



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

Τομέας (IV) Σύνθεσης και Ανάπτυξης Βιομηχανικών Διεργασιών

Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων

# «Νανογαλακτώματα νερού σε έλαιο με βάση το ελαιόλαδο και ενσωμάτωση βιοδραστικών συστατικών τροφίμων»

---

*Διπλωματική Εργασία*

Ακρίβου Χρυσάνθη

Επιβλέπουσα  
Κωνσταντίνα Τζιά  
Καθηγήτρια ΕΜΠ

Αθήνα, Φεβρουάριος 2020



## Ευχαριστίες

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 ΕΜΠ.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω εγκάρδια την κα Τζιά, όχι μόνο για την ανάθεση, συνεργασία και την επίβλεψη της διπλωματικής μου εργασίας, αλλά και για την ηθική υποστήριξη, την εμπιστοσύνη και τη γενικότερη καθοδήγηση που μου παρείχε κατά τη διάρκεια των ακαδημαϊκών μου σπουδών.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την Μαρία Κατσούλη, υποψήφια διδάκτορα του Εργαστηρίου Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων ΕΜΠ για τις πολύτιμες συμβουλές της, τη γνώση και τη βοήθεια που μου προσέφερε απλόχερα κατά την εκπόνηση της εργασίας μου, καθώς επίσης και τη διδάκτορα Βιργινία Γιάννου και όλα τα μέλη του Εργαστηρίου για τη βοήθεια και τη συνεργασία μας.

Επιπλέον, οφείλω να ευχαριστήσω την εταιρεία MINEPBA για την παροχή πρώτων υλών, τα εργαστήρια της Οργανικής και Ανόργανης Χημείας της Σχολής μας για την παραχώρηση των απαραίτητων οργάνων για την εκπόνηση των πειραμάτων μου.

Τέλος, ευχαριστώ ολόψυχα την οικογένειά μου και τους φίλους μου για την συμπαράσταση και την εμπιστοσύνη τους σε μένα καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

Αθήνα, Φεβρουάριος 2020  
Ακρίβου Χρυσάνθη

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα διπλωματική εργασία έχει ως αντικείμενο την παρασκευή νανογαλακτωμάτων νερού-σε-έλαιο (w/o) με λιπαρή φάση το εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο και το εξευγενισμένο πυρηνέλαιο, ή/και με ενσωμάτωση βιοδραστικών συστατικών με αντιοξειδωτική δράση, καθώς και τη μελέτη των φυσικοχημικών ιδιοτήτων τους, της σταθερότητάς τους και της διατήρησης των ενσωματούμενων συστατικών και της δραστικότητάς τους. Οι γαλακτωματοποιητές που χρησιμοποιήθηκαν είναι οι χημικοί μη-ιοντικοί γαλακτωματοποιητές Tween 20<sup>TM</sup> και Span 20<sup>TM</sup>, σε αναλογία 1:1 στα δείγματα με βάση το ελαιόλαδο, ενώ στα δείγματα με βάση το πυρηνέλαιο χρησιμοποιήθηκε μόνο ο Span 20<sup>TM</sup>. Οι ποσότητες υδατικής φάσης που εφαρμόστηκαν ήταν 3% και 5% κατά βάρος του τελικού μίγματος, ενώ οι περιεκτικότητες των γαλακτωματοποιητών ήταν 2% και 3% κατά βάρος τελικού μίγματος για ποσοστό υδατικής φάσης 3% και 4% και 5% κατά βάρος τελικού μίγματος για ποσοστό υδατικής φάσης 5%. Τα βιοδραστικά συστατικά που ενσωματώθηκαν ήταν η τυροσόλη, το καφεϊκό οξύ και ένα εργαστηριακό εκχύλισμα πολυφαινολικών συστατικών από ελαιοπυρήνα. Σε κάθε περίπτωση, η ενσωμάτωση των βιοδραστικών συστατικών γινόταν σε ποσοστό 1% κατά βάρος της υδατικής φάσης. Τα παρασκευαζόμενα γαλακτώματα αποθηκεύτηκαν σε δύο θερμοκρασίες, περιβάλλοντος (T=25°C) και ψύξης (T=3°C). Κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης, μελετήθηκε η σταθερότητά τους μέσω των μετρήσεων της μέσης διαμέτρου των σταγονιδίων (MDD) και του δείκτη πολυδιασποράς (PDI), και ελέγχθηκε επίσης η διατήρηση των ενσωματωμένων βιοδραστικών συστατικών ως ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC ως mg GAE/g γαλακτώματος) και η αντιοξειδωτική ικανότητά τους (DPPH ως mg Trolox/g γαλακτώματος).

Σε γενικές γραμμές, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο ήταν σταθερότερα από τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο, καθώς σε όλες τις περιπτώσεις τα δεύτερα διασπώντουσαν σε μικρότερο χρονικό διάστημα, με εξαίρεση τα γαλακτώματα με τυροσόλη. Ακόμη, κατά την ημέρα παρασκευής τους τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο παρουσίασαν σημαντικά χαμηλότερη MDD και PDI σε σχέση με τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο (505 nm και 0,227, και 880 nm και 0,653, αντίστοιχα).

Τα τυφλά γαλακτώματα (χωρίς ενσωματωμένο βιοδραστικό συστατικό) με βάση το πυρηνέλαιο παρουσίασαν μεγαλύτερη σταθερότητα κατά την αποθήκευση στους 25°C, ωστόσο καλύτερη διατήρηση του TPC επιτεύχθηκε στους 3°C. Κατά την αποθήκευσή τους, παρατηρήθηκε σημαντική μείωση του TPC και της DPPH με την πάροδο του χρόνου (p<0,05). Τα τυφλά γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο διασπάστηκαν σύντομα και δεν αποθηκεύτηκαν.

Τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο και το ελαιόλαδο με ενσωμάτωση φαινολικού εκχυλίσματος παρέμειναν εξίσου σταθερά, είτε κατά αποθήκευση στους 3°C είτε στους 25°C, ωστόσο τα 3%w/o γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο ήταν σταθερότερα από τα αντίστοιχα 5%w/o. Ακόμη, τα 3%w/o γαλακτώματα και για τα δύο είδη λιπαρής φάσης είχαν σημαντικά χαμηλότερο TPC, όπως ήταν αναμενόμενο.

Κατά την αποθήκευσή τους, τα γαλακτώματα και με τα δύο είδη λιπαρής φάσης παρουσίασαν σημαντική μείωση του TPC και της DPPH, παρόλα αυτά στους 3°C διατηρήθηκαν πολύ καλύτερα ( $p < 0,05$ ).

Τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο και το ελαιόλαδο και με ενσωμάτωση τυροσόλης παρουσίασαν μεγαλύτερη σταθερότητα κατά την αποθήκευση στους 25°C, ωστόσο εξ αυτών με βάση το ελαιόλαδο, το 3%w/o2%S20-T20 ήταν το σταθερότερο, παρουσιάζοντας ταυτόχρονα το χαμηλότερο TPC και την υψηλότερη DPPH. Κατά την αποθήκευσή τους, παρατηρείται σημαντική μείωση του TPC και της DPPH, ενώ τα γαλακτώματα στους 3°C διατήρησαν αποτελεσματικότερα το TPC ( $p < 0,05$ ).

Τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωμάτωση καφεϊκού οξέος παρουσίασαν διαφορές μεταξύ τους και τα σταθερότερα εξ αυτών ήταν τα 3%w/o2%S20 και 5%w/o4%S20, ενώ όλα παρέμειναν πιο σταθερά κατά την αποθήκευση στους 25°C. Ακόμη, τα 3%w/o παρουσίασαν σημαντικά χαμηλότερο TPC και DPPH, όπως αναμενόταν, αν και κατά την αποθήκευση παρατηρήθηκε σημαντική μείωση, ενώ τα γαλακτώματα που αποθηκεύτηκαν στους 3°C παρουσίασαν καλύτερη διατήρηση και των δύο ( $p < 0,05$ ). Τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο με ενσωμάτωση καφεϊκού οξέος διασπάστηκαν σύντομα.

Συνολικά, συγκρίνοντας τα w/o γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο και με βάση το ελαιόλαδο, παρατηρήθηκε ότι η ενσωμάτωση βιοδραστικού συστατικού δεν επιφέρει σημαντικές αλλαγές ως προς τις μετρήσεις MDD και PDI, ωστόσο φάνηκε ότι επηρεάζει σημαντικά το TPC και την DPPH. Έτσι, από όλα τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο εκείνα με ενσωμάτωση καφεϊκού οξέος παρουσίασαν τις υψηλότερες τιμές TPC και DPPH (2,486 mg GAE/g γαλακτώματος και 0,588 mg Trolox/g γαλακτώματος αντίστοιχα), ενώ από τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο εκείνα με ενσωμάτωση τυροσόλης παρουσίασαν το μεγαλύτερο TPC (8,385 mg GAE/g γαλακτώματος) και εκείνα με ενσωμάτωση καφεϊκού οξέος την υψηλότερη DPPH (0,649 mg Trolox/g γαλακτώματος).

Τέλος συγκρίνοντας όλα τα γαλακτώματα ως προς το είδος του βιοδραστικού συστατικού και το είδος της λιπαρής φάσης, προέκυψε ότι το ελαιόλαδο παρουσίασε σημαντικά υψηλότερο TPC (4,7 mg GAE/g γαλακτώματος) και DPPH (0,39 mg Trolox/g γαλακτώματος) έναντι του πυρηνέλαιου (1,1 mg GAE/g γαλακτώματος και 0,31 mg Trolox/g γαλακτώματος αντίστοιχα) και το καφεϊκό οξύ ήταν το βιοδραστικό που παρουσίασε το μεγαλύτερο TPC (5,4 mg GAE/g γαλακτώματος) και την υψηλότερη DPPH (0,61 mg Trolox/g γαλακτώματος).

## ABSTRACT

The scope of the present diploma thesis is the preparation of water-in-oil (w/o) nanoemulsions with extra virgin olive oil and refined pomace olive oil, and/or the incorporation of bioactive compounds with antioxidant activity and the investigation of their physicochemical properties, their stability and maintenance of the incorporated compounds and their antioxidant activity. The emulsifiers used are the non-ionic chemical emulsifiers Tween 20<sup>TM</sup> and Span 20<sup>TM</sup>, in a 1:1 ratio in the olive oil-based samples, whereas in the pomace oil-based samples only Span 20<sup>TM</sup> was used. The aqueous phase ratios applied were 3% and 5% w/w, while the emulsifiers' ratios were 2% and 3% w/w for aqueous phase percentage of 3% and 4% and 5%w/w for aqueous phase percentage of 5%. The bioactive compounds that got incorporated in the emulsions were tyrosol, caffeic acid and a laboratory extract of polyphenolic components from olive kernel. In each case, the incorporation was made by 1% w/w of the aqueous phase. The prepared emulsions were stored at two temperatures, T=25°C and T=3°C. During storage, emulsions stability was studied by means of mean droplet diameter (MDD) and polydispersity index (PDI), and the retention of the incorporated bioactive compounds was also tested as total phenolic content (TPC in mg GAE/g emulsion) and their antioxidant capacity (DPPH in mg Trolox/g emulsion).

In general, the results demonstrated that the pomace oil-based emulsions were more stable than the olive oil-based emulsions, as in all cases, the latter were degraded over a shorter period, apart from the emulsions with incorporated tyrosol. Also, on the day of preparation, the pomace oil-based emulsions exhibited significantly lower MDD and PDI than the olive oil-based emulsions (505 nm and 0.222, and 880 nm and 0.653, respectively).

Blank emulsions (without incorporated bioactive compound) based on pomace oil exhibited greater stability with storage at 25°C, however, better retention of TPC was achieved at 3°C. During storage, there was a significant decrease in TPC and DPPH over time ( $p < 0,05$ ). Blank olive oil-based emulsions were degraded quickly thus, they were not stored.

The emulsions with incorporated phenolic extract, both olive oil-based and pomace oil-based remained stable, either stored at 3°C or at 25°C, however, the 3% w/o olive oil-based emulsions were more stable than the corresponding 5% w/o. Furthermore, the 3%w/o emulsions for both types of oily phase exhibited significantly lower TPC. During storage, the emulsions based on both types of oily phase stored at 3°C presented more effective retention of both TPC and DPPH, although both decreased significantly over time ( $p < 0,05$ ).

The emulsions with incorporated tyrosol, both olive oil-based and pomace oil-based exhibited greater stability with storage at 25°C, however, out of those based on olive oil, 3%w/o2%S20-T20 was the most stable one, exhibiting the lowest TPC and the

highest DPPH. During storage, TPC and DPPH decreased significantly over time, while the emulsions stored at 3°C retained TPC more effectively ( $p < 0,05$ ).

Out of the pomace oil-based emulsions with incorporated caffeic acid, the samples that presented highest stability were 3%w/o2%S20 and 5%w/o4%S20, but all remained more stable with storage at 25°C. Moreover, 3% w/o samples demonstrated significantly lower TPC and DPPH, although both decreased significantly during storage, while the emulsions stored at 3°C presented better retention of both ( $p < 0,05$ ). Olive oil-based emulsions with incorporated caffeic acid were degraded quickly thus, they were not stored.

Overall, comparing the w/o emulsions based on olive oil and pomace oil, it was observed that incorporation of the bioactive compound did not cause significant changes in MDD and PDI measurements, but significantly affected the TPC and DPPH. Thus, out of all the pomace oil-based emulsions, those with incorporated caffeic acid exhibited the highest TPC and DPPH values (2.486 mg GAE/g emulsion and 0.588 mg Trolox/g emulsion respectively), while out of the olive oil-based emulsions those with incorporated tyrosol exhibited the highest TPC (8.385 mg GAE/g emulsion) and those with incorporated caffeic acid presented the highest DPPH (0.649 mg Trolox/g emulsion).

Finally, comparing all the emulsions with regards to the type of bioactive compound and the type of oily phase, the olive oil-based emulsions presented a significantly higher TPC (4.7 mg GAE/g emulsion) than the pomace oil-based emulsions (1.1 mg GAE/g emulsion) and a significantly higher DPPH (0.39 mg Trolox/g emulsion) than pomace oil-based emulsions (0.31 mg Trolox/g emulsion) and caffeic acid was the bioactive compound that exhibited the highest TPC (5.4 mg GAE/g emulsion) and the highest DPPH (0.61 mg Trolox/g emulsion).

## Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....	4
ABSTRACT.....	6
Κεφάλαιο 1: Γαλακτώματα-Νανογαλακτώματα .....	11
1.1 Εισαγωγή.....	11
1.2 Γαλακτώματα .....	11
1.3 Νανο/μικρο-γαλακτώματα .....	14
1.3.1 Συμβατικά γαλακτώματα.....	14
1.3.2 Νανογαλακτώματα .....	14
1.3.3 Μικρογαλακτώματα .....	14
1.4 Συστατικά Νανογαλακτωμάτων.....	15
1.4.1 Λιπαρή φάση .....	15
1.4.2 Υδατική φάση.....	15
1.4.3 Γαλακτωματοποιητές / Συν-γαλακτωματοποιητές (Emulsifiers / Co-emulsifiers).....	16
1.5 Σχηματισμός Νανογαλακτωμάτων.....	23
1.5.1 Συσκευές υψηλής ενέργειας .....	24
1.5.2 Διατάξεις ομογενοποίησης .....	24
1.6 Μέτρηση του μεγέθους σταγονιδίων και της διασποράς αυτών στα γαλακτώματα.....	27
1.6.1 DLS - Δυναμική Σκέδαση Φωτός (dynamic light scattering) .....	27
1.6.2 Παράγοντες που καθορίζουν το μέγεθος των σταγονιδίων.....	28
1.7 Ενσωμάτωση βιοδραστικών συστατικών σε νανογαλακτώματα και εφαρμογές .....	29
Κεφάλαιο 2: Ελαιόλαδο, πυρηνέλαιο και βιοδραστικά συστατικά .....	33
2.1 Εισαγωγή.....	33
2.2 Ελαιόλαδο και Πυρηνέλαιο.....	34
2.2.1 Εξαγωγή ελαιόλαδου .....	35
2.2.2 Εκχύλιση πυρηνέλαιου .....	36
2.2.3 Φυσικές ιδιότητες του ελαιόλαδου και του πυρηνέλαιου .....	37
2.2.4 Χημική Σύσταση του ελαιόλαδου και του πυρηνέλαιου.....	37
2.3 Γαλακτώματα νερού σε ελαιόλαδο (water-in-olive oil) και ενσωμάτωση βιοδραστικών συστατικών .....	50
Κεφάλαιο 3: Πειραματικό μέρος .....	52

3.1 Σκοπός.....	52
3.2 Υλικά – Μέθοδοι.....	52
3.2.1 Πρώτες ύλες και αντιδραστήρια.....	52
3.2.2 Συσκευές - Σκεύη .....	52
3.2.3 Παρασκευή γαλακτωμάτων - Επεξεργασία δειγμάτων.....	53
3.2.4 Αναλύσεις.....	53
3.3 Σχεδιασμός πειραμάτων.....	59
3.4 Στατιστική επεξεργασία .....	60
Κεφάλαιο 4: Αποτελέσματα και συζήτηση αποτελεσμάτων.....	60
4.1 Διερεύνηση συστήματος γαλακτωματοποιητών για τα νανογαλακτώματα ανά λιπαρή φάση.....	61
4.2 Αποτελέσματα.....	62
4.2.1 1 <sup>η</sup> Σειρά (τυφλά γαλακτώματα).....	62
4.2.2 2 <sup>η</sup> Σειρά (γαλακτώματα με ενσωματωμένο φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα).....	67
4.2.3 3 <sup>η</sup> Σειρά (γαλακτώματα με ενσωματωμένη τυροσόλη).....	74
4.2.4 4 <sup>η</sup> Σειρά (γαλακτώματα με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ) .....	81
4.2.5 Σύγκριση των ενσωματούμενων βιοδραστικών συστατικών στα γαλακτώματα ανάλογα με το είδος της λιπαρής φάσης .....	88
4.2.6 Σύγκριση επίδρασης του είδους της λιπαρής φάσης ανά σειρά πειραμάτων .....	91
4.2.7 Σύγκριση των βιοδραστικών συστατικών σε όλα τα γαλακτώματα.....	97
4.3 Χρόνος διατήρησης των γαλακτωμάτων .....	100
4.4 Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (Principal Component Analysis, PCA).....	101
Κεφάλαιο 5: Συμπεράσματα-Προτάσεις.....	107
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	112
Παράρτημα .....	116



# Κεφάλαιο 1: Γαλακτώματα-Νανογαλακτώματα

## 1.1 Εισαγωγή

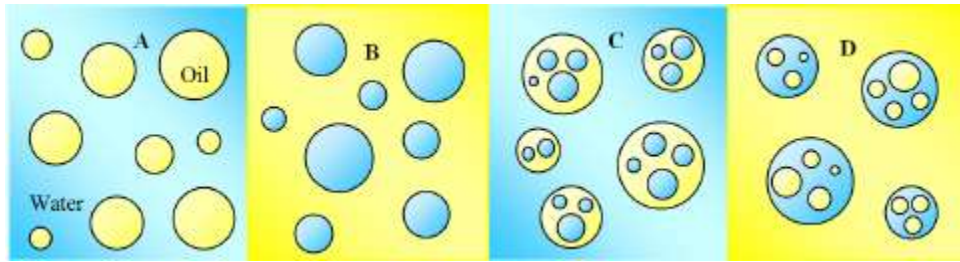
Πολλές φυσικές και επεξεργασμένες τροφές απαντώνται, είτε εν μέρει είτε εξ ολοκλήρου ως γαλακτώματα, είτε βρίσκονται σε κατάσταση γαλακτωματοποίησης σε κάποιο στάδιο κατά την παραγωγή τους. Το γάλα είναι το πιο συνηθισμένο παράδειγμα φυσικού γαλακτώματος στα τρόφιμα. Η μαγιονέζα, οι κρέμες, το παγωτό, το βούτυρο και η μαργαρίνη είναι όλα παραδείγματα παρασκευασμένων γαλακτωμάτων τροφίμων. Οι φυσικοχημικές ιδιότητες των γαλακτωμάτων, όπως η εμφάνιση, η υφή και η σταθερότητα, εξαρτώνται τελικά από τον τύπο των μορίων των συστατικών που περιέχει το τρόφιμο και τις μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις. Τα γαλακτώματα τροφίμων περιέχουν ποικίλα συστατικά, όπως νερό, λιπίδια, επιφανειοδραστικές ουσίες, πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, ανόργανα άλατα, συντηρητικά, χρωστικές και γευστικά συστατικά. Με συνδυασμό ομοιοπολικών και φυσικών αλληλεπιδράσεων, αυτά τα συστατικά σχηματίζουν το τελικό προϊόν και του προσδίδουν τη δομή και τις χαρακτηριστικές φυσικοχημικές του ιδιότητες (McClements 2007).

## 1.2 Γαλακτώματα

Τα γαλακτώματα αποτελούν μία κολλοειδή διασπορά σταγονιδίων ενός υγρού σε ένα άλλο υγρό με το οποίο είναι μη αναμίξιμο. Στα τρόφιμα, τα δύο μη αναμίξιμα υγρά συνήθως είναι το έλαιο και το νερό. Η διάμετρος των σταγονιδίων σε γαλακτώματα τροφίμων τυπικά βρίσκεται σε εύρος 0,1-50 μm. Το υλικό που σχηματίζει τα σταγονίδια σε ένα γαλάκτωμα αναφέρεται ως διεσπαρμένη ή εσωτερική φάση, ενώ το υλικό που σχηματίζει το περιβάλλον υγρό ονομάζεται συνεχής ή εξωτερική φάση. Τα γαλακτώματα χωρίζονται σε δύο κατηγορίες ανάλογα με τη διεσπαρμένη και τη συνεχή φάση:

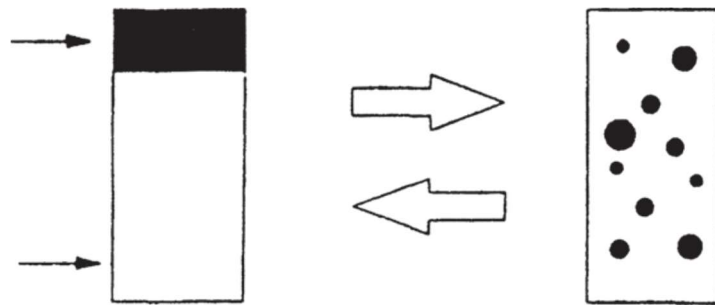
- Σταγονίδια ελαίου διεσπαρμένα σε μία υδατική φάση ονομάζεται γαλάκτωμα ελαίου σε νερό (oil in water ή o/w).
- Σταγονίδια νερού διεσπαρμένα σε μία λιπαρή φάση ονομάζεται γαλάκτωμα νερού σε έλαιο (water in oil ή w/o).

Ο τρίτος τύπος γαλακτωμάτων είναι τα διπλά γαλακτώματα τα οποία αποτελούνται από σταγονίδια νερού σε έλαιο διεσπαρμένα σε νερό (w/o/w), ή αντιστρόφως (o/w/o). Στην πραγματικότητα ένα w/o/w είναι ένα γαλάκτωμα o/w του οποίου τα σταγονίδια περιέχουν τα ίδια σταγονίδια νερού. Αυτά είναι τα πιο δύσκολα γαλακτώματα όσον αφορά την παραγωγή και τον έλεγχο τους, επειδή τα σταγονίδια νερού που περιέχονται στα σταγονίδια ελαίου πρέπει να είναι σταθερά, όπως και τα σταγονίδια ελαίου που περιέχονται στη συνεχή υδατική φάση. Τα διπλά γαλακτώματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την προστασία συστατικών, για τον έλεγχο της απελευθέρωσης συστατικών ή για τη δημιουργία προϊόντων χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά.



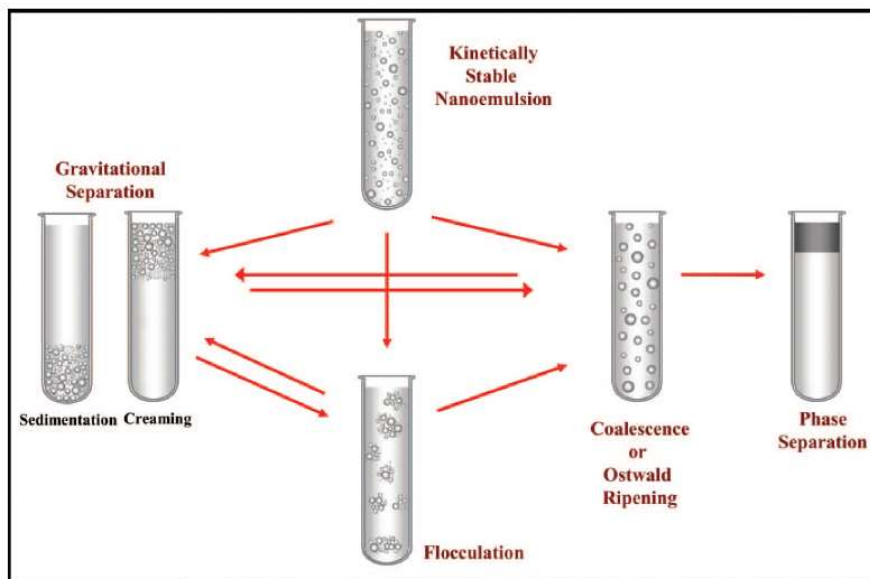
Εικόνα 1.1: Σχηματική παράσταση των τύπων γαλακτωμάτων A:ο/ν, B:ν/ο, C:ν/ο/ν, D:ο/ν/ο.

Γενικώς, τα γαλακτώματα θεωρούνται θερμοδυναμικά ασταθή συστήματα λόγω της θετικής ελεύθερης ενέργειας που απαιτείται για την αύξηση της επιφάνειας μεταξύ των φάσεων ελαίου και νερού. Αυτή η ενέργεια δημιουργείται λόγω της τάσης των μορίων νερού να σχηματίζουν δεσμούς υδρογόνου μεταξύ τους, αλλά όχι με τα μόρια του ελαίου, λόγω της υδροφοβικότητας του ελαίου. Έτσι, τα γαλακτώματα τείνουν να μειώνουν τη διεπιφάνεια μεταξύ των δύο μη αναμίξιμων υγρών, με αποτέλεσμα το διαχωρισμό τους σε ένα σύστημα που αποτελείται από ένα στρώμα ελαίου (χαμηλότερη πυκνότητα) πάνω από ένα στρώμα νερού (υψηλότερη πυκνότητα) (McClements 2007, Dalgleish 2004).



Εικόνα 1.2: Τα γαλακτώματα είναι θερμοδυναμικά ασταθή συστήματα τα οποία τείνουν να επανέρχονται με την πάροδο του χρόνου στις μεμονωμένες φάσεις του ελαίου και του νερού.

Όπως αναφέρθηκε, τα γαλακτώματα είναι θερμοδυναμικά ασταθή συστήματα, εξαιτίας της θετικής ελεύθερης ενέργειας που συνδέεται με τη δημιουργία μίας διεπιφάνειας μεταξύ της φάσης του ελαίου και του νερού. Συνεπώς, είναι μετασταθή συστήματα τα οποία τείνουν να διασπαστούν με την πάροδο του χρόνου λόγω διαφόρων φυσικοχημικών φαινομένων (McClements & Rao 2011). Τα φυσικοχημικά αυτά φαινόμενα διέπονται από μηχανισμούς αποσταθεροποίησης του συστήματος. Οι πιο κοινοί φυσικοί μηχανισμοί αποσταθεροποίησης των γαλακτωμάτων τροφίμων φαίνονται στην εικόνα 1.3.



Εικόνα 1.3: Τα γαλακτώματα μπορούν να διασπαστούν μέσω μίας ποικιλίας διαφορετικών φυσικοχημικών μηχανισμών, συμπεριλαμβανομένων του βαρυντικού διαχωρισμού, της κροκίδωσης, της συσσωμάτωσης και της ωρίμανσης Ostwald.

- *Βαρυντικός διαχωρισμός*

Η δημιουργία κρέμας (creaming) και η καθίζηση (sedimentation) είναι οι δύο μορφές βαρυντικού διαχωρισμού των γαλακτωμάτων. Αναλυτικότερα, κατά τη δημιουργία κρέμας, παρατηρείται ανοδική κίνηση των σταγονιδίων της διεσπαρμένης φάσης του γαλακτώματος λόγω της μικρότερης πυκνότητάς τους από την συνεχή φάση. Αντίθετο φαινόμενο παρατηρείται κατά την καθίζηση, όπου η καθοδική κίνηση των σταγονιδίων της διεσπαρμένης φάσης του γαλακτώματος οφείλεται στη μεγαλύτερη πυκνότητά τους από τη συνεχή φάση. Συνεπώς, στην περίπτωση των w/o γαλακτωμάτων παρατηρείται καθίζηση.

- *Κροκίδωση (flocculation)*

Κατά την κροκίδωση, δύο ή περισσότερα σταγονίδια της διεσπαρμένης φάσης σχηματίζουν ένα συσσωμάτωμα, στο οποίο όμως τα σταγονίδια διατηρούν την ατομική τους ακεραιότητα.

- *Συσσωμάτωση (coalescence)*

Κατά τη συσσωμάτωση δύο ή περισσότερα σταγονίδια της διεσπαρμένης φάσης συγχωνεύονται για να σχηματίσουν ένα ενιαίο μεγαλύτερο σταγονίδιο.

- *Ωρίμανση Ostwald*

Κατά την ωρίμανση Ostwald ένα γαλάκτωμα o/w μετατρέπεται σε γαλάκτωμα w/o, ή αντίστροφα. Σε αυτό το φαινόμενο, μεγάλο ρόλο παίζει η διάχυση των μορίων της διεσπαρμένης φάσης μέσω της συνεχούς φάσης. Πιο συγκεκριμένα, τα μεγαλύτερα σταγονίδια αναπτύσσονται εις βάρος των μικρότερων σταγονιδίων λόγω της μεταφοράς μάζας στη διεσπαρμένη φάση μέσω της συνεχούς φάσης.

Εκτός από τα φυσικά φαινόμενα που συμβάλλουν στην αποσταθεροποίηση των γαλακτωμάτων με την πάροδο του χρόνου, υπάρχουν επίσης και διάφορα χημικά φαινόμενα (π.χ. οξείδωση λιπιδίων, υδρόλυση βιοπολυμερών) και βιολογικοί παράγοντες (π.χ. ανάπτυξης βακτηρίων), που μπορούν να επηρεάσουν τη σταθερότητα των γαλακτωμάτων (McClements 2007).

### 1.3 Νανο/μικρο-γαλακτώματα

Σε αυτή την ενότητα παρουσιάζεται και διευκρινίζεται η ορολογία που χρησιμοποιείται συνήθως για την περιγραφή των χαρακτηριστικών των γαλακτωμάτων, των νανογαλακτωμάτων και των άμεσα σχετιζόμενων κολλοειδών διασπορών.

#### 1.3.1 Συμβατικά γαλακτώματα

Ένα συμβατικό γαλάκτωμα, επίσης γνωστό μερικές φορές ως γαλάκτωμα ή μακρο-γαλάκτωμα, τυπικά έχει σωματίδια μέσης διαμέτρου μεταξύ 100 nm και 100 μm. Αυτός ο τύπος κολλοειδούς διασποράς είναι θερμοδυναμικώς ασταθής, δηλαδή όπως προαναφέρθηκε, η ελεύθερη ενέργεια των διαχωριζόμενων φάσεων ελαίου και νερού είναι χαμηλότερη από αυτή του ίδιου του γαλακτώματος. Κατά συνέπεια, τα συμβατικά γαλακτώματα έχουν πάντοτε την τάση να διασπώνται με την πάροδο του χρόνου. Τα συμβατικά γαλακτώματα τείνουν να είναι οπτικά θολά ή αδιαφανή, επειδή τα σταγονίδια που περιέχουν έχουν παρόμοιες διαστάσεις με το μήκος κύματος του φωτός ( $r \approx \lambda$ ), και έτσι σκεδάζουν ισχυρά το φως (McClements & Rao 2011).

#### 1.3.2 Νανογαλακτώματα

Ένα νανογαλάκτωμα μπορεί να θεωρηθεί ως συμβατικό γαλάκτωμα που περιέχει πολύ μικρά σωματίδια, δηλαδή η μέση διάμετρος των σταγονιδίων του βρίσκεται στην περιοχή 10-100 nm. Λόγω του σχετικά μικρού μεγέθους σωματιδίων, τα νανογαλακτώματα τείνουν να είναι διαφανή ή μόνο ελαφρώς θολά, επειδή το μέγεθος των σωματιδίων είναι πολύ μικρότερο από το μήκος κύματος του φωτός ( $r \ll \lambda$ ). Το πολύ μικρό μέγεθος σωματιδίων σημαίνει επίσης ότι τα νανογαλακτώματα έχουν πολύ μεγαλύτερη σταθερότητα στο βαρυτικό διαχωρισμό και στη συσσωμάτωση από τα συμβατικά γαλακτώματα. Ωστόσο, αυτά τα συστήματα εξακολουθούν να είναι θερμοδυναμικά ασταθή, και έτσι, τείνουν να καταρρεύσουν με την πάροδο του χρόνου.

#### 1.3.3 Μικρογαλακτώματα

Αντιθέτως, ένα μικρογαλάκτωμα είναι ένα θερμοδυναμικά σταθερό σύστημα που τυπικά περιέχει σωματίδια με διάμετρο στην περιοχή από 2 έως 100 nm. Στην περίπτωση αυτή, η ελεύθερη ενέργεια του μικρογαλακτώματος είναι χαμηλότερη από εκείνη των φάσεων από τις οποίες παρασκευάζεται χωριστά, άρα σχηματίζεται αυθόρμητα. Παρόλα αυτά, μπορεί να υπάρχουν φραγμοί κινητικής ενέργειας μεταξύ των φάσεων ελαίου και νερού από τις οποίες παρασκευάζεται χωριστά, συνεπώς κάποια ενέργεια πρέπει να εισαχθεί στο σύστημα πριν το μικρογαλάκτωμα σχηματισθεί, π.χ. ανάδευση. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι ένα μικρογαλάκτωμα είναι μόνο θερμοδυναμικά σταθερό κάτω από ένα συγκεκριμένο σύνολο περιβαλλοντικών συνθηκών (π.χ. σύσταση και θερμοκρασία), συνεπώς εάν αυτές οι καταστάσεις διαταραχθούν, τότε το μικρογαλάκτωμα μπορεί να μην είναι πλέον θερμοδυναμικά σταθερό και να μετατραπεί σε ένα άλλο είδος συστήματος, ή όπως αναφέρεται να διασπαστεί. Παρ' όλα αυτά, αν το σύστημα επανέλθει στις αρχικές συνθήκες (π.χ. σύσταση και θερμοκρασία), τότε θα πρέπει να επανέλθει σε

μικρογαλάκτωμα, με ρυθμό που εξαρτάται από οποιαδήποτε εμπόδια κινητικής ενέργειας. Τα μικρογαλακτώματα είναι συνήθως διαφανή επειδή το μέγεθος των σωματιδίων είναι πολύ μικρότερο από το μήκος κύματος του φωτός ( $r \ll \lambda$ ), έτσι ώστε η σκέδαση του φωτός είναι ασθενής. Από επιστημονική και τεχνική άποψη, είναι σημαντικό να γίνεται σαφής διάκριση μεταξύ των διαφόρων ειδών κolloειδών διασπορών καθώς αυτό καθορίζει την καλύτερη προσέγγιση για τη βελτιστοποίηση του σχηματισμού, της σταθερότητας, των φυσικοχημικών ιδιοτήτων και της λειτουργικής απόδοσης αυτών (McClements & Rao 2011).

*Πίνακας 1.1: Σύγκριση της θερμοδυναμικής σταθερότητας και των φυσικοχημικών ιδιοτήτων κolloειδών συστημάτων παρασκευασμένων από έλαιο, νερό και γαλακτωματοποιητή. Οι οπτικές ιδιότητες είναι εκφρασμένες για τυπικά συστήματα ελαίου και νερού όπου υπάρχει σημαντική διαφορά του δείκτη διάθλασης και η συγκέντρωση σωματιδίων είναι μεγαλύτερη του 0,1%.*

Σύστημα	Εύρος μεγέθους σταγονιδίων	Θερμοδυναμική σταθερότητα	Αναλογία επιφάνειας/μάζα ( $m^2/g$ σωματιδίων)	Οπτικές ιδιότητες
Γαλάκτωμα	100 nm-100 $\mu$ m	Ασταθές	0,07-70	Θολό
Νανογαλάκτωμα	10-100 nm	Ασταθές	70-330	Διαυγές
Μικρογαλάκτωμα	2-100 nm	Σταθερό	330-1300	Διαυγές

## 1.4 Συστατικά Νανογαλακτωμάτων

Σε αυτή την ενότητα γίνεται μία επισκόπηση των κυριότερων συστατικών που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή νανογαλακτωμάτων.

### 1.4.1 Λιπαρή φάση

Η λιπαρή φάση που χρησιμοποιείται για την παρασκευή νανογαλακτωμάτων μπορεί να προέρχεται από διάφορα μη πολικά συστατικά, όπως για παράδειγμα τριγλυκερίδια, δι-γλυκερίδια, μονο-γλυκερίδια, ελεύθερα λιπαρά οξέα, αρωματικά έλαια, αιθέρια έλαια, υποκατάστατα λίπους και διάφορα λιπόφιλα διαθρεπτικά σκευάσματα (nutraceuticals) (όπως καροτενοειδή, κουρκουμίνη, φυτοστερόλες και συνένζυμο Q). Τα τριγλυκερίδια αποτελούν το μεγαλύτερο μέρος των λιπών και ελαίων στα τρόφιμα και αναφέρονται συνήθως ως λιπαρά σώματα ή και απλά λιπαρά. Ο σχηματισμός, η σταθερότητα και οι ιδιότητες των νανογαλακτωμάτων εξαρτώνται συχνά από τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά της λιπαρής φάσης, π.χ. την πολικότητα, τη διαλυτότητα στο νερό, τη διεπιφανειακή τάση, το δείκτη διάθλασης, το ιξώδες, την πυκνότητα και τη χημική σταθερότητα. Αυτά τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά συχνά καθορίζουν τον τύπο της μεθόδου ή των μεθόδων ομογενοποίησης που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παρασκευή ενός νανογαλακτώματος από μία συγκεκριμένη φάση ελαίου (McClements & Rao 2011).

### 1.4.2 Υδατική φάση

Το νερό παίζει έναν εξαιρετικά σημαντικό ρόλο στον καθορισμό των φυσικών και οργανοληπτικών ιδιοτήτων των γαλακτωμάτων. Οι μοναδικές μοριακές και δομικές ιδιότητές του καθορίζουν σε μεγάλο βαθμό τη διαλυτότητα, τη διαμόρφωση και τις

αλληλεπιδράσεις των άλλων συστατικών που υπάρχουν στα υδατικά διαλύματα. Η υδατική φάση που χρησιμοποιείται για την παρασκευή ενός νανογαλακτώματος τυπικά αποτελείται μόνο από νερό, αλλά μπορεί επίσης να ενσωματωθεί σε αυτό και μία ποικιλία υδατοδιαλυτών συστατικών, συμπεριλαμβανομένων μετάλλων, οξέων, βάσεων, αρωμάτων, συντηρητικών, βιταμινών, σακχάρων, επιφανειοδραστικών ουσιών και **βιοδραστικών συστατικών**. Η διαλυτότητα, η κατανομή, η πηκτικότητα, η διαμόρφωση και η χημική δράση πολλών εξ αυτών των συστατικών προσδιορίζονται από τις αλληλεπιδράσεις τους με το νερό. Όταν μία υδατοδιαλυτή ουσία εισάγεται σε καθαρό νερό, η κανονική οργάνωση δομής και οι αλληλεπιδράσεις των μορίων του νερού μεταβάλλονται. Ο τύπος και η συγκέντρωση αυτής της διαλυμένης ουσίας καθορίζει την πολικότητα, την επιφανειακή τάση, το δείκτη διάθλασης, τη ρεολογία, την πυκνότητα, το pH και την ιοντική ισχύ της υδατικής φάσης, η οποία με τη σειρά της θα επηρεάσει το σχηματισμό, τη σταθερότητα και τις φυσικοχημικές ιδιότητες του παραγόμενου νανογαλακτώματος. Ο προσεκτικός έλεγχος της σύνθεσης της υδατικής φάσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη βελτιστοποίηση του σχηματισμού ή τη βελτίωση της σταθερότητας των νανογαλακτωμάτων (McClements & Rao 2011).

#### 1.4.3 Γαλακτωματοποιητές / Συν-γαλακτωματοποιητές (Emulsifiers / Co-emulsifiers)

Ο σημαντικότερος παράγοντας για τη διαμόρφωση ενός γαλακτώματος είναι η επιλογή ενός κατάλληλου γαλακτωματοποιητή (ή συνδυασμού γαλακτωματοποιητών). Όπως αναφέρθηκε, τα γαλακτώματα είναι θερμοδυναμικά ασταθή συστήματα, εξαιτίας της θετικής ελεύθερης ενέργειας που συνδέεται με τη δημιουργία μίας διεπιφάνειας μεταξύ της φάσης του ελαίου και του νερού. Συνεπώς, για να δημιουργηθεί ένα γαλάκτωμα που είναι σταθερό κινητικά για μία λογική περίοδο (λίγες εβδομάδες, μήνες ή και έτη), πριν από την ομογενοποίηση πρέπει να προστεθούν χημικές ουσίες γνωστές ως γαλακτωματοποιητές. Ο όρος "γαλακτωματοποιητής" χρησιμοποιείται για να περιγράψει οποιαδήποτε επιφανειοδραστική ουσία η οποία είναι ικανή να προσροφάται στη διεπιφάνεια ελαίου-νερού και να προστατεύει τα σταγονίδια του γαλακτώματος από τη συσσωμάτωση. Οι γαλακτωματοποιητές ποικίλλουν ευρέως ως προς την ικανότητά τους να σχηματίζουν και να σταθεροποιούν τα γαλακτώματα ανάλογα με τα μοριακά και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά τους. Ιδανικά, ένας γαλακτωματοποιητής θα πρέπει να προσροφάται ταχέως στη διεπιφάνεια ελαίου-νερού κατά τη διάρκεια της ομογενοποίησης και να μειώνει σημαντικά την επιφανειακή τάση κατά τη διάρκεια της ομογενοποίησης. Ακόμα, είναι σημαντικό ο γαλακτωματοποιητής να σχηματίζει μεμβράνη διεπιφάνειας που εμποδίζει τη συσσωμάτωση σταγονιδίων υπό τις περιβαλλοντικές συνθήκες που υφίσταται το προϊόν κατά τη διάρκεια της παρασκευής, της μεταφοράς, της αποθήκευσης και της χρήσης του (McClements 2007, Dalgleish 2004, Kralova et al. 2009).

Ο σχηματισμός και η σταθερότητα των νανογαλακτωμάτων μπορεί συχνά να βελτιωθεί με τη χρήση συνδυασμού γαλακτωματοποιητών, και όχι με τη χρήση ενός

απλού γαλακτωματοποιητή. Οι σημαντικότεροι τύποι γαλακτωματοποιητών που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων είναι επιφανειοδραστικά μικρομορίων (π.χ. Tweens, Spans και άλατα λιπαρών οξέων) και φωσφολιπίδια (π.χ. λεκιθίνη). Ο κύριος ρόλος των γαλακτωματοποιητών στα γαλακτώματα τροφίμων είναι η ενίσχυση του σχηματισμού και της σταθερότητας του προϊόντος. Ωστόσο, μπορούν επίσης να μεταβάλλουν τις φυσικοχημικές ιδιότητες μέσω αλληλεπίδρασης με πρωτεΐνες ή πολυσακχαρίτες (McClements 2007, McClements & Rao 2011).

Όλοι οι γαλακτωματοποιητές είναι αμφίφιλα μόρια που έχουν μία υδρόφιλη ομάδα κεφαλής με υψηλή συγγένεια με το νερό και μία λιπόφιλη ουρά με υψηλή συγγένεια με το έλαιο. Αυτοί οι γαλακτωματοποιητές μπορούν να παρασταθούν από τον τύπο RX, όπου το X αντιπροσωπεύει την υδρόφιλη κεφαλή και το R είναι η λιπόφιλη ουρά. Οι γαλακτωματοποιητές διαφέρουν σε σχέση με τον τύπο ομάδας κεφαλής και ομάδας ουράς. Η υδρόφιλη κεφαλή X μπορεί να είναι ανιοντική, κατιοντική ή μη ιοντική. Οι γαλακτωματοποιητές που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων είναι κυρίως μη ιοντικοί (π.χ. μονο-γλυκερίδια, εστέρες σακχαρόζης, Tweens και Spans), ανιοντικοί (π.χ., λιπαρά οξέα) ή φωσφολιπίδια (π.χ., λεκιθίνη). Η λιπόφιλη ουρά R συνήθως αποτελείται από μία ή περισσότερες αλυσίδες υδρογονανθράκων, που έχουν μεταξύ 10 και 20 άτομα άνθρακα ανά αλυσίδα. Οι αλυσίδες μπορεί να είναι κορεσμένες ή ακόρεστες, γραμμικές ή διακλαδισμένες, αλειφατικές ή αρωματικές. Οι περισσότεροι γαλακτωματοποιητές με βάση λιπίδια που χρησιμοποιούνται σε τρόφιμα έχουν είτε μία είτε δύο γραμμικές αλειφατικές αλυσίδες, οι οποίες μπορεί να είναι κορεσμένες ή ακόρεστες. Κάθε τύπος γαλακτωματοποιητή έχει μοναδικές λειτουργικές ιδιότητες που εξαρτώνται από τη φύση των ομάδων της κεφαλής και της ουράς (McClements 2007, Kralova 2009, McClements 2005).

#### **1.4.3.1 Κριτήριο επιλογής γαλακτωματοποιητή**

Έχουν γίνει διάφορες προσπάθειες ανάπτυξης συστημάτων ταξινόμησης που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την επιλογή του καταλληλότερου γαλακτωματοποιητή για μία συγκεκριμένη εφαρμογή. Τα συστήματα ταξινόμησης που έχουν αναπτυχθεί βασίζονται στη διαλυτότητα του γαλακτωματοποιητή σε έλαιο και νερό (ο κανόνας του Bancroft), στο λόγο υδροφιλικών-λιποφιλικών ομάδων (HLB) και στη μοριακή γεωμετρία του. Τελικά, όλες αυτές οι ιδιότητες εξαρτώνται από τη χημική δομή του γαλακτωματοποιητή και έτσι όλα τα διαφορετικά συστήματα ταξινόμησης συνδέονται στενά μεταξύ τους (McClements 2007, McClements 2005).

Από αυτούς τους τρόπους επικρατέστερος είναι ο λόγος HLB καθώς είναι ο πιο χρησιμοποιούμενος κανόνας επιλογής ενός γαλακτωματοποιητή τροφίμων.

#### **Λόγος υδροφιλικών-λιποφιλικών ομάδων (HLB)**

Ο λόγος υδροφιλικών-λιποφιλικών ομάδων (HLB) βασίζεται σε μία ημιεμπειρική μέθοδο για την επιλογή ενός κατάλληλου γαλακτωματοποιητή ή συνδυασμού γαλακτωματοποιητών για τη σταθεροποίηση ενός γαλακτώματος. Ο λόγος HLB

περιγράφεται με έναν αριθμό, ο οποίος δίνει μία ένδειξη της συνολικής συγγένειας ενός γαλακτωματοποιητή με την ελαιώδη και την υδατική φάση. Σε κάθε γαλακτωματοποιητή αποδίδεται ένας αριθμός HLB σύμφωνα με τη χημική δομή του και μάλιστα ένας υψηλός αριθμός HLB υποδεικνύει ότι υπάρχει υψηλή αναλογία υδρόφιλων ομάδων προς λιπόφιλες ομάδες και αντιστρόφως, ένας χαμηλός αριθμός HLB υποδεικνύει ότι υπάρχει χαμηλή αναλογία υδρόφιλων ομάδων προς λιπόφιλες ομάδες. Ο αριθμός HLB ενός γαλακτωματοποιητή μπορεί να υπολογιστεί από τη γνώση του αριθμού και του τύπου των υδρόφιλων και λιπόφιλων ομάδων που περιέχει. Οι αριθμοί HLB πολλών γαλακτωματοποιητών έχουν καταγραφεί στη βιβλιογραφία. Ένας ευρέως χρησιμοποιούμενος τρόπος υπολογισμού του αριθμού HLB ενός γαλακτωματοποιητή με βάση λιπίδια που στηρίζεται σε ημιεμπειρική μέθοδο είναι ο εξής:

$$HLB = 7 + \sum (\text{hydrophilic group numbers}) - \sum (\text{lipophilic group numbers})$$

Για να υπολογιστεί ο αριθμός HLB ενός γαλακτωματοποιητή πρέπει να αντικατασταθούν στην παραπάνω σχέση τα αθροίσματα του αριθμού HLB όλων των λιπόφιλων και όλων των υδρόφιλων ομάδων που περιέχει. Ο αριθμός HLB ενός γαλακτωματοποιητή αποτελεί ένδειξη της διαλυτότητάς του στις φάσεις του ελαίου και του νερού και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως κριτήριο για την επιλογή του κατάλληλου γαλακτωματοποιητή ανάλογα με τον τύπο του γαλακτώματος που πρόκειται να δημιουργηθεί. Οι αριθμοί HLB υποδεικνύουν ότι ένας γαλακτωματοποιητής με:

- χαμηλό αριθμό HLB (4-6) είναι κατά κύριο λόγο υδρόφοβος, διαλύεται κατά προτίμηση σε έλαιο, σταθεροποιεί γαλακτώματα w/o
- υψηλό αριθμό HLB (8-18) είναι κυρίως υδρόφιλος, διαλύεται κατά προτίμηση στο νερό, σταθεροποιεί τα γαλακτώματα o/w
- ενδιάμεσο αριθμό HLB (6-8) δεν έχει ιδιαίτερη προτίμηση είτε για έλαιο είτε για νερό.

Οι μη ιοντικοί γαλακτωματοποιητές με αριθμούς HLB κάτω από 4 και άνω από 18 είναι λιγότερο επιφανειακά ενεργοί και συνεπώς είναι λιγότερο πιθανό να συσσωρεύονται αισθητά στη διεπιφάνεια ελαίου-νερού.

Τα σταγονίδια σε ένα γαλάκτωμα είναι ιδιαίτερα επιρρεπή σε συσσωμάτωση, όταν σταθεροποιούνται με γαλακτωματοποιητές που έχουν ακραίες ή ενδιάμεσες τιμές HLB. Σε πολύ υψηλό ή πολύ χαμηλό αριθμό HLB, ένας μη ιοντικός γαλακτωματοποιητής έχει τόσο χαμηλή επιφανειοδραστικότητα που δεν συσσωρεύεται στην επιφάνεια των σταγονιδίων και ως εκ τούτου δεν παρέχει προστασία έναντι της συσσωμάτωσης. Σε ενδιάμεσους αριθμούς HLB (6-8), τα γαλακτώματα είναι ασταθή ως προς τη συσσωμάτωση, επειδή η διεπιφανειακή τάση είναι τόσο χαμηλή, ώστε απαιτείται ελάχιστη ενέργεια για να διαταραχθεί η διεπιφάνεια. Η μέγιστη σταθερότητα των γαλακτωμάτων επιτυγχάνεται για τα

γαλακτώματα o/w χρησιμοποιώντας γαλακτωματοποιητή με αριθμό HLB περίπου 10-12 και για γαλακτώματα w/o γύρω στο 3-5. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι οι γαλακτωματοποιητές είναι επαρκώς επιφανειακά ενεργοί, αλλά δεν μειώνουν την επιφανειακή τάση τόσο πολύ, ώστε τα σταγονίδια να διαταράσσονται εύκολα. Είναι δυνατόν να ρυθμίσει κανείς τον αποτελεσματικό αριθμό HLB χρησιμοποιώντας ένα συνδυασμό δύο ή περισσότερων γαλακτωματοποιητών με διαφορετικούς HLB αριθμούς (McClements 2007, McClements 2005).

Ένα από τα σημαντικότερα μειονεκτήματα της μεθόδου HLB είναι ότι δεν λαμβάνει υπόψη το γεγονός ότι οι λειτουργικές ιδιότητες ενός επιφανειοδραστικού μορίου μεταβάλλονται σημαντικά από μεταβολές της θερμοκρασίας ή των συνθηκών του διαλύματος. Έτσι, ένα επιφανειοδραστικό μπορεί να είναι ικανό να σταθεροποιεί γαλακτώματα o/w σε μία θερμοκρασία, αλλά w/o γαλακτώματα σε άλλη θερμοκρασία, ακόμη και αν έχει ακριβώς την ίδια χημική δομή. Ένας άλλος περιορισμός είναι ότι ο βέλτιστος αριθμός HLB που απαιτείται για μία επιφανειοδραστική ουσία για να δημιουργήσει ένα σταθερό γαλάκτωμα συχνά εξαρτάται από τον τύπο του ελαίου. Ως εκ τούτου, ο βέλτιστος "απαιτούμενος" αριθμός HLB πρέπει να είναι εμπειρικός για διαφορετικά είδη ελαίων (McClements 2005).

#### *1.4.3.2 Συνήθειες γαλακτωματοποιητές χρησιμοποιούμενοι στη βιομηχανία τροφίμων*

Οι υδατοδιαλυτές επιφανειοδραστικές ουσίες με σχετικά υψηλό αριθμό HLB (10-18) χρησιμοποιούνται κανονικά για τη σταθεροποίηση o/w γαλακτωμάτων. Τα υδατοδιαλυτά επιφανειοδραστικά μπορούν επίσης να συνδέονται με πρωτεΐνες ή πολυσακχαρίτες και να τροποποιούν τις λειτουργικές τους ιδιότητες. Τα λιποδιαλυτά επιφανειοδραστικά με σχετικά χαμηλό αριθμό HLB (3-6) χρησιμοποιούνται συχνά για τη σταθεροποίηση γαλακτωμάτων w/o, όπως οι μαργαρίνες και τα spreads. Τα λιποδιαλυτά επιφανειοδραστικά μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν σε συνδυασμό με υδατοδιαλυτά επιφανειοδραστικά. Τα επιφανειοδραστικά με ενδιάμεσους HLB αριθμούς (6-9) έχουν μικρή διαλυτότητα τόσο στη λιπαρή φάση όσο και στο νερό και δεν είναι ιδιαίτερα καλοί γαλακτωματοποιητές, όταν χρησιμοποιούνται μεμονωμένα. Παρόλα αυτά, οι ιδιότητες γαλακτωματοποίησής τους μπορούν να βελτιωθούν με τη χρήση τους σε συνδυασμό με άλλες επιφανειοδραστικές ουσίες. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, οι περισσότερες επιφανειοδραστικές ουσίες δεν αποτελούνται από μεμονωμένα είδη μορίων, αλλά αποτελούνται από σύνθετο μίγμα διαφορετικών ειδών μορίων (McClements 2005).

Από όλους τους τύπους γαλακτωματοποιητών στην παρούσα διπλωματική θα αναλυθούν μόνο αυτοί που χρησιμοποιήθηκαν.

**Εστέρες πολυαλκοολών με λιπαρά οξέα:** Επιφανειοδραστικά με διαφορετικά λειτουργικά χαρακτηριστικά μπορούν να παραχθούν με εστεροποίηση πολυαλκοολών με λιπαρά οξέα. Ο τύπος της πολυαλκοόλης και των λιπαρών οξέων που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή του επιφανειοδραστικού προσδιορίζει τα

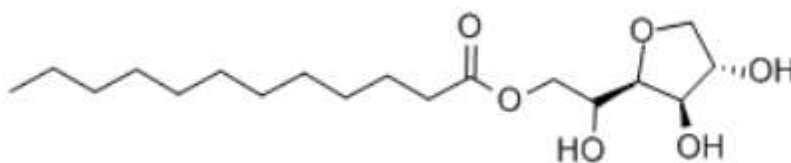
λειτουργικά χαρακτηριστικά του. Οι πολυαλκοόλες που συνηθέστερα εστεροποιούνται με λιπαρά οξέα, είναι η πολυγλυκερόλη, η προπυλενογλυκόλη, η σορβιτάνη, η πολυοξυαιθυλενο-σορβιτάνη και η σακχαρόζη. Τα λιπαρά οξέα που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή αυτού του τύπου επιφανειοδραστικών ποικίλουν σε μήκος αλυσίδας (τυπικά 12-18 άτομα άνθρακα) και βαθμό ακορεστότητας. Η διαλυτότητα και οι λειτουργικές ιδιότητες των εστέρων αυτής της κατηγορίας εξαρτώνται από τα σχετικά μεγέθη των υδρόφιλων και λιπόφιλων τμημάτων των μορίων. Οι επιφανειοδραστικές ουσίες με μεγάλες ομάδες κεφαλής πολυαλκοόλης έχουν την τάση να είναι υδατοδιαλυτές και έχουν υψηλό αριθμό HLB (π.χ. εστέρες πολυοξυαιθυλενο-σορβιτάνης), ενώ εκείνες οι ουσίες με μικρές ομάδες κεφαλής πολυαλκοόλης τείνουν να είναι λιποδιαλυτές και έχουν χαμηλό αριθμό HLB (π.χ. εστέρες προπυλενογλυκόλης). Οι εστέρες λιπαρών οξέων σορβιτάνης είναι από τα πλέον κοινά χρησιμοποιούμενα λιποδιαλυτά μη ιοντικά επιφανειοδραστικά, τα οποία συχνά αναφέρονται με την εμπορική ονομασία "Span<sup>TM</sup>". Από την άλλη πλευρά, οι εστέρες πολυοξυαιθυλενο-σορβιτάνης είναι από τα συνηθέστερα χρησιμοποιούμενα υδατοδιαλυτά μη ιοντικά επιφανειοδραστικά, τα οποία συχνά αναφέρονται με την εμπορική ονομασία "Polysorbate<sup>TM</sup>" ή "Tween<sup>TM</sup>". Αυτά τα λιποδιαλυτά και υδατοδιαλυτά επιφανειοδραστικά συχνά χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό για τη βελτίωση της συνολικής σταθερότητας του γαλακτώματος (McClements 2005).

Στην παρούσα διπλωματική επιλέχθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν οι μη ιοντικοί γαλακτωματοποιητές Span 20<sup>TM</sup> (Μονολαυρική σορβιτάνη) και Tween 20<sup>TM</sup> (Μονολαυρική πολυοξυαιθυλενο(20)σορβιτάνη) ή αλλιώς Polysorbate 20<sup>TM</sup>. Βασικά στοιχεία για αυτούς τους γαλακτωματοποιητές παρουσιάζονται στον πίνακα 1.2.

