



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

**ΤΟΜΕΑΣ IV: ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ**

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΑΠΟ ΕΛΑΙΟΥΧΟΥΣ ΣΠΟΡΟΥΣ ΜΕ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΝΕΩΝ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΩΝ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ



ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΒΛΑΣΣΗΣ ΧΡΙΣΤΟΣ

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ

ΤΖΙΑ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΑ

ΑΘΗΝΑ 2019

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου, υπό την επίβλεψη της Καθηγήτριας του ΕΜΠ κας Κωνσταντίνας Τζιά.

Αρχικά, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου ιδιαιτέρως στην κα Κ. Τζιά για την ανάθεση του θέματος, την επιστημονική υποστήριξη και πολύτιμη βοήθεια στα στάδια εκπόνησης και συγγραφής της διπλωματικής εργασίας.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω το σύνολο του επιστημονικού προσωπικού του εργαστηρίου, και ειδικότερα τη Δρ Βιργινία Γιάννου, για τη συνεργασία και την προθυμία τους να επιλύσουν κάθε απόρία μου κατά τη διάρκεια των πειραμάτων.

Ακόμα, ευχαριστώ την εταιρία «ΣΟΓΙΑ ΕΛΛΑΣ Α.Ε.» για την προμήθεια της πρώτης ύλης (άλευρο σόγιας).

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαιτέρως την οικογένειά μου και τους φίλους μου για τη διαρκή ενθάρρυνση, συμπαράσταση και βοήθεια που μου πρόσφεραν όλα τα χρόνια των σπουδών μου και φυσικά στο διάστημα εκπόνησης της παρούσας διπλωματικής εργασίας.

Αθήνα, Φεβρουάριος 2019

Βλάσσης Χρίστος

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	2
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	6
ABSTRACT	8
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	10
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ	12
1.1 Γενικά	12
1.2 Φυσικοχημικές ιδιότητες πρωτεϊνών	17
1.2.1 Αμφοτερισμός-Ισοηλεκτρικό σημείο (pI)	17
1.2.2 Διαλυτότητα	17
1.2.3 Οπτικές ιδιότητες	18
1.2.4 Μετουσίωση	18
1.3 Λειτουργικές ιδιότητες	20
1.3.1 Ιδιότητες ενυδάτωσης.....	21
1.3.2 Συνεκτικές ιδιότητες	21
1.3.3 Απορρόφηση λιπαρών	22
1.3.4 Δέσμευση γευστικών-οσμωτικών ουσιών	22
1.3.5 Σχηματισμός πηκτής.....	23
1.3.6 Γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες	23
1.4 Θρεπτική αξία των πρωτεϊνών	24
1.4.1 Γενικά	24
1.4.2 Προσδιορισμός της θρεπτικής αξίας	26
1.5 Πηγές πρωτεϊνών	28
1.5.1 Γενικά	28
1.5.2 Ζωικής προέλευσης τρόφιμα.....	29
1.5.3 Φυτικής προέλευσης τρόφιμα.....	30
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΣΟΓΙΑ	32
2.1 Γενικά	32
2.2 Σύσταση και μικροδομή	32
2.3 Πρωτεΐνες.....	34

2.4 Επεξεργασία	37
2.4.1 Καθαρισμός	37
2.4.2 Ξήρανση.....	37
2.4.3 Θραύση και αποφλοίωση	37
2.4.4 Υγροθερμική διεργασία.....	37
2.4.5 Φολιδοποίηση	38
2.4.6 Εκχύλιση των φολίδων	38
2.4.7 Άλεση	38
2.5 Πρωτεϊνικά προϊόντα	40
2.6 Εφαρμογές	44
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΠΑΡΑΛΑΒΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ ΥΠΕΡΣΥΜΠΥΚΝΩΜΑΤΩΝ	46
3.1. Γενικά	46
3.2 Εκχύλιση	46
3.2.1 Εισαγωγή	46
3.2.2 Συμβατική μέθοδος εκχύλισης.....	47
3.2.3 Νέες τεχνολογίες εκχύλισης.....	48
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	57
4.1 Σκοπός	57
4.2 Υλικά – Εξοπλισμός	57
4.2.1 Α΄Υλεις - Αντιδραστήρια	57
4.2.2 Συσκευές – Όργανα	58
4.3 Πειραματική διαδικασία.....	59
4.3.1 Προκατεργασία αλεύρου	59
4.3.2 Παραλαβή των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων	60
4.4 Αναλύσεις – Μετρήσεις	67
4.4.1 Προσδιορισμός υγρασίας.....	67
4.4.2 Προσδιορισμός ελαίου.....	67
4.4.3 Προσδιορισμός αζώτου και πρωτεϊνών – Μέθοδος Kjeldhal.....	67
4.5 Σχεδιασμός πειραμάτων – Στατιστική επεξεργασία.....	70
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ	71
5.1 Σύσταση πρώτης ύλης.....	71

5.2 Προσδιορισμός ισοηλεκτρικού σημείου	71
5.3 Παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων.....	72
5.3.1. Αποτελέσματα εκχύλισης πρωτεϊνών με τη συμβατική μέθοδο.....	73
5.3.2 Αποτελέσματα λειτουργικών ιδιοτήτων με τη συμβατική μέθοδο.....	74
5.3.3 Αποτελέσματα εκχύλισης πρωτεϊνών υποβοηθούμενης από υπέρηχους.....	75
5.3.4 Αποτελέσματα λειτουργικών ιδιοτήτων με την εκχύλιση υποβοηθούμενη από υπέρηχους.....	82
5.3.5. Σύγκριση αποτελεσμάτων εκχύλισης πρωτεϊνών με τη συμβατική μέθοδο και με τη μέθοδο των υπερήχων	87
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ.....	94
6.1 Συμπεράσματα	94
6.2 Προτάσεις.....	96
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	97
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	101

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας ήταν η παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων σόγιας από απειαιωμένο άλευρο σόγιας με τη συμβατική όπως και με νέες τεχνολογίες εκχύλισης, αξιολογώντας την απόδοση της διαδικασίας και την ποιότητα των τελικών προϊόντων. Η σόγια συμπεριλαμβάνεται στους ελαιούχους σπόρους με υψηλό πρωτεϊνικό περιεχόμενο και τα υπερσυμπυκνώματα αυτής, λόγω των λειτουργικών τους ιδιοτήτων, βρίσκουν εφαρμογές σε πολλά τρόφιμα.

Ως πρώτη ύλη προμηθεύτηκε βιομηχανικά απειαιωμένο άλευρο σόγιας που είχε υποστεί θερμική επεξεργασία για την αδρανοποίηση των αντιθρεπτικών παραγόντων (αναστολείς τρυψίνης). Η προκατεργασία της πρώτης ύλης περιελάμβανε άλεση και κοσκίνιση ώστε να προκύψουν σωματίδια ομοιόμορφου μεγέθους. Μετά την κοσκίνιση πραγματοποιήθηκε περαιτέρω απειαίωση του αλεύρου με πετρελαϊκό αιθέρα, επειδή παρουσιάστηκαν προβλήματα κατά την πειραματική διαδικασία εκχύλισης των πρωτεϊνών με την αρχική πρώτη ύλη. Επόμενος, ως πρώτη ύλη χρησιμοποιήθηκε το εργαστηριακά απειαιωμένο άλευρο σόγιας. Η πρώτη ύλη είχε υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες (53.01%).

Η παραλαβή των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων πραγματοποιήθηκε μέσω της τεχνικής της υδατικής εκχύλισης των πρωτεϊνών και της ισοηλεκτρικής τους καταβύθισης. Χρησιμοποιήθηκαν δύο μέθοδοι εκχύλισης: μία σύγχρονη μέθοδος εκχύλισης, η υποβοηθούμενη εκχύλιση με υπέρηχους και η συμβατική εκχύλιση με θερμό νερό και έγινε σύγκριση μεταξύ τους. Για την εκχύλιση με τους υπέρηχους οι παράγοντες που αξιολογήθηκαν ήταν ο χρόνος εκχύλισης (10,15,20 min) και ο λόγος στερεού/υγρό (1/15,1/20,1/25). Ο προσδιορισμός του πρωτεϊνικού περιεχομένου πραγματοποιήθηκε με ανάλυση Kjeldhal.

Ο χρόνος εκχύλισης φαίνεται ότι μεταβάλλει σημαντικά την απόδοση εκχύλισης πρωτεϊνών και την ολική απόδοση σε πρωτεΐνες, όχι όμως την απόδοση καταβύθισης ως προς τις εκχυλισμένες πρωτεΐνες, την % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες των υπερσυμπυκνωμάτων και τις λειτουργικές ιδιότητες αυτών (ικανότητα απορρόφησης νερού και ελαίου). Επίσης, ο λόγος στερεού/υγρό φαίνεται ότι μεταβάλλει σημαντικά την απόδοση εκχύλισης και την ολική απόδοση, όχι όμως την απόδοση καταβύθισης ως προς τις εκχυλισμένες πρωτεΐνες, την % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες των υπερσυμπυκνωμάτων και τις λειτουργικές τους ιδιότητες.

Τα υπερσυμπυκνώματα που παρελήφθησαν με την μέθοδο των υπέρηχων είχαν υψηλό πρωτεϊνικό περιεχόμενο (86.25-91.92%). Οι βέλτιστες τιμές των παραγόντων βρέθηκαν ότι είναι: χρόνος εκχύλισης 20 min και λόγος στερεού/υγρό 1/20, οι οποίες δίνουν απόδοση εκχύλισης 53.38%, ολική απόδοση 29.42% και πρωτεϊνικό περιεχόμενο του υπερσυμπυκνώματος 89.17% (ξ.β.). Η μέγιστη τιμή της ικανότητας απορρόφησης νερού και ελαίου βρέθηκε ότι είναι: 171.9 g H₂O/100 g σε χρόνο εκχύλισης 15 min και λόγο στερεού/υγρό

1/25 και 632.9 mL ελαίου/100 g σε χρόνο εκχύλισης 20 min και λόγο στερεού/υγρό 1/15 αντίστοιχα.

Από τη σύγκριση των δύο μεθόδων, η εκχύλιση με υπέρηχους έδειξε καλύτερα αποτελέσματα σε μικρότερο χρόνο (20 min) σε σχέση με το μεγαλύτερο χρόνο της συμβατικής εκχύλισης (30 min). Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε αύξηση στην απόδοση εκχύλισης (40.29% με συμβατική, 44.30% με υπέρηχους), στην απόδοση καταβύθισης (45.27% με συμβατική, 52.54% με υπέρηχους) και στην ολική απόδοση (18.40% με συμβατική, 23.43% με υπέρηχους), στο πρωτεϊνικό περιεχόμενο των υπερσυμπυκνωμάτων (87.47% με συμβατική, 89.58% με υπέρηχους) και στην ικανότητα απορρόφησης ελαίου (520.8 mL ελαίου/100 g με συμβατική, 570.3 mL ελαίου/100 g με υπέρηχους). Μόνο η ικανότητα απορρόφησης νερού παρουσίασε ίδια τιμή (156.7 g H₂O/100 g με συμβατική, 156.3 g H₂O/100 g με υπέρηχους).

Τέλος, δεν ήταν δυνατή η παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από την εκχύλιση με τον ευτηκτικό διαλύτη (χλωρίδιο της χολίνης:γλυκόζη, σε αναλογία mole 2:1) και με τις δύο μεθόδους εκχύλισης, καθώς δεν πραγματοποιήθηκε καταβύθιση των πρωτεϊνών με ισοηλεκτρική καταβύθιση. Επίσης, η απόδοση εκχύλισης των πρωτεϊνών υπολογίστηκε κατά προσέγγιση 27% με τη συμβατική μέθοδο και 32% με υπέρηχους.

Επομένως αξίζει να εξεταστούν και άλλες νέες μέθοδοι εκχύλισης, όπως η εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα ή υποβοηθούμενη με ένζυμα και να γίνει περαιτέρω έρευνα για την εκχύλιση των πρωτεϊνών με ευτηκτικούς διαλύτες και την παραλαβή τους με άλλες μεθόδους καταβύθισης, όπως η καταβύθιση με άλατα.

Λέξεις-κλειδιά: σόγια, πρωτεΐνες, εκχύλιση, απόδοση, υπερσυμπύκνωμα

ABSTRACT

The aim of this thesis was to obtain soy protein isolates from defatted soy flour by conventional and new technologies, evaluating the process performance and the quality of the final products. Soy is included in oilseeds with high protein content and its isolates, because of their functional properties, have many uses in food systems.

As a raw material, was supplied an industrially defatted soy flour which had been heat-treated to inactivate anti-nutrients (trypsin inhibitors). Pretreatment of the raw material involved grinding and sieving to obtain uniformly sized particles. After sieving, was performed further defatting by extraction using petroleum ether as solvent because problems were encountered in the experimental process with the starting raw material. Thus, the laboratory defatted soy flour was used as raw material. The raw material had high protein content (53.01%).

The receipt of the soy protein isolates was performed by the technique of aqueous extraction of proteins and their isoelectric precipitation. Two extraction methods were used: ultrasound-assisted extraction (a new extraction method) and conventional extraction with hot water and they were compared with each other. The ultrasound-assisted extraction was evaluated regarding the extraction time (10, 15, 20 min) and the solid-to-liquid ratio (1/15, 1/20, 1/25 w/v). The determination of the protein content was performed by Kjeldahl analysis.

The extraction time appears to alter significantly the extraction yield and overall yield of proteins, but not the precipitation yield for extracted proteins, the % protein content of the isolates and the functional properties (water and oil absorption capacity). Also, the solid-to-liquid ratio appears to alter significantly the extraction yield and overall yield, but not the precipitation yield for extracted proteins, the % protein content of the isolates and their functional properties.

The soy isolates obtained from ultrasound-assisted extraction had high protein content (86.25-91.92%). The optimal values of the process were: extraction time at 20 min and solid-to-liquid ratio at 1/20, yielding an extraction yield of 53.38%, a total yield of 29.42% and 89.17% protein content of isolate. The maximum value of water and oil absorption capacity was found to be: 171.9 g H₂O/100 g at extraction time 15 min and solid-to-liquid ratio 1/25 and 632.9 mL oil/100 g at extraction time 15 min and solid-to-liquid ratio 1/15, respectively.

From the comparison of the two methods, ultrasound-assisted extraction showed better results in a shorter time (20 min) than the longer conventional extraction time (30 min). Specifically, an increase was observed in extraction yield (40.29% conventional, 44.30% ultrasound), in precipitation yield (45.27% conventional, 52.54% ultrasound), in total yield (18.40% conventional, 23.43% ultrasonic), in protein content of isolates (87.47% conventional, 89.58% ultrasound) and in oil absorption capacity (520.8 mL oil/100 g conventional, 570.3 mL oil / 100

g ultrasound). Only water absorption capacity remains the same (156.7 g H₂O/ 100 g conventional, 156.3 g H₂O/100 g ultrasound).

Finally, it was not possible to obtain soy protein isolates from extraction with the eutectic solvent (choline chloride:glucose, mole ratio 2:1) by both extraction methods, as precipitation of the proteins by isoelectric precipitation was not performed. Also, the extraction yield of protein was calculated approximately 27% by conventional extraction and 32% by ultrasound-assisted extraction).

Therefore it is worth investigating other methods of protein extraction, such as microwave-assisted extraction and enzyme-assisted extraction and investigate further the extraction of proteins with deep eutectic solvents and their receipt by other precipitation methods, such as salt precipitation.

Keywords: soy, protein, extraction, yield, isolate

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι πρωτεΐνες είναι το βασικότερο από τα συστατικά της διατροφής του ανθρώπου και η έλλειψη αυτών δημιουργεί σοβαρά προβλήματα στον οργανισμό. Το γεγονός αυτό, σε συνδυασμό με το ότι έχει αυξηθεί η κατανάλωση των πρωτεϊνικών τροφίμων λόγω της ταχείας αύξησης του πληθυσμού παγκοσμίως, έχει οδηγήσει τις βιομηχανίες τροφίμων να παράγουν πρωτεΐνες σταθερής ποιότητας, σε επαρκείς ποσότητες και με χαμηλό κόστος.

Οι ζωικές πρωτεΐνες από κρέας, γάλα, αυγά και ψάρια έχουν υψηλότερη βιολογική αξία από τις φυτικές, εφόσον οι τελευταίες παρουσιάζουν συνήθως έλλειψη σε ένα ή περισσότερα απαραίτητα αμινοξέα. Επειδή όμως οι ζωικές πρωτεΐνες έχουν υψηλό κόστος και δε βρίσκονται σε αφθονία, οι πρωτεΐνες που προέρχονται από φυτικές πηγές γίνονται όλο και πιο σημαντικές σε παγκόσμια κλίμακα. Επίσης, το συνεχώς αυξανόμενο ενδιαφέρον για τις φυτικές πρωτεΐνες οφείλεται στη σύγχρονη τάση για κατανάλωση τροφίμων χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά, τα οποία πιστεύεται ότι έχουν θετική επίδραση στην ανθρώπινη υγεία. Τέλος, η χρήση των φυτικών πρωτεϊνών συμβάλλει στην αντιμετώπιση περιβαλλοντικών προβλημάτων, όπως στη μείωση των εκπομπών αερίων του θερμοκηπίου και στον περιορισμό της καταστροφής των δασικών εκτάσεων.

Οι ελαιούχοι σπόροι (π.χ. ελαιοκράμβη, σόγια, ηλίανθος) αποτελούν σημαντική πηγή φυτικών πρωτεϊνών καθώς έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και μπορούν να ενσωματωθούν στα τρόφιμα προσδίδοντας θρεπτική αξία και λειτουργικές ιδιότητες. Ειδικότερα, η σόγια έχει το υψηλότερο πρωτεϊνικό περιεχόμενο και αποτελεί μία πλούσια πηγή θρεπτικών συστατικών. Τα τελευταία χρόνια έχει παρατηρηθεί αύξηση στην παραγωγή και στην κατανάλωση της σόγιας, τόσο στην Ευρωπαϊκή Ένωση όσο και στην Ελλάδα, γεγονός που οφείλεται κυρίως στη ζήτηση για είδη διατροφής εναλλακτικά του κρέατος και των γαλακτοκομικών.

Η ζήτηση των φυτικών πρωτεϊνών στην Ευρώπη έχει φτάσει σχεδόν τους 27 εκατ. τόνους πρωτεϊνών το χρονικό διάστημα 2016/17. Η ΕΕ εισάγει ετησίως περίπου 17 εκατ. τόνους ακατέργαστων φυτικών πρωτεϊνών από τους οποίους οι 13 εκατ. τόνοι έχουν ως βάση τη σόγια. Επιπλέον, λόγω της μεταρρύθμισης της Κοινής Γεωργικής Πολιτικής (ΚΓΠ) το 2013, η καλλιέργεια της σόγιας έχει σχεδόν διπλασιαστεί σε 10 εκατ. στρέμματα. Επίσης, τα τελευταία χρόνια στην Ελλάδα έχει παρατηρηθεί αύξηση τόσο στην καλλιέργεια όσο και στην παραγωγή της σόγιας.

Πίνακας Ε.1. Παραγωγή ελαιούχων σπόρων στην ΕΕ

	2014/15	2015/16	2016/17	2017/18
Παραγωγή (χιλ. tn)				
Σπόρος ελαιοκράμβης	24,587	21,997	20,538	22,145
Σπόρος σόγιας	1,832	2,320	2,410	2,667
Σπόρος ηλίανθου	8,974	7,721	8,598	9,679
Άλλοι ελαιούχοι σπόροι	510	409	418	493

Πηγή: United States Department of Agriculture (USDA), Foreign Agricultural Service

Πίνακας Ε.2. Καλλιεργούμενες εκτάσεις (στρέμματα) και παραγωγή (tn) σόγιας στην Ελλάδα

Περιφέρειες	2012		2013		2014		2015		2016	
	στρ.	tn	στρ.	tn	στρ.	tn	στρ.	tn	στρ.	tn
Ανατολικής Μακεδονίας και Θράκης	1,905	490	2,017	495	25,512	7,127	29,807	8,644	29,935	8,487
Κεντρικής Μακεδονίας	863	238	3,263	954	2,103	626	6,865	2,162	2,464	917
Δυτικής Μακεδονίας	0	0	0	0	59	14	55	10	0	0
Ηπείρου	0	0	0	0	47	12	45	15	49	20
Θεσσαλίας	25	5	65	15	313	51	119	35	35	8
Στερεάς Ελλάδας	30	8	30	8	54	16	78	22	50	17
Ιονίων Νήσων	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Δυτικής Ελλάδας	40	3	0	0	0	0	62	16	76	15
Πελοποννήσου	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Αττικής	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Βορείου Αιγαίου	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Νοτίου Αιγαίου	1	0	1	0	0	4	6	1	0	0
Κρήτης	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Σύνολο Ελλάδας	2,864	744	5,376	1,472	28,092	7,846	37,036	10,905	32,609	9,465

Πηγή: ΕΛΣΤΑΤ, Εκτάσεις και Παραγωγή/2012-2016

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ

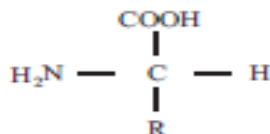
1.1 Γενικά

Οι πρωτεΐνες είναι απαραίτητα συστατικά των ζώντων οργανισμών και παίζουν αρκετούς σημαντικούς ρόλους στα βιολογικά συστήματα και στα συστήματα τροφίμων. Κάποιοι από αυτούς τους ρόλους συμπεριλαμβάνουν βιοκαταλύτες (ένζυμα), δομικά συστατικά των κυττάρων και των οργάνων (π.χ. κολλαγόνο, κερατίνη, ελαστίνη κ.α.), ορμόνες (ινσουλίνη, παράγοντες ανάπτυξης κ.α.), πρωτεΐνες μεταφοράς, αντισώματα, προστατευτικές πρωτεΐνες (τοξίνες και αλλεργιογόνα) και αποθηκευτικές πρωτεΐνες (πρωτεΐνες σπόρων, μικκύλια καζεΐνης, αλβουμίνη αυγού) ως άζωτο και πηγή ενέργειας για έμβρυα. ^[1]

Οι πρωτεΐνες είναι πολύ σύνθετα πολυμερή και συνήθως αποτελούνται από C, H, O, N, S και σε μερικές περιπτώσεις από P. Η σύσταση των πρωτεϊνών στα βασικά χημικά στοιχεία κυμαίνεται στα εξής όρια: C: 50-55%, H: 6.5-7.0%, N: 15.0-17.6%, O: 19-24% ή/και S: 0.3-2.3% και P: 0.3%. Είναι αξιοσημείωτο πως η μέση περιεκτικότητα των πρωτεϊνών σε N είναι 16% (Άζωτο:Πρωτεΐνη, N:P=6.25) και μέσω αυτής γίνεται ποσοτικός προσδιορισμός των πρωτεϊνών στα τρόφιμα. Η λειτουργική ποικιλία τους προέρχεται από τη χημική τους σύνθεση. Για παράδειγμα, ενώ άλλα βιοπολυμερή, όπως οι πολυσακχαρίτες και τα νουκλεϊκά οξέα, αποτελούνται από ένα ή λίγα πολυμερή, οι πρωτεΐνες και τα πολυπεπτίδια αποτελούνται από συνδυασμούς 20 διαφορετικών αμινοξέων. Σε κάποιες πρωτεΐνες, ορισμένα από τα υπολείμματα αμινοξέων είναι ενζυμικά τροποποιημένα από κυτταροπλασματικά ένζυμα. Παραδείγματα τέτοιων τροποποιήσεων είναι η γλυκοζυλίωση και η φωσφορυλίωση. Επίσης, σε αντίθεση με τους αιθερικούς και φωσφοδιεστερικούς δεσμούς οι οποίοι ενώνουν τα μονομερή στους πολυσακχαρίτες και τα νουκλεϊκά οξέα, αντίστοιχα, ο υποκατεστημένος αμιδικός δεσμός σε πρωτεΐνες είναι μερικώς διπλός δεσμός και αυτό προσθέτει στη δομική πολυπλοκότητα των πρωτεϊνών. Τα διάφορα είδη μη ομοιοπολικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των συστατικών των αμινοξέων και οι συγκεκριμένες ιδιότητες του αμιδικού δεσμού προσδίδουν ένα πλήθος δομικών μορφών στο χώρο πρωτεϊνών με διάφορες βιολογικές λειτουργίες. Είναι δυνατόν να συντεθεί αμέτρητος αριθμός πρωτεϊνών με ξεχωριστές δομές και λειτουργίες με μεταβολή της σύνθεσης και της αλληλουχίας των αμινοξέων. ^{[1],[2]}

Οι λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνών στα τρόφιμα σχετίζονται με τη δομή τους και άλλα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά. Για να βελτιωθεί η απόδοση των πρωτεϊνών στα τρόφιμα πρέπει να υπάρχει κατανόηση των φυσικών, χημικών και δομικών ιδιοτήτων και των αλλαγών που υφίστανται αυτές κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας των τροφίμων. ^[1]

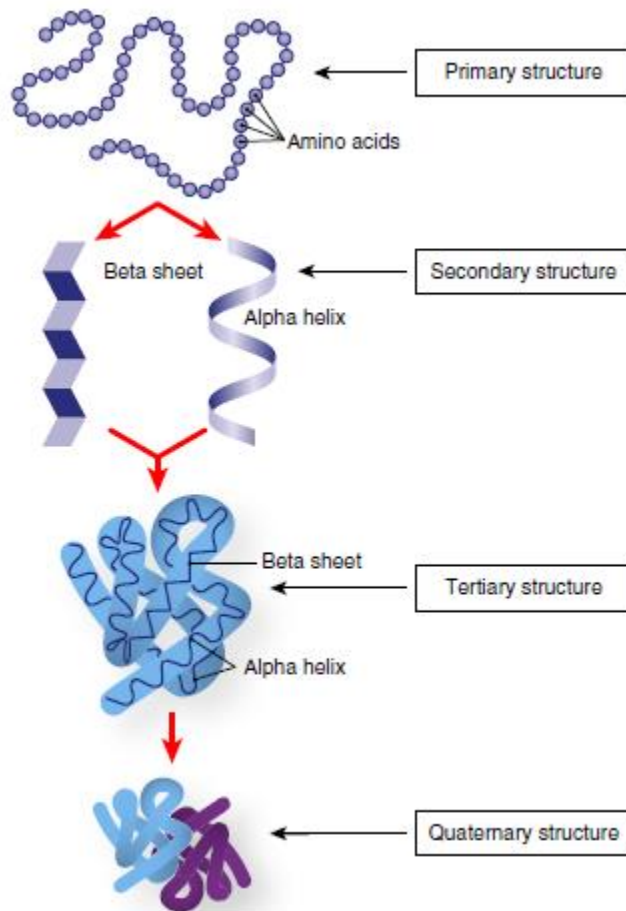
Η πρωτεϊνική δομή είναι περίπλοκη και αποτελείται από αμινοξέα ως δομικά στοιχεία. Ανεξάρτητα από την προέλευσή τους (ζωικές, φυτικές ή μικροβιακές) οι πρωτεΐνες περιέχουν 20 αμινοξέα (Πίνακας 1.1). Τα αμινοξέα είναι οργανικές ενώσεις οι οποίες αποτελούνται από μία αμινομάδα (NH₂), μία καρβοξυλική ομάδα (COOH) και μία πλευρική αλυσίδα (R), όπως φαίνεται στην Εικόνα 1.1.



Εικόνα 1.1. Τυπική δομή αμινοξέος ^[3]

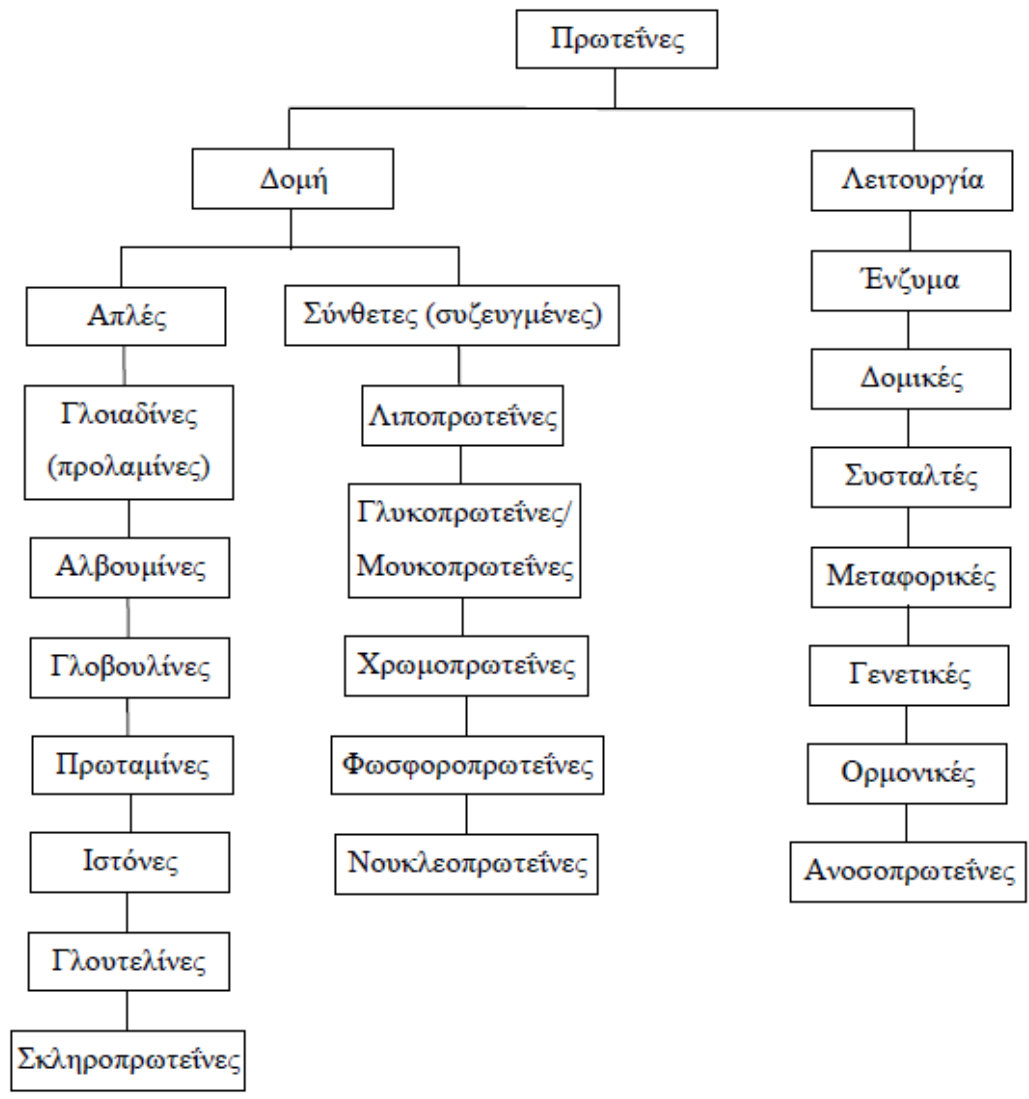
Η πλευρική αλυσίδα διακρίνει ένα αμινοξύ από κάποιο άλλο. Όταν δύο αμινοξέα συνδέονται με χημικό δεσμό σχηματίζεται ένα διπεπτίδιο και όταν πολλά αμινοξέα συνδέονται μεταξύ τους δημιουργείται ένα πολυπεπτίδιο. Όταν πολλές πολυπεπτιδικές αλυσίδες δημιουργούν μία μοναδική τρισδιάστατη δομή, αυτή είναι γνωστή ως μονάδα πρωτεΐνης. Υπό φυσιολογικές τιμές pH, θερμοκρασίας και ιοντικής ισχύος, οι πρωτεΐνες λαμβάνουν μία αναδιπλωμένη διαμόρφωση. Αυτή η φυσική διαμόρφωση αντιπροσωπεύει μία κατάσταση θερμοδυναμικής ισορροπίας στην οποία η ελεύθερη ενέργεια του μορίου είναι συνήθως στο χαμηλότερο επίπεδο και επιτυγχάνεται μέσω βελτιστοποίησης διαφόρων διαμοριακών και ενδομοριακών αλληλεπιδράσεων.^[3]

Μία καλά καθορισμένη τρισδιάστατη λειτουργική δομή της πρωτεΐνης προϋποθέτει τέσσερα διαφορετικά επίπεδα δομών: πρωτοταγή (primary), δευτεροταγή (secondary), τριτοταγή (tertiary) και τεταρτοταγή (quaternary). Η εκτεταμένη πολυπεπτιδική αλυσίδα είναι η πρωτοταγής δομή, όπου ένας αριθμός γειτονικών αμινοξέων συνδέονται ομοιοπολικά σχηματίζοντας πεπτιδικούς δεσμούς μεταξύ της καρβοξυλομάδας του ενός αμινοξέος με την αμινομάδα ενός άλλου αμινοξέος. Στη δευτεροταγή δομή τα αμινοξέα στην πολυπεπτιδική αλυσίδα οργανώνονται σε κάποιες σταθερές δομές γνωστές ως α-έλικα, β- πτυχωμένο φύλλο, τριπλή έλικα του κολλαγόνου και τυχαία σπείρα. Στην τριτοταγή δομή, τα πολυπεπτίδια αναδιπλώνονται σε μία τρισδιάστατη δομή. Τόσο οι ομοιοπολικές όσο και οι μη ομοιοπολικές δυνάμεις όπως οι υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις και οι δεσμοί υδρογόνου μεταξύ των πλευρικών αλυσίδων και των δισουλφιδικών δεσμών παίζουν βασικό ρόλο στο σχηματισμό αυτής της αναδιπλωμένης δομής. Η τεταρτοταγής δομή σχηματίζεται από μία συστοιχία αρκετών πρωτεϊνικών μορίων που ονομάζονται συνήθως υπομονάδες πρωτεϊνών, οι οποίες λειτουργούν ως σύμπλεγμα απλών πρωτεϊνών. Στην Εικόνα 1.2 παρουσιάζεται σχηματικά τα επίπεδα δομών που παρατηρούνται στις πρωτεΐνες. ^[3]



Εικόνα 1.2. Τέσσερα επίπεδα οργάνωσης της πρωτεΐνης ^[3]

Οι πρωτεΐνες διακρίνονται ανάλογα με τη δομή και τη λειτουργία τους. Με βάση τη δομή, οι πρωτεΐνες διακρίνονται στις απλές και τις σύνθετες ή συζευγμένες, στο μόριο των οποίων εκτός της πολυπεπτιδικής αλυσίδας περιέχεται κάποια προσθετική ομάδα (υδατάνθρακας, λιπίδιο κ.α.). Οι απλές πρωτεΐνες ταξινομούνται ανάλογα με τη διαλυτότητά τους σε νερό, υδατικά διαλύματα αλάτων, οξέων ή βάσεων. Έτσι, οι αλβουμίνες είναι διαλυτές σε νερό, οι γλοβουλίνες είναι σχεδόν αδιάλυτες σε νερό αλλά διαλυτές σε αραιά διαλύματα αλάτων, οι προλαμίνες είναι αδιάλυτες σε νερό και καθαρή αλκοόλη, αλλά διαλύονται σε 50-90% αιθανόλη, ενώ οι γλουτελίνες είναι διαλυτές σε αραιά διαλύματα οξέων και βάσεων και ουδέτερων αλάτων. Στην Εικόνα 1.3 παρουσιάζεται μία γενική ταξινόμηση των πρωτεϊνών. ^{[2],[5]}



Εικόνα 1.3. Ταξινόμηση πρωτεϊνών ^[2]

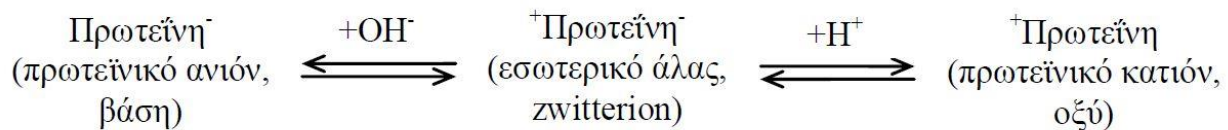
Πίνακας 1.1. Κυριότερα α-αμινοξέα των πρωτεϊνών^[4]

Όνομα	Συμβολισμός με 3 γράμματα	Μοριακός τύπος	Μοριακό βάρος	Σημείο τήξης (°C)	pKa	pK _b	pI	Διαλυτότητα στο H ₂ O στους 25°C (g/kg)
Αλανίνη	Ala	C ₃ H ₇ NO ₂	89.09	297	2.33	9.71	6.00	165.0
Αργινίνη	Arg	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	174.20	244	2.03	9.00	10.76	182.6
Ασπαραγίνη	Asn	C ₄ H ₈ N ₂ O ₃	132.12	235	2.16	8.73	5.41	25.1
Ασπαραγινικό οξύ	Asp	C ₄ H ₇ NO ₄	133.10	270	1.95	9.66	2.77	4.95
Κυστεΐνη	Cys	C ₃ H ₇ NO ₂ S	121.16	240	1.91	10.28	5.07	v.s
Γλουταμινικό οξύ	Glu	C ₅ H ₉ NO ₄	147.13	160	2.16	9.58	3.22	8.61
Γλουταμίνη	Gln	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₃	146.15	185	2.18	9.00	5.65	42
Γλυκίνη	Gly	C ₂ H ₅ NO ₂	75.07	290	2.34	9.58	5.97	250.9
Ιστιδίνη	His	C ₆ H ₉ N ₃ O ₂	155.16	287	1.70	9.09	7.59	43.5
Ισολευκίνη	Ile	C ₆ H ₁₃ NO ₂	131.17	284	2.26	9.60	6.02	34.2
Λευκίνη	Leu	C ₆ H ₁₃ NO ₂	131.17	293	2.32	9.58	5.98	22.0
Λυσίνη	Lys	C ₆ H ₁₄ N ₂ O ₂	146.19	224	2.15	9.16	9.74	5.8
Μεθειονίνη	Met	C ₅ H ₁₁ NO ₂ S	149.21	281	2.16	9.08	5.74	56
Φαινυλαλανίνη	Phe	C ₉ H ₁₁ NO ₂	165.19	283	2.18	9.09	5.48	27.9
Προλίνη	Pro	C ₅ H ₉ NO ₂	115.13	221	1.95	10.47	6.30	1623
Σερίνη	Ser	C ₃ H ₇ NO ₃	105.09	228	2.13	9.05	5.68	50.2
Θρεονίνη	Thr	C ₄ H ₉ NO ₃	119.12	256	2.20	8.96	5.60	98.1
Τρυπτοφάνη	Trp	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	204.23	289	2.38	9.34	5.89	13.2
Τυροσίνη	Tyr	C ₉ H ₁₁ NO ₃	181.19	343	2.24	9.04	5.66	0.46
Βαλίνη	Val	C ₅ H ₁₁ NO ₂	117.15	315	2.27	9.52	5.96	88.5

1.2 Φυσικοχημικές ιδιότητες πρωτεϊνών

1.2.1 Αμφοτερισμός-Ισοηλεκτρικό σημείο (pI)

Η ικανότητα που επιδεικνύουν τα πρωτεϊνικά μόρια να συμπεριφέρονται ως οξέα ή βάσεις, ανάλογα με τις συνθήκες, εξαιτίας των αμινοξέων από τα οποία αποτελούνται ονομάζεται αμφοτερισμός.



Η τιμή pH στην οποία η πρωτεΐνη δεν μεταναστεύει υπό την επίδραση ηλεκτρικού πεδίου ονομάζεται ισοηλεκτρικό σημείο (isoelectric point – pI). Όταν το πρωτεϊνικό μόριο βρίσκεται με τη μορφή του εσωτερικού άλατος και έχει καθαρό φορτίο μηδέν, ο αριθμός των κατιοντικών θέσεων ισούται με τον αριθμό των ανιονικών, σε κάθε μόριο.

Κάθε πρωτεΐνη έχει διαφορετικό ισοηλεκτρικό σημείο. Εξαρτάται από το είδος των αμινοξέων που αποτελείται και από τη θέση τους στο πρωτεϊνικό μόριο (στην επιφάνεια ή στο εσωτερικό του μορίου). Επίσης, η ηλεκτρορόφηση σε διαφορετικό pH χρησιμοποιείται για το διαχωρισμό και ταυτοποίηση των πρωτεϊνών γιατί η ηλεκτροφορητική κινητικότητα είναι μηδέν στο ισοηλεκτρικό σημείο.

