ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

Τομέας (IV) Σύνθεσης και Ανάπτυξης Βιομηχανικών Διεργασιών

Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων

Νέες Τεχνολογίες Εκχύλισης για την Παραγωγή Πρωτεϊνικών Υπερσυμπυκνωμάτων από Σόγια

Διπλωματική Εργασία

Σκέντζου Αντωνία

Επιβλέπουσα
Κωνσταντίνα Τζιά
Καθηγήτρια Ε.Μ.Π.

Αθήνα, Φεβρουάριος 2020

Πρόλογος

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

Πρωτίστως, οφείλω να ευχαριστήσω την κα Τζιά για την ανάθεση της παρούσας διπλωματικής εργασίας, την καθοδήγηση, την εμπιστοσύνη και τις γνώσεις που μου παρείχε καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας.

Στη συνέχεια, θα ήθελα να ευχαριστήσω τη διδάκτορα Βιργινία Γιάννου, για την πολύτιμη βοήθεια, την υποστήριξη και την ανεξάντλητη προθυμία στην επίλυση οποιουδήποτε προβλήματος κι αν αντιμετώπισα κατά την εκπόνηση της εργασίας μου.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους υποψήφιους διδάκτορες Τζίνα Φρακολάκη, Μαρία Κατσούλη, Τρύφωνα Κεκέ και Παρασκευή Σιαμανδούρα για την πολύτιμη βοήθεια, την καλή συνεργασία και το ευχάριστο κλίμα που υπήρχε στο εργαστήριο.

Οφείλω να ευχαριστήσω όλους τους διδάκτορες και το προσωπικό του εργαστηρίου Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων, καθώς και τους καθηγητές μου Δρ. Πέτρο Ταούκη και Δρ. Βασιλική Ωραιοπούλου για την ευχάριστη ατμόσφαιρα κατά τη διάρκεια διεξαγωγής των πειραμάτων μου.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω την κα Διομή Μάμμα και το εργαστήριο Βιοτεχνολογίας της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου, για την πολύτιμη βοήθεια σε μέρος της διπλωματικής μου εργασίας.

Επιπλέον, οφείλω να ευχαριστήσω την εταιρία «Σόγια Ελλάς Α.Ε.» για την προμήθεια της πρώτης ύλης (άλευρο σόγιας) για την εκπόνηση της παρούσας διπλωματικής εργασία.

Τέλος, ευχαριστώ θερμά την οικογένειά μου και τους φίλους μου για την υπομονή και τη συμπαράστασή τους όλα τα χρόνια των σπουδών μου.

Αθήνα, Φεβρουάριος 2020

Σκέντζου Αντωνία

Περίληψη

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από απελαιωμένο άλευρο σόγιας, με χρήση νέων μεθόδων εκχύλισης και ισοηλεκτρική καταβύθιση, και η αξιολόγηση της απόδοσης απομόνωσης των πρωτεϊνών και της ποιότητας των τελικών προϊόντων, καθώς και η σύγκριση των αποτελεσμάτων με τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης.

Ως πρώτη ύλη χρησιμοποιήθηκε βιομηχανικά απελαιωμένο άλευρο σόγιας. Το άλευρο προηγουμένως αλέθεται και κοσκινίζεται, ώστε να αποκτήσει συγκεκριμένη κοκκομετρία (0.5 mm). Στη συνέχεια, πραγματοποιείται περαιτέρω απελαίωσή του με πετρελαϊκό αιθέρα, με σκοπό την απομάκρυνση της υπολειπόμενης ποσότητας ελαίου. Το άλευρο που προκύπτει έχει υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες, δηλαδή 50.17 %.

Η παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων πραγματοποιείται μέσω υδατικής εκχύλισης των πρωτεϊνών και στη συνέχεια με ισοηλεκτρική καταβύθιση αυτών. Η συμβατική εκχύλιση πραγματοποιήθηκε για χρόνο εκχύλισης 30 min και λόγους στερεού προς υγρό 1/15, 1/20, 1/25 και 1/30. Οι νέες μέθοδοι εκχύλισης που μελετήθηκαν είναι η εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους, στην οποία εξετάστηκαν οι χρόνοι εκχύλισης: 10, 15 και 20 min, και οι λόγοι στερεού προς υγρό: 1/15, 1/20, 1/25 και 1/30, και η εκχύλιση υποβοηθούμενη με μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας, στην οποία εξετάστηκαν οι χρόνοι εκχύλισης: 10, 15, 20 και 30 min, και οι λόγοι στερεού προς υγρό 1/20, 1/25 και 1/30. Ο προσδιορισμός των πρωτεϊνών πραγματοποιείται με τη μέθοδο Kjeldhal (%N·6,25).

Αρχικά, εξετάζοντας την επίδραση του χρόνου εκχύλισης στις επιμέρους αποδόσεις της διεργασίας απομόνωσης των πρωτεϊνών, δηλαδή την απόδοση εκχύλισης, την απόδοση καταβύθισης και την ολική απόδοση, προέκυψε ότι σε όλες τις μεθόδους αυξανόμενου του χρόνου εκχύλισης αυξάνονται αντίστοιχα και οι αποδόσεις. Έτσι, στην μέθοδο με χρήση υπερήχων οι μέγιστες αποδόσεις προκύπτουν για χρόνο εκχύλισης 20 min, ενώ στη μέθοδο με χρήση μηχανικού ομογενοποιητή οι μέγιστες αποδόσεις προκύπτουν για χρόνο εκχύλισης 30 min. Όσον αφορά το λόγο στερεού προς υγρό, οι αποδόσεις, επίσης, αυξάνονται αυξανόμενου του λόγου, με εξαίρεση το λόγο 1/30 που παρουσιάζεται μία μικρή μείωση, και στις δύο νέες μεθόδους εκχύλισης. Επομένως, οι μεγαλύτερες αποδόσεις εμφανίζονται για λόγο στερεού προς υγρό 1/25. Η περιεκτικότητα των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνες δεν φαίνεται να επηρεάζεται σημαντικά από το λόγο στερεού προς υγρό, ούτε από το χρόνο εκχύλισης.

Όσον αφορά τις λειτουργικές ιδιότητες, δηλαδή την ικανότητα απορρόφησης νερού και ελαίου των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, παρατηρείται μία σταδιακή μείωση των τιμών τους, αυξανόμενου του χρόνου εκχύλισης, και μία σταδιακή αύξηση, αυξανόμενου του λόγου στερεού προς υγρό. Ωστόσο, στη μέθοδο με χρήση υπερήχων δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων. Αντίθετα, στη μέθοδο του μηχανικού ομογενοποιητή για χρόνο εκχύλισης 30 min εμφανίζεται στατιστικά σημαντική μείωση της

ικανότητας απορρόφησης ελαίου. Το χρώμα των υπερσυμπυκνωμάτων δεν επηρεάζεται σημαντικά ούτε από το χρόνο εκχύλισης ούτε από το λόγο στερεού προς υγρό.

Συνολικά, όσον αφορά τη μέθοδο εκχύλισης με χρήση υπερήχων οι μεγαλύτερες αποδόσεις εμφανίζονται για χρόνο 20 min και λόγο στερεού προς υγρό 1/25, δηλαδή απόδοση εκχύλισης 45.60 % και ολική απόδοση 25.84 %. Υπό αυτές τις συνθήκες η ικανότητα απορρόφησης νερού των υπερσυμπυκνωμάτων είναι 120.97 $g_{\text{νερού}}$/100 $g_{\text{δείγματος}}$, η ικανότητα απορρόφησης ελαίου είναι 403.62 $g_{\text{ελαίου}}$/100 $g_{\text{δείγματος}}$ και το χρώμα ΔΕ = 54.25. Όσον αφορά τη μέθοδο εκχύλισης με χρήση μηχανικού ομογενοποιητή, οι μεγαλύτερες αποδόσεις εμφανίζονται για χρόνο εκχύλισης 30 min και λόγο στερεού προς υγρό 1/25, ωστόσο είναι μη αποδεκτή η στατιστικά σημαντική μείωση των λειτουργικών τους ιδιοτήτων. Επομένως, οι βέλτιστες συνθήκες είναι για χρόνο εκχύλισης 20 min και λόγο στερεού προς υγρό 1/25, δηλαδή απόδοση εκχύλισης 46.16 %, ολική απόδοση 27.80 %, ικανότητα απορρόφησης νερού 132.69 $g_{\text{νερού}}$/100 $g_{\text{δείγματος}}$, η ικανότητα απορρόφησης ελαίου είναι 452.69 $g_{\text{ελαίου}}$/100 $g_{\text{δείγματος}}$ και το χρώμα ΔΕ = 60.45.

Από τη σύγκριση των μεθόδων εκχύλισης προκύπτει ότι η μέθοδος με χρήση υπερήχων φτάνει τις αποδόσεις της συμβατικής μεθόδου από τα 15 min, ενώ για χρόνο εκχύλισης 20 min τα υπερβαίνει. Ωστόσο, τα αποτελέσματα για χρόνο εκχύλισης 20 min είναι μη αποδεκτά, λόγω της στατιστικά σημαντικής μείωσης των λειτουργικών ιδιοτήτων των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων της μεθόδου με χρήση υπερήχων, σε σχέση με τη συμβατική μέθοδο. Όσον αφορά τη μέθοδο με χρήση μηχανικού ομογενοποιητή, οι αποδόσεις ξεπερνούν τις αντίστοιχες της συμβατικής μεθόδου από τα 10 min. Για 30 min εκχύλισης τα αποτελέσματα είναι μη αποδεκτά, λόγω της στατιστικά σημαντικής μείωσης των λειτουργικών ιδιοτήτων των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων της μεθόδου, σε σχέση με τη συμβατική μέθοδο. Από τη σύγκριση των δύο νέων μεθόδων προκύπτει ότι η μέθοδος με χρήση μηχανικού ομογενοποιητή εμφανίζει υψηλότερες αποδόσεις και ταυτόχρονα υψηλότερες λειτουργικές ιδιότητες σε σχέση με τη μέθοδο με χρήση υπερήχων.

Πραγματοποιήθηκε, επίσης, εκχύλιση πρωτεϊνών με χρήση δύο μιγμάτων ευτηκτικών διαλυτών. Το πρώτο περιέχει χλωρίδιο της χολίνης και γλυκόζη και το δεύτερο χλωρίδιο της χολίνης και γλυκερόλη. Παρότι η εκχύλιση των πρωτεϊνών ευνοείται, δεν ήταν δυνατή η καταβύθιση των πρωτεϊνών.

Τέλος, πραγματοποιήθηκε ηλεκτροφόρηση των εκχυλισμένων πρωτεϊνών της συμβατικής μεθόδου για λόγο στερεού προς υγρό 1/25, της μεθόδου με χρήση υπερήχων για λόγο στερεού προς υγρό 1/25 και χρόνους εκχύλισης 15 και 20 min και της μεθόδου με χρήση μηχανικού ομογενοποιητή για λόγο στερεού προς υγρό 1/25 και χρόνους εκχύλισης 20 και 30 min. Τα αποτελέσματα της ηλεκτροφόρησης έδειξαν ότι και με τις τρεις μεθόδους εκχύλισης εκχυλίζονται τα ίδια κλάσματα πρωτεϊνών.

Λέξεις – Κλειδιά: πρωτεΐνες, σόγια, εκχύλιση, πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα, νέες τεχνολογίες, αποδόσεις.

New Extraction Methods for Creating Protein Isolates for Soybean

Abstract

The aim of this thesis is to obtain protein isolates from defatted soy flour, using new extraction methods and isoelectric precipitation, and to evaluate the protein isolation efficiency and quality of the final products, as well as comparing the results with the conventional exctraction method.

As raw material, industrial defatted soy flour was used. The flour is previously milled and sieved to obtain a specific grain size (0.5 mm). Subsequently, it is further defatted by exctraction usin petroleum ether to remove the residual amount of oil. The resulting flour has a high protein content, ie 50.17%.

Protein isolates are obtained by aqueous extraction of the proteins and subsequently by isoelectric precipitation. Conventional extraction was performed for an extraction time of 30 min and a solid to liquid ratio of 1/15, 1/20, 1/25 and 1/30. The new extraction methods studied are ultrasound-assisted extraction in which the following extraction times were examined: 10, 15 and 20 min, and solid to liquid ratio: 1/15, 1/20, 1/25 and 1/30, and extraction assisted by a high-speed mechanical homogenizer, in which the following extraction times were examined: 10, 15, 20 and 30 min, and solid to liquid ratio of 1/20, 1/25 and 1/30. Protein determination is carried out by the Kjeldhal method (% Nx6.25).

Initially, by examining the effect of extraction time on the individual yields of the protein isolation process, namely extraction yield, precipitation yield and total yield, it was found that yields increased in all methods of increasing extraction time. Thus, in the ultrasonic method the maximum yields are obtained for a 20 min extraction time, while in the method using a mechanical homogenizer the maximum yields are obtained for a 30 min extraction time. As for the solid to liquid ratio, the yields also increase with increasing ratio, with the exception of the ratio of 1/30 which exhibits a slight decrease, in both new extraction methods. Therefore, the highest yields occur for a solid to liquid ratio of 1/25. The protein content of protein isolates does not appear to be significantly influenced by the solid-to-liquid ratio, nor by the time of extraction.

As for the functional properties, that is, the water and oil absorption capacity of the protein isolates, there is a gradual decrease in their values as the extraction time increases and a gradual increase as the solid to liquid ratio increases. However, in the ultrasound method there was no statistically significant difference between the results. In contrast, the mechanical homogenizer method for 30 min extraction time showed a statistically significant decrease in oil absorption capacity. The color of the protein isolates is not significantly affected either by the extraction time or the solid-to-liquid ratio.

Overall, with respect to the ultrasonic extraction method, the highest yields occurred for a time of 20 min and a solid to liquid ratio of 1/25, ie 45.60% extraction yield and 25.84% total yield. Under these conditions the water absorption capacity of the protein isolates is 120.97 g $_{water}$ / 100 g $_{sample}$, the oil absorption capacity is 403.62 g $_{oil}$ / 100 g $_{sample}$ and the color $\Delta E = 54.25$. Regarding the extraction method using a mechanical homogenizer, the highest yields occur for a extraction time of 30 min and a solid to liquid ratio of 1/25, however, their statistically significant decrease in functional properties is unacceptable. Therefore, the optimum conditions are achieved for a 20 min extraction time and a solid to liquid ratio of 1/25, i.e. 46.16% extraction yield, 27.80% total yield, 132.69 g $_{water}$ absorption capacity / 100 g $_{sample}$, oil absorption capacity 452.69 g $_{oil.}$ / 100 g of $_{sample}$ and color $\Delta E = 60.45$.

Comparison of the extraction methods shows that the ultrasonic method achieves the yields of the conventional method from 15 min, while for extraction time of 20 min it exceeds the conventional method yields. However, the results for a 20 min extraction time are unacceptable, due to the statistically significant decrease in the functional properties of the protein isolates prodyced by the ultrasound assisted method compared to the conventional one. Also while using the mechanical homogenizer method for 10 min, it was observed, that the yields exceed those of the convention method. For 30 min of extraction the results are unacceptable due to the statistically significant decrease in the functional properties of the protein isolates compared to the conventional method. A comparison of the two new methods shows that the mechanical homogenizer method exhibits higher yields and at the same time higher functional properties than the ultrasonic assisted method.

Protein extraction was also performed using two mixtures of eutectic solvents. The first contains choline chloride and glucose and the second contains choline chloride and glycerol. Although protein extraction is favored, it was not possible to precipitate the proteins.

Finally, the extracted proteins were electrophoresed by the conventional method for solid to liquid ratio of 1/25, the ultrasound assisted method using solid to liquid ratio of 1/25 and extraction times of 15 and 20 min and the mechanical homogenizer method using a solid to liquid ratio 1/25 and extraction times 20 and 30 min. The results of electrophoresis showed that all three extraction methods extract the same protein fractions.

Keywords: Proteins, Soybean, Extraction, Protein Isolates, New Technologies, Yields.

Περιεχόμενα

Πρόλογος **2**

Περίληψη **4**

Abstract **6**

Εισαγωγή **12**

Μέρος Α: Θεωρητικό Μέρος **14**

1. Πρωτεΐνες 14
   1.1. Αμινοξέα 14
   1.2. Δομή Πρωτεϊνών 16
   1.3. Φυσικοχημικές Ιδιότητες 17
      1.3.1. Ισοηλεκτρικό Σημείο 17
      1.3.2. Διαλυτότητα 18
      1.3.3. Μετουσίωση 19
      1.3.4. Οπτικές Ιδιότητες 21
   1.4. Λειτουργικές Ιδιότητες 21
      1.4.1. Ιδιότητες Ενυδάτωσης 22
      1.4.2. Ικανότητα Απορρόφησης Λιπαρών 23
      1.4.3. Σχηματισμός και Σταθεροποίηση Αφρού 23
      1.4.4. Σχηματισμός Πηκτής 23
      1.4.5. Γαλακτωματοποιητικές Ιδιότητες 24
   1.5. Θρεπτική Αξία Πρωτεϊνών 25
   1.6. Πηγές Πρωτεϊνών 27
      1.6.1. Ζωικής Προέλευσης Τρόφιμα 28
      1.6.2. Φυτικής Προέλευσης Πρωτεΐνες 29
2. Σόγια 32
   2.1. Επεξεργασία Σπόρων 33
      2.1.1. Καθαρισμός 35
      2.1.2. Ξήρανση 35
      2.1.3. Θραύση – Αποφλοίωση 35
      2.1.4. Θερμική Διεργασία 35
      2.1.5. Φολιδοποίηση 36
      2.1.6. Εκχύλιση Φολίδων 36

2.1.7. Άλεση ... 36
2.2. Πρωτεΐνες Σόγιας ... 36
2.3. Έλαιο Σόγιας ... 39
2.4. Πρωτεϊνικά Προϊόντα Σόγιας ... 40
2.4.1. Πρωτεϊνικά Άλευρα ... 40
2.4.2. Πρωτεϊνικά Συμπυκνώματα ... 41
2.4.3. Πρωτεϊνικά Υπερσυμπυκώματα ... 42
3. Τεχνολογία Παραλαβής Πρωτεϊνικών Υπερσυμπυκνωμάτων ... 46
3.1. Νέες Τεχνολογίες Εκχύλισης ... 48
3.1.1. Εκχύλιση Υποβοηθούμενη με Υπέρηχους ... 48
3.1.2. Εκχύλιση Υποβοηθούμενη με Μικροκύματα ... 51
3.1.3. Εκχύλιση Υποβοηθούμενο με Μηχανικό Ομογενοποιητή Υψηλής Ταχύτητας ... 52
3.1.4. Εκχύλιση Υποβοηθούμενη με Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία ... 53
3.1.5. Εκχύλιση Υποβοηθούμενη με Ένζυμα ... 54
3.1.6. Εκχύλιση με χρήση Ευτηκτικών Διαλυτών ... 56
Μέρος Β: Πειραματικό Μέρος ... 58
4. Πειραματικό Μέρος ... 58
4.1. Σκοπός ... 58
4.2. Πρώτες Ύλες και Αντιδραστήρια ... 58
4.3. Συσκευές και Όργανα ... 59
4.4. Πειραματική Διαδικασία ... 60
4.4.1. Προκατεργασία Αλεύρου ... 60
4.4.2. Διαδικασία Παραλαβής Πρωτεϊνικών Υπερσυμπυκνωμάτων ... 61
4.4.3. Ηλεκτροφόρηση ... 65
4.5. Αναλύσεις – Μετρήσεις ... 66
4.5.1. Μέτρηση Λειτουργικών Ιδιοτήτων ... 66
4.5.2. Προσδιορισμός Υγρασίας ... 68
4.5.3. Περιεκτικότητα σε Έλαιο ... 68
4.5.4. Μέθοδος Kjeldhal – Περιεκτικότητα Αζώτου και Πρωτεϊνών ... 68
4.6. Σχεδιασμός Πειραμάτων ... 70
5. Αποτελέσματα ... 75
5.1. Σύσταση Πρώτης Ύλης ... 75
5.2. Προσδιορισμός Ισοηλεκτρικού Σημείου ... 75

5.3. Παραλαβή Πρωτεϊνικών Υπερσυμπυκνωμάτων 76
5.3.1. Αποτελέσματα Παραλαβής Πρωτεϊνικών Υπερσυμπυκνωμάτων με τη Συμβατική Μέθοδο Εκχύλισης 76
5.3.2. Αποτελέσματα παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους 80
5.3.3. Αποτελέσματα παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας 87
5.3.4. Αποτελέσματα παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση με ευτηκτικούς διαλύτες 92
5.4. Σύγκριση Μεθόδων Εκχύλισης 92
5.4.1. Σύγκριση Νέων Μεθόδων Εκχύλισης, για 10 min εκχύλισης, με τη συμβατική Μέθοδο Εκχύλισης 93
5.4.2. Σύγκριση Νέων Μεθόδων Εκχύλισης, για 15 min εκχύλισης, με τη συμβατική Μέθοδο Εκχύλισης 97
5.4.3. Σύγκριση Νέων Μεθόδων Εκχύλισης, για 20 min εκχύλισης, με τη συμβατική Μέθοδο Εκχύλισης 101
5.4.4. Σύγκριση Νέων Μεθόδων Εκχύλισης, για 30 min εκχύλισης, με τη συμβατική Μέθοδο Εκχύλισης 105
5.5. Ηλεκτροφόρηση Πρωτεϊνών 109
Συμπεράσματα 112
Προτάσεις 118
Βιβλιογραφία 120
Παράρτημα 124

Εισαγωγή

Οι πρωτεΐνες αποτελούν βασικό συστατικό των τροφίμων και είναι απαραίτητες στην ανθρώπινη διατροφή. Διακρίνονται δύο κατηγορίες πρωτεϊνών, οι ζωικής προέλευσης και οι φυτικής προέλευσης πρωτεΐνες. Οι ζωικές πρωτεΐνες περιέχονται στο κρέας, τα γαλακτοκομικά προϊόντα, τα αυγά και το ψάρι, ενώ οι φυτικές πρωτεΐνες προέρχονται από τα δημητριακά, τα όσπρια, τους ελαιούχους σπόρους, τους ξηρούς καρπούς κ.α. Οι ζωικής προέλευσης πρωτεΐνες έχουν υψηλότερη βιολογική αξία, σε σχέση με τις φυτικές, καθώς περιέχουν όλα τα απαραίτητα αμινοξέα για τον ανθρώπινο οργανισμό, σε κατάλληλες ποσότητες.

Η παγκόσμια ζήτηση ζωικών προϊόντων ακολουθεί αυξητική τάση και μάλιστα αυτή αναμένεται να διπλασιαστεί μέχρι το 2050. Ωστόσο, οι αρνητικές επιπτώσεις που προκαλεί η παραγωγή τους στο περιβάλλον, η μεγάλη αύξηση του πληθυσμού, η αύξηση της χορτοφαγίας και του βιγκανισμού, κυρίως στις δυτικές χώρες, έχουν στρέψει τη διατροφή σε κατανάλωση μεγαλύτερων ποσοτήτων φυτικών πρωτεϊνών. Επίσης, λόγω των προσδοκιών ενός παγκόσμιου πληθυσμού 9 δισεκατομμυρίων έως το 2050, η αυξανόμενη ζήτηση για πρωτεΐνες τροφίμων μπορεί να επιτευχθεί με τη χρήση πρωτεϊνών από νέες πηγές, όπως για παράδειγμα πρωτεΐνες που προέρχονται από παραπροϊόντα των βιομηχανιών τροφίμων.

Οι ελαιούχοι σπόροι μπορούν να αποτελέσουν μία σημαντική πηγή φυτικών πρωτεϊνών, λόγω της μεγάλης περιεκτικότητάς τους σε πρωτεΐνες. Επιπλέον ως πρώτη ύλη, για την εξαγωγή των πρωτεϊνών μπορεί να χρησιμοποιηθεί και το υπόλειμμα της βιομηχανίας εκχύλισης ελαίου από τους ελαιούχους σπόρους, προϊόν που περιέχει μεγάλες ποσότητες πρωτεϊνών και χρησιμοποιείται κυρίως ως ζωοτροφή.

Ειδικότερα, η σόγια είναι ένας πολύ διαδεδομένος ελαιούχος σπόρος. Έχει πολύ μεγάλη περιεκτικότητα πρωτεϊνών, που ανέρχεται στο 40% κ.β. της σύστασής της. Αξίζει να σημειωθεί ότι οι πρωτεΐνες της σόγιας περιέχουν όλα τα απαραίτητα αμινοξέα για τον ανθρώπινο οργανισμό, γεγονός που την καθιστά εξαιρετική πηγή φυτικών πρωτεϊνών.

Η παραλαβή των πρωτεϊνών από τους ελαιούχους σπόρους πραγματοποιείται μέσω εκχύλισης και ισοηλεκρικής καταβύθισης. Η ανάπτυξη νέων τεχνολογιών εκχύλισης έχει αυξηθεί τα τελευταία χρόνια, λόγω των μειονεκτημάτων που εμφανίζουν οι συμβατικές μέθοδοι εκχύλισης, όπως η υψηλή κατανάλωση ενέργειας, η υψηλή εκπομπή του CO_2 και η κατανάλωση τοξικών οργανικών διαλυτών και των υπολειμμάτων τους στο εκχύλισμα. Οι νέες τεχνολογίες αποσκοπούν στην ανάγκη να αναπτυχθούν μέθοδοι πιο οικονομικές, με μεγαλύτερες αποδόσεις, ασφαλείς, οικολογικές προς το περιβάλλον και με όσο το δυνατόν μικρότερη επίδραση στην ποιότητα του τελικού προϊόντος.

Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Ένωση, η ζήτηση στην Ευρώπη για φυτικές πρωτεΐνες, στο διάστημα 2016 - 2017, ανήλθε περίπου σε 27 εκατομμύρια τόνους, εκ των οποίων ο κύριος όγκος προέρχεται από άλευρα ελαιούχων σπόρων, και προορίζεται για ζωοτροφές. Από τις ποσότητες αυτές, τα 17 εκατομμύρια τόνοι παράγονται εκτός Ευρωπαϊκής Ένωσης και εισάγονται. Αξίζει να σημειωθεί ότι από τα 17 εκατομμύρια τόνους πρωτεϊνών που εισάγονται στην Ευρωπαϊκή Ένωση, τα 13 εκατομμύρια τόνοι προέρχονται από σόγια, και αντιστοιχούν σε 30 εκατομμύρια τόνους ισοδύναμου σπόρου σόγιας, τα οποία προέρχονται κυρίως από τη Βραζιλία, την Αργεντινή και τις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής. Ωστόσο, οι καλλιεργούμενες εκτάσεις σόγιας στην Ευρώπη διπλασιάστηκαν σε σχεδόν 1 εκατ. εκτάρια μετά τη μεταρρύθμιση της κοινής γεωργικής πολιτικής το 2013, με την παραγωγή της Ευρωπαϊκής Ένωσης να ανέρχεται σε 2,8 εκατ. τόνους το 2018. Οι κύριοι παραγωγοί σόγιας στην Ευρώπη είναι η Ιταλία, η Γαλλία και η Ρουμανία.

Όσον αφορά την παραγωγή σόγιας στην Ελλάδα, στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι περιοχές, οι εκτάσεις και οι όγκοι σόγιας που παρήχθησαν στο χρονικό διάστημα από το 2013 ως το 2017, σύμφωνα με την Ελληνική Στατιστική Υπηρεσία. Από τις τιμές του πίνακα παρατηρείται ότι κατά το διάστημα 2013 - 2015 εμφανίζεται μεγάλη άνοδος της καλλιεργούμενης ποσότητας σόγιας στην Ελλάδα, η οποία όμως παρουσιάζει μία πτωτική τάση το διάστημα 2016 - 2017.

Πίνακας 1. Καλλιεργήσιμες εκτάσεις [στρέμματα] και παραγωγή σόγιας [tn] στις διάφορες περιφέρειες της Ελλάδας για το διάστημα 2013 – 2017 σύμφωνα με την Ελληνική Στατιστική Υπηρεσία (ΕΛΣΤΑΤ).

Περιφέρειες	2013		2014		2015		2016		2017	
	Στρέμματα	Τόνοι	Στρέμματα	Τόνοι	Στρέμματα	Τόνοι	Στρέμματα	Τόνοι	Στρέμματα	Τόνοι
Ανατολικής Μακεδονίας και Θράκης	2,017	495	25,512	7,127	29,807	8,644	29,935	8,487	26,244	7,525
Κεντρικής Μακεδονίας	3,263	954	2,103	626	6,865	2,162	2,464	917	1,557	526
Δυτικής Μακεδονίας	0	0	59	14	55	10	0	0	11	1
Ηπείρου	0	0	47	12	45	15	49	20	129	44
Θεσσαλίας	65	15	313	51	119	35	35	8	0	0
Στερεάς Ελλάδας	30	8	54	16	78	22	50	17	15	4
Δυτικής Ελλάδας	0	0	0	0	62	16	76	15	0	0
Νοτίου Αιγαίου	1	0	4	1	5	1	0	0	0	0
Σύνολο Ελλάδας	5,376	1,472	28,092	7,846	37,036	10,905	32,609	9,465	27,956	8,099

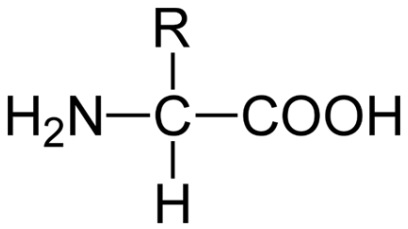
Μέρος Α: Θεωρητικό Μέρος

1. Πρωτεΐνες

Οι πρωτεΐνες είναι μεγάλα μόρια τα οποία απαντώνται σε όλους τους ζωντανούς οργανισμούς. Έχουν ενεργό ρόλο σε πολλές βιολογικές λειτουργίες του οργανισμού, όπως για παράδειγμα στη σύνθεση του DNA (DNA πολυμεράση). Αποτελούνται από πέντε βασικά στοιχεία, τα οποία είναι ο άνθρακας (C), το υδρογόνο (H), το οξυγόνο (O), το άζωτο (N), το θείο (S) και σπανιότερα ο φωσφόρο (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% και σε μερικές περιέχονται και S: 0.3-2.3% και P: 0.3%. Όλες οι πρωτεΐνες, ανεξαρτήτως της μορφής ή της δράσης τους, αποτελούνται από μικρότερα μόρια τα οποία ονομάζονται αμινοξέα (McMurry, 2015).

1.1. Αμινοξέα

Τα αμινοξέα είναι τα μονομερή της πρωτεΐνης, όπως προαναφέρθηκε. Η βασική δομή ενός αμινοξέος φαίνεται στην εικόνα 1-1. Κάθε αμινοξύ έχει μία πλευρική ομάδα (-R), που διαφέρει για κάθε αμινοξύ και πλευρικές ομάδες που είναι σταθερές. Οι δύο σταθερές πλευρικές ομάδες είναι οι εξής: μία βασική, η οποία είναι αμινομάδα ($-NH_2$), και μία όξινη, η οποία είναι καρβοξυλομάδα ($-COOH$). Τα αμινοξέα συνδέονται μεταξύ τους σχηματίζοντας μία επιμήκη αλυσίδα. Η σύνδεση των αμινοξέων γίνεται μέσω πεπτιδικών (αμιδικών) δεσμών ανάμεσα στην αμινομάδα ενός αμινοξέος και την καρβοξυλομάδα ενός δεύτερου αμινοξέος. Οι μικρού μήκους αλυσίδες ονομάζονται ολιγοπεπτίδια, ενώ οι μεγαλύτερες πρωτεΐνες.



Εικόνα 1-1. Γενική δομή αμινοξέος (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2011).

Πίνακας 1-1. Κυριότερα α – αμινοξέα πρωτεϊνών (McMurry, 2015)

Ονομασία	*Συντομογραφίες*	*Μοριακό Βάρος*	*Χημική Ονοματολογία*	*Ισοηλεκτρικό Σημείο*
Αλανίνη	Ala	89	α – αμινο - προπιονικό οξύ	6.00
Ασπαραγίνη	Asn	132	αμίδιο του Asp	5.41
Κυστεΐνη	Cys	121	α – αμινο – β -μερκαπτο - προπιονικό οξύ	5.07
Γλουταμίνη	Gln	146	αμίδιο του Glu	5.65
Γλυκίνη	Gly	75	α – αμινο - οξικό οξύ	5.97
Ισολευκίνη	Ile	131	α – αμινο – β – μεδυλ - βαλεριανικό οξύ	6.02
Λευκίνη	Leu	131	α – αμινο -ισοκαπροϊκό οξύ	5.98
Μεθειονίνη	Met	149	α – αμινο – γ – μεθυλ – θειο – η -βουτυρικό οξύ	5.74
Φαινυλαλανίνη	Phe	165	α – αμινο – β -φαινυλο - προπιονικό οξύ	5.48
Προλίνη	Pro	115	Πυρολιδινο - 2 καρβοξυλικό οξύ	6.30
Σερίνη	Ser	105	α - αμινο - β- υδροξυ - προπιονικό οξύ	5.68
Θρεονίνη	Thr	119	α – αμινο – β -υδροξυ – η - βουτυρικό οξύ	5.60
Τρυπτοφάνη	Trp	204	α – αμινο – β – 3 -ινδολυλ- προπιονικό οξύ	5.89
Τυροσίνη	Tyr	181	α – αμινο – β – (p -υδροξυ – φαινυλ) -προπιονικό οξύ	5.66
Βαλίνη	Val	117	α – αμινο -ισοβαλεριανικό οξύ	5.96
Ασπαρτικό οξύ	Asp	133	α - αμινο ηλεκτρικό οξύ	2.77
Γλουταμικό οξύ	Glu	147	α – αμινο γλουταρικό οξύ	3.22
Αργινίνη	Arg	174	α – αμινο – δ -ουρεϊνο - βαλεριανικό οξύ	10.76
Ιστιδίνη	His	155	α – αμινο – β -ιμιδαζολ - προπιονικό οξύ	7.59
Λυσίνη	Lys	146	α – ε – διαμινο -καπροϊκό οξύ	9.74

Τα κυριότερα αμινοξέα τα οποία συνθέτουν τις πρωτεΐνες είναι είκοσι. Και τα είκοσι αμινοξέα είναι α-αμινοξέα, δηλαδή αμινοξέα που έχουν την αμινομάδα στο ίδιο άτομο άνθρακα με την καρβοξυλομάδα.

Όλα τα παραπάνω αμινοξέα είναι απαραίτητα για τον άνθρωπο. Ωστόσο, ο ανθρώπινος οργανισμός μπορεί να βιοσυνθέσει μόνο τα δέκα από αυτά. Τα υπόλοιπα δέκα αμινοξέα είναι απαραίτητο να λαμβάνονται μέσω της διατροφής και γι' αυτό το λόγο ονομάζονται *απαραίτητα αμινοξέα* και είναι τα: αργινίνη, ιστιδίνη, ισολευκίνη, λευκίνη, λυσίνη, μεθειονίνη, φαινυλαλανίνη, θρεονίνη, θρυπτοφάνη και βαλίνη. Μία διατροφή η οποία δεν περιέχει τις απαραίτητες ποσότητες αυτών μπορεί να οδηγήσει σε πολύ σοβαρές ασθένειες (McMurry, 2015; Belitz, Grosch, & Schieberle, 2011).

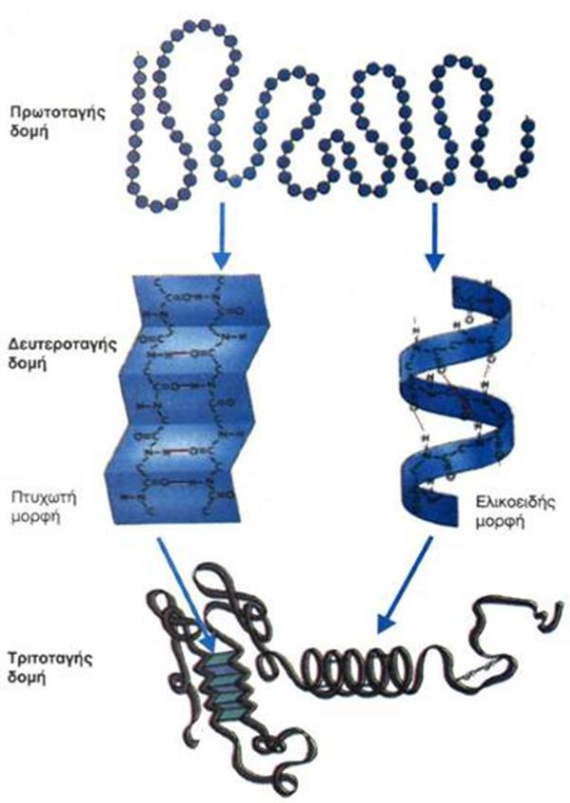
1.2. Δομή Πρωτεϊνών

Μία βιολογικά λειτουργική πρωτεΐνη προϋποθέτει τέσσερα επίπεδα δομών, οι οποίες ονομάζονται πρωτοταγής, δευτεροταγής, τριτοταγής και τεταρτοταγής δομή. Η γραμμική ακολουθία με την οποία είναι συνδεδεμένα να αμινοξέα αποτελεί την *πρωτοταγή* δομή μίας πρωτεΐνης και είναι η σημαντικότερη από τις τέσσερις δομές.

Ωστόσο, οι ιδιότητες μίας πρωτεΐνης εξαρτώνται και από τα ανώτερα επίπεδα δομών, δηλαδή από τον τρόπο με τον οποίο το μόριο αναδιπλώνεται στο χώρο. Έτσι, ως *δευτεροταγής δομή* μίας πρωτεΐνης ορίζεται η διάταξη που λαμβάνει στο χώρο η πολυπεπτιδική αλυσίδα, γύρω από τον άξονα που σχηματίζεται από τον πεπτιδικό δεσμό. Οι κυριότερες μορφές δευτεροταγούς δομής είναι η α-έλικα, το β-πτυχωμένο φύλλο, η τριπλή έλικα του κολλαγόνου και η δομή τυχαίας σπείρας.

Στην περίπτωση της α-έλικας η πολυπεπτιδική αλυσίδα περιελίσσεται σχηματίζοντας μία δεξιόστροφη ελικοειδή δευτεροταγή δομή, όπως φαίνεται στην εικόνα 1-2. Η δομή αυτή σταθεροποιείται σχηματίζοντας δεσμούς υδρογόνου ανάμεσα στις αμιδικές ομάδες $N - H$ και τις ομάδες $C = O$ των αμινοξέων που βρίσκονται σε απόσταση τεσσάρων θέσεων. Ο μεγάλος αριθμός δεσμών υδρογόνου που σχηματίζονται προσδίδουν στο μόριο μεγάλη σταθερότητα. Η δομή της α-έλικας αποτελεί την πιο συχνά απαντώμενη δευτεροταγή δομή. Στην περίπτωση του β-πτυχωτού φύλλου οι πολυπεπτιδικές αλυσίδες διατάσσονται παράλληλα μεταξύ τους και σχηματίζουν δεσμούς που αναπτύσσονται μεταξύ των αλυσίδων.

Η τριτοταγής δομή μίας πρωτεΐνης αναφέρεται στον τρόπο με τον οποίο ολόκληρο το μόριο περιελίσσεται στο χώρο, σχηματίζοντας είτε σφαιροειδείς είτε ινώδεις πρωτεΐνες (Εικόνα 1-2). Η τεταρτοταγής δομή είναι αποτέλεσμα αλληλεπίδρασης περισσότερων του ενός μορίου πρωτεΐνης, τα οποία σχηματίζουν συσσωματώματα και αυξάνουν τη σταθερότητα (McMurry, 2015; Λιαδάκης, 1999).

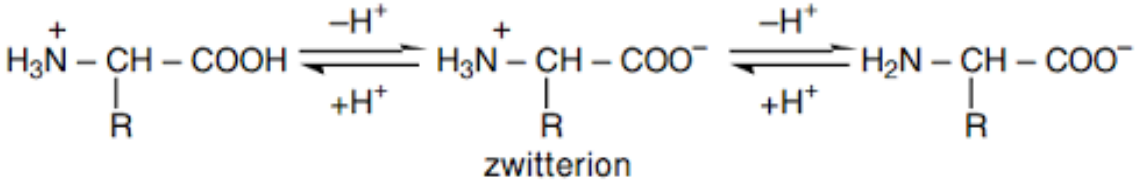


Εικόνα 1-2. Τα τρία επίπεδα οργάνωσης μιας πρωτεΐνης (Καψάλης, Μπουρμπουχάκης, Περάκη, & Σαλαμαστράκης)

1.3. Φυσικοχημικές Ιδιότητες

1.3.1. Ισοηλεκτρικό Σημείο

Σε ένα υδατικό διάλυμα ένα αμινοξύ μπορεί να εμφανίζεται ως κατιόν, ουδέτερο δίπολο ή ανιόν, ανάλογα με το pH του διαλύματος. Σε ένα όξινο διάλυμα ένα αμινοξύ πρωτονιώνεται, βρίσκεται δηλαδή συνήθως σε μορφή κατιόντος. Σε ένα βασικό διάλυμα, με υψηλή τιμή pH, ένα αμινοξύ αποπρωτονιώνεται, βρίσκεται δηλαδή συνήθως σε μορφή ανιόντος. Υπάρχει λοιπόν μία τιμή pH, στην οποία η κατιοντική μορφή του αμινοξέος εξισορροπείται με την ανιοντική (δίπολο). Σε αυτή την περίπτωση το μόριο βρίσκεται στην ουδέτερη μορφή του. Η τιμή του pH στην οποία το αμινοξύ βρίσκεται σε ουδέτερη μορφή ονομάζεται *ισοηλεκτρικό σημείο* (pI). Αντίστοιχα, όταν μία πρωτεΐνη βρίσκεται υπό μορφή άλατος σε ένα διάλυμα, δηλαδή ο αριθμός των κατιόντων ισούται με τον αριθμό των ανιόντων, η τιμή του pH του διαλύματος ισούται με το ισοηλεκτρικό σημείο της πρωτεΐνης.



Εικόνα 1-3. Σχηματισμός δίπολου αμινοξέος στο ισοηλεκτρικό σημείο (Λιαδάκης, 1999)

Το ισοηλεκτρικό σημείο κάθε αμινοξέος είναι διαφορετικό και εξαρτάται από τη δομή του. Τα περισσότερα αμινοξέα εμφανίζουν ελαφρώς όξινο ισοηλεκτρικό σημείο, με τιμές pI που κυμαίνονται από 5 ως 6.5. Ωστόσο, υπάρχουν δύο αμινοξέα (ασπαραγινικό οξύ, γλουταμινικό οξύ) που εμφανίζουν ισοηλεκτρικό σημείο σε χαμηλότερες τιμές pH και τρία (αργινίνη, ιστιδίνη, λυσίνη) που εμφανίζουν ισοηλεκτρικό σημείο σε υψηλότερες τιμές pH (πίνακας 1-1) (McMurry, 2015).

Ομοίως, και κάθε πρωτεΐνη εμφανίζει διαφορετικό ισοηλεκτρικό σημείο, το οποίο εξαρτάται από το είδος των αμινοξέων από τα οποία αποτελείται και τη θέση τους στο πρωτεϊνικό μόριο (Λιαδάκης, 1999).

1.3.2. Διαλυτότητα

Η διαλυτότητα των πρωτεϊνών είναι ένα μεταβλητό μέγεθος και αποτελεί συνάρτηση πολλών παραγόντων. Πρέπει να σημειωθεί ότι λόγω του μεγάλου μεγέθους των μορίων των πρωτεϊνών, σε ένα υδατικό διάλυμα, οι πρωτεΐνες είναι στην πραγματικότητα διεσπαρμένες και εμφανίζουν ιδιότητες κολλοειδούς διασποράς.

Η διαλυτότητα των πρωτεϊνών εξαρτάται από τον αριθμό των πολικών και των μη πολικών ομάδων, καθώς και από τη θέση αυτών στην πολυπεπτιδική αλυσίδα. Οι πρωτεΐνες είναι διαλυτές σε έντονα πολικούς διαλύτες, όπως το νερό, η γλυκερίνη κ.α., ενώ σε λιγότερο πολικούς διαλύτες η διαλυτότητα είναι σπάνια. Ακόμη, οι οργανικοί διαλύτες, όπως η ακετόνη, η αιθανόλη κ.α., μειώνουν τη διαλυτότητα των πρωτεϊνών καθώς αυξάνουν την υδροστατική άπωση μεταξύ των μορίων, με αποτέλεσμα αυτά να συσσωματώνονται και να καταβυθίζονται.

Ένας ακόμη παράγοντας που επηρεάζει τη διαλυτότητα των πρωτεϊνών είναι η θερμοκρασία. Γενικά, με την αύξηση της θερμοκρασίας η διαλυτότητα των πρωτεϊνών αυξάνεται. Ωστόσο σε πολύ χαμηλές ή πολύ υψηλές θερμοκρασίες (>50 °C) οι πρωτεΐνες μετουσιώνονται, καταστρέφονται δηλαδή η δευτεροταγής τριτοταγής ή/και τεταρτοταγής δομή τους (παράγραφος 1.3.3.). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη συσσωμάτωσή τους και επομένως τη μείωση της διαλυτότητάς τους.

Όπως προαναφέρθηκε, για κάθε πρωτεΐνη υπάρχει μία τιμή pH στην οποία τα φορτία του πολυπεπτιδικού μορίου αλληλοεξουδετερώνονται και η πρωτεΐνη εμφανίζεται στο διάλυμα υπό μορφή εσωτερικού άλατος. Το pH αυτό καλείται ισοηλεκτρικό σημείο (pI) της πρωτεΐνης. Για τιμές pH που απέχουν από το ισοηλεκτρικό σημείο, οι πρωτεΐνες εμφανίζονται θετικά (pH>pI) ή αρνητικά (pH<pI) φορτισμένες, με αποτέλεσμα την αύξηση της αλληλεπίδρασής τους με το νερό και επομένως την αύξηση της διαλυτότητάς τους. Αντίθετα, σε τιμές pH κοντά στο ισοηλεκτρικό σημείο, το φορτίο των πρωτεϊνών μειώνεται, με αποτέλεσμα την έλλειψη ηλεκτροστατικών απώσεων στο διάλυμα και άρα τη συσσωμάτωση και καταβύθισή τους. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται *ισοηλεκτρική καταβύθιση* και εκτός από το είδος των πρωτεϊνών επηρεάζεται και από το είδος του διαλύτη. Αξίζει να σημειωθεί ότι η ισοηλεκτρική καταβύθιση είναι μία από τις κύριες μεθόδους απομόνωσης πρωτεϊνών που εφαρμόζονται.

Συμπερασματικά προκύπτει ότι το pH είναι ένας ακόμη παράγοντας που επηρεάζει τη διαλυτότητα των πρωτεϊνών. Σε αλκαλικές περιοχές η διαλυτότητα των πρωτεϊνών εμφανίζεται εντονότερη. Ωστόσο, σε ακραίες τιμές pH τα μόρια φέρουν το ίδιο φορτίο με αποτέλεσμα να απωθούνται γεγονός που συμβάλλει στον αποχωρισμό ή/και το ξεδίπλωμά τους (μετουσίωση). Η γραφική παράσταση που συνδέει τη διαλυτότητα με το pH έχει τη μορφή V ή U, με το κατώτατο σημείο να αντιστοιχεί στο pI.

Η διαλυτότητα των πρωτεϊνών μπορεί επίσης να επηρεαστεί από την ιοντική ισχύ του διαλύματος. Έχει αποδειχθεί ότι τα ιόντα ουδέτερων αλάτων εμφανίζουν διττή επίδραση στη διαλυτότητα των πρωτεϊνών. Πιο συγκεκριμένα, η χαμηλή συγκέντρωση άλατος (0.5-1M) αυξάνει τη διαλυτότητα, καθώς καταστέλλει τις ηλεκτροστατικές δυνάμεις μεταξύ των πρωτεϊνών λόγω της αλληλεπίδρασής τους με τα ιόντα του άλατος. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται *εναλάτωση*. Αντίθετα, σε ένα διάλυμα με υψηλή συγκέντρωση άλατος (>1M) η διαλυτότητα των πρωτεϊνών μειώνεται. Αυτό συμβαίνει καθώς ενυδατώνονται τα ιόντα του άλατος με αποτέλεσμα να δεσμεύουν περισσότερα μόρια νερού. Σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις άλατος τα μόρια νερού δεν επαρκούν για να ενυδατώσουν τις πρωτεΐνες, με αποτέλεσμα την αύξηση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των πρωτεϊνών και άρα τη συσσωμάτωση και καταβύθισή τους. Το παραπάνω φαινόμενο καλείται *εξαλάτωση* και αποτελεί μία ακόμη μέθοδο διαχωρισμού των πρωτεϊνών (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2011; Τζιά, Ταούκης, & Ωραιοπούλου, 2009).

1.3.3. Μετουσίωση

Μετουσίωση καλείται μία αντιστρεπτή ή μη αντιστρεπτή αλλαγή στη δομή μίας πρωτεΐνης και έχει ως αποτέλεσμα τη μεταβολή των ιδιοτήτων των πρωτεϊνών. Η μεταβολή της δομής αφορά τη δευτεροταγή, τριτοταγή και τεταρτοταγή δομή μίας πρωτεΐνης, όχι όμως την πρωτοταγή. Αυτό συμβαίνει καθώς κατά τη μετουσίωση διασπώνται οι γέφυρες

υδρογόνου, οι ιοντικοί και οι υδρόφοβοι δεσμοί, όχι όμως οι πεπτιδικοί δεσμοί. Έτσι, κατά τη μετουσίωση η πρωτεΐνη αφήνει την καλά οργανωμένη δομή της, ξεδιπλώνεται και μετατρέπεται σε ένα άμορφο μόριο με τυχαία δομή.

Όπως προαναφέρθηκε η μετουσίωση μπορεί να είναι αντιστρεπτή ή αναντίστρεπτη. Η μετουσίωση μίας πρωτεΐνης μπορεί να είναι αναστρέψιμη όταν η ξεδιπλωμένη πολυπεπτιδική αλυσίδα σταθεροποιείται από το μέσο μετουσίωσης και ταυτόχρονα είναι δυνατή η επαναφορά του μορίου στην αρχική του μορφή, μετά την απομάκρυνση του μέσου. Ταυτόχρονα, για να είναι δυνατή η επαναφορά της πρωτεΐνης, οι συνθήκες μετουσίωσης πρέπει να είναι ήπιες και όσο μικρότερη είναι η αλλοίωση της δομής της, τόσο ευκολότερη είναι η επαναφορά της στην αρχική της μορφή. Αντίθετα, η μετουσίωση μίας πρωτεΐνης είναι αναντίστρεπτη όταν η ξεδιπλωμένη πολυπεπτιδική αλυσίδα σταθεροποιείται μέσω αλληλεπίδρασης με άλλες αλυσίδες. Στις περισσότερες περιπτώσεις η μετουσίωση είναι μη αντιστρεπτή.

Στην περίπτωση των βιολογικά ενεργών πρωτεϊνών η μετουσίωση συνδέεται άμεσα με τη μείωση ή την απώλεια της δραστικότητάς τους. Αυτό συμβαίνει καθώς η μετουσίωση προκαλεί αλλαγές τόσο στις φυσικοχημικές, όσο και στις λειτουργικές ιδιότητες μίας πρωτεΐνης. Ειδικότερα, μία μετουσιωμένη πρωτεΐνη παρουσιάζει μειωμένη διαλυτότητα, καθώς λόγω της καταστροφής της δομής της αποκαλύπτονται οι υδρόφοβες ομάδες του μορίου, με αποτέλεσμα τη συσσωμάτωση και καθίζησή του. Επιπρόσθετα, παρουσιάζει μειωμένη ικανότητα απορρόφησης νερού και μειωμένη χημική δραστικότητα. Τέλος, η κρυστάλλωση ενός μετουσιωμένου μορίου εμφανίζεται αδύνατη.

Οι παράγοντες που προκαλούν τη μετουσίωση μίας πρωτεΐνης είναι πολλοί, καθώς οι πρωτεΐνες είναι ευαίσθητα και ευπαθή μόρια, λόγω της χαμηλής ενέργειας των δεσμών τους. Μερικοί από τους παράγοντες αυτούς είναι: η θέρμανση, η ψύξη, οι ακραίες τιμές pH, τα χημικά, τα ένζυμα, η μηχανική καταπόνηση, ορισμένοι οργανικοί διαλύτες, κάποια απορρυπαντικά, άλατα κ.α. (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2011; Τζιά, Ταούκης, & Ωραιοπούλου, 2009).

Συνηθέστερος παράγοντας μετουσίωσης των πρωτεϊνών είναι η θέρμανση (π.χ. στο λεύκωμα του αυγού). Η ευαισθησία των πρωτεϊνών στη μετουσίωση λόγω θέρμανσης εξαρτάται από παράγοντες όπως είναι η φύση της πρωτεΐνης, η συγκέντρωσή της, η ενεργότητα του νερού, το pH, η ιοντική ισχύς και το είδος των ιόντων που συνυπάρχουν. Αξιοσημείωτος είναι ο ρυθμός αύξησης της μετουσίωσης που εξαρτάται από τη θερμοκρασία, καθώς με την αύξηση της θερμοκρασίας μόλις 10 °C, ο ρυθμός μετουσίωσης αυξάνεται κατά 600 φορές. Εφαρμόζοντας ήπια θέρμανση αλλάζει μόνο η τριτοταγής δομή μίας πρωτεΐνης. Σε αντίθεση, μία υψηλότερη θερμοκρασία μπορεί να προκαλέσει αντιδράσεις μεταξύ δραστικών ομάδων των αμινοξέων, διάσπασή τους από την πολυπεπτιδική αλυσίδα ή ακόμη και πλήρη αποσύνθεσή του.

