

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ



ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ

Π. Μ. Σ. "ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ"

ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

ΧΡΗΣΗ ΥΠΕΡΗΧΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΩΝ

ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΥΝ ΚΥΤΤΑΡΙΝΗ ΜΕ ΣΚΟΠΟ ΤΟΝ ΜΙΚΡΟΕΓΚΛΕΙΣΜΟ

ΚΟΥΡΚΟΥΜΙΝΗΣ

ΜΑΡΙΑ Ι. ΣΑΝΙΔΑ

ΑΘΗΝΑ

2014

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ



ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
Π. Μ. Σ. “ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ”
ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

ΧΡΗΣΗ ΥΠΕΡΗΧΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΩΝ

ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΥΝ ΚΥΤΤΑΡΙΝΗ ΜΕ ΣΚΟΠΟ ΤΟΝ ΜΙΚΡΟΕΓΚΛΕΙΣΜΟ ΚΟΥΡΚΟΥΜΙΝΗΣ

ΜΑΡΙΑ Ι. ΣΑΝΙΔΑ

ΙΩΑΝΝΑ ΜΑΝΤΑΛΑ, ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΙΩΑΝΝΑ ΜΑΝΤΑΛΑ, ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ

ΒΑΣΙΛΙΚΗ ΕΥΑΓΓΕΛΙΟΥ, ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ

ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΣΤΟΦΟΡΟΣ, ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΑΘΗΝΑ
2014

Ευχαριστίες

Η παρούσα μεταπτυχιακή μελέτη πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Μηχανικής Τροφίμων, Επεξεργασίας και Συντήρησης Γεωργικών Προϊόντων του τμήματος Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών υπό την επίβλεψη της Επίκουρου Καθηγήτριας κα Μαντάλα Ιωάννας.

Με την ολοκλήρωση της εργασίας αυτής νιώθω την ανάγκη να εκφράσω τις ευχαριστίες μου σε όσους συνέβαλαν και βοήθησαν στην ολοκλήρωσή της. Καταρχάς, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Επίκουρο Καθηγήτρια και επιβλέπουσα κα Μαντάλα Ιωάννα, που μου ανέθεσε το θέμα και ανέλαβε την εποπτεία της διεξαγωγής της. Επίσης, την ευχαριστώ θερμά για την προθυμία της να μου διαθέσει το χρόνο, τις πολύτιμες γνώσεις και συμβουλές της, σε όλη τη διάρκεια του μεταπτυχιακού προγράμματος.

Δε θα μπορούσα να παραλείψω να ευχαριστήσω τον Αναπληρωτή Καθηγητή κο Στοφόρο Νικόλαο όχι μόνο για την συμμετοχή του στην τριμελή εξεταστική επιτροπή της εργασίας μου αλλά και για την διαθεσιμότητά του να μοιραστεί τις γνώσεις του και το χρόνο του με εμένα και τους συμφοιτητές μου καθόλη τη διάρκεια του μεταπτυχιακού προγράμματος.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω, επίσης, την Επίκουρο Καθηγήτρια κα Ευαγγελίου Βασιλική για τον χρόνο που διέθεσε για την αξιολόγηση της εργασίας μου και για την πολύ καλή συνεργασία με το εργαστήριο της.

Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω την κυρία Προξενιά Νίκη, η οποία σε όλη τη διάρκεια παραγματοποίησης των πειραμάτων ήταν πρόθυμη να με συμβουλευτεί καθώς και τα υπόλοιπα μέλη του Εργαστηρίου Οινολογίας για τη φιλοξενία τους.

Καταλυτικής σημασίας για την ολοκλήρωση της μελέτης μου ήταν η συνεργασία με τα υπόλοιπα μέλη του Εργαστηρίου Μηχανικής Τροφίμων, Επεξεργασίας και Συντήρησης Γεωργικών Προϊόντων.. Πιο συγκεκριμένα ευχαριστώ την υποψήφια διδάκτορα Παξιμαδά Παρασκευή για την εποπτεία των πειραμάτων μου και την συνδρομή της στην συγγραφή της παρούσας μελέτης. Θα ήθελα να ευχαριστήσω ξεχωριστά την συμφοιτήτριά μου Νεολαία Σπηλιοπούλου για την άψογη συνεργασία η οποία ήταν καθοριστικής σημασίας καθώς οι εργασίες μας ήταν συναφείς.

Εν κατακλείδι, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου για την εμπιστοσύνη, την πολύπλευρη υποστήριξη και αρωγή τους που συνιστά την κινητήριο δύναμη για κάθε μου προσπάθεια.

Περίληψη

Στην παρούσα μεταπτυχιακή μελέτη, εξετάστηκαν οι παράγοντες που επηρεάζουν την σταθερότητα των γαλακτωμάτων τύπου έλαιο σε νερό, τόσο όσον αφορά στον διαχωρισμό των φάσεων όσο και στην οξειδωτική σταθερότητά τους. Παράλληλα μελετήθηκε η χρήση της αντιοξειδωτικής ουσίας κουρκουμίνη για την παρεμπόδιση του φαινομένου της οξείδωσης.

Παρασκευάστηκαν γαλακτώματα τύπου έλαιο σε νερό τα οποία ομογενοποιήθηκαν με αναδευτήρα υψηλής ταχύτητας και έπειτα με επεξεργασία υπερήχων. Η σύσταση των γαλακτωμάτων διαφοροποιείται ως προς το είδος και τη συγκέντρωση του σταθεροποιητή και εξετάζεται η επίδρασή τους στη σταθερότητα των γαλακτωμάτων κατά την αποθήκευσή τους στους 5°C για 10 ημέρες, στο μέγεθος των σχηματιζόμενων λιποσφαιρίων, το ιξώδες και την οξείδωσή τους.

Τα γαλακτώματα παρασκευάστηκαν με συγκέντρωση ελαιολάδου 5% w/w, με πρωτεΐνη ορού γάλακτος 5% w/w ως γαλακτωματοποιητή και ως σταθεροποιητές προστέθηκαν τρία διαφορετικά παράγωγα κυτταρίνης, η hydroxypropyl -methyl κυτταρίνη (HPMC) χαμηλού και υψηλού ιξώδους και η καρβοξυμεθυλοκυτταρίνη (CMC). Οι συγκεντρώσεις κυμαίνονται από 0,1 έως 2% w/w.

Η αύξηση της συγκέντρωσης του σταθεροποιητή αύξησε σε όλες τις περιπτώσεις την σταθερότητα και το ιξώδες των γαλακτωμάτων. Το μέγεθος των λιποσφαιρίων δεν φάνηκε να επηρεάζεται από την αύξηση του σταθεροποιητή καθώς τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι ο κυρίαρχος παράγοντας που επηρεάζει τα χαρακτηριστικά του γαλακτώματος είναι το ιξώδες. Παράλληλα, ανεπηρέαστη φάνηκε και η πορεία της οξείδωσης καθώς η πρωτεΐνη συνιστά την σπουδαιότερη ένδειξη χημικής σταθερότητας.

Επιπρόσθετα, επιλέχθηκε να μελετηθεί η δράση της προσθήκης κουρκουμίνης στην οξειδωτική σταθερότητα των γαλακτωμάτων. Η οξείδωση των γαλακτωμάτων εκτιμήθηκε με μετρήσεις των πρωτογενών και των δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης. Τα αποτελέσματα, επιβεβαίωσαν την αντιοξειδωτική δράση της κουρκουμίνης, η οποία σε συγκέντρωση 0,01% w/w ήταν αρκετή για να προσφέρει στατιστικά σημαντική αντιοξειδωτική προστασία στα γαλακτώματα.

Abstract

In this study, factors that affect the physical and oxidative stability of oil-in-water emulsions were investigated. The antioxidant activity of curcumin was also examined.

Oil-in-water emulsions were prepared and homogenized by high speed blender and ultrasound homogenizer. To study the relationship between emulsion stability and polymer emulsifier concentration, the preparation of olive oil emulsions by low viscosity hydroxypropyl methylcellulose (HPMC L), high viscosity hydroxypropyl methylcellulose (HPMC H) and carboxymethyl cellulose was carried out with cellulose concentrations varying from 0,1 to 2% w/w. The stability of the emulsions incorporating cellulose, stored at 5°C was examined by measuring the creaming index during 10 days.

The effect of HPMC L and HPMC H addition on physicochemical properties of 5% whey protein isolate (WPI) stabilized oil-in-water emulsions containing 5% w/w olive oil was investigated by measuring droplet size, viscosity, microstructure, creaming profile and oxidative stability.

In fresh emulsions, addition of HPMC L and HPMC H at different concentrations did not show any significant effect on the surface-area-average droplet size ($d_{3,2}$). However, emulsion microstructure and creaming profile indicated that the degree of flocculation and the phase separation is a function of celluloses concentrations. As expected, the celluloses increased the viscosity of the emulsions and consequently decreased the creaming velocity of the emulsions.

Lipid oxidation of the emulsions was not affected by the addition of 1% HPMC L. The excess of WPI act as to scavenge free radicals and protect oil droplets. Furthermore, addition of 0,01% w/w curcumin inhibited lipid oxidation. The results indicate that curcumin was an effective antioxidant to prevent the development of oxidation products.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1.	Γαλακτώματα	3
1.1	Εισαγωγή στα γαλακτώματα	3
1.2	Δομή γαλακτωμάτων	3
1.3	Παρασκευή γαλακτωμάτων	5
1.4	Συσκευές ομογενοποίησης	6
1.5	Μηχανισμοί αποσταθεροποίησης γαλακτωμάτων	11
1.5.1	Αποκορύφωση (Creaming).....	11
1.5.2	Κροκίδωση (Flocculation).....	13
1.5.3	Συσσωμάτωση (Coalescence)	14
1.5.4	Αναστροφή φάσης (Phase inversion).....	15
2.	Σύσταση Γαλακτωμάτων	17
2.1	Γαλακτωματοποιητές.....	17
2.1.1	Γαλακτωματοποιητές μεγάλου μοριακού βάρους.....	20
2.1.2	Γαλακτωματοποιητές μικρού μοριακού βάρους	21
2.2	Υδροκολλοειδή.....	22
2.2.1	Παράγωγα κυτταρίνης.....	23
2.3	Λιπίδια	25
2.3.1	Τριγλυκερίδια – Λιπαρά οξέα	25
2.3.2	Φυτικά έλαια – Ελαιόλαδο	26
2.3.3	Οξείδωση.....	29
2.3.4	Μέθοδοι μέτρησης των προϊόντων της οξείδωσης των λιπαρών οξέων	32
2.4	Αντιοξειδωτικές ουσίες	35
2.4.1	Κουρκουμίνη	37
3.	Ιξώδες.....	40
4.	Πειραματικό Μέρος	42

4.1	Υλικά	42
4.2	Πειραματική διαδικασία	44
4.2.1	Παρασκευή γαλακτωμάτων.....	44
4.2.2	Προσθήκη κουρκουμίνης στα γαλακτώματα	44
4.3	Μέθοδοι Ανάλυσης.....	46
4.3.1	Εκτίμηση της σταθερότητας των γαλακτωμάτων κατά την αποθήκευση υπό ψύξη.....	46
4.3.2	Παρατήρηση σε οπτικό μικροσκόπιο	47
4.3.3	Μετρήσεις του μεγέθους των σταγονιδίων	47
4.3.4	Μέτρηση του ιξώδους	48
4.3.5	Μέθοδοι μέτρησης της οξείδωσης	49
5.	Αποτελέσματα.....	51
5.1	Επίδραση είδους και συγκέντρωσης κυτταρίνης στην σταθερότητα των γαλακτωμάτων	51
5.2	Παρατήρηση της μικροδομής των γαλακτωμάτων	59
5.3	Επίδραση της συγκέντρωσης κυτταρίνης στο μέγεθος των λιποσφαιρίων	62
5.4	Επίδραση της συγκέντρωσης της κυτταρίνης στο ιξώδες του γαλακτώματος	67
5.5	Επίδραση της σύστασης και της προσθήκης κουρκουμίνης στην οξείδωση των γαλακτωμάτων	71
5.5.1	Επίδραση της συγκέντρωσης της κυτταρίνης HPMC Low	73
5.5.2	Επίδραση της κουρκουμίνης	75
	Συμπεράσματα	77
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	78

1. Γαλακτώματα

1.1 Εισαγωγή στα γαλακτώματα

Πολλά τρόφιμα φυσικά ή επεξεργασμένα αποτελούνται εξ' ολοκλήρου ή περιέχουν γαλακτώματα ή έχουν υποστεί γαλακτωματοποίηση σε κάποιο στάδιο της επεξεργασίας τους. Το γάλα είναι το πιο κοινό παράδειγμα ενός φυσικού γαλακτώματος. Οι μαγιονέζες, οι κρέμες, τα παγωτά, το βούτυρο, οι μαργαρίνες, οι παιδικές τροφές είναι παραδείγματα γαλακτωμάτων επεξεργασμένων προϊόντων. Επίσης πολλά προϊόντα σε σκόνη όπως σάλτσες ή πολλά επιδόρπια σε μορφή σκόνης σε κάποιο από τα στάδια επεξεργασίας τους γαλακτωματοποιήθηκαν πριν πάρουν την τελική τους μορφή.

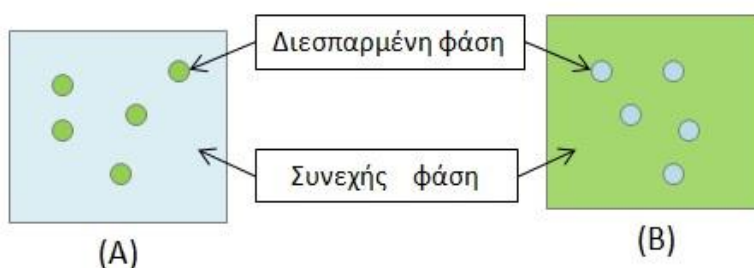
Η ποικιλομορφία των φυσικών, χημικών και οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των γαλακτωμάτων είναι αποτέλεσμα των διαφορετικών συστατικών και της διαφορετικής επεξεργασίας που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή τους. Παρόλα αυτά υπάρχει μια σειρά στοιχείων κοινών σε αυτή την ομάδα προϊόντων που καθιστά δυνατή την επιστημονική μελέτη τους. Η επιστήμη των γαλακτωμάτων συνδυάζει θεμελιώδεις αρχές της φυσικής, της χημείας, της βιολογίας και της μηχανικής.

Η παρασκευή ενός γαλακτώματος εξαρτάται από την επιλογή και τον συνδυασμό των συστατικών του, όπως για παράδειγμα νερό, λιπίδια, πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, μεταλλικά στοιχεία, σάκχαρα και μικρού ή μεγάλου μοριακού βάρους γαλακτωματοποιητές, και της κατάλληλης επεξεργασίας ώστε το τελικό προϊόν να αποκτή τις χαρακτηριστικές φυσικοχημικές του ιδιότητες.

1.2 Δομή γαλακτωμάτων

Ένα γαλάκτωμα αποτελείται από δύο μη αναμίξιμα υγρά (συνήθως λάδι και νερό), με ένα από τα υγρά να διασπείρεται σε μορφή μικρών σφαιρικών σταγονιδίων στην άλλη (McClements, 2005). Στα περισσότερα τρόφιμα, οι διάμετροι των σταγονιδίων συνήθως βρίσκονται κάπου μεταξύ 0,1 και 100 μm. Τα γαλακτώματα ταξινομούνται ανάλογα με τη σχετική κατανομή στο χώρο του ελαίου και των υδατικών φάσεων. Ένα σύστημα που αποτελείται από σταγονίδια ελαίου τα οποία

διασπείρονται σε μία υδατική φάση ονομάζεται γαλάκτωμα τύπου έλαιο σε νερό ή O/W γαλάκτωμα. Παραδείγματα τέτοιου τύπου γαλακτωμάτων είναι το γάλα, η κρέμα γάλακτος, διάφορες σάλτσες, η μαγιονέζα και διάφορες σούπες. Ένα σύστημα που αποτελείται από σταγονίδια νερού σε διασπορά μέσα σε μία φάση ελαίου ονομάζεται γαλάκτωμα τύπου νερό σε έλαιο ή W/O γαλάκτωμα, όπως για παράδειγμα η μαργαρίνη και το βούτυρο. Η ουσία που σχηματίζει σταγονίδια σε ένα γαλάκτωμα αναφέρεται ως διεσπαρμένη, ασυνεχής ή εσωτερική φάση, ενώ η ουσία που αποτελεί το περιβάλλον υγρό ονομάζεται συνεχής ή εξωτερική φάση. Η συγκέντρωση των σταγονιδίων σε ένα γαλάκτωμα περιγράφεται συνήθως με τον όρο “κλάσμα όγκου φάσης διασποράς”, ϕ .



Εικόνα 1: Γαλάκτωμα (A) τύπου έλαιο σε νερό και (B) τύπου νερό σε έλαιο. Με πράσινο χρώμα αποδίδεται η λιπαρή φάση και με ανοιχτό μπλε η υδατική φάση.

Επιπρόσθετα είναι δυνατή η παρασκευή σύνθετων γαλακτωμάτων, που αποτελούνται από σταγονίδια ελαίου, τα οποία με τη σειρά τους περιέχονται σε μεγαλύτερα σταγονίδια νερού και τα οποία βρίσκονται διεσπαρμένα στη λιπαρή φάση (O/W/O), ή και το αντίστροφο (W/O/W). Τέτοιου τύπου γαλακτώματα χρησιμοποιούνται για την προστασία ευαίσθητων συστατικών και την ελεγχόμενη απελευθέρωσή τους ή για την παρασκευή τροφίμων με χαμηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά.

Σύμφωνα με το μέγεθος των σταγονιδίων τα γαλακτώματα χωρίζονται στις παρακάτω κατηγορίες:

Πίνακας 1: Διαχωρισμός γαλακτωμάτων βάση του μεγέθους των σταγονιδίων (Mason et al., 2006)

Κατηγορίες	Εύρος διαμέτρου σταγονιδίων
μακρο – γαλακτώματα	0,5 – 1000 μm
νανο – γαλακτώματα	100 – 500 nm
μικρο – γαλακτώματα	10 – 100 nm
sub-micron γαλακτώματα	< 500 nm

Τα γαλακτώματα είναι θερμοδυναμικά ασταθή συστήματα, εξαιτίας του θετικού ισοζυγίου ελεύθερης ενέργειας που απαιτείται, για να αυξηθεί η επιφάνεια επαφής μεταξύ της λιπαρής και της υδατικής φάσης. Η ενέργεια αυτή προέρχεται από τη μη συμβατή αλληλεπίδραση μεταξύ του ελαίου και του νερού, καθώς τα μόρια νερού σχηματίζουν ισχυρούς δεσμούς υδρογόνου με άλλα μόρια νερού και όχι με μόρια ελαίου. Τα γαλακτώματα τείνουν να μειώσουν την επιφάνεια επαφής μεταξύ των δύο φάσεων, οπότε διαχωρίζονται σε μία στοιβάδα λιπαρής φάσης πάνω από μία στοιβάδα υδατικής φάσης, λόγω της χαμηλότερης πυκνότητας του ελαίου. Αρχικά σχηματίζεται ένα γαλάκτωμα το οποίο πολύ γρήγορα διαχωρίζεται.



Εικόνα 2: Η λιπαρή φάση (πράσινο) σχηματίζει μια στοιβάδα πάνω από την υδατική φάση (ανοιχτό μπλε), πριν την ομογενοποίηση και κατά τον διαχωρισμό (B) του γαλακτώματος τύπου έλαιο σε νερό

Για την παραγωγή γαλακτωμάτων, τα οποία παραμένουν κινητικά σταθερά για μεγάλο χρονικό διάστημα, χρησιμοποιούνται χημικές ενώσεις που είναι γνωστές ως γαλακτωματοποιητές (emulsifiers). Οι γαλακτωματοποιητές είναι επιφανειοενεργά μόρια, τα οποία προσροφώνται στην επιφάνεια των σταγονιδίων που δημιουργούνται κατά τη διεργασία της ομογενοποίησης, σχηματίζοντας μια προστατευτική μεμβράνη, η οποία αποτρέπει το σχηματισμό συσσωματωμάτων μεταξύ των σταγονιδίων. Οι περισσότεροι γαλακτωματοποιητές τροφίμων είναι αμφιφιλικές ενώσεις, καθώς περιέχουν στο μόριο τους υδρόφοβες και υδρόφιλες ομάδες. Οι πιο συνηθισμένοι τύποι γαλακτωματοποιητών που χρησιμοποιούνται στην βιομηχανία τροφίμων είναι ενώσεις λιπαρής φύσης, μικρού μοριακού βάρους, φωσφολιπίδια καθώς και αμφιφιλικά βιοπολυμερή, όπως πρωτεΐνες και πολυσακχαρίτες.

1.3 Παρασκευή γαλακτωμάτων

Η διαδικασία της μετατροπής δύο διαφορετικών μη αναμίξιμων υγρών σε γαλάκτωμα, ή η μείωση του μεγέθους των σταγονιδίων σε ένα προϋπάρχον

γαλάκτωμα, είναι γνωστή ως ομογενοποίηση (homogenisation) και η συσκευή που χρησιμοποιείται ομογενοποιητής (McClements, 2005). Συνήθως περιλαμβάνει δύο στάδια: κατά το πρώτο (πρωτογενής ομογενοποίηση) γίνεται η ανάμιξη και ανάδευση των υγρών με αποτέλεσμα το σχηματισμό ενός προ-γαλακτώματος (coarse emulsion) με μέγεθος σταγονιδίων μεγαλύτερο του 1 mm, ενώ το δεύτερο στάδιο (δευτερογενής ομογενοποίηση) στοχεύει κυρίως στην ελάττωση του μεγέθους των σταγονιδίων (0.5-30μm) και τη μετατροπή του προ-γαλακτώματος σε σταθερό γαλάκτωμα.

Η ανάμιξη ελαίου- νερού δεν πραγματοποιείται αυθόρμητα, αλλά απαιτεί ενέργεια, λόγω της αποθηκευμένης δυναμικής ενέργειας (ελεύθερη ενέργεια Gibbs) στη διαχωριστική επιφάνεια των δύο υγρών που εκδηλώνεται ως διεπιφανειακή τάση. Λόγω της διεπιφανειακής τάσης, ένα γαλάκτωμα επιχειρεί να ελαχιστοποιήσει την δυναμική ενέργεια στη διαχωριστική επιφάνεια ελαίου-νερού μειώνοντας το εμβαδόν της όσο το δυνατόν περισσότερο. Απουσία τασιενεργών ουσιών, αυτό επιτυγχάνεται με συνένωση των λιποσφαιρίων και τελικά διαχωρισμό ελαίου και νερού σε δύο στοιβάδες.

Για να σχηματιστεί ένα γαλάκτωμα, να υπάρξει δηλαδή διασπορά της μίας φάσης στην άλλη, θα πρέπει να ασκηθεί στο σύστημα μηχανική ενέργεια, ικανή να υπερνικήσει τη διεπιφανειακή τάση των δύο υγρών. Όσο μεγαλύτερη είναι η διεπιφανειακή τάση, τόσο μεγαλύτερη είναι και η ενέργεια που θα πρέπει να προσφερθεί στο σύστημα. Κατά το σχηματισμό ενός γαλακτώματος ελαίου-σε-νερό δημιουργείται μεγάλη έκταση νέας επιφάνειας υγρού, με την υποδιαίρεση της μίας φάσης σε λιποσφαίρια. Από θερμοδυναμικής άποψης, αύξηση της επιφάνειας ελαίου-νερού κατά μία ποσότητα ΔA απαιτεί έργο $\Delta G = \gamma * \Delta A$ (γ =διεπιφανειακή τάση).

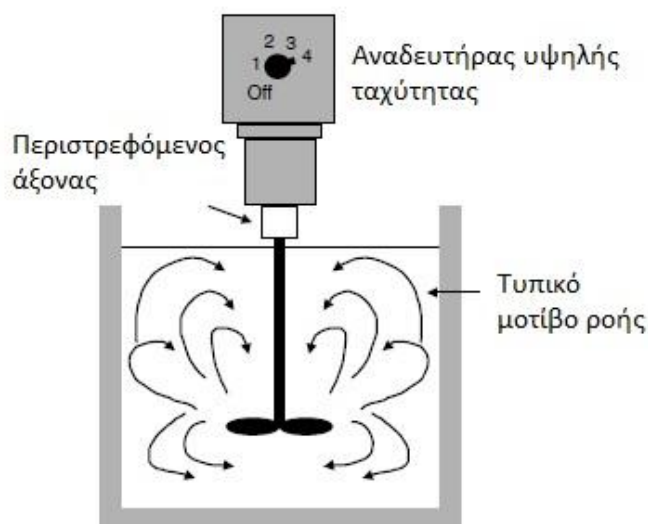
1.4 Συσκευές ομογενοποίησης

Έχουν αναπτυχθεί διάφοροι τύποι ομογενοποιητών που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή τροφίμων τύπου γαλακτωμάτων. Η επιλογή ενός συγκεκριμένου ομογενοποιητή βασίζεται σε πολλούς παράγοντες, όπως το κόστος αγοράς και λειτουργίας, τη χρήση του (εργαστηριακή ή βιομηχανική κλίμακα), τον όγκο του υλικού προς ομογενοποίηση, τις φυσικοχημικές ιδιότητες των αρχικών συστατικών καθώς και τις απαιτούμενες φυσικοχημικές ιδιότητες του τελικού προϊόντος. Παρακάτω αναφέρονται οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενοι τύποι ομογενοποιητών.

Αναδευτήρες υψηλής ταχύτητας (High speed blenders)

Οι αναδευτήρες υψηλής ταχύτητας είναι η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος για την άμεση ομογενοποίηση της λιπαρής και υδατικής φάσης στην βιομηχανία τροφίμων. Σε μία ασυνεχή διεργασία το έλαιο, το νερό και άλλα συστατικά τοποθετούνται σε κατάλληλο δοχείο με χωρητικότητα από λίγα cm^3 έως πολλά m^3 και αναδεύονται από μία κεφαλή ανάμιξης που περιστρέφεται με υψηλή ταχύτητα (έως και 3600 στροφές / λεπτό). Η γρήγορη περιστροφή της λεπίδας δημιουργεί έντονη κίνηση στα συστατικά, προκαλώντας διάρρηξη της διεπιφάνειας λιπαρής – υδατικής φάσης, ανάμιξη δύο μη αναμίξιμων υγρών και διάσπαση των μεγαλύτερων σταγονιδίων σε μικρότερα. Σε βιομηχανική κλίμακα, χρησιμοποιούνται συσκευές με δυνατότητα συνεχούς λειτουργίας και επεξεργασίας ποσοτήτων από λίγα λίτρα έως εκατοντάδες λίτρα ανά ώρα.

Η κεφαλή ανάμιξης μπορεί να είναι διαφόρων τύπων, για παράδειγμα πτερύγια, έλικες ή στρόβιλοι. Δεδομένου ότι κατά την ανάμιξη μέρος της μηχανικής ενέργειας που προστίθεται στο σύστημα μετατρέπεται σε θερμότητα, θα πρέπει να ελέγχεται η θερμοκρασία του δοχείου στην περίπτωση που κάποιο από τα συστατικά του γαλακτώματος είναι ευαίσθητο στη θέρμανση.



Εικόνα 3 : Σχηματική διάταξη τυπικού αναδευτήρα υψηλής ταχύτητας (McClements, 2005)

Οι αναδευτήρες υψηλής ταχύτητας προσφέρονται κυρίως για την παρασκευή γαλακτωμάτων χαμηλού ή μετρίου ιξώδους. Το τελικό μέγεθος των σωματιδίων μειώνεται με το χρόνο ομογενοποίησης και την ταχύτητα περιστροφής, μέχρι ενός κατώτατου ορίου το οποίο εξαρτάται από τη φύση και τη συγκέντρωση των

συστατικών. Η διάμετρος των σχηματιζόμενων σταγονιδίων κυμαίνεται από 2 έως 10 μm .

Η παρασκευή των γαλακτωμάτων της παρούσας μεταπτυχιακής μελέτης πραγματοποιήθηκε με την ομογενοποίηση του γαλακτώματος σε πρώτο στάδιο με αναδευτήρα υψηλής ταχύτητας.

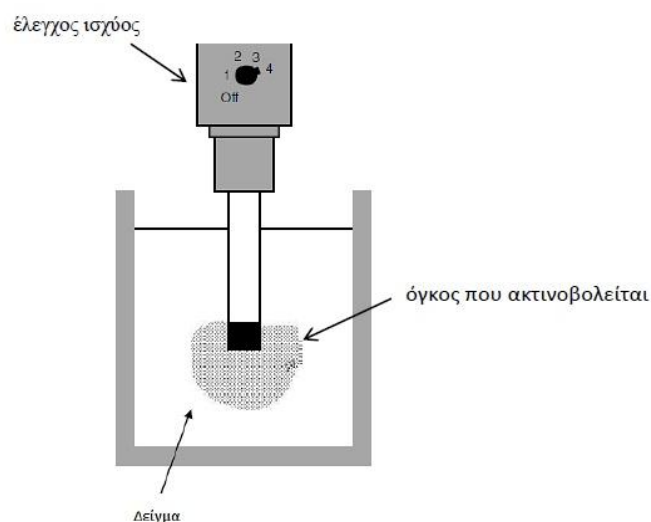
Ομογενοποιητές Υπερήχων (Ultrasonic homogenizers)

Οι υπέρηχοι συνιστούν κύματα υψηλής συχνότητας που μεταφέρουν πίεση κατά τη διέλευσή τους σε ένα μέσο. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία περιοχών χαμηλής και υψηλής πίεσης. Η διακύμανση αυτή της πίεσης αναφέρεται ως πλάτος πίεσης (amplitude) και είναι ανάλογο της ποσότητας ενέργειας που εφαρμόζεται στο σύστημα. Στην περίπτωση που η διακυμάνσεις της πίεσης είναι αρκετά υψηλές (3.000 MPa), τότε ένα υγρό μέσο μπορεί να αποδομηθεί και να έχουμε το σχηματισμό μικροφουσαλίδων αερίου και ατμού. Το φαινόμενο αυτό είναι γνωστό ως σπηλαιώση (cavitation), ενώ οι φουσαλίδες είναι δυνατόν να διασπώνται και να επαναδημιουργούνται συνεχώς επιφέροντας αλλαγές στη δομή του μέσου που υφίσταται την επίδραση των υπερηχητικών κυμάτων.

Καθώς μια φουσαλίδα σπηλαιώσης καταρρέει κοντά στην επιφάνεια του οριακού στρώματος δύο υγρών που δεν αναμειγνύονται, το κύμα που προκύπτει παρέχει μια αρκετά αποτελεσματική ανάμιξη των δύο στρωμάτων. Όταν η επεξεργασία με υπερήχους εφαρμόζεται σε ένα σύστημα έλαιο – νερό, τα κύματα που παράγονται προκαλούν την ανάμιξη των δύο υγρών και τα μεγάλα σταγονίδια που σχηματίζονται διασπώνται σε μικρότερα.

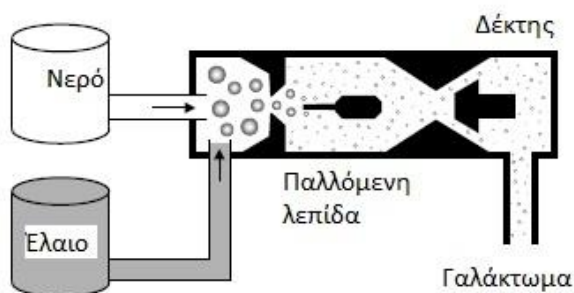
Υπάρχουν δύο τύποι ομογενοποιητών υπερήχων, οι πιεζοηλεκτρικοί μετατροπείς (piezoelectric transducers) και οι ψεκασμού υγρού (liquid jet generators). Ο πρώτος τύπος, ο οποίος είναι κατάλληλος για μικρούς όγκους δειγμάτων απαντάται κυρίως σε εργαστηριακή κλίμακα, και τέτοιος τύπος χρησιμοποιήθηκε και στα πειράματα της παρούσας μεταπτυχιακής μελέτης. Αποτελείται από ένα πιεζοηλεκτρικό κρύσταλλο, ο οποίος περιβάλλεται από ένα προστατευτικό μεταλλικό περίβλημα, το οποίο στο άκρο του σφραγίζει. Όταν ένα ηλεκτρικό κύμα μεγάλης έντασης φτάσει στον μετατροπέα, το κρύσταλλο στο εσωτερικό του ταλαντώνεται και παράγει ένα κύμα υπερήχων. Το κύμα φτάνει τελικά στην άκρη του μετατροπέα και διαχέεται στο υγρό δείγμα, δημιουργώντας έντονη πίεση και διάτμηση των

συστατικών, προκαλώντας την ανάμιξη των δύο φάσεων και κατάτμηση των σταγονιδίων.



Εικόνα 4 : Σχηματική διάταξη τυπικής συσκευής υπερήχων με μετατροπέα (McClements, 2005).