1.2.2 Διαλυτότητα

Η διαλυτότητα των πρωτεϊνών, ειδικά σε υδατικό μέσο, εξαρτάται από το βαθμό στον οποίο η αλληλεπίδραση πρωτεΐνης-νερού κυριαρχεί της αλληλεπίδρασης πρωτεΐνης-πρωτεΐνης. Η διαλυτότητα εκφράζεται ως το ποσοστό της πρωτεΐνης σε υδατικό διάλυμα που δεν καθιζάνει ή κατακρημνίζεται υπό την επίδραση μέτρων φυγόκεντρων δυνάμεων.

Η διαλυτότητα των πρωτεϊνών εξαρτάται τόσο από τη σύνθεση των αμινοξέων, το μοριακό βάρος και τα χαρακτηριστικά επιφάνειας των συστατικών αμινοξέων, όσο και από τους περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως το pH, η θερμοκρασία και η ιοντική ισχύς.

Η γραφική παράσταση της διαλυτότητας μίας πρωτεΐνης συναρτήσει του pH έχει τη μορφή U ή V και το ελάχιστο σημείο της αντιστοιχεί στο ισοηλεκτρικό σημείο. Η συμπεριφορά αυτή βρίσκει εφαρμογή στη διαλυτοποίηση των πρωτεϊνών των ελαιούχων σπόρων (σόγιας, ηλιόσπορου κ.α.). Η διαλυτότητα είναι μεγαλύτερη στα αλκαλικά σε σχέση με τα όξινα pH. Ο αριθμός των

αρνητικά φορτισμένων αμινοξέων σε $pH > pI$ είναι μεγαλύτερος από τον αριθμό των θετικά φορτισμένων αμινοξέων σε $pH < pI$.

Σε pH κοντά στο ισοηλεκτρικό σημείο, τα πρωτεϊνικά μόρια εμφανίζουν ελάχιστες αλληλεπιδράσεις με το νερό και μειώνεται το καθαρό φορτίο τους. Το γεγονός αυτό επιτρέπει να πλησιάσουν μεταξύ τους οι πολυπεπτιδικές αλυσίδες, με αποτέλεσμα να σχηματίζονται συσσωματώματα, τα οποία οδηγούν σε καταβύθιση τα πρωτεϊνικά μόρια. Μία από τις βασικότερες μεθόδους απόμόνωσης πρωτεϊνών αποτελεί η ισοηλεκτρική καταβύθιση (isoelectric precipitation).

Η διαλυτότητα θεωρείται ότι είναι μία από τις σημαντικότερες λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνών, διότι επηρεάζει την υφή, το χρώμα, τη γαλακτωματοποίηση, τον αφρισμό και τις οργανοληπτικές ιδιότητες των τροφίμων. Η διαλυτότητα των πρωτεϊνών επηρεάζει επίσης την συγκράτηση νερού καθώς και άλλες φυσικοχημικές και λειτουργικές ιδιότητες των τροφίμων. Συνεπώς, μία εις βάθος κατανόηση της διαλυτότητας πρωτεΐνης μπορεί να παρέχει χρήσιμες πληροφορίες σχετικά με την πιθανή χρήση και λειτουργικότητα αυτής, ειδικά σε αφρούς, γαλακτώματα και πηκτές. Η διαλυτότητα είναι η κύρια παράμετρος που καθορίζει την καταλληλότητα των πρωτεϊνών για υγρά τρόφιμα και ποτά. Η υψηλή διαλυτότητα είναι επιθυμητή για να επιτευχθεί ο απαιτούμενος βαθμός ζελατινοποίησης, γαλακτωματοποίησης ή αφρισμού.^[3]

1.2.3 Οπτικές ιδιότητες

Οι υδατοδιαλυτές πρωτεΐνες στρέφουν το επίπεδο του πολωμένου φωτός προς τα αριστερά, η στροφή δε εξαρτάται από το pH του διαλύματος. Τα διαλύματα των πρωτεϊνών παρουσιάζουν υψηλό δείκτη διάθλασης, ο οποίος μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για τον προσδιορισμό τους.

Οι περισσότερες πρωτεΐνες δεν απορροφούν στην ορατή περιοχή του φάσματος και τα υδατικά διαλύματά τους εμφανίζονται άχρωμα. Η εμφάνιση κάποιου χρώματος οφείλεται στην απορρόφηση των προσθετικών ομάδων που υπάρχουν στο μόριό τους. Από την άλλη πλευρά, πολλές πρωτεΐνες εμφανίζουν χαρακτηριστικές ταινίες απορρόφησης στην υπεριώδη περιοχή του φάσματος που οφείλονται κυρίως στα αμινοξέα που περιέχουν αρωματικούς δακτυλίους (π.χ. φαινυλαλανίνη, τυροσίνη, τρυπτοφάνη).

1.2.4 Μετουσίωση

Η διαδικασία κατά την οποία αλλάζει η μοριακή δομή χωρίς να διασπαστεί κανένας από τους πεπτιδικούς δεσμούς της πρωτεΐνης καλείται μετουσίωση (denaturation). Αυτό σημαίνει ότι επέρχονται μεταβολές στη δευτεροταγή, τριτοταγή και τεταρτοταγή δομή των πρωτεϊνών αλλά όχι στην πρωτοταγή. Η διαδικασία είναι ιδιόμορφη στις πρωτεΐνες και επηρεάζει τις διάφορες πρωτεΐνες σε διαφορετικό βαθμό, ανάλογα με τη δομή της εκάστοτε πρωτεΐνης. Η μετουσίωση

μπορεί να προκληθεί από μία ποικιλία παραγόντων, εκ των οποίων οι κυριότερες είναι η θέρμανση, το pH, τα άλατα και οι επιφανειακές επιδράσεις. Λαμβάνοντας υπόψη την πολυπλοκότητα πολλών συστημάτων τροφίμων, δεν προκαλεί έκπληξη το γεγονός ότι η μετουσίωση είναι μία σύνθετη διαδικασία που δεν μπορεί εύκολα να περιγραφεί με απλούς όρους. [5]

Κατά τη μετουσίωση παρατηρείται ξεδίπλωμα του πρωτεϊνικού μορίου και μετατροπή περιοχών με διαμόρφωση α-έλικας σε διαμόρφωση τυχαίας σπείρας. Αυτό το ξεδίπλωμα οδηγεί περισσότερες ομάδες σουλφυδρυλίου (-SH) στην επιφάνεια του μορίου. Στις περισσότερες περιπτώσεις, η μετουσίωση δεν είναι αναστρέψιμη. Ωστόσο, υπάρχουν κάποιες εξαιρέσεις, όπως η ανάκτηση ορισμένων τύπων ενζυμικής δραστηριότητας μετά από θέρμανση. Η μετουσίωση μέσω θέρμανσης είναι μερικές φορές επιθυμητή, όπως για παράδειγμα, η μετουσίωση πρωτεϊνών ορού γάλακτος για την παραγωγή σκόνης γάλακτος που χρησιμοποιείται στο ψήσιμο. [2],[5]

Η μετουσίωση και η πήξη πρωτεϊνών είναι πτυχές της θερμικής σταθερότητας που μπορεί να σχετίζονται με τη σύνθεση των αμινοξέων και την αλληλουχία της πρωτεΐνης. Η μετουσίωση μπορεί να οριστεί ως μία σημαντική αλλαγή στην φυσική δομή που δεν περιλαμβάνει αλλοίωση της αλληλουχίας των αμινοξέων. Η επίδραση της θερμότητας συνήθως συνεπάγεται μία αλλαγή στην τριτοταγή δομή, οδηγώντας σε μία λιγότερο διατεταγμένη διάταξη των πολυπεπτιδικών αλυσίδων. Το εύρος θερμοκρασιών στο οποίο λαμβάνει χώρα η μετουσίωση και η πήξη των περισσότερων πρωτεϊνών είναι περίπου 55 έως 75°C. [5]

Η μετουσίωση προκαλεί σημαντικές αλλαγές στις φυσικοχημικές και λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνών. Οι κυριότερες από αυτές είναι: 1) μειωμένη διαλυτότητα, λόγω της απόκάλυψης υδρόφοβων ομάδων, 2) μεταβολή στην ικανότητα συγκράτησης νερού, 3) αυξημένη χημική δραστηριότητα, 4) μείωση ή ολική απώλεια βιολογικής δράσης (ενζυμικής ή ανοσολογικής), 5) απώλεια της ικανότητας κρυστάλλωσης, 6) αλλαγές στα φάσματα απορρόφησης, 7) αυξημένη επιδεικτικότητα σε υδρόλυση από πρωτεολυτικά ένζυμα, λόγω της απόκάλυψης πολλών πεπτιδικών δεσμών και 8) αυξημένο ιξώδες. [6]

Τέλος, η μετουσίωση μπορεί επίσης να επηρεάσει τα χαρακτηριστικά της πεπτικότητας και της διατροφής. Οι πρωτεΐνες που είναι ανθεκτικές στη θερμική μετουσίωση, όπως οι πρωτεΐνες σόγιας και φακής, είναι επίσης λιγότερο εύπεπτες. Έτσι, η θεμελιώδης κατανόηση της δομικής σταθερότητας και της μετουσίωσης των πρωτεϊνών τροφίμων σε ένα ευρύ φάσμα συνθηκών επεξεργασίας τροφίμων είναι απαραίτητη για την κατανόηση των σχέσεων δομής-λειτουργίας τους. [3]

1.3 Λειτουργικές ιδιότητες

Οι λειτουργίες των πρωτεϊνών των τροφίμων προέρχονται από τη χημική σύνθεση, τη φυσική δομή και τον τρόπο με τον οποίο αλληλεπιδρούν με τα συστατικά άλλων τροφίμων και το περιβάλλον της διεργασίας. Η περίπλοκη και μοναδική δομή των πρωτεϊνών των τροφίμων δημιουργεί πολύ σημαντικές και μοναδικές διατροφικές και λειτουργικές ιδιότητες. Οι λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνών σχετίζονται με τη χημική σύνθεση και τη φυσική δομή που επηρεάζουν αμφότερες τη συμπεριφορά μίας πρωτεΐνης στα συστήματα τροφίμων κατά τη διάρκεια της παρασκευής, της επεξεργασίας, της αποθήκευσης και της κατανάλωσης. Αυτές οι φυσικοχημικές ιδιότητες των πρωτεϊνών συμβάλλουν στην ποιότητα και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των συστημάτων τροφίμων. Οι πρωτεΐνες ενσωματώνονται σε διάφορα τρόφιμα προκειμένου να βελτιωθεί η γεύση, η υφή και άλλα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των επεξεργασμένων τροφίμων. ^[3] Στον Πίνακα 2 παρουσιάζονται μερικές τυπικές κατηγορίες λειτουργικών ιδιοτήτων.

Πίνακας 1.2. Λειτουργικές ιδιότητες πρωτεϊνών σε συστήματα τροφίμων ^[2]

Γενικές ιδιότητες	Λειτουργικά χαρακτηριστικά
Οργανοληπτικές (sensorial)	Χρώμα, γεύση, οσμή
Κιναισθητικές (kinesthetic)	Υφή, απαλότητα, στοματική αίσθηση, κοκκώδης αίσθηση, θολότητα
Επιφανειακές (surface)	Γαλακτωματοποίηση, αφρισμός, σχηματισμός μεμβράνης
Δομικές (structural)	Ελαστικότητα, συνεκτικότητα, καταλληλότητα για μάσηση, συνάφεια, συσσωμάτωση, δημιουργία πλέγματος, ικανότητα αναδιαμόρφωσης και εκβολής
Ενζυμικές (enzymatic)	Ωρίμανση, πρόσδοση τρυφερότητας
Ρεολογικές (rheological)	Ιξώδες, πήξη
Αντιοξειδωτικές (antioxidant)	Παρεμπόδιση ανάπτυξης δυσάρεστης γεύσης-οσμής
Δέσμευση (binding)	Δέσμευση λιπαρών, γευστικών – οσμηρών ουσιών
Αναμιξιμότητα (blendability)	Συμπληρωματικότητα
Ενυδάτωση (hydration)	Διαλυτότητα, απορρόφηση νερού, ικανότητα διαβροχής, διόγκωση, ζελοποίηση, συναίρεση

Οι λειτουργικές ιδιότητες μπορούν να χωριστούν στις εξής τρεις κατηγορίες: 1) ιδιότητες ενυδάτωσης εξαρτώμενες από αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης-νερού, 2) ιδιότητες εξαρτώμενες από αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης-πρωτεΐνης και 3) επιφανειακές ιδιότητες.

Οι κυριότερες λειτουργικές ιδιότητες είναι: ικανότητα διαβροχής και διασποράς (ευκολία και ταχύτητα ενυδάτωσης) (wettability and dispersibility), διόγκωση (αυθόρμητη πρόσληψη νερού)

(swelling), διαλυτότητα (solubility), αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης-νερού σε ξηρή κατάσταση (protein-water interactions in the dry state), ιξώδες και πάχυνση (viscosity and thickening), απορρόφηση νερού και λιπαρών (water and fat absorption), συνάφεια (ικανότητα ενός υλικού να συνενώνει δύο άλλα υλικά) (adhesion) και συνεκτικότητα (ικανότητα για συνένωση τμημάτων του ίδιου υλικού μεταξύ τους) (cohesion), ζελοποίηση (αντιστρεπτή πήξη χωρίς μετουσίωση) (gelation) και πήξη (μη αντιστρεπτή πήξη με μετουσίωση) (coagulation), αφριστικές ιδιότητες (foaming properties), γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες (emulsifying properties), δέσμευση οσμηρών και γευστικών ουσιών (flavor binding), αναδιαμόρφωση (texturization).

1.3.1 Ιδιότητες ενυδάτωσης

Ο τρόπος αλληλεπίδρασης των πρωτεϊνών με το νερό και η ικανότητα αυτών να δεσμεύουν και να ακινητοποιούν το νερό είναι από τα βασικότερα κριτήρια που καθορίζουν τη χρησιμότητα και τη λειτουργικότητά τους στα περισσότερα συστήματα τροφίμων. Η φύση των αλληλεπιδράσεων πρωτεΐνης-νερού και πρωτεΐνης-πρωτεΐνης είναι πολύ σημαντική για τον καθορισμό της λειτουργίας της πρωτεΐνης στο σύστημα τροφίμου ως κολλοειδούς διασποράς, πηκτής ή αδιάλυτου ιζήματος. Στη συνέχεια παρουσιάζονται κάποιες από τις λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνών που σχετίζονται άμεσα με τις αλληλεπιδράσεις με το νερό.

Διαβρεκτικότητα (wettability) και διασκορπισιμότητα (dispersibility): Εξαρτώνται από την αναλογία υδρόφιλων/υδρόφοβων ομάδων της επιφάνειας του πρωτεϊνικού μακρομορίου, την επιφανειακή τάση και τους σχετικούς ρυθμούς απορρόφησης νερού και διόγκωσης. Γενικά, οι πρωτεΐνες διασπείρονται δυσκολότερα όταν μετουσιωθούν.

Διόγκωση (swelling): Προκαλείται από αυθόρμητη πρόσληψη νερού από την πρωτεϊνική μήτρα, με χαλάρωση των πολυπεπτιδίων. Εξαρτάται από διαμοριακές δυνάμεις και δεσμούς μεταξύ γειτονικών πολυπεπτιδικών αλυσίδων και από τη δυνατότητα του νερού να αντικαταστήσει τις αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης-πρωτεΐνης με αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης-νερού.

Ικανότητα συγκράτησης νερού (water holding capacity): Είναι ποσοτικός δείκτης του νερού που συγκρατείται από μία πρωτεϊνική μήτρα κάτω από καθορισμένες συνθήκες. Περιλαμβάνει συνήθως όλες τις μορφές νερού που αλληλεπιδρούν με τις πρωτεΐνες. Η τιμή της εξαρτάται κατά πολύ από τις συνθήκες προσδιορισμού της.

1.3.2 Συνεκτικές ιδιότητες

Οι ιδιότητες αυτές είναι πολύ σημαντικές για την ανάπτυξη συστημάτων ινοποιημένων τροφίμων, πολυσυστατικών μιγμάτων δημητριακών για πρωινό και ειδικών παρασκευασμάτων κρέατος, όπου ένα από τα συστατικά του μίγματος, συνήθως η πρωτεΐνη, πρέπει να έχει την ικανότητα να συγκρατεί όλα τα υλικά μαζί. Είναι αξιοσημείωτο πως δεν υπάρχει κάποιο υλικό

που να επιτυγχάνει τη σύνδεση όλων των υλικών. Για παράδειγμα, πολλές φορές οι πρωτεΐνες που εμφανίζουν μεγάλη συνεκτικότητα είναι ακατάλληλες για σύνδεση άλλων υλικών μεταξύ τους λόγω μειωμένης συνάφειας.

Οι δεσμοί που παίζουν σημαντικό ρόλο στις συνεκτικές ιδιότητες των πρωτεϊνών είναι ηλεκτροστατικής φύσης, δηλαδή δεσμοί υδρογόνου, υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις και δισουλφιδικοί δεσμοί. Γενικά, οι συνεκτικές ιδιότητες είναι καλύτερες σε πρωτεΐνες που φέρουν λιγότερες ιονιζόμενες ομάδες, παρουσιάζουν μικρή διαλυτότητα και βρίσκονται στο ισοηλεκτρικό τους σημείο. Οι πολικές ομάδες των πρωτεϊνών συνεισφέρουν στη συνάφεια αυτών με τους υδατάνθρακες, όπως και οι υδρόφοβες ομάδες οι οποίες συμμετέχουν στην ένωση με λιπίδια. Γενικά, οι υψηλού μοριακού βάρους πρωτεΐνες ευνοούν το σχηματισμό πολύ συνεκτικών δομών καθώς επιτρέπουν πολλαπλές αλληλεπιδράσεις και μεγάλο αριθμό ομοιοπολικών διασταυρώσεων. ^[6]

1.3.3 Απορρόφηση λιπαρών

Η ικανότητα των πρωτεϊνών να δεσμεύουν λιπαρά είναι πολύ σημαντική για την παραγωγή προϊόντων και υποκατάστατων κρέατος, όπου η απορρόφηση λιπαρών από τις πρωτεΐνες ενισχύει τη συγκράτηση της γεύσης και βελτιώνει τη στοματική αίσθηση. Η απορρόφηση λιπαρών οφείλεται κυρίως στην παγίδευση του ελαίου. Οι παράγοντες που την επηρεάζουν περιλαμβάνουν τη διαμόρφωση της πρωτεΐνης, τις αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης-πρωτεΐνης και τη διάταξη στο χώρο της λιπαρής φάσης. Στις αλληλεπιδράσεις πρωτεϊνών-λιπαρών δεν συμμετέχουν ομοιοπολικοί δεσμοί καθώς οι κύριες αλληλεπιδράσεις είναι υδρόφοβης φύσης μεταξύ των μη πολικών αλειφατικών αλυσίδων των λιπαρών με μη πολικές περιοχές του πρωτεϊνικού μορίου. Ο ρόλος αυτών των αλληλεπιδράσεων επιβεβαιώνεται από το γεγονός ότι η ενέργεια των αλληλεπιδράσεων πρωτεΐνης-λιπαρού γίνεται μέγιστη κοντά στο ισοηλεκτρικό σημείο της πρωτεΐνης. Συνήθως οι πρωτεΐνες με μεγάλη υδροφοβικότητα αλληλεπιδρούν ισχυρότερα με λιπίδια. Τέλος, η αλληλεπίδραση πρωτεϊνών-λιπαρών προστατεύει το πρωτεϊνικό μόριο από θερμική μετουσίωση λόγω της παρουσίας ομάδων υψηλής θερμοχωρητικότητας και της απουσίας νερού. ^[6]

1.3.4 Δέσμευση γευστικών-οσμικών ουσιών

Η γεύση/οσμή (flavor) μαζί με τη στοματική αίσθηση και την υφή είναι οι βασικότεροι παράγοντες καθορισμού της αποδοχής των τροφίμων. Κάποιες πρωτεΐνες τροποποιούν τη γεύση και την οσμή του τροφίμου είτε απευθείας λόγω της σύστασής τους είτε λόγω της συμμετοχής τους στην παραγωγή ανεπιθύμητων γεύσεων/οσμών κατά τη βιομηχανική παραγωγή, την αποθήκευση ή την προετοιμασία του τροφίμου στο σπίτι. Για παράδειγμα, οι πρωτεΐνες της σόγιας δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν εύκολα σε παραδοσιακά τρόφιμα γιατί έχουν έντονη γεύση "φασολιού".

Οι περισσότερες πρωτεΐνες παρουσιάζουν ελάχιστη γεύση και οσμή. Παρόλα αυτά επηρεάζουν την αντιλαμβανόμενη γεύση και οσμή λόγω των δυσάρεστων γεύσεων/οσμών που μπορεί να έχουν δεσμεύσει. Διάφορες ενώσεις, όπως αλκοόλες, φαινόλες, αλδεΐδες, κετόνες και οξειδωμένα λιπαρά οξέα προκαλούν γεύση/οσμή ταγγισμένου ή φασολιού και πικρή ή σιφή γεύση. Επιπλέον, όταν αυτές ενώνονται με πρωτεΐνες ή άλλα συστατικά των τροφίμων απελευθερώνονται και γίνονται αντιληπτές κατά το μαγείρεμα ή κατά τη μάσηση.

Αντίθετα, πολλές φορές οι πρωτεΐνες χρησιμοποιούνται ως φορέας επιθυμητών γεύσεων/οσμών. Για να επιτευχθεί αυτό, πρέπει όλα τα πτητικά συστατικά της επιθυμητής γεύσης/οσμής να παραμείνουν δεσμευμένα κατά την επεξεργασία και την αποθήκευση και να ελευθερώνονται πλήρως στο στόμα κατά τη μάσηση. ^[6]

1.3.5 Σχηματισμός πηκτής

Τα ποιοτικά χαρακτηριστικά πολλών τροφίμων, ειδικότερα οι ιδιότητες της υφής, καθορίζονται από την ικανότητα σχηματισμού πηκτής των πρωτεϊνών. Πρόκειται για συσσωμάτωση μετουσιωμένων μορίων η οποία οδηγεί σε σχηματισμό ενός τρισδιάστατου πρωτεϊνικού δικτύου, της πηκτής (gel), ικανού να συγκρατήσει μεγάλες ποσότητες νερού, φυσικά παγιδευμένου μέσα στο πλέγμα. Ο σχηματισμός πηκτής είναι αποτέλεσμα δεσμών υδρογόνου, ιοντικών και υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων, δυνάμεων Van der Waals και ομοιοπολικής δισουλφιδικής σύνδεσης. Η διασύνδεση των πρωτεϊνών χρησιμοποιώντας ενζυματικούς, πολυφαινολικούς ή μεταλλικούς διασυνδετές ενισχύει την ισχύ και τη σταθερότητα της πηκτής. Οι πρωτεΐνες υψηλού μοριακού βάρους και η υψηλή ποσότητα αμινοξέων με υδρόφοβες ομάδες τείνουν να δημιουργήσουν ένα ισχυρό δίκτυο συστημάτων πηκτών. ^{[3],[6]}

1.3.6 Γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες

Τα γαλακτώματα είναι συστήματα διασποράς ενός ή περισσότερων μη αναμίξιμων υγρών. Σταθεροποιούνται από τους γαλακτωματοποιητές – ενώσεις που σχηματίζουν διεπιφανειακά υμένα και αποτρέπουν έτσι τις φάσεις διασποράς να ρεύσουν μαζί. Οι πρωτεΐνες λόγω της αμφολυτικής φύσης τους μπορούν να σταθεροποιήσουν γαλακτώματα τύπου λιπαρά σε νερό, όπως το γάλα. Η καταλληλότητα μίας πρωτεΐνης ως γαλακτωματοποιητής εξαρτάται από το ποσοστό στο οποίο διαχέεται στην επιφάνεια και από την ικανότητα παραμόρφωσης της διαμόρφωσης υπό επίδραση διεπιφανειακής τάσης. Μία πρωτεΐνη με τις ιδανικές ιδιότητες γαλακτωματοποιητή σε ένα γαλάκτωμα ελαίου σε νερό θα είχε σχετικά χαμηλό μοριακό βάρος, ισορροπημένη σύνθεση αμινοξέων από άποψη φορτισμένων, πολικών και μη πολικών μορίων, καλή υδατοδιαλυτότητα, καλά ανεπτυγμένη υδροφοβικότητα και μία σχετικά σταθερή διαμόρφωση, όπως το μόριο της β-καζεΐνης. ^[7]

1.4 Θρεπτική αξία των πρωτεϊνών

1.4.1 Γενικά

Ο ανθρώπινος οργανισμός παραλαμβάνει από τα διάφορα τρόφιμα τα θρεπτικά συστατικά που είναι απαραίτητα για τις ενεργειακές του ανάγκες, για την ανάπτυξη, για την ανανέωση των ιστών του σώματος και γενικότερα για τις λειτουργίες του. Για να εξασφαλιστεί μία ισορροπία στη διατροφή ο άνθρωπος καταναλώνει διάφορα είδη τροφίμων που παρουσιάζουν μεταξύ τους συμπληρωματικότητα ως προς τα περιεχόμενα θρεπτικά συστατικά. Η ισορροπία αυτή εξαρτάται τόσο από τις ανάγκες του συγκεκριμένου οργανισμού, ανάλογα με την ηλικία, το βάρος, το φύλο, το είδος εργασίας και τις κλιματολογικές συνθήκες, όσο και από τη φύση και τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των καταναλισκόμενων τροφίμων. ^[8]

Οι ενεργειακές ανάγκες του ανθρώπου καλύπτονται από τις πρωτεΐνες, τους υδατάνθρακες και τα λιπαρά σώματα. Η ενεργειακή αξία των τροφίμων συνηθίζεται να εκφράζεται σε kcal χρησιμοποιήσιμης (μεταβολικά διαθέσιμης) ενέργειας. Κατά το μεταβολισμό τους έχουν τις εξής ενεργειακές αποδόσεις: Πρωτεΐνες : 4 kcal/g, Υδατάνθρακες: 4 kcal/g, Λίπη και έλαια: 9 kcal/g. ^[9]

Για την κάλυψη των αναγκών του οργανισμού οι λαμβανόμενες τροφές πρέπει να είναι επαρκείς σε ποσότητα και κατάλληλες σε ποιότητα, ώστε να του εξασφαλίζουν την υγεία, την κανονική δραστηριότητα και το αίσθημα ευεξίας. Οι πρωτεΐνες, οι υδατάνθρακες και τα λιπαρά σώματα μπορούν να αντικατασταθούν αμοιβαία ως ενεργειακές τροφές, σε σχέση ανάλογη με τη θερμιδική τους αξία. Όμως, η σπουδαιότητα των πρωτεϊνών οφείλεται στο γεγονός ότι είναι αναγκαίες για την ανάπτυξη και την ανάπτυξη των ιστών καθώς δεν μπορούν να αναπληρωθούν από τους υδατάνθρακες και τα λιπαρά σώματα. ^[8]

Ο ανθρώπινος οργανισμός έχει την ικανότητα να συνθέτει πολλά από τα αμινοξέα που παραλαμβάνει με τη διατροφή, μέσω των πρωτεϊνών των τροφίμων, για τις θρεπτικές του ανάγκες. Όμως, ορισμένα αμινοξέα δεν μπορεί να τα συνθέσει και είναι αναγκαίο να τα παραλαμβάνει από τα τρόφιμα. Τα αμινοξέα αυτά χαρακτηρίζονται «απαραίτητα» γιατί η δράση τους δε μπορεί να αντικατασταθεί από άλλα θρεπτικά συστατικά των τροφίμων και απαιτείται να λαμβάνονται σε επαρκείς ποσότητες από τα τρόφιμα. Ως απαραίτητα αμινοξέα χαρακτηρίζονται τα εξής: βαλίνη, ισολευκίνη, λυσίνη, αργινίνη, μεθειονίνη, θρεονίνη, φαινυλαλανίνη, τρυπτοφάνη και ιστιδίνη.^[2] Στους Πίνακες 3 και 4 παρουσιάζονται οι υπολογιζόμενες ανάγκες των απαραίτητων αμινοξέων που πρέπει να λαμβάνει καθημερινά ένας άνθρωπος και οι προτεινόμενες αναλογίες των απαραίτητων αμινοξέων αντίστοιχα.

Πίνακας 1.3. Οι υπολογιζόμενες ανάγκες του ανθρώπου σε απαραίτητα αμινοξέα^[10]

Ηλικία (yr)	Ανάγκες (mg/kg/d)							
	Ιστιδίνη	Ισολευκίνη	Λευκίνη	Λυσίνη	Μεθειονίνη + Κυστεΐνη	Θρεονίνη	Τρυπτοφάνη	Βαλίνη
0.5	22	36	73	63	31	35	9.5	48
1-2	15	27	54	44	22	24	6	36
3-10	12	22	44	35	17	18	4.8	29
11-14	12	22	44	35	17	18	4.8	29
15-18	11	21	42	33	16	17	4.4	28
>18	10	20	39	30	15	15	4	26

Πίνακας 1.4. Οι προτεινόμενες αναλογίες ισορροπίας των απαραίτητων αμινοξέων^[10]

Ηλικία (yr)	Αναλογία (mg/g πρωτεΐνης)							
	Ιστιδίνη	Ισολευκίνη	Λευκίνη	Λυσίνη	Μεθειονίνη + Κυστεΐνη	Θρεονίνη	Τρυπτοφάνη	Βαλίνη
0.5	20	32	66	57	27	31	8.5	43
1-2	18	31	63	52	25	27	7	41
3-10	16	30	61	48	23	25	6.6	40
11-14	16	30	61	48	23	25	6.6	40
15-18	16	30	60	47	23	24	6.3	40
>18	15	30	59	45	22	23	6	39

Η σημασία των λειτουργιών που επηρεάζονται από τις πρωτεΐνες είναι τόσο μεγάλη και αυτό σημαίνει πως η κάθε διαταραχή στις συνθήκες της πρωτεϊνικής διατροφής μπορεί να έχει σοβαρές και συχνά μη αντιστρεπτές συνέπειες. Ο οργανισμός προσλαμβάνει με την καθημερινή τροφή ένα ποσό πρωτεϊνών που κυμαίνεται, ανάλογα με το είδος και τις περιεκτικότητες στα διάφορα αμινοξέα. Οι πρωτεΐνες έχουν υψηλότερη βιολογική αξία, όταν περιέχουν σε επαρκή ποσότητα και σε ισορροπημένη αναλογία τα απαραίτητα αμινοξέα. Όταν υπάρχει έλλειψη ακόμα και ενός από τα απαραίτητα αμινοξέα, τότε οι συνέπειες είναι βαρύτερες, ιδιαίτερα για τους νέους οργανισμούς σε ανάπτυξη, καθώς επίσης και όταν υπάρχει ολική έλλειψη πρωτεϊνών.

Οι ημερήσιες ανάγκες του οργανισμού σε πρωτεΐνες είναι 1 g/kg σωματικού βάρους. Οι πρωτεΐνες πρέπει να αποτελούν το 12-15% των θερμιδικών πηγών και η λαμβανόμενη ποσότητα πρέπει να είναι πάντα μεγαλύτερη από τη φυσιολογικά ελάχιστη πρωτεΐνη. Επίσης προτείνεται οι πρωτεΐνες ζωικής προέλευσης να αποτελούν ποσοστό μεγαλύτερο του 30% του συνόλου των πρωτεϊνών και τα απαραίτητα αμινοξέα να είναι το 35% του συνόλου των πρωτεϊνών, με την

προϋπόθεση να είναι ισορροπημένα μεταξύ τους. Τα διάφορα τρόφιμα εκτιμούνται από πρωτεϊνική άποψη με βάση το πρωτεϊνικό του περιεχόμενο και την ποιότητα των πρωτεϊνών τους.

Πρωτεϊνικό περιεχόμενο: Τρόφιμα με περιεχόμενο σε πρωτεΐνες κάτω από 3% δεν καλύπτουν τις πρωτεϊνικές ανάγκες του οργανισμού, ακόμα και αν καταναλώνονται σε ποσότητες που καλύπτουν τις ενεργειακές ανάγκες του. Αντίθετα, τα δημητριακά (8-10% πρωτεΐνες) μπορούν να καλύψουν τις πρωτεϊνικές ανάγκες αν ληφθούν σε ποσότητες που καλύπτουν και τις ενεργειακές ανάγκες.

Ποιότητα πρωτεϊνών: Η ποιότητα μίας πρωτεΐνης εξαρτάται από το είδος και την ποσότητα των αμινοξέων που περιέχει. Μία πρωτεΐνη θεωρείται καλής ποιότητας όταν περιέχει τα απαραίτητα αμινοξέα στην κατάλληλη αναλογία για τον ανθρώπινο οργανισμό. Για αυτό οι ζωικές πρωτεΐνες θεωρούνται καλύτερης ποιότητας από τις φυτικές, οι οποίες είναι συνήθως ελλειμματικές σε απαραίτητα αμινοξέα. Τα απαραίτητα αμινοξέα μίας πρωτεΐνης που βρίσκονται σε μεγαλύτερο έλλειμμα σε σχέση με τις ανθρώπινες ανάγκες ονομάζονται περιοριστικά.^[6]

1.4.2 Προσδιορισμός της θρεπτικής αξίας

Ο προσδιορισμός της θρεπτικής αξίας των πρωτεϊνών γίνεται συνήθως με βιολογικές, χημικές, ενζυμικές και μικροβιολογικές μεθόδους. Οι βιολογικές μέθοδοι βασίζονται στη μέτρηση της αύξησης του σωματικού βάρους ή αζώτου πειραματόζων ή ανθρώπων σε συνάρτηση με τη λήψη της πρωτεΐνης. Γενικά, οι μέθοδοι αυτές είναι χρονοβόρες, επίπονες και κατά τη διεξαγωγή τους πρέπει να λαμβάνονται υπόψη πολλοί παράγοντες. (π.χ. είδος της υπόλοιπης διατροφής, ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των ατόμων κ.α.). Τα αποτελέσματα των βιολογικών μεθόδων εκφράζονται συνήθως με διάφορους δείκτες, οι κυριότεροι από τους οποίους είναι οι εξής:

- *Βιολογική αξία (Biological Value, BV)*, που ορίζεται ως τα μέρη της πρωτεΐνης του σώματος που μπορούν να αναπληρωθούν από 100 μέρη βάρους της εξεταζόμενης πρωτεΐνης του τροφίμου ή

$$BV = \frac{\text{Συγκρατούμενο άζωτο}}{\text{Απορροφούμενο άζωτο}} \times 100$$

Όσο η βιολογική αξία μίας πρωτεΐνης πλησιάζει το 100, τόσο καλύτερη είναι αυτή.

- *Συντελεστής αποτελεσματικότητας (Protein Efficiency Ratio, PER)*, που ορίζεται ως η αύξηση του σωματικού βάρους ανά βάρος της πρωτεΐνης που καταναλώνεται

$$PER = \frac{\text{Αύξηση του βάρους του σώματος (g)}}{\text{Βάρος της καταναλωθείσης πρωτεΐνης (g)}}$$

Όσο μεγαλύτερη τιμή έχει αυτός ο δείκτης τόσο καλύτερη είναι η εξεταζόμενη πρωτεΐνη.

Οι δείκτες BV και PER χρησιμοποιούνται συνήθως μαζί για την εκτίμηση της ποιότητας μίας πρωτεΐνης. Για πρωτεΐνες καλής ποιότητας οι τιμές κυμαίνονται από: BV = 85-98 και PER = 2.5 και για το ίδιο τρόφιμο συνήθως συμβαδίζουν.

Άλλοι δείκτες που προσδιορίζουν την ποιότητα των πρωτεϊνών είναι:

- Καθαρή χρησιμοποίηση πρωτεΐνης (*Net Protein Utilization, NPU*)

$$NPU = \frac{\text{Συγκρατούμενο άζωτο}}{\text{Άζωτο τροφίμου}} \times 100$$

- Καθαρός πρωτεϊνικός λόγος (*Net Protein Ratio, NPR*)

$$NPR = \frac{\text{Αύξηση βάρους από πρωτεϊνική διατροφή (g)} + \text{Μείωση βάρους από μη πρωτεϊνική διατροφή (g)}}{\text{Κατανάλωση πρωτεΐνης (g)}}$$

- Σχετική θρεπτική αξία (*Relative Nutritive Value, RNV*)

$$RNV = \frac{\text{κλίση καμπύλη αύξηση} - \text{κατανάλωση πρωτεΐνης}}{\text{κλίση καμπύλης της αύξησης βάρους} - \text{κατανάλωση γαλακτοαλβουμίνης}}$$

Στις χημικές μεθόδους προσδιορίζεται η ποσότητα των περιεχόμενων αμινοξέων και συγκρίνεται με διάφορα πρότυπα. Τα αποτελέσματα των χημικών μεθόδων εκφράζονται συνήθως με τους εξής δείκτες:

- Χημική βαθμολόγηση (*Chemical Score, CS*). Εκφράζεται ως mg/g πρωτεΐνης.

$$CS = \frac{\text{Ποσότητα περιοριστικού αμινοξέος της εξεταζόμενης πρωτεΐνης}}{\text{Ποσότητα του ίδιου αμινοξέος στο πρότυπο του FAO (mg/g πρωτεΐνης)}}$$

- Πρωτεϊνική βαθμολόγηση (*Protein Score, PS*). Εκφράζεται ως mg/g πρωτεΐνης.

$$PS = \frac{\text{Ποσότητα περιοριστικού αμινοξέος της εξεταζόμενης πρωτεΐνης}}{\text{Ποσότητα του ίδιου αμινοξέος στην πρωτεΐνη του αυγού κότας}}$$

Οι ενζυμικές μέθοδοι μετρούν την ικανότητα πέψης των πρωτεϊνών (*digestibility*). Οι συνηθέστερες χρησιμοποιούν τα πρωτεολυτικά ένζυμα πεψίνη, τρυψίνη, παπαΐνη και παγκρεατίνη, καθώς και συνδυασμούς αυτών.

Οι μικροβιολογικές μέθοδοι χρησιμοποιούν μικροοργανισμούς αντί για πειραματόζωα. Συνήθως χρησιμοποιείται το πρωτόζωο *Tetrahymena pyriformis*, τα αποτελέσματα από το οποίο συνήθως αποδίδονται με το δείκτη T-PER. [6],[8]

1.5 Πηγές πρωτεϊνών

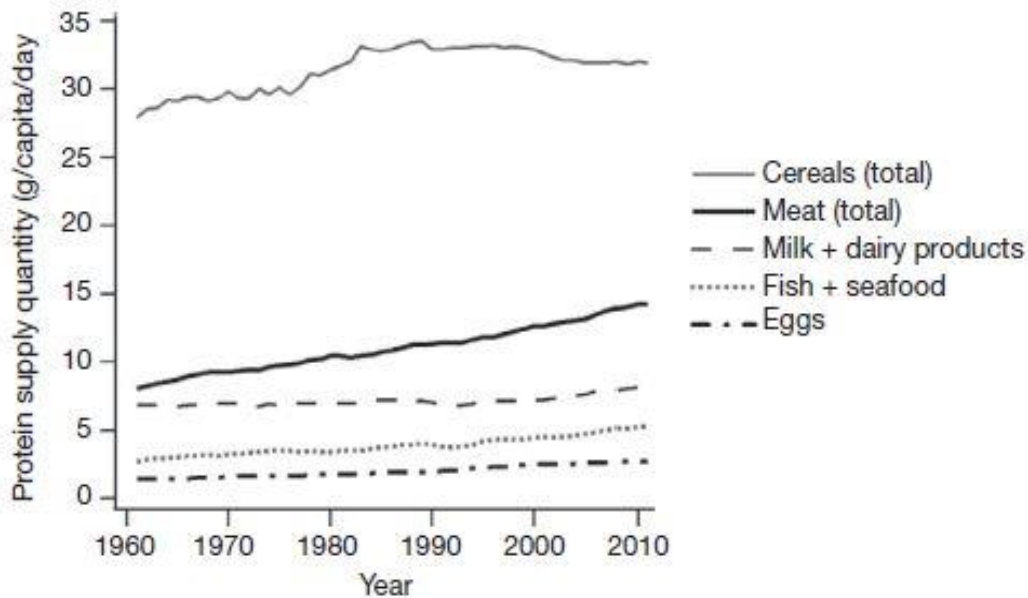
1.5.1 Γενικά

Οι κυριότερες πηγές πρωτεϊνών τροφίμων προέρχονται από τα ζώα και τα φυτά. Ειδικότερα, αυτές περιλαμβάνουν γαλακτοκομικά προϊόντα (γάλα, γιαούρτι, τυρί), κρέας, πουλερικά, θαλασσινά, αυγά, τρόφιμα σόγιας (τόφου), σπόρους και ξηρούς καρπούς, όσπρια και προϊόντα με βάση τα δημητριακά. Οι ζωικές πρωτεΐνες θεωρούνται υψηλότερης ποιότητας από τις φυτικές λόγω της περιεκτικότητάς τους σε απαραίτητα αμινοξέα. Στον Πίνακα 5 παρουσιάζονται οι κυριότερες πηγές πρωτεϊνών τροφίμων.

