



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

Τομέας (IV): Σύνθεσης και Ανάπτυξης Βιομηχανικών Διεργασιών

Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων

## Παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από τοματόσπορο

*Διπλωματική Εργασία*

Ασπρής Χρίστος

Επιβλέπουσα

Κωνσταντίνα Τζιά

Καθηγήτρια ΕΜΠ

Αθήνα, Ιούνιος 2022

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

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

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

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

Ακόμα, ευχαριστώ την εταιρία «ΚΥΚΝΟΣ.» για την προμήθεια της πρώτης ύλης (παραπροϊόντα χυμοποίησης τομάτας).

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

Αθήνα, Ιούνιος 2022

Ασπρής Χρίστος

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	2
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	7
ABSTRACT.....	9
ΕΙΣΑΓΩΓΗ .....	11
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ.....	12
1.1 Γενικά.....	12
1.2 Αμινοξέα.....	14
1.3 Δομή Πρωτεΐνων.....	16
1.3.1 Πρωτοταγής Δομή.....	16
1.3.2 Δευτεροταγής Δομή .....	17
1.3.2.1 Δομή α-έλικας.....	17
1.3.2.2 Δομή β-πτυχωμένου φύλλου .....	18
1.3.2.3 Δομή κολλαγόνου, υπερέλικα του κολλαγόνου (hyperhelix) .....	20
1.3.3 Τριτοταγής δομή.....	20
1.3.4 Τεταρτοταγής δομή.....	20
1.4 Ταξινόμηση πρωτεΐνων - Κατηγορίες πρωτεΐνων .....	21
1.4.1 Απλές πρωτεΐνες.....	22
1.4.2 Σύνθετες πρωτεΐνες .....	23
1.5 Φυσικοχημικές ιδιότητες πρωτεΐνων.....	23
1.5.1 Διαλυτότητα .....	23
1.5.1.1 pH και διαλυτότητα .....	24
1.5.1.2 Ιοντική ισχύς και διαλυτότητα .....	24
1.5.1.3 Θερμοκρασία και διαλυτότητα.....	24
1.5.1.4 Οργανικοί Διαλύτες και διαλυτότητα.....	25
1.5.2 Μετουσίωση.....	25
1.5.2.1 Θερμοκρασία και μετουσίωση .....	26
1.5.2.2 Υδροστατική πίεση και μετουσίωση .....	26
1.5.2.3 Μηχανική καταπόνηση και μετουσίωση .....	26
1.5.2.4 pH και μετουσίωση .....	26
1.5.2.5 Οργανικοί διαλύτες και μετουσίωση .....	26
1.6 Λειτουργικές ιδιότητες πρωτεΐνων .....	27
1.6.1 Ενυδάτωση πρωτεΐνών.....	27
1.6.2 Γαλακτωματοποίηση πρωτεΐνών.....	28
1.6.3 Αφρισμός πρωτεΐνών .....	29

1.6.4 Δέσμευση γεύσης .....	29
1.6.4.1 Παράγοντες που επηρεάζουν τη δέσμευση γεύσης.....	30
1.6.5 Ιξώδες .....	30
1.6.6 Ζελοποίηση .....	30
1.7 Θρεπτικές ιδιότητες πρωτεΐνών .....	31
1.7.1 Ποιότητα πρωτεΐνης.....	31
1.7.2 Πεπτικότητα .....	32
1.7.3 Αξιολόγηση Θρεπτικής Αξίας Πρωτεΐνών.....	33
1.8 Τροποποίηση λειτουργικών ιδιοτήτων των πρωτεΐνών.....	35
1.9 Πηγές πρωτεΐνών .....	35
1.9.1 Ζωικής προέλευσης τρόφιμα .....	35
1.9.2 Φυτικής προέλευσης τρόφιμα .....	36
1.10 Μεταβολές των πρωτεΐνών κατά την επεξεργασία των τροφίμων.....	37
1.11 Νέες πηγές πρωτεΐνών - Εξωσυμβατικές πρωτεΐνες .....	37
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΤΟΜΑΤΑ.....</b>	<b>39</b>
2.1 Γενικά.....	39
2.2 Σύνθεση της τομάτας σε διατροφικά χαρακτηριστικά .....	41
2.2.1 Περιεχόμενα αμινοξέα της τομάτας.....	43
2.2.2 Περιεχόμενα λιπαρά οξέα της τομάτας .....	44
2.2.3 Περιεχόμενα μέταλλα της τομάτας.....	44
2.2.4 Περιεχόμενες βιταμίνες της τομάτας .....	46
2.3 Γευστικότητα της τομάτας .....	46
2.4 Επεξεργασία και τεχνολογία παραγωγής τομάτας.....	47
2.4.1 Συγκομιδή της τομάτας - Παράγοντες που επηρεάζουν την ποιότητα της τομάτας πριν τη συγκομιδή .....	47
2.4.2 Τεχνολογίες μετά τη συγκομιδή για τη διατήρηση της ποιότητας των καρπών της τομάτας .....	47
2.4.3 Προεπεξεργασίες πρώτης ύλης.....	48
2.4.3.1 Ταξινόμηση των καρπών της τομάτας.....	48
2.4.3.2 Αποφλοίωση των καρπών της τομάτας.....	48
2.4.4 Επεξεργασία - Επεξεργασμένα προϊόντα τομάτας.....	48
2.4.5 Παραπροϊόντα επεξεργασίας τομάτας: στερεά απόβλητα.....	51
2.4.5.1 Επεξεργασία παραπροϊόντος τομάτας.....	52
2.4.6 Χαρακτηρισμός/Σύνθεση παραπροϊόντος τομάτας.....	52
2.4.6.1 Περιεχόμενα αμινοξέα του παραπροϊόντος της τομάτας .....	53
2.4.6.2 Περιεχόμενα λιπαρά οξέα του παραπροϊόντος της τομάτας .....	54

2.4.6.3 Διατροφική αξία των φλοιών της τομάτας .....	54
2.4.6.3.1 Περιεχόμενα αμινοξέα των φλοιών της τομάτας .....	55
2.4.6.4 Σπόροι της τομάτας.....	56
2.4.6.4.1 Θρεπτικά συστατικά των σπόρων της τομάτας (πρωτεΐνες, λιπίδια) .....	57
2.4.6.4.1.1 Πρωτεΐνες των σπόρων της τομάτας.....	57
2.4.6.4.1.2 Λιπίδια των σπόρων της τομάτας .....	58
2.4.6.4.2 Πρωτεϊνικά προϊόντα από σπόρους τομάτας.....	59
2.4.6.4.3 Λειτουργικές ιδιότητες των σπόρων τομάτας .....	60
2.4.6.4.4 Εφαρμογές των σπόρων της τομάτας ως συστατικό σε λειτουργικά τρόφιμα....	61
2.4.6.4.5 Επίδραση της κατανάλωσης σπόρων τομάτας στην ανθρώπινη υγεία .....	63
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΠΑΡΑΛΑΒΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ ΥΠΕΡΣΥΜΠΥΚΝΩΜΑΤΩΝ .....</b>	<b>65</b>
3.1 Γενικά.....	65
3.2 Εκχύλιση των πρωτεϊνών των σπόρων της τομάτας.....	67
3.2.1 Τεχνικές εκχύλισης πρωτεϊνών.....	67
3.2.1.1 Συμβατικές μέθοδοι εκχύλισης πρωτεϊνών .....	67
3.2.1.1.1 Αλκαλική εκχύλιση πρωτεϊνών.....	68
3.2.1.2 Μη συμβατικές μέθοδοι εκχύλισης πρωτεϊνών .....	69
3.2.1.2.1 Εκχύλιση με τη βοήθεια ενζύμων.....	70
3.2.1.2.2 Εκχύλιση με υπερήχους (UAE) .....	71
3.2.1.2.3 Εκχύλιση με παλμικό ηλεκτρικό πεδίο (PEF).....	72
3.2.1.2.4 Εκχύλιση με τη βοήθεια μικροκυμάτων (MAE) .....	73
3.2.1.2.5 Εξαγωγή με υποβοήθηση υψηλής πίεσης (HPAE) .....	74
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....</b>	<b>76</b>
4.1 Σκοπός.....	76
4.2 Υλικά – Εξοπλισμός .....	76
4.2.1 Πρώτες Ύλες - Αντιδραστήρια .....	76
4.2.2 Συσκευές – Όργανα.....	77
4.3 Πειραματική διαδικασία.....	77
4.3.1 Προκατεργασία μείγματος σπόρων και φλοιών.....	77
4.3.2 Παραλαβή των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων .....	79
4.4 Αναλύσεις – Μετρήσεις.....	86
4.4.1 Προσδιορισμός ελαίου.....	86
4.4.2 Προσδιορισμός αζώτου και πρωτεϊνών – Μέθοδος Kjeldhal.....	87
4.4.3 Μέτρηση λειτουργικών ιδιοτήτων .....	91
4.5 Σχεδιασμός πειραμάτων – Στατιστική επεξεργασία.....	92
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....</b>	<b>94</b>

5.1 Προσδιορισμός ισοηλεκτρικού σημείου .....	94
5.2 Παραλαβή πρωτεΐνικών υπερσυμπυκνωμάτων.....	94
5.2.1. Αποτελέσματα εκχύλισης πρωτεΐνών με τη συμβατική μέθοδο .....	95
5.2.2 Αποτελέσματα εκχύλισης πρωτεΐνών υποβοηθούμενης από υπέρηχους .....	98
5.2.3 Αποτελέσματα λειτουργικών ιδιοτήτων με την εκχύλιση υποβοηθούμενη από υπέρηχους .....	114
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ.....</b>	<b>115</b>
6.1 Συμπεράσματα.....	115
6.2 Προτάσεις.....	116
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....</b>	<b>118</b>
<b>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....</b>	<b>121</b>

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας ήταν η παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από απελαιωμένο άλευρο τοματόσπορου (υπολείμματος χυμοποίησης τομάτας) μέσω εκχύλισης των πρωτεϊνών με χρήση υπερήχων, αξιολογώντας την απόδοση της διαδικασίας και την ποιότητα των τελικών προϊόντων. Λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς τους σε πρωτεΐνες, οι σπόροι τομάτας έχουν χρησιμοποιηθεί ως συμπλήρωμα σε ζωοτροφές και ως υποκατάστατο σε προϊόντα αρτοποιίας.

Ως πρώτη ύλη χρησιμοποιήθηκε μείγμα τοματόσπορων και φλοιών τομάτας. Η προκατεργασία της πρώτης ύλης περιελάμβανε ανάμιξη με νερό και καθίζηση των σπόρων, μετά διαχωρισμό τους από τους φλοιούς με επίπλευση, και στη συνέχεια αφυδάτωση αυτών. Οι αποξηραμένοι σπόροι αλέστηκαν ώστε να προκύψουν σωματίδια ομοιόμορφου μεγέθους. Το πρωτεϊνικό άλευρο που προέκυψε, πριν προχωρήσει σε περαιτέρω επεξεργασία, απελαιώθηκε πλήρως με εξάνιο. Το εργαστηριακά απελαιωμένο άλευρο τοματόσπορου αποτέλεσε την πρώτη ύλη για την παρασκευή των εκχυλισμάτων πρωτεϊνών.

Η παραλαβή των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων πραγματοποιήθηκε μέσω των διαδοχικών σταδίων της υδατικής εκχύλισης των πρωτεϊνών και της ισοηλεκτρικής τους καταβύθισης. Χρησιμοποιήθηκαν δύο μέθοδοι εκχύλισης: μία σύγχρονη μέθοδος εκχύλισης, η υποβοηθούμενη εκχύλιση με υπέρηχους και η συμβατική εκχύλιση με θερμό νερό και έγινε σύγκριση μεταξύ τους. Για την εκχύλιση με τους υπέρηχους (ισχύς υπερήχων = 320 W, συχνότητα υπερήχων = 37 kHz) οι παράγοντες που μελετήθηκαν ήταν ο χρόνος εκχύλισης (15,20,30 min), το pH (11.5,10.8,10.9) και ο λόγος στερεού/υγρού (1/20,1/25,1/30). Ο προσδιορισμός του πρωτεϊνικού περιεχομένου πραγματοποιήθηκε με ανάλυση Kjedhal.

Το pH, ο λόγος στερεού/υγρού και ο χρόνος δεν επηρεάζουν σημαντικά ούτε την απόδοση εκχύλισης πρωτεϊνών, ούτε την απόδοση καταβύθισης ως προς τις εκχυλισμένες πρωτεΐνες, ούτε την ολική απόδοση, ούτε και την % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες των υπερσυμπυκνωμάτων. Η υψηλότερη τιμή απόδοσης εκχύλισης βρέθηκε να είναι 95,8% σε pH ίσο με 10.8, λόγο στερεού/υγρού, w/v = 1/25 και χρόνο t = 20 min. Αντίθετα, η χαμηλότερη τιμή απόδοσης εκχύλισης βρέθηκε να είναι 46,8% σε pH ίσο με 9.0, λόγο στερεού/υγρού, w/v = 1/30 και χρόνο t = 20 min. Όσον αφορά την απόδοση καταβύθισης, η υψηλότερη τιμή βρέθηκε να είναι 89,4% σε pH ίσο με 11.5, λόγο στερεού/υγρού, w/v = 1/25 και χρόνο t = 20 min, και η χαμηλότερη τιμή βρέθηκε να είναι 9,9% σε pH ίσο με 10.0, λόγο στερεού/υγρού, w/v = 1/30 και χρόνο t = 15 min. Η υψηλότερη τιμή ολικής απόδοσης βρέθηκε να είναι 20,3% σε pH ίσο με 11.5, λόγο στερεού/υγρού, w/v = 1/20 και χρόνο t = 20 min. Αντίθετα, η χαμηλότερη τιμή ολικής απόδοσης βρέθηκε να είναι 5,8% σε pH ίσο με 9.0, λόγο στερεού/υγρού, w/v = 1/30 και χρόνο t = 20 min. Τέλος για την % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες του υπερσυμπυκνώματος, η υψηλότερη τιμή βρέθηκε να είναι 94,8% σε pH ίσο με 11.5, λόγο στερεού/υγρού, w/v = 1/20 και χρόνο t = 20 min, και η χαμηλότερη τιμή βρέθηκε να είναι 42,8% σε pH ίσο με 10.8, λόγο στερεού/υγρού, w/v = 1/30 και χρόνο t = 20 min.

Από τα πειράματα βρέθηκε ότι οι βέλτιστες τιμές των παραγόντων είναι: χρόνος εκχύλισης, t = 20 min, λόγος στερεού/υγρού, w/v = 1/20, και pH = 11.5, οι οποίες δίνουν απόδοση εκχύλισης 73.8%, απόδοση καταβύθισης 27.2%, ολική απόδοση 20.3% και πρωτεϊνικό περιεχόμενο του υπερσυμπυκνώματος 94.8% (ξ.β.).

Από τη σύγκριση της διαδικασίας παραλαβής των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων τοματόσπορου με υδατική εκχύλιση υποβοηθούμενη από υπέρηχους και της αντίστοιχης με τη συμβατική εκχύλιση με θερμό νερό προέκυψε ότι, η εκχύλιση υποβοηθούμενη από υπέρηχους παρείχε καλύτερα αποτελέσματα για όλες τις επιμέρους αποδόσεις των σταδίων της διεργασίας απομόνωσης των πρωτεϊνών (εκχύλισης, καταβύθισης ως προς τις εκχυλισμένες πρωτεΐνες, ολική) και για την % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, σε μικρότερο χρόνο σε σχέση με το μεγαλύτερο χρόνο της συμβατικής εκχύλισης. Οι βέλτιστες τιμές των παραγόντων της συμβατικής εκχύλισης από την βιβλιογραφία είναι: χρόνος εκχύλισης,  $t = 30$  min, λόγος στερεού/υγρού,  $w/v = 1/30$ , και  $pH = 11.5$ , οι οποίες δίνουν απόδοση εκχύλισης 64,7%, απόδοση καταβύθισης 23,9%, ολική απόδοση 15,4% και πρωτεϊνικό περιεχόμενο του υπερσυμπυκνώματος 67,4% (ξ.β.). Αυτά τα αποτελέσματα είναι μικρότερα από τα αποτελέσματα που δίνουν οι βέλτιστες τιμές των παραγόντων της εκχύλισης με υπέρηχους που αναφέρονται πιο πάνω. Το γεγονός αυτό συνεπάγεται ότι η εκχύλιση με υπέρηχους είναι αποδοτικότερη και μπορεί να προσφέρει εξοικονόμηση χρόνου και κόστους. Η μέθοδος εκχύλισης είχε σημαντική επίδραση στις αποδόσεις της διεργασίας (εκχύλισης, καταβύθισης ως προς τις εκχυλισμένες πρωτεΐνες, ολική) και στην % περιεκτικότητα του υπερσυμπυκνώματος σε πρωτεΐνη.

Από τη σύγκριση της διαδικασίας παραλαβής των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων τοματόσπορου με εκχύλιση με ανθρακούχο νερό ως εκχυλιστικό μέσο και της αντίστοιχης με απιονισμένο νερό ως εκχυλιστικό μέσο, για λόγο στερεού/υγρού  $w/v=1/30$ , χρόνο  $t= 30$  min και  $pH= 11.5$ , προέκυψε ότι η απόδοση εκχύλισης των πρωτεϊνών είναι μεγαλύτερη χρησιμοποιώντας απιονισμένο νερό ως εκχυλιστικό μέσο στη συμβατική μέθοδο. Ωστόσο, η απόδοση καταβύθισης των πρωτεϊνών, η ολική απόδοση του πειράματος και το ποσοστό της πρωτεΐνης του υπερσυμπυκνώματος επί ξηρής βάσης είναι μεγαλύτερα χρησιμοποιώντας ανθρακούχο νερό ως εκχυλιστικό μέσο. Τα ίδια συμπεράσματα εξάγονται και για την εκχύλιση με υπέρηχους. Επίσης προέκυψε ότι για λόγο στερεού/υγρού  $w/v=1/20$  και  $pH= 11.5$ , η εκχύλιση με απιονισμένο νερό υπερτερεί σε όλα τα αποτελέσματα εκτός από την απόδοση εκχύλισης στα 30 min και την ολική απόδοση στα 20 min, ωστόσο οι διαφορές είναι μηδαμινές. Αυτές οι διαφορές οφείλονται στο ότι το ανθρακούχο νερό έχει αυξημένη πίεση σε σχέση με το απιονισμένο νερό και εκχυλίζει με διαφορετικό τρόπο τις πρωτεΐνες του τοματόσπορου. Καθώς η πίεση αυξάνεται, η διαφορική πίεση μεταξύ του εσωτερικού και του περιβάλλοντος του τοματόσπορου αυξάνεται προκαλώντας παραμόρφωση των κυττάρων και καταστροφή του κυτταρικού τοιχώματος. Ο διαλύτης διεισδύει μέσω του κατεστραμμένου κυτταρικού τοιχώματος και της κυτταρικής μεμβράνης στο κύτταρο, αυξάνοντας τη μεταφορά μάζας των διαλυτών ενώσεων.

Τέλος, δεν ήταν δυνατή η παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων από την εκχύλιση με τον ευτηκτικό διαλύτη (χλωρίδιο της χολίνης:γλυκόζη, σε αναλογία mole 2:1), καθώς δεν πραγματοποιήθηκε καταβύθιση των πρωτεϊνών στο ισοηλεκτρικό σημείο. Η απόδοση εκχύλισης των πρωτεϊνών βρέθηκε να είναι ίση με 39,3%.

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

## ABSTRACT

The aim of this thesis was to obtain tomato seed protein isolates from defatted tomato seed flour by conventional and new extraction technologies, evaluating the process performance and the quality of the final products. Tomato seeds are reservoirs of various nutrients, such as proteins, carbohydrates, lipids, minerals, and vitamins. These components make tomato seeds an important ingredient for application in food matrices. Due to their high protein content, tomato seeds have been used as a supplement in animal feed and as a replacement in bakery products.

Tomato pomace, a mixture of seed and skin was used as raw material. Pretreatment of the raw material involved a sedimentation technique. The skins were removed by immersing wastes in water, and the remaining seeds were air-dried. The air-dried tomato seeds were grinded and sieved in order to obtain uniformly sized particles. Then, the seed flour was defatted using the hexane. This defatted tomato seed flour was used as raw material.

The collection of the tomato seed protein isolates was performed by the technique of aqueous extraction of proteins and their isoelectric precipitation. Two extraction methods were used: ultrasound assisted extraction (a new extraction method) and conventional extraction with hot water and they were compared to each other. The ultrasound-assisted extraction was evaluated regarding the extraction time (15, 20, 30 min), the pH (9, 10, 10.8, 11.5) and the solid-to-liquid ratio (w/v: 1/20, 1/25, 1/30). The protein yield was measured by Kjeldahl method using AOAC methods.

pH, solid / liquid ratio and time do not significantly affect neither the extraction yield nor the precipitation of proteins nor the overall yield, nor even the % protein content of the isolates. The highest extraction yield value was found to be 95.8% at pH equal to 10.8, solid / liquid ratio, w / v = 1/25 and time t = 20 min. In contrast, the lowest extraction yield value was found to be 46.8% at pH equal to 9.0, solid / liquid ratio, w / v = 1/30 and time t = 20 min. In terms of precipitation yield, the highest value was found to be 89.4% at pH equal to 11.5, solid / liquid ratio, w / v = 1/25 and time t = 20 min, and the lowest value was found to be 9, 9% at pH equal to 10.0, solid / liquid ratio, w / v = 1/30 and time t = 15 min. The highest value of total yield was found to be 20.3% at pH equal to 11.5, solid / liquid ratio, w / v = 1/20 and time t = 20 min. In contrast, the lowest total yield value was found to be 5.8% at pH equal to 9.0, solid / liquid ratio, w / v = 1/30 and time t = 20 min. Finally for the % protein content of the isolates, the highest value was found to be 94.8% at pH equal to 11.5, solid / liquid ratio, w / v = 1/20 and time t = 20 min, and the lowest value was found be 42.8% at pH equal to 10.8, solid / liquid ratio, w / v = 1/30 and time t = 20 min.

The optimal values of the process were: extraction time at 20 min, solid-to-liquid ratio at 1/20 and pH at 11.5, yielding an extraction yield of 73.8%, a percipitation yield of 27.2%, a total yield of 20.3% and 94.8% protein content.

From the comparison of the process of obtaining tomato seed protein isolate using the ultrasound-assisted aqueous extraction method and that of conventional hot-water extraction method, it was found that ultrasound-assisted extraction provided better results for all individual yields (extraction, precipitation of the extracted proteins, total) and the % protein content, in a shorter time compared to the longer time of conventional extraction. The optimal values of the conventional extraction factors from the literature are: extraction time, t = 30 min,

solid / liquid ratio, w / v = 1/30, and pH = 11.5, which give extraction yield 64.7%, precipitation yield 23.9%, total yield 15.4% and protein content of the isolate 67.4% (d.b.). These results are lower than the results given by the optimal values of the ultrasound extraction factors mentioned above. This means that ultrasound extraction is more efficient and can save time and money. The extraction method had a significant effect on the process yields (extraction, precipitation of the extracted proteins, total) and on the % protein content of the isolates.

From the comparison of the process of obtaining the tomato seed protein isolates by extraction with carbonated water as extractant and the corresponding one with deionized water as extractant, for solid / liquid ratio w / v = 1/30, time t = 30 min and pH = 11.5, it was found that the protein extraction yield is higher using deionized water as the extractant in the conventional method. However, the precipitation yield, the overall yield of the experiment and the percentage of protein of the isolate on a dry basis are greater use of carbonated water as an extractant. The same conclusions are drawn for ultrasound extraction. It was also found that in solid / liquid ratio w / v = 1/20 and pH = 11.5, extraction with deionized water is superior to all results except the extraction yield at 30 minutes and the total yield at 20 minutes, however the differences are negligible. These differences are due to the fact that carbonated water has a higher pressure than deionized water and extracts tomato seed proteins in a different way. As the pressure increases, the differential pressure between the inside and the environment of the tomato seed causes cell deformation and destruction of the cell wall. The solvent penetrates through the damaged cell wall and cell membrane into the cell, increasing the transport of soluble compounds.

Finally, it was not possible to obtain protein isolates from extraction with the eutectic solvent (choline chloride:glucose, mole ratio 2:1), as precipitation of the proteins by isoelectric precipitation was not performed. The extraction yield of protein was found to be 39,3%.

Keywords: tomato seed, protein, extraction, yield, isolate

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

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

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

Οι ελαιούχοι σπόροι (π.χ. ελαιοκράμβη, τοματόσπορος, ηλίανθος) αποτελούν σημαντική πηγή φυτικών πρωτεϊνών καθώς έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και μπορούν να ενσωματωθούν στα τρόφιμα προσδίδοντας θρεπτική αξία και λειτουργικές ιδιότητες. Ειδικότερα, ο τοματόσπορος έχει υψηλό πρωτεϊνικό περιεχόμενο και αποτελεί μία πλούσια πηγή θρεπτικών συστατικών. Τα τελευταία χρόνια έχει παρατηρηθεί αύξηση στην παραγωγή και στην κατανάλωση της τομάτας, τόσο στην Ευρωπαϊκή Ένωση όσο και στην Ελλάδα.