Η μηχανική καταπόνηση μπορεί να προκαλέσει μετουσίωση των πρωτεϊνών λόγω αναπτυσσόμενων διατμητικών τάσεων. Στην ίδια κατηγορία μπορεί να περιληφθεί η επίδραση των υπερήχων που συνήθως εφαρμόζεται για τη διάσπαση των κυττάρων.

Το μεγαλύτερο μέρος των πρωτεϊνών είναι ανθεκτικό σε ένα μεγάλο εύρος τιμών pH. Ωστόσο, σε ακραίες τιμές pH (πολύ χαμηλές ή πολύ υψηλές) μπορεί να προκληθεί ξεδίπλωμα την πολυπεπτιδικής αλυσίδας λόγω ισχυρών ηλεκτροστατικών απώσεων μεταξύ των ιονισμένων ομάδων των αμινοξέων. Η δράση αυτή εμφανίζεται συνηθέστερα σε αλκαλικά pH, για τιμές μεγαλύτερες του 10 (Λιαδάκης, 1999; Τζιά, Ταούκης, & Ωραιοπούλου, 2009).

1.3.4. Οπτικές Ιδιότητες

Το μεγαλύτερο μέρος των πρωτεϊνών δεν παρουσιάζουν απορρόφηση στην περιοχή του ορατού φάσματος. Αυτό έχει ως συνέπεια τα περισσότερα υδατικά διαλύματα πρωτεϊνών να είναι άχρωμα. Στις περιπτώσεις που εμφανίζεται χρώμα, αυτό οφείλεται στην απορρόφηση που εμφανίζουν οι προσθετικές ομάδες του μορίου της πρωτεΐνης. Σε αντίθεση με το ορατό φάσμα, πολλές πρωτεΐνες εμφανίζουν απορρόφηση στην περιοχή του υπεριώδους φάσματος, γεγονός που οφείλεται κυρίως στα αμινοξέα που περιέχουν στις πλευρικές τους ομάδες αρωματικούς δακτυλίους.

Οι πρωτεΐνες που διαλύονται στο νερό εμφανίζουν την ιδιότητα στροφής του επιπέδου του πολωμένου φωτός προς τα αριστερά, γεγονός που δεν επηρεάζεται από την τιμή του pH του διαλύματος. Επιπρόσθετα, τα διαλύματα των πρωτεϊνών παρουσιάζουν υψηλό δείκτη διάθλασης, ο οποίος μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για τον προσδιορισμό τους (Λιαδάκης, 1999; Belitz, Grosch, & Schieberle, 2011).

1.4. Λειτουργικές Ιδιότητες

Ο όρος *λειτουργικότητα* για τα συστατικά των τροφίμων ορίζεται ως το σύνολο των ιδιοτήτων, εκτός από τις θρεπτικές, οι οποίες επηρεάζουν τη χρησιμοποίησή τους στα τρόφιμα. Οι *λειτουργικές ιδιότητες* των πρωτεϊνών είναι εκείνες οι ιδιότητες που καθορίζουν τη συμπεριφορά των πρωτεϊνών στα συστήματα τροφίμων, κατά την παραγωγή, αποθήκευση, προετοιμασία και κατανάλωση, και κατά συνέπεια επηρεάζουν την ποιότητα και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τροφίμων.

1.4.1. Ιδιότητες Ενυδάτωσης

Η βασικότερη ιδιότητα των πρωτεϊνών, που καθορίζει τη λειτουργικότητά τους, είναι η ικανότητα αλληλεπίδρασης με το νερό. Οι πρωτεΐνες είναι πολικά μόρια, με αποτέλεσμα να αλληλεπιδρούν με το νερό.

Το νερό που περιβάλλει χαλαρά το πρωτεϊνικό μόριο και μεταφέρεται μαζί του κατά τη διάχυση και τις άλλες κινήσεις του, αναφέρεται ως νερό ενυδάτωσης. Ο βαθμός *ενυδάτωσης* των πρωτεϊνών είναι μεταβλητός και εξαρτάται από ποικίλους παράγοντες, όπως το είδος της πρωτεΐνης, δηλαδή το είδος και τη θέση των αμινοξέων από τα οποία αποτελείται.

Το pH του διαλύματος επηρεάζει επίσης το βαθμό ενυδάτωσης. Σε περιοχές pH μακριά από το ισοηλεκτρικό σημείο αυξάνεται η ιοντική ισχύς των πρωτεϊνικών μορίων, με αποτέλεσμα τη μεγαλύτερη αλληλεπίδραση πρωτεΐνης - νερού, και επομένως την αύξηση του βαθμού ενυδάτωσης. Σε αντίθεση, όταν το pH βρίσκεται κοντά στην περιοχή του ισοηλεκτρικού σημείου ο βαθμός ενυδάτωσης μειώνεται. Η προσθήκη άλατος επηρεάζει, επίσης, το βαθμό ενυδάτωσης με όμοιο τρόπο με αυτόν της διαλυτότητας, δηλαδή η προσθήκη άλατος σε μικρή συγκέντρωση αυξάνει το βαθμό ενυδάτωσης, ενώ η προσθήκη άλατος σε μεγάλη συγκέντρωση τον μειώνει.

Ένας ακόμη παράγοντας που επηρεάζει το βαθμό ενυδάτωσης είναι η θερμοκρασία. Στις περισσότερες περιπτώσεις, με την αύξηση της θερμοκρασίας ο βαθμός ενυδάτωσης μειώνεται καθώς τα μόρια των πρωτεϊνών συσσωματώνονται, με αποτέλεσμα να μειώνεται η επιφάνεια των διαθέσιμων αμινοξέων. Ωστόσο, σε περιπτώσεις συμπαγών πρωτεϊνών μπορεί να παρατηρηθεί το αντίθετο φαινόμενο, λόγω του ξεδιπλώματος των πρωτεϊνών που έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση περισσότερων συμπαγών ομάδων.

Μία ακόμη ιδιότητα που προκύπτει από την αλληλεπίδραση πρωτεΐνης - νερού είναι η διόγκωση. *Διόγκωση* καλείται η αυθόρμητη πρόσληψη νερού από την πρωτεϊνική μήτρα, με χαλάρωση των πολυπεπτιδίων. Η διόγκωση επηρεάζεται από τους δεσμούς και τις διαμοριακές δυνάμεις που υπάρχουν στην πολυπεπτιδική αλυσίδα καθώς και από την ικανότητα του νερού να αλληλεπιδρά με τις πρωτεΐνες, καταστέλλοντας τις μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις.

Η ικανότητα συγκράτησης νερού είναι ο ποσοτικός δείκτης του νερού που συγκρατείται από μία πρωτεϊνική μήτρα κάτω από καθορισμένες συνθήκες και χρησιμοποιείται ως δείκτης λειτουργικότητας των πρωτεϊνών (Λιαδάκης, 1999; Belitz, Grosch, & Schieberle, 2011).

1.4.2. Ικανότητα Απορρόφησης Λιπαρών

Η ικανότητα απορρόφησης λιπαρών από τις πρωτεΐνες είναι μία ιδιότητα που οφείλεται στη φυσική παγίδευση ελαίου. Οι κύριες αλληλεπιδράσεις που υπερισχύουν μεταξύ πρωτεΐνης και λιπαρής φάσης είναι δυνάμεις υδρόφοβης φύσης μεταξύ των μη πολικών αλειφατικών αλυσίδων των λιπαρών, με μη πολικές περιοχές του πρωτεϊνικού μορίου. Οι παράγοντες που επηρεάζουν την απορρόφηση λιπαρών είναι η δομή της πρωτεΐνης, δηλαδή το είδος και οι θέσεις των αμινοξέων σε αυτή, οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πρωτεϊνών, καθώς και το είδος και η διάταξη της λιπαρής ουσίας στο χώρο. Πρέπει να σημειωθεί ότι η αλληλεπίδραση λιπαρού πρωτεΐνης έχει την τάση να προστατεύει την πρωτεΐνη από τυχόν θερμικές μετουσιώσεις, καθώς τα λιπαρά σώματα περιέχουν ομάδες υψηλής θερμοχωρητικότητας (Λιαδάκης, 1999).

1.4.3. Σχηματισμός και Σταθεροποίηση Αφρού

Ο σχηματισμός και η σταθεροποίηση αφρού από τις πρωτεΐνες βρίσκει εφαρμογή σε ποίκιλα τρόφιμα, όπως για παράδειγμα γλυκά, μπύρα κ.α. Γενικά, οι αφροί είναι διασπορά αερίων σε υγρά, με τις πρωτεΐνες να τους σταθεροποιούν σχηματίζοντας εύκαμπτα και συνεκτικά υμένια γύρω από τις φυσαλίδες του αερίου. Κατά την πρόσκρουση, η πρωτεΐνη προσροφάται στη διεπιφάνεια μέσω των υδρόφοβων περιοχών της, με αποτέλεσμα το μερικό ξεδίπλωμα της πρωτεΐνης, δηλαδή μία επιφανειακή μετουσίωση. Όσο γρηγορότερη είναι η διάχυση του αερίου, τόσο ευκολότερη είναι η διαδικασία σχηματισμού του αφρού. Σημαντική επίδραση έχουν και η μοριακή μάζα της πρωτεΐνης, ο αριθμός των υδρόφοβων ομάδων που εμφανίζονται στην επιφάνειά της, καθώς και η σταθερότητα της τελικής της διαμόρφωσης. Το πρωτεϊνικό υμένιο που σχηματίζεται πρέπει να είναι ανθεκτικό και όσο το λιγότερο διαπερατό από αέρια, καθώς αύξηση του όγκου των φυσαλίδων οδηγεί σε αύξηση του βάρους του, με αποτέλεσμα την κατάρρευση του αφρού. Μέσω της επιφανειακής μετουσίωσης της πρωτεΐνης απελευθερώνεται μεγαλύτερος αριθμός αμινοξέων, με αποτέλεσμα την αύξηση των πλευρικών αλυσίδων και άρα των μοριακών συνδέσεων, γεγονός που οδηγεί σε αύξηση της σταθερότητας του αφρού. Τέλος, το pH του συστήματος πρέπει να βρίσκεται κοντά στο ισοηλεκτρικό σημείο των πρωτεϊνών, καθώς μικρότερο φορτίο προωθεί τη συνένωση (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2011).

1.4.4. Σχηματισμός Πηκτής

Ο σχηματισμός πηκτής είναι μία διεργασία κατά την οποία η συσσωμάτωση μετουσιωμένων πρωτεϊνικών μορίων οδηγεί σε σχηματισμό ενός δομημένου

τρισδιάστατου πρωτεϊνικού δικτύου, της πηκτής (gel), ικανού να συγκρατήσει μεγάλες ποσότητες νερού, παγιδευμένου μέσα στο πλέγμα. Υπάρχουν δυο τύποι πηκτών. Η πρώτη καλείται πλέγμα πολυμερών και η δεύτερη συνάθροιση διασπορών, ωστόσο υπάρχουν και ενδιάμεσες καταστάσεις. Χαρακτηριστικό γνώρισμα των πλεγμάτων πολυμερών είναι η χαμηλή συγκέντρωση του πολυμερούς (~1%), καθώς και η διαύγεια και η λεπτή υφή τους. Ο σχηματισμός τους γίνεται σε καθορισμένο pH με προσθήκη ιόντων. Η συνάθροιση της πηκτής πραγματοποιείται μέσω δεσμών υδρογόνου οι οποίοι διασπώνται κατά τη θέρμανση και σχηματίζουν την πηκτή καθώς ψύχονται. Η πηκτή ρευστοποιείται ξανά υπό θέρμανση.

Στην δεύτερη περίπτωση, των συναθροισμένων διασπορών, μέσω θέρμανσης προκαλείται ξεδίπλωμα της πρωτεΐνης, που όπως έχει αναλυθεί, οδηγεί σε απελευθέρωση των πλευρικών ομάδων των αμινοξέων, και επομένως σε αύξηση των διαμοριακών αλληλεπιδράσεων. Η συνένωση της πηκτής πραγματοποιείται μέσω σχηματισμού μικρών σφαιρικών συσσωματωμάτων τα οποία συνδέονται σε γραμμικά νήματα. Σε αυτού του είδους τις πηκτές είναι απαραίτητη μεγάλη συγκέντρωση πρωτεΐνης (5 – 10%). Μέσω της μερικής μετουσίωσης των πρωτεϊνών που πραγματοποιείται, απελευθερώνονται αρχικά υδρόφοβες ομάδες, με αποτέλεσμα το σχηματισμό υδρόφοβων δεσμών. Οι παραπάνω αλληλεπιδράσεις οδηγούν σε μία θερμοπλαστικού τύπου πηκτή με αποτέλεσμα να μην οδηγείται σε υγροποίηση κατά τη θέρμανση, αλλά σε μία πιθανή συρρίκνωση. Εκτός των υδρόφοβων δυνάμεων, στη σταθεροποίηση συμβάλλουν επίσης και πιθανοί δισουλφιδικοί δεσμοί, οι οποίοι προκύπτουν από τα απελευθερωνόμενα αμινοξέα (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2011).

1.4.5. Γαλακτωματοποιητικές Ιδιότητες

Τα γαλακτώματα είναι συστήματα διασποράς που αποτελούνται από δύο ή περισσότερα μη αναμίξιμα ή μερικώς αναμίξιμα υγρά. Το πρώτο υγρό, που συνήθως υπάρχει σε περίσσεια, ονομάζεται κλειστή, συνεχής ή εξωτερική φάση, ενώ το δεύτερο υγρό ονομάζεται εσωτερική ή διεσπαρμένη φάση. Η παρασκευή ενός γαλακτώματος ονομάζεται *γαλακτωματοποίηση* και οι ουσίες που χρησιμοποιούνται για το σκοπό αυτό ονομάζονται γαλακτωματοποιητές. Λόγω της φύσης τους, οι πρωτεΐνες μπορούν να λειτουργήσουν ως γαλακτωματοποιητές σε συστήματα τύπου λιπαρό σε νερό (o/w), όπως για παράδειγμα είναι το γάλα. Η προσρόφηση μίας πρωτεΐνης στην επιφάνεια ενός σταγονιδίου ελαίου ευνοείται θερμοδυναμικά λόγω των υδρόφοβων ομάδων των αμινοξέων. Η διαμόρφωση της πρωτεΐνης στη διεπιφάνεια είναι τέτοια, ώστε οι υδρόφιλες ομάδες των αμινοξέων να είναι σε επαφή με το νερό και οι υδρόφοβες ομάδες τους με τη λιπαρή φάση αντίστοιχα. Μία πρωτεΐνη είναι κατάλληλη για χρήση ως γαλακτωματοποιητής, όταν έχει σχετικά χαμηλό μοριακό βάρος, ισορροπημένη σύνθεση αμινοξέων από άποψη φορτίων, πολικών και μη πολικών ομάδων, καλή

υδατοδιαλυτότητα, καλά ανεπτυγμένη επιφανειακή υδροφοβικότητα, και σταθερή διαμόρφωση (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2011; McClements, 2005).

1.5. Θρεπτική Αξία Πρωτεϊνών

Ο ανθρώπινος οργανισμός, προκειμένου να λειτουργεί σωστά, έχει ορισμένες ενεργειακές απαιτήσεις οι οποίες καλύπτονται μέσω των πρωτεϊνών, των υδατανθράκων και των λιπαρών σωμάτων. Οι τροφές που λαμβάνει πρέπει να περιέχουν επαρκείς ποσότητες των παραπάνω συστατικών, σε συνάρτηση βέβαια με την ποιότητά τους και τη θερμιδική αξία των τροφίμων.

Όσον αφορά τις πρωτεΐνες, ο ρόλος τους είναι η παροχή αζώτου και αμινοξέων στον οργανισμό. Η πρόσληψη αζώτου από έναν οργανισμό πρέπει να είναι τέτοια, ώστε η πρόσληψη και η αποβολή του από τον οργανισμό να είναι μηδενική (ισοζύγιο αζώτου). Η μεγαλύτερη πρόσληψη αζώτου οδηγεί σε εναπόθεσή του στον οργανισμό, ενώ μικρότερη πρόσληψη οδηγεί σε έλλειψη, η οποία μπορεί να έχει σοβαρές συνέπειες στην υγεία.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, ο ανθρώπινος οργανισμός δεν μπορεί να συνθέσει και τα είκοσι αμινοξέα τα οποία απαιτούνται για τη σύνθεση των πρωτεϊνών. Δέκα από αυτά, που ονομάζονται απαραίτητα αμινοξέα, πρέπει να τα λάβει από την τροφή του. Έτσι, εκτός από το ισοζύγιο του αζώτου, οι πρωτεΐνες που λαμβάνει ο άνθρωπος πρέπει να περιέχουν την κατάλληλη ποσότητα απαραίτητων αμινοξέων, η οποία απαιτείται για την κάλυψη των αναγκών του.

Η θρεπτική αξία του τροφίμου, λοιπόν, ως προς τις πρωτεΐνες έχει να κάνει με την περιεκτικότητά του σε πρωτεΐνη, την ποιότητα των διαθέσιμων πρωτεϊνών και τη διαθεσιμότητα των αμινοξέων (απαραίτητων και μη). Είναι απαραίτητο να σημειωθεί ότι η απορρόφηση των πρωτεϊνών και των αμινοξέων που λαμβάνει ο άνθρωπος από τη διατροφή του δεν είναι πάντα πλήρης, γεγονός που πρέπει να λαμβάνεται υπόψιν σε ένα ισορροπημένο διαιτολόγιο.

Ο προσδιορισμός της ποιότητας, δηλαδή της θρεπτικής αξίας, των πρωτεϊνών γίνεται μέσω ορισμένων δεικτών, κυριότεροι από τους οποίους είναι οι εξής:

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

$$BV = \frac{Συγκρατούμενο\ Άζωτο\ N}{Απορροφούμενο\ Άζωτο\ N} \cdot 100$$

Όσο η βιολογική αξία πλησιάζει το 100, τόσο καλύτερη είναι η πρωτεΐνη.

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

$$PER = \frac{Αύξηση\ Σωματικού\ Βάρους}{Βάρος\ Καταναλωθείσας\ Πρωτεΐνης}$$

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

Οι δύο παραπάνω δείκτες, βιολογική αξία και συντελεστής αποτελεσματικότητας, χρησιμοποιούνται συνήθως μαζί για την εκτίμηση της ποιότητας μίας πρωτεΐνης. Όταν οι τιμές των δεικτών κυμαίνονται σε $BV = 85 - 98$, $PER = 2.5$, τότε η πρωτεΐνη είναι καλής ποιότητας.

Άλλοι δείκτες που προσδιορίζουν την ποιότητα των πρωτεϊνών είναι:

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

$$NPU = \frac{Συγκρατούμενο\ Άζωτο\ N}{Άζωτο\ N\ Τροφίμου} \cdot 100$$

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

$$NPR = \frac{(Αύξηση\ Βάρους\ από\ Πρωτεϊνική\ Διατροφή\ [g] + Μείωση\ Βάρους\ από\ μη\ Πρωτεϊνική\ Διατροφή\ [g])}{Κατανάλωση\ Πρωτεΐνης\ [g]}$$

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

$$RNV = \frac{Κλίση\ Καμπύλης\ Αύξησης - Κατανάλωση\ Πρωτεΐνης}{Κλίση\ καμπύλης\ Αύξησης\ Βάρους - Κατανάλωση\ Γαλακτοαλβουμίνης}$$

Η θρεπτική αξία των πρωτεϊνών υπολογίζεται και με χημικές μεθόδους, όπου προσδιορίζεται η ποσότητα των περιεχόμενων αμινοξέων. Κυριότεροι χημικοί δείκτες ποιότητας των πρωτεϊνών είναι οι ακόλουθοι:

- *Χημική βαθμολόγηση* (Chemical Score, CS):

$$CV\ \left[\frac{mg}{g\ \pi\rho\omega\tau\epsilon\ddot{\iota}\nu\eta\varsigma}\right] = \frac{\Pi o\sigma\acute{o}\tau\eta\tau\alpha\ \Pi\epsilon\rho\iota o\rho\iota\sigma\tau\iota\kappa o\acute{\upsilon}\ \Alpha\mu\iota\nu o\xi\acute{\epsilon}o\varsigma\ \tau\eta\varsigma\ E\xi\epsilon\tau\alpha\zeta\acute{o}\mu\epsilon\nu\eta\varsigma\ \Pi\rho\omega\tau\epsilon\ddot{\iota}\nu\eta\varsigma}{\Pi o\sigma\acute{o}\tau\eta\tau\alpha\ \tau o\upsilon\ \acute{\iota}\delta\iota o\upsilon\ \Alpha\mu\iota\nu o\xi\acute{\epsilon}o\varsigma\ \sigma\tau o\ \Pi\rho\acute{o}\tau\upsilon\pi o\ \tau o\upsilon\ FAO}$$

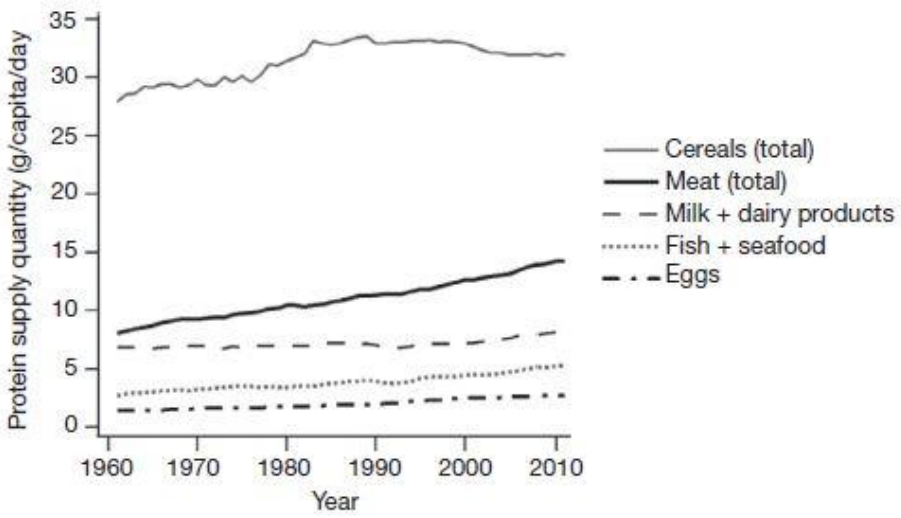
- *Πρωτεϊνική βαθμολόγηση* (Protein Score, PS):

$$PS\ \left[\frac{mg}{g\ \pi\rho\omega\tau\epsilon\ddot{\iota}\nu\eta\varsigma}\right] = \frac{(\Pi o\sigma\acute{o}\tau\eta\tau\alpha\ \Pi\epsilon\rho\iota o\sigma\tau\iota\kappa o\acute{\upsilon}\ \Alpha\mu\iota\nu o\xi\acute{\epsilon}o\varsigma\ \tau\eta\varsigma\ E\xi\epsilon\tau\alpha\zeta\acute{o}\mu\epsilon\nu\eta\varsigma\ \Pi\rho\omega\tau\epsilon\ddot{\iota}\nu\eta\varsigma)}{\Pi o\sigma\acute{o}\tau\eta\tau\alpha\ \tau o\upsilon\ \acute{\iota}\delta\iota o\upsilon\ \Alpha\mu\iota\nu o\xi\acute{\epsilon}o\varsigma\ \sigma\tau\eta\nu\ \Pi\rho\omega\tau\epsilon\ddot{\iota}\nu\eta\ \tau o\upsilon\ \Alpha\upsilon\gamma o\acute{\upsilon}\ K\acute{o}\tau\alpha\varsigma}$$

1.6. Πηγές Πρωτεϊνών

Τα τρόφιμα που αποτελούν πηγή πρωτεϊνών χωρίζονται σε δύο βασικές κατηγορίες. Στην πρώτη ανήκουν τα ζωικής προέλευσης τρόφιμα στα οποία περιλαμβάνονται το κρέας, τα πουλερικά, τα γαλακτοκομικά προϊόντα (γάλα, γιαούρτι, τυρί), τα αυγά και τα θαλασσινά. Η δεύτερη κατηγορία τροφίμων είναι τα φυτικά τρόφιμα όπως τα δημητριακά (σιτάρι, κριθάρι, βρώμη κ.α.), τα όσπρια (φακές, ρεβίθια, μπιζέλια κ.α.), οι ξηροί καρποί (αμύγδαλα, καρύδια κ.α.), τα λαχανικά (μπιζέλι, πατάτα κ.α.) και οι ελαιούχοι σπόροι (σόγια, ελαιοκράμβη κ.α.). Συγκρίνοντας τις δύο παραπάνω κατηγορίες, έχει αποδειχθεί ότι οι πρωτεΐνες που προέρχονται από ζωικές πηγές είναι υψηλότερες ποιοτικά, καθώς περιέχουν μεγαλύτερο ποσοστό απαραίτητων αμινοξέων.

Παρόλο που τα ζωικής προέλευσης τρόφιμα περιέχουν ποιοτικά καλύτερες πρωτεΐνες, κύρια πηγή πρωτεΐνης για τον άνθρωπο αποτελούν τα δημητριακά. Το γεγονός αυτό είναι αναμενόμενο, ιδιαίτερα στον ανεπτυγμένο κόσμο, καθώς το μεγαλύτερο μέρος της διατροφής των ανθρώπων αποτελείται από σιτηρά. Πιο συγκεκριμένα, κατά μέσο όρο, η ημερήσια πρόσληψη πρωτεΐνης από δημητριακά ξεπερνά τα 30 g ανά άτομο, σε αντίθεση με την ημερήσια πρόσληψη πρωτεΐνης από κρέας που είναι μικρότερη από 15 g ανά άτομο (Τζιά, Ταούκης, & Ωραιοπούλου, 2009; Day, 2016).



Εικόνα 1-4. Παρεχόμενη ποσότητα πρωτεϊνών των τροφίμων (g/άτομο/ημέρα) τις προηγούμενες δεκαετίες (Βλάσσης, 2019).

1.6.1. Ζωικής Προέλευσης Τρόφιμα

Από τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης, το κρέας είναι εκείνο που καταλαμβάνει την πρώτη θέση σε πρόσληψη πρωτεϊνών στην ανθρώπινη διατροφή. Διακρίνονται δύο κατηγορίες κρέατος. Η πρώτη κατηγορία είναι εκείνη του «κόκκινου κρέατος», δηλαδή το κρέας από αγελάδα, χοίρο, αρνί κ.α., ενώ η δεύτερη είναι εκείνη του «λευκού κρέατος», δηλαδή το κρέας πουλερικών. Το κρέας αποτελείται από σκελετικούς μύες, που στην άπαχη μορφή τους περιέχουν περίπου 18 - 20% πρωτεΐνες σε υγρή βάση. Το κολλαγόνο και η ζελατίνη είναι οι δύο σημαντικότερες πρωτεΐνες που περιλαμβάνει το κρέας και είναι πολύ σημαντικές για τον ανθρώπινο οργανισμό. Εν τούτοις πρέπει να σημειωθεί ότι η κατανάλωση κόκκινου κρέατος πρέπει να είναι περιορισμένη, καθώς παρόλο που περιέχει καλής θρεπτικής αξίας πρωτεΐνες, περιέχει και μεγάλες ποσότητες ζωικού λίπους.

Το γάλα είναι μία ακόμη ζωική πηγή πρωτεϊνών. Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη στο αγελαδινό γάλα ανέρχεται σε 3 - 4%, με κυριότερα κλάσματα την καζεΐνη και τις πρωτεΐνες του ορού γάλακτος, δηλαδή τις γαλακτοαλβουμίνες και τις γαλακτογλοβουλίνες, με την καζεΐνη να ανέρχεται στο 80% τις συνολικής πρωτεΐνης. Οι πρωτεΐνες του γάλακτος χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων, και ως πρόσθετα σε προϊόντα, λόγω της πολύ καλής θρεπτικής τους αξίας.

Το γάλα αποτελεί την πρώτη ύλη για την παραγωγή γιαουρτιού και τυριού, τρόφιμα που επίσης αποτελούν πήγες πρωτεϊνών. Η περιεκτικότητα του γιαουρτιού σε πρωτεΐνες μπορεί να ανέλθει μέχρι και 10%, ποσοστό που εξαρτάται από το είδος του. Στις περίπτωση των τυριών η περιεκτικότητα ποικίλει ανάλογα με το είδος του τυριού, και το

είδος του γάλακτος από το οποίο προέρχεται. Ένα παράδειγμα είναι το τυρί cottage η περιεκτικότητα του οποίου σε πρωτεΐνη ανέρχεται στο 10%.

Το αυγό που προέρχεται από την όρνιθα αποτελεί μία σημαντική πηγή πρωτεΐνης καθώς η περιεκτικότητά του ανέρχεται σε 12%. Το αυγό αποτελείται από δύο μέρη, το λεύκωμα, που αποτελεί περίπου το 65% του αυγού, και τον κρόκο, που αποτελεί το 35%. Οι κύριες πρωτεΐνες που περιέχει το λεύκωμα του αυγού είναι οι ωοαλβουμίνες (54%), οι ωοτρανσφερρίνες (12%), οι ωομυκοειδές (11%), οι ωομυκίνες (3.5%) και οι λυσοζύμες (3.5%), ενώ ο κρόκος περιέχει λιποβιτελλενίνες (36%), λιβετίνες (38%), φωσφοροπρωτεΐνες (8%) και λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας (17%).

Τα θαλασσινά, δηλαδή τα ψάρια, τα οστρακοειδή και τα μαλάκια, είναι πλούσια σε πρωτεΐνες. Θεωρούνται καλή πηγή πρωτεϊνών καθώς περιέχουν όλα τα απαραίτητα αμινοξέα σε καλές και ισορροπημένες ποσότητες, ωστόσο οι πρωτεΐνες τους είναι πιο ευάλωτες σε αλλοιώσεις (μετουσίωση) σε σχέση με εκείνες των θηλαστικών. Η περιεκτικότητα των ψαριών σε πρωτεΐνη ανέρχεται σε 10 - 20% στα περισσότερα είδη (Τζιά, Ταούκης, & Ωραιοπούλου, 2009; Day, 2016).

1.6.2. Φυτικής Προέλευσης Πρωτεΐνες

Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες των φυτικής προέλευσης πρωτεϊνών και αμινοξέων ποικίλλουν σημαντικά μεταξύ των οικογενειών, των γενών, των ειδών και των ποικιλιών. Εξαρτώνται από το στάδιο ανάπτυξης του φυτού, καθώς και από το τμήμα του ιστού που βρίσκεται υπό ανάλυση.

Όπως προαναφέρθηκε, τα δημητριακά αποτελούν τη μεγαλύτερη πηγή πρωτεΐνης στην ανθρώπινη διατροφή. Το σιτάρι είναι το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο δημητριακό, και η περιεκτικότητά του σε πρωτεΐνη κυμαίνεται από 6 - 20%, ανάλογα με την ποικιλία του σπόρου. Οι κυριότερες πρωτεΐνες από τις οποίες αποτελείται το σιτάρι είναι οι πρωτεΐνες γλουτένης, δηλαδή η γλοιαδίνη (ή προλαμίνη) και η γλουτενίνη. Η γλουτένη έχει τη μοναδική ιδιότητα να σχηματίζει μία ελαστική και συνεκτική μάζα/ζυμάρι, η οποία ονομάζεται πλέγμα της γλουτένης, όταν διαβραχεί με νερό. Εκτός από το σιτάρι, άλλα ευρέως χρησιμοποιούμενα δημητριακά είναι το κριθάρι, με την περιεκτικότητά του σε πρωτεΐνη να κυμαίνεται από 8 - 15%, το καλαμπόκι, 9 - 12% και το ρύζι, 7 - 9%. Πρέπει να σημειωθεί ότι οι πρωτεΐνες των δημητριακών θεωρούνται χαμηλής θρεπτικής αξίας, κυρίως λόγω της έλλειψης της λυσίνης, που είναι ένα από τα δέκα απαραίτητα αμινοξέα (παράγραφος 1.1).

Τα λαχανικά περιέχουν μικρές ποσότητες πρωτεϊνών σε σχέση με τα δημητριακά. Η κατά μέσο όρο περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες για τα κυριότερα νωπά λαχανικά είναι: τα καρότα 1%, οι πατάτες και τα σπαράγγια 2% και το μπιζέλι 6.5%.

Οι ελαιούχοι σπόροι περιέχουν μεγάλες ποσότητες πρωτεϊνών, που ξεπερνούν το 15%. Για παράδειγμα οι σπόροι ελαιοκράμβης περιέχουν 17 - 26% πρωτεΐνες, οι αποφλοιωμένοι σπόροι ηλίανθου 20 - 40%, ενώ η σόγια 25 - 45%. Ωστόσο, πολλοί ελαιούχοι σπόροι περιέχουν αντιθρεπτικούς παράγοντες, όπως για παράδειγμα στη σόγια οι αναστολείς τρυψίνης, οι οποίοι μειώνουν τη θρεπτική τους αξία. Ωστόσο, οι παράγοντες αυτοί καταστρέφονται ή αδρανοποιούνται με κατάλληλη θερμική κατεργασία. Πρέπει να σημειωθεί ότι από τους ελαιούχους σπόρους με κατάλληλες τεχνικές παραλαμβάνονται πρωτεϊνικά προϊόντα, όπως πρωτεϊνικά άλευρα, συμπυκνώματα ή υπερσυμπυκνώματα, τα οποία χρησιμοποιούνται ως πρόσθετα σε πολλά τρόφιμα (Τζιά, Ταούκης, & Ωραιοπούλου, 2009).

2. Σόγια

Ιστορικά και γεωγραφικά στοιχεία δείχνουν ότι η σόγια προέρχεται από τη βόρεια Κίνα, όπου έγινε η βάση για δημιουργία πολλών τροφίμων, όπως tofu, ρόφημα σόγιας κ.α. Ανήκει στην οικογένεια Leguminosae και στην υποοικογένεια Papilionaceae. Η καλλιεργούμενη σόγια είναι γνωστή και ως Glycine max (L.) Merrill και ανήκει στο γένος Glycine και στο υπογένος Soja. Προσαρμόζεται σε ένα ευρύ φάσμα εδαφών και κλίματος, γεγονός που καθιστά εύκολη την καλλιέργειά της. Ωστόσο, οι συνθήκες καλλιέργειάς της καθορίζουν το χρόνο ανάπτυξής της (Pratap, Gupta, Kumar, Mehandi, & Pandey, 2016; Liu, 2005).

Ο σπόρος της σόγιας αποτελείται από τρία μέρη: το φλοιό, τον άξονα του εμβρύου και τα κοτυληδονικά κύτταρα των οποίων οι περιεκτικότητες στο σπόρο είναι περίπου 8% φλοιός, 90% κοτυληδονικά κύτταρα και 2% άξονας του εμβρύου. 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.

Η σόγια αποτελεί πηγή πρωτεϊνών και ελαίου λόγω της μεγάλης περιεκτικότητάς της σε αυτά τα συστατικά. Κατά μέσο όρο, περιέχει περίπου 40% πρωτεΐνη, 20% έλαιο, 35% υδατάνθρακες και 5% τέφρα σε ξηρή βάση (πίνακας 2-1). Τα παραπάνω στοιχεία δείχνουν ότι η σόγια έχει μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες από τα δημητριακά, και τη δεύτερη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε έλαιο από τα όσπρια (Liu, 2005; Dorndos & Mullen, 2006).

Πίνακας 2-1. Περιεκτικότητα βασικών συστατικών σόγιας (Liu, 2005)

Συστατικά	*Περιεκτικότητα [%]*	*Συνήθης Περιεκτικότητα [%]*
Πρωτεΐνες	30 - 50	40
Έλαιο	12 - 30	20
Υδατάνθρακες	26 - 38	35
Τέφρα	4.61 - 5.94	5

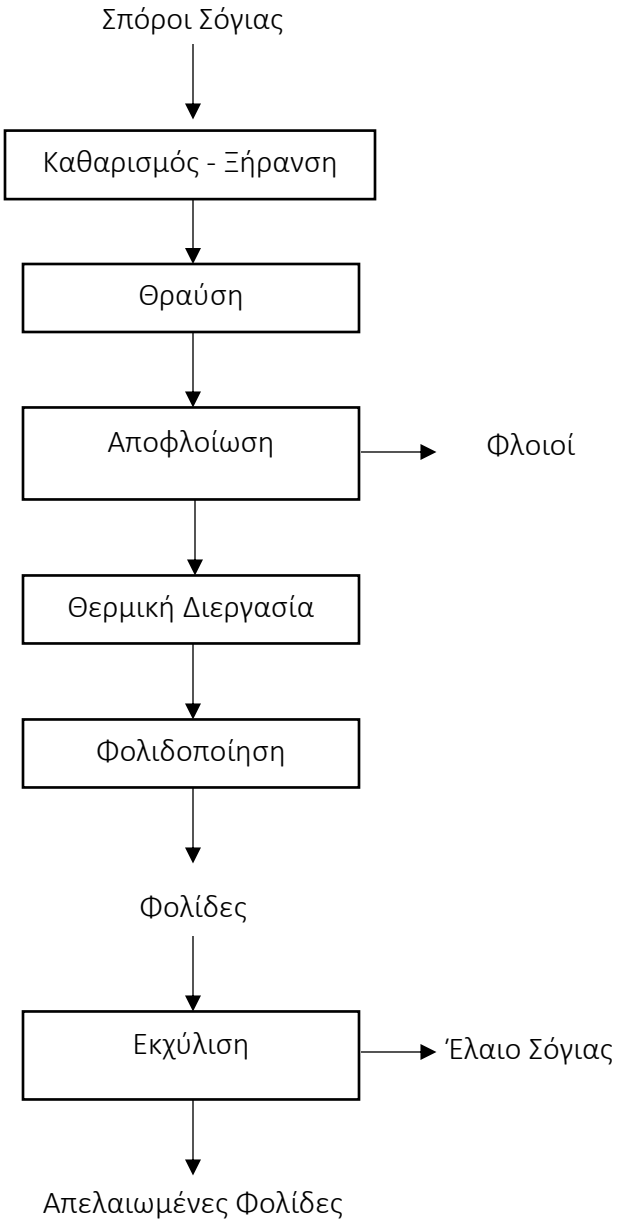
Η σόγια έχει χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή μίας μεγάλης γκάμας προϊόντων. Μεταξύ των ελαιούχων σπόρων, η σόγια έχει το μεγαλύτερο μερίδιο παραγωγής (53%) ακολουθούμενη από την ελαιοκράμβη (15%), το βαμβακόσπορο (10%) και την αραχίδα (9%). Αποτελεί μία από της μεγαλύτερες πηγές βρώσιμου ελαίου στον κόσμο (σογιέλαιο), χρησιμοποιείται για την παραγωγή ή τον εμπλουτισμό τροφίμων. Το υπόλειμμα της εκχύλισης του ελαίου χρησιμοποιείται κατά κύριο λόγω ως πρόσθετο σε ζωοτροφές λόγω της μεγάλης περιεκτικότητάς του σε πρωτεΐνη (Clemente & Cahoon, 2009; Liu, 2005).

Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι η σόγια περιέχει συστατικά τα οποία προάγουν την υγεία. Έχει αποδειχθεί ότι συμβάλλουν στη μείωση της ολικής χοληστερόλης, καθώς και της χοληστερόλης χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (LDL), και περιέχουν αντικαρκινικούς και αντιοξειδωτικούς παράγοντες. Ειδικότερα, η τακτική κατανάλωση σόγιας μπορεί να συμβάλει στη μείωση εμφάνισης καρδιακών παθήσεων, στην πρόληψη του καρκίνου του μαστού και του προστάτη, στη βελτίωση της μνήμης και των οστών. Πολλά από τα συστατικά της σόγιας έχει αποδειχθεί ότι συμβάλλουν στα παραπάνω, ωστόσο κάποια από τα σημαντικότερα είναι τα παρακάτω: οι ισοφλαβόνες, η λεκιθίνη, οι σαπωνίνες, οι λεκτίνες, οι ολιγοσακχαρίτες και οι σφαιρίνες (πρωτεΐνες αποθήκευσης στη σόγια), έχουν αναγνωριστεί ως βασικά συστατικά για την προαγωγή της υγείας. Τα περισσότερα από αυτά τα συστατικά είναι γνωστά και ως αντικαταθλιπτικοί παράγοντες (Liu, 2005).

Η σόγια δεν μπορεί να καταναλωθεί από τον άνθρωπο αν δεν έχει υποστεί κατάλληλη επεξεργασία. Ο λόγος είναι η ύπαρξη αντιθρεπτικών παραγόντων, δηλαδή η παρουσία ενδογενών αναστολέων των πεπτικών ενζύμων (π.χ. αναστολείς τρυψίνης) και λεκτινών. Ωστόσο, η αδρανοποίηση των παραγόντων αυτών πραγματοποιείται απλά μέσω θερμικής επεξεργασίας (Liu, 2005; Riaz M. , 2015).

2.1. Επεξεργασία Σπόρων

Οι σπόροι της σόγιας μετά τη συγκομιδή τους υφίστανται μία σειρά διεργασιών, παράγοντας επιμέρους συστατικά, καθένα από τα οποία έχει διαφορετική χρήση. Οι κύριες διεργασίες που ακολουθούνται είναι οι εξής: καθαρισμός, ξήρανση, θραύση, αποφλοίωση, θερμική διεργασία, φολιδοποίηση, εκχύλιση των φολίδων και άλεση.



Διάγραμμα 2-1. Διάγραμμα ροής επεξεργασίας σπόρων Σόγιας.

2.1.1. Καθαρισμός

Ο καθαρισμός των σπόρων της σόγιας πραγματοποιείται πάνω σε κόσκινα υπό αναρρόφηση αέρα προκειμένου να απομακρυνθούν σκόνη, πέτρες και ξένα σώματα με μικρό βάρος. Τα μεγαλύτερα ξένα σώματα, όπως μεταλλικά σώματα κ.α., απομακρύνονται σταδιακά, κυρίως μέσω μαγνητικού διαχωριστή. Ο καθαρισμός είναι σημαντικός για την παραγωγή προϊόντων υψηλής ποιότητας, καθώς και για την προστασία του μετέπειτα εξοπλισμού (Riaz M. , 2015).

2.1.2. Ξήρανση

Το επόμενο βήμα μετά τον καθαρισμό είναι η ξήρανση των σπόρων. Οι σπόροι της σόγιας ξηραίνονται σε ξηραντήρες σιτηρών, ώστε η υγρασία του να φτάσει στο 10%. Η θερμοκρασία του ξηραντήρα βρίσκεται μεταξύ 70 και 76°C, προκειμένου να είναι εφικτό το επιθυμητό επίπεδο υγρασίας. Κατά τη διεργασία αυτή απαιτείται ομοιόμορφη ξήρανση των σπόρων, παράγοντας καθοριστικός για τη διαδικασία της αποφλοίωσης. Μετά την ξήρανση οι σπόροι αποθηκεύονται για περίπου 72 h, ώστε να σταθεροποιηθεί η υγρασία τους. Οι αποξηραμένοι σπόροι συνήθως καθαρίζονται εκ νέου για να απομακρυνθούν τυχόν εναπομείναντα ξένα υλικά και σώματα (Riaz M. , 2015).

2.1.3. Θραύση – Αποφλοίωση

Μετά την ξήρανση ακολουθεί η θραύση και η αποφλοίωση των σπόρων. Η αφαίρεση των φλοιών πριν την επεξεργασία αυξάνει την περιεκτικότητα των τελικών προϊόντων σε πρωτεΐνες. Η θραύση των σπόρων πραγματοποιείται σε θραυστήρες, ώστε οι σπόροι να φτάσουν σε μέγεθος που να καθιστά την αποφλοίωση ευκολότερη. 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, ωστόσο ο πλήρης διαχωρισμός τους δεν είναι εφικτός (Riaz M. , 2015).

2.1.4. Θερμική Διεργασία

Οι θραυσμένοι και αποφλοιωμένοι σπόροι κλιματίζονται σε φούρνους με ατμό περίπου στους 70 °C. Μπορεί να προστεθούν μικρές ποσότητες νερού ώστε να φτάσει η υγρασία περίπου στο 11% (επιθυμητό ποσοστό υγρασίας κατά τη φολιδοποίηση). Η σωστή θερμική διεργασία και ρύθμιση της υγρασίας, βοηθούν στη διάρρηξη των κυτταρικών μεμβρανών

κατά τη διάρκεια της φολιδοποίησης, ώστε να μπορεί μετέπειτα να είναι ευκολότερη η εκχύλιση του ελαίου. Ο κύριος λόγος της θερμικής διεργασίας είναι η διευκόλυνση της φολιδοποίησης (Riaz M. , 2015).

2.1.5. Φολιδοποίηση

Προκειμένου να είναι εύκολη η διαδικασία εκχύλισης του ελαίου 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 για μία φολίδα είναι από 0.25 ως και 0.35 mm. Το πάχος αυτών των φολίδων εξαρτάται από το μέγεθος των θραυσμένων σπόρων, την προετοιμασία και τη ρύθμιση των κυλίνδρων φολιδοποίησης (Riaz M. , 2015).

2.1.6. Εκχύλιση Φολίδων

Οι φολίδες τροφοδοτούνται σε ένα στιγμιαίο εξατμιστήρα, όπου εμποτισμένες με διαλύτη φολίδες οδηγούνται από τον εκχυλιστήρα, μέσω υπέρθερμου ατμού με μεγάλη ταχύτητα, σε ένα 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 ατμός απομακρύνει τον υπολειπόμενο υγρό διαλύτη και οι απελαιωμένες φολίδες συλλέγονται σε ένα κυκλώνα (Riaz M. , 2015).

2.1.7. Άλεση

Οι απελαιωμένες φολίδες αλέθονται σε σφυρόμυλο ή κρουστικό θραυστήρα προς άλευρα. Στη συνέχεια διαχωρίζονται ανάλογα με το μέγεθος των σωματιδίων με κόσκινα. Τα μη απελαιωμένα προϊόντα είναι δύσκολο να κονιοποιηθούν ή να κοσκινιστούν. Αυτοί οι τύποι αλεύρων χρησιμοποιούνται στο ψωμί για τη λεύκανση του αλεύρου σίτου και την προετοιμασία του ζυμαριού (Riaz M. , 2015).

2.2. Πρωτεΐνες Σόγιας

Το κύριο θρεπτικό συστατικό που υπάρχει στη σόγια είναι οι πρωτεΐνες. Οι πρωτεΐνες της σόγιας έχουν αναγνωριστεί για τη διατροφή και λειτουργική αξία και χρησιμοποιούνται

σήμερα σε μεγάλο βαθμό στην παραγωγή και επεξεργασία τροφίμων, καθώς και ως πρόσθετα σε ζωοτροφές (Monteiro & Lopes-da-Silva, 2019; Liu, 2005).

Πίνακας 2-2. Περιεκτικότητα αμινοξέων των πρωτεϊνών στους σπόρους της σόγιας (Liu, 2005).

Αμινοξέα		Περιεκτικότητα [g / 100 g σόγιας]	Συνήθης Περιεκτικότητα [g/ 100 g σόγιας]
Μη Απαραίτητα	Αλανίνη	1.49 - 1.87	1.69
	Αργινίνη	2.45 - 3.49	2.9
	Ασπαρτικό οξύ	3.87 - 4.98	4.48
	Γλουταμινικό οξύ	6.10 - 8.72	7.26
	Γλυκίνη	1.88 - 2.02	1.69
	Κυστεΐνη	0.56 - 0.66	0.6
	Προλίνη	1.88 - 2.61	2.02
	Σερίνη	1.81 - 2.32	2.07
Απαραίτητα	Ιστιδίνη	0.88 - 1.08	1.04
	Ισολευκίνη	1.46 - 2.12	1.76
	Λευκίνη	2.71 - 3.20	3.03
	Λυσίνη	2.35 - 2.86	2.58
	Μεθειονίνη	0.49 - 0.66	0.54
	Φαινυλαλανίνη	1.70 - 2.08	1.95
	Θρεονίνη	1.33 - 1.79	1.58
	Τρυπτοφάνη	0.47 - 0.54	0.49
	Τυροσίνη	1.12 - 1.62	1.43
	Βαλίνη	1.52 - 2.24	1.83

Με βάση τη βιολογική τους λειτουργία οι πρωτεΐνες της σόγιας χωρίζονται σε δύο κατηγορίες: τις μεταβολικές πρωτεΐνες και τις πρωτεΐνες αποθήκευσης. Οι μεταβολικές πρωτεΐνες περιλαμβάνουν ένζυμα και δομικές πρωτεΐνες, ενώ οι πρωτεΐνες αποθήκευσης συντίθενται κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης των σπόρων και αποτελούν την πλειοψηφία των πρωτεϊνών της σόγιας.

Οι πρωτεΐνες ταξινομούνται σε κατηγορίες και ανάλογα με τη διαλυτότητά τους, σε αλβουμίνες και γλοβουμίνες. Οι αλβουμίνες είναι διαλυτές στο νερό, ενώ οι γλοβουμίνες είναι διαλυτές σε διαλύματα αλάτων. Οι πρωτεΐνες της σόγιας ανήκουν κατά κύριο λόγο στην κατηγορία των γλοβουμινών. Οι γλοβουμίνες μπορούν να διαχωριστούν περαιτέρω σε γλυκινίνες, γνωστές και ως πρωτεΐνες 11S, και β - συνγλυκινίνες, γνωστές και ως πρωτεΐνες 7S, οι οποίες εμφανίζουν μεγαλύτερη διαλυτότητα σε διαλύματα άλατος σε σχέση με τις γλυκινίνες. Τα κλάσματα πρωτεϊνών 11S και 7S αποτελούν τα δύο κύρια κλάσματα πρωτεϊνών της σόγιας. Στη σόγια υπάρχουν άλλα δύο κλάσματα πρωτεϊνών, το 15S, που είναι ένα διμερές γλυκινίνης, και το 2S, που περιέχει τους αναστολείς της τρυψίνης και άλλα ένζυμα μικρού μοριακού βάρους.

Η εναπόθεση γλυκινίνης στους σπόρους της σόγιας λαμβάνει χώρα μεταξύ 40 και 90 ημερών μετά την ανθοφορία, ενώ η β-συνγλυκινίνη συντίθεται 5 ημέρες νωρίτερα. Υπό κανονικές συνθήκες, η γλυκινίνη και η συνγλυκινίνη υπάρχουν ως ετερογενή σύμπλοκα πολυμερούς πρωτεΐνης, που σχηματίζονται από πολλαπλές υπομονάδες με μοριακή μάζα 360 kDa για τη γλυκινίνη και 180 kDa για τη συνγλυκινίνη. Η αναλογία γλυκινίνης προς συνγλυκινίνη σε ένα πρωτεϊνικό προϊόν ποικίλει ανάλογα με την ποικιλία της σόγιας, τις συνθήκες ανάπτυξης και επεξεργασίας της. Επιπλέον, η αναλογία γλυκινίνης και συνγλυκινίνης μπορεί να επηρεάσει τις λειτουργικές και θρεπτικές ιδιότητες των πρωτεϊνικών προϊόντων της σόγιας (Liu, 2005; Murphy, 2008; Riaz M. , 2006).