Πίνακας 1.2: Στοιχεία για τους γαλακτωματοποιητές που χρησιμοποιήθηκαν. Πηγή McClements 2005

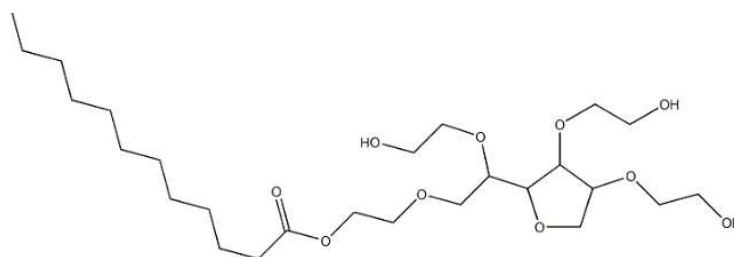
Γενική Ονομασία	Κοινή ονομασία	Φυσική μορφή	HLB (±1)
Polysorbate 20	Tween 20	Υγρό	16.7
Sorbitan monolaurate	Span 20	Υγρό	8.6

- Span 20<sup>TM</sup> (Μονολαυρική σορβιτάνη)



Εικόνα 1.4: Δομή Span 20<sup>TM</sup>

- Tween 20<sup>TM</sup> (Μονολαυρική πολυοξυαιθυλενο(20)σορβιτάνη)



Εικόνα 1.5: Δομή Tween 20™

### 1.4.3.3 Λειτουργικές ιδιότητες γαλακτωματοποιητών

#### 1.4.3.3.1 Κρίσιμη συγκέντρωση μικκυλίου

Υπάρχει μία κρίσιμη τιμή συγκέντρωσης επιφανειοδραστικού, γνωστή ως κρίσιμη συγκέντρωση μικκυλίου (cmc). Η τιμή αυτή καθορίζει τη συγκέντρωση πάνω από την οποία ένα επιφανειοδραστικό σχηματίζει μικκύλια σε ένα υδατικό διάλυμα. Κάτω από το cmc, τα επιφανειοδραστικά μόρια διασπείρονται κυρίως ως μονομερή, αλλά μόλις ξεπεραστεί το cmc, τυχόν επιπρόσθετα επιφανειοδραστικά μόρια σχηματίζουν μικκύλια και η συγκέντρωση του μονομερούς παραμένει σταθερή. Τα μικκύλια σχηματίζουν σωματίδια συγκεκριμένου μεγέθους, άρα όταν σε ένα διάλυμα προστίθεται επιφανειοδραστικό πάνω από το cmc, αυξάνεται ο αριθμός των μικκυλίων αντί του μεγέθους τους. Συνεπώς, όταν η συγκέντρωση του επιφανειοδραστικού υπερβεί την κρίσιμη τιμή επέρχονται αλλαγές στις φυσικοχημικές ιδιότητες ενός διαλύματος (π.χ. επιφανειακή τάση, ηλεκτρική αγωγιμότητα, θολότητα, οσμωτική πίεση). Αυτό συμβαίνει επειδή οι ιδιότητες των επιφανειοδραστικών μορίων που διασπείρονται ως μονομερή είναι διαφορετικές από εκείνες στα μικύλια. Για παράδειγμα, τα επιφανειοδραστικά μονομερή είναι αμφίφιλα και έχουν υψηλή επιφανειακή δραστηριότητα, ενώ τα μικκύλια έχουν μικρή επιφανειακή δραστηριότητα, επειδή η επιφάνειά τους καλύπτεται με τις υδρόφιλες ομάδες κεφαλής. Συνεπώς, η επιφανειακή τάση ενός διαλύματος μειώνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης επιφανειοδραστικού κάτω από το cmc, αλλά παραμένει αρκετά σταθερή πάνω από αυτό (McClements 2007).

#### 1.4.3.3.2 Σημείο θόλωσης (Cloud Point)

Όταν ένα διάλυμα επιφανειοδραστικού θερμαίνεται πάνω από μία ορισμένη θερμοκρασία, γνωστή ως σημείο θόλωσης, γίνεται θολό. Καθώς αυξάνεται η θερμοκρασία, οι υδρόφιλες ομάδες κεφαλής αφυδατώνονται όλο και περισσότερο και έτσι τα μόρια του γαλακτωματοποιητή συσσωματώνονται όλο και περισσότερο. Τα συσσωματώματα αυτά έχουν μεγάλο μέγεθος και σκεδάζουν έντονα το φως, συνεπώς το διάλυμα φαίνεται θολό. Σε θερμοκρασίες πάνω από το σημείο θόλωσης, τα συσσωματώματα καθίστανται τόσο μεγάλα, ώστε να καθιζάνουν υπό την επίδραση της βαρύτητας και να σχηματίζουν μία ξεχωριστή φάση. Το σημείο θόλωσης αυξάνεται καθώς αυξάνει η υδροφοβία ενός επιφανειοδραστικού μορίου, δηλαδή το μήκος της υδρογονανθρακικής αλυσίδας αυξάνεται ή το μέγεθος της υδρόφιλης κεφαλής μειώνεται (McClements 2007).

#### 1.4.3.3.3 Διαλυτοποίηση

Τα μη πολικά μόρια, τα οποία είναι κανονικά αδιάλυτα ή μόνο ελάχιστα διαλυτά στο νερό, μπορούν να διαλυτοποιηθούν σε ένα υδατικό διάλυμα τασιενεργού με ενσωμάτωση σε μικκύλια ή άλλους τύπους κολλοειδών. Το προκύπτον σύστημα είναι θερμοδυναμικά σταθερό. Ωστόσο, η ισορροπία μπορεί να χρειαστεί αρκετό χρόνο για να επιτευχθεί, εξαιτίας της ενέργειας ενεργοποίησης που σχετίζεται με τη μετατροπή ενός μη πολικού μορίου από μία χύμα (bulk) φάση σε ένα μικκύλιο. Τα μικκύλια που περιέχουν διαλυτοποιημένα υλικά αναφέρονται ως διογκωμένα μικκύλια ή μικρογαλακτώματα, ενώ το υλικό που διαλυτοποιείται εντός του μικκυλίου αναφέρεται ως το διαλυτοποιημένο συστατικό (solubilizate). Η ικανότητα των διαλυμάτων που περιέχουν μικκύλια (micellar solutions) να διαλυτοποιούν μη πολικά μόρια έχει διάφορες σημαντικές εφαρμογές στη βιομηχανία τροφίμων, συμπεριλαμβανομένης της εκλεκτικής εκχύλισης μη πολικών μορίων από έλαια, της ελεγχόμενης απελευθέρωσης συστατικού και της ενσωμάτωσης μη πολικών ουσιών σε υδατικά διαλύματα. Τρεις σημαντικοί παράγοντες καθορίζουν τις λειτουργικές ιδιότητες των διαλυμάτων που περιέχουν μικκύλια: τη θέση του διαλυτοποιημένου εντός των μικκυλίων, τη μέγιστη ποσότητα υλικού που μπορεί να διαλυτοποιηθεί ανά μονάδα μάζας επιφανειοδραστικού και το ρυθμό με τον οποίο διεξάγεται η διαλυτοποίηση (McClements 2007).

#### 1.4.3.3.4 Επιφανειακή δραστηριότητα και σταθεροποίηση σταγονιδίων

Όπως προαναφέρθηκε, το βασικό χαρακτηριστικό των μορίων γαλακτωματοποιητών όλων των ειδών είναι το γεγονός ότι έχουν μία υδρόφιλη ομάδα κεφαλής με υψηλή συγγένεια με το νερό και μία λιπόφιλη ουρά με υψηλή συγγένεια με το έλαιο. Συνεπώς, κατά τη διάρκεια της ομογενοποίησης προσροφούνται στην επιφάνεια των σταγονιδίων του γαλακτώματος, ώστε να σχηματίσουν μία προστατευτική μεμβράνη που εμποδίζει τη συσσωμάτωση μεταξύ τους. Η προσρόφηση στη διεπιφάνεια ελαίου-νερού γίνεται λόγω της αμφίφιλης φύσης τους και το υδρόφιλο τμήμα έλκεται από την υδατική φάση, ενώ το λιπόφιλο τμήμα από την ελαιώδη φάση. Αυτό ελαχιστοποιεί την ελεύθερη ενέργεια που συνδέεται με την επαφή υδρόφιλων και υδρόφοβων περιοχών και επομένως μειώνει τη διεπιφανειακή τάση. Μόλις απορροφηθεί στην επιφάνεια ενός σταγονιδίου, ο γαλακτωματοποιητής πρέπει να παρέχει μία απωστική δύναμη που να είναι αρκετά ισχυρή, ώστε να αποτρέπει τη συσσωμάτωση των σταγονιδίων με τα γειτονικά του. Τα ιοντικά επιφανειοδραστικά παρέχουν σταθερότητα προκαλώντας σε όλα τα σταγονίδια του γαλακτώματος να έχουν το ίδιο ηλεκτρικό φορτίο, ώστε να απωθούνται ηλεκτροστατικά μεταξύ τους. Τα μη ιοντικά επιφανειοδραστικά παρέχουν σταθερότητα δημιουργώντας έναν αριθμό απωθητικών δυνάμεων μικρής εμβέλειας που εμποδίζουν τα σταγονίδια να έλθουν πολύ κοντά μεταξύ τους. Μερικοί γαλακτωματοποιητές σχηματίζουν πολυστρωματικές στοιβάδες (και όχι μονοστοιβάδα) στην επιφάνεια ενός σταγονιδίου γαλακτώματος, το οποίο ενισχύει σημαντικά τη σταθερότητα των σταγονιδίων κατά της συσσωμάτωσης (McClements 2007).

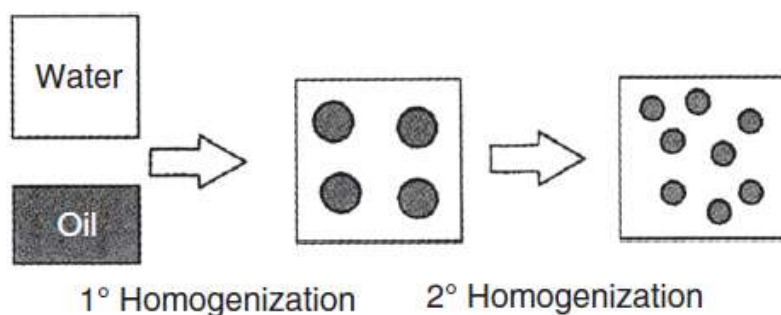
## 1.5 Σχηματισμός Νανογαλακτωμάτων

Ο σχηματισμός ενός γαλακτώματος μπορεί να περιλαμβάνει ένα μόνο στάδιο ή έναν αριθμό διαδοχικών σταδίων, ανάλογα με τη φύση του αρχικού υλικού, τις επιθυμητές ιδιότητες του τελικού προϊόντος και τη συσκευή που χρησιμοποιείται για τη δημιουργία του. Πριν από τη μετατροπή των ξεχωριστών φάσεων ελαίου και νερού στο γαλάκτωμα, είναι συνήθως απαραίτητο να διαλυθούν τα διάφορα συστατικά στην αντίστοιχη φάση στην οποία είναι διαλυτά. Τα λιποδιαλυτά συστατικά, όπως ορισμένες βιταμίνες, χρωστικές ουσίες, αντιοξειδωτικά και **επιφανειοδραστικά**, αναμιγνύονται με το έλαιο, ενώ τα υδατοδιαλυτά συστατικά, όπως πρωτεΐνες, πολυσακχαρίτες, σάκχαρα, άλατα, βιταμίνες, χρωστικές ουσίες, **αντιοξειδωτικά** και επιφανειοδραστικές ουσίες αναμιγνύονται με το νερό. Η ένταση και η διάρκεια της διαδικασίας ανάμιξης εξαρτώνται από το χρόνο που απαιτείται για τη διαλυτοποίηση και την ομοιόμορφη κατανομή των συστατικών. Η επαρκής διαλυτοποίηση είναι σημαντική για τη λειτουργικότητα πολλών συστατικών. Αν η ελαιώδης φάση περιέχει οποιοδήποτε κρυσταλλικό υλικό, είναι συνήθως απαραίτητο να θερμανθεί πριν από την ομογενοποίηση σε μία θερμοκρασία στην οποία όλα τα λίπη τήκονται. Διαφορετικά είναι δύσκολο, αν όχι αδύνατο, να δημιουργηθεί αποτελεσματικά ένα σταθερό γαλάκτωμα (McClements 2007).

Έχει σημειωθεί σημαντική πρόοδος στην κατανόηση των μεθόδων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη δημιουργία νανογαλακτωμάτων τα τελευταία χρόνια. Τα νανογαλακτώματα μπορούν να παρασκευασθούν χρησιμοποιώντας μία σειρά από διαφορετικές συσκευές, οι οποίες μπορούν συνήθως να κατηγοριοποιηθούν ως διατάξεις υψηλής ενέργειας ή χαμηλής ενέργειας ανάλογα με την αρχή λειτουργίας τους (McClements & Rao 2011, Tadros et al. 2004).

Οι διατάξεις υψηλής ενέργειας αφορούν μηχανικές συσκευές, τους "ομογενοποιητές", ικανές να δημιουργήσουν έντονες δυνάμεις που διαταράσσουν και αναμιγνύουν τις λιπαρές και υδατικές φάσεις σε μικροσκοπικά σταγονίδια, π.χ. ομογενοποιητές βαλβίδων υψηλής πίεσης, μικρορευστοποιητές και ομογενοποιητές υπερήχων (McClements & Rao 2011).

Σε πολλές περιπτώσεις, η ομογενοποίηση χωρίζεται σε δύο στάδια, όπως αναλύεται παρακάτω. Η δημιουργία ενός γαλακτώματος απευθείας από δύο χωριστά υγρά αναφέρεται ως πρωτογενής ομογενοποίηση, ενώ η μείωση του μεγέθους των σταγονιδίων σε ένα υπάρχον γαλάκτωμα αναφέρεται ως δευτερογενής ομογενοποίηση. Η δημιουργία ενός γαλακτώματος τροφίμων μπορεί να περιλαμβάνει τη χρήση της μίας ή της άλλης μορφής ομογενοποίησης ή συνδυασμού τους (McClements 2007). Οι διατάξεις υψηλής ενέργειας έχουν επικρατήσει στη βιομηχανία τροφίμων, επειδή είναι δυνατή η παραγωγή μεγάλης κλίμακας και μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να παρασκευάσουν νανογαλακτώματα από μία ποικιλία διαφορετικών πρώτων υλών. Σε αυτή τη διπλωματική εργασία αναλύονται οι διατάξεις υψηλής ενέργειας, γιατί αυτές χρησιμοποιήθηκαν κατά την πειραματική διαδικασία και η διαδικασία ομογενοποίησης που εφαρμόστηκε περιελάμβανε και τα δύο στάδια (πρωτογενή και δευτερογενή).



Εικόνα 1.6: Διαδικασία ομογενοποίησης σε δύο στάδια.

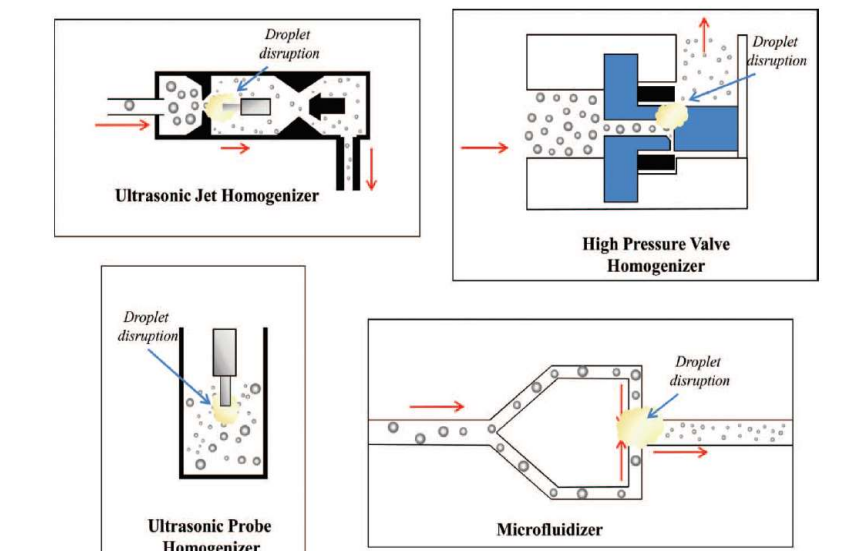
### 1.5.1 Συσκευές υψηλής ενέργειας

Μόνο οι μηχανικές συσκευές που είναι ικανές να δημιουργήσουν εξαιρετικά έντονες δυνάμεις διάσπασης μπορούν να παράγουν τα μικροσκοπικά σταγονίδια που απαιτούνται για να σχηματιστούν νανογαλακτώματα (Εικόνα 1.7). Ο λόγος που απαιτείται τόσο έντονη ενέργεια είναι ότι οι δυνάμεις διάσπασης που δημιουργούνται από τον ομογενοποιητή πρέπει να υπερβαίνουν τις δυνάμεις αποκατάστασης που συγκρατούν τα σταγονίδια σε σφαιρικά σχήματα. Αυτές οι δυνάμεις αποκατάστασης προσδιορίζονται από την πίεση Laplace:  $\Delta P = \gamma/2r$ , η οποία αυξάνεται με μείωση της ακτίνας των σταγονιδίων ( $r$ ) και αύξηση της διεπιφανειακής τάσης ( $\gamma$ ). Έτσι, καθώς η ακτίνα των σταγονιδίων γίνεται όλο και μικρότερη μέσα σε έναν ομογενοποιητή, καθίσταται όλο και πιο δύσκολο αυτά να διασπαστούν περαιτέρω. Το μικρότερο μέγεθος σταγονιδίων που μπορεί να παραχθεί από μία συγκεκριμένη συσκευή υψηλής ενέργειας εξαρτάται από το σχεδιασμό του ομογενοποιητή (π.χ. ροή και προφίλ δύναμης), τις συνθήκες λειτουργίας του ομογενοποιητή (π.χ. ένταση ενέργειας, διάρκεια), τις περιβαλλοντικές συνθήκες (π.χ. θερμοκρασία), τη σύνθεση του δείγματος (π.χ. τύπος ελαίου, τύπος γαλακτωματοποιητή, συγκεντρώσεις αυτών), και τις φυσικοχημικές ιδιότητες των φάσεων (π.χ. διεπιφανειακή τάση, ιζώδες). Προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι το μέγεθος των σταγονιδίων τείνει να μειώνεται, όταν αυξάνεται η ένταση ή η διάρκεια της ομογενοποίησης, μειώνεται η διεπιφανειακή τάση και αυξάνεται ο ρυθμός απορρόφησης του γαλακτωματοποιητή (McClements & Rao 2011).

### 1.5.2 Διατάξεις ομογενοποίησης

Υπάρχει μία ευρεία ποικιλία γαλακτωμάτων στη βιομηχανία τροφίμων, και κάθε ένα δημιουργείται από διαφορετικά συστατικά και πρέπει να έχει διαφορετικές τελικές χαρακτηριστικές ιδιότητες. Συνεπώς, έχουν κατασκευαστεί αρκετές συσκευές ομογενοποίησης για την παραγωγή γαλακτωμάτων τροφίμων, με ιδιαίτερα πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα, καθεμία από τις οποίες είναι καταλληλότερη για μία σειρά τροφίμων. Η επιλογή ενός συγκεκριμένου ομογενοποιητή εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων του διαθέσιμου εξοπλισμού, του μεγέθους κλίμακας της διαδικασίας (βιομηχανικής ή εργαστηριακής), των φυσικοχημικών ιδιοτήτων των πρώτων υλών και του τελικού προϊόντος, του όγκου

του προς ομογενοποίηση υλικού, τη μεταφορά, το επιθυμητό μέγεθος σταγονιδίων του τελικού προϊόντος και το κόστος αγοράς και λειτουργίας του εξοπλισμού. Οι σημαντικότεροι τύποι ομοιογενοποιητών που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων αναφέρονται ακολούθως.



Εικόνα 1.7: Σχηματική παράσταση διαφορετικών μηχανικών συσκευών που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή νανογαλακτωμάτων μέσω εφαρμογής υψηλής ενέργειας.

### 1.5.2.1 Αναδευτήρες υψηλής ταχύτητας

Οι αναδευτήρες υψηλής ταχύτητας είναι τα πλέον συχνά χρησιμοποιούμενα μέσα για την πρωτογενή ομογενοποίηση του ελαίου και της υδατικής φάσης. Οι λιπαρές και υδατικές φάσεις τοποθετούνται σε ένα κατάλληλο δοχείο, το οποίο μπορεί να περιέχει λίγα χιλιοστόλιτρα ή και πολλά λίτρα υγρού και να αναδεύεται με αναδευτήρα που περιστρέφεται με υψηλές ταχύτητες. Η ταχεία περιστροφή της λεπίδας δημιουργεί έντονες μεταβολές ταχύτητας που προκαλούν διάσπαση της διεπιφάνειας μεταξύ του ελαίου και του ύδατος, αναμιγνύοντας τα δύο μη αναμίξιμα υγρά και μετατρέποντας τα μεγαλύτερα σταγονίδια σε μικρότερα. Οι αναδευτήρες υψηλής ταχύτητας είναι ιδιαίτερα χρήσιμοι για την παρασκευή γαλακτωμάτων με χαμηλά ή μέτρια ιξώδη. Τυπικά, οι συσκευές αυτές παράγουν σταγονίδια διαμέτρου μεταξύ 1 και 10  $\mu\text{m}$ .

### 1.5.2.2 Ομογενοποιητές υψηλής πίεσης

Οι ομογενοποιητές βαλβίδων υψηλής πίεσης είναι πιο αποτελεσματικοί στη μείωση του μεγέθους των σταγονιδίων σε ένα πρόμιγμα χονδροειδούς γαλακτώματος παρά στην άμεση ομογενοποίηση δύο χωριστών φάσεων. Το χονδροειδές πρόμιγμα γαλακτώματος εξαναγκάζεται μέσω ενός στενού ανοίγματος υπό υψηλή πίεση, το οποίο προκαλεί την αποσύνθεση των σταγονιδίων λόγω των έντονων καταθλιπτικών καταπονήσεων (π.χ. δυνάμεων κρούσης, δυνάμεων διάτμησης, σπηλαίωσης, αναταράξεων) που δημιουργούνται εντός του ομογενοποιητή. Η μείωση του μεγέθους του στομίου αυξάνει την πίεση που παρουσιάζει το γαλάκτωμα, γεγονός που προκαλεί μεγαλύτερο βαθμό διάρρηξης σταγονιδίων και επομένως την παραγωγή μικρότερων σταγονιδίων. Οι ομογενοποιητές βαλβίδων υψηλής πίεσης μπορούν να

χρησιμοποιηθούν για ομογενοποίηση μίας ευρείας ποικιλίας προϊόντων διατροφής, που κυμαίνονται από υγρά χαμηλού ιξώδους μέχρι ιξωδοελαστικές πάστες και μπορούν να παράγουν γαλακτώματα με διάμετρο σταγονιδίων μόλις 0,1 mm (McClements 2007).

#### **1.5.2.3 Μικρορευστοποιητές**

Ένας μικρορευστοποιητής είναι κάπως παρόμοιος σε σχεδιασμό με έναν ομογενοποιητή υψηλής πίεσης κατά το ότι περιλαμβάνει τη χρήση υψηλών πιέσεων για να αναγκάσει ένα πρόμιγμα γαλακτώματος να περάσει διαμέσου ενός στενού ανοίγματος διευκολύνοντας τη διάσπαση των σταγονιδίων. Ωστόσο, ο σχεδιασμός των διαύλων διαμέσου των οποίων το γαλάκτωμα ρέει μέσα στον ομογενοποιητή είναι διαφορετικός (Εικόνα 1.7). Οι μικρορευστοποιητές χρησιμοποιούνται παραδοσιακά στη φαρμακευτική βιομηχανία για την παραγωγή προϊόντων με βάση γαλάκτωμα, αλλά έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί και σε βιομηχανίες τροφίμων και ποτών και ομογενοποιημένου γάλακτος. Ο μικρορευστοποιητής λειτουργεί με την αρχή της διαίρεσης ενός γαλακτώματος που ρέει διαμέσου ενός καναλιού σε δύο ρεύματα, περνώντας κάθε ρεύμα διαμέσου ενός χωριστού λεπτού καναλιού και στη συνέχεια κατευθύνοντας τα δύο ρεύματα σε ένα θάλαμο αλληλεπίδρασης. Έντονες δυνάμεις διάσπασης δημιουργούνται εντός του θαλάμου αλληλεπίδρασης, όταν τα δύο ταχέως κινούμενα ρεύματα γαλακτώματος προσκρούουν το ένα στο άλλο, οδηγώντας σε εξαιρετικά αποτελεσματική διάσπαση των σταγονιδίων.

Όπως και οι ομογενοποιητές βαλβίδων υψηλής πίεσης, και στην περίπτωση αυτή το μέγεθος των σταγονιδίων που παράγεται τείνει να μειώνεται με αύξηση της πίεσης ομογενοποίησης, του αριθμού των περασμάτων και της συγκέντρωσης του γαλακτωματοποιητή. Επιπλέον, ο λόγος ιξώδους διασποράς προς συνεχή φάση πρέπει να είναι εντός μίας ορισμένης περιοχής για να διευκολύνει το σχηματισμό μικρών σταγονιδίων (McClements & Rao 2011).

#### **1.5.2.4 Ομογενοποιητές υπερήχων**

Ένας τέταρτος τύπος ομογενοποιητή χρησιμοποιεί υπερηχητικά κύματα υψηλής έντασης που δημιουργούν έντονες βαθμίδες διάτμησης και πίεσης. Όταν τα κύματα εφαρμόζονται σε ένα δείγμα που περιέχει έλαιο και νερό, αυτά προκαλούν τη διάρρηξη των δύο υγρών και τα μεγάλα σταγονίδια που σχηματίζονται διασπώνται σε μικρότερα. Στη βιομηχανία τροφίμων και σε πολλά εργαστήρια οι ομογενοποιητές υπερήχων που χρησιμοποιούνται συνήθως είναι με ηχοβολέα (probe) λόγω του μικρού μεγέθους της διάταξης. Είναι ιδανικοί για την παρασκευή μικρών όγκων γαλακτώματος (λίγα χιλιοστόλιτρα έως μερικές εκατοντάδες χιλιοστόλιτρα), γεγονός που συχνά είναι σημαντικό στη βασική έρευνα όταν χρησιμοποιούνται ακριβώς συστατικά. Η απαραίτητη ενέργεια παρέχεται στον ηχοβολέα υπερήχων με εναλλασσόμενη ηλεκτρική τάση, η οποία προκαλεί διαστολή και συστολή στους πιεζοηλεκτρικούς κρυστάλλους χαλαζία που περιέχει ο ηχοβολέας και παράγονται υπερηχητικά κύματα (Εικόνα 1.7). Το υπερηχητικό κύμα κατευθύνεται προς την κορυφή του ηχοβολέα, όπου εκπέμπει στα περιβάλλοντα υγρά δημιουργώντας έντονες βαθμίδες πίεσης και διάτμησης (κυρίως λόγω φαινομένων σπηλαίωσης) που

προκαλούν τη διάσπαση των υγρών σε μικρότερα θραύσματα και την ανάμιξη μεταξύ τους. Συνήθως είναι απαραίτητο να ακτινοβολείται ένα δείγμα με υπέρηχους για μερικά δευτερόλεπτα έως μερικά λεπτά για να δημιουργηθεί ένα σταθερό γαλάκτωμα. Η συνεχής εφαρμογή υπερήχων σε ένα δείγμα μπορεί να προκαλέσει **σημαντική θέρμανση** και επομένως είναι συχνά επωφελής η εφαρμογή του υπερήχου σταδιακά σε μικρές δόσεις. Υπάρχει επίσης κάποια ανησυχία ότι οι υψηλές εντάσεις που εμπλέκονται στις μεθόδους υπερήχων μπορεί να οδηγήσουν σε μετουσίωση πρωτεϊνών, αποπολυμερισμό πολυσακχαριτών ή οξείδωση λιπιδίων κατά την ομογενοποίηση.

Οι ομογενοποιητές με υπέρηχους χρησιμοποιούνται κυρίως για βιομηχανικές εφαρμογές. Αυτές οι συσκευές έχουν τρία σημαντικά πλεονεκτήματα: μπορεί να χρησιμοποιηθούν για συνεχή παραγωγή γαλακτωμάτων, έχουν δυνατότητα να δημιουργούν πολύ μικρά σταγονίδια και είναι ενεργειακά πιο αποδοτικές από τους ομογενοποιητές βαλβίδων υψηλής πίεσης, επειδή χρειάζονται λιγότερη ενέργεια για να σχηματίσουν σταγονίδια ίδιου μεγέθους (McClements 2007, McClements & Rao 2011).

## **1.6 Μέτρηση του μεγέθους σταγονιδίων και της διασποράς αυτών στα γαλακτώματα**

Μόλις ομογενοποιηθεί ένα γαλάκτωμα, είναι συνήθως απαραίτητο να προσδιοριστούν το μέσο μέγεθος και η κατανομή του μεγέθους των σταγονιδίων του. Αυτές οι μετρήσεις είναι σημαντικές από πολλές απόψεις. Η γνώση του μεγέθους των σταγονιδίων παρέχει πληροφορίες σχετικά με το κατά πόσον ήταν αποτελεσματική η διαδικασία γαλακτωματοποίησης, ενώ και η παρακολούθηση τυχόν αλλαγών στην κατανομή μεγέθους καθώς περνά ο χρόνος, δίνει πληροφορίες σχετικά με τη σταθερότητα του συστήματος. Η τακτική μέτρηση του μεγέθους των σωματιδίων μπορεί να αποτελεί μέρος μίας διαδικασίας ελέγχου ποιότητας. Ωστόσο, η μέτρηση της πραγματικής κατανομής μεγέθους ή ακόμη και του μέσου μεγέθους των σταγονιδίων του γαλακτώματος δεν είναι απλή, παρά την ύπαρξη ενός αριθμού δυνητικά χρήσιμων και απλών μεθόδων.

### **1.6.1 DLS - Δυναμική Σκέδαση Φωτός (dynamic light scattering)**

Οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες από τις ταχείες μεθόδους μέτρησης σωματιδίων βασίζονται στη σκέδαση του φωτός (light scattering). Αυτές οι μέθοδοι τείνουν να τονίζουν τα μεγάλα σταγονίδια στην κατανομή, επειδή τα μεγαλύτερα σταγονίδια διασκορπίζουν περισσότερο φως από τα μικρότερα. Η απλούστερη από αυτές τις μεθόδους εξαρτάται από τη μέτρηση της θόλωσης σε ένα ή περισσότερα μήκη κύματος. Η θολότητα είναι ένα μέτρο της συνολικής ποσότητας φωτός που διασκορπίζεται καθώς διέρχεται από μία κυψελίδα που περιέχει το γαλάκτωμα. Αν και η μέθοδος είναι γρήγορη και μπορεί να πραγματοποιηθεί σε οποιοδήποτε εργαστήριο διαθέτει θολοσίμετρο, δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να δώσει την πραγματική κατανομή του μεγέθους των σωματιδίων αλλά, στην καλύτερη περίπτωση, να δώσει έναν μέσο όρο.

Ένας αριθμός εμπορικών οργάνων μετρά την κατανομή του μεγέθους των σωματιδίων με προσδιορισμό της έντασης του φωτός διασκορπιζόμενου από ένα πολύ αραιωμένο δείγμα σε αριθμό συγκεκριμένων γωνιών σκέδασης. Με γνώση των ιδιοτήτων σκέδασης των σωματιδίων, το λογισμικό χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό της πιο πιθανής κατανομής του μεγέθους των σωματιδίων.

Η δυναμική σκέδαση φωτός (DLS - dynamic light scattering) προσφέρει ένα μέσο μέτρησης του μεγέθους των σταγονιδίων και της διασποράς του μεγέθους ενός γαλακτώματος. Αυτή η τεχνική δεν μετρά τη συνολική ποσότητα φωτός διάσπαρτα, αλλά τη δυναμική του σκεδασμένου φωτός σε πολύ σύντομες χρονικές περιόδους. Συνήθως, η διάχυση του φωτός μετράται σε σταθερή γωνία  $90^\circ$  και υπολογίζεται μία συνάρτηση συσχέτισης. Ο υπολογισμός της πραγματικής κατανομής μεγέθους εξαρτάται από τη γνώση των λεπτομερών ιδιοτήτων σκέδασης φωτός των σταγονιδίων του γαλακτώματος (δηλαδή του δείκτη διάθλασής τους, που καθορίζει τις ιδιότητες σκέδασης). Γενικά, στην πράξη υποτίθεται ότι τα σταγονίδια ενός γαλακτώματος είναι σφαιρικά, αλλά μπορεί να είναι απαραίτητο να γίνουν υποθέσεις σχετικά με τη δομή των επιμέρους στρωμάτων. Ένα σταγονίδιο γαλακτώματος θεωρείται ως μία επικαλυμμένη σφαίρα, η οποία χαρακτηρίζεται από το δείκτη διάθλασης του πυρήνα και της επικάλυψης που είναι πιθανό να διαφέρουν. Οι υπολογισμοί που βασίζονται στη συμπεριφορά των διασκορπισμένων σταγονιδίων του γαλακτώματος μπορεί, συνεπώς, να εξαρτώνται από την υποτιθέμενη δομή και σύνθεση των σταγονιδίων.

Ωστόσο, οι μέθοδοι σκέδασης φωτός είναι προς το παρόν οι πιο αποτελεσματικές και χρησιμοποιούνται ευρέως για να λαμβάνονται πληροφορίες σχετικά με το μέγεθος και την κατανομή μεγέθους των σωματιδίων σε συστήματα γαλακτωμάτων. Όπως πολλές άλλες μέθοδοι, είναι ιδιαίτερα χρήσιμες για συγκριτικούς λόγους για τη μέτρηση των αλλαγών που συμβαίνουν κατά την επεξεργασία ή αποθήκευση των γαλακτωμάτων. Όλες οι μέθοδοι σκέδασης φωτός μπορούν να ανιχνεύσουν εάν συμβαίνει συσσωμάτωση, συνεπώς χρησιμοποιούνται συνήθως για την εξέταση της αστάθειας των γαλακτωμάτων σε βάθος χρόνου (Dalglish 2004).

### **1.6.2 Παράγοντες που καθορίζουν το μέγεθος των σταγονιδίων**

Το μέγεθος των σταγονιδίων που παράγονται σε ένα γαλάκτωμα εξαρτάται από πολλούς διαφορετικούς παράγοντες, μερικοί από τους οποίους συνοψίζονται παρακάτω:

- *Συγκέντρωση γαλακτωματοποιητή*

Μέχρι ένα ορισμένο επίπεδο, το μέγεθος των σταγονιδίων συνήθως μειώνεται καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση του γαλακτωματοποιητή. Πάνω από αυτό το επίπεδο, το μέγεθος των σταγονιδίων παραμένει σταθερό. Όταν η συγκέντρωση του γαλακτωματοποιητή υπερβαίνει το κρίσιμο επίπεδο, ρυθμίζεται το μέγεθος των σταγονιδίων κυρίως από την εισερχόμενη ενέργεια της συσκευής ομογενοποίησης.

- *Τύπος γαλακτωματοποιητή*

Στην ίδια συγκέντρωση, διαφορετικοί τύποι γαλακτωματοποιητών παράγουν σταγονίδια διαφορετικού μεγέθους, ανάλογα με το επιφανειακό τους φορτίο, την ταχύτητα με την οποία φθάνουν στη διεπιφάνεια ελαίου-νερού και την ικανότητα της μεμβράνης που δημιουργεί ο γαλακτωματοποιητής να αποτρέπει τη συσσωμάτωση των σταγονιδίων.

- *Συνθήκες ομογενοποίησης*

Το μέγεθος των σταγονιδίων γαλακτώματος συνήθως μειώνεται καθώς ο χρόνος ομογενοποίησης αυξάνεται.

- *Φυσικοχημικές ιδιότητες των φάσεων*

Η αποτελεσματικότητα ομογενοποίησης εξαρτάται από τις φυσικοχημικές ιδιότητες των λιπιδίων που περιλαμβάνονται σε ένα γαλάκτωμα (π.χ. το ιξώδες, την επιφανειακή τάση, την πυκνότητα ή τη φυσική κατάσταση) αλλά και από τα δευτερεύοντα συστατικά που ενσωματώνονται.

## **1.7 Ενσωμάτωση βιοδραστικών συστατικών σε νανογαλακτώματα και εφαρμογές**

Όπως προαναφέρθηκε, τα νανογαλακτώματα έχουν μοναδικές ιδιότητες όπως μικρό μέγεθος σταγονιδίων, εξαιρετική σταθερότητα και διαφανή εμφάνιση. Αυτές οι ιδιότητες είναι ο λόγος που η έρευνα, η ανάπτυξη και η εφαρμογή των νανογαλακτωμάτων έχει αυξηθεί τα τελευταία χρόνια, λόγω της αυξανόμενης ανάγκης για αποτελεσματικά συστήματα για την ενθυλάκωση, την προστασία και την απελευθέρωση λειτουργικών συστατικών. Τα νανογαλακτώματα εφαρμόζονται σε πολλές βιομηχανίες όπως η βιομηχανία τροφίμων, καλλυντικών, φαρμάκων και σε εφαρμογές χορήγησης φαρμάκων (drug delivery systems). Ακόμα, τα νανογαλακτώματα μπορούν να χρησιμεύσουν ως δομικά στοιχεία για τη σύνθεση προηγμένων υλικών με μοναδικές ιδιότητες.

Στην παρούσα διπλωματική το ενδιαφέρον εστιάζεται στη βιομηχανία τροφίμων, όπου τα νανογαλακτώματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να σχεδιάσουν λειτουργικά τρόφιμα με συστατικά που διαφορετικά είναι δύσκολο να ενσωματωθούν σε ένα τρόφιμο. Μελέτες έχουν γίνει όσον αφορά την ενσωμάτωση δραστικών ενώσεων όπως γευστικά συστατικά, βιταμίνες, αντιμικροβιακά, φάρμακα, χρωστικές, αντιοξειδωτικά, προβιοτικοί μικροοργανισμοί και ιχνοστοιχεία. Η ενσωμάτωση εφαρμόζεται στη βιομηχανία τροφίμων για να καλύπτει ανεπιθύμητες οσμές ή γεύσεις, να ελέγχει τις αλληλεπιδράσεις δραστικών συστατικών με το τρόφιμο, να ελέγχει την απελευθέρωση δραστικών συστατικών εξασφαλίζοντας τη διαθεσιμότητα σε στοχευμένο χρόνο και ρυθμό απελευθέρωσης, και να προστατεύει τα δραστικά συστατικά από την υγρασία, το οξυγόνο, τη θερμότητα και το φως κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας, αποθήκευσης και χρήσης. Για τα λιπόφιλα συστατικά έχουν γίνει πολλές έρευνες όπου μελετώνται το β-καροτένιο, η κουρκουμίνη, το συνένζυμο Q, η καψαϊκίνη, διάφορες λιποδιαλυτές βιταμίνες, γευστικά συστατικά, χρωστικές κ.α. Η ενσωμάτωση ενός λιπόφιλου συστατικού σε νανογαλάκτωμα μπορεί να

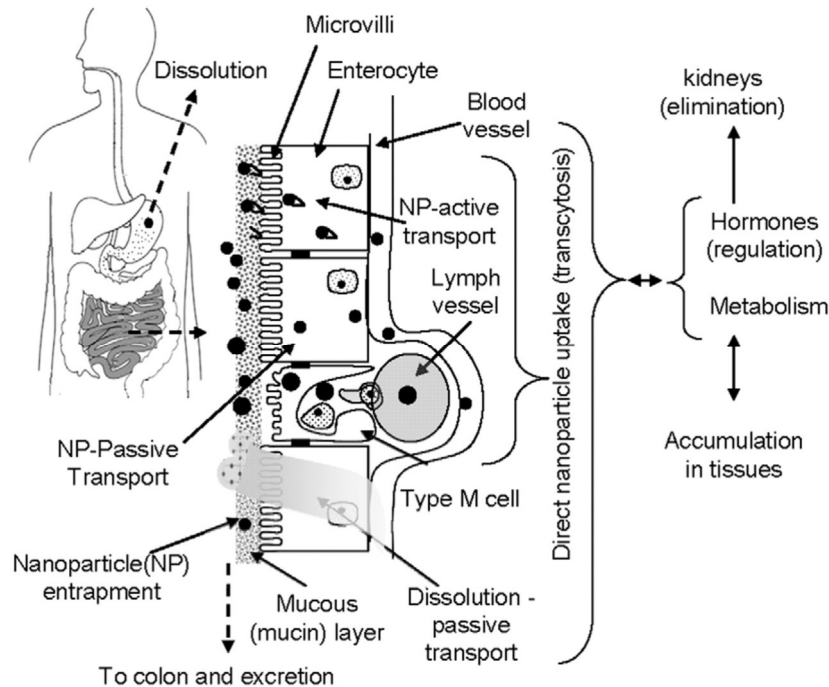
πραγματοποιηθεί για διάφορους λόγους όπως για να βελτιωθεί η ευκολία χειρισμού και χρήσης του, για να αυξηθεί η βιοδιαθεσιμότητά του και για να προστατευτεί από χημική υποβάθμιση (Gupta et al. 2016, McClements & Rao 2011, Rashidi & Khosravi-Darani 2011).

Ωστόσο, στην παρούσα διπλωματική το ενδιαφέρον εστιάζεται σε υδρόφιλα βιοδραστικά συστατικά όπως οι **πολυφαινόλες**. Όλο και περισσότερο, η βιομηχανία τροφίμων επιδιώκει να παρέχει αυτές τις ενώσεις στους καταναλωτές με διάφορες μορφές, όπως σε εμπλουτισμένα τρόφιμα, λειτουργικά τρόφιμα και ποτά, καθώς και συμπληρώματα διατροφής. Το θέμα όμως αυτό παρουσιάζει σημαντικές προκλήσεις, καθώς οι πολυφαινόλες είναι ασταθείς μετά την εκχύλιση τους από τα φυτά και είναι επιρρεπείς σε υποβάθμιση της δραστηρότητάς τους υπό συνθήκες που συνήθως λαμβάνουν χώρα κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας τροφίμων, όπως χαμηλό ή υψηλό pH, θερμότητα, παρουσία ενζύμων, πρωτεϊνών, μεταλλικών ιόντων, οξυγόνου και φωτός, οδηγώντας σε απώλειες στη βιολογική τους δραστηρότητα και λειτουργικότητα. Επιπλέον, πολλές φαινολικές ενώσεις έχουν σχετικά χαμηλή βιοδιαθεσιμότητα στον ανθρώπινο οργανισμό, καθώς έχει αποδειχθεί ότι απορροφούνται σχετικά ανεπαρκώς και η απορρόφησή τους κυμαίνεται από 0,3% έως 43% όταν καταναλώνονται με συμβατικό τρόπο. Μελέτες σχετικά με την ενσωμάτωση πολυφαινολών σε γαλακτώματα και την παροχή τους με συστήματα απελευθέρωσης κατέδειξαν ότι η χρήση ενσωματωμένων πολυφαινολών αντί σε ελεύθερη μορφή βελτιώνει τόσο τη σταθερότητα όσο και τη βιοδιαθεσιμότητα των συστατικών *in vitro* και *in vivo*. Πολλά συστήματα ενσωμάτωσης και χορήγησης πολυφαινολών έχουν καθιερωθεί μέσω των νανογαλακτωμάτων. Ωστόσο, οι μεταβολές στην τεχνολογία σύνθεσης και παρασκευής, έχουν ως αποτέλεσμα το σχηματισμό μίας σειράς γαλακτωμάτων με νέες ιδιότητες, οι οποίες μπορεί να παρουσιάζουν ακόμη μεγαλύτερες δυνατότητες στην παροχή των πολυφαινολών (Lu et al. 2016, Rein et al. 2013).

Τα κύρια οφέλη των νανοσωματιδίων για τη βελτίωση της βιοδιαθεσιμότητας των θρεπτικών συστατικών επισημαίνονται παρακάτω:

- Μία αύξηση στην επιφανειακή περιοχή μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της βιοδιαθεσιμότητας λόγω της ταχύτερης πέψης των σωματιδίων εντός του γαστρεντερικού σωλήνα.
- Μείωση του μεγέθους των σωματιδίων μπορεί να οδηγήσει σε ταχύτερη διείσδυση στα επιθηλιακά κύτταρα του γαστρεντερικού σωλήνα.
- Η ενσωμάτωση βιοδραστικών ουσιών στα νανοσωματίδια μπορεί να οδηγήσει σε βελτιωμένη προστασία από χημική ή βιοχημική αποικοδόμηση.
- Η ενσωμάτωση βιοδραστικών ουσιών στα νανοσωματίδια μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την πρόληψη των δυσμενών αλληλεπιδράσεών τους με άλλα συστατικά των τροφίμων.
- Η ενσωμάτωση βιοδραστικών ουσιών στα νανοσωματίδια μπορεί να βοηθήσει στην κάλυψη ανεπιθύμητων γεύσεων.

Μερικοί από τους μηχανισμούς που σχετίζονται με τη βελτίωση της βιοδιαθεσιμότητας των βιοδραστικών ουσιών βασίζονται στην κατανόηση της πρόσληψης νανοσωματιδίων εντός του γαστρεντερικού σωλήνα (Jafari et al. 2017).



Εικόνα 1.8: Σχηματική απεικόνιση των μηχανισμών πρόσληψης βιοδραστικού συστατικού χρησιμοποιώντας συστήματα νανοσωματιδίων.

Η Εικόνα 1.8 απεικονίζει μερικές από τις κύριες διεργασίες που εμπλέκονται στην απορρόφηση θρεπτικών ουσιών και δραστικών συστατικών. Αφού η τροφή έχει υποστεί μερική πέψη (κυρίως με μάσηση) στη στοματική κοιλότητα, το τρόφιμο περνά μέσα από μία διαδικασία διάλυσης στο στομάχι σε όξινες συνθήκες (pH~1 έως 2) για χρονικό διάστημα που κυμαίνεται από 1 έως 3 h. Διάφορα ένζυμα (πεψίνη και άλλα) απελευθερώνονται στο στομάχι για να βοηθήσουν στη διάσπαση ορισμένων πρωτεϊνών και υδατανθράκων. Καθώς το αφομοιωμένο τρόφιμο (τώρα με τη μορφή εναιωρήματος) φεύγει από το στομάχι και εισέρχεται στο δωδεκαδάκτυλο, αναμιγνύεται με τα χολικά άλατα που απελευθερώνονται από τη χοληδόχο κύστη. Αυτά τα χολικά άλατα γαλακτωματοποιούν τα λίπη και άλλες υδρόφοβες ενώσεις που υπάρχουν στο εναιώρημα. Κατά κάποιο τρόπο, τα μικύλια και τα κυστίδια των χολικών αλάτων αποτελούν το σύστημα χορήγησης νανοσωματιδίων της φύσης. Εκτός από την απελευθέρωση χολικών αλάτων, ένα διττανθρακικό διάλυμα που περιέχει ένα κοκτέιλ ενζύμων (τρυψίνη μεταξύ άλλων) απελευθερώνεται επίσης στο δωδεκαδάκτυλο, αυξάνοντας το pH του διαλύματος περίπου στο 6-7. Το εναιώρημα εισέρχεται έπειτα στο μεγαλύτερο τμήμα του λεπτού εντέρου (4-7m) όπου μένει για περίπου 3 έως 5 h πριν εισέλθει στο παχύ έντερο. Το τοίχωμα του λεπτού εντέρου έχει κυκλοτερείς πτυχές οι οποίες είναι πτυχές του βλεννογόνου και του υποβλεννογόνου. Ο βλεννογόνος αναδιπλώνεται περαιτέρω σε λάχνες, οι οποίες μοιάζουν με μικρές προεκβολές (μήκος 0,5 με 1,5mm). Η ελεύθερη επιφάνεια των

επιθηλιακών κυττάρων έχει μικροσκοπικές πτυχές που ονομάζονται μικρολάχνες. Οι πτυχές αυξάνουν την επιφάνεια για την απορρόφηση των θρεπτικών ουσιών. Ένα στρώμα βλέννας καλύπτει την επιφάνεια των μικρολαχνών του εντέρου και παίζει βασικό ρόλο στην πρόσληψη νανοσωματιδίων.

Σε γενικές γραμμές, έρευνες έδειξαν ότι η μείωση του μεγέθους των σωματιδίων σε τιμές μικρότερες από 500 nm προκαλεί υψηλότερη απορρόφηση των βιοδραστικών συστατικών και υψηλότερη πρόσληψη σωματιδίων, ωστόσο η τιμή της σχετικής πρόσληψης ή βιοδιαθεσιμότητας για μεγάλα σωματίδια (μεγαλύτερα από 500 nm) εξαρτάται από το σύστημα (Acosta 2009).

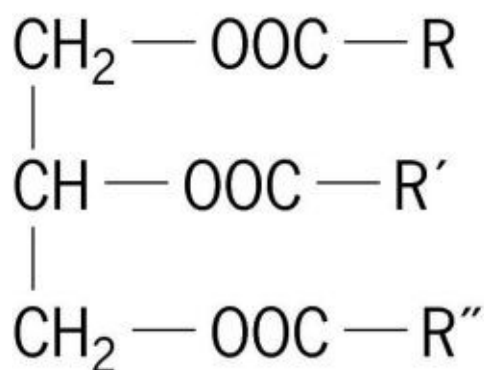
Συνεπώς, στον τομέα της παροχής θρεπτικών συστατικών έχουν γίνει αρκετές μελέτες και υπάρχει σημαντική πρόοδος όσον αφορά τα σκευάσματα νανοσωματιδίων που έχουν σχεδιαστεί για τη βελτίωση της βιοδιαθεσιμότητας λιποδιαλυτών συστατικών. Ωστόσο, πολύ λίγα έχουν γίνει για τη βελτίωση της πρόσληψης υδρόφιλων ενώσεων όπως μέταλλα (ασβέστιο και σίδηρος) και υδατοδιαλυτά αντιοξειδωτικά (όπως οι πολυφαινόλες). Πιο θεμελιώδεις μελέτες απαιτούνται σχετικά με τη μεταφορά και τη βιοδιαθεσιμότητα των θρεπτικών συστατικών μέσω νανοσωματιδίων, την κατανόηση αυτής της τεχνολογίας και την κατασκευή αποδοτικότερων συστημάτων χορήγησης νανοσωματιδίων (Acosta 2009).

## Κεφάλαιο 2: Ελαιόλαδο, πυρηνέλαιο και βιοδραστικά συστατικά

### 2.1 Εισαγωγή

Τα λίπη και τα έλαια έχουν χρησιμοποιηθεί ως τροφή αλλά και σε άλλες εφαρμογές από τους προϊστορικούς χρόνους λόγω των μοναδικών ιδιοτήτων τους. Ο ρόλος τους στην ανθρώπινη διατροφή είναι πολύ σημαντικός καθώς αποτελούν την υψηλότερη πηγή ενέργειας μεταξύ των τριών βασικών συστατικών τροφίμων (υδατάνθρακες, πρωτεΐνες και λίπη), ενώ περιέχουν λιποδιαλυτές βιταμίνες και λιπαρά οξέα απαραίτητα για την υγεία, τα οποία δεν παράγονται από τον ανθρώπινο οργανισμό. Τα λίπη και τα έλαια απαντώνται φυσικά σε ένα ευρύ φάσμα πηγών, καθώς εκατοντάδες σπόροι και καρποί περιέχουν έλαιο, όλα τα επίγεια ζώα παράγουν λίπος, και τα θαλάσσια ζώα αποτελούν πηγές που παρέχουν επίσης έλαια. Γενικά, τα λίπη εμφανίζονται ως στερεά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος ενώ τα έλαια εμφανίζονται ως υγρά. Σε γενικές γραμμές, αυτό που καθορίζει τα χαρακτηριστικά και τις ιδιότητες του εκάστοτε λίπους ή ελαίου, είναι η χημική σύνθεση, η οποία επίσης καθορίζει την καταλληλότητα αυτού του συστατικού σε διάφορες διεργασίες και εφαρμογές (O'Brien 2009).

Γενικά, τα λίπη και έλαια ή λιπαρά σώματα που χρησιμοποιούνται στη διατροφή αποτελούνται από διάφορα λιποειδή, το μεγαλύτερο μέρος τους όμως αποτελείται από τριγλυκερίδια. Τα τριγλυκερίδια συνοδεύονται από μεγάλο αριθμό ουσιών που ανήκουν στα λιπίδια και βρίσκονται σε μικρές ποσότητες στο έλαιο, μεταξύ των οποίων σημαντικά είναι τα φωσφατίδια, οι στερόλες, οι τοκοφερόλες, οι λιποχρωστικές, οι υδρογονάνθρακες κ.α. Τα συστατικά αυτά πλην των φωσφατιδίων ονομάζονται μη σαπωνοποιήσιμα συστατικά και αποτελούν το «ασαπωνοποίητο υλικό», ενώ τα τριγλυκερίδια, τα φωσφατίδια και τα μονο- και δι-γλυκερίδια αποτελούν τα σαπωνοποιήσιμα συστατικά. Οι χημικές και φυσικές ιδιότητες των λιπών και ελαίων καθορίζονται σε μεγάλο βαθμό από τα λιπαρά οξέα που περιέχουν και τη θέση τους στο μόριο της γλυκερίνης. Όλα τα τριγλυκερίδια έχουν την ίδια μονάδα γλυκερίνης, έτσι τα λιπαρά οξέα είναι αυτά που δημιουργούν τις διαφορετικές ιδιότητες. Εκτός από τα τριγλυκερίδια, σε ένα έλαιο σχηματίζονται μονο- και δι-γλυκερίδια, με ποικίλλουσα χημική σύσταση, τα οποία συνήθως ανευρίσκονται σε κακής ποιότητας λίπη και έλαια (Κ.Τζιά, Π. Ταούκης, Β.Ωραιοπούλου 2009, O'Brien 2009).



Εικόνα 2.1: Μόριο τριγλυκεριδίου όπου R,R',R'' οι αλειφατικές αλυσίδες λιπαρών οξέων.

## 2.2 Ελαιόλαδο και Πυρηνέλαιο

Το ελαιόλαδο είναι ένα από τα πιο σημαντικά στοιχεία της μεσογειακής διατροφής, όχι μόνο λόγω της ευχάριστης γεύσης, αλλά και λόγω των πολλών ωφέλιμων ιδιοτήτων του λόγω της χημικής σύνθεσής του. Είναι το κύριο προϊόν που παράγεται από το μεσοκάρπιο των καρπών της ελιάς, τους καρπούς που προέρχονται από τα αειθαλή δέντρα της *Olea europaea*. Το ελαιόλαδο έχει μακρά ιστορία με πολλές βιβλικές αναφορές και τα δέντρα φέρνουν καρπούς για πάνω από 100 χρόνια (Gunstone & Harwood 2007). Το ελαιόλαδο θεωρείται ανώτερο από άλλα φυτικά έλαια, δεδομένου ότι μπορεί να καταναλωθεί χωρίς προηγούμενη επεξεργασία, γεγονός που του προσδίδει μοναδικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (Boskou 1996).

Σύμφωνα με τον Codex Alimentarius (2013) το ελαιόλαδο ορίζεται ως το έλαιο που παράγεται αποκλειστικά από τους καρπούς της ελιάς (*Olea europaea* L.), εξαιρουμένων των ελαίων που λαμβάνονται με τη χρήση διαλυτών ή μεθόδων επανεστεροποίησης και κάθε μίγματος με έλαια άλλων ειδών. Το παρθένο ελαιόλαδο είναι το έλαιο που παράγεται από τους καρπούς της ελιάς αποκλειστικά με μηχανικά ή άλλα φυσικά μέσα υπό συνθήκες, ιδιαίτερα θερμικές, που δεν προκαλούν αλλοίωση του ελαίου, και οι οποίοι δεν έχουν υποστεί άλλη επεξεργασία εκτός από το πλύσιμο, το διαχωρισμό (decant), τη φυγοκέντρωση και τη διήθηση.

Γενικά για το ελαιόλαδο έχουν ορισθεί οι παρακάτω κατηγορίες:

- Εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο: παρθένο ελαιόλαδο με ελεύθερη οξύτητα, εκφρασμένη σε ελαϊκό οξύ, που δεν υπερβαίνει τα 0,8 g/100 g.
- Παρθένο ελαιόλαδο: παρθένο ελαιόλαδο με ελεύθερη οξύτητα, εκφρασμένη σε ελαϊκό οξύ, η οποία δεν υπερβαίνει τα 2,0 g/100 g.
- Εξευγενισμένο πυρηνέλαιο: έλαιο που λαμβάνεται από ακατέργαστο πυρηνέλαιο με μεθόδους εξευγενισμού που δεν οδηγούν σε αλλοίωση της αρχικής γλυκεριδικής δομής. Έχει ελεύθερη οξύτητα, εκφραζόμενη σε ελαϊκό οξύ, που δεν υπερβαίνει τα 0,3 g/100 g (Codex Alimentarius 2013).

Σε κάθε κατηγορία ορίζονται από τον κανονισμό και τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά του ελαίου. Στην παρούσα διπλωματική εργασία ως λιπαρή φάση για τα

γαλακτώματα χρησιμοποιήθηκαν εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο και εξευγενισμένο πυρηνέλαιο, τα οποία από το εξής θα αναφέρονται ως ελαιόλαδο και πυρηνέλαιο.

### 2.2.1 Εξαγωγή ελαιόλαδου

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, το ελαιόλαδο προκύπτει από την επεξεργασία των ελαιόκαρπων που προέρχονται από τα αειθαλή δέντρα της *Olea europaea*, δηλαδή τα ελαιόδέντρα. Η συγκομιδή των ελιών πρέπει να γίνεται όταν φθάσουν στο κατάλληλο επίπεδο ωριμότητας και πρέπει να υποβληθούν σε επεξεργασία το συντομότερο δυνατόν, αποφεύγοντας την ανάπτυξη υδρολυτικής και οξειδωτικής δράσης που υποβαθμίζουν την ποιότητα του ελαίου. Οι ελιές καθαρίζονται και πλένονται για να αφαιρεθούν τα φύλλα, το χώμα και άλλες ακαθαρσίες. Ακολουθώς, αλέθονται για να δώσουν μία πάστα (πάστα ελιάς) απελευθερώνοντας το έλαιο από τα ελαιούχα κύτταρα και διευκολύνοντας το σχηματισμό μεγαλύτερων σταγόνων ελαίου από μικρότερα σταγονίδια.

Δύο γενικές μέθοδοι χρησιμοποιούνται για τη βιομηχανική εξαγωγή ελαίου από την πάστα ελιάς: η συμβατική με υδραυλικές πρέσες και η νεότερη μέθοδος με συνεχείς φυγοκεντρικούς διαχωριστήρες. Γενικά, πρέπει να διεξάγεται προσεκτικός έλεγχος των συνθηκών λειτουργίας (δηλαδή της θερμοκρασίας) και των συνθηκών υγιεινής κατά τη διάρκεια της παραγωγής, ώστε να μεγιστοποιείται η απόδοση του ελαίου και να εξασφαλίζεται η ποιότητα του παρθένου ελαιόλαδου (Tzia, Giannou, Polychniatou & Chanioti 2015).