Η παραγωγή της τομάτας στον κόσμο είχε φτάσει τα 187 εκατομμύρια τόνους για το έτος 2020 και η έκταση στην οποία γίνεται η καλλιέργεια είχε φτάσει τα 5 εκατομμύρια τετραγωνικά χιλιόμετρα, σύμφωνα με τον FAO. Σύμφωνα με την ΕΛΣΤΑΤ, η έκταση στην οποία καλλιεργήθηκαν τομάτες για το έτος 2019 στην Ελλάδα, ήταν 131 χιλιάδες τετραγωνικά χιλιόμετρα και η συνολική τους παραγωγή ανήλθε στις 753 χιλιάδες τόνους.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ

### 1.1 Γενικά

Οι πρωτείνες (ή λευκώματα) εξυπηρετούν ως δομικά συστατικά των μυϊκών ιστών και άλλων ιστών στους φυτικούς και ζωικούς οργανισμούς, παίζοντας σημαντικούς μεταβολικούς ρόλους ως ένζυμα και αναστολείς ενζύμων, λαμβάνοντας μέρος στη μεταφορά του οξυγόνου και των μεταλλοκατιόντων και εκτελούν ανοσολογικές λειτουργίες. Η ονομασία τους, προερχόμενη από το πρώτος, υποδεικνύει ότι είναι ουσίες βασικές (πρωταρχικής σημασίας) για τη ζωή.<sup>[1]</sup>

Οι πρωτείνες είναι πολύπλοκα πολυμερή, που αποτελούνται από 20 διαφορετικά αμινοξέα. Τα συστατικά αμινοξέα συνδέονται μεταξύ τους μέσω υποκατεστημένων αμιδικών (πεπτιδικών) δεσμών. Σε αντίθεση με τους αιθερικούς και φωσφοδιεστερικούς δεσμούς στους πολυσακχαρίτες και τα νουκλεϊκά οξέα, ο δεσμός αμιδίου στις πρωτείνες είναι ένας μερικός διπλός δεσμός, γεγονός που υπογραμμίζει περαιτέρω τη δομική πολυπλοκότητα των πρωτεΐνικών πολυμερών.

Σε στοιχειακό επίπεδο, οι πρωτείνες περιέχουν 50–55% άνθρακα, 6–7% υδρογόνο, 20–23% οξυγόνο, 12–19% άζωτο και 0,2–3,0% θείο. Η πρωτεΐνοσύνθεση συμβαίνει στα ριβοσώματα. Μετά τη σύνθεση, ορισμένα συστατικά αμινοξέων τροποποιούνται από κυτταροπλασματικά ένζυμα. Αυτό αλλάζει τη στοιχειακή σύνθεση ορισμένων πρωτεΐνων. Οι πρωτείνες που δεν είναι ενζυματικά τροποποιημένες στα κύτταρα ονομάζονται ομοπρωτείνες και αυτές που είναι τροποποιημένες ή συμπλεγμένες με μη πρωτεΐνικά συστατικά ονομάζονται συζευγμένες πρωτείνες ή ετεροπρωτείνες. Τα μη πρωτεΐνικά συστατικά αναφέρονται συχνά ως προσθετικές ομάδες. Παραδείγματα συζευγμένων πρωτεΐνων περιλαμβάνουν νουκλεοπρωτεΐνες (ριβοσώματα), γλυκοπρωτεΐνες (ωιλευκωματίνη, κ-καζεΐνη), φωσφοπρωτεΐνες (α- και β-καζεΐνες, κινάσες, φωσφορικές λάσες), λιποπρωτεΐνες (πρωτεΐνες κρόκου αυγού, αρκετές πρωτεΐνες πλάσματος) και μεταλλοπρωτεΐνες (μυοσφαιρίνη, αιμοσφαιρίνη, και αρκετά ένζυμα).

Οι πρωτείνες μπορούν επίσης να ταξινομηθούν ανάλογα με την δομική τους οργάνωση. Έτσι, οι σφαιρικές πρωτεΐνες είναι εκείνες που υπάρχουν σε σφαιρικά ή ελλειψοειδή σχήματα, που προκύπτουν από την αναδίπλωση της(των) πολυπεπτιδικής(ών) αλυσίδας(ων) στον εαυτό τους. Από την άλλη, ινώδεις πρωτεΐνες είναι μόρια σε σχήμα ράβδου που περιέχουν στριμμένες γραμμικές πολυπεπτιδικές αλυσίδες (π.χ. τροπομυοσίνη, κολλαγόνο, κερατίνη και ελαστίνη). Οι ινώδεις πρωτεΐνες μπορούν επίσης να σχηματιστούν ως αποτέλεσμα της γραμμικής συσσωμάτωσης μικρών σφαιρικών πρωτεΐνων, όπως η ακτίνη και η φιμπρίνη. Η πλειοψηφία των ενζύμων είναι σφαιρικές πρωτεΐνες και οι ινώδεις πρωτεΐνες λειτουργούν πάντα ως δομικές πρωτεΐνες.

Οι διάφορες βιολογικές λειτουργίες των πρωτεΐνων μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ως ενζυμικοί καταλύτες, δομικές πρωτεΐνες, συσταλτικές πρωτεΐνες (μυοσίνη, ακτίνη, τονμπουλίνη), ορμόνες (ινσουλίνη, αυξητική ορμόνη), πρωτεΐνες μεταφοράς (λευκωματίνη ορού, τρανσφερίνη, αιμοσφαιρίνη), αντισώματα (ανοσοσφαιρίνες), πρωτεΐνες αποθήκευσης (λευκωματίνη αυγού, πρωτεΐνες σπόρων) και προστατευτικές πρωτεΐνες (τοξίνες και αλλεργιογόνα). Οι πρωτεΐνες αποθήκευσης βρίσκονται κυρίως στα αυγά και στους σπόρους των φυτών. Αυτές οι πρωτεΐνες λειτουργούν ως πηγές αζώτου και αμινοξέων για τη βλάστηση

των σπόρων και των εμβρύων. Οι προστατευτικές πρωτεΐνες αποτελούν μέρος του αμυντικού μηχανισμού για την επιβίωση ορισμένων μικροοργανισμών και ζώων.

Όλες οι πρωτεΐνες αποτελούνται ουσιαστικά από τα ίδια πρωτεύοντα 20 αμινοξέα. Ωστόσο, ορισμένες πρωτεΐνες μπορεί να μην περιέχουν ένα ή μερικά από τα 20 αμινοξέα. Οι διαφορές στη δομή και τη λειτουργία αυτών των χιλιάδων πρωτεϊνών προκύπτουν από την αλληλουχία στην οποία τα αμινοξέα συνδέονται μεταξύ τους μέσω αμιδικών δεσμών. Κυριολεκτικά, δισεκατομμύρια πρωτεΐνες με μοναδικές ιδιότητες μπορούν να συντεθούν αλλάζοντας την αλληλουχία των αμινοξέων, τον τύπο και την αναλογία των αμινοξέων και το μήκος της αλυσίδας των πολυπεπτιδίων.

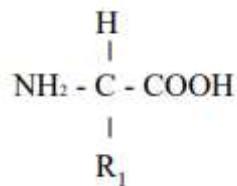
Όλες οι βιολογικά παραγόμενες πρωτεΐνες μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πρωτεΐνες τροφίμων. Ωστόσο, για πρακτικούς σκοπούς, οι πρωτεΐνες τροφίμων μπορούν να οριστούν ως εκείνες που είναι εύκολα εύπεπτες, μη τοξικές, διατροφικά επαρκείς, λειτουργικά χρησιμοποιήσιμες σε προϊόντα διατροφής και διαθέσιμες σε αφθονία. Παραδοσιακά, το γάλα, το κρέας (συμπεριλαμβανομένου του κρέατος των ψαριών και των πουλερικών), τα αυγά, τα δημητριακά, τα όσπρια και οι ελαιούχοι σπόροι είναι οι κύριες πηγές πρωτεϊνών των τροφίμων. Οι λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνών στα τρόφιμα σχετίζονται με τα δομικά και άλλα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά τους. Η θεμελιώδης κατανόηση των φυσικών, χημικών, θρεπτικών και λειτουργικών ιδιοτήτων των πρωτεϊνών και των άλλων που υφίστανται αντές οι ιδιότητες κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας είναι απαραίτητη για να βελτιωθεί η απόδοση των πρωτεϊνών στα τρόφιμα.<sup>[2]</sup>

**Πίνακας 1.** Περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη ορισμένων επιλεγμένων τροφίμων<sup>[3]</sup>

Product	Protein (g/100 g)
Meat: beef	16.5
pork	10.2
Chicken (light meat)	23.4
Fish: haddock	18.3
cod	17.6
Milk	3.6
Egg	12.9
Wheat	13.3
Bread	8.7
Soybeans: dry, raw	34.1
cooked	11.0
Peas	6.3
Beans: dry, raw	22.3
cooked	7.8
Rice: white, raw	6.7
cooked	2.0
Cassava	1.6
Potato	2.0
Corn	10.0

## 1.2 Αμινοξέα

Τα α-αμινοξέα είναι οι βασικές δομικές μονάδες των πρωτεϊνών. Αυτά τα αμινοξέα αποτελούνται από ένα άτομο α-άνθρακα ομοιοπολικά συνδεδεμένο με ένα άτομο υδρογόνου, μία αμινομάδα, μία ομάδα καρβοξυλίου και μία ομάδα R πλευρικής αλυσίδας.



Τα α-αμινοξέα λόγω της φύσης τους, περιέχοντας όξινη (COOH) και βασική (NH<sub>2</sub>) ομάδα στο μόριό τους, παρουσιάζουν τόσο όξινο όσο και βασικό χαρακτήρα. Τα α-αμινοξέα R-(NH<sub>2</sub>)C(H)-COOH είναι οπτικά ενεργά μόρια και έχουν απεικόνιση L. Οι πλευρικές ομάδες R επηρεάζουν σημαντικά τις χημικές ιδιότητες των αμινοξέων αλλά και το φυσικό και βιολογικό χαρακτήρα τους, και περαιτέρω και τις αντίστοιχες ιδιότητες των πρωτεϊνών. Ανάλογα με το είδος της πλευρικής ομάδας R, τα αμινοξέα διακρίνονται σε δύο κύριες ομάδες: άκυκλα και κυκλικά, και καθεμία από αυτές σε υποομάδες.<sup>[1]</sup>

**Πίνακας 2.** Κυριότερα α-αμινοξέα των πρωτεΐνών<sup>[1]</sup>

Όνομα	Συμβολισμός Γράμματα		Μοριακό βάρος	Χημική ονοματολογία	Συντακτικός τύπος
	3	1			
Αλανίνη	Ala	L	89.1	α-αμινο προπιονικό οξύ	$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$
Αργινίνη	Arg	R	174.2	α-αμινο-δ-ουρεΐνο-βαλεριανικό οξύ	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{NH}(\text{CH}_3)_3-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{NH} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$
Ασπαραγίνη	Asn	N	132.1	Αμίδιο του Asp	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{NOC}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$
Ασπαραγινικό οξύ	Asp	P	133.1	α-αμινο ηλεκτρικό οξύ	$\begin{array}{c} \text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$
Κυστεΐνη	Cys	C	121.1	α-αμινο-β-μερκαπτο-προπιονικό οξύ	$\begin{array}{c} \text{HS}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$
Γλουταμίνη	Glu	Q	146.1	Αμίδιο του Glu	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{NOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$
Γλουταμινικό οξύ	Glu	E	147.1	α-αμινογλουταρικό οξύ	$\begin{array}{c} \text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$
Γλυκίνη	Gly	G	75.1	α-αμινο-οξικό οξύ	$\text{NH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$
Ιστιδίνη	His	H	155.2	α-αμινο-β-ισιδάζολ-προπιονικό οξύ	$\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{N} \\   \\ \text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$
Ισολευκίνη	Ile	I	131.2	α-αμινο-β-μεθυλ-βαλεριανικό οξύ	$\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{C}_2\text{H}_5-\text{C}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{H}_3\text{C} \quad \text{NH}_2 \end{array}$
Λευκίνη	Leu	L	131.2	α-αμινο-ισοκαπροϊκό οξύ	$\begin{array}{c} (\text{CH}_3)_2\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$
Λυσίνη	Lys	K	146.2	α-ε-διαμινο-καπροϊκό οξύ	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_4\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$
Μεθειονίνη	Met	M	149.2	α-αμινο-γ-μεθυλ-θειο-η-βουτυρικό οξύ	$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$
Φαινυλαλανίνη	Phe	F	165.2	α-αμινο-β-φαινυλο-προπιονικό οξύ	$\begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$
Προλίνη	Pro	P	151.1	πυρολιδινο-2 καρβοξυλικό οξύ	$\begin{array}{c} \text{C}_3\text{H}_5-\text{CH}_2-\text{COOH} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$
Σερίνη	Ser	S	105.1	α-αμινο-β-υδροξυ-προπιονικό οξύ	$\begin{array}{c} \text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$
Θρεονίνη	Thr	T	119.1	α-αμινο-β-υδροξυ-η-βουτυρικό οξύ	$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{OH} \quad \text{NH}_2 \end{array}$
Τρυπτοφάνη	Trp	W	204.2	α-αμινο-β-3-ινδολυλ-προπιονικό οξύ	$\begin{array}{c} \text{C}_8\text{H}_7-\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{H} \end{array}$
Τυροσίνη	Tyr	Y	181.2	α-αμινο-β-(ρ-υδροξυ-φαινυλ)-προπιονικό οξύ	$\begin{array}{c} \text{HO}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$
Βαλίνη	Val	V	117.1	α-αμινο-ισοβαλεριανικό οξύ	$\begin{array}{c} (\text{CH}_3)_2\text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$

Πολλά από τα αμινοξέα που παραλαμβάνει ο άνθρωπος με τη διατροφή, μέσω των πρωτεϊνών των τροφίμων, μπορούν να συντεθούν από τον οργανισμό για τις θρεπτικές του ανάγκες. Ορισμένα όμως αμινοξέα δεν μπορεί να τα συνθέσει ο οργανισμός και για αυτό πρέπει υποχρεωτικά να τα παραλαμβάνει από τις τροφές. Αυτά τα αμινοξέα χαρακτηρίζονται ως απαραίτητα και είναι τα εξής: βαλίνη, ισολευκίνη, λυσίνη, αργινίνη, μεθειονίνη, θρεονίνη, φαινυλαλανίνη, τρυπτοφάνη και ιστιδίνη. Η αργινίνη και η ιστιδίνη θεωρούνται απαραίτητα μόνο για τους αναπτυσσόμενους οργανισμούς.

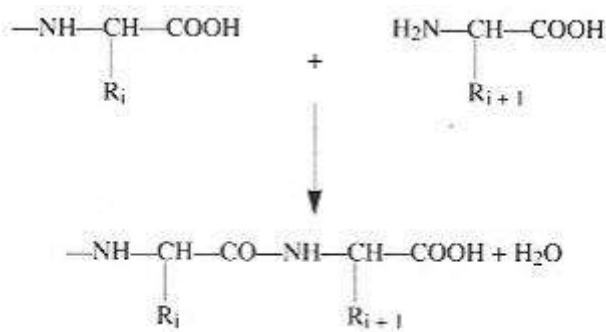
Αξιολογώντας τις διάφορες πηγές τροφίμων από πρωτεϊνική άποψη, προκύπτει ότι οι ζωικές πρωτεΐνες έχουν καλές αναλογίες απαραίτητων αμινοξέων και συνεπώς υψηλή βιολογική αξία. Από την άλλη πλευρά οι φυτικές πρωτεΐνες χαρακτηρίζονται από χαμηλή βιολογική αξία λόγω ανεπάρκειας ουσιωδών απαραίτητων αμινοξέων.<sup>[1]</sup>

### 1.3 Δομή Πρωτεϊνών

Υπάρχουν τέσσερεις πρωτεϊνικές δομές: πρωτοταγής, δευτεροταγής, τριτοταγής και τεταρτοταγής δομή.

#### 1.3.1 Πρωτοταγής Δομή

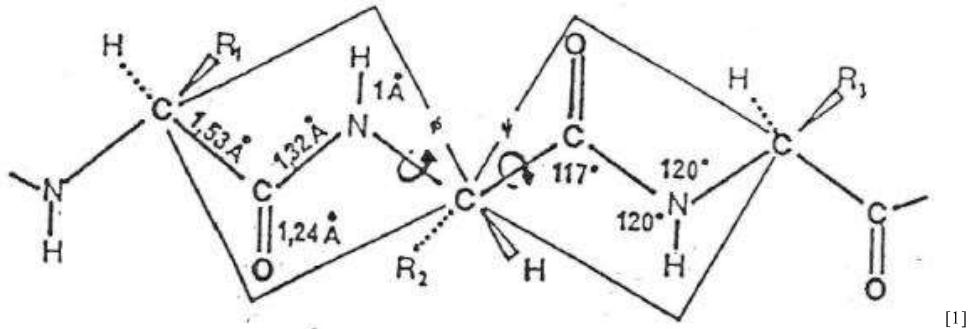
Η πρωτοταγής δομή μιας πρωτεΐνης αναφέρεται στη γραμμική αλληλουχία στην οποία τα συστατικά αμινοξέα συνδέονται ομοιοπολικά μέσω αμιδικών δεσμών, γνωστών και ως πεπτιδικών δεσμών. Η πεπτιδική σύνδεση προκύπτει από τη συμπύκνωση της α-καρβοξυλικής ομάδας του i αμινοξέος και της α-αμινομάδας του i + 1 αμινοξέος με την απομάκρυνση ενός μορίου νερού. Σε αυτή τη γραμμική αλληλουχία, όλα τα περιεχόμενα αμινοξέων βρίσκονται σε L-διάταξη.



Το μήκος της αλυσίδας (n) και η αλληλουχία στην οποία συνδέονται τα n αμινοξέα καθορίζουν τις φυσικοχημικές, δομικές και βιολογικές ιδιότητες και λειτουργίες μίας πρωτεΐνης. Η αλληλουχία αμινοξέων λειτουργεί ως ο κώδικας για το σχηματισμό δευτεροταγών και τριτοταγών δομών και τελικά καθορίζει τη βιολογική λειτουργικότητα της πρωτεΐνης. Η μοριακή μάζα των πρωτεϊνών κυμαίνεται από μερικές χιλιάδες dalton έως πάνω από ένα εκατομμύριο dalton. Για παράδειγμα, η τιτίνη, η οποία είναι μια πρωτεΐνη μονής αλυσίδας που βρίσκεται στους μυς, έχει μοριακό βάρος πάνω από ένα εκατομμύριο, ενώ η σεκρετίνη έχει μοριακό βάρος περίπου 2300. Πολλές πρωτεΐνες έχουν μοριακές μάζες στην περιοχή από 20.000 έως 100.000 dalton.<sup>[2]</sup>

### 1.3.2 Δευτεροταγής Δομή

Η δευτεροταγής δομή αναφέρεται στον τρισδιάστατο τρόπο διάταξης των σχετικά γειτονικών τμημάτων της πρωτεΐνης αλυσίδας. Είναι η διάταξη που λαμβάνει στο χώρο η πολυπεπτιδική αλυσίδα γύρω από τον άξονα που σχηματίζεται από τον πεπτιδικό δεσμό. Λόγω του σημαντικού χαρακτήρα διπλού δεσμού (~40%) που παρουσιάζει ο δεσμός C-H, ο πεπτιδικός δεσμός αντιστοιχεί σε επίπεδη διάταξη με τα άτομα H και O σε αντιπαράλληλες θέσεις, έτσι ώστε η αλυσίδα ενός πεπτιδίου να παρουσιάζει την ακόλουθη δομή:



Γενικά, δύο μορφές περιοδικών (κανονικών) δευτερογενών δομών βρίσκονται στις πρωτεΐνες. Αυτές είναι ελικοειδείς δομές και εκτεταμένες δομές που μοιάζουν με φύλλα. Τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά διαφόρων κανονικών δομών που βρίσκονται στις πρωτεΐνες δίνονται στον Πίνακα 3.<sup>[2]</sup>

**Πίνακας 3.** Γεωμετρικά χαρακτηριστικά κανονικών δευτεροταγών δομών στις πρωτεΐνες

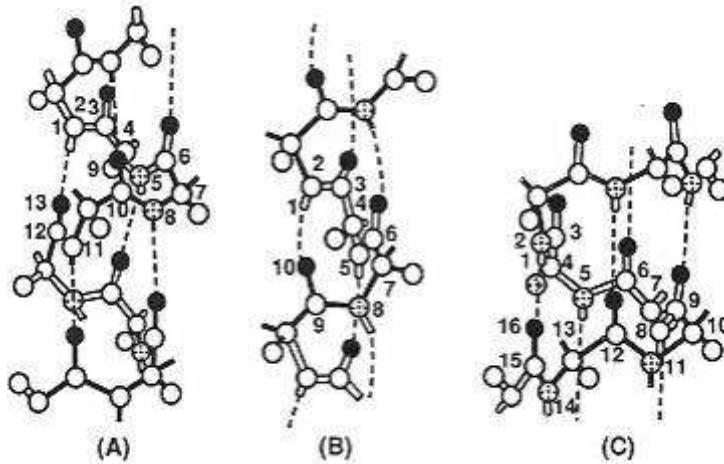
Structure	$\phi$	$\psi$	$n$	$r$	$h(\text{\AA})$	$t$
$\alpha$ -Right-handed helix	-58°	-47°	3.6	13	1.5	100°
$\alpha$ -Left-handed helix	+58°	+47°	3.6	13	1.5	100°
$\pi$ -Helix	-57°.06	-69°.6	4.4	16	1.15	81°
$\beta_{10}$ -Helix	-75°.5	-4°.5	3	10	2	120°
Fully extended chain	180°	180°	2	—	3.63	180°
$\beta$ -Parallel sheet	-119°	+113°	2	—	3.25	—
$\beta$ -Antiparallel sheet	-139°	+135°	2	—	3.5	—
Polyproline I ( <i>cis</i> )	-83°	+158°	—	—	—	—
Polyproline II ( <i>trans</i> )	-78°	+149°	—	—	—	—

Σημείωση: τα  $\phi$  και  $\psi$  αντιπροσωπεύουν τις διεδρικές γωνίες των δεσμών N-C α και C a-C, αντίστοιχα, η είναι ο αριθμός των αμινοξέων ανά στροφή, r ο αριθμός ατόμων εντός ενός  $\beta$  ρόχου έλικας με δεσμό υδρογόνου, h η αύξηση έλικας ανά περιεχόμενο αμινοξύ, t=360°/n η συστροφή έλικας ανά αμινοξύ.<sup>[2]</sup>

#### 1.3.2.1 Δομή $\alpha$ -έλικας

Στις πρωτεΐνες, βρίσκονται μόνο τρεις τύποι ελικοειδών δομών, η  $\alpha$ -έλικα ( $\alpha$ -helix), η  $\beta_{10}$ -έλικα ( $\beta_{10}$ -helix) και η  $\pi$ -έλικα ( $\pi$ -helix) (Σχήμα 1). Μεταξύ των τριών ελικοειδών δομών, η  $\alpha$ -έλικα είναι η κύρια μορφή που βρίσκεται στις πρωτεΐνες και είναι η πιο σταθερή. Το βήμα αυτής της έλικας, δηλαδή το αξονικό μήκος που καταλαμβάνεται ανά περιστροφή είναι 5,4 Å. Κάθε

ελικοειδής περιστροφή περιλαμβάνει 3,6 αμινοξέα, με κάθε αμινοξύ να επεκτείνει το μήκος του άξονα κατά 1,5 Å. Η γωνία περιστροφής ανά περιεχόμενο αμινοξύ είναι  $100^\circ$  (δηλ.  $360^\circ/3,6$ ). Οι πλευρικές αλυσίδες αμινοξέων είναι προσανατολισμένες κάθετα στον άξονα της έλικας.<sup>[2]</sup>



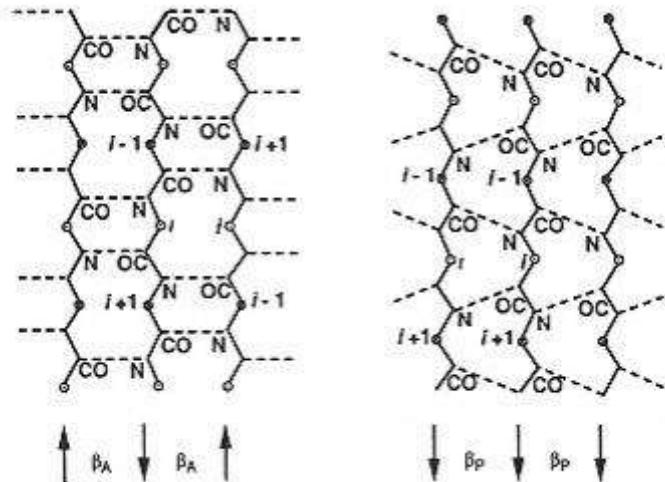
**Σχήμα 1.** (A)  $\alpha$ -έλικα, (B)  $3_{10}$ -έλικα, και (C)  $\pi$ -έλικα<sup>[2]</sup>

Χαρακτηριστικό της δομής αυτής είναι ότι κατά μήκος της έλικας σχηματίζονται δεσμοί υδρογόνου ( $C=O \cdots HN$ ) παράλληλοι προς τον άξονά της, προσδίδοντάς της μεγαλύτερη σταθερότητα, ενώ οι ομάδες R των αμινοξέων στρέφονται στο εξωτερικό μέρος της ελικοειδούς διάταξης.<sup>[1]</sup>

#### 1.3.2.2 Δομή $\beta$ -πτυχωμένου φύλλου

Στην δομή πτυχωμένων φύλλων ο πεπτιδικός δεσμός σχηματίζει μία γωνιόμορφη διάταξη και καθώς εκτείνονται οι πεπτιδικές αλυσίδες προς την ίδια κατεύθυνση ή αναδιπλώνονται προς αντίθετες κατευθύνσεις σχηματίζονται νοητά παράλληλα ή αντιπαράλληλα φύλλα αντίστοιχα.<sup>[1]</sup>