Ο δεύτερος τύπος χρησιμοποιείται κυρίως σε βιομηχανική κλίμακα για την παρασκευή γαλακτωμάτων. Το νερό και το λάδι διοχετεύονται μέσω ενός ακροφυσίου και προσκρούουν σε μια κοφτερή λεπίδα, η οποία αρχίζει να πάλλεται γρήγορα. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή ενός πεδίου υπερήχων, που προκαλεί την κατάτμηση των σταγονιδίων.



Εικόνα 5 : Σχηματική διάταξη τυπικής συσκευής υπερήχων με ψεκασμό υγρού (McClements, 2005).

Η γαλακτωματοποίηση με υπερήχους παρουσιάζει πολλά πλεονεκτήματα σε σύγκριση με τις συμβατικές μεθόδους ομογενοποίησης.

- Τα γαλακτώματα που παράγονται περιέχουν λιποσφαίρια εντός της νανοκλίμακας και χαρακτηρίζονται από πολύ στενή κατανομή.
- Παρουσιάζουν αυξημένη σταθερότητα.
- Απαιτείται πολύ μικρή ποσότητα γαλακτωματοποιητή για την παραγωγή τους.

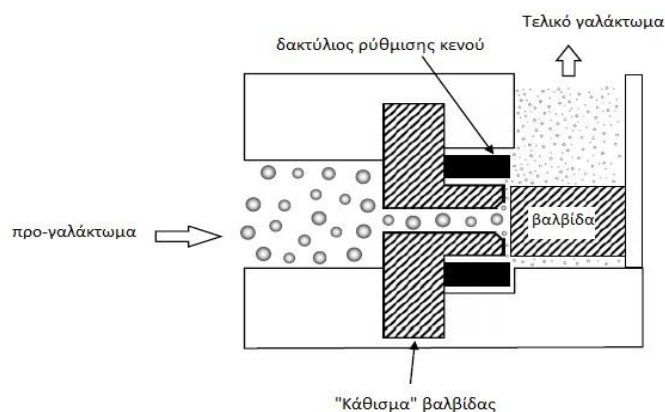
- Η ενέργεια που απαιτείται για την παραγωγή ενός γαλακτώματος είναι πολύ μικρότερη σε σχέση με αυτή που καταναλώνεται με τις κλασσικές μεθόδους.

Η γαλακτωματοποίηση με υπερήχους προσελκύει ολοένα και μεγαλύτερο ενδιαφέρον προκειμένου να εφαρμοστεί σε βιομηχανική κλίμακα και συγκεκριμένα σε τρόφιμα όπως η μαγιονέζα, οι χυμοί φρούτων, η κέτσαπ όπως επίσης και στην ομογενοποίηση του γάλακτος και την παραγωγή μικροκάψουλων αρωματικών ουσιών.

Τα γαλακτώματα που παρασκευάστηκαν στην παρούσα μεταπτυχιακή μελέτη, ομογενοποιήθηκαν με εφαρμογή επεξεργασίας με υπερήχους μετά το πρώτο στάδιο ομογενοποίησης με αναδευτήρα υψηλής ταχύτητας.

Ομογενοποιητές υψηλής πίεσης (High pressure valve homogenizers)

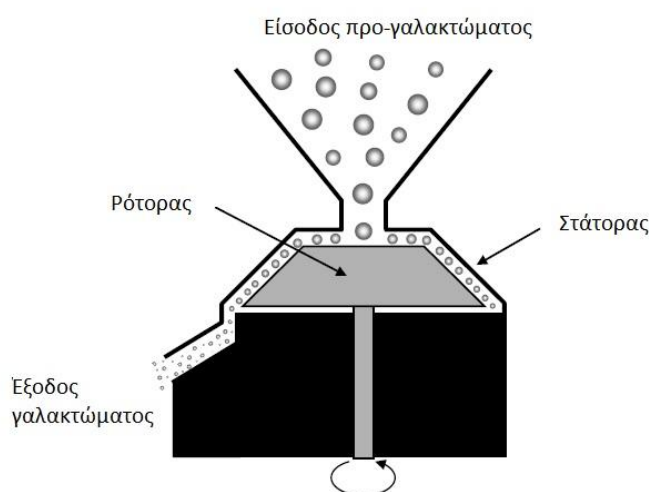
Οι ομογενοποιητές υψηλής πίεσης είναι κατάλληλοι για την περαιτέρω μείωση του μεγέθους του λιποσφαιρίων από ένα προ-γαλάκτωμα. Το προ-γαλάκτωμα διοχετεύεται υπό υψηλή πίεση (30 – 1000 bars) διαμέσου ενός στενού ακροφυσίου, που προκαλεί τη διάσπαση των σταγονιδίων εξαιτίας των ισχυρών δυνάμεων. Μείωση του μεγέθους του ακροφυσίου προκαλεί αύξηση της πίεσης που υφίσταται το γαλάκτωμα, οπότε προκαλείται μεγαλύτερη διάρρηξη των σταγονιδίων και τελικά παράγονται σταγονίδια μικρότερου μεγέθους. Οι ομογενοποιητές υψηλής πίεσης μπορεί να είναι ενός ή δύο σταδίων, με εφαρμογή διαφορετικής τιμής πίεσης σε κάθε στάδιο. Συχνά χρησιμοποιείται επίσης η ανατροφοδοσία για περαιτέρω μείωση των λιποσφαιριών.



Εικόνα 6 : Σχηματική διάταξη ομογενοποιητή υψηλής πίεσης (McClements, 2005)

Μύλοι κολλοειδών (Colloid mills)

Στους μύλους κολλοειδών διοχετεύεται ακατέργαστο γαλάκτωμα (coarse emulsion) για την περαιτέρω ομογενοποίησή του. Αποτελούνται από δύο δίσκους, μεταξύ των οποίων υπάρχει κενό. Ο ένας δίσκος είναι σταθερός, ενώ ο άλλος περιστρέφεται με μεγάλη ταχύτητα, δημιουργώντας έντονες δυνάμεις διάτμησης (shear stresses) στο προ-γαλάκτωμα ικανές να προκαλέσουν τη διάσπαση των σταγονιδίων του. Χρησιμοποιούνται για γαλακτώματα ενδιάμεσου ή υψηλού ιξώδους και παράγουν σταγονίδια μεγέθους 1 – 5 μm.



Εικόνα 7 : Σχηματική διάταξη μύλου κολλοειδών (McClements, 2005).

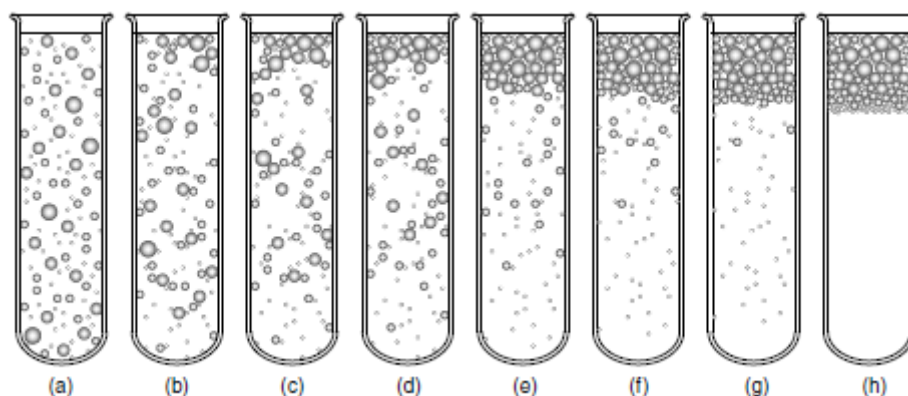
1.5 Μηχανισμοί αποσταθεροποίησης γαλακτωμάτων

Γενικά ο όρος “σταθερότητα γαλακτώματος” χρησιμοποιείται για να περιγράψει την ικανότητα ενός γαλακτώματος να αντισταθεί στις αλλαγές των φυσικοχημικών του ιδιοτήτων με το πέρασ του χρόνου (McClements, 2005). Παρ'όλα αυτά, υπάρχει μια ποικιλία φυσικοχημικών μηχανισμών που μπορεί να είναι υπεύθυνοι για τις μεταβολές στις ιδιότητες του γαλακτώματος. Οι πιο κοινοί μηχανισμοί είναι: η αποκορύφωση (creaming), η θρόμβωση ή κροκίδωση (flocculation), η συνένωση ή συσσωμάτωση (coalescence) και η αναστροφή φάσης (phase inversion).

1.5.1 Αποκορύφωση (Creaming)

Σε γενικές γραμμές, τα σταγονίδια σε ένα γαλάκτωμα έχουν διαφορετική πυκνότητα από αυτή του υγρού που τις περιβάλλει και έτσι η δύναμη της βαρύτητας

δρα πάνω τους (McClements, 2007). Αν τα σταγονίδια έχουν χαμηλότερη πυκνότητα από το περιβάλλον υγρό, έχουν την τάση να κινηθούν προς τα πάνω και η οποία αναφέρεται ως αποκορύφωση. Αντιστρόφως, εάν τα σταγονίδια έχουν μεγαλύτερη πυκνότητα από το περιβάλλον υγρό τείνουν να κινηθούν προς τα κάτω. Η τάση αυτή αναφέρεται ως καθίζηση. Οι πυκνότητες των βρώσιμων ελαίων (σε υγρή κατάσταση) είναι χαμηλότερη από εκείνη του νερού, και έτσι υπάρχει η τάση το έλαιο να συσσωρεύεται στην κορυφή ενός γαλακτώματος και νερού στο κάτω μέρος. Έτσι, τα σταγονίδια σε ένα γαλάκτωμα τύπου έλαιο σε νερό τείνουν να σχηματίσουν κορυφή (κρέμα), ενώ εκείνα σε ένα γαλάκτωμα τύπου νερό σε έλαιο τείνουν να καθιζάνουν.



Εικόνα 8 : Σχηματική απεικόνιση της αποκορύφωσης καθώς περνάει ο χρόνος σε γαλάκτωμα τύπου έλαιο σε νερό (McClements, 2005).

Έχουν αναπτυχθεί πολλά μαθηματικά μοντέλα για την πρόβλεψη της αποκορύφωσης των γαλακτωμάτων. Για παράδειγμα, ο ρυθμός με τον οποίο αποκορυφώνεται ένα μεμονωμένο συμπαγές σωματίδιο μέσα σε ένα ιδανικό (Νευτώνειο) υγρό περιγράφεται από το νόμο του Stokes (McClements, 2005). Το πρόσημο καθορίζει αν το σωματίδιο κινείται προς τα πάνω (+) ή προς τα κάτω (-).

$$v_{Stokes} = -\frac{2gr^2(\rho_2 - \rho_1)}{9\eta_1}$$

όπου,

v_{Stokes} : η ταχύτητα αποκορύφωσης

r : η ακτίνα του σωματιδίου

g : η επιτάχυνση της βαρύτητας

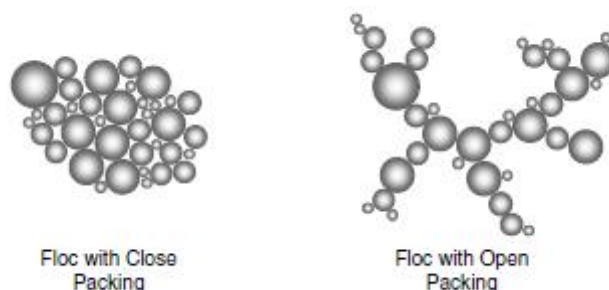
ρ : η πυκνότητα

η : το ιξώδες

1,2 : αναφέρονται στην συνεχή και στην διεσπαρμένη φάση αντίστοιχα

1.5.2 Κροκίδωση (Flocculation)

Κροκίδωση είναι η διαδικασία κατά την οποία δύο ή περισσότερα σταγονίδια συνδέονται το ένα με το άλλο, αλλά παραμένουν ακέραια (McClements, 2007). Τείνει να συμβεί όταν οι ελκτικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των σταγονιδίων έναντι των απωθητικών δυνάμεων μεγάλου εύρους, αλλά όχι έναντι εκείνων μικρής εμβέλειας. Ως εκ τούτου, τα σταγονίδια παραμένουν σε στενή εγγύτητα μεταξύ τους (κροκίδωση), χωρίς όμως να έρχονται αρκετά κοντά ώστε να συγχωνευθεί το ένα μέσα στο άλλο (συσσωμάτωση). Εάν επικρατήσουν οι ελκτικές δυνάμεις θα σωματίδια θα τείνουν να συναθροίζονται. Στην αντίθετη περίπτωση που κυριαρχήσουν οι απωθητικές δυνάμεις τότε το γαλάκτωμα θα είναι σταθερό σε συσσωμάτωση. Με άλλα λόγια, ο συνολικός ρυθμός κροκίδωσης είναι μια ισορροπία μεταξύ του σχηματισμού και της καταστροφής της κροκίδωσης. Η κροκίδωση μπορεί να είναι είτε επωφελής είτε επιζήμια για την ποιότητα του γαλακτώματος, ανάλογα με τη φύση του τροφίμου. Επιταχύνει την αποκορύφωση σε αραιά γαλακτώματα, η οποία συνήθως είναι ανεπιθύμητη επειδή μειώνει την διάρκεια ζωής τους. Προκαλεί επίσης μια έντονη αύξηση του ιζώδους του γαλακτώματος, και μπορεί να οδηγήσει ακόμη στο σχηματισμό πηκτής.



Εικόνα 9 : Σχηματική απεικόνιση διαφορετικών δομών κροκίδωσης στις οποίες παρατηρείται πυκνή και κλειστή διάταξη των σωματιδίων (αριστερά) και μεγαλύτερο κενό και ανοιχτή διάταξη (δεξιά) (McClements, 2005).

Κροκίδωση υπό εκκένωση (Depletion Flocculation)

Είναι μηχανισμός αποσταθεροποίησης που συναντάται σε γαλακτώματα σταθεροποιημένα με πρωτεΐνη, όπου κλάσμα της περίσσειας πρωτεΐνης ή άλλα βιοπολυμερή που βρίσκονται στη συνεχή φάση, αλληλεπιδρούν με τα προσροφημένα στη διεπιφάνεια μόρια πρωτεΐνης και επηρεάζουν τη σταθερότητα του γαλακτώματος. Η παρουσία βιοπολυμερών, μη προσροφημένων στην επιφάνεια των λιποσφαιρίων, αυξάνει τις ελκτικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των σταγονιδίων λόγω διαφοράς

οσμωτικής πίεσης. Όσο αυξάνει η συγκέντρωση των βιοπολυμερών, οι ελκτικές δυνάμεις μεταξύ των λιποσφαιρίων υπερσχύουν των απωστικών, με αποτέλεσμα αυτά να συσσωματώνονται. Βιοπολυμερή που μπορεί να προκαλέσουν το φαινόμενο όταν προστίθενται σε υψηλές συγκεντρώσεις είναι διάφοροι πολυσακχαρίτες (κόμμι ξανθάνης, αραβικό κόμμι, τροποποιημένο άμυλο, μαλδοδεξτρίνη, πηκτίνη, καρραγεννάνη) αλλά και πρωτεΐνες (ορός γάλακτος, καζεϊνικά άλατα) (McClements 2005).

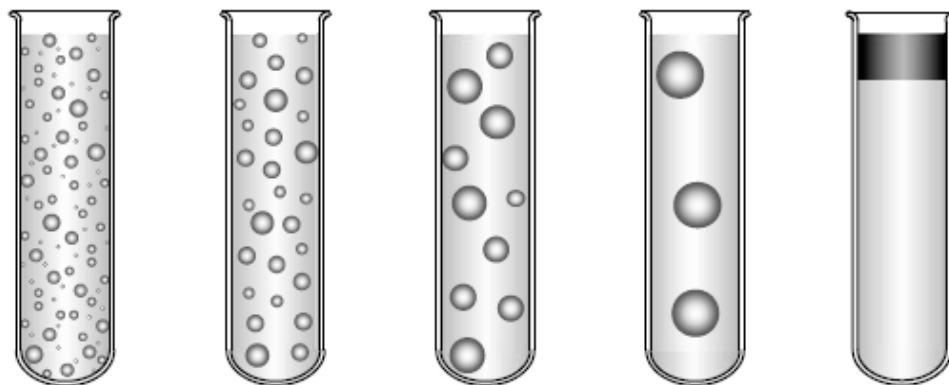
Κροκίδωση λόγω γεφύρωσης (Bridging Flocculation)

Εκδηλώνεται όταν ηλεκτρικά φορτισμένα βιοπολυμερή που βρίσκονται στη συνεχή φάση προσροφώνται στην επιφάνεια αντίθετα φορτισμένων λιποσφαιρίων μέσω ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων. Το ηλεκτρικό φορτίο εξουδετερώνεται και τα μόρια των βιοπολυμερών σχηματίζουν γεφυρώσεις μεταξύ τους, προκαλώντας συσσωμάτωση των λιποσφαιρίων. Λόγω της φύσης του μηχανισμού, η σταθερότητα των γαλακτωμάτων εξαρτάται από το pH, την ιονική ισχύ και τα χαρακτηριστικά των προσροφημένων πρωτεϊνών και βιοπολυμερών. Το φαινόμενο εκδηλώνεται πιο συχνά όταν η συγκέντρωση του πολυσακχαρίτη δεν επαρκεί για την κάλυψη ολόκληρης της επιφάνειας των λιποσφαιρίων γι'αυτό και δημιουργούνται γέφυρες μεταξύ των λιποσφαιρίων (McClements, 2005).

1.5.3 Συσσωμάτωση (Coalescence)

Συσσωμάτωση είναι η διαδικασία με την οποία δύο ή περισσότερα σταγονίδια υγρού συγχωνεύονται μαζί για να σχηματίσουν ένα ενιαίο μεγαλύτερο σταγονίδιο. Είναι ο κύριος μηχανισμός με τον οποίο ένα γαλακτώμα κινείται προς πιο θερμοδυναμικά σταθερή κατάσταση, διότι αφορά μια μείωση στην περιοχή επαφής μεταξύ των φάσεων ελαίου και νερού. Αυτή η διαδικασία μπορεί να συμβεί μόνο όταν τα σταγονίδια είναι σε πολύ μικρή απόσταση μεταξύ τους και η λεπτή μεμβράνη υλικού που τα χωρίζει διαρρηγνύεται. Το γεγονός ότι τα σταγονίδια πρέπει να είναι σε στενή επαφή σημαίνει ότι η συνένωση καθορίζεται από τις δυνάμεις μικρής εμβέλειας και τα μοριακά χαρακτηριστικά του συστήματος παρά από την κροκίδωση ή τον διαχωρισμό λόγω βαρύτητας. Η συσσωμάτωση επιταχύνει την αποκορύφωση ή την καθίζηση στα γαλακτώματα λόγω της αύξησης του μεγέθους των σταγονιδίων. Σε γαλακτώματα τύπου έλαιο σε νερό, η συσσωμάτωση οδηγεί τελικά στο σχηματισμό

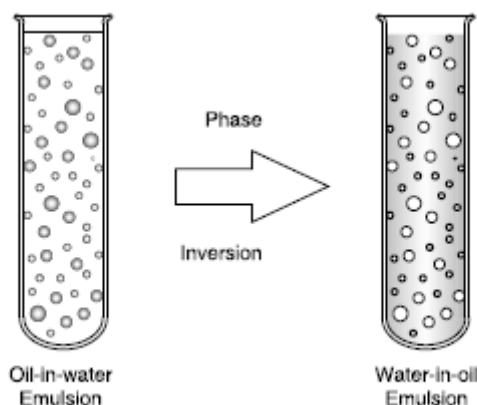
ενός στρώματος ελαίου στην κορυφή ενώ σε γαλακτώματα τύπου νερό σε έλαιο, οδηγεί στη συσσώρευση ύδατος στο κάτω μέρος.



Εικόνα 10 : Η συσσωμάτωση των σταγονιδίων αυξάνει τη μέση διάμετρο των σταγονιδίων και οδηγεί τελικά στον πλήρη διαχωρισμό της υδατικής και της φάσης ελαίου (McClements, 2005)

1.5.4 Αναστροφή φάσης (Phase inversion)

Αναστροφή φάσης είναι η διαδικασία με την οποία ένα σύστημα αλλάζει από γαλάκτωμα τύπου έλαιο σε νερό σε γαλάκτωμα τύπου νερό σε έλαιο ή το αντίστροφο. Η αναστροφή φάσης αποτελεί απαραίτητη διαδικασία ορισμένων σημαντικών προϊόντων διατροφής, συμπεριλαμβανομένου του βουτύρου και της μαργαρίνης. Σε άλλα τρόφιμα, η αναστροφή φάσης είναι ανεπιθύμητη καθώς έχει δυσμενείς επιπτώσεις στην εμφάνισή, την υφή, την σταθερότητα και την γεύση τους



Εικόνα 11: Η αναστροφή φάσης περιλαμβάνει την μετατροπή ενός γαλακτώματος τύπου έλαιο σε νερό σε γαλάκτωμα τύπου νερό σε έλαιο και αντίστροφα.

Η αναστροφή φάσης συνήθως προκαλείται από κάποια μεταβολή της σύνθεσης ή των περιβαλλοντικών συνθηκών ενός γαλακτώματος, όπως για παράδειγμα, το κλάσμα όγκου της διεσπαρμένης φάσης, ο τύπος και η συγκέντρωση του γαλακτωματοποιητή, η θερμοκρασία ή η μηχανική ανάδευση. Μόνο ορισμένοι

τύποι γαλακτώματων μπορούν να υποβληθούν σε αναστροφή φάσης και να μην διαχωρίζονται. Τα γαλακτώματα αυτά έχουν την ικανότητα να βρίσκονται σε κινητικώς σταθερή κατάσταση τόσο πριν όσο και μετά την αναστροφή φάσης. Είναι, επίσης, απαραίτητο το γαλάκτωμα να αναδεύεται κατά τη διαδικασία αναστροφής φάσης, διαφορετικά θα διαχωριστεί στις φάσεις που το απαρτίζουν. Η φυσικοχημική βάση της αναστροφή φάσης είναι εξαιρετικά πολύπλοκη, και περιλαμβάνει χαρακτηριστικά της κροκίδωσης, της συσσωμάτωσης και του σχηματισμού γαλακτώματος. Κατά την διαδικασία της αναστροφής φάσης, το σύστημα μπορεί να περιέχει περιοχές γαλακτώματος τύπου έλαιο σε νερό, περιοχές γαλακτώματος τύπου νερό σε έλαιο, πολλαπλό γαλάκτωμα και ασυνεχείς φάσεις.

2. Σύσταση Γαλακτωμάτων Γαλακτωματοποιητές

Ο όρος “γαλακτωματοποιητής” περιγράφει μία επιφανειοδραστική ουσία που είναι ικανή να απορροφάται σε μια διεπιφάνεια ελαίου-ύδατος και να προστατεύει τα σταγονίδια ενός γαλακτώματος από τη συσσωμάτωση (κροκίδωση ή/και συνένωση) (McClements, 2005). Οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενοι γαλακτωματοποιητές στη βιομηχανία τροφίμων είναι επιφανειοδραστικές ουσίες με μικρά μόρια ή αμφίφιλα βιοπολυμερή. Οι γαλακτωματοποιητές ποικίλλουν ευρέως στην ικανότητά τους να σχηματίζουν και να σταθεροποιούν γαλακτώματα, ανάλογα με τα μοριακά και τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά τους.

Ένας γαλακτωματοποιητής ανάλογα με τα πολικά και μη πολικά του τμήματα του μορίου του μπορεί να είναι υδροφιλικού ή λιποφιλικού χαρακτήρα και ως αποτέλεσμα να είναι περισσότερο διαλυτός στο νερό ή στο έλαιο αντίστοιχα. Σύμφωνα με τον κανόνα του Bancroft: η φάση στην οποία ο γαλακτωματοποιητής είναι πιο διαλυτός είναι η εξωτερική, δηλαδή η φύση του γαλακτωματοποιητή καθορίζει τι τύπου γαλάκτωμα θα προκύψει. Υδρόφιλοι γαλακτωματοποιητές σχηματίζουν συνήθως γαλακτώματα τύπου έλαιο-σε-νερό ενώ υδρόφοβοι τύπου νερό-σε-έλαιο.

Ιδανικά, ένας γαλακτωματοποιητής θα πρέπει να προσροφάται γρήγορα στην διεπιφάνεια ελαίου- νερού κατά την ομογενοποίηση, να μειώνει σημαντικά την επιφανειακή τάση, και να αποτρέπει την συσσωμάτωση των σταγονιδίων που συμβαίνει κατά τη διάρκεια της ομογενοποίησης. Επιπλέον, είναι σημαντικό ο γαλακτωματοποιητής να σχηματίζει ένα σταθερό, συνεκτικό και ιξωδοελαστικό δίκτυο που θα περιβάλλει τα λιποσφαίρια και θα αποτρέπει την συνένωσή τους όταν αυτά συγκρούονται, κατά την διάρκεια της παρασκευής, της μεταφοράς, της αποθήκευσης και τη χρήσης του τροφίμου. Η ανθεκτικότητα του δικτύου του γαλακτωματοποιητή καθορίζει τη σταθερότητα και τη διάρκεια ζωής (shelf life) του γαλακτώματος. Τα μεγάλα μακρομόρια, όπως οι πρωτεΐνες, σχηματίζουν ανθεκτικότερα δίκτυα και αλληλεπιδρούν με άλλες ομάδες στο ίδιο μόριο 20 ή σε άλλα. Οι μικρού μοριακού βάρους γαλακτωματοποιητές συνήθως δε σχηματίζουν σταθερά διεπιφανειακά δίκτυα και η χρήση τους περιορίζεται στη μείωση της διεπιφανειακής τάσης

Οι γαλακτωματοποιητές είναι αμφιφιλικά μόρια, αποτελούνται δηλαδή από μία υδρόφιλη ομάδα, η οποία ονομάζεται “κεφαλή” (head) και έχει την τάση να προσανατολίζεται προς την υδατική φάση και μία υδρόφοβη ομάδα η οποία ονομάζεται “ουρά” (tail) και έχει την τάση να στρέφεται προς τη λιπαρή φάση και για το λόγο αυτό δεν είναι απόλυτα διαλυτά ούτε στη λιπαρή ούτε στην υδατική φάση. Αυτές οι επιφανιοδραστικές ουσίες αναπαριστώνται με τον τύπο RX, όπου X παριστάνεται η υδρόφιλη κεφαλή και R η λιπόφιλη ουρά (Dickinson and McClements, 1995) Το λιπόφιλο τμήμα είναι συνήθως μία ή περισσότερες αλυσίδες λιπαρών οξέων, οι οποίες μπορεί να είναι κορεσμένες ή ακόρεστες, γραμμικές ή διακλαδισμένες, αλειφατικές ή/και αρωματικές. Το υδρόφιλο τμήμα μπορεί να είναι ανιονικό, κατιονικό ή ουδέτερο.

Επιπλέον, οι επιφανιοδραστικές ουσίες διαφέρουν σημαντικά ως προς το κόστος τους, τα επίπεδα χρήσης, το νομικό καθεστώς, τη συμβατότητα με τα υπόλοιπα συστατικά και την ευκολία χρήσης. Ως εκ τούτου, δεν υπάρχει ένας μοναδικός γαλακτωματοποιητής κατάλληλος για κάθε τρόφιμο και έτσι είναι απαραίτητο για να επιλέγεται ο πιο κατάλληλος για κάθε συγκεκριμένο προϊόν.

Συνοπτικά, ένας αποτελεσματικός γαλακτωματοποιητής θα πρέπει να τηρεί τις εξής προϋποθέσεις:

1. Να προσροφάται στη διεπιφάνεια νερού/ελαίου και να μειώνει γρήγορα τη διεπιφανειακή τάση, ώστε να διευκολύνεται ο σχηματισμός του γαλακτώματος.
2. Να σχηματίζει ένα προστατευτικό δίκτυο γύρω από τα λιποσφαίρια και να αποτρέπει ή να καθυστερεί φαινόμενα κροκίδωσης και συνένωσης.

Μια μέθοδος χρήσιμη για την εκτίμηση της καταλληλότητας ενός γαλακτωματοποιητή σε μία συγκεκριμένη εφαρμογή, είναι ο υπολογισμός της υδρόφιλης – λιπόφιλης ισορροπίας (Hydrophilic/Lipophilic Balance, HLB) (Πίνακας 2).

Η ισορροπία μεταξύ του υδρόφιλου και του υδρόφοβου χαρακτήρα ενός γαλακτωματοποιητή (HLB) εκφράζεται με έναν καθαρό αριθμό που αποδίδει την τάση του προς τη λιπαρή ή υδατική φάση. Κάθε γαλακτωματοποιητής χαρακτηρίζεται από έναν αριθμό, ο οποίος καθορίζεται από τη χημική του δομή.

Υψηλή τιμή HBL σημαίνει μεγαλύτερη αναλογία των υδρόφιλων έναντι των υδρόφοβων ομάδων και αντιστρόφως. Η τιμή HBL κάθε γαλακτωματοποιητή υπολογίζεται από την παρακάτω εξίσωση :

$$HBL = 7 + \sum (\text{αριθμού υδρόφιλων ομάδων}) - \sum (\text{αριθμού υδρόφοβων ομάδων})$$

Η τιμή HBL είναι ένδειξη όχι μόνο του βαθμού διαλυτότητας του γαλακτωματοποιητή στη λιπαρή ή υδατική φάση, αλλά και του τύπου του γαλακτώματος που πρόκειται να δημιουργηθεί. Ένας γαλακτωματοποιητής με τιμές HBL μεταξύ 4-6, είναι κυρίως υδρόφοβος, διαλύεται στη λιπαρή φάση, σταθεροποιεί γαλακτώματα τύπου νερό σε έλαιο και δημιουργεί κολλοειδή τύπου ανάστροφου μικκυλίου στη λιπαρή φάση.

Ένας γαλακτωματοποιητής με υψηλότερες τιμές HBL, μεταξύ 8-18, είναι κυρίως υδρόφιλος, διαλύεται στην υδατική φάση, σταθεροποιεί γαλακτώματα τύπου έλαιο σε νερό και δημιουργεί κολλοειδή τύπου μικκυλίου στην υδατική φάση. Οι γαλακτωματοποιητές με ενδιάμεσες τιμές (6-8) δεν παρουσιάζουν ιδιαίτερη προτίμηση για την υδατική ή λιπαρή φάση. Οι γαλακτωματοποιητές με μη φορτισμένες κεφαλές, με τιμές HBL μικρότερες από 4 και μεγαλύτερες από 18 είναι λιγότερο επιφανειοενεργοί, οπότε δεν παρουσιάζουν την τάση να συγκεντρώνονται στην διεπιφάνεια λιπαρής-υδατικής φάσης.

Πίνακας 2 : Εύρος τιμών HLB και αντίστοιχη εφαρμογή γαλακτωματοποιητών (Mollet, 2007)

HBL	Εφαρμογή
0 – 3	Αντί-αφριστικός παράγοντας
4 – 6	Γαλακτωματοποιητής σε γαλακτώματα τύπου νερό σε έλαιο
7 – 9	Τασιενεργή ουσία (Διαβρεκτικοί παράγοντες)
8 – 18	Γαλακτωματοποιητής σε γαλακτώματα τύπου έλαιο σε νερό
13 – 15	Απορρυπαντικά
10 – 18	Διαλυτοποιητές (solubilizers)

Κατηγορίες γαλακτωματοποιητών

Οι γαλακτωματοποιητές κατατάσσονται σε δύο βασικές κατηγορίες: (α) τους γαλακτωματοποιητές μεγάλου μοριακού βάρους (βιοπολυμερή, πρωτεΐνες, πολυσακχαρίτες) και (β) τους γαλακτωματοποιητές μικρού μοριακού βάρους (surfactants).

2.1.1 Γαλακτωματοποιητές μεγάλου μοριακού βάρους

Στους γαλακτωματοποιητές μεγάλου μοριακού βάρους ανήκουν τα βιοπολυμερή. Οι πρωτεΐνες και οι πολυσακχαρίτες είναι βιοπολυμερή που χρησιμοποιούνται ευρέως, ως λειτουργικά συστατικά των γαλακτωμάτων. Έχουν την ικανότητα να σταθεροποιούν το γαλάκτωμα, να ενισχύουν το ιξώδες του συστήματος και να σχηματίζουν πηκτές (gels). Το μοριακό τους βάρος, η διάταξη και η ελαστικότητα του μορίου τους καθώς και η πολικότητά τους καθορίζουν σε μεγάλο βαθμό τις ιδιότητες των διαλυμάτων τους. Τα χαρακτηριστικά τους αυτά προκύπτουν από τον τύπο, τον αριθμό και την αλληλουχία των μονομερών τους, που είναι τα αμινοξέα στις πρωτεΐνες και τα απλά σάκχαρα στους πολυσακχαρίτες.

