



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ
ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΔΙΕΡΓΑΣΙΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΝΑΝΟΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΑ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΟ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ
ΚΑΙ
ΕΝΣΩΜΑΤΩΣΗ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Μαρία Κατσούλη

Επιβλέπουσα καθηγήτρια:
Κωνσταντίνα Τζιά, Καθηγήτρια ΕΜΠ

Αθήνα, Μάρτιος 2015

Αντικείμενο αυτής της διπλωματικής εργασίας είναι η παρασκευή και η μελέτη των φυσικών ιδιοτήτων των w/o νανογαλακτωμάτων με βάση το ελαιόλαδο με ενσωμάτωση ενδογενών συστατικών του ελαιόλαδου (γαλλικό οξύ, καφεϊκό οξύ, βανιλικό οξύ, ασκορβικό οξύ, συριγγικό οξύ και κερσετίνη) με αμφιφιλικό χαρακτήρα, χρησιμοποιώντας μη-ιονικούς γαλακτωματοποιητές (Tween 20 και Tween 40) και χωρίς την προσθήκη συν-επιφανειοδραστικής ουσίας. Πιο συγκεκριμένα κατασκευάστηκαν τριαδικά μίγματα, προκειμένου να μελετηθούν οι ιδιότητές τους. Οι ιδιότητες των νανογαλακτωμάτων που εξετάστηκαν ήταν το ιξώδες, το χρώμα, η θολότητα, η μέση διάμετρος σταγονιδίων, ο δείκτης πολυδιασποράς, ο δείκτης διάθλασης, ο δείκτης σταθερότητας και η επιφανειακή τάση των διαλυμάτων νερού/βιοδραστικού συστατικού.

Αρχικά γίνεται μία εισαγωγή στις έννοιες των γαλακτωμάτων, και παρουσιάζεται ο διαχωρισμός μεταξύ μικρο- και νανογαλακτωμάτων. Στη συνέχεια αναφέρονται γενικές πληροφορίες πάνω στους γαλακτωματοποιητές, ενώ παρουσιάζονται εκτενέστερα οι φυσικές και οι λειτουργικές ιδιότητες των γαλακτωμάτων. Κατόπιν γίνεται εμβάθυνση στους μηχανισμούς αποσταθεροποίησης και στα συστατικά των γαλακτωμάτων. Στη συνέχεια παρουσιάζονται αναλυτικά οι τεχνικές παρασκευής γαλακτωμάτων και γίνεται ο διαχωρισμός τους ανάλογα με το επιθυμητό τελικό γαλάκτωμα που θα παρασκευασθεί. Επιπλέον, αναλύονται τα φυσικά συστατικά του ελαιόλαδου και γίνεται πιο εκτενής αναφορά στα βιοδραστικά συστατικά του. Γίνεται λεπτομερής αναφορά στις ιδιότητες των ενδογενών συστατικών του ελαιόλαδου και τα οφέλη τους στην υγεία του ανθρώπου. Τέλος, δίνονται γενικές πληροφορίες για την ενσωμάτωση βιοδραστικών συστατικών του ελαιόλαδου στα γαλακτώματα και την ευεργετική τους δράση στις ιδιότητες των νανογαλακτωμάτων.

Κατά την πειραματική επεξεργασία, κατασκευάστηκαν διαγράμματα φάσης (έλαιο-νερό-γαλακτωματοποιητής) όπου παρουσιάζονται τα σταθερά νανογαλακτώματα προκειμένου να προσδιοριστεί η γαλακτωματοποιητική ικανότητα του κάθε ενδογενούς συστατικού και γαλακτωματοποιητή. Έπειτα παρασκευάστηκαν νανογαλακτώματα με και χωρίς προσθήκη γαλακτωματοποιητών στις επιτρεπόμενες αναλογίες όπως καθορίστηκαν από τα διαγράμματα φάσης και επεξεργάστηκαν τα δεδομένα που προέκυψαν από τον προσδιορισμό των ιδιοτήτων τους. Τέλος, μελετήθηκε η επίδραση στις προαναφερόμενες ιδιότητες των γαλακτωμάτων από το κάθε ενδογενές συστατικό, το είδος και τη συγκέντρωση του γαλακτωματοποιητή.

Από την παρούσα εργασία προέκυψε ότι είναι εφικτή η παρασκευή σταθερών w/o νανογαλακτωμάτων με βάση το ελαιόλαδο με ενσωμάτωση βιοδραστικών συστατικών του ελαιόλαδου με αμφιφιλικό χαρακτήρα, χρησιμοποιώντας μη-ιονικούς γαλακτωματοποιητές και χωρίς την προσθήκη συν-επιφανειοδραστικής ουσίας. Από τα διαγράμματα φάσης προέκυψε επίσης ότι η συγκέντρωση του γαλακτωματοποιητή πρέπει γενικώς να είναι υψηλή. Η προσθήκη ενδογενών βιοδραστικών συστατικών του ελαιόλαδου σε κάθε περίπτωση είχε θετική επίδραση στη δυνατότητα παρασκευής νανογαλακτώματος. Εξαιρεση αποτελεί ο συνδυασμός του γαλακτωματοποιητή Tween 40 με την κερσετίνη. Η προσθήκη κερσετίνης επέδρασε αρνητικά στη γαλακτωματοποιητική ικανότητα του γαλακτωματοποιητή. Από τη μελέτη των ιδιοτήτων των νανογαλακτωμάτων αποδείχθηκε ότι η σταθερότητα των γαλακτωμάτων ενισχύεται με την προσθήκη ενδογενών συστατικών του ελαιόλαδου, ενώ η μεγαλύτερη αναλογία υδατικής φάσης μειώνει τη σταθερότητα των νανογαλακτωμάτων. Με τον γαλακτωματοποιητή Tween 20 παρασκευάστηκαν σταθερότερα νανογαλακτώματα, ενώ το βανιλικό και το γαλλικό οξύ ενίσχυσαν τη σταθερότητά τους επιπλέον. Γενικά η προσθήκη ενδογενών συστατικών του ελαιόλαδου επηρέασε θετικά τις ιδιότητες των νανογαλακτωμάτων. Τα νανογαλακτώματα με ενσωματωμένο ασκορβικό οξύ είχαν τις μικρότερες τιμές δείκτη πολυδιασποράς (PDI) και μέσης διαμέτρου σταγονιδίων (MD). Οι τιμές της θολότητας, του ιξώδους, του δείκτη διάθλασης, του

δείκτη χρώματος E, και των παραγόντων L, α και β επηρεάστηκαν από το είδος και την αναλογία του γαλακτωματοποιητή και το είδος και την αναλογία του βιοδραστικού. Τέλος, αποδείχθηκε ότι τα βιοδραστικά συστατικά επηρεάζουν και την επιφανειακή τάση νερού/αέρα, καθώς η προσθήκη βιοδραστικών συστατικών μείωσε την τιμή της επιφανειακής τάσης της υδατικής φάσης και του αέρα.

Ευχαριστίες

Στο πλαίσιο της παρούσας διπλωματικής εργασίας θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την κα. Κωνσταντίνα Τζιά, Καθηγήτρια ΕΜΠ για την επιστημονική και ηθική υποστήριξη καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της διπλωματικής εργασίας όσο και κατά τη διάρκεια των σπουδών μου.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω την υποψήφια διδάκτορα Βασιλική Πολυχινιάτου για την πολύτιμη βοήθεια και τις γνώσεις που μου παρείχε, καθώς και τη Βιργινία Γιάννου για τις πολύτιμες συμβουλές της.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την εταιρεία MINEPBA για την παροχή πρώτων υλών.

Κεφάλαιο 1 Γαλακτώματα-νανογλακτώματα	11
1.1 Εισαγωγή.....	11
1.2 Μικρο/νανο - γαλακτώματα	12
1.2.1 Μικρογαλακτώματα.....	12
1.2.2 Νανογαλακτώματα - Φυσικές Ιδιότητες.....	13
1.2.3 Σχηματισμός νανογαλακτωμάτων.....	14
1.2.4 Τεχνικές σχηματισμού νανογαλακτωμάτων.....	15
1.3 Συστατικά γαλακτωμάτων.....	16
1.3.1 Υδατική φάση.....	17
1.3.2 Λιπαρή φάση.....	17
1.3.3 Γαλακτωματοποιητές.....	18
1.3.3.1 Πρωτεΐνες.....	19
1.3.3.2 Μικρά-μόρια γαλακτωματοποιητών.....	20
1.3.3.3 Λεκιθίνη.....	24
1.3.3.4 Μονογλυκερίδια και διγλυκερίδια.....	25
1.3.3.5 Υδροξυ - καρβοξυλικά και εστέρες λιπαρών οξέων.....	27
1.3.3.6 Γαλακτυλιωμένοι εστέρες λιπαρών οξέων.....	28
1.3.3.7 Πολυγλυκερικοί εστέρες λιπαρών οξέων.....	28
1.3.3.8 Εστέρες λιπαρών οξέων πολυαιθυλενικής ή προπυλενικής γλυκερόλης.....	29
1.3.3.9 Αιθοξυλιωμένα παράγωγα μονογλυκεριδίων.....	29
1.3.3.10 Εστέρες σορβιτόλης με λιπαρά οξέα.....	30
1.3.3.11 Ετερογενή παράγωγα.....	31
1.3.3.12 Σταθεροποιητές.....	31
1.3.3.13 Διάφορα συστατικά.....	32
1.4 Μέθοδοι παρασκευής	32
1.4.1 Ομογενοποιητής υψηλής ταχύτητας.....	33
1.4.2 Περιστροφικοί αναδευτήρες (rotor-stator).....	34
1.4.3 Κολλοειδείς μύλοι.....	34
1.4.4 Σφαιρικοί μύλοι/Μύλοι διασποράς (Balls Mills/ Dispersion Mills).....	35
1.4.5 Ομογενοποιητές πίεσης	35
1.4.6 Συστήματα υψηλής πίεσης.....	36
1.4.7 Συστήματα υπερήχων.....	37
1.4.8 Μεμβράνες Γαλακτωματοποίησης.....	38
1.4.9 Μικρορευστοποιητής.....	39
1.4.10 Σύγκριση των συστημάτων γαλακτωματοποίησης.....	40
1.5 Ιδιότητες γαλακτωμάτων.....	43
1.6 Σταθερότητα γαλακτωμάτων.....	49
1.6.1 Θερμοδυναμική σταθερότητα.....	49
1.6.2 Κινητική σταθερότητα.....	51
Κεφάλαιο 2 Ελαιόλαδο και φαινολικές ενώσεις του ελαιόλαδου.....	53
2.1 Εισαγωγή.....	53
2.1.2 Ελαιόλαδο –Παρθένο ελαιόλαδο.....	54
2.1.3 Παρθένο ελαιόλαδο ως λειτουργικό τρόφιμο.....	54
2.1.4 Το ελαιόλαδο ως βασικό συστατικό των μικρογαλακτωμάτων.....	55
2.1.5 Κύριο συστατικό ελαιόλαδου-τριγλυκερίδια.....	56
2.1.6 Νερό.....	57

2.1.7 Υδρογονάνθρακες.....	58
2.1.8 Χρωστικές.....	58
2.1.9 Πρωτεΐνες.....	58
2.1.10 Ασαπωνοποίητα-Δευτερεύοντα συστατικά στο ελαιόλαδο.....	59
2.1.11 Αλειφατικές και αρωματικές αλκοόλες	66
2.2 Φαινολικές ενώσεις και Ενσωμάτωση σε γαλακτώματα.....	68
2.2.1 Πολικές φαινολικές ενώσεις στο ελαιόλαδο.....	68
2.2.2 Πολυφαινόλες και οξειδωτική σταθερότητα του παρθένου ελαιόλαδου.....	70
2.2.3 Προσθήκη πολυφαινολών σε γαλακτώματα.....	70
2.2.4 Αντιμικροβιακή δράση των πολυφαινολών.....	71
2.2.5 Πειράματα για τον εμπλουτισμό προϊόντων με πολυφαινόλες του παρθένου ελαιόλαδου.....	72
2.2.6 Εφαρμογές για τον εμπλουτισμό τροφίμων με πολυφαινόλες του ελαιόλαδου.....	72
2.2.6.1 Εφαρμογές ενσωμάτωσης βιοδραστικών σε τρόφιμα και οφέλη της ενσωμάτωσης	72
Κεφάλαιο 3 Πειραματική Επεξεργασία.....	75
3.1 Σκοπός	75
3.2 Υλικά – Μέθοδοι	76
3.2.1 Πρώτες ύλες και αντιδραστήρια.....	76
3.2.2 Συσσκευές – Σκεύη	76
3.2.3 Πειραματική διαδικασία.....	76
3.2.3.1 Επεξεργασία δειγμάτων - Παρασκευή διαγραμμάτων φάσης.....	77
3.2.3.2 Επεξεργασία δειγμάτων - Παρασκευή γαλακτωμάτων.....	77
3.2.4 Αναλύσεις	77
3.2.4.1 Μέτρηση ιξώδους.....	77
3.2.4.2 Μέτρηση χρώματος.....	78
3.2.4.3 Μέτρηση θολότητας.....	80
3.2.4.4 Μέτρηση Μέσης Διαμέτρου (MD) σταγονιδίων και Δείκτη Πολυδιασποράς (PDI).....	81
3.2.4.5 Μέτρηση Δείκτη διάθλασης	81
3.2.4.6 Μέτρηση Δείκτη σταθερότητας γαλακτώματος.....	82
3.2.4.7 Μέτρηση Επιφανειακή τάσης	83
3.3 Σχεδιασμός Πειραμάτων.....	84
Κεφάλαιο 4 Αποτελέσματα-Συζήτηση πειραμάτων.....	87
ΜΕΡΟΣ Α (Διαγράμματα φάσης).....	88
ΜΕΡΟΣ Β	95
4.1 Μέτρηση θολότητας	95
4.2 Ιξώδες	97
4.3 Προσδιορισμός Χρώματος	99
4.3.1 Παράγοντας L	99
4.3.2 Παράγοντας a	102
4.3.3 Παράγοντας b	104
4.3.4 Δείκτης χρώματος E	106
4.4 Μέση διάμετρος σταγονιδίων (MD)	108
4.5 Δείκτης Πολυδιασποράς (PDI).....	110
4.6 Δείκτης Διάθλασης	112
4.7 Δείκτης Σταθερότητας (ESI).....	114
4.8 Επιφανειακή τάση	125
4.9 Ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA)	126
Μέρος Α'	126
Μέρος Β'	129
Κεφάλαιο 5 Συμπεράσματα – Προτάσεις.....	133

Βιβλιογραφία.....	137
Παράρτημα.....	139

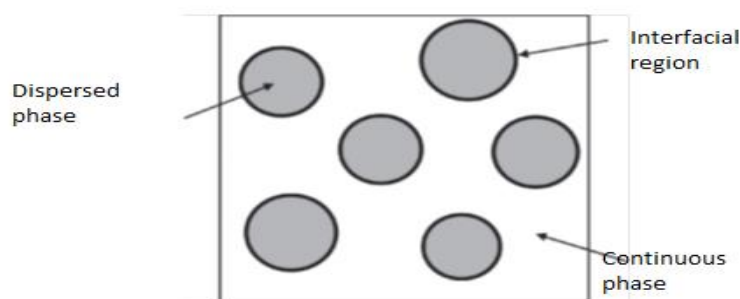
Κεφάλαιο 1

Γαλακτώματα - νανογαλακτώματα

1.1 Εισαγωγή

Τα γαλακτώματα τροφίμων είναι μορφές τροφίμων που είναι γνωστές στους καταναλωτές. Τόσο τα φυσικά όσο και τα επεξεργασμένα τρόφιμα αποτελούνται εν μέρει είτε εξ ολοκλήρου από γαλακτώματα, ενώ επίσης κατά την επεξεργασία ορισμένων τροφίμων πραγματοποιείται ένα στάδιο γαλακτωματοποίησης. Χαρακτηριστικά παραδείγματα είναι το γάλα, η κρέμα γάλακτος, οι χυμοί φρούτων, οι παιδικές τροφές, οι σούπες, οι ζύμες των κέικ, οι σάλτσες για σαλάτα, η μαγιονέζα, τα κρεμώδη λικέρ, οι σάλτσες, τα γλυκά, το παγωτό, το γάλα για τον καφέ, το βούτυρο, και η μαργαρίνη (McClements 2005). Τα γαλακτώματα είναι σχετικώς ασταθή συστήματα που αποτελούνται κυρίως από νερό και έλαιο. Αποτελούνται από δύο μη αναμίξιμα υγρά, το ένα από τα οποία βρίσκεται σε διεσπαρμένη μορφή μέσα στο άλλο. Προκειμένου να διατηρηθεί η δομή των σταγονιδίων ελαίου-νερού, η διεπιφανειακή περιοχή είναι επικαλυμμένη με ένα στρώμα γαλακτωματοποιητή.

Στη βιομηχανία τροφίμων, τα δύο υγρά που αναμιγνύονται είναι: νερό και έλαιο. Η μέση διάμετρος των σταγονιδίων που συναντώνται στα γαλακτώματα τροφίμων κυμαίνεται σε εύρος από 0,1 έως 100 μm . Τα γαλακτώματα μπορούν να ταξινομηθούν ανάλογα με την κατανομή των δύο φάσεων. Έτσι, το γαλακτώμα που αποτελείται από σταγονίδια ελαίου διεσπαρμένα σε νερό καλείται «έλαιο-σε-νερό (o/w)», π.χ. γάλα, κρέμα, παγωτό, μαγιονέζα, σούπες, σάλτσες κ.α., ενώ, εκείνο που αποτελείται από σταγονίδια νερού διεσπαρμένα σε λιπαρή φάση καλείται «νερό-σε-έλαιο γαλακτώμα (w/o)», π.χ. βούτυρο, μαργαρίνη, και διάφορα προϊόντα προς επάλειψη όπως κρεμώδες τυρί (spreads). Το υλικό που περιβάλλει τα σταγονίδια, ονομάζεται «συνεχής φάση», ενώ το υλικό από το οποίο αποτελούνται τα σταγονίδια ονομάζεται «διεσπαρμένη φάση» αντίστοιχα. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι, αν και οι όροι κολλοειδές και γαλακτώμα μερικές φορές χρησιμοποιούνται εναλλακτικά, ο όρος γαλακτώμα πρέπει να χρησιμοποιείται, όταν τόσο η διεσπαρμένη και η συνεχής φάση είναι υγρά.



Εικόνα 1.1: Απεικόνιση γαλακτώματος. Η διεσπαρμένη φάση περιβάλλεται από τη συνεχή φάση και διαχωρίζεται από ένα στρώμα τασιενεργής επιφάνειας.

Τα γαλακτώματα ελαίου σε νερό παρουσιάζουν κάποιες διαφορές έναντι των γαλακτωμάτων νερού σε ελαίου. Τα γαλακτώματα ο/w είναι κυρίως ρευστά, αν και μπορούν να περιέχουν εν μέρει κρυσταλλικές φάσεις ελαίου. Η σταθερότητα αυτών των γαλακτωμάτων μπορεί να διατηρηθεί με προσρόφηση είτε μικρού-μορίου γαλακτωματοποιητών είτε με προσρόφηση μορίων πρωτεΐνης ή συσσωματώματα μορίων πρωτεΐνης (μικκύλια καζεΐνης, σκόνη από κρόκους αυγού), ή με μίγματα αυτών. Δηλαδή η σταθερότητά τους εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το γαλακτωματοποιητή.

Οι σημαντικότεροι παράγοντες στα ο/w γαλακτώματα είναι η κρυσταλλικότητα της λιπαρής φάσης, η παρουσία των επιφανειοδραστικών ουσιών στη διεπιφάνεια ελαίου-νερού και η παρουσία γαλακτωματοποιητών. Συγκεκριμένα η παρουσία των γαλακτωματοποιητών αυξάνει το ιζώδες της υδατικής φάσης στα σταγονίδια. Όσον αφορά τα γαλακτώματα w/o (για παράδειγμα, μαργαρίνη και βούτυρο), η σταθερότητά τους εξαρτάται περισσότερο από τις ιδιότητες του λίπους ή του ελαίου και της επιφανειοδραστικής ουσίας που χρησιμοποιείται, από ότι από τις ιδιότητες της υδατικής φάσης, και έτσι λιγότερες παράμετροι μπορεί να μεταβάλλουν τη σταθερότητά τους. Ως εκ τούτου, ο βαθμός της μηχανικής σταθεροποίησης είναι πιο σημαντικός στα γαλακτώματα w/o από ότι στα γαλακτώματα ο/w (Krog and Sparsø 2004). Ωστόσο, σε ορισμένα συστήματα νερό-σε-έλαιο (w/o), όπως το βούτυρο, η συνεχής φάση είναι εν μέρει στερεό, το οποίο βελτιώνει τη σταθερότητα και δίνει στο προϊόν μία σταθερή υφή (Robins and Wilde 2003).

Αξίζει να σημειωθεί ότι μπορούν να δημιουργηθούν πολλαπλά γαλακτώματα, π.χ. έλαιο-σε-νερό-σε-έλαιο (ο/w/o), νερό-σε-έλαιο-σε-νερό (w/o/w), έλαιο-σε-νερό-σε-νερό (ο/w/w, με ομογενοποίηση ενός γαλακτώματος w/o ή ο/w αντίστοιχα, με την παρουσία κατάλληλων τασιενεργών ουσιών. Τα πολλαπλά γαλακτώματα είναι πολύπλοκα συστήματα, στα οποία συνυπάρχουν γαλακτώματα ελαίου-σε-νερό (ο/w) και νερού-σε-έλαιο (w/o), όπου τα σταγονίδια της διεσπαρμένης φάσης περιέχουν ακόμη μικρότερα διεσπαρμένα σταγονίδια. Τα ο/w/o γαλακτώματα έχουν ορισμένα πλεονεκτήματα έναντι των συμβατικών γαλακτωμάτων ο/w, όπως δηλαδή ότι είναι καλύτερα συστήματα αποδέσμευσης βιοδραστικών λιπιδίων και για τον εγκλεισμό, την προστασία και την απελευθέρωση των υδρόφιλων συστατικών (McClements et al. 2007).

1.2 Μικρο/νανο - γαλακτώματα

Γενικά

Τα νανο/μικρογαλακτώματα είναι δύο τύποι κολλοειδών διασπορών κατάλληλα για εγκλεισμό και για την αποδέσμευση υδρόφιλων ή λιπόφιλων συστατικών στη βιομηχανία τροφίμων. Ωστόσο, υπάρχουν ορισμένες ασάφειες στη βιβλιογραφία σχετικά με τα νανογαλακτώματα οι οποίες προκύπτουν από τις ομοιότητές τους με τα μικρογαλακτώματα.

1.2.1 Μικρογαλακτώματα

Τα μικρογαλακτώματα (micro-emulsion) είναι διαυγείς, θερμοδυναμικά σταθερές, ομογενείς διασπορές (dispersions) με μέγεθος διεσπαρμένων σταγονιδίων 10-100 nm, αποτελούμενες από δύο υγρές φάσεις: την υδατική και τη λιπαρή (συνήθως φυτικό έλαιο) (Hidalgo and Alaiç 2002). Κάθε φάση είναι διεσπαρμένη στην άλλη με τη μορφή μικρών σφαιρικών σταγονιδίων. Μεταξύ των δύο αυτών φάσεων υπάρχει μία διαχωριστική επιφάνεια που αποτελείται από κάποιο απαραίτητο επιφανειοδραστικό υλικό. Τα μικρογαλακτώματα σχηματίζονται θερμοδυναμικά αυθορμήτως και μπορούν να κατηγοριοποιηθούν γενικά σε: νερό-σε-έλαιο (w/o), έλαιο-σε-νερό

(o/w) και σε άλλες ενδιάμεσες μορφές που μπορούν να εναλλάσσονται αντιστρεπτά η μία στην άλλη (bicontinuous). Τα μικρογαλακτώματα εμφανίζονται ως ομογενή υγρά σε μακροσκοπική κλίμακα, ενώ είναι ανομοιογενή σε μικροσκοπική κλίμακα. Περιέχουν κατάλληλες ποσότητες επιφανειοδραστικών ή/και συν-επιφανειοδραστικών ουσιών (co-surfactants) που συγκεντρώνονται στη διεπιφάνεια (νερού-ελαίου) των σχηματιζόμενων νανοσταγονιδίων (μικκύλια), ή ακόμη και σε κάποιο άλλο υδατο- ή λιποδιαλυτό συστατικό. Έχουν την τάση να επαναγαλακτωματοποιούνται αυθορμήτως σε περίπτωση διαχωρισμού, ενώ παρέχουν τη μέγιστη επιφάνεια αλληλεπίδρασης ανάμεσα στο νερό και τη λιπαρή φάση. Περιέχουν υποχρεωτικά τουλάχιστον τρία συστατικά: έναν πολικό διαλύτη (π.χ. νερό), ένα μη πολικό διαλύτη (π.χ. έλαιο) και μία επιφανειοδραστική ουσία (Benichou et al. 2004). Τα συστήματα αυτά επιτρέπουν τη διαλυτοποίηση συστατικών διαφορετικής πολικότητας. Τα λιπόφιλα συστατικά συγκεντρώνονται στη μη πολική φάση, τα υδρόφιλα στην πολική, ενώ τα αμφιφιλικά στη διεπιφάνεια των σχηματιζόμενων μικκυλίων (Hidalgo and Zamora 2006). Με αυτό τον τρόπο μπορεί να επιτευχθεί διαλυτοποίηση αντιοξειδωτικών, φαινολικών, πρωτεϊνών και άλλων συστατικών θερμοδυναμικά σταθερών με τη μέγιστη δυνατότητα αλληλεπίδρασης μεταξύ των δύο φάσεων (Bera et al. 2006). Επιπλέον παρουσιάζουν μεγάλο ενδιαφέρον στους τομείς τροφίμων και φαρμάκων, δεδομένου ότι είναι κατάλληλα, ως μικροαντιδραστήρες για τη μεταφορά αρωμάτων σε τρόφιμα, ως ένα μέσο για τη διαλυτοποίηση των αδιάλυτων σε νερό ή έλαιο φαρμάκων, και ως συστατικά για τη χορήγηση υδατοδιαλυτών θρεπτικών, αρωματικών και χρωστικών ουσιών στα τρόφιμα. Επιπλέον, τα μικρογαλακτώματα μπορεί να παρέχουν ένα καλά ελεγχόμενο μέσο για την ενσωμάτωση δραστικών συστατικών μέσα στα τρόφιμα και ταυτόχρονα να μπορούν να προστατεύουν τα ευδιάλυτα συστατικά από ανεπιθύμητη αποικοδόμηση (Mensik and Katan 1992).

1.2.2 Νανογαλακτώματα – Φυσικές Ιδιότητες

Τα νανογαλακτώματα, από την άλλη πλευρά, είναι γαλακτώματα με εξαιρετικά μικρό μέγεθος σταγονιδίων, τα οποία μπορούν επικαλύπτουν το μέγεθος των μικρογαλακτωμάτων. Τα νανογαλακτώματα τις περισσότερες φορές είναι διαφανή και άχρωμα. Αυτό οφείλεται στη σκέδαση του φάσματος του ορατού φωτός μέσω του γαλακτώματος. Τα μικρογαλακτώματα παρουσιάζουν ισχυρή και πολλαπλή σκέδαση του φωτός μέσα από τη δομή τους, με αποτέλεσμα να παρουσιάζουν λευκό χρώμα. Η πολλαπλή σκέδαση συμβαίνει καθώς το φως διέρχεται στο γαλάκτωμα και διαθλάται πολλές φορές μέσα από τα σταγονίδια, δημιουργώντας σημαντική μεταβολή του δείκτη διάθλασης μεταξύ των διεσπαρμένων σταγονιδίων και της συνεχούς φάσης. Αντιθέτως, το μέγεθος των σταγονιδίων των νανογαλακτωμάτων δεν επιτρέπει την πολλαπλή σκέδαση, αφού είναι αρκετά μικρότερα από τα μήκη κύματος τους ορατού φωτός. Τα νανογαλακτώματα είναι διαφανή, κινητικά σταθερά συστήματα με ένα τυπικό μέγεθος σωματιδίων που κυμαίνεται από 10 nm έως 500 nm, όπως ορίζεται από τους περισσότερους ερευνητές. Άλλοι ερευνητές προτείνουν ότι τα νανογαλακτώματα μπορούν να έχουν μέγεθος σταγονιδίων μεταξύ 10-100 nm. Τα νανογαλακτώματα έχουν πολύ μεγαλύτερο λόγο εμβαδού επιφάνειας προς όγκο από τα συνήθη γαλακτώματα. Έτσι φαινόμενα που σχετίζονται με την παραμόρφωση των σταγονιδίων, όπως η πίεση που δημιουργείται από την δύναμη Laplace, είναι εκτεταμένα (υψηλές τιμές πίεσης) σε σχέση με τα συνηθισμένα γαλακτώματα. Ο αριθμός των μορίων της διεσπαρμένης φάσης στα νανογαλακτώματα είναι πολύ μικρότερος από τον αντίστοιχο των συνηθισμένων γαλακτωμάτων και εξαρτάται από το μοριακό βάρος (MW). Συμπερασματικά τα μικρο- και νανο-γαλάκτωμα έχουν βασικές διαφορές. Τα μικρογαλακτώματα είναι συστήματα ισορροπίας (δηλαδή, θερμοδυναμικά σταθερά), ενώ τα νανογαλακτώματα είναι συστήματα μη ισορροπίας με μία αυθόρμητη τάση να διαχωρίζονται οι δύο φάσεις που τα απαρτίζουν. Παρόλα αυτά, τα νανογαλακτώματα μπορεί να έχουν μία σχετικά υψηλή κινητική σταθερότητα, ακόμη και για αρκετό χρόνο (Gutierrez et al. 2008). Επίσης διαφέρουν κυρίως στον τρόπο που αντιδρούν στις διακυμάνσεις της θερμοκρασίας και κατά την αραίωση. Η μορφολογία

των μικρογαλακτωμάτων επηρεάζεται έντονα και ακόμη και καταστρέφεται από διακυμάνσεις της θερμοκρασίας και από τις αραιώσεις, ενώ τα σταγονίδια των νανογαλακτωμάτων θα παραμείνουν σταθερά σε τέτοιες έντονες συνθήκες. Αυτό έχει σημαντική επίδραση στο τελικό προϊόν, όπου το γαλακτώμα προορίζεται να ενσωματωθεί. Ο Πίνακας 1.1 δείχνει τις ιδιότητες του κάθε τύπου γαλακτώματος που συζητήθηκε παραπάνω σε σχέση με τα συμβατικά συστήματα μακρογαλακτωμάτων.

Πίνακας 1.1: Τύποι γαλακτωμάτων και οι ιδιότητές τους.

Different Emulsions

Property	Macroemulsion	Nanoemulsion	Microemulsion
Appearance	Formulation-dependent	Transparent to milky	Transparent
Preparation methods	Classic homogenization	High energy (pressure)	Low-energy emulsification
Surfactant load	Fairly low	Medium (<10%)	Fairly high (10–20%)
Droplet size	0,5–100 μm	100–1000 nm	10–100 nm
Thermodynamic stability	Unstable; kinetically stable	Unstable; kinetically stable	Stable

Source: Jafari, S.M., Assadpoor, E., He, Y., and Bhandari, B. 2008. Re-coalescence of emulsion droplets during high-energy emulsification. *Food Hydrocolloid*, 22: 1191–1202.

1.2.3 Σχηματισμός νανογαλακτωμάτων

Παράγοντες σχηματισμού

Τα νανογαλακτώματα είναι κατάλληλα ως μέσα για τη διαλυτοποίηση των φαρμάκων και των τροφίμων και ως σύστημα χορήγησης για ελεγχόμενη απελευθέρωση υδατοδιαλυτών θρεπτικών συστατικών, αρωμάτων και χρωστικών στα τρόφιμα, εμφανίζουν επίσης μεγάλο ενδιαφέρον σε διάφορες εφαρμογές στη φαρμακευτική. Μπορούν να παρασκευασθούν από συστατικά τροφίμων χρησιμοποιώντας σχετικά απλές λειτουργίες επεξεργασίας, όπως ανάμιξη, διάτμηση και ομογενοποίηση. Τα νανογαλακτώματα μπορούν να χαρακτηρισθούν προσδιορίζοντας τα μοριακά συστατικά και την περιεκτικότητα αυτών των συστατικών, καθώς και το μέγεθος των σταγονιδίων μετά το σχηματισμό με διάτμηση του γαλακτώματος. Για την παρασκευή ενός σταθερού γαλακτώματος με τέτοιο τρόπο, ώστε να επιτυγχάνεται το ίδιο αποτέλεσμα κάθε φορά που παρασκευάζεται, πρέπει να ελέγχεται αυστηρά ένας μεγάλος αριθμός παραγόντων.

Σε αυτούς περιλαμβάνονται:

- i. η επιλογή της κατάλληλης σύνθεσης
- ii. ο έλεγχος της σειράς προσθήκης των συστατικών
- iii. η εφαρμογή διάτμησης κατά τρόπο που να θραύει αποτελεσματικά τα σταγονίδια

Ειδικότερα όμως για το σχηματισμό των νανογαλακτωμάτων υπάρχουν επιπλέον παράμετροι που παίζουν σημαντικό ρόλο κατά την παρασκευή τους.

- Καταρχάς, τα διασπαρμένα μόρια πρέπει να είναι αδιάλυτα στη συνεχή φάση έτσι, ώστε η ωρίμανση Ostwald να μην συμβεί γρήγορα, παρά τις υψηλές πιέσεις από την δύναμη Laplace. Η καταστολή της ωρίμανσης Ostwald μπορεί να γίνει και με άλλες μεθόδους, όμως ο ευκολότερος τρόπος είναι η κατάλληλη επιλογή της υγρής φάσης, ώστε τα διασπαρμένα μόρια να παραμένουν αδιάλυτα.
- Επίσης σημαντικό ρόλο παίζει η επιλογή των συστατικών, ειδικά των επιφανειοδραστικών, που δεν πρέπει να οδηγεί σε σχηματισμό μικρογαλακτωμάτων με κρυσταλλικές φάσεις. Τέτοιες ανεπιθύμητες φάσεις είναι γνωστό πως σχηματίζονται σε συστήματα που περιέχουν βραχείας αλυσίδας αλκάνια, αλκοόλες και επιφανειοδραστικά.
- Σημαντική επίσης παράμετρος κατά την παρασκευή νανογαλακτωμάτων είναι η συγκέντρωση επιφανειοδραστικού στην υγρή φάση. Η περίσσεια επιφανειοδραστικού επιτρέπει τη γρήγορη επικάλυψη των επιφανειών των σταγονιδίων που σχηματίζονται, αναστέλλοντας τα φαινόμενα συσσωμάτωσης που τείνουν να εκδηλωθούν μεταξύ των σταγονιδίων. Συνήθως τα επιφανειοδραστικά που δρουν με αυτό το μηχανισμό είναι μικκύλια που διασπώνται γρήγορα σε μονομερή και προσροφούν εύκολα στην επιφάνειά τους τα νέα σταγονίδια που σχηματίζονται. Τέλος καθοριστική απαίτηση για το σχηματισμό νανογαλακτωμάτων είναι η επιβολή κάποιας ακραίας μορφής διάτμησης έτσι, ώστε να επιτευχθεί η ρήξη των σταγονιδίων από τη μικρο-κλίμακα (μm) στη νανο-κλίμακα (nm). Τυπικά η πίεση για την δημιουργία του επιθυμητού μεγέθους σταγονιδίων πρέπει να φθάσει συνήθως $10\sim 100\text{ atm}$. Δεδομένου ότι η επιφανειοδραστική ουσία θα πρέπει επίσης να υπάρχει στη συνεχή φάση, στην πράξη η συγκέντρωση του επιφανειοδραστικού κυμαίνεται από μερικές δεκάδες έως και εκατοντάδες mM . Όμως πολλά τασιενεργά επιφανειοδραστικά σχηματίζουν μικκύλια σε τέτοιες υψηλές συγκεντρώσεις, και συνήθως σε αυτές τις περιπτώσεις η συνεχής φάση περιέχει επιφανειοδραστικά μικκύλια για τη συνεχή επικάλυψη της διεπιφάνειας των σταγονιδίων.

1.2.4 Τεχνικές σχηματισμού νανογαλακτωμάτων

Ο σχηματισμός τους γίνεται με διάρρηξη η οποία προκαλείται με υψηλή διάτμηση. Είναι συστήματα μη ισορροπίας τα οποία παρουσιάζουν μία αυθόρμητη τάση να διαχωρίζονται (ουσιαστικός διαχωρισμός της διεσπαρμένης φάσης από τον παράγοντα διασποράς). Μολονότι το μέγεθος των νανογαλακτωμάτων τοποθετείται στη νανο-κλίμακα, θα ήταν αδύνατο να παρασκευαστεί νανογαλάκτωμα με μέγεθος μικρότερο από το μέγεθος ενός επιφανειοδραστικού μικκυλίου, δηλαδή λίγα νανόμετρα. Παρόλα αυτά, έχουν μεγάλη κινητική σταθερότητα και είναι σαφώς ανθεκτικά στο σχηματισμό κρέμας ή στην καθίζηση, καθώς επίσης και στην κροκίδωση. Αν και ορισμένες συσκευές ανάμιξης κατορθώνουν να επιτύχουν υψηλούς ρυθμούς διάτμησης, αυτό συμβαίνει κοντά στα «άκρα κοπής» (blade edges) και η ικανότητα μεταφοράς όλων των σταγονιδίων σε αυτή την περιοχή είναι σχετικά χαμηλή. Λόγω λοιπόν των εγγενών δυσκολιών για την κατάτμηση και διασπορά των σταγονιδίων για την παρασκευή νανογαλακτωμάτων χρησιμοποιούνται άλλες μέθοδοι.

Μία αποτελεσματική μέθοδος για την παρασκευή νανογαλακτωμάτων, είναι η εφαρμογή υπερήχων σε γαλακτώματα. Η προετοιμασία των νανογαλακτωμάτων έχει γίνει με κοινές τεχνικές ανάμιξης έτσι, ώστε να είναι καθορισμένη η σύνθεση του γαλακτώματος. Με τη μέθοδο των υπερήχων, μία δονούμενη στερεή επιφάνεια αναδύει το νανογαλάκτωμα που έχει

προετοιμαστεί, σε συχνότητες 20 KHz ή και μεγαλύτερες, με υψηλή ισχύ, προκαλώντας φαινόμενα έντονης διάτμησης στα σταγονίδια. Δεδομένου ότι το εκπεμπόμενο πεδίο ήχου είναι τυπικά ανομοιογενές, στα περισσότερα συστήματα, είναι αναγκαίο να επανακυκλοφορεί το γαλάκτωμα διαμέσου της περιοχής της υψηλής ισχύος, έτσι ώστε όλα τα σταγονίδια να υποστούν τον υψηλότερο ρυθμό διάτμησης. Επομένως ομοιόμορφες κατανομές μεγέθους των σταγονιδίων μπορούν να επιτευχθούν σε αραιές συγκεντρώσεις, εφόσον το γαλάκτωμα επανακυκλοφορεί πολλές φορές μέσα από την περιοχή υψηλής διάτμησης.

Μία δεύτερη σημαντική μέθοδος για την παρασκευή ομοιόμορφων νανογαλακτωμάτων είναι αυτή που χρησιμοποιεί *συσκευές μικρο-ρευστοποίησης (microfluidic)* υψηλής πίεσης για τη ρήξη των σταγονιδίων του συμπυκνωμένου γαλακτώματος. Ρεύματα από το προαναμεμιγμένο γαλάκτωμα ρέουν ταχύτατα μέσω διαύλων ανοξειδωτού χάλυβα, που έχουν κατασκευαστεί με την τεχνική της λιθογραφίας και της μικρομηχανικής, δημιουργώντας μία ισχυρή εκτατική ροή. Το μέγεθος των σταγονιδίων στο προαναμεμιγμένο γαλάκτωμα πρέπει να είναι μικρότερο από 10 μm, ενώ οι διαστάσεις των διαύλων είναι περίπου 100 μm. Αέρας υψηλής πίεσης (τυπικά κοντά στα 100 psi), εφαρμόζεται μηχανικά μέσω εμβόλου με παλμικό τρόπο λειτουργίας, αναπτύσσοντας υγρό υψηλής πίεσης που μπορεί να φτάνει έως και τα 30000 psi. Το προαναμεμιγμένο γαλάκτωμα μικροκλίμακας οδηγείται μέσω των διαύλων στην περιοχή των υψηλών πιέσεων όπου αναπτύσσονται υψηλοί ρυθμοί διάτμησης, με ογκομετρική ροή της τάξης 3 mL/s. Το πλεονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι οι πολύ υψηλές τιμές ρυθμού διάτμησης.

Έχει αναφερθεί πως η μέθοδος μικρορευστοποίησης είναι δυνατόν να θερμάνει το παραγόμενο γαλάκτωμα πάνω από τη θερμοκρασία δωματίου. Θέρμανση του νερού εξαιτίας των υψηλών ρυθμών διάτμησης δεν είναι εύκολο να επιτευχθεί εξαιτίας της υψηλής θερμοχωρητικότητας, έτσι η θέρμανση αυτή παρέχει ένα πολύ απτό παράδειγμα για τις έντονες συνθήκες διάτμησης που αναπτύσσονται κατά τη δημιουργία νανογαλακτωμάτων. Εάν αυτή η θέρμανση δεν είναι εν τέλει επιθυμητή, μπορεί το παραγόμενο νανογαλάκτωμα που αφήνει την περιοχή υψηλής διάτμησης να ψύχεται μέσω εναλλάκτη θερμότητας χωρίς να επηρεάζεται τελικά το μέγεθος και η σταθερότητα των σταγονιδίων. Επιπλέον ο ογκομετρικός ρυθμός παραγωγής των νανογαλακτωμάτων με αυτή τη μέθοδο μπορεί να είναι αρκετά υψηλός φτάνοντας αρκετά λίτρα ανά ώρα. Ανάλογα με την ακτίνα των σταγονιδίων μετά τη ρήξη στο τελικό προϊόν ο ρυθμός παραγωγής σταγονιδίων μπορεί να κυμαίνεται μεταξύ 1014-1018 σταγονίδια/s.

Επίσης, έχουν αναφερθεί και άλλες μέθοδοι για την παρασκευή νανογαλακτωμάτων όπως αυτή της υδροδυναμικής εκτόξευσης.

Στην παράγραφο 1.4 αναλύονται διεξοδικά όλοι οι μέθοδοι παρασκευής γαλακτωμάτων.

1.3 Συστατικά γαλακτωμάτων

Μετά την επιλογή του καταλληλότερου τύπου γαλακτώματος, ανάλογα με την εφαρμογή που χρειάζεται, πρέπει να γίνει και προσεκτική επιλογή των συστατικών που θα χρησιμοποιηθούν. Η ευρεία εφαρμογή των νανογαλακτωμάτων σε πολλά προϊόντα τροφίμων περιορίζεται επί του παρόντος, εξαιτίας ενός αριθμού τεχνικών και πρακτικών λόγων. Πρώτον, υπάρχει περιορισμένος αριθμός τασιενεργών ουσιών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στα τρόφιμα σήμερα για την προετοιμασία και τη σταθεροποίηση των γαλακτωμάτων αυτών (Kralova και Sjoblom 2009). Παράλληλα, ορισμένα επιφανειοδραστικά συστατικά δεν επιτρέπονται σε τρόφιμα, ενώ άλλα πρέπει να προστεθούν μόνο σε χαμηλές συγκεντρώσεις λόγω ρυθμιστικών, οικονομικών, ή αισθητικών λόγων. Επιπλέον, τα τρόφιμα είναι σύνθετα συστήματα και αυτή τη στιγμή δεν υπάρχει πλήρης κατανόηση της επίδρασης της σύνθεσης του δείγματος με τις περιβαλλοντικές συνθήκες για τη διαμόρφωση και τη σταθερότητα των συγκεκριμένων κolloειδών συστημάτων, ενώ επιπλέον τα βρώσιμα έλαια παρουσιάζουν μεγάλες διαφορές στη σύνθεσή τους.

Πιο συγκεκριμένα τα γαλακτώματα εξαρτώνται κυρίως από τα τρία συστατικά που περιέχονται σε αυτά: το λίπος ή το έλαιο (λιπαρή φάση), το νερό (υδατική φάση), και το διεπιφανειακό υλικό που χρησιμοποιείται για τη σταθεροποίηση του συστήματος. Ωστόσο, τα περισσότερα γαλακτώματα τροφίμων είναι πιο περίπλοκα από ότι ένα απλό μίγμα τριών συστατικών. Η υδατική φάση μπορεί να περιέχει μία ποικιλία υδατοδιαλυτών συστατικών, συμπεριλαμβανομένων σακχάρων, αλάτων, οξέων, βάσεων, αλκοολών, τασιενεργών ουσιών, πρωτεϊνών και πολυσακχαριτών. Η λιπαρή φάση περιέχει συνήθως ένα πολύπλοκο μίγμα από λιποδιαλυτά συστατικά, όπως τριγλυκερίδια, διγλυκερίδια, μονογλυκερίδια, ελεύθερα λιπαρά οξέα, στερόλες, και βιταμίνες. Η διεπιφανειακή περιοχή μπορεί να αποτελείται από πρωτεΐνες ή μικρούς γαλακτωματοποιητές όπως μονογλυκερίδια, εστέρες, ή φωσφολιπίδια ή μίγματα αυτών των συστατικών. Επιπλέον, αυτά τα συστατικά μπορούν να σχηματίσουν διάφορα είδη δομικών συστατικών στο έλαιο ή στο νερό ή στη διεπιφάνεια (όπως οι κρύσταλλοι λίπους, οι κρύσταλλοι πάγου, τα συσσωματώματα βιοπολυμερούς, οι φυσαλίδες αέρα, οι υγροί κρύσταλλοι, και τα τασιενεργά μικκύλια), τα οποία με τη σειρά τους μπορούν να σχηματίσουν μεγαλύτερες δομές (όπως βιοπολυμερή ή σωματιδιακά δίκτυα). Ως εκ τούτου, για να γίνουν κατανοητές οι λειτουργικές ιδιότητες των γαλακτωμάτων, είναι απαραίτητο να κατανοηθούν οι ιδιότητες των τριών συστατικών που τα απαρτίζουν.

1.3.1 Υδατική φάση

Η συγκέντρωση του νερού παίζει εξαιρετικά σημαντικό ρόλο στο γαλακτώμα, δεδομένου ότι καθορίζει τις φυσικοχημικές και αισθητικές ιδιότητες των γαλακτωμάτων των τροφίμων (τη διαλυτότητα και τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των συστατικών που υπάρχουν στα υδατικά διαλύματα). Ως εκ τούτου, είναι σημαντικό να κατανοηθεί η συμβολή του νερού στις συνολικές ιδιότητες των γαλακτωμάτων τροφίμων (McClements 2005).

Ο ρόλος της υδατικής φάσης είναι κυρίως ως διαλύτης για τα υδατοδιαλυτά συστατικά (άλατα, γαλακτωματοποιητές, πρωτεΐνες, πολυσακχαρίτες, κτλ.), είτε ως συνεχής φάση στην περίπτωση των ο/w γαλακτωμάτων ή ως διεσπαρμένη φάση σε w/o γαλακτώματα. Το νερό λόγω της μοριακής δομής του, έχει μεγάλη διεπιφανειακή τάση και έντονο ιοντικό προσανατολισμό ο οποίος οφείλεται στους δεσμούς υδρογόνου. Αυτές οι ιδιότητες της υδατικής φάσης αποτρέπουν το σπάσιμο του γαλακτώματος, δηλαδή δυσκολεύουν το σπάσιμο της διεσπαρμένης φάσης σε μικρότερα σταγονίδια. Έτσι, οι γαλακτωματοποιητές χρησιμοποιούνται για να μειώσουν την ένταση των διεπιφανειακών δυνάμεων. Το pH, η ιοντική ισχύς και η συγκέντρωση του γαλακτωματοποιητή της υδατικής φάση επηρεάζουν το σχηματισμό και τα φυσικά χαρακτηριστικά του γαλακτώματος, μεταβάλλοντας το μέγεθος των σταγονιδίων και τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους (Robins and Wilde 2003).

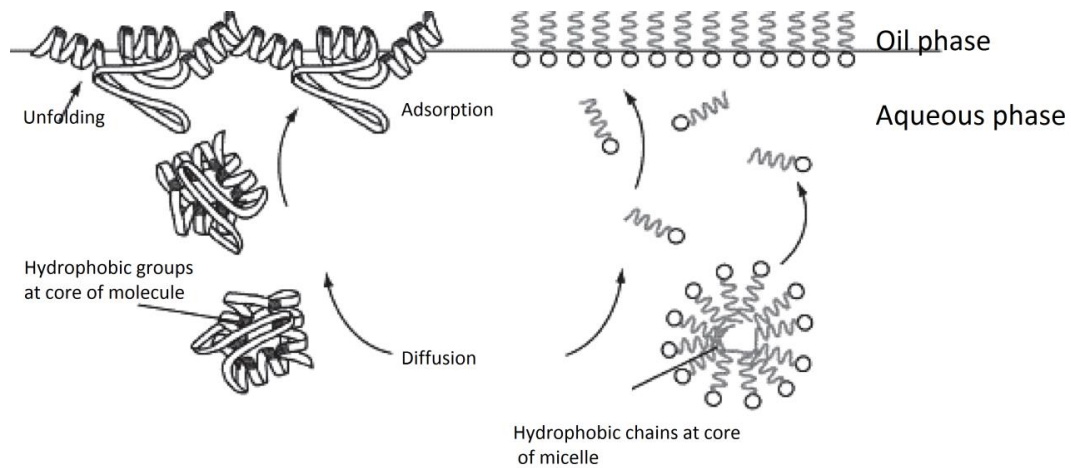
1.3.2 Λιπαρή φάση

Τα λίπη και τα έλαια ανήκουν σε μία ομάδα ενώσεων που είναι γνωστή ως λιπίδια. Τα λιπίδια εξ ορισμού είναι διαλυτές ενώσεις σε οργανικούς διαλύτες, αλλά αδιάλυτοι ή ελάχιστα διαλυτοί στο νερό (McClements 2005). Η λιπαρή φάση στα γαλακτώματα τροφίμων, είτε από το ζωικές ή φυτικές πηγές, βρίσκεται κυρίως με τη μορφή τριγλυκεριδίων. Το έλαιο περιέχει επιπλέον μικρές ποσότητες από διγλυκερίδια και μονογλυκερίδια, πολικά λιπίδια, και ελεύθερα λιπαρά οξέα. Αυτά τα λιπίδια μπορεί να είναι επιφανειακά ενεργά, υδατοδιαλυτά, και χρησιμοποιούνται συνήθως ως γαλακτωματοποιητές τροφίμων. Επιπλέον, το λίπος και τα λιπίδια είναι ουσιώδεις θρεπτικές ενώσεις και αφήνουν μία χαρακτηριστική αίσθηση στο στόμα σε προϊόντα όπως η κρέμα, το

βούτυρο και το τυρί. Η ελαιώδης φάση χρησιμοποιείται επίσης ως διαλύτης για τους πιο λιπόφιλους γαλακτωματοποιητές, για τα λιποδιαλυτά θρεπτικά συστατικά (π.χ. λιποδιαλυτές βιταμίνες και τα απαραίτητα λιπαρά οξέα) και για τις αρωματικές ενώσεις (Robins and Wilde 2003).

1.3.3 Γαλακτωματοποιητές

Η παραγωγή γαλακτωμάτων τα οποία να είναι κινητικά σταθερά για συγκεκριμένη χρονική περίοδο έχουν πρακτική σημασία για τη βιομηχανία. Για την παράταση του χρόνου διατήρησης χρησιμοποιούνται σταθεροποιητές/γαλακτωματοποιητές. Οι γαλακτωματοποιητές είναι επιφανειοδραστικές ουσίες που προσκολλώνται στην επιφάνεια των σταγονιδίων και δημιουργούν ένα προστατευτικό στρώμα, παρεμποδίζοντας έτσι τη συσσωμάτωση των σταγονιδίων π.χ. πρωτεΐνες, πολυσακχαρίτες (Gutteridge and Halliwell 1994). Οι γαλακτωματοποιητές ορίζονται ως οι ουσίες που μειώνουν την επιφανειακή τάση μεταξύ του ελαίου και του νερού ή του αέρα και του νερού, ενισχύοντας έτσι τη γαλακτωματοποίηση και αυξάνοντας τη σταθερότητα του γαλακτώματος. Οι γαλακτωματοποιητές πρέπει να είναι επιφανειακά δραστικές ουσίες, προκειμένου να σχηματίσουν μία διεπιφανειακή στρώση γύρω από τα σταγονίδια του γαλακτώματος. Δηλαδή μειώνουν παράλληλα την επιφανειακή τάση, συνεισφέροντας έτσι στην παραγωγή γαλακτωμάτων με μικρότερη μέση διάμετρο σταγονιδίων, με αποτέλεσμα την επιβράδυνση της κίνησης των σταγονιδίων μέσα στο γαλάκτωμα λόγω της βαρύτητας ή της κίνησης Brown. Αυτό το προσροφημένο στρώμα μειώνει τη διεπιφανειακή τάση, η οποία οδηγεί σε γαλακτωματοποίηση, και αποτρέπει την αποσταθεροποίηση του γαλακτώματος. Έτσι, οι γαλακτωματοποιητές πρέπει να έχουν αμφιφιλικές ιδιότητες. Μπορούν να είναι είτε γαλακτωματοποιητές χαμηλού μοριακού βάρους ή μακρομοριακά πολυμερή (π.χ. πρωτεΐνες). Οι γαλακτωματοποιητές χαμηλού μοριακού βάρους έχουν μία μικρο-υδρόφιλη ομάδα και μία ή περισσότερες αλυσίδες υδρογονάνθρακα οι οποίες αποτελούνται από λεκιθίνες, μονογλυκερίδια και διγλυκερίδια, οξικούς εστέρες, εστέρες πολυγλυκερόλης, εστέρες σακχαρόζης, εστέρες σορβιτάνης και πολυσορβικούς εστέρες προπυλενογλυκόλης λιπαρών οξέων. Η αποτελεσματικότητα ενός γαλακτωματοποιητή σχετίζεται κυρίως με τη διαλυτότητά του στις δύο φάσεις. Η διαλυτότητα κάθε επιφανειακού παράγοντα χαρακτηρίζεται από την υδρόφιλη-λιπόφιλη ισορροπία του (HLB - Hydrophilic-Lipophilic-Balance). Οι τιμές ισορροπίας των γαλακτωματοποιητών κυμαίνονται από 1-20. Χαμηλές τιμές αντιστοιχούν σε πιο λιπόφιλους και υψηλές τιμές σε πιο υδρόφιλους γαλακτωματοποιητές. Μία προσεγγιστική εκτίμηση της τιμής HLB μπορεί να γίνει υπολογίζοντας τον αριθμητικό μέσο των τιμών των συστατικών. Η γνώση του δείκτη αυτού επιτρέπει μία καταρχήν επιλογή ενός γαλακτωματοποιητή. Στην πραγματικότητα όμως, ο προσδιορισμός της υδρόφιλης-λιπόφιλης ισορροπίας δεν λαμβάνει υπόψη ένα μεγάλο αριθμό παραγόντων, όπως την ενυδάτωση πολικών ομάδων, ούτε τις αλληλεπιδράσεις με τα άλλα συστατικά του τροφίμου (ιόντα, άλλα πολικά λιπίδια, πρωτεΐνες κτλ.) τα οποία συχνά αλλάζουν δραστικά τις φυσικοχημικές ιδιότητες του γαλακτωματοποιητικού παράγοντα. Έτσι δύο γαλακτωματοποιητικοί παράγοντες με την ίδια τιμή ισορροπίας δεν θα έχουν τις ίδιες λειτουργικές ιδιότητες. Επομένως η τιμή HLB αποτελεί ενδεικτικό παράγοντα, αφού δεν μπορεί να προβλεφθεί απολύτως η αποτελεσματικότητα των γαλακτωματοποιητών, αν δεν δοκιμαστούν πρώτα πειραματικά. Η ικανότητα ενυδάτωσης του πολικού άκρου είναι ένας επιπλέον παράγοντας ο οποίος σπάνια λαμβάνεται υπόψη κατά την επιλογή γαλακτωματοποιητικών παραγόντων, ενώ συνεισφέρει σε μεγάλο βαθμό στην οργάνωση και τις ρεολογικές ιδιότητες των ενδοεπιφανειακών μεμβρανών (Colquhoun and Hicks 1996, Visioli and Galli 2002).



Εικόνα 1.2: Απεικόνιση της δομής του γαλακτωματοποιητή και της προσρόφησης (α) πρωτεϊνών/πολυμερών και (β) γαλακτωματοποιητών χαμηλού μοριακού βάρους/επιφανειοδραστικών (Robins and Wilde 2003).

Οι γαλακτωματοποιητές χαμηλού μοριακού βάρους έχουν μικρή υδρόφιλη ομάδα και μία ή περισσότερες αλυσίδες υδρογονάνθρακα, στις οποίες περιλαμβάνονται οι λεκιθίνες, τα μονογλυκερίδια και διγλυκερίδια, οι εστέρες πολυγλυκερόλης, οι εστέρες σακχαρόζης, οι εστέρες σορβιτάνης και τα πολυσορβικά και τέλος οι εστέρες προπυλενογλυκόλης λιπαρών οξέων.

1.3.3.1 Πρωτεΐνες

Οι πρωτεΐνες δρουν ως γαλακτωματοποιητές, λόγω των επιμέρους μοριακών δομών τους και παρέχουν πολλές χαρακτηριστικές ιδιότητες των τροφίμων στα γαλακτώματα (McClements 2005). Η κύρια λειτουργία των πρωτεϊνών είναι είτε να αυξήσει τη σταθερότητα του γαλακτώματος προς συνένωση ή κρεμοποίηση/καθίζηση των σταγονιδίων κατά τη διάρκεια της μακροχρόνιας αποθήκευσης (π.χ. ανασυσταμένο γάλα, σάλτσες για σαλάτες, κτλ.) ή να προκαλέσει την αποσταθεροποίηση και την αύξηση κτυπήματος των γαλακτωμάτων που πρόκειται να αεριστούν (π.χ. μίγμα παγωτού, κρέμα γάλακτος, κρέμα για επικάλυψη, κτλ.) (Dickinson and Tanai 1992).

Οι πρωτεΐνες είναι μεγάλα βιολογικά μόρια, ή μακρομόρια, που αποτελούνται από μία ή περισσότερες αλυσίδες αμινοξέων. Όλες οι πρωτεΐνες στην αρχική τους κατάσταση διαθέτουν ειδικές τρισδιάστατες δομές, οι οποίες διατηρούνται σε μορφή διαλύματος, εκτός εάν υποβληθούν σε ακραίες συνθήκες, όπως η εντατική θέρμανση. Έχουν υδρόφιλα χαρακτηριστικά λόγω της παρουσίας του καρβοξυλίου ή της αμινομάδας στη δομή τους. Κατά συνέπεια, όταν προσροφώνται σε μία διεπιφάνεια ελαίου-νερού, είναι πολύ πιθανό ότι οι πλευρικές αλυσίδες των αμινοξέων τους να διαπεράσουν στο περιβάλλον. Ωστόσο, ορισμένες πρωτεΐνες διαθέτουν αμινοξέα με υδρόφοβες πλευρικές αλυσίδες που θα απορροφηθούν από τη διεπιφάνεια ελαίου-νερού. Όταν μία πρωτεΐνη προσροφάται, η δομή της ίδιας της πρωτεΐνης θα αποτρέψει να έρθει σε επαφή με το περιβάλλον, και ως αποτέλεσμα, η προσρόφηση της πρωτεΐνης θα μειώσει τη διεπιφανειακή τάση λιγότερο από ότι η προσρόφηση μικρών μορίων γαλακτωματοποιητών.

Αν και μερικές πρωτεΐνες είναι εξαιρετικοί γαλακτωματοποιητές, δεν μπορούν όλες οι πρωτεΐνες να απορροφηθούν έντονα από μία διεπιφάνεια ο/ω, επειδή οι πλευρικές τους αλυσίδες είναι ισχυρά υδρόφιλες ή επειδή έχουν άκαμπτες δομές που δεν επιτρέπουν στην πρωτεΐνη να συνδεθεί με τη διεπιφάνεια. Η ζελατίνη δρα με αυτόν τον τρόπο λόγω του υδρόφιλου χαρακτήρα της και επίσης λόγω της μεγάλης και ιδιαίτερα άκαμπτης δομής της. Η λυσοζύμη, αν και μπορεί να

απορροφηθεί από τη διεπιφάνεια των σταγονιδίων, δεν είναι ένας καλός γαλακτωματοποιητής πιθανώς λόγω της σχετικά ανελαστικής δομής της.

1.3.3.2 Μικρά-μόρια γαλακτωματοποιητών

Διάφορες τασιενεργές ουσίες που επιτρέπονται για ανθρώπινη κατανάλωση, χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων για την παρασκευή γαλακτωμάτων. Οι μικρού μορίου τασιενεργές ουσίες (μονογλυκερίδια και διγλυκερίδια, εστέρες σορβιτάνης λιπαρών οξέων, εστέρες πολυοξυαιθυλενοσορβιτάνης λιπαρών οξέων, φωσφολιπίδια, και πολλά άλλα) γενικά περιέχουν κατάλοιπα από μακριές αλυσίδες λιπαρών οξέων που δρουν ως υδρόφοβες ομάδες οι οποίες συνδέονται με τη λιπαρή φάση της διεπιφάνειας ελαίου-νερού και απορροφούνται. Η δομή των ομάδων αυτών μπορεί να ποικίλλει ανάλογα με τη μοριακή δομή τους, που κυμαίνεται από γλυκερίνη (σε μονογλυκερίδια και διγλυκερίδια) και υποκατεστημένα φωσφογλυκεριδικά τμήματα (σε φωσφολιπίδια) έως σορβιτάνη υποκατεστημένη από αλυσίδες πολυοξυαιθυλενίου. Η ταξινόμηση αυτών των γαλακτωματοποιητών γίνεται γενικά από το σύστημα υδρόφιλης-λιπόφιλης ισορροπίας (HLB).

1.3.3.2.1 Λόγος υδροφιλικών-λιποφιλικών ομάδων (HLB)

Ο υπολογισμός του λόγου HLB γίνεται με την χρήση μιας ημιεμπειρικής μεθόδου και χρησιμοποιείται ευρέως για την κατάταξη των επιφανειοδραστικών ουσιών. Κάθε επιφανειοδραστική ουσία έχει έναν αριθμό HLB, σύμφωνα με τη χημική της δομή. Υψηλή τιμή HLB αντιστοιχεί σε υψηλή αναλογία των υδρόφιλων ομάδων ως προς τις λιπόφιλες, ενώ μικρή τιμή HLB το αντίστροφο. Η αναλογία των υδρόφιλων ομάδων ως προς τις λιπόφιλες εισήχθη πρώτη φορά από τον Griffin για την εταιρεία Atlas Powder Company στην Αμερική. Σύμφωνα με τον Griffin, η θεωρία της HLB καθορίζει την ισορροπία μεταξύ υδρόφιλων και υδρόφοβων τμημάτων του επιφανειοδραστικού μορίου σε σχέση με την αντοχή και την αποτελεσματικότητά του, και μπορεί να οριστεί από τη σχέση : $HLB = \frac{M_o}{20M}$

όπου M_o είναι το μοριακό βάρος του υδρόφιλου τμήματος του μορίου του γαλακτωματοποιητή και το M είναι το μοριακό βάρος. Η κλίμακα είναι μεταξύ του 0 και του 20.

Ο λόγος HLB μιας επιφανειοδραστικής ουσίας μπορεί να υπολογιστεί γνωρίζοντας τον αριθμό και τον τύπο των υδρόφιλων και λιπόφιλων ομάδων που περιέχει, ή μπορεί να εκτιμηθεί από πειραματικές μετρήσεις του σημείου θόλωσης (Shinoda and Friberg 1986). Οι τιμές πολλών επιφανειοδραστικών ουσιών σχετικά με το λόγο HLB έχουν ταξινομηθεί σε πίνακες. Ένας ευρέως χρησιμοποιούμενος ημιεμπειρικός τρόπος για τον υπολογισμό του HLB είναι:

$$HLB = 7 + \sum \text{Πλήθος υδρόφιλων ομάδων} - \sum \text{Πλήθος λιπόφιλων ομάδων}$$

Με βάση την παραπάνω σχέση έχουν υπολογιστεί τιμές HLB για αρκετές επιφανειοδραστικές ουσίες τροφίμων. Αν και φαινομενικά δεν φαίνεται η παραπάνω σχέση να έχει κάποια θερμοδυναμική βάση, στην πραγματικότητα έχει αποδειχθεί ότι η διαφορά των αθροισμάτων

αντιστοιχεί στη μεταβολή της ελεύθερης ενέργειας μεταξύ των ομάδων, όταν σχηματίζεται το μικκύλιο.

Ο λόγος HLB δίνει μία χρήσιμη ένδειξη για τη διαλυτότητα του επιφανειοδραστικού, είτε σε έλαιο είτε/και σε νερό, και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να προβλεφθεί ο τύπος του γαλακτώματος που μπορεί το επιφανειοδραστικό να σταθεροποιεί:

- Επιφανειοδραστικά με χαμηλή τιμή HLB (3-6) είναι κατά κύριο λόγο υδρόφοβα, διαλύονται εκλεκτικά σε έλαιο και σταθεροποιούν γαλακτώματα τύπου w/o, σχηματίζοντας αντίστροφα μικκύλια στο έλαιο.
- Επιφανειοδραστικά με υψηλή τιμή HLB (10 -18) είναι κυρίως υδρόφιλα, διαλύονται εκλεκτικά στο νερό και σταθεροποιούν γαλακτώματα τύπου o/w, σχηματίζοντας μικκύλια στο νερό.
- Επιφανειοδραστικά με ενδιάμεσες τιμές HLB (7-9) δεν έχουν καμία ιδιαίτερη προτίμηση στο νερό ή στο έλαιο και θεωρούνται καλά «μέσα διαβροχής».
- Επιφανειοδραστικά με τιμές HLB μικρότερες από 3 (πολύ υδρόφοβα) και με τιμές μεγαλύτερες από 18 (πολύ υδρόφιλα) δεν αναπτύσσουν ιδιαίτερα χαρακτηριστικές ιδιότητες και δεν συσσωρεύονται στη διεπιφάνεια ελαίου–νερού. Η σταθερότητα του γαλακτώματος, όταν χρησιμοποιούνται τέτοιου είδους επιφανειοδραστικές ουσίες, είναι περιορισμένη.

Εμπειρικά έχει αναφερθεί πως η μέγιστη σταθερότητα γαλακτώματος επιτυγχάνεται για γαλακτώματα o/w με τη χρήση επιφανειοδραστικών με τιμή HLB περίπου 10-12, και για w/o γαλακτώματα περίπου 3-5.

Πίνακας 1.2: Αριθμός HLB για ορισμένες υδρόφιλες και λιπόφιλες ομάδες.

Υδρόφιλη ομάδα	Αριθμός ομάδας	Λιπόφιλη ομάδα	Αριθμός ομάδας
-SO ₄ - Na ⁺	38,7	-CH-	0,475
-COO- H ⁺	21,2	-CH ₂ -	0,475
τριτοταγής αμίνη	9,4	-CH ₃	0,475
Έστερας σορβιτάνης	6,8	-CH=	0,475
γλυκερινεστέρας	5,25		
-COOH	2,1		
-OH	1,9		
-O-	1,3		
-(CH ₂ -CH ₂ -O)-	0,33		

Πίνακας 1.3: Τιμές HLB για τα συνηθέστερα επιφανειοδραστικά στη βιομηχανία τροφίμων.

