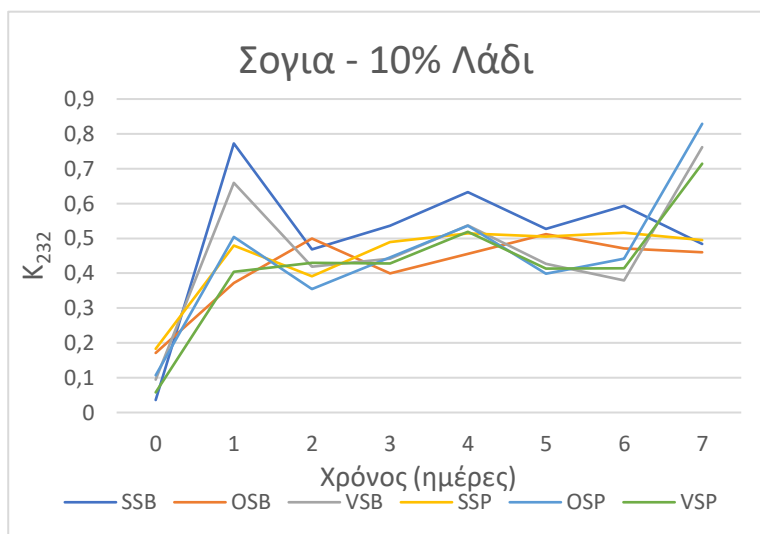
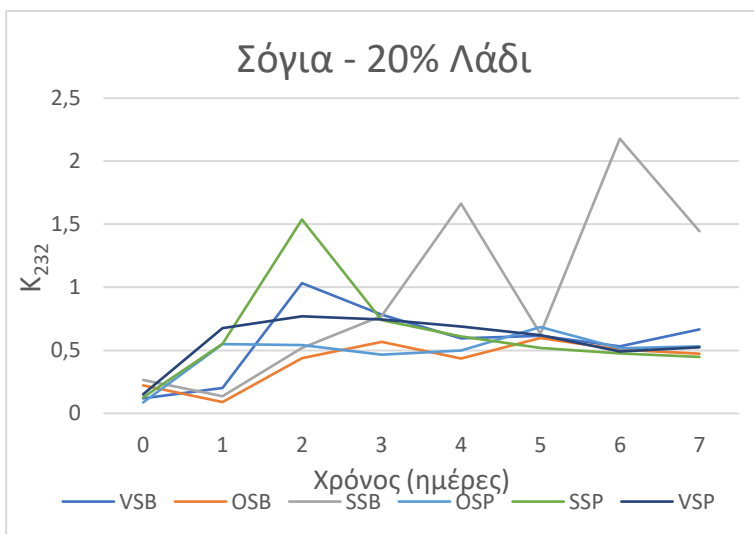
Στα διαγράμματα (Διάγραμμα 9) που ακολουθούν παρουσιάζονται οι απορροφήσεις των βέλτιστων γαλακτωμάτων που παρασκευάστηκαν. Εξετάστηκαν γαλακτώματα τα οποία παρασκευάστηκαν με πρωτεΐνη σόγιας και μπιζελιού σε συγκεντρώσεις 0.5% αντιστοίχως. Το ρυθμιστικό διάλυμα που χρησιμοποιήθηκε είχε pH 2 ενώ εξετάστηκε η συγκέντρωση του λαδιού σε 10% και 20%. Τα λάδια που χρησιμοποιήθηκαν ήταν ηλιέλαιο, ελαιόλαδο και έξτρα παρθένο ελαιόλαδο. Τέλος φτιάχτηκαν δύο σειρές δειγμάτων, στην μία σειρά δειγμάτων έγινε προσθήκη πολυφαινολών μέσω του εκχυλίσματος βύσσινου ενώ στην δεύτερη σειρά αντικαταστάθηκε αυτή η ποσότητα (του εκχυλίσματος) με καθαρό απόσταγμα. Τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε υδατόλουτρο στους 40°C για 7 ημέρες. Γίνεται ημερήσια δειγματοληψία με σκοπό να μελετηθούν τα οξειδωτικά φαινόμενα.

Στην συνέχεια έγινε η κατάλληλη προετοιμασία-επεξεργασία των δειγμάτων και μετρήθηκαν οι απορροφήσεις ανά mg γαλακτώματος από την ημέρα μηδέν έως και την ημέρα επτά.

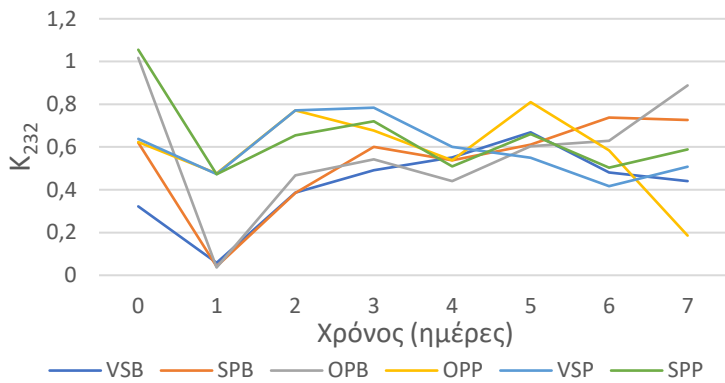
Παρατηρείται πως τα γαλακτώματα που παρασκευάστηκαν με σόγια είχαν μικρότερες απορροφήσεις και μάλιστα τα γαλακτώματα με περιεκτικότητα λαδιού 10% είχαν ακόμα μικρότερες απορροφήσεις συγκριτικά με αυτές των γαλακτωμάτων με περιεκτικότητα 20%. Ομοίως τα γαλακτώματα με γαλακτωματοποιητή την πρωτεΐνη μπιζελιού και περιεκτικότητα 20% λαδιού είχαν μεγαλύτερες απορροφήσεις καθ' όλη την διάρκεια των 7 ημερών συγκριτικά με αυτές που είχαν τα γαλακτώματα με 10% λάδι.

Επιπλέον τα γαλακτώματα με ηλιέλαιο φαίνεται πως έχουν μεγαλύτερες απορροφήσεις γεγονός που επιβεβαιώνει πως τα οξειδωτικά φαινόμενα είναι πιο έντονα συγκριτικά με αυτά που είχαν τα γαλακτώματα που παρασκευάστηκαν με χρήση ελαιόλαδου και έξτρα παρθένου ελαιόλαδου.

