



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

ΤΟΜΕΑΣ IV: ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

**Νέες τεχνολογίες εκχύλισης για την παραγωγή πρωτεϊνικών
υπερσυμπυκνωμάτων από πρώτες ύλες τροφίμων ή παραπροϊόντων τους**

Διπλωματική Εργασία

Μπουργούρης Βασίλειος

Επιβλέπουσα

Κωνσταντίνα Τζιά

Καθηγήτρια Ε.Μ.Π.

ΑΘΗΝΑ 2021

Πρόλογος

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

Πρωτίστως, θα ήθελα να ευχαριστήσω την κα Τζιά για την ευκαιρία να ασχοληθώ με το συγκεκριμένο θέμα, την εμπιστοσύνη, την καθοδήγηση και τις γνώσεις που μου παρείχε κατά τη διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας.

Ακολούθως, οφείλω να ευχαριστήσω θερμά τη διδάκτορα Βιργινία Γιάννου, για την πολύτιμη βοήθεια και την προθυμία να επιλύσει οποιαδήποτε απορία και δυσκολία αντιμετώπισα κατά την πειραματική διαδικασία της εργασίας μου.

Επιπλέον, να ευχαριστήσω όλους τους υποψήφιους διδάκτορες και το εργαστηριακό προσωπικό, για την άριστη συνεργασία και το ευχάριστο κλίμα που υπήρχε στο εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων.

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

Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω εκ βάθους καρδιάς την οικογένειά μου, τους φίλους μου και τους κοντινούς μου ανθρώπους για τη στήριξη, την ενθάρρυνση και την πίστη τους σε μένα καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

Αθήνα, 2021

Μπουργούρης Βασίλης

Περίληψη

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας ήταν η παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων σόγιας από απελαιωμένο άλευρο σόγιας, τόσο με τη συμβατική εκχύλιση όσο και με νέες τεχνολογίες εκχύλισης, αξιολογώντας την απόδοση της διαδικασίας απομόνωσης των πρωτεϊνών (και των επιμέρους σταδίων της: εκχύλιση πρωτεϊνών, ισηλεκτρική καταβύθιση πρωτεϊνών) και την ποιότητα των τελικών προϊόντων (περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες, λειτουργικές ιδιότητες). Η σόγια ανήκει στους ελαιούχους σπόρους και ειδικότερα σε αυτούς με υψηλό πρωτεϊνικό περιεχόμενο. Τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα σόγιας, εξαιτίας των λειτουργικών τους ιδιοτήτων, βρίσκουν εφαρμογές σε πολλά συστήματα τροφίμων.

Η πρώτη ύλη που χρησιμοποιήθηκε στην εργασία ήταν βιομηχανικά απελαιωμένο άλευρο σόγιας που είχε υποστεί θερμική επεξεργασία για την αδρανοποίηση των αντιθρεπτικών παραγόντων (αναστολείς τρυψίνης). Η προκατεργασία της πρώτης ύλης περιλάμβανε άλεση και κοσκίνιση, ώστε να προκύψει υλικό σε μορφή σκόνης με σωματίδια ομοιόμορφου μεγέθους. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε περαιτέρω απελαίωση του αλεύρου με πετρελαϊκό αιθέρα, με σκοπό την αφαίρεση της υπολειπόμενης ποσότητας ελαίου, για την αποφυγή προβλημάτων κατά την πειραματική διαδικασία απομόνωσης των πρωτεϊνών. Ως πρώτη ύλη για τα πειράματα απομόνωσης πρωτεϊνών χρησιμοποιήθηκε το εργαστηριακά απελαιωμένο άλευρο σόγιας το οποίο είχε υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες (50,09 % σε ξηρή βάση).

Η παραλαβή των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων πραγματοποιήθηκε μέσω της τεχνικής της υδατικής εκχύλισης των πρωτεϊνών και της ισηλεκτρικής τους καταβύθισης. Η συμβατική εκχύλιση με θερμό νερό πραγματοποιήθηκε για χρόνο 30 min και λόγο στερεού προς υγρό 1/15, 1/20, 1/25. Η νέα μέθοδος εκχύλισης που μελετήθηκε ήταν η υδατική εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα. Οι παράγοντες που εξετάστηκαν σε αυτή τη μέθοδο ήταν ο χρόνος εκχύλισης (2, 5, 8, 10 min), ο λόγος στερεού προς υγρό (1/15, 1/20, 1/25) και η ισχύς των μικροκυμάτων (240 και 400 W). Τα πειράματα αυτά οδήγησαν σε τελικά προϊόντα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα.

Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε εκχύλιση πρωτεϊνών με χρήση τριών διαφορετικών ευτηκτικών συστημάτων (Μηλικό οξύ : Φρουκτόζη : Γλυκερόλη (1:1:1) + 30 % w/w νερό, Κιτρικό οξύ : Γλυκόζη (1:1) + 30 % w/w νερό και Κιτρικό οξύ : Γλυκόζη (1:1) + 45 % w/w νερό). Οι εκχυλίσεις με τους ανωτέρω διαλύτες έγιναν τόσο με τη συμβατική μέθοδο, όσο και με νέες μεθόδους (κυρίως με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα). Στην περίπτωση αυτή παρά το γεγονός ότι επιτυγχάνεται εκχύλιση των πρωτεϊνών με τους ευτηκτικούς διαλύτες και υπολογίζεται η απόδοση εκχύλισης των πειραμάτων, δεν κατέστη δυνατή η καταβύθιση των πρωτεϊνών και περαιτέρω η απομόνωσή τους. Ο προσδιορισμός της περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες πραγματοποιήθηκε σε στερεά δείγματα με τη μέθοδο Kjeldhal.

Κατά τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης, οι μεγαλύτερες αποδόσεις παρατηρούνται για λόγο στερεού προς υγρό 1/20, ενώ οι καλύτερες λειτουργικές ιδιότητες και η μέγιστη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες του πρωτεϊνικού υπερσυμπυκνώματος εμφανίζεται για λόγο στερεού προς υγρό 1/25.

Όσον αφορά την μέθοδο εκχύλισης με μικροκύματα, οι υψηλότερες αποδόσεις εμφανίζονται για χρόνο εκχύλισης 10 min, λόγο στερεού προς υγρό 1/20 w/v και ισχύ μικροκυμάτων 400 W. Στις συνθήκες αυτές προκύπτει ολική απόδοση σε πρωτεΐνες 34,14 %, απόδοση εκχύλισης 45,36 %, απόδοση καταβύθισης 75,26 % και πρωτεϊνικό περιεχόμενο του υπερσυμπυκνώματος 88,27 % σε ξηρή βάση. Η μέγιστη τιμή ικανότητας απορρόφησης νερού βρέθηκε ότι είναι 366,27 g H₂O/100 g δείγματος στις ίδιες συνθήκες. Αντίστοιχα η μέγιστη τιμή ικανότητας απορρόφησης ελαίου βρέθηκε ότι είναι 526,32 g ελαίου/100 g δείγματος σε χρόνο εκχύλισης 8 min, 1/25 w/v και ισχύ μικροκυμάτων 400 W.

Για λόγο στερεού προς υγρό 1/20, παρατηρείται ότι η ισχύς των μικροκυμάτων δεν επηρεάζει σημαντικά την απόδοση εκχύλισης. Η απόδοση καταβύθισης δεν επηρεάζεται σημαντικά από την ισχύ των μικροκυμάτων και το χρόνο εκχύλισης. Αντιθέτως, ο χρόνος εκχύλισης επηρεάζει σημαντικά την απόδοση εκχύλισης. Όσον αφορά την ολική απόδοση, παρατηρείται ότι τόσο η ισχύς των μικροκυμάτων, όσο και ο χρόνος εκχύλισης επηρεάζουν σημαντικά αυτή την απόδοση. Από τον έλεγχο Duncan μάλιστα, προκύπτει ότι όσο αυξάνεται η ισχύς των μικροκυμάτων, αλλά και ο χρόνος εκχύλισης, αυξάνεται και η ολική απόδοση της διαδικασίας. Για την ικανότητα απορρόφησης νερού των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, παρατηρείται ότι η ισχύς των μικροκυμάτων δεν επηρεάζει σημαντικά τη συγκεκριμένη λειτουργική ιδιότητα, ενώ ο χρόνος εκχύλισης αποτελεί στατιστικά σημαντικό παράγοντα. Για την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και την ικανότητα απορρόφησης ελαίου των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων παρατηρείται ότι δεν επηρεάζονται τόσο από την ισχύ των μικροκυμάτων, όσο και από το χρόνο εκχύλισης.

Για εκχύλιση με μικροκύματα με ισχύ 240 W, προκύπτει ότι η απόδοση εκχύλισης των πρωτεϊνών επηρεάζεται σημαντικά, τόσο από το χρόνο εκχύλισης, όσο και από το λόγο στερεού προς υγρό, ενώ η απόδοση καταβύθισης και η ολική απόδοση δεν επηρεάζονται από τις συνθήκες της εκχύλισης (ισχύς μικροκυμάτων, χρόνος εκχύλισης). Επίσης, προκύπτει ότι η καθαρότητα των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων (περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες) δεν επηρεάζεται από το χρόνο εκχύλισης, αλλά μόνο από το λόγο στερεού προς υγρό κατά την εκχύλιση. Το ίδιο ισχύει και για την ικανότητα απορρόφησης νερού των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, ενώ η ικανότητα απορρόφησης ελαίου αυτών δεν επηρεάζεται από τις συνθήκες της εκχύλισης.

Για εκχύλιση με ισχύ μικροκυμάτων 400 W, προκύπτει ότι τόσο ο χρόνος εκχύλισης, όσο και ο λόγος στερεού προς υγρό δεν επηρεάζουν σημαντικά την ολική απόδοση της διαδικασίας καθώς και τις αποδόσεις των επιμέρους σταδίων της διαδικασίας όπως και την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων και τις λειτουργικές τους ιδιότητες.

Από τη σύγκριση των δύο μεθόδων (συμβατική και υποβοηθούμενη με μικροκύματα), η εκχύλιση με μικροκύματα έδειξε τα καλύτερα αποτελέσματα για w/v 1/20, σε μικρότερο χρόνο (10 min),

σε σχέση με το μεγάλο χρόνο εκχύλισης της συμβατικής μεθόδου (30 min). Όσο για τις λειτουργικές ιδιότητες, η ικανότητα απορρόφησης νερού είναι μεγαλύτερη για τη μέθοδο των μικροκυμάτων σε όλους τους λόγους στερεού προς υγρό, ενώ η ικανότητα απορρόφησης ελαίου εμφανίζει παραπλήσιες τιμές και για τις δύο μεθόδους. Προκύπτει επίσης ότι τόσο η μέθοδος εκχύλισης, όσο και ο λόγος στερεού προς υγρό δεν επηρεάζουν σημαντικά ούτε τις αποδόσεις της διαδικασίας, ούτε τις λειτουργικές ιδιότητες και την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων. Εξαίρεση αποτελεί η σύγκριση της ικανότητας απορρόφησης νερού για τη συμβατική μέθοδο και τη μέθοδο με μικροκύματα με ισχύ 400 W, όπου οι δύο μέθοδοι διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους.

Τέλος, γίνεται σύγκριση των εκχυλιστικών μέσων (τα τρία συστήματα ευτηκτικών διαλυτών και το νερό) για τις δύο μεθόδους εκχύλισης που χρησιμοποιήθηκαν (συμβατική και με μικροκύματα). Το εκχυλιστικό μέσο αποδείχθηκε πως επηρεάζει στατιστικά σημαντικά την απόδοση εκχύλισης. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι μεγαλύτερη απόδοση εκχύλισης παρατηρείται για εκχυλιστικό μέσο νερό και για τις δύο μεθόδους. Η βέλτιστη απόδοση εκχύλισης προκύπτει κατά την υδατική εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα (41,92 %). Καλύτερος ευτηκτικός διαλύτης αποδείχθηκε το σύστημα (Κιτρικό οξύ : Γλυκόζη (1:1) + 45 % w/w νερό), το οποίο παρείχε απόδοση εκχύλισης 28,33 %, κατά την εκχύλιση με μικροκύματα.

Λέξεις-κλειδιά: πρωτεΐνες, σόγια, εκχύλιση, υπερσυμπύκνωμα πρωτεϊνών, νέες τεχνολογίες, ευτηκτικοί διαλύτες, απόδοση.

ABSTRACT

The aim of this thesis is to obtain protein isolates from defatted soy flour, using both conventional extraction and new extraction technologies, evaluating the efficiency of the protein isolation process (and its individual stages: protein extraction, isoelectric precipitation of proteins) and the quality of the final products (protein content, functional properties). Soybeans belong to the oilseeds and especially to those with high protein content. Soy protein isolates, due to their functional properties, find applications in many food systems.

The raw material used in this thesis was industrially defatted soy flour that had been heat treated to inactivate non nutritional factors (trypsin inhibitors). The pre-treatment of the raw material involved milling and sieving to produce grains of uniform size. Then, the flour was further defatted with petroleum ether, in order to remove the remaining amount of oil, so that problems during the experimental process of protein isolation be avoided. As the raw material for the protein isolation experiments was used laboratory defatted soy flour, which had a high protein content (50.09% on a dry basis).

Protein isolates were obtained by the technique of aqueous extraction of proteins and their isoelectric precipitation. Conventional hot water extraction was performed for a time of 30 min and solid to liquid ratio 1/15, 1/20, 1/25. The new extraction method studied was aqueous microwave-assisted extraction. The factors examined in this method were the extraction time (2, 5, 8, 10 min), the solid to liquid ratio (1/15, 1/20, 1/25) and the microwave power (240 and 400 W). These experiments led to protein isolates as final products.

Protein extraction was also performed using three different eutectic systems (Malic acid : Fructose : Glycerol (1:1:1) + 30% w/w water, Citric acid : Glucose (1:1) + 30% w/w water and Citric acid : Glucose (1:1) + 45% w/w water). The extractions with the above eutectic solvents were done both with the conventional method and with new methods (mainly with microwave-assisted extraction). In this case, despite the fact that protein extraction was achieved with the eutectic solvents and the extraction yield of the experiments was calculated, it was not possible to precipitate the proteins and isolate them. Determination of protein content was carried out in solid samples by Kjeldhal method.

In the conventional extraction method, the highest yields are observed for a solid to liquid ratio of 1/20, while the best functional properties and the maximum protein content of the protein isolate are observed for a solid to liquid ratio of 1/25.

Regarding the microwave-assisted extraction method, the highest yields appear for extraction time of 10 min, solid to liquid ratio 1/20 w/v and microwave power of 400 W. Under these conditions results a total yield in proteins of 34.14%, extraction yield of 45.36%, precipitation yield of 75.26 % and protein content of the isolate 88.27% on a dry basis. The maximum value of water absorption capacity was found to be 366.27 g H₂O/100 g sample under the same

conditions. Respectively, the maximum value of oil absorption capacity was found to be 526.32 g oil/100 g sample in extraction time of 8 min, 1/25 w/v and microwave power 400 W.

For solid to liquid ratio 1/20, it is observed that the microwave power does not significantly affect the extraction yield. In contrast, extraction time significantly affects extraction yield. The precipitation yield is not significantly affected by the microwave power and the extraction time. In terms of total yield, it is observed that both the microwave power and the extraction time significantly affect this yield. In fact, from the Duncan test, it appears that as the microwave power increases, but also the extraction time, the total yield of the process increases. For the water absorption capacity of the protein isolates, it is observed that the microwave power does not significantly affect this specific functional property, while the extraction time is a statistically significant factor. It is observed that both the microwave power and the extraction time do not affect the protein content and the oil absorption capacity of the protein isolates.

For extraction with a microwave power of 240 W, it results that the extraction yield is significantly affected by both the extraction time and the solid to liquid ratio, while the precipitation yield and the total yield are not affected by the extraction conditions (microwave power and extraction time). It also appears that the purity of the protein isolates (the protein content) is not affected by the extraction time, but only by the ratio of solid to liquid during the extraction. The same goes for the water absorption capacity of the protein isolates, while the oil absorption capacity of them does not be affected by the extraction conditions.

For extraction with a microwave power of 400 W, it results that both the extraction time and the solid to liquid ratio do not significantly affect the total yield and the individual stages' yields of the procedure, nor the protein content of the protein isolates and their functional properties.

By comparing the two methods (conventional and microwaves-assisted), microwave-assisted extraction showed the best results for w/v 1/20, in less time (10 min), compared to the long extraction time of the conventional method (30 min). As for the functional properties, the water absorption capacity is higher for the microwave-assisted method in all solid to liquid ratios, while the oil absorption capacity shows similar values for both methods. It also results that both the extraction method and the solid to liquid ratio do not significantly affect either the process yields, the functional properties or the protein content of the protein isolates. An exception is the comparison of water absorption capacity for the conventional method and the microwave-assisted method with microwave power of 400 W, where the two methods differ statistically.

Finally, a comparison of the extraction media occurred (the three eutectic solvent systems and the water) for the two extraction methods used (conventional and microwave-assisted). The extractant proved that statistically affect significantly the extraction yield. The results showed that higher extraction yield was observed for aqueous extraction for both methods. The optimal extraction yield is obtained during aqueous extraction with microwave-assisted method (41.92%). The system (Citric acid: Glucose (1:1) + 45% w/w water) proved to be the best eutectic solvent, providing an extraction yield of 28.33%, during microwave-assisted extraction.

Keywords: proteins, soy, extraction, protein isolate, new technologies, eutectic solvents, yield.

Περιεχόμενα

Πρόλογος.....	3
Περίληψη.....	5
Abstract.....	8
Περιεχόμενα.....	11
Εισαγωγή.....	14
Μέρος Α΄: Θεωρητικό Μέρος.....	15
1. Πρωτεΐνες.....	15
1.1 Γενικά.....	15
1.2 Δομή Πρωτεϊνών.....	16
1.3 Φυσικοχημικές Ιδιότητες.....	20
1.3.1 Ισοηλεκτρικό Σημείο (pI).....	20
1.3.2 Διαλυτότητα.....	21
1.3.3 Οπτικές Ιδιότητες.....	22
1.3.4 Ιξώδες.....	23
1.3.5 Μετουσίωση.....	23
1.4 Λειτουργικές Ιδιότητες.....	24
1.4.1 Ιδιότητες Ενυδάτωσης.....	25
1.4.2 Απορρόφηση λιπαρών.....	25
1.4.3 Δέσμευση γευστικών-οσμικών ουσιών.....	26
1.4.4 Σχηματισμός πηκτής.....	27
1.4.5 Αφριστικές ιδιότητες.....	27
1.4.6 Γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες.....	28
1.5 Πρωτεΐνη στη διατροφή του ανθρώπου.....	29
1.5.1 Ρόλος στη διατροφή.....	29
1.5.2 Θρεπτική Αξία πρωτεϊνών.....	29
1.6 Πηγές Πρωτεϊνών.....	31
1.6.1 Ζωικής Προέλευσης.....	32
1.6.2 Φυτικής Προέλευσης.....	33
1.6.3 Μη συμβατικές πηγές πρωτεϊνών - Νέες πηγές πρωτεϊνών.....	34

2.	Σόγια.....	36
2.1	Γενικά.....	36
2.2	Σύσταση και μικροδομή.....	37
2.3	Πρωτεΐνες Σόγιας.....	38
2.4	Έλαιο Σόγιας.....	40
2.5	Επεξεργασία Σπόρων Σόγιας.....	41
2.5.1	Καθάρισμα.....	42
2.5.2	Ξήρανση.....	42
2.5.3	Θραύση και αποφλοίωση σόγιας.....	43
2.5.4	Υγροθερμική διεργασία.....	43
2.5.5	Φολιδοποίηση.....	43
2.5.6	Εκχύλιση των φολίδων.....	44
2.5.7	Άλεση.....	44
2.6	Πρωτεϊνικά Προϊόντα Σόγιας.....	45
2.6.1	Πρωτεϊνικά Άλευρα.....	46
2.6.2	Πρωτεϊνικά συμπυκνώματα.....	46
2.6.3	Πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα.....	46
2.7	Εφαρμογές στη διατροφή	48
3.	Τεχνολογία Παραλαβής Πρωτεϊνικών Υπερσυμπυκνωμάτων.....	49
3.1	Γενικά.....	49
3.2	Συμβατική Μέθοδος Εκχύλισης.....	49
3.3	Νέες τεχνολογίες εκχύλισης.....	50
3.3.1	Εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα.....	51
3.3.2	Εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους.....	56
3.3.3	Εκχύλιση υποβοηθούμενη με ένζυμα.....	58
3.3.4	Εκχύλιση υποβοηθούμενη με παλμική ηλεκτρική ενέργεια.....	59
3.3.5	Εκχύλιση υποβοηθούμενη με επεξεργασία υψηλής υδροστατικής πίεσης.....	60
3.3.6	Εκχύλιση με χρήση ευτηκτικών διαλυτών.....	61
Μέρος Β΄: Πειραματικό Μέρος.....		63
4.	Πειραματικό Μέρος.....	63
4.1	Σκοπός.....	63
4.2	Πρώτες Ύλες και Αντιδραστήρια.....	63
4.3	Συσκευές και Όργανα.....	64

4.4 Πειραματική Διαδικασία.....	65
4.4.1 Προκατεργασία Αλεύρου.....	65
4.4.2 Διαδικασία Παραλαβής Πρωτεϊνικών Υπερσυμπυκνωμάτων.....	66
4.5 Αναλύσεις – Μετρήσεις.....	70
4.5.1 Μετρήσεις Λειτουργικών Ιδιοτήτων.....	70
4.5.2 Προσδιορισμός Υγρασίας.....	71
4.5.3 Περιεκτικότητα σε Έλαιο.....	71
4.5.4 Μέθοδος Kjeldahl – Περιεκτικότητα σε Άζωτο και Πρωτεΐνες.....	71
4.6 Σχεδιασμός Πειραμάτων.....	74
5. Αποτελέσματα.....	77
5.1 Σύσταση Πρώτης Ύλης.....	77
5.2 Προσδιορισμός Ισηλεκτρικού Σημείου.....	77
5.3 Παραλαβή Πρωτεϊνικών Υπερσυμπυκνωμάτων.....	78
5.3.1 Αποτελέσματα Παραλαβής Πρωτεϊνικών Υπερσυμπυκνωμάτων με τη Συμβατική Μέθοδο Εκχύλισης.....	78
5.3.2 Αποτελέσματα Παραλαβής Πρωτεϊνικών Υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα.....	80
5.3.3 Αποτελέσματα Παραλαβής Πρωτεϊνικών Υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση με ευτηκτικούς διαλύτες.....	98
5.4 Σύγκριση Μεθόδων Εκχύλισης.....	100
5.4.1 Σύγκριση αποτελεσμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με τη συμβατική μέθοδο και με τη μέθοδο των μικροκυμάτων, για συνθήκες εκχύλισης 240 W, 10 min.....	100
5.4.2 Σύγκριση αποτελεσμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με τη συμβατική μέθοδο και με τη μέθοδο των μικροκυμάτων, για συνθήκες εκχύλισης 400 W, 10 min.....	104
5.4.3 Σύγκριση αποτελεσμάτων εκχύλισης πρωτεϊνών συναρτήσει του εκχυλιστικού μέσου και της μεθόδου εκχύλισης.....	109
Μέρος Γ΄: Συμπεράσματα-Προτάσεις.....	111
6. Συμπεράσματα.....	111
7. Προτάσεις.....	115
Βιβλιογραφία.....	117
Παράρτημα.....	123

Εισαγωγή

Οι πρωτεΐνες είναι ίσως το βασικότερο συστατικό στη διατροφή του ανθρώπου και είναι ζωτικής σημασίας για τη διατήρηση της ζωής. Οι πρωτεΐνες αποτελούν απαραίτητα συστατικά της διατροφής, δεδομένου ότι ο άνθρωπος (όπως και τα ζώα) δεν μπορεί να συνθέσει όλα τα αμινοξέα, αλλά πρέπει να τα λάβει από τα τρόφιμα. Μέσω της διαδικασίας της πέψης, αποικοδομείται η πρωτεΐνη στα ελεύθερα αμινοξέα, τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την πρωτεϊνική σύνθεση.

Σύμφωνα με τις εκτιμήσεις ο παγκόσμιος πληθυσμός θα ανέλθει στα 9 δισεκατομμύρια έως το 2050, ενώ η παγκόσμια ζήτηση για πρωτεΐνες ζωικής προέλευσης αναμένεται να διπλασιαστεί έως τότε. Γνωρίζοντας τις αρνητικές περιβαλλοντικές και οικονομικές επιπτώσεις της παραγωγής ζωικών πρωτεϊνών κρίνεται αναγκαία η εύρεση νέων πηγών πρωτεΐνης. Παρατηρείται επίσης η τάση των δυτικών χωρών για μία πιο υγιεινή διατροφή, με επακόλουθη αύξηση της χορτοφαγίας και του βιγκανισμού. Τα παραπάνω, σε συνδυασμό με τη γενική φιλοσοφία για “πράσινη” οικονομία και κοινωνία, καθώς και για αειφόρο ανάπτυξη και βιωσιμότητα, οδηγούν στην αντικατάσταση των ζωικών πρωτεϊνών με νέες φυτικές πρωτεΐνες από πρώτες ύλες τροφίμων ή παραπροϊόντων τους.

Οι ελαιούχοι σπόροι, όπως η ελαιοκράμβη, η σόγια και ο ηλίανθος, αποτελούν σημαντικές πηγές φυτικών πρωτεϊνών εξαιτίας της υψηλής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες καθώς και της δυνατότητας πρόσδοσης θρεπτικής αξίας και επιθυμητών λειτουργικών ιδιοτήτων όταν ενσωματώνονται σε τρόφιμα. Πιο συγκεκριμένα, η σόγια έχει υψηλό πρωτεϊνικό περιεχόμενο (περίπου 40% κατά μέσο όρο σε ξηρή βάση), δικαιολογώντας έτσι τη διαρκώς αυξανόμενη ζήτηση για την παραγωγή και την κατανάλωσή της.

Η παραλαβή των πρωτεϊνών από τους ελαιούχους σπόρους πραγματοποιείται μέσω εκχύλισης και ισοηλεκτρικής καταβύθισης. Η ανάπτυξη νέων τεχνολογιών εκχύλισης έχει αυξηθεί τα τελευταία χρόνια, στην προσπάθεια για μείωση, επαναχρησιμοποίηση και ανακύκλωση των παραπροϊόντων τροφίμων καθώς και τροφίμων τα οποία απορρίπτονται. Στόχος των νέων μεθόδων είναι η διατήρηση του περιβάλλοντος, η διασφάλιση της παγκόσμιας επισιτιστικής επάρκειας, η ικανοποίηση των απαιτήσεων για την ασφάλεια και την ποιότητα των συστημάτων τροφίμων, σε συνάρτηση βέβαια με τη βελτίωση τόσο από οικονομικής άποψης όσο και από άποψη απόδοσης.

Μέρος Α΄: Θεωρητικό Μέρος

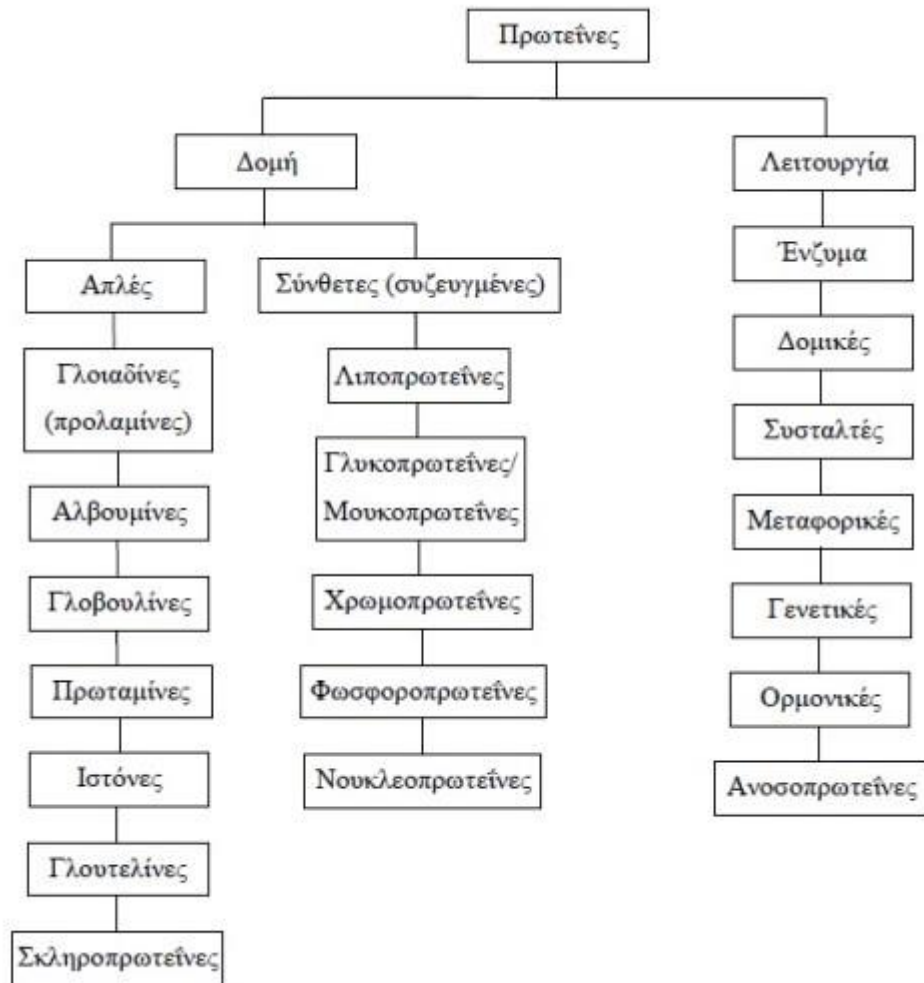
1. Πρωτεΐνες

1.1 Γενικά

Οι πρωτεΐνες συνιστούν μία ομάδα απαραίτητων συστατικών για τους ζωντανούς οργανισμούς, αποτελώντας περισσότερο από το 50% του ξηρού βάρους των ζώντων κυττάρων. Αποτελούνται από πέντε βασικά στοιχεία, τα οποία είναι ο άνθρακας (C), το υδρογόνο (H), το οξυγόνο (O), το άζωτο (N), το θείο (S) και σε ορισμένες περιπτώσεις ο φωσφόρος (P). Η περιεκτικότητα των πρωτεϊνών σε αυτά τα βασικά χημικά στοιχεία κυμαίνεται ανάμεσα στα παρακάτω όρια: C: 50-55%, H: 6,5-7,0%, N: 15,0-17,6%, O: 19-24%, S: 0,3-2,3% και σε μερικές P: 0,3%.

Οι πρωτεΐνες είναι μεγάλα βιομόρια που απαντούν σε όλους τους ζωντανούς οργανισμούς. Όπως δηλώνει και το όνομά τους -προέρχεται από την ελληνική λέξη πρώτος- παίζουν πρωταρχικό ρόλο στη δομή και τη λειτουργία του κυττάρου. Τα διάφορα είδη πρωτεϊνών εμπλέκονται σε πολλές βιολογικές λειτουργίες του οργανισμού. Ειδικότερα απαντώνται οι δομικές πρωτεΐνες (π.χ. κολλαγόνο, κερατίνη, κ.α.), καθώς και πρωτεΐνες με βιολογική δράση όπως ένζυμα, ορμόνες, συστολικές, αποθηκευτικές, αντιβιοτικές, τοξικές, αντιθρεπτικές, προστατευτικής δράσης, αντιγόνα και πρωτεΐνες μεταφοράς. Με βάση τη σύσταση, οι πρωτεΐνες χωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες: τις απλές και τις σύνθετες ή συζευγμένες ανάλογα με το αν περιέχουν στο μόριό τους μόνο αμινοξέα ή και άλλες ενώσεις, όπως λιπίδια, υδατάνθρακες, χρωστικές, νουκλεϊκά οξέα κ.α. Οι απλές πρωτεΐνες ταξινομούνται ανάλογα με τη διαλυτότητά τους σε νερό, υδατικά διαλύματα αλάτων, οξέων ή βάσεων. Για παράδειγμα, οι αλβουμίνες είναι διαλυτές σε νερό, οι γλοβουλίνες είναι σχεδόν αδιάλυτες σε νερό αλλά διαλυτές σε αραιά διαλύματα αλάτων και οι γλουτελίνες είναι διαλυτές σε αραιά διαλύματα οξέων και βάσεων και ουδέτερων αλάτων. Οι σύνθετες πρωτεΐνες με βάση τα χαρακτηριστικά της προσθετικής ομάδας ταξινομούνται σε λιποπρωτεΐνες, νουκλεοπρωτεΐνες κ.α. (Λιαδάκης, 1999; Mc Murry, 2015; Ταούκης, Ωραιοπούλου, 2009).

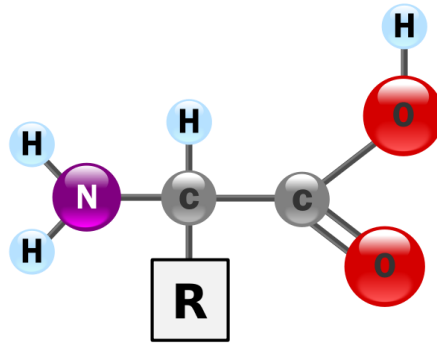
Στην εικόνα 1.1 παρουσιάζεται μία γενική ταξινόμηση των πρωτεϊνών.



Εικόνα 1.1. Ταξινόμηση πρωτεϊνών (Ταούκης & Τζιά, 2019)

1.2 Δομή Πρωτεϊνών

Ανεξαρτήτως της μορφής ή της λειτουργίας τους, όλες οι πρωτεΐνες είναι πολυμερείς ενώσεις, που αποτελούνται από μονομερή δομικά συστατικά τα οποία ονομάζονται αμινοξέα. Τα α-αμινοξέα είναι ενώσεις που στο μόριό τους έχουν αμινομάδα (NH_2) και καρβοξυλομάδα (COOH) ενωμένες στο ίδιο άτομο άνθρακα. Ο γενικός τους τύπος είναι:



Εικόνα 1.2. Γενική δομή αμινοξέος.

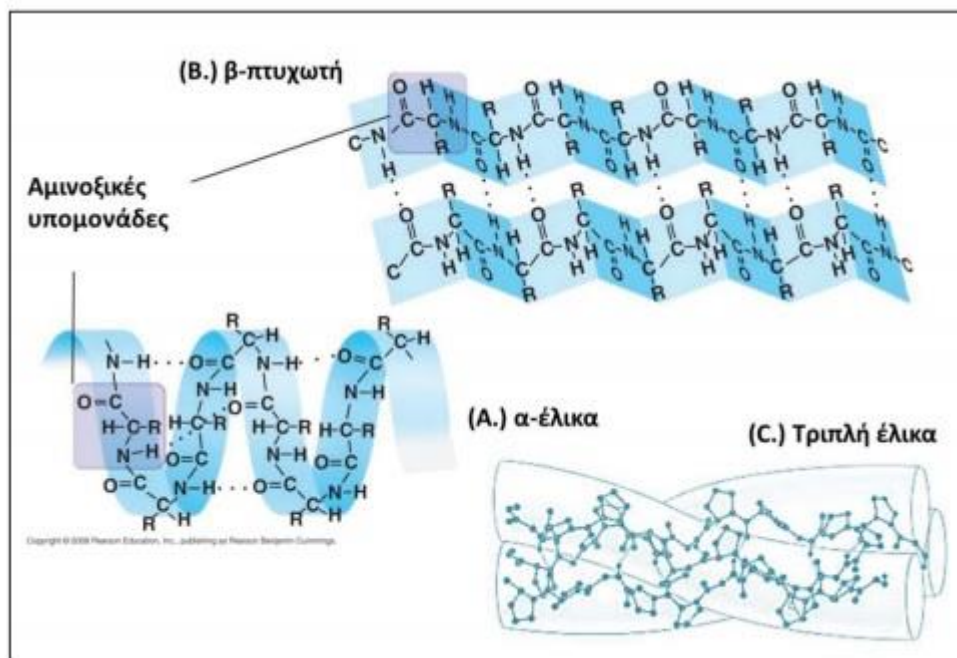
Τα α-αμινοξέα λόγω της φύσης τους, περιέχοντας όξινη και βασική ομάδα στο μόριό τους, παρουσιάζουν τόσο όξινο όσο και βασικό χαρακτήρα. Τα α-αμινοξέα διαφέρουν ως προς την πλευρική ομάδα R που έχουν στο μόριό τους, η οποία επηρεάζει σημαντικά τις χημικές τους ιδιότητες αλλά και το φυσικό και βιολογικό χαρακτήρα τους, και περαιτέρω και τις αντίστοιχες ιδιότητες των πρωτεϊνών. Στις πρωτεΐνες απαντώνται 20 αμινοξέα, τα οποία είναι όλα απαραίτητα στην πρωτεϊνοσύνθεση. Ωστόσο ο ανθρώπινος οργανισμός μπορεί να βιοσυνθέσει μόνο τα 10 εξ αυτών. Τα υπόλοιπα 10, ο οργανισμός πρέπει να τα παραλάβει από τη διατροφή και για αυτό ονομάζονται απαραίτητα αμινοξέα. Έλλειψη απαραίτητων αμινοξέων μπορεί να οδηγήσει σε σοβαρές ασθένειες. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα 20 συνήθη α-αμινοξέα των πρωτεϊνών.

Πίνακας 1.1. Κυριότερα α-αμινοξέα πρωτεϊνών (McMurry, 2015)

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

Τα αμινοξέα συνδέονται μεταξύ τους σχηματίζοντας μία επιμήκη αλυσίδα. Η σύνδεση των αμινοξέων γίνεται μέσω πεπτιδικών (αμιδικών) δεσμών ανάμεσα στην $-NH_2$ ομάδα ενός αμινοξέος και την $-COOH$ ομάδα ενός δεύτερου αμινοξέος. Αλυσίδες με λιγότερα από 50 αμινοξέα ονομάζονται ολιγοπεπτίδια, ενώ οι μεγαλύτερες ονομάζονται πρωτεΐνες (McMurry, 2015; Ταούκης & Τζιά, 2019).

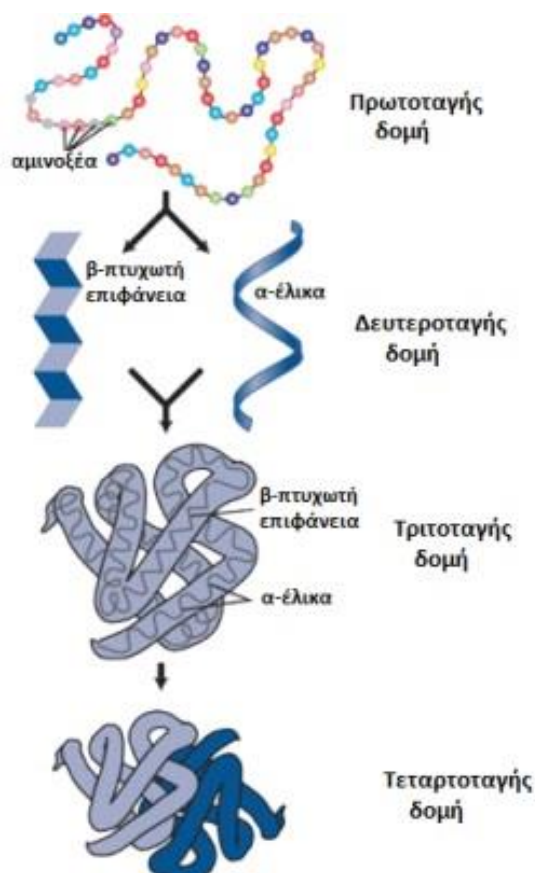
Για να προσδιοριστεί τρισδιάστατα η λειτουργική δομή μίας πρωτεΐνης χρησιμοποιούνται τέσσερα επίπεδα δομών. Η πρωτοταγής δομή της πρωτεΐνης αναφέρεται στη διατεταγμένη σειρά των αμινοξέων που συνθέτουν την πρωτεϊνική αλυσίδα. Η δομή αυτή είναι και η σημαντικότερη επηρεάζοντας σε μεγάλο βαθμό τις ιδιότητες της πρωτεΐνης, καθώς και τη δευτεροταγή και τριτοταγή δομή της, εξ αιτίας των στερεοχημικών και χημικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των πλευρικών ομάδων. Η δευτεροταγής δομή περιγράφει την τρισδιάστατη διάταξη που λαμβάνει στο χώρο η πρωτεϊνική αλυσίδα γύρω από τον άξονα που σχηματίζεται από τον πεπτιδικό δεσμό. Οι δευτεροταγείς δομές των πρωτεϊνών σταθεροποιούνται με ενδομοριακούς και διαμοριακούς δεσμούς υδρογόνου. Η φυσική διαμόρφωση που λαμβάνουν οι πρωτεΐνες τείνει στην ελαχιστοποίηση της ελεύθερης ενέργειας του μορίου. Οι κυριότερες μορφές δευτεροταγούς δομής είναι η α -έλικα, το β -πτυχωμένο φύλλο, η τριπλή έλικα του κολλαγόνου και η δομή τυχαίας σπείρας.



Εικόνα 1.3. Δευτεροταγής δομή πρωτεϊνών Α. Δομή α -έλικας, Β. Δομή β -πτυχωμένου φύλλου, C. Δομή τριπλής έλικας (Μπάγκος, 2015)

Η τριτοταγής δομή αναφέρεται στον τρόπο με τον οποίο ολόκληρη η πρωτεΐνη ή μεγάλα τμήματά της περιελίσσονται στον χώρο και περιλαμβάνει τμήματα καθορισμένης αλλά και τμήματα

ασαφούς δευτεροταγούς δομής. Οι πληροφορίες για την πρωτοταγή και δευτεροταγή δομή καθορίζουν το τελικό μέγεθος και σχήμα του μορίου στην τριτοταγή δομή. Επιπροσθέτως η θέση των πλευρικών ομάδων των αμινοξέων στο χώρο επιδεικνύουν την προσβασιμότητα, τον βαθμό έκθεσης και τις πιθανές ομοιοπολικές ή μη ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πλευρικών αλυσίδων. Οι δεσμοί υδρογόνου παίζουν σημαντικό ρόλο στη σταθεροποίηση των τριτοταγών δομών. Η τεταρτοταγής δομή, τέλος, αφορά τη διάταξη και την αλληλεπίδραση μεταξύ μεγάλων πολυπεπτιδικών αλυσίδων προς σχηματισμό σταθερότερων δομικών συσσωματωμάτων. Οι αλληλεπιδράσεις και το είδος των δεσμών στη διαμόρφωση των τεσσάρων δομών μπορεί να είναι διπόλου-διπόλου, υδρόφοβες ή ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις, καθώς και δεσμοί υδρογόνου και δισουλφιδικοί δεσμοί (-S-S-) (Li-Chan, Lacroix, 2017; Ταούκης & Τζιά, 2019).

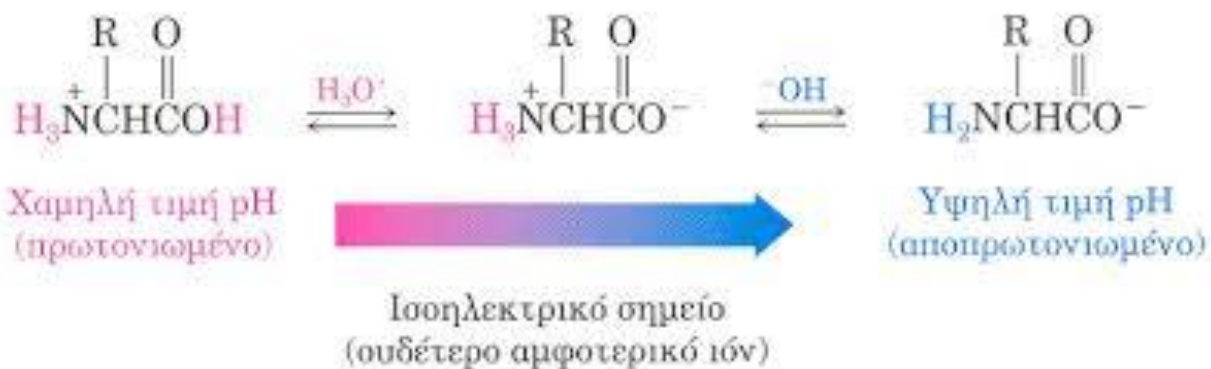


Εικόνα 1.4. Τέσσερα επίπεδα οργάνωσης της πρωτεΐνης.

1.3 Φυσικοχημικές Ιδιότητες

1.3.1 Ισοηλεκτρικό Σημείο (pI)

Σε ένα διάλυμα οξέος με χαμηλό pH, τα αμινοξέα πρωτονιώνονται και απαντούν κατά κανόνα ως κατιόντα. Αντίστοιχα, σε ένα διάλυμα βάσης με υψηλό pH, τα αμινοξέα αποπρωτονιώνονται και απαντούν κατά κανόνα ως ανιόντα. Υπάρχει, ωστόσο, μία ενδιάμεση τιμή pH, στην οποία το αμινοξύ ισορροπεί ανάμεσα στην ανιοντική και κατιοντική μορφή του και απαντά με την ουδέτερη μορφή του διπολικού ιόντος. Αυτή η τιμή του pH ονομάζεται ισοηλεκτρικό σημείο (pI) (McMurry, 2015).



Εικόνα 1.5. Το ισοηλεκτρικό σημείο ενός αμινοξέος (McMurry, 2015)

Το ισοηλεκτρικό σημείο εξαρτάται από το είδος και τη θέση των αμινοξέων στο πρωτεϊνικό μόριο (στην επιφάνεια ή στο εσωτερικό). Σε pH πλησίον του pI η διαλυτότητα ελαχιστοποιείται, καθώς τα πρωτεϊνικά μόρια εμφανίζουν ελάχιστες αλληλεπιδράσεις με το νερό και το καθαρό φορτίο τους ελαττώνεται, επιτρέποντας έτσι τη μείωση της απόστασης μεταξύ τους και τη δημιουργία συσσωματωμάτων, τα οποία καταβυθίζονται (ισοηλεκτρική καταβύθιση). Η ισοηλεκτρική καταβύθιση (isoelectric precipitation) αποτελεί μία βασική μέθοδο απομόνωσης και παραλαβής πρωτεϊνών. Εφαρμογή της ισοηλεκτρικής καταβύθισης συμβαίνει κατά την παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, όπου μετά τη διαλυτοποίηση των πρωτεϊνών (π.χ. πρωτεϊνών ελαιούχων σπόρων όπως σόγιας) σε αλκαλικές τιμές pH ακολουθεί η απομόνωσή τους με καταβύθιση με ρύθμιση του pH στο pI (Ταούκης & Τζιά, 2019).

1.3.2 Διαλυτότητα

Το μέγεθος των πρωτεϊνικών μορίων δεν τους επιτρέπει να σχηματίζουν πραγματικά διαλύματα στο νερό. Όταν αναφέρεται ως διαλυτότητα (solubility) μίας πρωτεΐνης εννοείται η διασκορπισσιμότητα (dispersibility) αυτής. Επομένως η διασπορά μίας πρωτεΐνης σε νερό έχει τις ιδιότητες μίας κolloειδούς διασποράς και όχι ενός πραγματικού διαλύματος. Η διαλυτότητα των πρωτεϊνών μεταβάλλεται και επηρεάζεται από τον αριθμό, τη θέση των πολικών και μη πολικών ομάδων κατά μήκος του μορίου, καθώς και από το διαλυτικό μέσο. Για να καταστεί λοιπόν μία

πρωτεΐνη διαλυτή πρέπει να αλληλεπιδρά με το διαλύτη όσο το δυνατόν περισσότερο σχηματίζοντας δεσμούς υδρογόνου, ή ιοντικές και υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις.

Η διαλυτότητα των πρωτεϊνών εξαρτάται από: α) το pH, β) την ιοντική ισχύ (συγκέντρωση των αλάτων), γ) τη θερμοκρασία και δ) το είδος του διαλύτη.

Σε τιμές pH υψηλότερες ή χαμηλότερες από το pI, τα πρωτεϊνικά μόρια είναι θετικά ή αρνητικά φορτισμένα και τα μόρια του νερού αλληλεπιδρούν με αυτά τα φορτία βοηθώντας τη διαλυτοποίηση. Επιπροσθέτως τα μόρια πρωτεΐνης που φέρουν το ίδιο φορτίο απωθούνται με σκοπό να απομακρύνονται και να ξεδιπλώνονται.

Τα ιόντα ουδέτερων αλάτων έχουν διττή επίδραση στη διαλυτότητα των πρωτεϊνών. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις (0,5-1 M) αυξάνουν τη διαλυτότητα καταστέλλοντας τις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ πρωτεϊνών. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται επιδιαλύτωση ή εναλάτωση (salting-in). Αντίθετα, η διαλυτότητα των πρωτεϊνών μειώνεται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις άλατος (>1 M), εξαιτίας της ιοντικής τάσης ενυδάτωσης των αλάτων. Ειδικότερα, ο ανταγωνισμός που προκύπτει ανάμεσα στα πρωτεϊνικά μόρια και τα ιόντα άλατος για τα μόρια νερού που απαιτούνται για τη διαλύτωση τους, οδηγεί στο φαινόμενο της εξαλάτωσης (salting-out). Οι υψηλές συγκεντρώσεις αλάτων συνδέονται ισχυρά με την πλειονότητα των διαθέσιμων μορίων νερού, με αποτέλεσμα να μην υπάρχουν πολλά διαθέσιμα για τη διαλύτωση των πρωτεϊνών. Συνεπώς οι αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης-πρωτεΐνης υπερτερούν των αλληλεπιδράσεων πρωτεΐνης-νερού, σχηματίζοντας συσσωματώματα που οδηγούν σε καταβύθιση των πρωτεϊνών. Για αυτό το λόγο η εξαλάτωση αποτελεί επίσης μέθοδο διαχωρισμού και απομόνωσης πρωτεϊνών.

Η αύξηση της θερμοκρασίας από 0 έως 40-50°C αυξάνει τη διαλυτότητα των πρωτεϊνών. Σε υψηλότερες θερμοκρασίες υπάρχει κίνδυνος καταστροφής της δευτεροταγούς και τριτοταγούς δομής της πρωτεΐνης με αποτέλεσμα τη μετουσίωσή της, η οποία συνοδεύεται από συσσωμάτωση και μείωση της διαλυτότητάς της. Χαμηλές θερμοκρασίες επίσης μειώνουν τη διαλυτότητα των πρωτεϊνικών μορίων.

Γενικά, οι πρωτεΐνες είναι διαλυτές μόνο σε έντονα πολικούς διαλύτες όπως το νερό, η γλυκερίνη, το φορμαμίδιο κ.α. Σε λιγότερο πολικούς διαλύτες όπως η μεθανόλη και η αιθανόλη, οι πρωτεΐνες είναι σπάνια εμφανώς διαλυτές. Οι διαλύτες αυτοί μειώνουν τη διηλεκτρική σταθερά του υδατικού μέσου που είναι διαλυμένη η πρωτεΐνη, με αποτέλεσμα τη μείωση της ηλεκτροστατικής άπωσης των πρωτεϊνών και περαιτέρω τη συσσωμάτωση και καταβύθισή τους (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2018; Ταούκης & Τζιά, 2019).

1.3.3 Οπτικές Ιδιότητες

Η οπτική ενεργότητα των πρωτεϊνών οφείλεται όχι μόνο στην ασυμμετρία των αμινοξέων αλλά και στη χειρομορφία ως αποτέλεσμα διευθέτησης-διάταξης της πεπτιδικής αλυσίδας. Το μεγαλύτερο μέρος των πρωτεϊνών δεν παρουσιάζει απορρόφηση στην περιοχή του ορατού

φάσματος. Αυτό έχει ως συνέπεια τα περισσότερα υδατικά διαλύματα πρωτεϊνών να είναι άχρωμα. Στις περιπτώσεις που εμφανίζεται χρώμα (π.χ. αιμογλοβίνη), αυτό οφείλεται στην απορρόφηση που εμφανίζουν οι προσθετικές ομάδες του μορίου της πρωτεΐνης. Ωστόσο, πολλές πρωτεΐνες εμφανίζουν απορρόφηση στην περιοχή του υπεριώδους φάσματος, γεγονός που οφείλεται κυρίως στα αμινοξέα που περιέχουν στις πλευρικές τους ομάδες αρωματικούς δακτυλίους.

Οι υδατοδιαλυτές πρωτεΐνες εμφανίζουν την ιδιότητα στροφής του επιπέδου του πολωμένου φωτός προς τα αριστερά, γεγονός που δεν εξαρτάται από την τιμή του pH του διαλύματος. Τα διαλύματα των πρωτεϊνών παρουσιάζουν υψηλό δείκτη διάθλασης, ο οποίος μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για τον προσδιορισμό τους (Λιαδάκης, 1999; Belitz, Grosch, & Schieberle, 2018).