Πίνακας 1.5. Πηγές πρωτεϊνών τροφίμων^[11]

Πηγές	Υποκατηγορίες	Κοινή πηγή τροφής	Πρωτεϊνικά συστατικά
Ζωικές	Γαλακτοκομικά Κρέας, πουλερικά και θαλασσινά Αυγά	Γάλα, τυρί, γιαούρτι Μυϊκές πρωτεΐνες	Καζεΐνη και ορός γάλακτος Πρωτεΐνες αίματος, κολλαγόνο και ζελατίνη Σκόνη ολόκληρου αυγού, ασπράδι αυγού και κρόκος αυγού
Φυτικές	Δημητριακά Όσπρια Ελαιούχοι σπόροι Ξηροί καρποί	Σιτάρι, καλαμπόκι, κριθάρι, βρώμη και ρύζι Μπιζέλια, λούπινα, φακές, ρεβίθια και φασόλια Ελαιοκράμβη, βαμβακόσπορος, σόγια και λιναρόσπορος Καρύδια	Γλουτένη σίτου Υπερσυμπυκνώματα σόγιας και μπιζελιού

Η παγκόσμια παροχή ζωικών πρωτεϊνών από το κρέας έχει δείξει αύξηση κατά 77% τα τελευταία 40 χρόνια, από 8 σε 14.2 g/άτομο/ημέρα. Ωστόσο, τα δημητριακά εξακολουθούν να αποτελούν τις κυριότερες πηγές πρωτεϊνών, ιδιαίτερα στον αναπτυσσόμενο κόσμο, όπου τα σιτηρά αποτελούν το μεγαλύτερο μέρος της βασικής διατροφής. Κατά μέσο όρο, οι πρωτεΐνες δημητριακών αντιπροσωπεύουν 32 g/άτομο/ημέρα στην ανθρώπινη διατροφή. Στο Σχήμα 4 παρουσιάζεται η παγκόσμια παρεχόμενη ποσότητα πρωτεϊνών των τροφίμων τις τελευταίες τέσσερις δεκαετίες.^[11]



Εικόνα 1.4. Η παγκόσμια παρεχόμενη ποσότητα πρωτεϊνών των τροφίμων (g/άτομο/ημέρα) τις τελευταίες τέσσερις δεκαετίες.^[11]

1.5.2 Ζωικής προέλευσης τρόφιμα

Γάλα: Το αγελαδινό γάλα περιέχει 3-4.4% πρωτεΐνες. Οι πρωτεΐνες του γάλακτος χωρίζονται σε δύο κύριες ομάδες, οι οποίες είναι οι καζεΐνες και οι πρωτεΐνες του ορού γάλακτος (γαλακτοαλβουμίνες και γαλακτογλοβουλίνες). Οι καζεΐνες είναι η πλέον άφθονη ομάδα, η οποία αντιπροσωπεύει το 80% των συνολικών πρωτεϊνών του γάλακτος και είναι αδιάλυτες σε pH 4.6, ενώ οι πρωτεΐνες του ορού γάλακτος παραμένουν διαλυτές σε pH 4.6. Οι πρωτεΐνες γαλακτοκομικών προϊόντων χρησιμοποιούνται ευρέως ως συστατικά πρωτεϊνών από τη βιομηχανία τροφίμων σε μία ποικιλία παρασκευασμένων προϊόντων διατροφής, επειδή παρέχουν επιθυμητές οργανοληπτικές ιδιότητες, φυσικές λειτουργίες και διατροφικές αξίες για τα τρόφιμα.

Θαλασσινά: Τα θαλασσινά περιλαμβάνουν ψάρια, καρκινοειδή και μαλάκια, τα οποία θεωρούνται πλούσια σε λιπαρά και πρωτεΐνες. Οι πρωτεΐνες από τα θαλασσινά είναι υψηλής ποιότητας καθώς περιέχουν όλα τα απαραίτητα αμινοξέα σε καλές και ισορροπημένες ποσότητες. Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες στα περισσότερα προϊόντα που χρησιμοποιούνται για ανθρώπινη κατανάλωση κυμαίνεται από 15 -20% σε υγρή βάση.

Κρέας: Το κρέας των ζώων που χρησιμοποιούνται στην ανθρώπινη διατροφή αποτελείται από σκελετικούς μύες οι οποίοι περιέχουν 18-20% πρωτεΐνες σε υγρή βάση. Οι σημαντικότερες από τις πρωτεΐνες του κρέατος είναι το κολλαγόνο και η ζελατίνη. Το κολλαγόνο είναι μία οικογένεια

αδιάλυτων ινωδών πρωτεϊνών που βρίσκεται σε όλους τους πολυκύτταρους οργανισμούς. Είναι μία από τις πιο άφθονες πρωτεΐνες στα θηλαστικά, αντιπροσωπεύοντας το 25-30% της συνολικής πρωτεΐνης του σώματος. Επίσης, αποτελεί σημαντικό συστατικό του δέρματος, των οστών, του χόνδρου, του τένοντα και των αιμοφόρων αγγείων. Η ζελατίνη είναι μία διαλυτή πρωτεΐνη που παραλαμβάνεται με μερική υδρόλυση του κολλαγόνου. Οι ζελατίνες παράγονται κυρίως από πηγές βοοειδών και χοίρων, αλλά μπορούν επίσης να εξαχθούν από ψάρια και πουλερικά.

Αυγά: Το αυγό αποτελείται από 75% νερό, 12% πρωτεΐνες, 12% λιπίδια και περίπου 1% υδατάνθρακες και μέταλλα. Οι πρωτεΐνες που υπάρχουν στο αυγό κατανέμονται μεταξύ του ασπραδιού και του κρόκου. Οι πρωτεΐνες αντιπροσωπεύουν περισσότερο από το 90% της ξηρής ουσίας των αυγών. Οι κύριες πρωτεΐνες στο ασπράδι είναι: ωοαλβουμίνη (54%), ωοτρανσφερρίνη (12%), ωομυκοειδές (11%), ωομυκίνη (3.5%) και λυσοζύμη (3.5%). Οι πρωτεΐνες που υπάρχουν στον κρόκο αποτελούνται από λιποβιτελλενίνες (36%), λιβετίνες (38%), φωσφοροπρωτεΐνες (8%) και λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας (17%).^{[2],[11]}

1.5.3 Φυτικής προέλευσης τρόφιμα

Δημητριακά: Το σιτάρι έχει περιεκτικότητα 8-15% σε πρωτεΐνες, η οποία εξαρτάται από την ποικιλία των σπόρων. Οι κύριες πρωτεΐνες που βρίσκονται στους σπόρους του σιταριού είναι οι πρωτεΐνες γλουτένης. Η γλουτένη έχει τη μοναδική λειτουργική ιδιότητα να σχηματίζει μία ελαστική και συνεκτική μάζα/ζυμάρι (πλέγμα της γλουτένης) όταν διαβραχεί με νερό. Το κριθάρι και το καλαμπόκι έχουν περιεκτικότητα 8-15% και 9-12% σε πρωτεΐνες αντίστοιχα, ενώ το ρύζι έχει τη μικρότερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες (7-9%) από τα σημαντικότερα δημητριακά. Οι πρωτεΐνες των δημητριακών θεωρούνται χαμηλής θρεπτικής αξίας εξαιτίας της έλλειψης της λυσίνης.

Λαχανικά: Τα νωπά λαχανικά περιέχουν πρωτεΐνες σε μικρές ποσότητες. Η κατά μέσο όρο περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες για τα κυριότερα λαχανικά είναι: τα καρότα 1%, οι πατάτες και τα σπαράγγια 2%.

Όσπρια: Τα όσπρια περιλαμβάνουν μπιζέλια, λούπινα, ρεβίθια, φακές, φασόλια και άλλους ξηρούς βρώσιμους σπόρους. Αυτά με την κατά μέσο όρο υψηλότερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες είναι τα λούπινα και τα μπιζέλια με 40% και 25% αντίστοιχα.

Ελαιούχοι σπόροι: Ο σπόρος της σόγιας έχει υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες η οποία κυμαίνεται από 25-45%, ο σπόρος της ελαιοκράμβης έχει περιεκτικότητα 17-26% σε πρωτεΐνες και η περιεκτικότητα του σπόρου του ηλιάνθου σε πρωτεΐνες είναι επίσης υψηλή με τον αποφλοιωμένο σπόρο να αποτελείται από 20-40% ακατέργαστη πρωτεΐνη. Σε πολλούς σπόρους μπορεί να περιέχονται αντιθρεπτικοί παράγοντες (π.χ. στη σόγια αναστολείς τρυψίνης) που καταστρέφονται ή αδρανοποιούνται με κατάλληλη θερμική κατεργασία, αυξάνοντας με τον

τρόπο αυτό τη θρεπτική τους αξία. Επίσης, από τους ελαιούχους σπόρους με κατάλληλες τεχνικές παραλαμβάνονται πρωτεϊνικά προϊόντα (πρωτεϊνικά άλευρα, συμπυκνώματα ή υπερσυμπυκνώματα) τα οποία χρησιμοποιούνται σε πολλά τρόφιμα. ^{[2],[12]}

Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και η σύνθεση των αμινοξέων ποικίλλουν σημαντικά μεταξύ των οικογενειών, των γενών, των ειδών και των ποικιλιών. Επίσης, εξαρτώνται από το στάδιο ανάπτυξης του φυτού, καθώς και από το τμήμα (ιστό) που βρίσκεται υπό ανάλυση. Η αξία χρήσης των σπόρων από τις κύριες καλλιέργειες (δημητριακά, ελαιούχοι σπόροι και όσπρια) εξαρτάται από τη σύνθεση και την οργάνωση των συστατικών (από μοριακή σε μακροσκοπική κλίμακα) στα όργανα αποθήκευσης. Οι πρωτεΐνες των σπόρων μπορούν να ταξινομηθούν σε τρεις κατηγορίες: 1) Αποθηκευτικές πρωτεΐνες, 2) Βιολογικά δραστικές πρωτεΐνες, όπως τα ένζυμα και οι αναστολείς ενζύμων και 3) Δομικές πρωτεΐνες, όπως οι ριβοσωμικές, οι χρωμοσωμικές και οι μεμβρανικές πρωτεΐνες.

Οι αποθηκευτικές πρωτεΐνες είναι οι πιο άφθονες στους σπόρους και αποτελούν τα βασικά συστατικά της ποιότητας των κόκκων. Περιλαμβάνουν διάφορους τύπους πρωτεϊνών με συγκεκριμένες δομές και λειτουργικότητες. Γενικά, μία πρωτεΐνη που υπάρχει σε ποσοστό 5% ή περισσότερο του συνολικού πρωτεϊνικού κλάσματος θεωρείται αποθηκευτική πρωτεΐνη. Επίσης, οι αποθηκευτικές πρωτεΐνες έχουν οριστεί ως μία ομάδα που περιλαμβάνει πρωτεΐνες που παράγονται κυρίως κατά την ανάπτυξη των σπόρων και αποθηκεύονται στον σπόρο ώστε να χρησιμεύουν ως πηγή αζώτου κατά τη διάρκεια της βλάστησης. Οι ιδιότητες αυτών είναι η απουσία ενζυμικής δραστηριότητας, η εμφάνιση σε κυστίδιο που περιβάλλεται από μεμβράνη και η επικράτηση της πολυμερικής δομής. Οι αλβουμίνες και οι γλοβουλίνες είναι οι κύριες αποθηκευτικές πρωτεΐνες των δικοτυλήδων φυτών (π.χ. όσπρια και ελαιούχοι σπόροι), ενώ οι προλαμίνες και οι γλουτελίνες είναι κύριες πρωτεΐνες σε μονοκοτυλήδονα φυτά (π.χ. δημητριακά). Τέλος, είναι πλούσιες σε ασπαραγίνη, γλουταμίνη και αργινίνη. ^[13]

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΣΟΓΙΑ

2.1 Γενικά

Η σόγια ανήκει στην οικογένεια Leguminosae και στην υποοικογένεια Papilionaceae. Η καλλιεργούμενη σόγια είναι γνωστή ως *Glycine max* (L.) Merrill και ανήκει στο γένος *Glycine* και στο υπογένος *Soja*. Θεωρείται ως ένας από τους πιο καλλιεργήσιμους σπόρους στον κόσμο και ως μία σημαντική πηγή πρωτεϊνών, καθώς είναι ένα από τα λίγα φυτικά υλικά που περιέχουν όλα τα απαραίτητα αμινοξέα που απαιτούνται για την ανθρώπινη ανάπτυξη. Εκτός από την υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες (25-45%), οι σπόροι της σόγιας έχουν περιεκτικότητα σε έλαιο η οποία κυμαίνεται από 18-23%. Επίσης, η σόγια έχει χρησιμοποιηθεί για την προετοιμασία μίας ποικιλίας φρέσκων, ζυμωμένων και αποξηραμένων τροφίμων όπως το tofu, το γάλα σόγιας, και η σάλτσα σόγιας, τόσο στην Ασία όσο και σε άλλα μέρη του κόσμου εδώ και πολλούς αιώνες. Επιπλέον, από τη σόγια παράγεται μία ποικιλία σνακ υγιεινής διατροφής, ενεργειακά τρόφιμα και δημητριακά. Μετά την απελαίωση το υπόλειμμα της σόγιας χρησιμοποιείται ως θρεπτική τροφή των ζώων, ενώ το σογιέλαιο βρίσκει πολλές χρήσεις σε βιομηχανίες που σχετίζονται με την παραγωγή φαρμακευτικών προϊόντων, πλαστικών, χαρτιών, μελανιών, χρωμάτων, βερνικιών, φυτοφαρμάκων και καλλυντικών. Τέλος, η χρήση του σογιέλαιου ως βιοντίζελ έχει ανοίξει μία άλλη δυνατότητα ανανεώσιμων πηγών ενέργειας για βιομηχανικές χρήσεις.

Η καλλιέργεια της σόγιας είναι γεωγραφικά συγκεντρωμένη σε τέσσερις χώρες: Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής, Βραζιλία, Αργεντινή και Κίνα. Στις χώρες αυτές η παραγωγή αντιπροσωπεύει σχεδόν το 90% της παγκόσμιας παραγωγής. Οι χώρες της Ασίας, εκτός από την Κίνα, και της Αφρικής μαζί αντιπροσωπεύουν μόνο το 5% της παγκόσμιας παραγωγής της σόγιας. Μεταξύ των ελαιούχων σπόρων, η σόγια έχει το μεγαλύτερο μερίδιο παραγωγής (53%) ακολουθούμενη από την ελαιοκράμβη (15%), το βαμβακόσπορο (10%) και το φιστίκι (9%). Η σόγια είναι ιδιαίτερα ευαίσθητη στις περιβαλλοντικές διακυμάνσεις. Το νερό είναι ο μεγαλύτερος περιοριστικός παράγοντας που έχει μεγάλο αντίκτυπο στην παραγωγικότητά της. Ταυτόχρονα, η θερμοκρασία και η φωτοπερίοδος είναι επίσης σημαντικοί παράγοντες, οι οποίοι καθορίζουν την καλλιέργεια της σόγιας σε διάστημα και χρόνο. Παρ' όλα αυτά, έχουν σημειωθεί τεράστια βήματα στην παραγωγή και την παραγωγικότητα της σόγιας τα τελευταία χρόνια που οφείλονται στις εξελίξεις στις διαγονιδιακές καλλιέργειες σόγιας, τη γονιδιωματική και την αναπαραγωγή.^[14]

2.2 Σύσταση και μικροδομή

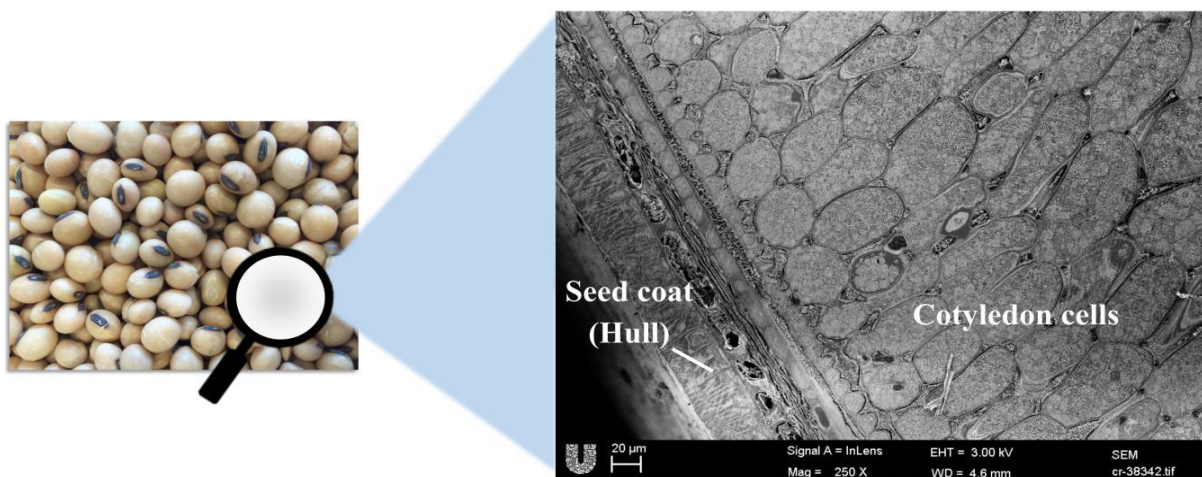
Ο σπόρος της σόγιας αποτελείται από τρία μέρη: το φλοιό (hull), τον άξονα του εμβρύου (hypocotyl axis) και τα κοτυληδονικά κύτταρα (cotyledon cells). Ο σπόρος της σόγιας αποτελείται

περίπου από 8% φλοιό, 90% κοτυληδονικά κύτταρα και 2% άξονα του εμβρύου.^[15] Στον Πίνακα 2.1 παρουσιάζεται η χημική σύνθεση των σπόρων και των συστατικών τους.

Πίνακας 2.1. Χημική σύνθεση των σπόρων της σόγιας και των συστατικών τους (σε ξηρή βάση)^[15]

Συστατικά	Σύσταση (%)	Πρωτεΐνες (%)	Λιπαρά (%)	Υδατάνθρακες (%)	Τέφρα (%)
Ολόκληροι σπόροι	100	40.3	21.0	33.9	4.9
Κοτυληδονικά κύτταρα	90.3	42.8	22.8	29.4	5.0
Φλοιός	7.3	8.8	1.0	85.9	4.3
Άξονας εμβρύου	2.4	40.8	11.4	43.4	4.4

Τα κοτυληδονικά κύτταρα, τα οποία είναι το κύριο μέρος του σπόρου, οργανώνονται μέσα στον όγκο σε μία διάταξη πλήρωσης χώρου, έχουν μήκος 70-80 μm και πλάτος 15-30 μm. Το κυτταρικό τους τοίχωμα αποτελείται από μία σειρά πολυσακχαριτών, που συχνά διασυνδέονται με πρωτεΐνες και φαινολικές ενώσεις (λιγνίνη). Το πρωταρχικό κυτταρικό τοίχωμα περιέχει πηκτίνες, ημικυτταρίνες και μικροϊνίδια κυτταρίνης διασυνδεδεμένα με πρωτεΐνες. Υπάρχει ένα δευτερεύον κυτταρικό τοίχωμα εντός του πρωταρχικού που περιέχει κυτταρίνη και ημικυτταρίνες ικανές να δεσμεύονται με πρωτεΐνες. Τα κύτταρα συγκρατούνται μεταξύ τους με συγκολλητικές ουσίες που βρίσκονται στη μεσαία στοιβάδα (τον εξωκυτταρικό χώρο μεταξύ των κυττάρων) που περιέχουν πηκτίνες και πρωτεΐνες πλούσιες σε γλυκίνη και υδροξυπρολίνη.^{[15],[16]}



Εικόνα 2.1. Μικροδομή σπόρου σόγιας από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM)^[16]

2.3 Πρωτεΐνες

Η πλειονότητα των πρωτεϊνών οργανώνονται σε πρωτεϊνικά σώματα (protein bodies) των κοτυληδονικών κυττάρων. Υπάρχουν δύο κύριοι τύποι αποθηκευτικών πρωτεϊνών που συνήθως αντιπροσωπεύουν το 60-80% της συνολικής πρωτεΐνης της σόγιας: η γλυκινίνη (globulins glycinin, 11S) και η β-συνγλυκινίνη (β-conglycinin, 7S). Σε ουδέτερο pH και θερμοκρασία περιβάλλοντος, η γλυκινίνη είναι ένα εξαμερές σύμπλοκο που αποτελείται από όξινα και βασικά πολυπεπτίδια συνδεδεμένα με δισουλφιδικές γέφυρες προσδίδοντας μοριακό βάρος στην περιοχή 300-380 kDa (1 kDa = 10^3 g/mol). Η β-συνγλυκινίνη έχει μοριακό βάρος στην περιοχή 150-200 kDa και περιέχει τρεις κύριες υπομονάδες (β, α και α') που αναφέρονται με μεγέθη 52, 68 και 72 kDa αντίστοιχα.^{[16],[17]}

Στον Πίνακα 2.2 παρουσιάζονται οι ιδιότητες της β-συνγλυκινίνης, της γλυκινίνης και των υπομονάδων τους στο σχηματισμό πηκτής, στη θερμική σταθερότητα και στη γαλακτωματοποίηση. Όσον αφορά το σχηματισμό πηκτής, η γλυκινίνη σχηματίζει μία θολή, σκληρή και όχι ανελαστική πηκτή, ενώ η β-συνγλυκινίνη σχηματίζει μία διαφανή, μαλακή, αλλά ελαστική πηκτή με θέρμανση στους 100°C. Επιπλέον, η β-συνγλυκινίνη είναι πιο ασταθής θερμικά από την γλυκινίνη, αλλά οι ικανότητες της γαλακτωματοποίησης και της σταθεροποίησης του γαλακτώματος της β-συνγλυκινίνης είναι ισχυρότερες από αυτές τις γλυκινίνης.^[17]

Πίνακας 2.2. Λειτουργικές ιδιότητες των αποθηκευτικών πρωτεϊνών της σόγιας στα συστήματα τροφίμων^[17]

Λειτουργικότητα	Πρωτεΐνες ή υπομονάδες	Ιδιότητα ή διαφορά τους
Σχηματισμός πηκτής	β-συνγλυκινίνη Γλυκινίνη	Διαφανής, μαλακή, μάλλον ελαστική πηκτή Θολή, σκληρή, όχι τόσο εύθραυστη πηκτή
Θερμική σταθερότητα	Αποθηκευτικές πρωτεΐνες σόγιας Υπομονάδες β-συνγλυκινίνης	β-συνγλυκινίνη < Γλυκινίνη $\alpha < \alpha' < \beta$
Γαλακτωματοποίηση	Αποθηκευτικές πρωτεΐνες σόγιας Υπομονάδες β-συνγλυκινίνης	β-συνγλυκινίνη > Γλυκινίνη $\alpha \geq \alpha' \gg \beta$

Οι φυσικοχημικές λειτουργίες των πρωτεϊνών εξαρτώνται από τις τρισδιάστατες δομές τους. Οι πολυπεπτιδικές αλυσίδες των πρωτεϊνικών μορίων ξεδιπλώνονται μέσω της θερμικής επεξεργασίας των σπόρων της σόγιας και αυτό έχει ως αποτέλεσμα τα υπολείμματα αμινοξέων που βρίσκονται στο εσωτερικό του μορίου να εκτίθενται στην επιφάνεια. Οι μεγαλύτεροι

αριθμοί ομάδων κυστεΐνης (-SH) και η τοπολογία τους στη γλυκινίνη καθιστούν την πηκτή γλυκινίνης πολύ πιο σκληρή και θολερή σε σύγκριση με την πηκτή της β-συνγλυκίνης, ενώ η υψηλότερη υδροφοβικότητα και η ευκολότερη ανάπτυξη της β-συνγλυκίνης καθιστούν την ικανότητα γαλακτωματοποίησης πολύ ισχυρότερη από αυτή της γλυκινίνης.^[17]

Άλλες μεταβολικές πηγές πρωτεϊνών εντός της σόγιας είναι οι ελαιοσίνες (oleosins) με περιεκτικότητα 8-20% της ολικής πρωτεΐνης, οι αναστολείς της τρυψίνης με περιεκτικότητα 0-1.7% της ολικής πρωτεΐνης και ένζυμα όπως η λιποξυγενάση (LOX).

Οι αναστολείς της τρυψίνης είναι μία ομάδα πρωτεϊνών που υπάρχουν μέσα στη σόγια και προκαλούν αρνητικές επιπτώσεις στην ανθρώπινη πέψη. Η τρυψίνη και η χυμοτρυψίνη είναι πεπτικά ένζυμα που βρίσκονται εντός της γαστρεντερικής οδού με τα οποία οι αναστολείς της τρυψίνης σχηματίζουν πολύ σταθερά σύμπλοκα. Οι αναστολείς της τρυψίνης συνήθως αδρανοποιούνται με κατάλληλη θερμική επεξεργασία κατά τη διάρκεια της διαδικασίας της εκχύλισης. Επίσης, η επεξεργασία σε υψηλή θερμοκρασία μπορεί να μετουσιώσει τη λιποξυγενάση (LOX), ένα ένζυμο που ενεργοποιεί την οξείδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων και το σχηματισμό υδροϋπεροξειδίων των λιπαρών οξέων, τα οποία μετατρέπονται σε πτητικές αρωματικές ουσίες. Είναι απαραίτητη μία ισορροπία μεταξύ της αδρανοποίησης των αναστολέων της τρυψίνης και της λιποξυγενάσης και των επιβλαβών αποτελεσμάτων της θερμικής επεξεργασίας, επειδή η μετουσίωση των πρωτεϊνών προκαλεί μείωση στην απόδοση της εκχύλισης των πρωτεϊνών. Η β-συνγλυκινίνη και η γλυκινίνη, οι κύριες αποθηκευτικές πρωτεΐνες, έχουν θερμοκρασίες μετουσίωσης περίπου 68°C και 86°C, αντίστοιχα. Η διαλυτότητα των πρωτεϊνών της σόγιας εξαρτάται από τα ισοηλεκτρικά σημεία τους (pI), που είναι κατά μέσο όρο σε pH 4.5. Έτσι, οι περισσότερες πρωτεΐνες είναι διαλυτές σε τιμές pH κάτω από 3 και πάνω από 6.^[16]

Πίνακας 2.3. Σύσταση αμινοξέων των πρωτεϊνών από σπόρους σόγιας

	Αμινοξέα	Περιεκτικότητα αμινοξέων (mg/g πρωτεΐνης)
Απαραίτητα	Αργινίνη	73
	Ιστιδίνη	26
	Ισολευκίνη	46
	Λευκίνη	79
	Λυσίνη	65
	Μεθειονίνη	13
	Κυστεΐνη	13
	Φαινυλαλανίνη	50
	Τυροσίνη	32
	Θρεονίνη	39
	Τρυπτοφάνη	13
	Βαλίνη	49
	Μη απαραίτητα	Αλανίνη
Γλυκίνη		42
Προλίνη		56
Σερίνη		52
Γλουταμινικό οξύ		190
Ασπαραγινικό οξύ		119

Έχουν πραγματοποιηθεί έρευνες οι οποίες αποδεικνύουν ότι η κατανάλωση σχετικά μικρών ποσοτήτων σόγιας σχετίζεται με οφέλη για την ανθρώπινη υγεία σε διάφορους τομείς. Αρχικά, έχει διαπιστωθεί ότι οι πρωτεΐνες της σόγιας έχουν θετική επίδραση στη μείωση της χοληστερόλης και έχει καθοριστεί ως κατώτερο όριο πρόσληψης τα 25 g/ημέρα ώστε να επιτευχθεί η μείωσή της από τον Αμερικανικό Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA). Επίσης, ορισμένες εκτιμήσεις δείχνουν ότι κάθε μείωση της χοληστερόλης κατά 1% μειώνει τον κίνδυνο της στεφανιαίας νόσου από 3-4%. Επιπλέον, στα οφέλη συμπεριλαμβάνονται η μείωση του κινδύνου του καρκίνου του μαστού και προστάτη και της οστεοπόρωσης. Έχει διαπιστωθεί ότι η κατανάλωση σόγιας κατά τη διάρκεια της εφηβείας μειώνει τον κίνδυνο καρκίνου του μαστού αργότερα στη ζωή και οι πρωτεΐνες της σόγιας αναστέλλουν τους όγκους του προστάτη που προκαλούνται από καρκινογόνα χημικά ή μέσω της εμφύτευσης των καρκινικών κυττάρων του προστάτη. Ακόμα, στοιχεία δείχνουν ότι η σόγια μπορεί να επηρεάσει θετικά τη λειτουργία των νεφρών και τη γνωστική λειτουργία και τις εξάψεις στις γυναίκες κατά την εμμηνόπαυση.^[17]

2.4 Επεξεργασία

2.4.1 Καθαρισμός

Ο καθαρισμός είναι σημαντικός για την παραγωγή τελικών προϊόντων υψηλής ποιότητας και για την προστασία του εξοπλισμού. Ο καθαρισμός των σπόρων της σόγιας πραγματοποιείται πάνω σε κόσκινα υπό αναρρόφηση αέρα (air aspiration) ώστε να διαχωρίζονται η σκόνη, τα ελαφρά ξένα υλικά και οι μεγαλύτερες προσμίξεις (πέτρες, βλαστοί κ.λπ.). Οι μεγαλύτερες προσμίξεις διαχωρίζονται κατά το μεγαλύτερο μέρος τους σταδιακά σε ένα διαχωριστή και ένα μαγνητικό διαχωριστή μετάλλων. Το επόμενο βήμα μετά τον καθαρισμό είναι η ξήρανση των σπόρων της σόγιας.^[19]

2.4.2 Ξήρανση

Οι σπόροι της σόγιας ξηραίνονται σε ξηραντήρες δημητριακών μέχρι η υγρασία να φτάσει σε επίπεδο 10%, το οποίο απαιτείται πριν την αποφλοιώση. Η θερμοκρασία του ξηραντήρα για να επιτευχθεί το επιθυμητό επίπεδο υγρασίας πρέπει να βρίσκεται μεταξύ 70 και 76°C. Η ομοιόμορφη ξήρανση είναι πολύ σημαντική για την αφαίρεση των φλοιών γιατί ο φλοιός πρέπει να αφαιρεθεί από κάθε σπόρο ξεχωριστά. Μετά την ξήρανση των σπόρων, αυτοί αποθηκεύονται για περίπου 72 h, ώστε να σταθεροποιηθεί η υγρασία. Οι αποξηραμένοι σπόροι συνήθως καθαρίζονται για να απομακρυνθούν όσο το δυνατό περισσότερο ξένα υλικά. Το επόμενο βήμα μετά την ξήρανση είναι η θραύση και η αποφλοιώση των σπόρων της σόγιας.^[19]

2.4.3 Θραύση και αποφλοιώση

Ο σκοπός της αποφλοιώσης είναι η παραγωγή τελικών προϊόντων με υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες. Η αφαίρεση των φλοιών πριν την επεξεργασία αυξάνει την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες των επιθυμητών τελικών προϊόντων. Οι καθαροί και ξηροί σπόροι θραύονται σε κατάλληλα κομμάτια για αποφλοιώση χρησιμοποιώντας θραυστήρες. Μετά τη θραύση, οι φλοιοί διαχωρίζονται υπό ροή αέρα και οι ελαφρύτεροι φλοιοί απομακρύνονται. Με σωστά αποξηραμένους και θραυσμένους σπόρους, οι κοτυληδόνες διαχωρίζονται εύκολα από τους φλοιούς. Το πρακτικό πρόβλημα που υπάρχει είναι ότι δεν μπορεί να επιτευχθεί απόλυτος διαχωρισμός των φλοιών από τις κοτυληδόνες. Μετά την αποφλοιώση, το επόμενο βήμα είναι η υδροθερμική διεργασία.^[19]

2.4.4 Υγροθερμική διεργασία

Οι θραυσμένοι και αποφλοιωμένοι σπόροι κλιματίζονται σε φούρνους περίπου στους 70°C με ατμό. Μπορεί να προστεθούν μικρές ποσότητες νερού ώστε να φτάσει η υγρασία περίπου στο 11% για να γίνουν οι σπόροι ιδανικοί για φολιδοποίηση. Μία σωστή θερμική διεργασία και ρύθμιση της υγρασίας βοηθούν στη διάρρηξη των κυτταρικών μεμβρανών κατά τη διάρκεια της

φολιδοποίησης ώστε να μπορεί να εκχυλιστεί ευκολότερα το έλαιο. Η κύρια λειτουργία της υγροθερμικής διεργασίας είναι να διευκολύνει το στάδιο της φολιδοποίησης.^[19]

2.4.5 Φολιδοποίηση

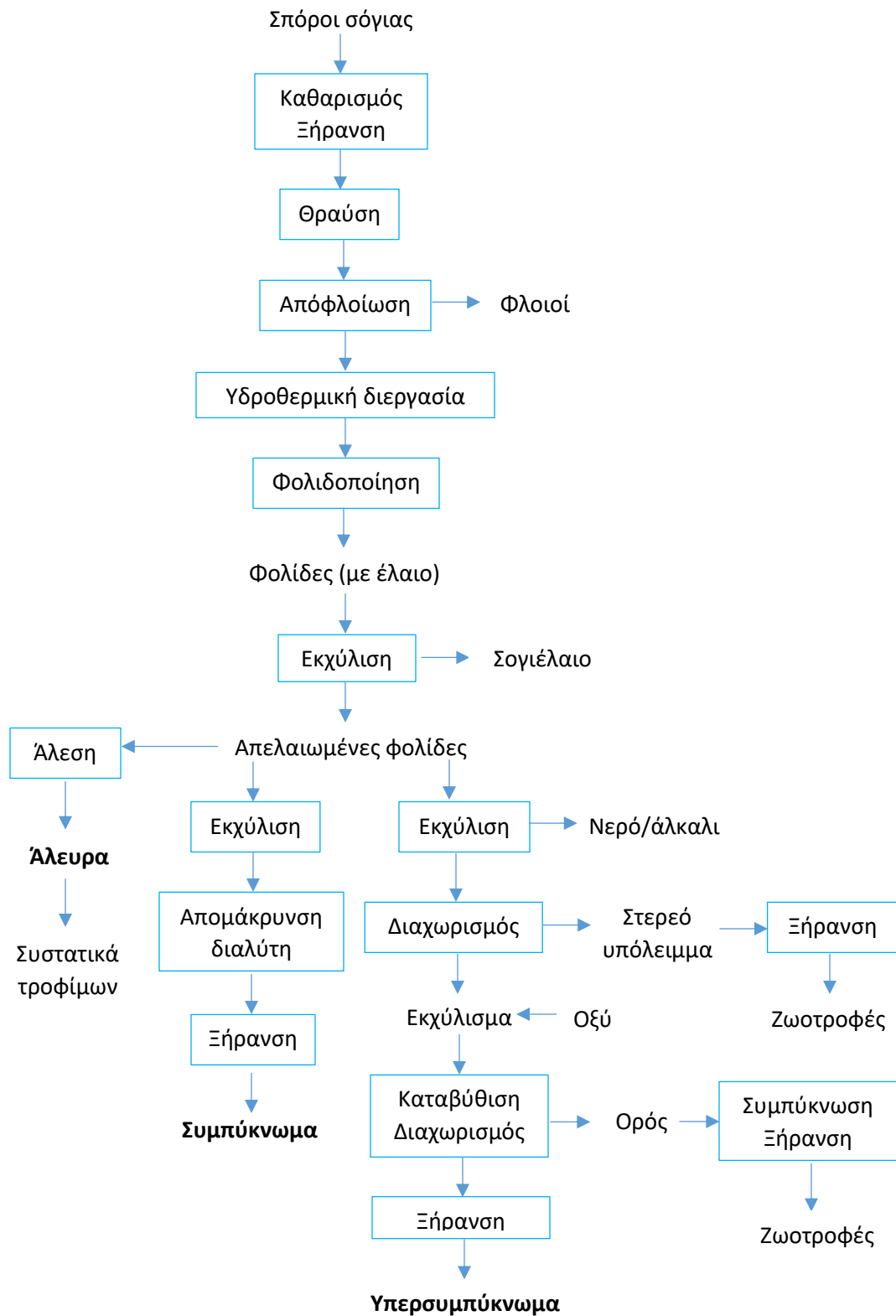
Για να εκχυλιστεί το έλαιο από τους σπόρους είναι σημαντικό να καταστραφεί η δομή των κυττάρων των σπόρων. Για να πραγματοποιηθεί αυτό, οι σπόροι φολιδοποιούνται σε μηχανήματα φολιδοποίησης. Το ιδανικό πάχος μίας φολίδας είναι μεταξύ 0.25 και 0.35 mm. Το πάχος αυτών των φολίδων εξαρτάται από το μέγεθος των θραυσμένων σπόρων, την προετοιμασία και τη ρύθμιση των κυλίνδρων φολιδοποίησης.

2.4.6 Εκχύλιση των φολίδων

Οι φολίδες τροφοδοτούνται σε ένα στιγμιαίο εξατμιστήρα (flash desolventizer). Στον εξατμιστήρα, οι υγρές νιφάδες με το διαλύτη πηγαίνουν κατευθείαν από τον εκχυλιστήρα σε υπέρθερμο ατμό που διοχετεύεται με μεγάλη ταχύτητα μέσω ενός μακρύ σωλήνα. Ο διαλύτης θερμαίνεται υπό πίεση στους 115-138°C. Καθώς ο ατμός διοχετεύεται μέσω του σωλήνα, οι φολίδες μεταφέρονται και συλλέγονται από το ρεύμα ατμού. Σε λίγα δευτερόλεπτα, ο υπέρθερμος διαλύτης απομακρύνει τον υπολειπόμενο υγρό διαλύτη και οι απελαιωμένες φολίδες συλλέγονται στον κυκλώνα.^[19]

2.4.7 Άλεση

Οι αποφλοιωμένοι σπόροι αλέθονται σε σφυρόμυλο ή κρουστικό θραυστήρα σε άλευρα με επιθυμητά μεγέθη σωματιδίων χρησιμοποιώντας διαφορετικά μεγέθη κόσκινων. Το χονδρόκοκκο υλικό μπορεί να διαχωριστεί από το λεπτόκοκκο με αέρια ταξινόμηση. Τα μη απελαιωμένα προϊόντα είναι δύσκολο να κονιορτοποιηθούν ή να κοσκινιστούν. Αυτοί οι τύποι αλεύρων χρησιμοποιούνται στο ψωμί για τη λεύκανση του αλεύρου σίτου και την προετοιμασία του ζυμαριού.^[19]



Εικόνα 2.2. Σχηματικό διάγραμμα αξιοποίησης σόγιας^[6]

2.5 Πρωτεϊνικά προϊόντα

Τα πρωτεϊνικά προϊόντα της σόγιας εμπίπτουν σε τρεις σημαντικές κατηγορίες. Οι κατηγορίες αυτές βασίζονται στο πρωτεϊνικό περιεχόμενο που κυμαίνεται από 40% έως 90%. Τα προϊόντα είναι: άλευρα σόγιας (soy flours), πρωτεϊνικά συμπυκνώματα σόγιας (soy protein concentrates) και πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα σόγιας (soy protein isolates). Τα απειλαιωμένα άλευρα σόγιας είναι σπόροι σόγιας από τους οποίους έχουν αφαιρεθεί οι φλοιοί και το έλαιο, τα πρωτεϊνικά συμπυκνώματα σόγιας είναι απειλαιωμένο άλευρο από το οποίο έχουν αφαιρεθεί σάκχαρα και νερό ή/και αλκοόλη και τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα σόγιας είναι απειλαιωμένο άλευρο σόγιας από το οποίο έχουν αφαιρεθεί σάκχαρα και άλλα υδατοδιαλυτά υλικά καθώς και ίνες κοτυληδόνων.^[20] Η σύσταση των προϊόντων φαίνεται στους παρακάτω πίνακες.