Οι πρωτεΐνες είναι μεγάλα αμφίφιλα βιομόρια που αποτελούνται από επιμήκεις αλυσίδες αμινοξέων τα οποία συνδέονται μεταξύ τους με αμιδικούς δεσμούς. Κατά το σχηματισμό ενός πολυπεπτιδίου (πρωτεΐνης), η αλυσίδα των αμινοξέων περιελίσσεται στο χώρο με τρόπο ώστε οι υδρόφοβες πλευρικές ομάδες να είναι προσανατολισμένες προς το εσωτερικό του μορίου ενώ οι υδρόφιλες προς το εξωτερικό. Πολλές πρωτεΐνες είναι επιφανειοδραστικά μόρια που χρησιμοποιούνται ως γαλακτωματοποιητές εξαιτίας της ιδιότητάς τους να διευκολύνουν τη γαλακτωματοποίηση, να βελτιώνουν τη σταθερότητα και να προσδίδουν επιθυμητές φυσικοχημικές ιδιότητες σε γαλακτώματα τύπου έλαιο σε νερό. Συγκεκριμένα, οι πρωτεΐνες προσροφώνται στις επιφάνειες των λιποσφαιρίων που έχουν προκύψει από την ομογενοποίηση του μίγματος έλαιο-νερό-πρωτεΐνη και διευκολύνουν την περαιτέρω διάσπαση των λιποσφαιρίων με μείωση της διεπιφανειακής τάσης. Παράλληλα, καθυστερούν τη συνένωση τους με το σχηματισμό προστατευτικών μεμβρανών γύρω από τα λιποσφαίρια.

Παρουσία μίας διεπιφάνειας ελαίου- νερού, η πολυπεπτιδική αλυσίδα ξεδιπλώνεται και τα υδρόφοδα τμήματά της διεισδύουν στη λιπαρή φάση, ενώ τα υδρόφιλα παραμένουν στην υδατική. Παράλληλα, τα προσροφημένα στη διεπιφάνεια

μόρια πρωτεΐνης αλληλεπιδρούν μεταξύ τους με δεσμούς υδρογόνου, δεσμούς Van der Waals και υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις, σχηματίζοντας ένα ιξωδοελαστικό υμένιο που αυξάνει τις απωστικές αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στα λιποσφαίρια (Εικόνα).

Οι πρωτεΐνες υπερτερούν των γαλακτωματοποιητών μικρού μοριακού βάρους σε ότι αφορά στην ανθεκτικότητα και την ιξωδοελαστικότητα της σχηματιζόμενης μεμβράνης.

2.1.2 Γαλακτωματοποιητές μικρού μοριακού βάρους

Οι γαλακτωματοποιητές μικρού μοριακού βάρους είναι επιφανειοδραστικές (ή τασιενεργές) ουσίες χαμηλού μοριακού βάρους με αμφίφιλο χαρακτήρα. Η υδρόφοβη “κεφαλή” αποτελείται συνήθως από μία επιμήκη αλυσίδα λιπαρών οξέων ενώ η υδρόφιλη “ουρά” μπορεί να είναι ανιονικού, αμφοτερικού, κατιονικού ή μη ιονικού χαρακτήρα. Ανάλογα με τη φύση του υδρόφιλου τμήματος, οι γαλακτωματοποιητές χαμηλού μοριακού βάρους διακρίνονται σε ανιονικούς, κατιονικούς και ουδέτερους. Οι κατιονικοί έχουν συνήθως βακτηριοκτόνο, τοξική δράση και δεν ενδείκνυνται ως πρόσθετα τροφίμων. Οι μη ιονικοί είναι ανθεκτικοί σε μεταβολές του pH και τη συγκέντρωση αλάτων στην υδατική φάση, ενώ η λειτουργικότητα των ιονικών επηρεάζεται από το pH και την ιονική ισχύ.

Οι γαλακτωματοποιητές μπορεί να είναι φυσικοί (π.χ. λεκιθίνη), ημισυνθετικοί ή συνθετικοί, δηλαδή να προκύπτουν από σύνθετες αντιδράσεις συμπύκνωσης και πολυμερισμού. Κατηγοριοποιούνται με κριτήριο διάφορα χαρακτηριστικά, όπως η προέλευσή τους, η τιμή HLB, η παρουσία λειτουργικών ομάδων στο μόριό τους και ο ιονισμός.. Ανάλογα με τις συνθήκες αντίδρασης της παρασκευής τους, οι γαλακτωματοποιητές χαμηλού μοριακού βάρους παρουσιάζουν διαφορές μεταξύ τους ως προς τη σύσταση αλλά κατηγοριοποιούνται με βάση την κύρια δομική τους μονάδα σε:

- Λεκιθίνη και παράγωγα λεκιθίνης
- Μονογλυκερίδια, διγλυκερίδια και παράγωγά τους
- Εστέρες μονο- και διγλυκεριδίων
- Πολυγλυκερολικοί εστέρες των λιπαρών οξέων
- Στεατικοί εστέρες του γαλακτικού οξέος
- Σορβικοί εστέρες του μονοστεατικού οξέος
- Προπυλενογλυκολικοί εστέρες των λιπαρών οξέων
- Εστέρες σακχαρόζης με λιπαρά οξέα

2.2 Υδροκολλοειδή

Τα υδροκολλοειδή είναι ετεροπολυσακχαρίτες μεγάλου μοριακού βάρους με υδρόφιλο χαρακτήρα και κολλοειδείς ιδιότητες. Διαλυμένα σε νερό σχηματίζουν πηκτές, δηλαδή αιωρήματα υψηλού ιξώδους, ή διαλύματα με χαμηλό σε ξηρή ουσία περιεχόμενο. Στη βιομηχανία τροφίμων χρησιμοποιούνται για τη διαμόρφωση της μικροδομής, της γεύσης, της υφής και του χρόνου ζωής των προϊόντων. Συγκριμένα, η χρήση τους αφορά στην πήξη και τη δημιουργία πηκτών, τη σταθεροποίηση και δημιουργία γαλακτωμάτων, το σχηματισμό αιωρημάτων, αφρών και τον μικροεγκλεισμό ουσιών. Ο όρος “υδροκολλοειδή” περιλαμβάνει όλους τους πολυσακχαρίτες που παραλαμβάνονται από φυτά, φύκη και μικροβιακές πηγές, κόμμεα από φυτικά εξιδρώματα και τροποποιημένα βιοπολυμερή από τη χημική και ενζυμική επεξεργασία αμύλου ή κυτταρίνης. Στα υδροκολλοειδή κατατάσσεται κατ’ εξαίρεση και μία πρωτεΐνη, η ζελατίνη, λόγω του έντονα υδροφιλικού της χαρακτήρα.

Η δομή των μορίων των υδροκολλοειδών μπορεί να είναι είτε γραμμική, όπως στην περίπτωση της κυτταρίνης, της αμυλόζης και της πηκτίνης, είτε διακλαδισμένη. Η γραμμική μορφή είναι η πλέον διαδεδομένη στη φύση και αποτελείται από επαναλαμβανόμενες μονάδες απλών σακχάρων ή παραγώγων τους, με πλευρικές διακλαδώσεις που μπορεί να είναι σάκχαρα, πολυσακχαρίτες, μεθυλεστέρες, θειικές ομάδες ή καρβοξυλομάδες. Οι πλευρικές ομάδες των μορίων έχουν σημαντική επίδραση στις ιδιότητες των υδροκολλοειδών.

Τα μόρια των πολυσακχαριτών εμφανίζουν πολύ μικρή επιφανειοδραστικότητα, καθότι υδρόφιλα, και στις περισσότερες περιπτώσεις δεν προσροφώνται σε υδρόφιλες επιφάνειες. Εξαίρεση στο παραπάνω αποτελούν η ζελατίνη, το αραβικό κόμμι, κάποιες φυσικές γαλακτομαννάνες (κόμμι γκούαρ), τροποποιημένα παράγωγα αμύλου ή κυτταρίνης, ακετυλιωμένη πηκτίνη από ζαχαρότευτλα και αποπολυμερισμένη πηκτίνη από κίτρο.

Τα υδροκολλοειδή χρησιμοποιούνται ως σταθεροποιητές σε γαλακτώματα. Οι σταθεροποιητές είναι χημικές ουσίες ή μίγματα ουσιών που μπορούν να παρέχουν μακροπρόθεσμη σταθερότητα στα κολλοειδή τροφίμων, πιθανά με έναν μηχανισμό που περιλαμβάνει προσρόφηση αλλά όχι απαραίτητα. Ένας πολυσακχαρίτης μεγάλου μοριακού βάρους όπως η ξανθάνη ή τα παράγωγα κυτταρίνης είναι “σταθεροποιητής” αλλά όχι “γαλακτωματοποιητής” αφού δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνος του για να σχηματίσει γαλάκτωμα αλλά μόνο να σταθεροποιήσει ένα που έχει ήδη

διαμορφωθεί. Η κυριότερη δράση των μεγάλου μοριακού βάρους πολυσακχαριτών είναι η μεταβολή του ιξώδους ή ζελατινοποίηση στο υδατικό μέσο. Στην παρούσα μεταπτυχιακή μελέτη ως σταθεροποιητές επιλέχθηκαν τα παράγωγα κυτταρίνης.

2.2.1 Παράγωγα κυτταρίνης

Η κυτταρίνη είναι πιθανόν η πιο άφθονη οργανική ουσία που υπάρχει στη φύση και είναι το κύριο συστατικό των περισσότερων φυτών της ξηράς. Είναι η πρώτη ύλη για ένα μεγάλο εύρος τροποποιήσεων με χρήση και στη βιομηχανία τροφίμων αλλά και σε άλλου είδους εφαρμογές. Οι τροποποιημένες κυτταρίνες που γενικά είναι αποδεκτές σαν πρόσθετα τροφίμων είναι:

- μέθυλοκυτταρίνη – methyl cellulose E461 (mc)
- υδροξυπροπυλοκυτταρίνη – hydroxypropyl cellulose E463 (hpc)
- υδροξυπροπυλ μεθυλοκυτταρίνη – hydroxypropyl methyl cellulose E464 (hpmc)
- καρβοξυλομεθυλοκυτταρίνη – carboxymethyl cellulose E466 (cmc)

Το κοινό χαρακτηριστικό όλων αυτών των πρόσθετων είναι ότι αποτελούν υδροκολλοειδή που προέρχονται από κυτταρίνη χημικά τροποποιημένη.

Η πρώτη ύλη για τις τροποποιημένες κυτταρίνες είναι η πούλπα κυτταρίνης, η οποία έχει παραχθεί από πούλπα ξύλου από ειδικά είδη ή από βαμβάκι. Το μήκος της πολυμερούς αλυσίδας της κυτταρίνης ποικίλει ανάλογα με την πρώτη ύλη. Σε γενικές γραμμές, η πούλπα κυτταρίνης είναι διασπαρμένη σε διάλυμα αλκάλειος για να σχηματιστεί αλκαλική κυτταρίνη και στη συνέχεια επεξεργάζεται με κατάλληλα αντιδραστήρια, κάτω από αυστηρά ελεγχόμενες συνθήκες, για να υποκατασταθούν τα μονομερή ανυδρογλυκόζης από τις αλυσίδες κυτταρίνης. Η υποκατάσταση συμβαίνει στις υδροξυλομάδες και το αντιδραστήριο υποκατάστασης για την hydroxypropyl cellulose είναι το προπυλενικό οξύ. Η αντίδραση υποκατάστασης ακολουθείται από καθαρισμό για να απομακρυνθούν τα υπο-προϊόντα και να επιτευχθούν τα επίπεδα καθαρότητας που επιβάλλονται για τα πρόσθετα τροφίμων.

Το μόριο της κυτταρίνης φαίνεται σαν πολυμερής αλυσίδα που αποτελείται από δύο επαναλαμβανόμενες μονάδες ανυδρογλυκόζης ενωμένες μέσω 1,4-γλυκοσιδικού δεσμού. Σε αυτή τη δομή, n είναι ο αριθμός των μονάδων ανυδρογλυκόζης ή του βαθμού πολυμερισμού.

Υπάρχουν τρεις κύριοι παράγοντες που επηρεάζουν τις ιδιότητες των τροποποιημένων κυτταρινών, ο τύπος της υποκατάστασης της κυτταρίνης, ο μέσος βαθμός μήκους αλυσίδων πολυμερισμού των μορίων κυτταρίνης και ο βαθμός υποκατάστασης της αλυσίδας. Επιπρόσθετα, είναι πιθανό να εμφανίζονται εναλλαγές στο μέγεθος των μορίων του υδροκολλοειδούς. Το μέγεθος των μορίων και το φαινόμενο ειδικό βάρος της σκόνης επηρεάζουν τα χαρακτηριστικά διάλυσης του προϊόντος. Όταν το υλικό είναι πολύ καλά κονιορτοποιημένο βοηθάει στη γρήγορη ενυδάτωση, αλλά δεν διαλύεται τόσο εύκολα και γι αυτό είναι απαραίτητο να ακολουθήσει ανάδευση.

Ο βαθμός πολυμερισμού είναι μέτρο του μήκους της αλυσίδας του πολυμερούς. Μεγάλος βαθμός πολυμερισμού συνδέεται με τη γρήγορη αύξηση του ιξώδους της τροποποιημένης κυτταρίνης στο διάλυμα.

Γενικά, οι τροποποιημένες κυτταρίνες δίνουν ουδέτερο άρωμα καθώς και άοσμα και άχρωμα καθαρά διαλύματα. Οι τροποποιημένες κυτταρίνες, σε σκόνη ή σε κοκκώδη μορφή, είναι ικανές να απορροφήσουν υγρασία από την ατμόσφαιρα και για το λόγο αυτό συνίσταται η αποθήκευσή τους σε αεροστεγή συσκευασία.

Η μεθυλοκυτταρίνη (methylcellulose, MC) παράγεται από την αντίδραση ακατέργαστης κυτταρίνης με μεθυλοχλωρίδιο υπό ελεγχόμενες συνθήκες. Είναι διαλυτή σε κρύο νερό αλλά αδιάλυτη σε ζεστό, όπου και σχηματίζει πηκτές. Χρησιμοποιείται ως πηκτωματογόνος παράγοντας, γαλακτωματοποιητής και σταθεροποιητής σε επικαλύψεις (dressings) σαλάτας χαμηλών λιπαρών, αρτοποιήματα (κέικ, μπισκότα, ψωμί), λουκάνικα και μπιφτέκια σόγιας. Οι υδροξυπροπυλοκυτταρίνη (hydroxypropylcellulose, HPC) και υδροξυαιθυλοκυτταρίνη (hydroxyethylcellulose, HEC) προκύπτουν από την αντίδραση κυτταρίνης με οξείδιο προπυλενίου και οξείδιο αιθυλενίου αντίστοιχα. Η πρώτη είναι υδατοδιαλυτή μέχρι τους 45°C, σχηματίζει υμένια και είναι επιφανειοδραστική. Χρησιμοποιείται ως σταθεροποιητής σε υλικά επικάλυψης, καθώς και σε αλκοολούχα ποτά (είναι διαλυτή στην αιθανόλη).

Η καρβοξυμεθυλοκυτταρίνη (carboxymethyl cellulose, CMC) προκύπτει μετά από αντίδραση αλκαλικυτταρίνης με χλωροξικό οξύ. Διαλύεται τόσο σε κρύο όσο και ζεστό νερό και δίνει διαυγή και άγευστα διαλύματα με εύρος τιμών ιξώδους ανάλογα με το βαθμό πολυμερισμού. Διαλύματα με καρβοξυμεθυλοκυτταρίνη μέτριου έως υψηλού βαθμού πολυμερισμού έχουν ρεολογική συμπεριφορά ψευδοπλαστικού, ενώ τα υψηλού έχουν χαμηλότερο ιξώδες. Χρησιμοποιείται ως πηκτωματογόνος

παράγοντας σε ποτά, σάλτσες και dressings, ως σταθεροποιητής σε ποτά φρούτων και συμπυκνωμένους χυμούς, καθώς και για διατήρηση απαλής υφής σε παγωτά και κρύα επιδόρπια.

2.3 Λιπίδια

Το κύριο γνώρισμα αυτής της μονάδας είναι το χαρακτηριστικό της διαλυτότητας και όχι κάποια κοινή δομική μονάδα. Γενικά με τον όρο λιπίδια περιγράφεται μια κατηγορία ενώσεων διαλυτών κυρίως σε μη πολικούς, οργανικούς διαλύτες και ελάχιστα διαλυτών στο νερό. Τα συστατικά αυτά λαμβάνονται από τα τρόφιμα με εκχύλισή τους με οργανικό διαλύτη (αιθέρα, πετρελαϊκό αιθέρα κ.α.).

Μια γενική διάκριση μπορεί να γίνει με βάση τη συγκέντρωση ορισμένων συστατικών στα λιπίδια. Προκύπτουν δύο κατηγορίες, τα κύρια και τα δευτερεύοντα συστατικά των λιπιδίων, τα οποία διακρίνονται περαιτέρω σε επιμέρους ομάδες (Gunstone, 1996).

Πίνακας 3: Ταξινόμηση των κύριων και δευτερευόντων συστατικών των λιπιδίων σε κατηγορίες (Gunstone, 1996)

Κύρια Συστατικά Λιπιδίων		Δευτερεύοντα Συστατικά Λιπιδίων
Λιπαρά (κορεσμένα ή ακόρεστα)	Οξέα	Αλκοόλες (κηροί)
		Στερόλες
		Χρωστικές
Ακυλογλυκερόλες ή γλυκερίδια (μονο, δι-, τρι- γλυκερίδια)		Υδρογονάνθρακες
		Γλυκοζίτες
		Βιταμίνες

2.3.1 Τριγλυκερίδια – Λιπαρά οξέα

Τα λίπη και έλαια αποτελούνται κυρίως από εστέρες της γλυκερίνης με τρία λιπαρά οξέα (τριγλυκερίδια), τα οποία μπορεί να είναι απλά ή μικτά ανάλογα με το αν τα τρία μόρια των λιπαρών οξέων είναι όμοια ή διαφορετικά μεταξύ τους. Τα διάφορα τριγλυκερίδια μπορεί να είναι στερεά στη συνήθη θερμοκρασία δωματίου, δηλαδή είναι λίπη, είτε να είναι υγρά, και αποκαλούνται έλαια. Με βάση την πηγή προέλευσής τους διακρίνονται σε φυτικά έλαια και ζωικά λίπη.

Τα λιπαρά οξέα διακρίνονται σε διάφορες ομάδες ανάλογα με το μήκος της ανθρακικής αλυσίδας, τον αριθμό, τη θέση, τη διαμόρφωση των διπλών δεσμών τους, εφόσον υπάρχουν και την ύπαρξη ή μη πρόσθετων ομάδων. Το ευθύγραμμο τμήμα της αλυσίδας τους αποτελείται από δύο έως ογδόντα άτομα άνθρακα, με συνηθέστερο αριθμό από δώδεκα έως είκοσι δύο άτομα άνθρακα. Λιπαρά οξέα με περιττό αριθμό ατόμων άνθρακα ή και με διακλαδισμένη ανθρακική αλυσίδα απαντώνται σπανίως στη φύση και σε πολύ μικρά ποσοστά. Με την ύπαρξη ή όχι διπλών δεσμών, τα λιπαρά οξέα διακρίνονται σε κορεσμένα ή ακόρεστα. Τα τελευταία διακρίνονται σε μονοακόρεστα και πολυακόρεστα και ταξινομούνται ανάλογα με τη διαμόρφωση και τη θέση του διπλού δεσμού.

2.3.2 Φυτικά έλαια – Ελαιόλαδο

Τα κυριότερα έλαια που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων είναι φυτικής προέλευσης, όπως το αραβοσιτέλαιο, βαμβακέλαιο, σογιέλαιο, φοινικέλαιο, ελαιόλαδο και ηλιέλαιο.

Πίνακας 4: Λιπαρά οξέα (%w/v) στα κυριότερα έλαια (Gunstone,1996).

Φυτικό έλαιο	Παλμιτικό (C16:0)	Στεατικό (C18:0)	Ελαϊκό (C18:1)	Λινελαϊκό (C18:2)	Λινολενικό (C18:3)
Αραβοσιτέλαιο	13	3	31	52	1
Βαμβακέλαιο	27	2	18	51	Ίχνη
Ελαιόλαδο	10	2	78	7	1
Φοινικέλαιο	44	4	40	10	Ίχνη
Σησαμέλαιο	9	6	38	45	1
Ηλιέλαιο	6	5	20	69	Ίχνη
Καρδαμέλαιο	7	3	14	75	-
Σογιέλαιο	11	4	22	53	8

Ιδιαίτερη έμφαση δίνεται στο ελαιόλαδο, το οποίο χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή γαλακτωμάτων στα πειράματα της παρούσας μεταπτυχιακής μελέτης. Ελαιόλαδο ονομάζουμε το φυσικό χυμό που παράγεται από τον καρπό της ελιάς με φυσικές μεθόδους (σύνθλιψη, πίεση, φυγοκέντριση, σινολέα), χωρίς την προσθήκη χημικών βελτιωτικών και χωρίς καμία περαιτέρω κατεργασία.

Η ελιά (επιστ. *Ελαιία, Olea*) είναι γένος καρποφόρων δέντρων της οικογένειας των Ελαιοειδών (*Oleaceae*), το οποίο συναντάται πολύ συχνά και στην Ελλάδα. Η ελιά ευδοκίμει σε κλίματα εύκρατα χωρίς ακρότητες θερμοκρασίας (με μέση ετήσια θερμοκρασία 16°C) και υγρασίας, για αυτό είναι ευρύτατα διαδεδομένη στη μεσογειακή ζώνη (όπως στην Ελλάδα, στην Ιταλία, στην Ισπανία, στην Τουρκία, την Αλγερία και αλλού). Ευδοκίμει σε πολλές περιοχές του κόσμου, αρκεί η θερμοκρασία να μη κατέρχεται πολύ και για μεγάλα χρονικά διαστήματα κάτω από το μηδέν.

Το ελαιόλαδο, όπως και κάθε λιπαρή ύλη, είναι κυρίως ένα μίγμα τριγλυκεριδίων. Εκτός από τα τριγλυκερίδια, το ελαιόλαδο περιέχει μικρές ποσότητες και από άλλα συστατικά που προέρχονται από τον ελαιόκαρπο ή σχηματίζονται κατά την παραλαβή του (Κυριτσάκης, 1998) όπως:

- Ελεύθερα λιπαρά οξέα (προϊόντα υδρόλυσης των τριγλυκεριδίων)
- Φωσφολιπίδια
- Στερόλες
- Φαινόλες
- Αλειφατικές αλκοόλες
- Χρωστικές
- Τοκοφερόλες
- Πτητικές οργανικές ενώσεις
- Διάφορες ρητινοειδείς και ζελατινοειδείς ουσίες, κ.λ.π.

Τα συστατικά του ελαιολάδου, διακρίνονται σε σαπωνοποιήσιμα (τριγλυκερίδια, φωσφολιπίδια, ελεύθερα λιπαρά οξέα, κ.α) και ασαπωνοποιήσιμα (υδρογονάνθρακες, αλειφατικές αλκοόλες, στερόλες, φαινόλες, κ.α.). Το 98,0-99,5% περίπου των συστατικών είναι σαπωνοποιήσιμα και το υπόλοιπο μη σαπωνοποιήσιμα. Παρά το γεγονός ότι το μη σαπωνοποιήσιμο κλάσμα είναι ποσοτικά μικρό, τα συστατικά του διαδραματίζουν σημαντικό διατροφικό καθώς και βιολογικό ρόλο.

Η σύσταση του ελαιολάδου καθώς και των άλλων φυτικών ελαίων σε λιπαρά οξέα δεν είναι σταθερή. Εξαρτάται από ποικίλους παράγοντες όπως :

- η ποικιλία της ελιάς,
- οι εδαφικές καθώς και κλιματολογικές συνθήκες της περιοχής

- ο βαθμός ωριμότητας του καρπού αλλά και διάφοροι άλλοι επηρεάζουν την σύσταση του ελαιολάδου σε λιπαρά οξέα (Κυριτσάκης, 2007).

Τα σημαντικότερα λιπαρά οξέα του ελαιολάδου είναι ακόρεστα. Μεταξύ αυτών σε μεγαλύτερη αναλογία απαντά το μονοακόρεστο ελαϊκό (C18:1). Το δεύτερο σημαντικότερο ακόρεστο λιπαρό οξύ του ελαιολάδου είναι το λινελαϊκό (C18:2). Άλλα ακόρεστα λιπαρά οξέα που απαντούν, στο ελαιόλαδο αλλά σε μικρές ποσότητες, είναι το λινολενικό (C18:3), το αραχιδονικό (C20:4) και το παλμιτελαϊκό (C16:1). Από τα κορεσμένα οξέα αυτό που βρίσκεται σε μεγαλύτερη αναλογία είναι το παλμιτικό (C16:0) ακολουθεί το στεατικό (C18:0) (Κυριτσάκης, 2007).

Τα κύρια τριγλυκερίδια του ελαιολάδου είναι αυτά στα οποία απαντά το ελαϊκό οξύ, καθώς αποτελούν 70-80% του βάρους του ελαίου. Επειδή τα τριγλυκερίδια αυτά είναι υγρά σε θερμοκρασία δωματίου, το ελαιόλαδο στο σύνολο του παραμένει σε υγρή κατάσταση στις συνήθεις θερμοκρασίες δωματίου.

Πίνακας 5: Διακύμανση της περιεκτικότητας του ελαιολάδου σε λιπαρά οξέα (Κυριτσάκης, 2007)

Λιπαρά Οξέα	Περιεκτικότητα (% w/v)
Ελαϊκό	56,0 - 83,0
Παλμιτικό	7,5 - 20,0
Λινελαϊκό	3,5 - 20,0
Στεατικό	0,5 - 5,0
Παλμιτελαϊκό	0,3 - 3,5
Λινολενικό	ίχνη - 1,5

Όλες οι τοκοφερόλες αποτελούν φυσικά αντιοξειδωτικά των ελαίων καθώς παρουσιάζουν αντιοξειδωτική δράση. Η σταθερότητα μάλιστα του ελαιολάδου στην οξείδωση οφείλεται και στην παρουσία των τοκοφερολών οι οποίες οξειδώνονται εύκολα. Εκτός από αντιοξειδωτική δράση, οι τοκοφερόλες παρουσιάζουν και βιταμινική δράση η οποία αυξάνεται αντίθετα με την αντιοξειδωτική τους ικανότητα.

Οι χημικές και φυσικές ιδιότητες ενός ελαίου εξαρτώνται κυρίως από το μήκος της ανθρακικής αλυσίδας των λιπαρών οξέων του και το βαθμό ακορεστότητά τους. Ο βαθμός ακορεστότητας των λιπαρών οξέων έχει βασικό ρόλο στη διαδικασία οξείδωσής τους.

2.3.3 Οξείδωση

Η οξείδωση των λιπιδίων είναι μία από τις πιο σημαντικές χημικές αντιδράσεις που συμβαίνουν σε γαλακτώματα τροφίμων και προκαλεί την μείωση της ποιότητας του προϊόντος. Η οξείδωση των λιπιδίων μπορεί να οδηγήσει στην παραγωγή μιας δυσάρεστης γεύσης-οσμής, απώλεια των ευεργετικών πολυακόρεστων λιπιδίων και το σχηματισμό των δυνητικά τοξικών προϊόντων της αντίδρασης που πολύ συχνά καθιστούν τα τρόφιμα μη αποδεκτά και ακατάλληλα για κατανάλωση (McClements and Decker, 2000). Το χημικό αυτό φαινόμενο παρουσιάζει ιδιαίτερο οικονομικό ενδιαφέρον για την βιομηχανία τροφίμων, καθώς τα παραπροϊόντα της οξείδωσης υποβαθμίζουν ποιοτικά τόσο τα ίδια τα έλαια, όσο και τα τρόφιμα που περιέχουν λιπαρά, μειώνοντας έτσι την διατηρησιμότητά τους.

Μηχανισμός οξείδωσης ακόρεστων λιπαρών οξέων

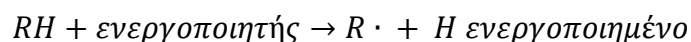
Ο όρος “Οξείδωση των λιπιδίων” χρησιμοποιείται για να περιγράψει μια πολύπλοκη ακολουθία χημικών μεταβολών που προκύπτουν από την αλληλεπίδραση των ακόρεστων λιπαρών οξέων και του δραστικού οξυγόνου. Η αντίδραση αυτή αυτοκαταλύεται, γι αυτό λέγεται και αυτοοξείδωση. Ο ακριβής μηχανισμός της οξείδωσης των λιπιδίων σε ένα συγκεκριμένο τρόφιμο εξαρτάται από τη φύση των αντιδρώντων και του φυσικοχημικού τους περιβάλλον (McClements and Decker, 2000). Η οξείδωση των λιπιδίων μπορεί εύκολα να χωριστεί σε τρία διακριτά στάδια: την έναρξη, τη διάδοση και τον τερματισμό της.

Η διαδικασία της οξείδωσης των λιπαρών οξέων είναι πολύπλοκο φαινόμενο και περιλαμβάνει μεγάλο αριθμό ενδιάμεσων αντιδράσεων και παραγωγή ποικίλων προϊόντων. Για την κατανόηση του φαινομένου αυτού χρησιμοποιούνται απλά μοντέλα λιπαρών οξέων όπως το ελαϊκό, το λινελαϊκό και το λινολενικό οξύ. Τα λιπαρά αυτά οξέα λόγω της ύπαρξης διπλών δεσμών στο μόριό τους είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα στις συνήθεις συνθήκες αποθήκευσης, καθώς οξειδώνονται εύκολα προς σχηματισμό υδροϋπεροξειδίων.

Στάδιο ενεργοποίησης

Στο στάδιο αυτό αποσπάται ένα άτομο υδρογόνου από το μεθυλένιο της 1,4 – πενταδιενικής ομάδας του λιπαρού οξέος και σχηματίζεται μια ρίζα λιπαρού οξέος. Για την απόσπαση, απαιτείται υψηλό ποσό ενέργειας, που παρέχεται από τον

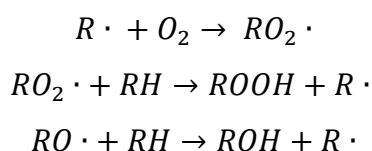
ενεργοποιητή. Με την αύξηση του βαθμού ακορεστότητας αυξάνει η ευκολία σχηματισμού ελεύθερης ρίζας. Το στάδιο αυτό παρίσταται σχηματικά ως εξής :



Γενικά, η έναρξη της οξειδωσης μπορεί να οφείλεται σε ελεύθερες ρίζες άγνωστης προέλευσης, ίχνη μετάλλων, επίδραση θέρμανσης ή ακτινοβολίας, οπότε αποσπάται το άτομο H από συγκεκριμένες θέσεις της αλυσίδας του λιπαρού οξέος.

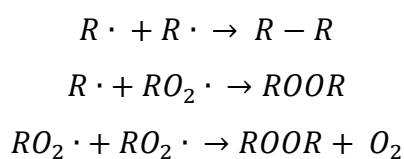
Στάδιο Διάδοσης

Η ρίζα του λιπαρού οξέος που δημιουργήθηκε στο πρώτο στάδιο είναι ιδιαίτερα ασταθής. Η αντίδραση με το ατμοσφαιρικό οξυγόνο οδηγεί στο σχηματισμό μιας ρίζας υπεροξειδίου του λιπαρού οξέος. Αυτό με τη σειρά του αντιδρά με ένα άλλο μόριο λιπαρού οξέος, παράγεται μια δεύτερη ελεύθερη ρίζα, ολοκληρώνοντας έτσι την εξάπλωση της αλυσιδωτής αντίδρασης. Η προσθήκη του οξυγόνου συνοδεύεται από μετάθεση του διπλού δεσμού, που οδηγεί στο σχηματισμό διενικών συζυγών συστημάτων, κυρίως υπό trans μορφή. Λόγω της σταθερότητας των υπεροξειδικών ριζών προκύπτει ότι το περιοριστικό στάδιο στην όλη διαδικασία δημιουργίας νέων ριζών είναι το στάδιο της απόσπασης ενός ατόμου υδρογόνου από ένα άλλο λιπαρό οξύ. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται για όσο χρονικό διάστημα υπάρχουν διαθέσιμα ακόρεστα λιπαρά οξέα, καθώς η νέα ρίζα που σχηματίζεται δρα με τον ίδιο ακριβώς τρόπο.



Στάδιο τερματισμού

Σε αυτό το στάδιο η τάση για αντίδραση των ελεύθερων ριζών τερματίζεται από το σχηματισμό σταθερών σύνθετων προϊόντων. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί είτε λόγω της ύπαρξης αντιοξειδωτικών που δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες, είτε μέσω της αντίδρασης δύο ελεύθερων ριζών σχηματίζοντας τα λεγόμενα δευτερεύοντα προϊόντα της οξειδωσης. Το στάδιο αυτό περιγράφεται από τις παρακάτω αντιδράσεις.