1.3.4 Ιξώδες

Ο κύριος παράγοντας που επηρεάζει το ιξώδες πρωτεϊνικών υγρών (διαλύματα-διασπορές, γαλακτώματα, αφροί, πάστες-αλοιφές, πηκτές) είναι η φαινόμενη διάμετρος των μορίων ή σωματιδίων. Η διάμετρος αυτή εξαρτάται από παράγοντες όπως: τα εγγενή χαρακτηριστικά του πρωτεϊνικού μορίου (η μάζα, το μέγεθος, ο όγκος, το φορτίο, η δομή και η ευκολία τροποποίησής της), οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ πρωτεΐνης-διαλύτη, που επηρεάζουν τη διαλυτότητα και την υδροδυναμική σφαίρα ενυδάτωσης που περιβάλλει το μόριο και, οι αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης-πρωτεΐνης, που καθορίζουν το μέγεθος των συσσωματωμάτων.

Οι πρωτεϊνικές διασπορές παρουσιάζουν μη Νευτωνική ψευδοπλαστική συμπεριφορά, η οποία εξηγείται από τα εξής φαινόμενα: προοδευτικό προσανατολισμό των μορίων προς τη διεύθυνση της ροής, οπότε μειώνεται η αντίσταση στην τριβή, παραμόρφωση της σφαίρας ενυδάτωσης της πρωτεΐνης προς τη διεύθυνση της ροής και, διάσπαση δεσμών υδρογόνου και άλλων ασθενών δεσμών, με αποτέλεσμα τη διάσπαση των πρωτεϊνικών συσσωματωμάτων. Σε κάθε περίπτωση η φαινόμενη διάμετρος των μορίων ή συσσωματωμάτων μειώνεται προς την κατεύθυνση της ροής. Γενικά, το ιξώδες αυξάνει εκθετικά με τη συγκέντρωση της πρωτεΐνης, εξαιτίας των αλληλεπιδράσεων πρωτεΐνης-πρωτεΐνης. Σε ορισμένα συστήματα (κυρίως αφρούς, πηκτές και πάστες), παρατηρείται πλαστική ή/και ιξωδοελαστική συμπεριφορά (Λιαδάκης, 1999 ; Cheftel et al. 1985).

1.3.5 Μετουσίωση

Τα πρωτεϊνικά μόρια είναι ευπαθή (ευαίσθητα) και πολλοί παράγοντες και συνθήκες μπορούν να προκαλέσουν αλλαγές (μικρές ή μεγάλες) στη δομή και τη διαμόρφωσή τους. Κάθε τέτοια αλλαγή ονομάζεται μετουσίωση (denaturation) και επιφέρει μεταβολές στις ιδιότητες των πρωτεϊνών. Πρέπει να σημειωθεί ότι κατά τη μετουσίωση επέρχονται μεταβολές στη δευτεροταγή, τριτοταγή και τεταρτοταγή δομή των πρωτεϊνών, αλλά όχι στην πρωτοταγή η οποία παραμένει ανέπαφη,

δηλαδή δεν διασπώνται οι πεπτιδικοί δεσμοί. Αυτό επιφέρει την αλλαγή της καλά οργανωμένης δομής της φυσικής πρωτεΐνης προς μία μορφή ανοργάνωτη και καθαρά τυχαία.

Συνήθως η μετουσίωση είναι πρακτικά αναντίστροφη, όπως για παράδειγμα το ασπράδι του τηγανισμένου αυγού που δεν επανέρχεται στην αρχική του κατάσταση με ελάττωση της θερμοκρασίας. Με εξαιρετικά ήπιες συνθήκες μπορεί να γίνει και αντιστρεπτή μετουσίωση, όπως έχει παρατηρηθεί με κάποια ένζυμα, τα οποία ανέκτησαν πλήρως τις βιολογικές τους δράσεις (επανουσίωση πρωτεΐνης).

Η μετουσίωση επιφέρει μεταβολές τόσο στις φυσικοχημικές όσο και βιολογικές ιδιότητες των πρωτεϊνών. Οι μετουσιωμένες πρωτεΐνες παρουσιάζουν:

- Μειωμένη διαλυτότητα, εξαιτίας της αποκάλυψης υδρόφοβων ομάδων (οδηγεί σε συσσωμάτωση και καθίζηση).
- Μικρότερη ικανότητα συγκράτησης νερού.
- Μειωμένη χημική δραστικότητα, κυρίως ιονιζόμενων ομάδων και ομάδων -SH.
- Μείωση ή ολική απώλεια βιολογικής δράσης (ενζυμικής ή ανοσολογικής).
- Αύξηση εγγενούς ιξώδους.

Ο κυριότερος παράγοντας που προκαλεί μετουσίωση των πρωτεϊνών είναι η θέρμανση. Ο ρυθμός μετουσίωσης εξαρτάται από τη θερμοκρασία και αυξάνεται κατά 600 φορές για αύξηση θερμοκρασίας 10°C, λόγω της χαμηλής ενέργειας των αλληλεπιδράσεων που σταθεροποιούν τις δομές των πρωτεϊνών. Γενικά, η μετουσίωση των πρωτεϊνών είναι μεγαλύτερου βαθμού, όταν η θέρμανση γίνεται παρουσία νερού (υγρασίας).

Άλλοι παράγοντες που επιφέρουν μετουσίωση των πρωτεϊνών είναι: η ψύξη, η μηχανική καταπόνηση, η υδροστατική πίεση, η υπεριώδης ακτινοβολία, η έκθεση σε ακραίες τιμές pH, η απορρόφηση σε διεπιφάνειες μεταξύ νερού και αερίου ή μη υδατικού διαλύτη ή στερεού, πυκνά υδατικά διαλύματα (4-8M) οργανικών ενώσεων, οργανικοί διαλύτες κ.α. (Ταούκης & Τζιά, 2019 ; McMurry, 2015).

1.4 Λειτουργικές Ιδιότητες

Ο όρος λειτουργικότητα, όπως εφαρμόζεται στα συστατικά των τροφίμων, ορίζεται ως οποιαδήποτε ιδιότητα (που δεν περιλαμβάνει διατροφική αξία και συνεισφορά), η οποία επηρεάζει τη χρησιμότητα του συστατικού στο τρόφιμο. Οι λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνών είναι οι φυσικοχημικές ιδιότητες, οι οποίες καθιστούν τις πρωτεΐνες καθοριστικές ως προς τα επιθυμητά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και την ποιότητα του τροφίμου (Cheftel et al. 1985).

1.4.1 Ιδιότητες Ενυδάτωσης

Η ικανότητα και ο τρόπος αλληλεπίδρασης και συγκράτησης του νερού είναι ο κυριότερος παράγοντας που επηρεάζει τη λειτουργικότητα των πρωτεϊνών. Δεδομένου ότι οι πρωτεΐνες είναι πολικές ουσίες, ενυδατώνονται στο νερό. Ο βαθμός ενυδάτωσης (g νερού ενυδάτωσης/g πρωτεΐνης) είναι μεταβλητός και εξαρτάται κυρίως από τη δομή του πρωτεϊνικού μορίου. Η συνολική απορρόφηση νερού αυξάνεται με αύξηση της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών.

Το pH του διαλύματος επηρεάζει επίσης το βαθμό ενυδάτωσης. Αλλαγές στο pH οδηγούν σε μεταβολές στον ιονισμό, άρα και στην επίδραση των πρωτεϊνών με το νερό. Σε τιμές pH κοντά στο ισοηλεκτρικό σημείο ο βαθμός ενυδάτωσης μειώνεται, αφού οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πρωτεϊνών είναι οι μεγαλύτερες δυνατές και επομένως είναι ελάχιστη η απορρόφηση του νερού. Σε περιοχές pH μακριά από το pI αυξάνεται η ιοντική ισχύς των πρωτεϊνικών μορίων, με αποτέλεσμα τη μεγαλύτερη αλληλεπίδραση πρωτεΐνης - νερού, και επομένως την αύξηση του βαθμού ενυδάτωσης.

Η προσθήκη άλατος επηρεάζει το βαθμό ενυδάτωσης με όμοιο τρόπο με αυτόν της διαλυτότητας. Επεξηγηματικά, η προσθήκη υψηλής συγκέντρωσης άλατος μειώνει την ενυδάτωση, ενώ σε μικρή συγκέντρωση την αυξάνει.

Επίσης, ο βαθμός ενυδάτωσης εξαρτάται και από τη θερμοκρασία με τον ακόλουθο τρόπο. Αύξηση της θερμοκρασίας οδηγεί σε μείωση του βαθμού ενυδάτωσης, λόγω μείωσης των δεσμών υδρογόνου, καθώς τα μόρια των πρωτεϊνών συσσωματώνονται.

Κάποιες από τις λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνών που σχετίζονται άμεσα με την αλληλεπίδραση με το νερό είναι η διόγκωση (swelling), η ικανότητα συγκράτησης νερού (water holding capacity), η διαβρεκτικότητα (wettability) και η διασκορπισιμότητα (dispersibility).

Η διόγκωση των αδιάλυτων πρωτεϊνών αντιστοιχεί στην ενυδάτωση των διαλυτών πρωτεϊνών στο σημείο που η εισαγωγή νερού μεταξύ των πεπτιδικών αλυσίδων προκαλεί αύξηση στον όγκο και άλλες μεταβολές στις φυσικές ιδιότητες της πρωτεΐνης. Το ποσό του νερού που απορροφάται κατά τη διόγκωση μπορεί να ανέλθει σε πολλαπλάσιο του ξηρού βάρους της πρωτεΐνης.

Η ικανότητα συγκράτησης νερού είναι ποσοτικός δείκτης του νερού που συγκρατείται από μία πρωτεϊνική μήτρα κάτω από καθορισμένες συνθήκες.

Τέλος, η διαβρεκτικότητα και η διασκορπισιμότητα εξαρτώνται από το μέγεθος του μορίου, την αναλογία υδρόφιλων/υδρόφοβων ομάδων της επιφάνειας του πρωτεϊνικού μακρομορίου, την επιφανειακή τάση και τους σχετικούς ρυθμούς απορρόφησης νερού και διόγκωσης. Γενικά, οι πρωτεΐνες διασπείρονται δυσκολότερα όταν μετουσιωθούν (Cheftel et al. 1985; Λιαδάκης, 1999; Belitz, Grosch, & Schieberle, 2018).

1.4.2 Απορρόφηση λιπαρών

Η ικανότητα δέσμευσης λιπαρών από τις πρωτεΐνες είναι πολύ σημαντική, καθώς ενισχύει τη συγκράτηση της γεύσης και βελτιώνει τη στοματική αίσθηση. Η απορρόφηση λιπαρών οφείλεται κυρίως σε φυσική παγίδευση του ελαίου, οποία επηρεάζεται από το είδος των αμινοξέων και τη δομή της πρωτεΐνης, τις αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης-πρωτεΐνης και τη διάταξη στο χώρο της λιπαρής φάσης. Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ πρωτεϊνών-λιπαρών περιλαμβάνουν υδρόφοβης φύσης συνδέσεις μεταξύ των μη πολικών αλειφατικών αλυσίδων των λιπαρών με μη πολικές περιοχές του πρωτεϊνικού μορίου. Πρωτεΐνες με πολλές υδρόφοβες ομάδες αλληλεπιδρούν συνήθως ισχυρότερα με λιπίδια. Επιπροσθέτως, η αλληλεπίδραση πρωτεϊνών-λιπαρών προστατεύει το πρωτεϊνικό μόριο από θερμική μετουσίωση, εξαιτίας της παρουσίας ομάδων υψηλής θερμοχωρητικότητας στα λιπαρά αλλά και της απουσίας νερού (Λιαδάκης, 1999).

1.4.3 Δέσμευση γευστικών-οσμικών ουσιών

Η γεύση-οσμή (flavour) μαζί με τη στοματική αίσθηση και την υφή, είναι οι κυριότεροι παράγοντες αποδοχής ενός τροφίμου. Ορισμένες πρωτεΐνες τροποποιούν τη γεύση και την οσμή του τροφίμου είτε απευθείας λόγω της σύστασής τους είτε λόγω της συμμετοχής τους στην παραγωγή ασυνήθιστων ή ανεπιθύμητων γεύσεων-οσμών κατά τη βιομηχανική παραγωγή, την αποθήκευση ή την προετοιμασία του τροφίμου στο σπίτι.

Οι γευστικές-οσμικές ουσίες στα τρόφιμα είναι αποτέλεσμα πολύ μικρών συγκεντρώσεων πτητικών ουσιών κοντά στην επιφάνεια του τροφίμου.

Η δέσμευση γευστικών-οσμικών ουσιών μπορεί να περιλαμβάνει απορρόφηση στην επιφάνεια του τροφίμου ή διείσδυση στο εσωτερικό του με διάχυση. Οι πτητικές ουσίες συγκρατούνται φυσικά (με δυνάμεις Van der Waals) και χημικά (με ομοιοπολικούς και ηλεκτροστατικούς δεσμούς). Εκτός των δεσμών αυτών, συμμετέχουν δεσμοί υδρογόνου και υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις. Σε κάποιες περιπτώσεις οι ουσίες δεσμεύονται στις πρωτεΐνες με ομοιοπολικούς δεσμούς και συχνά η αντίδραση είναι αναντίστροφη.

Ουσίες όπως αλδεΐδες, κετόνες, αλκοόλες, φαινόλες και οξειδωμένα λίπη σε αρκετές περιπτώσεις είναι υπεύθυνες για δυσάρεστη γεύση ή οσμή στο τρόφιμο, όπως για παράδειγμα πρόσδοση πικρής γεύσης, οπότε κρίνεται σκόπιμη η αποδέσμευση και απομάκρυνση τέτοιων ουσιών (bound off).

Η προσθήκη πρωτεϊνών σε υδατικά συστήματα έχουν την τάση να ελαττώνουν τη συγκέντρωση των πτητικών ενώσεων. Αντιθέτως, αυξάνοντας το νερό, αυξάνεται η δέσμευση γευστικών-οσμικών ουσιών, καθώς το νερό κάνει τις πολικές πτητικές ουσίες πιο κινητικές, με αποτέλεσμα να αυξάνεται η πιθανότητα σύνδεσης με τις πρωτεΐνες.

Η μετουσίωση των πρωτεϊνών με θέρμανση, γενικά έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση δέσμευσης πτητικών ουσιών. Τέλος, στις μεθόδους αφυδάτωσης, όπως στην ξήρανση με κατάψυξη, συνήθως απελευθερώνεται το 50% των πτητικών ουσιών που αρχικά ήταν δεσμευμένες στην πρωτεΐνη (Cheftel et al. 1985; Λιαδάκης, 1999).

1.4.4 Σχηματισμός πηκτής

Ο σχηματισμός πηκτής (gelation, gel formation) είναι σημαντική λειτουργική ιδιότητα των πρωτεϊνών για πολλά συστήματα τροφίμων. Πηκτές συναντώνται σε γαλακτοκομικά προϊόντα, προϊόντα κρέατος και ψαριού, ζυμάρια προϊόντων αρτοποιίας κ.α. Οι πηκτές είναι συστήματα διασποράς δύο ή παραπάνω συστατικών στα οποία η φάση διασποράς σχηματίζει ένα συνεκτικό δίκτυο στο μέσο διασποράς. Ειδικότερα, πρόκειται για συσσωμάτωση μετουσιωμένων μορίων η οποία οδηγεί σε σχηματισμό ενός δομημένου τρισδιάστατου πρωτεϊνικού δικτύου, της πηκτής (gel), ικανού να συγκρατήσει μεγάλες ποσότητες νερού, φυσικά παγιδευμένου μέσα στο πλέγμα.

Ο σχηματισμός πηκτής με θέρμανση περιλαμβάνει το αρχικό στάδιο του ξεδιπλώματος και της μετουσίωσης του πρωτεϊνικού μορίου, ενώ το δεύτερο στάδιο περιλαμβάνει συσσωμάτωση των μορίων προς σχηματισμό του τρισδιάστατου πλέγματος. Το ελέγχον στάδιο της διεργασίας είναι το δεύτερο, καθώς για το σχηματισμό μίας υψηλής τάξης πηκτής είναι αναγκαίο το δεύτερο στάδιο να εξελιχθεί με μικρότερο ρυθμό από ότι το πρώτο στάδιο του ξεδιπλώματος του πρωτεϊνικού μορίου. Ο σχηματισμός πηκτής (gel) ή πήγματος (coagulum) εξαρτάται από παράγοντες όπως η υδροφοβικότητα και το φορτίο της πρωτεΐνης. Η κατακράτηση του υγρού υποβοηθείται από ιοντισμένα τμήματα στο πρωτεϊνικό μόριο. Η προσθήκη άλατος αυξάνει την ιοντική ισχύ και επακόλουθα την αλληλεπίδραση φορτισμένων μακρομορίων μέσω κάλυψης των φορτισμένων ομάδων χωρίς καταβύθιση, βελτιώνοντας έτσι τον σχηματισμό της πηκτής. Οι πηκτές έχουν την ικανότητα να συγκρατούν μεγάλες ποσότητες νερού (σε μερικές περιπτώσεις υπερβαίνει το 98% του βάρους τους). Οι ιδιότητες του νερού αυτού είναι όμοιες με αυτές του νερού αραιών διαλυμάτων αλάτων, αλλά είναι φυσικά παγιδευμένο σε μη ρέουσα κατάσταση και δεν είναι εύκολος ο διαχωρισμός του. Η ποσότητα του νερού που συγκρατείται εξαρτάται από το pH, τη θερμοκρασία και την προσθήκη άλατος. Κοντά στο ισοηλεκτρικό σημείο, αυξάνονται οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πρωτεϊνικών μορίων, με αποτέλεσμα τη συστολή του πήγματος από τη φυσιολογική αποβολή συγκρατούμενου νερού. Αυτό το φαινόμενο ορίζεται ως συναίρεση, και σε πολλές περιπτώσεις τροφίμων εμφανίζεται με την πάροδο του χρόνου (π.χ. το νερό στην επιφάνεια του γιαουρτιού).

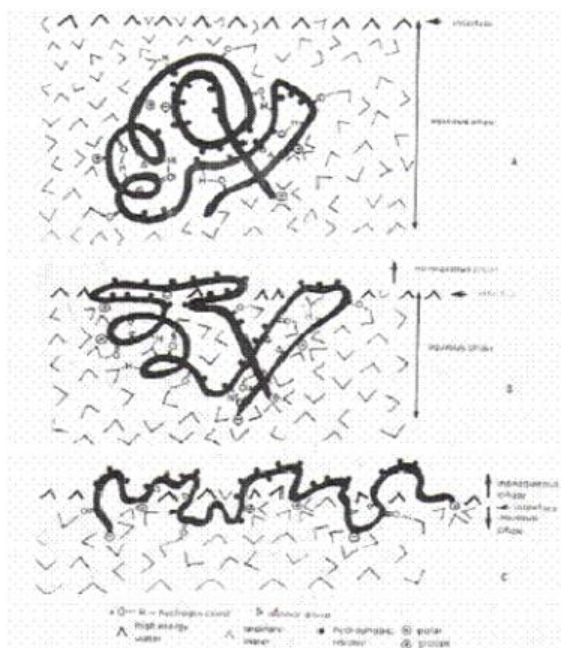
1.4.5 Αφριστικές ιδιότητες

Σε διάφορα τρόφιμα, οι πρωτεΐνες λειτουργούν ως συστατικά σχηματισμού και σταθεροποίησης αφρού, με χαρακτηριστικά παραδείγματα την μύρα, τα γλυκά και κάποια εδέσματα φούρνου. Οι αφροί είναι διασπορά αερίων σε μία υγρή ή ημιστερεή φάση. Ο ρόλος των πρωτεϊνών είναι να σταθεροποιούν τους αφρούς με τον σχηματισμό εύκαμπτων συνεκτικών υμενίων γύρω από τις φυσαλίδες του αερίου. Ο σχηματισμός αφρού εξαρτάται από την προσρόφηση της πρωτεΐνης στη διεπιφάνεια μέσω των υδρόφοβων περιοχών και εν συνεχεία στο μερικό 'ξεδίπλωμά' της (επιφανειακή μετουσίωση), μειώνοντας έτσι την επιφανειακή τάση. Η σταθερότητα του αφρού εξαρτάται από την αντοχή του πρωτεϊνικού υμενίου και τη διαπερατότητά του σε αέρια. Η δύναμη και η αντοχή των υμενίων εξαρτάται από την προσροφημένη ποσότητα της πρωτεΐνης

και τη δυνατότητα των προσροφημένων μορίων αυτής να αλληλοσυνδέονται. Συμπερασματικά, τα χαρακτηριστικά της ιδανικής πρωτεΐνης για σχηματισμό και σταθεροποίηση αφρού είναι το χαμηλό μοριακό βάρος, η καλή διαλυτότητα, η υψηλή επιφανειακή υδροφοβικότητα, το μικρό καθαρό ηλεκτρικό φορτίο και η ευκολία στη μετουσίωση.

1.4.6 Γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες

Τα γαλακτώματα είναι συστήματα διασποράς ενός ή περισσότερων μη αναμίξιμων υγρών. Λόγω της ασταθούς φύσης τους, σταθεροποιούνται από τους γαλακτωματοποιητές, οι οποίοι είναι επιφανειακά ενεργά συστατικά που μειώνουν τη διεπιφανειακή τάση και αποτρέπουν τις φάσεις διασποράς να ρεύσουν μαζί. Επειδή οι πρωτεΐνες κατά κύριο λόγο παρουσιάζουν υδρόφιλη φύση, σταθεροποιούν κυρίως γαλακτώματα τύπου ελαίου σε νερό (O/W). Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν το γάλα, η μαγιονέζα, το βούτυρο κ.α.). Η προσρόφηση μίας πρωτεΐνης στη διεπιφάνεια ενός σταγονιδίου ελαίου ευνοείται θερμοδυναμικά, εξαιτίας των υδρόφοβων μορίων του αμινοξέος που έχουν τη δυνατότητα να εκτεθούν στη μη πολική φάση του ελαίου, ενώ αντίθετα τα υδρόφιλα τμήματα παραμένουν στην υδατική φάση. Αυτό οδηγεί σε παραμόρφωση της διαμόρφωσης (ξεδίπλωμα) υπό την επίδραση διεπιφανειακής τάσης (επιφανειακή μετουσίωση). Επομένως, τα χαρακτηριστικά του ιδανικού γαλακτωματοποιητή για μία πρωτεΐνη σε ένα γαλακτώμα ελαίου σε νερό είναι το χαμηλό μοριακό βάρος, η καλή διαλυτότητα, η υψηλή επιφανειακή υδροφοβικότητα, τα ισορροπημένα πολικά και μη πολικά μόρια στα αμινοξέα και η σχετικά σταθερή διαμόρφωση (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2018; Ταούκης & Τζιά, 2019).



Εικόνα 1.6. Σχηματική απεικόνιση της διαμόρφωσης της επιφάνειας μίας πρωτεΐνης στη διεπιφάνεια του γαλακτώματος (Ταούκης & Ωραιοπούλου, 2009)

1.5 Πρωτεΐνη στη διατροφή του ανθρώπου

1.5.1 Ρόλος στη διατροφή

Η πρωταρχική λειτουργία της διαιτητικής πρωτεΐνης είναι η παροχή αζώτου και αμινοξέων στον οργανισμό, με σκοπό τη σύνθεση των πρωτεϊνών του σώματος, αλλά και άλλων αζωτούχων ενώσεων. Οι πρωτεΐνες των τροφίμων καταλύονται από πρωτεολυτικά ένζυμα στο πεπτικό σύστημα. Τα ένζυμα υδρολύουν συγκεκριμένους πεπτιδικούς δεσμούς και έτσι δημιουργούνται ελεύθερα αμινοξέα και μικρά πεπτίδια τα οποία απορροφώνται από τα κύτταρα του οργανισμού.

Οι πρωτεΐνες του σώματος (10-12 kg σε έναν άνδρα 70kg) συνεχώς διασπώνται σε αμινοξέα (καταβολισμός) και πρέπει επομένως να συντεθούν ξανά στις συνιστώμενες ποσότητες του οργανισμού (αναβολισμός). Αυτή η διαδικασία διαρκεί από μερικές ημέρες (3-4 ημέρες για πρωτεΐνες που βρίσκονται στο συκώτι), μέχρι κάποιους μήνες (κολλαγόνο, μυϊκές πρωτεΐνες).

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, ο ανθρώπινος οργανισμός δεν μπορεί να συνθέσει κάποια αμινοξέα, τα οποία ονομάζονται απαραίτητα, οπότε τα αμινοξέα αυτά πρέπει να παραλαμβάνονται από την τροφή στις απαραίτητες ποσότητες. Τα απαραίτητα αμινοξέα είναι τα εξής: γλυκίνη, βαλίνη, ισολευκίνη, λευκίνη, θρεονίνη, μεθειονίνη, λυσίνη, γλουταμινικό οξύ, τρυπτοφάνη και φαινυλαλανίνη. Ακόμα και ένα απαραίτητο αμινοξύ να μην λαμβάνεται στην απαιτούμενη ποσότητα μειώνεται δραματικά ο ρυθμός της πρωτεϊνικής σύνθεσης, με συνέπεια και τα υπόλοιπα αμινοξέα να μην χρησιμοποιούνται αποτελεσματικά και να καταλήγουν στην παραγωγή ενέργειας αντί για την ανάπτυξη και διατήρηση των ιστών. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε πολύ σημαντικά προβλήματα υγείας.

Διατροφικά-μεταβολικά πειράματα υπολογίζουν τις ελάχιστες απαιτούμενες ημερήσιες ποσότητες των απαραίτητων αμινοξέων.

1.5.2 Θρεπτική Αξία πρωτεϊνών

Η θρεπτική αξία των πρωτεϊνών των τροφίμων συσχετίζεται με την ικανότητα ικανοποίησης των αναγκών ως προς άζωτο και αμινοξέα για τον οργανισμό, καθώς και την εξασφάλιση της ανάπτυξης και της διατήρησής του. Αυτή η ικανότητα είναι συνάρτηση κάποιων παραγόντων με βασικότερους το πρωτεϊνικό περιεχόμενο και την ποιότητα των πρωτεϊνών.

- Πρωτεϊνικό περιεχόμενο: Τροφές με χαμηλό πρωτεϊνικό περιεχόμενο (μικρότερο από 3%) όπως η πατάτα, δεν ικανοποιούν τις ανάγκες σε πρωτεΐνες και ως προσδίδουν ικανοποιητικό αριθμό θερμίδων. Αντίθετα τροφές με υψηλό ή έστω ικανοποιητικό πρωτεϊνικό περιεχόμενο (8-10%) όπως τα δημητριακά καλύπτουν τις απαιτήσεις πρωτεϊνών σε ενήλικες.

- Ποιότητα πρωτεϊνών: Εξαρτάται από το είδος και την ποσότητα των αμινοξέων που περιέχει και αντιπροσωπεύει την ικανότητα χρησιμοποίησής της από το σώμα. Μία ισορροπημένη ή υψηλής ποιότητας πρωτεΐνη περιέχει απαραίτητα αμινοξέα σε ποσότητες ανάλογες των ανθρώπινων αναγκών. Γενικά οι πρωτεΐνες ζωικής προέλευσης είναι υψηλότερης ποιότητας από ότι οι πρωτεΐνες φυτικής προέλευσης, οι οποίες είναι συνήθως ελλειμματικές σε απαραίτητα αμινοξέα. Τα απαραίτητα αμινοξέα μίας πρωτεΐνης που βρίσκονται σε μεγαλύτερο έλλειμμα σε σχέση με τις ανθρώπινες ανάγκες ονομάζονται περιοριστικά (Cheftel et al. 1985).

Ο προσδιορισμός της θρεπτικής αξίας των πρωτεϊνών γίνεται με βιολογικές, χημικές, ενζυμικές και μικροβιολογικές μεθόδους.

Οι βιολογικές μέθοδοι βασίζονται στη μέτρηση της αύξησης του σωματικού βάρους ή αζώτου πειραματόζων ή ανθρώπων σε συνάρτηση με τη λήψη της πρωτεΐνης. Ο προσδιορισμός της ποιότητας, δηλαδή της θρεπτικής αξίας, των πρωτεϊνών μέσω των βιολογικών μεθόδων εκφράζεται με ορισμένους δείκτες, κυριότεροι από τους οποίους είναι οι εξής:

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

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

Όσο η βιολογική αξία μίας πρωτεΐνης πλησιάζει το 100, τόσο καλύτερης ποιότητας είναι.

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

$$PER = \frac{\text{Αύξηση Σωματικού Βάρους(g)}}{\text{Βάρος Καταναλωθείσας Πρωτεΐνης(g)}}$$

Όσο μεγαλύτερη τιμή έχει αυτός ο δείκτης τόσο μεγαλύτερης θρεπτικής αξίας είναι η εξεταζόμενη πρωτεΐνη.

Οι δείκτες BV και PER χρησιμοποιούνται συνήθως μαζί για την εκτίμηση της ποιότητας μίας πρωτεΐνης. Για τιμές που κυμαίνονται σε: BV = 85-98 και PER = 2,5 πρόκειται για πρωτεΐνες καλής ποιότητας.

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

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

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

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

Στις χημικές μεθόδους προσδιορίζεται η σύσταση των αμινοξέων μίας πρωτεΐνης και συγκρίνεται με τα πρότυπα για τον ανθρώπινο οργανισμό. Οι πιο διαδεδομένοι δείκτες είναι η Χημική βαθμολογία (Chemical Score, CS) και η Πρωτεϊνική βαθμολογία (Protein Score, PS).

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

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

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

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

Οι ενζυμικές μέθοδοι μετρούν την ικανότητα πέψης των πρωτεϊνών (digestibility), ενώ οι μικροβιολογικές μέθοδοι χρησιμοποιούν μικροοργανισμούς αντί για πειραματόζωα (Λιαδάκης, 1999; Schaafsma, 2000; Βλάσσης, 2019).

1.6 Πηγές Πρωτεϊνών

Τα τρόφιμα περιέχουν διαφορετικής ποσότητας και ποιότητας πρωτεΐνες, καθορίζοντας έτσι, σε συνάρτηση και με τα άλλα θρεπτικά συστατικά τους, τη θέση τους στην καθημερινή διατροφή. Οι πηγές πρωτεϊνών χωρίζονται σε δύο βασικές κατηγορίες, τα τρόφιμα ζωικής και τα τρόφιμα φυτικής προέλευσης. Οι πρωτεΐνες ζωικής προέλευσης θεωρούνται υψηλότερης ποιότητας από τις φυτικές, λόγω της περιεκτικότητας και της ποικιλίας τους σε απαραίτητα αμινοξέα. Επιπροσθέτως, έχει αποδειχθεί οι ζωικές πρωτεΐνες περίπου κατά 90% πέπτονται και απορροφώνται, ενώ για τις φυτικές το ποσοστό κυμαίνεται στο 60-70% (Cheftel et al. 1985).

Παρά το γεγονός ότι τα ζωικής προέλευσης τρόφιμα περιέχουν πρωτεΐνες μεγαλύτερης θρεπτικής αξίας, κύρια πηγή πρωτεΐνης για τον άνθρωπο παγκοσμίως αποτελούν τα δημητριακά. Ενδεικτικά, στις αναπτυγμένες χώρες, κατά μέσο όρο, η ημερήσια πρόσληψη πρωτεΐνης από δημητριακά ξεπερνά τα 30 g ανά άτομο, σε αντίθεση με την ημερήσια πρόσληψη πρωτεΐνης από κρέας που είναι μικρότερη από 14 g ανά άτομο (Ταούκης & Ωραιοπούλου, 2009; Day, 2016).

Πίνακας 1.2. Κατά προσέγγιση περιεκτικότητα διαφόρων τροφίμων σε πρωτεΐνη (Ταούκης & Ωραιοπούλου, 2019)

Τρόφιμο	Πρωτεΐνη (%)	Τρόφιμο	Πρωτεΐνη (%)
<i>Λαχανικά και φρούτα</i>		<i>Ζωικά</i>	
Πατάτες	2	Τυρός σκληρός	25
Τομάτες	1	Κρέας (ωμό)	20-25
Μαρούλι	1	Ψάρι (ωμό)	14-18
Πορτοκάλια	1	Αυγά	12
		Γάλα	3
<i>Οσπρια και ελαιούχοι σπόροι</i>		<i>Δημητριακά</i>	
Μπιζέλια	20-25	Σίτος	12-15
Σόγια	32-46	Βρώμη	10-12
Φασόλια	19-25	Κριθή	12-13
Φυστίκια	21-36	Σίκαλη	11-12
Ηλιόσπορος	25-27	Ρύζι	7-9
Σησαμόσπορος	24-26	Καλαμπόκι	9-10
Βαμβακόσπορος	17-22		
<i>Διάφορα</i>			
Ψωμί	8		
Μακαρόνια	12		

1.6.1 Ζωικής Προέλευσης

Πηγές πρωτεϊνών ζωικής προέλευσης είναι το κρέας, τα πουλερικά, τα γαλακτοκομικά προϊόντα (γάλα, γιαούρτι, τυρί), τα αυγά, τα ψάρια και τα θαλασσινά.

Το κρέας των ζώων που χρησιμοποιούνται στη διατροφή του ανθρώπου αποτελείται από πρωτεΐνες μυών (ακτίνη, μυοσίνη κ.α), δομικές πρωτεΐνες (κολλαγόνο, ελαστίνη, ζελατίνη) και μεταφέρουσες πρωτεΐνες (μυοσφαιρίνη, αιμοσφαιρίνη). Συνολικά το κρέας των ζώων (χωρίς λίπος) περιέχει 18-20% πρωτεΐνες σε υγρή βάση. Το κρέας διαχωρίζεται σε <<κόκκινο κρέας>> που χαρακτηρίζεται το κρέας του μοσχαριού, του αρνιού και του χοίρου, και το <<λευκό κρέας>> που χαρακτηρίζει τα πουλερικά. Οι ειδικοί αναφέρουν πως το κόκκινο κρέας πρέπει να κατέχει περιορισμένη θέση στη διατροφή, εξαιτίας των πολλών λιπαρών και τοξινών που περιέχει.

Τα θαλασσινά περιλαμβάνουν ψάρια, οστρακοειδή και μαλάκια, τα οποία θεωρούνται πλούσια σε λιπαρά και πρωτεΐνες. Τα περισσότερα θαλασσινά έχουν περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες που κυμαίνεται από 10-20% σε υγρή βάση. Οι πρωτεΐνες από τα θαλασσινά είναι υψηλής ποιότητας και παρουσιάζουν ομοιότητες με τις πρωτεΐνες του κρέατος. Ωστόσο, δεν είναι τόσο σταθερές, γεγονός που τις κάνει ευπαθείς σε αλλοιώσεις, όπως μετουσίωση.

Το αυγό της όρνιθας αποτελείται από 11% φλοιό, 31% κρόκο και 58% ασπράδι. Οι πρωτεΐνες που υπάρχουν στο αυγό κατανέμονται μεταξύ του ασπραδιού και του κρόκου. Οι πρωτεΐνες αντιπροσωπεύουν περισσότερο από το 90% της ξηρής ουσίας των αυγών. Το λευκό περιέχει πάνω από 40 πρωτεΐνες με κύριες τις: ωοαλβουμίνη, ωοτρανσφερρίνη, ωομυκοειδές, ωομυκίνη και λυσοζύμη. Ο κρόκος χρησιμοποιείται ως γαλακτωματοποιητής, καθώς σταθεροποιεί τη διασπορά λίπους-νερού λόγω λιποπρωτεϊνών (λιποβιτελλενίνη, βιτελλίνη και υδατοδιαλυτών λιβετινών) και φωσφολιπιδίων.

Το αγελαδινό γάλα περιέχει 3-4% πρωτεΐνες. Οι πρωτεΐνες του γάλακτος χωρίζονται σε δύο κύριες ομάδες, οι οποίες είναι η καζεΐνη και οι πρωτεΐνες του ορού γάλακτος (γαλακτοαλβουμίνες και γαλακτογλοβουλίνες). Η καζεΐνη αντιπροσωπεύει το 80% των συνολικών πρωτεϊνών του γάλακτος και είναι αδιάλυτη σε pH 4.5-4.3, ενώ οι πρωτεΐνες του ορού γάλακτος παραμένουν διαλυτές σε αυτό το εύρος pH, γεγονός που χρησιμοποιείται κατά την οξυγαλακτική ζύμωση του γάλακτος για την παραγωγή γιαουρτιού. Οι πρωτεΐνες γαλακτοκομικών προϊόντων χρησιμοποιούνται ευρέως στη βιομηχανία τροφίμων σε μία μεγάλη ποικιλία προϊόντων και συμπληρωμάτων διατροφής, επειδή παρέχουν επιθυμητές οργανοληπτικές ιδιότητες και υψηλή διατροφική αξία.

1.6.2 Φυτικής Προέλευσης

Πηγές πρωτεϊνών φυτικής προέλευσης είναι τα δημητριακά (σιτάρι, κριθάρι, βρώμη, καλαμπόκι, ρύζι κ.α.), τα όσπρια (φακές, φασόλια, ρεβίθια, κ.α.), οι ξηροί καρποί (αμύγδαλα, καρύδια κ.α.), τα λαχανικά (μπιζέλι, πατάτα κ.α.) και οι ελαιούχοι σπόροι (σόγια, ελαιοκράμβη, βαμβακόσπορος κ.α.).

Τα δημητριακά έχουν περιεκτικότητα 6-20% σε πρωτεΐνες, η οποία εξαρτάται από την ποικιλία των σπόρων. Οι κύριες πρωτεΐνες του σιταριού και του καλαμποκιού είναι οι γλουτελίνες και οι προλαμίνες, ενώ οι πρωτεΐνες του ρυζιού και της βρώμης έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σε προλαμίνες. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η γλουτένη, η οποία αποτελείται από γλοιαδίνη (προλαμίνη) και γλουτενίνη και συναντάται στο ενδοσπέρμιο του σιταριού. Η γλουτένη έχει τη μοναδική λειτουργική ιδιότητα να σχηματίζει μία ελαστική και συνεκτική μάζα/ζυμάρι (πλέγμα της γλουτένης) όταν διαβραχεί με νερό. Πρέπει να σημειωθεί ότι οι πρωτεΐνες των δημητριακών θεωρούνται χαμηλής θρεπτικής αξίας εξαιτίας της έλλειψης του αμινοξέος λυσίνης.

Τα νωπά λαχανικά περιέχουν πρωτεΐνες σε μικρές ποσότητες, ειδικότερα για τα κυριότερα λαχανικά η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες είναι: καρότα 1%, πατάτες και τα σπαράγγια 2% και φρέσκο μπιζέλι 6,5%.

Τα όσπρια περιέχουν μεγάλη ποσότητα φυτικής πρωτεΐνης, από την οποία όμως λείπει το αμινοξύ μεθειονίνη. Το αμινοξύ αυτό μπορεί εύκολα να καλυφθεί, αν συνοδευτούν τα όσπρια με δημητριακά, ξηρούς καρπούς ή σπόρους. Η υψηλή περιεκτικότητα των οσπρίων σε πρωτεΐνες, τα καθιστά άξιο υποκαταστάτη του κρέατος, ιδιαίτερα σε περιπτώσεις χορτοφαγίας και νηστείας.

Οι ελαιούχοι σπόροι περιέχουν πρωτεΐνες, κυρίως γλοβουλίνες, σε περιεκτικότητες μεγαλύτερες από 15%. Σε πολλούς σπόρους μπορεί να περιέχονται αντιθρεπτικοί παράγοντες (π.χ. στη σόγια αναστολείς τρυψίνης) που καταστρέφονται ή αδρανοποιούνται με κατάλληλη θερμική κατεργασία, αυξάνοντας έτσι τη θρεπτική τους αξία. Από τους ελαιούχους σπόρους με κατάλληλες τεχνικές παραλαμβάνονται πρωτεϊνικά προϊόντα (πρωτεϊνικά άλευρα, συμπυκνώματα ή υπερσυμπυκνώματα) τα οποία χρησιμοποιούνται σε πολλά τρόφιμα (Ταούκης & Τζιά 2019; ΒΛΑΜΗΣ, eclass.upatras.gr).

1.6.3 Μη συμβατικές πηγές πρωτεϊνών - Νέες πηγές πρωτεϊνών

Με τον παγκόσμιο πληθυσμό να φτάνει τα 9 δισεκατομμύρια μέχρι το 2050, υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις ότι η γεωργία και η κτηνοτροφία δεν θα μπορέσει να καλύψει τη ζήτηση και ότι υπάρχει σοβαρός κίνδυνος έλλειψης τροφίμων. Για την αύξηση των διαθέσιμων πηγών πρωτεϊνών έχουν τεθεί σε εφαρμογή κάποιες νέες τάσεις και κατευθύνσεις. Ειδικότερα, είναι:

A) Η παραγωγή πρωτεΐνης από μονοκύτταρους μικροοργανισμούς-κυτταρική πρωτεΐνη (Single-cell protein, SCP). Στον τομέα των τροφίμων η μονοκυτταρική πρωτεΐνη χρησιμοποιείται ως φορέας αρωμάτων, βιταμινών και ως ενισχυτικό γαλακτωματοποιητών. Επίσης χρησιμοποιείται για τη βελτίωση της θρεπτικής αξίας των ψημένων προϊόντων, σε σούπες, σε έτοιμα γεύματα για σερβίρισμα και σε συνταγές δίαιτας. Στη διατροφή των ζώων η μονοκυτταρική πρωτεΐνη χρησιμοποιείται για την πάχυνση των μόσχων, πουλερικών και χοίρων. Επίσης χρησιμοποιείται στις ζωοτροφές για όρνιθες ωοπαραγωγής καθώς και για την καλλιέργεια ψαριών. Τέλος, η μονοκυτταρική πρωτεΐνη χρησιμοποιείται ως τροφή κατοικίδιων ζώων. Τα πλεονεκτήματα της χρήσης μικροοργανισμών είναι ο ταχύτατος πολλαπλασιασμός, οι μικρές απαιτήσεις σε θρεπτική ύλη για να αναπτυχθούν (η θρεπτική ύλη μπορεί να είναι οτιδήποτε ακόμη και παραπροϊόντα τροφίμων), το μεγάλο ποσοστό του ξηρού βάρους σε πρωτεΐνη (43-85%) και το γεγονός ότι όλα τα βασικά αμινοξέα περιλαμβάνονται στις μονοκυτταρικές πρωτεΐνες. Το πρόβλημα με την εξαγωγή μονοκυτταρικών πρωτεϊνών από τα παραπροϊόντα είναι η χαμηλή συγκέντρωσή τους, συνήθως λιγότερο από 5%, και το κόστος (ΓΙΑΒΑΣΗΣ, 2015).

Β) Η εφαρμογή μεθόδων που επιτρέπουν την καλύτερη αξιοποίηση φυτών πλούσιων σε πρωτεΐνες.

Έχουν πραγματοποιηθεί μεγάλες ερευνητικές προσπάθειες για την παραλαβή πρωτεϊνών από φυτά ή άλλες πηγές πλούσιες σε πρωτεΐνη. Ειδικότερα το μεγαλύτερο μέρος της έρευνας έχει επικεντρωθεί σε ελαιούχους σπόρους, επειδή υπάρχουν σε μεγάλες ποσότητες και περιέχουν υψηλής ποσότητας και ποιότητας πρωτεΐνες. Ωστόσο, η παρουσία φαινολικών ενώσεων και ζυμώσιμων σακχάρων μπορεί να περιορίσει την αξιοποίηση των πρωτεϊνών από τις πίτες ελαιούχων σπόρων. Μάλιστα κάποιες ουσίες από αυτές μπορεί να είναι αντιθρεπτικές (αναστολείς τρυψίνης στη σόγια), τοξικές (γκοσσυπόλη στο βαμβακόσπορο), υπεύθυνες για άσχημο αποχρωματισμό (χλωρογενικό οξύ στον ηλιόσπορο) ακόμα και για γαστρεντερικές διαταραχές (ζυμώσιμοι ολιγοσακχαρίτες). Η εξάλειψη αυτών των ανεπιθύμητων παραγόντων μπορεί να γίνει με κατάλληλη θερμική κατεργασία (με πιθανή την υποβάθμιση της θρεπτικής αξίας του προϊόντος), ή με κάποια στοχευμένη αντιμετώπιση π.χ. απομάκρυνση με οργανικούς διαλύτες.

Τα πρωτεϊνικά προϊόντα των ελαιούχων σπόρων εμπίπτουν σε τρεις σημαντικές κατηγορίες, ανάλογα με το πρωτεϊνικό περιεχόμενο που κυμαίνεται από 40% έως 90%. Ειδικότερα κατατάσσονται σε πρωτεϊνικά άλευρα (flours), πρωτεϊνικά συμπυκνώματα (protein concentrates) και πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα (protein isolates). Το άλευρο έχει συνήθως περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες μεγαλύτερη από 45%, το συμπύκνωμα μετά από ξήρανση περιέχει 65-75% πρωτεΐνες, ενώ το υπερσυμπύκνωμα μετά από ξήρανση έχει πρωτεϊνικό περιεχόμενο 90% και άνω.

Η παραλαβή αλεύρων και συμπυκνωμάτων είναι τεχνικά δυνατή από όλους σχεδόν τους ελαιούχους σπόρους, ωστόσο για οικονομικούς κυρίως λόγους οι σπόροι της σόγιας αποτελούν τη σπουδαιότερη βιομηχανική πρώτη ύλη για τέτοια προϊόντα και θα μελετηθούν διεξοδικά παρακάτω.

Άλλες πρώτες ύλες για την παραγωγή πρωτεϊνικών συμπυκνωμάτων είναι τα ψάρια (Fish Protein Concentrates) και διάφορα γαλακτοκομικά προϊόντα και παραπροϊόντα (Whey Protein Concentrates).

Εξωσυμβατικές πρωτεΐνες είναι αυτές που παράγονται από φύλλα (Leaf Protein Concentrates), καθώς και από θαλάσσια φύκη και μύκητες (Ταούκης & Τζιά, 2019).

2. Σόγια

2.1 Γενικά

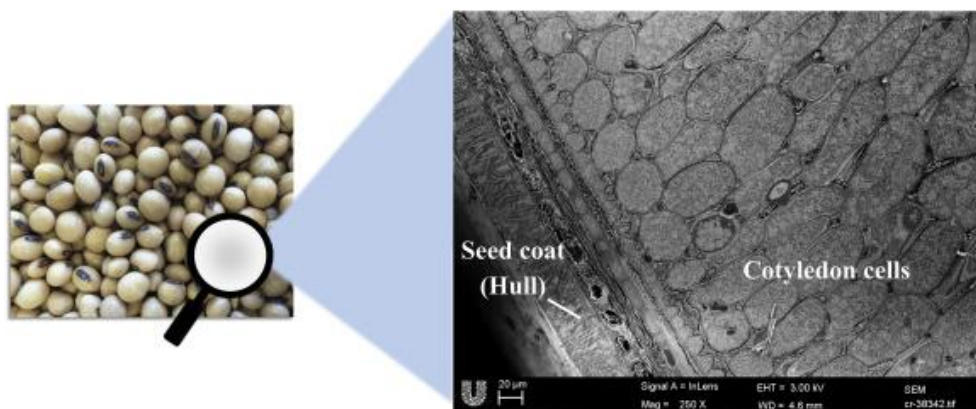
Η σόγια (*Glycine max* (L.) Merrill) ανήκει στην οικογένεια Leguminosae και στην υποοικογένεια Papilionaceae. Είναι πιθανώς ένας από τους πιο καλλιεργημένους σπόρους στον κόσμο. Αν και η πρώτη εμπορική της χρήση ήταν για το έλαιό της, τώρα θεωρείται επίσης σημαντική πρωτεϊνική καλλιέργεια. Η παγκόσμια ζήτηση για σόγια καθοδηγείται τόσο από την υψηλή βιολογικής αξίας πρωτεΐνη όσο και από το έλαιο. Οι σπόροι σόγιας περιέχουν υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες (25-45%), αλλά και 18-23% έλαιο, καθιστώντας την μία από τις μεγαλύτερες πηγές βρώσιμου ελαίου στον κόσμο (σογιέλαιο) (Pratap, Gupta, Kumar, Mehandi, & Pandey, 2016; Clemente & Cahoon, 2009).

Η σόγια έχει επίσης χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή μίας ποικιλίας φρέσκων, ζυμωμένων και αφυδατωμένων τροφίμων, όπως tofu, γάλα σόγιας, σάλτσα σόγιας και miso, τόσο στην Ασία όσο και σε άλλα μέρη του κόσμου για πολλούς αιώνες. Σνακ υγιεινής διατροφής, ενεργειακά τρόφιμα, ξηροί καρποί και δημητριακά παράγονται επίσης από σόγια. Μετά την εξαγωγή του ελαίου, το υπόλειμμα σόγιας χρησιμοποιείται ως ζωοτροφή, ενώ το σογιέλαιο βρίσκει πολλές χρήσεις σε βιομηχανίες που σχετίζονται με την παραγωγή φαρμακευτικών προϊόντων, πλαστικών, χαρτιών, μελανιών, χρωμάτων, βερνικιών, φυτοφαρμάκων και καλλυντικών. Η χρήση σογιέλαιου ως βιοντίζελ έχει ανοίξει μία άλλη δυνατότητα ανανεώσιμων πηγών ενέργειας για βιομηχανικές χρήσεις.

Η καλλιέργεια σόγιας συγκεντρώνεται σε μεγάλο βαθμό γεωγραφικά μόνο σε τέσσερις χώρες - τις Ηνωμένες Πολιτείες, τη Βραζιλία, την Αργεντινή και την Κίνα. Η παραγωγή μόνο σε αυτές τις χώρες αντιπροσωπεύει σχεδόν το 90% της παγκόσμιας παραγωγής. Μεταξύ των ελαιούχων καλλιεργειών, η σόγια από μόνη της έχει το μεγαλύτερο μερίδιο παραγωγής παγκοσμίως (53%), ακολουθούμενη από ελαιοκράμβη (15%), βαμβακόσπορο (10%) και φυστίκι (αραχίδα) (9%). Η σόγια είναι ιδιαίτερα ευαίσθητη στις περιβαλλοντικές διακυμάνσεις. Το νερό, η θερμοκρασία και η φωτοπερίοδος είναι οι σημαντικότεροι παράγοντες, οι οποίοι καθορίζουν την παραγωγικότητα της καλλιέργειας σόγιας. Ωστόσο, έχουν σημειωθεί τεράστια βήματα προόδου στην παραγωγή και την παραγωγικότητα της σόγιας τα τελευταία χρόνια χάρη στην ανάπτυξη γενετικών βελτιώσεων και τροποποιήσεων (Pratap, Gupta, Kumar, Mehandi, & Pandey, 2016).

2.2 Σύσταση και μικροδομή

Οι ώριμοι σπόροι σόγιας έχουν σχεδόν σφαιρικό σχήμα και ποικίλλουν σημαντικά ανάλογα με τις συνθήκες καλλιέργειας και ανάπτυξης. Ο σπόρος της σόγιας αποτελείται κυρίως από περίπου 8% φλοιό, 90% κοτυληδονικά κύτταρα και 2% άξονα του εμβρύου. Τα κοτυληδονικά κύτταρα, τα οποία είναι το κύριο μέρος του σπόρου, οργανώνονται μέσα στον όγκο σε μία διάταξη πλήρωσης χώρου, έχουν μήκος 70-80 μm και πλάτος 15-30 μm. Το κυτταρικό τους τοίχωμα αποτελείται από μία σειρά πολυσακχαριτών, που συχνά διασυνδέονται με πρωτεΐνες και φαινολικές ενώσεις (λιγνίνη). Το πρωταρχικό κυτταρικό τοίχωμα περιέχει πηκτίνες, ημικυτταρίνες και μικροϊνίδια κυτταρίνης διασυνδεδεμένα με πρωτεΐνες. Υπάρχει ένα δευτερεύον κυτταρικό τοίχωμα εντός του πρωταρχικού που περιέχει κυτταρίνη και ημικυτταρίνες ικανές να δεσμεύονται με πρωτεΐνες. Τα κύτταρα συγκρατούνται μεταξύ τους με συγκολλητικές ουσίες που βρίσκονται στη μεσαία στοιβάδα (τον εξωκυτταρικό χώρο μεταξύ των κυττάρων) που περιέχουν πηκτίνες και πρωτεΐνες πλούσιες σε γλυκίνη και υδροξυπρολίνη.