Οι πρωτεΐνες της σόγιας θεωρούνται ανεπαρκείς σε αμινοξέα που περιέχουν θείο, ωστόσο περιέχει και τα 10 απαραίτητα αμινοξέα, που αποτελούν απαραίτητα θρεπτικά συστατικά για τη διατροφή ανθρώπων και ζώων. Αξίζει να σημειωθεί ότι τα περισσότερα από τα απαραίτητα αμινοξέα υπάρχουν σε ποσότητες που ταιριάζουν απόλυτα με εκείνες που απαιτούνται για ανθρώπους ή ζώα. Όλα τα παραπάνω δικαιολογούν το γεγονός ότι οι πρωτεΐνες της σόγιας θεωρείται ότι έχουν σχεδόν ισοδύναμη ποιότητα με εκείνες που προέρχονται από ζωικά τρόφιμα. (Liu, 2005)

Παρόλο που οι πρωτεΐνες της σόγιας περιέχουν όλα τα απαραίτητα αμινοξέα, παλαιότερα θεωρούνταν χαμηλότερης ποιότητας σε σχέση με τις ζωικές πρωτεΐνες. Το παραπάνω γεγονός οφείλεται στο ότι οι πρωτεΐνες αξιολογούνταν με μία παλαιότερη μέθοδο αξιολόγησης των πρωτεϊνών, την αναλογία πρωτεϊνικής αποτελεσματικότητας (PER), η οποία βασίζεται στους ρυθμούς ανάπτυξης των πειραματόζωων, όπως μετρήθηκαν σε εργαστηριακές δοκιμές. Ωστόσο, τα πειραματόζωα απαιτούν 50% περισσότερη μεθειονίνη (ένα από τα αμινοξέα που απαντώνται στη σόγια) από ότι οι άνθρωποι, καθιστώντας αυτή τη συγκεκριμένη μέθοδο ακατάλληλη για την αξιολόγηση της ποιότητας της πρωτεΐνης σόγιας για ανθρώπινη κατανάλωση. Προκειμένου να αντισταθμιστούν οι ελλείψεις των αξιολογήσεων PER, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας των Ηνωμένων Εθνών και η Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων των Η.Π.Α. υιοθέτησαν μία νέα μέθοδο για την αξιολόγηση της ποιότητας των πρωτεϊνών, που ονομάζεται βαθμολογία αμινοξέων (PDCAAS). Αυτή η μέθοδος συγκρίνει τα αμινοξέα μίας πρωτεΐνης, με την ανθρώπινη

απαίτηση σε αυτά τα αμινοξέα και ένα παράγοντα για την πεπτικότητά τους, ώστε να φθάσει σε μία τιμή για την ποιότητα μιας πρωτεΐνης. Χρησιμοποιώντας τη νέα μέθοδο PDCAAS, τα πρωτεϊνικά προϊόντα της σόγιας γενικά λαμβάνουν βαθμολογίες μεταξύ 0.95 και 1.00, δηλαδή την υψηλότερη δυνατή τιμή. (Liu, 2005)

Οι πρωτεΐνες της σόγιας εμφανίζουν υψηλή ικανότητα απορρόφησης νερού και ελαίου, γεγονός που τις καθιστά κατάλληλες για προσθήκη σε τρόφιμα. Επίσης, είναι κατάλληλες για χρήση σε ζελατινοποίηση και ως γαλακτωματοποιητές, ιδιότητες που εξαρτώνται από τη δομή τους, δηλαδή από τα αμινοξέα από τα οποία αποτελείται το πολυπεπτιδικό μόριο και τη θέση αυτών, και την ευκολία ή δυσκολία μετουσίωσης και συσσωμάτωσής τους. (Monteiro & Lopes-da-Silva, 2019)

2.3. Έλαιο Σόγιας

Κατά την ανάπτυξη των σπόρων της, η σόγια αποθηκεύει τα λιπίδιά της σε οργανίδια, κυρίως με τη μορφή τριγλυκεριδίων. Κατά την επεξεργασία, το έλαιο εξάγεται από τη σόγια με χρήση οργανικών διαλυτών, όπως το εξάνιο. Μετά την εξαγωγή του ελαίου αυτό δεν είναι έτοιμο για βρώση, και ταξινομείται ως ακατέργαστο έλαιο. Τα κύρια συστατικά του ακατέργαστου ελαίου είναι τριγλυκερίδια (ή τριακυλογλυκερόλες), αλλά περιλαμβάνει και φωσφολιπίδια, ασαπωνοποίητο υλικό, ελεύθερα λιπαρά οξέα και ιχνοστοιχεία. Το μη σαπωνοποιήσιμο υλικό αποτελείται από τοκοφερόλες, φυτοστερόλες και υδρογονάνθρακες. Οι συγκεντρώσεις των μικρότερης περιεκτικότητας ενώσεων μειώνονται μετά από τυπικές διεργασίες εξευγενισμού. Έτσι, το εξευγενισμένο σογιέλαιο περιέχει περισσότερο από 99% τριγλυκερίδια. Τα τριγλυκερίδια είναι ουδέτερα λιπίδια, το καθένα από τα οποία αποτελείται από τρία λιπαρά οξέα και μία γλυκερόλη, η οποία συνδέει τα τρία οξέα. Τα λιπαρά οξέα τα οποία περιλαμβάνονται στη σόγια είναι τα εξής: παλμιτικό οξύ, στεατικό οξύ, ελαϊκό οξύ, λινελαϊκό οξύ και λινολενικό οξύ. Η περιεκτικότητα των παραπάνω λιπαρών οξέων στο έλαιο της σόγιας παρουσιάζεται στον πίνακα 2-3 (Liu, 2005; Clemente & Cahoon, 2009).

Πίνακας 2-3. Περιεκτικότητα των κυριότερων συστατικών του ελαίου της σόγιας (Liu, 2005).

Συστατικά	*Περιεκτικότητα [%]*	*Συνήθης Περιεκτικότητα [%]*
Παλμιτικό οξύ	4 -23	11
Στεαρικό οξύ	3 - 30	4
Ελαϊκό οξύ	25 - 86	25
Λινελαϊκό οξύ	25 - 60	53
Λινολενικό οξύ	1 - 15	7

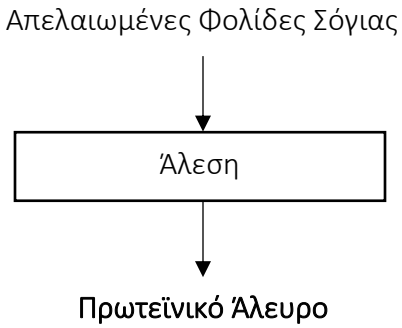
Η σόγια είναι μία από τις λίγες καλές φυτικές πηγές δύο βασικών λιπαρών οξέων, του λινελαϊκού οξέος και του λινολενικού οξέος. Αυτά τα λιπαρά οξέα θεωρούνται απαραίτητα για τον ανθρώπινο οργανισμό, καθώς δεν μπορεί να τα συνθέσει, και άρα πρέπει να τα λάβει μέσω της τροφής του. Εκτός των άλλων το λινολενικό οξύ ανήκει στην κατηγορία των ωμέγα-3 λιπαρών οξέων.

Γενικά, τα κορεσμένα λιπαρά οξέα αυξάνουν τα επίπεδα ολικής χοληστερόλης, ενώ τα μονο- και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα παρουσιάζουν μείωση. Δεδομένου ότι η σόγια είναι απαλλαγμένη από χοληστερόλη, παρουσιάζει χαμηλά επίπεδα κορεσμένων λιπαρών οξέων (περίπου 15% συνολικά) και υψηλά επίπεδα ακόρεστων λιπαρών οξέων (περίπου 85% συνολικά), και θεωρείται υγιεινός έλαιο (Liu, 2005).

2.4. Πρωτεϊνικά Προϊόντα Σόγιας

Τα πρωτεϊνικά προϊόντα της σόγιας προέρχονται κυρίως από το υπόλειμμα εκχύλισης του ελαίου. Πιο συγκεκριμένα, μετά την εκχύλιση απομακρύνεται ο διαλύτης, και οι εναπομείνασες νιφάδες ξηραίνονται, καταλήγοντας σε απελαιωμένες νιφάδες σόγιας. Οι νιφάδες αυτές δεν καταναλώνονται άμεσα, αποτελούν όμως συστατικά πολλών τροφίμων, των οποίων αυξάνουν σημαντικά την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, αλλά ενισχύουν και τις λειτουργικές τους ιδιότητες. Υπάρχουν τρεις κύριοι τύποι πρωτεϊνικών προϊόντων σόγιας: το άλευρο, τα συμπυκνώματα και τα υπερσυμπυκνώματα.

2.4.1. Πρωτεϊνικά Άλευρα

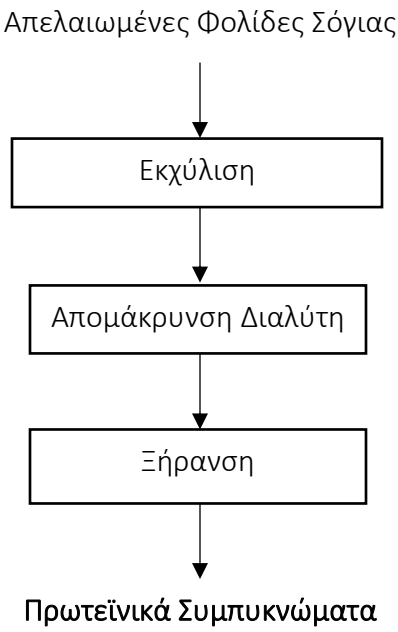


Διάγραμμα 2-2. Διάγραμμα ροής παραλαβής πρωτεϊνικού αλεύρου σόγιας.

Το άλευρο σόγιας είναι το λιγότερο επεξεργασμένο πρωτεϊνικό προϊόν. Υπάρχουν τρεις τύποι αλεύρου: το πλήρους λίπους, το χαμηλής περιεκτικότητας σε λίπους και το

απελαιωμένο. Ωστόσο, το απελαιωμένο είναι το πιο συχνά απαντώμενο. Παράγεται μέσω άλεσης των απελαιωμένων νιφάδων σόγιας, και χρήση είτε ήπιας θέρμανσης, προκειμένου να διατηρηθεί η ενζυμική δράση της σόγιας, είτε εντονότερης θέρμανσης, με σκοπό την εξάλειψη της ενζυμικής δράσης και τη βελτίωση της γεύσης. Η περιεκτικότητα των αλεύρων σε πρωτεΐνη είναι περίπου 50%. Το άλευρο της σόγιας χρησιμοποιείται κυρίως από βιομηχανίες αρτοποιίας (Liu, 2005; Dorndos & Mullen, 2006).

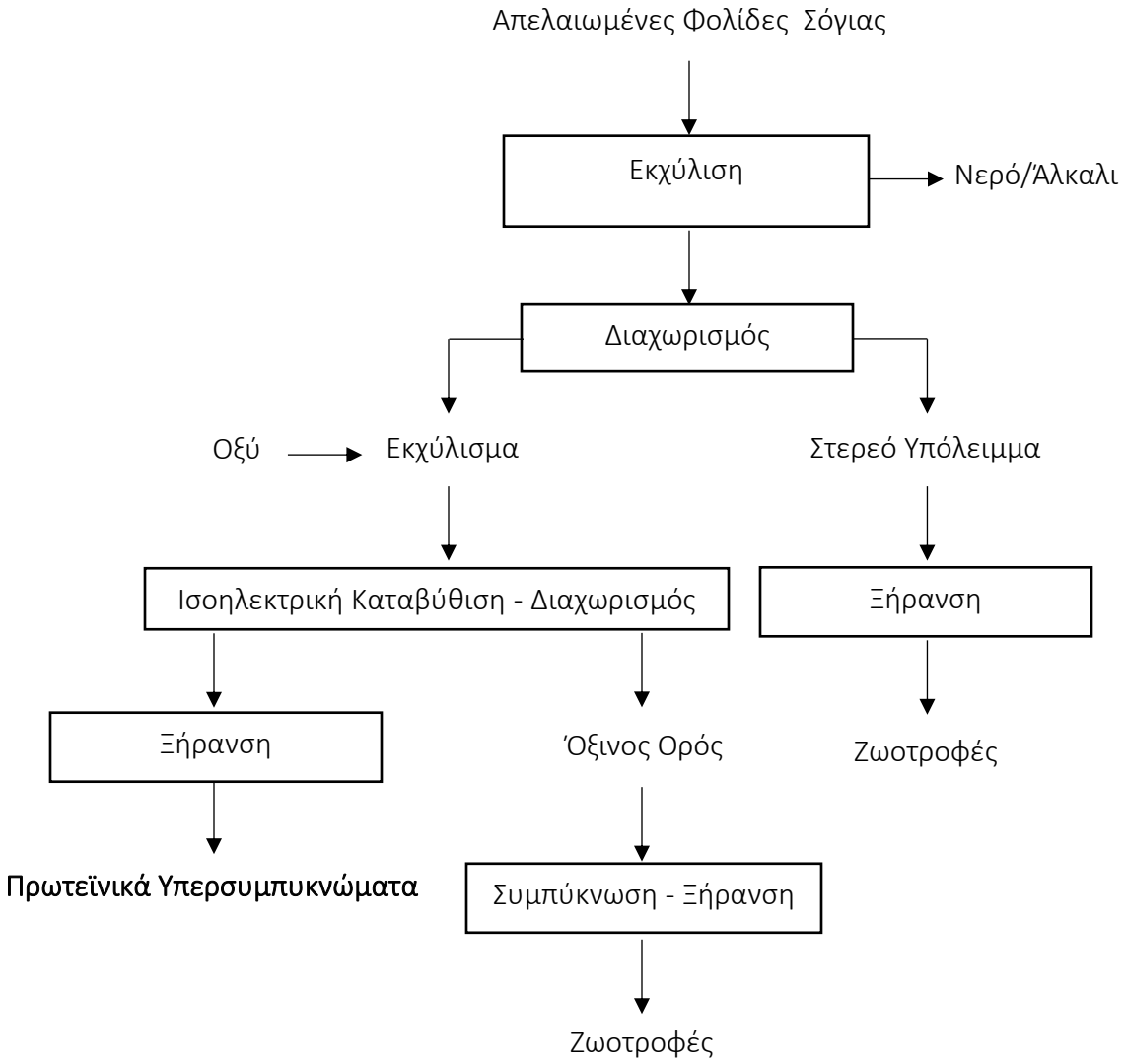
2.4.2. Πρωτεϊνικά Συμπυκνώματα



Διάγραμμα 2-3. Διάγραμμα ροής παραλαβής πρωτεϊνικών συμπυκνωμάτων σόγιας.

Τα συμπυκνώματα πρωτεϊνών σόγιας παράγονται μέσω υδατικής αλκαλικής εκχύλισης, από απελαιωμένες νιφάδες σόγιας, με αποτέλεσμα την απομάκρυνση των διαλυτών σακχάρων. Το προϊόν που προκύπτει έχει περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη περίπου 70%, ενώ το υπόλοιπο μέρος αποτελείται κυρίως από υδατάνθρακες. Εναλλακτικά τα συμπυκνώματα από σόγια μπορούν να παραχθούν και μέσω όξινης έκπλυσης προκειμένου να διατηρηθούν και άλλα συστατικά της σόγιας, όπως τα ισοφλαβονοειδή, καθώς και για την αποφυγή πιθανής μετουσίωσης των πρωτεϊνών. Τα πρωτεϊνικά συμπυκνώματα χρησιμοποιούνται ευρέως στη βιομηχανία κρέατος, λόγω της ικανότητάς τους να δεσμεύουν το νερό, καθώς και ως γαλακτωματοποιητές. Χρησιμοποιούνται, ακόμη, και ως πρόσθετα σε τρόφιμα, όπως τα υποκατάστατα κρέατος (Liu, 2005; Dorndos & Mullen, 2006).

2.4.3. Πρωτεϊνικά Υπερσυμπυκώματα



Διάγραμμα 2-4. Διάγραμμα ροής παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων σόγιας.

Τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα από σόγια παράγονται μέσω αλκαλικής εκχύλισης και στη συνέχεια καταβύθισης στο pI των πρωτεϊνών. Μέσω της διεργασίας αυτής επιτυγχάνεται απομάκρυνση τόσο των διαλυτών, όσο και των αδιάλυτων υδατανθράκων, με αποτέλεσμα το τελικό προϊόν που προκύπτει να έχει περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη περίπου 90%. Το προϊόν αυτό είναι ανοιχτόχρωμο και ελαφρώς αρωματικό. Τα υπερσυμπυκνώματα χρησιμοποιούνται ως συστατικά σε ένα ευρύ φάσμα τροφίμων, όπως τροποποιημένα κρέατα, ανάλογα κρέατος, βάση για σούπες ή σάλτσες, διατροφικά ποτά, βρεφικά προϊόντα κ.α.

Οι λειτουργικές ιδιότητες που εμφανίζουν τα πρωτεϊνικά υπερσυσμπυκνώματα εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από τις παραμέτρους επεξεργασίας της σόγιας. Ειδικότερα, η θερμοκρασία, η ομογενοποίηση και το pH είναι τρεις παράγοντες που καθορίζουν σε μεγάλο βαθμό τη λειτουργικότητα του τελικού προϊόντος. Ωστόσο, αν οι συνθήκες επεξεργασίας είναι κατάλληλες, τα υπερσυμπυκνώματα που προκύπτουν διαθέτουν ποικίλες λειτουργικές ιδιότητες, όπως η διαλυτότητα, η ικανότητα ζελατινοποίησης, και γαλακτωματοποίησης.

Η διαλυτότητα είναι μία από τις βασικότερες ιδιότητες των πρωτεϊνών. Οι πρωτεΐνες της σόγιας εμφανίζουν τη μικρότερη διαλυτότητα κοντά στο ισοηλεκτρικό τους σημείο, δηλαδή σε pH περίπου ίσο με 4.5. Η διαλυτότητά τους αυξάνεται απότομα όσο το pH του διαλύματος απομακρύνεται από το ισοηλεκτρικό τους σημείο, ενώ έχει αποδειχθεί ότι εμφανίζουν μέγιστη διαλυτότητα στο νερό σε pH κοντά στο 7. Η διαλυτότητα των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων σόγιας κυμαίνεται από 10 ως 90%, ποσοστό που εξαρτάται από τις συνθήκες απομόνωσής τους. Ωστόσο, τα υπερσυμπυκνώματα που παράγονται με τη χρήση των βέλτιστων συνθηκών επεξεργασίας εμφανίζουν διαλυτότητα που ξεπερνά το 80%.

Τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα από σόγια εμφανίζουν επίσης την ιδιότητα ζελατινοποίησης. Η προκύπτουσα πηκτή μπορεί να έχει διαφορετικές ιδιότητες ως προς την υφή (μαλακή ή σκληρή) και ως προς την ελαστικότητα (ευθραυστότητα). Οι συνθήκες που επηρεάζουν τις τελικές ιδιότητες της σχηματιζόμενης πηκτής είναι η συγκέντρωση του ζελατινοποιητή, δηλαδή του υπερσυμπυκνώματος, το pH, η θερμοκρασία τόσο κατά τη θέρμανση, όσο και κατά την ψύξη και ο χρόνος κ.α. Προκειμένου να είναι εφικτός ο σχηματισμός πηκτή από πρωτεϊνικά υπεσυμπυκνώματα σόγιας η περιεκτικότητά τους πρέπει να υπερβαίνει το 8%. Σε συγκεντρώσεις υπεσυμπυκνώματων κοντά στο 10%, η πηκτή που σχηματίζεται είναι μαλακή και μη ανθεκτική στη μεταβολή θερμοκρασίας. Με προσθήκη μεγαλύτερης ποσότητας πρωτεΐνης η πηκτή που προκύπτει είναι πιο σταθερή και πιο ανθεκτική στις μεταβολές της θερμοκρασίας. Η ιδιότητα ζελατινοποίησης των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων σόγιας είναι πολύ χρήσιμη, καθώς καθορίζει την τελική υφή των προϊόντων στα οποία χρησιμοποιείται. Τέτοια προϊόντα είναι ανάλογα κρέατος και γαλακτοκομικών προϊόντων, όπως τυρί και γιαούρτι κ.α.

Μια ακόμη ιδιότητα των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων σόγιας είναι ο σχηματισμός σταθερών γαλακτωμάτων. Τα συστήματα γαλακτωμάτων στα τροφίμα είναι πολύπλοκα καθώς περιέχουν μία πληθώρα συστατικών, τόσο υδατοδιαλυτών όσο και λιποδιαλυτών, όπως υδατάνθρακες, πρωτεΐνες, οξέα, άλατα και βιταμίνες. Έτσι, όταν οι πρωτεΐνες χρησιμοποιούνται ως γαλακτωματοποιητές σε ένα σύστημα τροφίμων, πρέπει να είναι σε επαρκή συγκέντρωση ώστε να καλύπτουν πλήρως τη διεπιφάνεια του γαλακτώματος. Οι κυριότερες ιδιότητες των πρωτεϊνών που επηρεάζουν την ικανότητα σχηματισμού γαλακτώματος είναι η διαλυτότητα της πρωτεΐνης, η ευκαμψία του σκελετού της και ο βαθμός υδροφοβικότητάς της. Τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα σόγιας

χρησιμοποιούνται ως γαλακτωματοποιητές σε κρεμώδεις σούπες με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά, σε ανάλογα κρέατος, ποτά αναπλήρωσης γεύματος, μαγιονέζες με βάση σόγια και ανάλογα γαλακτοκομικών προϊόντων υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά.

Οι πρωτεΐνες των υπερσυμπυκνωμάτων σόγιας εμφανίζουν περιορισμένα χαρακτηριστικά ικανότητας σχηματισμού αφρού. Οι διαλυτές πρωτεΐνες της σόγιας εμφανίζουν κάποια ικανότητα αφρισμού, αλλά ουσιαστικά δεν υπάρχει σταθερότητα στο σχηματιζόμενο αφρό (Liu, 2005; Dorndos & Mullen, 2006).

3. Τεχνολογία Παραλαβής Πρωτεϊνικών Υπερσυμπυκνωμάτων

Τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα αποτελούνται από περίπου 90% πρωτεΐνες, και είναι η πιο συμπυκνωμένη μορφή πρωτεΐνης, σε σύγκριση με τα άλλα πρωτεϊνικά προϊόντα, όπως προαναφέρθηκε. Η πρώτη ύλη για την παραγωγή τους είναι αποφλοιωμένες, απελαιωμένες φολίδες ελαιούχων σπόρων ή τα αντίστοιχα πρωτεϊνικά άλευρα αυτών. Η πρώτη ύλη για την παραγωγή των υπερσυμπυκνωμάτων κρίνεται απαραίτητο να είναι απελαιωμένη, καθώς η ύπαρξη ελαίου μπορεί να οδηγήσει σε σχηματισμό γαλακτώματος, λόγω της γαλακτωματοποιητικής ιδιότητας κάποιων πρωτεϊνών. Η απελαίωση πραγματοποιείται συνήθως μέσω εκχύλισης με χρήση οργανικών διαλυτών, όπως το εξάνιο και ο πετρελαϊκός αιθέρας.

Η παραγωγή των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων περιλαμβάνει δύο βασικά στάδια: την εκχύλιση των πρωτεϊνών και την καταβύθισή τους. Κατά τη διαδικασία της εκχύλισης οι πρωτεΐνες διαλυτοποιούνται στο εκχυλιστικό μέσο, το οποίο είναι συνήθως υδατικό διάλυμα ουδέτερο ή ελαφρώς αλκαλικό (pH 8 – 10). Οι παράγοντες που επηρεάζουν την απόδοση της εκχύλισης είναι το είδος του εκχυλιστικού μέσου, η θερμοκρασία και το pH του διαλύματος, η ανάδευση, η κοκκομετρία της πρώτης ύλης, ο λόγος στερεού προς υγρό – δηλαδή η αναλογία της πρώτης ύλης και του εκχυλιστικού μέσου - και ο χρόνος εκχύλισης.

Ο διαλύτης ο οποίος επιλέγεται για τη διεργασία της εκχύλισης πρέπει να είναι τέτοιος ώστε να παραχθεί ένα διάλυμα εμπλουτισμένο σε πρωτεΐνες. Στην περίπτωση της εκχύλισης των πρωτεϊνών συνηθέστερος διαλύτης είναι το νερό, λόγω της μεγάλης διαλυτότητας των πρωτεϊνών σε αυτό.

Η θερμοκρασία είναι ένας παράγοντας που επηρεάζει σημαντικά την απόδοση εκχύλισης και η αύξηση της συνδέεται με την αύξηση της απόδοσης της εκχύλισης. Ωστόσο, οι εκχυλίσεις των πρωτεϊνών πραγματοποιούνται, συνήθως, σε θερμοκρασίες μικρότερες από 50 °C, καθώς περαιτέρω αύξηση της θερμοκρασίας μπορεί να οδηγήσει σε μετουσίωση των πρωτεϊνών.

Το pH του διαλύματος επηρεάζει επίσης την απόδοση της εκχύλισης. Το pH πρέπει να βρίσκεται μακριά από το ισοηλεκτρικό σημείο των πρωτεϊνών, προκειμένου αυτές να διαλυτοποιηθούν στο εκχυλιστικό μέσο. Η εκχύλιση των πρωτεϊνών είναι πιο αποδοτική σε αλκαλικό διάλυμα. Ωστόσο, το pH του διαλύματος δεν πρέπει να ξεπερνά κάποια όρια, καθώς οι πρωτεΐνες, σε ακραίες τιμές pH υφίστανται ανεπιθύμητες χημικές τροποποιήσεις, οι οποίες περιλαμβάνουν μετουσίωση και χημικές αλλαγές των αμινοξέων. Επίσης, μικρές αλλαγές του pH μπορεί να επηρεάσουν σοβαρά τις ιδιότητές των πρωτεϊνών, 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 της πρώτης ύλης πρέπει να είναι τέτοια ώστε να διευκολύνει τη διεργασία της εκχύλισης και τον επακόλουθο διαχωρισμό των πρωτεϊνών. Όσο το μέγεθος των σωματιδίων του δείγματος μειώνεται, 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 επηρεάζει επίσης το ρυθμό διαλυτοποίησης των πρωτεϊνών. Γενικά, αύξηση της ταχύτητας ανάδευσης αυξάνει την απόδοση της εκχύλισης των πρωτεϊνών. Παρόλα αυτά, δεν προτιμάται πολύ ισχυρή ανάδευση, καθώς έχει ως αποτέλεσμα τη διάσπαση των σωματιδίων σε μικρότερου μεγέθους σωματίδια, κάτι το οποίο είναι ανεπιθύμητο όπως προαναφέρθηκε.

Ο λόγος στερεού προς υγρό επηρεάζει επίσης την απόδοση της εκχύλισης. Γενικά, η εκχύλιση των πρωτεϊνών αυξάνεται, όσο αυξάνεται η ποσότητα του υγρού εκχυλιστικού μέσου. Όμως, όταν ο όγκος του υγρού αυξάνεται, αυξάνεται και το κόστος της διεργασίας (πρώτες ύλες και συσκευές), και επομένως η επιλογή του λόγου στερεού προς υγρό της εκχύλισης αποτελεί έναν παράγοντα οικονομικής αριστοποίησης.

Τέλος, ο χρόνος εκχύλισης ποικίλει από μερικά λεπτά της ώρας ως και μερικές ώρες. Ο χρόνος εξαρτάται από τη φύση της διαλυτής ουσίας και του διαλύτη, καθώς και από την απόδοση στόχο της διεργασίας.

Τη διαδικασία της εκχύλισης ακολουθεί ο διαχωρισμός του στερεού υπολείμματος από το πρωτεϊνικό διάλυμα. Ο διαχωρισμός πραγματοποιείται συνήθως μέσω φυγοκέντρησης ή διήθησης. Ο διαχωρισμός των δύο φάσεων πρέπει να είναι πλήρης, καθώς αν παραμείνουν λεπτόκοκκα σωματίδια στο εκχύλισμα μπορεί να μολύνουν το τελικό δείγμα. Κατά τη διαδικασία της εκχύλισης εκχυλίζονται και άλλα συστατικά εκτός των πρωτεϊνών. Με τη διαδικασία του διαχωρισμού επιτυγχάνεται η απομάκρυνση των αδιάλυτων συστατικών, όπως υπολείμματα των ελαιούχων σπόρων, αδιάλυτες πρωτεΐνες, ολιγοσακχαρίτες και μέταλλα.

Οι διαλυτοποιημένες πρωτεΐνες που περιέχονται στο εκχύλισμα μπορούν να απομονωθούν μέσω καθίζησης. Οι περισσότερες πρωτεΐνες των τροφίμων είναι αδιάλυτες στο ισοηλεκτρικό τους σημείο, επειδή δεν υπάρχουν ηλεκτροστατικές απωθήσεις μεταξύ τους. Το παραπάνω φαινόμενο χρησιμοποιείται συχνά για το διαχωρισμό των πρωτεΐνων από ένα διάλυμα. Έτσι, το pH του πρωτεϊνικού διαλύματος ρυθμίζεται στο ισοηλεκτρικό σημείο των πρωτεϊνών, με τη χρήση αραιών όξινων διαλυμάτων, όπως το οξικό οξύ, το υδροχλωρικό οξύ, η αθανόλη η ακετόνη κ.α. Με τη διαδικασία αυτή επιτυγχάνεται καταβύθιση των πρωτεϊνών (ισοηλεκτρική καταβύθιση). Μέσω της διαδικασίας της καταβύθισης επιτυγχάνεται και η απομάκρυνση των διαλυτών προσμίξεων, όπως είναι οι διαλυτοί υδρογονάνθρακες (Liu, 2005; Dornbos & Mullen; Alibhai, Mondor, Moresoli, Ippersiel, & Lamarche, 2006).

Ο διαχωρισμός των καταβυθισμένων πρωτεϊνών από τον ορό πραγματοποιείται μέσω φυγοκέτρησης. Στο πήγμα των πρωτεϊνών που προκύπτει συχνά πραγματοποιείται έκπλυση, προκειμένου να απομακρυνθούν πολυσακχαρίτες, άλατα και άλλες διαλυτές ενώσεις που καταβυθίζονται μαζί με τις πρωτεΐνες.

Τέλος, το πήγμα των πρωτεϊνών ξηραίνεται μέσω ξήρανσης με ψεκασμό ή ξήρανσης υπό κατάψυξη. Η ξήρανση υπό κατάψυξη είναι η μέθοδος κατά την οποία οι πρωτεΐνες υφίστανται τη μικρότερη καταπόνηση. Ωστόσο, η ξήρανση με ψεκασμό προτιμάται καθώς είναι μία πιο οικονομική μέθοδος (Alibhai, Mondor, Moresoli, Ippersiel, & Lamarche, 2006; Λιαδάκης, 1999; Τσαλτάκη , 2016).

Πρέπει να σημειωθεί ότι μέσω της παραπάνω διαδικασίας παράγεται ένας όξινος ορός, συνήθως υδατικός, ο οποίος απαιτεί κατάλληλη επεξεργασία για να αποφευχθεί η ρύπανση του νερού (Alibhai, Mondor, Moresoli, Ippersiel, & Lamarche, 2006).

Όσον αφορά την επεξεργασία της σόγιας, ως πρώτη ύλη για την παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων χρησιμοποιούνται είτε λευκές απελαιωμένες φολίδες, είτε άλευρο σόγιας. Κατά τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης χρησιμοποιείται νερό ως διαλύτης για την εκχύλιση των πρωτεϊνών από αυτή, ενώ το ισοηλεκτρικό σημείο των πρωτεϊνών της κυμαίνεται περίπου σε pH ίσο με 4.5. Η απόδοση εκχύλισης της σόγια κυμαίνεται από 30 - 40% (Alibhai, Mondor, Moresoli, Ippersiel, & Lamarche, 2006; Λιαδάκης, 1999).

3.1. Νέες Τεχνολογίες Εκχύλισης

Η ανάπτυξη νέων τεχνολογιών εκχύλισης έχει αυξηθεί τα τελευταία χρόνια λόγω των μειονεκτημάτων που εμφανίζουν οι συμβατικές μέθοδοι εκχύλισης, όπως η υψηλή κατανάλωση ενέργειας, η υψηλή εκπομπή CO_2 και η κατανάλωση τοξικών οργανικών διαλυτών και των υπολειμμάτων τους στο εκχύλισμα. Οι νέες τεχνολογίες αποσκοπούν στην ανάγκη να παραχθούν μέθοδοι πιο οικονομικές, με μεγαλύτερες αποδόσεις, ασφαλείς, οικολογικές προς το περιβάλλον και με όσο το δυνατόν μικρότερη επίδραση στην ποιότητα του τελικού προϊόντος. Έχουν προταθεί διάφορες εναλλακτικές λύσεις εκχύλισης, μερικές εκ των οποίων αναπτύσσονται παρακάτω (Tiwari, 2015).

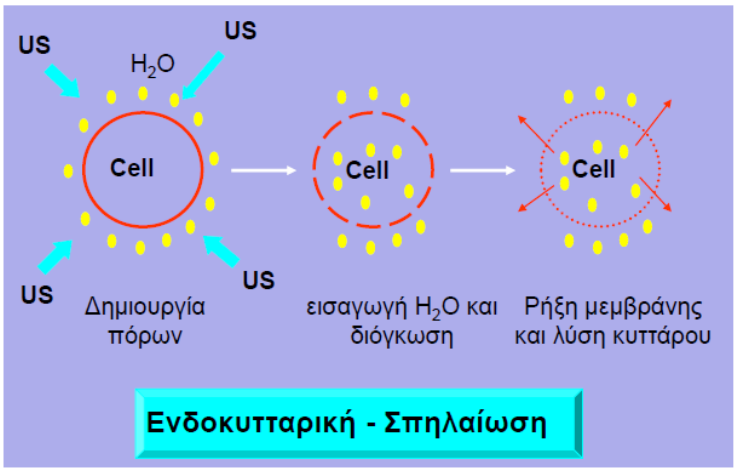
3.1.1. Εκχύλιση Υποβοηθούμενη με Υπέρηχους

Οι υπέρηχοι είναι μία νέα τεχνολογία πράσινης εκχύλισης και έχει εφαρμογή σε πολλά συστατικά, όπως πολυσακχαρίτες, αιθέρες, πρωτεΐνες, χημικές ουσίες κ.α. Τα κύματα των υπερήχων είναι ηχητικά κύματα υψηλής συχνότητας, πάνω από την ανθρώπινη ικανότητα

ακοής, δηλαδή πάνω από 20 kHz. Σε αντίθεση με τα ηλεκτρομαγνητικά κύματα, είναι μηχανικά κύματα, τα οποία περνούν μέσα από στερεά, αέρια και υγρά μέσα.

Η κινητήρια δύναμη των υπερήχων είναι η ακουστική σπηλαίωση. Όταν ο υπέρηχος διαδίδεται μέσα από οποιουδήποτε μέσο προκαλεί μία σειρά συμπιέσεων και αραιώσεων στα μόρια του μέσου, λόγω της δημιουργίας αρνητικής πίεσης. Αυτές οι εναλλασσόμενες αλλαγές πίεσης προκαλούν το σχηματισμό και τελικά την κατάρρευση των φυσαλίδων σε ένα υγρό μέσο. Αυτό το φαινόμενο σχηματισμού, διόγκωσης και της κατάρρευσης των μικροφυσαλίδων σε ακτινοβολημένα με υπέρηχους υγρά είναι γνωστό ως ακουστική σπηλαίωση (Tiwari, 2015; Kadam, Tiwari, & O'Donnell, 2013).

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.



Εικόνα 3-1. Μηχανισμός λύσης κυτταρικού τοιχώματος με χρήση υπερήχων (Βλάσσης, 2019).

Τα υπερηχητικά κύματα διευκολύνουν, επίσης, την ενυδάτωση και τη διόγκωση της μήτρας, δηλαδή των μορίων του προς εκχύλιση υλικού, μεγεθύνοντας τους πόρους, προκαλώντας μικρο – ρωγμές και δημιουργώντας κανάλια. Ως αποτέλεσμα προκαλείται

διάχυση μεγαλύτερων ποσοτήτων διαλύτη στη μήτρα και αυξάνεται η μεταφορά μάζας (Tiwari, 2015; Roselló-Soto, και συν., 2015).

Η εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους εμφανίζει ποικίλα πλεονεκτήματα που αντικατοπτρίζονται στην πιο αποτελεσματική ανάμιξη, την ταχύτερη μεταφορά ενέργειας, την εκλεκτική εκχύλιση, τις μειωμένες απαιτήσεις θερμότητας, το μειωμένο μέγεθος εξοπλισμού, την ταχύτερη εκκίνηση εκχύλισης (μείωση χρόνου) και τις αυξημένες αποδόσεις.

Εντούτοις, η εκχύλιση με χρήση υπερήχων εμφανίζει και διάφορα μειονεκτήματα τα οποία αντικατοπτρίζονται στις πιθανές μεταβολές της πρωτεϊνικής δομής, της μετουσίωση των πρωτεϊνών και άρα της μείωσης των λειτουργικών ιδιοτήτων τους (μείωση της γαλακτωματοποιητικής τους δράσης και της δυνατότητας αφρισμού), ιδιαίτερα στην περίπτωση υψηλής ισχύος και παρατεταμένου χρόνου εφαρμογής υπερήχων (Tiwari, 2015).

Υπάρχουν δύο τύποι εξοπλισμού υπερήχων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για εκχύλιση, ένα υδατόλουτρο υπερήχων και ένα σύστημα με ηχοβολέα υπερήχων (Kadam, Tiwari, & O'Donnell, 2013).

Όσον αφορά την εκχύλιση πρωτεϊνών υποβοηθούμενη με υπέρηχους έχουν μελετηθεί η παραλαβή πρωτεϊνών από σπόρους σίτου, σιτηρά ζυθοποιίας, αραχίδα και σόγια.

Ο Zhu και οι συνεργάτες του (2009), μελέτησαν την εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους από απελαιωμένους σπόρους σίτου. Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι η απόδοση της εκχύλισης αυξήθηκε σε σχέση με τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης, δηλαδή η τελική απόδοση εκχύλισης ανήλθε στο 45.6 %.

Ο Tang και οι συνεργάτες του (2010), μελέτησαν την επίδραση της εκχύλισης υποβοηθούμενης με υπέρηχους για παραλαβή πρωτεϊνών από σιτηρά ζυθοποιίας. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι με χρήση υπερήχων (88.2 W, λόγο στερεού προς υγρό 1/50, 81.4 min) η απόδοση εκχύλισης αυξήθηκε σε σχέση με τη συμβατική μέθοδο.

Οι Ochoa-Rivas και οι συνεργάτες τους (2017), μελέτησαν την παραλαβή πρωτεϊνών με εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους από απελαιωμένο άλευρο αραχίδας. Τα αποτελέσματα της έρευνα έδειξαν ότι η εφαρμογή των υπερήχων (24 KHz για 15 min) αύξησε την απόδοση της εκχύλισης, σε σχέση με τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης κατά 136 %, σε σχέση με την απόδοση της συμβατικής μεθόδου εκχύλισης, και το προϊόν που προέκυψε είχε καθαρότητα 86 %. Ωστόσο, η εφαρμογή των υπερήχων επηρέασε τις λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνών, καθώς αυτές εμφάνισαν μειωμένη υδατοδιαλύτότητα και μειωμένη γαλακτωματοποιητική δράση. Αντίθετα, η ικανότητα απορρόφησης νερού και η ικανότητα σχηματισμού αφρού αυξήθηκαν με τη χρήση των υπερήχων.

Ο Preece και οι συνεργάτες του (2017), μελέτησαν την εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους για παραλαβή πρωτεϊνών από πολτό σόγιας. Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι με την εφαρμογή των υπερήχων για 1 min, αυξήθηκε η απόδοση εκχύλισης κατά 10 % σε σχέση με τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης. Επίσης, με την εφαρμογή των υπερήχων βελτιώθηκε και η διαλυτότητα των πρωτεϊνών στο νερό.

Η εκχύλιση πρωτεϊνών με χρήση υπερήχων από βιομηχανικά απελαιωμένο άλευρο σόγιας έχει μελετηθεί και από τον Βλάσση (2019) στο εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου. Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι με την εφαρμογή υπερήχων (37 KHz, λόγο στερεού προς υγρό 1/20, 20 min) η απόδοση εκχύλισης αυξήθηκε σε σχέση με τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης, και προέκυψε απόδοση εκχύλισης 53.38 %. Το τελικό προϊόν είχε πρωτεϊνικό περιεχόμενο 89.17%.

3.1.2. Εκχύλιση Υποβοηθούμενη με Μικροκύματα

Τα μικροκύματα είναι μη ιονίζουσα ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία με συχνότητα από 300 MHz έως 300 GHz. Κατά την εκχύλιση με χρήση μικροκυμάτων πραγματοποιείται μεταφορά θερμότητας και μεταφορά μάζας προς την ίδια κατεύθυνση. Από την άλλη πλευρά, στις συμβατικές εκχυλίσεις, αν και η μεταφορά θερμότητας συμβαίνει από το εξωτερικό προς το εσωτερικό μέρος του μέσου, η μεταφορά μάζας γίνεται από μέσα προς τα έξω. Επιπλέον, παρά το γεγονός ότι σε μία συμβατική διαδικασία η θερμότητα μεταφέρεται από το μέσο θέρμανσης στο εσωτερικό του στερεού υλικού, στην εκχύλιση με μικροκύματα η θερμότητα διασκορπίζεται σε όλο τον όγκο του ακτινοβολούμενου μέσου.

Κατά την εκχύλιση με χρήση μικροκυμάτων μεταφέρεται ενέργεια στο διάλυμα, το οποίο θερμαίνεται με δύο μηχανισμούς, της διπολικής περιστροφής και της ιοντικής αγωγής. Η συχνότητα ακτινοβολίας αντιστοιχεί στην περιστροφική κίνηση των μορίων. Σε συμπυκνωμένη ύλη, η απορρόφηση ενέργειας προκαλεί αμέσως ανακατανομή ενέργειας μεταξύ των μορίων και ομοιογενή θέρμανση του μέσου. Τα μικροκύματα προκαλούν διαταραχές των δεσμών υδρογόνου και μετανάστευση διαλυμένων ιόντων, με αποτέλεσμα την αυξημένη διείσδυση του διαλύτη στη μήτρα, γεγονός που διευκολύνει την εκχύλιση των ενώσεων στόχων. Λόγω της μεγάλης πίεσης που αναπτύσσεται στο εσωτερικό της μήτρας, υπάρχει αύξηση του πορώδους της, με αποτέλεσμα τη μεγαλύτερη διείσδυση του διαλύτη στη μήτρα.

Υπάρχουν δύο κύριοι τύποι συστημάτων εκχύλισης με μικροκύματα, το κλειστό δοχείο και το ανοικτό δοχείο. Τα κλειστά δοχεία χρησιμοποιούνται για την εξαγωγή των ενώσεων «στόχων» σε συνθήκες υψηλότερης θερμοκρασίας και πίεσης, ενώ τα συστήματα ανοικτών δοχείων χρησιμοποιούνται για εκχυλίσεις που πραγματοποιούνται υπό συνθήκες ατμοσφαιρικής πίεσης.

Η εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα θεωρείται ολοένα και περισσότερο βιώσιμη επιλογή για την εκχύλιση βιοενεργών ουσιών, από φυτά και βότανα, λόγω των ξεχωριστών πλεονεκτημάτων έναντι των παραδοσιακών τεχνικών εκχύλισης με διαλύτες. Τα πλεονεκτήματα περιλαμβάνουν αυξημένο ρυθμό εκχύλισης (μικρότερο χρόνο), μικρότερη χρήση διαλυτών και βελτιωμένη απόδοση εκχύλισης. Ωστόσο, η χρήση των μικροκυμάτων δεν ενδείκνυται για εκχύλιση ευαίσθητων στη θερμότητα βιοδραστικών ουσιών (Kadam, Tiwari, & O'Donnell, 2013).

Όσον αφορά την εκχύλιση πρωτεϊνών υποβοηθούμενη με μικροκύματα, έχουν μελετηθεί η παραλαβή πρωτεϊνών από πίτουρο ρυζιού και αραχίδα.

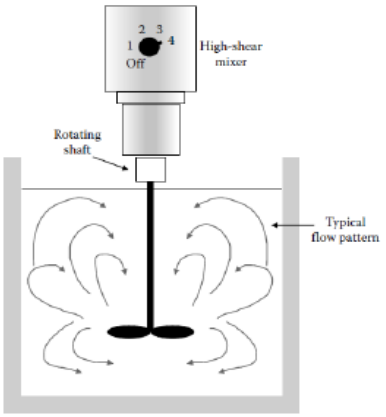
Ο Phongthai και οι συνεργάτες του (2016), μελέτησαν την επίδραση της εκχύλισης υποβοηθούμενης με μικροκύματα των πρωτεϊνών από πίτουρο ρυζιού. Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι η χρήση μικροκυμάτων στην εκχύλιση βελτίωσε την απόδοση εκχύλισης καθώς και τις λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνών.

Οι Ochoa-Rivas και οι συνεργάτες τους (2017), μελέτησαν την εκχύλιση υποβοηθούμενη από μικροκύματα για την παραλαβή πρωτεϊνών από βιομηχανικά απελαιωμένο άλευρο αραχίδας. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η απόδοση εκχύλισης με χρήση μικροκυμάτων (725 W για 8 min) αυξήθηκε κατά 77 % σε σχέση με τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης, δίνοντας απόδοση εκχύλισης 55 % και 100 % καθαρότητα του τελικού προϊόντος. Από την ανάλυση των πρωτεϊνών αποδείχθηκε ότι τα μικροκύματα επηρέασαν τη δευτεροταγή δομή των πρωτεΐνων, όχι όμως την πρωτοταγή δομή τους. Αποτέλεσμα της αλλαγής αυτής είναι η βελτίωση της ικανότητας απορρόφησης νερού και ελαίου των πρωτεϊνών, της ικανότητας σχηματισμού αφρού και της γαλακτωματοποιητηκής τους δράσης. Ωστόσο, η διαλυτότητα των πρωτεϊνών στο νερό και η σταθερότητα του σχηματιζόμενου αφρού είναι δύο ιδιότητες που επηρεάστηκαν αρνητικά.

Επιπλέον, αξίζει να σημειωθεί ότι ο Li και οι συνεργάτες του (2016), κατέδειξαν ότι η εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα σε σόγια μειώνει τους αλλεργειογόνους και αντιθρεπτικούς παράγοντες (αναστολείς τριψίνης) της.

3.1.3. Εκχύλιση Υποβοηθούμενο με Μηχανικό Ομογενοποιητή Υψηλής Ταχύτητας

Η εκχύλιση με μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας είναι μία ακόμη νέα μέθοδος εκχύλισης η οποία εφαρμόζεται τα τελευταία χρόνια, κυρίως για την εκχύλιση βιοδραστικών συστατικών από φυτά. Κατά την εκχύλιση εφαρμόζεται μηχανική διάτμηση υψηλής ταχύτητας, με αποτέλεσμα την ανάμιξη του στερεού με το διαλύτη και τη διάλυση των τοιχωμάτων του, χωρίς την εφαρμογή πίεσης.



Εικόνα 3-2. Μηχανικός Ομογενοποιητή Υψηλής Ταχύτητας (McClements, 2005).

Η αρχή της μεθόδου βασίζεται σε έναν περιστρεφόμενο εσωτερικό κόπτη που οδηγείται από έναν κινητήρα υψηλής ταχύτητας, ο οποίος παράγοντας μία ισχυρή δύναμη διάτμησης μεταξύ των εσωτερικών και εξωτερικών κοπτικών, διαταράσσει τα κυτταρικά τοιχώματα και αναμιγνύει το στερεό υλικό με το διαλύτη. Η μεταφορά μάζας μεταξύ της διαλυμένης ουσίας και του διαλύτη συμβαίνει λόγω των διαφορετικών πιέσεων μεταξύ των εσωτερικών και εξωτερικών κοιλοτήτων που προκαλούνται από την υψηλή ταχύτητα περιστροφής (Guo, και συν., 2017; Χανιώτη, 2019).

3.1.4. Εκχύλιση Υποβοηθούμενη με Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία

Έχουν αναπτυχθεί πολλές τεχνολογίες παλμικής ηλεκτρικής ενέργειας για την επεξεργασία τροφίμων που αφορούν διαχωρισμό, εκχύλιση, συμπίεση, κατάψυξη, διάχυση και ξήρανση τροφίμων. Η τεχνολογία αυτή χρησιμοποιεί σύντομης διάρκειας ηλεκτρικούς παλμούς - από κάποια νανοδευτερόλεπτα έως κάποια χιλιοστά του δευτερολέπτου - πλάτους υψηλού παλμού - από 100 - 300 $\frac{V}{cm}$ έως 10 - 50 $\frac{KV}{cm}$ - προκειμένου να προκαλέσει τις επιθυμητές αλλαγές της μήτρας.

Η αρχή της μεθόδου βασίζεται στη διάτρηση της κυτταρικής μεμβράνης. Κατά τη διάρκεια της εφαρμογής του ηλεκτρικού πεδίου σε ένα κύτταρο, ένα ηλεκτρικό δυναμικό περνά μέσα από τη μεμβράνη του κυττάρου. Το ηλεκτρικό δυναμικό διαχωρίζει τα μόρια της κυτταρικής μεμβράνης, ανάλογα με το φορτίο τους. Με την υπέρβαση μίας κρίσιμης τιμής δυναμικού, προκαλείται απόφραξη μεταξύ των μορίων με φορτίο, σχηματίζοντας πόρους σε ασθενείς περιοχές της μεμβράνης, και έτσι αυξάνεται η διαπερατότητά της από το διαλύτη.

Για την εφαρμογή παλμικού ηλεκτρικού πεδίου χρησιμοποιείται συνήθως ένας θάλαμος που φέρει δύο ηλεκτρόδια, στον οποίο τοποθετούνται τα υλικά. Ανάλογα με το σχεδιασμό του θαλάμου, η διαδικασία μπορεί να είναι συνεχής ή ασυνεχής. Η αποτελεσματικότητα της επεξεργασίας με παλμικό ηλεκτρικό πεδίο εξαρτάται από διάφορες παραμέτρους όπως η ισχύς του πεδίου, η ενέργεια εισόδου, ο αριθμός των παλμών, η θερμοκρασία επεξεργασίας και οι ιδιότητες του προς επεξεργασία υλικού (Soquetta, Terra, & Bastos, 2018; Pojić, Mišan, & Tiwari, 2018).

Όσον αφορά την εκχύλιση πρωτεϊνών με χρήση παλμικών ηλεκτρικών πεδίων η βιβλιογραφία είναι σπάνια. Ο Bals και οι συνεργάτες του (2015) μελέτησαν τη χρήση παλμικών ηλεκτρικών πεδίων στη εκχύλιση πρωτεϊνών από βιομάζα ελαιοκράμβης (καρπός και φύλλα). Η μελέτη έδειξε ότι μόνο με την εφαρμογή υψηλών ηλεκτρικών πεδίων (20 KV/cm) αυξήθηκε η απόδοση εκχύλισης των πρωτεϊνών, η οποία ανήλθε στο 80 %.

3.1.5. Εκχύλιση Υποβοηθούμενη με Ένζυμα

Η εκχύλιση με χρήση ενζύμων είναι μία νέα μέθοδος εκχύλισης που χρησιμοποιείται τα τελευταία χρόνια. Η μέθοδος βασίζεται στην ικανότητα πολλών ενζύμων, όπως κυτταρινάσες, πηκτινάσες, πρωτεάσες, πολυγαλακτουρονάσες και ημικυτταρινάσες, να αποικοδομούν κυτταρίνες, ημικυτταρίνες και πηκτίνες, οι οποίες αποτελούν τα βασικά δομικά συστατικά των κυτταρικών τοιχωμάτων, των φυτικών κυττάρων και ιστών. Τα ένζυμα αυτά υδρολύουν τα κυτταρικά τοιχώματα με αποτέλεσμα την αύξηση της διαπερατότητας των κυττάρων από το διαλύτη. Τα ένζυμα μπορεί να προέρχονται από βακτήρια, μύκητες, ή εκχυλίσματα λαχανικών και φρούτων. Προκειμένου η χρήση των ενζύμων να είναι αποτελεσματική σε διεργασίες εκχύλισης, είναι σημαντικό να είναι γνωστός ο τρόπος δράσης τους, οι βέλτιστες συνθήκες λειτουργίας και το είδος του ενζύμου που είναι κατάλληλος για την εκχύλιση του εκάστοτε συστατικού (Pojić, Mišan, & Tiwari, 2018; Puri, Sharma, & Barrow, 2012; Sari, Mulder, Sanders, & Bruins, 2015).

Όσον αφορά την εκχύλιση πρωτεϊνών με χρήση ενζύμων, έχουν χρησιμοποιηθεί και πρωτεάσες, ένζυμα που υδρολύουν τις πρωτεΐνες, αυξάνοντας έτσι τη διαλυτότητά τους. Η εκχύλιση υποβοηθούμενη με ένζυμα χαρακτηρίζεται από αύξηση των αποδόσεων εκχύλισης, αυξημένο χρόνο εκχύλισης, υψηλό λειτουργικό κόστος, υψηλή κατανάλωση ενέργειας, μη αναστρέψιμη θραύση της μήτρας του υλικού και απαίτηση αυστηρής ρύθμισης των συνθηκών της διεργασίας (pH, θερμοκρασία), ανάλογα με το εκάστοτε χρησιμοποιούμενο ένζυμο. Πιο συγκεκριμένα, έχει δοκιμαστεί η εκχύλιση πρωτεϊνών υποβοηθούμενη με ένζυμα σε πίτουρο ρυζιού, ελαιοκράμβη, λιναρόσπορο και σόγια (Pojić, Mišan, & Tiwari, 2018).

Ο Hanmoungjai και οι συνεργάτες του (2002), μελέτησαν τα αποτελέσματα διαφόρων εμπορικά διαθέσιμων ενζύμων, για την εκχύλιση πρωτεϊνών υποβοηθούμενη με ένζυμα από πίτουρο ρυζιού. Στο πλαίσιο αυτής της μελέτης, εξετάστηκε η επίδραση διαφόρων υδατανθράκων, συμπλόκου ενζύμου - υδατανθράκων και πρωτεασών. Υψηλότερη απόδοση εκχύλισης σε σχέση με τις πρωτεΐνες έδωσαν οι πρωτεάσες, ενώ τα αποτελέσματα αποικοδόμησης των υδατανθράκων δεν επηρέασαν την απόδοση εκχύλισης των πρωτεϊνών.