Κατά τη διαδικασία συμπίεσης, η οποία εξακολουθεί να χρησιμοποιείται αλλά σε μικρότερο βαθμό σε σχέση με παλαιότερα, πρέπει να ληφθεί μέριμνα, ώστε να αποφευχθεί η ανάπτυξη υψηλών πιέσεων, διότι παρότι με την αύξηση της πίεσης μπορούν να ληφθούν υψηλότερες αποδόσεις υπάρχει ο κίνδυνος να υποβαθμιστεί η ποιότητα του ελαίου, λόγω της αντίστοιχης αύξησης της θερμοκρασίας. Στη μέθοδο φυγοκέντρωσης, η πάστα ελιάς απαιτεί πρόσθετη μάλαξη για να προκύψει μία μάζα (ελαιόμαζα), η οποία θα διευκολύνει περαιτέρω την απελευθέρωση του ελαίου από τα ελαιούχα κύτταρα. Επίσης απαιτείται προσθήκη νερού στο διαχωριστήρα για να επιτευχθεί ένας αποτελεσματικός διαχωρισμός ελαίου. Ομοίως, πρέπει να δίνεται προσοχή, ώστε το νερό να είναι χαμηλής θερμοκρασίας, επειδή η αυξημένη θερμοκρασία μπορεί να οδηγήσει μεν σε υψηλότερη απόδοση, αλλά θα έχει αντίκτυπο στην ποιότητα του ελαίου.

Πίνακας 2.1: Σημαντικές παράμετροι που επηρεάζουν την εξαγωγή ελαιόλαδου με μηχανικά μέσα (Απόδοση/Ποιότητα του παρθένου ελαιόλαδου). Πηγή Tzia, Giannou, Polychniatou & Chanioti 2015

Olives Pretreatment	Processing	
Olive Oil (Mechanical) Extraction	Adjusted Parameters	Controls
Storage of olives	Conditions ( $<25^{\circ}\text{C}$ , RH $< 70\%$ , ventilation)	FFA, PV of olive oil
	Storage time	Toxic compounds
	Height of stored olives	Contaminants (MRLs for pesticides residues, heavy metals, PAHs, etc.)
Pretreatment	Removal of foreign materials	Cleaning efficiency
	Hygiene	
Milling/malaxation	Temperature of olive mass	Milling/malaxation efficiency
(Mechanical) extraction		
Pressing	Pressure/temperature	Olive oil yield
		FFA, PV, $\Delta K$ of virgin olive oil
Centrifugation	Water amount	Sensory quality of virgin olive oil
	Water quality	
	Water temperature	
	Centrifugation capacity	

Κατά την αποθήκευση του ελαιόλαδου σε σιλό πρέπει να ληφθεί μέριμνα για λόγους υγιεινής και μόλυνσης. Τα σιλό και οι αγωγοί πρέπει να είναι κατασκευασμένοι από ανοξείδωτο χάλυβα και πρέπει να χρησιμοποιούνται μόνο για το ελαιόλαδο για να αποφεύγεται η μόλυνσή του με άλλα φυτικά έλαια. Επίσης, τα σιλό πρέπει να διατηρούνται καθαρά, προστατεύοντας το ελαιόλαδο από την ανάπτυξη off-flavor και off-taste εξαιτίας της καθίζησης στερεών. Το ελαιόλαδο διαυγάζεται με καθίζηση, φυγοκέντρωση ή διήθηση και πριν από τη συσκευασία του ελέγχεται και ταξινομείται σε εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο ή παρθένο ελαιόλαδο σύμφωνα με την τιμή της ελεύθερης οξύτητας.

Το παραλαμβανόμενο ελαιόλαδο ανέρχεται σε ποσότητα περίπου 25% κατά βάρος των επεξεργαζόμενων ελιών, ενώ από τη διαδικασία παραγωγής του προκύπτουν ταυτόχρονα το στερεό υπόλειμμα, γνωστό ως ελαιοπυρήνας, καθώς και υγρά απόβλητα. Ο ελαιοπυρήνας έχει διαφορετική περιεκτικότητα σε υγρασία ανάλογα με τη μέθοδο εκχύλισης που εφαρμόζεται, αντίστοιχα και τα υγρά απόβλητα, τα οποία διαφέρουν επίσης σε ποσότητες ανάλογα με τη μέθοδο εκχύλισης και προκαλούν σημαντικές περιβαλλοντικές επιπτώσεις. Έτσι, τα συστήματα συμπίεσης αποδίδουν υπόλειμμα με χαμηλότερη υγρασία και μικρότερες ποσότητες αποβλήτων σε σχέση με τα συστήματα φυγοκέντρωσης. Επιπλέον, το υπόλειμμα πρέπει να ξηραθεί περαιτέρω απαιτώντας υψηλότερες ποσότητες ενέργειας όταν προέρχεται από ένα σύστημα φυγοκέντρωσης. Το υπόλειμμα ελαιόλαδου μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να ληφθεί το υπολειμματικό έλαιο (πυρηνέλαιο) με εκχύλιση με διαλύτη όπως θα αναλυθεί παρακάτω (Tzia, Giannou, Polychniatou & Chanioti 2015).

### 2.2.2 Εκχύλιση πυρηνέλαιου

Ο ελαιοπυρήνας συνίσταται σε μεγάλο βαθμό από τα στερεά υπολείμματα από τον πολτό, το φλοιό και τον καρπό των ελιών, από το έλαιο που συγκρατείται στα εν λόγω στερεά υπολείμματα (και το οποίο δεν ήταν δυνατό να εξαχθεί με συμβατικές μηχανικές διεργασίες) και από το νερό της σύστασης (από την πραγματική ελιά) και προστίθεται κατά τη διαδικασία εκχύλισης ελαίου. Η διαδικασία εκχύλισης του ελαίου πραγματοποιείται με τη χρήση εξανίου. Αρχικά, ο ελαιοπυρήνας ξηραίνεται

έως περίπου 8% υγρασία και ύστερα γίνεται η εκχύλιση με εξάνιο. Έπειτα από την εκχύλιση, το πυρηνέλαιο ανακτάται μετά από απόσταξη του ελαιοδιαλύματος και την απομάκρυνση του εξανίου (Sánchez-Moral & Ruiz-Méndez 2006).

Για να καταστεί εδώδιμο το πυρηνέλαιο και να αυξηθεί ο χρόνος ζωής του πρέπει να εξευγενιστεί. Ο εξευγενισμός του πυρηνέλαιου περιλαμβάνει μία σειρά χημικών και φυσικών διεργασιών που αποτελείται από τα παρακάτω στάδια: α) αποκομμίωση, β) απομάκρυνση των ελεύθερων λιπαρών οξέων (εξουδετέρωση), γ) αποχρωματισμό και δ) απόσμιση. Κατά την αποκομμίωση επιτυγχάνεται απομάκρυνση των φωσφατιδίων (κομμιωδών συστατικών) με χρήση κυρίως διαλύματος φωσφορικού οξέος σε ήπιες θερμοκρασίες (40-45°C). Η αποκομμίωση με φωσφορικό οξύ χρησιμοποιείται και σε συνδυασμό με αλκαλική εξουδετέρωση. Στην αλκαλική εξουδετέρωση πραγματοποιείται εξουδετέρωση των ελεύθερων λιπαρών οξέων με τη βοήθεια διαλύματος καυστικού νατρίου σε θερμοκρασίες 60-80 °C και ύστερα διαχωρίζονται οι σχηματιζόμενοι σάπωνες με φυγοκέντρηση. Ακολουθώντας στο στάδιο του αποχρωματισμού αφαιρούνται οι χρωστικές και τα οξειδωμένα συστατικά μέσω προσρόφησής τους σε αποχρωστικές γαίες ή/και σε ενεργό άνθρακα σε υψηλή θερμοκρασία (120-140 °C υπό ελαττωμένη πίεση), καταλήγοντας έτσι σε ένα προϊόν με ανοικτό χρώμα. Τέλος, κατά την απόσμιση με απόσταξη με τη βοήθεια υδρατμών σε κατάλληλες συνθήκες (4-8 mmHg και 180-200 °C) απομακρύνονται τα οσμηρά συστατικά (κυρίως αλδεΐδες και κετόνες), οπότε προκύπτει το εξευγενισμένο πυρηνέλαιο (Ruiz-Méndez et al. 2008, Antonopoulos et al. 2006).

### 2.2.3 Φυσικές ιδιότητες του ελαιόλαδου και του πυρηνέλαιου

Το ελαιόλαδο έχει συνήθως πρασινωπό-κίτρινο χρώμα και χαρακτηριστική γεύση και οσμή ελιάς. Το πυρηνέλαιο έχει κίτρινο-καφέ χρώμα και καθώς προέρχεται και αυτό από τον καρπό της ελιάς με τη μέθοδο που αναφέρθηκε, εμφανίζει πολλές ομοιότητες με το ελαιόλαδο ως προς τις φυσικές ιδιότητές του. Τυπικά χαρακτηριστικά για το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο και το πυρηνέλαιο συνοψίζονται στον Πίνακα 2.2.

*Πίνακας 2.2: Φυσικά χαρακτηριστικά του ελαιόλαδου και του πυρηνέλαιου. Πηγές O'Brien 2004, Codex Alimentarius 2013.*

Φυσικοχημικές ιδιότητες	Ελαιόλαδο	Πυρηνέλαιο
Ειδικό βάρος (25°C)	0,909-0,915	0,910-0,930
Δείκτης διάθλασης (25°C)	1,4680-1,4705	1,4636-1,4747
Αριθμός ιωδίου	80,0-88,0	77-90
Αριθμός σαπωνοποίησης	188-196	186-196
Ασαπυνοποίητο υλικό	0,4 -1,1%	Μέχρι 2,3%

### 2.2.4 Χημική Σύσταση του ελαιόλαδου και του πυρηνέλαιου

Η χημική σύσταση του ελαιόλαδου και του πυρηνέλαιου χαρακτηρίζεται από δύο κύριες κατηγορίες συστατικών: τα σαπωνοποίησιμα συστατικά και το ασαπυνοποίητο υλικό.

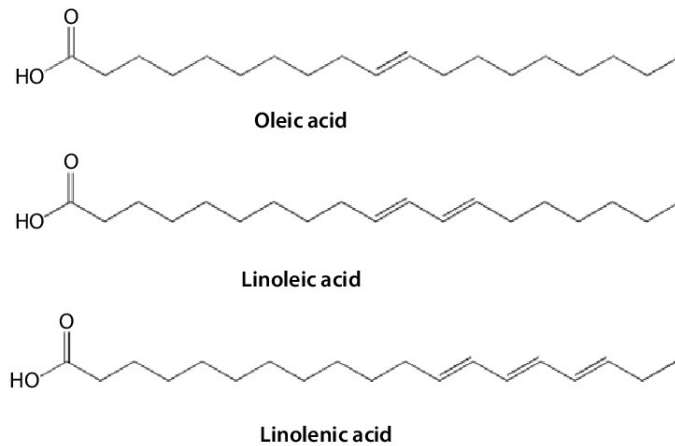
#### 2.2.4.1 Σαπωνοποιήσιμα συστατικά

Η ομάδα αυτή περιλαμβάνει τα τριγλυκερίδα, μονο- και δι-γλυκερίδια, εστέρες λιπαρών οξέων ή ελεύθερα λιπαρά οξέα και φωσφολιπίδια τα οποία αποτελούν σχεδόν το 98% της χημικής σύνθεσης των ελαίων. Τα κύρια λιπαρά οξέα που υπάρχουν στο ελαιόλαδο και στο πυρηνέλαιο είναι το ελαϊκό (C18:1) (ή αλλιώς O), το παλμιτικό (C16:0) (ή αλλιώς P), το παλμιτελαϊκό (C16:1) (ή αλλιώς Po), το στεατικό (C18:0) (ή αλλιώς S), το λινελαϊκό (C18:2) (ή αλλιώς L) και το λινολενικό (C18:3) (ή αλλιώς Ln). Αντιθέτως, μυριστικό (C14:0), αραχιδονικό (ή αλλιώς A), επταδεκανοϊκό και εικοσανοϊκό οξύ βρίσκονται σε ίχνη (Serreli & Deiana 2018).

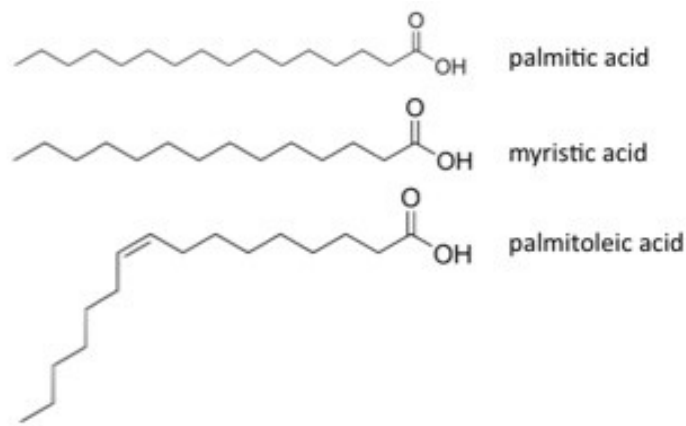
Το ελαιόλαδο χαρακτηρίζεται από υψηλό επίπεδο ελαϊκού οξέος με ποσοστό από 55 έως 83%, από 7,5 έως 20% για το παλμιτικό οξύ και 3,5 έως 21% για το λινελαϊκό οξύ. Μία μέση σύνθεση λιπαρών οξέων δείχνει την παρουσία παλμιτικού (10,5%), στεατικού (2,6%), ελαϊκού (76,9%) και λινελαϊκού οξέος (7,5%). Η σύνθεση των λιπαρών οξέων εξαρτάται, μεταξύ άλλων παραγόντων, από τη γεωγραφική θέση στην οποία καλλιεργούνται τα ελαιόδεντρα και γίνονται προσπάθειες για την αναγνώρισή τους από τη σύνθεση του ελαίου (Boskou 2002). Η ποσοστιαία σύσταση των λιπαρών οξέων του πυρηνέλαιου εμφανίζει ομοιότητες με του ελαιόλαδου και παρουσιάζεται και για τα δύο έλαια στον Πίνακα 2.3.

*Πίνακας 2.3: Σύσταση επί % των λιπαρών οξέων του πυρηνέλαιου και του ελαιόλαδου. Πηγή Codex Alimentarius 2013.*

Λιπαρό οξύ		Ελαιόλαδο	Πυρηνέλαιο
Μυριστικό οξύ	C14:0	0,0-0,05	0,0-0,05
Παλμιτικό οξύ	C16:0	7,5-20,0	7,5-20,0
Παλμιτελαϊκό οξύ	C16:1	0,3-3,5	0,3-3,5
Επταδεκανοϊκό οξύ	C17:0	0,0-0,5	0,0-0,5
Στεατικό οξύ	C18:0	0,5-5,00	0,5-5,00
Ελαϊκό οξύ	C18:1	55,0-83,0	55,0-83,0
Λινελαϊκό οξύ	C18:2	3,5-21,0	3,5-21,0
Λινολενικό οξύ	C18:3	<0,9	<0,9
Αραχιδονικό οξύ	C20:0	0,0-0,6	0,0-0,6
Μπεγενικό οξύ	C22:0	0,0-0,2	0,0-0,3



Εικόνα 2.2: Δομή λιπαρών οξέων: ελαιϊκό, λινελαϊκό και λινολενικό.



Εικόνα 2.3: Δομή λιπαρών οξέων: παλμιτικό, μυριστικό και παλμιτελαϊκό.

Τα κύρια τριγλυκερίδια του ελαιόλαδου και του πυρηνέλαιου είναι: OOO, LOO και OOP. Μπορούν επίσης να υπάρχουν μικρότερες ποσότητες POP, POS, OLnL, OLL, AOO, OLnO, PLL, PLnO και LLL. Το ελαιόλαδο περιέχει επίσης μερικές ποσότητες από μονο- και δι-γλυκερίδια, φωσφολιπίδια (40-135 mg/kg) και ιχνοστοιχεία σιδήρου (0,5-3,0 ppm) και χαλκού (0,001-0,2 ppm). Χρώμιο, μαγγάνιο, κασσίτερος, νικέλιο και μόλυβδος υπάρχουν σε επίπεδα που δεν υπερβαίνουν τα λίγα ppb (Rodríguez-Gutiérrez et al. 2012, Gunstone & Harwood 2007).

Πίνακας 2.4: Τριγλυκεριδική σύσταση επί % του ελαιόλαδου και του εξευγενισμένου πυρηνέλαιου. Πηγές Rodríguez-Gutiérrez et al. 2012, Ollivier et al. 2006.

Τριγλυκερίδιο	Ελαιόλαδο	Πυρηνέλαιο
LLL	0,06-0,47	0,7
LnLO	0,45-0,89	0,6
OLL+PoLO	0,19-0,53	4,0
PLL+LnOO	0,07-1,15	2,5
POLn	0,67-1,11	1,0
LOO	11,52-18,13	16,1
LOP	4,94-10,58	6,2
LPP	0,44-2,20	0,2
OOO	27,71-45,01	38,3

<b>OOP</b>	18,70-24,76	17,9
<b>POP</b>	2,41-4,40	2,3
<b>SOO</b>	2,53-4,46	6,3
<b>POS</b>	0,59-1,38	1,1
<b>ΑΟΟ</b>	0,98-1,98	2,0

### Φωσφολιπίδια

Τα φωσφολιπίδια αποτελούν βασικά συστατικά των βιολογικών μεμβρανών, τα οποία με τη σειρά τους αποτελούν αναπόσπαστο μέρος των οργανισμών. Τα κύρια φωσφολιπίδια που αναφέρονται στο ελαιόλαδο είναι η φωσφατιδυλοχολίνη, η φωσφατιδυλαιθανολαμίνη, η φωσφατιτυλινοσιτόλη και η φωσφατιδυλοσερίνη και ανήκουν στην κατηγορία των γλυκεροφωσφολιπιδίων. Τα γλυκεροφωσφολιπίδια περιέχουν έναν σκελετό γλυκερόλης και η μία από τις τρεις αλυσίδες της γλυκερόλης αποτελεί μία δομή που βασίζεται στο φωσφορικό οξύ. Η ομάδα που συνδέεται με το φωσφορικό οξύ περιλαμβάνει αζωτούχες βάσεις ή πολυόλες. Στους περισσότερους ιστούς κυριαρχούν οι διακυλικές μορφές των γλυκεροφωσφολιπιδίων. Τα φωσφολιπίδια χαρακτηρίζονται από την παρουσία μίας πολικής ή υδρόφιλης ομάδας κεφαλής και μίας μη πολικής ή υδρόφοβης περιοχής, αυτής των λιπαρών οξέων, άρα έχουν **αμφίφιλο χαρακτήρα**. Το επίπεδο των φωσφολιπιδίων στο ελαιόλαδο είναι σημαντικό, επειδή αυτές οι ενώσεις έχουν αντιοξειδωτική δράση σε συνδυασμό με τις τοκοφερόλες ή τις φαινόλες (Erickson 2002, Boskou 2006).

#### *2.2.4.2 Ασαπωνοποίητο υλικό του ελαιόλαδου και του πυρηνέλαιου*

Τα δευτερεύοντα συστατικά του παρθένου ελαιόλαδου, που ταξινομούνται με αυξανόμενη πολικότητα, είναι υδρογονάνθρακες (σκουαλένιο), τοκοφερόλες, αλειφατικές και τριτερπενικές αλκοόλες, 4-μεθυλεστερόλες, στερόλες, τριτερπενικές διαλκοόλες, πολικές χρωστικές ουσίες (χλωροφύλλη και φαιοφυτίνες) και πολυφαινόλες. Αυτά τα συστατικά αποτελούν συνολικά από 0,5 έως 1,5% της σύστασης του ελαίου και αρκετά από αυτά παρέχουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες και προσθέτουν στη θρεπτική αξία του ελαίου, καθώς επίσης και στις αντιφλεγμονώδεις ιδιότητές του (Serreli & Deiana 2018, Perona & Botham 2013).

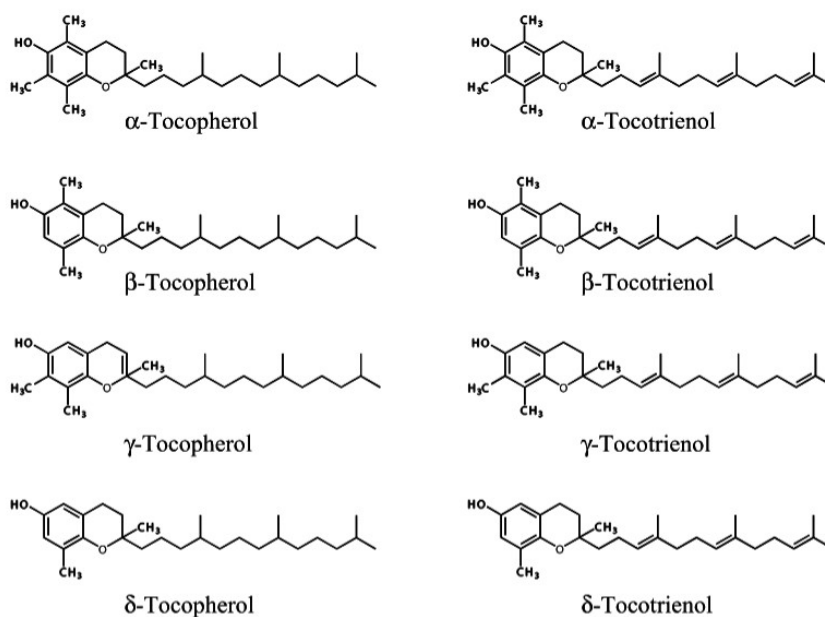
Όπως ήδη έχει αναφερθεί, το πυρηνέλαιο παρουσιάζει μεγάλη ομοιότητα ως προς τη σύσταση με το ελαιόλαδο και το ασαπωνοποίητο υλικό του δεν διαφέρει σημαντικά από του ελαιόλαδου. Το αυξανόμενο ενδιαφέρον για το πυρηνέλαιο οφείλεται στα ενδογενή βιοδραστικά συστατικά του, τα οποία περιέχονται γενικά στο ασαπωνοποίητο υλικό αυτού, όπως οι στερόλες, οι λιπαρές αλκοόλες, οι τοκοφερόλες, οι τριτερπενικές αλκοόλες, το σκουαλένιο και οι πολυφαινόλες, όπως φαίνεται στον Πίνακα 2.5.

Πίνακας 2.5: Επί τοις εκατό σύσταση του κλάσματος των ασαπωνοποιήτων συστατικών σε κύρια βιοδραστικά του ελαιόλαδου και του πυρηνέλαιου (%). Πηγή Kiritsakis 2007.

Κατηγορία ασαπωνοποιήτων συστατικών	Ελαιόλαδο	Πυρηνέλαιο
Σκουαλένιο και άλλοι υδρογονάνθρακες	30-50	20-50
Στερόλες	15	17-25
Τριτερπενικές διαλκοόλες	10	12
Ανώτερες αλειφατικές αλκοόλες (λιπαρές αλκοόλες)	-	16
Καροτενοειδή, τοκοφερόλες και άλλα συστατικά	25-45	35

### 1) Τοκοφερόλες και τοκοτριενόλες

Οι τοκοφερόλες και οι τοκοτριενόλες, είναι αλκοόλες που περιλαμβάνουν τέσσερα ισομερή τοκοφερόλης και τέσσερα ισομερή τοκοτριενόλης, το καθένα χαρακτηριζόμενο ως άλφα (α), βήτα (β), γάμα (γ) και δέλτα (δ) ανάλογα με τον αριθμό και τη θέση των ομάδων μεθυλίου σε έναν δακτύλιο χρωμανίου (chromane).



Εικόνα 2.4: Δομή α-,β-,γ-,δ- τοκοφερολών και τοκοτριενολών

Όπως φαίνεται και στην εικόνα 2.4, οι τοκοφερόλες έχουν κορεσμένη πλευρική αλυσίδα, ενώ οι τοκοτριενόλες έχουν ακόρεστη πλευρική αλυσίδα. Οι τοκοφερόλες και οι τοκοτριενόλες ονομάζονται και βιταμίνη E. Αυτά τα αντιοξειδωτικά αναστέλλουν την οξείδωση των λιπιδίων στα τρόφιμα με τη σταθεροποίηση της υδροϋπεροξυ- και άλλων ελευθέρων ριζών και η παρουσία τους έχει μεγάλη επίδραση στην ποιότητα του ελαίου. Ως προς την αντιοξειδωτική ιδιότητα, η α-τοκοφερόλη είναι η πλέον δραστική ένωση που υπάρχει, ενώ η δραστικότητα των άλλων ενώσεων είναι αρκετά χαμηλότερη σε σχέση με την α-τοκοφερόλη. Η φυσικώς εμφανιζόμενη α-τοκοφερόλη έχει βρεθεί 35% πιο δραστική από εκείνη της

συνθετικής α-τοκοφερόλης. Οι τοκοτριενόλες είναι λιγότερο αποτελεσματικές από τις αντίστοιχες τοκοφερόλες. Η σταθερότητα πολλών φυτικών ελαίων έχει βασιστεί στην παρουσία αυτών των φυσικών αντιοξειδωτικών. Ωστόσο, πολύ υψηλό επίπεδο τοκοφερόλης προωθεί την οξείδωση των ακόρεστων λιπαρών οξέων.

Το ελαιόλαδο περιέχει συνήθως από 100 έως 300 mg/kg ελαίου τοκοφερόλες και αποτελείται σχεδόν εξ ολοκλήρου από α-τοκοφερόλη. Το φυσικό αυτό αντιοξειδωτικό μειώνεται κατά τη διάρκεια κάθε σταδίου εξευγενισμού ενός ελαίου, με τη μεγαλύτερη μείωση να συμβαίνει κατά το στάδιο της απόσμησης. Ο εξευγενισμός μπορεί να αφαιρέσει από το 10 έως και το 20% των τοκοφερολών και των τοκοτριενολών ενός ελαίου, αλλά το 30 έως 60% μπορεί να χαθεί κατά το στάδιο της απόσμησης (O'Brien 2009). Στο πυρηνέλαιο, η περιεκτικότητα σε τοκοφερόλες κυμαίνεται από 100 έως 250 mg/kg ελαίου και επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες, όπως οι συνθήκες αποθήκευσης του ελαιοπυρήνα, οι διεργασίες προκατεργασίας και τα στάδια του εξευγενισμού (Ketenoglu et al. 2018).

## 2) Σκουαλένιο

Το σκουαλένιο είναι ένας ακόρεστος υδρογονάνθρακας,  $C_{30}H_{50}$ , με σημαντικές βιολογικές ιδιότητες. Το σκουαλένιο είναι μία ένωση χαμηλής πυκνότητας που είναι ελαφρύτερη από το νερό με ειδικό βάρος 0,855. Πρόκειται για μεταβολικό πρόδρομο ολόκληρης της οικογένειας των στεροειδών. Η οξείδωση ενός από τους τερματικούς διπλούς δεσμούς σχηματίζει ένα οξείδιο, το οποίο καταλύεται ενζυμικά και μετατρέπεται σε λανοστερόλη και στη συνέχεια σε χοληστερόλη και άλλα στεροειδή. Το σκουαλένιο διαθέτει μέτριες αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Ωστόσο, υπάρχει σημαντική απώλεια αυτών των ιδιοτήτων κατά την αποθήκευση. Ακόμα, το σκουαλένιο έχει χρησιμοποιηθεί επιτυχώς για τη σταθεροποίηση γαλακτωμάτων και για την αύξηση της διαλυτότητας ορισμένων φαρμάκων σε ο/w γαλακτώματα (Κ.Τζιά, Π. Ταούκης, Β.Ωραιπούλου 2009, Kim & Karadeniz 2012).

Το σκουαλένιο στο παρθένο ελαιόλαδο βρίσκεται σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από 700 έως 1200 mg/kg ελαίου και αντιπροσωπεύει περίπου το 50% του ασαπωνοποίητου κλάσματος του ελαίου. Η διαφορά στο πυρηνέλαιο σε σχέση με το ελαιόλαδο είναι η ποσότητα σκουαλενίου, καθώς η περιεκτικότητά του στο πυρηνέλαιο είναι περίπου 3400 g/kg ελαίου, δηλαδή με τον εξευγενισμό μειώνεται αρκετά η ποσότητά του (Ketenoglu et al.2018).

## 3) Στερόλες

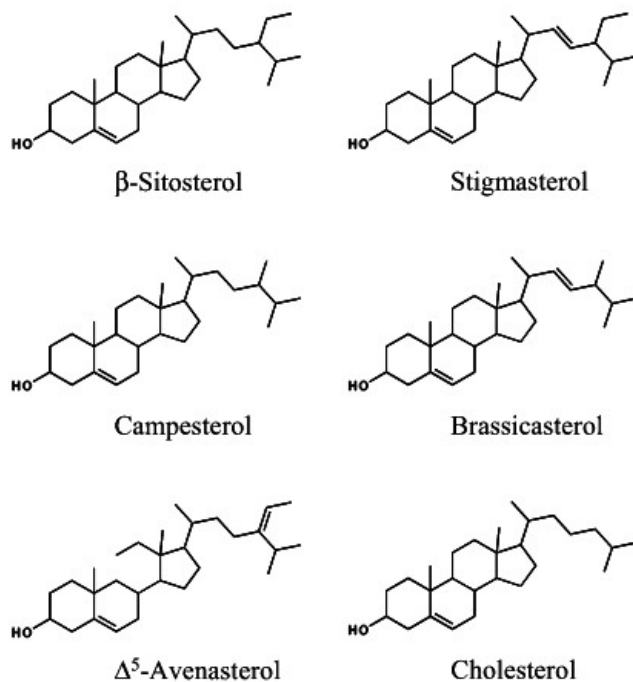
Οι στερόλες αποτελούν ένα από τα δευτερεύοντα συστατικά του ελαιόλαδου και συνιστούν μεγάλο μέρος του ασαπωνοποίητου υλικού. Οι στερόλες έχουν υψηλό σημείο τήξης, είναι άχρωμες και σχετικά αδρανείς. Οι στερόλες είναι χαρακτηριστικές για κάθε έλαιο και χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο της νοθείας των ελαίων (Chanioti & Tzia 2019).

Οι φυτικές στερόλες, γνωστές ως φυτοστερόλες, είναι δομικά ανάλογα της χοληστερόλης, της κύριας στερόλης στα ζωικά λίπη. Οι στερόλες μπορούν να λειτουργήσουν ως αντιοξειδωτικά. Πιστεύεται ότι οι στερόλες μπορούν να δρουν ως

δότες υδρογόνου, με αποτέλεσμα την αναστολή του σταδίου διάδοσης της αλυσιδωτής οξειδωτικής αντίδρασης στα έλαια. Οι στερόλες επηρεάζονται κατά τον εξευγενισμό του ελαίου, όπου προκαλείται απομάκρυνση και ισομερισμός αυτών των ενώσεων (Chaiyasit et al. 2007).

Στο ελαιόλαδο εμφανίζονται τέσσερις κατηγορίες στερολών: οι κοινές στερόλες (4-δεσμεθυλοστερόλες), οι 4α-μεθυλοστερόλες, οι τριτερπενικές αλκοόλες (4,4-διμεθυλοστερόλες) και οι τριτερπενικές διαλκοόλες.

- a) Κοινές στερόλες (4-δεσμεθυλοστερόλες): περιέχονται στο ελαιόλαδο κυρίως σε ελεύθερη και εστεροποιημένη μορφή. Οι βασικότερες στερόλες που ανήκουν σε αυτή την κατηγορία είναι η β-σιτοστερόλη, η Δ5-αβεναστερόλη και η καμπεστερόλη. Άλλες στερόλες που υπάρχουν σε μικρότερες ποσότητες ή σε ίχνη είναι η στιγμαστερόλη, η χοληστερόλη και η βρασσικαστερόλη. Η συνολική περιεκτικότητα του παρθένου ελαιόλαδου σε στερόλες κυμαίνεται μεταξύ 1810 και 2260 mg/kg ελαίου. Σχετικά με την ποσοστιαία σύσταση των στερολών του ελαιόλαδου, ισχύει ότι η β-σιτοστερόλη αποτελεί το 75-90% του ολικού κλάσματος, ενώ η Δ5-αβεναστερόλη κυμαίνεται συνήθως μεταξύ 5% και 20%. Για τα ελληνικά παρθένα ελαιόλαδα έχουν αναφερθεί ποσοστά Δ5-αβεναστερόλης, μέχρι 36%. Από τις άλλες στερόλες που υπάρχουν στο ελαιόλαδο, η καμπεστερόλη και η στιγμαστερόλη αποτελούν το 4% και 2%, αλλά έχουν επίσης προσδιοριστεί και υψηλότερες τιμές. Σε όλες τις περιπτώσεις, το ποσοστό της καμπεστερόλης είναι υψηλότερο από αυτό της στιγμαστερόλης. Η σύσταση και η συνολική περιεκτικότητα στερολών ενός ελαιόλαδου επηρεάζονται από την ποικιλία, το έτος συγκομιδής, το βαθμό ωριμότητας των καρπών, την επεξεργασία, καθώς και από γεωγραφικούς παράγοντες. Η σύσταση των στερολών του ελαιόλαδου επηρεάζεται επίσης από τη διαδικασία εξευγενισμού (Boskou 2011, Aparicio & Luna 2002).



Εικόνα 2.5: Δομή των σημαντικότερων στερολών του ελαιόλαδου.

- b) 4-Μεθυλοστερόλες: περιέχονται στο ελαιόλαδο σε μικρές ποσότητες και αποτελούν ενδιάμεσα συστατικά κατά τη βιοσύνθεση των στερολών. Τα επίπεδα των ολικών 4α-μεθυλοστερολών είναι χαμηλότερα από εκείνα των κοινών στερολών και των τριτερπενικών αλκοολών και κυμαίνονται μεταξύ 50 και 360 mg/kg ελαίου (Aparicio & Luna 2002).
- c) Τριτερπενικές αλκοόλες (4,4-διμεθυλοστερόλες): Οι κυριότερες μορφές αυτού του είδους στερολών στο ελαιόλαδο είναι η β-αμυρίνη και η βουτυροσπερμόλη. Τα συνολικά επίπεδα τριτερπενικής αλκοόλης κυμαίνονται μεταξύ 350 και 1500 mg/kg ελαίου (Aparicio & Luna 2002).
- d) Τριτερπενικές διαλκοόλες: Η ερυθροδιόλη και ουβαόλη είναι οι κύριες τριτερπενικές διαλκοόλες που απαντώνται στο ελαιόλαδο. Η ερυθροδιόλη βρέθηκε να υπάρχει σε ελεύθερη και εστεροποιημένη μορφή. Η περιεκτικότητά της στο ελαιόλαδο επηρεάζεται κυρίως από την ποικιλία. Τα παρθένα ελαιόλαδα βρέθηκαν να περιέχουν συνολική ερυθροδιόλη σε επίπεδα που κυμαίνονται από 19 έως 69 mg/kg ελαίου (Boskou 2011, Aparicio & Luna 2002).

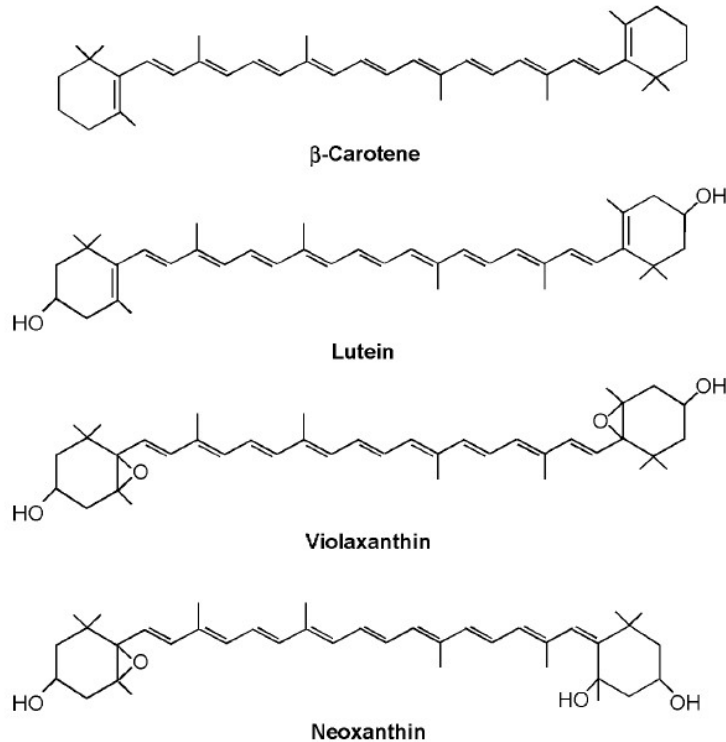
Στο πυρηνέλαιο, η κυριότερη στερόλη με τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα είναι η β-σιτοστερόλη. Η αναφερόμενη περιεκτικότητα β-σιτοστερόλης στο πυρηνέλαιο είναι κατ' ελάχιστο 93% επί του συνόλου των στερολών. Μελέτες έχουν δείξει ότι το πυρηνέλαιο εμφανίζει μεγαλύτερη περιεκτικότητα β-σιτοστερόλης (3390-4300 mg/kg ελαίου) σε σχέση με το ελαιόλαδο (1810-2260 mg/kg ελαίου). Επιπλέον, η συγκέντρωση της καμπεστερόλης, δεν ξεπερνά το 4% του συνολικού περιεχομένου στερολών, και η στιγμαστερόλη εντοπίζεται σε μικρότερη ποσότητα από την καμπεστερόλη. Άλλες στερόλες που υπάρχουν στο έλαιο αυτό σε πολύ μικρές ποσότητες ή ίχνη είναι η χοληστερόλη, η καμπεστανόλη, η στιγμαστερόλη, η

σιτοστανόλη, η 5,24-στιγμασταδιενόλη, η Δ7-στιγμαστερόλη και η Δ7-αβεναστερόλη. Στο ακατέργαστο πυρηνέλαιο αναφέρεται συνολική συγκέντρωση στερολών 2,5 g/kg ελαίου και στο εξευγενισμένο πυρηνέλαιο 1,8 g/kg ελαίου, αντίστοιχα (Chanioti & Tzia 2019, Boskou 2009).

#### 4) Χρωστικές ουσίες

Το χρώμα του παρθένου ελαιόλαδου είναι αποτέλεσμα των πράσινων και κίτρινων αποχρώσεων που οφείλονται στην παρουσία των χρωστικών (χλωροφύλλες και καροτενοειδή). Απαντώνται σε ελεύθερη ή εστεροποιημένη μορφή όπως επίσης και ενωμένες με μία πρωτεΐνη υπό μορφή χρωμοπρωτεϊνών. Πιο συγκεκριμένα, το πράσινο χρώμα οφείλεται σε μία ομάδα πράσινων χρωστικών που ονομάζονται χλωροφύλλες, με τις οποίες γίνεται η φωτοσύνθεση. Οι χλωροφύλλες απαντώνται συνήθως ως φαιοφυτίνες (που αποτελούν προϊόντα αποδόμησής τους) και συνήθεστερα ως φαιοφυτίνη α, αν και φαιοφυτίνη β υπάρχει επίσης σε μικρότερες ποσότητες. Οι χλωροφύλλες και οι φαιοφυτίνες δρουν ως αντιοξειδωτικά στην αυτοοξείδωση του ελαίου. Οι χλωροφύλλες μειώνουν το περιεχόμενο των ελεύθερων ριζών στο έλαιο δίνοντας υδρογόνο σε ελεύθερες ρίζες, και με τον τρόπο αυτό μπορούν να σταματήσουν την αλυσιδωτή οξειδωτική αντίδραση. Παρόλα αυτά, οι χλωροφύλλες αυξάνουν την οξείδωση των λιπιδίων υπό την παρουσία φωτός και έτσι η οξείδωση του παρθένου ελαιόλαδου που περιέχει φαιοφυτίνη αυξάνεται με την παρουσία φωτός. Το παρθένο ελαιόλαδο περιέχει χλωροφύλλες σε ποσότητα περίπου 10 mg/kg ελαίου.

Ακόμη μία ομάδα χρωστικών που απαντάται στο ελαιόλαδο είναι τα καροτενοειδή τα οποία έχουν κίτρινο έως βαθύ κόκκινο χρώμα. Από χημική άποψη θεωρούνται παράγωγα του ισοπρενίου. Οφείλουν το χρώμα τους στην πολυακόρεστη δομή τους με ύπαρξη συζυγιακών διπλών δεσμών. Τα κύρια καροτενοειδή που υπάρχουν στο ελαιόλαδο είναι το β-καροτένιο και η λουτεΐνη ακολουθούμενα από δευτερεύουσες ενώσεις όπως η βιολαξανθίνη, η νεοξανθίνη, η λουτεοξανθίνη, η ανθεραξανθίνη, η μετατοξανθίνη (mutatoxanthin) και η β-κρυπτοξανθίνη. Το παρθένο ελαιόλαδο περιέχει β-καροτένιο 1.0-2.7 mg/kg ελαίου καθώς και λουτεΐνη 0.9-2.3 mg/kg. Η συνολική ποσότητα καροτενοειδών ποικίλλει μεταξύ 1 έως 20 mg/kg ελαίου, ωστόσο συνήθως οι τιμές δεν υπερβαίνουν τα 10 mg/kg ελαίου (Choe 2007).



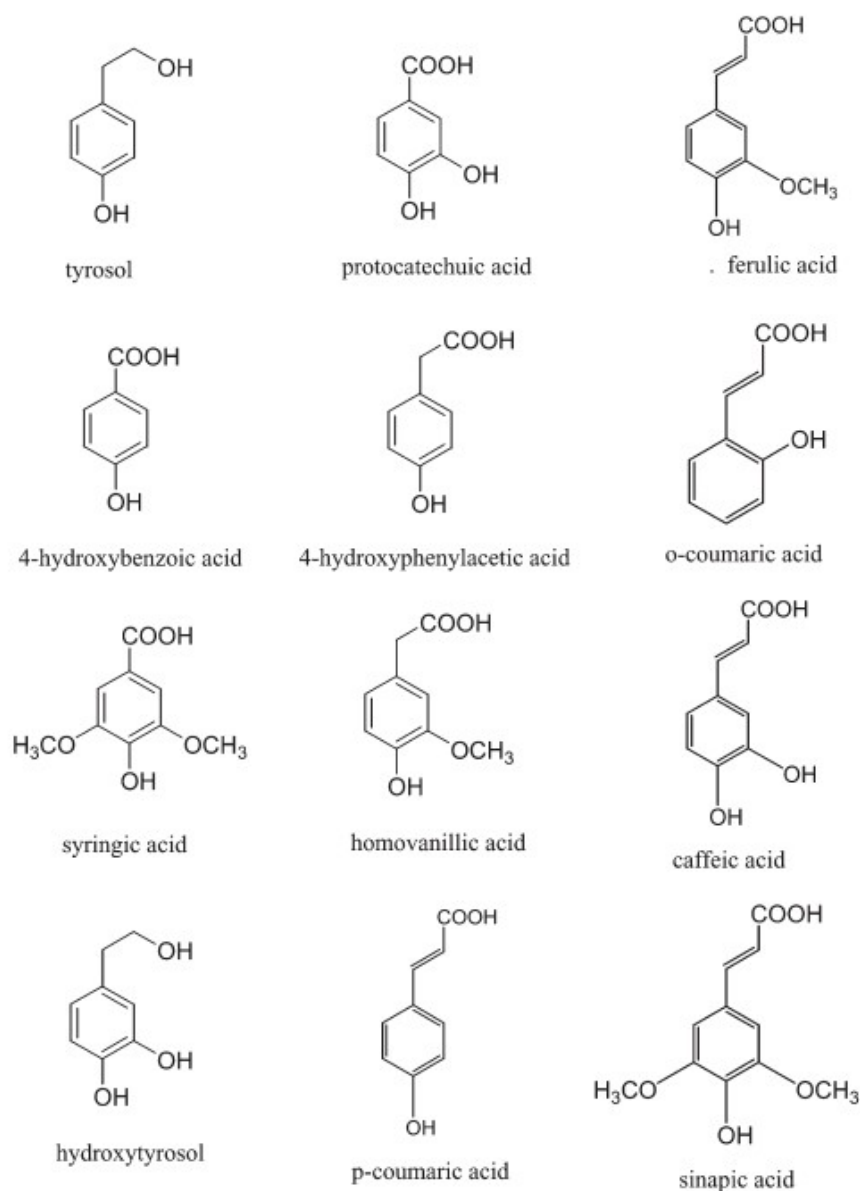
*Εικόνα 2.6: Δομή των καροτενοειδών του ελαιόλαδου.*

### 5) Πολυφαινόλες

Τα φαινολικά συστατικά είναι μία σημαντική κατηγορία βιοδραστικών συστατικών που συνδέονται με τη γεύση και τη διατήρηση του ελαιόλαδου και χαρακτηρίζονται ως «πολυφαινόλες». Οι πολυφαινόλες είναι οι ενώσεις που περιέχουν τουλάχιστον ένα βενζολικό δακτύλιο και ένα ή περισσότερα υδροξύλια στο βενζολικό δακτύλιο, και αποτελούν μέρος του πολικού κλάσματος που λαμβάνεται συνήθως από το έλαιο με εκχύλιση με μεθανόλη-νερό. Περισσότερες από 30 φαινολικές ενώσεις έχουν ανιχνευθεί στο ελαιόλαδο, αλλά δεν υπάρχουν όλες σε κάθε έλαιο. Η μεγάλη ποικιλία πολυφαινολών που υπάρχουν στο ελαιόλαδο είναι διαφορετική σε χημικές δομές και συγκεντρώσεις, ανάλογα με διάφορους παράγοντες όπως η ποικιλία και η περιοχή στην οποία καλλιεργείται η ελιά, οι γεωργικές πρακτικές, η ωριμότητα των ελιών κατά τη συγκομιδή και η επεξεργασία (Boskou 2006, Serreli & Deiana 2018). Το πυρηνέλαιο παρουσιάζει παρόμοιο πολυφαινολικό προφίλ με εκείνο του ελαιόλαδου, διαφέροντας όμως ως προς τις ποσότητες.

Οι φαινολικές ενώσεις του παρθένου ελαιόλαδου και του πυρηνέλαιου ανήκουν σε 4 κατηγορίες:

- τυροσόλη, υδροξυτυροσόλη και τα παράγωγά τους,
- παράγωγα του 4-υδροξυβενζοϊκού, 4-υδροξυφαινυλοξικού και 4-υδροξυκιναμικού οξέος (σε αυτή την κατηγορία ανήκουν το βανιλικό οξύ, το γαλλικό οξύ, το συριγγικό οξύ, το καφεϊκό οξύ, το κουμαρικό οξύ και το συναπικό οξύ)
- λιγνάνες (πινορεζινόλη και 1-ακετοξυπινορεζινόλη) και
- φλαβονοειδή (λουτεολίνη και απιγενίνη) (Boskou 2006).



Εικόνα 2.7: Δομή κυριότερων φαινολικών συστατικών του ελαιόλαδου και του πυρηνέλαιου.

Οι φαινολικές ενώσεις παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στο ελαιόλαδο κυρίως ως αντιοξειδωτικές ουσίες, συνεπώς σχετίζονται με τη σταθερότητα του ελαίου ως προς την αυτοξείδωση αλλά και με τις βιολογικές του ιδιότητες. Το ελαιόλαδο είναι πολύ σταθερό στην αυτοξείδωση, εξαιτίας της δραστηριότητας των πολυφαινολών για την απομάκρυνση των ελεύθερων ριζών, κυρίως στο αρχικό στάδιο της αυτοξείδωσης. Ο τύπος και τα επίπεδα των επιμέρους φαινολικών ενώσεων επηρεάζουν διαφορετικά την αντιοξειδωτική ικανότητα του ελαιόλαδου. Η υδροξυτυροσόλη είναι η πιο αποτελεσματική στη μείωση της αυτοξείδωσης του ελαιόλαδου (Serreli & Deiana 2018).

Το συνολικό φαινολικό κλάσμα αλλάζει κατά την αποθήκευση λόγω υδρολυτικών και οξειδωτικών αντιδράσεων. Η συνολική μείωση της περιεκτικότητας των φαινολών διαπιστώθηκε ότι ακολουθεί αλλαγές στο λιπιδικό υπόστρωμα. Η μείωση

αυτή είναι περιορισμένη (20-30%) υπό μειωμένη διαθεσιμότητα οξυγόνου. Φαίνεται ότι τα επίπεδα τυροσόλης και υδροξυτυροσόλης εμπλουτίζονται συνεχώς λόγω της υδρόλυσης δεσμευμένων φαινολών. Την ίδια στιγμή, η υδροξυτυροσόλη που είναι ασταθής ένωση, οξειδώνεται ταχέως, σε αντίθεση με την τυροσόλη. Η απώλεια σε δεσμευμένες μορφές υδροξυτυροσόλης είναι μεγαλύτερη από αυτή των παραγώγων τυροσόλης (Boskou 2006).

Οι πολυφαινόλες, όπως αναφέρθηκε, έχουν ισχυρή αντιοξειδωτική δράση και ο ρόλος τους στον ανθρώπινο οργανισμό είναι σημαντικός. Αυτές οι ενώσεις χαρακτηρίζονται από ένα ευρύ φάσμα βιολογικών δραστηριοτήτων, καθώς παρουσιάζουν αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες, που τις καθιστούν φυσικούς και αποτελεσματικούς αντικαρκινικούς παράγοντες σε μια ισορροπημένη διατροφή. Οι πολυφαινόλες αποδείχθηκε ότι επιβραδύνουν την πρόοδο των καρδιαγγειακών, νευροεκφυλιστικών και καρκινικών παθήσεων. Ακόμη, οι πολυφαινόλες έχουν αντι-αλλεργική, αντιθρομβωτική και αντι-μεταλλαξογόνο δράση. Έρευνες έχουν αποδείξει ότι οι πολυφαινόλες έχουν την ικανότητα να ρυθμίζουν το ανθρώπινο ανοσοποιητικό σύστημα επηρεάζοντας τον πολλαπλασιασμό και τη δραστηριότητα των λευκών αιμοσφαιρίων, καθώς και την παραγωγή κυτοκινών ή άλλων παραγόντων που συμμετέχουν στην ανοσολογική άμυνα (Gorzynik-Debicka et al. 2018).

Γενικά ο προσδιορισμός του φαινολικού κλάσματος που εφαρμόζεται παγκοσμίως στο εκχύλισμα νερού-μεθανόλης είναι φωτομετρική μέθοδος που βασίζεται στη χρήση του αντιδραστήριου Folin-Ciocalteu και ονομάζεται TPC (total phenolic content). Τα αποτελέσματα εκφράζονται συνήθως ως ισοδύναμα καφεϊκού οξέος (mg καφεϊκού οξέος/kg ελαίου), ενώ και άλλα πρότυπα έχουν χρησιμοποιηθεί. Τα αποτελέσματα μπορεί να διαφέρουν, ανάλογα με το χρησιμοποιούμενο πρότυπο και τη σχετική συγκέντρωση μεμονωμένων ενώσεων, καθώς η γραμμομοριακή απορροφητικότητα ανά δραστική ομάδα από κάθε φαινόλη είναι διαφορετική. Εντούτοις, η συμβατική φωτομετρική μέθοδος εφαρμόζεται ευρέως για τον ποσοτικό προσδιορισμό των συνολικών πολυφαινολών διότι δίνει καλή ένδειξη της σταθερότητας του ελαίου. Γενικά, οι φαινόλες είναι σημαντικές για τη σταθερότητα του ελαίου καθώς ένα υψηλό TPC φαίνεται να είναι επωφελές για τη διάρκεια ζωής του ελαίου και υπάρχει μία καλή συσχέτιση της σταθερότητας και της περιεκτικότητας σε φαινόλες (Boskou 2006).

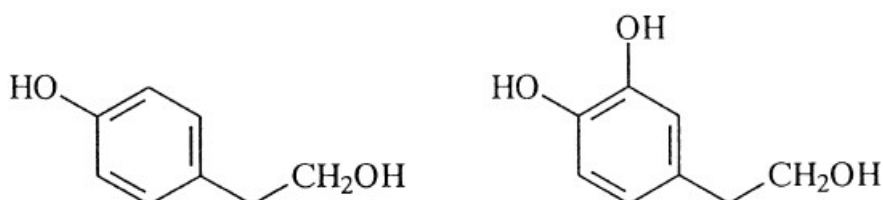
Το ελαιόλαδο παρουσιάζει υψηλή συγκέντρωση σε πολυφαινόλες που φτάνουν τα 600 mg/kg ελαίου. Το πυρηνέλαιο έχει υψηλή συγκέντρωση σε απλές φαινόλες όπως η υδροξυτυροσόλη, η τυροσόλη, το βανιλικό οξύ, η βανιλίνη, το κουμαρικό οξύ κ.α. Η περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά διαφέρει ανάλογα με την ποικιλία, το σύστημα εξαγωγής και τις συνθήκες επεξεργασίας. Η υδροξυτυροσόλη, η τυροσόλη και η κατεχόλη εμφανίζουν τις υψηλότερες συγκεντρώσεις στο πυρηνέλαιο, όπου οι συνολικές τιμές φαινολικών συστατικών ανέρχονται συνήθως μεταξύ 100 και 300 mg/kg ελαίου (Boskou 2011).

### Βιοδραστικά συστατικά που ενσωματώθηκαν

Εκτός από τα ενδογενή βιοδραστικά συστατικά του ελαιόλαδου τα οποία αναπτύχθηκαν παραπάνω, σε αυτή την ενότητα γίνεται ανάπτυξη των βιοδραστικών συστατικών που ενσωματώθηκαν στα νανογαλακτώματα στην παρούσα διπλωματική, τα οποία είναι η τυροσόλη, το φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα και το καφεϊκό οξύ.

#### ❖ Τυροσόλη

Η τυροσόλη (2-(4-υδροξυφαινυλ)αιθανόλη) είναι μία φαινολική αλκοόλη που έχει μόνο μία υδροξυλομάδα σε παρα-θέση, σε αντίθεση με την υδροξυτυροσόλη που έχει δύο υδροξυλομάδες, μία σε παρα-θέση και μία σε μετα-θέση (Εικόνα 2.8). Οι δύο αυτές φαινολικές ενώσεις είναι παρούσες σε διάφορες φυσικές πηγές, και στον καρπό και το έλαιο της ελιάς, και δρουν ως φυσικά αντιοξειδωτικά. Η σχέση αντιοξειδωτικής δραστηριότητας έδειξε ότι η τυροσόλη δεσμεύει ελεύθερες ρίζες με την υδροξυλομάδα (λειτουργεί δηλαδή ως radical scavenger), ή δρα ως αναγεννητής της α-τοκοφερόλης αλλά, καθώς έχει μόνο μία υδροξυλομάδα σε παρα-θέση, η δράση της ως αντιοξειδωτικό είναι κάπως περιορισμένη σε σχέση με τα άλλα φαινολικά αντιοξειδωτικά που υπάρχουν στους καρπούς και το έλαιο της ελιάς. Στην υδροξυτυροσόλη, η υδροξυλομάδα στη μετα-θέση συμβάλλει σε υψηλότερη αντιοξειδωτική ισχύ από την τυροσόλη. Η τυροσόλη έχει αποδειχθεί ότι προλαμβάνει έναν αριθμό ασθενειών που προκαλούνται από οξειδωτικό στρες, καθώς είναι επιβλαβές για τους ιστούς και την κυτταρική ανάπτυξη. Εκτός από την αντιοξειδωτική δράση της, η τυροσόλη έχει χαρακτηριστεί ως αντιμικροβιακός παράγοντας και ως αναστολέας συσσωμάτωσης αιμοπεταλίων (Bonechi et al. 2019, Yanishlieva 2001).

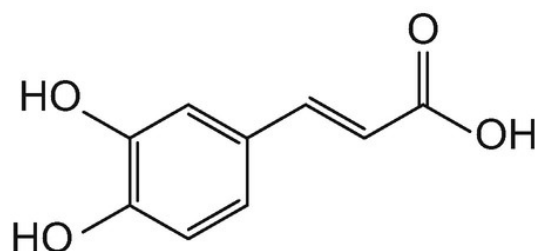


Εικόνα 2.8: Δομή (α)τυροσόλης και (β)υδροξυτυροσόλης.

#### ❖ Καφεϊκό οξύ

Το καφεϊκό οξύ (ή αλλιώς 3,4-διυδροξυκινναμικό οξύ) ανήκει στην κατηγορία των υδροξυκινναμικών οξέων, όπως και το κουμαρικό, το φερουλικό και το σιναπικό οξύ. Τα υδροξυκινναμικά οξέα έχουν πολλά οφέλη για την υγεία όπως αντιφλεγμονώδη, αντιβακτηριακή, αντικαρκινογόνο και αντιοξειδωτική δράση. Το καφεϊκό οξύ, καθώς και όλα τα υδροξυκινναμικά οξέα, είναι αποτελεσματικό έναντι του φωτο-οξειδωτικού στρες και έχει ισχυρή αντιοξειδωτική δράση ως δεσμευτής ελεύθερων ριζών (radical scavenger), η οποία αποδίδεται στις υδροξυλομάδες του μεταξύ άλλων παραγόντων που καθορίζουν την ισχύ του ως αποτελεσματικό αντιοξειδωτικό. Ακόμη, το καφεϊκό οξύ και τα παράγωγά του έχει βρεθεί ότι έχουν αντηλιακή δράση απορροφώντας τις

UVA και UVB ηλιακές ακτινοβολίες και χρησιμοποιούνται ως πρόσθετα σε καλλυντικά προϊόντα (Shahidi & Chandrasekara 2010).



Εικόνα 2.9: Δομή του καφεϊκού οξέος.

#### ❖ Φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα

Ο ελαιοπυρήνας θεωρείται πλούσια πηγή φαινολικών συστατικών, συγκεντρώνοντας το 98% των συνολικών φαινολικών συστατικών του ελαιόκαρπου. Σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες οι ενώσεις αυτές παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον, καθώς παρέχουν οφέλη που προάγουν την ανθρώπινη υγεία. Συγκεκριμένα, έχει αποδειχθεί ότι εμφανίζουν βιοδραστικές ιδιότητες, όπως αντική, αντιμικροβιακή, αντιοξειδωτική, αντιφλεγμονώδη και αντικαρκινογόνο δράση (Chanioti 2019).

### 2.3 Γαλακτώματα νερού σε ελαιόλαδο (water-in-olive oil) και ενσωμάτωση βιοδραστικών συστατικών

Γενικά, οι κολλοειδείς ιδιότητες ενός γαλακτώματος καθώς και η θερμοδυναμική και κινητική του αστάθεια, εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από τα εγγενή χαρακτηριστικά του συστήματος και ειδικότερα από την παρουσία συστατικών, τα οποία μπορεί είτε θετικά είτε αρνητικά να επηρεάσουν τις χημικές και φυσικοχημικές ιδιότητες της διεσπαρμένης και της συνεχούς φάσης και της μεταξύ τους **διεπιφάνειας**. Η φύση της διεπιφάνειας νερού-ελαίου παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στον καθορισμό της κινητικής και οξειδωτικής σταθερότητας του γαλακτώματος, καθώς αρκετές αμφίφιλες ενώσεις συμμετέχουν στη σύνθεσή της. (Di Mattia et al. 2015, Di Mattia et al. 2011, Mosca et al. 2008).

