



ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ  
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ  
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ



# ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΟΠΟΙΗΤΙΚΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΠΟΙΗΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ ΜΠΑΜΙΑΣ



ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΑΒΡΑΜΙΔΗΣ ΒΑΛΕΝΤΙΝΟΣ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΕΣ: ΡΙΤΖΟΥΛΗΣ ΧΡΗΣΤΟΣ

ΚΟΝΤΟΓΙΩΡΓΟΣ ΒΑΣΙΛΕΙΟΣ

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2012

# ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΟΠΟΙΗΤΙΚΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΠΟΙΗΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ ΜΠΑΜΙΑΣ

ΑΒΡΑΜΙΔΗΣ ΒΑΛΕΝΤΙΝΟΣ

Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης (ΑΤΕΙ), Τμήμα  
Τεχνολογίας Τροφίμων, 57400 Θεσσαλονίκη, ΤΘ 141.

Υποβολή πτυχιακής διατριβής που αποτελεί μέρος των απαιτήσεων για την απονομή  
του πτυχίου του Τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων του ΑΤΕΙ Θεσσαλονίκης.

Ημερομηνία: 24/09/12

Εισηγητές: Χ. Ριζούλης & Β. Κοντογιώργος

# ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΟΠΟΙΗΤΙΚΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΠΟΙΗΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ ΜΠΑΜΙΑΣ

ΑΒΡΑΜΙΔΗΣ ΒΑΛΕΝΤΙΝΟΣ

Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης (ΑΤΕΙ), Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων, 57400 Θεσσαλονίκη, ΤΘ 141.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα πτυχιακή εργασία μελετήθηκαν οι γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες των εκχυλισμάτων μπάμιας (*Abelmoschus esculentus moench*) τα οποία εκχυλίστηκαν σε δύο διαφορετικά pH, pH4 (ex4) και pH6 (ex6). Τα πειράματα που διενεργήθηκαν απεκάλυψαν πως το εσωτερικό ιζώδες του ex4 είναι μικρότερο (0.901 dL/g) από του ex6 με τιμή (1,063 dL/g) γεγονός που αποκαλύπτει μικρότερου μοριακού βάρους μακρομόρια στο ex4. Στα γαλακτώματα 20% v/v δεκαεξανίου με εκχυλίσματα ex4 και ex6 1,5% w/v στα οποία μελετήθηκε το μέγεθος των σταγονιδίων για διάστημα ενός μήνα, παρατηρήθηκε ότι το γαλάκτωμα με ex6 έχει μικρότερα σταγονίδια  $d[3.2]=(11,164\mu\text{m})$  την πρώτη ημέρα και  $d[3.2]=(14,493\mu\text{m})$  την τελευταία σε σχέση με το ex4 το οποίο παρουσίασε σταγονίδια των  $d[3.2]=(12,450\mu\text{m})$  και  $d[3.2]=(41,499\mu\text{m})$  την πρώτη και τελευταία μέρα αντίστοιχα. Τα δύο γαλακτώματα δεν παρουσίασαν μεγάλη διαφορά στο ζ-δυναμικό, με το εκχύλισμα ex4 σε pH=3,4 να έχει τιμή (-10,6mV) και το εκχύλισμα ex6 σε pH=3,6 να έχει τιμή (-8,35mV) την πρώτη ημέρα. Η μικρότερη σταθερότητα του γαλακτώματος που παρατηρήθηκε με το εκχύλισμα ex4 αποδόθηκε στην μικρή απορρόφηση πρωτεϊνών στην διεπιφάνεια που παρουσίασε το δείγμα αυτό σε σχέση με το εκχύλισμα ex6, οι τιμές των οποίων είναι (0,60mg/m<sup>2</sup>) και (1,01mg/m<sup>2</sup>) αντίστοιχα. Η σταθερότητα των γαλακτωμάτων μετρήθηκε ως τον χρόνο που χρειάστηκε το κάθε γαλάκτωμα να διαχωριστή σε δύο φάσεις, το γαλάκτωμα με ex4 χρειάστηκε (15min) ενώ το γαλάκτωμα με το ex4 χρειάστηκε (50min). Τέλος με την μικροσκοπία φθορισμού επιβεβαιώσαμε την απορρόφηση των πρωτεϊνών στην διεπιφάνεια, το μέγεθος των σταγονιδίων των γαλακτωμάτων την σχέση που υπάρχει μεταξύ αυτών καθώς και την συσσωματωμένη δομή.

Λέξεις Κλειδιά: Μπάμια, Γαλακτώματα, Εκχυλίσματα Μπάμιας.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

**Πίνακας περιεχομένων**

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
2. Μπάμια.....	3
2.1. Φυσιολογία Βαστού .....	3
2.1.1. Καλλιεργητικές Συνθήκες .....	3
2.1.2. Ποικιλίες Μπάμιας .....	3
2.1.3. Χρήσεις Της Μπάμιας.....	3
2.1.4. Χημική Σύσταση Της Μπάμιας.....	4
2.1.4.1. Αμινοξέα Μπάμιας .....	6
2.1.4.2. Λιπαρά Οξέα Μπάμιας .....	7
2.1.4.3. Πτητικά Αρώματα Και Αντιοξειδωτικά Της Μπάμιας.....	8
2.1.4.4. Υδατάνθρακες Που Εμπεριέχονται Στην Μπάμια.....	8
2.1.5. Επίδραση Της Εκχύλισης Στο Είδος Των Πολυσακχαριτών .....	9
2.1.5.1. Εκχύλιση AIS.....	9
2.1.5.2. Εκχύλιση HBSS .....	10
2.1.5.3. Εκχύλιση CHSS .....	10
2.1.5.4. Εκχύλιση DASS.....	10
2.2. Ρεολογία .....	11
2.2.1. Ιξώδες .....	12
2.2.1.1. Νευτώνεια και Μη Νευτώνεια Ρευστά .....	13
2.2.2. Ιξώδες Διαλυμάτων .....	15
2.2.2.1. Εξίσωση Huggins.....	15
2.2.2.2. Εξίσωση Kraemer .....	16
2.3. Γαλακτώματα .....	16
2.3.1. Ιδιότητες Γαλακτωμάτων .....	17
2.3.1.1. Μέγεθος Σωματιδίων και Προσδιορισμός Αυτών .....	17
2.3.1.2. Οπτική Εμφάνιση Γαλακτωμάτων.....	18
2.3.1.3. Ικανότητα Διάλυσης Ενός Γαλακτώματος .....	18
2.3.1.4. Αγωγιμότητα Γαλακτωμάτων.....	19
2.3.1.5. pH Γαλακτώματος .....	19
2.3.1.6. Ιξώδες Γαλακτώματος .....	19
2.3.2. Διάσπαση Γαλακτωμάτων.....	20

2.3.3. Σταθερότητα Γαλακτωμάτων .....	21
2.3.3.1. Ζήτα Δυναμικό και Ηλεκτρική Διπλοστοιβάδα.....	23
2.4 Γαλακτωματοποιητές .....	25
3. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ .....	27
4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .....	28
4.1. Υλικά και Μέθοδοι.....	28
4.1.1. Πρώτη Ύλη.....	28
4.1.2. Αντιδραστήρια .....	28
4.1.3. Μέθοδοι .....	28
4.1.3.1. Λυοφιλίωση Μπάμιας.....	28
4.1.3.2. Απολίπανση .....	28
4.1.3.3. Αδιάλυτα στην Αλκοόλη Συστατικά (AIS) .....	28
4.1.3.4. Εκχύλιση των Αδιάλυτων στην Αλκοόλη Συστατικών .....	29
4.1.3.5. Παρασκευή Ρυθμιστικών Διαλυμάτων .....	29
4.1.3.6. Παρασκευή Διαλυμάτων Μπάμιας για τα Γαλακτώματα.....	30
4.1.3.7. Παρασκευή Γαλακτωμάτων.....	30
4.1.3.8. Παρασκευή Διαλυμάτων Μπάμιας για Μέτρηση Εσωτερικού Ιξώδους .....	31
4.2. Ρεολογική Μελέτη των Γαλακτωμάτων .....	31
4.3. Μελέτη Μεγέθους Σταγονιδίων του Γαλακτώματος .....	31
4.4. Υπολογισμός του ζ-Δυναμικού .....	32
4.5. Υπολογισμός του Δείκτη Αποκορύφωσης.....	32
4.6. Υπολογισμός της Επιφανειακής Απορροφημένης Πρωτεΐνης.....	32
4.7. Υπολογισμός Του Εσωτερικού Ιξώδους (Intrinsic Viscosity) .....	33
4.8. Μικροσκοπία Φθορισμού (Confocal laser scanning microscopy, CLSM) .....	33
5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ- ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ .....	34
5.1. Εσωτερικό Ιξώδες .....	34
5.2. Δείκτης Αποκορύφωσης.....	36
5.3. Ρεολογική Μελέτη .....	40
5.4. Μέγεθος Σταγονιδίων Στο Γαλάκτωμα.....	43
5.5. Διεπιφανειακά Απορροφημένη Πρωτεΐνη .....	44
5.6. Ζήτα Δυναμικό .....	47
5.7. Μικροσκοπία Φθορισμού (Confocal laser scanning microscopy, CLSM) .....	48
6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....	51

7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	53
-----------------------	----

## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Αρχικά στην εργασία αυτή παρουσιάζεται το γνωστό στην ανατολική μεσόγειο και όχι μόνο, λαχανικό μπάμια το οποίο είναι γνωστό ακόμα και με το όνομα όκρα (okra). Στο στάδιο αυτό πραγματοποιείται μια βιβλιογραφική ανασκόπηση στα χημικά και φυσικά χαρακτηριστικά, καθώς και στις ευεργετικές και τεχνολογικές ιδιότητες της μπάμιας όπως αυτά προέκυψαν από τους μελετητές (Adetuyi et al.,2011; Udayasekhara, 1985; Wandawi, 1983; Savello et al.,1980; Karakoltsidis και Constantinides, 1975; Longe et al.,1982; Whistler & Conrad, 1954; Tomada et al.,1980; Ames και Macleod 1990; Sengkhampan et al.,2009; Mishra et al.,2008; Lengsfeld et al.,2004; Ndjouenkeu et al.,1996).

Στην συνέχεια επεξηγούνται ορισμένες μέθοδοι εκχύλισης που έχουν χρησιμοποιηθεί για την εκχύλιση των πολυσακχαριτών της μπάμιας όπως περιγράφονται από τους Sengkhampan et al.,(2009a,b) καθώς οι ιδιότητες και οι χημική σύσταση αυτών.

Μετάπειτα για την καλύτερη κατανόηση του πειραματικού μέρους από τους αναγνώστες πραγματοποιήθηκε ανάλυση των ρεολογικών ιδιοτήτων των διαλυμάτων και των γαλακτωμάτων, καθώς και διάφορων άλλων φυσικών, χημικών και φυσικοχημικών ιδιοτήτων των γαλακτωμάτων.

Ακολουθεί αναλυτική επεξήγηση, όλων των πειραματικών διεργασιών που έχουν χρησιμοποιηθεί στην παρούσα εργασία, για την ανάλυση και τον χαρακτηρισμό της γαλακτωματοποιητικής ικανότητας που έχουν τα εκχυλίσματα μπάμιας, τα οποία έχουν εκχυλιστεί με μια διαφορετική μέθοδο από αυτή που αναλύθηκε στο πρώτο μέρος από τους Sengkhampan et al.,(2009a,b), για τα οποία δεν γνωρίζουμε τίποτα για την χημική τους σύσταση. Παράλληλα πραγματοποιείται ανάλυση τις μεθόδου εκχύλισης των δειγμάτων και περιγραφή όλων των χημικών και φυσικών διεργασιών που ακολουθήθηκαν με ταυτόχρονη παράθεση των χημικών ουσιών και των μηχανημάτων που χρησιμοποιήθηκαν για την επίτευξη αυτού.

Ολοκληρώνοντας την πτυχιακή εργασία, γίνεται παράθεση όλων των αποτελεσμάτων από τα πειράματα που διενεργήθηκαν με πίνακες και σχήματα. Πραγματοποιείται σχολιασμός αυτών σε κάθε πειραματική διεργασία με παράλληλη προσπάθεια επεξήγησης των φαινομένων που παρατηρήθηκαν, βάση της βιβλιογραφίας πάνω σε όμοια προϊόντα και μεθόδους, μιας και παρόμοια έρευνα για το συγκεκριμένο τρόφιμο δεν έχει πραγματοποιηθεί στο παρελθόν.

Τέλος, μιας και ο σκοπός της μελέτης μας ήταν να εξετάσουμε τις γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες των δυο διαφορετικών εκχυλισμάτων μπάμιας, σε γαλάκτωμα με δεκαεξάνιο σε pH κοντά στο 3, παρατίθενται τα συμπεράσματα που λάβαμε μετά το πέρας όλων των πειραμάτων για την γαλακτωματοποιητική ικανότητα των δυο τύπων εκχυλισμάτων μπάμιας, καθώς και διάφορες μελλοντικές

έρευνες που προτείνουμε να πραγματοποιηθούν για την καλύτερη κατανόηση και επεξήγηση του συστήματος γαλακτωματοποίησης στα συγκεκριμένα εκχυλίσματα, όπως επίσης και διάφορες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των χημικών ουσιών που έχουν εκχυλιστεί με αυτή τη μέθοδο εκχύλισης, είτε ακόμα και παρατήρηση αλλαγών στην γαλακτωματοποιητική ικανότητα με την αλλαγή συνθηκών θερμοκρασίας, pH και προσθήκη διαφόρων βοηθητικών ουσιών.



## 2.Μπάμια

Η μπάμια όπως είναι γνωστό στα νοτιοανατολικά της μεσογείου (Ελλάδα, Τουρκία) και γνωστό με το επιστημονικό όνομα (*Abelmoschus esculentus moench*) ανήκει στην βοτανική οικογένεια (*Malvaceae*) σύμφωνα με τους 52; Sengkhampan et al.,(2010); Longe et al.,(1982); Adelaçun et al.,(2009) και κατά τους Ames and Macleod,(1990); Ndjouenkeu et al.,(1996); Jideani and Bello,(2009) γνωστό με το όνομα (*Hibiscus esculentus,Linn*). Το φυτό αυτό καλλιεργείται σε πάρα πολλά κράτη σε όλο τον κόσμο που ανήκουν στην τροπική και υποτροπική ζώνη όπως νότια Αμερική, Ινδία, Ελλάδα, Τουρκία, Αίγυπτος, Μέση και Άπω Ανατολή, καθώς και δυτική και κεντρική Αφρική (Νιγηρία) από όπου είναι και η καταγωγή του φυτού αυτού, αφού καλλιεργείται σε αυτά τα εδάφη πάνω από 2000 χρόνια σύμφωνα με τους (Ames and Macleod,1990)

### 2.1. Φυσιολογία Βαστού

Το φυτό της μπάμιας καρποφορεί μέσα σε διάστημα 40-90 ημερών από την σπορά, το ύψος του φυτού φτάνει σε ύψος περίπου τα 4 μέτρα με ελικοειδή τοποθέτηση φύλλων που φτάνουν σε διάμετρο τα 50 εκατοστά. Ο καρπός είναι χρώματος πράσινου και το σχήμα τους κυλινδρικό ή πυραμιδοειδές, το μέγεθος ποικίλοι από 5-35cm σε μήκος και από 1-5cm σε διάμετρο.

#### 2.1.1. Καλλιεργητικές Συνθήκες

Το έδαφος στο οποίο καρποφορεί ποικίλοι, μπορεί να είναι από αμμώδη μέχρι πηλώδη αργιλώδη, το εύρος τις θερμοκρασίας μεγάλο, από μέσο μέγιστο στους 35°C έως μέσο ελάχιστο στους 18°C. Η καλλιέργεια του φυτού γίνεται δυο φορές τον χρόνο από Απρίλιο μέχρι Ιούνιο και από Οκτώβριος μέχρι Ιανουάριο.

#### 2.1.2. Ποικιλίες Μπάμιας

Οι ποικιλίες τις μπάμια που καλλιεργούνται στον κόσμο είναι πάρα πολλές και οι κάθε μία έχει συγκεκριμένα χαρακτηριστικά και ιδιότητες, αυτές που έχουν επικρατήσει περισσότερο είναι επειδή τα προτιμούν οι καταναλωτές και οι αγορά γενικός, κάποιες ενδεικτικές ποικιλίες είναι *Smooth Green*, *Clemson Spineless* (σχήμα 1), *Savour Selection*, *Emerald* (σχήμα 2), *Louisiana Green Velvet* (σχήμα 3), *Native Brown*, *Better Five* και *Early Five*.

#### 2.1.3. Χρήσεις Της Μπάμιας

Η πράσινοι καρποί σε πολλές χώρες καταναλώνονται ως λαχανικό είτε μόνα τους είτε συνοδεύουν άλλα τρόφιμα όπως κρέας. Η ποιο γνωστή και ευρεία χρήση τους όμως είναι ως πυκνωτικός παράγοντας σε σούπες, σάλτσες και κρέμες. Στην παραδοσιακή ιατρική έχει χρησιμοποιηθεί για την θεραπεία γαστρεντερικών διαταραχών και οδοντικών παθήσεων εξαιτίας της υψηλής περιεκτικότητας σε πολυσακχαρίτες Sengkhampan et al.,(2009), καθώς και ως διουρητικό Sengkhampan et al.,(2010); Mishra et al.,(2008), οι πολυσακχαρίτες αυτοί σύμφωνα με τους Lengsfeld et al.,(2004) έχουν υπογλυκαιμικές ιδιότητες και μείωσαν επίσης τα επίπεδα της χοληστερόλης στο πλάσμα των ποντικών. Σε βιομηχανική κλίμακα έχει χρησιμοποιηθεί ως αντικροκιδωτικός παράγοντας σε βιομηχανία χαρτιού και ως διανυγαστικό μέσο σε χυμό ζαχαροκάλαμου Ndjouenkeu et al.,(1996). Σε εφαρμογές

πάνω σε τρόφιμα οι πολυσακχαρίτες της μπάμιας είχαν επιτυχή εφαρμογή ως υποκατάστατο του ασπραδιού του αβγού καθώς και της μαργαρίνης σε μπισκότα Cerponicz et al.,(2002) και ως υποκατάστατο του λίπους του γάλακτος σε κατεψυγμένα γαλακτοκομικά επιδόρπια όπως τα παγωτά Constantino and Cerponicz, (2004); Cerponicz et al.,(2006). Τέλος χάρη στο πανομοιότυπο άρωμα της μπάμιας με την μελιτζάνα χρησιμοποιείτε σε πολλές συνταγές ως υποκατάστατο αυτού σε χώρες όπως η Τουρκία, ακόμα στην ίδια χώρα έχει γίνει χρήση των ψημένων σπόρων της μπάμιας ως υποκατάστατο του καφέ. ( Calisir et al.,2005)



**Σχήμα 1:** Λοβός Μπάμιας Ποικιλίας Clemson Spineless



**Σχήμα 2:** Λοβός Μπάμιας Ποικιλίας Emerald



**Σχήμα 3:** Λοβός Μπάμιας Ποικιλίας Louisiana Green Velvet

#### **2.1.4. Χημική Σύσταση Της Μπάμιας**

Όπως έχει ήδη προαναφερθεί το φυτό της μπάμιας καλλιεργείται σε πολλά μέρη και υπάρχουν πάρα πολλές ποικιλίες, με την κάθε μια να έχει και διαφορετικές ιδιότητες, όπως είναι φυσικό και η χημική τους σύσταση να έχει διακυμάνσεις από ποικιλία σε

ποικιλία καθώς ακόμα και στα διαφορετικά τμήματα του ίδιου του καρπού (σάρκα και σπόροι).

Γενικότερα η μπάμια είναι γνωστή ως λαχανικό που έχει μεγάλη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες σε σχέση με άλλα λαχανικά, όπως και μεγάλη περιεκτικότητα σε λιπαρά και σε ανόργανα. Σύμφωνα με τους Adetuyi et al.,(2011) οι περιεκτικότητες σε υγρασία στο καρπό έξι τοπικών ποικιλιών της Νιγηρίας που μελετήθηκαν (Benin, Auchi, Ikaro, Akure, Okene and Lokoja) κυμαίνεται από 87,59% έως 90,13%, η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη κυμαίνεται από 13,61% έως 16,27%, η περιεκτικότητα σε ίνες και λιπαρά κυμαίνεται σε 10,15% έως 11,63% και από 9,03% έως 10,57% αντίστοιχα, τέλος τα ανόργανα συστατικά κυμαίνονται από 7,19% έως 9,63% όπως φαίνεται και στο πίνακα 1 οι τιμές είναι επί ξηρού βάρους..

**Πίνακας 1:** Σύσταση Ποικιλιών Μπάμιας Νιγηρίας σε (%) (επί ξηρού βάρους)

Variety	Moisture content	Protein	Fibre	Fat	Ash
Benin	88.73	14.87	10.63	9.67	8.26
Auchi	87.59	13.61	10.15	9.82	7.19
Ikaro	90.13	16.27	11.18	9.03	9.63
Akure	89.02	15.17	10.93	9.97	8.56
Okene	89.63	15.77	11.63	10.57	9.16
Lokoja	88.35	14.41	10.28	9.22	7.89

Μεγαλύτερη θρεπτική αξία όμως στην μπάμια έχουν τα σπόρια, όπου και συγκεντρώνονται οι περισσότερες έρευνες. Σύμφωνα με τον Udayasekhara (1985), ο οποίος μελέτησε μια ποικιλία της Ινδίας που ονομάζεται Pusa savani βρήκε πως η σύσταση των σπόρων αυτού είναι όπως φαίνεται στο πίνακα 2.

**Πίνακας 2:** Χημική Σύσταση Σπόρων Pusa savani.

Συστατικό	Σπόρος ολόκληρος
Υγρασία (g%)	6,6
Πρωτεΐνη (g%)	21,1
Λιπαρά (g%)	17,9
Ακατέργαστες ίνες (g%)	23,4
Τέφρα (g%)	4,7
Υδατάνθρακες (g%) *	26,3
Φώσφορος (mg/100g)	631
Μαγνήσιο (mg/100g)	504
Ασβέστιο (mg/100g)	245
Σίδηρος (mg/100g)	8,6
Ψευδάργυρος (mg/100g)	6,2
Χαλκός (mg/100g)	0,6
Μαγγάνιο (mg/100g)	1,2

\*Υπολογισμένο από την διαφορά (100 - υγρασία - πρωτεΐνη - ακατέργαστες ίνες - λιπαρά - τέφρα) (Udayasekhara,1985)

Όπως φαίνεται από τον πίνακα 2 την μεγαλύτερη σύσταση έχουν οι υδατάνθρακες (26,3%) και ακολουθούν οι ακατέργαστες ίνες (23,4%) και οι πρωτεΐνες (21,1%), με το ποσοστό των λιπαρών να είναι εξίσου πολύ υψηλό (17,9%).

Σε δύο άλλες ποικιλίες (Emerald και Ibtaira ) που μελέτησε ο Wandawi (1983) βρήκε την σύσταση των πρωτεϊνών της ποικιλίας Emerald περίπου στο ίδιο με την ποικιλία Pusa savani της προηγούμενης μελέτης, δεν βρήκε όμως παρόμοια αποτελέσματα στην ποικιλία Ibtaira όπου το ποσοστό των πρωτεϊνών είναι μειωμένο (17,66%), απεναντίας το ποσοστό των λιπαρών (16,65%) στην ποικιλία Ibtaira είναι περίπου το ίδιο με την προηγούμενη μελέτη και αισθητά μειωμένη στην ποικιλία Emerald όπου βρέθηκε να είναι μόλις (14,7%). Αναλυτικότερα τα αποτελέσματα εμφανίζονται στον πίνακα 3.

**Πίνακας 3:** Χημική Σύσταση Σπόρων Δύο Ποικιλιών Μπάμιας (% ξηρού βάρους)

Συστατικό	Emerald	Ibtaira
Υγρασία	6,96	6,84
Πρωτεΐνη	21,82	17,66
Λιπαρά	14,70	16,65
Ακατέργαστες ίνες	27,30	27,20
Τέφρα	4,33	4,62
Υδατάνθρακες *	24,89	27,14
Μαγνήσιο (mg/100g)	643,8	483,9
Ασβέστιο (mg/100g)	375,5	268,8
Σίδηρος (mg/100g)	9,80	7,30
Ψευδάργυρος (mg/100g)	8,60	7,00
Χαλκός (mg/100g)	<1	<1
Μαγγάνιο (mg/100g)	4,85	3,80
Νάτριο (mg/100g)	647,20	475,60
Κάλιο (mg/100g)	1309,00	1591,40

\*Υπολογισμένο από την διαφορά (100 – υγρασία - πρωτεΐνη - ακατέργαστες ίνες - λιπαρά - τέφρα)

(Wandawi,1983)

#### 2.1.4.1. Αμινοξέα Μπάμιας

Τα αμινοξέα είναι η βασική δομική μονάδα σύνθεσης των πρωτεϊνών, για αυτό και θεωρούνται βασικά στην διατροφή του ανθρώπου και όχι μόνο. Από τα 21 γνωστά αμινοξέα, ο ανθρώπινος οργανισμός χρειάζεται να λαμβάνει απαραίτητα από την τροφή του τα εννιά που ονομάζονται βασικά ή απαραίτητα αμινοξέα, τα υπόλοιπα μπορεί να τα συνθέσει από μόνος του. Τα εννιά αυτά αμινοξέα σύμφωνα με τους Beliz et al,(2006) είναι τα: βαλίνη, ισολευκίνη, λευκίνη, φαινυλαλανίνη, θρυπτοφάνη, μεθειονίνη, θρεονίνη, ιστιδίνη (για τα νήπια), λυσίνη και αργινίνη που είναι ημί-απαραίτητη.