Επιφανειοδραστικό	HLB
Θεικό λαυρύλιο νατρίου	40
Στεατοϋλο-2-γαλακτυλικό νάτριο	22
Ελαϊκό κάλιο	20
Μονοεστέρας σακχαρόζης	20
Ελαϊκό νάτριο	18
Μονοπαλμική πολυοξυαιθυλενο (20)σορβιτάνη	15,6
Μονοελαϊκή πολυοξυαιθυλενο (20)σορβιτάνη	15
Μονολαυρική σακχαρόζη	15
Μονοστεατική πολυοξυαιθυλενο (20)σορβιτάνη	14,9
Μονοελαϊκή δεκαγλυκερόλη	14
Μονοστεατική δεκαγλυκερόλη	14
Αιθοξυλιωμένο μονογλυκερίδιο	13
Διελαϊκή γλυκερίνη	12

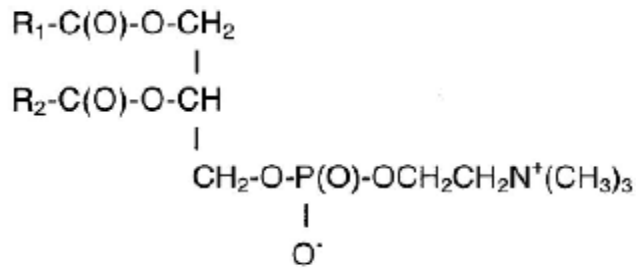
Πίνακας 1.3: Συνέχεια

Επιφανειοδραστικό	HLB
Τριστεατική Πολυοξυαιθυλενο (20)σορβιτάνη	11
Τριελαϊκός εστέρας Πολυοξυαιθυλενο(20) σορβιτάνη	10,5
Διελαϊκός εστέρας εξαγλυκερόλης	9
Μονολαυρική σορβιτάνη	8,6
DATEM	8
Λεκιθίνη σόγιας	8
Εξαολεική δεκαγλυκερόλη	7
Μονοστεατικό άλας τριγλυκερίνης	7
Μονοπαλμική σορβιτάνη	6,7
Μονολαυρικός εστέρας	5,2
Στεατοϋλο-2-γαλακτικό ασβέστιο	5,1
σακχαρόζη	5
Μονοστεαρικό άλας προπυλενο-γλυκερόλης	4,7
Μονοελαϊκή σορβιτάνη	4,3
Μονοστεαρικό άλας γλυκερίνης	3,8
Μονοελαϊκή γλυκερίνη	3,4
Μονοστεαρικό άλας προπυλενο-γλυκερόλης	3,4
Τριστεατική σορβιτάνη	2,1
Τριελαϊκός εστέρας σορβιτάνης	1,8

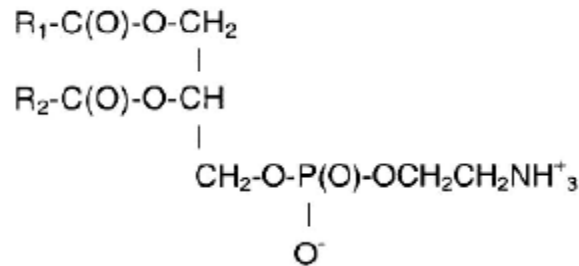
1.3.3.3 Λεκιθίνη

Η κύρια πηγή της λεκιθίνης, που είναι ο μόνος φυσικός γαλακτωματοποιητής που χρησιμοποιείται σε διάφορες ποσότητες στη βιομηχανία των τροφίμων, είναι η σόγια. Το ακατέργαστο σογιέλαιο περιέχει από 1 μέχρι και 30% φωσφολιπίδια. Άλλες όχι τόσο σημαντικές πηγές λεκιθίνης είναι το καλαμπόκι, ο βαμβακόσπορος, η ελαιοκράμβη και τα αυγά. Η λεκιθίνη αποκτάται με υδατική εξαγωγή από το έλαιο της ελαιοκράμβης. Κατά την ενυδάτωση των φωσφολιπιδίων λαμβάνει χώρα διαχωρισμός φάσης, οπότε οι δύο φάσεις διαχωρίζονται μεταξύ τους με φυγοκέντρηση. Το ακατέργαστο προϊόν, μετά από την απομάκρυνση του νερού περιέχει περίπου 35% τριγλυκερίδια και ένα μικρότερο ποσοστό μη φωσφολιπιδικών υλικών. Η εξαγωγή με ακετόνη χρησιμοποιείται, προκειμένου να παραχθεί καθαρή λεκιθίνη χωρίς έλαιο. Ο όρος «λεκιθίνη» χρησιμοποιείται για να περιγράψει και τη φωσφατιδυλοχολίνη, και μίγματα φωσφολιπιδίων. Τα εμπορικά παρασκευάσματα λεκιθίνης μπορούν να επεξεργαστούν ή να τροποποιηθούν χημικά, ώστε να παραχθεί ένα προϊόν με διαφορετικά λειτουργικά χαρακτηριστικά. Η επεξεργασία είτε με υπεροξειδίο του υδρογόνου είτε με υπεροξειδίο του βενζολίου προκαλεί τη δημιουργία πιο ανοιχτόχρωμου προϊόντος. Η χημική τροποποίηση της λεκιθίνης με αντίδραση με υπεροξειδίο του υδρογόνου ή γαλακτικό ή οξικό οξύ και νερό παράγει ένα υδροξυλιωμένο προϊόν. Η υδροξυλίωση συμβαίνει στους διπλούς δεσμούς, μετατρέποντας έτσι τη λεκιθίνη, ώστε να αυξάνεται ο υδρόφιλος χαρακτήρας της. Το αποτέλεσμα είναι ένα προϊόν με βελτιωμένες γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες σχετικά με τη μη-τροποποιημένη λεκιθίνη.

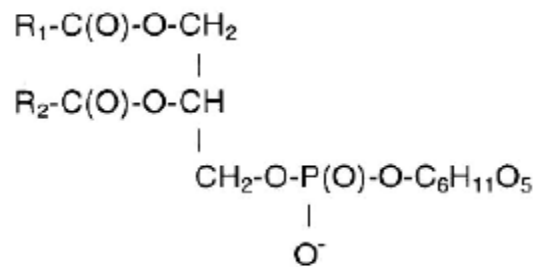
Τα τριγλυκερίδια είναι διαλυτά στην ακετόνη, όχι όμως τα φωσφολιπίδια. Έτσι, όσο πιο μεγάλο είναι το ποσοστό του μη διαλυτού υλικού στην ακετόνη, τόσο μεγαλύτερο είναι το ποσοστό των φωσφολιπιδίων στην ακατέργαστη λεκιθίνη. Εξαιτίας αυτού, ένα από τα κυριότερα κριτήρια αξιολόγησης της λεκιθίνης είναι το ποσοστό του μη διαλυτού στην ακετόνη υλικού. Η λεκιθίνη επίσης αξιολογείται βάσει διαφόρων παραγόντων, που περιλαμβάνουν το ποσοστό ελεύθερων οξέων, το ποσοστό υλικού μη διαλυτού στο εξάνιο, το ποσοστό του νερού, του βαθμού υπεροξειδίων και των μεταλλικών ιχνοστοιχείων. Οι γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες της ακατέργαστης και της τροποποιημένης λεκιθίνης μπορούν να καθοριστούν βάσει μίας μεθόδου που έχει προταθεί από τον Von Pardun (1982). Αρχικά, δημιουργείται ένα γαλάκτωμα χρησιμοποιώντας λεκιθίνη. Στη συνέχεια, αφού τοποθετηθεί κάτω από μεταβαλλόμενες συνθήκες πίεσης, μετρείται ο χρόνος ημιζωής του σκευάσματος. Εναλλακτικά, ο ρυθμός διαχωρισμού των φάσεων, της συσσωμάτωσης, της αύξησης της κρεμώδους υφής του σκευάσματος και της συνάφειας μπορούν να υπολογιστούν βάσει οπτικής παρατήρησης σε συνδυασμό με τον υπολογισμό του μεγέθους των σταγονιδίων (Pinfield et al. 1997).



(a) *Phosphatidylcholine*



(b) *Phosphatidylethanolamine*

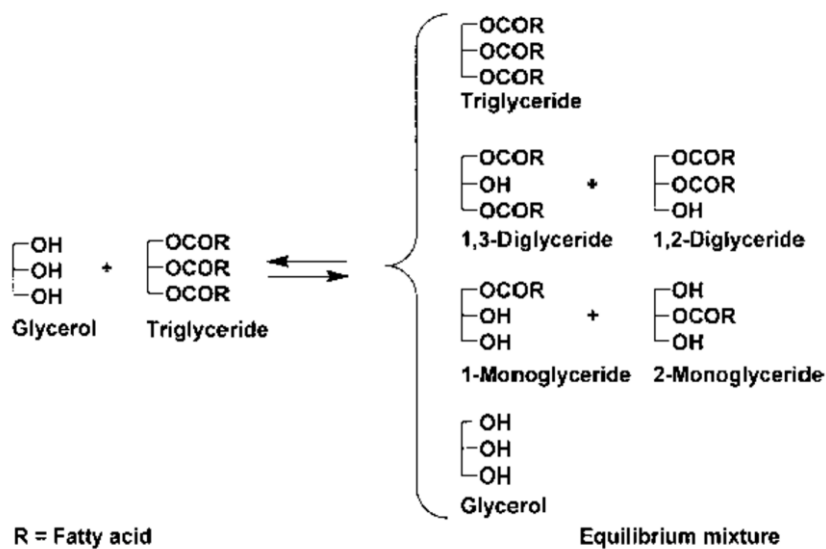


(c) *Phosphatidylinositol*

Εικόνα 1.3: Τα κύρια φωσφολιπίδια που περιέχονται στην εμπορική λεκιθίνη, όπου τα R1 και R2 είναι λιπαρά οξέα.

1.3.3.4 Μονογλυκερίδια και διγλυκερίδια

Τα μονογλυκερίδια χρησιμοποιήθηκαν ως γαλακτωματοποιητές γύρω στα 1930 με εφαρμογή στην παραγωγή μαργαρίνης. Τα μονογλυκερίδια παράγονται βιομηχανικά από αντιδράσεις εστεροποίησης (glycerolysis) βρώσιμων λιπών ή ελαίων με γλυκερίνη. Η αντίδραση λαμβάνει χώρα σε υψηλή θερμοκρασία (200-260°C) με αλκαλική κατάλυση. Ο μηχανισμός της αντίδρασης φαίνεται στην Εικόνα 1.4. Αποτελούν τους πιο συχνά χρησιμοποιημένους γαλακτωματοποιητές. Τα μονογλυκερίδια και διγλυκερίδια επίσης σχηματίζονται άμεσα από γλυκερόλη και λιπαρά οξέα κάτω από αλκαλικές συνθήκες. Με μοριακή απόσταξη είναι δυνατόν να παρασκευαστεί ένα καθαρό προϊόν που περιέχει το ανώτερο μέχρι 90% μονογλυκερίδια. Προκειμένου να χαρακτηριστούν οι εμπορικές πηγές μονογλυκεριδίων και διγλυκεριδίων χρησιμοποιούνται διάφορες δοκιμές, όπως ο ολικός βαθμός μονογλυκεριδίων, ο βαθμός υδροξυλίων, ο αριθμός ιωδίου, και ο βαθμός σαπωνοποίησης (McClements and Decker 2000). Η ενζυμική σύνθεση των μονογλυκεριδίων αποτελεί μέθοδο για την παραγωγή γαλακτωματοποιητών. Ωστόσο, η απομόνωση των επιθυμητών προϊόντων από το μίγμα της αντίδρασης είναι ένα πρόβλημα για παραγωγή σε μεγάλη κλίμακα, και η εμπορική παραγωγή των γαλακτωματοποιητών με βιοχημικές μεθόδους δεν χρησιμοποιείται συνήθως.

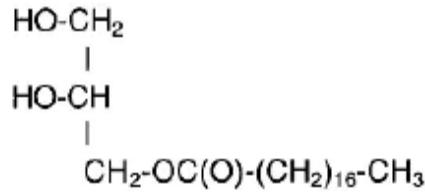


Εικόνα 1.4: Σχηματική απεικόνιση της αντίδραση γλυκερόλυσης.

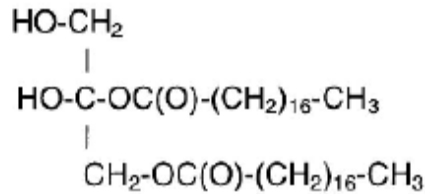
Ο Πίνακας 1.4 παρουσιάζει τη σύσταση της λιπαρής φάσης που παράγεται από τη γλυκερόλυση λιπαρής ουσίας σε διαφορετικές συγκεντρώσεις γλυκερόλης

Πίνακας 1.4: Σύσταση των μιγμάτων που προέρχονται από γλυκερόλυση.

% κ.β. ποσότητας γλυκερόλης που προστίθεται στα τριγλυκερίδια	Μίγμα ισορροπίας		
	Τριγλυκερίδια % κ.β.	Διγλυκερίδια % κ.β.	Μονογλυκερίδια % κ.β.
0	100	-	-
7	35	50	15
14	15	45	40
16	11	43	46
20	8	39	53
24	5	35	60



Monoglyceride

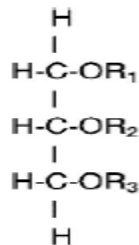


Diglyceride

Εικόνα 1.5: Μονο- και δι- γλυκερίδια.

1.3.3.5 Υδροξυ - καρβοξυλικά και εστέρες λιπαρών οξέων

Προκειμένου να παραχθεί ένας γαλακτωματοποιητής με περισσότερο υδρόφιλο χαρακτήρα σε σχέση με τα μονογλυκερίδια, εστεροποιούνται μικρά οργανικά οξέα σε μονογλυκερίδια. Μερικά από αυτά τα οξέα που χρησιμοποιούνται είναι το οξικό, το κιτρικό, το φουμαρικό και το τρυγικό. Τα μονογλυκερίδια συντίθενται από ανυδρίτη ηλεκτρικού οξέος και χρησιμοποιούνται από την αρτοποιητική βιομηχανία. Οι εστέρες οξικού οξέος των μονογλυκεριδίων και διγλυκεριδίων συντίθενται από λιπαρά οξέα μαζί με οξικό ανυδρίτη ή με μετεστεροποίηση. Το προϊόν είναι λιποδιαλυτό και αδιάλυτο στο νερό. Η λειτουργικότητά του στα τρόφιμα περιλαμβάνει έλεγχο της κρυσταλλοποίησης των λιπαρών και βελτίωση των αφρωδών ιδιοτήτων των τροφίμων με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά. Χρησιμοποιούνται συχνά σε μαγειρικά λίπη και σε μίγματα για κέικ (McClements and Decker 2000).



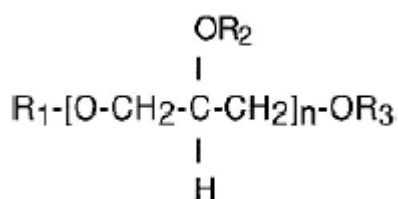
Εικόνα 1.6: Εστέρες οργανικού οξέος μονογλυκεριδίων όπου τουλάχιστον ένα R είναι μικρή αλυσίδα οργανικού οξέος π.χ. οξικό οξύ.

1.3.3.6 Γαλακτυλιωμένοι εστέρες λιπαρών οξέων

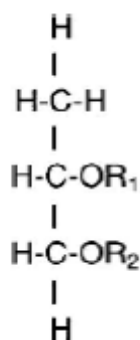
Οι πολυμερικοί εστέρες γαλακτικού οξέος μονογλυκεριδίων είναι γνωστοί ως στεαρολυ-2-γαλακτυλιωμένο νάτριο ή ασβέστιο. Τυπικά υπάρχουν δύο ομάδες γαλακτικών οξέων για κάθε μόριο γαλακτωματοποιητή. Για να παραχθεί ο γαλακτωματοποιητής, θερμαίνεται ένα μίγμα λιπαρών οξέων, πολυγαλακτικού οξέος και ανθρακικού νατρίου ή ασβεστίου περίπου στους 200°C για περίπου 1h, υπό ανάδευση, σε αδρανή ατμόσφαιρα. Το άλας ασβεστίου διαχέεται λιγότερο στο νερό από ότι το στεαρολυ-2-γαλακτυλιωμένα ασβέστιο (McClements and Decker 2000).

1.3.3.7 Πολυγλυκερικοί εστέρες λιπαρών οξέων

Οι πολυγλυκερικοί εστέρες λιπαρών οξέων χρησιμοποιούνται, επίσης, στα προϊόντα τροφίμων, κυρίως στα ψημένα προϊόντα. Αποτελούνται από διάφορους μικτούς εστέρες που συντίθενται από την αντίδραση της πολυμερισμένης γλυκερόλης με τα εδώδιμα λιπαρά. Οι πολυγλυκερόλες ποικίλλουν ανάλογα με το βαθμό πολυμερισμού της γλυκερόλης. Η πηγή των λιπαρών οξέων καθώς και ο βαθμός πολυμερισμού ποικίλλει, παρέχοντας μία μεγάλη ποικιλία γαλακτωματοποιητών, από υδροφιλικούς μέχρι πολύ λιποφιλικούς (McClements and Decker 2000).



Εικόνα 1.7: Πολυγλυκερικοί εστέρες λιπαρών οξέων όπου τα R1, R2 και R3 είναι λιπαρά οξέα ή υδρογόνο και όπου η μέση τιμή του n είναι μεγαλύτερη του 1.



Εικόνα 1.8: Εστέρες προπυλενογλυκόλης λιπαρών οξέων όπου τα R1 και R3 είναι λιπαρά οξέα ή υδρογόνο και όπου τουλάχιστον ένα από τα R είναι λιπαρό οξύ.

1.3.3.8 Εστέρες λιπαρών οξέων πολυαιθυλενικής ή προπυλενικής γλυκερόλης

Τα λιπαρά οξέα μπορούν να εστεροποιηθούν άμεσα προς αιθέρες πολυαιθυλενικής γλυκόλης ή με ενζυμική διεργασία, επιτρέποντας μεγαλύτερο έλεγχο στην αντίδραση. Οι Shaw και Lo (1994) ανέφεραν την παραγωγή μονοεστέρων λιπαρών οξέων (C12, C14, C16, C18, και C18:1) προπυλενικής γλυκόλης από καταλυτικές αντιδράσεις λιπάσης. Οι μονοεστέρες προπυλενικής γλυκόλης, δωδεκαεξανοϊκού οξέος, και εικοσιπεντανοϊκού οξέος, οι οποίοι είναι γαλακτωματοποιητές τύπου νερό-σε-έλαιο και είναι πολύ χρήσιμοι στη βιομηχανία τροφίμων, συντέθηκαν από καταλυόμενη εστεροποίηση με λιπάση (McClements and Decker 2000).

1.3.3.9 Αιθοξυλιωμένα παράγωγα μονογλυκεριδίων

Τα αιθοξυλιωμένα μονογλυκερίδια και διγλυκερίδια παράγονται από την αντίδραση αρκετών moles αιθυλενικού οξειδίου και μονογλυκεριδίων και διγλυκεριδίων κάτω από συνθήκες πίεσης. Η αιθοξυλίωση των μονογλυκεριδίων έχει ως αποτέλεσμα ένα προϊόν που είναι αρκετά πιο υδροφιλικό σε σχέση με τα μονογλυκερίδια (McClements and Decker 2000).

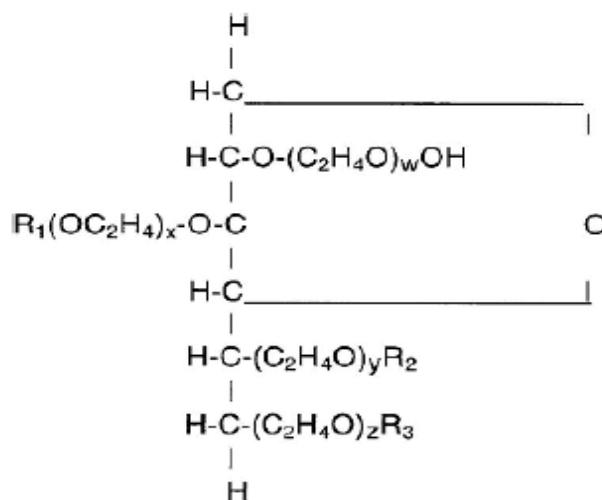
Πίνακας 1.5: Ονοματολογία και τα φυσικά χαρακτηριστικά των αιθοξυλιωμένων εστέρων.

Γενική Ονομασία	Κοινή ονομασία	Άλλα ονόματα	Φυσική μορφή (25°C)	HLB (±1)
Polysorbate 20	Tween 20	Μονολαυρική πολυοξυαιθυλενο(20)σορβιτάνη	Υγρό	16.7
Polysorbate 40	Tween 40	Μονοπαλμιτική πολυοξυαιθυλενο(20)σορβιτάνη	Υγρό	15.6
Polysorbate 60	Tween 60	Μονοστεατική πολυοξυαιθυλενο(20)σορβιτάνη	Gel	14.9
Polysorbate 80	Tween 80	Μονοελαϊκή πολυοξυαιθυλενο(20)σορβιτάνη	Υγρό	15.0
Polysorbate 65	Tween 65	Τριστεατική πολυοξυαιθυλενο(20)σορβιτάνη	Στερεό	10.5
Polysorbate 85	Tween 85	Τριελαϊκή πολυοξυαιθυλενο(20)σορβιτάνη	Υγρό	11.0
Polyglycerate 60	Ethoxylated mono- and di-glycerides	πολυοξυαιθυλενο(20)σορβιτάνη μονο-και διγλυκεριδίων λιπαρών οξέων	Υγρό	13.0
-	Myrj	Στεατικό πολυοξυαιθυλένιο(8)	Gel	11.1

Πηγή: Cottrell and Van Peij 2004.

1.3.3.10 Εστέρες σορβιτόλης με λιπαρά οξέα

Οι πολυαιθοξυλιωμένοι εστέρες σορβιτόλης παράγονται μέσω της προσθήκης αιθυλενικού οξειδίου, με πολυμερισμό, στους σορβικούς εστέρες λιπαρών οξέων. Αυτοί οι μη ιονικοί υδρόφιλοι γαλακτωματοποιητές είναι πολύ σημαντικοί παράγοντες για τη σταθερότητα, και έτσι, χρησιμοποιούνται σε μεγάλο αριθμό προϊόντων αρτοποιίας. Αυτοί οι γαλακτωματοποιητές είναι γνωστοί ως πολυσορβικά (20, 60, 80). Τα πολυσορβικά 20, 60 και 80 χρησιμοποιούν λαυρικό, στεατικό και ελαϊκό, ανάλογα με την αναλογία των λιπαρών οξέων (McClements and Decker 2000).



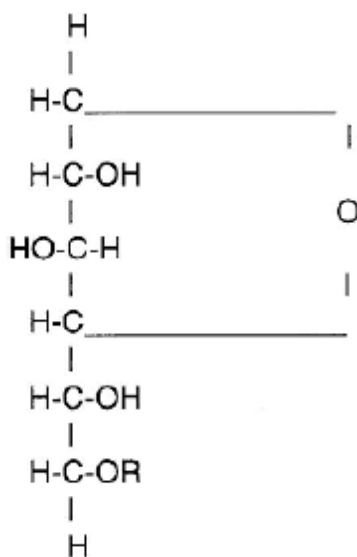
Εικόνα 1.9: Πολυσορβικοί εστέρες όπου τα $w, x, y, z = 20$ περίπου και τα R είναι είτε λιπαρά οξέα, είτε υδρογόνα για τους πολυσορβικούς εστέρες 20, 40, 60 και 80. Για τον 65, κάθε R παριστά μία ρίζα στεατικού οξέος. Τα λιπαρά οξέα που περιέχονται στους εστέρες 20, 40, 60 και 80 είναι αντίστοιχα το λαυρικό, το παλμιτικό, το στατικό και το ελαϊκό.

Πίνακας 1.6: Ονοματολογία και φυσικά χαρακτηριστικά των εστέρων σορβιτόλης.

Γενική Ονομασία	Κοινή ονομασία	Φυσική μορφή	HLB (± 1)
Sorbitan monolaurate	Span 20	Υγρό	8.6
Sorbitan monopalmitate	Span 40	Στερεό	6.7
Sorbitan monostearate	Span 60	Στερεό	4.7
Sorbitan monooleate	Span 80	Υγρό	7.3
Sorbitan tristearate	Span 65	Στερεό	2.1
Sorbitan trioleate	Span 85	Υγρό	1.8

1.3.3.11 Ετερογενή παράγωγα

Τα λιπαρά οξέα εστεροποιούνται άμεσα σε άλλα συστατικά πέρα από τη γλυκερόλη. Για παράδειγμα αλκοόλες σακχάρων, όπως η σορβιτόλη, μανιτόλη και σε σάκχαρα, όπως η σακχαρόζη, η γλυκόζη, η φρουκτόζη και η μαλτόζη. Οι σορβικοί εστέρες ή η σορβιτόλη σχηματίζονται από 1,4-ανυδροσορβιτόλη και λιπαρά οξέα. Τυπικά ο γαλακτωματοποιητής αποτελείται από ένα μίγμα εστέρων στεατικού και παλμιτικού λιπαρού οξέος σορβιτόλης και τους μονο και δι-ανυδρίτες (McClements and Decker 2000).



Εικόνα 1.10: Εστέρας στεατικού οξέος, όπου το R παριστά μία ρίζα λιπαρού οξέος, π.χ. στεατικό οξύ, λαυρικό οξύ, ελαϊκό οξύ και παλμιτικό οξύ.

1.3.3.12 Σταθεροποιητές

Μολονότι οι γαλακτωματοποιητές βοηθούν στη σταθεροποίηση γαλακτωμάτων, ο όρος «σταθεροποιητής» στο πλαίσιο γαλακτωμάτων αναφέρεται στα πολυμερή τα οποία προστίθενται για να βελτιώσουν τη σταθερότητα του γαλακτώματος. Τέτοια πολυμερή μπορεί να είναι κόμμεα όπως ξανθάνη, γκουάρ, καρραγενάνη, και ούτω καθεξής. Αυτά τα συστατικά μπορούν να χωριστούν σε «παράγοντες πάχυνσης» και "πηκτικά μέσα" (McClements 2005). Η προσθήκη αυτών των πολυμερών σχηματίζει ένα δίκτυο που μπορεί αποτελεσματικά να ενθυλακώσει τα σταγονίδια του γαλακτώματος. Αυτή η ακινητοποίηση αποτρέπει την κροκίδωση των σταγονιδίων και μειώνει την αποβουτύρωση. Χαμηλότερες συγκεντρώσεις πολυμερών μπορεί να προκαλέσουν κροκίδωση υπό μηχανισμό εξάντλησης. Υπό διαφορετικές συνθήκες, η κροκίδωση με πολυμερή μπορεί να επάγει τον ταχύ σχηματισμό κρέμας ή την καθίζηση (Robins and Wilde 2003).

1.3.3.13 Διάφορα συστατικά

Τα γαλακτώματα τροφίμων είναι πολύπλοκα συστήματα και μπορεί να περιέχουν επίσης άλατα, σάκχαρα, χρώματα και συντηρητικά. Αυτά τα συστατικά μπορεί να επηρεάσουν την κολλοειδή δομή του γαλακτώματος. Το άλας, λόγω του ιοντικού του χαρακτήρα, είναι ίσως το πιο σημαντικό συστατικό καθώς αυτό μπορεί να επηρεάσει τη διαλυτότητα των λειτουργικών συστατικών όπως των πρωτεϊνών και των πολυσακχαριτών. Επίσης το άλας επηρεάζει την ηλεκτροστατική κολλοειδή σταθερότητα μεταξύ των σωματιδίων. Τα σάκχαρα μπορούν να μειώσουν τη διηλεκτρική σταθερά της συνεχούς φάσης, η οποία επηρεάζει τις κολλοειδείς αλληλεπιδράσεις, ενώ ορισμένα σάκχαρα, όπως η τρεαλόζη, είναι γνωστό για την προστασία των πρωτεϊνών έναντι μετουσίωσης κατά τη θέρμανση και ξήρανση. Αρωματικές ουσίες, χρώματα και συντηρητικά υπάρχουν συνήθως σε σχετικά χαμηλά επίπεδα και γενικά δεν επηρεάζουν τα φυσικά χαρακτηριστικά. Ωστόσο, ορισμένα συστατικά είναι πτητικά και μπορούν μετατραπούν από τη μία φάση στην άλλη (Robins and Wilde 2003).

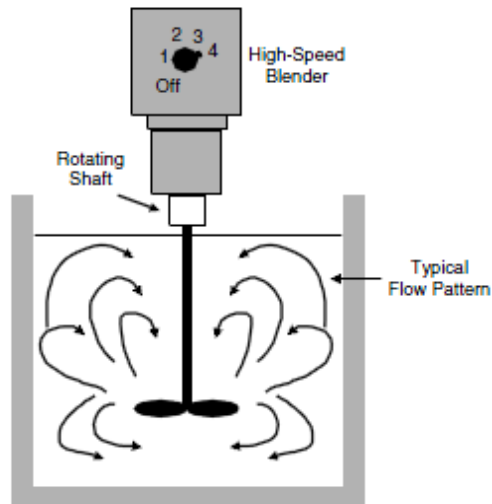
1.4 Μέθοδοι παρασκευής

Ομογενοποίηση ονομάζεται η διαδικασία κατά την οποία το έλαιο και το νερό μετατρέπεται σε γαλάκτωμα ή μειώνεται η διάμετρος των σταγονιδίων του γαλακτώματος. Η τεχνική γαλακτωματοποίησης μπορεί να είναι απλώς μία μορφή ανάμιξης. Ο σχηματισμός του γαλακτώματος προϋποθέτει ότι η ενέργεια που μεταδίδεται στο σύστημα ξεπερνά την αντίσταση από τη δημιουργία των νέων επιφανειών, η οποία προκύπτει από τη διεπιφανειακή τάση των συστατικών. Θεωρητικά, το έργο που απαιτείται για να παραχθεί ένα γαλάκτωμα είναι ισοδύναμο προς το γινόμενο της διεπιφανειακής τάσης των επιφανειών και της νεο-σχηματιζόμενης επιφάνειας. Η παρασκευή γίνεται με την υποβολή και των δύο φάσεων σε βίαιη ανατάραξη, με σκοπό τα μεγάλα σταγονίδια της εσωτερικής φάσης να ωθηθούν σε διάτμηση. Σε εργαστηριακές μελέτες, τα περισσότερα γαλακτώματα παρασκευάζονται, πιο αποτελεσματικά και εύκολα με μία διαδικασία δύο σταδίων: το πρώτο στάδιο είναι η μετατροπή ενός "χονδροειδούς γαλακτώματος" με ξεχωριστές φάσεις ελαίου και νερού με αρκετά μεγάλο μέγεθος σταγονιδίων (συνήθως με συσκευή ρότορα-στάτορα) και στη συνέχεια η ριζική μείωση της διαμέτρου των σταγονιδίων του γαλακτώματος με χρήση κάποιας άλλης τεχνικής (π.χ. συστήματα υψηλής πίεσης) (Reische and Lillard 2002). Σταθερό γαλάκτωμα σχηματίζεται με την χρήση σωστής ποσότητας και σωστού τύπου γαλακτωματοποιητή στην βέλτιστη θερμοκρασία σε επαρκή χρόνο. Οι παραπάνω παράγοντες επηρεάζουν την προσρόφηση του γαλακτωματοποιητή στο νέο περιβάλλον.

Στην πραγματικότητα, τα (προ) γαλακτώματα παρασκευάζονται κυρίως από μία συσκευή ανάμιξης (Bremer, 1993). Η επιλογή ενός συγκεκριμένου ομογενοποιητή εξαρτάται από το αν το γαλάκτωμα γίνεται σε εργοστασιακή ή εργαστηριακή κλίμακα, από το διαθέσιμο εξοπλισμό, τον όγκο του υλικού που πρόκειται να ομογενοποιηθεί, την επιθυμητή απόδοση, τη φύση των αρχικών υλικών, και επίσης πρέπει να ληφθεί υπόψη η επιθυμητή κατανομή μεγέθους σταγονιδίων, οι απαιτούμενες φυσικοχημικές ιδιότητες του τελικού προϊόντος, και το κόστος αγοράς και λειτουργίας του εξοπλισμού. Τα μηχανήματα που χρησιμοποιούνται στην παρασκευή γαλακτωμάτων είναι κυρίως: ομογενοποιητές υψηλής ταχύτητας, ομογενοποιητές υψηλής πίεσης, ομογενοποιητές με υπέρηχους, περιστροφικοί αναδευτήρες (rotor-stator), συστήματα μεμβρανών και μικρορευστοποιητές (Garti 1998).

1.4.1 Ομογενοποιητής υψηλής ταχύτητας

Στη βιομηχανία τροφίμων οι πιο συχνά χρησιμοποιημένες συσκευές για την ομογενοποίηση μιας λιπαρής και μιας υδατικής φάσης είναι οι ομογενοποιητές υψηλής ταχύτητας. Στην ασυνεχή διεργασία ομογενοποίησης με ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας το έλαιο, το νερό και άλλα συστατικά τοποθετούνται για να ομογενοποιηθούν σε ένα δοχείο όγκου κατάλληλου για εργαστηριακή ή βιομηχανική χρήση. Στη συνέχεια τα συστατικά αναδεύονται με μία κεφαλή ανάμιξης η οποία περιστρέφεται σε υψηλή ταχύτητα (τυπικά έως 3600 rpm/min). Τα διάφορα συστατικά μπορούν να προστεθούν στην αρχή της διαδικασίας ή διαδοχικά, με σκοπό τη βελτίωση της διασποράς ή/και τη μείωση του χρόνου ομογενοποίησης. Η ταχύτερη περιστροφή της κεφαλής ανάμιξης παράγει ένα συνδυασμό από επιμήκεις, περιστροφικές και ακτινωτές κλίσεις ταχύτητας στα υγρά. Η ταχύτητα αυτή διαταράσσει τις επιφάνειες του ελαίου και του νερού, ωθώντας τα δύο υγρά να ενωθούν και να σχηματισθούν μικρά σταγονίδια. Η αποδοτική ομογενοποίηση επιτυγχάνεται, όταν το μίγμα είναι ομοιόμορφο σε όλο το δοχείο, και η διαδικασία αυτή μπορεί να διευκολυνθεί έχοντας διαφράγματα στερεωμένα στα εσωτερικά τοιχώματα του δοχείου. Ο σχεδιασμός της κεφαλής ανάμιξης καθορίζει επίσης την αποτελεσματικότητα της διαδικασίας ομογενοποίησης. Για το λόγο αυτό είναι διαθέσιμος ένας μεγάλος αριθμός διαφόρων τύπων κεφαλών ανάμιξης, αναλόγως με τη διεργασία και τις διάφορες καταστάσεις, για παράδειγμα λεπίδες, έλικες και τουρμπίνες. Οι ειδικά σχεδιασμένες κεφαλές ανάμιξης συχνά χρησιμοποιούνται για να παράγουν εντονότερες και πιο ομοιόμορφα κατανεμημένες διασπαστικές δυνάμεις, έτσι ώστε να δημιουργηθούν μικρότερα σταγονίδια, να μειώσουν το χρόνο ομογενοποίησης, ή/και να εξασφαλίσουν πιο ομοιόμορφη ανάμιξη. Η αποτελεσματικότητα της ομογενοποίησης μπορεί επίσης να αυξηθεί με τη χρήση μιας κεφαλής ανάμιξης η οποία περιστρέφεται σε αντίθετη κατεύθυνση από αυτή που περιστρέφεται το δοχείο. Για βιομηχανικούς σκοπούς, πολλές συσκευές ανάμιξης υψηλής ταχύτητας είναι διαθέσιμες να λειτουργούν σε σειρά έτσι, ώστε τα προϊόντα να μπορούν να παράγονται συνεχώς. Η τυπική απόδοση για τις συσκευές σε σειρά κυμαίνονται από μερικά λίτρα έως μερικές εκατοντάδες λίτρα ανά ώρα. Η ανάμιξη γενικά οδηγεί σε ελαφρά αύξηση της θερμοκρασίας του γαλακτώματος, διότι μέρος της μηχανικής ενέργειας μετατρέπεται σε θερμότητα λόγω της ιξώδους διάχυσης. Εάν κάποιο από τα συστατικά στο γαλάκτωμα είναι ευαίσθητο στη θερμότητα, είναι απαραίτητος ο έλεγχος της θερμοκρασίας του δοχείου κατά τη διάρκεια της ομογενοποίησης. Οι ομογενοποιητές υψηλής ταχύτητας είναι ιδιαίτερα χρήσιμοι για την παρασκευή γαλακτωμάτων με χαμηλό ή μέτριο ιξώδες. Το μέγεθος των σταγονιδίων μειώνεται συνήθως, όταν ο χρόνος ομογενοποίησης ή η ταχύτητα περιστροφής της κεφαλής ανάμιξης αυξάνεται, έως ότου φτάσει σε ένα κατώτερο όριο το οποίο εξαρτάται από τη φύση και τη συγκέντρωση των συστατικών που χρησιμοποιούνται και την πυκνότητα ισχύος του ομογενοποιητή. Τυπικά, τα σταγονίδια που παράγονται από έναν ανάμικτη υψηλής ταχύτητας σε σειρά, έχουν διάμετρο μεταξύ 2-10 μm. Οι βιομηχανικοί ομογενοποιητές συχνά σχεδιάζονται έτσι, ώστε να αποφευχθεί η υπερβολική ενσωμάτωση φυσαλίδων αέρα κατά τη διάρκεια της ομογενοποίησης, επειδή αυτό μπορεί να έχει αρνητικές επιπτώσεις σχετικά με την επεξεργασία και τις ιδιότητες πολλών γαλακτωμάτων. Επίσης χρησιμοποιούνται για να δημιουργήσουν ένα χονδροειδές γαλάκτωμα τροφίμων και να εξασφαλίσουν την αποτελεσματική διασπορά και τη διάλυση των συστατικών στο γαλάκτωμα, ιδιαίτερα των κονιοποιημένων συστατικών.



Εικόνα 1.11: Αναμικτήρας υψηλής ταχύτητας που χρησιμοποιείται συχνά στη βιομηχανία τροφίμων για την άμεση ομογενοποίηση λιπαρής και υδατικής φάσης.

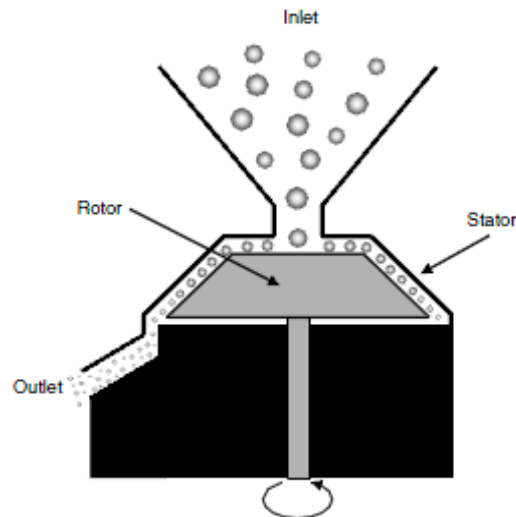
1.4.2 Περιστροφικοί αναδευτήρες (rotor-stator)

Οι περιστροφικοί αναδευτήρες χρησιμοποιούνται ευρέως για τη γαλακτωματοποίηση υγρών μεσαίου έως υψηλού ιξώδους (McClements 2005). Χρησιμοποιούνται συνήθως για ασυνεχείς διεργασίες ενώ για συνεχείς διεργασίες προτιμούνται οι κολλοειδείς μύλοι με λείους ή οδοντωτούς ρότορες και στάτορες. Κατά την ομογενοποίηση το υγρό τροφοδοτείται στον αναδευτήρα σε μορφή ενός χονδροειδούς γαλακτώματος (Pinnamaneni et al. 2003), ή ως ξεχωριστές φάσεις. Το υγρό ρέει μέσα από το στενό διάκενο μεταξύ του περιστρεφόμενου δίσκου (ρότορας) και του στατικού δίσκου (στάτης). Η διάταξη ρότορα/στάτορα αποτελείται από ένα ρότορα που βρίσκεται ομόκεντρα στο εσωτερικό του στάτορα με δύο ή περισσότερες λεπίδες και ένα στάτορα σε κατακόρυφη θέση. Καθώς ο ρότορας περιστρέφεται, παράγει χαμηλή πίεση για να αντλήσει το υγρό μέσα στη συσκευή, οδηγώντας έτσι το υγρό σε κυκλοφορία με τελικό σκοπό τη γαλακτωματοποίηση του μίγματος. Μία από τις αιτίες που μπορούν να μειώσουν το μέγεθος των σταγονιδίων είναι η μηχανική πρόσκρουση στα τοιχώματα της διάταξης λόγω της υψηλής επιτάχυνσης του ρευστού. Επιπλέον και η διατμητική τάση, που δημιουργείται στο διάκενο μεταξύ του ρότορα και του στάτη, λόγω της ταχείας περιστροφής του ρότορα, μπορεί να μειώσει το μέγεθος των σταγονιδίων. Η ένταση της τάσης διάτμησης μπορεί να μεταβληθεί μεταβάλλοντας το πάχος του διακένου (περίπου 50-1000 nm), την ταχύτητα περιστροφής (περίπου 1000-25,000 rpm), ή με τη χρήση δίσκων που έχουν οδοντωτές επιφάνειες (Becher 2001, McClements 2005). Προφανώς, η ταχύτητα περιστροφής και ο χρόνος παραμονής των σταγονιδίων του γαλακτώματος που μένουν στο κενό μεταξύ του ρότορα και του στατορά είναι οι κύριες παράμετροι για τον έλεγχο του μεγέθους των σταγονιδίων του γαλακτώματος. Άλλες παράμετροι είναι το ιξώδες του γαλακτώματος, η επιφανειοδραστική ουσία, ο σχεδιασμός του ρότορα/στάτορα, το μέγεθος του όγκου, και η αναλογία όγκου των δύο φάσεων (McClements 2005).

1.4.3 Κολλοειδείς μύλοι

Σε ένα κολλοειδή μύλο το ακατέργαστο γαλάκτωμα διέρχεται μεταξύ του στάτη και της περιστρεφόμενης επιφάνειας (ρότορας) που διαχωρίζονται από ένα μικρό διάκενο. Τα υγρά υποβάλλονται σε περιστροφή και διάτμηση. Οι ταχύτητες του ρότορα κυμαίνονται από 3.000 έως 15.000 rpm. Ο ρότορας θα μπορούσε επίσης να τοποθετηθεί κάθετα σχετικά με τους άξονες

(μύλοι). Συνήθως οι μύλοι αυτοί χρησιμοποιούνται σε γαλακτώματα υψηλούς ιξώδους (> 1000 cP). Για μέγεθος σταγονιδίων κάτω από 1 μm δεν μπορεί να επιτευχθεί γαλακτωματοποίηση σε κολλοειδείς μύλους, ιδίως με εκείνους με στρωτή ροή.



Εικόνα 1.12: Οι κολλοειδείς μύλοι χρησιμοποιούνται κυρίως στη βιομηχανία τροφίμων για την ομογενοποίηση υλικών με ενδιάμεσο και υψηλό ιξώδες.

1.4.4 Σφαιρικοί μύλοι/Μύλοι διασποράς (Balls Mills/Dispersion Mills)

Η διασπορά των λεπτόκοκκων κόνεων ή γαλακτωματοποίηση διεξάγεται με τη χρήση σφαιρικών μύλων ή μύλων διασποράς προκειμένου να σπάσουν τα συσσωματώματα ή να σχηματιστούν σταθερότερα γαλακτώματα. Ο σφαιρικός μύλος αποτελείται από ένα οριζόντια τοποθετημένο κυλινδρικό τύμπανο μισογεμάτο με μεταλλικές σφαίρες υψηλής πυκνότητας. Το εξωτερικό τύμπανο περιστρέφεται αργά, επιτρέποντας στις σφαίρες να κυλήσουν λόγω βαρύτητας δημιουργώντας πολύ μεγάλες διατμητικές τάσεις στο διάκενο μεταξύ γειτονικών σφαιρών. Ο σφαιρικός μύλος γενικά λειτουργεί με μισογεμάτο το τύμπανο σε μια ταχύτητα περιστροφής, η οποία είναι περίπου στο 60% της μέγιστης ταχύτητας της συσκευής. Αυτές οι συσκευές δεν χρησιμοποιούνται από τη βιομηχανία τροφίμων καθώς οι σφαίρες μπορούν να φθαρούν ή να θρυμματιστούν. Οι μύλοι διασποράς χρησιμοποιούν ένα πτερύγιο πολύ υψηλής ταχύτητας που κινείται μέσα σε ένα σταθερό σάτη. Μεταξύ των κενών του ρότορα και του σάτη δημιουργούνται υψηλές διατμητικές τάσεις, οι οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη διάλυση των συσσωματωμάτων καθώς το ρευστό ρέει διαμέσου των σχισμών του δοχείου. Αυτές οι συσκευές είναι κατάλληλες για το σπάσιμο των συσσωματωμάτων των σταγονιδίων στα γαλακτώματα σε περιοχές διάχυσης υψηλής ενέργειας κοντά στην κεφαλή διασποράς.

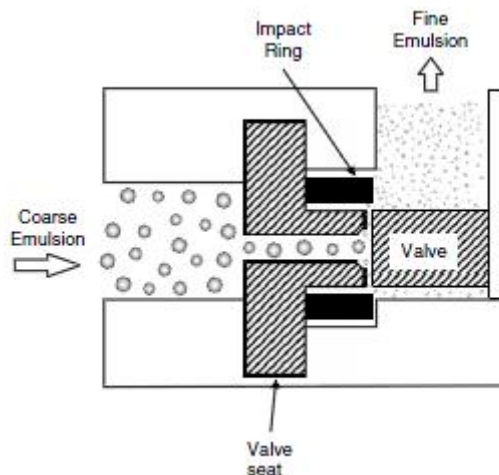
1.4.5 Ομογενοποιητές Πίεσης

Οι ομογενοποιητές πίεσης χρησιμοποιούνται για υγρά χαμηλού ιξώδους (< 200 cP). Αποτελούνται από μία βαλβίδα και μία αντλία υψηλής πίεσης. Οι πιέσεις έως και 10000 psi σχηματίζονται μέσω

μίας βαλβίδας. Κατά την ομογενοποίηση τα σταγονίδια της εσωτερικής φάσης επιταχύνονται από την είσοδο του διάκενου, με αποτέλεσμα να παραμορφώνονται παίρνοντας ασταθή μορφή και στη συνέχεια να διασπώνται. Η διάσπαση της εσωτερικής φάσης πραγματοποιείται από την πρόσκρουσή της με μεγάλη ταχύτητα σε μία σκληρή επιφάνεια. Η συνολική διάσπαση είναι το αποτέλεσμα της απότομης πτώσης της πίεσης στην έξοδο της βαλβίδας, μαζί με το φαινόμενο της σπηλαιώσης (Brennan 1993).

1.4.6 Συστήματα υψηλής πίεσης

Οι ομογενοποιητές υψηλής πίεσης μπορεί να ταξινομηθούν σε ομογενοποιητές ενός σταδίου και σε ομογενοποιητές δύο σταδίων. Η ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος είναι η ομογενοποίηση των δύο σταδίων, καθώς επιτυγχάνει καλύτερα αποτελέσματα ομογενοποίησης, γιατί τα πιθανά συσσωματώματα τα οποία μπορούν να προκύψουν στην ομογενοποίηση ενός σταδίου αποφεύγονται με τη χρήση της δεύτερης βαλβίδας ομογενοποίησης. Η ομογενοποίηση ενός σταδίου χρησιμοποιείται για ομογενοποίηση προϊόντων στα οποία απαιτείται υψηλό ιξώδες, ενώ η ομογενοποίηση δύο σταδίων χρησιμοποιείται σε προϊόντα με υψηλό περιεχόμενο σε λιπαρά και σε εκείνα που είναι επιθυμητή η υψηλή απόδοση ομογενοποίησης, όπως το γάλα (Robins et al. 1998, Das et al. 1990). Η ταξινόμηση αυτών των συστημάτων γίνεται μέσω της γεωμετρίας και του σχεδιασμού του ακροφυσίου και με βάση την κατεύθυνση της ροής (Stang et al. 2001). Η κατάταξη με βάση τη ροή είναι πιο χρήσιμη από ότι σύμφωνα με το σχεδιασμό του ακροφυσίου, αφού η διεύθυνση της ροής είναι καθοριστική για την αποτελεσματικότητα της ομογενοποίησης με συσκευές υψηλής πίεσης. Τα ακροφύσια ταξινομούνται σε τέσσερις μεγάλες κατηγορίες σε ακτινωτούς διαχυτές (στόμια καθορισμένου μεγέθους), σε διασκορπιστές ακροφυσίου, σε μικρορευστοποιητές και σε βαλβίδες στομίου. Τα "πρότυπα ακροφύσια" καλούνται συχνά ομογενοποιητές βαλβίδας και είναι τα πιο κοινά συστήματα υψηλής πίεσης που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων. Είναι πιο αποτελεσματικά στη μείωση του μεγέθους των σταγονιδίων κατά τη δημιουργία ενός γαλακτώματος (McClements 2005). Το ακατέργαστο γαλάκτωμα αντλείται μέσω μίας κεντρικής εισόδου, εκτρέπεται και στη συνέχεια περνά μέσα από το διάκενο μεταξύ της έδρας και της βαλβίδας. Λόγω της ακτινικής διαδρομής της ροής, αυτά τα ακροφύσια καλούνται ακτινικοί διαχυτές. Καθώς το χονδροειδές γαλάκτωμα περνά μέσα από τη βαλβίδα, υπόκειται σε συνδυασμό έντονης διάτμησης και σπηλαιώσης, και σε συνθήκες τυρβώδους ροής, με αποτέλεσμα τα μεγάλα σταγονίδια να σπάνε σε μικρότερα (Stang et al. 2001). Για μία κλασική αντλία, η πίεση ομογενοποίησης προσδιορίζεται από τη δύναμη που ενεργεί αξονικά στο κάτω άκρο της κινητής βαλβίδας και κυμαίνεται από 5 έως 50 Μpa. Χρησιμοποιώντας πιο πρόσφατα συστήματα (π.χ. μικρορευστοποιητές και διασκορπιστήρες jet), είναι δυνατή η παραγωγή γαλακτωμάτων σε πολύ υψηλότερες πιέσεις μέχρι περίπου 700MPa (Kolb et al. 2001, Pinfield et al. 1997).



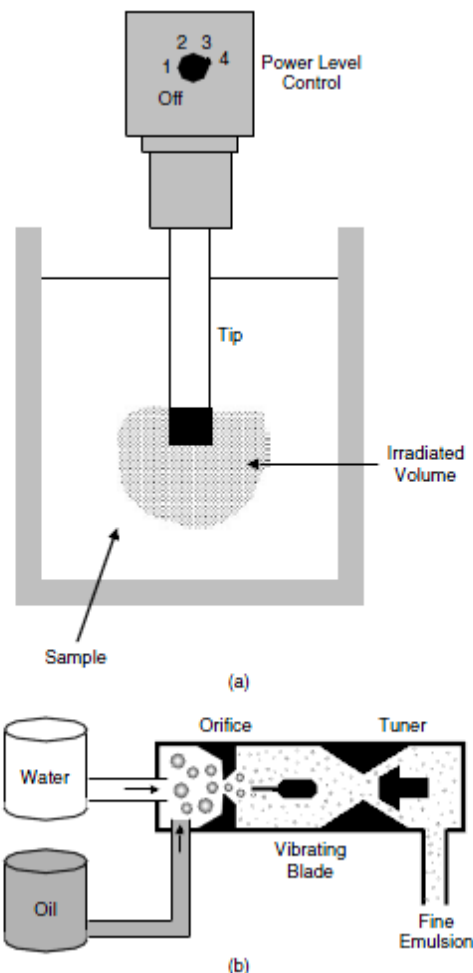
Εικόνα 1.13: Ομογενοποιητής βαλβίδας υψηλής πίεσης που χρησιμοποιείται για την παραγωγή γαλακτωμάτων με μικρό μέγεθος σταγονιδίων.

1.4.7 Συστήματα υπερήχων

Ένα υγρό το οποίο υπόκειται σε υψηλής συχνότητας υπερηχητικά κύματα, μπορεί να υποστεί σπηλαιώση, δηλαδή κάθε μικρή περιοχή του ρευστού να βρίσκεται υπό τάση και συμπίεση, με αποτέλεσμα οι φυσαλίδες του υγρού να διαστέλλονται. Η κατάρρευση των φυσαλίδων μπορεί να είναι πολύ βίαιη. Όταν η σπηλαιώση λαμβάνει χώρα στη διεπιφάνεια μεταξύ δύο μη αναμίξιμων υγρών, η μία φάση θα διασπείρεται στην άλλη με άμεσο αποτέλεσμα τον σχηματισμό γαλακτώματος. Τα υπερηχητικά κύματα παράγονται μέσω μηχανικών συστημάτων και το ευρέως χρησιμοποιημένο μηχάνημα είναι το wedge resonator, το οποίο αποτελείται από μία λεπίδα με σφηνοειδή άκρα που βρίσκονται μπροστά από μία ορθογώνια σχισμή και βιδώνεται στη θέση του σε ένα ή περισσότερα κομβικά σημεία. Το υγρό αντλείται μέσω ενός ακροφυσίου σε πιέσεις της τάξης των 50-200 psi, και προσκρούει στο περύγιο προκαλώντας δονήσεις. Η σπηλαιώση που λαμβάνει χώρα στη λεπίδα προάγει τη γαλακτωματοποίηση (Brennan 1993). Στη γαλακτωματοποίηση με σύστημα υπερήχων, η ενέργεια παρέχεται μέσω των αποκαλούμενων sonoτροδίων (αισθητήρες υπερήχων), που περιέχουν ένα πιεζοηλεκτρικό κρύσταλλο χαλαζία, που συμβάλλει στην εναλλασσόμενη ηλεκτρική τάση. Καθώς η άκρη των ανιχνευτών υπερήχων έρχεται σε επαφή με το υγρό, παράγει μηχανικές δονήσεις συνεπώς πραγματοποιείται το φαινόμενο της σπηλαιώσης (Behrend et al. 2000). Οι υπέρηχοι μπορούν να δημιουργηθούν είτε μηχανικά ή ηλεκτρικά (αντίστροφο πιεζοηλεκτρικό φαινόμενο). Ο ευρέως χρησιμοποιημένος τύπος συσκευής είναι ένα παλλόμενο ηλεκτρικό πεδίο υψηλής συχνότητας, το οποίο μετατρέπει το ηλεκτρικό πεδίο σε μηχανική δόνηση της ίδιας συχνότητας (Mason 1999). Η σπηλαιώση είναι ο σχηματισμός και η κατάρρευση των φυσαλίδων ατμού σε ένα ρέον υγρό. Η κατάρρευση αυτών των φυσαλίδων ωθεί τα μεγαλύτερα σταγονίδια να σπάσουν σε μικρότερα. Εντός της περιοχής υπερήχων, η διαθέσιμη ισχύς μεταβάλλεται αντιστρόφως ανάλογα με τη συχνότητα και μόνο οι ισχυροί υπέρηχοι (16 έως 100 kHz) είναι σε θέση να παράγουν φυσικές και χημικές αλλαγές, όπως η γαλακτωματοποίηση. Κατά τη γαλακτωματοποίηση, ο υπέρηχος εκπέμπεται από συγκεκριμένους μετατροπείς στο εξωτερικό τοίχωμα του δοχείου ή μέσω κυλινδρικών sonoτροδίων στο βυθισμένο υγρό. Σε συνεχή λειτουργία, το υγρό που κυκλοφορεί μπορεί να εισέλθει και να εξέλθει με τη χρήση μιας αντλίας (Behrend et al. 2000). Ξεκινώντας από δύο ξεχωριστές φάσεις, οι υπέρηχοι μπορούν να χρησιμοποιηθούν άμεσα για την παραγωγή γαλακτωμάτων, αλλά δεδομένου ότι για το σπάσιμο μίας διεπιφάνειας απαιτείται μεγάλη

ποσότητα ενέργειας, είναι καλύτερα να προετοιμαστεί πρώτα ένα χονδροειδές γαλάκτωμα πριν από την εφαρμογή των υπερηχητικών κυμάτων.

Σε ορισμένες περιπτώσεις, οι υπέρηχοι μπορούν επίσης να λειτουργήσουν ως τεχνική αντι-γαλακτωματοποίησης. Λόγω του μικρού βαθμού απόδοσης, η διαδικασία γαλακτωματοποίησης υπερήχων εφαρμόζεται κυρίως στα εργαστήρια όπου μπορούν να ληφθούν γαλακτώματα με διάμετρο σφαιριδίων κοντά 0,2 mm (Urban et al. 2006). Υπέρηχοι υψηλής έντασης (με ισχύ > 10 W) είναι ικανοί να τροποποιήσουν τις ιδιότητες του υλικού μέσω του οποίου διαδίδονται, δημιουργώντας αύξηση πίεσης, θερμοκρασίας και διατμητικής τάσης, επομένως προκαλούν φαινόμενα σπηλαίωσης (Walstra 1996b, Pinfield et al. 1997, Chanamai et al. 2000b, McClements et al. 2000). Η διάμετρος των σταγονιδίων, μετά την επεξεργασία με υπέρηχους, κυμαίνεται από 0,1 έως 0,6 μm (Xenakis et al. 2009, Chaiyasit et al. 2007). Ωστόσο έχει αναφερθεί ότι οι υπέρηχοι προκαλούν και άλλες μεταβολές στα συστήματα που εφαρμόζονται. Μπορεί να προκαλέσουν τροποποιήσεις στη δομή των πρωτεϊνών που πιθανώς να υπάρχουν στα γαλακτώματα όπως επίσης και αλλαγές στη σύνθεση και τη δομή των σταγονιδίων της διεσπαρμένης φάσης (Parish 2002).



Εικόνα 1.14: Ανιχνευτής υπερήχων (α) και ομογενοποιητής (β) χρησιμοποιούνται συνήθως στη βιομηχανία τροφίμων για την παραγωγή των γαλακτωμάτων. Αυτές οι συσκευές λειτουργούν κυρίως μέσω του μηχανισμού σπηλαίωσης.

1.4.8 Μεμβράνες Γαλακτωματοποίησης

Οι μεμβράνες γαλακτωματοποίησης βασίζονται στην ικανότητα της διεσπαρμένης φάσης να διεισδύει μέσα στη συνεχή φάση μέσω μίας μεμβράνης, η οποία έχει ομοιόμορφους πόρους με συγκεκριμένη κατανομή μεγέθους. Η διεσπαρμένη φάση πιέζεται κάθετα προς τη μεμβράνη, ενώ η συνεχής φάση ρέει εφαπτομενικά στη μεμβράνη (Calderon et al. 2007). Οι μεμβράνες γαλακτωματοποίησης εξαρτώνται κυρίως από τις ιδιότητες της μεμβράνης (τη ροή και τη σύνθεση). Προκειμένου να ληφθεί ένα γαλάκτωμα μονοδιασποράς, οι πόροι της μεμβράνης θα πρέπει να έχουν στενή κατανομή μεγέθους. Στα περισσότερα συστήματα, το μέγεθος των σταγονιδίων είναι ανάλογο με το μέγεθος των πόρων. Ωστόσο, αν το μέγεθος των πόρων είναι πολύ μεγάλο, είναι πολύ πιθανό να προκύψει συνένωση των σταγόνων, αυξάνοντας έτσι την πολυδιασπορά του γαλακτώματος. Αντίθετα, αν το μέγεθος των πόρων είναι πολύ χαμηλό, ο ρυθμός παραγωγής του γαλακτώματος είναι ανεπαρκής (Calderon et al. 2007). Η ικανότητα γαλακτωματοποίησης των συστημάτων μεμβρανών εξαρτάται από την ταχύτητα φάσης και τη διεπιφανειακή τάση. Μικρότερα σταγονίδια θα προκύψουν εφαρμόζοντας υψηλή ταχύτητα στη συνεχή φάση και ταυτόχρονα πετυχαίνοντας χαμηλή διεπιφανειακή τάση (Calderon et al. 2007). Η αναγκαία πίεση που πρέπει να εφαρμοστεί στη διεσπαρμένη φάση εξαρτάται τόσο από τη διεπιφανειακή τάση όσο και από το μέγεθος των πόρων της μεμβράνης (Calderon et al. 2007).

1.4.9 Μικρορρευστοποιητής

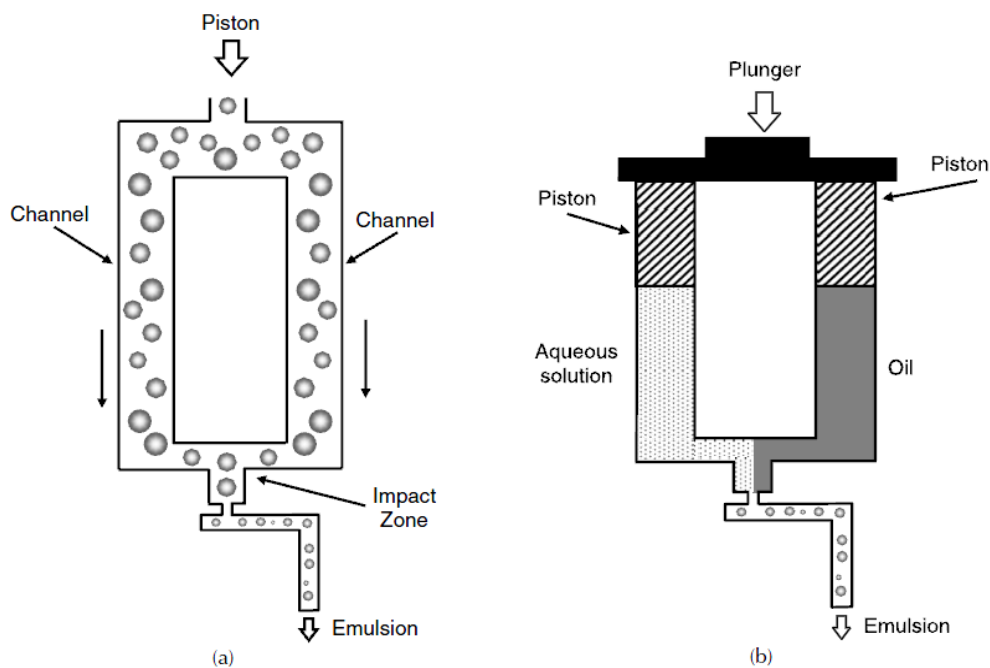
Η μικρορρευστοποίηση είναι μία τεχνική που χρησιμοποιείται είτε για ομογενοποίηση ενός σταδίου ή δύο σταδίων και είναι ικανή να δημιουργήσει αποτελεσματικά γαλακτώματα με εξαιρετικά μικρό μέγεθος σταγονιδίων (Dickinson and Stainsby 1988, Strawbridge et al. 1995). Ο μικρορρευστοποιητής αποτελείται συνήθως από μία είσοδο για το ρευστό, μια διάταξη άντλησης, και ένα θάλαμο αλληλεπίδρασης που περιέχει δύο κανάλια μέσω των οποίων τα υγρά ρέουν και αλληλεπιδρούν μεταξύ τους (εικόνα 1.15). Τα ρευστά που εισάγονται μέσα στον ομογενοποιητή επιταχύνονται εντός των καναλιών χρησιμοποιώντας τη συσκευή άντλησης, με σκοπό να προσκρούσουν πάνω σε μία στερεή επιφάνεια.

Έντονες διατμητικές τάσεις δημιουργούνται, όταν τα υγρά συγκρούονται μεταξύ τους. Συνεπώς οι διατμητικές δυνάμεις αναγκάζουν τα υγρά να αναμιχθούν μεταξύ τους και να σχηματισθούν τα σταγονίδια. Χαρακτηριστικό πλεονέκτημα ενός μικρορρευστοποιητή είναι ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη μείωση του μεγέθους των σταγονιδίων σε ένα προϋπάρχον γαλάκτωμα. Κατευθύνοντας το επιθυμητό χονδροειδές γαλάκτωμα να ρέει μέσω διαφόρων διαύλων του μικρορρευστοποιητή, τα μεγαλύτερα σταγονίδια σπάνε σε μικρότερα. Εναλλακτικά, η τεχνική ομογενοποίησης με μικρορρευστοποιητή μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη δημιουργία γαλακτωμάτων αναμειγνύοντας απευθείας την υδατική και τη λιπαρή φάση (Dickinson and Stainsby 1988). Σε αυτήν την περίπτωση, η ελαιώδης φάση κατευθύνεται προς τα κάτω από ένα κανάλι και η υδατική φάση κατευθύνεται κάτω από ένα δεύτερο κανάλι. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να παράγονται γαλακτώματα με εξαιρετικά μικρά σταγονίδια, καθώς όσες περισσότερες φορές περνά το γαλάκτωμα από το μικρορρευστοποιητή, τόσο μειώνεται η διάμετρος των σταγονιδίων. Επίσης με αύξηση της πίεσης μπορούν να παραχθούν γαλακτώματα με ακόμα μικρότερα σταγονίδια, καθώς η μεταβολή της πίεσης επιταχύνει τα υγρά διαμέσου των καναλιών και ωθεί τα μεγαλύτερα σταγονίδια να σπάσουν σε μικρότερα (Strawbridge et al. 1995). Λόγω της υψηλής ζήτησης για γαλακτώματα με μικρό μέγεθος σταγονιδίων, έχει σχεδιαστεί μία ποικιλία διαφορετικών τύπων διαύλων, για παράδειγμα, ευθεία ή διακλαδισμένα κανάλια.

Το ρεύμα επεξεργασίας προσδίδεται από μία κινητήρια αντλία η οποία είναι ικανή να συμπιέσει τον ήδη συμπιεσμένο αέρα (150 έως 650 kPa) έως περίπου 150 MPa. Σε αντίθεση με τον ακτινωτό διαχυτήρα, το ακροφύσιο του μικρορρευστοποιητή δεν περιέχει κινούμενα μέρη, συνεπώς μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε πολύ υψηλές πιέσεις, δηλαδή 300-400 MPa. Αναγκάζοντας το ρεύμα ροής να διέρχεται με υψηλή πίεση μέσα από μικροαγωγούς προς μία περιοχή πρόσκρουσης, δημιουργεί τεράστια διατμητική τάση, η οποία μπορεί να παρασκευάσει ένα εξαιρετικά λεπτό

γαλάκτωμα. Σε γενικές γραμμές, οι δυνάμεις αδράνειας σε τυρβώδη ροή, μαζί με το φαινόμενο της σπηλαιώσης είναι κατά κύριο λόγο υπεύθυνες για τη διάσπαση των σταγονιδίων στις συσκευές μικρορευστοποίησης. Η διάσπαση των σταγονιδίων σε στρωτή ροή είναι επίσης δυνατή, ειδικά όταν το γαλάκτωμα έχει υψηλό ιξώδες. Μερικοί ερευνητές έχουν επίσης συγκρίνει τη γαλακτωματοποίηση με μικρορευστοποίηση με άλλες τεχνικές γαλακτωματοποίησης όπως την κατεργασία με υπερήχους (Pinnamaneni et al. 2003), την ομογενοποίηση με υψηλή πίεση και με κολλοειδείς μύλους, και άλλα συστήματα υψηλής πίεσης (Schultz et al. 2004).

Ο μικρορευστοποιητής είναι διαθέσιμος τόσο για μικρής κλίμακας εργαστηριακές εφαρμογές όσο και εφαρμογές βιομηχανικής κλίμακας. Ο ελάχιστος όγκος που μπορεί να παραχθεί με τη χρήση εργαστηριακής κλίμακας μικρορευστοποιητή είναι περίπου 10 mL, που είναι βολικός για την παρασκευή γαλακτωμάτων που χρησιμοποιούν συστατικά δαπανηρά ή που σπανίζουν. Ένας βιομηχανικής κλίμακας μικρορευστοποιητής λειτουργεί σε πιέσεις που ανέρχονται έως 275 MPa και μπορεί να παράγει έως 12.000 L/h γαλακτώματος. Παρόμοια μέγιστη πίεση λειτουργίας μπορεί να επιτευχθεί με τη χρήση εργαστηριακών μοντέλων, τα οποία να παράγουν γαλακτώματα με πολύ μικρά σταγονίδια, δηλαδή, μικρότερα από 0,1 μm. Τα περισσότερα αποτελέσματα μεταξύ των παραπάνω μεθόδων παρασκευής γαλακτωμάτων έχουν δημοσιευτεί από τους Stang et al. 2001, Kolb et al. 2001, Tesch and Schubert 2002, Desrumaux and Marcand 2002, Flourey and Desrumaux (2002), Flourey et al. (2003, 2004) και Schultz et al. (2004).



Εικόνα 1.15: Σε ένα μικρορευστοποιητή τα υγρά έρχονται σε επαφή με υψηλή ταχύτητα που προκαλεί ανάμιξη και διάσπαση σταγονιδίων. Μικρορευστοποιητές μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη μείωση του μεγέθους των σταγονιδίων σε ένα υπάρχον γαλάκτωμα (α) ή για την παραγωγή γαλακτώματος από ξεχωριστές φάσεις ελαίου και νερού (β).

1.4.10 Σύγκριση των συστημάτων γαλακτωματοποίησης

Η επιλογή του κατάλληλου τύπου ομογενοποιητή για μία συγκεκριμένη εφαρμογή εξαρτάται από έναν αριθμό παραγόντων, συμπεριλαμβανομένων της επιθυμητής κατανομής μεγέθους των σταγονιδίων, του όγκου που πρέπει να ομογενοποιηθεί, του ιξώδους του γαλακτώματος, της συγκέντρωσης και του τύπου του γαλακτωματοποιητή, της κατανάλωσης ενέργειας, των φυσικοχημικών ιδιοτήτων των συστατικών κάθε φάσης και του τελικού προϊόντος, του διαθέσιμου εξοπλισμού, και, τέλος, του κόστους λειτουργίας (McClements 2005). Μία συγκριτική

παρουσίαση των διαφόρων μεθόδων ομογενοποίησης όπως συζητήθηκαν προηγουμένως παρουσιάζεται στον Πίνακα 1.7. Μετά την επιλογή της πλέον κατάλληλης συσκευής γαλακτωματοποίησης, για να προκύψει το επιθυμητό γαλακτώματα πρέπει να βελτιστοποιηθούν οι συνθήκες λειτουργίας όπως ο ρυθμός ροής, η πίεση, η απόσταση διάκενου, η θερμοκρασία, ο χρόνος γαλακτωματοποίησης, και η ταχύτητα περιστροφής .

Η διασπορά σταγονιδίων σε συστήματα ρότορα-στάτορα είναι γενικά λιγότερο αποτελεσματική από τις συσκευές υψηλής πίεσης, διότι, σύμφωνα με την έρευνα των Stang et al. (2001), στα συστήματα ρότορα-στάτορα παρασκευάζονται γαλακτώματα με μεγαλύτερο εύρος διαμέτρου σταγονιδίων. Κατά συνέπεια, για σταθερή πυκνότητα και σε σταθερό ρυθμό ροής όγκου, η μέση ισχύς σε συστήματα ρότορα-στάτορα είναι χαμηλότερη και ο μέσος χρόνος παραμονής είναι μεγαλύτερος από ότι στα ακροφύσια των συσκευών υψηλής πίεσης. Έτσι, η συσκευή ρότορα-στάτορα πρέπει να λειτουργεί σε μεγαλύτερο χρόνο από αυτόν που απαιτείται για ένα επιθυμητό μέγεθος σταγονιδίων. Έχει αποδειχθεί ότι η αποτελεσματικότητα της διάσπασης των σταγονιδίων αυξάνεται ανάλογα με την ισχύ του ρότορα και αντιστρόφως ανάλογα με το χρόνο παραμονής στην ζώνη διασποράς της συσκευής γαλακτωματοποίησης. Ως εκ τούτου, τα γαλακτώματα που έχουν διάμετρο σταγονιδίων 0,1 μm συνήθως δεν μπορούν να επιτευχθούν χρησιμοποιώντας συστήματα ρότορα-στάτορα. Σχετικά με τη γαλακτωματοποίηση με υπέρηχους, κάποιες μελέτες (Abismail et al. 2000) έδειξαν ότι μπορούν να παραχθούν μικρότερα σταγονίδια και είναι πιο αποτελεσματική διεργασία σε σχέση με τα συστήματα ρότορα-στάτορα. Το κύριο ζήτημα είναι ότι το σύστημα με υπέρηχους αποδεικνύεται κατάλληλο μόνο σε εργαστηριακή κλίμακα, και αποτελεί βασική έρευνα για το πώς επιδρούν διάφοροι μηχανισμοί και παράγοντες στη διασπορά των σταγονιδίων. Σε συστήματα υψηλής πίεσης, γαλακτώματα με διάμετρο σταγονιδίων 0,1 μm μπορούν να παραχθούν με υψηλό βαθμό απόδοσης (McClements 2005). Ανάλογα με το διεπιφανειακό ποσοστό προσρόφησης του γαλακτωματοποιητή, η κατανομή του μεγέθους των σταγονιδίων μπορεί να είναι μεγάλη, έτσι ώστε ένα μικρό κλάσμα των σταγονιδίων θα έχει πολύ μεγαλύτερο μέγεθος από το μέσο μέγεθος διαμέτρου αυτών.