Πίνακας 2.4. Σύσταση (%) των πρωτεϊνικών προϊόντων σόγιας^[20]

Συστατικό	Άλευρα		Συμπυκνώματα		Υπερσυμπυκνώματα	
	Υγρή βάση	Ξηρή βάση	Υγρή βάση	Ξηρή βάση	Υγρή βάση	Ξηρή βάση
Πρωτεΐνες	52-54	56-59	62-69	65-72	86-87	90-92
Λιπαρά	0.5-1.0	0.5-1.1	0.5-1.0	0.5-1.0	0.5-1.0	0.5-1.0
Ακατέργαστες ίνες	2.5-3.5	2.7-3.8	3.4-4.8	3.5-5.0	0.1-0.2	0.1-0.2
Διαλυτές ίνες	2	2.1-2.2	2-5	2.1-5.9	<0.2	<0.2
Αδιάλυτες ίνες	16	17-17.6	13-18	13.5-20.2	<0.2	<0.2
Τέφρα	5.0-6.0	5.4-6.5	3.8-6.2	4.0-6.5	3.8-4.8	4.0-5.0
Υγρασία	6-8	0	4-6	0	4-6	0
Υδατάνθρακες	30-32	32-34	19-21	20-22	3-4	3-4

Πίνακας 2.5. Περιεκτικότητα σε μέταλλα των πρωτεϊνικών προϊόντων σόγιας^[20]

Συστατικό	Απελαιωμένο άλευρο (%)	Πρωτεϊνικό συμπύκνωμα (%)	Υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών (%)
Κάλιο	2.4-2.7	0.1-2.4	0.1-1.4
Φωσφόρος	0.7-0.9	0.6-0.9	0.5-0.8
Ασβέστιο	0.2-0.3	0.2-0.4	0.1-0.2
Μαγνήσιο	0.2-0.3	0.3	0.03-0.09
Χλώριο	0.1-0.3	0.7	0.13
Σίδηρος	0.01	0.01-0.02	0.01-0.02
Ψευδάργυρος	0.005	0.005	0.004-0.009
Μαγγάνιο	0.003-0.004	0.005	0.002
Νάτριο	0.003-0.015	0.002-1.2	0.04-1.2
Σίδηρος	0.001-0.002	0.001-0.002	0.001-0.02

Πίνακας 2.6. Σύσταση των αμινοξέων (g/100g πρωτεΐνης) των πρωτεϊνικών προϊόντων σόγιας^[21]

Αμινοξύ	Απελαιωμένο άλευρο	Πρωτεϊνικό συμπύκνωμα	Υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών
Αλανίνη	4.4	4.4	4.3
Αργινίνη	7.3	7.8	8.5
Ασπαραγινικό οξύ	11.9	11.6	12.4
Κυστεΐνη	1.5	1.5	1.3
Γλουταμινικό οξύ	18.3	18.9	19.6
Γλυκίνη	4.4	4.3	4.2
Ιστιδίνη	2.5	2.5	2.6
Ισολευκίνη	4.6	4.6	4.9
Λευκίνη	7.7	7.9	8.2
Λυσίνη	6.3	6.5	6.4
Μεθειονίνη	1.3	1.4	1.3
Φαινυλαλανίνη	4.9	5.0	5.2
Προλίνη	5.5	5.3	5.2
Σερίνη	5.5	5.2	5.1
Θρεονίνη	4.1	4.0	3.7
Τρυπτοφάνη	1.4	1.3	1.4
Τυροσίνη	3.6	3.7	3.9
Βαλίνη	4.7	5.0	5.1

Τα πρωτεϊνικά συμπυκνώματα σόγιας επεξεργάζονται επιλεκτικά απομακρύνοντας τους διαλυτούς υδατάνθρακες από το άλευρο σόγιας είτε με υδατικό διάλυμα αλκοόλης σε pH 4-4.8 είτε με ισοηλεκτρική έκπλυση (isoelectric leaching). Τα συμπυκνώματα αυτά έχουν περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες τουλάχιστον 65%. Ως αρχικό υλικό χρησιμοποιούνται οι απελαιωμένες φολίδες ή τα άλευρα σόγιας. Κατά τη διάρκεια της επεξεργασία τους, οι στόχοι είναι να ακινητοποιηθούν οι πρωτεΐνες καθώς γίνεται η έκπλυση των διαλυτών υδατανθράκων, να απομακρυνθούν τα έντονα συστατικά γεύσης και οι ολιγοσακχαρίτες (σταχυόζη και ραφινόζη). Με τη σειρά τους, τόσο η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες όσο και οι διαιτητικές ίνες αυξάνονται. Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι για την παραγωγή τους: α) εκχύλιση των φολίδων με υδατική 20-80% αιθανόλη, β) όξινη έκπλυση των νιφάδων ή των αλεύρων, γ) μετουσίωση των πρωτεϊνών με θέρμανση παρουσία υγρασίας και εκχύλιση με νερό. Η εκχύλιση με αιθανόλη θεωρείται ότι παράγει τα ηπιότερα προϊόντα. Λόγω της ηπιότερης γεύσης τους, τα συμπυκνώματα σόγιας προτιμούνται από τα άλευρα σόγιας. Συνήθως χρησιμοποιούνται σε κέικ, πίτσα, προϊόντα αρτοποιίας και σάλτσες κρέατος.^{[19],[22]}

Για την παραγωγή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων σόγιας έχουν προταθεί διάφορες μέθοδοι. Παρόλα αυτά, η μόνη εμπορική διαδικασία που χρησιμοποιείται είναι η υδατική εκχύλιση των απελαιωμένων φολίδων ή αλεύρων, ακολουθούμενη από φυγοκέντρηση. Κατά τη διαδικασία, οι πρωτεΐνες διαλυτοποιούνται σε pH 6.8-10 στους 27-66°C χρησιμοποιώντας καυστικό νάτριο και άλλους αλκαλικούς παράγοντες που είναι κατάλληλοι για χρήση σε τρόφιμα. Στη συνέχεια το πρωτεϊνικό διάλυμα διαχωρίζεται από τις φολίδες ή το άλευρο με φυγοκέντρηση. Το στερεό υπόλειμμα ανακτάται ως παραπροϊόν, το οποίο περιέχει 16-36% πρωτεΐνες, 9-13% ακατέργαστες ίνες και 45-75% συνολικά διαιτητικές ίνες όταν ξηραίνεται σε επίπεδα υγρασίας 6-7%. Μετά το πρωτεϊνικό διάλυμα οξινίζεται σε pH 4.5 χρησιμοποιώντας υδροχλωρικό ή φωσφορικό οξύ και οι πρωτεΐνες καταβυθίζονται ως πήγμα/ίζημα (curd). Το πήγμα κατόπιν πλένεται με νερό, συγκεντρώνεται με φυγοκέντρηση και μπορεί να εξουδετερωθεί σε pH 6.5 ή 7 ή να ξηραθεί με ψεκασμό στην όξινη του μορφή.^{[19],[22]} Για την τεχνολογία παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων θα γίνει παρακάτω αναλυτικότερη αναφορά.

Τα πρωτεϊνικά προϊόντα της σόγιας χρησιμοποιούνται κυρίως για τα λειτουργικά χαρακτηριστικά τους, καθώς προσδίδουν διάφορες λειτουργικές ιδιότητες στα τρόφιμα. Μερικές από αυτές συνοψίζονται στον Πίνακα 2.7.

Πίνακας 2.7. Λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνικών προϊόντων της σόγιας στα τρόφιμα^[20]

Λειτουργική ιδιότητα	Τρόπος δράσης	Τρόφιμα	Προϊόν
Διαλυτότητα	Διαλυτοποίηση πρωτεΐνης, εξαρτώμενη από το pH	Ποτά	A, Σ, Υ
Απορρόφηση/συγκράτηση νερού	Δέσμευση νερού με δεσμούς υδρογόνου	Κρέατα, λουκάνικα, ψωμιά, κέικς	A, Σ
Ιξώδες	Πάχυνση, ένωση με το νερό	Σούπες, ζυμαρικά	A, Σ, Υ
Σχηματισμός πηκτής	Δημιουργία και ρύθμιση πρωτεϊνικής μήτρας	Κρέατα, τυριά	Σ, Υ
Συνάφεια/Συνεκτικότητα	Η πρωτεΐνη δρα ως συγκολλητικό	Κρέατα, λουκάνικα, ψημένα αγαθά, προϊόντα ζυμαρικών	A, Σ, Υ
Ελαστικότητα	Δισουλφιδικοί δεσμοί σε παραμορφώσιμες πηκτές (gels)	Κρέατα, είδη αρτοποιίας	Υ
Γαλακτωματοποίηση	Σχηματισμός και σταθεροποίηση γαλακτωμάτων λιπαρών	Λουκάνικα, σούπες, κέικς	A, Σ, Υ
Απορρόφηση λιπαρών	Ένωση με τα ελεύθερα λιπαρά	Κρέατα, λουκάνικα, ντόνατς	A, Σ, Υ
Γεύση	Προσρόφηση, παγίδευση	Είδη αρτοποιίας	Σ, Υ
Αφρισμός	Δημιουργία μεμβρανών που παγιδεύουν αέριο	Γλυκίσματα, παντεσπάνι, κέικς	Υ
Έλεγχος χρώματος	Λεύκανση (λιποξυγενάση)	Ψωμί	A

όπου A: Άλευρο, Σ: Συμπύκνωμα, Υ: Υπερσυμπύκνωμα

Ειδικότερα, τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα σόγιας έχουν λειτουργικές ιδιότητες οι οποίες επιτρέπουν σε αυτά να τροποποιήσουν τις φυσικές ιδιότητες των τροφίμων. Συγκεκριμένα οι ιδιότητες αυτές είναι: η διαλυτότητα, ο σχηματισμός πηκτής, η γαλακτωματοποίηση, η διασκορπισιμότητα και το ιξώδες.

Η ικανότητα σχηματισμού γαλακτώματος μπορεί να κυμαίνεται από 10 έως περίπου 35 ml ανά 100 g πρωτεΐνης. Επίσης, η ικανότητα απορρόφησης νερού μπορεί να φτάσει έως και 400%. Τα εξουδετερωμένα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα είναι συνήθως ιδιαίτερα διαλυτά και ορισμένοι τύποι υπερσυμπυκνωμάτων σχηματίζουν πηκτές υπό κατάλληλες υδατικές συνθήκες. Επιπλέον, διαθέτουν την ιδιότητα της γαλακτωματοποίησης και της σταθεροποίησης του γαλακτώματος, συνδέονται με τα λιπαρά και το νερό και είναι καλά συγκολλητικά μέσα. Αυτά ποικίλλουν κυρίως λόγω της διασκορπισιμότητας, του σχηματισμού πηκτής και του ιξώδους.

Τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα σόγιας βοηθούν στο σχηματισμό μιας πηκτής η οποία δρα ως μήτρα για τη συγκράτηση της υγρασίας, των λιπαρών και των στερεών. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να προκύπτουν ιδιότητες υψής παρόμοιες με εκείνες των προϊόντων του κρέατος, γεγονός το οποίο είναι σημαντικό για χρήση σε τεμαχισμένα κρέατα. Η ικανότητα σχηματισμού πηκτής (από εύθραυστη έως σταθερή) εξαρτάται από τη συγκέντρωση, τη λειτουργικότητα και την παρουσία ή απουσία αλατιού. Ορισμένα υπερσυμπυκνώματα έχουν σχεδιαστεί ώστε να μην σχηματίζουν πηκτές ακόμη και σε περιεκτικότητες σε στερεά 14%.

Επίσης, μπορεί να τροποποιηθεί το ιξώδες των υπερσυμπυκνωμάτων σόγιας με ειδικές τεχνικές επεξεργασίας. Κάποια υπερσυμπυκνώματα με συγκέντρωση στερεών 18% έχουν το ίδιο ιξώδες με άλλα υπερσυμπυκνώματα με συγκέντρωση στερεών 10%. Επίσης, με τη θέρμανση στα διαλύματα των πρωτεϊνών μπορεί να μεταβληθεί το ιξώδες.^[20]

2.6 Εφαρμογές

Χρησιμοποιώντας τα συστατικά της πρωτεΐνης σόγιας για να αντικαταστήσουν τα πουλερικά, το κρέας, τα ψάρια, τα αυγά και τις πρωτεΐνες γάλακτος, αυτά μπορούν να βελτιώσουν την ποιότητα των τροφίμων, να μειώσουν το κόστος διαφόρων συνταγών τροφίμων και να βελτιώσουν την περιβαλλοντική βιωσιμότητα που σχετίζεται με την παροχή ποιοτικών πρωτεϊνών. Παραδείγματα εφαρμογών σόγιας περιλαμβάνουν:

- Meat extension (βοδινό, χοιρινό, πουλερικά και ψάρια)
- Υποκατάστατα κρέατος (100% αντικατάσταση του κρέατος)
- Βρεφικές τροφές (αντικατάσταση των γαλακτοκομικών πρωτεϊνών)
- Γαλακτοκομικά (αντικατάσταση των γαλακτοκομικών πρωτεϊνών, π.χ. στο γιαούρτι, στο τυρί και στο γάλα)
- Κλινική διατροφή (αντικατάσταση των γαλακτοκομικών πρωτεϊνών)
- Αθλητική διατροφή (αντικατάσταση των γαλακτοκομικών πρωτεϊνών σε μπάρες και πρωτεϊνικά ροφήματα)
- Ψωμί, ζυμαρικά κλπ. (εμπλουτισμός πρωτεϊνών)
- Οικονομικά (προσιτά) τρόφιμα, όπως τα ποτά γάλακτος για τμήματα του πληθυσμού με χαμηλό εισόδημα

Συχνά, η πρωτεΐνη σόγιας συνδυάζεται με άλλες πρωτεϊνικές πηγές ώστε να επιτευχθούν οι λειτουργίες των θρεπτικών ιδιοτήτων και σε πολλές περιπτώσεις είναι εφικτές μόνο μερικές αντικαταστάσεις. Παρακάτω περιγράφεται η εφαρμογή σε προϊόντα κρέατος.

Οι μορφοποιημένες πρωτεΐνες σόγιας (textured soy proteins), οι οποίες βασίζονται στα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα σόγιας, στα πρωτεϊνικά συμπυκνώματα σόγιας και στα άλευρα σόγιας είναι κοινά, αλλά σημαντικά συστατικά πολλών προϊόντων του κρέατος και υποκατάστατων αυτού. Είναι σύνηθες να αντικαθίσταται το 30-40% του κρέατος σε τρόφιμα, όπως τα μπιφτέκια και οι κοτομπουκιές. Μετά την ενυδάτωση, η αναδιαμορφωμένη πρωτεΐνη σόγιας των διαφόρων μεγεθών και πυκνοτήτων συμβάλλει τόσο στην εμφάνιση όσο στην υφή του κρέατος στο κρέας και στα υποκατάστατα τρόφιμα του κρέατος, παρέχοντας παράλληλα μία εξαιρετική πηγή υψηλής ποιότητας πρωτεϊνών παρόμοια με αυτή του άπαχου κρέατος. Επιπλέον, τα μορφοποιημένα συστατικά της πρωτεΐνης σόγιας μπορούν να χρωματιστούν χρησιμοποιώντας χρώματα καραμέλας, εκχυλίσματα βύνης, συνθετικά χρώματα, εκχυλίσματα μπαχαρικών και συστατικά καρυκεύματος.

Οι μορφοποιημένες πρωτεΐνες σόγιας χρησιμοποιούνται σε ολόκληρο τον κόσμο κυρίως για να αντικαταστήσουν το κρέας με σκοπό τη μείωση του κόστους σχηματισμού και τη βελτίωση της απόδοσης της διαδικασίας, καθώς και τη βελτίωση της διατροφής. Τόσο οι σκόρες πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνώνματων όσο και οι μορφοποιημένες πρωτεΐνες σόγιας έχουν μεγάλη ικανότητα συγκράτησης νερού. Το χαρακτηριστικό αυτό επιτρέπει στα προϊόντα κρέατος που παρασκευάζονται από αυτά τα συστατικά της σόγιας να έχουν μεγαλύτερη διατήρηση της υγρασίας κατά τη διάρκεια του μαγειρέματος, της επαναθέρμανσης, της ψύξης και της απόψυξης σε σύγκριση με παρόμοια προϊόντα κρέατος χωρίς τέτοια συστατικά. Επομένως, η χρήση αυτών επιτρέπει την παραγωγή βελτιωμένων προϊόντων κρέατος.

Τα προϊόντα του κρέατος που σχηματίζονται από πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα σόγιας παρέχουν σημαντική εξοικονόμηση κόστους στους επεξεργαστές αντικαθιστώντας τα ακριβά άπαχα κρέατα με συστατικά σόγιας και νερό. Η αντικατάσταση του κρέατος συνήθως περιλαμβάνει τη διατήρηση της περιεκτικότητας του λίπους, όπως ένα προϊόν που αποτελείται εξ' ολοκλήρου από κρέας. Δεδομένου ότι τα συστατικά της σόγιας έχουν χαμηλή σύσταση σε λιπίδια, πρέπει να προστεθεί στα σκευάσματα λίπος από κρέας ώστε να αντισταθμιστεί το λίπος που αφαιρείται από την άπαχη αντικατάσταση με τα υπερσυμπυκνώματα. Αυτό προσθέτει πρόσθετο κόστος σχηματισμού, καθώς τα κρέατα με λιπαρά αποτιμώνται σε χαμηλότερες τιμές από τα πιο άπαχα κρέατα.^[21]

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΠΑΡΑΛΑΒΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ ΥΠΕΡΣΥΜΠΥΚΝΩΜΑΤΩΝ

3.1. Γενικά

Τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα (isolates) αποτελούν την πιο συμπυκνωμένη μορφή των εμπορικά διαθέσιμων πρωτεϊνικών προϊόντων. Η πρώτη ύλη για την παραγωγή τους είναι τα πρωτεϊνικά άλευρα. Αρχικά, οι πρωτεΐνες διαλυτοποιούνται, το διάλυμα διαχωρίζεται από το στερεό υπόλειμμα και τελικά οι πρωτεΐνες καταβυθίζονται, διαχωρίζονται και ξηραίνονται.

Γενικά, οι πρώτες ύλες με υψηλή περιεκτικότητα σε έλαιο κρίνεται απαραίτητο πρώτα να απελαιωθούν πριν πραγματοποιηθεί η εκχύλιση των πρωτεϊνών. Η απομάκρυνση του ελαίου εμποδίζει το σχηματισμό γαλακτώματος κατά την εκχύλιση και οδηγεί στην παραγωγή απελαιωμένων υλικών που είναι συμβατά με τα πρωτόκολλα καθαρισμού που χρησιμοποιούν κυρίως υδατικά διαλύματα. Η απελαίωση επιτυγχάνεται κυρίως με εκχύλιση με οργανικούς διαλύτες, όπως ο πετρελαϊκός αιθέρας και το εξάνιο.

Η παραλαβή των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων περιλαμβάνει αρχικά τη διαλυτοποίηση των πρωτεϊνών του αλεύρου σε κάποιο εκχυλιστικό μέσο, το οποίο είναι συνήθως κάποιο ουδέτερο ή αλκαλικό διάλυμα. Στη συνέχεια πραγματοποιείται διαχωρισμός του διαλύματος των πρωτεϊνών από το στερεό υπόλειμμα που περιέχει πολυσακχαρίτες και αδιάλυτες αζωτούχες ενώσεις με διήθηση ή φυγοκέντρηση.

Η καταβύθιση των πρωτεϊνών στο ισοηλεκτρικό τους σημείο πραγματοποιείται με αραιά διαλύματα οξέων, όπως οξικό και υδροχλωρικό οξύ ή με αλκοόλη και ακετόνη. Οι πρωτεΐνες είναι λιγότερο διαλυτές στο ισοηλεκτρικό τους σημείο όπου έχουν μηδενικό καθαρό φορτίο και μπορούν να προσεγγίσουν πλησιέστερα μεταξύ τους με ελάχιστη απώθηση φορτίου. Μετά την καταβύθιση των πρωτεϊνών πραγματοποιείται φυγοκέντρηση και έκπλυση του πρωτεϊνικού πήγματος, για απομάκρυνση των πολυσακχαριτών, των αλάτων και άλλων διαλυτών ενώσεων που καταβυθίζονται με τις πρωτεΐνες.^{[2],[6],[23]}

3.2 Εκχύλιση

3.2.1 Εισαγωγή

Οι παράγοντες που επηρεάζουν την εκχύλιση και μπορούν να ρυθμιστούν κατά τη διάρκεια της διεργασίας είναι: το είδος και η συγκέντρωση του εκχυλιστικού μέσου, η θερμοκρασία, το pH, η ανάδευση, η κοκκομετρία του εκχυλιζόμενου στερεού δείγματος, ο χρόνος εκχύλισης και ο λόγος του βάρους του εκχυλιζόμενου δείγματος προς τον όγκο του εκχυλιστικού μέσου. Επειδή οι πρωτεΐνες είναι εξαιρετικά ετερογενή βιολογικά μεγαλομόρια, μικρές αλλαγές του pH

μπορούν να επηρεάσουν σοβαρά τις ιδιότητές τους, οπότε είναι απαραίτητο η εκχύλιση να πραγματοποιείται σε σταθερή τιμή pH. Έχει παρατηρηθεί ότι μερικώς εξουδετερωμένα διαλύματα ασθενών οξέων ή ασθενών βάσεων, αντιστέκονται σε αλλαγές του pH με την προσθήκη μικρών ποσοτήτων ισχυρού οξέος ή ισχυρής βάσης.

Η κοκκομετρία του εκχυλιζόμενου δείγματος πρέπει να είναι κατάλληλη ώστε να διευκολύνει τη διεργασία της εκχύλισης και τον επακόλουθο διαχωρισμό των πρωτεϊνών. Όσο το μέγεθος των σωματιδίων του δείγματος μικραίνει, αυξάνεται η επιφάνεια επαφής και ο ρυθμός της εκχύλισης. Όμως η μείωση σε πολύ μικρά μεγέθη δυσκολεύει την κίνηση του υγρού και το διαχωρισμό τους από το υγρό μετά την εκχύλιση. Η ανάδευση αυξάνει το ρυθμό διαλυτοποίησης των πρωτεϊνών, όπως σε κάθε διεργασία εκχύλισης. Παρόλα αυτά δεν προτιμάται πολύ ισχυρή ανάδευση, επειδή έχει ως αποτέλεσμα τη διάσπαση των σωματιδίων προς περισσότερο λεπτόκοκκα σωματίδια, με προβλήματα στο μετέπειτα διαχωρισμό. Επιπλέον, η εκχύλιση αυξάνεται σημαντικά με τη θερμοκρασία και συνήθως πραγματοποιείται σε θερμοκρασίες χαμηλότερες από τους 50°C ώστε να αποφεύγεται η μετουσίωση των πρωτεϊνών. Τέλος, όσον αφορά το λόγο του βάρους του εκχυλιζόμενου δείγματος προς τον όγκο του εκχυλιστικού μέσου αυτός αποτελεί παράγοντα οικονομικής αριστοποίησης. Συχνά, στη βιομηχανία χρησιμοποιούνται λόγοι μεταξύ 1/10 με 1/20.^{[23],[24],[25]}

3.2.2 Συμβατική μέθοδος εκχύλισης

Η συμβατική εκχύλιση (Conventional Extraction, CE) στερεού-υγρού περιλαμβάνει την ανάμιξη του διαλύτη με το στερεό δείγμα, το οποίο διαποτίζεται ή ομογενοποιείται και επιτυγχάνεται η ανάκτηση των ενώσεων στόχων από το διαλύτη. Οι παραγόμενες ενώσεις απομακρύνονται από την στερεά πρώτη ύλη μέσω της διάχυσης και της ώσμωσης που δημιουργείται από την παρατεταμένη επαφή. Μετά την ολοκλήρωση της εκχύλισης το μείγμα φυγοκεντρείται και συλλέγεται το υπερκείμενο υγρό.^[45]

Οι συνιστώμενοι χρόνοι για τη συμβατική εκχύλιση ποικίλουν από μερικά λεπτά έως μερικές ώρες ανάλογα με τη φύση της διαλυτής ουσίας και την επιθυμητή απόδοση της διεργασίας. Επίσης, η εκχύλιση μπορεί να ενισχυθεί με παράλληλη θέρμανση όταν οι ενώσεις που εκχυλίζονται είναι σταθερές σε υψηλές θερμοκρασίες. Τέλος, απαιτείται ανάδευση καθώς εξασφαλίζεται η διασπορά των σωματιδίων του στερεού στο διαλύτη και επιταχύνεται η διεργασία γιατί ευνοείται η διάχυση των εκχυλιζόμενων συστατικών αποφεύγοντας τον υπερκορεσμό λόγω της άμεσης επαφής με την επιφάνεια του στερεού.

Στα πλεονεκτήματα της μεθόδου συμπεριλαμβάνονται οι χρήσεις υψηλών θερμοκρασιών και χρόνων εκχύλισης που αυξάνουν την παραγωγικότητά της. Αντίθετα, η μέθοδος εμφανίζει σημαντικά μειονεκτήματα, μερικά από τα οποία είναι: 1) η μεγάλη κατανάλωση διαλυτών και τα επακόλουθα στάδια καθαρισμού και της συμπύκνωσης, 2) η σταδιακή μείωση του ρυθμού μεταφοράς μάζας, εφόσον ο διαλύτης εμπλουτίζεται συνεχώς με διαλυμένες ουσίες, 3) η υψηλή

ενέργεια που απαιτείται για το διαχωρισμό του μίγματος στερεού-διαλύτη, 4) η πιθανή αποικοδόμηση θερμοευαίσθητων συστατικών, 5) η παράλληλη εκχύλιση ανεπιθύμητων συστατικών και 6) η μείωση της απόδοσής της όταν το επιθυμητό εκχυλιζόμενο συστατικό υπάρχει σε μικρό ποσοστό.^[46]

3.2.3 Νέες τεχνολογίες εκχύλισης

3.2.3.1 Εκχύλιση υποβοηθούμενη από υπέρηχους

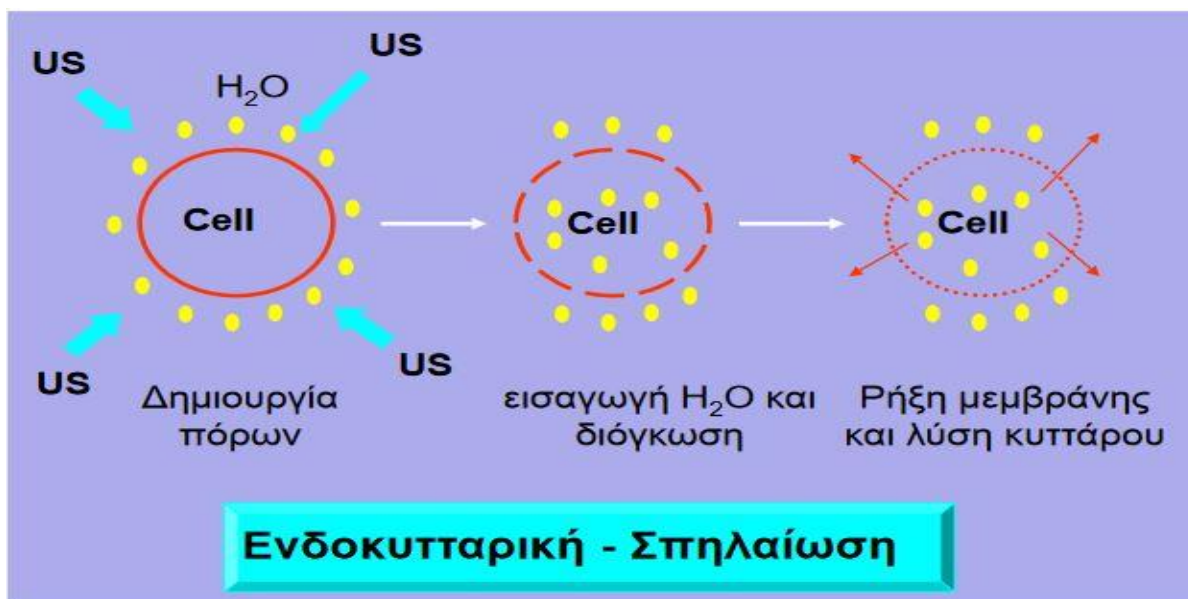
Η χρήση των υπερήχων είναι μία νέα καθαρή, πράσινη τεχνολογία εκχύλισης για διάφορα μόρια και βιοϋλικά, στα οποία συμπεριλαμβάνονται πολυσακχαρίτες, απαραίτητα έλαια, πρωτεΐνες, πεπτιδία και βιοδραστικά μόρια εμπορικής σημασίας. Μεταξύ των νέων μεθόδων εκχύλισης, η εφαρμογή της εκχύλισης υποβοηθούμενη από υπέρηχους (Ultrasound Assisted Extraction, UAE) έχει αυξηθεί τις τελευταίες δεκαετίες λόγω διαφόρων μειονεκτημάτων που σχετίζονται με τις συμβατικές και τις άλλες νέες μεθόδους, όπως η υψηλή κατανάλωση ενέργειας, η υψηλή επένδυση κεφαλαίων, η υψηλή εκπομπή του CO₂ και η κατανάλωση τοξικών οργανικών διαλυτών και των υπολειμμάτων τους στο εκχύλισμα. Επίσης, η εκχύλιση με υπέρηχους μπορεί να ωφελήσει την διαδικασία της εκχύλισης με πολλούς τρόπους, όπως η βελτίωση της απόδοσης εκχύλισης, η βελτίωση του ρυθμού εκχύλισης με ή χωρίς τη χρήση διαλυτών, η δυνατότητα χρήσης εναλλακτικών διαλυτών (GRAS) βελτιώνοντας την απόδοση εκχύλισής τους και η βελτίωση της εκχύλισης θερμοευαίσθητων συστατικών που υπό διαφορετικές συνθήκες θα είχαν μικρές αποδόσεις.

Η κύρια κινητήρια δύναμη για τα αποτελέσματα της εκχύλισης με υπέρηχους είναι η ακουστική σπηλαίωση. Όταν ο υπέρηχος διαδίδεται μέσω οποιουδήποτε μέσου προκαλεί μία σειρά από συμπίεσεις και αραιώσεις στα μόρια του μέσου. Αυτές οι εναλλασσόμενες αλλαγές πίεσης προκαλούν το σχηματισμό και τελικά την κατάρρευση των φυσαλίδων σε ένα υγρό μέσο. Αυτό το φαινόμενο σχηματισμού, διόγκωσης και ενδορρηκτικής κατάρρευσης των μικροφυσαλίδων σε ακτινοβολημένα με υπέρηχους υγρά είναι γνωστή ως ακουστική σπηλαίωση. Στον Πίνακα 3.1 παρουσιάζονται οι βασικές παράμετροι που επηρεάζουν την σπηλαίωση.

Με τους υπέρηχους επιτυγχάνεται αύξηση της εκχυλιστικής ικανότητας εξαιτίας της διάδοσης των ωστικών κυμάτων των υπερήχων μέσω του διαλύτη και των φαινομένων σπηλαίωσης που προκαλούν. Ο μηχανισμός που ελέγχει την εκχύλιση βασίζεται στις μηχανικές επιδράσεις και στις επιδράσεις λόγω σπηλαίωσης οι οποίες οδηγούν στη διάρρηξη των κυτταρικών τοιχωμάτων, στην ελάττωση του μεγέθους των σωματιδίων και στην ενισχυμένη μεταφορά μάζας μέσω των κυτταρικών μεμβρανών.

Η ενδόρρηξη των φυσαλίδων σπηλαίωσης προκαλεί μακρο-στροβιλισμό, συγκρούσεις υψηλής ταχύτητας μεταξύ των σωματιδίων και διαταραχή σε μικροπορώδη σωματίδια της βιομάζας. Τα φαινόμενα αυτά επιταχύνουν τη στροβιλώδη και εσωτερική διάχυση. Οι περισσότερες

φυσαλίδες, εξαιτίας του περιορισμένου χώρου που υπάρχει για να διασταλούν, διασπώνται ασύμμετρα στα δοχεία με αποτέλεσμα τη δημιουργία ρευμάτων ροής του διαλύτη (μικρο-ροών) που συνοδεύονται από έντονο στροβιλισμό. Οι κοιλότητες στην επιφάνεια του προϊόντος δέχονται πιέσεις από τις μικρο-ροές που έχουν ως επακόλουθο την αποφλοίωση της επιφάνειας, τη διάβρωση και τη διάσπαση των σωματιδίων. Ο μηχανισμός της λύσης του κυτταρικού τοιχώματος παρουσιάζεται στην Εικόνα 3.1.



Εικόνα 3.1. Μηχανισμός λύσης του κυτταρικού τοιχώματος^[30]

Οι πόροι που δημιουργούνται έχουν ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ρωγμών στο κυτταρικό τοίχωμα. Με αυτό τον τρόπο αυξάνεται η διαπερατότητα των φυτικών ιστών και γίνεται ευκολότερη η είσοδος του διαλύτη στο εσωτερικό του υλικού καθώς και η έκπλυση των εκχυλιζόμενων συστατικών. Όμως μετά από κάποιο όριο παρατηρείται απώλεια της ενέργειας των υπερήχων, αφού δεν παρατηρείται περαιτέρω αύξηση της απόδοσης, λόγω της ισορροπίας που αποκαθίσταται στην εκχύλιση.

Η στροβιλώδης και ακουστική ροή αυξάνουν σημαντικά τους συντελεστές μεταφοράς μάζας στερεού-υγρού λόγω επιδράσεων μικροκλίμακας στο σύστημα. Οι μηχανικές επιδράσεις των υπερήχων αυξάνουν την επιφάνεια επαφής μεταξύ της στερεάς και της υγρής φάσης λόγω πιθανής μείωσης της κοκκομετρίας του υλικού. Οι αυξημένοι συντελεστές μεταφοράς μάζας ενισχύουν τη ροή του διαλύτη στη στερεά επιφάνεια και επομένως τη μεταφορά των διαλυτών συστατικών σε αυτό.

Γενικά, τα συστήματα υπερήχων που χρησιμοποιούνται στο εργαστήριο είναι το λουτρό υπερήχων (bath system) και το σύστημα στελέχους/κεφαλής (probe system). Ο βασικός εξοπλισμός ενός λουτρού υπερήχων περιλαμβάνει τη δεξαμενή, την ηλεκτρική γεννήτρια (που

τροφοδοτεί την ηλεκτρική ισχύ στον μορφοτροπέα) και τον μορφοτροπέα. Συνήθως, τα λουτρά μπορούν να εφοδιαστούν με θερμοστατικά ελεγχόμενο θερμαντήρα. Για την εκχύλιση, το δοχείο με την πρώτη ύλη και το εκχυλιστικό μέσο τοποθετείται μέσα στο λουτρό (έμμεση υπερήχηση). Η ισχύς των υπερήχων πρέπει να είναι επαρκής για την επίτευξη σπηλαίωσης μέσα στο δοχείο εκχύλισης. Υπάρχουν λουτρά υπερήχων με συχνότητα από 20 έως 500 kHz. Η συχνότητα του λουτρού καθορίζει την σπηλαίωση και την ενέργεια που απελευθερώνεται. Τα περισσότερα εμπορικά λουτρά υπερήχων λειτουργούν σε μία μόνο συχνότητα (συνήθως 40-45 kHz για εκχύλιση). Το σύστημα στελέχους/κεφαλής περιλαμβάνει μια γεννήτρια (π.χ. μια πηγή εναλλασσόμενης ηλεκτρικής συχνότητας, συνήθως 20 kHz), ένα μορφοτροπέα και ένα στέλεχος. Το σύστημα αυτό επιτρέπει την ενίσχυση και συγκέντρωση της ενέργειας των υπερήχων, ενισχύοντας έτσι την αποτελεσματικότητα της υπερήχησης σε σύγκριση με το σύστημα του λουτρού (έως και 100 φορές μεγαλύτερη). Για την εκχύλιση, το στέλεχος εμβαπτίζεται στο δοχείο με την πρώτη ύλη και το εκχυλιστικό μέσο (άμεση υπερήχηση).^[28]

Τέλος, υπάρχουν πολλές παράμετροι που πρέπει να λαμβάνονται κατά το σχεδιασμό της εκχύλισης. Οι σημαντικές παράμετροι συμπεριλαμβάνουν την επιλογή του αντιδραστήρα (λουτρό υπερήχων ή τύπου στελέχους/κεφαλής), η συχνότητα λειτουργίας, η ένταση των υπερήχων, ο χρόνος εκχύλισης, η θερμοκρασία εκχύλισης και ο τύπος, η αναλογία και οι ιδιότητες του διαλύτη.^{[26],[27],[29]}

Η μέθοδος αυτή έχει βρει εφαρμογή στην υδατική εκχύλιση των πρωτεϊνών από σπόρους σόγιας. Παρατηρήθηκε ότι με τη χρήση του συστήματος υπερήχου στελέχους/κεφαλής συχνότητας 20 kHz, ισχύς 400 W και για χρόνο εκχύλισης 15 min σε πολτό σόγιας (soy slurry), επιτεύχθηκε μέγιστη απόδοση της εκχύλισης στο 70%.^[31]

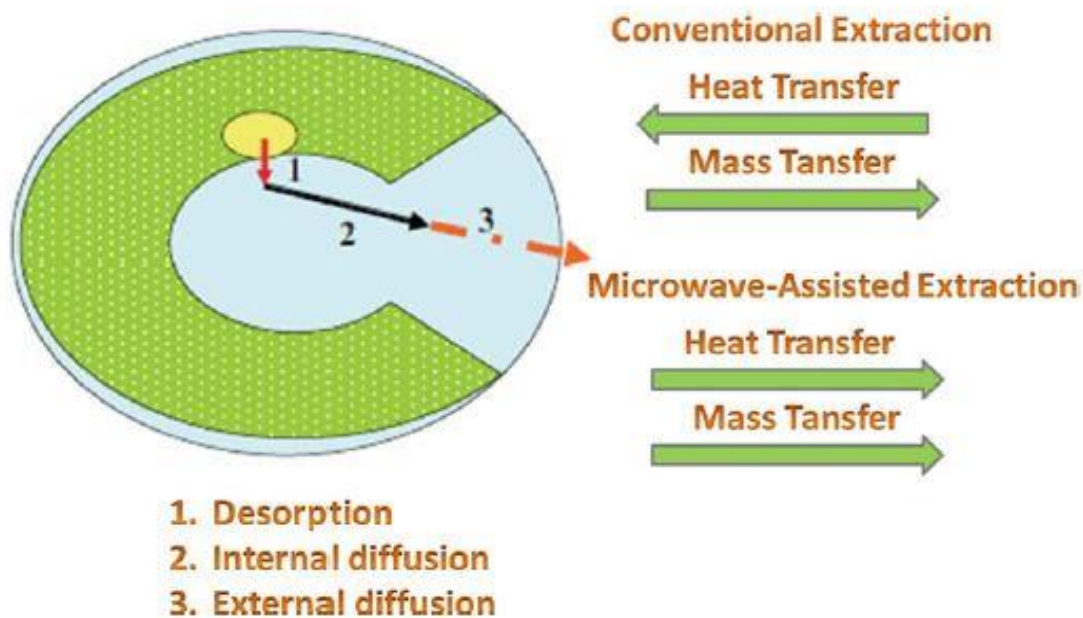
Πίνακας 3.1. Βασικές παράμετροι που επηρεάζουν τη σπηλαιώση^[28]

Παράμετρος	Σπηλαιώση	Παρατηρήσεις
Ισχύς υπέρηχου	Αυξάνεται	Το φράγμα της σπηλαιώσης απαιτεί μία ελάχιστη ισχύ.
Συχνότητα υπέρηχου	Μειώνεται	Όταν χρησιμοποιείται μία υψηλή συχνότητα, οι κύκλοι αραίωσης μειώνονται. Έτσι, ο ανεπαρκής χρόνος για τη δημιουργία της κατάλληλης αρνητικής πίεσης εμποδίζει την ανάπτυξη της φυσαλίδας.
Ιξώδες διαλύτη	Μειώνεται	Οι ισχυρές δυνάμεις έχουν ως αποτέλεσμα την αύξηση της απαραίτητης αρνητικής πίεσης για τη διαταραχή του υγρού.
Τάση ατμών	Αυξάνεται	Οι πτητικοί διαλύτες μειώνουν την απαραίτητη ενέργεια και άρα το φράγμα της σπηλαιώσης. Είναι δύσκολο να συμβεί σπηλαιώση σε διαλύτες με πολύ χαμηλή τάση ατμών.
Επιφανειακή τάση	Μειώνεται	Οι επιφανειοδραστικές ουσίες μέσα στο υγρό προάγουν τη σπηλαιώση.
Θερμοκρασία	Αυξάνεται μέχρι μία συγκεκριμένη θερμοκρασία, μετά μειώνεται	Η θερμοκρασία αυξάνει τη σπηλαιώση λόγω της αύξησης της τάσης ατμών. Ωστόσο, όταν η θερμοκρασία ανεβαίνει πάνω από 50°C, επιτυγχάνεται χαμηλότερη πίεση μέσα στην κοιλότητα η οποία μπορεί να οδηγήσει σε μείωση των ηχητικών επιδράσεων.
Περιεκτικότητα αερίου στο υγρό μέσο	Αυξάνεται	Το αέριο που δρα ως πυρήνας σπηλαιώσης οδηγεί σε χαμηλότερο φράγμα σπηλαιώσης. Τα μονοατομικά αέρια (He, Ar, Ne) είναι αποτελεσματικότερα στην αύξηση της σπηλαιώσης από τα διατομικά αέρια (N ₂ , O ₂)
Εξωτερική πίεση	Αυξάνεται	Γενικά, αν αυξηθεί η εξωτερική πίεση παρατηρείται χαμηλότερο φράγμα σπηλαιώσης.