Το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο, όπως αναφέρθηκε, έχει αρκετά περίπλοκη σύνθεση (π.χ. ελεύθερα λιπαρά οξέα, φωσφολιπίδια και πολυφαινόλες), η οποία ποικίλει ανάλογα με διάφορους παράγοντες. Επίσης, τα δείγματα ελαιόλαδου που λαμβάνονται μετά τη διαδικασία μηχανικής ανάκτησης, χωρίς περαιτέρω διήθηση, ενδέχεται να περιέχουν μικρά εναιωρήματα νερού και σωματιδίων με μέση περιεκτικότητα σε νερό 0,19% κατά βάρος. Δεδομένου ότι το νερό είναι μη αναμίξιμο με το ελαιόλαδο, μπορεί να θεωρηθεί ότι αυτά τα μικροσταγονίδια νερού σταθεροποιούνται ως κολλοειδείς ενώσεις από μικρές ενδογενείς αμφίφιλες ουσίες που έχουν γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες. Μάλιστα, έχει επιβεβαιωθεί ότι ορισμένα ενδογενή φαινολικά συστατικά του ελαιόλαδου λειτουργούν ως επιφανειοδραστικά αμφίφιλα μόρια και μπορεί να επηρεάσουν το σχηματισμό των διεπιφανειών ελαίου-νερού και την κινητική σταθερότητα των γαλακτωμάτων. Τέτοια φαινολικά

συστατικά είναι το γαλλικό οξύ, η **τυροσόλη**, η ελευρωπαϊνή, η απιγενίνη, το συριγγικό οξύ, το trans-κιναμωμικό οξύ, το **καφεϊκό οξύ** και η κατεχίνη. Επομένως, εκτός από τις αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες, αυτά τα ενδογενή βιοδραστικά συστατικά του ελαιόλαδου αναμένεται επίσης ότι μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά τόσο τον βαθμό διασποράς όσο και την σταθερότητα του γαλακτώματος, καθώς σε κάποιες περιπτώσεις δρουν συμπληρωματικά με τον γαλακτωματοποιητή και επηρεάζουν τη διεπιφάνεια ελαίου-νερού (Polychniatou & Tzia 2018, Katsouli et al. 2017).

Όσον αφορά στην οξειδωτική σταθερότητα των γαλακτωμάτων νερού σε ελαιόλαδο, έχει επιβεβαιωθεί ότι η οξείδωση είναι μια αντίδραση η οποία αρχίζει στη διεπιφάνεια ελαίου-νερού και επηρεάζεται τόσο από την παρουσία προ-οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών ενώσεων όσο και από τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των διαφόρων συστατικών του συστήματος. Όταν λοιπόν ενσωματώνεται ένα αντιοξειδωτικό συστατικό σε ένα w/o γαλακτώμα επηρεάζει τη διεπιφανειακή συμπεριφορά. Η δραστηριότητα ενός αντιοξειδωτικού στα πολυφασικά συστήματα εξαρτάται εν μέρει από την αποτελεσματική συγκέντρωσή του στις διάφορες φάσεις, η οποία, με τη σειρά της, σχετίζεται με τη χημική συγγένεια και την πολικότητα του μορίου. Ακόμη, σημαντικό ρόλο στην δραστηριότητα ενός ενσωματωμένου αντιοξειδωτικού παίζει και η κατανομή μεγέθους των σταγονιδίων, η συγκέντρωση και η σύσταση της διεσπαρμένης φάσης. Σε αυτό το πλαίσιο, σημαντικό είναι να τονισθεί ότι έχει επαληθευτεί ότι και απουσία βιοδραστικών συστατικών και μόνο με την παρουσία νερού (δηλαδή ως τυφλό γαλακτωματοποιημένο έλαιο), η αντιοξειδωτική ικανότητα λαμβάνει χώρα ούτως ή άλλως, και η διάρκεια ζωής του ελαίου εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά του w/o γαλακτώματος (Mosca et al. 2013, Mosca et al. 2008, Di Mattia et al. 2009).

Συνεπώς, είναι πολύ δύσκολο να προβλεφθούν οι κολλοειδείς ιδιότητες και η οξειδωτική σταθερότητα ενός w/o γαλακτώματος με βάση το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο, καθώς οι μεταβολές των φυσικοχημικών ιδιοτήτων φαίνεται να σχετίζονται τόσο με την παρουσία και το περιεχόμενο των πολυφαινολικών ενώσεων, οι οποίες επιβεβαιώνεται ότι διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στο σχηματισμό και στη σταθεροποίηση των γαλακτωμάτων, όσο με την κατά τα άλλα περίπλοκη χημική σύνθεση του εξαιρετικά παρθένου ελαιόλαδου.

## Κεφάλαιο 3: Πειραματικό μέρος

### 3.1 Σκοπός

Στην παρούσα διπλωματική εργασία παρασκευάζονται w/o νανογαλακτώματα με φυτικά έλαια και με χρήση χημικών μη-ιοντικών γαλακτωματοποιητών ή/και με ενσωμάτωση βιοδραστικών συστατικών, με σκοπό τη μελέτη των φυσικοχημικών ιδιοτήτων τους, της σταθερότητάς τους και της διατήρησης των ενσωματούμενων συστατικών και της αντιοξειδωτικής ικανότητάς τους κατά την αποθήκευση. Για τη διεξαγωγή της έρευνας χρησιμοποιήθηκαν εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο και εξευγενισμένο πυρηνέλαιο και χημικοί μη-ιοντικοί γαλακτωματοποιητές (Span 20<sup>TM</sup> και Tween 20<sup>TM</sup>), ενώ τα βιοδραστικά συστατικά που χρησιμοποιήθηκαν ήταν η τυροσόλη, το καφεϊκό οξύ και ένα φαινολικό εκχύλισμα από ελαιοπυρήνα. Η σταθερότητα των γαλακτωμάτων μελετάται μέσω των μετρήσεων της μέσης διαμέτρου των σταγονιδίων (MDD) και του δείκτη πολυδιασποράς (PDI), ενώ η διατήρηση των ενσωματωμένων βιοδραστικών συστατικών υπολογίζεται ως ολικό φαινολικό περιεχόμενο TPC (σε mg GAE/g γαλακτώματος) και η αντιοξειδωτική ικανότητά τους ως DPPH (σε mg Trolox/g γαλακτώματος) κατά την αποθήκευση σε δύο θερμοκρασίες (T=25°C και T=3°C).

### 3.2 Υλικά – Μέθοδοι

#### 3.2.1 Πρώτες ύλες και αντιδραστήρια

Τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν κατά την εκτέλεση των πειραμάτων ήταν:

- Εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο (Μινέρβα Α.Ε.)
- Ραφινρισμένο Πυρηνέλαιο

Οι γαλακτωματοποιητές ήταν από την Across Organics (New Jersey, USA):

- Tween 20<sup>TM</sup> (μονολαυρική πολυοξυαιθυλενο-σορβιτάνη)
- Span 20<sup>TM</sup> (μονολαυρική –σορβιτάνη)

Τα βιοδραστικά συστατικά:

- Τυροσόλη
- Καφεϊκό οξύ
- Φαινολικό εκχύλισμα από ελαιοπυρήνα (εργαστηριακά παρασκευασμένο)
- Απιονισμένο νερό (ως υδατική φάση).

#### 3.2.2 Συσκευές - Σκεύη

- Υδατόλουτρο (Kotterman Labortechnik, type 3047 West Germany)
- Ομογενοποιητής υψηλής ταχύτητας (CAT Unidrive 1000 Homogenizer, CAT Scientific, Ca., USA)
- Συσκευή υπερήχων (High intensity ultrasonic processor, Microprocessor controlled, 400W)

- Ιξωδόμετρο (Brookfield DV-II Pro Viscometer, Brookfield Engineering Laboratories, Middleboro, MA)
- Θολοσίμετρο (HACH 2100N, Loveland, Co, USA)
- Αναλυτής σκέδασης φωτός (Zetasizer nano-zs 2000, Malvern Instruments Ltd, UK)
- Διαθλασίμετρο (B&C 32400 ABBE)
- Φωτόμετρο (Hitachi, U-2900 UV/Vis)
- Vortex mixer (Velp Scientifica)
- Αναλυτικός ζυγός ακριβείας
- Μαγνητικός αναδευτήρας με θερμαινόμενη πλάκα (Velp Scientifica)
- Αυτόματες πιπέτες και
- Υάλινα σκεύη (Ποτήρια ζέσεως, Δοκιμαστικοί σωλήνες).

### 3.2.3 Παρασκευή γαλακτωμάτων - Επεξεργασία δειγμάτων

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

1. Σε ποτήρι ζέσεως ζυγίζεται κατάλληλη ποσότητα εξαιρετικού παρθένου ελαιόλαδου ή πυρηνέλαιου, αντίστοιχα.
2. Σε ποτήρι ζέσεως διαλυτοποιείται προκαθορισμένη ποσότητα του εκάστοτε βιοδραστικού συστατικού σε απιονισμένο νερό (1% κ.β.) για την παραγωγή της υδατικής φάσης. Η ποσότητα του βιοδραστικού συστατικού έχει ζυγιστεί σε ζυγό ακριβείας. Στην περίπτωση των τυφλών δειγμάτων δεν προστίθεται βιοδραστικό.
3. Προσθήκη σε κάθε ένα από τα παρασκευασθέντα δείγματα ελαίου ποσότητας του εκάστοτε γαλακτωματοποιητή σε προκαθορισμένες ποσότητες 2%, 3%, 4% και 5% κατά βάρος του τελικού μίγματος.
4. Γίνεται προσθήκη κατάλληλης ποσότητας υδατικής φάσης (3% ή 5% κ.β.) στάγδην στα δείγματα ελαίου με το γαλακτωματοποιητή και έπειτα πραγματοποιείται πρωτογενής ομογενοποίηση στον ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας υπό έντονη ανάδευση (8000 rpm) σε θερμοκρασία 40°C για 10 min.
5. Ακολουθεί δευτερογενής ομογενοποίηση μέσω της χρήσης υπερήχων για 10 min σε κάθε δείγμα.

Στη συνέχεια τα δείγματα αποθηκεύονται σε σκοτεινό μέρος, όπως προαναφέρθηκε σε δύο θερμοκρασίες ( $T=25^{\circ}\text{C}$  και  $T=3^{\circ}\text{C}$ ), ώστε να πραγματοποιηθούν οι υπόλοιπες μετρήσεις που αφορούν τον έλεγχο της σταθερότητας και της διατήρησης του βιοδραστικού συστατικού και της αντιοξειδωτικής ικανότητάς τους.

### 3.2.4 Αναλύσεις

#### 1. Μέτρηση ιξώδους

Το ιξώδες των γαλακτωμάτων μετρείται με το ιξωδόμετρο Brookfield. Συγκεκριμένα σε θερμοκρασία δωματίου 25°C προστίθεται το προς μέτρηση γαλάκτωμα σε ειδικό δοχείο. Στη συνέχεια επιλέγεται το στέλεχος S61 και λαμβάνεται η μέτρηση. Τα

συγκεκριμένα γαλακτώματα είναι νευτωνικά ρευστά, επομένως η τιμή που προκύπτει από το όργανο αρκεί για τον προσδιορισμό των ρεολογικών χαρακτηριστικών των δειγμάτων.

Εξοπλισμός:

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



*Εικόνα 3.1: Ιξωδόμετρο Brookfield*

Διαδικασία:

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

## **2. Μέτρηση θολότητας**

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

Εξοπλισμός:

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

Διαδικασία:

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





*Εικόνα 3.3: Zetasizer Nano-zs 2000*

#### **4. Μέτρηση Δείκτη διάθλασης**

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

Διαδικασία:

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



*Εικόνα 3.4: Διαθλασίμετρο (B&C 32400 ABBE)*

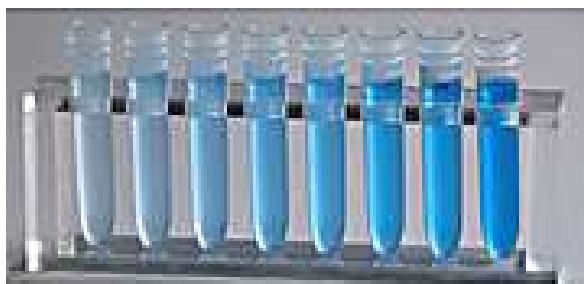
#### **5. Μέτρηση ολικού φαινολικού περιεχομένου (Total Phenolic Content)**

Το ολικό φαινολικό περιεχόμενο των νανογαλακτωμάτων προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας τη μέθοδο Folin-Ciocalteu. Η μέθοδος Folin-Ciocalteu (FC) βασίζεται σε μία χημική αναγωγή του αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu, ενός μίγματος οξειδίων του βολφραμίου και του μολυβδαινίου. Τα προϊόντα της αναγωγής του αντιδραστηρίου FC έχουν μπλε χρώμα, που έχει τη μέγιστη απορρόφηση στα 765 nm.

Η ένταση του φωτός απορρόφησης σε εκείνο το μήκος κύματος είναι ανάλογη με τη συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών. Μέσω της έντασης απορρόφησης γίνεται αναγωγή σε φαινολικά συστατικά. Ωστόσο, για να ληφθούν τα φαινολικά συστατικά από το γαλάκτωμα ακολουθείται η εξής διαδικασία. Αρχικά, ποσότητα 2 g του νανογαλακτώματος διαλύεται σε 5 mL εξανίου. Το στρώμα εξανίου εκχυλίζεται διαδοχικά με 3 mL διαλύματος 80:20 μεθανόλη:νερό (δύο φορές). Το μεθανολικό εκχύλισμα λαμβάνεται με χρήση διαχωριστικής χοάνης. Στη συνέχεια το μεθανολικό εκχύλισμα χρησιμοποιείται για προσδιορισμό του TPC είτε αυτούσιο είτε με αραιώση με μεθανόλη, εάν αυτό είναι απαραίτητο. Στη συνέχεια, 200  $\mu$ L κατάλληλα αραιωμένου δείγματος μεθανολικού εκχυλίσματος προστίθενται σε 4,8 mL απεσταγμένου νερού και 500  $\mu$ L Folin-Ciocalteu. Μετά από ανάδευση σε vortex, προστίθεται στο μίγμα 1,5 mL διαλύματος 20% (w/v) ανθρακικού νατρίου. Τα αντιδραστήρια αναμιγνύονται και ακολουθεί επώαση του διαλύματος για 30 min σε λουτρό θέρμανσης στους 40°C. Στη συνέχεια, μετρείται η απορρόφηση του διαλύματος στα 765 nm με φασματοφωτόμετρο (Hitachi, U-2900 UV/Vis). Οι τιμές των μετρήσεων παρεμβάλλονται σε καμπύλη βαθμονόμησης γαλλικού οξέος από όπου υπολογίζεται το ολικό φαινολικό περιεχόμενο και εκφράζεται ως ισοδύναμα mg γαλλικού οξέος (Gallic acid equivalents, GAE) ανά g νανογαλακτώματος.

#### Εξοπλισμός/Αντιδραστήρια:

- Δείγματα νανογαλακτωμάτων
- Γαλλικό οξύ
- Αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu (FC), αποθηκευμένο σε σκοτεινό μέρος
- Κορεσμένο διάλυμα ανθρακικού νατρίου  $\text{Na}_2\text{CO}_3$
- Δοκιμαστικοί σωλήνες και άλλα γυάλινα σκεύη
- Υδατόλουτρο
- Φασματοφωτόμετρο ρυθμισμένο στα 765 nm
- Κυψελίδα χαλαζία.



*Εικόνα 3.5: Μέθοδος Folin-Ciocalteu (FC)*

#### **6. Μέτρηση αντιοξειδωτικής ικανότητας (DPPH)**

Ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας των νανογαλακτωμάτων έγινε με τη μέθοδο DPPH (2,2 -διφαινυλ-1-πικρυλδραζόλιο) των Brand-Williams, Cuvelier, & Berset, (1995). Το DPPH είναι μία από τις λίγες σταθερές και εμπορικά διαθέσιμες

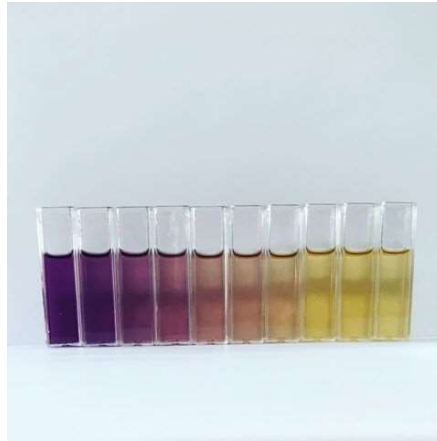
ελεύθερες ρίζες με έντονο ιώδες χρώμα. Τα αντιοξειδωτικά συστατικά του προς ανάλυση δείγματος δεσμεύουν αυτή την ελεύθερη ρίζα, οδηγώντας στον αποχρωματισμό του διαλύματος από έντονο ιώδες σε υποκίτρινο. Η μεταβολή της απορρόφησης μετρείται στα 515 nm. Το αποτέλεσμα για την αντιοξειδωτική ικανότητα των νανογαλακτωμάτων υπολογίζεται ως IC50 (g νανογαλακτώματος/g DPPH). Το ποσοστό της δέσμευσης της DPPH ρίζας εκτιμώνται από το ποσοστό του εναπομένοντος αντιδραστήριου DPPH (% rem) είναι ανάλογο της συγκέντρωσης της αντιοξειδωτικής ουσίας. Η συγκέντρωση του εκχυλίσματος που προκαλεί μείωση στην αρχική συγκέντρωση του DPPH κατά 50% ορίζεται ως IC50. Συνεπώς όσο μικρότερη ποσότητα δείγματος απαιτείται ανά 1 g DPPH, τόσο πιο μεγάλη είναι η αντιοξειδωτική ικανότητα του υλικού.

#### Εξοπλισμός/Αντιδραστήρια:

- Δείγματα νανογαλακτωμάτων
- Trolox (για την καμπύλη αναφοράς)
- DPPH (2,2 -διφαινυλ-1-πικρυλυδραζίλιο)
- Δοκιμαστικοί σωλήνες
- Γυάλινα σκεύη
- Φασματοφωτόμετρο ρυθμισμένο στα 515 nm
- Κυψελίδα χαλαζία

#### Διαδικασία παρασκευής διαλύματος και μέτρηση:

Για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων παρασκευάζεται κάθε φορά νέο διάλυμα DPPH (2,2 -διφαινυλ-1-πικρυλυδραζίλιο). Συγκεκριμένα, 0,025g DPPH ζυγίζονται σε ζυγό ακριβείας και στη συνέχεια διαλύονται σε 100 mL μεθανόλης. Το διάλυμα τοποθετείται σε σκοτεινό χώρο με χαμηλή θερμοκρασία (ψυγείο) και χρησιμοποιείται πάντα εντός της ημέρας. Οι μετρήσεις της αντιοξειδωτικής ικανότητας κάθε δείγματος στη συνέχεια γίνονται απευθείας στο διάλυμα DPPH καθώς 3,9 mL φρεσκοπαρασκευασμένου διαλύματος τοποθετούνται σε δοκιμαστικούς σωλήνες και στη συνέχεια προστίθεται 0,1 mL γαλακτώματος. Σε περίπτωση που είναι απαραίτητη η αραιώση του γαλακτώματος, το γαλάκτωμα αραιώνεται με εξάνιο σε αναλογία 1:1 ή 1:2 και από το αραιωμένο αυτό διάλυμα λαμβάνεται 0,1 mL που προστίθεται στα 3,9 mL DPPH. Μετά από ανάδευση σε vortex όλα τα δείγματα τοποθετούνται για 15 min σε σκοτεινό μέρος και στη συνέχεια φωτομετρούνται στα 515 nm. Η τιμή της διαφοράς της απορρόφησης του δείγματος σε σχέση με το διάλυμα DPPH αποτελεί τη μέτρηση που παρεμβάλλεται σε καμπύλη βαθμονόμησης Trolox από όπου υπολογίζεται τελικά η αντιοξειδωτική ικανότητα των γαλακτωμάτων σε mg Trolox/g νανογαλακτώματος.



Εικόνα 3.6: Μέθοδος DPPH

### 3.3 Σχεδιασμός πειραμάτων

Συνοπτικά στους παρακάτω πίνακες παρουσιάζονται οι συστάσεις γαλακτωμάτων που παρασκευάστηκαν, δηλαδή τα κατά βάρος τελικού μίγματος ποσοστά υδατικής φάσης και συστήματος γαλακτωματοποιητών.

Πίνακας 3.1: Σύσταση ναογαλακτωμάτων - Ποσοστά υδατικής φάσης και συστήματος γαλακτωματοποιητών που εφαρμόστηκαν στα γαλακτώματα.

Είδος ελαίου	Είδος Γαλακτωματοποιητή	% Υδατικής φάσης	% Γαλακτωματοποιητή
Ελαιόλαδο	Tween 20-Span 20 (1:1)	3%	2%
		3%	3%
		5%	4%
		5%	5%
Πορηνέλαιο	Span 20	3%	2%
		3%	3%
		5%	4%
		5%	5%

Σημειώνεται ότι τα συστήματα γαλακτωματοποιητών επιλέχθηκαν πειραματικά. Επίσης, τα ποσοστά της υδατικής φάσης που εφαρμόστηκαν ήταν 3% και 5% κατά βάρος επί του τελικού μίγματος και τα ποσοστά του συστήματος γαλακτωματοποιητών που εφαρμόστηκαν ήταν 2% και 3% κατά βάρος τελικού μίγματος στο ποσοστό υδατικής φάσης 3% και 4% και 5% κατά βάρος τελικού μίγματος στο ποσοστό υδατικής φάσης 5%. Η ενσωμάτωση των βιοδραστικών συστατικών γίνεται στην υδατική φάση σε ποσοστό 1% κατά βάρος της υδατικής φάσης. Οι σειρές πειραμάτων που διεξήχθησαν ήταν τέσσερις, κάθε μία χαρακτηριζόμενη από το βιοδραστικό συστατικό που ενσωματώθηκε όπως παρουσιάζονται στον πίνακα 3.2.

Πίνακας 3.2: Σειρές πειραμάτων σύμφωνα με το βιοδραστικό συστατικό που ενσωματώθηκε.

Σειρά	Είδος βιοδραστικού συστατικού	Πυρηνέλαιο	Ελαιόλαδο
1 <sup>η</sup>	Τυφλά	Τυφλά γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο	Τυφλά γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο
2 <sup>η</sup>	Φαινολικό εκχύλισμα	Γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένο φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα	Γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο με ενσωματωμένο φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα
3 <sup>η</sup>	Τυροσόλη	Γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένη τυροσόλη	Γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο με ενσωματωμένη τυροσόλη
4 <sup>η</sup>	Καφεϊκό οξύ	Γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ	Γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ

Όλα τα παρασκευασμένα γαλακτώματα εξετάστηκαν ως προς τη μέση διάμετρο των σταγονιδίων (MDD), το δείκτη πολυδιασποράς (PDI), τις φυσικοχημικές ιδιότητες (θολότητα, ιξώδες, δείκτη διάθλασης) καθώς και το ολικό φαινολικό περιεχόμενό τους (TPC) και την αντιοξειδωτική ικανότητά τους (DPPH).

### 3.4 Στατιστική επεξεργασία

Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων που προέκυψαν από τα πειράματα πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του λογισμικού STATISTICA (StatSoft. Inc, Chicago, IL, USA). Χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της ανάλυσης διακύμανσης (ANOVA) και έγινε χρήση του κριτηρίου διαφοράς Duncan's test με βαθμό εμπιστοσύνης 95% ( $p < 0.05$ ) για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων των μετρήσεων.

Επίσης, εφαρμόστηκε η Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (Principal Component Analysis - PCA) μέσω του λογισμικού STATISTICA (StatSoft. Inc, Chicago, IL, USA) για τη συσχέτιση όλων των αποτελεσμάτων των μετρήσεων.

## Κεφάλαιο 4: Αποτελέσματα και συζήτηση αποτελεσμάτων

Προκειμένου να διερευνηθεί η δυνατότητα παρασκευής σταθερών w/o νανογαλακτωμάτων με λιπαρή φάση εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο και εξευγενισμένο πυρηνέλαιο και με κατάλληλα συστήματα γαλακτωματοποιητών, ή/και με ενσωμάτωση βιοδραστικών συστατικών (φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα, τυροσόλη, καφεϊκό οξύ) είναι ιδιαίτερα χρήσιμο να γίνει ο προσδιορισμός και η μελέτη των ιδιοτήτων τους καθώς και της σταθερότητάς τους κατά την αποθήκευση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος ή σε ψύξη. Οι ιδιότητες που εξετάστηκαν είναι η

διάμετρος των σταγονιδίων (MDD), ο δείκτης πολυδιασποράς (PDI), οι φυσικοχημικές ιδιότητες (θολότητα, ιξώδες, δείκτη διάθλασης) καθώς και το ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC) και η αντιοξειδωτική ικανότητα (DPPH) των γαλακτωμάτων

#### 4.1 Διερεύνηση συστήματος γαλακτωματοποιητών για τα νανογαλακτώματα ανά λιπαρή φάση

Η πρώτη επιλογή γαλακτωματοποιητή στην περίπτωση των w/o νανογαλακτωμάτων ήταν ο χημικός μη-ιοντικός γαλακτωματοποιητής Span 20, ο οποίος ως λιπόφιλος θεωρήθηκε κατάλληλος για αυτή την εφαρμογή. Πράγματι, απέδωσε ικανοποιητικά αποτελέσματα για το πυρηνέλαιο, όπως φαίνεται στον πίνακα 4.1.

Πίνακας 4.1: Μετρήσεις MDD και PDI των γαλακτωμάτων με βάση το πυρηνέλαιο για τον γαλακτωματοποιητή Span 20.

Είδος Δείγματος	Μέση διάμετρος σταγονιδίων MDD (nm)	Δείκτης πολυδιασποράς (PDI)
3% w/o, 2% Span 20	505	0,214
3% w/o, 3% Span 20	557,3	0,213
5% w/o, 4% Span 20	534	0,109
5% w/o, 5% Span 20	525,8	0,209

Ωστόσο, στην περίπτωση των γαλακτωμάτων με βάση το ελαιόλαδο, τα αποτελέσματα δεν ήταν ικανοποιητικά μόνο με τον Span 20, καθώς οι τιμές MDD και PDI που προέκυψαν ήταν αρκετά υψηλές, όπως φαίνεται και στον πίνακα 4.2, συνεπώς έγιναν δοκιμές και με άλλα συστήματα γαλακτωματοποιητών.

Πίνακας 4.2: Μετρήσεις MDD και PDI των γαλακτωμάτων με βάση το ελαιόλαδο για τις δοκιμές με διάφορα συστήματα γαλακτωματοποιητών.

Είδος Δείγματος	Μέση διάμετρος σταγονιδίων MDD (nm)	Δείκτης πολυδιασποράς (PDI)
3% w/o, 2% Span 20	5,216*10 <sup>4</sup>	0,573
3% w/o, 3% Span 20	7,391*10 <sup>4</sup>	1,00
3% w/o, 3% Tween 20	548,3	0,122
3% w/o, 3% Span 80	661,1	1,00
5%w/o, 5% Tween 20/Span 20 (1:1)	213,8	0,134
5%w/o, 5% Tween 20/Span 80 (1:1)	642,8	0,327

Από τα συστήματα γαλακτωματοποιητών που εξετάστηκαν για τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο επιλέχθηκε ως καλύτερο το σύστημα αυτό των χημικών μη-ιοντικών γαλακτωματοποιητών Tween 20/Span 20 σε αναλογία 1:1, καθώς παρέιχε τις χαμηλότερες τιμές MDD και PDI.

## 4.2 Αποτελέσματα

Τα πειραματικά αποτελέσματα αναλύονται πρώτα ανά σειρά πειραμάτων (τυφλά και με ενσωματωμένα βιοδραστικά συστατικά) και επιμέρους ανά λιπαρή φάση (πυρηνέλαιο, ελαιόλαδο) χωριστά, και στη συνέχεια γίνεται σύγκριση των αποτελεσμάτων μεταξύ των διαφόρων ενσωματούμενων βιοδραστικών συστατικών.

### 4.2.1 1<sup>η</sup> Σειρά (τυφλά γαλακτώματα)

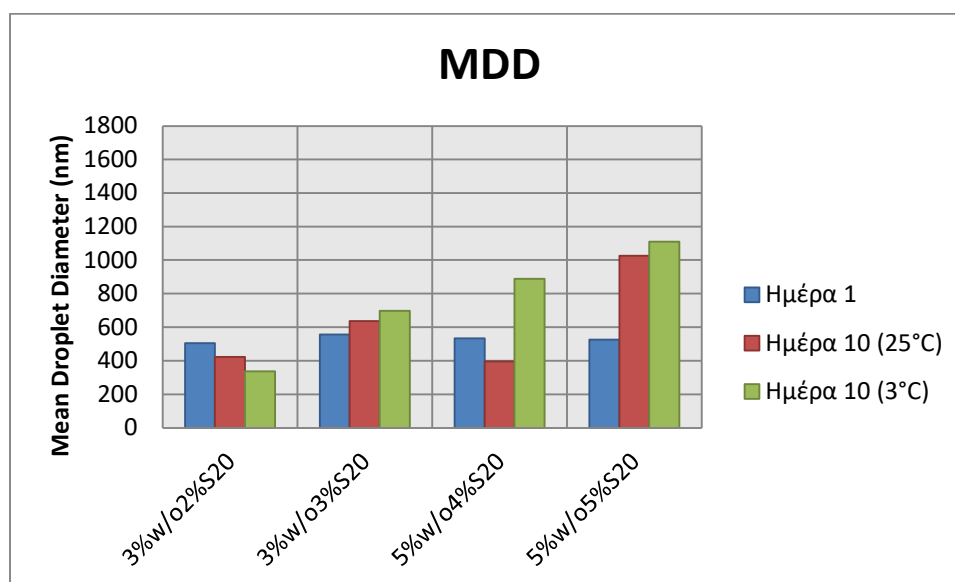
Σε αυτή την ενότητα παρουσιάζονται τα πειραματικά αποτελέσματα για τα τυφλά γαλακτώματα και επιμέρους ανά λιπαρή φάση (πυρηνέλαιο, ελαιόλαδο).

#### ▪ Πυρηνέλαιο

Στον Πίνακα 4.3 παρουσιάζονται οι τιμές για τις φυσικοχημικές ιδιότητες (ιξώδες, θολότητα, δείκτης διάθλασης) των τυφλών γαλακτωμάτων με βάση το πυρηνέλαιο την ημέρα παρασκευής τους.

Πίνακας 4.3: Φυσικοχημικές ιδιότητες των τυφλών γαλακτωμάτων με βάση το πυρηνέλαιο.

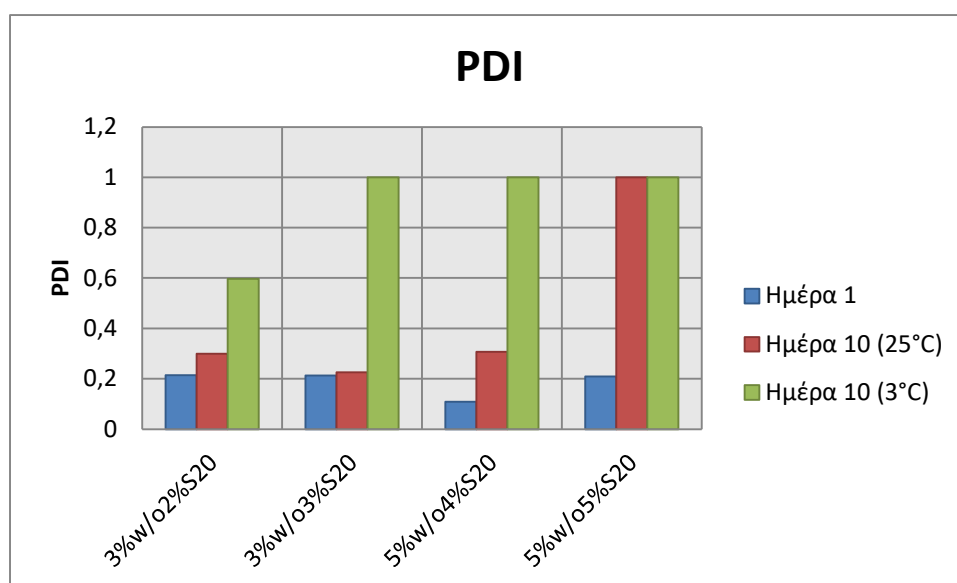
Αριθμός δείγματος	Ιξώδες (cP)	Δείκτης διάθλασης (nd)	Θολότητα
3% w/o 2% S20	79,3	1,4671 (24,3°C)	3815
3% w/o 3% S20	83,7	1,4675 (24,1°C)	3659
5% w/o 4% S20	85,8	1,4672 (23,9°C)	3409
5% w/o 5% S20	86,9	1,4677 (23,9°C)	4031



Διάγραμμα 4.1: Μεταβολή της Μέσης Διαμέτρου Σταγονιδίων (MDD) συναρτήσει του χρόνου και της θερμοκρασίας αποθήκευσης για τα τυφλά γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο.

Όπως φαίνεται στο διάγραμμα 4.1, κατά την πρώτη ημέρα όλα τα γαλακτώματα έχουν σχετικά παρόμοια τιμή MDD ( $\approx 500$  nm), η οποία δεν μεταβάλλεται σημαντικά ανάλογα με τη σύστασή τους (ποσοστό υδατικής φάσης και γαλακτωματοποιητή). Κατά την αποθήκευση, η τιμή MDD παρουσιάζει διακυμάνσεις ως προς το χρόνο και τη θερμοκρασία αποθήκευσης και κυμαίνεται από 336,9 nm έως 1108,8 nm, οι οποίες

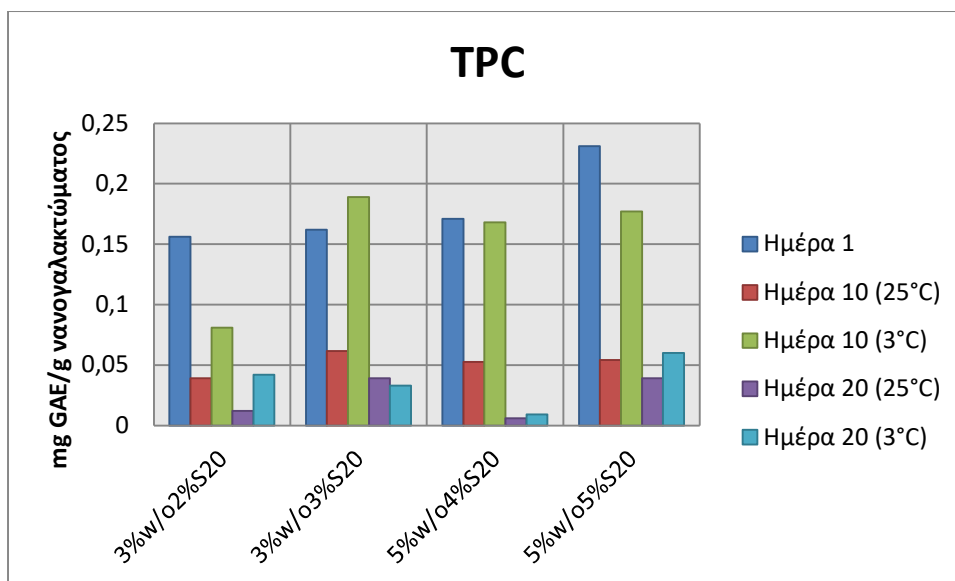
δεν διαφέρουν σημαντικά σε σχέση με τους εξετασθέντες παράγοντες (όχι συγκεκριμένη τάση ανάλογα με τη μεταβολή της σύστασης των γαλακτωμάτων και των παραγόντων αποθήκευσης).



Διάγραμμα 4.2: Μεταβολή του δείκτη πολυδιασποράς PDI συναρτήσει του χρόνου και της θερμοκρασίας αποθήκευσης για τα τυφλά γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο.

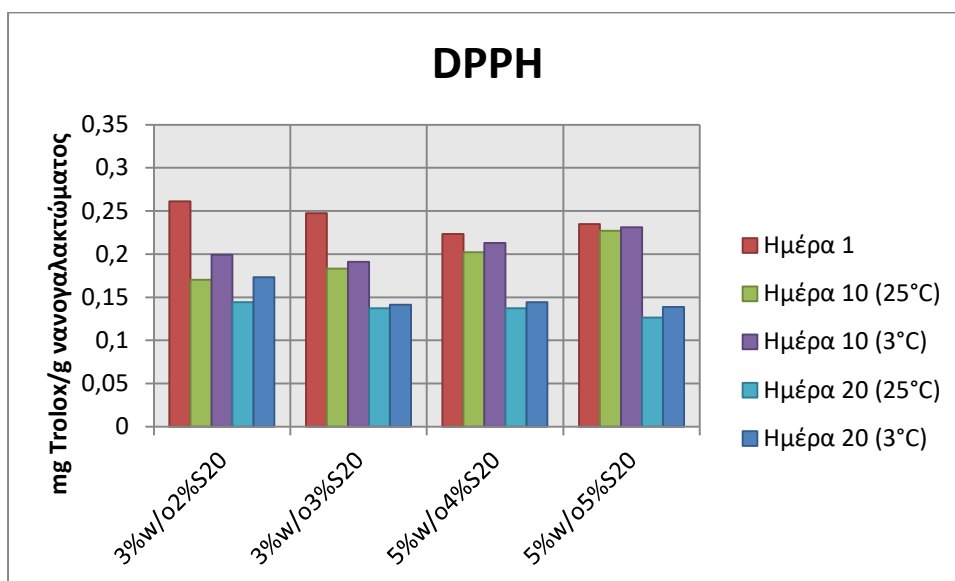
Όπως φαίνεται στο διάγραμμα 4.2, την πρώτη ημέρα όλα τα γαλακτώματα έχουν παρόμοια και χαμηλή τιμή PDI ( $\approx 0,2$ ) η οποία δεν επηρεάζεται σημαντικά από τη σύστασή τους (ποσοστό υδατικής φάσης και γαλακτωματοποιητή). Κατά την αποθήκευση, παρατηρούνται διακυμάνσεις στην τιμή του PDI από 0,109 έως 1 και μάλιστα, σύμφωνα με τη στατιστική ανάλυση, με αποθήκευση σε  $T=3^{\circ}\text{C}$  ( $\text{PDI}=0,94$ ) παρατηρείται σημαντικά χαμηλότερη σταθερότητα των γαλακτωμάτων σε σχέση με την αποθήκευση σε  $T=25^{\circ}\text{C}$  ( $\text{PDI}=0,32$ ) ( $p<0,05$ ).

Συνεπώς, κρίνεται ότι τα τυφλά γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο παρουσιάζουν μεγαλύτερη σταθερότητα κατά την αποθήκευση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος από εκείνα που αποθηκεύονται σε ψύξη.



Διάγραμμα 4.3: Μεταβολή του ολικού φαινολικού περιεχομένου TPC συναρτήσει του χρόνου και της θερμοκρασίας αποθήκευσης για τα τυφλά γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο.

Όπως παρουσιάζεται στο διάγραμμα 4.3, η τιμή του TPC δεν διαφοροποιείται σημαντικά ανάλογα με τις μεταβολές στη σύσταση των γαλακτωμάτων (ποσοστό υδατικής φάσης και γαλακτωματοποιητή). Ωστόσο, κατά την αποθήκευση, η τιμή του TPC μειώνεται σημαντικά και ενώ την πρώτη ημέρα είναι ίση με 0,18 mg GAE/g γαλακτώματος, μετά το πέρας 20 ημερών είναι σημαντικά χαμηλότερη και ίση με 0,03 mg GAE/g γαλακτώματος ( $p < 0,05$ ). Κατά την αποθήκευση σε  $T=3^{\circ}\text{C}$  επιτυγχάνεται αποτελεσματικότερη διατήρηση του TPC ( $p < 0,05$ ). Συνολικά, η τιμή του TPC κυμαίνεται από 0,238 mg GAE/g γαλακτώματος έως 0,006 mg GAE/g γαλακτώματος.



Διάγραμμα 4.4: Μεταβολή της αντιοξειδωτικής ικανότητας DPPH συναρτήσει του χρόνου και της θερμοκρασίας αποθήκευσης για τα τυφλά γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο.

Τα γαλακτώματα δεν διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους ως προς την τιμή DPPH. Κατά την αποθήκευση, η τιμή DPPH κυμαίνεται από 0,261 mg Trolox/g γαλακτώματος έως 0,126 mg Trolox/g γαλακτώματος και παρατηρείται σημαντική μείωσή της με την πάροδο του χρόνου ( $p < 0,05$ ). Συγκεκριμένα, την πρώτη ημέρα η τιμή DPPH είναι 0,24 mg Trolox/g γαλακτώματος, ενώ μετά το πέρας 20 ημερών είναι σημαντικά χαμηλότερη και ίση με 0,14 mg Trolox/g γαλακτώματος. Πρέπει να τονιστεί ότι κατά την αποθήκευση των δειγμάτων στους 3°C δεν επιτυγχάνεται καλύτερη διατήρηση της τιμής DPPH.

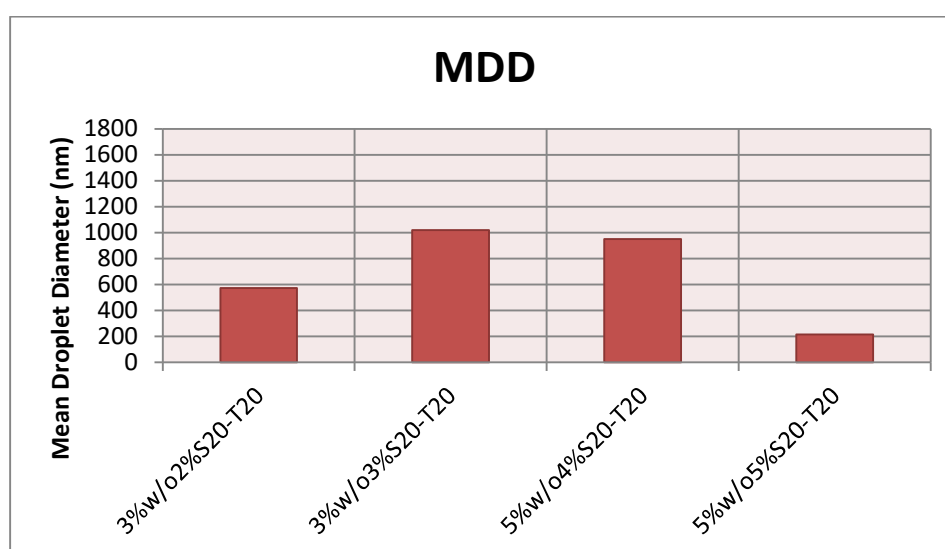
Συνεπώς, κρίνεται ότι κατά την αποθήκευση σε ψύξη τα τυφλά γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο παρουσιάζουν καλύτερη διατήρηση του TPC από εκείνα που αποθηκεύονται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Ωστόσο, με την πάροδο του χρόνου μειώνεται σημαντικά τόσο το TPC όσο και η τιμή DPPH των γαλακτωμάτων.

#### ▪ *Ελαιόλαδο*

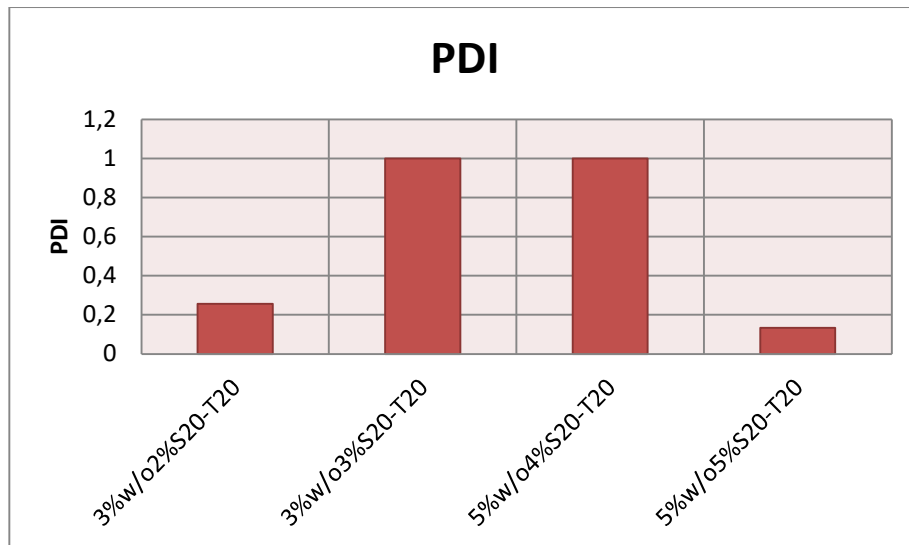
Τα τυφλά γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο διασπάστηκαν γρήγορα συνεπώς οι μετρήσεις που υπάρχουν αφορούν μόνο στην πρώτη ημέρα παρασκευής των γαλακτωμάτων. Στον Πίνακα 4.4 παρουσιάζονται οι τιμές για τις φυσικοχημικές ιδιότητες (ιξώδες, θολότητα, δείκτης διάθλασης) των τυφλών γαλακτωμάτων με βάση το ελαιόλαδο την ημέρα παρασκευής τους.

Πίνακας 4.4: Φυσικοχημικές ιδιότητες των τυφλών γαλακτωμάτων με βάση το ελαιόλαδο.

Αριθμός δείγματος	Ιξώδες (cP)	Δείκτης διάθλασης (nd)	Θολότητα
3% w/o 2% S20-T20	91,3	1,4681 (21,4°C)	3125
3% w/o 3% S20-T20	93,1	1,4676 (21,4°C)	2690
5% w/o 4% S20-T20	93,7	1,4677 (21,4°C)	3348
5% w/o 5% S20-T20	93,8	1,4675 (22,6 °C)	2732

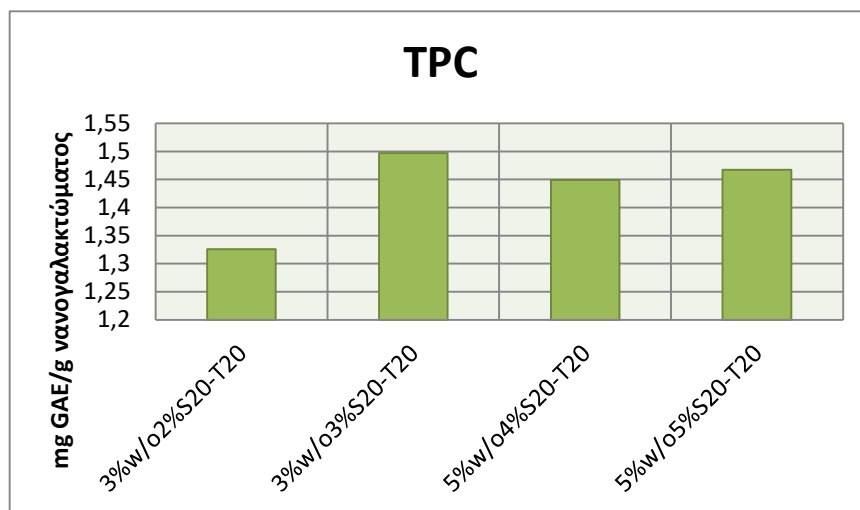


Διάγραμμα 4.5: Μεταβολή της Μέσης Διαμέτρου Σταγονιδίων (MDD) για τα τυφλά γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο.

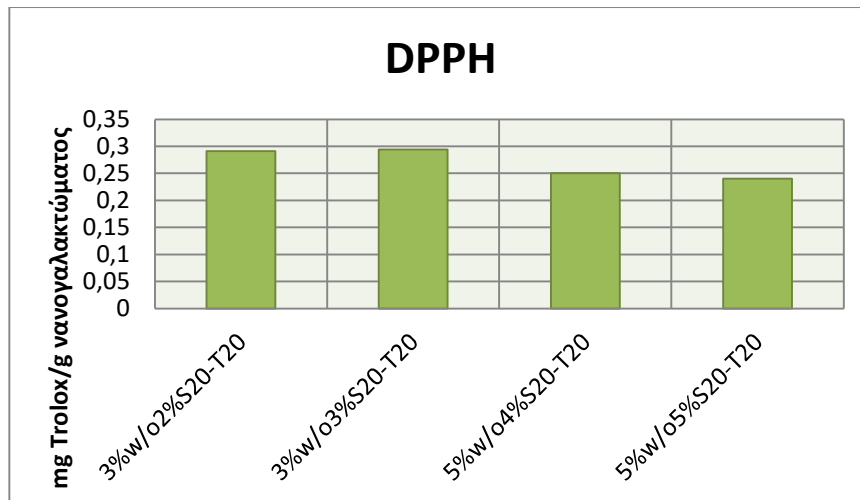


Διάγραμμα 4.6: Μεταβολή του δείκτη πολυδιασποράς PDI για τα τυφλά γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο.

Όπως φαίνεται στα διαγράμματα 4.5 και 4.6, το δείγμα με τις χαμηλότερες τιμές MDD και PDI είναι το 5%w/ο(5%S20-T20). Η MDD κυμαίνεται από 213,8 nm έως 1019 nm, ενώ ο PDI κυμαίνεται από 0,134 έως 1.



Διάγραμμα 4.7: Μεταβολή του ολικού φαινολικού περιεχομένου TPC για τα τυφλά γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο.



Διάγραμμα 4.8: Μεταβολή της αντιοξειδωτικής ικανότητας DPPH για τα τυφλά γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο.

Το δείγμα με την υψηλότερη τιμή DPPH και TPC είναι το 3%w/o (3%S20-T20). Η τιμή DPPH κυμαίνεται από 0,240 mg Trolox/g γαλακτώματος έως 0,294 mg Trolox/g γαλακτώματος, ενώ το TPC κυμαίνεται από 1,326 mg GAE/g γαλακτώματος έως 1,497 mg GAE/g γαλακτώματος.

#### 4.2.2 2<sup>η</sup> Σειρά (γαλακτώματα με ενσωματωμένο φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα)

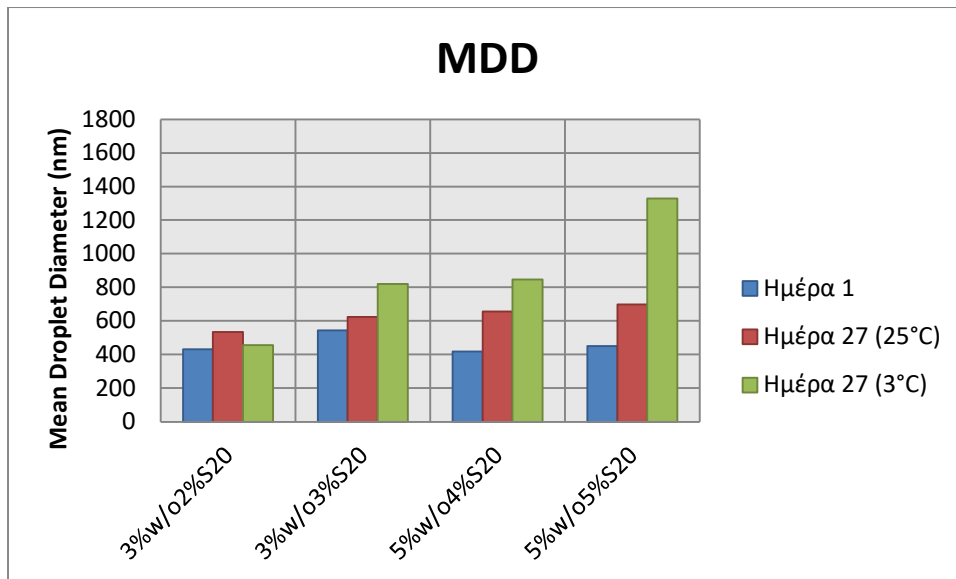
Σε αυτή την ενότητα παρουσιάζονται τα πειραματικά αποτελέσματα για τα γαλακτώματα με φαινολικό εκχύλισμα από ελαιοπυρήνα και επιμέρους ανά λιπαρή φάση (πυρηνέλαιο, ελαιόλαδο).

##### ▪ Πυρηνέλαιο

Στον Πίνακα 4.5 παρουσιάζονται οι τιμές για τις φυσικοχημικές ιδιότητες (ιξώδες, θολότητα, δείκτης διάθλασης) των γαλακτωμάτων με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένο φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα την ημέρα παρασκευής τους.

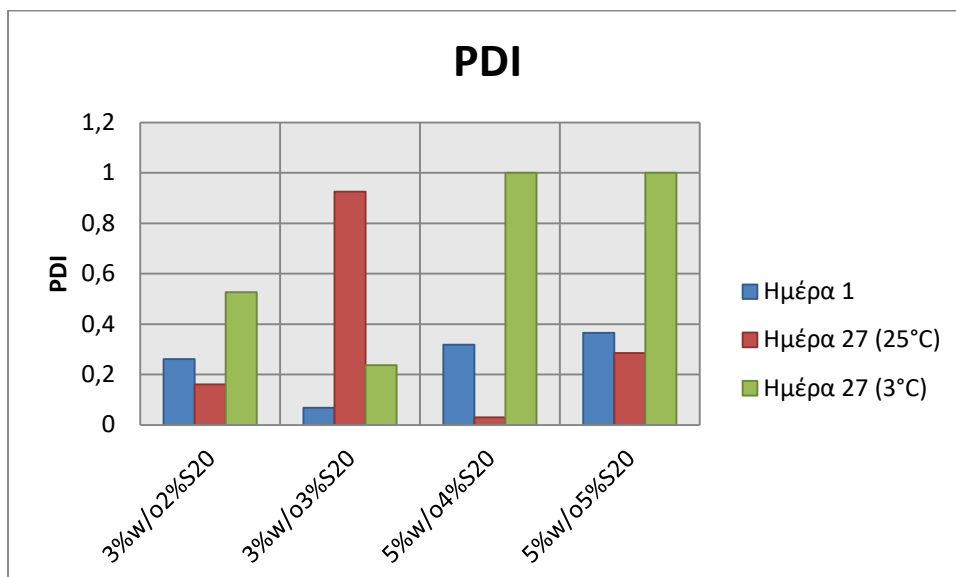
Πίνακας 4.5: Φυσικοχημικές ιδιότητες των γαλακτωμάτων με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένο φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα.

Αριθμός δείγματος	Ιξώδες (cP)	Δείκτης διάθλασης (nd)	Θολότητα
3% w/o 2% S20	79,9	1,4685 (22,3°C)	3786
3% w/o 3% S20	81,0	1,4682 (22,4°C)	3636
5% w/o 4% S20	85,3	1,4671 (22,4°C)	4355
5% w/o 5% S20	94,3	1,4675 (22,5°C)	3518



Διάγραμμα 4.9: Μεταβολή της Μέσης Διαμέτρου Σταγονιδίων (MDD) συναρτήσει του χρόνου και της θερμοκρασίας αποθήκευσης για τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένο φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα.

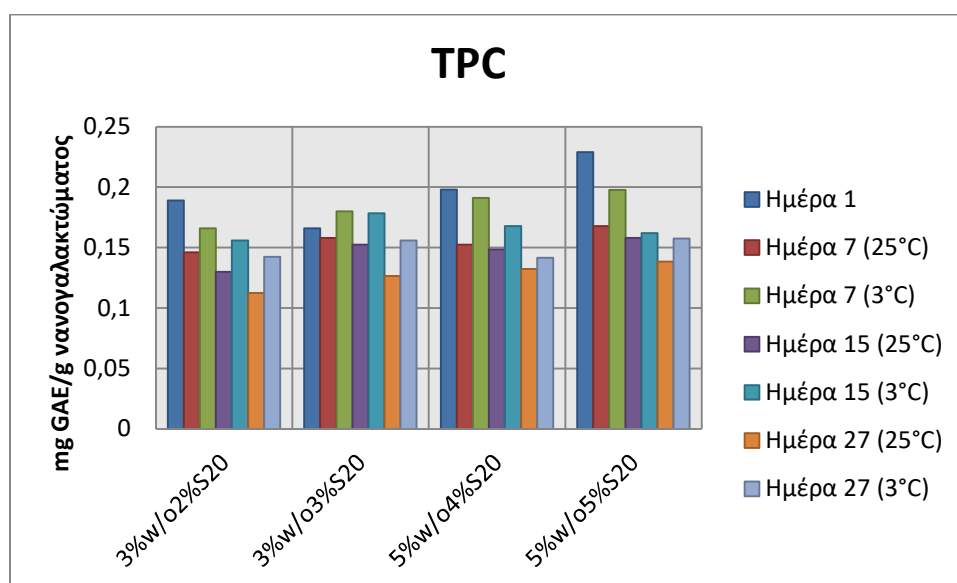
Όπως φαίνεται στο διάγραμμα 4.9, κατά την πρώτη ημέρα όλα τα γαλακτώματα έχουν περίπου ίδια τιμή MDD ( $\approx 450\text{nm}$ ), η οποία δεν διαφοροποιείται σημαντικά ανάλογα με τη σύστασή τους (ποσοστό υδατικής φάσης και γαλακτωματοποιητή). Κατά την αποθήκευση, η MDD παρουσιάζει διακυμάνσεις ως προς το χρόνο και τη θερμοκρασία αποθήκευσης και κυμαίνεται από 417,6 nm έως 1328 nm. Παρόλα αυτά όπως προκύπτει από τη στατιστική ανάλυση οι διακυμάνσεις δεν είναι σημαντικά διαφορετικές.



Διάγραμμα 4.10: Μεταβολή του δείκτη πολυδιασποράς PDI συναρτήσει του χρόνου και της θερμοκρασίας αποθήκευσης για τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένο φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα.

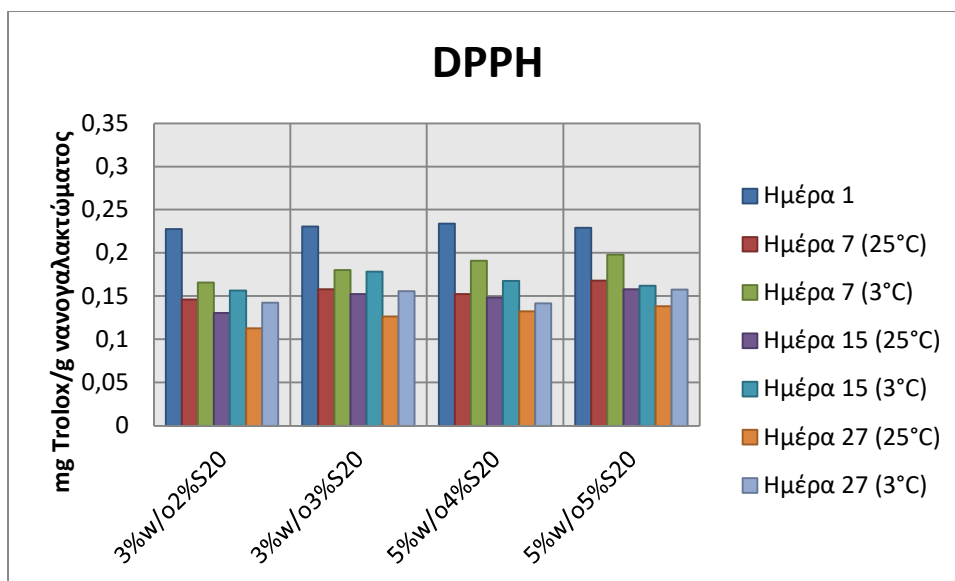
Όπως φαίνεται στο διάγραμμα 4.10, τα γαλακτώματα δεν διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους ως προς την τιμή PDI. Κατά την αποθήκευση, παρουσιάζονται διακυμάνσεις της τιμής PDI από 0,068 έως 1, χωρίς όμως να υπάρχουν σημαντικές επιδράσεις των εξετασθέντων παραγόντων σε αυτές.