Η μπάμια είναι μια πηγή αμινοξέων που συμπεριλαμβάνει τα βασικά αυτά αμινοξέα, σε ποσοστό μάλιστα συγκρίσιμο ακόμα και με του αυγού. Σύμφωνα με τις έρευνες των Udayasekhara (1985) ; Wandawi (1983) ; Savello et al.,(1980) ; Karakoltsidis και Constantinides (1975) η σύσταση της μπάμιας σε αμινοξέα είναι αυτή που

παρουσιάζεται στον πίνακα 4, όπου και γίνεται σύγκριση τριών ποικιλιών μπάμιας με αυτού του αυγού και της σόγιας που είναι οι κατεξοχήν πλούσιες πηγές αμινοξέων του ζωικού και του φυτικού βασιλείου, αντίστοιχα, καθώς και με δύο παλαιότερες μελέτες.

**Πίνακας 4:** Σύσταση Αμινοξέων Μπάμιας, Αυγού Και Σόγιας σε (g/16gN)

Αμινοξέα	Pusa savani	Emerald	Ibtaira	Karakoltsidis και Constantinides,(1975)	Savello et al, (1980)	σόγια	αυγό
Lysine	9,3	7,24	8,9	8,0	8,03	8,0	7,0
Histidine	3,6	1,78	1,83	3,0	2,97	2,7	2,4
Arginine	13,8	11,04	10,16	12,5	12,44	10,1	6,1
Aspartic acid	12,9	11,82	13,17	15,5	15,45	17,0	9,6
Threonine	3,6	3,02	3,49	4,4	4,36	5,5	5,1
Serine	5,9	5,25	6,35	6,7	6,70	7,4	7,6
Glutamic acid	22,0	22,08	20,74	20,5	20,48	21,1	12,7
Proline	-	3,83	4,18	6,1	6,06	7,7	4,2
Glycine	6,0	6,13	6,66	5,8	5,77	4,3	3,3
Alanine	4,4	5,51	6,66	5,9	5,88	6,1	5,9
Cystine	-	2,45	2,53	1,5	1,53	1,6	2,4
Valine	5,8	4,00	4,95	6,4	6,4	5,3	6,8
Methionine	2,3	1,66	1,85	1,3	1,29	1,3	3,4
Isoleucine	4,2	3,15	3,32	4,7	4,64	6,5	6,3
Leucine	7,2	6,68	7,03	8,5	8,46	9,4	8,8
Tyrosine	3,0	3,69	3,83	3,6	3,6	3,7	4,2
Phenylalanine	4,0	4,28	3,93	4,7	4,70	5,3	5,7
Tryptophan	1,9	0,96	0,85	-	-	-	1,7

(Udayasekhara,1985 ; Wandawi,1983 ; Savello et al, 1980 ; Karakoltsidis και Constantinides, 1975)

#### 2.1.4.2. Λιπαρά Οξέα Μπάμιας

Η μπάμια όπως έχει προαναφερθεί είναι φυτό πλούσιο σε λιπαρά τα οποία βρίσκονται κατά κόρον στους σπόρους του. Σύμφωνα με τους Savello et al., (1980) τα λιπαρά οξέα της μπάμιας είναι σε μεγάλο ποσοστό (61%) ακόρεστα. Αυτό όμως που κάνει τα λιπαρά της μπάμιας πολύ επιθυμητά, είναι η ιδιαίτερα αυξημένη συγκέντρωση του λινολεϊκού οξέος (C18:2) σε ποσοστό (42%), το λιπαρό αυτό οξύ είναι ένα από τα απαραίτητα για τον ανθρώπινο οργανισμό μαζί με τα ω-3 και ω-6 λιπαρά οξέα τα οποία δεν μπορεί να συνθέσει ο οργανισμός. Απεναντίας ιδιαίτερη εντύπωση προκαλεί το πολύ μικρό ποσοστό του λινολενικού οξέος (C18:3) ενός ακόμα απαραίτητου λιπαρού οξέος που στην έρευνα των Savello et al., (1980) βρέθηκε να είναι πολύ μικρό (0,24% ) ενώ στην έρευνα των Karakoltsidis και Constantinides (1975) το ποσοστό έφτανε το (1,42%), γεγονός που δεν υποβαθμίζει την θρεπτική αξία της μπάμιας αφού στον ανθρώπινο οργανισμό πραγματοποιείται μετατροπή του λινολεϊκού οξέος σε λινολενικό οξύ. Αξιοσημείωτη εντύπωση κάνει ακόμα το αποτέλεσμα της έρευνα του Wandawi (1983) όπου στις ποικιλίες Emerald και Ibtaira βρήκε πως το ποσοστό του ελαϊκού οξέος είναι εξαιρετικά υψηλό 55,92% και 62,87,

αντίστοιχα, ενώ βρήκε ελάχιστο λινολεϊκό οξύ 0,1% και 0,09% αντίστοιχα, αναλυτικότερα τα αποτελέσματα των ερευνών παρουσιάζονται στο πίνακα 5.

**Πίνακας 5:** Σύσταση Της Μπάμιας Σε Λιπαρά Οξέα σε (%)

Λιπαρό οξύ	Pusa savani	Emerald	Ibtaira	Karakoltsidis και Constantinides,(1975)	Savello et al, (1980)
myristic acid (14:O)	0,4	0,30	0,30	0,12	0,24
palmitic acid (16:O)	23,5	39,14	32,91	33,72	33,53
stearic acid (18:O)	4,3	4,19	3,46	3,28	3,81
oleic acid (18:1)	28,9	55,92	62,87	17,88	29,29
linoleic acid (18:2)	42,4	0,1	0,09	42,15	31,48
linolenic acid (18:3)	<0,5	-	-	0,24	1,42

(Udayasekhara,1985 ; Wandawi,1983 ; Savello et al, 1980 ; Karakoltsidis και Constantinides, 1975)

#### 2.1.4.3. Πτητικά Αρώματα Και Αντιοξειδωτικά Της Μπάμιας

Στο φυτό της μπάμιας σύμφωνα με τους Ames και Macleod (1990) ανιχνεύτηκαν 148 πτητικές ενώσεις που στο σύνολο τους δίνουν αυτό το ιδιαίτερο άρωμα. Η πτητική ένωση που ανιχνεύτηκε σε μεγαλύτερη συγκέντρωση είναι το 2-Methoxy-4-vinylphenol με ποσοστό 9.3% , ακολουθεί το Citronellyl ester με ποσοστό 7,2% και τρίτη σε συγκέντρωση ανέρχεται το β-Caryophyllene με ποσοστό 6,1%. Όσον αφορά την αντιοξειδωτική συμπεριφορά της μπάμιας σύμφωνα με την μελέτη του Αραπίτσα (2008) η σάρκα της μπάμιας που αποτελεί και το 82,7% του λαχανικού είναι πολύ πλούσιο σε παράγωγα του υδροκιναμικού οξέος, απεναντίας τα παράγωγα αυτά απουσιάζουν τελείως από τους σπόρους, το όλο λαχανικό είναι πλούσιο σε oligομερείς κατεχίνες με το συντριπτικό ποσοστό να βρίσκεται στους σπόρους (2,518mg/g) και το υπόλοιπο στη σάρκα (147.73μg/g), ανιχνεύτηκαν επίσης πολλά είδη φλαβονολών των οποίων το μεγαλύτερο ποσοστό βρίσκεται επίσης στα σπόρια (3,387mg/g) ένα μικρότερο μέρος στη σάρκα (320,14μg/g). Τα ποσοστά των πολυφαινολών αυτών σύμφωνα με την έρευνα των Adelakun et al.,(2009) θα ήταν ακόμα μεγαλύτερα αν τα σπόρια είχαν υποστεί ελεγχόμενο ψήσιμο για κάποια λεπτά.

#### 2.1.4.4. Υδατάνθρακες Που Εμπεριέχονται Στην Μπάμια

Όπως έχουμε παρατηρήσει στον πίνακα 2 και στον πίνακα 3 για τις ποικιλίες που έχουν εξεταστεί οι συγκέντρωση των υδατανθράκων και των φυτικών ή ακατέργαστων ινών είναι μεγαλύτεροι όλων. Σύμφωνα με τους Longe et al.,(1982) οι συγκέντρωση των υδατανθράκων μεταβάλετε με τον βαθμό ωρίμανσης του καρπού

για αυτό στον πίνακα 6 δίνονται οι μέσες τιμές των παραμέτρων που εξετάστηκαν με την τυπική απόκλιση σε τέσσερις ποικιλίες μπάμιας όπως τις υπολόγισαν.

**Πίνακας 6:** Συγκέντρωση υδατανθράκων σε τέσσερις ποικιλίες μπάμιας σε g/100g ξηρού βάρους.

Ποικιλία	Ελεύθερα σάκχαρα	Άμυλο	Υδατοδιαλυτοί υδατάνθρακες (πηκτίνη+ πολυσακχαρίτες)	Ημικυτταρίνες	Κυτταρίνη	Λιγνίνη
α	7,91±1,61	3,27±0,66	14,2±6,05	17,6±6,62	8,90±5,05	8,56±1,37
β	9,76±1,59	3,26±0,48	14,1±2,44	11,5±3,65	16,9±7,75	7,33±7,75
γ	9,76±0,82	3,36±0,67	18,4±4,19	12,0±2,97	7,29±4,20	6,46±2,26
δ	9,86±1,30	2,87±0,73	13,4±2,57	14,7±2,08	9,70±4,80	13,1±3,28

Όπως φαίνεται στο πίνακα 6 δεν υπάρχει μεγάλη διαφοροποίηση μεταξύ των ποικιλιών όσον αφορά τα ελεύθερα σάκχαρα και το άμυλο, δεν συμβαίνει το ίδιο όμως για τα υπόλοιπα τέσσερα συστατικά που μελετήθηκαν, αφού το εύρος για τους υδατοδιαλυτούς υδατάνθρακες κυμαίνεται από 13,4 έως 18,4 , αντίστοιχα το εύρος για τις ημικυτταρίνες είναι από 11,5 έως 17,6 , για την κυτταρίνη από 7,29 έως 16,9 και για την λιγνίνη από 6,46 έως 13,1 g/100g ξηρού βάρους. Το γεγονός αυτό, κάνει την επιλογή τις ποικιλίας και του βαθμού ωρίμανσης του καρπού πολύ σημαντικά ως προς την χρήση για την οποία προορίζονται. Στην τεχνολογία τροφίμων, πέραν των ελεύθερων σακχάρων και του αμύλου, οι πηκτίνη και οι πολυσακχαρίτες τις μπάμιας είναι μείζονος σημασίας όπως έχει αναφερθεί και παραπάνω αφού αυτά είναι που προσδίδουν τις ιδιαίτερες ιδιότητες που έχει το λαχανικό αυτό.

### 2.1.5.Επίδραση Της Εκχύλισης Στο Είδος Των Πολυσακχαριτών

Σύμφωνα με τους Whistler & Conrad (1954) το υδατικό εκχύλισμα των πολυσακχαριτών τις μπάμιας χαρακτηρίζεται από όξινους πολυσακχαρίτες οι οποίες αποτελούνται από γαλακτόζη, ραμνόζη και γαλακτουρονικό οξύ. Το αποτέλεσμα αυτό επιβεβαιώθηκε από τους Lengsfeld et al.,(2004), οι οποίοι πρόσθεσαν στα ήδη υπάρχοντα σάκχαρα την γλυκόζη και το γλυκουρονικό οξύ. Το βασικό δομικό στοιχείο του πολυσακχαρίτη της μπάμιας αποτελείται από επαναλαμβανόμενες και εναλλασσόμενες μονάδες α-(1→2)-ραμνόζης και α-(1→4)-γαλακτουρονικού οξέος, εκ των οποίων οι μισές ομάδες της ραμνόζης φέρουν διακλαδισμένη αλυσίδα δισακχαρίτη αποτελούμενη από β-(1→4)-γαλακτόζης σύμφωνα με τους (Tomada et al.,1980).

#### 2.1.5.1. Εκχύλιση AIS

Η πρώτη εκχύλιση πολυσακχαριτών που πραγματοποιείται στην πούλπα της μπάμιας σύμφωνα με τους Sengkhampan et al.,(2009a,b); Georgiadis et al.,(2011); kontogiorgos et al.,(2012) γίνεται με την χρήση αιθανόλης 70% και παραλαμβάνονται από αυτό τα ονομαζόμενα αδιάλυτα στην αλκοόλη στερεά (alcohol-insoluble solids) [AIS] η απόδοση του οποίου φτάνει κατά τους Sengkhampan et al.,(2009a,b) τα

5,8g/100g φρέσκια μπάμιας συμπεριλαμβανομένων και υλικών κυτταρικού τοιχώματος.

Το περιεχόμενο σε σάκχαρα του AIS όπως το ερεύνησαν οι Sengkhampan et al.,(2009a,b) αποτελείται από κυρίως γλυκόζη σε ποσοστό (44 mol%) ακολουθεί η γαλακτόζη με ποσοστό (17 mol%) και γαλακτουρονικό οξύ σε ποσοστό (16 mol%) τα οποία προέρχονται από πολυσακχαρίτες όπως η πηκτίνη, οι ημικυτταρίνες (ξυλόζη και γλυκοξυλόζη) και κυτταρίνη. Πέραν των πολυσακχαριτών στο AIS εκχυλίζονται και πρωτεΐνες σε ποσοστό (15%).

#### **2.1.5.2. Εκχύλιση HBSS**

Μετά την πρώτη εκχύλιση ακολουθεί δευτερεύουσα με την οποία ουσιαστικά εξετάζεται η εκχυλισσιμότητα των πηκτινών, ημικυτταρινών και κυτταρινών, η πρώτη μέθοδος εκχύλισης είναι με θερμό ρυθμιστικό διάλυμα (Hot Buffer Soluble Solids), το οποίο κατά τους Sengkhampan et al.,(2009a,b) έχει την παρακάτω σύσταση, 35 mol% γαλακτουρονικού οξέος, 26 mol% ραμνόζης και 34 mol% γαλακτόζης. Η αναλογία σύστασης γαλακτουρονικού οξέος και ραμνόζης είναι περίπου 0,7 γεγονός που αποδεικνύει την παρουσία της κυρίως αλυσίδας ραμνογαλακτουράνης I σε ποσοστό 85%, μιας και η αναλογία μέσα στην αλυσίδα των σακχάρων αυτών είναι 1:1. Κατά συνέπεια η παρουσία της αλυσίδας της ομογαλακτουράνης είναι πολύ μικρή σε σχέση με την ραμνογαλακτουράνη I. Ο βαθμός μεθυλίωσης της HBSS πηκτίνης όπως φαίνεται στον συγκεντρωτικό πίνακα 7 είναι ιδιαίτερα χαμηλός (24%), επειδή όμως δεν υπάρχουν ενδείξεις πως τα γαλακτουρονικά οξέα της ραμνογαλακτουράνης είναι μεθυλιωμένα, ο βαθμός μεθυλίωσης αποδίδεται μόνο στην αλυσίδα της ομογαλακτουράνης με αποτέλεσμα ο βαθμός μεθυλίωσης να πολύ υψηλός (96%). Όσον αφορά τον βαθμό ακετυλίωσης, ο οποίος αποδίδεται κυρίως στην αλυσίδα της ραμνογαλακτουράνης I ανέρχεται σε (58%).

#### **2.1.5.3. Εκχύλιση CHSS**

Η δεύτερη μέθοδος δευτερεύουσας εκχύλισης είναι με χηλικές ουσίες όπως το EDTA και ονομάζεται (Chelating Agent Soluble Solids) CHSS. Με την μέθοδο αυτή οι Sengkhampan et al.,(2009a,b) υπολόγισαν την σύσταση του εκχυλίσματος ως: γαλακτουρονικό οξύ σε ποσοστό (63 mol%), γαλακτόζη (17 mol%), ραμνόζη (14 mol%), αραβινόζη (3 mol%) και γλουκορονικό οξύ (2 mol%). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτά υπολόγισαν ότι η CHSS πηκτίνη αποτελείται περισσότερο από αλυσίδα ομογαλακτουράνης σε ποσοστό (74%) και λιγότερο από ραμνογαλακτουράνη I. Ο βαθμός μεθυλίωσης υπολογίστηκε σε ποσοστό (48%) και ο βαθμός ακετυλίωσης σε (18%). Ακόμα στο πίνακα 7 φαίνεται και το σημαντικό ποσοστό πρωτεϊνών (10,5%) που εκχυλίστηκαν με αυτή την μέθοδο.

#### **2.1.5.4. Εκχύλιση DASS**

Η τρίτη μέθοδος δευτερεύουσας εκχύλισης είναι με αραιό αλκαλικό διάλυμα (Dilute Alkaline Soluble Solids) DASS. Στην τρίτη μέθοδο η σύσταση του εκχυλίσματος υπολογίστηκε από τους Sengkhampan et al.,(2009a,b) ως εξής: ποσοστό γαλακτουρονικού οξέος (48 mol%), ποσοστό γαλακτόζης (19 mol%), ποσοστό



ραμνόζης και αραβινόζης (13 mol%) το καθένα, μικρό ποσοστό γλυκόζης (4 mol%) και ακόμα μικρότερο ποσοστό γλουκορινικού οξέος. Με τα ποσοστά αυτά κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η DASS πηκτίνη αποτελείται από 43% ραμνογαλακτουράνη I και 57% από ομογαλακτουράνη. Στα αποτελέσματα δεν συμπεριλαμβάνονται ο βαθμός μεθυλίωσης και ακετυλίωσης αφού αυτά απομακρύνθηκαν κατά την εκχύλιση με το αλκάλι. Ιδιαίτερη εντύπωση κάνει το ποσοστό των πρωτεϊνών που εκχυλίστηκαν με αυτή την μέθοδο (16,6%) η οποία είναι μεγαλύτερη από τις δύο προαναφερθέντες μεθόδους.

**Πίνακας 7:** Απόδοση και Σύσταση των Πολυσακχαριτών με τις Διάφορες Μεθόδους, AIS, HBSS, CHSS και DASS

Εκχύλιση	Απόδοση (g/100g AIS)	Rha (mol %)	Ara (mol %)	Gal (mol %)	Glu (mol %)	GalA (mol %)	GlcA (mol %)	CC (%)	DA	DM	PC (%)
AIS		3	5	17	44	16	7		40	59	15,8
HBSS	11,12	26	0	34	1	35	3		58	24	3,5
CHSS	4,8	14	3	17	1	63	2		18	48	10,5
DASS	13,2	13	13	19	4	48	2		-	-	16,6

**Rha:** Ραμνόζη    **Ara:** Αραβινόζη    **Gal:** Γαλακτόζη    **Glu:** Γλυκόζη    **GalA:** Γαλακτουρονικό οξύ  
**GlcA:** Γλουκουρονικό οξύ  
**DA:** Βαθμός Ακετυλίωσης (mol/100mol GalA)    **DM:** Βαθμός Μεθυλίωσης (mol/100mol GalA)  
**CC:** Ποσοστό Υδατανθράκων    **PC:** Ποσοστό Πρωτεϊνών

## 2.2. Ρεολογία

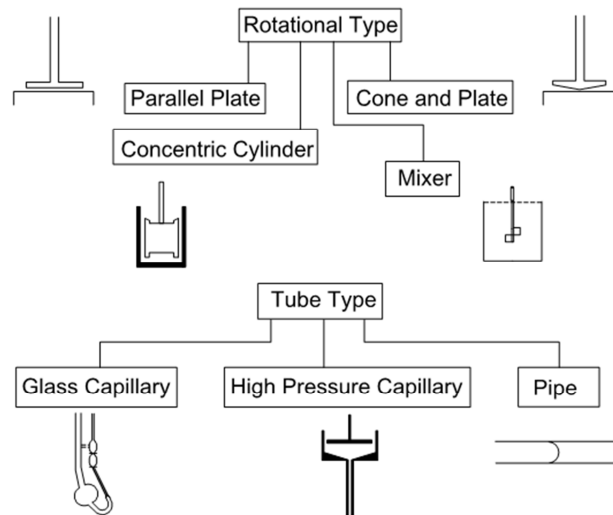
Ο όρος ρεολογία χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τον Eugene C. Bingham το 1928 ο οποίος στηρίχτηκε στην φράση του Ηράκλειτου "τα πάντα ρεΐ" δηλαδή τα πάντα ρέουν το 500 π.Χ. σύμφωνα με τον Steffe (1996). Η ρεολογία είναι η επιστήμη που μελετά την παραμόρφωση και την ροή των υλικών και επειδή όλα τα υλικά έχουν ρεολογικές ιδιότητες, η επιστήμη αυτή έχει αναπτυχθεί σε πάρα πολλούς τομείς, από την τεχνολογία τσιμέντου, κατασκευαστικών και πολυμερών υλικών έως την κοσμητική και την τεχνολογία τροφίμων που είναι και το αντικείμενο της παρούσας μελέτης.

Στην τεχνολογία τροφίμων η εφαρμογή της ρεολογίας είναι ευρεία και πολύ μεγάλης σημασίας και χρηστικότητας σε πάρα πολλούς τομείς όπως:

- Για την επιλογή των κατάλληλων αντλιών, αναδευτήρων, ομογενοποιητών, εναλλάκτων θερμότητας, συμπυκνωτών σε μια βιομηχανική μονάδα
- Τελικό ποιοτικό έλεγχο του προϊόντος
- Καθορισμό και έλεγχο της διάρκειας ζωής του τροφίμου
- Εκτίμηση της υφής του προϊόντος

Η συσκευές που είναι ικανές να μετρήσουν κάποιες βασικές και θεμελιώδεις ρεολογικές ιδιότητες των ρευστών και ημι-ρευστών τροφίμων χωρίζονται σε δύο

μεγάλες κατηγορίες τα περιστροφικά ρεόμετρα και σωληνοειδή ρεόμετρα, τα περισσότερα από αυτά είναι διαθέσιμα στο εμπόριο και άλλα είναι πολύ εύκολα να κατασκευαστούν, το κόστος κυμαίνεται από πολύ χαμηλό για παράδειγμα του τριχοειδούς ιξωδόμετρου έως πολύ υψηλό του περιστροφικού ρεομέτρου. Τα μηχανήματα ή συσκευές που μελετούν ρεολογικές ιδιότητες καλούνται ρεόμετρα ενώ ιξωδόμετρα είναι μια πιο περιορισμένη έννοια που αφορά συσκευές που μετρούν μόνο το ιξώδες των υλικών, στο σχήμα 4 παρουσιάζονται κάποια είδη των ρεομέτρων.



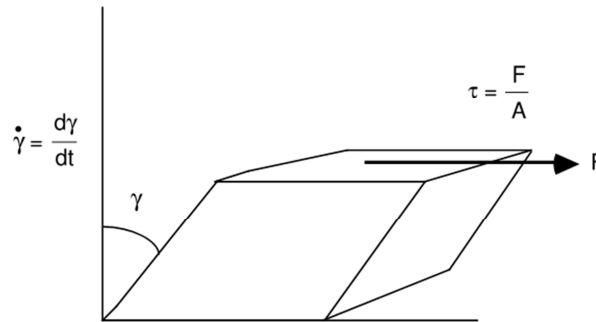
**Σχήμα 4:** Τα Ποιο Κοινά Είδη Περιστροφικών (Rotational) Και Σωληνοειδών (Tube) Ρεομέτρων

Ρεολογική ιδιότητα των υλικών ονομάζουμε την συμπεριφορά (παραμόρφωση/ ροή) αυτών υπό την εφαρμογή κάποια δύναμης/ τάσης συναρτήσει του χρόνου, επομένως η ρεολογική συμπεριφορά των υλικών εξαρτάτε από την δύναμη ή τάση που ασκείται κάθε φορά, την παραμόρφωση που πραγματοποιείται κάθε φορά και τον χρόνο στο οποίο συμβαίνει.

### 2.2.1. Ιξώδες

Η πιο σημαντική ρεολογική ιδιότητα που ενδιαφέρει την επιστήμη της τεχνολογίας τροφίμων είναι το ιξώδες, το οποίο ορίζεται ως η ιδιότητα του ρευστού να αντιστέκεται στη συνεχή παραμόρφωση, με ποιο απλά λόγια είναι το μέτρο μέτρησης της εσωτερικής τριβής (Darby,1996).