Ο Rommi και οι συνεργάτες του (2014), μελέτησαν την επίδραση των πηκτινολυτικών ενζύμων στην απόδοση εκχύλισης πρωτεϊνών από απελαιωμένες φολίδες ελαιοκράμβης, οι οποίες είχαν περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες 36 - 40 %. Η εκχύλιση με χρήση ενζύμων αποδείχθηκε επιτυχής, καθώς οδήγησε σε 1.7 φορές μεγαλύτερη απόδοση εκχύλισης σε σχέση με την εκχύλιση χωρίς χρήση ενζύμων. Ειδικότερα, η απόδοση εκχύλισης ήταν 56 %, για απελαιωμένες φολίδες που προήλθαν από άθικτο καρπό ελαιοκράμβης, ενώ για απελαιωμένες φολίδες που προήλθαν από αποφλοιωμένη ελαιοκράμβη η απόδοση εκχύλισης ανήλθε στο 74 %.

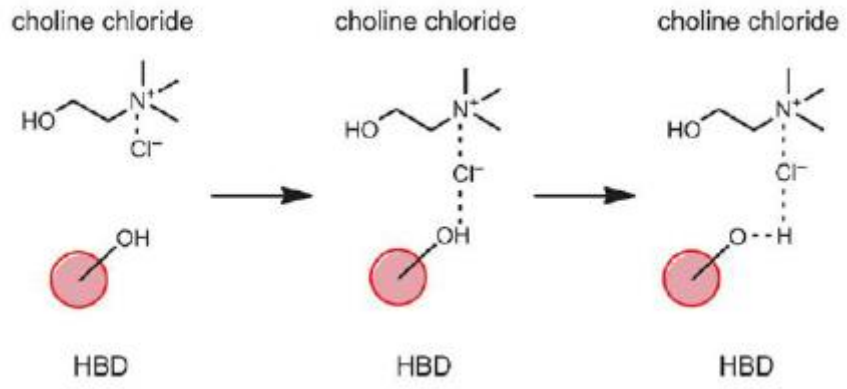
Οι ίδιοι ερευνητές το 2015, μελέτησαν την εκχύλιση υποβοηθούμενη από ένζυμα χωρίς τη ρύθμιση του pH σε υψηλές τιμές. Ειδικότερα μελέτησαν την εκχύλιση με ρύθμιση του pH στην τιμή 6, και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι τελικές πρωτεΐνες εμφανίζουν καλύτερη διαλυτότητα και σταθερότητα, σε σχέση με τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης, κατά την οποία οι πρωτεΐνες μερικώς μετουσιώθηκαν. Η εκχύλιση υποβοηθούμενη από ένζυμα σε pH 6 ήταν εφικτή σε σχετικά χαμηλή περιεκτικότητα σε στερεά (περίπου 10%), ενώ η εκχύλιση πρωτεϊνών με υψηλότερης περιεκτικότητας σε στερεά (20%) ήταν πιο αποτελεσματική με αλκαλικές συνθήκες. Η ενζυματική επεξεργασία των απελαιωμένων φολίδων για 2 h σε περιεκτικότητα σε στερεό 40% και η επακόλουθη αλκαλική εκχύλιση για 1 h με περιεκτικότητα σε στερεό 10%, οδήγησε στην υψηλότερη απόδοση εκχύλισης πρωτεϊνών (53% της ολικής πρωτεΐνης).

Ο Tirgar και οι συνεργάτες του (2017), μελέτησαν την εκχύλισης υποβοηθούμενη με ένζυμα, για την εξαγωγή πρωτεϊνών από άλευρο λιναρόσπορου. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το τελικό προϊόν είχε υψηλότερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και καλύτερες γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες σε σχέση με το αντίστοιχο προϊόν που παρήχθη χωρίς την προσθήκη ενζύμων.

Ο Sari και οι συνεργάτες του (2013), μελέτησαν την επίδραση των ενδο- και εξωπρωτεασών στην εκχύλιση πρωτεϊνών από σόγια και ελαιοκράμβη. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η απόδοση εκχύλισης αυξήθηκε κατά 90% για τη σόγια και κατά 50 - 80 % για την ελαιοκράμβη, σε σχέση με τις αντίστοιχες αποδόσεις εκχύλισης χωρίς τη χρήση ενζύμων.

3.1.6. Εκχύλιση με χρήση Ευτηκτικών Διαλυτών

Τα τελευταία χρόνια η πράσινη χημεία είναι ένα από τα βασικά ζητήματα της επιστημονικής κοινότητας, καθώς στοχεύει στην προστασία του περιβάλλοντος και στη μείωση των συνεπειών από τις ανθρώπινες παρεμβάσεις σε αυτό. Η πράσινη χημεία στοχεύει μεταξύ άλλων στην ανάπτυξη «πράσινων διαλυτών», δηλαδή διαλύτες φιλικούς προς το περιβάλλον. Η εκχύλιση με τη χρήση ευτηκτικών διαλυτών αποτελεί μία νέα περιβαλλοντικά φιλική τεχνική εκχύλισης. Οι βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες (Deep Eutectic Solvents - DES) περιέχουν αποδέκτες δεσμών υδρογόνου (HBAs), για παράδειγμα ένα τεταρτοταγές άλας, και δότες δεσμών υδρογόνου (HBDs), όπως αμίνες, καρβοξυλικά οξέα, αλκοόλες και υδατάνθρακες. Σε σύγκριση με τους παραδοσιακούς οργανικούς διαλύτες, οι DES είναι μη πτητικοί, μη τοξικοί, βιοαποικοδομήσιμοι, θερμικά σταθεροί, παρουσιάζουν εξαιρετική διαλυτότητα και είναι φτηνοί διαλύτες. Επιπροσθέτως, οι DES μπορούν εύκολα να παραχθούν με θέρμανση δύο ή και περισσότερων συστατικών σε κατάλληλη αναλογία. Με βάση αυτό, οι DES έχουν θεωρηθεί ως εξαιρετικά υποκατάστατα τοξικών οργανικών διαλυτών σε πολλούς τομείς όπως η κατάλυση, η οργανική σύνθεση, η εκχύλιση και ο διαχωρισμός (Meng, και συν., 2019; Li, και συν., 2016).



Εικόνα 3-3. Αλληλεπίδραση δέκτη υδρογόνου – χλωρίδιο της χολίνης – με το δότη υδρογόνου (Χανιώτη, 2019).

Οι περισσότερες εφαρμογές των ευτηκτικών διαλυτών έχουν επικεντρωθεί στην εκχύλιση βιοδραστικών συστατικών από φυσικές πηγές, όπως για παράδειγμα φαινολικές ενώσεις. Ένας μεγάλος αριθμός μεταβλητών εξετάζει την αποδοτικότητα της εκχύλισης με ευτηκτικούς διαλύτες. Οι συνηθέστερα μελετημένοι παράγοντες είναι ο λόγος στερεού προς υγρό, ο χρόνος και η θερμοκρασία εκχύλισης, η σύνθεση των ευτηκτικών διαλυτών, και η αραίωσή τους.

Ένα από τα κύρια μειονεκτήματα των DES είναι το υψηλό ιξώδες τους, το οποίο οδηγεί σε μερικά πρακτικά προβλήματα, όπως χρονοβόρες διαδικασίες μεταφοράς διαλύτη και αργή μεταφορά μάζας σε διαλύματα ή εκχυλίσεις. Το υψηλό ιξώδες αποδίδεται στην παρουσία ενός εκτεταμένου δικτύου δεσμών υδρογόνου μεταξύ των ενώσεων, που περιορίζει την κινητικότητα των ελεύθερων μορίων εντός των DES. Άλλες αλληλεπιδράσεις, όπως van derWaals και ηλεκτροστατικές αλληλεπτιδράσεις, μπορούν επίσης να συμβάλλουν στο ιξώδες των ευτηκτικών διαλυτών. Η προσθήκη νερού και η τροποποίηση των συστατικών χρησιμοποιούνται για να ξεπεραστούν αυτά τα μειονεκτήματα (Fernández, Boiteux, Espino, Gomez, & Silva, 2018).

Όσον αφορά την εκχύλιση των πρωτεϊνών με χρήση ευτηκτικών διαλυτών η βιβλιογραφία είναι περιορισμένη. Ως δέκτες υδρογόνου χρησιμοποιούνται κυρίως δύο συστατικά: το χλωρίδιο της χολίνης και η μπεταΐνη. Ως δότες υδρογόνου έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορα συστατικά όπως: γλυκερόλη, γλυκόζη, ουρία, μεθυλουρία, αιθυλογλυκόλη και σορβιτόλη (Li, και συν., 2016; Xu, Wang, Huang, Li, & Wen, 2014).

Ειδικότερα, ο Li και οι συνεργάτες του (2016), μελέτησαν έξη είδη ευτηκτικών διαλυτών τα οποία είχαν ως δέκτη υδρογόνου τη μπεταΐνη, για την εκχύλιση πρωτεϊνών. Από τη μελέτη τους προέκυψε ότι το σύστημα με τις υψηλότερες αποδόσεις εκχύλισης είναι μπεταΐνη - ουρία, από το οποίο προέκυψαν αποδόσεις εκχύλισης έως και 99.82 %.

Ο Xu και οι συνεργάτες του (2014), μελέτησαν τέσσερα είδη ευτηκτικών διαλυτών τα οποία είχαν ως δέκτη υδρογόνου το χλωρίδιο της χολίνης, για την εκχύλιση αλβουμίνης από βοοειδή. Από τη μελέτη τους προέκυψε ότι το σύστημα με τις υψηλότερες αποδόσεις εκχύλισης είναι χλωρίδιο της χολίνης - γλυκερόλη, από το οποίο προέκυψαν αποδόσεις εκχύλισης έως και 98.16 %.

Μέρος Β: Πειραματικό Μέρος

4. Πειραματικό Μέρος

4.1. Σκοπός

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η μελέτη της παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από σόγια με νέες μεθόδους εκχύλισης, έχοντας ως πρώτη ύλη πρωτεϊνικό άλευρο σόγιας. Ειδικότερα, μελετάται η εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους και η εκχύλιση υποβοηθούμενη με ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας. Ταυτόχρονα, γίνεται σύγκριση των παραπάνω μεθόδων, τόσο με τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης, όσο και μεταξύ τους. Για την παραγωγή των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ακολουθείται η μέθοδος της εκχύλισης και στη συνέχεια της καταβύθισης των εκχυλισμένων πρωτεϊνών στο ισοηλεκτρικό τους σημείο. Οι παράγοντες που εξετάζονται σε κάθε μέθοδο είναι ο χρόνος εκχύλισης και ο λόγος βάρους του στερεού (σόγια) ως προς τον όγκο του υγρού (απιονισμένο νερό). Η διαδικασία αξιολογείται ως προς τις αποδόσεις των επιμέρους σταδίων (απόδοση εκχύλισης, απόδοση καταβύθισης, ολική απόδοση), την περιεκτικότητα των υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνες και τις λειτουργικές ιδιότητες των απομονωμένων πρωτεϊνών (ικανότητα απορρόφησης νερού, ικανότητα απορρόφησης ελαίου, χρώμα). Επιπλέον, μελετάται η εκχύλιση με ευτηκτικούς διαλύτες (χλωρίδιο της χολίνης:γλυκόζη, χλωρίδιο της χολίνης:γλυκερόλη).

4.2. Πρώτες Ύλες και Αντιδραστήρια

Κατά την πειραματική διαδικασία ως πρώτη ύλη χρησιμοποιείται πρωτεϊνούχο άλευρο σόγιας, το οποίο προμηθεύεται από τη βιομηχανία «ΣΟΓΙΑ ΕΛΛΑΣ Α.Ε.» που βρίσκεται στα Ψαχνά Ευβοία. Το πρωτεϊνούχο άλευρο έχει απελαιωθεί βιομηχανικά και έχει υποστεί θερμική επεξεργασία με σκοπό την καταστροφή των αντιθρεπτικών παραγόντων (αναστολείς τρυψίνης).

Το άλευρο που παραλαμβάνεται αλέθεται σε λεπτότητα 0.5 mm και φυλάσσεται σε δροσερό και σκιερό μέρος, μέχρι την επεξεργασία του. Το άλευρο που προέκυψε, υποβλήθηκε σε εκχύλιση για την απομάκρυνση της υπολειπόμενης ποσότητα ελαίου, πριν προχωρήσει σε περαιτέρω επεξεργασία. Η πλήρης απελαίωση του πρωτεϊνικού αλεύρου γίνεται σε συσκευή Soxhlet, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη πετρελαϊκό αιθέρα (Carlo Erba Reagents S.A.S). Το εργαστηριακά απελαιωμένο άλευρο αποτέλεσε την πρώτη ύλη για την παραλαβή των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων.

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. Κατά την ισοηλεκτρική καταβύθιση, χρησιμοποιήθηκε διάλυμα θειϊκού οξέος H_2SO_4 συγκέντρωσης 0.5 N (Panreac Quimica S.A.).

Για τη μέτρηση της περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες της πρώτης ύλης και των παραλαμβανόμενων πρωτεϊνικών προϊόντων με τη μέθοδο Kjeldahl, χρησιμοποιήθηκαν θειϊκό κάλιο K_2SO_4 (Carl Roth Gmbh & Co.), ένυδρος θειϊκός χαλκός $CuSO_4.5H_2O$ (Panreac Quimica S.A), διάλυμα πυκνού θειϊκού οξέος 98% H_2SO_4 (Fisher), πυρήνες βρασμού (Merck Millipore), υδατικό διάλυμα NaOH 32% w/w (παρασκευασμένο από φυλλίδια στερεού NaOH), απιονισμένο νερό, διάλυμα καυστικού νατρίου NaOH συγκέντρωσης 0.5 N (Carlo Erba Reagents S.A.S), διάλυμα θειϊκού οξέος H_2SO_4 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 $C_5H_{14}ClNO$ (Acros Organics), μονοϋδρική γλυκόζη $C_6H_{12}O_6$ (Chemco) και γλυκερόλη (κοινή του εμπορείου).

Για τη μέτρηση των λειτουργικών ιδιοτήτων χρησιμοποιήθηκαν απιονισμένο νερό και αραβοσιτέλαιο (Vita D'or).

Τέλος, για τη διαδικασία της ηλεκτροφόρησης των πρωτεϊνών χρησιμοποιήθηκαν διάλυμα SDS/DTT ακρυλαμίδη-δισακρυλαμίδη (Acr/Bis) (ακρυλαμίδη, δισακρυλαμίδη, απεσταγμένο νερό), TEMED (N,N,N,N-Tetramethyl-ethylenediamine), υπερθειϊκό αμμώνιο (Ammonium Persulfate (AP) ($(NH_4)_2S_2O_8$)) (AP, απεσταγμένο νερό), πήκτωμα διαχωρισμού (Seperating gel) 10% (dH_2O, Tris pH 8.8, Acr/Bis, AP, TEMED), πήκτωμα πακεταρίσματος (Stacking gel) 3% (dH_2O, Tris pH 6.8, Acr/Bis, AP, TEMED), διάλυμα ηλεκτροφόρησης (Running Buffer) (5x) (Tris, γλυκίνη, SDS, απεσταγμένο νερό), μάρτυρες μοριακών βαρών για ηλεκτροφόρηση, διάλυμα δειγμάτων (Sample Buffer) (Tris-HCl pH 6.8, SDS, γλυκερόλη, β-μερκαπτοαιθανόλη μόνο για τις αναγωγικές συνθήκες, μπλε της βρωμοφαινόλης, απεσταγμένο νερό), διάλυμα χρώσης για ηλεκτροφόρηση (Stainsolution) (αιθανόλη, Coomasie Blue, οξικό οξύ, απεσταγμένο νερό), διάλυμα αποχρωματισμού για ηλεκτροφόρηση (Destain solution) (οξικό οξύ, αιθανόλη, απεσταγμένο νερό).

4.3. Συσκευές και Όργανα

Οι συσκευές και τα όργανα που χρησιμοποιήθηκαν κατά την πειραματική διαδικασία είναι τα εξής:

- Αναλυτικός ζυγός PrecisaXT 220A (4 δεκαδικών ψηφίων)
- Αναλυτικός ζυγός Precisa 620C (2 δεκαδικών ψηφιων)
- Συσκευή Soxhlet
- Περιστροφικός εξατμιστήρας Heidolph
- Λουτρό εκχύλισης πρωτεϊνών HAAKE G με αναδευτήρα
- Λουτρό υπερήχων Elmasonic S 30 H
- Ομογενοποιητής υψηλής ταχύτητας (CAT Unidrive 1000 Homogenizer, CAT Scientific, Ca., USA),
- Φορητό πεχάμετρο WTW pH 315i
- Φυγόκεντρος MLW T 54
- Χρωματόμετρο Minolta CR-200 (Minolta Company, Osaka, Japan)
- 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
- Πλαστικά τρυβλία
- Πουάρ 3 βαλβίδων
- Μεταλλική σπαθίδα
- Συσκευή Ηλεκτροφόρησης

Παράλληλα χρησιμοποιήθηκαν και διάφορα γυάλινα σκεύη όπως ποτήρια ζέσεως, κωνικές φιάλες, σφαιρικές φιάλες, ογκομετρικοί κύλινδροι, προχοΐδες, σιφώνια, σωλήνες φυγόκεντρου, βαθμονομημένοι σωλήνες φυγόκεντρου και φιάλες Kjeldahl.

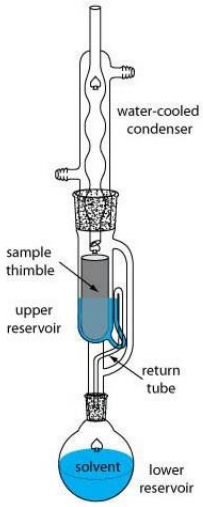
4.4. Πειραματική Διαδικασία

4.4.1. Προκατεργασία Αλεύρου

Το πρωτεϊνούχο άλευρο αλέθεται σε μύλο και στη συνέχεια κοσκινίζεται, ώστε να προκύψει άλευρο ομοιόμορφου μεγέθους σωματιδίων, με κοκκομετρία ίση με 0.5 mm. Αν και το άλευρο είναι βιομηχανικά απελαιωμένο, περιέχει μία υπολειπόμενη ποσότητα ελαίου η οποία επιλέγεται να αφαιρεθεί, καθώς δημιουργεί πρόβλημα κατά την πειραματική διαδικασία λόγω παρεμπόδισης της εκχύλισης των πρωτεϊνών.

Η απελαίωση πραγματοποιείται με χρήση πετρελαϊκού αιθέρα ως διαλύτη. Αρχικά, ορισμένη ποσότητα πρώτης ύλης, ζυγισμένη με ακρίβεια 0.01 g, εισάγεται σε καρτούσα, η οποία στη συνεχεία τοποθετείται στον υποδοχέα της διάταξη Soxhlet, ο οποίος συνδέεται

με γυάλινο ψυκτήρα. Ο διαλύτης (300-400 mL) τοποθετείται σε γυάλινη φιάλη η οποία προσαρμόζεται στον υποδοχέα της καρτούσας και το όλο σύστημα τοποθετείται στο θερμαινόμενο μανδύα της διάταξης (εικόνα 4-1). Ρυθμίζεται η παροχή του νερού και η ένταση της θέρμανσης. Η εκχύλιση συνεχίζεται για περίπου 2.5 - 3 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 λεπτό στρώμα σε κλίβανο στους 36 °C για περίπου 1 h, ώστε να εξατμιστεί ο διαλύτης. Το εργαστηριακά απελαιωμένο άλευρο χρησιμοποιείται ως πρώτη ύλη στη διαδικασία της εκχύλισης των πρωτεϊνών.



Εικόνα 4-1. Διάταξη συσκευής εκχύλισης Soxhlet.

4.4.2. Διαδικασία Παραλαβής Πρωτεϊνικών Υπερσυμπυκνωμάτων

Η παραλαβή των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της εκχύλισης των πρωτεϊνών και στη συνέχεια της καταβύθιση των πρωτεϊνών στο ισοηλεκτρικό σημείο τους.

- Υδατική Εκχύλιση Πρωτεϊνών

Αρχικά, 20 g δείγματος πρωτεϊνικού αλεύρου, ζυγισμένα με ακρίβεια 0.001 g, φέρονται σε ένα ποτήρι ζέσεως με την ανάλογη ποσότητα απιονισμένου νερού. Το ποτήρι τοποθετείται σε υδατόλουτρο (συμβατικό ή λουτρό υπερήχων), όπου πραγματοποιείται η εκχύλιση των πρωτεϊνών για ορισμένο χρόνο εκχύλισης που επιλέγεται, υπό συνεχή

ανάδευση (χρήση αναδευτήτα ή μηχανικού ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας). Η θερμοκρασία του υδατόλουτρου κατά τη διάρκεια της εκχύλισης διατηρείται σταθερή στους 40 °C, με τη βοήθεια του ειδικού θερμοστάτη του λουτρού. Το pH του διαλύματος ρυθμίζεται στην τιμή 9 και διατηρείται σταθερό καθόλη τη διάρκεια της εκχύλισης με τη χρήση υδατικού διαλύματος NaOH συγκέντρωσης 0.5 N. Μετά το πέρας της εκχύλισης το μίγμα φυγοκεντρείται σε 2600xg για 15 min και το υπερκείμενο υγρό (πρωτεϊνικό εκχύλισμα - αιώρημα πρωτεϊνών) συλλέγεται. Το στερεό υπόλειμμα της εκχύλισης ξηραίνεται στους 60 °C για 24 h, ζυγίζεται και χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας των υπολειπόμενων πρωτεϊνών.

- Ισοηλεκτρική Καταβύθιση

Η ποσότητα του πρωτεϊνικού εκχυλίσματος που παραλαμβάνεται χρησιμοποιείται για την απομόνωση των πρωτεϊνών με ισοηλεκτρική καταβύθιση. Έτσι, στο εκχύλισμα προστίθεται σταδιακά, με ήπια ανάδευση, υδατικό διάλυμα H_2SO_4 συγκέντρωσης 0.5 N εως ότου το pH να φτάσει στην τιμή του ισοηλεκτρικού σημείου (pI), το οποίο προσδιορίζεται προηγουμένως όπως αναφέρεται παρακάτω. Η όλη διαδικασία πραγματοποιείται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Οι καταβυθιζόμενες πρωτεΐνες διαχωρίζονται με φυγοκέντρηση σε 2600xg για 15 min. Αποχύνεται το υπερκείμενο υγρό (όξινος ορός) και το πρωτεϊνικό ίζημα μεταφέρεται, με όσο το δυνατόν μικρότερη ποσότητα νερού, σε πλαστικό τρυβλίο, καταψύχεται και στη συνέχεια ξηραίνεται υπό κατάψυξη για 48 h, ζυγίζεται και χρησιμοποιείται για προσδιορισμό της περιεκτικότητας των πρωτεϊνών.

Οι αποδόσεις των παραπάνω διαδικασιών, όσο αφορά τις πρωτεΐνες, υπολογίζονται από τις ακόλουθες σχέσεις:

Απόδοση Εκχύλισης:

$$Απόδοση\ Εκχύλισης\ \% = \frac{Εκχυλισμένες\ Πρωτεΐνες\ [g]}{Πρωτεΐνες\ Αρχικού\ Δείγματος\ [g]} \cdot 100\ \rightarrow$$

$$Απόδοση\ Εκχύλισης\ \% = \frac{Πρωτεΐνες\ Αρχικού\ Δείγμα\ [g] - Πρωτεΐνες\ Στερεού\ Υπολείματος [g]}{Πρωτεΐνες\ Αρχικού\ Δείγματος\ [g]}$$

Απόδοση Καταβύθισης:

$$Απόδοση\ Καταβύθισης\ \% = \frac{Πρωτεΐνες\ Υπερσυμπυκνώματος\ [g]}{Εκχυλισμένες\ Πρωτεΐνες\ [g]} \cdot 100\ \rightarrow$$

$$Απόδοση\ Καταβύθισης\ \% = \frac{Πρωτεΐνες\ Υπερσυμπυκνώματος\ [g]}{Πρωτεΐνες\ Αρχικού\ Δείγματος\ [g] - Πρωτεΐνες\ Στερεού\ Υπολείμματος[g]}$$

Ολική Απόδοση:

$$\text{Ολική Απόδοδη } \% = \frac{\text{Πρωτεΐνες Υπερσυμπυκνώματος [g]}}{\text{Πρωτεΐνες Αρχικού Δείγματος [g]}} \cdot 100$$

Όπου,

$$Πρωτεΐνες\ Αρχικού\ Δείγματος\ [g] = \ Βάρος\ Αρχικού\ Δείγματος\ [g] \cdot Περιεκτικότητα\ Δείγματος\ σε\ Πρωτεΐνη[\%]$$

$$Πρωτεΐνες\ Στερεού\ Υπολείμματος\ [g] = Βάρος\ Στερεού\ Υπολείμματος\ [g] \cdot Περιεκτικότητα\ Στερεού\ Υπολείμματος\ σε\ Πρωτεΐνες[\%]$$

και

$$Πρωτεΐνες\ Υπεσυμπυκνώματος\ [g] = Βάρος\ Υπερσυμπυκνώματος\ [g] \cdot Περιεκτικότητα\ Υπερσυμπυκνώματος\ σε\ Πρωτεΐνες[\%]$$

Προσδιορισμός Ισοηλεκτρικού Σημείου Πρωτεϊνών

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, με τη διαδικασία που περιγράφηκε παραπάνω. Το πρωτεϊνικό εκχύλισμα χωρίζεται σε 8 ισόποσα δείγματα σε σωλήνες φυγόκεντρου και γίνεται σε αυτά ρύθμιση του pH μεταξύ 4.1 - 4.8, με τη χρήση υδατικών διαλυμάτων H_2SO_4 και NaOH συγκέντρωσης 0.5 N. Οι καταβυθιζόμενες πρωτεΐνες κάθε δείγματος διαχωρίζονται με φυγοκέντρηση σε 2600xg για 15 min, συλλέγεται το πρωτεϊνικό ίζημα κάθε δείγματος, το οποίο ξηραίνεται σε φούρνο στους 100 °C για 24 h και ζυγίζεται. Ο προσδιορισμός του pI γίνεται άμεσα μέσω του βάρους των καταβυθισμένων πρωτεϊνών (το pH που αντιστοιχεί στο μεγαλύτερο βάρος ισοδυναμεί με το pI των πρωτεϊνών).

Η ποσότητα των καταβυθισμένων πρωτεϊνών υπολογίζεται ως εξής:

$$Καταβυθισμένες\ Πρωτεΐνες\ \% = \frac{Καταβυθισμένες\ Πρωτεΐνες\ στον\ Κύλινδρο\ σε\ Ξηρή\ Βάση\ [g]}{Ολικές\ Πρωτεΐνες\ στο\ Εκχύλισμα\ σε\ Ξηρή\ Βάση\ [g]}$$

- Παρασκευή Ευτηκτικών Διαλυτών

Κατά τη διάρκεια των πειραμάτων πραγματοποιήθηκαν εκχυλίσεις με δύο ευτηκτικούς διαλύτες. Ο πρώτος παρασκευάστηκε με την ανάμιξη χλωρίδιου της χολίνης ($C_5H_{14}ClNO$) και γλυκόζης ($C_6H_{12}O_6$) σε αναλογία moles 2:1 σε θερμοκρασία 80 °C υπό συνεχή ανάδευση μέχρι να σχηματιστεί ένα ομοιογενές υγρό διάλυμα. Στη συνέχεια, στο ευτηκτικό διάλυμα που προκύπτει γίνεται προσθήκη 30 % v/v απιονισμένου νερού και το μίγμα αυτό χρησιμοποιείται ως διαλύτης για την εκχύλιση των πρωτεϊνών.

Ο δεύτερος ευτηκτικός διαλύτης παρασκευάστηκε με την ανάμιξη χλωρίδιου της χολίνης και γλυκερόλης ($C_3H_8O_3$) σε αναλογία moles 1:2 σε θερμοκρασία 60 °C υπό συνεχή ανάδευση μέχρι να σχηματιστεί ένα ομοιογενές υγρό διάλυμα. Στη συνέχεια, στο ευτηκτικό διάλυμα που προέκυψε γίνεται προσθήκη απιονισμένου νερού σε αναλογία 1:9 w/w και το μίγμα αυτό χρησιμοποιείται ως διαλύτης για την εκχύλιση των πρωτεϊνών.

- Εκχύλιση Πρωτεϊνών με Ευτηκτικούς Διαλύτες

Στην περίπτωση του πρώτου ευτηκτικού μίγματος ακολουθείται η ίδια διαδικασία εκχύλισης, που περιγράφηκε παραπάνω, αντικαθιστώντας το νερό με το ευτηκτικό μίγμα. Στη συνέχεια επιχειρείται καταβύθιση των πρωτεϊνών στο εκχύλισμα, αλλά η διαδικασία δεν είναι εφικτή.

Στην περίπτωση του δεύτερου ευτηκτικού μίγματος ακολουθείται η ίδια διαδικασία με το πρώτο ευτηκτικό μίγμα και ομοίως η καταβύθιση δεν είναι εφικτή, πλην όμως επιχειρείται η διερεύνηση της κατανομής των εκχυλιζόμενων πρωτεϊνών (στο υγρό εκχύλισμα και στο στερεό υπόλειμμα). Προς τούτο στο στερεό υπόλειμμα της εκχύλισης πραγματοποιούνται εκπλύσεις με απιονισμένο νερό, με σκοπό την απομάκρυνση του ευτηκτικού μίγματος από αυτό και στη συνέχεια χωρίζεται σε δύο μέρη. Το ένα μέρος ξηραίνεται στους 60 °C για 24 h. Στο δεύτερο μέρος του υπολείμματος πραγματοποιείται εκ νέου εκχύλιση με τη συμβατική μέθοδο. Ακολούθως, πραγματοποιείται ισοηλεκτρική καταβύθιση των πρωτεϊνών, με τη διαδικασία που περιγράφηκε παραπάνω, και το πρωτεϊνικό ίζημα χρησιμοποιείται για προσδιορισμό των πρωτεϊνών.

4.4.3. Ηλεκτροφόρηση

Η τεχνική της ηλεκτροφόρησης σε πήκτωμα πολυακρυλαμιδίου προσφέρει τη δυνατότητα διαχωρισμού πρωτεϊνών με βάση το μοριακό τους βάρος. Το πήκτωμα πολυακρυλαμιδίου είναι ένα τρισδιάστατο πλέγμα που δημιουργείται από τον πολυμερισμό μονομερών ακρυλαμιδίου και μορίων δισακρυλαμιδίου. Ο πολυμερισμός γίνεται σε θερμοκρασία δωματίου με τη βοήθεια του TEMED, το οποίο καταλύει το σχηματισμό ελευθέρων ριζών από το AP. Τα δείγματα διαλύονται σε διάλυμα που περιέχει SDS, το οποίο αποδιατάσσει και φορτίζει αρνητικά τις πρωτεΐνες. Οι πρωτεΐνες μετακινούνται στο πήκτωμα από την κάθοδο προς την άνοδο, με ταχύτητα ανάλογη του μοριακού βάρους.

Αρχικά, το πρωτεϊνικό άλευρο εκχυλίζεται με τη διαδικασία που περιγράφηκε παραπάνω. Μετά το πέρας της εκχύλισης λαμβάνεται το πρωτεϊνικό εκχύλισμα, το οποίο αποτελεί το δείγμα της ηλεκτροφόρησης.

Αρχικά στήνεται το σύστημα των γυάλινων πλακών, έτσι ώστε να μην υπάρχει διαρροή. Κατασκευάζεται πήκτωμα διαχωρισμού 10% και τοποθετείται στο σύστημα. Στην επιφάνειά του προστίθεται απεσταγμένο νερό για να ευθυγραμμιστεί η στάθμη. Το πήκτωμα αφήνεται για περίπου 1 h, ώσπου να ολοκληρωθεί ο πολυμερισμός του. Στη συνέχεια κατασκευάζεται το πήκτωμα συγκέντρωσής 3%. Αφού απομακρυνθεί το νερό από το σύστημα των πλακών, προστίθεται το πήκτωμα αυτό και τοποθετείται το χτενάκι για τη δημιουργία καναλιών. Αφήνεται για 1 h, ώστε να ολοκληρωθεί ο πολυμερισμός του. Ετοιμάζονται οι μάρτυρες (Markers), οι οποίοι είναι εμπορικά διαθέσιμοι.

Σε 16 μL δείγματος προστίθενται 4 μL sample buffer, το οποίο περιέχει μερκαπτοαιθανόλη που ανάγει τους δισουλφιδικούς δεσμούς μεταξύ των κυστεϊνών. Τα δείγματα θερμαίνονται στους 100 °C για 5 min. Παράλληλα τοποθετείται το σύστημα των γυάλινων πλακών κατακόρυφα στη συσκευή ηλεκτροφόρησης. Έπειτα, προστίθεται το διάλυμα ηλεκτροφόρησης και τα δείγματα τοποθετούνται στα πηγάδια.

Ακολουθεί η έναρξη της ηλεκτροφόρησης, όπου διαβιβάζεται στη συσκευή ρεύμα τάσης 120 V. Όταν το μέτωπο της χρωστικής φτάσει σχεδόν στο κάτω άκρο του πηκτώματος, διακόπτεται η παροχή ρεύματος. Το πήκτωμα αφαιρείται από τις γυάλινες πλάκες και τοποθετείται, υπό ανάδευση, στο διάλυμα χρώσης, το οποίο περιέχει coomasie blue. Ύστερα από 20 min το πήκτωμα τοποθετείται στο διάλυμα αποχρωματισμού (10% οξικό οξύ, 20% μεθανόλη, 70% νερό) για 24 h. Μετά τον αποχρωματισμό το πήκτωμα πλένεται και διατηρείται σε νερό μέχρι να παρατηρηθεί και να φωτογραφηθεί.

4.5. Αναλύσεις – Μετρήσεις

4.5.1. Μέτρηση Λειτουργικών Ιδιοτήτων

Οι λειτουργικές ιδιότητες που προσδιορίστηκαν είναι η ικανότητα απορρόφησης νερού, IAN, (water absorption capacity, WAC), η ικανότητα απορρόφησης ελαίου, IAE, (oil absorption capacity, OAC), καθώς και μέτρηση χρώματος των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων.

Για τη μέτρηση της IAN, 0.25 g δείγματος τοποθετούνται σε προζυγισμένο βαθμονομημένο σωλήνα φυγόκεντρου όγκου 12 mL, όπου προστίθενται 6 mL απιονισμένου νερού. Το μίγμα αναδεύεται σε αναδευτήρα τύπου Vortex για 1 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 των πρωτεϊνών υπολογίζεται μέσω της παρακάτω σχέσης:

$$IAN\left[\frac{g\ Νερού}{100\ g\ Δείγματος}\right] = \frac{B_1 - (B_2 + \beta)}{\beta} \cdot 100$$

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, 0.25 g δείγματος τοποθετούνται σε βαθμονομημένο σωλήνα φυγόκεντρου όγκου 12 mL, όπου προστίθενται 3 mL αραβοσιτέλαιου. Το μίγμα αναδεύεται σε αναδευτήρα τύπου Vortex για 1 min, αφήνεται σε ηρεμία για 30 min και φυγοκεντρείται σε 2600xg 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 νερού των πρωτεϊνών υπολογίζεται μέσω της παρακάτω σχέσης:

$$IAE\ \left[\frac{mL\ Ελαίου}{100\ g\ Δείγματος}\right] = \frac{V - V_υ}{β} \cdot 100$$

Όπου,

V: ο αρχικός όγκος του ελαίου [mL]

$V_υ$: ο όγκος του υπερκείμενου ελαίου [mL]

β: το βάρος του δείγματος [g]

Η ανάλυση του χρώματος των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του χρωματόμετρου CR–200. Το συγκεκριμένο χρωματόμετρο φέρει στο άκρο του οπή διαμέτρου 8 mm και αποδίδει τις τιμές των χρωματικών παραμέτρων L*, a*, b*, βάσει του συστήματος CIELAB, όπως αυτές μετρώνται στην επιφάνεια του δείγματος. Αρχικά, πριν πραγματοποιηθεί κάποια μέτρηση, προηγείται βαθμονόμηση του οργάνου με τη βοήθεια λευκής πλάκας (Calibration plate: L*=97,50, a*=-0,31, b*=-3,83) προς αποφυγήν λανθασμένων μετρήσεων. Σε κάθε δείγμα λαμβάνονται τρεις μετρήσεις του χρώματος και οι τελικές τιμές των παραμέτρων προκύπτουν από το μέσο όρο των τριών μετρήσεων.

Το σύστημα Cielab (Commision International del' Eclairage Lab) απεικονίζεται από μία σφαίρα που περιλαμβάνει όλο το φάσμα του ορατού φωτός. Η σφαίρα αποτελείται από τρεις κάθετους μεταξύ τους άξονες με καρτεσιανές συντεταγμένες. Ο κατακόρυφος άξονας εκφράζει τη φωτεινότητα του χρώματος (παράμετρος L*) σε κλίμακα από 0 έως 100, αντιπροσωπεύοντας το μαύρο και το άσπρο, αντίστοιχα. Οι άλλοι δύο άξονες ορίζουν το επίπεδο του χρώματος. Ο άξονας που αντιστοιχεί στην παράμετρο a* εκφράζει την κόκκινη - πράσινη συνιστώσα του χρώματος (αρνητικές τιμές τείνουν προς το πράσινο, ενώ θετικές τιμές τείνουν προς το κόκκινο), ενώ ο άξονας που αντιστοιχεί στην παράμετρο b* εκφράζει την μπλε - κίτρινη συνιστώσα του χρώματος (αρνητικές τιμές τείνουν προς το μπλε, ενώ θετικές τιμές τείνουν προς το κίτρινο). Αν ένα δείγμα έχει μηδενική τιμή για τις παραμέτρους a* και b*, τότε το σημείο στο οποίο αντιστοιχεί το χρώμα του βρίσκεται πάνω στον άξονα άσπρου – μαύρου. Κάθε χρώμα αντιστοιχεί σε ένα σημείο εντός της σφαίρας και εκφράζεται ως διάνυσμα. Έτσι, από τις τιμές των παραμέτρων αυτών υπολογίζεται η συνολική μεταβολή της οπτικής απόκρισης ΔΕ, η οποία υπολογίζεται από την παρακάτω σχέση:

$$ΔE = \sqrt{L^2 + a^2 + b^2}$$

4.5.2. Προσδιορισμός Υγρασίας

Αρχικά, ποσότητα 5 g δείγματος, ζυγισμένη με ακρίβεια 0.001 g, φέρεται 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:

$$\Upsilon\gamma\rho\alpha\sigma\acute{\iota}\alpha\ \% = \frac{\Alpha\pi\acute{\omega}\lambda\epsilon\iota\alpha\ \Beta\acute{\alpha}\rho o\upsilon\varsigma\ [g]}{\Beta\acute{\alpha}\rho o\varsigma\ \Alpha\rho\chi\iota\kappa o\acute{\upsilon}\ \Delta\acute{\epsilon}\acute{\iota}\gamma\mu\alpha\tau o\varsigma\ [g]} \cdot 100\ \rightarrow$$

$$\Upsilon\gamma\rho\alpha\sigma\acute{\iota}\alpha\ \% = \frac{\Beta\acute{\alpha}\rho o\varsigma\ \Alpha\rho\chi\iota\kappa o\acute{\upsilon}\ \Delta\acute{\epsilon}\acute{\iota}\gamma\mu\alpha\tau o\varsigma\ [g] - \Beta\acute{\alpha}\rho o\varsigma\ \Delta\acute{\epsilon}\acute{\iota}\gamma\mu\alpha\tau o\varsigma\ \Mu\epsilon\tau\acute{\alpha}\ \tau\eta\nu\ \Xi\acute{\eta}\rho\alpha\nu\sigma\eta\ [g]}{\Beta\acute{\alpha}\rho o\varsigma\ \Alpha\rho\chi\iota\kappa o\acute{\upsilon}\ \Delta\acute{\epsilon}\acute{\iota}\gamma\mu\alpha\tau o\varsigma\ [g]}$$

4.5.3. Περιεκτικότητα σε Έλαιο

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 εναπομένοντος 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:

$$\acute{E}\lambda\alpha\iota o\ \% = \frac{\Beta\acute{\alpha}\rho o\varsigma\ \Epsilon\lambda\alpha\acute{\iota}o\upsilon\ [g]}{\Alpha\rho\chi\iota\kappa\acute{o}\ \Beta\acute{\alpha}\rho o\varsigma\ \Delta\acute{\epsilon}\acute{\iota}\gamma\mu\alpha\tau o\varsigma\ [g]} \cdot 100$$

4.5.4. Μέθοδος Kjeldhal – Περιεκτικότητα Αζώτου και Πρωτεϊνών

Ο προσδιορισμός του αζώτου πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο Kjeldhal κατά την οποία γίνεται καύση του δείγματος με περίσσεια θειικού οξέος, παρουσία καταλύτη (οξείδιο 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 H_2SO_4, 10 g θειϊκού καλίου K_2SO_4, 1 g ένυδρου θειϊκού χαλκού $CuSO_4.5H_2O$, πυρήνες βρασμού και ορισμένη ποσότητα δείγματος (~ 0.7 – 1 g πρωτεϊνικού υπερσυμπυκνώματος ή ~ 1.5 g στερεού υπολείμματος) 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 στη συσκευή.

Ο σωλήνας κενού προσαρμόζεται στις φιάλες Kjeldhal, το σύστημα τοποθετείται στην συσκευή καύσης (Digestor) 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 περίπου 20 min.

Στη συνέχεια, οι κρύες φιάλες προσαρμόζονται στην ειδική συσκευή απόσταξης μεθ' υδρατμών 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 το δείγμα 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:

$$\text{Άζωτο } \% = \frac{14.007 \cdot |V_1 - V_2| \cdot N}{\beta}$$

όπου,

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

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

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

β: το βάρος του δείγματος [g]

Η αναγωγή της ποσότητας του αζώτου σε ποσότητα πρωτεϊνών γίνεται έμμεσα μέσω της σχέσης:

$$Πρωτεΐνες\ \% = Άζωτο\ \% \cdot 6.25$$

4.6. Σχεδιασμός Πειραμάτων

Ο σχεδιασμός των πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων διαχωρίζεται σε τέσσερις σειρές, με βάση τη χρησιμοποιούμενη μέθοδο εκχύλισης των πρωτεϊνών. Οι σειρές αυτές είναι: η συμβατική μέθοδος εκχύλισης, η εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους, η εκχύλιση υποβοηθούμενη με ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας και η εκχύλιση με ευτηκτικούς διαλύτες. Η απόδοση της εκχύλισης των πρωτεϊνών είναι συνάρτηση της ποσότητας και της ποιότητας των περιεχόμενων πρωτεϊνών της πρώτης ύλης, καθώς και των συνθηκών της εκχύλισης, οι οποίες είναι: το είδος και η συγκέντρωση του εκχυλιστικού μέσου, η θερμοκρασία, το pH, η κοκκομετρία του εκχυλιζόμενου υλικού, ο χρόνος εκχύλισης και, ο λόγος του βάρους του εκχυλιζόμενου υλικού (g) ως προς τον όγκο του εκχυλιστικού μέσου (mL). Κατά τη διάρκεια των πειραμάτων μελετήθηκαν ορισμένες από τις παραπάνω παραμέτρους.

1. Παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με συμβατική – υδατική εκχύλιση.

Η παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης πραγματοποιήθηκε υπό τις εξής συνθήκες:

Πίνακας 4-1. Συνθήκες πειραμάτων συμβατικής μεθόδου εκχύλισης πρωτεϊνών.

Σταθερές Συνθήκες	
T [°C]	40
pH	9
Κοκκομετρία Αλεύρου Σόγιας [mm]	0.5
t [min]	30
Μεταβλητές Συνθήκες	
w/v [g / mL]	1/15
	1/20
	1/25
	1/30

2. Παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους.

Η παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους πραγματοποιήθηκε υπό τις εξής συνθήκες:

Πίνακας 4-2. Συνθήκες πειραμάτων εκχύλισης υποβοηθούμενης με υπέρηχους.

Σταθερές Συνθήκες	
T [°C]	40
pH	9
Κοκκομετρία Αλεύρου Σόγιας [mm]	0.5
Ισχύς Υπερήχων [W]	320
Συχνότητα Υπερήχων [kHz]	37
Μεταβλητές Συνθήκες	
t [min]	10
	15
	20
w/v [g / mL]	1/15
	1/20
	1/25
	1/30

3. Παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση υποβοηθούμενη με ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας.

Η παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση υποβοηθούμενη με ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας πραγματοποιήθηκε υπό τις εξής συνθήκες:

Πίνακας 4-3. Συνθήκες πειραμάτων εκχύλισης υποβοηθούμενης με ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας.

Σταθερές Συνθήκες	
T [℃]	40
pH	9
Κοκκομετρία Αλεύρου Σόγιας [mm]	0.5
Στροφές Μηχανικού Ομογενοποιητή [rpm]	9000
Μεταβλητές Συνθήκες	
t [min]	10
	15
	20
	30
w/v [g / mL]	1/20
	1/25
	1/30

4. Παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση με ευτηκτικούς διαλύτες.

Η παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση με ευτηκτικούς διαλύτες πραγματοποιήθηκε υπό τις εξής συνθήκες:

Πίνακας 4-4. Συνθήκες πειραμάτων εκχύλισης με ευτηκτικούς διαλύτες.

Σταθερές Συνθήκες	
T [°C]	40
pH	9
Κοκκομετρία Αλεύρου Σόγιας [mm]	0.5
t [min]	30
w/v [g / mL]	1/25
Μεταβλητές Συνθήκες	
Σύστημα Ευτηκτικού Διαλύτη	Χλωρίδιο Χολίνης - Γλυκόζη
	Χλωρίδιο Χολίνης - Γλυκερόλη

Σημειώνεται ότι σε όλα τα παραπάνω πειράματα η ισοηλεκτρική καταβύθιση πραγματοποιήθηκε σε τιμή pH ίση με 4.3 (όπως προσδιορίστηκε πειραματικά).

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε μέσω του προγράμματος STATISTICA 7. Στα αποτελέσματα έγινε ανάλυση διακύμανσης δύο παραγόντων (main effects ANOVA), ώστε να μελετηθεί η επίδραση του χρόνου και του λόγου στερεού προς υγρό, τόσο στην ολική απόδοση της διεργασίας και στις αποδόσεις των επιμέρους σταδίων της διεργασίας, όσο και στις λειτουργικές ιδιότητες και την περιεκτικότητα των υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνη.

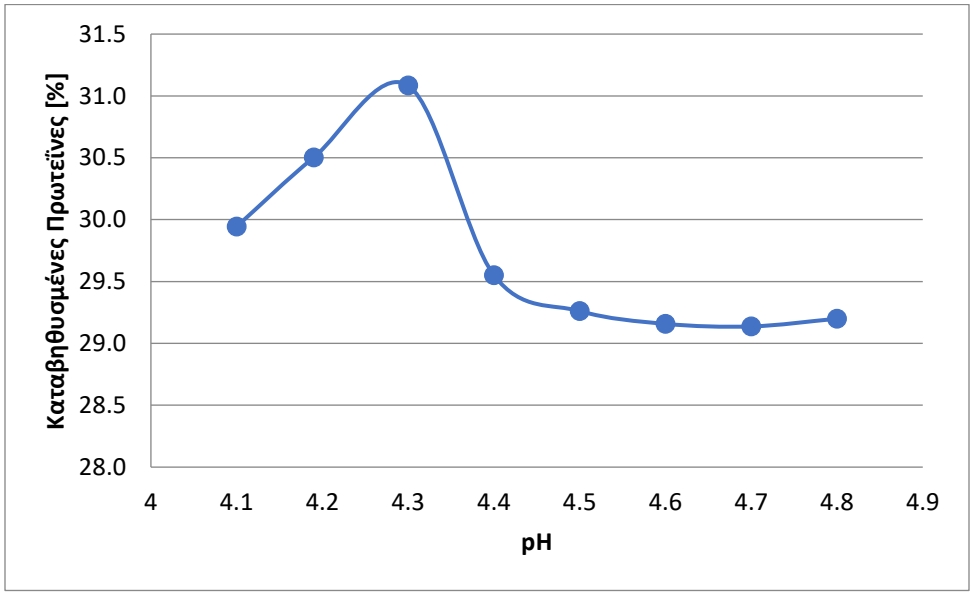
5. Αποτελέσματα

5.1. Σύσταση Πρώτης Ύλης

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, το πρωτεϊνικό άλευρο της σόγια περιέχει μία υπολειπόμενη ποσότητα ελαίου, η οποία ανέρχεται στο (0.79 ± 0.05) %. Το εργαστηριακά απελαιωμένο άλευρο έχει υγρασία (8.31 ± 0.06) % και περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες (50.17 ± 0.55) % σε ξηρή βάση. Η περιεκτικότητα της πρώτης ύλης σε πρωτεΐνες είναι αρκετά υψηλή, γεγονός που δικαιολογεί την επιλογή του αλεύρου της σόγιας, ανάμεσα από τους ελαιούχους σπόρους, για την παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων.

5.2. Προσδιορισμός Ισοηλεκτρικού Σημείου

Πριν από την έναρξη των πειραμάτων, είναι απαραίτητη η εύρεση του ισοηλεκτρικού σημείου των πρωτεϊνών, δηλαδή η τιμή εκείνη του pH που οι πρωτεΐνες εμφανίζουν την ελάχιστη διαλυτότητα (ή τη μέγιστη καταβύθιση). Ο προσδιορισμός γίνεται άμεσα με τη μέτρηση βάρους των καταβυθιζόμενων πρωτεϊνών σε ένα εύρος τιμών pH, από 4.1 έως 4.8. Μέσω πειραμάτων προέκυψε ότι το ισοηλεκτρικό σημείο των πρωτεϊνών του αλεύρου της σόγιας εμφανίζεται για τιμή pH ίση με 4.3, όπως παρουσιάζεται στο διάγραμμα 5-1.



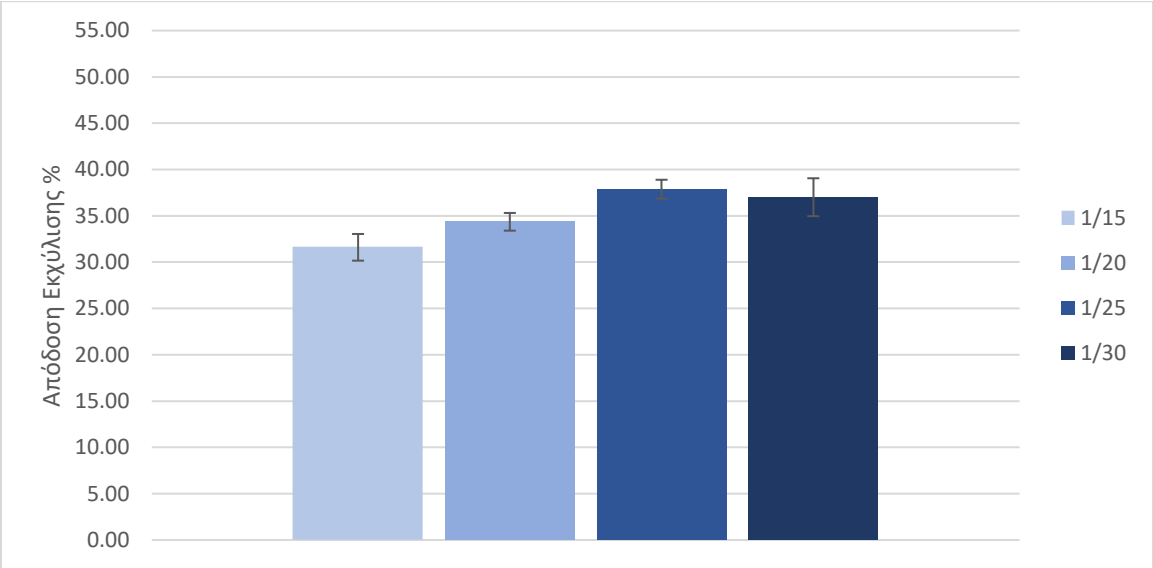
Διάγραμμα 5-1. % Καταβυθιζόμενες πρωτεΐνες σόγια σε συνάρτηση με το pH.