Συνεπώς, κρίνεται ότι τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένο φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα παραμένουν σταθερά, είτε αποθηκεύονται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος είτε αποθηκεύονται σε ψύξη. Επίσης, η σταθερότητα των γαλακτωμάτων δεν επηρεάζεται από τις μεταβολές στη σύσταση των γαλακτωμάτων (ποσοστό υδατικής φάσης και γαλακτωματοποιητή).



Διάγραμμα 4.11: Μεταβολή του ολικού φαινολικού περιεχομένου TPC συναρτήσει του χρόνου και της θερμοκρασίας αποθήκευσης για τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένο φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα.

Όπως παρουσιάζεται στο διάγραμμα 4.11, το TPC των γαλακτωμάτων με βάση το πυρηνέλαιο με φαινολικό εκχύλισμα διαφοροποιείται σημαντικά ανάλογα με τη σύστασή τους (ποσοστό υδατικής φάσης και γαλακτωματοποιητή). Συγκεκριμένα, παρατηρείται ότι όσο αυξάνεται το ποσοστό υδατικής φάσης και γαλακτωματοποιητή υπάρχει σημαντική αύξηση του TPC ( $p < 0,05$ ). Συνεπώς, το δείγμα με το χαμηλότερο TPC είναι το 3%w/o2%S20 (0,149 mg GAE/g γαλακτώματος), ενώ το δείγμα με το μεγαλύτερο TPC είναι το 5%w/o5%S20 (0,173 mg GAE/g γαλακτώματος). Κατά την αποθήκευση, το TPC μειώνεται σημαντικά και ενώ την πρώτη ημέρα είναι ίσο με 0,195 mg GAE/g γαλακτώματος, μετά το πέρας 27 ημερών είναι ίσο με 0,138 mg GAE/g γαλακτώματος ( $p < 0,05$ ). Ακόμη, το TPC διατηρείται αποτελεσματικότερα κατά την αποθήκευση στους 3°C ( $p < 0,05$ ). Συνολικά, το TPC κυμαίνεται από 0,229 mg GAE/g γαλακτώματος έως 0,112 mg GAE/g γαλακτώματος.



Διάγραμμα 4.12: Μεταβολή της αντιοξειδωτικής ικανότητας DPPH συναρτήσει του χρόνου και της θερμοκρασίας αποθήκευσης για τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένο φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα.

Όπως φαίνεται στο διάγραμμα 4.12, η τιμή DPPH των γαλακτωμάτων διαφοροποιείται σημαντικά ανάλογα με τη σύστασή τους (ποσοστό υδατικής φάσης και γαλακτωματοποιητή). Συγκεκριμένα, παρατηρείται ότι το δείγμα με τη χαμηλότερη τιμή είναι το 3%w/o2%S20, ενώ τα υπόλοιπα δεν έχουν σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Κατά την αποθήκευση, η τιμή DPPH κυμαίνεται από 0,234 mg Trolox/g γαλακτώματος έως 0,112 mg Trolox/g γαλακτώματος και παρατηρείται σημαντική μείωσή της με την πάροδο του χρόνου ( $p < 0,05$ ). Συγκεκριμένα, την πρώτη ημέρα είναι ίση με 0,23 mg Trolox/g γαλακτώματος, ενώ μετά από 27 ημέρες είναι σημαντικά χαμηλότερη και ίση με 0,138 mg Trolox/g γαλακτώματος. Ακόμη, παρατηρείται ότι κατά την αποθήκευση στους 3°C η DPPH διατηρείται αποτελεσματικότερα ( $p < 0,05$ ).

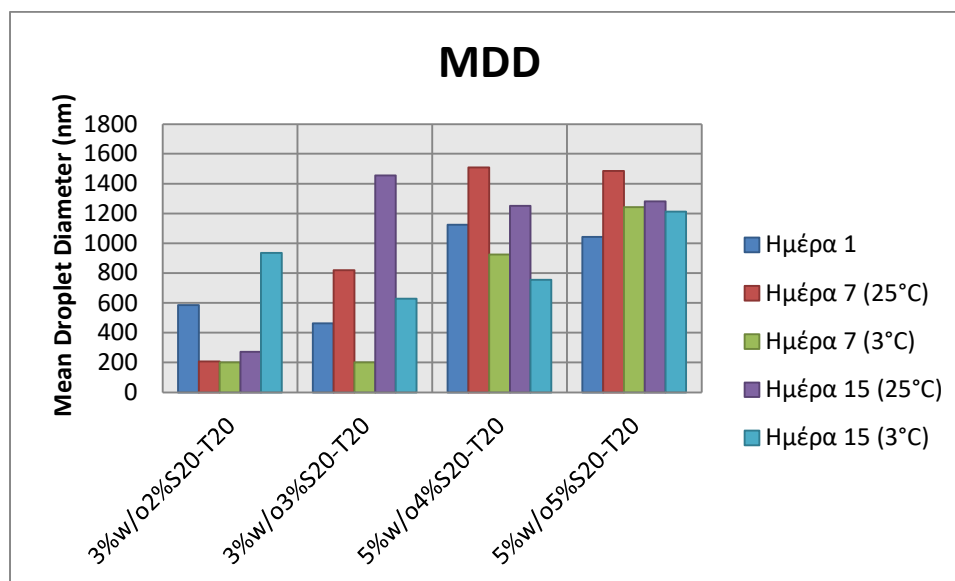
Συνεπώς, κρίνεται ότι κατά την αποθήκευση σε ψύξη επιτυγχάνεται καλύτερη διατήρηση τόσο του TPC όσο και του DPPH. Ωστόσο, με την πάροδο του χρόνου μειώνεται σημαντικά το TPC και η τιμή DPPH των γαλακτωμάτων.

#### ▪ Ελαιόλαδο

Στον Πίνακα 4.6 παρουσιάζονται οι τιμές για τις φυσικοχημικές ιδιότητες (ιξώδες, θολότητα, δείκτης διάθλασης) των γαλακτωμάτων με βάση το ελαιόλαδο με φαινολικό εκχύλισμα την ημέρα παρασκευής τους.

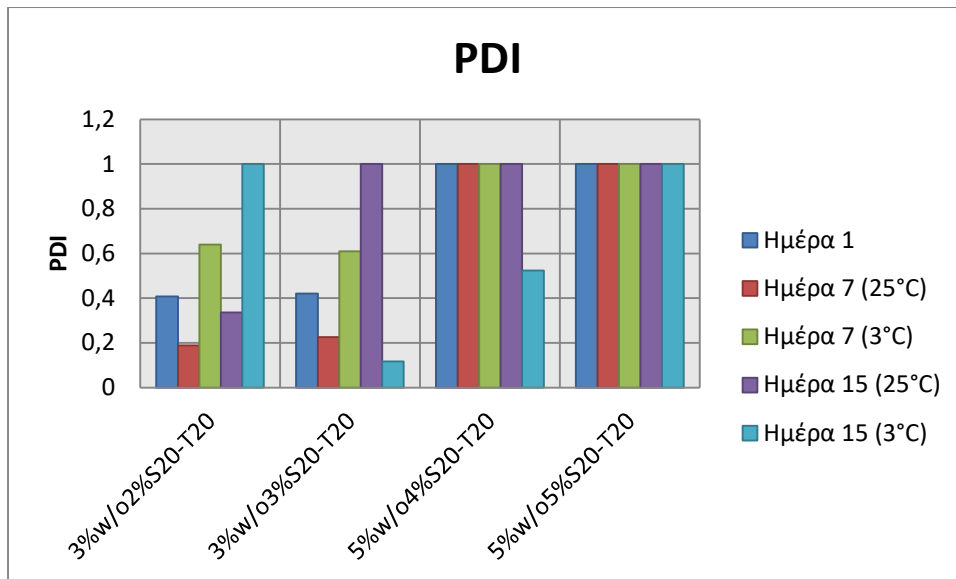
Πίνακας 4.6: Φυσικοχημικές ιδιότητες των γαλακτωμάτων με βάση το ελαιόλαδο με ενσωματωμένο φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα.

Αριθμός δείγματος	Ιξώδες (cP)	Δείκτης διάθλασης (nd)	Θολότητα
3% w/o 2% S20-T20	86,6	1,4668 (23,1°C)	2564
3% w/o 3% S20-T20	72,1	1,4666 (23,4°C)	2361
5% w/o 4% S20-T20	84,1	1,4668 (23,3°C)	2716
5% w/o 5% S20-T20	88,8	1,4670 (23,3°C)	2752



Διάγραμμα 4.13: Μεταβολή της Μέσης Διαμέτρου Σταγονιδίων (MDD) συναρτήσει του χρόνου και της θερμοκρασίας αποθήκευσης για τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο με ενσωματωμένο φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα.

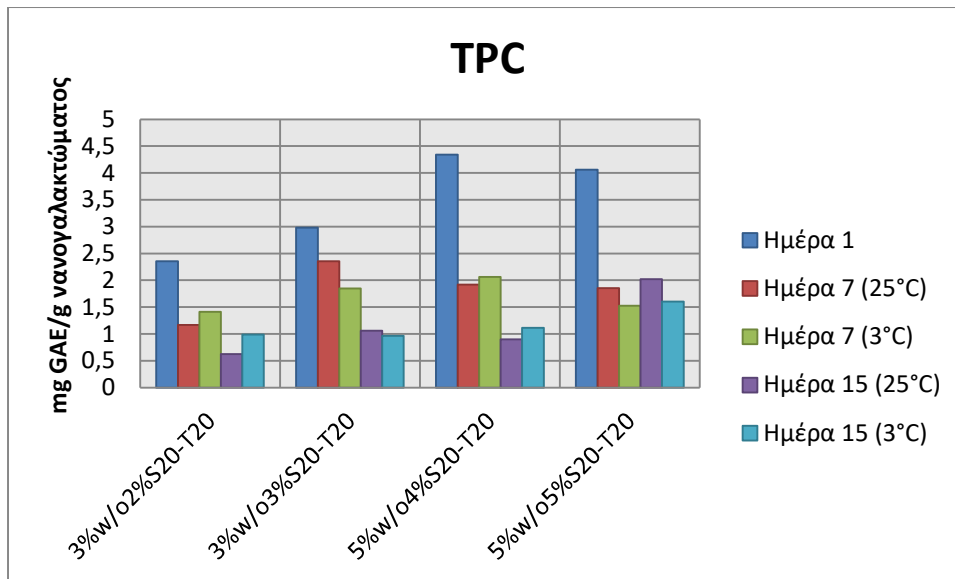
Όπως φαίνεται στο διάγραμμα 4.13, τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο με ενσωματωμένο φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους ως προς την MDD. Συγκεκριμένα, ως προς το ποσοστό υδατικής φάσης, τα 3%w/o δείγματα έχουν σημαντικά χαμηλότερη MDD σε σχέση με τα 5%w/o δείγματα. Ακόμη, με σταδιακή αύξηση του ποσοστού του γαλακτωματοποιητή παρατηρείται αύξηση της MDD ( $p < 0,05$ ). Το δείγμα 3%w/o (2%S20-T20) έχει τη χαμηλότερη MDD (440 nm), ενώ το δείγμα 5%w/o (5%S20-T20) έχει την υψηλότερη (1250 nm). Κατά την αποθήκευση, η MDD παρουσιάζει διακυμάνσεις ως προς το χρόνο και τη θερμοκρασία αποθήκευσης και κυμαίνεται από 207,2 nm έως 1508 nm. Παρόλα αυτά, όπως προκύπτει από τη στατιστική ανάλυση, δεν υπάρχουν σημαντικές επιδράσεις των παραγόντων αποθήκευσης (χρόνος και θερμοκρασία αποθήκευσης) στην MDD.



*Διάγραμμα 4.14: Μεταβολή του δείκτη πολυδιασποράς PDI συναρτήσει του χρόνου και της θερμοκρασίας αποθήκευσης για τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο με ενσωματωμένο φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα.*

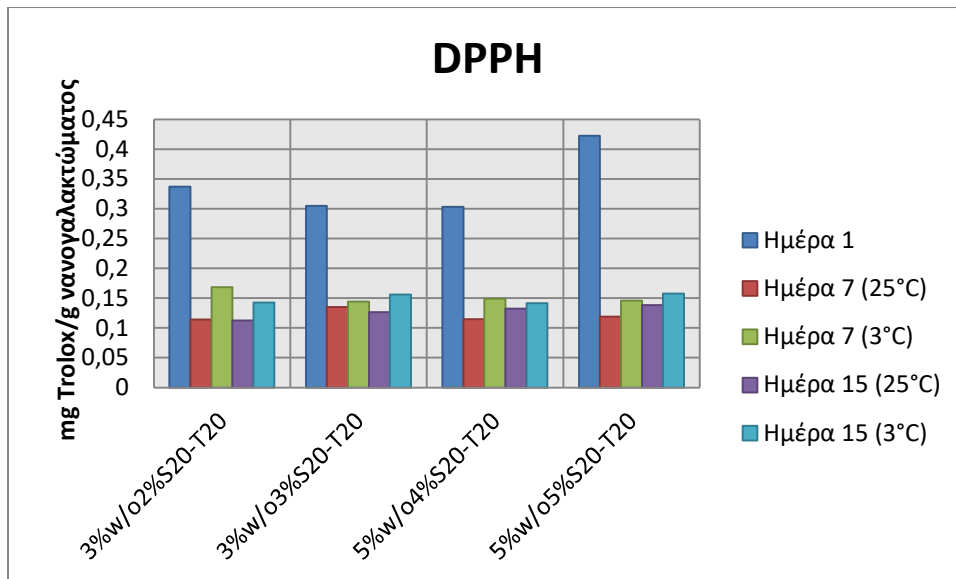
Όπως φαίνεται στο διάγραμμα 4.14, η τιμή PDI των γαλακτωμάτων μεταβάλλεται σημαντικά ανάλογα με τη μεταβολή στη σύστασή τους (ποσοστό υδατικής φάσης και γαλακτωματοποιητή). Συγκεκριμένα, ως προς το ποσοστό υδατικής φάσης, τα 3%w/o δείγματα έχουν χαμηλότερη τιμή PDI σε σχέση με τα 5%w/o δείγματα. Επίσης, με σταδιακή αύξηση του ποσοστού του γαλακτωματοποιητή παρατηρείται αύξηση της τιμής PDI ( $p < 0,05$ ). Το δείγμα 3%w/o (3%S20-T20) εμφανίζει τη χαμηλότερη τιμή (0,475). Κατά την αποθήκευση, παρατηρούνται διακυμάνσεις της τιμής PDI από 0,117 έως 1, οι οποίες, όπως προκύπτει από τη στατιστική ανάλυση, δεν διαφέρουν σημαντικά σε σχέση με τους εξετασθέντες παράγοντες αποθήκευσης (χρόνος και θερμοκρασία αποθήκευσης).

Συνολικά, κρίνεται ότι τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο με φαινολικό εκχύλισμα παραμένουν εξίσου σταθερά, είτε αποθηκεύονται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος είτε αποθηκεύονται σε ψύξη. Επίσης, η σταθερότητα των γαλακτωμάτων επηρεάζεται από τη μεταβολή στη σύσταση των γαλακτωμάτων (ποσοστό υδατικής φάσης και γαλακτωματοποιητή) και παρατηρείται ότι τα 3%w/o δείγματα είναι πολύ σταθερότερα από τα 5%w/o δείγματα.



Διάγραμμα 4.15: Μεταβολή του ολικού φαινολικού περιεχομένου TPC συναρτήσει του χρόνου και της θερμοκρασίας αποθήκευσης για τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο με ενσωματωμένο φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα.

Το TPC των γαλακτωμάτων με βάση το ελαιόλαδο με ενσωματωμένο φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα διαφοροποιείται σημαντικά ανάλογα με τη σύστασή τους (ποσοστό υδατικής φάσης και γαλακτωματοποιητή). Συγκεκριμένα, παρατηρείται ότι όσο αυξάνεται το ποσοστό υδατικής φάσης και γαλακτωματοποιητή υπάρχει σημαντική αύξηση του TPC ( $p < 0,05$ ), γεγονός αναμενόμενο καθώς στην υδατική φάση έχει ενσωματωθεί το φαινολικό εκχύλισμα. Το δείγμα με το χαμηλότερο TPC είναι το 3%w/o (2%S20-T20) (1,30 mg GAE/g γαλακτώματος), ενώ το δείγμα με το μεγαλύτερο TPC είναι το 5%w/o (5%S20-T20) (2,21 mg GAE/g γαλακτώματος). Κατά την αποθήκευση, η μέση τιμή του TPC μειώνεται σημαντικά, και ενώ την πρώτη ημέρα είναι ίση με 3,435 mg GAE/g γαλακτώματος, μετά το πέρας 15 ημερών είναι ίση με 1,158 mg GAE/g γαλακτώματος ( $p < 0,05$ ). Ακόμη, το TPC διατηρείται αποτελεσματικότερα κατά την αποθήκευση στους 3°C ( $p < 0,05$ ). Συνολικά, η τιμή του TPC κυμαίνεται από 4,344 mg GAE/g γαλακτώματος έως 0,621 mg GAE/g γαλακτώματος.



Διάγραμμα 4.16: Μεταβολή της αντιοξειδωτικής ικανότητας DPPH συναρτήσει του χρόνου και της θερμοκρασίας αποθήκευσης για τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο με ενσωματωμένο φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα.

Τα γαλακτώματα δεν διαφοροποιούνται σημαντικά μεταξύ τους ως προς την τιμή DPPH. Κατά την αποθήκευση, η DPPH κυμαίνεται από 0,422 mg Trolox/g γαλακτώματος έως 0,112 mg Trolox/g γαλακτώματος και παρατηρείται σημαντική μείωσή της με την πάροδο του χρόνου ( $p < 0,05$ ). Συγκεκριμένα, την πρώτη ημέρα είναι ίση με 0,342 mg Trolox/g γαλακτώματος, ενώ μετά από 15 ημέρες είναι σημαντικά χαμηλότερη και ίση με 0,136 mg Trolox/g γαλακτώματος. Πρέπει να τονιστεί ότι κατά την αποθήκευση σε ψύξη δεν παρατηρείται καλύτερη διατήρησή της.

Συνεπώς, κρίνεται ότι κατά την αποθήκευση σε ψύξη επιτυγχάνεται αποτελεσματικότερη διατήρηση του TPC. Ωστόσο, με την πάροδο του χρόνου μειώνεται σημαντικά το TPC και η τιμή DPPH των γαλακτωμάτων.

#### 4.2.3 3<sup>η</sup> Σειρά (γαλακτώματα με ενσωματωμένη τυροσόλη)

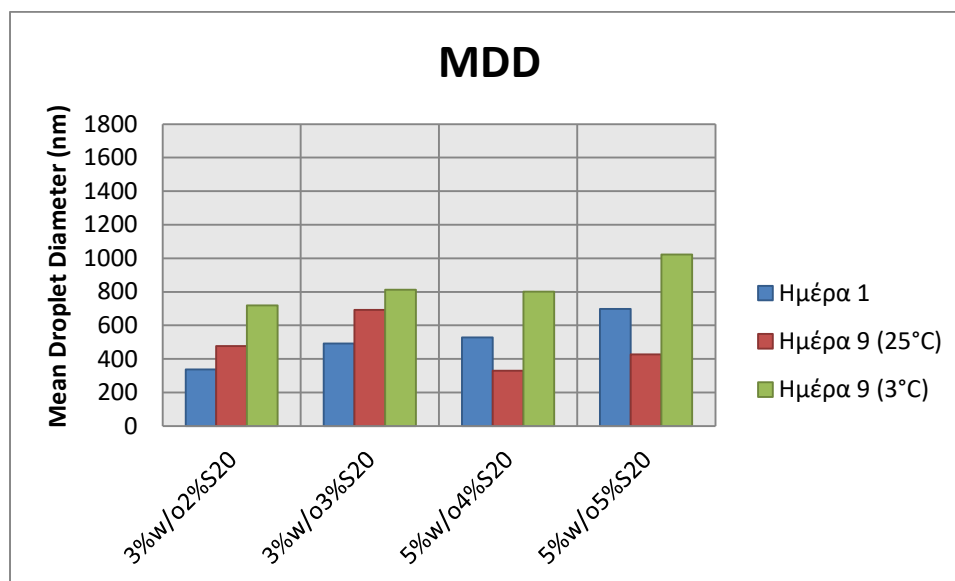
Σε αυτή την ενότητα παρουσιάζονται τα πειραματικά αποτελέσματα για τα γαλακτώματα με ενσωματωμένη τυροσόλη και επιμέρους ανά λιπαρή φάση (πυρηνέλαιο, ελαιόλαδο).

##### ▪ Πυρηνέλαιο

Στον Πίνακα 4.7 παρουσιάζονται οι τιμές για τις φυσικοχημικές ιδιότητες (ιξώδες, θολότητα, δείκτης διάθλασης) των γαλακτωμάτων με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένη τυροσόλη την ημέρα παρασκευής τους.

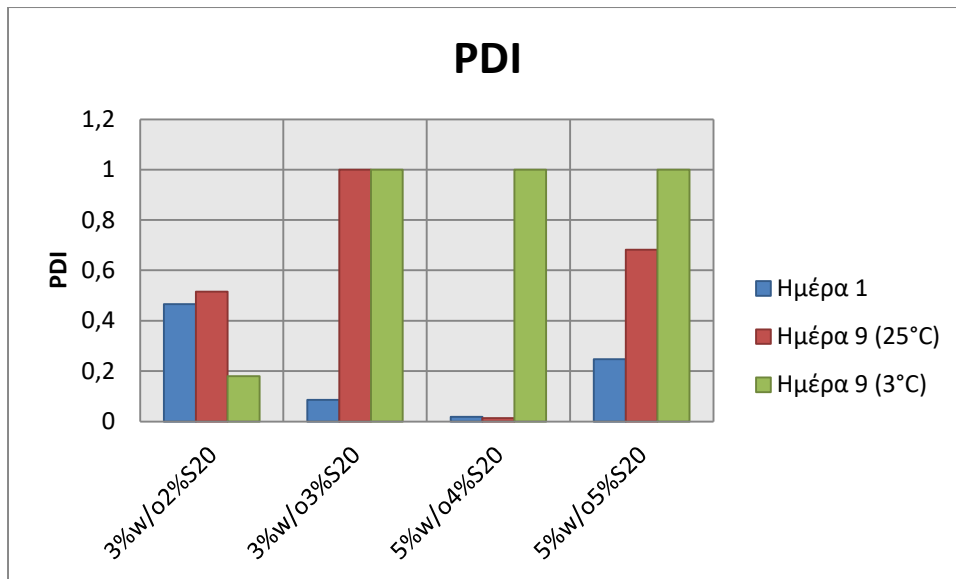
Πίνακας 4.7: Φυσικοχημικές ιδιότητες των γαλακτωμάτων με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένη τυροσόλη.

Αριθμός δείγματος	Ιξώδες (cP)	Δείκτης διάθλασης (nd)	Θολότητα
3% w/o 2% S20	77,4	1,4666 (25,9°C)	3835
3% w/o 3% S20	73,7	1,4662 (25,9°C)	3743
5% w/o 4% S20	75,2	1,4658 (25,5°C)	4017
5% w/o 5% S20	83,7	1,4657 (25,7°C)	3952



Διάγραμμα 4.17: Μεταβολή της Μέσης Διαμέτρου Σταγονιδίων (MDD) συναρτήσει του χρόνου και της θερμοκρασίας αποθήκευσης για τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένη τυροσόλη.

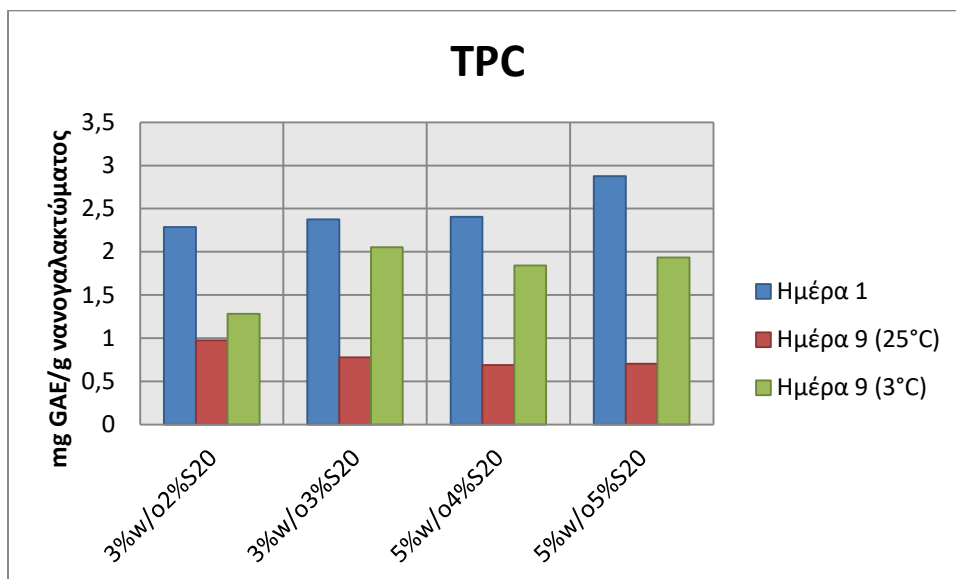
Όπως φαίνεται στο διάγραμμα 4.17, τα γαλακτώματα δεν διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους ως προς την τιμή MDD. Κατά την αποθήκευση, η MDD παρουσιάζει διακυμάνσεις ως προς το χρόνο και τη θερμοκρασία αποθήκευσης και κυμαίνεται από 330,3 nm έως 1022 nm. Ακόμη, κατά την αποθήκευση στους 25°C (MDD=498 nm) προκύπτει σημαντικά χαμηλότερη μέση τιμή MDD των γαλακτωμάτων από ότι στους 3°C (MDD=838 nm) ( $p < 0,05$ ).



Διάγραμμα 4.18: Μεταβολή του δείκτη πολυδιασποράς PDI συναρτήσει του χρόνου και της θερμοκρασίας αποθήκευσης για τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένη τυροσόλη.

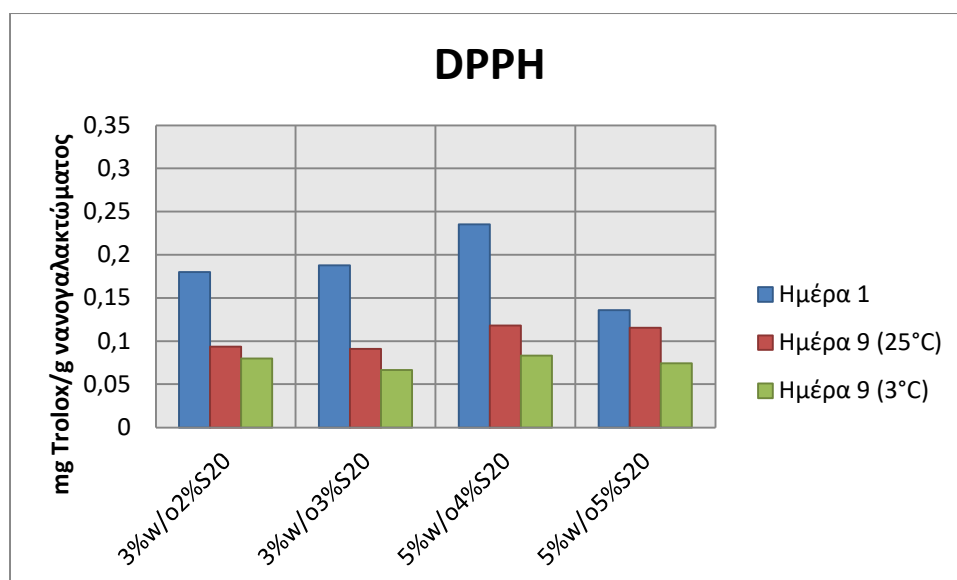
Όπως φαίνεται στο διάγραμμα 4.18, η τιμή PDI των γαλακτωμάτων δεν επηρεάζεται σημαντικά από τη σύστασή τους (ποσοστό υδατικής φάσης και γαλακτωματοποιητή). Κατά την αποθήκευση, παρατηρούνται διακυμάνσεις στην τιμή του PDI από 0,018 έως 1, οι οποίες δεν διαφέρουν σημαντικά σε σχέση με τους εξετασθέντες παράγοντες (όχι συγκεκριμένη τάση ανάλογα με τη μεταβολή της σύστασης και των παραγόντων αποθήκευσης).

Συνολικά, κρίνεται ότι τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένη τυροσόλη παρουσιάζουν μεγαλύτερη σταθερότητα κατά την αποθήκευση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος από εκείνα που αποθηκεύονται σε ψύξη.



Διάγραμμα 4.19: Μεταβολή του ολικού φαινολικού περιεχομένου TPC συναρτήσει του χρόνου και της θερμοκρασίας αποθήκευσης για τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένη τυροσόλη.

Όπως φαίνεται στο διάγραμμα 4.19, τα γαλακτώματα δεν διαφοροποιούνται μεταξύ τους ως προς το TPC. Κατά την αποθήκευση, η τιμή του TPC κυμαίνεται από 2,877 mg GAE/g γαλακτώματος έως 0,687 mg GAE/g γαλακτώματος και μειώνεται σημαντικά με την πάροδο του χρόνου ( $p < 0,05$ ). Συγκεκριμένα, ενώ την πρώτη ημέρα η τιμή TPC είναι ίση με 2,486 mg GAE/g γαλακτώματος, μετά το πέρας 9 ημερών είναι σημαντικά χαμηλότερη και ίση με 1,28 mg GAE/g γαλακτώματος. Ακόμη, κατά την αποθήκευση στους 3°C διατηρείται περισσότερο το TPC ( $p < 0,05$ ).



Διάγραμμα 4.20: Μεταβολή της αντιοξειδωτικής ικανότητας DPPH συναρτήσει του χρόνου και της θερμοκρασίας αποθήκευσης για τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένη τυροσόλη.

Τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένη τυροσόλη δεν διαφοροποιούνται σημαντικά μεταξύ τους ως προς την τιμή DPPH. Κατά την αποθήκευση, η τιμή DPPH κυμαίνεται από 0,235 mg Trolox/g γαλακτώματος έως 0,064 mg Trolox/g γαλακτώματος και παρουσιάζεται σημαντική μείωσή της με την πάροδο του χρόνου ( $p < 0,05$ ). Συγκεκριμένα, ενώ την πρώτη ημέρα είναι ίση με 0,185 mg Trolox/g γαλακτώματος, μετά το πέρας 9 ημερών είναι ίση με 0,09 mg Trolox/g γαλακτώματος. Πρέπει να τονιστεί ότι η θερμοκρασία αποθήκευσης δεν επηρεάζει σημαντικά την τιμή DPPH, συνεπώς κατά την αποθήκευση σε ψύξη δεν διατηρείται περισσότερο.

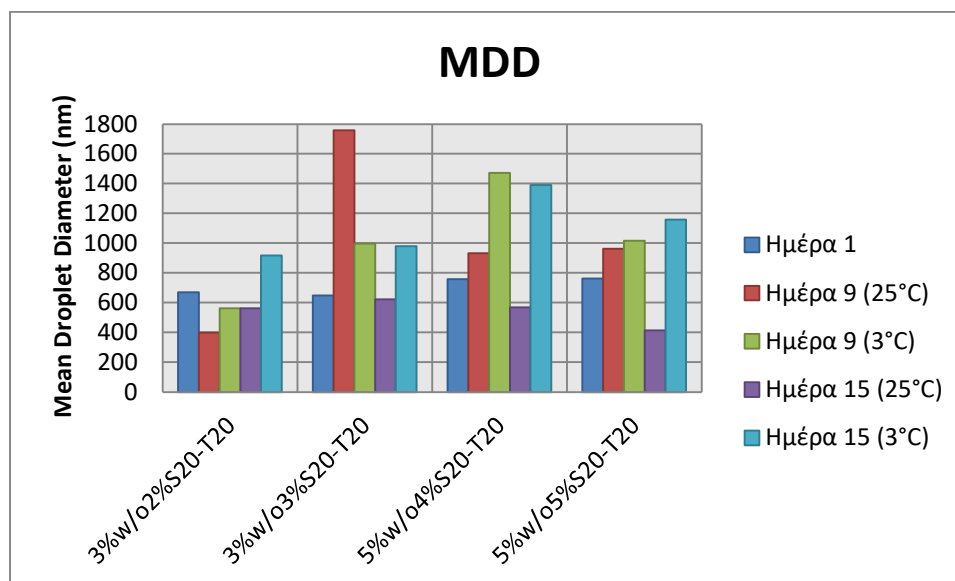
Κρίνεται λοιπόν ότι κατά την αποθήκευση σε ψύξη επιτυγχάνεται καλύτερη διατήρηση του TPC. Ωστόσο, με την πάροδο του χρόνου μειώνεται σημαντικά το TPC και η DPPH των γαλακτωμάτων.

#### ▪ Ελαιόλαδο

Στον Πίνακα 4.8 παρουσιάζονται οι τιμές για τις φυσικοχημικές ιδιότητες (ιξώδες, θολότητα, δείκτης διάθλασης) των γαλακτωμάτων με βάση το ελαιόλαδο με ενσωματωμένη τυροσόλη την ημέρα παρασκευής τους.

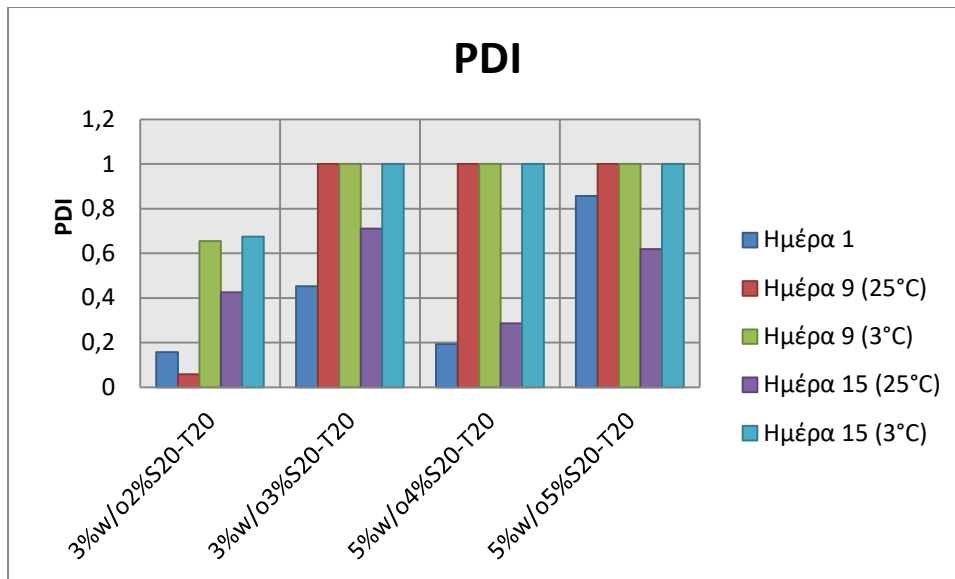
Πίνακας 4.8: Φυσικοχημικές ιδιότητες των γαλακτωμάτων με βάση το ελαιόλαδο με ενσωματωμένη τυροσόλη.

Αριθμός δείγματος	Ιξώδες (cP)	Δείκτης διάθλασης (nd)	Θολότητα
3% w/o 2% S20-T20	62	1,4657 (26,3°C)	2474
3% w/o 3% S20-T20	53,4	1,4661 (26,5°C)	2152
5% w/o 4% S20-T20	88,3	1,4653 (26,2°C)	2339
5% w/o 5% S20-T20	65,1	1,4651 (26,8°C)	2256



Διάγραμμα 4.21: Μεταβολή της Μέσης Διαμέτρου Σταγονιδίων MDD συναρτήσει του χρόνου και της θερμοκρασίας αποθήκευσης για τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο με ενσωματωμένη τυροσόλη.

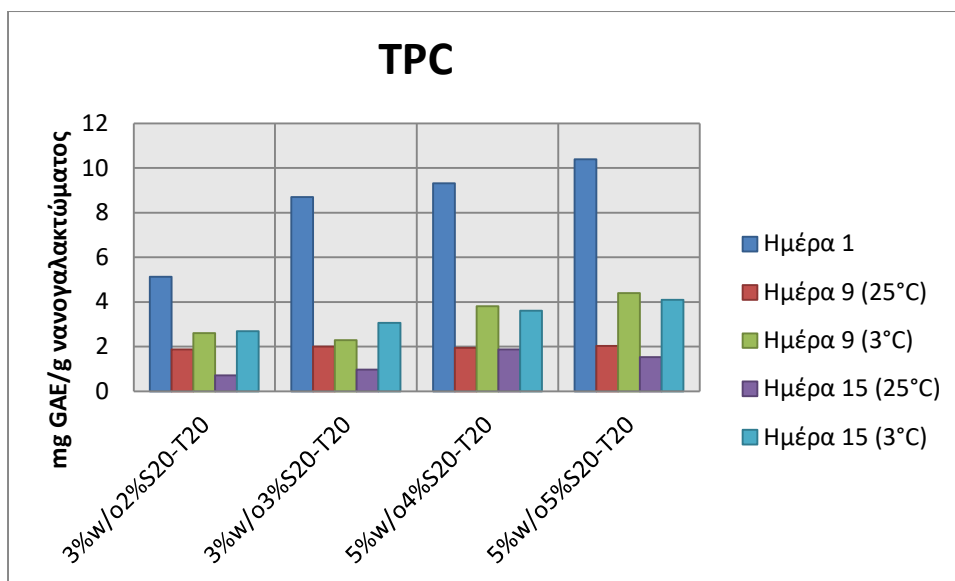
Τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο με ενσωματωμένη τυροσόλη δεν εμφανίζουν σημαντικές διαφορές μεταξύ τους ως προς την τιμή MDD. Παρότι η τιμή MDD κυμαίνεται από 390 nm έως 1758 nm, δεν διαφοροποιείται σημαντικά σε σχέση με τους εξετασθέντες παράγοντες (όχι συγκεκριμένη τάση ανάλογα με τη μεταβολή της σύστασης και των παραγόντων αποθήκευσης).



Διάγραμμα 4.22: Μεταβολή του δείκτη πολυδιασποράς PDI συναρτήσει του χρόνου και της θερμοκρασίας αποθήκευσης για τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο με ενσωματωμένη τυροσόλη.

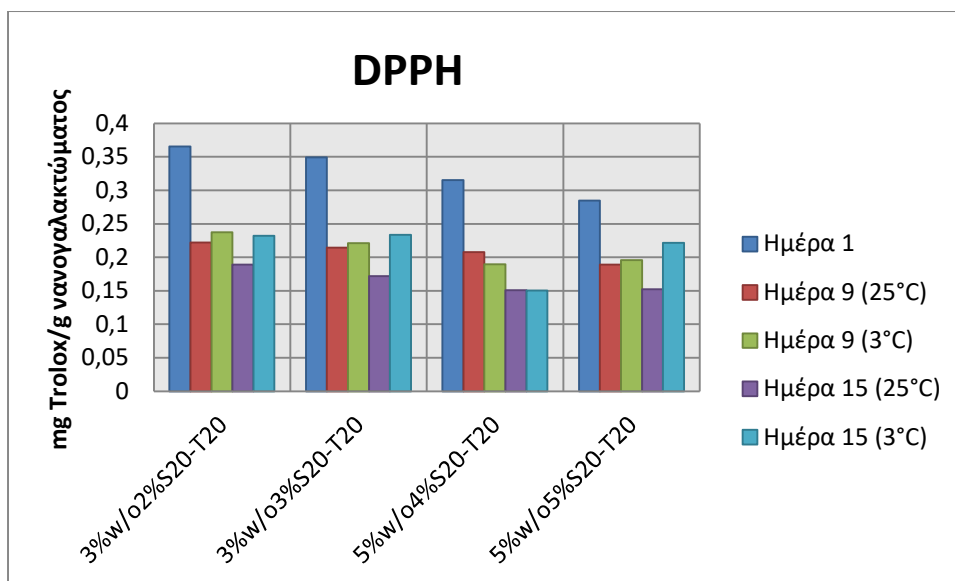
Όπως παρουσιάζεται στο διάγραμμα 4.22, η τιμή PDI των γαλακτωμάτων επηρεάζεται σημαντικά ανάλογα με τη μεταβολή στη σύστασή τους (ποσοστό υδατικής φάσης και γαλακτωματοποιητή). Συγκεκριμένα, παρατηρείται ότι με σταδιακή αύξηση του ποσοστού του γαλακτωματοποιητή υπάρχει σημαντική αύξηση του PDI ( $p < 0,05$ ). Το δείγμα με τη χαμηλότερη τιμή είναι το 3%w/o (2%S20-T20) (0,394), ενώ όλα τα υπόλοιπα εμφανίζουν σημαντικά υψηλότερες τιμές. Ακόμη, κατά την αποθήκευση στους 3°C παρατηρείται σημαντικά υψηλότερη τιμή PDI ( $p < 0,05$ ).

Συνεπώς, κρίνεται ότι κατά την αποθήκευση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος επιτυγχάνεται καλύτερη σταθερότητα των γαλακτωμάτων. Επίσης, η σύσταση των γαλακτωμάτων παίζει σημαντικό ρόλο στη σταθερότητά τους, καθώς τα δείγματα με χαμηλότερο ποσοστό του γαλακτωματοποιητή είναι σταθερότερα.



Διάγραμμα 4.23: Μεταβολή του ολικού φαινολικού περιεχομένου TPC συναρτήσει του χρόνου και της θερμοκρασίας αποθήκευσης για τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο με ενσωματωμένη τυροσόλη.

Τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο με ενσωματωμένη τυροσόλη διαφοροποιούνται σημαντικά μεταξύ τους ως προς το TPC ανάλογα με τη σύστασή τους (ποσοστό υδατικής φάσης και γαλακτωματοποιητή). Τα 3%w/o δείγματα παρουσιάζουν σημαντικά χαμηλότερες τιμές σε σχέση με τα 5%w/o δείγματα ( $p < 0,05$ ), όπως ήταν αναμενόμενο καθώς η τυροσόλη ενσωματώνεται στην υδατική φάση. Συνολικά, η τιμή του TPC κυμαίνεται από 10,395 mg GAE/g γαλακτώματος έως 0,711 mg GAE/g γαλακτώματος, και μάλιστα, κατά την αποθήκευση μειώνεται σημαντικά ( $p < 0,05$ ). Συγκεκριμένα, την πρώτη ημέρα η τιμή TPC είναι ίση με 8,38 mg GAE/g γαλακτώματος, ενώ μετά το πέρας 15 ημερών είναι ίση με 2,31 mg GAE/g γαλακτώματος. Επίσης, κατά την αποθήκευση στους 3°C διατηρείται σημαντικά περισσότερο το TPC ( $p < 0,05$ ).



Διάγραμμα 4.24: Μεταβολή της αντιοξειδωτικής ικανότητας DPPH συναρτήσει του χρόνου και της θερμοκρασίας αποθήκευσης για τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο με ενσωματωμένη τυροσόλη.

Όπως φαίνεται στο διάγραμμα 4.24, η τιμή DPPH των γαλακτωμάτων επηρεάζεται σημαντικά ανάλογα με τη μεταβολή στη σύστασή τους (ποσοστό υδατικής φάσης και γαλακτωματοποιητή). Τα 3%w/o γαλακτώματα παρουσιάζουν σημαντικά υψηλότερες τιμές σε σχέση με τα 5%w/o γαλακτώματα, ενώ με σταδιακή αύξηση του ποσοστού του γαλακτωματοποιητή παρουσιάζεται μείωση της DPPH, γεγονός αναμενόμενο καθώς τα 5%w/o δείγματα περιέχουν λιγότερο ελαιόλαδο από τα 3%w/o. Γενικά η τιμή DPPH κυμαίνεται από 0,360 mg Trolox/g γαλακτώματος έως 0,112 mg Trolox/g γαλακτώματος και κατά την αποθήκευση παρουσιάζεται σημαντική μείωσή της ( $p < 0,05$ ). Συγκεκριμένα, ενώ την πρώτη ημέρα η τιμή DPPH είναι ίση με 0,329 mg Trolox/g γαλακτώματος, μετά το πέρας 15 ημερών είναι ίση με 0,187 mg Trolox/g γαλακτώματος. Επίσης, κατά την αποθήκευση στους 3°C επιτυγχάνεται καλύτερη διατήρησή της ( $p < 0,05$ ).

Συνεπώς, κρίνεται ότι κατά την αποθήκευση σε ψύξη επιτυγχάνεται καλύτερη διατήρηση τόσο του TPC όσο και της DPPH. Ωστόσο, με την πάροδο του χρόνου μειώνεται σημαντικά το TPC και η DPPH των γαλακτωμάτων.

#### 4.2.4 4<sup>η</sup> Σειρά (γαλακτώματα με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ)

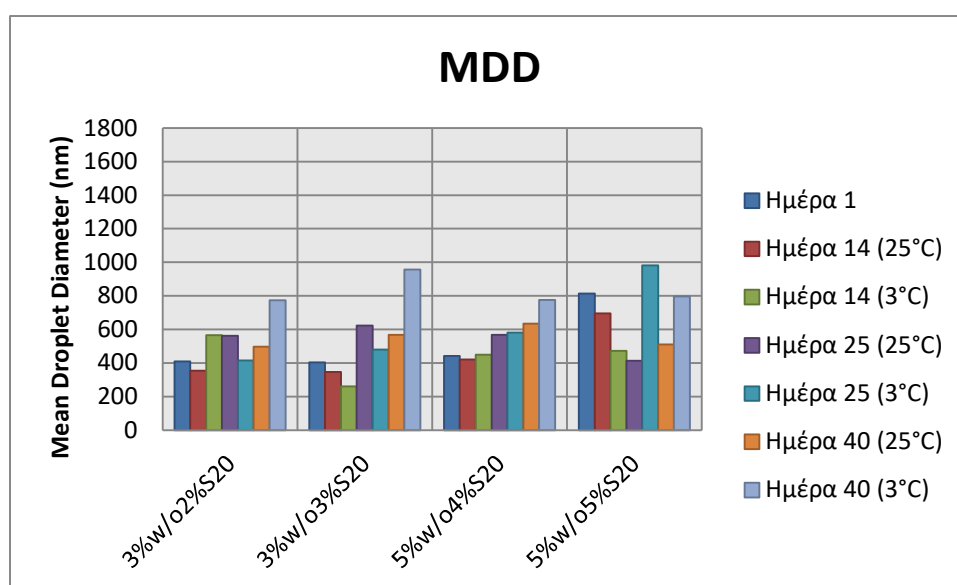
Σε αυτή την ενότητα παρουσιάζονται τα πειραματικά αποτελέσματα για τα γαλακτώματα με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ και επιμέρους ανά λιπαρή φάση (πυρηνέλαιο, ελαιόλαδο).

- *Πυρηνέλαιο*

Στον Πίνακα 4.9 παρουσιάζονται οι τιμές για τις φυσικοχημικές ιδιότητες (ιξώδες, θολότητα, δείκτης διάθλασης) των γαλακτωμάτων με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ την ημέρα παρασκευής τους.

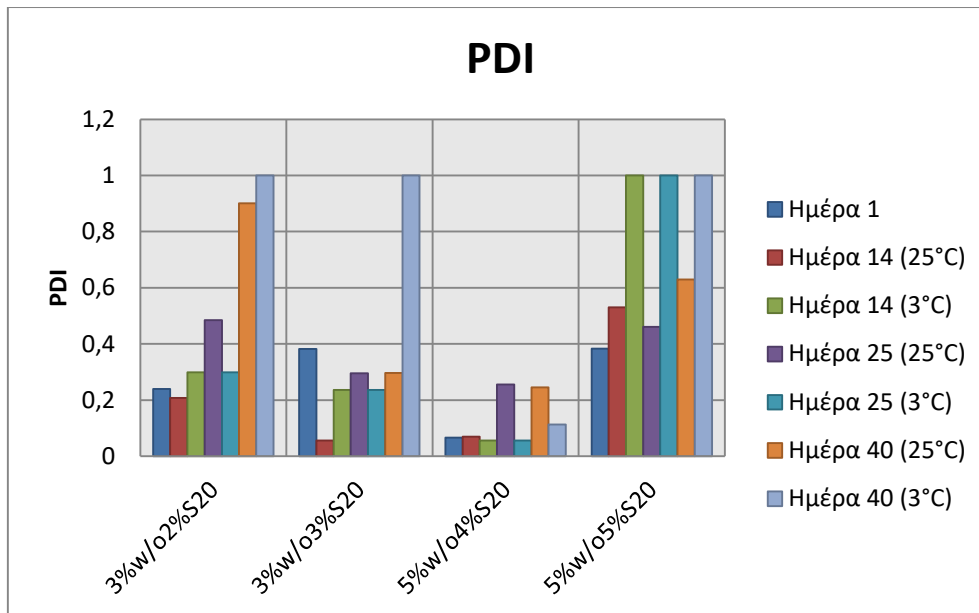
Πίνακας 4.9: Φυσικοχημικές ιδιότητες των γαλακτωμάτων με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ.

Αριθμός δείγματος	Ιξώδες (cP)	Δείκτης διάθλασης (nd)	Θολότητα
3% w/o 2% S20	76,7	1,4658 (27,6°C)	4106
3% w/o 3% S20	67,9	1,4659 (27,6°C)	3146
5% w/o 4% S20	79,3	1,4659 (27,6°C)	4090
5% w/o 5% S20	73,8	1,4659 (27,6°C)	3831



Διάγραμμα 4.25: Μεταβολή της Μέσης Διαμέτρου Σταγονιδίων (MDD) συναρτήσει του χρόνου και της θερμοκρασίας αποθήκευσης για τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ.

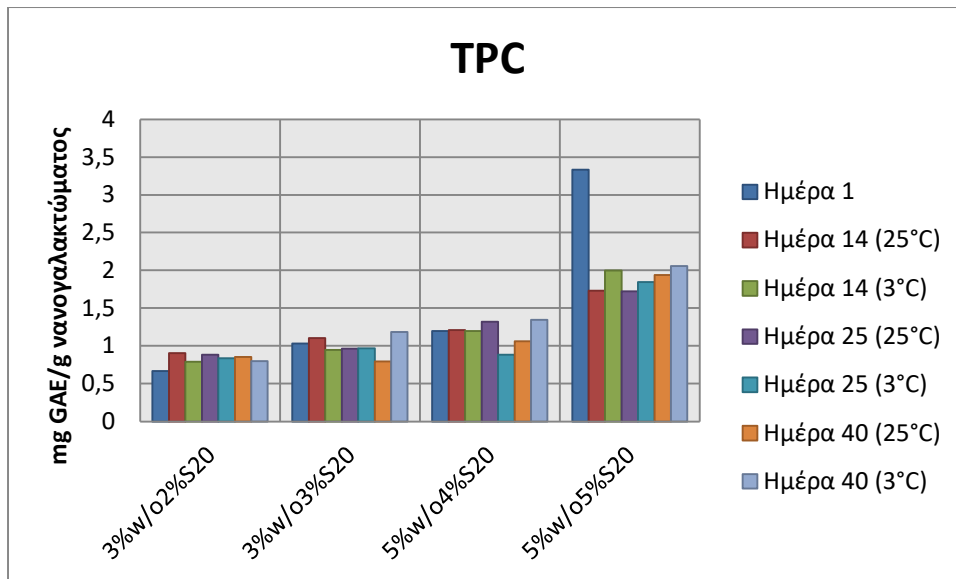
Τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές μεταξύ τους ως προς την MDD ανάλογα με τη μεταβολή της σύστασής τους (ποσοστό υδατικής φάσης και γαλακτωματοποιητή). Με σταδιακή αύξηση του ποσοστού του γαλακτωματοποιητή σημειώνεται αύξηση της τιμής MDD, άρα το δείγμα με τη χαμηλότερη MDD είναι το 3%w/o2%S20. Συνολικά, η MDD κυμαίνεται από 259,6 nm έως 982,2 nm, ενώ κατά την αποθήκευση τα δείγματα στους 3°C έχουν σημαντικά υψηλότερη τιμή MDD (685 nm) από ότι στους 25°C (490 nm).



Διάγραμμα 4.26: Μεταβολή του δείκτη πολυδιασποράς PDI συναρτήσει του χρόνου και της θερμοκρασίας αποθήκευσης για τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ.

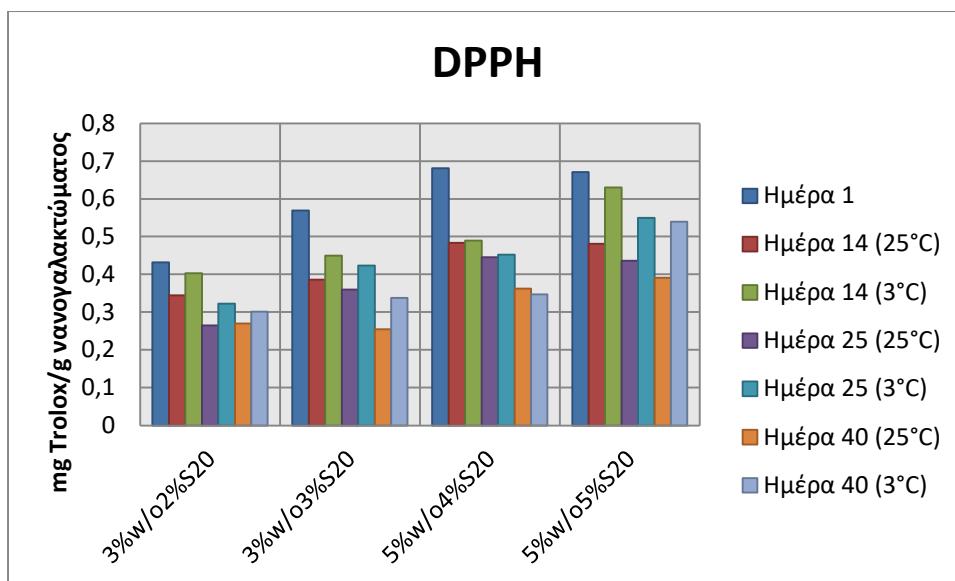
Όπως φαίνεται στο διάγραμμα 4.26, τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ διαφοροποιούνται σημαντικά μεταξύ τους ως προς την τιμή PDI ανάλογα με τη μεταβολή της σύστασής τους. Συγκεκριμένα, τη χαμηλότερη τιμή PDI εμφανίζει το δείγμα 5%w/o4%S20 (0,123). Ακόμη, κατά την αποθήκευση παρατηρείται σημαντική αύξηση του PDI ασχέτως της θερμοκρασίας αποθήκευσης ( $p < 0,05$ ). Συνολικά, η τιμή του PDI κυμαίνεται από 0,056 έως 1.

Κρίνεται λοιπόν ότι κατά την αποθήκευση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ παραμένουν πιο σταθερά. Επίσης, τα δείγματα 3%w/o2%S20 και 5%w/o4%S20 είναι σταθερότερα, ενώ με την πάροδο του χρόνου μειώνεται η σταθερότητα όλων των γαλακτωμάτων.



*Διάγραμμα 4.27: Μεταβολή του ολικού φαινολικού περιεχομένου TPC συναρτήσει του χρόνου και της θερμοκρασίας αποθήκευσης για τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ.*

Όπως φαίνεται στο διάγραμμα 4.27, το TPC των γαλακτωμάτων επηρεάζεται σημαντικά από τη σύστασή τους (ποσοστό υδατικής φάσης και γαλακτωματοποιητή). Συγκεκριμένα, με αύξηση του ποσοστού υδατικής φάσης και γαλακτωματοποιητή παρατηρείται σημαντική αύξηση του TPC ( $p < 0,05$ ), όπως αναμένεται καθώς στην υδατική φάση ενσωματώθηκε το καφεϊκό οξύ. Το δείγμα με το μεγαλύτερο TPC είναι το 5%w/0.5%S20 (2,09 mg GAE/g γαλακτώματος). Συνολικά, η τιμή του TPC κυμαίνεται από 3,334 mg GAE/g γαλακτώματος έως 0,795 mg GAE/g γαλακτώματος. Πρέπει να τονιστεί ότι οι παράγοντες αποθήκευσης (χρόνος και θερμοκρασία αποθήκευσης) δεν επιδρούν σημαντικά στην τιμή του TPC των γαλακτωμάτων. Συνεπώς, τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ διατηρούν αποτελεσματικά το TPC, είτε αποθηκεύονται στους 3°C, είτε αποθηκεύονται στους 25°C.



Διάγραμμα 4.28: Μεταβολή της αντιοξειδωτικής ικανότητας DPPH συναρτήσει του χρόνου και της θερμοκρασίας αποθήκευσης για τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ.

Τα γαλακτώματα διαφοροποιούνται σημαντικά μεταξύ τους ως προς την τιμή DPPH ανάλογα με τη μεταβολή στη σύστασή τους. Συγκεκριμένα, με αύξηση του ποσοστού υδατικής φάσης και γαλακτωματοποιητή παρατηρείται σημαντική αύξηση της τιμής DPPH ( $p < 0,05$ ), γεγονός αναμενόμενο καθώς στην υδατική φάση ενσωματώνεται το καφεϊκό οξύ. Το δείγμα με την υψηλότερη DPPH είναι το 5%w/0.5%S20 (0,528 mg Trolox/g γαλακτώματος). Κατά την αποθήκευση, η τιμή DPPH κυμαίνεται από 0,671 mg Trolox/g γαλακτώματος έως 0,254 mg Trolox/g γαλακτώματος, ενώ με την πάροδο του χρόνου σημειώνεται σημαντική μείωσή της ( $p < 0,05$ ). Τέλος, κατά την αποθήκευση στους 3°C παρατηρείται αποτελεσματικότερη διατήρηση της τιμής DPPH.

Συνεπώς, κρίνεται ότι κατά την αποθήκευση σε ψύξη επιτυγχάνεται καλύτερη διατήρηση τόσο του TPC όσο και της τιμής DPPH. Ωστόσο, με την πάροδο του χρόνου μειώνεται σημαντικά το TPC και η DPPH των γαλακτωμάτων.

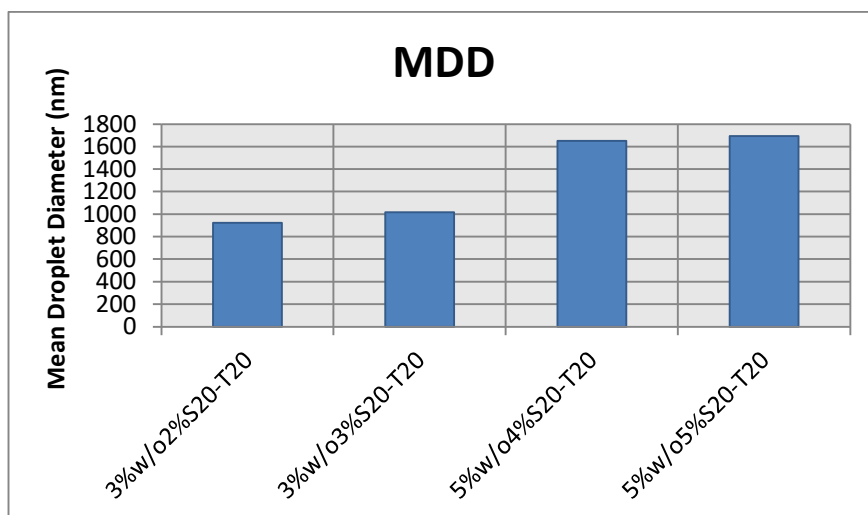
#### ▪ Ελαιόλαδο

Τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ διασπάστηκαν γρήγορα συνεπώς οι μετρήσεις αφορούν μόνο στην πρώτη ημέρα παρασκευής των γαλακτωμάτων.