Στα αντιπαράλληλα φύλλα, τα άτομα N-H---O βρίσκονται σε ευθεία γραμμή (γωνία μηδενικού δεσμού H), η οποία ενισχύει τη σταθερότητα του δεσμού υδρογόνου, ενώ στα παράλληλα φύλλα b βρίσκονται σε γωνία, η οποία μειώνει τη σταθερότητα των δεσμών υδρογόνου. Τα αντιπαράλληλα φύλλα είναι, επομένως, πιο σταθερά από τα παράλληλα φύλλα.<sup>[2]</sup>

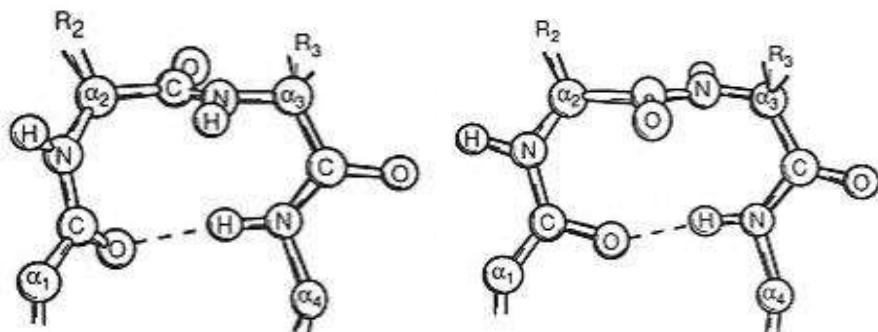


**Σχήμα 2.** Αντιπαράλληλα (αριστερά) και παράλληλα (δεξιά) φύλλα. Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν δεσμούς υδρογόνου μεταξύ πεπτιδικών ομάδων. Τα βέλη δείχνουν την κατεύθυνση της αλυσίδας N C.<sup>[2]</sup>

Χαρακτηριστικό της δομής αυτής είναι ότι οι διαθέσιμοι πεπτιδικοί δεσμοί επιτρέπεται να σχηματίζουν δεσμούς υδρογόνου μεταξύ παρακείμενων πολυπεπτιδικών αλυσίδων, παρέχοντας εκτεταμένη διασταύρωση και μεγάλη σταθερότητα, ενώ οι ομάδες R των αμινοξέων εκτείνονται εκατέρωθεν των επιπέδων των πτυχωτών φύλλων.<sup>[1]</sup>

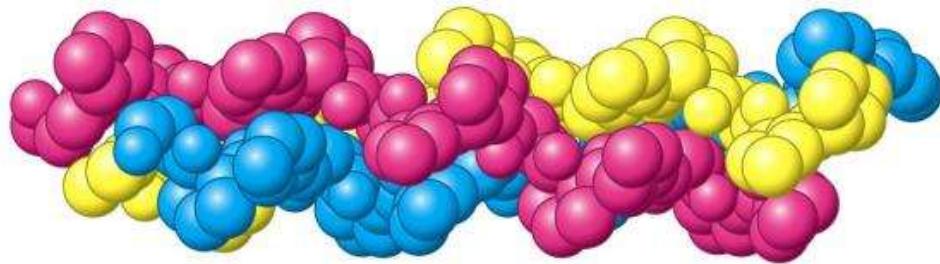
Η δομή του πτυχωμένου φύλλου είναι γενικά πιο σταθερή από την α-έλικα. Οι πρωτεΐνες που περιέχουν μεγάλα κλάσματα της δομής του πτυχωμένου φύλλου συνήθως παρουσιάζουν υψηλές θερμοκρασίες μετουσίωσης. Όταν τα διαλύματα των πρωτεΐνων τύπου α-έλικας θερμαίνονται και ψύχονται, η α-έλικα συνήθως μετατρέπεται σε β-πτυχωμένο φύλλο.<sup>[2]</sup>

Ένα άλλο κοινό δομικό χαρακτηριστικό που εντοπίζεται στις πρωτεΐνες είναι η β-κάμψη ή β-στροφή. Αυτό προκύπτει ως αποτέλεσμα της αντιστροφής κατά 180° της πολυπεπτιδικής αλυσίδας που εμπλέκεται στο σχηματισμό του β-πτυχωμένου φύλλου (Σχήμα 3). Η κάμψη είναι το αποτέλεσμα του σχηματισμού αντιπαράλληλου φύλλου και η διασταυρούμενη κάμψη είναι το αποτέλεσμα του σχηματισμού παράλληλου φύλλου.<sup>[2]</sup>



**Σχήμα 3.** Διαμορφώσεις τύπου I (αριστερά) και τύπου II (δεξιά) β-στροφών.

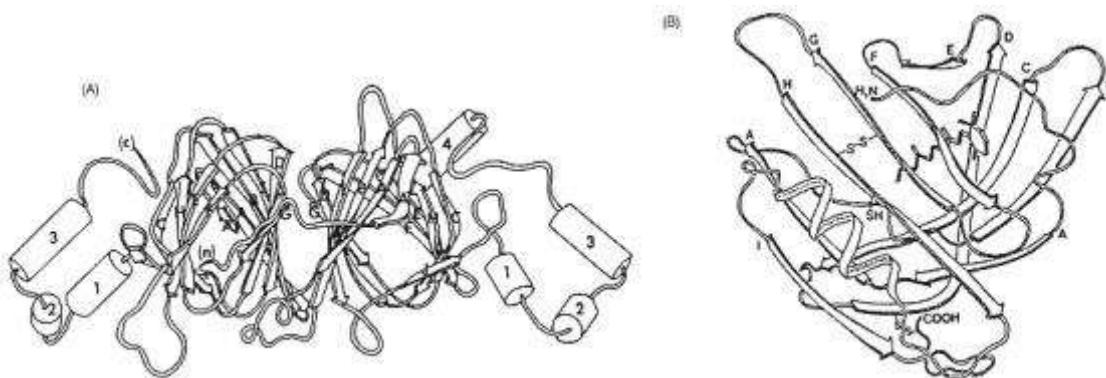
### 1.3.2.3 Δομή κολλαγόνου, υπερέλικα του κολλαγόνου (*hyperhelix*)



Στην περίπτωση της έλικας του κολλαγόνου δεν επιτρέπεται ο σχηματισμός α-έλικας λόγω ακαμψίας των ομάδων R και αδυναμίας σχηματισμού ενδομοριακών δεσμών υδρογόνου, η σταθεροποίηση της δομής όμως επιτυγχάνεται με διαμοριακούς δεσμούς υδρογόνου μεταξύ τριών πολυπεπτιδικών αλυσίδων οδηγώντας στην τριπλή έλικα του κολλαγόνου (τροποκολλαγόνο). Το κολλαγόνο αποτελεί το ένα τρίτο της πρωτεΐνης του σώματος.<sup>[1]</sup>

### 1.3.3 Τριτοταγής δομή

Η τριτοταγής δομή αναφέρεται στη διάταξη στο χώρο που επιτυγχάνεται όταν μία γραμμική αλυσίδα πρωτεΐνης με τμήματα δευτεροταγούς δομής διπλώνεται περαιτέρω σε μία συμπαγή τρισδιάστατη μορφή. Οι τριτοταγείς δομές της β-λακτογλοβουλίνης και της φαζολίνης (της αποθηκευτικής πρωτεΐνης στα φασόλια) φαίνονται στο Σχήμα 4.<sup>[2]</sup>



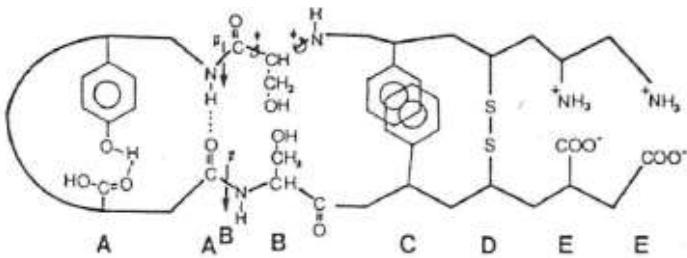
**Σχήμα 4.** Τριτοταγείς δομές (A) φαζολίνης και (B) β-λακτογλοβουλίνης. Τα βέλη υποδεικνύουν κλώνους β-πτυχωμένου φύλλου και οι κύλινδροι δείχνουν α-έλικα.<sup>[2]</sup>

Στην τριτοταγή δομή τα συνεστραμμένα τμήματα του πρωτεϊνικού μορίου συνδέονται μεταξύ τους με δεσμούς υδρογόνου και κυρίως με ομοιοπολικούς δισουλφιδικούς δεσμούς που αυξάνουν σημαντικά τη σταθερότητα του μορίου.<sup>[1]</sup>

### 1.3.4 Τεταρτοταγής δομή

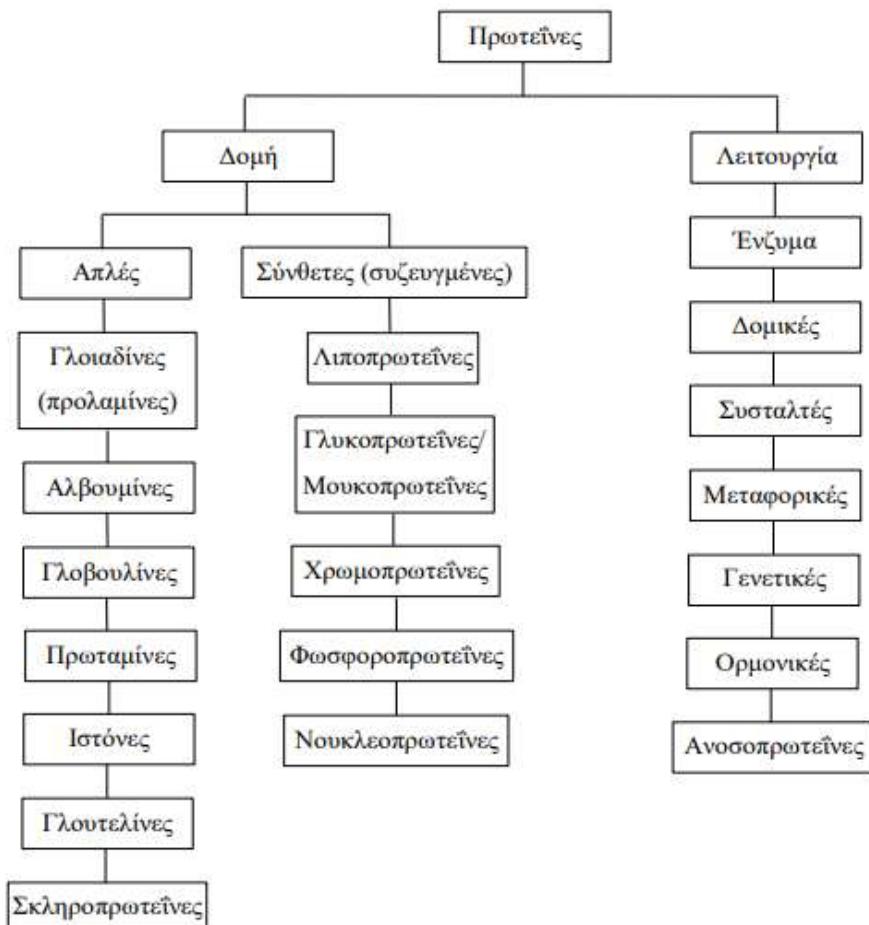
Η τεταρτοταγής δομή αφορά τη διάταξη μεγάλων πολυπεπτιδικών αλυσίδων και είναι το αποτέλεσμα αλληλεπιδράσεων περισσότερων της μίας πολυπεπτιδικών αλυσίδων προς σχηματισμό σταθερότερων συνόλων. Το είδος των δεσμών και αλληλεπιδράσεων που λαμβάνουν μέρος στη διαμόρφωση της δευτεροταγούς, τριτοταγούς και τεταρτοταγούς δομής των πρωτεΐνών παρουσιάζονται παρακάτω.<sup>[1]</sup>

- (A) δεσμοί υδρογόνου  
 (B) αλληλεπιδράσεις διπόλου-διπόλου  
 (C) υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις  
 (D) δισουλφιδικοί δεσμοί  
 (E) ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις



#### 1.4 Ταξινόμηση πρωτεΐνών - Κατηγορίες πρωτεΐνών

Η ταξινόμηση των πρωτεΐνών γίνεται μάλλον εμπειρικά και βασίζεται κυρίως σε εξωτερικά χαρακτηριστικά όπως η προέλευση, η διαλυτότητα ή η λειτουργικότητα. Μία γενική ταξινόμηση των πρωτεΐνών παρουσιάζεται στο Σχήμα 5, όπου οι πρωτεΐνες χωρίζονται σε δύο ανάλογα με τη δομή και τη λειτουργία τους. Με βάση τη δομή, οι πρωτεΐνες χωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες: τις απλές και τις σύνθετες ή συζευγμένες πρωτεΐνες ανάλογα με το αν περιέχουν στο μόριό τους μόνο αμινοξέα ή και άλλες ομάδες (προσθετικές ομάδες) (π.χ. λιπίδια, υδατάνθρακες, χρωστικές, βιταμίνες κ.α.). Οι απλές πρωτεΐνες ταξινομούνται ανάλογα με τη διαλυτότητά τους σε νερό, υδατικά διαλύματα αλάτων, οξέων ή βάσεων, ενώ οι σύνθετες με βάση τα χαρακτηριστικά της προσθετικής ομάδας. Άλλη κατηγορία πρωτεΐνών είναι οι σκελετικές.



Σχήμα 5. Ταξινόμηση πρωτεΐνών

Επίσης οι πρωτεΐνες αυθαίρετα μπορούν να ταξινομηθούν σε τρεις βασικές κατηγορίες ανάλογα με τη λειτουργικότητά τους:

- A) δομικές, που περιλαμβάνουν κύρια τις σκελετικές πρωτεΐνες,
- B) πρωτεΐνες με βιολογική δράση, όπως τα ένζυμα, οι ορμόνες, διάφορες αποθεματικές πρωτεΐνες, πρωτεΐνες με τοξική δράση κ.ά. και
- Γ) πρωτεΐνες των τροφίμων ή της διατροφής (food proteins) οι οποίες δεν αποτελούν μία αυστηρά καθορισμένη ομάδα, καθότι περιλαμβάνουν και δομικές πρωτεΐνες ή πρωτεΐνες με βιολογική δράση. Έτσι χαρακτηρίζονται οι πρωτεΐνες εκείνες που είναι εύγευστες, μη τοξικές και οικονομικά διαθέσιμες πρωτεΐνες.<sup>[1]</sup>

#### 1.4.1 Απλές πρωτεΐνες

Αλβουμίνες: είναι διαλυτές στο νερό, καθιζάνουν με εξαλάτωση με κορεσμό με  $(NH_4)_2SO_4$ . Δεν περιέχουν γλυκίνη, αλλά είναι πλούσιες σε θειούχα αμινοξέα. Στην κατηγορία αυτή υπάγονται η γαλακτοαλβουμίνη, η ωσαλβουμίνη, η οροαλβουμίνη του ορού αίματος και οι φυτικές αλβουμίνες διαφόρων σπόρων.

Γλοβουλίνες: είναι αδιάλυτες στο νερό αλλά διαλυτές σε αραιά διαλύματα αλάτων, εμφανίζουν ελαφριά όξινη αντίδραση (λόγω περιεχομένων αμινοδικαρβοξυλικών οξέων), καθιζάνουν με οξίνιση ή με εξαλάτωση με  $(NH_4)_2SO_4$  και με υδρόλυση παρέχουν γλυκίνη. Είναι οι πιο διαδεδομένες απλές πρωτεΐνες και στην κατηγορία αυτή υπάγονται η γαλακτογλοβουλίνη, η ωογλοβουλίνη, η ορογλοβουλίνη, η μυοσίνη και αποθεματικές πρωτεΐνες φυτών.

Γλοιαδίνες (προλαμίνες): είναι αδιάλυτες σε νερό και καθαρή αλκοόλη, αλλά διαλύονται σε αλκοόλη 50-90°. Έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε προλίνη και γλουταμινικό οξύ. Απαντώνται κυρίως στο ενδοσπέρμιο των σιτηρών: γλοιαδίνη στο σιτάρι, χορδεΐνη στο κριθάρι και ζεΐνη στο καλαμπόκι.

Γλουτελίνες: είναι αδιάλυτες στο νερό, διαλυτές σε αραιά διαλύματα οξέων και βάσεων και ουδέτερων αλάτων και εξαλατώνονται από αλκαλικά διαλύματα με  $(NH_4)_2SO_4$ . Οι γλουτενίνες μαζί με τις γλοιαδίνες βρίσκονται στους κόκκους των σιτηρών, π.χ. στο σιτάρι το μήγμα γλουτενίνης και γλοιαδίνης είναι η γνωστή πρωτεΐνη για τις αρτοποιητικές της ιδιότητες γλουτένη.

Ιστόνες: βρίσκονται στον πυρήνα όλων σχεδόν των κυττάρων του σώματος (σε μορφή νουκλεοπρωτεϊνών), δεν αδιαλυτοποιούνται με θέρμανση, σχηματίζουν όμως δυσδιάλυτες ενώσεις με άλλες πρωτεΐνες και όξινα λιπίδια.

Πρωταμίνες: αποτελούνται από μικρό αριθμό αμινοξέων, περιέχουν σημαντική ποσότητα αργινίνης, αλλά δεν περιέχουν θειούχα και αρωματικά αμινοξέα. Μαζί με τις ιστόνες απαντώνται σε ζωικά προϊόντα όπως σε σπέρματα ψαριών.

Σκληροπρωτεΐνες (σκελετικές πρωτεΐνες): ανευρίσκονται σε στερεή μορφή στους ζωικούς οργανισμούς και παρουσιάζονται μεγάλη συνοχή και ανθεκτικότητα χρησιμεύουν ως μέσο στήριξής τους. (όπως η κυτταρίνη στα φυτά). Οι κυριότερες από αυτές είναι: α) το κολλαγόνο, κύριο συστατικό των συνδετικών ιστών, χόνδρων και οστών το οποίο μετατρέπεται σε

ζελατίνη με βρασμό σε ελαφρά όξινο διάλυμα, β) η ελαστίνη, βασικό συστατικό των ελαστικών ινών η οποία δεν δίνει ζελατίνη με βρασμό και γ) η κερατίνη, συστατικό της επιδερμίδας και των νυχιών, κεράτων, φτερών η οποία είναι πλούσια σε κυστίνη.<sup>[1]</sup>

#### 1.4.2 Σύνθετες πρωτεΐνες

**Γλυκοπρωτεΐνες:** περιέχουν ως προσθετική ομάδα ετεροσακχαρίτες οι οποίοι ενώνονται με τις πρωτεΐνες με ομοιοπολικούς δεσμούς. Τα μοριακά τους βάρη κυμαίνονται από 500-3500. Οι ετεροσακχαρίτες αποτελούν 4-70% του συνολικού μορίου και περιέχουν εξοζαμίνες και γαλακτόζη, μαννόζη, φυκόζη και σιαλικό οξύ. Απαντώνται στα βλεννώση εκκρίματα των θυλαστικών, δρώντας ως λιπαντικοί παράγοντες των σωματικών ιστών.

**Λιποπρωτεΐνες:** περιέχουν ως προσθετική ομάδα λιπίδια κυρίως τριγλυκερίδια, φωσφολιπίδια και χοληστερόλη. Απαντώνται στα κύτταρα και τον ορό αίματος και χρησιμεύουν ως μεταφορείς λιπιδίων στο αίμα και ως συστατικά των κυτταρικών μεμβρανών. Ανάλογα με την πυκνότητά τους ταξινομούνται σε υψηλής πυκνότητας, χαμηλής πυκνότητας (συνδέεται με τη χοληστερόλη) και πολύ χαμηλής πυκνότητας - όσο μικρότερη είναι η πυκνότητα της λιποπρωτεΐνης τόσο μεγαλύτερη είναι η περιεχόμενη ποσότητα λιπιδίων.

**Νουκλεοπρωτεΐνες:** περιέχουν ως προσθετική ομάδα νουκλεϊκά οξέα τα οποία έχουν ισχυρά όξινο χαρακτήρα (λόγω του περιεχόμενου φωσφορικού οξέος) και αποτελούν ένα από τα κύρια συστατικά του πυρήνα των ζωικών και φυτικών κυττάρων.

**Φωσφοροπρωτεΐνες:** περιέχουν ως προσθετική ομάδα το ορθοφωσφορικό οξύ, είναι αδιάλυτες στο νερό, αλλά διαλυτές σε αραιά αλκάλια και αμμωνία. Κυριότερος εκπρόσωπος είναι η καζεΐνη η οποία είναι η κυριότερη πρωτεΐνη του γάλακτος (80% του συνόλου των πρωτεΐνών). Στο γάλα η καζεΐνη βρίσκεται σε μορφή κολλοειδούς καζεΐνικου διαλύματος και κατά την οξίνιση του γάλακτος αποχωρίζεται το ασβέστιο και σε ορισμένη τιμή pH καθιζάνει ως ελεύθερη καζεΐνη (κατά την οξυγαλακτική πήξη του γιαουρτιού), ενώ με την επίδραση της πυτιάς μετατρέπεται σε αδιάλυτο παρακαζεΐνικό ασβέστιο (κατά την πήξη του τυριού).

**Χρωμοπρωτεΐνες:** περιέχουν ως προσθετική ομάδα μία μικρού μοριακού βάρους ομάδα παρόμοια με τις φυσικές χρωστικές οι οποίες περιέχουν συνήθως κάποιο μέταλλο (σίδηρο, μαγνήσιο). Συνήθως η πρωτεΐνη είναι γλυπτούλινη ενώ οι φυσικές χρωστικές μπορεί να είναι παράγωγα της πορφυρίνης (αίμη, χλωροφύλλη) ή λιποδιαλυτά καροτινοειδή. Από τις χρωμοπρωτεΐνες με χρωστική προρφυρίνης είναι η αιμοσφαιρίνη, η μυοσφαιρίνη και η χλωροπλαστίνη. Επίσης συνήθης χρωμοπρωτεΐνη περιέχουνσα 20% σίδηρο είναι η φεριτίνη (μεταλλοπρωτεΐνη) η οποία απαντάται στο ήπαρ και αποτελεί αποθεματική πηγή σιδήρου του οργανισμού.<sup>[1]</sup>

### 1.5 Φυσικοχημικές ιδιότητες πρωτεΐνών

#### 1.5.1 Διαλυτότητα

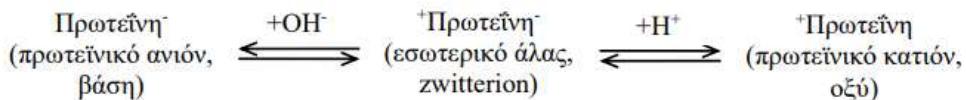
Η διαλυτότητα μίας πρωτεΐνης είναι η θερμοδυναμική εκδήλωση της ισορροπίας μεταξύ των αλληλεπιδράσεων πρωτεΐνης-πρωτεΐνης και πρωτεΐνης-διαλύτη.<sup>[10]</sup>

## Protein-Protein + Solvent-Solvent = Protein-Solvent

Με βάση τα χαρακτηριστικά διαλυτότητας, οι πρωτεΐνες ταξινομούνται σε τέσσερις κατηγορίες. Οι αλβουμίνες είναι εκείνες που είναι διαλυτές στο νερό σε pH 0,6 (π.χ. αλβουμίνη ορού, ωοαλβουμίνη και α-λακταλβουμίνη), οι γλοβουλίνες είναι εκείνες που είναι διαλυτές σε αραιά διαλύματα αλάτων σε pH 7,0 (π.χ. γλυκινή, φαζολίνη και β-λακτογλοβουλίνη), οι γλουτελίνες είναι εκείνες που είναι διαλυτές μόνο σε όξινα (pH 2) και αλκαλικά (pH 12) διαλύματα (π.χ. γλουτελίνες σίτου), και οι προλαμίνες είναι εκείνες που είναι διαλυτές σε 70% αιθανόλη (π.χ. ζεῦνη και γλιαδίνες). Η διαλυτότητα επηρεάζεται από διάφορες συνθήκες διαλύματος, όπως το pH, η ιοντική ισχύς, η θερμοκρασία και η παρουσία οργανικών διαλυτών.<sup>[2]</sup>

### 1.5.1.1 pH και διαλυτότητα

Σε τιμές pH εκατέρωθεν του ισοηλεκτρικού pH, οι πρωτεΐνες φέρουν ένα καθαρό θετικό ή ένα καθαρό αρνητικό φορτίο, αντίστοιχα.