3.2.3.2 Εκχύλιση υποβοηθούμενη από μικροκύματα

Η εκχύλιση υποβοηθούμενη από μικροκύματα (Microwave-Assisted Extraction, MAE) ανήκει στις νέες μεθόδους εκχύλισης που παρουσιάζουν μεγάλες βιομηχανικές δυνατότητες. Σε σύγκριση με τις συμβατικές μεθόδους, η εκχύλιση με μικροκύματα χρησιμοποιείται για την εκχύλιση βιοδραστικών συστατικών από φυτικά υλικά γιατί μπορεί να πραγματοποιηθεί σε ενιαίες και γρηγορότερες διαδικασίες με δυνατότητα να κλιμακωθεί, παρουσιάζοντας υψηλότερη αποτελεσματικότητα και προστασία των θερμοευαίσθητων συστατικών χρησιμοποιώντας μικρότερες ποσότητες διαλύτη και καταναλώνοντας λιγότερη ενέργεια.

Η εκχύλιση με μικροκύματα βασίζεται στο γεγονός ότι η εκχύλιση συμβαίνει ως αποτέλεσμα των αλλαγών στη δομή των κυττάρων που προκαλείται από τα ηλεκτρομαγνητικά κύματα. Η επιτάχυνση της διεργασίας και η υψηλή απόδοση εκχύλισης είναι αποτέλεσμα συνδυασμού δύο φαινομένων μεταφοράς: οι βαθμίδες θερμότητας και μάζας δουλεύουν προς την ίδια κατεύθυνση. Από την άλλη πλευρά, στις συμβατικές μεθόδους η μεταφορά μάζας γίνεται από μέσα προς τα έξω, ενώ η μεταφορά θερμότητας γίνεται από το εξωτερικό προς το εσωτερικό του υποστρώματος. Επιπλέον, στην εκχύλιση με μικροκύματα η θερμότητα διαχέεται μέσα στο ακτινοβολημένο μέσο, σε αντίθεση με τις συμβατικές μεθόδους στις οποίες η θερμότητα μεταφέρεται από το μέσο θέρμανσης προς το εσωτερικό του δείγματος. Οι μηχανισμοί μεταφοράς μάζας και θερμότητας με μικροκύματα και με τη συμβατική εκχύλιση παρουσιάζονται στην Εικόνα 3.2.



Εικόνα 3.2. Βασικοί μηχανισμοί μεταφοράς μάζας και θερμότητας με τους υπέρηχους και με τη συμβατική μέθοδο^[32]

Κατά τη διάρκεια της εκχύλισης, ο ρυθμός ανάκτησης του εκχυλίσματος δεν είναι γραμμική συνάρτηση του χρόνου. Η συγκέντρωση της διαλυμένης ουσίας μέσα στο στερεό ποικίλλει και οδηγεί σε μία μη-μόνιμη κατάσταση. Πρέπει να πραγματοποιηθεί μία σειρά από φαινομενολογικά βήματα κατά τη διάρκεια της αλληλεπίδρασης μεταξύ του στερεού και του διαλύτη που πραγματοποιεί το διαχωρισμό. Στα βήματα αυτά συμπεριλαμβάνονται:

- 1) η διείσδυση του διαλύτη στη στερεά μήτρα,
- 2) η διαλυτοποίηση και/ή η διάσπαση των συστατικών,
- 3) η μεταφορά της διαλυμένης ουσίας έξω από τη στερεά μήτρα,
- 4) η μεταφορά της εκχυλιζόμενης διαλυμένης ουσίας από την εξωτερική επιφάνεια του στερεού στο κύριο διάλυμα,
- 5) η κίνηση του εκχυλίσματος σε σχέση με το στερεό και
- 6) ο διαχωρισμός και η απέκκριση του εκχυλίσματος και του στερεού.

Επομένως, ο διαλύτης διεισδύει στη στερεά μήτρα με διάχυση και η διαλυμένη ουσία διαλύεται μέχρι να φτάσει σε μία ορισμένη συγκέντρωση που εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά του στερεού. Το διάλυμα που περιέχει τη διαλυμένη ουσία διαχέεται στην επιφάνεια με αποτελεσματική διάχυση. Τελικά, το διάλυμα μεταφέρεται από την επιφάνεια στο κύριο διάλυμα με φυσική ή εξαναγκασμένη μεταφορά.

Η διαδικασία της εκχύλισης λαμβάνει χώρα σε τρία διαφορετικά στάδια: μία φάση ισορροπίας όπου παρεμβαίνουν τα φαινόμενα της διαλυτοποίησης και του διαχωρισμού, στα οποία το υπόστρωμα αφαιρείται από την εξωτερική επιφάνεια του σωματιδίου με μία περίπου σταθερή ταχύτητα. Στη συνέχεια, ακολουθεί μία ενδιάμεση μεταβατική φάση προς τη διάχυση, στην οποία η αντίσταση στη μεταφορά μάζας αρχίζει να εμφανίζεται στη διασύνδεση στερεών-υγρών. Επίσης, σε αυτή τη φάση επικρατεί η μεταφορά μάζας με αγωγή και με διάχυση. Στην τελευταία φάση, η διαλυμένη ουσία πρέπει να ξεπεράσει τις αλληλεπιδράσεις που τη συνδέουν με την μήτρα και να διαχυθεί στον διαλύτη εκχύλισης. Στη φάση αυτή ο ρυθμός εκχύλισης είναι χαμηλός και χαρακτηρίζεται από την απομάκρυνση του εκχυλίσματος μέσω διάχυσης. Αυτό το σημείο είναι ένα μη αναστρέψιμο βήμα της διαδικασίας εκχύλισης και θεωρείται συχνά ως το περιοριστικό βήμα της διαδικασίας.

Πολλές δυνάμεις, όπως οι φυσικοχημικές αλληλεπιδράσεις και σχέσεις, μπορούν να εμφανιστούν κατά τη διάρκεια της εκχύλισης (δυνάμεις διασποράς, κινητήριοι δυνάμεις και χημικές αλληλεπιδράσεις) και η ανθεκτικότητα και η ισχύς αυτών των φαινομένων είναι πιθανό να συνδέονται με τις ιδιότητες του διαλύτη (δύναμη διαλυτοποίησης, διαλυτότητα στο νερό, καθαρότητα, πολικότητα κ.λπ.).

Τέλος, η αποτελεσματικότητα της διεργασίας σχετίζεται με τις συνθήκες λειτουργίας που επιλέγονται. Οι παράγοντες που επηρεάζουν την απόδοση της εκχύλισης είναι η σύσταση του

διαλύτη, ο λόγος στερεού/υγρό, η θερμοκρασία, ο χρόνος εκχύλισης, η ισχύς των μικροκυμάτων και τα χαρακτηριστικά της μήτρας καθώς και την περιεκτικότητά της σε νερό.^{[32],[33]}

3.2.3.3 Εκχύλιση υποβοηθούμενη από ένζυμα

Η εκχύλιση υποβοηθούμενη από ένζυμα (Enzyme-Assisted Extraction, EAE) είναι μία πολλά υποσχόμενη μέθοδος για τη χρήση ενζύμων ώστε να διευκολύνει την ανάκτηση των πρωτεϊνών από τους ελαιούχους σπόρους και μπορεί να αποτελέσει μία εναλλακτική λύση στην αλκαλική εκχύλιση. Αν και οι αλκαλικές συνθήκες μπορούν να βελτιώσουν την εκχύλιση των πρωτεϊνών, η πολύ έντονη αλκαλική εκχύλιση μπορεί να οδηγήσει σε διάφορα ανεπιθύμητα αποτελέσματα, όπως η μειωμένη πεπτικότητα των αμινοξέων και η καταστροφή ορισμένων αμινοξέων (λυσίνη και κυστεΐνη). Αντίθετα, η εκχύλιση με ένζυμα θεωρείται μία ήπια μέθοδος εκχύλισης, η οποία μπορεί να ελαχιστοποιήσει τις παράπλευρες αντιδράσεις και τα περιβαλλοντικά προβλήματα.

Διάφορα ένζυμα όπως οι κυτταρινάσες, οι πηκτινάσες και οι ημικυτταρινάσες χρησιμοποιούνται συχνά για να διαταράξουν τη δομική ακεραιότητα του τοιχώματος των φυτικών κυττάρων, ενισχύοντας έτσι την εκχύλιση βιοδραστικών συστατικών από τα φυτά. Αυτά τα ένζυμα υδρολύουν τα συστατικά του κυτταρικού τοιχώματος αυξάνοντας έτσι τη διαπερατότητα των κυτταρικών τοιχωμάτων, πράγμα που έχει ως αποτέλεσμα υψηλότερες αποδόσεις εκχύλισης βιοδραστικών συστατικών. Τα ένζυμα μπορούν να προέρχονται από βακτήρια, μύκητες, όργανα των ζώων ή εκχυλίσματα λαχανικών και φρούτων. Για να χρησιμοποιηθούν αποτελεσματικά τα ένζυμα για εφαρμογές εκχύλισης, είναι σημαντικό να κατανοηθεί η καταλυτική τους ιδιότητα, ο τρόπος δράσης τους, οι βέλτιστες συνθήκες λειτουργίας και ποιο ένζυμο ή συνδυασμός ενζύμων είναι κατάλληλος για το επιλεγμένο φυτικό υλικό.^{[34],[35],[36]}

Η μέθοδος αυτή έχει βρει εφαρμογή στην εκχύλιση πρωτεϊνών σόγιας από απειλωμένο αλεύρο αυτής, χρησιμοποιώντας το ένζυμο Visconzyme L. Η πολυσύνθετη φύση αυτού του ενζύμου το οποίο περιέχει μία ευρεία ποικιλία από υδρολάσες υδατανθράκων, στις οποίες περιλαμβάνεται η αραβινάση, η κυτταρινάση, η ημικυτταρινάση και η ξυλανάση, βοήθησε στη διάσπαση των δεσμών της πολυσακχαριτικής μήτρας και επομένως στην απελευθέρωση περισσότερων συστατικών που βρίσκονται μεταξύ των κυττάρων, όπως το άζωτο. Παρατηρήθηκε ότι με τη χρήση του ενζύμου στην εκχύλιση η απόδοση εκχύλισης των πρωτεϊνών παρουσίασε αύξηση περίπου κατά 23% (από 33.04% σε 56.27%) σε σχέση με την εκχύλιση χωρίς τη χρήση αυτού για χρόνο εκχύλισης 30 min, θερμοκρασία εκχύλισης 60°C και λόγο στερεού προς υγρού 1:20.

Οι χρόνοι επεξεργασίας με τα ένζυμα είναι συνήθως μεγάλοι (από 30 min έως μερικές ώρες) και οι δαπάνες τόσο του ενζύμου όσο και της επεξεργασίας είναι σχετικά υψηλές. Επίσης, υπάρχει η περίπτωση οι βέλτιστες συνθήκες για την ενζυμική δραστηριότητα να μην είναι παρόμοιες με τις βέλτιστες συνθήκες εκχύλισης των πρωτεϊνών της σόγιας.^[37]

3.2.3.4 Ομογενοποίηση με υψηλή πίεση

Η υδροδυναμική σπηλαίωση είναι ευρέως αποδεκτή ως τεχνική για τη διάσπαση των κυττάρων των μικροβίων και των μικροφυκών, καθώς και για την ανάκτηση ενδοκυτταρικών ενζύμων. Μπορεί να επιτευχθεί χρησιμοποιώντας ομογενοποιητή υψηλής πίεσης σε πιέσεις άνω των 35 MPa. Η ομογενοποίηση με υψηλή πίεση έχει χρησιμοποιηθεί στη βιομηχανία των τροφίμων για διάσπαση μικροβιακών κυττάρων μεγάλης κλίμακας, καθώς και για άλλους σκοπούς, όπως η γαλακτωματοποίηση. Σε πολλές περιπτώσεις στη βιομηχανία των τροφίμων χρησιμοποιείται η ομογενοποίηση υπερυψηλής πίεσης, με πιέσεις που φτάνουν μέχρι τα 350 MPa. Αυτό το μέγεθος πίεσης επιτρέπει την αύξηση των εφαρμογών σε σχέση με τη συμβατική ομογενοποίηση.

Για την υλοποίηση της ομογενοποίησης με υψηλή πίεση για την εκχύλιση σε διεργασίες βιομηχανικής κλίμακας πρέπει να εξεταστούν διάφοροι παράγοντες στους οποίους συμπεριλαμβάνονται η κατανάλωση ενέργειας, η γεωμετρία και η φθορά των μηχανημάτων και η παραγωγικότητα.^{[38],[39]}

Η μέθοδος αυτή έχει βρει εφαρμογή στην υδατική εκχύλιση πρωτεϊνών από σπόρους της σόγιας. Πραγματοποιήθηκε επεξεργασία πολτού σόγιας (soy slurry), σε πιέσεις από 50-125 MPa και παρατηρήθηκε ότι η πιο παραγωγική επεξεργασία ήταν σε πίεση 100 MPa μετά από ένα πέρασμα από τον ομογενοποιητή, στην οποία η απόδοση εκχύλισης των πρωτεϊνών αυξήθηκε έως 82%. Επίσης, τα αποτελέσματα έδειξαν μείωση του μεγέθους των σωματιδίων και διάσπαση των ακέραιων κυττάρων. Αντίθετα, τα πολλά πέρασματα του πολτού σόγιας από τον ομογενοποιητή προκάλεσαν αύξηση του δυναμικού ιξώδους και μικρή αύξηση του μεγέθους των σωματιδίων, πιθανώς λόγω της διόγκωσης του κυτταρικού τοιχώματος, με αποτέλεσμα τη μειωμένη απόδοση διαχωρισμού και κατά συνέπεια τη μειωμένη απόδοση εκχύλισης των πρωτεϊνών.^[39]

3.2.3.5 Εκχύλιση με ευτηκτικούς διαλύτες

Η εκχύλιση με τη χρήση ευτηκτικών διαλυτών (Deep Eutectic Solvents, DES) αποτελεί μία νέα περιβαλλοντικά φιλική τεχνική εκχύλισης σε σχέση με τις συμβατικές τεχνικές εκχύλισης. Η νέα αυτή τάξη των διαλυτών έχει προσελκύσει μεγάλη προσοχή λόγω του γεγονότος ότι δεν είναι μόνο φιλικές προς το περιβάλλον, μη τοξικές και βιοαποικοδομήσιμες οργανικές ενώσεις αλλά έχουν και χαμηλό κόστος και είναι εύκολο να παραχθούν στο εργαστήριο. Επιπλέον, παρουσιάζουν εξαιρετικές προοπτικές ως διαλύτες εκχύλισης σε αρκετές διαδικασίες εκχύλισης, όπως η εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους και η εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα.^[40]

Οι βαθείς ευτηκτικοί διαλύτες προκύπτουν από την ανάμιξη δύο ή τριών συστατικών που είναι ικανά να σχηματίσουν, μέσω δεσμών υδρογόνου, ευτηκτικά μίγματα, τα οποία βρίσκονται σε

υγρή κατάσταση σε θερμοκρασία δωματίου. Γενικά, αυτά τα μίγματα χαρακτηρίζονται από μία μεγάλη ταπείνωση του σημείου τήξης, σε σχέση με τα αρχικά συστατικά τους, που συχνά ξεπερνά τους 100°C. Για την παρασκευή τους συνήθως χρησιμοποιείται ένα αλογονούχο άλας, το οποίο λειτουργεί ως δέκτης δεσμού υδρογόνου (Hydrogen Bond Acceptor, HBA) και ένας δότης δεσμού υδρογόνου (Hydrogen Bond Donor, HBD), που έχει την ικανότητα σχηματισμού ενός συμπλόκου με το αλογονούχο ανιόν του άλατος.^{[41],[42]}

Για την εκχύλιση πρωτεϊνών έχουν μελετηθεί διάφορα είδη ευτηκτικών διαλυτών. Ως δέκτες δεσμού υδρογόνου έχουν χρησιμοποιηθεί το χλωρίδιο της χολίνης (choline chloride) και η μπεταΐνη (betaine).^{[43],[44]} Οι συστάσεις των ευτηκτικών διαλυτών παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.2.

Πίνακας 3.2. Σύσταση ευτηκτικών διαλυτών^{[43],[44]}

Δέκτης δεσμού υδρογόνου	Δότης δεσμού υδρογόνου	Αναλογία mole
Χλωρίδο της χολίνης	Αιθυλενογλυκόλη	1:2
Χλωρίδο της χολίνης	Γλυκερόλη	1:1
Χλωρίδο της χολίνης	Γλυκόζη	2:1
Χλωρίδο της χολίνης	Σορβιτόλη	1:1
Μπεταΐνη	Ουρία	1:2
Μπεταΐνη	Μεθουρία	1:2
Μπεταΐνη	Γλυκόζη	1:3
Μπεταΐνη	Σορβιτόλη	1:1
Μπεταΐνη	Γλυκερόλη	1:1
Μπεταΐνη	Αιθυλενογλυκόλη	1:2

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

4.1 Σκοπός

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων σόγιας έχοντας ως πρώτη ύλη πρωτεϊνικό άλευρο σόγιας με τη χρήση νέων μεθόδων εκχύλισης πρωτεϊνών. Ειδικότερα, μελετάται η εκχύλιση με υπέρηχους και γίνεται σύγκριση αυτής με την συμβατική εκχύλιση με θερμό νερό χρησιμοποιώντας ως διαλύτη απιονισμένο νερό και έναν ευκτηκτικό διαλύτη (χλωρίδιο της χολίνης:γλυκόζη, αναλογία mole 2:1). Για την παραγωγή των τελικών προϊόντων ακολουθείται η μέθοδος παραλαβής πρωτεϊνών με υδατική εκχύλιση σε λουτρό υπέρηχων και καταβύθιση των πρωτεϊνών στο ισοηλεκτρικό τους σημείο. Οι παράγοντες που εξετάζονται είναι ο χρόνος της εκχύλισης και ο λόγος του βάρους του εκχυλιζόμενου δείγματος προς τον όγκο του εκχυλιστικού μέσου. Η διεργασία αξιολογείται ως προς την απόδοση εκχύλισης, την απόδοση καταβύθισης (ως προς τις εκχυλιζόμενες πρωτεΐνες), την ολική απόδοση και την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες των υπερσυμπυκνωμάτων. Τέλος, στα υπερσυμπυκνώματα αξιολογούνται οι λειτουργικές τους ιδιότητες και συγκεκριμένα η ικανότητα απορρόφησης νερού και η ικανότητα απορρόφησης ελαίου.

4.2 Υλικά – Εξοπλισμός

4.2.1 Α΄ Ύλες - Αντιδραστήρια

Στα πειράματα χρησιμοποιήθηκε ως πρώτη ύλη πρωτεϊνούχο άλευρο σόγιας που προμηθεύτηκε από τη βιομηχανία «ΣΟΓΙΑ ΕΛΛΑΣ Α.Ε.» (Ψαχνά, Εύβοια), το οποίο είχε απειλωθεί και έχει υποστεί θερμική επεξεργασία για την καταστροφή των αντιθρεπτικών παραγόντων (αναστολείς τρυψίνης). Το άλευρο αλέστηκε σε λεπτότητα 0.5 mm και φυλάχθηκε σε δροσερό και σκιερό μέρος, μέχρι την επεξεργασία του. Το άλευρο που προέκυψε, πριν προχωρήσει σε περαιτέρω επεξεργασία, απειλωθήκε πλήρως με πετρελαϊκό αιθέρα (Carlo Erba Reagents S.A.S) σε συσκευή Soxhlet. Το εργαστηριακά απειλωμένο άλευρο αποτέλεσε την πρώτη ύλη για την παρασκευή εκχυλισμάτων πρωτεϊνών.

Κατά τη διαδικασία της εκχύλισης των πρωτεϊνών, χρησιμοποιήθηκε διάλυμα καυστικού νατρίου NaOH συγκέντρωσης 0.5 N (Carlo Erba Reagents S.A.S) για τη ρύθμιση του pH. Για την ισοηλεκτρική καταβύθιση, χρησιμοποιήθηκε διάλυμα θειϊκού οξέος H₂SO₄ συγκέντρωσης 0.5 N (Panreac Quimica S.A.) και για τις εκπλύσεις ισοπροπανόλη (Carlo Erba Reagents S.A.S).

Για τη μέτρηση της περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες της πρώτης ύλης και των παραλαμβανόμενων πρωτεϊνικών προϊόντων με τη μέθοδο Kjeldahl, χρησιμοποιήθηκαν θειϊκό κάλιο K₂SO₄ (Carl Roth GmbH & Co. Kg), ένυδρος θειϊκός χαλκός CuSO₄·5H₂O (Panreac Quimica S.A), διάλυμα πυκνού

θειϊκού οξέος 95-98% H₂SO₄ (Fisher), πυρήνες βρασμού (Merck Millipore), υδατικό διάλυμα NaOH 32% w/w (παρασκευασμένο από φυλλίδια στερεού NaOH), απιονισμένο νερό (από τη στήλη παραγωγής απιονισμένου νερού του εργαστηρίου), διάλυμα καυστικού νατρίου NaOH συγκέντρωσης 0.5 N (Carlo Erba Reagents S.A.S), διάλυμα θειϊκού οξέος H₂SO₄ συγκέντρωσης 0.5 N (Fisher) και δείκτης ερυθρό μεθυλίου-μπλε μεθυλενίου (παρασκευασμένος στο εργαστήριο).

Επίσης, για την παρασκευή του ευτηκτικού διαλύτη, χρησιμοποιήθηκε χλωρίδιο της χολίνης C₅H₁₄ClNO (Acros Organics) και μονοϋδρική γλυκόζη C₆H₁₂O₆ (Chemco).

Τέλος, για τη μέτρηση των λειτουργικών ιδιοτήτων χρησιμοποιήθηκαν απιονισμένο νερό (από τη στήλη παραγωγής απιονισμένου νερού του εργαστηρίου) και αραβοσιτέλαιο (Vita D'or).

4.2.2 Συσκευές – Όργανα

Οι συσκευές και τα όργανα που χρησιμοποιήθηκαν κατά την πειραματική διαδικασία και κατά τη διάρκεια των μετρήσεων είναι τα εξής:

- Αναλυτικός ζυγός PrecisaXT 220A (4 δεκαδικών ψηφίων)
- Αναλυτικός ζυγός Precisa 620C (2 δεκαδικών ψηφίων)
- Συσκευή Soxhlet
- Περιστροφικός εξατμιστήρας Heidolph
- Λουτρό εκχύλισης πρωτεϊνών HAAKE G με αναδευτήρα
- Λουτρό υπερήχων Elmasonic S 30 H
- Φορητό πεχάμετρο WTW pH 315i
- Φυγόκεντρος MLW T 54
- Φυγόκεντρος Hettich Universal II
- Συσκευή ξήρανσης υπό κατάψυξη Christ Alpha 1-4 LDplus
- Συσκευή καύσης Kjeldahl BUCHI 425 Digestor
- Συσκευή απόσταξης Kjeldahl BUCHI K-350
- Φούρνος BINDER
- Αναδευτήρας Vortex
- Γυάλινα σκεύη (ποτήρια ζέσεως, κωνικές φιάλες, σφαιρικές φιάλες, ογκομετρικοί κύλινδροι, προχοΐδες, σιφώνια, σωλήνες φυγόκεντρου, βαθμονομημένοι σωλήνες φυγόκεντρου, φιάλες Kjeldahl)
- Πλαστικά τρυβλία
- Πουάρ 3 βαλβίδων
- Μεταλλική σπαθίδα

4.3 Πειραματική διαδικασία

4.3.1 Προκατεργασία αλεύρου

Η αρχική πρώτη ύλη (άλευρο σόγιας) αλέθεται σε μύλο, συλλέγεται σε δοχείο και κοσκινίζεται ώστε να προκύψει άλευρο ομοιόμορφου μεγέθους σωματιδίων με κοκκομετρία ίση με 0.5 mm. Στο άλευρο που παραλαμβάνεται γίνεται απελαίωση. Αν και η αρχική πρώτη ύλη που παρελήφθη ήταν βιομηχανικά απελαιωμένη, επιλέχθηκε να πραγματοποιηθεί περαιτέρω απελαίωση, καθώς εμφανίστηκαν προβλήματα στην πειραματική διαδικασία, όπως η παραγωγή μικρών ποσοτήτων των τελικών προϊόντων (υπερσυμπυκνωμάτων) και η δυσκολία στην παραλαβή τους μέσα από τους σωλήνες της φυγόκεντρου. Γι' αυτό πραγματοποιείται η απελαίωση με πετρελαϊκό αιθέρα και στη συνέχεια γίνεται εξάτμιση του διαλύτη. Το εργαστηριακά απελαιωμένο άλευρο χρησιμοποιείται ως πρώτη ύλη στη διαδικασία της εκχύλισης.

Η διαδικασία της απελαίωσης περιλαμβάνει τα παρακάτω βήματα:

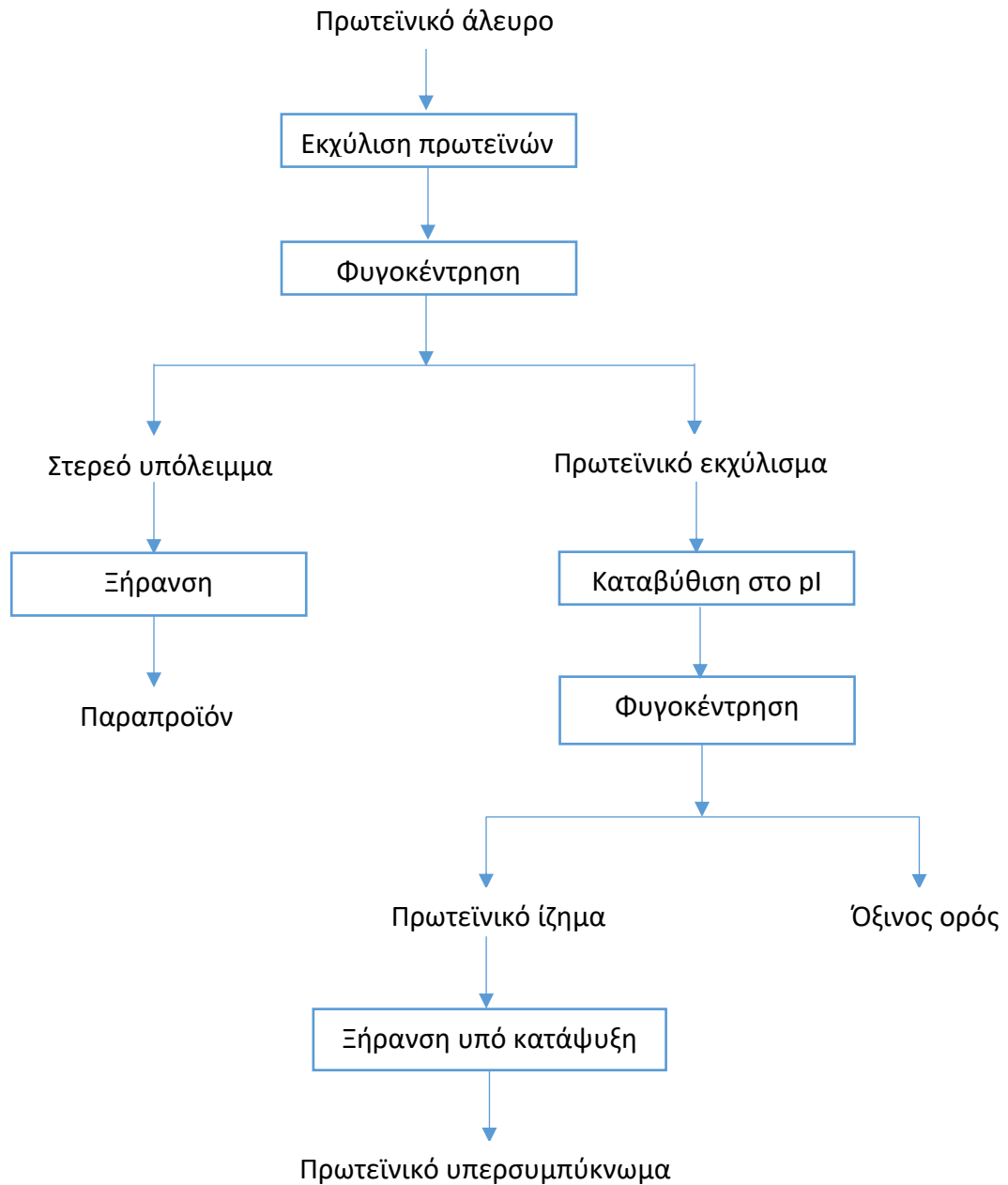
Αρχικά ορισμένη ποσότητα πρώτης ύλης, ζυγισμένη με ακρίβεια 0.01 g, εισάγεται σε καρτούσα, η οποία στη συνέχεια τοποθετείται στη διάταξη Soxhlet. Ο διαλύτης (300-400 mL) τοποθετείται στον θερμαινόμενο μανδύα της διάταξης. Ρυθμίζεται η παροχή του νερού και η ένταση της θέρμανσης. Η εκχύλιση συνεχίζεται για περίπου 2-2.5 h, όπου παρατηρείται χρωματισμός του διαλύτη. Όταν ολοκληρωθεί η εκχύλιση, σταματά η θέρμανση και το σύστημα αφήνεται να ψυχθεί σε θερμοκρασία δωματίου. Τέλος, αφαιρείται η καρτούσα, συλλέγεται το απελαιωμένο άλευρο και τοποθετείται σε κλίβανο στους 36°C για περίπου 1 h, ώστε να εξατμιστεί ο διαλύτης.



Εικόνα 4.1. Πειραματική διάταξη απελαίωσης πρώτης ύλης

4.3.2 Παραλαβή των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων

Η παραλαβή των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων πραγματοποιήθηκε με εφαρμογή της μεθόδου εκχύλισης και ισοηλεκτρικής καταβύθισης των πρωτεϊνών, σύμφωνα με το γενικό διάγραμμα ροής:

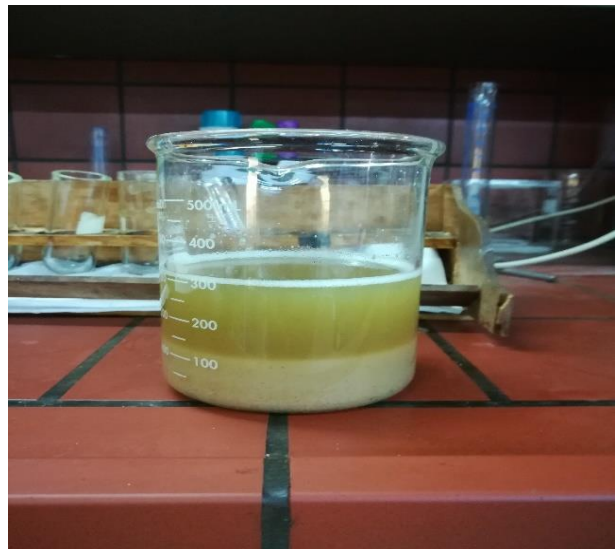


Εκχύλιση πρωτεϊνών

Αρχικά 20 g δείγματος, ζυγισμένα με ακρίβεια 0.001 g, φέρονται σε ποτήρι ζέσεως 600 mL με την ανάλογη ποσότητα του εκχυλιστικού μέσου. Το ποτήρι τοποθετείται σε κατάλληλο υδατόλουτρο (συμβατικό ή λουτρό υπερήχων), όπου πραγματοποιείται η εκχύλιση των πρωτεϊνών για το χρόνο εκχύλισης που επιλέγεται, υπό συνεχή ανάδευση. Η θερμοκρασία του υδατόλουτρου διατηρείται σταθερή στην επιθυμητή τιμή, από τον ειδικό θερμοστάση του λουτρού. Το pH του διαλύματος ρυθμίζεται και διατηρείται σταθερό καθόλη τη διάρκεια της εκχύλισης με τη χρήση του υδατικού διαλύματος NaOH συγκέντρωσης 0.5 N. Μετά το πέρας της εκχύλισης το αιώρημα φυγοκεντρείται σε 2600xg για 15 min και το υπερκείμενο υγρό (πρωτεϊνικό εκχύλισμα) ογκομετρείται και συλλέγεται. Το στερεό υπόλειμμα της εκχύλισης ξηραίνεται στους 100°C για 24 h, ζυγίζεται και χρησιμοποιείται για προσδιορισμό της περιεκτικότητας των υπολειπόμενων πρωτεϊνών. Στις Εικόνες 4.2-4.5 φαίνονται η πειραματική διάταξη και τα στάδια της εκχύλισης των πρωτεϊνών.



Εικόνα 4.2. Πειραματική διάταξη εκχύλισης με υπέρηχους



Εικόνα 4.3. Πρωτεϊνικό αιώρημα



Εικόνα 4.4. Πρωτεϊνικό αιώρημα πριν τη φυγοκέντρηση



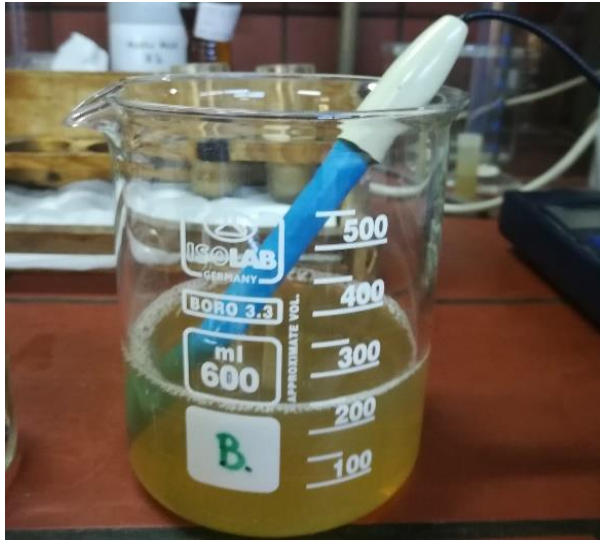
Εικόνα 4.5. Πρωτεϊνικό εκχύλισμα και στερεό υπόλειμμα μετά την φυγοκέντρηση

Καταβύθιση πρωτεϊνών

Στην ποσότητα του πρωτεϊνικού εκχυλίσματος που παραλαμβάνεται προστίθεται σταδιακά, με ήπια ανάδευση, υδατικό διάλυμα H_2SO_4 συγκέντρωσης 0.5 N μέχρι την επίτευξη του επιθυμητού ισοηλεκτρικού σημείου (pI). Η όλη διαδικασία γίνεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Οι καταβυθισμένες πρωτεΐνες διαχωρίζονται με φυγοκέντρηση σε 2600xg για 15 min. Αποχύνεται το υπερκείμενο υγρό (όξινο ορό) και το πρωτεϊνικό ίζημα μεταφέρεται, με όσο το δυνατόν μικρότερη ποσότητα νερού, σε πλαστικό τρυβλίο και στη συνέχεια ξηραίνεται υπό κατάψυξη για 48 h, ζυγίζεται και χρησιμοποιείται για προσδιορισμό της περιεκτικότητας των πρωτεϊνών.

Όταν απαιτείται, μετά τη φυγοκέντρηση γίνεται έκπλυση των καταβυθισμένων πρωτεϊνών με υδατικό διάλυμα ισοπροπανόλης (1:1 v/v) και ακολουθεί φυγοκέντρηση σε 2600xg για 10 min.

Τα διάφορα στάδια της καταβύθισης των πρωτεϊνών φαίνονται στις παρακάτω εικόνες.



Εικόνα 4.6. Πρωτεϊνικό εκχύλισμα πριν την καταβύθιση



Εικόνα 4.7. Πρωτεϊνικό εκχύλισμα μετά την καταβύθιση



Εικόνα 4.8. Πρωτεϊνικό ίζημα

Οι αποδόσεις υπολογίζονται από τις σχέσεις:

$$\text{Απόδοση εκχύλισης (\%)} = \frac{\text{Εκχυλισμένες πρωτεΐνες}}{\text{Πρωτεΐνες δείγματος}} \cdot 100 \Rightarrow$$

$$\text{Απόδοση εκχύλισης (\%)} = \frac{\Delta \cdot \Pi_{\Delta} - \Sigma\Upsilon \cdot \Pi_{\Sigma\Upsilon}}{\Delta \cdot \Pi_{\Delta}} \cdot 100$$

$$\text{Απόδοση καταβύθισης (\%)} = \frac{\text{Πρωτεΐνες υπερσυμπυκνώματος}}{\text{Εκχυλισμένες πρωτεΐνες}} \cdot 100 \Rightarrow$$

$$\text{Απόδοση καταβύθισης (\%)} = \frac{\Upsilon \cdot \Pi_{\Upsilon}}{\Delta \cdot \Pi_{\Delta} - \Sigma\Upsilon \cdot \Pi_{\Sigma\Upsilon}} \cdot 100$$

$$\text{Ολική απόδοση (\%)} = \frac{\text{Πρωτεΐνες υπερσυμπυκνώματος}}{\text{Πρωτεΐνες δείγματος}} \cdot 100 \Rightarrow$$

$$\text{Ολική απόδοση (\%)} = \frac{\Upsilon \cdot \Pi_{\Upsilon}}{\Delta \cdot \Pi_{\Delta}} \cdot 100$$

όπου:

Δ : το βάρος του δείγματος (g)

$\Sigma\Upsilon$: το βάρος του στερεού υπολείμματος (g)

Υ : το βάρος του υπερσυμπυκνώματος (g)

Π_{Δ} : η περιεκτικότητα του δείγματος σε πρωτεΐνες (%)

$\Pi_{\Sigma\Upsilon}$: η περιεκτικότητα του στερεού υπολείμματος σε πρωτεΐνες (%)

Π_{Υ} : η περιεκτικότητα του υπερσυμπυκνώματος σε πρωτεΐνες (%)

Προσδιορισμός ισοηλεκτρικού σημείου

Το ισοηλεκτρικό σημείο των πρωτεϊνών της σόγιας προσδιορίζεται ως η τιμή pH στην οποία εμφανίζεται μέγιστη καταβύθιση (ελάχιστη διαλυτότητα). Για το σκοπό αυτό πραγματοποιείται ένα πείραμα εκχύλισης των πρωτεϊνών μέχρι το στάδιο της παραλαβής του πρωτεϊνικού εκχυλίσματος και μετά τη φυγοκέντρηση του στερεού υπολείμματος, με τη διαδικασία που περιγράφηκε παραπάνω. Το πρωτεϊνικό εκχύλισμα χωρίζεται σε 8 ισόποσα δείγματα σε σωλήνες φυγόκεντρου και γίνεται σάρωση σε τιμές pH μεταξύ 4.1-4.8 με τη χρήση υδατικών

διαλυμάτων H_2SO_4 και NaOH συγκέντρωσης 0.5 N. Οι καταβυθισμένες πρωτεΐνες κάθε δείγματος διαχωρίζονται με φυγοκέντρωση σε 2600xg για 15 min, συλλέγεται το πρωτεϊνικό ίζημα κάθε δείγματος, ξηραίνεται σε φούρνο στους 100°C για 24 h και ζυγίζεται. Επομένως, ο προσδιορισμός του ρI γίνεται άμεσα μέσω του βάρους των καταβυθισμένων πρωτεϊνών.