Το ιξώδες που συμβολίζεται με  $\eta$ , ενός υγρού μπορεί ακόμα να οριστεί ως η παραμόρφωση που προκαλείται από μια δύναμη  $F$  σε ένα υγρό επιφάνειας  $A$  συναρτήσει του χρόνου  $t$ , ο λόγος της παραμόρφωσης προς τον χρόνο  $t$  στην ρεολογία ονομάζεται ρυθμός διάτμησης  $\dot{\gamma}$  ενώ ο λόγος  $F/A=t$  ονομάζεται διατμητική τάση, στο σχήμα 5 παρουσιάζεται γραφικά η έννοια του ιξώδους.



**Σχήμα 6:** Ένα μέρος υγρού που κινείται με ρυθμό διάτμησης  $\gamma$  και διατμητική τάση  $\tau$

Η σχέση που συνδέει το ιξώδες με την διατμητική τάση και τον ρυθμό διάτμησης είναι:

$$\tau = \eta \cdot \dot{\gamma} \quad \text{ή} \quad \eta = \tau / \dot{\gamma} \quad \text{ή} \quad \dot{\gamma} = \tau / \eta$$

### 2.2.1.1. Νευτώνεια και Μη Νευτώνεια Ρευστά

Τα ρευστά ανάλογα με την συμπεριφορά που παρουσιάζουν υπό την εφαρμογή διατμητικής τάσης χωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες, τα Νευτώνεια και τα Μη Νευτώνεια Ρευστά.

Στα Νευτώνεια ρευστά το ιξώδες είναι ανεξάρτητο από την διατμητική τάση που εφαρμόζεται πάνω στο ρευστό και ο ρυθμός διάτμησης είναι ανάλογος της διατμητικής τάσης και ίσος με μια σταθερά τιμή  $C$ . Όπως φαίνεται και στο σχήμα 7, η γραφική παράσταση της διατμητικής τάσης προς τον ρυθμό διάτμησης είναι ευθεία γραμμή, το ιξώδες αυτό είναι γνωστό ως δυναμικό ιξώδες  $\eta$ .

Στα Μη Νευτώνεια ρευστά ο λόγος της διατμητικής τάσης προς τον ρυθμό διάτμησης δεν είναι σταθερός και δεν εμφανίζει γραμμικότητα εξαιτίας της πολυπλοκότητας της δομής τους που μπορεί να περιέχουν διαλυμένα ή σε κolloειδή κατάσταση διάφορα μακρομόρια που αλληλεπιδρούν μεταξύ τους υπό την εφαρμογή διατμητικής τάσης. Το ιξώδες των ρευστών αυτών ονομάζεται φαινομενικό ιξώδες και συμβολίζεται με  $\eta_a$ .

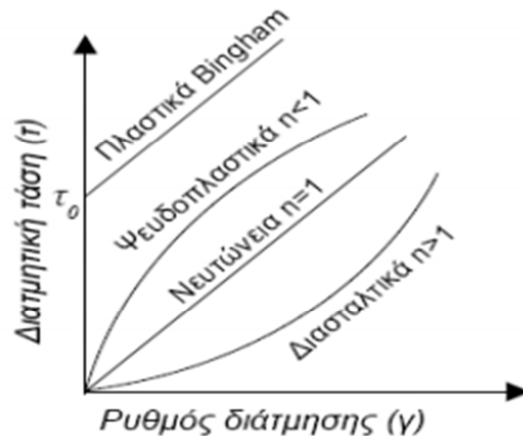
Τα Μη Νευτώνεια ρευστά χωρίζονται με την σειρά τους σε δύο μεγάλες κατηγορίες.

#### 2.2.1.1.1. Μη Νευτώνεια Ρευστά Με Ροή Ανεξάρτητη Του Χρόνου

Η πρώτη κατηγορία ρευστών είναι αυτά των οποίων το ιξώδες δεν εξαρτάται από τον χρόνο εφαρμογής της διατμητικής τάσης παρά μόνο από την τάση. Η μαθηματική σχέση που αποδόθηκε σε τέτοιου είδους ρευστά είναι:  $\tau = \tau_0 + k\dot{\gamma}^n$

Η οποία είναι μια πιο γενική εξίσωση όπου αν το  $\tau_0=0$  και ο εκθέτης  $n=1$  τότε ανάγεται στην πιο μορφή της που αφορά τα Νευτώνεια ρευστά. Η παραπάνω εξίσωση ονομάζεται γενική εξίσωση του εκθετικού νόμου και το  $k$  είναι ο δείκτης συνεκτικότητας, το  $n$  είναι ο δείκτης ρεολογικής συμπεριφοράς και το  $\tau_0$  είναι η τάση διαρροής, η οποία απαιτείται σε ορισμένα υγρά για να αρχίσουν να ρέουν.

Όπως φαίνεται και στο σχήμα 7 όταν  $n < 1$  και  $\tau_0 = 0$  τα ρευστά ονομάζονται ψευδοπλαστικά και από την γραφική τους παράσταση φαίνεται ότι το ιξώδες είναι υψηλό σε χαμηλές τιμές ρυθμού διάτμησης και μειώνεται όσο αυξάνει ο ρυθμός διάτμησης. Απεναντίας όταν  $n > 1$  και  $\tau_0 = 0$  τα ρευστά ονομάζονται διασταλτικά και όπως φαίνεται από την γραφική παράσταση το ιξώδες του ρευστού είναι μικρό σε χαμηλές τιμές ρυθμού διάτμησης και αυξάνει όσο αυξάνει ο ρυθμός διάτμησης. Τέλος μια ειδική κατηγορία ρευστών που ονομάζονται πλαστικά Bingham ισχύει ότι και στα Νευτώνεια δηλαδή  $n = 1$  αλλά  $\tau_0 > 0$  (Darby, 1996).



**Σχήμα 7:** Συμπεριφορά ρευστών ανάλογα με τον δείκτη ρεολογικής συμπεριφοράς και της διατμητικής τάσης

#### 2.2.1.1.2. Μη Νευτώνεια Ρευστά Με Ροή Εξαρτημένη Του Χρόνου

Στην κατηγορία αυτή ανήκουν τα φαινόμενα της θιξοτροπίας και της ρεοπηξίας.

Θιξοτροπία είναι η ρεολογική ιδιότητα κατά την οποία το ιξώδες μειώνεται, δηλαδή το υλικό γίνεται λεπτόρρευστο κατά την παραμόρφωση (όπως και στα ψευδοπλαστικά ρευστά), αλλά η μείωση αυτή δεν εξαρτάται μόνο από το ρυθμό παραμόρφωσης, αλλά συγχρόνως και από τη διάρκεια παραμόρφωσης.

Στα θιξότροπα τρόφιμα τα συστατικά τους τείνουν να συσσωματώνονται και να σχηματίζουν τρισδιάστατα πλέγματα (χωροπλέγματα) που προσδίδουν κάποιο βαθμό ακαμψίας στην υφή. Τα πλέγματα αυτά προκύπτουν από αλληλεπιδράσεις διαφόρων χαρακτηριστικών ενεργών ομάδων μεταξύ τους.

Ρεοπηξία είναι το αντίθετο της θιξοτροπίας. Πρόκειται για την ρεολογική συμπεριφορά κατά την οποία το ιξώδες αυξάνει σε συνάρτηση με το ρυθμό και τη διάρκεια της παραμόρφωσης (Barnes et al, 1989).

### 2.2.2. Ιξώδες Διαλυμάτων

Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι χαρακτηρισμού του ιξώδους ενός διαλύματος ή πιο συγκεκριμένα την ικανότητα της διαλυμένης ουσίας να αυξάνει το ιξώδες του διαλύματος. Η ικανότητα αυτή ποσοτικοποιείται με διάφορες μετρήσεις του ιξώδους του διαλύματος. Αν ορίσουμε ( $\eta_0$ ) το ιξώδες του καθαρού διαλύτη και ( $\eta$ ) το ιξώδες του διαλύματος με βάση τον ίδιο διαλύτη τότε υπάρχουν διάφοροι όροι για να εκφράσουμε το ιξώδες του διαλύματος με τους πιο κοινούς να είναι:

Σχετικό (relative) ιξώδες:  $\eta_{rel} = \eta_{solution} / \eta_{solvent}$

Ειδικό (specific) ιξώδες:  $\eta_{sp} = \eta_r - 1 = \eta_{solution} - \eta_{solvent} / \eta_{solvent}$

Αναγόμενο (reduced) ιξώδες:  $\eta_{red} = \eta_{sp} / C$  όπου C η συγκέντρωση της διαλυμένης ουσίας

Εγγενές (inherent) ιξώδες:  $\eta_{inh} = \ln \eta_r / C$

Εσωτερικό (intrinsic) ιξώδες:  $[\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} (\eta_{red}) = \lim_{c \rightarrow 0} (\eta_{sp} / C)$  ή

$$[\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} (\eta_{inh}) = \lim_{c \rightarrow 0} (\eta_{rel} / C)$$

Τα ιξώδη του καθαρού διαλύτη και των διαλυμάτων διαφορετικής συγκέντρωσης μπορούν να μετρηθούν χρονομετρώντας τη ροή τους μέσα από τριχοειδή σωλήνα, με τις μετρήσεις αυτές μπορούμε να εκφράσουμε το ιξώδες του διαλύματος με όλες τις παραπάνω εκφράσεις εκτός από το εσωτερικό ιξώδες, το οποίο δεν είναι μια καινούργια μοριακή παράμετρος αλλά χρησιμοποιήθηκε και από τον Αϊνστάϊν το 1906 ο οποίος μελέτησε διάλυμα σφαιρικών σωματιδίων και έκανε κάποιες μετέπειτα διορθώσεις το 1911. Το εσωτερικό ιξώδες στην ουσία δεν είναι ιξώδες αφού και η μονάδα μέτρησης του διαφέρει από το ιξώδες για το οποίο στο SI είναι (Pa\*s) ενώ για το εσωτερικό ιξώδες είναι ευρέως γνωστό το (dL g<sup>-1</sup>).

Ο τρόπος με τον οποίο υπολογίζεται, είναι η κατασκευή γραφικής παράστασης του  $\eta_{red} = \eta_{sp} / C$  ή  $\eta_{inh} = \ln \eta_r / C$  του σαν συνάρτηση του C και ακολουθεί προέκταση σε μηδενική συγκέντρωση. (Harding, 1997)

#### 2.2.2.1. Εξίσωση Huggins

Η πιο διάσημη εξίσωση υπολογισμού του εσωτερικού ιξώδους είναι η εξίσωση Huggins (1942):

$$\eta_{red} = [\eta] (1 + K_H \cdot [\eta] \cdot C)$$

όπου το  $K_H$  είναι η αδιάστατη σταθερά του Huggins, μια πιο απλή μορφή είναι:

$$\eta_{\text{red}} = [\eta] (1 + K_H \cdot C)$$

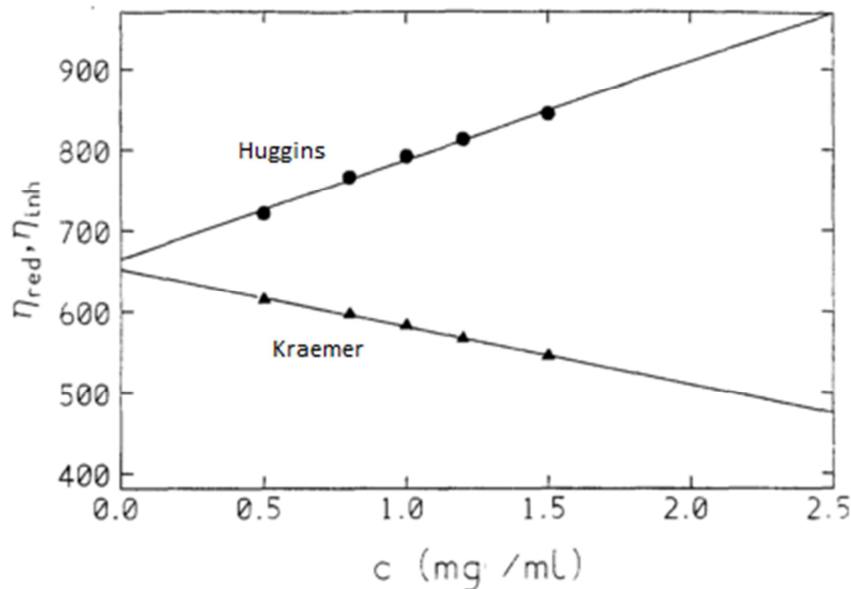
και οι δύο σταθερές ( $K_H$ ,  $K_K$ ) είναι θετικές δηλαδή η γραφική παράσταση του  $\eta_{\text{red}}$  προς  $C$  είναι μια ευθεία με θετική κλίση όπως φαίνεται στο παράδειγμα του σχήματος 8. (Harding,1997)

### 2.2.2.2. Εξίσωση Kraemer

Η εξίσωση Kraemer (1938) είναι μια ανάλογη εξίσωση με του Huggins μόνο που αντί για το  $\eta_{\text{red}}$  χρησιμοποιεί το  $\eta_{\text{inh}}$  και αντίστοιχα την σταθερά ( $K_K$ ) του Kraemer.

$$\eta_{\text{inh}} = \ln \eta_r / C = [\eta] (1 - K_K \cdot [\eta] \cdot C)$$

η γραφική παράσταση του  $\eta_{\text{inh}}$  προς  $C$  είναι μια ευθεία με αρνητική κλίση όπως



φαίνεται στο παράδειγμα του σχήματος 8. (Harding,1997)

**Σχήμα 8:** Γραφική εύρεση του εσωτερικού ιξώδους με τις μεθόδους Huggins και Kraemer (Harding,1997)

## 2.3. Γαλακτώματα

Με τον όρο γαλακτώμα εννοούμε ένα ετερογενή μίγμα τουλάχιστον δύο μη αναμίξιμων ρευστών εκ το οποίων το ένα βρίσκεται διεσπαρμένο υπό την μορφή πολύ μικρών σταγονιδίων μεγέθους (0,1 έως 100 $\mu\text{m}$ ) μέσα στην μάζα του άλλου. Το ρευστό που είναι διεσπαρμένο στην μάζα του άλλου ρευστού ονομάζεται διεσπαρμένη ή ασυνεχής ή εσωτερική φάση ενώ το ρευστό που το περικλείει ονομάζεται διασπείρουσα ή συνεχής ή εξωτερική φάση (Παναγιώτου,1998).

Τα πιο γνωστά είδη γαλακτωμάτων κατά των Lissant, (1974) είναι δύο ειδών:

- a. Σταγονίδια ελαίου διασπαρμένα μέσα στη συνεχή φάση του νερού, το σύστημα αυτό ονομάζεται γαλάκτωμα ελαίου σε νερό και συμβολίζεται ως O/W (oil in water).
- b. Σταγονίδια νερού διεσπαρμένα μέσα στη συνεχή φάση του ελαίου, το σύστημα αυτό ονομάζεται γαλάκτωμα νερού σε λάδι και συμβολίζεται ως W/O (water in oil).

Υπάρχουν βέβαια και άλλα είδη γαλακτωμάτων που χρησιμοποιούνται στην τεχνολογία τροφίμων χαρακτηριστικό παράδειγμα η διασπορά κάποιου αερίου (αέρας ή διοξείδιο του άνθρακα) σε κάποιο υγρό, είτε ακόμα σύστημα πολλών όπως το παγωτό που είναι γαλάκτωμα νερού-λαδιού και αέρος.

Η αναγνώριση κάποιου γαλακτώματος σε ποια από δυο προαναφερθείσες κατηγορίες ανήκει (O/W ή W/O) γίνεται με πολλούς και σχετικά εύκολους τρόπους, σύμφωνα με τον Παναγιώτου, (1998) ορισμένοι μέθοδοι είναι:

- Ένα γαλάκτωμα O/W αναμιγνύεται εύκολα με νερό, ενώ ένα γαλάκτωμα W/O αναμιγνύεται με λάδι.
- Το γαλάκτωμα O/W χρωματίζεται εύκολα με υδατοδιαλυτές χρωστικές, ενώ ένα γαλάκτωμα W/O με λιποδιαλυτές χρωστικές.
- Τα γαλακτώματα O/W έχουν, συνήθως, πολύ μεγαλύτερη αγωγιμότητα από τα γαλακτώματα W/O.
- Ένα O/W γαλάκτωμα έχει μία κρεμώδη υφή, ενώ ένα W/O γαλάκτωμα έχει μία λιπαρή υφή.

### **2.3.1. Ιδιότητες Γαλακτωμάτων**

Η φυσικές, χημικές καθώς και οι φυσικοχημικές ιδιότητες ενός γαλακτώματος σύμφωνα με των Lissant, (1974) επηρεάζεται και εξαρτάτε από δυο παραμέτρους:

- a. τις ιδιότητες της συνεχούς φάσης και
- b. την αναλογία της ασυνεχούς φάσης με την συνεχή

#### **2.3.1.1. Μέγεθος Σωματιδίων και Προσδιορισμός Αυτών**

Σαν μέγεθος των σωματιδίων ενός γαλακτώματος ορίζεται η διάμετρος των σφαιριδίων της εσωτερικής φάσης. Ένα γαλάκτωμα το χαρακτηρίζουμε συνήθως με ένα εύρος τιμών διαμέτρου διότι είναι πολύ δύσκολο να πετύχουμε γαλάκτωμα με σταγονίδια ίδιου διαμέτρου. Τα γαλακτώματα που περιέχουν σωματίδια με μικρή

διάμετρο ονομάζονται λεπτά (fine) γαλακτώματα, ενώ αυτά που περιέχουν σφαιρίδια μεγάλης διαμέτρου ονομάζονται αδρά (coarse) γαλακτώματα.

Οι παράμετροι που ορίζουν το μέγεθος των σταγονιδίων είναι τρεις:

- a. συνθήκες προετοιμασίας του γαλακτώματος (θερμοκρασία, μηχανήματα)
- b. τύπος και την ποσότητα του γαλακτωματοποιητή
- c. σειρά με την οποία προστέθηκαν τα συστατικά

Η πιο απλή μέθοδος μετρήσεως της διαμέτρου των σταγονιδίων είναι με την μέθοδο της δυναμικής σκέδασης του φωτός, πιο συγκεκριμένα μια πηγή φωτός εκπέμπει μια ακτινοβολία με συγκεκριμένα χαρακτηριστικά η οποία όταν συναντά τα σωματίδια που διέρχονται από ένα θάλαμο μέτρησης σκεδάζουν την ακτίνα προς διάφορες κατευθύνσεις ανάλογα με το μέγεθος τους, οι σκεδαζόμενοι ακτινοβολία ανιχνεύονται με διάφορους ανιχνευτές που είναι τοποθετημένοι περιμετρικά του θαλάμου μέτρησης και στέλνουν το σήμα στον ηλεκτρονικό υπολογιστή όπου και βλέπουμε την καμπύλη κατανομής των σωματιδίων ανάλογα με το μέγεθός τους.

### **2.3.1.2. Οπτική Εμφάνιση Γαλακτωμάτων**

Η οπτική εμφάνιση των γαλακτωμάτων εξαρτάτε από δυο παραμέτρους:

- a. το είδος των συστατικών δηλαδή το χρώμα και την διαφορά που έχουν στο δείκτη διάθλασης
- b. το μέγεθος των διεσπαρμένων σταγονιδίων

Ένα γαλάκτωμα είναι αδιαφανές και συνήθως παίρνει το χρώμα της συνεχούς φάσης όταν το μέγεθος των σταγονιδίων είναι μεταξύ 0,5 έως 5μm και υπάρχει σημαντική διαφορά στο δείκτη διάθλασης της συνεχούς και ασυνεχούς φάσης.

Ένα γαλάκτωμα είναι διαφανές, είτε όταν το μέγεθος των σταγονιδίων είναι τις τάξεως των nm και μάλιστα μικρότερο από το μήκος κύματος του ορατού φωτός (400-700nm), είτε όταν το γαλάκτωμα έχει ρυθμιστή έτσι ώστε οι δύο φάσης να έχουν το ιδανικό δείκτη διάθλασης.

### **2.3.1.3. Ικανότητα Διάλυσης Ενός Γαλακτώματος**

Όπως έχει αναφερθεί και παραπάνω μια ιδιότητα των γαλακτωμάτων που χρησιμοποιείται για την αναγνώριση του είδους τους είναι η διαλυτότητα, έτσι λοιπόν γαλακτώματα που έχουν υδατική συνεχή φάση είναι υδατοδιαλυτά δηλαδή διαλύονται σε υδατικούς διαλύτες και γαλακτώματα που περιέχουν ελαιώδη συνεχή



φάση είναι λιποδιαλυτά δηλαδή διαλύονται σε λιπαρούς διαλύτες.

#### **2.3.1.4. Αγωγιμότητα Γαλακτώματων**

Ακόμα μια μέθοδος αναγνώρισης του είδους του γαλακτώματος είναι η αγωγιμότητα όπως έχει αναφερθεί, στην ιδιότητα αυτή στηρίζομαστε διότι η αγωγιμότητα του γαλακτώματος εξαρτάτε από την αγωγιμότητα της συνεχούς φάσης, έτσι ένα γαλάκτωμα λαδιού - σε - νερό είναι καλός αγωγός του ηλεκτρισμού, ενώ ένα γαλάκτωμα νερού - σε - λάδι είναι κακός αγωγός.

#### **2.3.1.5. pH Γαλακτώματος**

Το pH ενός γαλακτώματος έχει πολύ μεγάλη σημασία, διότι από αυτό εξαρτάται το είδος του γαλακτωματοποιητή που θα χρησιμοποιηθεί και ιδιαίτερα όταν πρόκειται για γαλακτωματοποιητές πρωτεϊνικής φύσεως, μιας και το ηλεκτρικό φορτίο αυτών αλλάζει συναρτήσει του pH και του ισοηλεκτρικού σημείου. Σύμφωνα με τους Tokle & McClements (2011) σε χαμηλό pH οι αμινομάδες των πρωτεϊνών φορτίζονται θετικά ενώ οι καρβοξυλομάδες παραμένουν ουδέτερες, αντίστοιχα όταν το pH είναι υψηλό οι καρβοξυλομάδες φορτίζονται αρνητικά και οι αμινομάδες παραμένουν ουδέτερες, κατά συνέπεια όταν το pH είναι μικρότερο από το ισοηλεκτρικό σημείο ο συνολικός αριθμός των αμινομάδων είναι μεγαλύτερος από των καρβοξυλομάδων και όλη η πρωτεΐνη φορτίζεται θετικά και αντίστοιχα όταν το pH είναι μεγαλύτερο από το ισοηλεκτρικό σημείο ο συνολικός αριθμός των καρβοξυλομάδων είναι μεγαλύτερος των αμινομάδων με αποτέλεσμα η πρωτεΐνη να φορτίζεται αρνητικά, σε pH κοντά στο ισοηλεκτρικό σημείο τα φορτία βρίσκονται σε ισορροπία με αποτέλεσμα η πρωτεΐνη να μην είναι φορτισμένη. Είναι γνωστό ότι γενικά τα γαλακτώματα σταθεροποιούνται εξαιτίας των απωθητικών φορτίων στην επιφάνεια της διεσπαρμένης φάσης και από το προσροφημένο στρώμα που δρα ως διεπιφανειακό φράγμα και αποτρέπει την στενή επαφή και συνένωση των διάσπαρτων σταγονιδίων Chen et al.,(2000) γεγονός που κάνει το φορτίο της πρωτεΐνης που χρησιμοποιείτε πολύ σημαντικό και κατά συνέπεια και το pH.

#### **2.3.1.6. Ιξώδες Γαλακτώματος**

Το ιξώδες ενός γαλακτώματος εξαρτάτε από πολλούς παράγοντες κάποιοι από αυτούς είναι:

1. το ιξώδες της συνεχούς φάσης, κατά κύριο λόγο το ιξώδες ενός γαλακτώματος είναι όμοιο με αυτό της συνεχούς φάσης.
2. την αναλογία συνεχούς και ασυνεχούς φάσης, η αύξηση της συγκέντρωσης της ασυνεχούς φάσης σε σχέση με την συνεχή προκαλεί αύξηση του ιξώδους, ακόμα η αύξηση του όγκου της ασυνεχούς φάσης προκαλεί αύξηση του

φαινομενικού ιξώδους, φαινόμενο αυτό προκαλείται από τη συγκέντρωση μεγάλου αριθμού σωματιδίων στο γαλακτώμα.

