

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

**ΠΜΣ «ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ
ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ»**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΘΕΜΑ: ΣΥΓΚΡΑΤΗΣΗ ΑΡΩΜΑΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΑΠΟ ΠΗΚΤΕΣ
ΖΕΛΑΤΙΝΗΣ**

ΦΟΙΤΗΤΡΙΑ: ΖΑΦΕΙΡΟΠΟΥΛΟΥ ΤΡΙΑΔΑ

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: ΕΥΑΓΓΕΛΙΟΥ Β.

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

ΕΥΑΓΓΕΛΙΟΥ Β.

ΚΩΜΑΪΤΗΣ Μ.

ΔΡΟΣΙΝΟΣ Ε.

ΑΘΗΝΑ, ΜΑΡΤΙΟΣ 2011

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

| | |
|----------------------|----------|
| ΠΕΡΙΛΗΨΗ..... | 6 |
|----------------------|----------|

ΜΕΡΟΣ ΠΡΩΤΟ : ΥΛΙΚΑ

| | |
|--------------------------------------|-----------|
| 1.1 ΒΙΟΠΟΛΥΜΕΡΗ..... | 7 |
| 1.1.1. ΔΟΜΗ..... | 7 |
| 1.2. ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ..... | 8 |
| 1.2.1. ΔΟΜΗ..... | 8 |
| 1.2.2. ΚΑΤΑΤΑΞΗ..... | 11 |
| 1.2.3. ΜΕΤΟΥΣΙΩΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ..... | 13 |
| 1.3. ΖΕΛΑΤΙΝΗ..... | 14 |
| 1.3.1.ΔΟΜΗ..... | 14 |
| 1.3.2. ΧΡΗΣΕΙΣ..... | 15 |
| 1.4. ΠΗΚΤΕΣ ΒΙΟΠΟΛΥΜΕΡΩΝ..... | 15 |
| 1.5. ΑΡΩΜΑΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ..... | 19 |
| 1.5.1.ΛΙΝΑΛΟΛΗ..... | 21 |
| 1.5.1.1.ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ..... | 21 |
| 1.5.1.2.ΧΡΗΣΕΙΣ..... | 21 |
| 1.5.1.3.ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ ΑΣΦΑΛΕΙΑΣ..... | 22 |

| | |
|---|-----------|
| 1.5.2.ΛΙΜΟΝΕΝΙΟ..... | 22 |
| 1.5.2.1.ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ..... | 22 |
| 1.5.2.2.ΧΡΗΣΕΙΣ..... | 23 |
| 1.5.2.3.ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ ΑΣΦΑΛΕΙΑΣ..... | 23 |
| 1.5.3.ΒΟΥΤΥΡΙΚΟΣ ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ..... | 23 |
| 1.5.3.1.ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ..... | 23 |
| 1.5.3.2.ΧΡΗΣΕΙΣ..... | 24 |
| 1.5.4.ΟΞΙΚΟΣ ΙΣΟΒΟΥΤΥΛΕΣΤΕΡΑΣ..... | 24 |
| 1.5.4.1.ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ..... | 24 |
| 1.5.4.2.ΧΡΗΣΕΙΣ..... | 25 |
| 1.5.5.ΟΞΙΚΟΣ ΙΣΟΠΕΝΤΥΛΕΣΤΕΡΑΣ..... | 25 |
| 1.5.5.1.ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ..... | 25 |
| 1.5.5.2.ΧΡΗΣΕΙΣ..... | 25 |
| 1.5.6.ΟΞΙΚΟΣ ΒΟΥΤΥΛΕΣΤΕΡΑΣ..... | 26 |
| 1.5.6.1.ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ..... | 26 |
| 1.5.6.2.ΧΡΗΣΕΙΣ..... | 26 |
| 1.5.7.ΟΞΙΚΟΣ ΠΕΝΤΥΛΕΣΤΕΡΑΣ..... | 27 |
| 1.5.7.1.ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ..... | 27 |
| 1.5.7.2.ΧΡΗΣΕΙΣ..... | 27 |

| | |
|--------------------------------------|-----------|
| 1.5.8.ΟΞΙΚΟΣ ΕΞΥΛΕΣΤΕΡΑΣ..... | 28 |
| 1.5.8.1.ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ..... | 28 |
| 1.5.8.2.ΧΡΗΣΕΙΣ..... | 28 |

ΜΕΡΟΣ ΔΕΥΤΕΡΟ : ΤΕΧΝΙΚΕΣ

| | |
|---------------------------------------|-----------|
| 2.1. ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ..... | 29 |
| 2.1.1. ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ..... | 29 |
| 2.1.2. ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ..... | 30 |
| 2.2. ΑΕΡΙΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ..... | 31 |
| 2.2.1. ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ..... | 31 |
| 2.2.2. ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ..... | 32 |
| 2.2.3. ΧΡΗΣΕΙΣ..... | 36 |

ΜΕΡΟΣ ΤΡΙΤΟ : ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

| | |
|---|-----------|
| 3.1. ΥΛΙΚΑ..... | 37 |
| 3.2. ΣΚΕΥΗ..... | 38 |
| 3.3. ΣΚΟΠΟΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ..... | 39 |
| 3.4. ΕΚΤΕΛΕΣΗ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ..... | 39 |

| | |
|--|-----------|
| 3.5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ..... | 41 |
| 3.5.1. ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΠΡΟΤΥΠΩΝ ΚΑΜΠΥΛΩΝ..... | 41 |
| 3.5.2. ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ..... | 42 |
| | |
| 3.6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ..... | 50 |
| | |
| ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ-ΠΗΓΕΣ..... | 51 |

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η συγκράτηση διαφόρων αρωματικών συστατικών (λιμονένιο, λιναλόλη, βουτυρικός αιθυλεστέρας, οξικός βουτυλεστέρας, οξικός ισοβουτυλεστέρας, οξικός πεντυλεστέρας, οξικός ισοπεντυλεστέρας, οξικός εξυλεστέρας) από πηκτές ζελατίνης αυξανόμενης συγκέντρωσης (2,5%,5%,10%,20%) διερευνήθηκε μέσω αέριας χρωματογραφίας στη στατική φάση υπερκείμενου χώρου. Πριν την ανάλυση τα δείγματα αφέθηκαν να έρθουν σε θερμοδυναμική ισορροπία επί 24 h στους 37°C. Οι υπό εξέταση αρωματικές ουσίες διέφεραν στην υδροφοβικότητα και τη δομή τους. Ένα από τα κύρια συμπεράσματα ήταν ότι ανεξάρτητα από την παρουσία ή όχι της χαρακτηριστικής ομάδας, αύξηση της υδροφοβικότητας οδηγούσε σε αυξημένη απελευθέρωση του πτητικού. Επιπρόσθετα οι πτητικές ουσίες με διακλαδισμένη αλυσίδα έδιναν μεγαλύτερες τιμές συντελεστή κατανομής σε σχέση με τα αντίστοιχα γραμμικά ισομερή τους. Οι διαφορετικές μηχανικές ιδιότητες του υποστρώματος, ως αποτέλεσμα της διαφορετικής πρωτεϊνικής συγκέντρωσης, επίσης επέδρασαν στη συγκράτηση του αρώματος. Όταν μελετήθηκε η επίδραση της πειραματικής θερμοκρασίας, μεγαλύτεροι συντελεστές κατανομής λήφθηκαν σε υψηλότερες χρησιμοποιούμενες θερμοκρασίες, πιθανώς εξαιτίας αυξημένης πτητικότητας των αρωματικών συστατικών. Θετικά και αρνητικά ποσοστά συγκράτησης υπολογίστηκαν δίνοντας ποικιλία αλληλεπιδράσεων μεταξύ πρωτεΐνης και αρωματικών συστατικών.

Λέξεις κλειδιά : Ζελατίνη, Πτητικά, Συγκράτηση αρώματος, Υπερκείμενος χώρος, Συντελεστής κατανομής, Υδροφοβικότητα, Διακλαδώσεις

ABSTRACT

The retention of various aroma compounds (linalool, limonene, ethyl butyrate, butyl acetate, isobutyl acetate, pentyl acetate, isopentyl acetate, hexyl acetate) by gelatine gels (2.5, 5, 10 and 20 wt%) was investigated by Static Headspace Gas Chromatography. Prior to analysis the samples were left to equilibrate for 24 h at 37°C. The studied volatiles differed in their hydrophobicity and structure. One of the major conclusions was that, regardless or not the presence of a functional group, increased hydrophobicity resulted in increased release. Moreover branched volatiles gave greater partition coefficient values than their linear counterparts. The different mechanical properties of the matrix, as a result of different protein concentration, also affected the aroma retention. When studying the effect of experimental temperature, higher partition coefficients were obtained at the higher temperature used, probably due to the increased volatility of the aroma compound. Both positive and negative percentage of retention values were calculated suggesting varying protein-volatile interactions.

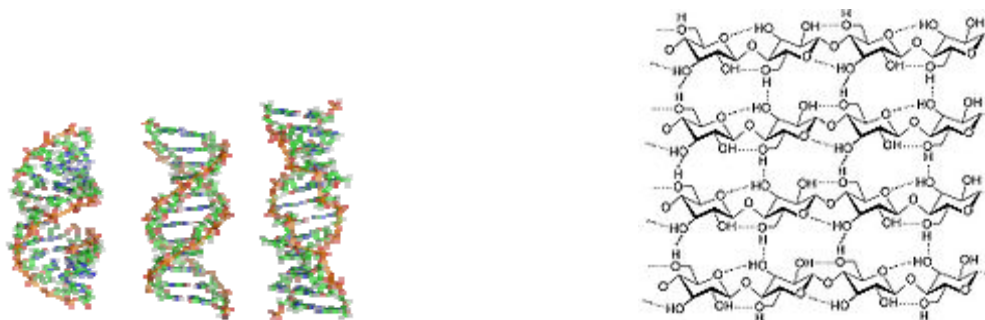
Keywords: Gelatine, Volatiles, Aroma retention, Headspace, Partition coefficient, Hydrophobicity, Branching

ΜΕΡΟΣ ΠΡΩΤΟ : ΥΛΙΚΑ

1.1. ΒΙΟΠΟΛΥΜΕΡΗ

1.1.1. ΔΟΜΗ

Τα βιοπολυμερή είναι μια κατηγορία πολυμερών μορίων τα οποία παράγονται από ζώντες οργανισμούς. Οι υδατάνθρακες (π.χ. κυτταρίνη, άμυλο), οι πρωτεΐνες (π.χ. ζελατίνη), τα πεπτίδια, το DNA και το RNA είναι παραδείγματα βιοπολυμερών στα οποία τα μονομερή τμήματα είναι σάκχαρα, αμινοξέα και νουκλεοτίδια αντίστοιχα (**Σχήμα 1.1**).



Σχήμα 1.1 Παραδείγματα βιοπολυμερών (α) DNA και (β) κυτταρίνη.

Τα βιοπολυμερή *απαρτίζονται* από επαναλαμβανόμενες μονάδες που καλούνται *μονομερή*. Επίσης είναι οργανωμένα σε ποικιλία δομών αφού υπάρχουν πρωτοταγείς, δευτεροταγείς και τριτοταγείς δομές.

Τα πολυπεπτίδια όπως και οι πρωτεΐνες *απαρτίζονται* από αμινοξέα τα οποία συνδέονται αναμεταξύ τους με πεπτιδικούς δεσμούς μεταξύ των αμινο και καρβοξυλικών άκρων.

Τα νουκλεϊκά οξέα *απαρτίζονται* από νουκλεοτίδια (πεντόζη + βάση + φωσφορική ομάδα). Μεταξύ των νουκλεοτιδίων επί της ίδιας αλυσίδας σχηματίζονται φωσφοδιεστερικοί δεσμοί ενώ μεταξύ των νουκλεοτιδίων που βρίσκονται σε αντιπαράλληλες αλυσίδες σχηματίζονται δεσμοί υδρογόνου.

Οι υδατάνθρακες μπορεί να είναι είτε γραμμικοί είτε διακλαδισμένοι και αποτελούνται από απλά σάκχαρα που συνδέονται μεταξύ τους με γλυκοζιτικούς δεσμούς α και β τύπου.

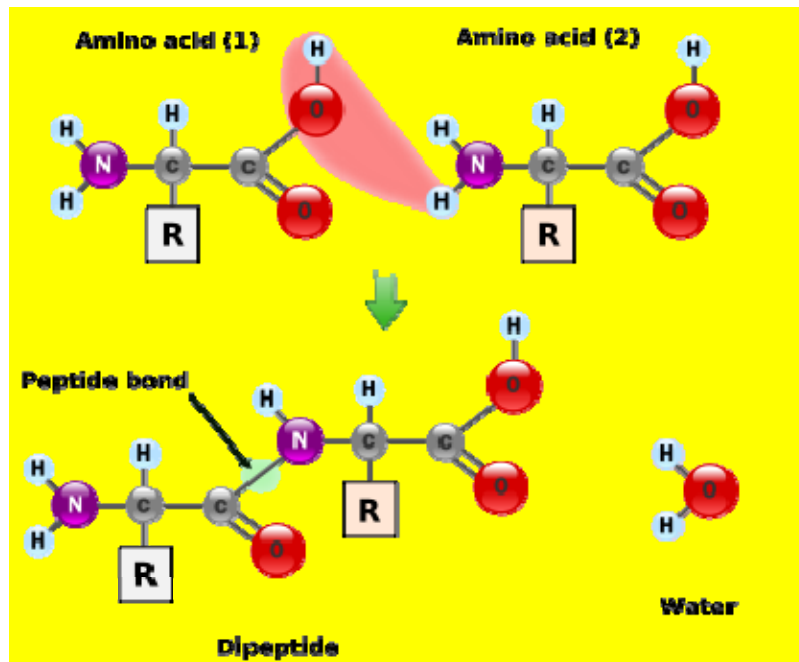
Ειδικότερα οι πρωτεΐνες και οι πολυσακχαρίτες χαρακτηρίζονται από κάποιες πολύ χρήσιμες ιδιότητες όπως την ενυδάτωση ,την ικανότητα συγκράτησης νερού, το ιξώδες, την πήξη και την ικανότητα να δρουν ως γαλακτωματοποιητές ή αφροιστικοί παράγοντες. Αυτές οι ιδιότητες αξιοποιούνται κατά κόρον στη βιομηχανία τροφίμων.