Ορισμένοι ερευνητές πιστεύουν ότι η μικρορευστοποίηση είναι ανώτερη από άλλες συσκευές γαλακτωματοποίησης, επειδή η κατανομή της διαμέτρου των σταγονιδίων του γαλακτώματος φάνηκε να είναι μικρότερη στα μικρορευστοποιημένα γαλακτώματα σε σύγκριση με τις παραδοσιακές συσκευές γαλακτωματοποίησης. Οι ερευνητές Perrier και Cornet (2005) βρήκαν ότι οι μικρορευστοποιητές δίνουν γαλακτώματα με μικρότερη διάμετρο σταγονιδίων από ότι η ομογενοποίηση με υψηλή πίεση, όταν η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη των γαλακτωμάτων αυξήθηκε έως 2% w/w. Επίσης, οι Stang et al. (2001) έδειξαν ότι η διάσπαση με μικρορευστοποιητή ήταν σημαντικά πιο αποτελεσματική από ότι με έναν ομογενοποιητή σταθερού ακροφυσίου, επειδή οδήγησε σε μικρότερης διαμέτρου σταγονίδια (περίπου 10 φορές) για ένα έλαιο χαμηλού ιξώδους λόγω του μικρότερου όγκου διασποράς του μικρορευστοποιητή. Όμως οι Pinnamaneni et al. (2003) επέδειξαν ότι ο μικρορευστοποιητής είναι δυσμενής στη χρήση σε ειδικές περιπτώσεις, όπως στις υψηλές πιέσεις και για μεγαλύτερους χρόνους γαλακτωματοποίησης. Παράλληλα ένα βασικό μειονέκτημα του μικρορευστοποιητή αναφέρθηκε από τους ερευνητές Lobo και Svereika (2003), οι οποίοι έδειξαν ότι δεν πρόκειται να εξαιρεθεί το φαινόμενο της συσσωμάτωσης των σταγονιδίων στην ομογενοποίηση με την χρήση μικρορευστοποιητή, λόγω της πολύ υψηλής τυρβώδους ροής. Επιπλέον η διεπιφανειακή τάση παίζει ασήμαντο ρόλο στη δημιουργία μικρότερων σταγονιδίων με τη χρήση του μικρορευστοποιητή, καθώς εξήγησαν ότι μέχρι ένα σημείο η αύξηση της συνένωσης αντισταθμίζεται από την αύξηση της συγκέντρωσης του επιφανειοδραστικού συστατικού. Επίσης, σε μία συγκριτική μελέτη οι ερευνητές Maa and Hsu (1999) βρήκαν ότι ο μικρορευστοποιητής δεν είναι τόσο εύκολος στη χρήση σε σχέση με ένα κλασικό ομογενοποιητή ή τον ομογενοποιητή υπερήχων. Ο τελευταίος καθαρίζεται εύκολα συνεπώς παραμένει η γραμμή λειτουργίας καθαρή. Σε αντίθεση με το μικρορευστοποιητή που δεν είναι εύκολο να προσδιοριστεί αν έχει μολυνθεί. Επιπλέον, η αυξανόμενη κλιμάκωση της διαδικασίας απαιτεί ακριβότερο εξοπλισμό. Τέλος οι ερευνητές Maa and Hsu (1999) ισχυρίστηκαν ότι συνολικά, η πρότυπη ομογενοποίηση είναι

εύκολο να λειτουργήσει χωρίς να προκαλέσει αλλοιώσεις στους παράγοντες γαλακτωματοποίησης οι οποίοι είναι ευαίσθητοι στις μεταβολές της θερμοκρασίας και, μπορεί εύκολα η διεργασία να ελέγχεται για την παραγωγή σταγονιδίων καλύτερης διαμέτρου.

Μπορεί να φανταστεί κανείς με την ύπαρξη πολλών διαφορετικών συστημάτων γαλακτωματοποίησης κατά τη διάρκεια των τελευταίων ετών, ειδικά σε συσκευές υψηλής πίεσης, πόσο ενδιαφέρεται η βιομηχανία για την παραγωγή γαλακτωμάτων. Νέα, βελτιωμένα, και βελτιστοποιημένα συστήματα υψηλής πίεσης διαδοχικά εισέρχονται στην αγορά και σύμφωνα με τους ερευνητές Schultz et al. (2004), το επόμενο βήμα είναι να μειωθεί η διάμετρος των σταγονιδίων κάτω από το όριο των 100 nm.

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζεται μία συνοπτική σύγκριση μεταξύ των διαφόρων μεθόδων ομογενοποίησης που σχολιάστηκαν παραπάνω.

Πίνακας 1.7: Σύγκριση διαφορετικών τύπων συστημάτων ομογενοποίησης (Jafari et al. 2008).				
Σύστημα ομογενοποίησης	Σύστημα ρότορα-στάτορα	Σύστημα υψηλής πίεσης	Σύστημα υπερήχων	Σύστημα μεμβρανών
Παραδείγματα	Μίξερ, κολλοειδείς μύλοι	Ακτινωτοί διαχυτές, μικρορευστοποιητές, ομογενοποιητές βαλβίδας	Αντλία σονοτροδίων	Μεμβράνες γυαλιού ή κεραμικές μεμβράνες
Μηχανισμός διάρρηξης σταγονιδίων	Διατμητική τάση σε στρωτή ροή ή /και τυρβώδη ροή	Διάτμηση και αδρανειακή τάση σε τυρβώδη ροή σπηλαιώση στη στρωτή ροή	Σπηλαιώση σε μικρο-τυρβώδη ροή	Ροή της διασκορπισμένης φάσης
Απόδοση	Μέτρια-υψηλή	Υψηλή	Χαμηλή	Χαμηλή
Είδος διεργασίας	Διαλείπω-ντος (μίξερ) ή συνεχής (κολλοειδείς μύλοι)	Συνεχής	Ασυνεχής ή ημι-συνεχής	Συνεχής
Ελάχιστη διάμετρος (μm)	1	0,1	0,1-0,2	0,2-0,5
Βέλτιστο εύρος ιξώδους	Χαμηλό-υψηλό (20-5000 mPa·s)	Χαμηλό-μεσαίο	Χαμηλό-μεσαίο	Χαμηλό-μεσαίο
Εφαρμογή	Εργοστασιακή/εργαστηριακή κλίμακα	Εργοστασιακή/εργαστηριακή κλίμακα	Εργαστηριακή κλίμακα	Εργαστηριακή κλίμακα
Ροή	LV, TV	TI, TV (CL, LV)	CI	Έγχυση
Ενέργεια	Χαμηλή-Υψηλή	Μεσαία-Υψηλή	Μεσαία-Υψηλή	Χαμηλή-Υψηλή
Μεταβολή της ροής εισόδου	Ταχύτητα περιστροφής, χρόνος έκθεσης, διάκενο και σχεδιασμός του δίσκου	Πίεση, ανακυκλοφορία (χρόνος έκθεσης) και το ακροφύσιο του σχεδιασμού	Ένταση και συχνότητα των υπερηχητικών κυμάτων της διεργασίας	Διάμετρος πόρων
Χρόνος παραμονής, t	0,1<t<1s	0,1<t<3ms	-	-

1.5 Ιδιότητες γαλακτωμάτων

Μετά την επιλογή του καταλληλότερου τύπου γαλακτώματος, την προσεκτική επιλογή συστατικών και την κατάλληλη μέθοδο παρασκευής γαλακτώματος πρέπει να γίνει λόγος και για τις ιδιότητες της συνεχούς και της ασυνεχούς φάσης του γαλακτώματος. Οι ιδιότητες της συνεχούς φάσης και η αναλογία της ασυνεχούς φάσης με τη συνεχή φάση είναι οι δύο παράμετροι που ευθύνονται για τις μεταβολές στις φυσικές, χημικές και φυσικοχημικές ιδιότητες των γαλακτωμάτων.

i. Μέγεθος Σταγονιδίων

Πολλές ιδιότητες των γαλακτωμάτων όπως η σταθερότητα, η ρευστότητα, η εμφάνιση, το χρώμα, η υφή, και η διάρκεια ζωής εξαρτάται από το μέγεθος των σταγονιδίων του γαλακτώματος και την κατανομή του μεγέθους των σταγονιδίων (McClements 2005). Έτσι, οι πληροφορίες σχετικά με το μέγεθος των σταγονιδίων του γαλακτώματος έχει μεγάλη σημασία και είναι ζωτικής σημασίας για τον έλεγχο και την πρόβλεψη του μεγέθους των σταγονιδίων στα γαλακτώματα που παρασκευάζονται για διαφορετικούς σκοπούς. Οι πιο σημαντικές ιδιότητες των γαλακτωμάτων καθορίζονται από το μέγεθος και την κατανομή των περιεχόμενων σταγονιδίων, καθώς αυτά επηρεάζουν τη διάρκεια ζωής, την εμφάνιση, την υφή και το άρωμα των γαλακτωμάτων. Συνεπώς είναι σημαντικό για τους επιστήμονες τροφίμων να μπορούν να ελέγχουν, να προβλέπουν και να εκτιμούν το μέγεθος των σωματιδίων. Γενικώς ο όρος «σταθερότητα γαλακτώματος» αναφέρεται στην ικανότητα ενός γαλακτώματος να αντιστέκεται στην αλλαγή των φυσικοχημικών του ιδιοτήτων. Ωστόσο, είναι σημαντικό να αναγνωριστούν οι θεμελιώδεις φυσικοί ή χημικοί μηχανισμοί που είναι υπεύθυνοι για την αποσταθεροποίηση ενός συγκεκριμένου γαλακτώματος, έτσι ώστε να βρεθεί ο πιο αποτελεσματικός τρόπος βελτίωσης της σταθερότητας αυτού (Paradimitriou and Sotiroudis 2006). Το μέγεθος σταγονιδίου ενός μονοδισπαρμένου γαλακτώματος μπορεί να χαρακτηριστεί αποκλειστικά από τη διάμετρο ή την ακτίνα του σωματιδίου. Τα μονοδισπαρμένα γαλακτώματα παρασκευάζονται και χρησιμοποιούνται για βασικές μελέτες καθώς οι ιδιότητές τους εξηγούνται ευκολότερα σε σχέση με τα πολυδισπαρμένα. Ωστόσο, στα πραγματικά γαλακτώματα των τροφίμων ο προσδιορισμός του μεγέθους των σωματιδίων αποτελεί μία πιο πολύπλοκη διαδικασία. Σε μερικές περιπτώσεις, είναι σημαντικό να υπάρχουν πληροφορίες σχετικά με την πλήρη κατανομή μεγέθους των σωματιδίων (κλάσματα σταγονιδίων συγκεκριμένων μεγεθών), ενώ σε άλλες περιπτώσεις αρκεί η γνώση του μέσου όρου και του εύρους της κατανομής των σωματιδίων.

Για αυτό το λόγο θα πρέπει να προσδιορίζεται με ακριβή και αξιόπιστο τρόπο η συγκέντρωση των σφαιριδίων (σταγονιδίων) στα γαλακτώματα. Η συγκέντρωση σφαιριδίων συνήθως περιγράφεται με όρους του κλάσματος όγκου της φάσης διασποράς (Φ), η οποία είναι ίση με τον όγκο των σταγονιδίων γαλακτώματος (VD) διαιρούμενο με το συνολικό όγκο του γαλακτώματος (VE):

$$\Phi = \frac{VD}{VE} (1)$$

Σε ορισμένες περιπτώσεις, είναι πιο εύχρηστο να εκφράζεται η συγκέντρωση σταγονιδίων σε όρους του κλάσματος μάζας φάσης διασποράς (Φ_m), η οποία είναι ίση με τη μάζα των σταγονιδίων γαλακτώματος (MD) διαιρούμενο με τη συνολική μάζα του γαλακτώματος (ME):

$$\Phi_m = \frac{MD}{ME} \quad (2)$$

Το κλάσμα μάζας και κλάσμα όγκου συνδέονται μεταξύ τους μέσω των ακόλουθων εξισώσεων:

$$\varphi_m = \varphi \left[\varphi + (1 - \varphi) \frac{\rho_1}{\rho_2} \right]^{-1} \quad (3)$$

$$\varphi = \varphi_m \left[\varphi_m + (1 - \varphi_m) \frac{\rho_1}{\rho_2} \right]^{-1} \quad (4)$$

Όπου,

ρ_1 και ρ_2 είναι οι πυκνότητες της συνεχούς και διεσπαρμένης φάσης αντιστοίχως. Όταν οι πυκνότητες των δύο φάσεων είναι ίσες, το κλάσμα μάζας είναι ισοδύναμο με το κλάσμα όγκου.

Το κλάσμα όγκου της διεσπαρμένης φάσης ενός γαλακτώματος είναι πάντα γνωστό, επειδή η συγκέντρωση των συστατικών που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή του ελέγχεται προσεκτικά. Παρόλα αυτά, λαμβάνουν χώρα τοπικές μεταβολές των τιμών της συγκέντρωσης μέσα στα γαλακτώματα, όταν για παράδειγμα τα σφαιρίδια συσσωρεύονται είτε στην κορυφή ή στο κάτω μέρος ενός γαλακτώματος λόγω κρεμοποίησης ή καθίζησης αντίστοιχα. Επιπλέον, το κλάσμα όγκου ενός γαλακτώματος μπορεί να ποικίλλει κατά τη διάρκεια επεξεργασίας των τροφίμων, για παράδειγμα, αν ένας αναμίκτης δεν λειτουργεί αποτελεσματικά. Κατά συνέπεια, είναι συχνά σημαντικό να προσδιορίζεται με αναλυτικές τεχνικές μέτρησης το κλάσμα όγκου της διεσπαρμένης φάσης.

Η πιο απλή μέθοδος μέτρησης της διαμέτρου των σταγονιδίων είναι μέσω δυναμικής σκέδασης του φωτός. Πιο συγκεκριμένα μία πηγή φωτός εκπέμπει ακτινοβολία με συγκεκριμένα χαρακτηριστικά η οποία, όταν συναντά τα σωματίδια που διέρχονται από ένα θάλαμο μέτρησης, σκεδαζείται προς διάφορες κατευθύνσεις ανάλογα με το μέγεθος των σωματιδίων. Η σκεδαζόμενη ακτινοβολία ανιχνεύεται με ανιχνευτές τοποθετημένους περιμετρικά του θαλάμου μέτρησης, το σήμα των οποίων μεταφράζεται σε καμπύλη κατανομής των σωματιδίων ανάλογα με το μέγεθός τους.

ii. Ιδιότητες διεπιφάνειας σταγονιδίων

Η διεπιφάνεια των σταγονιδίων αποτελείται από μία στενή περιοχή (συνήθως πάχους μερικών νανόμετρων) που περιβάλλει κάθε σταγονίδιο γαλακτώματος, και περιέχει ένα μίγμα ελαίου, νερού και ενεργής επιφάνειας μορίων (McClements and Decker 2000).

Η διεπιφάνεια διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στον καθορισμό πολλών φυσικοχημικών ιδιοτήτων των γαλακτωμάτων τροφίμων. Για το λόγο αυτό, οι επιστήμονες τροφίμων ενδιαφέρονται ιδιαίτερα για την αποσαφήνιση των παραγόντων που καθορίζουν τη σύνθεση, τη δομή, το πάχος, τη ρεολογία και το φορτίο της διεπιφανειακής περιοχής. Η σύνθεση και η δομή της διεπιφανειακής περιοχής καθορίζονται από τον τύπο και τη συγκέντρωση των επιφανειακά-δραστικών ειδών που υπάρχουν στο σύστημα πριν από το σχηματισμό του γαλακτώματος, καθώς επίσης και από τις διεργασίες που συμβαίνουν κατά τη διάρκεια και μετά το σχηματισμό του γαλακτώματος (π.χ. φαινόμενα προσρόφησης) (McClements and Decker 2000).

Το πάχος και η ρεολογία της διεπιφανειακής περιοχής μπορούν να επηρεάσουν τη σταθερότητα των γαλακτωμάτων κατά το βαρυτικό διαχωρισμό, τη συσσωμάτωση και τη συνένωση. Επίσης επηρεάζουν τη ρεολογία των γαλακτωμάτων και την ταχύτητα μεταφοράς μάζας εντός ή εκτός των σταγονιδίων.

iii. Φορτίο σταγονιδίων

Οι φυσικοχημικές και οργανοληπτικές ιδιότητες των γαλακτωμάτων πολλών τροφίμων διέπονται από το μέγεθος και το είδος του ηλεκτρικού φορτίου των σταγονιδίων.

Η προέλευση του φορτίου οφείλεται συνήθως στην προσρόφηση των μορίων ιοντικού γαλακτωματοποιητή που ιονίζεται. Οι επιφανειοδραστικές ουσίες έχουν υδρόφιλες ομάδες επικεφαλής οι οποίες μπορεί να είναι ουδέτερες, θετικά φορτισμένες, ή αρνητικά φορτισμένες. Κατά συνέπεια, τα σταγονίδια του γαλακτώματος μπορεί να έχουν ένα ηλεκτρικό φορτίο που εξαρτάται από τον τύπο των επιφανειακώς δραστικών μορίων και επηρεάζει σημαντικά τις φυσικοχημικές και οργανοληπτικές ιδιότητες, συμπεριλαμβανομένων της εμφάνισης, της ρεολογίας, της γεύσης και της σταθερότητας. Για παράδειγμα, η παραγωγή μαργαρίνης, βουτύρου, σαντιγί και παγωτού εξαρτάται από την ελεγχόμενη αποσταθεροποίηση ενός γαλακτώματος (o/w) που περιέχει εν μέρει κρυσταλλικά σταγονίδια. Τέλος, η χαρακτηριστική αίσθηση της γεύσης των τροφίμων σε πολλές περιπτώσεις συνίσταται στην αίσθηση που προκαλεί η τήξη των κρυστάλλων αυτών στο στόμα (Walstra 1987, 2003a).

iv. Αλληλεπιδράσεις σταγονιδίων

Πολλές από τις φυσικοχημικές και οργανοληπτικές ιδιότητες των γαλακτωμάτων τροφίμων επηρεάζονται έντονα από τις ελκτικές και απωστικές αλληλεπιδράσεις που ενεργούν μεταξύ των σταγονιδίων. Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των σταγονιδίων του γαλακτώματος μπορεί να οδηγήσουν σε μεγάλες αλλαγές στη σταθερότητα, τη ρεολογία, την εμφάνιση και τη γεύση των γαλακτωμάτων τροφίμων, και έτσι είναι σημαντικό να κατανοηθεί η φυσικοχημική τους προέλευση και να μελετηθούν οι ιδιότητές τους. Υπάρχουν πολύ διαφορετικά είδη των κολλοειδών αλληλεπιδράσεων που μπορούν να εμφανιστούν στα γαλακτώματα τροφίμων όπως αλληλεπιδράσεις τύπου van der Waals, ηλεκτροστατικές, στερεοχημικές, υδρόφοβες κ.α. Οι αλληλεπιδράσεις αυτές διαφέρουν ως προς τη φύση τους (ελκτικές ή απωστικές), την ισχύ τους (ισχυρές ή ασθενείς) και το εύρος τους (μεγάλο ή μικρό).

v. Οπτική Εμφάνιση Γαλακτωμάτων

Η οπτική εμφάνιση των γαλακτωμάτων εξαρτάται από δύο παραμέτρους:

1. Το είδος των συστατικών, δηλαδή το χρώμα και τη διαφορά που παρουσιάζουν στις τιμές του δείκτη διάθλασης,
2. Το μέγεθος των διεσπαρμένων σταγονιδίων.

Ένα γαλάκτωμα είναι αδιαφανές και συνήθως αποκτά το χρώμα της συνεχούς φάσης, όταν το μέγεθος των σταγονιδίων είναι μεταξύ 0,5-5 μm και υπάρχει σημαντική διαφορά στο δείκτη διάθλασης της συνεχούς και ασυνεχούς φάσης. Ένα γαλάκτωμα είναι διαφανές, είτε όταν το μέγεθος των σταγονιδίων είναι της τάξης των nm και μάλιστα μικρότερο από το μήκος κύματος του ορατού φωτός (400-700 nm), είτε όταν το γαλάκτωμα έχει ρυθμιστεί έτσι, ώστε οι δύο φάσεις να έχουν τον ιδανικό δείκτη διάθλασης. Θεωρητικά αν επιτευχθεί η ανάμιξη μίας λιπαρής φάσης

με μία υδατική η οποία έχει τον ίδιο δείκτη διάθλασης, αυτό θα οδηγήσει σε παρασκευή διαφανούς γαλακτώματος (Georgalaki 1998, Uradhyaga 1996).

vi. Αγωγιμότητα Γαλακτωμάτων

Η μέτρηση της αγωγιμότητας θεωρείται μία ακόμη μέθοδος για την αναγνώριση του είδους του γαλακτώματος. Η αγωγιμότητα ενός γαλακτώματος εξαρτάται από την αγωγιμότητα της συνεχούς φάσης. Έτσι ένα γαλάκτωμα έλαιο-σε-νερό είναι καλός αγωγός του ηλεκτρισμού, ενώ ένα γαλάκτωμα νερού-σε-έλαιο είναι κακός αγωγός.

vii. Ιξώδες Γαλακτωμάτων

Το ιξώδες ενός γαλακτώματος εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, κυριότεροι από τους οποίους είναι:

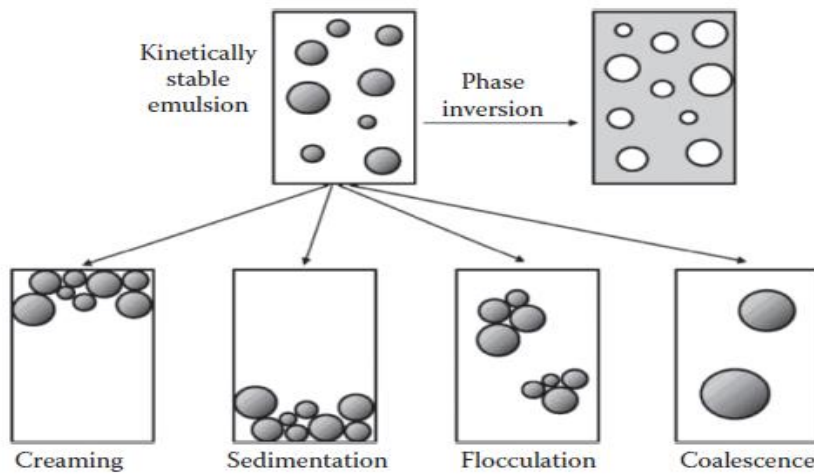
1. Το ιξώδες της συνεχούς φάσης. Κατά κύριο λόγο το ιξώδες ενός γαλακτώματος είναι όμοιο με εκείνο της συνεχούς φάσης.
2. Η αναλογία συνεχούς και ασυνεχούς φάσης. Η αύξηση της συγκέντρωσης της ασυνεχούς φάσης σε σχέση με τη συνεχή προκαλεί αύξηση του ιξώδους. Ακόμη η αύξηση του όγκου της ασυνεχούς φάσης προκαλεί αύξηση του φαινόμενου ιξώδους. Το φαινόμενο αυτό προκαλείται από τη συγκέντρωση μεγάλου αριθμού σωματιδίων στο γαλάκτωμα.
3. Το μέγεθος σταγονιδίων. Μείωση του μεγέθους των σταγονιδίων προκαλεί μία μικρή αύξηση του ιξώδους του γαλακτώματος.
4. Ο τύπος και η συγκέντρωση του γαλακτωματοποιητή (Hidalgo and Alai 2001).

viii. Σταθερότητα Γαλακτωμάτων

Γενικά η σταθερότητα των γαλακτωμάτων είναι η ικανότητά τους να αντιστέκονται σε οποιαδήποτε αλλαγή στις φυσικοχημικές ιδιότητές τους με την πάροδο του χρόνου (McClements 2005). Τα γαλακτώματα, όπως έχει ήδη αναφερθεί, από θερμοδυναμική άποψη είναι ασταθή συστήματα και σε επαρκή χρόνο θα έχουν διαχωριστεί σε δύο ξεχωριστές φάσεις, τη λιπαρή και την υδατική φάση. Συγκεκριμένα, η σταθερότητα των γαλακτωμάτων καθορίζεται από την ενέργεια αλληλεπίδρασης $u(h)$ η οποία εκφράζει την ενέργεια που απαιτείται για να πλησιάσουν δύο σωματίδια από το άπειρο σε απόσταση h . Στην αλληλεπίδραση αυτή συμμετέχουν ηλεκτροστατικές δυνάμεις, δυνάμεις Van der Waals και στερεοχημικές αλληλεπιδράσεις που οφείλονται στα προσροφημένα μόρια, ενώ σε ορισμένα συστήματα σημαντικό ρόλο παίζουν οι δυνάμεις ενυδάτωσης και οι υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις. Οι ηλεκτροστατικές δυνάμεις είναι απωστικές ανάμεσα στα σταγονίδια που προσεγγίζουν και οφείλονται στην αλληλοεπικάλυψη των διπλοστοιβάδων των φορτισμένων σταγονιδίων (διπλοστοιβάδα Helmholtz-Smolukofki). Οι διπλοστοιβάδες αυτές σχηματίζονται από τη φορτισμένη επιφάνεια των σταγονιδίων, λόγω ιόντων που προσροφώνται σε αυτή, και τα αντίθετα φορτισμένα ιόντα του γαλακτωματοποιητή που την περιβάλλουν. Όταν το μέγεθος των ελκτικών δυνάμεων γίνει μεγαλύτερο των απωστικών, τότε το γαλάκτωμα καταστρέφεται (Garti 1998).

Έτσι, έχει μεγάλη σημασία ο προσδιορισμός των φυσικών και χημικών μηχανισμών που ευθύνονται για την αστάθεια των γαλακτωμάτων. Τα γαλακτώματα τροφίμων μπορεί να γίνουν ασταθή λόγω πολύ διαφορετικών φυσικοχημικών μηχανισμών, συμπεριλαμβανομένων του βαρυτικού διαχωρισμού (δημιουργίας κρέμας / καθίζησης), της κροκίδωσης, της συνένωσης, ή της

μερικής συνένωσης, ωρίμανσης κατά Ostwald και της αναστροφής φάσης (McClements 2007) (Εικόνα 1.16).



Εικόνα 1.16: Μορφές αστάθειας γαλακτωμάτων (McClements 2005).

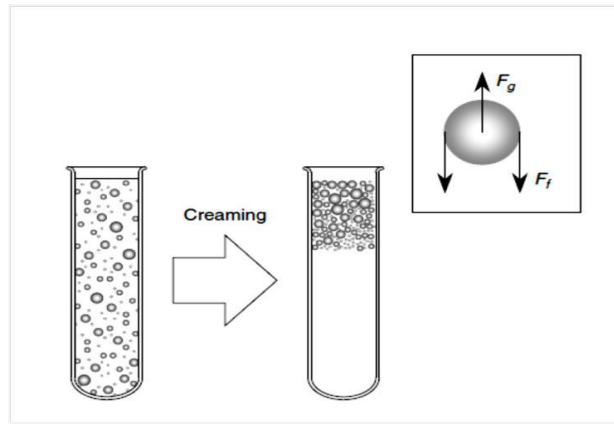
- **Βαρυτικός διαχωρισμός**

Ο βαρυτικός διαχωρισμός είναι η διαδικασία κατά την οποία τα σταγονίδια της διεσπαρμένης φάσης κινούνται προς τα πάνω («δημιουργία κρέμας»), λόγω της μικρότερης πυκνότητάς τους, ή προς τα κάτω («καθίζηση»), λόγω της υψηλότερης πυκνότητάς τους σε σχέση με το περιβάλλον υγρό. Έτσι, η διεσπαρμένη φάση διαχωρίζεται από το γαλάκτωμα. Ο ρυθμός σχηματισμού κρέμας (ή του ρυθμού καθίζησης για τις πιο πυκνές διασκορπισμένες φάσεις από τη συνεχή φάση) μπορεί να υπολογιστεί από την εξίσωση του Stokes.

$$u = 2r^2 (\rho - \rho_o) \frac{g}{9\eta} \quad (1)$$

όπου, το u είναι ο συντελεστής αποβουτύρωσης (καθίζησης), r είναι η ακτίνα του σταγονιδίου, ρ είναι η πυκνότητα του σταγονιδίου, ρ_o είναι η πυκνότητα του μέσου διασποράς, η είναι το ιξώδες του μέσου διασποράς (συνεχής φάση), και g είναι η τοπική επιτάχυνση λόγω της βαρύτητας.

Η διαφορά πυκνότητας, $(\rho - \rho_o)$, είναι αρνητική για το σχηματισμό κρέμας για ένα γαλάκτωμα o/w, αλλά θετική για ένα γαλάκτωμα w/o. Η εξίσωση του Stokes δείχνει ότι το φαινόμενο της αποβουτύρωσης αναστέλλεται από μικρή διάμετρο σταγονιδίων, από συνεχή φάση με εξαιρετικά υψηλό ιξώδες και με την ύπαρξη μικρής διαφοράς πυκνότητας μεταξύ των φάσεων ελαίου και νερού (Dalglish 2001).



Εικόνα 1.17: Τα γαλακτώματα είναι εύκολο να οδηγήσουν σε κρεμοποίηση λόγω της διαφοράς πυκνότητας της διεσπαρμένης και της συνεχούς φάσης.

- **Κροκίδωση**

Η κροκίδωση είναι η διαδικασία όπου δύο ή περισσότερα σταγονίδια συνδέονται μεταξύ τους, ώστε να σχηματισθεί ένα συσσωμάτωμα. Δηλαδή, καθένα από τα αρχικά σταγονίδια διατηρεί την ακεραιότητά του και παραμένει ως εντελώς ξεχωριστή οντότητα σε σύγκριση με τα άλλα σταγονίδια. Είναι ένα φαινόμενο που προκύπτει λόγω των ασθενών ελκτικών δυνάμεων μεταξύ των σταγονιδίων, οι οποίες προκύπτουν μέσα από διάφορους μηχανισμούς (Dickinson and Stainsby 1982).

- **Συνένωση**

Η συνένωση είναι η διαδικασία κατά την οποία δύο ή περισσότερα σταγονίδια συγχωνεύονται μαζί για να σχηματίσουν ένα ενιαίο μεγαλύτερο σταγονίδιο. Η μερική συνένωση είναι η διαδικασία όπου δύο ή περισσότερα μερικώς κρυσταλλικά σταγονίδια συγχωνεύονται, προκειμένου να σχηματίσουν ένα ακανόνιστου σχήματος συσσωμάτωμα, λόγω της διείδυσης των στερεών κρυστάλλων από ένα σταγονίδιο στην περιοχή υγρού ενός άλλου σταγονιδίου. Η εκτεταμένη συνένωση σταγονιδίων μπορεί τελικά να οδηγήσει στο σχηματισμό μίας ξεχωριστής στοιβάδας ελαίου στην κορυφή του γαλακτώματος, η οποία είναι γνωστή ως “oiling-off.”

- **Ωρίμανση Ostwald**

Η ωρίμανση Ostwald, είναι μία διαδικασία που εξαρτάται από τη διάχυση των μορίων της διεσπαρμένης φάσης μέσω της συνεχούς φάσης. Κατά τη διαδικασία αυτή, τα μεγαλύτερα σταγονίδια αναπτύσσονται εις βάρος των μικρότερων σταγονιδίων λόγω της μεταφοράς μάζας στη διεσπαρμένη φάση μέσω της συνεχούς φάσης (Strawbridge and Hallett 1994). Η αντιστροφή φάσης είναι η διαδικασία όπου η ανταλλαγή συμβαίνει μεταξύ της φάσης διασποράς και του μέσου. Τα o/w γαλακτώματα μετατρέπονται σε w/o και αντιστρόφως. Σε πολλές περιπτώσεις, η αναστροφή φάσης περνά μέσα από μία μεταβατική κατάσταση όπου παράγονται πολλαπλά γαλακτώματα. Οι μηχανισμοί αστάθειας, που μπορεί να συμβούν σε ένα γαλάκτωμα, μπορούν να δράσουν συνεργιστικά, προκαλώντας ο ένας τον άλλο. Για παράδειγμα, μία συσσωμάτωση των σταγονιδίων μπορεί να οδηγήσει σε ταχεία αποβουτύρωση. Ως αποτέλεσμα, στη συγκεκριμένη περίπτωση είναι πιο σημαντική η πρόληψη της συσσωμάτωσης των σταγονιδίων, έναντι της κρεμοποίησης.

1.6 Σταθερότητα γαλακτωμάτων

Το γαλάκτωμα είναι σταθερό, όταν μπορεί να παραμείνει αναλλοίωτο για μεγάλο χρονικό διάστημα, χωρίς τα σταγονίδια της διεσπαρμένης φάσης να συνενώνονται μεταξύ τους, να αιωρούνται ή να καθιζάνουν. Είναι σημαντικό τα γαλακτώματα τροφίμων να παραμένουν σταθερά για μεγάλα χρονικά διαστήματα, καθώς πρέπει να έχουν διάρκεια ζωής που φτάνει συνήθως αρκετούς μήνες ή και περισσότερο. Επιπλέον, πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι τα γαλακτώματα τροφίμων υποβάλλονται κάτω από έντονες συνθήκες κατά τη διαδικασία παρασκευής τους, όπως υψηλή θερμοκρασία, πίεση, και μηχανική ανάδευση, με αποτέλεσμα να προκαλούνται σημαντικές μεταβολές στις ιδιότητές τους. Ως εκ τούτου, υπάρχει μεγάλη ανάγκη για τον έλεγχο των παραγόντων που επηρεάζουν τη μορφολογία του γαλακτώματος, έτσι ώστε να είναι εφικτό να σχεδιαστούν και ακόμα να προβλεφθούν οι ιδιότητες των παραγόμενων γαλακτωμάτων κατά τη διάρκεια ζωής τους.

Επομένως, χρησιμοποιούνται διάφορα απαραίτητα συστατικά για την παρασκευή και τη σταθεροποίηση των γαλακτωμάτων, με σκοπό να τους παρέχουν συγκεκριμένες ιδιότητες. Τα διεσπαρμένα σωματίδια στο γαλάκτωμα έχουν μεγάλη επιφάνεια, η οποία δημιουργείται κατά τη διαδικασία της γαλακτωματοποίησης. Οι επιδράσεις στην επιφάνεια εξαρτώνται από τις ιδιότητες των υλικών των δύο φάσεων, αλλά επίσης και από τον παράγοντα γαλακτωματοποίησης.

Η σταθερότητα των γαλακτωμάτων ελέγχεται από:

- τις διεπιφανειακές δυνάμεις,
- το μέγεθος των σταγονιδίων της διασκορπισμένης φάσης,
- τις ιδιότητες ιξώδους της συνεχούς φάσης και
- τη διαφορά πυκνότητας μεταξύ των δύο φάσεων.

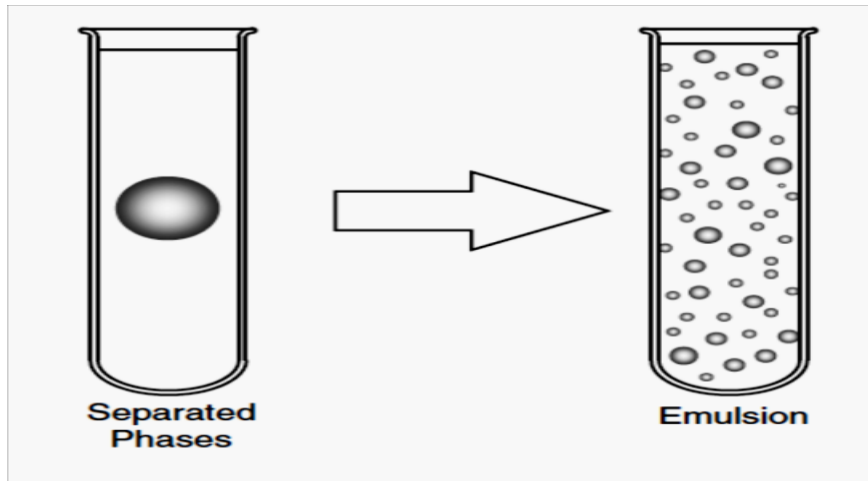
Το μέγεθος των σταγονιδίων της διασκορπισμένης φάσης είναι σημαντική και η συνήθης διάμετρος είναι 1-10 μm . Όταν η διάμετρος των σταγονιδίων είναι κάτω από 0,1 μm , η διασπορά αυτή συχνά αναφέρεται ως κolloειδής. Η συνένωση των σταγονιδίων της διασκορπισμένης φάσης εμποδίζεται από την αύξηση του ιξώδους της συνεχούς υγρής φάσης. Όσο πιο κοντινές είναι οι πυκνότητες των δύο συστατικών, τόσο μικρότερη θα είναι η διαχωριστική δράση των βαρυτικών δυνάμεων. Ο νόμος του Stokes παρέχει μία ποιοτική ένδειξη των φυσικών παραγόντων που επηρεάζουν τη σταθερότητα του γαλακτώματος. Αυτό συμβαίνει, επειδή η σχετική ροή των σωματιδίων κάτω από την επίδραση των βαρυτικών δυνάμεων μπορεί να διασπάσει το γαλάκτωμα, δηλαδή η σταθερότητα του γαλακτώματος ενισχύεται από μικρές ταχύτητες καθίζησης. Γίνεται φανερό ότι η κρίσιμη σημασία του μεγέθους των σωματιδίων, εφόσον υποδεικνύει γιατί τα γαλακτώματα είναι πιο σταθερά όταν οι διαφορές των πυκνοτήτων μεταξύ των δύο συστατικών είναι μικρές και όταν το ιξώδες της συνεχούς φάσης είναι υψηλό. Το βασικότερο χαρακτηριστικό ενός γαλακτώματος είναι το μικρό μέγεθος των σταγονιδίων της διασκορπισμένης φάσης. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με την επιβολή πολύ υψηλής διατμητικής τάσης στο υγρό που πρόκειται να διασπαρθεί καθώς οι δυνάμεις διάτμησης μπορούν να μετατρέψουν το υλικό σε ένα πλήθος λεπτών σωματιδίων. Μιλώντας για σταθερότητα γαλακτωμάτων πρέπει να γίνει λόγος για τη θερμοδυναμική και τη μηχανική σταθερότητά τους.

1.6.1 Θερμοδυναμική σταθερότητα

Η θερμοδυναμική αστάθεια ενός γαλακτώματος προσδιορίζεται εύκολα, αν αναδευτεί ένα καθαρό έλαιο και καθαρό νερό, και στη συνέχεια, παρατηρηθεί η μεταβολή στην εμφάνιση του

συστήματος με το χρόνο. Το οπτικώς αδιαφανές γαλάκτωμα, που σχηματίζεται αρχικά, καταρρέει με την πάροδο του χρόνου, έως ότου ένα στρώμα ελαίου να εμφανιστεί πάνω από ένα στρώμα νερού.

Η εξήγηση της θερμοδυναμικής αστάθειας μπορεί να γίνει σαφέστερη, συγκρίνοντας την ελεύθερη ενέργεια ενός συστήματος που αποτελείται από ένα έλαιο και μία υδατική φάση πριν και μετά τη γαλακτωματοποίηση. Γίνεται παραδοχή ότι αρχικά υπάρχουν πλήρως διαχωρισμένες οι φάσεις (έστω μία μεγάλη σταγόνα ελαίου μέσα στην υδατική φάση) και τελικά δημιουργείται το σύστημα του γαλακτώματος, που είναι η διασπορά της σταγόνας ελαίου σε σταγονίδια μέσα στην υδατική φάση:



Εικόνα 1.18: Ο σχηματισμός ενός γαλακτώματος είναι θερμοδυναμικά δυσμενής εξαιτίας της αύξησης της επιφάνειας επαφής των δύο φάσεων.

Στην αρχική κατάσταση η συνολική ελεύθερη ενέργεια κατά Gibbs είναι:

$$G^f = G_o^f + G_w^f + G_I^f - TS_{config}^i \quad (5)$$

ενώ αντίστοιχα στην τελική:

$$G^f = G_o^f + G_w^f + G_I^f - TS_{config}^f \quad (6)$$

Όπου:

G_o , G_w , G_I : οι ελεύθερες ενέργειες Gibbs του ελαίου, του νερού και της διεπιφάνειας ελαίου - νερού αντίστοιχα,

T : η απόλυτη θερμοκρασία

S_{config} : η εντροπία διαμόρφωσης των σταγονιδίων στο σύστημα.

Οι ενέργειες Gibbs του νερού και του ελαίου παραμένουν σταθερές πριν και μετά την ομογενοποίηση ($G_o^i = G_o^f$ και $G_w^i = G_w^f$), επομένως η μεταβολή της ελεύθερης ενέργειας μεταξύ της αρχικής και τελικής κατάστασης είναι (Hunter, 1989):

$$\Delta G_{formation} = G^f - G^i = G_o^f + G_I^f - (TS_{config}^f - TS_{config}^i) = \Delta G_I - T\Delta S_{config} \quad (7)$$

Εξ ορισμού η μεταβολή της ελεύθερης ενέργειας της διεπιφάνειας μεταξύ της τελικής και αρχικής κατάστασης είναι ίση με την αύξηση της επιφάνειας επαφής μεταξύ των φάσεων ελαίου και νερού πολλαπλασιαζόμενη με τη διεπιφανειακή τάση (γ), δηλαδή:

$$\Delta G_I = \gamma \Delta A \quad (8)$$

Οπότε:

$$\Delta G_{\text{formation}} = \gamma \Delta A - T \Delta S_{\text{config}} \quad (9)$$

Η μεταβολή της ελεύθερης ενέργειας της διεπιφάνειας ($\gamma \Delta A$) είναι πάντα θετική, εξαιτίας της αύξησης της επιφάνειας επαφής κατά την ομογενοποίηση, και ως εκ τούτου είναι αντίθετη στο σχηματισμό γαλακτώματος. Από την άλλη πλευρά ο όρος της εντροπίας διαμόρφωσης των σταγονιδίων είναι πάντοτε αρνητικός. Μία έκφραση για τη μεταβολή της εντροπίας διαμόρφωσης των σταγονιδίων μεταξύ της αρχικής και τελικής κατάστασης μπορεί να δοθεί από τη σχέση (Hunter, 1989):

$$\Delta S_{\text{config}} = - \frac{nk}{\phi} (\phi \ln \phi + (1 - \phi) \ln (1 - \phi)) \quad (10)$$

Όπου

k: η σταθερά Boltzmann

n: ο αριθμός σταγονιδίων στο γαλάκτωμα

ϕ : το κλάσμα όγκου στη διεσπαρμένη φάση

Στα περισσότερα γαλακτώματα τροφίμων η μεταβολή της εντροπίας διαμόρφωσης των σταγονιδίων είναι πολύ μικρή σε σύγκριση με τη μεταβολή της ελεύθερης ενέργειας διεπιφάνειας και θεωρείται αμελητέα. Η συνολική μεταβολή της ελεύθερης ενέργειας Gibbs για το σχηματισμό ενός γαλακτώματος και ειδικότερα ενός γαλακτώματος τροφίμων δίνεται τελικά από τη σχέση:

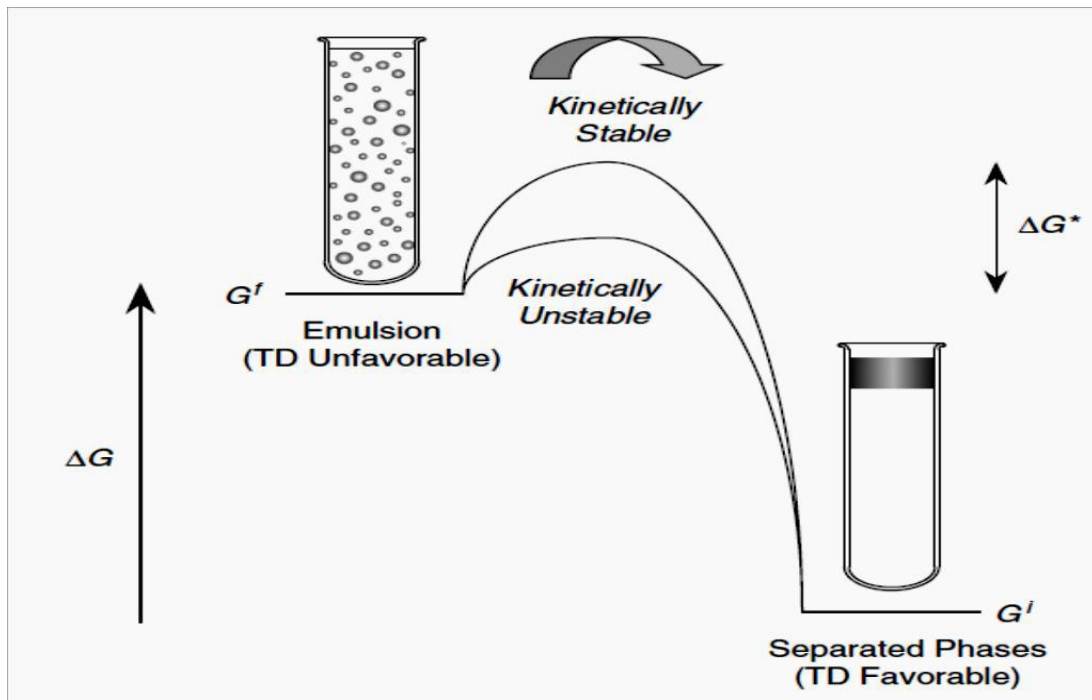
$$\Delta G = \gamma \Delta A \quad (11)$$

Έτσι κατά κύριο λόγο ο σχηματισμός ενός γαλακτώματος είναι μία θερμοδυναμικά ασταθής κατάσταση λόγω της αύξησης της διεπιφάνειας τάσης μετά τη γαλακτωματοποίηση. Θα πρέπει να σημειωθεί όμως πως σε κάποιες περιπτώσεις που η επιφανειακή τάση γ είναι σχετικά μικρή, τότε ο όρος της εντροπίας διαμόρφωσης των σταγονιδίων είναι συγκριτικά μεγαλύτερος από τον όρο της ελεύθερης ενέργειας της διεπιφάνειας και οδηγεί στο σχηματισμό γαλακτωμάτων θερμοδυναμικά σταθερών (νανογαλακτώματα).

1.6.2 Κινητική σταθερότητα

Γενικά, η μεταβολή της ελεύθερης ενέργειας (θερμοδυναμική σταθερότητα) σχετίζεται άμεσα με το σχηματισμό του γαλακτώματος και καθορίζει εάν ένα γαλάκτωμα είναι θερμοδυναμικά σταθερό ή μη. Δεν δίνει όμως καμία πληροφορία σχετικά με το ρυθμό με τον οποίο μεταβάλλονται οι ιδιότητες του γαλακτώματος με το χρόνο και το είδος αυτών των μεταβολών. Η έννοια της κινητικής σταθερότητας αναφέρεται ακριβώς σε αυτόν το ρυθμό και ελέγχεται με σύγκριση της μακροπρόθεσμης σταθερότητας δύο γαλακτωμάτων με την ίδια σύνθεση αλλά με διαφορετικό μέγεθος σταγονιδίων. Ένα γαλάκτωμα που περιέχει μικρότερα σταγονίδια συνήθως έχει μεγαλύτερη διάρκεια ζωής (μεγαλύτερη κινητική σταθερότητα) από το αντίστοιχο γαλάκτωμα που περιέχει μεγαλύτερα σταγονίδια, παρότι τα μικρά σταγονίδια λόγω μεγαλύτερης διεπιφάνειας επαφής εμφανίζουν υψηλή θερμοδυναμική αστάθεια.

Πληροφορίες σχετικά με τη σταθερότητα του γαλακτώματος ως προς το χρόνο είναι ιδιαίτερα σημαντικές, ειδικά για τους επιστήμονες τροφίμων, ώστε να δημιουργούν προϊόντα που να διατηρούν τις επιθυμητές ιδιότητές τους για μεγάλα χρονικά διαστήματα. Για αυτό πολλές φορές στην τεχνολογία τροφίμων η κινητική σταθερότητα είναι σημαντικότερη της θερμοδυναμικής σταθερότητας ενός γαλακτώματος.



Εικόνα 1.19: Τα γαλακτώματα είναι θερμοδυναμικά ασταθή συστήματα, όμως μπορούν να υπάρξουν σε μία μετασταθή κατάσταση που μπορούν να είναι κινητικά σταθερά.

Ένα γαλάκτωμα που είναι κινητικά σταθερό πρέπει να έχει ενέργεια ΔG^* σημαντικά υψηλότερη από τη θερμική ενέργεια του συστήματος (kT). Στην πραγματικότητα τα γαλακτώματα έχουν πλήθος διαφορετικών μετασταθών καταστάσεων (με διαφορετική ενέργεια ενεργοποίησης η καθυστέρηση). Έτσι ένα γαλάκτωμα μπορεί να μεταφερθεί από τη μία μετασταθή κατάσταση στην επόμενη, μέχρι τελικά να καταλήξει στη θερμοδυναμικά σταθερή του κατάσταση. Τέτοιου είδους αλλαγές μπορούν να επιφέρουν σημαντικές μεταβολές στην ποιότητα των τροφίμων που συμμετέχει το γαλάκτωμα. Η ερμηνεία της κινητικής σταθερότητας των γαλακτωμάτων στηρίζεται στη δυναμική φύση των σταγονιδίων. Τα σταγονίδια του γαλακτώματος βρίσκονται συνεχώς σε κίνηση μέσα στο γαλάκτωμα και συγκρούονται περιοδικά μεταξύ τους εξαιτίας της βαρύτητας και των εφαρμοζόμενων εξωτερικών δυνάμεων. Το κατά πόσον τα σταγονίδια απομακρύνονται μεταξύ τους, παραμένουν ως έχουν ή συνενώνονται μετά από μία σύγκρουσή τους εξαρτάται από τη φύση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ τους. Η κινητική σταθερότητα λοιπόν των γαλακτωμάτων ερμηνεύεται τελικά από τη δυναμική των σταγονιδίων και τη φύση των μεταξύ τους αλληλεπιδράσεων. Είναι γνωστό πως, αν αναδευτεί καθαρό έλαιο με νερό, τότε σχηματίζεται προσωρινής φύσης γαλάκτωμα που σύντομα διαχωρίζεται στα συστατικά του. Αυτό οφείλεται στη χαμηλή ενέργεια ενεργοποίησης μεταξύ της γαλακτωματοποιημένης κατάστασης και της μη γαλακτωματοποιημένης κατάστασης. Για να δημιουργηθεί ένα γαλάκτωμα το οποίο να είναι σταθερό για σχετικά μεγάλο χρονικό διάστημα, είναι απαραίτητη η χρήση ενός γαλακτωματοποιητή που επεμβαίνει δημιουργώντας μία υψηλότερη ενέργεια ενεργοποίησης και αποτρέποντας την αστάθεια. Ο γαλακτωματοποιητής προσροφάται στην επιφάνεια των σταγονιδίων που έχουν ήδη σχηματιστεί και δημιουργείται μία «προστατευτική μεμβράνη» που τα αποτρέπει από τη συνένωση. Επίσης ως πρόσθετα, εκτός από τους γαλακτωματοποιητές, αναφέρονται και οι τροποποιητές υφής, με αποτελέσματα ανάλογα με αυτά των γαλακτωματοποιητών. Οι τροποποιητές υφής παρεμβαίνουν αυξάνοντας το ιξώδες της συνεχούς φάσης ή σχηματίζοντας μία πηκτή (gel) έτσι, ώστε τα σταγονίδια να έχουν χαμηλότερη συχνότητα συγκρούσεων μεταξύ τους και επομένως μικρότερη τάση για συνένωση.

Κεφάλαιο 2

Ελαιόλαδο και Φαινολικές ενώσεις ελαιόλαδου

2.1 Εισαγωγή

Τα ακατέργαστα βρώσιμα έλαια που προέρχονται από ελαιούχους σπόρους, φρούτα και από τους λιπώδεις ιστούς των ζώων, εξάγονται με πίεση με σκοπό το διαχωρισμό του ακατέργαστου ελαίου από το στερεό προϊόν. Τα φυσικά ακατέργαστα έλαια, μολονότι αποτελούνται κυρίως από τριγλυκερίδια δεν θεωρούνται ως ομοιογενή μίγματα, δεδομένου ότι ίχνη νερού και πολλών δευτερευόντων μικροσυστατικών μεταφέρονται από τους σπόρους, τα φρούτα και τους ιστούς εντός του ελαίου κατά τη διάρκεια των σταδίων της διαδικασίας παραγωγής του ελαίου. Είναι ενδιαφέρον να σημειωθεί ότι όλα τα ακατέργαστα έλαια, με εξαίρεση κυρίως το παρθένο ελαιόλαδο, δεν θεωρούνται συνήθως βρώσιμα μέχρι τα δευτερεύοντα συστατικά τους να απομακρυνθούν με την εφαρμογή διαφορετικών χημικών και φυσικών διεργασιών εξευγενισμού (Georgalaki et al. 1998). Το ελαιόλαδο θεωρείται ανώτερο από άλλα φυτικά έλαια, δεδομένου ότι μπορεί να καταναλωθεί χωρίς προηγούμενη επεξεργασία, γεγονός που του προσδίδει μοναδικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (Uradhyaga et al. 2006, Boskou 1996, Alpaslan 1998). Τα ελαιόλαδα καταναλώνονται σε ακατέργαστη κατάσταση ή χρησιμοποιούνται από τη βιομηχανία τροφίμων για την παρασκευή τυποποιημένων τροφίμων (πέστο, σάλτσες, μαγιονέζα) ή ως πληρωτικό υλικό σε κονσερβοποιημένα τρόφιμα (π.χ. τόνος). Παράλληλα, τα φυτικά έλαια χρησιμοποιούνται σε μεγάλο βαθμό σε γαλακτώματα τροφίμων, σε σχέση με άλλες λιπαρές ουσίες, οι οποίες οξειδώνονται ταχύτερα. Τα τελευταία χρόνια το ελαιόλαδο επιλέγεται ως το κύριο συστατικό για μικρογαλακτώματα, λόγω της υψηλής θρεπτικής αξίας του και της μεγάλης οξειδωτικής του σταθερότητας. Είναι γνωστό, ότι τα εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα είναι πιο ανθεκτικά στην οξείδωση από άλλα, λόγω των ασαπνωσιμότητας συστατικών τους, συμπεριλαμβανομένων των τοκοφερολών και φαινολικών ενώσεων (Aparicio et al. 1999). Τα τελευταία χρόνια το ενδιαφέρον των ερευνητών έχει στραφεί στις τυχόν ευεργετικές δράσεις των φαινολικών συστατικών στον οργανισμό, δεδομένου ότι οι ενώσεις αυτές παρουσίασαν αντιοξειδωτικές και άλλες ιδιότητες συντήρησης των υποστρωμάτων (κυρίως λιπαρών υλών) στα οποία προστέθηκαν. Η οξείδωση σε γαλακτώματα τροφίμων είναι ιδιαίτερου ενδιαφέροντος, αφού τα έλαια καταναλώνονται ευρέως σε τρόφιμα τα οποία είναι είτε γαλακτώματα νερό-σε-έλαιο (π.χ. βούτυρο και μαργαρίνη), ή γαλακτώματα έλαιο-σε-νερό (π.χ. μαγιονέζα, γάλα και κρέμα γάλακτος). Η οξείδωση λιπιδίων σε γαλακτώματα γενικά αναγνωρίζεται ως πιο σύνθετη από την οξείδωση των ελαίων. Δεδομένου ότι η διαδικασία γαλακτωματοποίησης θα οδηγήσει στο σχηματισμό μίας μεγάλης διεπιφανειακής περιοχής, η οξείδωση ξεκινά στη διεπιφάνεια μεταξύ ελαίου και νερού, όπου διάφορες μη πολικές και πολικές ενώσεις στο σύστημα μπορούν να αλληλεπιδρούν (Frankel 1998, McClements and Decker 2000). Συνεπώς η βιομηχανία τροφίμων ενδιαφέρεται για αποτελεσματικές μεθόδους/τεχνικές επιβράδυνσης της οξείδωσης των λιπιδίων σε λιπαρά τρόφιμα, και μία από αυτές τις τεχνικές είναι η ενσωμάτωση φαινολικών συστατικών του ελαιόλαδου.

2.1.2 Ελαιόλαδο – Παρθένο ελαιόλαδο

Το ελαιόλαδο είναι βασικό είδος διατροφής για τους λαούς των χωρών που βρέχονται από τη Μεσόγειο Θάλασσα, αν και η χρήση του επεκτείνεται τώρα και σε άλλα μέρη του κόσμου, λόγω της μοναδικής του γεύσης, της υψηλής περιεκτικότητας των υγιεινών μονοακόρεστων λιπαρών οξέων, και της παρουσίας βιολογικά σημαντικών δευτερευόντων συστατικών. Ειδικότερα στον τομέα των τροφίμων, το ελαιόλαδο είναι ένα κυρίαρχο είδος που συνεχίζει να αυξάνει τη δημοτικότητά του. Στις προτιμήσεις των συνειδητών καταναλωτών είναι συχνά η πρώτη τους επιλογή λόγω των οφελών του στη μεσογειακή διατροφή. Το 2004, η αμερικανική υπηρεσία τροφίμων και φαρμάκων (FDA) ανακοίνωσε το ποσοστό των μονοακόρεστων λιπών που πρέπει να καταναλώνονται από το ελαιόλαδο για το καλό της υγείας και για τη μείωση της εμφάνισης της στεφανιαίας καρδιακής νόσου (CHD). Το παρθένο ελαιόλαδο είναι ένα από τα παλαιότερα γνωστά φυτικά έλαια και εξάγεται από τον καρπό της ελιάς *Olea europaea*. Το ελαιόδεντρο έχει καταγωγή από την ανατολική λεκάνη της Μεσογείου, προσαρμόζεται σε μακριάς διαρκείας ξηρά και θερμά καλοκαίρια, ενώ δείχνει αντοχή και σε θερμοκρασίες που αγγίζουν πολλές φορές τους 0°C. Η ελιά αποτελείται από το μεσοκάρπιο σε ποσοστό 78-80% και το κουκούτσι σε ποσοστό 14-16%. Το 50% του καρπού είναι νερό, το 25% υδατάνθρακες, το 25% έλαιο, ενώ περιέχονται και μικρά ποσά πρωτεΐνης. Το ελαιόλαδο είναι μοναδικό μεταξύ των άλλων φυτικών ελαίων καθώς καταναλώνεται χωρίς εξευγενισμό (Boskou 1996), και κατά συνέπεια περιέχει ποικιλία από δευτερεύοντα μικροσυστατικά που ωφελούν την υγεία του ανθρώπου. Το ελαιόλαδο εξάγεται από τον καρπό της ελιάς, με διαδικασία που περιλαμβάνει θραύση, μάλαξη και φυγοκέντρηση (ως επί το πλείστον είναι διεργασία δύο φάσεων ή τριών φάσεων και στο τελευταίο στάδιο προστίθεται το νερό) με αποτέλεσμα το σχηματισμό γαλακτωμάτων ελαίου/νερού. Τα βρώσιμα ελαιόλαδα κατατάσσονται σε έξι κατηγορίες: εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο, παρθένο ελαιόλαδο, εξευγενισμένο ελαιόλαδο, ελαιόλαδο, εξευγενισμένο έλαιο και πυρηνέλαιο. Το εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο (με οξύτητα μέχρι 0,8% σε ελαϊκό οξύ), παρθένο ελαιόλαδο (οξύτητα μέχρι 2,0%), ελαιόλαδο (ένα μίγμα από εξευγενισμένα και παρθένα ελαιόλαδα με οξύτητα που δεν ξεπερνά το 1%) και το πυρηνέλαιο (με οξύτητα που δεν ξεπερνά το 1%). Το πυρηνέλαιο περιέχει βιολογικά σημαντικές πολικές ενώσεις όπως οι φαινόλες, εκτός από την α-τοκοφερόλη και σκουαλένιο. Το εξευγενισμένο ελαιόλαδο έχει την ίδια γλυκεριδική σύνθεση όπως το παρθένο ελαιόλαδο, αλλά περιέχει μικρότερη περιεκτικότητα σε α-τοκοφερόλη και σκουαλένιο. Έχει την ίδια σύνθεση τριγλυκεριδίων με παρθένο ελαιόλαδο, δεν περιέχει όμως πολικές αντιοξειδωτικές φαινόλες αλλά είναι πλουσιότερο σε βιολογικά δραστικά πεντακυκλικά τριτερπένια όπως το ελαϊνολικό οξύ και η ερυθροδιόλη. Τα φυσικά λίπη και έλαια τόσο από φυτικές όσο και από ζωικές πηγές προέλευσης έχουν αναγνωρισθεί ως απαραίτητα θρεπτικά συστατικά στην ανθρώπινη διατροφή, δεδομένου ότι παρέχουν ενέργεια, όπως επίσης περιέχουν και απαραίτητα λιπαρά οξέα, οφέλιμα για την υγεία του ανθρώπου. Παράλληλα χρησιμεύουν ως φορείς λιποδιαλυτών βιταμινών (Boskou 1996). Παρακάτω γίνεται λεπτομερής περιγραφή των συστατικών του ελαιόλαδου.

2.1.3 Παρθένο ελαιόλαδο ως λειτουργικό τρόφιμο

Με τον όρο «λειτουργικά τρόφιμα» (functional foods ή nutraceuticals), χαρακτηρίζονται τα τελευταία χρόνια, όλα εκείνα τα τρόφιμα, φυσικά (δηλαδή τρόφιμα της καθημερινής διατροφής, μη γενετικά τροποποιημένα) ή εμπλουτισμένα, τα οποία έχουν σύμφωνα με μελέτες και επίσημα επιστημονικά ευρήματα, συγκεκριμένες ευεργετικές επιδράσεις σε μία ή περισσότερες παραμέτρους υγείας. Είναι τρόφιμα που ο κάθε καταναλωτής μπορεί να προμηθευτεί εύκολα και τα οποία περιέχουν ένα θρεπτικό συστατικό που να επιδρά θετικά σε κάποια λειτουργία του οργανισμού και για αυτό πολλοί τα χαρακτηρίζουν και ως «διατροφικά θεραπευτικά τρόφιμα».

Στα τρόφιμα αυτά έχει γίνει συνήθως προσθήκη βιταμινών, ιχνοστοιχείων και εξειδικευμένων άλλων ουσιών με ειδική δράση, π.χ. στερόλες, ω-3 λιπαρά οξέα, προβιοτικά.

Το ελαιόλαδο είναι ένα αναπόσπαστο συστατικό της μεσογειακής διατροφής. Οι σύγχρονοι καταναλωτές προσπαθούν να ωφεληθούν από το ελαιόλαδο, λόγω της τάσης στη μεσογειακή διατροφή και της πεποίθησης ότι το παρθένο ελαιόλαδο παίζει σημαντικό ρόλο για μία ισορροπημένη διατροφή και προσφέρει διάφορα οφέλη στην υγεία του ανθρώπου, όπως η μείωση κινδύνου εμφάνισης στεφανιαίας καρδιακής νόσου, η πρόληψη ενάντια διαφόρων τύπων καρκίνου, και ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος. Το ελαιόλαδο είναι ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα λειτουργικού τροφίμου, με ποικίλα θρεπτικά συστατικά που να επιδρούν σε κάποια λειτουργία του οργανισμού, λόγω της σύνθεσης των υψηλών επιπέδων των μονοακόρεστων λιπαρών οξέων του (MUFA) και της παρουσίας των δευτερευόντων συστατικών του, κυρίως των φαινολών, του σκουαλένιου και της α-τοκοφερόλης (Stark and Madar 2002). Τα επιδημιολογικά στοιχεία δείχνουν ότι στις χώρες της Μεσογείου υπάρχει χαμηλή συχνότητα εμφάνισης της στεφανιαίας νόσου, η οποία συνδέεται με τη μεσογειακή διατροφή και την κατανάλωση του ελαιόλαδου. Επιπλέον η ισχυρή προστατευτική δράση που παρέχει το ελαιόλαδο ενάντια στον καρκίνο του μαστού δεν σχετίζεται αποκλειστικά με τα λιπαρά οξέα του, αλλά και με τα υψηλά επίπεδα των αντιοξειδωτικών και των άλλων συστατικών του. Έρευνες έχουν δείξει ότι το σκουαλένιο μπορεί να δράσει ως χημειοπροληπτικός παράγοντας σε πολλές μορφές καρκίνου, συμπεριλαμβανομένων του μαστού, του παχέος εντέρου, του πνεύμονα και του παγκρέατος. Επιπλέον έρευνες έχουν γίνει για τη θεραπευτική δράση του ελαιόλαδου στο ανοσοποιητικό σύστημα, πιο συγκεκριμένα η ελευρωπαΐνη ενισχύει την ανοσολογική απόκριση και δρα εναντίον των φλεγμονών. Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω και άλλες ιδιότητες του ελαιόλαδου γίνεται φανερό ότι είναι ένα λειτουργικό τρόφιμο του οποίου τα συστατικά αναμένεται να παρέχουν πρόσθετα οφέλη για την υγεία πέρα από τις βασικές διατροφικές ανάγκες (Frankel 1998, Stark and Madar 2002).

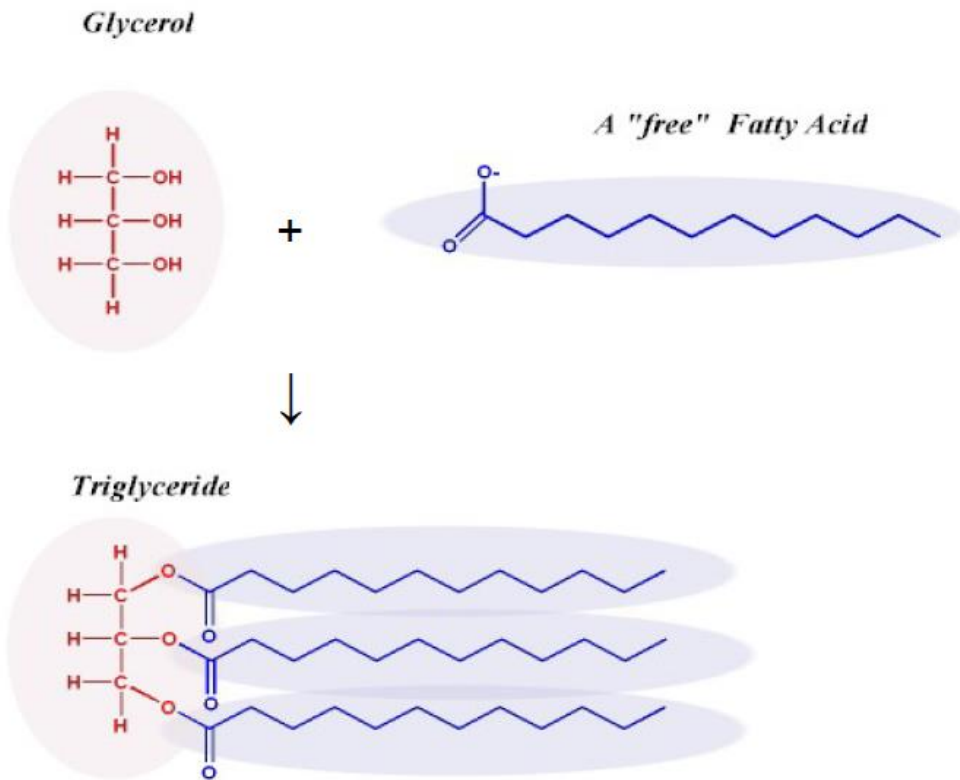
2.1.4 Το ελαιόλαδο ως βασικό συστατικό των μικρογαλακτωμάτων

Βασικό πρόβλημα στη βιομηχανία τροφίμων για την παρασκευή γαλακτωμάτων, είναι η προσθήκη κάποιας συν-επιφανειοδραστικής ουσίας, προκειμένου να μειωθεί η επιφανειακή τάση της διεπιφάνειας. Η προσθήκη συν-επιφανειοδραστικής ουσίας έχει περιορισμούς καθώς όλα τα πρόσθετα συστατικά πρέπει να είναι εγκεκριμένα και να χρησιμοποιούνται σε ποσότητες σύμφωνες με τη νομοθεσία (Paradimitriou et al. 2006). Συνεπώς αντιμετωπίζει πρόβλημα στην παρασκευή μικρογαλακτωμάτων, καθώς τα μικρογαλακτώματα αντιπροσωπεύουν σταγονίδια πολύ μικρής διαμέτρου και δημιουργούν περιοχές μεγάλης επιφάνειας που κατά συνέπεια απαιτούν μεγάλη ποσότητα γαλακτωματοποιητή (Georgalaki et al. 1998). Οι συνήθεις χρησιμοποιούμενες συνεπιφανειοδραστικές ουσίες (αλκοόλες μικρού ή μεσαίου μεγέθους αλυσίδας) μπορεί να προκαλέσουν φαινόμενα τοξικότητας ή ερεθισμού στον ανθρώπινο οργανισμό. Οι ερευνητές έχουν αρχίσει και δίνουν έμφαση στη χρήση εδώδιμων μη-ιοντικών επιφανειοδραστικών ουσιών, οι οποίες χαρακτηρίζονται για την καλή γαλακτωματοποιητική τους ικανότητα, καθώς επίσης δεν απαιτούν και την χρήση κάποιας συν-επιφανειοδραστικής ουσίας. Τέτοιες ουσίες είναι εστέρες σακχάρων, σορβικοί εστέρες κ.α. (Beauchamp et al. 2005). Η σημερινή τάση στη βιομηχανία τροφίμων είναι η αντικατάσταση των χημικών γαλακτωματοποιητών, από φυσικές ουσίες, καθώς αυτοί μπορούν να προκαλέσουν προβλήματα υγείας ή να μειώσουν τη διατροφική αξία των τροφίμων. Οι έρευνες προσανατολίζονται στην εύρεση αμφιφιλικών ουσιών εγκεκριμένων για τρόφιμα με γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες. Οι ουσίες αυτές θα πρέπει να παρουσιάζουν αντίστοιχα τεχνολογικά χαρακτηριστικά με τους χημικούς γαλακτωματοποιητές, να έχουν παρόμοιες λειτουργικές ιδιότητες και χαμηλό κόστος. Τέτοιες αμφιφιλικές ουσίες εμφανίζονται στα ακατέργαστα έλαια ως ενδογενή μικροσυστατικά των ελαιούχων καρπών ή σπόρων και είναι υπεύθυνα για διάφορους φυσικούς κολλοειδείς

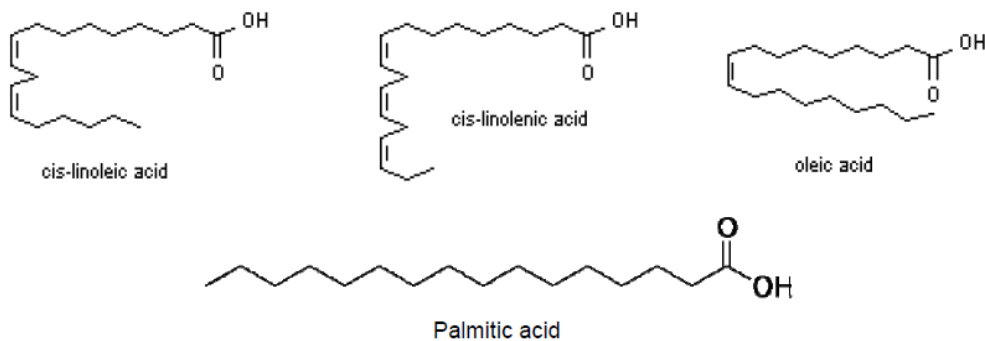
σχηματισμούς. Από έρευνες έχει αποδειχθεί ότι ορισμένα ενδογενή φαινολικά μικροσυστατικά του ελαιόλαδου, λόγω της χημικής δομής τους, μπορούν να λειτουργήσουν ως επιφανειοδραστικές ουσίες, προσφέροντας γαλακτωματοποιητική σταθερότητα, ενώ παράλληλα μπορούν να αυξήσουν την οξειδωτική σταθερότητα της ελαιώδους φάσης. Πιο συγκεκριμένα έχει αποδειχθεί ότι η προσθήκη των φαινολικών συστατικών: κερσετίνη, γαλλικό οξύ, trans-σινναμικό οξύ και απιγενίνη σε γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο αυξάνει την οξειδωτική και γαλακτωματοποιητική τους σταθερότητα. Δηλαδή, το ελαιόλαδο από μόνο του μπορεί να θεωρηθεί γενικά ένα καλό γαλάκτωμα, με μία μικρή ποσότητα πολικής υδατικής φάσης σε μία μεγάλη ποσότητα λιπαρής φάσης, δηλαδή, τα γλυκερίδια. Τόσο τα ιοντικά όσο και τα μη ιοντικά αμφιφιλικά συστατικά που μεταφέρονται από τον καρπό της ελιάς στο ελαιόλαδο, κατά τα στάδια παραγωγής του ελαιόλαδου μπορούν να θεωρηθούν υπεύθυνα για το σχηματισμό γαλακτωμάτων. Οι ενδογενείς γαλακτωματοποιητές στο παρθένο ελαιόλαδο περιλαμβάνουν τα ελεύθερα λιπαρά οξέα και μία ποικιλία από δευτερεύοντα συστατικά, όπως πολυφαινόλες, και φωσφολιπίδια (Alpaslan and Karaali 1998). Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει την παρουσία πρωτεϊνών και ενζύμων ως συνήθη συστατικά στα παρθένα ελαιόλαδα (Georgalaki et al. 1998). Καθώς οι πρωτεΐνες είναι από τους βασικότερους φυσικούς γαλακτωματοποιητές τροφίμων (Sotiroudis et al. 1998). Ο ρόλος των πρωτεϊνών του ελαιόλαδου είναι σημαντικός στη σταθεροποίηση των γαλακτωμάτων. Συνεπώς το ελαιόλαδο επιλέγεται ως το κύριο συστατικό για μικρογαλακτώματα, λόγω της υψηλής θρεπτικής αξίας του και της μεγάλης οξειδωτικής του σταθερότητας. Η σημασία της προσθήκης των φαινολικών συστατικών στα γαλακτώματα θα αναλυθεί διεξοδικά στο επόμενο κεφάλαιο.