Εικόνα 2.1. Μικροδομή σπόρου σόγιας από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) (Preece, Hooshyar, & Zuidam, 2017)

Η σόγια αποτελείται περίπου από 40% πρωτεΐνη, 20% λιπίδια, 17% κυτταρίνη και ημικυτταρίνη, 7% σάκχαρα, 5% ακατέργαστες ίνες και περίπου 5% τέφρα. Η σύγχρονη επεξεργασία σόγιας περιλαμβάνει την αφαίρεση του ελαίου με εκχύλιση με διαλύτη. Στη συνέχεια το έλαιο υποβάλλεται σε περαιτέρω επεξεργασία. Το πρωτεϊνικό υπόλειμμα είναι υψηλής ποιότητας και χρησιμοποιείται σε τρόφιμα και ζωοτροφές. Ο φλοιός σόγιας μπορεί είτε να αφαιρεθεί είτε να παραμείνει στο υπόλειμμα. Έχει υψηλή περιεκτικότητα τόσο σε κυτταρίνη, ημικυτταρίνη και ίνες, όσο και σε ψευδάργυρο και σίδηρο (Pratar, Gupta, Kumar, Mehandi, & Pandey, 2016; Perkins, 1995; Preece, Hooshyar, & Zuidam, 2017).

Πίνακας 2.1. Χημική σύνθεση των σπόρων της σόγιας και των συστατικών τους (σε ξηρή βάση) (Perkins 1995)

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

2.3 Πρωτεΐνες Σόγιας

Η σόγια περιέχει περίπου 40% πρωτεΐνη κατά μέσο όρο σε ξηρή βάση και ως εκ τούτου αποτελεί σημαντική πηγή πρωτεΐνης, ιδιαίτερα σε χώρες με υψηλή κατανάλωση. Οι πρωτεΐνες σόγιας έχουν ένα εξαιρετικό προφίλ αμινοξέων, αν και εμφανίζουν έλλειψη σε αμινοξέα που περιέχουν θείο. Ωστόσο περιέχουν και τα 10 απαραίτητα αμινοξέα για τον άνθρωπο και μάλιστα τα περισσότερα σε ποσότητες που ταιριάζουν απόλυτα με τις διατροφικές ανάγκες των ανθρώπων και των ζώων.

Πίνακας 2.2. Πρότυπα απαιτήσεων σε απαραίτητα αμινοξέα για τον άνθρωπο ανάλογα με την ηλικία του και τη σύσταση απαραίτητων αμινοξέων στη σόγια (Fukushima, 2011)

Amino acid (mg/g protein)	Pattern of requirement				Amino acid composition of soybeans
	3–4 Mo.	2–5 Yr.	10–12 Yr.	Adult	
His	26	19	19	16	27
Ile	46	28	28	13	48
Leu	93	66	44	19	78
Lys	66	58	44	16	61
Met + Cys	42	25	22	17	26
Phe + Tyr	72	63	22	19	90
Thr	43	34	28	9	35
Trp	17	11	9	5	13
Val	55	35	25	13	48
Total (including His)	460	339	241	127	426
Total (minus His)	434	320	222	111	399

Τα παραπάνω επιβεβαιώνονται με τη νέα μέθοδο που υιοθέτησαν ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO) και η Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων των Η.Π.Α. (FDA) ως επίσημη δοκιμή για

την αξιολόγηση της ποιότητας των πρωτεϊνών και ονομάζεται βαθμολογία αμινοξέων PDCAAS (Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score). Αυτή η μέθοδος συγκρίνει τα αμινοξέα μίας πρωτεΐνης, με την ανθρώπινη απαίτηση στα αμινοξέα αυτά και έναν παράγοντα για την πεπτικότητα τους. Οι πρωτεΐνες σόγιας συγκεντρώνουν βαθμολογίες ανάμεσα σε 0,95 και 1,00 (1,00 η υψηλότερη δυνατή τιμή), υποδεικνύοντας ότι είναι σε θέση να καλύψουν τις πρωτεϊνικές ανάγκες τόσο των ενηλίκων όσο και των παιδιών, όταν καταναλώνονται ως η μοναδική πηγή πρωτεΐνης στη συνιστώμενη ποσότητα πρόσληψης (0,6 g/ kg Σωματικού Βάρους). Έχει αποδειχθεί ότι η θρεπτική αξία των πρωτεϊνών σόγιας είναι πολύ μεγαλύτερη σε σχέση με άλλες φυτικές πρωτεΐνες (π.χ. πρωτεΐνη σίτου), και μάλιστα καθίσταται συγκρίσιμη με εκείνη των πρωτεϊνών ζωικής προέλευσης, όπως είναι το γάλα και το βόειο κρέας. Επομένως οι προοπτικές περαιτέρω ανάπτυξης είναι πολλές, ιδιαίτερα ως βασική πηγή πρωτεΐνης για χορτοφάγους, αλλά και για άτομα που δεν καταναλώνουν ζωικές πρωτεΐνες για ηθικούς, θρησκευτικούς ή και περιβαλλοντικούς λόγους (Nishinari et al., 2018; Murphy, 2008; Liu, 2005; Fukushima, 2011).

Η μεγαλύτερη μάζα της πρωτεΐνης σπόρου σόγιας (περίπου το 90%) αποτελείται από αποθηκευτικές πρωτεΐνες. Οι δύο κύριες τέτοιες πρωτεΐνες που συναντώνται στη σόγια είναι η γλυκινίνη και η β-συνγλυκινίνη και κατατάσσονται στις γλοβουλίνες. Η γλυκινίνη (11 S) είναι ένα εξαμερές σύμπλοκο (MB 320-375 kDa) που αποτελείται από όξινα και βασικά πολυπεπτίδια, τα οποία συνδέονται με δισουλφιδικό δεσμό. Η β-συνγλυκινίνη (7 S) περιέχει τρεις μεγάλες υπομονάδες και έχει συνολικό μοριακό βάρος 180-210 kDa. Η αναλογία γλυκινίνης προς β-συνγλυκινίνη μπορεί να επηρεάσει τις λειτουργικές ιδιότητες και τη θρεπτική αξία των πρωτεϊνικών προϊόντων σόγιας.

Άλλες πηγές πρωτεϊνών εντός των σπόρων σόγιας είναι οι ελαιοσίνες (oleosins) με περιεκτικότητα 8-20% της ολικής πρωτεΐνης, οι αναστολείς της τρυψίνης με περιεκτικότητα 0-1,7% της ολικής πρωτεΐνης και ένζυμα όπως η λιποξυγενάση (LOX), ένα ένζυμο που ενεργοποιεί την οξειδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων και το σχηματισμό υδροϋπεροξειδίων των λιπαρών οξέων, τα οποία μετατρέπονται σε πτητικές αρωματικές ουσίες (Fukushima, 2011; Preece, Hooshyar, & Zuidam, 2017).

Οι λειτουργικές ιδιότητες της πρωτεΐνης σόγιας, και κυρίως της γλυκινίνης και της β-συνγλυκινίνης, αποδίδονται στα εγγενή φυσικοχημικά χαρακτηριστικά, τα οποία βασίζονται στις μοριακές δομές και επηρεάζουν τη συμπεριφορά των πρωτεϊνών στα συστήματα τροφίμων κατά την προετοιμασία, την επεξεργασία, την αποθήκευση και την κατανάλωση. Οι ιδιότητες αυτές δεν είναι μόνο σημαντικές για τον προσδιορισμό της ποιότητας του τελικού προϊόντος, αλλά και για τη διευκόλυνση της επεξεργασίας των προϊόντων όπως για παράδειγμα τον τεμαχισμό μεταποιημένων κρεάτων. Τα πρωτεϊνικά παρασκευάσματα σόγιας προσθέτουν στα συστήματα τροφίμων φυσικοχημικές ιδιότητες όπως διαλυτότητα, απορρόφηση νερού, ζελατινοποίηση, συνεκτικότητα, ελαστικότητα, γαλακτωματοποίηση, προσρόφηση λίπους, δέσμευση γεύσης, αφρισμό, έλεγχο χρώματος κ.λπ. Για παράδειγμα, η γαλακτωματοποίηση και

ο αφρισμός είναι σημαντικές ιδιότητες στις κρέμες καφέ και στα επιδόρπια αντίστοιχα (Fukushima, 2011).

Εκτός από την υψηλή θρεπτική αξία των πρωτεϊνών της σόγιας, ορισμένες φυσιολογικές-βιολογικές λειτουργίες αποδίδονται στις πρωτεΐνες και άλλα συστατικά που βρίσκονται σε μικρές ποσότητες στη σόγια, όπως ισοφλαβόνες, λεκτίνη, φυτοστερόλες, ένζυμα αναστολής τρυψίνης κ.α. Οι δραστηριότητες αυτές είναι η μείωση της χοληστερόλης, η αναστολή της οστεοπόρωσης, η πρόληψη του καρκίνου του μαστού και του προστάτη, καθώς και η γενικότερη βελτίωση της καρδιαγγειακής υγείας και η μείωση της αρτηριοσκλήρυνσης. Οι μέχρι πρότινος τοξικές ουσίες των πρωτεϊνικών προϊόντων σόγιας έχουν σχεδόν καθολικά εισέλθει στην κατηγορία των συστατικών που προστατεύουν την υγεία. Επομένως η κατανόηση εις βάθος των πρωτεϊνών σόγιας και των συσχετιζόμενων με αυτές συστατικών εξακολουθεί να είναι ένα πεδίο που εμφανίζει πολλές προοπτικές μελέτης (Nishinari et al., 2018; Murphy, 2008).

Τέλος, συνιστάται ισορροπία μεταξύ της απενεργοποίησης των αναστολέων της τρυψίνης και της λιποξυγενάσης (LOX) και των επιζήμιων επιδράσεων της θερμικής κατεργασίας, κυρίως της μετουσίωσης των πρωτεϊνών, η οποία θα προκαλέσει μείωση της απόδοσης εκχύλισης της πρωτεΐνης σόγιας κατά την επεξεργασία της. Η β-συνγλυκινίνη και η γλυκινίνη, οι κύριες αποθηκευτικές πρωτεΐνες, έχουν θερμοκρασίες μετουσίωσης περίπου 68°C και 86°C, αντίστοιχα (Preece, Hooshyar, & Zuidam, 2017).

2.4 Έλαιο Σόγιας

Το έλαιο εξάγεται από τη σόγια με χρήση οργανικών διαλυτών, όπως το εξάνιο και εν συνεχεία εξευγενίζεται προκειμένου να γίνει κατάλληλο για βρώση. Το έλαιο σόγιας προτιμάται από αρκετούς που αναζητούν μία πιο υγιεινή διατροφή. Ο λόγος είναι η ποιότητα και η λειτουργικότητα του ελαίου σόγιας που περιέχει ωμέγα-3 και -6 λιπαρά οξέα, καθώς και βιταμίνη E, σε συνάρτηση με τη σχετικά χαμηλή τιμή του. Το υψηλό ποσοστό ακόρεστων λιπαρών οξέων (80,7%), σε σχέση με τα χαμηλά επίπεδα κορεσμένων λιπαρών οξέων (15%), τα οποία αυξάνουν τα επίπεδα ολικής χοληστερόλης, είναι ένας ακόμα ενδεικτικός παράγοντας που αποδεικνύει γιατί το σογιέλαιο θεωρείται υγιεινό έλαιο. Το σογιέλαιο εμπορίου αποτελείται κυρίως από τα εξής λιπαρά οξέα: το παλμιτικό οξύ, το στεατικό οξύ, το ελαϊκό οξύ, το λινελαϊκό οξύ και το λινολενικό οξύ. Το ποσοστό αυτών των πέντε λιπαρών οξέων στο σογιέλαιο είναι κατά μέσο όρο 10%, 4%, 18%, 55% και 13%, αντίστοιχα. Επιπροσθέτως το σογιέλαιο έχει πολλά δευτερεύοντα συστατικά που είναι πολύτιμα εμπορικά προϊόντα (λεκιθίνη, φυτοστερόλες και τοκοφερόλες). Το συγκεκριμένο προφίλ λιπαρών οξέων οδηγεί σε χαμηλή οξειδωτική σταθερότητα που περιορίζει τις χρήσεις του σογιέλαιου σε τρόφιμα και βιομηχανικές εφαρμογές. Η οξειδωτική αστάθεια του σογιέλαιου προκύπτει από το σχετικά υψηλό ποσοστό των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (λινελαϊκό οξύ και λινολενικό οξύ). Ωστόσο αυτά τα δύο λιπαρά οξέα θεωρούνται απαραίτητα για τον ανθρώπινο οργανισμό, καθώς δεν μπορεί να τα συνθέσει, και άρα πρέπει να τα λάβει μέσω της τροφής του. Για το

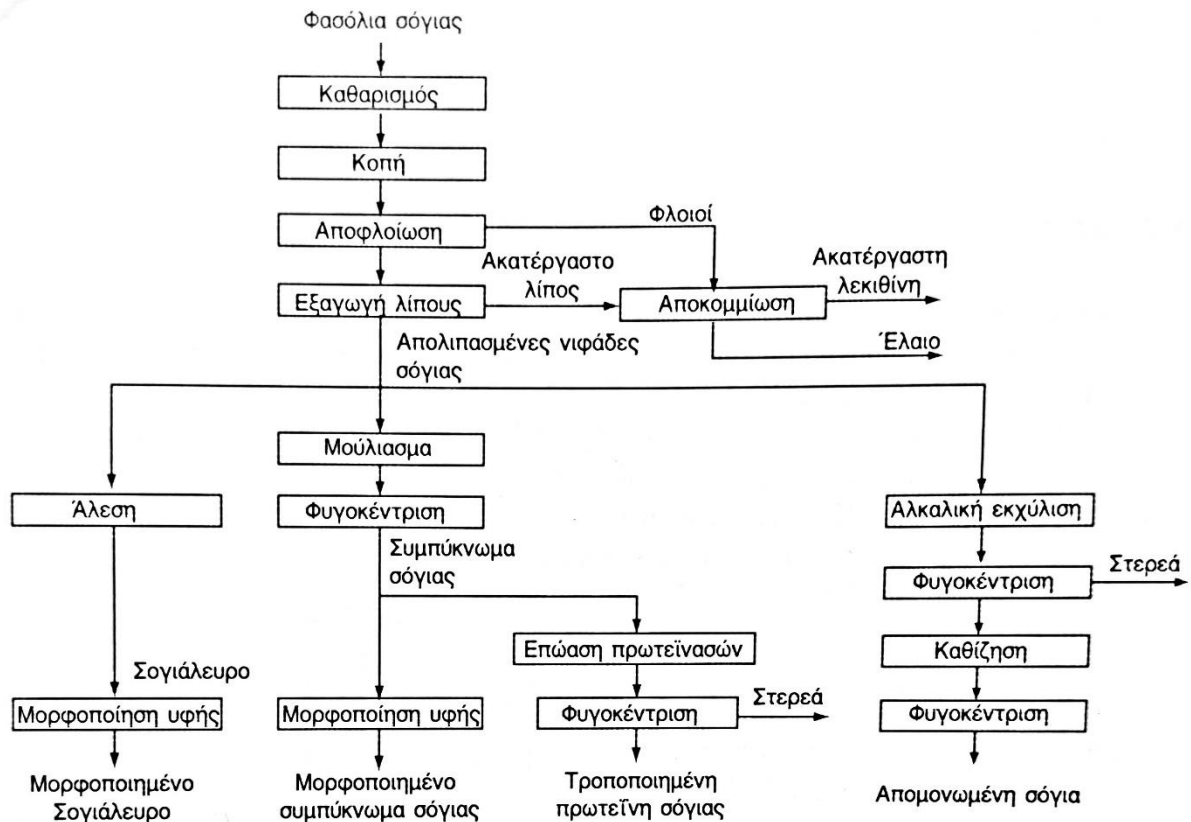
σκοπό αυτό, έχουν γίνει σημαντικές προσπάθειες για την αύξηση της οξειδωτικής σταθερότητας του σογιέλαιου (ως μέσο για την αποφυγή δημιουργίας trans-λιπαρών μέσω υδρογόνωσης), για την ενίσχυση της περιεκτικότητας σε ω-3 λιπαρά οξέα και για τη συνολική αύξηση της περιεκτικότητας σε έλαιο σπόρων.

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω το έλαιο σόγιας με την κατάλληλη επεξεργασία μπορεί να έχει αρκετές διαφορετικές χρήσεις, από τη διατροφή του ανθρώπου, τις ζωοτροφές, έως και βιομηχανικές εφαρμογές. Όσον αφορά τις βιομηχανικές χρήσεις, το σογιέλαιο έχει χρησιμοποιηθεί ως πηγή βιοκαυσίμων, είτε μέσω άμεσης καύσης του είτε ως πρώτη ύλη για βιοντίζελ. Ωστόσο επί του παρόντος κυριαρχεί η παγκόσμια κατανάλωση βιοκαυσίμων από βιοαιθανόλη, η οποία προέρχεται κυρίως από καλλιέργειες αμύλου όπως ζαχαροκάλαμο και καλαμπόκι. Τέλος, υπάρχουν σημαντικές δυνατότητες για αυξημένη χρήση του σογιέλαιου ως ανανεώσιμη πηγή βιομηχανικού ελαίου, κατάλληλου για εφαρμογές επίστρωσης όπως χρώματα, βερνίκια και μελάνια, υπό την προϋπόθεση ότι οι φυσικές και χημικές του ιδιότητες έχουν τροποποιηθεί (Pratar, Gupta, Kumar, Mehandi, & Pandey, 2016; Clemente & Cahoon, 2009).

2.5 Επεξεργασία Σπόρων Σόγιας

Η σόγια δεν μπορεί να καταναλωθεί από τον άνθρωπο αν δεν έχει υποστεί κατάλληλη επεξεργασία. Ο λόγος είναι η ύπαρξη διαφόρων αντιθρεπτικών παραγόντων, όπως οι αναστολείς των πεπτικών ενζύμων (της τρυψίνης και της χυμοτρυψίνης), φυτοαιμογλουτινίνες (π.χ. λεκτίνη) και δυνητικά αλλεργιογόνοι παράγοντες, όπως η γλυκινίνη και η β-συνγλυκινίνη. Ωστόσο, η αδρανοποίηση των παραγόντων αυτών και των δυσμενών επιδράσεών τους, πραγματοποιείται απλά μέσω θερμικής επεξεργασίας. Δεδομένου ότι όλοι αυτοί οι αναστολείς είναι πρωτεΐνες, πρέπει να δοθεί προσοχή για να διασφαλιστεί η μη καταστροφή των πρωτεϊνών του ελαιούχου σπόρου. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί μόνο μέσω βελτιστοποίησης των συνθηκών της επεξεργασίας (Riaz, 2016).

Ολόκληροι οι σπόροι σόγιας μπορεί να υποστούν επεξεργασία προς την παραλαβή διάφορων συστατικών σόγιας με βάση την εφαρμογή τους. Ο βασικός σκοπός της επεξεργασίας της σόγιας είναι ο διαχωρισμός του ελαίου από τον υπόλοιπο σπόρο. Εν συνεχεία το έλαιο πρέπει να εξευγενιστεί. Το πλούσιο σε πρωτεΐνες υπόλειμμα χρησιμοποιείται κυρίως ως ζωοτροφή, αλλά μπορεί να υποστεί κατάλληλη επεξεργασία για την παραγωγή αλεύρου, πρωτεϊνικών συμπυκνωμάτων και υπερσυμπυκνωμάτων (Snyder & Wilson, 2003).



Εικόνα 2.2. Επεξεργασία σπόρων (φασολιών) σόγιας (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2018)

Τα βασικά στάδια επεξεργασίας σόγιας αναφέρονται παρακάτω:

2.5.1 Καθαρισμός

Ο καθαρισμός είναι σημαντικός για την παραγωγή τελικών προϊόντων υψηλής ποιότητας καθώς και για την προστασία του εξοπλισμού. Ο καθαρισμός της σόγιας γίνεται σε κόσκινα υπό προσφύση αέρα, με αποτέλεσμα σκόνη, φυτικός ιστός, πέτρες, ελαφρύ μολυσματικό υλικό, καθώς και μεγαλύτερες προσμίξεις (πέτρες, μίσχοι, καρφιά κ.λπ.) να διαχωρίζονται. Οι ακόμα μεγαλύτερες προσμίξεις διαχωρίζονται βήμα προς βήμα κυρίως σε ένα διαχωριστή και σε ένα μαγνητικό διαχωριστή μεταλλικών τεμαχίων. Μετά τον καθαρισμό της σόγιας, το επόμενο στάδιο είναι η ξήρανση της σόγιας (Riaz, 2016).

2.5.2 Ξήρανση

Οι σπόροι της σόγιας ξηραίνονται σε ξηραντήρες δημητριακών μέχρι η υγρασία να φτάσει σε επίπεδο 10%, το οποίο απαιτείται πριν την αποφλοιώση. Η θερμοκρασία του ξηραντήρα

κυμαίνεται μεταξύ 70 και 76°C, προκειμένου να επιτευχθεί το επιθυμητό επίπεδο υγρασίας. Η ομοιόμορφη ξήρανση είναι πολύ σημαντική για την αφαίρεση των φλοιών από τη στιγμή που ο φλοιός πρέπει να αφαιρεθεί από κάθε σπόρο χωριστά. Ο φλοιός συνδέεται με το φασόλι με ένα πρωτεϊνούχο υλικό, το οποίο, όταν εκτίθεται σε υψηλή θερμοκρασία, επιδρά στην απελευθέρωση του φλοιού. Μετά την ξήρανσή τους οι σπόροι αποθηκεύονται για περίπου 72 h, ώστε να σταθεροποιηθεί η υγρασία τους. Οι ξηραμένοι σπόροι συνήθως καθαρίζονται, για να απομακρυνθούν όσο το δυνατό περισσότερο ξένα υλικά και προσμίξεις. Μετά την ξήρανση ακολουθεί η θραύση και η αποφλοίωση των σπόρων της σόγιας (Riaz, 2016).

2.5.3 Θραύση και αποφλοίωση σόγιας

Ο πρωταρχικός λόγος για την αποφλοίωση είναι η παραγωγή τελικών προϊόντων υψηλής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη. Η αφαίρεση του φλοιού πριν από την επεξεργασία θα αυξήσει την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες του επιθυμητού τελικού προϊόντος. Οι καθαροί και ξηροί σπόροι θραύονται σε κατάλληλα κομμάτια (στο 1/6 έως 1/8 του σπόρου) για αποφλοίωση, χρησιμοποιώντας μύλους θραύσης. Μετά το σπάσιμο, οι φλοιοί διαχωρίζονται υπό τη ροή αέρα, καθώς οι ελαφρύτεροι φλοιοί απομακρύνονται και εν συνεχεία ψήνονται, αλέθονται και διατίθενται σε ζωοτροφές. Είναι σημαντικό σε αυτό το σημείο να κατανοηθεί ακριβώς πώς λειτουργεί ο διαχωρισμός αέρα, δεδομένου ότι αποτελεί τη βάση για όλη τη διαδικασία αποφλοίωσης της σόγιας. Με σωστά ξηραμένους και θραυσμένους σπόρους, οι κοτυληδόνες διαχωρίζονται εύκολα από τους φλοιούς. Το πρακτικό πρόβλημα που υπάρχει είναι ότι δεν μπορεί να επιτευχθεί απόλυτος διαχωρισμός των φλοιών από τις κοτυληδόνες. Μετά την αποφλοίωση, το επόμενο βήμα είναι η υγροθερμική διεργασία (Riaz, 2016; Λιαδάκης, 1999).

2.5.4 Υγροθερμική διεργασία

Οι θραυσμένοι και αποφλοιωμένοι σπόροι κλιματίζονται σε φούρνους περίπου στους 70°C με ατμό. Μπορεί να προστεθούν μικρές ποσότητες νερού, ώστε να φτάσει η υγρασία περίπου στο 11% για να γίνουν οι σπόροι ιδανικοί για φολιδοποίηση (flaking). Μία σωστή θερμική διεργασία και ρύθμιση της υγρασίας βοηθούν στη διάρρηξη των κυτταρικών μεμβρανών κατά τη διάρκεια της φολιδοποίησης, ώστε ακολούθως να μπορεί να εκχυλιστεί ευκολότερα το έλαιο. Η κύρια λειτουργία της υγροθερμικής διεργασίας είναι να διευκολύνει το στάδιο της φολιδοποίησης (Riaz, 2016).

2.5.5 Φολιδοποίηση

Για να εκχυλιστεί το έλαιο από τους σπόρους είναι σημαντικό να καταστραφεί η δομή των κυττάρων των σπόρων. Για να πραγματοποιηθεί αυτό, οι σπόροι φολιδοποιούνται σε μηχανήματα φολιδοποίησης. Το ιδανικό πάχος μίας φολίδας είναι μεταξύ 0,25 και 0,35 mm. Το

πάχος αυτών των φολίδων εξαρτάται από το μέγεθος των θραυσμένων σπόρων, την προετοιμασία και τη ρύθμιση των κυλίνδρων φολιδοποίησης. Η κατασκευή φολίδων (νιφάδων) ωφελεί στην ομοιόμορφη διείδυση του διαλύτη και στη διάσπαση του ιστού του σπόρου σόγιας, έτσι ώστε ο διαλύτης να μπορέσει να διεισδύσει και να εκχυλίσει το έλαιο πιο αποτελεσματικά (Riaz, 2016; Snyder & Wilson, 2003).

2.5.6 Εκχύλιση των φολίδων

Ο διαλύτης που χρησιμοποιείται για την εκχύλιση του ελαίου είναι σχεδόν αποκλειστικά το εξάνιο. Η εκχύλιση γίνεται σε εκχυλιστήρες πολλαπλών σταδίων κατ' αντιρροή (counter-current multistage extractors). Οι εμποτισμένες με εξάνιο φολίδες τροφοδοτούνται σε ένα στιγμιαίο εξατμιστήρα (flash desolventizer). Στον εξατμιστήρα, οι υγρές νιφάδες με το διαλύτη οδηγούνται κατευθείαν από τον εκχυλιστήρα σε ένα μακρύ σωλήνα όπου διοχετεύεται με μεγάλη ταχύτητα υπέρθερμος ατμός εξανίου υπό συνθήκες τυρβώδους ροής. Ο διαλύτης θερμαίνεται υπό πίεση στους 115-138°C. Με την επαφή αυτή παρέχεται η αναγκαία θερμότητα για την εξάτμιση του εξανίου, με αποτέλεσμα σε λίγα δευτερόλεπτα, ο υπέρθερμος διαλύτης να απομακρύνει τα υπολείμματα του υγρού διαλύτη και οι απελαιωμένες φολίδες να συλλέγονται στον κυκλώνα. Με αυτόν τον τρόπο ο διαλύτης απομακρύνεται με ελάχιστη θερμική καταπόνηση, η μεταφορά μάζας και ενέργειας είναι εξαιρετικά ταχεία, οπότε η μετουσίωση των πρωτεϊνών είναι ελάχιστη. Το γεγονός αυτό είναι πολύ σημαντικό σε περίπτωση που οι φολίδες προορίζονται για πρωτεϊνικά προϊόντα. Η εκχύλιση με διαλύτη μπορεί να μειώσει το υπολειπόμενο έλαιο στις νιφάδες σόγιας σε λιγότερο από 1% (Riaz, 2016; Snyder & Wilson, 2003; Λιαδάκης, 1999).

2.5.7 Άλεση

Οι απελαιωμένες νιφάδες αλλά και οι αρχικά αποφλοιωμένοι σπόροι μπορούν να αλεστούν σε σφυρόμυλο ή κρουστικό θραυστήρα σε επιθυμητά μεγέθη σωματιδίων χρησιμοποιώντας διαφορετικά μεγέθη κοσκίνων, για την παραγωγή αλεύρου σόγιας. Το χονδρόκοκκο υλικό μπορεί να διαχωριστεί από το λεπτόκοκκο με αέρια ταξινόμηση. Τα μη απελαιωμένα προϊόντα είναι δύσκολο να κονιοποιηθούν ή να κοσκινιστούν. Το αλεύρι αυτό περιέχει 52-54% πρωτεΐνη, αλλά η χρήση του ως έχει είναι πολύ περιορισμένη (0,5%), λόγω των ενζύμων και της σχετικά δυσάρεστης γεύσης. Αυτοί οι τύποι αλεύρων χρησιμοποιούνται στο ψωμί για τη λεύκανση του αλεύρου σίτου και την προετοιμασία του ζυμαριού (Riaz, 2016).

Εκτός από τα απελαιωμένα αλεύρα σόγιας, παράγονται αλεύρα με έλαιο (full fat flours), με παρόμοια διαδικασία, χωρίς βέβαια το στάδιο της εκχύλισης του ελαίου. Επίσης παράγονται αλεύρα με προσθήκη διαφόρων ποσοστών ελαίου σε απελαιωμένα αλεύρα (refatted flours) ή με προσθήκη λεκιθίνης (lecithinated flours) (Λιαδάκης, 1999).

2.6 Πρωτεϊνικά Προϊόντα Σόγιας

Υπάρχει ισχυρό κίνητρο για τη χρήση φυτικών πηγών πρωτεΐνης χαμηλού κόστους στην παγκόσμια οικονομία. Αυτό ώθησε τμήματα της αμερικανικής βιομηχανίας τροφίμων να επικεντρωθούν σε φυτικές πηγές πρωτεϊνών για διάφορα σκευάσματα τροφίμων. Τα πρωτεϊνικά προϊόντα σόγιας προσφέρουν περισσότερα από τα προφανή οικονομικά πλεονεκτήματα που έχουν οι φυτικές πρωτεΐνες έναντι των ζωικών πρωτεϊνών. Η πρόοδος στην τεχνολογία των συστατικών σόγιας έχει οδηγήσει σε προϊόντα που μπορούν να εκτελούν πολλές λειτουργίες στα τρόφιμα όπως γαλακτωματοποίηση, ή δέσμευση και αλλαγή στην υφή. Η αποδοχή πρωτεϊνικών προϊόντων σόγιας έχει αυξηθεί λόγω τέτοιων λειτουργικών ιδιοτήτων, αφθονίας, χαμηλού κόστους και λόγω της εξαιρετικής διατροφικής αξίας των πρωτεϊνικών προϊόντων σόγιας, η οποία έχει πρόσφατα αναγνωριστεί από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων των Η.Π.Α (FDA).

Τα πρωτεϊνικά προϊόντα σόγιας εμπίπτουν σε τρεις μεγάλες κατηγορίες, με βάση την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες, η οποία κυμαίνεται από 40% έως πάνω από 90%. Οι τρεις αυτές κατηγορίες είναι τα πρωτεϊνικά άλευρα (flours), τα συμπυκνώματα (concentrates) και τα υπερσυμπυκνώματα (isolates), με περιεκτικότητα περίπου 50, 70 και 90% πρωτεΐνες εδωδιμης ποιότητας. Και οι τρεις βασικές κατηγορίες πρωτεϊνικών προϊόντων σόγιας προέρχονται από απειλωμένες νιφάδες. Απειλωμένα άλευρα σόγιας προέρχονται από σόγια από την οποία αφαιρούνται ο φλοιός και το έλαιο. Τα συμπυκνώματα πρωτεΐνης σόγιας είναι απειλωμένο άλευρο από το οποίο έχουν αφαιρεθεί σάκχαρα με νερό ή/και αλκοόλη. Τα υπερσυμπυκνώματα πρωτεΐνης σόγιας είναι απειλωμένο άλευρο από το οποίο έχουν αφαιρεθεί σάκχαρα, διάφορα άλλα υδατοδιαλυτά συστατικά καθώς και φυτικές ίνες (Endres, 2001).

Πίνακας 2.3. Σύσταση (%) των πρωτεϊνικών προϊόντων σόγιας (Βλάσσης, 2019)

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

2.6.1 Πρωτεϊνικά Άλευρα

Αρχικά, οι σπόροι υφίστανται ορισμένες προκατεργασίες (με τις περισσότερες να έχουν ήδη αναφερθεί παραπάνω), όπως διαχωρισμός από ξένα συστατικά, αποφλοίωση του σπόρου, σύνθλιψη και εκχύλιση του ελαίου με οργανικό διαλύτη, συνήθως εξάνιο. Το έλαιο διαχωρίζεται από τις λεκιθίνες, εξευγενίζεται και εν τέλει υφίσταται απόσπηση και χρησιμοποιείται σε διάφορα τρόφιμα. Οι απελαιωμένες νιφάδες υποβάλλονται σε θερμική κατεργασία για την απομάκρυνση του διαλύτη και σε ορισμένες περιπτώσεις την αδρανοποίηση ορισμένων ενζύμων και τη βελτίωση της ευπεπτότητας (σε ήπιες συνθήκες, ώστε να μην αλλοιωθούν οι λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνών). Μετά την απομάκρυνση του διαλύτη προκύπτουν νιφάδες σόγιας με περίπου 52-54% πρωτεΐνη, οι οποίες χαρακτηρίζονται ως λευκές νιφάδες (white flakes). Αυτές οι νιφάδες μπορούν να αλεσθούν σε άλευρα σόγιας ανάλογα με την τελική εφαρμογή τους στα τρόφιμα και το μέγεθος των σωματιδίων που απαιτείται. Το πρωτεϊνικό άλευρο έχει συνήθως περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες το λιγότερο 45-50% σε ξηρή βάση.

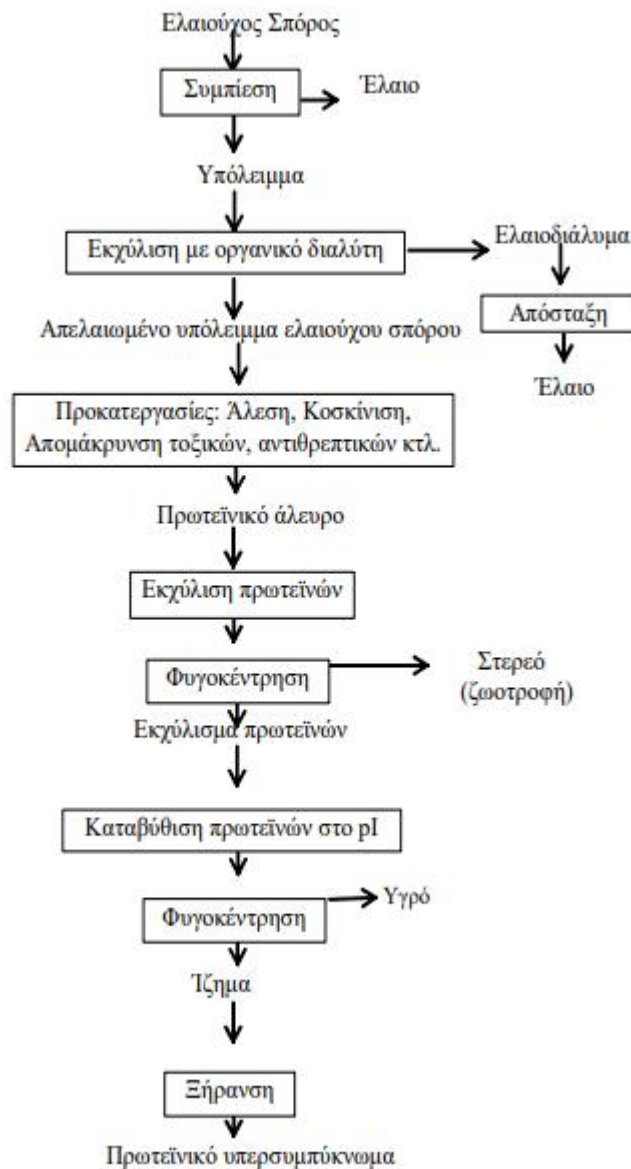
2.6.2 Πρωτεϊνικά συμπυκνώματα

Η παραλαβή των συμπυκνωμάτων γίνεται με υγρές και ξηρές μεθόδους επεξεργασίας. Οι ξηρές μέθοδοι χρησιμοποιούν αέριους κυκλώνες και βασίζονται σε παραμέτρους όπως το ειδικό βάρος, το μέγεθος και το σχήμα των άθικτων πρωτεϊνικών σωματιδίων, παρουσιάζοντας ωστόσο ως βασικό μειονέκτημα τις προσμίξεις στο προϊόν που λαμβάνεται. Οι υγρές μέθοδοι βασίζονται στη διαλυτοποίηση και απομάκρυνση μη πρωτεϊνικών συστατικών. Συμπυκνώματα πρωτεΐνης από σόγια μπορούν να προκύψουν από τις απελαιωμένες (λευκές) νιφάδες εξαγοντας τους διαλυτούς υδατάνθρακες είτε με όξινο διάλυμα (pH 4,5) και έκπλυση με νερό ή με υδατική αιθυλική αλκοόλη ή με θερμό νερό. Με αυτούς τους τρόπους επιτυγχάνεται η ελάχιστη διαλυτοποίηση της πρωτεΐνης, ενώ οι διαλυτοί υδατάνθρακες μπορούν να απομακρυνθούν. Με την απομάκρυνση των διαλυτών υδατανθράκων (σακχαρόζη, σταχυόζη, ραφινόζη) και μετά από ξήρανση το πρωτεϊνικό περιεχόμενο αυξάνεται. Επομένως το πρωτεϊνικό συμπύκνωμα περιέχει περίπου 65-75% πρωτεΐνες, 15-25% αδιάλυτους υδατάνθρακες, 4-6% ανόργανα άλατα και 0,3-1,2% λιπαρά. Οι λειτουργικές ιδιότητες των συμπυκνωμάτων τροποποιούνται, με αποτέλεσμα την υψηλή ικανότητα κατακράτησης νερού και την αυξημένη γαλακτωματοποιητική ικανότητα.

2.6.3 Πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα

Στην παραλαβή υπερσυμπυκνωμάτων ο στόχος είναι ο διαχωρισμός από τις ίνες (πηκτίνη, κυτταρίνη και ημικυτταρίνη) και από τους υδατάνθρακες (αδιάλυτοι ολιγοσακχαρίτες και πολυσακχαρίτες). Μία κύρια μέθοδος είναι αυτή της διαλυτοποίησης-καταβύθισης των αζωτούχων συστατικών. Η μέθοδος αυτή μπορεί να εφαρμοστεί σε άλευρο ή ακόμα και σε συμπύκνωμα. Οι πρωτεΐνες εκχυλίζονται συνήθως με αλκαλικό διάλυμα, και στη συνέχεια καταβυθίζονται στο ισοηλεκτρικό τους σημείο. Κατά την εκχύλιση και εν συνεχεία με διήθηση ή

φυγοκέντρωση απομακρύνεται το στερεό υπόλειμμα το οποίο περιλαμβάνει πολυσακχαρίτες, ίνες και αδιάλυτες αζωτούχες ενώσεις. Η ισοηλεκτρική καταβύθιση σε pH 4,2 με 4,5 ακολουθείται από φυγοκέντρωση και έκπλυση του πρωτεϊνικού ιζήματος, με στόχο την απομάκρυνση ολιγοσακχαριτών, αλάτων και άλλων διαλυτών ουσιών που συγκαταβυθίζονται με τις πρωτεΐνες. Τέλος το πρωτεϊνικό πήγμα εξουδετερώνεται με αλκαλικά άλατα (υδροξείδιο του νατρίου ή καλίου) σε pH 6,8 με 7,2 και πραγματοποιείται ξήρανση με διάφορες τεχνικές (υπό κενό, με ψεκασμό, υπό κατάψυξη). Το πρωτεϊνικό υπερσυμπύκνωμα σε αυτό το σημείο περιέχει 90% και άνω πρωτεΐνη σε ξηρή βάση (Thrane, Paulsen, Orcutt, & Krieger, 2017; Ταούκης & Τζιά, 2019).



Εικόνα 2.3. Διάγραμμα ροής παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων (Ταούκης & Τζιά, 2019)

Τα πρωτεϊνικά προϊόντα σόγιας, δηλαδή τα άλευρα, τα συμπυκνώματα και τα υπερσυμπυκνώματα, μπορούν να τροποποιήσουν την υφή των τροφίμων, αυξάνοντας το ιξώδες, κατακρατώντας υγρασία ή λίπος, προσδίδοντας συνοχή κ.α. Η υφή στα τρόφιμα μπορεί να τροποποιηθεί αλλάζοντας την υφή των υλικών σόγιας. Η υψηλή διατροφική αξία, οι συγκεντρώσεις σε απαραίτητα αμινοξέα και οι άριστες λειτουργικές ιδιότητες καθιστούν τα πρωτεϊνικά συμπυκνώματα σόγιας (Soy Protein Concentrates, SPC) και τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα σόγιας (Soy Protein Isolates, SPI) πολύτιμα συστατικά. Επίσης έχουν αναγνωριστεί ευεργετικά οφέλη για την υγεία (κυρίως μείωση στεφανιαίας νόσου) από τις πρωτεΐνες σόγιας.

Οι συμβατικές μέθοδοι παραλαβής SPC ή SPI προσδίδουν κάποια ανεπιθύμητα χαρακτηριστικά στα πρωτεϊνικά προϊόντα, τα οποία αναλύονται παρακάτω. Επομένως αναπτύσσονται κάποιες νέες μέθοδοι για την παραλαβή SPI, όπως τεχνολογίες μεμβρανών, υπερδιήθηση και ηλεκτροοξίνιση, οι οποίες είναι ήπιες μέθοδοι και προσδίδουν βελτιωμένες λειτουργικές ιδιότητες στα πρωτεϊνικά προϊόντα, εξαιτίας της μη εκτεταμένης χρήσης χημικών (Snyder, Wilson, 2003 ; Alibhai, Mondor, Moresoli, Ippersiel, & Lamarche, 2006).

2.7 Εφαρμογές στη διατροφή

Τα πρωτεϊνικά προϊόντα σόγιας αποτελούν μία οικονομική και αξιόπιστη πηγή πρωτεΐνης, η οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να αντικαταστήσει τις πρωτεΐνες γαλακτοκομικών, κρέατος, πουλερικών, ψαριών και αυγού. Αυτό έχει σημαντική επίδραση στην οικονομία καθώς μειώνεται και διαχειρίζεται το κόστος μαζικής εκτροφής ζώων για την κάλυψη της παγκόσμιας ζήτησης σε ζωικά προϊόντα και κρέας. Έτσι επιτυγχάνεται περιβαλλοντική διατηρησιμότητα σχετικά με την προμήθεια ποιοτικών πρωτεϊνών. Επίσης τα πρωτεϊνικά προϊόντα ελαιούχων σπόρων έχουν την ικανότητα βελτίωσης της διατροφικής αξίας διάφορων τροφίμων με τα οποία συνδυάζονται και πρόσδοσης σε αυτά λειτουργικών ιδιοτήτων, όπως διαλυτότητα, γαλακτωματοποίηση, ζελατινοποίηση, αφρισμός, ιξώδες, άρωμα, γεύση και δέσμευση νερού και λιπαρών.

Πρωτεϊνικά προϊόντα σόγιας χρησιμοποιούνται σε ποικιλία τροφίμων όπως σάλτσες σαλάτας (dressings), σούπες, διατροφικές μπάρες, πρωτεϊνικά ποτά για τη διατροφή αθλητών, ανάλογα και υποκατάστατα κρέατος και γαλακτοκομικών προϊόντων (π.χ. τυριά), αρτοσκευάσματα, επιδόρπια και δημητριακά ενισχυμένα με πρωτεΐνες. Επίσης χρησιμοποιούνται ευρέως σε γεύματα νεογνών, τροφές κατοικίδιων ζώων, καθώς και στην κλινική διατροφή (για την αντικατάσταση γαλακτοκομικών προϊόντων) (Thrane, Paulsen, Orcutt, & Krieger, 2017; Endres, 2001).

3. Τεχνολογία Παραλαβής Πρωτεϊνικών Υπερσυμπυκνωμάτων

3.1 Γενικά

Η παγκόσμια επισιτιστική ανασφάλεια, που οφείλεται στη ραγδαία αύξηση του πληθυσμού, έχει προωθήσει την έρευνα και την ανάπτυξη εναλλακτικών πηγών πρωτεΐνης, κυρίως φυτικών, που θα αποτελέσουν τους βασικούς πυλώνες στους οποίους θα στηριχθούν οι διατροφικές συνήθειες αλλά και γενικότερα η οικονομία των τροφίμων στο άμεσο μέλλον (Sahni, Sharma & Surasani, 2020).

Τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα (Protein Isolates) έχουν πάνω από 85-90% περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες σε υγρή βάση, όντας οι καθαρότερες μορφές πρωτεΐνης που μπορούν να συναντηθούν. Η υδατική αλκαλική εκχύλιση - διαλυτοποίηση (pH 8-11), ακολουθούμενη από ισοηλεκτρική καταβύθιση (pH 4-5 για ελαιούχους σπόρους), είναι η πιο κοινή τεχνική υγρής επεξεργασίας. Επίσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί η εκχύλιση με άλας ή η μικκυλίωση. Η εκχύλιση με οξύ (pH<4) χρησιμοποιείται ανάλογα με τον τύπο των πρωτεϊνών που στοχεύεται να ανακτηθούν, αποσκοπώντας σε διαφορετικές εφαρμογές προϊόντων (π.χ. υδατοδιαλυτά κλάσματα πρωτεϊνών). Τέλος, οι μεμβράνες υπερδιήθησης μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν στη θέση της ισοηλεκτρικής καταβύθισης για την απομόνωση και τη συμπύκνωση πρωτεϊνών. Μάλιστα η τεχνική της υπερδιήθησης έχει αποδειχθεί ότι μπορεί να μειώσει σημαντικά την ποσότητα των αντιθρεπτικών παραγόντων και ουσιών όπως υδατάνθρακες που διαλυτοποιούνται κατά την εκχύλιση.

Το υψηλό κόστος των υγρών μεθόδων επεξεργασίας αποτελεί βασικό εμπόδιο για την καθολική εφαρμογή τους σε βιομηχανικό επίπεδο. Η καθαρότητα της πρωτεΐνης, η απόδοση και ο ρυθμός εκχύλισης, η γεύση και οι λειτουργικές ιδιότητες των τελικών προϊόντων επηρεάζονται από αρκετούς παράγοντες κατά τη διαδικασία της εκχύλισης των πρωτεϊνών. Οι συνθήκες που παίζουν σημαντικότερο ρόλο στην εκχύλιση είναι: η θερμοκρασία (<50°C), το pH (πέραν από το ισοηλεκτρικό σημείο σε ουδέτερη ή ελαφρώς αλκαλικές τιμές), ο χρόνος εκχύλισης, η ανάδευση, η κοκκομετρία του υλικού, το εκχυλιστικό μέσο (νερό ή αραιό διάλυμα αλκάλεως ή άλατος), ο λόγος του βάρους του εκχυλιζόμενου στερεού προς τον όγκο του εκχυλιστικού μέσου και γενικότερα η μέθοδος και ο εξοπλισμός που χρησιμοποιείται (Sethi, Yadav, Snigdha, & Gupta, 2020; Gerzhova, Mondor, Benali, & Aider, 2015; Aluko, 2017; Samaranyaka, 2017).

3.2 Συμβατική Μέθοδος Εκχύλισης

Η συμβατική μέθοδος εκχύλισης είναι η πιο συνήθης τεχνική παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων. Περιλαμβάνει τη διαλυτοποίηση των πρωτεϊνών (συνήθως απελαιωμένου αλεύρου ή συμπυκνώματος) σε αλκαλικό pH (κοντά σε pH 10). Στη συνέχεια

αφαιρούνται οι αδιάλυτες ενώσεις (φυτικές ίνες) με φυγοκέντρηση. Ακολουθεί καταβύθιση των πρωτεϊνών του υπερκείμενου υγρού με ρύθμιση του pH στο ισοηλεκτρικό σημείο (pI) (συχνότερα με προσθήκη κάποιου αραιού οξέος). Οι πρωτεΐνες ανακτώνται ως ίζημα μετά από φυγοκέντρηση. Η ρύθμιση του pH στο pI με οξύ οδηγεί σε έντονες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πρωτεϊνών κατά την καταβύθιση. Τέλος, οι απομονωμένες πρωτεΐνες ξηραίνονται (είτε απευθείας, είτε αφού πρώτα εξουδετερωθούν) με κάποια τεχνική ξήρανσης, η οποία δεν καταπονεί σε μεγάλο βαθμό τις πρωτεΐνες, όπως η ξήρανση με κατάψυξη ή με ψεκασμό.

Οι αποδόσεις στην παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με συμβατική εκχύλιση κυμαίνονται μεταξύ 30-40% με βάση το βάρος του απειαιωμένου αλεύρου (π.χ. σόγιας) ή περίπου στο 60% της πρωτεΐνης στις νιφάδες. Το 1/3 του βάρους είναι το αδιάλυτο υπόλειμμα μετά την εκχύλιση και το τελευταίο 1/3 είναι οι πρωτεΐνες του όξινου ορού μετά την ισοηλεκτρική καταβύθιση που συχνότερα χάνονται, καθώς είναι πολύ δύσκολο να ανακτηθούν εξαιτίας της χαμηλής συγκέντρωσης στερεών. Ο όξινος ορός μέχρι πρότινος θεωρείτο απόβλητο, ωστόσο βρέθηκε ότι περιέχει πολύτιμα συστατικά (π.χ. βιοδραστικά πεπτιδία) και έχει σταθερές ιδιότητες σχηματισμού αφρού. Η κατάλληλη επεξεργασία του όμως μπορεί να είναι ασύμφορη σε οικονομικά πλαίσια, και για αυτό να επιλέγεται να μην αξιοποιηθεί περαιτέρω. Το στερεό υπόλειμμα βρίσκει χρήση κυρίως σε ζωοτροφές. Η απόδοση και η σύσταση του υπερσυμπυκνώματος που προκύπτει από τη συμβατική διαδικασία επηρεάζονται από τις συνθήκες που αναφέρθηκαν και παραπάνω γενικά για την εκχύλιση (Johnson, Clements, Villarino, & Coorey, 2017; Aluko, 2017; Sandberg, 2011; Alibhai, Mondor, Moresoli, Ippersiel, & Lamarche, 2006).

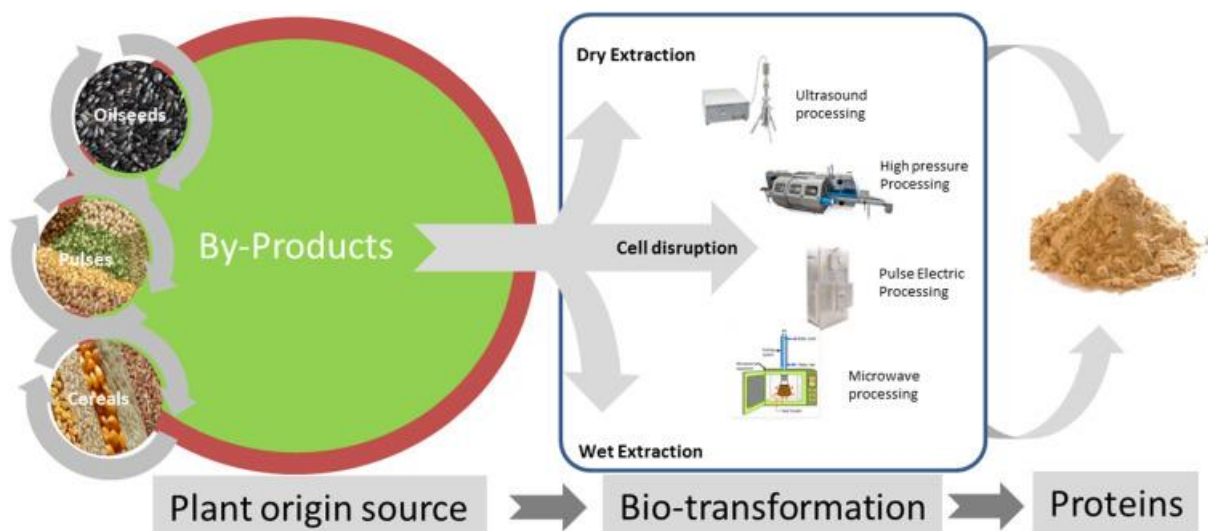
Ένα μειονέκτημα των συμβατικών μεθόδων είναι ότι μερικές φορές τα συμπυκνώματα και τα υπερσυμπυκνώματα έχουν κακή διαλυτότητα πρωτεϊνών κατά την ενυδάτωση και φτωχές λειτουργικές ιδιότητες, εξαιτίας των ακραίων συνθηκών στις οποίες εκτίθενται οι πρωτεΐνες (εκχύλιση με οξέα ή αλκάλια, έντονη θερμική επεξεργασία, καθίζηση ή και φυγοκέντρηση). Επιπλέον, τα συμπυκνώματα και τα υπερσυμπυκνώματα που παράγονται με τις συμβατικές διεργασίες μπορεί ακόμη να περιέχουν μεγάλη ποσότητα φυτικού οξέος. Η παρουσία φυτικού οξέος μειώνει επίσης τη διαλυτότητα των πρωτεϊνών και παίζει σημαντικό ρόλο στη μείωση της βιοδιαθεσιμότητας των μετάλλων. Άλλα μειονεκτήματα θεωρούνται η μεγάλη κατανάλωση διαλυτών και η υψηλή ενέργεια που απαιτείται για τα διάφορα στάδια διαχωρισμού, καθαρισμού και συμπύκνωσης (Alibhai, Mondor, Moresoli, Ippersiel, & Lamarche, 2006).