1.2. ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ

1.2.1. ΔΟΜΗ

Οι πρωτεΐνες σχηματίζονται από την ένωση απλών χημικών ενώσεων, των αμινοξέων, τα οποία συνδέονται μεταξύ τους με ομοιοπολικούς δεσμούς ειδικού τύπου (πεπτιδικό δεσμοί) και σχηματίζουν πολλούς διαφορετικούς συνδυασμούς **(Σχήμα 1.2)**. Στις πρωτεΐνες των ζωντανών οργανισμών απαντώνται 20 διαφορετικά αμινοξέα στα οποία η αμινομάδα και η καρβοξυλομάδα είναι ομοιοπολικά συνδεδεμένες με το ίδιο άτομο άνθρακα , για αυτό και ονομάζονται α- αμινοξέα. Μια ομάδα όμως από αυτά ο οργανισμός δεν μπορεί να τα συνθέσει και άρα πρέπει να τα λάβει από την τροφή. Τα αμινοξέα αυτά ονομάζονται **«απαραίτητα»** αμινοξέα **(Πίνακας 1.1)**

Οι πρωτεΐνες είναι μεγάλα μόρια . Το μήκος της πολυπεπτιδικής αλυσίδας, δηλαδή ο αριθμός των καταλοίπων των αμινοξέων που βρίσκονται συνδεδεμένα μέσω πεπτιδικών δεσμών σε μια αλυσίδα, διαφέρει από πρωτεΐνη σε πρωτεΐνη. Πολλές πρωτεΐνες αποτελούνται από μια πολυπεπτιδική αλυσίδα, ενώ άλλες από δυο ή περισσότερες. Η καθεμιά τέτοια αλυσίδα καλείται υπομονάδα. Οι υπομονάδες μπορεί να είναι όμοιες ή διαφορετικές. Εάν τουλάχιστον μια από τις υπομονάδες είναι διαφορετική ,τότε η πρωτεΐνη ονομάζεται έτερο-ολιγομερές ενώ όταν όλες είναι ίδιες τότε η πρωτεΐνη ονομάζεται ομο-ολιγομερές .



Σχήμα 1.2 Δημιουργία πεπτιδικού δεσμού μεταξύ α-αμινοξέων

Όπως και άλλα βιολογικά μακρομόρια όπως οι πολυσακχαρίτες και τα νουκλεϊκά οξέα, οι πρωτεΐνες είναι βασικά μέρη των οργανισμών και συμμετέχουν σχεδόν σε κάθε διαδικασία μεταξύ κυττάρων. Πολλές πρωτεΐνες είναι ένζυμα και καταλύουν βιοχημικές αντιδράσεις και έχουν ζωτικές λειτουργίες για τον μεταβολισμό. Επίσης οι πρωτεΐνες έχουν δομικές και μηχανικές λειτουργίες όπως πχ η ακτίνη και η μυοσίνη των μυών και το κολλαγόνο των οστών. Άλλες πρωτεΐνες συμμετέχουν στην κυτταρική επικοινωνία, στην ανοσολογική ανταπόκριση, στην πρόσφυση των κυττάρων και στον κυτταρικό κύκλο.

Πίνακας 1.1 Τα αμινοξέα που απαρτίζουν τις πρωτεΐνες των ζωντανών οργανισμών

| ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΑ ΑΜΙΝΟΞΕΑ | ΜΗ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΑ ΑΜΙΝΟΞΕΑ |
|----------------------------|-------------------------------|
| Ισολευκίνη(Ile) | Αλανίνη(Ala) |
| Λευκίνη(Leu) | Ασπαράγινη(Asn) |
| Λυσίνη(Lys) | Ασπαραγινικό οξύ(Asp) |
| Μεθειονίνη(Met) | Κυστεΐνη(Cys) |
| Φαινυλαλανίνη(Phe) | Γλουταμινικό οξύ(Glu) |
| Θρεονίνη(Thr) | Γλουταμίνη(Gln) |
| Τρυπτοφάνη(Trp) | Γλυκίνη(Gly) |
| Βαλίνη(Val) | Προλίνη(Pro) |
| | Σερίνη(Ser) |
| | Τυροσίνη(Tyr) |
| | Αργινίνη(Arg) |
| | Ιστιδίνη(His) |

Η τελική διαμόρφωση της δομής μιας πρωτεΐνης μπορεί να εξεταστεί σε διάφορα επίπεδα, από το απλούστερο της πρωτοταγούς δομής μέχρι το πιο σύνθετο της τεταρτοταγούς. Πιο συγκεκριμένα:

Πρωτοταγής δομή: Αυτή καθορίζεται από το είδος, το ποσό και ιδιαίτερα τη σειρά των αμινοξέων στις αλυσίδες που αποτελούν την πρωτεΐνη.

Δευτεροταγής δομή: Έτσι καλείται ο τρόπος με τον οποίο οργανώνονται στο χώρο οι πολυπεπτιδικές αλυσίδες της πρωτεΐνης. Η σταθεροποίησή της οφείλεται σε δεσμούς υδρογόνου.

Τριτοταγής δομή: Η τριτοταγής δομή αναφέρεται στην αναδίπλωση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας και στο τελικό σχήμα που θα πάρει στον χώρο, έτσι ώστε οι υδρόφοβες ομάδες να «κρυφτούν» στο εσωτερικό του μορίου αφήνοντας τις υδρόφιλες στο εξωτερικό του.

Τεταρτοταγής δομή: Η συνένωση και η διευθέτηση των υπομονάδων στον χώρο αποτελεί την τεταρτοταγή δομή της πρωτεΐνης.

1.2.2. ΚΑΤΑΤΑΞΗ

Η συστηματική κατάταξη των πρωτεϊνών είναι πολύ δύσκολη επειδή τα μόριά τους είναι εξαιρετικά πολύπλοκα και διαφέρουν σε μεγάλο βαθμό ως προς τη δομή τους.

Λαμβάνοντας, λοιπόν, ως κριτήρια τα προϊόντα υδρόλυσης, τη διαλυτότητα και το σχήμα μπορούμε να τις κατατάξουμε στις παρακάτω κατηγορίες:

(I) ΑΠΛΕΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ: Με υδρόλυση δίνουν μόνο αμινοξέα και περιλαμβάνουν τις εξής τάξεις:

ΣΦΑΙΡΙΚΕΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ: Έχουν σφαιρικό ή ελλειψοειδές σχήμα και είναι διαλυτές σε διάφορους διαλύτες. Σπουδαιότερες εξ' αυτών οι γλοβουλίνες, οι αλβουμίνες, οι γλουτελίνες και οι προλαμίνες.

ΙΝΩΔΕΙΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ: Καλούνται και σκληροπρωτεΐνες. Έχουν ινώδες σχήμα και είναι αδιάλυτες στο νερό. Σπουδαιότερες από αυτές είναι το κολλαγόνο, η ελαστίνη και η κερατίνη.

(II) ΣΥΝΘΕΤΕΣ Η΄ ΣΥΖΕΥΓΜΕΝΕΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ: Με υδρόλυση δίνουν αμινοξέα και άλλα προϊόντα. Περιλαμβάνουν τις εξής τάξεις:

ΓΛΥΚΟΠΡΩΤΕΪΝΕΣ: Με υδρόλυση δίνουν αμινοξέα και υδατάνθρακες.

ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΕΣ: Με υδρόλυση δίνουν αμινοξέα και λιποειδή.

ΜΕΤΑΛΛΟΠΡΩΤΕΪΝΕΣ: Με υδρόλυση δίνουν αμινοξέα και ένα μέταλλο.

ΝΟΥΚΛΕΟΠΡΩΤΕΪΝΕΣ: Με υδρόλυση δίνουν αμινοξέα και νουκλεϊνικό οξύ.

ΦΩΣΦΟΠΡΩΤΕΪΝΕΣ: Με υδρόλυση δίνουν αμινοξέα και φωσφορικές ενώσεις.

Μία δεύτερη κατάταξη των πρωτεϊνών μπορεί να επιτευχθεί, λαμβάνοντας ως κριτήριο αυτή τη φορά το βιολογικό τους ρόλο. Στην περίπτωση αυτή κατατάσσονται ως εξής:

(I) ΔΟΜΙΚΕΣ: Αυτές συμβάλλουν στη διαμόρφωση της υφής και στη διατήρηση της μορφολογικής σταθερότητας των ιστών. Τέτοιες πρωτεΐνες είναι το κολλαγόνο, οι κερατίνες καθώς και ορισμένες πρωτεΐνες των μεμβρανών.

(II) ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΕΣ: Αυτές έχουν ένα σημαντικό κοινό χαρακτηριστικό, μπορούν να αναγνωρίσουν και να δεσμεύσουν εκλεκτικά ορισμένα μόρια που ονομάζονται «ligands». Η φύση των ligands ποικίλει από μεγάλο μοριακού βάρους ενώσεις έως ανόργανα ιόντα. Στην κατηγορία αυτή διακρίνουμε τις παρακάτω ομάδες πρωτεϊνών:

ΚΑΤΑΛΥΤΙΚΕΣ: Εδώ ανήκουν τα ένζυμα. Στην προκειμένη περίπτωση το ligand καλείται υπόστρωμα και το ένζυμο όχι μόνο το δεσμεύει αμφίδρομα αλλά το τροποποιεί και χημικώς.

ΜΕΤΑΦΕΡΟΥΣΕΣ: Οι πρωτεΐνες αυτές δεσμεύουν τα ligands αμφίδρομα με σκοπό να τα μεταφέρουν σε άλλο σημείο στο χώρο. Χαρακτηριστικά παραδείγματα η αιμοσφαιρίνη (μεταφέρει οξυγόνο) και η σιδηροφιλίνη (μεταφέρει σίδηρο).

ΣΥΣΤΑΛΤΩΝ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ: Η αμφίδρομη δέσμευση του ή των ligands από αυτές έχει σαν αποτέλεσμα την πρόκληση μηχανικού έργου. Στην κατηγορία αυτή ανήκει η μυοσίνη.

ΑΜΥΝΤΙΚΕΣ: Σ' αυτές ανήκουν κυρίως οι ανοσοπρωτεΐνες που βρίσκονται στον ορό ανώτερων ζώων και δεσμεύουν τα ligands έτσι ώστε να τα αδρανοποιούν. Επίσης το ινωδογόνο του πλάσματος που μετατρέπεται από το ένζυμο θρομβίνη σε αδιάλυτο ινώδες που αποτελεί το κύριο συστατικό του θρόμβου κατά την πήξη του αίματος.

ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΕΣ: Είναι μια ετερογενής ομάδα πρωτεϊνών που με την αμφίδρομη δέσμευση των ligands τροποποιούν τη δραστικότητα τους. Ένα παράδειγμα είναι η ορμόνη ινσουλίνη.

ΑΠΟΘΗΚΕΥΤΙΚΕΣ: Οι πρωτεΐνες αυτές δεσμεύουν τα ligands τους αμφίδρομα με σκοπό την αποθήκευσή τους. Χαρακτηριστικά παραδείγματα η φερριτίνη (αποθηκεύει σίδηρο) και η καζεΐνη του γάλακτος (αποθηκεύει ασβέστιο και φώσφορο).

1.2.3. ΜΕΤΟΥΣΙΩΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

Μετουσίωση καλείται η καταστροφή των ανώτερων δομών των πρωτεϊνών με φυσικά ή χημικά μέσα. Τα χαρακτηριστικά που εμφανίζει η μετουσιωμένη πρωτεΐνη είναι το μεγάλο ιξώδες, η μικρή διαλυτότητα και η έλλειψη δραστικότητας.

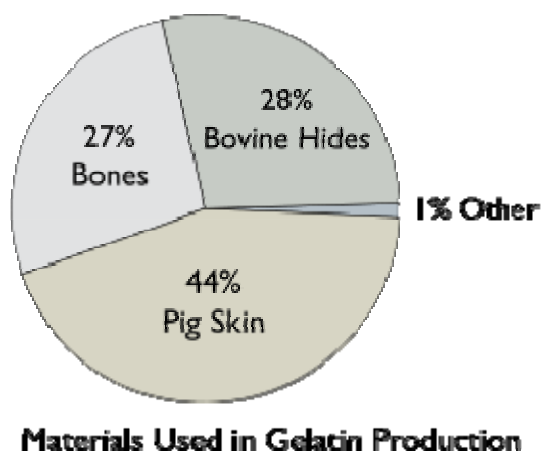
Οι παράγοντες που προκαλούν τη μετουσίωση είναι η θερμοκρασία, τα χημικά μέσα (πχ οξέα, βάσεις, μέταλλα, ουρία, ακετόνη, απορρυπαντικά) και μηχανικά μέσα (πχ εφαρμογή ανακίνησης, πίεσης, αφυδάτωσης).

Χαρακτηριστικά παραδείγματα μετουσίωσης πρωτεϊνών είναι το βράσιμο του αυγού και το ξίνισμα του γάλακτος.

1.3. ΖΕΛΑΤΙΝΗ

1.3.1. ΔΟΜΗ

Η ζελατίνη είναι ένα προϊόν πρωτεϊνικής φύσης το οποίο προκύπτει από τη μερική υδρόλυση του κολλαγόνου του δέρματος, των οστών και συνδετικών ιστών των ζώων (**Σχήμα 1.3**). Η ζωική αυτή πρωτεΐνη δομείται από όλα τα αμινοξέα εκτός από την τρυπτοφάνη. Κατά την προσθήκη κρύου νερού, η ζελατίνη απορροφά νερό και διογκώνεται. Κατά την ενυδάτωση αυτή, τα μόρια της ζελατίνης τα οποία βρίσκονται υπό μορφή ζικ-ζακ πολυπεπτιδικών αλυσίδων ενώνονται μεταξύ τους προς σχηματισμό χωροπλέγματος. Το αναρροφούμενο νερό παγιδεύεται και ακινητοποιείται σε χωρόπλεγμα όπως θα συνέβαινε στην περίπτωση ενός σφουγγαριού. Ένα μέρος του αναρροφούμενου νερού συγκρατείται από τα μόρια της ζελατίνης με δεσμούς υδρογόνου. Κατά τη θέρμανση της ενυδατωμένης ζελατίνης το σύστημα υγροποιείται μετατρέπόμενο σε κολλοειδές αιώρημα στερεού σε υγρό. Κατά την ψύξη του αιωρήματος σχηματίζεται η πηκτή.



Σχήμα 1.3 Πηγές ζελατίνης

1.3.2. ΧΡΗΣΕΙΣ

Η ζελατίνη χρησιμοποιείται ευρέως από τη βιομηχανία των τροφίμων (γιαούρτι, ζελέδες, παγωτά, κονσέρβες κρέατος, σούπες, φρουτοχυμοί, μαρμελάδες, κρεμώδη τυριά, μαργαρίνη, κρασιά) ως παράγοντας πήξης, σταθεροποιητής και παράγοντας διαύγασης. Η χρήση της στηρίζεται στην ικανότητα της να δημιουργεί δυνατές και ελαστικές πηκτές σε μικρές συγκεντρώσεις που έχουν την ιδιότητα να λιώνουν στο στόμα στους 37°C. Επίσης χρησιμοποιείται σε προϊόντα με μειωμένη λιποπεριεκτικότητα ώστε να προσδώσει στο προϊόν πλούσια υφή όμοια με του λίπους, χωρίς όμως να επιβαρύνει το τρόφιμο με τις θερμίδες του. Στην περίπτωση των λευκών οίνων, χρησιμοποιείται για τη διαύγασή τους από πρωτεϊνικά θολώματα. Επιπρόσθετα τυχαίνει εφαρμογών σε φαρμακευτικά προϊόντα, σε φωτογραφικά υλικά και σε καλλυντικά.