2.1.5 Κύριο συστατικό ελαιόλαδου-τριγλυκερίδια

Τα φυσικά βρώσιμα έλαια αποτελούνται κυρίως από δομικές μονάδες που καλούνται τριγλυκερίδια. Η περιεκτικότητα σε τριγλυκερίδια στα περισσότερα έλαια κυμαίνεται γύρω στο 95-98% w/w. Τα τριγλυκερίδια αποτελούνται από τρία μόρια λιπαρών οξέων εστεροποιημένων σε ένα μόριο γλυκερόλης. Τα λιπαρά οξέα είναι γραμμικά αλειφατικά καρβοξυλικά οξέα, με συντακτικό τύπο $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$, και τα σημαντικότερα λιπαρά οξέα που συναντώνται στο ελαιόλαδο είναι το ελαϊκό, το λινελαϊκό και το λινολενικό οξύ. Τα λιπαρά οξέα, σύμφωνα με το βαθμό κορεσμού, μπορούν γενικά να ταξινομηθούν σε τρεις σαφώς καθορισμένες οικογένειες: κορεσμένα λιπαρά οξέα (SAFA), μονοακόρεστα λιπαρά οξέα (MUFA) και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA). Το ελαϊκό οξύ είναι ένα μονοακόρεστο λιπαρό οξύ και περιέχεται σε ποσοστά 55-83% στο ελαιόλαδο, το λινελαϊκό οξύ είναι πολυακόρεστο λιπαρό οξύ με δύο διπλούς δεσμούς σε περιεκτικότητα 3,5-21% και το λινολενικό οξύ είναι πολυακόρεστο λιπαρό οξύ με τρεις διπλούς δεσμούς και βρίσκεται σε περιεκτικότητας μικρότερη από 0,9%. Τα φυσικά λιπαρά οξέα συνήθως αποτελούνται μόνο από αλυσίδες άρτιων αριθμών ατόμων άνθρακα, λόγω του τρόπου που βιοσυντίθενται. Το ελαιόλαδο περιέχει 72% μονοακόρεστα λιπαρά οξέα, 14% πολυακόρεστα και 4% κορεσμένα λιπαρά οξέα. Τα κορεσμένα λιπαρά οξέα που βρίσκονται στο ελαιόλαδο είναι το στεατικό οξύ (0,5-5%) και το παλμιτικό οξύ (7,5-20%). Οι φυσικές και χημικές ιδιότητες των ελαίων επηρεάζονται σε μεγάλο βαθμό από τον τύπο, την αναλογία και τη θέση των λιπαρών οξέων στο μόριο της γλυκερίνης. Τα επίπεδα των λιπαρών οξέων, με τη μορφή τριγλυκεριδίων, ποικίλλουν κατά τη διάρκεια της περιόδου ωρίμανσης της ελιάς, ενώ εξαρτώνται από την ποικιλία και τις συνθήκες καλλιέργειας και κλίματος.



Εικόνα 2.1: Σχηματισμός του τριγλυκεριδίου.



Εικόνα 2.2: Διάφορα λιπαρά οξέα.

2.1.6 Νερό

Τα ίχνη νερού που μπορούν να βρεθούν τόσο στο ακατέργαστο όσο και στο εμπορικώς διαθέσιμο έλαιο, οφείλονται κυρίως στις διαδικασίες εξευγενισμού. Η συγκέντρωση του νερού στο έλαιο μπορεί να αλλάξει κατά τη διάρκεια της παρατεταμένης αποθήκευσης μετά το άνοιγμα της συσκευασίας καθώς το νερό απορροφάται από το περιβάλλον ή χάνεται από το έλαιο. Δεδομένου ότι το νερό είναι μη-αναμίξιμο με το έλαιο, είναι πιθανό να βρίσκεται με τη μορφή κολλοειδούς σύνθεσης, σταθεροποιημένης με ενδογενείς γαλακτωματοποιητές. Ο Πίνακας 2.1 παρουσιάζει την περιεκτικότητα σε νερό μερικών εμπορικώς διαθέσιμων φυτικών ελαίων (Chaiyasit et al. 2007).

Πίνακας 2.1: Περιεκτικότητα νερού σε εμπορικά διαθέσιμα φυτικά έλαια.

	Water content (% w/w)
Vegetable oil	
Sunflower	0.02
Canola	0.02
Peanut	0.02
Sesame	0.02
Extra virgin olive	0.09–0.31 ^a

^a Unfiltered Greek sample.

2.1.7 Υδρογονάνθρακες

Δύο υδρογονάνθρακες που υπάρχουν σε σημαντικές ποσότητες στο ελαιόλαδο, είναι το σκουαλένιο και το β-καροτένιο. Το σκουαλένιο είναι ο τελευταίος μεταβολίτης που λαμβάνει μέρος στο σχηματισμό του δακτυλίου των στερολών. Η παρουσία του θεωρείται ως εν μέρει υπεύθυνη για τις ευεργετικές επιπτώσεις του ελαιόλαδου στην υγεία και τη χημειοπροληπτική δράση του έναντι ορισμένων μορφών καρκίνου. Η περιεκτικότητά του κυμαίνεται από 200 έως 7500 mg ανά kg ελαίου. Η περιεκτικότητα του σκουαλένιου εξαρτάται από την ποικιλία της ελιάς, την τεχνολογία εξαγωγής του ελαιόλαδου, και μειώνεται δραματικά κατά τη διαδικασία εξευγενισμού. Εκτός από το σκουαλένιο, το κλάσμα των υδρογονανθράκων του παρθένου ελαιόλαδου αποτελείται και από διτερπένιο και τριτερπένιο, πολυολεφίνες, και n-παραφίνες (Boskou 1996).

2.1.8 Χρωστικές

Το χρώμα του παρθένου ελαιόλαδου είναι το αποτέλεσμα του πράσινου και κίτρινου χρώματος λόγω της παρουσίας των χλωροφυλλών και καροτενοειδών. Επηρεάζεται από την ποικιλία της ελιάς, το δείκτη της ωρίμανσης, αν και δεν υπάρχει τυποποιημένη μέθοδος για τη μέτρησή του. Οι χλωροφύλλες συναντώνται ως φαιοφυτίνες. Μεταξύ των φαιοφυτινών η κύρια είναι η φαιοφυτίνη α (Pheo a). Η παρουσία της φαιοφυτίνης α σχετίζεται με τις συνθήκες επεξεργασίας και την ενζυματική δραστηριότητα. Η αποθήκευση και η διάρκεια της αποθήκευσης μπορεί να προκαλέσει περαιτέρω αλλαγές στην περιεκτικότητα της φαιοφυτίνης-α (Boskou 1996).

2.1.9 Πρωτεΐνες

Η παρουσία πρωτεϊνών και πεπτιδίων ως δευτερεύοντα συστατικά των διαφόρων φυτικών ελαίων, έχει αναφερθεί από διάφορες ερευνητικές ομάδες κατά τη διάρκεια των τελευταίων δεκαετιών. Για πρώτη φορά το 1998, ερευνήθηκε η ενζυματική δραστηριότητα στα παρθένα ελαιόλαδα (Hidalgo and Zamora 2006). Τότε αποδείχθηκε η παρουσία οξειδωτικών ενζύμων σε ανιχνεύσιμες ποσότητες, όπως η λιποξυγενάση και η πολυφαινολική οξειδάση σε φρέσκο μαγειρεμένο παρθένο ελαιόλαδο. Τα ένζυμα φαίνεται να διατηρούν την καταλυτική τους δράση, παρά το υδρόφοβο περιβάλλον. Παρά το γεγονός ότι τα πεπτίδια και οι πρωτεΐνες παραδοσιακά θεωρούνται ως προσμίξεις των βρώσιμων ελαίων, στις μέρες μας η παρουσία τους θεωρείται ιδιαίτερα σημαντική, δεδομένου ότι σχετίζονται τόσο με τη σταθερότητα και την αλλεργιογόνο ικανότητα των ελαίων (Hidalgo and Zamora 2006). Ένα σημαντικό μέρος των πεπτιδίων και των πρωτεϊνών, εντούτοις, δεν υπάρχουν στα εξευγενισμένα έλαια του εμπορίου, επειδή είτε δεν

εκχυλίζονται ή γιατί χάνονται κατά τη διάρκεια της διεργασίας εξευγενισμού. Ο πίνακας 2.2 παρουσιάζει την περιεκτικότητα των πρωτεϊνών σε διάφορα φυτικά έλαια (Hidalgo and Zamora 2006).

Πίνακας 2.2: Περιεκτικότητα πρωτεϊνών σε διάφορα φυτικά έλαια.

Oil	Protein content (ppm)
Olive (virgin)	0.7–5.1
	0.3–0.6 ^a
Peanut	0.13–0.63
	0.11–0.22
Peanut (crude)	3.7
Soybean	0.78
	0.35
Soybean (crude)	2.1
	2.0
Sunflower	0.24
	0.92
Sunflower (crude)	14.8

^a Ref. [22].

2.1.10 Ασαπωνοποίηση-Δευτερεύοντα συστατικά στο ελαιόλαδο

Οι αγρονομικές και κλιματολογικές συνθήκες, το φρούτο ή ποιότητα των σπόρων, το σύστημα παραλαβής του ελαίου και η διαδικασία εξευγενισμού μπορούν να προκαλέσουν μεταβολή στο περιεχόμενο και τη σύνθεση των δευτερευόντων συστατικών (Rangel and Platt 1997). Τα μικροστοιχεία που υπάρχουν στα ακατέργαστα έλαια είναι γενικά λιπόφιλα, αλλά ορισμένα από αυτά είναι είτε αμφιφιλικά ή πολικά. Οι αμφίφιλες ενώσεις όπως τα μονο- και διγλυκερίδια, τα φωσφολιπίδια στερολών και τα ελεύθερα λιπαρά οξέα που υπάρχουν στα ακατέργαστα έλαια, συσσωματώνονται αυθόρμητα λόγω των υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων, για το σχηματισμό διαφόρων τύπων θερμοδυναμικά σταθερών δομών, γνωστών ως κolloειδείς ενώσεις, στις οποίες συμπεριλαμβάνονται τα μικκύλια, τα ανάστροφα μικκύλια, τα κυστίδια και οι διπλοστοιβάδες. Μερικές από τις ενώσεις μη-τριγλυκεριδίων είναι ανεπιθύμητες και επιβλαβείς για την ποιότητα του ελαίου (π.χ. ελεύθερα λιπαρά οξέα) και πρέπει να απομακρυνθούν χρησιμοποιώντας μεθόδους εξευγενισμού, ενώ άλλες είναι επιθυμητές (π.χ. καροτενοειδή, φαινολικά) παρέχοντας τόσο αντιοξειδωτική προστασία στο έλαιο και ευεργετικά συστατικά στους καταναλωτές (Chaiyasit et al. 2007). Οι διεργασίες εξευγενισμού δεν καταφέρνουν πάντα να απομακρύνουν εντελώς και επιλεκτικά τα ανεπιθύμητα συστατικά από τα έλαια. Από την άποψη αυτή, ακόμη και τα έλαια που έχουν υποστεί εξευγενισμό εξακολουθούν να περιέχουν μικρές ποσότητες των μη τριγλυκεριδικών ενώσεων και κατά συνέπεια μπορεί να έχουν κolloειδείς δομές. Επιπλέον, άλλες πολικές ενώσεις, όπως οι πρωτεΐνες, τα φαινολικά όπως επίσης οι αλδεΐδες, οι κετόνες και τα υπεροξειδία τα οποία παράγονται κατά τη διάρκεια της οξείδωσης μπορούν να βρεθούν σε φυσικά έλαια (Georgalaki et al. 1998, Sotiroudis et al. 1999).

Μονο- και διγλυκερίδια

Τα μονο- και διγλυκερίδια είναι μονο- και διεστέρες λιπαρών οξέων και γλυκερόλης. Βρίσκονται φυσιολογικά στα ακατέργαστα ζωικά λίπη και φυτικά έλαια. Τα μονογλυκερίδια (λιγότερο από 0.2% w/w) υπάρχουν σε πολύ μικρότερες ποσότητες από ότι τα διγλυκερίδια. Η παρουσία των μερικών τριγλυκεριδίων στο ελαιόλαδο οφείλεται είτε σε ελλιπή βιοσύνθεση τριακυλογλυκερόλης

ή σε αντιδράσεις υδρόλυσης. Στο παρθένο ελαιόλαδο, η συγκέντρωση μονογλυκεριδίων (DG) κυμαίνεται από 1 έως 2,8%. Η αναλογία τους εξαρτάται από την οξύτητα του ελαίου, ενώ οι συνθήκες αποθήκευσης επηρεάζουν την κατανομή των λιπαρών οξέων. Η 1,2-διγλυκερόλη υπάρχει στο φρέσκο έλαιο και τείνει να ισομεριστεί στην πιο σταθερή 1,3-διγλυκερόλη. Αυτή η αναδιάρθρωση δίνει πληροφορίες σχετικά με την ηλικία και τις συνθήκες αποθήκευσης του ελαίου (Perez- Camino et al. 2001, Spyros et al. 2004). Στο φοινικέλαιο και στο ελαιόλαδο περιέχονται τα υψηλότερα ποσοστά σε διγλυκερίδια μεταξύ όλων των ακατέργαστων λιπών και ελαίων (Georgalaki et al. 1998). Τα μονο- και διγλυκερίδια είναι επιφανειακά δραστικές ενώσεις, επειδή περιέχουν τόσο λιπόφιλες (λιπαρά οξέα) όσο και υδρόφιλες (υδροξύλιο) ομάδες. Ως εκ τούτου, είναι μερικώς διαλυτά σε λίπος και το νερό. Αποτελούν τους πιο συχνά χρησιμοποιούμενους γαλακτωματοποιητές, είναι περίπου το 70% του συνόλου των γαλακτωματοποιητών που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων. Οι ερευνητές Miyashita and Takagi (1988) έδειξαν ότι ο ρυθμός οξειδωσης των τριγλυκεριδίων ήταν υψηλότερος από ότι των μονο- και διγλυκεριδίων, αντίστοιχα. Πρότειναν ότι η διαφορά στην οξείδωσή τους μπορεί να οφείλεται στις ενδομοριακές αντιδράσεις ελευθέρων ριζών που συμβαίνουν πιο γρήγορα από τις διαμοριακές αντιδράσεις μεταφοράς. Όταν τα μονο- και διγλυκερίδια προστέθηκαν σε σογιέλαιο, βρέθηκαν να ενεργούν ως προοξειδωτικά. Αυτή η προοξειδωτική δραστηριότητά τους βασίζεται στην ικανότητα των μονο- και διγλυκεριδίων να μειώνουν τη διεπιφανειακή τάση του ελαίου και να αυξάνουν τη διάχυση οξυγόνου μέσα στο έλαιο. Παρά το γεγονός ότι τα μονο- και διγλυκερίδια υπάρχουν σε μικρές ποσότητες στα εξευγενισμένα έλαια, θα μπορούσαν να επηρεάσουν τις φυσικοχημικές ιδιότητες των γαλακτωμάτων εξαιτίας της επιφανειακής δραστηριότητάς τους (McClements 2008). Αν και υπάρχουν σχετικές έρευνες για την αποτελεσματικότητα των μονο- και διγλυκεριδίων για την οξείδωση των λιπιδίων στα μη συσκευασμένα έλαια, ουσιαστικά δεν υπάρχουν πειράματα που να έχουν μελετήσει την οξειδωτική σταθερότητα που προσδίδουν στα γαλακτώματα. Είναι πιθανόν τα μονο- και διγλυκερίδια να αντιδρούν διαφορετικά στην οξείδωση των λιπιδίων σε έλαια και στην οξείδωση των λιπιδίων σε γαλακτώματα, εφόσον η επιφανειακή τους δραστηριότητα θα μπορούσε να οδηγήσει τα μικροσυστατικά τους σε πολύ διαφορετική φυσική θέση μέσα σε αυτά τα δύο συστήματα.

Ελεύθερα λιπαρά οξέα

Τα ελεύθερα λιπαρά οξέα είναι μη-εστεροποιημένα λιπαρά οξέα που προέρχονται από την υδρόλυση των τριγλυκεριδίων ή των φωσφολιπιδίων. Τα λίπη και τα έλαια με υψηλή ποσότητα μονο- και διγλυκερίδια έχουν επίσης υψηλές συγκεντρώσεις των ελευθέρων λιπαρών οξέων. Ελεύθερα λιπαρά οξέα είναι επιφανειακά δραστικά μόρια με ένα HLB περίπου 1.0 (Chaiyasi et al. 2007). Τα λιπαρά οξέα που υπάρχουν στο ελαιόλαδο είναι το παλμιτικό (C16: 0), το παλμιτελαϊκό (C16: 1), στεατικό (C18: 0), ελαϊκό (C18: 1), λινελαϊκό (C18: 2) και λινολενικό (C18: 3), το μυριστικό (C14: 0), και το επταδεκανικό και το εικοσανικό οξύ που βρίσκονται σε ίχνη. Η σύνθεση των λιπαρών οξέων μπορεί να διαφέρει από δείγμα σε δείγμα, ανάλογα με τη ζώνη παραγωγής, το γεωγραφικό πλάτος, το κλίμα, την ποικιλία, και το στάδιο της ωρίμανσης του καρπού. Τα Ελληνικά, Ιταλικά και Ισπανικά ελαιόλαδα είναι χαμηλά σε λινελαϊκό και παλμιτικό οξύ και έχουν ένα υψηλό ποσοστό ελαϊκού οξέος. Τα ελαιόλαδα της Τυνησίας έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε λινελαϊκό και παλμιτικό οξύ και χαμηλότερη σε ελαϊκό οξύ. Η σύνθεση λιπαρών οξέων του ελαίου εξαρτάται από το στάδιο ωρίμανσης. Μελέτες αναφέρουν ότι το ελαϊκό οξύ σχηματίζεται πρώτα στον καρπό και υπάρχει μια ισχυρή ανταγωνιστική σχέση μεταξύ ελαϊκού και παλμιτικού κατά το σχηματισμό τους. Τα χαρακτηριστικά και τα όρια των φυσικών και χημικών δεικτών, καθώς και της σύνθεσης των ελευθέρων λιπαρών οξέων για τις διάφορες ποιότητες των παρθένων ελαιόλαδων που παράγονται σε κάθε ελαιοκομική έκταση, δημοσιεύονται ετησίως στα εθνικά αρχεία ελαιόλαδου (Boskou 1996).

Φωσφολιπίδια

Τα φωσφολιπίδια είναι οργανικές ενώσεις που μαζί με τα ουδέτερα λίπη και τα στεροειδή αποτελούν τις βασικές κατηγορίες των λιπιδίων. Τα φωσφολιπίδια προέρχονται από μεμβράνες φυτικών κυττάρων οι οποίες έχουν καταστραφεί κατά τη διεργασία εξευγενισμού του ελαίου. Τα φωσφολιπίδια χαρακτηρίζονται από την παρουσία μίας πολικής ομάδας και μίας υδρόφοβης περιοχής λιπαρού οξέος. Η φωσφατιδυλοχολίνη, η φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη, η φωσφατιδυλοϊνοσιτόλη και η φωσφατιδυλοσερίνη αναφέρθηκαν να είναι τα κύρια φωσφολιπίδια που υπάρχουν στο ελαιόλαδο. Σε πειραματική του μελέτη, οι Boukhchina et al. (2004) προσδιόρισαν τα γλυκεροφωσφολιπίδια που υπάρχουν στο ελαιόλαδο με υγρή χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας (GC-MS). Η φωσφατιδυλαιθανολαμίνη, η φωσφατιδυλοχολίνη, η φωσφατιδυλοϊνοσιτόλη, το φωσφατιδικό οξύ, καθώς επίσης και η φωσφατιδυλογλυκερόλη ήταν τα φωσφολιπίδια που προσδιορίστηκαν και καθορίστηκαν ποσοτικά, ενώ η φωσφατιδυλοσερίνη δεν εντοπίστηκε. Το επίπεδο των φωσφολιπιδίων είναι σημαντικό, διότι οι ενώσεις αυτές έχουν αντιοξειδωτική δράση. Η πιο πιθανή συμβολή των φωσφολιπιδίων στην οξειδωτική σταθερότητα του ελαιόλαδου δεν έχει μελετηθεί. Το υψηλό επίπεδο των φωσφολιπιδίων στο ελαιόλαδο μπορεί να είναι ένας επιπλέον αντιοξειδωτικός παράγοντας. Λόγω της παρουσίας των λιπαρών οξέων και των φορτισμένων φωσφορικών ομάδων, τα φωσφολιπίδια είναι αμφίφιλα με τιμές HLB περίπου 8 (Boskou 1996).

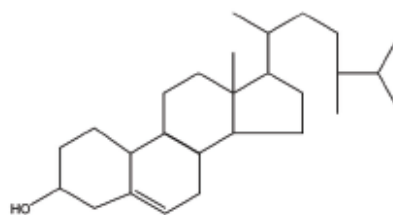
Στερόλες

Οι στερόλες αποτελούν μία μεγάλη ομάδα ενώσεων με ένα ευρύ φάσμα βιολογικών δραστηριοτήτων και φυσικών ιδιοτήτων. Οι στερόλες είναι σημαντικά λιπίδια που σχετίζονται με την ποιότητα του ελαίου και χρησιμοποιούνται ευρέως για τον έλεγχο της γνησιότητάς του. Τέσσερις κατηγορίες των στερολών βρίσκονται στο ελαιόλαδο: οι κοινές στερόλες (4-δεσμεθυλοστερόλες), 4α-μεθυλο- στερόλες, αλκοόλες τριτερπενίου (4, 4-διμεθυλοστερόλες) και διαλκοόλες τριτερπενίου. Η σύνθεση των στερολών και η περιεκτικότητα σε στερόλες περιεκτικότητας επηρεάζονται από την ποικιλία του ελαίου, το έτος συγκομιδής, το βαθμό ωρίμανσης των φρούτων, το χρόνο αποθήκευσης των φρούτων, την επεξεργασία, καθώς επίσης και από γεωγραφικούς παράγοντες. Η αποθήκευση του ελαιόλαδου βρέθηκε να είναι υπεύθυνη για σημαντικές αλλαγές στα επίπεδα των επιμέρους στερολών. Οι πρακτικές συγκομιδής του ελαιόλαδου επηρεάζουν επίσης τα επιμέρους επίπεδα. Οι φυτοστερόλες είναι μόρια που χαρακτηρίζονται γενικά από μικρή διαλυτότητα. Είναι ελάχιστα διαλυτά σε λίπη και σχεδόν αδιάλυτα στο νερό. Οι φυτοστερόλες θεωρούνται σημαντικά λειτουργικά συστατικά των τροφίμων κατά των καρδιαγγειακών νοσημάτων (Boskou 1996).

Οι συντακτικοί τύποι στερολών που αναφέρθηκαν να είναι παρούσες στο ελαιόλαδο είναι οι εξής:

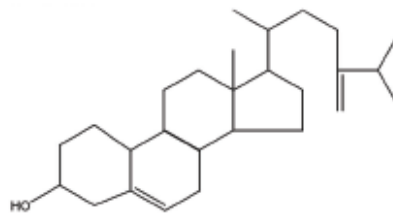
Cholesterol

Δ^5 -Cholesten-3 β -ol



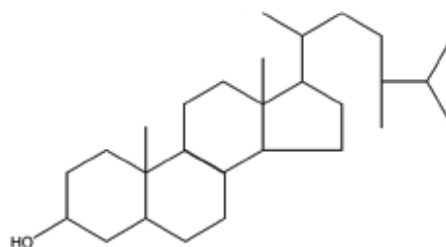
24-Methylene-cholesterol

24-Methylene- Δ^5 -cholesten-3 β -ol



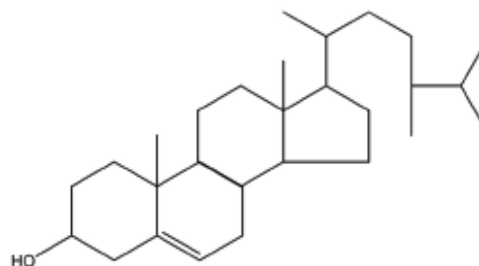
Campestanol

(24R)-24-Methyl-cholestan-3 β -ol



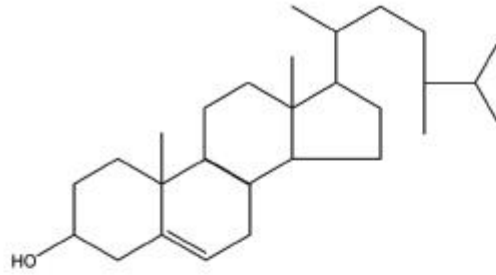
Campesterol

(24R)-24-Methyl- Δ^5 -cholesten-3 β -ol



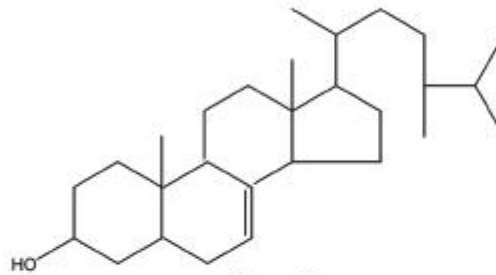
22,23-Dihydrobrassicasterol

(24S)-24-Methyl- Δ^5 -cholesten-3 β -ol



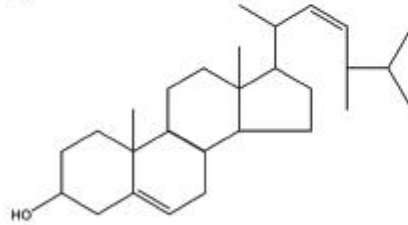
Δ^7 -Campestenol

(24R)-24-Methyl- Δ^7 -cholesten-3 β -ol



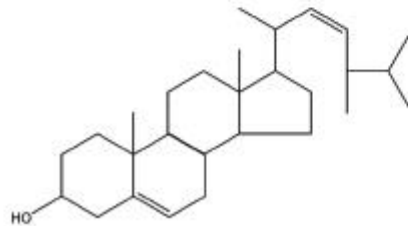
Ergosterol

(24R)-24 Methyl- $\Delta^{5,22}$ -cholestadien-3 β -ol



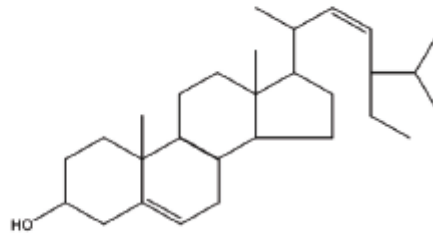
Brassicasterol

(24S)-24 Methyl- $\Delta^{5,22}$ -cholestadien-3 β -ol



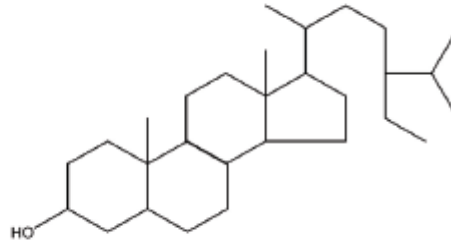
Stigmasterol

(24R)-24-Ethyl- $\Delta^{5,22}$ -cholestadien-3 β -ol



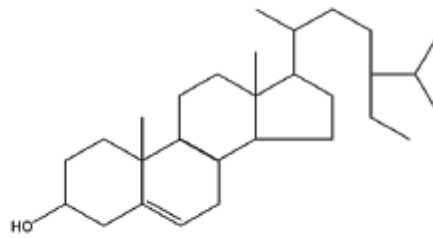
Sitostanol

(24R)-24-Ethyl-cholestan-3 β -ol



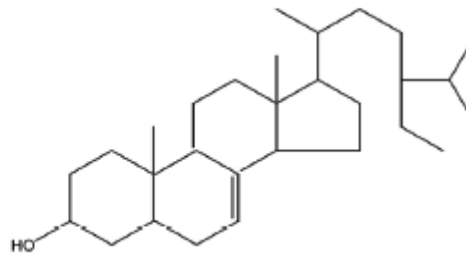
β -Sitosterol

(24R)-24-Ethyl- Δ^5 -cholesten-3 β -ol



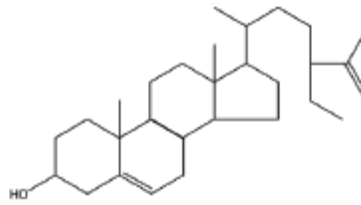
Δ^7 -Stigmastenol

(24R,S)-24-Ethyl- Δ^7 -cholesten-3 β -ol



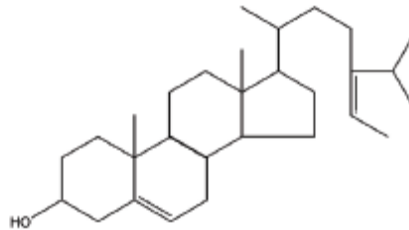
Cholesterol

(24S)-24-Ethyl- $\Delta^{5,25}$ -cholestadien-3 β -ol



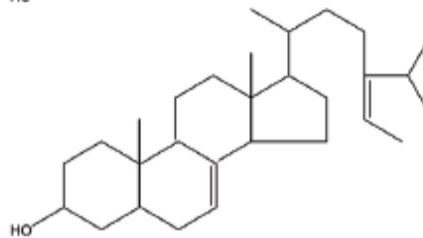
Δ^5 -Avenasterol

(24Z)-24-Ethylidene- Δ^5 -cholesten-3 β -ol



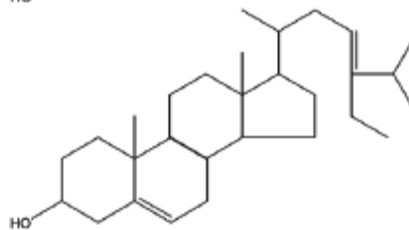
Δ^7 -Avenasterol

(24Z)-24-Ethylidene- Δ^7 -cholesten-3 β -ol



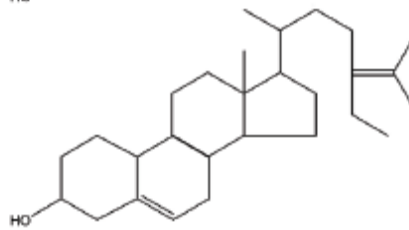
$\Delta^{5,23}$ -Stigmastadienol

(24R,S)-24-Ethyl- $\Delta^{5,23}$ -cholestadien-3 β -ol



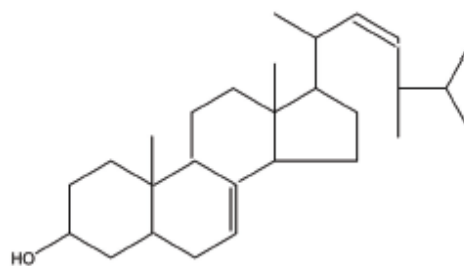
$\Delta^{5,24}$ -Stigmastadienol

(24R,S)-24-Ethyl- $\Delta^{5,24}$ -cholestadien-3 β -ol



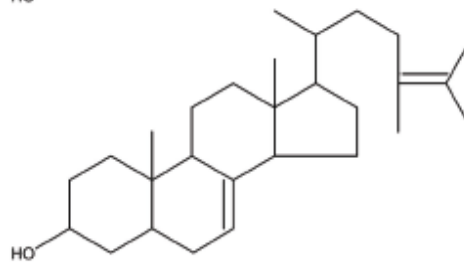
$\Delta^{7,22}$ -Ergostadienol

(24R)-24 Methyl- $\Delta^{7,22}$ -cholestadien-3 β -ol



$\Delta^{7,24}$ -Ergostadienol

(24R)-24 Methyl- $\Delta^{7,24}$ -cholestadien-3 β -ol



Τοκοφερόλες και τοκοτριενόλες

Οι τοκοφερόλες και οι τοκοτριενόλες είναι μονοφαινολικές ενώσεις διαλυτές στο λίπος με διαφορετικές αντιοξειδωτικές δραστηριότητες. Στη φύση, υπάρχουν τέσσερις κοινοί τύποι τοκοφερολών και τοκοτριενολών οι άλφα (α), βήτα (β), γάμα (γ) και δέλτα (δ), και όλες διαθέτουν βιταμίνη Ε. Έρευνες σχετικά με την εμφάνιση και τα επίπεδα των τοκοφερολών στα παρθένα ελαιόλαδα έδειξαν, ότι το 90% της συνολικής περιεκτικότητας σε τοκοφερόλη αποτελείται από βιταμίνη-Ε. Η α-τοκοφερόλη βρίσκεται σε ελεύθερη μορφή. Τα επίπεδα που αναφέρθηκαν δείχνουν ένα ευρύ φάσμα περιεκτικότητας α-τοκοφερόλης mg/kg ελαίου που εξαρτάται από την ποιότητα της ποικιλίας και από τεχνολογικούς παράγοντες. Τα επίπεδα των τοκοφερολών διαπιστώθηκαν ότι είναι πολύ υψηλότερα από τη μέση τιμή των 100 mg/kg που είχε οριστεί στο ελαιόλαδο κατά το παρελθόν. Οι τοκοφερόλες και τοκοτριενόλες είναι ευρέως διαδεδομένες στο φυτικό βασίλειο, με τα φυτικά έλαια που παρέχουν την πιο συμπυκνωμένη πηγή βιταμίνης Ε. Οι συγκεντρώσεις των διαφόρων ομολόγων σειρών ποικίλλουν στα διάφορα ακατέργαστα φυτικά έλαια (Boskou, 1996). Η σύνθεση κάποιων ακατέργαστων φυτικών ελαίων που έχουν υποστεί εξευγενισμό, αποχρωματισμό, απόσπηση (RBD) παρουσιάζεται στον παρακάτω Πίνακα 2.3.

Πίνακας 2.3: Μέσος όρος σύνθεσης ακατέργαστων φυτικών ελαίων που έχουν υποστεί εξευγενισμό, αποχρωματισμό, απόσπηση (RBD).

Components	Oils											
	Soybean		Cottonseed		Canola		Palm		Sunflower		Olive ^a	
Triacylglycerols (%)	95-97	>99	NA	>99	NA	>99	NA	>99	NA	>99	>98.5	
Phospholipids (%)	1.5-2.5	0.003-0.045	0.7-0.9	NA	2.7-3.5	NA	0.006-0.013	0.012	0.5-1.0	NA	0.004-0.014	
Phytosterols	0.33	0.13	0.37	NA	NA	NA	0.036-0.062	0.011-0.016	NA	NA	0.3-0.5	
Tocopherols	0.15-0.21	0.11-0.18	0.11	0.06	0.06	NA	0.06-0.10	0.04-0.06	0.05	NA	0.01-0.02	
Free fatty acids (%)	0.3-0.7	<0.05	0.9-3.7	<0.05	0.4-1.0	<0.05	2.0-5.0	<0.10	0.8-2.4	<0.05	<0.8	

^a Ref. [12].

2.1.11 Αλειφατικές και αρωματικές αλκοόλες

Οι αλειφατικές και αρωματικές αλκοόλες που υπάρχουν στο ελαιόλαδο βρίσκονται σε ελεύθερη και εστεροποιημένη μορφή. Οι πιο σημαντικές είναι λιπαρές αλκοόλες και αλκοόλες διτερπενίου. Τα αλκάνια και οι αλκοόλες με λιγότερα από δέκα άτομα άνθρακα στο μόριό τους, τα οποία βρίσκονται σε ελεύθερη και εστεροποιημένη μορφή, και ορισμένες αρωματικές αλκοόλες (βενζυλική αλκοόλη και 2-φαινυλαιθανόλη) είναι συστατικά του ελαιόλαδου στο πτητικό κλάσμα. Οι βενζυλεστέρες εικοσιεξανικού οξέος έχουν βρεθεί επίσης στο ελαιόλαδο.

Λιπαρές αλκοόλες

Αυτή η κατηγορία των δευτερευόντων συστατικών αποτελείται από γραμμικές κορεσμένες αλκοόλες με πάνω από 16 άτομα άνθρακα οι οποίες είναι παρούσες σε ελεύθερη και εστεροποιημένη μορφή. Οι κύριες λιπαρές αλκοόλες που υπάρχουν στο ελαιόλαδο είναι η εικοσιδυανόλη, η τετρακοζανόλη, η εξακοζανόλη, και η εικοσιοκτανόλη (Tiscornia et al. 1982, Boskou et al. 1983, Frega et al., 1992). Οι λιπαρές αλκοόλες με περιττό αριθμό ατόμων άνθρακα (η τριδεκανόλη, η δεκαπεντανόλη και η επτακοζανόλη) μπορούν να βρεθούν σε ίχνη (Tiscornia et al. 1982, Boskou et al. 1983). Τα ολικά επίπεδα στις λιπαρές αλκοόλες στο παρθένο ελαιόλαδο δεν

είναι υψηλότερα από 250 mg/kg. Ωστόσο, στα εξευγενισμένα ελαιόλαδα βρέθηκαν να περιέχονται λιπαρές αλκοόλες σε συγκεντρώσεις παρόμοιες με εκείνη των παρθένων ελαιόλαδων (Grob et al. 1990).

Οι εστέρες λιπαρών αλκοολών με λιπαρά οξέα (κηροί) είναι σημαντικά δευτερεύοντα συστατικά του ελαιόλαδου, επειδή μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως κριτήριο για τη διαφοροποίηση διαφόρων τύπων ελαιόλαδου (Κανονισμός ΕΚ 2568, 1991). Οι κύριοι κηροί που ανιχνεύονται στο ελαιόλαδο είναι εστέρες του ελαϊκού ή παλμιτικού οξέος με 36, 38, 40, 42, 44, και 46 άτομα άνθρακα. Τα παρθένα ελαιόλαδα περιέχουν κηρούς σε επίπεδα χαμηλότερα από 150 mg/kg, ενώ τα ακατέργαστα και εξευγενισμένα έλαια έχουν περιεκτικότητα σε κηρούς υψηλότερες από 2000 mg/kg (Grob et al. 1990). Η διαφορά αυτή χρησιμοποιείται επίσημα για τη διάκριση μεταξύ του ελαιόλαδου και εξευγενισμένου ελαιόλαδου. Η περιεκτικότητα σε κηρούς και η σύνθεση επηρεάζονται από την ποικιλία, την καλλιέργεια, τον χρόνο και την επεξεργασία (Boskou 1996).

Φαινολικά

Οι φαινολικές είναι δευτερεύουσες ενώσεις που βρίσκονται στα φυτικά έλαια, είναι πολικά μόρια συμβατικά χαρακτηρίζονται ως "πολυφαινόλες", αν και δεν είναι όλες τους πολυ-υδροξυ-παράγωγα. Αυτές οι ευρέως διαδεδομένοι φυτικοί μεταβολίτες είναι προικισμένοι με αρκετές ισχυρές βιολογικές ικανότητες, όπως η δυνατότητα καθαρισμού των ελευθέρων ριζών που μπορούν να συμβάλλουν στην πρόληψη διαφόρων εκφυλιστικών ασθενειών (Gutteridge et al. 1994, Visioli et al. 2002). Η περιεκτικότητα σε φαινολικά στα εμπορικά διαθέσιμα βρώσιμα έλαια ποικίλλει σημαντικά, ανάλογα με τον τύπο του ελαίου, τις συνθήκες υπό τις οποίες το έλαιο εκχυλίζεται από τον καρπό και επίσης από τις διεργασίες εξευγενισμού. Ο Πίνακας 2.4 δείχνει την περιεκτικότητα πολυφαινολικών στα φυτικά έλαια. Όπως φαίνεται η υψηλότερη περιεκτικότητα βρέθηκε στο εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο. Συνεπώς μπορεί να παρατηρηθεί η επίδραση των προαναφερόμενων παραμέτρων στην περιεκτικότητα φαινολών των δειγμάτων. Στο επόμενο κεφάλαιο παρουσιάζονται αναλυτικά τα φαινολικά συστατικά του ελαιόλαδου και τα οφέλη που προσφέρουν στα προϊόντα τροφίμων και την υγεία του ανθρώπου.

Πίνακας 2.4: Περιεκτικότητα πολυφαινολών στα φυτικά έλαια.

Oil	Description	Total Polyphenols (μg/g oil)
Olive – extra virgin	Crete, Greece	75–145
Olive – extra virgin	Giralda, Spain	48
Olive – extra light	Giralda, Spain	11
Olive – cold pressed	Bertolli, Italy	10
Macadamia	Aussie Mate, Aust.	9
Avocado	Australia	6
Sesame	Protoco, Australia	6
Canola	Meadow Lea, Aust.	4
Soya	Top Cook, NZ	4
Grapeseed	Azalea, Italy	2
Sunflower	Meadow Lea, Aust.	0
Peanut	Chefol, Australia	0
Walnut	Rougie, France	0
Almond	Expeller pressed, Hain USA	0

2.2 Φαινολικές ενώσεις και ενσωμάτωση σε γαλακτώματα

Ο όρος φαινολικά συστατικά ή πολυφαινόλες χρησιμοποιείται στη βιβλιογραφία για εκείνες τις αρωματικές ενώσεις και τα παράγωγά τους (π.χ. γλυκοζίδες) που έχουν στο βενζολικό δακτύλιο τουλάχιστον ένα υδροξύλιο. Οι φαινολικές ενώσεις επηρεάζουν την οργανοληπτική και διατροφική αξία των τροφίμων, νωπών και επεξεργασμένων. Η επίδραση αυτή δεν είναι πάντοτε ανεπιθύμητη (π.χ. αμαύρωση φρούτων), αλλά αντίθετα μπορεί να επιζητείται από τη βιομηχανία τροφίμων. Τα τελευταία χρόνια μελετώνται οι τυχόν ευεργετικές δράσεις των φαινολικών συστατικών στον οργανισμό, δεδομένου ότι οι ενώσεις αυτές παρουσίασαν αντιοξειδωτικές και άλλες ιδιότητες συντήρησης των υποστρωμάτων (κυρίως λιπαρών ουσιών) στα οποία προστίθενται. Ο προστατευτικός ρόλος των πολυφαινολών απέναντι στις καρδιαγγειακές παθήσεις και την πορεία γήρανσης του οργανισμού εξετάζεται πλέον συστηματικά. Τα οφέλη των φαινολικών συστατικών έχουν λάβει αυξανόμενο ενδιαφέρον λόγω της αντιοξειδωτικής τους δράσης, καθώς ενισχύουν τη σταθερότητα των λιπιδίων που περιέχονται στα τρόφιμα και επιδρούν ευεργετικά στην υγεία του ανθρώπου.

Στα γαλακτώματα τροφίμων η επίτευξη κατάλληλης δομής και η επίτευξη της οξειδωτικής και φυσικής σταθερότητας κατά την αποθήκευση αποτελούν ένα ευαίσθητο στόχο. Η προσθήκη των αντιοξειδωτικών είναι μία από τις στρατηγικές που εφαρμόζονται για να καθυστερήσει τις αντιδράσεις οξείδωσης των λιπιδίων, με την προϋπόθεση ότι δεν λαμβάνει χώρα καμία τροποποίηση στις συνολικές ιδιότητες του γαλακτωματοποιημένου συστήματος. Τα αντιοξειδωτικά ωστόσο, δεν είναι ο μόνος παράγοντας που επηρεάζει την οξείδωση των λιπιδίων σε διεσπαρμένα συστήματα, δεδομένου ότι η χημική σταθερότητα της λιπαρής φάσης συσχετίζεται αυστηρά με τη σύνθεση των λιπαρών οξέων και παρουσία των προ-οξειδωτικών και των καταλυτών.

2.2.1 Πολικές φαινολικές ενώσεις στο ελαιόλαδο

Μέρος των πολυφαινολών του ελαιόκαρπου καθώς και προϊόντα υδρόλυσής τους μεταφέρονται στο παρθένο ελαιόλαδο στη διάρκεια ανάπτυξης του καρπού με το νερό. Οι περισσότερες από αυτές απομακρύνονται κατά το διαχωρισμό της υδατικής φάσης από την ελαιώδη φάση. Παρόλα αυτά ένα μέρος των φαινολών στο ελαιόλαδο και μαζί με τις τοκοφερόλες αποτελεί το «αντιοξειδωτικό δυναμικό» του ελαίου. Διάφορες φλαβόνες και φλαβονόλες, και διάφορα κινναμικά οξέα, όπως το καφεϊκό οξύ και το p-κουμαρικό οξύ, έχουν αναφερθεί ότι βρίσκονται στην ελιά. Το κυρίαρχο φαινολικό που βρίσκεται στην ελιά είναι το p-κουμαρικό οξύ (1-10 mg/g) και ακολουθούν το συριγγικό και το βανιλικό οξύ σε μικρότερα ποσοστά. Ωστόσο η ελιά περιέχει έναν αριθμό χαρακτηριστικών συστατικών όπου περιλαμβάνονται η τυροσόλη, η υδροξυτυροσόλη και η ελευρωπαΐνη. Η ελευρωπαΐνη είναι εστέρας του λινελαϊκού οξέος με την υδροξυτυροσόλη. Οι φλαβονοειδείς πολυφαινόλες στο ελαιόλαδο είναι φυσικά αντιοξειδωτικά και παρουσιάζουν πληθώρα θρεπτικών επιδράσεων.

Τα φαινολικά συστατικά προσδιορίζονται στο λεγόμενο «πολικό κλάσμα» του ελαιόλαδου, δηλαδή στο εκχύλισμα που παραλαμβάνεται από το έλαιο μετά από διαδοχικές πλύσεις με 60-80% μεθανόλη σε νερό. Ερευνητικές προσπάθειες τουλάχιστον 30 χρόνων από διάφορους ερευνητές απέδειξαν ότι τα κύρια φαινολικά συστατικά του πολικού κλάσματος του παρθένου ελαιόλαδου είναι: το γαλλικό οξύ, η υδροξυτυροσόλη, το πρωτοκατεχικό οξύ, η τυροσόλη, το p-υδροβενζοϊκό οξύ, το βανιλικό οξύ, το συριγγικό οξύ, το φερούλικό οξύ, το καφεϊκό οξύ, το p-κουμαρικό οξύ, η αγκυκόνη της ελευρωπαΐνης και ισομερή καθώς και διάφορες μορφές (διαλδεϋδικές, αποκαρβοξυλιωμένες) αγκυκονών γλυκοζιτών του ελαιόκαρπου. Στο πολικό κλάσμα μπορεί να βρεθούν επίσης και κινναμωνικό και ελενολικό οξύ. Γενικά τα επίπεδα των φαινολικών συστατικών του παρθένου ελαιόλαδου κυμαίνονται μεταξύ 50 και 500 ppm. Το περιεχόμενο σε φαινόλες εξαρτάται από την ποικιλία της ελιάς, το χρόνο συγκομιδής, τη

διαδικασία παραγωγής, το χρονικό διάστημα που είναι αποθηκευμένο το ελαιόλαδο και τέλος τον τύπο του ελαιόλαδου.

Πίνακας 2.5: Κατηγορίες στις οποίες ανήκουν οι κύριες φαινολικές και μη φαινολικές ενώσεις που αναφέρεται ότι βρίσκονται στο πολικό κλάσμα του παρθένου ελαιόλαδου.

Phenolic acids	Phenolic alcohols
Hydroxybenzoic acids	(<i>p</i> -Hydroxyphenyl)ethanol (<i>p</i> -HPEA, tyrosol)
4-Hydroxybenzoic	(3,4-Dihydroxyphenyl)ethanol (3,4-DHPEA, hydroxytyrosol)
Protocatechuic	Homovanillyl alcohol
Gallic	Derivatives of phenolic alcohols
Vanillic acid	4-(Acetoxyethyl)-1,2-dihydroxybenzene
Syringic acid	Hydroxytyrosol ester of methyl malate
Hydroxyphenylacetic acids	Glycosides
4-Hydroxyphenylacetic	Flavonoids
Homovanillic	Apigenin
Hydroxycinnamic acids	Luteolin
<i>o</i> -Coumaric	Taxifolin
<i>p</i> -Coumaric	Hydroxy-isochromans
Caffeic	1-Phenyl-6,7-dihydroxy-isochroman
Ferulic	1-(3'-Methoxy-4'-hydroxy)phenyl-6,7-dihydroxy-isochroman
Sinapic	
Other phenols	Ligstroside aglycon
Vanillin (4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde)	Methyl acetal of the aglycone of ligstroside
4-Ethylphenol (not found in virgin olive oils but in oils of "second centrifugation," intended for refining)	10-Hydroxy-oleuropein
Oleuropein (an ester of hydroxytyrosol with β-glucosylated elenolic acid)	Lignans
Ligstroside	(+)-1-Acetoxypinoresinol
Aglyconic derivatives of oleuropein and ligstroside	(+)-Pinoresinol
Dialdehydic form of elenolic acid linked to 3,4-DHPEA (3,4-DHPEA-EDA)	(+)-1-Hydroxypinoresinol
Dialdehydic form of elenolic acid linked to <i>p</i> -HPEA (<i>p</i> -HPEA-EDA)	Syringaresinol
Dialdehydic form of decarboxymethyl elenolic acid linked to 3,4-DHPEA	Nonphenolic compounds
Dialdehydic form of decarboxymethyl elenolic acid linked to <i>p</i> -DHPEA	Cinnamic acid
Oleuropein aglycon (3,4-DHPEA-EA)	Elenolic acid
	Elenolic acid glycoside

2.2.2 Πολυφαινόλες και οξειδωτική σταθερότητα του παρθένου ελαιόλαδου

Η οξειδωτική σταθερότητα ενός ελαίου εξαρτάται κυρίως από τη σταθερότητα των τριγλυκεριδίων του. Η παρουσία αντιοξειδωτικών ενώσεων, φυσικών ή συνθετικών, απλά επιμηκύνει τη διάρκεια ζωής μίας λιπαρής ύλης. Το 1973 μελετήθηκε η συσχέτιση μεταξύ πολυφαινολών και οξειδωτικής σταθερότητας των παρθένων ελαιόλαδων. Από τότε η ικανοποιητική αυτή συσχέτιση πολυφαινολών και οξειδωτικής σταθερότητας επιβεβαιώθηκε πολλές φορές (Tsimidou et al. 1992). Ορισμένοι ερευνητές μελέτησαν την αντιοξειδωτική δράση διαφόρων φαινολικών ενώσεων του ελαιόλαδου (Boskou 1996, Tsimidou et al. 1992). Η τυροσόλη δεν παρουσίασε ιδιαίτερη αντιοξειδωτική δράση, ενώ η ελευρωπαΐνη ήταν ιδιαίτερα δραστική στα ελαιόλαδα. Όπως φάνηκε από ορισμένες εργασίες η δράση των πολικών φαινολικών αντιοξειδωτικών συμπληρώνει την ευεργετική δράση των τοκοφερολών, οι οποίες είναι πιο δραστικές όταν η συγκέντρωση των πρωτογενών προϊόντων της αυτοοξειδωσης (υδροϋπεροξειδία) υπερβεί κάποια επίπεδα. Από τα παραπάνω γίνεται φανερό ότι οι πολυφαινόλες συσχετίζονται άμεσα με την οξειδωτική σταθερότητα του ελαιόλαδου και ο προσδιορισμός τους μαζί με τον προσδιορισμό άλλων προοξειδωτικών και αντιοξειδωτικών παραμέτρων μπορεί να συντελέσει στην εκτίμηση της ολικής ποιότητας του προϊόντος. Επομένως ο μεγάλος αριθμός δημοσιεύσεων, που δείχνουν τον ευεργετικό ρόλο των αντιοξειδωτικών και των φαινολικών συστατικών που βρίσκονται στο ελαιόλαδο, έχει οδηγήσει τους ερευνητές σε προσπάθειες για την προσθήκη βιοδραστικών συστατικών του ελαιόλαδου στα γαλακτώματα.

2.2.3 Προσθήκη πολυφαινολών σε γαλακτώματα

Η οξείδωση λιπιδίων είναι από τα μεγαλύτερα προβλήματα για τον καταναλωτή, διότι όχι μόνο προκαλεί αλλαγές στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των τροφίμων, συμπεριλαμβανομένων της γεύσης, της υφής, του χρόνου ζωής, και της εμφάνισής τους, αλλά και λόγω της ισχυρής μείωσης που προκαλεί στη διατροφική αξία των προϊόντων. Η μείωση της ασφάλειας των τροφίμων προκαλείται από την απώλεια των αντιοξειδωτικών συστατικών και τον σχηματισμό επιβλαβών συστατικών συμπεριλαμβανομένων των ελεύθερων ριζών και δραστικών αλδευδών. Η αντιοξειδωτική αποτελεσματικότητα των πολυφαινολικών συστατικών σε συστήματα τροφίμων εξαρτάται από διάφορους παράγοντες συμπεριλαμβανομένων της δομής (δηλαδή, του αριθμού και της θέσης των ομάδων υδροξυλίου που συνδέονται στον αρωματικό δακτύλιο και της παρουσίας άλλων υποκαταστατών), της χημικής δραστικότητας των φαινολών, των αλληλεπιδράσεων με τα συστατικά των τροφίμων και των περιβαλλοντικών συνθηκών. Στα γαλακτώματα, η οξείδωση είναι μία αντίδραση η οποία ξεκινά στη διεπιφάνεια μεταξύ των δύο φάσεων και επηρεάζεται τόσο από την παρουσία των προ-οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών ενώσεων αλλά και από τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των διαφόρων συνιστωσών του συστήματος (McClements and Decker 2000). Η προσθήκη του αντιοξειδωτικού στις διάφορες φάσεις είναι ένας σημαντικός παράγοντας για την επίτευξη κατάλληλης δομής και της οξειδωτικής και φυσικής σταθερότητας κατά την αποθήκευση των γαλακτωμάτων. Συνεπώς η προσθήκη των αντιοξειδωτικών είναι μία από τις στρατηγικές που εφαρμόζονται για να καθυστερήσουν οι αντιδράσεις οξείδωσης των λιπιδίων, με την προϋπόθεση ότι δεν λαμβάνει χώρα καμία τροποποίηση στις συνολικές ιδιότητες του γαλακτώματος. Όμως η οξείδωση των ελαίων, από την οξείδωση που λαμβάνει χώρα στη λιπαρή φάση των γαλακτωμάτων παρουσιάζει σημαντικές διαφορές. Η επιλογή των αντιοξειδωτικών μορίων για να προστεθούν στο σύστημα είναι μια πρόκληση, δεδομένου ότι η αποτελεσματικότητα αυτών των ενώσεων στο γαλάκτωμα έχει αποδειχθεί ότι είναι πολύ διαφορετική σε διάφορα έλαια λόγω της εμφάνισης των

διεπιφανειακών φαινομένων. Η αποτελεσματικότητα των αντιοξειδωτικών στα έλαια και στα συστήματα διασποράς επηρεάζεται από την πολικότητά τους όπως περιγράφεται από το “Polar Paradox”. Σύμφωνα με το “Polar Paradox”, οι πολικές αντιοξειδωτικές ενώσεις όπως το ασκορβικό οξύ, είναι περισσότερο δραστικές σε μη πολικά μέσα, από ότι σε πολικά. Αυτές οι εμφανείς παράδοξες επιδράσεις των αντιοξειδωτικών έχουν αναφερθεί εξαιτίας των πολικών αντιοξειδωτικών που βρίσκονται στη διεπιφάνεια αέρα-ελαίου στα έλαια. Από την άλλη πλευρά, τα λιπόφιλα αντιοξειδωτικά είναι περισσότερο δραστικά σε πολικά συστήματα, επειδή βρίσκονται στη διεπιφάνεια ελαίου-νερού, όπου η οξείδωση λαμβάνει. Επίσης, σύμφωνα με το “Polar Paradox”, στα μη συσκευασμένα έλαια τα υδρόφιλα αντιοξειδωτικά αναμένεται να εντοπιστούν κατά προτίμηση στη διεπιφάνεια ελαίου-αέρα για την καλύτερη προστασία λιπιδίων από την οξείδωση, σε σχέση με τα λιπόφιλα αντιοξειδωτικά που διασπείρονται στην ελαιώδη φάση. Όσον αφορά τις φυσικές ιδιότητες της διεσπαρμένης φάσης, κυρίως, σημασία δίνεται στη συγκέντρωση και τη φυσική κατάσταση της διεσπαρμένης φάσης, το μέγεθος των σταγονιδίων, τα χημικά και φυσικά χαρακτηριστικά της μεσοπιφανειακής στρώσης, όπως και στη σύνθεση, το πάχος και το φορτίο (McClements and Decker 2000). Η δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενώσεων σε γαλακτωματοποιημένα συστήματα έχει μελετηθεί εκτεταμένα τα τελευταία χρόνια. Φαινορικά όπως το γαλλικό οξύ, η κατεχίνη και η κερσετίνη, λόγω της χημικής δομής τους, αποδείχθηκαν ότι διαθέτουν επιφανειακή δραστηριότητα και έτσι, εκτός από τις αντιοξειδωτικές προστατευτικές ιδιότητές τους, που αναμένονται, μπορούν επίσης να επηρεάσουν τόσο το βαθμό διασποράς όσο και τη φυσική σταθερότητα της διεσπαρμένης φάσης (Frankel 1998).

2.2.4 Αντιμικροβιακή δράση των πολυφαινολών

Τα φαινορικά συστατικά του ελαιόλαδου εκτός από την αντιοξειδωτική τους δράση και την ενίσχυση της σταθερότητας που παρέχουν στα τρόφιμα, παρουσιάζουν και ένα δεύτερο όφελος, όσον αφορά στην αντιμικροβιακή τους δράση έναντι διαφόρων βακτηρίων. Η αντιμικροβιακή δράση των πολικών φαινολών της ελιάς έχει συζητηθεί διεξοδικά από τους Soler-Rivas (2000), Saija and Uccella (2001), και τους Tripoli et al. (2005). Υπάρχουν πολλές δημοσιεύσεις που σχετίζονται με τις *in vitro* αντιμικροβιακές ιδιότητες της ελευρωπαΐνης και των προϊόντων υδρόλυσής της, καθώς και της αγλυκόνης της ελευρωπαΐνης (Walter et al. 1973). Οι φαινόλες του ελαιόλαδου γενικά έχει αποδειχθεί ότι αναστέλλουν την *in vivo* ή καθυστερούν την ανάπτυξη βακτηρίων (όπως είναι η σαλμονέλα, η χολέρα, η ψευδομονάδα, ο σταφυλόκοκκος), διαφόρων μυκήτων, ιών και παρασίτων.

Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν έναν ευεργετικό ρόλο του ελαιόλαδου και των πολικών φαινολικών ενώσεων του, στην ευεξία του εντέρου και του αναπνευστικού συστήματος του ανθρώπου. Οι Brenes (2006) και Medina (2006, 2007) διεξήγαγαν μελέτες για να δείξουν ότι το ελαιόλαδο είναι ένα πιθανό βιοσυντηρητικό για τρόφιμα. Μελέτησαν την αντιμικροβιακή δραστηριότητα των μεμονωμένων φαινολών μετά το διαχωρισμό και την απομόνωση με HPLC. Η αλδεϋδική καρβοξυμεθυλο-ελευρωπαΐνη, η αγλυκόνη της ελευρωπαΐνης, η υδροξυτυροσόλη και η τυροσόλη, ήταν οι φαινόλες που αποδείχθηκε ότι επηρεάζουν σημαντικά την επιβίωση των βακτηρίων. Η βακτηριοκτόνος δράση που μετρήθηκε ήταν αποτελεσματική έναντι ενός ευρέος φάσματος μικροοργανισμών. Η αντιμικροβιακή δράση του παρθένου ελαιόλαδου επιβεβαιώθηκε επίσης στη μαγιονέζα που εμβολιάστηκε με τα ένζυμα *S. enterica* και *L. monocytogenes*. Αξίζει επίσης, να αναφερθεί ότι η βακτηριοκτόνος δράση δεν παρουσιάστηκε μόνο κατά των επιβλαβών βακτηρίων της εντερικής μικροχλωρίδας (*E. coli*, *C. perfringens*), αλλά και κατά των ευεργετικών βακτηρίων *Lactobacillus acidophilus* και *Bifidobacterium bifidum*.

Σε μία πρόσφατη έκθεση οι Romero et al. (2007) διαπίστωσαν ότι τα φαινορικά που βρίσκονται στο ελαιόλαδο ασκούν ισχυρή *in vitro* βακτηριοκτόνο δράση έναντι οκτώ στελεχών του βακτηρίου *Helicobacter pylori*, που συνδέονται με την πλειονότητα των πεπτικών ελκών και ορισμένων τύπων καρκίνου του στομάχου. Τέλος σύμφωνα με τον ερευνητή θα μπορούσε να προταθεί ένας

χημειοπροληπτικός ρόλος του ελαιόλαδου σε σχέση με το πεπτικό έλκος ή τον καρκίνο του στομάχου, αλλά αυτό πρέπει να επιβεβαιωθεί από *in vivo* μελέτες. Τέλος, τα φαινολικά οξέα *p*-υδροξυβενζοϊκό, βανιλλικό και *p*-κουμαρικό οξύ βρέθηκαν να αναστέλλουν πλήρως την ανάπτυξη των βακτηρίων *E. coli*, *K. pneumoniae* και *B. cereus*.

2.2.5 Πειράματα για τον εμπλουτισμό προϊόντων με πολυφαινόλες του παρθένου ελαιόλαδου

Ο μεγάλος αριθμός δημοσιεύσεων που δείχνουν τον ευεργετικό ρόλο των αντιοξειδωτικών, γενικά, και των φαινολικών που βρίσκονται στο ελαιόλαδο, ειδικότερα, έχει οδηγήσει σε πολλές προσπάθειες για να αυξηθεί η περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες σε προϊόντα που περιέχουν ελαιόλαδο, με την προσθήκη των φύλλων πριν από τη σύνθλιψη ή τη λήψη καθαρών φαινολών από τα παραπροϊόντα εξαγωγής του ελαιόλαδου και τα φύλλα της ελιάς. Οι φαινόλες που λαμβάνονται από παραπροϊόντα εξαγωγής του ελαιόλαδου ή από τα φύλλα της ελιάς προστίθενται κυρίως σε εξευγενισμένα έλαια που χρησιμοποιούνται για το μαγείρεμα ή το τηγάνισμα, και σε προϊόντα τροφίμων που υπόκεινται σε οξείδωση, σε συμπληρώματα διατροφής, και σε καλλυντικά. Οι Gibriel et al. (2006) μελέτησαν την επίδραση της ανάμιξης των φύλλων της ελιάς με ελιές κατά τη θραύση, με σκοπό να εμπλουτίσουν το ελαιόλαδο με πολυφαινόλες. Οι Kachouri και Hamdi (2004) πρότειναν αύξηση των πολυφαινολών στο ελαιόλαδο με την επαφή των ελιών με τα παραπροϊόντα του ελαιοτριβείου που έχουν υποστεί ζύμωση με το μύκητα *Lactobacillus plantarum*.

Η μεθοδολογία για την εκχύλιση πολικών φαινολών βασίζεται στην απελαίωση των παραπροϊόντων του ελαιουργείου, με εκχύλιση με οργανικούς διαλύτες, και κλασμάτωση με διάφορες μεθόδους (Boskou et al. 2006). Άλλες προσεγγίσεις για την αξιοποίηση υποπροϊόντων του ελαιόλαδου βασίζονται στη νανοδιήθηση, σε συστήματα αντίστροφης ώσμωσης των αποβλήτων και στην ανάκτηση με εκχύλιση. Οι Fernandez-Bolanos et al. (2002, 2006) ισχυρίστηκαν ότι η παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων υψηλής καθαρότητας υδροξυτυροσόλης μπορούν να ληφθούν από τον "ελαιοπυρήνα", το υγρό-στερεό απόβλητο του συστήματος από την επεξεργασία της ελιάς σε δύο φάσεις. Τα εκχυλίσματα φαινολών που παραλαμβάνονται μπορούν να προστεθούν σε συμπληρώματα διατροφής.

2.2.6 Εφαρμογές για τον εμπλουτισμό τροφίμων με πολυφαινόλες του ελαιόλαδου

Ένας μεγάλος αριθμός από προϊόντα γαλακτωμάτων παίζουν σημαντικό ρόλο σε τρόφιμα, καλλυντικά και φάρμακα. Μεταξύ των δευτερευόντων συστατικών του ελαιόλαδου, οι φαινολικές ενώσεις αποτέλεσαν το επίκεντρο εντατικής έρευνας τα τελευταία χρόνια, και είναι τα καλύτερα μελετημένα δευτερεύοντα συστατικά του ελαιόλαδου, και κυρίως οι αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες. Σε πειραματικές μελέτες, τα φαινολικά συστατικά του ελαιόλαδου έχουν παρουσιάσει καλύτερη αντιοξειδωτική δράση επί των λιπιδίων και της οξείδωσης του DNA από ότι η βιταμίνη E. Συχνά στη σύνθεση τροφίμων, τα τρόφιμα εμπλουτίζονται με αντιοξειδωτικά από το ελαιόλαδο ή από ελιές, όπως έχει προταθεί από τους van der Boom και Manon (2004). Η προσθήκη τους είναι κατάλληλη για συνθέσεις που περιέχουν νερό, όπως τα spreads, τα μεταποιημένα προϊόντα τομάτας, και οι σάλτσες. Η αρχή της μεθόδου βασίζεται στην έκθεση του ελαιόλαδου κάτω από υδρολυτικές συνθήκες, με σκοπό οι λιπόφιλες φαινολικές ενώσεις που υδρολύονται να μεταναστεύουν στην υδατική φάση, έτσι ώστε η θρεπτική αξία του προϊόντος να αυξάνεται. Οι αντιοξειδωτικές και αντιμικροβιακές ιδιότητες προτάθηκαν από τους Baycin et al. (2007).