Όταν η διαλυτότητα απεικονίζεται σε διάγραμμα συναρτήσει του pH, οι περισσότερες πρωτεΐνες τροφίμων εμφανίζουν καμπύλη σχήματος U. Η ελάχιστη διαλυτότητα εμφανίζεται περίπου στο ισοηλεκτρικό pH των πρωτεϊνών. Δεδομένου ότι οι περισσότερες πρωτεΐνες είναι εξαιρετικά διαλυτές σε αλκαλικό pH (8–9), η εκχύλιση των πρωτεϊνών από φυτικές πηγές, όπως το αλεύρι σόγιας, είναι πραγματοποιείται σε αυτό το pH. Στη συνέχεια, η πρωτεΐνη ανακτάται από το εκχύλισμα με ισοηλεκτρική καθίζηση σε pH 4,5–4,8.<sup>[2]</sup>

### 1.5.1.2 Ιοντική ισχύς και διαλυτότητα

Τα ιόντα ουδέτερων αλάτων σε συγκεντρώσεις 0,5–1 M αυξάνουν τη διαλυτότητα των πρωτεϊνών, και το φαινόμενο αυτό ονομάζεται εναλάτωση (salting-in). Σε συγκεντρώσεις ουδέτερων αλάτων >1 M, παρατηρείται μείωση της διαλυτότητας των πρωτεϊνών, και ειδικότερα  $\log S = -k' \mu + \log S_0$ , όπου  $S_0$  η διαλυτότητα για ιοντική ισχύ μηδέν και  $k'$  σταθερά που εξαρτάται από την πρωτεΐνη και το άλας. Το φαινόμενο ονομάζεται εξαλάτωση (salting-out).<sup>[1]</sup>

### 1.5.1.3 Θερμοκρασία και διαλυτότητα

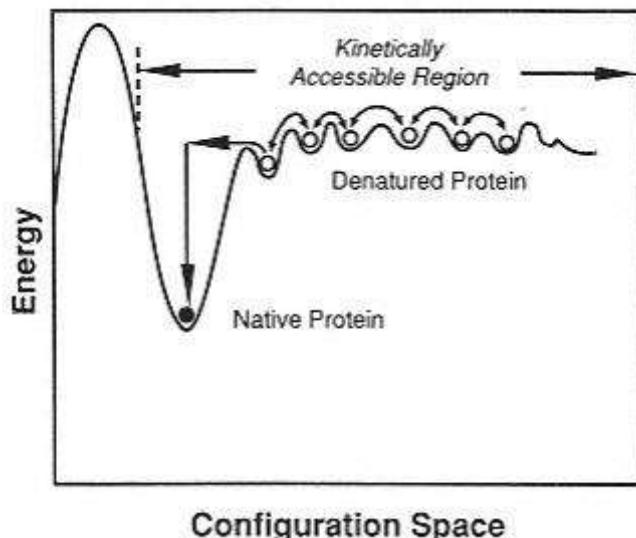
Σε σταθερό pH και σταθερή ιοντική ισχύ, η διαλυτότητα των περισσότερων πρωτεϊνών γενικά αυξάνεται με τη θερμοκρασία μεταξύ 0 και 40°C. Εξαιρέσεις συμβαίνουν με υψηλά υδρόφιβες πρωτεΐνες, όπως η β-καζεΐνη και ορισμένες πρωτεΐνες δημητριακών, οι οποίες παρουσιάζουν αρνητική σχέση με τη θερμοκρασία. Πάνω από τους 40°C, η αύξηση της θερμικής κινητικής ενέργειας προκαλεί ξεδίπλωμα πρωτεΐνης (φαινόμενο μετουσίωσης), έκθεση μη πολικών ομάδων, συσσωμάτωση και καθίζηση, δηλαδή μειωμένη διαλυτότητα.<sup>[2]</sup>

#### 1.5.1.4 Οργανικοί Διαλύτες και διαλυτότητα

Ορισμένοι οργανικοί διαλύτες, όπως η μεθανόλη, η αιθανόλη και η ακετόνη μειώνουν τη διαλυτότητα των πρωτεΐνων. Οι διαλύτες αυτοί μειώνουν τη διηλεκτρική σταθερά του υδατικού μέσου στο οποίο είναι διαλυμένη η πρωτεΐνη, με αποτέλεσμα τη συσσωμάτωση και καταβύθιση αυτών. Επίσης οι διαλύτες ανταγωνίζονται για τα μόρια του νερού, μειώνοντας περαιτέρω τη διαλυτότητα των πρωτεΐνων.<sup>[1]</sup>

#### 1.5.2 Μετουσίωση

Η φυσική κατάσταση ενός μορίου πρωτεΐνης είναι θερμοδυναμικά πιο σταθερή με τη χαμηλότερη δυνατή ελεύθερη ενέργεια σε φυσιολογικές συνθήκες. Οποιαδήποτε αλλαγή στο περιβάλλον του, όπως αλλαγή του pH, της ιοντικής ισχύος, της θερμοκρασίας, της σύνθεσης διαλύτη κ.λπ., θα αναγκάσει το μόριο να λάβει μία νέα δομή ισορροπίας. Οι αλλαγές στις δευτερογενείς, τριτοταγείς και τεταρτοταγείς δομές χωρίς διάσπαση των πεπτιδικών δεσμών προκαλούν «μετουσίωση». Μία σημαντική αλλαγή στη δομή μπορεί να σημαίνει αύξηση της δομής α-έλικας και β-πτυχωμένου φύλλου σε βάρος της τυχαίας δομής ή το αντίστροφο. Ωστόσο, στις περισσότερες περιπτώσεις, η μετουσίωση περιλαμβάνει απώλεια διατεταγμένης δομής. Ανάλογα με τις συνθήκες μετουσίωσης, οι πρωτεΐνες μπορεί να λάβουν πολλές «μετουσιωμένες καταστάσεις», καθεμία από τις οποίες διαφέρει ελάχιστα ως προς την ελεύθερη ενέργεια. Αυτό φαίνεται σχηματικά στο Σχήμα 6.<sup>[2]</sup>



**Σχήμα 6.** Σχηματική παράσταση της ενέργειας ενός μορίου πρωτεΐνης ως συνάρτηση της διαμόρφωσής του. Η διαμόρφωση με τη χαμηλότερη ενέργεια είναι συνήθως η φυσική κατάσταση<sup>[2]</sup>

Συχνά η μετουσίωση έχει αρνητική χροιά, γιατί υποδηλώνει απώλεια ορισμένων ιδιοτήτων. Για παράδειγμα, πολλές βιολογικά ενεργές πρωτεΐνες χάνουν τη δράση τους κατά τη μετουσίωση. Στην περίπτωση των πρωτεΐνων των τροφίμων, η μετουσίωση συνήθως προκαλεί αδιαλυτοποίηση και απώλεια ορισμένων λειτουργικών ιδιοτήτων. Σε ορισμένες περιπτώσεις, ωστόσο, είναι επιθυμητή η μετουσίωση της πρωτεΐνης.<sup>[2]</sup>

#### *1.5.2.1 Θερμοκρασία και μετουσίωση*

Σπουδαιότερος παράγοντας που προκαλεί μετουσίωση 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).<sup>[1]</sup>

#### *1.5.2.2 Υδροστατική πίεση και μετουσίωση*

Η μετουσίωση που προκαλείται από την πίεση μπορεί να συμβεί στους 25°C εάν η πίεση είναι αρκετά μεγάλη. Οι περισσότερες πρωτεΐνες υφίστανται μετουσίωση που προκαλείται από την πίεση στην περιοχή από 1-12 kbar, όπως αποδεικνύεται από τις αλλαγές στις φασματικές τους ιδιότητες. Το μέσο της μετάβασης που προκαλείται από την πίεση εμφανίζεται στα 4-8 kbar<sup>[12,13]</sup>. Η επεξεργασία υπό πίεση, σε αντίθεση με τη θερμική επεξεργασία, δεν βλάπτει τα απαραίτητα αμινοξέα ή το φυσικό χρώμα και τη γεύση, ούτε προκαλεί την ανάπτυξη τοξικών ενώσεων. Έτσι, η επεξεργασία τροφίμων με υψηλή υδροστατική πίεση μπορεί να αποδειχθεί συμφέρουσα (εκτός από το κόστος) για ορισμένα προϊόντα διατροφής.<sup>[2]</sup>

#### *1.5.2.3 Μηχανική καταπόνηση και μετουσίωση*

Η υψηλή μηχανική καταπόνηση που δημιουργείται από την ανακίνηση, το ζύμωμα, το χτύπημα κ.λπ. μπορεί να προκαλέσει μετουσίωση των πρωτεϊνών. Πολλές πρωτεΐνες μετουσιώνονται και καθιζάνουν όταν αναδεύονται έντονα. Σε αυτή την περίπτωση, η μετουσίωση συμβαίνει λόγω της ενσωμάτωσης φυσαλίδων αέρα και της προσρόφησης μορίων πρωτεΐνης στη διεπιφάνεια αέρα-υγρού. Δεδομένου ότι η ενέργεια της διεπιφάνειας αέρα-υγρού είναι μεγαλύτερη από εκείνη της φάσης όγκου, οι πρωτεΐνες υφίστανται διαμορφωτικές αλλαγές στη διεπιφάνεια. Η έκταση της διαμορφωτικής αλλαγής εξαρτάται από την ευκαμψία της πρωτεΐνης. Οι εξαιρετικά εύκαμπτες πρωτεΐνες μετουσιώνονται πιο εύκολα σε μία διεπιφάνεια αέρα-υγρού από ότι οι άκαμπτες πρωτεΐνες.<sup>[2]</sup>

#### *1.5.2.4 pH και μετουσίωση*

Οι πρωτεΐνες είναι πιο σταθερές έναντι της μετουσίωσης στο ισοηλεκτρικό τους σημείο παρά σε οποιοδήποτε άλλο pH. Σε ουδέτερο pH, οι περισσότερες πρωτεΐνες είναι αρνητικά φορτισμένες και μερικές είναι θετικά φορτισμένες.<sup>[2]</sup>

#### *1.5.2.5 Οργανικοί διαλύτες και μετουσίωση*

Οι οργανικοί διαλύτες επηρεάζουν τη σταθερότητα των υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων των πρωτεϊνών, τους δεσμούς υδρογόνου και τις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις με διαφορετικούς τρόπους. Δεδομένου ότι οι μη πολικές πλευρικές αλυσίδες είναι πιο διαλυτές σε οργανικούς διαλύτες από ότι στο νερό, οι υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις εξασθενούν από τους οργανικούς διαλύτες. Οι οργανικοί διαλύτες προκαλούν μετουσίωση των πρωτεϊνών λόγω της διαλυτοποιητικής τους δράσης σε μη πολικές πλευρικές αλυσίδες.<sup>[2]</sup>

## 1.6 Λειτουργικές ιδιότητες πρωτεϊνών

Η «λειτουργικότητα» των πρωτεϊνών τροφίμων ορίζεται ως «εκείνες οι φυσικές και χημικές ιδιότητες που επηρεάζουν τη συμπεριφορά των πρωτεϊνών στα συστήματα τροφίμων κατά την επεξεργασία, αποθήκευση, παρασκευή και κατανάλωση». [2]

Οι διατροφικές προτιμήσεις των ανθρώπων βασίζονται κυρίως σε χαρακτηριστικά όπως η υφή, η γεύση, το χρώμα και η εμφάνιση. Τα χαρακτηριστικά ενός τροφίμου είναι το καθαρό αποτέλεσμα πολύπλοκων αλληλεπιδράσεων μεταξύ διαφόρων πρωτευόντων και δευτερευόντων συστατικών του τροφίμου. Οι πρωτεΐνες γενικά έχουν μεγάλη επίδραση στις ιδιότητες των τροφίμων. Για παράδειγμα, οι ιδιότητες των προϊόντων αρτοποιίας σχετίζονται με τις ιξωδοελαστικές ιδιότητες και τις ιδιότητες σχηματισμού ζυμαριού της γλουτένης σίτου. Τα χαρακτηριστικά υφής και ευχυμότητας των προϊόντων κρέατος εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από τις μυϊκές πρωτεΐνες (ακτίνη, μυοσίνη, ακτομυοσίνη και αρκετές υδατοδιαλυτές πρωτεΐνες κρέατος). Οι ιδιότητες υφής και σχηματισμού τυροπίγματος των γαλακτοκομικών προϊόντων οφείλονται στη μοναδική κολλοειδή δομή των μικκυλίων καζεΐνης και η δομή ορισμένων κέικ και οι ιδιότητες του χτυπήματος ορισμένων προϊόντων επιδόρπιων εξαρτώνται από τις ιδιότητες των πρωτεϊνών του ασπραδιού αυγού. Οι λειτουργικοί ρόλοι των διαφόρων πρωτεϊνών σε διάφορα προϊόντα διατροφής παρατίθενται στον Πίνακα 4.[2]

**Πίνακας 4.** Λειτουργικοί ρόλοι των πρωτεϊνών τροφίμων στα συστήματα τροφίμων [2]

Λειτουργική ιδιότητα	Τρόπος δράσης	Τρόφιμο
Διαλυτότητα	Διάλυση πρωτεϊνών	Ροφήματα, ποτά
Απορρόφηση-δέσμευση νερού	Δέσμευση νερού με δεσμούς υδρογόνου	Κρέας, λουκάνικα, ψωμί, κέικ
Ιξώδες	Πάχυνση, δέσμευση του νερού	Σουύπες, σάλτσες
Ζελοποίηση	Σχηματισμός πρωτεϊνικής μήτρας	Κρέας, τυρί, γιαούρτι
Συνεκτικότητα-συνάφεια	Η πρωτεΐνη δρα ως συγκολλητικό	Κρέας, λουκάνικα, ζυμαρικά
Ελαστικότητα	Γέφυρα S-S, υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις	Κρέατα, αρτοσκευάσματα
Γαλακτωματοποίηση	Σχηματισμός-σταθεροποίηση γαλακτωμάτων λιπαρών	Λουκάνικα, σούπες
Απορρόφηση λιπαρών	Δέσμευση ελεύθερων λιπαρών	Λουκάνικα, ντόνατς
Δέσμευση γευστικών-οσμηρών ουσιών	Προσρόφηση, παγιδευση, απελευθέρωση	Απομίμηση κρέατων, αρτοσκευάσματα
Αφρισμός	Σχηματισμός σταθερών μεμβρανών που παγιδεύουν αέριο	Επικάλυψη τροφίμων, γλυκίσματα

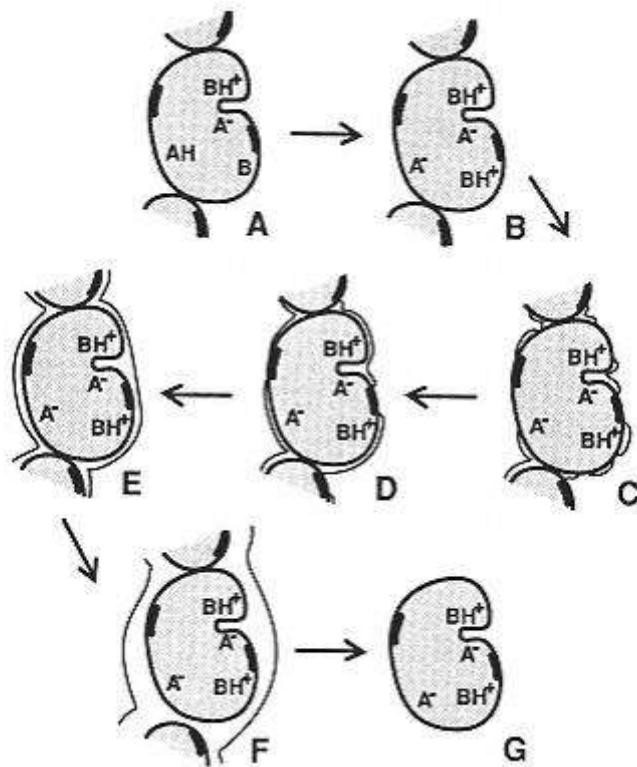
### 1.6.1 Ενυδάτωση πρωτεϊνών

Το νερό είναι απαραίτητο συστατικό των τροφίμων. Οι ρεολογικές και ιδιότητες υφής των τροφίμων εξαρτώνται από την αλληλεπίδραση του νερού με άλλα συστατικά των τροφίμων, ειδικά με μακρομόρια, όπως πρωτεΐνες και πολυσακχαρίτες. Το νερό τροποποιεί τις φυσικοχημικές ιδιότητες των πρωτεϊνών. Η ικανότητα δέσμευσης νερού των πρωτεϊνών

ορίζεται ως γραμμάρια νερού που δεσμεύονται ανά γραμμάριο πρωτεΐνης όταν μία ξηρή πρωτεΐνη σε σκόνη εξισορροπείται με υδρατμούς σε σχετική υγρασία 90–95%. [2]

Η ικανότητα ενυδάτωσης μιας πρωτεΐνης μπορεί να υπολογιστεί από τη σύνθεση των αμινοξέων της χρησιμοποιώντας την εμπειρική εξίσωση  $a = fC + 0,4fP + 0,2fN$  όπου  $a$  είναι  $\text{g νερού/g πρωτεΐνης}$  και  $fC$ ,  $fP$  και  $fN$  είναι τα κλάσματα των φορτισμένων, πολικών και μη πολικών υπολειμμάτων, αντίστοιχα, στην πρωτεΐνη. [2]

Σε μακροσκοπικό επίπεδο, η δέσμευση του νερού με τις πρωτεΐνες λαμβάνει χώρα σε μία σταδιακή διαδικασία. Οι ιοντικές ομάδες υψηλής συγγένειας διαλύονται πρώτα σε χαμηλή ενεργότητα νερού, ακολουθούμενες από πολικές και μη πολικές ομάδες. Η ακολουθία των βημάτων που εμπλέκονται στην αύξηση της δραστηριότητας του νερού παρουσιάζεται στο Σχήμα 7. [2]



**Σχήμα 7.** Ακολουθία βημάτων που εμπλέκονται στην ενυδάτωση μίας πρωτεΐνης. (A) Μη ενυδατωμένη πρωτεΐνη. (B) Αρχική ενυδάτωση φορτισμένων ομάδων. (C) Σχηματισμός ενυδατωμένων συστάδων κοντά σε πολικές και φορτισμένες τοποθεσίες. (D) Ολοκλήρωση ενυδάτωσης στις πολικές επιφάνειες. (E) Υδροφοβική ενυδάτωση μη πολικών επιθεμάτων. Ολοκλήρωση μονοστρωματικής κάλυψης. (F) Γεφύρωση μεταξύ νερού που σχετίζεται με πρωτεΐνη και χύδην νερού. (G) Ολοκλήρωση υδροδυναμικής ενυδάτωσης. [2]

Για τις περισσότερες πρωτεΐνες, η λεγόμενη μονοστοιβαδική κάλυψη εμφανίζεται σε ενεργότητα νερού ( $a_w$ ) ίση με 0,05–0,30 ενώ πολλαπλές στρώσεις νερού σχηματίζονται σε εύρος ενεργότητας νερού 0,3–0,7. [2]

Αρκετά φυσικά και επεξεργασμένα τρόφιμα, όπως το γάλα, ο κρόκος του αυγού, το γάλα καρύδας, το γάλα σόγιας, το βούτυρο, η μαργαρίνη, η μαγιονέζα, οι επικαλύψεις σαλάτας, τα κατεψυγμένα επιδόρπια και τα κέικ, είναι προϊόντα τύπου γαλακτώματος όπου οι πρωτεΐνες παίζουν σημαντικό ρόλο ως γαλακτωματοποιητές. Οι γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες των πρωτεΐνων τροφίμων αξιολογούνται με διάφορες μεθόδους όπως η κατανομή μεγέθους των σχηματιζόμενων σταγονιδίων ελαίου, η γαλακτωματοποιητική δραστικότητα, η ικανότητα σχηματισμού γαλακτώματος και η σταθερότητα του γαλακτώματος.

Η ποσότητα της πρωτεΐνης που προσροφάται στη διεπιφάνεια ελαίου-νερού ενός γαλακτώματος επηρεάζει τη σταθερότητά του. Για να προσδιοριστεί η ποσότητα της πρωτεΐνης που προσροφάται, το γαλάκτωμα φυγοκεντρείται, η υδατική φάση διαχωρίζεται και η στερεή φάση πλένεται επανειλημμένα και φυγοκεντρείται για να απομακρυνθούν τυχόν χαλαρά προσροφημένες πρωτεΐνες. Η ποσότητα της πρωτεΐνης που προσροφάται στα σωματίδια του γαλακτώματος προσδιορίζεται από τη διαφορά μεταξύ της συνολικής πρωτεΐνης που υπάρχει αρχικά στο γαλάκτωμα και της ποσότητας που υπάρχει στο υγρό πλύσης από τη στερεή φάση.

Οι ιδιότητες των γαλακτωμάτων που έχουν σταθεροποιηθεί με πρωτεΐνη επηρεάζονται από διάφορους παράγοντες. Αυτοί περιλαμβάνουν εγγενείς παράγοντες, όπως το pH, η ιοντική ισχύς, η θερμοκρασία, τη παρουσία επιφανειοδραστικών ουσιών χαμηλού μοριακού βάρους, τα σάκχαρα, ο όγκος ελαιώδους φάσης, ο τύπος πρωτεΐνης και το σημείο τήξης του χρησιμοποιούμενου ελαίου, και εξωγενείς παράγοντες, όπως ο τύπος του εξοπλισμού, ο ρυθμός εισροής ενέργειας και ο ρυθμός διάτμησης.<sup>[2]</sup>

### 1.6.3 Αφρισμός πρωτεΐνών

Οι αφροί αποτελούνται από μία υδατική συνεχή φάση και μία αέρια (αέρα) διεσπαρμένη φάση. Πολλά επεξεργασμένα τρόφιμα είναι προϊόντα τύπου αφρού. Αυτά περιλαμβάνουν σαντιγί, παγωτό, κέικ, μαρέγκα, ψωμί, σουφλέ, μους και μαρσμάλλου. Η μοναδική υφή και η αίσθηση στο στόμα αυτών των προϊόντων προέρχονται από τις διάσπαρτες μικροσκοπικές φυσαλίδες αέρα. Στα περισσότερα από αυτά τα προϊόντα, οι πρωτεΐνες είναι οι κύριοι επιφανειοδραστικοί παράγοντες που βοηθούν στο σχηματισμό και τη σταθεροποίηση της διεσπαρμένης αέριας φάσης. Γενικά, οι σταθεροποιημένοι με πρωτεΐνη αφροί σχηματίζονται με φυσαλίδες, χτύπημα ή ανακίνηση ενός διαλύματος πρωτεΐνης. Η αφριστική ιδιότητα μίας πρωτεΐνης αναφέρεται στην ικανότητά της να σχηματίζει ένα λεπτό ανθεκτικό φιλμ στις διεπαφές αερίου-υγρού, έτσι ώστε να μπορούν να ενσωματωθούν και να σταθεροποιηθούν μεγάλες ποσότητες φυσαλίδων αερίου.<sup>[4]</sup>

### 1.6.4 Δέσμευση γεύσης

Οι ίδιες οι πρωτεΐνες είναι άοσμες. Ωστόσο, μπορούν να δεσμεύσουν γευστικές ενώσεις, και έτσι να επηρεάσουν τις οργανοληπτικές ιδιότητες των τροφίμων. Αρκετές πρωτεΐνες, ειδικά πρωτεΐνες ελαιούχων σπόρων και συμπυκνώματα πρωτεΐνης ορού γάλακτος, φέρουν ανεπιθύμητες γεύσεις, γεγονός που περιορίζει τη χρησιμότητά τους σε εφαρμογές τροφίμων. Αυτές οι άγνωστες γεύσεις οφείλονται κυρίως σε αλδεϋδες, κετόνες και αλκοόλες που παράγονται από την οξείδωση των ακόρεστων λιπαρών οξέων. Κατά τον σχηματισμό, αυτές οι καρβονυλικές ενώσεις συνδέονται με πρωτεΐνες και προσδίδουν χαρακτηριστικές γεύσεις.<sup>[2]</sup>

#### 1.6.4.1 Παράγοντες που επηρεάζουν τη δέσμευση γεύσης

Η θερμοκρασία έχει πολύ μικρή επίδραση στη δέσμευση της γεύσης, εκτός εάν συμβεί σημαντικό θερμικό ξεδίπλωμα της πρωτεΐνης. Αυτό συμβαίνει επειδή η διαδικασία συσχέτισης βασίζεται κυρίως στην εντροπία, όχι στην ενθαλπία. Οι θερμικά μετουσιωμένες πρωτεΐνες παρουσιάζουν αυξημένη ικανότητα δέσμευσης γεύσεων. Ωστόσο, η σταθερά δέσμευσης είναι συνήθως χαμηλή σε σύγκριση με αυτή της φυσικής πρωτεΐνης. Η επίδραση των αλάτων στη δέσμευση της γεύσης σχετίζεται με τις ιδιότητές της εναλάτωσης (salting-in) και εξαλάτωσης (salting-out). Τα άλατα εναλάτωσης, τα οποία αποσταθεροποιούν τις υδρόφορες αλληλεπιδράσεις, μειώνουν τη δέσμευση γεύσης, ενώ τα άλατα εξαλάτωσης αυξάνουν τη δέσμευση γεύσης. Η επίδραση του pH στη δέσμευση γεύσης σχετίζεται γενικά με τις επαγόμενες από το pH διαμορφωτικές αλλαγές στις πρωτεΐνες. Η δέσμευση γεύσης συνήθως ενισχύεται περισσότερο σε αλκαλικό pH παρά σε όξινο pH. Αυτό συμβαίνει επειδή οι πρωτεΐνες τείνουν να μετουσιώνονται εκτενέστερα σε αλκαλικό pH παρά σε όξινο pH.<sup>[2]</sup>

#### 1.6.5 Ιξώδες

Η αποδοχή από τον καταναλωτή αρκετών υγρών και ημιστερεών τροφίμων (π.χ. σάλτσες, σούπες, ποτά κ.λπ.) εξαρτάται από το ιξώδες ή τη συνοχή του προϊόντος. Το ιξώδες ενός διαλύματος σχετίζεται με την αντίστασή του στη ροή υπό ασκούμενη δύναμη (ή διατμητική τάση). Για μία ιδανική λύση, η διατμητική τάση (δηλαδή, δύναμη ανά μονάδα επιφάνειας, F/A) είναι ευθέως ανάλογη με το ρυθμό διάτμησης (δηλαδή, τη βαθμίδα ταχύτητας μεταξύ των στρωμάτων του υγρού, dv/dr). Αυτό εκφράζεται ως

$$\frac{F}{A} = \eta \frac{dv}{dr}$$

Η σταθερά η είναι γνωστή ως συντελεστής ιξώδους. Η συμπεριφορά του ιξώδους των πρωτεΐνών είναι μία εκδήλωση πολύπλοκων αλληλεπιδράσεων μεταξύ πολλών μεταβλητών, όπως το μέγεθος, το σχήμα, οι αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης-διαλύτη, ο υδροδυναμικός όγκος και η μοριακή ευκαμψία στην ενυδατωμένη κατάσταση. Οι αλλαγές στο υδροδυναμικό σχήμα των πρωτεΐνών που προκύπτουν από την επεξεργασία με θερμότητα και pH μπορούν να μελετηθούν μετρώντας τα εγγενή τους ιξώδη.<sup>[2]</sup>

#### 1.6.6 Ζελοποίηση

Μία πηκτή είναι μία ενδιάμεση φάση μεταξύ ενός στερεού και ενός υγρού. Τεχνικά, ορίζεται ως «ένα ουσιαστικά αραιωμένο σύστημα που δεν παρουσιάζει ροή σταθερής κατάστασης». Αποτελείται από πολυμερή που διασυνδέονται μέσω ομοιοπολικών ή μη ομοιοπολικών δεσμών για να σχηματίσουν ένα δίκτυο που είναι ικανό να παγιδεύει νερό και άλλες ουσίες χαμηλού μοριακού βάρους.