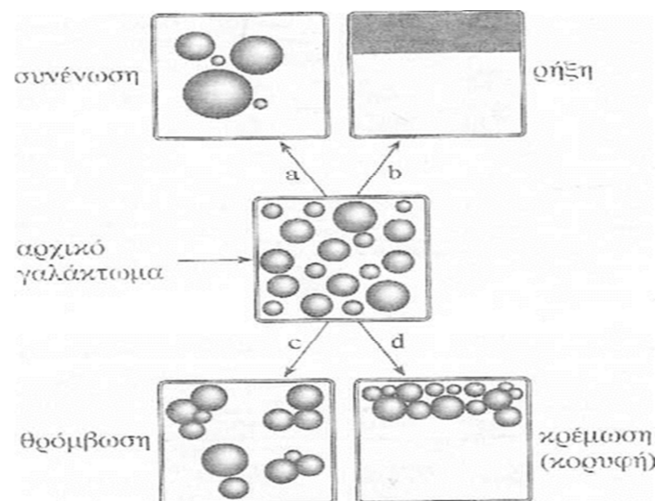
3. μέγεθος σταγονιδίων, μείωση του μεγέθους των σταγονιδίων προκαλεί μια μικρή αύξηση του ιξώδους του γαλακτώματος
4. ο τύπος και η συγκέντρωση του γαλακτωματοποιητή, πηκτικές ουσίες ή παράγοντες που αυξάνουν το ιξώδες (πολυσακχαρίτες και πρωτεΐνες) προστίθενται ως γαλακτωματοποιητές σε πάρα πολλά γαλακτώματα.

### 2.3.2. Διάσπαση Γαλακτωμάτων

Τα γαλακτώματα σύμφωνα με τον Παναγιώτου,(1998) είναι ασταθή θερμοδυναμικά συστήματα και κατά συνέπεια επέρχεται η αργή καταστροφή τους με την πάροδο του χρόνου. Η καταστροφή των συστημάτων αυτών επέρχεται με τέσσερις τρόπους οι οποίες είναι στο άκουσμα τους είναι όμοιες αλλά υπάρχει ουσιαστική διαφορά μεταξύ τους όπως περιγράφεται παρακάτω και φαίνεται στο σχήμα 9.

- Ρήξη ενός γαλακτώματος είναι ο σαφής διαχωρισμός του σε δύο ογκώδεις φάσεις.
- Συνένωση είναι η μη αντιστρεπτή διαδικασία κατά την οποία καταστρέφεται το διεπιφανειακό υμένιο του γαλακτωματοποιητή γύρω από τα σταγονίδια και αυτά ενώνονται προς μεγαλύτερα με αποτέλεσμα τον πλήρη διαχωρισμό των δύο φάσεων.
- Θρόμβωση ή συσσωμάτωση είναι μία αντιστρεπτή διαδικασία κατά την οποία τα σταγονίδια πλησιάζουν και δημιουργούν ένα τρισδιάστατο πλέγμα. Μέσα στα τρισδιάστατα αυτά πλέγματα τα σταγονίδια συνδέονται χαλαρά με τη βοήθεια ελκτικών δυνάμεων. Τα σταγονίδια σε ένα υγρό σύστημα ακολουθούν την κίνηση Brown με αποτέλεσμα να συγκρούονται συχνά κάτι που είναι πιθανό να οδηγήσει στη συσσωμάτωσή τους. Σε αυτή την αλληλεπίδραση των σταγονιδίων, κυριότερο ρόλο παίζουν οι ηλεκτροστατικές δυνάμεις, οι δυνάμεις van der Waals και οι πολυμερικές δυνάμεις (steric forces) που οφείλονται στα προσροφημένα μόρια των γαλακτωματοποιητών. Επίσης σε ορισμένες περιπτώσεις σημαντικό ρόλο παίζουν και οι δυνάμεις επιδιалύτωσης, οι υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις και οι δυνάμεις που οφείλονται στην παρουσία στη συνεχή φάση βιοπολυμερών που δεν προσροφώνται στη διεπιφάνεια (depletion forces).
- Κρέμωση ή Αποκορύφωση είναι η ανοδική κίνηση των σταγονιδίων του ελαίου, λόγω διαφοράς πυκνότητας με την υδατική φάση, χωρίς να

παρατηρείται κάποια μεταβολή στο μέγεθος τους. Στα γαλακτώματα ελαίου σε νερό παρατηρείται αρχικά μία μεταβολή της συγκέντρωσης του ελαίου με το ύψος, γεγονός που δεν γίνεται αντιληπτό οπτικά, ενώ αργότερα διακρίνονται δύο ξεχωριστές στοιβάδες, μία εμπλουτισμένη σε σταγονίδια ελαίου και μία υδατική στοιβάδα. Το φαινόμενο αυτό είναι αντιστρεπτό με τη έννοια ότι με απλή ανακίνηση επιτυγχάνεται μία ομοιόμορφη ανακατανομή των σταγονιδίων. Σημαντικό ρόλο στην ταχύτητα αποκορύφωσης ενός γαλακτώματος παίζει ο βαθμός συσσωμάτωσης και η πολυδιασπορά του μεγέθους των σταγονιδίων του ελαίου. Επίσης, τα μεγάλου μεγέθους σταγονίδια ελαίου που κινούνται με μεγαλύτερη ταχύτητα συναντούν τα μικρότερα και τα συμπαρασύρουν προς τα πάνω, επιταχύνοντας το φαινόμενο της αποκορύφωσης (Melik & Fogler, 1988; Dukhin & Sjoblom, 1996).



**Σχήμα 9:** Τρόποι καταστροφής ενός γαλακτώματος (Παναγιώτου, 1998).

### 2.3.3. Σταθερότητα Γαλακτωμάτων

Τα γαλακτώματα όπως έχει ήδη αναφερθεί είναι από θερμοδυναμικής άποψης ασταθή συστήματα. Συγκεκριμένα η σταθερότητα των γαλακτωμάτων καθορίζεται από την ενέργεια αλληλεπίδρασης  $u(h)$ , η οποία εκφράζει την ενέργεια που απαιτείται για να πλησιάσουν δυο σωματίδια από το άπειρο σε απόσταση  $h$ . Στην αλληλεπίδραση αυτή μετέχουν ηλεκτροστατικές δυνάμεις, δυνάμεις Van der Waals και στερεοχημικές αλληλεπιδράσεις που οφείλονται στα προσροφημένα μόρια, ακόμα σε ορισμένα συστήματα σημαντικό ρόλο παίζουν δυνάμεις ενυδάτωσης και υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις.

Οι ηλεκτροστατικές δυνάμεις είναι απωστικές δυνάμεις ανάμεσα στα σταγονίδια που προσεγγίζουν και οφείλονται στη αλληλοεπικάλυψη των διπλοστοιβάδων των

φορτίων (διπλοστοιβάδα Helmholtz-Smolukofki). Οι διπλοστοιβάδες αυτές σχηματίζονται από την φορτισμένη επιφάνεια των σταγονιδίων, λόγω ιόντων που έχουν προσροφηθεί σε αυτή και τα αντίθετα φορτισμένα ιόντα του γαλακτωματοποιητή που την περιβάλλουν. Οι διπλοστοιβάδες όμοια φορτισμένων σταγονιδίων ακτίνας  $r$  αλληλεπικαλύπτονται και απωθούνται με ενέργεια η τιμή της οποίας δίνεται από την εξίσωση:

$$U_R(h) = 2\pi\epsilon_r\epsilon_0 r\psi_0 \ln[1+\exp(-kh)]$$

Όπου  $h$  είναι η απόσταση των επιφανειών των δύο σταγονιδίων,  $\epsilon_r$  και  $\epsilon_0$  η διηλεκτρική σταθερά του μέσου και του κενού αντίστοιχα,  $\psi_0$  το επιφανειακό δυναμικό και  $k^{-1}$  το μήκος Debye που αποτελεί το μήκος της διπλοστοιβάδας. Η σχέση ισχύει όταν το πάχος των προσροφημένων μορίων είναι πολύ μικρό σε σχέση με την ακτίνα των σταγονιδίων του ελαίου (Bergenstahl & Claesson, 1990).

Υπάρχουν επίσης και οι ελκτικές δυνάμεις Van der Waals, οι οποίες υπερισχύουν των ηλεκτροστατικών για μικρές σχετικά αποστάσεις, η ενέργεια τους δίνεται από την σχέση:

$$U_A(h) = -A_H r / 12h$$

Όπου  $A_H$  η σταθερά Hamaker, η σχέση ισχύει για σφαιρικά ομοίου μεγέθους σταγονίδια και για μικρές αποστάσεις.

Σύμφωνα με την κλασική θεωρία των Derjaguin & Landau (1941); Verwey & Overbeek (1948), (DLVO) η σταθερότητα των γαλακτωμάτων εξαρτάται από το άθροισμα αυτών των ελκτικών και απωστικών δυνάμεων,  $U_R(h)$  και  $U_A(h)$ .

$$U_{DLVO}(h) = U_R(h) + U_A(h)$$

Όταν το μέγεθος των ελκτικών δυνάμεων γίνει μεγαλύτερο των απωστικών, τότε το γαλάκτωμα καταστρέφεται.

Όταν οι γαλακτωματοποιητές που χρησιμοποιούνται είναι πρωτεϊνικής φύσεως θα πρέπει ακόμα να ληφθούν υπόψη και οι στερεοχημικές αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στους βρόγχους και στα ελεύθερα άκρα των πρωτεϊνικών μορίων που είναι προσροφημένα σε διαφορετικά σταγονίδια, διακρίνονται δύο τύποι αλληλεπιδράσεων:

- Στον πρώτο τύπο τα υμένα συμπίεζονται χωρίς όμως το ένα να διεισδύει στο άλλο, η εντροπία του συστήματος μειώνεται και η ενέργεια εκφράζεται από την ελαστική ενέργεια αλληλεπίδρασης ( $\Delta G_{EL}$ ) που είναι πάντα θετική

- Στον άλλο τύπο τα υμένια διεισδύουν το ένα μέσα στο άλλο χωρίς να συμπιέζονται, παρατηρείται αύξηση της συγκέντρωσης και κατά επέκταση της οσμωτικής πίεσης και της μικτής ελεύθερης ενέργειας ( $\Delta G_M$ ).

Μπορεί να συνυπάρχουν και τα δύο φαινόμενα ταυτόχρονα οπότε η στερεοχημική ενέργεια δίνεται από την εξίσωση του (Dickinson,1992a)

$$\Delta G_S = \Delta G_{EL} + \Delta G_M$$

Η ολική ενέργεια αλληλεπίδρασης προκύπτει από το άθροισμα:

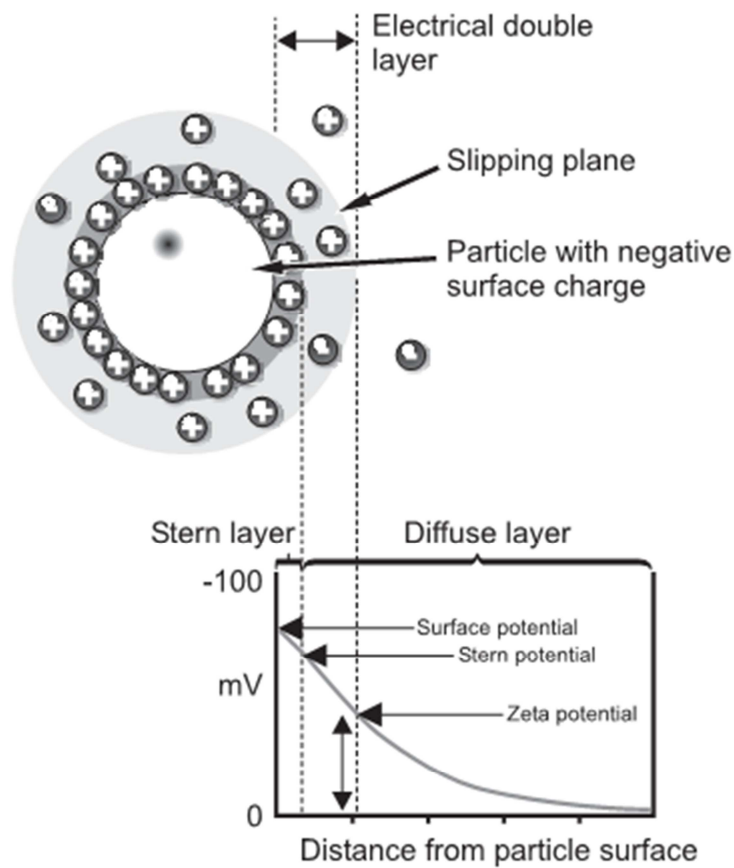
$$U(h) = U_R(h) + U_A(h) + \Delta G_S$$

### 2.3.3.1. Ζήτα Δυναμικό και Ηλεκτρική Διπλοστοιβάδα

Ηλεκτρική διπλοστοιβάδα (electrical double layer) είναι το διεπιφανειακό τμήμα κάθε σωματιδίου που περιβάλλεται από ιόντα αντίθετου φορτίου όπως φαίνεται στο σχήμα 10.

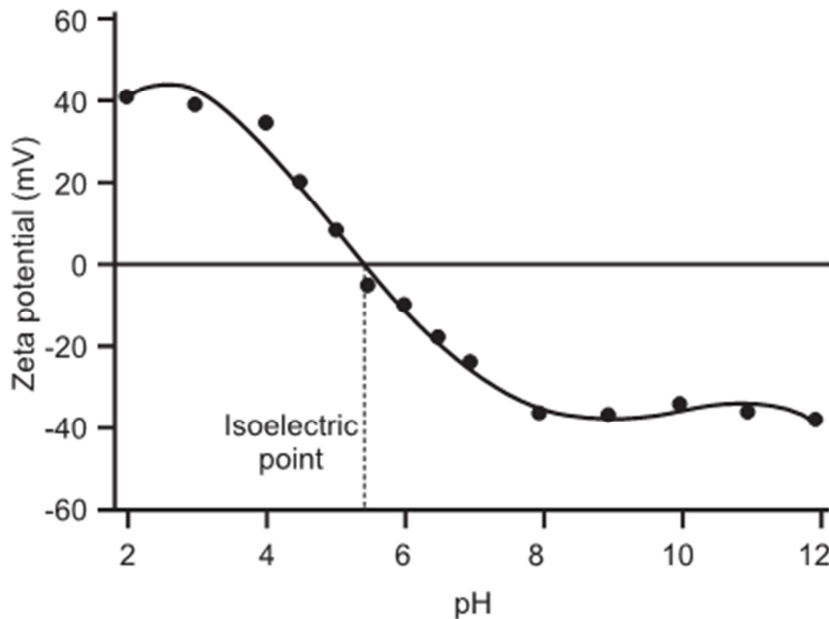
Το υγρό στρώμα που περιβάλλει τα σωματίδια αποτελείται από δύο τμήματα, το εσωτερικό στρώμα (stern layer), όπου τα ιόντα είναι ισχυρά προσκολλημένα και το εξωτερικό στρώμα (diffuse layer), όπου τα ιόντα είναι λιγότερο ισχυρά προσκολλημένα (σχήμα 10). Μεταξύ της εξωτερικής στοιβάδας υπάρχει ένα θεωρητικό σύνορο όπου τα ιόντα και τα σωματίδια σχηματίζουν μια σταθερή οντότητα. Όταν τα σωματίδια κινούνται (π.χ λόγω βαρύτητας) τα ιόντα που βρίσκονται μέσα σε αυτό το σύνορο κινούνται με αυτά, αλλά τα ιόντα πέρα από το σύνορο δεν ταξιδεύουν μαζί με τα σωματίδια, το σύνορο αυτό ονομάζεται επιφάνεια της υδροδυναμικής τάσης (slipping plane). Το δυναμικό που υπάρχει σε αυτό το σύνορο είναι το ονομαζόμενο ζήτα δυναμικό.

Το μέγεθος του ζήτα δυναμικού είναι μια ένδειξη για την σταθερότητα του κολλοειδούς συστήματος, αν όλα τα σωματίδια που βρίσκονται διεσπαρμένα έχουν μεγάλο αρνητικό ή μεγάλο θετικό δυναμικό θα έχουν την τάση να απωθούνται με αποτέλεσμα να μην δημιουργούν συσσωματώματα, απεναντίας όταν το δυναμικό είναι μικρό συσσωματώνονται λόγω των ελκτικών δυνάμεων. Ένα γενικό διαχωριστικό όριο για να χαρακτηριστεί ένα κολλοειδές σύστημα σταθερό είναι όταν έχει ζήτα δυναμικό μεγαλύτερο από 30mV ή μικρότερο από -30mV, τα ενδιάμεσα θεωρούνται ασταθή συστήματα.



**Σχήμα 10:** σχηματική παράσταση των στοιβάδων που περιβάλλουν ένα σωματίδιο αρνητικά φορτισμένο

Ο παράγοντας που επηρεάζει πάρα πολύ το ζήτα δυναμικό είναι το pH, από μόνο του το ζ-δυναμικό είναι ένα νούμερο χωρίς μεγάλη σημασία. Σε ένα αρνητικά φορτισμένο σωματίδιο που βρίσκεται σε διασπορά αν προστεθεί αλκαλική ένωση τότε τα σωματίδια τείνουν να έχουν πιο αρνητικό φορτίο, αν προστεθεί οξύ σταδιακά τα σωματίδια θα αποκτήσουν ουδέτερο φορτίο όπου είναι και το λεγόμενο ισοηλεκτρικό σημείο και αν συνεχίσουμε την προσθήκη οξέος θα αποκτήσει θετικό φορτίο. Ένα χαρακτηριστικό διάγραμμα ζ-δυναμικού συναρτήσει με το pH φαίνεται στο σχήμα 11, σε τέτοια διαγράμματα φαίνεται το ισοηλεκτρικό σημείο των σωματιδίων όπου και έχουν την μικρότερη σταθερότητα, καθώς και τα όρια όπου πλέον μπορούν να θεωρηθούν σταθερά κolloειδή συστήματα.



**Σχήμα 11:** μεταβολή του ζ-δυναμικού συναρτήσει του pH

## 2.4 Γαλακτωματοποιητές

Η γαλακτωματοποιητές είναι τασιενεργές ενώσεις (επιφανειοδραστικές ουσίες) οι οποίες στο μόριο τους έχουν και λιπόφιλες (συνήθως αλκυλική ομάδα) και υδρόφιλες ομάδες (συνήθως υδρόξυλο ομάδα).

Σε ένα μη αναμίξιμο σύστημα όπως το λάδι στο νερό οι γαλακτωματοποιητές εντοπίζονται στην διεπιφάνεια όπου και μειώνουν την επιφανειακή τάση. Ο τρόπος δράσεις τους έχει να κάνει με την διαλυτότητα των ουσιών αυτών στη λιπαρή και την υδατική φάση. Οι λιπόφιλες ομάδες διαλυτοποιούνται στις σταγόνες λίπους, ενώ οι πολικές υδρόφιλες ομάδες προβάλλονται στην επιφάνεια τις υδατικής φάσεις. Η συμμετοχή αντίθετα φορτισμένων ιόντων προκαλεί τον σχηματισμό μιας ηλεκτροστατικής διπλής στοιβάδας η οποία εμποδίζει την συσσωμάτωση των σταγόνων λίπους. ( Belitz et al., 2006).

Στην τεχνολογία τροφίμων χρησιμοποιούνται πάρα πολύ οι γαλακτωματοποιητές σε πάρα πολλά τρόφιμα μιας και μεγάλη ομάδα αυτών είναι σε μορφή γαλακτωμάτων, τα πιο χαρακτηριστικά αυτών είναι οι μαγιονέζες, τα βούτυρα και τα παγωτά.

Οι γαλακτωματοποιητές μπορεί να είτε φυσική, είτε τεχνητή, μεγαλύτερη έμφαση όμως στην τεχνολογία τροφίμων δίνεται στους φυσικούς γαλακτωματοποιητές οι πηγή των οποίων είναι τρόφιμα που περιέχουν σε μεγάλες συγκεντρώσεις τις παρακάτω χημικές ουσίες:

**Μόνο και διγλυκερίδια:** η ανθρακική αλυσίδα των λιπαρών οξέων εισχωρεί στο λιπαρό τμήμα ενώ τα αλκοολικά υδροξύλια στο υδατικό τμήμα με αποτέλεσμα να έχουν πολύ καλή γαλακτωματοποιητική ισχύει.

**Φωσφολιπίδια:** τα φωσφολιπίδια είναι και αυτά διγλυκερίδια που περιέχουν φωσφορικό οξύ και μια αζωτούχα βάση (χολίνη, αιθανολαμίνη). Το πιο γνωστό φωσφολιπίδιο είναι η λεκιθίνη η οποία σαν αζωτούχα βάση έχει την χολίνη. Τρόφιμα που είναι πολύ πλούσια σε λεκιθίνη είναι η λεκιθίνη σόγιας και το κίτρινο του αυγού.

**Πρωτεΐνες:** η γαλακτωματοποιητική ικανότητα των πρωτεϊνών εξαρτάτε από την σύσταση και την αλληλουχία των αμινοξέων, καθώς και από την δομή τους (δευτεροταγής, τριτοταγής, τεταρτοταγής). Οι πρωτεΐνες που χρησιμοποιούνται πολύ είναι η καζεΐνη του γάλακτος, οι πρωτεΐνες του ορού του γάλακτος Neiryneck et al.,(2004), οι πρωτεΐνες σόγιας Lin et al.,(2011); Baoru et al.,(2012) και του αυγού (Kontogiorgos et al.,2004).

**Εστέρες της προπυλενογλυκόλης:** όπως ο στεατικός

**Εστέρες των λιπαρών οξέων με σορβιτόλη.**



### **3. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ**

Η παρούσα πτυχιακή εργασία έχει σαν σκοπό την εξέταση των γαλακτωματοποιητικών και σταθεροποιητικών ιδιοτήτων, δύο διαφορετικών τύπου εκχυλισμάτων μπάμιας, (εκχύλιση σε pH3 και pH6), καθώς και την μελέτη της συμπεριφοράς των γαλακτωμάτων αυτών σε συνάρτηση με τον χρόνο.

## 4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### 4.1. Υλικά και Μέθοδοι

#### 4.1.1. Πρώτη Ύλη

Οι μπάμιες (*A. esculentus* L.) μήκους 5-9 cm προέρχονταν από την Μελίκη Ημαθίας και η προμήθειά τους έγινε από την τοπική αγορά. Το προϊόν διατηρείτο σε κατάψυξη στους  $-20^{\circ}\text{C}$  μέχρι να επεξεργαστεί.

#### 4.1.2. Αντιδραστήρια

Οι προμήθεια των αντιδραστηρίων έγινε από:

- Οξικό οξύ (Sigma, St Louis, MO, USA)
- Δισόξυνο φωσφορικό νάτριο  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (Sigma, St Louis, MO, USA)
- Tris base (Sigma, St Louis, MO, USA)
- Όξινο ανθρακικό νάτριο  $\text{NaHCO}_3$  (Sigma, St Louis, MO, USA)
- ανθρακικό νάτριο  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (Sigma, St Louis, MO, USA)
- Χλωριούχο νάτριο  $\text{NaCl}$  (Riedel-de Haen, Seelze, Germany)
- Πετρελαϊκός αιθέρας (σ.ζ.  $40-65^{\circ}\text{C}$ ) (Mallinckrodt Baker BV, Deventer, Holland)
- Κιτρικό οξύ μονόυδρο (Sigma, St Louis, MO, USA)
- Δισόξυνο κιτρικό νάτριο (Sigma, St Louis, MO, USA)
- Δεκαεξάνιο (Sigma, St Louis, MO, USA)
- Quick start Dye reagent (Bio-Rad Laboratories, USA)
- Quick start Bovine Serum Albumin (BSA) (Bio-Rad Laboratories, USA)
- Νατραζίδιο  $\text{NaN}_3$  (Sigma, St Louis, MO, USA)
- Rhodanime B (Sigma, St Louis, MO, USA)

#### 4.1.3. Μέθοδοι

##### 4.1.3.1. Λυοφιλίωση Μπάμιας

Το κατεψυγμένο προϊόν υπέστη λυοφιλίωση στο βιομηχανικό λυοφιλιωτή (Christ, model Gamma 1-20, Osterode, Germany).

##### 4.1.3.2. Απολίπανση

Η απολίπανση της λυοφιλοποιημένης σάρκας της μπάμιας γινόταν σε αυτόματη συσκευή Soxhlet (Velp Scientifica, Mod 148, Μιλάνο, Ιταλία) με πετρελαϊκό αιθέρα (σ.ζ.  $40^{\circ}-65^{\circ}\text{C}$ ).

##### 4.1.3.3. Αδιάλυτα στην Αλκοόλη Συστατικά (AIS)

Τα απολιπασμένα δείγματα (20 g) εκχυλίζονταν με αιθυλική αλκοόλη 70% (κ.ο) στους  $40^{\circ}\text{C}$  για 1 h (2 φορές  $\times$  300 mL). Μετά την διήθηση σε χωνί Buchner, ακολουθούσε έκπλυση του στερεού υπολείμματος με ακετόνη (2 φορές  $\times$  150 mL)

και ξήρανσή του στον αέρα για 24 h (Alcohol-Insoluble Solids). Τα δείγματα παρέμεναν συσκευασμένα υπό κενό μέχρι την παραπέρα ανάλυσή τους (Sengkhampan et al., 2009b).