2.2.6.1 Εφαρμογές ενσωμάτωσης βιοδραστικών σε τρόφιμα και οφέλη της ενσωμάτωσής τους

Οι δύο πολυφαινόλες που βρίσκονται σε αφθονία στα φύλλα ελιάς, είναι η ελευρωπαΐνη και η ρουτίνη. Χρησιμοποιούνται για τη δημιουργία ενός φυσικού συντηρητικού το οποίο προκύπτει από την εξής διαδικασία: εξάγονται από τα φύλλα της ελιάς με υδατικό διάλυμα 70% αιθανόλης, το ακατέργαστο εκχύλισμα στη συνέχεια διαλυτοποιείται. Οι πολυφαινόλες που λαμβάνονται χρησιμοποιούνται για τον εμπλουτισμό κάποιου φυσικού προϊόντος, το οποίο παρουσιάζει οξειδωτικές και αντιμικροβιακές ιδιότητες (Visioli and Galli 2002).

Άλλες προσπάθειες αποσκοπούν στην επίτευξη περισσότερο λιπόφιλων παραγώγων όπως η υδροξυτυροσόλη, η οποία είναι αποτελεσματική στην προστασία των βρώσιμων ελαίων ή μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε παρασκευάσματα διατροφής με προστατευτική δράση ενάντια στην οξείδωση. Η ενζυματική εστεροποίηση της υδροξυτυροσόλης για τη σύνθεση του λιπόφιλου αντιοξειδωτικού, προτάθηκε για πρώτη φορά από τον Buisman (1998). Η φαινόλη μετατρέπεται ενζυματικά σε εστέρα οκτανοϊκού οξέος χρησιμοποιώντας διάφορες λιπάσες. Ο εστέρας οκτανικού δοκιμάστηκε σε εξευγενισμένο ηλιέλαιο για την αντιοξειδωτική δράση του. Η εστεροποιημένη υδροξυτυροσόλη βρέθηκε να είναι το λιγότερο αποτελεσματικό αντιοξειδωτικό. Οι ερευνητές Gordon et al. (2001) παρασκεύασαν συνθετικά την οξικο-υδροξυτυροσόλη και αξιολόγησαν την αντιοξειδωτική δράση της σε σχέση με την υδροξυτυροσόλη, την ελευρωπαΐνη, ένα ισομερές της ελευρωπαΐνης και την α-τοκοφερόλη. Σε έλαια και γαλακτώματα ο εστέρας είχε μία αντιοξειδωτική δράση, που ήταν περισσότερο ή λιγότερο παρόμοια με εκείνη της ελεύθερης υδροξυτυροσόλης. Επιπρόσθετα πειράματα διεξήχθησαν σε λιπόφιλα παράγωγα, με σκοπό να προσδιοριστεί η αντιοξειδωτική της δράση σε μήτρες λιπιδίου και σε βιολογικά συστήματα. Η υδροξυτυροσόλη και οι εστέρες της βρέθηκαν να είναι πιο αποτελεσματικά ως αντιοξειδωτικά σε σύγκριση με την α-τοκοφερόλη. Τα δεδομένα έδειξαν ότι η τροποποιημένη υδροξυτυροσόλη στο ο-φαινολικό δακτύλιο στερείται, όπως αναμένεται, από οποιανδήποτε χημική αντιοξειδωτική δραστηριότητα. Αυτό υποδηλώνει μία πιθανή χρήση των παραπάνω φαινολών είτε ως λειτουργικά τρόφιμα, είτε σε καλλυντικά και φαρμακευτικά παρασκευάσματα. Επίσης και η ελευρωπαΐνη, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πρόσθετο σε παρασκευάσματα και συμπληρώματα διατροφής. Πρόσφατα, οι Artajo et al. (2006) πραγματοποίησαν μία μελέτη με επίκεντρο τον εμπλουτισμό διαφορετικών μητρών με τα επιμέρους συστατικά του ελαιόλαδου από το φαινολικό κλάσμα του παρθένου ελαιόλαδου, και με στόχο την πιθανή ανακάλυψη κάποιας νέας λειτουργικής εφαρμογής στα τρόφιμα.

Επιπλέον έρευνες για τη δράση των ενσωματωμένων φαινολικών ενώσεων του ελαιόλαδου σε τρόφιμα έχουν αποδείξει ότι οι πολυφαινόλες είναι σε θέση να αποτρέψουν την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία με τη μείωση της έκφρασης των κυττάρων που προσκολλούνται σε μόρια (Carluccio et al. 2003), την αύξηση παραγωγής του οξειδίου του αζώτου (NO) και την επαγωγίμη σύνθεση οξειδίου του αζώτου σαρώνοντας τα αγγειακά ενδοθήλια των ενδοκυττάρων για την εύρεση ελεύθερων ριζών. Επίσης, οι φαινολικές ενώσεις του ελαιόλαδου αναστέλλουν τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων και αυξάνουν τη μεταγραφή του mRNA. Ωστόσο, κάποια αμφιλεγόμενα αποτελέσματα ελήφθησαν σχετικά με το τελευταίο αυτό ζήτημα, όσον αφορά τον ιστό στον οποίο εκτιμήθηκε η έκφραση του γονιδίου. Άλλα πιθανά οφέλη που παρουσίασαν οι πολικές φαινόλες του ελαιόλαδου περιλαμβάνουν τη χημειοπροληπτική δραστηριότητά τους (Owen et al. 2000). Σε πειραματικές μελέτες με τις πολικές φαινόλες του ελαιόλαδου, όπως και με πολυφαινόλες που προέρχονται από άλλα φυτά, μελετήθηκε η αντίδρασή τους με τις ελεύθερες ρίζες των μακροφάγων που μεσολαβούν στην οξείδωση των λιπιδίων και της LDL. Άλλες πειραματικές μελέτες έδειξαν ότι οι πολυφαινόλες του ελαιόλαδου διατηρούν τις αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες *in vivo* (Visioli et al. 2000), και καθυστερούν την πρόοδο της αθηροσκλήρωσης. Οι φαινολικές ενώσεις, όπως το καφεϊκό οξύ, έχουν λάβει αυξανόμενο ενδιαφέρον λόγω της αντιοξειδωτικής τους δράσης, καθώς βελτιώνουν τη σταθερότητα στα λιπίδια που περιέχουν τα τρόφιμα και εμφανίζουν πιθανές ευεργετικές επιδράσεις στην υγεία του ανθρώπου. Το καφεϊκό

οξύ μπορεί να παρουσιάζει αντιοξειδωτική δράση προσφέροντας στις ελεύθερες ρίζες ένα άτομο υδρογόνου, ή μπορεί να δρα ως χηλικός παράγοντας των μετάλλων, ο οποίος μειώνει τη δραστηριότητα των προοξειδωτικών.

Η οξείδωση των λιπιδίων στα τρόφιμα μπορεί να ελέγχεται με την εφαρμογή ποικίλων τεχνικών, συμπεριλαμβανομένου του ελέγχου των υποστρωμάτων οξείδωσης (π.χ. οξυγόνο και τη σύνθεση λιπιδίου), τον έλεγχο των προ-οξειδωτικών και την προσθήκη αντιοξειδωτικών οι οποίες απενεργοποιούν τις ελεύθερες ρίζες. Συνεπώς, τα εμπορικά αντιοξειδωτικά και οι πολυφαινόλες που βρίσκονται σε φυσικά εκχυλίσματα φυτών μπορούν να παίξουν ζωτικό ρόλο στην αναστολή της διεργασίας οξείδωσης. Αντιοξειδωτικά, όπως τοκοφερόλες και το ασκορβικό οξύ, είχαν εξαιρετική αντιοξειδωτική δράση η οποία επιβεβαιώθηκε σε διαφορετικά συστήματα γαλακτωμάτων. Τα αποτελέσματα για την προ-οξειδωτική δραστηριότητα του ασκορβικού οξέος και της α-τοκοφερόλης έχουν προηγουμένως παρατηρηθεί και σε συστήματα τροφίμων.

Καταλήγοντας, δεδομένου ότι τα αντιοξειδωτικά του ελαιόλαδου δεν ανήκουν σε μία ομοιογενή χημική ομάδα, οι μέθοδοι για την ταυτοποίηση και ποσοτικοποίησή τους ποικίλλουν ευρέως, εμποδίζοντας τον καθορισμό της δράσης τους σε ένα τρόφιμο. Με τις τρέχουσες προσεγγίσεις, η σχετική συμβολή καθεμίας από τις φαινόλες στη συνολική αντιοξειδωτική δράση, δεν μπορεί να αξιολογηθεί επαρκώς. Η συμπεριφορά των πολυφαινολών του ελαιόλαδου είναι επίσης πιο περίπλοκη σε συστήματα γαλακτωμάτων, δεδομένου ότι εμπλέκονται περισσότερες μεταβλητές συμπεριλαμβανομένου του γαλακτωματοποιητή και του pH (Visioli and Galli 2002).

Χαρακτηριστικά παραδείγματα πολυφαινολών που χρησιμοποιούνται ως πρόσθετα σε συμπληρώματα διατροφής ή ως συστατικά τροφίμων είναι η ελευρωπαΐνη, η υδροξυτυροσόλη και οι ελεύθερες φαινόλες. Λαμβάνονται με διάφορες μεθόδους από τα φύλλα της ελιάς, τον πολτό την ελιάς, ή από τα απόβλητα των ελαιοτριβείων, θεωρούνται ως τα πιο σημαντικά αντιοξειδωτικά σε πολλές φαρμακολογικές δοκιμές, αλλά και ως συστατικά που προστίθενται σε τρόφιμα ή σε διάφορα συμπληρώματα διατροφής. Πρέπει να τονιστεί, ότι τα περισσότερα πειράματα για τον εμπλουτισμό τροφίμων με πολυφαινόλες, αναφέρονται σε πολυφαινόλες που είναι αρχικά εγκλεισμένες σε μήτρα. Δηλαδή δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία που να φανερώνουν ότι τα εμπλουτισμένα προϊόντα με πολυφαινόλες, οι οποίες δεν είναι ενσωματωμένες σε μία αρχική μήτρα, προσεγγίζουν τα φυσιολογικά επίπεδα και το σύνθετο περιβάλλον στο οποίο βρίσκονται και αντιδρούν, παρόμοια με τις αντίστοιχες εγκλεισμένες. Συνεπώς, για να λαμβάνονται οι πολυφαινόλες του ελαιόλαδου σε καθαρή μορφή, θα πρέπει να παρέχονται σαφή δεδομένα για τα οφέλη τους στην υγεία. Το γεγονός αυτό υπογραμμίζει τη σημασία του συνδυασμού όλων των πληροφοριών που έχουν ληφθεί από τα πειράματα, για την προσθήκη πολυφαινολών στα προϊόντα.

Τέλος οι ελληνικές μελέτες εκτιμούν ότι η ημερήσια πρόληψη των συνολικών φαινολών από την κατανάλωση παρθένου ελαιόλαδου, επιτραπέζιων ελαιών και διαφόρων προϊόντων που περιέχουν ελαιόλαδο είναι 232 mg, όπου με βάση την εκτίμηση αυτή, η ημερήσια κατανάλωση περίπου 23 g ελαιόλαδου (US Food and Drug Administration 2004) αντιστοιχεί περίπου σε 5 mg πολυφαινολών. Οι υπολογισμοί αυτοί, ωστόσο, δίνουν προσεγγιστικά αποτελέσματα, λόγω της φυσικής μεταβλητότητας του ελαιόλαδου και των μεθόδων εκκρίσεως των επιτραπέζιων ελαιών που επηρεάζουν σημαντικά το επίπεδο των φαινολών.

Κεφάλαιο 3

Πειραματικό μέρος

3.1 Σκοπός

Στην παρούσα διπλωματική εργασία διερευνήθηκε η επίτευξη συστημάτων w/o νανογαλακτωμάτων με βάση το ελαιόλαδο με χημικούς γαλακτωματοποιητές και με ή χωρίς ενδογενή συστατικά του ελαιόλαδου, με σκοπό τη μελέτη των φυσικοχημικών ιδιοτήτων τους και της σταθερότητάς τους. Για τη διεξαγωγή της έρευνας το έλαιο που χρησιμοποιήθηκε ήταν εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο, χρησιμοποιήθηκαν μη-ιονικοί χημικοί γαλακτωματοποιητές (Tween 20 και Tween 40), ενώ τα ενδογενή συστατικά του ελαιόλαδου που χρησιμοποιήθηκαν ήταν η κερσεΐνη, το γαλλικό οξύ, το καφεϊκό οξύ, το συριγγικό οξύ, το βανιλικό οξύ και το ασκορβικό οξύ. Στο πρώτο στάδιο έγινε κατασκευή διαγραμμάτων φάσης με σκοπό τον προσδιορισμό της επιτρεπόμενης αναλογίας ελαίου και νερού, έτσι ώστε να προκύψουν σταθερά γαλακτώματα. Στη συνέχεια παρασκευάστηκαν νανογαλακτώματα στις αναλογίες που καθορίστηκαν από τα διαγράμματα φάσης. Τα παρασκευασμένα νανογαλακτώματα εξετάστηκαν ως προς τη διάμετρο των σταγονιδίων, τη σταθερότητα του γαλακτώματος, τη θολότητα, το ιξώδες, το χρώμα και επιπλέον μελετήθηκε η επιφανειακή τάση των διαλυμάτων υδατικής φάσης/βιοδραστικών συστατικών.

Προκειμένου να εκτελεστεί καλύτερα η προαναφερθείσα ανάλυση, τα πειράματα χωρίστηκαν σε 2 μέρη:

A. Κατασκευή διαγραμμάτων φάσης (Μέρος A):

Παρασκευή γαλακτωμάτων σε προκαθορισμένη αναλογία ελαίου-γαλακτωματοποιητή-νερού και προσδιορισμός των ιδιοτήτων τους.

B. Πειράματα παρασκευής γαλακτωμάτων (Μέρος B):

Πειράματα προσθήκης μίγματος νερού με βιοδραστικά συστατικά σε καθορισμένες αναλογίες ελαίου-γαλακτωματοποιητή, μέχρι σχηματισμού νανογαλακτώματος.

Τα γαλακτώματα τα οποία παρασκευάστηκαν αναλύθηκαν ως προς το χρώμα, τη θολότητα, το ιξώδες, το δείκτη διάθλασης, το δείκτη πολυδιασποράς (PDI), τη μέση διάμετρο σταγονιδίων (MD), το δείκτη σταθερότητας γαλακτώματος (ESI). Οι παραπάνω μετρήσεις που ελήφθησαν παρέχουν πληροφορίες για τις φυσικές ιδιότητες καθώς και για την αντοχή των γαλακτωμάτων στο χρόνο.

3.2 Υλικά - Μέθοδοι

3.2.1 Πρώτες ύλες και αντιδραστήρια

Τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν κατά την εκτέλεση των πειραμάτων ήταν:

- Εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο (Μινέρβα Α.Ε.)
- Οι γαλακτωματοποιητές από την Across Organics (New Jersey, USA):
Tween 20 (μονολαυρική πολυοξυαιθυλενο-σορβιτάνη)
Tween 40 (μονοπαλμιτική πολυοξυ-αιθυλενο-σορβιτάνη)
- Βιοδραστικά συστατικά:
γαλλικό οξύ (gallic acid)
ασκορβικό οξύ (ascorbic acid)
βανιλικό οξύ (vanilic acid)
καφεϊκό οξύ (caffeic acid)
συριγγικό οξύ (syringic acid)
κερσετίνη (quercetin)
- Απιονισμένο νερό

3.2.2 Συσκευές - Σκεύη

- Υδατόλουτρο (Kotterman Labortechnik, type 3047 West Germany)
- Ομογενοποιητής υψηλής ταχύτητας (CAT Unidrive 1000 Homogenizer, CAT Scientific, Ca., USA)
- Ιξωδόμετρο (Brookfield DV-II Pro Viscometer, Brookfield Engineering Laboratories, Middleboro, MA)
- Χρωματομέτρο Minolta CR 200, με διάμετρο οπής 8mm (Minolta Company, Chuo -Ku)
- Θολοσίμετρο (HACH 2100N, Loveland, Co, USA)
- Αναλυτής σκέδασης φωτός (Zetasizer nano-zs 2000, Malvern Instruments Ltd, UK)
- Διαθλασίμετρο (B&C 32400 ABBE)
- Υάλινα σκεύη (Ποτήρια ζέσεως, Δοκιμαστικοί σωλήνες 20 mL).
- Συσκευή μέτρησης επιφανειακής τάσης (Sigma702, Biolin Scientific, Sweden)

Επεξεργασία δειγμάτων – Αναλύσεις – Σχεδιασμός Πειραμάτων

3.2.3 Πειραματική διαδικασία

ΜΕΡΟΣ Α

3.2.3.1 Επεξεργασία δειγμάτων - Παρασκευή διαγραμμάτων φάσης

Για την κατασκευή των διαγραμμάτων φάσης ακολουθήθηκε η εξής διαδικασία: Σε ορισμένη ποσότητα ελαιόλαδου, το οποίο διατηρείται στους 40°C (με τη βοήθεια υδατόλουτρου), προστίθεται κατάλληλη ποσότητα γαλακτωματοποιητή, ώστε η τελική ποσότητα του μίγματος να

είναι 80 g, και γίνεται ανάμιξη του μίγματος με ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας (CAT Unidrive 1000 homogenizer) στις 8.000 rpm για 10 min. Δοκιμάστηκαν αναλογίες γαλακτωματοποιητή-ελαίου από 0-10% κ.β. τελικού μίγματος. Μετά το πέρας των 10 λεπτών προστίθεται μίγμα απιονισμένου νερού με βιοδραστικό συστατικό, ίδιας θερμοκρασίας, στάγδην, μέχρις ότου το γαλάκτωμα να μην προκύπτει διαυγές, όπως επιβεβαιώνεται μέσω μέτρησης της θολότητάς του. Συνεχίζεται η ομογενοποίηση του μίγματος για άλλα 10 min.

ΜΕΡΟΣ Β

3.2.3.2 Επεξεργασία δειγμάτων-Παρασκευή γαλακτωμάτων

Τα w/o γαλακτώματα προτού αναλυθούν παρασκευάστηκαν με την εξής διαδικασία:

1. Σε ποτήρια ζέσεως ζυγίζεται κατάλληλη ποσότητα εξαιρετικού παρθένου ελαιόλαδου.
2. Σε ποτήρι ζέσεως διαλυτοποιείται προκαθορισμένη ποσότητα βιοδραστικών συστατικών σε απιονισμένο νερό.
3. Προσθήκη σε κάθε ένα από τα παρασκευασθέντα δείγματα ελαίου ποσότητας του εκάστοτε γαλακτωματοποιητή σε προκαθορισμένες αναλογίες 0%, 1%, 2%, 4% και 6% κ.β.
4. Θέρμανση του δείγματος υπό έντονη ανάδευση (8000 rpm) σε θερμοκρασία 40°C για 10 min.
5. Μετά από 10 min, ταυτόχρονη στάγδην προσθήκη κατάλληλης ποσότητας απιονισμένου νερού (περιεκτικότητας κ.β. 2%), με σκοπό τη δημιουργία τελικής ποσότητας μίγματος 80 g.

3.2.4 Αναλύσεις

3.2.4.1 Μέτρηση ιξώδους

Το ιξώδες των γαλακτωμάτων μετρείται με το ιξωδόμετρο Brookfield. Συγκεκριμένα σε θερμοκρασία δωματίου προστίθενται 60 mL από το γαλάκτωμα προς μέτρηση σε ειδικό δοχείο. Στη συνέχεια επιλέγεται το στέλεχος S61 και λαμβάνεται η μέτρηση σε σταθερή θερμοκρασία 25°C. Τα συγκεκριμένα γαλακτώματα είναι νευτωνικά ρευστά, επομένως η τιμή που προκύπτει από το όργανο αρκεί για τον προσδιορισμό των ρεολογικών χαρακτηριστικών των δειγμάτων.

Εξοπλισμός:

1. Ιξωδόμετρο Brookfield με χρήση στελέχους S61
2. Ογκομετρικός σωλήνας για τοποθέτηση δείγματος.

Διαδικασία:

1. Τίθεται σε λειτουργία το ιξωδόμετρο και γίνεται αυτόματη βαθμονόμηση (calibration) του οργάνου.
2. Επιλογή από την οθόνη του οργάνου της ρύθμισης για το στέλεχος S61, όπως επίσης και για τον αριθμό των στροφών ανά min (50 rpm)
3. Τοποθέτηση του στελέχους
4. Μεταφορά κατάλληλης ποσότητας γαλακτώματος σε ογκομετρικό κύλινδρο
5. Εμβάπτιση του στελέχους στο γαλάκτωμα και λήψη μέτρησης σε cP.



Εικόνα 3.1: Ιξωδόμετρο Brookfield.

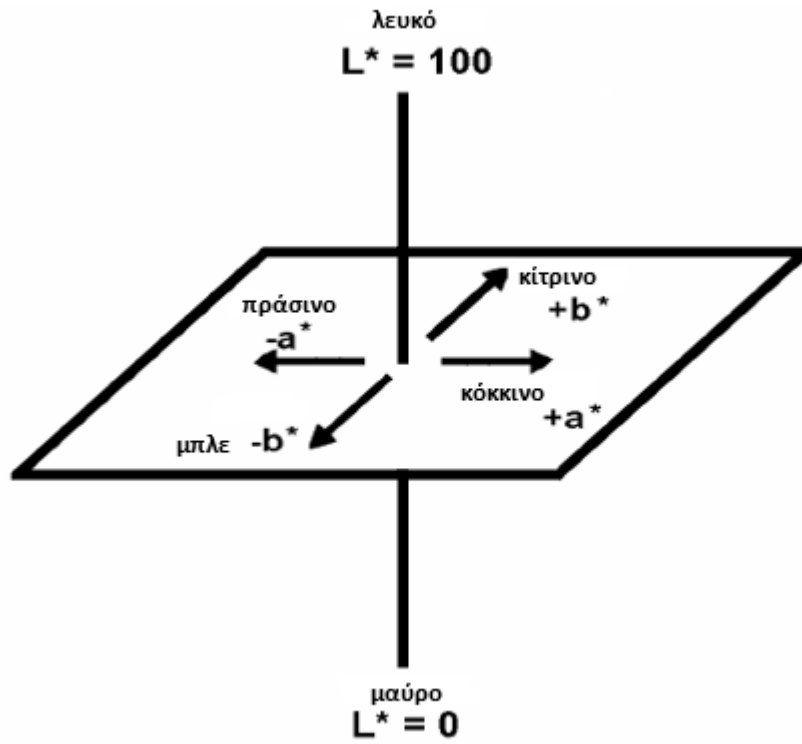
3.2.4.2 Μέτρηση χρώματος

Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή μετρείται το χρώμα των λιπαρών υλών με το χρωματόμετρο Minolta CR 200.

- Αρχικά βαθμονομείται το όργανο με τη βοήθεια μίας λευκής πλάκας στην οποία γίνεται μία μέτρηση με σκοπό το μηδενισμό του οργάνου.
- Το δείγμα, το οποίο βρίσκεται σε ρευστή μορφή εισέρχεται σε ένα ειδικό τρυβλίο και καλύπτεται με διαφανές κάλυμμα.
- Πραγματοποιείται η μέτρηση.
- Οι μετρήσεις λαμβάνονται από το καταγραφικό. Για κάθε δείγμα εμφανίζονται τρεις παράμετροι: το L το οποίο αντιπροσωπεύει τη φωτεινότητα του δείγματος, το a το οποίο αντιπροσωπεύει το κόκκινο και πράσινο χρώμα και το b το οποίο αντιπροσωπεύει το κίτρινο και μπλε χρώμα.

Το L^* εκφράζει τη φωτεινότητα του χρώματος. Οι τιμές των a^* , b^* είναι οι ορθογώνιες συντεταγμένες του χρώματος. Αν ένα δείγμα έχει μηδενική τιμή για τα a^* , b^* , πρέπει να βρίσκεται πάνω στον άξονα μαύρου-λευκού. Οι τιμές a^* και b^* είναι οι ορθογώνιες συντεταγμένες του χρώματος (συχνά ονομάζονται χρωματικότητα) πάνω στο επίπεδο διατομής του χρώματος, κάθετα στον άξονα μαύρου-λευκού. Η θετική τιμή για το a^* υποδεικνύει κόκκινο χρώμα, ενώ η αρνητική τιμή πράσινο χρώμα. Η θετική τιμή για το b^* υποδεικνύει κίτρινο χρώμα, ενώ η αρνητική τιμή μπλε χρώμα. Το συνολικό χρώμα E, σύμφωνα με τη μέθοδο CIELAB, παριστάνεται σε τρισδιάστατο σύστημα με συνιστώσες L^* , a^* , b^* , και υπολογίζεται από τη σχέση:

$$E = \sqrt{a^2 + b^2 + L^2}$$



Εικόνα 3.2: Ανάλυση χρωματικών παραμέτρων συστήματος CIELAB.



Εικόνα 3.3: Χρωματόμετρο.

3.2.4.3 Μέτρηση θολότητας

Η θολότητα των μικρογαλακτωμάτων με βασικό συστατικό το ελαιόλαδο προσδιορίστηκε με θολοσίμετρο (HACH 2100N, Loveland, Co, USA) στους 25°C ως μέτρο της αναλογίας και του μεγέθους των σταγονιδίων της διεσπαρμένης φάσης.

Εξοπλισμός:

1. Θολοσίμετρο (HACH 2100N, Loveland, Co, USA)
2. Ειδικές γυάλινες κυψελίδες για τοποθέτηση των δειγμάτων.

Διαδικασία:

1. Άνοιγμα του οργάνου (αυτόματο calibration)
2. Τοποθέτηση δείγματος στην ειδική κυψελίδα μέχρι το ύψος της χαραγής
3. Τοποθέτηση της κυψελίδας στην ειδική υποδοχή του οργάνου και λήψη μέτρησης.



Εικόνα 3.4: Θολοσίμετρο.

3.2.4.4 Μέτρηση Μέσης Διαμέτρου (Mean Diameter) σταγονιδίων και Δείκτη πολυδιασποράς PDI (Polydispersity Index)

Το μέγεθος των σταγονιδίων και η κατανομή του μεγέθους τους προσδιορίστηκαν με Δυναμική Σκέδασης Φωτός - Dynamic Light Scattering DLS (Zetasizer nano-zs 2000, Malvern Instruments Ltd, UK). Οι μετρήσεις έγιναν στους 25°C. Τα δεδομένα διορθώθηκαν μέσω του ιξώδους, του δείκτη διάθλασης και της διηλεκτρικής σταθεράς του δείγματος.

Εξοπλισμός:

1. Όργανο Zetasizer nano-zs 2000 (Malvern Instruments Ltd, UK)
2. Ειδικές κυψελίδες τοποθέτησης δείγματος
3. Ειδικά πανάκια καθαρισμού των κυψελίδων
4. Software οργάνου.

Διαδικασία:

1. Άνοιγμα Software και κατόπιν άνοιγμα οργάνου
2. Ορισμός ονομάτων δειγμάτων και κωδικοποίησή τους
3. Λήψη μετρήσεων και αποθήκευσή τους σε ειδικό spreadsheet του Software.



Εικόνα 3.5: Zetasizer Nano-zs 2000.

3.2.4.5 Μέτρηση Δείκτη διάθλασης

Ο δείκτης διάθλασης των γαλακτωμάτων με βάση το ελαιόλαδο προσδιορίστηκε με χρήση διαθλασίμετρου (B&C 32400 ABBE) σε θερμοκρασία δωματίου 25°C.

Διαδικασία:

1. Άνοιγμα του οργάνου
2. Τοποθέτηση σταγόνας δείγματος στην ειδική πλάκα
3. Λήψη μέτρησης.



Εικόνα 3.6: Διαθλασίμετρο (B&C 32400 ABBE).

3.2.4.6 Μέτρηση Δείκτη σταθερότητας γαλακτώματος

Η σταθερότητα των γαλακτωμάτων προσδιορίστηκε βάσει του διαχωρισμού φάσης λόγω διαφοράς ειδικού βάρους. 20 mL του παρασκευαζόμενου γαλακτώματος μεταφέρονται σε γυάλινους βαθμονομημένους σωλήνες των 20 mL και αποθηκεύονται για 6 εβδομάδες στους 25°C. Η αποκορύφωση των λιπαρών και η δημιουργία ιζήματος προσδιορίζεται από την αναλογία του όγκου της κορυφής και του ιζήματος επί του συνολικού όγκου του γαλακτώματος. Ο Δείκτης σταθερότητας γαλακτώματος (ESI) υπολογίζεται σύμφωνα με την παρακάτω εξίσωση:

$$ESI (\%) = 100 \times [HE - (HS + HC)] / HE$$

Όπου: (HC) είναι το ύψος της κορυφής
(HS) είναι το ύψος του ιζήματος
(HE) είναι το αρχικό ύψος γαλακτώματος.

Εξοπλισμός:

- Γυάλινοι βαθμονομημένοι δοκιμαστικοί σωλήνες των 20 mL.

Διαδικασία:

1. Μεταφορά 20 mL από κάθε ένα από τα παρασκευασθέντα δείγματα σε δοκιμαστικούς σωλήνες
2. Αποθήκευσή τους για διάστημα 6 εβδομάδων στους 25°C
3. Παρακολούθηση ανά εβδομάδα και καταγραφή της στάθμης των φάσεων
4. Λήψη τελικών αποτελεσμάτων μετά το πέρας των 6 εβδομάδων και υπολογισμός των λόγων ESI.

3.2.4.7 Μέτρηση Επιφανειακή τάσης

Η τιμή της επιφανειακής τάσης μεταξύ του ελαίου και του νερού είναι σημαντικός παράγοντας για το χαρακτηρισμό της σταθερότητας του γαλακτώματος. Η μέτρηση της επιφανειακής τάσης του νερού του αέρα και της διεπιφανειακής τάσης ελαιόλαδου/νερού διεξήχθη στους 25°C, με τη χρήση τασιόμετρου Wilhelmy plate (WI=39,28 mm) (Sigma702, Biolin Scientific, Sweden). Ο χρόνος εξισορρόπησης ήταν 15 min ο οποίος επιλεγόταν ασυμπτωτικά με τη χρήση παλιότερων πειραμάτων για αραιά και συμπυκνωμένα διαλύματα. Η τιμή της επιφανειακής τάσης υπολογίζεται με την αφαίρεση της επιφανειακής τάσης του διαλύματος νερό/φαινολικό και του διαλύματος αντιοξειδωτικό/ελαιόλαδο ($\Pi = \gamma_{w/o} - \gamma_{AOM}$).

Εξοπλισμός/Αντιδραστήρια:

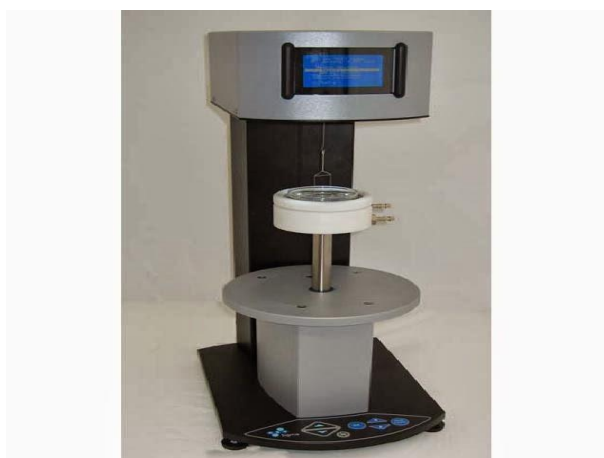
1. Φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα 50 mM, pH 7
2. Sigma702, Biolin Scientific, Sweden
3. Γαλλικό οξύ
4. Καφεϊκό οξύ
5. Κερσετίνη
6. Βανιλικό οξύ
7. Συριγγικό οξύ

Διαδικασία παρασκευής διαλυμάτων:

Τα αντιοξειδωτικά διαλύματα για τη μέτρηση της επιφανειακής και διεπιφανειακής τάσης παρασκευάστηκαν σε διάλυμα με απιονισμένο νερό. Γαλλικό οξύ, το βανιλικό οξύ, το καφεϊκό οξύ, το συριγγικό οξύ και η κερσετίνη διαλυτοποιούνται σε απιονισμένο νερό. Η κερσετίνη, λόγω της υδρόφοβης φύσης της, είναι ως επί το πλείστον αδιάλυτη στο ρυθμιστικό διάλυμα συνεπώς το οπτικά διαυγές διάλυμα ελήφθη μετά από διήθηση.

Διαδικασία:

1. Άνοιγμα του οργάνου
2. Τοποθέτηση διαλύματος στη ειδικό ποτήρι
3. Επιλογή και τοποθέτηση του επιθυμητού στέλεχους
4. Λήψη μετρήσεων και αποθήκευσή τους σε ειδικό spreadsheet του Software.



Εικόνα 3.7: Sigma702.

3.3 Σχεδιασμός πειραμάτων

Στους παρακάτω πίνακες περιγράφεται ο σχεδιασμός των πειραμάτων παρασκευής γαλακτωμάτων. Δίνονται πληροφορίες για την αναλογία των συστατικών στις οποίες αναμίχθηκαν το έλαιο με το γαλακτωματοποιητή και το νερό με τα βιοδραστικά συστατικά. Τα πειράματα χωρίστηκαν σε δύο μέρη (Μέρος Α και Μέρος Β). Το μέρος Β χωρίστηκε περαιτέρω σε 3 σειρές.

Πίνακας 3.1: Αναλογία βιοδραστικών συστατικών σε απιονισμένο νερό.

	Περιεκτικότητα % κ.β. σε καφεϊκό οξύ (caffeic acid)	Περιεκτικότητα % κ.β. σε συριγγικό οξύ (syringic acid)	Περιεκτικότητα % κ.β. σε κερσετίνη (quercetin)
Σε 100 mL H ₂ O	0,2%	0,2%	-
	0,1%	0,1%	0,1%
	Περιεκτικότητα % κ.β. γαλλικό οξύ (gallic acid)	Περιεκτικότητα % κ.β. σε ασκορβικό οξύ (ascorbic acid)	Περιεκτικότητα % κ.β. σε βανιλικό οξύ (vanillic acid)
Σε 100 mL H ₂ O	-	-	0,2%
	0,1%	0,1%	0,1%

Πίνακας 3.2: Σχεδιασμός παρασκευής δειγμάτων μέρους Α.

	Δείγμα 1	Δείγμα 2	Δείγμα 3	Δείγμα 4	Δείγμα 5
Περιεκτικότητα % κ.β. σε γαλακτωματοποιητή	0%	0,5%	1%	1,5%	2%
Περιεκτικότητα % κ.β. σε έλαιο	100%	99,5%	99%	98,5%	98%
	Δείγμα 6	Δείγμα 7	Δείγμα 8	Δείγμα 9	
Περιεκτικότητα % κ.β. σε γαλακτωματοποιητή	4%	6%	8%	10%	
Περιεκτικότητα % κ.β. σε έλαιο	96%	94%	92%	90%	

Πίνακας 3.3: Σχεδιασμός παρασκευής δειγμάτων μέρους Β - 1^η σειρά.

	Περιεκτικότητα % κ.β. σε γαλακτωματοποιητή	Περιεκτικότητα % κ.β. σε έλαιο	Περιεκτικότητα % κ.β. σε νερό με ενσωματωμένα βιοδραστικά
Δείγμα 1	0%	98%	2%*
Δείγμα 2	1%	97%	2%*
Δείγμα 3	2%	96%	2%*
Δείγμα 4	4%	94%	2%*
Δείγμα 5	6%	92%	2%*

*Τα ενδογενή βιοδραστικά συστατικά του ελαιόλαδου που διαλυτοποιήθηκαν στην υδατική φάση είναι σε περιεκτικότητα 0,1% w/w.

Πίνακας 3.4: Αναλογία βιοδραστικών συστατικών σε απιονισμένο νερό.

	Περιεκτικότητα % κ.β. σε καφεϊκό οξύ (caffeic acid)	Περιεκτικότητα % κ.β. σε συριγγικό οξύ (syringic acid)	Περιεκτικότητα % κ.β. σε κερσετίνη (quercetin)
Σε 100 mL H ₂ O	0,2%	0,2%	-
	0,1%	0,1%	0,1%
	Περιεκτικότητα % κ.β. γαλλικό οξύ (gallic acid)	Περιεκτικότητα % κ.β. σε ασκορβικό οξύ (ascorbic acid)	Περιεκτικότητα % κ.β. σε βανιλικό οξύ (vanillic acid)
Σε 100 mL H ₂ O	1%	1%	0,2%
	0,1%	0,1%	0,1%

Πίνακας 3.5: Σχεδιασμός παρασκευής δειγμάτων μέρους Β - 2^η σειρά.

	Περιεκτικότητα % κ.β. σε γαλακτωματοποιητή	Περιεκτικότητα % κ.β. σε έλαιο	Περιεκτικότητα % κ.β. σε νερό με ενσωματωμένα βιοδραστικά
Δείγμα 1	0%	98%	2%
Δείγμα 2	1%	97%	2%
Δείγμα 3	2%	96%	2%
Δείγμα 4	4%	94%	2%
Δείγμα 5	6%	92%	2%

*Τα ενδογενή βιοδραστικά συστατικά του ελαιόλαδου (ασκορβικό και γαλλικό οξύ) που διαλυτοποιήθηκαν στην υδατική φάση είναι σε περιεκτικότητα 1%w/w

Πίνακας 3.6: Σχεδιασμός παρασκευής δειγμάτων μέρους Β - 3^η σειρά.

	Περιεκτικότητα % κ.β. σε γαλακτωματοποιητή Tween 20	Περιεκτικότητα % κ.β. σε έλαιο	Περιεκτικότητα % κ.β. σε νερό με ενσωματωμένα βιοδραστικά
Δείγμα 1*	2%	95%	3%
Δείγμα 2**	2%	95%	3%
Δείγμα 3***	2%	95%	3%

* Στο δείγμα 1 το βιοδραστικό συστατικό που βρίσκεται διαλυτοποιημένο στο νερό είναι το βανιλικό οξύ, σε περιεκτικότητα 0,2%.

** Στο δείγμα 2 το βιοδραστικό συστατικό που βρίσκεται διαλυτοποιημένο στο νερό είναι το καφεϊκό οξύ, σε περιεκτικότητα 0,2%.

*** Στο δείγμα 3 το βιοδραστικό συστατικό που βρίσκεται διαλυτοποιημένο στο νερό είναι το συριγγικό οξύ, σε περιεκτικότητα 0,2%.

Κεφάλαιο 4

Αποτελέσματα-Συζήτηση πειραμάτων

Προκειμένου να διερευνηθεί η δυνατότητα παρασκευής σταθερών w/o νανογαλακτωμάτων με την προσθήκη ή μη βιοδραστικών συστατικών, είναι ιδιαίτερα χρήσιμο να γίνει ο προσδιορισμός και η μελέτη των ιδιοτήτων των γαλακτωμάτων. Για τη διευκόλυνση της επεξεργασίας των αποτελεσμάτων το πειραματικό μέρος της εργασίας χωρίστηκε σε δύο κύρια μέρη, το μέρος Α που περιλαμβάνει την κατασκευή των διαγραμμάτων φάσης και το μέρος Β που περιλαμβάνει τη μελέτη των ιδιοτήτων των παρασκευασμένων νανογαλακτωμάτων. Τα διαγράμματα φάσης των γαλακτωμάτων παρασκευάστηκαν με εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο σε συνδυασμό με τους γαλακτωματοποιητές Tween 20 και Tween 40, με αναλογία νερού 2% και είτε με ή χωρίς την ενσωμάτωση βιοδραστικών συστατικών. Το μέρος Β χωρίστηκε σε τρεις σειρές πειραμάτων. Στο πρώτο τμήμα εξετάζεται η δυνατότητα σχηματισμού και οι φυσικοχημικές ιδιότητες w/o νανογαλακτωμάτων με βάση το ελαιόλαδο με ενσωμάτωση ενδογενών συστατικών του ελαιόλαδου με αμφιφιλικό χαρακτήρα, χρησιμοποιώντας μη-ιονικούς γαλακτωματοποιητές (Tween 20 και Tween 40), χωρίς την προσθήκη συν-επιφανειοδραστικής ουσίας. Τα ενδογενή συστατικά που εξετάστηκαν ήταν το γαλλικό οξύ, το βανιλικό οξύ, το ασκορβικό οξύ, το συριγγικό οξύ, η κερσετίνη και το καφεϊκό οξύ. Στο δεύτερο τμήμα μελετάται η επίδραση της συγκέντρωσης των βιοδραστικών συστατικών στις ιδιότητες και τη σταθερότητα των γαλακτωμάτων. Τα ενδογενή συστατικά του ελαιόλαδου που εξετάστηκαν ήταν το ασκορβικό και το γαλλικό οξύ σε περιεκτικότητες 1%w/w και 0,1w/w διαλυτοποιημένα στην υδαιτική φάση. Και στο τρίτο τμήμα εξετάζεται η επίδραση που έχει η αναλογία της υδατικής φάσης στα νανογαλακτώματα.

Οι ιδιότητες των γαλακτωμάτων που εξετάστηκαν είναι οι εξής: το χρώμα, η θολότητα, το ιξώδες, ο δείκτης διάθλασης, ο δείκτης πολυδιασποράς (PDI), η μέση διάμετρος (MD), ο δείκτης σταθερότητας γαλακτώματος (ESI) και επιφανειακή τάση των διαλυμάτων νερό/βιοδραστικό συστατικό.

Για την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων από τις μετρήσεις, πέραν από τα αποτελέσματα που ελήφθησαν μέσω των διαγραμμάτων κρίνεται απαραίτητη και η στατιστική επεξεργασία των πειραματικών αποτελεσμάτων με τη βοήθεια του προγράμματος STATISTICA και εφαρμογή της μεθόδου ANOVA ανάλυσης διακύμανσης. Οι παράγοντες που εξετάστηκαν ήταν το είδος και η ποσότητα του γαλακτωματοποιητή, η προσθήκη βιοδραστικών όσον αφορά το είδος και την αναλογία του βιοδραστικού συστατικού. Συνεπώς μελετήθηκε η επίδραση των παραγόντων αυτών στις ιδιότητες Τέλος, επισημάνθηκαν για καθεμία ιδιότητα, οι τυχόν σημαντικές διαφορές μεταξύ των μέσων τιμών των ιδιοτήτων (με χρήση του κριτηρίου διαφοράς Duncan's test).

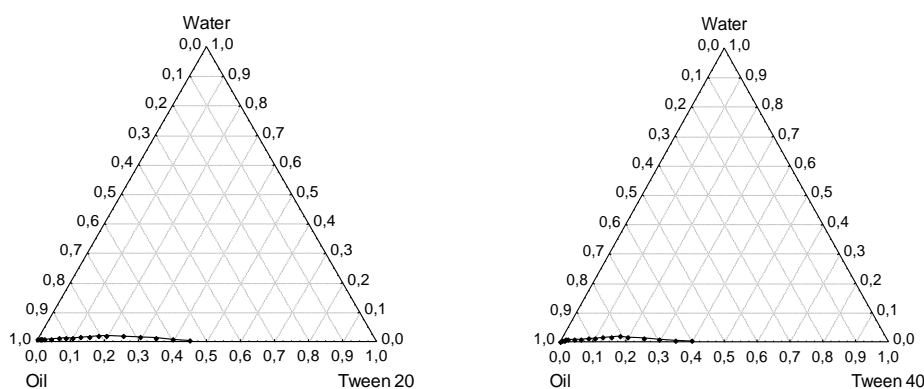
Παρακάτω παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων που διεξήχθησαν, για τη μελέτη των φυσικών ιδιοτήτων των νανογαλακτωμάτων.

Μέρος Α

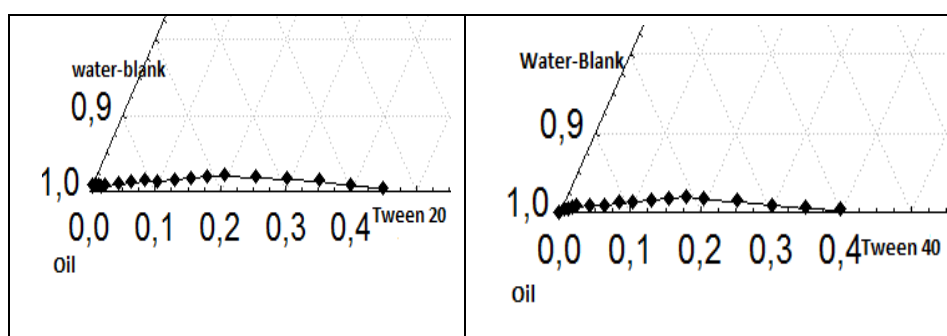
Μελέτη της γαλακτωματοποιητικής ικανότητας ενδογενών συστατικών του ελαιόλαδου σε συνδυασμό με τους γαλακτωματοποιητές Tween 20 και Tween 40 σε συστήματα νανογαλακτωμάτων με βάση το εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο.

Προκειμένου να διερευνηθεί η επίδραση του είδους γαλακτωματοποιητή, αλλά και της προσθήκης ενδογενών συστατικών του ελαιόλαδου στην υδατική φάση w/o νανογαλακτωμάτων χωρίς την προσθήκη συν-επιφανειοδραστικής ουσίας κατασκευάστηκαν χωριστά διαγράμματα φάσης για τους δύο γαλακτωματοποιητές (Tween 20, Tween 40) σε συνδυασμό με τα 6 ενδογενή συστατικά (γαλλικό οξύ, ασκορβικό οξύ, καφεϊκό οξύ, συριγγικό οξύ, βανιλικό οξύ, κερσετίνη) που μελετήθηκαν καθώς και τυφλό δείγμα (Σχήματα 4.1 έως 4.7). Ο σχηματισμός νανογαλακτωμάτων προσδιορίστηκε με οπτική παρατήρηση. Η περιοχή κάτω από τη γραμμή τάσης στο διάγραμμα φάσης περιγράφει το πεδίο των αναλογιών των τριών συστατικών που με ανάμιξή τους μπορούν να αποδώσουν νανογαλάκτωμα.

Τυφλό

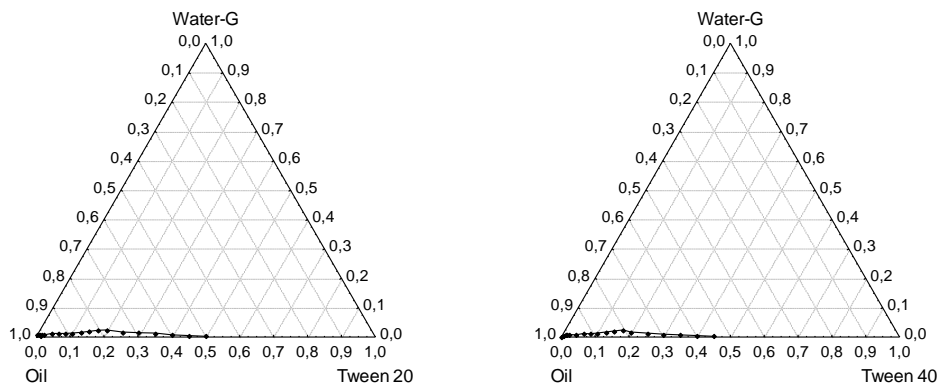


Σχήμα 4.1α: Διάγραμμα φάσης παρασκευής w/o νανογαλακτωμάτων με βάση εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο ελαιόλαδο και γαλακτωματοποιητές Tween 20 και Tween 40.

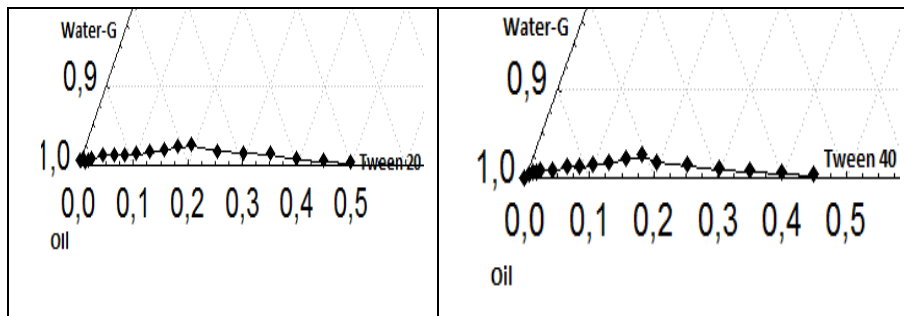


Σχήμα 4.1β: Διάγραμμα φάσης παρασκευής w/o νανογαλακτωμάτων με βάση εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο ελαιόλαδο και γαλακτωματοποιητές Tween 20 και Tween 40 (μεγεθυμένα).

Γαλλικό οξύ

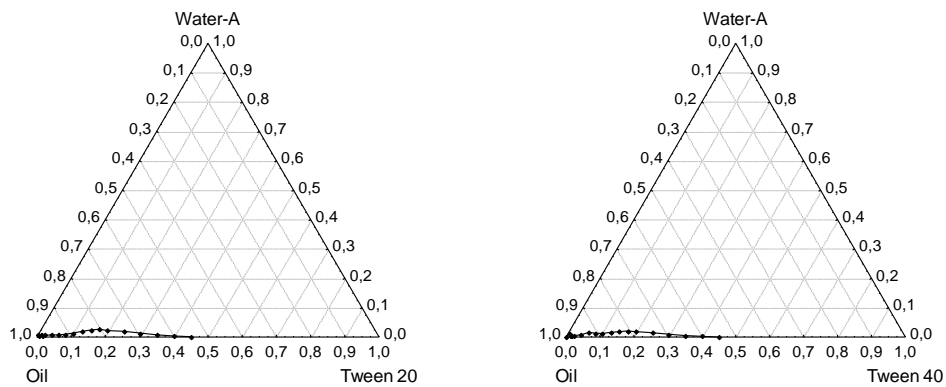


Σχήμα 4.2α: Διάγραμμα φάσης παρασκευής w/o νανογαλακτωμάτων με βάση εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο ελαιόλαδο, προσθήκη γαλλικού οξέος στην υδατική φάση και γαλακτωματοποιητές Tween 20 και Tween 40.

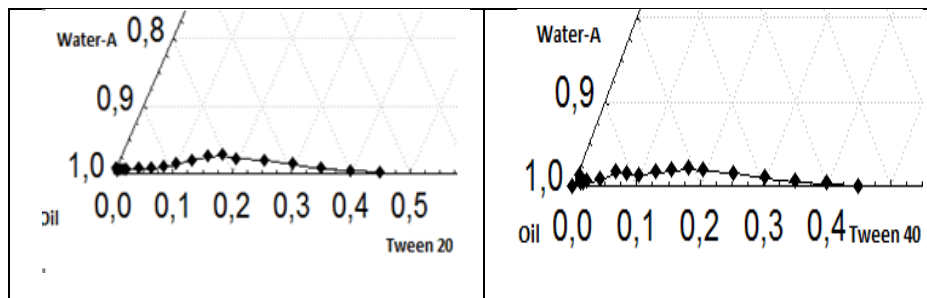


Σχήμα 4.2β: Διάγραμμα φάσης παρασκευής w/o νανογαλακτωμάτων με βάση εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο ελαιόλαδο, προσθήκη γαλλικού οξέος στην υδατική φάση και γαλακτωματοποιητές Tween 20 και Tween 40 (μεγεθυμένα).

Ασκορβικό οξύ

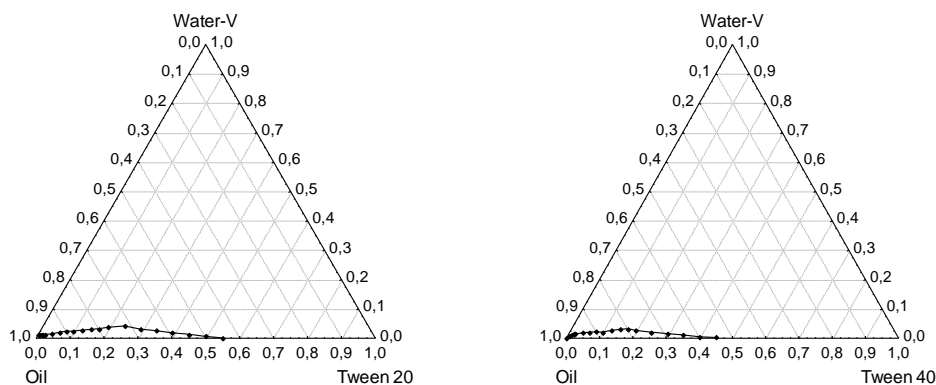


Σχήμα 4.3α: Διάγραμμα φάσης παρασκευής w/o νανογαλακτωμάτων με βάση εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο ελαιόλαδο, προσθήκη ασκορβικού οξέος στην υδατική φάση και γαλακτωματοποιητές Tween 20 και Tween 40.

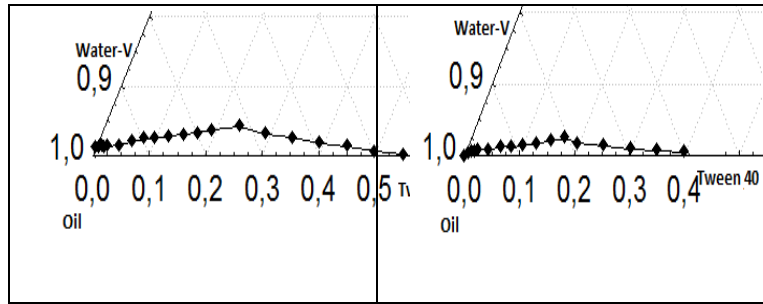


Σχήμα 4.3β: Διάγραμμα φάσης παρασκευής w/o νανογαλακτωμάτων με βάση εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο ελαιόλαδο, προσθήκη ασκορβικού οξέος στην υδατική φάση και γαλακτωματοποιητές Tween 20 και Tween 40 (μεγεθυμένα).

Βανιλικό οξύ

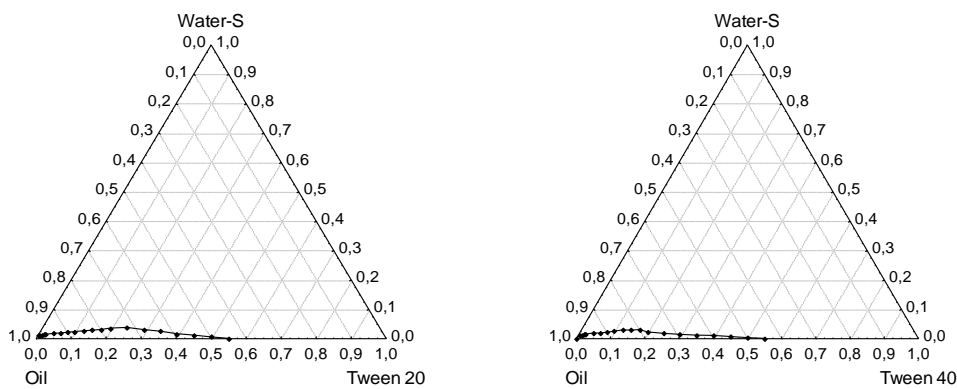


Σχήμα 4.4α: Διάγραμμα φάσης παρασκευής νανογαλακτωμάτων με βάση εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο ελαιόλαδο, προσθήκη βανιλικού οξέος στην υδατική φάση και γαλακτωματοποιητές Tween 20 και Tween 40.

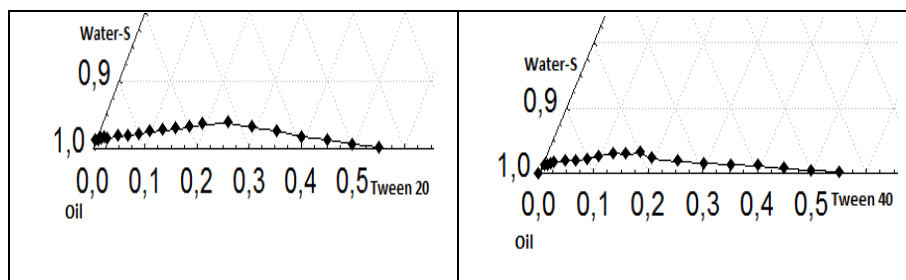


Σχήμα 4.4β: Διάγραμμα φάσης παρασκευής νανογαλακτωμάτων με βάση εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο ελαιόλαδο, προσθήκη βανιλικού οξέος στην υδατική φάση και γαλακτωματοποιητές Tween 20 και Tween 40 (μεγεθυμένα).

Συριγγικό οξύ

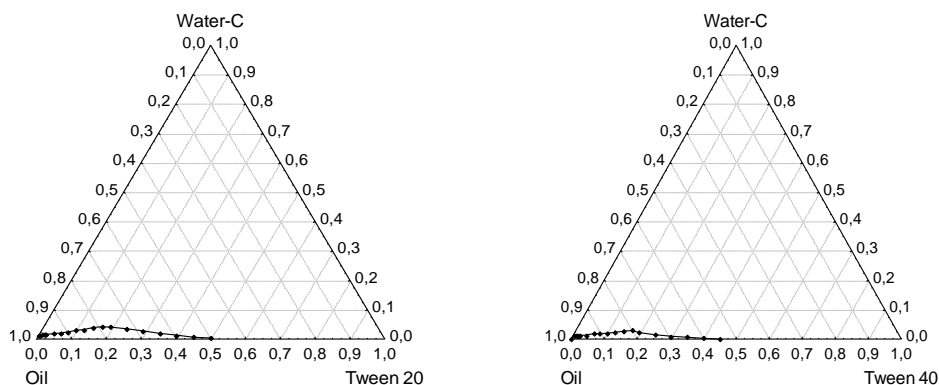


Σχήμα 4.5α: Διάγραμμα φάσης παρασκευής w/o νανογαλακτωμάτων με βάση εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο ελαιόλαδο, προσθήκη συριγγικού οξέος στην υδατική φάση και γαλακτωματοποιητές Tween 20 και Tween 40.

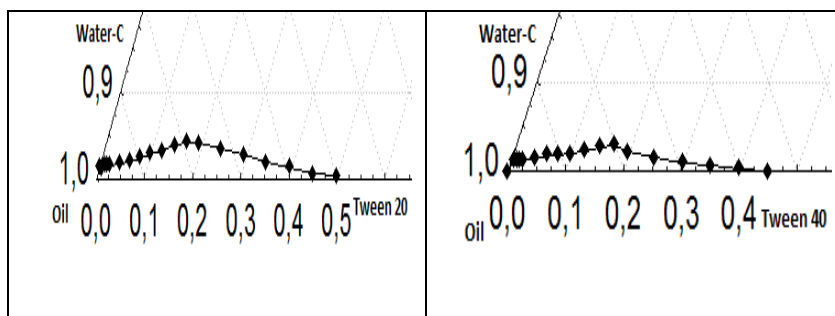


Σχήμα 4.5β: Διάγραμμα φάσης παρασκευής w/o νανογαλακτωμάτων με βάση εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο ελαιόλαδο, προσθήκη συριγγικού οξέος στην υδατική φάση και γαλακτωματοποιητές Tween 20 και Tween 40 (μεγεθυμένα).

Καφεϊκό οξύ

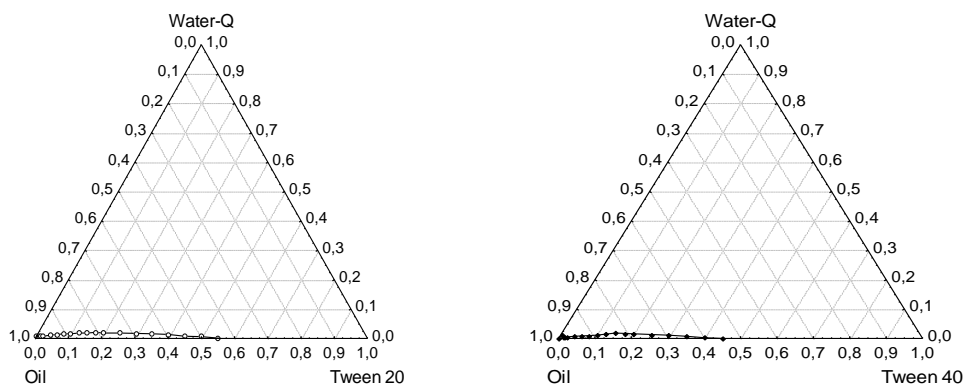


Σχήμα 4.6α: Διάγραμμα φάσης παρασκευής w/o νανογαλακτωμάτων με βάση εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο ελαιόλαδο, προσθήκη καφεϊκού οξέος στην υδατική φάση και γαλακτωματοποιητές Tween 20 και Tween 40.

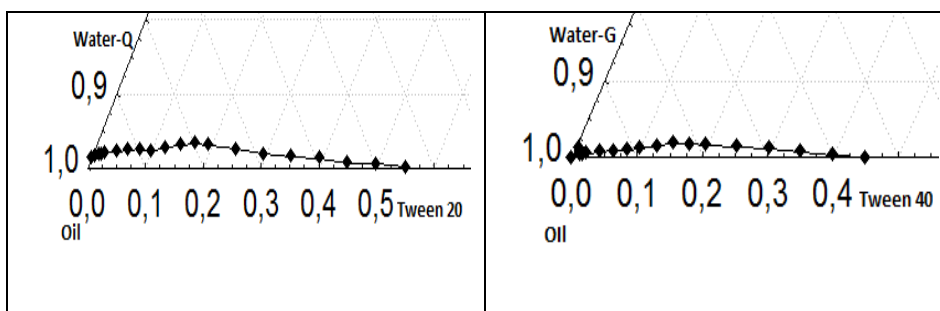


Σχήμα 4.6β: Διάγραμμα φάσης παρασκευής w/o νανογαλακτωμάτων με βάση εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο ελαιόλαδο, προσθήκη καφεϊκού οξέος στην υδατική φάση και γαλακτωματοποιητές Tween 20 και Tween 40 (μεγεθυμένα).

Κερσετίνη



Σχήμα 4.7α: Διάγραμμα φάσης παρασκευής w/o νανογαλακτωμάτων με βάση εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο ελαιόλαδο, προσθήκη κερσετίνης στην υδατική φάση και γαλακτωματοποιητές Tween 20 και Tween 40.



Σχήμα 4.7β: Διάγραμμα φάσης παρασκευής w/o νανογαλακτωμάτων με βάση εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο ελαιόλαδο, προσθήκη κερσετίνης στην υδατική φάση και γαλακτωματοποιητές Tween 20 και Tween 40 (μεγεθυμένα).

Από τα παραπάνω διαγράμματα προέκυψε αρχικά ότι είναι δυνατή η παρασκευή w/o νανογαλακτωμάτων με βάση το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο ελαιόλαδο χωρίς την προσθήκη συν-επιφανειοδραστικής ουσίας. Το γεγονός ότι η το εύρος που ορίζεται από τη γραμμή τάσης είναι μικρό οφείλεται στο ότι το ελαιόλαδο έχει μικρή διηλεκτρική σταθερά ($\epsilon \leq 5$) και επομένως είναι δύσκολο να παρασκευαστούν σταθερά ηλεκτροστατικά συστήματα νανογαλακτωμάτων με μη πολική συνεχή βάση. Σε όλες τις περιπτώσεις, αύξηση της συγκέντρωσης των γαλακτωματοποιητών είχε ως αποτέλεσμα τη διαλυτοποίηση μεγαλύτερης ποσότητας νερού στο σύστημα με μορφή νανογαλακτώματος έως μίας συγκεκριμένης συγκέντρωσης γαλακτωματοποιητή (~16-18%). Σε ένα σύστημα νανογαλακτώματος, η συγκέντρωση του γαλακτωματοποιητή πρέπει γενικώς να είναι υψηλή, ώστε να παρέχεται ο αριθμός των επιφανειοδραστικών μορίων που απαιτούνται για τη σταθεροποίηση των μικροσταγονιδίων που παράγονται κατά την ομογενοποίηση του νανογαλακτώματος. Ωστόσο στα περισσότερα από τα συστήματα που μελετήθηκαν, συγκέντρωση γαλακτωματοποιητή μεγαλύτερη από 30% w/w είχε ως αποτέλεσμα τη δημιουργία παχύρευστου μίγματος με μορφή πηκτής καθώς δεν ήταν δυνατή η περαιτέρω διαλυτοποίηση γαλακτωματοποιητή.

Η προσθήκη ενδογενών συστατικών σε κάθε περίπτωση είχε θετική επίδραση στη δυνατότητα παρασκευής νανογαλακτώματος. Εξάιρεση αποτελεί ο συνδυασμός του γαλακτωματοποιητή Tween 40 με την κερσετίνη. Η προσθήκη κερσετίνης επέδρασε αρνητικά στη γαλακτωματοποιητική ικανότητα του γαλακτωματοποιητή.

Το εύρος της δυνατότητας παρασκευής νανογαλακτωμάτων επηρεάστηκε τόσο από το είδος του γαλακτωματοποιητή όσο και από το είδος του βιοδραστικού ενδογενούς συστατικού του ελαιόλαδου ($P < 0.05$). Ο γαλακτωματοποιητής Tween 20 έδωσε καλύτερα αποτελέσματα σε σχέση με τον Tween 40. Όσον αφορά στα ενδογενή συστατικά το βανιλικό, καφεϊκό και συριγγικό οξύ διαφοροποιήθηκαν σημαντικά προσφέροντας μεγαλύτερο εύρος δυνατών συγκεντρώσεων για παρασκευή νανογαλακτωμάτων. Το ασκορβικό και το γαλλικό οξύ αύξησαν λιγότερο μεν το εύρος, ενώ η κερσετίνη είχε ασήμαντη έως αρνητική επίδραση στη δημιουργία νανογαλακτώματος. Εκτός από την περιοχή νανογαλακτώματος, στα διαγράμματα φάσης παρατηρήθηκαν μεγάλες κρυσταλλικές (LC) περιοχές οι οποίες χαρακτηρίζονται από αστάθεια και θολότητα.

Συγκεκριμένα οι μέγιστες συγκεντρώσεις διαλυτοποίησης νερού που επιτεύχθηκαν με γαλακτωματοποιητή και ενδογενές συστατικό ήταν:

Πίνακας 4.1: Μέγιστες % συγκεντρώσεις νερού που διαλυτοποιήθηκαν σε συστήματα νανογαλακτωμάτων ανά γαλακτωματοποιητή και ενδογενές συστατικό.

Γαλακτωματοποιητής						
Ενδογενές Συστατικό του ελαιόλαδου	Tween 20			Tween 40		
	Ελαιόλαδο %	Γαλακτωματοποιητής %	Υδατική φάση %	Ελαιόλαδο %	Γαλακτωματοποιητής %	Υδατική φάση %
Τυφλό	78,3	19,6	2,1	80,9	17,2	2,0
Βανιλικό οξύ	71,9	24,0	4,2	80,1	17,0	2,9
Καφεϊκό οξύ	79,0	16,8	4,2	80,1	17,0	2,9
Συριγγικό οξύ	72,1	24,0	3,8	79,9	16,9	3,1
Ασκορβικό οξύ	80,3	17,0	2,7	80,8	17,1	2,1
Γαλλικό οξύ	80,6	17,1	2,3	83,2	14,7	2,1
Κερσετίνη	79,7	16,9	3,4	83,4	14,7	1,8

Με βάση τα διαγράμματα φάσης προσδιορίστηκε το εύρος παρασκευής νανογαλακτωμάτων. Επιλέχθηκαν συγκεκριμένες αναλογίες των τριών φάσεων και παρασκευάστηκαν εκ νέου νανογαλακτώματα τα οποία και εξετάστηκαν ως προς τις φυσικοχημικές ιδιότητές τους.

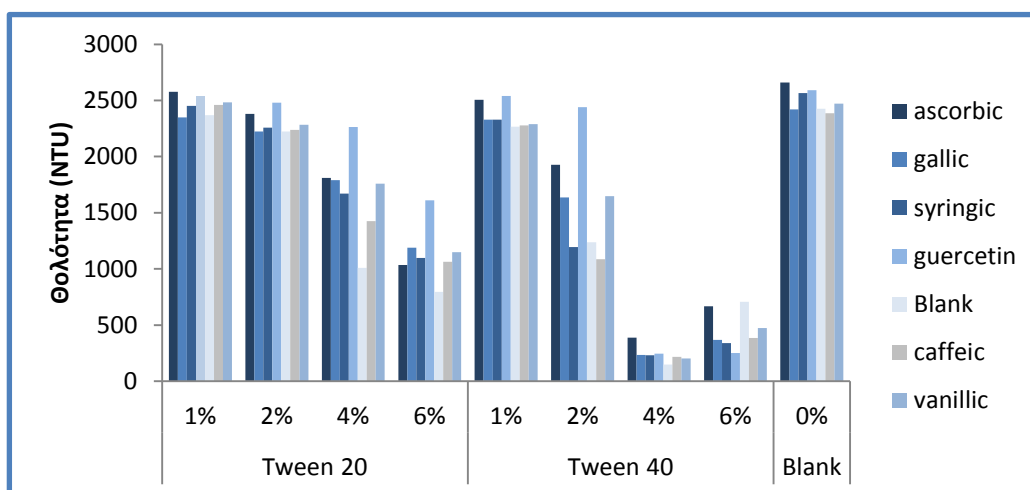
ΜΕΡΟΣ Β

Μελέτη της επίδρασης των ενδογενών συστατικών του ελαιόλαδου (γαλλικό οξύ, βανιλικό οξύ, ασκορβικό οξύ, συριγγικό οξύ, κερσεΐνη και καφεϊκό οξύ), του είδους του γαλακτωματοποιητή (Tween 20 και Tween 40) και της αναλογίας της υδατικής φάσης (2% H₂O και 3% H₂O) στις ιδιότητες των w/o νανογαλακτωμάτων (θολότητα, ιξώδες, δείκτης διάθλασης, χρώμα, μέση διάμετρος σταγονιδίων(MD), δείκτη πολυδιασποράς (PDI)).

4.1 Μέτρηση θολότητας

Τα παρασκευασμένα νανογαλακτώματα αξιολογήθηκαν ως προς τη θολότητά τους, καθώς η θολότητα είναι ένδειξη του μέσου μεγέθους και του βαθμού διασποράς των σταγονιδίων όπως επίσης ένδειξη για τη σταθερότητά τους. Τα διαυγή και ομογενή νανογαλακτώματα με χαμηλή θολότητα εμφανίζουν χαμηλή πολυδιασπορά. Στην παρούσα εργασία, κατά την πρώτη σειρά πειραμάτων οι τιμές θολότητας κυμάνθηκαν από 149 έως 2660 NTU (Διάγραμμα 5.1). Παρατηρήθηκε ότι η θολότητα των νανογαλακτωμάτων μειώνεται με την αύξηση της ποσότητας του γαλακτωματοποιητή και παρατηρήθηκε μεγαλύτερη μείωση της τιμής της θολότητας για τις μεγαλύτερες αναλογίες γαλακτωματοποιητή Tween 40. Οι χαμηλότερες τιμές θολότητας παρουσιάστηκαν στα δείγματα που παρασκευάστηκαν με το γαλακτωματοποιητή Tween 40 και συγκεκριμένα το δείγμα που δεν είχε ενσωματωμένο κάποιο βιοδραστικό συστατικό. Από τις παραμέτρους που εξετάστηκαν (είδος και αναλογία του γαλακτωματοποιητή, είδος του βιοδραστικού) το είδος και η αναλογία του γαλακτωματοποιητή επηρέασαν σημαντικά τη θολότητα των γαλακτωμάτων ($P < 0.05$).