Οι περισσότερες πηκτές πρωτεΐνης τροφίμων παρασκευάζονται με θέρμανση ενός διαλύματος πρωτεΐνης. Σε αυτόν τον τρόπο ζελοποίησης, η πρωτεΐνη σε κατάσταση κολλοειδούς διαλύματος μετατρέπεται πρώτα σε κατάσταση «προπηκτής» με μετουσίωση. Η κατάσταση προπηκτής είναι συνήθως μία παχύρρευστη υγρή κατάσταση στην οποία έχει ήδη λάβει χώρα

κάποιος βαθμός πολυμερισμού της πρωτεΐνης. Αυτό το βήμα προκαλεί το ξεδίπλωμα της πρωτεΐνης και την έκθεση ενός κρίσιμου αριθμού λειτουργικών ομάδων, όπως οι δεσμοί υδρογόνου και οι υδρόφοβες ομάδες, έτσι ώστε να μπορεί να συμβεί το δεύτερο στάδιο, ο σχηματισμός ενός δικτύου πρωτεΐνών.<sup>[2]</sup>

## 1.7 Θρεπτικές ιδιότητες πρωτεΐνών

Οι πρωτεΐνες διαφέρουν ως προς τη θρεπτική τους αξία. Διάφοροι παράγοντες, όπως η περιεκτικότητα σε απαραίτητα αμινοξέα και η πεπτικότητα, συμβάλλουν σε αυτές τις διαφορές. Η ημερήσια απαίτηση σε πρωτεΐνη εξαρτάται επομένως από τον τύπο και τη σύνθεση των πρωτεΐνών σε μία διατροφή.

### 1.7.1 Ποιότητα πρωτεΐνης

Η «ποιότητα» μιας πρωτεΐνης σχετίζεται κυρίως με τη σύνθεση των βασικών αμινοξέων και την πεπτικότητά της. Πρωτεΐνες υψηλής ποιότητας είναι εκείνες που περιέχουν όλα τα απαραίτητα αμινοξέα σε επίπεδα μεγαλύτερα από τα επίπεδα αναφοράς FAO/WHO/ UNU και πεπτικότητα συγκρίσιμη ή καλύτερη από εκείνη των πρωτεΐνών του ασπραδιού αυγού ή του γάλακτος. Οι ζωικές πρωτεΐνες είναι καλύτερης «ποιότητας» από τις φυτικές πρωτεΐνες.

Οι πρωτεΐνες των κύριων δημητριακών και οσπρίων έχουν συχνά ανεπάρκεια σε τουλάχιστον ένα από τα απαραίτητα αμινοξέα. Ενώ οι πρωτεΐνες των δημητριακών, όπως το ρύζι, το σιτάρι, το κριθάρι και ο καλαμπόκι, είναι πολύ χαμηλές σε λυσίνη και πλούσιες σε μεθειονίνη, εκείνες των οσπρίων και των ελαιούχων σπόρων είναι ανεπαρκείς σε μεθειονίνη και πλούσιες ή επαρκείς σε λυσίνη. Ορισμένες πρωτεΐνες ελαιούχων σπόρων, όπως η πρωτεΐνη φιστικιού, έχουν ανεπάρκεια τόσο σε μεθειονίνη όσο και σε λυσίνη.<sup>[2]</sup>

Η θρεπτική ποιότητα μίας πρωτεΐνης ή ενός μείγματος πρωτεΐνών είναι ιδανική όταν περιέχει όλα τα απαραίτητα αμινοξέα σε αναλογίες που παράγουν βέλτιστους ρυθμούς ανάπτυξης ή/και βέλτιστη ικανότητα συντήρησης. Τα ιδανικά πρότυπα βασικών αμινοξέων για παιδιά και ενήλικες δίνονται στον Πίνακα 5.

**Πίνακας 5.** Συνιστώμενες αναλογίες βασικών αμινοξέων για πρωτεΐνες τροφίμων<sup>[2]</sup>

Amino acid	Recommended pattern (mg/g protein)			
	Infant (2–5 years)	Preschool child (10–12 years)	Preschool child	Adult
Histidine	26	19	19	16
Isoleucine	46	28	28	13
Leucine	93	66	44	19
Lysine	66	58	44	16
Met + Cys	42	25	22	17
Phe + Tyr	72	63	22	19
Threonine	43	34	28	9
Tryptophan	17	11	9	5
Valine	55	35	25	13
Total	434	320	222	111

Η υπερβολική πρόσληψη ενός αμινοξέος οδηγεί συχνά σε αυξημένη απαίτηση για άλλα απαραίτητα αμινοξέα. Αυτό οφείλεται στον ανταγωνισμό μεταξύ των αμινοξέων για θέσεις απορρόφησης στον εντερικό βλεννογόνο. Η υπερκατανάλωση άλλων απαραίτητων αμινοξέων μπορεί επίσης να αναστείλει την ανάπτυξη και να προκαλέσει παθολογικές καταστάσεις.<sup>[2]</sup>

### 1.7.2 Πεπτικότητα

Η πεπτικότητα ορίζεται ως η αναλογία αζώτου της τροφής, που απορροφάται μετά την κατάποση. Αν και η περιεκτικότητα σε απαραίτητα αμινοξέα είναι ο πρωταρχικός δείκτης ποιότητας πρωτεΐνης, η πραγματική ποιότητα εξαρτάται επίσης από τον βαθμό στον οποίο αυτά τα αμινοξέα χρησιμοποιούνται στον οργανισμό. Έτσι, η πεπτικότητα των αμινοξέων μπορεί να επηρεάσει την ποιότητα των πρωτεΐνων. Οι δυνατότητες πέψης διαφόρων πρωτεΐνων στον άνθρωπο παρατίθενται στον Πίνακα 6.<sup>[2]</sup>

**Πίνακας 6.** Πεπτικότητα διαφόρων πρωτεΐνων τροφίμων στον άνθρωπο<sup>[2]</sup>

Protein source	Digestibility (%)	Protein source	Digestibility (%)
Egg	97	Millet	79
Milk, cheese	95	Peas	88
Meat, fish	94	Peanut	94
Maize	85	Soy flour	86
Rice (polished)	88	Soy protein isolate	95
Wheat, whole	86	Beans	78
Wheat flour, white	96	Corn, cereal	70
Wheat gluten	99	Wheat, cereal	77
Oatmeal	86	Rice cereal	75

Οι πρωτεΐνες τροφίμων ζωικής προέλευσης αφομοιώνονται πληρέστερα από εκείνες φυτικής προέλευσης. Διάφοροι παράγοντες επηρεάζουν την πεπτικότητα των πρωτεϊνών.

1. Διαμόρφωση πρωτεΐνης: Η δομική κατάσταση μίας πρωτεΐνης επηρεάζει την υδρόλυσή της από τις πρωτεάσες. Οι φυσικές πρωτεΐνες είναι γενικά λιγότερο πλήρως υδρολυμένες από τις μερικώς μετουσιωμένες.
2. Αντιθερπτικοί παράγοντες: Αναστολείς τρυψίνης, χυμοτρυψίνης (τύπου Kunitz και τύπου Bowman-Birk) και λεκτίνες. Αυτοί οι αναστολείς επηρεάζουν την πλήρη υδρόλυση των πρωτεϊνών των οσπρίων και των ελαιούχων σπόρων από τις παγκρεατικές πρωτεάσες.
3. Σύνδεση: Η αλληλεπίδραση πρωτεϊνών με πολυσακχαρίτες και διαιτητικές ίνες μειώνει επίσης το ρυθμό και την πληρότητα της υδρόλυσης.
4. Επεξεργασία: Οι πρωτεΐνες υφίστανται πολλές χημικές αλλοιώσεις όταν εκτίθενται σε υψηλές θερμοκρασίες και αλκαλικό pH. Τέτοιες αλλοιώσεις μειώνουν την πεπτικότητά τους. Η αντίδραση των αναγωγικών σακχάρων με τις ε-αμινομάδες μειώνει επίσης την πεπτικότητα της λυσίνης.<sup>[2]</sup>

### 1.7.3 Αξιολόγηση Θρεπτικής Αξίας Πρωτεϊνών

Δεδομένου ότι η θρεπτική ποιότητα των πρωτεϊνών μπορεί να ποικίλλει πολύ και επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες, είναι σημαντικό να υπάρχουν διαδικασίες για την αξιολόγηση της ποιότητας. Οι εκτιμήσεις ποιότητας είναι χρήσιμες για (α) προσδιορισμό της ποσότητας που απαιτείται για την παροχή ασφαλούς επιπέδου απαραίτητων αμινοξέων για ανάπτυξη και συντήρηση και (β) παρακολούθηση των αλλαγών στη θρεπτική αξία των πρωτεϊνών κατά την επεξεργασία των τροφίμων, έτσι ώστε οι συνθήκες επεξεργασίας να ελαχιστοποιούν την απώλεια ποιότητας. <sup>[2]</sup> Οι κυριότεροι δείκτες ποιότητας των πρωτεϊνών είναι οι εξής:

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

$$\text{Βιολογική αξία} = \frac{\text{συγκρατούμενο N}}{\text{απορροφούμενο N}} \times 100$$

B) Συντελεστής αποτελεσματικότητας (Protein Efficiency Ratio) (PER) που ορίζεται ως εξής:

$$\text{Συντελεστής αποτελεσματικότητας} = \frac{\text{αύξηση του βάρους του σώματος}}{\text{βάρος καταναλωθείσας πρωτεΐνης}}$$

Οι δύο αυτοί δείκτες χρησιμοποιούνται συνήθως μαζί και προσδιορίζονται με βιολογικές μεθόδους, έχουν βρεθεί δε για τα γνωστά τρόφιμα. Οι τιμές τους κυμαίνονται για πρωτεΐνες καλής ποιότητας BV = 85-98 και PER = 2.5 και για το ίδιο τρόφιμο συνήθως συμβαδίζουν (και οι δύο έχουν ταυτόχρονα μεγάλες ή μικρές τιμές).

Άλλοι δείκτες που προσδιορίζουν την ποιότητα των πρωτεΐνών είναι:

**Καθαρή χρησιμοποιήσιμη πρωτεΐνη (Net Protein Utilization) (NPU)**

$$\text{Καθαρή χρησιμοποιήσιμη πρωτεΐνη} = \frac{\text{συγκρατόμενο N}}{\text{N τροφίμου}} \times 100$$

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

$$\text{Καθαρός πρωτεϊνικός λόγος} = \frac{\text{αύξηση βάρους από πρωτεϊνική διατροφή (g)}}{\text{κατανάλωση πρωτεΐνης (g)} + \text{μείωση βάρους από μη πρωτεϊνική διατροφή (g)}}$$

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

$$\text{Σχετική θρεπτική αξία} = \frac{\text{κλίση καμπύλης αύξησης - κατανάλωση πρωτεΐνης}}{\text{κλίση καμπύλης αύξησης βάρους - κατανάλωση γαλακτομέλιουμίνης}}$$

Άλλοι ερευνητές χρησιμοποιούν τη “Βιολογικά χρησιμοποιήσιμη πρωτεΐνη” (Biologically utilized protein) ή τη “Χρησιμοποιήσιμη πρωτεΐνη” (Utilizable protein). Η θρεπτική αξία των πρωτεΐνών υπολογίζεται και με χημικές μεθόδους, όπου προσδιορίζεται η ποσότητα των περιεχομένων αμινοξέων και συγκρίνεται με διάφορα πρότυπα. Κυριότεροι χημικοί δείκτες είναι οι παρακάτω:

$$\text{Χημική βαθμολόγηση} \quad = \quad \frac{\text{ποσότητα περιοριστικού αμινοξέος της εξεταζόμενης πρωτεΐνης}}{\text{ποσότητα του ίδιου αμινοξέος στο πρότυπο του FAO (mg/γραμμή πρωτεΐνης)}}$$

(Chemical score)

$$\text{Πρωτεΐνική βαθμολόγηση} \quad = \quad \frac{\text{ποσότητα περιοριστικού αμινοξέος της εξεταζόμενης πρωτεΐνης}}{\text{ποσότητα του ίδιου του αμινοξέος στην πρωτεΐνη του αυγού κότας}}$$

(Protein score)  
(mg/g πρωτεΐνης)

Αναφέρεται επίσης και η “Φυσιολογικά ελάχιστη πρωτεΐνη”, η οποία αντιστοιχεί στο κατώτερο όριο λήψης πρωτεΐνης καθημερινά, ώστε να εξασφαλίζεται το ισοζύγιο του αζώτου στον οργανισμό και η “Συνιστώμενη πρωτεΐνη” (Recommended Daily Allowance) (RDA), η οποία αντιστοιχεί στο απαιτούμενο καθημερινά ποσό πρωτεΐνης για την κανονική λειτουργία του οργανισμού.<sup>[1]</sup>

## 1.8 Τροποποίηση λειτουργικών ιδιοτήτων των πρωτεΐνων

Η τροποποίηση (modification) των πρωτεΐνων και κατ’ επέκταση των λειτουργικών ιδιοτήτων τους μπορεί να ταξινομηθεί ανάλογα με τους παράγοντες που την προκαλούν σε: φυσική, χημική και ενζυμική. Μπορεί να είναι αποτέλεσμα των διεργασιών που υφίσταται το τρόφιμο (συνήθως στην περίπτωση της φυσικής τροποποίησης) ή να γίνεται σκόπιμα ως αποτέλεσμα συγκεκριμένης επεξεργασίας.

Η φυσική τροποποίηση επέρχεται με αλλαγή των συνθηκών του περιβάλλοντος της πρωτεΐνης, όπως διαλύτες, παρουσία ιόντων, pH, θερμοκρασία, μηχανικές κατεργασίες κ.α. Στην κατηγορία αυτή μπορεί να τοποθετηθεί και η αναδιαμόρφωση των πρωτεΐνων.

Η χημική τροποποίηση των λειτουργικών ιδιοτήτων των πρωτεΐνων γίνεται με χημική αντίδραση μίας δραστικής πλευρικής ομάδας αμινοξέος με κάποιον παράγοντα. Το είδος της τροποποίησης μπορεί να είναι: ακυλίωση, αλκυλίωση, εστεροποίηση, σχηματισμός αμιδίου, αναγωγή, οξείδωση, συμπύκνωση με δικαρβονύλια. Η υδρόλυση των πρωτεΐνων είναι μία τροποποίηση που μπορεί να γίνει είτε χημικά (όξινη υδρόλυση) είτε ενζυμικά (ενζυμική υδρόλυση με πρωτεάσες). Ως τελικό προϊόν της όξινης κυρίως υδρόλυσης είναι ελεύθερα αμινοξέα και ολιγοπεπτίδια που χρησιμοποιούνται ως συστατικά που προσδίδονται γεύση και άρωμα σε διάφορα τρόφιμα. Συνήθως οι υδρολυμένες πρωτεΐνες παρουσιάζουν βελτιωμένες ιδιότητες όπως αυξημένη διαλυτότητα, μειωμένο ιξώδες, μειωμένη ικανότητα σχηματισμού πηκτής, ενώ οι γαλακτωματοποιητικές και αφριστικές ιδιότητές τους εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από το είδος της πρωτεΐνης και το βαθμό υδρόλυσης.<sup>[1]</sup>

## 1.9 Πηγές πρωτεΐνων

Τα τρόφιμα της διατροφής περιέχουν διαφορετικές ποσότητες πρωτεΐνών αλλά και διαφορετικής ποιότητας πρωτεΐνες. Ειδικότερα, για τα κυριότερα τρόφιμα ζωικής και φυτικής προέλευσης αναφέρονται:

### 1.9.1 Ζωικής προέλευσης τρόφιμα

**Κρέας:** Το κρέας των ζώων που χρησιμοποιούνται στη διατροφή αποτελείται από σκελετικούς μυς οι οποίοι (χωρίς λίπος) περιέχουν 18-20% πρωτεΐνες σε υγρή φάση. Το κρέας της αγελάδας, του αρνιού και του χοίρου χαρακτηρίζεται ως “κόκκινο κρέας”, ενώ των πουλερικών ως “λευκό κρέας”.

**Γάλα:** Το αγελαδινό γάλα περιέχει 3-4% πρωτεΐνες οι οποίες αποτελούνται κατά 80% από το κλάσμα της καζεΐνης που είναι φωσφοπρωτεΐνη και το κλάσμα των πρωτεΐνών ορού (γαλακτοαλβουμίνες και γαλακτογλοβουλίνες).

**Ανγά:** Το αυγό της όρνιθας αποτελείται από 11% φλοιό, 31% κρόκο και 58% λευκό (ασπράδι) (ή επί του ρευστού εδώδιμου μέρους 35% κρόκο και 65% λευκό). Το λευκό ή λέκηθος αποτελείται από ωοαλβουμίνη που είναι φωσφοπρωτεΐνη, κοναλβουμίνη, ωομυκοειδές που δρα ως αντιένζυμο της τρυψίνης, γλοβουλίνες με κυριότερη τη λυσοζύμη που έχει αντιβιοτική δράση και ωομυκίνη. Ο κρόκος περιέχει δύο λιποπρωτεΐνες, τη βιττελίνη και λιποβιτελλενίνη, και υδατοδιαλυτές λιβετίνες.

**Ψάρια:** Τα ψάρια περιέχουν 40-60% εδώδιμη σάρκα η οποία έχει περιεκτικότητα 10-20% σε πρωτεΐνες για τα περισσότερα κοινά είδη ψαριών. Οι πρωτεΐνες των ψαριών παρουσιάζουν ομοιότητες με τις αντίστοιχες των σκελετικών μυών των θηλαστικών αλλά δεν είναι τόσο σταθερές και υπόκεινται εύκολα σε αλλοιώσεις (μετουσίωση).

**Οι ζωικές πρωτεΐνες** θεωρούνται υψηλότερης ποιότητας από τις φυσικές λόγω της περιεκτικότητάς τους σε απαραίτητα αμινοξέα. Εν τούτοις η συχνή κατανάλωση κόκκινου κρέατος πρέπει να αποφεύγεται καθώς με τις πρωτεΐνες προσλαμβάνεται και ζωικό λίπος ( με μεγάλη περιεκτικότητα σε κορεσμένα λιπαρά και χοληστερόλη), ενώ από την άλλη πλευρά συστήνεται η κατανάλωση λευκού κρέατος ή ψαριών.<sup>[1]</sup>

### 1.9.2 Φυτικής προέλευσης τρόφιμα

**Λαχανικά:** Τα νωπά λαχανικά περιέχουν μικρή ποσότητα πρωτεΐνών, ειδικότερα για τα κυριότερα λαχανικά έχουν κατά μέσο όρο περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες: τα καρότα 1%, οι πατάτες, σπαράγγια 2% και το μπιζέλι 6.5%.

**Δημητριακά:** Οι ξηροί σπόροι δημητριακών περιέχουν ποικίλους περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες 6-20%. Οι κυριότερες πρωτεΐνες του σιταριού και του καλαμποκιού είναι οι γλουτελίνες και προλαμίνες, ενώ οι πρωτεΐνες της βρώμης και του ρυζιού έχουν χαμηλή συγκέντρωση σε προλαμίνες. Η γλουτένη του σιταριού διαθέτει τη χαρακτηριστική μοναδική ιδιότητα - αρτοποιητική ιδιότητα, όταν διαβραχεί με νερό να παρέχει ελαστική και συνεκτική μάζα/ ζυμάρι (πλέγμα της γλουτένης). Οι πρωτεΐνες των δημητριακών θεωρούνται χαμηλής θρεπτικής αξίας κυρίως λόγω έλλειψης του αμινοξέος λυσίνη.

**Σπόροι:** Οι σπόροι περιέχουν πρωτεΐνες σε περιεκτικότητες μεγαλύτερες από 15%, και από αυτούς εκείνοι που χρησιμοποιούνται στη διατροφή είναι: η σόγια, τα μπιζέλια, τα φασόλια και οι ελαιούχοι σπόροι (βαμβακόσπορος, ηλιόσπορος, σησάμι). Σε πολλούς σπόρους μπορεί να περιέχονται αντιθρεπτικοί παράγοντες (π.χ. στη σόγια αναστολείς τρυψίνης, αιματογλουτινίνες, σαπωνίνες) οι οποίοι καταστρέφονται ή αδρανοποιούνται με κατάλληλη θερμική κατεργασία αυξάνοντας τη θρεπτική τους αξία. Από τους ελαιούχους σπόρους είναι δυνατόν με κατάλληλες τεχνικές να παραλαμβάνονται πρωτεϊνικά προϊόντα (πρωτεϊνικά άλευρα, συμπυκνώματα ή υπερσυμπυκνώματα) για εδώδιμη χρήση. <sup>[1]</sup>

### 1.10 Μεταβολές των πρωτεϊνών κατά την επεξεργασία των τροφίμων

Από όλες τις βασικές επεξεργασίες των τροφίμων, η θερμική κατεργασία έχει τις σημαντικότερες επιπτώσεις στην ποιότητα των πρωτεϊνών. Οι θερμικές κατεργασίες έχουν ωφέλιμο ρόλο π.χ. ζεμάτισμα λαχανικών για αδρανοποίηση ενζύμων ή και αναστολή αντιθρεπτικών παραγόντων, παστερίωση ή αποστείρωση για εξυγίανση του τροφίμου (με θανάτωση παθογόνων μικροοργανισμών ή και των σπορίων τους), μαγείρεμα (αύξηση ευπεπτότητας και βελτίωση οργανοληπτικών χαρακτηριστικών). Ανάλογα με την ένταση της θερμικής κατεργασίας μπορεί να καταλήξουν επιβλαβείς για την ποιότητα των τροφίμων και ειδικά των πρωτεϊνών. Έτσι η αύξηση της θερμοκρασίας και του χρόνου της θερμικής κατεργασίας έχει ως αποτέλεσμα μεγαλύτερη επίπτωση στην ποιότητα των πρωτεϊνών τόσο ως προς τη θρεπτικότητα όσο και ως προς τη λειτουργικότητα.

Κατά την εφαρμογή χαμηλών θερμοκρασιών για τη συντήρηση των τροφίμων π.χ. με ψύξη ή με κατάψυξη καθυστερεί ή παρεμποδίζεται η αλλοιώση των πρωτεϊνών, ενώ επιβραδύνονται παράλληλα και οι μικροβιακές αλλοιώσεις, η ενζυμική δραστικότητα και οι χημικές αντιδράσεις. Κατά τη συντήρηση σε ψύξη (περίπου στους 0°C) οι πρωτεΐνες διατηρούνται σταθερές, αν και μπορεί να συμβεί μεταβολή τους σε περίπτωση που υπάρχει ανάπτυξη ψυχρόφιλων μικροοργανισμών. Στην κατάψυξη (περίπου -18°C) πρακτικά οι πρωτεΐνες παραμένουν αναλλοιώτες.

Κατά την ξήρανση των τροφίμων όπου με απομάκρυνση του μεγαλύτερου μέρους του νερού του τροφίμου επιτυγχάνεται συντήρησή του, μπορεί να συμβεί μεταβολή στις πρωτεΐνες εξαρτώμενη από τη μέθοδο ξήρανσης και ειδικότερα από τη θερμοκρασία ξήρανσης, τη διάρκεια και την επίδραση ατμοσφαιρικού αέρα.<sup>[1]</sup>

### 1.11 Νέες πηγές πρωτεϊνών - Εξωσυμβατικές πρωτεΐνες

Οι νέες κατευθύνσεις για την αύξηση των διαθέσιμων πηγών πρωτεϊνών είναι: α) η παραγωγή πρωτεΐνης από μονοκύτταρους μικροοργανισμούς - κυτταρική πρωτεΐνη (Single-cell protein) (SCP) και β) η εφαρμογή μεθόδων που επιτρέπουν την καλύτερη αξιοποίηση φυτών πλούσιων σε πρωτεΐνες.