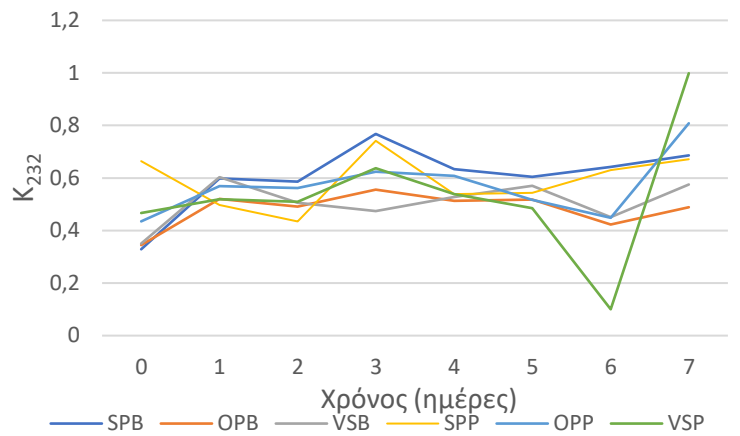
Διάγραμμα 9: Κινητική συζυγών διενίων στην διάρκεια του χρόνου για γαλακτώματα λάδι σε νερό περιεκτικότητας 10% και 20% λαδιού με πρωτεΐνη σόγιας και μπιζελιού



Μπιζέλι - 20% Λάδι



Μπιζέλι - 10% Λάδι



12.3.2 PEROXIDE VALUE

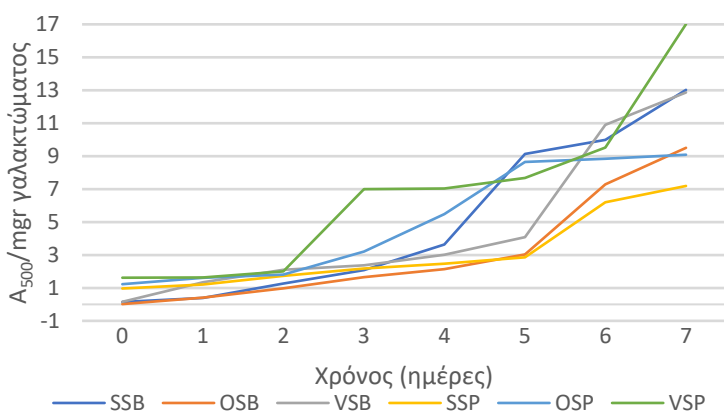
Στην μέθοδο αυτή παρατηρείται πως σε χαμηλότερη συγκέντρωση λαδιού ο αριθμός των υπεροξειδίων ήταν εμφανώς μικρότερος συγκριτικά με αυτόν που είχαν τα γαλακτώματα με υψηλότερη συγκέντρωση. Πράγμα λογικό μιας που αποτυπώνεται η οξείδωση λαδιού στο τελικό γαλακτώμα. Οι απορροφήσεις μετρήθηκαν σε mg του γαλακτώματος.

Επιπλέον στα γαλακτώματα με πρωτεΐνη μπιζελιού παρουσιάζουν μεγαλύτερες τιμές απορροφήσεων συγκριτικά με την σόγια. Ακόμα φαίνεται ότι μετά την έκτη μέρα σχεδόν σε όλα τα διαγράμματα υπάρχει μια απότομη αύξηση των υπεροξειδίων και κυρίως στα γαλακτώματα που παρασκευάστηκαν με έξτρα παρθένο ελαιόλαδο και πολυφαινόλες αλλά και στα γαλακτώματα που παρασκευάστηκαν με ελαιόλαδο και καθαρό απόσταγμα.

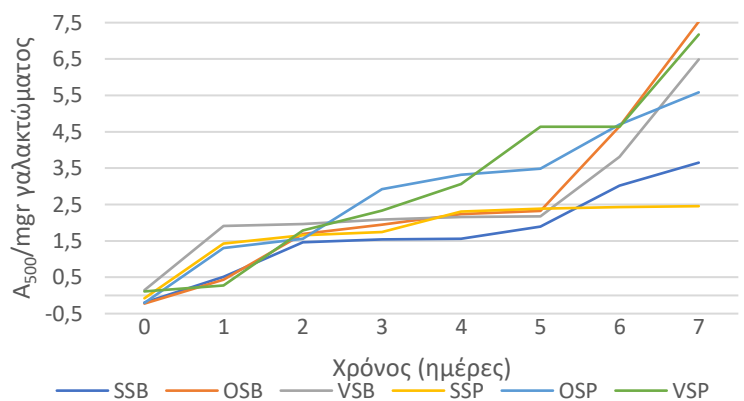
Παρατηρείται ακόμα πως τα γαλακτώματα που περιέχουν ως λιπαρή ύλη ηλιέλαιο διατηρούν τον αριθμό των υπεροξειδίων σε χαμηλότερο επίπεδο.

Διάγραμμα 10: Κινητική απορροφήσεων υπεροξειδίων στην διάρκεια του χρόνου για γαλακτώματα λάδι σε νερό περιεκτικότητας 10% και 20% λαδιού με πρωτεΐνη σόγιας και μπιζελιού