#### 4.1.3.4. Εκχύλιση των Αδιάλυτων στην Αλκοόλη Συστατικών

Η παραλαβή των πολυσακχαριτών από τα AIS γινόταν σύμφωνα με την μέθοδο των Vierhuis *et al.* (2000), όπως αυτή τροποποιήθηκε για τις μπάμιες από τους Sengkhampan *et al.*, (2009b). Συγκεκριμένα, 20 g λυοφιλοποιημένων και απολιπασμένων AIS δειγμάτων σάρκας, εκχυλίζονταν κάθε φορά με την βοήθεια 600 mL από τα παρακάτω αντιδραστήρια:

- a) ρυθμιστικό διάλυμα phosphate buffer 0,05 M με pH=6 στους 70 °C για 30 min (3 φορές),
- b) ρυθμιστικό διάλυμα acetate buffer 0,05 M με pH=4 στους 70 °C για 30 min (3 φορές),

Μετά από κάθε εκχύλιση, το διαλυτοποιημένο πολυμερές (πολυσακχαρίτες) διαχωριζόταν από το αδιάλυτο υπόλειμμα με φυγοκέντρηση (5000g X 25 min) (Sorvall, RC 28C, Newtown, CT, USA) και στη συνέχεια λυοφιλοποιούνταν.

#### 4.1.3.5. Παρασκευή Ρυθμιστικών Διαλυμάτων

##### Phosphate Buffer 0,05 M με pH=6:

7,1g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> σε 900ml αποσταγμένο νερό + 4,934g NaCl, τιτλοδότηση σε pH6 στους 20°C και συμπλήρωση με αποσταγμένο νερό μέχρι σε όγκο 1000ml.

**Sorensen's Phosphate Buffer 0,1M pH=7:** για την μέτρηση του εσωτερικού ιξώδους

Παρασκευή διαλύματος A 0,2M : 14,2g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>+500mL απιονισμένο νερό

Παρασκευή διαλύματος B 0,2M: 13,8g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O + 500mL απιονισμένο νερό

Ανάμιξη 305mL διαλύματος A + 195mL διαλύματος B + 5.85g NaCl + 0.1gNaN<sub>3</sub> αραιώση μέχρι τα 1000mL.

##### Acetate Buffer 0,05 M με pH=4:

3,002g Οξικό οξύ σε 900ml αποσταγμένο νερό + 8,46g NaCl, τιτλοδότηση σε pH4 στους 20°C και συμπλήρωση με αποσταγμένο νερό μέχρι σε όγκο 1000ml.

#### **Citric Buffer 0,05M με pH=2,5 :**

1.8g κιτρικό οξύ σε 900ml αποσταγμένο νερό + 0,43g κιτρικό νάτριο +0,1g νατραζίδιο, τιτλοδότηση σε pH2,5 στους 20°C και συμπλήρωση με αποσταγμένο νερό μέχρι σε όγκο 1000ml.

#### **4.1.3.6. Παρασκευή Διαλυμάτων Μπάμιας για τα Γαλακτώματα**

Για την παρασκευή διαλυμάτων μπάμιας 1,875% χρησιμοποιήθηκαν 0,1875g σκόνης από το λυοφιλοποιημένο εκχύλισμα με ρυθμιστικό διάλυμα Phosphate Buffer 0,05 M με pH=6 το οποίο για λόγους ευκολίας θα αποκαλείτε πλέον extract6 ή ex6 σε ογκομετρική φιάλη και συμπληρώθηκαν μέχρι τα 10ml με ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού οξέος.

Αντίστοιχα, για την παρασκευή 1,875% διαλύματος, χρησιμοποιήθηκαν 0,1875g σκόνης από το λυοφιλοποιημένο εκχύλισμα με ρυθμιστικό διάλυμα Acetate Buffer 0,05 M με pH=4 το οποίο για λόγους ευκολίας θα αποκαλείτε πλέον extract4 ή ex4 σε ογκομετρική φιάλη και συμπληρώθηκαν μέχρι τα 10ml με ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού οξέος.

Ακολούθησε ανάδευση για 24h σε μαγνητικό αναδευτήρα τύπου (Heidolph, MR3001, Germany) σε θερμοκρασία περιβάλλοντος περίπου 20°C για την πλήρη ενυδάτωση.

Με την ολοκλήρωση της ανάδευσης πραγματοποιήθηκε φυγοκέντρηση για 10min στις 3500rpm με φυγόκεντρο τύπου (Eppendorf centrifuge 5702, Hamburg, Germany) για την απομάκρυνση τυχόν αδιάλυτων ουσιών.

#### **4.1.3.7. Παρασκευή Γαλακτωμάτων**

Για την παρασκευή γαλακτωμάτων emul6 και emul4 συγκέντρωσης 1,5% μπάμιας και 20% v/v ελαίου επί του συνολικού όγκου χρησιμοποιήθηκαν 8ml από τα αντίστοιχα διαλύματα ex6 και ex4, ακολούθησε προσθήκη υπό συνεχή και ταχεία μαγνητική ανάδευση 2mL δεκαεξανίου για 3min, μετά το πέρας των 3min ακολούθησε γαλακτωματοποίηση σε εργαστηριακό ομογενοποιητή τύπου (Ultra-Turrex, IKA T18 basic, Germany) για 1min.

Η συντήρηση του δεκαεξανίου καθώς και των γαλακτωμάτων για την μελέτη συναρτήσει του χρόνου γινόταν σε κλίβανο τύπου (Gallenkamp 300 plus series, Gemini B.V, Holland) στους 24°C προς αποφυγή κρυστάλλωσης του δεκαεξανίου του οποίου το σημείο πήξεως είναι στους 17-19°C.

#### 4.1.3.8. Παρασκευή Διαλυμάτων Μπάμιας για Μέτρηση Εσωτερικού Ιξώδους

Για την παρασκευή των επιμέρους διαλυμάτων χρησιμοποιήθηκε διάλυμα stock 1% με την χρήση 0,6g σκόνης μπάμιας σε 60mL ρυθμιστικού διαλύματος (Sorensen's Phosphate Buffer 0,1M pH=7) και για τα δύο δείγματα ex4 & ex6. Ο συνολικός όγκος των επιμέρους διαλυμάτων είναι 20mL

Η αραιώσεις που χρησιμοποιήθηκαν παρουσιάζονται στον πίνακα 8:

**Πίνακας 8:** Αραιώσεις για την παρασκευή διαλυμάτων μπάμιας

Συγκέντρωση %	mL stock διάλυμα	mL ρυθμιστικό διάλυμα
1	60	0
0,8	16	4
0,5	10	10
0,25	5	15
1	2	18
0,05	1	19
0,025	0,5	19,5

## 4.2. Ρεολογική Μελέτη των Γαλακτωμάτων

Η ρεολογική μελέτη των ιδιοτήτων των γαλακτωμάτων (emul6 και emul4) πραγματοποιήθηκε με την χρήση του εργαστηριακού ρεομέτρου τύπου (Rheometer, Bohlin Gemini 200 HR nano, Malvern instrument, Worcestershire, UK) σε θερμοκρασία 25°C με δίσκο κωνικού τύπου 4°/40mm, το λογισμικό που χρησιμοποιήθηκε ήταν το Bohlin Gemini 200 HR nano. Η ρεολογική ιδιότητα που μελετήθηκε ήταν το ιξώδες το γαλακτώματος συναρτήσει του εφαρμοζόμενου ρυθμού διάτμησης.

## 4.3. Μελέτη Μεγέθους Σταγονιδίων του Γαλακτώματος

Ο υπολογισμός του μεγέθους των σταγονιδίων των γαλακτωμάτων έγινε με την χρήση της συσκευής δυναμικής σκέδασης φωτός τύπου (Malvern Mastersizer 2000, Worcestershire, UK). Ο δείκτης διάθλασης που χρησιμοποιήθηκε για το δεκαεξάνιο είναι 1,434. Η πλήρωση του δειγματολήπτη, για την μέτρηση έγινε με ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού οξέος ενώ ο δειγματολήπτης που χρησιμοποιήθηκε

ήταν τύπου (small volume) μικρού όγκου και το λογισμικό ήταν της Malvern. Με την χρήση αυτής της συσκευής υπολογίστηκε το  $d[3,2]=\Sigma n_i d_i^3 / \Sigma n_i d_i^2$ , η ειδική επιφάνεια ως το πηλίκο του  $6/ d[3,2]= SSA(\text{Specific Surface Area})$ , καθώς και  $d[4,3]=\Sigma n_i d_i^4 / \Sigma n_i d_i^3$ .

#### 4.4. Υπολογισμός του ζ-Δυναμικού

Για τον υπολογισμό του ζ-δυναμικού (zeta-potential) χρησιμοποιήθηκε το (Malvern Zetasizer Nanoseries ZEN2600, Worcestershire, UK). Ο δείκτης διάθλασης που χρησιμοποιήθηκε για το δεκαεξάνιο είναι 1,434 ενώ η μετρήσεις έγιναν σε θερμοκρασία 20°C, το λογισμικό που χρησιμοποιήθηκε ήταν το zetasizer software. Η συσκευή αυτή χρησιμοποιήθηκε για από τον υπολογισμό του ζ-δυναμικού του γαλακτώματος καθώς και για την μέτρηση της μεταβολής του ζ-δυναμικού συναρτήσει του pH.

#### 4.5. Υπολογισμός του Δείκτη Αποκορύφωσης

Ο υπολογισμός του δείκτη αποκορύφωσης έγινε σε φιαλίδια των 10ml με πώμα στα οποία προστέθηκαν τα γαλακτώματα (emul6 και emul4) και μετρήθηκε ο χρόνος που χρειάστηκε για να διαχωριστή η γαλακτώδης φάση από την υδατική φάση, καθώς και οι ενδιάμεσες μεταβολές του ύψους της γαλακτώδους φάσης σε mm.

Ο δείκτης αποκορύφωσης υπολογίστηκε ως:

$$\text{Δείκτης αποκορύφωσης (creaming index)} = \frac{\text{ύψος στοιβάδας του διακριτού ορού}}{\text{συνολικό ύψος του γαλακτώματος}} * 100$$

(Kontogiorgos et al., 2004)

#### 4.6. Υπολογισμός της Επιφανειακής Απορροφημένης Πρωτεΐνης

Για τον υπολογισμό της επιφανειακής απορροφημένης πρωτεΐνης χρησιμοποιήθηκε η φωτομετρική μέθοδος ανίχνευσης των πρωτεϊνών (Bradford) με την χρήση αντιδραστηρίου (dye) στα 595nm, και για την κατασκευή πρότυπης καμπύλης χρησιμοποιήθηκε διάλυμα BSA σε συγκεντρώσεις από 125μg έως 1250μg.

Αναλυτικότερα, μετά την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης η οποία πραγματοποιήθηκε μετά από την μέτρηση της απορρόφησης δύο δειγμάτων για κάθε συγκέντρωση, ακολούθησε η μέτρηση της απορρόφησης των ex6 και ex4 για τον υπολογισμό της αρχικής ποσότητας πρωτεΐνης στα δείγματα (τρεις επαναλήψεις) καθώς και η μέτρηση της απορρόφησης του καθαρού ορού των γαλακτωμάτων emul6 και emul4 (τρεις επαναλήψεις) μετά από φυγοκέντρηση για 10min στις 600rpm για

σίγουρη απομάκρυνση σταγόνων ελαίου από τον ορό. Για τον υπολογισμό της επιφανειακής απορροφημένης πρωτεΐνης ( $\Gamma$ ) χρησιμοποιήθηκε ο ακόλουθος τύπος:

$$\Gamma \text{ (mg/m}^2\text{)} = \frac{\text{mg απορροφημένης πρωτεΐνης}}{S \cdot \text{ml λαδιού στο γαλάκτωμα}} \quad \text{όπου } S \text{ ή } SSA \text{ (m}^2\text{/ml)} = 6/d[3,2]$$

(Rivas H.J. & Sherman P., 1984)

Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης πραγματοποιήθηκαν οι αραιώσεις του BSA που φαίνονται στο πίνακα 8. Ο τελικός όγκος των 100 $\mu$ L για κάθε συγκέντρωση χωρίστηκε σε δύο δοκιμαστικούς σωλήνες και ακολούθησε προσθήκη του αντιδραστηρίου Dye από 2,5ml σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα, τα δείγματα αφέθηκαν σε ηρεμία για 10min και ακολούθησε η μέτρηση της απορρόφησης στα 595nm με φασματοφωτόμετρο τύπου (Pharmacia Biotech Novaspec II, Cambridge, England).

Ίδια διαδικασία ακολούθηθηκε και για τα δείγματα, για τα οποία πάρθηκαν 50 $\mu$ L σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα έγινε η προσθήκη του αντιδραστηρίου Dye από 2,5ml σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα, τα δείγματα αφέθηκαν σε ηρεμία και ακολούθησε η μέτρηση της απορρόφησης. (Markwell et al., 1978)

**Πίνακας 9:** Αραιώσεις του BSA για κατασκευή πρότυπης καμπύλης

C ( $\mu$ g/ml)	$\mu$ L από stock BSA (2mg/ml)	$\mu$ L από ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού οξέος
125	7	93
250	13	87
500	25	75
750	38	62
1000	50	50
1250	63	37

#### 4.7. Υπολογισμός Του Εσωτερικού Ιξώδους (Intrinsic Viscosity)

Για τον υπολογισμό του εσωτερικού ιξώδους χρησιμοποιήθηκαν διαλύματα συγκεντρώσεων από 0,025% έως 1% για τα οποία χρονομετρήθηκε ο χρόνος ροής μέσα από τριχοειδή σωλήνα ιξωδομέτρου τύπου Ubbelohde συγκεκριμένων διαστάσεων σε θερμοκρασία 20°C, με την χρήση των εξισώσεων Huggins και Kraemer (βλέπε κεφάλαια 2.2.2.1 & 2.2.2.2) κατασκευάστηκαν τα διαγράμματα αυτών και με την βοήθεια των διαγραμμάτων υπολογίστηκε το εσωτερικό ιξώδες των εκχυλισμάτων μπάμιας ex4 & ex6.

#### 4.8. Μικροσκοπία Φθορισμού (Confocal laser scanning microscopy, CLSM)

Για την παρασκευή των γαλακτωμάτων με σκοπό την εξέταση τους σε μικροσκόπιο φθορισμού, προστέθηκε στο ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού οξέος όγκου 20ml μια με δυο σταγόνες χρωστικής ουσίας Rhodamine B 0,02% η οποία χρησιμοποιείται για

την χρώση των πρωτεϊνών. Ακολούθησε η παρασκευή των γαλακτωμάτων όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο (4.1.3.7).

Τα έτοιμα γαλακτώματα παρέμειναν σε σκοτεινό μέρος σε θερμοκρασία δωματίου (20-24°C) για έξι ώρες και ακολούθησε μικροσκοπία σε μικροσκόπιο τύπου (Olympus BX41TF, Olympus optical co.ltd. Japan) και πηγή φωτός τύπου (Olympus U-RFL-T-200, Olympus optical co.ltd. Japan) όπου παρατηρήσαμε τις πρωτεΐνες που είχαν προσροφηθεί την επιφάνεια των σταγόνων του γαλακτώματος τα οποία εμφανίζονται ως χρυσή δακτύλιοι με μεγέθυνση εκατό φορές καθώς και την δομή του γαλακτώματος.

## 5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ- ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

### 5.1. Εσωτερικό Ιξώδες

Στον πίνακα 10 παρουσιάζονται οι χρόνοι ροής των διαλυμάτων ex4 & ex6 των διαφορετικών συγκεντρώσεων, μέσα από τον τριχοειδή σωλήνα ιξωδομέτρου Ubbelohde. Στον πίνακα αυτό παρατηρούμε πως οι χρόνοι ροής των διαλυμάτων σε χαμηλές συγκεντρώσεις από 0,025% έως 0,1% είναι σχεδόν παραπλήσιες, ενώ όσο μεγαλώνει η συγκέντρωση τόσο αυξάνεται η διαφορά με την μέγιστή τιμή να επιτυγχάνεται στην συγκέντρωση 1% όπου η διαφορά φτάνει τα 90sec.

Παράλληλα υπολογίστηκαν το σχετικό (relative) ιξώδες:  $\eta_{rel} = \eta_{solution} / \eta_{solvent}$  και το ειδικό (specific) ιξώδες:  $\eta_{sp} = \eta_r - 1 = \eta_{solution} - \eta_{solvent} / \eta_{solvent}$  και με την χρήση αυτών των τιμών υπολογίστηκαν οι λόγοι  $\eta_{sp}/c$  και  $\ln(\eta_{rel})/c$  για να γίνει η κατασκευή των γραφικών παραστάσεων των Huggins και Kraemer όπως φαίνεται στο σχήμα 12, για το ex4 και στο σχήμα 13 για το ex6.

Από τις εξισώσεις τύπου  $y=ax+\beta$  που προκύπτουν από τις γραφικές παραστάσεις μπορούμε πλέον να υπολογίσουμε το εσωτερικό ιξώδες, με την προέκταση σε μηδενική συγκέντρωση, ουσιαστικά δηλαδή όπου  $\chi$  θα πάρει τιμή μηδέν και θα ισούται με  $y=\beta$  όπου  $\beta$  το εσωτερικό ιξώδες με την εκάστοτε μέθοδο υπολογισμού. Στον πίνακα 11 φαίνονται οι υπολογισμοί των επιμέρους παραμέτρων καθώς και οι τελικές τιμές του εσωτερικού ιξώδους κατά Huggins και Kraemer οι οποίες δεν έχουν μεγάλη διαφορά μεταξύ τους, επιπλέον παρατηρούμε το διάλυμα ex6 (1,0634dL/g) έχει μεγαλύτερο εσωτερικό ιξώδες από το διάλυμα ex4 (0,901dL/g).

Σύμφωνα με τους Kar & Arslan,(1999) το εσωτερικό ιξώδες είναι χαρακτηριστικό των μακρομορίων το οποίο σχετίζεται άμεσα με την ικανότητα διατάραξης της ροής και έμμεσα με το μέγεθος και το σχήμα αυτών. Κατά συνέπεια σε μακρομόρια που το μοριακό τους βάρος ποικίλοι, όπως οι πηκτίνες είναι μια πάρα πολύ χρήσιμη

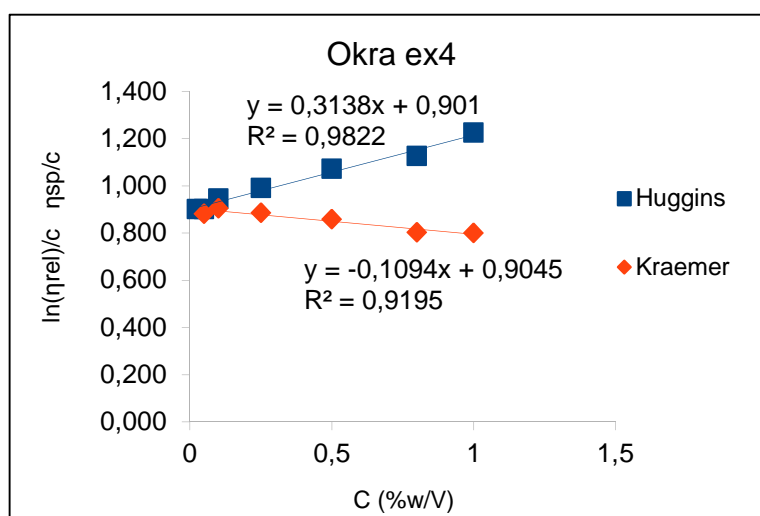


πληροφορία η μέτρηση του εσωτερικού ιξώδους διότι είναι μια ένδειξη για το μέγεθος των μορίων που έχουμε, η σχέση που συνδέει τις δύο παραμέτρους είναι ανάλογη και ισούται με  $[\eta]=KM_{w,aver}$  όπου  $K$  είναι μια σταθερά. (Tanglertraibul & Rao, 1987).

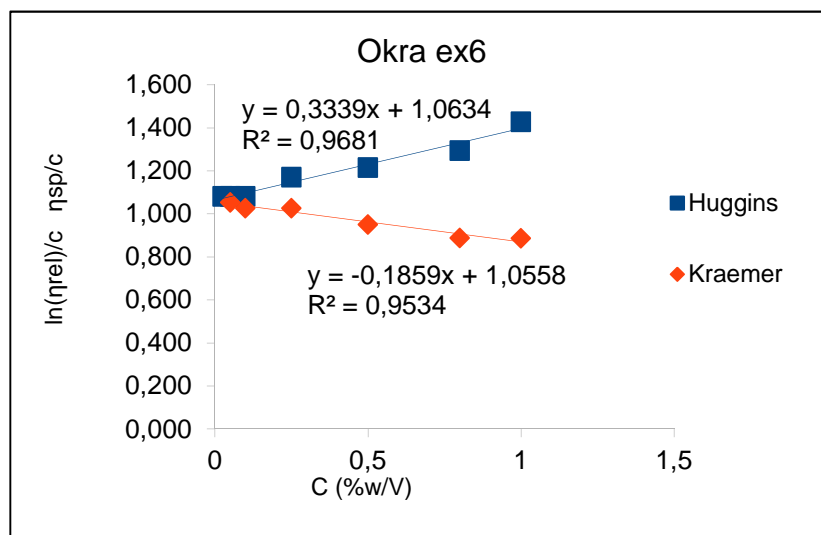
Σύμφωνα με αυτό στο δείγμα ex6 το μοριακό βάρος των μακρομορίων και κυρίως της πηκτίνης είναι μεγαλύτερο από αυτό του δείγματος ex4, αλλά είναι πολύ μικρότερα σε σχέση με το μοριακό βάρος της πηκτίνης από πορτοκάλια στο οποίο το εσωτερικό ιξώδες βρέθηκε να είναι της τάξεως του 2,6 dL/g έως 4,0 dL/g ανάλογα με το είδος της εκχύλισης κατά τους Kar & Arslan,(1999), ενώ οι Marshall et al.,(1991) που μελέτησαν διάφορα φρούτα και λαχανικά ανακάλυψαν πως το εσωτερικό ιξώδες του σκόρδου είχε την μικρότερη τιμή 0,37 dL/g ενώ την μεγαλύτερη την είχε το ρόδι με 4,39 dL/g, το εσωτερικό ιξώδες της μπάμιας βρίσκεται πολύ κοντά σε αυτά της αγκινάρας και του κολοκάσιου, λαχανικά παρόμοια με την μπάμια, συνεπώς μπορούμε να αποφανθούμε ότι τα αποτελέσματα συμφωνούν με την βιβλιογραφία αν και δεν υπάρχει όμοια έρευνα πάνω στο συγκεκριμένο λαχανικό.

**Πίνακας 10:** Χρόνοι ροής των δειγμάτων ex4 & ex6 μέσα από τριχοειδή σωλήνα

Συγκέντρωση %	Ex4	Ex6
Ρυθμιστικό διάλυμα: 0		222
0,025		228
0,05		234
0,1		246
0,25		287
0,5		357
0,8		452
1		539



**Σχήμα 12:** Γραφική παράσταση του Huggins και Kraemer για το δείγμα ex4



**Σχήμα 13:** Γραφική παράσταση του Huggins και Kraemer για το δείγμα ex6

**Πίνακας 11:** Συγκεντρωτικός πίνακας υπολογισμών και τελικών τιμών εσωτερικού ιξώδους

Δείγμα	C %	Relative viscosity	Specific viscosity	$\eta_{sp}/c$	$\ln(\eta_{rel})/c$	$[\eta](dL/g)$ κατά Huggins	$[\eta](dL/g)$ κατά Kraemer
Ex4	0 buffer	1,000	0,000			0.901	0.9045
	0,025	1,023	0,023	0,901	0,891		
	0,05	1,045	0,045	0,901	0,881		
	0,1	1,095	0,095	0,946	0,904		
	0,25	1,248	0,248	0,991	0,885		
	0,5	1,536	0,536	1,072	0,858		
	0,8	1,901	0,901	1,126	0,803		
	1	2,225	1,225	1,225	0,800		
Ex6	0 buffer	1,000	0,000			1.0634	1.0558
	0,025	1,027	0,027	1,081	1,067		
	0,05	1,054	0,054	1,081	1,053		
	0,1	1,108	0,108	1,081	1,027		
	0,25	1,293	0,293	1,171	1,027		
	0,5	1,608	0,608	1,216	0,950		
	0,8	2,036	1,036	1,295	0,889		
	1	2,428	1,428	1,428	0,887		

## 5.2. Δείκτης Αποκορύφωσης

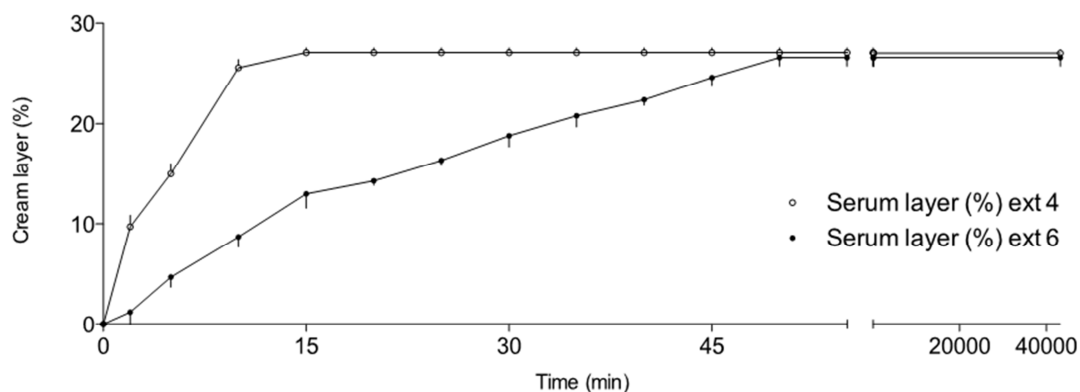
Στο σχήμα 14 παρουσιάζεται η γραφική παράσταση του ύψους της αποκορύφωσης συναρτήσει του χρόνου για τα δύο είδη εκχυλισμάτων μπάμιας που χρησιμοποιήθηκαν, όπως είναι πολύ εύκολα αντιληπτό ο χρόνος αποκορύφωσης του γαλακτώματος με ex4 (15min) είναι λίγο παραπάνω από τρεις φορές πιο γρήγορος σε σχέση με το ex6 (50min) σε σταθερή θερμοκρασία 24°C και pH= 3,4 για το ex4 και

pH= 3,6 για το εκ6 όπως προέκυψε μετά την γαλακτωματοποίηση τους με δεκαεξάνιο. Στο σχήμα 15 παρουσιάζονται φωτογραφίες από την στιγμή που μόλις παρασκευάστηκαν, μετά από μια ώρα παραμονής και τέλος μετά από τριάντα ημέρες. Όπως είναι εμφανές ο διαχωρισμός είχε επιτευχθεί μέσα σε λιγότερο μία ώρα παραμονής αλλά ο ορός ήταν ακόμα αρκετά θολός, κάτι το οποίο δεν υπάρχει μετά από παραμονή τριάντα ημερών όπου ο ορός είναι σχεδόν πλήρως διαυγής για το γαλάκτωμα με εκ6 ενώ στο γαλάκτωμα με εκ4 διατηρείτε μια μικρή αλλά υπαρκτή θολότητα.