Μεγάλες ερευνητικές προσπάθειες γίνονται για την παραλαβή πρωτεϊνών από ελαιούχους σπόρους επειδή αυτοί υπάρχουν σε μεγάλες ποσότητες, έχουν μεγάλη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και μάλιστα υψηλής θρεπτικής αξίας. Η αξιοποίηση των πρωτεϊνών για ανθρώπινη διατροφή των υψηλών σε πρωτεϊνικό περιεχόμενο προϊόντων από πίτες ελαιούχων σπόρων περιορίζεται από την παρουσία φαινολικών ενώσεων και ζυμώσιμων σακχάρων. Ορισμένα από αυτά τα ανεπιθύμητα συστατικά είναι αντιθρεπτικά (αναστολείς τρυψίνης της σόγιας) ή τοξικά (γκοσσυπόλη του βαμβακόσπορου), ενώ άλλα είναι υπεύθυνα για τον άσχημο χρωματισμό των πρωτεϊνικών προϊόντων (χλωρογενικό οξύ του ηλιόσπορου) ή προκαλούν γαστρεντερικές διαταραχές (ζυμώσιμοι οι λιγοσακχαρίτες). Ορισμένοι από τους αντιθρεπτικούς αυτούς παράγοντες μπορούν να καταστραφούν ή να αδρανοποιηθούν με κατάλληλη θερμική κατεργασία, με προφανείς συνέπειες για τη θρεπτική αξία του προϊόντος. Όταν κάτι τέτοιο δεν είναι δυνατόν, το πρόβλημα χρειάζεται πλέον ειδική αντιμετώπιση π.χ. απομάκρυνση με οργανικούς διαλύτες.

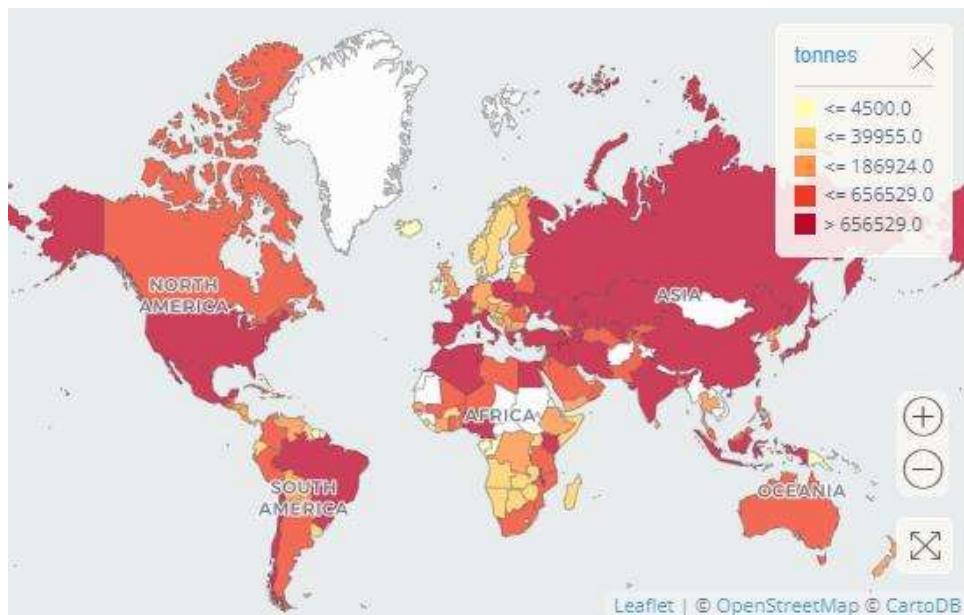
Για την παραλαβή των πρωτεΐνών από τους σπόρους έχουν αναπτυχθεί διάφορες τεχνικές ανάλογα με τις οποίες λαμβάνονται πρωτεϊνικά άλευρα (flours), συμπυκνώματα (concentrates) και υπερσυμπυκνώματα (isolates) με περιεκτικότητα περίπου 50, 70 και 90% πρωτεΐνη εδώδιμης ποιότητας. Οι διάφορες τεχνικές που υπάρχουν μπορούν να ταξινομηθούν ανάλογα με το προϊόν που προκύπτει ή τη φύση της κατεργασίας (υγρές τεχνικές, ξηρές τεχνικές).<sup>[1]</sup>

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΤΟΜΑΤΑ

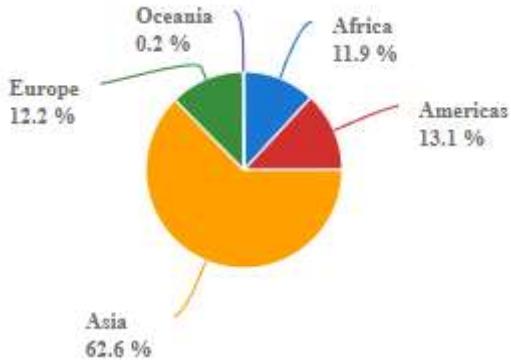
### 2.1 Γενικά

Η τομάτα (*Lycopersicon esculentum*), μέλος της οικογένειας της πατάτας (Solanaceae), είναι πολύ σημαντική ως πηγή τροφής. Μέσα στην οικογένεια των Solanaceae, συμπεριλαμβανομένων περίπου 1500 τροπικών και υποτροπικών ειδών, το γένος *Lycopersicon* αποτελείται από σχετικά λίγα (οκτώ) είδη και υποδιαιρείται σε δύο υπογενή *Eulycopersicon* και *Eriopersicon*. Τα είδη που καλλιεργούνται γενικά ανήκουν στο υπογένος *Eulycopersicon*. Όταν είναι ώριμα χαρακτηρίζονται από ένα ελκυστικό κόκκινο ή κίτρινο χρώμα και μια ευχάριστη γεύση. Από βοτανική άποψη η τομάτα είναι καρπός μούρων, αλλά καλλιεργείται και χρησιμοποιείται ως λαχανικό. Η τομάτα πιθανότατα προέρχεται από την Κεντρική και Νότια Αμερική και τα άγρια είδη της εξαπλώνονται ευρύτερα στο Περού. Η εξημέρωση του φυτού προφανώς ξεκίνησε στο Μεξικό και μεταφέρθηκε από εκεί στην Ευρώπη αμέσως μετά την ανακάλυψη της Αμερικής. Πέρασε πολύς καιρός μέχρι να γίνει αντιληπτή η διατροφική αξία της τομάτας. Η απροθυμία να καταναλωθεί η τομάτα προκλήθηκε κυρίως από τη σχέση της με πολλά δηλητηριώδη φυτά (π.χ. *Atropa belladonna*). Η Βρετανία ήταν η τελευταία που την δέχτηκε ως διαιτητικό είδος, στα μέσα του δέκατου όγδοου αιώνα. Η μεγάλης κλίμακας καλλιέργεια της τομάτας ξεκίνησε μόλις πριν από περίπου έναν αιώνα, και γενικά καλλιεργήθηκε μόνο μετά τον Πρώτο Παγκόσμιο Πόλεμο. Αυτές τις μέρες είναι γνωστή σε όλο τον κόσμο και είναι ένα από τα σημαντικότερα φυτά διατροφής.<sup>[5]</sup>

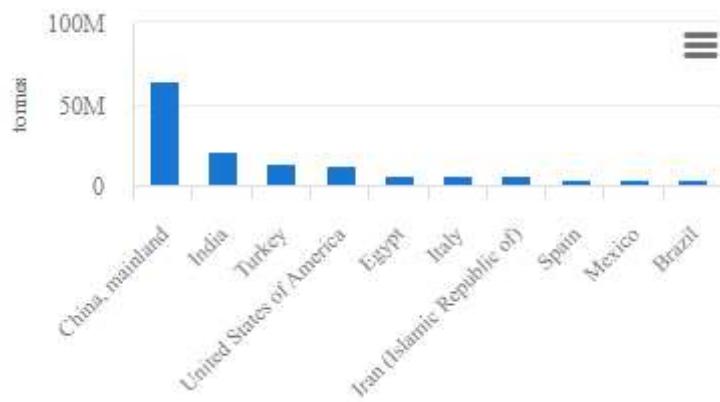
Η τομάτα παράγεται παγκοσμίως, συμβάλλοντας σε 186,8 εκατομμύρια τόνους ετήσιας παραγωγής το 2020. Η Κίνα είναι ένας από τους μεγαλύτερους παραγωγούς τομάτας παγκοσμίως, συνεισφέροντας το ~34% της συνολικής παγκόσμιας παραγωγής. Επιπλέον, η Ινδία, η Τουρκία, οι Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής και το Μεξικό είναι γνωστοί παραγωγοί τομάτας.<sup>[6]</sup>



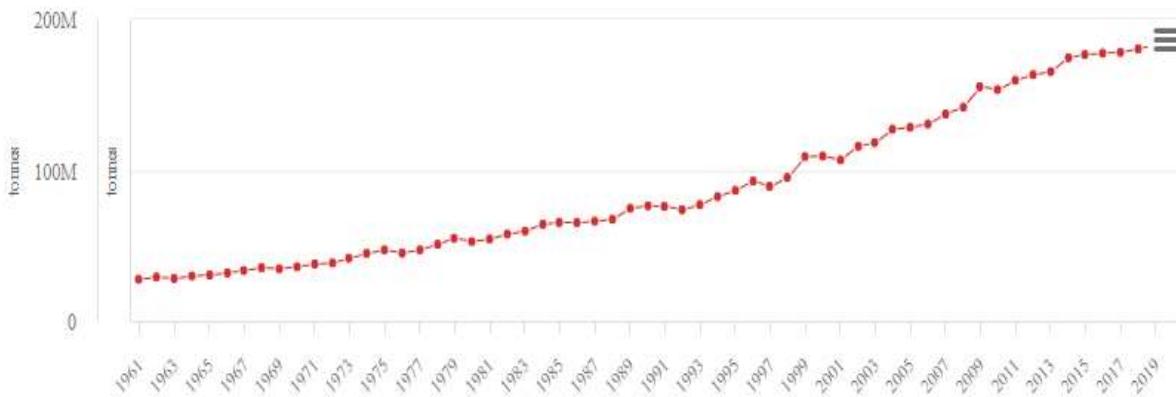
Σχήμα 8. Ποσότητες παραγωγής τομάτας ανά χώρα για το έτος 2020<sup>[6]</sup>



**Σχήμα 9.** Μερίδιο παραγωγής τομάτας ανά περιοχή για το έτος 2020<sup>[6]</sup>



**Διάγραμμα 1.** Παραγωγή τομάτας: 10 κορυφαίοι παραγωγοί για το έτος 2020<sup>[6]</sup>



**Διάγραμμα 2.** Ποσότητες παραγωγής τομάτας ανά τον κόσμο για την περίοδο 1961 – 2020<sup>[6]</sup>

Οι τομάτες απαιτούν ζεστό κλίμα για να αναπτυχθούν. Σε θερμοκρασίες κάτω από 15 °C διακόπτεται η ανάπτυξη του φυτού, ενώ οι ευνοϊκότερες θερμοκρασίες για την ανάπτυξή του κυμαίνονται μεταξύ 25-32 °C. Η τομάτα καλλιεργείται σχεδόν σε όλα τα εδάφη, όταν εξασφαλίζονται τα απαραίτητα συστατικά. Προτιμώνται τα μέτρια αμμοαργιλλώδη εδάφη, ενώ για βιομηχανική χρήση καλλιεργείται και σε πηλώδη ή αργιλλώδη εδάφη. Το ευνοϊκότερο pH εδάφους για την ανάπτυξη του φυτού βρίσκεται στην περιοχή 5.8-6.7. Η υγρασία του εδάφους στην περιοχή των ριζών του φυτού είναι πολύ σημαντική για την ανάπτυξή του, όπως και η κατάλληλη λίπανση του εδάφους.

Οι ποικιλίες που καλλιεργούνται είναι πάρα πολλές και συνήθως είναι διαφορετικές ανάλογα με την τελική χρήση της τομάτας (φρέσκο λαχανικό, ολόκληρη κονσερβοποιημένη, χυμός ή πολτός κτλ.).

Ο καρπός της τομάτας είναι χυμώδης, ποικίλου μεγέθους και σχήματος. Συνήθως είναι σφαιρικός πεπιεσμένος με ακανόνιστη εμφάνιση ή σφαιρικός ωοειδής με συνεχή επιφάνεια. Αποτελείται από δύο ή περισσότερους θαλάμους, ενώ οι μεγαλόκαρπες ποικιλίες έχουν 5-10. Έχει λεπτό, λείο επικάρπιο, ζωηρού κόκκινου χρώματος σε πλήρη ωριμότητα (μερικές φορές πορτοκαλί ή κιτρινωπό, ανάλογα με την ποικιλία). Το μεσοκάρπιο (χυμώδης πούλπα) σχηματίζεται από μεγάλα κύτταρα που περιέχουν κοκκινωπό, όξινο χυμό, με ιδιαίτερη ελαφρά οσμή. Οι σπόροι είναι μικροί, σκληροί, κιτρινωποί, ωοειδείς και περιβάλλονται από ζελατινοειδείς ουσίες οι οποίες βρίσκονται σε μικρή αναλογία σε σχέση με τη ποσότητα της σάρκας. Οι τομάτες συνήθως αποτελούνται κατά 97% από σάρκα-χυμό και 3% φλοιούς και σπόρους. Το χαρακτηριστικό κόκκινο χρώμα τους οφείλεται στο περιεχόμενό τους σε λυκοπένιο.<sup>[7]</sup>

## 2.2 Σύνθεση της τομάτας σε διατροφικά χαρακτηριστικά

Η προσεγγιστική ανάλυση είναι μία από τις πρώτες προσεγγίσεις για τον χαρακτηρισμό των τροφίμων, ιδιαίτερα για την ταυτοποίηση των θρεπτικών συστατικών σε οποιοδήποτε τρόφιμο. Γενικά, το νερό, η τέφρα, οι πρωτεΐνες, τα λιπίδια, οι υδατάνθρακες, η περιεκτικότητα σε αναγωγικά σάκχαρα, καθώς και το pH, η ενέργεια και η οξύτητα είναι οι βασικές συνθέσεις ενός δείγματος τροφής. Για παράδειγμα, η περιεκτικότητα σε τέφρα είναι ένα σημαντικό βήμα στην ανάλυση της περιεκτικότητας σε θρεπτικά στοιχεία στα τρόφιμα. Η τέφρα αναφέρεται στο ανόργανο υπόλειμμα (περιεκτικότητα σε μέταλλα) που παραμένει μετά την πλήρη οξείδωση της οργανικής ύλης και την απομάκρυνση του νερού με θέρμανση (στάχτη) ενός δείγματος τροφίμου σε φούρνο. Στη συνέχεια, η περιεκτικότητα σε υγρασία (συνολικά στερεά) είναι σημαντική επειδή επηρεάζει τις χημικές και φυσικές πτυχές των τροφίμων, οι οποίες καθορίζουν τη φρεσκάδα και τη σταθερότητα αποθήκευσης. Οι πρωτεΐνες, τα λιπίδια και οι υδατάνθρακες είναι τα κύρια συστατικά των τροφίμων και είναι τα κύρια στοιχεία στην ανάλυση σύνθεσης.<sup>[8]</sup>

Οι πρωτεΐνες, οι οποίες είναι μακρομόρια που υπάρχουν στα τρόφιμα, είναι σημαντικές για την κυτταρική δομή και τις βιολογικές λειτουργίες. Η ανάλυση πρωτεΐνών είναι ζωτικής σημασίας για τη διατροφική επισήμανση, καθώς και για την περιγραφή των βιολογικών δραστηριοτήτων και των λειτουργικών ιδιοτήτων των προϊόντων διατροφής. Τα λιπίδια είναι μια άλλη ομάδα μακρομορίων που είναι γενικά αδιάλυτα στο νερό αλλά είναι διαλυτά σε οργανικούς διαλύτες. Στην πραγματικότητα, η ακριβής ανάλυση της περιεκτικότητας σε λιπίδια στα τρόφιμα είναι υποχρεωτική για το πρότυπο ποιότητας και διατροφικής επισήμανσης και είναι σημαντική για τη διασφάλιση των προδιαγραφών παραγωγής.

Η ανάλυση υδατανθράκων είναι επίσης σημαντική ως κύρια (πάνω από 70%) πηγή ενέργειας. Η ανάλυση υδατανθράκων αποδίδει διατροφικές πληροφορίες, πρότυπο ταυτότητας, ικανότητα συγκράτησης νερού, γεύσεις, επιθυμητές υφές και σταθερότητα των προϊόντων διατροφής. Επιπλέον, η ανάλυση του pH των δειγμάτων τροφίμων είναι απαραίτητη για την επεξεργασία και την αποθήκευση τροφίμων. Οι διαιτητικές ίνες είναι ένα άλλο σημαντικό συστατικό της προσεγγιστικής ανάλυσης επειδή διασφαλίζουν μία ποικιλία οφελών για την

υγεία, συμπεριλαμβανομένης της προστασίας από καρδιακές παθήσεις, καρκίνο του παχέος εντέρου και διαβήτη. Σε μια πιο πρόσφατη μελέτη που βασίζεται σε προηγούμενα δημοσιευμένα πρωτότυπα ερευνητικά άρθρα, μια μέση τομάτα αποτελείται από τέφρα 8,75%, νερό 94,17 (g/100 g), υγρασία 91,18 (g/100 g), ολική πρωτεΐνη 17,71 (g/100 g), λιπίδιο 4,96 (g/100 g), υδατάνθρακες 5,96 (g/100 g), ολικά σάκχαρα 50,60 (g/100 g), pH 3,83, ενέργεια 34,67 kcal/100 g, οξύτητα 0,48%, αναγωγικά σάκχαρα 35,84%, φρουκτόζη 8%, γλυκόζη 2,45%, σακχαρόζη 0,02% και ολικές ίνες 11,44 (g/100 g) (Πίνακας 7).<sup>[9]</sup>

**Πίνακας 7.** Σύνθεση της τομάτας<sup>[9]</sup>

Parameters	Values	Range
Energy (kcal/100 g)	34.67 ± 18.74	18.00–75.00
Ash (%)	8.75 ± 1.69	5.90–10.60
Moisture (g/100 g)	91.18 ± 6.83	68.03–96.17
Total protein (g/100 g)	17.71 ± 5.40	10.50–25.03
Lipid (g/100 g)	4.96 ± 1.19	3.62–5.39
Carbohydrates (g/100 g)	5.96 ± 1.37	3.92–8.00
Total sugar (g/100 g)	50.60 ± 3.69	47.00–56.45
pH	3.83 ± 0.21	3.61–4.08
Acidity (%)	0.48 ± 0.07	0.39–0.55
Reducing sugar (%)	35.84 ± 4.57	30.03–41.21
Fructose (%)	2.88 ± 0.49	1.15–3.42
Glucose (%)	2.45 ± 0.48	1.74–3.18
Sucrose (%)	0.02 ± 0.05	0.01–0.02
Total fiber (g/100 g)	11.44 ± 9.31	1.32–19.36

Η τομάτα περιέχει διάφορους τύπους καροτενοειδών και είναι πλούσια σε λυκοπένιο και β-καροτενοειδή (Πίνακας 8). Τα καροτενοειδή είναι φυτικές χρωστικές ουσίες που παίζουν κρίσιμο ρόλο στην προστασία των φυτών από φωτο-οξειδωτικές διεργασίες. Είναι φυσικά αντιοξειδωτικά χρήσιμα για την καταπολέμηση της κυτταρικής οξειδωτικής βλάβης. Πρόσφατες μελέτες έχουν προτείνει ότι τα καροτενοειδή παίζουν σημαντικό ρόλο στη βελτίωση της όρασης, είναι αποτελεσματικά για την πρόληψη των καρδιαγγειακών νοσημάτων, προστατεύουν από την υγεία του σπέρματος και μπορούν να αποτρέψουν διάφορους τύπους καρκίνου. Από την άλλη πλευρά, τα καροτενοειδή όπως η λουτεΐνη και η ζεαξανθίνη βελτιώνουν την υγεία του δέρματος. Το λυκοπένιο είναι ένας τύπος καροτενοειδούς που βρίσκεται στην τομάτα και είναι χρήσιμος στην πρόληψη του καρκίνου του ήπατος, του πνεύμονα, του προστάτη, του μαστού και του παχέος εντέρου.<sup>[12]</sup>

**Πίνακας 8.** Περιεκτικότητα σε καροτενοειδή στην τομάτα.<sup>[9]</sup>

	Units	Concentrations	Range
β-carotene	µg/100 g	9942.16 ± 264.74	3677.42–10,206.90
α-carotene	µg/100 g	101.00	101.00
Lycopene	µg/100 g	8002.50 ± 243.54	5020.00–11,110.00
Lutein + zeaxanthin	µg/100 g	60.67 ± 43.86	18.07–123.00
Phytoene	µg/100 g	668.33 ± 361.95	430.00–1860.00
Phytofluene	µg/100 g	500.00 ± 100.49	390.00–820.00
All trans-lutein	mg/kg	5.00 ± 0.82	4.00–6.00
All trans-β carotene	mg/kg	29.25 ± 27.26	4.00–75.00
9-cis-β carotene	mg/kg	6.50 ± 2.29	3.00–9.00

### 2.2.1 Περιεχόμενα αμινοξέα της τομάτας

Τα αμινοξέα είναι τα δομικά στοιχεία των πρωτεΐνων που διεξάγουν σημαντικές σωματικές λειτουργίες, συμπεριλαμβανομένης της διατήρησης της κυτταρικής δομής, της μεταφοράς και αποθήκευσης θρεπτικών ουσιών, της επούλωσης των πληγών και της επιδιόρθωσης των κατεστραμμένων ιστών. Συνολικά έχουν εντοπιστεί 17 αμινοξέα στην τομάτα (Πίνακας 9). Υπολογίζεται ότι τα απαραίτητα αμινοξέα αποτελούν το 39,75% της συνολικής πρωτεΐνης της τομάτας. Μεταξύ αυτών, το υψηλότερο ήταν το γλουταμινικό οξύ (περίπου 10,13 g/100 g πρωτεΐνης). Μεταξύ των διαφόρων τύπων βασικών αμινοξέων που υπάρχουν στην τομάτα, η λευκίνη είναι παρούσα στην υψηλότερη συγκέντρωση, ενώ η μεθειονίνη είναι η χαμηλότερη. Μεταξύ των μη βασικών αμινοξέων, το γλουταμινικό οξύ είναι το πιο κοινό, ενώ η κυστεΐνη είναι το λιγότερο.<sup>[11]</sup>

**Πίνακας 9.** Περιεκτικότητα σε αμινοξέα της τομάτας.<sup>[9]</sup>

Amino Acids	Concentrations (g/100 g Protein)	Range
Threonine *	1.37 ± 0.97	0.40–2.34
Valine *	2.49 ± 2.09	0.40–2.49
Methionine *	0.57 ± 0.45	0.12–1.02
Isoleucine *	2.13 ± 1.73	0.40–3.86
Leucine *	2.80 ± 2.28	0.52–5.07
Phenylalanine *	1.77 ± 1.36	0.41–13.12
Histidine *	1.93 ± 1.71	0.22–3.64
Lysine *	2.45 ± 1.95	0.50–4.40
Arginine *	2.33 ± 2.02	0.31–4.34
Aspartic Acid **	1.40 ± 0.70	0.70–2.09
Serine **	1.78 ± 1.30	0.48–3.08
Glutamic Acid **	10.13 ± 4.44	5.69–14.56
Proline **	1.53 ± 1.25	0.28–2.78
Glycine **	2.30 ± 1.99	0.31–4.29
Alanine **	2.74 ± 2.29	0.45–5.02
Cystine **	0.21 ± 0.19	0.02–0.39
Tyrosine **	1.82 ± 1.61	0.21–3.42

## 2.2.2 Περιεχόμενα λιπαρά οξέα της τομάτας

Η τομάτα περιέχει πολλούς διαφορετικούς τύπους λιπαρών οξέων. Μεταξύ αυτών, το λινελαϊκό και τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα είναι τα υψηλότερα. Το λινελαϊκό και το λινολενικό οξύ είναι δύο απαραίτητα λιπαρά οξέα. Δεδομένου ότι τα απαραίτητα λιπαρά οξέα δεν μπορούν να συντεθούν από τον άνθρωπο ή τα ζώα, πρέπει να προέρχονται από τις διατροφικές πηγές και η τομάτα παρέχει μία καλή πηγή αυτών των οξέων. Από την άλλη πλευρά, τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα είναι επίσης πολύ σημαντικά για τον οργανισμό, καθώς είναι απαραίτητα για τη διατήρηση της ακεραιότητας της πλασματικής μεμβράνης, την ανάπτυξη των κυττάρων και την πρόληψη ασθενειών. Από αυτή την άποψη, η τομάτα είναι επομένως ένα πλούσιο και εξαιρετικά θρεπτικό προϊόν διατροφής.<sup>[9]</sup>

## 2.2.3 Περιεχόμενα μέταλλα της τομάτας

Τα μέταλλα είναι απαραίτητα για μια ποικιλία σωματικών λειτουργιών, συμπεριλαμβανομένης της ρύθμισης των μεταβολικών οδών, του σχηματισμού ζωτικών οργάνων, της διατήρησης των σωματικών φυσιολογικών λειτουργιών, της ρύθμισης της ισορροπίας του pH, της ισορροπίας υγρών, της αρτηριακής πίεσης, της μετάδοσης των νεύρων, της μυϊκής συστολής και της παραγωγής ενέργειας. Ορισμένα μέταλλα, όπως το ασβέστιο (Ca), το κάλιο (K), το νάτριο (Na), ο φωσφόρος (P), το μαγνήσιο (Mg), το θείο (S) και το χλώριο (Cl), είναι εξαιρετικά απαραίτητα (μέση ημερήσια πρόσληψη > 50 mg) και επομένως είναι γνωστά ως