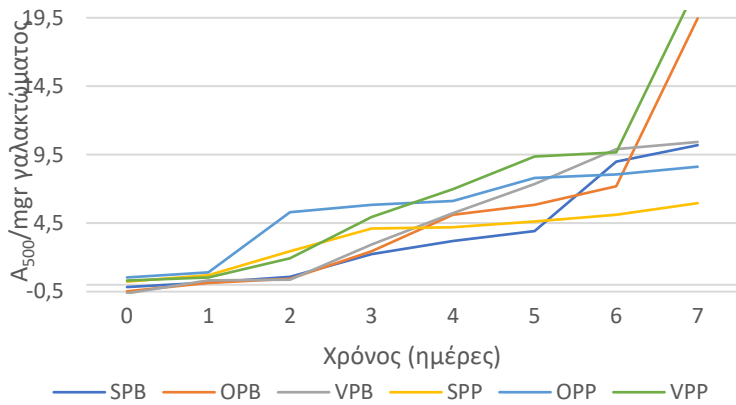
Σόγια - 20% Λάδι



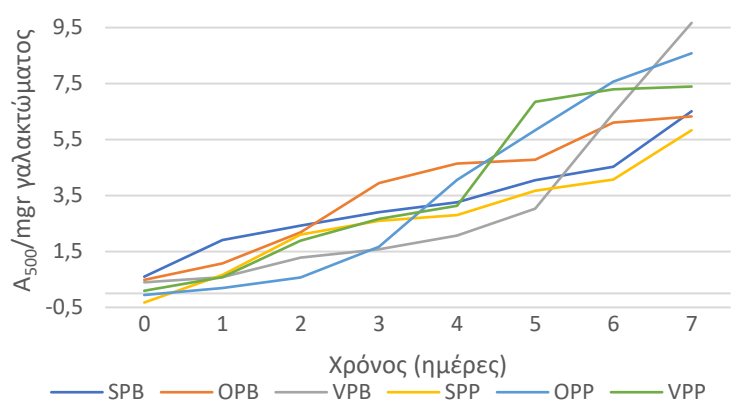
Σόγια 10% Λάδι



Μπιζέλι - 20% Λάδι



Μπιζέλι - 10% Λάδι



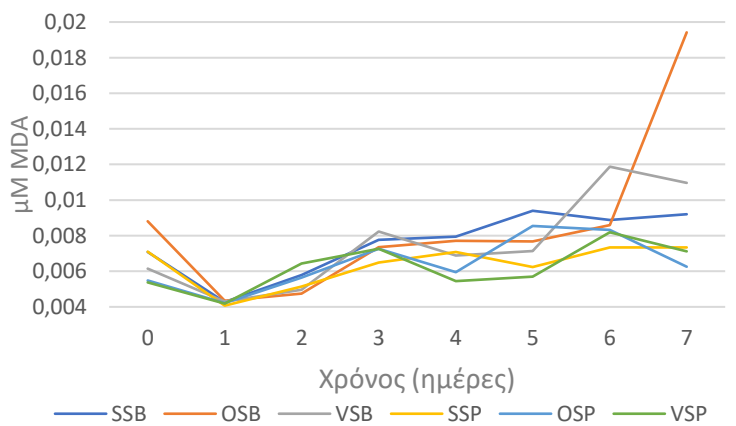
12.3.3 T-BARS

Στα διαγράμματα που ακολουθούν φαίνονται οι τιμές απορροφήσεων των βέλτιστων γαλακτωμάτων που παρασκευάστηκαν τόσο με πρωτεΐνη σόγιας όσο και με πρωτεΐνη μπιζελιού. Με χρήση διαφορετικών συγκεντρώσεων λαδιού (20% και 10%) και διαφορετικών ειδών λαδιού (ηλιέλαιο, ελαιόλαδο και έξτρα παρθένο ελαιόλαδο).

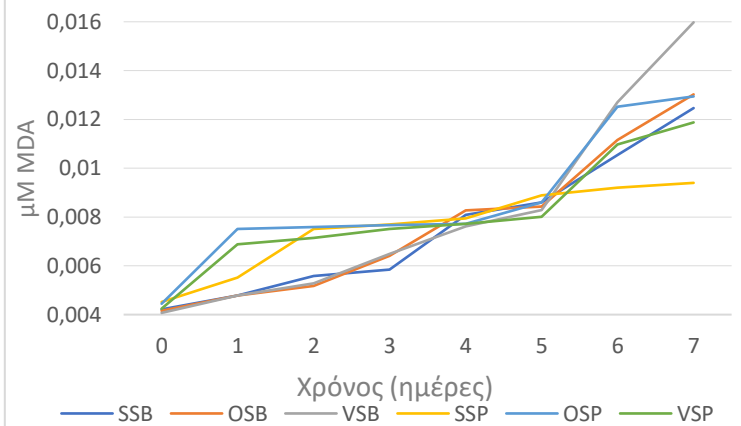
Παρατηρείται ότι στα γαλακτώματα με πρωτεΐνη σόγιας τα οξειδωτικά φαινόμενα παρουσία πολυφαινολών επιβραδύνονται ανεξάρτητα με την συγκέντρωση του ελαίου που περιέχεται σε αυτό. Αντίθετα η χρήση πρωτεΐνης μπιζελιού δρα διαφορετικά όχι μόνο ανάλογα με την ποσότητα του λαδιού αλλά και με το είδος του ελαίου που έχει χρησιμοποιηθεί.

Διάγραμμα 11: Αποτελέσματα απορροφήσεων για την μέθοδο TBars στην διάρκεια του χρόνου για γαλακτώματα λάδι σε νερό περιεκτικότητας 10% και 20% λαδιού με πρωτεΐνη σόγιας και μπιζελιού

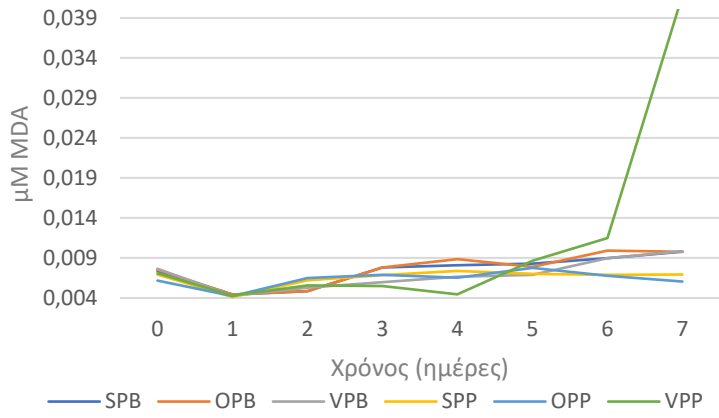
Σόγια - 20% Λάδι



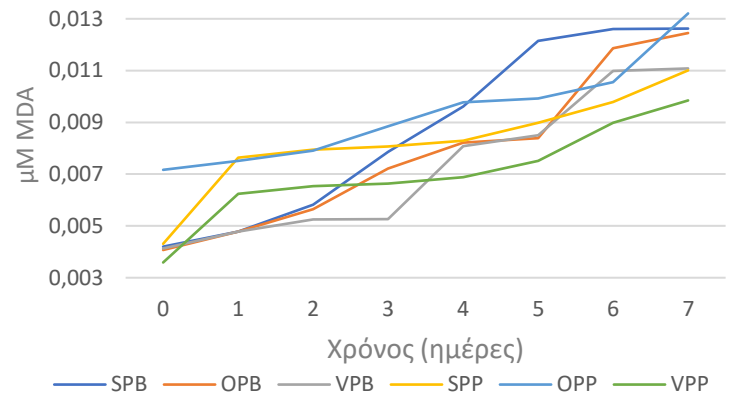
Σόγια - 10% Λάδι



Μπιζέλι - 20% Λάδι



Μπιζέλι - 10% Λάδι



13 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στο πρώτο μέρος αξιολογήθηκαν οι ικανότητες απορρόφησης τεσσάρων πρωτεϊνών φυτικής προέλευσης. Από τα μέχρι τώρα αποτελέσματα, διαπιστώθηκε πως η πρωτεΐνη σόγιας παρουσίασε μεγαλύτερη απορρόφηση νερού και υδροαλκοολικού διαλύματος ενώ στην περίπτωση απορρόφησης λαδιού η πρωτεΐνη σόγιας και φάβας παρουσίασαν την μεγαλύτερη απορρόφηση.