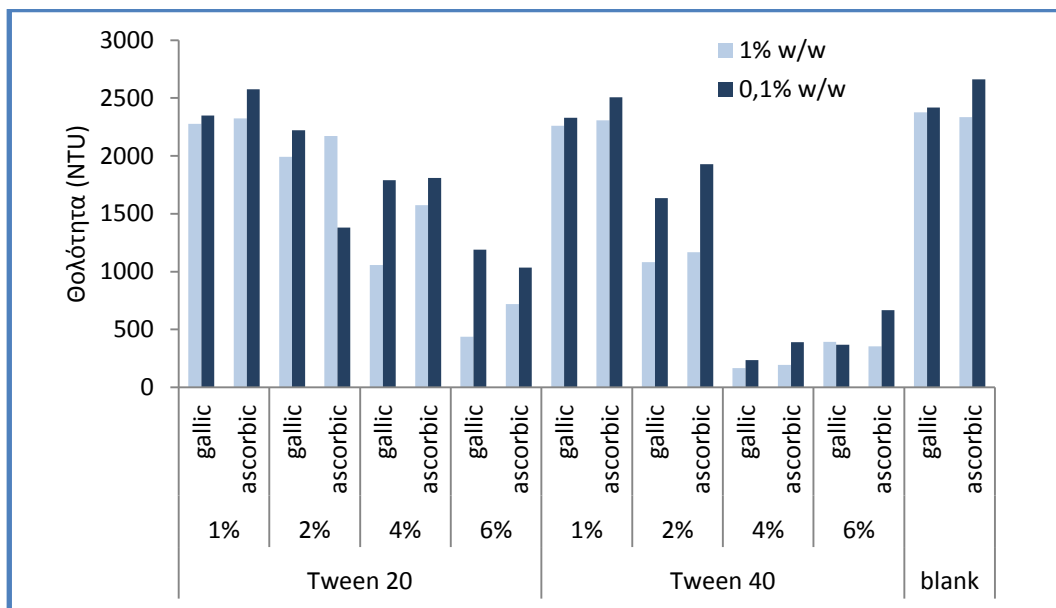
Πιο συγκεκριμένα τα δείγματα που παρασκευάστηκαν με γαλακτωματοποιητή Tween 20 παρουσίασαν μεγαλύτερη θολότητα. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι τα δείγματα που περιείχαν 0% και 1% γαλακτωματοποιητή, εμφάνισαν πολύ υψηλές τιμές θολότητας. Αντιθέτως τα δείγματα με 2%, 4% 6% και γαλακτωματοποιητή εμφάνισαν χαμηλή τιμή θολότητας.



Διάγραμμα 4.1: Μεταβολή της θολότητας νανογαλακτωμάτων συναρτήσει του είδους και ποσοστού του γαλακτωματοποιητή και του περιεχόμενου βιοδραστικού συστατικού (σε αναλογία %).

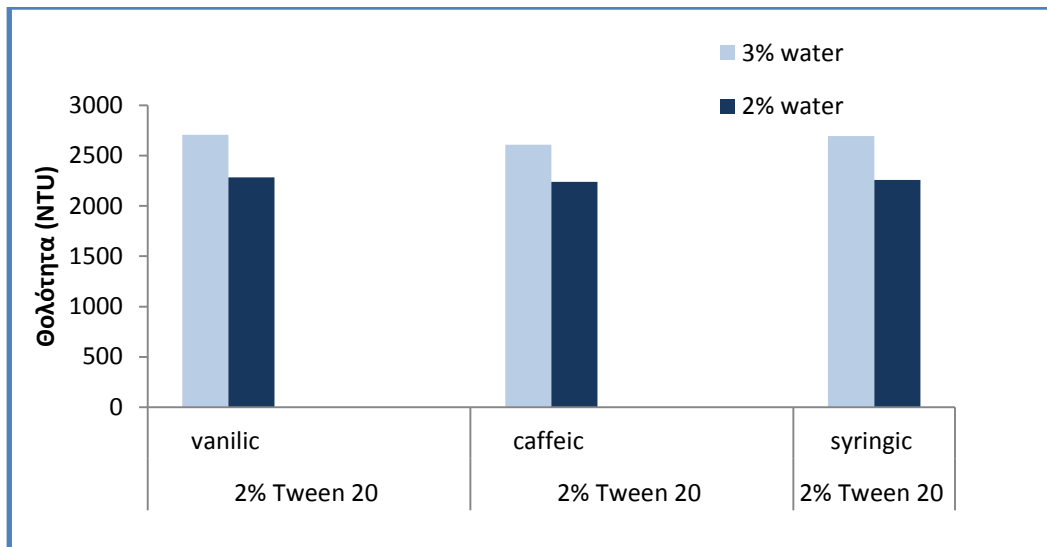
Κατά τη δεύτερη σειρά πειραμάτων μελετήθηκε η επίδραση της σύστασης των γαλακτωμάτων ως προς τη θολότητά τους, αφού προστέθηκε η επιπλέον παράμετρος της ποσότητας του

βιοδραστικού που είναι ενσωματωμένο στην υδατική φάση. Όπως και στην προηγούμενη σειρά πειραμάτων αποδείχθηκε ότι τα δείγματα που παρασκευάστηκαν με γαλακτωματοποιητή Tween 20 παρουσίασαν υψηλότερη θολότητα. Όπως παρατηρήθηκε και στα παραπάνω πειράματα τα δείγματα που περιείχαν 0% και 1% w/w γαλακτωματοποιητή, παρουσίασαν υψηλές τιμές θολότητας. Αντιθέτως τα δείγματα με 2% και 4% γαλακτωματοποιητή εμφάνισαν χαμηλή θολότητα. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον έχει το γεγονός ότι τα δείγματα που περιείχαν 1% w/w βιοδραστικό συστατικό στην υδατική τους φάση παρουσίασαν σημαντικά χαμηλότερες τιμές θολότητας σε σχέση με εκείνα που περιείχαν 0,1% w/w βιοδραστικό συστατικό. Από τις παραμέτρους που εξετάστηκαν (είδος και αναλογία γαλακτωματοποιητή, είδος και η περιεκτικότητα του βιοδραστικού) προέκυψε ότι το είδος και η αναλογία του γαλακτωματοποιητή και η περιεκτικότητα του βιοδραστικού επηρέασαν σημαντικά τη θολότητα των γαλακτωμάτων ($P < 0.05$).



Διάγραμμα 4.2: Μεταβολή της θολότητας συναρτήσει του γαλακτωματοποιητή και της αναλογίας του βιοδραστικού συστατικού.

Κατά την τρίτη σειρά πειραμάτων μελετήθηκε η επίδραση της αναλογίας του νερού στα νανογαλακτώματα ως προς τη θολότητά τους. Όπως φαίνεται και στο παρακάτω διάγραμμα τα νανογαλακτώματα με 3% υδατική φάση εμφάνισαν μεγαλύτερες τιμές θολότητας. Πιο συγκεκριμένα το δείγμα με ενσωματωμένο συριγγικό οξύ στην υδατική φάση έχει τη μεγαλύτερη τιμή θολότητας (2695 NTU). Από τις παραμέτρους που εξετάστηκαν (αναλογία υδατικής φάσης και είδος του βιοδραστικού) προέκυψε ότι η αναλογία του νερού επηρέασε σημαντικά τη θολότητα των γαλακτωμάτων ($P < 0.05$).

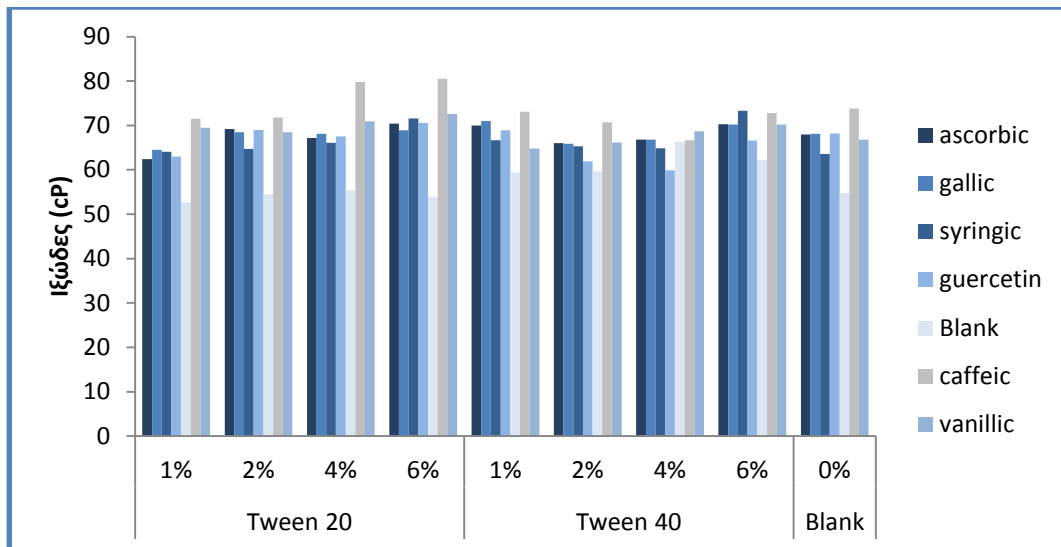


Διάγραμμα 4.3: Μεταβολή της θολότητας συναρτήσει της αναλογίας της υδατικής φάσης.

4.2 Ιξώδες

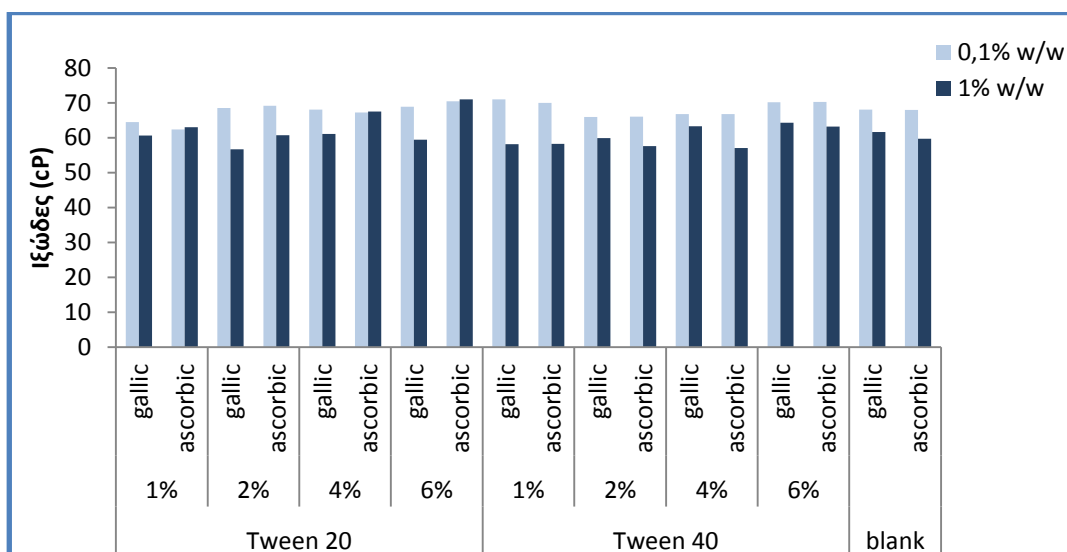
Οι ρεολογικές ιδιότητες των γαλακτωμάτων γενικά καθορίζονται από τη μεταβολή του κλάσματος του όγκου των διεσπαρμένων σταγονιδίων, την κατανομή μεγέθους των σταγονιδίων και, κυρίως, τις ενδοσταγονιδιακές δυνάμεις των πρόσθετων ουσιών. Ο προσδιορισμός των δυνάμεων αλληλεπίδρασης σωματιδίου-σωματιδίου σε συμπυκνωμένα εναιωρήματα είναι χρήσιμος, καθώς το μέγεθος σωματιδίων και η συγκέντρωση επηρεάζουν τη ρεολογική συμπεριφορά. Σύμφωνα με τους Garti et al. (2005) το ιξώδες εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη δομή του μικρογαλακτώματος, τον τύπο και το σχήμα των συσσωματωμάτων, τη συγκέντρωση και τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των διεσπαρμένων σωματιδίων. Στην παρούσα μελέτη όλα τα νανογαλακτώματα που δοκιμάστηκαν ήταν νευτωνικά ρευστά και η τιμή του ιξώδους κυμάνθηκε από 52,7 έως 80,5 cP. Όλα τα δείγματα μετρήθηκαν στη θερμοκρασία 26 °C και παρατηρήθηκε τάση αύξησης του ιξώδους τους (cP) αυξανόμενης της αναλογίας του γαλακτωματοποιητή. Η μέγιστη τιμή ιξώδους παρουσιάστηκε για αναλογία γαλακτωματοποιητή 6% και συγκεκριμένα στο γαλάκτωμα με 6% Tween 20. Οι αναλογίες 1%, 2% και 4% και τα νανογαλακτώματα χωρίς γαλακτωματοποιητή έχουν τις μικρότερες τιμές ιξώδους. Τα νανογαλακτώματα με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ παρουσίασαν τις μεγαλύτερες τιμές ιξώδους, ενώ τα νανογαλακτώματα χωρίς ενσωμάτωση κάποιου βιοδραστικού συστατικού τη μικρότερη τιμή ιξώδους. Τα νανογαλακτώματα με καφεϊκό και το συριγγικό οξύ επίσης έδειξαν μεγάλες τιμές ιξώδους, ενώ το γαλλικό οξύ, το ασκορβικό οξύ, το βανιλικό οξύ και η κερσετίνη παρουσίασαν ενδιάμεσες τιμές ιξώδους.

Από τις παραμέτρους που εξετάστηκαν (είδος και αναλογία γαλακτωματοποιητή, και το είδος και η περιεκτικότητα του βιοδραστικού) η αναλογία και το είδος του γαλακτωματοποιητή όπως το είδος και η περιεκτικότητα του βιοδραστικού συστατικού επηρέασαν σημαντικά την τιμή του ιξώδους των γαλακτωμάτων ($P < 0.05$).



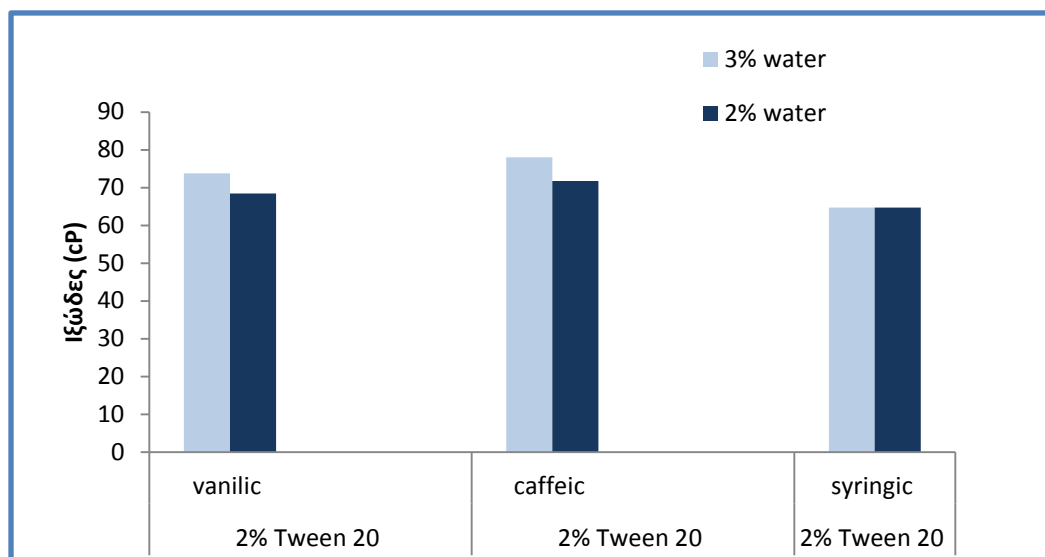
Διάγραμμα 4.4: Μεταβολή της τιμής του ιξώδους συναρτήσει του γαλακτωματοποιητή και του βιοδραστικού συστατικού.

Στο παρακάτω διάγραμμα συγκρίθηκαν νανογαλακτώματα με ενσωμάτωση δύο βιοδραστικών (γαλλικού και ασκορβικού) στην υδατική φάση σε διαφορετικές περιεκτικότητες. Οι τιμές του ιξώδους βρίσκονται ανάμεσα στις τιμές 57 και 71 cP. Όπως και στην πρώτη σειρά πειραμάτων έτσι και εδώ, η μεγαλύτερη αναλογία γαλακτωματοποιητή (6%) παρουσίασε τις μεγαλύτερες τιμές ιξώδους σε σχέση με τις αναλογίες 1%, 2% και 4% με τα νανογαλακτώματα χωρίς γαλακτωματοποιητή να έχουν τις μικρότερες τιμές ιξώδους. Τα νανογαλακτώματα με τη μικρότερη περιεκτικότητα βιοδραστικού (0,1 % w/w) έχουν μεγαλύτερη τιμή ιξώδους, από τα αντίστοιχα με τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα βιοδραστικού (1%w/w). Από τις παραμέτρους που εξετάστηκαν (είδος και αναλογία γαλακτωματοποιητή και είδος και περιεκτικότητα του βιοδραστικού) η αναλογία του γαλακτωματοποιητή και η περιεκτικότητα του βιοδραστικού συστατικού επηρέασαν σημαντικά την τιμή του ιξώδους των γαλακτωμάτων ($P < 0.05$).



Διάγραμμα 4.5: Μεταβολή της τιμής του ιξώδους συναρτήσει του γαλακτωματοποιητή και της αναλογίας του βιοδραστικού συστατικού.

Κατά την τρίτη σειρά πειραμάτων μελετήθηκε η επίδραση της αναλογίας του νερού στα νανογαλακτώματα ως προς την τιμή του ιζώδους. Όπως παρατηρήθηκε και στο παραπάνω διάγραμμα τα νανογαλακτώματα με αναλογία νερού 3% εμφάνισαν μεγαλύτερες τιμές ιζώδους, με τη μεγαλύτερη τιμή ανάμεσα στα δείγματα να την έχει το γαλάκτωμα με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ και με αναλογία υδατικής φάσης 3%. Αξίζει να αναφερθεί ότι τα νανογαλακτώματα με ενσωματωμένο συριγγικό οξύ εμφάνισαν τις ίδιες τιμές ιζώδους ανεξαρτήτως της αναλογίας της υδατικής φάσης. Από τις παραμέτρους που εξετάστηκαν (αναλογία υδατικής φάσης και είδος του βιοδραστικού) καμία δεν επηρέασε σημαντικά το ιζώδες των γαλακτωμάτων.



Διάγραμμα 4.6: Μεταβολή του ιζώδους συναρτήσει της αναλογίας της υδατικής φάσης.

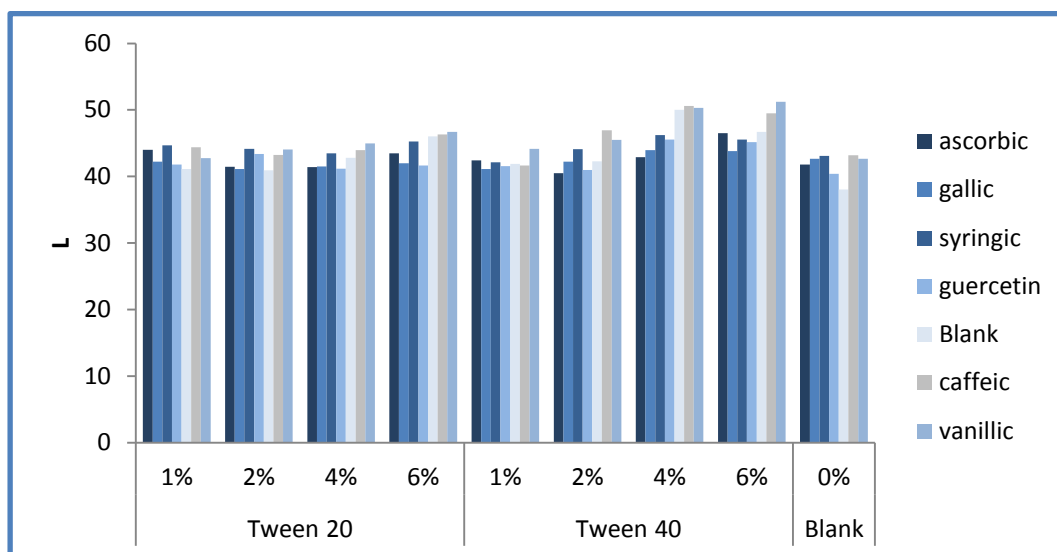
4.3 Προσδιορισμός Χρώματος

Η μελέτη του χρώματος των γαλακτωμάτων βοηθά στην κατανόηση της μικροδομής τους. Οι σχετικές αναλογίες του φωτός που μεταδίδονται και αντανακλώνται σε διαφορετικά μήκη κύματος εξαρτώνται από τη σκέδαση και την απορρόφησή του από το γαλάκτωμα. Η σκέδαση και η απορρόφηση του φωτός εξαρτάται από το μέγεθος, τη συγκέντρωση, το δείκτη διάθλασης και την κατανομή των σταγονιδίων. Το χρώμα των ουσιών προκύπτει από τον τρόπο της ανάκλασης και μετάδοσης του φωτός. Παρουσιάζονται παρακάτω αναλυτικά οι παράμετροι του χρώματος καθώς και το συνολικό χρώμα E που εξετάστηκαν κατά την παρασκευή των νανογαλακτωμάτων.

4.3.1 Παράγοντας L

Η μελέτη των πειραματικών δεδομένων του παράγοντα L (δείκτης φωτεινότητας) των γαλακτωμάτων και η περαιτέρω στατιστική επεξεργασία τους (Παράρτημα) έγινε έτσι, ώστε να βρεθεί πώς και σε ποιο βαθμό επηρεάζεται το χρώμα από τις παραμέτρους που εξετάστηκαν. Στο παρακάτω διάγραμμα φαίνεται ότι οι τιμές του παράγοντα L κυμαίνονται μεταξύ του 38,4 και του 50,59, με το δείγμα με αναλογία 4% Tween 40 και ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ να παρουσιάζει τη μεγαλύτερη τιμή (50,59). Από τις παραμέτρους που εξετάστηκαν (είδος και αναλογία

γαλακτωματοποιητή, είδος βιοδραστικού) όλες οι παράμετροι επηρέασαν σημαντικά την τιμή του παράγοντα L των γαλακτωμάτων ($P < 0.05$).

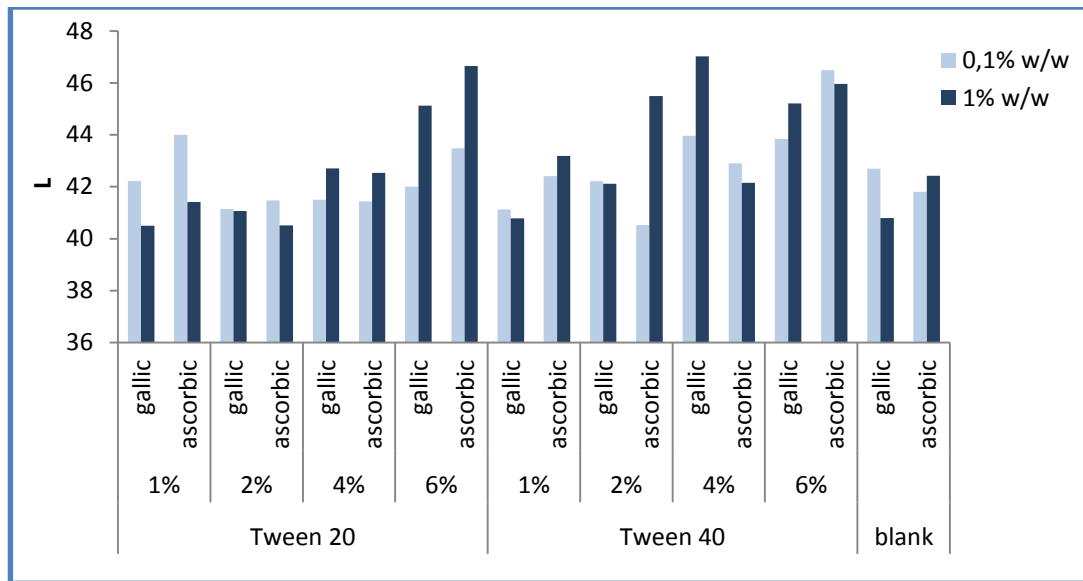


Διάγραμμα 4.7: Μεταβολή της τιμής του παράγοντα L συναρτήσει του γαλακτωματοποιητή και του βιοδραστικού συστατικού

Από τη στατιστική επεξεργασία των πειραμάτων προέκυψε ότι:

- Ο γαλακτωματοποιητής Tween 40 παρουσίασε τις μεγαλύτερες τιμές παράγοντα L, σε αντίθεση με το γαλακτωματοποιητή Tween 20.
- Οι μεγαλύτερες αναλογίες γαλακτωματοποιητή (4% και 6%) παρουσίασαν τις μεγαλύτερες τιμές παράγοντα L.
- Οι αναλογίες γαλακτωματοποιητή 1% και 2% και τα νανογαλακτώματα χωρίς γαλακτωματοποιητή έχουν τις μικρότερες τιμές παράγοντα L.
- Τα νανογαλακτώματα με βανιλικό οξύ και καφεϊκό οξύ παρουσίασαν τις μεγαλύτερες τιμές παράγοντα L, ενώ αυτά με γαλλικό οξύ και κερσετίνη τις μικρότερες τιμές παράγοντα L.
- Τα νανογαλακτώματα με συριγγικό και ασκορβικό οξύ, όπως επίσης και τα νανογαλακτώματα χωρίς ενσωματωμένο βιοδραστικό παρουσίασαν ενδιάμεσες τιμές παράγοντα L.

Για τη μελέτη της συμπεριφοράς του παράγοντα L σε σχέση με την περιεκτικότητα του βιοδραστικού συστατικού, για τη δεύτερη σειρά πειραμάτων κατασκευάστηκε το παρακάτω διάγραμμα. Τα δείγματα περιέχουν ασκορβικό και γαλλικό οξύ σε διαφορετικές περιεκτικότητες και έχουν χρησιμοποιηθεί οι γαλακτωματοποιητές Tween 20 και Tween 40. Από τις παραμέτρους που εξετάστηκαν (είδος και αναλογία γαλακτωματοποιητή, είδος και περιεκτικότητα βιοδραστικού) μόνο η αναλογία του γαλακτωματοποιητή επηρέασε σημαντικά την τιμή του παράγοντα L των γαλακτωμάτων ($P < 0.05$).

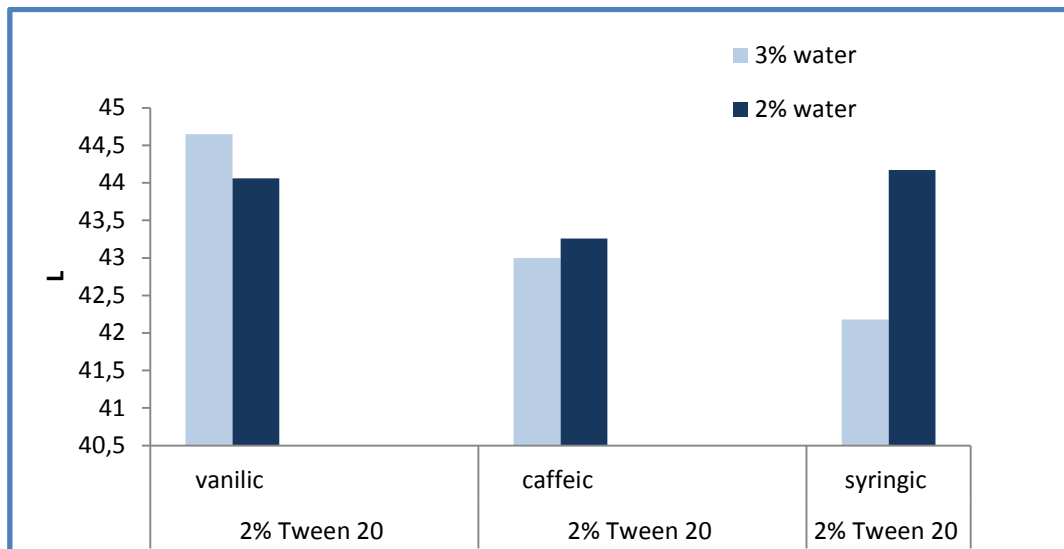


Διάγραμμα 4.8: Μεταβολή της τιμής του παράγοντα L συναρτήσει του γαλακτωματοποιητή και της αναλογίας του βιοδραστικού συστατικού.

Από τη στατιστική επεξεργασία των πειραμάτων προέκυψε ότι:

- Τα νανογαλακτώματα με τη μεγαλύτερη αναλογία γαλακτωματοποιητή (6%) παρουσίασε τις μεγαλύτερες τιμές παράγοντα L, ενώ τα δείγματα χωρίς γαλακτωματοποιητή και τα νανογαλακτώματα με αναλογίες 1%, 2% και 4% παρουσίασαν τις μικρότερες τιμές παράγοντα L. Ενώ η περιεκτικότητα του βιοδραστικού δεν επηρέασε την τιμή του παράγοντα L.

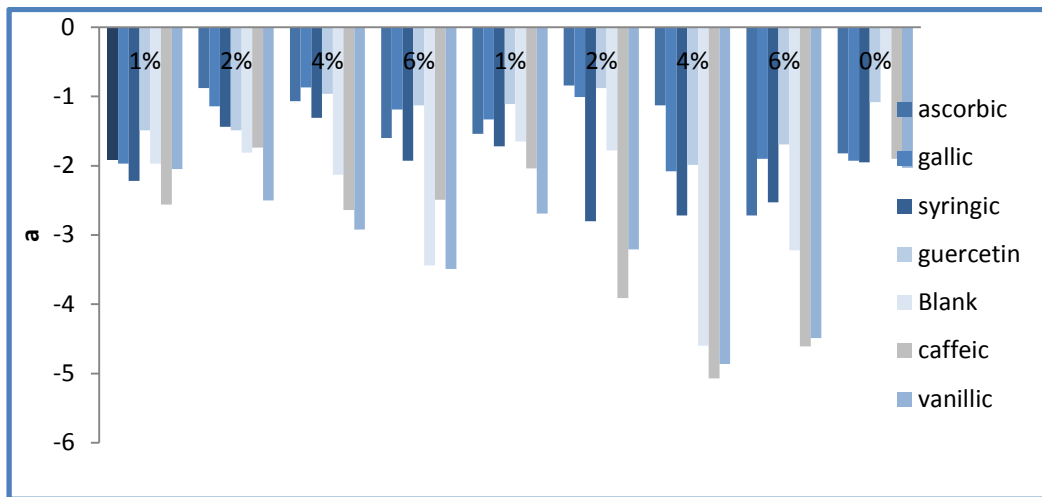
Για τη μελέτη της συμπεριφοράς του παράγοντα L σε σχέση με την αναλογία του νερού, κατασκευάστηκε το παρακάτω διάγραμμα. Τα δείγματα περιέχουν διαφορετική αναλογία υδατικής φάσης (2% και 3%) με ενσωματωμένα βιοδραστικά το βανιλικό οξύ, το καφεϊκό οξύ και το συριγγικό οξύ και έχουν χρησιμοποιηθεί οι γαλακτωματοποιητές Tween 20 και Tween 40. Για τα δείγματα του βανιλικού οξέος το γαλακτώμα με 3% νερό έχει μεγαλύτερη τιμή παράγοντα L (δείκτη φωτεινότητας). Αντιθέτως, τα δείγματα με αναλογία 2% υδατικής φάσης και ενσωματωμένο καφεϊκό και συριγγικό οξύ εμφάνισαν μεγαλύτερες τιμές παραγοντα L. Από τις παραμέτρους που εξετάστηκαν (αναλογία υδατικής φάσης, είδος βιοδραστικού) καμία παράμετρος δεν επηρέασε σημαντικά την τιμή του παραγοντα χρώματος L των γαλακτωμάτων.



Διάγραμμα 4.9: Μεταβολή του παράγοντα L συναρτήσει της αναλογίας της υδατικής φάσης.

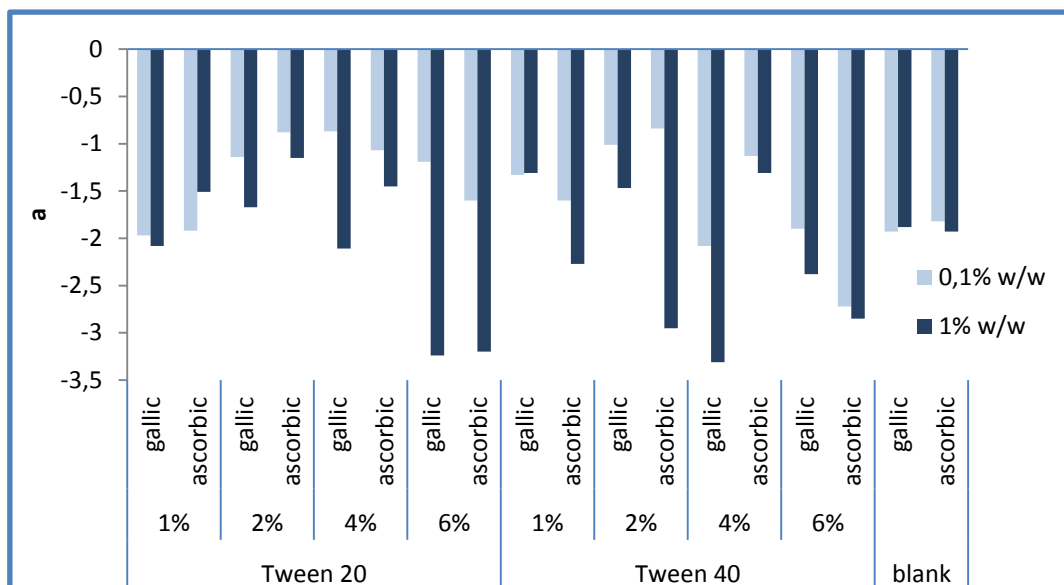
4.3.2 Παράγοντας α

Η μελέτη της παραμέτρου α των γαλακτωμάτων και η περαιτέρω στατιστική επεξεργασία της (Παράρτημα) έγινε έτσι, ώστε να βρεθεί πώς και σε ποιο βαθμό επηρεάζεται από τις παραμέτρους που εξετάστηκαν. Οι τιμές του παράγοντα α κυμάνθηκαν από -0.5 έως -4.86, ενώ παρατηρήθηκε ότι τα νανογαλακτώματα με ενσωματωμένο βανιλικό οξύ έχουν μεγαλύτερες τιμές παράγοντα α σε σύγκριση με τα άλλα βιοδραστικά συστατικά για τις ίδιες αναλογίες γαλακτωματοποιητή. Ο γαλακτωματοποιητής Tween 40 παρουσίασε τις μικρότερες τιμές παράγοντα α σε αντίθεση με το γαλακτωματοποιητή Tween 20. Τα νανογαλακτώματα με αναλογία γαλακτωματοποιητή 1%, 2% και τα νανογαλακτώματα χωρίς γαλακτωματοποιητή παρουσίασαν τις μεγαλύτερες τιμές παράγοντα α , ενώ οι μεγαλύτερες αναλογίες γαλακτωματοποιητή (4% και 6%) εμφάνισαν τις μικρότερες τιμές παράγοντα α . Τα δείγματα με βανιλικό οξύ και καφεϊκό οξύ παρουσίασαν τις μικρότερες τιμές παράγοντα α , ενώ τα δείγματα με γαλλικό οξύ, ασκορβικό οξύ και κερσετίνη τις μεγαλύτερες τιμές παράγοντα α . Επιπλέον τα δείγματα με συριγγικό οξύ και τα νανογαλακτώματα χωρίς ενσωματωμένο βιοδραστικό παρουσίασαν ενδιάμεσες τιμές παράγοντα α . Από τις παραμέτρους που εξετάστηκαν (είδος και αναλογία γαλακτωματοποιητή, είδος βιοδραστικού) η αναλογία και το είδος γαλακτωματοποιητή και το είδος του βιοδραστικού συστατικού επηρέασαν σημαντικά την τιμή του παράγοντα α των γαλακτωμάτων ($P < 0.05$).



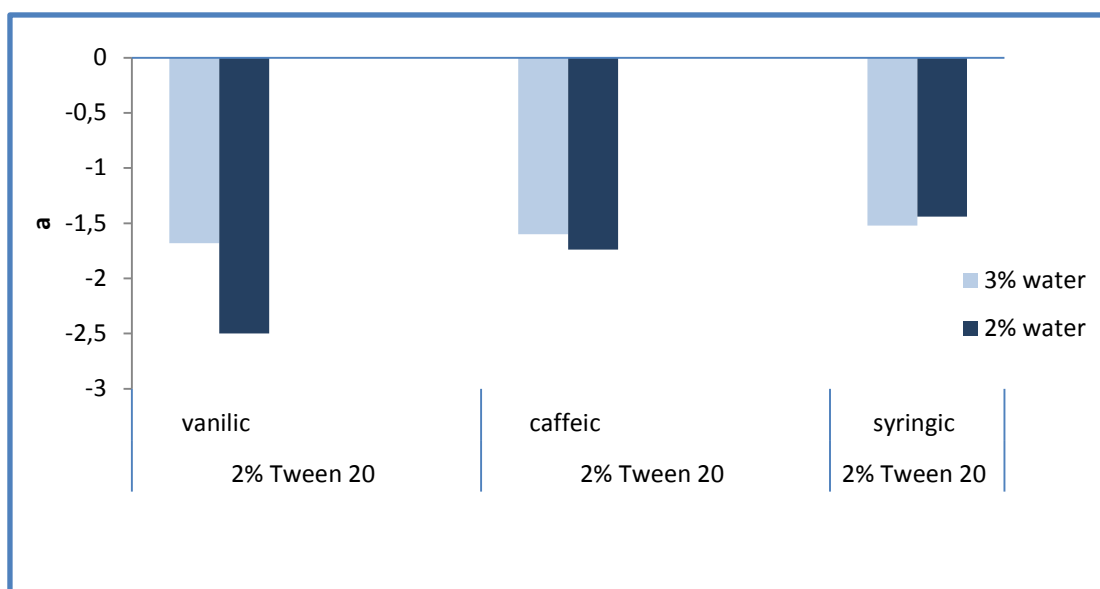
Διάγραμμα 4.10: Μεταβολή της τιμής του παράγοντα α συναρτήσει του γαλακτωματοποιητή και του βιοδραστικού συστατικού.

Η τιμή του παράγοντα α κυμάνθηκε από -0.88 έως -3.31, ειδικότερα τη μεγαλύτερη κατά απόλυτη τιμή έχει το γαλάκτωμα με 6% Tween 20 και ενσωματωμένο γαλλικό οξύ στην υδατική φάση με περιεκτικότητα 1% w/w. Επίσης παρατηρήθηκε ότι τα δείγματα με μεγαλύτερη περιεκτικότητα βιοδραστικού έχουν μεγαλύτερη τιμή παράγοντα α κατά απόλυτη τιμή από τα δείγματα με μικρότερη περιεκτικότητα βιοδραστικού συστατικού. Οι αναλογίες 1%, 2% και 4% γαλακτωματοποιητή παρουσίασαν τις μεγαλύτερες αρνητικές τιμές παράγοντα α . Από τις παραμέτρους που εξετάστηκαν (είδος και αναλογία γαλακτωματοποιητή, είδος βιοδραστικού) η αναλογία του γαλακτωματοποιητή και η περιεκτικότητα του φαινολικού βιοδραστικού επηρέασαν σημαντικά την τιμή της παραμέτρου α των γαλακτωμάτων ($P < 0.05$). Τα νανογαλακτώματα με τη μεγαλύτερη αναλογία γαλακτωματοποιητή 6% και εκείνα χωρίς γαλακτωματοποιητή παρουσίασαν τις μικρότερες τιμές παράγοντα α .



Διάγραμμα 4.11: Μεταβολή της τιμής του παράγοντα α συναρτήσει του γαλακτωματοποιητή και της αναλογίας του βιοδραστικού συστατικού.

Όσο αφορά την επίδραση της αναλογίας της υδατικής φάσης στον παράγοντα α , τα νανογαλακτώματα με 2% νερό και ενσωματωμένο βανιλικό οξύ και καφεϊκό οξύ έχουν μικρότερες τιμές παράγοντα α κατά απόλυτη τιμή από ότι τα αντίστοιχα δείγματα με 3% νερό. Τα νανογαλακτώματα με ενσωματωμένο συριγγικό οξύ εμφάνισαν κοντινές τιμές παράγοντα α και για τις δύο αναλογίες, με μεγαλύτερη αυτή του δείγματος με 3% νερό. Από τις παραμέτρους που εξετάστηκαν (αναλογία υδατικής φάσης, είδος βιοδραστικού) καμία παράμετρος δεν επηρέασε σημαντικά την τιμή του παράγοντα α των γαλακτωμάτων.



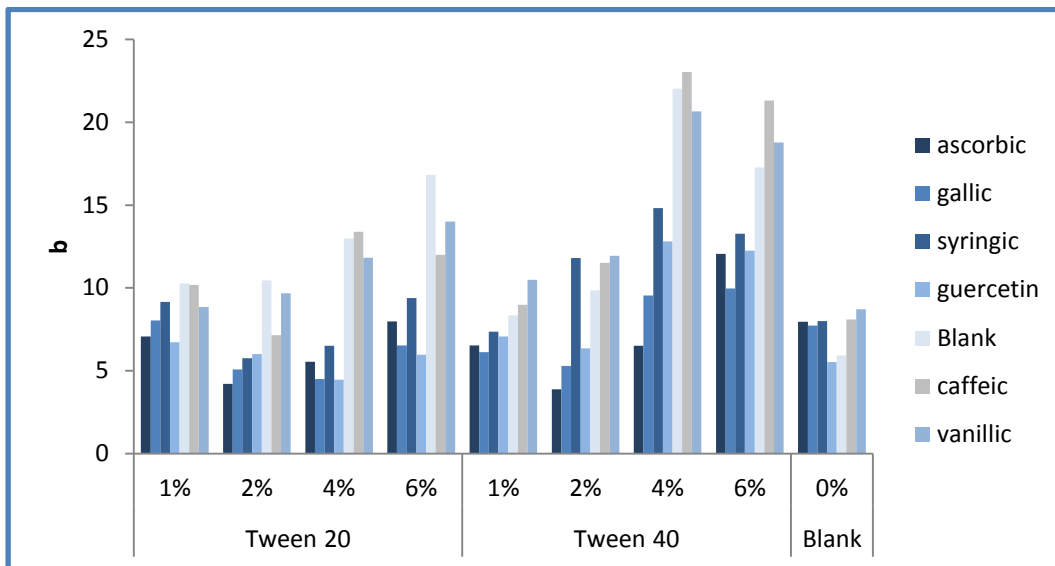
Διάγραμμα 4.12: Μεταβολή του παράγοντα α συναρτήσει της αναλογίας της υδατικής φάσης.

4.3.3 Παράγοντας β

Οι τιμές του παράγοντα β κυμάνθηκαν από 3,88 έως 17,27 και παρατηρήθηκε αύξηση της τιμής για τη μεγαλύτερη αναλογία γαλακτωματοποιητή. Πιο συγκεκριμένα τα νανογαλακτώματα με 6% Tween 40 εμφάνισαν μεγαλύτερες τιμές παράγοντα β . Ο γαλακτωματοποιητής Tween 40 παρουσίασε τις μεγαλύτερες τιμές παράγοντα β , σε αντίθεση με το γαλακτωματοποιητή Tween 20. Οι μεγαλύτερες αναλογίες γαλακτωματοποιητή (4% και 6%) παρουσίασαν τις μεγαλύτερες τιμές παράγοντα β σε σχέση με τις αναλογίες 1% και 2% και τα νανογαλακτώματα με μηδενική ποσότητα γαλακτωματοποιητή έχουν τις μικρότερες τιμές παράγοντα β .

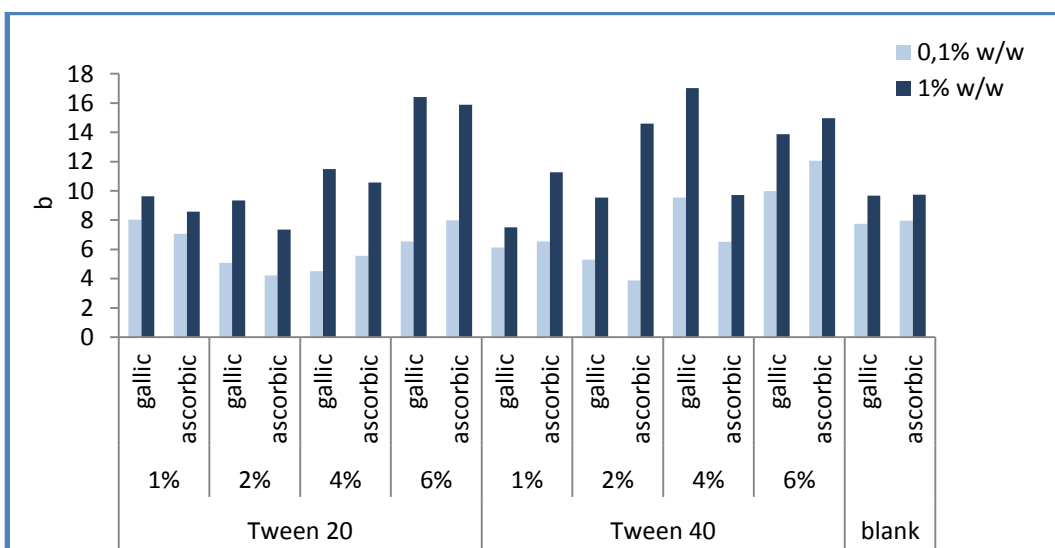
Τα νανογαλακτώματα με ενσωματωμένο βανιλικό και καφεϊκό οξύ όπως επίσης και τα νανογαλακτώματα χωρίς ενσωματωμένο βιοδραστικό παρουσίασαν τις μεγαλύτερες τιμές παράγοντα β , ενώ τα δείγματα με γαλλικό, ασκορβικό, συριγγικό οξύ και κερσετίνη παρουσίασαν τις μικρότερες τιμές παράγοντα β .

Από τις παραμέτρους που εξετάστηκαν (είδος και αναλογία γαλακτωματοποιητή, είδος βιοδραστικού) όλες οι παράμετροι επηρέασαν σημαντικά την τιμή του παράγοντα β των γαλακτωμάτων ($P < 0.05$).



Διάγραμμα 4.13: Μεταβολή της τιμής του παράγοντα b συναρτήσει του γαλακτωματοποιητή και του βιοδραστικού συστατικού.

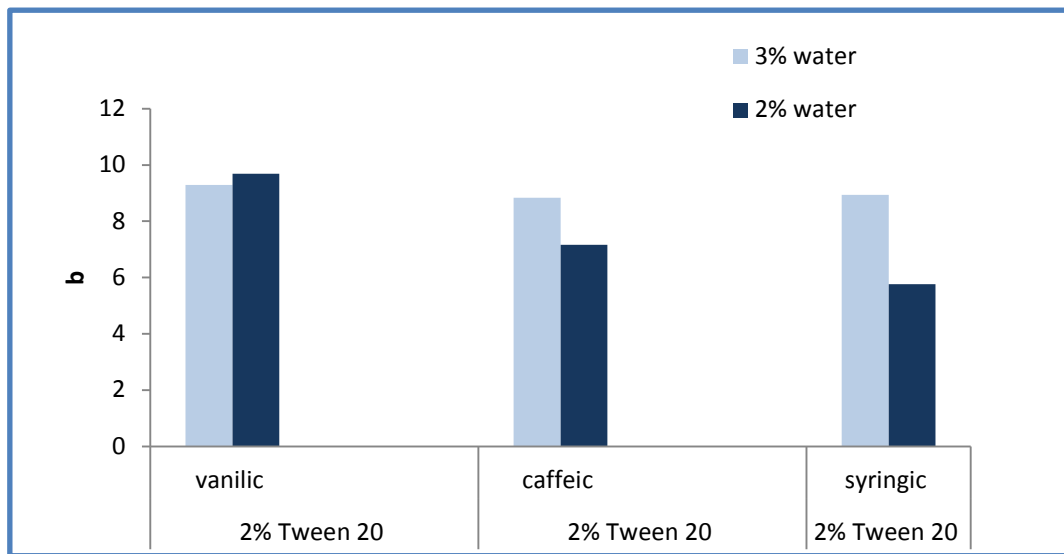
Όπως παρατηρήθηκε και στον παράγοντα a, έτσι και στον παράγοντα b τα δείγματα με μεγαλύτερη περιεκτικότητα βιοδραστικού έχουν μεγαλύτερη τιμή παράγοντα b από τα δείγματα με μικρότερη περιεκτικότητα βιοδραστικού συστατικού. Η μεγαλύτερη αναλογία γαλακτωματοποιητή (6%) παρουσίασε τις μεγαλύτερες τιμές παράγοντα b από τις αναλογίες 1%, 2% και 4%, με τα νανογαλακτώματα χωρίς γαλακτωματοποιητή να έχουν τις μικρότερες τιμές παράγοντα b. Από τις παραμέτρους που εξετάστηκαν (είδος και αναλογία γαλακτωματοποιητή, είδος και περιεκτικότητα του βιοδραστικού) η αναλογία του γαλακτωματοποιητή και η περιεκτικότητα του βιοδραστικού επηρέασαν σημαντικά την τιμή του παράγοντα b των γαλακτωμάτων ($P < 0.05$).



Διάγραμμα 4.14: Μεταβολή της τιμής του παράγοντα b συναρτήσει του γαλακτωματοποιητή και της αναλογίας του βιοδραστικού συστατικού.

Όσο αφορά την επίδραση της αναλογίας της υδατικής φάσης στον παράγοντα b:

- Τα νανογαλακτώματα με 2% και 3% υδατική φάση και με ενσωματωμένο βανιλικό οξύ παρουσίασαν κοντινές τιμές παράγοντα b.
- Τα νανογαλακτώματα με 3% νερό και ενσωματωμένο συριγγικό οξύ και καφεϊκό οξύ έχουν μεγαλύτερες τιμές παράγοντα b από ότι τα αντίστοιχα δείγματα με 2% νερό.
- Μεγαλύτερη τιμή παράγοντα b εμφάνισε το γαλάκτωμα με 2% νερό και ενσωματωμένο βανιλικό οξύ.
- Από τις παραμέτρους που εξετάστηκαν (αναλογία υδατικής φάσης, είδος βιοδραστικού) καμία παράμετρος δεν επηρέασε σημαντικά την τιμή του παράγοντα b των γαλακτωμάτων.

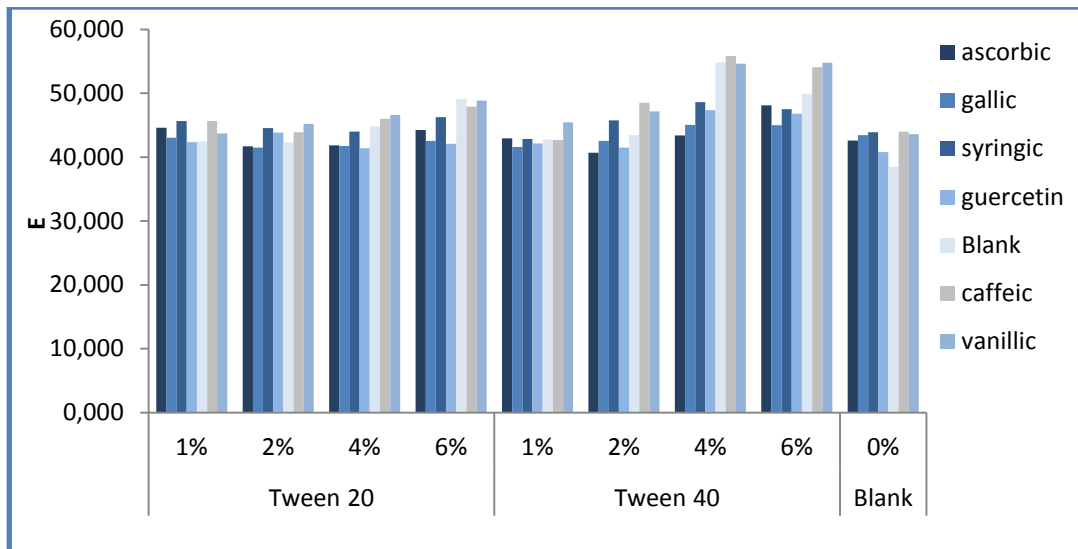


Διάγραμμα 4.15: Μεταβολή του παράγοντα b συναρτήσει της αναλογίας της υδατικής φάσης.

4.3.4 Δείκτης χρώματος E

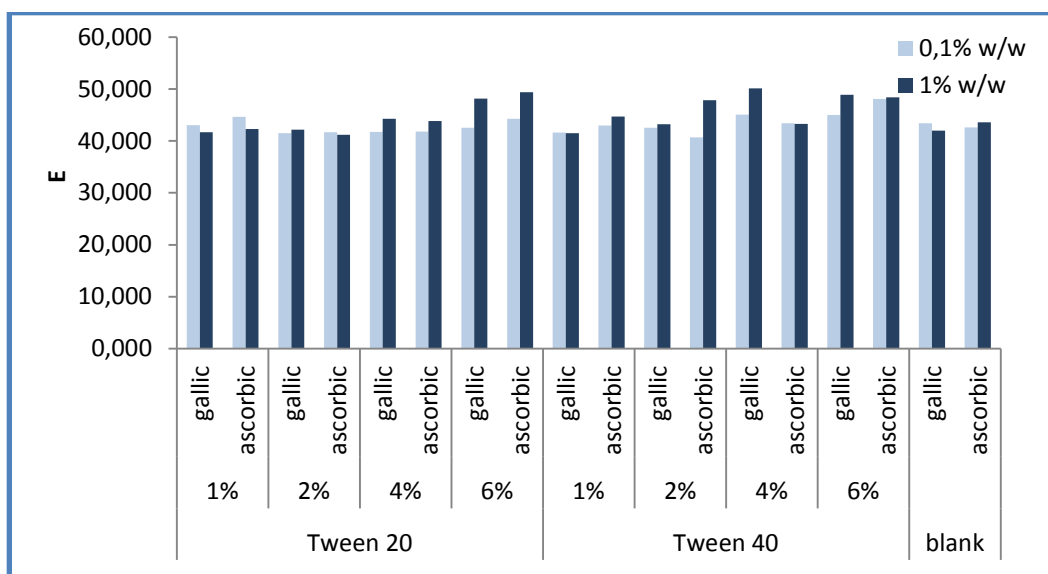
Ο δείκτης E ($E^* = \sqrt{L^{*2} + a^{*2} + b^{*2}}$) αποτελεί ένα σημαντικό, γενικό δείκτη του χρώματος των λιπαρών μιγμάτων. Η μελέτη των πειραματικών δεδομένων της παραμέτρου E των γαλακτωμάτων και η περαιτέρω στατιστική επεξεργασία τους (Παράρτημα) έγινε έτσι, ώστε να βρεθεί πώς και σε ποιο βαθμό επηρεάζεται η παράμετρος E από τους παράγοντες που εξετάστηκαν. Οι τιμές του δείκτη χρώματος E κυμάνθηκαν από 38,504 έως 55,812, το γαλάκτωμα με 4% Tween 40 και με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ έχει τη μεγαλύτερη τιμή δείκτη E. Από το παρακάτω διάγραμμα προέκυψε ότι ο γαλακτωματοποιητής Tween 40 παρουσίασε τις μεγαλύτερες τιμές δείκτη χρώματος E σε αντίθεση με το γαλακτωματοποιητή Tween 20. Τέλος τα νανογαλακτώματα χωρίς ενσωματωμένο βιοδραστικό συστατικό στην υδατική φάση παρουσίασαν τις μικρότερες τιμές δείκτη χρώματος E.

Από τις παραμέτρους που εξετάστηκαν (είδος και αναλογία γαλακτωματοποιητή, είδος βιοδραστικού) όλες οι παράμετροι επηρέασαν σημαντικά την τιμή του δείκτη χρώματος E των γαλακτωμάτων ($P < 0.05$).



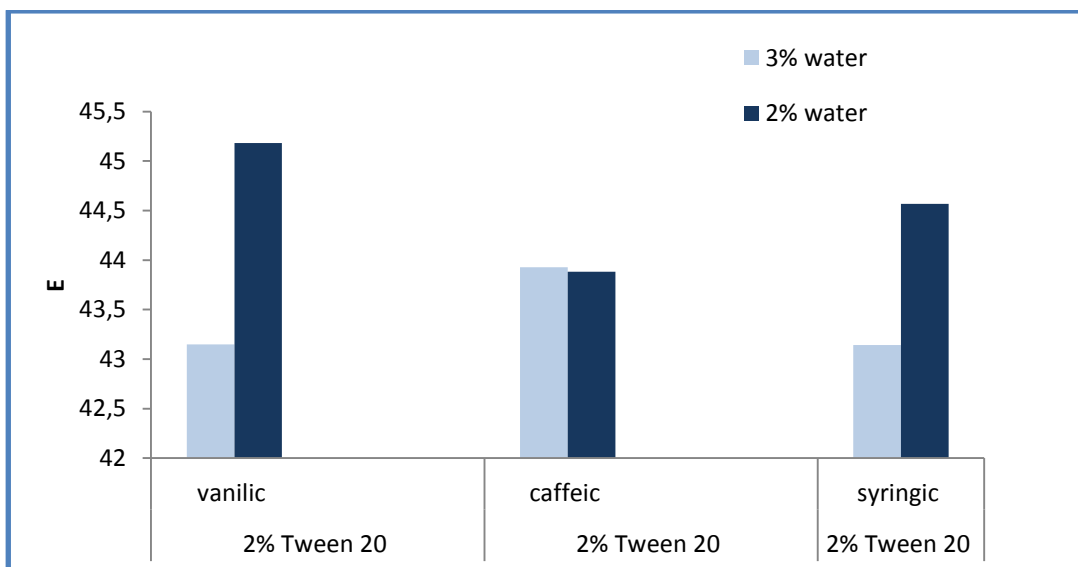
Διάγραμμα 4.16: Μεταβολή της τιμής του παράγοντα E συναρτήσει του γαλακτωματοποιητή και του βιοδραστικού συστατικού.

Και από τη δεύτερη σειρά πειραμάτων όπως και από την πρώτη προέκυψε ότι η μεγαλύτερη αναλογία γαλακτωματοποιητή (6%) παρουσίασε τις μεγαλύτερες τιμές δείκτη χρώματος E, ενώ οι αναλογίες γαλακτωματοποιητή 1%, 2% και 4% και τα νανογαλακτώματα με μηδενική ποσότητα γαλακτωματοποιητή έχουν τις μικρότερες τιμές δείκτη χρώματος E. Τα νανογαλακτώματα με τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα βιοδραστικού συστατικού παρουσίασαν μεγαλύτερες τιμές δείκτη χρώματος E. Από τις παραμέτρους που εξετάστηκαν (είδος και αναλογία γαλακτωματοποιητή, είδος και η περιεκτικότητα του βιοδραστικού) η αναλογία του γαλακτωματοποιητή και η περιεκτικότητα του βιοδραστικού επηρέασαν σημαντικά την τιμή του δείκτη χρώματος E των νανογαλακτωμάτων ($P < 0.05$). Τα νανογαλακτώματα με ασκορβικό οξύ ενσωματωμένο στην υδατική φάση παρουσίασαν μεγαλύτερες τιμές δείκτη χρώματος E σε σχέση με τα αντίστοιχα νανογαλακτώματα με γαλλικό οξύ.



Διάγραμμα 4.17: Μεταβολή της τιμής του παράγοντα E συναρτήσει του γαλακτωματοποιητή και της αναλογίας του βιοδραστικού συστατικού.

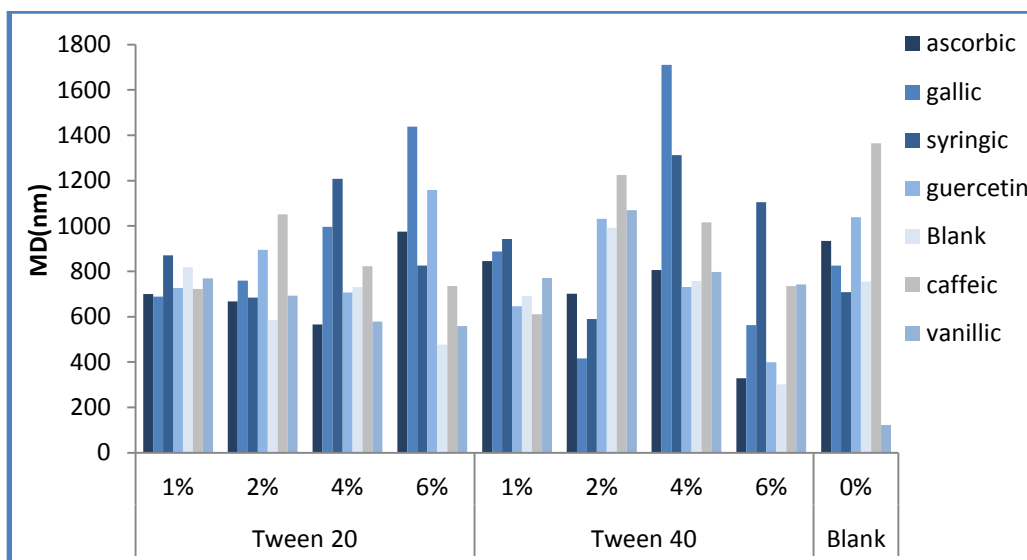
Στο παρακάτω διάγραμμα εξετάστηκε η επίδραση της αναλογίας της υδατικής φάσης στην τιμή του παράγοντα E. Το γαλάκτωμα με 2% νερό και ενσωματωμένο βανιλικό οξύ εμφάνισε τη μεγαλύτερη τιμή παράγοντα E. Επίσης και το γαλάκτωμα με 2% νερό και ενσωματωμένο συριγγικό οξύ παρουσίασε πολύ μεγαλύτερη τιμή παράγοντα E σε σχέση με το γαλάκτωμα με 3% νερό. Οι τιμές του παράγοντα E για τα δείγματα με το καφεϊκό οξύ ήταν κοντινές. Από τις παραμέτρους που εξετάστηκαν (αναλογία υδατικής φάσης, είδος βιοδραστικού) καμία παράμετρος δεν επηρέασε σημαντικά την τιμή του δείκτη χρώματος E των γαλακτωμάτων.



Διάγραμμα 4.18: Μεταβολή της τιμής του παράγοντα E συναρτήσει της αναλογίας της υδατικής φάσης.

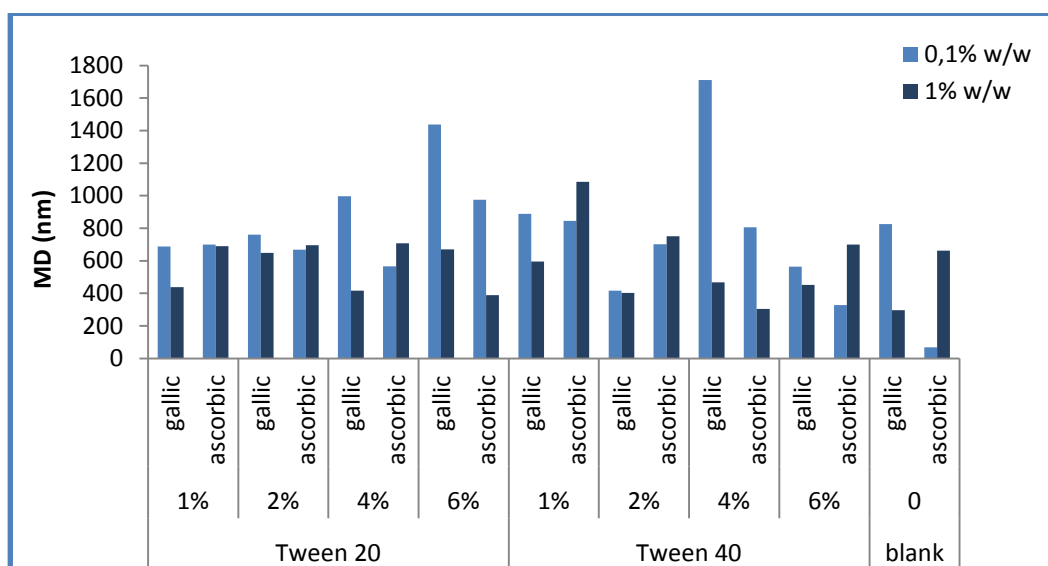
4.4 Μέση διάμετρος σταγονιδίων (MD)

Η κατανομή μεγέθους σωματιδίων θεωρείται ως το πιο σημαντικό χαρακτηριστικό για την αξιολόγηση της σταθερότητας των γαλακτωμάτων. Έχουν πραγματοποιηθεί έρευνες σχετικά με το πώς επιδρούν τα συστατικά στο μέγεθος των σταγονιδίων. Το παρακάτω σχήμα δείχνει το μέσο μέγεθος των σωματιδίων των μικρογαλακτωμάτων που παρασκευάστηκαν συναρτήσει με την περιεκτικότητα του γαλακτωματοποιητή (% w/w) και διαφορών βιοδραστικών συστατικών. Όπως παρατηρήθηκε τη μικρότερη μέση διάμετρο (MD) την εμφάνισαν τα δείγματα με 6% Tween 40 και χωρίς προσθήκη βιοδραστικού και το γαλάκτωμα στο οποίο είχε ενσωματωθεί βανιλικό οξύ στην υδατική και δεν περιείχε καθόλου γαλακτωματοποιητή. Το βανιλικό, το γαλλικό οξύ και το ασκορβικό οξύ παρουσίασαν τις μικρές τιμές μέσης διαμέτρου σταγονιδίων. Όμως από τις μεταβλητές που εξετάστηκαν καμία δεν επηρέασε το μέγεθος των σταγονιδίων (MD).



Διάγραμμα 4.19: Μεταβολή της τιμής της μέσης διαμέτρου (MD) των σταγονιδίων συναρτήσει του γαλακτωματοποιητή και του βιοδραστικού συστατικού.

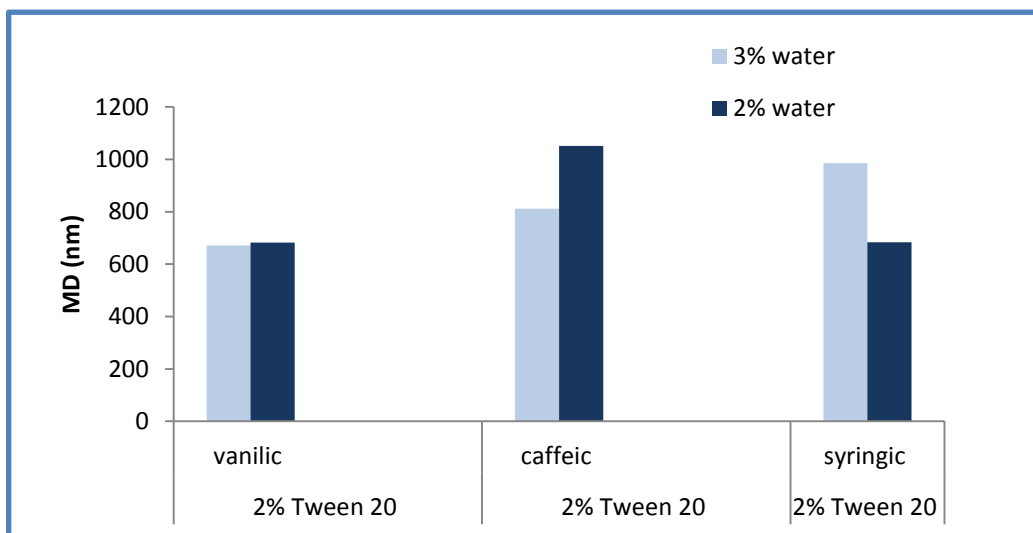
Καθώς το μέγεθος του σταγονιδίων των γαλακτωμάτων είναι βασικό χαρακτηριστικό για την αξιολόγηση της σταθερότητάς τους κατασκευάστηκε το παρακάτω διάγραμμα το οποίο δείχνει τη συσχέτιση της μέσης διαμέτρου με τη διαφορετική περιεκτικότητα ασκορβικού και γαλλικού οξέος στα νανογαλακτώματα. Τα νανογαλακτώματα 6% Tween 20 και 4% Tween 40 με ενσωματωμένο γαλλικό οξύ σε περιεκτικότητα 0,1% w/w έχουν τις μεγαλύτερες μέσες διαμέτρους (MD), ενώ τα νανογαλακτώματα χωρίς γαλακτωματοποιητή και ενσωματωμένο ασκορβικό οξύ τη μικρότερη μέση διάμετρο (MD). Από τις μεταβλητές που εξετάστηκαν καμία δεν επηρέασε το μέγεθος των σταγονιδίων.



Διάγραμμα 4.20: Μεταβολή της τιμής της μέσης διαμέτρου (MD) των σταγονιδίων συναρτήσει του γαλακτωματοποιητή και της αναλογίας του βιοδραστικού συστατικού.