Αμφότερα και στις δύο περιπτώσεις ο χρόνος αποκορύφωσης είναι πολύ μικρός, γεγονός που υποδηλώνει αστάθεια στο σύστημα γαλακτώματος, θα πρέπει να σημειωθεί όμως ότι στο πείραμα αυτό δεν χρησιμοποιήθηκε καμία τασιενεργή ουσία όπως (Tween 20) και ότι η γαλακτωματοποιητική ικανότητα οφείλεται μονάχα στα μακρομόρια που εκχυλίστηκαν από την μπάμια σε κάθε τύπο εκχύλισης.

Θα ήταν πολύ διαφωτιστικό αν γνωρίζαμε το είδος των πρωτεϊνών (συγκέντρωση, μοριακό βάρος, ισοηλεκτρικό σημείο), καθώς και των πολυσακχαριτών κυρίως πηκτινών που έχουν εκχυλιστεί σε κάθε είδος εκχύλισης, αλλά στο δικό μας πείραμα δεν έχουμε τέτοιες λεπτομέρειες οπότε θα αρκεστούμε μόνο σε ορισμένες υποθέσεις από παρόμοιες βιβλιογραφικές αναφορές για να εξηγήσουμε τον μηχανισμό γαλακτωματοποίησης και σταθεροποίησης, καθώς και τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πρωτεϊνών και των πηκτινών.

Όπως αναφέρουν οι Neiryneck et al.,(2004) οι πρωτεΐνες χρησιμοποιούνται κυρίως ως γαλακτωματοποιητές ενώ οι πολυσακχαρίτες χρησιμοποιούνται κυρίως ως σταθεροποιητές, αυτό όμως που καθορίζει την τελική σταθερότητα και υφή δεν εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά του κάθε μεμονωμένου συστατικού αλλά και από την φύση και δύναμη των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των πρωτεϊνών και πολυσακχαριτών. Ακόμα σύμφωνα με τους Dickinson & Galazka,(1991) οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ αυτών μπορεί να αυξήσουν την διαλυτότητα και σταθερότητα των πρωτεϊνών με αποτέλεσμα την καλύτερη απόδοση σε γαλακτώματα.



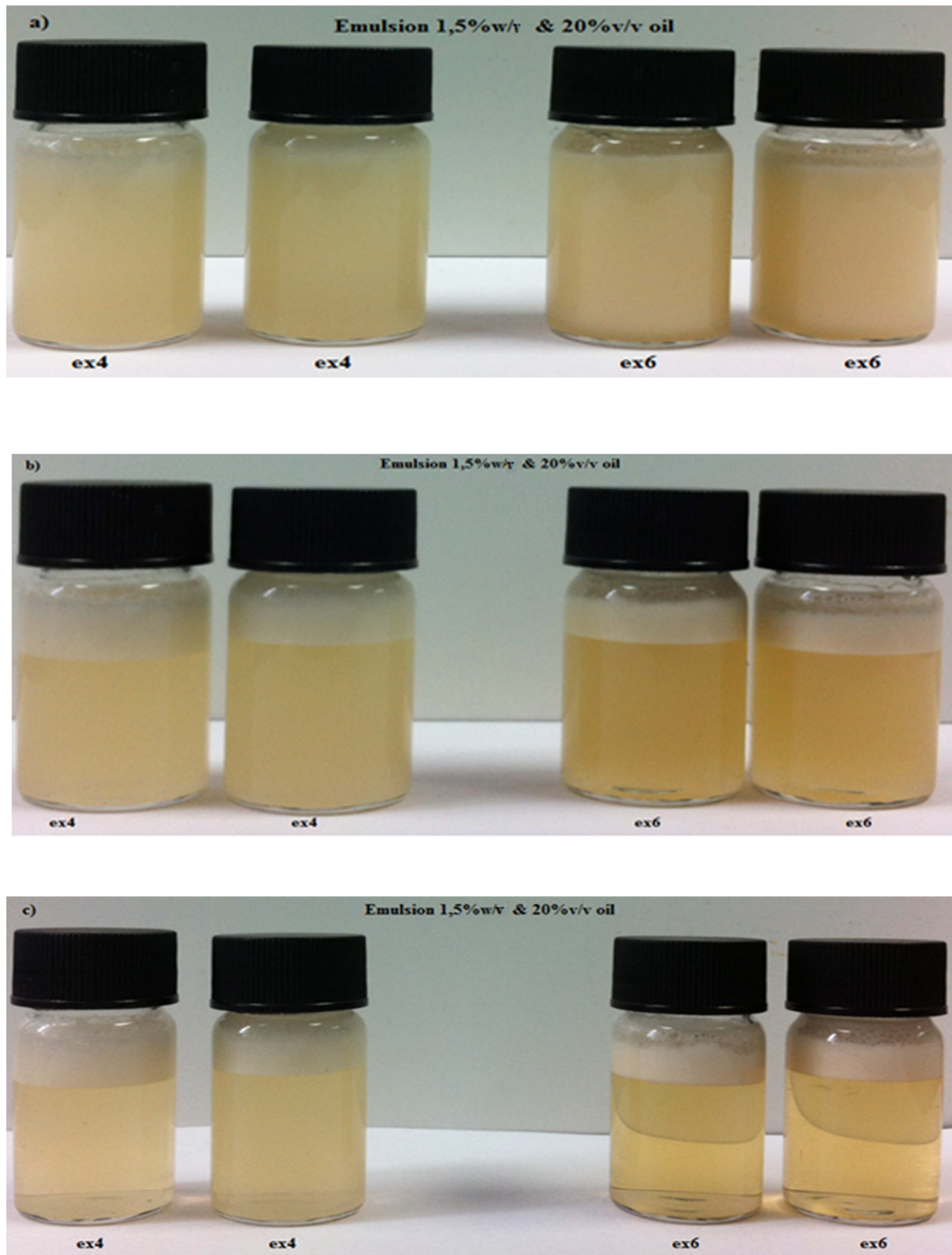
**Σχήμα 14:** Χρόνος αποκορύφωσης των γαλακτωμάτων δεκαεξάνιου με εκχύλισμα μπάμιας ext4 & ext6.

Οι Neiryneck et al.,(2004) προτείνουν δύο είδη μηχανισμών αλληλεπίδρασης των πρωτεϊνών-πολυσακχαριτών. Η πρώτη εκδοχή αναφέρει ένα είδος χημικής αντίδρασης μεταξύ αυτών που έχει σαν αποτέλεσμα των σχηματισμό ενός υβριδικού μορίου όπου τα βιοπολυμεροί είναι μόνιμα ενωμένα με ομοιοπολικούς δεσμούς και δεν επηρεάζονται από αλλαγές θερμοκρασίας και pH, η δεύτερη εκδοχή αναφέρει μια αλληλεπίδραση μη ομοιοπολικής φύσεως, τα οποία συνδέονται με ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις όπου είναι συγκριτικά πιο αδύναμες και αναστρέψιμες με την αλλαγή θερμοκρασίας και pH.

Ο Dickinson,(2011), αναφέρει και αυτός δύο μηχανισμούς απορρόφησης των βιοπολυμερών στη διεπιφάνεια λαδιού-νερού. Ο πρώτος μηχανισμός ισχυρίζεται πως η απορρόφηση αυτών στην διεπιφάνεια, πραγματοποιείται κατά το σχηματισμό των σταγονιδίων του γαλακτώματος ενώ ο δεύτερος μηχανισμός αναφέρει πως πραγματοποιείται μια σύνδεση στη διεπιφάνεια με ένα ήδη υπάρχων βιοπολυμερές στην επιφάνεια των σταγονιδίων. Ο μηχανισμός που υπερτερεί κάθε φορά εξαρτάτε από το πολυμερές, αν είναι επιφανειοδραστικό όπως οι περισσότερες πρωτεΐνες ή μη επιφανειοδραστικό όπως οι περισσότεροι πολυσακχαρίτες. Τυπικά η αρχική στοιβάδα δημιουργείται με απευθείας απορρόφηση ενός οι περισσότερων πρωτεϊνών, ενώ κάθε δευτερογενείς στοιβάδα που αποτελείται είτε από πρωτεΐνες, είτε από πολυσακχαρίτες ενώνεται με την αρχική στοιβάδα μέσω ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων.

Η γαλακτωματοποιητικές ικανότητες των εκχυλισμάτων μπάμιας, θεωρούμε πως στηρίζονται στις παραπάνω θεωρίες, δηλαδή οι πρωτεΐνες που εκχυλίστηκαν σε κάθε μέθοδο απορροφούνται στην επιφάνεια των σταγονιδίων λαδιού σαν επιφανειοδραστικές ουσίες και δημιουργούν γαλάκτωμα το οποίο σταθεροποιείται με την βοήθεια των πηκτινών τα οποία προσδίδουν μεγαλύτερο ιξώδες στη συνεχή φάση και δυσκολεύουν των διαχωρισμό των δύο φάσεων.

Το παραπάνω όμως φαινόμενο εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως το είδος και τις ιδιότητες των πρωτεϊνών και το πολυσακχαριτών για τα οποία όπως έχουμε ήδη αναφέρει δεν γνωρίζουμε πολλά ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά αλλά με τα πειράματα που ακολουθούν έχουμε μια γενική εικόνα της συμπεριφοράς τους στο γαλάκτωμα και έτσι θα εξηγήσουμε την αδύναμη σταθερότητα αυτών των γαλακτωμάτων το οποίο ορίζεται με τον δείκτη αποκορύφωσης όπως υπολογίζεται στον πίνακα 12 το οποίο για το ex4 είναι  $(72,85 \pm 0,50\%)$  και για το ex6 είναι  $(73,4 \pm 0,84\%)$ .



**Σχήμα 15:** Φωτογραφίες από γαλακτώματα α) αμέσως μετά την στιγμή παρασκευής β) μία ώρα μετά και γ) τριάντα μέρες μετά

**Πίνακας 12:** Υπολογισμός δείκτη αποκορύφωσης

Δείγμα	Ύψος διακριτού ορού 1 (cm)	Ύψος διακριτού ορού 2 (cm)	Συνολικό ύψος γαλακτώματος 1 (cm)	Συνολικό ύψος γαλακτώματος 2 (cm)	Δείκτης αποκορύφωσης %
ex4	2,05	2,03	2,8	2,8	72,85±0,50
ex6	1,85	1,82	2,5	2,5	73,4±0,84

### 5.3. Ρεολογική Μελέτη

Τα δείγματα γαλακτώματος 1,5%w/v συνολικού όγκου με 20%v/v λαδιού που παρασκευάστηκαν με τα εκχύλισμα ex4 & ex6 καθώς και τα διαλύματα αυτών συγκεντρώσεως 1,875% υποβλήθηκαν σε ρεολογική μελέτη για διάστημα ενός μηνός, πιο συγκεκριμένα μετρήσαμε την μεταβολή του ιξώδους συναρτήσει του ρυθμού διάτμησης των αρχικών διαλυμάτων συγκέντρωσης 1,875% καθώς και των φρέσκο παρασκευασμένων γαλακτωμάτων, στην συνέχεια μετρήσαμε την μεταβολή του ιξώδους συναρτήσει του ρυθμού διάτμησης την πέμπτη ημέρα, την δέκατη ημέρα, την εικοστή ημέρα και τέλος την τριακοστή ημέρα από την ημέρα παρασκευής τους.

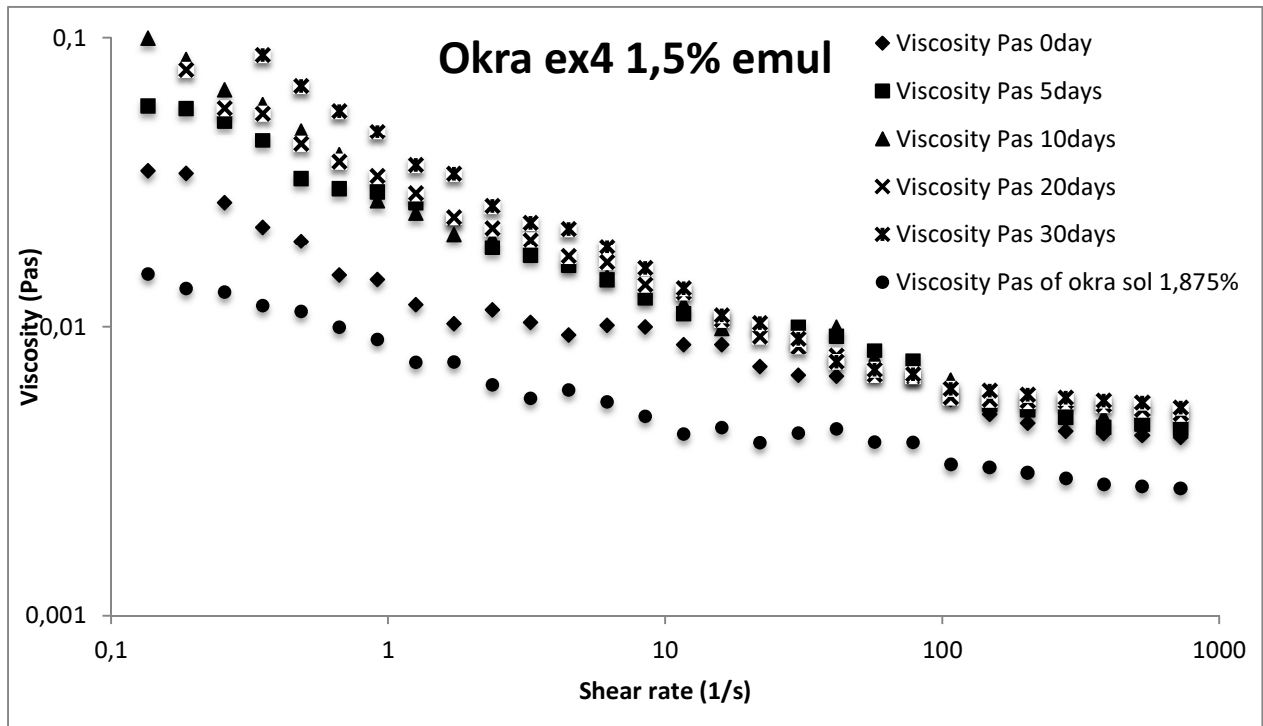
Τα αποτελέσματα των μετρήσεων παρουσιάζονται στα σχήματα 16 και 17 για το ex4 και ex6, αντίστοιχα. Όπως φαίνεται σε όλες τις μετρήσεις και στα δύο δείγματα οι ρεολογική συμπεριφορά είναι ψευδοπλαστική σε όλη την διάρκεια του μήνα, γεγονός το οποίο συμφωνεί με τα αποτελέσματα που είχαν στην δικιά τους έρευνα οι Georgiadis et al.,(2011) ; Kontogiorgos et al.,(2012), σε διαφορετικού τύπου εκχύλισης, των πολυσακχαριτών της μπάμιας σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες του 1%.

Στο σχήμα 16 παρατηρούμε πως το ιξώδες του γαλακτώματος αυξάνει με την πάροδο του χρόνου, γεγονός το οποίο θα έπρεπε να προσδίδει μεγαλύτερη σταθερότητα στο γαλάκτωμα μιας και όπως έχουμε αναφέρει αύξηση του ιξώδους της συνεχούς φάσεις προκαλεί αύξηση της σταθερότητας, ωστόσο όπως παρατηρούμε από τα πειραματικά δεδομένα κάτι τέτοιο δεν ισχύει, μια πιθανή εξήγηση από τους Neiryneck et al.,(2004) για το φαινόμενο αυτό μπορεί να είναι οι αλληλεπιδράσεις των πρωτεϊνών με τους πολυσακχαρίτες, το οποίο οδηγεί σε σημαντική μείωση της διαλυτότητας των πρωτεϊνών, με αποτέλεσμα το ποσοστό τις απορροφημένης πρωτεΐνης στη διπλοστοιβάδα να είναι μειωμένη, το μέγεθος των σταγονιδίων του γαλακτώματος να είναι μεγαλύτερο και η σταθερότητα του γαλακτώματος μειωμένη, παρά το αυξημένο ιξώδες. Τα συμπτώματα αυτά έρχονται σε πλήρη συμφωνία με τα πειραματικά δεδομένα που εμφανίζει το συγκεκριμένο εκχύλισμα στην δικιά μας μελέτη όπως αυτά παρατηρούνται στο σχήμα 18. Όπου είναι εμφανές πως με την πάροδο του χρόνου το μέγεθος των σταγονιδίων αυξάνει. και στο πίνακα 16, παρατηρούμε την μικρή απορρόφηση των πρωτεϊνών στη διεπιφάνεια. Όσο αφορά την αύξηση του ιξώδους του γαλακτώματος σε σχέση με το διάλυμα, πιθανότατα αυτό να οφείλετε στην αύξηση της συγκέντρωσης των πολυσακχαριτών στην συνεχή φάση, με την παράλληλη μείωση του όγκου της συνεχής φάσης, μιας και οι πολυσακχαρίτες δεν διαλύονται στην ασυνεχή φάση.

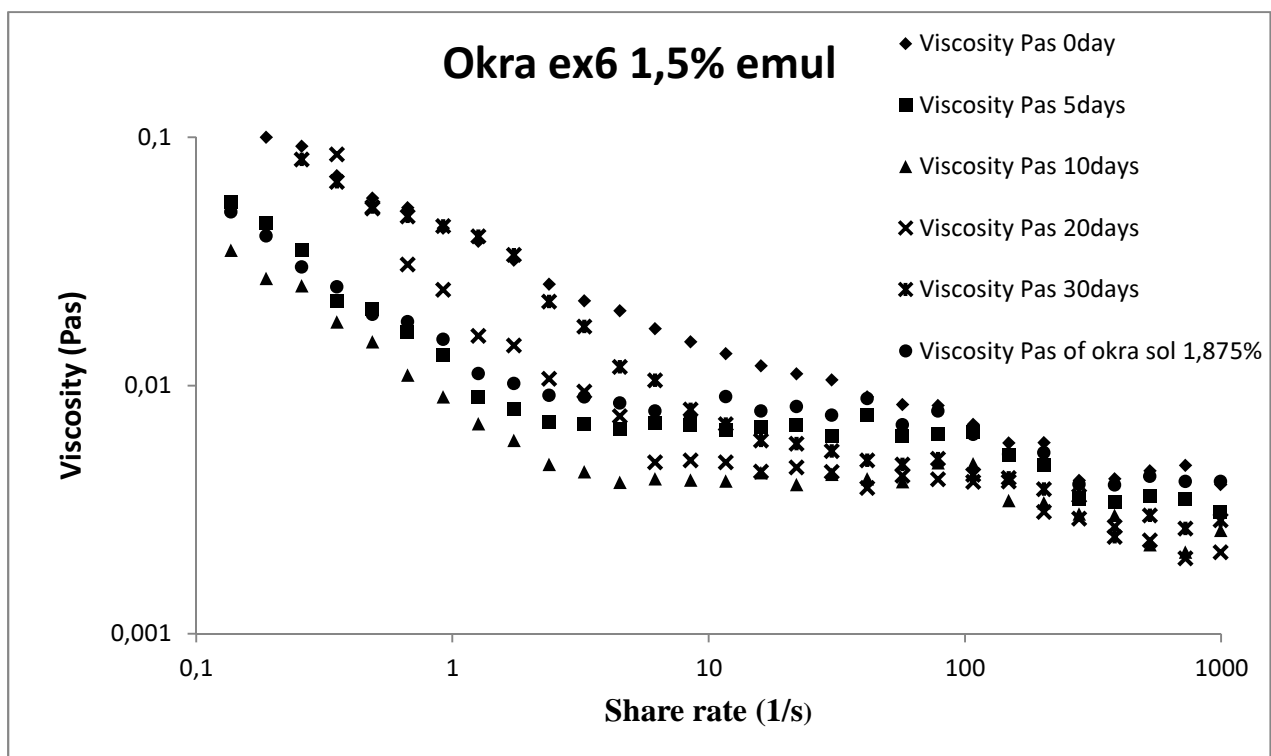
Αντίθετα το ιξώδες του γαλακτώματος με το εκχύλισμα ex6 όπως φαίνεται στο σχήμα 17 παρουσιάζει μια περίεργη συμπεριφορά, πιο αναλυτικά το ιξώδες του γαλακτώματος της πρώτης ημέρας είναι μεγαλύτερο από το αυτό του διαλύματος ex6 σε χαμηλό ρυθμό διάτμησης, ενώ με τη πάροδο του χρόνου (πέμπτη και δέκατη ημέρα) είναι μικρότερο από αυτό και στην συνέχεια (εικοστή και τριακοστή ημέρα) είναι και πάλι μεγαλύτερο. Το περίεργο σε αυτό είναι πως το ιξώδες όπως αναφέραμε και για το ex4 είναι λογικό να αυξάνεται από το διάλυμα στο γαλάκτωμα εξαιτίας της

συμπύκνωσης, αλλά η ενδιάμεση μείωση για να εξηγηθεί με κάποια θεωρία είναι δύσκολο οπότε θα πρέπει να γίνουν περισσότερα πειράματα για να έχουμε μια πιο καθαρή εικόνα του φαινομένου. Σε υψηλό ρυθμό διάτμησης, μόνο το ιξώδες του φρέσκο παρασκευασμένου γαλακτώματος είναι μεγαλύτερο από το ιξώδες του διαλύματος ενώ όλες τις υπόλοιπες μέρες είναι μικρότερο. Το ιξώδες του γαλακτώματος, με την πάροδο του χρόνου αρχικά μειώνεται ενώ στη συνέχεια αυξάνει υπό χαμηλό ρυθμό διάτμησης, από την άλλη σε υψηλό ρυθμό διάτμησης το ιξώδες μειώνεται συνεχώς με την πάροδο του χρόνου.

Η περίπλοκη αυτή συμπεριφορά πιθανότητα να μην εξηγείται με μια μόνο θεωρία. Παρόλα αυτά μια μείωση του ιξώδους της συνεχούς φάσεις με παράλληλη αύξηση του μεγέθους των σταγονιδίων όπως φαίνεται από το σχήμα 19, είναι φυσιολογικό και σύμφωνα με την τους Georgiadis et al.,(2011) που μελέτησαν την γαλακτωματοποιητική ικανότητα άλλων τύπου εκχυλισμάτων μπάμιας, παρατήρησαν πως σε γαλάκτωμα που προστέθηκε ποσότητα εκχυλίσματος υπήρχαν φαινόμενα κροκίδωσης, γεγονός που εξηγεί και την μείωση του ιξώδους και την αύξηση του μεγέθους των σταγονιδίων αλλά και την χαμηλή σταθερότητα του γαλακτώματος.



**Σχήμα 16:** γραφική παράσταση της μεταβολής του ιξώδους συναρτήσει του ρυθμού διάτμησης για το διάλυμα και γαλάκτωμα ex4.