5.3. Παραλαβή Πρωτεϊνικών Υπερσυμπυκνωμάτων

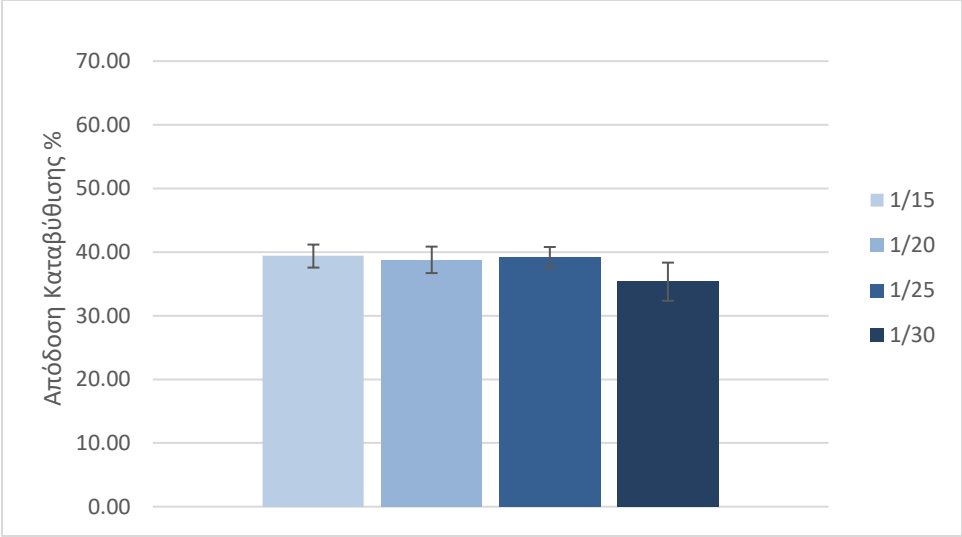
Η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της παραλαβής των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων πραγματοποιήθηκε σε δύο επίπεδα. Αρχικά, αξιολογείται η ολική απόδοση της διεργασίας, δηλαδή το ποσοστό των αρχικών πρωτεϊνών που απομονώθηκαν από το πρωτεϊνικό άλευρο στο υπερσυμπύκνωμα, καθώς και οι επιμέρους αποδόσεις των σταδίων εκχύλισης και καταβύθισης των πρωτεϊνών. Στη συνέχεια αξιολογείται η ποιότητα των πρωτεϊνών, η οποία βασίζεται στην περιεκτικότητα των πρωτεϊνών στο υπερσυμπύκνωμα (καθαρότητα απομονωμένων πρωτεϊνών), καθώς και στις λειτουργικές ιδιότητες αυτών (ικανότητα απορρόφησης νερού, ικανότητα απορρόφησης ελαίου, χρώμα). Βασικός στόχος της πειραματικής διαδικασία είναι η παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων υψηλής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες, με καλές λειτουργικές ιδιότητες (παραπλήσιες της συμβατικής μεθόδου παραλαβής) και υψηλή απόδοση παραλαβής (υψηλότερη από τη συμβατική μέθοδο παραλαβής).

Στη συνέχεια παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων, γίνεται αξιολόγησή τους και σύγκριση μεταξύ των μεθόδων εκχύλισης.

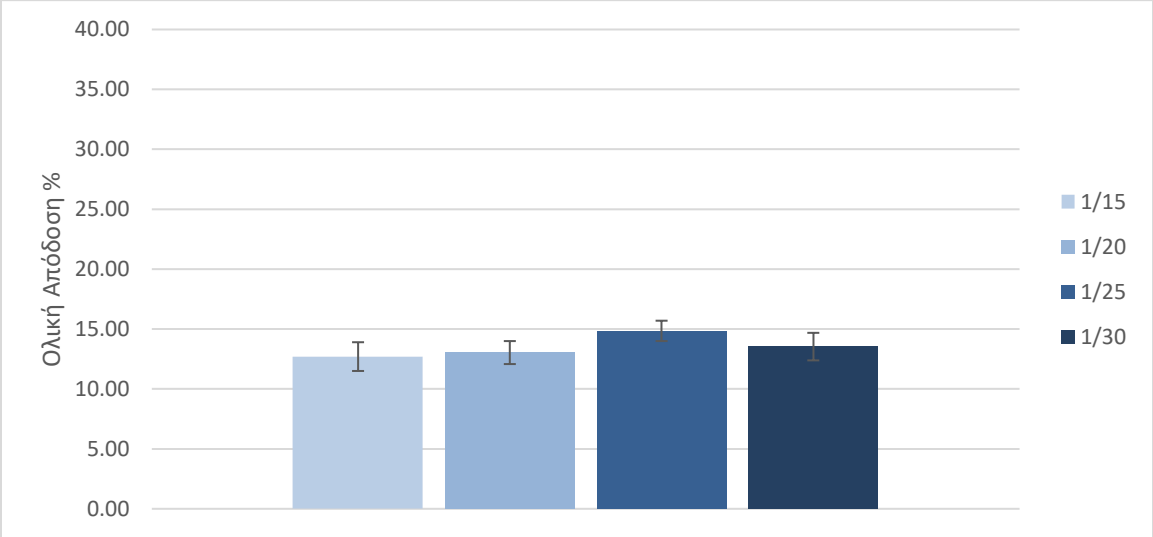
5.3.1. Αποτελέσματα Παραλαβής Πρωτεϊνικών Υπερσυμπυκνωμάτων με τη Συμβατική Μέθοδο Εκχύλισης



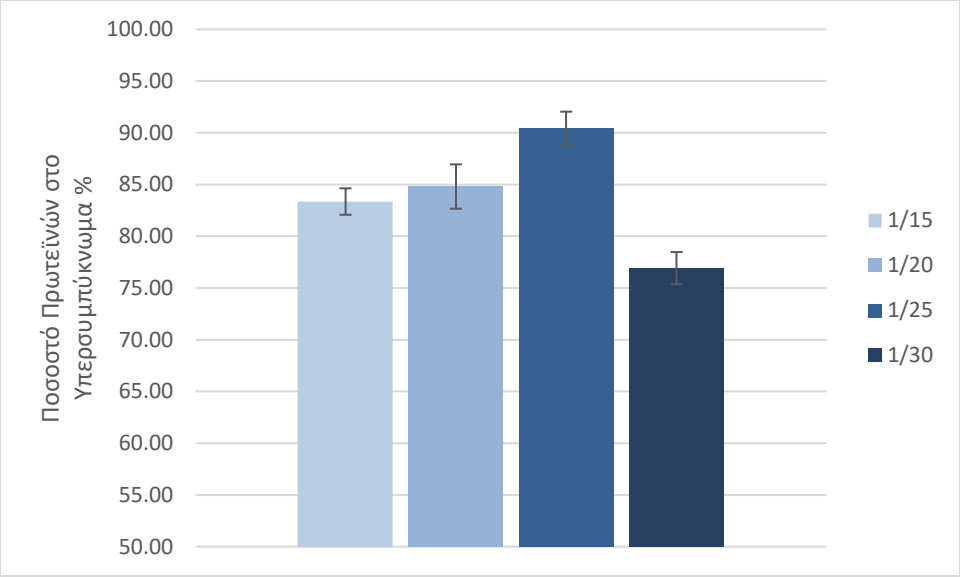
Διάγραμμα 5-2. Μεταβολή της απόδοσης εκχύλισης συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό για τα πειράματα της συμβατικής μεθόδου εκχύλισης.



Διάγραμμα 5-3. Μεταβολή της απόδοσης καταβύθισης συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό για τα πειράματα της συμβατικής μεθόδου εκχύλισης.

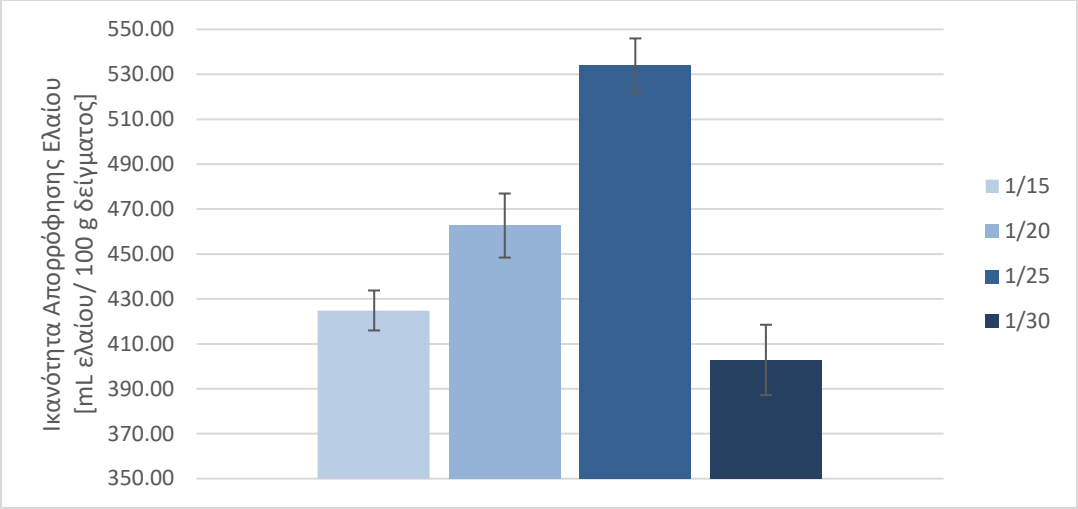


Διάγραμμα 5-4. Μεταβολή της ολικής απόδοσης συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό για τα πειράματα της συμβατικής μεθόδου εκχύλισης.



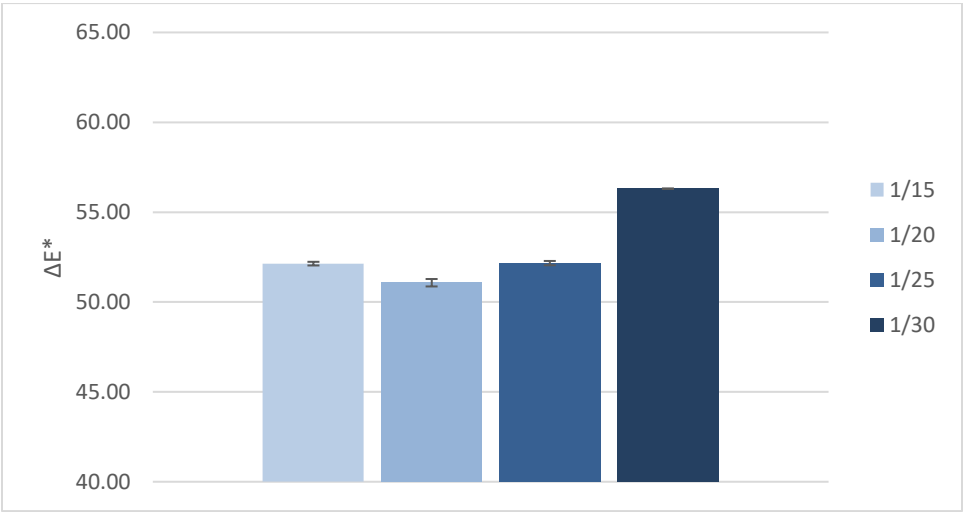
Διάγραμμα 5-5. Μεταβολή της περιεκτικότητας των υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνη συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό για τα πειράματα της συμβατικής μεθόδου εκχύλισης.

Από τα αποτελέσματα των πειραμάτων όπως παρουσιάζονται στα παραπάνω διαγράμματα παρατηρείται ότι η μέγιστη ολική απόδοση, και η μέγιστη απόδοση εκχύλισης παρουσιάζονται για λόγο στερεού προς υγρό 1/25, ενώ οι ελάχιστες αποδόσεις για λόγο στερεού προς υγρό 1/15. Ομοίως, η μέγιστη περιεκτικότητα του υπερσυμπυκνώματος σε πρωτεΐνες εμφανίζεται για λόγο στερεού προς υγρό ίσο με 1/20. Ωστόσο, η μικρότερη περιεκτικότητα πρωτεϊνών εμφανίζεται για λόγο στερεού προς υγρό 1/30. Πρέπει να σημειωθεί ότι στην τελευταία περίπτωση η περιεκτικότητα του τελικού προϊόντος σε πρωτεΐνες είναι χαμηλή και θεωρητικά δεν ανήκει στην κατηγορία των υπερσυμπυκνωμάτων.



Διάγραμμα 5-6. Μεταβολή της ικανότητας απορρόφησης νερού (ΙΑΝ) των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό για τα πειράματα της συμβατικής μεθόδου εκχύλισης.

Διάγραμμα 5-7. Μεταβολή της ικανότητας απορρόφησης ελαίου (ΙΑΕ) των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό για τα πειράματα της συμβατικής μεθόδου εκχύλισης.

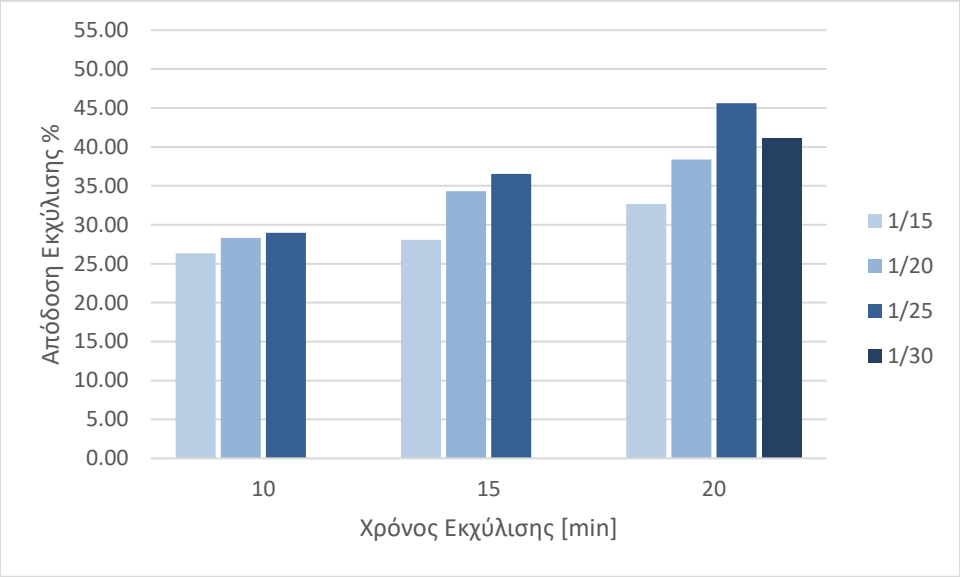


Διάγραμμα 5-8. Μεταβολή του χρώματος των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό για τα πειράματα της συμβατικής μεθόδου εκχύλισης.

Από τα αποτελέσματα των μετρήσεων όπως παρουσιάζονται στα παραπάνω διαγράμματα παρατηρείται ότι η μέγιστη ικανότητα απορρόφησης νερού εμφανίζεται για λόγο στερεού προς υγρό 1/20, ενώ η μέγιστη ικανότητα απορρόφησης ελαίου εμφανίζεται για λόγο

στερεού προς υγρό 1/25. Όσον αφορά το χρώμα η μέγιστη τιμή εμφανίζεται για λόγο στερεού προς υγρό 1/30.

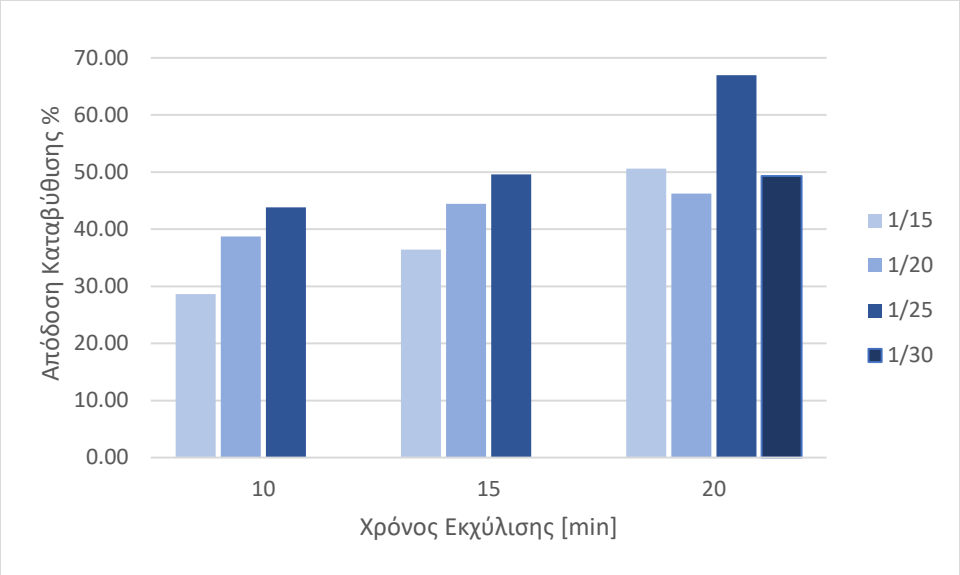
5.3.2. Αποτελέσματα παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους



Διάγραμμα 5-9. Μεταβολή της απόδοσης εκχύλισης συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και του χρόνου εκχύλισης για τα πειράματα με χρήση υπερήχων.

Με βάση το παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι η απόδοση εκχύλισης αυξάνεται αυξανόμενου του χρόνου εκχύλισης και η μέγιστη απόδοση εμφανίζεται για χρόνο εκχύλισης ίσο με 20 min. Όσον αφορά το λόγο στερεού προς υγρό, παρατηρείται ότι μέχρι το λόγο 1/25 η απόδοση εκχύλισης αυξάνεται, ενώ για λόγο στερεού προς υγρό 1/30 η απόδοση εκχύλισης μειώνεται. Συνολικά, οι υψηλότερες αποδόσεις εμφανίζονται για χρόνο εκχύλισης 20 min και λόγο στερεού προς υγρό 1/25.

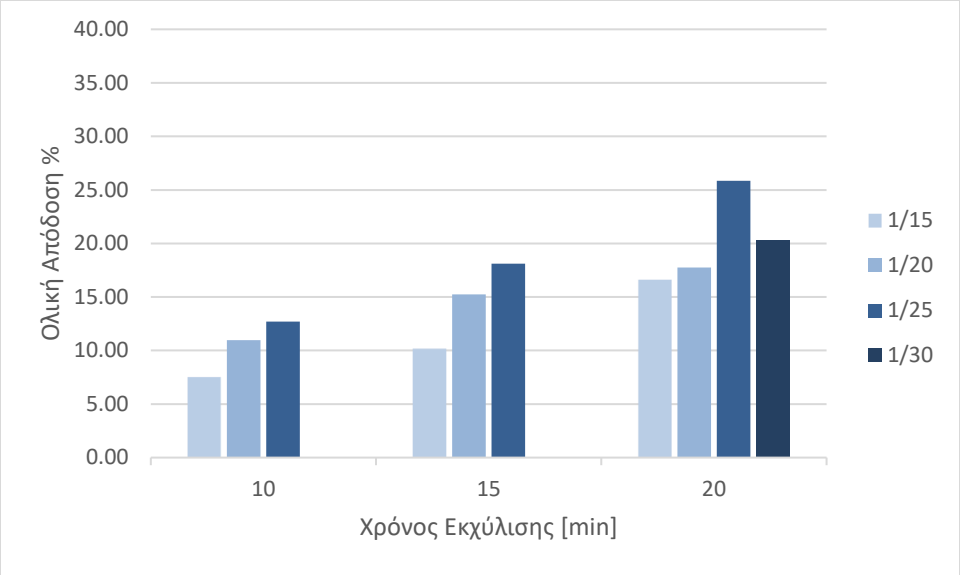
Από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων (ανάλυση διακύμανσης) προκύπτει ότι ο χρόνος εκχύλισης επηρεάζει σημαντικά την απόδοση εκχύλισης, όσον αφορά τις εκχυλίσεις υποβοηθούμενες με υπερήχους. Με χρήση του κριτηρίου διαφοράς Duncan's test, συμπεραίνεται ότι οι αποδόσεις εκχύλισης για χρόνους εκχύλισης 10 και 15 min δεν διαφέρουν μεταξύ τους, ωστόσο δίνουν χειρότερα αποτελέσματα σε σχέση με το χρόνο εκχύλισης 20 min που παρουσιάζει καλύτερα αποτελέσματα. Αντίθετα, ο λόγος στερεού προς υγρό δεν επηρεάζει σημαντικά τις αποδόσεις εκχύλισης.



Διάγραμμα 5-10. Μεταβολή της απόδοσης καταβύθισης συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και του χρόνου εκχύλισης για τα πειράματα με χρήση υπερήχων.

Με βάση το παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι η απόδοση καταβύθισης αυξάνεται αυξανόμενου του χρόνου εκχύλισης και η μέγιστη απόδοση εμφανίζεται για χρόνο εκχύλισης ίσο με 20 min. Όσον αφορά το λόγο στερεού προς υγρό, παρατηρείται ότι μέχρι το λόγο 1/25 η απόδοση εκχύλισης αυξάνεται, ενώ για λόγο στερεού προς υγρό 1/30 η απόδοση εκχύλισης μειώνεται. Συνολικά, οι υψηλότερες αποδόσεις εμφανίζονται για χρόνο εκχύλισης 20 min και λόγο στερεού προς υγρό 1/25.

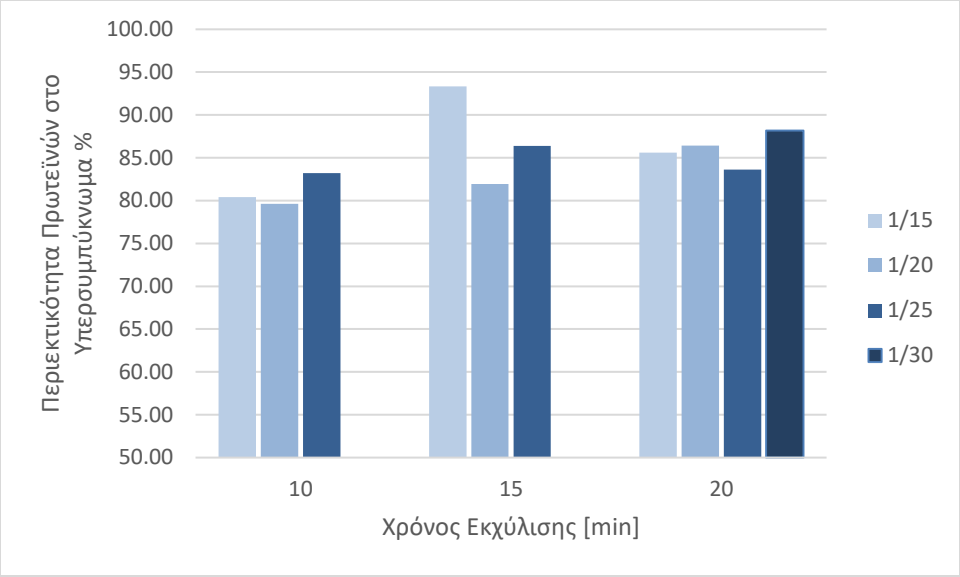
Από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων (ανάλυση διακύμανσης) προκύπτει ότι ο χρόνος εκχύλισης επηρεάζει σημαντικά την απόδοση καταβύθισης, όσον αφορά τις εκχυλίσεις υποβοηθούμενες με υπερήχους. Με χρήση του κριτηρίου διαφοράς Duncan's test, συμπεραίνεται ότι οι αποδόσεις καταβύθισης για χρόνους εκχύλισης 10 και 20 min διαφέρουν μεταξύ τους και για χρόνο 20 min εμφανίζονται τα υψηλότερα αποτελέσματα. Αντίθετα, ο λόγος στερεού προς υγρό δεν επηρεάζει σημαντικά τις αποδόσεις καταβύθισης.



Διάγραμμα 5-11. Μεταβολή της ολικής απόδοσης συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και του χρόνου εκχύλισης για τα πειράματα με χρήση υπερήχων.

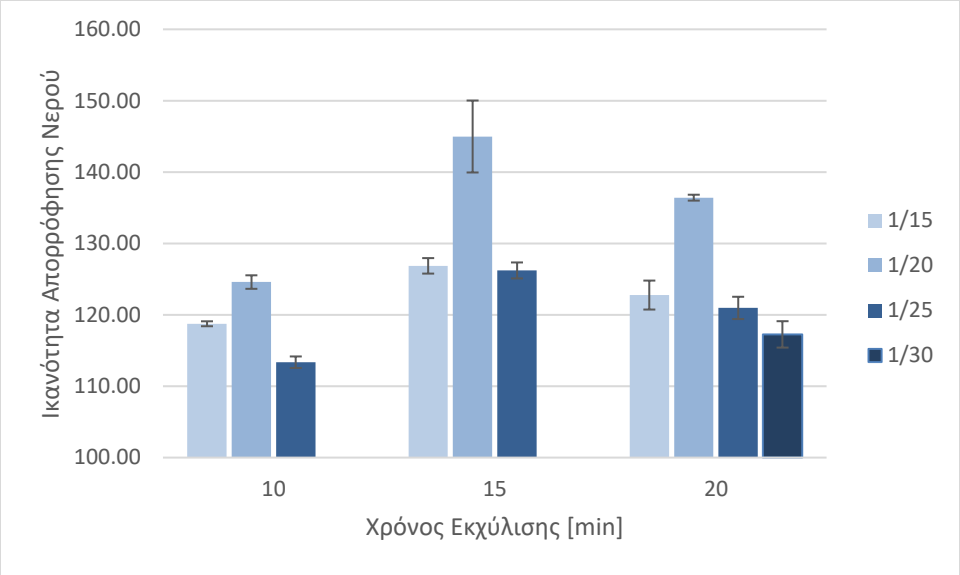
Με βάση τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι η ολική απόδοση αυξάνεται αυξανόμενου του χρόνου εκχύλισης και η μέγιστη απόδοση εμφανίζεται για χρόνο εκχύλισης ίσο με 20 min. Όσον αφορά το λόγο στερεού προς υγρό, παρατηρείται ότι μέχρι το λόγο 1/25, η απόδοση εκχύλισης αυξάνεται, ενώ για λόγο στερεού προς υγρό 1/30, η απόδοση εκχύλισης μειώνεται. Συνολικά, οι υψηλότερες αποδόσεις εμφανίζονται για χρόνο εκχύλισης 20 min και λόγο στερεού προς υγρό 1/25.

Από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων προκύπτει ότι τόσο ο χρόνος εκχύλισης όσο και ο λόγος στερεού προς υγρό επηρεάζουν σημαντικά την ολική απόδοση, όσον αφορά τις εκχυλίσεις υποβοηθούμενες με υπερήχους. Με χρήση του κριτηρίου διαφοράς Duncan's test, συμπεραίνεται ότι αυξανόμενου του χρόνου εκχύλισης αυξάνεται στατιστικά σημαντικά η ολική απόδοση της διεργασίας. Όσον αφορά το λόγο στερεού προς υγρό, προκύπτει ότι οι ολικές αποδόσεις για λόγους 1/25 και 1/15 διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους. Ομοίως, η ολική απόδοση για λόγο 1/30 παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά από τις αποδόσεις για λόγους 1/15 και 1/20. Γενικά, αυξανόμενου του λόγου στερεού προς υγρό αυξάνεται η ολική απόδοση της διεργασίας.



Διάγραμμα 5-12. Μεταβολή της περιεκτικότητας του υπερσυμπυκνώματος σε πρωτεΐνες συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και του χρόνου εκχύλισης για τα πειράματα με χρήση υπερήχων.

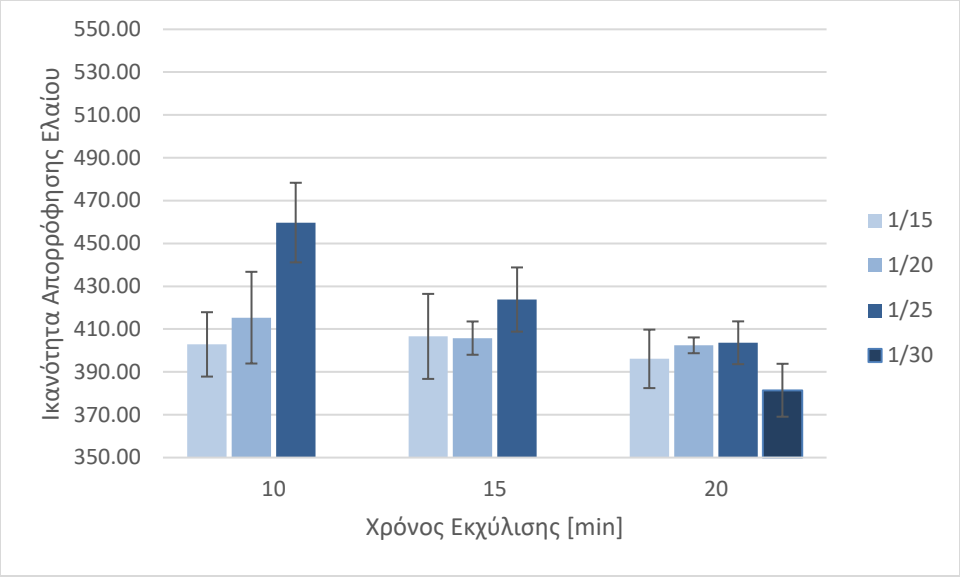
Με βάση το παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι το ποσοστό πρωτεϊνών στο υπερσυμπύκνωμα δεν ακολουθεί μία συγκεκριμένη τάση. Το παραπάνω γεγονός επιβεβαιώνεται και από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων (ανάλυση διακύμανσης) στην οποία προκύπτει ότι τόσο ο χρόνος εκχύλισης όσο και ο λόγος στερεού προς υγρό δεν επηρεάζουν σημαντικά την περιεχόμενη ποσότητα των πρωτεϊνών στα υπερσυμπυκνώματα.



Διάγραμμα 5-13. Μεταβολή της ικανότητας απορρόφησης νερού (ΙΑΝ) συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και του χρόνου εκχύλισης για τα πειράματα με χρήση υπερήχων.

Με βάση το παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι όσον αφορά το χρόνο εκχύλισης, η ικανότητα απορρόφησης νερού των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων παρουσιάζει αρχικά μία αύξηση της τιμής της από τα 10 στα 15 min, ωστόσο για χρόνο ίσο με 20 min μειώνεται. Παρόμοια συμπεριφορά παρατηρείται και στην περίπτωση του λόγου στερεού προς υγρό, όπου φαίνεται να παρουσιάζεται μία αύξηση της τιμής από το λόγο 1/15 στο λόγο 1/20, ωστόσο στη συνέχεια παρατηρείται μείωση της τιμής αυτής.

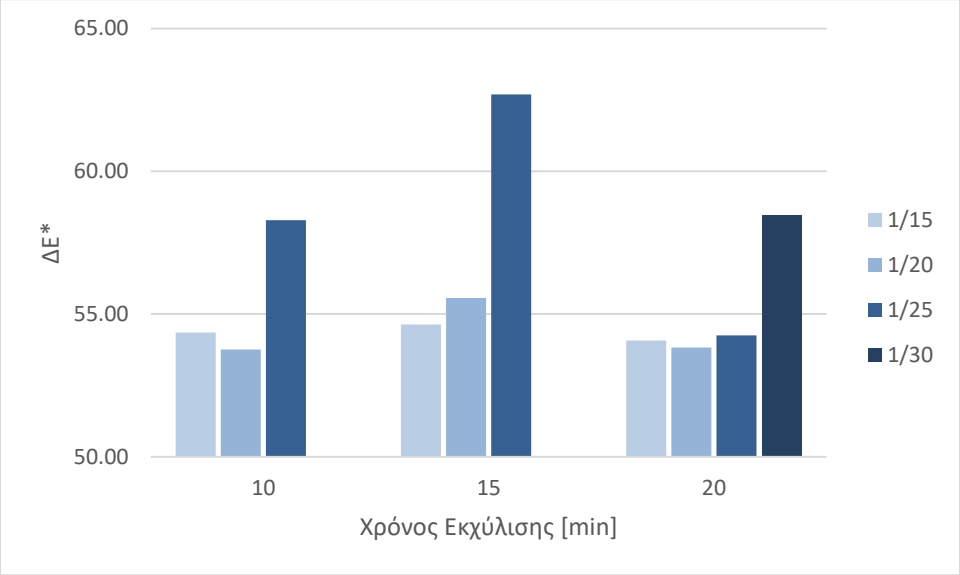
Από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων (ανάλυση διακύμανσης) προκύπτει ότι τόσο ο χρόνος εκχύλισης όσο και ο λόγος στερεού προς υγρό επηρεάζουν σημαντικά την ικανότητα απορρόφησης νερού των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων. Ειδικότερα, ο χρόνος εκχύλισης 15 min διαφέρει σημαντικά από τους χρόνους 10 και 20 min παρουσιάζοντας την υψηλότερη τιμή της ιδιότητας αυτής. Όσον αφορά το λόγο στερεού προς υγρό, ο λόγος 1/20 διαφέρει σημαντικά από τους υπόλοιπους, εμφανίζοντας και την υψηλότερη τιμή της ιδιότητας αυτής.



Διάγραμμα 5-14. Μεταβολή της ικανότητας απορρόφησης ελαίου (ΙΑΕ) συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και του χρόνου εκχύλισης για τα πειράματα με χρήση υπερήχων.

Με βάση το παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι η ικανότητα απορρόφησης ελαίου των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων μειώνεται αυξανόμενου του χρόνου εκχύλισης και η μέγιστη τιμή εμφανίζεται για χρόνο εκχύλισης ίσο με 10 min. Όσον αφορά το λόγο στερεού προς υγρό, παρατηρείται ότι μέχρι το λόγο 1/25, η ικανότητα απορρόφησης ελαίου αυξάνεται, ενώ για λόγο στερεού προς υγρό 1/30 μειώνεται. Συνολικά, οι υψηλότερες τιμές της ιδιότητας αυτής εμφανίζονται για χρόνο εκχύλισης 10 min και λόγο στερεού προς υγρό 1/25.

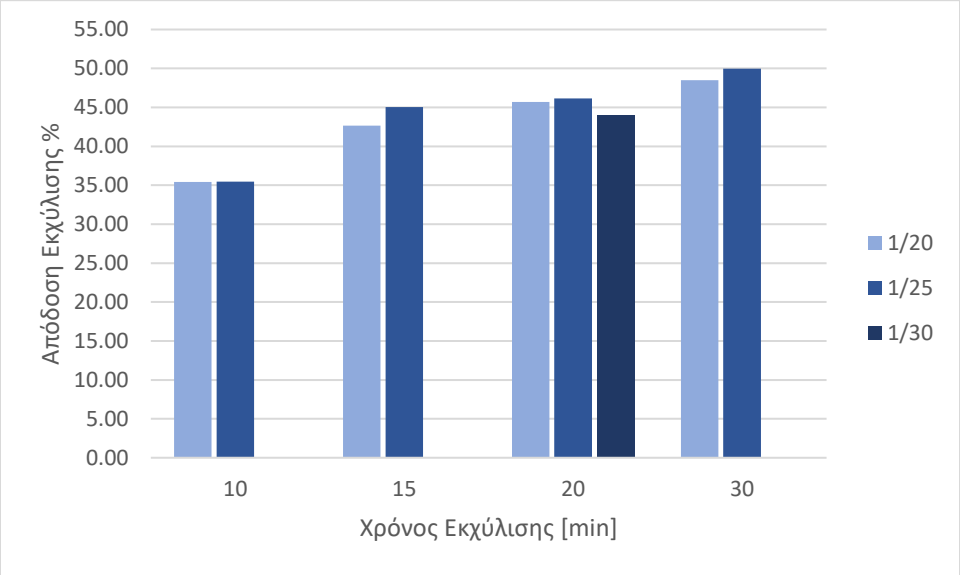
Από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων (ανάλυση διακύμανσης) προκύπτει ότι ο λόγος στερεού προς υγρό επηρεάζει σημαντικά την ικανότητα απορρόφησης ελαίου, όσον αφορά τις εκχυλίσεις υποβοηθούμενες με υπερήχους. Με χρήση του κριτηρίου διαφοράς Duncan's test, συμπεραίνεται ότι ο λόγος στερεού προς υγρό 1/30 διαφέρει σημαντικά από τους υπόλοιπους εμφανίζοντας τη μικρότερη τιμή. Αντίθετα, ο χρόνος δεν επηρεάζει σημαντικά την ικανότητα απορρόφησης ελαίου των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων.



Διάγραμμα 5-15. Μεταβολή του χρώματος συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και του χρόνου εκχύλισης για τα πειράματα με χρήση υπερήχων.

Με βάση το παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι το χρώμα των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων παρουσιάζει μία μικρή αύξηση στο λόγο στερεού προς υγρό 1/25, ενώ οι υπόλοιπες τιμές έχουν μικρή διαφορά. Από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων (ανάλυση διακύμανσης) προκύπτει ότι τόσο ο χρόνος εκχύλισης όσο και ο λόγος στερεού προς υγρό δεν επηρεάζουν σημαντικά το χρώμα των υπερσυμπυκνωμάτων.

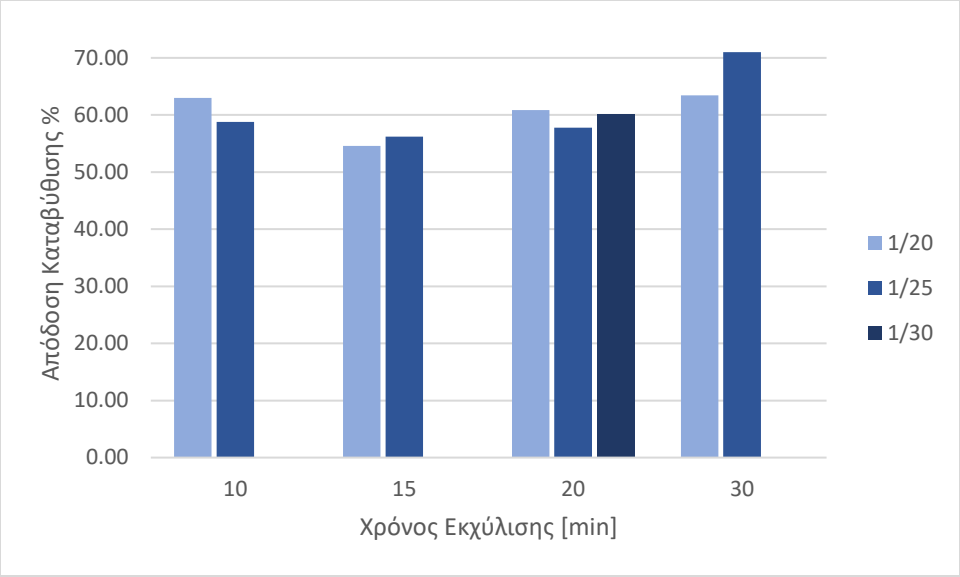
5.3.3. Αποτελέσματα παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας



Διάγραμμα 5-16. Μεταβολή της απόδοσης εκχύλισης συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και του χρόνου εκχύλισης για τα πειράματα με χρήση μηχανικού ομογενοποιητή.

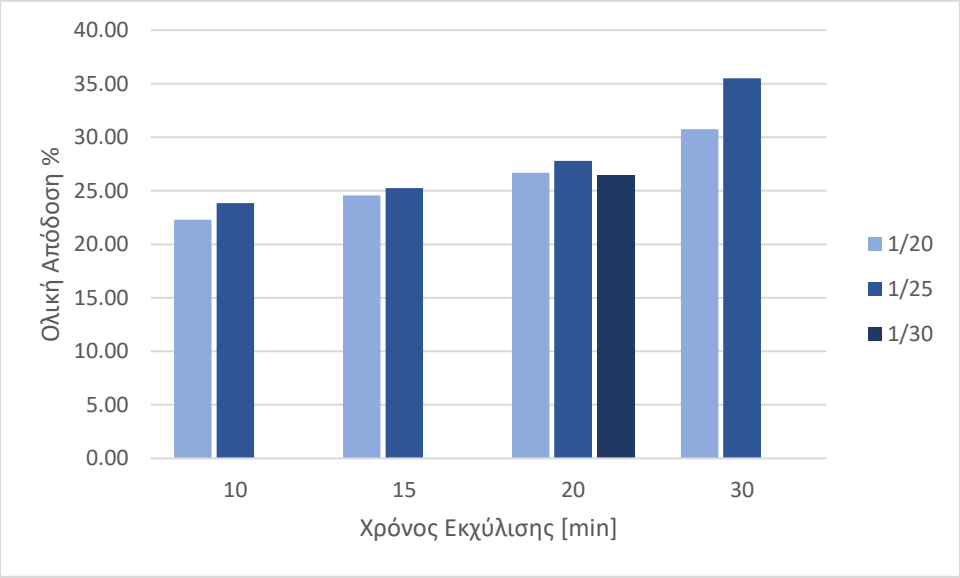
Με βάση το παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι η απόδοση εκχύλισης αυξάνεται αυξανόμενου του χρόνου εκχύλισης και η μέγιστη απόδοση εμφανίζεται για χρόνο εκχύλισης ίσο με 30 min. Όσον αφορά το λόγο στερεού προς υγρό, παρατηρείται ότι μέχρι το λόγο 1/25, η απόδοση εκχύλισης αυξάνεται, ενώ για λόγο στερεού προς υγρό 1/30 η απόδοση εκχύλισης μειώνεται. Συνολικά, οι υψηλότερες αποδόσεις εμφανίζονται για χρόνο εκχύλισης 30 min και λόγο στερεού προς υγρό 1/25.

Από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων (ανάλυση διακύμανσης) προκύπτει ότι ο χρόνος εκχύλισης επηρεάζει σημαντικά την απόδοση εκχύλισης, όσον αφορά τις εκχυλίσεις υποβοηθούμενες με μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας. Με χρήση του κριτηρίου διαφοράς Duncan's test, συμπεραίνεται ότι, οι αποδόσεις εκχύλισης για χρόνους εκχύλισης 15 και 20 min δεν διαφέρουν μεταξύ τους, ενώ σε όλες τις άλλες περιπτώσεις παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά. Όσο αυξάνεται ο χρόνος εκχύλισης τόσο αυξάνεται και η απόδοση εκχύλισης. Αντίθετα, ο λόγος στερεού προς υγρό δεν επηρεάζει σημαντικά τις αποδόσεις εκχύλισης.



Διάγραμμα 5-17. Μεταβολή της απόδοσης καταβύθισης συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και του χρόνου εκχύλισης για τα πειράματα με χρήση μηχανικού ομογενοποιητή.

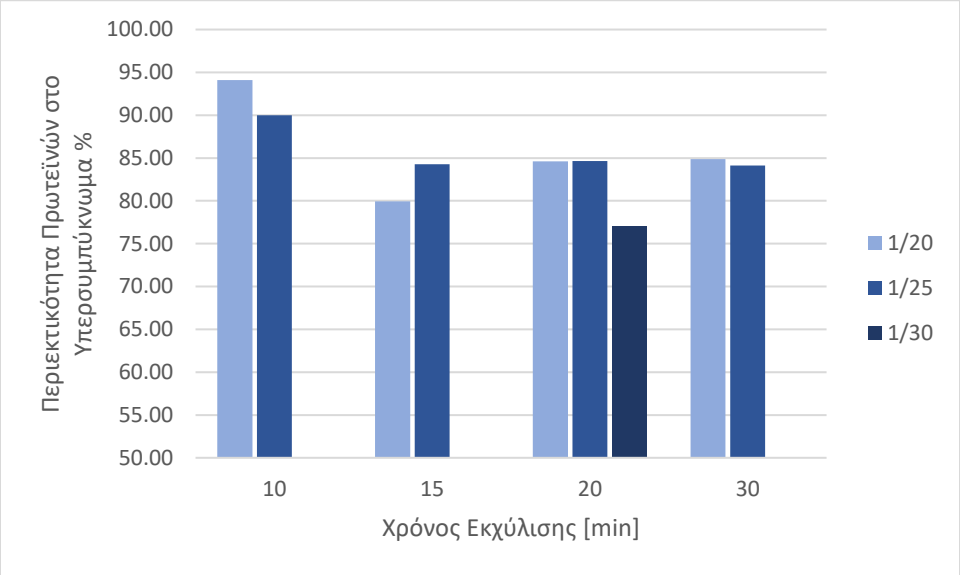
Με βάση το παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι η απόδοση καταβύθισης δεν ακολουθεί μία σταθερή τάση. Το παραπάνω γεγονός επιβεβαιώνεται και από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων, από την οποία προκύπτει ότι τόσο ο χρόνος εκχύλισης όσο και ο λόγος στερεού προς υγρό δεν επηρεάζουν σημαντικά την απόδοση καταβύθισης.



Διάγραμμα 5-18. Μεταβολή της ολικής απόδοσης συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και του χρόνου εκχύλισης για τα πειράματα με χρήση μηχανικού ομογενοποιητή.

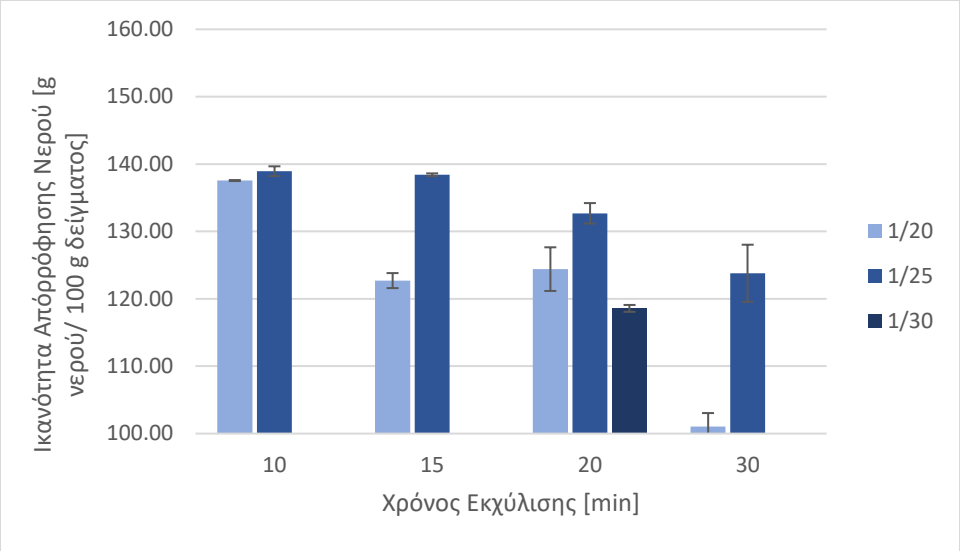
Με βάση το παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι η ολική απόδοση αυξάνεται αυξανόμενου του χρόνου εκχύλισης και η μέγιστη απόδοση εμφανίζεται για χρόνο εκχύλισης ίσο με 30 min. Όσον αφορά το λόγο στερεού προς υγρό, παρατηρείται ότι μέχρι το λόγο 1/25, η απόδοση εκχύλισης αυξάνεται, ενώ για λόγο στερεού προς υγρό 1/30 η απόδοση εκχύλισης μειώνεται. Συνολικά, οι υψηλότερες αποδόσεις εμφανίζονται για χρόνο εκχύλισης 30 min και λόγο στερεού προς υγρό 1/25.

Από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων προκύπτει ότι ο χρόνος εκχύλισης επηρεάζει σημαντικά την ολική απόδοση, όσον αφορά τις εκχυλίσεις υποβοηθούμενες με μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας. Με χρήση του κριτηρίου διαφοράς Duncan's test, συμπεραίνεται ότι, ο χρόνος 30 min διαφέρει σημαντικά από τους υπόλοιπους, παρουσιάζοντας τα καλύτερα αποτελέσματα. Αντίθετα, λόγος στερεού προς υγρό δεν επηρεάζει σημαντικά τις αποδόσεις εκχύλισης.



Διάγραμμα 5-19. Μεταβολή της περιεκτικότητας του υπερσυμπυκνώματος σε πρωτεΐνες συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και του χρόνου εκχύλισης για τα πειράματα με χρήση μηχανικού ομογενοποιητή.

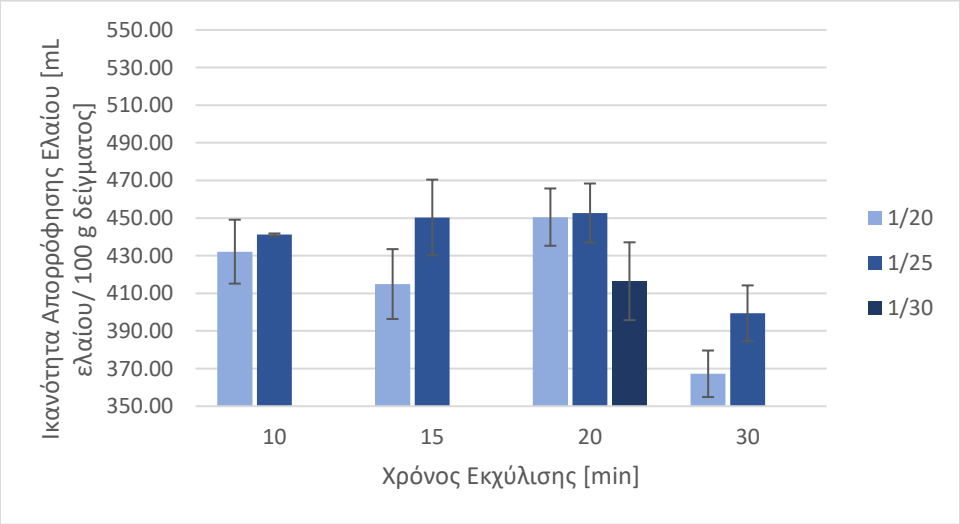
Με βάση το παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι το ποσοστό πρωτεϊνών στο υπερσυμπύκνωμα παρουσιάζει μία μείωση αυξανόμενου του χρόνου εκχύλισης. Από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων προκύπτει ότι τόσο ο χρόνος εκχύλισης όσο και ο λόγος στερεού προς υγρό δεν επηρεάζουν σημαντικά το ποσοστό πρωτεϊνών στο υπερσυμπύκνωμα.



Διάγραμμα 5-20. Μεταβολή της ικανότητας απορρόφησης νερού συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και του χρόνου εκχύλισης για τα πειράματα με χρήση μηχανικού ομογενοποιητή.

Με βάση το παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι η ικανότητα απορρόφησης νερού των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων μειώνεται αυξανόμενου του χρόνου εκχύλισης και η μέγιστη τιμή εμφανίζεται για χρόνο εκχύλισης ίσο με 10 min. Όσον αφορά το λόγο στερεού προς υγρό, παρατηρείται ότι μέχρι το λόγο 1/25, η ικανότητα απορρόφησης νερού αυξάνεται, ενώ για λόγο στερεού προς υγρό 1/30 μειώνεται. Συνολικά, οι υψηλότερες τιμές αυτής εμφανίζονται για χρόνο εκχύλισης 10 min και λόγο στερεού προς υγρό 1/25.

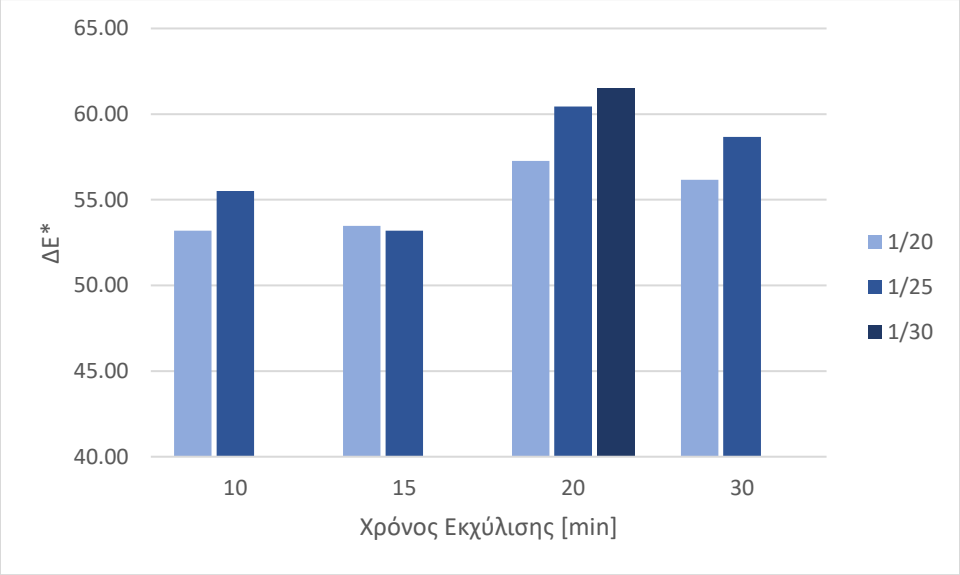
Από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων (ανάλυση διακύμανσης) προκύπτει ότι τόσο ο χρόνος εκχύλισης όσο και ο λόγος στερεού προς υγρό δεν επηρεάζουν σημαντικά την ικανότητα απορρόφησης νερού των υπερσυμπυκνωμάτων.



Διάγραμμα 5-21. Μεταβολή της ικανότητας απορρόφησης ελαίου συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και του χρόνου εκχύλισης για τα πειράματα με χρήση μηχανικού ομογενοποιητή.

Με βάση το παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι όσον αφορά το χρόνο εκχύλισης, η ικανότητα απορρόφησης ελαίου των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων παρουσιάζει αρχικά μια αύξηση από τα 10 στα 20 min, ωστόσο για χρόνο ίσο με 30 min μειώνεται. Παρόμοια συμπεριφορά παρατηρείται και στην περίπτωση του λόγου στερεού προς υγρό, όπου φαίνεται να παρουσιάζεται μία αύξηση της τιμής από το λόγο 1/15 στο λόγο 1/20, ωστόσο στη συνέχεια παρατηρείται μείωση αυτής.