Πρωτογενή προϊόντα οξείδωσης

Οι υπεροξειδικές ρίζες ($\text{RO}_2 \cdot$) που σχηματίζονται στο στάδιο έναρξης ή στο πρώτο στάδιο διάδοσης της αυτοοξείδωσης αντιδρούν με αργό ρυθμό και αποσπών επιλεκτικά ένα άτομο υδρογόνου H από την ανθρακική αλυσίδα ενός λιπαρού οξέος προς σχηματισμό υδροϋπεροξειδίου, ROOH. Η απόσπαση του ατόμου H είναι πιο εύκολη από το μεθυλένιο μιας 1,4-πενταδιενικής ομάδας, καθώς η ενέργεια που απαιτείται είναι η πιο χαμηλή. Η 1,4-διενική ρίζα που δημιουργείται σταθεροποιείται με συντονισμό με διασπορά ηλεκτρονίων σε πέντε άτομα άνθρακα. Αυτό εξηγεί και τους διαφορετικούς ρυθμούς οξείδωσης μεταξύ διαφόρων ακόρεστων λιπαρών οξέων, καθώς και τη σταθερότητα των κορεσμένων λιπαρών οξέων στην οξείδωση.

Πίνακας 6. : Απαιτούμενη ενέργεια για απόσπαση ενός ατόμου H από τμήματα της ανθρακικής αλυσίδας των λιπαρών οξέων (Belitz & Groch, 1999).

Σημεία απόσπασης H από την ανθρακική αλυσίδα των λιπαρών οξέων	Απαιτούμενη Ενέργεια απόσπασης H (kcal mol^{-1})
$\begin{array}{c} \text{CH}_2- \\ \\ \text{H} \end{array}$	100
$\begin{array}{c} -\text{CH}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{H} \end{array}$	98
$\begin{array}{c} -\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}- \\ \\ \text{H} \end{array}$	76
$\begin{array}{c} -\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}- \\ \\ \text{H} \end{array}$	65

Δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης

Τα πρωτογενή προϊόντα οξείδωσης είναι σχετικά σταθερές ενώσεις σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Ωστόσο, παρουσία ιόντων μετάλλων ή υψηλής θερμοκρασίας, διασπώνται σε αλκοξυλικές ρίζες ($\text{RO}\cdot$) και κατόπιν σχηματίζουν ένα μεγάλο αριθμό δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης, όπως αλδεΐδες, κετόνες, οξέα, αλκοόλες και υδρογονάνθρακες.

Τα πρωτογενή προϊόντα οξειδωσης είναι άοσμα και άγευστα, οπότε η ποιότητα των τροφίμων δεν επηρεάζεται από αυτά. Η οξειδωση των τροφίμων γίνεται αντιληπτή όταν σχηματιστούν τα δευτερογενή προϊόντα οξειδωσης και κυρίως τα πτητικά προϊόντα, ορισμένα από τα οποία παρουσιάζουν δυσάρεστη οσμή και γεύση ακόμη και σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις. Πολλά από αυτά είναι ιδιαίτερα ενεργά και μπορούν να προάγουν την οξειδωση των λιπαρών in vivo, προκαλώντας πολλές παθήσεις όπως καρκίνο, αθηροσκλήρωση, καρδιακά νοσήματα και αλλεργικές αντιδράσεις.

Η διάσπαση των υδροϋπεροξειδίων ξεκινά σχεδόν από τη στιγμή που αυτά σχηματίζονται. Στα πρώτα στάδια της αυτοοξειδωσης, ο ρυθμός σχηματισμού τους υπερβαίνει το ρυθμό διάσπασής τους, γεγονός που αντιστρέφεται στα επόμενα στάδια της οξειδωσης. Ωστόσο, ο χρόνος που αρχίζουν να σχηματίζονται τα δευτερογενή προϊόντα οξειδωσης ποικίλει μεταξύ των διαφορετικών ελαίων. Έτσι μπορεί να σχηματίζονται άμεσα από τη στιγμή που δημιουργούνται τα υδροϋπεροξειδία στο ελαιόλαδο και την ελαιοκράμβη, ενώ στο ηλιέλαιο, ο σχηματισμός τους ξεκινά από τη στιγμή που ο αριθμός των υδροϋπεροξειδίων έχει φτάσει σε μια ικανοποιητική συγκέντρωση.

Το πιο σύνηθες μονοπάτι διάσπασης των υδροϋπεροξειδίων είναι η ομολυτική διάσπαση του δεσμού μεταξύ των ατόμων οξυγόνου, οπότε παράγονται μία αλκοξύ- (RO·) και μία ύδροξυ- ρίζα (HO·). Η ενέργεια ενεργοποίησης για τη διάσπαση του δεσμού μεταξύ ατόμων οξυγόνου είναι 46 kcal/mol χαμηλότερη, από την ενέργεια για τη διάσπαση του δεσμού μεταξύ οξυγόνου και υδρογόνου (90 kcal/mol).

2.3.4 Μέθοδοι μέτρησης των προϊόντων της οξειδωσης των λιπαρών οξέων

Η οξειδωση των λιπαρών οξέων οδηγεί στο σχηματισμό πολλών προϊόντων, για την μέτρηση των οποίων έχουν αναπτυχθεί διάφορες μέθοδοι. Καθώς τα προϊόντα της οξειδωσης διαφέρουν μεταξύ τους, οι μέθοδοι μέτρησης τους διαφέρουν ανά στάδιο. Πράγματι καμία μέθοδος δεν μπορεί να μετρήσει όλα τα προϊόντα της οξειδωσης απευθείας, σε όλα τα στάδια και δεν είναι κατάλληλη για την ανάλυση όλων των τροφίμων. Κάθε μέθοδος είναι επιλεκτική για τον προσδιορισμό ορισμένων προϊόντων, σε ορισμένα συστήματα τροφίμων κάτω από ορισμένες συνθήκες. Ως εκ τούτου, είναι απαραίτητος ο συνδυασμός των κατάλληλων μεθόδων για την

ολοκληρωμένη παρακολούθηση του φαινομένου της οξειδωσης. Οι μέθοδοι αυτές κατηγοριοποιούνται σε δύο μεγάλες ομάδες. Οι μέθοδοι της μίας ομάδας μετρούν τα πρωτογενή προϊόντα της οξειδωσης, ενώ της άλλης ομάδας τα δευτερογενή.

Παρακάτω παρουσιάζονται οι βασικές αρχές των μεθόδων μέτρησης των προϊόντων της οξειδωσης, οι οποίες χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μεταπτυχιακή μελέτη. Από αυτές ο προσδιορισμός των συζυγών διενίων αναφέρεται στα πρωτογενή προϊόντα της οξειδωσης, ενώ η μέθοδος της ανισιδίνης στα δευτερογενή.

Μέτρηση πρωτογενών προϊόντων οξειδωσης – Μέθοδος Συζυγών Διενίων (Conjugated Dienes Assay – CD)

Η οξειδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων σχετίζεται με αύξηση της απορρόφησης στην περιοχή του υπεριώδους φάσματος ακτινοβολίας. Αυτό συμβαίνει διότι στα πρώτα στάδια της οξειδωσής τους, συμβαίνει μετατόπιση των θέσεων των διπλών δεσμών. Η μετατόπιση αυτή λαμβάνει χώρα καθώς χάνεται ένα άτομο υδρογόνου από τη μεθυλενομάδα που βρίσκεται μεταξύ δύο διπλών δεσμών της κύριας ανθρακικής αλυσίδας του λιπαρού οξέως. Το ηλεκτρόνιο της ενδιάμεσης ρίζας που σχηματίζεται μετατοπίζεται, για να σχηματίσει μία από τις δύο πιθανές δομές συζυγών διενίων. Υπό αυτή τη μορφή τα συστατικά αντιδρούν με το μοριακό οξυγόνο, για να σχηματίσουν τελικά συζυγή υπεροξειδία, με αποτέλεσμα την άμεση συσχέτιση των συζυγιακών μορφών με το βαθμό οξειδωσης των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων.

Τα σχηματιζόμενα συζυγή διένια παρουσιάζουν μέγιστη απορρόφηση σε μήκος κύματος 232 – 234 nm (IUPAC 2.505,1987), ενώ τα αντίστοιχα συζυγή τριένια στα 268nm. Η μέτρηση των συζυγών διενίων μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης της οξειδωτικής σταθερότητας των λιπών και των ελαίων, σε αντικατάσταση ή επιπρόσθετα του αριθμού υπεροξειδίων. Η μέθοδος των συζυγών διενίων είναι ταχύτερη, απλούστερη, δεν εξαρτάται από χημικές αντιδράσεις ή από τον σχηματισμό χρωμοφόρου ένωσης και απαιτεί ακόμη μικρότερη ποσότητα δείγματος. Το μόνο μειονέκτημα της μεθόδου είναι η παρεμβολή από άλλες ουσίες που είναι τυχόν παρούσες και απορροφούν στην ίδια περιοχή φάσματος ακτινοβολίας.

Μέτρηση δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης – Μέθοδος με τη δοκιμή ανισιδίνης (P-anV test)

Ο υπολογισμός της τιμής της p-anisidine είναι μία από τις παλαιότερες μεθόδους μέτρησης των δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης των λιπαρών οξέων. Βασίζεται στην δραστικότητα μεταξύ του δεσμού καρβονυλίου αλδεύδης στην αμινόμαδα της p-anisidine, που οδηγεί στον σχηματισμό μίας βάσης Schiff η οποία απορροφά σε μήκος κύματος 350 nm.



Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται κυρίως στην ανάλυση ζωικών λιπών και φυτικών ελαίων που χρησιμοποιούνται σε τρόφιμα ή καλλυντικά και δίνει ενδιαφέρουσες πληροφορίες όσον αφορά τις καρβονυλικές ενώσεις και ειδικότερα τις ακόρεστες αλδεύδες.

Με τη μέθοδο αυτή μπορούν να μετρηθούν και άλλα προϊόντα υψηλού μοριακού βάρους, όπως διμερή τριγλυκεριδίων, καθώς και μη πτητικές αλδεύδες που σχηματίζονται κατά τη διάρκεια της οξείδωσης των λιπιδίων. Η παρουσία αυτών των αλδευδών θα μπορούσε να εξηγήσει κάποιες ασυμφωνίες που παρατηρούνται κατά την ανάλυση ορισμένων προϊόντων. Ένα έλαιο που παραλαμβάνεται από τον εξευγενισμό μιας ιδιαίτερα οξειδωμένης πρώτης ύλης θα μπορούσε να έχει μια υψηλή τιμή p-anisidine και μία μη ανιχνεύσιμη οσμή τάγγισης λόγω της παρουσίας των μη πτητικών αλδευδών, οι οποίες είναι δύσκολο να αφαιρεθούν κατά τον εξευγενισμό.

Τα αποτελέσματα, ωστόσο, ερμηνεύονται με έναν σχετικά εμπειρικό τρόπο, καθώς κάθε μία από τις πολλές αλδεύδες που παράγονται κατά την οξείδωσης παράγει ένα ειδικό σήμα. Είναι γνωστό ότι η χρωματομετρική απόκριση με p-anisidine ποικίλλει ανάλογα με την έκταση της ακορεστότητας της αλδεύδης. Ως εκ τούτου, σε ταυτόσημες συγκεντρώσεις, η απόκριση των δι-ακόρεστων αλδευδών είναι πιο έντονη από εκείνη των μονο - ακόρεστων αλδευδών, οι οποίες με τη σειρά τους είναι πιο ευαίσθητες από τις κορεσμένες αλδεύδες. Επιπλέον, η p - ανισιδίνη αντιδρά με όλες τις αλδεύδες, ανεξαρτήτως την προέλευσή τους. Αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό για ορισμένες φαινολικές ενώσεις του παρθένου ελαιολάδου, οι οποίες θα μπορούσαν να παρέμβουν στην μέτρηση.

Τέλος, μελέτες που βασίζονται στην συσχέτιση της τιμής p – ανιδινίνης με τις οργανοληπτικές ιδιότητες υπογραμμίζουν την αποτελεσματικότητα αυτής της δοκιμής για την μέτρηση της οξείδωσης σε πολλά διαφορετικά λιπίδια. Ωστόσο, αυτές οι συσχετισμοί μπορεί να διαφέρουν σημαντικά μεταξύ των διάφορων λιπιδίων και ανάλογα με τις επικρατούσες συνθήκες οξείδωσης. Γι αυτό το λόγο απαιτείται ιδιαίτερη προσοχή κατά την ερμηνεία του δείκτη αυτού.

2.4 Αντιοξειδωτικές ουσίες

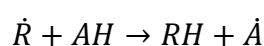
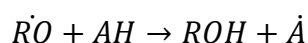
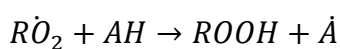
Τα αντιοξειδωτικά είναι ουσίες, που καθυστερούν την έναρξη της οξείδωσης των λιπαρών οξέων ή μειώνουν το ρυθμό της, οπότε συμβάλλουν στη βελτίωση της ποιότητας των τροφίμων και στην παράταση της διάρκειας ζωής τους. Τα αντιοξειδωτικά μπορεί να υπάρχουν φυσικά στα τρόφιμα ή να προστίθενται σε αυτά κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας τους. Σε αυτή την περίπτωση, η επιλογή του αντιοξειδωτικού γίνεται με κριτήρια τη συμβατότητά του με το τρόφιμο στο οποίο πρόκειται να προστεθεί και βάσει τη νομοθεσία κάθε χώρας ή της ευρωπαϊκής ένωσης για τα επιτρεπόμενα πρόσθετα και τις αντίστοιχες συγκεντρώσεις τους. (Οδηγία 95/2/EC/15-08-2006 για τα πρόσθετα τροφίμων εκτός των χρωστικών και γλυκαντικών υλών, όπως αντικαταστάθηκε από τον κανονισμό 1333/2008/EC/31-12-2008 για τα πρόσθετα τροφίμων).

Όλα τα αντιοξειδωτικά τα οποία χρησιμοποιούνται σε συστήματα τροφίμων είναι να ικανοποιούν κάποιες συγκεκριμένες απαιτήσεις. Πρέπει να έχουν χαμηλό κόστος, να μην είναι τοξικά, να είναι αποτελεσματικά σε χαμηλές συγκεντρώσεις, σταθερά στο τελικό προϊόν, να διατηρούνται στο τέλος της επεξεργασίας, να διαλύονται στα λιπαρά και να μην παρουσιάζουν έντονη οσμή, χρώμα και γεύση.

Τα διάφορα αντιοξειδωτικά δρουν με διαφορετικό τρόπο κατά τη διάρκεια της οξείδωσης των λιπαρών οξέων. Έτσι μπορούν να συμβάλλουν στη μείωση της συγκέντρωσης του οξυγόνου, να αναχαιτίζουν τη δράση του, να εμποδίζουν τις αντιδράσεις έναρξης της οξείδωσης με το να δεσμεύουν ρίζες, να δημιουργούν σύμπλοκες ενώσεις με τα μέταλλα, να διασπών τα προϊόντα της οξείδωσης σε σταθερά ανενεργά προϊόντα ή τέλος να εμποδίζουν τις αντιδράσεις οξείδωσης δρώντας ανταγωνιστικά στην απόσπαση υδρογόνου από τα ακόρεστα λιπαρά οξέα. Τα αντιοξειδωτικά μπορούν να ταξινομηθούν σε πρωτογενή και δευτερογενή αντιοξειδωτικά, ανάλογα με το μηχανισμό με τον οποίο λειτουργούν.

Πρωτογενή αντιοξειδωτικά

Τα πρωτογενή αντιοξειδωτικά, διασπών την αλυσιδωτή αντίδραση της οξείδωσης, είναι δέκτες ελεύθερων ριζών ή δότες ηλεκτρονίων, επιβραδύνοντας έτσι το στάδιο έναρξης ή διακόπτοντας το στάδιο διάδοσης της οξείδωσης (McClements and Decker, 2000). Η δράση των πρωτογενών αντιοξειδωτικών παρουσιάζεται στις παρακάτω αντιδράσεις :



Τα πρωτογενή αντιοξειδωτικά είναι περισσότερο αποτελεσματικά, όταν προστίθενται στην αρχή της οξείδωσης, στην περίοδο επώασης και στο στάδιο της έναρξης, παρά όταν έχει ήδη ξεκινήσει το στάδιο της διάδοσης. Αυτό συμβαίνει, διότι η δράση τους δεν ευνοείται σε λιπαρά τα οποία περιέχουν μεγάλο αριθμό υπεροξειδίων, οπότε και ο ρυθμός κατανάλωσής τους είναι ταχύς. Η αποτελεσματικότητά τους εξαρτάται, επίσης, από τη χημική τους δομή, τις συνθήκες του διαλύματος (pH, ιοντική ισχύς, θερμοκρασία) και το φυσικοχημικό περιβάλλον (λάδι, νερό, διεπιφανειακή περιοχή). Τα συνθετικά πρόσθετα τροφίμων, όπως τα BHA, BHT, TBHQ, είναι κοινά αντιοξειδωτικά που σπάζουν αλυσίδες και χρησιμοποιούνται σε συστήματα τροφίμων. Αυτά τα συνθετικά αντιοξειδωτικά είναι εξαιρετικά αποτελεσματικά στον έλεγχο της οξείδωσης των λιπιδίων. Ωστόσο, η ζήτηση των καταναλωτών για πλήρως φυσικά τρόφιμα ώθησε τη βιομηχανία τροφίμων να ψάξει για εναλλακτικές λύσεις πιο φιλικές προς τον καταναλωτή. Για το λόγο αυτό, διεξάγονται μελέτες για να αξιολογηθεί η αποτελεσματικότητα φυσικών αντιοξειδωτικών που σπάνε τις αλυσίδες τόσο σε έλαια όσο και σε γαλακτώματα, όπως οι τοκοφερόλες, τα εκχυλίσματα φρούτων και εκχυλίσματα φυτών (McClements και Decker, 2000).

Δευτερογενή αντιοξειδωτικά

Τα δευτερογενή αντιοξειδωτικά μπορούν να επιβραδύνουν την οξείδωση των λιπιδίων μέσω μιας ποικιλίας μηχανισμών. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι κανένας από αυτούς τους μηχανισμούς δεν περιλαμβάνει τη μετατροπή των ελεύθερων ριζών ειδών σε σταθερά προϊόντα όπως τα πρωτογενή αντιοξειδωτικά.

Τα δευτερογενή αντιοξειδωτικά μπορούν να σχηματίσουν σύμπλοκες ενώσεις με μέταλλα, τα οποία έχουν προ-οξειδωτική δράση και να τα απενεργοποιήσουν, να διασπάσουν τα υδροϋπεροξειδία σε ανενεργά προϊόντα ή να παρεμποδίσουν τη διάσπασή τους ή να δράσουν ως δεσμευτές οξυγόνου. Πολύ συχνά, τα δευτερογενή αντιοξειδωτικά ονομάζονται και συνεργιστικά αντιοξειδωτικά, αφού προάγουν τη δράση των πρωτογενών αντιοξειδωτικών, αναπληρώνοντας σε αυτά το άτομο υδρογόνου που προσφέρουν κατά τη δράση τους και συντελώντας έτσι στον ανασχηματισμό τους. Παραδείγματα τέτοιων αντιοξειδωτικών είναι το κιτρικό, το ασκορβικό και το τρυγικό οξύ, ο παλμιτεστέρας του ασκορβικού οξέως και η λεκιθίνη.

Όσον αφορά τα γαλακτώματα τύπου έλαιο σε νερό ο πιο σημαντικός τύπος δευτερογενών αντιοξειδωτικών είναι εκείνα δημιουργούν σύμπλοκες ενώσεις με τα ιόντα μετάλλων (McClements and Decker , 2000). Έχει αποδειχθεί ότι να είναι ένας σημαντικός παράγοντας για την προώθηση της οξείδωσης των λιπιδίων είναι η παρουσία μετάλλων μετάπτωσης, όπως σίδηρος ή ο χαλκός, στην υδατική φάση γαλακτωμάτων τύπου έλαιο σε νερό. Ο σχηματισμός σύμπλοκων ενώσεων με τα μέταλλα έχει ως συνέπεια τη μείωση του προ-οξειδωτικού τους χαρακτήρα, με το να μειώνεται το οξειδοαναγωγικό τους δυναμικό και να σταθεροποιείται η οξειδωτική μορφή του μετάλλου. Έτσι το μέταλλο δεν μπορεί να συμμετάσχει σε αντιδράσεις οξειδοαναγωγής και η ενέργεια ενεργοποίησης των αντιδράσεων έναρξης αυξάνεται. Στους καλούς χηλικούς παράγοντες συγκαταλέγονται το κιτρικό, το οξαλικό, το ηλεκτρικό, το μαλλικό, το τρυγικό και το φωσφορικό οξύ, καθώς και το EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid).

Η επιλογή ενός συγκεκριμένου πρόσθετου εξαρτάται από τον συγκεκριμένο τύπο τροφίμου. Υπάρχουν αρκετά μέσα επιβράδυνσης της οξείδωσης του γαλακτωματοποιημένου λίπους. Στην πράξη, το πιο αποτελεσματικό μέσο για τον έλεγχο της οξείδωσης των λιπιδίων σε γαλακτώματα είναι η χρήση συνδυασμού διαφορετικών αντιοξειδωτικών τεχνικών (McClements and Decker, 2000).

2.4.1 Κουρκουμίνη

Ο κουρκουμάς ή κιτρινόριζα (Turmeric), με επιστημονική ονομασία *Curcuma longa* ή *Curcuma domestica*, είναι ένα ριζωματοειδές πολυετές φυτό της οικογένειας των Zingiberaceae. Προέρχεται από την τροπική Νότιο Ασία και το κύριο συστατικό

του είναι η κουρκουμίνη. Τα δέντρα καλλιεργούνται για τα ριζώματά τους, τα οποία βράζονται, στη συνέχεια ψήνονται σε φούρνους και τελικά αλέθονται και παραλαμβάνεται η γνωστή κίτρινη σκόνη. Η κουρκουμίνη ως πρόσθετο τροφίμων έχει τον κωδικό E100.

Περισσότεροι από ένα δισεκατομμύριο άνθρωποι καταναλώνουν κουρκουμίνη τακτικά στη διατροφή τους . Η κουρκουμίνη χρησιμοποιούταν ανέκαθεν στην Ανατολική ιατρική και τελευταία κερδίζει την προσοχή στη Δυτική, όχι μόνο ως ένα μη στεροειδές αντιφλεγμονώδες φάρμακο (NSAID), αλλά επίσης για τις προληπτικές ιδιότητές της. Ουσιαστικά, η κουρκουμίνη πιστεύεται ότι διαθέτει γενικευμένες προστατευτικές ιδιότητες .

Η κουρκουμίνη, παρουσιάζει αντιφλεγμονώδεις και αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Η κουρκουμίνη είναι μια πολυφαινόλη χαμηλού μοριακού βάρους, που χαρακτηρίστηκε χημικά για πρώτη φορά το 1910, με το μοριακό τύπο $C_{21}H_{20}O_6$. Γενικά θεωρείται το πιο δραστικό συστατικό και αποτελεί το 2-8 % των περισσότερων σκευασμάτων κουρκουμά. Για πολλούς αιώνες χρησιμοποιείται ως κίτρινο μπαχαρικό στην ινδική διατροφή και ως ένα φυσικό φάρμακο για τη θεραπεία φλεγμονωδών ασθενειών.

Οι επιθυμητές προληπτικές ή υποθετικά θεραπευτικές ιδιότητες της κουρκουμίνης θεωρείται ότι σχετίζονται με την αντιοξειδωτική του φύση, καθώς η υπεροξείδωση των λιπιδίων των μεμβρανών από τις ελεύθερες ρίζες και η καταστροφή των πρωτεϊνών του DNA μέσω οξείδωσης σχετίζονται με μια ποικιλία χρόνιων παθολογικών καταστάσεων, όπως ο καρκίνος , η αθηροσκλήρωση, διάφορες νευροεκφυλιστικές ασθένειες και τη γήρανση. Η κουρκουμίνη φαίνεται να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο ενάντια στο οξειδωτικό στρες που προκαλείται από αυτές τις παθολογικές καταστάσεις. Ως εκ τούτου, τις τελευταίες δεκαετίες έχουν γίνει εντατικές έρευνες; αφιερωμένες στην αντιοξειδωτική της δράση.

Είναι γνωστό ότι η κουρκουμίνη προστατεύει τις βιο-μεμβράνες ενάντια στις καταστροφές λόγω οξείδωσης. Η οξείδωση των λιπιδίων είναι μια ελεύθερη αλυσιδωτή αντίδραση στην οποία συμμετέχουν οι ελεύθερες ρίζες και η οποία οδηγεί σε βλάβες στις κυτταρικές μεμβράνες. Η αναστολή της οξείδωσης από την κουρκουμίνη αποδίδεται κυρίως στην αναχαίτιση των ελεύθερων ενεργών ριζών που συμμετέχουν στις αντιδράσεις. Τα περισσότερα από τα αντιοξειδωτικά έχουν είτε μία λειτουργική φαινολική ομάδα ή μια ομάδα β-δικετόνης. Η κουρκουμίνη είναι ένα μοναδικό αντιοξειδωτικό, το οποίο περιέχει ποικιλία λειτουργικών ομάδων,

συμπεριλαμβανομένης της ομάδας β-δικετόνης, διπλούς δεσμούς άνθρακα και δακτυλίους φαινυλίου που περιέχουν υδρόξυ- και μεθόξυ- υποκαταστάτες.

Το βασικό ερώτημα είναι αν η αντιοξειδωτική της ιδιότητα οφείλεται στην φαινολική ομάδα ή το κεντρικό μεθυλενικό υδρογόνο στο επταδιενικό ήμισυ. Μελέτες κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η κουρκουμίνη είναι ένας θαυμάσιος δότης ατόμων -Η δωρίζοντάς το από την κεντρική μεθυλενική ομάδα, και όχι από την φαινολική ομάδα σε όξινα και ουδέτερα υδατικά διαλύματα. Από την άλλη πλευρά, άλλες μελέτες προτείνουν ότι η κουρκουμίνη είναι ένα κλασικό φαινολικό αντιοξειδωτικό σπασίματος αλυσίδας δίνοντας άτομα υδρογόνου από τη φαινολική ομάδα καθώς και η φαινολική ομάδα είναι απαραίτητη για την δέσμευση των ελεύθερων ριζών και ότι η παρουσία της μέθοξυ ομάδας απλά αύξησε περαιτέρω την δραστηριότητα.

Τα τελευταία χρόνια, υπάρχει ένα αυξανόμενο ενδιαφέρον για την κουρκουμίνη και τις ιδιότητες της, λόγω της διαφαινόμενης θετικής επίδρασης στην ανθρώπινη υγεία. Ωστόσο, οι έρευνες θα πρέπει να συνεχιστούν ώστε να γίνουν απολύτως κατανοητοί οι μηχανισμοί δράσης της σε κυτταρικό και γενετικό επίπεδο.

3. Ιξώδες

Η λέξη “ρεολογία” χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά το 1928 από τον Eugene C. Bingham, ο οποίος περιέγραψε τη θεωρία του Έλληνα φιλόσοφου Ηράκλειτου, σύμφωνα με την οποία «τα πάντα ρει», που σημαίνει ότι τα πάντα βρίσκονται σε συνεχή κίνηση (Steffe, 1996).

Ρεολογία είναι η επιστήμη της παραμόρφωσης και της ροής της ύλης. Η ροή των ρευστών αποτελεί ένα σημαντικό κομμάτι της, με ιδιαίτερο ενδιαφέρον για τη βιομηχανία των τροφίμων καθώς υπεισέρχεται στο σχεδιασμό των περισσότερων διεργασιών επεξεργασίας των τροφίμων. Οι θεωρίες που αναπτύχθηκαν για άλλα υλικά δεν ισχύουν πλήρως για τα τρόφιμα τα οποία συνιστούν ιδιαίτερα πολύπλοκα συστήματα και κατά τον σχεδιασμό τους πρέπει να λαμβάνονται υπόψη η επίδραση παραμέτρων όπως η επίδραση χημικών και μικροβιολογικών δράσεων, της θερμοκρασίας και της υγρασίας στις ρεολογικές ιδιότητες.

Πέραν του σχεδιασμού του απαραίτητου εξοπλισμού η ρεολογική μελέτη των τροφίμων επιτρέπει την εκτίμηση της δομής τους, της λειτουργικότητας τους και της κατάστασης τους (π.χ. της μετουσίωσης πρωτεϊνών, ζελατινοποίησης αμύλου, σχηματισμό πηγματος κ.α.). Συχνά χρησιμοποιείται για έλεγχο των πρώτων υλών ή των διεργασιών παραγωγής των προϊόντων (Steffe, 1996).

Ως μηχανικές ιδιότητες ενός υλικού ορίζονται οι ιδιότητες που αναφέρονται στη συμπεριφορά του, όταν βρίσκεται υπό την επίδραση δύναμης. Όταν κατά την παραμόρφωση ή ροή του λαμβάνεται υπόψη και ο χρόνος, τότε προσδιορίζονται οι ρεολογικές ιδιότητες του. Συνεπώς, οι παράμετροι που καθορίζουν τη ρεολογική συμπεριφορά ενός υλικού είναι οι εξής:

- η δύναμη που επιδρά στο υλικό
- η παραμόρφωση που υφίσταται το υλικό
- ο χρόνος επίδρασης της δύναμης

Για τα περισσότερα ρευστά η πιο σημαντική ρεολογική ιδιότητά τους αποτελεί το ιξώδες. Το ιξώδες ενός ρευστού είναι ιδιότητα που χαρακτηρίζει την εσωτερική αντίσταση του ρευστού στη ροή. Προέρχεται από δυνάμεις που ασκούνται μεταξύ των γειτονικών μορίων, οι οποίες αντιδρούν στη σχετική κίνηση μεταξύ των γειτονικών στρωμάτων του ρευστού. Χρησιμοποιείται στον ποιοτικό έλεγχο ορισμένων τροφίμων και στους υπολογισμούς στη Μηχανική Τροφίμων, όπως για

παράδειγμα στον υπολογισμό του αριθμού Reynolds και των συντελεστών μεταφοράς θερμότητας και μάζας.

Για να γίνει πιο κατανοητή η έννοια του ιξώδους, ας θεωρήσουμε δύο παράλληλες πλάκες και ένα ρευστό μεταξύ αυτών. Εάν η κάτω πλάκα είναι ακίνητη και η επάνω κινείται κατά τη διεύθυνση x με ταχύτητα u_x , υπό την επίδραση μιας δύναμης F , μεταξύ των προσκείμενων στρώσεων του ρευστού θα ασκούνται διατμητικές δυνάμεις (δυνάμεις παράλληλες προς τη διεύθυνση ροής). Λόγω των διατμητικών αυτών δυνάμεων θα αναπτυχθεί μία κατανομή ταχύτητας στο ρευστό έτσι ώστε το ρευστό που εφάπτεται στην πάνω πλάκα θα κινείται με ταχύτητα u και αυτό που εφάπτεται στην κάτω πλάκα θα είναι ακίνητο. Η κατανομή αυτή της ταχύτητας του ρευστού ονομάζεται ρυθμός διάτμησης (shear rate). Ο ρυθμός διάτμησης ισούται με $-du_x/dy$, έχει μονάδες $1/s$ και συνήθως συμβολίζεται με το γράμμα “ γ ”. Εάν η επιφάνεια της πάνω πλάκας είναι A τότε το πηλίκο F/A θα δίνει τη δύναμη ανά μονάδα επιφάνειας. Το F/A ονομάζεται τάση διάτμησης (shear stress) με μονάδες Nt/m^2 και παρίσταται συνήθως με το γράμμα “ τ ” (Γιαννιώτης Σ., 2011).

Εάν η σχέση μεταξύ τ και γ είναι γραμμική τότε το ρευστό χαρακτηρίζεται ως Νευτώνειο. Σε αντίθετη περίπτωση τα ρευστά ονομάζονται μη-Νευτώνεια. Την κατηγορία αυτή εκφράζουν διάφορα μαθηματικά μοντέλα, όπως το μοντέλο των πλαστικών Bingham, το μοντέλο Ostwald-de Waele κ.α..

4. Πειραματικό Μέρος

4.1 Υλικά

Λιπαρή φάση

Το φυτικό έλαιο που χρησιμοποιήθηκε ήταν ελαιόλαδο με την επωνυμία “Ελαιόλαδο Άλις” και προμηθεύτηκε από την εταιρεία “Elais Unilever”, Ελλάδα

Συνεχής φάση

Η συνεχής φάση των γαλακτωμάτων ήταν ρυθμιστικό διάλυμα 0,1M κιτρικού οξέως και 0,1M κιτρικού νατρίου των που ρυθμίστηκε σε pH=3,8.

Γαλακτωματοποιητές

Για την παρασκευή των γαλακτωμάτων χρησιμοποιήθηκε ως γαλακτωματοποιητής η πρωτεΐνη ορού γάλακτος (WPI) Lacrodan DI-9224 (Arla Foods Ingredients, Amba - Denmark). Η χημική σύσταση του προϊόντος και οι ιδιότητές του (σύμφωνα με τον παρασκευαστή) παρουσιάζονται στον Πίνακα 7.

Σταθεροποιητές

Για την σταθεροποίηση των γαλακτωμάτων χρησιμοποιήθηκαν τρία διαφορετικά παράγωγα κυτταρίνης, hydroxypropyl methyl cellulose E464 (hpmc) χαμηλού και υψηλού ιξώδους και carboxymethyl cellulose E466 (cmc).