Αντίθετα συγκρίνοντας τις απορροφήσεις των τεσσάρων πρωτεϊνών σε διαφορετικές υδατικές φάσεις διαπιστώθηκε πως στο νερό είχε μέγιστη απορρόφηση η σόγια και το μπιζέλι ενώ η φάβα και το ρύζι είχαν την ελάχιστη δυνατή απορρόφηση. Ωστόσο η φάβα μέγιστη απορρόφηση εμφάνισε σε καθαρό απόσταγμα ενώ το ρύζι σε αναλογία αποστάγματος προς νερό 25/75%. Στην υδατική φάση αυτή (25% αιθανόλη & 75% νερό) παρατηρήθηκε ότι σχεδόν όλες οι πρωτεΐνες με εξαίρεση την φάβα είχαν πολύ καλές απορροφήσεις παραπλήσιες αυτών που εμφάνισαν στις ιδανικές τους συνθήκες. Παράγοντες που επηρεάζουν την απορρόφηση του νερού πέρα από το ποσοστό των πρωτεϊνών, είναι η καθαρότητα των πρωτεϊνών καθώς και επίσης και το είδος (φύση) των προσμίξεων, δεδομένου ότι οι υδατάνθρακες αυξάνουν την απορροφητική ικανότητα. Επομένως σημαντικό ρόλο έχει η καθαρότητα των χρησιμοποιούμενων πρωτεϊνών για την γαλακτωματοποιητική τους ικανότητα κάτι το οποίο δεν αποτυπώνεται πλήρως στα εμπορικά σκευάσματα πρωτεϊνών (σόγια 92,6%, μπιζέλι και ρύζι 80%, φάβα 55%).

Επιπλέον, η πρωτεΐνη μπιζελιού κατά την προσθήκη του νερού δημιούργησε συσσωματώματα καθώς παρουσιάζει υδρόφοβο χαρακτήρα. Το φαινόμενο αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι στην εμπορική πρωτεΐνη μπιζελιού το 65-80% αποτελείται από γλοβουλίνες και το 10-20% αλβουμίνες (Karaca, Low and Nickerson, 2011). Οι αλβουμίνες είναι υδατοδιαλυτές και θεωρούνται ως οι μεταβολικές και ενζυμικές πρωτεΐνες ενώ οι σφαιρίνες είναι διαλυτές στο άλας (Lu et al., 2020). Ταυτόχρονα, φαίνεται να παρουσιάζει δυσκολίες κατά την διαλυτοποίηση με την υδατική φάση.

Η θέρμανση των 2 φάσεων να συμβάλει στην καλύτερη ομογενοποίηση. Έρευνες έχουν αποδείξει πως η διατήρηση των 2 φάσεων (λιπαρής και υδατικής) στην ίδια θερμοκρασία και πιο συγκεκριμένα θερμαίνοντας τες, έχει ως αποτέλεσμα την καλύτερη ανάμιξη. Επιπλέον η διαλυτότητα κάποιων πρωτεϊνών έχουν αξιοσημείωτη διαφορά κατά την διαδικασία αυτή (Bogahawaththa et al., 2019b).

Σε πολλά από τα γαλακτώματα υπήρχαν διαχωρισμοί. Οι αιτίες διαχωρισμού των γαλακτωμάτων μπορούν να ποικίλουν. Ο φορέας της υδατικής φάσης μπορεί να επηρεάσει χαρακτηριστικά την γαλακτωματοποιητική ικανότητα της κάθε πρωτεΐνης κατά τη δημιουργία γαλακτώματος. Μελέτες έχουν δείξει ότι προεπεξεργασία με αιθανόλη μπορεί να βελτιώσει το περιεχόμενο των εκτεθειμένων υδρόφοβων ομάδων στην επιφάνεια μορίων όπως της απομονωμένης πρωτεΐνης γάλακτος, καθιστώντας ευκολότερη τη διάχυση στην επιφάνεια των σταγονιδίων ελαίου μέσω υδρόφοβης αλληλεπίδρασης (Feng et al., 2022). Έτσι παρατηρείται ότι σε υδροαλκοολικό μείγμα η φάβα για παράδειγμα παρουσίασε καλύτερη γαλακτωματοποιητική ικανότητα συγκριτικά με αυτή που απέδωσε στο καθαρό νερό.

Επιπρόσθετα έχει παρατηρηθεί πως σε πολλά dressing γίνεται χρήση ξυδιού καθώς βοηθάει στο να δώσει καλύτερα αποτελέσματα στα τελικά γαλακτώματα. Γεγονός που

επιβεβαιώνεται με την ιδανική γαλακτωματοποιητική ικανότητα σχεδόν όλων πρωτεϊνών σε όξινο περιβάλλον (pH 2).

Επιπλέον διαπιστώθηκε ότι σε περιοχές pH που βρίσκονται κοντά στο ισοηλεκτρικό σημείο των πρωτεϊνών είχαμε καθίζηση των πρωτεϊνών και άμεσο διαχωρισμό των γαλακτωμάτων. Για αυτό το λόγο σε pH 4 και 6 δεν πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις οξειδωτικών δεικτών. Τα γαλακτώματα τείνουν να κροκιδώνονται σε τιμές pH κοντά στο ισοηλεκτρικό σημείο των προσροφημένων πρωτεϊνών και όταν η ιοντική ισχύς υπερβαίνει ένα συγκεκριμένο επίπεδο, επειδή η ηλεκτροστατική απώθηση μεταξύ των σταγονιδίων δεν είναι πλέον αρκετά ισχυρή για να υπερνικήσει τις διάφορες ελκυστικές αλληλεπιδράσεις, π.χ. van der Waals (McClements, 2004b; Chen et al., 2022).

Από τα αποτελέσματα σταθερότητας των γαλακτωμάτων που εξετάστηκαν συμπεραίνουμε πως καλύτερα και σταθερότερα γαλακτώματα δίνουν οι πρωτεΐνες από σόγια και από μπιζέλι. Για αυτό τον λόγο τα τελικά γαλακτώματα που παρασκευάστηκαν ήταν αποκλειστικά με πρωτεΐνη σόγιας ή μπιζελιού γεγονός που δικαιολογείται από τα ποσοστά καθαρότητας που είχαν οι χρησιμοποιούμενες πρωτεΐνες (σόγια 92,6% και μπιζέλι 80%).

Η επιλογή ενός αποτελεσματικού γαλακτωματοποιητή φυτικών πρωτεϊνών συνεπάγεται στην πραγματικότητα με την εύρεση μιας ισορροπίας μεταξύ των ιδιοτήτων που απαιτούνται για τη σύνδεση στη διεπιφάνεια ελαίου-νερού και εκείνων που απαιτούνται για την ανάπτυξη ενός ισχυρού διεπιφανειακού φιλμ (Chang et al., 2015).