1.4. ΠΗΚΤΕΣ ΒΙΟΠΟΛΥΜΕΡΩΝ

Η πιο σημαντική ιδιότητα των βιοπολυμερών είναι η ικανότητά τους να σχηματίζουν πηκτές. Οι πηκτές αποτελούνται από ένα συνεχές τρισδιάστατο δίκτυο από βιολογικά μακρομόρια τα οποία είναι διεσπαρμένα σε ένα υγρό διασποράς, συνήθως το νερό. Το δίκτυο δημιουργείται από διασταυρώσεις των αλυσίδων του βιοπολυμερούς. Ο σχηματισμός ενός δικτύου πηκτής από την κατάσταση διαλύματος συνήθως προκαλείται από κάποια αλλαγή πχ στο pH, τη θερμοκρασία, την ιονική ισχύ. Η κατάσταση της προκύπτουσας πηκτής επίσης επηρεάζεται από τις παραπάνω παραμέτρους.

Πρέπει να σημειωθεί ότι ενώ όλα τα βιοπολυμερή μπορούν να προσδώσουν αύξηση του ιξώδους σε υδατικά διαλύματα, δεν μπορούν όλα να σχηματίσουν και πηκτές. Επίσης υπάρχουν και περιπτώσεις βιοπολυμερών που από μόνα τους δεν πήζουν αλλά μίγματά τους δρουν συνεργιστικά και σχηματίζουν πηκτές. Γενικά τα διάφορα βιοπολυμερή παρουσιάζουν διαφορές στον τρόπο που θα επιτευχθεί η πήξη καθώς και στην ποιότητα, τη σταθερότητα και τις οργανοληπτικές ιδιότητες της προκύπτουσας πηκτής.

Οι πηκτές διαιρούνται σε δυο βασικά είδη.

Χημικές πηκτές : Οι αλυσίδες διασταυρώνονται σε ένα σημείο (point junction) ή μέσω ομοιοπολικών δεσμών μεταξύ συγκεκριμένων ατόμων της αλυσίδας. Οι προκύπτοντες δεσμοί είναι μόνιμοι και συνεπώς οι πηκτές δεν λιώνουν με τη θέρμανση.

Φυσικές πηκτές : Αυτές αποτελούνται από εκτεταμένες ζώνες διασταύρωσης (junction zones) μεταξύ τμημάτων των αλυσίδων και σταθεροποιούνται από μη ομοιοπολικούς δεσμούς πχ δεσμούς υδρογόνου, δυνάμεις Wan der Waals, υδρόφοβες δυνάμεις .

Ο σχηματισμός της πηκτής είναι μια διαδικασία μετάβασης από την αταξία (διάλυμα) προς την τάξη (πηκτή) και βάσει των νόμων της θερμοδυναμικής και πιο συγκεκριμένα του:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

(Σχέση 1.1)

για να γίνει η συγκεκριμένη μετάβαση, η ΔG πρέπει να έχει αρνητική τιμή. Στην περίπτωση άτακτων εύκαμπτων αλυσίδων, η εντροπία ευνοεί την κατάσταση του διαλύματος. Σημαντική συμβολή στην εντροπία έχουν και οι ηλεκτροστατικές απώσεις μεταξύ των αλυσίδων καθώς επίσης και κάποιες δομικές ανωμαλίες και διακλαδώσεις. Η ενθαλπία ευνοεί τη διαμοριακή σύζευξη (δηλαδή ευνοεί τη δημιουργία δεσμών και άρα πηκτής). Η παρουσία συγκεκριμένων αλληλεπιδράσεων όπως η ικανότητα δημιουργίας μη ομοιοπολικών δεσμών (πχ δεσμοί υδρογόνου και υδροφοβικοί δεσμοί) μεταξύ των αλυσίδων ,οι ηλεκτροστατικές έλξεις, οι αλληλεπιδράσεις με το νερό αλλά και η δυσκαμψία της αλυσίδας και η δυνατότητα καλού πακεταρίσματος των αλυσίδων δρουν προς την κατεύθυνση της τάξης. Η ισορροπία ανάμεσα σε αυτές τις δυο αντίθετες κατευθύνσεις επηρεάζεται από αλλαγές στη θερμοκρασία. Η πήξη επέρχεται είτε με θέρμανση είτε με ψύξη. Επίσης μπορεί να είναι αντιστρεπτή (δηλαδή η πηκτή να λιώνει με θέρμανση) ή μη αντιστρεπτή.

Οι πηκτές των βιοπολυμερών ανήκουν στην κατηγορία των φυσικών πηκτών που, όπως προαναφέρθηκε, σταθεροποιούνται από δευτερεύοντες, ατομικά πολύ ασθενείς δεσμούς, οι οποίοι προκειμένου να μπορέσει να υπερνικηθεί το εντροπικό πλεονέκτημα προς την αταξία, πρέπει να δράσουν συνεργιστικά (πχ στην περίπτωση

των πολυσακχαριτών, σε μια ευρεία περιοχή που πρέπει να περιλαμβάνει τουλάχιστον 15-25 μονοσακχαρίτες σε κάθε συμμετέχουσα αλυσίδα).

Για τη δημιουργία ενός εκτεταμένου και ενυδατωμένου δικτύου, και όχι ενός στερεού ιζήματος, απαιτείται να υπάρχουν κάποιες περιοχές αταξίας μέσα στην πηκτή (**Σχήμα 1.4**). Αυτό επιτυγχάνεται με διάφορους τρόπους όπως η ταυτόχρονη ύπαρξη περιοχών με ή χωρίς υποκαταστάτες (πχ γαλακτομανάνες) ή η παρουσία ενός σακχάρου που δεν ταιριάζει στην υδατανθρακική αλυσίδα (π.χ. ραμνόζη στις πηκτίνες). Παρόλο που οι περιοδικές ακολουθίες μιας αλυσίδας ευνοούν την υιοθέτηση διαμόρφωσης με τάξη, η ύπαρξη των ανωμαλιών αναγκάζει την αλυσίδα να συνδυαστεί με περισσότερες αλυσίδες. Ταυτόχρονα καθορίζει την πυκνότητα και τη διανομή των διασταυρώσεων άρα και τη μορφή της πηκτής όσον αφορά την ενυδάτωση και το μέγεθος των πόρων.



Σχήμα 1.4 Σχηματική παρουσίαση ενός δικτύου πηκτής.

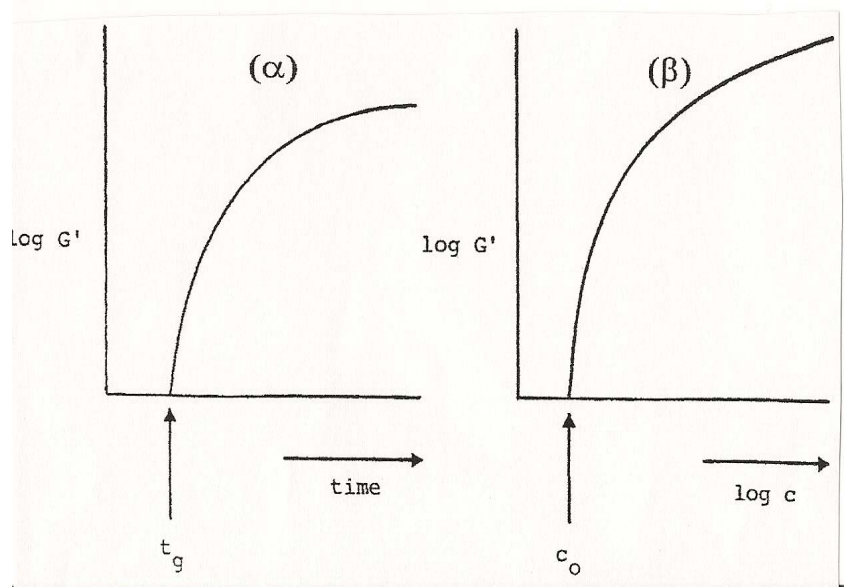
Σύμφωνα με τη θεωρία του Flory-Stockmayer, για ένα πολυμερές που έχει f πιθανές θέσεις σύνδεσης (λειτουργικότητες) ανά αλυσίδα υπάρχει μια κρίσιμη ποσότητα αυτών, α_c , που πρέπει να αντιδράσουν, πριν να δημιουργηθεί το τρισδιάστατο δίκτυο.

$$\alpha_c = 1/(f-1) \quad (\text{Σχέση 1.2})$$

Για τιμές του α μικρότερες από α_c , μόνο συσσωματώματα περιορισμένου μεγέθους μπορούν να προκύψουν. Μόλις το α φτάσει την τιμή α_c , το οποίο συμβαίνει μετά από ένα συγκεκριμένο χρονικό διάστημα t_g (gelation time), ένα μόριο με αυξημένο μέγεθος συγκριτικά με τα υπόλοιπα γίνεται gel fraction. Στο σημείο αυτό

(gel point) το ιξώδες και το αναλογικό μέσο μοριακό βάρος τείνουν στο άπειρο. Καθώς ο βαθμός διασταύρωσης των αλυσίδων αυξάνεται, η ισχύς της πηκτής αυξάνεται απότομα μέχρι ενός σημείου όπου υπάρχει ισορροπία μεταξύ της δημιουργίας και του σπασίματος του δεσμού.

Ταυτόχρονα, σημαντικό ρόλο στην πήξη για ένα δεδομένο χρόνο t ($t > t_g$) παίζει και ένας δεύτερος παράγοντας αυτός της συγκέντρωσης (**Σχήμα 1.5**). Δεν μπορεί να υπάρξει πήξη για συγκεντρώσεις μικρότερες της c_0 (κρίσιμη συγκέντρωση πήξης). Σε πολλά βιοπολυμερή άλλοι κρίσιμοι για την πήξη παράγοντες είναι το pH και η παρουσία αλάτων ή άλλων συνδιαλυτών (πχ σάκχαρα).



Σχήμα 1.5 Παράγοντες που επηρεάζουν την πήξη είναι (α) ο χρόνος και (β) η θερμοκρασία

1.5. ΑΡΩΜΑΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ

Τα αρωματικά συστατικά είναι οργανικές ενώσεις που αφενός μεν είναι πτητικές, ώστε να μπορούν να γίνουν αντιληπτά από τη μύτη, και αφετέρου βρίσκονται σε τέτοια συγκέντρωση ώστε να μπορούν να αλληλεπιδράσουν με τους υποδοχείς της όσφρησης. Αρωματικές ενώσεις βρίσκονται στα τρόφιμα, στα κρασιά, στα καρυκεύματα, στα αιθέρια έλαια και είναι κυρίως αλκοόλες, αλδεΐδες, αμίνες, εστέρες, αιθέρες, κετόνες, λακτόνες, τερπένια, θειόλες. Η βιομηχανία των Τροφίμων χρησιμοποιεί τις αρωματικές ενώσεις για να προσδώσει άρωμα σε ένα προϊόν ή να το κάνει πιο ελκυστικό για τον καταναλωτή. Η αντίληψη του αρώματος κατά τη διάρκεια της κατανάλωσης του τροφίμου επιτυγχάνεται όταν τα αρωματικά συστατικά απελευθερώνονται από το υπόστρωμα (τρόφιμο) προς την αέρια φάση και μεταφέρονται στους υποδοχείς τους στόματος και της μύτης.

Η απελευθέρωση των αρωματικών ουσιών από υποστρώματα που χρησιμοποιούνται σε τρόφιμα (όπως βιοπολυμερή π.χ. ζελατίνη), τυγχάνει ιδιαίτερου ενδιαφέροντος αφού διαμορφώνει τον ποιοτικό χαρακτήρα των τροφίμων. Ο τύπος των υποστρωμάτων σε συνδυασμό με τις φυσικοχημικές ιδιότητες των αρωματικών ουσιών επηρεάζουν το τελικό προϊόν και το βαθμό αποδοχής του από τον καταναλωτή.

Το συνολικό άρωμα επηρεάζεται από τις μοριακές αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στα αρωματικά συστατικά και το υπόστρωμα. Οι αλληλεπιδράσεις αυτές περιλαμβάνουν κυρίως την απορρόφηση, τη δέσμευση, τη συμπλοκοποίηση και την ενθυλάκωση. Η φύση και η δύναμη του δεσμού συμβάλλουν στη συγκράτηση των αρωματικών ουσιών από το υπόστρωμα. Ακόμα ο βαθμός υδροφοβικότητας, η πίεση, η διαλυτότητα, η δομή των αρωματικών ουσιών, οι αλλαγές στο pH και τη θερμοκρασία επηρεάζουν τη συγκράτηση των αρωματικών ουσιών.

Η παρούσα εργασία εστιάζεται στη συγκράτηση συγκεκριμένων αρωματικών ουσιών από πηκτές ζελατίνης. Πιο συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω αρωματικές ουσίες: **λιναλόλη** (linalool), **λιμονένιο** (limonene), **βουτυρικός αιθυλεστέρας** (ethyl butyrate), **οξικός ισοβουτυλεστέρας** (isobutyl acetate), **οξικός ισοπεντυλεστέρας** (isopentyl acetate), **οξικός βουτυλεστέρας** (butyl acetate), **οξικός πεντυλεστέρας** (pentyl acetate) και **οξικός εξυλεστέρας** (hexyl acetate).

Στον πίνακα που ακολουθεί (**Πίνακας 1.2**) φαίνονται οι φυσικοχημικές ιδιότητες των αρωματικών συστατικών που χρησιμοποιήθηκαν στο συγκεκριμένο πείραμα.