Δεδομένου ότι η μέση διάμετρος (MD) των σταγονιδίων αποτελεί σημαντική παράμετρο για τον καθορισμό της σταθερότητας των νανογαλακτωμάτων, κατασκευάστηκε το παρακάτω διάγραμμα

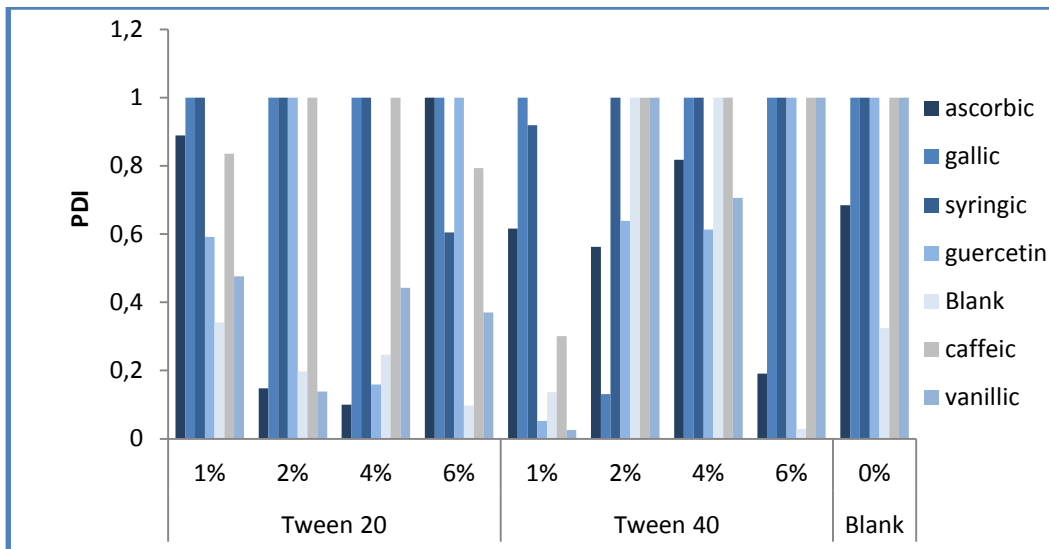
το οποίο δείχνει τη συσχέτιση της μέσης διαμέτρου (MD) με την αναλογία της υδατικής φάσης και του είδους του βιοδραστικού συστατικού. Τα νανογαλακτώματα με ενσωματωμένο βανιλικό οξύ έχουν την ίδια τιμή μέσης διαμέτρου (MD) ανεξαρτήτως της αναλογίας της υδατικής φάσης. Όσο φορά τα νανογαλακτώματα με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ τα δείγματα με 2% νερό έχουν μεγαλύτερη μέση διάμετρο σταγονιδίων από ότι αυτά με 3% νερό. Αντιθέτως τα νανογαλακτώματα με ενσωματωμένο συριγγικό οξύ και με 3% νερό εμφάνισαν μεγαλύτερες τιμές μέσης διαμέτρου από τα νανογαλακτώματα με 2% νερό. Από τις παραμέτρους που εξετάστηκαν (αναλογία υδατικής φάσης, είδος βιοδραστικού) καμία παράμετρος δεν επηρέασε σημαντικά το μέγεθος των σταγονιδίων των γαλακτωμάτων.



Διάγραμμα 4.21: Μεταβολή της τιμής της μέσης διαμέτρου (MD) των σταγονιδίων συναρτήσει της αναλογίας της υδατικής φάσης.

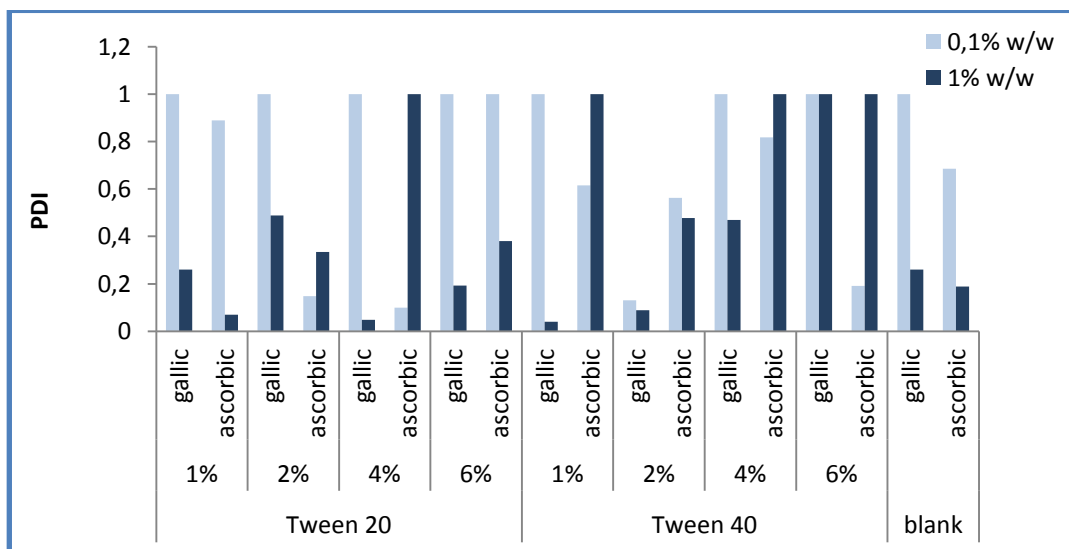
4.5 Δείκτης Πολυδιασποράς (PDI)

Ο δείκτης πολυδιασποράς (PDI) υποδεικνύει τον τρόπο με τον οποίο τα σταγονίδια διασπείρονται στη συνεχή φάση. Χαμηλό PDI σημαίνει μονοδισπαρμένα νανογαλακτώματα με υψηλή σταθερότητα, ενώ υψηλό PDI πολυδισπαρμένα νανογαλακτώματα με χαμηλή σταθερότητα αντίστοιχα. Οι τιμές του δείκτη πολυδιασποράς κυμάνθηκαν μεταξύ του 0,029 και του 1. Τα νανογαλακτώματα με συριγγικό, γαλλικό και καφεϊκό οξύ παρουσίασαν τις μεγαλύτερες τιμές PDI, ενώ τα νανογαλακτώματα χωρίς ενσωματωμένα βιοδραστικά και τα νανογαλακτώματα με ενσωματωμένο ασκορβικό οξύ εμφάνισαν τις μικρότερες τιμές δείκτη πολυδιασποράς. Τέλος τα νανογαλακτώματα με ενσωματωμένο βανιλικό οξύ και κερσετίνη εμφάνισαν μία ενδιάμεση τιμή δείκτη πολυδιασποράς (PDI). Από τους παράγοντες που εξετάστηκαν, το είδος του φαινολικού συστατικού επηρέασε την τιμή του δείκτη πολυδιασποράς (PDI) ($P < 0,05$).



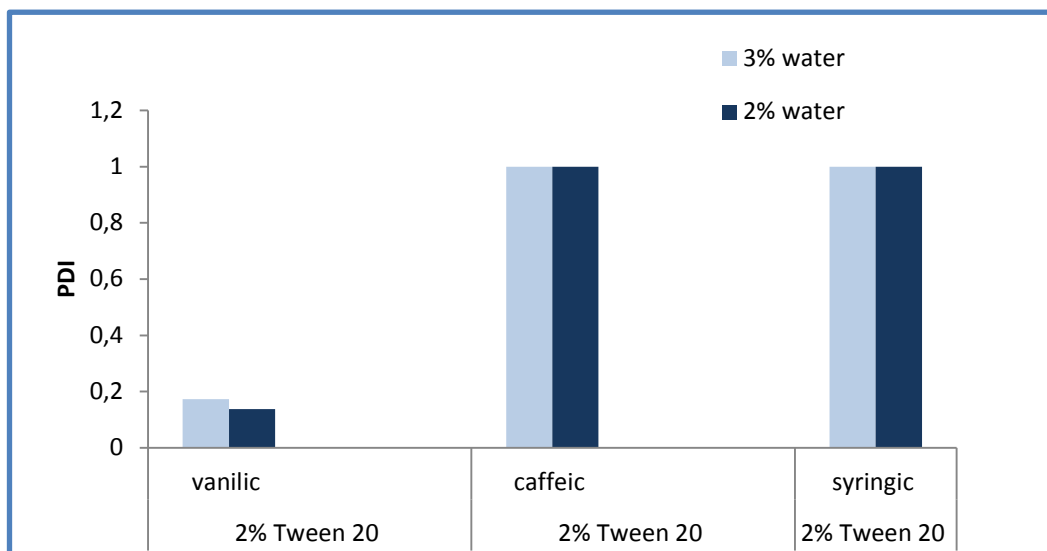
Διάγραμμα 4.22: Μεταβολή της τιμής του δείκτη πολυδιασποράς (PDI) συναρτήσει του γαλακτωματοποιητή και του βιοδραστικού συστατικού.

Για τη δεύτερη σειρά πειραμάτων εξετάστηκε η σχέση του δείκτη πολυδιασποράς (PDI) συναρτήσει του είδους και της αναλογίας γαλακτωματοποιητή όπως επίσης και συναρτήσει του είδους και της αναλογίας του βιοδραστικού συστατικού. Οι τιμές του δείκτη πολυδιασποράς κυμάνθηκαν από 0,1 έως 1. Τη μικρότερη τιμή δείκτη πολυδιασποράς (PDI) την έχει το γαλάκτωμα με 4% Tween 20 και ενσωματωμένο ασκορβικό οξύ στην υδατική φάση σε περιεκτικότητα 0,1% w/w. Τα νανογαλακτώματα με τη μικρότερη περιεκτικότητα σε βιοδραστικό συστατικό (0,1% w/w) εμφάνισαν τη μεγαλύτερη τιμή δείκτη πολυδιασποράς, σε αντίθεση με τα νανογαλακτώματα με περιεκτικότητα βιοδραστικού 1% w/w τα οποία είχαν μικρότερες τιμές PDI. Από τους παράγοντες που εξετάστηκαν, η περιεκτικότητα του βιοδραστικού συστατικού επηρέασε την τιμή του δείκτη πολυδιασποράς (PDI) ($P < 0,05$).



Διάγραμμα 4.23: Μεταβολή της τιμής του δείκτη πολυδιασποράς (PDI) συναρτήσει του γαλακτωματοποιητή και της αναλογίας του βιοδραστικού συστατικού.

Τα νανογαλακτώματα με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ και συριγγικό οξύ εμφάνισαν μεγάλες τιμές δείκτη πολυδιασποράς (PDI=1) ανεξαρτήτως της αναλογίας του νερού. Αντιθέτως τα νανογαλακτώματα με βανιλικό οξύ έχουν χαμηλότερες τιμές δείκτη πολυδιασποράς (PDI), με τη μικρότερη να την εμφανίζει το γαλάκτωμα με 2% νερό. Από τις παραμέτρους που εξετάστηκαν (αναλογία υδατικής φάσης, είδος βιοδραστικού) το είδος του βιοδραστικού επηρέασε σημαντικά την τιμή του δείκτη πολυδιασποράς (PDI) των γαλακτωμάτων ($P < 0.05$), ενώ η αναλογία της υδατικής φάσης δεν επηρέασε σημαντικά την τιμή του δείκτη πολυδιασποράς (PDI) των γαλακτωμάτων.

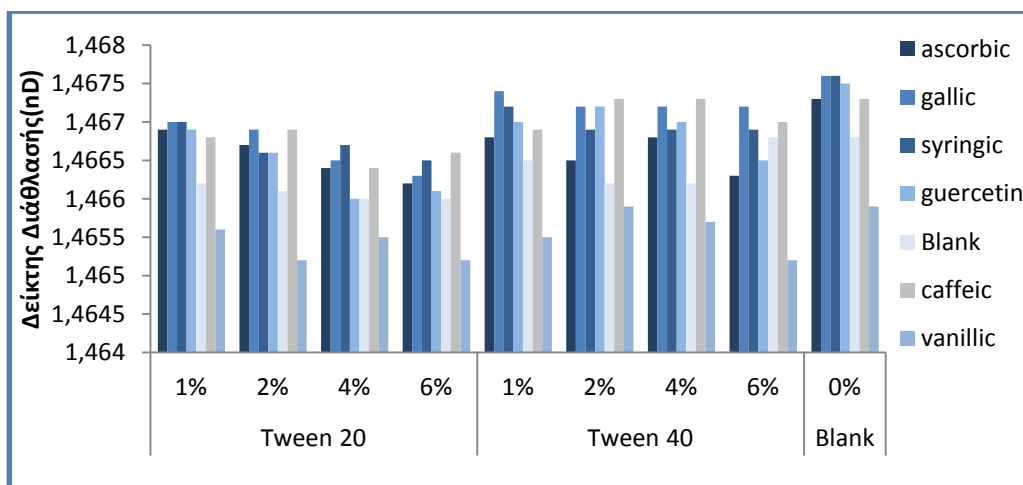


Διάγραμμα 4.24: Μεταβολή της τιμής του δείκτη πολυδιασποράς (PDI) συναρτήσει της αναλογίας της υδατικής φάσης και του είδους του βιοδραστικού συστατικού.

4.6 Δείκτης Διάθλασης

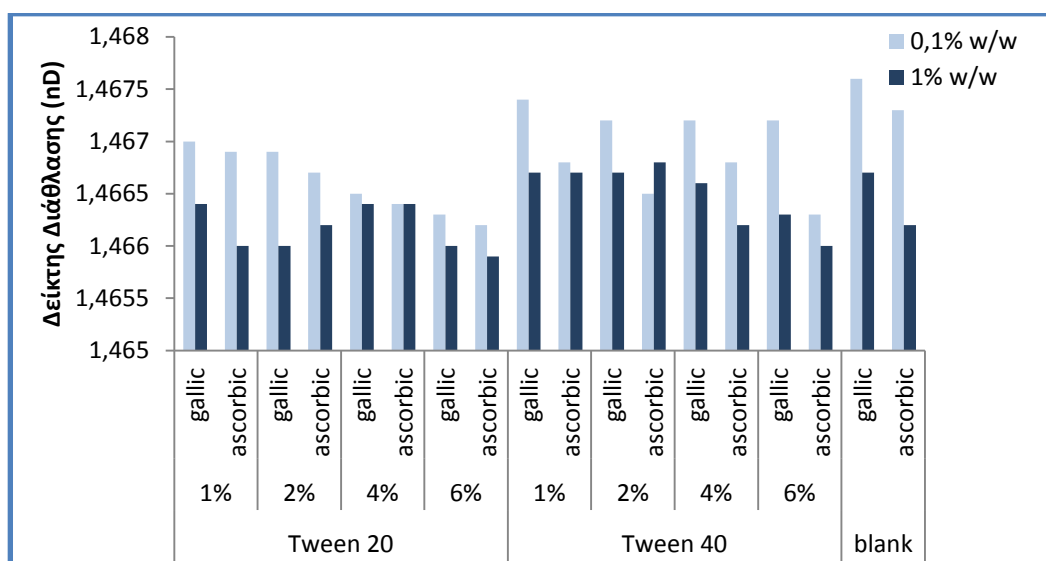
Ένα γαλάκτωμα είναι αδιαφανές και συνήθως αποκτά το χρώμα της συνεχούς φάσης, όταν το μέγεθος των σταγονιδίων είναι μεταξύ 0,5-5 μm και υπάρχει σημαντική διαφορά στο δείκτη διάθλασης της συνεχούς και ασυνεχούς φάσης. Ένα γαλάκτωμα είναι διαφανές, είτε όταν το μέγεθος των σταγονιδίων είναι της τάξης των nm και μάλιστα μικρότερο από το μήκος κύματος του ορατού φωτός (400-700 nm), είτε όταν το γαλάκτωμα έχει ρυθμιστεί έτσι, ώστε οι δύο φάσεις να έχουν τον ιδανικό δείκτη διάθλασης. Θεωρητικά αν επιτευχθεί η ανάμιξη μίας λιπαρής φάσης με μία υδατική η οποία έχει τον ίδιο δείκτη διάθλασης, αυτό θα οδηγήσει σε παρασκευή διαφανούς γαλακτώματος. Στην παρούσα μελέτη οι τιμές του δείκτη διάθλασης κυμάνθηκαν από 1.4652 έως 14676 (nD). Παρατηρήθηκε ότι τα νανογαλακτώματα με το μικρότερο δείκτη διάθλασης ήταν αυτά στα οποία είχε γίνει ενσωμάτωση βανιλικού οξέος στην υδατική φάση. Η μεγαλύτερη αναλογία γαλακτωματοποιητή (6%) παρουσίασε μεγαλύτερες τιμές δείκτη διάθλασης από τις αναλογίες γαλακτωματοποιητή 1%, 2% και 4% και από τα νανογαλακτώματα με μηδενική ποσότητα γαλακτωματοποιητή. Τα νανογαλακτώματα με γαλλικό και καφεϊκό οξύ παρουσίασαν τις μεγαλύτερες τιμές δείκτη διάθλασης, ενώ τα νανογαλακτώματα με βανιλικό οξύ τις μικρότερες τιμές. Τα νανογαλακτώματα με ασκορβικό οξύ, με συριγγικό οξύ, με κερσετίνη και τα νανογαλακτώματα χωρίς βιοδραστικό συστατικό παρουσίασαν ενδιάμεσες τιμές δείκτη διάθλασης. Από τις παραμέτρους που εξετάστηκαν (είδος και αναλογία γαλακτωματοποιητή, είδος βιοδραστικού συστατικού) η αναλογία του γαλακτωματοποιητή και το είδος του

βιοδραστικού συστατικού επηρέασαν σημαντικά το δείκτη διάθλασης των γαλακτωμάτων ($P < 0.05$).



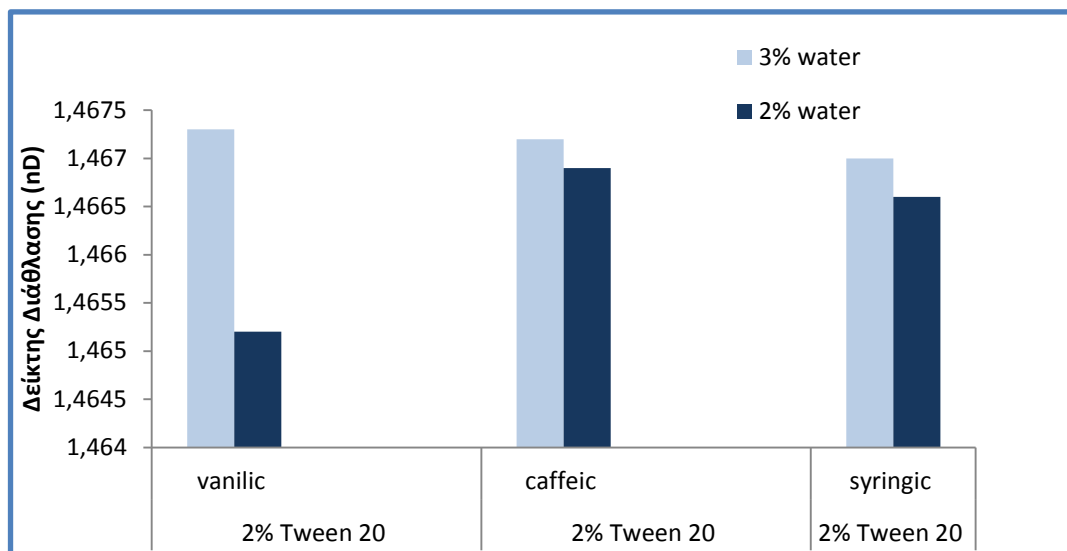
Διάγραμμα 4.25: Μεταβολή του δείκτη διάθλασης συναρτήσει του γαλακτωματοποιητή και του είδους του βιοδραστικού συστατικού.

Από τη δεύτερη σειρά πειραμάτων προέκυψε ότι τα παρασκευασμένα νανογαλακτώματα με Tween 40 έχουν μεγαλύτερες τιμές δείκτη διάθλασης και ότι ο δείκτης διάθλασης παρουσίασε αύξηση στα δείγματα με περιεκτικότητα βιοδραστικού συστατικού σε αναλογία 0,1% w/w. Τα δείγματα με γαλακτωματοποιητή Tween 40 έχουν μεγαλύτερες τιμές δείκτη διάθλασης σε σχέση με τα αντίστοιχα δείγματα με Tween 20. Από όλους τους παράγοντα που εξετάστηκαν (είδος και αναλογία γαλακτωματοποιητή και είδος και περιεκτικότητα βιοδραστικού) η αναλογία περιεκτικότητα συστατικού επηρέασε σημαντικά το δείκτη διάθλασης των γαλακτωμάτων ($P < 0.05$).



Διάγραμμα 4.26: Μεταβολή του δείκτη διάθλασης συναρτήσει του γαλακτωματοποιητή και της αναλογίας του βιοδραστικού συστατικού.

Στο παρακάτω διάγραμμα εξετάστηκε η επίδραση της υδατικής φάσης στο δείκτη διάθλασης των γαλακτωμάτων. Τα νανογαλακτώματα με 3% νερό εμφάνισαν μεγαλύτερες τιμές δείκτη διάθλασης από ότι τα νανογαλακτώματα με 2% νερό. Τη μικρότερη τιμή δείκτη διάθλασης παρουσίασε το γαλάκτωμα με 2% νερό και ενσωματωμένο βανιλικό οξύ. Από τις παραμέτρους που εξετάστηκαν (αναλογία υδατικής φάσης, είδος βιοδραστικού) καμία δεν επηρέασε σημαντικά την τιμή του δείκτη διάθλασης των γαλακτωμάτων.



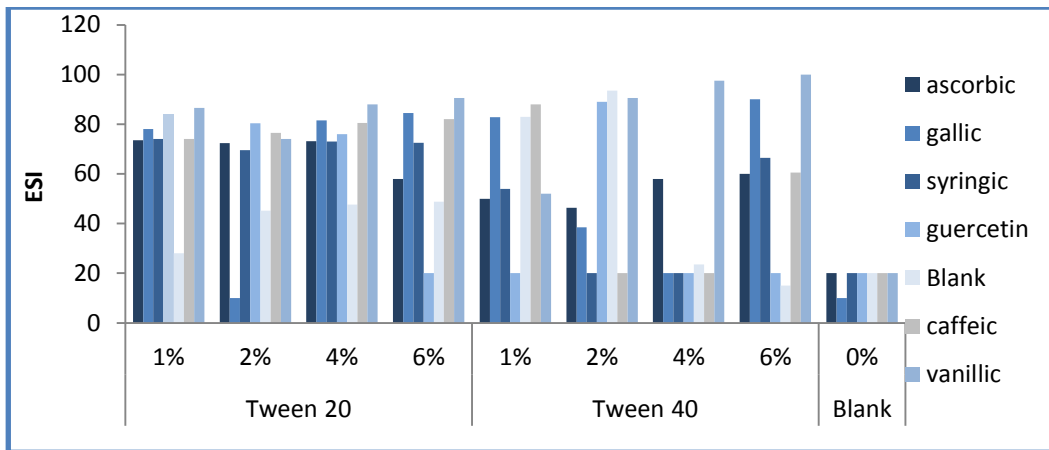
Διάγραμμα 4.27: Μεταβολή του δείκτη διάθλασης συναρτήσει της αναλογίας της υδατικής φάσης και του είδους του βιοδραστικού συστατικού.

4.7 Δείκτης Σταθερότητας (ESI)

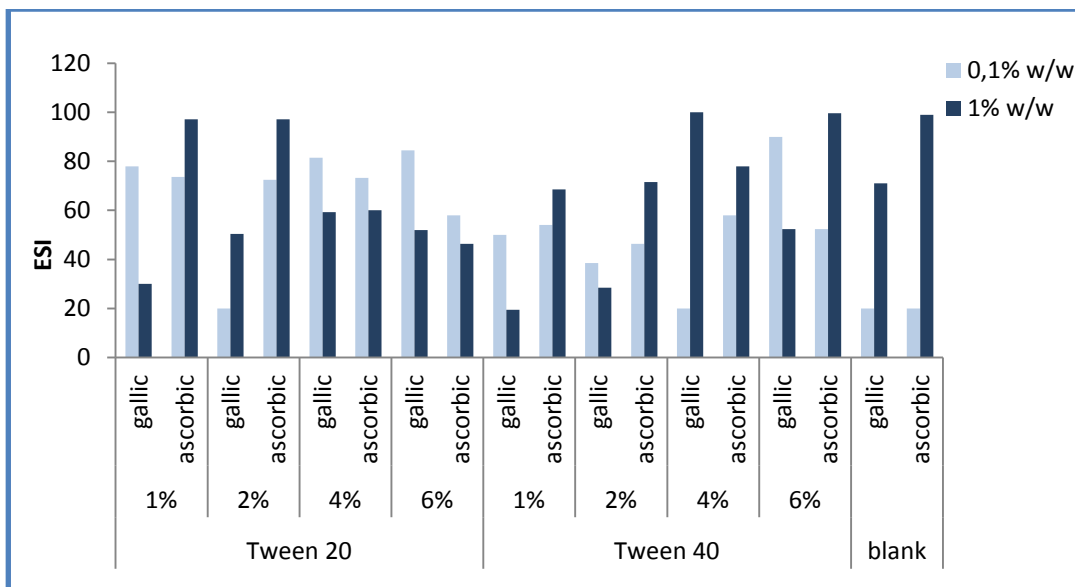
Τα εμπορικά νανογαλακτώματα είναι σημαντικό να έχουν μεγάλο χρόνο ζωής και σταθερά ποιοτικά χαρακτηριστικά. Για αυτό εξετάστηκε η σταθερότητα των συστημάτων και η επίδραση του χρόνου στο Δείκτη Σταθερότητας Γαλακτώματος (ESI).

Από τη στατιστική επεξεργασία των πειραμάτων προέκυψε ότι ο γαλακτωματοποιητής Tween 20 προσέφερε μεγαλύτερη σταθερότητα στα δείγματα από ότι ο γαλακτωματοποιητής Tween 40. Επιπλέον τα δείγματα χωρίς την προσθήκη γαλακτωματοποιητή είχαν χαμηλότερη σταθερότητα από ότι τα δείγματα με αναλογίες γαλακτωματοποιητή 1%, 2%, 4% και 6%. Τα νανογαλακτώματα με τη μέγιστη αναλογία (6%) γαλακτωματοποιητή παρουσίασαν τη μεγαλύτερη σταθερότητα. Η σταθερότητα των γαλακτωμάτων χωρίς την προσθήκη γαλακτωματοποιητή ήταν χαμηλή. Το είδος και η αναλογία του βιοδραστικού πρόσφερε επιπλέον σταθερότητα στα νανογαλακτώματα. Τη μεγαλύτερη σταθερότητα στα νανογαλακτώματα πρόσφεραν το βανιλικό και το γαλλικό οξύ. Τέλος τα δείγματα με αναλογία νερού 3% παρουσίασαν μικρότερο δείκτη σταθερότητας από αυτά με αναλογία υδατικής φάσης 2%. Από τις παραμέτρους που εξετάστηκαν (είδος και αναλογία γαλακτωματοποιητή, είδος και περιεκτικότητα του βιοδραστικού συστατικού), μόνο η αναλογία του γαλακτωματοποιητή επηρέασε σημαντικά το δείκτη σταθερότητας των γαλακτωμάτων ($P < 0.05$).

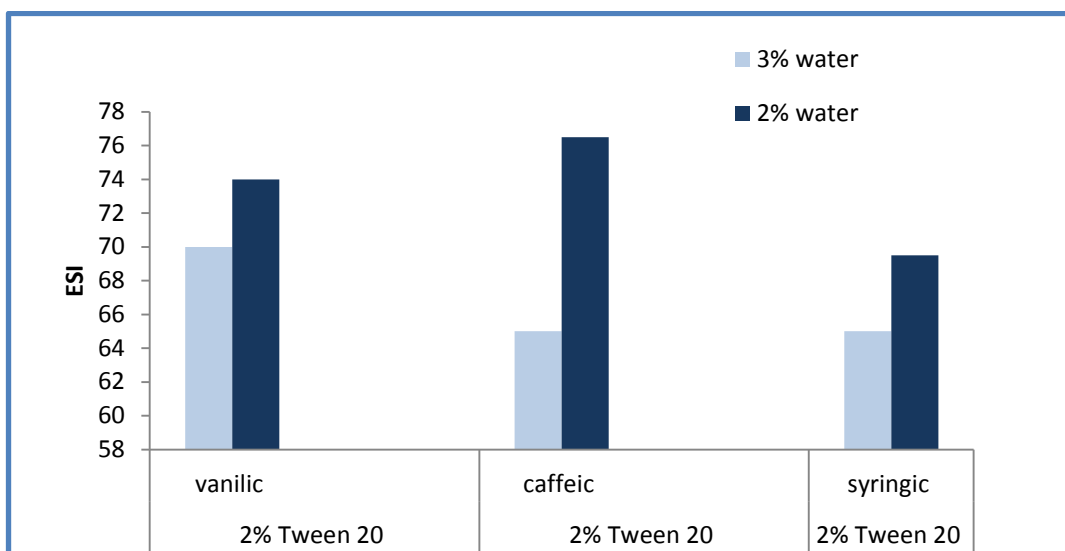
Παρακάτω, παρατίθενται τα διαγράμματα που παρουσιάζουν την επίδραση της αναλογίας του γαλακτωματοποιητή, του είδους του βιοδραστικού, της περιεκτικότητας του βιοδραστικού και της αναλογίας της υδατικής φάσης στα νανογαλακτώματα την 6^η εβδομάδα αποθήκευσής τους.



Διάγραμμα 4.28: Μεταβολή του δείκτη σταθερότητας συναρτήσει του γαλακτωματοποιητή και του είδους του βιοδραστικού συστατικού.



Διάγραμμα 4.29: Μεταβολή του δείκτη σταθερότητας συναρτήσει του γαλακτωματοποιητή και της αναλογίας του βιοδραστικού συστατικού.



Διάγραμμα 4.30: Μεταβολή του δείκτη σταθερότητας συναρτήσει της αναλογίας της υδατικής φάσης και του είδους του βιοδραστικού συστατικού.

Παρακάτω παρατίθενται οι πίνακες που εξετάζουν τη σταθερότητα των γαλακτωμάτων και τη μεταβολή του δείκτη σταθερότητας υπό την επίδραση του χρόνου.

Πίνακας 4.2: Μεταβολή σταθερότητας νανογαλακτωμάτων με ενσωματωμένο βανιλικό οξύ σε περιεκτικότητα 0,1% w/w.

Δείγματα	Δείκτης Σταθερότητας (ESI)						
	1 ^η εβδομάδα	2 ^η εβδομάδα	3 ^η εβδομάδα	4 ^η εβδομάδα	5 ^η εβδομάδα	6 ^η εβδομάδα	7 ^η εβδομάδα
2% νερό + βανιλικό οξύ 98% έλαιο	100	98,5	98,5	98,5	81	20	20
2% νερό + βανιλικό οξύ 96% έλαιο + 2% Tween 40	100	95	91	91	83,5	20	20
2% νερό + βανιλικό οξύ 96% έλαιο + 2% Tween 20	100	94	94	94	74	74	74
2% νερό + βανιλικό οξύ 97% έλαιο + 1% Tween 40	100	100	100	100	20	20	20
2% νερό + βανιλικό οξύ 97% έλαιο + 1% Tween 20	96,5	96,5	96	96	96	96	86,5
2% νερό + βανιλικό οξύ 94% έλαιο + 4% Tween 20	95	95	88	88	88	88	88

	1 ^η εβδομάδα	2 ^η εβδομάδα	3 ^η εβδομάδα	4 ^η εβδομάδα	5 ^η εβδομάδα	6 ^η εβδομάδα	7 ^η εβδομάδα
2% νερό + βανίλικό οξύ 92% έλαιο + 6% Tween 20	96,5	96,5	90,5	90,5	90,5	90,5	90,5
2% νερό + βανίλικό οξύ 94% έλαιο + 4% Tween 40	97,5	97,5	97,5	97,5	97,5	97,5	97,5
2% νερό + βανίλικό οξύ 92% έλαιο + 6% Tween 40	100	100	100	100	100	100	100

Πίνακας 4.3: Μεταβολή σταθερότητας νανογαλακτωμάτων με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ σε περιεκτικότητα 0,1% w/w.

Δείγματα	Δείκτης Σταθερότητας (ESI)						
	1 ^η εβδομάδα	2 ^η εβδομάδα	3 ^η εβδομάδα	4 ^η εβδομάδα	5 ^η εβδομάδα	6 ^η εβδομάδα	7 ^η εβδομάδα
2% νερό + καφεϊκό οξύ 8% έλαιο	98,5	20	20	20	20	20	20
2% νερό + καφεϊκό οξύ 97% έλαιο + 1% Tween 20	97	94	94	94	80,5	76,5	74
2% νερό + καφεϊκό οξύ 96% έλαιο + 2% Tween 20	93	90,5	90,5	90,5	83	76,5	76,5
2% νερό + καφεϊκό οξύ 94% έλαιο + 4% Tween 20	94	90,5	87	87	78	80,5	80,5
2% νερό + καφεϊκό οξύ 92% έλαιο + 6% Tween 20	83	83	83	83	83	82	82
2% νερό + καφεϊκό οξύ 97% έλαιο + 1% Tween 40	98	81	81	80	20	20	20
2% νερό + καφεϊκό οξύ 96% έλαιο + 2% Tween 40	97,5	97,5	97,5	73,5	20	20	20
2% νερό + καφεϊκό οξύ 94% έλαιο + 4% Tween 40	91,5	20	20	20	20	20	20
2% νερό + καφεϊκό οξύ 92% έλαιο + 6% Tween 40	96,5	86,5	86,5	86,5	63	63	60,5

Πίνακας 4.4: Μεταβολή σταθερότητας νανογαλακτωμάτων με ενσωματωμένο συριγγικό οξύ σε περιεκτικότητα 0,1% w/w.

Δείγματα	Δείκτης Σταθερότητας (ESI)						
	1 ^η εβδομάδα	2 ^η εβδομάδα	3 ^η εβδομάδα	4 ^η εβδομάδα	5 ^η εβδομάδα	6 ^η εβδομάδα	7 ^η εβδομάδα
2% νερό + συριγγικό οξύ 98% έλαιο	100	20	20	20	20	20	20
2% νερό + συριγγικό οξύ 97% έλαιο + 1% Tween 20	94,5	94,5	94	89	88,5	76,5	74
2% νερό + συριγγικό οξύ 96% έλαιο + 2% Tween 20	92	79,5	79,5	77	72	69,5	69,5
2% νερό + συριγγικό οξύ 94% έλαιο + 4% Tween 20	93	83	83	83	75,5	73	73
2% νερό + συριγγικό οξύ 92% έλαιο + 6% Tween 20	95,5	85,5	85,5	85,5	82,5	72,5	72,5
2% νερό συριγγικό οξύ 97% έλαιο + 1% Tween 40	97,5	93	93	78	78	68	52
2% νερό + συριγγικό οξύ 96% έλαιο + 2% Tween 40	20	20	20	20	20	20	20
2% νερό + συριγγικό οξύ 94% έλαιο + 4% Tween 40	20	20	20	20	20	20	20
2% νερό + συριγγικό οξύ 92% έλαιο + 6% Tween 40	92	92	92	72,5	66,6	66,5	66,5

Πίνακας 4.5α: Μεταβολή σταθερότητας νανογαλακτωμάτων με ενσωματωμένο γαλλικό οξύ σε περιεκτικότητα 0,1% w/w.

Δείγματα	Δείκτης Σταθερότητας (ESI)						
	1 ^η εβδομάδα	2 ^η εβδομάδα	3 ^η εβδομάδα	4 ^η εβδομάδα	5 ^η εβδομάδα	6 ^η εβδομάδα	7 ^η εβδομάδα
2% νερό + γαλλικό οξύ 98% έλαιο	20	20	20	20	20	20	20
2% νερ + γαλλικό οξύ 97% έλαιο + 1% Tween 20	95	94	94	86	81	78	78
2% νερό + γαλλικό οξύ 96% έλαιο + 2% Tween 20	93,5	20	20	20	20	20	20
2% νερό + γαλλικό οξύ 94% έλαιο + 4% Tween 20	90	87,5	87,5	85,5	85	83	81,5
2% νερό + γαλλικό οξύ 92% έλαιο + 6% Tween 20	94,5	89	89	84,5	84,5	84,5	84,5
2% νερό + γαλλικό οξύ 97% έλαιο + 1% Tween 40	100	90	80	77,5	65	60	50
2% νερό + γαλλικό οξύ 96% έλαιο + 2% Tween 40	100	98,5	78,5	68,5	68,5	48,5	38,5
2% νερό + γαλλικό οξύ 94% έλαιο + 4% Tween 40	100	90	85	20	20	20	20
2% νερό + γαλλικό οξύ 92% έλαιο + 6% Tween 40	100	90	90	90	90	90	90

Πίνακας 4.5β: Γαλακτώματα με ενσωματωμένο γαλλικό οξύ σε περιεκτικότητα 1% w/w.

Δείγματα	Δείκτης Σταθερότητας (ESI)						
	1 ^η εβδομάδα	2 ^η εβδομάδα	3 ^η εβδομάδα	4 ^η εβδομάδα	5 ^η εβδομάδα	6 ^η εβδομάδα	7 ^η εβδομάδα
2% νερό + γαλλικό οξύ 98% έλαιο	99	99	99	71	71	71	71
2% νερό + γαλλικό οξύ 97% έλαιο + 1% Tween 20	92	80	74	74	60	42	30
2% νερό + γαλλικό οξύ 96% έλαιο + 2% Tween 20	92,8	84,4	76,4	74,4	58,4	52,4	50,4
2% νερό + γαλλικό οξύ 94% έλαιο + 4% Tween 20	93,2	83,2	83,2	77,2	73,2	65,2	59,2
2% νερό + γαλλικό οξύ 92% έλαιο + 6% Tween 20	90,4	90,4	80	80	72	58	52
2% νερό + γαλλικό οξύ 97% έλαιο + 1% Tween 40	83,5	83,5	73,5	68,5	21	20	19,5
2% νερό + γαλλικό οξύ 96% έλαιο + 2% Tween 40	50	40	38,5	28,5	28,5	28,5	28,5
2% νερό + γαλλικό οξύ 94% έλαιο + 4% Tween 40	100	100	100	100	100	100	100
2% νερό + γαλλικό οξύ 92% έλαιο + 6% Tween 40	94,4	94,4	78	78	76,4	59,2	52,4

Πίνακας 4.6α: Μεταβολή σταθερότητας νανογαλακτωμάτων με ενσωματωμένο ασκορβικό οξύ σε περιεκτικότητα 1% w/w.

Δείγματα	Δείκτης Σταθερότητας (ESI)						
	1 ^η εβδομάδα	2 ^η εβδομάδα	3 ^η εβδομάδα	4 ^η εβδομάδα	5 ^η εβδομάδα	6 ^η εβδομάδα	7 ^η εβδομάδα
2% νερό + ασκορβικό οξύ 98% έλαιο	99	99	99	99	99	99	99
2% νερό + ασκορβικό οξύ 97% έλαιο + 1% Tween 20	98	98	98	97,2	97,2	97,2	97,2
2% νερό + ασκορβικό οξύ 96% έλαιο + 2% Tween 20	98	97,2	97,2	97,2	97,2	97,2	97,2
2% νερό + ασκορβικό οξύ 94% έλαιο + 4% Tween 20	92,4	86,4	86,4	80	70	62	60
2% νερό + ασκορβικό οξύ 92% έλαιο + 6% Tween 20	89,6	84,4	84,4	84,4	72,4	64,4	46,6
2% νερό + ασκορβικό οξύ 97% έλαιο + 1% Tween 40	88,5	81	81	68,5	68,5	68,5	68,5
2% νερό + ασκορβικό οξύ 96% έλαιο + 2% Tween 40	87,6	79,6	79,6	71,6	71,6	71,6	71,6
2% νερό + ασκορβικό οξύ 94% έλαιο + 4% Tween 40	98	98	98	78	78	78	78
2% νερό + ασκορβικό οξύ 92% έλαιο + 6% Tween 40	99,6	99,6	99,6	99,6	99,6	99,6	99,6

Πίνακας 4.6β: Μεταβολή σταθερότητας νανογαλακτωμάτων με ενσωματωμένο ασκορβικό οξύ σε περιεκτικότητα 0,1% w/ w.

Δείγματα	Δείκτης Σταθερότητας (ESI)						
	1 ^η εβδομάδα	2 ^η εβδομάδα	3 ^η εβδομάδα	4 ^η εβδομάδα	5 ^η εβδομάδα	6 ^η εβδομάδα	7 ^η εβδομάδα
2% νερό + ασκορβικό οξύ 98% έλαιο	83,6	83,6	74,8	70	70	20	20
2% νερό + ασκορβικό οξύ 97% έλαιο + 1% Tween 20	94	92	88	80,4	78,4	73,6	73,6
2% νερό + ασκορβικό οξύ 96% έλαιο + 2% Tween 20	94,4	91,6	91,6	84	80	72,4	72,4
2% νερό + ασκορβικό οξύ 94% έλαιο + 4% Tween 20	92	90	86	79,6	79,6	73,2	73,2
2% νερό + ασκορβικό οξύ 92% έλαιο + 6% Tween 20	92	84	62	58	58	58	58
2% νερό + ασκορβικό οξύ 97% έλαιο + 1% Tween 40	96,4	74	66	64	54	54	54
2% νερό + ασκορβικό οξύ 96% έλαιο + 2% Tween 40	94	66	64,6	64,4	64,4	46,4	46,4
2% νερό + ασκορβικό οξύ 94% έλαιο 4% Tween 40	94	82	58	58	58	58	58
2% νερό + ασκορβικό οξύ 92% έλαιο + 6% Tween 40	88	88	64	60	60	60	60

Πίνακας 4.7: Μεταβολή σταθερότητας νανογαλακτωμάτων με ενσωματωμένη κερσετίνη σε περιεκτικότητα 0,1% w/w.

Δείγματα	Δείκτης Σταθερότητας (ESI)						
	1 ^η εβδομάδα	2 ^η εβδομάδα	3 ^η εβδομάδα	4 ^η εβδομάδα	5 ^η εβδομάδα	6 ^η εβδομάδα	7 ^η εβδομάδα
2% νερό + κερσετίνη 98% έλαιο	20	20	20	20	20	20	20
2% νερό + κερσετίνη 97% έλαιο + 1% Tween 20	98	94	92	90	88	86,4	84
2% νερό + κερσετίνη 96% έλαιο + 2% Tween 20	95,2	94,4	90,4	96,4	84,4	82,4	80,4
2% νερό + κερσετίνη 94% έλαιο + 4% Tween 20	94	88	84	82	80	78,7	76
2% νερό + κερσετίνη 92% έλαιο + 6% Tween 20	90	86	82	78	68	76	74
2% νερό + κερσετίνη 97% έλαιο + 1% Tween 40	98	95	90,5	89	87	84	83
2% νερό + κερσετίνη 96% έλαιο + 2% Tween 40	95	92,5	92,5	91	89,5	89	89
2% νερό + κερσετίνη 94% έλαιο + 4% Tween 40	20	20	20	20	20	20	20
2% νερό + κερσετίνη 92% έλαιο + 6% Tween 40	20	20	20	20	20	20	20

Πίνακας 4.8: Μεταβολή σταθερότητας νανογαλακτωμάτων χωρίς ενσωματωμένο βιοδραστικό συστατικού του ελαιόλαδου (Blank).

Δείγματα	Δείκτης Σταθερότητας (ESI)						
	1 ^η εβδομάδα	2 ^η εβδομάδα	3 ^η εβδομάδα	4 ^η εβδομάδα	5 ^η εβδομάδα	6 ^η εβδομάδα	7 ^η εβδομάδα
2% νερό + 98% έλαιο	98,8	98,8	98,8	82,9	82,8	82,8	82,8
2% νερό + 97% έλαιο + 1% Tween 20	94	90	76	76	56	46	28
2% νερό + 96% έλαιο + 2% Tween 20	92,8	84	75,2	71,2	63,2	45,2	45,2
2% νερό + 94% έλαιο + 4% Tween 20	92,8	82,4	76,4	76,4	64,4	52,4	47,6
2% νερό + 92% έλαιο + 6% Tween 20	90	78	74	74	64	56	48,8
2% νερό + 97% έλαιο + 1% Tween 40	99	99	99	98,5	98,5	98,5	98,5
2% νερό + 96% έλαιο + 2% Tween 40	100	94,5	94,5	94,5	93,5	93,5	93,5
2% νερό + 94% έλαιο + 4% Tween 40	98,5	83,5	83,5	83,5	23,5	23,5	23,5
2% νερό + 92% έλαιο + 6% Tween 40	99	99	98,5	98,5	98,5	28,5	15

Πίνακας 4.9: Μεταβολή σταθερότητας νανογαλακτωμάτων με αναλογία υδατικής φάσης 3%.

4.8 Επιφανειακή τάση

Το νερό λόγω της μοριακής δομής του, έχει μεγάλη διεπιφανειακή τάση και έντονο ιοντικό προσανατολισμό ο οποίος οφείλεται στους δεσμούς υδρογόνου. Η μεγάλη διεπιφανειακή τάση του νερού παρεμποδίζει την γαλακτωματοποίηση. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση που έχουν τα ενδογενή βιοδραστικά συστατικά του ελαιόλαδου στην επιφανειακή τάση, μειώνοντας την επιφανειακή τάση του αέρα/νερού. Η προσθήκη όλων των εξεταζόμενων βιοδραστικών μείωσε την επιφανειακή τάση της υδατικής φάσης. Η προσθήκη του συριγγικού εμφάνισε τη μικρότερη επιφανειακή τάση 51,38 mN/m. Τη μικρότερη μεταβολή στην επιφανειακή τάση την παρουσίασε το διάλυμα νερό/γαλλικό οξύ. Οι τιμές για την επιφανειακή τάση κάθε δείγματος παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα. Κάθε διάλυμα περιέχει ποσότητα 0,1%w/w βιοδραστικού συστατικού διαλυτοποιημένο σε απιονισμένο νερό.

Πίνακας 4.10: Επιφανειακή τάση διαλύματος νερού/βιοδραστικών συστατικών.

Δείγματα Διαλυμάτων	Επιφανειακή τάση (mN/m)
Νερό/γαλλικό οξύ	57,773
Νερό/κερσετίνη	51,580
Νερό/βανιλικό οξύ	54,161
Νερό/ασκορβικό οξύ	54,876
Νερό/συριγγικό οξύ	53,581
Νερό/καφεϊκό οξύ	54,102
Νερό	62,774

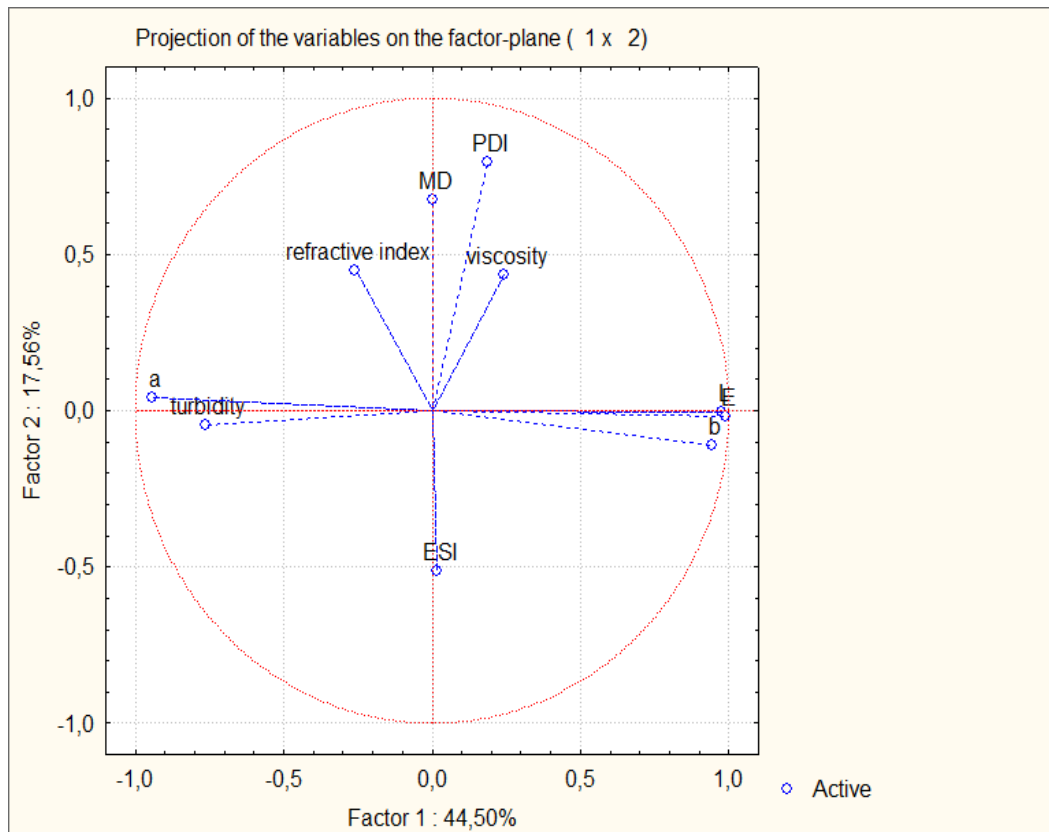
Δείγματα	Δείκτης Σταθερότητας (ESI)						
	1 ^η βδομάδα	2 ^η βδομάδα	3 ^η βδομάδα	4 ^η βδομάδα	5 ^η βδομάδα	6 ^η βδομάδα	7 ^η βδομάδα
3%νερό + βανιλικό οξύ 95% έλαιο + 2% Tween 20	87,5	85,5	82,5	78,6	72,5	70	70
3%νερό + καφεϊκό οξύ 95% έλαιο + 2% Tween 20	91	91	90	80	70	65	65
3%νερό + συριγγικό οξύ 95% έλαιο + 2% Tween 20	93	84	80	80	67	65	65

4.9 Ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA)

Μέρος Α

Προκειμένου να διευκρινιστεί η επίδραση των παραπάνω ιδιοτήτων στις ιδιότητες των μελετώμενων γαλακτωμάτων, τα πειραματικά δεδομένα επεξεργάστηκαν με ανάλυση κύριων συνιστωσών. Συγκεκριμένα, ελήφθησαν υπόψη οι εξής εξαρτημένες μεταβλητές (ιδιότητες): η θολότητα, το ιξώδες, το χρώμα, η μέση διάμετρος (MD), ο δείκτης πολυδιασποράς (PDI), ο δείκτης σταθερότητας (ESI) και ο δείκτης διάθλασης. Στα παρακάτω διαγράμματα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της ανάλυσης των κύριων συνιστωσών. Πραγματοποιήθηκαν δύο διαγράμματα ανάλυσης κύριων συνιστωσών, στο πρώτο υπάρχουν τρεις μεταβλητές (το είδος και η αναλογία του γαλακτωματοποιητή και το είδος του φαινολικού βιοδραστικού συστατικού) στο δεύτερο διάγραμμα οι μεταβλητές είναι τέσσερις (το είδος και η αναλογία του γαλακτωματοποιητή και το είδος και η περιεκτικότητα του φαινολικού βιοδραστικού συστατικού).

Στα παρακάτω διαγράμματα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της ανάλυσης των κύριων συνιστωσών:



Εικόνα 4.1: Γραφική απεικόνιση των ιδιοτήτων με την ανάλυση κύριων συνιστωσών για τα γαλακτώματα με βάση το διαφορετικό φαινολικό και με βάση το διαφορετικό τύπο γαλακτωματοποιητή και τη διαφορετική ποσότητα γαλακτωματοποιητή.

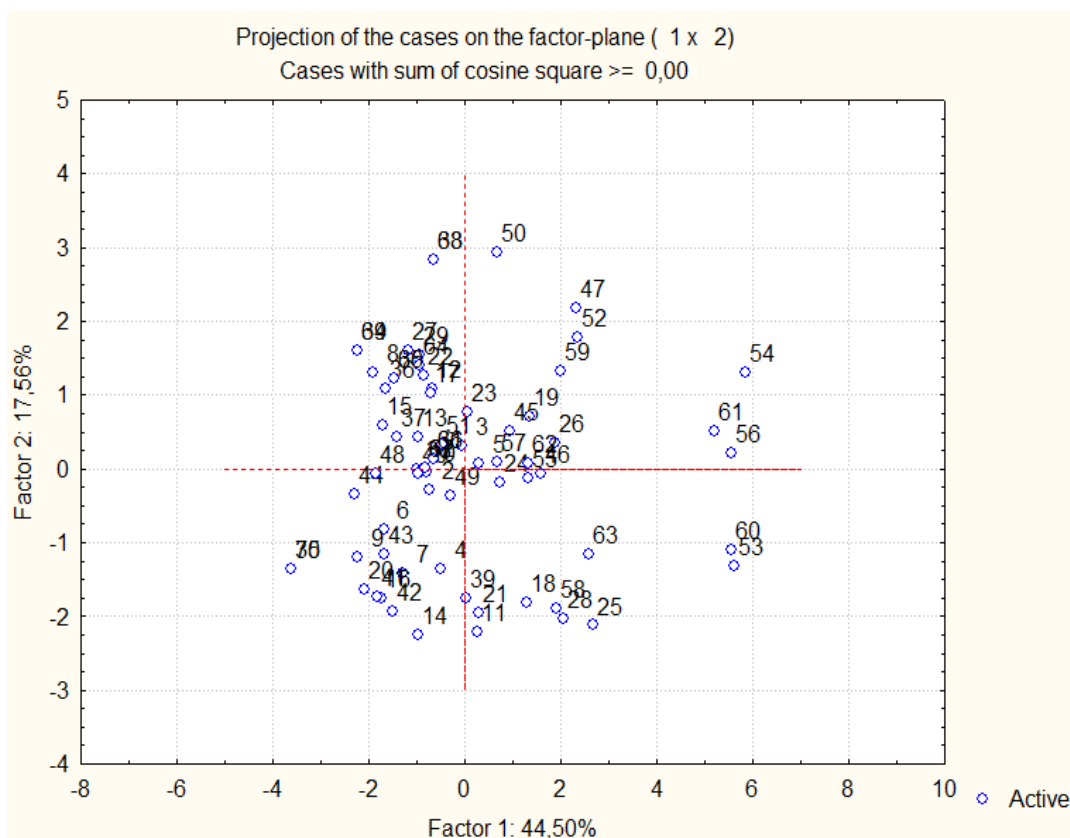
Συγκεκριμένα, στην παραπάνω σχήμα, οι τιμές των διανυσμάτων (ιδιότητες) δείχνουν ποιες είναι οι κύριες συνιστώσες για την επεξεργασία των αποτελεσμάτων, ενώ οι τιμές της συνολικής διακύμανσης δείχνουν πόσο σημαντικές είναι οι συγκεκριμένες συνιστώσες. Στην περίπτωση του πειράματος που μελετάται, δύο είναι οι συγκεκριμένες συνιστώσες με διακύμανση 44,50% και 17,56% και συνολική διακύμανση 62,06%.

Ακόμα, παρατίθενται όλες οι ιδιότητες εξετάστηκαν και περιγράφεται η συσχέτισή τους με τις δύο κύριες συνιστώσες, που έχουν τις μεγαλύτερες τιμές. Όσο πλησιάζει μία ιδιότητα τον κάθε άξονα που αντιπροσωπεύει την αντίστοιχη συνιστώσα, τόσο περισσότερο σχετίζεται με αυτήν.

Από την παραπάνω εικόνα 4.1 παρατηρείται ότι:

- Ο παράγοντας (δείκτης φωτεινότητας) L, ο δείκτης χρώματος E και ο παράγοντας b συσχετίζονται μεταξύ τους και έχουν θετική συνεισφορά στην πρώτη κύρια συνιστώσα.
- Ο παράγοντας a έχει μεγάλη αρνητική συνεισφορά στην πρώτη κύρια συνιστώσα.
- Ο δείκτης πολυδιασποράς (PDI) συσχετίζονται μεταξύ τους και έχουν μεγάλη θετική συνεισφορά στη δεύτερη κύρια συνιστώσα.

Παρακάτω παρατίθεται το διάγραμμα το οποίο απεικονίζει τις θέσεις των δειγμάτων σε σχέση με τις κύριες συνιστώσες.



Εικόνα 4.2: Γραφική απεικόνιση των δειγμάτων με ανάλυση κύριων συνιστωσών για τα γαλακτώματα.

Παρατηρώντας την παραπάνω εικόνα 4.2 προκύπτουν τα εξής συμπεράσματα:

- Τα δείγματα 5, 14, 16, 18, 19, 20, 23, 25, 26, 28, 45, 47, 57, 58 και το 62 έχουν μεγάλη τιμή δείκτη πολυδιασποράς (PDI). Δηλαδή τα νανογαλακτώματα με 2% Tween 20 και με ασκορβικό και βανιλικό οξύ, τα νανογαλακτώματα με 4% Tween 20 με βανιλικό και καφεϊκό οξύ, τα νανογαλακτώματα με 6% Tween 20 με ασκορβικό, βανιλικό με ασκορβικό και βανιλικό οξύ, τα νανογαλακτώματα με 2% Tween 40 με συριγγικό και καφεϊκό οξύ και τα νανογαλακτώματα με 6% Tween 40 με συριγγικό και ασκορβικό. Το αποτέλεσμα είναι αναμενόμενο εφόσον όσο πιο μεγάλη η τιμή της μέσης διάμετρου των σταγονιδίων, το νανογαλάκτωμα θα είναι ασταθέστερο. Τα γαλακτώματα με μεγάλη διασπορά παρουσιάζουν μεγαλύτερη αστάθεια.
- Συγκεκριμένα τα δείγματα 68 και 50 εμφανίζουν τη μεγαλύτερη τιμή μέσης διαμέτρου (MD) και όπως φάνηκε και από τον έλεγχο σταθερότητας των νανογαλακτωμάτων, αυτά τα δείγματα έχουν χαμηλό δείκτη σταθερότητας.
- Τα δείγματα 1, 3, 12, 13, 15, 17, 22, 27, 29, 31, 34, 35, 36, 37, 38, 51, 62, 64, 66 και 69 παρουσιάζουν τη μεγαλύτερη τιμή παράγοντα α . Τα δείγματα 31, 34 64 και 68 είναι τα νανογαλακτώματα χωρίς γαλακτωματοποιητή και με ενσωματωμένα τα εξής βιοδραστικά: συριγγικό οξύ, κερσετίνη, γαλλικό οξύ και καφεϊκό οξύ αντίστοιχα, εμφάνισαν μεγάλες τιμές παράγοντα α . Υψηλές τιμές εμφάνισαν και τα νανογαλακτώματα με 1% Tween 20 με ενσωματωμένο γαλλικό οξύ, 2% Tween 20 με ενσωματωμένο συριγγικό οξύ, 4% Tween 20 με ενσωματωμένο συριγγικό οξύ και γαλλικό οξύ και 6% Tween 20 με ενσωματωμένο γαλλικό οξύ και κερσετίνη. Τα νανογαλακτώματα με γαλακτωματοποιητή Tween 40 που εμφάνισαν

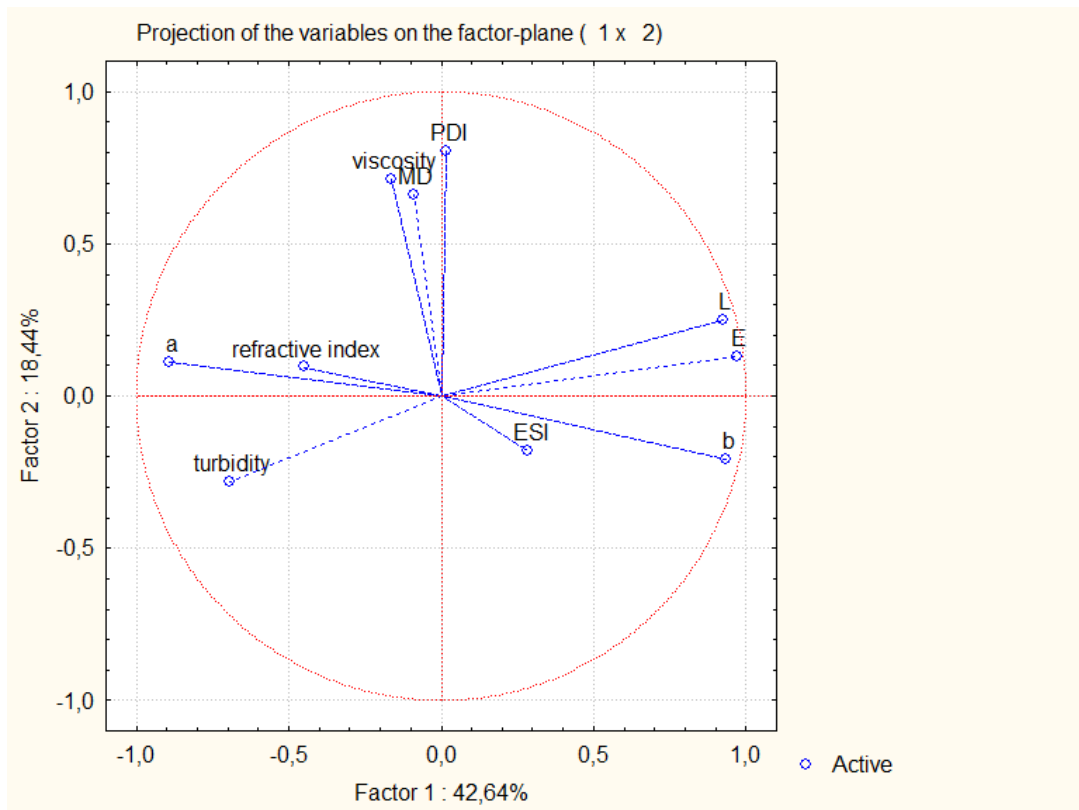
υψηλές τιμές παράγοντα a είναι τα εξής: 1% Tween 40 με ενσωματωμένο γαλλικό οξύ, 1% Tween 40 με ενσωματωμένο συριγγικό οξύ και 1% Tween 40 με ενσωματωμένο ασκορβικό οξύ, 4% Tween 40 με ενσωματωμένο ασκορβικό οξύ και 6% Tween 40 με ενσωματωμένο κερσετίνη.

- Τα δείγματα 18, 21, 25, 28, 53, 60 και 63 έχουν τις μεγαλύτερες τιμές παράγοντα b, παράγοντα L όπως και δείκτη χρώματος E. Τα νανογαλακτώματα με 4% Tween 20, 6% Tween 20, 4% Tween 4 και 6% Tween 20 χωρίς ενσωματωμένο κάποιο βιοδραστικό και με ενσωματωμένο βανιλικό οξύ εμφάνισαν μεγάλες τιμές παράγοντα b, παράγοντα L. Επιπλέον τα δείγματα με βανιλικό οξύ παρουσίασαν υψηλή σταθερότητα.

Μέρος Β

Στα παρακάτω διαγράμματα παρατίθενται τα αποτελέσματα από την ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA) για τα νανογαλακτώματα που παρασκευάστηκαν με διαφορετικές περιεκτικότητες βιοδραστικού συστατικού.

Στο διάγραμμα της εικόνας 4.3 παρατίθενται όλες οι μελετώμενες ιδιότητες και περιγράφεται η συσχέτισή τους με τις δύο κύριες συνιστώσες, που έχουν τις μεγαλύτερες βαθμολογήσεις. Στην περίπτωση του πειράματος που μελετάται, οι συγκεκριμένες συνιστώσες είναι δύο με διακύμανση 42,64% και 18,44% και συνολική διακύμανση 61,08%. Ακόμα, παρατίθενται όλες οι μελετώμενες ιδιότητες και περιγράφεται η συσχέτισή τους με τις δύο κύριες συνιστώσες, που έχουν τις μεγαλύτερες βαθμολογήσεις.

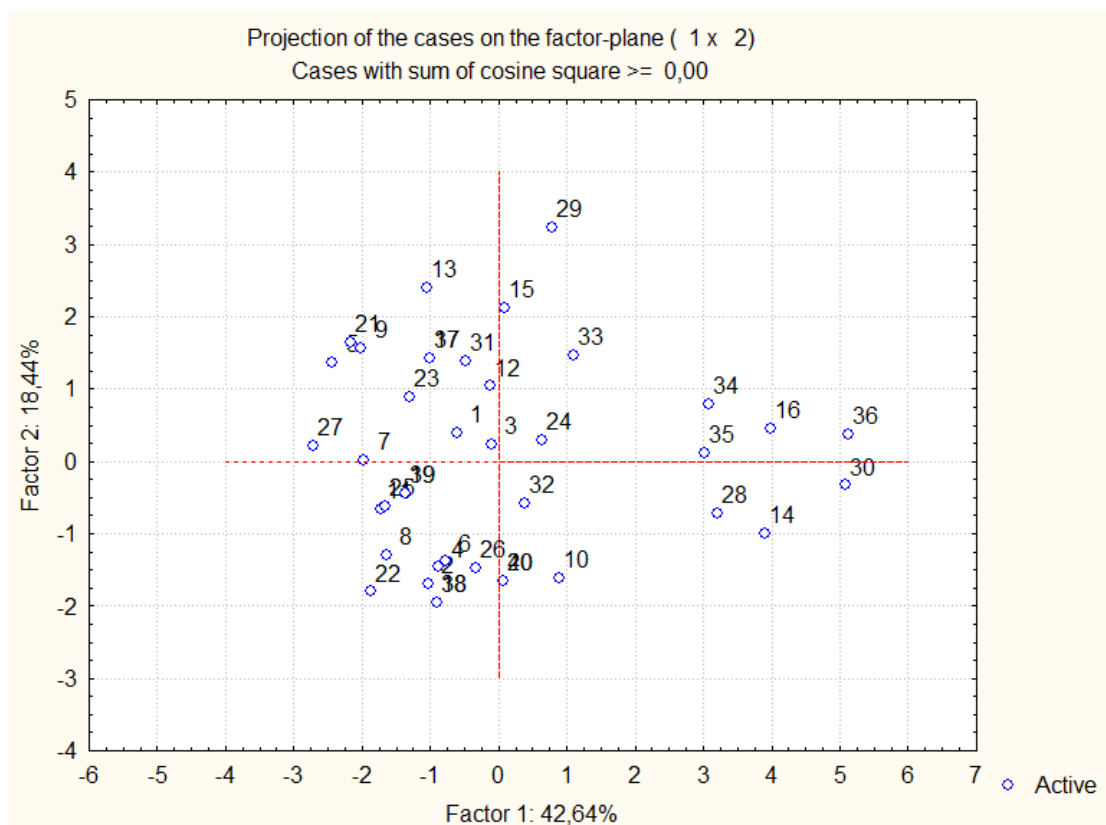


Εικόνα 4.3 Γραφική απεικόνιση των ιδιοτήτων με την ανάλυση κύριων συνιστωσών για τα νανογαλακτώματα με ενσωματωμένο ασκορβικό και γαλλικό οξύ σε διαφορετικές περιεκτικότητες.

Από την παραπάνω εικόνα προκύπτει ότι:

Ο παράγοντας (δείκτης φωτεινότητας) L, ο παράγοντας χρώματος b και ο δείκτης χρώματος E συσχετίζονται μεταξύ τους και έχουν μεγάλη θετική συνεισφορά στην πρώτη κύρια συνιστώσα. Ενώ ο δείκτης πολυδιασποράς (PDI) έχει μεγάλη θετική συνεισφορά στη δεύτερη κύρια συνιστώσα. Τέλος ο παράγοντας a έχει μεγάλη αρνητική συνεισφορά στην πρώτη κύρια συνιστώσα.

Ακόμη κατασκευάστηκε το διάγραμμα της εικόνας 4.4 όπου απεικονίζονται οι θέσεις των δειγμάτων σε σχέση με τις δύο κύριες συνιστώσες.



Εικόνα 4.4: Γραφική απεικόνιση των δειγμάτων με ανάλυση κύριων συνιστωσών για τα γαλακτώματα.

Από την παραπάνω εικόνα προκύπτουν τα εξής συμπεράσματα :

- Τα δείγματα 1, 3, 5, 7, 12, 13, 17, 21, 23, 27, 31, 37 παρουσιάζουν μεγάλες του παράγοντα a . Δηλαδή τα δείγμα με 1% Tween 20 και 2% γαλλικό οξύ περιεκτικότητας 0,1% w/w, 1% Tween 20 και 2% ασκορβικό οξύ περιεκτικότητας 0,1% w/w, 2% Tween 20 και 2% γαλλικό οξύ περιεκτικότητας 0,1% w/w, 4% Tween 20 και 2% γαλλικό οξύ περιεκτικότητας 1% w/w, 6% Tween 20 και 2% γαλλικό οξύ περιεκτικότητας 0,1% w/w, 1% Tween 20 και 2% γαλλικό οξύ περιεκτικότητας 0,1% w/w, 1% Tween 40 και 2% γαλλικό οξύ περιεκτικότητας 0,1% w/w, 1% Tween 40 και 2% ασκορβικό οξύ περιεκτικότητας 0,1% w/w, 2% Tween 40 και 2% ασκορβικό οξύ περιεκτικότητας 1% w/w, 2% Tween 40 και 2% ασκορβικό οξύ περιεκτικότητας 0,1% w/w, 4% Tween 40 και 2% ασκορβικό οξύ περιεκτικότητας 0,1% w/w και 0% Tween 40 και 2% ασκορβικό οξύ περιεκτικότητας 0,1% w/w έχουν τις μεγαλύτερες τιμές παράγοντα a .
- Τα δείγματα 16, 34, 35, 36 έχουν μεγάλη τιμή παράγοντα (δείκτη φωτεινότητας) L και δείκτη χρώματος E και τις μικρότερες τιμές παράγοντα a . Δηλαδή τα δείγματα 6% Tween 20 και 2% ασκορβικό οξύ περιεκτικότητας 1% w/w, 6% Tween 40 και 2% γαλλικό οξύ περιεκτικότητας 1% w/w, 6% Tween 40 και 2% ασκορβικό οξύ περιεκτικότητας 0,1% w/w και 6% Tween 40 και 2% ασκορβικό οξύ περιεκτικότητας 1% w/w.
- Τα δείγματα 14, 28, 30 παρουσιάζουν μεγάλες τιμές παράγοντα b . Δηλαδή τα δείγματα 6% Tween 20 με ενσωματωμένο γαλλικό οξύ περιεκτικότητας 1% w/w, 2% Tween 40 με ενσωματωμένο γαλλικό οξύ περιεκτικότητας 1% w/w και 4% Tween 40 με ενσωματωμένο γαλλικό οξύ περιεκτικότητας 1% w/w.
- Τα δείγματα 15, 24, 29, 33 παρουσιάζουν μεγάλες τιμές δείκτη πολυδιασποράς (PDI). Δηλαδή τα δείγματα 6% Tween 20 με ενσωματωμένο ασκορβικό οξύ περιεκτικότητας 1% w/w, 1% Tween 40 με ενσωματωμένο ασκορβικό οξύ περιεκτικότητας 1% w/w, 1% Tween 40 με

ενσωματωμένο ασκορβικό οξύ περιεκτικότητας 1% w/w και 2% Tween 40 με ενσωματωμένο ασκορβικό οξύ περιεκτικότητας 1% w/w. Τα δείγματα παρουσιάζουν μεγάλες τιμές δείκτη πολυδιασποράς (PDI), δηλαδή τα νανογαλακτώματα έχουν μεγάλο εύρος διασποράς σταγονιδίων στη συνεχή φάση, δηλαδή η γαλακτωματοποίηση δεν ήταν αποτελεσματική. Το αποτέλεσμα ήταν αναμενόμενο διότι για καλύτερη γαλακτωματοποίηση χρειάζεται περισσότερη ποσότητα γαλακτωματοποιητή.