κύρια στοιχεία. Άλλα περιλαμβάνουν σίδηρο (Fe), ιώδιο (I), ψευδάργυρο (Zn), φθόριο (F), χαλκό (Cu), σελήνιο (Se), μαγγάνιο (Mn), κοβάλτιο (Co), χρώμιο (Cr), νικέλιο (Ni), το μολυβδανίο (Mo) και το σελήνιο (Se), τα οποία απαιτούνται σε συγκριτικά μικρότερες ποσότητες (< 50 mg/ημέρα) και είναι γνωστά ως ιχνοστοιχεία. Άλλα στοιχεία, όπως αργύριο (Al), αρσενικό (As), βόριο (B), βάριο (Ba), βισμούθιο (Bi), βρώμιο (Br), μόλυβδος (Pb), κάδμιο (Cd), καίσιο (Cs), γερμάνιο (Ge), λίθιο (Li), υδράργυρος (Hg), ρουβίδιο (Rb), πυρίτιο (Si), αντιμόνιο (Sb), καστίτερος (Sn), σαμάριο (Sm), στρόντιο (Sr), βολφράμιο (W), το τιτάνιο (Ti) και το θάλλιο (Tl), που χρειάζονται σε ακόμη μικρότερες ποσότητες, (1 mg/ημέρα) είναι γνωστά ως υπεριχνοστοιχεία. Τα Pb, As, Hg, Cd, Cu, Cr, Ni, Zn και Mn είναι βαρέα μέταλλα που είναι τοξικά εάν υπάρχουν σε χαμηλές συγκεντρώσεις επειδή τείνουν να συσσωρεύονται σε ζωντανά κύτταρα.<sup>[10]</sup>

Από διατροφική άποψη, η τομάτα είναι καλή πηγή μετάλλων και άλλων στοιχείων. Στον πίνακα 10 παρουσιάζονται 23 τύποι μετάλλων και οι ποσότητές τους που υπάρχουν στην τομάτα, συμπεριλαμβανομένων των κύριων στοιχείων (ασβέστιο, κάλιο, νάτριο, φωσφόρος, μαγνήσιο, θείο, χλώριο) και ιχνοστοιχείων (σίδηρος, ιώδιο, ψευδάργυρος, φθόριο, χαλκός, μαγγάνιο, κοβάλτιο, χρώμιο, νικέλιο, αργύριο, αρσενικό, βόριο, μόλυβδος, κάδμιο, νιτρικό, χλώριο, σελήνιο, πυρίτιο).<sup>[9]</sup>

**Πίνακας 10.** Περιεκτικότητα σε μέταλλα στην τομάτα<sup>[9]</sup>

Elements	Units	Concentrations	Range
Sodium (Na)	mg/100 g	70.38 ± 12.20	56.90–80.65
Potassium (K)	mg/100 g	403.02 ± 254.41	16.63–1097.00
Calcium (Ca)	mg/100 g	105.21 ± 22.76	48.47–162.07
Magnesium (Mg)	mg/100 g	172.58 ± 58.92	76.87–265.93
Phosphorus (P)	mg/100 g	300.99 ± 32.12	173.00–379.31
Chlorine (Cl)	µg/100 g	517.24 ± 0.00	517.24
Boron (B)	µg/g	36.83 ± 3.27	25.84–48.59
Nickel (Ni)	mg/100 g	0.66 ± 0.00	0.66
Nitrate (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	mg/100 g	274.37 ± 156.75	86.21–459.00
Iron (Fe)	mg/100 g	4.55 ± 2.18	1.50–6.45
Zinc (Zn)	mg/100 g	2.48 ± 1.05	0.17–3.17
Cobalt (Co)	mg/100 g	19.66 ± 9.66	10.00–29.31
Copper (Cu)	mg/100 g	0.67 ± 0.15	0.06–1.10
Manganese (Mn)	mg/100 g	0.60 ± 0.12	0.11–1.88
Chromium (Cr)	µg/100 g	193.80 ± 133.80	60.00–327.59
Iodine (I)	mg/100 g	2.65 ± 1.44	0.18–3.97
Fluorine (F)	µg/100 g	413.79 ± 0.00	413.79
Aluminum (Al)	µg/100 g	1241.38 ± 0.00	1241.38
Silicon (Si)	µg/100 g	46.55 ± 0.00	46.55
Selenium (Se)	µg/100 g	13.45 ± 3.45	10.00–16.90
Lead (Pb)	µg/g	1.21 ± 0.06	1.15–1.27
Cadmium (Cd)	µg/g	0.17 ± 0.06	0.11–0.22
Arsenic (As)	µg/g	0.20 ± 0.005	0.19–0.20

#### 2.2.4 Περιεχόμενες βιταμίνες της τομάτας

Η ακριβής ανάλυση της περιεκτικότητας σε βιταμίνες είναι σημαντική για μία τυπική ισορροπημένη διατροφή, επειδή οι χαμηλές ή υπερβολικές ποσότητες βιταμινών μπορούν να συμβάλουν σε καταστάσεις ασθένειας παρεμποδίζοντας τη φυσιολογική ανάπτυξη των κυττάρων. Οι τομάτες είναι ένα από τα πιο ευέλικτα και ευρέως καταναλωτικά λαχανικά σε πολλές χώρες και είναι πλούσια πηγή βιταμινών. Οι βιταμίνες C, το σύμπλεγμα B, οι A, E και K είναι οι κύριοι τύποι βιταμινών που υπάρχουν στην τομάτα, με τη βιταμίνη C να αναφέρεται ως η υψηλότερη (Πίνακας 11). Οι βιταμίνες C και E (τοκοφερόλη) παρουσιάζουν αντιοξειδωτική δράση καθιστώντας την τομάτα χρήσιμο θεραπευτικό παράγοντα για την πρόληψη διαφόρων ασθενειών, συμπεριλαμβανομένων των καρδιαγγειακών νοσημάτων και του καρκίνου. Μεταξύ των διαφόρων τύπων συμπλεγμάτων βιταμινών B, η ποσότητα φυλλικού οξέος είναι συγκριτικά υψηλή στις τομάτες. Παρόλα αυτά, οι υπερβολικές ποσότητες υδατοδιαλυτής βιταμίνης B δεν προκαλούν καμία τοξικότητα γιατί αυτές οι βιταμίνες μπορούν εύκολα να απεκκριθούν από το σώμα. Οι βιταμίνες επιτελούν διάφορες λειτουργίες, όπως η διατήρηση του νευρικού συστήματος, η παραγωγή ερυθρών αιμοσφαιρίων και η ενζυμική λειτουργία.<sup>[9]</sup>

**Πίνακας 11.** Περιεκτικότητα σε βιταμίνες στην τομάτα.<sup>[9]</sup>

Vitamins	Units	Concentrations	Range
Vitamin A	IU/100 g	614.44 ± 248.18	267.33–833.00
Vitamin E	µg/100 g	15.08 ± 1.06	14.02–16.13
Vitamin K	µg/100 g	98.28 ± 0.00	98.28
Vitamin C	mg/100 g	36.16 ± 29.64	10.86–85.00
Thiamine	mg/100 g	0.66 ± 0.44	0.04–0.98
Riboflavin	mg/100 g	0.48 ± 0.34	0.02–0.81
Niacin	mg/100 g	9.68 ± 0.00	9.68
Pantothenic Acid	mg/100 g	4.93 ± 0.41	4.52–5.34
Vitamin B <sub>6</sub>	mg/100 g	1.51 ± 0.22	1.29–1.72
Biotin	µg/100 g	68.97 ± 0.00	68.97
Folate	mg/100 g	14.00 ± 1.00	13.00–15.00

#### 2.3 Γευστικότητα της τομάτας

Η ευχάριστη γλυκόξινη γεύση της τομάτας οφείλεται κυρίως στην περιεκτικότητά της σε σάκχαρα και οργανικά οξέα. Ο χαρακτήρας και η ένταση της γεύσης επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από τα άλατα που υπάρχουν καθώς και από το ρυθμιστικό αποτέλεσμα των διαφόρων κατιόντων και ανιόντων. Τα ελεύθερα αμινοξέα μπορεί επίσης να επηρεάσουν -εν μέρει από τη δική τους γεύση, εν μέρει από το ρυθμιστικό τους αποτέλεσμα- τον χαρακτήρα και την ένταση της γεύσης. Η πικρή γεύση δεν είναι χαρακτηριστική της τομάτας και παρατηρείται σπάνια. Εάν παρουσιαστεί κατά λάθος, προκαλείται από φαινολικές ουσίες - οργανικές ενώσεις μακράς αλυσίδας και αλκαλοειδή. Η ποιότητα και η ποσότητα των πρωτεΐνων, των

λιπών, των πηκτινών, των χρωστικών, των βιταμινών και της κυτταρίνης είναι μόνο δευτερεύουσα, καθώς αυτά τα συστατικά επηρεάζουν κυρίως το χρώμα, την υφή και τη συνοχή της τομάτας.<sup>[5]</sup>

## 2.4 Επεξεργασία και τεχνολογία παραγωγής τομάτας

### 2.4.1 Συγκομιδή της τομάτας - Παράγοντες που επηρεάζουν την ποιότητα της τομάτας πριν τη συγκομιδή

- Ο βέλτιστος χρόνος για τη συγκομιδή της τομάτας, βασίζεται στο μέγιστο ποσοστό κόκκινων ώριμων χρησιμοποιήσιμων καρπών. Ο χρόνος συγκομιδής εξαρτάται από τις διακυμάνσεις μεταξύ των διαφορετικών ποικιλιών, τις μέγιστες και/ή ελάχιστες θερμοκρασίες και τις βροχοπτώσεις, ακολουθούμενες από τον πραγματικό αριθμό καρπών ενός δεδομένου μεγέθους. Επιπλέον, ο τύπος του εδάφους, οι πρακτικές άρδευσης, η ημερομηνία φύτευσης καθώς και οι συνθήκες καταπόνησης μπορεί να επηρεάσουν τον χρόνο της συγκομιδής. Συγκεκριμένα, για τη μηχανική συγκομιδή ο καρπός πρέπει να είναι ώριμος, ωστόσο να είναι σταθερός και ανθεκτικός στις ρωγμές και σε καλή κατάσταση κατά τη μεταφορά. Τα φυτά δεν πρέπει να έχει υπερβολικό φύλλωμα γιατί η βλαστική ανάπτυξη παρεμποδίζει την επεξεργασία της συγκομιδής. Το στέλεχος πρέπει να είναι χωρίς αρθρώσεις, έτσι ώστε οι καρποί να μην τρυπούνται κατά τον χειρισμό.<sup>[13]</sup>

### 2.4.2 Τεχνολογίες μετά τη συγκομιδή για τη διατήρηση της ποιότητας των καρπών της τομάτας

Ο καρπός της τομάτας έχει σχετικά μειωμένη διάρκεια ζωής μετά τη συγκομιδή, καθώς πολλές διεργασίες που προκαλούν απώλεια ποιότητας λαμβάνουν χώρα αμέσως μετά τη συγκομιδή. Οι κύριοι περιοριστικοί παράγοντες στην αποθήκευση του καρπού της τομάτας είναι η διαπνοή, η μυκητίαση, η επιτάχυνση της διαδικασίας ωρίμανσης και η γήρανση. Η διαδικασία ωρίμανσης της τομάτας ελέγχεται από την ορμόνη αιθυλένιο, η οποία περιλαμβάνει διάφορες βιοχημικές, χημικές, φυσικές και φυσιολογικές αλλαγές που συμβαίνουν κατά την ανάπτυξη των φυτών και γρήγορα μετά τη συγκομιδή. Αυτές οι αλλαγές μπορεί να καταστήσουν τον καρπό υπερώριμο ή ακόμα και μη εμπορεύσιμο. Δεδομένου ότι η παραγωγή αιθυλενίου επιταχύνει την ωρίμανση και οδηγεί στη γήρανση, οι τεχνολογίες αποθήκευσης μετά τη συγκομιδή επικεντρώνονται στον έλεγχο και την αλλαγή των δράσεων αυτής της ορμόνης προκειμένου να καθυστερήσουν οι απώλειες ποιότητας και να επεκταθούν η διάρκεια ζωής της τομάτας μετά τη συγκομιδή.

Η τομάτα ωριμάζει γρήγορα και γίνεται μη εμπορεύσιμη σύντομα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, επομένως η χρήση χαμηλών θερμοκρασιών συνιστάται για την καθυστέρηση και τη μείωση της παραγωγής αιθυλενίου. Ωστόσο, μόνο θερμοκρασίες άνω των 11°C ενδείκνυνται για αποθήκευση μετά τη συγκομιδή, καθώς οι τομάτες είναι ευαίσθητες στον τραυματισμό από ψύξη. Επιπλέον, προτείνονται θερμικές επεξεργασίες για τη διατήρηση των ποιοτικών παραμέτρων της τομάτας μετά τη συγκομιδή. Γενικά, οι επεξεργασίες ζεστού νερού ή οι επεξεργασίες ζεστού αέρα (27-48°C και 15-90 min) μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την προστασία της τομάτας, καθώς οι θερμικές επεξεργασίες μπορούν να ανακουφίσουν τους τραυματισμούς από ψύξη μειώνοντας την απώλεια σφριγηλότητας και τη

διαρροή ηλεκτρολυτών. Εκτός από τις προαναφερθείσες τεχνικές, προτείνονται και άλλες τεχνολογίες μετά τη συγκομιδή, όπως αποθήκευση τροποποιημένης ατμόσφαιρας, εφαρμογή 1-μεθυλοκυκλοπροπενίου (1-MCP) και χρήση βρώσιμων επικαλύψεων.<sup>[13]</sup>

#### 2.4.3 Προεξεργασίες πρώτης ύλης

##### 2.4.3.1 Ταξινόμηση των καρπών της τομάτας

Οι καρποί της τομάτας αξιολογούνται με βάση το χρώμα, την περιεκτικότητα σε διαλυτά στερεά, το pH, την περιεκτικότητα σε άγουρα φρούτα, τα ελαττώματα, όπως ζημιά από σκουλήκια, μηχανικές βλάβες, μούχλα, ατέλειες και αποσύνθεση, καθώς και με την παρουσία άλλων υλικών εκτός από τομάτες (μίσχοι, φύλλα, ρίζες, βρωμιά και πέτρες). Πιθανώς το πιο σημαντικό μέλημα είναι η χειροκίνητη διαλογή φρούτων ή η λειτουργία του ηλεκτρονικού διαλογέα χρωμάτων. Η υπερβολική ταξινόμηση ή η απόρριψη των καλών φρούτων μπορεί να οδηγήσει σε απώλεια κέρδους. Η υποδιαλογή μπορεί επίσης να είναι δαπανηρή, καθώς οι καρποί πιθανότατα θα πρέπει να ταξινομηθούν εκ νέου για να διατηρηθούν τα πρότυπα ποιότητας. Τα στάδια ταξινόμησης της τομάτας είναι τα εξής:

- Ξηρή διαλογή
- Ταξινόμηση μεγέθους
- Τελική ταξινόμηση και κοπή

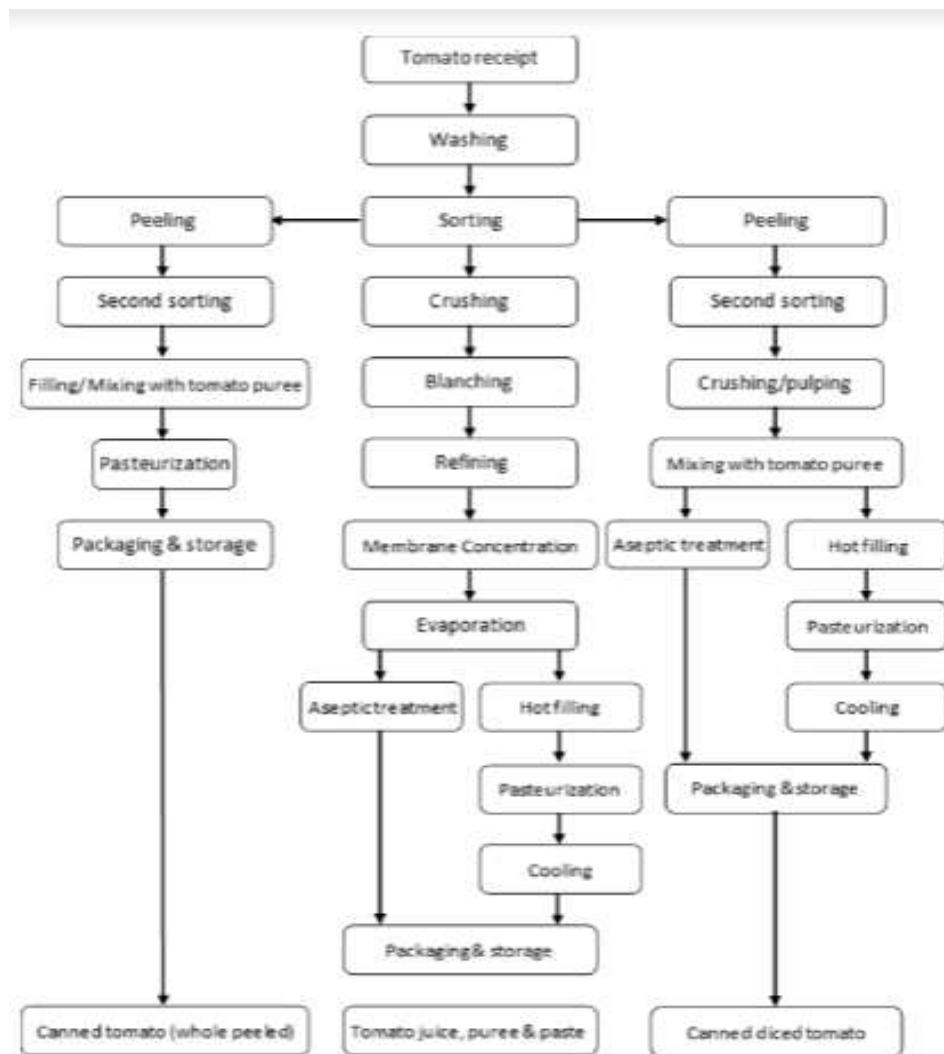
##### 2.4.3.2 Αποφλοίωση των καρπών της τομάτας

Η αποφλοίωση είναι μία σημαντική λειτουργία της μονάδας καθώς δεν επηρεάζει μόνο τη γευστικότητα, την ποιότητα και τη θρεπτική αξία των τελικών προϊόντων, αλλά και τις επακόλουθες επεξεργασίες λυμάτων, καθώς και την κατανάλωση ενέργειας και νερού. Συνήθως χρησιμοποιείται αποφλοίωση με ατμό ή αλισίβα για να χαλαρώσει το φλοιό από τη σάρκα πριν αφαιρεθούν μηχανικά οι φλοιοί. Ωστόσο, και οι δύο μέθοδοι είναι αρκετά απαιτητικές σε νερό και ενέργεια. Συνήθως, η αποφλοίωση υψηλής θερμοκρασίας χρησιμοποιείται από πολλές βιομηχανίες επεξεργασίας τομάτας λόγω των υψηλότερων αποδόσεων προϊόντων και της ανώτερης ποιότητας προϊόντων, παρόλο που τα απορριπτόμενα λύματά τους έχουν υπερβολικά υψηλές τιμές pH και υψηλή χημική ζήτηση οξυγόνου. Η αποφλοίωση με ατμό σε σύγκριση με την αποφλοίωση με αλισίβα είναι απαλλαγμένη από χημικά και πιο φιλική προς το περιβάλλον, αλλά παρουσιάζει μεγαλύτερη απώλεια αποφλοίωσης και χαμηλότερη ποιότητα των αποφλοιωμένων φρούτων. Θα πρέπει να τονιστεί ότι τόσο για την αποφλοίωση με ατμό όσο και για την αποφλοίωση, η υπο-αποφλοίωση μπορεί να αυξήσει τη δυσκολία στην αφαίρεση του φλοιού. Ωστόσο, η υπερβολική αποφλοίωση μπορεί να υποβαθμίσει την υφή και τη γεύση των φρούτων και μπορεί να δημιουργήσει ανεπιθύμητο χρώμα, οδηγώντας σε μαλακά και χυλώδη αποφλοιωμένα προϊόντα τομάτας.<sup>[13]</sup>

#### 2.4.4 Επεξεργασία - Επεξεργασμένα προϊόντα τομάτας

Μετά την ταξινόμηση, τα επόμενα βήματα επεξεργασίας περιλαμβάνουν το πλύσιμο, τη διαλογή και το μέγεθος των τοματών. Στη συνέχεια, οι τομάτες διαχωρίζονται σε ξεχωριστά

ρεύματα για περαιτέρω επεξεργασία με βάση τα τελικά προϊόντα-στόχους. Η επεξεργασία τομάτας, για χύμα πολτό και προϊόντα σε κύβους, είναι μια εποχιακή λειτουργία. Ωστόσο, καθ' όλη τη διάρκεια της περιόδου επεξεργασίας, τα εργοστάσια λειτουργούν συνεχώς με διακοπόμενο καθαρισμό επί τόπου. Είναι σημαντικό τα εργοστάσια επεξεργασίας να λειτουργούν με σταθερή ροή φρέσκιας τομάτας προκειμένου να επιτευχθεί η μέγιστη χωρητικότητά τους. Διαφορετικά, η διακοπή λειτουργίας εκτός του καθαρισμού ή η λειτουργία κάτω από την οριακή χωρητικότητα μπορεί να οδηγήσει σε σπατάλη, τόσο των φρέσκων τοματών που περιμένουν στα φορτηγά όσο και των τοματών σε διάφορα στάδια επεξεργασίας. Τα βασικά στάδια επεξεργασίας για τα διάφορα προϊόντα τομάτας απεικονίζονται στο Σχήμα 10.<sup>[13]</sup>



**Σχήμα 10.** Διάγραμμα ροής για την επεξεργασία προϊόντων τομάτας<sup>[13]</sup>

### Κονσερβοποιημένες τομάτες

Γενικά, για τα κονσερβοποιημένα προϊόντα, το σχολαστικό πλύσιμο είναι ένα ουσιαστικό βήμα. Συνιστάται συνδυασμός διαβροχής (3-5min στους 54 °C) και ψεκασμού που φτάνει σε κάθε σημείο της επιφάνειας της τομάτας. Ακολουθεί το μούλιασμα των τοματών, και στην συνέχεια η ταξινόμηση αυτών ώστε να διαχωριστούν τα άχρωμα και τα ελαττωματικά φρούτα.

Μετά οι τομάτες ζεματίζονται, και ύστερα υποβάλλονται σε ψεκασμό με κρύο νερό για να σπάσει το δέρμα τους. Οι τομάτες στη συνέχεια υποβάλλονται σε αποφλοίωση χρησιμοποιώντας αλισίβα, ατμό ή ζεστό νερό όπως περιγράφεται παραπάνω. Το ξεφλούδισμα μετράει περίπου το 60% του συνολικού κόστους εργασίας των κονσερβοποιημένων τοματών. Τα κονσερβοποιημένα προϊόντα μπορούν να κατηγοριοποιηθούν περαιτέρω ως εξής:

### Ολόκληρες καθαρισμένες τομάτες

Οι καθαρισμένες ολόκληρες τομάτες γεμίζονται σε κονσέρβες. Η παρουσία οποιωνδήποτε ουσιών (άλατα, οξέα, γλυκαντικά) εκτός από την τομάτα πρέπει να δηλώνεται στην ετικέτα. Οι τομάτες γενικά γεμίζονται κρύες στις κονσέρβες. Οι κονσέρβες πρέπει να εξατμίζονται έτσι ώστε να επιτυγχάνεται επαρκής υποτίεση για να μην χαλάσουν κατά την αποθήκευσή τους. Η θερμοκρασία του κουτιού στο οποίο λαμβάνει χώρα η εξάτμιση κυμαίνεται από 88 έως 93 °C.

### Τομάτες κομμένες σε κύβους

Οι τομάτες που έχουν σχεδιαστεί για προϊόντα κομμένα σε κύβους ταξινομούνται και μεταφέρονται στον αποφλοιωτή. Η επιλογή του μεγέθους του κύβου εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος καθώς και από την επαρκή διείσδυση θερμότητας στα κομμάτια κύβων κατά τη θερμική επεξεργασία. Μετά το κόψιμο σε κύβους, τα προϊόντα ανακινούνται για να αφαιρεθούν τα κομμάτια του χυμού και των κομματιών τομάτας και ταξινομούνται ξανά. Στο τελικό στάδιο, οι κύβοι γεμίζονται στις κονσέρβες σε υψηλή ή χαμηλή θερμοκρασία.

### Τοματοχυμός

Η εκχύλιση του χυμού τομάτας μπορεί να γίνει είτε σε υψηλή είτε σε χαμηλή θερμοκρασία. Η θερμή εκχύλιση παράγει χυμό καλύτερης ποιότητας σε σχέση με τη γεύση, το χρώμα και την υφή. Πριν από την εκχύλιση του χυμού, οι τομάτες τεμαχίζονται ή θερμαίνονται ολόκληρες σε μεγάλες δεξαμενές. Αυτές οι δεξαμενές είναι εξοπλισμένες με αναδευτήρα σχεδιασμένο να παρέχει μέγιστη ανάδευση και συνήθως περιέχουν πηνία ατμού για να παρέχουν γρήγορη θέρμανση. Κατά την κρύα εκχύλιση, οι τομάτες ζεματίζονται αρχικά για να χαλαρώσουν τους φλοιοιύς. Η απόδοση του χυμού της κρύας εκχύλισης είναι χαμηλότερη σε σύγκριση με αυτόν από τη θερμή εκχύλιση. Μετά την εκχύλιση, μερικές φορές εφαρμόζεται απαέρωση. Το χρώμα, η γεύση και η περιεκτικότητα σε βιταμίνη C βελτιώνονται με την πλήρη αφαίρεση του αέρα. Στο τελικό στάδιο, ο χυμός γεμίζεται σε κονσέρβες. Οι γεμισμένες κονσέρβες θα πρέπει να περάσουν από ένα ψεκαστήρα ζεστού νερού μετά το κλείσιμο για να αφαιρεθούν τυχόν προσκολλημένα προϊόντα. Δεν πρέπει να χρησιμοποιείται κρύο νερό για την αποφυγή ψύξης του προϊόντος.