3.3 Νέες τεχνολογίες εκχύλισης

Σήμερα, η εύρεση καινοτόμων και πιο πράσινων τεχνολογιών αποτελεί προτεραιότητα στη βιομηχανία, με σκοπό τη μείωση των χρόνων εκχύλισης όσο το δυνατόν περισσότερο, τη βελτίωση της απόδοσης εκχύλισης και της θρεπτικής αξίας, χρησιμοποιώντας μη ρυπογόνες ουσίες. Επιπλέον, αναφέρονται ως προσιτές, ασφαλείς, αποτελεσματικές και φιλικές προς το περιβάλλον εναλλακτικές λύσεις. Παρά τα πολλά πλεονεκτήματα, η εφαρμογή των νέων

τεχνολογιών σε βιομηχανικό επίπεδο εξακολουθεί να είναι περιορισμένη. Η επιλογή της μεθόδου εκχύλισης εξαρτάται από τις προδιαγραφές του προϊόντος που επιθυμείται να προκύψει, τους διαθέσιμους πόρους, αλλά και τις τεχνικές δυνατότητες.

Τόσο οι ξηρές όσο και οι υγρές τεχνικές εκχύλισης πρωτεϊνών απαιτούν τη διάσπαση των κυτταρικών τοιχωμάτων για την απελευθέρωση πρωτεΐνης μέσα από τα κύτταρα. Κλασικά, η διάσπαση των κυττάρων γίνεται με μηχανικές μεθόδους (π.χ. άλεση) ή με θερμική και χημική κατεργασία. Ωστόσο, λόγω της υψηλής ευαισθησίας των πρωτεϊνών στη θερμότητα ή στη χρήση διαλυτών, νέες τεχνολογίες επεξεργασίας εμφανίζονται προκειμένου να διασπάσουν τα κύτταρα με τη μικρότερη δυνατή καταπόνηση. Τέτοιες τεχνολογίες είναι η εκχύλιση με μικροκύματα, υπέρηχους, παλμικά ηλεκτρικά πεδία, η εκχύλιση υποβοηθούμενη από ένζυμα κ.α. Μάλιστα αυτές οι μέθοδοι συνήθως επιδεικνύουν πιο υψηλή απόδοση, καθώς και συνεισφέρουν σε μείωση στο χρόνο εκχύλισης, το κόστος και τις περιβαλλοντικές επιπτώσεις (Sanz, Flórez-Fernández, Domínguez, & Torres, 2020; Pojić, Mišan, & Tiwari, 2018).



Εικόνα 3.1. Καινοτόμες πράσινες προσεγγίσεις στην εκχύλιση πρωτεϊνών από ανανεώσιμες πηγές φυτικής προέλευσης (Pojić, Mišan, & Tiwari, 2018)

3.3.1 Εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα

Τα τελευταία χρόνια, η τεχνολογία εκχύλισης με τη βοήθεια μικροκυμάτων (Microwave Assisted Extraction) έχει εφαρμοστεί ευρέως για την εξαγωγή βιοδραστικών ενώσεων από φυσικές πηγές και διάφορα υπολείμματα τροφίμων και υποπροϊόντα τους. Η εκχύλιση με μικροκύματα βασίζεται στη θέρμανση του διαλύτη με εφαρμογή ενέργειας μικροκυμάτων. Αυτή η τεχνική καθιστά τη θέρμανση πιο αποτελεσματική και επιλεκτική, επιταχύνοντας τη μεταφορά ενέργειας, με αποτέλεσμα τη σημαντική μείωση του χρόνου επεξεργασίας του δείγματος και την αύξηση της απόδοσης των ενώσεων που εκχυλίζονται. Θεωρείται ως μία από τις πιο

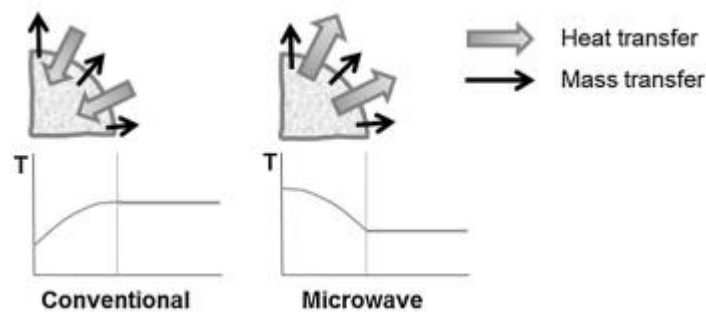
αποτελεσματικές μεθόδους πράσινης εκχύλισης, εμφανίζοντας μάλιστα πολλές δυνατότητες εφαρμογής σε βιομηχανική κλίμακα λόγω των ταχύτερων διεργασιών, της περιορισμένης αποδόμησης των θερμοευαίσθητων συστατικών, της μικρότερης κατανάλωσης διαλύτη και ενέργειας και συνολικά του λογικού κόστους.

Η τεχνολογία μικροκυμάτων χρησιμοποιεί ηλεκτρομαγνητικά κύματα (που παράγονται από ένα ηλεκτρικό και ένα μαγνητικό πεδίο, τα οποία ταλαντώνονται κάθετα το ένα με το άλλο), συχνότητας 300 MHz-300 GHz, που αντιστοιχούν σε μήκη κύματος από 1 m έως 1 mm. Είναι μία μη ιονίζουσα ακτινοβολία, χωρίς επίπτωση στη μοριακή δομή, και όσον αφορά την επίδραση στις διαδικασίες εκχύλισης αυτή σχετίζεται αυστηρά με τη μετατροπή της ηλεκτρομαγνητικής ενέργειας σε θερμότητα. Τα μικροκύματα μπορούν να διεισδύσουν σε ορισμένα υλικά τα οποία μπορεί να θερμανθούν ανάλογα με τις διηλεκτρικές τους ιδιότητες. Η θέρμανση με μικροκύματα σε μοριακό επίπεδο γίνεται με δύο μηχανισμούς:

- ιοντική αγωγιμότητα (θερμότητα από την αντίσταση στη μετανάστευση ιόντων υπό την επίδραση του μεταβαλλόμενου ηλεκτρικού πεδίου) και
- περιστροφή δίπολων (θερμότητα από την τριβή που προκαλείται από τη διαφορά φάσης μεταξύ του προσανατολισμού του πεδίου σε σχέση με το δίπολο, που τείνει να ευθυγραμμιστεί με το ηλεκτρικό πεδίο).

Στις περισσότερες περιπτώσεις αυτά συμβαίνουν ταυτόχρονα.

Η εκχύλιση με μικροκύματα διαφέρει από τη συμβατική μέθοδο στο ότι η μεταφορά θερμότητας και μάζας είναι στην ίδια κατεύθυνση καθώς η ενέργεια μεταφέρεται απευθείας σε υλικά μέσω μοριακών αλληλεπιδράσεων με το ηλεκτρομαγνητικό πεδίο, ενώ στις συμβατικές μεθόδους η θερμότητα και η μεταφορά μάζας είναι σε αντίθετες κατευθύνσεις.



Εικόνα 3.2. Κατεύθυνση μεταφοράς θερμότητας και μάζας κατά τη συμβατική εκχύλιση και κατά την εκχύλιση με μικροκύματα (Seoane, Flórez-Fernández, Piñeiro, & González, 2017)

Επομένως, η εκχύλιση με τη βοήθεια μικροκυμάτων θα μπορούσε να διευκολυνθεί από τον συνεργιστικό τρόπο μεταφοράς μάζας και θερμότητας προς την ίδια κατεύθυνση, από το εσωτερικό της στερεάς μήτρας (που θερμαίνεται άμεσα) προς τα έξω.

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

Η επιτυχία της εκχύλισης υποβοηθούμενης από μικροκύματα (ΜΑΕ) αποδίδεται στη διάσπαση των δεσμών υδρογόνου και στην επαγόμενη καταστροφή των κυτταρικών τοιχωμάτων, επιτρέποντας τη μετανάστευση των διαλυμένων ιόντων και αυξάνοντας το πορώδες της μήτρας. Τα παραπάνω έχουν ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση των ενδοκυτταρικών ουσιών, με ταυτόχρονη αυξημένη διείσδυση του διαλύτη στη μήτρα και συνεπώς ευκολότερη εξαγωγή των επιθυμητών ενώσεων.

Η αποτελεσματικότητα της διεργασίας σχετίζεται με τις συνθήκες λειτουργίας που επιλέγονται. Οι παράγοντες που επηρεάζουν την απόδοση της εκχύλισης είναι η σύσταση του διαλύτη, ο λόγος στερεού προς υγρό, η θερμοκρασία, ο χρόνος εκχύλισης, η ισχύς των μικροκυμάτων, τα χαρακτηριστικά της μήτρας καθώς και η περιεκτικότητά της σε νερό.

Η σωστή επιλογή διαλύτη είναι πολύ σημαντική για την επίτευξη μίας επιτυχημένης διαδικασίας εκχύλισης. Κατά την επιλογή του διαλύτη, θα πρέπει να ληφθούν υπόψη οι ιδιότητες απορρόφησης μικροκυμάτων του διαλύτη, η αλληλεπίδραση του διαλύτη με τη μήτρα και η διαλυτότητα της επιθυμητής ουσίας στον διαλύτη. Ιδανικά, ο διαλύτης πρέπει να έχει υψηλή εκλεκτικότητα ως προς την επιθυμητή ουσία που πρόκειται να εκχυλιστεί, σε αντίθεση με τα ανεπιθύμητα συστατικά της μήτρας. Μια άλλη σημαντική πτυχή είναι η συμβατότητα του διαλύτη εκχύλισης με τη μέθοδο εκχύλισης που χρησιμοποιείται. Εάν το μόριο του διαλύτη δεν είναι ικανό να απορροφήσει την ενέργεια των μικροκυμάτων δεν θα υπάρξει θέρμανση και επομένως ούτε και αποτελεσματική εκχύλιση.

Ο όγκος του διαλύτη μπορεί να αποτελέσει σημαντική παράμετρο για αποτελεσματικές εκχυλίσεις. Ο όγκος του διαλύτη πρέπει να είναι επαρκής έτσι ώστε να διασφαλίζεται ότι ολόκληρο το δείγμα βυθίζεται, ειδικά σε περιπτώσεις όπου η μήτρα διογκώνεται κατά τη διαδικασία της εκχύλισης. Γενικά, σε συμβατικές τεχνικές εκχύλισης, ένας μεγαλύτερος όγκος διαλύτη θα αυξήσει την απόδοση, αλλά στην εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα ο μεγαλύτερος όγκος διαλύτη μπορεί να οδηγήσει σε χαμηλότερες αποδόσεις εκχύλισης. Στον τομέα της τεχνολογίας των τροφίμων, έχουν εκχυλιστεί ελεύθερα αμινοξέα από διάφορα τρόφιμα. Μάλιστα, σε δείγματα που περιείχαν σχετικά υψηλές ποσότητες πρωτεϊνών και

λιπαρών, προέκυψαν υψηλότερες αποδόσεις όταν η εκχύλιση πραγματοποιήθηκε με μικρούς όγκους διαλύτη. Ο όγκος του διαλύτη δεν επηρέασε την αλληλουχία των αμινοξέων.

Η πιο διερευνηθείσα παράμετρος στην εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα είναι η θερμοκρασία εκχύλισης, γεγονός το οποίο δεν προκαλεί έκπληξη, καθώς η θερμοκρασία είναι ένας σημαντικός παράγοντας που συμβάλλει στην αύξηση των αποδόσεων, όχι μόνο στην εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα αλλά σε όλες τις μεθόδους εκχύλισης. Οι αυξημένες θερμοκρασίες οδηγούν σε βελτιωμένη απόδοση εκχύλισης, καθώς η εκρόφηση ενώσεων από τις ενεργές θέσεις της μήτρας αυξάνεται. Οι διαλύτες έχουν μεγαλύτερη ικανότητα διαλυτοποίησης των ενώσεων σε υψηλότερες θερμοκρασίες, ενώ επίσης η επιφανειακή τάση και το ιξώδες του διαλύτη μειώνονται με τη θερμοκρασία, γεγονός που θα βελτιώσει τη διείσδυση του διαλύτη στη μήτρα. Ωστόσο, οι υψηλές θερμοκρασίες δεν είναι πάντα επιθυμητές, καθώς μπορεί να επηρεάσουν αρνητικά τις εκχυλιζόμενες ενώσεις (π.χ. μετουσίωση των πρωτεϊνών).

Ο χρόνος εκχύλισης στην εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα είναι πολύ πιο σύντομος σε σύγκριση με τις συμβατικές μεθόδους. Μεγάλοι χρόνοι εκχύλισης μπορεί να οδηγήσουν σε αποικοδόμηση και μετουσίωση των θερμοευαίσθητων ενώσεων του δείγματος.

Η επιλογή της ισχύος των μικροκυμάτων αποτελεί επίσης πολύ σημαντικό παράγοντα για την εκχύλιση. Η ισχύς πρέπει να επιλέγεται με σκοπό την ελαχιστοποίηση του χρόνου που απαιτείται για την επίτευξη της επιθυμητής θερμοκρασίας του δείγματος κατά την εκχύλιση, καθώς η αυξημένη χρονική καταπόνηση του δείγματος από τα μικροκύματα μπορεί να επηρεάσει αρνητικά τις εκχυλιζόμενες ενώσεις. Η ισχύς των μικροκυμάτων, ο χρόνος εκχύλισης και ο όγκος του διαλύτη είναι αλληλοσυνδεόμενοι παράγοντες, οι οποίοι επηρεάζουν ποιοτικά αλλά και ποσοτικά τη διαδικασία της εκχύλισης.

Η υγρασία της μήτρας βελτιώνει τις αποδόσεις εκχύλισης σε πολλές περιπτώσεις. Η επίδραση αυτής της παραμέτρου εξαρτάται επίσης από το διαλύτη εκχύλισης που χρησιμοποιείται στη μέθοδο. Εκτός από την αύξηση της πολικότητας του διαλύτη εκχύλισης, το νερό που προστίθεται (ή απαντάται φυσικά στο δείγμα) θα επιδρά στην ικανότητα της απορρόφησης των μικροκυμάτων και επομένως θα διευκολύνει τη διαδικασία θέρμανσης. Μπορεί επίσης να επηρεάσει τις αλληλεπιδράσεις επιθυμητών ενώσεων-μήτρας, καθιστώντας τις ενώσεις περισσότερο διαθέσιμες για το διαλύτη εκχύλισης.

Όσον αφορά την εκχύλιση πρωτεϊνών με τη βοήθεια μικροκυμάτων, οι Phongthai, Lim και Rawdkuen (2016), χρησιμοποίησαν τη μέθοδο σε πίτουρο ρυζιού και απέδειξαν την ανωτερότητά της έναντι της συμβατικής εκχύλισης στην απόδοση εκχύλισης πρωτεϊνών, την πεπτικότητα και τις λειτουργικές τους ιδιότητες. Ο Ochoa-Rivas και οι συνεργάτες του (2017) απέδειξαν ότι τα μικροκύματα (725W για 8 min) που εφαρμόστηκαν για την εξαγωγή πρωτεϊνών από απειλαιωμένο άλευρο αραχίδας (φιστικιών) παρείχαν απόδοση εκχύλισης 55%, το οποίο συνολικά είχε ως αποτέλεσμα 77% περισσότερη πρωτεΐνη σε σύγκριση με τη συμβατική εκχύλιση (χωρίς χρήση μικροκυμάτων). Επίσης η εκχύλιση με μικροκύματα (675W, 80 °C) σε

γάλα σόγιας (Varghese, Pare, 2019) οδήγησε σε σημαντική αύξηση της απόδοσης εκχύλισης (24%) και της περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες (44,4%) του επεξεργασμένου (με μικροκύματα) γάλακτος σόγιας, σε σύγκριση με το συμβατικά επεξεργασμένο γάλα σόγιας. Τα χαρακτηριστικά των πρωτεϊνών όπως η διαλυτότητα και η πεπτικότητα των εκχυλισμένων πρωτεϊνών του γάλακτος σόγιας έδειξαν επίσης σημαντική αύξηση σε σχέση με τις συμβατικά επεξεργασμένες πρωτεΐνες από γάλα σόγιας. Ο Shin και οι συνεργάτες του αξιολόγησαν την αποτελεσματικότητα της εκχύλισης πρωτεϊνών με μικροκύματα από δείγματα ανθρώπινων μαλλιών, τα οποία αποτελούνται από περίπου 90 % πρωτεΐνες. Κατά την εκχύλιση, τα δείγματα εκτέθηκαν σε ακτινοβολία μικροκυμάτων (600 W) για καθορισμένο χρόνο (5-120 λεπτά). Η απόδοση εκχύλισης των δειγμάτων που εκτέθηκαν στα μικροκύματα για 60 λεπτά, ήταν παρόμοια με εκείνη των δειγμάτων που είχαν θερμανθεί στους 50 °C για 24 ώρες χρησιμοποιώντας συμβατική μέθοδο εκχύλισης. Η μέγιστη απόδοση εκχύλισης για την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα επιτεύχθηκε μετά από 120 λεπτά (34,25 %), ενώ με τη συμβατική μέθοδο μετά από 24 ώρες (27,32 %). Οι παρατηρήσεις αυτές έδειξαν ότι σε σχέση με τη συμβατική μέθοδο, η εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα αύξησε τη μέγιστη απόδοση εκχύλισης και μείωσε σημαντικά το χρόνο εκχύλισης. Ωστόσο, κατά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα παρατηρήθηκε μερική μετουσίωση πρωτεϊνών.

Η χρήση των μικροκυμάτων δεν επηρεάζει την πρωτοταγή, αλλά τη δευτεροταγή δομή των πρωτεϊνών, προκαλώντας βελτίωση ορισμένων λειτουργικών ιδιοτήτων, όπως η ικανότητα απορρόφησης λίπους και νερού, οι αφριστικές και γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες κ.α. Παράλληλα κάποιες άλλες ιδιότητες μειώνονται, όπως η διαλυτότητα νερού και αζώτου και η σταθερότητα των αφρών. Πολλές μελέτες έχουν καταδείξει τα οφέλη των μικροκυμάτων για την εξαγωγή ορισμένων δραστικών ενώσεων από φυτικές πηγές όπως το τριτερπένιο, οι σαπωνίνες και τα αντιοξειδωτικά συστατικά. Επίσης, η χρήση μικροκυμάτων έχει αποδειχθεί αποτελεσματική στην απενεργοποίηση των ενζύμων και άλλων αντιθρεπτικών συστατικών (π.χ. φυτικό οξύ, αναστολείς τρυψίνης, ολιγοσακχαρίτες, υδροκυάνιο), καθώς και στην ελάττωση της δραστηριότητας ορισμένων αλλεργιογόνων ουσιών, εξαιτίας αλλαγών στη δευτεροταγή δομή των σχετικών πρωτεϊνών. Το γεγονός αυτό καταδεικνύει και η έρευνα του Li και των συνεργατών του (2016), σύμφωνα με την οποία προκύπτει ότι η εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα σε σόγια μειώνει τους αλλεργιογόνους και αντιθρεπτικούς παράγοντες της (αναστολείς τρυψίνης).

Συμπερασματικά, η εφαρμογή της εκχύλισης υποβοηθούμενης από μικροκύματα σε φυσικά προϊόντα αποτελεί μία αξιόπιστη μέθοδο με σταθερότητα, δραστική μείωση του χρόνου εκχύλισης και σε ορισμένες περιπτώσεις αφορά την εφαρμογή σε διεργασίες χωρίς διαλύτες (Pojić, Mišan, & Tiwari, 2018; Seoane, Flórez-Fernández, Piñeiro, & González, 2017; Venturelli, Brighenti, Mascolo, & Pellati, 2019; Veggi, Martinez & Meireles, 2012; Varghese & Pare, 2019; Elhag, Elhag, Ajit, & Sulaiman, 2020; Phongthai, Lim, & Rawdkuen, 2016; Eskilsson & Björklund, 2000).

3.3.2 Εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους

Η τεχνολογία εκχύλισης με τη βοήθεια υπερήχων έχει χρησιμοποιηθεί αποτελεσματικά στη χημική βιομηχανία και στη βιομηχανία τροφίμων ως μία πράσινη τεχνική εκχύλισης, η οποία όχι μόνο μπορεί να εφαρμοστεί για τη βελτίωση της ποιότητας, του κόστους, της αποτελεσματικότητας και της ασφάλειας των προϊόντων, αλλά προσφέρει και τη δυνατότητα για την παραλαβή βιοδραστικών ενώσεων διατηρώντας τις περισσότερες λειτουργικές τους ιδιότητες.

Οι υπέρηχοι είναι ηχητικά, μηχανικά κύματα υψηλής συχνότητας, που υπερβαίνουν τα 20kHz, τα οποία είναι περίπου το όριο της ανθρώπινης ικανότητας ακοής. Η πηγή του υπέρηχου είναι συνήθως ένα δονούμενο σώμα, το οποίο κάνει το περιβάλλον μέσο να δονείται και στη συνέχεια το κύμα υπερήχων μεταφέρει ενέργεια σε άλλα γειτονικά σωματίδια. Οι κύριες φυσικές παράμετροι που παίζουν ζωτικό ρόλο στη διαδικασία περιλαμβάνουν την ισχύ, τη συχνότητα και το πλάτος του κύματος.

Η διάδοση υπερήχων σε στερεά/υγρά μέσα, οδηγεί σε δόνηση, σύνθλιψη, ανάμιξη και κυρίως στο φαινόμενο της ακουστικής σπηλαιώσης. Αυτά τα φαινόμενα μπορούν να διαρρήξουν το κυτταρικό τοίχωμα και να επιτευχθεί η εκχύλιση συστατικών. Η ακουστική σπηλαιώση είναι ένα μοναδικό φυσικό φαινόμενο που προκαλείται από τη διάδοση υπερήχων σε ένα μέσο. Δημιουργείται αρνητική πίεση η οποία προκαλεί μία σειρά συμπίεσεων και αραιώσεων στα μόρια του μέσου. Αυτές οι εναλλασσόμενες αλλαγές πίεσης προκαλούν το σχηματισμό και τελικά την κατάρρευση των φυσαλίδων σε ένα υγρό μέσο. Αυτό το φαινόμενο σχηματισμού, διόγκωσης και κατάρρευσης των φυσαλίδων σε ακτινοβολημένα με υπέρηχους υγρά είναι γνωστό ως ακουστική σπηλαιώση.

Η εσωτερική κατάρρευση των φυσαλίδων σπηλαιώσης, εξαιτίας του περιορισμένου χώρου που υπάρχει για να διασταλούν, οδηγεί σε ασύμμετρη διάσπαση στους πορώδεις σωλήνες του υλικού, με αποτέλεσμα τη δημιουργία ρευμάτων ροής του διαλύτη (μικρο-ροών) που συνοδεύονται από έντονο στροβιλισμό. Οι κοιλότητες στην επιφάνεια του προϊόντος δέχονται πιέσεις από τις μικρο-ροές που έχουν ως επακόλουθο την αύξηση του πορώδους της μήτρας, την αποφλοίωση της επιφάνειας, τη διάβρωση και τη διάσπαση των σωματιδίων. Επιπλέον, η εσωτερική κατάρρευση των φυσαλίδων σπηλαιώσης σε ένα υγρό μέσο οδηγεί σε μακρο-στροβιλισμούς, με επακόλουθη μείωση του μεγέθους των σωματιδίων και αύξηση του ρυθμού και της απόδοσης εκχύλισης μέσω μεγαλύτερης μεταφοράς μάζας και διάχυσης. Επομένως δημιουργούνται αναστρέψιμοι και μη αναστρέψιμοι πόροι στην κυτταρική μεμβράνη, προκαλώντας μικρο-ρωγμές και δημιουργώντας κανάλια, κάτι που έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση κυτταρικού περιεχομένου στο εκχυλιστικό μέσο, ταυτόχρονα με τη διάχυση μεγαλύτερων ποσοτήτων διαλύτη στη μήτρα.

Χρησιμοποιώντας υπέρηχους, οι εκχυλίσεις μπορούν να ολοκληρωθούν σε λίγα λεπτά, με υψηλή αναπαραγωγικότητα, μειώνοντας την κατανάλωση διαλύτη, απλοποιώντας τον χειρισμό και την επεξεργασία, αποδίδοντας υψηλότερη καθαρότητα του τελικού προϊόντος,

εξαλείφοντας τη μετέπειτα επεξεργασία των υπολειμμάτων και καταναλώνοντας λιγότερη ενέργεια σε σχέση με μία συμβατική μέθοδο εκχύλισης. Επιπροσθέτως, η τεχνολογία αυτή αυξάνει τη διαδικασία μεταφοράς μάζας και ενέργειας, προσφέρει επιλεκτική εκχύλιση και αποτρέπει αποτελεσματικά την καταστροφή του δραστικού συστατικού, λόγω μειωμένων θερμοκρασιών εκχύλισης. Ένας μεγάλος αριθμός πρόσφατων μελετών έδειξε ότι η επεξεργασία με υπέρηχους βελτιώνει σημαντικά τις φυσικοχημικές και κάποιες λειτουργικές ιδιότητες του τελικού προϊόντος (π.χ. σε πρωτεϊνικό υπερσυμπύκνωμα σόγιας, SPI).

Η εκχύλιση με υπέρηχους έχει χρησιμοποιηθεί για την ανάκτηση πολύτιμων πρωτεϊνών από πολλά παραπροϊόντα της βιομηχανίας τροφίμων. Ο Zhu και οι συνεργάτες του (2009), μελέτησαν την εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους από απειαιωμένους σπόρους σίτου. Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι η απόδοση της εκχύλισης αυξήθηκε σε σχέση με τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης, φτάνοντας μάλιστα σε τελική απόδοση εκχύλισης 45,6 %. Ο Tang και οι συνεργάτες του (2010), μελέτησαν την επίδραση της εκχύλισης υποβοηθούμενης με υπέρηχους για παραλαβή πρωτεϊνών από σιτηρά ζυθοποιίας. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι με χρήση υπερήχων (88,2 W, λόγο στερεού προς υγρό 2/100 και χρόνο 81,4 min) η απόδοση εκχύλισης αυξήθηκε σε σχέση με τη συμβατική μέθοδο. Ο Ochoa-Rivas και οι συνεργάτες του (2017), μελέτησαν την παραλαβή πρωτεϊνών με εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους από απειαιωμένο άλευρο αραχίδας. Η εφαρμογή υπερήχων (24 KHz για 15 min) αύξησε την απόδοση της εκχύλισης, σε σχέση με τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης κατά 136 % και το προϊόν που προέκυψε είχε καθαρότητα 86 %. Ωστόσο, η εφαρμογή των υπερήχων επηρέασε τις λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνών, καθώς αυτές εμφάνισαν μειωμένη υδατοδιαλυτότητα και μειωμένη γαλακτωματοποιητική δράση. Αντίθετα, η ικανότητα απορρόφησης νερού και η ικανότητα σχηματισμού αφρού αυξήθηκαν με τη χρήση των υπερήχων. Ο Preece και οι συνεργάτες του (2017), μελέτησαν την εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους για παραλαβή πρωτεϊνών από πολτό σόγιας. Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι με την εφαρμογή των υπερήχων για 1 min, αυξήθηκε η απόδοση εκχύλισης κατά 10 % σε σχέση με τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης. Σε πιλοτική εργοστασιακή κλίμακα προέκυψε σημαντική βελτίωση της απόδοσης εκχύλισης πρωτεΐνης έως και 4,2% μετά την επεξεργασία με υπέρηχους. Επίσης, με την εφαρμογή των υπερήχων βελτιώθηκε και η διαλυτότητα των πρωτεϊνών στο νερό. Ο Cui και οι συνεργάτες του (2020) απέδειξαν ότι μετά την επεξεργασία με υπέρηχους, το μέγεθος των σωματιδίων της πρωτεΐνης μειώθηκε και η δομή της πρωτεΐνης έγινε χαλαρότερη. Η αλλαγή στη δομή συσχετίστηκε σημαντικά με την ικανότητα γαλακτωματοποίησης των πρωτεϊνών και τη σταθερότητα του γαλακτώματος. Τέλος, η εκχύλιση πρωτεϊνών με χρήση υπερήχων από βιομηχανικά απειαιωμένο άλευρο σόγιας έχει μελετηθεί και από τον Βλάσση (2019) και την Σκέντζου (2020) στο εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου. Τα αποτελέσματα της έρευνας του Βλάσση έδειξαν ότι με την εφαρμογή υπερήχων (37 KHz, λόγο στερεού προς υγρό 1/20, 20 min) η απόδοση εκχύλισης αυξήθηκε σε σχέση με τη συμβατική μέθοδο εκχύλισης, και προέκυψε απόδοση εκχύλισης 53,38 %. Το τελικό προϊόν είχε πρωτεϊνικό περιεχόμενο 89,17%. Στην έρευνα της Σκέντζου οι μεγαλύτερες αποδόσεις της διεργασίας εμφανίζονται σε συχνότητα υπερήχων 37 kHz, για χρόνο εκχύλισης

20 min και λόγο στερεού προς υγρό 1/25, δηλαδή απόδοση εκχύλισης 45,60 % και ολική απόδοση 25,84 %. Όσον αφορά την περιεκτικότητα των υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνες, μεγαλύτερες περιεκτικότητες εμφανίζονται για χρόνους εκχύλισης 15 και 20 min, με τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα να είναι 93,34 %, για χρόνο εκχύλισης 15 min και λόγο στερεού προς υγρό 1/15.

Ωστόσο, πρέπει να σημειωθούν και ορισμένα μειονεκτήματα της πρωτεϊνικής εκχύλισης υποβοηθούμενης με υπέρηχους, τα οποία οφείλονται κυρίως στην εφαρμογή υψηλής ισχύος και παρατεταμένων χρόνων έκθεσης στους υπέρηχους και αντικατοπτρίζονται στις πιθανές αλλαγές στη δομή των πρωτεϊνών, στη μετουσίωση των πρωτεϊνών και στην υποβάθμιση κάποιων λειτουργικών ιδιοτήτων (π.χ. μειωμένη ικανότητα αφρισμού).

Γενικά, αρκετές κατηγορίες συστατικών τροφίμων όπως αρωματικές και χρωστικές ουσίες, αντιοξειδωτικά και άλλες οργανικές και ανόργανες ενώσεις έχουν εκχυλιστεί αποτελεσματικά από μία ποικιλία μητρών, με τη βοήθεια των υπέρηχων. Η εφαρμογή της τεχνολογίας υπέρηχων στην επεξεργασία και εκχύλιση των πρωτεϊνών μπορεί να εφαρμοστεί σε ποτά, γαλακτοκομικά προϊόντα πρωτεΐνης και στην έρευνα και ανάπτυξη πρωτεϊνικών προϊόντων υψηλής θρεπτικής αξίας (Chemat et al., 2017; Pojić, Mišan, & Tiwari, 2018; Cui et al., 2020; Wen et al., 2018).

3.3.3 Εκχύλιση υποβοηθούμενη με ένζυμα

Η εφαρμογή της εκχύλισης υποβοηθούμενης από ένζυμα βασίζεται στη δράση συγκεκριμένων ενζύμων που αποικοδομούν τις κυτταρίνες, τις ημικυτταρίνες και την πηκτίνη, δηλαδή τα κύρια συστατικά των τοιχωμάτων των φυτικών κυττάρων και των ινών. Οι κυτταρινάσες, οι πηκτινάσες και οι ημικυτταρινάσες είναι τέτοια ένζυμα και το αποτέλεσμα της δράσης τους είναι η διαταραχή της δομικής ακεραιότητας των κυτταρικών τοιχωμάτων και συνεπώς η αύξηση της διαπερατότητάς τους, με συνέπεια τη βελτίωση της απόδοσης εκχύλισης. Επίσης, οι πρωτεάσες χρησιμοποιούνται για να υδρολύσουν μέρος της πρωτεΐνης, με σκοπό να αυξήσουν τη διαλυτότητά της. Η εκχύλιση πρωτεϊνών υποβοηθούμενη με ένζυμα χαρακτηρίζεται από μεγάλους χρόνους επεξεργασίας, υψηλό λειτουργικό κόστος, μη αναστρέψιμη διάρρηξη υδατανθράκων και πρωτεϊνών της μήτρας, και ανάγκη προσεκτικής προσαρμογής των συνθηκών της διαδικασίας (pH και θερμοκρασία). Ωστόσο, θεωρείται μία ήπια μέθοδος εκχύλισης, με χαμηλότερες περιβαλλοντικές επιπτώσεις, υψηλότερη ανάκτηση, μειωμένη χρήση διαλύτη και χαμηλότερη κατανάλωση ενέργειας σε σύγκριση με την όξινη και αλκαλική εκχύλιση. Επίσης, τα προϊόντα που λαμβάνονται είναι υψηλής ποιότητας και κατάλληλα για ανθρώπινη κατανάλωση.

Τα ένζυμα χρησιμοποιούνται για την επεξεργασία φυτικών υλικών, συνήθως πριν από τις συμβατικές μεθόδους εκχύλισης. Ορισμένες μελέτες σχετικά με εκχυλίσματα υποβοηθούμενες από ένζυμα σε άλευρα σόγιας έδειξαν πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα όπως αυξημένη απόδοση παραλαβής πρωτεΐνης (Jung et al., 2006) και ελαίου (Rosenthal et al., 2001) καθώς και βελτίωση στις θρεπτικές και λειτουργικές ιδιότητες του πρωτεϊνικού εκχυλίσματος (Wei et al.,

2018). Ωστόσο, ορισμένοι από αυτούς δεν ανέφεραν κάποιο ευεργετικό αποτέλεσμα (Rosset et al., 2014), ή ακόμη και υπό ορισμένες συνθήκες, βρήκαν ελαφρώς μειωμένη επίδραση (Rosenthal et al., 2001) στην απόδοση πρωτεΐνης κατά την ενζυματική επεξεργασία του αλεύρου σόγιας (Pojić, Mišan, & Tiwari, 2018; Perović, Knežević Jugović, & Antov, 2020).

3.3.4 Εκχύλιση υποβοηθούμενη με παλμική ηλεκτρική ενέργεια

Έχουν προκύψει διαφορετικοί τύποι τεχνολογίας παλμικής ηλεκτρικής ενέργειας (PEE) για την επίτευξη διαδικασιών διαχωρισμού, εκχύλισης, συμπίεσης, κατάψυξης, διάχυσης και ξήρανσης σε διάφορες εφαρμογές τροφίμων. Χρησιμοποιούνται βραχείας διάρκειας (από αρκετά νανοδευτερόλεπτα έως αρκετά χιλιοστά του δευτερολέπτου), μεγάλου εύρους ηλεκτρικοί παλμοί (από 100 έως 300 V/cm έως 10-50 kV/cm), για να προκληθούν δομικές αλλαγές στη μήτρα.

Μεταξύ των διαφορετικών τεχνικών παλμικής ηλεκτρικής ενέργειας (PEE), τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία (PEF), η παλμική ωμική θέρμανση (POH) και οι ηλεκτρικές εκκενώσεις υψηλής τάσης (HVED) έχουν αναδειχθεί ως οι πιο ενδιαφέρουσες τεχνικές για εφαρμογή στη βιομηχανία τροφίμων. Η εφαρμογή παλμικής ηλεκτρικής ενέργειας ως προκατεργασία για την εκχύλιση πρωτεϊνών είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της ποσότητας οργανικών διαλυτών, του χρόνου και της θερμοκρασίας εκχύλισης, αποδεικνύοντας τη δυνατότητα αυτών των τεχνικών για βιομηχανική χρήση.

Με τη δράση των παλμικών ηλεκτρικών πεδίων (PEF), δηλαδή την έκθεση της μήτρας σε εξωτερικό ηλεκτρικό πεδίο, εμφανίζεται ρήξη των κυτταρικών μεμβρανών, επιτρέποντας μία ψυχρή διάχυση βιοδραστικών συστατικών, αυξάνοντας την ηλεκτρική αγωγιμότητα και τη διαπερατότητα του ενδοκυτταρικού υλικού. Τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία ορίζονται συνήθως ως μία μη θερμική επεξεργασία, η οποία έχει διάφορα οφέλη όπως τη βελτίωση της ποιότητας των τροφίμων, την παράταση της διάρκειας ζωής και την απενεργοποίηση μικροοργανισμών και ενζύμων χωρίς αύξηση της θερμοκρασίας των δειγμάτων. Η αποτελεσματικότητα της επεξεργασίας με παλμικό ηλεκτρικό πεδίο εξαρτάται από διάφορες παραμέτρους όπως η ισχύς του πεδίου, η ενέργεια εισόδου, ο αριθμός των παλμών, η θερμοκρασία επεξεργασίας και οι ιδιότητες του προς επεξεργασία υλικού. Ωστόσο, η επεξεργασία με παλμικά ηλεκτρικά πεδία δεν μπορεί να επηρεάσει σημαντικά τη δευτερογενή δομή των πρωτεϊνών και συνεπώς δεν είναι σε θέση να μεταβάλλει τις αλλεργιογόνες, αλλά και τις ανεπιθύμητες λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνών.

Η παλμική ωμική θέρμανση (POH) χρησιμοποιεί την ηλεκτρική αντίσταση των τροφίμων για να μετατρέψει άμεσα την ηλεκτρική ενέργεια σε θερμότητα. Εκτός από τη θέρμανση, το εφαρμοζόμενο ηλεκτρικό πεδίο υπό ωμική θέρμανση προκαλεί ηλεκτροδιάτρηση κυτταρικών μεμβρανών, σημαντική αύξηση της ηλεκτρικής αγωγιμότητας και διαπερατότητάς τους που επηρεάζουν θετικά τα ποσοστά εκχύλισης διαφορετικών βιομορίων. Οι πιθανές εφαρμογές

αυτής της τεχνικής σε τεχνολογίες εκχύλισης είναι πολύ σημαντικές ειδικά για πολύ κολλώδη (ιξώδη) υλικά ή υγρά που περιέχουν στερεά σωματίδια.

Οι ηλεκτρικές εκκενώσεις υψηλής τάσης (HVED) προκαλούν μία πιο εκτεταμένη καταπόνηση στο προϊόν, επηρεάζοντας τα κυτταρικά τοιχώματα καθώς και τις μεμβράνες. Αυτή η τεχνολογία βασίζεται στο φαινόμενο της ηλεκτρικής κατάρρευσης στο νερό, το οποίο προκαλεί φυσικές και χημικές διεργασίες. Αυτά τα φαινόμενα επηρεάζουν το κύτταρο, ενισχύοντας την απελευθέρωση ενδοκυτταρικών συστατικών.

Οι περισσότερες μελέτες σχετικά με την εφαρμογή αυτών των τεχνολογιών εστιάζονται σε φρούτα και λαχανικά για την εξαγωγή πολυφαινόλων και σακχάρων. Μόνο ένας μικρός αριθμός ερευνών έχει πραγματοποιηθεί χρησιμοποιώντας ελαιούχους σπόρους (Pojić, Mišan, & Tiwari, 2018; Sarkis et al., 2015; Hossain et al., 2015).

3.3.5 Εκχύλιση υποβοηθούμενη με επεξεργασία υψηλής υδροστατικής πίεσης

Η συνηθέστερη εφαρμογή της επεξεργασίας υψηλής υδροστατικής πίεσης (High Hydrostatic Pressure) στη βιομηχανία τροφίμων είναι η μεγάλης κλίμακας μικροβιακή κυτταρική διάσπαση, η γαλακτωματοποίηση και η βελτίωση της υφής του κρέατος. Επίσης έχει τη δυνατότητα να αδρανοποιεί τα ένζυμα, χωρίς να επηρεάζει τη θρεπτική αξία του τροφίμου και τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά. Αυτό είναι ουσιαστικά και το μεγαλύτερο πλεονέκτημα της μεθόδου αυτής. Η τεχνική εκχύλισης με υψηλή υδροστατική πίεση εφαρμόστηκε σε κάποιες βιοδραστικές ενώσεις και σε ορισμένες πρωτεΐνες.

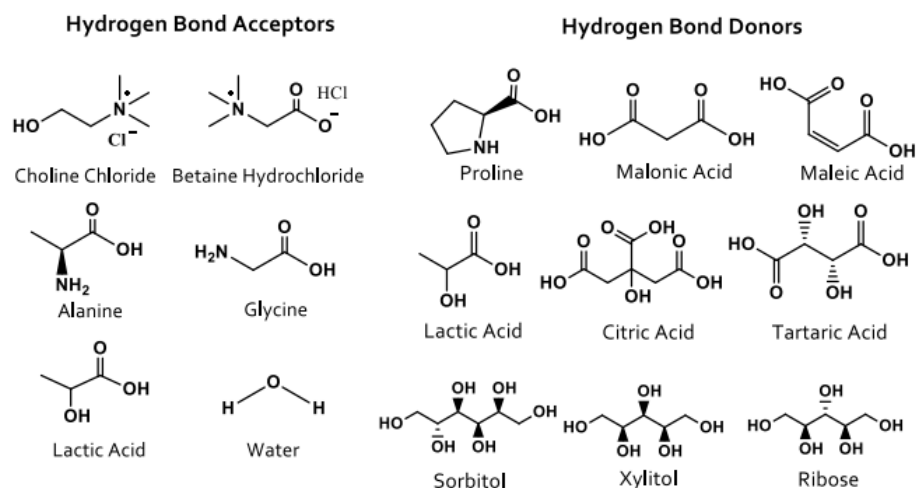
Η υψηλή υδροστατική πίεση (HHP) είναι μία αναδυόμενη τεχνολογία που συνίσταται στην εφαρμογή υψηλών πιέσεων (της τάξης των MPa) σε μία μήτρα. Κατά τη διάρκεια της εκχύλισης με υψηλή υδροστατική πίεση, η πίεση προκαλεί διαρροή αέρα στα κενά των φυτικών κυττάρων, καταστρέφοντας την κυτταρική μεμβράνη και επιτρέποντας την επαφή με τον διαλύτη εκχύλισης. Η υψηλή υδροστατική πίεση επηρεάζει και τους μοριακούς δεσμούς. Γενικότερα, ηλεκτροστατικές και υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις επηρεάζονται σημαντικά από την πίεση, ενώ οι ομοιοπολικοί δεσμοί παραμένουν ανεπηρέαστοι. Η υψηλή υδροστατική πίεση μπορεί να προκαλέσει μη αναστρέψιμη μετουσίωση των πρωτεϊνών, όταν υπερβεί κάποια συγκεκριμένη τιμή. Η δράση της πίεσης στις πρωτεΐνες είναι σημαντική για τις κυτταρικές διεργασίες, καθώς οι πρωτεΐνες αποτελούν το 25-55% του ξηρού βάρους του κυττάρου. Η πίεση δεν έχει επίδραση στην πρωτοταγή δομή των πρωτεϊνών, λόγω της σταθερότητας των ομοιοπολικών δεσμών που απαντώνται σε αυτήν, επηρεάζει μέτρια τη δευτεροταγή, αλλά επιδρά κυρίως στην τριτοταγή και στην τεταρτοταγή δομή τους, οι οποίες σταθεροποιούνται μέσω ηλεκτροστατικών δεσμών και υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων. Γενικότερα, η επεξεργασία με υψηλή υδροστατική πίεση επηρεάζει κυρίως τις μεμβράνες και τις πρωτεΐνες των κυττάρων του τροφίμου.

Ενδεικτικά, η τεχνολογία HHP αποδείχθηκε χρήσιμη στην τροποποίηση της δομής (αναστρέψιμης ή μη) των αλλεργιογόνων πρωτεϊνών. Ο Li και οι συνεργάτες του (Li, Zhu, Zhou,

& Peng, 2012) έδειξαν τη μείωση της αλλεργιογένεσης του πρωτεϊνικού υπερσυμπυκνώματος σόγιας (SPI) κατά 48,6%, κατά τη συμπίεση στα 300MPa για 15 min (Pojić, Mišan, & Tiwari, 2018; Cascaes Teles et al., 2021; Karatzas K.A.G., 2004).

3.3.6 Εκχύλιση με χρήση ευτηκτικών διαλυτών

Η μεγαλύτερη έμφαση στην προστασία του περιβάλλοντος τα τελευταία χρόνια και η ιδέα της πράσινης χημείας, εφαρμόστηκε και σε τεχνολογίες εκχύλισης και αναπόφευκτα οδήγησε στη μελέτη εναλλακτικών και ανανεώσιμων φυσικών διαλυτών, οι οποίοι παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Η σύνθεση και η χρήση πράσινων διαλυτών έχει προσελκύσει την προσοχή πολλών επιστημόνων. Οι βαθείς ευτηκτικοί διαλύτες (DES) είναι νέοι πράσινοι διαλύτες, οι οποίοι περιέχουν αποδέκτες δεσμών υδρογόνου (HBA), όπως το χλωρίδιο της χολίνης και η βεταΐνη και δότες δεσμών υδρογόνου (HBD), όπως αμίνες, αλκοόλες και οξέα. Τέτοια φυσικά συστατικά στην κατάλληλη αναλογία σχηματίζουν ένα ευτηκτικό μίγμα με χαμηλότερο σημείο τήξης από αυτό του καθενός επιμέρους συστατικού. Ειδικότερα, στην περίπτωση συνδυασμού ορισμένων συστατικών που υπάρχουν στη φύση και παίζουν κρίσιμο ρόλο στις μεταβολικές διεργασίες των κυττάρων όπως η χλωριούχος χολίνη, η ουρία, οργανικά οξέα και σάκχαρα, το μίγμα DES ονομάζεται φυσικός βαθύς ευτηκτικός διαλύτης (NADES). Οι NADES διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο ως υγρή φάση για διαλυτοποίηση, αποθήκευση και μεταφορά μη υδατοδιαλυτών μεταβολιτών σε ζωντανά κύτταρα και οργανισμούς.



Εικόνα 3.3. Οι συνηθέστεροι αποδέκτες και δότες δεσμών υδρογόνου

Σε σύγκριση με τους παραδοσιακούς οργανικούς διαλύτες, οι βαθείς ευτηκτικοί διαλύτες είναι μη πτητικοί, μη τοξικοί, βιοαποικοδομήσιμοι, θερμικά σταθεροί και επιδεικνύουν εξαιρετική διαλυτότητα. Επιπλέον, οι βαθείς ευτηκτικοί διαλύτες μπορούν να παρασκευαστούν εύκολα με θέρμανση δύο ή τριών συστατικών στη σωστή αναλογία και τα τελικά προϊόντα δεν

χρειάζονται περαιτέρω καθαρισμό. Εξαιτίας των παραπάνω οι βαθέως ευτηκτικοί διαλύτες έχουν θεωρηθεί εξαιρετικά υποκατάστατα των τοξικών οργανικών διαλυτών σε πολλούς τομείς όπως στην κατάλυση, στην εκχύλιση, στην οργανική σύνθεση και στο διαχωρισμό. Υπάρχει ένας αυξανόμενος αριθμός μελετών σχετικά με την εκχύλιση βιοδραστικών φυτικών ενώσεων, συμπεριλαμβανομένων των φλαβονοειδών, των κατεχινών και των φαινολικών οξέων, εφαρμόζοντας NADES ως μέσο εκχύλισης (Meng et al., 2019; Chanioti & Tzia, 2018; Dai, 2013).

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

Όσον αφορά την εκχύλιση πρωτεϊνών με βαθέως ευτηκτικούς διαλύτες, έχουν μελετηθεί έξι είδη ευτηκτικών διαλυτών τα οποία είχαν ως δέκτη υδρογόνου τη βεταΐνη, για την εκχύλιση πρωτεϊνών (Li et al., 2016). Από τη μελέτη τους προέκυψε ότι το σύστημα με τις υψηλότερες αποδόσεις εκχύλισης είναι βεταΐνη-ουρία, από το οποίο προέκυψαν αποδόσεις εκχύλισης έως και 99,82 % υπό τις βέλτιστες συνθήκες. Ο Meng και οι συνεργάτες του (2019), μελέτησαν το διφασικό σύστημα που αποτελείτο από δύο διαφορετικούς ευτηκτικούς διαλύτες (χλωριούχο τετραβουτυλαμμώνιο/πολυπροπυλενογλυκόλη 400 ο ένας και L-προλίνη/ξυλιτόλη ο δεύτερος). Η καλύτερη απόδοση εκχύλισης του ενζύμου της χυμοθρυψίνης που επιτεύχθηκε ήταν 97,30% μετά από βελτιστοποίηση των συνθηκών. Τέλος, μελετήθηκαν τέσσερα είδη ευτηκτικών διαλυτών, τα οποία είχαν ως δέκτη υδρογόνου το χλωρίδιο της χολίνης, για την εκχύλιση αλβουμίνης από βοοειδή (Xu et al., 2015). Από τη μελέτη τους προέκυψε ότι το σύστημα με τις υψηλότερες αποδόσεις εκχύλισης είναι χλωρίδιο της χολίνης-γλυκερόλη, από το οποίο προέκυψαν αποδόσεις εκχύλισης έως και 98,16 %.

Μέρος Β΄: Πειραματικό Μέρος

4. Πειραματικό Μέρος

4.1 Σκοπός

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από σόγια με τη χρήση νέων μεθόδων εκχύλισης, έχοντας ως πρώτη ύλη πρωτεϊνικό άλευρο σόγιας. Ειδικότερα, μελετάται η εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα και γίνεται σύγκριση αυτής με τη συμβατική εκχύλιση χρησιμοποιώντας ως διαλύτη απιονισμένο νερό. Για την παραγωγή των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ακολουθείται η μέθοδος της εκχύλισης και στη συνέχεια της καταβύθισης των εκχυλισμένων πρωτεϊνών στο ισοηλεκτρικό τους σημείο. Οι παράγοντες που εξετάζονται είναι ο χρόνος εκχύλισης και ο λόγος βάρους του εκχυλιζόμενου δείγματος (σόγια) προς τον όγκο του εκχυλιστικού μέσου (απιονισμένο νερό). Επιπλέον, στην εκχύλιση με μικροκύματα εξετάζεται και η ισχύς των μικροκυμάτων. Η διαδικασία αξιολογείται ως προς τις αποδόσεις των επιμέρους σταδίων (απόδοση εκχύλισης, απόδοση καταβύθισης, ολική απόδοση), την περιεκτικότητα των τελικών προϊόντων σε πρωτεΐνες, καθώς και τις λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων (ικανότητα απορρόφησης νερού και ικανότητα απορρόφησης ελαίου). Τέλος, μελετάται η εκχύλιση με ευτηκτικούς διαλύτες και συγκεκριμένα με τους τρεις παρακάτω διαλύτες: Μηλικό οξύ : Φρουκτόζη : Γλυκερόλη, με αναλογία mole 1:1:1 και προσθήκη νερού 30% w/w, Κιτρικό οξύ : Γλυκόζη, με αναλογία mole 1:1 και προσθήκη νερού 30% w/w και Κιτρικό οξύ : Γλυκόζη, με αναλογία mole 1:1 και προσθήκη νερού 45% w/w.

4.2 Πρώτες Ύλες και Αντιδραστήρια

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

Το άλευρο αλέθεται σε λεπτότητα 0,5 mm και φυλάσσεται σε δροσερό και σκιερό μέρος, μέχρι την επεξεργασία του. Το αλεσμένο άλευρο που προκύπτει, πριν προχωρήσει σε περαιτέρω επεξεργασία, απελαιώνεται πλήρως με διαλύτη πετρελαϊκό αιθέρα (Carlo Erba Reagents S.A.S) σε συσκευή Soxhlet. Το εργαστηριακά απελαιωμένο άλευρο αποτέλεσε την πρώτη ύλη για την παραλαβή των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων.

Κατά τη διαδικασία της εκχύλισης των πρωτεϊνών, για τη ρύθμιση του pH χρησιμοποιήθηκε διάλυμα καυστικού νατρίου NaOH συγκέντρωσης 0,5 N (Carlo Erba Reagents S.A.S). Κατά την ισοηλεκτρική καταβύθιση, χρησιμοποιήθηκε διάλυμα θειικού οξέος H₂SO₄ συγκέντρωσης 0,5 N (Panreac Quimica S.A.).