**Σχήμα 17:** γραφική παράσταση της μεταβολής του ιξώδους συναρτήσει του ρυθμού διάτμησης για το διάλυμα και γαλάκτωμα ex6.



#### 5.4. Μέγεθος Σταγονιδίων Στο Γαλάκτωμα

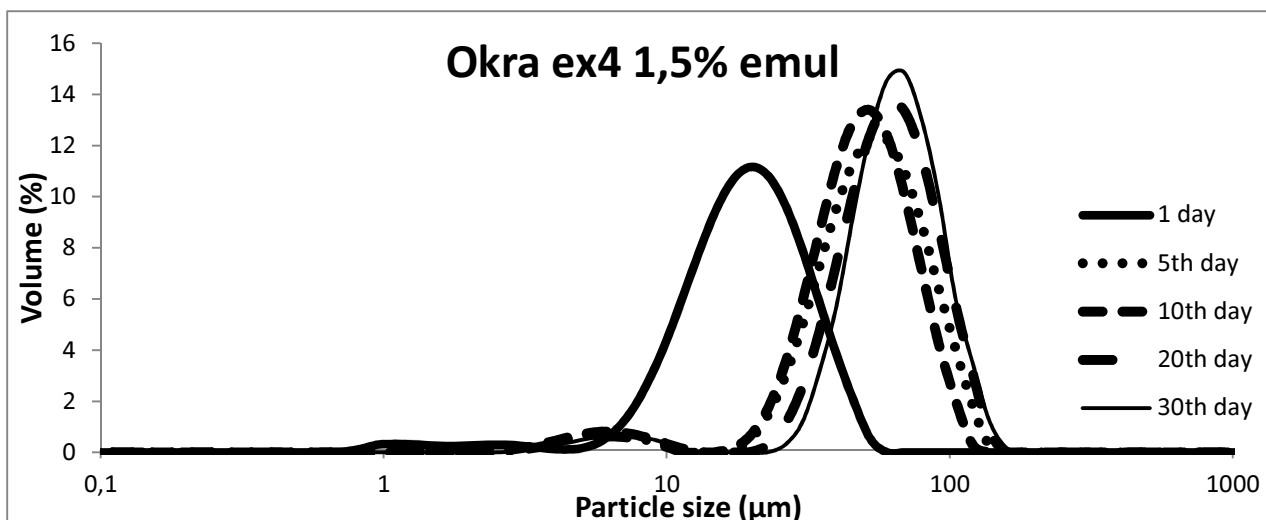
Η μετρήσεις του μεγέθους των σταγονιδίων που έγιναν με την μέθοδο της διαφορικής σκέδασης φωτός σε διάστημα ενός μηνός παρουσιάζονται στο σχήμα 18 για το γαλάκτωμα με εκχύλισμα ex4 και σχήμα 19 για το γαλάκτωμα με εκχύλισμα ex6.

Στα σχήματα αυτά παρατηρούμε πως το μέγεθος των σταγονιδίων του γαλακτώματος με εκχύλισμα ex6 είναι αισθητά μικρότερα σε σχέση με αυτά του γαλακτώματος με εκχύλισμα ex4 σε όλη την διάρκεια του πειράματος, επιπλέον η μεταβολή του μεγέθους των σταγονιδίων για το γαλάκτωμα ex4 κατά τις πρώτες μέρες παραμονής του είναι ιδιαίτερα αυξημένη σε σχέση με την μεταβολή μεγέθους που παρουσίασε το γαλάκτωμα ex6, φαινόμενο που αποδεικνύει την υψηλή κινητική που έχει το σύστημα του ex4 κατά τις πρώτες μέρες παραμονής μέχρι να επέλθει ισορροπία, σε σχέση με το σύστημα του ex6 το οποίο δεν παρουσίασε ραγδαία μεταβολή στο μέγεθος των σταγονιδίων αλλά η μεταβολή πραγματοποιούνταν με σταθερό σχεδόν ρυθμό σε όλη την διάρκεια του μήνα, κάτι το οποίο για το σύστημα του ex4 άρχισε να συμβαίνει μετά την πάροδο πέντε ημερών.

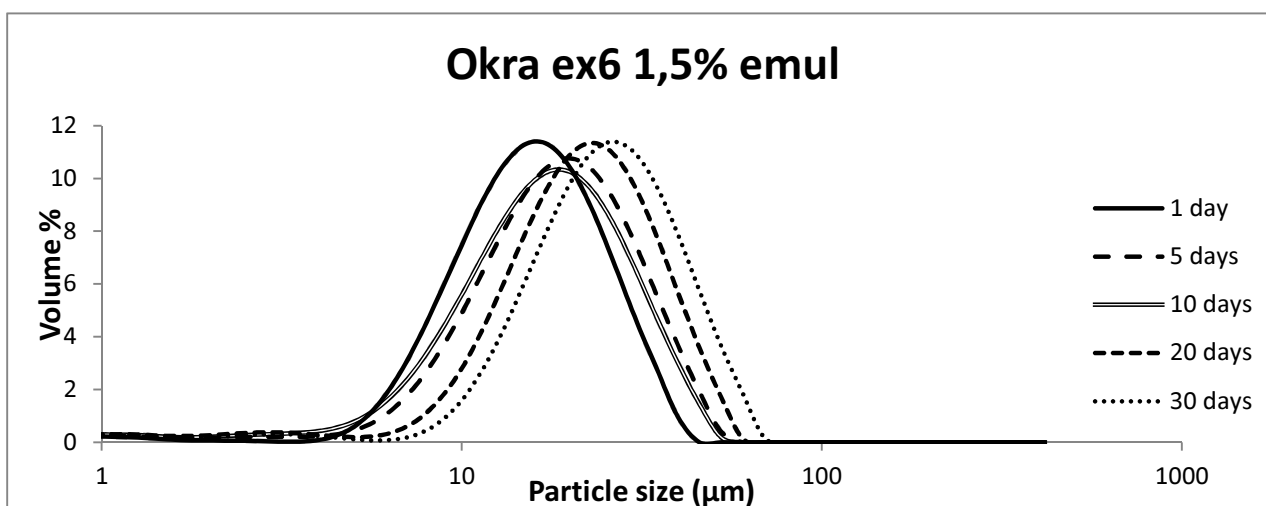
Το μέγεθος των σταγονιδίων που μετρήθηκε κατά την ημέρα μηδέν δηλαδή την ημέρα παρασκευής τους, ήταν όμοιο και για τα δύο είδη γαλακτωμάτων όπως μας δείχνει ο συντελεστής  $d[3,2]$ , ο οποίος για το ex4 ήταν  $d[3,2]= 12,45\pm 0,34$  και για το ex6 ήταν  $d[3,2]= 11,16\pm 0,58$ . Το γεγονός όμως ότι το γαλάκτωμα ex4 παρουσίασε τόσο μεγάλη μεταβολή στο μέγεθος των σωματιδίων σε σχέση με το γαλάκτωμα ex6 κατά τις πρώτες μέρες πιθανός να οφείλεται στο σύνολο ελκτικών δυνάμεων μέσα στο σύστημα που ήταν πιο ισχυρό από το σύνολο των απωστικών δυνάμεων, σύμφωνα με την κλασική θεωρία των (Derjaguin & Landau, 1941; Verwey & Overbeek, 1948).

Επιπλέον επειδή οι γαλακτωματοποιητές που χρησιμοποιήθηκαν ήταν πρωτεϊνικής φύσεως θα πρέπει να λάβουμε υπόψη και διάφορες στερεοχημικές αλληλεπιδράσεις που πιθανός να υπάρχουν ανάμεσα στους βρόγχους και στα ελεύθερα άκρα των πρωτεϊνικών μορίων που είναι προσροφημένα σε διαφορετικά σταγονίδια. Την θεωρία αυτή έρχονται να ενισχύσουν και τα αποτελέσματα των επόμενων μετρήσεων όπου φαίνεται πως η ποσότητα των πρωτεϊνών που απορροφήθηκε στη διεπιφάνεια του γαλακτώματος ex4 είναι μικρή, πιθανός, λόγω εκτεταμένης στερεοχημικής δομής των πρωτεϊνών και αλληλεπίδρασης με τις πηκτίνες, καθώς και ότι το ζ-δυναμικό αν και ελαφρός πιο αρνητικό από το ζ-δυναμικό του ex6 δεν προσέδωσε στο γαλάκτωμα ex4 μεγαλύτερη σταθερότητα από το ex6 λόγω περισσότερων απωστικών δυνάμεων.

Η μεταβολές του μεγέθους των σταγονιδίων και για τα δύο είδη γαλακτωμάτων όπως αυτά εκφράζονται από τους δείκτες  $d[3,2]$  και  $d[4,3]$  για το διάστημα ενός μήνα παρουσιάζονται στο πίνακα 13.



**Σχήμα 18:** Μεταβολή μεγέθους σταγονιδίων του γαλακτώματος με εκχύλισμα ex4 1,5% σε διάστημα ενός μήνα.



**Σχήμα 19:** Μεταβολή μεγέθους σταγονιδίων του γαλακτώματος με εκχύλισμα ex6 1,5% σε διάστημα ενός μήνα.

**Πίνακας 13:** Μεταβολή του D3,2 και D4,3 των γαλακτωμάτων με εκχυλίσματα ex4 και ex6

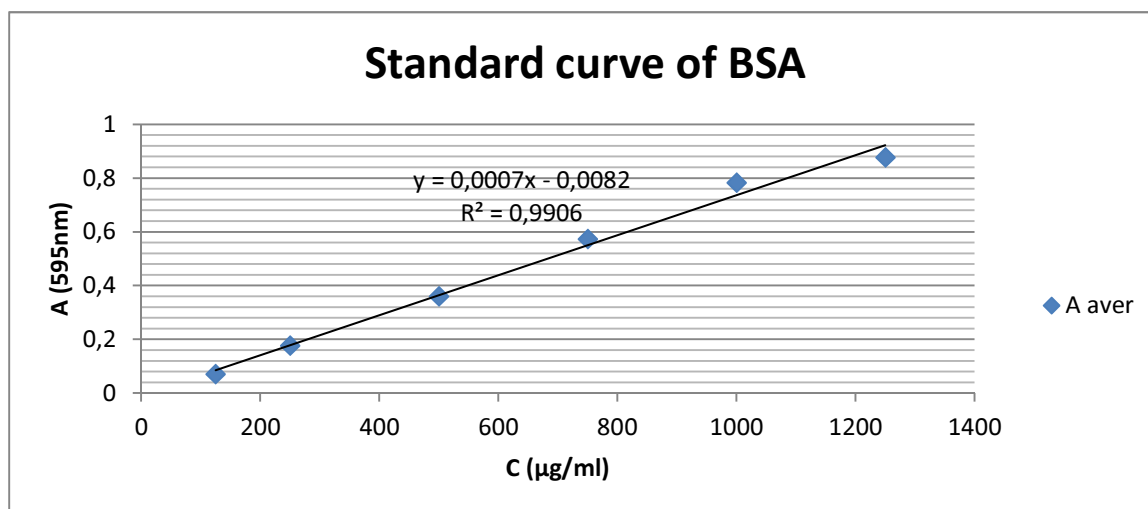
Sample	D3,2	D4,3
<b>extract4</b>		
day 0	12,4505±0,3415	19,478±0,5374
day 5	33,4455±1,2833	51,535±0,9446
day 10	23,5405±10,5535	44,1085±4,4413
day 20	39,027±0,6745	57,6425±1,6723
day 30	41,499±0,1	61,775±0,1
<b>extract6</b>		
day 0	11,1645±0,5833	15,0485±0,7657
day 5	12,4455±0,3783	20,7685±2,9408
day 10	10,79±0,808	20,552±4,3670
day 20	16,35± 4,26	22,608±1,5499
day 30	14,4935±0,8025	25,1215±0,2778

### 5.5. Διεπιφανειακά Απορροφημένη Πρωτεΐνη

Για να μπορέσουμε να εξηγήσουμε με μεγαλύτερη ακρίβεια την αστάθεια του συστήματος των γαλακτωμάτων καθώς και το μεγάλο μέγεθος των σταγονιδίων στο γαλάκτωμα με εκχύλισμα εκ4 πραγματοποιήσαμε μια μέτρηση της ποσότητας της πρωτεΐνης που έχει απορροφηθεί στο διεπιφανειακό στρώμα λαδιού/ύδατος με την μέθοδο BSA όπως περιγράφηκε στο κεφάλαιο 4.6. Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης χρησιμοποιήθηκαν τα δεδομένα του πίνακα 14 και η γραφική παράσταση όπως αυτή προκύπτει παρουσιάζεται στο σχήμα 20.

**Πίνακας 14:** Απορρόφηση του BSA για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης στα 595nm.

C (μg/ml)	A1	A2	A aver
125	0,07	0,07	0,07
250	0,173	0,179	0,176
500	0,361	0,357	0,359
750	0,576	0,569	0,5725
1000	0,787	0,778	0,7825
1250	0,888	0,865	0,8765



**Σχήμα 20:** Πρότυπη καμπύλη του BSA στα 595nm.

Η απορροφήσεις των διαλυμάτων των εκχυλισμάτων παρουσιάζονται στο πίνακα 15, όπως επίσης και οι απορροφήσεις των ορών του γαλακτώματος που έχουν υποστεί φυγοκέντριση, από την διαφορά αυτών υπολογίστηκε η ποσότητα πρωτεΐνης ( $\Gamma$ ) που απορροφήθηκε σε κάθε δείγμα σε ( $\text{mg}/\text{m}^2$ ). Η επιφάνεια υπολογίστηκε με το τύπο  $S (\text{m}^2/\text{ml}) = 6/d[3,2]$  το οποίο ήταν ίδιο με την επιφάνεια που μας έδινε η διαφορική σκέδαση φωτός σε  $\text{m}^2/\text{g}$  το οποίο έπρεπε να πολλαπλασιασθή με την πυκνότητα του δεκαεξανίου για να μετατραπεί σε ( $\text{m}^2/\text{ml}$ ).

**Πίνακας 15:** Απορροφήσεις των διαλυμάτων των εκχυλισμάτων και των ορών του γαλακτώματος στα 595nm.

C (μg/ml)	A1	A2	A3	A aver
Okra ex4	0,033	0,057	0,041	0,0436
Okra ex6	0,091	0,085	0,075	0,0836
Okra ex4 ser	0,05	0,086	0,051	0,0623
Okra ex6 ser	0,112	0,061	0,083	0,0853

Τα αποτελέσματα τις απορρόφησης των πρωτεϊνών σε κάθε δείγμα παρουσιάζονται στο πίνακα 16, όπου παρατηρούμε πως το ex4 έχει μικρότερη απορρόφηση πρωτεϊνών (0,6065 mg/m<sup>2</sup>) από ότι το δείγμα ex6 (1,010 mg/m<sup>2</sup>) γεγονός που εξηγεί γιατί το δείγμα ex4 δεν έχει τόσο μεγάλη σταθερότητα και μικρότερα μεγέθη σταγονιδίων σε σχέση με το ex6, μιας και όπως έχουμε ήδη αναφέρει οι πρωτεΐνες είναι αυτές που παρέχουν την γαλακτωματοποιητική ικανότητα.

Η αιτία που το δείγμα ex4 έχει μικρότερη απορρόφηση εξαρτάται από πολλούς παράγοντες. Οι πιο πιθανές όμως είναι ότι πιθανός το δείγμα ex4 δεν έχει τόσο μεγάλη αρχική ποσότητα πρωτεϊνών όσο το δείγμα ex6, μια μέτρηση της αρχικής ποσότητας πρωτεΐνης που έχει εκχυλιστεί από τις μπάμιες σε κάθε δείγμα θα μπορούσε να μας λύσει αυτήν την απορία αλλά λόγω μικρής ποσότητας αρχικής σκόνης δειγμάτων η ανάλυση αυτή δεν πραγματοποιήθηκε, ακόμα μια ανάλυση του είδους των πρωτεϊνών και των πηκτινών (μοριακό βάρος, δομή) που υπάρχουν στα δείγματα θα μπορούσε να μας εξηγήσει να υπάρχουν στερεοχημικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ αυτών που μειώνουν την διαλυτότητα των πρωτεϊνών με αποτέλεσμα την μειωμένη απορρόφηση είτε όπως αναφέρουν οι Lin et al.,(2011) οι πρωτεΐνες με μεγάλο μοριακό βάρος και σφαιρικής δομής απορροφούνται πολύ δυσκολότερα από ότι οι μικρότερου μοριακού βάρους. Όσον αφορά την σταθερότητα θα ήταν καλύτερα σύμφωνα με τους McClements & Li,(2010) να πραγματοποιούνταν οι ομογενοποίηση μόνο με τις πρωτεΐνες και αργότερα να γινόταν προσθήκη των πολυσακχαριτών ώστε να δημιουργούνται συμπλέγματα με τα ήδη απορροφημένα στην επιφάνεια των σταγονιδίων πρωτεΐνες, κάτι που φυσικά είναι εντελώς θεωρητικό μιας και στην δικιά μας περίπτωση μιλάμε για φυσικό προϊόν το οποίο το κατά την εκχύλιση του με τις διάφορες μεθόδους μπορεί να περάσουν διάφορα συστατικά όπως φυσικά και πρωτεΐνες.

**Πίνακας 16:** Απορροφημένη στην διεπιφάνεια πρωτεΐνη στα γαλακτώματα με εκχύλιση μπάμιας ex4 και ex6.

Sample	Γ (mg/m <sup>2</sup> )	% adsorption
okra ex4	0,6065	33,31
okra ex6	1,01	56,958

Επιπλέον σύμφωνα με τους Neiryneck et al.,(2007) οι ποσότητα τις απορροφημένης πρωτεΐνης εξαρτάται από το pH του διαλύματος, καθώς και από την αναλογία

πρωτεϊνών και πηκτινών στο διάλυμα και κατά τους Guo και Mu,(2011) εκτός των προαναφερθέντων και από την αναλογία λαδιού.

Κρίνοντας όλα τα παραπάνω, το ποσοστό απορρόφησης που είχαμε στα δικά μας δείγματα θεωρούμε πως είναι αρκετά ικανοποιητικό μιας και πολλές έρευνες που μελέτησαν την απορρόφηση πρωτεϊνών σε τρόφιμα με πολύ μεγάλο αρχικό ποσοστό πρωτεϊνών είχαν απορροφήσεις από  $0,2 \text{ mg/m}^2$  έως  $2,5 \text{ mg/m}^2$  πρωτεΐνης σε γαλακτώματα με συμπυκνωμένο ορό γάλακτος και καζεΐνης, κατά τον Aiqian,(2008). Περίπου  $1,8 \text{ mg/m}^2$  έκαστος, πρωτεΐνης σε γαλακτώματα με συμπυκνωμένη πρωτεΐνη ρυζιού σε διάφορα pH και σε γαλακτώματα με γλυκοπατάτα, κατά τους Romero et al.,(2012) και Guo και Mu,(2011), αντίστοιχα, και από  $3,95 \text{ mg/m}^2$  έως  $6,44 \text{ mg/m}^2$  πρωτεΐνης σε γαλακτώματα με κρόκο αυγού κατά τους (Kontogiorgos et al.,2004).

## 5.6. Ζήτα Δυναμικό

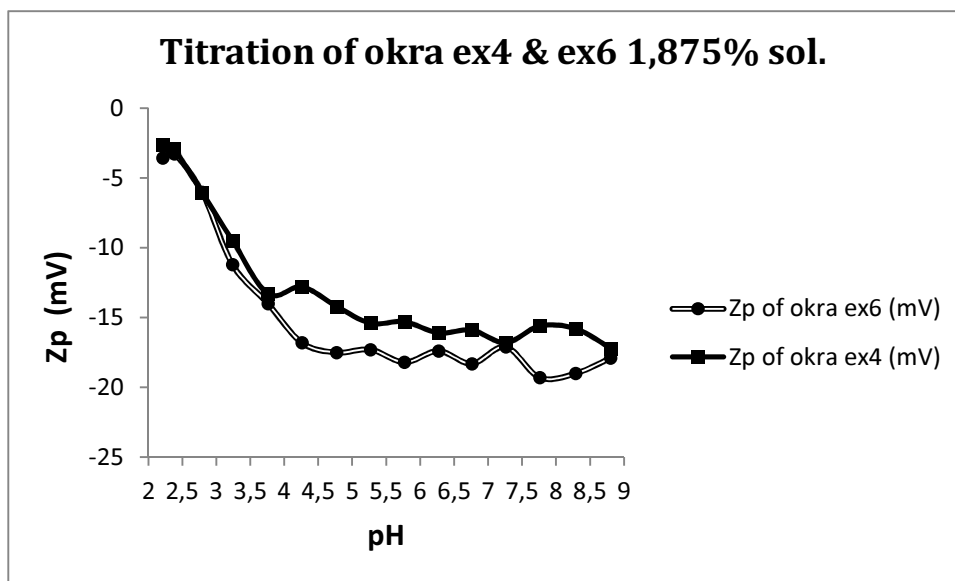
Το ζ-δυναμικό όπως αναφέρθηκε και στο κεφάλαιο 2.3.3.1. είναι ένα μέτρο το οποίο εκφράζει την δύναμη των φορτίων που επικρατούν στο γαλάκτωμα και συσχετίζεται με την σταθερότητα του γαλακτώματος, όπως έχει ήδη αναφερθεί γαλακτώματα που παρουσιάζουν ζ-δυναμικό μεγαλύτερο από  $+30\text{mV}$  ή μικρότερα από  $-30\text{mV}$  θεωρούνται σχετικά σταθερά.

Στο δικό μας πείραμα, τα δείγματα μας σε  $\text{pH}=3,4$  για το ex4 και  $\text{pH}=3.6$  για το ex6, παρουσίασαν ζ-δυναμικό  $-10,6\pm 0,212 \text{ mV}$  και  $-8,35\pm 0,191 \text{ mV}$  αντίστοιχα, την ημέρα παρασκευής τους, γεγονός που δείχνει πως τα μακρομόρια στο γαλάκτωμα είναι ελαφρός αρνητικά φορτισμένα. Παρατηρώντας κάποιος τις τιμές θα έλεγε πως θα περίμενε το γαλάκτωμα με το ex4 να έχει μεγαλύτερη σταθερότητα λόγω πιο αρνητικής τιμής κάτι το οποίο όπως έχουμε αναλύσει δεν αληθεύει διότι ο παράγοντας σταθερότητα δεν εξαρτάτε μόνο από το ζ-δυναμικό. Το σίγουρο όμως είναι πως και τα δύο γαλακτώματα στα συγκεκριμένα pH είναι πολύ μακριά από το  $-30 \text{ mV}$  που θεωρείται το όριο για την σταθερότητα. Όπως φαίνεται και στο πίνακα 17 όπου παρουσιάζεται η μεταβολή του ζ-δυναμικού κατά το διάστημα το ενός μήνα, το δυναμικό αυτό μειώνεται και την τελευταία ημέρα των μετρήσεων (ημέρα 30) για το ex4 είχε τιμή  $-8,99\pm 0,516 \text{ mV}$  και για το ex6 είχε τιμή  $-6,89\pm 0,431 \text{ mV}$ , περίπου  $+1,5 \text{ mV}$  και για τα δύο, φαινόμενο το οποίο είναι απόλυτα λογικό μιας και το μέγεθος των σταγονιδίων αυξάνει και για τα δυο δείγματα μέσα στο διάστημα του μήνα.

Οι μετρήσεις των τιμών του ζ-δυναμικού στα δείγματα μας έρχονται σε συμφωνία με τις μετρήσεις που είχαν πραγματοποιήσει οι Georgiadis et al.,(2011) οι οποίοι είχαν μετρήσει τρία γαλακτώματα με διαφορετικού τύπου εκχυλίσματος δείγματα μπάμιας σε  $\text{pH}=7$  και παρατήρησαν τιμές από  $-6,2 \text{ mV}$  για το εκχύλισμα τύπου DASS,  $-14,3 \text{ mV}$  για το εκχύλισμα τύπου CHSS και  $-21,5 \text{ mV}$  για το εκχύλισμα τύπου HBSS. Όπως φαίνεται από το σχήμα 21, όπου παρουσιάζεται η γραφική παράσταση του ζ-δυναμικού συναρτήσει του pH σε εύρος από 2 έως 9, παρατηρούμε πως και τα δείγματα μας σε  $\text{pH}=7$  έχουν τιμές περίπου  $-17 \text{ mV}$ .

**Πίνακας 17:** Μεταβολή του ζ-δυναμικού κατά το διάστημα το ενός μήνα των γαλακτωμάτων με εκχυλίσματα μπάμιας ex4 και ex6.