Πίνακας 1.2 Φυσικοχημικές ιδιότητες των αρωματικών συστατικών

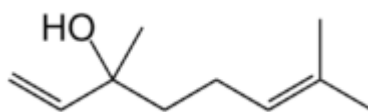
| ΟΝΟΜΑ | ΜΟΡΙΑΚΟΣ ΤΥΠΟΣ | ΑΡΙΘΜΟΣ CAS | ΜΟΡΙΑΚΟ ΒΑΡΟΣ (g/mol) | ΣΗΜΕΙΟ ΖΕΣΣΕΩΣ (°C) | Log P | ΤΑΣΗ ΑΤΜΩΝ ΣΤΟΥΣ 25°C (mm Hg) | ΔΙΑΛΥΤΟΤΗΤΑ ΣΤΟ ΝΕΡΟ (mg/L) |
|----------------------------|---|----------------|-----------------------------|---------------------------|-------|---|--------------------------------------|
| ΛΙΜΟΝΕΝΙΟ | C ₁₀ H ₁₆ | 5989-27-5 | 136,24 | 176 | 4,57 | 1,98 | 13,8 |
| ΛΙΝΑΛΟΛΗ | C ₁₀ H ₁₈ O | 78-70-6 | 154,25 | 198 | 2,97 | 0,16 | 1590 |
| ΒΟΥΤΥΡΙΚΟΣ ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ | C ₆ H ₁₂ O ₂ | 105-54-4 | 116,16 | 121,5 | 1,85 | 12,8 | 4900 |
| ΟΞΙΚΟΣ ΒΟΥΤΥΛΕΣΤΕΡΑΣ | C ₆ H ₁₂ O ₂ | 123-86-4 | 116,16 | 126,1 | 1,78 | 11,5 | 8400 |
| ΟΞΙΚΟΣ ΙΣΟΒΟΥΤΥΛΕΣΤΕΡΑΣ | C ₆ H ₁₂ O ₂ | 110-19-0 | 116,16 | 116,5 | 1,78 | 17,8 | 6300 |
| ΟΞΙΚΟΣ ΠΕΝΤΥΛΕΣΤΕΡΑΣ | C ₇ H ₁₄ O ₂ | 628-63-7 | 130,18 | 149,2 | 2,30 | 3,5 | 1700 |
| ΟΞΙΚΟΣ ΙΣΟΠΕΝΤΥΛΕΣΤΕΡΑΣ | C ₇ H ₁₄ O ₂ | 123-92-2 | 130,18 | 142,5 | 2,25 | 5,6 | 2000 |
| ΟΞΙΚΟΣ ΕΞΥΛΕΣΤΕΡΑΣ | C ₈ H ₁₆ O ₂ | 142-92-7 | 144,21 | 171,5 | 2,83 | 1,32 | 511 |

1.5.1. ΛΙΝΑΛΟΛΗ(linalool)

1.5.1.1. ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Η λιναλόλη είναι μια τερπενοειδής αλκοόλη η οποία ευρίσκεται σε πολλά άνθη και αρωματικά φυτά με πολλές εμπορικές εφαρμογές η πλειονότητα των οποίων βασίζονται στην ευχάριστη ευωδιά της .

Το όνομα της λιναλόλης κατά IUPAC είναι 3,7-διμεθυλ-οκτα-1,6-διεν-3-ολη ο μοριακός της τύπος είναι C₁₀H₁₈O και ο συντακτικός της τύπος ο ακόλουθος (Σχήμα 1.6)



Σχήμα 1.6 Συντακτικός τύπος λιναλόλης

Στη φύση πάνω από 200 είδη φυτών παράγουν λιναλόλη τα οποία ανήκουν κυρίως στις οικογένειες Lamiaceae, Lauraceae, Rutaceae καθώς και ορισμένα είδη μανιταριών.

Στο μόριο της λιναλόλης υπάρχει ασύμμετρο άτομο άνθρακα στη θέση 3 που αποτελεί ασύμμετρο κέντρο και ως εκ τούτου προκύπτουν δυο στερεοϊσομερή, η λυκαρεόλη (licareol) που είναι R-λιναλόλη και η κοριανδρόλη (coriandrol) που είναι S-λιναλόλη.

Και οι δυο εναντιομερείς μορφές υπάρχουν στη φύση. Η S-λιναλόλη βρίσκεται για παράδειγμα ως κύριο συστατικό στα αιθέρια έλαια του κολιανδρου (*Coriandrum sativum*) ενώ η R-λιναλόλη είναι παρούσα στη λεβάντα (*Lavandula officinalis*). Η S-λιναλόλη έχει κατώτατο όριο οσφρητικής αντίληψης (threshold value) τα 7,4 ppb ενώ η R-λιναλόλη τα 0,8 ppb που αυτό σημαίνει ότι η τελευταία γίνεται πιο εύκολα αντιληπτή.

1.5.1.2. ΧΡΗΣΕΙΣ

Η λιναλόλη χρησιμοποιείται ως μυρωδιά στο 60% με 80% των προϊόντων υγιεινής και καθαρισμού με άρωμα συμπεριλαμβανομένων των σαπουνιών, απορρυπαντικών, σαμπουάν και λοσιόν. Επίσης χρησιμοποιείται ως εντομοκτόνο

κατά των ψύλλων και των κατσαρίδων καθώς και ως αποθητικό κατά των κουνουπιών.

1.5.1.3. ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ ΑΣΦΑΛΕΙΑΣ

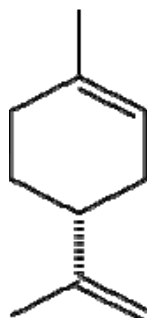
Η λιναλόλη όταν έρθει σε επαφή με το οξυγόνο διασπάται προοδευτικά προς σχηματισμό οξειδωμένου προϊόντος το οποίο μπορεί να προκαλέσει αλλεργικές αντιδράσεις σε ευαίσθητα άτομα . Τρόποι μείωσης της έκθεσης στην οξειδωμένη λιναλόλη αποτελούν η αποφυγή αγοράς απορρυπαντικών σε μεγάλα μπουκάλια και η άμεση επανατοποθέτηση του καπακίου μετά τη χρήση.

1.5.2. ΛΙΜΟΝΕΝΙΟ(limonene)

1.5.2.1.ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Το λιμονένιο αποτελεί έναν άχρωμο υγρό υδρογονάνθρακα που ταξινομείται ως κυκλικό τερπένιο και διαθέτει ισχυρή μυρωδιά εσπεριδοειδών και ειδικότερα λεμονιού από όπου έχει πάρει και το όνομα του.

Το όνομα του λιμονενίου κατά IUPAC είναι 1-μεθυλ-4(1-μεθυλ-εθενυλ)-κυκλοεξένιο ,ο μοριακός του τύπος είναι $C_{10}H_{16}$ και ο συντακτικός του τύπος ο ακόλουθος (Σχήμα 1.7)



Σχήμα 1.7 Συντακτικός τύπος λιμονενίου

Στη φύση ευρίσκεται το R ισομερές .Το D λιμονένιο λαμβάνεται εμπορικά με εξαγωγή από τη φλούδα πορτοκαλιού με υγρό CO_2 . Ρακεμικό μίγμα των δυο ισομερών είναι γνωστό και ως διπεντένιο .

Το λιμονένιο είναι σχετικά σταθερό τερπένιο και μπορεί να αποσταχθεί χωρίς αποσύνθεση αν και στις υψηλές θερμοκρασίες σπάει σε μορφές ισοπρενίου .

Οξειδώνεται εύκολα σε υγρό αέρα προς παραγωγή καρβεόλης (carneol) και καρβόνης (carvone). Με επίδραση θείου μετατρέπεται μέσω αφυδρογόνωσης σε p-κιμένιο (p-cymene). Βιοσυντίθεται σύμφωνα με το ακόλουθο βιοχημικό μονοπάτι
Πυροφωσφορικό γερανύλιο-> Πυροφωσφορικό νερύλιο->λιμονένιο.

1.5.2.2. ΧΡΗΣΕΙΣ

Η κυριότερη χρήση του D-λιμονενίου είναι ως πρόδρομος καρβόνης (carvone).

Το λιμονένιο είναι κοινό στα καλλυντικά προϊόντα και σε προϊόντα καθαρισμού .Ως κύριο συστατικό ευωδίας εσπεριδοειδών το D-λιμονένιο χρησιμοποιείται στη βιομηχανία τροφίμων και φαρμάκων. Επίσης χρησιμοποιείται ως βοτανικό εντομοκτόνο και ως διαλύτης για την απομάκρυνση χρωμάτων και υπολειμμάτων πετρελαίου

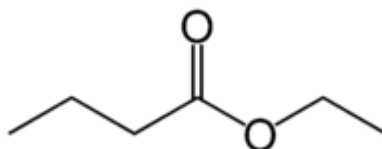
1.5.2.3. ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ ΑΣΦΑΛΕΙΑΣ

Το λιμονένιο και τα προϊόντα οξείδωσης του είναι ερεθιστικά για το δέρμα και το αναπνευστικό σύστημα . Οι περισσότερες αναφερθείσες περιπτώσεις ενόχλησης εμπλέκονται σε μακροπρόθεσμη έκθεση στο καθαρό συστατικό .Δεν έχουν αναφερθεί περιπτώσεις καρκινογένεσεων που να σχετίζονται με έκθεση στο συγκεκριμένο συστατικό. Το D-λιμονένιο είναι βιοδιασπώμενο αλλά εξαιτίας του χαμηλού σημείου ανάφλεξης του πρέπει να χειρίζεται ως επιβλαβές απόβλητο.

1.5.3. ΒΟΥΤΥΡΙΚΟΣ ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ (ethyl butyrate)

1.5.3.1. ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Ο βουτυρικός αιθυλεστέρας είναι ένας εστέρας με μοριακό τύπο $C_6H_{12}O_2$ και συντακτικό τύπο (Σχήμα 1.8)



Σχήμα 1.8 Συντακτικός τύπος βουτυρικού αιθυλεστέρα

Είναι διαλυτός στο παραφινέλαιο και στην κηροζίνη. Συντίθεται μέσω αντίδρασης της αιθανόλης με βουτυρικό οξύ με παραγωγή νερού ως παραπροϊόν .

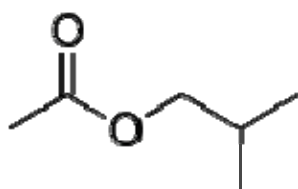
1.5.3.2. ΧΡΗΣΕΙΣ

Χρησιμοποιείται ευρέως ως τεχνητή αρωματική ουσία όπως πχ άρωμα ανανά στα οινοπνευματώδη ποτά και ως διαλυτικό σε προϊόντα αρωματοποιίας. Επίσης χρησιμοποιείται συχνά σε χυμούς εσπεριδοειδών καθώς η οσμή του συνδέεται με το άρωμα φρέσκου πορτοκαλοχυμού . Γενικά αποτελεί ένα από τα κοινά χημικά που χρησιμοποιούνται για την προσθήκη αρωμάτων .Βιομηχανικά είναι ένα από τα πιο φθηνά χημικά και για αυτό είναι τόσο δημοφιλές .

1.5.4. ΟΞΙΚΟΣ ΙΣΟΒΟΥΤΥΛΕΣΤΕΡΑΣ (isobutyl acetate)

1.5.4.1. ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Ο οξικός ισοβουτυλεστέρας αποτελεί έναν κοινό διαλύτη. Ο μοριακός του τύπος είναι $C_6H_{12}O_2$ και ο συντακτικός του τύπος ο ακόλουθος(Σχήμα 1.9)



Σχήμα 1.9 Συντακτικός οξικού ισοβουτυλεστέρα

Παράγεται από την εστεροποίηση της ισοβουτανόλης με οξικό οξύ .Έχει τρία ισομερή, τον n οξικό ισοβουτυλεστέρα, τον tetr οξικό ισοβουτυλεστέρα , τον sec οξικό ισοβουτυλεστέρα οι οποίοι είναι όλοι κοινοί διαλυτές .

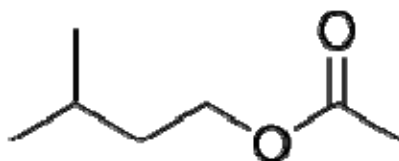
1.5.4.2. ΧΡΗΣΕΙΣ

Χρησιμοποιείται ως διαλυτής για τη λάκα και τη νιτροκυτταρίνη . Όπως πολλοί άλλοι εστέρες έχει φρουτώδη οσμή λουλουδιών σε χαμηλές συγκεντρώσεις και υπάρχει φυσικά στα σμέουρα, αχλάδια και άλλους καρπούς. Σε υψηλές συγκεντρώσεις η οσμή μπορεί να είναι μη φιλική και να προκαλέσει ναυτία, ίλιγγο και πονοκέφαλο.

1.5.5. ΟΞΙΚΟΣ ΙΣΟΠΕΝΤΥΛΕΣΤΕΡΑΣ (isopentyl acetate)

1.5.5.1. ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Ο οξικός ισοπεντυλεστέρας αποτελεί έναν εστέρα που προκύπτει από την ένωση της ισοαμυλικής αλκοόλης με το οξικό οξύ. Κατά IUPAC ονομάζεται 3-μεθυλ-1-βουτυλ-εστερας. Ο μοριακός του τύπος είναι $C_7H_{14}O_2$ και ο συντακτικός του τύπος ο ακόλουθος(Σχήμα 1.10)



Σχήμα 1.10 Συντακτικός τύπος οξικού ισοπεντυλεστέρα

Είναι ένα άχρωμο υγρό το οποίο είναι ελαφρώς διαλυτό στο νερό αλλά πολύ ευδιάλυτο στους περισσότερους οργανικούς διαλύτες . Ο οξικός ισοπεντυλεστέρας έχει μια πολύ ισχυρή οσμή που ομοιάζει με μπανάνα και αχλάδι. Επίσης ο όρος λάδι μπανάνας χρησιμοποιείται ενίοτε .

1.5.5.2. ΧΡΗΣΕΙΣ

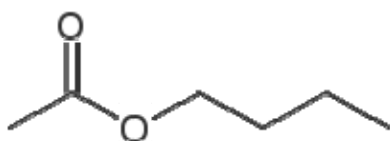
Ο οξικός ισοπεντυλεστέρας παράγεται είτε συνθετικά είτε από μπανάνες. Χρησιμοποιείται για να προσδώσει άρωμα μπανάνας στα τρόφιμα. Εξαιτίας της ευχάριστης οσμής του και της χαμηλής τοξικότητας του χρησιμοποιείται στο τεστάρισμα της αποτελεσματικότητας των αναπνευστικών συσκευών και των μασκών

αερίου. Επίσης χρησιμοποιείται ως διαλύτης για ορισμένα βερνίκια και λάκες νιτροκυτταρίνης. Ακόμα χρησιμοποιείται ως φερομόνη για την επικοινωνία των μελισσών.