Για τη μέτρηση της περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες της πρώτης ύλης και των παραλαμβανόμενων πρωτεϊνικών προϊόντων με τη μέθοδο Kjeldahl, χρησιμοποιήθηκαν θειϊκό κάλιο K₂SO₄ (Carl Roth GmbH & Co.), ένυδρος θειϊκός χαλκός CuSO₄·5H₂O (Panreac Quimica S.A), διάλυμα πυκνού θειϊκού οξέος 95-98% H₂SO₄ (Fisher), πυρήνες βρασμού (Merck Millipore), υδατικό διάλυμα NaOH 32% w/w (παρασκευασμένο από φυλλίδια στερεού NaOH), απιονισμένο νερό, διάλυμα καυστικού νατρίου NaOH συγκέντρωσης 0,5 N (Carlo Erba Reagents S.A.S), διάλυμα θειϊκού οξέος H₂SO₄ συγκέντρωσης 0,5 N (Fisher) και δείκτης ερυθρό μεθυλίου-μπλε μεθυλενίου (παρασκευασμένος στο εργαστήριο).

Επίσης, για την παρασκευή των ευτηκτικών διαλυτών, χρησιμοποιήθηκε μηλικό οξύ (Acros Organics), φρουκτόζη (Riedel de Haen), γλυκερόλη (Lach-Ner), κιτρικό οξύ (Carlo Erba Reagents S.A.S) και γλυκόζη (Chemco).

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

4.3 Συσκευές και Όργανα

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

- ❖ Αναλυτικός ζυγός Precisa XT 220A (4 δεκαδικών ψηφίων)
- ❖ Αναλυτικός ζυγός Precisa 620C (2 δεκαδικών ψηφίων)
- ❖ Συσκευή Soxhlet
- ❖ Περιστροφικός εξατμιστήρας Heidolph
- ❖ Λουτρό εκχύλισης HAAKE G με αναδευτήρα
- ❖ Φούρνος μικροκυμάτων
- ❖ Λουτρό υπερήχων Elmasonic S 30 H
- ❖ Φορητό πεχάμετρο WTW pH 315i
- ❖ Φυγόκεντρος MLW T 54
- ❖ Φυγόκεντρος Hettich Universal II
- ❖ Συσκευή ξήρανσης υπό κατάψυξη Christ Alpha 1-4 LDplus
- ❖ Συσκευή καύσης Kjeldahl BUCHI 425 Digestor
- ❖ Συσκευή απόσταξης Kjeldahl BUCHI K-350
- ❖ Φούρνος BINDER
- ❖ Διάταξη διήθησης υπό κενό, διηθητικό χαρτί
- ❖ Αναδευτήρας Vortex

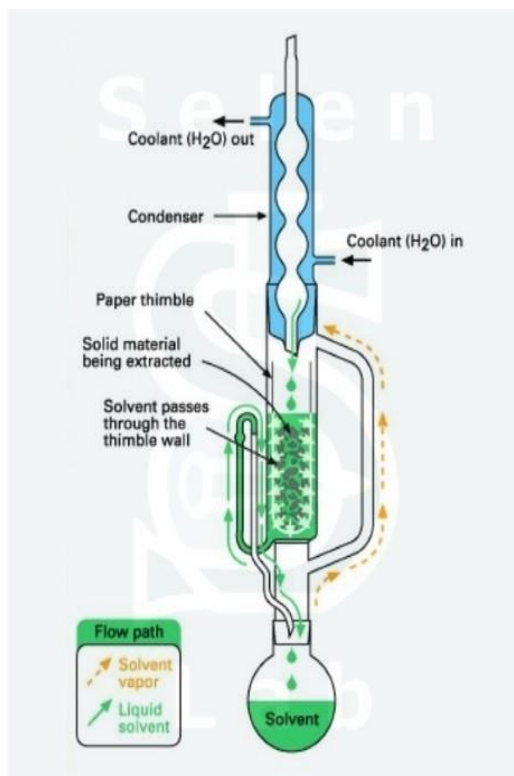
- ❖ Πλαστικά τρυβλία
- ❖ Πουάρ 3 βαλβίδων
- ❖ Μεταλλική σπαθίδα
- ❖ Γυάλινα σκεύη (ποτήρια ζέσεως, κωνικές φιάλες, σφαιρικές φιάλες, ογκομετρικοί κύλινδροι, προχοϊδες, σιφώνια, σωλήνες φυγόκεντρου, βαθμονομημένοι σωλήνες φυγόκεντρου, φιάλες Kjeldahl).

4.4 Πειραματική Διαδικασία

4.4.1 Προκατεργασία Αλεύρου

Το πρωτεϊνούχο άλευρο (α' ύλη) αλέθεται σε μύλο και στη συνέχεια κοσκινίζεται, ώστε να προκύψει άλευρο ομοιόμορφου μεγέθους σωματιδίων, κοκκομετρίας 0,5 mm. Παρά το γεγονός ότι το άλευρο είναι βιομηχανικά απελαιωμένο, περιέχει μία υπολειπόμενη ποσότητα ελαίου η οποία επιλέγεται να αφαιρεθεί, καθώς δημιουργεί προβλήματα κατά την πειραματική διαδικασία όπως παραγωγή μικρών ποσοτήτων των τελικών προϊόντων (υπερσυμπυκνωμάτων) και γενικότερα παρεμπόδιση της εκχύλισης των πρωτεϊνών.

Για αυτό τον λόγο πραγματοποιείται περαιτέρω απελαίωση με χρήση πετρελαϊκού αιθέρα ως διαλύτη. Αρχικά, ορισμένη ποσότητα πρώτης ύλης, ζυγισμένη με ακρίβεια 0,01 g, εισάγεται σε καρτούσα, η οποία στη συνέχεια τοποθετείται στη διάταξη Soxhlet. Ο διαλύτης (300-400 mL) τοποθετείται σε γυάλινη φιάλη η οποία προσαρμόζεται στον υποδοχέα της καρτούσας και το όλο σύστημα τοποθετείται στο θερμαινόμενο μανδύα της διάταξης (Εικόνα 4.1). Ρυθμίζεται η παροχή του νερού και η ένταση της θέρμανσης. Η εκχύλιση συνεχίζεται για περίπου 2-2,5 h, έως ότου παρατηρηθεί χρωματισμός του διαλύτη. Όταν ολοκληρωθεί η εκχύλιση, σταματά η θέρμανση και το σύστημα αφήνεται να ψυχθεί σε θερμοκρασία δωματίου. Τέλος, αφαιρείται η καρτούσα, συλλέγεται το απελαιωμένο άλευρο και τοποθετείται αραιά απλωμένο σε κλίβανο στους 36 °C για περίπου 1 h, ώστε να εξατμιστεί ο διαλύτης. Το εργαστηριακά απελαιωμένο άλευρο αποτελεί την πρώτη ύλη στη διαδικασία της εκχύλισης των πρωτεϊνών.



Εικόνα 4.1. Διάταξη συσκευής Soxhlet

4.4.2 Διαδικασία Παραλαβής Πρωτεϊνικών Υπερσυμπυκνωμάτων

Η μέθοδος που εφαρμόστηκε για την παραλαβή των πρωτεϊνικών προϊόντων βασίστηκε στην εκχύλιση των πρωτεϊνών και εν συνεχεία στην καταβύθιση των πρωτεϊνών στο ισοηλεκτρικό τους σημείο.

✓ Υδατική Εκχύλιση Πρωτεϊνών

Αρχικά, 20 g δείγματος απειλαιωμένου πρωτεϊνικού αλεύρου, ζυγισμένα με ακρίβεια 0,001 g, φέρονται σε ένα ποτήρι ζέσεως 600 mL με την ανάλογη ποσότητα εκχυλιστικού μέσου. Το ποτήρι τοποθετείται είτε σε συμβατικό υδατόλουτρο, είτε σε φούρνο μικροκυμάτων ανάλογα με τη μέθοδο εκχύλισης. Εκεί πραγματοποιείται η εκχύλιση των πρωτεϊνών για το χρόνο εκχύλισης που επιλέγεται.

Κατά τη συμβατική εκχύλιση υπάρχει συνεχώς ανάδευση και επίσης η θερμοκρασία του υδατόλουτρου διατηρείται σταθερή στην επιθυμητή τιμή (40°C), από τον ειδικό θερμοστάτη του λουτρού. Το pH του διαλύματος ρυθμίζεται στην τιμή 9 και διατηρείται σταθερό καθ' όλη τη διάρκεια της εκχύλισης με τη χρήση του υδατικού διαλύματος NaOH συγκέντρωσης 0,5 N.

Στην εκχύλιση με μικροκύματα δεν υπάρχει η δυνατότητα συνεχούς ανάδευσης και η διατήρηση σταθερής θερμοκρασίας και pH κατά τη διάρκεια της εκχύλισης. Επομένως το pH ρυθμίζεται (όπως και στη συμβατική μέθοδο), μόνο πριν την εκχύλιση ενώ ελέγχεται μαζί με τη θερμοκρασία μετά το πέρας της διαδικασίας, για την αποφυγή ακραίων συνθηκών που θα επηρεάσουν την ποιότητα των πρωτεϊνών. Στην αρχή της εκχύλισης ορίζεται επίσης και η επιθυμητή τιμή ισχύος των μικροκυμάτων.

Μετά το πέρας της εκχύλισης το αιώρημα φυγοκεντρείται σε 2600xg για 20 min και το υπερκείμενο υγρό (πρωτεϊνικό εκχύλισμα) συλλέγεται. Το στερεό υπόλειμμα της εκχύλισης ξηραίνεται στους 50-60°C για 24 h, ζυγίζεται, ομογενοποιείται και χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας των υπολειπόμενων (μη εκχυλισιμων) πρωτεϊνών.

✓ Ισοηλεκτρική Καταβύθιση

Στην ποσότητα του πρωτεϊνικού εκχυλίσματος που παραλαμβάνεται προστίθεται σταδιακά, με ήπια ανάδευση, υδατικό διάλυμα H₂SO₄ συγκέντρωσης 0,5 N μέχρι την επίτευξη του επιθυμητού ισοηλεκτρικού σημείου (pI). Η όλη διαδικασία γίνεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Οι καταβυθιζόμενες πρωτεΐνες διαχωρίζονται με φυγοκέντρηση σε 2600xg για 20 min. Το υπερκείμενο υγρό (όξινο ορό) αποχύνεται και το πρωτεϊνικό ίζημα μεταφέρεται, με όσο το δυνατόν μικρότερη ποσότητα νερού, σε πλαστικό τρυβλίο, καταψύχεται και στη συνέχεια ξηραίνεται υπό κατάψυξη για 48 h, ζυγίζεται και χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας των πρωτεϊνών.

Οι αποδόσεις των παραπάνω διαδικασιών υπολογίζονται από τις ακόλουθες σχέσεις:

Απόδοση Εκχύλισης:

$$\text{Απόδοση εκχύλισης (\%)} = \frac{\text{Εκχυλισμένες Πρωτεΐνες [g]}}{\text{Πρωτεΐνες Αρχικού Δείγματος [g]}} \cdot 100 \text{ ή}$$

$$\text{Απόδοση εκχύλισης (\%)} = \frac{\text{Πρωτεΐνες Αρχικού Δείγματος [g]} - \text{Πρωτεΐνες Στερεού Υπολείματος [g]}}{\text{Πρωτεΐνες Αρχικού Δείγματος [g]}} \cdot 100$$

Απόδοση Καταβύθισης:

$$\text{Απόδοση Καταβύθισης (\%)} = \frac{\text{Πρωτεΐνες Υπερσυμπυκνώματος [g]}}{\text{Εκχυλισμένες Πρωτεΐνες [g]}} \cdot 100 \text{ ή}$$

$$\text{Απόδοση Καταβύθισης (\%)} = \frac{\text{Πρωτεΐνες Υπερσυμπυκνώματος [g]}}{\text{Πρωτεΐνες Αρχικού Δείγματος [g]} - \text{Πρωτεΐνες Στερεού Υπολείματος [g]}} \cdot 100$$

Ολική Απόδοση:

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

Όπου,

Πρωτεΐνες Αρχικού Δείγματος (g) = Βάρος Αρχικού Δείγματος (g) · Περιεκτικότητα Δείγματος σε Πρωτεΐνες (%)

Πρωτεΐνες Στερεού Υπολείμματος (g) = Βάρος Στερεού Υπολείμματος (g) · Περιεκτικότητα Στερεού Υπολείμματος σε Πρωτεΐνες (%)

και

Πρωτεΐνες Υπερσυμπυκνώματος (g) = Βάρος Υπερσυμπυκνώματος (g) · Περιεκτικότητα Υπερσυμπυκνώματος σε Πρωτεΐνες (%)

✓ Προσδιορισμός Ισοηλεκτρικού Σημείου

Το ισοηλεκτρικό σημείο των πρωτεϊνών της σόγιας προσδιορίζεται ως η τιμή pH στην οποία εμφανίζεται μέγιστη καταβύθιση (ελάχιστη διαλυτότητα). Για το σκοπό αυτό πραγματοποιείται ένα πείραμα εκχύλισης των πρωτεϊνών μέχρι το στάδιο της παραλαβής του πρωτεϊνικού εκχυλίσματος, όπως περιγράφηκε παραπάνω. Το πρωτεϊνικό εκχύλισμα χωρίζεται σε 8 ισόποσα δείγματα σε σωλήνες φυγοκέντρου. Στα δείγματα αυτά γίνεται ρύθμιση του pH σε τιμές στο διάστημα 4,1-4,8 (περιοχή που αναμένεται να βρίσκεται το pI), με τη χρήση υδατικών διαλυμάτων H₂SO₄ και NaOH συγκέντρωσης 0,5 N. Οι καταβυθιζόμενες πρωτεΐνες κάθε δείγματος διαχωρίζονται με φυγοκέντρηση σε 2600xg για 20 min, συλλέγεται το πρωτεϊνικό ίζημα κάθε δείγματος, ξηραίνεται σε φούρνο στους 100 °C για 24 h και ζυγίζεται. Ο προσδιορισμός του pI γίνεται άμεσα μέσω του βάρους των καταβυθισμένων πρωτεϊνών. Η τιμή του pH στην οποία προκύπτει το μεγαλύτερο βάρος χαρακτηρίζεται ως το pI των πρωτεϊνών.

Η περιεκτικότητα σε καταβυθισμένες πρωτεΐνες υπολογίζεται ως εξής:

$$\text{Καταβυθισμένες Πρωτεΐνες (\%)} = \frac{\text{Καταβυθισμένες Πρωτεΐνες στον Κύλινδρο σε Ξηρή Βάση [g]}}{\text{Ολικές Πρωτεΐνες στο Εκχύλισμα σε Ξηρή Βάση [g]}} \cdot 100$$

✓ Παρασκευή Ευτηκτικών Διαλυτών

Κατά την πειραματική διαδικασία μελετήθηκε η εκχύλιση με τους παρακάτω ευτηκτικούς διαλύτες. Ο πρώτος ευτηκτικός διαλύτης παρασκευάστηκε με την ανάμειξη μηλικού οξέος, φρουκτόζης και γλυκερόλης σε αναλογία mole 1:1:1 σε θερμοκρασία 60°C υπό συνεχή ανάδευση, μέχρι να σχηματιστεί ένα ομοιογενές υγρό διάλυμα. Στη συνέχεια, στο ευτηκτικό διάλυμα που

προέκυψε γίνεται προσθήκη 30% w/w απιονισμένου νερού και το μίγμα αυτό χρησιμοποιείται ως διαλύτης για την εκχύλιση των πρωτεϊνών.

Ο δεύτερος ευτηκτικός διαλύτης παρασκευάστηκε με την ανάμειξη κιτρικού οξέος, γλυκόζης σε αναλογία mole 1:1 σε θερμοκρασία 80°C υπό συνεχή ανάδευση, μέχρι να σχηματιστεί ένα ομοιογενές υγρό διάλυμα. Στη συνέχεια, στο ευτηκτικό διάλυμα που προέκυψε γίνεται προσθήκη 30% w/w απιονισμένου νερού και το μίγμα αυτό χρησιμοποιείται ως διαλύτης για την εκχύλιση των πρωτεϊνών.

Τέλος, ο τρίτος ευτηκτικός διαλύτης παρασκευάστηκε με την ανάμειξη κιτρικού οξέος, γλυκόζης σε αναλογία mole 1:1 σε θερμοκρασία 80°C υπό συνεχή ανάδευση, μέχρι να σχηματιστεί ένα ομοιογενές υγρό διάλυμα. Στη συνέχεια, στο ευτηκτικό διάλυμα που προέκυψε γίνεται προσθήκη 45% w/w απιονισμένου νερού και το μίγμα αυτό χρησιμοποιείται ως διαλύτης για την εκχύλιση των πρωτεϊνών.

✓ Εκχύλιση Πρωτεϊνών με Ευτηκτικούς Διαλύτες

Κατά την εκχύλιση με ευτηκτικούς διαλύτες ακολουθείται η ίδια διαδικασία εκχύλισης, που περιγράφηκε παραπάνω, αντικαθιστώντας το απιονισμένο νερό με το ευτηκτικό μίγμα. Ωστόσο, εξαιτίας του υψηλού ιξώδους των διαλυτών, ο διαχωρισμός του στερεού υπολείμματος από το πρωτεϊνικό εκχύλισμα δεν είναι δυνατός με φυγοκέντρηση και επιλέγεται διήθηση υπό κενό.

Στη συνέχεια επιχειρείται καταβύθιση των πρωτεϊνών στο εκχύλισμα, αλλά η διαδικασία δεν είναι εφικτή. Υπολογίζεται ωστόσο η απόδοση εκχύλισης στο στερεό υπόλειμμα και αξιολογούνται συγκριτικά οι ευτηκτικοί διαλύτες.

Επίσης, για τον ευτηκτικό διαλύτη κιτρικό οξύ-γλυκόζη με 30% w/w νερό πραγματοποιείται για λόγους σύγκρισης και εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους, εκτός των εκχυλίσεων με τη συμβατική μέθοδο και με μικροκύματα. Οι συνθήκες της εκχύλισης με τη βοήθεια των υπερήχων είναι θερμοκρασία 40°C, σταθερό pH=9, 20 min, ισχύς υπερήχων 320 W και συχνότητα υπερήχων 37 kHz. Όλες οι εκχυλίσεις με ευτηκτικούς διαλύτες έγιναν σε αναλογία στερεού προς υγρό 1/20 w/v.

4.5 Αναλύσεις – Μετρήσεις

4.5.1 Μετρήσεις Λειτουργικών Ιδιοτήτων

Οι λειτουργικές ιδιότητες που προσδιορίστηκαν στα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα είναι η ικανότητα απορρόφησης νερού, IAN, (water absorpition capacity, WAC) και η ικανότητα απορρόφησης ελαίου, IAE, (oil absorpition capacity, OAC).

Για τη μέτρηση της IAN, 0,25 g δείγματος τοποθετούνται σε προζυγισμένο βαθμονομημένο σωλήνα φυγόκεντρου όγκου 12 mL και προστίθενται 6 mL απιονισμένου νερού. Το μίγμα αναδεύεται σε αναδευτήρα τύπου Vortex για 1 min και φυγοκεντρείται σε 2600xg για 20 min. Το υπερκείμενο υγρό αποχύνεται και ο σωλήνας ζυγίζεται μετά την απομάκρυνση και των προσκολλημένων σταγόνων νερού. Η IAN εκφράζεται ως το βάρος του δεσμευμένου νερού ανά 100 g δείγματος.

Η ικανότητα απορρόφησης νερού του δείγματος υπολογίζεται από την σχέση:

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

Όπου,

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

B_2 : το βάρος του άδειου σωλήνα (g)

β : το βάρος του δείγματος (g)

Για τη μέτρηση της IAE, 0,25 g δείγματος τοποθετούνται σε βαθμονομημένο σωλήνα φυγοκέντρου όγκου 12 mL και προστίθενται 3 mL αραβοσιτέλαιου. Το μίγμα αναδεύεται σε αναδευτήρα τύπου Vortex για 1 min, αφήνεται σε ηρεμία για 30 min και φυγοκεντρείται σε 2600xg για 20 min. Μετά τη φυγοκέντρωση, μετρείται ο όγκος του ελεύθερου ελαίου. Η IAE εκφράζεται ως ο όγκος του δεσμευμένου ελαίου ανά 100 g δείγματος.

Η ικανότητα απορρόφησης ελαίου του δείγματος υπολογίζεται από τη σχέση:

$$IAE (mL \text{ ελαίου} / 100 g \text{ δείγματος}) = \frac{V - V_u}{\beta} \cdot 100$$

Όπου,

V: ο αρχικός όγκος του ελαίου (mL)

V_υ: ο όγκος του υπερκείμενου ελαίου (mL)

β : το βάρος του δείγματος (g)

4.5.2 Προσδιορισμός Υγρασίας

Ζυγίζονται 5 g δείγματος με ακρίβεια 0,001 g και φέρονται σε προζυγισμένο φυαλίδιο ζύγισης που στη συνέχεια τοποθετείται σε φούρνο στους 100°C για 24 h. Μετά την ξήρανση, το δείγμα αφού παραμένει σε ξηραντήρα για 20 min ζυγίζεται και η επί τοις εκατό περιεκτικότητα σε υγρασία, υπολογίζεται ως εξής:

$$\text{Υγρασία (\%)} = \frac{\text{Απώλεια Βάρους [g]}}{\text{Βάρος Αρχικού Δείγματος [g]}} \cdot 100 \text{ ή}$$

$$\text{Υγρασία (\%)} = \frac{\text{Βάρος Αρχικού Δείγματος [g]} - \text{Βάρος Δείγματος Μετά την Ξήρανση [g]}}{\text{Βάρος Αρχικού Δείγματος [g]}} \cdot 100$$

4.5.3 Περιεκτικότητα σε Έλαιο

Ορισμένη ποσότητα δείγματος, ζυγισμένη με ακρίβεια 0,01 g, φέρεται σε καρτούσα, τοποθετείται στη συσκευή Soxhlet και εκχυλίζεται με πετρελαϊκό αιθέρα μέχρι την πλήρη απομάκρυνση του ελαίου. Στη συνέχεια, το περιεχόμενο της σφαιρικής φιάλης (μίγμα διαλύτη και ελαίου) αποστάζεται σε περιστροφικό εξατμιστήρα για την απομάκρυνση της μεγαλύτερης ποσότητας του διαλύτη. Η απομάκρυνση και των τελευταίων ιχνών του διαλύτη πραγματοποιείται με τη μεταφορά του εναπομένου περιεχομένου της σφαιρικής φιάλης σε προζυγισμένο ποτήρι ζέσεως και ξήρανσή του μέχρι σταθερού βάρους. Τέλος, το ποτήρι ζέσεως αφήνεται να ψυχθεί, ζυγίζεται και η επί τοις εκατό περιεκτικότητα σε έλαιο, υπολογίζεται ως εξής:

$$\text{Έλαιο (\%)} = \frac{\text{Βάρος Ελαίου [g]}}{\text{Αρχικό Βάρος Δείγματος [g]}} \cdot 100$$

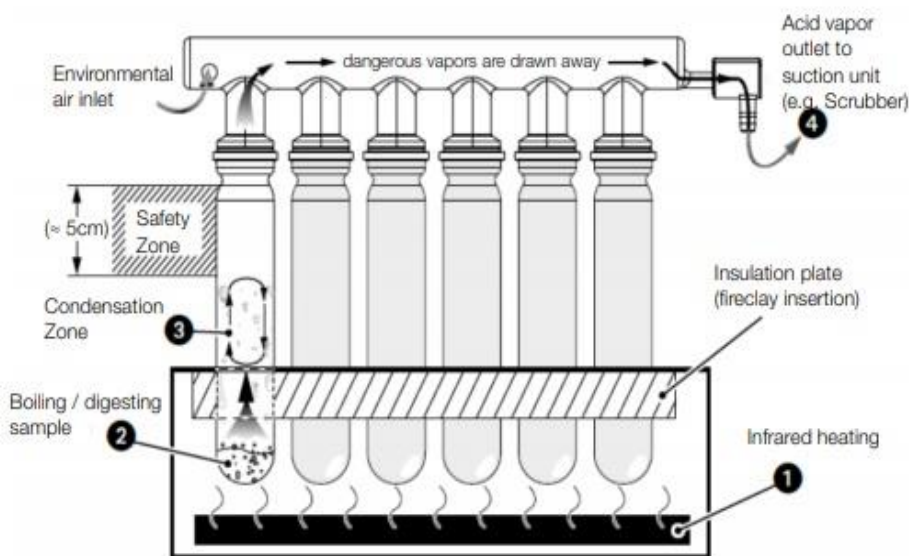
4.5.4 Μέθοδος Kjeldahl – Περιεκτικότητα σε Άζωτο και Πρωτεΐνες

Ο προσδιορισμός του αζώτου πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο Kjeldahl κατά την οποία γίνεται καύση του δείγματος με περίσσεια θειικού οξέος, παρουσία καταλύτη (θειικό άλας χαλκού) και

αλάτων με αποτέλεσμα τη μετατροπή των αζωτούχων ενώσεων σε όξινο θειικό αμμώνιο. Στη συνέχεια, το διάλυμα καθίσταται αλκαλικό και η αμμωνία που ελευθερώνεται, αποστάζει και συλλέγεται σε πρότυπο διάλυμα οξέος και προσδιορίζεται ογκομετρικά. Η μέθοδος Kjeldhal περιλαμβάνει τα παρακάτω στάδια:

Στην ειδική φιάλη Kjeldhal προστίθενται 25 mL πυκνού θειικού οξέος H_2SO_4 (95-98%), 10 g θειικού καλίου K_2SO_4 , 1 g ένυδρου θειικού χαλκού $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, πυρήνες βρασμού και ορισμένη ποσότητα δείγματος (~ 0,7-1 g πρωτεϊνικού υπερσυμπυκνώματος ή ~ 1,5 g στερεού υπολείμματος) ζυγισμένη με ακρίβεια 0,001 g. Η φιάλη ανακινείται για λίγα λεπτά, ώστε το δείγμα να διαποτιστεί καλά από το οξύ και να αποφευχθεί έτσι ο έντονος αφρισμός του διαλύματος. Υπάρχει η δυνατότητα ταυτόχρονης καύσης τεσσάρων δειγμάτων.

Ο σωλήνας κενού προσαρμόζεται στις φιάλες Kjeldhal, το σύστημα τοποθετείται στη συσκευή καύσης (Digester) και συνδέεται με τη βρύση για τη δημιουργία κενού, ενώ το άλλο άκρο είναι κλεισμένο (Εικόνα 4.2). Στην αρχή, για περίπου 20 min, η θέρμανση είναι ήπια (στάθμη 2-3), ώστε να μην παρατηρηθεί έντονος αφρισμός, ενώ όταν δημιουργηθούν οι πρώτοι ατμοί στη φιάλη, δηλαδή όταν αρχίσει η καύση των δειγμάτων, η θέρμανση γίνεται εντονότερη και φτάνει τη μέγιστη ένταση (στάθμη 5). Όταν το διάλυμα αποκτήσει χαρακτηριστικό πράσινο χρώμα και διαυγαστεί πλήρως, σταματά ο βρασμός. Μετά το τέλος της καύσης οι φιάλες αφήνονται να ψυχθούν στον αέρα, ενώ ο σωλήνας κενού διατηρείται για άλλα 15-20 min.



Εικόνα 4.2. Διάταξη συσκευής καύσης Kjeldhal

Στη συνέχεια, οι κρύες φιάλες προσαρμόζονται στην ειδική συσκευή απόσταξης μεθ' υδρατμών Kjeldhal, η οποία έχει τη δυνατότητα απόσταξης ενός δείγματος κάθε φορά (Εικόνα 4.3). Στην έξοδο της συσκευής απόσταξης τοποθετείται κωνική φιάλη στην οποία συλλέγεται το απόσταγμα και περιέχει 50 mL πρότυπου διαλύματος θειικού οξέος 0,5 N. Στη φιάλη προστίθενται 75 mL

απιονισμένου νερού και 125 mL διαλύματος καυστικού νατρίου NaOH 32% w/w, ρυθμίζεται ο χρονοδιακόπτης στα 5 min (ώστε να συλλεχθούν περίπου 200 mL αποστάγματος) και υποβάλλεται σε απόσταξη.



Εικόνα 4.3. Συσκευή απόσταξης Kjeldahl

Τέλος, ακολουθεί τιτλοδότηση της περίσσειας του οξέος που βρίσκεται στην κωνική φιάλη με πρότυπο διάλυμα καυστικού νατρίου 0,5 N και δείκτη ερυθρό μεθυλίου-μπλε μεθυλενίου, ο οποίος προκύπτει από τη διάλυση 0,125 g ερυθρού του μεθυλίου και 0,08 g μπλε του μεθυλενίου σε 100 mL αιθανόλης. Κάτω από τις ίδιες συνθήκες εκτελείται και ένας λευκός προσδιορισμός. Η επί τοις εκατό περιεκτικότητα σε οργανικό άζωτο (N%) υπολογίζεται από τη σχέση:

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

Όπου,

V₁: ο καταναλωθείς όγκος του πρότυπου διαλύματος καυστικού νατρίου κατά τον κυρίως προσδιορισμό (mL)

V₂: ο καταναλωθείς όγκος του πρότυπου διαλύματος καυστικού νατρίου κατά τον λευκό προσδιορισμό (mL)

N: η κανονικότητα του πρότυπου διαλύματος καυστικού νατρίου (0,5 N)

β: το βάρος του δείγματος (g)

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

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

4.6 Σχεδιασμός Πειραμάτων

Ο σχεδιασμός των πειραμάτων για την παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων διαχωρίζεται σε τρεις σειρές, με βάση την εφαρμοζόμενη τεχνολογία εκχύλισης των πρωτεϊνών. Ειδικότερα οι σειρές αυτές είναι: 1) η συμβατική-υδατική μέθοδος εκχύλισης, 2) η εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα και 3) η εκχύλιση με ευτηκτικούς διαλύτες. Η απόδοση της εκχύλισης των πρωτεϊνών εξαρτάται από την ποσότητα και την ποιότητα των πρωτεϊνών της πρώτης ύλης, καθώς και από τις συνθήκες της εκχύλισης, οι οποίες είναι: το είδος και η σύσταση του εκχυλιστικού μέσου, η θερμοκρασία, το pH, η κοκκομετρία του εκχυλιζόμενου υλικού, η ισχύς (στην περίπτωση των μικροκυμάτων), ο χρόνος εκχύλισης και ο λόγος του βάρους του εκχυλιζόμενου δείγματος (g) ως προς τον όγκο του εκχυλιστικού μέσου (mL). Κατά τη διάρκεια των πειραμάτων μελετήθηκαν μερικές από τις παραπάνω παραμέτρους.

1. Παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με συμβατική – υδατική εκχύλιση.

Πίνακας 4.1. Συνθήκες πειραμάτων συμβατικής μεθόδου εκχύλισης πρωτεϊνών.

Σταθερές Συνθήκες	
T (°C)	40
pH	9
Κοκκομετρία Αλεύρου Σόγιας (mm)	0,5
t (min)	30
Μεταβλητές Συνθήκες	
w/v (g / mL)	1/15
	1/20
	1/25

2. Παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα.

Πίνακας 4.2. Συνθήκες πειραμάτων εκχύλισης πρωτεϊνών υποβοηθούμενης με μικροκύματα.

Σταθερές Συνθήκες και Συνθήκες που ρυθμίζονται πριν την εκχύλιση	
pH	9
Κοκκομετρία Αλεύρου Σόγιας (mm)	0,5
Μεταβλητές Συνθήκες	
t (min)	2
	5
	8
	10
w/v (g / mL)	1/15
	1/20
	1/25
Ισχύς μικροκυμάτων (W)	240
	400

3. Παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση με ευτηκτικούς διαλύτες.

Μελετάται η αλλαγή του εκχυλιστικού μέσου από νερό σε ευτηκτικό μίγμα και η εφαρμογή των συνθηκών των δύο μεθόδων εκχύλισης που χρησιμοποιήθηκαν παραπάνω (συμβατική και υποβοηθούμενη με μικροκύματα), καθώς και της μεθόδου εκχύλισης με υπέρηχους για λόγους σύγκρισης.

Πίνακας 4.3. Συνθήκες πειραμάτων εκχύλισης πρωτεϊνών με ευτηκτικούς διαλύτες.

Σταθερές Συνθήκες ανάλογα με τη μέθοδο εκχύλισης		
<u>Συμβατική Μέθοδος</u>	<u>Εκχύλιση με μικροκύματα</u>	<u>Εκχύλιση με υπέρηχους</u>
pH = 9	pH = 9	pH = 9
T = 40 °C	Ισχύς (W) = 240	T = 40 °C
Κοκκομετρία Αλεύρου Σόγιας (mm) = 0,5	Κοκκομετρία Αλεύρου Σόγιας (mm) = 0,5	Κοκκομετρία Αλεύρου Σόγιας (mm) = 0,5
t (min) = 30	t (min) = 2	t (min) = 20
w/v (g/mL) = 1/20	w/v (g/mL) = 1/20	w/v (g/mL) = 1/20
		Ισχύς (W) = 320
		Συχνότητα (kHz) = 37
Μεταβλητές Συνθήκες		
Σύστημα Ευτηκτικού Διαλύτη (DES)	Μηλικό οξύ : Φρουκτόζη : Γλυκερόλη (προσθήκη 30% w/w H ₂ O)	
	Κιτρικό οξύ : Γλυκόζη (προσθήκη 30% w/w H ₂ O)	
	Κιτρικό οξύ : Γλυκόζη (προσθήκη 45% w/w H ₂ O)	

Σε όλα τα παραπάνω πειράματα η ισηλεκτρική καταβύθιση πραγματοποιήθηκε σε τιμή pH ίση με 4,3.

Τα πειράματα επαναλήφθηκαν δύο φορές και παρουσιάζεται ο μέσος όρος των τιμών των μετρήσεων. Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε μέσω του προγράμματος STATISTICA 7.

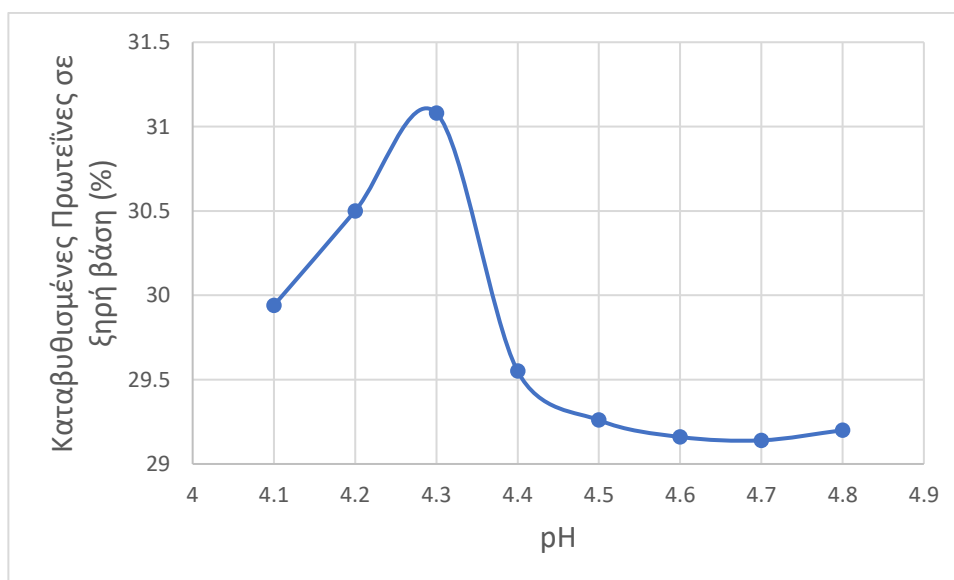
5. Αποτελέσματα

5.1 Σύσταση Πρώτης Ύλης

Η σύσταση της πρώτης ύλης προσδιορίζεται με τις αναλύσεις που αναφέρθηκαν παραπάνω. Η πρώτη ύλη, δηλαδή το πρωτεϊνικό άλευρο της σόγιας περιέχει μία υπολειπόμενη ποσότητα ελαίου, η οποία ανέρχεται στο $(0,81 \pm 0,08)$ %. Το εργαστηριακά απειρωμένο άλευρο έχει υγρασία $(7,67 \pm 0,27)$ % και περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες $(50,09 \pm 0,49)$ % σε ξηρή βάση. Παρατηρείται υψηλή περιεκτικότητα της πρώτης ύλης του αλεύρου σόγιας σε πρωτεΐνες, η οποία επιβεβαιώνει τα βιβλιογραφικά δεδομένα ως μία πηγή πρωτεϊνών ιδανική για την παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων. Οι πειραματικές τιμές για την υγρασία και το έλαιο βρίσκονται μέσα στο εύρος των βιβλιογραφικών τιμών, 6 έως 8% και 0,5 έως 1,1% αντίστοιχα.

5.2 Προσδιορισμός Ισοηλεκτρικού Σημείου

Το ισοηλεκτρικό σημείο (pI) των πρωτεϊνών είναι η τιμή του pH που αντιστοιχεί στην ελάχιστη διαλυτότητα και επομένως στη μέγιστη καταβύθιση των πρωτεϊνών. Ο προσδιορισμός του γίνεται άμεσα με τη μέτρηση του βάρους των καταβυθιζόμενων πρωτεϊνών σε ένα εύρος τιμών pH, από 4,1 έως 4,8. Από τα πειράματα προέκυψε πως το ισοηλεκτρικό σημείο των πρωτεϊνών από το άλευρο σόγιας εντοπίζεται στη τιμή pH 4,3, στην οποία παρατηρείται το μέγιστο ποσοστό καταβυθισμένων πρωτεϊνών (Διάγραμμα 5.1).



Διάγραμμα 5.1. Καταβυθισμένες πρωτεΐνες σόγιας σε ξηρή βάση (%) συναρτήσει του pH καταβύθισης

5.3 Παραλαβή Πρωτεϊνικών Υπερσυμπυκνωμάτων

Τα αποτελέσματα της διαδικασίας παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων αξιολογήθηκαν με βάση δύο παραμέτρους, την απόδοση της διαδικασίας και την ποιότητα των πρωτεϊνικών προϊόντων. Όσον αφορά την απόδοση της διαδικασίας, αξιολογείται η ολική απόδοση της διεργασίας, καθώς και οι επιμέρους αποδόσεις, των σταδίων εκχύλισης και καταβύθισης των πρωτεϊνών. Όσο για την ποιότητα των πρωτεϊνικών προϊόντων, η εκτίμηση βασίζεται στην περιεκτικότητα των πρωτεϊνών στο πρωτεϊνικό υπερσυμπύκνωμα (καθαρότητα απομονωμένων πρωτεϊνών), καθώς και στις λειτουργικές τους ιδιότητες (ικανότητα απορρόφησης νερού, ικανότητα απορρόφησης ελαίου). Κύριος στόχος της πειραματικής διαδικασίας είναι η παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες, καλές λειτουργικές ιδιότητες και υψηλές αποδόσεις παραλαβής πρωτεϊνών, οι οποίες θα καθιστούν τη διαδικασία οικονομικά και επιστημονικά ενδιαφέρουσα.

Παρακάτω παρουσιάζονται τα πειραματικά αποτελέσματα, αξιολογούνται και γίνεται σύγκριση μεταξύ των μεθόδων εκχύλισης.

5.3.1 Αποτελέσματα Παραλαβής Πρωτεϊνικών Υπερσυμπυκνωμάτων με τη Συμβατική Μέθοδο Εκχύλισης

Πίνακας 5.1. Αποτελέσματα πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από άλευρο σόγιας με εκχυλιστικό μέσο απιονισμένο νερό σε θερμοκρασία εκχύλισης 40°C, pH 9 και χρόνο εκχύλισης 30 min.

Λόγος στερεού/υγρού (g/mL)	1/15	1/20	1/25
Απόδοση Εκχύλισης (%)	33,50	39,53	39,33
Απόδοση Καταβύθισης (%)	39,81	44,55	42,22
Ολική Απόδοση (%)	13,48	17,77	16,65
Πρωτεΐνες (%) στο πρωτεϊνικό υπερσυμπύκνωμα	84,60	86,97	88,92

Από τον πίνακα 5.1 παρατηρείται ότι η απόδοση εκχύλισης κυμαίνεται από 33,50% έως 39,53%, η απόδοση καταβύθισης ως προς τις εκχυλισμένες πρωτεΐνες κυμαίνεται από 39,81% έως 44,55% και η ολική απόδοση κυμαίνεται από 13,48% έως 17,77%. Τέλος, η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες του υπερσυμπυκνώματος κυμαίνεται σε υψηλά επίπεδα από 84,60% έως 88,92%. Οι χειρότερες συνθήκες εκχύλισης παρατηρούνται στο λόγο στερεού/υγρού 1/15, ενώ οι καλύτερες συνθήκες εκχύλισης παρατηρούνται στο λόγο στερεού/υγρού 1/20, με μικρές διαφορές από το λόγο

στερεού υγρού 1/25, στον οποίο όμως εμφανίζεται η μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες στο πρωτεϊνικό υπερσυμπύκνωμα.

Πίνακας 5.2. Αποτελέσματα μετρήσεων λειτουργικών ιδιοτήτων πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων σόγιας με εκχυλιστικό μέσο απιονισμένο νερό σε θερμοκρασία εκχύλισης 40°C, pH 9 και χρόνο εκχύλισης 30 min.

Λόγος στερεού/υγρού (g/mL)	1/15	1/20	1/25
Ικανότητα Απορρόφησης Νερού (g H ₂ O/100 g δείγματος)	143,96	150,10	160,43
Ικανότητα απορρόφησης Ελαίου (mL ελαίου/100 g δείγματος)	478,39	449,38	551,37

Από τον πίνακα 5.2 παρατηρείται ότι η ικανότητα απορρόφησης νερού κυμαίνεται από 143,96 έως 160,43 g H₂O/100 g δείγματος. Η μέγιστη τιμή παρατηρείται για λόγο στερεού/υγρού 1/25. Η ικανότητα απορρόφησης ελαίου κυμαίνεται από 449,38 έως 551,37 mL ελαίου/100 g δείγματος. Η μέγιστη τιμή παρατηρείται για λόγο στερεού/υγρού 1/25.

Οι λόγοι στερεού προς υγρό στους οποίους παρατηρήθηκαν οι μεγαλύτερες αποδόσεις της διαδικασίας και των επιμέρους σταδίων της (λόγος στερεού/υγρού 1/20), η μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες στο πρωτεϊνικό υπερσυμπύκνωμα, καθώς και οι βέλτιστες λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων (λόγος στερεού/υγρού 1/25), αποτέλεσαν τη βάση του σχεδιασμού πειραμάτων για την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα που μελετήθηκε.

5.3.2 Αποτελέσματα Παραλαβής Πρωτεϊνικών Υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα

- Λόγος στερεού προς υγρό 1/25

Πίνακας 5.3. Αποτελέσματα πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από άλευρο σόγιας με εκχυλιστικό μέσο απιονισμένο νερό, για εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα και λόγο στερεού/υγρού 1/25.

Ισχύς (W)	t (min)	Απόδοση Εκχύλισης (%)	Απόδοση Καταβύθισης (%)	Ολική Απόδοση (%)	Πρωτεΐνες (%) στο υπερσυμπύκνωμα
240	8	21,33	36,86	7,86	81,76
240	10	28,74	39,34	11,31	82,49
400	5	18,27	30,42	5,56	81,39
400	8	30,46	55,96	17,05	82,82
400	10	39,09	64,49	25,21	86,81

Για τα πειράματα που έγιναν στην ίδια ισχύ, οι αποδόσεις αλλά και η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες του υπερσυμπυκνώματος αυξάνονται όσο αυξάνεται ο χρόνος εκχύλισης. Επίσης, συγκρίνοντας με βάση την ισχύ των μικροκυμάτων για ίδιους χρόνους εκχύλισης (8 και 10 min), παρατηρείται ότι η εκχύλιση στα 400 W εμφανίζει καλύτερα αποτελέσματα από ότι στα 240 W. Οι μέγιστες αποδόσεις συνολικά και των επιμέρους σταδίων, αλλά και η μέγιστη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων παρατηρείται σε συνθήκες εκχύλισης 400 W για 10 min. Επομένως, συμπεραίνεται πως η πιο εκτεταμένη επεξεργασία του δείγματος (μεγαλύτερος χρόνος εκχύλισης και υψηλότερη τιμή ισχύος των μικροκυμάτων) επιφέρει καλύτερα αποτελέσματα κατά την παραλαβή των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων

Πίνακας 5.4. Αποτελέσματα μετρήσεων λειτουργικών ιδιοτήτων πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων σόγιας με εκχυλιστικό μέσο απιονισμένο νερό, για εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα και λόγο στερεού/υγρού 1/25.

Ισχύς (W)	t (min)	Ικανότητα Απορρόφησης Νερού (g H ₂ O/100 g δείγματος)	Ικανότητα Απορρόφησης Ελαίου (mL ελαίου/100 g δείγματος)
240	8	251,00	524,19
240	10	208,43	493,83
400	5	239,43	522,09
400	8	247,01	526,32
400	10	348,06	513,83

Όσο για τις λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, η μέγιστη ικανότητα απορρόφησης νερού εμφανίζεται στα 400 W για 10 min, ενώ η μέγιστη ικανότητα απορρόφησης ελαίου στα 400 W για 8 min. Συμπερασματικά, φαίνεται ότι η υψηλότερη ισχύς των μικροκυμάτων (400 W), επηρεάζει θετικά τις λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων. Ωστόσο, ο εκτεταμένος χρόνος έκθεσης στα μικροκύματα φαίνεται να επηρεάζει αρνητικά την ικανότητα απορρόφησης ελαίου των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, με αποτέλεσμα να έχουμε μείωση της συγκεκριμένης λειτουργικής ιδιότητας στα 10 min εκχύλισης, σε σχέση με τα 8 min.

- Λόγος στερεού προς υγρό 1/20

Πίνακας 5.5. Αποτελέσματα πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από άλευρο σόγιας με εκχυλιστικό μέσο απιονισμένο νερό, για εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα και λόγο στερεού/υγρού 1/20.

Ισχύς (W)	t (min)	Απόδοση Εκχύλισης (%)	Απόδοση Καταβύθισης (%)	Ολική Απόδοση (%)	Πρωτεΐνες (%) στο υπερσυμπύκνωμα
240	2	16,13	8,09	6,01	85,68
240	5	29,65	50,77	15,05	85,72
240	8	37,92	58,85	22,32	87,74
240	10	41,92	65,33	27,39	89,61
400	2	27,10	47,92	12,99	87,97
400	5	37,34	65,37	24,41	89,26
400	8	39,11	64,74	25,32	90,02
400	10	45,36	75,26	34,14	88,27

Για τα πειράματα που έγιναν εκχυλίσεις στην ίδια ισχύ μικροκυμάτων, οι αποδόσεις της διαδικασίας (ολική και των επιμέρους σταδίων), αλλά και η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες του πρωτεϊνικού υπερσυμπυκνώματος κατά κανόνα αυξάνονται όσο αυξάνεται ο χρόνος εκχύλισης. Επίσης, συγκρίνοντας με βάση την ισχύ των μικροκυμάτων για ίδιους χρόνους εκχύλισης, παρατηρείται ότι τα 400 W εμφανίζουν καλύτερα αποτελέσματα από τα 240 W. Οι μέγιστες αποδόσεις εμφανίζονται σε συνθήκες εκχύλισης 400 W για 10 min, ενώ η μέγιστη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων παρατηρείται σε συνθήκες εκχύλισης 400 W για 8 min. Επομένως, προκύπτει ότι η εκτεταμένη έκθεση του δείγματος στα μικροκύματα (10 min χρόνου εκχύλισης) επηρεάζει ελαφρώς το πρωτεϊνικό περιεχόμενο, πιθανότατα μετουσιώνοντας κάποιες πρωτεΐνες.

Πίνακας 5.6. Αποτελέσματα μετρήσεων λειτουργικών ιδιοτήτων πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων σόγιας με εκχυλιστικό μέσο απιονισμένο νερό, για εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα και λόγο στερεού/υγρού 1/20.

Ισχύς (W)	t (min)	Ικανότητα Απορρόφησης Νερού (g H ₂ O/100 g δείγματος)	Ικανότητα Απορρόφησης Ελαίου (mL ελαίου/100 g δείγματος)
240	2	211,95	515,87
240	5	228,97	395,26
240	8	319,92	517,93
240	10	301,60	436,51
400	2	211,95	320,00
400	5	266,93	457,14
400	8	363,20	515,87
400	10	366,27	434,78

Στις λειτουργικές ιδιότητες, γενικά παρουσιάζεται μία αύξηση των τιμών τους, όσο αυξάνεται ο χρόνος εκχύλισης, μέχρι ένα κρίσιμο σημείο από το οποίο και έπειτα φαίνεται να υπάρχει μείωση της ικανότητας απορρόφησης νερού και ελαίου, η οποία μπορεί να οφείλεται σε μερική μετουσίωση των πρωτεϊνών εξαιτίας της αύξησης της θερμοκρασίας. Εξαιρεση αποτελεί η ικανότητα απορρόφησης νερού στα 400 για 10 min η οποία είναι και η μέγιστη, ενώ η μέγιστη ικανότητα απορρόφησης ελαίου εμφανίζεται στα 240 W για 8 min.

Επίδραση της ισχύος των μικροκυμάτων και του χρόνου εκχύλισης των πρωτεϊνών στην εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα, για λόγο στερεού προς υγρό 1/20, κατά την παραλαβή των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων.

Από τη στατιστική επεξεργασία (ανάλυση διακύμανσης ANOVA) των αποτελεσμάτων των πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα με ισχύ 240 και 400 W και χρόνο 2, 5, 8 και 10 min (Πίνακας Π-2), προκύπτει ότι η ισχύς των μικροκυμάτων δεν επηρεάζει σημαντικά την απόδοση εκχύλισης. Αντιθέτως, ο χρόνος εκχύλισης επηρεάζει σημαντικά την απόδοση εκχύλισης. Ειδικότερα, από τον έλεγχο Duncan (κριτήριο διαφοράς Duncan's test) (Πίνακας Π-3), προκύπτει ότι η απόδοση εκχύλισης αυξάνεται, αυξανόμενου του χρόνου εκχύλισης (καλύτερος χρόνος εκχύλισης, που παρέχει τις μεγαλύτερες αποδόσεις, είναι τα 10 min). Όλοι οι χρόνοι παρέχουν σημαντικά διαφορετικές αποδόσεις εκχύλισης από το χρόνο εκχύλισης 2 min.

Για την απόδοση καταβύθισης (Πίνακας Π-4), παρατηρείται ότι τόσο η ισχύς των μικροκυμάτων, όσο και ο χρόνος εκχύλισης δεν επηρεάζουν σημαντικά την απόδοση αυτή.

Όσον αφορά την ολική απόδοση (Πίνακας Π-5), παρατηρείται ότι τόσο η ισχύς των μικροκυμάτων, όσο και ο χρόνος εκχύλισης επηρεάζουν σημαντικά αυτή την απόδοση. Από τον έλεγχο Duncan

(Πίνακας Π-6, Πίνακας Π-7), προκύπτει ότι όσο αυξάνεται η ισχύς των μικροκυμάτων, αλλά και ο χρόνος, αυξάνεται και η ολική απόδοση. Μάλιστα οι διάφορες τιμές ισχύος μικροκυμάτων παρέχουν στατιστικά διαφορετικές τιμές ολικής απόδοσης μεταξύ τους.

Η περιεκτικότητα των υπερσυμπυκνωμάτων σε πρωτεΐνες (Πίνακας Π-8) δεν επηρεάζεται σημαντικά ούτε από το χρόνο εκχύλισης, ούτε από την ισχύ των μικροκυμάτων.

Για την ικανότητα απορρόφησης νερού (Πίνακας Π-9), παρατηρείται ότι η ισχύς των μικροκυμάτων κατά την εκχύλιση δεν επηρεάζει σημαντικά τη συγκεκριμένη λειτουργική ιδιότητα, ενώ ο χρόνος εκχύλισης αποτελεί στατιστικά σημαντικό παράγοντα. Ειδικότερα, από έλεγχο Duncan (Πίνακας Π-10), προκύπτει ότι υπάρχει μία αύξηση της ΙΑΝ μέχρι τα 8 min εκχύλισης, όπου εμφανίζονται τα καλύτερα αποτελέσματα, και επακολούθως μία μείωση στα 10 min χρόνου εκχύλισης.

Τέλος, η ικανότητα απορρόφησης ελαίου των υπερσυμπυκνωμάτων (Πίνακας Π-11), δεν επηρεάζεται σημαντικά ούτε από την ισχύ των μικροκυμάτων, ούτε από το χρόνο εκχύλισης.

- Λόγος στερεού προς υγρό 1/15

Πίνακας 5.7. Αποτελέσματα πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από άλευρο σόγιας με εκχυλιστικό μέσο απιονισμένο νερό, για εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα και λόγο στερεού/υγρού 1/15.