Οι καταβυθισμένες πρωτεΐνες υπολογίζονται από τη σχέση:

$$\% \text{Καταβυθισμένες πρωτεΐνες} = \frac{\text{ξηρές καταβ. πρωτ. σε κάθε κύλινδρο}}{\text{ολικές πρωτεΐνες στο εκχύλισμα}} \cdot 100$$

Παρασκευή ευτηκτικού διαλύτη

Ο ευτηκτικός διαλύτης παρασκευάστηκε με την ανάμειξη του χλωρίδιου της χολίνης και της γλυκόζης σε αναλογία mol 2:1 σε θερμοκρασία 80°C υπό συνεχή ανάδευση μέχρι να σχηματιστεί ένα ομοιογενές υγρό διάλυμα. Στη συνέχεια, στο ευτηκτικό διάλυμα που προέκυψε γίνεται προσθήκη 20 % v/v απιονισμένου νερού και το μίγμα αυτό χρησιμοποιείται ως διαλύτης για την εκχύλιση των πρωτεϊνών.



Εικόνα 4.9. Αρχή της παρασκευής του ευτηκτικού διαλύτη



Εικόνα 4.10. Τέλος της παρασκευής του ευτηκτικού διαλύτη

Μέτρηση λειτουργικών ιδιοτήτων

Η ικανότητα απορρόφησης νερού, IAN, (water absorption capacity, WAC) και η ικανότητα απορρόφησης ελαίου, IAE, (oil absorption capacity, OAC) είναι οι δύο λειτουργικές ιδιότητες που προσδιορίζονται.

Για τη μέτρηση της IAN, σε 0.25 g δείγματος σε προζυγισμένο βαθμονομημένο σωλήνα φυγόκεντρου όγκου 12 mL προστίθενται 6 mL απιονισμένου νερού. Το μίγμα αναδεύεται σε αναδευτήρα τύπου Vortex για 2 min και φυγοκεντρείται σε 2600xg για 20 min. Το υπερκείμενο υγρό αποχύνεται και ο σωλήνας ζυγίζεται μετά την απομάκρυνση και των προσκολλημένων σταγόνων νερού. Η IAN εκφράζεται ως το βάρος του δεσμευμένου νερού ανά 100 g δείγματος.

Η ικανότητα απορρόφησης νερού του δείγματος υπολογίζεται από την σχέση:

$$WAC (g \text{ νερού} / 100 g \text{ δείγματος}) = \frac{B_1 - (B_2 + \beta)}{\beta} \cdot 100$$

όπου:

B_1 : το βάρος του σωλήνα με το ενυδατωμένο δείγμα (g)

B_2 : το βάρος του άδειου σωλήνα (g)

β : το βάρος του δείγματος (g)

Για τη μέτρηση της IAE, σε 0.25 g δείγματος σε βαθμονομημένο σωλήνα φυγόκεντρου όγκου 12 mL προστίθενται 3 mL αραβοσιτέλαιου. Το μίγμα αναδεύεται σε αναδευτήρα τύπου Vortex για 1 min, αφήνεται σε ηρεμία για 30 min και φυγοκεντρείται σε 1500xg για 20 min. Τέλος, μετρείται ο όγκος του ελεύθερου ελαίου. Η IAE εκφράζεται ως ο όγκος του δεσμευμένου ελαίου ανά 100 g δείγματος.

Η ικανότητα απορρόφησης ελαίου του δείγματος υπολογίζεται από την σχέση:

$$OAC (ml \text{ ελαίου} / 100 g \text{ δείγματος}) = \frac{V - V_v}{\beta} \cdot 100$$

όπου:

V : ο αρχικός όγκος του ελαίου (mL)

V_v : ο όγκος του υπερκείμενου ελαίου (mL)

β : το βάρος του δείγματος (g)

4.4 Αναλύσεις – Μετρήσεις

4.4.1 Προσδιορισμός υγρασίας

Αρχικά 5 g δείγματος, ζυγισμένα με ακρίβεια 0.001 g, φέρονται σε προζυγισμένο αλουμινόχαρτο και στη συνέχεια τοποθετείται σε φούρνο στους 100°C για 24 h. Μετά την ξήρανση, το δείγμα ζυγίζεται και η επί τοις εκατό περιεκτικότητα σε υγρασία, υπολογίζεται ως εξής:

$$\text{Υγρασία (\%)} = \frac{\text{Απώλεια βάρους (g)}}{\text{Αρχικό βάρος δείγματος (g)}} \cdot 100$$

4.4.2 Προσδιορισμός ελαίου

Ορισμένη ποσότητα δείγματος, ζυγισμένη με ακρίβεια 0.01 g, φέρεται σε καρτούσα, τοποθετείται στη συσκευή Soxhlet και εκχυλίζεται με πετρελαϊκό αιθέρα μέχρι την πλήρη απομάκρυνση του ελαίου. Στη συνέχεια, το περιεχόμενο της σφαιρικής φιάλης (μίγμα διαλύτη και ελαίου) αποστάζεται σε περιστροφικό εξατμιστήρα για την απομάκρυνση της μεγαλύτερης ποσότητας του διαλύτη. Η απομάκρυνση και των τελευταίων ιχνών του διαλύτη πραγματοποιείται με τη μεταφορά του εναπομένου περιεχομένου της σφαιρικής φιάλης σε προζυγισμένο ποτήρι ζέσεως και ξήρανσή του μέχρι σταθερού βάρους. Τέλος, το ποτήρι ζέσεως αφήνεται να ψυχθεί, ζυγίζεται και η επί τοις εκατό περιεκτικότητα σε έλαιο, υπολογίζεται ως εξής:

$$\text{Έλαιο (\%)} = \frac{\text{Βάρος ελαίου (g)}}{\text{Αρχικό βάρος δείγματος (g)}} \cdot 100$$

4.4.3 Προσδιορισμός αζώτου και πρωτεϊνών – Μέθοδος Kjeldhal

Ο προσδιορισμός του αζώτου πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο Kjeldhal κατά την οποία γίνεται καύση του δείγματος με περίσσεια θειικού οξέος, παρουσία καταλύτη (οξειδίο υδραργύρου, σελήνιο, θειικό άλας χαλκού ή διοξείδιο τιτανίου) με αποτέλεσμα τη μετατροπή των αζωτούχων ενώσεων σε όξινο θειικό αμμώνιο. Στη συνέχεια, το διάλυμα καθίσταται αλκαλικό και η αμμωνία που ελευθερώνεται, συλλέγεται σε πρότυπο διάλυμα οξέος και προσδιορίζεται ογκομετρικά. Η μέθοδος Kjeldhal περιλαμβάνει τα παρακάτω στάδια:

Στην ειδική φιάλη Kjeldhal προστίθενται 25 mL πυκνού θειϊκού οξέος H₂SO₄, 10 g θειϊκού καλίου K₂SO₄, 1 g ένυδρου θειϊκού χαλκού CuSO₄·5H₂O, πυρήνες βρασμού και ορισμένη ποσότητα δείγματος (~1-1.5 g για τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα και ~2 g για τα στερεά υπολείμματα) ζυγισμένη με ακρίβεια 0.001 g. Η φιάλη ανακινείται για λίγα λεπτά ώστε το δείγμα να

διαποτιστεί καλά από το οξύ και να αποφευχθεί έτσι ο έντονος αφρισμός του διαλύματος. Υπάρχει η δυνατότητα ταυτόχρονης καύσης τεσσάρων δειγμάτων.

Ο σωλήνας κενού προσαρμόζεται στις φιάλες Kjeldhal, το σύστημα τοποθετείται στην συσκευή καύσης (Digester) και συνδέεται με τη βρύση για τη δημιουργία κενού, ενώ το άλλο άκρο είναι κλεισμένο. Στην αρχή η θέρμανση είναι ήπια (στάθμη 2-3), ώστε να μην παρατηρηθεί έντονος αφρισμός, ενώ όταν δημιουργηθούν οι πρώτοι ατμοί στη φιάλη, δηλαδή όταν αρχίσει η καύση των δειγμάτων, η θέρμανση γίνεται εντονότερη και φτάνει τη μέγιστη ένταση (στάθμη 5). Όταν το διάλυμα αποκτήσει χαρακτηριστικό πράσινο χρώμα και διαυγαστεί πλήρως, σταματά ο βρασμός. Μετά το τέλος της καύσης οι φιάλες αφήνονται να ψυχθούν στον αέρα, ενώ ο σωλήνας κενού διατηρείται για άλλα 15-20 min.

Στη συνέχεια, οι κρύες φιάλες προσαρμόζονται στην ειδική συσκευή απόσταξης Kjeldhal, η οποία έχει τη δυνατότητα απόσταξης ενός δείγματος κάθε φορά. Στην έξοδο της συσκευής απόσταξης τοποθετείται κωνική φιάλη στην οποία συλλέγεται το απόσταγμα και περιέχει 50 mL πρότυπου διαλύματος θειϊκού οξέος 0.5 N. Στη φιάλη προστίθενται 75 mL απιονισμένου νερού και 125 mL διαλύματος καυστικού νατρίου NaOH 32% w/w, ρυθμίζεται ο χρονοδιακόπτης στα 5 min (ώστε να συλλεχθούν περίπου 200 mL αποστάγματος) και υποβάλλεται σε απόσταξη.

Τέλος, ακολουθεί τιτλοδότηση της περίσσειας του οξέος που βρίσκεται στην κωνική φιάλη με πρότυπο διάλυμα καυστικού νατρίου 0.5 N και δείκτη ερυθρό μεθυλίου-μπλε μεθυλενίου, ο οποίος προκύπτει από τη διάλυση 0.125 g ερυθρού του μεθυλίου και 0.08 g μπλε του μεθυλενίου σε 100 mL αιθανόλης. Κάτω από τις ίδιες συνθήκες απαιτείται και η πραγματοποίηση ενός τυφλού προσδιορισμού. Η επί τοις εκατό περιεκτικότητα σε άζωτο υπολογίζεται από τη σχέση:

$$\text{Άζωτο (\%)} = \frac{1.4007 \cdot |V_1 - V_2| \cdot N}{\beta}$$

όπου:

V_1 : ο καταναλωθείς όγκος του πρότυπου διαλύματος καυστικού νατρίου κατά τον κυρίως προσδιορισμό

V_2 : ο καταναλωθείς όγκος του πρότυπου διαλύματος καυστικού νατρίου κατά τον λευκό προσδιορισμό

N : η κανονικότητα του πρότυπου διαλύματος καυστικού νατρίου (0.5 N)

β : το βάρος του δείγματος

Ο προσδιορισμός των πρωτεϊνών πραγματοποιείται έμμεσα από τη σχέση:

$$\text{Πρωτεΐνες (\%)} = \text{Αζωτο(\%)} \cdot 6.25$$



Εικόνα 4.11. Φιάλες Kjeldhal κατά τη διάρκεια της καύσης



Εικόνα 4.12. Φιάλες Kjeldhal μετά το τέλος της καύσης

4.5 Σχεδιασμός πειραμάτων – Στατιστική επεξεργασία

Ο σχεδιασμός των πειραμάτων διακρίνεται στην παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης και με εκχύλιση με υπέρηχους. Η απόδοση της εκχύλισης των πρωτεϊνών εξαρτάται από την ποσότητα και την ποιότητα των πρωτεϊνών της πρώτης ύλης, καθώς και από τις παρακάτω τεχνολογικές παραμέτρους, από τις οποίες μερικές μελετήθηκαν κατά τη διάρκεια των πειραμάτων: 1) το είδος και τη συγκέντρωση του εκχυλιστικού μέσου, 2) τη θερμοκρασία, 3) το pH, 4) την κοκκομετρία του εκχυλιζόμενου δείγματος, 5) το χρόνο εκχύλισης και 6) το λόγο του βάρους του εκχυλιζόμενου δείγματος (g) προς τον όγκο του εκχυλιστικού μέσου (mL).

Παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με τη συμβατική μέθοδο

1. Υδατική εκχύλιση

Πραγματοποιήθηκαν 3 πειράματα υπό τις παρακάτω συνθήκες:

Σταθερές συνθήκες: $T = 40^{\circ}\text{C}$, $\text{pH} = 9.0$, κοκκομετρία = 0.5 mm, $t = 30 \text{ min}$

Μεταβλητή συνθήκη: $w/v = 1/25$, $1/20$ και $1/15$

2. Εκχύλιση με ευτηκτικό διαλύτη

Πραγματοποιήθηκε 1 πείραμα υπό τις παρακάτω συνθήκες:

$T = 40^{\circ}\text{C}$, $\text{pH} = 9.0$, κοκκομετρία = 0.5 mm, $t = 30 \text{ min}$, $w/v = 1/20$

Παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με τους υπέρηχους

1. Υδατική εκχύλιση

Πραγματοποιήθηκαν 9 πειράματα (σε κάθε λόγο στερεού-υγρού αντιστοιχούν 3 χρόνοι) υπό τις παρακάτω συνθήκες:

Σταθερές συνθήκες: $T = 40^{\circ}\text{C}$, $\text{pH} = 9.0$, κοκκομετρία = 0.5 mm, ισχύς υπερήχων = 320 W, συχνότητα υπερήχων = 37 kHz

Μεταβλητές συνθήκες: $w/v = 1/25$ ($t = 10, 15$ και 20 min), $w/v = 1/20$ ($t = 10, 15$ και 20 min), $w/v = 1/15$ ($t = 10, 15$ και 20 min)

2. Εκχύλιση με ευτηκτικό διαλύτη

Πραγματοποιήθηκε 1 πείραμα υπό τις παρακάτω συνθήκες:

$T = 40^{\circ}\text{C}$, $\text{pH} = 9.0$, κοκκομετρία = 0.5 mm, $t = 20 \text{ min}$, $w/v = 1/20$

Σε όλα τα πειράματα η καταβύθιση των πρωτεϊνών πραγματοποιήθηκε σε $\text{pH} = 4.50$

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων γίνεται με το πρόγραμμα STATISTICA 7.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

5.1 Σύσταση πρώτης ύλης

Αρχίζοντας την αναφορά και το σχολιασμό των πειραματικών αποτελεσμάτων δίνονται αρχικά η σύσταση της πρώτης ύλης, δηλαδή του απελαιωμένου αλεύρου σόγιας, όπως προσδιορίστηκε με εφαρμογή των μεθόδων ανάλυσης που ήδη αναφέρθηκαν στο κεφάλαιο 4.

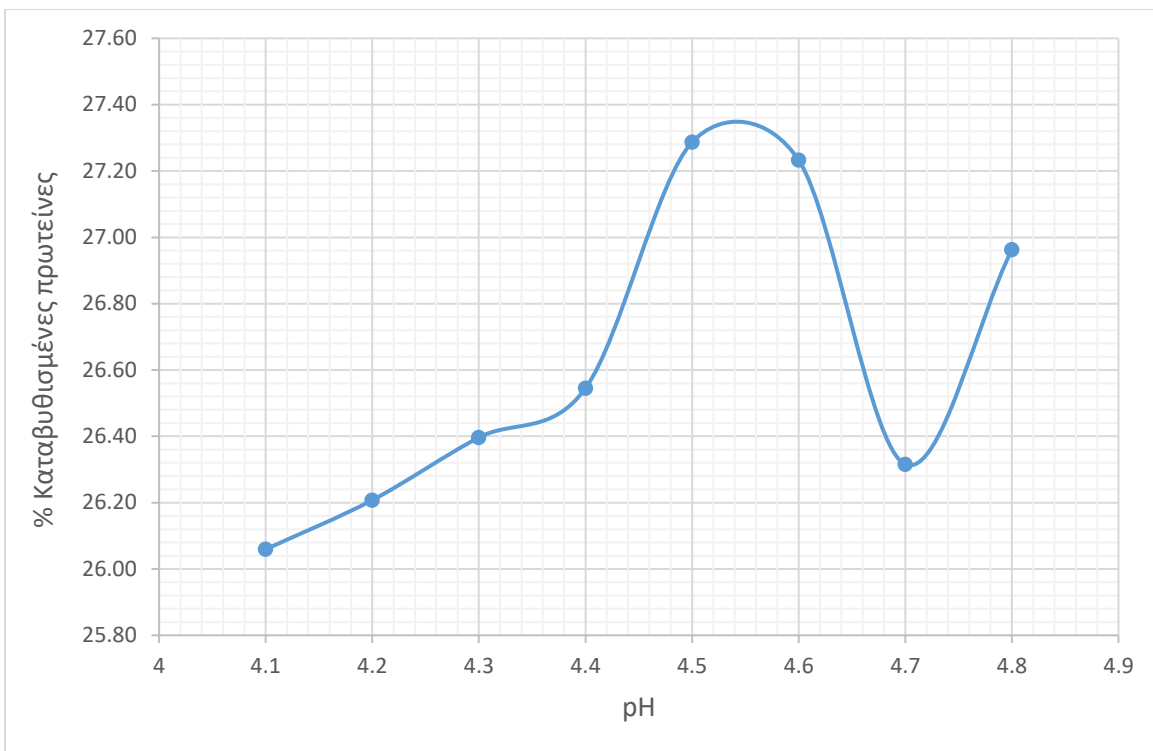
Πίνακας 5.1. Σύσταση πρώτης ύλης

Δείγμα	Πρωτεΐνες σε ξηρή βάση (%)	Υγρασία (%)	Έλαιο (%)
Απελαιωμένο (βιομηχανικά) άλευρο σόγιας	-	-	1.01±0.10
Απελαιωμένο (εργαστηριακά) άλευρο σόγιας	53.01±0.43	8.02±0.48	-

Στη βιβλιογραφία αναφέρεται ότι η επί τοις εκατό περιεκτικότητα σε ξηρή βάση σε πρωτεΐνες κυμαίνεται από 56 έως 59%, η υγρασία κυμαίνεται από 6 έως 8% και το έλαιο από 0.5 έως 1.1%. Οι πειραματικές τιμές για την υγρασία και το έλαιο βρίσκονται μέσα στο εύρος των βιβλιογραφικών τιμών, με μικρή απόκλιση να παρουσιάζει μόνο η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες, η οποία βρίσκεται μάλλον προς τα χαμηλότερα όρια της περιοχής τιμών που συναντάται. Η απόκλιση αυτή μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι αυτές οι τιμές μπορεί να κυμαίνονται ανάλογα με την ποικιλία και τις διάφορες κλιματολογικές και εδαφολογικές συνθήκες που καλλιεργήθηκε η σόγια. Επίσης, το υψηλό πρωτεϊνικό περιεχόμενο της πρώτης ύλης είναι αρκετά υψηλό και δικαιολογεί τις έρευνες που γίνονται για την αξιοποίηση της σόγιας προς την κατεύθυνση της παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων.

5.2 Προσδιορισμός ισοηλεκτρικού σημείου

Το ισοηλεκτρικό σημείο (pI) των πρωτεϊνών, δηλαδή η τιμή pH που αντιστοιχεί στην ελάχιστη διαλυτότητα και άρα τη μέγιστη καταβύθισή τους, προσδιορίζεται με άμεσα με τη μέτρηση του βάρους των καταβυθισμένων πρωτεϊνών. Από τα προκαταρκτικά πειράματα, όπως φαίνεται στο Διάγραμμα 5.1, προέκυψε ότι το ισοηλεκτρικό σημείο των πρωτεϊνών από το άλευρο σόγιας βρίσκεται στην περιοχή γύρω από το 4.5 (προσδιοριζόμενο ως το σημείο μέγιστης καταβύθισης των πρωτεϊνών). Η τιμή αυτή συμπίπτει με τη βιβλιογραφική τιμή και επομένως το pH αυτό επιλέχθηκε και εφαρμόστηκε στα ακόλουθα πειράματα.



Διάγραμμα 5.1. % Καταβυθισμένες πρωτεΐνες σόγιας ανάλογα με το pH καταβύθισης

5.3 Παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων

Η εκτίμηση των αποτελεσμάτων της διεργασίας παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, δηλαδή η αξιολόγηση των πειραμάτων έγινε θεωρώντας δύο παραμέτρους αξιολόγησης, την απόδοση της διαδικασίας και την ποιότητα των πρωτεϊνικών προϊόντων. Όσον αφορά την απόδοση της διαδικασίας η εκτίμηση βασίζεται στην ολική απόδοση και τις επιμέρους αποδόσεις, δηλαδή την απόδοση εκχύλισης και την απόδοση καταβύθισης, υπολογιζόμενη ως προς τις εκχυλιζόμενες πρωτεΐνες. Όσον αφορά την ποιότητα των πρωτεϊνικών προϊόντων, η εκτίμηση βασίζεται στην % περιεκτικότητα αυτών σε πρωτεΐνες, όπως επίσης και στις λειτουργικές τους ιδιότητες. Βασική επιδίωξη της πειραματικής διαδικασίας είναι η παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων υψηλού πρωτεϊνικού περιεχομένου με καλές λειτουργικές ιδιότητες και η επίτευξη ικανοποιητικών ολικών αποδόσεων.

Στους παρακάτω πίνακες και διαγράμματα παρουσιάζονται τα πειραματικά αποτελέσματα που προέκυψαν από τις δύο μεθόδους εκχύλισης (συμβατική, με υπέρηχους), γίνεται σχολιασμός των αποτελεσμάτων για την κάθε μέθοδο καθώς και σύγκριση μεταξύ τους.

5.3.1. Αποτελέσματα εκχύλισης πρωτεϊνών με τη συμβατική μέθοδο

Πίνακας 5.2. Αποτελέσματα πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από άλευρο σόγιας με εκχυλιστικό μέσο απιονισμένο νερό σε θερμοκρασία εκχύλισης 40°C, pH 9 και χρόνο εκχύλισης 30 min

Λόγος στερεού/υγρού (g/mL)	1/25	1/20	1/15
pH καταβύθισης = 4.50			
Απόδοση εκχύλισης (%)	40.78	44.70	35.40
Απόδοση καταβύθισης ως προς τις εκχυλισμένες πρωτεΐνες (%)	45.26	50.32	40.25
Ολική απόδοση (%)	18.45	22.50	14.25
% Πρωτεΐνη υπερσυμπυκνώματος επί ξηρής βάσης	87.44	89.13	85.84

Από τον Πίνακα 5.2 παρατηρείται ότι η απόδοση εκχύλισης κυμαίνεται από 35.40% έως 44.70%, η απόδοση καταβύθισης ως προς τις εκχυλισμένες πρωτεΐνες κυμαίνεται από 40.25% έως 50.32% και η ολική απόδοση κυμαίνεται από 14.25% έως 22.50%. Τέλος, η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες του υπερσυμπυκνώματος κυμαίνεται σε υψηλά επίπεδα από 85.84% έως 89.13%. Οι καλύτερες συνθήκες εκχύλισης παρατηρούνται στον λόγο στερεού/υγρό 1/20.

Πίνακας 5.3. Αποτελέσματα πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από άλευρο σόγιας με εκχυλιστικό μέσο ευτηκτικό διαλύτη σε θερμοκρασία εκχύλισης 40°C, pH 9 και χρόνο εκχύλισης 30 min

Λόγος στερεού/υγρού (g/mL)	1/20
Απόδοση εκχύλισης (%)	27

Στον Πίνακα 5.3 δεν παρουσιάζονται η απόδοση καταβύθισης ως προς τις εκχυλισμένες πρωτεΐνες, η ολική απόδοση και η % Πρωτεΐνη υπερσυμπυκνώματος, αλλά μόνο η απόδοση εκχύλισης. Κατά την πειραματική διαδικασία δεν ήταν δυνατή η καταβύθιση των πρωτεϊνών με τη μέθοδο της ισοηλεκτρικής καταβύθισης και η παραλαβή πρωτεϊνικού υπερσυμπυκνώματος.

5.3.2 Αποτελέσματα λειτουργικών ιδιοτήτων με τη συμβατική μέθοδο

Πίνακας 5.4. Αποτελέσματα λειτουργικών ιδιοτήτων υπερσυμπυκνωμάτων σόγιας με εκχυλιστικό μέσο απιονισμένο νερό σε θερμοκρασία εκχύλισης 40°C, pH 9 και χρόνο εκχύλισης 30 min

Λειτουργική ιδιότητα	Λόγος στερεού/υγρό (g/mL)		
	1/25	1/20	1/15
Ικανότητα απορρόφησης νερού WAC (g H ₂ O/100 g δείγματος)	165.3±11.65	150.2±8.49	154.6±6.17
Ικανότητα απορρόφησης ελαίου OAC (mL ελαίου/100 g δείγματος)	568.8±2.78	436.1±14.59	531.9

Από τον Πίνακα 5.4 παρατηρείται ότι η ικανότητα απορρόφησης νερού κυμαίνεται από 150.2 έως 165.3 g H₂O/100 g δείγματος. Η μέγιστη τιμή της παρατηρείται για λόγο στερεού/υγρό 1/25. Η ικανότητα απορρόφησης ελαίου κυμαίνεται από 436.1 έως 568.8 mL ελαίου/100 g δείγματος). Η μέγιστη τιμή της παρατηρείται για λόγο στερεού/υγρό 1/25.

5.3.3 Αποτελέσματα εκχύλισης πρωτεϊνών υποβοηθούμενης από υπέρηχους

Πίνακας 5.5. Αποτελέσματα πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από άλευρο σόγιας με εκχυλιστικό μέσο απιονισμένο νερό σε θερμοκρασία εκχύλισης 40°C, pH 9, με αναλογία στερεού/υγρό=1/25

Χρόνος εκχύλισης (min)	10	15	20
pH καταβύθισης = 4.50			
Απόδοση εκχύλισης (%)	38.61	41.28	45.62
Απόδοση καταβύθισης ως προς τις εκχυλισμένες πρωτεΐνες (%)	46.08	48.56	52.29
Ολική απόδοση (%)	17.79	20.05	23.85
% Πρωτεΐνη υπερσυμπυκνώματος επί ξηρής βάσης	91.33	89.84	88.77

Από τον Πίνακα 5.5 παρατηρείται ότι η απόδοση εκχύλισης κυμαίνεται από 38.61% έως 45.62% και παρουσιάζει ~ 7.01% αύξηση με την πάροδο του χρόνου. Η απόδοση καταβύθισης ως προς τις εκχυλισμένες πρωτεΐνες κυμαίνεται από 46.08% έως 52.29% και παρουσιάζει ~ 6.21% αύξηση με την πάροδο του χρόνου. Η ολική απόδοση κυμαίνεται από 17.79% έως 23.85% και παρουσιάζει ~ 6.06% αύξηση με την πάροδο του χρόνου. Οι τρεις αποδόσεις παρουσιάζουν τη μέγιστη τιμή τους σε χρόνο 20 min. Τέλος, η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες του υπερσυμπυκνώματος παρουσιάζει μικρές διαφορές και κυμαίνεται σε υψηλά επίπεδα από 88.77% έως 91.33%.

Πίνακας 5.6. Αποτελέσματα πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από άλευρο σόγιας με εκχυλιστικό μέσο απιονισμένο νερό σε θερμοκρασία εκχύλισης 40°C, pH 9, με αναλογία στερεού/υγρό=1/20

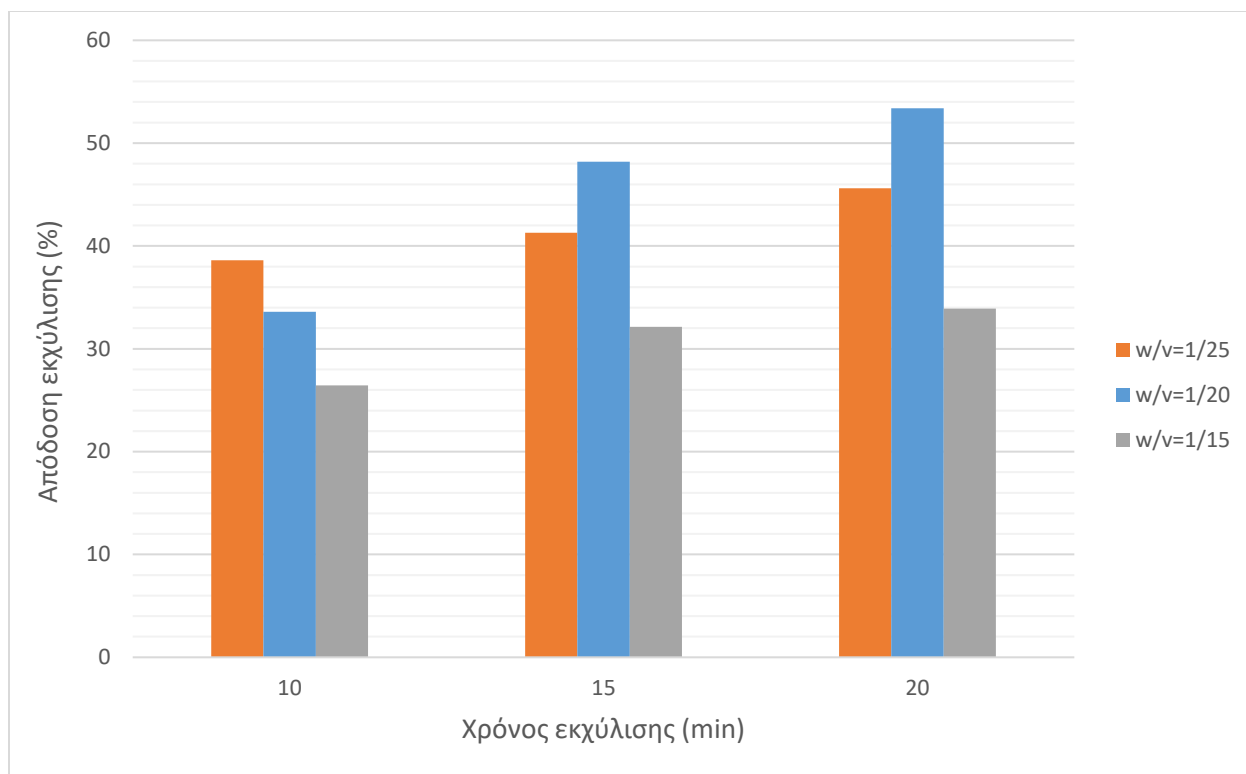
Χρόνος εκχύλισης (min)	10	15	20
pH καταβύθισης = 4.50			
Απόδοση εκχύλισης (%)	33.60	48.21	53.38
Απόδοση καταβύθισης ως προς τις εκχυλισμένες πρωτεΐνες (%)	51.28	51.40	55.11
Ολική απόδοση (%)	17.23	24.78	29.42
% Πρωτεΐνη υπερσυμπυκνώματος επί ξηρής βάσης	91.92	89.86	89.17

Από τον Πίνακα 5.6 παρατηρείται ότι η απόδοση εκχύλισης κυμαίνεται από 33.60% έως 53.38% και παρουσιάζει ~ 19.78% αύξηση με την πάροδο του χρόνου. Η απόδοση καταβύθισης ως προς τις εκχυλισμένες πρωτεΐνες κυμαίνεται από 51.28% έως 55.11% και παρουσιάζει ~ 3,83% αύξηση με την πάροδο του χρόνου. Η ολική απόδοση κυμαίνεται από 17.23% έως 29.42% και παρουσιάζει ~ 12.19% αύξηση με την πάροδο του χρόνου. Οι τρεις αποδόσεις παρουσιάζουν τη μέγιστη τιμή τους σε χρόνο 20 min. Τέλος, η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες του υπερσυμπυκνώματος παρουσιάζει μικρές διαφορές και κυμαίνεται σε υψηλά επίπεδα από 89.17% έως 91.92%.

Πίνακας 5.7. Αποτελέσματα πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από άλευρο σόγιας με εκχυλιστικό μέσο απιονισμένο νερό σε θερμοκρασία εκχύλισης 40°C, pH 9, με αναλογία στερεού/υγρό=1/15

Χρόνος εκχύλισης (min)	10	15	20
pH καταβύθισης = 4.50			
Απόδοση εκχύλισης (%)	26.43	32.15	33.91
Απόδοση καταβύθισης ως προς τις εκχυλισμένες πρωτεΐνες (%)	24.73	40.99	50.22
Ολική απόδοση (%)	6.54	13.18	17.03
% Πρωτεΐνη υπερσυμπυκνώματος επί ξηρής βάσης	90.81	86.95	86.25

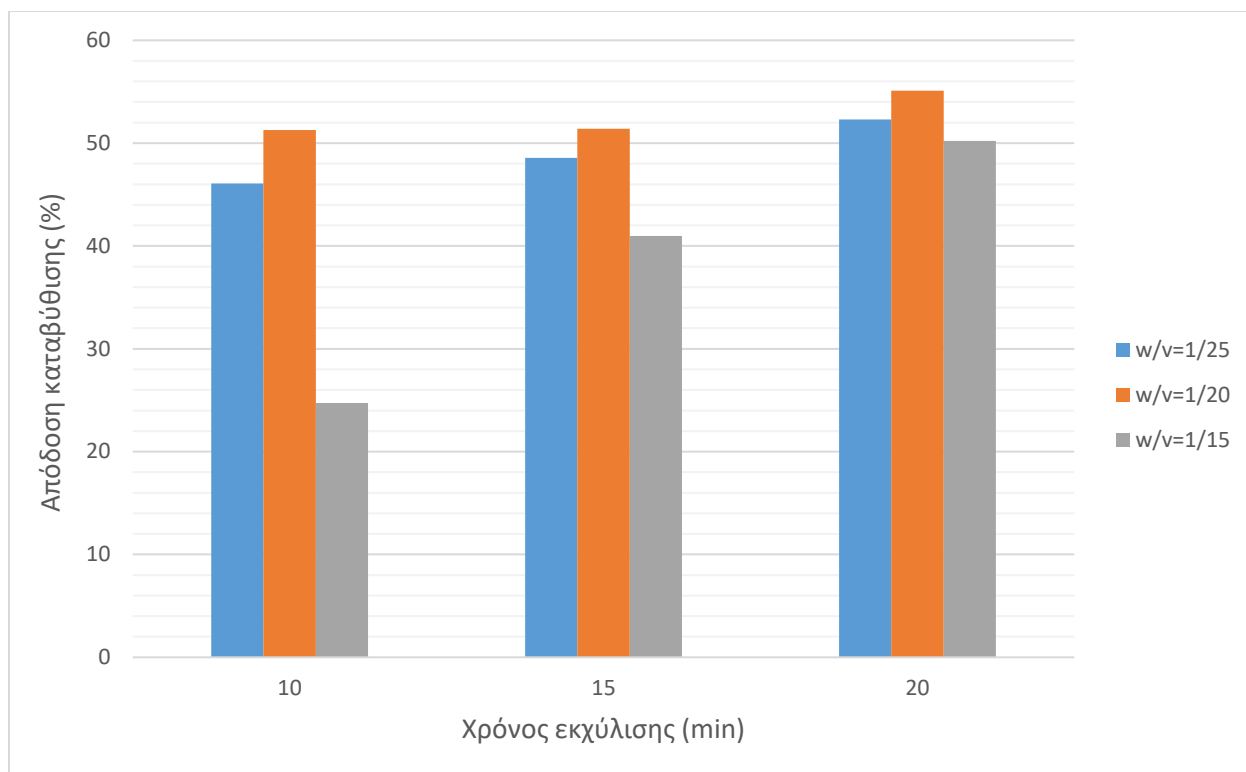
Από τον Πίνακα 5.7 παρατηρείται ότι η απόδοση εκχύλισης κυμαίνεται από 26.43% έως 33.91% και παρουσιάζει αύξηση ~ 7.48% με την αύξηση του χρόνου εκχύλισης. Η απόδοση καταβύθισης ως προς τις εκχυλισμένες πρωτεΐνες κυμαίνεται από 24.73% έως 50.22% και παρουσιάζει αύξηση ~ 25.49% με την αύξηση του χρόνου εκχύλισης. Η ολική απόδοση κυμαίνεται από 6.54% έως 17.03% και παρουσιάζει αύξηση ~ 10.49% με την αύξηση του χρόνου εκχύλισης. Οι τρεις αποδόσεις παρουσιάζουν τη μέγιστη τιμή τους σε χρόνο 20 min. Τέλος, η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες του υπερσυμπυκνώματος παρουσιάζει μικρές διαφορές και κυμαίνεται σε υψηλά επίπεδα από 86.25% έως 90.81%.



Διάγραμμα 5.2. Μεταβολή της απόδοσης εκχύλισης (%) ανάλογα με το χρόνο εκχύλισης και το λόγο στερεού/υγρό

Από το Διάγραμμα 5.2 παρατηρείται ότι αυξάνεται η απόδοση εκχύλισης καθώς αυξάνεται ο χρόνος εκχύλισης. Επίσης, παρατηρείται ότι οι λόγοι στερεού/υγρό 1/25 και 1/20 δίνουν παραπλήσιες υψηλές αποδόσεις, ενώ ο λόγος στερεού/υγρό 1/15 δίνει τις χαμηλότερες αποδόσεις. Οι χαμηλότερες τιμές της παρατηρούνται στα 10 min, ενώ οι υψηλότερες τιμές τους στα 20 min και για τους 3 λόγους στερεού/υγρό. Η ελάχιστη τιμή της είναι 6.54% για χρόνο εκχύλισης 10 min και λόγο στερεού/υγρό 1/15, ενώ η μέγιστη τιμή της είναι 53.38% για χρόνο εκχύλισης 20 min και λόγο στερεού/υγρό 1/20.

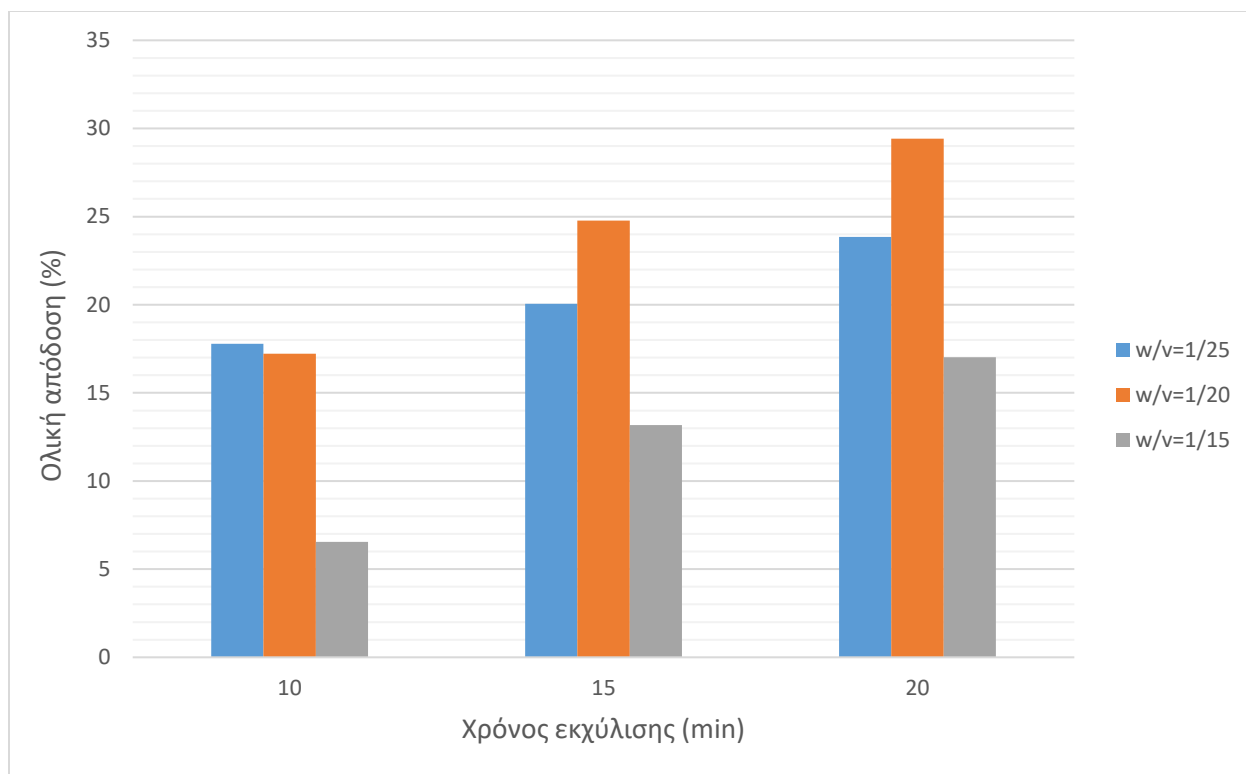
Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των αποτελεσμάτων (Πίνακας Π1) παρατηρείται ότι για την απόδοση εκχύλισης σημαντικός παράγοντας σε επίπεδο σημαντικότητας 5% είναι τόσο ο λόγος στερεού/υγρό όσο και ο χρόνος εκχύλισης. Επιπλέον, όσον αφορά το λόγο στερεού/υγρό, από τον έλεγχο Duncan (Πίνακας Π2) προκύπτει ότι οι λόγοι 1/25 και 1/20 δίνουν καλύτερα αποτελέσματα αλλά δε διαφέρουν μεταξύ τους στατιστικά, ενώ διαφέρουν και οι δύο από το λόγο 1/15 που δίνει χειρότερα αποτελέσματα. Τα καλύτερα αποτελέσματα δίνει ο λόγος στερεού/υγρό 1/20.