Day	ex4 Z-potential (mV)	ex6 Z-potential (mV)
0	-10,6±0,212	-8,35±0,191
5	-10,1±0,170	-8,60±0,219
10	-9,27±0,431	-8,60±0,184
20	-8,17±0,410	-8,48±0,184
30	-8,99±0,516	-6,89±0,431



**Σχήμα 21:** Μεταβολή του ζ-δυναμικού συναρτήσει του pH για τα διαλύματα ex4 και ex6 συγκεντρώσεως 1,875%.

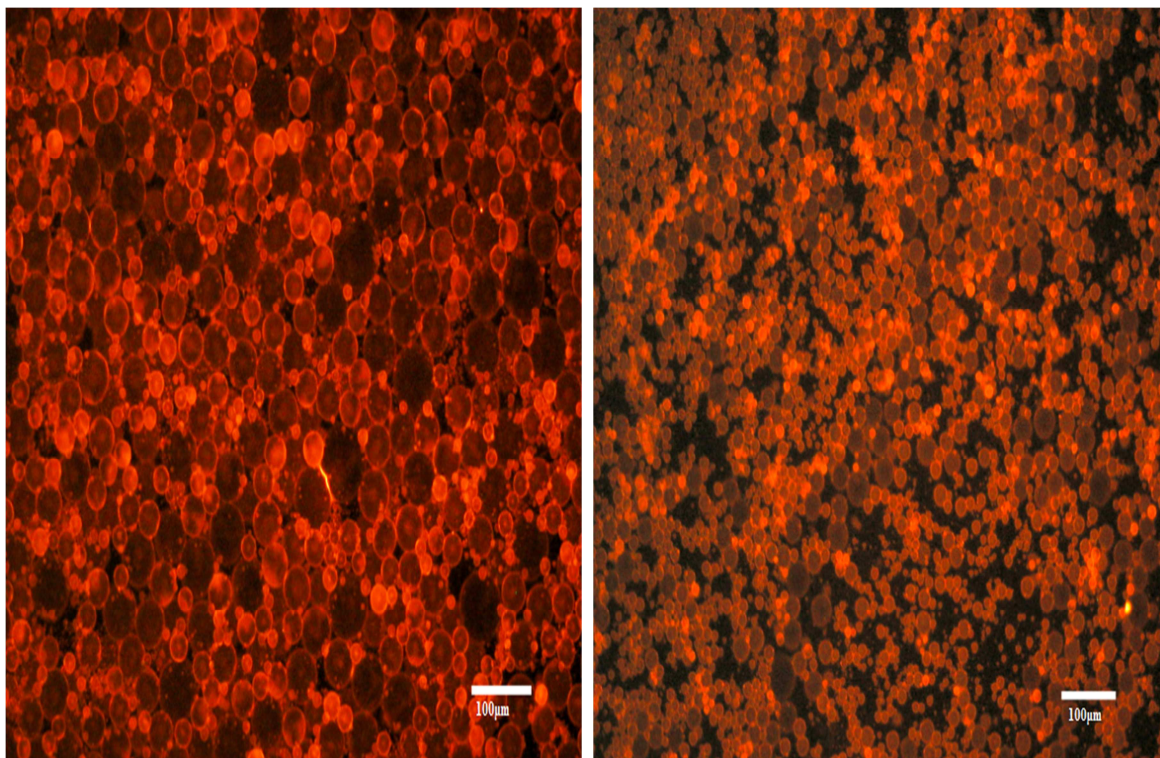
### 5.7. Μικροσκοπία Φθορισμού (Confocal laser scanning microscopy, CLSM)

Στα σχήματα 22 και 23, παρατηρούμε τις φωτογραφίες που πάρθηκαν από το μικροσκόπιο φθορισμού, στα σχήματα αυτά φαίνονται οι περιοχές στην επιφάνεια των σταγονιδίων που είναι καλυμμένα με πρωτεΐνη και εμφανίζονται ως κίτρινες ζώνες περιμετρικά από τις σταγόνες.

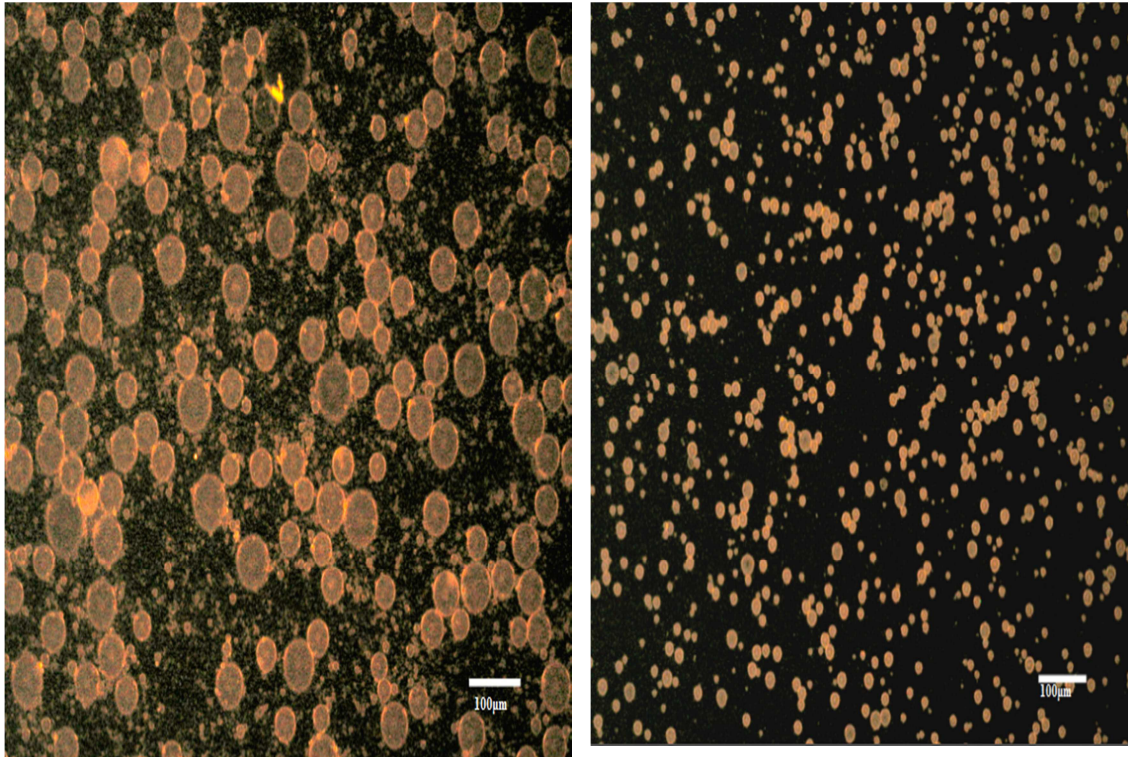
Στο σχήμα 22 όπου παριστάνονται οι φωτογραφίες των γαλακτωμάτων με τα εκχυλίσματα ex4 και ex6 έξι ώρες από την παρασκευή τους παρατηρούμε πως το μέγεθος των σταγονιδίων του γαλακτώματος ex6 είναι εμφανώς μικρότερα από το μέγεθος των σταγονιδίων του γαλακτώματος ex4, γεγονός που έρχεται σε πλήρη τάνυση με τα αποτελέσματα της διαφορικής σκέδασης φωτός, ακόμα παρατηρούμε πως όσο πιο έντονα φθορίζουν τα σταγονίδια τόσο πιο μικρά είναι σε μέγεθος, φαινόμενο το οποίο αποδεικνύει πως στο γαλάκτωμα ex6 υπάρχει μεγαλύτερη

απορρόφηση πρωτεΐνης λόγω μεγαλύτερης επιφάνειας όπως είχαμε ισχυριστεί και στο κεφάλαιο 5.5. Τέλος με τις φωτογραφίες αυτές είναι αρκετά ξεκάθαρο πλέον πως έχουμε φαινόμενα συσσωμάτωσης λόγω αλληλεπιδράσεων μεταξύ των σταγονιδίων φαινόμενο το οποίο όπως έχουμε αναφέρει στα προηγούμενα κεφάλαια επηρεάζει την ρεολογία και εξηγεί την χαμηλή σταθερότητα λόγω χαμηλού ζ-δυναμικού.

Στο σχήμα 23, το φαινόμενο της συσσωμάτωσης είναι ακόμα περισσότερο εμφανές μιας και τα γαλακτώματα είναι αραιωμένα κατά τρεις φορές, ο λόγος που συμβαίνει αυτό πιθανός να οφείλεται σε ανεπαρκείς παρουσία ή απορρόφηση των γαλακτωματοποιητών, δηλαδή των πρωτεϊνών κατά τους Lin et al.,(2011). Η υπόθεση αυτή έρχεται σε ταύτιση με τα αποτελέσματα που πήραμε από την απορρόφηση των πρωτεϊνών στο κεφάλαιο 5.5, όπου παρατηρήσαμε πως η απορρόφηση που είχαμε στα δείγματα μας ήταν χαμηλή. Τέλος στη φωτογραφία για το αραιωμένο γαλάκτωμα με το εκχύλισμα ex4 παρατηρούμε στο κενό χώρο ανάμεσα στα σταγονίδια μια θολούρα που πιθανός να οφείλεται σε κροκιδώματα πρωτεϊνών που δεν απορροφήθηκαν λόγω χαμηλής διαλυτότητας, κάτι το οποίο για το γαλάκτωμα με εκχύλισμα ex6 δεν φαίνεται να συμβαίνει μιας και ο κενός χώρος ανάμεσα στα σταγονίδια είναι καθαρός.



**Σχήμα 22:** Φωτογραφίες από μικροσκόπιο φθορισμού, αριστερά παρουσιάζεται το γαλάκτωμα με το εκχύλισμα ex4 και δεξιά το γαλάκτωμα με το εκχύλισμα ex6. (λευκή μπάρα 100μm)



**Σχήμα 22:** Φωτογραφίες από μικροσκόπιο φθορισμού, αριστερά παρουσιάζεται το αραιωμένο γαλάκτωμα με το εκχύλισμα ex4 και δεξιά το αραιωμένο γαλάκτωμα με το εκχύλισμα ex6. (λευκή μπάρα 100µm)



## 6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Μετά το πέρας όλων των πειραματικών διαδικασιών καταλήξαμε στο συμπέρασμα πως τα συγκεκριμένα εκχύλισματά μπάμιας έχουν κάποια γαλακτωματοποιητική ικανότητα η οποία συγκριτικά με άλλα τρόφιμα υψηλής σε περιεκτικότητα πρωτεΐνες, θεωρείτο μικρή στην συνθήκες που εξετάστηκαν.

Επιπλέον παρατηρήσαμε πως το εκχύλισμα ex4 σε pH=3,4 παράγει γαλάκτωμα με πολύ μεγαλύτερα σταγονίδια και πολύ μικρότερη σταθερότητα σε σχέση με το εκχύλισμα ex6 σε pH=3,6. Ακόμα η ποσότητα πρωτεΐνης που απορροφάται στην επιφάνεια των σταγονιδίων του εκχυλίσματος ex4 είναι και αυτή μικρότερη από το εκχύλισμα ex6 φαινόμενο που δικαιολογεί το μεγάλο μέγεθος σταγονιδίων στο γαλάκτωμα.

Τέλος παρατηρήσαμε πως το ιξώδες των δύο γαλακτωμάτων δεν διαφέρει πολύ, όπως δεν διαφέρει πολύ και το ζ-δυναμικό των γαλακτωμάτων, οι τιμές των οποίων παρατηρήθηκαν να είναι χαμηλές σε σχέση με τα όρια που θα μπορούσαν να προσδώσουν σταθερότητα στα γαλακτώματα. Κοινό φαινόμενο και για τα δύο είδη γαλακτωμάτων ήταν η συσσωμάτωση των σταγονιδίων λόγω χαμηλών αποθητικών δυνάμεων και ισχυρών αλληλεπιδράσεων μεταξύ αυτών. Φαινόμενο που δεν παρατηρήθηκε στο γαλάκτωμα με το εκχύλισμα ex6 παρά μόνο στο γαλάκτωμα με το εκχύλισμα ex4 ήταν η κροκιδωση των πρωτεϊνών με αποτέλεσμα την μείωση της διαλυτότητας και απορροφητικότητας αυτών.

## ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

Ολοκληρώνοντας την παρούσα πτυχιακή εργασία θα θέλαμε να αναφερθούμε σε κάποιες μελλοντικές έρευνες οι οποίες θα βοηθούσαν είτε στην καλύτερη κατανόηση και επεξήγηση της αστάθειας των γαλακτωμάτων με εκχυλίσματα μπάμιας είτε θα ερευνούσαν διάφορες μεθόδους βελτίωσης της σταθερότητας.

Αρχικά θα ήταν καλό αν γινόταν μια ανάλυση της αρχικής ποσότητας των πρωτεϊνών που υπάρχουν στα εκχυλίσματα, καθώς και μελέτη του μοριακού τους βάρους, της δομής και των ιδιοτήτων τους. Το ίδιο θα πρέπει να γίνει και για τους πολυσακχαρίτες των εκχυλισμάτων.

Επιπλέον, θα ήταν καλό αν γινόταν μια μέτρηση των πηκτινών που έχουν απορροφηθεί στην επιφάνεια των πρωτεϊνών τα οποία είναι ήδη απορροφημένα στην διεπιφάνεια, ακόμα περισσότερο θα βοηθούσε η μελέτη της δομής των πρωτεϊνών στην διεπιφάνεια.

Μετάπειτα, θα μπορούσε να γίνει μια μελέτη για τις αλληλεπιδράσεις που υπάρχουν μεταξύ των πρωτεϊνών και των πηκτινών και πως αυτό επηρεάζει την διαλυτότητα και την προσροφητικότητα των πρωτεϊνών στην διεπιφάνεια.

Τέλος θα ήταν καλό να μελετηθεί η γαλακτωματοποιητική ικανότητα των εκχυλισμάτων σε διάφορες τιμές pH, όπως ακόμα η προσθήκη διαφόρων αλάτων στα γαλακτώματα.

## 7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Adelakun O.E., O.J. Oyeladea, B.I.O. Ade-Omowaye, I.A. Adeyemia, M. Van de Venterb. (2009). Chemical composition and the antioxidative properties of nigerian okra seed (*Abelmoschus esculentus* Moench) Flour. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 1123–1126.
2. Adetuyi F.O., A.U. Osagie, A.T. Adekunle.(2011). Nutrient, antinutrient, mineral and zinc bioavailability of okra *Abelmoschus esculentus* (L) Moench Variety. *American journal of food and nutrition*, 1, 49-54.
3. Aiqian Ye. (2008). Interfacial composition and stability of emulsions made with mixtures of commercial sodium caseinate and whey protein concentrate. *Food Chemistry*, 110, 946–952
4. Alberto Romeroa, Valérie Beaumalb, Elisabeth David-Briandb, Felipe Cordobesa, Antonio Guerreroa, Marc Anton. (2012). Interfacial and emulsifying behaviour of rice protein concentrate. *Food Hydrocolloids*, 29, 1-8.
5. Anuradha Mishra, James H. Clark, Sunita Pal.(2008). Modification of Okra mucilage with acrylamide: Synthesis, characterization and swelling behavior. *Carbohydrate Polymers*, 72, 608–615.
6. Baoru Yin, Wei Deng, Keke Xu, Luwen Huang, Ping Yao. (2012). Stable nano-sized emulsion produced from soy protein and soy polysaccharide complexes. *Journal of Colloids and Interface Science*, 380, 51-59.
7. Barnes H.A., J.F. Hutton, K. Walters.(1989). An introduction to rheology. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, 32, 331-333. Stephen E. Harding. (1997). The intrinsic viscosity of biological macromolecules. Progress in measurement, interpretation and application to structure in dilute solution. *Prog. Biophys. molec. Biol*, 68, 207-262.
8. Belitz D.H., Grosch W., Schieberle P., (2006). Χημεία τροφίμων, 3η Έκδοση, Εκδόσεις Τζιόλα, Θεσσαλονίκη.
9. Bergenstahl, B. A., & Claesson, P. M. (1990). Surface forces in emulsions. In K. Lason & S. E. Friberg (Eds.), *Food emulsions*, 2. P. Publ. Marcel Dekker. New York. pp. 41–96.
10. Chin-Ming Chen, Chun-Hsiung Lu, Chien-Hsiang Chang, Yu-Min Yang, Jer-Ru Maa.(2000). Influence of pH on the stability of oil-in-water emulsions stabilized by a splittable surfactant. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 170, 173-179.
11. Costantino A.J., J.E. Romanchik-Cerpovicz.(2004). Physical and sensory measures indicate moderate fat replacement in frozen dairy dessert is feasible using okra gum as a milk-fat ingredient substitute. *Journal of the American dietetic association*, 104, 44
12. Darby Ron. (1996). *Chemical engineering fluid mechanics*. P. Publ. Marcel Dekker. New York
13. David Julian McClements, Yan Li. (2010). Structured emulsion-based delivery systems: Controlling the digestion and release of lipophilic food components. *Advances in Colloid and Interface Science*, 159, 213–228
14. Derjaguin, B.V. and Landau, L.D. (1941). Theory of molecular interaction. *Acta Physico-chim. URSS*, 14, 633-645
15. Dickinson, E, & Galazka, V. B.,(1991). Emulsion stabilization by ionic and covalent complexes of  $\beta$ - lactoglobulin with polysaccharides. *Food Hydrocolloids*, 5, 281-296.
16. Dickinson, E. (1992). *An Introduction to Food Colloids*. Oxford University

Press, Oxford.

17. Dukhin S. and J. Sjoblom. (1996). Kinetics of Brownian and gravitational coagulations in dilute emulsions, in emulsions and emulsions stability. P. Publ. Marcel Dekker. New York. 41-180.
18. Georgiadis N., C. Ritzoulis, G. Sioura, P. Kornezou, C. Vasiliadou, C. Tsiptsias. (2011). Contribution of okra extracts to the stability and rheology of oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*, 25, 991-999.
19. Guo Q., T.H. Mu. (2011). Emulsifying properties of sweet potato protein: Effect of protein concentration and oil volume fraction. *Food Hydrocolloids*, 25, 98-106
20. Hussain Al-Wandawi. (1983). Chemical composition of seeds of two okra cultivars. *J. Agric. Food Chem*, 31, 1358-1360.
21. Jennifer M. Ames, Glesni Macleod. (1990). Volatile components of okra. *Phytochemistry*, 29, 1201-1207.
22. Joelle E. Romanchic- Cerpovicz, Ranelda W. Tilmon, Karen A. Baldree. (2002). Moisture retention and consumer acceptability of chocolate bar cookies prepared with okra gum as a fat ingredient substitute. *Journal of the American dietetic association*, 102, 1301-1303.
23. Joelle E. Romanchik-Cerpovicz, Amanda C. Costantino, Laura H. Gunn. (2006). *Journal of the American dietetic association*, 106, 594-597.
24. Kar F., Arslan N., (1999). Effect of temperature and concentration on viscosity of orange peel pectin solutions and intrinsic viscosity–molecular weight relationship. *Carbohydrate Polymers*, 40, 277–284.
25. Karakoltsidis, P. A., Constantinides, S. M. (1975). Okra seed: A new protein source. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 23, 1204–1207.
26. Kontogiorgos V., Biliaderis C.G., Kiosseoglou V., Doxastakis G., (2004). Stability and rheology of egg-yolk-stabilised concentrated emulsion containing cereal  $\beta$ -glucans of varying molecular size. *Food Hydrocolloids*, 18, 987-998.
27. Kontogiorgos V., I. Margelou, N. Georgiadis, C. Ritzoulis. (2012). Rheological characterization of okra pectins. *Food Hydrocolloids*, 29, 356-362.
28. Lengsfeld C., Titgemeyer F., Faller G, Hensel A. (2004b). Glycosylated compounds from okra inhibit adhesion of *Helicobacter pylori* to human gastric mucosa. *J. Agric. Food Chem*. 52, 1495-1503.
29. Lin Chen, Jianshe Chen, Jiaoyan Ren, Mouming Zhao. (2011). Modification of soy protein isolates using combined extrusion pre-treatment and controlled enzymatic hydrolysis for improved emulsifying properties. *Food Hydrocolloids*, 25, 887-897.
30. Lissant, Kenneth J. (1974). Emulsions and emulsion technology. P. Publ. Marcel Dekker. New York
31. Markwell Mary Ann K., Hass Susanne M., Bieber L., Tolbert N.E., (1978). A modification of the lowry procedure to simplify protein determination in membrane and lipoprotein samples. *Analytical Biochemistry*, 87, 206-210.
32. Marshall L. Fishman, David T. Gillespie, Scott M. Sondey, Yehia S. El-Atawy, (1991). Intrinsic viscosity and molecular weight of pectin components. *Carbohydrate Research*, 215, 91-104.
33. Masashi Tomoda, Kazuyo Shimada, Yuko Saito, Michiko Sugi. (1980). Plant mucilages. Isolation and structural features of mucilage, okra mucilage F, from the immature fruits of *Abelmoschus esculentus*. *Chem. Pharm. Bull*, 28, 2933-2940.

34. Melik, D.H. & Fogler, H.S. (1988). Fundamentals of Colloidal Stability in Quiescent Media. Encyclopedia of Emulsion Technology vol. 3. Ed. Becher, P. Publ. Marcel Dekker. New York. pp. 3-78.
35. Ndjouenkeu R., F.M. Goycoolea, E.R. Morrisav, J.O. Akingbala. (1996). Rheology of okra (*Hibiscus esculentus* L.) and dika nut (*Irvingia gabonensis*) polysaccharides. *Carbohydrate polymers*, 29, 263-269.
36. Neiryneck N., P. Van der Meeren, M. Lukaszewicz-Lausecker, J. Cocquyt, D.Verbeke, K. Dewettinck. (2007). Influence of pH and biopolymer ratio on whey protein-pectin interaction in aqueous solutions and in o/w emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 298,99-107.
37. Neiryneck N., P. Van der Meeren, S. Bayarri Gorbe, S. Dierckx, K. Dewettinck. (2004). Improved emulsion stabilizing of whey protein isolate by conjugation with pectins. *Food Hydrocolloids*, 18, 949-957.
38. Nipaporn Sengkhampan, Edwin J. Bakx, René Verhoef, Henk A. Schols, Tanaboon Sajjaanantakul, Alphons G. J. Voragen. (2009b). Okra pectin contains an unusual substitution of its rhamnosyl residues with acetyl and alpha-linked galactosyl groups. *Carbohydrate Research*, 344, 1842–1851.
39. Nipaporn Sengkhampan, Leonard M.C. Sagis, Renko de Vries, Henk A. Schols, Tanaboon Sajjaanantakul, Alphons G.J. Voragen.(2010). Physicochemical properties of pectins from okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench). *Food Hydrocolloids*, 24, 35–41.
40. Nipaporn Sengkhampan, René Verhoef, Henk A. Schols, Tanaboon Sajjaanantakul, Alphons G. J. Voragen.(2009a). Characterisation of cell wall polysaccharides from okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench). *Carbohydrate Research*, 344, 1824–1832.
41. Oyebiodun G. Longe, B. L. Fetuga, M. E. Aken'ova. (1982). Changes in the composition and carbohydrate constituents of okra (*Abelmoschus Esculentus*, Linn.) with age. *Food Chemistry*, 8, 27-32.
42. P. Udayasekhara Rao.(1985). Chemical composition and biological evaluation of Okra (*Hibiscus esculentus*) seeds and their kernels. *Qual Plant Plant Foods Hum Nutr*, 35, 389-396.
43. Paul A. Savello, Franklin W. Martin, John M. Hill.(1980). Nutritional composition of okra seed meal. *J. Agric. Food Chem*, 28, 1166-1169.
44. Rivas H.J. & Sherman P., (1984). Soy and meat proteins as emulsion stabilizers. The stability and interfacial rheology of o/w emulsion stabilized by soy and meat protein fractions. *Colloids and surfaces*, 11,155-177.
45. Sedat Calisir, Musa Ozcan, Haydar Haciseferogulları, M. Ugur Yildiz. (2005). A study on some physico-chemical properties of Turkey okra (*Hibiscus esculenta* L.) seeds. *Journal of Food Engineering*, 68, 73–78.
46. Steffe, James F. (1996). Rheological methods in food process engineering. P. Publ. Freeman Press, East Lansing, Michigan, 2nd edition.
47. Tanglertpaibul, T., & Rao, M. A. (1987). Intrinsic viscosity of tomato serum as affected by methods of determination and methods of processing concentrates. *Journal of Food Science*, 52, 1642–1645.
48. Tanushree Tokle, David Julian McClements. (2011). Physicochemical properties of lactoferrin stabilized oil-in-water emulsions: Effects of pH, salt and heating. *Food Hydrocolloids*, 25, 976-982.
49. Verwey E.J.W. and Overbeek J.T.G. (1948). Theory of the Stability of Lyophobic Colloids. Elsevier, Amsterdam, 205 pp
50. Victoria A. Jideani, Bedan M. Bello. (2009). Functional properties of okra

protein products containing different levels of mucilage. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 7, 252-255.

51. Παναγιώτου Κωνσταντίνος.(1998). Διεπιφανειακά φαινόμενα και κολλοειδή συστήματα. Θεσσαλονίκη, Ζήτη, 2<sup>η</sup> έκδοση.