Ισχύς (W)	t (min)	Απόδοση Εκχύλισης (%)	Απόδοση Καταβύθισης (%)	Ολική Απόδοση (%)	Πρωτεΐνες (%) στο υπερσυμπύκνωμα
240	8	27,64	70,06	19,50	85,67
240	10	32,23	34,65	11,17	85,92
400	5	36,52	36,30	13,25	85,81

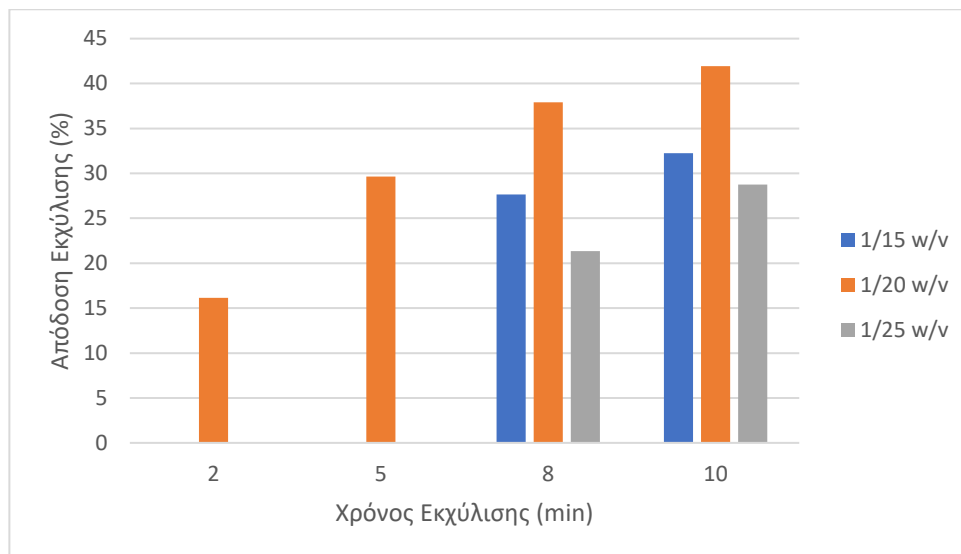
Σε αντίθεση με τους προηγούμενους χρησιμοποιηθέντες λόγους στερεού/υγρού κατά την εκχύλιση, παρατηρείται μείωση των αποδόσεων όσο αυξάνεται ο χρόνος εκχύλισης, για ισχύ μικροκυμάτων 240 W. Αυτό πιθανώς οφείλεται στις υψηλές θερμοκρασίες στις οποίες φτάνει το δείγμα σε μεγάλους χρόνους εκχύλισης υποβοηθούμενης από μικροκύματα, γεγονός που μπορεί να επιφέρει τη μετουσίωση των πρωτεϊνών. Οι μέγιστες αποδόσεις εμφανίζονται για εκχύλιση στα 240 W για 8 min, εκτός από την απόδοση εκχύλισης, όπου παρατηρείται στα 400 W για 5 min. Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων είναι παραπλήσια.

Πίνακας 5.8. Αποτελέσματα μετρήσεων λειτουργικών ιδιοτήτων πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων σόγιας με εκχυλιστικό μέσο απιονισμένο νερό, για εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα και λόγο στερεού/υγρού 1/15.

Ισχύς (W)	t (min)	Ικανότητα Απορρόφησης Νερού (g H ₂ O/100 g δείγματος)	Ικανότητα Απορρόφησης Ελαίου (mL ελαίου/100 g δείγματος)
240	8	366,01	357,14
240	10	300,00	513,83
400	5	276,86	465,12

Όσο για τις λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, η μέγιστη ικανότητα απορρόφησης νερού εμφανίζεται για εκχύλιση στα 240 W για 8 min, ενώ η μέγιστη ικανότητα απορρόφησης ελαίου για εκχύλιση στα 240 W για 10 min. Επομένως, φαίνεται ότι η πιο ήπια τιμή ισχύος των μικροκυμάτων (240 W) επηρεάζει θετικότερα τις λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από ότι η έκθεση σε ισχύ μικροκυμάτων 400 W, η οποία πιθανόν να ευθύνεται για μετουσίωση ορισμένων πρωτεϊνών.

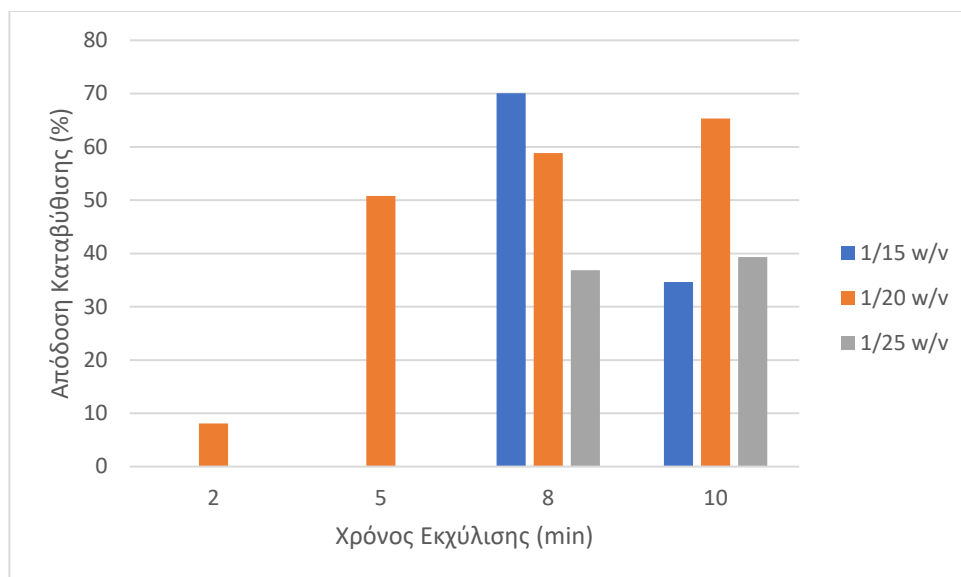
Επίδραση του λόγου στερεού προς υγρό και του χρόνου εκχύλισης των πρωτεϊνών στην εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα, με ισχύ μικροκυμάτων 240 W, κατά την παραλαβή των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων.



Διάγραμμα 5.2. Μεταβολή της απόδοσης εκχύλισης συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και του χρόνου εκχύλισης για τα πειράματα με χρήση μικροκυμάτων με ισχύ 240 W.

Με βάση το παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι η απόδοση εκχύλισης αυξάνεται αυξανόμενου του χρόνου εκχύλισης και η μέγιστη απόδοση εμφανίζεται για χρόνο εκχύλισης ίσο με 10 min. Όσον αφορά το λόγο στερεού προς υγρό, παρατηρείται ότι μέχρι το λόγο 1/20 η απόδοση εκχύλισης αυξάνεται, ενώ για λόγο στερεού προς υγρό 1/25 η απόδοση εκχύλισης μειώνεται. Συνολικά, η υψηλότερη απόδοση εμφανίζεται για λόγο στερεού προς υγρό 1/20 και για χρόνο εκχύλισης 10 min.

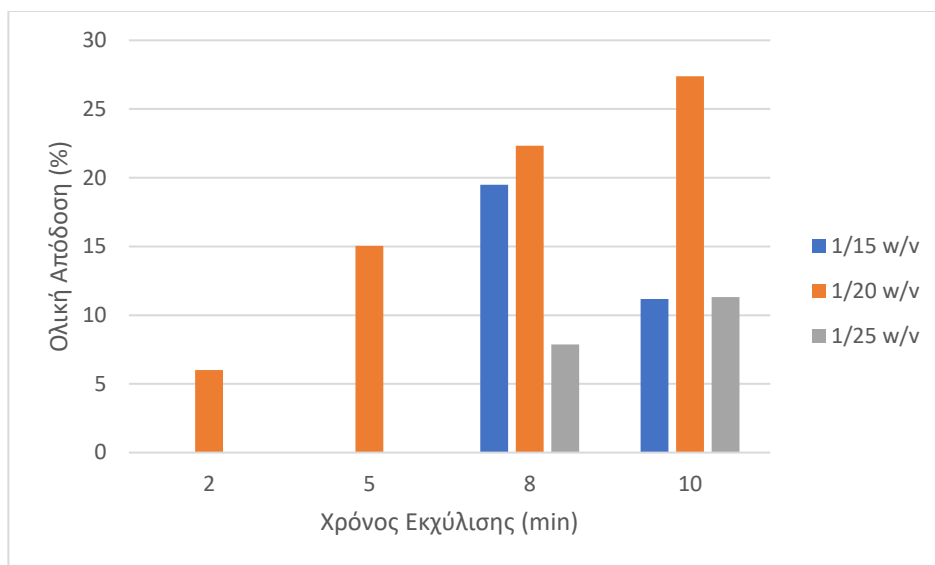
Από τη στατιστική επεξεργασία (ανάλυση διακύμανσης ANOVA) των αποτελεσμάτων των πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα με ισχύ 240 W, χρόνο 8 και 10 min και λόγο στερεού/υγρού 1/15, 1/20 και 1/25 (Πίνακας Π-12), προκύπτει ότι για την απόδοση εκχύλισης τόσο ο χρόνος εκχύλισης, όσο και ο λόγος στερεού προς υγρό αποτελούν σημαντικούς παράγοντες ($P < 0,05$). Επιπλέον, από έλεγχο Duncan (Πίνακας Π-13, Πίνακας Π-14), συμπεραίνεται ότι με αύξηση του χρόνου εκχύλισης, αυξάνεται η απόδοση εκχύλισης των πρωτεϊνών. Επίσης, οι χρόνοι εκχύλισης 8 και 10 min παρέχουν στατιστικά διαφορετικές αποδόσεις εκχύλισης μεταξύ τους. Όσον αφορά το λόγο στερεού/υγρού, παρατηρείται ότι ο λόγος 1/20 διαφέρει σημαντικά από τους άλλους δύο λόγους. Γενικά, για λόγο 1/20 προκύπτουν οι καλύτερες αποδόσεις εκχύλισης.



Διάγραμμα 5.3. Μεταβολή της απόδοσης καταβύθισης συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και του χρόνου εκχύλισης για τα πειράματα με χρήση μικροκυμάτων με ισχύ 240 W.

Με βάση το παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι γενικά η απόδοση καταβύθισης αυξάνεται αυξανόμενου του χρόνου εκχύλισης. Εξαιρέση αποτελεί ο λόγος στερεού προς υγρό 1/15, στον οποίο προκύπτει μείωση της απόδοσης καταβύθισης αυξανόμενου του χρόνου εκχύλισης. Αυτό πιθανώς οφείλεται στην υψηλή θερμοκρασία την οποία αποκτά το δείγμα σε μεγάλους χρόνους εκχύλισης (σε συνάρτηση και με τον μικρότερο όγκο δείγματος), γεγονός που μπορεί να επιφέρει τη μετουσίωση των πρωτεϊνών. Η μέγιστη απόδοση εμφανίζεται για χρόνο εκχύλισης ίσο με 8 min και λόγο 1/15. Εξαιρουμένου του λόγου 1/15, οι υψηλότερες αποδόσεις εμφανίζονται για χρόνο εκχύλισης 10 min και λόγο στερεού προς υγρό 1/20, δείχνοντας τη θετική επίδραση του χρόνου έκθεσης στα μικροκύματα στην απόδοση καταβύθισης των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων.

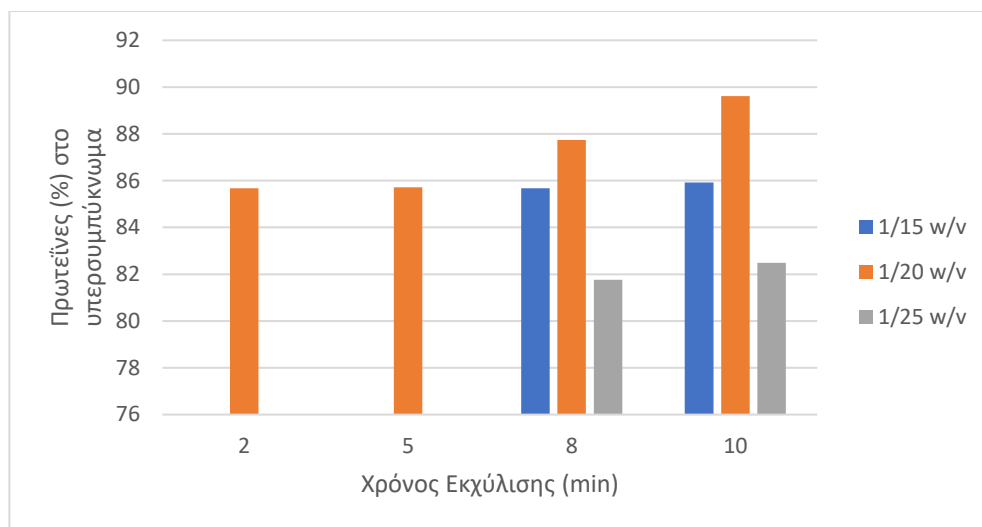
Από τη στατιστική επεξεργασία (ανάλυση διακύμανσης ANOVA) των αποτελεσμάτων των πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα με ισχύ 240 W, χρόνο 8 και 10 min και λόγο στερεού/υγρού 1/15, 1/20 και 1/25 (Πίνακας Π-15), προκύπτει ότι για την απόδοση καταβύθισης, τόσο ο χρόνος εκχύλισης, όσο και ο λόγος στερεού προς υγρό δεν αποτελούν σημαντικούς παράγοντες ($P > 0,05$).



Διάγραμμα 5.4. Μεταβολή της ολικής απόδοσης συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και του χρόνου εκχύλισης για τα πειράματα με χρήση μικροκυμάτων με ισχύ 240 W.

Με βάση τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι η ολική απόδοση των πρωτεϊνών αυξάνεται αυξανόμενου του χρόνου εκχύλισης. Εξάιρεση αποτελεί ο λόγος στερεού προς υγρό 1/15, στον οποίο προκύπτει μείωση της ολικής απόδοσης αυξανόμενου του χρόνου εκχύλισης. Αυτό πιθανώς οφείλεται στην υψηλή θερμοκρασία την οποία αποκτά το δείγμα σε μεγάλους χρόνους εκχύλισης, γεγονός που μπορεί να επιφέρει τη μετουσίωση των πρωτεϊνών. Η μέγιστη απόδοση εμφανίζεται για χρόνο εκχύλισης ίσο με 10 min, γεγονός που αποδεικνύει τη θετική επίδραση του χρόνου έκθεσης στα μικροκύματα στην επίτευξη υψηλότερων ολικών αποδόσεων. Συνολικά, οι υψηλότερες αποδόσεις εμφανίζονται για λόγο στερεού προς υγρό 1/20.

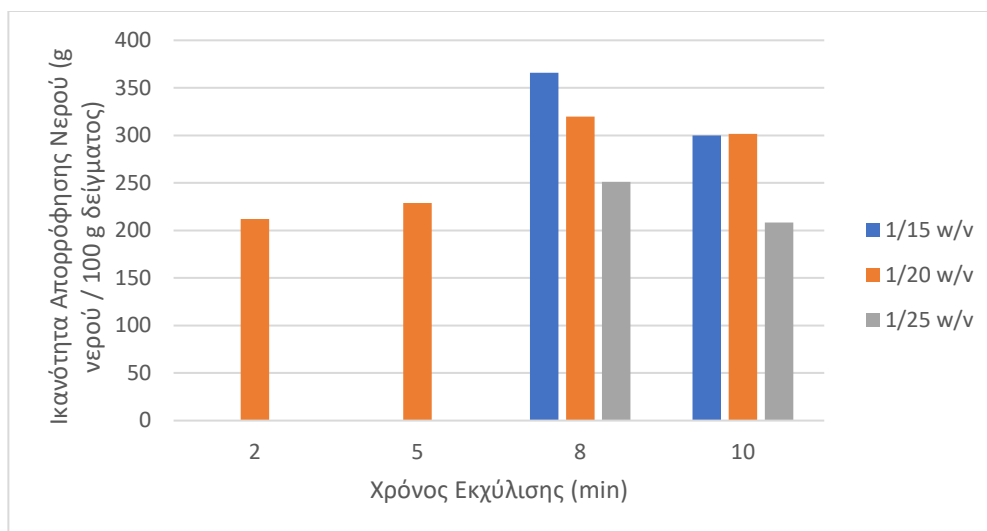
Από τη στατιστική επεξεργασία (ανάλυση διακύμανσης ANOVA) των αποτελεσμάτων των πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα με ισχύ 240 W, χρόνο 8 και 10 min και λόγο στερεού/υγρού 1/15, 1/20 και 1/25 (Πίνακας Π-16), προκύπτει ότι για την ολική απόδοση, τόσο ο χρόνος εκχύλισης, όσο και ο λόγος στερεού προς υγρό δεν αποτελούν σημαντικούς παράγοντες ($P > 0,05$).



Διάγραμμα 5.5. Μεταβολή της περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες των υπερσυμπυκνωμάτων συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και του χρόνου εκχύλισης για τα πειράματα με χρήση μικροκυμάτων με ισχύ 240 W.

Με βάση το παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι το ποσοστό πρωτεϊνών στο πρωτεϊνικό υπερσυμπύκνωμα αυξάνεται αυξανόμενου του χρόνου εκχύλισης. Ωστόσο οι διαφορές στην περιεκτικότητα των πρωτεϊνών δεν είναι μεγάλες. Όσον αφορά το λόγο στερεού προς υγρό, παρατηρείται ότι μέχρι το λόγο 1/20 η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες αυξάνεται, ενώ για λόγο στερεού προς υγρό 1/25 η περιεκτικότητα μειώνεται. Τα καλύτερα αποτελέσματα προκύπτουν για λόγο 1/20 και χρόνο εκχύλισης 10 min, ενώ τα χειρότερα για λόγο 1/25.

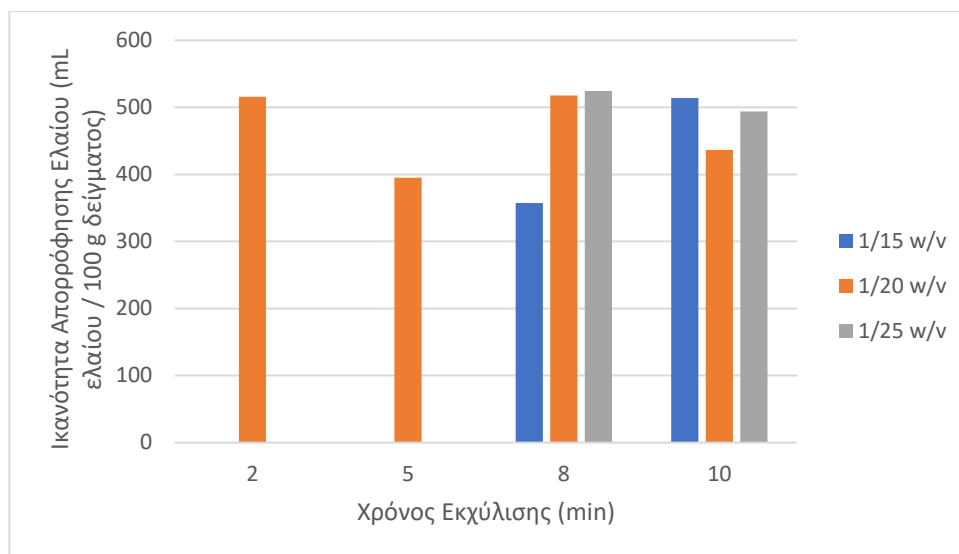
Από τη στατιστική επεξεργασία (ανάλυση διακύμανσης ANOVA) των αποτελεσμάτων των πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα με ισχύ 240 W, χρόνο 8 και 10 min και λόγο στερεού/υγρού 1/15, 1/20 και 1/25 (Πίνακας Π-17), προκύπτει ότι ο χρόνος εκχύλισης δεν αποτελεί σημαντικό παράγοντα, ενώ ο λόγος στερεού προς υγρό επηρεάζει σημαντικά την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων. Επιπλέον, από έλεγχο Duncan (Πίνακας Π-18), συμπεραίνεται ότι και οι τρεις λόγοι στερεού προς υγρό παρέχουν σημαντικά διαφορετικές τιμές περιεκτικότητας πρωτεϊνών μεταξύ τους, με το λόγο 1/20 να δίνει συνολικά τα καλύτερα αποτελέσματα.



Διάγραμμα 5.6. Μεταβολή της ικανότητας απορρόφησης νερού των υπερσυμπυκνωμάτων συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και του χρόνου εκχύλισης για τα πειράματα με χρήση μικροκυμάτων με ισχύ 240 W.

Με βάση το παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι όσον αφορά το χρόνο εκχύλισης, για το λόγο στερεού προς υγρό 1/20, η ικανότητα απορρόφησης νερού των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων παρουσιάζει αρχικά μία αύξηση της τιμής της από τα 2 έως τα 8 min εκχύλισης, ωστόσο για χρόνο εκχύλισης ίσο με 10 min μειώνεται. Παρόμοια μείωση φαίνεται και στην περίπτωση των άλλων λόγων στερεού προς υγρό. Η μείωση πιθανόν να οφείλεται σε μερική μετουσίωση των πρωτεϊνών λόγω της αύξησης της θερμοκρασίας. Τα καλύτερα αποτελέσματα προκύπτουν για λόγο 1/15 και χρόνο εκχύλισης 8 min, ενώ τα χειρότερα για λόγο 1/25.

Από τη στατιστική επεξεργασία (ανάλυση διακύμανσης ANOVA) των αποτελεσμάτων των πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα με ισχύ 240 W, χρόνο 8 και 10 min και λόγο στερεού/υγρού 1/15, 1/20 και 1/25 (Πίνακας Π-19), προκύπτει ότι ο χρόνος εκχύλισης δεν αποτελεί σημαντικό παράγοντα για τις λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, ενώ ο λόγος στερεού προς υγρό επηρεάζει σημαντικά την ικανότητα απορρόφησης νερού των υπερσυμπυκνωμάτων. Επιπλέον, από έλεγχο Duncan (Πίνακας Π-20), συμπεραίνεται ότι οι λόγοι στερεού προς υγρό 1/15 και 1/20 δεν παρέχουν στατιστικά διαφορετικές λειτουργικές ιδιότητες μεταξύ τους, πλην όμως και οι δύο λόγοι παρέχουν διαφορετικές ιδιότητες από το λόγο 1/25. Συνολικά, τα καλύτερα αποτελέσματα προκύπτουν για το λόγο 1/15.

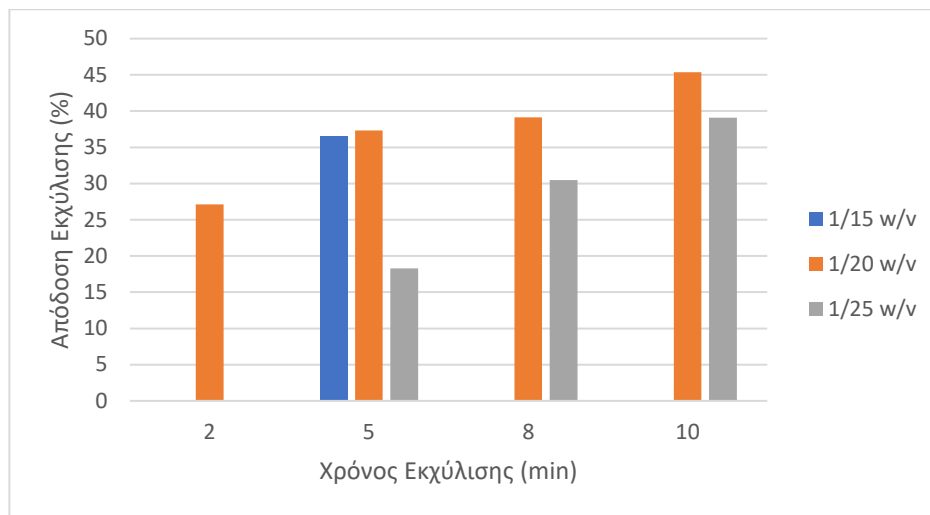


Διάγραμμα 5.7. Μεταβολή της ικανότητας απορρόφησης ελαίου των υπερσυμπυκνωμάτων συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και του χρόνου εκχύλισης για τα πειράματα με χρήση μικροκυμάτων με ισχύ 240 W.

Με βάση το παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι η ικανότητα απορρόφησης ελαίου των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων δεν ακολουθεί μία συγκεκριμένη τάση, ούτε όσον αφορά το χρόνο εκχύλισης, ούτε όσον αφορά το λόγο στερεού προς υγρό. Η μέγιστη τιμή της ιδιότητας αυτής εμφανίζεται για χρόνο εκχύλισης ίσο με 8 min και λόγο 1/25.

Από τη στατιστική επεξεργασία (ανάλυση διακύμανσης ANOVA) των αποτελεσμάτων των πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα με ισχύ 240 W, χρόνο 8 και 10 min και λόγο στερεού/υγρού 1/15, 1/20 και 1/25 (Πίνακας Π-21), προκύπτει ότι για την ικανότητα απορρόφησης ελαίου, τόσο ο χρόνος εκχύλισης, όσο και ο λόγος στερεού προς υγρό δεν αποτελούν σημαντικούς παράγοντες ($P > 0,05$).

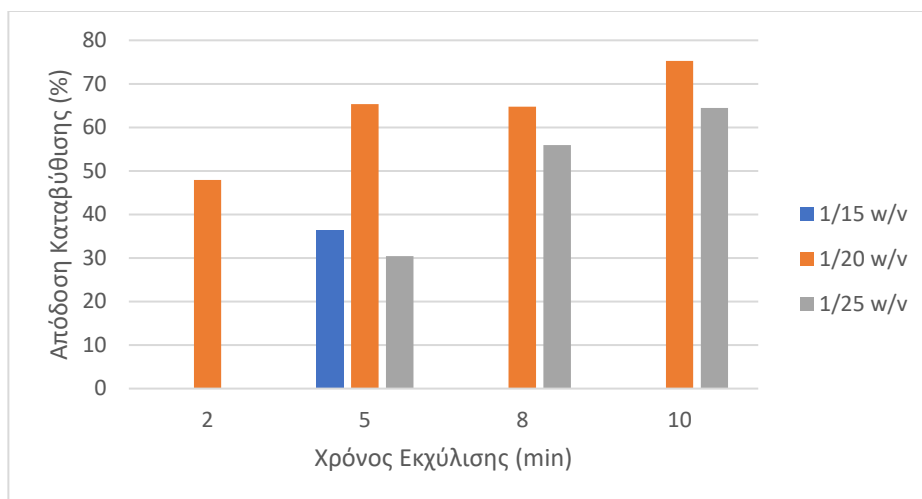
Επίδραση του λόγου στερεού προς υγρό και του χρόνου εκχύλισης των πρωτεϊνών στην εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα, με ισχύ μικροκυμάτων 400 W, κατά την παραλαβή των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων.



Διάγραμμα 5.8. Μεταβολή της απόδοσης εκχύλισης συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και του χρόνου εκχύλισης για τα πειράματα με χρήση μικροκυμάτων με ισχύ 400 W.

Με βάση το παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι η απόδοση εκχύλισης αυξάνεται αυξανόμενου του χρόνου εκχύλισης και η μέγιστη απόδοση εμφανίζεται για χρόνο εκχύλισης ίσο με 10 min. Όσον αφορά το λόγο στερεού προς υγρό, παρατηρείται ότι για το λόγο 1/20 και το λόγο 1/15 η απόδοση εκχύλισης είναι υψηλότερη, από ότι για το λόγο στερεού προς υγρό 1/25, στον οποίο γενικά εμφανίζονται χαμηλότερες αποδόσεις, πιθανόν εξαιτίας του μεγάλου όγκου διαλύτη, ο οποίος μπορεί να οδηγεί σε πιο ήπιες συνθήκες εκχύλισης (π.χ. θερμοκρασία δείγματος κατά την εκχύλιση) που να μην ευνοούν εν τέλει τη διαδικασία της εκχύλισης. Συνολικά, η υψηλότερη απόδοση εμφανίζεται για λόγο στερεού προς υγρό 1/20 και για χρόνο εκχύλισης 10 min.

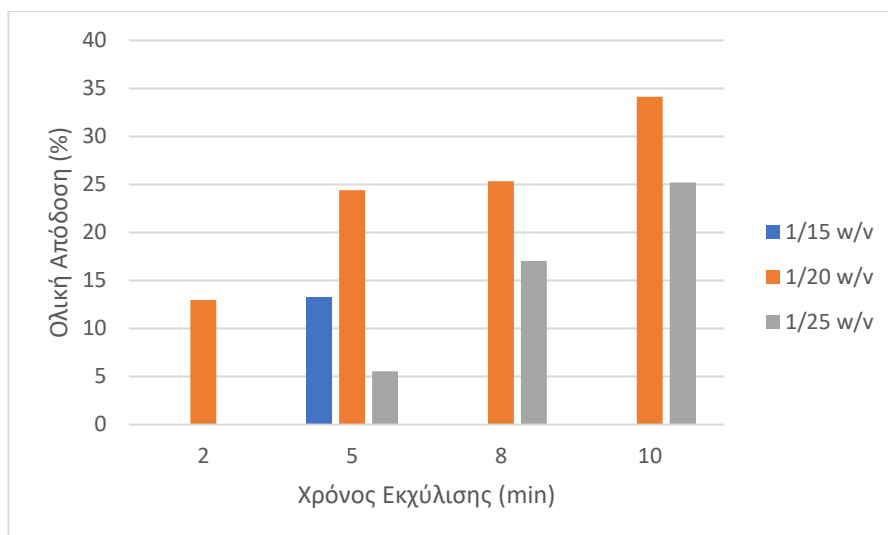
Από τη στατιστική επεξεργασία (ανάλυση διακύμανσης ANOVA) των αποτελεσμάτων των πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα με ισχύ 400 W, χρόνο 5, 8 και 10 min και λόγο στερεού/υγρού 1/20 και 1/25 (Πίνακας Π-22), προκύπτει ότι τόσο ο χρόνος εκχύλισης, όσο και ο λόγος στερεού προς υγρό δεν επηρεάζουν σημαντικά την απόδοση εκχύλισης.



Διάγραμμα 5.9. Μεταβολή της απόδοσης καταβύθισης συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και του χρόνου εκχύλισης για τα πειράματα με χρήση μικροκυμάτων με ισχύ 400 W.

Με βάση το παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι γενικά η απόδοση καταβύθισης αυξάνεται αυξανόμενου του χρόνου εκχύλισης. Όσον αφορά το λόγο στερεού προς υγρό, παρατηρείται ότι για το λόγο 1/20 εμφανίζονται υψηλότερες αποδόσεις σε σχέση με τους άλλους δύο λόγους. Η μέγιστη απόδοση εμφανίζεται για χρόνο εκχύλισης 10 min και λόγο στερεού προς υγρό 1/20, αποδεικνύοντας τη θετική επίδραση του χρόνου έκθεσης στα μικροκύματα στην απόδοση καταβύθισης.

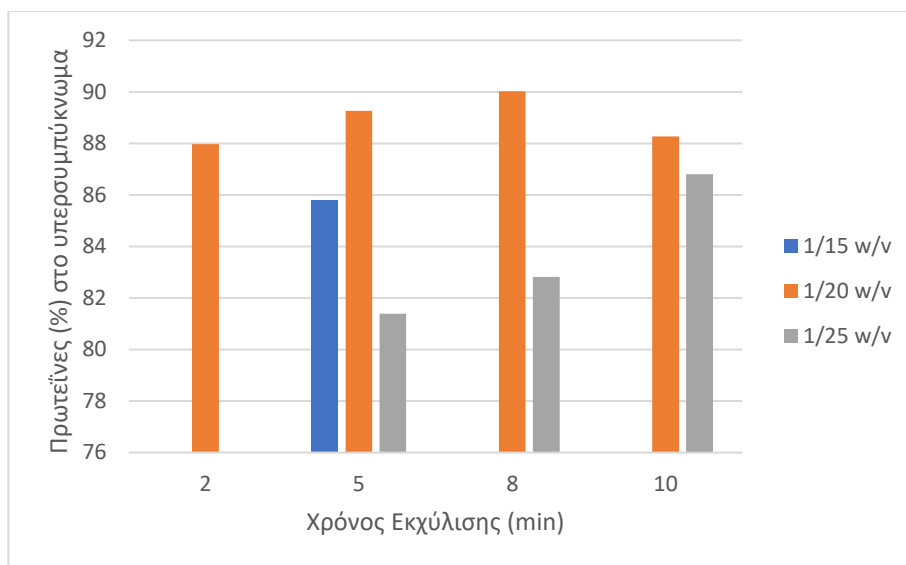
Από τη στατιστική επεξεργασία (ανάλυση διακύμανσης ANOVA) των αποτελεσμάτων των πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα με ισχύ 400 W, χρόνο 5, 8 και 10 min και λόγο στερεού/υγρού 1/20 και 1/25 (Πίνακας Π-23), προκύπτει ότι τόσο ο χρόνος εκχύλισης, όσο και ο λόγος στερεού προς υγρό δεν επηρεάζουν σημαντικά την απόδοση καταβύθισης.



Διάγραμμα 5.10. Μεταβολή της ολικής απόδοσης συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και του χρόνου εκχύλισης για τα πειράματα με χρήση μικροκυμάτων με ισχύ 400 W.

Με βάση τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι η ολική απόδοση αυξάνεται αυξανόμενου του χρόνου εκχύλισης. Όσον αφορά το λόγο στερεού προς υγρό, παρατηρείται ότι για το λόγο 1/20 εμφανίζονται υψηλότερες αποδόσεις σε σχέση με τους άλλους δύο λόγους. Η μέγιστη ολική απόδοση εμφανίζεται για χρόνο εκχύλισης ίσο με 10 min και για λόγο στερεού προς υγρό 1/20, αποδεικνύοντας τη θετική επίδραση του χρόνου έκθεσης στα μικροκύματα στην ολική απόδοση.

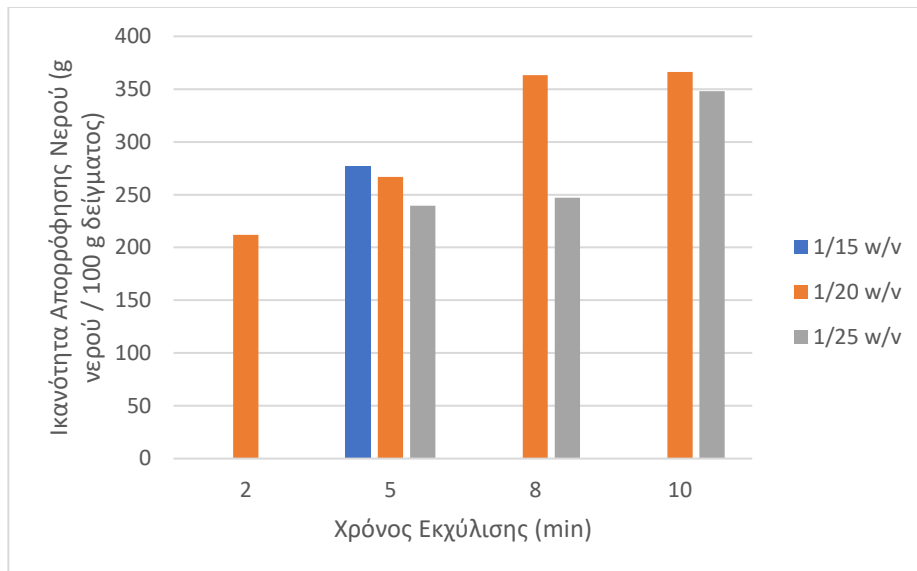
Από τη στατιστική επεξεργασία (ανάλυση διακύμανσης ANOVA) των αποτελεσμάτων των πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα με ισχύ 400 W, χρόνο 5, 8 και 10 min και λόγο στερεού/υγρού 1/20 και 1/25 (Πίνακας Π-24), προκύπτει ότι τόσο ο χρόνος εκχύλισης, όσο και ο λόγος στερεού προς υγρό δεν επηρεάζουν σημαντικά την ολική απόδοση.



Διάγραμμα 5.11. Μεταβολή της περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες των υπερσυμπυκνωμάτων συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και του χρόνου εκχύλισης για τα πειράματα με χρήση μικροκυμάτων με ισχύ 400 W.

Με βάση το παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι το ποσοστό πρωτεϊνών στο πρωτεϊνικό υπερσυμπύκνωμα αυξάνεται αυξανόμενου του χρόνου εκχύλισης. Εξάιρεση αποτελεί η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες για το λόγο στερεού προς υγρό 1/20, όπου εμφανίζεται ελαφρώς μειωμένη για χρόνο εκχύλισης 10 min. Γεγονός που ίσως οφείλεται σε μερική μετουσίωση των πρωτεϊνών εξαιτίας του μεγαλύτερου χρόνου έκθεσης στα μικροκύματα. Ωστόσο οι διαφορές στην περιεκτικότητα δεν είναι μεγάλες. Όσον αφορά το λόγο στερεού προς υγρό, παρατηρείται ότι μέχρι το λόγο 1/20 η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες αυξάνεται, ενώ για λόγο στερεού προς υγρό 1/25 η περιεκτικότητα μειώνεται, πιθανόν εξαιτίας του μεγάλου όγκου διαλύτη, ο οποίος μπορεί να οδηγεί σε πιο ήπιες συνθήκες εκχύλισης (π.χ. θερμοκρασία δείγματος κατά την εκχύλιση) που να μην ευνοούν εν τέλει τη διαδικασία της εκχύλισης. Τα καλύτερα αποτελέσματα προκύπτουν για λόγο 1/20 και χρόνο εκχύλισης 8 min, ενώ τα χειρότερα για λόγο 1/25.

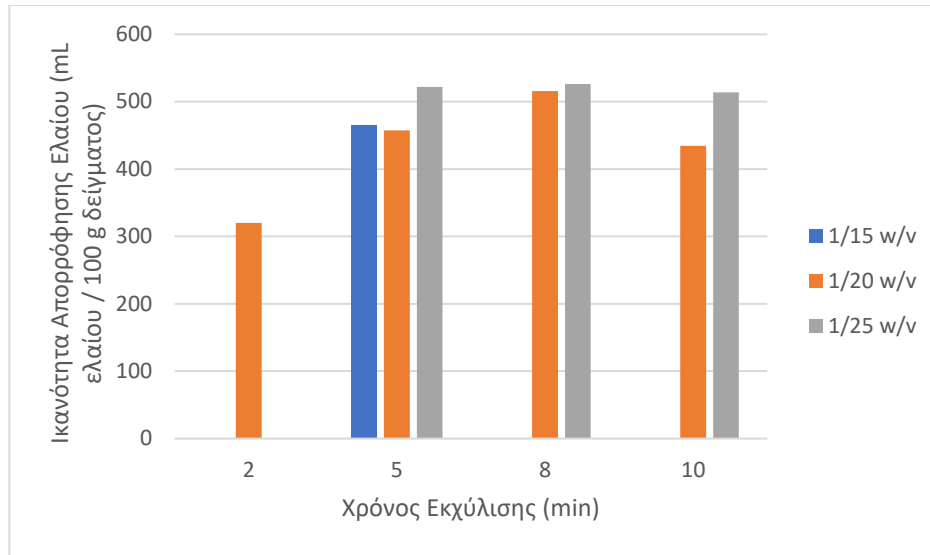
Από τη στατιστική επεξεργασία (ανάλυση διακύμανσης ANOVA) των αποτελεσμάτων των πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα με ισχύ 400 W, χρόνο 5, 8 και 10 min και λόγο στερεού/υγρού 1/20 και 1/25 (Πίνακας Π-25), προκύπτει ότι τόσο ο χρόνος εκχύλισης, όσο και ο λόγος στερεού προς υγρό δεν επηρεάζουν σημαντικά την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων.



Διάγραμμα 5.12. Μεταβολή της ικανότητας απορρόφησης νερού των υπερσυμπυκνωμάτων συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και του χρόνου εκχύλισης για τα πειράματα με χρήση μικροκυμάτων με ισχύ 400 W.

Με βάση το παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι όσον αφορά το χρόνο εκχύλισης, για το λόγο στερεού προς υγρό 1/20, η ικανότητα απορρόφησης νερού των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων παρουσιάζει αρχικά μία αύξηση της τιμής της για εκχύλιση από τα 2 έως τα 8 min, ωστόσο για χρόνο εκχύλισης ίσο με 10 min διατηρείται η ίδια. Για το λόγο στερεού προς υγρό 1/25 παρατηρείται αύξηση της λειτουργικής ιδιότητας αυξανόμενου του χρόνου εκχύλισης. Συγκρίνοντας τους τρεις λόγους στερεού/υγρό για ίδιο χρόνο εκχύλισης (5 min), τα καλύτερα αποτελέσματα προκύπτουν για λόγο 1/15, ενώ τα χειρότερα για λόγο 1/25. Η μέγιστη ικανότητα απορρόφησης νερού εμφανίζεται για χρόνο εκχύλισης ίσο με 10 min και για λόγο στερεού προς υγρό 1/20.

Από τη στατιστική επεξεργασία (ανάλυση διακύμανσης ANOVA) των αποτελεσμάτων των πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα με ισχύ 400 W, χρόνο 5, 8 και 10 min και λόγο στερεού/υγρού 1/20 και 1/25 (Πίνακας Π-26), προκύπτει ότι τόσο ο χρόνος εκχύλισης, όσο και ο λόγος στερεού προς υγρό δεν επηρεάζουν σημαντικά την ικανότητα απορρόφησης νερού των υπερσυμπυκνωμάτων.



Διάγραμμα 5.13. Μεταβολή της ικανότητας απορρόφησης ελαίου των υπερσυμπυκνωμάτων συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και του χρόνου εκχύλισης για τα πειράματα με χρήση μικροκυμάτων με ισχύ 400 W.

Με βάση το παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι η ικανότητα απορρόφησης ελαίου των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων δεν ακολουθεί μία συγκεκριμένη εμφανή τάση, ούτε όσον αφορά το χρόνο εκχύλισης, ούτε όσον αφορά το λόγο στερεού προς υγρό. Καλύτερα αποτελέσματα προκύπτουν για το λόγο 1/25, ενώ μετά τα 8 min εκχύλισης φαίνεται να υπάρχει μία μείωση της συγκεκριμένης λειτουργικής ιδιότητας, πιθανότατα εξαιτίας της αύξησης της θερμοκρασίας του δείγματος, η οποία μπορεί να επιφέρει μετουσίωση κάποιων πρωτεϊνών και επομένως μεταβολή της λειτουργικότητάς τους. Η μέγιστη τιμή εμφανίζεται για χρόνο εκχύλισης ίσο με 8 min και λόγο 1/25.

Από τη στατιστική επεξεργασία (ανάλυση διακύμανσης ANOVA) των αποτελεσμάτων των πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα με ισχύ 400 W, χρόνο 5, 8 και 10 min και λόγο στερεού/υγρού 1/20 και 1/25 (Πίνακας Π-27), προκύπτει ότι τόσο ο χρόνος εκχύλισης, όσο και ο λόγος στερεού προς υγρό δεν επηρεάζουν σημαντικά την ικανότητα απορρόφησης ελαίου των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων.

Επίδραση της ισχύος των μικροκυμάτων, του λόγου στερεού προς υγρό και του χρόνου εκχύλισης των πρωτεϊνών στην εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα, κατά την παραλαβή των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων.

Πραγματοποιήθηκε επίσης (ανάλυση διακύμανσης ANOVA-3) των αποτελεσμάτων για τα πειράματα με μικροκύματα, με τους παράγοντες που εξετάζονται να είναι η ισχύς των μικροκυμάτων (240 και 400 W) ο χρόνος εκχύλισης (8 και 10 min) και ο λόγος στερεού προς υγρό (1/20 και 1/25).

Από αυτή τη στατιστική επεξεργασία προκύπτει ότι (Πίνακας Π-28) και η ισχύς των μικροκυμάτων και ο χρόνος εκχύλισης και ο λόγος στερεού προς υγρό επηρεάζουν σημαντικά την απόδοση εκχύλισης. Πιο συγκεκριμένα και μετά από έλεγχο Duncan (Πίνακας Π-29, Πίνακας Π-30, Πίνακας Π-31), συμπεραίνεται ότι αυξανόμενης της ισχύος των μικροκυμάτων, αυξάνεται η απόδοση εκχύλισης και οι δύο τιμές ισχύος που εξετάστηκαν παρέχουν στατιστικά διαφορετικές αποδόσεις εκχύλισης μεταξύ τους. Το ίδιο ισχύει και για το χρόνο εκχύλισης. Όσον αφορά το λόγο στερεού προς υγρό, παρατηρείται ότι οι δύο λόγοι 1/20 και 1/25 παρέχουν στατιστικά διαφορετικές αποδόσεις εκχύλισης μεταξύ τους, με το λόγο 1/20 να δίνει συνολικά καλύτερα αποτελέσματα ως προς την απόδοση εκχύλισης.

Από τη στατιστική επεξεργασία (ανάλυση διακύμανσης ANOVA-3) των αποτελεσμάτων των πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα με ισχύ 240 και 400 W, χρόνο 8 και 10 min και λόγο στερεού προς υγρό 1/20 και 1/25 (Πίνακας Π-32), προκύπτει ότι ο χρόνος εκχύλισης δεν αποτελεί σημαντικό παράγοντα για την απόδοση καταβύθισης, εν αντιθέσει με την ισχύ και το λόγο στερεού προς υγρό. Επιπλέον, από έλεγχο Duncan (Πίνακας Π-33, Πίνακας Π-34), συμπεραίνεται ότι και η τιμή ισχύος και ο λόγος στερεού προς υγρό παρέχουν στατιστικά διαφορετικές αποδόσεις καταβύθισης μεταξύ τους. Όσον αφορά την ισχύ των μικροκυμάτων, καλύτερα αποτελέσματα για την απόδοση καταβύθισης προκύπτουν για τα 400 W, ενώ για το λόγο w/v, για την τιμή του λόγου 1/20.

Από τη στατιστική επεξεργασία (ανάλυση διακύμανσης ANOVA-3) των αποτελεσμάτων των πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα με ισχύ 240 και 400 W, χρόνο 8 και 10 min και λόγο στερεού προς υγρό 1/20 και 1/25 (Πίνακας Π-35), προκύπτει ότι και οι τρεις παράγοντες που εξετάζονται αποτελούν στατιστικά σημαντικούς παράγοντες για την ολική απόδοση. Επιπλέον, από έλεγχο Duncan (Πίνακας Π-36, Πίνακας Π-37, Πίνακας Π-38), συμπεραίνεται ότι τόσο οι τιμές της ισχύος των μικροκυμάτων, όσο και του χρόνου εκχύλισης και του λόγου στερεού προς υγρό, παρέχουν στατιστικά σημαντικά διαφορετικές ολικές αποδόσεις μεταξύ τους. Καλύτερες ολικές αποδόσεις προκύπτουν για εκχύλιση με ισχύ 400 W για χρόνο 10 min και w/v 1/20.

Από τη στατιστική επεξεργασία (ανάλυση διακύμανσης ANOVA-3) των αποτελεσμάτων των πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα με ισχύ 240 και 400 W, χρόνο 8 και 10 min και λόγο στερεού προς υγρό 1/20 και

1/25 (Πίνακας Π-39), παρατηρείται ότι μόνο ο λόγος στερεού προς υγρό επηρεάζει σημαντικά την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες στο πρωτεϊνικό υπερσυμπύκνωμα. Επιπλέον, από έλεγχο Duncan (Πίνακας Π-40), προκύπτει ότι οι λόγοι στερεού προς υγρό παρέχουν στατιστικά διαφορετική περιεκτικότητα πρωτεϊνών μεταξύ τους, με το λόγο 1/20 να δίνει μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες.

Τέλος, για τις λειτουργικές ιδιότητες, από τη στατιστική επεξεργασία (ανάλυση διακύμανσης ANOVA-3) των αποτελεσμάτων των πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα με ισχύ 240 και 400 W, χρόνο 8 και 10 min και λόγο στερεού προς υγρό 1/20 και 1/25 (Πίνακας Π-41, Πίνακας Π-42), παρατηρείται ότι για την ικανότητα απορρόφησης νερού των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, κανένας παράγοντας δεν επηρεάζει σημαντικά αυτή τη λειτουργική ιδιότητα. Αντιθέτως, για την ικανότητα απορρόφησης ελαίου των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, παρατηρείται ότι μόνο ο χρόνος εκχύλισης επηρεάζει σημαντικά αυτή τη λειτουργική ιδιότητα. Επιπλέον, από έλεγχο Duncan (Πίνακας Π-43), προκύπτει ότι οι χρόνοι εκχύλισης 8 και 10 min παρέχουν στατιστικά διαφορετικές τιμές ικανότητας απορρόφησης ελαίου μεταξύ τους, με τα 8 min να δίνουν συνολικά καλύτερη ικανότητα απορρόφησης ελαίου.

5.3.3 Αποτελέσματα Παραλαβής Πρωτεϊνικών Υπερσυμπυκνωμάτων με εκχύλιση με ευτηκτικούς διαλύτες

Η παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με ευτηκτικούς διαλύτες επιχειρήθηκε με τρία μίγματα διαλυτών. Για λόγους σύγκρισης, στο δεύτερο ευτηκτικό μίγμα (κιτρικό οξύ : γλυκόζη (1:1) + 30 % w/w νερό) εφαρμόστηκε και η μέθοδος εκχύλισης με υπέρηχους πλην της συμβατικής και της εκχύλισης με χρήση μικροκυμάτων, οι οποίες εφαρμόστηκαν και στους υπόλοιπους διαλύτες. Κατά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους που εφαρμόστηκε σε αυτό το μίγμα, βρέθηκε η χαμηλότερη απόδοση εκχύλισης ανάμεσα στα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν, με αποτέλεσμα να μην μελετηθεί περαιτέρω αυτή η μέθοδος.

Όπως προαναφέρθηκε, στην περίπτωση αυτή των ευτηκτικών διαλυτών δεν ήταν εφικτή η καταβύθιση των πρωτεϊνών με τη μέθοδο της ισοηλεκτρικής καταβύθισης και συνεπώς η παραλαβή πρωτεϊνικού υπερσυμπυκνώματος από το εκχύλισμα σε κανέναν ευτηκτικό διαλύτη. Ωστόσο, ο προσδιορισμός των πρωτεϊνών στο στερεό υπόλειμμα της εκχύλισης ήταν εφικτός, δίνοντας έτσι τη δυνατότητα υπολογισμού της απόδοσης εκχύλισης για τα παρακάτω πειράματα.

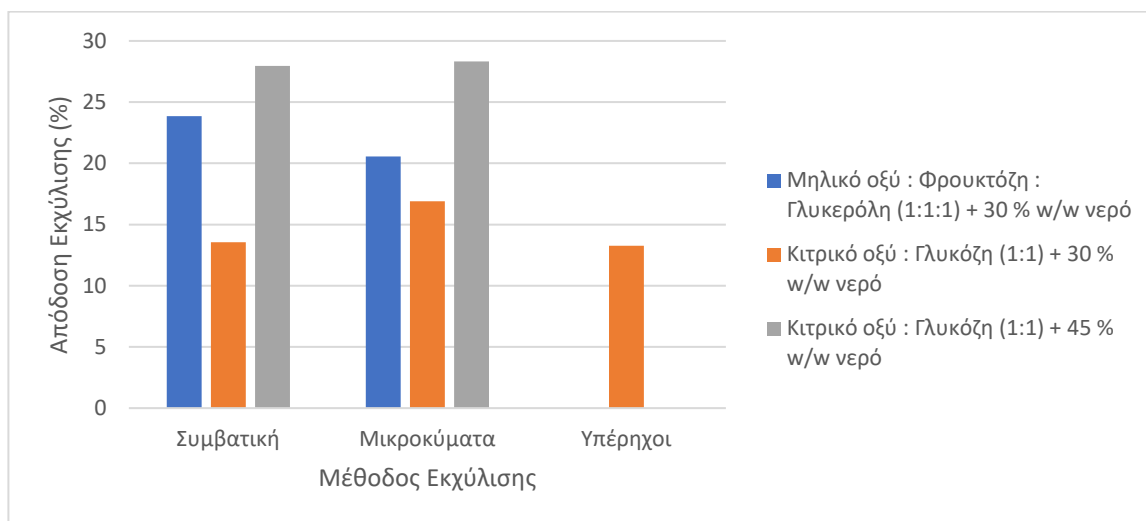
Το μείζον πρόβλημα που προέκυψε κατά την εκχύλιση με ευτηκτικούς διαλύτες ήταν το υψηλό ιξώδες των διαλυτών (ακόμα και μετά την προσθήκη του απιονισμένου νερού σε ποσοστό 30 % και 45 % w/w), το οποίο δυσκόλευε συνολικά τη διαδικασία της εκχύλισης και κυρίως το διαχωρισμό του στερεού υπολείμματος από το πρωτεϊνικό εκχύλισμα. Για την αντιμετώπιση αυτού του προβλήματος επιλέχθηκε η διήθηση υπό κενό.