Αντιοξειδωτικά

Ως πρόσθετη αντιοξειδωτική ουσία χρησιμοποιήθηκε η κουρκουμίνη. Πιο συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκε σκόνη κουρκουμίνης (περιεκτικότητα 77.42% σε κουρκουμίνη, Curcumin C3 Complex,) η οποία προμηθεύτηκε από την Sabinsa Europe GmbH

Αντιδραστήρια

- Ισοοκτάνιο
- Ισοπροπανόλη
- Para – ανισιδίνη
- Ακετικό οξύ
- Αζίδιο του νατρίου

Πίνακας 7 : Σύσταση και ιδιότητες του WPI Lacrodan DI-9224

Χημικές Προδιαγραφές		Περιεκτικότητα σε μέταλλα	Φυσικές προδιαγραφές	Ιδιότητες
Πρωτεΐνη	Ελάχιστο 92 %	Νάτριο(Na) 0.5%	pH (δ/μα 10%) 6.5-7	Υψηλή διαλυτότητα σε μεγάλο εύρος pH
Λακτόζη	μέγιστο 0.2 %	Φώσφορος (P) 0.2%	Πυκνότητα 0.4 g/cm ³	Σχεδιασμένο για διαλύματα ουδέτερου pH
Λίπος	μέγιστο 0.2 %	Χλώριο (Cl) 0.05%	Χρώμα Σκόνης λευκό έως υποκίτρινο	Δίνει διάφανα διαλύματα με χαμηλό ιξώδες
Τέφρα	μέγιστο 4.5 %	Κάλιο (K) 1.3%	Χρώμα διαλύματος 10% διάφανο	Ουδέτερη γεύση
Υγρασία	μέγιστο 6 %	Ασβέστιο (Ca) 0.1%	Γεύση και άρωμα ήπια	Χαμηλό περιεχόμενο σε λίπος και υδατάνθρακες
			Δείκτης διαλυτότητας 0.1 mL	

4.2 Πειραματική διαδικασία

4.2.1 Παρασκευή γαλακτωμάτων

Αρχικά παρασκευάστηκε διάλυμα πρωτεΐνης 11% w/w σε ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού οξέως – κιτρικού νατρίου (pH 3.8) με ανάδευση σε μαγνητικό αναδευτήρα για 90 min. Ακολούθως, παρασκευάστηκαν τα διαλύματα κυτταρίνης HPMC χαμηλού ιξώδους 5% w/w, HPMC υψηλού ιξώδους 1,5% w/w, και καρβοξυμεθυλοκυτταρίνη 1% w/w με ανάδευση σε θερμαινόμενο μαγνητικό αναδευτήρα στους 80°C για 90 min. Στα διαλύματα πρωτεΐνης προστέθηκαν μερικές σταγόνες αζιδίου του νατρίου 0.02% w/w ως αντιμικροβιακός παράγοντας. Τα διαλύματα πρωτεΐνης και κυτταρίνης αποθηκεύτηκαν στους 5°C κατά τη διάρκεια της νύχτας για πλήρη ενυδάτωσή τους.

Τα προγαλακτώματα συνολικού βάρους 50g με σύσταση 5% w/w/ WPI, 5% w/w ελαιόλαδο και τις συγκεντρώσεις % w/w της κυτταρίνης παρασκευάστηκαν με ανάμιξη των κατάλληλων ποσοτήτων υδατικών διαλυμάτων και γαλακτωματοποίηση σε συσκευή ομογενοποίησης υψηλής ταχύτητας Ultraturrax T25 device (IKA Werke, Staufen, Germany) σε ταχύτητα 13.500 rpm για 4 min.

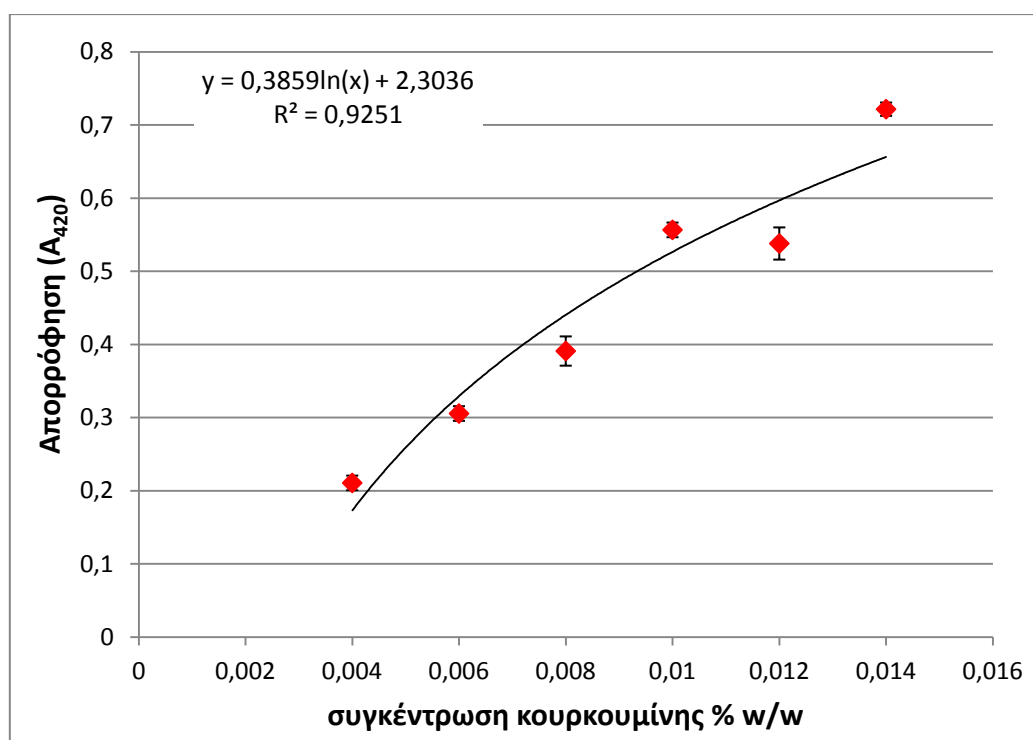
Εν συνεχεία, μεταφέρονται περίπου 10 ml από κάθε προγαλάκτωμα στο ειδικά διαμορφωμένο ποτήρι της συσκευής υπερήχων, με διπλό τοίχωμα που επέτρεπε την ανατροφοδοσία νερού ώστε να διατηρηθεί σταθερή η θερμοκρασία του γαλακτώματος στους 30°C κατά την διάρκεια της διεργασίας. Στο ποτήρι ανατροφοδοσίας του νερού γινόταν προσθήκη πάγου. Το ειδικά διαμορφωμένο ποτήρι τοποθετήθηκε έτσι ώστε το άκρο της κυλινδρικής κεφαλής από τιτάνιο (διαμέτρου 13 mm) να βυθιστεί στο κέντρο του και σε βάθος 1 cm.

Η συσκευή υπερήχων λειτουργούσε σε συχνότητα 20 kHz, το ποσοστό του πλάτους πίεσης 40 % για σταθερό χρονικό διάστημα (4min) υπό σταθερό πλάτος (40%). Παράλληλα, εμφανίζει την ενέργεια (kJ) που εισάγεται στο δείγμα κατά την εφαρμογή υπερήχων.

4.2.2 Προσθήκη κουρκουμίνης στα γαλακτώματα

Η κουρκουμίνη έχει ένα σχετικά υψηλό σημείο τήξης ($\approx 138^\circ\text{C}$) και είναι ως εκ τούτου κρυσταλλική σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Συνεπώς πρέπει να διαλυθεί στην λιπαρή φάση πριν παρασκευαστεί ένα γαλάκτωμα τύπου έλαιο σε νερό. Η

σκόνη κουρκουμίνης προστέθηκε στο ελαιόλαδο και πραγματοποιήθηκε ανάδευση σε θερμαινόμενο μαγνητικό αναδευτήρα στους 60°C για 10 min. Ακολούθησε παραμονή σε λουτρό υπερήχων για 20 min και έπειτα το έλαιο φυγοκεντρήθηκε στις 1750 rpm για 10 min για να απομακρυνθεί η μη διαλυμένη κρυσταλλική κουρκουμίνη, και συλλέχθηκε το υπερκείμενο το οποίο αποθηκεύτηκε σε θερμοκρασία 25°C για μία ημέρα. Μελέτες έχουν δείξει ότι η κουρκουμίνη παραμένει διαλυμένη στη λιπαρή φάση εφόσον μεσολαβήσει αποθήκευση σε θερμοκρασία 25 – 60 °C για τουλάχιστον 24 ώρες. (Ahmed et al., 2012). Έπειτα το υπερκείμενο αραιώθηκε στις επιθυμητές συγκεντρώσεις ώστε να διερευνηθεί το μέγιστο της διαλυτότητας της κουρκουμίνης με φασματοφωτομετρία. Μετρήθηκε η απορρόφηση των δειγμάτων σε μήκος κύματος $\lambda = 420$ nm και σχεδιάστηκε η καμπύλη αναφοράς των απορροφήσεων συναρτήσει της συγκέντρωσης κουρκουμίνης. Ως τυφλό χρησιμοποιήθηκε ελαιόλαδο στο οποίο δεν είχε διαλυθεί κουρκουμίνη.



Διάγραμμα 1: Καμπύλη αναφοράς των απορροφήσεων συναρτήσει % w/w της συγκέντρωσης κουρκουμίνης.

Βάσει των αποτελεσμάτων αυτών καθώς και στα αποτελέσματα αντίστοιχων μελετών (Ahmed et al., 2012) η κουρκουμίνη διαλύθηκε σε συγκέντρωση 0,01% w/w στο ελαιόλαδο, για να παρασκευαστούν τα γαλακτώματα για τη μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης της κουρκουμίνης.

4.3 Μέθοδοι Ανάλυσης

4.3.1 Εκτίμηση της σταθερότητας των γαλακτωμάτων κατά την αποθήκευση υπό ψύξη.

Η εκτίμηση της σταθερότητας των γαλακτωμάτων έγινε με τη χρήση του αναλυτή κάθετης σάρωσης (Turbiscan MA 2000) κατά την αποθήκευσή τους στους 5°C για 10 συνεχόμενες ημέρες. Η συσκευή πολλαπλής σκέδασης του φωτός επιτρέπει τον οπτικό χαρακτηρισμό κάθε είδους αιωρήματος μέσω μιας κινητής κεφαλής ανάγνωσης που αποτελείται από μία δίοδο εκπομπής ακτινοβολίας στην περιοχή του εγγύς υπερύθρου ($\lambda=850$ nm) και δύο σύγχρονους ανιχνευτές της διερχόμενης μέσω του δείγματος (T, transmitted) και σκεδαζόμενης (BS, backscattered) ακτινοβολίας με λήψεις κάθε 40 μm σε όλο το ύψος του δείγματος. Ο πρώτος αισθητήρας βρίσκεται 180° από το σημείο εκπομπής της ακτινοβολίας, ενώ ο ανιχνευτής σκέδασης 45° πίσω 51 από το σημείο πρόπτωσης της ακτινοβολίας. Το πρόγραμμα του Turbiscan προσφέρει τη δυνατότητα ρύθμισης σε λειτουργία σάρωσης (scanning mode), κατά την οποία η κεφαλή ανάγνωσης σαρώνει το δείγμα και εμφανίζει στην οθόνη τις καμπύλες διελαύνουσας και σκεδαζόμενης ακτινοβολίας συναρτήσει του ύψους του δείγματος. Η σάρωση επαναλαμβάνεται κάθε 24 ώρες, παρέχοντας και διαφορετική καμπύλη, έτσι ώστε συγκεντρώνοντας όλες τις καμπύλες σε ένα γράφημα προκύπτει το προφίλ σταθερότητας/αποσταθεροποίησης των δειγμάτων με το χρόνο. Παράλληλα, είναι δυνατή η ρύθμιση του προγράμματος σε λειτουργία αναφοράς (reference mode), κατά την οποία ουσιαστικά ‘αφαιρείται’ η πρώτη καμπύλη από τις ακόλουθες και έτσι φαίνεται η απόκλιση/μεταβολή σε σχέση με την αρχική κατάσταση, δηλαδή η μείωση ή αύξηση στη σκέδαση με προφίλ αναφοράς το πρώτο ($t=0$). Οι καμπύλες της διερχόμενης ακτινοβολίας (transmitted, T) χρησιμοποιούνται συνήθως για διαυγή έως και θολά αιωρήματα, ενώ αυτές της σκέδασης για την ανάλυση αδιαφανών δειγμάτων, όπως τα υπό εξέταση γαλακτώματα.

Η ένταση της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας σχετίζεται με την ποσότητα των λιποσφαιρίων μέσα στο γαλάκτωμα, ώστε αύξηση του ποσοστού σκεδαζόμενης ακτινοβολίας στον πυθμένα του σωλήνα υποδηλώνει αύξηση των λιποσφαιρίων στον πυθμένα, δηλαδή καθίζηση. Αντίθετα, η μείωση υποδηλώνει αποκορύφωση. Μεταβολή της σκέδασης σε όλο το ύψος του δείγματος υποδεικνύει μία γενικευμένη

μεταβολή του αριθμού των σωματιδίων, άρα συνένωση. Αν το προφίλ σκέδασης δε μεταβάλλεται σημαντικά με το χρόνο και σε όλο το μήκος του δείγματος, ο αριθμός των λιποσφαιρίων και των διεπιφανειών παραμένει ο ίδιος, δε λαμβάνουν δηλαδή χώρα φαινόμενα αποσταθεροποίησης.

Δείγματα των γαλακτωμάτων, όγκου 6 ml περίπου, τοποθετήθηκαν σε γυάλινους σωλήνες και σαρώθηκαν από τον πυθμένα τους μέχρι το ύψος των 80 mm, σε καθημερινή βάση, ώστε να ληφθούν τα αντίστοιχα προφίλ εκπομπής και σκέδασης για σύνολο 10 ημερών. Μέσω αυτών, υπολογίστηκε στη συνέχεια η αποσταθεροποίηση των γαλακτωμάτων λόγω φαινομένων όπως η αποκορύφωση, η καθίζηση και η συνένωση.

Η αστάθεια ενός γαλακτώματος που εκδηλώνεται με διαύγαση στον πυθμένα του σωλήνα και την εμφάνιση στοιβάδας ορού (serum layer), εκφράζεται με τον δείκτη αποκορύφωσης (CI, creaming index) ο οποίος υπολογίζεται από το ύψος της στοιβάδας ορού (Hs) και το συνολικό ύψος του γαλακτώματος μέσα στο σωλήνα (He) σύμφωνα με τη σχέση: $CI \% = (Hs) / (He) \times 100$. Το ύψος της στοιβάδας ορού και του δείγματος υπολογίστηκαν μέσω του μέγιστου πάχους (peak thickness) και του ύψους του μηνίσκου αντίστοιχα, όπως φαίνονται στις καμπύλες σκέδασης στη λειτουργία αναφοράς. Το ύψος της στοιβάδας ορού προσδιορίστηκε ως το ύψος που αντιστοιχεί σε μείωση 50% του αρχικού ποσοστού σκέδασης.

4.3.2 Παρατήρηση σε οπτικό μικροσκόπιο

Η μικροδομή των γαλακτωμάτων ελέγχθηκε με εικόνες από το οπτικό μικροσκόπιο KrussOptronic, Germany. Σε αντικειμενοφόρο πλάκα τοποθετούταν μία σταγόνα δείγματος και καλυπτόταν με καλυπτρίδα. Η παρατήρηση γινόταν αμέσως μετά την παρασκευή του γαλακτώματος με φακό μεγέθυνσης x10 και στη συνέχεια λαμβάνονταν φωτογραφίες με την ψηφιακή κάμερα SONY, Hyper HAD, CCD-Iris.

4.3.3 Μετρήσεις του μεγέθους των σταγονιδίων

Για τη μέτρηση του μεγέθους των μακρο-γαλακτωμάτων χρησιμοποιήθηκε η τεχνική διάθλασης του φωτός, με το όργανο Mastersizer (Mastersizer 2000, Malvern, UK). Η μέθοδος που εφαρμόστηκε ήταν η NFD.

Σε ποτήρι ζέσεως 1000 ml, τοποθετούταν ποσότητα 500 ml νερού και προστίθονταν 250 – 400 μ L γαλακτώματος. Εφόσον το μέσο διασποράς στην

παραπάνω μέθοδο ήταν το νερό, χρησιμοποιήθηκε για τους υπολογισμούς ως αναφορά ο δείκτης διάθλασης του νερού. Οι δείκτες διάθλασης του νερού και του ελαιολάδου ελήφθησαν ως 1.330 και 1.47 αντίστοιχα, και για την ανάλυση χρησιμοποιήθηκε η θεωρία του Mie. Το μέγεθος των σταγονιδίων $d_{3,2}$ (μm) σε κάθε γαλάκτωμα, προέκυψε από το μέσο όρο δύο μετρήσεων για κάθε δείγμα, όπως υπολογίστηκε με βάση την παρακάτω εξίσωση.

$$d_{3,2} = \frac{\sum n_i d_i^3}{\sum n_i d_i^2}$$

όπου,

n_i είναι ο αριθμός των σταγονιδίων i , και d_i η διάμετρος των σταγονιδίων i .

Επίσης, υπολογίστηκε ο δείκτης πολυδιασποράς PDI σύμφωνα με την εξίσωση

$$PDI = \frac{D_{90} - D_{10}}{D_{50}}$$

όπου,

D_{90} : η μέση διάμετρος των σωματιδίων που αντιστοιχούν στο 90% του όγκου,

D_{10} : η μέση διάμετρος των σωματιδίων που αντιστοιχούν στο 10% του όγκου,

D_{50} : η μέση διάμετρος των σωματιδίων που αντιστοιχούν στο 50% του όγκου.

Ο δείκτης PDI χρησιμεύει για την αξιολόγηση της πολυδιασποράς του γαλακτώματος. Πιο συγκεκριμένα ένα γαλάκτωμα χαρακτηρίζεται ως πολυδιασπαρμένο όταν $PDI > 1$ (Handbook of Experimental Fluid Mechanics, 2007).

Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Ανόργανης και Αναλυτικής Χημείας της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου.

4.3.4 Μέτρηση του ιξώδους

Με τη χρήση υβριδικού ρεόμετρου (Discovery Hr-3 Hybrid Rheometer, TA instruments, United States) και γεωμετρίας παράλληλων πλακών ελήφθησαν καμπύλες ιξώδους των σταθερών γαλακτώματων για ρυθμό διάτμησης 0.1 – 1000 s⁻¹. Το διάκενο ρυθμίστηκε στα 1 mm και η διάμετρος της άνω πλάκας ήταν 20 mm. Η θερμοκρασία διατηρούνταν σταθερή (25°C) με κυκλοφορία νερού από κυκλοφορητή σταθερής θερμοκρασίας. Η συνολική διάρκεια της μέτρησης ήταν 900 s. Όλες οι

μετρήσεις έγιναν σε δείγματα αμέσως μετά την παρασκευή τους και πριν εμφανιστεί διαχωρισμός φάσεων.

Το γραμμικό τμήμα των καμπύλων ιξώδους τοποθετήθηκε στη συνέχεια στο εκθετικό μοντέλο (Power-law) σύμφωνα με την εξίσωση:

$$\eta = k \cdot \gamma^{n-1}$$

όπου,

γ : ρυθμός διάτμησης

η : ιξώδες

n : δείκτης ρεολογικής συμπεριφοράς

k : δείκτης συνάφειας (ή ομοιογένειας) της ροής

με σκοπό να βρεθούν οι ρεολογικές (n , k) παράμετροι.

4.3.5 Μέθοδοι μέτρησης της οξειδωσης

Τα γαλακτώματα στα οποία εκτιμήθηκε η οξειδωτική τους σταθερότητα, τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες αμέσως μετά την παρασκευή τους και αποθηκεύτηκαν σε θάλαμο με σταθερή θερμοκρασία 25°C.

Μέτρηση πρωτογενών προϊόντων οξειδωσης – Προσδιορισμός συζυγών διενίων (Conjugated Dienes – CD)

Για τον προσδιορισμό των συζυγών διενίων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος IUPAC 2.505 (IUPAC, 1987). Αρχικά, ποσότητα 20 μ L γαλακτώματος μεταφερόταν σε δοκιμαστικό σωλήνα και έπειτα προστίθονταν 10 ml μίγματος διαλυτών ισοοκτάνιο/ ισοπροπανόλη (2:1 v/v). Ακολουθούσε ανάδευση του δείγματος με vortex για 1 min και φυγοκέντρισή του σε 2500 rpm για 10 min. Το υπερκείμενο μεταφερόταν σε καινούργιο δοκιμαστικό σωλήνα. Καθώς ο γαλακτωματοποιητής ήταν πρωτεϊνικός απαιτούταν διήθηση με φίλτρα για να απομακρυνθεί η πρωτεΐνη που θα δημιουργούσε παρεμβολές στην μέτρηση της απορρόφησης. Το τελικό διήθημα χρησιμοποιούταν για την μέτρηση των συζυγών διενίων. Τέλος μετρούταν η απορρόφηση των δειγμάτων μήκος κύματος $\lambda = 232$ nm σε φασματοφωτόμετρο Jasco V530. Για τις μετρήσεις χρησιμοποιήθηκαν κυψελίδες χαλαζία και ως μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε μίγμα διαλυτών ισοοκτάνιο/ισοπροπανόλη (2:1 v/v).

Μέτρηση δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης – Δοκιμή p-ανισιδίνης (P-anV test)

Η μέθοδος για τη δοκιμή ανισιδίνης χρησιμοποιείται όπως περιγράφεται στη British Standard Method (Rossell, 1986) και την American Oil Chemical Society (AOCS, 1998). Αρχικά παρασκευάζεται το διάλυμα p – ανισιδίνης, με διάλυση 0,25 γραμμαρίων p-ανισιδίνης σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml και την συμπλήρωσή της μέχρι τη χαραγή με καθαρό ακετικό οξύ. Ακολουθεί ανάδευση με μαγνητικό αναδευτήρα για 5 min και το διάλυμα αποθηκεύεται στο σκοτάδι. Στη συνέχεια 1 ml γαλακτώματος μεταφέρθηκε σε δοκιμαστικό σωλήνα και προστέθηκαν 24 ml ισοοκτάνιο. Τα δείγματα αναδεύονταν σε vortex για 10 sec δύο φορές και έπειτα ακολουθούσε φυγοκέντρηση στις 4000 rpm για 10 min. Έπειτα 5 ml από το υπερκείμενο μεταφέρονταν σε δοκιμαστικό σωλήνα και μετρούταν η απορρόφηση στα 350 nm σε φασματοφωτόμετρο Jasco V530 σε κυψελίδες χαλαζία με μάρτυρα ισοοκτάνιο (A_1). Έπειτα ακόμα 5 ml μεταφέρονταν σε καινούργιο δοκιμαστικό σωλήνα και προστίθεται 1 ml διαλύματος p – ανισιδίνης και μετά το πέρας 10 α μετρούταν η απορρόφηση στα 350 nm σε φασματοφωτόμετρο σε κυψελίδες χαλαζία με μάρτυρα ισοοκτάνιο στο οποίο είχε προστεθεί διάλυμα p-ανισιδίνης (A_2). Οι δοκιμαστικοί σωλήνες σε όλη τη διάρκεια του πειράματος ήταν κλειστά για να μην εξατμίζεται το ισοοκτάνιο και καλυμμένα με αλουμινόχαρτο.

Η τιμή p-ανισιδίνης υπολογίζεται από την παρακάτω εξίσωση :

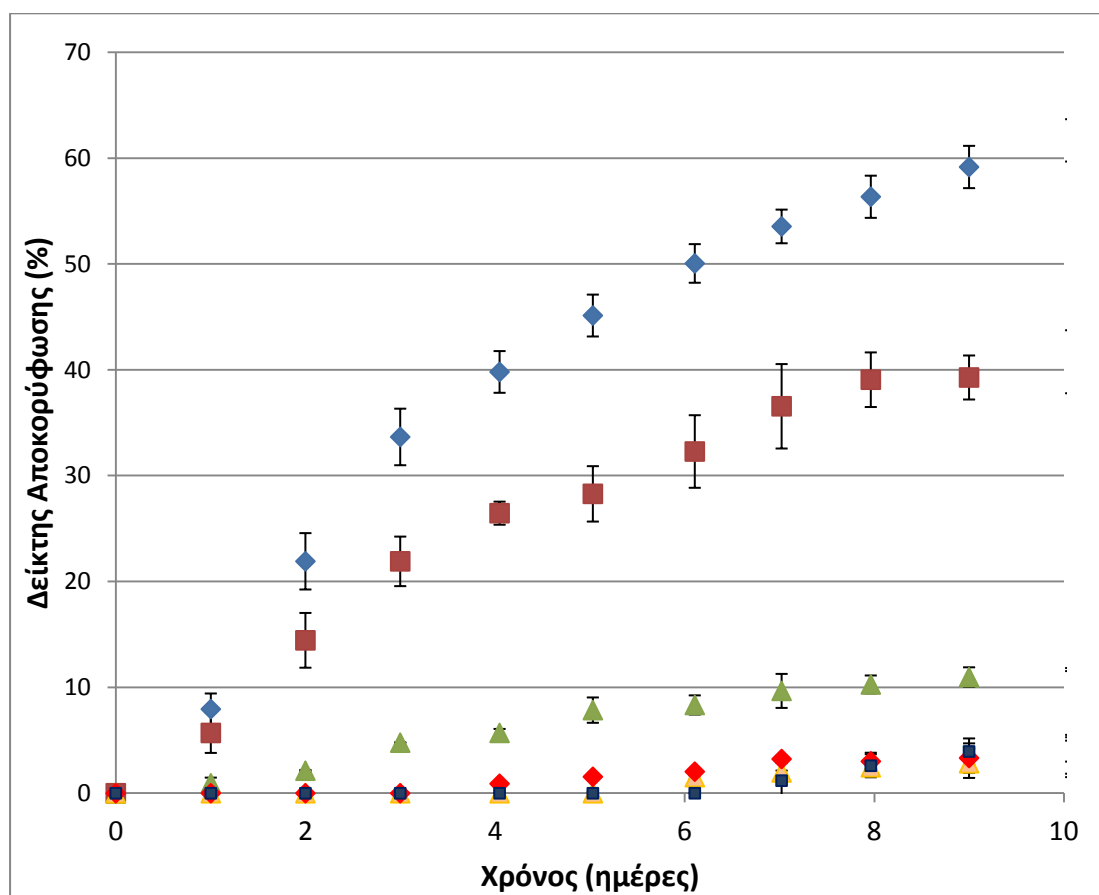
$$AV = \frac{25 \cdot (1,2 \cdot A_2 - A_1)}{\text{όγκος δείγματος}}$$

5. Αποτελέσματα

5.1 Επίδραση είδους και συγκέντρωσης κυτταρίνης στην σταθερότητα των γαλακτωμάτων

Ο όρος “σταθερότητα” για ένα γαλάκτωμα αναφέρεται στην ικανότητά του να αντιστέκεται στις αλλαγές των ιδιοτήτων του μέσα στο χρόνο. Όσο πιο σταθερό είναι υφίσταται λιγότερες αλλαγές (McClements, 2005). Ο χρόνος για τον οποίο ένα γαλάκτωμα παραμένει σταθερό εξαρτάται κυρίως από το είδος του τροφίμου.

Για να εκτιμηθεί η σταθερότητα των γαλακτωμάτων με διαφορετικές συγκεντρώσεις κυτταρίνης HPMC χαμηλού ιξώδους, υπολογίζεται ο δείκτης αποκορύφωσης (CI %, Creaming Index) για χρονική περίοδο δέκα ημερών. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο Διάγραμμα 2.



Διάγραμμα 2: Εξέλιξη του δείκτη αποκορύφωσης (creaming index) κατά την αποθήκευση γαλακτωμάτων τύπου έλαιο σε νερό τα οποία έχουν διαφορετική συγκέντρωση % w/w κυτταρίνης HPMC χαμηλού ιξώδους, 0,1% (♦), 0,3% (■), 0,5% (▲), 1% (▲), 1,5% (♦), 2% (■).

Όπως φαίνεται στο διάγραμμα για συγκεντρώσεις κυτταρίνης 0,1% w/w και 0,3% w/w τα γαλακτώματα αποσταθεροποιούνται περισσότερο και ο δείκτης αποκορύφωσης φτάνει το 60% και 40% αντίστοιχα σε διάστημα 10 ημερών έναντι των μεγαλύτερων συγκεντρώσεων 0,5% w/w έως 2% w/w που ο δείκτης αποκορύφωσης κυμαίνεται από 2 – 10% και μειώνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης της HPMC. Επιπρόσθετα τα γαλακτώματα με περιεκτικότητα 0,1% w/w και 0,3% w/w σε κυτταρίνη εμφανίζουν αποκορύφωση ήδη από την πρώτη ημέρα, ενώ για το γαλακτώμα με περιεκτικότητα 0,5% w/w ο διαχωρισμός των φάσεων γίνεται αισθητός την δεύτερη. Για τα γαλακτώματα με 1, 1,5, 2% w/w η αποσταθεροποίηση ξεκινά μετά την τέταρτη ημέρα. Πράγματι οι Futamura et al.(2012) έδειξαν ότι σταθερότητα των γαλακτωμάτων, που παρασκευάζονται με την προσθήκη κυτταρίνης HPMC χαμηλού ιξώδους, αυξάνεται όσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση της κυτταρίνης.

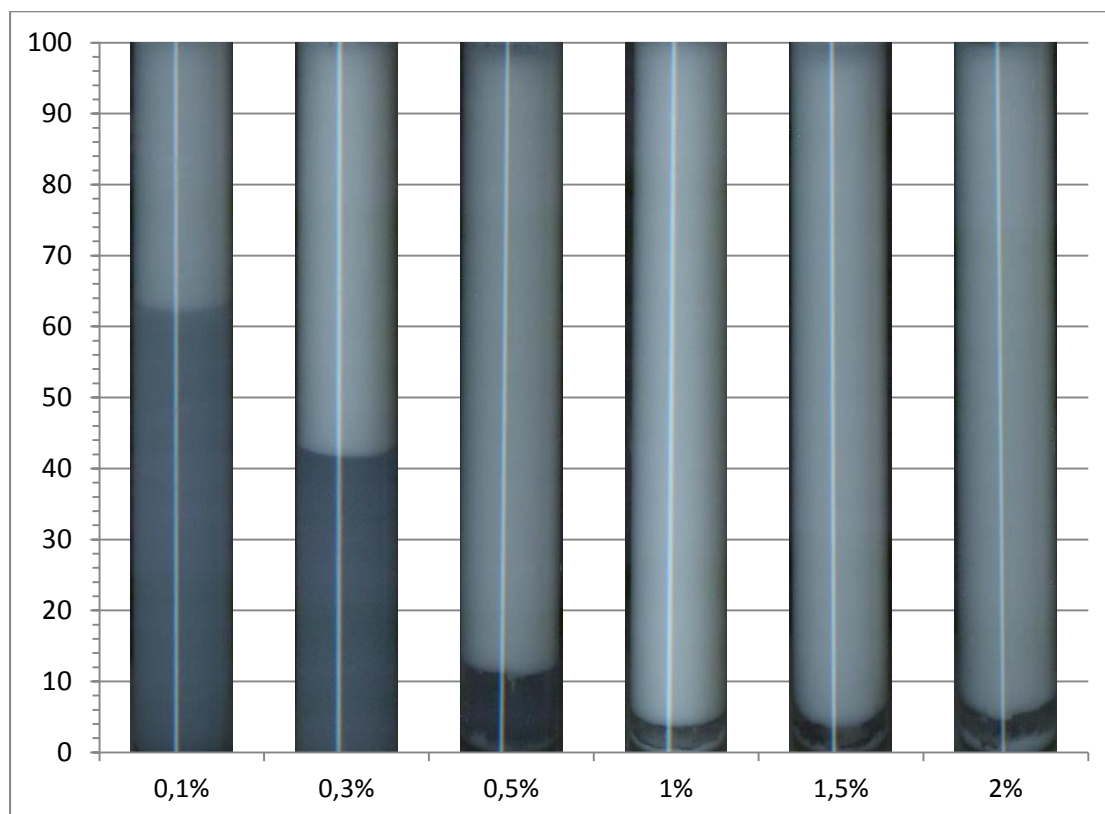
Επιπρόσθετα, η συγκέντρωση της κυτταρίνης επηρεάζει και την ταχύτητα αποκορύφωσης. Στο Διάγραμμα 2 φαίνεται ότι ο δείκτης αποκορύφωσης των γαλακτωμάτων με συγκέντρωση 0,1% και 0,3% w/w αυξάνεται γρηγορότερα και εκθετικά ενώ για τις υπόλοιπες συγκεντρώσεις αυξάνεται με πιο αργό ρυθμό και γραμμικά. Οι Futamura et al.(2012) επιβεβαιώνουν η ταχύτητα αποκορύφωσης μειώνεται όσο αυξάνεται η συγκέντρωση της κυτταρίνης HPMC εξαιτίας της αύξησης του ιξώδους που αυτή προκαλεί (Futamura, 2012). Η μελέτη του ιξώδους (Διάγραμμα 8) δείχνει ότι προσθήκη HPMC αυξάνει το ιξώδες του γαλακτώματος. Είναι γνωστό ότι η σταθερότητα ενός γαλακτώματος στον διαχωρισμό λόγω βαρύτητας αυξάνεται με την αύξηση του ιξώδους της συνεχούς φάσης, οδηγώντας σε μείωση της ταχύτητας με την οποία κινούνται τα σταγονίδια ελαίου. Βάσει του νόμου του Stokes η ταχύτητα με την οποία κινούνται τα σταγονίδια είναι αντιστρόφως ανάλογη του ιξώδους της συνεχούς φάσης (McClements, 2005).