1.5.6. ΟΞΙΚΟΣ ΒΟΥΤΥΛΕΣΤΕΡΑΣ (butyl acetate)

1.5.6.1. ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Ο οξικός βουτυλεστέρας παρασκευάζεται μέσω της εστεροποίησης της βουτανόλης με οξικό οξύ υπό την επίδραση θειικού οξέος ως καταλύτη. Ο μοριακός του τύπος είναι $C_6H_{12}O_2$ και ο συντακτικός του τύπος ο ακόλουθος(Σχήμα 1.11)



Σχήμα 1.11 Συντακτικός τύπος οξικού βουτυλεστέρα

Είναι ένα άχρωμο και εύφλεκτο υγρό με οσμή μπανάνας . Τα άλλα τρία ισομερή του οξικού βουτυλεστέρα είναι ο οξικός ισοβουτυλεστέρας , ο tetr οξικός βουτυλεστέρας και ο sec οξικός βουτυλεστέρας .

1.5.6.2. ΧΡΗΣΕΙΣ

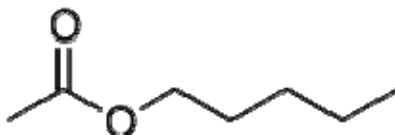
Ο οξικός βουτυλεστέρας είναι ένα οργανικό συστατικό το οποίο χρησιμοποιείται ως διαλύτης στην παραγωγή λακών και άλλων προϊόντων. Επίσης χρησιμοποιείται ως συνθετικό άρωμα φρούτου σε προϊόντα ζαχαροπλαστικής, παγωτά, τυριά και ψημένα προϊόντα. Ο οξικός βουτυλεστέρας ευρίσκεται σε πολλά είδη φρούτων όπου μαζί με άλλα χημικά συμβάλλει στη χαρακτηριστική οσμή έκαστου φρούτου π.χ. μήλα της ποικιλίας Red Delicious περιέχουν τη συγκεκριμένη χημική ουσία .

1.5.7. ΟΞΙΚΟΣ ΠΕΝΤΥΛΕΣΤΕΡΑΣ (pentyl acetate)

1.5.7.1. ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Ο οξικός πεντυλεστέρας είναι ένα οργανικό συστατικό το οποίο έχει μυρωδιά παρόμοια με της μπανάνας ή των μήλων όμως δεν είναι ανιχνεύσιμο από όλους τους δοκιμαστές.

Ο μοριακός του τύπος είναι $C_7H_{14}O_2$ και ο συντακτικός του τύπος ο ακόλουθος(Σχήμα 1.12)



Σχήμα 1.12 Συντακτικός τύπος οξικού πεντυλεστέρα

Η ένωση αυτή αποτελεί προϊόν συμπύκνωσης του οξικού οξέος με την 1-πεντανολη.

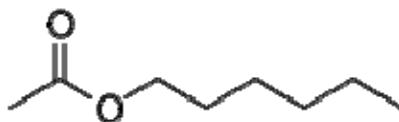
1.5.7.2. ΧΡΗΣΕΙΣ

Έχει τις ίδιες εφαρμογές με το ισομερές του τον οξικό ισοπεντυλεστέρα , δηλαδή χρησιμοποιείται κυρίως για να προσδώσει άρωμα μπανάνας.

1.5.8. ΟΞΙΚΟΣ ΕΞΥΛΕΣΤΕΡΑΣ (hexyl acetate)

1.5.8.1. ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Ο μοριακός του τύπος είναι $C_8H_{16}O_2$ και ο συντακτικός του τύπος ο ακόλουθος(Σχήμα 1.13)



Σχήμα 1.13 Συντακτικός τύπος οξικού εξυλεστέρα

1.5.8.2. ΧΡΗΣΕΙΣ

Ο οξικός εξυλεστέρας χρησιμοποιείται ως αρωματική ουσία με φρουτώδη οσμή εξαιτίας της φυσικής του παρουσίας σε πολλά φρούτα .Επίσης χρησιμοποιείται ως διαλύτης σε ρητίνες, σε πολυμερή, λίπη και έλαια. Ακόμη χρησιμοποιείται ως πρόσθετο σε χρώματα για να βελτιώσει τη διασπορά τους σε επιφάνειες .

ΜΕΡΟΣ ΔΕΥΤΕΡΟ : ΤΕΧΝΙΚΕΣ

2.1. ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ

2.1.1. ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η **χρωματογραφία** αποτελεί έναν σπουδαίο τρόπο φυσικού **διαχωρισμού** χημικών συστατικών από ένα μίγμα χημικών ενώσεων. Ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται μέσω της κατανομής των συστατικών μεταξύ δύο φάσεων, μιας στατικής και μιας κινητής (φέρουσας), που βρίσκονται μέσα / πάνω στη χρωματογραφική στήλη /πλάκα. Η στατική φάση είναι συνήθως κάποιο στερεό ή υγρό και η κινητή φάση είναι συνήθως κάποιο υγρό ή αέριο.

Η χρωματογραφία όπως προαναφέρθηκε βασίζεται στην αρχή της κατανομής των συστατικών του μίγματος μεταξύ δύο φάσεων, μιας κινητής και μιας στατικής, που πρακτικά δεν αναμειγνύονται. Ουσίες που κατανέμονται περισσότερο στην κινητή φάση διαχωρίζονται διαδοχικά από άλλες που κατανέμονται περισσότερο στη στατική φάση. Ο διαχωρισμός βασίζεται στις διαφορές των φυσικοχημικών ιδιοτήτων των συστατικών ενός μίγματος όπως είναι η πολικότητα, το μέγεθος των μορίων, το σημείο ζέσεως κ.ά. Οι διαφορές αυτές διαφοροποιούν την φυσικοχημική συγγένεια κάθε συστατικού ως προς τις δύο φάσεις της χρωματογραφικής στήλης (της στατικής και της κινητής).

Ισχύει ότι

$$K = C_s/C_m \quad (\text{Σχέση 2.1})$$

K: Συντελεστής Κατανομής

C_s: Συγκέντρωση της ουσίας στη στατική φάση

C_m: Συγκέντρωση της ουσίας στην κινητή φάση

2.1.2. ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ

Οι χρωματογραφικές τεχνικές ανάλυσης κατατάσσονται σε δυο μεγάλες κατηγορίες.

Στις **κλασικές τεχνικές** στις οποίες υπάγονται

- Χρωματογραφία Στήλης (Column Chromatography, C.C.)
- Χρωματογραφία Λεπτής Στοιβάδας (Thin Layer Chromatography, T.L.C.)
- Χρωματογραφία σε Χαρτί (Paper Chromatography, P.C.)

Και στις **ενόργανες τεχνικές** στις οποίες ανήκουν

- Αέρια Χρωματογραφία (Gas Chromatography, G.C.)
- Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Πίεσης (High Pressure Liquid Chromatography, HPLC)

Ειδικότερα όσον αφορά τη **Χρωματογραφία Στήλης** (Column Chromatography, C.C.) πρωτοαναπτύχθηκε στις αρχές του 20^{ου} αιώνα για διαχωρισμό των χλωροφυλλών. Η **στατική φάση** ήταν CaCO_3 , το **μέσο** γυάλινη στήλη και η **κινητή φάση** πετρελαϊκός αιθέρας .

Στην περίπτωση της **Χρωματογραφίας Λεπτής Στοιβάδας** (Thin Layer Chromatography, T.L.C.) η **στατική φάση** είναι οξείδιο του πυριτίου ή του αργιλίου (SiO_2 ή Al_2O_3) ,η **μορφή της στατικής φάσης** είναι λεπτή στοιβάδα πάνω σε γυάλινο ή πλαστικό πλακίδιο, η **κινητή φάση** είναι διαλύτης ή σύστημα διαλυτών και **ο μηχανισμός διαχωρισμού** είναι προσρόφηση, διαλυτότητα και κατανομή.

Η **Χρωματογραφία σε Χαρτί** (Paper Chromatography, P.C.) ομοιάζει με τη Χρωματογραφία Λεπτής Στοιβάδας στο ότι η **κινητή φάση** είναι διαλύτης ή σύστημα διαλυτών αλλά διαφέρει στο ότι η **στατική φάση** πάνω στην οποία αναπτύσσεται το χρωματογράφημα είναι χαρτί.

Στην **Αέρια Χρωματογραφία** (Gas Chromatography, G.C.) η **στατική φάση** είναι είτε στερεό, είτε υγρό, σε στερεό φορέα ή σε τριχοειδή στήλη και η **κινητή φάση** είναι αέριο.

Στην **Υγρή Χρωματογραφία** (High Pressure Liquid Chromatography, HPLC) η **στατική φάση** είναι στερεό πορώδες υλικό ή υγρό καθηλωμένο σε στερεό υπόστρωμα, και η **κινητή φάση** είναι υγρό.

2.2. ΑΕΡΙΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ

2.2.1. ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η αέρια χρωματογραφία αποτελεί μια εκ των δυο ενόργανων χρωματογραφικών μεθόδων ανάλυσης, που χρησιμοποιείται για το διαχωρισμό συστατικών από πολύπλοκα μίγματα χημικών ενώσεων. Ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται μέσω της κατανομής των συστατικών μεταξύ δύο φάσεων, μιας στατικής και μιας κινητής (**Πίνακας 2.2**). Πιο συγκεκριμένα ο διαχωρισμός οφείλεται στην κίνηση των συστατικών μέσα στη στήλη με διαφορετικές ταχύτητες που εξαρτώνται από τις διαφορετικές τάσεις ατμών και αλληλεπιδράσεις τους με τη στατική φάση. Η **στατική φάση** είναι είτε στερεό, είτε υγρό, σε στερεό φορέα ή σε τριχοειδή στήλη και η **κινητή φάση** είναι αέριο. Απαραίτητη προϋπόθεση για την εφαρμογή αυτής της μεθόδου είναι οι υπό εξέταση ουσίες να είναι πτητικές ή να μετατρέπονται σε πτητικά παράγωγα με τα κατάλληλα αντιδραστήρια.

Πίνακας 2.2 Τύποι αέριας χρωματογραφίας

| ΚΙΝΗΤΗ ΦΑΣΗ | ΣΤΑΤΙΚΗ ΦΑΣΗ | ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΥ | ΜΟΡΦΗ ΣΤΑΤΙΚΗΣ ΦΑΣΗΣ | ΤΕΧΝΙΚΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑ ΦΙΑΣ |
|----------------|--|---------------------------|-----------------------------------|---|
| Αέριο | Στερεό | Προσρόφηση | Στήλη | Αέρια Στερεή Χρωματογραφία GSC |
| Αέριο | Στερεό | Μοριακός Αποκλεισμός | Στήλη | Αέρια Στερεή Χρωματογραφία GSC |
| Αέριο | Υγρό σε στερεό φορέα ή τριχοειδή στήλη | Κατανομή | Στήλη ή Τριχοειδής στήλη | Αέρια Υγρή Χρωματογραφία GLC |

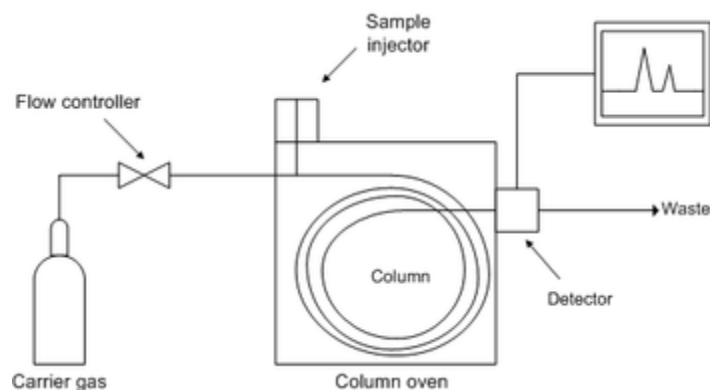
2.2.2.ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ

Ο αέριος χρωματογράφος αποτελείται από τα ακόλουθα μέρη (**Εικόνα 2.2**):

- Οβίδα ή φιάλη φέροντος αερίου (κινητής φάσης),
- Ρυθμιστής πίεσης - Ροόμετρο
- Σύστημα εισαγωγής δείγματος
- Θερμοστατούμενος κλίβανος, Στήλη χρωματογραφίας
- Ανιχνευτής, Ενισχυτής
- Καταγραφέας ή ηλεκτρονικός υπολογιστής - εκτυπωτής



Εικόνα 2.1 Αέριος χρωματογράφος



Εικόνα 2.2 Μέρη αέριου χρωματογράφου

Ειδικότερα το **φέρων αέριο** που αποτελεί την κινητή φάση πρέπει να είναι αδρανές και να μην αντιδρά με τη στατική φάση ή με τις ουσίες που πρόκειται να διαχωριστούν. Χρησιμοποιούνται κυρίως **ήλιο (He)**, άζωτο (N_2), και αργό (Ar). Η επιλογή του φέροντος αερίου γίνεται με βάση το τύπο του χρησιμοποιούμενου ανιχνευτή.

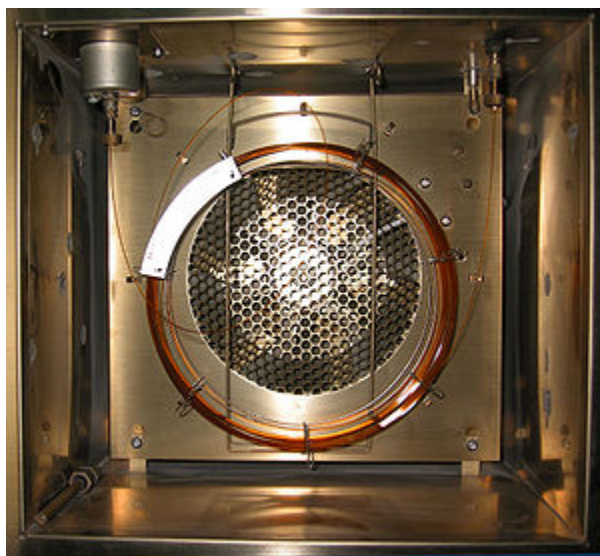
Όσον αφορά το **ρυθμιστή πίεσης ή ροόμετρο** χρησιμεύει για να ρυθμίζει την πίεση από τις 100-200 atm που επικρατούν στη φιάλη στις 1-3 atm που πρέπει να υπάρχουν στην είσοδο της στήλης. Στις πληρωμένες στήλες (packed columns) η ροή αερίου είναι 10-60 mL/min ενώ όταν χρησιμοποιούνται τριχοειδής στήλες (capillary columns) η ροή είναι 1-6 mL/min.

Το **σύστημα εισαγωγής του δείγματος** αποτελείται από μια μικροσύριγγα με την οποία πραγματοποιείται η ένεση και το θάλαμο εξαέρωσης εντός του οποίου εισάγεται το δείγμα και εξαερώνεται. Ο όγκος του δείγματος κυμαίνεται μεταξύ 0,5-2 mL για τα αέρια και 1-10 μ L για τα υγρά. Το μέγεθος του δείγματος καθορίζεται από τη διαθέσιμη ποσότητα αυτού, τη χωρητικότητα της στήλης, την ευαισθησία ανιχνευτή.