Άλλο πρόβλημα ήταν το πολύ χαμηλό pH των ευτηκτικών διαλυτών, το οποίο δυσκόλευε τη ρύθμιση του pH στο 9 κατά τη διαδικασία της εκχύλισης. Κατά τη ρύθμιση του pH σε βασικό περιβάλλον ανέβαινε και η θερμοκρασία του δείγματος.

Όλα τα πειράματα με ευτηκτικούς διαλύτες έγιναν σε λόγο στερεού προς υγρό 1/20.

Πίνακας 5.9. Αποτελέσματα Απόδοσης Εκχύλισης των πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από άλευρο σόγιας με ευτηκτικούς διαλύτες, για διάφορες μεθόδους εκχύλισης και λόγο στερεού/υγρού 1/20.

	Μηλικό οξύ : Φρουκτόζη : Γλυκερόλη (1:1:1) + 30 % w/w νερό	Κιτρικό οξύ : Γλυκόζη (1:1) + 30 % w/w νερό	Κιτρικό οξύ : Γλυκόζη (1:1) + 45 % w/w νερό
Συμβατική Εκχύλιση	23,86	13,54	27,97
Εκχύλιση με Μικροκύματα	20,56	16,91	28,33
Εκχύλιση με Υπέρηχους	-	13,27	-



Διάγραμμα 5.14. Μεταβολή της απόδοσης εκχύλισης συναρτήσει του ευτηκτικού διαλύτη και της μεθόδου εκχύλισης.

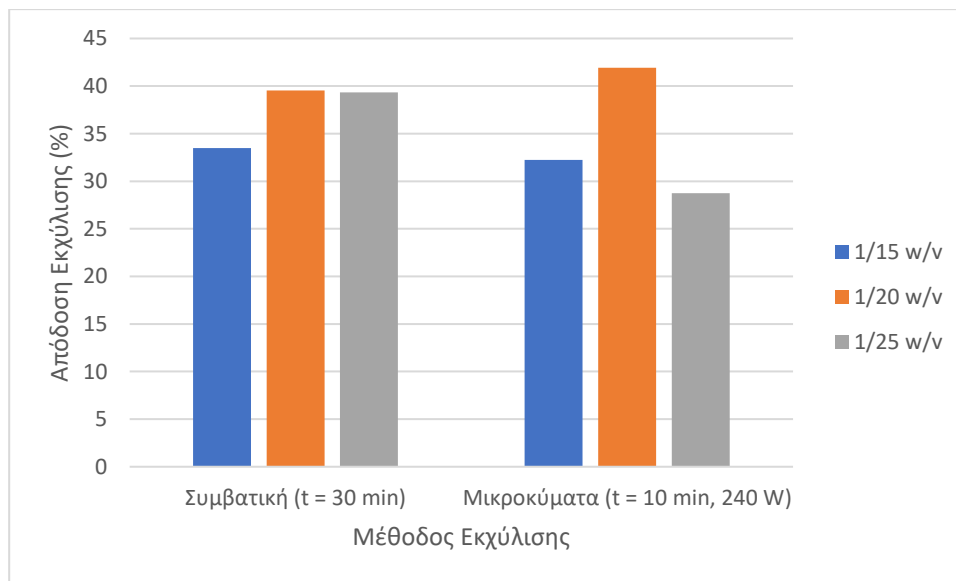
Από τον πίνακα 5.6 και το διάγραμμα 5.14 παρατηρείται ότι η απόδοση εκχύλισης κυμαίνεται από 13,27% έως 28,33%. Για τον πρώτο ευτηκτικό διαλύτη παρατηρείται ότι καλύτερη απόδοση εκχύλισης προέκυψε κατά τη συμβατική εκχύλιση, ενώ για τους άλλους δύο διαλύτες κατά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα. Καλύτερα αποτελέσματα εκχύλισης εμφανίζονται για τον τρίτο διαλύτη (κιτρικό οξύ : γλυκόζη (1:1) και προσθήκη 45 % w/w απιονισμένο νερό), γεγονός

που ίσως υποδεικνύει την αρνητική επίδραση του ιξώδους κατά τη διαδικασία της εκχύλισης. Ειδικότερα στο συγκεκριμένο ευτηκτικό μίγμα, το οποίο είχε χαμηλότερο ιξώδες από τα άλλα δύο (εξαιτίας της μεγαλύτερης ποσότητας νερού που προστέθηκε), βρέθηκε απόδοση εκχύλισης 27,97% και 28,33%, κατά τη συμβατική εκχύλιση και την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα αντίστοιχα.

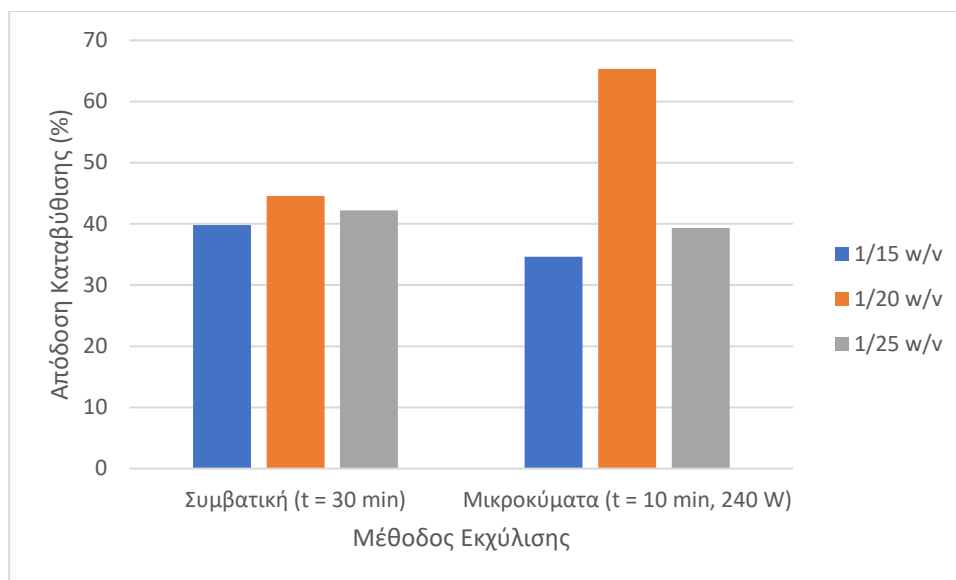
5.4 Σύγκριση Μεθόδων Εκχύλισης

Παρακάτω, γίνεται σύγκριση των αποτελεσμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων μέσω των νέων μεθόδων εκχύλισης, που μελετήθηκαν, με τα αντίστοιχα της συμβατικής μεθόδου εκχύλισης. Αρχικά, συγκρίνεται η συμβατική μέθοδος εκχύλισης με τη μέθοδο υποβοηθούμενη με μικροκύματα. Οι συνθήκες εκχύλισης με μικροκύματα που επιλέγονται είναι αυτές στις οποίες προέκυψαν οι μεγαλύτερες αποδόσεις της διεργασίας για κάθε μελετώμενη ισχύ μικροκυμάτων (240 W, 10 min και 400 W, 10 min).

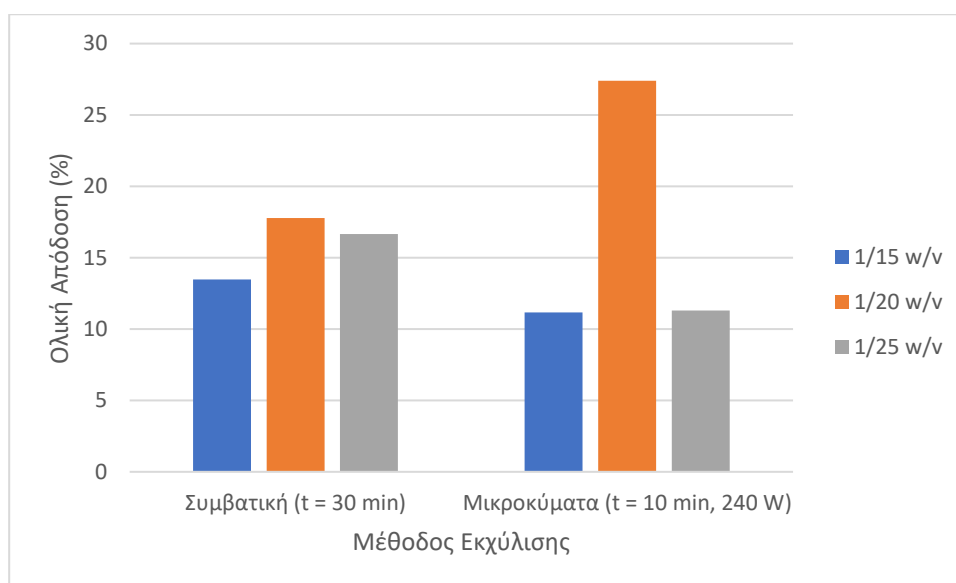
5.4.1 Σύγκριση αποτελεσμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με τη συμβατική μέθοδο και με τη μέθοδο υποβοηθούμενη με μικροκύματα, για συνθήκες εκχύλισης 240 W, 10 min



Διάγραμμα 5.15. Μεταβολή της απόδοσης εκχύλισης συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.



Διάγραμμα 5.16. Μεταβολή της απόδοσης καταβύθισης συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.

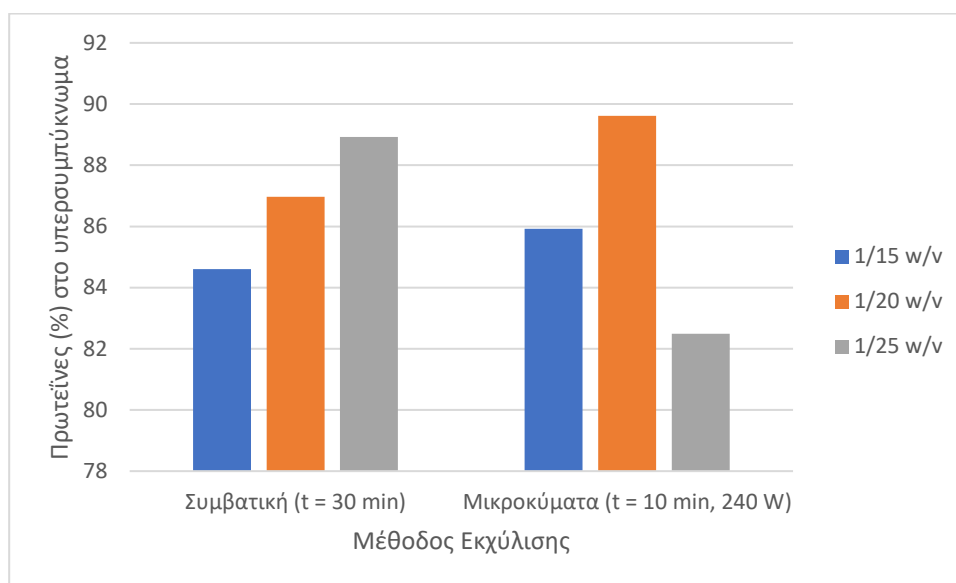


Διάγραμμα 5.17. Μεταβολή της ολικής απόδοσης συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.

Από τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στα παραπάνω διαγράμματα παρατηρείται ότι οι μέγιστες αποδόσεις εμφανίζονται στη μέθοδο εκχύλισης με χρήση μικροκυμάτων και συγκεκριμένα για λόγο στερεού προς υγρό 1/20. Για τους δύο άλλους λόγους (1/15 και 1/25) οι αποδόσεις είναι υψηλότερες στη συμβατική μέθοδο εκχύλισης.

Από τη στατιστική επεξεργασία (ανάλυση διακύμανσης ANOVA) των αποτελεσμάτων των πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με τη συμβατική εκχύλιση και με την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα με ισχύ 240 W και χρόνο 10 min, για λόγους στερεού προς υγρό 1/15, 1/20 και 1/25 (Πίνακας Π-44, Πίνακας Π-45, Πίνακας Π-46), προκύπτει ότι τόσο η μέθοδος εκχύλισης, όσο και ο λόγος στερεού προς υγρό δεν επηρεάζουν σημαντικά τις αποδόσεις της διαδικασίας.

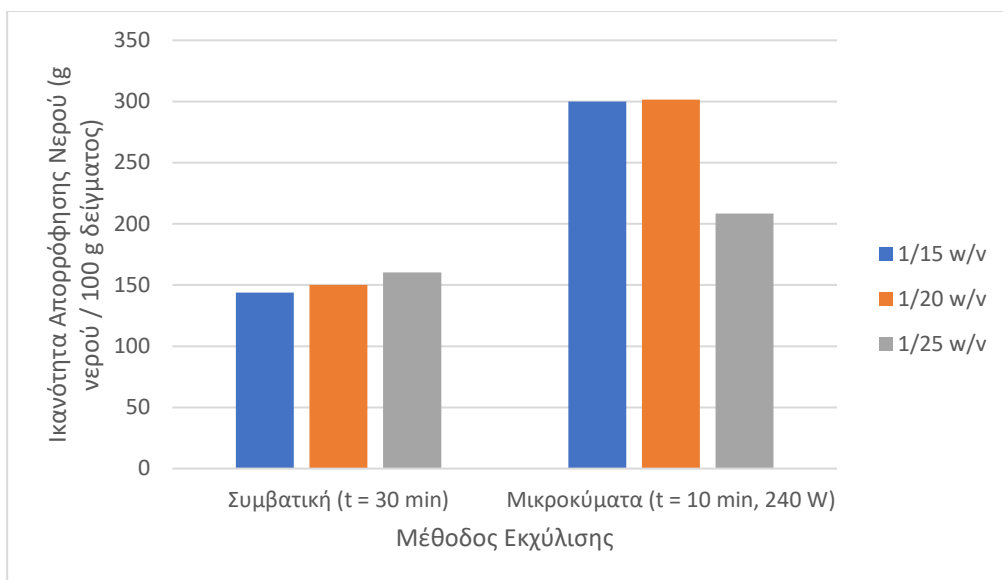
Να σημειωθεί ότι η μέθοδος εκχύλισης με χρήση μικροκυμάτων (κυρίως για λόγο στερεού προς υγρό 1/20) εμφανίζει μεγαλύτερες αποδόσεις σε σχέση με τη συμβατική μέθοδο σε πολύ μικρότερο χρόνο εκχύλισης (10 min).



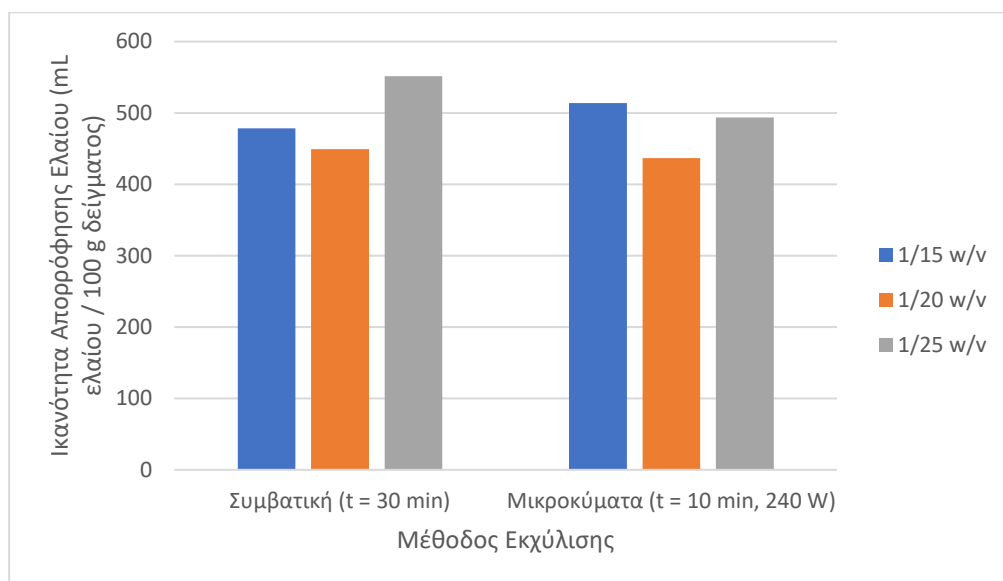
Διάγραμμα 5.18. Μεταβολή της περιεκτικότητας του υπερσυμπυκνώματος σε πρωτεΐνες συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.

Με βάση τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι η μέγιστη περιεκτικότητα πρωτεϊνών εμφανίζεται στη μέθοδο εκχύλισης με χρήση μικροκυμάτων και συγκεκριμένα για λόγο στερεού προς υγρό 1/20, ενώ με την ίδια μέθοδο εμφανίζεται και η χαμηλότερη περιεκτικότητα για λόγο 1/25.

Από τη στατιστική επεξεργασία (ανάλυση διακύμανσης ANOVA) των αποτελεσμάτων των πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με τη συμβατική εκχύλιση και με την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα με ισχύ 240 W και χρόνο 10 min, για λόγους στερεού προς υγρό 1/15, 1/20 και 1/25 (Πίνακας Π-47), προκύπτει ότι τόσο η μέθοδος εκχύλισης, όσο και ο λόγος στερεού προς υγρό δεν επηρεάζουν σημαντικά τη περιεκτικότητα του υπερσυμπυκνώματος σε πρωτεΐνες.



Διάγραμμα 5.19. Μεταβολή της ικανότητας απορρόφησης νερού του υπερσυμπυκνώματος συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.



Διάγραμμα 5.20. Μεταβολή της ικανότητας απορρόφησης ελαίου του υπερσυμπυκνώματος συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.

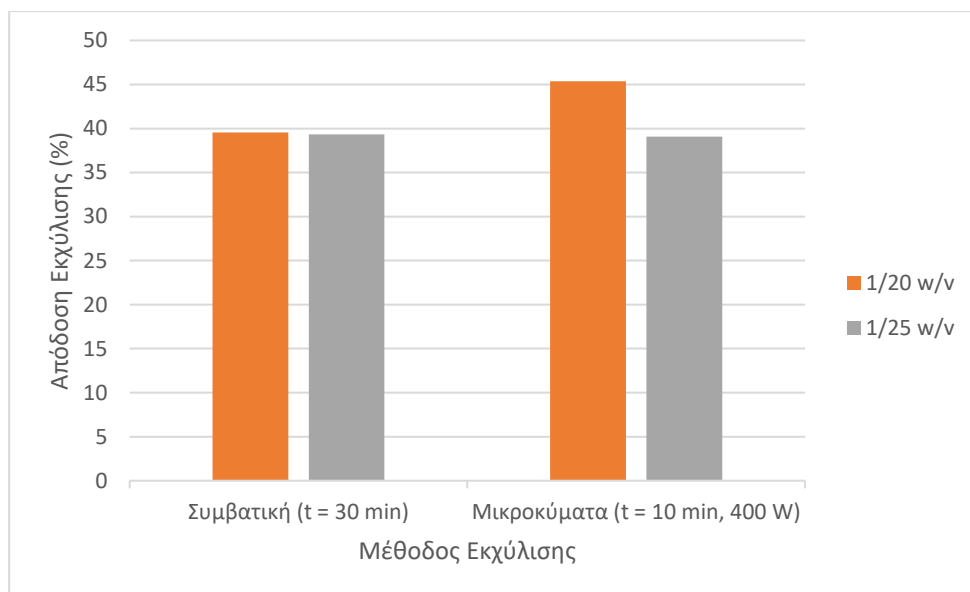
Από τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στα παραπάνω διαγράμματα παρατηρείται ότι η ικανότητα απορρόφησης νερού των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων είναι μεγαλύτερη για τη μέθοδο εκχύλισης με μικροκύματα σε όλους τους λόγους στερεού προς υγρό. Η ικανότητα απορρόφησης ελαίου των υπερσυμπυκνωμάτων που παρήχθησαν εμφανίζουν παραπλήσιες

τιμές για τις δύο μεθόδους εκχύλισης. Η μέγιστη τιμή εμφανίζεται στη συμβατική μέθοδο για λόγο στερεού προς υγρό 1/25.

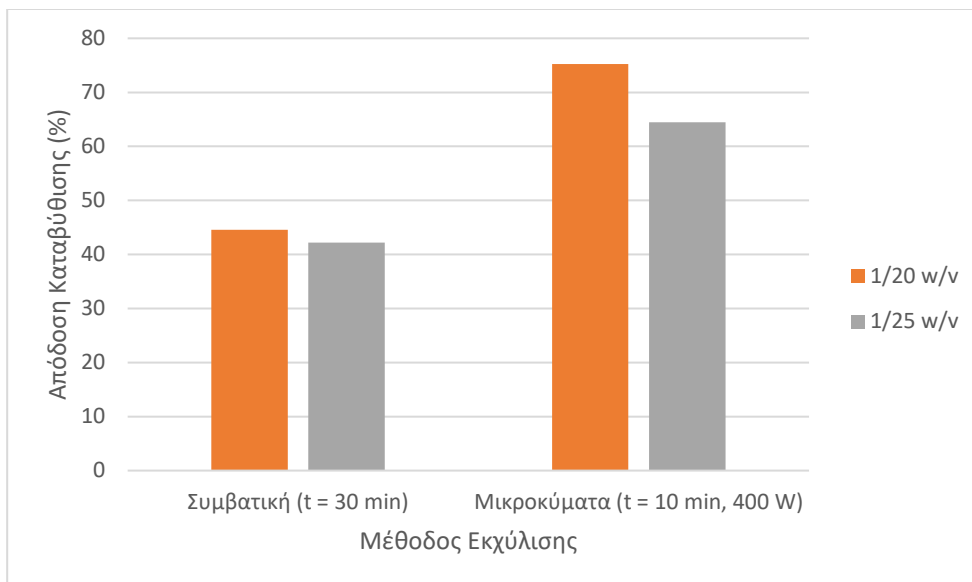
Από τη στατιστική επεξεργασία (ανάλυση διακύμανσης ANOVA) των αποτελεσμάτων των πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με τη συμβατική εκχύλιση και με την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα με ισχύ 240 W και χρόνο 10 min, για λόγους στερεού προς υγρό 1/15, 1/20 και 1/25 (Πίνακας Π-48, Πίνακας Π-49), προκύπτει ότι τόσο η μέθοδος εκχύλισης, όσο και ο λόγος στερεού προς υγρό δεν επηρεάζουν σημαντικά τις λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων.

5.4.2 Σύγκριση αποτελεσμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με τη συμβατική μέθοδο και με τη μέθοδο υποβοηθούμενη με μικροκύματα, για συνθήκες εκχύλισης 400 W, 10 min

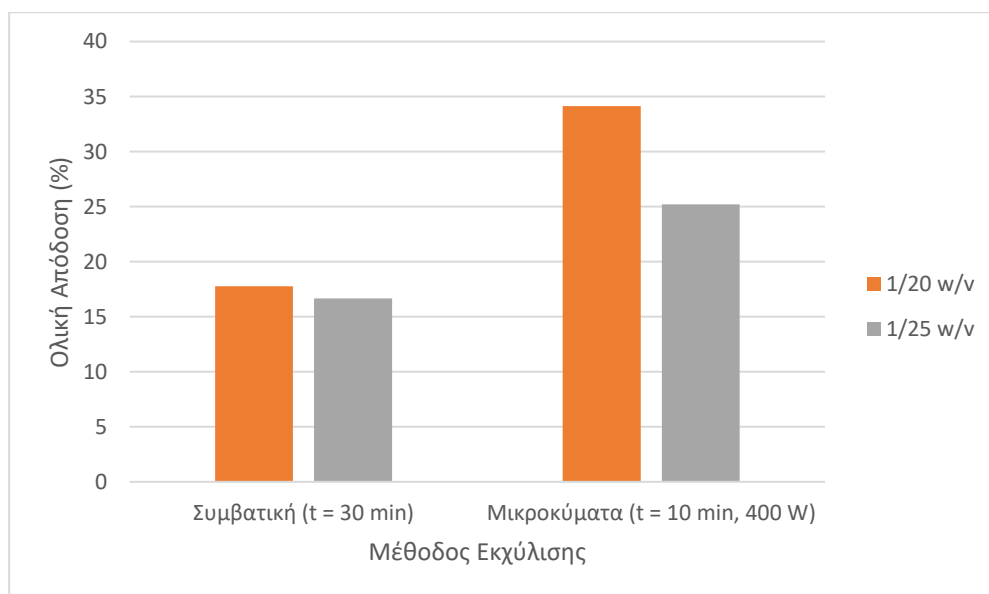
Συγκρίνονται οι λόγοι στερεού προς υγρό 1/20 και 1/25 για τις δύο μεθόδους εκχύλισης. Για τον λόγο 1/15 δεν ήταν δυνατή η εκχύλιση με μικροκύματα σε αυτές τις συνθήκες (400 W, 10 min), καθώς το δείγμα έφτανε σε σημείο βρασμού και υπήρχαν απώλειες. Για την αποφυγή αυτού του προβλήματος, αλλά και γενικά των υψηλών θερμοκρασιών που μπορεί να υποβαθμίσουν ποιοτικά το υπερσυμπύκνωμα, στα πειράματα αυτών των συνθηκών εφαρμόστηκε συνολική έκθεση στα μικροκύματα 10 min, αλλά μετά τα πρώτα 5 min το δείγμα αφέθηκε να ψυχθεί 20 min και στη συνέχεια ακολούθησαν τα υπόλοιπα 5 min έκθεσης στα μικροκύματα.



Διάγραμμα 5.21. Μεταβολή της απόδοσης εκχύλισης συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.



Διάγραμμα 5.22. Μεταβολή της απόδοσης καταβύθισης συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.

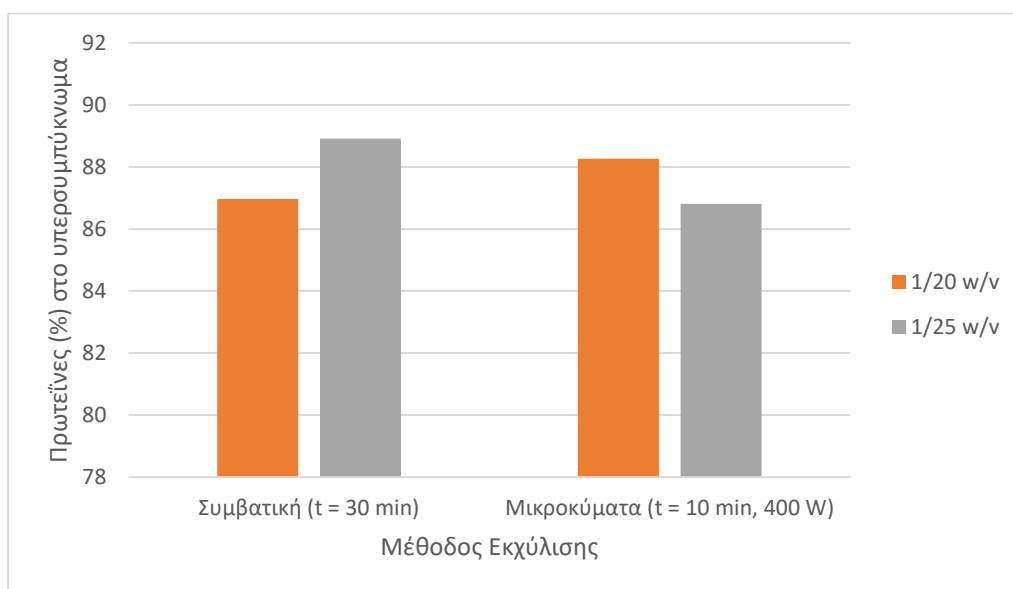


Διάγραμμα 5.23. Μεταβολή της ολικής απόδοσης συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.

Από τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στα παραπάνω διαγράμματα παρατηρείται ότι οι μέγιστες αποδόσεις εμφανίζονται στη μέθοδο εκχύλισης με χρήση μικροκυμάτων και συγκεκριμένα για λόγο στερεού προς υγρό 1/20.

Από τη στατιστική επεξεργασία (ανάλυση διακύμανσης ANOVA) των αποτελεσμάτων των πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με τη συμβατική εκχύλιση και με την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα με ισχύ 400 W και χρόνο 10 min, για λόγους στερεού προς υγρό 1/20 και 1/25 (Πίνακας Π-50, Πίνακας Π-51, Πίνακας Π-52), προκύπτει ότι τόσο η μέθοδος εκχύλισης, όσο και ο λόγος στερεού προς υγρό δεν επηρεάζουν σημαντικά τις αποδόσεις της διαδικασίας.

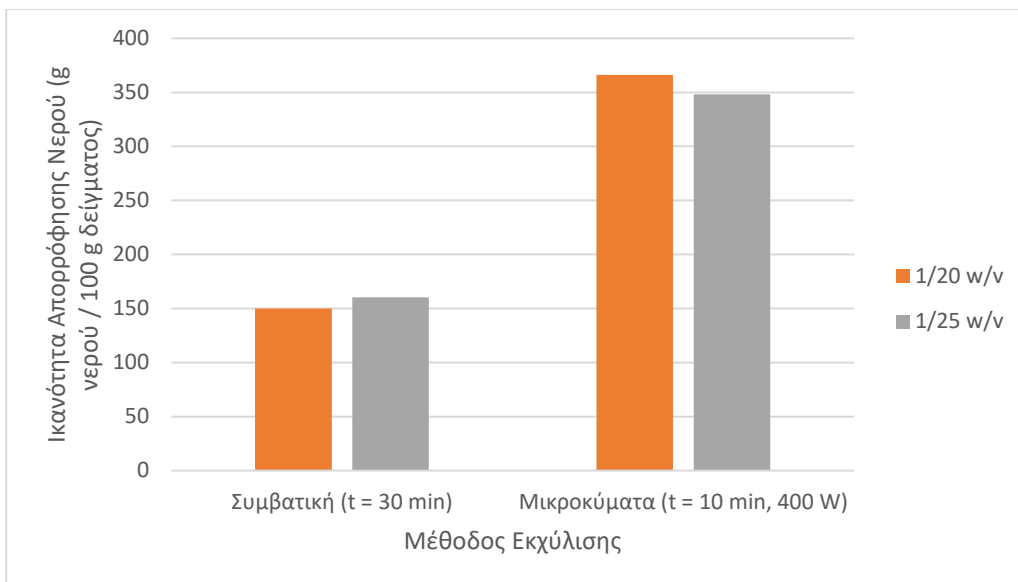
Να σημειωθεί ότι η μέθοδος εκχύλισης με χρήση μικροκυμάτων εμφανίζει μεγαλύτερες αποδόσεις σε σχέση με τη συμβατική μέθοδο σε πολύ μικρότερο χρόνο εκχύλισης. Ειδικότερα σε τρεις φορές μικρότερο χρόνο (10 και 30 min αντίστοιχα).



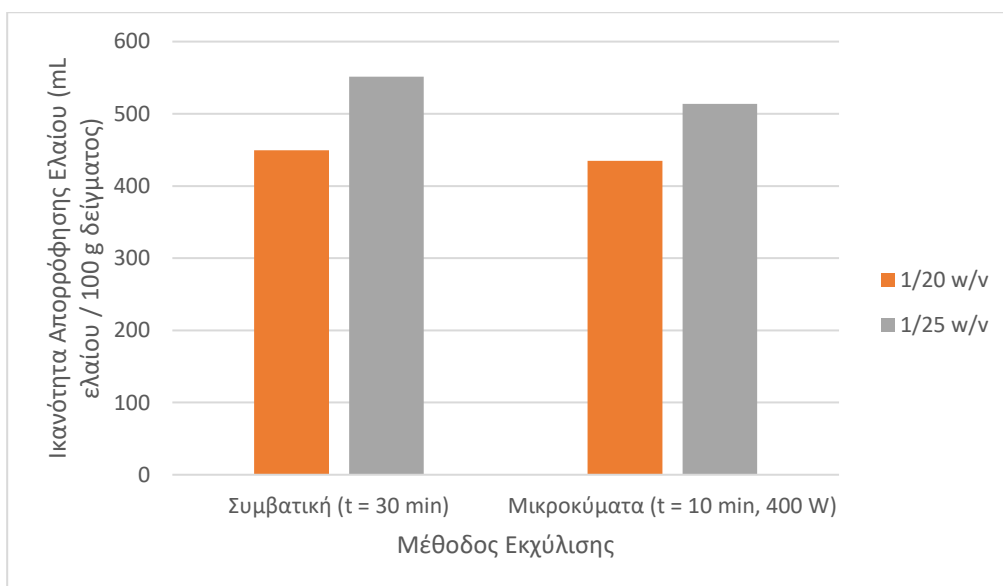
Διάγραμμα 5.24. Μεταβολή της περιεκτικότητας του υπερσυμπυκνώματος σε πρωτεΐνες συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.

Με βάση τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι η μέγιστη περιεκτικότητα πρωτεϊνών εμφανίζεται στη συμβατική μέθοδο και συγκεκριμένα για λόγο στερεού προς υγρό 1/25. Ωστόσο, οι διαφορές μεταξύ των ποσοστών πρωτεΐνης στα υπερσυμπυκνώματα που παρήχθησαν με τις μελετώμενες συνθήκες είναι μικρές.

Από τη στατιστική επεξεργασία (ανάλυση διακύμανσης ANOVA) των αποτελεσμάτων των πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με τη συμβατική εκχύλιση και με την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα με ισχύ 400 W και χρόνο 10 min, για λόγους στερεού προς υγρό 1/20 και 1/25 (Πίνακας Π-53), προκύπτει ότι τόσο η μέθοδος εκχύλισης, όσο και ο λόγος στερεού προς υγρό δεν επηρεάζουν σημαντικά τη περιεκτικότητα του πρωτεϊνικού υπερσυμπυκνώματος σε πρωτεΐνες.



Διάγραμμα 5.25. Μεταβολή της ικανότητας απορρόφησης νερού του υπερσυμπυκνώματος συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.



Διάγραμμα 5.26. Μεταβολή της ικανότητας απορρόφησης ελαίου του υπερσυμπυκνώματος συναρτήσει του λόγου στερεού προς υγρό και της μεθόδου εκχύλισης.

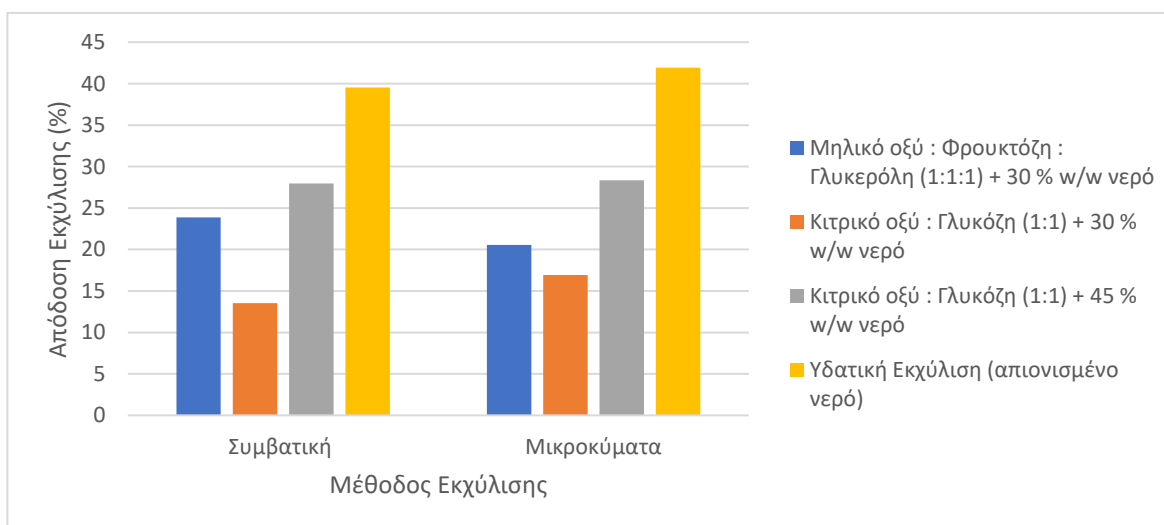
Από τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στα παραπάνω διαγράμματα παρατηρείται ότι η ικανότητα απορρόφησης νερού είναι αρκετά μεγαλύτερη για τη μέθοδο εκχύλισης με μικροκύματα και στους δύο λόγους στερεού προς υγρό. Η καλύτερη τιμή μάλιστα της ιδιότητας αυτής παρατηρείται για λόγο στερεού προς υγρό 1/20. Η ικανότητα απορρόφησης ελαίου των

πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων που παρήχθησαν εμφανίζουν παραπλήσιες τιμές για τις δύο μεθόδους εκχύλισης. Η μέγιστη τιμή εμφανίζεται στη συμβατική μέθοδο για λόγο στερεού προς υγρό 1/25. Στο λόγο αυτό εμφανίζονται καλύτερα αποτελέσματα και στη μέθοδο εκχύλισης με χρήση μικροκυμάτων.

Από τη στατιστική επεξεργασία (ανάλυση διακύμανσης ANOVA) των αποτελεσμάτων των πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με τη συμβατική εκχύλιση και με την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα με ισχύ 400 W και χρόνο 10 min, για λόγους στερεού προς υγρό 1/20 και 1/25 (Πίνακας Π-54), προκύπτει ότι ο λόγος στερεού προς υγρό δεν επηρεάζει σημαντικά την ικανότητα απορρόφησης νερού των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, σε αντίθεση με τη μέθοδο εκχύλισης, η οποία αποτελεί στατιστικά σημαντικό παράγοντα. Επιπλέον, από έλεγχο Duncan (Πίνακας Π-55), παρατηρείται ότι για την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα προκύπτουν συνολικά καλύτερες τιμές της συγκεκριμένης λειτουργικής ιδιότητας. Οι τιμές της ικανότητας απορρόφησης νερού διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους, ανάλογα με τη μέθοδο εκχύλισης. Όσον αφορά την ικανότητα απορρόφησης ελαίου (Πίνακας Π-56), προκύπτει ότι ούτε η μέθοδος εκχύλισης, ούτε ο λόγος στερεού προς υγρό επηρεάζουν σημαντικά αυτή τη λειτουργική ιδιότητα των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων.

5.4.3 Σύγκριση αποτελεσμάτων εκχύλισης πρωτεϊνών συναρτήσει του εκχυλιστικού μέσου και της μεθόδου εκχύλισης

Αρχικά, αξίζει να σημειωθεί ότι χρησιμοποιήθηκε μικρός όγκος διαλύτη (άρα και μικρότερη ποσότητα δείγματος) για τις εκχυλίσεις με ευτηκτικούς διαλύτες, συγκριτικά με τον όγκο διαλύτη που χρησιμοποιήθηκε στις υδατικές εκχυλίσεις (30-50 mL έναντι 300-500 mL). Επομένως, χρησιμοποιήθηκε η βέλτιστη απόδοση εκχύλισης με τη μέθοδο υποβοηθούμενη με μικροκύματα και εκχυλιστικό μέσο το νερό στη συγκεκριμένη ισχύ (240 W), με σκοπό την πιο σωστή σύγκριση των αποτελεσμάτων με βάση και την επίδραση του όγκου του διαλύτη κατά την εκχύλιση (επηρεάζει τη θερμοκρασία του δείγματος κατά τη διαδικασία). Συνεπώς, οι συνθήκες της εκχύλισης με μικροκύματα ήταν 240 W, 2 min για τους ευτηκτικούς διαλύτες και 240 W, 10 min για το νερό. Ο λόγος στερεού προς υγρό είναι 1/20 σε όλα τα πειράματα που εξετάζονται.



Διάγραμμα 5.27. Μεταβολή της απόδοσης εκχύλισης συναρτήσει του εκχυλιστικού μέσου και της μεθόδου εκχύλισης.

Με βάση τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι το καλύτερο εκχυλιστικό μέσο είναι το νερό, καθώς κατά την υδατική εκχύλιση εμφανίζονται οι μεγαλύτερες αποδόσεις εκχύλισης και για τις δύο μεθόδους. Η μεγαλύτερη απόδοση εκχύλισης προκύπτει κατά την υδατική εκχύλιση με τη χρήση μικροκυμάτων (41,92 %), ενώ η μεγαλύτερη απόδοση εκχύλισης για σύστημα ευτηκτικού διαλύτη-απιονισμένο νερό είναι για το κιτρικό οξύ : γλυκόζη (1:1) + 45 % w/w νερό, με την ίδια μέθοδο εκχύλισης (28,33 %).

Από τη στατιστική επεξεργασία (ανάλυση διακύμανσης ANOVA) των αποτελεσμάτων των πειραμάτων παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με τη συμβατική εκχύλιση και με την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα με ισχύ 240 W, για εκχυλιστικά μέσα νερό και ευτηκτικά συστήματα που μελετήθηκαν (Πίνακας Π-57), παρατηρείται ότι η μέθοδος εκχύλισης

δεν επηρεάζει σημαντικά την απόδοση εκχύλισης της διαδικασίας. Αντιθέτως, το εκχυλιστικό μέσο αποτελεί στατιστικά σημαντικό παράγοντα για την απόδοση εκχύλισης. Επιπλέον, από έλεγχο Duncan (Πίνακας Π-58), προκύπτει ότι εκτός των ευτηκτικών συστημάτων μηλικό οξύ : φρουκτόζη : γλυκερόλη (1:1:1) + 30 % w/w νερό και κιτρικό οξύ : γλυκόζη (1:1) + 45 % w/w νερό (που δεν διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους), όλα τα υπόλοιπα εκχυλιστικά μέσα παρέχουν σημαντικά διαφορετικές αποδόσεις εκχύλισης μεταξύ τους. Γενικά, καλύτερες αποδόσεις εκχύλισης εμφανίζονται στις υδατικές εκχυλίσεις. Όσον αφορά τα συστήματα ευτηκτικών διαλυτών, καλύτερες αποδόσεις παρουσιάζει ο ευτηκτικός διαλύτης κιτρικό οξύ : γλυκόζη (1:1) + 45 % w/w νερό.

Μέρος Γ΄: Συμπεράσματα-Προτάσεις

6. Συμπεράσματα

Στην παρούσα διπλωματική εργασία μελετήθηκε η παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από άλευρο σόγιας. Για την παραλαβή των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων εφαρμόστηκε τόσο η συμβατική μέθοδος εκχύλισης, όσο και νέες μέθοδοι εκχύλισης, με σκοπό την αξιολόγηση της απόδοσης απομόνωσης των πρωτεϊνών, καθώς και της ποιότητας των τελικών πρωτεϊνικών προϊόντων. Επιπροσθέτως, πραγματοποιήθηκε και σύγκριση των αποτελεσμάτων των νέων μεθόδων με τα αντίστοιχα της συμβατικής μεθόδου. Η συμβατική εκχύλιση πραγματοποιήθηκε για χρόνο εκχύλισης 30 min και λόγους στερεού προς υγρό 1/15, 1/20 και 1/25. Η νέα τεχνολογία εκχύλισης που μελετήθηκε είναι η εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα, στην οποία εξετάστηκαν: ο χρόνος εκχύλισης 2, 5, 8 και 10 min, ο λόγος στερεού προς υγρό 1/15, 1/20, και 1/25 και η ισχύς των μικροκυμάτων 240 και 400 W. Τέλος, πραγματοποιήθηκε επίσης εκχύλιση πρωτεϊνών με χρήση τριών διαφορετικών ευτηκτικών συστημάτων (Μηλικό οξύ : Φρουκτόζη : Γλυκερόλη (1:1:1) + 30 % w/w νερό, Κιτρικό οξύ : Γλυκόζη (1:1) + 30 % w/w νερό και Κιτρικό οξύ : Γλυκόζη (1:1) + 45 % w/w νερό). Οι εκχυλίσεις με χρήση ευτηκτικών διαλυτών γίνονται τόσο με τη συμβατική μέθοδο, όσο και με νέες μεθόδους (κυρίως με εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα).

Ως πρώτη ύλη χρησιμοποιήθηκε βιομηχανικά απειλωμένο άλευρο σόγιας, με υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες (50,09 % σε ξηρή βάση). Το γεγονός αυτό αποδεικνύει την καταλληλότητα της πρώτης ύλης για τη διαδικασία παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων.

Κατά τη διαδικασία παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με τη μέθοδο εκχύλισης υποβοηθούμενης με μικροκύματα, και ειδικότερα για λόγο στερεού προς υγρό 1/20, παρατηρείται ότι η ισχύς των μικροκυμάτων δεν επηρεάζει σημαντικά την απόδοση εκχύλισης. Αντιθέτως, ο χρόνος εκχύλισης επηρεάζει σημαντικά την απόδοση εκχύλισης, η οποία αυξάνεται, αυξανόμενου του χρόνου εκχύλισης. Η απόδοση καταβύθισης δεν επηρεάζεται σημαντικά ούτε από την ισχύ των μικροκυμάτων, ούτε από το χρόνο εκχύλισης. Όσον αφορά την ολική απόδοση, παρατηρείται ότι τόσο η ισχύς μικροκυμάτων, όσο και ο χρόνος εκχύλισης επηρεάζουν σημαντικά αυτή την απόδοση. Από τον έλεγχο Duncan μάλιστα, προκύπτει ότι όσο αυξάνεται η ισχύς των μικροκυμάτων, αλλά και ο χρόνος εκχύλισης, αυξάνεται και η ολική απόδοση της διαδικασίας απομόνωσης των πρωτεϊνών. Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων δεν επηρεάζεται σημαντικά ούτε από την ισχύ των μικροκυμάτων, ούτε από το χρόνο εκχύλισης. Για την ικανότητα απορρόφησης νερού των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, προκύπτει ότι η ισχύς των μικροκυμάτων δεν επηρεάζει σημαντικά τη

συγκεκριμένη λειτουργική ιδιότητα, ενώ ο χρόνος εκχύλισης αποτελεί στατιστικά σημαντικό παράγοντα. Από περαιτέρω έλεγχο διαπιστώνεται πως υπάρχει μία αύξηση της ικανότητας απορρόφησης νερού μέχρι τα 8 min εκχύλισης και ακολούθως μία μείωση στα 10 min χρόνου εκχύλισης. Για την ικανότητα απορρόφησης ελαίου των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, παρατηρείται ότι τόσο η ισχύς των μικροκυμάτων, όσο και ο χρόνος εκχύλισης δεν επηρεάζουν σημαντικά την ιδιότητα αυτή.

Ειδικότερα, για εκχύλιση με ισχύ μικροκυμάτων 240 W, προκύπτει ότι η απόδοση εκχύλισης επηρεάζεται σημαντικά τόσο από το χρόνο εκχύλισης, όσο και από το λόγο στερεού προς υγρό. Με αύξηση του χρόνου εκχύλισης, αυξάνεται η απόδοση εκχύλισης, ενώ όσον αφορά το λόγο w/v, παρατηρείται ότι ο λόγος 1/20 διαφέρει σημαντικά από τους άλλους δύο, δίνοντας ταυτόχρονα και τις καλύτερες αποδόσεις εκχύλισης. Η απόδοση καταβύθισης και η ολική απόδοση δεν επηρεάζονται σημαντικά ούτε από το χρόνο εκχύλισης, ούτε από το λόγο στερεού προς υγρό. Επίσης, προκύπτει ότι ο χρόνος εκχύλισης δεν αποτελεί σημαντικό παράγοντα, ενώ ο λόγος στερεού προς υγρό επηρεάζει σημαντικά την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες των υπερσυμπυκνωμάτων. Μάλιστα, για λόγο στερεού προς υγρό 1/20 προκύπτουν μεγαλύτερες καθαρότητες των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων (μεγαλύτερες συγκεντρώσεις πρωτεϊνών). Το ίδιο ισχύει και για την ικανότητα απορρόφησης νερού, με τα καλύτερα αποτελέσματα να προκύπτουν για λόγο 1/15. Η ικανότητα απορρόφησης ελαίου δεν επηρεάζεται σημαντικά ούτε από το χρόνο εκχύλισης, ούτε από το λόγο στερεού προς υγρό.

Για εκχύλιση με ισχύ μικροκυμάτων 400 W, προκύπτει ότι τόσο ο χρόνος εκχύλισης, όσο και ο λόγος στερεού προς υγρό δεν επηρεάζουν σημαντικά την ολική απόδοση της διαδικασίας όπως και τις αποδόσεις των επιμέρους σταδίων, καθώς επίσης ούτε και την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες των υπερσυμπυκνωμάτων ή τις λειτουργικές τους ιδιότητες που μελετώνται.

Στην μέθοδο εκχύλισης με τη βοήθεια των μικροκυμάτων οι υψηλότερες αποδόσεις εμφανίζονται για χρόνο εκχύλισης 10 min, 1/20 w/v και ισχύ 400 W. Στις συνθήκες αυτές προκύπτει ολική απόδοση 34,14 %, απόδοση εκχύλισης 45,36 %, απόδοση καταβύθισης 75,26 % και πρωτεϊνικό περιεχόμενο του πρωτεϊνικού υπερσυμπυκνώματος 88,27 % σε ξηρή βάση. Η μέγιστη τιμή ικανότητας απορρόφησης νερού βρέθηκε ότι είναι 366,27 g H₂O/100 g δείγματος στις ίδιες συνθήκες. Αντίστοιχα η μέγιστη τιμή ικανότητας απορρόφησης ελαίου βρέθηκε ότι είναι 526,32 g ελαίου/100 g δείγματος σε χρόνο εκχύλισης 8 min, 1/25 w/v και ισχύ 400 W. Το πρωτεϊνικό περιεχόμενο των υπερσυμπυκνωμάτων (σε ξηρή βάση) ήταν υψηλό καθώς κυμαίνεται από 81,39 % έως 90,02 %. Υψηλότερο πρωτεϊνικό περιεχόμενο παρατηρήθηκε για χρόνο εκχύλισης 8 min, 1/20 w/v και ισχύ 400 W.

Κατά την εκχύλιση πρωτεϊνών με χρήση ευτηκτικών διαλυτών, χρησιμοποιήθηκαν οι τρεις διαλύτες που αναφέρθηκαν παραπάνω. Οι μέθοδοι εκχύλισης που εφαρμόστηκαν ήταν η συμβατική, η μέθοδος υποβοηθούμενη με μικροκύματα και για λόγους σύγκρισης η μέθοδος υποβοηθούμενη με υπέρηχους, η οποία ωστόσο δεν παρείχε ικανοποιητικά αποτελέσματα και δεν μελετήθηκε εκτενέστερα. Παρά το γεγονός ότι επιτυγχάνεται η εκχύλιση πρωτεϊνών και υπολογίζεται η απόδοση εκχύλισης των πειραμάτων, δεν κατέστη δυνατή η ισοηλεκτρική

καταβύθιση των πρωτεϊνών και περαιτέρω η απομόνωσή τους. Οι αποδόσεις εκχύλισης αυτών των πειραμάτων κυμάνθηκαν από 13,27 % έως 28,33 %.

Από τη σύγκριση των αποτελεσμάτων για τις δύο μεθόδους (συμβατική και υποβοηθούμενη με μικροκύματα), η εκχύλιση με μικροκύματα έδειξε τα καλύτερα αποτελέσματα για w/v 1/20, σε μικρότερο χρόνο (10 min), σε σχέση με το μεγάλο χρόνο εκχύλισης της συμβατικής μεθόδου (30 min). Όσο για τις λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, η ικανότητα απορρόφησης νερού είναι μεγαλύτερη για τη μέθοδο των μικροκυμάτων σε όλους τους λόγους στερεού προς υγρό, ενώ η ικανότητα απορρόφησης ελαίου εμφανίζει παραπλήσιες τιμές και για τις δύο μεθόδους. Προκύπτει επίσης ότι τόσο η μέθοδος εκχύλισης, όσο και ο λόγος στερεού προς υγρό δεν επηρεάζουν σημαντικά ούτε τις αποδόσεις της διαδικασίας, ούτε τις λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων και την περιεκτικότητά τους σε πρωτεΐνες. Εξαιρεση αποτελεί η σύγκριση της ικανότητας απορρόφησης νερού για συμβατική μέθοδο και μέθοδο μικροκυμάτων με ισχύ 400 W, όπου οι δύο μέθοδοι παρέχουν στατιστικά διαφορετικές τιμές της ιδιότητας αυτής. Ειδικότερα κατά την εκχύλιση με μικροκύματα προκύπτουν συνολικά καλύτερες τιμές της συγκεκριμένης λειτουργικής ιδιότητας.