Το μέγεθος των λιποσφαιρίων αποτελεί παράγοντα καθοριστικής σημασίας στη σταθερότητα των γαλακτωμάτων ελαίου σε νερό. Τα μεγάλου μεγέθους λιποσφαίρια παρουσιάζουν ταχύτερη συνένωση από τα μικρότερα, έτσι μείωση της μέσης διαμέτρου των λιποσφαιρίων σε ένα γαλακτώμα επιφέρει σημαντική μείωση του ρυθμού συνένωσής τους (McClements, 2005).

Πίνακας 8 : Μέση διάμετρος σταγονιδίων των γαλακτώματων με διαφορετική συγκέντρωση % w/w κυτταρίνης HPMC χαμηλού ιξώδους.

Γαλάκτωμα (% w/w HPMC L)	$d_{3,2}$ (μm)
0,1%	1,50 ($\pm 0,01$)
0,3%	1,87 ($\pm 0,02$)
0,5%	2,33 ($\pm 0,03$)
1%	1,74 ($\pm 0,02$)
1,5%	1,52 ($\pm 0,03$)
2%	1,55 ($\pm 0,02$)

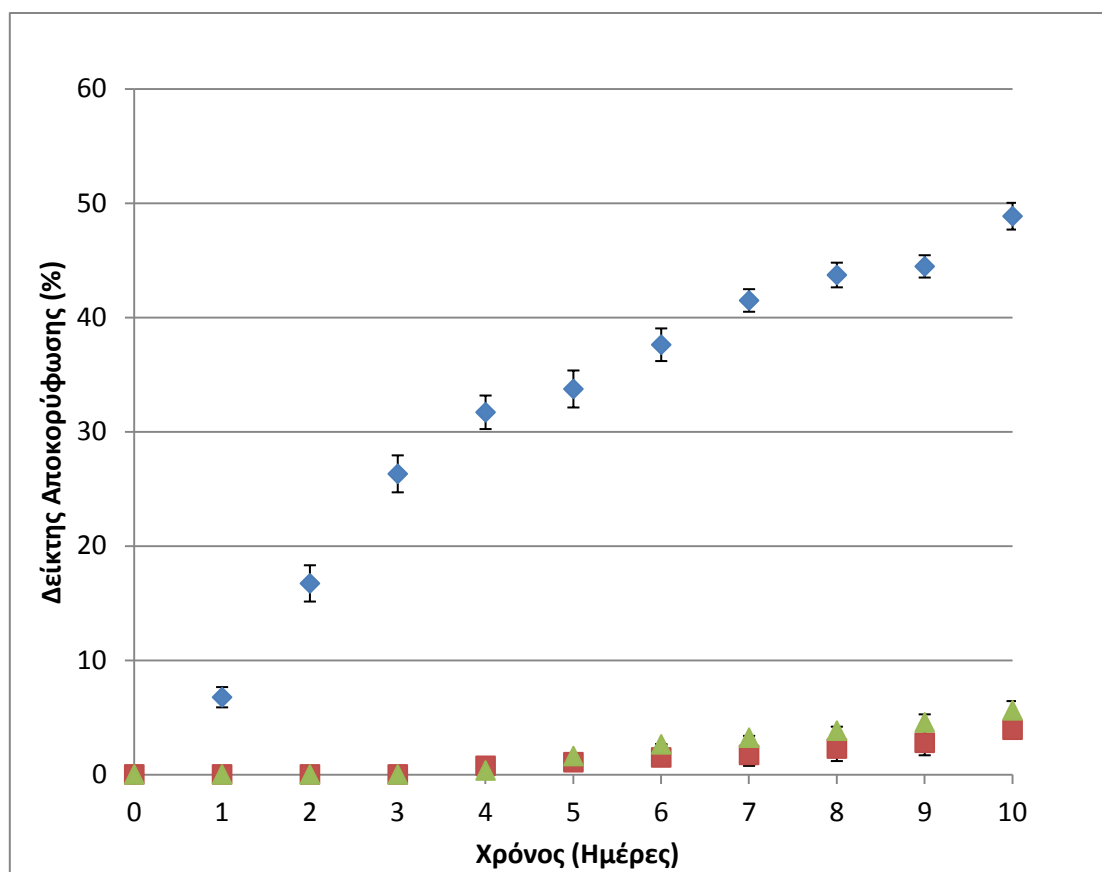
Η τάση αυτή δεν γίνεται εμφανής στα γαλακτώματα που παρασκευάστηκαν. Η διάμετρος των σταγονιδίων είναι ίδια για τα όλα γαλακτώματα ανεξαρτήτου συγκέντρωσης και δεν φαίνεται να επηρεάζει την σταθερότητά τους. Φαίνεται ότι ο παράγοντας που υπερισχύει είναι το ιξώδες τους το οποίο ευνοεί ή όχι την αποσταθεροποίησή τους αναστέλλοντας την αποκορύφωση (Camino, 2011). Το εκτεταμένο δίκτυο συναθροίσεων που σχηματίζεται είναι πιο δύσκολο να κινηθεί.



Εικόνα 12: Γαλακτώματα που έχουν σταθεροποιηθεί με 0,1%, 0,3%, 0,5%, 1%, 1,5%, 2% w/w κυτταρίνης HPMC χαμηλού ιξώδους, μετά από 10 ημέρες αποθήκευσης υπό ψύξη.

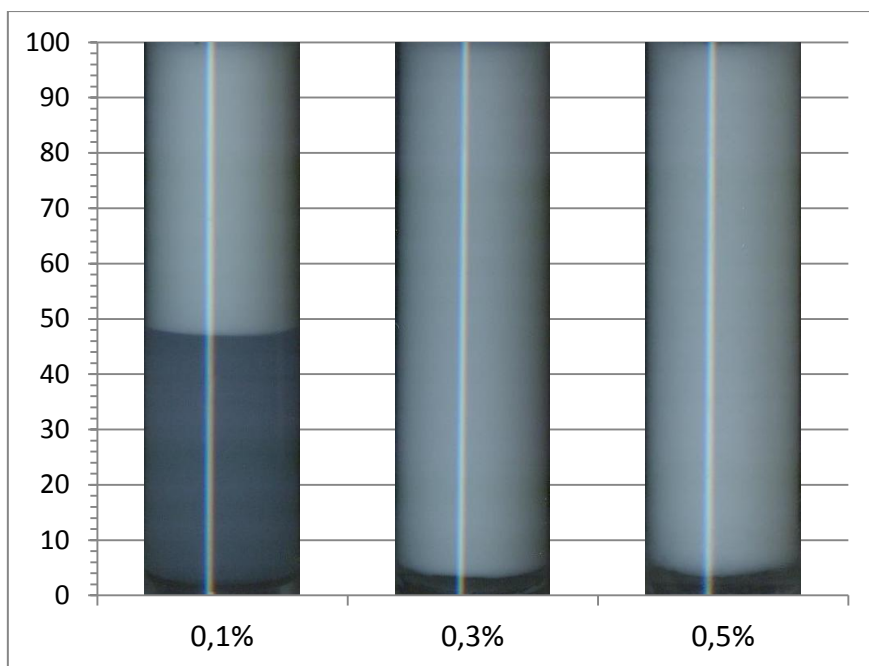
Αντίστοιχα για να εκτιμηθεί η σταθερότητα των γαλακτωμάτων με διαφορετικές συγκεντρώσεις κυτταρίνης HPMC υψηλού ιξώδους, υπολογίζεται ο δείκτης αποκορύφωσης (CI, Creaming Index) για χρονική περίοδο δέκα ημερών. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο Διάγραμμα 3.

Αύξηση της συγκέντρωσης από 0,1% σε 0,3% w/w αύξησε κατά 40% την σταθερότητα του γαλακτώματος στο τέλος της χρονικής περιόδου των 10 ημερών. Η



Διάγραμμα 3: Εξέλιξη του δείκτη αποκορύφωσης (creaming index) κατά την αποθήκευση γαλακτωμάτων τύπου έλαιο σε νερό τα οποία έχουν διαφορετική συγκέντρωση % w/w κυτταρίνης HPMC υψηλού ιξώδους, 0,1% (♦), 0,3% (■), 0,5% (▲).

αντίστοιχη αύξηση της συγκέντρωσης του σταθεροποιητή από 0,3% σε 0,5% w/w δεν είχε την ίδια επίδραση. Τα δύο αυτά γαλακτώματα έδειξαν την ίδια σταθερότητα στο πέρας της αποθήκευσης. Η σταθερότητα των γαλακτωμάτων που σταθεροποιήθηκαν με κυτταρίνη HPMC υψηλού ιξώδους, επηρεάζεται από τη συγκέντρωσή της καθώς η αύξηση της συγκέντρωσής της αυξάνει τη σταθερότητά τους μέσω της αύξησης του ιξώδους τους (Futamura, 2012). Εντούτοις υπάρχει ένα όριο συγκέντρωσης σε κυτταρίνη HPMC υψηλού ιξώδους πάνω από το οποίο δεν επηρεάζεται η σταθερότητα των γαλακτωμάτων. Τα γαλακτώματα με συγκέντρωση κυτταρίνης 0,3 και 0,5% w/w δεν διαφέρουν ως προς τον διαχωρισμό των φάσεων ($p < 0,05$).



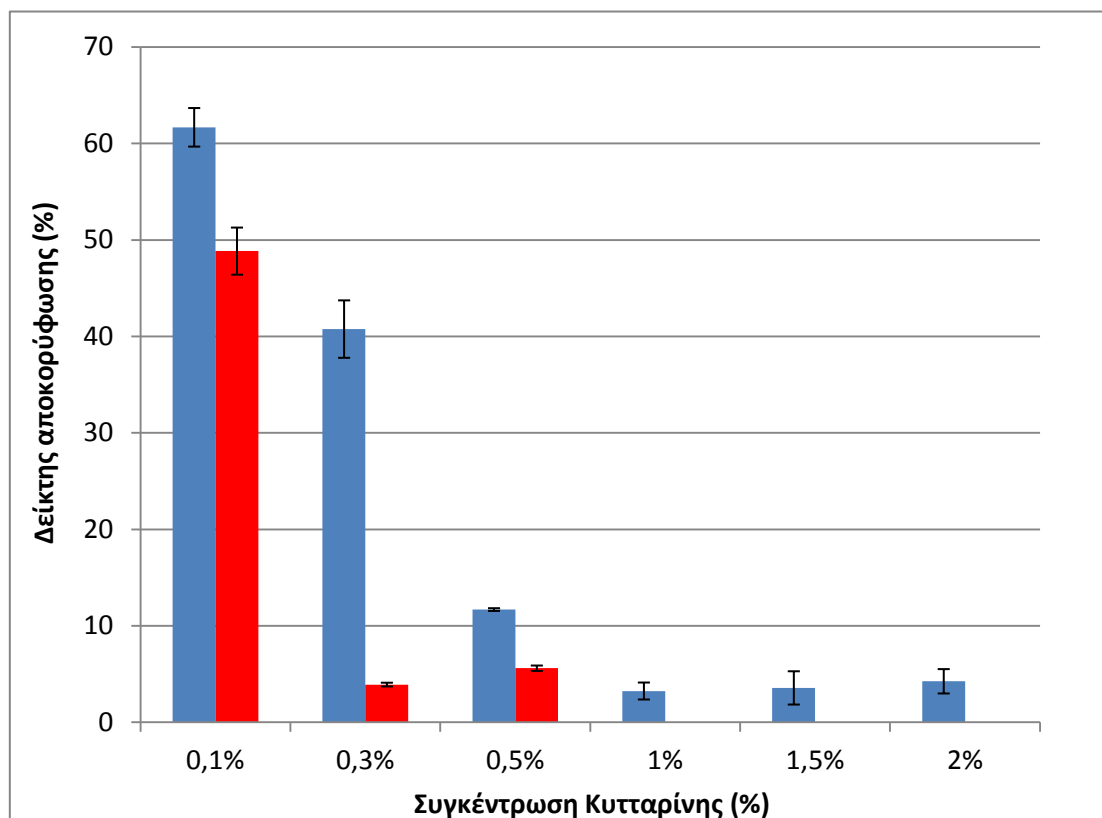
Εικόνα 13 : Γαλακτώματα που έχουν σταθεροποιηθεί με 0,1%, 0,3%, 0,5%, 1%, 1,5%, 2% w/w κυτταρίνης ΗΡΜC υψηλού ιξώδους, μετά από 10 ημέρες αποθήκευσης υπό ψύξη

Πίνακας 9 : Μέση διάμετρος σταγονιδίων των γαλακτωμάτων με διαφορετική συγκέντρωση % w/w κυτταρίνης ΗΡΜC χαμηλού ιξώδους

Γαλάκτωμα (% w/w ΗΡΜC Η)	$d_{3,2}$ (μm)
0,1%	2,35 ($\pm 0,04$)
0,3%	2,18 ($\pm 0,02$)
0,5%	2,34 ($\pm 0,04$)

Η διάμετρος των σταγονιδίων δεν φαίνεται να επηρεάζει την σταθερότητα των γαλακτωμάτων καθώς είναι δεν παρουσιάζει μεγάλες διακυμάνσεις μεταξύ των δειγμάτων και δεν επιβεβαιώνει τη διαφοροποίηση τους ως προς τη σταθερότητα. Τα γαλακτώματα με συγκέντρωση κυτταρίνης 0,3% και 0,5% είναι πιθανόν να είναι πιο σταθερά καθώς σχηματίζουν συσσωματώματα (Εικόνα 5) και διαμορφώνεται ένα εκτεταμένο δίκτυο που είναι πιο δύσκολο να κινηθεί. Τα αποτελέσματα της μελέτης της ρεολογικής τους συμπεριφοράς έρχονται σε συμφωνία. Τα γαλακτώματα με περιεκτικότητα 0,3% και 0,5% w/w έχουν μεγαλύτερο ιξώδες από το γαλάκτωμα με περιεκτικότητα 0,1% w/w, γεγονός που ενισχύει την σταθερότητά τους καθώς μειώνει την ταχύτητα που μετακινούνται τα σταγονίδια ελαίου προς την κορυφή. Συνοψίζοντας, καθώς τα γαλακτώματα με συγκέντρωση κυτταρίνης 0,3 και 0,5%

w/w δεν παρουσιάζουν μεγάλες διαφορές προτείνεται η επιλογή της μικρότερης συγκέντρωσης, 0,3% w/w.



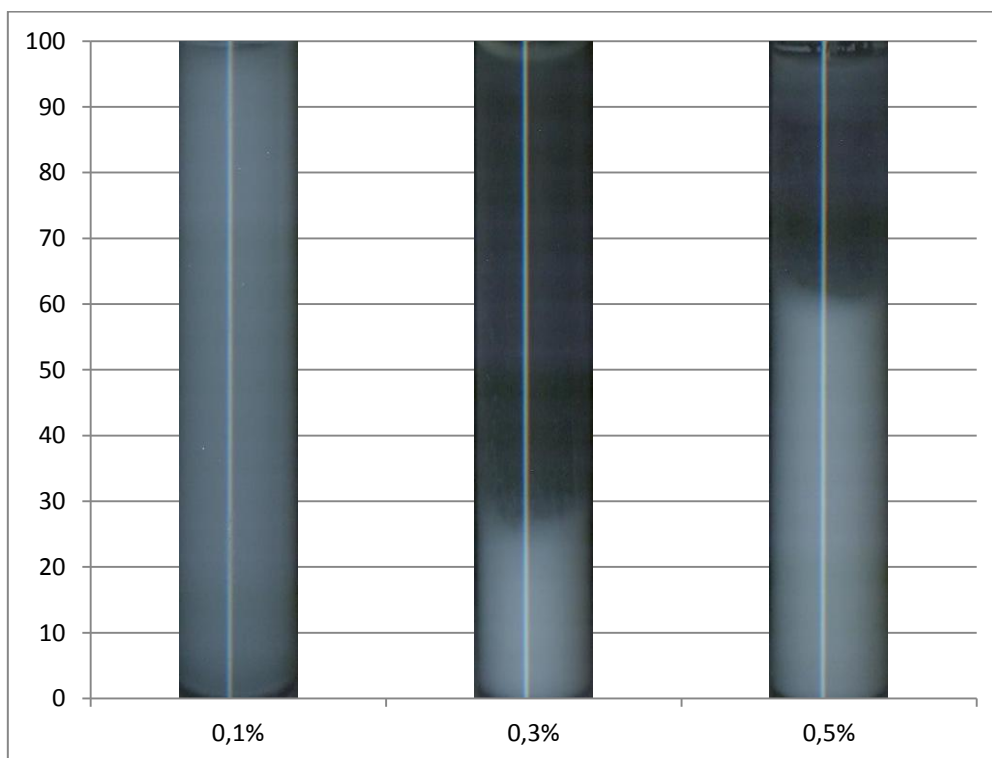
Διάγραμμα 4 : Δείκτης αποκορύφωσης (Creaming Index %) συναρτήσει της συγκέντρωσης κυτταρίνης των γαλακτωμάτων τύπου έλαιο σε νερό τη δέκατη μέρα αποθήκευσης, HPMC H (■), HPMC L (■)

Συγκρίνοντας τα δύο είδη κυτταρίνης στο Διάγραμμα 4 φαίνεται ότι και στις δύο περιπτώσεις η αύξηση της συγκέντρωσης του γαλακτώματος σε κυτταρίνη προκαλεί αύξηση της σταθερότητας του γαλακτώματος. Ταυτόχρονα για οι τιμές 1% w/w και 0,3% w/w για την HPMC χαμηλού ιξώδους και υψηλού ιξώδους αντίστοιχα, συνιστούν ένα όριο συγκέντρωσης πάνω από το οποίο δεν παρατηρείται περαιτέρω βελτίωση της σταθερότητας του γαλακτώματος. Εντούτοις, χαμηλότερη περιεκτικότητα σε κυτταρίνη HPMC υψηλού ιξώδους σταθεροποιεί στον ίδιο βαθμό ένα γαλάκτωμα με μεγαλύτερη ποσότητα κυτταρίνης HPMC χαμηλού ιξώδους.

Αυτό συμβαίνει καθώς η κυτταρίνη HPMC υψηλού ιξώδους δημιουργεί ισχυρότερο δίκτυο μεταξύ των λιποσφαιρίων το οποίο μειώνει τον ρυθμό με τον οποίο γίνεται συνάθροισή τους. Η κινητική σταθερότητα των γαλακτωμάτων μπορεί να παραταθεί χρησιμοποιώντας HPMC υψηλού ιξώδους (Akinosho, 2012).

Επιπρόσθετα παρασκευάστηκαν γαλακτώματα τα οποία σταθεροποιήθηκαν με προσθήκη καρβοξυμεθυλοκυτταρίνης σε συγκεντρώσεις 0,1, 0,3 και 0,5% w/w. Τα

μόρια της πρωτεΐνης του ορού γάλακτος (WPI) αλληλεπιδρούν με αυτά της καρβοξυμεθυλοκυτταρίνης (CMC) σε γαλακτώματα τύπου έλαιο σε νερό. Η πρωτεΐνη WPI σε όξινο pH 4, κοντά στο ισοηλεκτρικό της σημείο είναι θετικά φορτισμένη (Camino, 2011). Για το λόγο αυτό, παρατηρείται συμβατότητα μεταξύ των πρωτεϊνών του γάλακτος και της αρνητικά φορτισμένης κυτταρίνης CMC σε όξινο pH κάτω από το ισοηλεκτρικό της σημείο (Girard, 2002).



Εικόνα 14 : Γαλακτώματα που έχουν σταθεροποιηθεί με κυτταρίνη CMC σε συγκέντρωση 0,1%, 0,3% και 0,5% w/w αντίστοιχα.

Μετά τη μείωση της τιμής του pH κάτω από 4,5 ($\text{pH} < \text{pI}$) το συνολικό φορτίο των οροπρωτεϊνών καθίσταται θετικό με αποτέλεσμα οι αλληλεπιδράσεις με τα μόρια της CMC να γίνουν ακόμα πιο ισχυρές. Τέτοιου είδους δυνάμεις αναπτύσσονται και στα γαλακτώματα που παρασκευάστηκαν και σταθεροποιήθηκαν με κυτταρίνη CMC καθώς το pH του ρυθμιζόταν κοντά στο 4. Όπως φαίνεται και στην Εικόνα 3 Τα γαλακτώματα χαρακτηρίζονται από θολερότητα η οποία αποδίδεται στη συνένωση των συμπλόκων τα οποία αποκτούν σταδιακά μεγαλύτερο μέγεθος με αποτέλεσμα το διάλυμα να καθίσταται, αρχικά, ελαφρώς θολό και, στη συνέχεια, έντονα θολό κάτι που παρατηρήθηκε και στην περίπτωση του συστήματος πρωτεΐνης ορού-αραβικού κόμμεος (Weinbreck et al, 2003). Παρόλο που η αδιαλυτοποίηση είναι μη αντιστρεπτό φαινόμενο για τα σύμπλοκα, στα γαλακτώματα το φαινόμενο

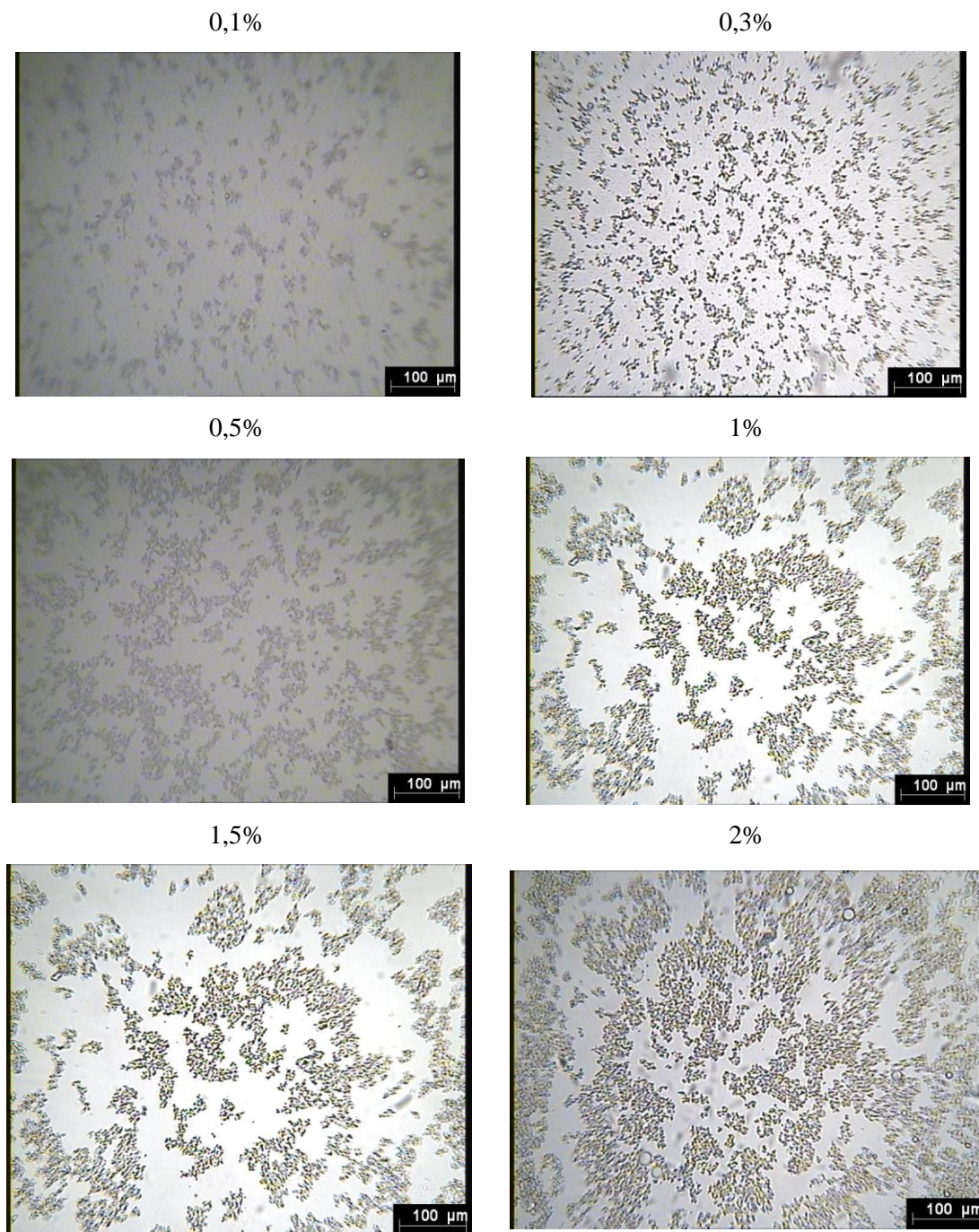
αντιστρέφεται με την αλλαγή του pH πάνω από το ισοηλεκτρικό σημείο της πρωτεΐνης.

Εν συνεχεία, οι ισχυρές αυτές αλληλεπιδράσεις έχουν ως άμεσο αποτέλεσμα και τη συνένωση των συσσωματωμάτων σε μεγαλύτερα, τα οποία καταβυθίζονται. Στην περίπτωση αυτή παρατηρείται διαχωρισμός του συστήματος σε δύο φάσεις, όχι λόγω ασυμβατότητας ανάμεσα στα μόρια των δυο βιοπολυμερών, αλλά λόγω ισχυρών ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων. Η διαδικασία αυτή προσεγγίζει τα θεωρητικά στάδια σχηματισμού του συμπλόκου όπως αυτά περιγράφονται στη βιβλιογραφία (de Kruijff et al, 2004; Turgeon et al, 2003). Τα συσσωματώματα που δημιουργούνται μέσω κροκίδωσης λόγω γεφύρωσης χρησιμοποιούνται ως εναλλακτική τεχνολογία για μικροεγκλεισμό (ενθυλάκωση) βιοενεργών συστατικών σε συνδυασμό με ξήρανση.

Για τις συγκεντρώσεις κυτταρίνης 0,3% και 0,5% w/w η θολερότητα και ο γρήγορος διαχωρισμός των φάσεων με καταβύθιση ήταν πιο έντονος. Οι Weinbreck et al, 2003 παρατήρησαν ότι το ιξώδες των διαλυμάτων σε τιμές pH κοντά στο 4 εμφανίζει ένα μέγιστο, πιθανόν λόγω της ενίσχυσης των αλληλεπιδράσεων ανάμεσα στα συσσωματώματα πρωτεΐνης-πολυσακχαρίτη και προκαλεί την έναρξη του σχηματισμού ενός πιο ισχυρού μοριακού δικτύωματος πηκτής.

5.2 Παρατήρηση της μικροδομής των γαλακτωμάτων

Αμέσως μετά την παρασκευή τους, τα γαλακτώματα παρατηρήθηκαν σε οπτικό μικροσκόπιο για να γίνει αξιολόγηση της μικροδομής τους. Οι εικόνες που λήφθηκαν παρουσιάζονται παρακάτω.

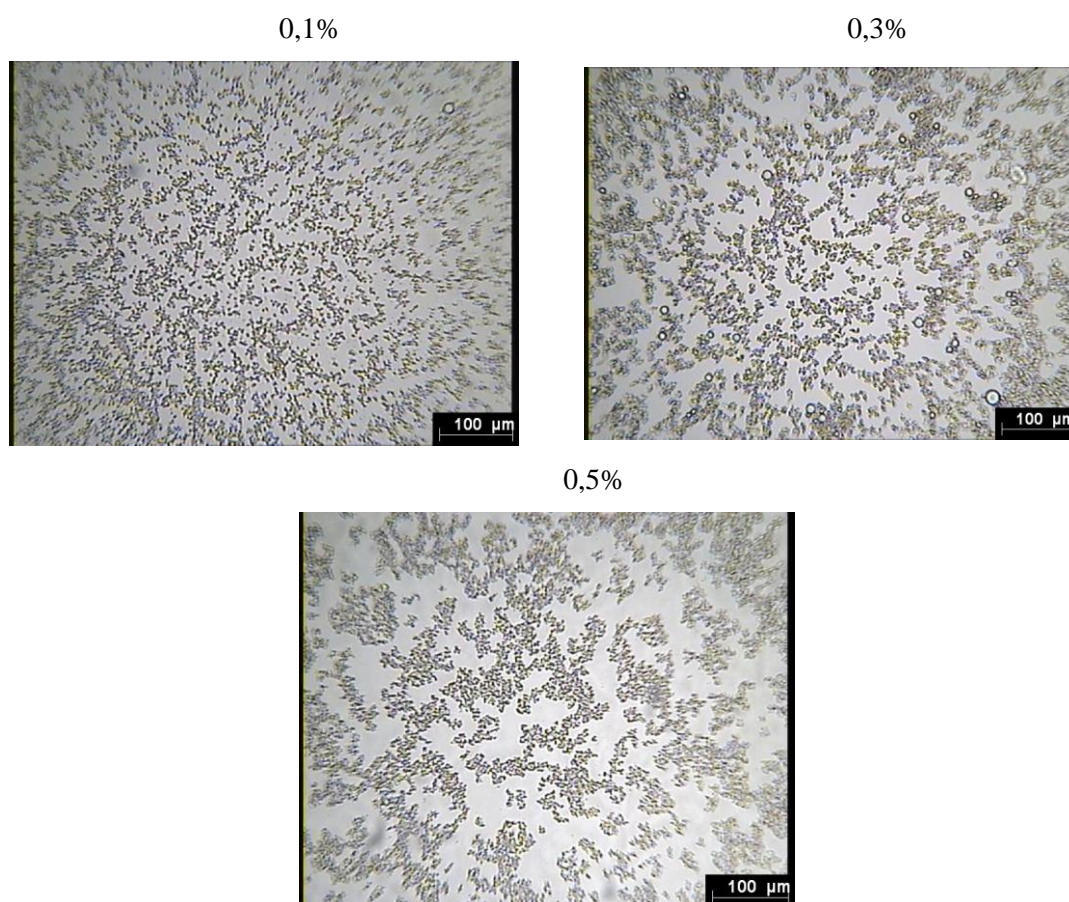


Εικόνα 15 : Μικρογραφίες γαλακτωμάτων τύπου έλαιο σε νερό που παρασκευάστηκαν με προσθήκη κυτταρίνης HPMC χαμηλού ιξώδους σε συγκεντρώσεις 0,1, 0,3, 0,5, 1, 1,5 και 2% w/w.

Όπως φαίνεται στις μικρογραφίες η αύξηση της συγκέντρωσης της κυτταρίνης HPMC χαμηλού ιξώδους αυξάνει την δημιουργία συσσωματωμάτων στο γαλάκτωμα. Σε συγκεντρώσεις 0,1 και 0,3% w/w δεν εμφανίζεται συσσωμάτωση η οποία αρχίζει

να γίνεται εμφανής για συγκεντρώσεις HPMC χαμηλού ιξώδους μεγαλύτερες από 0,5% w/w. Σε συγκεντρώσεις 1, 1,5 και 2% w/w είναι η συσσωμάτωση είναι εκτεταμένη. Η σταθερότητα των γαλακτωμάτων αυτών δεν αποδίδεται στο μικρό μέγεθος των σταγονιδίων αλλά στο υψηλό ιξώδες καθώς δεν επιτρέπει την κίνηση στα δίκτυα των συσσωματωμάτων που δημιουργούνται. Η συσσωμάτωση αυτή δεν οφείλεται στην έλξη λόγω αντίθετων φορτίων. Τα γαλακτώματα έχουν pH=4, τιμή pH όπου η πρωτεΐνη WPI είναι θετικά φορτισμένη ενώ η κυτταρίνη HPMC δεν φέρει φορτίο (Camino, 2011).

Επιπρόσθετα, η ίδια διαδικασία επαναλήφθηκε αμέσως μετά την παρασκευή των γαλακτωμάτων στα οποία έγινε προσθήκη κυτταρίνης HPMC υψηλού ιξώδους.



Εικόνα 16 : Μικρογραφίες γαλακτωμάτων τύπου έλαιο σε νερό που παρασκευάστηκαν με προσθήκη κυτταρίνης HPMC υψηλού ιξώδους σε συγκεντρώσεις 0,1, 0,3 και 0,5% w/w.

Παρόμοια συμπεριφορά δείχνουν και τα γαλακτώματα που σταθεροποιήθηκαν με κυτταρίνη HPMC υψηλού ιξώδους. Αύξηση της συγκέντρωσης της κυτταρίνης έκανε πιο έντονο το φαινόμενο της κροκίδωσης. Τα γαλακτώματα αυτά σταθεροποιούνται μέσω της επίδρασης του ιξώδους καθώς δεν υπάρχουν άλλου

είδους αλληλεπιδράσεις μεταξύ της θετικά φορτισμένης πρωτεΐνης και του μη-ιονικού σταθεροποιητή HPMC.