Η **στήλη** βρίσκεται εντός ενός θερμοστατούμενου κλιβάνου. Η θερμοκρασία είτε είναι σταθερή κατά τη διάρκεια της ανάλυσης (ισόθερμη ανάλυση), είτε μεταβάλλεται κατά τη διάρκεια της ανάλυσης (**διαβαθμισμένη ανάλυση** από 50°C-250°C). Η στήλη αποτελείται από έναν επιμήκη σωλήνα με μορφή σπειράματος. Το υλικό κατασκευής του είναι ανοξείδωτος χάλυβας, γυαλί, πλαστικό. Στην περίπτωση των πληρωμένων στηλών (packed columns) το μήκος τους είναι 1-3 m και η διάμετρος τους 3-10 mm. Αντίστοιχα στις τριχοειδείς στήλες (capillary columns) το μήκος τους κυμαίνεται στα 10-50 m και διάμετρος τους στα 0,2-1,2 mm.

Οι πληρωμένες στήλες (packed columns) έχουν ως στατική φάση κάποιο υγρό που συγκρατείται πάνω σε αδρανές υλικό. Τα πιο συνηθισμένα αδρανή υλικά είναι το Chromosorb P, το Chromosorb W, το Chromosorb G.

Οι **τριχοειδείς** στήλες (capillary columns) διακρίνονται στις WCOT ή Wall Coated Open Tubular (υγρή στατική φάση, συγκρατείται απ' ευθείας στα τοιχώματα του σωλήνα, με τη μορφή λεπτού υμενίου πάχους 1-3 μ m),στις SCOT ή Support Coated Open Tubular(υγρή στατική φάση εμποτισμένη σε υπόστρωμα που καλύπτει την εσωτερική επιφάνεια του σωλήνα) και στις μικροστήλες PLOT ή Porous Layer Open Tubular (στερεή στατική φάση, η οποία είναι ένα προσροφητικό υλικό, στην εσωτερική επιφάνεια του τριχοειδούς σωλήνα). Οι στήλες αυτές παρά την πολύ μικρή χωρητικότητά τους εν τούτοις πλεονεκτούν στο ότι έχουν δυνατότητα χρησιμοποίησης εξαιρετικά μικρού δείγματος (1 μ g) και υψηλή διαχωριστική ικανότητα.



Εικόνα 2.3 Θερμοστατούμενος κλίβανος και στήλη χρωματογραφίας

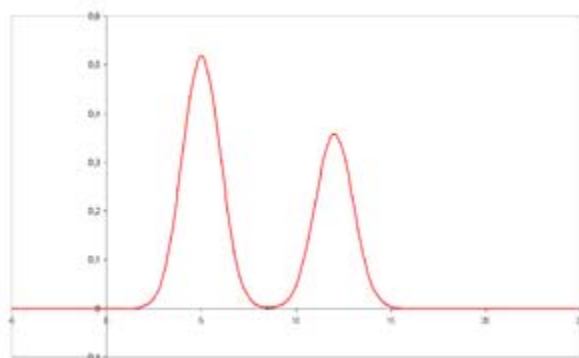
Οι στατικές φάσεις μπορούν να ταξινομηθούν σε τρεις κατηγορίες ανάλογα με την πολικότητα τους. Σε πολικές, σε σχετικά πολικές και σε μη πολικές. Η καταλληλότερη στατική φάση για δεδομένο δείγμα είναι εκείνη η οποία είναι χημικά παρόμοια με αυτό δηλαδή ίδιας πολικότητας.

Οι συνηθέστερα χρησιμοποιούμενοι **ανιχνευτές** είναι τριών τύπων. Ο ανιχνευτής θερμικής αγωγιμότητας (Thermal Conductivity Detector, TCD) όπου όταν περάσει ένα συστατικό παγώνει την αντίσταση και ουσιαστικά προσδιορίζεται το ρεύμα που απαιτείται για να ξανά αυξηθεί η θερμοκρασία της αντίστασης. Ο **ανιχνευτής ιονισμού φλόγας (Flame Ionization Detector, FID)** στον οποίο το δείγμα καίγεται και παράγονται ιόντα τα οποία δίνουν διαφορά δυναμικού που μεταφράζεται σε κορυφές. Ο ανιχνευτής συλλήψεως ηλεκτρονίων (Electron Capture Detector, ECD) όπου τα ηλεκτρόνια φεύγουν από την επιφάνεια των ηλεκτροδίων και μεταναστεύουν στην ουσία οπότε προσδιορίζεται το έλλειμμα στην επιφάνεια των ηλεκτροδίων.

Ο **ενισχυτής** χρησιμοποιείται για ενίσχυση του σήματος, μάλιστα το πηλίκο Σήμα/Θόρυβος πρέπει να έχει τιμή πάνω από 2.

Τέλος υπάρχει **H/Y** που λαμβάνει και επεξεργάζεται το φάσμα.

Η απεικόνιση των πληροφοριών που λαμβάνονται από τις αναλύσεις στον αέριο χρωματογράφο δίνεται με τη μορφή φασμάτων. Ένα παράδειγμα φάσματος είναι το ακόλουθο. (**Εικόνα 2.4**)



Εικόνα 2.4 Παράδειγμα φάσματος χρωματογράφου

Η **ερμηνεία του προκύπτοντος φάσματος** στηρίζεται στη σύγκριση του tR_x (retention time ή χρόνου συγκράτησης της άγνωστης ουσίας) με το tR_s συγκεκριμένης πρότυπης ουσίας.

Ως **χρόνος συγκράτησης** ορίζεται το χρονικό διάστημα που μεσολαβεί από τη στιγμή της ένεσης έως και τη στιγμή λήψης του χρωματογραφήματος. Ο χρόνος συγκράτησης για όμοιες συνθήκες ανάλυσης είναι συγκεκριμένος για κάθε συστατικό. Ο χρόνος συγκράτησης όμως (retention time) από μόνος του δεν μπορεί να ταυτοποιήσει ένα συστατικό. Για να γίνει ταυτοποίηση απαιτείται Φασματοόμετρο Μαζών (Mass spectrometer).

2.2.3. ΧΡΗΣΕΙΣ

Η αεριοχρωματογραφία λόγω των πολλαπλών πλεονεκτημάτων της χρησιμοποιείται για το διαχωρισμό των συστατικών πολύπλοκων δειγμάτων, τον ποσοτικό προσδιορισμό, τον ποιοτικό προσδιορισμό - ταυτοποίηση - αν συνδυαστεί με φασματομετρία μαζών, τον έλεγχο της νοθείας ή καθαρότητας κ.α. Μπορεί να εφαρμοσθεί στο 95% τουλάχιστον των οργανικών ενώσεων, αρκεί οι εξεταζόμενες ουσίες να είναι πτητικές ή να μετατρέπονται σε πτητικά παράγωγα με κατάλληλα αντιδραστήρια .

ΜΕΡΟΣ ΤΡΙΤΟ : ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3.1. ΥΛΙΚΑ

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν για την εκτέλεση του πειράματος ήταν

- ζελατίνη
- λιναλόλη (linalool)
- λιμονένιο (limonene)
- βουτυρικός αιθυλεστέρας (ethyl butyrate)
- οξικός ισοβουτυλεστέρας (isobutyl acetate)
- οξικός ισοπεντυλεστέρας (isopentyl acetate)
- οξικός βουτυλεστέρας (butyl acetate)
- οξικός πεντυλεστέρας (pentyl acetate)
- οξικός εξυλεστέρας (hexyl acetate)
- απιονισμένο νερό
- ακετόνη για τον καθαρισμό της σύριγγας
- διχλωρομεθάνιο για τα πρότυπα διαλύματα κάθε αρωματικής ουσίας.

3.2. ΣΚΕΥΗ

Τα σκεύη που χρησιμοποιήθηκαν για τη διενέργεια του πειράματος ήταν τα ακόλουθα

- μπουκάλι των 500 mL με βιδωτό καπάκι και μαγνητάκια
- εστία με μαγνητικό αναδευτήρα
- ποτήρι ζέσεως των 500 mL
- ζυγός
- σπάτουλα
- θερμόμετρο
- σταγονόμετρο
- σύριγγες για την προσθήκη του αρωματικού στην πηκτή (100μL)
- Gas tight σύριγγες για την ένεση του αέριου δείγματος καθώς και του υγρού προτύπου στη GC
- ηλεκτρονική πιπέτα των 100 μL για την παρασκευή των πρότυπων αρωματικών διαλυμάτων σε διχλωρομεθάνιο
- μπουκαλάκια των 40 mL με καπάκια gas-tight
- υδατόλουτρο
- ογκομετρικές φιάλες των 10mL για παρασκευή των πρότυπων αρωματικών διαλυμάτων
- αέριος χρωματογράφος (GC-FID)

3.3. ΣΚΟΠΟΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ

Σκοπός αυτού του πειράματος ήταν να προσδιοριστεί κατά πόσο μια σειρά από αρωματικές ουσίες, που διαφέρουν στην υδροφοβικότητα, στο μήκος της ανθρακικής αλυσίδας και στη στερεοδομή συγκρατήθηκαν από πηκτές ζελατίνης διαφόρων συγκεντρώσεων. Η μελέτη της απελευθέρωσης αρωμάτων από τα υποστρώματα βιοπολυμερών έγινε με την τεχνική της «**Στατικής Ανάλυσης του Υπερκείμενου Χώρου**»(Static Headspace Analysis) με τη βοήθεια της οποίας υπολογίζεται ο **συντελεστής κατανομής (K_{air} /production partition coefficient)** μεταξύ της αέριας φάσης και του υποστρώματος του υπό εξέταση αρωματικού .

Η συγκέντρωση του κάθε αρωματικού στην αέρια φάση υπολογίστηκε με τη βοήθεια **καμπυλών αναφοράς** που προέκυψαν από την ανάλυση δειγμάτων γνωστής συγκέντρωσης έκαστης αρωματικής ουσίας.

3.4. ΕΚΤΕΛΕΣΗ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ

Για τους σκοπούς του πειράματος, φτιάχτηκε μια σειρά **πηκτών ζελατίνης** με συγκεντρώσεις **2,5%,5%,10%** και **20%κ.β.** . Η απαιτούμενη ποσότητα ζελατίνης προστέθηκε στο μπουκαλάκι με βιδωτό πώμα μαζί με το απαραίτητο νερό και το μίγμα αφέθηκε σε θερμοκρασία δωματίου για 45 λεπτά προκειμένου να διαβραχεί η ζελατίνη από το νερό. Ακολούθως τοποθετήθηκε σε υδρόλουτρο ρυθμισμένο στους 60°C. Το μίγμα αναδεύτηκε μέχρι να διαλυθεί η ζελατίνη ενώ αν χρειαζόταν (εξαιτίας της εξάτμισης του νερού) γινόταν ρύθμιση του βάρους.

Στα παραπάνω διαλύματα, αφού έπεσε η θερμοκρασία στους 50 °C, προστέθηκαν **100 μL αρωματικής ουσίας** και ακολούθησε ανάδευση επί 2 min με κλειστό πώμα για να διασπαρεί το αρωματικό. Κατόπιν τα διαλύματα μοιράστηκαν σε ειδικά μπουκαλάκια των 40 ml με καπάκια gas tight. Στο κάθε μπουκαλάκι προστέθηκε ποσότητα **διαλύματος ίση με 10 g**. Για κάθε δείγμα χρησιμοποιήθηκαν 3 μπουκαλάκια.

Για τη μελέτη της συγκράτησης του αρωματικού **ελήφθησαν με σύριγγα 500μL** από τον **υπερκείμενο χώρο σε κάθε μπουκαλάκι** και ακολούθησε ένεση

στον αέριο χρωματογράφο. Η καταγραφή των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με το λογισμικό CHROMCARD (CE Instruments). Το φέρον αέριο ήταν το ήλιο, με ροή 135 KPa. Ο διαχωρισμός έγινε σε στήλη Equity 5 (30m x 0,25mm, df=0,25μm). Το θερμοκρασιακό πρόγραμμα του φούρνου ξεκινούσε από τους 40 °C και ανέβαινε στους 250 °C με ταχύτητα 4 °C/min, όπου παρέμενε για 5min.

Πριν τη λήψη της ένεσης, τα δείγματα διατηρήθηκαν επί **24 h στους 37°C** μέσα σε υδατόλουτρο ώστε να επέλθει θερμοδυναμική ισορροπία . Επίσης ειδικά για την περίπτωση της λιναλόλης τα δείγματα τοποθετήθηκαν τόσο στους 37°C όσο και στους 5°C επί 24 h μέχρι επίτευξης της θερμοδυναμικής ισορροπίας .

Για την κατασκευή της κάθε **πρότυπης καμπύλης**, η οποία συσχετίζει τιμές εμβαδών από τις μετρήσεις με GC με γνωστές συγκεντρώσεις αρωματικού, παρασκευάστηκαν διαλύματα έκαστης αρωματικής ουσίας εντός διχλωρομεθανίου σε κατάλληλες συγκεντρώσεις. Ποσότητα **1 μL υγρού πρότυπου** διαλύματος ελήφθη με σύριγγα και ακολούθησε ένεση στον αέριο χρωματογράφο.



Εικόνα 3.1 Δείγματα

3.5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.5.1. ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΠΡΟΤΥΠΩΝ ΚΑΜΠΥΛΩΝ

Με βάση τις μετρήσεις από τα πρότυπα διαλύματα κάθε αρωματικού προκύπτουν οι αντίστοιχες πρότυπες καμπύλες. Αυτές δείχνουν τη συσχέτιση μεταξύ εμβαδού κορυφής και συγκέντρωσης αρωματικού. Από τις πρότυπες καμπύλες εξάγονται και οι σχετικές εξισώσεις οι οποίες παρουσιάζονται στον ακόλουθο συγκεντρωτικό πίνακα (Πίνακας 3.1)

Πίνακας 3.1 Εξισώσεις από τις πρότυπες καμπύλες των αρωματικών ουσιών

| ΟΝΟΜΑ ΑΡΩΜΑΤΙΚΟΥ | ΕΞΙΣΩΣΗ | R ² |
|-------------------------|--------------------|----------------|
| Λιναλόλη | $y=197199x-2,5601$ | 0,9850 |
| Βουτυρικός αιθυλεστέρας | $y=94388x-11,563$ | 0,9929 |
| Λιμονένιο | $y=144831x+21,487$ | 0,9905 |
| Οξικός ισοβουτυλεστέρας | $y=99748x-47,341$ | 0,9910 |
| Οξικός ισοπεντυλεστέρας | $y=122638x-57,632$ | 0,9541 |
| Οξικός βουτυλεστέρας | $y=139961x+34,15$ | 0,9986 |
| Οξικός πεντυλεστέρας | $y=142505x+43,046$ | 0,9919 |
| Οξικός εξυλεστέρας | $y=226936x-0,0461$ | 0,9945 |

3.5.2. ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Γενικά η συγκράτηση του αρώματος από πρωτεϊνικά υποστρώματα επηρεάζονται από έναν αριθμό παραμέτρων όπως η υδροφοβικότητα, η διαλυτότητα στο νερό, και η πτητικότητα.(Korjar et al 2008).Επιπρόσθετα οι δομικές ιδιότητες όπως το μήκος της αλυσίδας ,οι διακλαδώσεις και η παρουσία και η θέση χαρακτηριστικών ομάδων είναι επίσης σημαντικά (Hansson,Luefven & van Ruth, 2003). Όσον αφορά στο υπόστρωμα ο τύπος και η συγκέντρωση της πρωτεΐνης του υποστρώματος είναι επίσης μεγάλης σημασίας και επηρεάζει τις μηχανικές ιδιότητες (Evageliou et al., 2011).