Από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων (ανάλυση διακύμανσης) προκύπτει ότι ο χρόνος εκχύλισης επηρεάζει σημαντικά την ικανότητα απορρόφησης ελαίου των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων. Ειδικότερα, ο χρόνος εκχύλισης 30 min διαφέρει σημαντικά από τους υπόλοιπους χρόνους παρέχοντας τη χαμηλότερη τιμή της ιδιότητας αυτής. Όσον αφορά το λόγο στερεού προς υγρό, ο λόγος 1/20 διαφέρει σημαντικά από τους υπόλοιπους, εμφανίζοντας και την υψηλότερη τιμή της ιδιότητας αυτής. Αντίθετα, ο λόγος στερεού προς υγρό δεν επηρεάζει σημαντικά την ικανότητα απορρόφησης ελαίου των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων.



Διάγραμμα 5-22. Μεταβολή του χρώματος συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και του χρόνου εκχύλισης για τα πειράματα με χρήση μηχανικού ομογενοποιητή.

Με βάση το παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι για χρόνο 20 min παρουσιάζεται μία αύξηση της τιμής του ΔΕ*. Από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων (ανάλυση διακύμανσης) προκύπτει ότι ο χρόνος εκχύλισης επηρεάζει σημαντικά το χρώμα των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων. Το χρώμα των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων για χρόνος εκχύλισης 20 min διαφέρει σημαντικά από το χρώμα για χρόνους 10 και 15 min

εμφανίζοντας μία αύξηση στην τιμή του ΔΕ. Αντίθετα, ο λόγος στερεού προς υγρό δεν επηρεάζει σημαντικά το χρώμα των υπερσυμπυκνωμάτων.

5.3.4. Αποτελέσματα παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση με ευτηκτικούς διαλύτες

Η παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με ευτηκτικούς διαλύτες επιχειρήθηκε με δύο μίγματα διαλυτών. Το πρώτο μίγμα αποτελείται από χλωρίδιο της χολίνης, γλυκόζη και απιονισμένο νερό. Όπως προαναφέρθηκε, στην περίπτωση αυτή δεν ήταν εφικτή η καταβύθιση των πρωτεϊνών από το εκχύλισμα. Ο προσδιορισμός των πρωτεϊνών στο υπόλειμμα της εκχύλισης δεν ήταν επίσης δυνατός, καθώς δεν είναι δυνατός ο πλήρης διαχωρισμός του υπολείμματος από τον ευτηκτικό διαλύτη, ο οποίος περιέχει άζωτο, με αποτέλεσμα να παρεμποδίζεται η μέτρηση της περιεκτικότητας των πρωτεϊνών (η μέτρηση των πρωτεϊνών πραγματοποιείται μέσω μέτρησης του αζώτου).

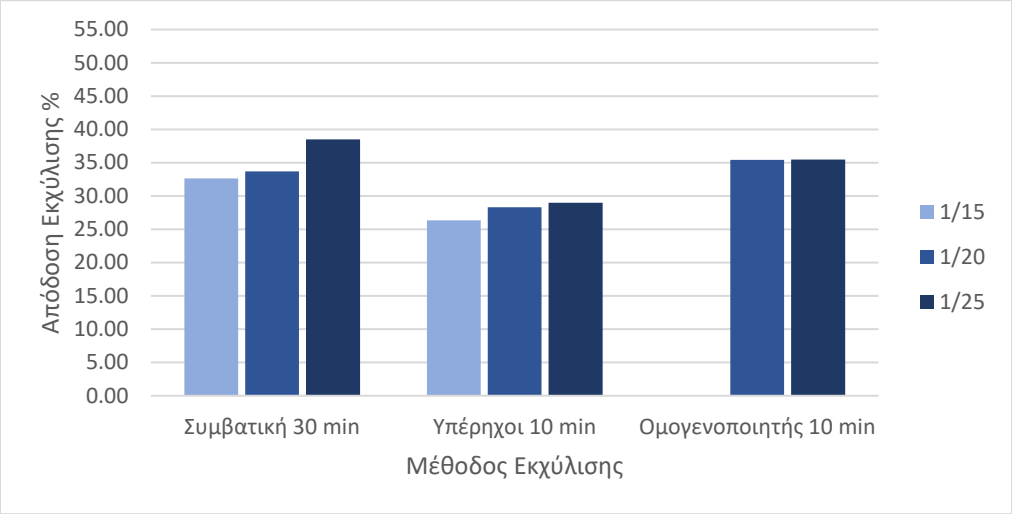
Το δεύτερο ευτηκτικό μίγμα αποτελείται από χλωρίδιο της χολίνης, γλυκερόλη και απιονισμένο νερό, στο οποίο, επίσης, δεν ήταν εφικτή η καταβύθιση των πρωτεϊνών μετά την εκχύλισή τους. Το υπόλειμμα της εκχύλισης διαπιστώθηκε ότι περιέχει μία υπολειπόμενη ποσότητα ευτηκτικού διαλύτη, ακόμη και μετά την έκπλυσή του με νερό, και επομένως δεν είναι δυνατός ο προσδιορισμός των πρωτεϊνών σε αυτό. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε εκ νέου προσπάθεια παραλαβής πρωτεϊνικού υπερσυμπυκνώματος από το υπόλειμμα, με τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης, η οποία ήταν επιτυχής.

Αν γίνει η υπόθεση ότι η συμβατική εκχύλιση του υπολείμματος έχει τις ίδιες αποδόσεις με τη συμβατική εκχύλιση, δηλαδή ολική απόδοση 14.64 % για λόγο στερεού προς υγρό 1/25, τότε είναι δυνατός ο υπολογισμός της περιεκτικότητας του υπολείμματος σε πρωτεΐνες, και άρα ο υπολογισμός της απόδοσης εκχύλισης στην περίπτωση εκχύλισης με τον ευτηκτικό διαλύτη. Με βάση την υπόθεση αυτή προκύπτει ότι η απόδοση εκχύλισης, της εκχύλισης του δεύτερου ευτηκτικού μίγματος, ισούται με 50.86 %.

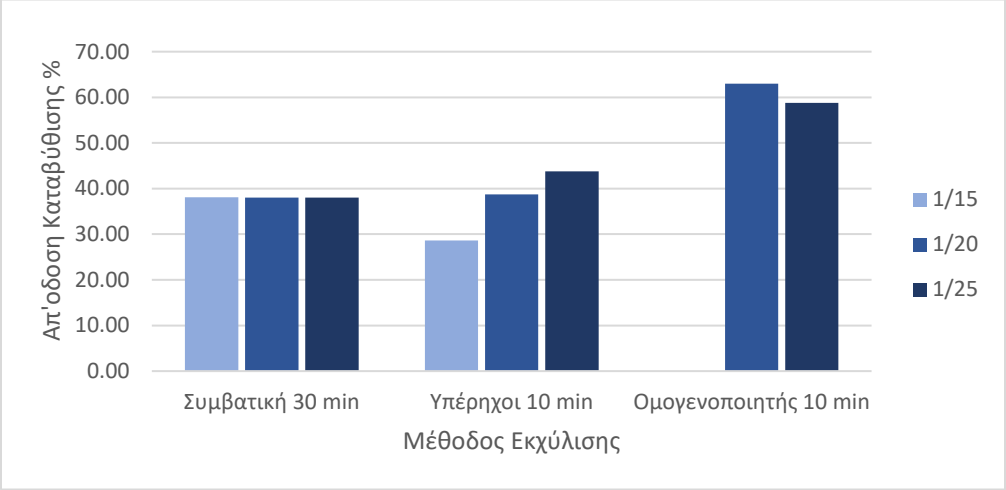
5.4. Σύγκριση Μεθόδων Εκχύλισης

Στη συνέχεια, γίνεται σύγκριση των αποτελεσμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων μέσω των νέων μεθόδων εκχύλισης, που μελετήθηκαν, με τα αντίστοιχα μέσω της συμβατικής μεθόδου εκχύλισης. Αρχικά, συγκρίνονται τα αποτελέσματα παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με χρήση των νέων μεθόδων, για χρόνο εκχύλισης 10 min, με τα αντίστοιχα της συμβατικής μεθόδου (30 min).

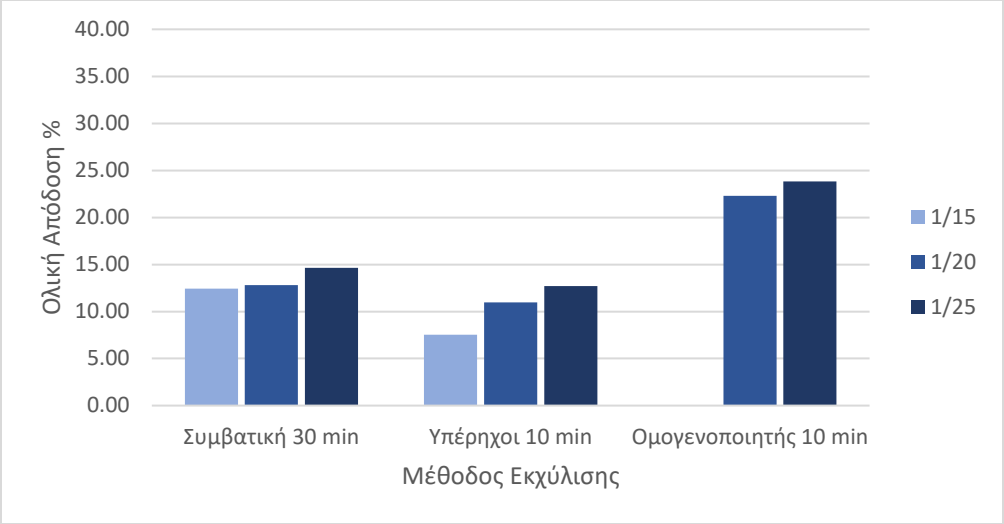
5.4.1. Σύγκριση Νέων Μεθόδων Εκχύλισης, για 10 min εκχύλισης, με τη συμβατική Μέθοδο Εκχύλισης



Διάγραμμα 5-23. Μεταβολή της απόδοσης εκχύλισης συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.



Διάγραμμα 5-24. Μεταβολή της απόδοσης καταβύθισης συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.

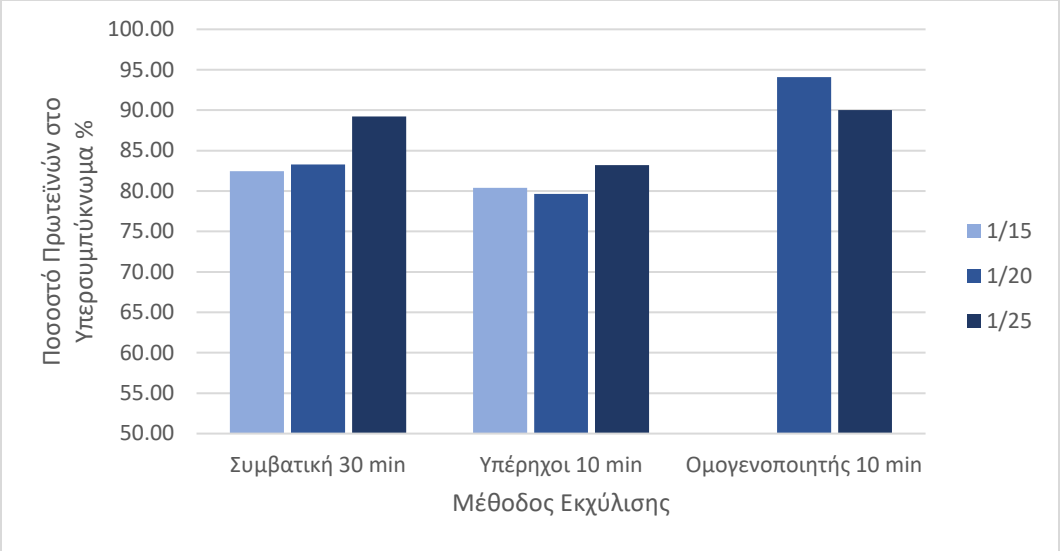


Διάγραμμα 5-25. Μεταβολή της ολικής απόδοσης συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.

Από τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στα παραπάνω διαγράμματα παρατηρείται ότι η μέγιστη απόδοση εκχύλισης εμφανίζεται στη συμβατική μέθοδο εκχύλισης, ενώ όσον αφορά τη μέγιστη απόδοση καταβύθισης και τη μέγιστη ολική απόδοση, αυτές εμφανίζονται στη μέθοδο εκχύλισης με χρήση μηχανικού ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας.

Από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων προκύπτει ότι και οι επιμέρους αποδόσεις όπως και η συνολική απόδοση της διεργασίας επηρεάζονται σημαντικά από τη μέθοδο εκχύλισης. Πιο συγκεκριμένα, οι αποδόσεις εκχύλισης με τη μέθοδο με χρήση υπερήχων, παρουσιάζουν στατιστικά μειωμένες τιμές σε σχέση με τις αποδόσεις των δύο άλλων μεθόδων εκχύλισης, οι οποίες δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους. Όσον αφορά την απόδοση καταβύθισης, η μέθοδος με χρήση μηχανικού ομογενοποιητή εμφανίζει στατιστικά σημαντικά αυξημένες τιμές, σε σχέση με τις άλλες δύο μεθόδους. Τέλος, και οι τρεις μέθοδοι εκχύλισης εμφανίζουν στατιστικά σημαντική διαφορά στην ολική απόδοση της διεργασίας. Ειδικότερα, η μέθοδος με χρήση μηχανικού ομογενοποιητή εμφανίζει τις υψηλότερες ολικές αποδόσεις, ενώ η μέθοδος με χρήση υπερήχων εμφανίζει τις μικρότερες ολικές αποδόσεις.

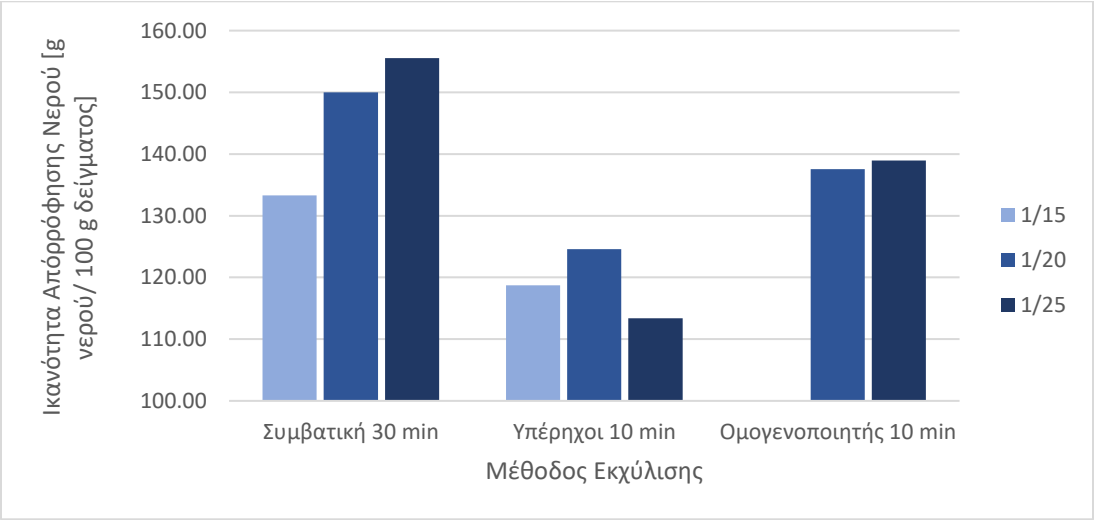
Πρέπει να σημειωθεί ότι η μέθοδος εκχύλισης με χρήση μηχανικού ομογενοποιητή εμφανίζει μεγαλύτερη ολική απόδοση εκχύλισης σε σχέση με τη συμβατική μέθοδο σε πολύ μικρότερο χρόνο εκχύλισης (10 min).



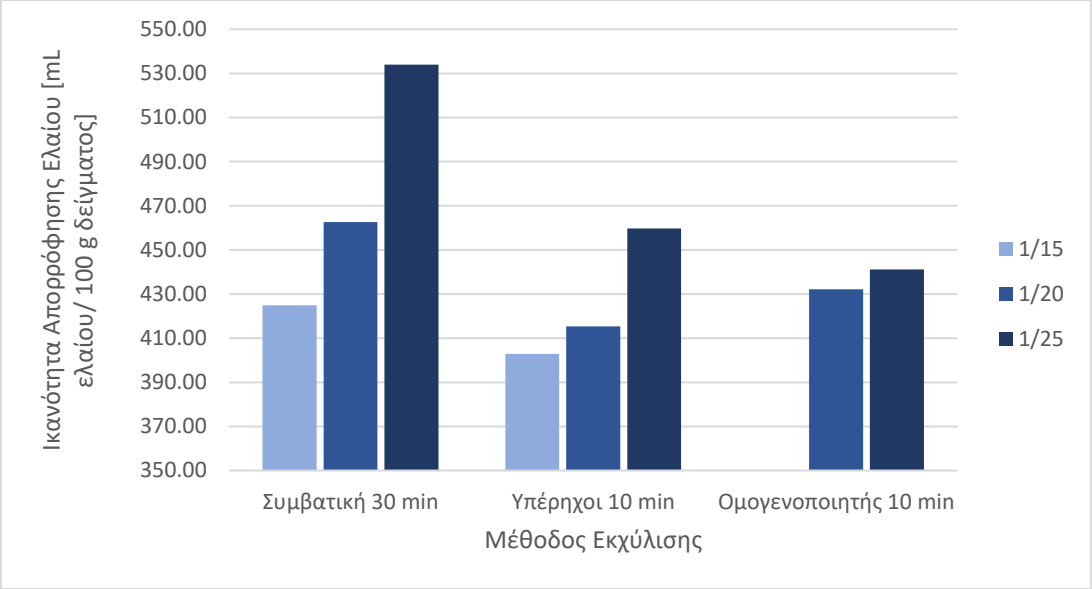
Διάγραμμα 5-26. Μεταβολή περιεκτικότητας των υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνες συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.

Με βάση τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι η μέγιστη περιεκτικότητα πρωτεϊνών εμφανίζεται στη μέθοδο με χρήση μηχανικού ομογενοποιητή. Όσον αφορά τη μέθοδο με χρήση υπερήχων, αυτή εμφανίζει μικρότερη περιεκτικότητα πρωτεϊνών στο υπερσυμπύκνωμα σε σχέση με τη συμβατική μέθοδο.

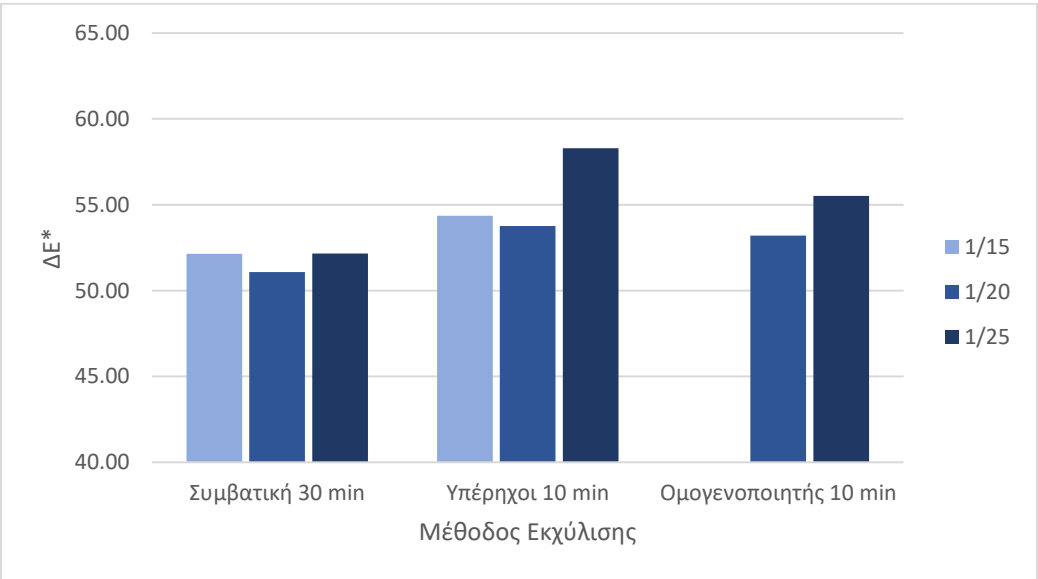
Από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων (ανάλυση διακύμανσης) προκύπτει ότι η μέθοδος εκχύλισης δεν επηρεάζει σημαντικά το ποσοστό πρωτεϊνών στο προκύπτον υπερσυμπύκνωμα.



Διάγραμμα 5-27. Μεταβολή της ικανότητας απορρόφησης νερού (ΙΑΝ) των υπερσυμπυκνωμάτων συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.



Διάγραμμα 5-28. Μεταβολή της ικανότητας απορρόφησης ελαίου (ΙΑΕ) των υπερσυμπυκνωμάτων συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.



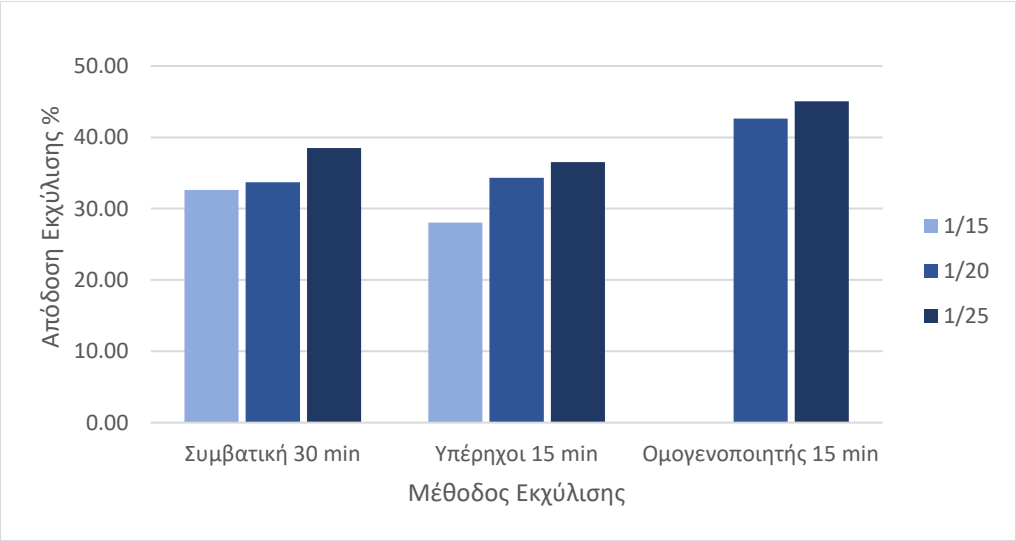
Διάγραμμα 5-29. Μεταβολή του χρώματος των υπερσυμπυκνωμάτων συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.

Από τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στα παραπάνω διαγράμματα παρατηρείται ότι τόσο η ικανότητα απορρόφησης νερού, όσο και η ικανότητα απορρόφησης ελαίου των υπερσυμπυκνωμάτων που παρήχθησαν με τις νέες μεθόδους εκχύλισης, εμφανίζουν μικρότερες τιμές σε σχέση με τις αντίστοιχες τιμές των υπερσυμπυκνωμάτων που παρήχθησαν με τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης. Όσον αφορά το χρώμα των

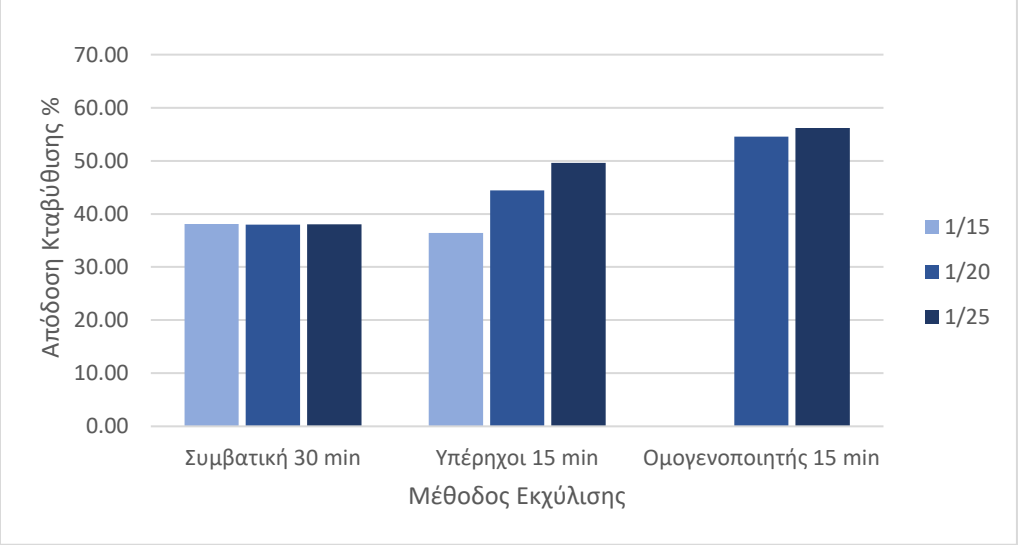
υπερσυμπυκνωμάτων μεγαλύτερες τιμές χρώματος εμφανίζουν τα υπερσυμπυκνώματα που έχουν παραχθεί με τις νέες μεθόδους εκχύλισης.

Από τη στατιστική επεξεργασία προκύπτει ότι καμία από τις παραπάνω λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων δεν επηρεάζεται σημαντικά από τη μέθοδο εκχύλισης.

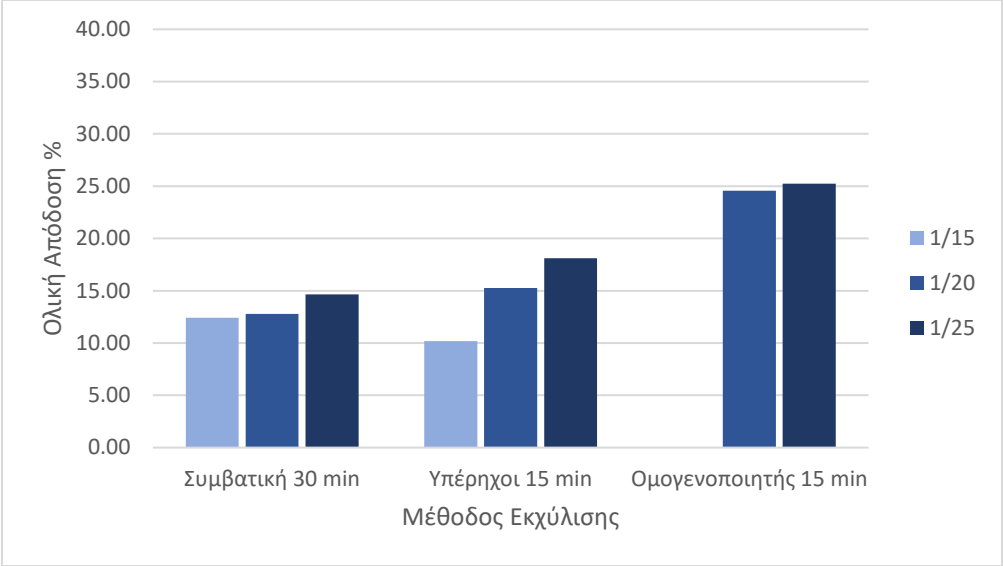
5.4.2. Σύγκριση Νέων Μεθόδων Εκχύλισης, για 15 min εκχύλισης, με τη συμβατική Μέθοδο Εκχύλισης



Διάγραμμα 5-30. Μεταβολή της απόδοσης εκχύλισης συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.



Διάγραμμα 5-31. Μεταβολή της απόδοσης καταβύθισης συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.

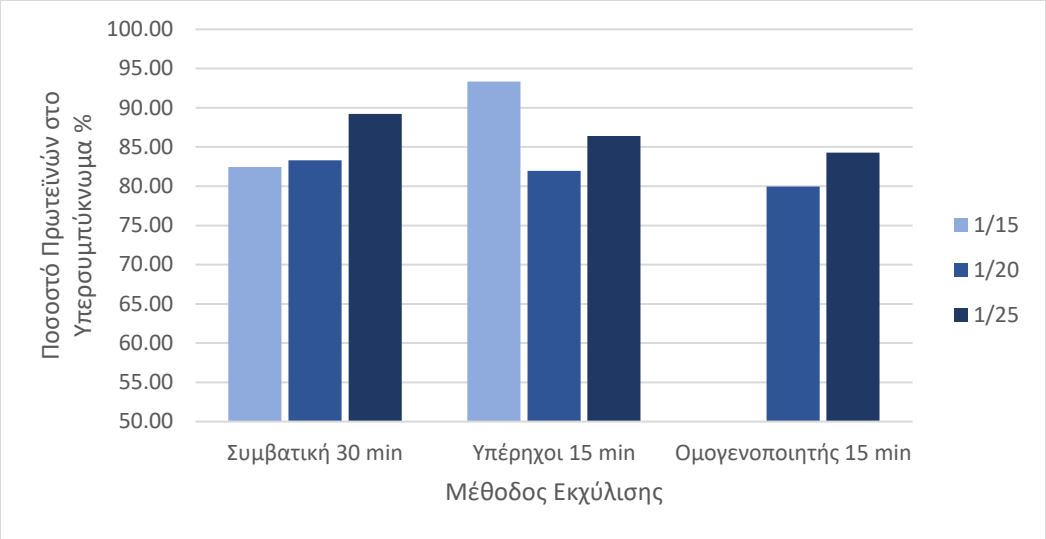


Διάγραμμα 5-32. Μεταβολή της ολικής απόδοσης συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.

Με βάση τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στα παραπάνω διαγράμματα παρατηρείται ότι οι μέγιστες αποδόσεις, απόδοση εκχύλισης, απόδοση καταβύθισης και ολική απόδοση εμφανίζονται στη μέθοδο εκχύλισης με χρήση μηχανικού ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας.

Από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων προκύπτει ότι τόσο η ολική απόδοση όσο και οι επιμέρους αποδόσεις της διεργασίας επηρεάζονται σημαντικά από τη μέθοδο εκχύλισης. Ειδικότερα, η μέθοδος εκχύλισης με χρήση μηχανικού ομογενοποιητή εμφανίζει στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερες τιμές και για τις επιμέρους αποδόσεις (απόδοση εκχύλισης, απόδοση καταβύθισης) όπως και για την ολική απόδοση της διεργασίας.

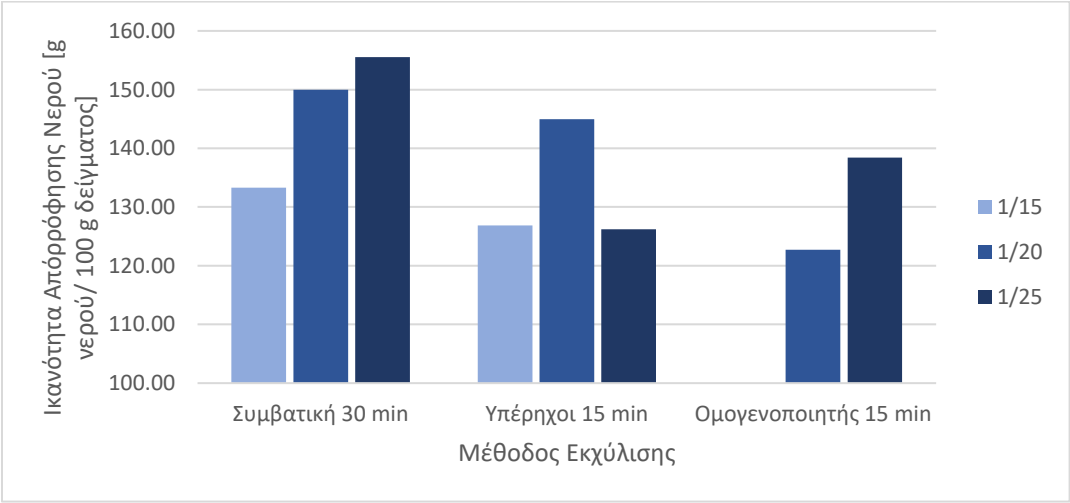
Πρέπει να σημειωθεί ότι η μέθοδος εκχύλισης με χρήση υπερήχων εμφανίζει παρόμοια αποτελέσματα με τη συμβατική μέθοδο, για μικρότερο χρόνο εκχύλισης (15 min), ενώ η μέθοδος εκχύλισης με χρήση μηχανικού ομογενοποιητή εμφανίζει μεγαλύτερη ολική απόδοση σε σχέση με τη συμβατική μέθοδο για μικρότερο χρόνο εκχύλισης (15 min).



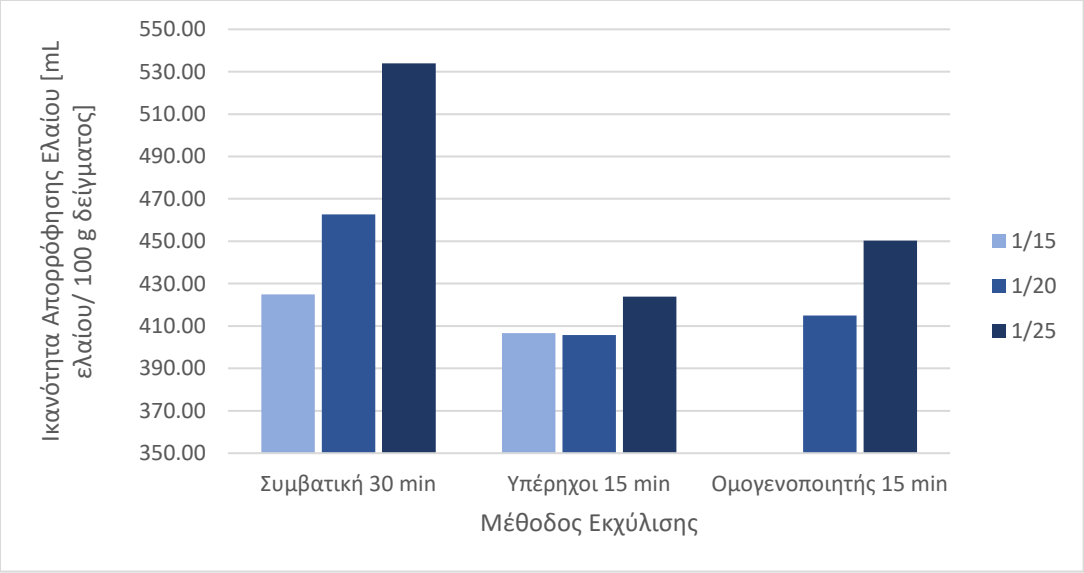
Διάγραμμα 5-33. Μεταβολή περιεκτικότητας των υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνες συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.

Με βάση τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι η μέγιστη περιεκτικότητα πρωτεϊνών των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων εμφανίζεται στη μέθοδο με χρήση υπερήχων για λόγο στερεού προς υγρό 1/15. Ωστόσο, αν εξαιρεθεί η τιμή αυτή, τα υπερσυμπυκνώματα με τις νέες μεθόδους εκχύλισης φαίνεται να προκύπτουν με μικρότερη περιεκτικότητα πρωτεϊνών.

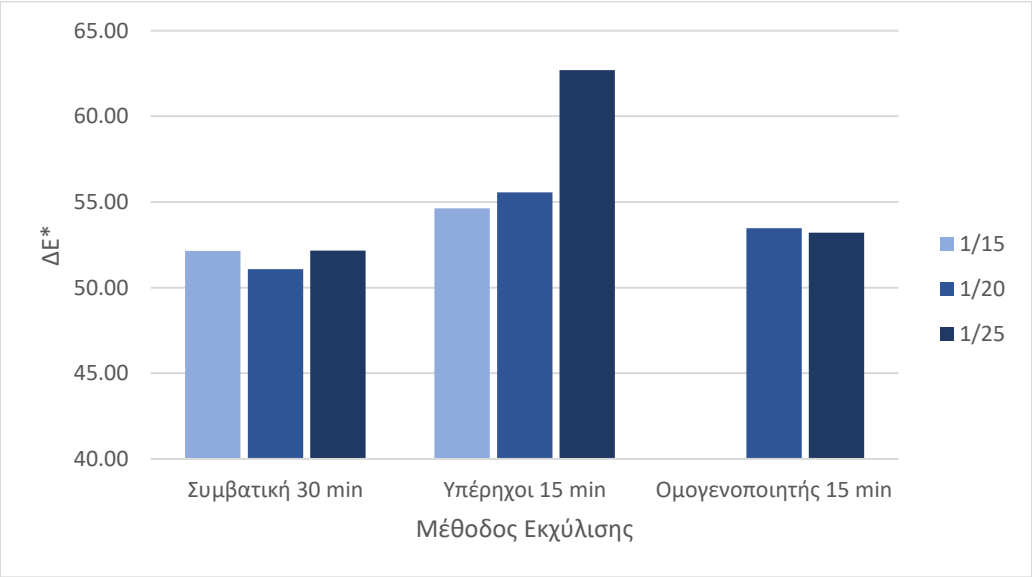
Από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων (ανάλυση διακύμανσης) προκύπτει ότι η μέθοδος εκχύλισης δεν επηρεάζει σημαντικά το ποσοστό πρωτεϊνών στο υπερσυμπύκνωμα.



Διάγραμμα 5-34. Μεταβολή της ικανότητας απορρόφησης νερού (ΙΑΝ) των υπερσυμπυκνωμάτων συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.



Διάγραμμα 5-35. Μεταβολή της ικανότητας απορρόφησης ελαίου (ΙΑΕ) των υπερσυμπυκνωμάτων συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.



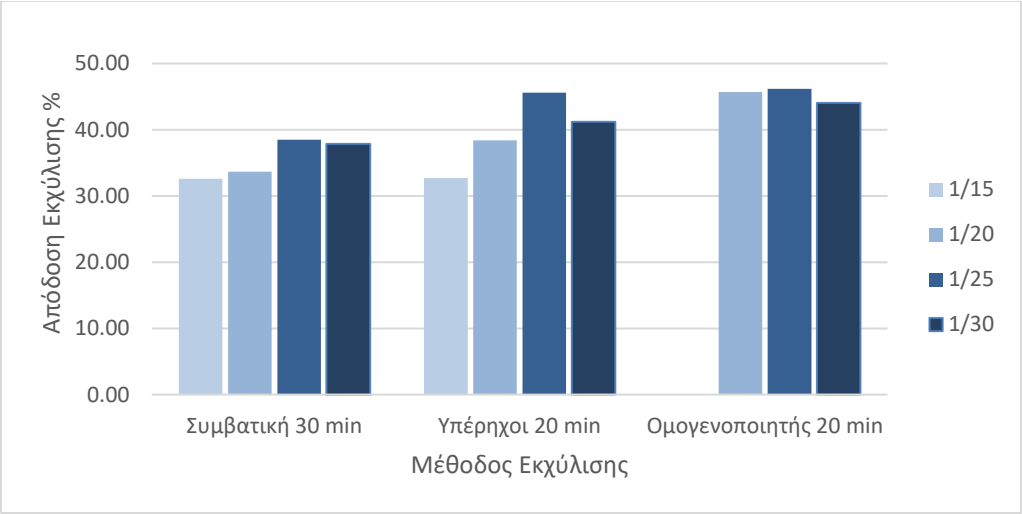
Διάγραμμα 5-36. Μεταβολή του χρώματος των υπερσυμπυκνωμάτων συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.

Με βάση τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στα παραπάνω διαγράμματα παρατηρείται ότι τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα που παρήχθησαν με τις νέες μεθόδους εκχύλισης εμφανίζουν τόσο μικρότερη ικανότητα απορρόφησης νερού, όσο και μικρότερη ικανότητα απορρόφησης ελαίου, σε σχέση με εκείνα που παρήχθησαν με τη συμβατική μέθοδο

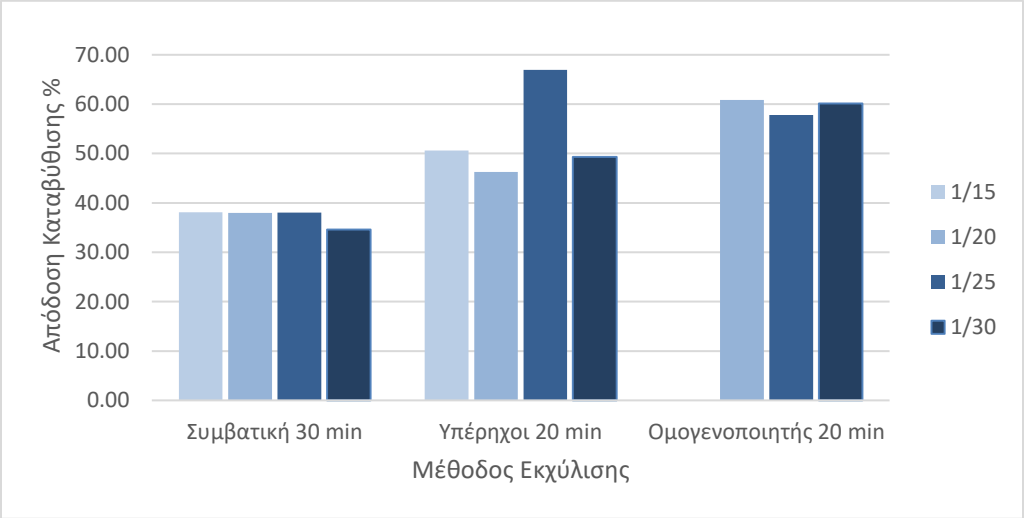
εκχύλισης. Όσον αφορά το χρώμα των υπερσυμπυκνωμάτων μεγαλύτερες τιμές χρώματος εμφανίζουν τα υπερσυμπυκνώματα που έχουν παραχθεί με τις νέες μεθόδους εκχύλισης.

Από τη στατιστική επεξεργασία προκύπτει ότι καμία από τις παραπάνω λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων δεν επηρεάζεται σημαντικά από τη μέθοδο εκχύλισης.

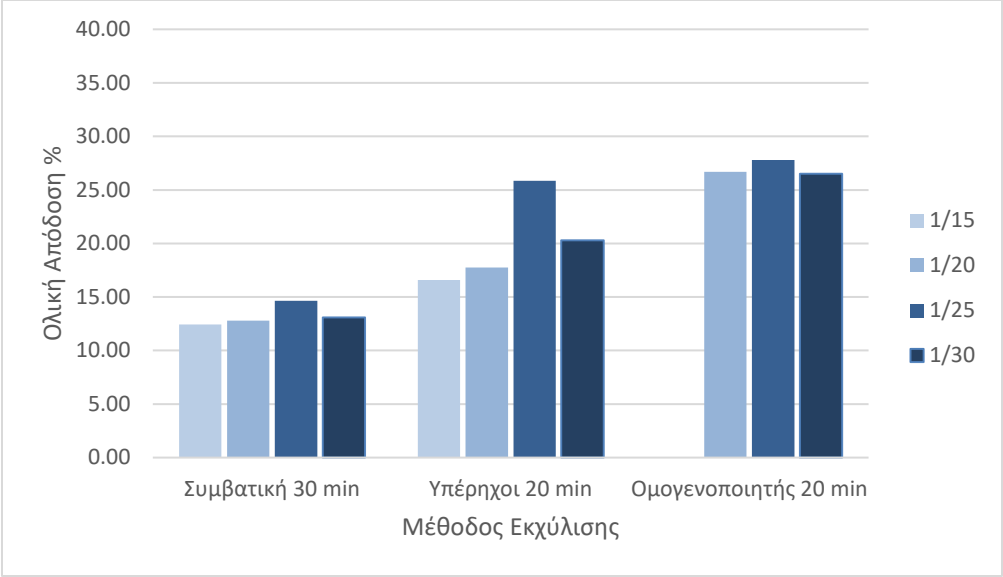
5.4.3. Σύγκριση Νέων Μεθόδων Εκχύλισης, για 20 min εκχύλισης, με τη συμβατική Μέθοδο Εκχύλισης



Διάγραμμα 5-37. Μεταβολή της απόδοσης εκχύλισης συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.



Διάγραμμα 5-38. Μεταβολή της απόδοσης καταβύθισης συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.

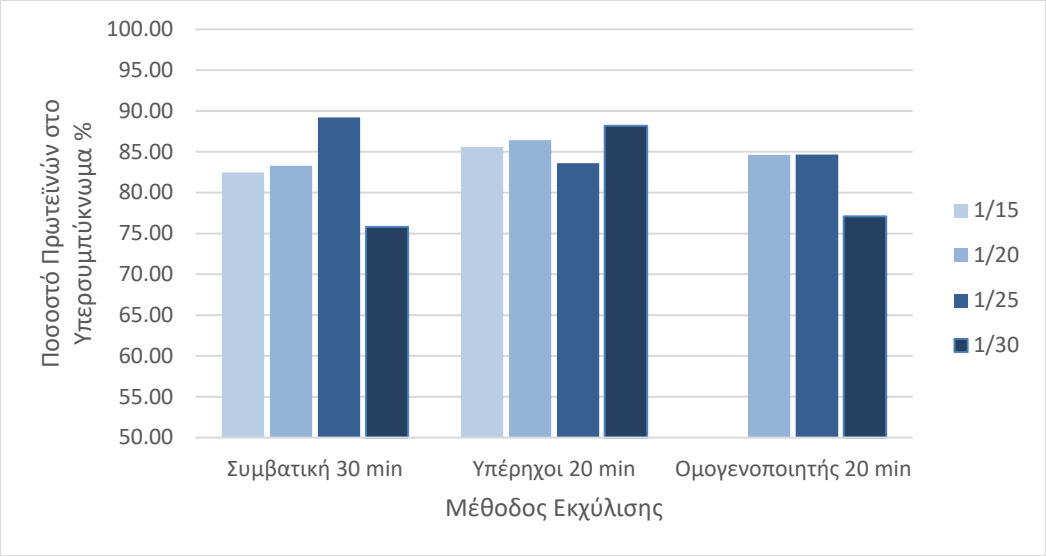


Διάγραμμα 5-39. Μεταβολή της ολικής απόδοσης συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.

Με βάση τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στα παραπάνω διαγράμματα παρατηρείται ότι οι μέγιστες αποδόσεις εκχύλισης καθώς και οι μέγιστες ολικές αποδόσεις εμφανίζονται στη μέθοδο εκχύλισης με χρήση μηχανικού ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας, ενώ η μέγιστη απόδοση καταβύθισης εμφανίζεται στη μέθοδο εκχύλισης με χρήση υπερήχων.

Από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων προκύπτει ότι τόσο οι επιμέρους αποδόσεις όσο και η ολική απόδοση της διεργασίας επηρεάζονται σημαντικά από τη μέθοδο εκχύλισης. Πιο συγκεκριμένα, οι αποδόσεις εκχύλισης και καταβύθισης με τη μέθοδο εκχύλισης με χρήση μηχανικού ομογενοποιητή εμφανίζονται στατιστικά μεγαλύτερες σε σχέση με τις αντίστοιχες αποδόσεις των άλλων μεθόδων. Όσον αφορά την ολική απόδοση, και οι τρεις μέθοδοι εμφανίζουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Ειδικότερα, η μέθοδος με χρήση μηχανικού ομογενοποιητή εμφανίζει τις υψηλότερες ολικές αποδόσεις, ενώ η συμβατική μέθοδος εμφανίζει τις μικρότερες ολικές αποδόσεις.

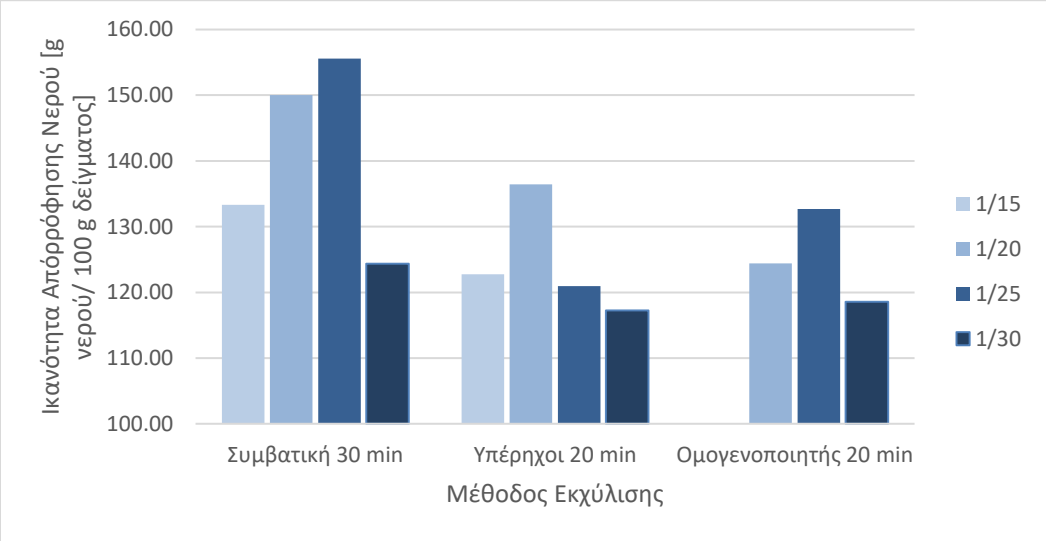
Πρέπει να σημειωθεί ότι και οι δύο νέες μέθοδοι εμφανίζουν υψηλότερες ολικές αποδόσεις από τη συμβατική μέθοδο, σε μικρότερο χρόνο εκχύλισης (20 min).



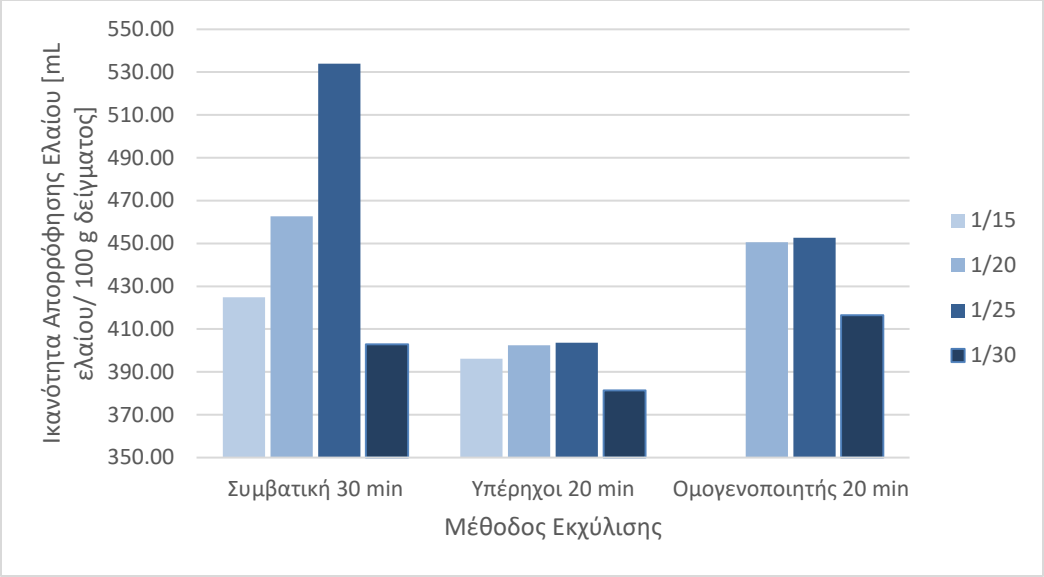
Διάγραμμα 5-40. Μεταβολή περιεκτικότητας των υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνες συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.

Με βάση τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι οι τρεις μέθοδοι εκχύλισης εμφανίζουν παραπλήσια αποτελέσματα ως προς την περιεκτικότητα του υπερσυμπυκνώματος σε πρωτεΐνες.

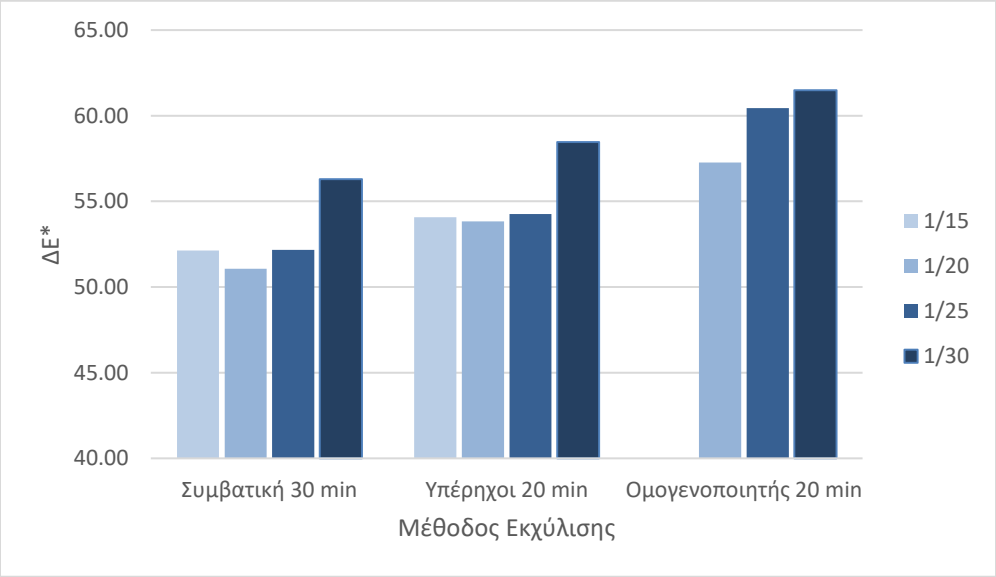
Από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων (ανάλυση διακύμανσης) προκύπτει ότι η μέθοδος εκχύλισης πρωτεϊνών δεν επηρεάζει σημαντικά το ποσοστό πρωτεϊνών στο υπερσυμπύκνωμα.