5.3 Επίδραση της συγκέντρωσης κυτταρίνης στο μέγεθος των λιποσφαιρίων

Κατά την ομογενοποίηση λαμβάνουν χώρα δύο ξεχωριστά φαινόμενα (διάσπαση των λιποσφαιρίων και επανασυνένωσή τους), από την κινητική των οποίων επηρεάζεται το τελικό μέγεθος των λιποσφαιρίων στο γαλάκτωμα το οποίο είναι καθοριστικός παράγοντας για την σταθερότητα του γαλακτώματος. Είναι γενικά σημαντικό τα σταγονίδια ελαίου να είναι όσο το δυνατότερο μικρότερα ώστε να ελαχιστοποιείται η αποκορύφωση λόγω βαρύτητας. Ένας αποδοτικός τρόπος είναι να υπολογίσουμε τη συγκέντρωση του γαλακτωματοποιητή που είναι απαραίτητη για να προκύψει η ελάχιστη μέση διάμετρος σταγονιδίου (Dickinson, 2009)

Στον Πίνακα 10 παρουσιάζονται οι τιμές $d_{3,2}$ και $d_{4,3}$ που αντιστοιχούν στην μέση διάμετρο των σταγονιδίων (υπολογισμένη με βάση την επιφάνεια και τον όγκο αντίστοιχα) γαλακτωμάτων που σταθεροποιούνται με προσθήκη διαφορετικών ποσοτήτων κυτταρίνης HPMC χαμηλού ιξώδους, καθώς και ο δείκτης πολυδιασποράς τους (PDI, polydispersity index).

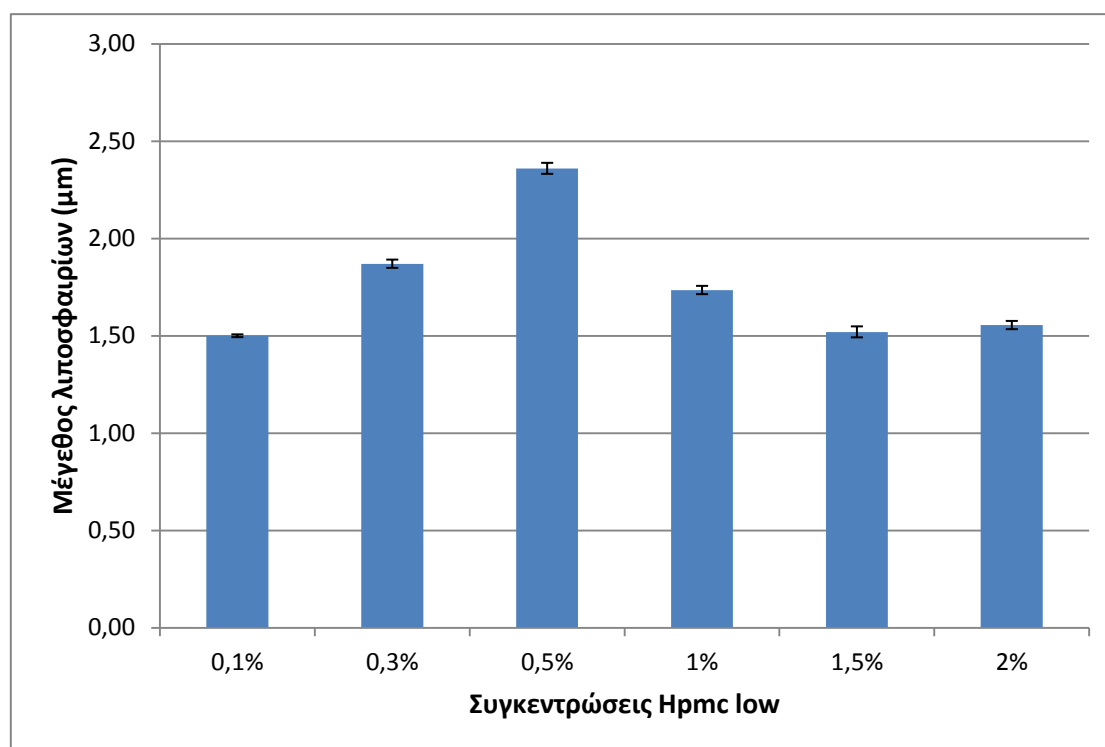
Πίνακας 10: Μέσοι διάμετροι σταγονιδίων $d_{3,2}$ και $d_{4,3}$ και δείκτης πολυδιασποράς PDI για γαλακτώματα με διαφορετικές συγκεντρώσεις κυτταρίνης HPMC χαμηλού ιξώδους.

Γαλάκτωμα (% w/w HPMC L)	$d_{3,2}$ (μm)	$d_{4,3}$ (μm)	PDI
0,1%	1,50 ($\pm 0,01$)	3,04 ($\pm 0,03$)	2,03 ($\pm 0,01$)
0,3%	1,87 ($\pm 0,02$)	4,88 ($\pm 0,01$)	2,07 ($\pm 0,04$)
0,5%	2,36 ($\pm 0,03$)	5,01 ($\pm 0,02$)	1,83 ($\pm 0,02$)
1,0%	1,74 ($\pm 0,02$)	4,65 ($\pm 0,03$)	2,06 ($\pm 0,03$)
1,5%	1,52 ($\pm 0,03$)	4,93 ($\pm 0,03$)	2,13 ($\pm 0,01$)
2,0%	1,56 ($\pm 0,02$)	5,15 ($\pm 0,01$)	2,11 ($\pm 0,01$)

Ο δείκτης πολυδιασποράς για όλα τα δείγματα είναι μεγαλύτερος της μονάδας ($\text{PDI} > 1$) γεγονός που υποδεικνύει ότι όλα τα δείγματα είναι πολυδισπαρμένα, συνυπάρχουν δηλαδή και μικρού αλλά και μεγάλου μεγέθους λιποσφαίρια. Μόνο το γαλάκτωμα με συγκέντρωση 0,5% w/w κυτταρίνης HPMC χαμηλού ιξώδους είναι λιγότερο πολυδισπαρμένο.

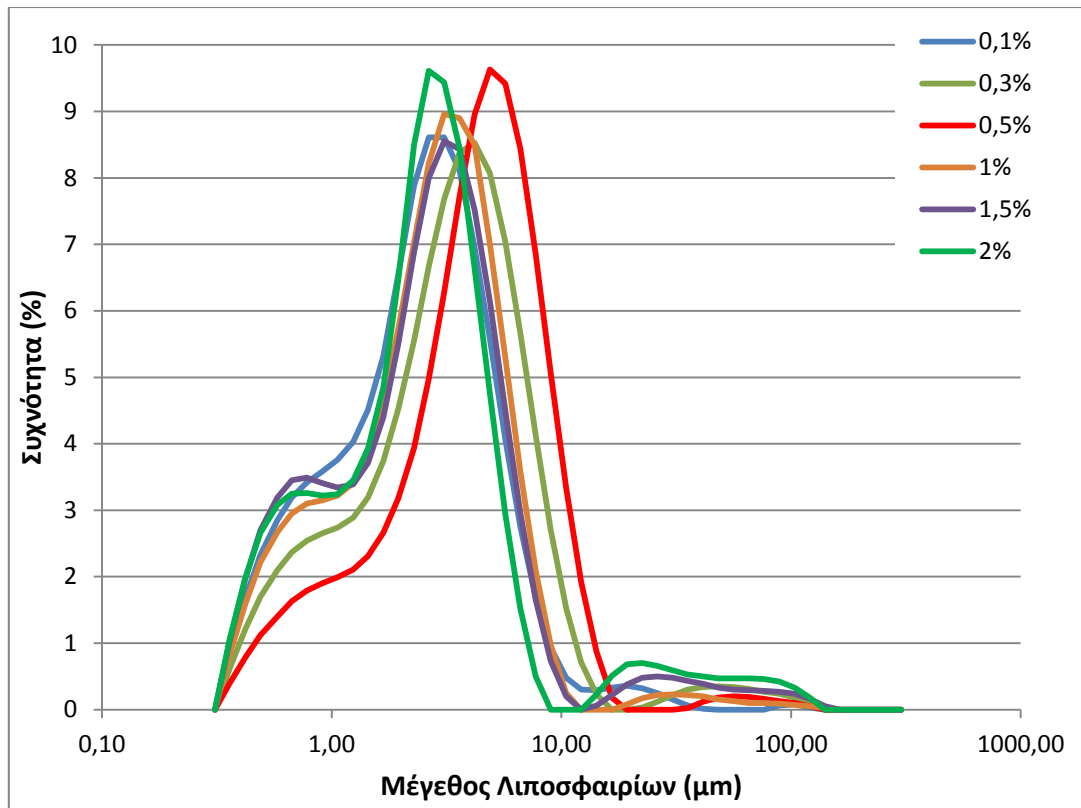
Γενικότερα η πολυδιασπορά μειώνει τη σταθερότητα των γαλακτωμάτων. Παρόλα αυτά τα γαλακτώματα με συγκέντρωση κυτταρίνης 1%, 1,5% και 2% w/w

δεν αποσταθεροποιούνται σε μεγάλο βαθμό στο χρονικό διάστημα της δεκαήμερης αποθήκευσης (Διάγραμμα 2) Αυτό μπορεί να αποδοθεί στο υψηλό ιξώδες των γαλακτωμάτων αυτών (Διάγραμμα 8).



Διάγραμμα 5 : Μεταβολή της διαμέτρου κατά Sauter (surface weighted) $d_{3,2}$ συναρτήσει της συγκέντρωσης των γαλακτωμάτων σε κυτταρίνη HPMC χαμηλού ιξώδους.

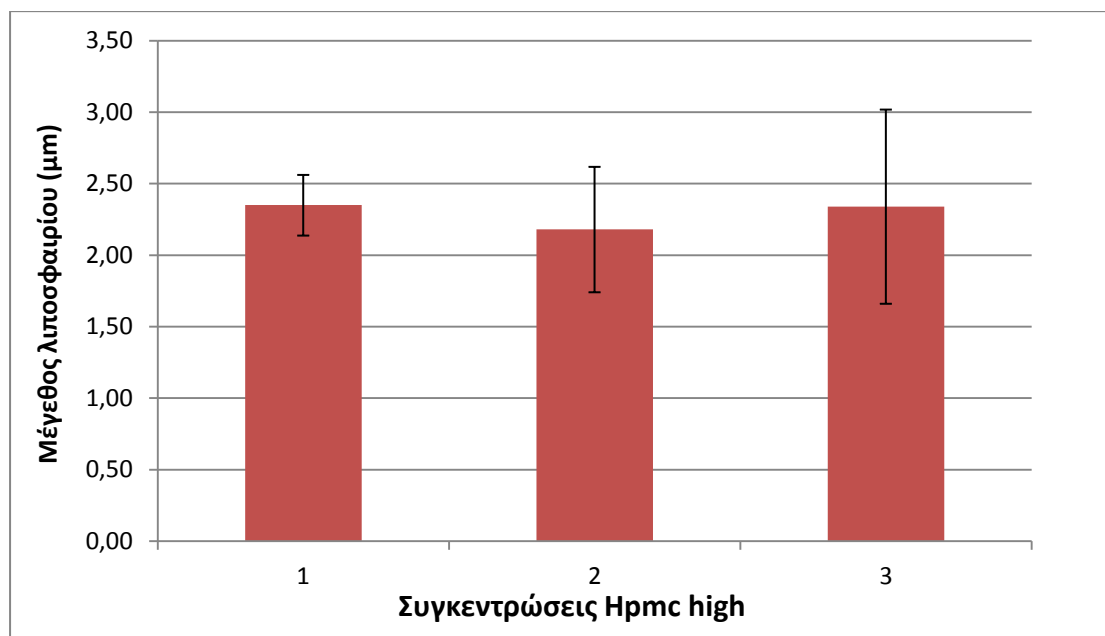
Στο Διάγραμμα 5 φαίνεται ότι η συγκέντρωση της κυτταρίνης δεν επηρεάζει την μέση διάμετρο των σταγονιδίων ελαίου. Μόνο στο γαλάκτωμα με περιεκτικότητα σε κυτταρίνη 0,5% w/w η μέση διάμετρος $d_{3,2}$ διαφοροποιείται ελαφρώς. Η μη διαφοροποίηση της διαμέτρου των σταγονιδίων στα γαλακτώματα με περιεκτικότητα 1,5% και 2% w/w σε κυτταρίνη μπορεί να αποδοθεί το υψηλότερο ιξώδες των γαλακτωμάτων αυτών. Οι Camino et al (2011) και οι Futamura et al. (2012) αναφέρουν ότι τα γαλακτώματα με μεγαλύτερο ιξώδες χρειάζονται μεγαλύτερο ποσό ενέργειας άρα και περισσότερο χρόνο επεξεργασίας για να μειωθεί η διάμετρος των σταγονιδίων τους.



Διάγραμμα 6: Ιστογράμματα της κατανομής των λιποσφαιρίων σε πρόσφατα παρασκευασμένα γαλακτώματα, όπως επηρεάζεται από την % w/w συγκέντρωση της κυτταρίνης HPMC χαμηλού ιξώδους.

Τα πολυδισπαρμένα γαλακτώματα διαχωριστούν ανάλογα με το αν παρατηρούνται μία, δύο ή περισσότερες κορυφές αντίστοιχα, στο διάγραμμα της κατανομής του μεγέθους των σταγονιδίων (McClements, 2007). Στο Διάγραμμα 6 όπου περιγράφεται η κατανομή των μεγεθών των σταγονιδίων συναρτήσει της συγκέντρωσής τους σε κυτταρίνη, σε όλες τις καμπύλες παρατηρούνται τρεις κορυφές, υποδηλώνοντας την παρουσία τριών διαφορετικών ομάδων λιποσφαιρίων ανάλογα με τη διάμετρό τους. Η δεύτερη μικρή κορυφή στο τέλος της κατανομής είναι πολύ πιθανό να οφείλεται στην χρονική απόσταση μεταξύ της παραγωγής του δείγματος και της μέτρησης του μεγέθους των σταγονιδίων κατά την οποία είναι πιθανό να συνενώνονται. Πιθανώς όμως να υπάρχουν και συσσωματώματα (συναθροίσεις) που υπολογίζονται ως ένα λιποσφαίριο, καθώς η δεύτερη κορυφή παρατηρείται πιο έντονα σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις. Η μεταβολή της συγκέντρωσης της κυτταρίνης δεν συνοδεύεται από αλλαγή στο ύψος της υψηλότερης κορυφής, επιβεβαιώνοντας την ανεξαρτησία μεταξύ διαμέτρου του λιποσφαιρίου και της συγκέντρωσης της κυτταρίνης.

Στον Πίνακα 11 παρουσιάζονται οι τιμές $d_{3,2}$ και $d_{4,3}$ που αντιστοιχούν στην μέση διάμετρο των σταγονιδίων (υπολογισμένη με βάση την επιφάνεια και τον όγκο αντίστοιχα) γαλακτωμάτων που σταθεροποιούνται με προσθήκη διαφορετικών ποσοτήτων κυτταρίνης HPMC υψηλού ιξώδους, καθώς και ο δείκτης πολυδιασποράς τους (PDI, polydispersity index).



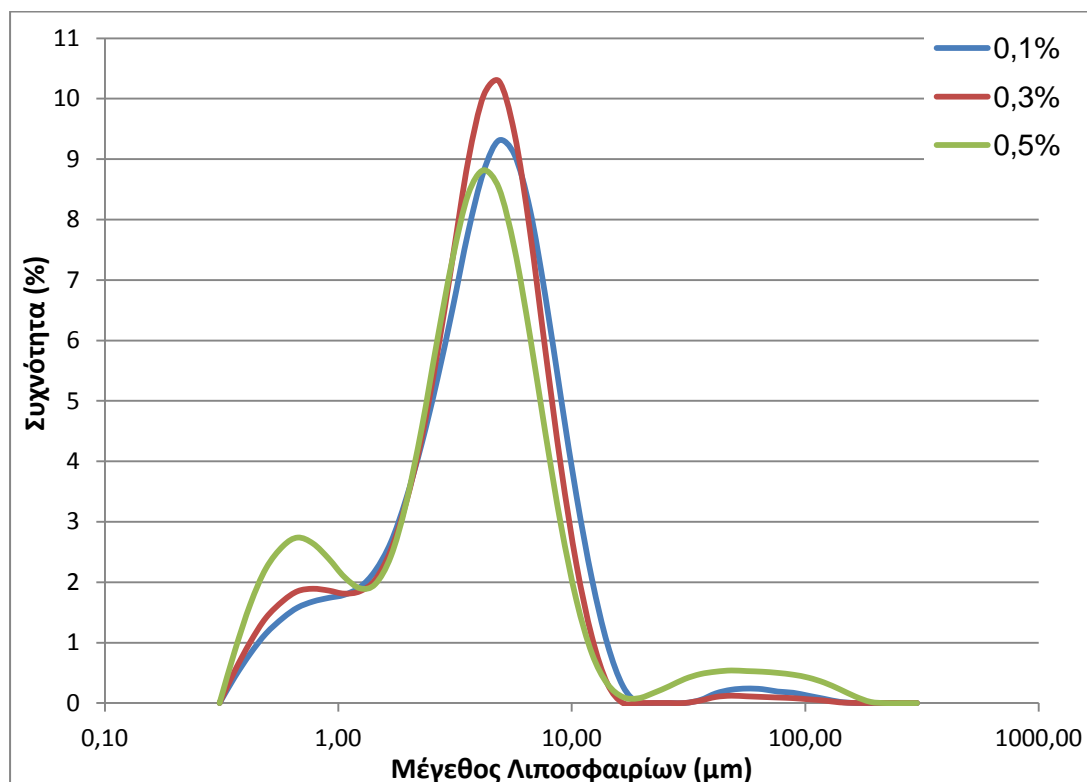
Διάγραμμα 7 : Μεταβολή της διαμέτρου κατά Sauter (surface weighted) $d_{3,2}$ συναρτήσει της συγκέντρωσης των γαλακτωμάτων σε κυτταρίνη HPMC υψηλού ιξώδους.

Πίνακας 11 : Μέσοι διάμετροι σταγονιδίων $d_{3,2}$ και $d_{4,3}$ και δείκτης πολυδιασποράς PDI για γαλακτώματα με διαφορετικές συγκεντρώσεις κυτταρίνης HPMC υψηλού ιξώδους.

Γαλάκτωμα (% w/w HPMC H)	$d_{3,2}$ (μm)	$d_{4,3}$ (μm)	PDI
0,1%	2,35 (±0,01)	5,21 (±0,03)	1,89 (±0,01)
0,3%	2,18 (±0,02)	4,40 (±0,01)	1,74 (±0,04)
0,5%	2,34 (±0,03)	6,56 (±0,02)	1,77 (±0,02)

Βάσει του Πίνακα 11 και πιο συγκεκριμένα βάσει του δείκτη πολυδιασποράς, τα γαλακτώματα που σταθεροποιήθηκαν με κυτταρίνη HPMC υψηλού ιξώδους εμφανίζουν και αυτά πολυδιασπορά καθώς ο δείκτης πολυδιασποράς είναι μεγαλύτερος της μονάδας ($PDI > 1$). Το γαλάκτωμα με συγκέντρωση κυτταρίνης 0,3% w/w παρουσιάζει το μικρότερο δείκτη πολυδιασποράς και ταυτόχρονα τη μικρότερη διάμετρο κατά Sauter (d_{32}) του σταγονιδίου. Η μέση διάμετρος των σταγονιδίων δεν φαίνεται να επηρεάζεται από τη συγκέντρωση της κυτταρίνης, γεγονός που

υποδεικνύει ότι ο κυρίαρχος παράγοντας για την διαμόρφωση και αυτού του μεγέθους είναι το ιξώδες.



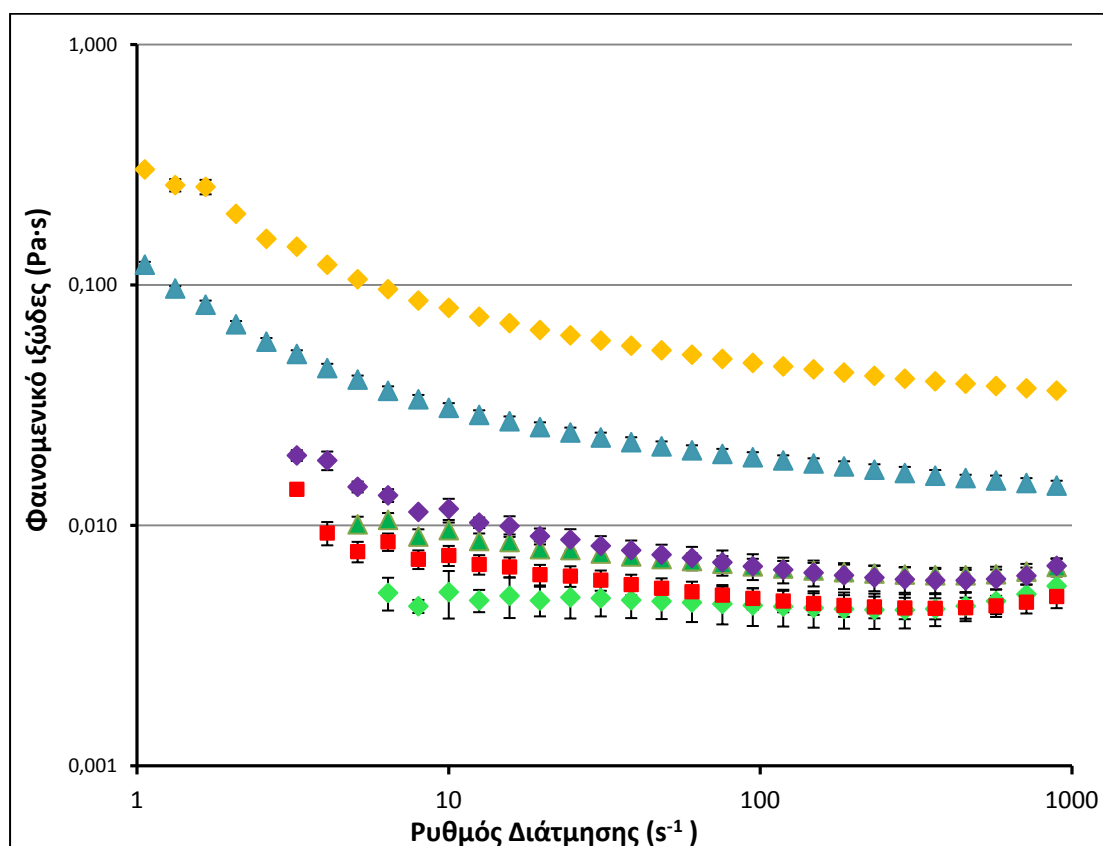
Διάγραμμα 8: Ιστογράμματα της κατανομής των λιποσφαιρίων σε πρόσφατα παρασκευασμένα γαλακτώματα, όπως επηρεάζεται από την %w/w συγκέντρωση της κυτταρίνης ΗΡΜC χαμηλού ιξώδους

Στο διάγραμμα κατανομής του μεγέθους των σταγονιδίων και οι τρεις καμπύλες έχουν παραπάνω από μία κορυφές, γεγονός που έρχεται σε συμφωνία με τον δείκτη πολυδιασποράς ο οποίος υποδεικνύει πολυδιασπορά. Οι καμπύλες εκτός από την υψηλότερη κορυφή που αντιπροσωπεύει την διάμετρο και τον κύριο όγκο του γαλακτώματος εμφανίζουν και μια δεύτερη κορυφή στα αριστερά που υποδεικνύει την παρουσία ενός δεύτερου πληθυσμού λιποσφαιρίων με διαφορετική διάμετρο. Αυτή η κορυφή αυξάνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης της ΗΡΜC υψηλού ιξώδους. Συνεπώς, μία πιο έντονη διεργασία μπορεί να έχει πιθανώς ως αποτέλεσμα την μείωση του μεγέθους των λιποσφαιρίων.

5.4 Επίδραση της συγκέντρωσης της κυτταρίνης στο ιξώδες του γαλακτώματος

Το ιξώδες των γαλακτωμάτων είναι ένα σημαντικό χαρακτηριστικό, δεδομένου ότι σχετίζεται με την ταχύτητα αποκορύφωσης (Mc Clements, 2005). Η σταθερότητα και η ρεολογία των συσσωματωμάτων επηρεάζεται πολύ έντονα τόσο από τον τύπο της επεξεργασίας (χρήση υπερήχων, θέρμανση, ομογενοποίηση υψηλής πίεσης κ.α.) όσο και από την συσσωμάτωση των σωματιδίων. Όσον αφορά την συσσωμάτωση των σωματιδίων, οι ιδιότητες ενός συσσωματώματος εξαρτώνται από το κλάσμα όγκου των συσσωματωμένων σωματιδίων όπως επίσης και από την χωρική κατανομή των σωματιδίων στο συσσωμάτωμα (Chanamai et al. 2000).

Στο Διάγραμμα 9 παρουσιάζονται τα φαινομενικά ιξώδη (συναρτήσε του ρυθμού διάτμησης) των γαλακτωμάτων τα οποία σταθεροποιούνται με διαφορετικές συγκεντρώσεις της κυτταρίνης HPMC χαμηλού ιξώδους. Στο διάγραμμα απεικονίζεται ο μέσος όρος για δύο μετρήσεις και η τυπική απόκλιση για τις μετρήσεις αυτές δεν ήταν υψηλότερη από 0.004.



Διάγραμμα 9: Μεταβολή του ιξώδους σε συνάρτηση με τον ρυθμό διάτμησης, των γαλακτωμάτων που παρασκευάστηκαν με διαφορετικές συγκεντρώσεις % w/w κυτταρίνης HPMC χαμηλού ιξώδους 0,1% (♦), 0,3% (■), 0,5% (▲), 1% (◆), 1,5% (▲), 2% (◆).

Στο Διάγραμμα 9 παρατηρείται ότι η αύξηση της συγκέντρωσης του σταθεροποιητή HPMC πάνω από 0,5% w/w προκάλεσε αύξηση του ιξώδους του γαλακτώματος. Σε συγκεντρώσεις της κυτταρίνης από 0,1 – 0,3% w/w δεν είναι εμφανής η αλλαγή του ιξώδους. Ως εκ τούτου, συμπεραίνουμε ότι οι χαμηλές συγκεντρώσεις της κυτταρίνης δεν επιδρούν στο ιξώδες. Οι Zinoviadou et al. (2012) παρατήρησαν ότι η αύξηση της συγκέντρωσης του σταθεροποιητή προκαλεί αύξηση του ιξώδους του γαλακτώματος.

Η αύξηση της συγκέντρωσης του σταθεροποιητή, αυξάνει την δημιουργία συσσωματωμάτων. Αυτό μπορεί να εξηγήσει τα υψηλά ιξώδη σε χαμηλούς ρυθμούς διάτμησης, που μπορούν να αποδοθούν στην παγίδευση ενός ορισμένου ποσού της συνεχούς φάσης ανάμεσα στα συσσωματώματα, οδηγώντας σε αύξηση του ενεργού όγκου των συσσωματωμάτων (Zinoviadou, 2012), αύξηση του $d_{4,3}$ και της πολυδιασποράς για συγκεντρώσεις HPMC χαμηλού ιξώδους μεγαλύτερες από 1% w/w. Η αύξηση του ιξώδους συνδέεται με την δημιουργία ενός ισχυρότερου δικτύου μεταξύ των λιποσφαιρίων και ως εκ τούτου σε αυξημένη σταθερότητα.

Σε χαμηλές συγκεντρώσεις κυτταρίνης, από 0,1% έως 0,5% w/w τα γαλακτώματα παρουσιάζουν συμπεριφορά Νευτώνειου καθώς το ιξώδες τους φαίνεται να μην επηρεάζεται πρακτικά από την αλλαγή του ρυθμού διάτμησης. Αυτά τα αποτελέσματα είναι τυπικά για γαλακτώματα που δεν εμφανίζουν συσσωμάτωση (Xu et al, 2012), γεγονός που επιβεβαιώνεται και από τις απεικονίσεις του μικροσκοπίου Εικόνα 4. Τα γαλακτώματα δεν παρουσιάζουν συσσωμάτωση και συνεπώς συμπεριφέρονται ως Νευτώνεια.

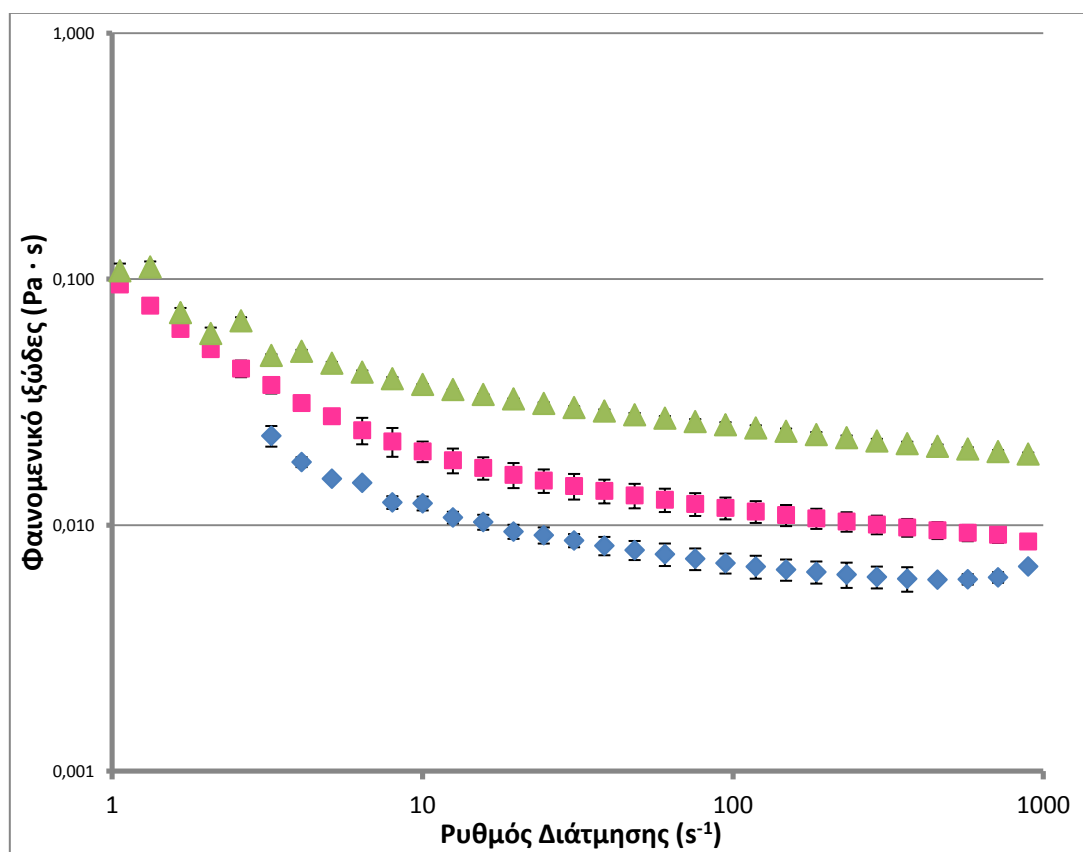
Στον Πίνακα 12 αναγράφονται οι δείκτες ομοιογένειας ροής (k , consistency index) και ρεολογικής συμπεριφοράς (n , rate index). Οι παράμετροι αυτοί βοηθούν στην διάκριση των ρευστών. Για τιμές $n=1$, το φαινομενικό ιξώδες έχει γραμμική σχέση με το ρυθμό διάτμησης και δεν επηρεάζεται από αυτόν. Σε περιπτώσεις όπου $n<1$ τα ρευστά χαρακτηρίζονται ως ψευδοπλαστικά.

Όπως φαίνεται και από τις παραμέτρους n και k , τα γαλακτώματα με συγκεντρώσεις έως και 0,5% w/w συμπεριφέρονται ως Νευτώνεια καθώς η παράμετρος n είναι ίση με τη μονάδα. Για τις μεγαλύτερες η παράμετρος n είναι μικρότερη την μονάδα και χαρακτηρίζονται ως ψευδοπλαστικά. Παρόλα αυτά στο Διάγραμμα 8 παρατηρούμε ότι το ιξώδες τους δεν παρουσιάζει μεγάλες διαφορές με την αύξηση του ρυθμού διάτμησης οπότε και η συμπεριφορά τους προσομοιάζει αυτή των Νευτώνειων ρευστών.

Πίνακας 12 : Παράμετροι ρεολογικής συμπεριφοράς γαλακτωμάτων με διαφορετική περιεκτικότητα σε κυτταρίνη HPMC χαμηλού ιξώδους.

Γαλάκτωμα (% w/w HPMC L)	k (Pa·s ⁿ)	n	R ²
0,1%	0,0050	1,1615	0,9990
0,3%	0,0083	1,0500	0,9956
0,5%	0,0102	1,0310	0,9985
1%	0,0133	0,8670	0,9997
1,5%	0,0408	0,8420	0,9758
2%	0,1068	0,8320	0,9680

Αντίστοιχα στο Διάγραμμα 10 παρουσιάζονται τα φαινομενικά ιξώδη (συναρτήσεσι του ρυθμού διάτμησης) των γαλακτωμάτων τα οποία σταθεροποιούνται με διαφορετικές συγκεντρώσεις της κυτταρίνης HPMC υψηλού ιξώδους. Και για αυτά τα δείγματα υπολογίστηκαν οι μέσοι όροι δύο επαναλήψεων και κανένας από αυτούς δεν είχε τυπική απόκλιση μεγαλύτερη από 0,004.