Σαν πρώτο στάδιο στην ερευνά μας μελετήθηκε η **επίδραση της θερμοκρασίας** εξισορρόπησης πριν την ανάλυση. Δείγματα ζελατίνης (συγκέντρωσης 2,5%,5%,10%,20%κ.β.) εμπλουτισμένα με λιναλόλη (1000ppm) αφέθηκαν να έρθουν σε ισορροπία επί 24 h στους 5 °C και τους 37 °C. Και στα δυο ο **συντελεστής κατανομής (K_a/biopol)** και το **ποσοστό συγκράτησης (R%)** υπολογίστηκαν σύμφωνα με τις ακόλουθες **εξισώσεις 3.1** και **3.2**:

$$K_{a/biopol} = \frac{C_{air}^f}{C_{biopol}^f} \quad (\text{Σχέση 3.1})$$

$$R\% = \left(1 - \frac{K_{a/biopol}}{K_{a/water}}\right) \times 100 \quad (\text{Σχέση 3.2})$$

Όπου:

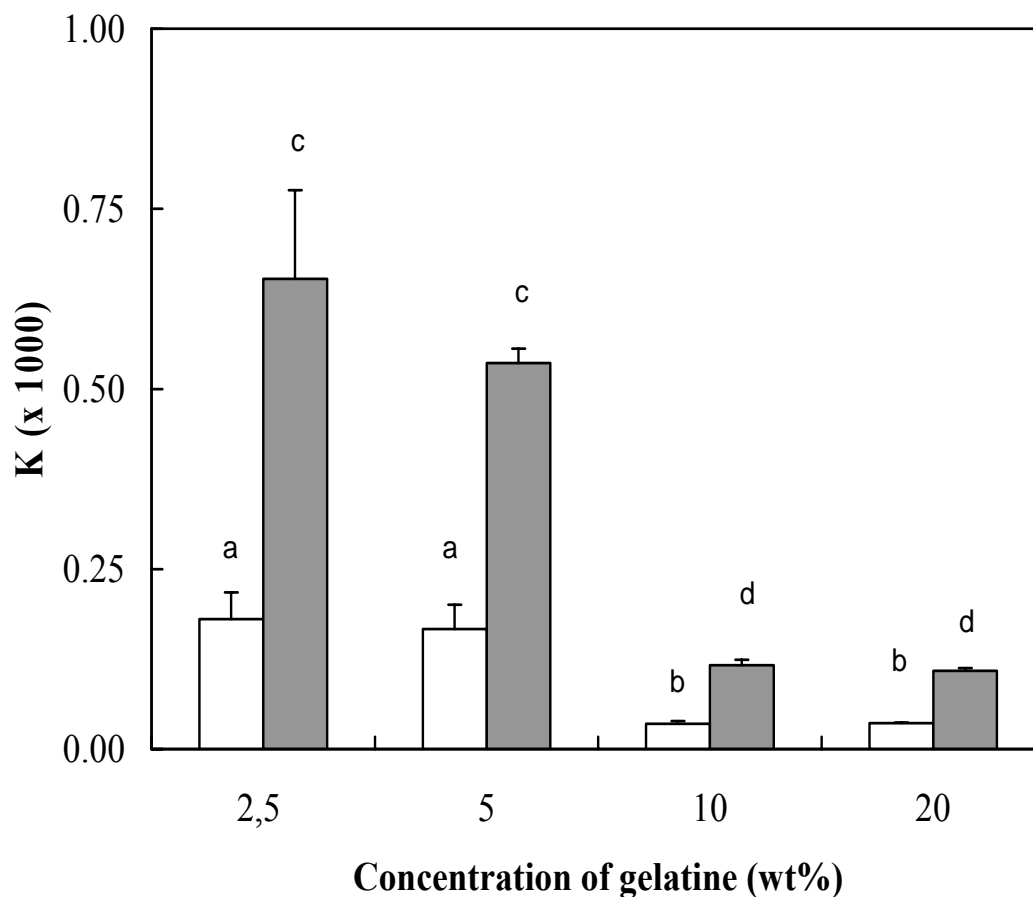
K_{biopol}^a ο συντελεστής κατανομής μεταξύ της αέριας φάσης και του βιοπολυμερούς του υπό εξέταση αρωματικού

C_{air}^f η συγκέντρωση του αρωματικού στην αέρια φάση (w/w)

C_{biopol}^f η συγκέντρωση του αρωματικού στο βιοπολυμερές ή υπόστρωμα (w/w)

K_{water}^a ο συντελεστής κατανομής μεταξύ της αέριας φάσης και του νερού του υπό εξέταση αρωματικού

Οι αντίστοιχες τιμές παρουσιάζονται στο **γράφημα 3.1** και τον **πίνακα 3.2** αντίστοιχα



Γράφημα 3.1 Συντελεστής κατανομής αέριας φάσης/βιοπολυμερούς της λιναλόλης σε πηκτές ζελατίνης που αφέθηκαν για εξισορρόπηση επί 24h στους 5°C (□) και 37°C (■)

*: Τιμές με διαφορετικούς εκθέτες είναι σημαντικά διαφορετικές ($P < 0.05$)

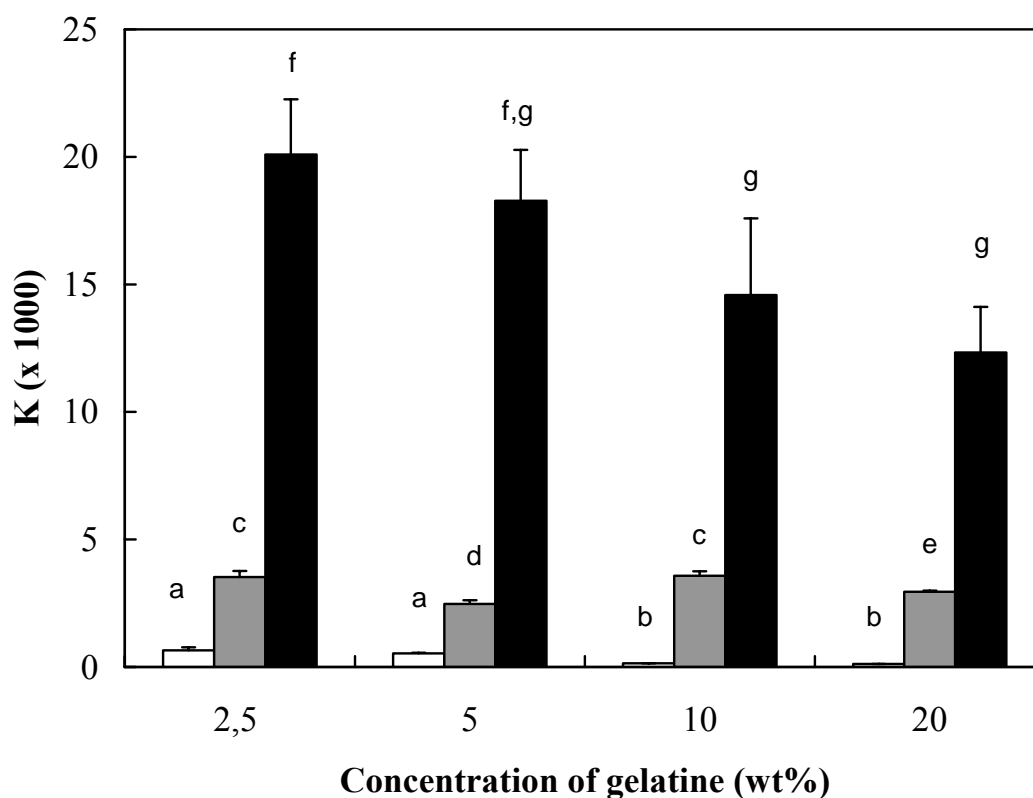
Η πρώτη παρατήρηση ήταν ότι και στις δυο θερμοκρασίες στην περίπτωση της λιναλόλης οι τιμές του συντελεστή κατανομής μειώθηκαν όσο η συγκέντρωση της ζελατίνης αυξανόταν. Επιπρόσθετα η απελευθέρωση του αρώματος ήταν μεγαλύτερη σε υψηλότερη θερμοκρασία σε όλο το εύρος συγκέντρωσης της ζελατίνης. Οι τιμές του ποσοστού συγκράτησης για χαμηλότερες θερμοκρασίες ήταν

αρνητικές για τα υποστρώματα με συγκέντρωση ζελατίνης 2.5 και 5 % κ.β. δείχνοντας μια τάση αυτών των δυο υποστρωμάτων να απελευθερώνουν λιναλόλη. Οι εναπομείνουσες δυο συγκεντρώσεις (10 και 20% κ.β.) έδωσαν θετικές τιμές ποσοστού συγκράτησης. Θετικές τιμές παρατηρήθηκαν επίσης για όλα τα υποστρώματα στην υψηλότερη θερμοκρασία.

Πίνακας 3.2 Ποσοστό συγκράτησης R (%) για πηκτές ζελατίνης (2.5, 5, 10 και 20 κ.β.%) παρουσία διαφόρων αρωματικών συστατικών

| Αρωματικό συστατικό | R (%) | | | |
|----------------------------|----------|--------|---------|---------|
| | 2.5 κ.β% | 5 κ.β% | 10 κ.β% | 20 κ.β% |
| Λιναλόλη (5°C) | -12.85 | -4.35 | 78.10 | 77.46 |
| Λιναλόλη(37°C) | 12.97 | 28.57 | 84.47 | 85.48 |
| Λιμονένιο | -79.44 | -63.21 | -30.18 | -10.09 |
| Βουτυρικός αιθυλεστέρας | 7.95 | 29.81 | 2.84 | 16.21 |
| Οξικός βουτυλεστέρας | -6.30 | -11.09 | -5.82 | 6.28 |
| Οξικός ισοβουτυλεστέρας | -4.58 | 10.26 | 10.09 | 19.21 |
| Οξικός πεντυλεστέρας | -36.77 | -14.80 | -10.94 | -0.81 |
| Οξικός ισοπεντυλεστέρας | -39.40 | -24.69 | -17.69 | 0.43 |
| Οξικός εξυλεστέρας | 15.28 | 12.39 | 4.45 | 3.43 |

Το επόμενο βήμα είχε σκοπό να διερευνηθεί η επίδραση της υδροφοβικότητας όπου τρεις πτητικές ουσίες που διέφεραν στο logP (λιμονένιο, λιναλόλη, βουτυρικός αιθυλεστέρας) προστέθηκαν στα ίδια υποστρώματα ζελατίνης. Οι υπολογισμένες τιμές του συντελεστή κατανομής και το ποσοστό συγκράτησης απεικονίζονται στην **γράφημα 3.2** και τον **πίνακα 3.2** αντίστοιχα.



Γράφημα 3.2 Συντελεστής κατανομής αέριας φάσης/βιοπολυμερούς της λιναλόλης (□), του βουτυρικού αιθυλεστέρα (▒) και στο λιμονένιο (■) σε πηκτές ζελατίνης που αφέθηκαν για εξισορρόπηση επί 24 h στους 37 °C

*: Τιμές με διαφορετικούς εκθέτες είναι σημαντικά διαφορετικές ($P < 0.05$)

Η απελευθέρωση του αρώματος όπως φαίνεται και από το συντελεστή κατανομής ήταν μεγαλύτερη για το λιμονένιο, μικρότερη για τον βουτυρικό αιθυλεστέρα και ακόμα μικρότερη για τη λιναλόλη. Η ίδια σειρά παρατηρείται για όλα τα υποστρώματα ζελατίνης. Οι τιμές των ποσοστών συγκράτησης ήταν αρνητικές για

όλες τις συγκεντρώσεις λιμονενίου ενώ θετικές τιμές υπολογίστηκαν για όλα τα υποστρώματα που εμπλουτίστηκαν με βουτυρικό αιθυλεστέρα .

Σε αντίστοιχη εργασία όταν οι ίδιες πτητικές προστέθηκαν σε καθαρό νερό και σε σύνθετα προετοιμασμένα δείγματα φρούτων (Savary, Guichard, Doublier & Cayot, 2006) παρατηρήθηκε η ίδια σειρά με την εργασία μας. Οι παραπάνω ερευνητές εξήγησαν τη μεγαλύτερη απελευθέρωση του λιμονενίου με βάση το γεγονός ότι από τα τρία το λιμονένιο ήταν το λιγότερο διαλυτό στο νερό και την ίδια στιγμή το πιο υδροφοβικό. Επιπρόσθετα η υψηλότερη διαλυτότητα της λιναλόλης και του βουτυρικού αιθυλεστέρα μπορούν επίσης να εξηγήσουν τη μικρότερη συγγένεια για την αέρια φάση και συνεπώς το μικρότερο συντελεστή κατανομής. (Juteau, Cayot, Chabanet, Doublier & Guichard, 2004).

Επόμενη κίνηση ήταν να εμπλουτιστούν τα υποστρώματα με έναν αριθμό πτητικών ουσιών που όλες άνηκαν στη χημική κλάση των εστέρων αλλά διέφεραν στο **μήκος της αλυσίδας και τη δομή τους**. Ο οξικός βουτυλ-, πεντυλ- και εξυλεστέρας ήταν οι εστέρες που μελετήθηκαν ούτως ώστε να βρεθεί η επίδραση του αυξανόμενου αριθμού ατόμων άνθρακα στη συγκράτησή τους. Επιπρόσθετα τέθηκαν σε σύγκριση ο οξικός βουτυλ- και πεντυλεστέρας με τα διακλαδισμένα ισόμερή τους οξικό ισοβουτυλ- και οξικό ισοπεντυλεστέρα, αντίστοιχα. Όσον αφορά την υδροφοβικότητα τους ($\log P$) ο **πίνακας 1.2** δείχνει ότι η υδροφοβικότητα αυξάνεται καθώς ο αριθμός των ατόμων άνθρακα αυξάνουν ενώ τα διακλαδισμένα ισόμερη μοιράζονται την ίδια υδροφοβικότητα όπως και τα γραμμικά αντίστοιχα τους. Οι υπολογισμένες παράμετροι βρίσκονται στον **πίνακα 3.2** (ποσοστό συγκράτησης) και στον **πίνακα 3.3** (συντελεστής κατανομής) για τις τέσσερις συγκεντρώσεις ζελατίνης.