Διάγραμμα 5.3. Μεταβολή της απόδοσης καταβύθισης ως προς τις εκχυλισμένες πρωτεΐνες (%) ανάλογα με το χρόνο εκχύλισης και το λόγο στερεού/υγρό

Από το Διάγραμμα 5.3 παρατηρείται ότι υπάρχει μία μικρή αύξηση στην απόδοση καταβύθισης ως προς τις εκχυλισμένες πρωτεΐνες καθώς αυξάνεται ο χρόνος εκχύλισης. Επίσης, παρατηρείται ότι οι λόγοι στερεού/υγρό 1/25 και 1/20 δίνουν παραπλήσιες υψηλές αποδόσεις, ενώ ο λόγος στερεού/υγρού 1/15 δίνει λίγο χαμηλότερες αποδόσεις. Οι χαμηλότερες τιμές της παρατηρούνται στα 10 min, ενώ οι υψηλότερες τιμές τους στα 20 min και για τους 3 λόγους στερεού/υγρό. Η ελάχιστη τιμή της είναι 24.73% για χρόνο εκχύλισης 10 min και λόγο στερεού/υγρό 1/15, ενώ η μέγιστη τιμή της είναι 55.11% για χρόνο εκχύλισης 20 min και λόγο στερεού/υγρό 1/20.

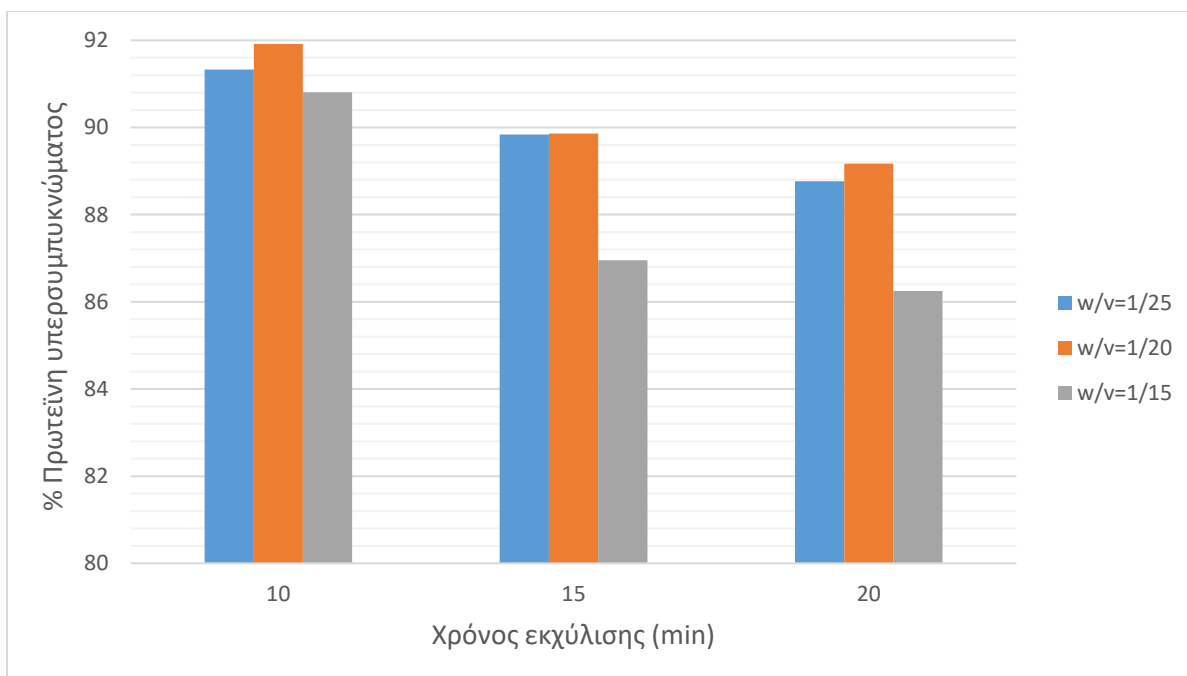
Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των αποτελεσμάτων (Πίνακας Π3) παρατηρείται ότι για την απόδοση καταβύθισης ως προς τις εκχυλιζόμενες πρωτεΐνες ούτε ο χρόνος εκχύλισης ούτε ο λόγος στερεού/υγρό αποτελούν σημαντικοί παράγοντες σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.



Διάγραμμα 5.4. Μεταβολή της ολικής απόδοσης (%) ανάλογα με το χρόνο εκχύλισης και το λόγο στερεού/υγρό

Από το Διάγραμμα 5.4 παρατηρείται ότι αυξάνεται η ολική απόδοση καθώς αυξάνεται ο χρόνος εκχύλισης. Επίσης, παρατηρείται ότι οι λόγοι στερεού/υγρού 1/25 και 1/20 δίνουν παραπλήσιες υψηλές αποδόσεις, ενώ ο λόγος στερεού/υγρού 1/15 δίνει τις χαμηλότερες αποδόσεις. Οι χαμηλότερες τιμές της παρατηρούνται στα 10 min, ενώ οι υψηλότερες τιμές τους στα 20 min και για τους 3 λόγους στερεού/υγρού. Η ελάχιστη τιμή της είναι 26.43% για χρόνο εκχύλισης 10 min και λόγο στερεού/υγρού 1/15, ενώ η μέγιστη τιμή της είναι 29.42% για χρόνο εκχύλισης 20 min και λόγο στερεού/υγρού 1/20.

Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των αποτελεσμάτων (Πίνακας Π4) παρατηρείται ότι για την ολική απόδοση τόσο ο χρόνος εκχύλισης όσο και ο λόγος στερεού/υγρού αποτελούν σημαντικούς παράγοντες σε επίπεδο σημαντικότητας 5%. Επιπλέον, από τον έλεγχο Duncan (Πίνακες Π5 και Π6), προκύπτει ότι οι χρόνοι εκχύλισης 10 min (13.85%), 15 min (19.34%) και 20 min (23.43%) διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους, με το χρόνο εκχύλισης 20 min να δίνει τα καλύτερα αποτελέσματα και ότι οι λόγοι 1/25 (20.56%) και 1/20 (23.81%) δε διαφέρουν μεταξύ τους στατιστικά με το λόγο στερεού/υγρού 1/20 να δίνει καλύτερα αποτελέσματα, ενώ διαφέρουν και οι δύο από το λόγο 1/15 (12.25%) που δίνει χειρότερα αποτελέσματα.



Διάγραμμα 5.5. Μεταβολή της % περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες των υπερσυμπυκνωμάτων ανάλογα με το χρόνο εκχύλισης και το λόγο στερεού/υγρό

Από το Διάγραμμα 5.5 παρατηρείται ότι η % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες των υπερσυμπυκνωμάτων παρουσιάζει μικρές διακυμάνσεις και δεν επηρεάζεται ούτε από το χρόνο εκχύλισης ούτε από το λόγο στερεού/υγρό. Παρατηρείται ότι στους μικρότερους χρόνους (10 και 15 min) η % περιεκτικότητα είναι μεγαλύτερη. Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες είναι αρκετά υψηλή και κυμαίνεται από 86.25% έως 91.92%. Οι τιμές αυτές βρίσκονται πολύ κοντά ή και μέσα στα όρια που βρίσκονται στη βιβλιογραφία, οι οποίες κυμαίνονται από 90-92%. Οι αποκλίσεις μερικών δειγμάτων από τις βιβλιογραφικές τιμές μπορεί να οφείλονται σε πειραματικά σφάλματα κατά τον προσδιορισμό του αζώτου με τη μέθοδο Kjeldhal, όπως για παράδειγμα κατά την τιτλοδότηση του δείγματος ή κατά την καύση των δειγμάτων.

Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των αποτελεσμάτων (Πίνακας Π7) παρατηρείται ότι για την % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες του υπερσυμπυκνώματος ούτε ο χρόνος εκχύλισης ούτε ο λόγος στερεού/υγρό αποτελούν σημαντικοί παράγοντες σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

Πίνακας 5.7. Αποτελέσματα πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από άλευρο σόγιας με εκχυλιστικό μέσο ευτηκτικό διαλύτη σε θερμοκρασία εκχύλισης 40°C, pH 9 και χρόνο εκχύλισης 30 min

Λόγος στερεού/υγρού (g/mL)	1/20
Απόδοση εκχύλισης (%)	32

Στον Πίνακα 5.7 δεν παρουσιάζονται η απόδοση καταβύθισης ως προς τις εκχυλισμένες πρωτεΐνες, η ολική απόδοση και η % Πρωτεΐνη υπερσυμπυκνώματος, αλλά μόνο η απόδοση εκχύλισης. Κατά την πειραματική διαδικασία δεν ήταν δυνατή η καταβύθιση των πρωτεϊνών με τη μέθοδο της ισοηλεκτρικής καταβύθισης και η παραλαβή πρωτεϊνικού υπερσυμπυκνώματος.

5.3.4 Αποτελέσματα λειτουργικών ιδιοτήτων με την εκχύλιση υποβοηθούμενη από υπέρηχους

Πίνακας 5.8. Αποτελέσματα λειτουργικών ιδιοτήτων υπερσυμπυκνωμάτων σόγιας με εκχυλιστικό μέσο απιονισμένο νερό σε θερμοκρασία εκχύλισης 40°C, pH 9, με αναλογία στερεού/υγρό=1/25

Λειτουργική ιδιότητα	Χρόνος εκχύλισης (min)		
	10	15	20
Ικανότητα απορρόφησης νερού WAC (g H ₂ O/100 g δείγματος)	167.0±10.72	171.9±9.73	161.9±7.24
Ικανότητα απορρόφησης ελαίου OAC (mL ελαίου/100 g δείγματος)	505.5±3.47	535.4±8.93	609.4±17.06

Από τον Πίνακα 5.8 παρατηρείται ότι η ικανότητα απορρόφησης νερού παρουσιάζει μία αύξηση στην τιμή από τα 10 min στα 15 min και στη συνέχεια παρατηρείται ότι στα 20 min η τιμή της μειώνεται. Η μέγιστη τιμή της είναι 171.9 g H₂O/100 g δείγματος στα 15 min, ενώ η ελάχιστη τιμή της είναι 161.9 g H₂O/100 g δείγματος στα 20 min.

Ακόμα, για την ικανότητα απορρόφησης ελαίου παρατηρείται ότι παρουσιάζει αύξηση καθώς αυξάνεται ο χρόνος εκχύλισης. Η μέγιστη τιμή της είναι 609.4 mL ελαίου/100 g δείγματος στα 20 min, ενώ η ελάχιστη τιμή της είναι 505.5 mL ελαίου/100 g δείγματος στα 10 min.

Πίνακας 5.9. Αποτελέσματα λειτουργικών ιδιοτήτων υπερσυμπυκνωμάτων σόγιας με εκχυλιστικό μέσο απιονισμένο νερό σε θερμοκρασία εκχύλισης 40°C, pH 9, με αναλογία στερεού/υγρό=1/20

Λειτουργική ιδιότητα	Χρόνος εκχύλισης (min)		
	10	15	20
Ικανότητα απορρόφησης νερού WAC (g H ₂ O/100 g δείγματος)	159.7±8.46	163.2±11.60	149.3±1.90
Ικανότητα απορρόφησης ελαίου OAC (mL ελαίου/100 g δείγματος)	443.3±13.68	485.1±69.74	468.5±16.87

Από τον Πίνακα 5.9 παρατηρείται ότι η ικανότητα απορρόφησης νερού παρουσιάζει μία αύξηση στην τιμή από τα 10 min στα 15 min και στη συνέχεια παρατηρείται ότι στα 20 min η τιμή μειώνεται. Η μέγιστη τιμή της είναι 163.2 g H₂O/100 g δείγματος στα 15 min, ενώ η ελάχιστη τιμή της είναι 149.3 g H₂O/100 g δείγματος στα 20 min.

Ακόμα, για την ικανότητα απορρόφησης ελαίου παρουσιάζει μία αύξηση στην τιμή από τα 10 min στα 15 min και στη συνέχεια παρατηρείται ότι στα 20 min η τιμή μειώνεται. Η μέγιστη τιμή της είναι 485.1 mL ελαίου/100 g δείγματος στα 15 min, ενώ η ελάχιστη τιμή της είναι 443.3 mL ελαίου/100 g δείγματος στα 10 min. Όμως, η τιμή της στα 15 min εμφανίζει μεγάλη τυπική απόκλιση(±69.74) σε σχέση με τα υπόλοιπα δείγματα στους άλλους 2 χρόνους, η οποία μπορεί να οφείλεται σε σφάλματα κατά την πειραματική διαδικασία.

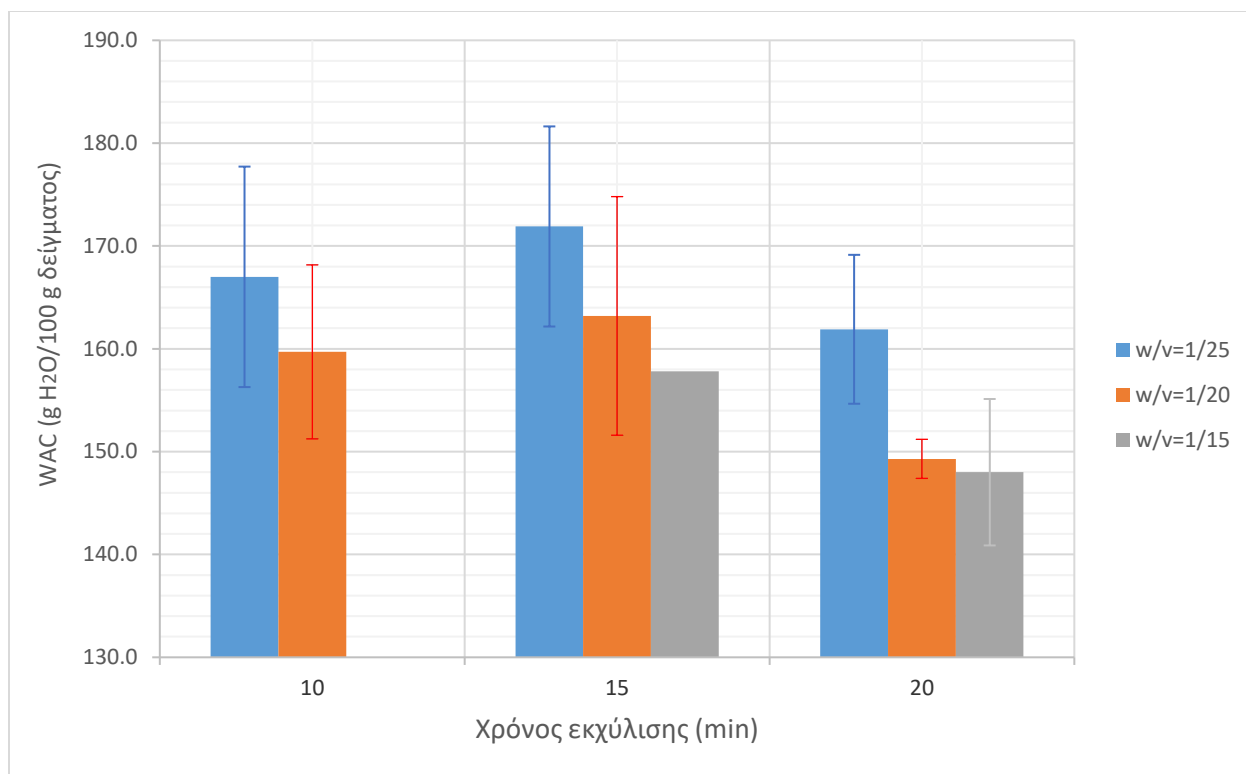
Πίνακας 5.10. Αποτελέσματα λειτουργικών ιδιοτήτων υπερσυμπυκνωμάτων σόγιας με εκχυλιστικό μέσο απιονισμένο νερό σε θερμοκρασία εκχύλισης 40°C, pH 9, με αναλογία στερεού/υγρό=1/15

Λειτουργική ιδιότητα	Χρόνος εκχύλισης (min)		
	10	15	20
Ικανότητα απορρόφησης νερού WAC (g H ₂ O/100 g δείγματος)	-	157.8	148.0±7.12
Ικανότητα απορρόφησης ελαίου OAC (mL ελαίου/100 g δείγματος)	-	551.6	632.9

Από τον Πίνακα 5.10 παρατηρείται ότι η ικανότητα απορρόφησης νερού παρουσιάζει μία μείωση στην τιμή της από τα 15 min στα 20 min. Η μέγιστη τιμή της είναι 157.8 g H₂O/100 g δείγματος στα 15 min, ενώ η ελάχιστη τιμή της είναι 148.0 g H₂O/100 g δείγματος στα 20 min.

Ακόμα για την ικανότητα απορρόφησης ελαίου παρουσιάζει μία αύξηση στην τιμή από τα 15 min στα 20 min και στη συνέχεια παρατηρείται ότι στα 20 min η τιμή της μειώνεται. Η μέγιστη τιμή της είναι 693.3 mL ελαίου/100 g δείγματος στα 15 min, ενώ η ελάχιστη τιμή της είναι 551.6 mL ελαίου/100 g δείγματος στα 15 min.

Για χρόνο εκχύλισης 10 min δεν παρουσιάζονται οι τιμές και των δύο λειτουργικών ιδιοτήτων καθώς δεν επαρκούσε η ποσότητα του πρωτεϊνικού υπερσυμπυκνώματος που απαιτείται για τη μέτρησή τους.

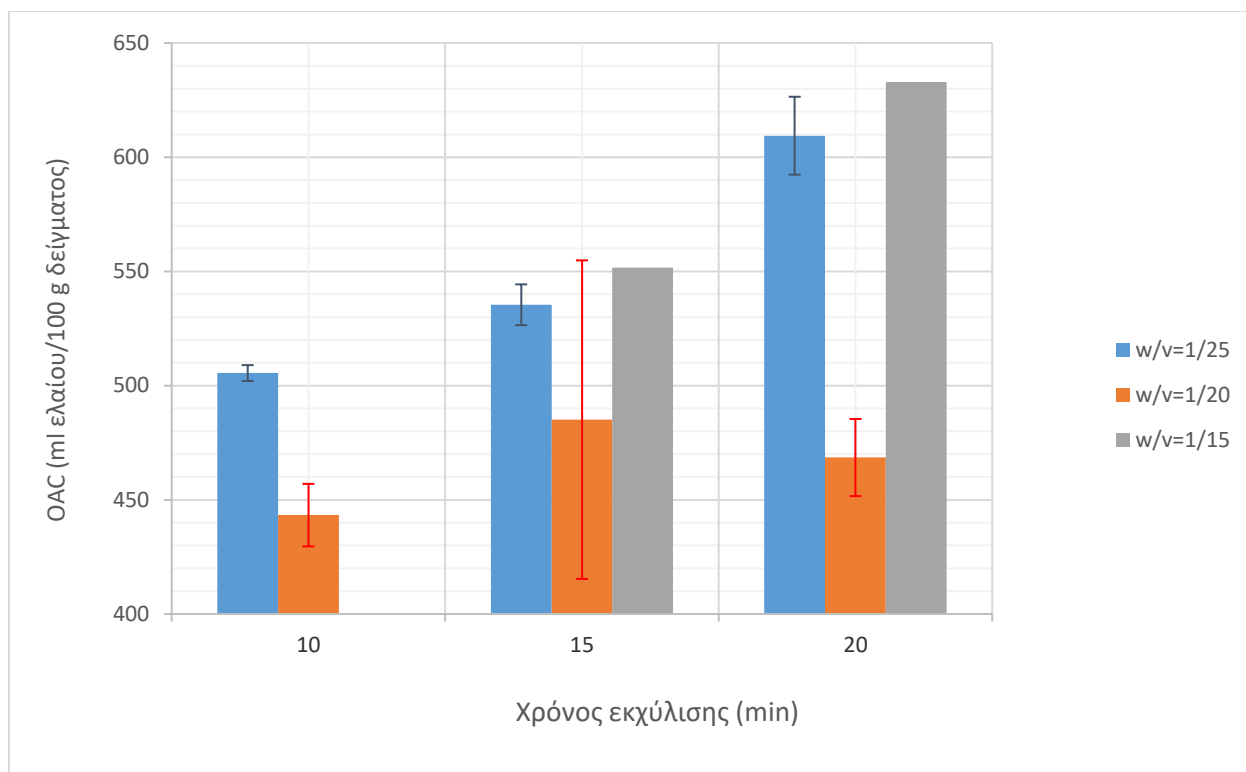


Διάγραμμα 5.6. Μεταβολή της ικανότητας απορρόφησης νερού (WAC) ανάλογα με το χρόνο εκχύλισης και το λόγο στερεού/υγρό

Από το Διάγραμμα 5.6 παρατηρείται ότι η ικανότητα απορρόφησης νερού παρουσιάζει τη μέγιστη τιμή της στα 15 min και μείωση από τα 15 min στα 20 min, η οποία μπορεί να οφείλεται σε μερική μετουσίωση των πρωτεϊνών λόγω της αύξησης της θερμοκρασίας, και για τους 3 λόγους στερεού/υγρού. Η μέγιστη τιμή της είναι 171.9 g H₂O/100 g δείγματος σε χρόνο εκχύλισης 15 min για λόγο στερεού/υγρού 1/25, ενώ η ελάχιστη τιμή της είναι 148.0 g H₂O/100 g δείγματος σε χρόνο εκχύλισης 20 min και λόγο στερεού/υγρού 1/15.

Στη βιβλιογραφία^[48] για πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα σόγιας που προέκυψαν με υδατική εκχύλιση σε pH 9 και ισοηλεκτρική καταβύθιση σε pH 4.5, η ικανότητα απορρόφησης νερού έχει τιμές από 155 g H₂O/100 g δείγματος έως 698 g H₂O/100 g δείγματος. Παρατηρείται ότι οι πειραματικές τιμές που προέκυψαν για την ικανότητα απορρόφησης νερού βρίσκονται σε αυτό το εύρος τιμών.

Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των αποτελεσμάτων (Πίνακας Π8) παρατηρείται ότι για την ικανότητα απορρόφησης νερού ούτε ο χρόνος εκχύλισης ούτε ο λόγος στερεού/υγρό αποτελούν σημαντικοί παράγοντες σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.



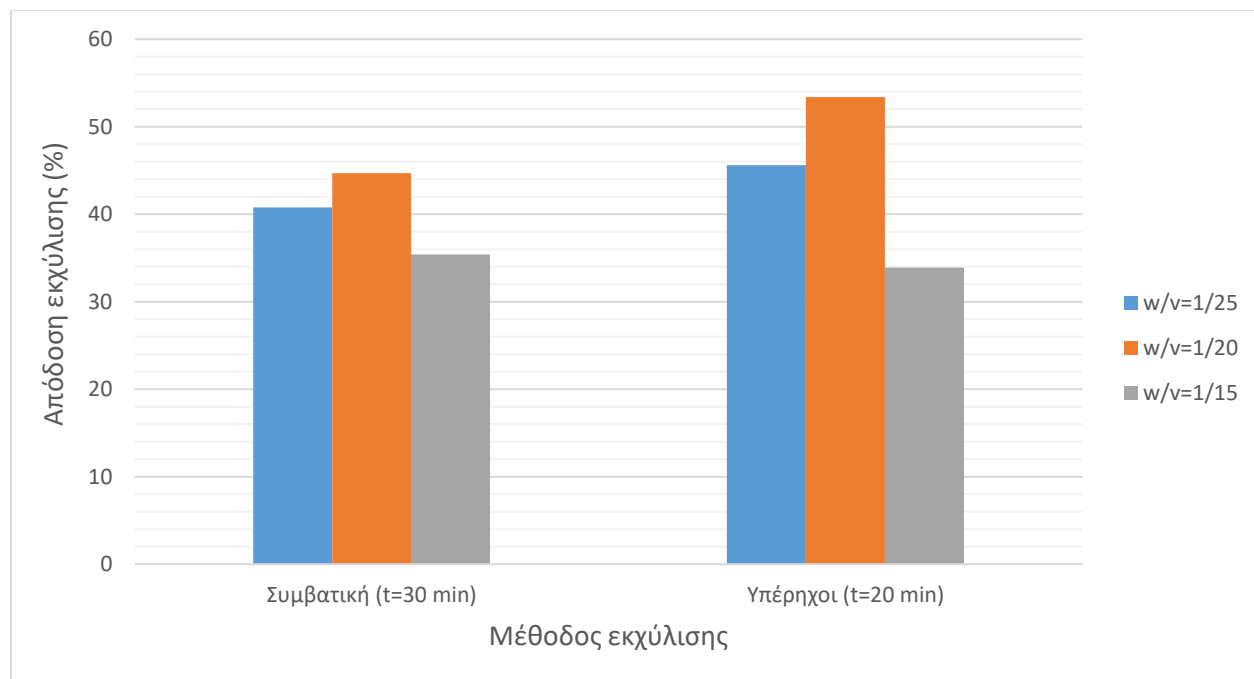
Διάγραμμα 5.7. Μεταβολή της ικανότητας απορρόφησης ελαίου (OAC) ανάλογα με το χρόνο εκχύλισης και το λόγο στερεού/υγρό

Από το Διάγραμμα 5.7 παρατηρείται ότι η ικανότητα απορρόφησης ελαίου παρουσιάζει τη μέγιστη τιμή της στα 20 min για λόγο στερεού/υγρό 1/25 και 1/15 min, ενώ για λόγο στερεού/υγρό 1/20 παρατηρείται μέγιστη τιμή στα 15 min. Όμως η τιμή αυτή παρουσιάζει μεγάλη τυπική απόκλιση που οφείλεται σε πειραματικό σφάλμα. Η μέγιστη τιμή της είναι 632.9 ml ελαίου/100 g δείγματος σε χρόνο εκχύλισης 20 min για λόγο στερεού/υγρό 1/15, ενώ η ελάχιστη τιμή της είναι 443.3 ml ελαίου/100 g δείγματος σε χρόνο εκχύλισης 10 min και λόγο στερεού/υγρό 1/20.

Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των αποτελεσμάτων (Πίνακας Π9) παρατηρείται ότι για την ικανότητα απορρόφησης ελαίου ούτε ο χρόνος εκχύλισης ούτε ο λόγος στερεού/υγρό αποτελούν σημαντικοί παράγοντες σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

5.3.5. Σύγκριση αποτελεσμάτων εκχύλισης πρωτεϊνών με τη συμβατική μέθοδο και με τη μέθοδο των υπέρηχων

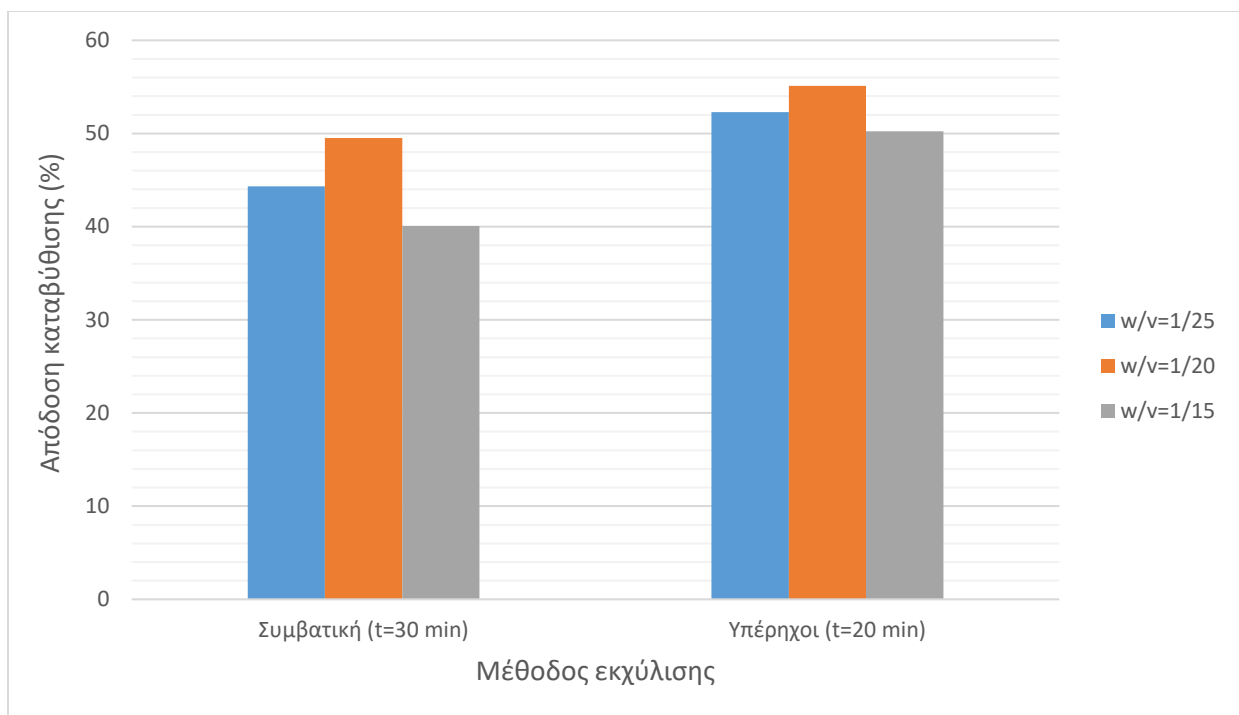
Για την σύγκριση των δύο μεθόδων εκχύλισης, από την εκχύλιση υποβοηθούμενη από υπέρηχους επιλέχθηκε ο χρόνος εκχύλισης ($t=20$ min) στον οποίο προέκυψαν οι μεγαλύτερες αποδόσεις της διαδικασίας.



Διάγραμμα 5.8. Μεταβολή της απόδοσης εκχύλισης (%) με εκχυλιστικό μέσο απιονισμένο ανάλογα με τη μέθοδο εκχύλισης

Από το Διάγραμμα 5.8 παρατηρείται ότι η απόδοση εκχύλισης παρουσιάζει αύξηση με τη μέθοδο της εκχύλισης με υπέρηχους σε σχέση με τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης για λόγους στερεού/υγρό 1/25 και 1/20, ενώ για λόγο στερεού/υγρού 1/15 στα ίδια επίπεδα. Η αύξηση αυτή επιτυγχάνεται σε μικρότερο χρόνο εκχύλισης με τους υπέρηχους ($t=20$ min) σε σχέση με τη συμβατική ($t=30$ min). Συγκεκριμένα, για λόγο στερεού/υγρό 1/25 παρατηρείται αύξηση ~4.84% και για λόγο στερεού/υγρό 1/20 παρατηρείται αύξηση ~8.68%, ενώ για λόγο στερεού/υγρό 1/15 η απόδοση είναι μικρότερη κατά ~1.49%. Κατά μέσο όρο παρουσιάζει αύξηση με τη μέθοδο των υπέρηχων ~4.01% (40.29% συμβατική, 44.30% υπέρηχοι).

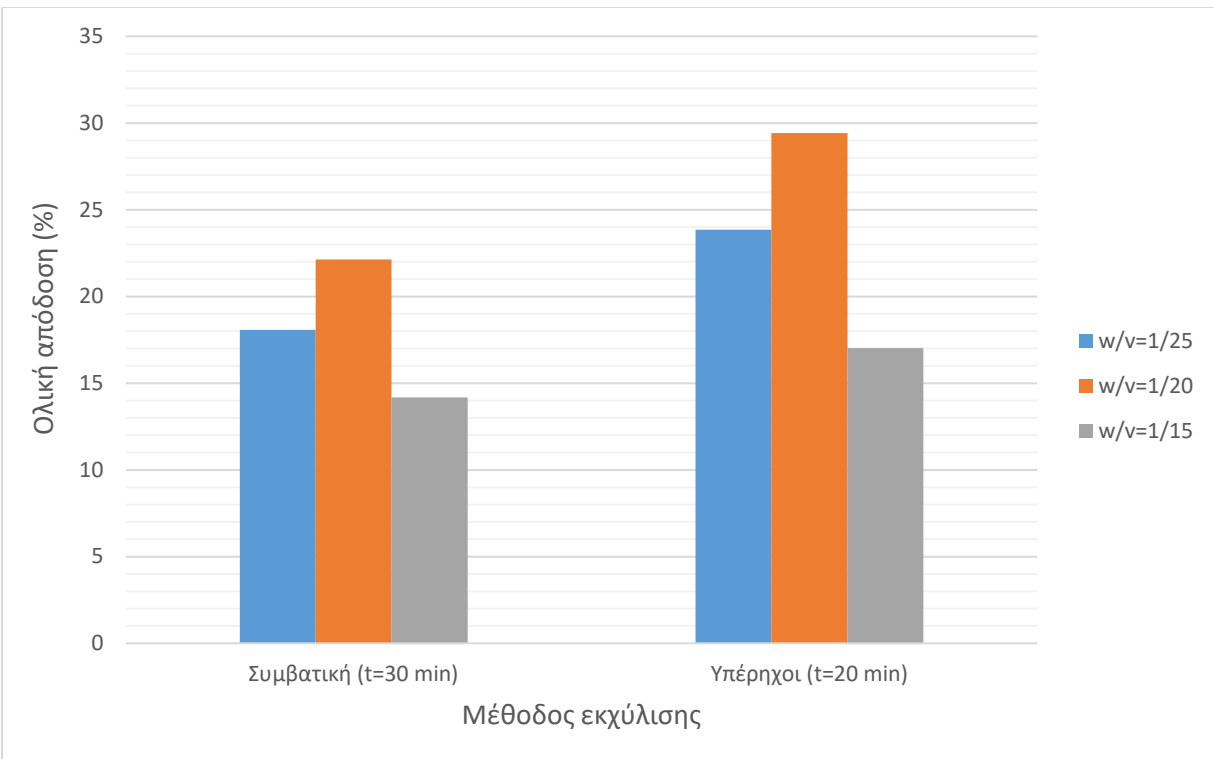
Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των αποτελεσμάτων (Πίνακας Π10) παρατηρείται ότι για την απόδοση εκχύλισης η μέθοδος εκχύλισης δεν αποτελεί σημαντικό παράγοντα σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.



Διάγραμμα 5.9. Μεταβολή της απόδοσης καταβύθισης ως προς τις εκχυλισμένες πρωτεΐνες (%) ανάλογα με τη μέθοδο εκχύλισης

Από το Διάγραμμα 5.9 παρατηρείται ότι η απόδοση καταβύθισης ως προς τις εκχυλισμένες πρωτεΐνες είναι μεγαλύτερη με τη μέθοδο της εκχύλισης με υπέρηχους σε σχέση με τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης και για τους 3 λόγους στερεού/υγρό. Η αύξηση αυτή επιτυγχάνεται σε μικρότερο χρόνο εκχύλισης με τους υπέρηχους (t=20 min) σε σχέση με τη συμβατική (t=30 min). Συγκεκριμένα, για λόγο στερεού/υγρό 1/25 αυξάνεται κατά ~7.03%, για λόγο στερεού/υγρό 1/20 αυξάνεται κατά ~4.79% και για λόγο στερεού/υγρό 1/15 αυξάνεται κατά ~9.97%. Κατά μέσο όρο παρουσιάζει αύξηση με τη μέθοδο των υπέρηχων ~7.26% (45.28% συμβατική, 52.54% υπέρηχοι).

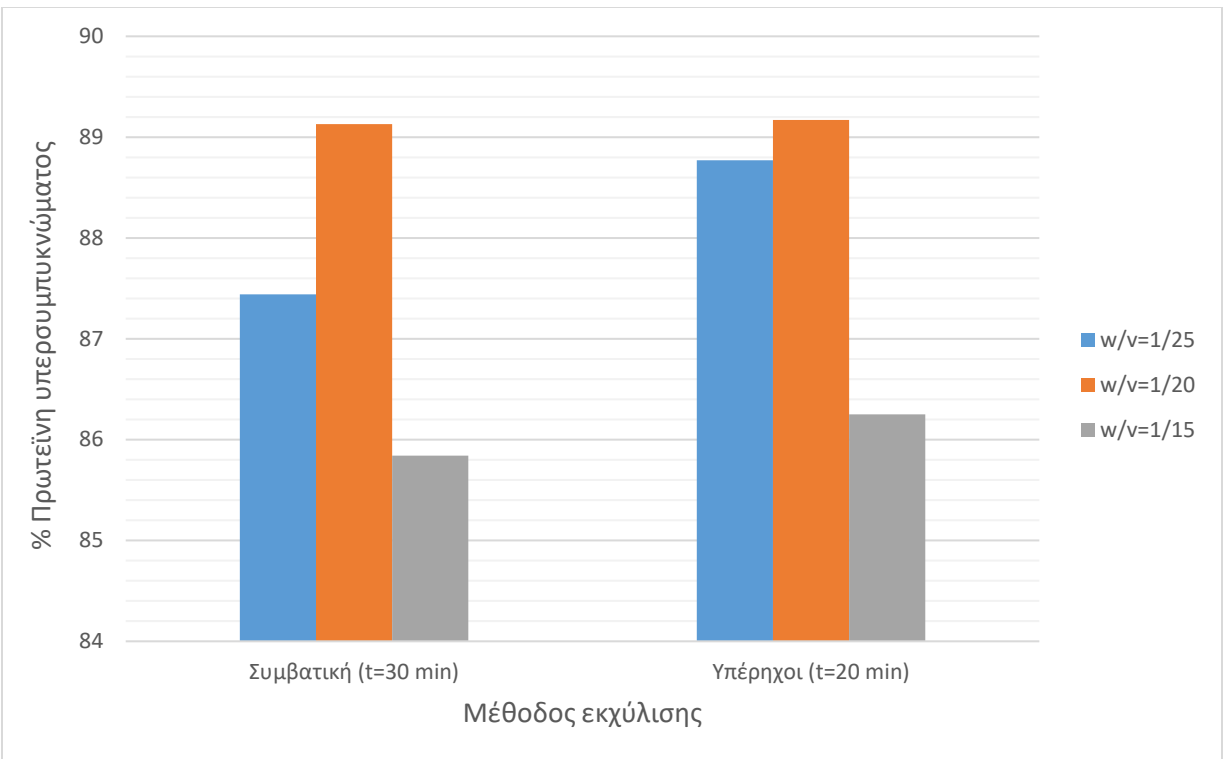
Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των αποτελεσμάτων (Πίνακας Π10) παρατηρείται ότι για την απόδοση καταβύθισης η μέθοδος εκχύλισης αποτελεί σημαντικό παράγοντα σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.



Διάγραμμα 5.10. Μεταβολή της ολικής απόδοσης (%) ανάλογα με τη μέθοδο εκχύλισης

Από το Διάγραμμα 5.10 παρατηρείται ότι η ολική απόδοση είναι μεγαλύτερη με τη μέθοδο της εκχύλισης με υπέρηχους σε σχέση με τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης και για τους 3 λόγους στερεού/υγρό. Η αύξηση αυτή επιτυγχάνεται σε μικρότερο χρόνο εκχύλισης με τους υπέρηχους (t=20 min) σε σχέση με τη συμβατική (t=30 min). Συγκεκριμένα, για λόγο στερεού/υγρό 1/25 αυξάνεται κατά ~5.4%, για λόγο στερεού/υγρό 1/20 αυξάνεται κατά ~6.92% και για λόγο στερεού/υγρό 1/15 αυξάνεται κατά ~2.78%. Κατά μέσο όρο παρουσιάζει αύξηση με τη μέθοδο των υπέρηχων ~5.03% (18.40% συμβατική, 23.43% υπέρηχοι).