Διάγραμμα 10: Μεταβολή του ιξώδους σε συνάρτηση με τον ρυθμό διάτμησης, των γαλακτωμάτων που παρασκευάστηκαν με διαφορετικές συγκεντρώσεις % w/w κυτταρίνης HPMC υψηλού ιξώδους 0,1%(♦), 0,3% (■), 0,5% (▲).

Και σε αυτή την περίπτωση η αύξηση της περιεκτικότητας του γαλακτώματος σε κυτταρίνη, συνδέεται με την αύξηση του ιξώδους του γαλακτώματος και την παραγωγή κινητικά σταθερότερων γαλακτωμάτων λόγω των ισχυρότερων δικτύων που σχηματίζονται (Zinoviadou, 2012).

Πίνακας 13: Παράμετροι ρεολογικής συμπεριφοράς γαλακτωμάτων με διαφορετική περιεκτικότητα σε κυτταρίνη HPMC υψηλού ιξώδους

Γαλάκτωμα (% w/w HPMC H)	k (Pa·s ⁿ)	n	R ²
0,1%	0,0144	0,9858	0,9990
0,3%	0,0268	0,8589	0,9990
0,5%	0,0496	0,8280	0,9998

Σημαντικό ρόλο παίζει η έκταση του σχηματισμού συσσωματωμάτων στο γαλάκτωμα και πως αυτό επηρεάζει την μεταβολή του ιξώδους και τη συμπεριφορά του ρευστού. Πράγματι το ιξώδες των γαλακτωμάτων που δεν εμφανίζουν συσσωμάτωση φαίνεται να επηρεάζεται λιγότερο από το ρυθμό διάτμησης. Οι εικόνες του μικροσκοπίου επιβεβαιώνουν τον ισχυρισμό αυτό (Εικόνα 5). Η συμπεριφορά τους ως Νευτώνεια επαληθεύεται επίσης από τους δείκτες ομοιογένειας ροής του Πίνακα 13 καθώς η παράμετρος n πλησιάζει τη μονάδα, και από το Διάγραμμα 10 όπου είναι εμφανής η μικρή μείωση του ιξώδους.

Συμπερασματικά το ιξώδες φαίνεται να είναι ο σημαντικότερος παράγοντας που επιδρά στις άλλες παραμέτρους μελέτης των γαλακτωμάτων όπως η σταθερότητα, η δημιουργία συσσωματωμάτων και το μέγεθος των σταγονιδίων. Η κυτταρίνη HPMC είτε υψηλού είτε χαμηλού ιξώδους, επιδρά στις ιδιότητες του γαλακτώματος μέσω της ρύθμισης του ιξώδους.

5.5 Επίδραση της σύστασης και της προσθήκης κουρκουμίνης στην οξείδωση των γαλακτωμάτων

Η χημική σταθερότητα ενός γαλακτώματος αναφέρεται στην ικανότητα να αντιστέκεται σε χημικές αλλαγές των συστατικών του, όπως για παράδειγμα σταθερότητα έναντι στην οξείδωση της λιπαρής φάσης. Η σταθερότητα όσον αφορά την χημική σύσταση του γαλακτώματος επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες όπως η διάμετρος των σταγονιδίων, το ιξώδες και το επιφανειακό φορτίο των σταγονιδίων.

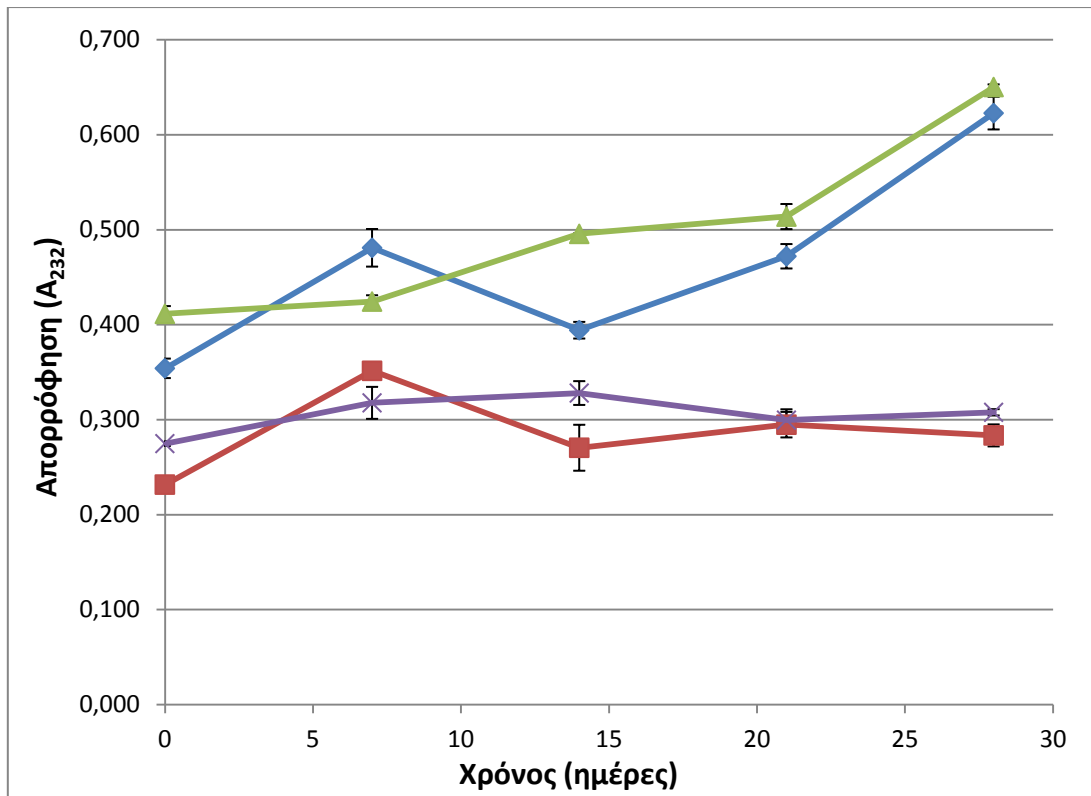
Σκοπός ήταν η μελέτη της επίδρασης της HPMC χαμηλού ιξώδους και της κουρκουμίνης στην οξειδωτική σταθερότητα των γαλακτωμάτων. Έτσι, παρασκευάστηκαν 2 δείγματα τα οποία είχαν την ίδια περιεκτικότητα σε ελαιόλαδο (5% w/w) και σε πρωτεΐνη ορού WPI (5%w/w) και κουρκουμίνη η οποία ενσωματώθηκε στην λιπαρή φάση, ενώ το ένα περιείχε και κυτταρίνη HPMC χαμηλού ιξώδους σε συγκέντρωση 1% w/w. Ως μάρτυρας χρησιμοποιήθηκαν τα ίδια δείγματα χωρίς όμως την προσθήκη της κουρκουμίνης. Στον παρακάτω πίνακα, φαίνεται αναλυτικά η σύσταση των δειγμάτων.

Πίνακας 14 : Σύσταση δειγμάτων για τα οποία μελετήθηκε η οξείδωση.

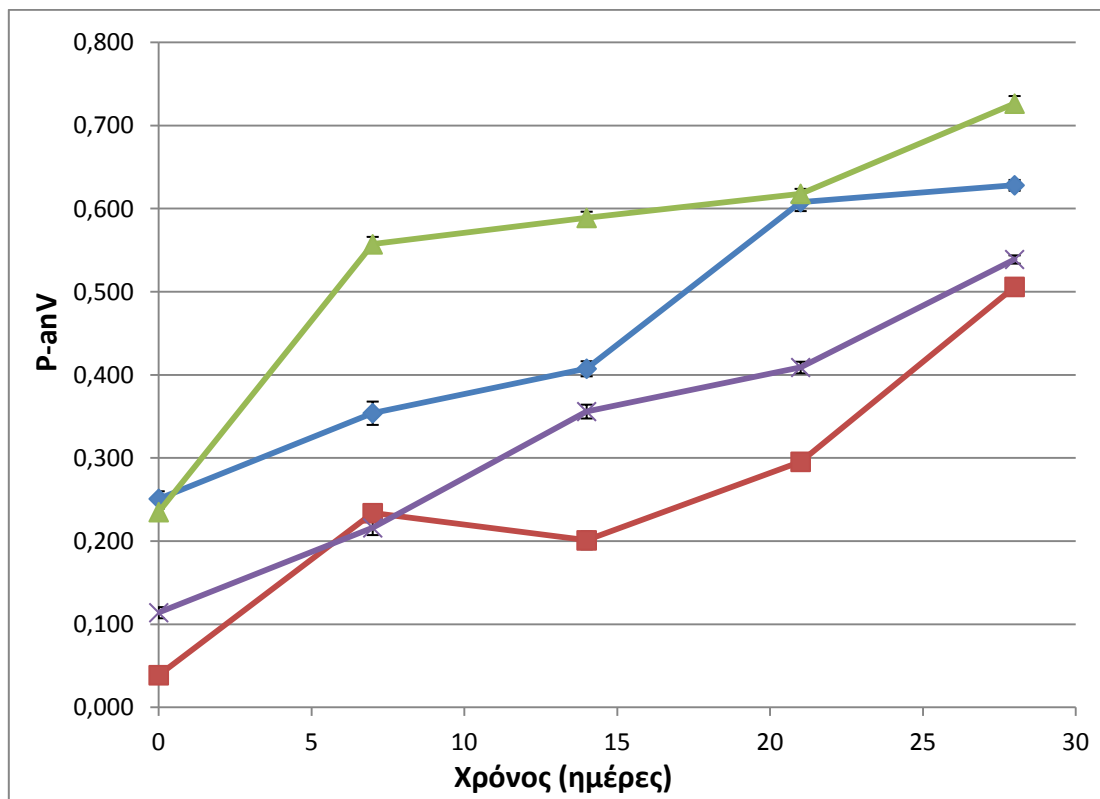
Δείγμα	Σύσταση			
	Έλαιο (% w/w)	WPI (% w/w)	HPMC L (%w/w)	Curcumin (% w/w)
WH	5%	5%	1%	-
WHC	5%	5%	1%	0,01%
W	5%	5%	-	-
WC	5%	5%	-	0,01%

Ως δείκτες οξειδωτικής υποβάθμισης χρησιμοποιήθηκαν τα συζυγή διένια (CD) για την μέτρηση των πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης και ο δείκτης p-ανισιδίνη για τα δευτερογενή. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν για διάστημα 28 ημερών και με απόσταση 7 ημερών μεταξύ τους. Τα δείγματα αποθηκεύτηκαν σε θάλαμο με σταθερή θερμοκρασία 25°C.

Η παραγωγή συζυγών διενίων κατά τη διάρκεια της οξείδωσης των γαλακτωμάτων, για χρονικό διάστημα 28 ημερών, εκφράζεται ως απορρόφηση στο φάσμα του υπεριώδους σε μήκος κύματος 232 nm, και παρουσιάζεται στο Διάγραμμα 11 και η μεταβολή της τιμής p-ανισιδίνης στο Διάγραμμα 12.



Διάγραμμα 11: Επίδραση της σύστασης στην παραγωγή συζυγών διενίων στα γαλακτώματα κατά την οξείδωσή τους, WH (♦), WHC(■), W(▲), WC (×).



Διάγραμμα 12: Επίδραση της σύστασης στη μεταβολή της τιμής p-ανισιδίνης κατά την οξείδωση των γαλακτωμάτων, WH (♦), WHC(■), W(▲), WC (×).

5.5.1 Επίδραση της συγκέντρωσης της κυτταρίνης HPMC Low

Η απορρόφηση των συζυγών διενίων στην αρχή της οξείδωσης (χρονική στιγμή μηδέν) για το γαλάκτωμα που περιείχε κυτταρίνη ήταν 0,354 ενώ για το γαλάκτωμα χωρίς κυτταρίνη ήταν 0,412. Η παρουσία της κυτταρίνης δεν φαίνεται να επηρεάζει την πορεία της οξείδωσης καθώς οι απορροφήσεις και των δύο γαλακτωμάτων την 28^η μέρα δεν έχουν στατιστικά σημαντική διαφορά. Η ίδια παρατήρηση γίνεται και στα γαλακτώματα τα οποία περιέχουν κουρκουμίνη, το ένα με προσθήκη κυτταρίνης ενώ το άλλο όχι. Και τα δύο γαλακτώματα είχαν μεταξύ τους τις ίδιες απορροφήσεις στην αρχή και στο τέλος της οξείδωσης, υποδεικνύοντας ότι η κυτταρίνη HPMC χαμηλού ιξώδους σε συγκέντρωση 1% δεν παρουσιάζει επιπρόσθετη προστατευτική δράση στην πορεία της οξείδωσης των γαλακτωμάτων.

Τα αποτελέσματα για τους παραπάνω δείκτες οξείδωσης, εκφράστηκαν και ως “δείκτης οξείδωσης”, ώστε να προκύψει μια συνολική εκτίμηση της πορείας της οξείδωσης. Ο “δείκτης οξείδωσης” εκφράζεται ως η μεταβολή της απορρόφησης των συζυγών διενίων ως προς την αρχική τιμή αυτών ή αντίστοιχα η μεταβολή της τιμής p – ανισιδίνης προς την αρχική τιμή.

Πίνακας 15: Επίδραση της σύστασης του γαλακτώματος στην απορρόφηση των συζυγών διενίων και ως εκ τούτου στην οξειδωτική τους υποβάθμιση.

Γαλάκτωμα	1 ^η ημέρα	28 ^η ημέρα	Δείκτης οξείδωσης (%)
WH	0,354	0,623	75,99%
W	0,412	0,630	52,91%
WHC	0,232	0,294	26,72%
WC	0,265	0,305	15,09%

Σύμφωνα με τα πειραματικά αποτελέσματα, φαίνεται ότι ο πρωτεϊνικός γαλακτωματοποιητής, υπερκαλύπτει τη δράση της κυτταρίνης HPMC, τουλάχιστον στη συγκέντρωση που προστέθηκε στα γαλακτώματα. Πέρα από τη σταθερότητα που προσφέρουν οι πρωτεΐνες στα γαλακτώματα, ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η αντιοξειδωτική τους δράση. Η πρωτεΐνη σχηματίζει στοιβάδα μίας στρώσης με επιφανειακή κάλυψη ($\approx 3-5 \text{ mg/m}^2$), γύρω από τα σταγονίδια λίπους, προσφέροντας αποτελεσματική προστασία, αφού σχηματίζει ένα φυσικό εμπόδιο στη διείσδυση προ-οξειδωτικών προς τη λιπαρή φάση (Dickinson & McClements, 1995). Ειδικότερα η πρωτεΐνη WPI αποτελείται από τις σφαιρικής δομής α -λακτοαλβουμίνη και β -

λακτογλοβουλίνη με τις χαρακτηριστικές σουλφιδρυλικές ομάδες στο μόριό τους. Οι ομάδες αυτές αλληλεπιδρούν έντονα και δεσμεύοντας ελεύθερες ρίζες της υδατικής φάσης (McClements & Decker, 2000).

Οι Sun et al. (2009) έδειξαν ότι σε γαλάκτωμα με συγκέντρωση ελαίου 5% w/w ακόμα και 2% w/w συγκέντρωση πρωτεΐνης WPI ήταν ικανή να μειώσει σημαντικά την παραγωγή πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης. Ταυτόχρονα παρατήρησαν ότι αυτή η συγκέντρωση πρωτεΐνης ήταν αρκετή ώστε να δημιουργηθεί περίσσεια μη απορροφημένης πρωτεΐνης στην υδατική φάση η οποία δρούσε ως αντιοξειδωτικό, απενεργοποιώντας τον σίδηρο που υπήρχε φυσικά μέσα στο γαλάκτωμα και ταυτόχρονα δημιουργώντας πολλαπλά προστατευτικά στρώματα γύρω από τα σταγονίδια ελαίου (Sun et al., 2009).

Για να εκτιμηθεί συνολικά η οξειδωτική σταθερότητα των γαλακτωμάτων θα πρέπει να ληφθεί υπόψιν και η παραγωγή δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης, η οποία εκτιμήθηκε με την μέθοδο της p-ανισιδίνης.

Πίνακας 16: Επίδραση της σύστασης του γαλακτώματος στην τιμή p-ανισιδίνης και ως εκ τούτου στην οξειδωτική τους υποβάθμιση

Γαλάκτωμα	1 ^η ημέρα	28 ^η ημέρα	Δείκτης οξείδωσης (%)
WH	0,251	0,628	>100%
W	0,235	0,727	>100%
WHC	0,039	0,506	>100%
WC	0,114	0,539	>100%

Τα αποτελέσματα της δοκιμασίας της ανισιδίνης (Διάγραμμα 12) έρχονται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα της παραγωγής πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης. Τα γαλακτώματα με πρωτεΐνη WPI 5% w/w, το ένα με κυτταρίνη HPMC χαμηλού ιξώδους και το άλλο χωρίς προσθήκη κυτταρίνης έχουν την ίδια τιμή p-ανισιδίνης στην αρχή της οξείδωσης (χρονική στιγμή 0). Στο τέλος της οξείδωσης το γαλάκτωμα που περιέχει 1%w/w HPMC έχει τιμή p-ανισιδίνης 0,6283 ενώ το γαλάκτωμα χωρίς κυτταρίνη έχει τιμή 0,7265. Οι τιμές αυτές διαφέρουν στατιστικά, γεγονός που υποδεικνύει ότι η κυτταρίνη HPMC σε συγκέντρωση 1% w/w δρα προστατευτικά και παρεμποδίζει την αποικοδόμηση των πρωτογενών προϊόντων σε δευτερογενή. Από το Διάγραμμα 12 φαίνεται ότι η παρουσία κυτταρίνης έχει την ίδια επίδραση και στα γαλακτώματα που περιέχουν κουρκουμίνη. Την 28^η μέρα της οξείδωσης η τιμή p-

ανισιδίνης για το γαλάκτωμα που περιέχει HPMC είναι μικρότερη και διαφέρει στατιστικά με την τιμή p-ανισιδίνης για το γαλάκτωμα που δεν περιέχει κυτταρίνη.

Η Akinosho (2012) έδειξε ότι ένας από τους κυρίαρχους παράγοντες που επιβραδύνουν την οξειδωση γαλακτωμάτων που έχουν σταθεροποιηθεί με προσθήκη κυτταρίνης HPMC χαμηλού ιξώδους είναι η επίδρασή της στον ρυθμό διάχυσης του οξυγόνου στην συνεχή φάση, μέσω της αύξησης του ιξώδους του γαλακτώματος.

Εν κατακλείδι πρέπει να επισημανθεί ότι οι βιβλιογραφικές τιμές p-ανισιδίνης για γαλακτώματα παρόμοιας σύστασης με αυτά της παρούσας μελέτης ήταν κατά πολύ μεγαλύτερες για όλα τα στάδια της οξειδωσης καθώς κυμαίνονταν από 1 για την χρονική στιγμή μηδέν του πειράματος έως 3 για την 28^η μέρα της οξειδωσης (Sun et al., 2009).

5.5.2 Επίδραση της κουρκουμίνης

Η κουρκουμίνη περιέχει ένα μείγμα ισχυρών αντιοξειδωτικών, γνωστών ως κουρκουμινοειδών, μια ομάδα φαινολικών ενώσεων που απομονώνονται από τις ρίζες του φυτού. Τα φλαβονοειδή απαντώνται ευρέως στη φύση και είναι γνωστά για τις αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες σε φυτικά έλαια (Tsimogiannis & Oreopoulou, 2006).

Παρασκευάστηκαν δύο γαλακτώματα ελαιολάδου (5% w/w) τα οποία σταθεροποιήθηκαν με πρωτεΐνη ορού WPI (5% w/w) και περιείχαν 0,01% w/w κουρκουμίνη η οποία ενσωματώθηκε στο έλαιο. Στο ένα από αυτά προστέθηκε κυτταρίνη HPMC χαμηλού ιξώδους σε συγκέντρωση 1% w/w. Ταυτόχρονα ετοιμάστηκαν και δύο γαλακτώματα αναφοράς, στα οποία δεν είχε προστεθεί κουρκουμίνη.

Η μεταβολή των συζυγών διενίων κατά τη διάρκεια της οξειδωσης στα παραπάνω γαλακτώματα παρουσιάζεται στο Διάγραμμα 11. Και τα δύο γαλακτώματα που περιέχουν κουρκουμίνη οξειδώνονται βραδύτερα και λιγότερο σε σχέση με τα αντίστοιχα γαλακτώματα αναφοράς, γεγονός που υποδηλώνει την καλή αντιοξειδωτική δράση του φλαβονοειδούς. Πιο συγκεκριμένα τα γαλακτώματα που περιείχαν κουρκουμίνη παρουσίασαν ελάχιστη αύξηση στην απορρόφηση της 28^{ης} μέρας σε σχέση με την αρχή της μελέτης της οξειδωσης. Για το γαλάκτωμα που περιείχε κυτταρίνη η απορρόφηση από 0,232 την πρώτη μέρα έφτασε 0,294 την τελευταία, ενώ για το γαλάκτωμα χωρίς κυτταρίνη από 0,265 σε 0,305.

Παρόμοια αποτελέσματα προέκυψαν από τη μέτρηση των δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης. Η κουρκουμίνη μείωσε το ρυθμό της οξείδωσης καθώς και την τελική τιμή της p-ανισιδίνης, σε σχέση με τα αντίστοιχα γαλακτώματα αναφοράς. Εντούτοις, τα δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης φαίνεται να αυξάνουν σε σχέση με την πρώτη μέρα της οξείδωσης, παρόλο που, όπως προαναφέρθηκε, τα πρωτογενή προϊόντα δεν μεταβάλλονται ποσοτικά. Αυτό υποδεικνύει ότι τα πρωτογενή προϊόντα σχηματίζονταν και αποικοδομούσαν με τον ίδιο ρυθμό και ως εκ τούτου δεν υπήρχε αύξηση στην απορρόφηση των συζυγών διενίων αλλά η αποικοδόμησή τους εξηγεί την αύξηση στην τιμή της p-ανισιδίνης (Sun et al., 2007)

Συμπεράσματα

Στα πλαίσια της παρούσας μεταπτυχιακής μελέτης, εξετάστηκαν οι παράγοντες, ενδογενείς και εξωγενείς, που επηρεάζουν την σταθερότητα των γαλακτωμάτων τύπου έλαιο σε νερό και την οξειδωσή τους.

Ο ενδογενής παράγοντας που μελετήθηκε ως προς την επίδρασή του στη σταθερότητα των γαλακτωμάτων ήταν το είδος και τη συγκέντρωση του σταθεροποιητή. Ως σταθεροποιητής χρησιμοποιήθηκαν τρία παράγωγα κυτταρίνης, η κυτταρίνη HPMC (hydroxypropyl methylcellulose) χαμηλού και υψηλού ιξώδους και η CMC (carboxymethylcellulose). Οι συγκεντρώσεις κυμαίνονται από 0,1 έως 2% w/w. Τόσο η HPMC χαμηλού ιξώδους όσο και η HPMC υψηλού ιξώδους σταθεροποίησαν ικανοποιητικά τα γαλακτώματα. Η προσθήκη CMC δεν είχε τα ίδια αποτελέσματα καθώς σε pH 4 κοντά στο ισοηλεκτρικό σημείο της πρωτεΐνης προκάλεσε θολερότητα στα διαλύματα και δημιουργία συμπλόκων τα οποία καταβυθίστηκαν. Όσον αφορά στις συγκεντρώσεις, την μέγιστη σταθερότητα παρουσίασαν τα γαλακτώματα με συγκέντρωση 1, 1,5 και 2% w/w HPMC χαμηλού ιξώδους και τα γαλακτώματα με 0,3 και 0,5% w/w HPMC υψηλού ιξώδους. Εν αντιθέσει η διάμετρος των παραγόμενων λιποσφαιρίων παραμένει σταθερή. Η ρεολογική μελέτη των γαλακτωμάτων έδειξε ότι το ιξώδες αυξάνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης του σταθεροποιητή. Ο συνδυασμός των παραπάνω αποτελεσμάτων αναδεικνύει το ιξώδες ως τον κυρίαρχο παράγοντα που καθορίζει τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά του γαλακτώματος.

Εν συνεχεία μελετήθηκε η οξειδωση των γαλακτωμάτων συναρτήσει της συγκέντρωσης του σταθεροποιητή και της αντιοξειδωτικής δράσης της κουρκουμίνης. Η αυξημένη συγκέντρωση του πρωτεϊνικού γαλακτωματοποιητή WPI (5% w/w) είχε ως αποτέλεσμα την καλή αντιοξειδωτική δράση του την οποία δεν φάνηκε να ενισχύει η παρουσία του σταθεροποιητή HPMC χαμηλού ιξώδους σε συγκέντρωση 1% w/w. Τα αποτελέσματα από την ενσωμάτωση της κουρκουμίνης ήταν ενθαρρυντικά καθώς προέκυψε ότι προσθήκη 0,01% w/w κουρκουμίνη ήταν αρκετή για να προσφέρει στατιστικά σημαντική αντιοξειδωτική προστασία στα γαλακτώματα. Συνοψίζοντας, οι τιμές της οξειδωσης των παραπάνω γαλακτωμάτων ήταν μικρότερες από τις αντίστοιχες βιβλιογραφικές.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- AKINOSHO H. (2012), The role of structure – function relationships in hydropropyl methylcellulose on emulsion stability, Msc Thesis University of Georgia
- AOCS, p-Anisidine value, in: Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists. Method cd 18-90 AOCS Press, Champaign, IL, 1998
- Belitz, H. D. & Grosch, W. (1999). Lipids. In H. D. Belitz and W. Grosch, Food Chemistry (pp 152). Springer: Berlin, Heidelberg, NY, Barcelona, Hong Kong, London, Milan, Paris, Singapore, Tokyo.
- Camino, N. A. & Pilosof, A. M. R. (2011). Hydroxypropylmethylcellulose at the oil-water interface. Part II. Submicron-emulsions as affected by pH. Food Hydrocolloids, 25(1), 1051 – 1062 .
- Camino, N. A., Sánchez, C. C., Rodríguez Patino, J. M., & Pilosof, A. M. R. (2011). Hydroxypropylmethylcellulose at the oil-water interface. Part I. Bulk behaviour and dynamic adsorption as affected by pH. Food Hydrocolloids, 25(1), 1-11.
- Chanamai R., Mc Clements D.J. (2000). Dependence of creaming and rheology of monodisperse oil-in-water emulsions on droplet size and concentration. Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects, 172: 79-86
- de Kruif, C.G. & Tuinier, R., (2001). Polysaccharide protein interactions. Food Hydrocolloids, 15, 555-563.
- Dickinson, E. & McClements, D. J. (1995). Advances in Food Colloids, 1st Ed., (pp 18 – 23). Blackie Academic & Professional: London, Glasgow, Weinheim, New York, Tokyo, Melbourne, Madras.
- Dickinson, E. (2009). Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. Food Hydrocolloids, 23(6), 1473-1482.
- Futamura, T., & Kawaguchi, M. (2012). Characterization of paraffin oil emulsions stabilized by hydroxypropyl methylcellulose. Journal of Colloid and Interface Science, 367(1), 55-60.

- Gaonkar, A. (1991). Surface and interfacial activities and emulsion characteristics of some food hydrocolloids. *Food Hydrocolloids*, 5, 329-337.
- Girard, M., Turgeon, S.L. & Gauthier, S.F., (2002). Interbiopolymeric complexing between β -lactoglobulin and low- and high-methylated pectin measured by potentiometric titration and ultrafiltration. *Food Hydrocolloids*, 16, 585-591.
- Gunstone, F. D. (1996). Fatty acids – Nomenclature, structure, isolation and structure – determination, biosynthesis and chemical analysis. In F. D. Gunstone, *Fatty Acid and Lipid Chemistry* (pp 1). Blackie Academic & Professional: Great Britain.
- Gunstone, F. D. (1996). Reactions associated with double bonds. In F. D. Gunstone, *Fatty Acid and Lipid Chemistry* (pp 162). Blackie Academic & Professional: Great Britain.
- IUPAC Standard method 2.505 (1987). Evidence of purity and deterioration from ultraviolet spectrophotometry. In C. Paquot and H. Hautfenne, *Standard Methods of Analysis of Oils Fats and Derivatives* (pp. 212-213), 7th Ed., Blackwell Scientific Publications: Oxford, UK.
- Kashif Ahmed, Yan Li, David Julian McClements, Hang Xiao (2012) Nanoemulsion- and emulsion-based delivery systems for curcumin: Encapsulation and release properties, *Food Chemistry*, 132, 799–807
- Laguerre M., Lecomte J., Villeneuve P.(2007) Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges, *Progress in Lipid Research* 46 (2007) 244–282
- Mason T.G., Wilking J.N., Meleson K., Chang C.B., Graves S.M. (2006) Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties. *J Phys Condens Matter* 18:R635–R666
- McClements D. J. (2007) : Critical Review of Techniques and Methodologies for Characterization of Emulsion Stability, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47:7, 611 – 649
- McClements, D. J. (2005) : *Food emulsions : Principles, Practice, and Techniques* 2nd ed., CRC PRESS Boca Raton London New York Washington, D.C.

- McClements, D., & Decker, E. A. (2000). Lipid Oxidation in Oil-in-Water Emulsions: Impact of Molecular Environment on Chemical Reactions in Heterogeneous Food Systems. *Journal of Food Science*, 65(8), 1270-1282.
- Mollet, H., Grubenmann, A., *Emulsions – Properties and Production, Formulation Technology: Emulsions, Suspensions, Solid Forms* (2007)
- Rossell, J. B. (1986). Classical analysis of oils and fats. In R. J. Hamilton, & J. B. Rossell (Eds.), *Analysis of oils and fats* (pp. 1–90). London and New York: Elsevier Applied Science Publishers.
- Steffe, J.F. (1996). *Rheological methods in food process engineering*. Second edition. Freeman Press, 2807 Still Valley Dr. East Lansing, USA
- Sun, C., Gunasekaran, S. (2009). Effects of protein concentration and oil-phase volume fraction on the stability and rheology of menhaden oil-in-water emulsions stabilized by whey protein isolate with xanthan gum *Food Hydrocolloids*, 23, 165 – 174 .
- Sun, C., Gunasekaran, S., & Richards, M. P. (2007). Effect of xanthan gum on physicochemical properties of whey protein isolate stabilized oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*, 21, 555–564.
- Tropea C., Yarin A., Foss J. (2007) : *Handbook of Experimental Fluid Mechanics*, Springer
- Tsimogiannis, D., & Oreopoulou, V. (2006). The contribution of flavonoid C - ring on the DPPH free radical scavenging efficiency. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 7, 140-146.
- Turgeon, S.L., Beaulieu, M., Schmitt, C. & Sanchez, C., (2003). Protein-polysaccharide interactions: phase-ordering kinetics, thermodynamic and structural aspects. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 8, 401-414.
- Weinbreck, F., de Vries, R., Shrooyen, P. & de Kruif, C.G., (2003). Complex coacervation between whey proteins and acacia gum. *Biomacromolecules*, 4, 293-303.
- Xu D., Wang X., Jiang J., Yuan F., Gao Y. (2012). Impact of whey protein-beet pectin conjugation on the physicochemical stability of β -carotene emulsions. *Food Hydrocolloids*, 28: 258-266

- Zinoviadou K.G., Scholten E., Moschakis T., Biliaderis C.G. (2012). Properties of emulsions stabilized by sodium caseinate-chitosan complexes. *International Dairy Journal*, article in press: 1-8
- Γιαννιώτης Σ. (2011), Μηχανική Τροφίμων – Μέρος 1^ο : Φαινόμενα μεταφοράς στη μηχανική τροφίμων, Πανεπιστημιακές Σημειώσεις
- Δημάκου Χ. (2010), Μελέτη της επίδρασης ενδογενών και εξωγενών παραμέτρων στην οξείδωση λιπαρών σε γαλακτώματα, Αθήνα
- Κυριτσάκης, Α. (2007), Ελαιόλαδο Συμβατικό και Βιολογικό Βρώσιμη, Ελιά – Πάστα Ελιάς. Θεσσαλονίκη

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ

KEY WORDS

Αντιοξειδωτικά	Anti – oxidants
Γαλακτώματα	Celluloses
Γαλακτωματοποιητές	Curcumin
Διάμετρος σταγονιδίων	Droplet size
Ελαιόλαδο	Emulsifiers
Ιξώδες	Emulsions
Κουρκουμίνη	Encapsulation
Κυτταρίνη	Olive oil
Μικροεγκλεισμός	Oxidation
Οξειδωση	Stability
Σταθεροποιητές	Stabilizers
Σταθερότητα	Ultrasonic homogenization
Υπερήχηση	Viscosity