Στον Πίνακα 4.10 παρουσιάζονται οι τιμές για τις φυσικοχημικές ιδιότητες (ιξώδες, θολότητα, δείκτης διάθλασης) των γαλακτωμάτων με βάση το ελαιόλαδο με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ την ημέρα παρασκευής των γαλακτωμάτων.

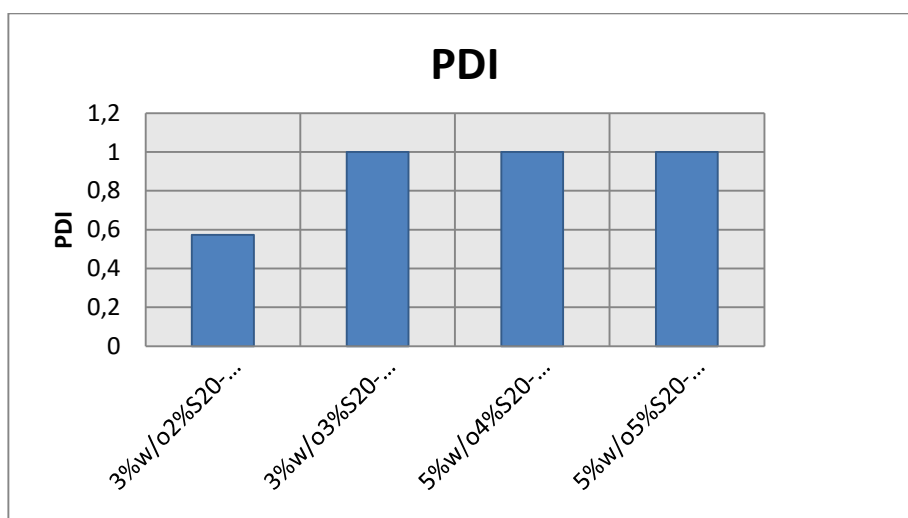
Πίνακας 4.10: Φυσικοχημικές ιδιότητες των γαλακτωμάτων με βάση το ελαιόλαδο με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ.

Αριθμός δείγματος	Ιξώδες (cP)	Δείκτης διάθλασης (nd)	Θολότητα
3% w/o 2% S20-T20	67	1,4654 (27,3°C)	2379
3% w/o 3% S20-T20	55,9	1,4659 (27,5°C)	2238
5% w/o 4% S20-T20	78,4	1,4652 (27,4°C)	2327
5% w/o 5% S20-T20	69,7	1,4650 (27,2°C)	2355



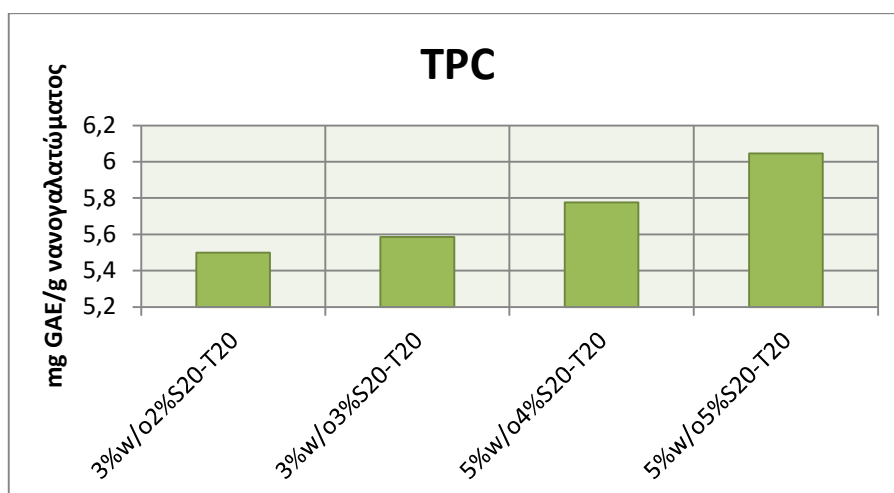
Διάγραμμα 4.29: Μεταβολή της Μέσης Διαμέτρου Σταγονιδίων (MDD) για τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ.

Η τιμή MDD για τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ εμφανίζει διαφορετικά αποτελέσματα ως προς το ποσοστό της υδατικής φάσης, καθώς τα 5%w/o δείγματα έχουν υψηλότερη τιμή σε σχέση με τα 3%w/o δείγματα. Η τιμή της MDD κυμαίνεται από 922,4 nm έως 1693 nm.



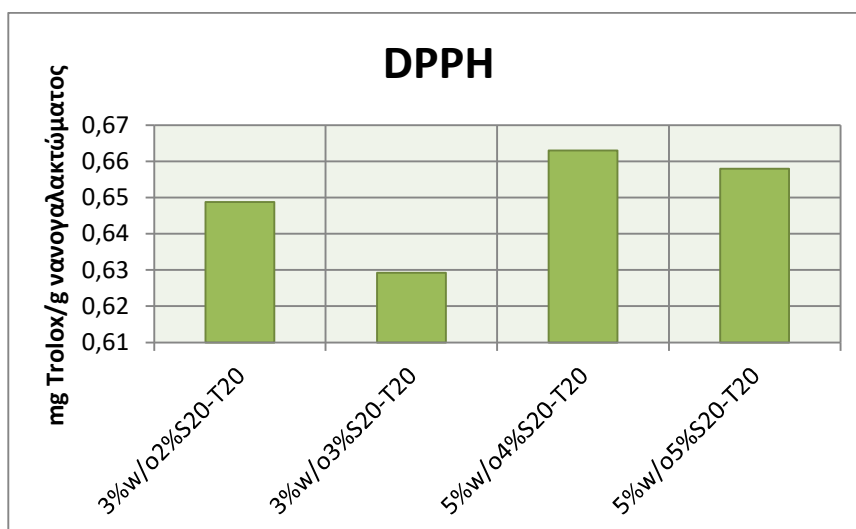
Διάγραμμα 4.30: Μεταβολή του δείκτη πολυδιασποράς PDI για τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ.

Η τιμή του PDI κυμαίνεται από 0,573 έως 1.



Διάγραμμα 4.31: Μεταβολή του ολικού φαινολικού περιεχομένου TPC για τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ.

Το TPC των γαλακτωμάτων με βάση το ελαιόλαδο με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ παρουσιάζει αύξηση με την σταδιακή αύξηση του ποσοστού του γαλακτωματοποιητή, με αποτέλεσμα το δείγμα με υψηλότερη τιμή να είναι το 5%w/o (5%S20-T20). Η τιμή του TPC κυμαίνεται από 5,499 mg GAE/g γαλακτώματος έως 6,045 mg GAE/g γαλακτώματος.



Διάγραμμα 4.32: Μεταβολή της αντιοξειδωτικής ικανότητας DPPH για τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ.

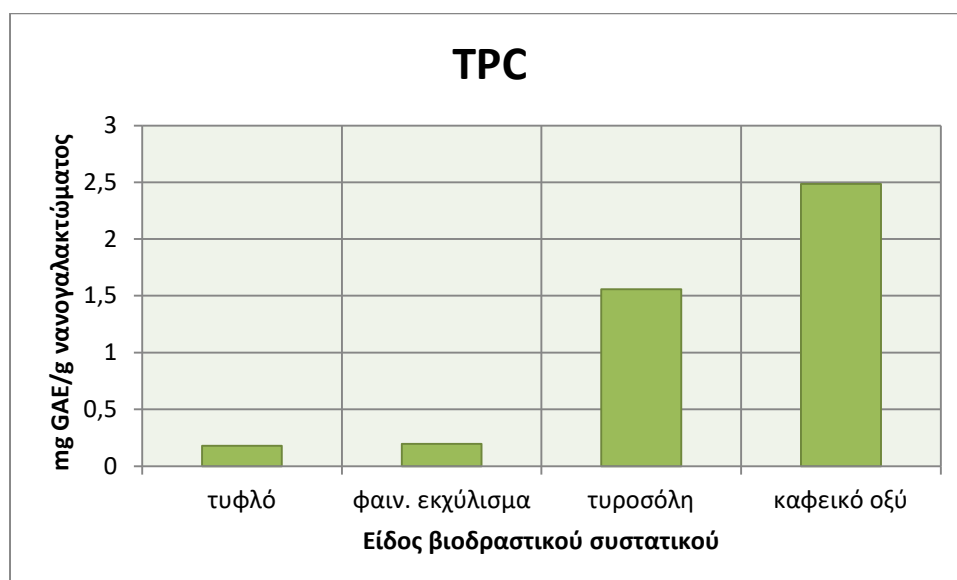
Η τιμή DPPH των γαλακτωμάτων με βάση το ελαιόλαδο με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ δεν επηρεάζεται από το κατά βάρος ποσοστό του γαλακτωματοποιητή, και το δείγμα με την υψηλότερη τιμή είναι το 5%w/o (4%S20-T20). Η τιμή της DPPH κυμαίνεται από 0,629 mg Trolox/g γαλακτώματος έως 0,663 mg Trolox/g γαλακτώματος.

#### 4.2.5 Σύγκριση των ενσωματούμενων βιοδραστικών συστατικών στα γαλακτώματα ανάλογα με το είδος της λιπαρής φάσης

Σε αυτή την ενότητα μελετώνται και συγκρίνονται οι διαφορές που παρουσιάζουν οι μετρήσεις των ιδιοτήτων των w/o γαλακτωμάτων με βάση την ίδια λιπαρή φάση ως προς τα βιοδραστικά συστατικά που ενσωματώθηκαν στα γαλακτώματα. Οι συγκρίσεις αφορούν μόνο στην ημέρα παρασκευής των γαλακτωμάτων.

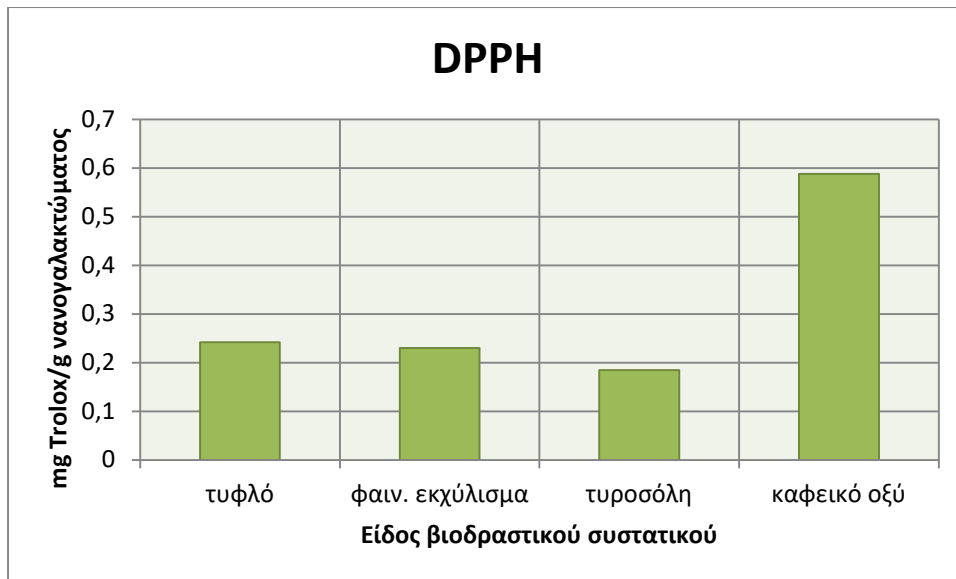
##### 4.2.5.1 Πυρηνέλαιο

Όλα τα w/o γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο (τυφλά και με ενσωματωμένα βιοδραστικά συστατικά) παρουσίασαν παρόμοια συμπεριφορά ως προς τις τιμές MDD και PDI, όπως προέκυψε από τη στατιστική ανάλυση. Συνεπώς, αποδεικνύεται ότι η ενσωμάτωση βιοδραστικών συστατικών δεν επιφέρει σημαντικές αλλαγές στις τιμές MDD και PDI ( $p > 0,05$ ). Ωστόσο, σημαντικές διαφορές παρουσιάστηκαν ως προς τις τιμές του TPC και της DPPH ανάλογα με το είδος του βιοδραστικού συστατικού που ενσωματώθηκε στα γαλακτώματα ( $p < 0,05$ ), όπως φαίνεται στα διαγράμματα 4.33 και 4.34.



Διάγραμμα 4.33: Το ολικό φαινολικό περιεχόμενο TPC των γαλακτωμάτων με βάση το πυρηνέλαιο με τα διάφορα ενσωματωμένα βιοδραστικά συστατικά.

Ως προς το TPC, φαίνεται ότι η τιμή του για τα τυφλά και αυτά με φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα γαλακτώματα είναι σημαντικά χαμηλότερη από αυτά με τυροσόλη και καφεϊκό οξύ. Συγκεκριμένα, τα τυφλά γαλακτώματα έχουν τη χαμηλότερη τιμή (0,180 mg GAE/g γαλακτώματος), ακολουθούν αυτά με φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα (0,195 mg GAE/g γαλακτώματος), ύστερα αυτά με τυροσόλη (1,558 mg GAE/g γαλακτώματος) και τέλος αυτά με καφεϊκό οξύ με την υψηλότερη τιμή (2,486 mg GAE/g γαλακτώματος).



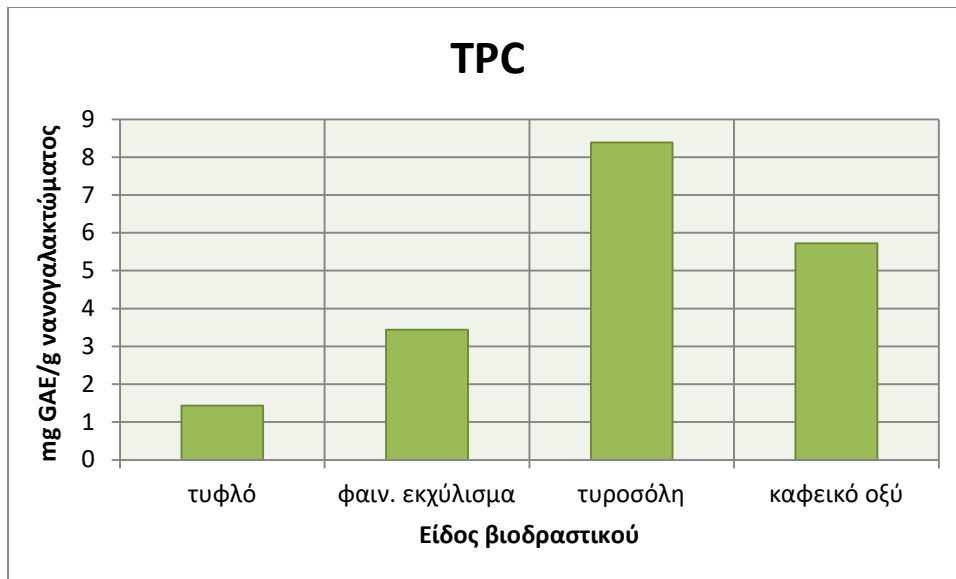
Διάγραμμα 4.34: Η αντιοξειδωτική ικανότητα DPPH των γαλακτώματων με βάση το πυρηνέλαιο με τα διάφορα ενσωματωμένα βιοδραστικά συστατικά.

Τα γαλακτώματα με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ έχουν σημαντικά υψηλότερη τιμή DPPH σε σχέση με τα υπόλοιπα γαλακτώματα (0,588 mg Trolox/g γαλακτώματος), ακολουθούν τα τυφλά γαλακτώματα (0,241 mg Trolox/g γαλακτώματος), αυτά με φαινολικό εκχύλισμα (0,230 mg Trolox/g γαλακτώματος) και τέλος αυτά με τυροσόλη (0,185 mg Trolox/g γαλακτώματος).

Συνολικά, τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ παρουσίασαν την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα και το μεγαλύτερο ολικό φαινολικό περιεχόμενο, εμφανίζοντας ταυτόχρονα παρόμοια μέση διάμετρο σταγονιδίων και δείκτη πολυδιασποράς με τα υπόλοιπα γαλακτώματα πυρηνέλαιου που ενσωματώθηκε άλλο βιοδραστικό συστατικό. Ακόμη, πρέπει να τονιστεί ότι τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ είναι αυτά που παρέμειναν σταθερά για το μεγαλύτερο χρονικό διάστημα σε σχέση με τα τυφλά δείγματα πυρηνέλαιου.

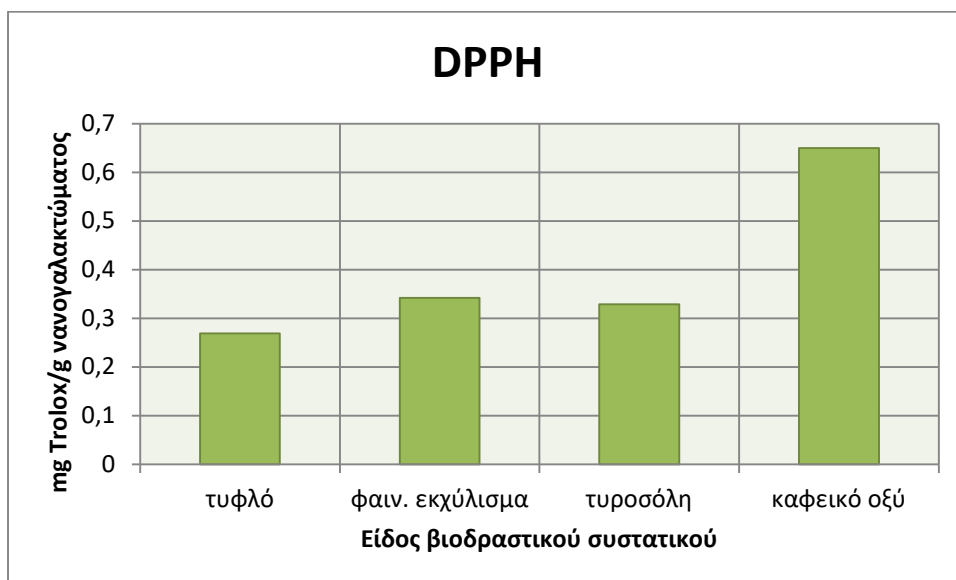
#### 4.2.5.2 Ελαιόλαδο

Όλα τα w/o γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο (τυφλά και με ενσωματωμένα βιοδραστικά συστατικά) παρουσίασαν παρόμοια συμπεριφορά ως προς τις τιμές MDD και PDI, όπως προέκυψε και από τη στατιστική ανάλυση. Συμπεραίνεται λοιπόν ότι η ενσωμάτωση βιοδραστικού συστατικού δεν επιφέρει σημαντικές αλλαγές ως προς τις τιμές της MDD και του PDI. Ωστόσο, σημαντικές διαφορές παρουσιάστηκαν ως προς το TPC και την τιμή DPPH ανάλογα με το είδος του βιοδραστικού συστατικού που ενσωματώθηκε στα γαλακτώματα ( $p < 0,05$ ), όπως φαίνεται στα διαγράμματα 4.35 και 4.36.



Διάγραμμα 4.35: Το ολικό φαινολικό περιεχόμενο TPC των γαλακτώματων με βάση το ελαιόλαδο με τα διάφορα ενσωματωμένα βιοδραστικά συστατικά.

Ως προς το TPC, τα τυφλά γαλακτώματα είχαν τη χαμηλότερη τιμή από όλα τα άλλα με ενσωματωμένα βιοδραστικά συστατικά (1,435 GAE/g γαλακτώματος), ακολουθούν τα γαλακτώματα με φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα (3,435 mg GAE/g γαλακτώματος), σημαντικά υψηλότερη τιμή παρουσιάζουν αυτά με καφεϊκό οξύ (5,726 mg GAE/g γαλακτώματος) και, τέλος, τα γαλακτώματα με τυροσόλη παρουσιάζουν την υψηλότερη τιμή (8,385 mg GAE/g γαλακτώματος).



Διάγραμμα 4.36: Η αντιοξειδωτική ικανότητα DPPH των γαλακτώματων με βάση το ελαιόλαδο με τα διάφορα ενσωματωμένα βιοδραστικά συστατικά.

Τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ έχουν σημαντικά υψηλότερη τιμή DPPH σε σχέση με τα υπόλοιπα γαλακτώματα (0,649 mg Trolox/g γαλακτώματος), ακολουθούν αυτά με φαινολικό εκχύλισμα (0,342 mg Trolox/g γαλακτώματος), ύστερα αυτά με τυροσόλη (0,329 mg Trolox/g

γαλακτώματος) και, τέλος, τα τυφλά γαλακτώματα (0,269 mg Trolox/g γαλακτώματος).

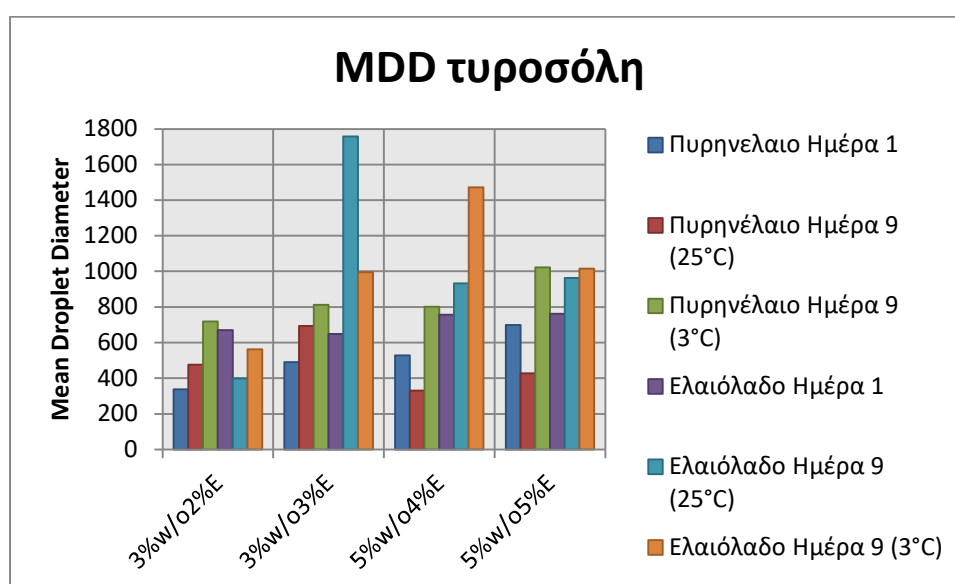
Συνολικά, τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ παρουσίασαν την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα και αυτά με τυροσόλη παρουσίασαν το μεγαλύτερο ολικό φαινολικό περιεχόμενο, εμφανίζοντας ταυτόχρονα παρόμοια μέση διάμετρο σταγονιδίων και δείκτη πολυδιασποράς με τα υπόλοιπα γαλακτώματα ελαιόλαδου που ενσωματώθηκε άλλο βιοδραστικό συστατικό. Ακόμη, πρέπει να τονιστεί ότι τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο με τυροσόλη και αυτά με φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα είναι αυτά που παρέμειναν σταθερά για το μεγαλύτερο χρονικό διάστημα σε σχέση με τα τυφλά δείγματα ελαιόλαδου.

#### 4.2.6 Σύγκριση επίδρασης του είδους της λιπαρής φάσης ανά σειρά πειραμάτων

Σε αυτή την ενότητα μελετάται, όπου είναι δυνατόν, η επίδραση του είδους της λιπαρής φάσης (πυρηνέλαιο, ελαιόλαδο) ανά σειρά πειραμάτων στις τιμές των μετρήσεων MDD, PDI, TPC και DPPH. Υπενθυμίζεται ότι το σύστημα γαλακτωματοποιητών που χρησιμοποιήθηκε σε κάθε είδος λιπαρής φάσης δεν είναι το ίδιο και σε όλα τα δείγματα το σύστημα γαλακτωματοποιητών αναφέρεται ως E (emulsifier).

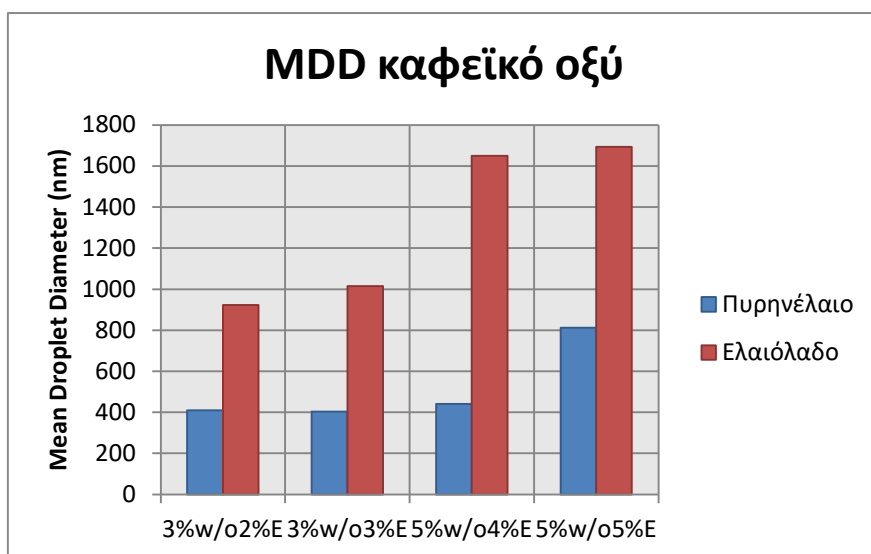
##### 4.2.6.1 MDD

Η Μέση Διάμετρος Σταγονιδίων δεν επηρεάζεται από το είδος της λιπαρής φάσης στα τυφλά γαλακτώματα και στα γαλακτώματα με ενσωματωμένο φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα. Ωστόσο, η τιμή MDD επηρεάζεται σημαντικά από το είδος της λιπαρής φάσης στα γαλακτώματα με ενσωμάτωση τυροσόλης και καφεϊκού οξέος, και μάλιστα τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο παρουσιάζουν σημαντικά μεγαλύτερη τιμή MDD σε σχέση με αυτά με βάση το πυρηνέλαιο ( $p < 0,05$ ).



Διάγραμμα 4.37: Μεταβολή της Μέσης Διαμέτρου Σταγονιδίων (MDD) για τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο και το ελαιόλαδο με ενσωματωμένη τυροσόλη.

Η τιμή MDD για τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένη τυροσόλη είναι 611 nm, ενώ για τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο είναι 911 nm.

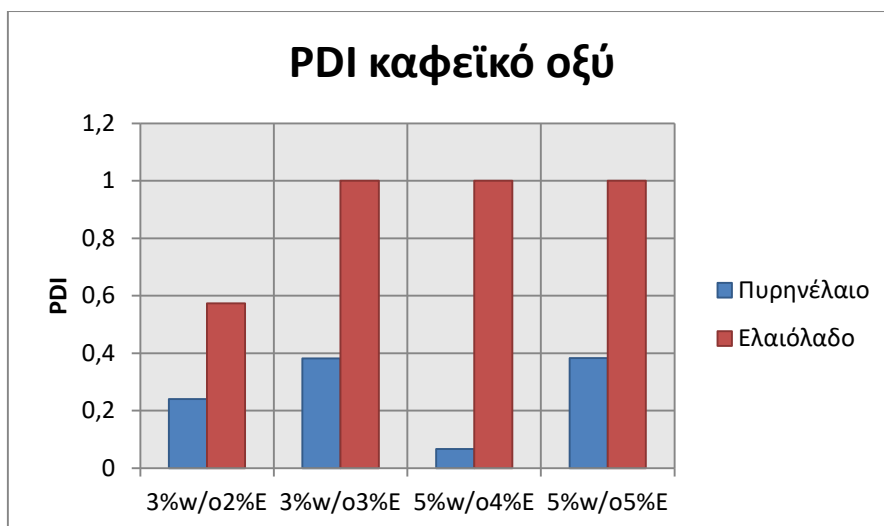


Διάγραμμα 4.38: Μεταβολή της Μέσης Διαμέτρου Σταγονιδίων (MDD) για τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο και το ελαιόλαδο με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ.

Η τιμή MDD για τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ είναι 517 nm, ενώ για τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο είναι 1320 nm.

#### 4.2.6.2 PDI

Ο Δείκτης Πολυδιασποράς PDI δεν επηρεάζεται από το είδος της λιπαρής φάσης στα τυφλά δείγματα, και σε αυτά με ενσωματωμένο φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα και αυτά με ενσωματωμένη τυροσόλη. Ωστόσο, η τιμή PDI επηρεάζεται σημαντικά από το είδος της λιπαρής φάσης στα γαλακτώματα με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ και μάλιστα τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο παρουσιάζουν σημαντικά μεγαλύτερη τιμή PDI σε σχέση με αυτά με βάση το πυρηνέλαιο ( $p < 0,05$ ).

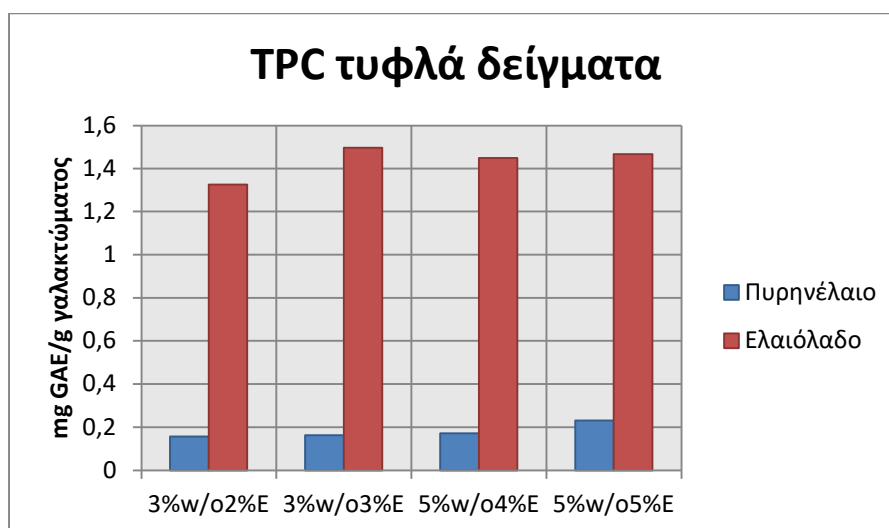


Διάγραμμα 4.39: Μεταβολή του Δείκτη Πολυδιασποράς (PDI) για τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο και το ελαιόλαδο με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ.

Η τιμή PDI για τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ είναι 0,267, ενώ για τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο είναι 0,893.

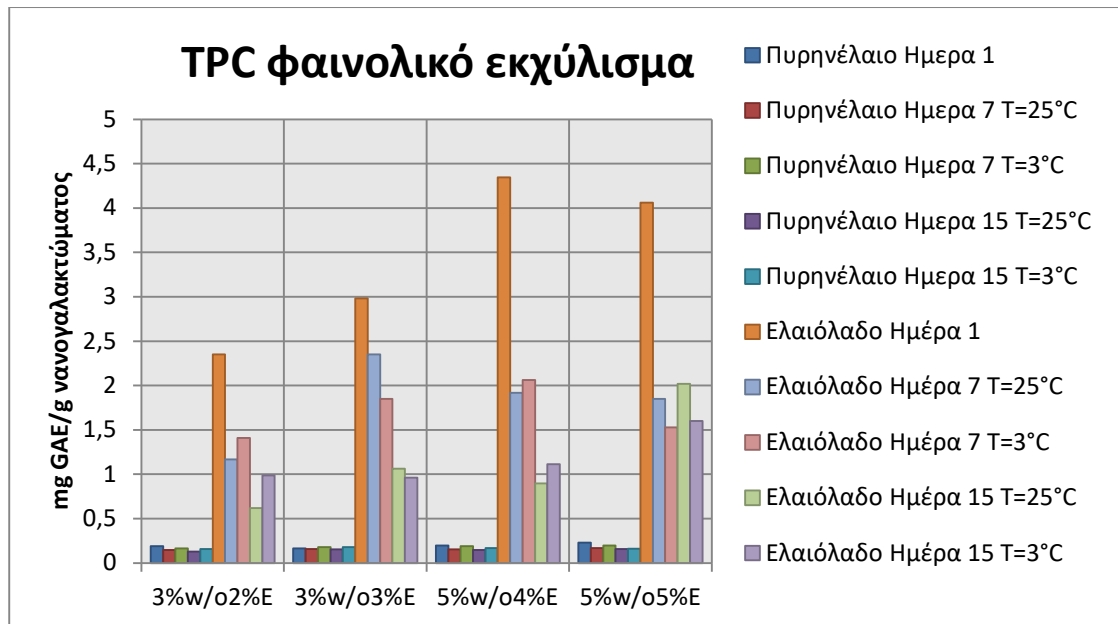
#### 4.2.6.3 TPC

Το ολικό φαινολικό περιεχόμενο TPC επηρεάζεται σημαντικά σε όλες τις σειρές πειραμάτων από το είδος της λιπαρής φάσης όπως φαίνεται και στα παρακάτω διαγράμματα, και μάλιστα τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο παρουσιάζουν μεγαλύτερη τιμή TPC.



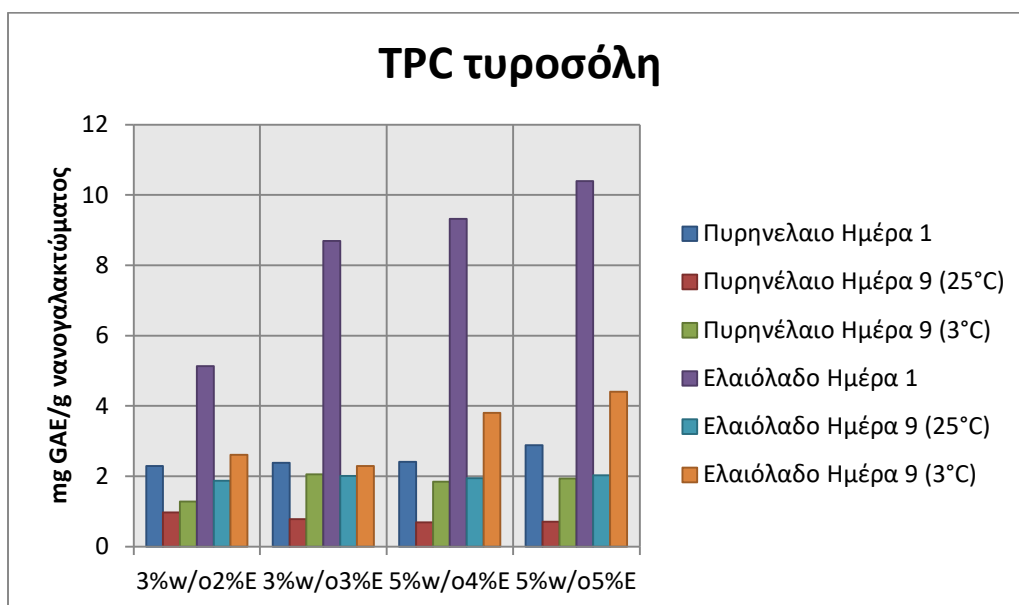
Διάγραμμα 4.40: Το ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC) για τα τυφλά γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο και ελαιόλαδο.

Το TPC των τυφλών γαλακτωμάτων με βάση το ελαιόλαδο εμφανίζει πολύ μεγαλύτερη τιμή σε σχέση με τα τυφλά γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο, όπως φαίνεται και στο διάγραμμα 4.40 ( $p < 0,05$ ).



Διάγραμμα 4.41: Μεταβολή του ολικού φαινολικού περιεχομένου (TPC) για τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο και το ελαιόλαδο με ενσωματωμένο φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα.

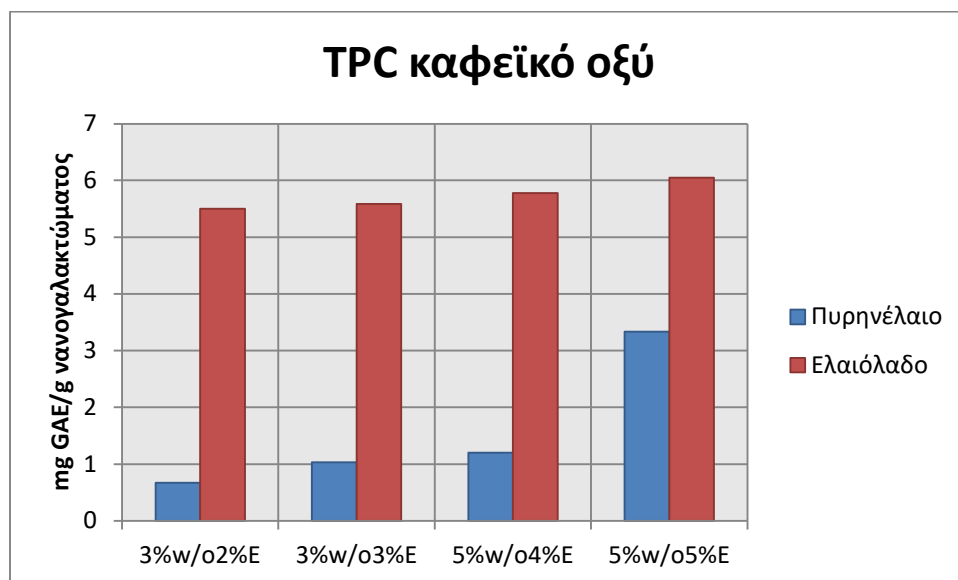
Το TPC για τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο και το ελαιόλαδο με ενσωματωμένο φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα, όπως φαίνεται από το διάγραμμα 4.41, επηρεάζεται από το είδος της λιπαρής φάσης, καθώς το ελαιόλαδο εμφανίζει πολύ μεγαλύτερη τιμή TPC σε σχέση με το πυρηνέλαιο. Ωστόσο, το TPC των γαλακτωμάτων με βάση και τα δύο είδη λιπαρής φάσης μειώνεται σημαντικά με την πάροδο του χρόνου ( $p < 0,05$ ).



Διάγραμμα 4.42: Μεταβολή του ολικού φαινολικού περιεχομένου (TPC) για τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο και το ελαιόλαδο με ενσωματωμένη τυροσόλη.

Το TPC για τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο και το ελαιόλαδο με ενσωματωμένη τυροσόλη επηρεάζεται από το είδος της λιπαρής φάσης αλλά και από

το χρόνο αποθήκευσης ( $p < 0,05$ ). Συγκεκριμένα, παρατηρείται ότι με την πάροδο του χρόνου το TPC μειώνεται σημαντικά για τα γαλακτώματα με βάση και τα δύο είδη λιπαρής φάσης. Όσον αφορά το είδος της λιπαρής φάσης, τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο έχουν σημαντικά υψηλότερη τιμή TPC από αυτά με βάση το πυρηνέλαιο.

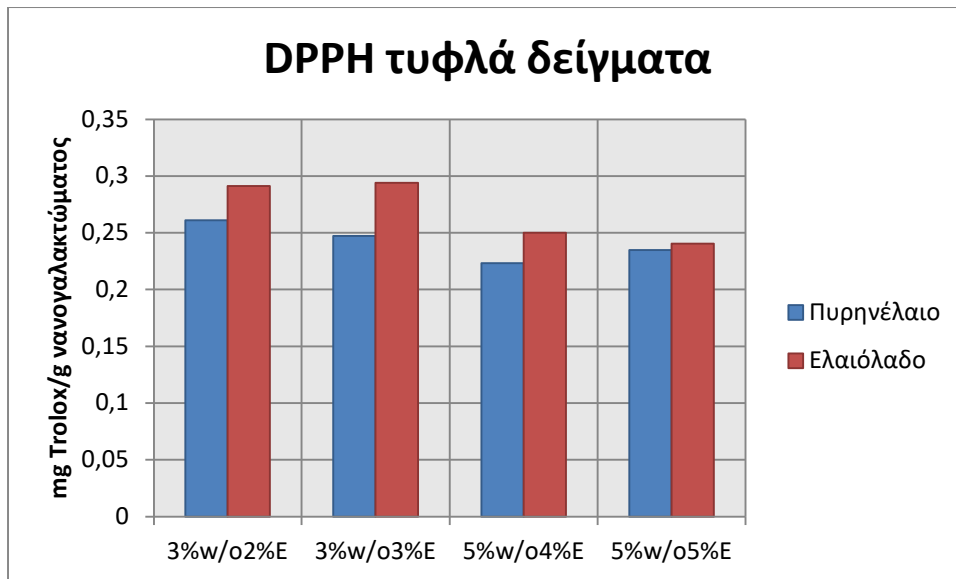


Διάγραμμα 4.43: Το ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC) για τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο και το ελαιόλαδο με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ.

Το TPC των γαλακτωμάτων με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ επηρεάζεται από το είδος της λιπαρής φάσης. Συγκεκριμένα, τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο έχουν σημαντικά υψηλότερη τιμή TPC από αυτά με βάση το πυρηνέλαιο ( $p < 0,05$ ).

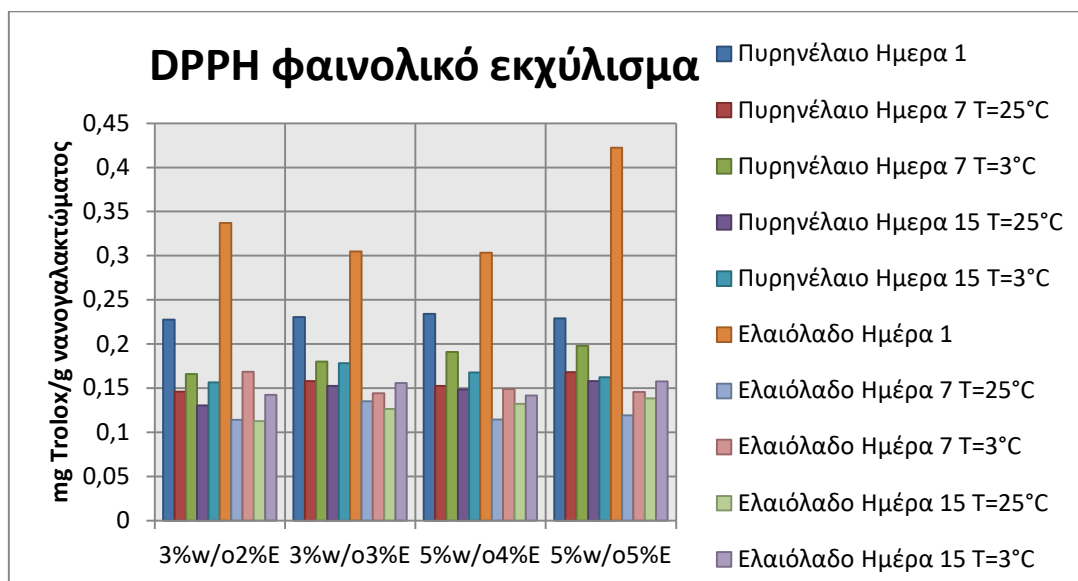
#### 4.2.6.4 DPPH

Η αντιοξειδωτική ικανότητα DPPH επηρεάζεται σημαντικά σε όλες τις σειρές πειραμάτων από το είδος της λιπαρής φάσης όπως φαίνεται και στα παρακάτω διαγράμματα, και μάλιστα τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο παρουσιάζουν υψηλότερη τιμή. Εξαιρέση αποτελούν τα γαλακτώματα με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ, στα οποία η τιμή της DPPH και για τα δύο είδη λιπαρής φάσης είναι παρόμοια.



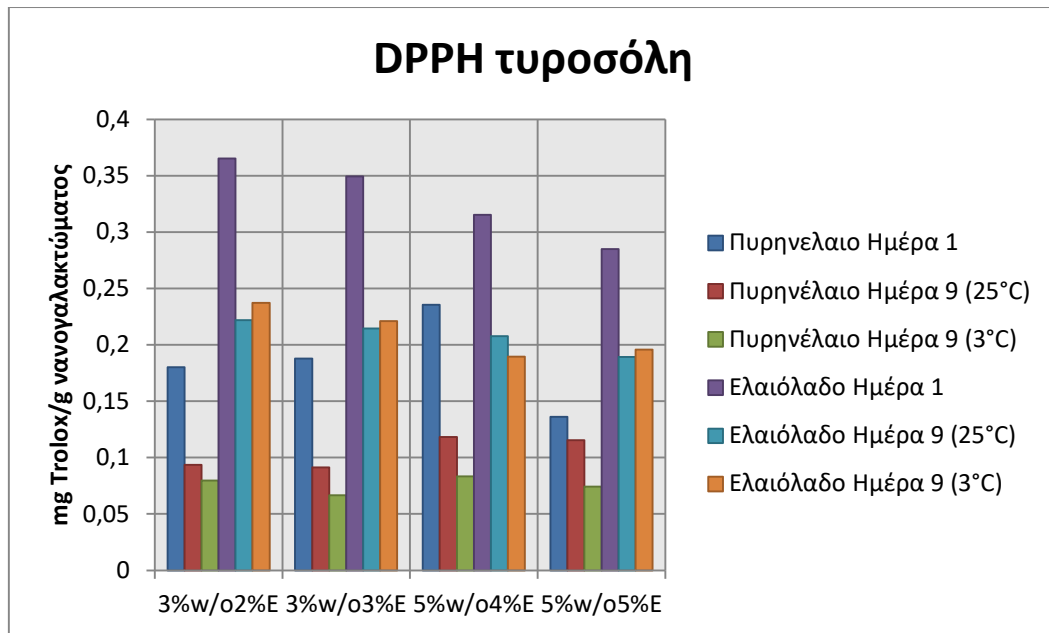
Διάγραμμα 4.44: Η αντιοξειδωτική ικανότητα (DPPH) για τα τυφλά γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο και ελαιόλαδου.

Η τιμή DPPH των τυφλών γαλακτωμάτων με βάση το ελαιόλαδο είναι υψηλότερη σε σχέση με αυτή των γαλακτωμάτων με βάση το πυρηνέλαιο ( $p < 0,05$ ).



Διάγραμμα 4.45: Μεταβολή της αντιοξειδωτικής ικανότητας (DPPH) για τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο και το ελαιόλαδο με ενσωματωμένο φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα.

Η τιμή DPPH επηρεάζεται από το είδος της λιπαρής φάσης, αλλά και από το χρόνο και τη θερμοκρασία αποθήκευσης ( $p < 0,05$ ). Δηλαδή, τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο εμφανίζουν χαμηλότερη τιμή DPPH από τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο. Με την πάροδο του χρόνου η τιμή DPPH μειώνεται σημαντικά για τα γαλακτώματα με βάση και τα δύο είδη λιπαρής φάσης. Παρόλα αυτά, κατά την αποθήκευση σε  $T=3^{\circ}\text{C}$  επιτυγχάνεται καλύτερη διατήρηση της τιμής DPPH.

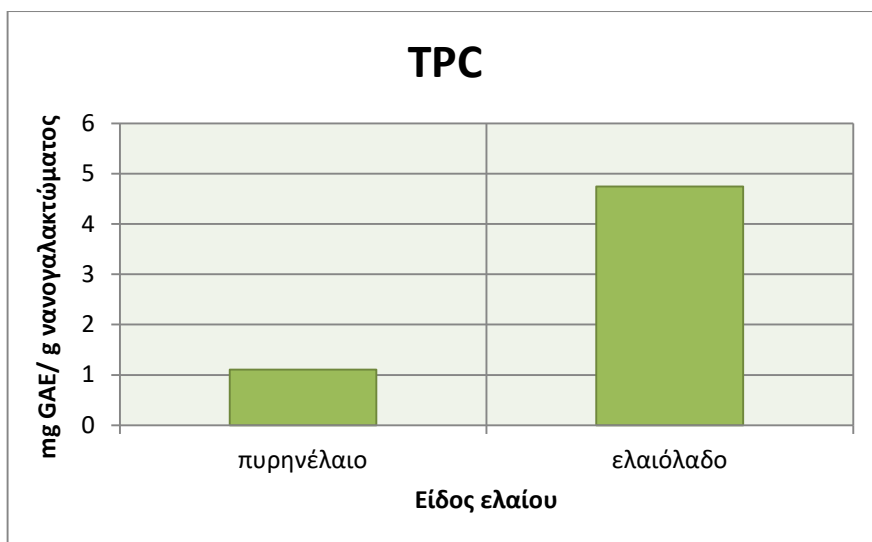


Διάγραμμα 4.46: Μεταβολή της αντιοξειδωτικής ικανότητας (DPPH) για τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο και το ελαιόλαδο με ενσωματωμένη τυροσόλη.

Η τιμή DPPH επηρεάζεται από το είδος της λιπαρής φάσης και από το χρόνο αποθήκευσης ( $p < 0,05$ ). Συγκεκριμένα, παρατηρείται ότι με την πάροδο του χρόνου μειώνεται σημαντικά η τιμή DPPH στα γαλακτώματα με βάση και τα δύο είδη λιπαρής φάσης. Όσον αφορά το είδος της λιπαρής φάσης, τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο έχουν σημαντικά υψηλότερη τιμή από τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο.

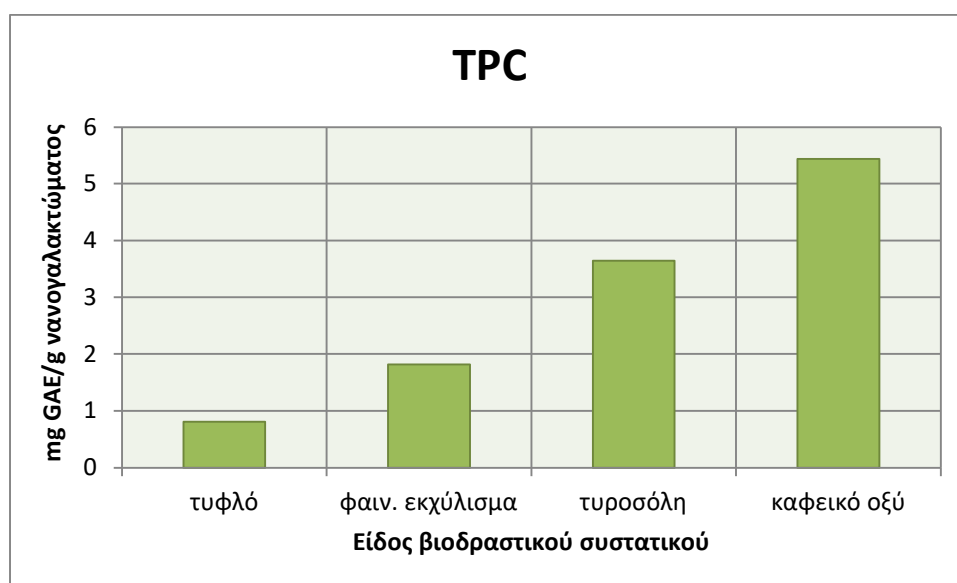
#### 4.2.7 Σύγκριση των βιοδραστικών συστατικών σε όλα τα γαλακτώματα

Σε αυτή την ενότητα γίνεται η σύγκριση όλων των γαλακτωμάτων ως προς το βιοδραστικό συστατικό και το είδος της λιπαρής φάσης την ημέρα παρασκευής τους. Τα αποτελέσματα της στατιστικής επεξεργασίας έδειξαν ότι δεν υπήρχε σημαντική διαφορά στη μέση διάμετρο σταγονιδίων (MDD) και στο δείκτη πολυδιασποράς (PDI) ανάλογα με το είδος βιοδραστικού συστατικού, αλλά μόνον ανάλογα με το είδος της λιπαρής φάσης ( $p < 0,05$ ). Συγκεκριμένα, τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο παρουσίασαν  $MDD=505$  nm και  $PDI=0,227$ , ενώ τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο  $MDD=880$  nm και  $PDI=0,653$  αντίστοιχα. Συνεπώς, κρίνεται ότι τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο είναι σταθερότερα από τα δείγματα με βάση το ελαιόλαδο. Αντίθετα το ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC) και η αντιοξειδωτική ικανότητα (DPPH) των γαλακτωμάτων έχει σημαντικά διαφορετικές τιμές ανάλογα με το είδος του βιοδραστικού συστατικού και το είδος της λιπαρής φάσης ( $p < 0,05$ ), όπως φαίνεται στα παρακάτω διαγράμματα.



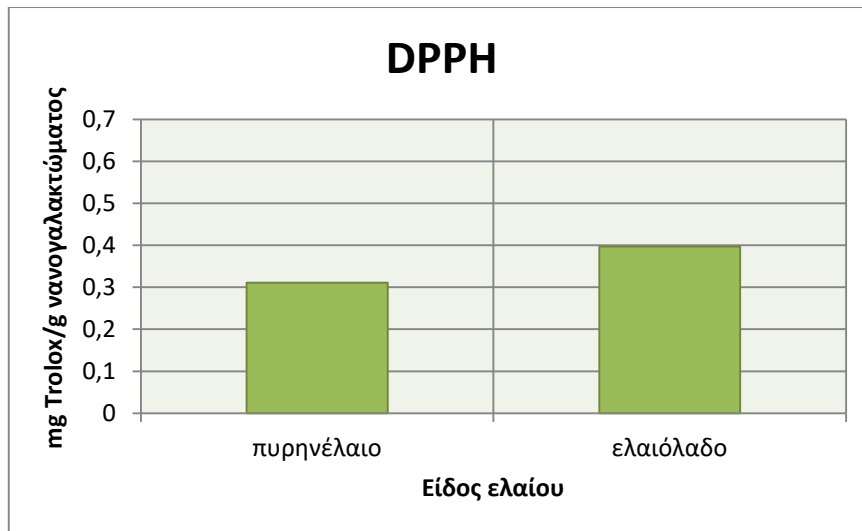
Διάγραμμα 4.47: Η τιμή του ολικού φαινολικού περιεχομένου TPC για όλα τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο και το ελαιόλαδο (τυφλά και με βιοδραστικά συστατικά) κατά την ημέρα παρασκευής.

Η τιμή TPC για όλα τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο (με ή χωρίς βιοδραστικό) είναι πολύ χαμηλότερη (1,1 mg GAE/g γαλακτώματος) σε σχέση με τη τιμή των γαλακτωμάτων με βάση το ελαιόλαδο (4,7 mg GAE/g γαλακτώματος).



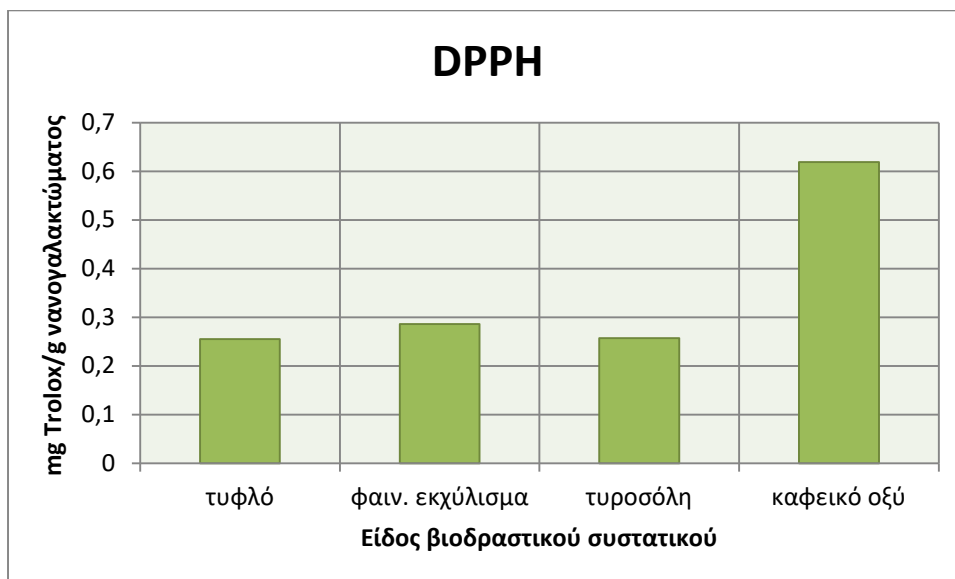
Διάγραμμα 4.48: Η τιμή του ολικού φαινολικού περιεχομένου TPC για όλα τα βιοδραστικά συστατικά που ενσωματώθηκαν στα δείγματα (πυρηνέλαιο και ελαιόλαδο) κατά την ημέρα παρασκευής.

Συγκρίνοντας τα βιοδραστικά συστατικά ως προς το TPC προέκυψε ότι τα γαλακτώματα που ενσωματώθηκε καφεικό οξύ παρουσίασαν την υψηλότερη τιμή (5,4 mg GAE/g γαλακτώματος), ακολουθούν εκείνα με τυροσόλη με σημαντικά χαμηλότερη μέση τιμή (3,6 mg GAE/g γαλακτώματος) και στη συνέχεια με αρκετά χαμηλότερες τιμές εκείνα με φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα και τα τυφλά γαλακτώματα (1,8 και 0,8 mg GAE/g γαλακτώματος αντιστοίχως).



Διάγραμμα 4.49: Η μέση τιμή της αντιοξειδωτικής ικανότητας DPPH για όλα τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο και το ελαιόλαδο (τυφλά και με όλα τα βιοδραστικά συστατικά) κατά την ημέρα παρασκευής.

Η τιμή DPPH για όλα τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο και το ελαιόλαδο (με ή χωρίς βιοδραστικό) φαίνεται να είναι σημαντικά χαμηλότερη ( $p < 0,05$ ) για τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο σε σχέση με εκείνα με βάση το ελαιόλαδο (0,31 και 0,39 mg Trolox/g γαλακτώματος αντιστοίχως).