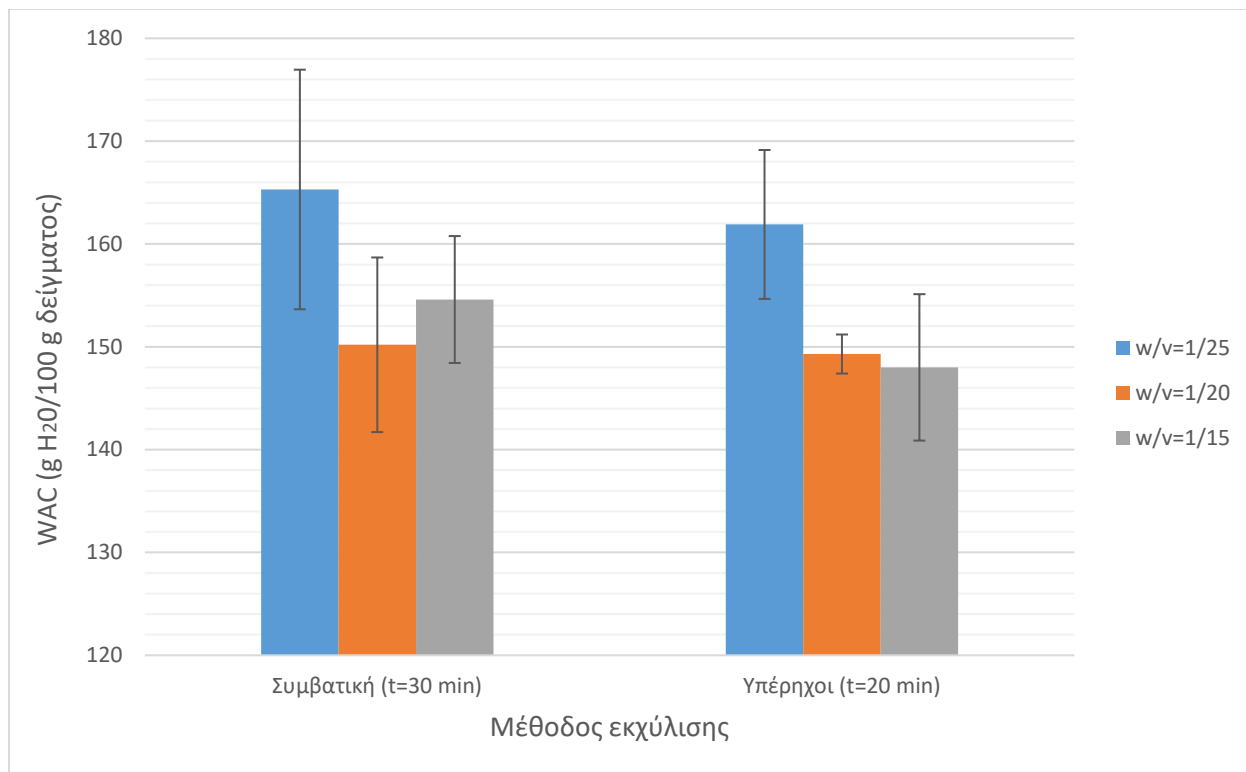
Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των αποτελεσμάτων (Πίνακας Π11) παρατηρείται ότι για την ολική απόδοση η μέθοδος εκχύλισης αποτελεί σημαντικό παράγοντα σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.



Διάγραμμα 5.11. Μεταβολή της % περιεκτικότητας των υπερσυμπυκνωμάτων ανάλογα με τη μέθοδο εκχύλισης

Από το Διάγραμμα 5.11 παρατηρείται ότι % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες των υπερσυμπυκνωμάτων είναι μεγαλύτερη με τη μέθοδο της εκχύλισης με υπέρηχους σε σχέση με τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης και για τους 3 λόγους στερεού/υγρό. Κατά μέσο όρο παρουσιάζει αύξηση με τη μέθοδο των υπέρηχων ~2.11% (87.47% συμβατική, 89.58% υπέρηχοι).

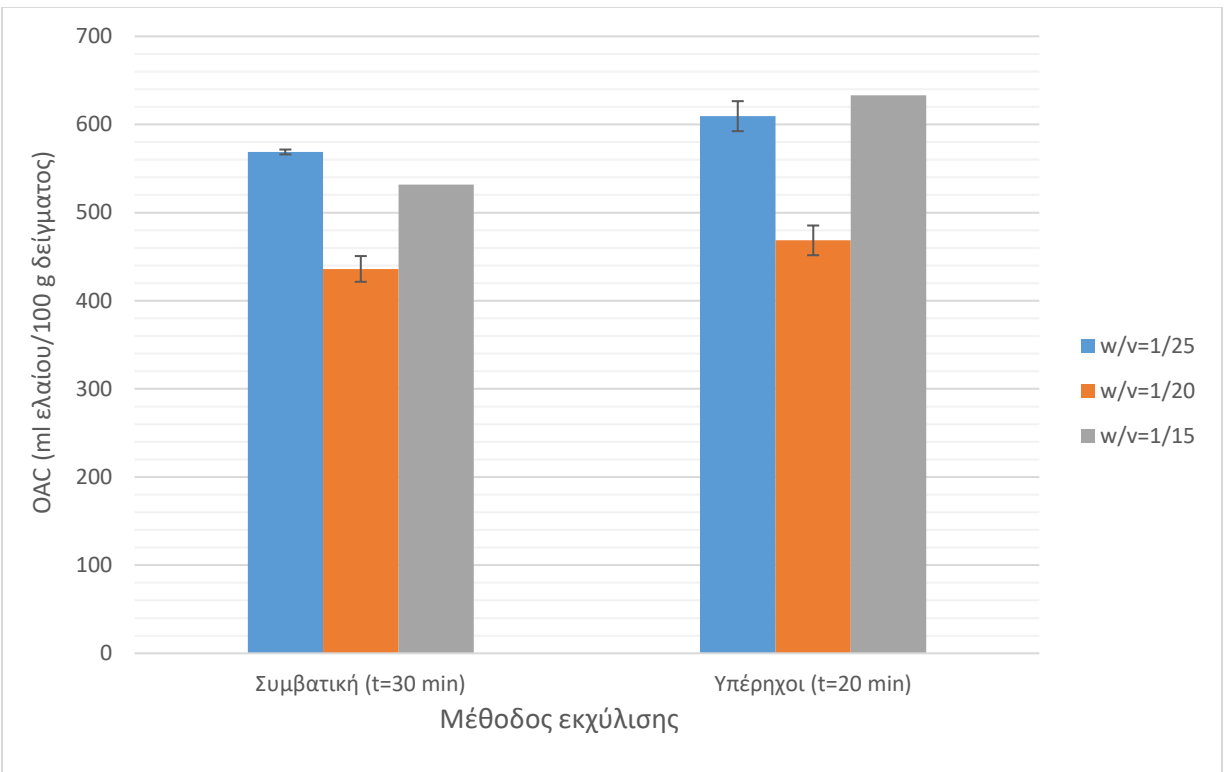
Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των αποτελεσμάτων (Πίνακας Π15) παρατηρείται ότι για την % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες του υπερσυμπυκνώματος η μέθοδος εκχύλισης δεν αποτελεί σημαντικό παράγοντα σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.



Διάγραμμα 5.12. Μεταβολή της ικανότητας απορρόφησης νερού ανάλογα με τη μέθοδο εκχύλισης.

Από το Διάγραμμα 5.12 παρατηρείται ότι η ικανότητα απορρόφησης νερού είναι ίδια με τη μέθοδο της εκχύλισης με υπέρηχους σε σχέση με τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης και για τους 3 λόγους στερεού/υγρό. Η ικανότητα απορρόφησης νερού είναι 156.7 g H₂O/100 g με τη συμβατική και 156.3 g H₂O/100 g με τους υπέρηχους.

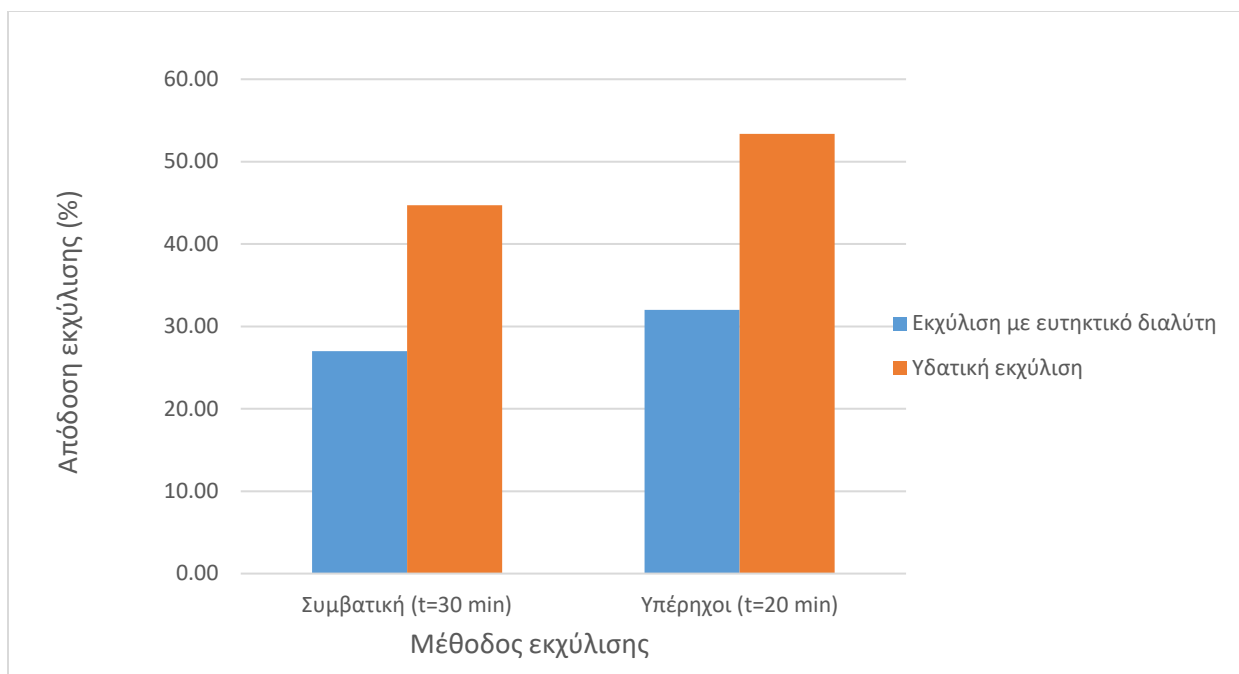
Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των αποτελεσμάτων (Πίνακας Π16) παρατηρείται ότι για την ικανότητα απορρόφησης νερού η μέθοδος εκχύλισης δεν αποτελεί σημαντικό παράγοντα σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.



Διάγραμμα 5.13. Μεταβολή της ικανότητας απορρόφησης ελαίου ανάλογα με τη μέθοδο εκχύλισης.

Από το Διάγραμμα 5.13 παρατηρείται ότι η ικανότητα απορρόφησης ελαίου είναι μεγαλύτερη με τη μέθοδο της εκχύλισης με υπέρηχους σε σχέση με τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης και για τους 3 λόγους στερεού/υγρό. Η ικανότητα απορρόφησης ελαίου είναι 520.8 mL ελαίου/100 g με τη συμβατική και 570.3 mL ελαίου/100 g με τους υπέρηχους.

Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των αποτελεσμάτων (Πίνακας Π16) παρατηρείται ότι για την ικανότητα απορρόφησης ελαίου η μέθοδος εκχύλισης δεν αποτελεί σημαντικό παράγοντα σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.



Διάγραμμα 5.14. Μεταβολή της απόδοσης εκχύλισης (%) ανάλογα με το εκχυλιστικό μέσο και τη μέθοδο εκχύλισης

Από το Διάγραμμα 5.14 παρατηρείται ότι η απόδοση εκχύλισης (%) με εκχυλιστικό μέσο το σύστημα ευτηκτικού διαλύτη-νερού παρουσιάζει μεγαλύτερη τιμή με τους υπέρηχους σε σχέση με τη συμβατική μέθοδο. Όμως, παρατηρείται ότι με την υδατική εκχύλιση στις ίδιες συνθήκες η απόδοση εκχύλισης παρουσιάζει μεγαλύτερη τιμή τόσο με τη συμβατική (44.70% έναντι 27%) όσο και με τους υπέρηχους (53.38% έναντι 32%).

Να σημειωθεί πως η απόδοση εκχύλισης για το σύστημα ευτηκτικού διαλύτη-νερού υπολογίστηκε κατά προσέγγιση, θεωρώντας την ποσότητα του στερεού υπολείμματος όση προκύπτει κατά μέσο όρο από την υδατική εκχύλιση και υποθέτοντας πως η επιπλέον ποσότητα του προκύπτοντος στερεού υπολείμματος οφείλεται σε συγκρατούμενη υγρασία μαζί με τον ευτηκτικό διαλύτη που περιλαμβάνει την αντίστοιχη ποσότητα διαλυμένου χλωριδίου χολίνης. Ο υπολογισμός συνεπώς της πρωτεΐνης στο στερεό υπόλειμμα (μέσω της οποίας υπολογίζεται στη συνέχεια η απόδοση εκχύλισης) εκτιμάται υπολογιστικά μετά την αφαίρεση της αντίστοιχης ποσότητας αζώτου λόγω του συγκρατούμενου χλωριδίου της χολίνης σε αυτό από τη συνολική προσδιοριζόμενη ποσότητα αζώτου στο στερεό υπόλειμμα.

Η μεγάλη αυτή απόκλιση στην απόδοση μπορεί να οφείλεται στο μεγάλο ξώδες του συστήματος ευτηκτικού διαλύτη-απιονισμένου νερού ή στην αναλογία απιονισμένου νερού (20% v/v) με την αναμειχθηκε ο ευτηκτικός διαλύτης. Επίσης, πρέπει να σημειωθεί ότι στην βιβλιογραφία δεν έχει καταγραφεί εκχύλιση μίγματος πρωτεϊνών αλλά μόνο καθαρών πρωτεϊνών με τη χρήση ευτηκτικών διαλυτών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ

6.1 Συμπεράσματα

Στην παρούσα διπλωματική εργασία μελετήθηκε η παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων σόγιας από άλευρο αυτής. Για την παραλαβή τους πραγματοποιήθηκε εκχύλιση των πρωτεϊνών της με νέες τεχνολογίες εκχύλισης όπως και με τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης. Οι παράγοντες που εξετάστηκαν ήταν ο χρόνος εκχύλισης και ο λόγος στερεού/υγρό. Από τη μελέτη των αποτελεσμάτων των πειραμάτων προέκυψαν τα εξής συμπεράσματα:

Αρχικά, η υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες του απειλαιωμένου αλεύρου σόγιας επιβεβαιώνει τις βιβλιογραφικές αναφορές πως η σόγια αποτελεί ελαιούχο σπόρο με υψηλό πρωτεϊνικό περιεχόμενο και τις έρευνες που έχουν γίνει για την αξιοποίησή της προς την κατεύθυνση της παραλαβής πρωτεϊνικών προϊόντων από αυτή.

Στη συνέχεια, από τη μελέτη της διαδικασίας παραλαβής των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων σόγιας με υδατική εκχύλιση με υπέρηχους προέκυψε ότι:

- ο χρόνος εκχύλισης έχει σημαντική επίδραση στην απόδοση εκχύλισης και στην ολική απόδοση καθώς παρατηρείται μεγάλη αύξηση σ' αυτές καθώς αυξάνεται ο χρόνος εκχύλισης, ενώ δεν έχει σημαντική επίδραση στην απόδοση καταβύθισης ως προς τις εκχυλισμένες πρωτεΐνες. Οι καλύτερες αποδόσεις παρατηρήθηκαν στο μέγιστο χρόνο εκχύλισης που ήταν 20 min. Τέλος, ο χρόνος εκχύλισης δεν έχει σημαντική επίδραση στην % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες των υπερσυμπυκνωμάτων και στις λειτουργικές ιδιότητες (ικανότητα απορρόφησης νερού και ελαίου) των υπερσυμπυκνωμάτων.
- ο λόγος στερεού/υγρό έχει σημαντική επίδραση στην απόδοση εκχύλισης και στην ολική απόδοση. Οι μεγαλύτεροι λόγοι (1/25 και 1/20) δίνουν παραπλήσιες αλλά μεγαλύτερες τιμές σε σχέση με το μικρότερο λόγο (1/15). Μεταξύ των μεγαλύτερων λόγων, τα καλύτερα αποτελέσματα παρατηρήθηκαν στο λόγο 1/20. Για την απόδοση καταβύθισης ως προς τις εκχυλισμένες πρωτεΐνες ο λόγος στερεού/υγρό δεν έχει σημαντική επίδραση. Τέλος, ο λόγος στερεού/υγρού δεν έχει σημαντική επίδραση στην % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες των υπερσυμπυκνωμάτων και στις λειτουργικές ιδιότητες (ικανότητα απορρόφησης νερού και ελαίου) των υπερσυμπυκνωμάτων.
- οι βέλτιστες τιμές των παραγόντων είναι: χρόνος εκχύλισης 20 min και λόγος στερεού/υγρό 1/20, οι οποίες δίνουν απόδοση εκχύλισης 53.38%, ολική απόδοση 29.42% και πρωτεϊνικό περιεχόμενο του υπερσυμπυκνώματος 89.17% (ξ.β.).

- το πρωτεϊνικό περιεχόμενο των υπερσυμπυκνωμάτων (σε ξ.β) ήταν αρκετά υψηλό καθώς κυμαίνεται από 86.25% έως 91.92%. Υψηλότερο πρωτεϊνικό περιεχόμενο παρατηρήθηκε στους μικρότερους χρόνους εκχύλισης (10 και 15 min).

Επίσης, από τη σύγκριση της διαδικασίας παραλαβής των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων σόγιας με υδατική εκχύλιση υποβοηθούμενη από υπέρηχους και της αντίστοιχης με τη συμβατική εκχύλιση με θερμό νερό προέκυψε ότι:

- Η εκχύλιση υποβοηθούμενη από υπέρηχους έδειξε καλύτερα αποτελέσματα για όλες τις αποδόσεις της διεργασίας (εκχύλισης, καταβύθισης ως προς τις εκχυλισμένες πρωτεΐνες, ολική) σε μικρότερο χρόνο (20 min) σε σχέση με το μεγαλύτερο χρόνο της συμβατικής εκχύλισης (30 min). Το γεγονός αυτό συνεπάγεται ότι η εκχύλιση με υπέρηχους είναι αποδοτικότερη και μπορεί να προσφέρει εξοικονόμηση χρόνου και κόστους. Η μέθοδος εκχύλισης είχε σημαντική επίδραση στην απόδοση καταβύθισης ως προς τις εκχυλισμένες πρωτεΐνες και στην ολική απόδοση, ενώ είχε μικρή επίδραση στην απόδοση εκχύλισης.
- Το πρωτεϊνικό περιεχόμενο των υπερσυμπυκνωμάτων (σε ξ.β) και η ικανότητα απορρόφησης ελαίου παρουσιάζουν αύξηση με την εκχύλιση υποβοηθούμενη από υπέρηχους, ενώ η ικανότητα απορρόφησης νερού βρίσκεται στα ίδια επίπεδα.

Τέλος, δεν πραγματοποιήθηκε παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από τη εκχύλιση με τη χρήση ευτηκτικού διαλύτη καθώς δεν πραγματοποιήθηκε καταβύθιση των πρωτεϊνών με τη μέθοδο της ισοηλεκτρικής καταβύθισης.

6.2 Προτάσεις

Από την όλη μελέτη προκύπτει ότι η σόγια μπορεί να αξιοποιηθεί προς πρωτεϊνικά προϊόντα υψηλής προστιθέμενης αξίας και τα προϊόντα αυτά να ενσωματωθούν ως συστατικά σε πολλά τρόφιμα, καθώς η ζήτηση των φυτικών πρωτεϊνών έχει αυξηθεί από τους καταναλωτές. Για το γεγονός αυτό πρέπει να συνεχιστεί η έρευνα και να αξιοποιηθούν προς την κατεύθυνση αυτή και άλλοι ελαιούχοι σπόροι, όπως ο βαμβακόσπορος, ο ηλιόσπορος, ο λιναρόσπορος και το σουσάμι, οι οποίοι έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και συμβάλλουν λόγω της θρεπτικής τους αξίας στη σωστή διατροφή και στην υγεία του ανθρώπου.

Εκτός από την εκχύλιση υποβοηθούμενη από υπέρηχους, η οποία έδειξε θετικά αποτελέσματα στην εκχύλιση των πρωτεϊνών, θα μπορούσαν να εφαρμοστούν και άλλες νέες τεχνολογίες εκχύλισης, όπως η εκχύλιση υποβοηθούμενη από μικροκύματα, η εκχύλιση υποβοηθούμενη από ένζυμα και η ομογενοποίηση με υψηλή πίεση για την εκχύλιση των πρωτεϊνών της σόγιας, καθώς και άλλων ελαιούχων σπόρων.

Επίσης, να γίνει μέτρηση και άλλων χαρακτηριστικών λειτουργικών ιδιοτήτων των πρωτεϊνών, όπως οι γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες, οι αφριστικές ιδιότητες και η ικανότητα σχηματισμού πηκτής.

Τέλος, η εκχύλιση πρωτεϊνών με ευτηκτικούς διαλύτες είναι ένα καινούργιο εγχείρημα και στην βιβλιογραφία δεν υπάρχουν πολλές αναφορές και πρέπει να υπάρξει περαιτέρω έρευνα πάνω σε αυτό το θέμα. Συγκεκριμένα, για την εκχύλιση των πρωτεϊνών της σόγιας θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν άλλοι ευτηκτικοί διαλύτες, να βελτιστοποιηθεί η περιεκτικότητα του νερού στους ευτηκτικούς διαλύτες και για την παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων να εφαρμοστούν άλλες μέθοδοι καταβύθισης, όπως η καταβύθιση με ουδέτερα ή ελαφρώς όξινα άλατα (NaCl, Na₂SO₄).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Damodaran, S., 1997, *Food Proteins and Their Applications*, 1st Edition, CRC Press.
- [2] Τζιά, Κ., Ταούκης, Π., Ωραιοπούλου, Β., 2009, *Επιστήμη και Μηχανική Τροφίμων: Συστατικά-Ιδιότητες-Ποιότητα, Μικροβιολογία-Ρεολογία-Συσκευασία*, ΕΜΠ, Αθήνα.
- [3] Haque, M. A., Timilsena, B. Y. P., & Adhikari, B., 2016, *Food proteins, structure, and function, Reference Module in Food Science*, Elsevier.
- [4] Lide, D. R., 2012, *Handbook of Chemistry and Physics*, CRC Press.
- [5] deMan, John M., 1999, *Principles of Food Chemistry*, 3rd Edition, Aspen Publishers Inc.
- [6] Λιαδάκης Γ., 1999, *Αξιοποίηση παραπροϊόντων βιομηχανίας επεξεργασίας τομάτας, Διδακτορική διατριβή*, ΕΜΠ, Αθήνα.
- [7] Belitz H. D., Grosch W., Schieberle P., 2012, *Χημεία Τροφίμων*, 4^η Έκδοση, Εκδόσεις Τζιόλα.
- [8] Καραμάνη Α., 1995, *Παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από πυρήνες φρούτων, Διπλωματική εργασία*, ΕΜΠ, Αθήνα.
- [9] Heber, D., Berdanier, C. D., & Dwyer, J. T., 2016, *Handbook of Nutrition and Food*, 3rd Edition, CRC Press.
- [10] Joint, W.H.O., 2007, *Protein and amino acid requirements in human nutrition*, World health organization technical report series, (935), 1
- [11] Day, L., 2016, *Protein: Food Sources*, in *Encyclopedia of Food and Health*, Elsevier, pp. 530-537.
- [12] Day, L., 2013, *Proteins from land plants—potential resources for human nutrition and food security*, *Trends in Food Science & Technology*, 32(1): 25-42.
- [13] González-Pérez, S., & Arellano, J. B., 2009, *Vegetable protein isolates*, in *Handbook of Hydrocolloids*, CRC Press, pp. 383-419.
- [14] Pratap, A., Gupta, S. K., Kumar, J., Mehandi, S. & Pandey V.R., 2015, *Soybean*, in *Breeding Oilseed Crops for Sustainable Production: Opportunities and Constraints*, Elsevier, pp. 293-315.
- [15] Perkins, G. E., 1995, *Composition of soybeans and soybean products*, in *Practical Handbook of Soybean: Processing and Utilization*, AOCS Press, pp. 9-28.
- [16] Preece, K. E., Hooshyar, N., & Zuidam, N. J., 2017, *Whole soybean protein extraction processes: A review*, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 43: 163-172.

- [17] Fukushima, D., 2011, Soy proteins, in *Handbook of Food Proteins*, 1st Edition, Woodhead Publishing, pp. 210-232.
- [18] Messina, M., 2005, Overview of the health effects of soyfoods, in *Soy Applications in Food*, CRC Press, pp. 23-38.
- [19] Riaz, M. N., 2016, Soy Beans: Processing, in *Encyclopedia of Food and Health*, Elsevier, pp. 48-53.
- [20] Endres, J. G., 2001, Soy Protein Products: Characteristics, Nutritional Aspects, and Utilization, AOCS Press.
- [21] Thrane, M., Paulsen, P. V., Orcutt, M. W., & Krieger, T. M., 2017, Soy protein: Impacts, production, and applications, in *Sustainable Protein Sources*, Academic Press, pp. 23-45.
- [22] Alibhai, Z., Mondor, M., Moresoli, C., Ippersiel, D., & Lamarche, F., 2006, Production of soy protein concentrates/isolates: traditional and membrane technologies. *Desalination*, 191(1-3): 351-358.
- [23] Τσαλτάκη, Χ., 2016, Απομόνωση και αξιολόγηση πρωτεϊνικών και υδαταναθρακικών συστατικών μανιταριών, Διπλωματική εργασία, ΕΜΠ, Αθήνα.
- [24] Ταούκης, Π., Ωραιοπούλου, Β., 2009, Επιστήμη και Μηχανική Βιολογικών Συστημάτων και Προϊόντων, Σημειώσεις από τις παραδόσεις, ΕΜΠ, Αθήνα.
- [25] Επιστήμη και Μηχανική Τροφίμων: Εργαστηριακές Ασκήσεις 8^{ου} Εξαμήνου, 2017, ΕΜΠ, Αθήνα.
- [26] Tiwari, B. K., 2015, Ultrasound: A clean, green extraction technology, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 71: 100-109.
- [27] Mason, T. J., Paniwnyk, L., & Lorimer, J. P., 1996, The uses of ultrasound in food technology, *Ultrasonics sonochemistry*, 3(3): 253-260.
- [28] Lavilla, I., & Bendicho, C., 2017, Fundamentals of ultrasound-assisted extraction, in *Water Extraction of Bioactive Compounds*, Elsevier, pp. 291-316.
- [29] Στρατή, Ε., 2014, Μελέτη μεθόδων παραλαβής καροτενοειδών από παραπροϊόντα τομάτας, Διδακτορική διατριβή, ΕΜΠ, Αθήνα.
- [30] http://mycourses.ntua.gr/courses/CHEM1012/document/2012-2013_HXOXHMEIA_I.pdf.

- [31] Preece, K. E., Hooshyar, N., Krijgsman, A., Fryer, P. J., & Zuidam, N. J., 2017, Intensified soy protein extraction by ultrasound, *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 113: 94-101.
- [32] Veggi, P. C., Martinez, J., & Meireles, M. A. A., 2012, Fundamentals of microwave extraction, in *Microwave-assisted extraction for bioactive compounds*, Springer, Boston, MA, pp. 15-52.
- [33] Seoane, P. R., Flórez-Fernández, N., Piñeiro, E. C., & González, H. D., 2017, Microwave-Assisted Water Extraction, in *Water Extraction of Bioactive Compounds*, Elsevier, pp. 163-198.
- [34] Liu, J. J., Gasmalla, M. A. A., Li, P., & Yang, R., 2016, Enzyme-assisted extraction processing from oilseeds: Principle, processing and application, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 35: 184-193.
- [35] Puri, M., Sharma, D., & Barrow, C. J., 2012, Enzyme-assisted extraction of bioactives from plants, *Trends in biotechnology*, 30(1): 37-44.
- [36] Sari, Y. W., Bruins, M. E., & Sanders, J. P., 2013, Enzyme assisted protein extraction from rapeseed, soybean, and microalgae meals, *Industrial Crops and Products*, 43: 78-83.
- [37] Rosset, M., Acquaro, V. R., & Beléia, A. D. P., 2014, Protein extraction from defatted soybean flour with Viscozyme L pretreatment, *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(3): 784-790.
- [38] Cruz, N., Capellas, M., Hernández, M., Trujillo, A. J., Guamis, B., & Ferragut, V., 2007, Ultra high pressure homogenization of soymilk: Microbiological, physicochemical and microstructural characteristics, *Food Research International*, 40(6): 725-732.
- [39] Preece, K. E., Hooshyar, N., Krijgsman, A. J., Fryer, P. J., & Zuidam, N. J., 2017, Intensification of protein extraction from soybean processing materials using hydrodynamic cavitation, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 41: 47-55.
- [40] Cunha, S. C., & Fernandes, J., 2018, Extraction techniques with deep eutectic solvents, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 105: 225-239.
- [41] Chanioti, S., & Tzia, C., 2018, Extraction of phenolic compounds from olive pomace by using natural deep eutectic solvents and innovative extraction techniques, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 48: 228-239.
- [42] Μπόλη, Ε., 2014, Σύνθεση και χαρακτηρισμός βαθέων ευτηκτικών διαλυτών, Διπλωματική εργασία, ΕΜΠ, Αθήνα.

- [43] Xu, K., Wang, Y., Huang, Y., Li, N., & Wen, Q., 2015, A green deep eutectic solvent-based aqueous two-phase system for protein extracting, *Analytica Chimica Acta*, 864: 9-20.
- [44] Li, N., Wang, Y., Xu, K., Huang, Y., Wen, Q., & Ding, X., 2016, Development of green betaine-based deep eutectic solvent aqueous two-phase system for the extraction of protein, *Talanta*, 152: 23-32.
- [45] http://lpad.chemeng.ntua.gr/LAB/PDFs/Solid_Liquid%20Extraction.pdf.
- [46] Μισυρλή Θ., 2015, Αξιοποίηση παραπροϊόντων ελαιοτριβείου για την ανάκτηση βιοδραστικών ενώσεων με χρήση καινοτόμων μεθόδων εκχύλισης: Διερεύνηση της αντιοξειδωτικής τους δράσης, Διπλωματική εργασία, ΕΜΠ, Αθήνα.
- [47] Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., & Omar, A. K. M., 2013, Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review, *Journal of Food Engineering*, 117(4): 426-436.
- [48] Moure, A., Sineiro, J., Domínguez, H., & Parajó, J. C., 2006, Functionality of oilseed protein products: A review, *Food Research International*, 39(9): 945-963.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Στατιστική επεξεργασία για της διεργασίας παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με ANOVA με τη βοήθεια του προγράμματος STATISTICA 7.

Οι παράγοντες που εξετάζονται είναι ο χρόνος εκχύλισης (όπου 1: 10 min, 2: 15 min, 3: 20 min) και ο λόγος στερεού/υγρό (όπου 1: 1/25, 2: 1/20 και 3: 1/15). Οι παράγοντες που ερευνώνται είναι η απόδοση εκχύλισης, η απόδοση καταβύθισης, η ολική απόδοση, η % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες στο υπερσυμπύκνωμα και οι λειτουργικές ιδιότητες των υπερσυμπυκνωμάτων (ικανότητα απορρόφησης νερού και ικανότητα απορρόφησης ελαίου).

Πίνακας Π.1. Αποτελέσματα ANOVA για την απόδοση εκχύλισης

Univariate Tests of Significance for Απόδοση Εκχύλισης (%)(Spreadsheet1.s					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	13860.35	1	13860.35	883.9896	0.000008
Χρόνος	203.38	2	101.69	6.4857	0.055556
Λόγος στερεού/υγρό	334.15	2	167.07	10.6556	0.024974
Error	62.72	4	15.68		

Πίνακας Π.2. Αποτελέσματα Duncan test για την απόδοση εκχύλισης

Duncan test; variable Απόδοση Εκχύλισης (%)(Spreadsheet1.sta				
Homogenous Groups, alpha = .05000				
Error: Between MS = 15.679, df = 4.0000				
Cell No.	Λόγος στερεού/υγρό	Απόδοση Εκχύλισης (%) Mean	1	2
3	3	30.83000		****
1	1	41.83667	****	
2	2	45.06333	****	

Πίνακας Π.3. Αποτελέσματα ANOVA για την απόδοση καταβύθισης

Univariate Tests of Significance for Απόδοση Καταβύθισης (%) (Spreadsheet1.s Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	19661.65	1	19661.65	519.2273	0.000022
Χρόνος	210.66	2	105.33	2.7816	0.174949
Λόγος στερεού/υγρό	314.42	2	157.21	4.1516	0.105703
Error	151.47	4	37.87		

Πίνακας Π.4. Αποτελέσματα ANOVA για την ολική απόδοση

Univariate Tests of Significance for Ολική Απόδοση (%) (Spreadsheet1.si Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	3206.202	1	3206.202	1054.859	0.000005
Χρόνος	138.626	2	69.313	22.804	0.006501
Λόγος στερεού/υγρό	213.286	2	106.643	35.086	0.002908
Error	12.158	4	3.039		

Πίνακας Π.5. Αποτελέσματα Duncan test για την ολική απόδοση

Duncan test; variable Ολική Απόδοση (%) (Spreadsheet1.st Homogenous Groups, alpha = .05000 Error: Between MS = 3.0395, df = 4.0000					
Cell No.	Χρόνος	Ολική Απόδοση (%) Mean	1	2	3
1	1	13.85333	****		
2	2	19.33667		****	
3	3	23.43333			****

Πίνακας Π.6. Αποτελέσματα Duncan test για την ολική απόδοση

Duncan test; variable Ολική Απόδοση (%) (Spreadsheet1.st Homogenous Groups, alpha = .05000 Error: Between MS = 3.0395, df = 4.0000				
Cell No.	Λόγος στερεού/υγρό	Ολική Απόδοση (%) Mean	1	2
3	3	12.25000		****
1	1	20.56333	****	
2	2	23.81000	****	

Πίνακας Π.7. Αποτελέσματα ANOVA για την % Πρωτεΐνη υπερσυμπυκνώματος

Univariate Tests of Significance for % Πρωτεΐνη υπερσυμπυκνώματος (Spreadsheet1.sta Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	71984.89	1	71984.89	15991.02	0.000000
Χρόνος	1.45	2	0.73	0.16	0.856062
Λόγος στερεού/υγρό	9.37	2	4.69	1.04	0.432548
Error	18.01	4	4.50		

Πίνακας Π.8. Αποτελέσματα ANOVA για την ικανότητα απορρόφησης νερού

Univariate Tests of Significance for Ικανότητα απορρόφησης νερού (Spreadsheet1..s Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	211538.7	1	211538.7	656.1724	0.000014
Χρόνος	708.8	2	354.4	1.0993	0.416427
Λόγος στερεού/υγρό	1547.9	2	774.0	2.4007	0.206544
Error	1289.5	4	322.4		

Πίνακας Π.9. Αποτελέσματα ANOVA για την ικανότητα απορρόφησης ελαίου

Univariate Tests of Significance for Ικανότητα απορρόφησης ελαίου (Spreadsheet1.s Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	2144370	1	2144370	81.39495	0.000836
Χρόνος	92540	2	46270	1.75629	0.283493
Λόγος στερεού/υγρό	17719	2	8860	0.33629	0.732838
Error	105381	4	26345		

Παρακάτω παρουσιάζονται τα Αποτελέσματα που προκύπτουν από τη στατιστική επεξεργασία για τη σύγκριση των δύο μεθόδων εκχύλισης (συμβατική και υπέρηχοι).

Πίνακας Π.10. Αποτελέσματα ANOVA για την απόδοση εκχύλισης

Univariate Tests of Significance for Απόδοση εκχύλισης (%) (Comparision.st Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	10734.89	1	10734.89	814.0544	0.001226
Μέθοδος	24.12	1	24.12	1.8291	0.308854
Λόγος στερεού/υγρό	209.37	2	104.68	7.9384	0.111877
Error	26.37	2	13.19		

Πίνακας Π.11. Αποτελέσματα ANOVA για την απόδοση καταβύθισης

Univariate Tests of Significance for Απόδοση καταβύθισης (%) (Comparision.st Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	14352.15	1	14352.15	4253.161	0.000235
Μέθοδος	79.13	1	79.13	23.451	0.040095
Λόγος στερεού/υγρό	56.00	2	28.00	8.298	0.107548
Error	6.75	2	3.37		

Πίνακας Π.12. Αποτελέσματα Duncan test για την απόδοση καταβύθισης

Duncan test; variable Απόδοση καταβύθισης (%) (Comparision.sta) Homogenous Groups, alpha = .05000 Error: Between MS = 3.3745, df = 2.0000				
Cell No.	Μέθοδος	Απόδοση καταβύθισης (%) Mean	1	2
1	Συμβατική	45.27667	****	
2	Υπέρηχοι	52.54000		****

Πίνακας Π.13. Αποτελέσματα ANOVA για την ολική απόδοση

Univariate Tests of Significance for Ολική απόδοση (%) (Comparision.st Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	2625.042	1	2625.042	1197.082	0.000834
Μέθοδος	38.002	1	38.002	17.330	0.053146
Λόγος στερεού/υγρό	106.666	2	53.333	24.321	0.039493
Error	4.386	2	2.193		

Πίνακας Π.14. Αποτελέσματα Duncan test για την ολική απόδοση

Duncan test; variable Ολική απόδοση (%) (Comparision.sta) Homogenous Groups, alpha = .05000 Error: Between MS = 2.1929, df = 2.0000			
Cell No.	Μέθοδος	Ολική απόδοση (%) Mean	1
1	Συμβατική	18.40000	****
2	Υπέρηχοι	23.43333	****

Πίνακας Π.15. Αποτελέσματα ANOVA για την % Πρωτεΐνη υπερσυμπυκνώματος

Effect	Univariate Tests of Significance for % Πρωτεΐνη υπερσυμπυκνώματος (Comparision.sta) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	47021.82	1	47021.82	14387.61	0.000069
Μέθοδος	6.70	1	6.70	2.05	0.288557
Λόγος στερεού/υγρό	1.21	2	0.61	0.19	0.843360
Error	6.54	2	3.27		

Πίνακας Π.16. Αποτελέσματα ANOVA για την ικανότητα απορρόφησης νερού

Effect	Univariate Tests of Significance for ικανότητα απορρόφησης νερού (Comparision.sta) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	147172.7	1	147172.7	4051.925	0.000247
Μέθοδος	0.0	1	0.0	0.001	0.976057
Λόγος στερεού/υγρό	159.6	2	79.8	2.197	0.312758
Error	72.6	2	36.3		

Πίνακας Π.17. Αποτελέσματα ANOVA για την ικανότητα απορρόφησης ελαίου

Effect	Univariate Tests of Significance for ικανότητα απορρόφησης ελαίου (Comparision.sta) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1785640	1	1785640	6851.857	0.000146
Μέθοδος	3670	1	3670	14.084	0.064236
Λόγος στερεού/υγρό	26115	2	13057	50.103	0.019568
Error	521	2	261		

Πίνακας Π.18. Υπολογισμός % καταβυθισμένων πρωτεϊνών συναρτήσει του pH

pH	Ξηρές παραληφθείσες πρωτεΐνες (g)	% Καταβυθισμένες πρωτεΐνες
4.1	0.3864	26.06
4.2	0.3886	26.21
4.3	0.3914	26.40
4.4	0.3936	26.54
4.5	0.4046	27.29
4.6	0.4038	27.23
4.7	0.3902	26.32
4.8	0.3998	26.96