Διάγραμμα 5-41. Μεταβολή της ικανότητας απορρόφησης νερού (ΙΑΝ) των υπερσυμπυκνωμάτων συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.



Διάγραμμα 5-42. Μεταβολή της ικανότητας απορρόφησης ελαίου (ΙΑΕ) των υπερσυμπυκνωμάτων συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.



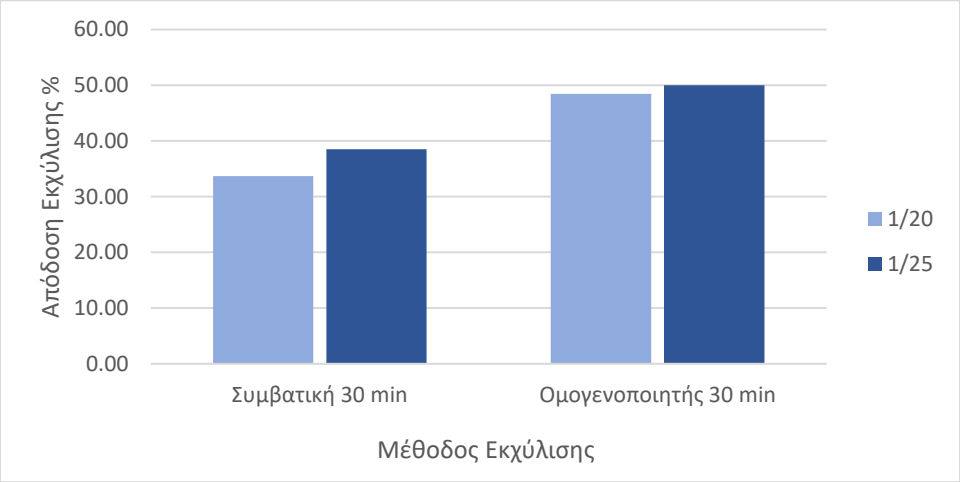
Διάγραμμα 5-43. Μεταβολή του χρώματος των υπερσυμπυκνωμάτων συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.

Με βάση τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στα παραπάνω διαγράμματα παρατηρείται ότι τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα που παρήχθησαν με τις νέες μεθόδους εκχύλισης εμφανίζουν τόσο μικρότερη ικανότητα απορρόφησης νερού, όσο και μικρότερη ικανότητα απορρόφησης ελαίου, σε σχέση με εκείνα που παρήχθησαν με τη συμβατική μέθοδο

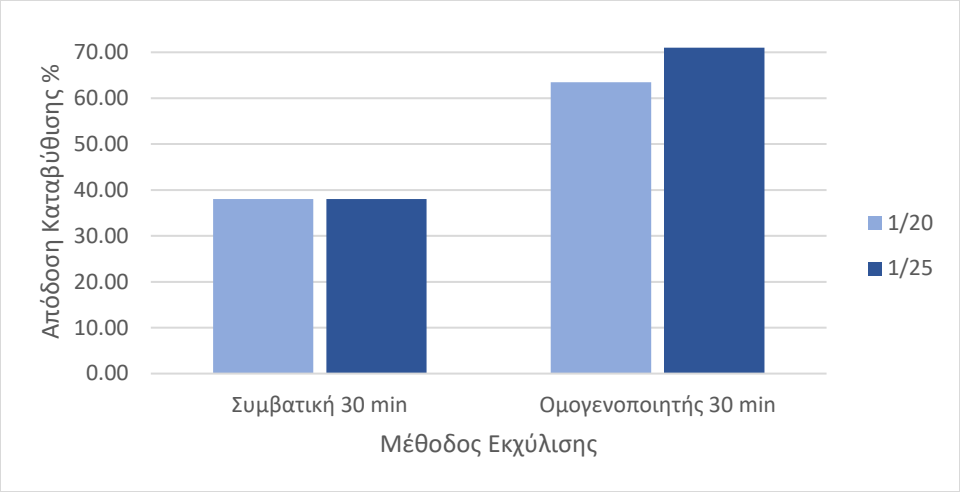
εκχύλισης. Όσον αφορά το χρώμα των υπερσυμπυκνωμάτων μεγαλύτερες τιμές χρώματος εμφανίζουν τα υπερσυμπυκνώματα που έχουν παραχθεί με τις νέες μεθόδους εκχύλισης.

Από τη στατιστική επεξεργασία προκύπτει ότι η ικανότητα απορρόφησης νερού των υπερσυμπυκνωμάτων επηρεάζεται σημαντικά από τη μέθοδο εκχύλισης. Ειδικότερα, τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα που παρήχθησαν με τη μέθοδο με χρήση υπερήχων εμφανίζουν στατιστικά μειωμένη ικανότητα απορρόφησης νερού σε σχέση με τις άλλες δύο μεθόδους. Όσον αφορά το χρώμα των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων , αυτό επηρεάζεται σημαντικά από τη μέθοδο εκχύλισης. Πιο συγκεκριμένα, και τρεις μέθοδοι εμφανίζουν σημαντικά διαφορετικές τιμές χρώματος, με τη μέθοδο του μηχανικού ομογενοποιητή να εμφανίζει τις υψηλότερες τιμές ΔE^*, και τη συμβατική μέθοδο να εμφανίζει τις μικρότερες τιμές αντίστοιχα.

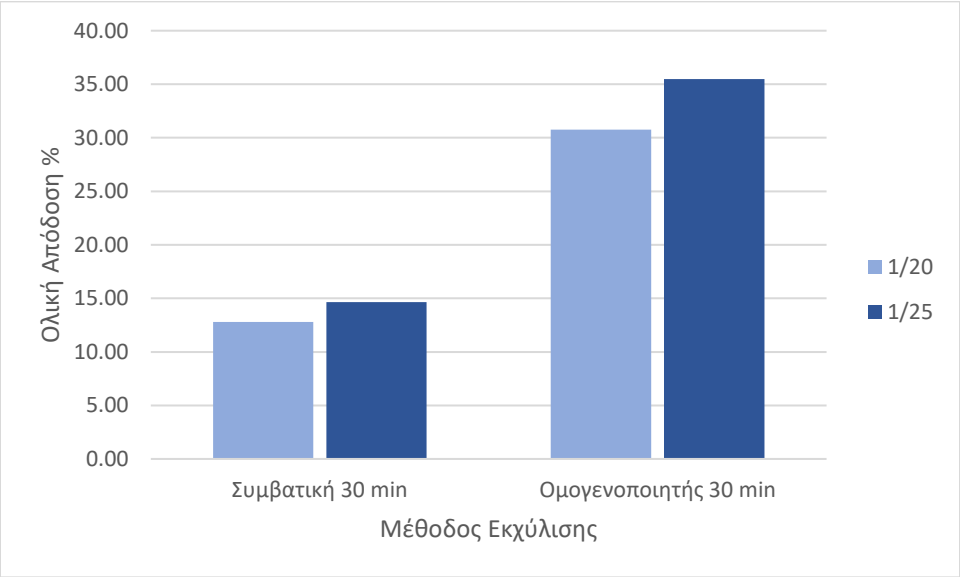
5.4.4. Σύγκριση Νέων Μεθόδων Εκχύλισης, για 30 min εκχύλισης, με τη συμβατική Μέθοδο Εκχύλισης



Διάγραμμα 5-44. Μεταβολή της απόδοσης εκχύλισης συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.

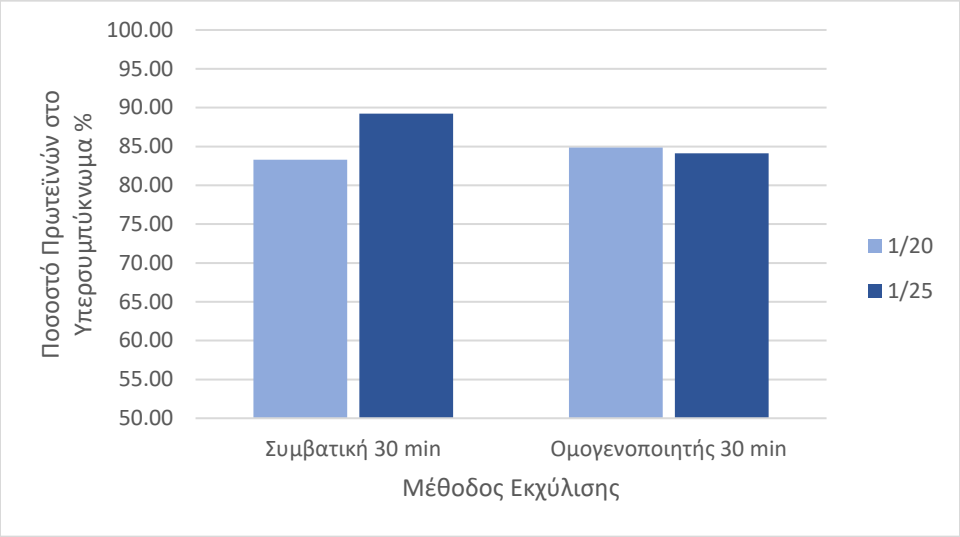


Διάγραμμα 5-45. Μεταβολή της απόδοσης καταβύθισης συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.



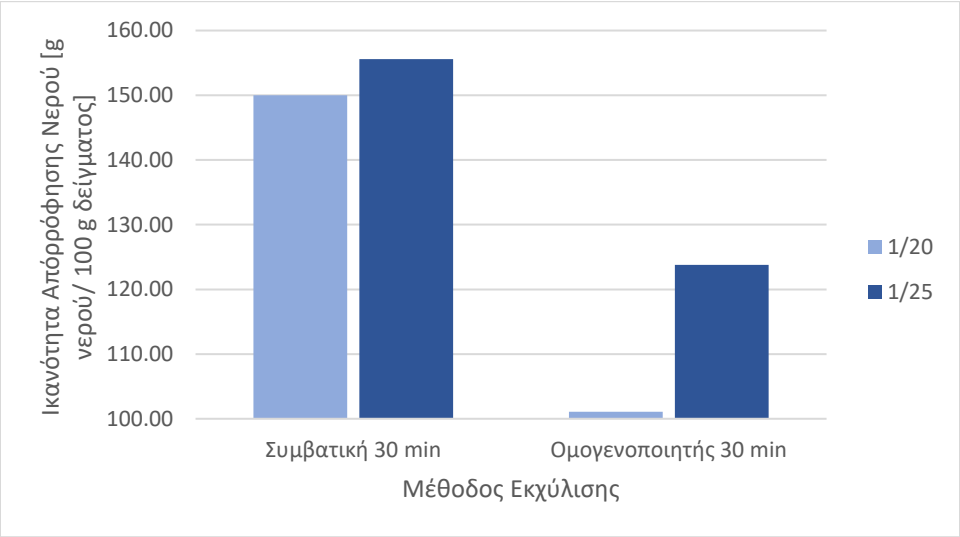
Διάγραμμα 5-46. Μεταβολή της ολικής απόδοσης συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.

Με βάση τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στα παραπάνω διαγράμματα παρατηρείται ότι οι μέγιστες αποδόσεις - απόδοση εκχύλισης, απόδοση καταβύθισης και ολική απόδοση - εμφανίζονται με τη μέθοδο εκχύλισης με χρήση μηχανικού ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας. Από τη στατιστική επεξεργασία προκύπτει ότι η μέθοδος εκχύλισης επηρεάζει σημαντικά τόσο τις επιμέρους αποδόσεις όσο και την ολική απόδοση της διεργασίας. Ειδικότερα, οι αποδόσεις με χρήση μηχανικού ομογενοποιητή εμφανίζονται στατιστικά μεγαλύτερες σε σχέση με εκείνες της συμβατικής μεθόδου.

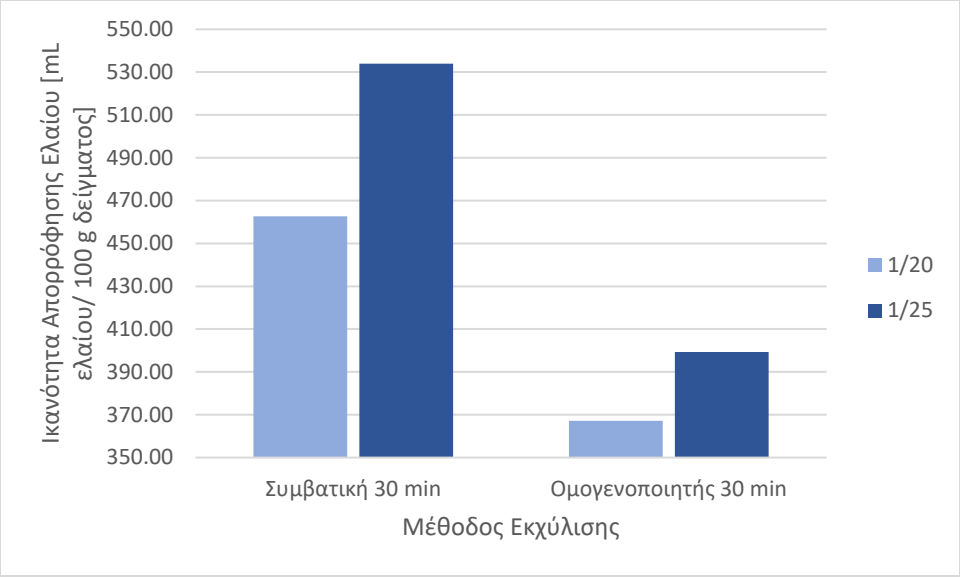


Διάγραμμα 5-47. Μεταβολή περιεκτικότητας των υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνες συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.

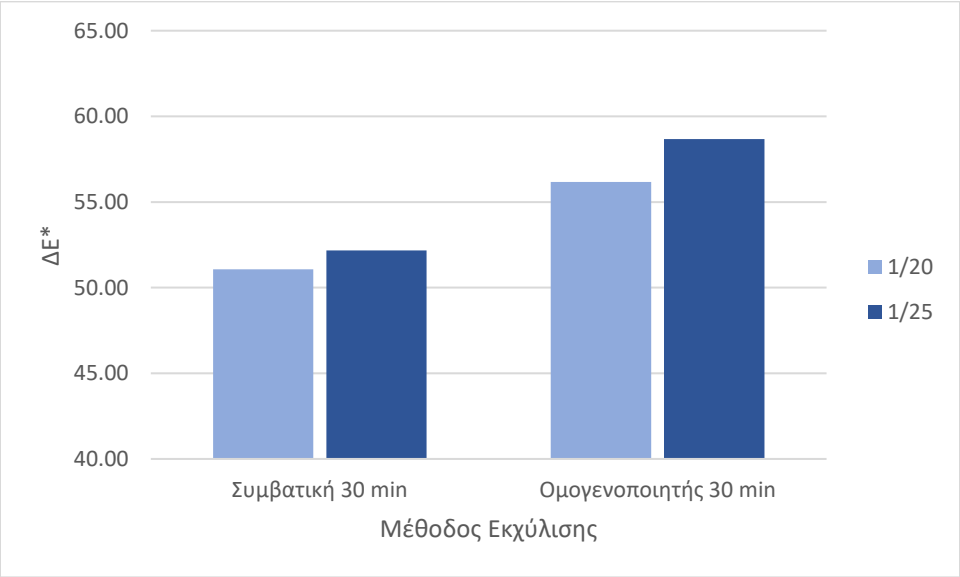
Με βάση τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι οι δύο μέθοδοι παρουσιάζουν παραπλήσια ποσοστά πρωτεϊνών στα υπερσυμπυκνώματα. Από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων (ανάλυση διακύμανσης) προκύπτει ότι η μέθοδος εκχύλισης δεν επηρεάζει σημαντικά την περιεκτικότητα των υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνες.



Διάγραμμα 5-48. Μεταβολή της ικανότητας απορρόφησης νερού (ΙΑΝ) των υπερσυμπυκνωμάτων συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.



Διάγραμμα 5-49. Μεταβολή της ικανότητας απορρόφησης ελαίου (ΙΑΕ) των υπερσυμπυκνωμάτων συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.



Διάγραμμα 5-50. Μεταβολή του χρώματος των υπερσυμπυκνωμάτων συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.

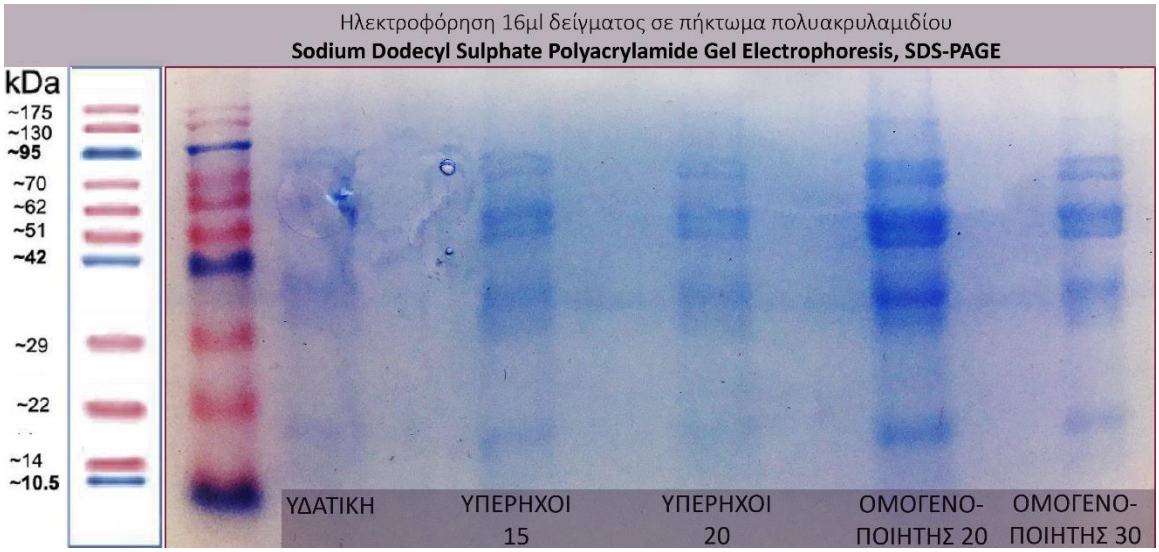
Με βάση τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στα παραπάνω διαγράμματα παρατηρείται ότι τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα που παρήχθησαν με τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης παρουσιάζουν τόσο υψηλότερη ικανότητα απορρόφησης νερού, όσο και υψηλότερη ικανότητα απορρόφησης ελαίου. Όσον αφορά το χρώμα, με τη μέθοδο

εκχύλισης με χρήση μηχανικού ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας εμφανίζονται μεγαλύτερες τιμές ΔE^* σε σχέση με τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης.

Από τη στατιστική επεξεργασία προκύπτει ότι η μέθοδος εκχύλισης επηρεάζει όλες τις παραπάνω λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων. Ειδικότερα, η ικανότητα απορρόφησης νερού και ελαίου των υπερσυμπυκνωμάτων που παρήχθησαν με τη μέθοδο με χρήση μηχανικού ομογενοποιητή παρουσιάζονται στατιστικά μικρότερες, σε σχέση με τις αντίστοιχες τιμές των ιδιοτήτων των υπερσυμπυκνωμάτων που παρήχθησαν με τη συμβατική μέθοδο. Τέλος, το χρώμα των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων επηρεάζεται, επίσης, από τη μέθοδο εκχύλισης, με τα υπερσυμπυκνώματα που παρήχθησαν με τη μέθοδο με χρήση μηχανικού ομογενοποιητή να εμφανίζουν υψηλότερες τιμές ΔE^*.

5.5. Ηλεκτροφόρηση Πρωτεϊνών

Η ηλεκτροφόρηση των πρωτεϊνών γίνεται με σκοπό να συγκριθούν τα κλάσματα των πρωτεϊνών που εκχυλίζονται με τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης, με τα αντίστοιχα κλάσματα των πρωτεϊνών που προκύπτουν με τις νέες μεθόδους εκχύλισης. Ειδικότερα, συγκρίνεται το εκχύλισμα των πρωτεϊνών που παρήχθη με τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης, με εκχυλίσματα με εφαρμογή των νέων μεθόδων εκχύλισης (με υπέρηχους και με μηχανικό ομογενοποιητή υψηλών ταχυτήτων). Η επιλογή των συνθηκών εκχύλισης των πρωτεϊνών έγινε με βάση τις αποδόσεις εκχύλισης. Στη συμβατική μέθοδο επιλέχθηκε λόγος στερεού προς υγρό 1/25 (και χρόνος εκχύλισης 30 min), στη μέθοδο των υπερήχων επιλέχθηκαν λόγος στερεού προς υγρό 1/25 και χρόνοι εκχύλισης 15 και 20 min, ενώ στη μέθοδο του ομογενοποιητή επιλέγεται λόγος στερεού προς υγρό 1/25 και χρόνοι εκχύλισης 20 και 30 min. Στην εικόνα 4-3 παρουσιάζεται η πηκτή της ηλεκτροφόρησης, στην οποία παρατηρείται ότι σε όλες τις μεθόδους εκχύλισης και χρόνους εκχύλισης εκχυλίζονται τα ίδια κλάσματα πρωτεϊνών. Συνεπώς, επιβεβαιώνεται η μη επίπτωση στα πρωτεϊνικά κλάσματα των εκχυλιζόμενων πρωτεϊνών από την εφαρμογή των υπερήχων και της μηχανικής ομογενοποίησης υψηλών ταχυτήτων μέσω των νέων μεθόδων εκχύλισης που εφαρμόστηκαν.



Εικόνα 5-1. Ηλεκτροφόρηση πρωτεϊνών οι οποίες έχουν εκχυλιστεί με τη συμβατική μέθοδο, τη μέθοδο των υπερήχων για χρόνο εκχύλισης 15 και 20 min και τη μέθοδο του ομογενοποιητή για χρόνο εκχύλισης 20 και min, αντίστοιχα.

Συμπεράσματα

Στην παρούσα διπλωματική εργασία μελετήθηκε η παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από άλευρο σόγιας. Η παραλαβή των υπερσυμπυκνωμάτων πραγματοποιήθηκε τόσο με τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης, όσο και με νέες μεθόδους εκχύλισης, με σκοπό την αξιολόγηση της απόδοσης της απομόνωσης των πρωτεϊνών και της ποιότητας των τελικών προϊόντων, καθώς και τη σύγκριση των αποτελεσμάτων των νέων μεθόδων με τα αντίστοιχα της συμβατικής μεθόδου. Η συμβατική εκχύλιση πραγματοποιήθηκε για χρόνο εκχύλισης 30 min και λόγους στερεού προς υγρό 1/15, 1/20, 1/25 και 1/30.Οι νέες τεχνολογίες εκχύλισης που εξετάστηκαν είναι η εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους, στη οποία εξετάστηκαν οι χρόνοι εκχύλισης 10, 15 και 20 min, και οι λόγοι στερεού προς υγρό 1/15, 1/20, 1/25 και 1/30, και η εκχύλιση υποβοηθούμενη με μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας, στη οποία εξετάστηκαν οι χρόνοι εκχύλισης 10, 15, 20 και 30 min, και οι λόγοι στερεού προς υγρό 1/20, 1/25 και 1/30. Τέλος, εξετάστηκε η εκχύλιση με χρήση ευτηκτικών διαλυτών, για χρόνο εκχύλισης 30 min και λόγο στερεού προς υγρό 1/25.

Το πρωτεϊνικό άλευρο της σόγιας, που χρησιμοποιείται ως πρώτη ύλη στα πειράματα απομόνωσης των πρωτεϊνών, έχει μεγάλη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες (50.17 % σε ξηρή βάση), γεγονός που το καθιστά κατάλληλη πρώτη ύλη για παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων.

Αρχικά, από τη μελέτη της διεργασίας της παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με τη μέθοδο εκχύλισης υποβοηθούμενης με υπέρηχους, προκύπτει ότι ο χρόνος εκχύλισης επηρεάζει σημαντικά τις αποδόσεις των σταδίων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων. Ειδικότερα, η ολική απόδοση της διεργασίας, καθώς και οι επιμέρους αποδόσεις των σταδίων της διεργασίας (απόδοση εκχύλισης, απόδοση καταβύθισης) παρουσιάζουν αύξηση, αυξανόμενου του χρόνου εκχύλισης. Έτσι, προκύπτει ότι για χρόνο εκχύλισης 20 min παρουσιάζονται οι μεγαλύτερες, γενικώς, αποδόσεις.

Ο λόγος στερεού προς υγρό επηρεάζει, επίσης, σημαντικά την ολική απόδοση της παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, όσον αφορά τη μέθοδο εκχύλισης πρωτεϊνών με υπέρηχους. Αυξανόμενου του λόγου στερεού προς υγρό παρουσιάζεται αύξηση της ολικής απόδοσης, με εξαίρεση την ολική απόδοση του λόγου 1/30 όπου εμφανίζονται μικρότερες τιμές ολικής απόδοσης. Έτσι, προκύπτει ότι για λόγο στερεού προς υγρό 1/25 παρουσιάζεται η μεγαλύτερη ολική απόδοση της διεργασίας.

Η περιεκτικότητα των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνες δεν επηρεάζεται σημαντικά ούτε από το λόγο στερεού προς υγρό, ούτε από το χρόνο εκχύλισης.

Εξετάζοντας την επίδραση του χρόνου εκχύλισης στις λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, προκύπτει ότι για χρόνο εκχύλισης 15 min,

παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική αύξηση της ικανότητας απορρόφησης νερού αυτών. Αντίθετα, η ικανότητα απορρόφησης ελαίου και το χρώμα των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων δεν επηρεάζονται σημαντικά από το χρόνο εκχύλισης.

Εξετάζοντας την επίδραση του λόγου στερεού προς υγρό στις λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, προκύπτει ότι για λόγο 1/20, παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική αύξηση της ικανότητας απορρόφησης νερού αυτών. Η ικανότητα απορρόφησης ελαίου για λόγο 1/30, παρουσιάζει στατιστικά σημαντική μείωση σε σχέση με τις υπόλοιπες. Το χρώμα των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων δεν επηρεάζονται σημαντικά από το χρόνο εκχύλισης.

Οι μεγαλύτερες αποδόσεις της παραπάνω διεργασίας εμφανίζονται για χρόνο εκχύλισης 20 min και λόγο στερεού προς υγρό 1/25, δηλαδή απόδοση εκχύλισης 45.60 % και ολική απόδοση 25.84 %. Ωστόσο, τα υπερσυμπυκνώματα που παρήχθησαν υπό αυτές τις συνθήκες εμφανίζουν μειωμένη ικανότητα απορρόφησης νερού ($120.97\ \frac{g\ \nu\epsilon\rho o\acute{\upsilon}}{100\ g\ \delta\epsilon\acute{\iota}\gamma\mu\alpha\tau o\varsigma}$). Όσον αφορά την περιεκτικότητα των υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνες, μεγαλύτερες περιεκτικότητες εμφανίζονται για χρόνους εκχύλισης 15 και 20 min, με τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα να είναι 93.34 %, για χρόνο εκχύλισης 15 min και λόγο στερεού προς υγρό 1/15.

Από τη μελέτη της διεργασίας της παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας προκύπτει ότι ο χρόνος εκχύλισης επηρεάζει σημαντικά τις επιμέρους αποδόσεις της διεργασίας. Ειδικότερα, τόσο η απόδοση εκχύλισης όσο και η απόδοση καταβύθισης παρουσιάζουν αύξηση αυξανόμενου του χρόνου εκχύλισης, με αποτέλεσμα τα 30 min να παρέχουν τις μεγαλύτερες αποδόσεις. Ο λόγος στερεού προς υγρό δεν επηρεάζει σημαντικά τις αποδόσεις της διεργασίας.

Η περιεκτικότητα των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνες δεν επηρεάζεται σημαντικά ούτε από το λόγο στερεού προς υγρό, ούτε από το χρόνο εκχύλισης.

Εξετάζοντας την επίδραση του χρόνου εκχύλισης στις λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, προκύπτει ότι για χρόνο εκχύλισης 30 min η ικανότητα απορρόφησης ελαίου αυτών παρουσιάζει στατιστικά σημαντική μείωση σε σχέση με τις ικανότητες απορρόφησης ελαίου για τους υπόλοιπους χρόνους εκχύλισης. Η ικανότητα απορρόφησης νερού δεν επηρεάζεται σημαντικά από το χρόνο εκχύλισης. Το χρώμα των υπερσυμπυκνωμάτων επηρεάζεται επίσης από το χρόνο εκχύλισης, καθώς για χρόνο εκχύλισης 20 min παρουσιάζεται η μεγαλύτερη τιμή ΔΕ*. Ο λόγος στερεού προς υγρό δεν επηρεάζει σημαντικά τις λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων.

Οι μεγαλύτερες αποδόσεις στην παραπάνω διεργασία εμφανίζονται για χρόνο εκχύλισης 30 min και λόγο στερεού προς υγρό 1/25, δηλαδή απόδοση εκχύλισης 49.98 % και ολική

απόδοση 35.49 %. Ωστόσο, στις συγκεκριμένες συνθήκες οι λειτουργικές ιδιότητες των υπερσυμπυκνωμάτων είναι μειωμένες, με την ικανότητα απορρόφησης ελαίου (399.36 $\frac{g\ ελαίου}{100\ g\ δείγματος}$) να παρουσιάζει στατιστικά σημαντική μείωση για χρόνο εκχύλισης 30 min. Το ίδιο ισχύει και για χρόνο εκχύλισης 30 min και λόγο στερεού προς υγρό 1/20, καθώς παρόλο που οι αποδόσεις είναι υψηλές, οι λειτουργικές ιδιότητες των υπερσυμπυκνωμάτων είναι ακόμη χαμηλότερες από την προηγούμενη περίπτωση. Οι αποδόσεις για χρόνο εκχύλισης 20 min και λόγο στερεού προς υγρό 1/25, είναι επίσης υψηλές, με απόδοση εκχύλισης 46.16 % και απόδοση καταβύθισης 27.80 %. Οι λειτουργικές ιδιότητες στην περίπτωση αυτή δεν εμφανίζουν στατιστικά σημαντική διαφορά από της λειτουργικές ιδιότητες των υπόλοιπων χρόνων εκχύλισης (ικανότητα απορρόφησης νερού 132.69 $\frac{g\ νερού}{100\ g\ δείγματος}$, ικανότητα απορρόφησης ελαίου 452.69 $\frac{g\ ελαίου}{100\ g\ δείγματος}$).

Όσον αφορά την περιεκτικότητα των υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνες, μεγαλύτερες περιεκτικότητες εμφανίζονται για χρόνο εκχύλισης 10 min, με τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα να είναι 94.09 %, για λόγο στερεού προς υγρό 1/20.

Από τη μελέτη της διεργασίας της παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση με ευτηκτικούς διαλύτες, προέκυψε ότι δεν είναι δυνατή η παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων μέσω καταβύθισης των πρωτεϊνών. Εξετάστηκαν δύο συστήματα ευτηκτικών διαλυτών: το πρώτο που περιέχει χλωρίδιο της χολίνης, γλυκόζη και απιονισμένο νερό και το δεύτερο που περιέχει χλωρίδιο της χολίνης, γλυκερόλη και απιονισμένο νερό. Το πρώτο σύστημα δεν οδήγησε σε κάποιο αποτέλεσμα, ενώ στην περίπτωση του δεύτερου συστήματος ευτηκτικών διαλυτών ακολουθήθηκε εναλλακτικά άλλη διαδικασία, όπου το υπόλειμμα (από την πρώτη εκχύλιση με ευτηκτικούς διαλύτες) επανεκχυλίστηκε με τη συμβατική μέθοδο. Υποθέτοντας ότι η συμβατική εκχύλιση του υπολείμματος έχει τις ίδιες αποδόσεις με τη συμβατική εκχύλιση, τότε η απόδοση εκχύλισης με τους ευτηκτικούς διαλύτες προκύπτει να είναι η μεγαλύτερη (50.86 %) σε σύγκριση με τις άλλες νέες μεθόδους που εξετάστηκαν.

Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε σύγκριση των αποτελεσμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με τις νέες μεθόδους εκχύλισης, τόσο μεταξύ τους, όσο και με τη συμβατική μέθοδο παραλαβής. Αρχικά, συγκρίνεται η μέθοδος παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους, με τη συμβατική μέθοδο. Η μέθοδος εκχύλισης με υπέρηχους φαίνεται να φτάνει τις αποδόσεις της συμβατικής μεθόδου από τα 15 min εκχύλισης, τόσο όσον αφορά την απόδοση εκχύλισης, όσο και την ολική απόδοση της διεργασίας. Στο χρόνο αυτό παρατηρείται ότι οι λειτουργικές ιδιότητες των υπερσυμπυκνωμάτων εμφανίζουν μικρότερες τιμές σε σύγκριση με τη συμβατική μέθοδο, χωρίς ωστόσο να υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών. Όσον αφορά τις αποδόσεις για χρόνο εκχύλισης 20 min, η

ολική απόδοση, με χρήση της μεθόδου εκχύλισης με υπέρηχους, ξεπερνά την αντίστοιχη ολική απόδοση της συμβατικής μεθόδου. Ωστόσο, στην περίπτωση αυτή η ικανότητα απορρόφησης νερού εμφανίζει στατιστικά σημαντική μείωση σε σχέση με την ικανότητα απορρόφησης νερού της συμβατικής μεθόδου.

Συγκρίνοντας τη μέθοδο εκχύλισης των πρωτεϊνών με υπέρηχους με τη συμβατική προκύπτει ότι, οι βέλτιστες συνθήκες εκχύλισης για τη μέθοδο παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους είναι χρόνος εκχύλισης 15 min και λόγος στερεού προς υγρό 1/25. Πιο συγκεκριμένα: απόδοση εκχύλισης 36.54 %, ολική απόδοση 18.12 %, περιεκτικότητα πρωτεϊνών στο υπερσυμπύκνωμα 86.40 %, ικανότητα απορρόφησης νερού 126.86 $\frac{g\ \nu\epsilon\rho o\acute{\upsilon}}{100\ g\ \delta\epsilon\acute{\iota}\gamma\mu\alpha\tau o\varsigma}$, ικανότητα απορρόφησης ελαίου 423.81 $\frac{g\ \epsilon\lambda\alpha\acute{\iota}o\upsilon}{100\ g\ \delta\epsilon\acute{\iota}\gamma\mu\alpha\tau o\varsigma}$ και χρώμα ΔΕ = 62.70.

Στη συνέχεια, συγκρίνοντας τη μέθοδο παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας με τη συμβατική μέθοδο, προκύπτει ότι η μέθοδος του ομογενοποιητή εμφανίζει μεγαλύτερη ολική απόδοση από τη συμβατική από τα 10 min εκχύλισης. Όσο αυξάνεται ο χρόνος εκχύλισης, οι αποδόσεις στη μέθοδο του ομογενοποιητή αυξάνονται, με αποτέλεσμα να ξεπεράσουν κατά πολύ τις αποδόσεις της συμβατικής μεθόδου. Για χρόνους εκχύλισης 10, 15, 20 min οι λειτουργικές ιδιότητες με τη μέθοδο του ομογενοποιητή δεν εμφανίζουν σημαντική διαφορά σε σχέση με τις λειτουργικές ιδιότητες της συμβατικής μεθόδου παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων. Όμως, για χρόνο εκχύλισης 30 min η ικανότητα απορρόφησης νερού και η ικανότητα απορρόφησης ελαίου εμφανίζουν στατιστικά σημαντική μείωση σε σχέση με τις αντίστοιχες της συμβατικής μεθόδου.

Συγκρίνοντας τη μέθοδο εκχύλισης των πρωτεϊνών με μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας με τη συμβατική προκύπτει ότι, οι βέλτιστες συνθήκες εκχύλισης για τη μέθοδο παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας είναι χρόνος εκχύλισης 20 min και λόγος στερεού προς υγρό 1/25. Πιο συγκεκριμένα: απόδοση εκχύλισης 46.16 %, ολική απόδοση 27.80 %, περιεκτικότητα πρωτεϊνών στο υπερσυμπύκνωμα 84.66 %, ικανότητα απορρόφησης νερού 132.69 $\frac{g\ \nu\epsilon\rho o\acute{\upsilon}}{100\ g\ \delta\epsilon\acute{\iota}\gamma\mu\alpha\tau o\varsigma}$, ικανότητα απορρόφησης ελαίου 452.69 $\frac{g\ \epsilon\lambda\alpha\acute{\iota}o\upsilon}{100\ g\ \delta\epsilon\acute{\iota}\gamma\mu\alpha\tau o\varsigma}$και χρώμα ΔΕ = 60.45.

Συγκρίνοντας τις δύο νέες μεθόδους εκχύλισης (με υπέρηχους και με μηχανικό ομογενοποιητή), που μελετήθηκαν, προκύπτει ότι η μέθοδος παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας εμφανίζει καλύτερες αποδόσεις σε σχέση με τη μέθοδο των υπερήχων για όλους τους χρόνους εκχύλισης. Επιπλέον, προκύπτει ότι με τη μέθοδο του μηχανικού ομογενοποιητή οι πρωτεΐνες «καταπονούνται» λιγότερο σε σχέση με τη μέθοδο των υπερήχων, γεγονός που απορρέει από τη μικρότερη «υποβάθμιση» των λειτουργικών

ιδιοτήτων τους. Επομένως, η μέθοδος που αποφέρει τα βέλτιστα αποτελέσματα είναι η μέθοδος του μηχανικού ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας.

Τέλος, πραγματοποιήθηκε ηλεκτροφόρηση των πρωτεϊνικών εκχύλισμάτων και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι και με τις τρεις μεθόδους εκχύλισης εκχυλίζονται τα ίδια κλάσματα πρωτεϊνών. Συνεπώς, επιβεβαιώνεται ότι η εφαρμογή υπερήχων και μηχανικής ομογενοποίησης υψηλής ταχύτητας δεν επιδρά στα πρωτεϊνικά κλάσματα των εκχυλιζόμενων πρωτεϊνών.

Συμπερασματικά προκύπτει ότι η εφαρμογή των υπερήχων στην εκχύλιση των πρωτεϊνών, επηρεάζει θετικά τις αποδόσεις της διεργασίας, καθώς η εκχύλιση υποβοηθούμενη από υπέρηχους παρουσιάζει ίδιες αποδόσεις με τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης, στο μισό χρόνο εκχύλισης. Ωστόσο, η εφαρμογή των υπερήχων μειώνει τις λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η εκτεταμένη εφαρμογή υπερήχων στις πρωτεΐνες προκαλεί τη μετουσίωσή τους.

Όσον αφορά την εφαρμογή μηχανικής ομογενοποίησης υψηλής ταχύτητας στην εκχύλιση των πρωτεϊνών, προκύπτει το συμπέρασμα ότι η μέθοδος αυτή επηρεάζει, επίσης, θετικά τις αποδόσεις της διεργασίας. Ειδικότερα, η εκχύλιση υποβοηθούμενη με μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας εμφανίζει υψηλότερες αποδόσεις από τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης για μικρότερους χρόνους εκχύλισης. Ωστόσο, τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα που έχουν παραχθεί και με αυτή τη μέθοδο, παρουσιάζουν μειωμένες λειτουργικές ιδιότητες. Έτσι, προκύπτει το συμπέρασμα ότι η εκτεταμένη εφαρμογή μηχανικής ομογενοποίησης υψηλών ταχυτήτων στις πρωτεΐνες προκαλεί μετουσίωση αυτών.

Συνολικά, και οι δύο νέες μέθοδοι εκχύλισης αυξάνουν την ολική απόδοση της διεργασίας, εξάγοντας μεγαλύτερα ποσοστά πρωτεϊνών από το άλευρο σόγιας. Ωστόσο, η χρήση του περιορίζεται χρονικά, καθώς προκαλούν πρωτεϊνική μετουσίωση.

Προτάσεις

Από την παραπάνω μελέτη προέκυψε ότι το άλευρο σόγιας μπορεί να αξιοποιηθεί για την παραγωγή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων και άλλων πρωτεϊνικών προϊόντων, λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς του σε πρωτεΐνες και της δυνατότητας απομόνωσής τους. Τα προϊόντα αυτά μπορούν να ενσωματωθούν σε πολλά συστήματα τροφίμων, αυξάνοντας την προστιθέμενη αξία τους, λόγω εμπλουτισμού τους σε πρωτεΐνες ή/και μέσω εκμετάλλευσης των λειτουργικών τους ιδιοτήτων. Επιπλέον, οι πρωτεΐνες της σόγιας είναι φυτικής προέλευσης και η ζήτηση των φυτικών πρωτεϊνών από τους καταναλωτές έχει αυξηθεί τα τελευταία χρόνια. Για το λόγο αυτό προτείνεται η περαιτέρω μελέτη της παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από άλευρο σόγιας, με νέες μεθόδους εκχύλισης, όπως η εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα και η εκχύλιση υποβοηθούμενη με ένζυμα. Επιπλέον, προτείνεται η διερεύνηση και άλλων λειτουργικών ιδιοτήτων των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, όπως η ικανότητα γαλακτωματοποίησης, οι αφριστικές τους ιδιότητες και η ικανότητα σχηματισμού πηκτής.

Η μελέτη της εκχύλισης πρωτεϊνών με χρήση ευτηκτικών διαλυτών είναι ένα νέο εγχείρημα και στη βιβλιογραφία υπάρχουν ελάχιστες αναφορές. Γι' αυτό το λόγο κρίνεται αναγκαία η περαιτέρω μελέτη των ευτηκτικών συστημάτων. Πιο συγκεκριμένα, πρέπει να μελετηθούν νέες μέθοδοι παραλαβής των πρωτεϊνών μετά την εκχύλισή τους (π.χ. διαχωρισμός με ρητίνες), καθώς η καταβύθιση δεν ήταν δυνατή στα συστήματα ευτηκτικών διαλυτών που δοκιμάστηκαν. Πρέπει να σημειωθεί ότι στη βιβλιογραφία για την παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με χρήση ευτηκτικών διαλυτών δε γίνεται αναφορά στον τρόπο απομόνωσης των πρωτεϊνών (καταβύθιση), και επομένως είναι ένα κομμάτι που απαιτεί περεταίρω μελέτη. Επιπλέον, μπορούν να μελετηθούν περαιτέρω οι συνθήκες εκχύλισης, ώστε να βρεθούν οι βέλτιστες συνθήκες για την εκχύλιση με ευτηκτικούς διαλύτες, και να δοκιμαστούν νέα συστήματα ευτηκτικών διαλυτών.

Τέλος, η έρευνα για την παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων μπορεί να συνεχιστεί και σε άλλους ελαιούχους σπόρους, που έχουν επίσης μεγάλη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και περιέχουν υψηλής ποιότητας πρωτεΐνες, όπως είναι ο βαμβακόσπορος, ο ηλιόσπορος κ.α.

Βιβλιογραφία

Alibhai, Z., Mondor, M., Moresoli, C., Ippersiel, D., & Lamarche, F. (2006, 5 10). Production of soy protein concentrates/isolates: traditional and membrane technologies. *Desalination, 191*(1-3), 351-358.

Belitz, H.-D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2011). *Χημεία Τροφίμων.* Αθήνα: Εκδόσεις Τζιόλα.

Clemente, T., & Cahoon, E. (2009, 11). Soybean oil: Genetic approaches for modification of functionality and total content. *Plant Physiology, 151*(3), 1030-1040.

Day, L. (2016). Protein: Food Sources. *Encyclopedia of Food and Health*, 530-537.

Dorndos, D., & Mullen, R. (2006). *Soybean Seed Protein and Oil Contents and Fatty Acid Composition Adjustments by Drought and Temperature.*

Fernández, M., Boiteux, J., Espino, M., Gomez, F., & Silva, M. (2018, 12 14). Natural deep eutectic solvents-mediated extractions: The way forward for sustainable analytical developments. *Analytica Chimica Acta, 1038*, 1-10. Elsevier B.V.

Guo, X., Zhao, W., Liao, X., Hu, X., Wu, J., & Wang, X. (2017, 6 1). Extraction of pectin from the peels of pomelo by high-speed shearing homogenization and its characteristics. *LWT - Food Science and Technology, 79*, 640-646.

Hanmoungjai, P., Pyle, D., & Niranjan, K. (2002). Enzyme-assisted water-extraction of oil and protein from rice bran. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 771-776.

Kadam, S., Tiwari, B., & O'Donnell, C. (2013, 5 22). Application of novel extraction technologies for bioactives from marine algae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 61(20)*, 4667-4675.

Li, H., Zhu, K., Zhou, H., Peng, W., & Guo, X. (2016, 9 2). Comparative study of four physical approaches about allergenicity of soybean protein isolate for infant formula. *Food and Agricultural Immunology, 27*(5), 604-623.

Li, N., Wang, Y., Xu, K., Huang, Y., Wen, Q., & Ding, X. (2016, 5 15). Development of green betaine-based deep eutectic solvent aqueous two-phase system for the extraction of protein. *Talanta, 152*, 23-32.

Liu, K. (2005). *Soybeans as functional foods and ingredients.* AOCS Press.

McClements, D. J. (2005). *Principles, Practicies, and Techniques* (Τόμ. 2). In Food Emulsions.

McMurry, J. (2015). Οργανική Χημεία. ΗΡΑΚΛΕΙΟ: ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΕΣ ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΚΡΗΤΗΣ.

Meng, J., Wang, Y., Zhou, Y., Chen, J., Wei, X., Ni, R., . . . Xu, F. (2019). Development of different deep eutectic solvent aqueous biphasic systems for the separation of proteins. *RSC Advances, 9*(25), 14116-14125.

Monteiro, S., & Lopes-da-Silva, J. (2019, 1 3). Critical evaluation of the functionality of soy protein isolates obtained from different raw materials. *European Food Research and Technology, 245*(1), 199-212.

Murphy, P. (2008). Soybean Proteins. Στο P. Murphy, *Soybeans: Chemistry, Production, Processing, and Utilization* (σσ. 229-267). Elsevier Inc.

Ochoa-Rivas, A., Nava-Valdez, Y., Serna-Saldivar, S., & Chuck-Hernandez, C. (2017). Microwave and Ultrasound to Enhance Protein Extraction from Peanut Flour under Alkaline Conditions: Effects in Yield and Functional Properties of Protein Isolates. *Food and Bioprocess Technology*, 543-555.

Phan, L., Brown, H., White, J., Hodgson, A., & Jessop, P. (2009, 1 1). Soybean oil extraction and separation using switchable or expanded solvents. *Green Chemistry, 11*(1), 53-59.

Phongthai, S., Lim, S., & Rawdkuen, S. (2016, 7 1). Optimization of microwave-assisted extraction of rice bran protein and its hydrolysates properties. *Journal of Cereal Science, 70*, 146-154.

Pojić, M., Mišan, A., & Tiwari, B. (2018, 5 1). Eco-innovative technologies for extraction of proteins for human consumption from renewable protein sources of plant origin. *Trends in Food Science and Technology, 75*, 93-104. Elsevier Ltd.

Pratap, A., Gupta, S., Kumar, J., Mehandi, S., & Pandey, V. (2016). Soybean. Στο A. Pratap, S. Gupta, J. Kumar, S. Mehandi, & V. Pandey, *Breeding Oilseed Crops for Sustainable Production: Opportunities and Constraints* (σσ. 293-315). Elsevier Inc.

Preece, K., Hooshyar, N., Krijgsman, A., Fryer, P., & Zuidam, N. (2017, 8 1). Pilot-scale ultrasound-assisted extraction of protein from soybean processing materials shows it is not recommended for industrial usage. *Journal of Food Engineering, 206*, 1-12.

Puri, M., Sharma, D., & Barrow, C. (2012, 1). Enzyme-assisted extraction of bioactives from plants. *Trends in Biotechnology, 30(1)*, 37-44.

Riaz, M. (2006). *Soy Applications in Food.* New York: CRC Press.

Riaz, M. (2015). Soy Beans: Processing. Στο M. Riaz, *Encyclopedia of Food and Health* (σσ. 48-53). Elsevier Inc.

Rommi, K., Ercili-Cura, D., Hakala, T., Nordlund, E., Poutanen, K., & Lantto, R. (2015, 3 25). Impact of Total Solid Content and Extraction pH on Enzyme-Aided Recovery of Protein from Defatted Rapeseed (Brassica rapa L.) Press Cake and

Physicochemical Properties of the Protein Fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 63*(11), 2997-3003.

Rommi, K., Hakala, T., Holopainen, U., Nordlund, E., Poutanen, K., & Lantto, R. (2014, 8 13). Effect of enzyme-aided cell wall disintegration on protein extractability from intact and dehulled rapeseed (Brassica rapa L. and Brassica napus L.) press cakes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 62*(32), 7989-7997.

Roselló-Soto, E., Barba, F., Parniakov, O., Galanakis, C., Lebovka, N., Grimi, N., & Vorobiev, E. (2015). High Voltage Electrical Discharges, Pulsed Electric Field, and Ultrasound Assisted Extraction of Protein and Phenolic Compounds from Olive Kernel. *Food and Bioprocess Technology, 8*(4), 885-894.

Sari, Y., Bruins, M., & Sanders, J. (2013, 5). Enzyme assisted protein extraction from rapeseed, soybean, and microalgae meals. *Industrial Crops and Products, 43*(1), 78-83.

Sari, Y., Mulder, W., Sanders, J., & Bruins, M. (2015, 8 1). Towards plant protein refinery: Review on protein extraction using alkali and potential enzymatic assistance. *Biotechnology Journal, 10(8)*, 1138-1157. Wiley-VCH Verlag.

Soquetta, M., Terra, L., & Bastos, C. (2018, 1 1). Green technologies for the extraction of bioactive compounds in fruits and vegetables. *CYTA - Journal of Food, 16(1)*, 400-412. Taylor and Francis Ltd.

Tang, C., Wang, X., & Yang, X. (2009, 6 15). Enzymatic hydrolysis of hemp (Cannabis sativa L.) protein isolate by various proteases and antioxidant properties of the resulting hydrolysates. *Food Chemistry, 114*(4), 1484-1490.

Tang, D.-S., Tian, Y.-J., He, Y.-Z., Li, L., Hu, S.-Q., & Li, B. (2010). *Optimisation of Ultrasonic-assisted Protein Extraction from Brewer's Spent Grain.*

Tirgar, M., Silcock, P., Carne, A., & Birch, E. (2017, 1 15). Effect of extraction method on functional properties of flaxseed protein concentrates. *Food Chemistry, 215*, 417-424.

Tiwari, B. (2015, 9 1). Ultrasound: A clean, green extraction technology. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry, 71*, 100-109. Elsevier B.V.

Xu, K., Wang, Y., Huang, Y., Li, N., & Wen, Q. (2014, 10 20). A green deep eutectic solvent-based aqueous two-phase system for protein extracting. *Analytica Chimica Acta, 864*, 9-20.

Yu, X., Bals, O., Grimi, N., & Vorobiev, E. (2015, 11 5). A new way for the oil plant biomass valorization: Polyphenols and proteins extraction from rapeseed stems and leaves assisted by pulsed electric fields. *Industrial Crops and Products, 74*, 309-318.

Zhu, K., Sun, X., & Zhou, H. (2009, 9). Optimization of ultrasound-assisted extraction of defatted wheat germ proteins by reverse micelles. *Journal of Cereal Science, 50*(2), 266-271.

Βλάσσης, Χ. (2019). *Πρωτεϊνικά Προϊόντα από Ελαιούχους Σπόρους με Εφαρμογή Νέων Τεχνολογιών Εκχύλισης.* Αθήνα: Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο.

Καψάλης, Α., Μπουρμπουχάκης, Ι.-Ε., Περάκη, Β., & Σαλαμαστράκης, Σ. (χ.χ.). *Βιολογία.* Υπουργείο Παιδείας, 'Ερευνας και Θρησκευμάτων / Ινστιτούο Εκπαιδευτικής Πολιτικής .

Λιαδάκης, Γ. (1999). *ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΠΑΡΑΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΜΑΤΑΣ.* ΑΘΗΝΑ: ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ.

Τζιά, Κ., Ταούκης, Π., & Ωραιοπούλου, Β. (2009). *ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΚΗ ΤΡΟΦΙΜΩΝ: ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ- ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ- ΠΟΙΟΤΗΤΑ- ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ- ΡΕΟΛΟΓΙΑ- ΣΤΣΚΕΥΑΣΙΑ.* ΑΘΗΝΑ: ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ.

Τσαλτάκη , Χ. (2016). *Απομόμωση και Αξιολόγηση Πρωτεϊνικών και Υδατανθρακικών Συστατικών Μανιταριών.* Αθήνα: Εθνικό Μετσόβειο Πολυτεχνείο.

Χανιώτη, Σ. (2019). *ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ ΦΥΤΙΚΩΝ ΛΙΠΑΡΩΝ ΚΑΙ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΤΟΥΣ.* Αθήνα: Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο.