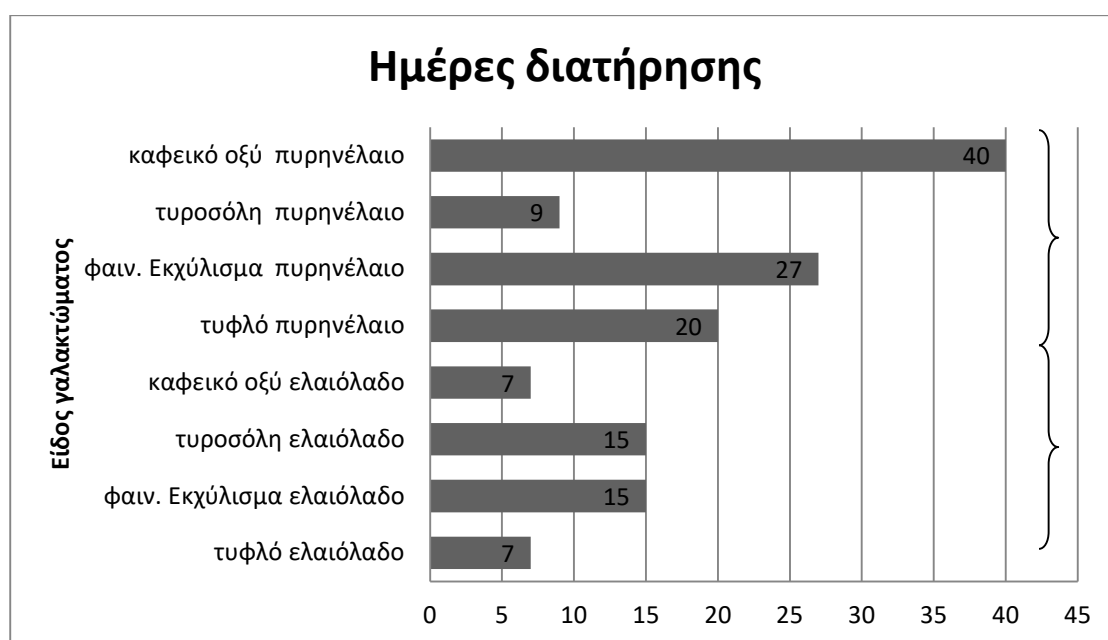


Διάγραμμα 4.50: Η μέση τιμή της αντιοξειδωτικής ικανότητας DPPH για όλα τα βιοδραστικά συστατικά που ενσωματώθηκαν στα δείγματα (πυρηνέλαιο και ελαιόλαδο) κατά την ημέρα παρασκευής.

Συγκρίνοντας τα βιοδραστικά συστατικά ως προς την τιμή DPPH προέκυψε ότι τα γαλακτώματα με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ παρουσίασαν την υψηλότερη τιμή (0,61 mg Trolox/g γαλακτώματος), ακολουθούν τα γαλακτώματα με φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα με σημαντικά χαμηλότερη τιμή (0,28 mg Trolox/g γαλακτώματος) και στη συνέχεια αυτά με τυροσόλη και τα τυφλά δείγματα (0,255 και 0,256 mg Trolox/g γαλακτώματος αντιστοίχως).

### 4.3 Χρόνος διατήρησης των γαλακτώματων

Γενικά, όπως παρατηρήθηκε και παραπάνω, δεν διατηρήθηκαν τα γαλακτώματα από όλες τις σειρές πειραμάτων για τον ίδιο χρόνο. Είναι εμφανές λοιπόν ότι η ενσωμάτωση βιοδραστικών συστατικών σε κάθε περίπτωση είχε διαφορετική επίδραση στη σταθερότητα των γαλακτώματων που παρασκευάστηκαν, δηλαδή σε κάποιες περιπτώσεις φαίνεται ότι ενισχύθηκε η γαλακτωματοποιητική δράση και ότι σχηματίστηκαν πιο σταθερά γαλακτώματα, ενώ σε άλλες περιπτώσεις φαίνεται ότι τα δείγματα οδηγήθηκαν πιο γρήγορα στη διάσπαση. Στο διάγραμμα 4.51 παρουσιάζονται αναλυτικά οι ημέρες διατήρησης των δειγμάτων ανά είδος βιοδραστικού συστατικού και ανά είδος ελαίου.



Διάγραμμα 4.51: Ημέρες διατήρησης γαλακτώματων ανά είδος ενσωματούμενου βιοδραστικού συστατικού και ανά λιπαρή φάση.

Αρχικά, κάθε σειρά πειραμάτων παρουσίασε διαφορετικό χρόνο διατήρησης για κάθε είδος ελαίου. Συγκεκριμένα, τα τυφλά γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο διατηρήθηκαν 20 ημέρες, ενώ τα τυφλά γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο διατηρήθηκαν 7 ημέρες, τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένο φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα διατηρήθηκαν 27 ημέρες, ενώ τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο με φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα διατηρήθηκαν 15 ημέρες, τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένη τυροσόλη διατηρήθηκαν για 9 ημέρες, ενώ τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο με τυροσόλη διατηρήθηκαν για 15 ημέρες και τέλος τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ διατηρήθηκαν περισσότερο από όλες τις άλλες σειρές πειραμάτων για 40 ημέρες σε αντίθεση με τα αντίστοιχα γαλακτώματα ελαιόλαδου που διατηρήθηκαν για μόνο 7 ημέρες.

Είναι εμφανές ότι συνολικά, τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο παρουσίασαν μεγαλύτερη σταθερότητα και διατηρήθηκαν για μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα από

εκείνα με βάση το ελαιόλαδο, ενώ το καφεϊκό οξύ είναι το βιοδραστικό συστατικό που ενίσχυσε ιδιαίτερος τη γαλακτωματοποιητική δράση στα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο σχηματίζοντας τα πιο σταθερά νανογαλακτώματα από όλες τις σειρές πειραμάτων. Επίσης, και το φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα ως βιοδραστικό συστατικό ενίσχυσε τη γαλακτωματοποιητική δράση και τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο με φαινολικό εκχύλισμα παρουσίασαν μεγαλύτερη σταθερότητα σε σχέση με τα τυφλά γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο. Αντιθέτως η τυροσόλη οδήγησε σε ταχύτερη διάσπαση των γαλακτωμάτων σε σχέση με τα τυφλά γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο.

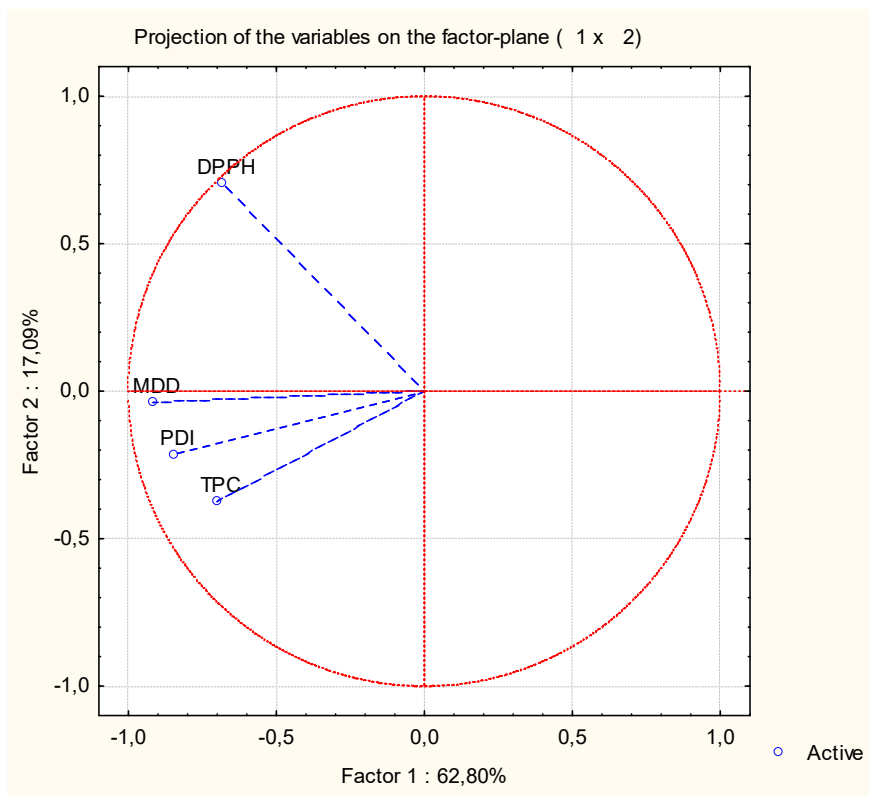
Τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο συνολικά παρουσίασαν μικρότερη σταθερότητα και διατηρήθηκαν για μικρά χρονικά διαστήματα. Σε γενικές γραμμές, η ενσωμάτωση βιοδραστικών συστατικών δεν οδήγησε σε ταχύτερη διάσπαση των γαλακτωμάτων, οπότε θεωρείται ότι η ενσωμάτωση των εν λόγω βιοδραστικών συστατικών επέφερε μόνο θετική επίδραση. Συγκεκριμένα, τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο όπου ενσωματώθηκε καφεϊκό οξύ διατηρήθηκαν όσο και τα τυφλά γαλακτώματα, ενώ η ενσωμάτωση φαινολικού εκχυλίσματος ελαιοπυρήνα και τυροσόλης ενίσχυσε τη γαλακτωματοποιητική δράση και οδήγησε σε μεγαλύτερη σταθερότητα σε σχέση με τα τυφλά γαλακτώματα. Η μοναδική περίπτωση που τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο παρουσίασαν μεγαλύτερη σταθερότητα από αυτά με βάση το πυρηνέλαιο είναι στην 3<sup>η</sup> σειρά πειραμάτων (με ενσωμάτωση τυροσόλης).

#### **4.4 Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (Principal Component Analysis, PCA)**

Προκειμένου να διερευνηθεί η επίδραση των μεταβλητών (ποσοστό υδατικής φάσης και γαλακτωματοποιητή, χρόνος και θερμοκρασία αποθήκευσης) στις ιδιότητες των μελετώμενων γαλακτωμάτων, τα πειραματικά δεδομένα επεξεργάστηκαν με ανάλυση κύριων συνιστωσών PCA (Principal Component Analysis). Συγκεκριμένα, ελήφθησαν υπόψη οι εξής εξαρτημένες μεταβλητές (ιδιότητες): η Μέση Διάμετρος σταγονιδίων (MDD), ο Δείκτης Πολυδιασποράς (PDI), το ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC) και η αντιοξειδωτική ικανότητα (DPPH) των γαλακτωμάτων.

##### Όλα τα γαλακτώματα

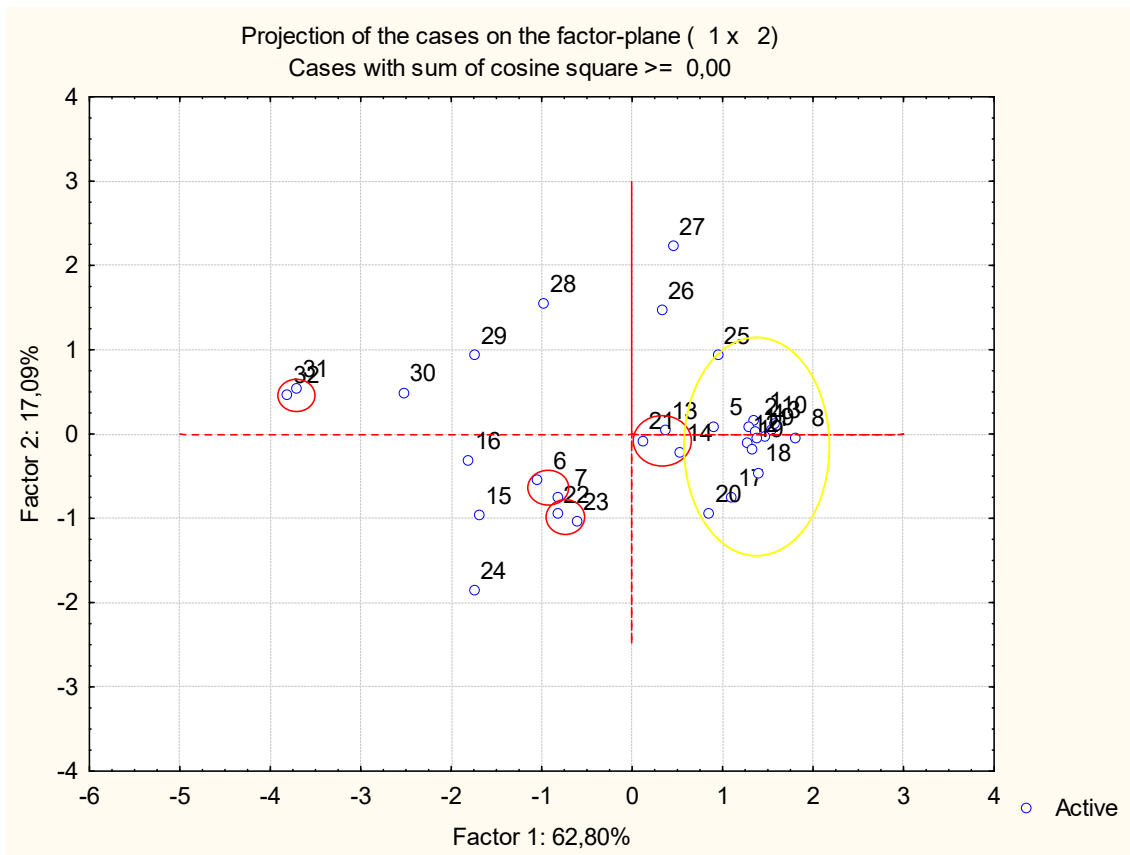
Αρχικά, συγκρίνονται όλα τα γαλακτώματα (τυφλά και με βιοδραστικά συστατικά) και για τις δύο λιπαρές φάσεις (πυρηνέλαιο, ελαιόλαδο) κατά την ημέρα παρασκευής τους, συνεπώς δεν περιλαμβάνονται οι παράγοντες χρόνος και θερμοκρασία αποθήκευσης.



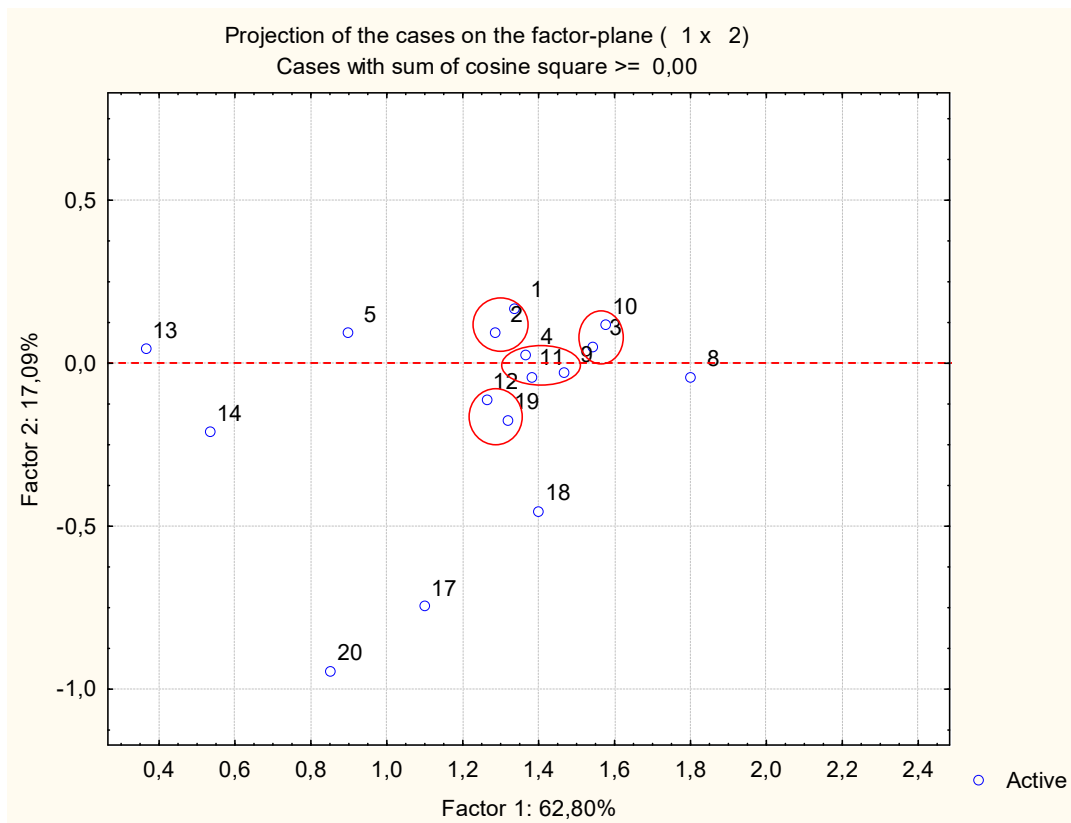
*Εικόνα 4.1: Γραφική απεικόνιση των ιδιοτήτων με την ανάλυση κύριων συνιστωσών για όλα τα γαλακτώματα (τυφλά και με βιοδραστικά συστατικά) και για τα δύο είδη λιπαρής φάσης.*

Από την εικόνα 4.1 παρατηρείται ότι η πρώτη κύρια συνιστώσα (Factor 1) συνεισφέρει κατά 62,8%, ενώ η δεύτερη (Factor 2) κατά 17,09% στη συνολική διακύμανση του πειράματος, οπότε η συνολική συνεισφορά στη διακύμανση είναι ίση με 79,89%. Όπως παρατηρείται η Μέση διάμετρος σταγονιδίων (MDD) και ο δείκτης πολυδιασποράς (PDI) έχουν σημαντική αρνητική συνεισφορά στην πρώτη κύρια συνιστώσα.

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



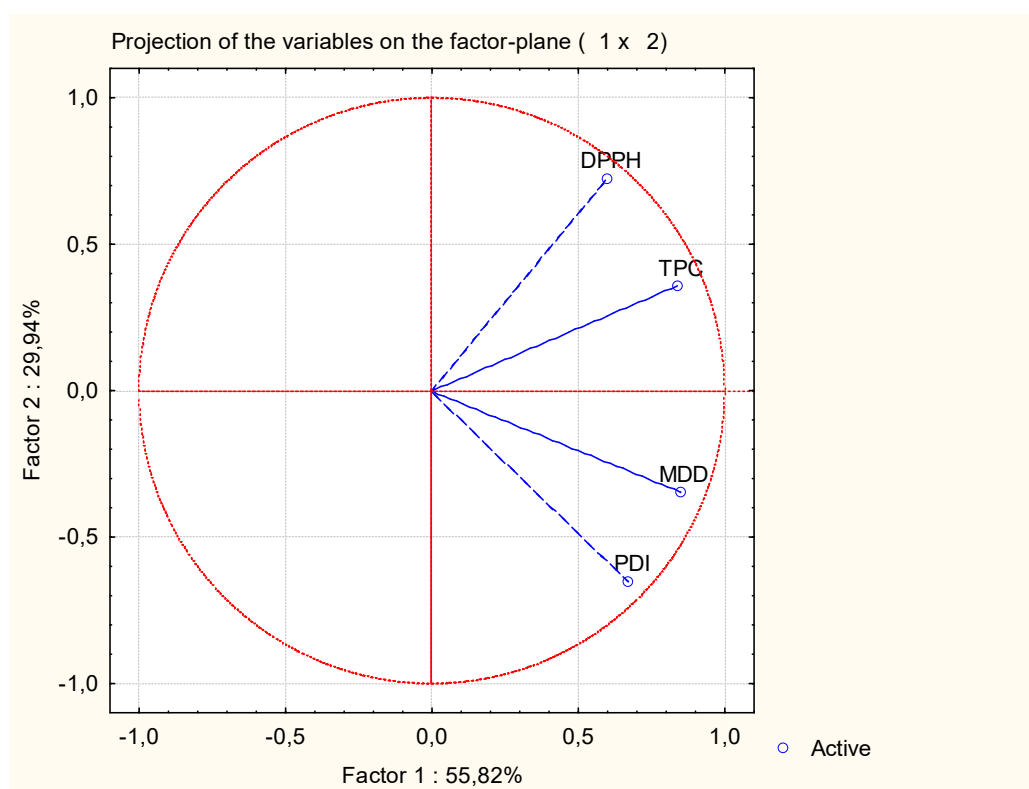
Εικόνα 4.2: Γραφική απεικόνιση των δειγμάτων με ανάλυση κύριων συνιστωσών για όλα τα γαλακτώματα (τυφλά και με βιοδραστικά συστατικά) και για τα δύο είδη λιπαρής φάσης.



Εικόνα 4.3: Μεγέθυνση του δεξιού τμήματος της εικόνας 4.2.

Αξίζει να σημειωθεί ότι οι ομάδες που απεικονίζονται στην εικόνα 4.3 είναι τα δείγματα που αναμένεται να έχουν τη μεγαλύτερη σταθερότητα κατά την αποθήκευση. Τα δείγματα 1,2,3,4,9,10,11,12 και 19 τα οποία είναι όλα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο, είτε τυφλά είτε με ενσωματωμένο φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα, και όλα έχουν αρκετά χαμηλές τιμές MDD και PDI. Ακόμη μία ομάδα δειγμάτων που αναμένεται να παρουσιάσει σταθερότητα κατά την αποθήκευση είναι τα δείγματα 13,14 και 21 που απεικονίζονται στην εικόνα 4.2, τα οποία είναι όλα 3% w/o με βάση το ελαιόλαδο με ενσωματωμένο φαινολικό εκχύλισμα ελαιοπυρήνα και με ενσωματωμένη τυροσόλη και παρουσιάζουν σχετικά χαμηλές τιμές MDD και PDI για ελαιόλαδο.

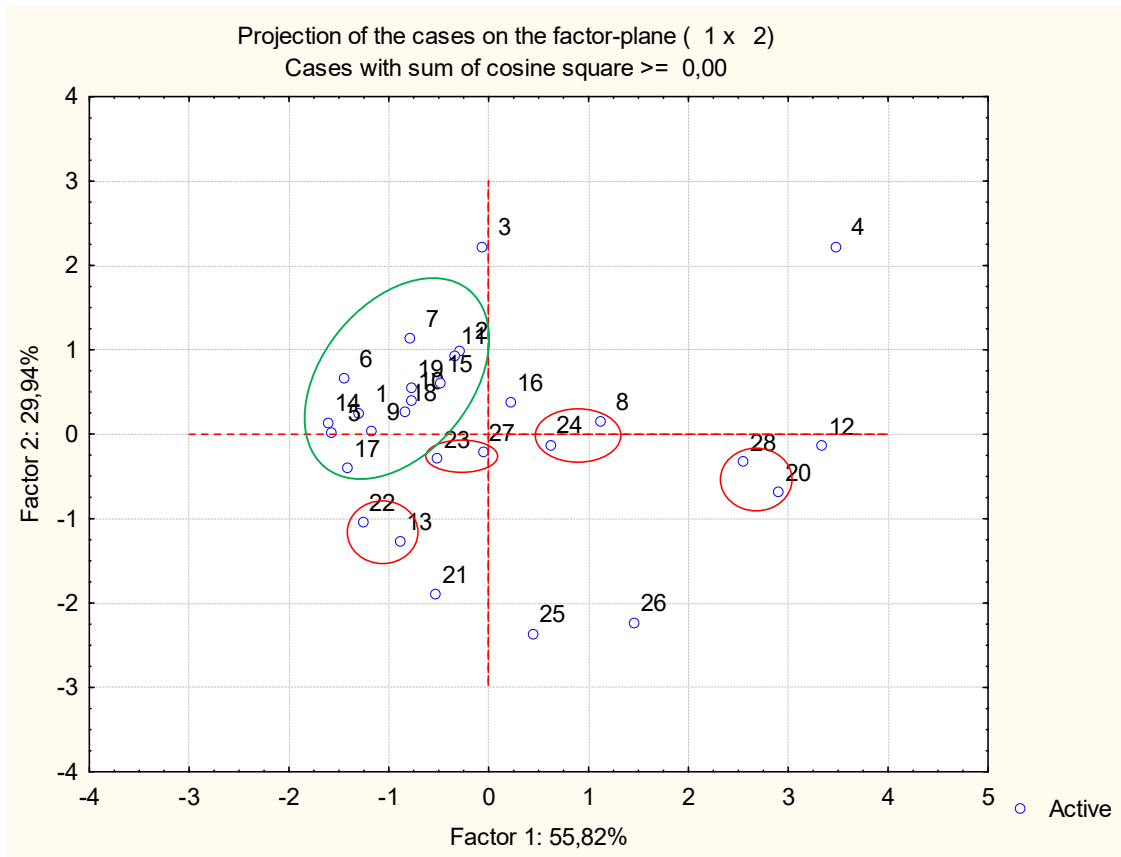
#### Γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο με καφεϊκό οξύ



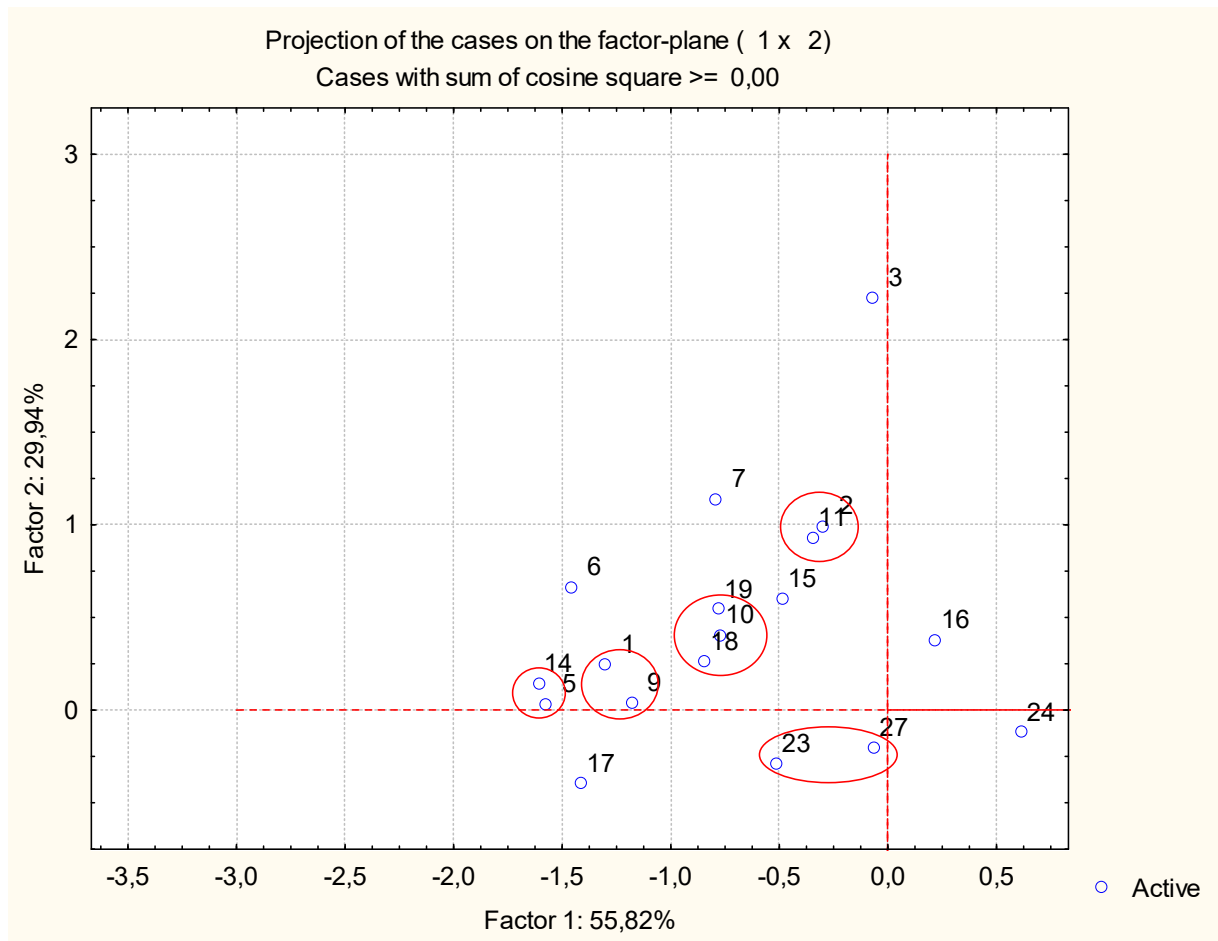
*Εικόνα 4.4: Γραφική απεικόνιση των ιδιοτήτων με την ανάλυση κύριων συνιστωσών για τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ.*

Από την εικόνα 4.4 παρατηρείται ότι η πρώτη κύρια συνιστώσα (Factor 1) συνεισφέρει κατά 55,82%, ενώ η δεύτερη (Factor 2) κατά 29,94% στη συνολική διακύμανση του πειράματος, οπότε η συνολική συνεισφορά στη διακύμανση είναι ίση με 85,76%. Όπως παρατηρείται η Μέση διάμετρος σταγονιδίων (MDD) και το ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC) έχουν σημαντική θετική συνεισφορά στην πρώτη κύρια συνιστώσα.

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



Εικόνα 4.5: Γραφική απεικόνιση των δειγμάτων με ανάλυση κύριων συνιστωσών για τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ.



Εικόνα 4.6: Μεγέθυνση του πάνω αριστερού τεταρτημόριου της εικόνας 4.5.

Αξίζει να σημειωθεί ότι τα σταθερότερα από όλα τα δείγματα είναι τα γαλακτώματα 5 και 14 (3% w/o), και τα δύο αποθηκευμένα σε  $T=25^{\circ}\text{C}$ , το γαλάκτωμα 5 (14 ημερών) και το γαλάκτωμα 14 (25 ημερών). Ακόμη, μεγάλη σταθερότητα εμφανίζουν και τα γαλακτώματα 1 και 9 (3% w/o), το πρώτο αποθηκευμένο σε  $T=25^{\circ}\text{C}$  και το δεύτερο σε  $T=3^{\circ}\text{C}$ , το γαλάκτωμα 1 (πρώτη ημέρα παρασκευής) και το γαλάκτωμα 9 (14 ημερών). Τα γαλακτώματα 10,18 και 19 (3% και 5% w/o), όλα αποθηκευμένα σε  $T=3^{\circ}\text{C}$ , το γαλάκτωμα 10 (14 ημερών) και τα γαλακτώματα 18,19 (25 ημερών), εμφανίζουν μέτριες τιμές MDD και PDI, αλλά σχετικά υψηλές τιμές TPC και αρκετά υψηλές τιμές DPPH. Τα γαλακτώματα 23 και 27 (5% w/o) όπως παρατηρείται στην εικόνα 4.6, είναι και τα δύο 40 ημερών, το πρώτο αποθηκευμένο σε  $T=25^{\circ}\text{C}$  και το δεύτερο σε  $T=3^{\circ}\text{C}$ . Και τα δύο γαλακτώματα εμφανίζουν μέτριες προς υψηλές τιμές MDD και χαμηλές τιμές PDI, αλλά και ενδιάμεσες τιμές TPC και DPPH.

## Κεφάλαιο 5: Συμπεράσματα-Προτάσεις

Στην παρούσα διπλωματική εργασία εξετάστηκε η δυνατότητα σχηματισμού w/o νανογαλακτωμάτων με λιπαρή φάση το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο και το εξευγενισμένο πυρηνέλαιο με τη χρήση μη ιοντικών χημικών γαλακτωματοποιητών, ή/και με ενσωμάτωση φαινολικών βιοδραστικών συστατικών (φαινολικό εκχύλισμα από ελαιοπυρήνα, τυροσόλη, καφεϊκό οξύ), και μελετήθηκαν η σταθερότητά τους μέσω των μετρήσεων της μέσης διαμέτρου των σταγονιδίων (MDD) και του δείκτη πολυδιασποράς (PDI), η διατήρηση των ενσωματωμένων βιοδραστικών συστατικών ως ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC σε mg GAE/g γαλακτώματος) και η αντιοξειδωτική ικανότητά τους (DPPH σε mg Trolox/g γαλακτώματος) κατά την αποθήκευση σε δύο θερμοκρασίες ( $T=25^{\circ}\text{C}$  και  $T=3^{\circ}\text{C}$ ). Το καλύτερο σύστημα γαλακτωματοποιητών βρέθηκε πειραματικά για κάθε λιπαρή φάση και για τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο επιλέχθηκε ο γαλακτωματοποιητής Span 20<sup>TM</sup> ενώ για τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο επιλέχθηκε το σύστημα γαλακτωματοποιητών Tween 20<sup>TM</sup>: Span 20<sup>TM</sup> σε αναλογία 1:1. Διαφορετικές συστάσεις γαλακτωμάτων δοκιμάστηκαν όσον αφορά την υδατική φάση (3% και 5% κατά βάρος τελικού μίγματος) και το σύστημα γαλακτωματοποιητών (2% και 3% κατά βάρος τελικού μίγματος στο ποσοστό υδατικής φάσης 3% και 4% και 5% κατά βάρος τελικού μίγματος στο ποσοστό υδατικής φάσης 5%). Σε κάθε περίπτωση, η ενσωμάτωση βιοδραστικού συστατικού γινόταν σε ποσοστό 1% κατά βάρος της υδατικής φάσης.

Αρχικά, διαπιστώθηκε ότι είναι δυνατόν να παρασκευαστούν w/o νανογαλακτώματα με λιπαρή φάση το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο και το εξευγενισμένο πυρηνέλαιο τόσο χωρίς ενσωμάτωση βιοδραστικού συστατικού όσο και με ενσωμάτωση τυροσόλης, καφεϊκού οξέος και φαινολικού εκχυλίσματος από ελαιοπυρήνα. Σημαντικό είναι να τονισθεί ότι η διατηρησιμότητα των w/o γαλακτωμάτων διέφερε ανάλογα με τη λιπαρή φάση και το είδος του βιοδραστικού συστατικού που ενσωματώθηκε. Είναι εμφανές λοιπόν, ότι η ενσωμάτωση βιοδραστικών συστατικών σε κάθε περίπτωση είχε διαφορετική επίδραση στη σταθερότητα των γαλακτωμάτων που παρασκευάστηκαν, δηλαδή σε κάποιες περιπτώσεις φαίνεται να ενισχύθηκε η γαλακτωματοποιητική δράση και να σχηματίστηκαν πιο σταθερά γαλακτώματα, ενώ σε άλλες περιπτώσεις φαίνεται ότι τα γαλακτώματα οδηγήθηκαν πιο γρήγορα στη διάσπαση. Συγκεκριμένα, για τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο παρατηρήθηκε ότι η ενσωμάτωση φαινολικού εκχυλίσματος από ελαιοπυρήνα ενίσχυσε τη σταθερότητα των γαλακτωμάτων και αύξησε το χρόνο διατήρησης κατά 7 ημέρες σε σχέση με τα τυφλά γαλακτώματα (20 ημέρες). Η ενσωμάτωση τυροσόλης, αντιθέτως, φαίνεται να επέφερε ταχύτερη διάσπαση των γαλακτωμάτων κατά 11 ημέρες, ενώ η ενσωμάτωση καφεϊκού οξέος ενίσχυσε σημαντικά τη σταθερότητα των γαλακτωμάτων και διπλασίασε το χρόνο διατήρησης σε σχέση με τα τυφλά, φτάνοντας τις 40 ημέρες. Για τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο επίσης παρατηρήθηκε ότι η ενσωμάτωση φαινολικού εκχυλίσματος από ελαιοπυρήνα ενίσχυσε τη σταθερότητά τους και αύξησε το χρόνο διατήρησης κατά 7 ημέρες σε

σχέση με τα τυφλά (7 ημέρες), όπως και σε εκείνα με βάση το πυρηνέλαιο. Η ενσωμάτωση τυροσόλης ενίσχυσε τη σταθερότητα των γαλακτωμάτων και αύξησε το χρόνο διατήρησης κατά 7 ημέρες. Τέλος, η ενσωμάτωση καφεϊκού οξέος δεν ενίσχυσε τη σταθερότητα των γαλακτωμάτων, τα οποία είχαν ίδιο χρόνο διατήρησης με τα τυφλά γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο. Συνεπώς, όπως αναμενόταν, τα βιοδραστικά συστατικά που ενσωματώθηκαν ως ενδογενή συστατικά του ελαιόλαδου λειτουργούν ως επιφανειοδραστικά αμφίφιλα μόρια και επηρέασαν το σχηματισμό των διεπιφανειών ελαίου-νερού. Το φαινολικό εκχύλισμα από ελαιοπυρήνα ενίσχυσε τη σταθερότητα και τη γαλακτωματοποιητική δράση και στα δύο είδη λιπαρής φάσης. Το καφεϊκό οξύ, το οποίο έχει αποδειχθεί ότι λειτουργεί ως επιφανειοδραστικό, ενίσχυσε σημαντικά τη γαλακτωματοποιητική δράση στα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο. Τέλος, η τυροσόλη, ενίσχυσε σημαντικά τη σταθερότητα των γαλακτωμάτων με βάση το ελαιόλαδο, ωστόσο στα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο επέφερε ταχύτερη διάσπαση, γεγονός που υποδεικνύει ότι χρειάζεται περισσότερη έρευνα σχετικά με τη συμπεριφορά της τυροσόλης ως επιφανειοδραστικό.

Αξιόλογα συμπεράσματα προέκυψαν ανάλογα με το είδος της λιπαρής φάσης και της σύστασης (ποσοστό υδατικής φάσης και γαλακτωματοποιητή) των γαλακτωμάτων κατά τη διατήρησή τους.

Για τα τυφλά γαλακτώματα, αυτά με βάση το πυρηνέλαιο δεν παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές ως προς τη σταθερότητα ανάλογα με τη μεταβολή του ποσοστού της υδατικής φάσης και του γαλακτωματοποιητή, ωστόσο τα γαλακτώματα που αποθηκεύονται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος παρουσιάζουν μεγαλύτερη σταθερότητα από αυτά που αποθηκεύονται σε ψύξη. Κατά την αποθήκευσή τους, παρατηρείται σημαντική μείωση του TPC και του DPPH, παρόλα αυτά, τα γαλακτώματα που αποθηκεύτηκαν σε ψύξη παρουσιάζουν καλύτερη διατήρηση του TPC ( $p < 0,05$ ). Τα τυφλά γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο διασπάστηκαν γρήγορα. Γενικώς, το δείγμα με τις χαμηλότερες τιμές MDD και PDI είναι το 5%w/o5%S20-T20, ενώ το δείγμα με την υψηλότερη τιμή DPPH και TPC είναι το δείγμα 3%w/o3%S20-T20.

Για τα γαλακτώματα που ενσωματώθηκε φαινολικό εκχύλισμα, αυτά με βάση το πυρηνέλαιο δεν παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές ως προς τη σταθερότητα ανάλογα με τη μεταβολή του ποσοστού της υδατικής φάσης και του γαλακτωματοποιητή και παραμένουν εξίσου σταθερά, είτε αποθηκεύονται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος είτε αποθηκεύονται σε ψύξη. Ωστόσο, σημαντικές διαφορές παρουσιάζονται στο TPC και στην DPPH ανάλογα με τη σύσταση των γαλακτωμάτων, με αποτέλεσμα το δείγμα με τις χαμηλότερες τιμές να είναι το 3%w/o2%S20. Κατά την αποθήκευσή τους, τα γαλακτώματα σε ψύξη παρουσιάζουν αποτελεσματικότερη διατήρηση τόσο του TPC όσο και του DPPH αν και παρατηρείται σημαντική μείωση με την πάροδο του χρόνου ( $p < 0,05$ ). Τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο με φαινολικό εκχύλισμα παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές ως προς τη σταθερότητα ανάλογα με τη μεταβολή του

ποσοστού υδατικής φάσης και γαλακτωματοποιητή, καθώς τα 3%w/o δείγματα είναι σταθερότερα, ωστόσο όλα τα γαλακτώματα παραμένουν το ίδιο σταθερά με την πάροδο του χρόνου, είτε αποθηκεύονται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος είτε αποθηκεύονται σε ψύξη. Επίσης, τα 3%w/o δείγματα παρουσιάζουν σημαντικά χαμηλότερο TPC. Κατά την αποθήκευσή τους, τα γαλακτώματα σε ψύξη παρουσιάζουν αποτελεσματικότερη διατήρηση του TPC, αλλά όχι και της DPPH, ενώ παρατηρείται σημαντική μείωση και για τα δύο με την πάροδο του χρόνου ( $p < 0,05$ ).

Για τα γαλακτώματα που ενσωματώθηκε τυροσόλη, αυτά με βάση το πυρηνέλαιο δεν παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές ως προς τη σταθερότητα ανάλογα με τη μεταβολή του ποσοστού της υδατικής φάσης και του γαλακτωματοποιητή, ωστόσο αυτά που αποθηκεύονται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος παρουσιάζουν μεγαλύτερη σταθερότητα από αυτά που αποθηκεύονται σε ψύξη. Κατά την αποθήκευσή τους, παρατηρείται σημαντική μείωση του TPC και της DPPH με την πάροδο του χρόνου, ενώ τα γαλακτώματα σε ψύξη παρουσιάζουν καλύτερη διατήρηση του TPC ( $p < 0,05$ ). Τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο με τυροσόλη παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές ως προς τη σταθερότητα ανάλογα με τη μεταβολή του ποσοστού του γαλακτωματοποιητή, καθώς το δείγμα 3%w/o2%S20-T20 είναι το σταθερότερο, ωστόσο όλα τα γαλακτώματα παραμένουν σταθερότερα όταν αποθηκεύονται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Επίσης, τα 3%w/o δείγματα παρουσιάζουν σημαντικά χαμηλότερο TPC αλλά σημαντικά υψηλότερη DPPH σε σχέση με τα 5%w/o δείγματα. Κατά την αποθήκευσή τους, παρατηρείται σημαντική μείωση του TPC και της DPPH με την πάροδο του χρόνου, ενώ τα γαλακτώματα σε ψύξη παρουσιάζουν καλύτερη διατήρηση και των δύο ( $p < 0,05$ ).

Για τα γαλακτώματα που ενσωματώθηκε καφεϊκό οξύ, αυτά με βάση το πυρηνέλαιο παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές ως προς τη σταθερότητα ανάλογα με τη μεταβολή του ποσοστού της υδατικής φάσης και του γαλακτωματοποιητή, με αποτέλεσμα τα σταθερότερα εξ αυτών να είναι τα 3%w/o2%S20 και 5%w/o4%S20. Ωστόσο, για όλα τα γαλακτώματα ισχύει ότι μεγαλύτερη σταθερότητα παρουσιάζουν αυτά που αποθηκεύονται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Επίσης, τα 3%w/o γαλακτώματα παρουσιάζουν σημαντικά χαμηλότερο TPC και DPPH, αν και κατά την αποθήκευση παρατηρείται σημαντική μείωση, ενώ τα γαλακτώματα που αποθηκεύτηκαν σε ψύξη παρουσιάζουν καλύτερη διατήρηση και των δύο ( $p < 0,05$ ). Τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο με καφεϊκό οξύ διασπάστηκαν γρήγορα. Παρόλα αυτά, το δείγμα με τις χαμηλότερες τιμές MDD και PDI είναι το 3%w/o2%S20-T20, ενώ το δείγμα με την υψηλότερη τιμή DPPH και TPC είναι το δείγμα 5%w/o5%S20-T20.

Μεταξύ όλων των w/o γαλακτωμάτων με βάση το πυρηνέλαιο και όλων των w/o γαλακτωμάτων με βάση το ελαιόλαδο για την ημέρα παρασκευής τους επιβεβαιώθηκε ότι η ενσωμάτωση βιοδραστικού συστατικού δεν επιφέρει σημαντικές αλλαγές ως προς τη MDD και το PDI, ωστόσο επηρεάζει σημαντικά το TPC και την DPPH. Από όλα τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο, αυτά με καφεϊκό οξύ παρουσίασαν τις υψηλότερες τιμές TPC και DPPH (2,486 mg GAE/g γαλακτώματος και 0,588 mg

Trolox/g γαλακτώματος αντίστοιχα). Από όλα τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο, αυτά με τυροσόλη παρουσίασαν το μεγαλύτερο TPC (8,385 mg GAE/g γαλακτώματος) και αυτά με καφεϊκό οξύ παρουσιάζουν την υψηλότερη DPPH (0,649 mg Trolox/g γαλακτώματος).

Ακόμη, συγκρίνοντας την επίδραση του είδους της λιπαρής φάσης στην περίπτωση που ενσωματώνεται το ίδιο βιοδραστικό συστατικό συμπεραίνεται ότι η MDD δεν επηρεάζεται από το είδος της λιπαρής φάσης στα τυφλά γαλακτώματα και σε αυτά με ενσωματωμένο φαινολικό εκχύλισμα, ωστόσο τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο με ενσωματωμένη τυροσόλη και με ενσωματωμένο καφεϊκό οξύ παρουσιάζουν σημαντικά υψηλότερες τιμές MDD σε σχέση με αυτά με βάση το πυρηνέλαιο ( $p < 0,05$ ). Η τιμή PDI επίσης δεν επηρεάζεται από το είδος της λιπαρής φάσης στα τυφλά γαλακτώματα, σε αυτά με ενσωματωμένο φαινολικό εκχύλισμα και με τυροσόλη, ωστόσο τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο με καφεϊκό οξύ παρουσιάζουν σημαντικά υψηλότερες τιμές PDI σε σχέση με αυτά με βάση το πυρηνέλαιο ( $p < 0,05$ ). Το TPC και η DPPH επηρεάζονται σημαντικά από το είδος της λιπαρής φάσης και μάλιστα, τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο παρουσιάζουν σημαντικά υψηλότερες τιμές ( $p < 0,05$ ) σε σχέση με τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο σε όλες τις περιπτώσεις βιοδραστικού συστατικού, με εξαίρεση την DPPH στα γαλακτώματα με καφεϊκό οξύ που οι τιμές είναι παρόμοιες και για τις δύο λιπαρές φάσεις.

Τέλος, από τη σύγκριση όλων των γαλακτωμάτων ως προς το βιοδραστικό συστατικό που ενσωματώθηκε και ως προς το είδος της λιπαρής φάσης για την ημέρα παρασκευής τους, φάνηκε ότι τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο παρουσίασαν μέση τιμή MDD = 505 nm και PDI = 0,227, ενώ τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο MDD = 880 nm και PDI = 0,653, αντίστοιχα. Συνεπώς, κρίνεται ότι τα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο ήταν σταθερότερα από τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο και η ενσωμάτωση του βιοδραστικού συστατικού δεν επηρέασε τη μέση διάμετρο σταγονιδίων και το δείκτη πολυδιασποράς. Τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο είχαν σημαντικά μεγαλύτερο TPC (4,7 mg GAE/g γαλακτώματος) έναντι των γαλακτωμάτων με βάση το πυρηνέλαιο (1,1 mg GAE/g) και στην περίπτωση που ενσωματώθηκε βιοδραστικό συστατικό εκείνο που έδωσε το μεγαλύτερο TPC ήταν το καφεϊκό οξύ (5,4 mg GAE/g γαλακτώματος). Τα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο είχαν σημαντικά υψηλότερη τιμή DPPH (0,39 mg Trolox/g γαλακτώματος) έναντι των γαλακτωμάτων με βάση το πυρηνέλαιο (0,31 mg Trolox/g γαλακτώματος) και στην περίπτωση που ενσωματώθηκε βιοδραστικό συστατικό εκείνο που έδωσε την υψηλότερη DPPH ήταν το καφεϊκό οξύ (0,61 mg Trolox/g γαλακτώματος) ( $p < 0,05$ ).

Καταλήγοντας, ωφέλιμο θα ήταν να πραγματοποιηθούν περισσότερες έρευνες για την παροχή πληροφοριών σχετικά με τις γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες των ενδογενών συστατικών του εξαιρετικά παρθένου ελαιόλαδου, ιδιαίτερα των επιμέρους πολυφαινολών. Η καλύτερη κατανόηση των φαινομένων που λαμβάνουν χώρα στη διεπιφάνεια μεταξύ ελαίου, νερού, φαινολικών/αντιοξειδωτικών συστατικών και

γαλακτωματοποιητών είναι πολύ σημαντική για το σχηματισμό σταθερών γαλακτωμάτων. Η τυροσόλη, για παράδειγμα, ενώ έχει αποδειχθεί ότι λειτουργεί ως επιφανειοδραστικό, και πράγματι στα γαλακτώματα με βάση το ελαιόλαδο ενίσχυσε τη σταθερότητα, στα γαλακτώματα με βάση το πυρηνέλαιο δεν είχε τέτοια δράση. Κρίνεται λοιπόν σημαντικό να διερευνηθεί παραπάνω ο ρόλος των πολυφαινολών, όχι μόνο ως βιοδραστικά συστατικά αλλά και ως γαλακτωματοποιητές. Επιπλέον μελέτες μπορούν να διεξαχθούν στο μέλλον για την ενσωμάτωση άλλων ενδογενών πολυφαινολικών συστατικών του ελαιόλαδου σε w/o νανογαλακτώματα με βάση το εξευγενισμένο πυρηνέλαιο. Στο πλαίσιο της παρούσας διπλωματικής εργασίας, ως συμπληρωματική έρευνα, θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί ενσωμάτωση του γαλακτώματος σε κάποιο τρόφιμο και μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης των φαινολικών συστατικών στο τελικό προϊόν.

## **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

- Acosta, E., (2009). Bioavailability of nanoparticles in nutrient and nutraceutical delivery. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 14 3–15.
- Antonopoulos, K., Valet, N., Spiratos, D., & Siragakis, G., (2006). Olive oil and pomace olive oil processing. *GRASAS Y ACEITES*, 57 (1) 56–67.
- Aparicio, R., & Luna, G., (2002). Characterization of Monovarietal Virgin Olive Oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, Vol.104, p. 614-627.
- Bonechi, C., Donati, A., Tamasi, G., Pardini, A. et al., (2019). Chemical characterization of liposomes containing nutraceutical compounds: Tyrosol, hydroxytyrosol and oleuropein. *Biophysical Chemistry*, Vol. 246; p.25-34.
- Boskou, D., (1996). Culinary Applications of Olive Oil-Minor Constituents and Cooking, Chapter 1,3, CRC Press.
- Boskou, D., (2002). Olive oil, in Gunstone, F.D., (ed.), *Vegetable Oils in Food Technology -Composition, Properties and Uses*, Blackwell Publishing, Oxford, pp. 244–277.
- Boskou, D., (2006). *Olive Oil Chemistry and Technology*, (Vol. 2), AOCS Press.
- Boskou, D., (2011). Chapter 9: Olive oil in *Vegetable oils in food technology: Composition, properties and uses*, Blackwell Publishing, Oxford, (pp. 244–275).
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset C., (1995), Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity, *Lebensm. -Wiss. u.-Technol.*, 28.25-30
- Chaiyasit, W., Elias, R.J., McClements, D.J., & Decker, E.A., (2007). Role of physical structures in bulk oils on lipid oxidation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(3), p.299–317.
- Chanioti, S., & Tzia, C., (2019). Evaluation of ultrasound assisted and conventional methods for production of olive pomace oil enriched in sterols and squalene. *LWT-Food Science and Technology*, Vol. 99, p. 209-216.
- Chanioti, S., (2019). *Innovative extraction techniques of oil and minor bioactive compounds from olive pomace*, National Technical University of Athens.
- Cheetham, P.S.J., & Banister, N.E., (1995). *Production and uses of caffeic acid and derivatives thereof*. WO9533706 (patent).
- Choe, E., (2007). Chapter 17: Effects and Mechanisms of Minor Compounds in Oil on Lipid Oxidation in *FOOD LIPIDS Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*, Vol. 3, Part 3, CRC Press.
- Codex Alimentarius (2013), STANDARD FOR OLIVE OILS AND OLIVE POMACE OILS, CODEX STAN 33-1981.

- Dalgleish, D.G., (2004). Chapter 1: Food Emulsions: Their Structures and Properties in Friberg, Larsson, Sjoblom (ed.), *Food emulsions* (Vol. 4), Marcel Dekker, Inc.
- Di Mattia et al. (2009). Effect of phenolic antioxidants on the dispersion state and chemical stability of olive oil O/W emulsions. *Food Research International*, Vol. 42, Issue 8, p. 1163-1170.
- Di Mattia et al. (2011). Interfacial Behavior and Antioxidant Efficiency of Olive Phenolic Compounds in O/W Olive oil Emulsions as Affected by Surface Active Agent Type, *Food Biophysics* 6:295–302
- Di Mattia et al. (2015). Physical and structural properties of extra-virgin olive oil-based mayonnaise. *LWT - Food Science and Technology*, Vol. 62, Issue 1, Part 2, p.764-770.
- Erickson M.C. (2002). Chapter 2: Chemistry and Function of Phospholipids in *Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*, Vol.2, Marcel Dekker, Inc.
- Gorzynik-Debicka, M., et al (2018). Potential Health Benefits of Olive Oil and Plant Polyphenols, *International Journal of Molecular Science*. 19 (3): 686.
- Gunstone, F.D., & Harwood, J.L., (2007). Chapter 2: OCCURRENCE AND CHARACTERISATION OF OILS AND FATS in *The Lipid Handbook*, Vol. 3, CRC Press.
- Gupta, A., Eral, H.B., Hatton, T.A., & Doyle, P.S., (2016). Nanoemulsions: formation, properties and applications. *Soft Matter*, 12(11):2826-2841.
- Jafari, S.M., McClements, D.J., (2017). Nanotechnology Approaches for Increasing Nutrient Bioavailability. *Advances in Food and Nutrition Research*, Vol. 81, p. 1-30.
- Katsouli, M., Polychniatou, V., & Tzia, C., (2017). Influence of surface-active phenolic acids and aqueous phase ratio on w/o nano-emulsions properties; model fitting and prediction of nano-emulsions oxidation stability, *Journal of Food Engineering*, Vol. 214, p. 40-46
- Ketenoglu, O., Sahin, K., Yorulmaz, A., & Tekin, A. (2018). Molecular distillation of olive pomace oil - Multiobjective optimization for tocopherol and squalene. *LWT-Food Science and Technology*, Vol.91, p.198–202.
- Kim, S.K., & Karadeniz, F., (2012). Chapter 14: Biological Importance and Applications of Squalene and Squalane. *Advances in Food and Nutrition Research*, Vol.65, p.223-233.
- Kiritsakis, A., (2007). *Olive oil, table olives and olive paste*. (A. Kiritsakis, Ed.). Thessaloniki, Greece: Akritidis Broders.
- Kralova, I., Sjoblom, (2009). Surfactants used in food industry: A review. *Journal of Dispersion Science and Technology*, Vol.30, p.1363-83.

- McClements, D.J. (2005). Chapter 4: Emulsion ingredients In *Food Emulsions Principles, Practices, and Techniques* (Vol. 2), CRC Press.
- McClements, D.J. (2007). Chapter 3: Lipid-Based Emulsions and Emulsifiers in *FOOD LIPIDS Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*, (Vol. 3), Part 1, CRC Press.
- McClements, D. J., & Rao, J., (2011). Food-Grade nanoemulsions: Formulation, fabrication, properties, performance, Biological fate, and Potential Toxicity. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(4), 285–330.
- Mosca, M., Ceglie, A., Ambrosone, L. (2008). Antioxidant dispersions in emulsified olive oils. *Food Research International*, Vol. 41, Issue 2, p. 201-207.
- Mosca, M., Diantom, A., Lopez, F., Ambrosone, L., Ceglie, A. (2013). Impact of antioxidants dispersions on the stability and oxidation of water-in-olive-oil emulsions. *European Food Research and Technology*, Vol. 236, p. 319–328.
- Lu, W., Kelly, A. L., & Miao, S. (2016). Emulsion-based encapsulation and delivery systems for polyphenols. *Trends in Food Science and Technology*, 47, 1–9.
- O'Brien (2004). Chapter 1: Raw materials in *FATS and OILS formulating and processing for Applications*, (Vol. 2), CRC Press.
- O'Brien (2009). Chapter 1: Raw materials in *FATS and OILS formulating and processing for Applications*, (Vol. 3), CRC Press.
- Ollivier, D., Artaud, J., Pinatel, C., Durbec, J., & Guérère, M. (2006). Differentiation of French virgin olive oil RDOs by sensory characteristics, fatty acid and triacylglycerol compositions and chemometrics. *Food Chemistry*, 97(3), 382–393.
- Perona, J.S. & Botham, K. (2013). Olive Oil as a Functional Food: Nutritional and Health Benefits in *Handbook of Olive Oil: analysis and properties*, ed. R. Aparicio & J.L. Harwood, Springer, p. 677-714.
- Polychniatou, V., & Tzia, C., (2018). Evaluation of surface-active and antioxidant effect of olive oil endogenous compounds on the stabilization of water-in-olive-oil nanoemulsions, *Food Chemistry* 240 (2018) 1146–1153
- Rashidi, L., & Khosravi-Darani, K., (2011). The Applications of Nanotechnology in Food Industry, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51:8, 723-730
- Rein, M.J., Renouf, M., Cruz-Hernandez, C., Actis-Goretta, L., Thakkar, S.J. & Silva Pinto, M., (2013). Bioavailability of bioactive food compounds: a challenging journey to bioefficacy. *British Journal of Clinical Pharmacology*; 75(3): 588–602

Rodríguez-Gutiérrez et al. (2012), *New olive-pomace oil improved by hydrothermal pre-treatments* of D. Boskou (Ed.), *Olive Oil – Constituents, Quality, Health Properties and Bioconversions 0* (pp. 249–266). InTech.

Ruiz-Méndez, M.V., López, A., & Fernández, G., (2008). Characterization and chemometric study of crude and refined oils from table olive by-products. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110, 537–546

Sánchez Moral, P. & Ruiz Méndez, M.V., (2006). Production of pomace olive oil, *Grasas Y Aceites*, 57(1), 47–55.

Serrelì, G., & Deiana, M., (2018). Biological Relevance of Extra Virgin Olive Oil Polyphenols Metabolites. *Antioxidants (Basel)*. 2018 Dec; 7(12): 170. [https://doi:10.3390/antiox7120170](https://doi.org/10.3390/antiox7120170)

Shahidi, F., & Chandrasekara, A. (2010). Hydroxycinnamates and their in vitro and in vivo antioxidant activities. *Phytochemistry Reviews*, 9(1): 147-170.

Tsimidou M. (1998), Polyphenols and quality of virgin olive oil in retrospect. *Italian Journal of Food Science*, Vol. 10, p. 99-116.

Tzia, C., Giannou, V., Polychniatou, V., & Chanioti, S. (2015). Chapter 12: Fats and Oils Processing Technology in *Handbook of Food Processing, Food Preservation* (Vol. 1), Food Safety, Quality, and Manufacturing Processes (Vol. 2), CRC Press.

Yanishlieva, N. (2001). Chapter 3: Inhibiting oxidation in Pokorny, J., Yanishlieva, N., Gordon, M., Ed., *Antioxidants in food: Practical applications*, CRC Press.

Κ.Τζιά, Π. Ταούκης, Β.Ωραιοπούλου (2009), *Επιστήμη και μηχανική τροφίμων*, Εκδόσεις ΕΜΠ, Αθήνα.

## Παράρτημα

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

### 1<sup>η</sup> Σειρά Πειραμάτων: τυφλά νανογαλακτώματα

➤ *Πυρηνέλαιο*

**Πίνακας 1:** Αποτελέσματα ANOVA για τη μέση διάμετρο των σταγονιδίων MDD.

Effect	Univariate Tests of Significance for MDD (POMACE BLANK) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	5902069	1	5902069	127,9992	0,000003
% Γαλακτωματοποιητη	260918	3	86973	1,8862	0,210337
Χρόνος αποθήκευσης	34905	2	17453	0,3785	0,696529
Θερμοκρασία αποθήκευσης	37854	1	37854	0,8209	0,391377
Error	368882	8	46110		

**Πίνακας 2:** Αποτελέσματα ANOVA για το δείκτη πολυδιασποράς PDI.

Effect	Univariate Tests of Significance for PDI (POMACE BLANK) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	4,484322	1	4,484322	105,4980	0,000007
% Γαλακτωματοποιητη	0,185175	3	0,061725	1,4521	0,298544
Χρόνος αποθήκευσης	0,152421	2	0,076211	1,7929	0,227326
Θερμοκρασία αποθήκευσης	0,389094	1	0,389094	9,1538	0,016421
Error	0,340050	8	0,042506		

**Πίνακας 2α:** Αποτελέσματα Duncan's test για το δείκτη πολυδιασποράς PDI ως προς τη θερμοκρασία αποθήκευσης, όπου θερμοκρασία αποθήκευσης (1=25°C, 2=3°C).