Ένας τρόπος για να βρεθεί αυτή η ισορροπία είναι να εξεταστεί το μέγεθος των σταγονιδίων ελαίου, όπου τα μικρότερα σε μέγεθος σταγονίδια οδηγούν συνήθως σε καλύτερη σταθερότητα. Τα ευρήματα μελετών υποδεικνύουν ότι οι πρωτεΐνες θα πρέπει να είναι: (i) υψηλά φορτισμένες ώστε να μπορούν να συσχετίζονται με τη διεπιφάνεια και να παρέχουν απώθηση φορτίου μόλις επικαλυφθεί η σταγόνα ελαίου- (ii) να έχουν καλή διαλυτότητα ώστε να επιτρέπουν ευκολότερη διάχυση στη διεπιφάνεια και ευελιξία διαμόρφωσης κατά το στάδιο της αναδιάταξης- και (iii) να έχουν μέτρια υψηλή υδροφοβικότητα ώστε να παράγουν ισχυρότερα διεπιφανειακά φιλμ (Chang et al., 2015). Οι πρωτεΐνες οι οποίες είχαν μικρότερη διαλυτότητα τόσο στην λιπαρή όσο και στην υδατική φάση ήταν η φάβα και το ρύζι γεγονός που δικαιολογεί την μη καλή τους γαλακτωματοποιητική ικανότητα άρα και την μη δημιουργία γαλακτώματος.

Ακόμα κατά την παρασκευή των γαλακτωμάτων προσθέσαμε 1ml καθαρό απόσταγμα ή εκχυλίσματος από βύσσινο καθώς μικρή ποσότητα αιθανόλης μπορεί να βοηθήσει στον σχηματισμό σταθερότερων και καλύτερων γαλακτωμάτων. Στα γαλακτώματα φυτικού ελαίου-αιθανόλης η αιθανόλη είναι η πολική φάση και το φυτικό έλαιο είναι η μη πολική φάση. Το κύριο πλεονέκτημα των γαλακτωμάτων φυτικού ελαίου-αιθανόλης έναντι των συμβατικών γαλακτωμάτων νερού-ελαίου είναι ότι επιτρέπουν την ενσωμάτωση αδιάλυτων σε νερό και ελαίο ή ελάχιστα διαλυτών λειτουργικών ενώσεων στα γαλακτώματα (Xu et al., 2001). Σύμφωνα με τον Feng et al., η χρήση της αιθανόλης όχι μόνο μείωσε το μέγεθος των σωματιδίων, αλλά και απορροφήθηκε αποτελεσματικότερα στην επιφάνεια των σταγονιδίων ελαίου για να διευκολύνει το σχηματισμό ενός παχύτερου και πιο ιξωδοελαστικού διεπιφανειακού στρώματος, καθυστερώντας έτσι την οξείδωση των λιπιδίων των γαλακτωμάτων λάδι/νερό (Feng et al., 2022).

Με την χρήση ενός πολυπαραγοντικού συστήματος αξιολογήσαμε όλους του πιθανούς συνδυασμούς των παραμέτρων που εξετάστηκαν για την παρασκευή των γαλακτωμάτων και καταλήξαμε στους βέλτιστους. Τα τελικά γαλακτώματα που παρασκευάστηκαν ήταν από πρωτεΐνη σόγιας και μπιζελιού σε συγκεντρώσεις 0,5%, 0,9% σε pH 2 και συγκέντρωση λαδιού 5%, 10% και 20%. Οι βέλτιστοι συνδυασμοί στην συνέχεια μικροσκοπήθηκαν και παρατηρήθηκε πως δεν έχουν όλοι την ίδια ικανότητα διασποράς της λιπαρής ύλης. Για παράδειγμα υπήρχε γαλάκτωμα που δεν είχε καλή ανάμειξη της λιπαρής φάσης καθώς παρατηρούνται μεγάλα σταγονίδια από την λιπαρή ύλη. Αυτό μπορεί να οφείλεται και στην ποσότητα της λιπαρής ύλης που ήταν στην μεγαλύτερη συγκέντρωση που εξετάστηκε (20%). Ο ισχυρισμός αυτός μπορεί να επιβεβαιωθεί καθώς όταν μειώθηκε η ποσότητα λαδιού που χρησιμοποιήθηκε το μέγεθος των σταγονιδίων ήταν πολύ μικρότερο αλλά και η κατανομή τους στο γαλάκτωμα ήταν η επιθυμητή. Επομένως η συγκέντρωση του λαδιού μπορεί να συμβάλει στην καλή ή μη ομογενοποίηση των γαλακτωμάτων και κατά συνέπεια στο τελικό μέγεθος των σταγονιδίων τους.

Αντίθετα κανένα από τα γαλακτώματα που παρατηρήθηκαν στο μικροσκόπιο σε pH 4 δεν είχε αποδεκτά χαρακτηριστικά. Πέρα από το γεγονός ότι διαχωρίστηκαν αμέσως μετά την ομογενοποίηση τους, συνάγουμε το συμπέρασμα πως ασχέτως με την προέλευση της πρωτεΐνης παρατηρούνται συσσωματώματα πρωτεϊνών αλλά και μεγάλες κηλίδες ελαίου κάτι που οφείλεται στο ότι το ισοηλεκτρικό σημείων των πρωτεϊνών ήταν παραπλήσιο με το pH στο οποίο παρασκευάστηκαν.

Για κάθε είδος πρωτεΐνης αλλά και pH έγινε ανάλυση FT-IR. Παρατηρήθηκαν οι χαρακτηριστικές κορυφές αλλά και η διακύμανση αυτών ανάλογα με τις συνθήκες παρασκευής τους. Οι διαφορές μεταξύ των τεσσάρων πρωτεϊνών ως προς τις απορροφήσεις τους είναι πολύ μικρές. Αυτές μπορούν να οφείλονται κυρίως στην διαφορετική σύσταση αυτών, στην αλληλουχία των αμινοξέων τους ή ακόμα και στις περιβαλλοντικές συνθήκες κατά την διεξαγωγή των πειραμάτων. Οι χαρακτηριστικές κορυφές ήταν στους ακόλουθους κυμματαριθμούς: 2950-2960 cm^{-1} (αλκάνια και κορεσμένες αλειφατικές αλυσίδες), 3100-3000 cm^{-1} (=C-H), 3500 - 3200 cm^{-1} , 1650-1590 cm^{-1} (N-H), C-N 1230-1030 cm^{-1} (C-N), 1800-1530 cm^{-1} (C=O).