Παράρτημα

Πίνακας Π-1. Καταβυθισμένες πρωτεΐνες συναρτήσει του pH του διαλύματος.

pH	Καταβυθιζόμενες Πρωτεΐνες [g]	Καταβυθιζόμενες Πρωτεΐνες [%]
4.1	0.1446	29.94
4.2	0.1473	30.50
4.3	0.1501	31.08
4.4	0.1427	29.55
4.5	0.1413	29.26
4.6	0.1408	29.16
4.7	0.1407	29.14
4.8	0.1410	29.20

Πίνακας Π-2. Αποτελέσματα πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από άλευρο σόγιας με συμβατική εκχύλιση, έχοντας ως εκχυλιστικό μέσο το νερό, θερμοκρασία 40 °C, pH ίσο με 9 και χρόνο εκχύλισης τα 30 min.

	w/v [g / mL]			
	1/15	1/20	1/25	1/30
Απόδοση Εκχύλισης %	31.60	34.35	37.87	37.00
Απόδοση Καταβύθισης %	39.37	38.78	39.17	35.35
Ολική Απόδοση %	12.70	13.04	14.85	13.54
Ποσοστό Πρωτεϊνών στο Υπερσυμπύκνωμα %	83.36	84.81	90.39	76.92

Πίνακας Π-3. Αποτελέσματα λειτουργικών ιδιοτήτων πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από άλευρο σόγιας με συμβατική εκχύλιση, έχοντας ως εκχυλιστικό μέσο το νερό, θερμοκρασία 40 °C, pH ίσο με 9 και χρόνο εκχύλισης τα 30 min.

	w/v [g / mL]			
	1/15	1/20	1/25	1/30

IAN [g νερού/ 100 g δείγματος]	133.31	150.00	155.56	124.37
IAE [mL ελαίου/ 100 g δείγματος]	424.87	462.66	533.93	402.86
ΔΕ*	52.14	51.07	52.17	56.31

Πίνακας Π-4. Αποτελέσματα πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από άλευρο σόγιας με εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους, έχοντας ως εκχυλιστικό μέσο το νερό, θερμοκρασία 40 °C, pH ίσο με 9 και χρόνο εκχύλισης τα 10 min.

	w/v [g / mL]		
	1/15	1/20	1/25
Απόδοση Εκχύλισης %	26.35	28.31	28.97
Απόδοση Καταβύθισης %	28.61	38.72	43.81
Ολική Απόδοση %	7.54	10.98	12.69
Ποσοστό Πρωτεϊνών στο Υπερσυμπύκνωμα %	80.40	79.63	83.21

Πίνακας Π-5. Αποτελέσματα λειτουργικών ιδιοτήτων πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από άλευρο σόγιας με εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους, έχοντας ως εκχυλιστικό μέσο το νερό, θερμοκρασία 40 °C, pH ίσο με 9 και χρόνο εκχύλισης τα 10 min.

	w/v [g / mL]		
	1/15	1/20	1/25
IAN [g νερού/ 100 g δείγματος]	118.75	124.59	113.36
IAE [mL ελαίου/ 100 g δείγματος]	402.86	415.35	459.76
ΔΕ*	54.36	53.76	58.29

Πίνακας Π-6. Αποτελέσματα πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από άλευρο σόγιας με εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους, έχοντας ως εκχυλιστικό μέσο το νερό, θερμοκρασία 40 °C, pH ίσο με 9 και χρόνο εκχύλισης τα 15 min.

	w/v [g / mL]		
	1/15	1/20	1/25
Απόδοση Εκχύλισης %	28.07	34.33	36.54
Απόδοση Καταβύθισης %	36.42	44.43	49.59
Ολική Απόδοση %	10.17	15.25	18.12
Ποσοστό Πρωτεϊνών στο Υπερσυμπύκνωμα %	93.34	81.96	86.40

Πίνακας Π-7. Αποτελέσματα λειτουργικών ιδιοτήτων πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από άλευρο σόγιας με εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους, έχοντας ως εκχυλιστικό μέσο το νερό, θερμοκρασία 40 °C, pH ίσο με 9 και χρόνο εκχύλισης τα 15 min.

	w/v [g / mL]		
	1/15	1/20	1/25
IAN [g νερού/ 100 g δείγματος]	126.86	144.99	126.22
IAE [mL ελαίου/ 100 g δείγματος]	406.60	405.79	423.81
ΔΕ*	54.64	55.56	62.70

Πίνακας Π-8. Αποτελέσματα πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από άλευρο σόγιας με εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους, έχοντας ως εκχυλιστικό μέσο το νερό, θερμοκρασία 40 °C, pH ίσο με 9 και χρόνο εκχύλισης τα 20 min.

	w/v [g / mL]			
	1/15	1/20	1/25	1/30
Απόδοση Εκχύλισης %	32.68	38.37	45.60	41.17
Απόδοση Καταβύθισης %	50.62	46.26	66.94	49.31
Ολική Απόδοση %	16.60	17.75	25.84	20.30
Ποσοστό Πρωτεϊνών στο Υπερσυμπύκνωμα %	85.59	86.44	83.61	88.19

Πίνακας Π-9. Αποτελέσματα λειτουργικών ιδιοτήτων πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από άλευρο σόγιας με εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους, έχοντας ως εκχυλιστικό μέσο το νερό, θερμοκρασία 40 °C, pH ίσο με 9 και χρόνο εκχύλισης τα 20 min.

	w/v [g / mL]			
	1/15	1/20	1/25	1/30
IAN [g νερού/ 100 g δείγματος]	122.77	136.42	120.97	117.06
IAE [mL ελαίου/ 100 g δείγματος]	396.11	402.42	403.62	381.45
ΔΕ*	54.08	53.83	54.25	58.46

Πίνακας Π-10. Αποτελέσματα πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από άλευρο σόγιας με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας, έχοντας ως εκχυλιστικό μέσο το νερό, θερμοκρασία 40 °C, pH ίσο με 9 και χρόνο εκχύλισης τα 10 min.

	w/v [g / mL]	
	1/20	1/25
Απόδοση Εκχύλισης %	35.40	35.45
Απόδοση Καταβύθισης %	62.99	58.79
Ολική Απόδοση %	22.30	23.84
Ποσοστό Πρωτεϊνών στο Υπερσυμπύκνωμα %	94.09	90.00

Πίνακας Π-11. Αποτελέσματα λειτουργικών ιδιοτήτων πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από άλευρο σόγιας με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας, έχοντας ως εκχυλιστικό μέσο το νερό, θερμοκρασία 40 °C, pH ίσο με 9 και χρόνο εκχύλισης τα 10 min.

	w/v [g / mL]	
	1/20	1/25
IAN [g νερού/ 100 g δείγματος]	137.56	138.95
IAE [mL ελαίου/ 100 g δείγματος]	432.15	441.19
ΔΕ*	53.20	55.52

Πίνακας Π-12. Αποτελέσματα πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από άλευρο σόγιας με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας, έχοντας ως εκχυλιστικό μέσο το νερό, θερμοκρασία 40 °C, pH ίσο με 9 και χρόνο εκχύλισης τα 15 min.

	w/v [g / mL]	
	1/20	1/25
Απόδοση Εκχύλισης %	42.64	45.03
Απόδοση Καταβύθισης %	54.56	56.20
Ολική Απόδοση %	24.57	25.24
Ποσοστό Πρωτεϊνών στο Υπερσυμπύκνωμα %	79.94	84.28

Πίνακας Π-13. Αποτελέσματα λειτουργικών ιδιοτήτων πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από άλευρο σόγιας με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας, έχοντας ως εκχυλιστικό μέσο το νερό, θερμοκρασία 40 °C, pH ίσο με 9 και χρόνο εκχύλισης τα 15 min.

	w/v [g / mL]	
	1/20	1/25
IAN [g νερού/ 100 g δείγματος]	122.71	138.42
IAE [mL ελαίου/ 100 g δείγματος]	414.93	450.30
ΔΕ*	53.48	55.52

Πίνακας Π-14. Αποτελέσματα πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από άλευρο σόγιας με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας, έχοντας ως εκχυλιστικό μέσο το νερό, θερμοκρασία 40 °C, pH ίσο με 9 και χρόνο εκχύλισης τα 20 min.

	w/v [g / mL]		
	1/20	1/25	1/30
Απόδοση Εκχύλισης %	45.68	46.16	44.05
Απόδοση Καταβύθισης %	60.86	57.80	60.16
Ολική Απόδοση %	26.68	27.80	26.50
Ποσοστό Πρωτεϊνών στο Υπερσυμπύκνωμα %	84.60	84.66	77.08

Πίνακας Π-15. Αποτελέσματα λειτουργικών ιδιοτήτων πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από άλευρο σόγιας με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας, έχοντας ως εκχυλιστικό μέσο το νερό, θερμοκρασία 40 °C, pH ίσο με 9 και χρόνο εκχύλισης τα 20 min.

	w/v [g / mL]		
	1/20	1/25	1/30
IAN [g νερού/ 100 g δείγματος]	124.41	132.69	118.58
IAE [mL ελαίου/ 100 g δείγματος]	450.51	452.69	416.43
ΔΕ*	57.27	60.45	61.49

Πίνακας Π-16. Αποτελέσματα πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από άλευρο σόγιας με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας, έχοντας ως εκχυλιστικό μέσο το νερό, θερμοκρασία 40 °C, pH ίσο με 9 και χρόνο εκχύλισης τα 30 min.

	w/v [g / mL]	
	1/20	1/25
Απόδοση Εκχύλισης %	48.47	49.98
Απόδοση Καταβύθισης %	63.45	71.01
Ολική Απόδοση %	30.76	35.49
Ποσοστό Πρωτεϊνών στο Υπερσυμπύκνωμα %	84.86	84.11

Πίνακας Π-17. Αποτελέσματα λειτουργικών ιδιοτήτων πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από άλευρο σόγιας με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας, έχοντας ως εκχυλιστικό μέσο το νερό, θερμοκρασία 40 °C, pH ίσο με 9 και χρόνο εκχύλισης τα 30 min.

	w/v [g / mL]	
	1/20	1/25
ΙΑΝ [g νερού/ 100 g δείγματος]	101.07	123.80
ΙΑΕ [mL ελαίου/ 100 g δείγματος]	367.24	399.36
ΔΕ*	56.17	58.67

Πίνακας Π-18. Απότελέσματα χρώματος πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με τη συμβατική μέθοδο.

		L*	a*	b*
w/v [g/mL]	1/15	50.31	1.36	13.62
	1/20	49.53	1.41	12.36
	1/25	50.56	1.36	12.78
	1/30	54.29	1.47	14.86

Πίνακας Π-19. Απότελέσματα χρώματος πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους.

		t [min]								
		10			15			20		
		L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*
w/v [g/mL]	1/15	52.48	1.49	14.11	43.65	1.07	14.62	52.08	1.21	14.51
	1/20	52.24	1.17	12.62	53.56	1.54	14.70	51.74	1.70	14.75
	1/25	56.75	1.01	13.28	51.90	-17.16	26.97	52.40	1.50	13.99
	1/30							56.74	1.08	14.02

Πίνακας Π-20. Απότελέσματα χρώματος πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας.

		t [min]											
		10			15			20			30		
		L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*
w/v [g/mL]	1//20	51.80	1.04	12.08	52.21	0.88	11.54	55.38	1.24	14.55	54.41	1.23	13.91
	1//25	53.47	1.60	14.86	51.80	1.04	12.08	58.36	1.41	15.69	56.33	1.56	16.33
	1//30							59.36	1.68	15.95			

Πίνακας Π-21. Αποτελέσματα ANOVA για τις αποδόσεις εκχύλισης, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους.

	Univariate Tests of Significance for Απόδοση Εκχύλισης % (ΥΠΕΡΗΧΟΙ.st Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	8234.494	1	8234.494	1124.544	0.000005
t	182.040	2	91.020	12.430	0.019210
w/v	100.808	3	33.603	4.589	0.087574
Error	29.290	4	7.323		

Πίνακας Π-22. Αποτελέσματα Duncan's test για την απόδοση εκχύλισης ως προς το χρόνο, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους.

Cell No.	t	{1} 27.877	{2} 32.980	{3} 39.455
1	1		0.073545	0.006022
2	2	0.073545		0.037798
3	3	0.006022	0.037798	

Duncan test; variable Απόδοση Εκχύλισης % (ΥΠΕΡΗΧΟΙ.sta
Approximate Probabilities for Post Hoc Tests
Error: Between MS = 7.3225, df = 4.0000

Πίνακας Π-23. Αποτελέσματα ANOVA για τις αποδόσεις καταβύθισης, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους.

Univariate Tests of Significance for Απόδοση Καταβύθισης % (ΥΠΕΡΗΧΟΙ.st
Sigma-restricted parameterization
Effective hypothesis decomposition

Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	13769.53	1	13769.53	575.0995	0.000018
t	473.23	2	236.62	9.8826	0.028330
w/v	371.97	3	123.99	5.1786	0.073018
Error	95.77	4	23.94		

Πίνακας Π-24. Αποτελέσματα Duncan's test για την απόδοση καταβύθισης ως προς το χρόνο, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους.

Cell No.	t	{1} 37.047	{2} 43.513	{3} 53.282
1	1		0.166361	0.014424
2	2	0.166361		0.063233
3	3	0.014424	0.063233	

Duncan test; variable Απόδοση Καταβύθισης % (ΥΠΕΡΗΧΟΙ.sta
Approximate Probabilities for Post Hoc Tests
Error: Between MS = 23.943, df = 4.0000

Πίνακας Π-25. Αποτελέσματα ANOVA για τις ολικές αποδόσεις, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους.

Effect	Univariate Tests of Significance for Ολική Απόδοση % (ΥΠΕΡΗΧΟΙ.st Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1631.360	1	1631.360	493.8975	0.000024
t	141.010	2	70.505	21.3456	0.007339
w/v	83.721	3	27.907	8.4489	0.033208
Error	13.212	4	3.303		

Πίνακας Π-26. Αποτελέσματα Duncan's test για την ολική απόδοση ως προς το χρόνο, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους.

Cell No.	Duncan test; variable Ολική Απόδοση % (ΥΠΕΡΗΧΟΙ.sta Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 3.3030, df = 4.0000			
	t	{1} 10.403	{2} 14.513	{3} 20.122
1	1		0.044618	0.002718
2	2	0.044618		0.017026
3	3	0.002718	0.017026	

Πίνακας Π-27. Αποτελέσματα Duncan's test για την ολική απόδοση ως προς τον λόγο στερεού προς υγρό, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους.

Cell No.	Duncan test; variable Ολική Απόδοση % (ΥΠΕΡΗΧΟΙ.sta Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 3.3030, df = 4.0000				
	w/v	{1} 11.437	{2} 14.660	{3} 18.883	{4} 20.300
1	1		0.150997	0.016212	0.009276
2	2	0.150997		0.080988	0.038663
3	3	0.016212	0.080988		0.479466
4	4	0.009276	0.038663	0.479466	

Πίνακας Π-28. Αποτελέσματα ANOVA για τις περιεκτικότητες των υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνη, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους.

Effect	Univariate Tests of Significance for Περιεκτικότητα Πρωτεϊνών στο Υπερσυμπύκνωμα % (ΥΠΕΡΗΧΟΙ. Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	52330.20	1	52330.20	3752.328	0.000000
t	59.03	2	29.51	2.116	0.236072
w/v	27.97	3	9.32	0.669	0.614158
Error	55.78	4	13.95		

Πίνακας Π-29. Αποτελέσματα ANOVA για την ικανότητα απορρόφησης νερού των υπερσυμπυκνωμάτων, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους.

Effect	Univariate Tests of Significance for IAN (ΥΠΕΡΗΧΟΙ.sta Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	110240.5	1	110240.5	11192.27	0.000000
t	287.0	2	143.5	14.57	0.014574
w/v	460.7	3	153.6	15.59	0.011327
Error	39.4	4	9.8		

Πίνακας Π-30. Αποτελέσματα Duncan's test για την ικανότητα απορρόφησης νερού των υπερσυμπυκνωμάτων ως προς το χρόνο, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους.

Cell No.	Duncan test; variable IAN (ΥΠΕΡΗΧΟΙ.sta) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 9.8497, df = 4.0000			
	t	{1} 118.90	{2} 132.69	{3} 124.36
1	1		0.005481	0.090457
2	2	0.005481		0.027532
3	3	0.090457	0.027532	

Πίνακας Π-31. Αποτελέσματα Duncan's test για την ικανότητα απορρόφησης νερού των υπερσυμπυκνωμάτων ως προς τον λόγο στερεού προς υγρό, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους.

Cell No.	w/v	{1} 122.79	{2} 135.33	{3} 120.18	{4} 117.26
1	1		0.016363	0.452623	0.158272
2	2	0.016363		0.009340	0.005190
3	3	0.452623	0.009340		0.404527
4	4	0.158272	0.005190	0.404527	

Duncan test; variable IAN (ΥΠΕΡΗΧΟΙ.sta)
Approximate Probabilities for Post Hoc Tests
Error: Between MS = 9.8497, df = 4.0000

Πίνακας Π-32. Αποτελέσματα ANOVA για την ικανότητα απορρόφησης ελαίου των υπερσυμπυκνωμάτων, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους.

Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1108401	1	1108401	5525.902	0.000000
t	961	2	481	2.397	0.206934
w/v	6302	3	2101	10.473	0.022995
Error	802	4	201		

Univariate Tests of Significance for IAE (ΥΠΕΡΗΧΟΙ.sta
Sigma-restricted parameterization
Effective hypothesis decomposition

Πίνακας Π-33. Αποτελέσματα Duncan's test για την ικανότητα απορρόφησης ελαίου των υπερσυμπυκνωμάτων ως προς τον λόγο στερεού προς υγρό, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους.

Cell No.	w/v	{1} 401.86	{2} 407.85	{3} 429.06	{4} 318.45
1	1		0.693952	0.132382	0.004337
2	2	0.693952		0.208836	0.003626
3	3	0.132382	0.208836		0.001731
4	4	0.004337	0.003626	0.001731	

Duncan test; variable IAE (ΥΠΕΡΗΧΟΙ.sta)
Approximate Probabilities for Post Hoc Tests
Error: Between MS = 200.58, df = 4.0000

Πίνακας Π-34. Αποτελέσματα ANOVA για το χρώμα των υπερσυμπυκνωμάτων, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους.

Effect	Univariate Tests of Significance for ΔΕ* (ΥΠΕΡΗΧΟΙ.sta Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	23245.74	1	23245.74	5037.877	0.000000
t	19.50	2	9.75	2.113	0.236405
w/v	47.23	3	15.74	3.412	0.133322
Error	18.46	4	4.61		

Πίνακας Π-35. Αποτελέσματα ANOVA για τις αποδόσεις εκχύλισης, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας.

Effect	Univariate Tests of Significance for Απόδοση Εκχύλισης % (Ομογενοποιητής.s Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	8866.086	1	8866.086	16028.48	0.000001
t	207.818	3	69.273	125.23	0.001194
w/v	4.784	2	2.392	4.32	0.130685
Error	1.659	3	0.553		

Πίνακας Π-36. Αποτελέσματα Duncan's test για την απόδοση εκχύλισης ως προς το χρόνο, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας.

Cell No.	Duncan test; variable Απόδοση Εκχύλισης % (Ομογενοποιητής.s Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = .55315, df = 3.0000				
	t	{1} 35.425	{2} 43.835	{3} 45.297	{4} 49.225
1	1		0.001538	0.000926	0.000366
2	2	0.001538		0.132597	0.004960
3	3	0.000926	0.132597		0.011941
4	4	0.000366	0.004960	0.011941	

Πίνακας Π-37. Αποτελέσματα ANOVA για τις αποδόσεις καταβύθισης, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας.

Univariate Tests of Significance for Απόδοση Καταβύθισης % (Ομογενοποιητής.s Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	17851.53	1	17851.53	1246.820	0.000050
t	145.71	3	48.57	3.392	0.171258
w/v	0.93	2	0.46	0.032	0.968389
Error	42.95	3	14.32		

Πίνακας Π-38. Αποτελέσματα ANOVA για τις ολικές αποδόσεις, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας.

Univariate Tests of Significance for Ολική Απόδοση % (Ομογενοποιητής.s Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	3457.421	1	3457.421	2032.402	0.000024
t	114.757	3	38.252	22.486	0.014723
w/v	8.486	2	4.243	2.494	0.230153
Error	5.103	3	1.701		

Πίνακας Π-39. Αποτελέσματα Duncan's test για την ολική απόδοση ως προς το χρόνο, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας.

Duncan test; variable Ολική Απόδοση % (Ομογενοποιητής.s Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 1.7012, df = 3.0000					
Cell No.	t	{1} 23.070	{2} 24.905	{3} 26.993	{4} 33.125
1	1		0.238281	0.052033	0.004094
2	2	0.238281		0.193257	0.007351
3	3	0.052033	0.193257		0.016382
4	4	0.004094	0.007351	0.016382	

Πίνακας Π-40. Αποτελέσματα ANOVA για την περιεκτικότητα των υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνες, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας.

	Univariate Tests of Significance for Περιεκτικότητα Πρωτεϊνών στο Υπερσυμπύκνωμα % (Ομογενοποι Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	33307.34	1	33307.34	5538.699	0.000005
t	111.43	3	37.14	6.176	0.084518
w/v	38.03	2	19.01	3.162	0.182526
Error	18.04	3	6.01		

Πίνακας Π-41. Αποτελέσματα ANOVA για την ικανότητα απορρόφησης νερού (IAN), όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας.

	Univariate Tests of Significance for IAN (Ομογενοποιητής.s Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	73957.15	1	73957.15	1738.093	0.000030
t	706.22	3	235.41	5.532	0.096875
w/v	355.59	2	177.79	4.178	0.135768
Error	127.65	3	42.55		

Πίνακας Π-42. Αποτελέσματα ANOVA για την ικανότητα απορρόφησης ελαίου (IAE), όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας.

	Univariate Tests of Significance for IAE (Ομογενοποιητής.s Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	824249.9	1	824249.9	6028.235	0.000005
t	5272.5	3	1757.5	12.854	0.032201
w/v	1589.7	2	794.8	5.813	0.092893
Error	410.2	3	136.7		

Πίνακας Π-43. Αποτελέσματα Duncan's test για την ικανότητα απορρόφησης ελαίου (ΙΑΕ) ως προς το χρόνο, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας.

	Duncan test; variable IAE (Ομογενοποιητής.st Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 136.73, df = 3.0000				
Cell No.	t	{1} 436.67	{2} 432.62	{3} 439.94	{4} 383.30
1	1		0.741399	0.789245	0.017882
2	2	0.741399		0.556510	0.021911
3	3	0.789245	0.556510		0.014942
4	4	0.017882	0.021911	0.014942	

Πίνακας Π-44. Αποτελέσματα ANOVA για την ικανότητα , όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας.

	Univariate Tests of Significance for ΔE* (Ομογενοποιητής.s Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	15525.06	1	15525.06	13454.03	0.000001
t	39.92	3	13.31	11.53	0.037336
w/v	12.06	2	6.03	5.23	0.105316
Error	3.46	3	1.15		

Πίνακας Π-45. Αποτελέσματα Duncan's test για το χρώμα των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ως προς το χρόνο, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας.

	Duncan test; variable ΔE* (Ομογενοποιητής.st Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 1.1539, df = 3.0000				
Cell No.	t	{1} 54.360	{2} 53.340	{3} 59.737	{4} 57.420
1	1		0.394621	0.013925	0.059006
2	2	0.394621		0.008471	0.029051
3	3	0.013925	0.008471		0.109875
4	4	0.059006	0.029051	0.109875	

Πίνακας Π-46. Αποτελέσματα ANOVA για τις αποδόσεις εκχύλισης, όσον αφορά τη σύγκριση των νέων μεθόδων εκχύλισης (υπέρηχους, μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας), για 10 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

	Univariate Tests of Significance for Απόδοση Εκχύλισης % (Σύγκριση.st Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	7569.941	1	7569.941	3153.018	0.000012
Μέθοδος Εκχύλισης	87.180	2	43.590	18.156	0.021081
w/v	16.156	2	8.078	3.365	0.171223
Error	7.203	3	2.401		

Πίνακας Π-47. Αποτελέσματα Duncan's test για την απόδοση εκχύλισης ως προς τη μέθοδο εκχύλισης, όσον αφορά τη σύγκριση των νέων μεθόδων εκχύλισης (υπέρηχους, μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας), για 10 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

	Duncan test; variable Απόδοση Εκχύλισης % (Σύγκριση.st Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 2.4009, df = 3.0000			
Cell No.	Μέθοδος Εκχύλισης	{1} 34.933	{2} 27.877	{3} 35.425
1	1		0.014296	0.743020
2	2	0.014296		0.011974
3	3	0.743020	0.011974	

Πίνακας Π-48. Αποτελέσματα ANOVA για τις αποδόσεις καταβύθισης, όσον αφορά τη σύγκριση των νέων μεθόδων εκχύλισης (υπέρηχους, μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας), για 10 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

	Univariate Tests of Significance for Απόδοση Καταβύθισης % (Σύγκριση.s Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	14338.55	1	14338.55	568.2661	0.000162
Μέθοδος Εκχύλισης	603.70	2	301.85	11.9628	0.037190
w/v	52.85	2	26.42	1.0472	0.451889
Error	75.70	3	25.23		

Πίνακας Π-49. Αποτελέσματα Duncan's test για την απόδοση καταβύθισης ως προς τη μέθοδο εκχύλισης, όσον αφορά τη σύγκριση των νέων μεθόδων εκχύλισης (υπέρηχους, μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας), για 10 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

	Duncan test; variable Απόδοση Καταβύθισης % (Σύγκριση.st Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 25.232, df = 3.0000			
Cell No.	Μέθοδος Εκχύλισης	{1} 38.037	{2} 37.047	{3} 60.890
1	1		0.837697	0.014335
2	2	0.837697		0.012861
3	3	0.014335	0.012861	

Πίνακας Π-50. Αποτελέσματα ANOVA για τις ολικές αποδόσεις, όσον αφορά τη σύγκριση των νέων μεθόδων εκχύλισης (υπέρηχους, μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας), για 10 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

	Univariate Tests of Significance for Ολική Απόδοση % (Σύγκριση.st Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1680.494	1	1680.494	1662.407	0.000032
Μέθοδος Εκχύλισης	153.747	2	76.873	76.046	0.002690
w/v	14.715	2	7.358	7.279	0.070633
Error	3.033	3	1.011		

Πίνακας Π-51. Αποτελέσματα Duncan's test για την ολική απόδοση ως προς τη μέθοδο εκχύλισης, όσον αφορά τη σύγκριση των νέων μεθόδων εκχύλισης (υπέρηχους, μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας), για 10 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

	Duncan test; variable Ολική Απόδοση % (Σύγκριση.st Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 1.0109, df = 3.0000			
Cell No.	Μέθοδος Εκχύλισης	{1} 13.290	{2} 10.403	{3} 23.070
1	1		0.047490	0.001827
2	2	0.047490		0.000852
3	3	0.001827	0.000852	

Πίνακας Π-52. Αποτελέσματα ANOVA για την περιεκτικότητα των υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνες, όσον αφορά τη σύγκριση των νέων μεθόδων εκχύλισης (υπέρηχους, μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας), για 10 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

	Univariate Tests of Significance for Περιεκτικότητα Υπερσυμπυκνωμάτων σε Πρωτεΐνε Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	52965.72	1	52965.72	5288.808	0.000006
Μέθοδος Εκχύλισης	112.71	2	56.36	5.627	0.096550
w/v	12.66	2	6.33	0.632	0.590189
Error	30.04	3	10.01		

Πίνακας Π-53. Αποτελέσματα ANOVA για την ικανότητα απορρόφησης νερού (ΙΑΝ) των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, όσον αφορά τη σύγκριση των νέων μεθόδων εκχύλισης (υπέρηχους, μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας), για 10 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

	Univariate Tests of Significance for IAN (Σύγκριση.sta) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	128104.0	1	128104.0	1922.686	0.000026
Μέθοδος Εκχύλισης	1132.9	2	566.4	8.501	0.058083
w/v	132.4	2	66.2	0.993	0.466657
Error	199.9	3	66.6		

Πίνακας Π-54. Αποτελέσματα ANOVA για την ικανότητα απορρόφησης ελαίου (ΙΑΕ) των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, όσον αφορά τη σύγκριση των νέων μεθόδων εκχύλισης (υπέρηχους, μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας), για 10 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

	Univariate Tests of Significance for IAE (Σύγκριση.sta Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1390669	1	1390669	2830.049	0.000015
Μέθοδος Εκχύλισης	4734	2	2367	4.817	0.115711
w/v	6489	2	3245	6.603	0.079650
Error	1474	3	491		

Πίνακας Π-55. Αποτελέσματα ANOVA για το χρώμα των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, όσον αφορά τη σύγκριση των νέων μεθόδων εκχύλισης (υπέρηχους, μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας), για 10 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

	Univariate Tests of Significance for ΔE* (Σύγκριση.st Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	20848.36	1	20848.36	13554.60	0.000001
Μέθοδος Εκχύλισης	20.66	2	10.33	6.72	0.077999
w/v	10.97	2	5.49	3.57	0.161101
Error	4.61	3	1.54		

Πίνακας Π-56. Αποτελέσματα ANOVA για την απόδοση εκχύλισης, όσον αφορά τη σύγκριση των νέων μεθόδων εκχύλισης (υπέρηχους, μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας), για 15 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

	Univariate Tests of Significance for Απόδοση Εκχύλισης % (Σύγκριση.st Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	9669.883	1	9669.883	4039.267	0.000009
Μέθοδος Εκχύλισης	92.610	2	46.305	19.342	0.019307
w/v	53.922	2	26.961	11.262	0.040296
Error	7.182	3	2.394		

Πίνακας Π-57. Αποτελέσματα Duncan's test για την απόδοση εκχύλισης ως προς τη μέθοδο εκχύλισης, όσον αφορά τη σύγκριση των νέων μεθόδων εκχύλισης (υπέρηχους, μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας), για 15 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

	Duncan test; variable Απόδοση Εκχύλισης % (Σύγκριση.st Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 2.3940, df = 3.0000			
Cell No.	Μέθοδος Εκχύλισης	{1} 34.933	{2} 32.980	{3} 43.835
1	1		0.247917	0.007518
2	2	0.247917		0.004310
3	3	0.007518	0.004310	

Πίνακας Π-58. Αποτελέσματα Duncan's test για την απόδοση εκχύλισης ως προς το λόγο στερεού προς υγρό, όσον αφορά τη σύγκριση των νέων μεθόδων εκχύλισης (υπέρηχους, μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας), για 15 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

	Duncan test; variable Απόδοση Εκχύλισης % (Σύγκριση.st Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 2.3940, df = 3.0000			
Cell No.	w/v	{1} 30.345	{2} 36.883	{3} 40.023
1	1		0.017502	0.005958
2	2	0.017502		0.105076
3	3	0.005958	0.105076	

Πίνακας Π-59. Αποτελέσματα ANOVA για την απόδοση καταβύθισης, όσον αφορά τη σύγκριση των νέων μεθόδων εκχύλισης (υπέρηχους, μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας), για 15 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

	Univariate Tests of Significance for Απόδοση Καταβύθισης % (Σύγκριση.s Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	14654.62	1	14654.62	984.5143	0.000071
Μέθοδος Εκχύλισης	272.21	2	136.11	9.1437	0.052905
w/v	45.51	2	22.75	1.5286	0.348550
Error	44.66	3	14.89		

Πίνακας Π-60. Αποτελέσματα Duncan's test για την απόδοση καταβύθισης ως προς τη μέθοδο εκχύλισης, όσον αφορά τη σύγκριση των νέων μεθόδων εκχύλισης (υπέρηχους, μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας), για 15 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

	Duncan test; variable Απόδοση Καταβύθισης % (Σύγκριση.st Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 14.885, df = 3.0000			
Cell No.	Μέθοδος Εκχύλισης	{1} 38.037	{2} 43.480	{3} 55.580
1	1		0.208156	0.014464
2	2	0.208156		0.038134
3	3	0.014464	0.038134	

Πίνακας Π-61. Αποτελέσματα ANOVA για την ολική απόδοση, όσον αφορά τη σύγκριση των νέων μεθόδων εκχύλισης (υπέρηχους, μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας), για 15 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

	Univariate Tests of Significance for Ολική Απόδοση % (Σύγκριση.st Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	2114.185	1	2114.185	615.0749	0.000144
Μέθοδος Εκχύλισης	127.763	2	63.881	18.5849	0.020410
w/v	25.130	2	12.565	3.6555	0.156938
Error	10.312	3	3.437		

Πίνακας Π-62. Αποτελέσματα Duncan's test για την ολική απόδοση ως προς τη μέθοδο εκχύλισης, όσον αφορά τη σύγκριση των νέων μεθόδων εκχύλισης (υπέρηχους, μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας), για 15 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

	Duncan test; variable Ολική Απόδοση % (Σύγκριση.st Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 3.4373, df = 3.0000			
Cell No.	Μέθοδος Εκχύλισης	{1} 13.290	{2} 14.513	{3} 24.905
1	1		0.508875	0.005932
2	2	0.508875		0.008075
3	3	0.005932	0.008075	

Πίνακας Π-63. Αποτελέσματα ANOVA για την περιεκτικότητα των υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνες, όσον αφορά τη σύγκριση των νέων μεθόδων εκχύλισης (υπέρηχους, μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας), για 15 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

	Univariate Tests of Significance for Περιεκτικότητα Υπερσυμπυκνωμάτων σε Πρωτεΐνες % (Σ Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	52110.82	1	52110.82	2751.197	0.000015
Μέθοδος Εκχύλισης	20.45	2	10.22	0.540	0.630629
w/v	45.62	2	22.81	1.204	0.413093
Error	56.82	3	18.94		

Πίνακας Π-64. Αποτελέσματα ANOVA για την ικανότητα απορρόφησης νερού (IAN) των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, όσον αφορά τη σύγκριση των νέων μεθόδων εκχύλισης (υπέρηχους, μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας), για 15 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

	Univariate Tests of Significance for IAN (Σύγκριση.st Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	131118.0	1	131118.0	1116.482	0.000059
Μέθοδος Εκχύλισης	525.1	2	262.5	2.235	0.254464
w/v	266.4	2	133.2	1.134	0.429692
Error	352.3	3	117.4		

Πίνακας Π-65. Αποτελέσματα ANOVA για την ικανότητα απορρόφησης ελαίου (IAE) των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, όσον αφορά τη σύγκριση των νέων μεθόδων εκχύλισης (υπέρηχους, μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας), για 15 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

	Univariate Tests of Significance for IAE (Σύγκριση.st Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1362206	1	1362206	1895.757	0.000027
Μέθοδος Εκχύλισης	6484	2	3242	4.512	0.124633
w/v	4811	2	2405	3.348	0.172125
Error	2156	3	719		

Πίνακας Π-66. Αποτελέσματα ANOVA για το χρώμα των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, όσον αφορά τη σύγκριση των νέων μεθόδων εκχύλισης (υπέρηχους, μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας), για 15 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

	Univariate Tests of Significance for ΔE* (Σύγκριση.st Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	21022.42	1	21022.42	2634.341	0.000016
Μέθοδος Εκχύλισης	56.68	2	28.34	3.551	0.161819
w/v	15.81	2	7.91	0.991	0.467327
Error	23.94	3	7.98		

Πίνακας Π-67. Αποτελέσματα ANOVA για την απόδοση εκχύλισης, όσον αφορά τη σύγκριση των νέων μεθόδων εκχύλισης (υπέρηχους, μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας), για 20 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

	Univariate Tests of Significance for Απόδοση Εκχύλισης % (Σύγκριση.st Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	16124.78	1	16124.78	3141.002	0.000000
Μέθοδος Εκχύλισης	103.07	2	51.53	10.039	0.017751
w/v	90.67	3	30.22	5.887	0.042738
Error	25.67	5	5.13		

Πίνακας Π-68. Αποτελέσματα Duncan's test για την απόδοση εκχύλισης ως προς τη μέθοδο εκχύλισης, όσον αφορά τη σύγκριση των νέων μεθόδων εκχύλισης (υπέρηχους, μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας), για 20 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

	Duncan test; variable Απόδοση Εκχύλισης % (Σύγκριση.st Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 5.1336, df = 5.0000			
Cell No.	Μέθοδος Εκχύλισης	{1} 35.667	{2} 39.455	{3} 45.297
1	1		0.075147	0.002775
2	2	0.075147		0.018244
3	3	0.002775	0.018244	

Πίνακας Π-69. Αποτελέσματα Duncan's test για την απόδοση εκχύλισης ως προς το λόγο στερεού προς υγρό, όσον αφορά τη σύγκριση των νέων μεθόδων εκχύλισης (υπέρηχους, μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας), για 20 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

	Duncan test; variable Απόδοση Εκχύλισης % (Σύγκριση.st Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 5.1336, df = 5.0000				
Cell No.	w/v	{1} 32.650	{2} 39.243	{3} 43.420	{4} 41.030
1	1		0.020297	0.003466	0.009136
2	2	0.020297		0.093636	0.404504
3	3	0.003466	0.093636		0.277763
4	4	0.009136	0.404504	0.277763	

Πίνακας Π-70. Αποτελέσματα ANOVA για την απόδοση καταβύθισης, όσον αφορά τη σύγκριση των νέων μεθόδων εκχύλισης (υπέρηχους, μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας), για 20 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

	Univariate Tests of Significance for Απόδοση Καταβύθισης % (Σύγκριση. Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	25635.06	1	25635.06	649.9579	0.000002
Μέθοδος Εκχύλισης	916.28	2	458.14	11.6158	0.013200
w/v	75.67	3	25.22	0.6395	0.621579
Error	197.21	5	39.44		

Πίνακας Π-71. Αποτελέσματα Duncan's test για την απόδοση καταβύθισης ως προς τη μέθοδο εκχύλισης, όσον αφορά τη σύγκριση των νέων μεθόδων εκχύλισης (υπέρηχους, μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας), για 20 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

	Duncan test; variable Απόδοση Καταβύθισης % (Σύγκριση.st Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 39.441, df = 5.0000			
Cell No.	Μέθοδος Εκχύλισης	{1} 37.170	{2} 53.282	{3} 59.607
1	1		0.018576	0.005734
2	2	0.018576		0.234787
3	3	0.005734	0.234787	

Πίνακας Π-72. Αποτελέσματα ANOVA για την ολική απόδοση, όσον αφορά τη σύγκριση των νέων μεθόδων εκχύλισης (υπέρηχους, μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας), για 20 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

	Univariate Tests of Significance for Ολική Απόδοση % (Σύγκριση.st Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	4064.210	1	4064.210	1021.447	0.000001
Μέθοδος Εκχύλισης	278.674	2	139.337	35.019	0.001146
w/v	34.688	3	11.563	2.906	0.140332
Error	19.894	5	3.979		

Πίνακας Π-73. Αποτελέσματα Duncan's test για την ολική απόδοση ως προς τη μέθοδο εκχύλισης, όσον αφορά τη σύγκριση των νέων μεθόδων εκχύλισης (υπέρηχους, μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας), για 20 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

	Duncan test; variable Ολική Απόδοση % (Σύγκριση.st Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 3.9789, df = 5.0000			
Cell No.	Μέθοδος Εκχύλισης	{1} 13.240	{2} 20.122	{3} 26.993
1	1		0.005855	0.000391
2	2	0.005855		0.005895
3	3	0.000391	0.005895	

Πίνακας Π-74. Αποτελέσματα ANOVA για την περιεκτικότητα των υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνες, όσον αφορά τη σύγκριση των νέων μεθόδων εκχύλισης (υπέρηχους, μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας), για 20 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

	Univariate Tests of Significance for Ποσοστό Πρωτεϊνών στο Υπερσυμπύκνωμα % (Σύγκρ Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	71808.36	1	71808.36	4061.565	0.000000
Μέθοδος Εκχύλισης	32.01	2	16.00	0.905	0.461857
w/v	50.72	3	16.91	0.956	0.480992
Error	88.40	5	17.68		

Πίνακας Π-75. Αποτελέσματα ANOVA για την ικανότητα απορρόφησης νερού (IAN) των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, όσον αφορά τη σύγκριση των νέων μεθόδων εκχύλισης (υπέρηχους, μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας), για 20 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

	Univariate Tests of Significance for IAN (Σύγκριση.st Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	172829.4	1	172829.4	2602.433	0.000000
Μέθοδος Εκχύλισης	698.9	2	349.4	5.262	0.058876
w/v	606.9	3	202.3	3.046	0.130819
Error	332.1	5	66.4		

Πίνακας Π-76. Αποτελέσματα Duncan's test για την ικανότητα απορρόφησης νερού (IAN) των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ως προς τη μέθοδο εκχύλισης, όσον αφορά τη σύγκριση των νέων μεθόδων εκχύλισης (υπέρηχους, μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας), για 20 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

	Duncan test; variable IAN (Σύγκριση.sta) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 66.411, df = 5.0000			
Cell No.	Μέθοδος Εκχύλισης	{1} 140.81	{2} 124.36	{3} 125.23
1	1		0.046771	0.050487
2	2	0.046771		0.891654
3	3	0.050487	0.891654	

Πίνακας Π-77. Αποτελέσματα ANOVA για την ικανότητα απορρόφησης ελαίου (IAE) των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, όσον αφορά τη σύγκριση των νέων μεθόδων εκχύλισης (υπέρηχους, μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας), για 20 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

	Univariate Tests of Significance for IAE (Σύγκριση.sta Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1892081	1	1892081	2183.432	0.000000
Μέθοδος Εκχύλισης	7395	2	3698	4.267	0.082957
w/v	6715	3	2238	2.583	0.166203
Error	4333	5	867		

Πίνακας Π-78. Αποτελέσματα ANOVA για το χρώμα των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, όσον αφορά τη σύγκριση των νέων μεθόδων εκχύλισης (υπέρηχους, μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας), για 20 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

	Univariate Tests of Significance for ΔE* (Σύγκριση.sta Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	32064.60	1	32064.60	42201.62	0.000000
Μέθοδος Εκχύλισης	68.01	2	34.01	44.76	0.000644
w/v	36.63	3	12.21	16.07	0.005326
Error	3.80	5	0.76		

Πίνακας Π-79. Αποτελέσματα Duncan's test για το χρώμα των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ως προς τη μέθοδο εκχύλισης, όσον αφορά τη σύγκριση των νέων μεθόδων εκχύλισης (υπέρηχους, μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας), για 20 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

	Duncan test; variable ΔE* (Σύγκριση.sta) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = .75980, df = 5.0000			
Cell No.	Μέθοδος Εκχύλισης	{1} 52.922	{2} 55.153	{3} 59.737
1	1		0.018770	0.000265
2	2	0.018770		0.001091
3	3	0.000265	0.001091	

Πίνακας Π-80. Αποτελέσματα Duncan's test για το χρώμα των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ως προς το λόγο στερεού προς υγρό, όσον αφορά τη σύγκριση των νέων μεθόδων εκχύλισης (υπέρηχους, μηχανικό ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας), για 20 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

	Duncan test; variable ΔE* (Σύγκριση.sta) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = .75980, df = 5.0000				
Cell No.	w/v	{1} 53.105	{2} 54.057	{3} 55.623	{4} 58.753
1	1		0.263240	0.023244	0.000916
2	2	0.263240		0.092777	0.001911
3	3	0.023244	0.092777		0.009119
4	4	0.000916	0.001911	0.009119	

Πίνακας Π-81. Αποτελέσματα ANOVA για την απόδοση εκχύλισης, όσον αφορά τη σύγκριση της μεθόδου του μηχανικού ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας για χρόνο εκχύλισης 30 min με τη συμβατική μέθοδο.

	Univariate Tests of Significance for Απόδοση Εκχύλισης % (Ομογενοποιητής-S.s Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	15180.54	1	15180.54	6535.824	0.000000
t	312.74	4	78.19	33.662	0.000827
w/v	8.56	2	4.28	1.842	0.251481
Error	11.61	5	2.32		

Πίνακας Π-82. Αποτελέσματα Duncan's test για την απόδοση εκχύλισης ως προς το χρόνο εκχύλισης, όσον αφορά τη σύγκριση της μεθόδου του μηχανικού ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας για χρόνο εκχύλισης 30 min με τη συμβατική μέθοδο.

	Duncan test; variable Απόδοση Εκχύλισης % (Ομογενοποιητής-S.s Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 2.3227, df = 5.0000					
Cell No.	t	{1} 35.425	{2} 43.835	{3} 45.297	{4} 49.225	{5} 36.683
1	1		0.002349	0.001253	0.000304	0.415950
2	2	0.002349		0.350337	0.014396	0.004127
3	3	0.001253	0.350337		0.039609	0.002124
4	4	0.000304	0.014396	0.039609		0.000451
5	5	0.415950	0.004127	0.002124	0.000451	

Πίνακας Π-83. Αποτελέσματα ANOVA για την απόδοση καταβύθισης, όσον αφορά τη σύγκριση της μεθόδου του μηχανικού ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας για χρόνο εκχύλισης 30 min με τη συμβατική μέθοδο.

	Univariate Tests of Significance for Απόδοση Καταβύθισης % (Ομογενοποιητής-S.s Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	26624.29	1	26624.29	2710.289	0.000000
t	1291.34	4	322.84	32.864	0.000876
w/v	2.65	2	1.33	0.135	0.876688
Error	49.12	5	9.82		

Πίνακας Π-84. Αποτελέσματα Duncan's test για την απόδοση καταβύθισης ως προς το χρόνο εκχύλισης, όσον αφορά τη σύγκριση της μεθόδου του μηχανικού ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας για χρόνο εκχύλισης 30 min με τη συμβατική μέθοδο.

	Duncan test; variable Απόδοση Καταβύθισης % (Ομογενοποιητής-S.s Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 9.8234, df = 5.0000					
Cell No.	t	{1} 60.890	{2} 55.380	{3} 59.607	{4} 67.230	{5} 36.863
1	1		0.125940	0.678598	0.082029	0.000606
2	2	0.125940		0.207321	0.011817	0.001632
3	3	0.678598	0.207321		0.052342	0.000744
4	4	0.082029	0.011817	0.052342		0.000234
5	5	0.000606	0.001632	0.000744	0.000234	

Πίνακας Π-85. Αποτελέσματα ANOVA για την ολική απόδοση, όσον αφορά τη σύγκριση της μεθόδου του μηχανικού ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας για χρόνο εκχύλισης 30 min με τη συμβατική μέθοδο.

	Univariate Tests of Significance for Ολική Απόδοση % (Ομογενοποιητής-S.s Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	5012.998	1	5012.998	4895.761	0.000000
t	490.464	4	122.616	119.748	0.000038
w/v	10.427	2	5.213	5.091	0.062237
Error	5.120	5	1.024		

Πίνακας Π-86. Αποτελέσματα Duncan's test για την ολική απόδοση ως προς το χρόνο εκχύλισης, όσον αφορά τη σύγκριση της μεθόδου του μηχανικού ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας για χρόνο εκχύλισης 30 min με τη συμβατική μέθοδο.

	Duncan test; variable Ολική Απόδοση % (Ομογενοποιητής-S.s Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 1.0239, df = 5.0000					
Cell No.	t	{1} 23.070	{2} 24.905	{3} 26.993	{4} 33.125	{5} 13.510
1	1		0.109150	0.010089	0.000223	0.000367
2	2	0.109150		0.077622	0.000483	0.000196
3	3	0.010089	0.077622		0.001481	0.000119
4	4	0.000223	0.000483	0.001481		0.000068
5	5	0.000367	0.000196	0.000119	0.000068	

Πίνακας Π-87. Αποτελέσματα ANOVA για την περιεκτικότητα των υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνες, όσον αφορά τη σύγκριση της μεθόδου του μηχανικού ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας για χρόνο εκχύλισης 30 min με τη συμβατική μέθοδο.

	Univariate Tests of Significance for Περιεκτικότητα Πρωτεϊνών στο Υπερσυμπύκνωμ Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	58917.03	1	58917.03	8319.793	0.000000
t	109.75	4	27.44	3.875	0.084930
w/v	110.83	2	55.42	7.826	0.028845
Error	35.41	5	7.08		

Πίνακας Π-88. Αποτελέσματα Duncan's test για την περιεκτικότητα των υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνες ως προς το λόγο στερεού προς υγρό, όσον αφορά τη σύγκριση της μεθόδου του μηχανικού ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας για χρόνο εκχύλισης 30 min με τη συμβατική μέθοδο.

	Duncan test; variable Περιεκτικότητα Πρωτεϊνών στο Υπερσυμπύκνωμα % (Ομογενοποιητής-S Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 7.0815, df = 5.0000			
Cell No.	w/v	{1} 85.356	{2} 86.454	{3} 76.450
1	1		0.617261	0.007732
2	2	0.617261		0.005444
3	3	0.007732	0.005444	

Πίνακας Π-89. Αποτελέσματα ANOVA για την ικανότητα απορρόφησης νερού (IAN) των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, όσον αφορά τη σύγκριση της μεθόδου του μηχανικού ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας για χρόνο εκχύλισης 30 min με τη συμβατική μέθοδο.

	Univariate Tests of Significance for IAN (Ομογενοποιητής-S.s Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	136340.0	1	136340.0	2645.035	0.000000
t	1636.1	4	409.0	7.935	0.021588
w/v	779.1	2	389.5	7.557	0.030810
Error	257.7	5	51.5		

Πίνακας Π-90. Αποτελέσματα Duncan's test για την ικανότητα απορρόφησης νερού (IAN) των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ως προς το χρόνο εκχύλισης, όσον αφορά τη σύγκριση της μεθόδου του μηχανικού ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας για χρόνο εκχύλισης 30 min με τη συμβατική μέθοδο.

	Duncan test; variable IAN (Ομογενοποιητής-S.sta) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 51.546, df = 5.0000					
Cell No.	t	{1} 138.26	{2} 130.57	{3} 125.23	{4} 112.44	{5} 143.31
1	1		0.302152	0.116790	0.014306	0.483768
2	2	0.302152		0.460920	0.046581	0.123090
3	3	0.116790	0.460920		0.114011	0.048843
4	4	0.014306	0.046581	0.114011		0.007343
5	5	0.483768	0.123090	0.048843	0.007343	

Πίνακας Π-91. Αποτελέσματα Duncan's test για την ικανότητα απορρόφησης νερού (IAN) των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ως προς το λόγο στερεού προς υγρό, όσον αφορά τη σύγκριση της μεθόδου του μηχανικού ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας για χρόνο εκχύλισης 30 min με τη συμβατική μέθοδο.

	Duncan test; variable IAN (Ομογενοποιητής-S.st Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 51.546, df = 5.0000			
Cell No.	w/v	{1} 127.15	{2} 137.88	{3} 121.47
1	1		0.111658	0.354516
2	2	0.111658		0.035479
3	3	0.354516	0.035479	

Πίνακας Π-92. Αποτελέσματα ANOVA για την ικανότητα απορρόφησης ελαίου (IAE) των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, όσον αφορά τη σύγκριση της μεθόδου του μηχανικού ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας για χρόνο εκχύλισης 30 min με τη συμβατική μέθοδο.

	Univariate Tests of Significance for IAE (Ομογενοποιητής-S.st Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1503098	1	1503098	2790.149	0.000000
t	12500	4	3125	5.801	0.040449
w/v	7918	2	3959	7.349	0.032463
Error	2694	5	539		

Πίνακας Π-93. Αποτελέσματα Duncan's test για την ικανότητα απορρόφησης ελαίου (IAE) των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ως προς το χρόνο εκχύλισης, όσον αφορά τη σύγκριση της μεθόδου του μηχανικού ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας για χρόνο εκχύλισης 30 min με τη συμβατική μέθοδο.

	Duncan test; variable IAE (Ομογενοποιητής-S.sta) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 538.72, df = 5.0000					
Cell No.	t	{1} 436.67	{2} 432.62	{3} 439.94	{4} 383.30	{5} 466.48
1	1		0.858657	0.885679	0.061968	0.236855
2	2	0.858657		0.753871	0.071517	0.190429
3	3	0.885679	0.753871		0.053786	0.274216
4	4	0.061968	0.071517	0.053786		0.014913
5	5	0.236855	0.190429	0.274216	0.014913	

Πίνακας Π-94. Αποτελέσματα ANOVA για το χρώμα των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, όσον αφορά τη σύγκριση της μεθόδου του μηχανικού ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας για χρόνο εκχύλισης 30 min με τη συμβατική μέθοδο.

	Univariate Tests of Significance for ΔE* (Ομογενοποιητής-S.s Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	27207.39	1	27207.39	26405.24	0.000000
t	82.55	4	20.64	20.03	0.002805
w/v	25.64	2	12.82	12.44	0.011451
Error	5.15	5	1.03		

Πίνακας Π-95. Αποτελέσματα Duncan's test για το χρώμα των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ως προς το λόγο στερεού προς υγρό, όσον αφορά τη σύγκριση της μεθόδου του μηχανικού ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας για χρόνο εκχύλισης 30 min με τη συμβατική μέθοδο.

	Duncan test; variable ΔE* (Ομογενοποιητής-S.st Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 1.0304, df = 5.0000			
Cell No.	w/v	{1} 54.238	{2} 56.002	{3} 58.900
1	1		0.075075	0.002346
2	2	0.075075		0.014385
3	3	0.002346	0.014385	