Cell No.	Duncan test; variable PDI (POMACE BLANK) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,04251, df = 8,0000			
	Θερμοκρασία αποθήκευσης	PDI Mean	1	2
1	1	0,322213	****	
2	2	0,942429		****

**Πίνακας 3:** Αποτελέσματα ANOVA για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο TPC.

Effect	Univariate Tests of Significance for TPC (POMACE BLANK) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	0,207025	1	0,207025	173,1034	0,000000
% Γαλακτωματοποιητη	0,005945	3	0,001982	1,6568	0,224963
Χρόνος αποθήκευσης	0,075036	2	0,037518	31,3704	0,000011
Θερμοκρασία αποθήκευσης	0,012996	1	0,012996	10,8666	0,005787
Error	0,015548	13	0,001196		

**Πίνακας 3α:** Αποτελέσματα Duncan's test για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο ως προς το χρόνο αποθήκευσης, όπου Χρόνος αποθήκευσης (1=0 days,2=10 days,3=20 days).

Cell No.	Χρόνος αποθήκευσης	TPC Mean	Duncan test; variable TPC (POMACE BLANK) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00120, df = 13,000		
			1	2	3
3	3	0,030000	****		
2	2	0,102750		****	
1	1	0,180000			****

**Πίνακας 3β:** Αποτελέσματα Duncan's test για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο ως προς τη θερμοκρασία αποθήκευσης, όπου θερμοκρασία αποθήκευσης (1=25°C, 2=3°C).

Cell No.	Θερμοκρασία αποθήκευσης	TPC Mean	Duncan test; variable TPC (POMACE BLANK) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00120, df = 13,000
			1
1	1	0,085250	****
2	2	0,094875	****

**Πίνακας 4:** Αποτελέσματα ANOVA για την αντιοξειδωτική ικανότητα DPPH.

Effect	Univariate Tests of Significance for DPPH (POMACE BLANK) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	0,625312	1	0,625312	2010,561	0,000000
% Γαλακτωματοποιητη	0,000413	3	0,000138	0,442	0,726724
Χρόνος αποθήκευσης	0,029276	2	0,014638	47,066	0,000001
Θερμοκρασία αποθήκευσης	0,000676	1	0,000676	2,174	0,164204
Error	0,004043	13	0,000311		

**Πίνακας 4α:** Αποτελέσματα Duncan's test για την αντιοξειδωτική ικανότητα ως προς το χρόνο αποθήκευσης, όπου Χρόνος αποθήκευσης (1=0 days,2=10 days,3=20 days).

Duncan test; variable DPPH (POMACE BLANK Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00031, df = 13,000					
Cell No.	Χρόνος αποθήκευσης	DPPH Mean	1	2	3
3	3	0,142875	****		
2	2	0,202100		****	
1	1	0,241600			****

## 2η Σειρά Πειραμάτων: φαινολικό εκχύλισμα

### ➤ Πυρηνέλαιο

**Πίνακας 5:** Αποτελέσματα ANOVA για τη μέση διάμετρο των σταγονιδίων MDD.

Univariate Tests of Significance for MDD (POMACE EXTRAC Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	3499864	1	3499864	94,81419	0,000067
% Γαλακτωματοποιητη	186653	3	62218	1,68552	0,268193
Χρόνος αποθήκευσης	56431	1	56431	1,52877	0,262500
Θερμοκρασία αποθήκευσης	109863	1	109863	2,97629	0,135251
Error	221477	6	36913		

**Πίνακας 6:** Αποτελέσματα ANOVA για το δείκτη πολυδιασποράς PDI.

Univariate Tests of Significance for PDI (POMACE EXTRAC Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1,781328	1	1,781328	12,35552	0,012594
% Γαλακτωματοποιητη	0,084446	3	0,028149	0,19524	0,895950
Χρόνος αποθήκευσης	0,019013	1	0,019013	0,13187	0,728949
Θερμοκρασία αποθήκευσης	0,231540	1	0,231540	1,60599	0,252019
Error	0,865036	6	0,144173		

**Πίνακας 7:** Αποτελέσματα ANOVA για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο TPC.

Univariate Tests of Significance for TPC (POMACE EXTRAC Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	0,676889	1	0,676889	6140,820	0,000000
% Γαλακτωματοποιητη	0,002048	3	0,000683	6,193	0,003769
Χρόνος αποθήκευσης	0,012104	3	0,004035	36,602	0,000000
Θερμοκρασία αποθήκευσης	0,003110	1	0,003110	28,214	0,000034
Error	0,002205	20	0,000110		

**Πίνακας 7α:** Αποτελέσματα Duncan's test για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο ως προς το ποσοστό του γαλακτωματοποιητή, όπου %Γαλακτωματοποιητή (1=2%,2=3%,3=4%,4=5%).

Duncan test; variable TPC (POMACE EXTRACT) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00011, df = 20,000					
Cell No.	% Γαλακτωματοποιητή	TPC Mean	1	2	3
1	1	0,148843	****		
2	2	0,159586	****	****	
3	3	0,161629		****	****
4	4	0,172943			****

**Πίνακας 7β:** Αποτελέσματα Duncan's test για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο ως προς το χρόνο αποθήκευσης, όπου Χρόνος αποθήκευσης (1=0 days,2=7 days, 3=15 days, 4=27 days).

Duncan test; variable TPC (POMACE EXTRACT) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00011, df = 20,000						
Cell No.	Χρόνος αποθήκευσης	TPC Mean	1	2	3	4
4	4	0,138350	****			
3	3	0,156625		****		
2	2	0,169900			****	
1	1	0,195500				****

**Πίνακας 7γ:** Αποτελέσματα Duncan's test για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο ως προς τη θερμοκρασία αποθήκευσης, όπου θερμοκρασία αποθήκευσης (1=25°C, 2=3°C).

Duncan test; variable TPC (POMACE EXTRACT) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00011, df = 20,000				
Cell No.	Θερμοκρασία αποθήκευσης	TPC Mean	1	2
1	1	0,156556	****	
2	2	0,166342		****

**Πίνακας 8:** Αποτελέσματα ANOVA για την αντιοξειδωτική ικανότητα DPPH.

Univariate Tests of Significance for DPPH (POMACE EXTRACT) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	0,748872	1	0,748872	16846,95	0,000000
% Γαλακτωματοποιητή	0,001327	3	0,000442	9,95	0,000319
Χρόνος αποθήκευσης	0,026526	3	0,008842	198,92	0,000000
Θερμοκρασία αποθήκευσης	0,003099	1	0,003099	69,71	0,000000
Error	0,000889	20	0,000044		

**Πίνακας 8α:** Αποτελέσματα Duncan's test για την αντιοξειδωτική ικανότητα ως προς το ποσοστό του γαλακτωματοποιητή, όπου %Γαλακτωματοποιητή (1=2%,2=3%,3=4%,4=5%).

Duncan test; variable DPPH (POMACE EXTRAC) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00004, df = 20,000					
Cell No.	% Γαλακτωματοποιητή	DPPH Mean	1	2	
1	1	0,154457			****
3	3	0,166771	****		
2	2	0,168786	****		
4	4	0,172943	****		

**Πίνακας 8β:** Αποτελέσματα Duncan's test για την αντιοξειδωτική ικανότητα ως προς το χρόνο αποθήκευσης, όπου Χρόνος αποθήκευσης (1=0 days,2=7 days, 3=15 days, 4=27 days).

Duncan test; variable DPPH (POMACE EXTRAC) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00004, df = 20,000						
Cell No.	Χρόνος αποθήκευσης	DPPH Mean	1	2	3	4
4	4	0,138350	****			
3	3	0,156725		****		
2	2	0,169888			****	
1	1	0,230250				****

**Πίνακας 8γ:** Αποτελέσματα Duncan's test για την αντιοξειδωτική ικανότητα ως προς τη θερμοκρασία αποθήκευσης, όπου θερμοκρασία αποθήκευσης (1=25°C, 2=3°C).

Duncan test; variable DPPH (POMACE EXTRAC) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00004, df = 20,000			
Cell No.	Θερμοκρασία αποθήκευσης	DPPH Mean	1
1	1	0,165281	****
2	2	0,166350	****

➤ *Ελαιόλαδο*

**Πίνακας 9:** Αποτελέσματα ANOVA για τη μέση διάμετρο των σταγονιδίων MDD.

Effect	Univariate Tests of Significance for MDD (EVOO extrac) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	10796208	1	10796208	105,9391	0,000000
% Γαλακτωματοποιητή	2074048	3	691349	6,7839	0,005412
Χρόνος αποθήκευσης	232326	2	116163	1,1399	0,349848
Θερμοκρασία αποθήκευσης	296453	1	296453	2,9090	0,111850
Error	1324825	13	101910		

**Πίνακας 9α:** Αποτελέσματα Duncan's test για τη μέση διάμετρο των σταγονιδίων MDD ως προς το ποσοστό του γαλακτωματοποιητή, όπου % Γαλακτωματοποιητή (1=2%,2=3%,3=4%,4=5%).

Duncan test; variable MDD (EVOO extract) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 1019E2, df = 13,000					
Cell No.	% Γαλακτωματοποιητή	MDD Mean	1	2	3
1	1	439,660	****		
2	2	713,100	****	****	
3	3	1111,900		****	****
4	4	1253,200			****

**Πίνακας 10:** Αποτελέσματα ANOVA για το δείκτη πολυδιασποράς PDI.

Univariate Tests of Significance for PDI (EVOO extract) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	8,379095	1	8,379095	102,6076	0,000000
% Γαλακτωματοποιητή	1,074120	3	0,358040	4,3844	0,024354
Χρόνος αποθήκευσης	0,006437	2	0,003218	0,0394	0,961470
Θερμοκρασία αποθήκευσης	0,001225	1	0,001225	0,0150	0,904393
Error	1,061600	13	0,081662		

**Πίνακας 10α:** Αποτελέσματα Duncan's test για για το δείκτη πολυδιασποράς PDI ως προς το ποσοστό του γαλακτωματοποιητή, όπου % Γαλακτωματοποιητή (1=2%,2=3%,3=4%,4=5%).

Duncan test; variable PDI (EVOO extract) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,08166, df = 13,000					
Cell No.	% Γαλακτωματοποιητή	PDI Mean	1	2	3
2	2	0,474800	****		
1	1	0,514400	****	****	
3	3	0,904600		****	****
4	4	1,000000			****

**Πίνακας 11:** Αποτελέσματα ANOVA για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο TPC.

Univariate Tests of Significance for TPC (EVOO extract) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	71,38560	1	71,38560	355,4161	0,000000
% Γαλακτωματοποιητή	2,36285	3	0,78762	3,9214	0,033970
Χρόνος αποθήκευσης	11,61573	2	5,80786	28,9163	0,000016
Θερμοκρασία αποθήκευσης	0,00865	1	0,00865	0,0431	0,838824
Error	2,61106	13	0,20085		

**Πίνακας 11α:** Αποτελέσματα Duncan's test για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο ως προς το ποσοστό του γαλακτωματοποιητή, όπου % Γαλακτωματοποιητή (1=2%,2=3%,3=4%,4=5%).

Duncan test; variable TPC (EVOO extract) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,20085, df = 13,000				
Cell No.	% Γαλακτωματοποιητή	TPC Mean	1	2
1	1	1,307400		****
2	2	1,841400	****	****
3	3	2,067000	****	
4	4	2,212200	****	

**Πίνακας 11β:** Αποτελέσματα Duncan's test για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο ως προς το χρόνο αποθήκευσης, όπου Χρόνος αποθήκευσης(1=0 days,2=7 days,3=15 days).

Duncan test; variable TPC (EVOO extract) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,20085, df = 13,000					
Cell No.	Χρόνος αποθήκευσης	TPC Mean	1	2	3
3	3	1,158000	****		
2	2	1,767000		****	
1	1	3,435000			****

**Πίνακας 12:** Αποτελέσματα ANOVA για την αντιοξειδωτική ικανότητα DPPH.

Univariate Tests of Significance for DPPH (EVOO extract) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	0,836417	1	0,836417	1164,754	0,000000
% Γαλακτωματοποιητή	0,001539	3	0,000513	0,714	0,560829
Χρόνος αποθήκευσης	0,108935	2	0,054467	75,849	0,000000
Θερμοκρασία αποθήκευσης	0,002533	1	0,002533	3,527	0,082998
Error	0,009335	13	0,000718		

**Πίνακας 12α:** Αποτελέσματα Duncan's test για την αντιοξειδωτική ικανότητα ως προς το χρόνο αποθήκευσης, όπου Χρόνος αποθήκευσης (1=0 days,2=7 days,3=15 days).

Duncan test; variable DPPH (EVOO extract) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00072, df = 13,000					
Cell No.	Χρόνος αποθήκευσης	DPPH Mean	1	2	3
3	3	0,136225	****		
2	2	0,195212		****	
1	1	0,341900			****

### 3<sup>η</sup> Σειρά Πειραμάτων: τυροσόλη

#### ➤ Πυρηνέλαιο

**Πίνακας 13:** Αποτελέσματα ANOVA για τη μέση διάμετρο των σταγονιδίων MDD.

Effect	Univariate Tests of Significance for MDD (POMACE TYPOΣOΛH) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	3661759	1	3661759	210,1290	0,000007
% Γαλακτωματοποιητη	81576	3	27192	1,5604	0,293730
Χρόνος αποθήκευσης	2103	1	2103	0,1207	0,740174
Θερμοκρασία αποθήκευσης	255005	1	255005	14,6334	0,008706
Error	104557	6	17426		

**Πίνακας 13α:** Αποτελέσματα Duncan's test για την μέση διάμετρο των σταγονιδίων ως προς τη θερμοκρασία αποθήκευσης, όπου θερμοκρασία αποθήκευσης (1=25°C, 2=3°C).

Cell No.	Θερμοκρασία αποθήκευσης	Duncan test; variable MDD (POMACE TYPOΣOΛH) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 17426,, df = 6,0000		
		MDD Mean	1	2
1	1	498,0125	****	
2	2	838,8750		****

**Πίνακας 14:** Αποτελέσματα ANOVA για το δείκτη πολυδιασποράς PDI.

Effect	Univariate Tests of Significance for PDI (POMACE TYPOΣOΛH) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1,996002	1	1,996002	14,09097	0,009467
% Γαλακτωματοποιητη	0,284130	3	0,094710	0,66861	0,601529
Χρόνος αποθήκευσης	0,242556	1	0,242556	1,71235	0,238568
Θερμοκρασία αποθήκευσης	0,117370	1	0,117370	0,82859	0,397774
Error	0,849907	6	0,141651		

**Πίνακας 15:** Αποτελέσματα ANOVA για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο TPC.

Effect	Univariate Tests of Significance for TPC (POMACE TYPOΣOΛH) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	36,34634	1	36,34634	492,8233	0,000001
% Γαλακτωματοποιητη	0,17029	3	0,05676	0,7697	0,551615
Χρόνος αποθήκευσης	5,79191	1	5,79191	78,5330	0,000115
Θερμοκρασία αποθήκευσης	1,96912	1	1,96912	26,6995	0,002080
Error	0,44251	6	0,07375		

**Πίνακας 15α:** Αποτελέσματα Duncan's test για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο ως προς το χρόνο αποθήκευσης, όπου χρόνος αποθήκευσης (1=0 days,2=9 days).

Duncan test; variable TPC (POMACE TYPOSOLH) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,07375, df = 6,0000				
Cell No.	Χρόνος αποθήκευσης	TPC Mean	1	2
2	2	1,280625	****	
1	1	2,486250		****

**Πίνακας 15β:** Αποτελέσματα Duncan's test για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο ως προς τη θερμοκρασία αποθήκευσης, όπου θερμοκρασία αποθήκευσης (1=25°C, 2=3°C).

Duncan test; variable TPC (POMACE TYPOSOLH) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,07375, df = 6,0000			
Cell No.	Θερμοκρασία αποθήκευσης	TPC Mean	1
1	1	1,635375	****
2	2	1,776750	****

**Πίνακας 16:** Αποτελέσματα ANOVA για την αντιοξειδωτική ικανότητα DPPH.

Univariate Tests of Significance for DPPH (POMACE TYPOSOLH) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	0,135929	1	0,135929	244,8921	0,000004
% Γαλακτωματοποιητη	0,002412	3	0,000804	1,4487	0,319209
Χρόνος αποθήκευσης	0,012896	1	0,012896	23,2340	0,002940
Θερμοκρασία αποθήκευσης	0,001636	1	0,001636	2,9473	0,136833
Error	0,003330	6	0,000555		

**Πίνακας 16α:** Αποτελέσματα Duncan's test για την αντιοξειδωτική ικανότητα ως προς το χρόνο αποθήκευσης, όπου χρόνος αποθήκευσης (1=0 days,2=9 days).

Duncan test; variable DPPH (POMACE TYPOSOLH) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00056, df = 6,0000				
Cell No.	Χρόνος αποθήκευσης	DPPH Mean	1	2
2	2	0,090200	****	
1	1	0,184800		****

➤ *Ελαιόλαδο*

**Πίνακας 17:** Αποτελέσματα ANOVA για τη μέση διάμετρο των σταγονιδίων MDD.

Effect	Univariate Tests of Significance for MDD (EVOO TYROSOL) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	12866091	1	12866091	124,7248	0,000000
% Γαλακτωματοποιητή	511831	3	170610	1,6539	0,225581
Χρόνος αποθήκευσης	150154	2	75077	0,7278	0,501646
Θερμοκρασία αποθήκευσης	322397	1	322397	3,1253	0,100531
Error	1341026	13	103156		

**Πίνακας 18:** Αποτελέσματα ANOVA για το δείκτη πολυδιασποράς PDI.

Effect	Univariate Tests of Significance for PDI (EVOO TYROSOL) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	7,900316	1	7,900316	177,9041	0,000000
% Γαλακτωματοποιητή	0,745689	3	0,248563	5,5973	0,010920
Χρόνος αποθήκευσης	0,193994	2	0,096997	2,1842	0,152118
Θερμοκρασία αποθήκευσης	0,311085	1	0,311085	7,0052	0,020136
Error	0,577300	13	0,044408		

**Πίνακας 18α:** Αποτελέσματα Duncan's test για το δείκτη πολυδιασποράς PDI ως προς το ποσοστό του γαλακτωματοποιητή, όπου % Γαλακτωματοποιητή (1=2%,2=3%,3=4%,4=5%).

Cell No.	Duncan test; variable PDI (EVOO TYROSOL) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,04441, df = 13,000			
	% Γαλακτωματοποιητή	PDI Mean	1	2
1	1	0,394200		****
3	3	0,695800	****	
2	2	0,832600	****	
4	4	0,895200	****	

**Πίνακας 18β:** Αποτελέσματα Duncan's test για το δείκτη πολυδιασποράς PDI ως προς τη θερμοκρασία αποθήκευσης, όπου θερμοκρασία αποθήκευσης (1=25°C, 2=3°C).

Cell No.	Duncan test; variable PDI (EVOO TYROSOL) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,04441, df = 13,000			
	Θερμοκρασία αποθήκευσης	PDI Mean	1	2
1	1	0,563250	****	
2	2	0,916250		****

**Πίνακας 19:** Αποτελέσματα ANOVA για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο TPC.

Effect	Univariate Tests of Significance for TPC (EVOO TYROSOL) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	357,0683	1	357,0683	429,8370	0,000000
% Γαλακτωματοποιητή	10,3795	3	3,4598	4,1649	0,028458
Χρόνος αποθήκευσης	122,5576	2	61,2788	73,7671	0,000000
Θερμοκρασία αποθήκευσης	11,6196	1	11,6196	13,9876	0,002474
Error	10,7992	13	0,8307		

**Πίνακας 19α:** Αποτελέσματα Duncan's test για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο ως προς το ποσοστό του γαλακτωματοποιητή, όπου % Γαλακτωματοποιητή (1=2%,2=3%,3=4%,4=5%).

Duncan test; variable TPC (EVOO TYROSOL) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,83071, df = 13,000				
Cell No.	% Γαλακτωματοποιητή	TPC Mean	1	2
1	1	2,601000		****
2	2	3,405000	****	****
3	3	4,108500	****	
4	4	4,489800	****	

**Πίνακας 19β:** Αποτελέσματα Duncan's test για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο ως προς το χρόνο αποθήκευσης, όπου χρόνος αποθήκευσης (1=0 days,2=9 days,3=15 days).

Duncan test; variable TPC (EVOO TYROSOL) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,83071, df = 13,000				
Cell No.	Χρόνος αποθήκευσης	TPC Mean	1	2
3	3	2,316000	****	
2	2	2,619375	****	
1	1	8,384625		****

**Πίνακας 19γ:** Αποτελέσματα Duncan's test για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο ως προς τη θερμοκρασία αποθήκευσης, όπου θερμοκρασία αποθήκευσης (1=25°C, 2=3°C).

Duncan test; variable TPC (EVOO TYROSOL) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,83071, df = 13,000			
Cell No.	Θερμοκρασία αποθήκευσης	TPC Mean	1
2	2	3,319875	****
1	1	3,871875	****

**Πίνακας 20:** Αποτελέσματα ANOVA για την αντιοξειδωτική ικανότητα DPPH.

Effect	Univariate Tests of Significance for DPPH (EVOO TYROSOL) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	0,966576	1	0,966576	2186,721	0,000000
% Γαλακτωματοποιητή	0,007609	3	0,002536	5,738	0,010009
Χρόνος αποθήκευσης	0,055351	2	0,027675	62,611	0,000000
Θερμοκρασία αποθήκευσης	0,002111	1	0,002111	4,776	0,047758
Error	0,005746	13	0,000442		

**Πίνακας 20α:** Αποτελέσματα Duncan's test για την αντιοξειδωτική ικανότητα ως προς το ποσοστό του γαλακτωματοποιητή, όπου % Γαλακτωματοποιητή (1=2%,2=3%,3=4%,4=5%).

Duncan test; variable DPPH (EVOO TYROSOL) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00044, df = 13,000				
Cell No.	% Γαλακτωματοποιητή	DPPH Mean	1	2
3	3	0,202640	****	
4	4	0,208615	****	
2	2	0,238035		****
1	1	0,249166		****

**Πίνακας 20β:** Αποτελέσματα Duncan's test για την αντιοξειδωτική ικανότητα ως προς το χρόνο αποθήκευσης, όπου χρόνος αποθήκευσης (1=0 days,2=9 days,3=15 days).

Duncan test; variable DPPH (EVOO TYROSOL) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00044, df = 13,000				
Cell No.	Χρόνος αποθήκευσης	DPPH Mean	1	2
3	3	0,187672	****	
2	2	0,209526	****	
1	1	0,328675		****

**Πίνακας 20γ:** Αποτελέσματα Duncan's test για την αντιοξειδωτική ικανότητα ως προς τη θερμοκρασία αποθήκευσης, όπου θερμοκρασία αποθήκευσης (1=25°C, 2=3°C).

Duncan test; variable DPPH (EVOO TYROSOL) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00044, df = 13,000				
Cell No.	Θερμοκρασία αποθήκευσης	DPPH Mean	1	2
2	2	0,210086	****	
1	1	0,234300		****

#### 4<sup>η</sup> Σειρά Πειραμάτων: καφεϊκό οξύ

➤ Πυρηνέλαιο

**Πίνακας 21:** Αποτελέσματα ANOVA για τη μέση διάμετρο των σταγονιδίων MDD.

Effect	Univariate Tests of Significance for MDD (POMACE CAFFEIC Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	8411077	1	8411077	446,2229	0,000000
% Γαλακτωματοποιητή	307957	3	102652	5,4459	0,006666
Χρόνος αποθήκευσης	139034	3	46345	2,4587	0,092530
Θερμοκρασία αποθήκευσης	250268	1	250268	13,2771	0,001615
Error	376990	20	18849		

**Πίνακας 21α:** Αποτελέσματα Duncan's test για τη μέση διάμετρο των σταγονιδίων ως προς το ποσοστό του γαλακτωματοποιητή, όπου % Γαλακτωματοποιητή (1=2%,2=3%,3=4%,4=5%).

Cell No.	Duncan test; variable MDD (POMACE CAFFEIC Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 18849,, df = 20,000			
	% Γαλακτωματοποιητή	MDD Mean	1	2
1	1	490,3000	****	
2	2	498,9429	****	
3	3	554,9143	****	
4	4	750,0429		****

**Πίνακας 21β:** Αποτελέσματα Duncan's test για τη μέση διάμετρο των σταγονιδίων ως προς τη θερμοκρασία αποθήκευσης, όπου θερμοκρασία αποθήκευσης (1=25°C, 2=3°C).

Cell No.	Duncan test; variable MDD (POMACE CAFFEIC Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 18849,, df = 20,000			
	Θερμοκρασία αποθήκευσης	MDD Mean	1	2
1	1	489,8813	****	
2	2	685,1083		****

**Πίνακας 22:** Αποτελέσματα ANOVA για το δείκτη πολυδιασποράς PDI.

Effect	Univariate Tests of Significance for PDI (POMACE CAFFEIC Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	4,264737	1	4,264737	92,00776	0,000000
% Γαλακτωματοποιητή	1,288440	3	0,429480	9,26563	0,000479
Χρόνος αποθήκευσης	0,542450	3	0,180817	3,90096	0,024084
Θερμοκρασία αποθήκευσης	0,144771	1	0,144771	3,12329	0,092437
Error	0,927039	20	0,046352		

**Πίνακας 22α:** Αποτελέσματα Duncan's test για το δείκτη πολυδιασποράς ως προς το ποσοστό του γαλακτωματοποιητή, όπου % Γαλακτωματοποιητή (1=2%,2=3%,3=4%,4=5%).

Duncan test; variable PDI (POMACE CAFFEIC) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,04635, df = 20,000					
Cell No.	% Γαλακτωματοποιητη	PDI Mean	1	2	3
3	3	0,122857	****		
2	2	0,357429	****	****	
1	1	0,490143		****	****
4	4	0,714857			****

**Πίνακας 22β:** Αποτελέσματα Duncan's test για το δείκτη πολυδιασποράς ως προς το χρόνο αποθήκευσης, όπου χρόνος αποθήκευσης (1=0 days, 2=14 days, 3=25 days, 4=40 days).

Duncan test; variable PDI (POMACE CAFFEIC) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,04635, df = 20,000				
Cell No.	Χρόνος αποθήκευσης	PDI Mean	1	2
1	1	0,267750	****	
2	2	0,306625	****	
3	3	0,385875	****	
4	4	0,648250		****

**Πίνακας 23:** Αποτελέσματα ANOVA για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο TPC.

Univariate Tests of Significance for TPC (POMACE CAFFEIC) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	41,17396	1	41,17396	465,3140	0,000000
% Γαλακτωματοποιητη	6,69173	3	2,23058	25,2081	0,000001
Χρόνος αποθήκευσης	0,39518	3	0,13173	1,4887	0,247963
Θερμοκρασία αποθήκευσης	0,00537	1	0,00537	0,0607	0,807923
Error	1,76973	20	0,08849		

**Πίνακας 23α:** Αποτελέσματα Duncan's test για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο ως προς το ποσοστό του γαλακτωματοποιητή, όπου % Γαλακτωματοποιητή (1=2%,2=3%,3=4%,4=5%).

Duncan test; variable TPC (POMACE CAFFEIC) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,08849, df = 20,000					
Cell No.	% Γαλακτωματοποιητη	TPC Mean	1	2	3
1	1	0,819643	****		
2	2	0,998714	****	****	
3	3	1,173214		****	
4	4	2,088643			****

**Πίνακας 24:** Αποτελέσματα ANOVA για την αντιοξειδωτική ικανότητα DPPH.

Effect	Univariate Tests of Significance for DPPH (POMACE CAFFEIC) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	5,053021	1	5,053021	3321,964	0,000000
% Γαλακτωματοποιητή	0,148792	3	0,049597	32,606	0,000000
Χρόνος αποθήκευσης	0,185201	3	0,061734	40,585	0,000000
Θερμοκρασία αποθήκευσης	0,024516	1	0,024516	16,117	0,000680
Error	0,030422	20	0,001521		

**Πίνακας 24α:** Αποτελέσματα Duncan's test για την αντιοξειδωτική ικανότητα ως προς το ποσοστό του γαλακτωματοποιητή, όπου % Γαλακτωματοποιητή (1=2%,2=3%,3=4%,4=5%).

Duncan test; variable DPPH (POMACE CAFFEIC) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00152, df = 20,000						
Cell No.	% Γαλακτωματοποιητή	DPPH Mean	1	2	3	4
1	1	0,333909	****			
2	2	0,397078		****		
3	3	0,465723			****	
4	4	0,528330				****

**Πίνακας 24β:** Αποτελέσματα Duncan's test για την αντιοξειδωτική ικανότητα ως προς το χρόνο αποθήκευσης, όπου χρόνος αποθήκευσης (1=0 days, 2=14 days, 3=25 days, 4=40 days).

Duncan test; variable DPPH (POMACE CAFFEIC) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00152, df = 20,000						
Cell No.	Χρόνος αποθήκευσης	DPPH Mean	1	2	3	4
4	4	0,350378	****			
3	3	0,406636		****		
2	2	0,458371			****	
1	1	0,588050				****

**Πίνακας 24β:** Αποτελέσματα Duncan's test για την αντιοξειδωτική ικανότητα ως προς τη θερμοκρασία αποθήκευσης, όπου θερμοκρασία αποθήκευσης (1=25°C, 2=3°C).

Duncan test; variable DPPH (POMACE CAFFEIC) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00152, df = 20,000			
Cell No.	Θερμοκρασία αποθήκευσης	DPPH Mean	1
1	1	0,426888	****
2	2	0,437090	****

## Σύγκριση στα έλαια και στα βιοδραστικά συστατικά

➤ Σύγκριση μεταξύ πυρηνέλαιου και ελαιόλαδου στις ίδιες σειρές πειραμάτων

### 1. Τυφλά δείγματα

**Πίνακας 25:** Αποτελέσματα ANOVA για τη μέση διάμετρο των σταγονιδίων MDD.

Effect	Univariate Tests of Significance for MDD (COMPARISON PO Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition)				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	2975092	1	2975092	45,98786	0,006554
Άβãïò áëáβïð	50308	1	50308	0,77764	0,442799
% Άάëáëðùíáðíðíëçðç	223982	3	74661	1,15408	0,454503
Error	194079	3	64693		

**Πίνακας 26:** Αποτελέσματα ANOVA για το δείκτη πολυδιασποράς PDI.

Effect	Univariate Tests of Significance for PDI (COMPARISON POM-EVOO BL Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition)				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1,228528	1	1,228528	9,905717	0,051371
Άβãïò áëáβïð	0,338253	1	0,338253	2,727361	0,197209
% Άάëáëðùíáðíðíëçðç	0,291371	3	0,097124	0,783117	0,577242
Error	0,372066	3	0,124022		

**Πίνακας 27:** Αποτελέσματα ANOVA για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο TPC.

Effect	Univariate Tests of Significance for TPC (COMPARISON POM-EVOO BLAN Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition)				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	5,214835	1	5,214835	2155,670	0,000022
Είδος ελαίου	3,148795	1	3,148795	1301,626	0,000047
% Γαλακτωματοποιητη	0,013269	3	0,004423	1,828	0,316244
Error	0,007257	3	0,002419		

**Πίνακας 27α:** Αποτελέσματα Duncan's test για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο ως προς το είδος του ελαίου, όπου είδος ελαίου (1=πυρηνέλαιο, 2=ελαιόλαδο).

Duncan test; variable TPC (COMPARISON POM-EVOO BLANK) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00242, df = 3,0000				
Cell No.	Είδος ελαίου	TPC Mean	1	2
1	1	0,180000	****	
2	2	1,434750		****

**Πίνακας 28:** Αποτελέσματα ANOVA για την αντιοξειδωτική ικανότητα DPPH.

Univariate Tests of Significance for DPPH (COMPARISON POM-EVOO) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	0,521323	1	0,521323	3673,140	0,000010
Άβäïð äëáβið	0,001496	1	0,001496	10,541	0,047610
% Άάëáëðuíáðiðíéçðç	0,002667	3	0,000889	6,264	0,083047
Error	0,000426	3	0,000142		

**Πίνακας 28α:** Αποτελέσματα Duncan's test για την αντιοξειδωτική ικανότητα ως προς το είδος του ελαίου, όπου είδος ελαίου (1=πυρηνέλαιο, 2=ελαιόλαδο).

Duncan test; variable DPPH (COMPARISON POM-EVOO BLANK) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00014, df = 3,0000				
Cell No.	Είδος ελαίου	DPPH Mean	1	2
1	1	0,241600	****	
2	2	0,268950		****

## 2. Φαινολικό εκχύλισμα

**Πίνακας 29:** Αποτελέσματα ANOVA για τη μέση διάμετρο των σταγονιδίων MDD.

Univariate Tests of Significance for MDD (COMPARISON POI) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	4053374	1	4053374	38,10407	0,000013
Είδος ελαίου	235710	1	235710	2,21581	0,156048
% Γαλακτωματοποιητη	1706398	3	568799	5,34704	0,009617
Χρόνος αποθήκευσης	232326	2	116163	1,09200	0,359289
Θερμοκρασία αποθήκευσης	296453	1	296453	2,78683	0,114487
Error	1702023	16	106376		

**Πίνακας 29α:** Αποτελέσματα Duncan's test για τη μέση διάμετρο των σταγονιδίων ως προς το ποσοστό του γαλακτωματοποιητή, όπου % Γαλακτωματοποιητή (1=2%,2=3%,3=4%,4=5%).

Duncan test; variable MDD (COMPARISON POM-EVOO extract) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 1064E2, df = 16,000					
Cell No.	% Γαλακτωματοποιητή	MDD Mean	1	2	3
1	1	438,133	****		
2	2	684,650	****	****	
3	3	996,183		****	****
4	4	1119,417			****

**Πίνακας 30:** Αποτελέσματα ANOVA για το δείκτη πολυδιασποράς PDI.

Univariate Tests of Significance for PDI (COMPARISON POM-EVOO ex) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	2,366915	1	2,366915	33,27703	0,000029
Είδος ελαίου	0,412686	1	0,412686	5,80205	0,028420
% Γαλακτωματοποιητή	1,048736	3	0,349579	4,91481	0,013154
Χρόνος αποθήκευσης	0,006437	2	0,003218	0,04525	0,955883
Θερμοκρασία αποθήκευσης	0,001225	1	0,001225	0,01722	0,897226
Error	1,138041	16	0,071128		

**Πίνακας 30α:** Αποτελέσματα Duncan's test για το δείκτη πολυδιασποράς ως προς το είδος του ελαίου, όπου είδος ελαίου (1=πυρηνέλαιο, 2=ελαιόλαδο).

Duncan test; variable PDI (COMPARISON POM-EVOO extract) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,07113, df = 16,000				
Cell No.	Είδος ελαίου	PDI Mean	1	2
1	1	0,253000	****	
2	2	0,723450		****

**Πίνακας 30b:** Αποτελέσματα Duncan's test για το δείκτη πολυδιασποράς ως προς το ποσοστό του γαλακτωματοποιητή, όπου % Γαλακτωματοποιητή (1=2%,2=3%,3=4%,4=5%).

Duncan test; variable PDI (COMPARISON POM-EVOO extract) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,07113, df = 16,000				
Cell No.	% Γαλακτωματοποιητή	PDI Mean	1	2
2	2	0,407000	****	
1	1	0,472167	****	
3	3	0,806833		****
4	4	0,894167		****

**Πίνακας 31:** Αποτελέσματα ANOVA για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο TPC.

Effect	Univariate Tests of Significance for TPC (COMPARISON POM-EV Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	41,95738	1	41,95738	128,1298	0,000000
Είδος ελαίου	28,46948	1	28,46948	86,9403	0,000000
% Γαλακτωματοποιητη	1,24175	3	0,41392	1,2640	0,303246
Χρόνος αποθήκευσης	6,07098	2	3,03549	9,2698	0,000667
Θερμοκρασία αποθήκευσης	0,00109	1	0,00109	0,0033	0,954439
Error	10,47872	32	0,32746		

**Πίνακας 31α:** Αποτελέσματα Duncan's test για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο ως προς το είδος του ελαίου, όπου είδος ελαίου (1=πυρηνέλαιο, 2=ελαιόλαδο).

Cell No.	Είδος ελαίου	TPC Mean	Duncan test; variable TPC (COMPARISON POM-EVOO extrac Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,32746, df = 32,000	
			1	2
1	1	0,169710	****	
2	2	1,857000		****

**Πίνακας 31β:** Αποτελέσματα Duncan's test για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο ως προς το χρόνο αποθήκευσης, όπου χρόνος αποθήκευσης (1=0 days,2=7 days,3=15 days)

Cell No.	Χρόνος αποθήκευσης	TPC Mean	Duncan test; variable TPC (COMPARISON POM-EVOO extrac Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,32746, df = 32,000	
			1	2
3	3	0,657312	****	
2	2	0,968450	****	
1	1	1,815250		****

**Πίνακας 32:** Αποτελέσματα ANOVA για την αντιοξειδωτική ικανότητα DPPH.

Effect	Univariate Tests of Significance for DPPH (COMPARISON POM-EVO Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1,398572	1	1,398572	1309,261	0,000000
Είδος ελαίου	0,005885	1	0,005885	5,510	0,025262
% Γαλακτωματοποιητη	0,001622	3	0,000541	0,506	0,680880
Χρόνος αποθήκευσης	0,105659	2	0,052830	49,456	0,000000
Θερμοκρασία αποθήκευσης	0,004666	1	0,004666	4,368	0,044656
Error	0,034183	32	0,001068		

**Πίνακας 32α:** Αποτελέσματα Duncan's test για την αντιοξειδωτική ικανότητα ως προς το είδος του ελαίου, όπου είδος ελαίου (1=πυρηνέλαιο, 2=ελαιόλαδο).

Duncan test; variable DPPH (COMPARISON POM-EVOO extract) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00107, df = 32,000				
Cell No.	Αβάρθ ðéάρθ	DPPH Mean	1	2
1	1	0,176695	****	
2	2	0,200955		****

**Πίνακας 32β:** Αποτελέσματα Duncan's test για την αντιοξειδωτική ικανότητα ως προς το χρόνο αποθήκευσης, όπου χρόνος αποθήκευσης (1=0 days,2=7 days,3=15 days).

Duncan test; variable DPPH (COMPARISON POM-EVOO extract) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00107, df = 32,000					
Cell No.	Χρόνος αποθήκευσης	DPPH Mean	1	2	3
3	3	0,146475	****		
2	2	0,182550		****	
1	1	0,286075			****

**Πίνακας 32γ:** Αποτελέσματα Duncan's test για την αντιοξειδωτική ικανότητα ως προς τη θερμοκρασία αποθήκευσης, όπου θερμοκρασία αποθήκευσης (1=25°C, 2=3°C).

Duncan test; variable DPPH (COMPARISON POM-EVOO extract) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00107, df = 32,000				
Cell No.	Θερμοκρασία αποθήκευσης	DPPH Mean	1	
2	2	0,176588	****	
1	1	0,196983	****	

### 3. Τυροσόλη

**Πίνακας 33:** Αποτελέσματα ANOVA για τη μέση διάμετρο των σταγονιδίων MDD.

Effect	Univariate Tests of Significance for MDD (COMPARISON POM- Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	9447785	1	9447785	129,2377	0,000000
Είδος ελαίου	538801	1	538801	7,3703	0,014712
% Γαλακτωματοποιητη	471176	3	157059	2,1484	0,131785
Χρόνος αποθήκευσης	73617	1	73617	1,0070	0,329688
Θερμοκρασία αποθήκευσης	125954	1	125954	1,7229	0,206760
Error	1242767	17	73104		

**Πίνακας 33α:** Αποτελέσματα Duncan's test για τη μέση διάμετρο των σταγονιδίων ως προς το είδος του ελαίου, όπου είδος ελαίου (1=πυρηνέλαιο, 2=ελαιόλαδο).

Duncan test; variable MDD (COMPARISON POM-EVOO tyroso Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 73104,, df = 17,000				
Cell No.	Είδος ελαίου	MDD Mean	1	2
1	1	611,6333	****	
2	2	911,3000		****

**Πίνακας 34:** Αποτελέσματα ANOVA για το δείκτη πολυδιασποράς PDI.

Univariate Tests of Significance for PDI (COMPARISON POM-EVOO tyroso Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	5,418420	1	5,418420	65,86883	0,000000
Είδος ελαίου	0,195662	1	0,195662	2,37856	0,141420
% Γαλακτωματοποιητή	0,814430	3	0,271477	3,30020	0,045658
Χρόνος αποθήκευσης	0,486855	1	0,486855	5,91844	0,026318
Θερμοκρασία αποθήκευσης	0,153272	1	0,153272	1,86325	0,190045
Error	1,398433	17	0,082261		

**Πίνακας 34α:** Αποτελέσματα Duncan's test για το δείκτη πολυδιασποράς ως προς το ποσοστό του γαλακτωματοποιητή, όπου % Γαλακτωματοποιητή (1=2%,2=3%,3=4%,4=5%).

Duncan test; variable PDI (COMPARISON POM-EVOO tyroso Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,08226, df = 17,000				
Cell No.	% Γαλακτωματοποιητή	PDI Mean	1	2
1	1	0,338333		****
3	3	0,537333	****	****
2	2	0,756500	****	
4	4	0,797667	****	

**Πίνακας 34β:** Αποτελέσματα Duncan's test για το δείκτη πολυδιασποράς ως προς το χρόνο αποθήκευσης, όπου χρόνος αποθήκευσης (1=0 days,2=9 days).

Duncan test; variable PDI (COMPARISON POM-EVOO tyroso Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,08226, df = 17,000				
Cell No.	Χρόνος αποθήκευσης	PDI Mean	1	2
1	1	0,309625	****	
2	2	0,756375		****

**Πίνακας 35:** Αποτελέσματα ANOVA για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο TPC.

Effect	Univariate Tests of Significance for TPC (COMPARISON POM-E) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	253,5618	1	253,5618	105,0330	0,000000
Είδος ελαίου	49,0304	1	49,0304	20,3099	0,000311
% Γαλακτωματοποιητη	5,9862	3	1,9954	0,8266	0,497297
Χρόνος αποθήκευσης	65,9933	1	65,9933	27,3364	0,000068
Θερμοκρασία αποθήκευσης	5,3153	1	5,3153	2,2018	0,156156
Error	41,0400	17	2,4141		

**Πίνακας 35α:** Αποτελέσματα Duncan's test για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο ως προς το είδος ελαίου, όπου είδος ελαίου (1=πυρηνέλαιο, 2=ελαιόλαδο).

Duncan test; variable TPC (COMPARISON POM-EVOO tyroso) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 2,4141, df = 17,000				
Cell No.	Είδος ελαίου	TPC Mean	1	2
1	1	1,682500	****	
2	2	4,541125		****

**Πίνακας 35β:** Αποτελέσματα Duncan's test για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο ως προς το χρόνο αποθήκευσης, όπου χρόνος αποθήκευσης (1=0 days,2=9 days).

Duncan test; variable TPC (COMPARISON POM-EVOO tyroso) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 2,4141, df = 17,000				
Cell No.	Χρόνος αποθήκευσης	TPC Mean	1	2
2	2	1,950000	****	
1	1	5,435437		****

**Πίνακας 36:** Αποτελέσματα ANOVA για την αντιοξειδωτική ικανότητα DPPH.

Effect	Univariate Tests of Significance for DPPH (COMPARISON POM-E) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	0,640322	1	0,640322	1067,602	0,000000
Είδος ελαίου	0,097551	1	0,097551	162,646	0,000000
% Γαλακτωματοποιητη	0,003275	3	0,001092	1,820	0,181754
Χρόνος αποθήκευσης	0,040300	1	0,040300	67,192	0,000000
Θερμοκρασία αποθήκευσης	0,000676	1	0,000676	1,127	0,303261
Error	0,010196	17	0,000600		

**Πίνακας 36α:** Αποτελέσματα Duncan's test για την αντιοξειδωτική ικανότητα ως προς το είδος ελαίου, όπου είδος ελαίου (1=πυρηνέλαιο, 2=ελαιόλαδο).

Duncan test; variable DPPH (COMPARISON POM-EVOO tyroso Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00060, df = 17,000				
Cell No.	Είδος ελαίου	DPPH Mean	1	2
1	1	0,121733	****	
2	2	0,249242		****

**Πίνακας 36β:** Αποτελέσματα Duncan's test για την αντιοξειδωτική ικανότητα ως προς το χρόνο αποθήκευσης, όπου χρόνος αποθήκευσης (1=0 days,2=9 days).

Duncan test; variable DPPH (COMPARISON POM-EVOO tyroso Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00060, df = 17,000				
Cell No.	Χρόνος αποθήκευσης	DPPH Mean	1	2
2	2	0,149863	****	
1	1	0,256738		****

#### 4. Καφεϊκό οξύ

**Πίνακας 37:** Αποτελέσματα ANOVA για τη μέση διάμετρο των σταγονιδίων MDD.

Effect	Univariate Tests of Significance for MDD (COMPARISON POM-EVOO caffe Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	6749138	1	6749138	138,9977	0,001312
Είδος ελαίου	1290260	1	1290260	26,5728	0,014155
% Γαλακτωματοποιητη	471056	3	157019	3,2338	0,180423
Error	145667	3	48556		

**Πίνακας 37α:** Αποτελέσματα Duncan's test για τη μέση διάμετρο σταγονιδίων ως προς το είδος ελαίου, όπου είδος ελαίου (1=πυρηνέλαιο, 2=ελαιόλαδο).

Duncan test; variable MDD (COMPARISON POM-EVOO caffe Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 48556,, df = 3,0000				
Cell No.	Είδος ελαίου	MDD Mean	1	2
1	1	516,900	****	
2	2	1320,100		****

**Πίνακας 38:** Αποτελέσματα ANOVA για το δείκτη πολυδιασποράς PDI.

Effect	Univariate Tests of Significance for PDI (COMPARISON POM-EVOO coffee) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	2,695842	1	2,695842	89,43559	0,002506
Είδος ελαίου	0,782501	1	0,782501	25,95975	0,014617
% Γαλακτωματοποιητη	0,114127	3	0,038042	1,26207	0,426411
Error	0,090429	3	0,030143		

**Πίνακας 38α:** Αποτελέσματα Duncan's test για το δείκτη πολυδιασποράς ως προς το είδος ελαίου, όπου είδος ελαίου (1=πυρηνέλαιο, 2=ελαιόλαδο).

Cell No.	Duncan test; variable PDI (COMPARISON POM-EVOO coffee) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,03014, df = 3,0000			
	Είδος ελαίου	PDI Mean	1	2
1	1	0,267750	****	
2	2	0,893250		****

**Πίνακας 39:** Αποτελέσματα ANOVA για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο TPC.

Effect	Univariate Tests of Significance for TPC (COMPARISON POM-EVOO coffee) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	106,1242	1	106,1242	221,0609	0,000660
Είδος ελαίου	34,7465	1	34,7465	72,3784	0,003411
% Γαλακτωματοποιητη	3,0899	3	1,0300	2,1455	0,273394
Error	1,4402	3	0,4801		

**Πίνακας 39α:** Αποτελέσματα Duncan's test για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο ως προς το είδος ελαίου, όπου είδος ελαίου (1=πυρηνέλαιο, 2=ελαιόλαδο).

Cell No.	Duncan test; variable TPC (COMPARISON POM-EVOO coffee) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,48007, df = 3,0000			
	Είδος ελαίου	TPC Mean	1	2
1	1	1,558125	****	
2	2	5,726250		****

**Πίνακας 40:** Αποτελέσματα ANOVA για την αντιοξειδωτική ικανότητα DPPH.

Effect	Univariate Tests of Significance for DPPH (COMPARISON POM-EV) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	3,064050	1	3,064050	510,3409	0,000190
Είδος ελαίου	0,007601	1	0,007601	1,2661	0,342399
% Γαλακτωματοποιητή	0,022908	3	0,007636	1,2718	0,424010
Error	0,018012	3	0,006004		

➤ Σύγκριση μεταξύ βιοδραστικών συστατικών για τα δείγματα με βάση το πυρηνέλαιο

**Πίνακας 41:** Αποτελέσματα ANOVA για τη μέση διάμετρο των σταγονιδίων MDD.

Effect	Univariate Tests of Significance for MDD (pomace day) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	4088080	1	4088080	338,4930	0,000000
Είδος βιοδραστικού	11520	3	3840	0,3179	0,812301
% Γαλακτωματοποιητή	85453	3	28484	2,3585	0,139592
Error	108696	9	12077		

**Πίνακας 42:** Αποτελέσματα ANOVA για το δείκτη πολυδιασποράς PDI.

Effect	Univariate Tests of Significance for PDI (pomace day) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	0,830377	1	0,830377	46,82514	0,000075
Είδος βιοδραστικού	0,018048	3	0,006016	0,33925	0,797636
% Γαλακτωματοποιητή	0,086248	3	0,028749	1,62119	0,252201
Error	0,159602	9	0,017734		

**Πίνακας 43:** Αποτελέσματα ANOVA για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο TPC.

Effect	Univariate Tests of Significance for TPC (pomace day) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	19,53530	1	19,53530	62,27372	0,000025
Είδος βιοδραστικού	15,18396	3	5,06132	16,13424	0,000578
% Γαλακτωματοποιητή	1,74856	3	0,58285	1,85799	0,207090
Error	2,82330	9	0,31370		

**Πίνακας 43α:** Αποτελέσματα Duncan's test για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο ως προς το είδος βιοδραστικού, όπου είδος βιοδραστικού (1=τυφλά, 2=φαινολικό εκχύλισμα, 3=τυροσόλη, 4=καφεϊκό οξύ).

Duncan test; variable TPC (pomace day 1 Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,31370, df = 9,0000					
Cell No.	Είδος βιοδραστικού	TPC Mean	1	2	3
1	1	0,180000	****		
2	2	0,195500	****		
4	4	1,558125		****	
3	3	2,486250			****

**Πίνακας 44:** Αποτελέσματα ANOVA για την αντιοξειδωτική ικανότητα DPPH.

Univariate Tests of Significance for DPPH (pomace day 1 Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1,549278	1	1,549278	382,0434	0,000000
Είδος βιοδραστικού	0,416080	3	0,138693	34,2010	0,000030
% Γαλακτωματοποιητή	0,009549	3	0,003183	0,7849	0,531843
Error	0,036497	9	0,004055		

**Πίνακας 44α:** Αποτελέσματα Duncan's test για την αντιοξειδωτική ικανότητα ως προς το είδος βιοδραστικού, όπου είδος βιοδραστικού (1=τυφλά, 2=φαινολικό εκχύλισμα, 3=τυροσόλη, 4=καφεϊκό οξύ).

Duncan test; variable DPPH (pomace day 1 Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00406, df = 9,0000				
Cell No.	Είδος βιοδραστικού	DPPH Mean	1	2
3	3	0,184800	****	
2	2	0,230250	****	
1	1	0,241600	****	
4	4	0,588050		****

- Σύγκριση μεταξύ βιοδραστικών συστατικών για τα δείγματα με βάση το ελαιόλαδο

**Πίνακας 45:** Αποτελέσματα ANOVA για τη μέση διάμετρο των σταγονιδίων MDD

Univariate Tests of Significance for MDD (EVOO day 1 Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	12406597	1	12406597	135,1902	0,000001
Είδος βιοδραστικού	1060105	3	353368	3,8505	0,050371
%Γαλακτωματοποιητή	423237	3	141079	1,5373	0,270882
Error	825943	9	91771		

**Πίνακας 46:** Αποτελέσματα ANOVA για το δείκτη πολυδιασποράς PDI.

Effect	Univariate Tests of Significance for PDI (EVOO day 1) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	6,827769	1	6,827769	65,41241	0,000020
Είδος βιοδραστικού	0,481548	3	0,160516	1,53780	0,270762
%Γαλακτωματοποιητη	0,508342	3	0,169447	1,62336	0,251736
Error	0,939423	9	0,104380		

**Πίνακας 47:** Αποτελέσματα ANOVA για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο TPC.

Effect	Univariate Tests of Significance for TPC (EVOO day 1) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	360,2641	1	360,2641	331,5644	0,000000
Είδος βιοδραστικού	107,5343	3	35,8448	32,9893	0,000035
%Γαλακτωματοποιητη	8,6146	3	2,8715	2,6428	0,113005
Error	9,7790	9	1,0866		

**Πίνακας 47α:** Αποτελέσματα Duncan's test για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο ως προς το είδος βιοδραστικού, όπου είδος βιοδραστικού (1=τυφλά, 2=φαινολικό εκχύλισμα, 3=τυροσόλη, 4=καφεϊκό οξύ).

Cell No.	Duncan test; variable TPC (EVOO day 1) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 1,0866, df = 9,0000					
	Είδος βιοδραστικού	TPC Mean	1	2	3	4
1	1	1,434750	****			
2	2	3,435000		****		
4	4	5,726250			****	
3	3	8,384625				****

**Πίνακας 48:** Αποτελέσματα ANOVA για την αντιοξειδωτική ικανότητα DPPH.

Effect	Univariate Tests of Significance for DPPH (EVOO day 1) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	2,525636	1	2,525636	1562,975	0,000000
Είδος βιοδραστικού	0,351832	3	0,117277	72,576	0,000001
%Γαλακτωματοποιητη	0,001634	3	0,000545	0,337	0,799193
Error	0,014543	9	0,001616		

**Πίνακας 48α:** Αποτελέσματα Duncan's test για την αντιοξειδωτική ικανότητα ως προς το είδος βιοδραστικού, όπου είδος βιοδραστικού (1=τυφλά, 2=φαινολικό εκχύλισμα, 3=τυροσόλη, 4=καφεϊκό οξύ).

Duncan test; variable DPPH (EVOO day 1) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00162, df = 9,0000					
Cell No.	Είδος βιοδραστικού	DPPH Mean	1	2	3
1	1	0,268950	****		
3	3	0,328675	****	****	
2	2	0,341900		****	
4	4	0,649700			****

### Σύγκριση στα βιοδραστικά συστατικά για όλα τα δείγματα

**Πίνακας 49:** Αποτελέσματα ANOVA για τη μέση διάμετρο των σταγονιδίων MDD

Univariate Tests of Significance for MDD (ΟΛΑ ΤΑ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΑ) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	15369077	1	15369077	223,5292	0,000000
Είδος βιοδραστικού	544662	3	181554	2,6405	0,072463
Είδος ελαιου	1125600	1	1125600	16,3708	0,000469
%Γαλακτωματοποιητη	320136	3	106712	1,5520	0,226888
Error	1650155	24	68756		

**Πίνακας 49α:** Αποτελέσματα Duncan's test για τη μέση διάμετρο των σταγονιδίων ως προς το είδος ελαιού, όπου είδος ελαιού (1=πυρηνέλαιο, 2=ελαιόλαδο).

Duncan test; variable MDD (ΟΛΑ ΤΑ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΑ) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 68756,, df = 24,000				
Cell No.	Είδος ελαιου	MDD Mean	1	2
1	1	505,4750	****	
2	2	880,5750		****

**Πίνακας 50:** Αποτελέσματα ANOVA για το δείκτη πολυδιασποράς PDI.

Effect	Univariate Tests of Significance for PDI (ΟΛΑ ΤΑ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΑ/ Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	6,210169	1	6,210169	87,99500	0,000000
Είδος βιοδραστικού	0,325302	3	0,108434	1,53646	0,230704
Είδος ελαιου	1,447977	1	1,447977	20,51711	0,000137
%Γαλακτωματοποιητη	0,174130	3	0,058043	0,82245	0,494327
Error	1,693779	24	0,070574		

**Πίνακας 50α:** Αποτελέσματα Duncan's test για το δείκτη πολυδιασποράς ως προς το είδος ελαίου, όπου είδος ελαίου (1=πυρηνέλαιο, 2=ελαϊόλαδο).

Cell No.	Duncan test; variable PDI (ΟΛΑ ΤΑ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΑ/ Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,07057, df = 24,000			
	Είδος ελαιου	PDI Mean	1	2
1	1	0,227813	****	
2	2	0,653250		****

**Πίνακας 51:** Αποτελέσματα ANOVA για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο TPC.

Effect	Univariate Tests of Significance for TPC (ΟΛΑ ΤΑ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΑ/ Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	273,7917	1	273,7917	175,5806	0,000000
Είδος βιοδραστικού	100,2603	3	33,4201	21,4321	0,000001
Είδος ελαιου	106,0077	1	106,0077	67,9820	0,000000
%Γαλακτωματοποιητη	7,9991	3	2,6664	1,7099	0,191646
Error	37,4244	24	1,5594		

**Πίνακας 51α:** Αποτελέσματα Duncan's test για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο ως προς το είδος βιοδραστικού, όπου είδος βιοδραστικού (1=τυφλά, 2=φαινολικό εκχύλισμα, 3=τυροσόλη, 4=καφεϊκό οξύ).

Cell No.	Duncan test; variable TPC (ΟΛΑ ΤΑ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΑ/ Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 1,5594, df = 24,000				
	Είδος βιοδραστικού	TPC Mean	1	2	3
1	1	0,807375	****		
2	2	1,815250	****		
4	4	3,642188		****	
3	3	5,435437			****

**Πίνακας 51β:** Αποτελέσματα Duncan's test για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο ως προς το είδος ελαίου, όπου είδος ελαίου (1=πυρηνέλαιο, 2=ελαιόλαδο).

Duncan test; variable TPC (ΟΛΑ ΤΑ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΑ) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 1,5594, df = 24,000				
Cell No.	Είδος ελαίου	TPC Mean	1	2
1	1	1,104969	****	
2	2	4,745156		****

**Πίνακας 52:** Αποτελέσματα ANOVA για την αντιοξειδωτική ικανότητα DPPH.

Univariate Tests of Significance for DPPH (ΟΛΑ ΤΑ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΑ) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	4,015565	1	4,015565	1262,239	0,000000
Είδος βιοδραστικού	0,751832	3	0,250611	78,776	0,000000
Είδος ελαίου	0,059349	1	0,059349	18,655	0,000235
%Γαλακτωματοποιητή	0,001952	3	0,000651	0,205	0,892256
Error	0,076351	24	0,003181		

**Πίνακας 52α:** Αποτελέσματα Duncan's test για την αντιοξειδωτική ικανότητα ως προς το είδος βιοδραστικού, όπου είδος βιοδραστικού (1=τυφλά, 2=φαινολικό εκχύλισμα, 3=τυροσόλη, 4=καφεϊκό οξύ).

Duncan test; variable DPPH (ΟΛΑ ΤΑ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΑ) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00318, df = 24,000				
Cell No.	Είδος βιοδραστικού	DPPH Mean	1	2
1	1	0,255275	****	
3	3	0,256738	****	
2	2	0,286075	****	
4	4	0,618875		****

**Πίνακας 52β:** Αποτελέσματα Duncan's test για την αντιοξειδωτική ικανότητα ως προς το είδος ελαίου, όπου είδος ελαίου (1=πυρηνέλαιο, 2=ελαιόλαδο).

Duncan test; variable DPPH (ΟΛΑ ΤΑ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΑ) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00318, df = 24,000				
Cell No.	Είδος ελαίου	DPPH Mean	1	2
1	1	0,311175	****	
2	2	0,397306		****

## Πρότυπες καμπύλες