Στα καλύτερα αποτελέσματα των γαλακτωμάτων εξετάστηκε άλλη μια παράμετρος, το είδος του λαδιού. Επομένως στα γαλακτώματα στα οποία θα πραγματοποιηθούν οι τελικές αναλύσεις παρασκευάστηκαν με ηλιέλαιο, ελαιόλαδο και έξτρα παρθένο ελαιόλαδο, σε pH 2 με πρωτεΐνη σόγιας και μπιζελιού ξεχωριστά. Αναλυτικότερα σε όλα τα γαλακτώματα προστέθηκαν πολυφαινόλες και πραγματοποιήθηκε έλεγχος της αντιοξειδωτικής του δράσης μέσω των οξειδωτικών φαινομένων με μέτρηση συζυγών δεινών, υπεροξειδίων και TBars. Σε όσα γαλακτώματα παρουσία πολυφαινολών παρουσιάστηκαν χαμηλότερης ένταση οξειδωτικά φαινόμενα. Ο εμπλουτισμός των γαλακτωμάτων με πολυφαινόλες είναι γνωστές τόσο για την αντιοξειδωτική τους ικανότητα όσο και για τα οφέλη που μπορούν να έχουν στην υγεία. (Costa et al., 2021).

Στα συζυγή διένια σύμφωνα με τα αποτελέσματα των εργαστηριακών δοκιμών παρατηρήθηκε πως η σόγια συγκριτικά με το μπιζέλι είχε χαμηλότερες απορροφήσεις άρα λιγότερα οξειδωτικά φαινόμενα. Επιπλέον τα γαλακτώματα που παρασκευάστηκαν με ηλιέλαιο είχαν εμφανώς μεγαλύτερες απορροφήσεις σε γαλακτώματα που δημιουργήθηκαν με σόγια επομένως συμπεραίνουμε πως οι πολυφαινόλες που περιέχουν το ελαιόλαδο και το έξτρα παρθένο ελαιόλαδο προστατεύουν την λιπαρή ύλη και εμποδίζουν την ανάπτυξη

των οξειδωτικών φαινομένων. Επιπρόσθετα αποδεικνύεται πως η προσθήκη πολυφαινολών στα γαλακτώματα που είχαν για λιπαρή φάση ηλιέλαιο μείωσε τα οξειδωτικά φαινόμενα κατά 73,5% σε ποσοστό λαδιού 20% και 79% σε ποσοστό λαδιού 10%.

Κατά την μέτρηση των υπεροξειδίων παρατηρήθηκε πως τόσο στα γαλακτώματα από σόγια όσο και σε αυτά με το μπιζέλι όταν παρασκευάστηκαν με 10% λάδι οι απορροφήσεις διατηρήθηκαν σε πολύ μικρότερες τιμές επομένως και ο αριθμός των υπεροξειδίων ήταν πολύ χαμηλότερος. Ωστόσο το μπιζέλι είχε μεγαλύτερο εύρος διακύμανσης απορροφήσεων συγκριτικά με αυτό της σόγιας. Κατά συνέπεια όχι μόνο η παρουσία πολυφαινολών αλλά και η παρουσία της πρωτεΐνης μειώνει ή όχι τα οξειδωτικά φαινόμενα.

Ο προσδιορισμός των δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης πραγματοποιήθηκε με την μέθοδο T-bars. Στην μέθοδο αυτή διαπιστώθηκε πως οι συζυγείς δεσμοί που ανιχνεύθηκαν στα γαλακτώματα ήταν περίπου στα ίδια επίπεδα με εξαίρεση κάποια δείγματα (VPP με 20%, VSB με 10%, OSB 20%) τα οποία εμφάνισαν πολύ αυξημένες απορροφήσεις. Ενδέχεται να υπήρχε συνέργεια των συστατικών των ελαίων αυτών με αποτέλεσμα να ευνοήθηκε ο σχηματισμός δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης και έτσι να εμφάνισαν μεγαλύτερες απορροφήσεις τα συγκεκριμένα δείγματα. Επιπλέον παρατηρήθηκε πως τα γαλακτώματα τα οποία ήταν εμπλουτισμένα με το εκχύλισμα από βύσσινο είχαν χαμηλότερες απορροφήσεις συγκριτικά με τα γαλακτώματα που περιείχαν καθαρό απόσταγμα.

Συνοψίζοντας η παρουσία πολυφαινολών σε συγκέντρωση 100ppm, σε συνδυασμό με την πρωτεΐνης σόγιας συμβάλει στην μείωση των οξειδωτικών φαινομένων και κατά συνέπεια στην αύξηση του χρόνου ζωής του τελικού προϊόντος. Ο χρόνος ζωής του γαλακτώματος εξαρτάται ταυτόχρονα και από την ποσότητα του λαδιού μιας που τα γαλακτώματα που περιείχαν 20% λάδι εμφάνισαν γρηγορότερα και πιο έντονα οξειδωτικά φαινόμενα.

14 ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΥΡΕΝΑ

Με βάση τα μέχρι τώρα αποτελέσματα παρατηρούμε ότι η χρήση αντιοξειδωτικών παρουσιάζει πολύ μεγάλο ενδιαφέρον για την επιμήκυνση του χρόνου ζωής προϊόντων, όπως τα γαλακτώματα του τύπου λάδι σε νερό. Όπως παρουσιάζεται στα μέχρι τώρα αποτελέσματα ο εμπλουτισμός της εξωτερικής φάσης με υδατοδιαλυτές ουσίες όπως οι πολυφαινόλες φαίνεται να λειτουργεί προστατευτικά στην διεσπαρμένη φάση δηλαδή στα λάδια, αναστέλλοντας ή επιβραδύνοντας τα οξειδωτικά φαινόμενα αυτής. Συνεπώς φαντάζει αρκετά ενδιαφέρον στο μέλλον να μελετηθούν τα κάτωθι:

- Διαφορετικές συγκεντρώσεις αλλά και πηγές αντιοξειδωτικών ουσιών
- Διαφορετικές πηγές και συγκεντρώσεις ελαίων
- Διαφορετικό εύρος pH (σε αλκαλικό περιβάλλον, συμβατό με τα τρόφιμα)
- Μεγαλύτερη χρονική διάρκεια μελέτης οξειδωτικών φαινομένων για τα σταθερά γαλακτώματα
- Καθώς επίσης και παράγοντες κατά την δημιουργία των γαλακτωμάτων όπως z-potential και το μέγεθος σταγονιδίων της λιπαρής ύλης.