Στη συνέχεια γίνεται σύγκριση των εκχυλιστικών μέσων (τα τρία συστήματα ευτηκτικών διαλυτών και το νερό) για τις δύο μεθόδους εκχύλισης που χρησιμοποιήθηκαν (συμβατική και υποβοηθούμενη με μικροκύματα). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι μέγιστες αποδόσεις εκχύλισης παρατηρούνται για εκχυλιστικό μέσο νερό και για τις δύο μεθόδους εκχύλισης. Η βέλτιστη απόδοση εκχύλισης προκύπτει κατά την υδατική εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα (41,92 %). Καταλληλότερος ευτηκτικός διαλύτης αποδείχθηκε το σύστημα (Κιτρικό οξύ : Γλυκόζη (1:1) + 45 % w/w νερό), το οποίο έδωσε απόδοση εκχύλισης 28,33 %, κατά την εκχύλιση με μικροκύματα. Αυτό το αποτέλεσμα ίσως αποτελεί μία ένδειξη πως το ιξώδες του ευτηκτικού μίγματος επηρεάζει αρνητικά την απόδοση εκχύλισης, αφού ο ευτηκτικός διαλύτης με τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα (w/w) σε νερό (και συνεπώς με το μικρότερο ιξώδες), παρουσίασε τη μεγαλύτερη απόδοση εκχύλισης. Εν τέλει, το εκχυλιστικό μέσο αποδείχθηκε πως αποτελεί στατιστικά σημαντικό παράγοντα για την απόδοση εκχύλισης.

Συμπερασματικά, προκύπτει ότι η εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα επηρεάζει θετικά τις αποδόσεις της διαδικασίας και τις λειτουργικές ιδιότητες των τελικών πρωτεϊνικών προϊόντων. Η εκχύλιση με αυτή την αποδοτικότερη νέα μέθοδο, εφαρμοσμένη στις βέλτιστες συνθήκες, μπορεί να αποφέρει εξοικονόμηση χρόνου και κόστους. Η χρήση των μικροκυμάτων ωστόσο περιορίζεται χρονικά, καθώς η θερμοκρασία του δείγματος αυξάνεται με αποτέλεσμα την αύξηση της καταπόνησης των πρωτεϊνών και την πιθανή μετουσίωσή τους.

Τέλος, για την εκχύλιση με χρήση ευτηκτικών διαλυτών, επιβεβαιώνονται οι υποθέσεις ότι πρόκειται για ένα πολλά υποσχόμενο πεδίο έρευνας για την εκχύλιση πρωτεϊνών. Με ευρύτερη διερεύνηση των ευτηκτικών συστημάτων και των συνθηκών και μεθόδων εκχύλισης, μπορούν να προκύψουν πολύ ενδιαφέροντα αποτελέσματα ως προς την αντικατάσταση των ευρέως χρησιμοποιούμενων εκχυλιστικών μέσων (π.χ. του νερού), από πιο πράσινους διαλύτες. Επίσης, μπορεί να επιτευχθούν και μεγαλύτερες αποδόσεις στα στάδια της διαδικασίας παραλαβής

υπερσυμπυκνωμάτων. Ωστόσο, τα αποτελέσματα καθιστούν σαφές πως πρέπει να μελετηθούν και νέοι τρόποι παραλαβής και απομόνωσης των πρωτεϊνών που εκχυλίζονται.

7. Προτάσεις

Από την παραπάνω μελέτη προέκυψε ότι το άλευρο σόγιας μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων και πρωτεϊνικών προϊόντων εν γένει, εξαιτίας της υψηλής περιεκτικότητάς του σε πρωτεΐνες και της ευκολίας στην απομόνωσή τους. Μετά την παραλαβή αυτών των πρωτεϊνικών προϊόντων, είναι δυνατή η ενσωμάτωσή τους σε διάφορα συστήματα τροφίμων, αυξάνοντας τη θρεπτική τους αξία και εμπλουτίζοντας το πρωτεϊνικό τους περιεχόμενο. Επιπροσθέτως, μπορούν να εκμεταλλευτούν και οι λειτουργικές ιδιότητες αυτών των προϊόντων. Ένας άλλος λόγος που κρίνεται σημαντική η εκμετάλλευση των πρωτεϊνών της σόγιας είναι η αύξηση της ζήτησης των φυτικών πρωτεϊνών τα τελευταία χρόνια, καθώς οι καταναλωτές στρέφονται σε μία πιο υγιεινή διατροφή.

Για τους παραπάνω λόγους προτείνεται η περαιτέρω μελέτη της παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από άλευρο σόγιας με νέες μεθόδους εκχύλισης, όπως η εκχύλιση υποβοηθούμενη με ένζυμα και η εκχύλιση υποβοηθούμενη με παλμική ηλεκτρική ενέργεια.

Ακόμα, χρήσιμη κρίνεται η διερεύνηση και άλλων λειτουργικών ιδιοτήτων των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, όπως οι γαλακτωματοποιητικές και οι αφριστικές ιδιότητες, καθώς και η ικανότητα σχηματισμού πηκτής.

Η εκχύλιση πρωτεϊνών με χρήση ευτηκτικών διαλυτών είναι ένα νέο πολλά υποσχόμενο εγχείρημα, με ελάχιστες ωστόσο βιβλιογραφικές αναφορές μέχρι σήμερα. Διαφαίνεται αναγκαία επομένως η εκτενέστερη μελέτη της χρήσης των ευτηκτικών συστημάτων κατά την εκχύλιση πρωτεϊνών. Ειδικότερα, προτείνεται η μελέτη των νέων μεθόδων παραλαβής πρωτεϊνών μετά την εκχύλισή τους (π.χ. διαχωρισμός με ρητίνες), καθώς η ισοηλεκτρική καταβύθιση δεν ήταν δυνατή στα συστήματα ευτηκτικών μιγμάτων που δοκιμάστηκαν. Επίσης, προτείνεται η περαιτέρω μελέτη των συνθηκών εκχύλισης και της περιεκτικότητας των ευτηκτικών διαλυτών σε απιονισμένο νερό, προκειμένου να βρεθούν οι συνθήκες εκχύλισης με τα βέλτιστα αποτελέσματα για κάθε ευτηκτικό σύστημα που χρησιμοποιείται. Νέα συστήματα ευτηκτικών διαλυτών μπορούν επίσης να δοκιμαστούν.

Τέλος, η έρευνα για την παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων μπορεί να συνεχιστεί και σε άλλους ελαιούχους σπόρους, με πλούσιο πρωτεϊνικό περιεχόμενο και υψηλής θρεπτικής αξίας πρωτεΐνες. Τέτοιοι ελαιούχοι σπόροι είναι ο ηλιόσπορος, ο βαμβακόσπορος, το σουσάμι και ο λιναρόσπορος.

Βιβλιογραφία

1. Λιαδάκης, Γ. (1999). ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΠΑΡΑΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΜΑΤΑΣ. ΑΘΗΝΑ: ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ.
2. McMurry, J. (2015). Οργανική Χημεία. ΗΡΑΚΛΕΙΟ: ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΕΣ ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΚΡΗΤΗΣ.
3. Ταούκης, Π., Ωραιοπούλου, Β. (2009). ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΚΗ ΔΙΕΡΓΑΣΙΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ: ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ. ΑΘΗΝΑ: ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ.
4. Ταούκης, Π., Τζιά, Κ. (2019). Χημεία, Μικροβιολογία και Αρχές Συντήρησης Τροφίμων. ΑΘΗΝΑ: ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ.
5. Μπάγκος Π. (2015). Βιοπληροφορική.(ηλεκτρονικό βιβλίο). Αθήνα: Σύνδεσμος Ελληνικών Ακαδημαϊκών Βιβλιοθηκών.
6. Li-Chan E.C.Y, Lacroix I.M.E . (2017). Proteins in Food Processing, 2nd Edition, Woodhead Publishing, pp. 1-9.
7. Belitz, H.-D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2018). Χημεία Τροφίμων. Αθήνα: Εκδόσεις Τζιόλα.
8. Cheftel, J.C., Cuq, J.L., and Lorient, D. (1985). Amino acids, peptides and proteins In Food Chemistry. O.R. Fennema (Ed.), 2nd edition, pp. 245-370. Marcel Dekker Inc., USA: New York, NY.
9. Schaafsma, G. (2000). The Protein Digestibility–Corrected Amino Acid Score, The Journal of Nutrition, Volume 130, Issue 7, pp. 1865S–1867S.
10. Βλάσσης, Χ. (2019). Πρωτεϊνικά Προϊόντα από Ελαιούχους Σπόρους με Εφαρμογή Νέων Τεχνολογιών Εκχύλισης. Αθήνα: Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο.
11. Day, L. (2016). Protein: Food Sources. Encyclopedia of Food and Health, pp. 530-537.
12. Ταούκης, Π., Ωραιοπούλου Β. (2019). Επιστήμη και Τεχνολογία Τροφίμων, Αθήνα: ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΕΜΠ.
13. ΒΛΑΜΗΣ Α., ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ, ΠΑΤΡΑ: ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΠΑΤΡΩΝ, eclass.upatras.gr.
14. ΓΙΑΒΑΣΗΣ Ι. (2015). ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΩΝ ΑΣΚΗΣΕΩΝ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ. ΚΑΡΔΙΤΣΑ: ΤΕΙ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ.
15. https://en.wikipedia.org/wiki/Single-cell_protein

16. Pratap, A., Gupta, S. K., Kumar, J., Mehandi, S. & Pandey V.R. (2015). Soybean, in *Breeding Oilseed Crops for Sustainable Production: Opportunities and Constraints*, Elsevier, pp. 293-315.
17. Clemente, T., & Cahoon, E. (2009, 11). Soybean oil: Genetic approaches for modification of functionality and total content. *Plant Physiology*, 151(3), pp. 1030-1040.
18. Perkins, G. E. (1995). Composition of soybeans and soybean products, in *Practical Handbook of Soybean: Processing and Utilization*, AOCS Press, pp. 9-28.
19. Preece, K. E., Hooshyar, N., & Zuidam, N. J. (2017). Whole soybean protein extraction processes: A review, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 43: pp. 163-172.
20. Fukushima, D. (2011). Soy proteins, in *Handbook of Food Proteins*, 1st Edition, Woodhead Publishing, pp. 210-232.
21. Nishinari, K., Fang, Y., Nagano, T., Guo, S., Wang, R. (2018). Soy as a food ingredient, in *Proteins In Food Processing*, 2nd Edition, Woodhead Publishing, pp. 149-177.
22. Murphy, P. (2008). Soybean Proteins. in P. Murphy, *Soybeans: Chemistry, Production, Processing, and Utilization*, pp. 229-267. Elsevier Inc.
23. Liu, K. (2005). *Soybeans as functional foods and ingredients*. AOCS Press.
24. Riaz, M. (2016). Soy Beans: Processing. in M. Riaz, *Encyclopedia of Food and Health*, pp. 48-53. Elsevier Inc.
25. Snyder H.E., Wilson L.A. (2003). SOY (SOYA) BEANS | Processing for the Food Industry, in *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, Second Edition, pp. 5383-5389.
26. Endres, J. G. (2001). *Soy Protein Products: Characteristics, Nutritional Aspects, and Utilization*, AOCS Press.
27. Thrane, M., Paulsen, P. V., Orcutt, M. W., & Krieger, T. M. (2017). Soy protein: Impacts, production, and applications, in *Sustainable Protein Sources*, Academic Press, pp. 23-45.
28. Alibhai, Z., Mondor, M., Moresoli, C., Ippersiel, D., & Lamarche, F. (2006). Production of soy protein concentrates/isolates: traditional and membrane technologies. *Desalination*, 191(1-3): pp. 351-358.
29. Sahni, P., Sharma, S., Surasani, V.K.R. (2020). Influence of processing and pH on amino acid profile, morphology, electrophoretic pattern, bioactive potential and functional characteristics of alfalfa protein isolates, *Food Chemistry*, Volume 333, Article 127503.
30. Sethi, S., Yadav, D.N., Snigdha, S., & Gupta, A. (2020). Optimization of process parameters for extraction of protein isolates from Khesari dhal (*Lathyrus sativus* L), *LWT*, Article 110368.

31. Aluko, R.E. (2017). Hemp Seed (*Cannabis sativa* L.) Proteins: Composition, Structure, Enzymatic Modification, and Functional or Bioactive Properties, in Sustainable Protein Sources, Academic Press, pp. 121-132.
32. Samaranayaka, A. (2017). Chapter 11 - Lentil: Revival of Poor Man's Meat, in Sustainable Protein Sources, Academic Press, pp.185-196.
33. Gerzhova, A., Mondor, M., Benali, M., Aider, M. (2015). A comparative study between the electro-activation technique and conventional extraction method on the extractability, composition and physicochemical properties of canola protein concentrates and isolates, in Food Bioscience.
34. Χημεία, Μικροβιολογία και Αρχές Συντήρησης Τροφίμων : Εργαστηριακές Ασκήσεις 8ου Εξαμήνου, (2019), ΑΘΗΝΑ: ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ.
35. Johnson, S.K., Clements, J., Villarino, C.B.J., & Coorey, R. (2017). Chapter 8 - Lupins: Their Unique Nutritional and Health-Promoting Attributes, In Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Gluten-Free Ancient Grains, Woodhead Publishing, pp. 179-221.
36. Sandberg, A.S. (2011). 15 - Developing functional ingredients: a case study of pea protein, In Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Functional Foods (Second Edition), Woodhead Publishing, pp. 358-382.
37. Alibhai, Z., Mondor, M., Moresoli, C., Ippersiel, D., & Lamarche, F. (2006). Production of soy protein concentrates/isolates: traditional and membrane technologies. *Desalination*, 191(1-3): pp. 351-358.
38. Sanz, V., Flórez-Fernández, N., Domínguez, H., & Torres, M.D. (2020). Valorisation of *Camellia sinensis* branches as a raw product with green technology extraction methods, *Current Research in Food Science*, Volume 2, pp. 20-24.
39. Pojić, M., Mišan, A., Tiwari, B. (2018). Eco-innovative technologies for extraction of proteins for human consumption from renewable protein sources of plant origin, *Trends in Food Science & Technology*, Volume 75, pp. 93-104.
40. Venturelli, A., Brighenti, V., Mascolo, D., Pellati, F. (2019). A new strategy based on microwave-assisted technology for the extraction and purification of beeswax policosanols for pharmaceutical purposes and beyond, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Volume 172, pp. 200-205.
41. Veggi, P. C., Martinez, J., & Meireles, M. A. A. (2012). Fundamentals of microwave extraction, in *Microwave-assisted extraction for bioactive compounds*, Springer, Boston, MA, pp. 15-52.

42. Varghese, T., Pare, A. (2019). Effect of microwave assisted extraction on yield and protein characteristics of soymilk, *Journal of Food Engineering*, Volume 262, pp. 92-99.
43. Li, H., Zhu, K., Zhou, H., Peng, W., & Guo, X. (2016). Comparative study of four physical approaches about allergenicity of soybean protein isolate for infant formula. *Food and Agricultural Immunology*, 27(5), 604-623.
44. Elhag, H.E., Elhag, A., Ajit, A., Sulaiman, A.Z. (2020). Optimization and kinetic modelling of total water extracts and water soluble proteins in root extracts of *Eurycoma apiculata* by microwave assisted extraction, *Materials Today: Proceedings*, Volume 31, Part 1, pp. 1-8.
45. Phongthai, S., Lim, S.T., Rawdkuen, S. (2016). Optimization of microwave-assisted extraction of rice bran protein and its hydrolysates properties, *Journal of Cereal Science*, Volume 70, pp. 146-154.
46. Seoane, P. R., Flórez-Fernández, N., Piñeiro, E. C., & González, H. D. (2017). Microwave Assisted Water Extraction, in *Water Extraction of Bioactive Compounds*, Elsevier, pp. 163-198.
47. Eskilsson, C.S., Björklund, E. (2000). Analytical-scale microwave-assisted extraction, *Journal of Chromatography A*, Volume 902, Issue 1, pp. 227-250.
48. Shin, S., Lee, A., Lee, S., Lee, K., Kwon, J., Young Yoon, M., Hong, J., Lee, D., Lee, G.H., Kim, J. (2010). Microwave-assisted extraction of human hair proteins, *Analytical Biochemistry*, Volume 407, Issue 2, pp. 281-283.
49. Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A.G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A.S., Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrason. Sonochem.* 34, pp. 540–560.
50. Cui, Q., Zhang, A., Li, R., Wang, X., Sun, L., & Jiang, L. (2020). Ultrasonic treatment affects emulsifying properties and molecular flexibility of soybean protein isolate-glucose conjugates, *Food Bioscience*, Volume 38, 100747.
51. Wen, C., Zhang, J., Zhang, H., Dzah, C.S., Zandile, M., Duan, Y., Ma, H., Luo, X. (2018). Advances in ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from cash crops – A review, *Ultrasonics Sonochemistry*, Volume 48, pp. 538-549.
52. Perović, M.N., Knežević Jugović, Z.D., Antov, M.G. (2020). Improved recovery of protein from soy grit by enzyme-assisted alkaline extraction, *Journal of Food Engineering*, Volume 276, 109894.
53. Jung, S., Lamsal, B.P., Stepien, V., Johnson, L.A., & Murphy, P.A. (2006). Functionality of soy protein produced by enzyme-assisted extraction, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 83, pp. 71-78.

54. Rosenthal, A., Pyle, D.L., Niranjana, K., Gilmour, S., & Trinca, L. (2001). Combined effect of operational variables and enzyme activity on aqueous enzymatic extraction of oil and protein from soybean, *Enzyme and Microbial Technology*, 28, pp. 499-509.
55. Wei, C.L., Lu, W., Yang, J., Wang, M.P., Yang, X.Q., & Wang, J.M. (2018). Physicochemical properties of soy protein prepared by enzyme-assisted countercurrent extraction, *International Journal of Food Science and Technology*, 53, pp. 1389-1396.
56. Rosset, M., Acquaro, V. R., & Beléia, A. D. P. (2014). Protein extraction from defatted soybean flour with Viscozyme L. pretreatment, *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(3), pp. 784-790.
57. Sarkis, J.R., Boussetta, N., Blouet, C., Tessaro, I.C., Damasceno, L., Marczak, F., Vorobiev, E. (2015). Effect of pulsed electric fields and high voltage electrical discharges on polyphenol and protein extraction from sesame cake, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, Volume 29, 2015, pp. 170-177.
58. Hossain, M.B., Aguiló-Aguayo, I., Lyng, J.G., Brunton, N.P., Rai, D.K. (2015). Effect of pulsed electric field and pulsed light pre-treatment on the extraction of steroidal alkaloids from potato peels, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, Volume 29, pp. 9-14.
59. Cascaes Teles, A.S., Hidalgo Chávez, D.W., Zarur Coelho, M.A., Rosenthal, A., Fortes Gottschalk, L.M., Tonon, R.V. (2021). Combination of enzyme-assisted extraction and high hydrostatic pressure for phenolic compounds recovery from grape pomace, *Journal of Food Engineering*, Volume 288, 110128.
60. Karatzas K.A.G. (2004). High Hydrostatic Treatment of Foods. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 55(4): pp. 324-330.
61. Li, H., Zhu, K., Zhou, H., Peng W. (2012). Effects of high hydrostatic pressure treatment on allergenicity and structural properties of soybean protein isolate for infant formula, in *Food Chemistry*, 132, pp. 808-814.
62. Meng, J., Wang, Y., Zhou, Y., Chen, J., Wei, X., Ni, R., Liu, Z., Xu, F. (2019). Development of different deep eutectic solvent aqueous biphasic systems for the separation of proteins. *RSC Advances*, 9(25), 14116-14125.
63. Chanioti, S., & Tzia, C. (2018). Extraction of phenolic compounds from olive pomace by using natural deep eutectic solvents and innovative extraction techniques, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 48: pp. 228-239.
64. Dai, Y. (2013). Natural deep eutectic solvents and their application in natural product research and development, Doctoral thesis, Institute of Biology (IBL), Faculty of Science, Leiden University.

65. Fernández, M., Boiteux, J., Espino, M., Gomez, F., & Silva, M. (2018, 12 14). Natural deep eutectic solvents-mediated extractions: The way forward for sustainable analytical developments. *Analytica Chimica Acta*, 1038, pp. 1-10. Elsevier B.V.
66. Li, N., Wang, Y., Xu, K., Huang, Y., Wen, Q., & Ding, X. (2016). Development of green betaine-based deep eutectic solvent aqueous two-phase system for the extraction of protein, *Talanta*, 152: pp. 23-32.
67. Xu, K., Wang, Y., Huang, Y., Li, N., & Wen, Q. (2015). A green deep eutectic solvent-based aqueous two-phase system for protein extracting, *Analytica Chimica Acta*, 864: pp. 9-20.
68. Ochoa-Rivas, A., Nava-Valdez, Y., Serna-Saldívar, S.O., Chuck-Hernández C. (2017). Microwave and ultrasound to enhance protein extraction from peanut flour under alkaline conditions: Effects in yield and functional properties of protein isolates *Food and Bioprocess Technology*, 10, pp. 543-555.
69. Zhu, K., Sun, X., & Zhou, H. (2009, 9). Optimization of ultrasound-assisted extraction of defatted wheat germ proteins by reverse micelles. *Journal of Cereal Science*, 50(2), 266-271.
70. Tang, D.-S., Tian, Y.-J., He, Y.-Z., Li, L., Hu, S.-Q., & Li, B. (2010). Optimisation of Ultrasonic-assisted Protein Extraction from Brewer's Spent Grain.
71. Preece, K., Hooshyar, N., Krijgsman, A., Fryer, P., & Zuidam, N. (2017, 8 1). Pilot-scale ultrasound-assisted extraction of protein from soybean processing materials shows it is not recommended for industrial usage. *Journal of Food Engineering*, 206, 1-12.
72. Σκέντζου Α. (2020). Νέες Τεχνολογίες Εκχύλισης για την Παραγωγή Πρωτεϊνικών Υπερσυμπυκνωμάτων από Σόγια, Αθήνα: Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο.

Παράρτημα

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

pH	Καταβυθισμένες Πρωτεΐνες σε Ξηρή Βάση (g)	Καταβυθισμένες Πρωτεΐνες (%)
4,1	0,1446	29,94
4,2	0,1473	30,50
4,3	0,1501	31,08
4,4	0,1427	29,55
4,5	0,1413	29,26
4,6	0,1408	29,16
4,7	0,1407	29,14
4,8	0,1410	29,20

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

ANOVA για MW, 1/20 w/v.

W (240,400)

Time (2,5,8,10)

Απόδοση Εκχύλισης

Πίνακας Π-2. Αποτελέσματα ANOVA για τις αποδόσεις εκχύλισης, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα για λόγο στερεού προς υγρό 1/20.

Univariate Tests of Significance for Απόδοση Εκχύλισης (Spreadsheet_1_20_w_v) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	9420,840	1	9420,840	989,5724	0,000071
W	67,803	1	67,803	7,1221	0,075773
Time	533,116	3	177,705	18,6663	0,019166
Error	28,560	3	9,520		

Πίνακας Π-3. Αποτελέσματα Duncan's test για την απόδοση εκχύλισης ως προς το χρόνο, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα στερεού προς υγρό 1/20.

Duncan test; variable Απόδοση Εκχύλισης (Spreadsheet_1_20_w_v)					
Approximate Probabilities for Post Hoc Tests					
Error: Between MS = 9,5201, df = 3,0000					
Cell No.	Time	{1}	{2}	{3}	{4}
		21,615	33,495	38,515	43,640
1	1		0,031144	0,012256	0,005756
2	2	0,031144		0,202427	0,046598
3	3	0,012256	0,202427		0,195499
4	4	0,005756	0,046598	0,195499	

Απόδοση Καταβύθισης

Πίνακας Π-4. Αποτελέσματα ANOVA για τις αποδόσεις καταβύθισης, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα για λόγο στερεού προς υγρό 1/20.

Univariate Tests of Significance for Απόδοση Καταβύθισης (Spreadsheet_1_20_w_v)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	23797,98	1	23797,98	204,2394	0,000742
W	616,88	1	616,88	5,2942	0,104900
Time	2034,84	3	678,28	5,8212	0,090986
Error	349,56	3	116,52		

Ολική Απόδοση

Πίνακας Π-5. Αποτελέσματα ANOVA για τις ολικές αποδόσεις, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα για λόγο στερεού προς υγρό 1/20.

Univariate Tests of Significance for Ολική Απόδοση (Spreadsheet_1_20_w_v)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	3512,477	1	3512,477	1017,103	0,000068
W	85,086	1	85,086	24,638	0,015703
Time	474,324	3	158,108	45,783	0,005271
Error	10,360	3	3,453		

Πίνακας Π-6. Αποτελέσματα Duncan's test για την ολική απόδοση ως προς το χρόνο, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα για λόγο στερεού προς υγρό 1/20 .

Duncan test; variable Ολική Απόδοση (Spreadsheet_1_20_w_v) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 3,4534, df = 3,0000			
Cell No.	W	{1} 17,693	{2} 24,215
1	1		0,015912
2	2	0,015912	

Πίνακας Π-7. Αποτελέσματα Duncan's test για την ολική απόδοση ως προς την ισχύ, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα για λόγο στερεού προς υγρό 1/20.

Duncan test; variable Ολική Απόδοση (Spreadsheet_1_20_w_v) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 3,4534, df = 3,0000					
Cell No.	Time	{1} 9,5000	{2} 19,730	{3} 23,820	{4} 30,765
1	1		0,012011	0,004717	0,001503
2	2	0,012011		0,115264	0,009800
3	3	0,004717	0,115264		0,033613
4	4	0,001503	0,009800	0,033613	

% Πρωτεΐνες στο υπερσυμπύκνωμα

Πίνακας Π-8. Αποτελέσματα ANOVA για την περιεκτικότητα (%) σε Πρωτεΐνες στο υπερσυμπύκνωμα, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα για λόγο στερεού προς υγρό 1/20.

Univariate Tests of Significance for % Πρωτεΐνες στο PI (Spreadsheet_1_20_w_v) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	61999,53	1	61999,53	27945,60	0,000000
W	5,73	1	5,73	2,58	0,206420
Time	6,59	3	2,20	0,99	0,503240
Error	6,66	3	2,22		

Ικανότητα απορρόφησης νερού (IAN)

Πίνακας Π-9. Αποτελέσματα ANOVA για την ικανότητα απορρόφησης νερού (IAN) των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα για λόγο στερεού προς υγρό 1/20.

Univariate Tests of Significance for IAN (Spreadsheet_1_20_w_v) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	622053,0	1	622053,0	1146,537	0,000057
W	1402,1	1	1402,1	2,584	0,206290
Time	28066,6	3	9355,5	17,244	0,021424
Error	1627,6	3	542,5		

Πίνακας Π-10. Αποτελέσματα Duncan's test για την ικανότητα απορρόφησης νερού (IAN) των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ως προς το χρόνο, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα για λόγο στερεού προς υγρό 1/20.

Duncan test; variable IAN (Spreadsheet_1_20_w_v) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 542,55, df = 3,0000					
Cell No.	Time	{1}	{2}	{3}	{4}
1	1	211,95	0,541688	0,011527	0,013858
2	2	0,541688		0,016811	0,020097
3	3	0,011527	0,016811		0,765093
4	4	0,013858	0,020097	0,765093	

Ικανότητα απορρόφησης ελαίου (IAE)

Πίνακας Π-11. Αποτελέσματα ANOVA για την ικανότητα απορρόφησης ελαίου (IAE) των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα για λόγο στερεού προς υγρό 1/20.

Univariate Tests of Significance for IAE (Spreadsheet_1_20_w_v) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1614030	1	1614030	258,5509	0,000523
W	2373	1	2373	0,3801	0,581168
Time	12547	3	4182	0,6700	0,624989
Error	18728	3	6243		

ANOVA για MW, 240W

Time (8,10)

w/v (1/15,1/20,1/25)

Απόδοση Εκχύλισης

Πίνακας Π-12. Αποτελέσματα ANOVA για τις αποδόσεις εκχύλισης, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα και ισχύ 240 W.

Univariate Tests of Significance for Απόδοση Εκχύλισης (Spreadsheet1_240 W) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	6002,741	1	6002,741	3614,549	0,000277
Time	42,667	1	42,667	25,692	0,036789
w/v	230,182	2	115,091	69,302	0,014224
Error	3,321	2	1,661		

Πίνακας Π-13. Αποτελέσματα Duncan's test για την απόδοση εκχύλισης ως προς το χρόνο, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα και ισχύ 240 W.

Duncan test; variable Απόδοση Εκχύλισης (Spreadsheet1_240 W) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 1,6607, df = 2,0000			
Cell No.	Time	{1}	{2}
1	1	28,963	0,037035
2	2	0,037035	34,297

Πίνακας Π-14. Αποτελέσματα Duncan's test για την απόδοση εκχύλισης ως προς το λόγο στερεού προς υγρό, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα και ισχύ 240 W.

Duncan test; variable Απόδοση Εκχύλισης (Spreadsheet1_240 W) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 1,6607, df = 2,0000				
Cell No.	w/v	{1}	{2}	{3}
1	1	29,935	0,016530	0,063013
2	2	0,016530	39,920	0,006872
3	3	0,063013	0,006872	25,035

Απόδοση Καταβύθισης

Πίνακας Π-15. Αποτελέσματα ANOVA για τις αποδόσεις καταβύθισης, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα και ισχύ 240 W.

Univariate Tests of Significance for Απόδοση Καταβύθισης (Spreadsheet1_240 W) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	15513,32	1	15513,32	58,05839	0,016791
Time	116,60	1	116,60	0,43638	0,576788
w/v	582,33	2	291,17	1,08968	0,478542
Error	534,40	2	267,20		

Ολική Απόδοση

Πίνακας Π-16. Αποτελέσματα ANOVA για τις ολικές αποδόσεις, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα και ισχύ 240 W.

Univariate Tests of Significance for Ολική Απόδοση (Spreadsheet1_240 W) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1651,700	1	1651,700	61,75489	0,015810
Time	0,006	1	0,006	0,00022	0,989395
w/v	237,911	2	118,955	4,44758	0,183568
Error	53,492	2	26,746		

% Πρωτεΐνες στο υπερσυμπύκνωμα

Πίνακας Π-17. Αποτελέσματα ANOVA για την περιεκτικότητα (%) σε Πρωτεΐνες στο υπερσυμπύκνωμα, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα και ισχύ 240 W.

Univariate Tests of Significance for % Πρωτεΐνες στο PI (Spreadsheet1_240 W) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	43894,00	1	43894,00	126788,0	0,000008
Time	1,35	1	1,35	3,9	0,186607
w/v	43,11	2	21,56	62,3	0,015807
Error	0,69	2	0,35		

Πίνακας Π-18. Αποτελέσματα Duncan's test για την περιεκτικότητα (%) σε Πρωτεΐνες στο υπερσυμπύκνωμα ως προς το λόγο στερεού προς υγρό, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα και ισχύ 240 W.

Duncan test; variable % Πρωτεΐνες στο PI (Spreadsheet1_240 W)				
Approximate Probabilities for Post Hoc Tests				
Error: Between MS = ,34620, df = 2,0000				
Cell No.	w/v	{1}	{2}	{3}
1	1	85,795	0,039535	0,024994
2	2	0,039535	88,675	0,007387
3	3	0,024994	0,007387	82,125

Ικανότητα απορρόφησης νερού (IAN)

Πίνακας Π-19. Αποτελέσματα ANOVA για την ικανότητα απορρόφησης νερού (IAN) των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα και ισχύ 240 W.

Univariate Tests of Significance for IAN (Spreadsheet1_240 W)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	508644,9	1	508644,9	1788,991	0,000559
Time	2683,9	1	2683,9	9,440	0,091610
w/v	11821,3	2	5910,7	20,789	0,045895
Error	568,6	2	284,3		

Πίνακας Π-20. Αποτελέσματα Duncan's test για την ικανότητα απορρόφησης νερού (IAN) των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, ως προς το λόγο στερεού προς υγρό, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα και ισχύ 240 W.

Duncan test; variable IAN (Spreadsheet1_240 W)				
Approximate Probabilities for Post Hoc Tests				
Error: Between MS = 284,32, df = 2,0000				
Cell No.	w/v	{1}	{2}	{3}
1	1	333,01	0,318142	0,023561
2	2	0,318142	310,76	0,040922
3	3	0,023561	0,040922	229,72

Ικανότητα απορρόφησης ελαίου (IAE)

Πίνακας Π-21. Αποτελέσματα ANOVA για την ικανότητα απορρόφησης ελαίου (IAE) των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα και ισχύ 240 W.

Univariate Tests of Significance for IAE (Spreadsheet1_240 W)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1347516	1	1347516	171,4920	0,005781
Time	336	1	336	0,0428	0,855286
w/v	5439	2	2719	0,3461	0,742892
Error	15715	2	7858		

ANOVA για MW, 400W

Time (5,8,10)

w/v (1/20,1/25)

Απόδοση Εκχύλισης

Πίνακας Π-22. Αποτελέσματα ANOVA για τις αποδόσεις εκχύλισης, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα και ισχύ 400 W.

Univariate Tests of Significance for Απόδοση Εκχύλισης (Spreadsheet1_400 W)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	7324,123	1	7324,123	316,0573	0,003149
Time	208,007	2	104,003	4,4881	0,182214
w/v	192,553	1	192,553	8,3092	0,102225
Error	46,347	2	23,173		

Απόδοση Καταβύθισης

Πίνακας Π-23. Αποτελέσματα ANOVA για τις αποδόσεις καταβύθισης, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα και ισχύ 400 W.

Univariate Tests of Significance for Απόδοση Καταβύθισης (Spreadsheet1_400 W) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	21151,16	1	21151,16	199,3040	0,004980
Time	485,98	2	242,99	2,2897	0,303982
w/v	495,04	1	495,04	4,6647	0,163393
Error	212,25	2	106,13		

Ολική Απόδοση

Πίνακας Π-24. Αποτελέσματα ANOVA για τις ολικές αποδόσεις, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα και ισχύ 400 W.

Univariate Tests of Significance for Ολική Απόδοση (Spreadsheet1_400 W) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	2890,376	1	2890,376	164,5544	0,006022
Time	217,544	2	108,772	6,1926	0,139032
w/v	216,600	1	216,600	12,3315	0,072397
Error	35,130	2	17,565		

% Πρωτεΐνες στο υπερσυμπύκνωμα

Πίνακας Π-25. Αποτελέσματα ANOVA για την περιεκτικότητα (%) σε Πρωτεΐνες στο υπερσυμπύκνωμα, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα και ισχύ 400 W.

Univariate Tests of Significance for % Πρωτεΐνες στο PI (Spreadsheet1_400 W) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	44819,14	1	44819,14	7220,683	0,000138
Time	4,91	2	2,45	0,395	0,716727
w/v	45,54	1	45,54	7,337	0,113549
Error	12,41	2	6,21		

Ικανότητα απορρόφησης νερού (IAN)

Πίνακας Π-26. Αποτελέσματα ANOVA για την ικανότητα απορρόφησης νερού (IAN) των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα και ισχύ 400 W.

Univariate Tests of Significance for IAN (Spreadsheet1_400 W) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	558699,1	1	558699,1	381,9664	0,002608
Time	10812,9	2	5406,4	3,6962	0,212937
w/v	4368,6	1	4368,6	2,9867	0,226093
Error	2925,4	2	1462,7		

Ικανότητα απορρόφησης ελαίου (IAE)

Πίνακας Π-27. Αποτελέσματα ANOVA για την ικανότητα απορρόφησης ελαίου (IAE) των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα και ισχύ 400 W.

Univariate Tests of Significance for IAE (Spreadsheet1_400 W) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1470180	1	1470180	2240,268	0,000446
Time	2276	2	1138	1,734	0,365705
w/v	3976	1	3976	6,058	0,132930
Error	1313	2	656		

ANOVA-3 για MW

W (240,400 W)

Time (8,10 min)

w/v (1/20, 1/25)

Απόδοση Εκχύλισης

Πίνακας Π-28. Αποτελέσματα ANOVA για τις αποδόσεις εκχύλισης, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα.

Univariate Tests of Significance for Απόδοση Εκχύλισης (Spreadsheet1_MW_ANOVA-3) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	10077,03	1	10077,03	1207,063	0,000004
W	72,66	1	72,66	8,704	0,041961
Time	86,40	1	86,40	10,349	0,032374
w/v	249,65	1	249,65	29,904	0,005440
Error	33,39	4	8,35		

Πίνακας Π-29. Αποτελέσματα Duncan's test για την απόδοση εκχύλισης ως προς την ισχύ, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα.

Duncan test; variable Απόδοση Εκχύλισης (Spreadsheet1_MW_ANOVA-3) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 8,3484, df = 4,0000			
Cell No.	W	{1}	{2}
1	1	32,477	38,505
2	2	0,042127	

Πίνακας Π-30. Αποτελέσματα Duncan's test για την απόδοση εκχύλισης ως προς το χρόνο, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα.

Duncan test; variable Απόδοση Εκχύλισης (Spreadsheet1_MW_ANOVA-3) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 8,3484, df = 4,0000			
Cell No.	Time	{1}	{2}
1	1	32,205	38,778
2	2	0,032557	

Πίνακας Π-31. Αποτελέσματα Duncan's test για την απόδοση εκχύλισης ως προς το λόγο στερεού προς υγρό, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα.

Duncan test; variable Απόδοση Εκχύλισης (Spreadsheet1_MW_ANOVA-3) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 8,3484, df = 4,0000			
Cell No.	w/v	{1} 41,078	{2} 29,905
1	1		0,005617
2	2	0,005617	

Απόδοση Καταβύθισης

Πίνακας Π-32. Αποτελέσματα ANOVA για τις αποδόσεις καταβύθισης, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα.

Univariate Tests of Significance for Απόδοση Καταβύθισης (Spreadsheet1_MW_ANOVA-3) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	26545,54	1	26545,54	894,1718	0,000007
W	451,05	1	451,05	15,1934	0,017573
Time	98,07	1	98,07	3,3034	0,143287
w/v	570,04	1	570,04	19,2014	0,011857
Error	118,75	4	29,69		

Πίνακας Π-33. Αποτελέσματα Duncan's test για την απόδοση καταβύθισης ως προς την ισχύ, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα.

Duncan test; variable Απόδοση Καταβύθισης (Spreadsheet1_MW_ANOVA-3) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 29,687, df = 4,0000			
Cell No.	W	{1} 50,095	{2} 65,112
1	1		0,017751
2	2	0,017751	

Πίνακας Π-34. Αποτελέσματα Duncan's test για την απόδοση εκχύλισης ως προς το λόγο στερεού προς υγρό, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα.

Duncan test; variable Απόδοση Καταβύθισης (Spreadsheet1_MW_ANOVA-3) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 29,687, df = 4,0000			
Cell No.	w/v	{1}	{2}
1	1	66,045	0,012013
2	2	0,012013	49,163

Ολική Απόδοση

Πίνακας Π-35. Αποτελέσματα ANOVA για τις ολικές αποδόσεις, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα.

Univariate Tests of Significance for Ολική Απόδοση (Spreadsheet1_MW_ANOVA-3) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	3638,045	1	3638,045	455,3832	0,000029
W	134,808	1	134,808	16,8743	0,014758
Time	81,281	1	81,281	10,1742	0,033226
w/v	284,888	1	284,888	35,6602	0,003951
Error	31,956	4	7,989		

Πίνακας Π-36. Αποτελέσματα Duncan's test για την ολική απόδοση ως προς την ισχύ, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα.

Duncan test; variable Ολική Απόδοση (Spreadsheet1_MW_ANOVA-3) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 7,9890, df = 4,0000			
Cell No.	W	{1}	{2}
1	1	17,220	0,014930
2	2	0,014930	25,430

Πίνακας Π-37. Αποτελέσματα Duncan's test για την ολική απόδοση ως προς το χρόνο, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα.

Duncan test; variable Ολική Απόδοση (Spreadsheet1_MW_ANOVA-3) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 7,9890, df = 4,0000			
Cell No.	Time	{1} 18,137	{2} 24,513
1	1		0,033406
2	2	0,033406	

Πίνακας Π-38. Αποτελέσματα Duncan's test για την ολική απόδοση ως προς το λόγο στερεού προς υγρό, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα.

Duncan test; variable Ολική Απόδοση (Spreadsheet1_MW_ANOVA-3) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 7,9890, df = 4,0000			
Cell No.	w/v	{1} 27,293	{2} 15,358
1	1		0,004133
2	2	0,004133	

% Πρωτεΐνες στο υπερσυμπύκνωμα

Πίνακας Π-39. Αποτελέσματα ANOVA για την περιεκτικότητα (%) σε Πρωτεΐνες στο υπερσυμπύκνωμα, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα.

Univariate Tests of Significance for % Πρωτεΐνες στο PI (Spreadsheet1_MW_ANOVA-3) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	59429,73	1	59429,73	21528,22	0,000000
W	4,99	1	4,99	1,81	0,249866
Time	2,93	1	2,93	1,06	0,361248
w/v	59,19	1	59,19	21,44	0,009804
Error	11,04	4	2,76		

Πίνακας Π-40. Αποτελέσματα Duncan's test για την περιεκτικότητα (%) σε Πρωτεΐνες στο υπερσυμπύκνωμα ως προς το λόγο στερεού προς υγρό, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα.

Duncan test; variable % Πρωτεΐνες στο ΠΙ (Spreadsheet1_MW_ANOVA-3) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 2,7606, df = 4,0000			
Cell No.	w/v	{1} 88,910	{2} 83,470
1	1		0,009962
2	2	0,009962	

Ικανότητα απορρόφησης νερού (IAN)

Πίνακας Π-41. Αποτελέσματα ANOVA για την ικανότητα απορρόφησης νερού (IAN) των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα.

Univariate Tests of Significance for IAN (Spreadsheet1_MW_ANOVA-3) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	723297,8	1	723297,8	478,4969	0,000026
W	7417,0	1	7417,0	4,9067	0,091106
Time	233,6	1	233,6	0,1545	0,714285
w/v	10988,3	1	10988,3	7,2693	0,054310
Error	6046,4	4	1511,6		

Ικανότητα απορρόφησης ελαίου (IAE)

Πίνακας Π-42. Αποτελέσματα ANOVA για την ικανότητα απορρόφησης ελαίου (IAE) των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα.

Univariate Tests of Significance for IAE (Spreadsheet1_MW_ANOVA-3) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1963429	1	1963429	4020,008	0,000000
W	42	1	42	0,086	0,783809
Time	5272	1	5272	10,793	0,030349
w/v	2929	1	2929	5,997	0,070525
Error	1954	4	488		

Πίνακας Π-43. Αποτελέσματα Duncan's test για την ικανότητα απορρόφησης ελαίου (IAE) των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ως προς το χρόνο, όσον αφορά την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα.

Duncan test; variable IAE (Spreadsheet1_MW_ANOVA-3) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 488,41, df = 4,0000			
Cell No.	Time	{1}	{2}
		521,08	469,74
1	1		0,030536
2	2	0,030536	

ANOVA-2 για σύγκριση μεθόδων εκχύλισης (συμβατική, MW: 240 W, 10 min).

Μέθοδος (συμβατική, μικροκύματα: 240 W, 10 min)

w/v (1/15, 1/20, 1/25)

Απόδοση Εκχύλισης

Πίνακας Π-44. Αποτελέσματα ANOVA για τις αποδόσεις εκχύλισης, όσον αφορά τη σύγκριση της μεθόδου εκχύλισης με μικροκύματα, για 240 W, 10 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

Univariate Tests of Significance for Απόδοση Εκχύλισης (Spreadsheet1_conv-MW_240W_10min) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	7722,094	1	7722,094	344,8153	0,002888
Μέθοδος Εκχύλισης	14,947	1	14,947	0,6674	0,499788
w/v	71,936	2	35,968	1,6061	0,383716
Error	44,790	2	22,395		

Απόδοση Καταβύθισης

Πίνακας Π-45. Αποτελέσματα ANOVA για τις αποδόσεις καταβύθισης, όσον αφορά τη σύγκριση της μεθόδου εκχύλισης με μικροκύματα, για 240 W, 10 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

Univariate Tests of Significance for Απόδοση Καταβύθισης (Spreadsheet1_conv-MW_240W_10min)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	11783,80	1	11783,80	114,2323	0,008641
Μέθοδος Εκχύλισης	27,05	1	27,05	0,2622	0,659532
w/v	351,17	2	175,58	1,7021	0,370081
Error	206,31	2	103,16		

Ολική Απόδοση

Πίνακας Π-46. Αποτελέσματα ANOVA για τις ολικές αποδόσεις, όσον αφορά τη σύγκριση της μεθόδου εκχύλισης με μικροκύματα, για 240 W, 10 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

Univariate Tests of Significance for Ολική Απόδοση (Spreadsheet1_conv-MW_240W_10min)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1593,162	1	1593,162	50,93943	0,019071
Μέθοδος Εκχύλισης	0,647	1	0,647	0,02068	0,898833
w/v	121,243	2	60,621	1,93829	0,340334
Error	62,551	2	31,276		

% Πρωτεΐνες στο υπερσυμπύκνωμα

Πίνακας Π-47. Αποτελέσματα ANOVA για την περιεκτικότητα (%) σε Πρωτεΐνες στο υπερσυμπύκνωμα, όσον αφορά τη σύγκριση της μεθόδου εκχύλισης με μικροκύματα, για 240 W, 10 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

Univariate Tests of Significance for % Πρωτεΐνες στο PI (Spreadsheet1_conv-MW_240W_10min)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	44808,77	1	44808,77	3732,255	0,000268
Μέθοδος Εκχύλισης	1,02	1	1,02	0,085	0,798440
w/v	10,71	2	5,35	0,446	0,691598
Error	24,01	2	12,01		

Ικανότητα απορρόφησης νερού (IAN)

Πίνακας Π-48. Αποτελέσματα ANOVA για την ικανότητα απορρόφησης νερού (IAN) των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, όσον αφορά τη σύγκριση της μεθόδου εκχύλισης με μικροκύματα, για 240 W, 10 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

Univariate Tests of Significance for IAN (Spreadsheet1_conv-MW_240W_10min) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	266501,8	1	266501,8	142,7338	0,006933
Μέθοδος Εκχύλισης	21068,1	1	21068,1	11,2837	0,078349
w/v	2093,7	2	1046,9	0,5607	0,640745
Error	3734,3	2	1867,1		

Ικανότητα απορρόφησης ελαίου (IAE)

Πίνακας Π-49. Αποτελέσματα ANOVA για την ικανότητα απορρόφησης ελαίου (IAE) των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, όσον αφορά τη σύγκριση της μεθόδου εκχύλισης με μικροκύματα, για 240 W, 10 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

Univariate Tests of Significance for IAE (Spreadsheet1_conv-MW_240W_10min) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1424290	1	1424290	1317,309	0,000758
Μέθοδος Εκχύλισης	204	1	204	0,189	0,706512
w/v	6582	2	3291	3,044	0,247289
Error	2162	2	1081		

ANOVA-2 για σύγκριση μεθόδων εκχύλισης (συμβατική, MW: 400 W, 10 min).

Μέθοδος (συμβατική, μικροκύματα: 400 W, 10 min)

w/v (1/20, 1/25)

Απόδοση Εκχύλισης

Πίνακας Π-50. Αποτελέσματα ANOVA για τις αποδόσεις εκχύλισης, όσον αφορά τη σύγκριση της μεθόδου εκχύλισης με μικροκύματα, για 400 W, 10 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

Univariate Tests of Significance for Απόδοση Εκχύλισης (Spreadsheet2_conv-MW_400W_10min) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	6667,539	1	6667,539	723,8493	0,023651
Μέθοδος Εκχύλισης	7,812	1	7,812	0,8481	0,526193
w/v	10,465	1	10,465	1,1361	0,479700
Error	9,211	1	9,211		

Απόδοση Καταβύθισης

Πίνακας Π-51. Αποτελέσματα ANOVA για τις αποδόσεις καταβύθισης, όσον αφορά τη σύγκριση της μεθόδου εκχύλισης με μικροκύματα, για 400 W, 10 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

Univariate Tests of Significance for Απόδοση Καταβύθισης (Spreadsheet2_conv-MW_400W_10min) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	12827,83	1	12827,83	720,3245	0,023709
Μέθοδος Εκχύλισης	701,72	1	701,72	39,4039	0,100572
w/v	42,90	1	42,90	2,4091	0,364363
Error	17,81	1	17,81		

Ολική Απόδοση

Πίνακας Π-52. Αποτελέσματα ANOVA για τις ολικές αποδόσεις, όσον αφορά τη σύγκριση της μεθόδου εκχύλισης με μικροκύματα, για 400 W, 10 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

Univariate Tests of Significance for Ολική Απόδοση (Spreadsheet2_conv-MW_400W_10min) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	2198,203	1	2198,203	144,1537	0,052901
Μέθοδος Εκχύλισης	155,376	1	155,376	10,1893	0,193273
w/v	25,251	1	25,251	1,6559	0,420570
Error	15,249	1	15,249		

% Πρωτεΐνες στο υπερσυμπύκνωμα

Πίνακας Π-53. Αποτελέσματα ANOVA για την περιεκτικότητα (%) σε Πρωτεΐνες στο υπερσυμπύκνωμα, όσον αφορά τη σύγκριση της μεθόδου εκχύλισης με μικροκύματα, για 400 W, 10 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

Univariate Tests of Significance for % Πρωτεΐνες στο PI (Spreadsheet2_conv-MW_400W_10min)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	30794,99	1	30794,99	10593,30	0,006185
Μέθοδος Εκχύλισης	0,16	1	0,16	0,06	0,851531
w/v	0,06	1	0,06	0,02	0,909143
Error	2,91	1	2,91		

Ικανότητα απορρόφησης νερού (IAN)

Πίνακας Π-54. Αποτελέσματα ANOVA για την ικανότητα απορρόφησης νερού (IAN) των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, όσον αφορά τη σύγκριση της μεθόδου εκχύλισης με μικροκύματα, για 400 W, 10 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

Univariate Tests of Significance for IAN (Spreadsheet2_conv-MW_400W_10min)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	262584,5	1	262584,5	1289,499	0,017724
Μέθοδος Εκχύλισης	40763,6	1	40763,6	200,182	0,044921
w/v	15,5	1	15,5	0,076	0,828500
Error	203,6	1	203,6		

Πίνακας Π-55. Αποτελέσματα Duncan's test για την ικανότητα απορρόφησης νερού (IAN) των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων ως προς τη μέθοδο εκχύλισης.

Duncan test; variable IAN (Spreadsheet2_conv-MW_400W_10min)			
Approximate Probabilities for Post Hoc Tests			
Error: Between MS = 203,63, df = 1,0000			
Cell No.	Μέθοδος Εκχύλισης	{1}	{2}
1	1	155,26	0,045195
2	2	0,045195	357,16

Ικανότητα απορρόφησης ελαίου (IAE)

Πίνακας Π-56. Αποτελέσματα ANOVA για την ικανότητα απορρόφησης ελαίου (IAE) των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, όσον αφορά τη σύγκριση της μεθόδου εκχύλισης με μικροκύματα, για 400 W, 10 min εκχύλισης, με τη συμβατική μέθοδο.

Univariate Tests of Significance for IAE (Spreadsheet2_conv-MW_400W_10min) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	950001,1	1	950001,1	7220,999	0,007491
Μέθοδος Εκχύλισης	679,6	1	679,6	5,166	0,263867
w/v	8193,9	1	8193,9	62,282	0,080240
Error	131,6	1	131,6		

ANOVA-2 για σύγκριση μεθόδων εκχύλισης και εκχυλιστικών μέσων.

Μέθοδος (συμβατική, μικροκύματα: 240 W)

Εκχυλιστικό μέσο (NADES 1, NADES 2, NADES 3, WATER)

Απόδοση Εκχύλισης

Πίνακας Π-57. Αποτελέσματα ANOVA για τις αποδόσεις εκχύλισης, όσον αφορά τη σύγκριση της μεθόδου εκχύλισης και του εκχυλιστικού μέσου.

Univariate Tests of Significance for Απόδοση Εκχύλισης (Spreadsheet4) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	5650,908	1	5650,908	1299,034	0,000047
Εκχυλιστικό Μέσο	701,158	3	233,719	53,728	0,004170
Μέθοδος Εκχύλισης	0,994	1	0,994	0,229	0,665301
Error	13,050	3	4,350		

Πίνακας Π-58. Αποτελέσματα Duncan's test για τις αποδόσεις εκχύλισης ως προς το εκχυλιστικό μέσο.

Duncan test; variable Απόδοση Εκχύλισης (Spreadsheet4) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 4,3501, df = 3,0000					
Cell No.	Εκχυλιστικό Μέσο	{1} 22,210	{2} 15,225	{3} 28,150	{4} 40,725
1	1		0,044295	0,065408	0,003166
2	2	0,044295		0,008701	0,001247
3	3	0,065408	0,008701		0,009331
4	4	0,003166	0,001247	0,009331	