Όταν συγκρίνουμε τους γραμμικούς εστέρες με αυξανόμενο μήκος αλυσίδας, η συγκράτηση του αρώματος μειωνόταν ή η απελευθέρωση του αρώματος αυξανόταν (αύξηση του συντελεστή κατανομής) καθώς η υδροφοβικότητα αυξανόταν. Αυτά τα αποτελέσματα έχουν αναφερθεί και από εργασία των Tan and Siebert (2008), όπου διερευνήθηκε ο δεσμός διαφόρων αρωματικών συστατικών, μεταξύ αυτών και εστέρων, με το BSA. Βρήκαν ότι οι αλληλεπιδράσεις τους ήταν κυρίως υδροφοβικές καθώς έγιναν ισχυρότερες με μια αύξηση του μήκους της υδροφοβικής αλυσίδας των εστέρων. Παρόμοιες παρατηρήσεις αναφέρθηκαν για την β-γαλακτογλοβουλίνη και μια σειρά εστέρων (van Ruth and Villeneuve, 2002).

Πίνακας 3.3 Συντελεστής κατανομής (K x1000) για πηκτές ζελατίνης (2.5, 5, 10 και 20 κ.β.%) παρουσία διαφόρων αρωματικών συστατικών

| Αρωματικό συστατικό | K (x1000) | | | |
|----------------------------|--------------------|----------------------|----------------------|---------------------|
| | 2.5 κ.β% | 5 κ.β% | 10 κ.β% | 20 κ.β% |
| Οξικός βουτυλεστέρας | 9.11 ^a | 9.52 ^a | 9.07 ^{a,b} | 8.03 ^b |
| Οξικός ισοβουτυλεστέρας | 24.88 ^a | 21.35 ^{b,e} | 21.39 ^{c,e} | 19.22 ^d |
| Οξικός πεντυλεστέρας | 11.78 ^a | 9.88 ^{b,e} | 9.55 ^{c,e} | 8.68 ^{d,e} |
| Οξικός ισοπεντυλεστέρας | 22.12 ^a | 19.79 ^{a,c} | 18.68 ^{b,c} | 15.80 ^b |
| Οξικός εξυλεστέρας | 13.36 ^a | 13.51 ^a | 13.92 ^a | 13.97 ^a |

Μια ακόμα σημαντική παρατήρηση αφορά στη μεγαλύτερη απελευθέρωση που παρατηρήθηκε στους διακλαδισμένους εστέρες. Ακόμα μια φορά η ίδια τάση παρατηρήθηκε για τα τέσσερα υποστρώματα. Επιπρόσθετα και θετικές και αρνητικές τιμές ποσοστού συγκράτησης υπολογίστηκαν. Στη βιβλιογραφία (Reiners, Nicklaus and Guichard, 2000) διερευνήθηκε η επίδραση διαφορετικών χημικών κλάσεων, διαφορετικών δομικών ιδιοτήτων και ισομέρειας στη σύζευξη αρωματικών ουσιών-BSA χρησιμοποιώντας τη χρωματογραφία συγγένειας. Όσον αφορά στους εστέρες ο συντελεστής σύνδεσης αυξανόταν με αύξηση του αριθμού ατόμων άνθρακα στην αλυσίδα του οξέος (άρα με αύξηση της υδροφοβικότητας τους) που συμφωνεί απόλυτα με τα δεδομένα μας.

Ακόμα μια παράμετρος που μελετήθηκε ήταν η **συγκέντρωση του βιοπολυμερούς** στο υπόστρωμα. Αυτό επίσης έπαιξε σημαντικό ρόλο στην παρατηρούμενη συμπεριφορά όπως φαίνεται στα **γραφήματα 3.1 και 3.2** και στους **πίνακες 3.2 και 3.3**.

Η γενική τάση ήταν ότι αυξημένες συγκεντρώσεις ζελατίνης οδήγησαν σε αυξημένη συγκράτηση αρώματος στο υπόστρωμα ή μειωμένη απελευθέρωση

αρωματικών ουσιών στον υπερκείμενο χώρο. Αυτά τα ευρήματα υποστηρίχθηκαν από έναν αριθμό μελετών που υπάρχουν στη βιβλιογραφία. Για παράδειγμα στην περίπτωση του καζεϊνικού νατρίου και των αιθυλεστέρων (Landy et al., 1995) η συγκράτηση επίσης αυξάνεται με αύξηση της συγκέντρωσης της πρωτεΐνης. Επιπρόσθετα όταν η ζελατίνη χρησιμοποιήθηκε ως υπόστρωμα σε πιο μαλακές πηκτές ζελατίνης τότε απελευθερώθηκαν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις πτητικών συστατικών από ότι σε σκληρότερες πηκτές ζελατίνης (Baek, Linforth, Blake and Taylor, 1999). Η γενική πρόταση είναι ότι αυξημένη ισχύς των πηκτών οδηγεί συνήθως σε μειωμένη απελευθέρωση αρώματος. Οι ίδιες παρατηρήσεις όσον αφορά την ισχύ της πηκτής ζελατίνης και την απελευθέρωση πτητικών συστατικών, μεταξύ αυτών και βουτυρικός αιθυλεστέρας έχουν αναφερθεί και από άλλες έρευνες (Boland et al., 2004 και 2006). Εντούτοις όταν η *trans*-ανηθόλη προστέθηκε σε υποστρώματα ζελατίνης, η συγκέντρωση της ζελατίνης δεν είχε σημαντική επίδραση στην απελευθέρωση του αρώματος (Zafeiropoulou et al., 2010).

Το **ποσοστό της συγκράτησης** επίσης υπολογίστηκε και τόσο θετικές όσο και αρνητικές τιμές προσδιορίστηκαν (δηλαδή ο συντελεστής κατανομής στο υπόστρωμα ήταν χαμηλότερος και υψηλότερος αντίστοιχα από ότι στην περίπτωση του νερού), δείχνοντας ότι ο τύπος των αλληλεπιδράσεων μεταξύ της ζελατίνης και των εστέρων ποικίλουν και εξαρτώνται από τον τύπο και τη φύση του προστιθέμενου πτητικού, σε συνδυασμό με τη συγκέντρωση της ζελατίνης. Επιπρόσθετα και για κάποια από τα υπό εξέταση πτητικά, το ποσοστό συγκράτησης άλλαξε από αρνητικό προς θετικό καθώς η συγκέντρωση της πρωτεΐνης αυξάνεται. Αυτό μπορεί να αποδοθεί στις αλλαγές της φύσης των αλληλεπιδράσεων μεταξύ πρωτεΐνης και πτητικών ουσιών (**Πίνακας 3.2**).

Έρευνες έχουν δείξει ότι η σύνδεση μπορεί να οδηγήσει σε αλλαγές στη διαμόρφωση της πρωτεΐνης (Guichard, 2006). Σε αυτό το θέμα έχει επίσης αναφερθεί (Bylaite et al., 2004) ότι αρωματικά συστατικά με υψηλό συντελεστή *K_{air}/water* επηρεάστηκαν περισσότερο από την παρουσία βιοπολυμερών στο υπόστρωμα πιθανών εξαιτίας ασθενών αλληλεπιδράσεων μεταξύ πολύ υδροφοβικών συστατικών και της αλυσίδας του βιοπολυμερούς. Όσο πιο πτητικοί είναι οι εστέρες, κατά τη διάρκεια του σχηματισμού του δικτύου του πολυμερούς, η απελευθέρωση τους επηρεάζεται περισσότερο. Επιπρόσθετα διαφορετικά υδροκολλοειδή έχουν ως αποτέλεσμα διαφορετικές επιδράσεις στη συγκράτηση αρώματος (Jouquand, Ducruet & Giampaoli, 2004; Jouquand, Ducruet & Le Bail, 2006).

Γενικά όταν μελετάμε τη συγκράτηση αρώματος χρησιμοποιώντας μια σειρά από πτητικές ουσίες και υποστρώματα βιοπολυμερών, η βιβλιογραφία συχνά δείχνει διαφορετικά και μερικές φορές αντικρουόμενα αποτελέσματα. Γι αυτό έχει προταθεί (Tromelin et al., 2010) ότι η απελευθέρωση του αρώματος καθορίζεται όχι μόνο από τις χημικές ομάδες αλλά και από το συνδυασμό των χημικών ιδιοτήτων. Επιπρόσθετα με το παραπάνω, οι πειραματικές συνθήκες είναι επίσης πολύ κρίσιμες.

3.6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η παρούσα εργασία μελέτησε τη συγκράτηση πληθώρας αρωματικών συστατικών από πηκτές ζελατίνης ως υποστρώματα. Διερευνήσαμε το ρόλο της υδροφοβικότητας των αρωματικών συστατικών καθώς και της δομής τους σε συνδυασμό με τη συγκέντρωση των πρωτεϊνών και της πειραματικής θερμοκρασίας στην απελευθέρωση του αρώματος .

Ένα από τα βασικά συμπεράσματα ήταν ότι αυξημένη υδροφοβικότητα (στα πτητικά με ή χωρίς την ίδια χαρακτηριστική ομάδα) οδήγησε σε αυξημένη απελευθέρωση. Διακλαδισμένα πτητικά έδωσαν μεγαλύτερες τιμές συντελεστή κατανομής συνεπώς απελευθερώθηκε περισσότερο αρωματικό στον υπερκείμενο χώρο από ότι τα αντίστοιχα γραμμικά τους .Οι διαφορετικές μηχανικές ιδιότητες των υποστρωμάτων, ως αποτέλεσμα της διαφορετικής συγκέντρωσης πρωτεΐνης στο υπόστρωμα, μπορεί επίσης να επηρέασε τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ πρωτεΐνης-πτητικού. Επιπρόσθετα υψηλότερες πειραματικές θερμοκρασίες οδήγησαν σε μεγαλύτερη απελευθέρωση αρώματος.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ-ΠΗΓΕΣ

- Ευαγγελίου Β. (2006) Εργαστηριακές Σημειώσεις Φυσικοχημείας Τροφίμων, Εκδόσεις Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, Αθήνα.
- Κατινάκης Π. (2004) Βιοχημεία, Εκδόσεις Έμβρυο, Αθήνα.
- Κωμαιτης Μ. (2007) Θέματα Χημείας Τροφίμων- Πανεπιστημιακές Παραδόσεις, Εκδόσεις Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, Αθήνα.
- Πολυσίου Μ., Ταραντίλης Π. (2007) Ενόργανη Ανάλυση Τροφίμων - Πανεπιστημιακές Παραδόσεις, Εκδόσεις Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, Αθήνα.
- McMurry John,(2004) Οργανική Χημεία, Τόμος ΙΙ, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης
- www.wikipedia.gr
- Baek, I., Linforth, R. S. T., Blake, A., & Taylor, A. J. (1999). Sensory perception is related to the rate of change of volatile concentration in-nose during eating of model gels. *Chemical Senses*, 24, 155-160.
- Boland, A. B., Buhr, K., Giannouli, P., & van Ruth, S. M. (2004). Influence of gelatin, starch, pectin and artificial saliva on the release of 11 flavour compounds from model gel systems. *Food Chemistry*, 86, 401-411.
- Boland, A. B., Delahunty, C. M. & van Ruth, S. M. (2006). Influence of the texture of gelatin gels and pectin gels on strawberry flavour release and perception. *Food Chemistry*, 96, 452-460.
- Bylaite, E., Ilgunaite, Z., Meyer, A. S., & Adler-Nissen, J. (2004). Influence of λ-carrageenan on the release of systematic series of volatile flavor compounds from viscous food model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 3542-3549.

- Evageliou, V., Galanaki, P., Gardeli, C., & Komaitis, M. (2011). Retention of ethyl butyrate by gellan gels in the presence of potassium ions. *Food Chemistry*, *126*, 866-869.
- Guichard, E. (2006). Flavour retention and release from protein solutions. *Biotechnology advances*, *24*, 226-229
- Hansson, A., Leufven, A., & van Ruth, A. (2003). Partition and release of 21 aroma compounds during storage of a pectin gel system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*, 2000-2005.
- Juteau, A., Cayot, N., Chabanet, C., Doublier, J.L., & Guichard, E. (2004). Flavour release from polysaccharide gels: different approaches for the determination of kinetic parameters. *Trends in food science and technology*, *15*, 394-402.
- Jouquand, C., Ducruet, V., & Le Bail, P. (2006). Formation of amylase complexes with C6- aroma compounds in starch dispersions and its impact on retention. *Food Chemistry*, *96*, 461-470.
- Kopjar, M., Andriot, I., Saint-Eve, A., Souchon, I., & Guichard, E. (2010). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *90*, 1285-1292.
- Landy, P., Druaux, C., & Voilley, A. (1995). Retention of aroma compounds by proteins in aqueous solution. *Food Chemistry*, *54*(4), 387-392.
- Reiners, J., Nicklaus, S., & Guichard, E. (2000). Interactions between B-lactoglobulin and flavour compounds of different chemical classes. Impact of the protein on the odour perception of vanillin and eugenol. *Lait*, *80*, 347-360
- Savary, G., Guichard, E., Doublier, J-L., & Cayot, N. (2006). Mixtures of aroma compounds: Determination of partition coefficients in complex semi-solid matrices. *Food Research International*, *39*, 372-379

- Tan, Y., & Siebert, K. J. (2007). Modelling bovine serum albumin binding of flavour compounds (alcohols, aldehydes, esters, and ketones) as a function of molecular properties. *Journal of Food Science*, 73(1), 56-63.
- Tromelin, A., Merabtine, Y., Andriot, I., Lubbers, S., & Guichard, E. (2010). Retention-release equilibrium of aroma compounds in polysaccharide gels: study by quantitative structure-activity/ property relationships approach. *Flavour and Fragrance Journal*, 25, 431-442.
- van Ruth, S. M., & Villeneuve, E. (2002). Influence of β -lactoglobulin, pH and presence of other aroma compounds on the air/ liquid partition coefficients of 20 aroma compounds varying in functional group and chain length. *Food Chemistry*, 79, 157-164.
- Zafeiropoulou, T., Evageliou, V., Gardeli, C., Yanniotis, S., Komaitis, M. (2010) Retention of *trans*-anethole by gelatine and starch matrices. *Food Chemistry*, 123, 364–368