15 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Agboola, S., Ng, D. and Mills, D. (2005) "Characterisation and functional properties of Australian rice protein isolates," *Journal of Cereal Science*, 41(3), pp. 283–290. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2004.10.007>.
- Amagliani, L. *et al.* (2022) "Influence of low molecular weight surfactants on the stability of model infant formula emulsions based on hydrolyzed rice protein," *LWT*, 154. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112544>.
- Aoki, T., Decker, E.A. and McClements, D.J. (2005) "Influence of environmental stresses on stability of O/W emulsions containing droplets stabilized by multilayered membranes produced by a layer-by-layer electrostatic deposition technique," *Food Hydrocolloids*, 19(2), pp. 209–220. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2004.05.006>.
- Ashaolu, T.J. (2021) "Nanoemulsions for health, food, and cosmetics: a review," *Environmental Chemistry Letters*. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH, pp. 3381–3395. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01216-9>.
- Barac, M. *et al.* (2010) "Profile and functional properties of seed proteins from six pea (*Pisum sativum*) genotypes," *International Journal of Molecular Sciences*, 11(12), pp. 4973–4990. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms11124973>.
- Bogahawaththa, D. *et al.* (2019a) "Impact of selected process parameters on solubility and heat stability of pea protein isolate," *LWT*, 102, pp. 246–253. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.12.034>.
- Bogahawaththa, D. *et al.* (2019b) "Impact of selected process parameters on solubility and heat stability of pea protein isolate," *LWT*, 102, pp. 246–253. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.12.034>.
- Bradford, M.M. (1976) *A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding*, *ANALYTICAL BIOCHEMISTRY*.
- Burger, T.G. and Zhang, Y. (2019) "Recent progress in the utilization of pea protein as an emulsifier for food applications," *Trends in Food Science and Technology*. Elsevier Ltd, pp. 25–33. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.02.007>.
- Chang, C. *et al.* (2015) "Effect of pH on the inter-relationships between the physicochemical, interfacial and emulsifying properties for pea, soy, lentil and canola protein isolates," *Food Research International*, 77, pp. 360–367. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.08.012>.
- Chen, J. *et al.* (2022) "Effects of different pH conditions on interfacial composition and protein-lipid co-oxidation of whey protein isolate-stabilised O/W emulsions," *Food Hydrocolloids*, 131. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107752>.

- Chen, L., Remondetto, G.E. and Subirade, M. (2006) "Food protein-based materials as nutraceutical delivery systems," *Trends in Food Science and Technology*, pp. 272–283. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.12.011>.
- Costa, D.C. *et al.* (2015) "Advances in phenolic compounds analysis of aromatic plants and their potential applications," *Trends in Food Science and Technology*, 45(2), pp. 336–354. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.06.009>.
- Costa, M. *et al.* (2021) "Polyphenolic antioxidants in lipid emulsions: Partitioning effects and interfacial phenomena," *Foods*. MDPI AG. Available at: <https://doi.org/10.3390/foods10030539>.
- Daoud, S. *et al.* (2019) "Fast and direct analysis of oxidation levels of oil-in-water emulsions using ATR-FTIR," *Food Chemistry*, 293, pp. 307–314. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.005>.
- Davidov-Pardo, G., Joye, I.J. and McClements, D.J. (2015) "Food-Grade Protein-Based Nanoparticles and Microparticles for Bioactive Delivery: Fabrication, Characterization, and Utilization," in *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*. Academic Press Inc., pp. 293–325. Available at: <https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2014.11.004>.
- Dickinson, E. (2009) "Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers," *Food Hydrocolloids*, 23(6), pp. 1473–1482. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.08.005>.
- Dickinson, E. (2001) *Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems*. Available at: www.elsevier.com/locate/foodhyd.
- Elias, R.J., Kellerby, S.S. and Decker, E.A. (2008) "Antioxidant activity of proteins and peptides," *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48(5), pp. 430–441. Available at: <https://doi.org/10.1080/10408390701425615>.
- Feng, Y. *et al.* (2022) "Effects of ethanol pre-treated whey protein isolates on the physical stability and protein-lipid co-oxidation in oil-in-water emulsions," *Food Chemistry*, 385. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132733>.
- Gao, K., Rao, J. and Chen, B. (2022) "Unraveling the mechanism by which high intensity ultrasound improves the solubility of commercial pea protein isolates," *Food Hydrocolloids*, 131, p. 107823. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107823>.
- Gupta, A. *et al.* (2016a) "Nanoemulsions: Formation, properties and applications," *Soft Matter*. Royal Society of Chemistry, pp. 2826–2841. Available at: <https://doi.org/10.1039/c5sm02958a>.
- Gupta, A. *et al.* (2016b) "Nanoemulsions: Formation, properties and applications," *Soft Matter*. Royal Society of Chemistry, pp. 2826–2841. Available at: <https://doi.org/10.1039/c5sm02958a>.
- Ingold, K.U. and Pratt, D.A. (2014a) "Advances in radical-trapping antioxidant chemistry in the 21st century: A kinetics and mechanisms perspective," *Chemical Reviews*. American Chemical Society, pp. 9022–9046. Available at: <https://doi.org/10.1021/cr500226n>.

- Ingold, K.U. and Pratt, D.A. (2014b) "Advances in radical-trapping antioxidant chemistry in the 21st century: A kinetics and mechanisms perspective," *Chemical Reviews*. American Chemical Society, pp. 9022–9046. Available at: <https://doi.org/10.1021/cr500226n>.
- Jia, X. *et al.* (2019) "Interaction between plant phenolics and rice protein improved oxidative stabilities of emulsion," *Journal of Cereal Science*, 89. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.102818>.
- Karaca, A.C., Low, N. and Nickerson, M. (2011a) "Emulsifying properties of chickpea, faba bean, lentil and pea proteins produced by isoelectric precipitation and salt extraction," *Food Research International*, 44(9), pp. 2742–2750. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.06.012>.
- Karaca, A.C., Low, N. and Nickerson, M. (2011b) "Emulsifying properties of chickpea, faba bean, lentil and pea proteins produced by isoelectric precipitation and salt extraction," *Food Research International*, 44(9), pp. 2742–2750. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.06.012>.
- Karaca, A.C., Low, N. and Nickerson, M. (2011c) "Emulsifying properties of chickpea, faba bean, lentil and pea proteins produced by isoelectric precipitation and salt extraction," *Food Research International*, 44(9), pp. 2742–2750. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.06.012>.
- Kinsella, J.E. (1981) *FUNCTIONAL PROPERTIES OF PROTEINS: POSSIBLE RELATIONSHIPS BETWEEN STRUCTURE AND FUNCTION IN FOAMS*, *Food Chemistry*.
- Kober, P.A. *et al.* (1917) *Pervaporation of Dilute Organic-Water Mixtures. A Literature Review on Modelling Studies and Applications to Aroma Compound Recovery' in 1*, Bakish Materials Corporation. ATL Press 17 Lee.
- Krog, N.J. and Sparsø, F.V. (2004) *Food Emulsifiers: Their Chemical and Physical Properties*.
- Liu, C., Pei, R. and Heinonen, M. (2022) "Faba bean protein: A promising plant-based emulsifier for improving physical and oxidative stabilities of oil-in-water emulsions," *Food Chemistry*. Elsevier Ltd. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130879>.
- Lourenço, S.C., Moldão-Martins, M. and Alves, V.D. (2019) "Antioxidants of natural plant origins: From sources to food industry applications," *Molecules*. MDPI AG. Available at: <https://doi.org/10.3390/molecules24224132>.
- Lu, Z.X. *et al.* (2020) "Composition, physicochemical properties of pea protein and its application in functional foods," *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. Taylor and Francis Inc., pp. 2593–2605. Available at: <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1651248>.
- Maa, Y.-F. and Hsu, C. (1996) *Liquid-liquid emulsification by rotor/stator homogenization*, *Journal of Controlled Release*.
- McClements, D.J. (2004a) "Protein-stabilized emulsions," *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, pp. 305–313. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2004.09.003>.
- McClements, D.J. (2004b) "Protein-stabilized emulsions," *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, pp. 305–313. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2004.09.003>.