Κεφάλαιο 6

Συμπεράσματα -Προτάσεις

Στην παρούσα εργασία εξετάστηκε η δυνατότητα σχηματισμού και οι φυσικοχημικές ιδιότητες w/o νανογαλακτωμάτων με βάση το ελαιόλαδο με ενσωμάτωση ενδογενών βιοδραστικών συστατικών του ελαιόλαδου με αμφιφιλικό χαρακτήρα, χρησιμοποιώντας μη-ιονικούς γαλακτωματοποιητές (Tween 20 και Tween 40) και χωρίς την προσθήκη συν-επιφανειοδραστικής ουσίας. Τα ενδογενή συστατικά του ελαιόλαδου που μελετήθηκαν ήταν: το γαλλικό οξύ, το καφεϊκό οξύ, η κερσετίνη, το συριγγικό οξύ, το βανιλικό οξύ και το ασκορβικό οξύ.

Από τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης συμπεραίνεται αρχικά ότι είναι δυνατόν να παρασκευαστούν σταθερά w/o νανογαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο χωρίς τη προσθήκη συν-επιφανειοδραστικής ουσίας. Από τα διαγράμματα φάσης προέκυψε επίσης ότι η συγκέντρωση του γαλακτωματοποιητή πρέπει γενικώς να είναι υψηλή, ώστε να παρέχεται ο αριθμός των επιφανειοδραστικών μορίων που απαιτούνται για τη σταθεροποίηση των μικροσταγονιδίων που παράγονται κατά την ομογενοποίηση του νανογαλακτώματος. Ωστόσο η συγκέντρωση γαλακτωματοποιητή μεγαλύτερης από 30% w/w είχε ως αποτέλεσμα τη δημιουργία παχύρρευστου μίγματος με μορφή πηκτής καθώς δεν ήταν δυνατή η περαιτέρω διαλυτοποίηση γαλακτωματοποιητή. Πιο συγκεκριμένα ο γαλακτωματοποιητής Tween 20 έδωσε καλύτερα αποτελέσματα σε σχέση με τον Tween 40. Όσον αφορά στα ενδογενή συστατικά το βανιλικό, το καφεϊκό και το συριγγικό οξύ διαφοροποιήθηκαν σημαντικά προσφέροντας μεγαλύτερο εύρος δυνατών συγκεντρώσεων για παρασκευή νανογαλακτωμάτων. Το ασκορβικό και το γαλλικό οξύ αύξησαν λιγότερο μεν το εύρος, ενώ η κερσετίνη είχε μηδαμινή έως αρνητική επίδραση στη δημιουργία νανογαλακτώματος. Η προσθήκη ενδογενών βιοδραστικών συστατικών του ελαιόλαδου σε κάθε περίπτωση είχε θετική επίδραση στη δυνατότητα παρασκευής νανογαλακτώματος. Εξαιρέση αποτελεί ο συνδυασμός του γαλακτωματοποιητή Tween 40 με την κερσετίνη. Η προσθήκη κερσετίνης επέδρασε αρνητικά στη γαλακτωματοποιητική ικανότητα του γαλακτωματοποιητή.

Στη συνέχεια, στο δεύτερο μέρος της μελέτης, παρασκευάστηκαν w/o νανογαλακτώματα προκαθορισμένων αναλογιών ελαίου-γαλακτωματοποιητή-νερού και πραγματοποιήθηκε ο προσδιορισμός των ιδιοτήτων τους (ιξώδες, παράγοντα L (φωτεινότητα), παράμετροι χρώματος a και b, συνολικό χρώμα E, θολότητα, μέση διάμετρος σταγονιδίων, δείκτης πολυδιασποράς, δείκτης σταθερότητας (ESI)). Επιπλέον μελετήθηκαν τα οφέλη που προσφέρουν τα ενδογενή βιοδραστικά συστατικά του ελαιόλαδου στα νανογαλακτώματα και πιο βιοδραστικό συστατικό ενίσχυσε τη σταθερότητα των νανογαλακτωμάτων. Τέλος μελετήθηκε η επίδραση που προκαλούν τα ενδογενή βιοδραστικά συστατικά του ελαιόλαδου στην επιφανειακή τάση του μίγματος νερό/βιοδραστικά συστατικά. Αποδείχτηκε ότι η προσθήκη ενδογενών βιοδραστικών συστατικών του ελαιόλαδου επηρέασε θετικά τις ιδιότητες των γαλακτωμάτων. Η μεγαλύτερη περιεκτικότητα βιοδραστικού συστατικού ενίσχυσε την γαλακτωματοποίηση με αποτέλεσμα την παρασκευή γαλακτωμάτων με μικρότερη διάμετρο σταγονιδίων. Προσδιορίστηκε επίσης, ότι με την χρήση γαλλικού οξέος και βανιλικού οξέος όπως και με την χρήση γαλακτωματοποιητή Tween 20 παρασκευάστηκαν σταθερότερα γαλακτώματα.

Πιο συγκεκριμένα το είδος του γαλακτωματοποιητή δεν επηρέασε τη σταθερότητα των γαλακτωμάτων, όμως, επηρέασε σημαντικά την τιμή της θολότητας των γαλακτωμάτων. Η

σταθερότητα των γαλακτωμάτων χωρίς την προσθήκη γαλακτωματοποιητή ήταν χαμηλή. Όμως, η προσθήκη φαινολικών συστατικών ενίσχυσε τη σταθερότητά τους - μεγαλύτερη σταθερότητα στα γαλακτώματα πρόσφεραν το βανιλικό και το γαλλικό οξύ. Αξίζει να σημειωθεί ότι τα νανογαλακτώματα με αναλογία υδατικής φάσης 3% είχαν μικρότερη σταθερότητα και ότι τα δείγματα με γαλακτωματοποιητή Tween 20 παρουσίασαν μεγαλύτερη σταθερότητα. Τα νανογαλακτώματα με τη μέγιστη αναλογία (6%) γαλακτωματοποιητή παρουσίασαν τη μεγαλύτερη σταθερότητα ενώ τις μικρότερες τιμές θολότητας. Η τιμή της θολότητας των νανογαλακτωμάτων μειώνεται με την αύξηση της ποσότητας του γαλακτωματοποιητή. Αντιθέτως η τιμή του δείκτη διάθλασης αυξάνεται με την αύξηση της ποσότητας του γαλακτωματοποιητή. Η αναλογία και το είδος του γαλακτωματοποιητή, η περιεκτικότητα του βιοδραστικού και η αναλογία του νερού επηρεάζει σημαντικά την τιμή της θολότητας των γαλακτωμάτων. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον έχει το γεγονός ότι τα δείγματα που περιείχαν 1% w/w βιοδραστικό συστατικό στην υδατική τους φάση παρουσίασαν σημαντικά χαμηλότερες τιμές θολότητας σε σχέση με εκείνα που περιείχαν 0,1% w/w βιοδραστικό συστατικό. Η τιμή του δείκτη διάθλασης επηρεάζεται σημαντικά από το είδος του βιοδραστικού και την αναλογία του γαλακτωματοποιητή. Παρατηρήθηκε ότι τα νανογαλακτώματα με το μικρότερο δείκτη διάθλασης, ήταν αυτά στα οποία είχε γίνει ενσωμάτωση βανιλικού οξέος στην υδατική φάση. Οι χαμηλότερες τιμές θολότητας παρουσιάστηκαν στα δείγματα που παρασκευάστηκαν με το γαλακτωματοποιητή Tween 40. Επιπλέον, προσδιορίστηκε ότι το είδος του φαινολικού και η περιεκτικότητά του επηρεάζει την τιμή δείκτη πολυδιασποράς (PDI), ενώ το είδος του γαλακτωματοποιητή και η αναλογία της υδατικής φάσης δεν την επηρεάζει. Τα γαλακτώματα που είχαν ενσωματωμένο ασκορβικό οξύ είχαν τη μικρότερη τιμή δείκτη πολυδιασποράς (PDI). Η επεξεργασία των πειραμάτων έδειξε ότι τα νανογαλακτώματα με συριγγικό, γαλλικό και καφεϊκό οξύ παρουσίασαν τις μεγαλύτερες τιμές PDI, ενώ τα νανογαλακτώματα χωρίς ενσωματωμένα βιοδραστικά και τα νανογαλακτώματα με ενσωματωμένο ασκορβικό οξύ εμφάνισαν τις μικρότερες τιμές δείκτη πολυδιασποράς. Επιπλέον, τα νανογαλακτώματα με τη μικρότερη περιεκτικότητα σε βιοδραστικό συστατικό (0,1% w/w) εμφάνισαν τη μεγαλύτερη τιμή δείκτη πολυδιασποράς, σε αντίθεση με τα νανογαλακτώματα με περιεκτικότητα βιοδραστικού 1% w/w, τα οποία είχαν μικρότερες τιμές PDI. Αντιθέτως, η μέση διάμετρο σταγονιδίων (MD) δεν επηρεάζεται ούτε από το είδος και την περιεκτικότητα του φαινολικού βιοδραστικού συστατικού, αλλά ούτε από το είδος και την αναλογία του γαλακτωματοποιητή. Τα νανογαλακτώματα με γαλακτωματοποιητή Tween 40 σε αναλογία 4% και με ενσωματωμένο γαλλικό οξύ παρουσίασαν τις μεγαλύτερες τιμές μέσης διαμέτρου σταγονιδίων (MD). Τις μικρότερες τιμές τις εμφάνισαν τα δείγματα με γαλακτωματοποιητή Tween 40 με ενσωματωμένο ασκορβικό οξύ και με βανιλικό οξύ χωρίς προσθήκη γαλακτωματοποιητή. Αξίζει να σημειωθεί ότι τα γαλακτώματα χωρίς ενσωματωμένο βιοδραστικό συστατικό παρουσίασαν μικρές τιμές μέσης διαμέτρου σταγονιδίων (MD). Τα νανογαλακτώματα με 6% Tween 20 και με 4% Tween 40 με ενσωματωμένο γαλλικό οξύ σε περιεκτικότητα 0,1% w/w έχουν τις μεγαλύτερες μέσες διαμέτρους (MD), ενώ τα νανογαλακτώματα χωρίς γαλακτωματοποιητή και ενσωματωμένο ασκορβικό οξύ τη μικρότερη μέση διάμετρο (MD). Συγκρίνοντας τα διαγράμματα του δείκτη πολυδιασποράς (PDI) και της μέσης διαμέτρου (MD) η μεταβολή στις τιμές τους για κάθε δείγμα παρουσίασε παρόμοια συμπεριφορά.

Όσον αφορά τη μεταβολή του ιξώδους η αναλογία και το είδος του γαλακτωματοποιητή, το είδος και η περιεκτικότητα του βιοδραστικού συστατικού επηρέασαν σημαντικά την τιμή του. Οι μεγαλύτερες τιμές ιξώδους παρατηρήθηκαν στην περίπτωση του γαλακτωματοποιητή Tween 20 και κυρίως για το νανογαλάκτωμα με αναλογία 6% Tween 20. Επιπλέον, παρατηρήθηκε ότι η προσθήκη του καφεϊκού οξέος και του συριγγικού οξέος αυξάνουν την τιμή του ιξώδους των γαλακτωμάτων, ενώ η αναλογία της υδατικής φάσης δεν επηρέασε την τιμή του ιξώδους. Τα νανογαλακτώματα με τη μικρότερη περιεκτικότητα βιοδραστικού (0,1% w/w) εμφάνισαν μεγαλύτερη τιμή ιξώδους, από τα αντίστοιχα με τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα βιοδραστικού (1% w/w).

Τέλος οι παράγοντες χρώματος a και b, ο δείκτης χρώματος E και ο παράγοντας L επηρεάστηκαν σημαντικά από το είδος και από την αναλογία του γαλακτωματοποιητή αλλά και από το είδος του βιοδραστικού συστατικού. Η αναλογία του βιοδραστικού συστατικού και η αναλογία της υδατικής φάσης δεν επηρέασαν σημαντικά την τιμή του παράγοντα L των γαλακτωμάτων. Αντιθέτως ο παράγοντας χρώματος b και ο δείκτης χρώματος E επηρεάζονται σημαντικά και από την αναλογία του βιοδραστικού συστατικού και την αναλογία της υδατικής φάσης. Τα νανογαλακτώματα με βανιλικό οξύ και καφεϊκό οξύ παρουσίασαν τις μεγαλύτερες τιμές παράγοντα L, ενώ αυτά με γαλλικό οξύ και κερσετίνη τις μικρότερες τιμές παράγοντα L. Τη μεγαλύτερη τιμή παράγοντα L την εμφάνισε το νανογαλακτώμα με 4% Tween 40 με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ. Γενικά τα νανογαλακτώματα με γαλακτωματοποιητή Tween 40 εμφάνισαν τις μεγαλύτερες τιμές παράγοντα χρώματος a και b, του δείκτη χρώματος E και του παράγοντα L. Αυξανόμενη της ποσότητας του γαλακτωματοποιητή αυξάνεται και η τιμή του παράγοντα L και του παράγοντα χρώματος a και b, του δείκτη χρώματος E. Τα δείγματα με βανιλικό οξύ και καφεϊκό οξύ παρουσίασαν τις μικρότερες τιμές παράγοντα a, ενώ τα δείγματα με γαλλικό οξύ, ασκορβικό οξύ και κερσετίνη τις μεγαλύτερες τιμές παράγοντα a. Επίσης παρατηρήθηκε ότι τα δείγματα με μεγαλύτερη περιεκτικότητα βιοδραστικού έχουν μεγαλύτερη τιμή παράγοντα a κατά απόλυτη τιμή από τα δείγματα με μικρότερη περιεκτικότητα βιοδραστικού συστατικού. Ο παράγοντας b είχε μεγαλύτερες τιμές για τις αναλογίες γαλακτωματοποιητή (4% και 6%). Τα νανογαλακτώματα με ενσωματωμένο βανιλικό και καφεϊκό οξύ, όπως επίσης και τα νανογαλακτώματα χωρίς ενσωματωμένο βιοδραστικό, παρουσίασαν τις μεγαλύτερες τιμές παράγοντα b, ενώ τα δείγματα με γαλλικό, ασκορβικό, συριγγικό οξύ και κερσετίνη παρουσίασαν τις μικρότερες τιμές παράγοντα b. Όπως παρατηρήθηκε και στον παράγοντα a, έτσι και στον παράγοντα b τα δείγματα με μεγαλύτερη περιεκτικότητα βιοδραστικού έχουν μεγαλύτερη τιμή παράγοντα b. Από τα πειράματα προέκυψε επίσης ότι ο γαλακτωματοποιητής Tween 40 παρουσίασε τις μεγαλύτερες τιμές δείκτη χρώματος E σε αντίθεση με το γαλακτωματοποιητή Tween 20. Και οι μεγαλύτερες αναλογίες γαλακτωματοποιητή (4% και 6%) παρουσίασαν τις μεγαλύτερες τιμές δείκτη χρώματος E, σε σύγκριση με τις αναλογίες γαλακτωματοποιητή 1% και 2% και τα νανογαλακτώματα χωρίς γαλακτωματοποιητή. Επιπλέον, τα νανογαλακτώματα με βανιλικό οξύ, συριγγικό και καφεϊκό οξύ παρουσίασαν τις μεγαλύτερες τιμές δείκτη χρώματος E, ενώ τα νανογαλακτώματα με γαλλικό οξύ, ασκορβικό οξύ και κερσετίνη τις μικρότερες τιμές δείκτη χρώματος E. Τέλος τα νανογαλακτώματα με τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα βιοδραστικού συστατικού παρουσίασαν μεγαλύτερες τιμές δείκτη χρώματος E.

Η προσθήκη όλων των εξεταζόμενων βιοδραστικών μείωσε την επιφανειακή τάση της υδατικής φάσης. Η προσθήκη του συριγγικού εμφάνισε τη μικρότερη επιφανειακή τάση 51,38 mN/m.

Καταλήγοντας, ωφέλιμο θα ήταν να πραγματοποιηθούν περισσότερες έρευνες για την παροχή πληροφοριών και την καλύτερη κατανόηση των φαινομένων που εμπλέκονται στη διεπιφάνεια μεταξύ ελαίου, νερού, φαινολικών/αντιοξειδωτικών συστατικών και γαλακτωματοποιητών. Επιπλέον, μελέτες θα πρέπει να διεξαχθούν στο μέλλον για τη χρήση περισσότερων γνωστών βιοδραστικών συστατικών και μελέτες για την αξιολόγηση της οξειδωτικής σταθερότητας αυτών των βιοδραστικών συστατικών σε διαφορετικές συνθήκες αποθήκευσης. Περισσότερες πληροφορίες σχετικά με το ρόλο της υδατικής φάσης μπορούν να συγκεντρωθούν με τη μελέτη της διαδικασίας οξείδωσης και την εξέλιξη της κατανομής μεγέθους των σταγονιδίων του ελαιόλαδου που γαλακτωματοποιήθηκε με χρήση διαφορετικών συγκεντρώσεων νερού. Τέλος, περισσότερες έρευνες πρέπει να διεξαχθούν για τη μελέτη της σταθερότητας του ελαιόλαδου όταν υπάρχει σε μορφή σταγονιδίων διεσπασμένα σε ένα σύνθετο υδατικό μέσο.

- Alpaslan and Karaali, The interesterification-induced changes in olive oil and palm oil blends, *Food Chemistry*, 61, 301–305, 1998
- Antoun, Tsimidou, Gourmet olive oils: stability and consumer acceptability studies, *Grasas Aceites*, 30, 131–136, 1997
- Beauchamp, Keast, Morel, Ibuprofen-like activity in extra virgin olive oil, *Nature*, 45–46, 2005
- Bera, Ojha, Kumar, Manda, Water solubilization capacity, interfacial compositions and thermodynamic parameters of anionic and cationic microemulsions, *Colloids and Surfaces A*, 404, 70-77, 2012
- Bianco, Mazzei, Melchioni, Scarpati, Romeo and Uccella, Microcomponents of Olive Oil. Part II: Digalactosyldiacyl Glycerols from *Olea europaea*, *Food Chemistry*, 62, 343–346, 1998
- Boskou, Culinary Applications of Olive Oil—Minor Constituents and Cooking, Chapter 1,3, 1996
- Bremer, Bijsterbosch, Walstra, Vliet, Formation, properties and fractal structure of particle gels, *Advances in Colloid and Interface Science*, 46, 117, 1993
- Bremer, Fractal aggregation in relation to formation and properties of particle gels, The Netherlands, 1992
- Chaiyasit, Elias, McClements, Decker, Role of physical structures in bulk oils on lipid oxidation, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47, 299–317, 2007.
- Chanamai, McClements, Creaming stability of flocculated monodisperse oil-in-water emulsions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 225, 214-218, 2007
- Colquhoun, Hicks, Reed, Phenolic content of olive oil is reduced in extraction and refining, *Asia Pacific J Clin Nutr*, 5, 105–107, 1996
- Conde, Gordon, Moure, Dominguez, Effects of caffeic acid and bovine serum albumin in reducing the rate of development of rancidity in oil-in-water and water-in-oil emulsions, *Food Chemistry*, 129, 1652-1659, 2013
- Das, Ghosh, Concentrated emulsions—investigation of polydispersity and droplet distortion and their effect on volume fraction and interfacial area. *Langmuir*, chap.6, 2009
- Das, Ghosh, Concentrated emulsions—investigation of polydispersity and droplet distortion and their effect on volume fraction and interfacial area, chap.6, 1990
- Dayang Norulfairuz Abang Zaidel, Nur Shakira Sahat, Yanti Maslina Mohd Jusoh, Encapsulation of Anthocyanin from Roselle and Red Cabbage for Stabilization of Water-in-Oil Emulsion, *Agriculture and Agricultural Science Procedia* 2, 82-89, 2014
- Di Giovacchino, Sestili, and Vincenzo, Influence of Olive Processing on Virgin Olive Oil Quality, *Sci. Technol.* 104, 587–601, 2002
- Dickinson, Stainsby, *Colloids in Foods*, Elsevier, London, UK, 1982
- Fereidoon Shahidi, Chi-Tang Ho, Phenolics in Food and Natural Health Products: An Overview Department of Biochemistry, Memorial University of New Brunswick, NJ 08901-8520 Chapter 1
- Frankel, *Lipid Oxidation*, The Oily Press, Dundee, Scotland, 1998
- Garti, Bisperink, Double emulsions: progress and applications. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 657-667, 1998
- Garti, Double emulsions stabilized with hybrids of natural polymers for entrapment and slow release of active matters. *Advances in Colloid and Interface Science*, 108-109, 29-41, 2004
- Georgalaki, Bachman, Sotiroudou, Xenakis, Porzel and Feussner, Characterization of Lipoxygenase from Virgin Olive Oil and Oil Bodies of Olive Endosperms, *Fett/Lipid* 100:554–560, 1998
- Georgalaki, Sotiroudou, Xenakis A. The presence of oxidizing enzyme activities in virgin olive oil. *J Amer Oil Chem Soc*, 75:155, 1998
- Gutteridge, Halliwell, *Antioxidants in nutrition, health, and disease*. Oxford, United Kingdom: Oxford University Press, 1994.
- Hidalgo, Alaiz, Zamora, Determination of peptides and proteins in fats and oils, *Analytical Chemistry*, 73, 698–702, 2001
- Hidalgo, Alaiz, Zamora, Low molecule weight polypeptides in virgin and refined olive oils, *Analytical Chemistry*, 79, 685, 2002
- Hidalgo, Zamora, Peptides and proteins in edible oils: stability, allergenicity, and new processing trends. *Trends Food Sci Technol*, 17, 56–63, 2006

- Hiemenz, Rajagopalan, Principles of Colloid and Surface Chemistry, 3rd ed., Marcel Dekker, New York, NY, 1999
- Jayasinghe, Gotoh, Wada, Pro-oxidant/antioxidant behaviours of ascorbic acid, tocopherol, and plant extracts in n-3 highly unsaturated fatty acid rich oil-in-water emulsions, *Food Chemistry*, 141, 3077-3084, 2013
- Klurfeld, Kritchevsky, Isolation and quantitation of lectins from vegetable oils. *Lipids*, 22:667, 1987
- Kralova, I., Sjoblom, Surfactants used in food industry: A review, *Journal of Dispersion Science and Technology*, 30, 1363-1383, 2009
- Krog, Sparso, Food Emulsifiers: Their chemical and physical properties, in *Food Emulsions*, 4th ed., Friberg, S., Larsson, K., Sjoblom, J., Eds., Marcel Dekker, New York, NY, Chap. 2, 2004
- Mattia, Sacchetti, Mastrocola, Pittia, Effect of phenolic antioxidants on the dispersion state and chemical stability of olive oil O/W emulsions, *Food Research International*, 42, 1163-1170, 2009
- Mattia, Sacchetti, Mastrocola, Surface properties of phenolic compounds and their influence on the dispersion degree and oxidative stability of olive oil O/W emulsions, *Food Hydrocolloids*, 24, 652-658, 2009
- McClements, Decker, Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: Impact of molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems, *Journal of Food Science*, 65, 1270-1282, 2000
- McClements, *Food Emulsions Principles, Practice, and Techniques*, Second Edition, Chap. 1,4,6, 2005
- Mensik, Katan, Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins, a meta-analysis of 27 trials. *Arterioscler Thromb*, 12-29, 1992
- Papadimitriou, Sotiroudis, Xenakis, Sofikiti, Stavyiannoudaki, Chaniotakis, Oxidative stability and radical scavenging activity of extra virgin olive oils: an electron paramagnetic resonance spectroscopy study, *Analitica Chimica Acta*, 573-574:453, 2006
- Parish, Boos, Li, The chemistry of waxes and sterol, *Food lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology*, p. 103-31, 2002.
- Pinfield, Dickinson, Povey, Modeling of combined creaming and flocculation in emulsions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 186, 80, 1997
- Rangel, Platt, Thomson, Ultrastructural aspects of the cytoplasmic origin and accumulation of oil in olive fruit (*olea europaea*), *Physiologia Plantarum*, 101, 109-114, 1997
- Reische, Lillard, Eitenmiller, Antioxidants. In *Food lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology*, p. 489-516, 2002
- Robins, Hibberd, Emulsion flocculation and creaming, in *Modern Aspects of Emulsion Science*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, Chap. 4, 1998
- Ross, Sanchez, Millan and Murphy, Differential Presence of Oleosins in Oleogenic Seed, 1993
- Sotiroudis, Kyrtopoulos, Xenakis, and Sotiroudis, Chemopreventive Potential of Minor Components of Olive Oil Against Cancer, *Food Sci.* 15:169-185, 2003
- Sotiroudis, Papadimitriou, Xenakis, Partial purification and characterization of peroxidase from olives (*Olea europaea* cv. Koroneiki). *Eur Food Res Technol*, 228:487, 2009
- Stark, Madar, Olive Oil as a Functional Food: Epidemiology and Nutritional Approaches, *Nutrition Reviews*, 60 (6), 170-176, 2002.
- Thiago Claus, Maruyama, Palombini, Montanher, Bonaf, Makoto Matsushita, Visentainer, Chemical characterization and use of artichoke parts for protection from oxidative stress in canola oil State University of Maringa, 2014
- Visioli, Poli, Galli, Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil, *Medicinal Research Reviews*, 22 (1), 65-75. 2002
- Walstra, Fat crystallization, in *Food Structure and Behaviour*, Blanshard, J.M.V., Lillford, P., Eds., Academic Press, London, UK, Chap. 5, 1987
- Walstra, Fennema, Marcel Dekker, Disperse systems: Basic considerations, in *Food Chemistry*, 1996
- Walstra, *Physical Chemistry of Foods*, Marcel Dekker, New York, NY, 2003
- Waraho, Cardenia, Nishino, Seneviratne, Rodriguez-Estrada, McClements, Decker, Antioxidant effects of mono- and diacylglycerols in non-stripped and stripped soybean oil-in-water emulsions, *Food Research International*, 48 (2), 353-358, 2012
- Xenakis, Papadimitriou, Sotiroudis, Institute of Biological Research & Biotechnology, Colloidal structures in natural oils, Athens, Greece, 2009

Παράρτημα

Στατιστική επεξεργασία των ιδιοτήτων των γαλακτωμάτων με ANOVA με τη βοήθεια του προγράμματος STATISTICA 7.

Πίνακας 1: Αποτελέσματα Ανοva για τη θολότητα.

Univariate Tests of Significance for turbidity (Spreadsheet Maria 3 metablites)						
Sigma-restricted parameterization						
Effective hypothesis decomposition						
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p	
Intercept	204403238	1	204403238	1850,149	0,000000	
Emuls Code	6704080	1	6704080	60,682	0,000000	
Ratio %	35959797	4	8989949	81,372	0,000000	
Phenolic	781792	6	130299	1,179	0,329974	
Error	6407800	58	110479			

Πίνακας 1α: Αποτελέσματα Duncan test για τη θολότητα ως προς το είδος του γαλακτωματοποιητή.

Duncan test; variable turbidity (Spreadsheet Maria 3 metablites)					
Homogenous Groups, alpha = ,05000					
Error: Between MS = 1105E2, df = 58,000					
Cell No.	Emuls Code	turbidity Mean	1	2	
2	2	1399,343	****		
1	1	2018,286		****	

Πίνακας 1β: Αποτελέσματα Duncan test για τη θολότητα ως προς την αναλογία γαλακτωματοποιητή.

Duncan test; variable turbidity (Spreadsheet Maria 3 metablites)					
Homogenous Groups, alpha = ,05000					
Error: Between MS = 1105E2, df = 58,000					
Cell No.	Ratio %	turbidity Mean	1	2	3
4	4	787,929	****		
3	3	956,571	****		
2	2	1885,786			****
1	1	2411,643		****	
5	5	2502,143		****	

Πίνακας 2: Αποτελέσματα Ανονα για τη μέση διάμετρο.

Univariate Tests of Significance for MD (Spreadsheet Maria 3 metablites) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition						
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p	
Intercept	46511562	1	46511562	638,0880	0,000000	
Emuls Code	8098	1	8098	0,1111	0,740102	
Ratio %	193036	4	48259	0,6621	0,620870	
Phenolic	877124	6	146187	2,0055	0,079494	
Error	4227741	58	72892			

Πίνακας 3: Αποτελέσματα Ανονα για το δείκτη πολυδιασποράς.

Univariate Tests of Significance for PDI (Spreadsheet Maria 3 metablites) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition						
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p	
Intercept	35,98480	1	35,98480	402,2770	0,000000	
Emuls Code	0,02455	1	0,02455	0,2745	0,602337	
Ratio %	0,52908	4	0,13227	1,4787	0,220432	
Phenolic	2,77661	6	0,46277	5,1733	0,000256	
Error	5,18826	58	0,08945			

Πίνακας 3α: Αποτελέσματα Duncan test για το δείκτη πολυδιασποράς ως προς το είδος του γαλακτωματοποιητή.

Duncan test; variable PDI (Spreadsheet Maria 3 metablites) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,08945, df = 58,000						
Cell No.	Phenolic code	PDI Mean	1	2	3	4
7	7	0,369600		****		
2	2	0,569500		****	****	
4	4	0,615800		****	****	****
6	6	0,705500	****		****	****
5	5	0,893000	****			****
1	1	0,913100	****			
3	3	0,952400	****			

Πίνακας 4: Αποτελέσματα Ανονα για τον παράγοντα α.

Univariate Tests of Significance for a (Spreadsheet Maria 3 metablites)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	299,9016	1	299,9016	572,2107	0,000000
Emuls Code	4,5110	1	4,5110	8,6070	0,004790
Ratio %	10,5267	4	2,6317	5,0212	0,001522
Phenolic	27,7189	6	4,6198	8,8146	0,000001
Error	30,3984	58	0,5241		

Πίνακας 4α: Αποτελέσματα Duncan test για τον παράγοντα α ως προς το είδος του γαλακτωματοποιητή.

Duncan test; variable a (Spreadsheet Maria 3 metablites)				
Homogenous Groups, alpha = ,05000				
Error: Between MS = ,52411, df = 58,000				
Cell No.	Emuls Code	a Mean	1	2
2	2	-2,32371	****	
1	1	-1,81600		****

Πίνακας 4β: Αποτελέσματα Duncan test για τον παράγοντα α ως προς την αναλογία του γαλακτωματοποιητή.

Duncan test; variable a (Spreadsheet Maria 3 metablites)				
Homogenous Groups, alpha = ,05000				
Error: Between MS = ,52411, df = 58,000				
Cell No.	Ratio %	a Mean	1	2
4	4	-2,60214		****
3	3	-2,45357		****
1	1	-1,87571	****	
2	2	-1,81643	****	
5	5	-1,60143	****	

Πίνακας 4γ: Αποτελέσματα Duncan test για τον παράγοντα α ως προς το είδος του βιοδραστικού συστατικού.

Duncan test; variable a (Spreadsheet Maria 3 metablites)					
Homogenous Groups, alpha = ,05000					
Error: Between MS = ,52411, df = 58,000					
Cell No.	Phenolic code	a Mean	1	2	3
4	4	-3,02700			****
5	5	-2,88600			****
7	7	-2,16000	****		
3	3	-2,05700	****		
1	1	-1,53500	****	****	
2	2	-1,53400	****	****	
6	6	-1,29000		****	

Πίνακας 5: Αποτελέσματα Ανονα για τον παράγοντα b.

Univariate Tests of Significance for b (Spreadsheet Maria 3 metablites)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	6499,289	1	6499,289	836,0176	0,000000
Emuls Code	113,666	1	113,666	14,6211	0,000323
Ratio %	355,095	4	88,774	11,4192	0,000001
Phenolic	398,334	6	66,389	8,5398	0,000001
Error	450,898	58	7,774		

Πίνακας 5α: Αποτελέσματα Duncan test για τον παράγοντα b ως προς το είδος του γαλακτωματοποιητή.

Duncan test; variable b (Spreadsheet Maria 3 metablites)					
Homogenous Groups, alpha = ,05000					
Error: Between MS = 7,7741, df = 58,000					
Cell No.	Emuls Code	b Mean	1	2	
1	1	8,36143	****		
2	2	10,91000		****	

Πίνακας 5β: Αποτελέσματα Duncan test για τον παράγοντα b ως προς την αναλογία του γαλακτωματοποιητή.

Duncan test; variable b (Spreadsheet Maria 3 metablites)					
Homogenous Groups, alpha = ,05000					
Error: Between MS = 7,7741, df = 58,000					
Cell No.	Ratio %	b Mean	1	2	
5	5	7,42714	****		
2	2	7,78786	****		
1	1	8,23357	****		
3	3	12,04286		****	
4	4	12,68714		****	

Πίνακας 5γ: Αποτελέσματα Duncan test για τον παράγοντα b ως προς το είδος του βιοδραστικού.

Duncan test; variable b (Spreadsheet Maria 3 metablites)					
Homogenous Groups, alpha = ,05000					
Error: Between MS = 7,7741, df = 58,000					
Cell No.	Phenolic code	b Mean	1	2	
2	2	6,97500	****		
1	1	7,06100	****		
6	6	7,27500	****		
3	3	9,40800	****		
7	7	11,99100		****	
4	4	12,36600		****	
5	5	12,37400		****	

Πίνακας 6: Αποτελέσματα Ανοva για τον παράγοντα (δείκτη φωτεινότητας) L.

Univariate Tests of Significance for L (Spreadsheet Maria 3 metablites)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	133061,1	1	133061,1	40828,12	0,000000
Emuls Code	26,4	1	26,4	8,10	0,006106
Ratio %	155,0	4	38,7	11,89	0,000000
Phenolic	116,6	6	19,4	5,96	0,000067
Error	189,0	58	3,3		

Πίνακας 6α: Αποτελέσματα Duncan test για τον παράγοντα (δείκτη φωτεινότητας) L ως προς το είδος του γαλακτωματοποιητή.

Duncan test; variable L (Spreadsheet Maria 3 metablites)					
Homogenous Groups, alpha = ,05000					
Error: Between MS = 3,2591, df = 58,000					
Cell No.	Emuls Code	L Mean	1	2	
1	1	42,98486	****		
2	2	44,21314		****	

Πίνακας 6β: Αποτελέσματα Duncan test για τον παράγοντα (δείκτη φωτεινότητας) L ως προς την αναλογία του γαλακτωματοποιητή.

Duncan test; variable L (Spreadsheet Maria 3 metablites)					
Homogenous Groups, alpha = ,05000					
Error: Between MS = 3,2591, df = 58,000					
Cell No.	Ratio %	L Mean	1	2	
5	5	41,70857	****		
1	1	42,57000	****		
2	2	43,09143	****		
3	3	44,92143		****	
4	4	45,70357		****	

Πίνακας 6γ: Αποτελέσματα Duncan test για τον παράγοντα (δείκτη φωτεινότητας) L ως προς το είδος του βιοδραστικού συστατικού.

Duncan test; variable L (Spreadsheet Maria 3 metablites)					
Homogenous Groups, alpha = ,05000					
Error: Between MS = 3,2591, df = 58,000					
Cell No.	Phenolic code	L Mean	1	2	3
6	6	42,20500	****		
1	1	42,34100	****		
2	2	42,63500	****	****	
7	7	43,02400	****	****	
3	3	44,17900		****	****
5	5	45,30500			****
4	4	45,50400			****

Πίνακας 7: Αποτελέσματα Ανονα για το δείκτη χρώματος E.

Univariate Tests of Significance for E (Spreadsheet Maria 3 metablites)						
Sigma-restricted parameterization						
Effective hypothesis decomposition						
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p	
Intercept	140607,7	1	140607,7	23106,56	0,000000	
Emuls Code	66,1	1	66,1	10,87	0,001672	
Ratio %	295,8	4	73,9	12,15	0,000000	
Phenolic	219,7	6	36,6	6,02	0,000061	
Error	352,9	58	6,1			

Πίνακας 7α: Αποτελέσματα Duncan test για το δείκτη χρώματος E ως προς το είδος του γαλακτωματοποιητή.

Duncan test; variable E (Spreadsheet Maria 3 metablites)						
Homogenous Groups, alpha = ,05000						
Error: Between MS = 6,0852, df = 58,000						
Cell No.	Emuls Code	E Mean	1	2		
1	1	43,84623	****			
2	2	45,79040		****		

Πίνακας 7β: Αποτελέσματα Duncan test για το δείκτη χρώματος E ως προς την αναλογία του γαλακτωματοποιητή.

Duncan test; variable E (Spreadsheet Maria 3 metablites)						
Homogenous Groups, alpha = ,05000						
Error: Between MS = 6,0852, df = 58,000						
Cell No.	Ratio %	E Mean	1	2		
5	5	42,40657	****			
1	1	43,42100	****			
2	2	43,74857	****			
3	3	46,86221		****		
4	4	47,65321		****		

Πίνακας 7γ: Αποτελέσματα Duncan test για το δείκτη χρώματος E ως προς το είδος του βιοδραστικού.

Duncan test; variable E (Spreadsheet Maria 3 metablites) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 6,0852, df = 58,000					
Cell No.	Phenolic code	E Mean	1	2	
6	6	42,91160	****		
1	1	42,98500	****		
2	2	43,27450	****		
7	7	44,66200	****		
3	3	45,29030	****	****	
5	5	47,25110		****	
4	4	47,35370		****	

Πίνακας 8: Αποτελέσματα Anova για το ιζώδες.

Univariate Tests of Significance for viscosity (Spreadsheet Maria 3 metablites) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	312811,2	1	312811,2	33843,22	0,000000
Emuls Code	0,1	1	0,1	0,01	0,937599
Ratio %	139,6	4	34,9	3,78	0,008505
Phenolic	1387,0	6	231,2	25,01	0,000000
Error	536,1	58	9,2		

Πίνακας 8α: Αποτελέσματα Duncan test για το ιζώδες ως προς την αναλογία του γαλακτωματοποιητή.

Duncan test; variable viscosity (Spreadsheet Maria 3 metablites) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 9,2430, df = 58,000				
Cell No.	Ratio %	viscosity Mean	1	2
1	1	65,82857	****	
2	2	65,85000	****	
5	5	66,18571	****	
3	3	66,79286	****	
4	4	69,58571		****

Πίνακας 8β: Αποτελέσματα Duncan test για το ιξώδες ως προς το είδος του του βιοδραστικού συστατικού.

Duncan test; variable viscosity (Spreadsheet Maria 3 metablites)						
Homogenous Groups, alpha = ,05000						
Error: Between MS = 9,2430, df = 58,000						
Cell No.	Phenolic code	viscosity Mean	1	2	3	
7	7	57,38000		****		
6	6	66,38000	****			
3	3	66,39000	****			
2	2	67,83000	****			
1	1	68,01000	****			
4	4	68,50000	****			
5	5	73,45000			****	

Πίνακας 9: Αποτελέσματα Anova για το δείκτη διάθλασης.

Univariate Tests of Significance for refractive index (Spreadsheet Maria 3 metablites)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	150,5767	1	150,5767	634408504	0,000000
Emuls Code	0,0000	1	0,0000	4	0,057480
Ratio %	0,0000	4	0,0000	4	0,004320
Phenolic	0,0000	6	0,0000	5	0,000202
Error	0,0000	58	0,0000		

Πίνακας 9α: Αποτελέσματα Duncan test για το δείκτη διάθλασης ως προς την αναλογία γαλακτωματοποιητή.

Duncan test; variable refractive index (Spreadsheet Maria 3 metablites)					
Homogenous Groups, alpha = ,05000					
Error: Between MS = ,00000, df = 58,000					
Cell No.	Ratio %	refractive ind ex Mean	1	2	
4	4	1,466457	****		
3	3	1,466471	****		
2	2	1,466586	****		
1	1	1,466679	****		
5	5	1,467114		****	

Πίνακας 9β: Αποτελέσματα Duncan test για το δείκτη διάθλασης ως προς το είδος του βιοδραστικού συστατικού.

Duncan test; variable refractive index (Spreadsheet Maria 3 metablites)						
Homogenous Groups, alpha = ,05000						
Error: Between MS = ,00000, df = 58,000						
Cell No.	Phenolic code	refractive index Mean	1	2	3	
4	4	1,465980			****	
3	3	1,466480		****		
6	6	1,466640	****	****		
7	7	1,466710	****	****		
2	2	1,466820	****	****		
1	1	1,466970	****			
5	5	1,467030	****			

Πίνακας 10: Αποτελέσματα Anova για το δείκτη σταθερότητας ESI.

Univariate Tests of Significance for ESI (Spreadsheet Maria 3 metablites)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	207612,4	1	207612,4	316,0128	0,000000
Emuls Code	2039,0	1	2039,0	3,1037	0,083385
Ratio %	13063,7	4	3265,9	4,9712	0,001629
Phenolic code	5800,3	6	966,7	1,4715	0,204033
Error	38104,5	58	657,0		

Πίνακας 10α: Αποτελέσματα Duncan test για το δείκτη σταθερότητας ESI ως προς την αναλογία του γαλακτωματοποιητή.

Duncan test; variable ESI (Spreadsheet Maria 3 metablites)				
Homogenous Groups, alpha = ,05000				
Error: Between MS = 656,97, df = 58,000				
Cell No.	Ratio %	ESI Mean	1	2
5	5	28,25714		****
3	3	55,62857	****	
2	2	58,99286	****	
4	4	62,02143	****	
1	1	67,40000	****	

Στατιστική επεξεργασία των ιδιοτήτων των γαλακτωμάτων με ANOVA με τη βοήθεια του προγράμματος STATISTICA 7 για τη δεύτερη σειρά δειγμάτων που αφορά τα γαλακτώματα

με ενσωματωμένα γαλλικό και ασκορβικό οξύ σε διαφορετικές περιεκτικότητες.

Πίνακας 11: Αποτελέσματα Ανοva για τη θολότητα.

Univariate Tests of Significance for turbidity (Spreadsheet Maria 4 metablites) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition						
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p	
Intercept	103828951	1	103828951	927,9965	0,000000	
Emulsion Type	1985148	1	1985148	17,7427	0,000192	
Emulsion Ratio	21672951	4	5418238	48,4268	0,000000	
Phenolic Type	73017	1	73017	0,6526	0,425147	
Phenolic Ratio	549668	1	549668	4,9128	0,033889	
Error	3580322	32	111885			

Πίνακας 11α: Αποτελέσματα Duncan test για τη θολότητα ως προς το είδος του γαλακτωματοποιητή.

Duncan test; variable turbidity (Spreadsheet Maria 4 metablites) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 1119E2, df = 32,000					
Cell No.	Emulsion Type	turbidity Mean	1	2	
2	2	1388,350	****		
1	1	1833,900		****	

Πίνακας 11β: Αποτελέσματα Duncan test για τη θολότητα ως προς την αναλογία του γαλακτωματοποιητή.

Duncan test; variable turbidity (Spreadsheet Maria 4 metablites) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 1119E2, df = 32,000					
Cell No.	Emulsion Ratio	turbidity Mean	1	2	3
4	4	645,500	****		
3	3	901,500	****		
2	2	1697,375			****
1	1	2365,500		****	
5	5	2445,750		****	

Πίνακας 11γ: Αποτελέσματα Duncan test για τη θολότητα ως προς την αναλογία του βιοδραστικού συστατικού.

	Duncan test; variable turbidity (Spreadsheet Maria 4 metablites) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 1119E2, df = 32,000				
Cell No.	Phenolic Ratio	turbidity Mean	1	2	
2	2	1493,900	****		
1	1	1728,350		****	

Πίνακας 12: Αποτελέσματα Ανοva για τη μέση διάμετρο.

	Univariate Tests of Significance for MD (Spreadsheet Maria 4 metablites) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	17120676	1	17120676	176,3334	0,000000
Emulsion Type	4537	1	4537	0,0467	0,830231
Emulsion Ratio	435520	4	108880	1,1214	0,363732
Phenolic Type	50880	1	50880	0,5240	0,474386
Phenolic Ratio	306425	1	306425	3,1560	0,085157
Error	3106965	32	97093		

Πίνακας 13: Αποτελέσματα Ανοva για το δείκτη πολυδιασποράς.

	Univariate Tests of Significance for PDI (Spreadsheet Maria 4 metablites) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	13,89216	1	13,89216	109,6448	0,000000
Emulsion Type	0,05513	1	0,05513	0,4351	0,514206
Emulsion Ratio	0,50540	4	0,12635	0,9972	0,423366
Phenolic Type	0,02048	1	0,02048	0,1616	0,690355
Phenolic Ratio	0,92386	1	0,92386	7,2916	0,010979
Error	4,05445	32	0,12670		

Πίνακας 13α: Αποτελέσματα Duncan test για το δείκτη πολυδιασποράς ως προς την αναλογία του βιοδραστικού συστατικού.

Duncan test; variable PDI (Spreadsheet Maria 4 metablites)					
Homogenous Groups, alpha = ,05000					
Error: Between MS = ,12670, df = 32,000					
Cell No.	Phenolic Ratio	PDI Mean	1	2	
2	2	0,437350	****		
1	1	0,741300		****	

Πίνακας 14: Αποτελέσματα Ανοva για τον παράγοντα α.

Univariate Tests of Significance for a (Spreadsheet Maria 4 metablites)						
Sigma-restricted parameterization						
Effective hypothesis decomposition						
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p	
Intercept	131,8779	1	131,8779	449,3469	0,000000	
Emulsion Type	0,2907	1	0,2907	0,9905	0,327085	
Emulsion Ratio	4,3098	4	1,0775	3,6712	0,014326	
Phenolic Type	0,0133	1	0,0133	0,0454	0,832633	
Phenolic Ratio	3,0969	1	3,0969	10,5521	0,002727	
Error	9,3916	32	0,2935			

Πίνακας 14α: Αποτελέσματα Duncan test για τον παράγοντα α ως προς την αναλογία του γαλακτωματοποιητή.

Duncan test; variable a (Spreadsheet Maria 4 metablites)					
Homogenous Groups, alpha = ,05000					
Error: Between MS = ,29349, df = 32,000					
Cell No.	Emulsion Ratio	a Mean	1	2	
4	4	-2,38500		****	
5	5	-1,89000	****	****	
1	1	-1,74875	****		
3	3	-1,66625	****		
2	2	-1,38875	****		

Πίνακας 14β: Αποτελέσματα Duncan test για τον παράγοντα α ως προς την αναλογία του βιοδραστικού συστατικού.

Duncan test; variable a (Spreadsheet Maria 4 metablites) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,29349, df = 32,000					
Cell No.	Phenolic Ratio	a	1	2	
		Mean			
2	2	-2,09400	****		
1	1	-1,53750		****	

Πίνακας 15: Αποτελέσματα Ανοva για τον παράγοντα b.

Univariate Tests of Significance for b (Spreadsheet Maria 4 metablites) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	3365,207	1	3365,207	824,1184	0,000000
Emulsion Type	10,090	1	10,090	2,4710	0,125799
Emulsion Ratio	109,612	4	27,403	6,7108	0,000486
Phenolic Type	0,186	1	0,186	0,0456	0,832206
Phenolic Ratio	185,632	1	185,632	45,4601	0,000000
Error	130,669	32	4,083		

Πίνακας 15α: Αποτελέσματα Duncan test για τον παράγοντα b ως προς την αναλογία του γαλακτωματοποιητή.

Duncan test; variable b (Spreadsheet Maria 4 metablites) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 4,0834, df = 32,000					
Cell No.	Emulsion Ratio	b	1	2	
		Mean			
2	2	7,41625	****		
1	1	8,08750	****		
5	5	8,78000	****		
3	3	9,36375	****		
4	4	12,21375		****	

Πίνακας 15β: Αποτελέσματα Duncan test για τον παράγοντα b ως προς την αναλογία του βιοδραστικού συστατικού.

Duncan test; variable b (Spreadsheet Maria 4 metabolites) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 4,0834, df = 32,000					
Cell No.	Phenolic Ratio	b Mean	1	2	
1	1	7,01800	****		
2	2	11,32650		****	

Πίνακας 16: Αποτελέσματα Ανονα για τον παράγοντα (δείκτη φωτεινότητας) L.

Univariate Tests of Significance for L (Spreadsheet Maria 4 metabolites) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition						
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p	
Intercept	72987,12	1	72987,12	37575,50	0,000000	
Emulsion Type	7,77	1	7,77	4,00	0,054037	
Emulsion Ratio	53,18	4	13,29	6,84	0,000424	
Phenolic Type	2,28	1	2,28	1,17	0,286712	
Phenolic Ratio	2,08	1	2,08	1,07	0,308066	
Error	62,16	32	1,94			

Πίνακας 16α: Αποτελέσματα Duncan test για τον παράγοντα (δείκτη φωτεινότητας) L ως προς την αναλογία του γαλακτωματοποιητή.

Duncan test; variable L (Spreadsheet Maria 4 metabolites) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 1,9424, df = 32,000					
Cell No.	Emulsion Ratio	L Mean	1	2	
2	2	41,81625	****		
5	5	41,93000	****		
1	1	41,95625	****		
3	3	43,03125	****		
4	4	44,84750		****	

Πίνακας 17: Αποτελέσματα Ανονα για το δείκτη χρώματος E.

Univariate Tests of Significance for E (Spreadsheet Maria 4 metablites)						
Sigma-restricted parameterization						
Effective hypothesis decomposition						
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p	
Intercept	76968,51	1	76968,51	22656,26	0,000000	
Emulsion Type	13,47	1	13,47	3,97	0,055031	
Emulsion Ratio	100,97	4	25,24	7,43	0,000237	
Phenolic Type	1,28	1	1,28	0,38	0,544088	
Phenolic Ratio	21,67	1	21,67	6,38	0,016704	
Error	108,71	32	3,40			

Πίνακας 17α: Αποτελέσματα Duncan test για το δείκτη χρώματος E ως προς την αναλογία του γαλακτωματοποιητή.

Duncan test; variable E (Spreadsheet Maria 4 metablites)					
Homogenous Groups, alpha = ,05000					
Error: Between MS = 3,3972, df = 32,000					
Cell No.	Emulsion Ratio	E Mean	1	2	
2	2	42,60600	****		
1	1	42,79637	****		
5	5	42,89275	****		
3	3	44,19600	****		
4	4	46,83813		****	

Πίνακας 17β: Αποτελέσματα Duncan test για το δείκτη χρώματος E ως προς την αναλογία του βιοδραστικού συστατικού.

Duncan test; variable E (Spreadsheet Maria 4 metablites)					
Homogenous Groups, alpha = ,05000					
Error: Between MS = 3,3972, df = 32,000					
Cell No.	Phenolic Ratio	E Mean	1	2	
1	1	43,12985	****		
2	2	44,60185		****	

Πίνακας 18: Αποτελέσματα Ανοβα για το ιζώδες.

Univariate Tests of Significance for viscosity (Spreadsheet Maria 4 metablites)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	166745,6	1	166745,6	22753,08	0,000000
Emulsion Type	2,8	1	2,8	0,38	0,540226
Emulsion Ratio	84,2	4	21,1	2,87	0,038571
Phenolic Type	2,1	1	2,1	0,29	0,594749
Phenolic Ratio	450,2	1	450,2	61,44	0,000000
Error	234,5	32	7,3		

Πίνακας 18α: Αποτελέσματα Duncan test για το ιζώδες ως προς την αναλογία του γαλακτωματοποιητή.

Duncan test; variable viscosity (Spreadsheet Maria 4 metablites)				
Homogenous Groups, alpha = ,05000				
Error: Between MS = 7,3285, df = 32,000				
Cell No.	Emulsion Ratio	viscosity Mean	1	2
2	2	63,06250	****	
1	1	63,47500	****	
5	5	64,35000	****	****
3	3	64,72500	****	****
4	4	67,21250		****

Πίνακας 18β: Αποτελέσματα Duncan test για το ιζώδες ως προς την αναλογία του βιοδραστικού συστατικού.

Duncan test; variable viscosity (Spreadsheet Maria 4 metablites)				
Homogenous Groups, alpha = ,05000				
Error: Between MS = 7,3285, df = 32,000				
Cell No.	Phenolic Ratio	viscosity Mean	1	2
2	2	61,21000	****	
1	1	67,92000		****

Πίνακας 19: Αποτελέσματα Ανονα για το δείκτη διάθλασης.

Univariate Tests of Significance for refractive index (Spreadsheet Maria 4 metablites)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	86,02196	1	86,02196	63358444	0,000000
Emulsion Type	0,00000	1	0,00000	0	0,726544
Emulsion Ratio	0,00001	4	0,00000	2	0,138346
Phenolic Type	0,00000	1	0,00000	3	0,119157
Phenolic Ratio	0,00001	1	0,00001	5	0,026038
Error	0,00004	32	0,00000		

Πίνακας 19α: Αποτελέσματα Duncan test για το ιξώδες ως προς την αναλογία του βιοδραστικού.

Duncan test; variable refractive index (Spreadsheet Maria 4 metablites)					
Homogenous Groups, alpha = ,05000					
Error: Between MS = ,00000, df = 32,000					
Cell No.	Phenolic Ratio	refractive index Mean	1	2	
2	2	1,466045	****		
1	1	1,466905		****	

Πίνακας 20: Αποτελέσματα Ανονα για το δείκτη σταθερότητας ESI.

Univariate Tests of Significance for ESI (Spreadsheet Maria 4 metablites)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	141729,0	1	141729,0	224,6845	0,000000
Emulsion Type	282,0	1	282,0	0,4470	0,508560
Emulsion Ratio	1523,2	4	380,8	0,6037	0,662777
Phenolic Type	2371,6	1	2371,6	3,7597	0,061362
Phenolic Ratio	2560,0	1	2560,0	4,0584	0,052421
Error	20185,3	32	630,8		

Πίνακας 21: Αποτελέσματα Ανονα για τη θολότητα.

Univariate Tests of Significance for turbidity (για τα 3 δείγματα) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition						
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p	
Intercept	36447491	1	36447491	57112,81	0,000018	
water ratio %	251331	1	251331	393,83	0,002530	
Phenolic	5676	2	2838	4,45	0,183575	
Error	1276	2	638			

Πίνακας 21α: Αποτελέσματα Duncan test για τη θολότητα ως προς την αναλογία του νερού.

Duncan test; variable turbidity (για τα 3 δείγματα) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 638,17, df = 2,0000						
Cell No.	water ratio %	turbidity Mean	1	2		
1	2	2260,000	****			
2	3	2669,333		****		

Πίνακας 22: Αποτελέσματα Ανονα για τη μέση διάμετρο (MD).

Univariate Tests of Significance for MD (για τα 3 δείγματα) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition						
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p	
Intercept	3993015	1	3993015	108,1339	0,009121	
water ratio %	273	1	273	0,0074	0,939271	
Phenolic	63113	2	31556	0,8546	0,539209	
Error	73853	2	36927			

Πίνακας 23: Αποτελέσματα Ανονα για το δείκτη πολυδιασποράς (PDI).

Univariate Tests of Significance for PDI (για τα 3 δείγματα) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	3,097454	1	3,097454	15171,20	0,000066
water ratio %	0,000204	1	0,000204	1,00	0,422650
Phenolic	0,950907	2	0,475454	2328,75	0,000429
Error	0,000408	2	0,000204		

Πίνακας 23α: Αποτελέσματα Duncan test για το δείκτη πολυδιασποράς (PDI) ως προς το είδος του φαινολικού.

Duncan test; variable PDI (για τα 3 δείγματα) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00020, df = 2,0000				
Cell No.	Phenolic	PDI Mean	1	2
1	vanilic acid	0,155500		****
3	caffeic acid	1,000000	****	
2	syringic acid	1,000000	****	

Πίνακας 24: Αποτελέσματα Ανονα για τον παράγοντα χρώματος a.

Univariate Tests of Significance for a (για τα 3 δείγματα) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	18,30507	1	18,30507	166,3089	0,005959
water ratio %	0,12907	1	0,12907	1,1726	0,392047
Phenolic	0,38973	2	0,19487	1,7704	0,360953
Error	0,22013	2	0,11007		

Πίνακας 25: Αποτελέσματα Ανονα για τον παράγοντα χρώματος b.

Effect	Univariate Tests of Significance for b (για τα 3 δείγματα) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	411,1848	1	411,1848	254,5852	0,003905
water ratio %	3,3004	1	3,3004	2,0435	0,289104
Phenolic	4,8204	2	2,4102	1,4923	0,401238
Error	3,2302	2	1,6151		

Πίνακας 26: Αποτελέσματα Ανονα για το δείκτη χρώματος E.

Effect	Univariate Tests of Significance for E (για τα 3 δείγματα) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	11602,90	1	11602,90	20372,70	0,000049
water ratio %	1,94	1	1,94	3,41	0,206136
Phenolic	0,11	2	0,06	0,10	0,911134
Error	1,14	2	0,57		

Πίνακας 27: Αποτελέσματα Ανονα για τον παράγοντα L.

Effect	Univariate Tests of Significance for L (για τα 3 δείγματα) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	11207,81	1	11207,81	28912,19	0,000035
water ratio %	2,23	1	2,23	5,76	0,138463
Phenolic	0,06	2	0,03	0,07	0,931851
Error	0,78	2	0,39		

Πίνακας 28: Αποτελέσματα Ανονα για το ιξώδες.

Univariate Tests of Significance for viscosity (για τα 3 δείγματα) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition						
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p	
Intercept	29610,38	1	29610,38	5276,574	0,000189	
water ratio %	22,04	1	22,04	3,928	0,185992	
Phenolic	106,47	2	53,23	9,486	0,095361	
Error	11,22	2	5,61			

Πίνακας 29: Αποτελέσματα Ανονα για το δείκτη διάθλασης.

Univariate Tests of Significance for refractive index (για τα 3 δείγματα) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition						
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p	
Intercept	12,90725	1	12,90725	25225902	0,000000	
water ratio %	0,00000	1	0,00000	3	0,251133	
Phenolic	0,00000	2	0,00000	1	0,604331	
Error	0,00000	2	0,00000			

Πίνακας 30: Αποτελέσματα Ανονα για το δείκτη σταθερότητας (ESI).

Univariate Tests of Significance for ESI (για τα 3 δείγματα) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition						
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p	
Intercept	29400,00	1	29400,00	3344,076	0,000299	
water ratio %	66,67	1	66,67	7,583	0,110452	
Phenolic	24,25	2	12,13	1,379	0,420319	
Error	17,58	2	8,79			

Στον παρακάτω Πίνακα παρουσιάζονται οι κωδικοποιήσεις των δειγμάτων (PCA με τρεις μεταβλητές):

Πίνακας 31: Κωδικοποίηση δειγμάτων που αναλύθηκαν.

Αριθμός δείγματος	Αναλογία γαλακτωματοποιητή	Αναλογία ελαίου	Αναλογία νερού και φαινολικού
1	1% Tween 20	97% έλαιο	2% γαλλικό οξύ + νερό
2	1% Tween 20	97% έλαιο	2% ασκορβικό οξύ + νερό
3	1% Tween 20	97% έλαιο	2% συριγγικό οξύ + νερό
4	1% Tween 20	97% έλαιο	2% βανιλικό οξύ + νερό
5	1% Tween 20	97% έλαιο	2% καφεϊκό οξύ + νερό
6	1% Tween 20	97% έλαιο	2% κερσετίνη + νερό
7	1% Tween 20	97% έλαιο	2% νερό
8	2% Tween 20	96% έλαιο	2% γαλλικό οξύ + νερό
9	2% Tween 20	96% έλαιο	2% ασκορβικό οξύ + νερό
10	2% Tween 20	96% έλαιο	2% συριγγικό οξύ + νερό
11	2% Tween 20	96% έλαιο	2% βανιλικό οξύ + νερό
12	2% Tween 20	96% έλαιο	2% καφεϊκό οξύ + νερό
13	2% Tween 20	96% έλαιο	2% κερσετίνη + νερό
14	2% Tween 20	96% έλαιο	2% νερό
15	4% Tween 20	94% έλαιο	2% γαλλικό οξύ + νερό
16	4% Tween 20	94% έλαιο	2% ασκορβικό οξύ + νερό
17	4% Tween 20	94% έλαιο	2% συριγγικό οξύ + νερό
18	4% Tween 20	94% έλαιο	2% βανιλικό οξύ + νερό
19	4% Tween 20	94% έλαιο	2% καφεϊκό οξύ + νερό
20	4% Tween 20	94% έλαιο	2% κερσετίνη + νερό
21	4% Tween 20	94% έλαιο	2% νερό

Αριθμός δείγματος	Αναλογία γαλακτωματοποιητή	Αναλογία ελαίου	Αναλογία νερού και φαινολικού
22	6% Tween 20	92% έλαιο	2% γαλλικό οξύ + νερό
23	6% Tween 20	92% έλαιο	2% ασκορβικό οξύ + νερό
24	6% Tween 20	92% έλαιο	2% συριγγικό οξύ + νερό
25	6% Tween 20	92% έλαιο	2% βανιλικό οξύ + νερό
26	6% Tween 20	92% έλαιο	2% καφεϊκό οξύ + νερό
27	6% Tween 20	92% έλαιο	2% κερσετίνη + νερό
28	6% Tween 20	92% έλαιο	2% νερό
29	0% Tween 20	98% έλαιο	2% γαλλικό οξύ + νερό
30	0% Tween 20	98% έλαιο	2% ασκορβικό οξύ + νερό
31	0% Tween 20	98% έλαιο	2% συριγγικό οξύ + νερό
32	0% Tween 20	98% έλαιο	2% βανιλικό οξύ + νερό
33	0% Tween 20	98% έλαιο	2% καφεϊκό οξύ + νερό
34	0% Tween 20	98% έλαιο	2% κερσετίνη + νερό
35	0% Tween 20	98% έλαιο	2% νερό
36	1% Tween 40	97% έλαιο	2% γαλλικό οξύ + νερό
37	1% Tween 40	97% έλαιο	2% ασκορβικό οξύ + νερό
38	1% Tween 40	97% έλαιο	2% συριγγικό οξύ + νερό
39	1% Tween 40	97% έλαιο	2% βανιλικό οξύ + νερό
40	1% Tween 40	97% έλαιο	2% καφεϊκό οξύ + νερό
41	1% Tween 40	97% έλαιο	2% κερσετίνη + νερό
42	1% Tween 40	97% έλαιο	2% νερό
43	2% Tween 40	96% έλαιο	2% γαλλικό οξύ + νερό
44	2% Tween 40	96% έλαιο	2% ασκορβικό οξύ + νερό
45	2% Tween 40	96% έλαιο	2% συριγγικό οξύ + νερό
46	2% Tween 40	96% έλαιο	2% βανιλικό οξύ + νερό

Αριθμός δείγματος	Αναλογία γαλακτωματοποιητή	Αναλογία ελαίου	Αναλογία νερού και φαινολικού
47	2% Tween 40	96% έλαιο	2% καφεϊκό οξύ + νερό
48	2% Tween 40	96% έλαιο	2% κερσετίνη + νερό
49	2% Tween 40	96% έλαιο	2% νερό
50	4% Tween 40	94% έλαιο	2% γαλλικό οξύ + νερό
51	4% Tween 40	94% έλαιο	2% ασκορβικό οξύ + νερό
52	4% Tween 40	94% έλαιο	2% συριγγικό οξύ + νερό
53	4% Tween 40	94% έλαιο	2% βανιλικό οξύ + νερό
54	4% Tween 40	94% έλαιο	2% καφεϊκό οξύ + νερό
55	4% Tween 40	94% έλαιο	2% κερσετίνη+νερό
56	4% Tween 40	94% έλαιο	2% νερό
57	6% Tween 40	92% έλαιο	2% γαλλικό οξύ + νερό
58	6% Tween 40	92% έλαιο	2% ασκορβικό οξύ + νερό
59	6% Tween 40	92% έλαιο	2% συριγγικό οξύ + νερό
60	6% Tween 40	92% έλαιο	2% βανιλικό οξύ + νερό
61	6% Tween 40	92% έλαιο	2% καφεϊκό οξύ + νερό
62	6% Tween 40	92% έλαιο	2% κερσετίνη+νερό
63	6% Tween 40	92% έλαιο	2% νερό
64	0% Tween 40	98% έλαιο	2% γαλλικό οξύ + νερό
65	0% Tween 40	98% έλαιο	2% ασκορβικό οξύ + νερό
66	0% Tween 40	98% έλαιο	2% συριγγικό οξύ + νερό
67	0% Tween 40	98% έλαιο	2% βανιλικό οξύ + νερό
68	0% Tween 40	98% έλαιο	2% καφεϊκό οξύ + νερό
69	0% Tween 40	98% έλαιο	2% κερσετίνη+νερό
70	0% Tween 40	98% έλαιο	2% νερό

Στον παρακάτω Πίνακα παρουσιάζονται οι κωδικοποιήσεις των δειγμάτων (PCA με τέσσερις μεταβλητές):

Πίνακας 32: Κωδικοποίηση των δειγμάτων που αναλύθηκαν.

Αριθμός δείγματος	Αναλογία γαλακτωματοποιήτη	Αναλογία φαινολικού και νερού	Ποσοστό φαινολικού διαλυτοποιημένο στο νερό	Αναλογία ελαίου
1	1% Tween 20	2% γαλλικό οξύ+ νερό	0,1% γαλλικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο
2	1% Tween 20	2% γαλλικό οξύ+ νερό	1% γαλλικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο
3	1% Tween 20	2% ασκορβικό οξύ + νερό	0,1% ασκορβικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο
4	1% Tween 20	2% ασκορβικό οξύ + νερό	1% ασκορβικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο
5	2% Tween 20	2% γαλλικό οξύ + νερό	0,1% γαλλικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο
6	2% Tween 20	2% γαλλικό οξύ + νερό	1% γαλλικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο
7	2% Tween 20	2% ασκορβικό οξύ + νερό	0,1% ασκορβικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο
8	2% Tween 20	2% ασκορβικό οξύ + νερό	1% ασκορβικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο
9	4% Tween 20	2% γαλλικό οξύ + νερό	0,1% γαλλικό οξύ /100 mL H ₂ O	97% έλαιο
10	4% Tween 20	2% γαλλικό οξύ + νερό	1% γαλλικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο
11	4% Tween 20	2% ασκορβικό οξύ + νερό	0,1% ασκορβικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο
12	4% Tween 20	2% ασκορβικό οξύ + νερό	1% ασκορβικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο
13	6% Tween 20	2% γαλλικό οξύ + νερό	0,1% γαλλικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο
14	6% Tween 20	2% γαλλικό οξύ + νερό	1% γαλλικό οξύ /100 mL H ₂ O	97% έλαιο

Αριθμός δειγματος	Αναλογία γαλακτωματοποιητή	Αναλογία φαινολικού και νερού	Ποσοστό φαινολικού διαλυτοποιημένο στο νερό	Αναλογία ελαίου
15	6% Tween 20	2% ασκορβικό οξύ + νερό	0,1% ασκορβικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο
16	6% Tween 20	2% ασκορβικό οξύ + νερό	1% ασκορβικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο
17	0% Tween 20	2% γαλλικό οξύ + νερό	0,1% γαλλικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο
18	0% Tween 20	2% γαλλικό οξύ + νερό	1% γαλλικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο
19	0% Tween 20	2% ασκορβικό οξύ + νερό	0,1% ασκορβικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο
20	0% Tween 20	2% ασκορβικό οξύ + νερό	1% ασκορβικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο
21	1% Tween 40	2% γαλλικό οξύ + νερό	0,1% γαλλικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο
22	1% Tween 40	2% γαλλικό οξύ + νερό	1% γαλλικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο
23	1% Tween 40	2% ασκορβικό οξύ + νερό	0,1% ασκορβικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο
24	1% Tween 40	2% ασκορβικό οξύ + νερό	1% ασκορβικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο
25	2% Tween 40	2% γαλλικό οξύ + νερό	0,1% γαλλικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο
26	2% Tween 40	2% γαλλικό οξύ + νερό	1% γαλλικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο
27	2% Tween 40	2% ασκορβικό οξύ + νερό	0,1% ασκορβικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο
28	2% Tween 40	2% ασκορβικό οξύ + νερό	1% ασκορβικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο
29	4% Tween 40	2% γαλλικό οξύ + νερό	0,1% γαλλικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο
30	4% Tween 40	2% γαλλικό οξύ + νερό	1% γαλλικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο

Αριθμός δείγματος	Αναλογία γαλακτωματοποιήτη	Αναλογία φαινολικού και νερού	Ποσοστό φαινολικού διαλυτοποιημένο στο νερό	Αναλογία ελαίου
31	4% Tween 40	2% ασκορβικό οξύ + νερό	0,1% ασκορβικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο
32	4% Tween 40	2% ασκορβικό οξύ + νερό	1% ασκορβικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο
33	6% Tween 40	2% γαλλικό οξύ + νερό	0,1% γαλλικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο
34	6% Tween 40	2% γαλλικό οξύ + νερό	1% γαλλικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο
35	6% Tween 40	2% ασκορβικό οξύ + νερό	0,1% ασκορβικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο
36	6% Tween 40	2% ασκορβικό οξύ + νερό	1% ασκορβικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο
37	0% Tween 40	2% γαλλικό οξύ + νερό	0,1% γαλλικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο
38	0% Tween 40	2% γαλλικό οξύ + νερό	1% γαλλικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο
39	0% Tween 40	2% ασκορβικό οξύ + νερό	0,1% ασκορβικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο
40	0% Tween 40	2% ασκορβικό οξύ+ νερό	1% ασκορβικό οξύ/100 mL H ₂ O	97% έλαιο