- McClements, D.J. (2007) "Critical review of techniques and methodologies for characterization of emulsion stability," *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, pp. 611–649. Available at: <https://doi.org/10.1080/10408390701289292>.
- McClements, D.J. and Decker, E.A. (2000) *Lipid Oxidation in Oil-in-Water Emulsions: Impact of Molecular Environment on Chemical Reactions in Heterogeneous Food Systems*, 1270 *JOURNAL OF FOOD SCIENCE*.
- McClements, D.J., Decker, E.A. and Weiss, J. (2007) "Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components," *Journal of Food Science*, 72(8). Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00507.x>.
- McClements, D.J. and Gumus, C.E. (2016) "Natural emulsifiers — Biosurfactants, phospholipids, biopolymers, and colloidal particles: Molecular and physicochemical basis of functional performance," *Advances in Colloid and Interface Science*. Elsevier B.V., pp. 3–26. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2016.03.002>.
- McClements, D.J. and Jafari, S.M. (2018) "Improving emulsion formation, stability and performance using mixed emulsifiers: A review," *Advances in Colloid and Interface Science*. Elsevier B.V., pp. 55–79. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2017.12.001>.
- McClements, D.J., Lu, J. and Grossmann, L. (2022) "Proposed Methods for Testing and Comparing the Emulsifying Properties of Proteins from Animal, Plant, and Alternative Sources," *Colloids and Interfaces*, 6(2), p. 19. Available at: <https://doi.org/10.3390/colloids6020019>.
- Molina, E., Papadopoulou, A. and Ledward, D.A. (no date) *Emulsifying properties of high pressure treated soy protein isolate and 7S and 11S globulins q*. Available at: www.elsevier.com/locate/foodhyd.
- Mota da Silva, A.M., Souza Almeida, F. and Kawazoe Sato, A.C. (2021) "Functional characterization of commercial plant proteins and their application on stabilization of emulsions," *Journal of Food Engineering*, 292. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110277>.
- Nishinari, K. *et al.* (2014) "Soy proteins: A review on composition, aggregation and emulsification," *Food Hydrocolloids*, pp. 301–318. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.01.013>.
- O'Sullivan, J. *et al.* (2016) "The effect of ultrasound treatment on the structural, physical and emulsifying properties of animal and vegetable proteins," *Food Hydrocolloids*, 53, pp. 141–154. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.02.009>.
- Pearce, K.N. and Kinsella, J.E. (1978) *Emulsifying Properties of Proteins: Evaluation of a Turbidimetric Technique*, *J. Agríc. Food Chem.* Available at: <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>.
- Romero, A. *et al.* (2012) "Interfacial and emulsifying behaviour of rice protein concentrate," *Food Hydrocolloids*, 29(1), pp. 1–8. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.01.013>.

- Rubio, L.A. *et al.* (2014) "Characterization of pea (*Pisum sativum*) seed protein fractions," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(2), pp. 280–287. Available at: <https://doi.org/10.1002/jsfa.6250>.
- Serra, A.T. *et al.* (2010) "Processing cherries (*Prunus avium*) using supercritical fluid technology. Part 1: Recovery of extract fractions rich in bioactive compounds," *Journal of Supercritical Fluids*, 55(1), pp. 184–191. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2010.06.005>.
- Sun, Y.E. *et al.* (2011) "Autoxidation of unsaturated lipids in food emulsion," *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, pp. 453–466. Available at: <https://doi.org/10.1080/10408391003672086>.
- Tang, M.Q. *et al.* (2020) "Solubility and emulsifying activity of yam soluble protein," *Journal of Food Science and Technology*, 57(5), pp. 1619–1627. Available at: <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04194-7>.
- Toews, R. and Wang, N. (2013) "Physicochemical and functional properties of protein concentrates from pulses," *Food Research International*, 52(2), pp. 445–451. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.12.009>.
- Vioque, J., Alaiz, M. and Girón-Calle, J. (2012) "Nutritional and functional properties of Vicia faba protein isolates and related fractions," *Food Chemistry*, 132(1), pp. 67–72. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.033>.
- Xu, J., Mukherjee, D. and Chang, S.K.C. (2018) "Physicochemical properties and storage stability of soybean protein nanoemulsions prepared by ultra-high pressure homogenization," *Food Chemistry*, 240, pp. 1005–1013. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.077>.
- Xu, Q. *et al.* (2001) "The effects of ethanol content and emulsifying agent concentration on the stability of vegetable oil-ethanol emulsions," *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78(12), pp. 1185–1190. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11745-001-0411-z>.
- Yang, F. *et al.* (2018) "Swirling cavitation improves the emulsifying properties of commercial soy protein isolate," *Ultrasonics Sonochemistry*, 42, pp. 471–481. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.12.014>.
- Zhu, Z. *et al.* (2018) "Effects of sonication on the physicochemical and functional properties of walnut protein isolate," *Food Research International*, 106, pp. 853–861. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.01.060>.
- Κατσούλη, Μ. (no date) ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΤΟΜΕΑΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΔΙΕΡΓΑΣΙΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΝΑΝΟΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΑ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΟ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ ΚΑΙ ΕΝΣΩΜΑΤΩΣΗ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ.
- Λουγκοβόης Βλαδίμηρος (no date) ΠΜΣ "Καινοτομία, Ποιότητα και Ασφάλεια Τροφίμων" δομή και λειτουργίες συστατικών των τροφίμων-Πρωτεΐνες.