### Πουρές τομάτας (πολτός)

Υπάρχουν δύο γενικοί τύποι πουρέ τομάτας, ο ένας από ολόκληρες τομάτες και ο άλλος από υποπροϊόντα τομάτας: φλοιοί και σάρκα προερχόμενα από την κονσερβοποίηση τομάτας ή τις

μερικώς εκχυλισμένες τομάτες από τον χυμό τομάτας. Οι ολόκληρες τομάτες πλένονται, ταξινομούνται και κόβονται για να αφαιρεθούν όλα τα ορατά ελαττώματα και στη συνέχεια περνούν σε έναν κόφτη, ακολουθούμενο από έναν προθερμαντήρα και έναν κυκλώνα. Τα υποπροϊόντα τομάτας περνούν σε πολτοποιητή είτε πριν είτε μετά τη θέρμανση. Η εξάτμιση πραγματοποιείται σε δεξαμενές με πηνία και ο προτεινόμενος χρόνος εξάτμισης κάθε παρτίδας είναι 30 λεπτά. Μετά την εξάτμιση, ο πουρές τομάτας περνά μέσα από μια μηχανή φινιρίσματος για να αφαιρεθούν τυχόν ακατέργαστα σωματίδια που διοχετεύθηκαν από τον πολτό. Στη συνέχεια γεμίζεται σε κονσέρβες. Οι γεμισμένες κονσέρβες περνούν μέσα από έναν ψεκαστήρα ζεστού νερού για να αφαιρεθεί τυχόν ποσότητα πουρέ στο εξωτερικό.

#### 2.4.5 Παραπροϊόντα επεξεργασίας τομάτας: στερεά απόβλητα

Τα παραπροϊόντα επεξεργασίας τομάτας, συμπεριλαμβανομένων των στερεών και υγρών απόβλητων από την επεξεργασία τομάτας, αποτελούν σοβαρό πρόβλημα για τη βιομηχανία τομάτας. Στα στερεά απόβλητα περιλαμβάνονται τα παραπροϊόντα τομάτας (φλοιοί, σπόροι και πολτός) που παραμένει μετά την επεξεργασία της τομάτας, ενώ τα υγρά απόβλητα περιλαμβάνουν νερά πλύσης, χημικά διαλύματα αποφλοίωσης και νερό φλοιών, νερό καθαρισμού και νερό ψύξης.

Οι σπόροι τομάτας αντιπροσωπεύουν περίπου το 10% του καρπού και το 50-55% του παραπροϊόντος. Η ποσότητα του παραπροϊόντος τομάτας που παράγεται ετησίως, εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά της τομάτας και τις συνθήκες επεξεργασίας και κυμαίνεται μεταξύ 5% και 13% του αρχικού βάρους της τομάτας. Η συνολική εκτίμηση απόδοσης των παραπροϊόντων επεξεργασίας της τομάτας στον κόσμο για το έτος 2019 ήταν  $5.4-9.0 \times 10^6$  τόνοι, αν και τα στατιστικά στοιχεία για την ποσότητα των παραπροϊόντων επεξεργασίας της τομάτας είναι αρκετά δύσκολο να συλλεχθούν. Η απόρριψη ή η αξιοποίηση του παραπροϊόντος επεξεργασίας της τομάτας αποτελεί αναπόφευκτο πρόβλημα και είναι εξαιρετικά σημαντικό για τη βιομηχανία τροφίμων. Αφενός, εάν δεν απορριφθεί σωστά, το παραπροϊόν μπορεί να αλλοιωθεί λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς του σε νερό και θρεπτικά συστατικά, γεγονός που συνιστά περιβαλλοντική επιβάρυνση και κατασπατάληση πόρων. Αφετέρου, η ορθολογική χρήση του παραπροϊόντος, σε κάποιο βαθμό, μετατρέπει τα απόβλητα σε χρήσιμους πόρους.

Οι τρέχουσες τεχνικές αξιοποίησης των παραπροϊόντων επεξεργασίας της τομάτας περιλαμβάνουν τη χρήση τους ως συστατικά σε ζωτροφές ή ως λιπάσματα καθώς και την απόρριψή τους στις χωματερές. Ένα μικρό κλάσμα των σπόρων χρησιμοποιείται από την ελαιουργία. Η διάθεση αυτών των υπολειμμάτων έχει σημαντικές οικονομικές και περιβαλλοντικές ανησυχίες για τη βιομηχανία επεξεργασίας τομάτας. Η βιομηχανία τομάτας προσπαθεί να ξεπεράσει αυτό το πρόβλημα αναπτύσσοντας ένα κατάλληλο σύστημα διαχείρισης απόβλητων όσον αφορά την ανακύκλωση και επαναχρησιμοποίηση των παραπροϊόντων τομάτας καθώς αποτελούνται από πολύτιμες βιοδραστικές ενώσεις όπως πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, λιπαρά οξέα, διαιτητικές ίνες και φαινολικές ενώσεις που προάγουν την ανθρώπινη υγεία. Μεταξύ των δευτερευόντων συστατικών των παραπροϊόντων τομάτας, το λυκοπένιο προσελκύει τη μεγαλύτερη προσοχή για τα πιθανά οφέλη για την υγεία. [13]

#### 2.4.5.1 Επεξεργασία παραπροϊόντος τομάτας

Η αποτελεσματική ανάκτηση και αξιοποίηση των επιμέρους θρεπτικών συστατικών από το παραπροϊόν τομάτας απαιτεί τον διαχωρισμό των φλοιών και των σπόρων ως κύριο βήμα. Επί του παρόντος, ο διαχωρισμός με αέρα χρησιμοποιείται στη βιομηχανία τομάτας προκειμένου να απομονωθούν τα επιθυμητά προϊόντα-στόχοι από ανεπιθύμητα υλικά.

Το παραπροϊόν τομάτας έχει υψηλή περιεκτικότητα σε υγρασία η οποία πρέπει να αφαιρεθεί πριν από τον διαχωρισμό πολύτιμων θρεπτικών συστατικών. Επιπλέον, η υψηλή περιεκτικότητά του σε υγρασία καθιστά δύσκολη την αποθήκευση του. Δυστυχώς, σε πολλές περιπτώσεις το παραπροϊόν τομάτας απλώς πετιέται και αφήνεται να αποσυντεθεί. Με την αλλοίωση του αναδύεται μια πολύ άσχημη μυρωδιά και μπορεί να γίνει τόπος αναπαραγωγής διαφόρων παρασίτων. Ως εκ τούτου, το υγρό παραπροϊόν τομάτας θα πρέπει να ξηραίνεται πριν από την αποθήκευση και την περαιτέρω χρήση, προκειμένου να αναστέλλονται μικροοργανισμοί αλλοίωσης.

Επί του παρόντος, η τυπική επεξεργασία του υγρού παραπροϊόντος τομάτας στη βιομηχανία τομάτας περιλαμβάνει τα ακόλουθα βήματα. Αρχικά, το παραπροϊόν αφήνεται σε μία κλίση μέχρι να στραγγίσει το περίσσιο νερό. Το στραγγισμένο παραπροϊόν τομάτας στη συνέχεια συμπιέζεται μηχανικά με τη χρήση φίλτρου και ξηραίνεται με θερμική ξήρανση μέσω εμφύσησης ζεστού αέρα. Εάν δεν υπάρχει τέτοιος εξοπλισμός, το παραπροϊόν τομάτας μπορεί να απλωθεί σε στρώμα πάχους 5-7 cm σε τσιμεντένιο δάπεδο κάτω από το ηλιακό φως για ξήρανση στον ήλιο. Το υλικό πρέπει να ανακινείται δύο φορές την ημέρα, έως ότου η ξηρή ύλη φτάσει περίπου το 90%. Τέλος, το παραπροϊόν της αποξηραμένης τομάτας αλέθεται σε μύλο χρησιμοποιώντας κόσκινα 1-2 mm και αποθηκεύεται μέχρι περαιτέρω χρήση. Η διαδικασία ξήρανσης μπορεί να εφαρμοστεί στο φλοιό της τομάτας, τους σπόρους και τις ελαττωματικές ή κομμένες τομάτες.

Τα υγρά απόβλητα αποτελούν επίσης σοβαρό πρόβλημα στη βιομηχανία τομάτας. Μπορούν να χωνευτούν και στη συνέχεια να ανακυκλωθούν ή να επαναχρησιμοποιηθούν στο φυτό μετά από διήθηση και χλωρίωση. Τα υγρά απόβλητα από τη χημική αποφλοίωση είναι δύσκολο να αφομοιωθούν χωρίς να εξουδετερωθεί η αλκαλικότητά τους. Σε ορισμένες περιπτώσεις, τα ενδογενή οξέα της τομάτας μπορεί να βοηθήσουν στην εξουδετέρωση. Η παραγωγή παραπροϊόντων στην επεξεργασία της τομάτας είναι αναπόφευκτη, ωστόσο μπορούν να μειωθούν με προσεκτική διαχείριση του εξοπλισμού, της χρήσης νερού και της πρώτης ύλης. [13]

#### 2.4.6 Χαρακτηρισμός/Σύνθεση παραπροϊόντος τομάτας

Το παραπροϊόν τομάτας αποτελείται κυρίως από φλοιούς και σπόρους. Η προσεγγιστική σύνθεση του παραπροϊόντος τομάτας παρουσιάζεται στον Πίνακα 12. Οι φυτικές ίνες είναι οι κύριες ενώσεις του παραπροϊόντος τομάτας σε βάση ξηρής ουσίας (25,0-59,0%). Οι συνολικές πρωτεΐνες κυμαίνονται μεταξύ 15,0% και 33%, οι συνολικοί υδατάνθρακες μεταξύ 3% και 43%, το συνολικό λίπος μεταξύ 2% και 20% και η περιεκτικότητα σε τέφρα μεταξύ 3% και 6%. Στον Πίνακα 13 παρουσιάζεται η μέση σύνθεση του φλοιού τομάτας και των σπόρων τομάτας, αντίστοιχα. Οι διαφορές μεταξύ των αποτελεσμάτων διαφόρων μελετών θα μπορούσαν να αποδοθούν στη σύνθεση της πρώτης ύλης και στις συνθήκες επεξεργασίας που εφαρμόζονται. [13]

**Πίνακας 12.** Προσεγγιστική σύνθεση παραπροϊόντος τομάτας (φλοιοί και σπόροι) (ξηρή βάση)<sup>[13]</sup>

Protein	Carbohydrates	Fibers	Oil	Ash
22.2	—	29.6	14.2	3.3
22.0	—	28.1	13.1	5.1
19.5	5.1	11.3	15.9	3.4
21.2	—	—	—	7.7
22.1	—	—	20.1	6.0
15.0	3.1	34.1	5.1	4.0
20.1	—	28.0	13.0	6.1
23.1	—	25.0	12.0	—
18.0	—	50.0	10.0	—
19.3	25.7	59.3	5.85	—
22.70	—	58.53	16.24	4.40
17.6	—	52.4	2.2	4.2
20.9	—	50.7	14.1	3.5
32.7	43.1	29.4	15.4	3.6
17.38	3.50	59.17	7.33	3.56

**Πίνακας 13.** Προσεγγιστική σύνθεση φλοιών και σπόρων τομάτας (% ξηρή βάση)<sup>[13]</sup>

Protein	Carbohydrates	Fibers	Oil	Ash
Tomato peels				
10.0	7.8	55.9	3.6	2.7
5.7	8.2	65.6	3.8	2.8
20.0		46.1	1.7	5.6
13,6	1,1		2,5	2,9
10,1		29,9	3,2	25,6
Tomato seeds				
24.5	2.9	19.1	28.1	5.4
16.6	26.0	19.4	28.5	5.6
32.6		14.8	22.4	4.8
25,2	2,9		15,0	3,7
20,2		53,8	6,4	5,2

#### 2.4.6.1 Περιεχόμενα αμινοξέα του παραπροϊόντος της τομάτας

Η περιεκτικότητα σε αμινοξέα του παραπροϊόντος τομάτας (φλοιοί και σπόροι) ή των σπόρων και των φλοιών τομάτας παρουσιάζεται στον Πίνακα 14. Τα κύρια απαραίτητα αμινοξέα του παραπροϊόντος τομάτας είναι γλουταμινικό οξύ, ασπαρτικό οξύ, σερίνη, γλυκίνη, αλανίνη, τυροσίνη, κυστεΐνη, λευκίνη, ισολευκίνη, λυσίνη, μεθειονίνη, φαινυλαλανίνη, θρεονίνη, αργινίνη και βαλίνη. Το γλουταμινικό οξύ είναι το πιο άφθονο αμινοξύ στο παραπροϊόν τομάτας και στο πρωτεΐνικό κλάσμα του φλοιού της τομάτας.<sup>[13]</sup>

**Πίνακας 14.** Περιεκτικότητα σε αμινοξέα του παραπροϊόντος τομάτας<sup>[13]</sup>

Amino acids	Tomato pomace (Tsatsaronis & Boskou, 1975)	Tomato seeds (Persia et al., 2003)	Tomato peels (Elbadrawy & Sello, 2016)	Tomato pomace (Nour et al., 2018)
Aspartic acid	20.2	2.8	0.7	15.7
Glutamic acid	33.6	5.1	14.6	72.1
Serine	10.9	1.3	-	1.7
Glycine	12.2	-	4.3	6.3
Threonine	7.7	0.9	-	5.5
Arginine	12.7	2.5	4.3	14.6
Alanine	7.6	1.1	5.0	7.1
Tyrosine	6.0	1.0	3.4	6.9
Valine	8.7	1.2	4.6	5.4
Phenylalanine	6.7	1.3	3.1	6.1
Isoleucine	6.3	1.1	3.9	6.9
Leucine	10.9	1.7	5.1	10.7
Lysine	9.3	1.5	4.4	8.8
Cystine	1.1	0.4	0.4	2.3
Methionine	1.5	0.4	1.0	2.7

#### 2.4.6.2 Περιεχόμενα λιπαρά οξέα του παραπροϊόντος της τομάτας

Το κύριο λιπαρό οξύ στο παραπροϊόν τομάτας είναι το λινελαϊκό οξύ (50-52%), ακολουθούμενο από το ελαϊκό οξύ (18-28%) και παλμιτικό οξύ (12-16%). Τα κορεσμένα λιπαρά οξέα αντιπροσωπεύουν το 18-23% των συνολικών λιπαρών οξέων, ενώ τα μονοακόρεστα και τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα υπολογίζονται στο 19-29% και 53-57%, αντίστοιχα, αποκαλύπτοντας την υπεροχή των ακόρεστων λιπαρών οξέων έναντι των κορεσμένων λιπαρών οξέων στο παραπροϊόν τομάτας. [13]

#### 2.4.6.3 Διατροφική αξία των φλοιών της τομάτας

Η θρεπτική αξία των φλοιών μελετήθηκε με τον προσδιορισμό της περιεκτικότητάς τους σε πρωτεΐνες, έλαιο, τέφρα, υδατάνθρακες και μέταλλα. Επιπλέον, εντοπίστηκαν λιπαρά οξέα του ελαίου φλοιών και αμινοξέα της πρωτεΐνης φλοιών. Τα δεδομένα στον Πίνακα 15 συνοψίζουν την μέση σύνθεση, τα ποσοστά λιπαρών οξέων και την περιεκτικότητα σε ανόργανα άλατα των φλοιών της τομάτας. [14]

**Πίνακας 15.** Χημική σύνθεση, περιεκτικότητα σε μέταλλα και λιπαρά οξέα των φλοιών της τομάτας.<sup>[14]</sup>

Chemical composition (g/100 g)		Minerals content (mg/100 g)	
Protein	10.50	Ca	160
Fat	4.04	Mg	149
Ash	5.90	Fe	1.50
Carbohydrates	78.56	Cu	1.10
Fatty acids (%)		Cr	0.06
Myristic acid	0.34	Co	0.01
Palmitic acid	15.19	Ni	0.66
Stearic acid	6.84	Zn	3.12
Total Saturated	22.37	Mn	1.40
Palmitoleic acid	1.82	Na	73.6
Oleic acid	19.14	Se	0.01
Linoleic acid	52.41	Pb	0.05
Linolenic acid	4.26	Cd	0.02
Total Unsaturated	77.63	K	1097

#### 2.4.6.3.1 Περιεχόμενα αμινοξέα των φλοιών της τομάτας

Τα αμινοξέα στους φλοιούς της τομάτας παρουσιάζονται στον Πίνακα 16. Τα εκτιμώμενα αμινοξέα αποτελούν περίπου το 66,62% της συνολικής πρωτεΐνης. Το μεγαλύτερο σε συγκέντρωση αμινοξύ είναι το γλουταμινικό οξύ που αντιπροσωπεύει 14,56 g/100 g πρωτεΐνης. Η πρωτεΐνη φλοιών τομάτας περιέχει εννέα απαραίτητα αμινοξέα με συνολικό ποσοστό 47,57%. Τα μη απαραίτητα αμινοξέα αντιπροσωπεύουν περίπου το 52,41% των συνολικών αμινοξέων. Όσον αφορά τα απαραίτητα αμινοξέα, η λευκίνη, η βαλίνη, η λυσίνη, η αργινίνη, η ισολευκίνη και η φαινυλαλανίνη έχουν τις υψηλότερες τιμές ενώ η μεθειονίνη τη χαμηλότερη. Από την άλλη πλευρά, τα μη απαραίτητα αμινοξέα με υψηλές τιμές είναι το γλουταμινικό οξύ, η αλανίνη, η γλυκίνη και η τυροσίνη, ενώ η κυστεΐνη και το ασπαρτικό οξύ έχουν τις χαμηλότερες τιμές μεταξύ όλων των αμινοξέων.<sup>[14]</sup>

**Πίνακας 16.** Περιεκτικότητα σε αμινοξέα (g/100 g πρωτεΐνης) των φλοιών της τομάτας.<sup>[14]</sup>

Essential amino acids	g/100 g Protein	Nonessential amino acids	g/100 g Protein
Threonine	2.34	Aspartic	0.70
Valine	4.58	Serine	3.08
Methionine	1.02	Glutamic	14.56
Isoleucine	3.86	Proline	2.78
Leucine	5.07	Glycine	4.29
Phenylalanine	3.12	Alanine	5.02
Histidine	3.64	Cystine	0.39
Lysine	4.40	Tyrosine	3.42
Arginine	4.34	Ammonia	1.42

#### 2.4.6.4 Σπόροι της τομάτας

Οι φλοιοί και οι σπόροι της τομάτας είναι πλούσιες πηγές πολλών ευεργετικών ενώσεων για την υγεία, όπως ασκορβικό οξύ, καροτίνη, λυκοπένιο και φαινολικές ενώσεις. Άλλα σημαντικά συστατικά είναι οι στερόλες και η πολυκοσανόλη από τους σπόρους τομάτας και ειδικότερα από το σπορέλαιο τομάτας. Η κατανάλωση πηκτής που παράγεται από σπόρους τομάτας μπορεί να ενισχύσει την κυκλοφορία του αίματος, αποτρέποντας έτσι τον σχηματισμό θρόμβων αίματος. Οι τομάτες χρησιμοποιούνται για την ανάπτυξη μίας μεγάλης ποικιλίας προϊόντων, όπως πουρές, αποξηραμένες σκόνες, χυμοί, σάλτσες και κέτσαπ. Ωστόσο, οι φλοιοί και οι σπόροι είναι τα πιο ανεπαρκώς χρησιμοποιούμενα μέρη του καρπού, προσθέτοντας στο σύνολο των απορριμμάτων τροφής και αποτελούν περιβαλλοντική απειλή. Η διάταξη των σπόρων σε έναν καρπό τομάτας και η μορφολογία των σπόρων τομάτας φαίνονται στην Εικόνα 1.



## **Εικόνα 1.** Η τομάτα και οι σπόροι της. [15]

### 2.4.6.4.1 Θρεπτικά συστατικά των σπόρων της τομάτας (πρωτεΐνες, λιπίδια)

#### 2.4.6.4.1.1 Πρωτεΐνες των σπόρων της τομάτας

Οι σπόροι τομάτας έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη που κυμαίνεται από 16,6-39,3% (ξηρού βάρους), και οι απελαιωμένοι αποξηραμένοι σπόροι ακόμη υψηλότερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη που κυμαίνεται από 24,5-40,9%, αντίστοιχα. Εκτός από την υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, οι σπόροι τομάτας παρουσιάζουν υψηλή ποιότητα πρωτεΐνης που υπερβαίνει τις συστάσεις του WHO/FAO/UNU όσον αφορά την περιεκτικότητά τους σε αμινοξέα.

Η σύνθεση πρωτεΐνης, γενικά, καθορίζει τις λειτουργικές ιδιότητες που απαιτούνται για την ενσωμάτωσή της σε μια συγκεκριμένη μήτρα τροφίμων. Οι πρωτεΐνες των σπόρων τομάτας που εντοπίστηκαν μετά τον χαρακτηρισμό αποτελούνται από αλβουμίνες, γλοβουλίνες, γλιαδίνες και γλουτενίνες. Πιο συγκεκριμένα, οι γλοβουλίνες αποτελούν περίπου το 60-70% της περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη, ενώ τα δευτερεύοντα κλάσματα είναι κυρίως διαλυτές γλουτενίνες και γλιαδίνες.

Όσον αφορά τη βιολογική αξιολόγηση των πρωτεϊνών σπόρων τομάτας, παρουσιάζουν υψηλή τιμή Αναλογίας Αποδοτικότητας Πρωτεϊνών (PER) 2,18-2,66 και τιμή Καθαρής Χρήσης Πρωτεϊνών (NET) 55, που υποδηλώνει την παρουσία πρωτεϊνών υψηλής ποιότητας. Η σύνθεση αμινοξέων των πρωτεϊνών καθορίζει τη θρεπτική τους ποιότητα. Η τυπική σύνθεση αμινοξέων των πρωτεϊνών σπόρων τομάτας παρουσιάζεται στον Πίνακα 17. Οι πρωτεΐνες τομάτας περιέχουν όλα τα απαραίτητα αμινοξέα που αποτελούν το 39,5% της συνολικής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες. Οι αναλογίες των υδρόφιλων αμινοξέων (λυσίνη, ιστιδίνη, ασπαρτικό οξύ, γλουταμινικό οξύ και αργινίνη) και των υδρόφιβων αμινοξέων (αλανίνη, βαλίνη, λευκίνη, ισολευκίνη και φαινυλαλανίνη) βρίσκονται 41,6% και 26,4%, αντίστοιχα. Τα αμινοξέα με γεύση υπαπί (γλουταμινικό και ασπαρτικό οξύ) είναι τα κυρίαρχα, ακολουθούμενα από αργινίνη, λυσίνη, βαλίνη και λευκίνη. Η μεθειονίνη και η κυστεΐνη βρίσκονται σε χαμηλές συγκεντρώσεις που χαρακτηρίζονται ως τα περιοριστικά αμινοξέα των πρωτεϊνών των σπόρων τομάτας. Η ποιότητα πρωτεΐνης των παραπροϊόντων επεξεργασίας τομάτας είναι χαμηλότερη από την αντίστοιχη των ζωικών πρωτεϊνών, αλλά αρκετά παρόμοια με αυτή των περισσότερων φυτικών πρωτεϊνών. Ωστόσο, οι υψηλές συγκεντρώσεις σε γλουταμινικό και ασπαρτικό οξύ και ιδιαίτερα στη λυσίνη, σε σύγκριση με άλλες φυτικές πρωτεΐνες, κάνουν η χρήση πρωτεϊνών σπόρων τομάτας ευνοϊκή για τον εμπλουτισμό των τροφίμων.<sup>[16]</sup>

**Πίνακας 17.** Σύνθεση αμινοξέων πρωτεϊνών σπόρων τομάτας<sup>[16]</sup>

Amino acid	Content (% w/w)
Glutamic acid	13.5-24.7
Aspartic acid	5.1-12.0
Lysine	3.2-6.9
Threonine	1.9-7.2
Valine	2.3-7.9
Leucine	4.0-7.6
Isoleucine	2.4-4.9
Phenylalanine	2.6-6.6
Methionine	1.0-2.1
Arginine	5.6-11.3
Glycine	4.8-9.0
Proline	3.4-10.2
Cysteine	1.0-1.7
Serine	2.1-7.0
Alanine	2.4-8.4
Tyrosine	1.9-4.9
Histidine	2.5
Tryptophan	1.2

#### 2.4.6.4.1.2 Λιπίδιατων σπόρων της τομάτας

Οι σπόροι της τομάτας, περιέχουν σημαντικές ποσότητες ελαίου, επομένως θεωρούνται αξιοποίησιμη πηγή ελαίου. Το έλαιο που ανακτάται από τους σπόρους της τομάτας γίνεται βρώσιμο μετά τον εξευγενισμό. Το ακόρεστο επίπεδο των λιπαρών οξέων είναι μία σημαντική ποιοτική παράμετρος των βρώσιμων ελαίων τόσο από την άποψη της υγιεινής διατροφής όσο και από τη σταθερότητα του προϊόντος. Η σύνθεση λιπαρών οξέων του ελαίου των σπόρων της τομάτας παρουσιάζεται στον Πίνακα 18. Η σύνθεσή του είναι παρόμοια με αυτή του βαμβακέλαιου. Τα ακόρεστα λιπαρά οξέα, που αντιπροσωπεύουν περίπου το 80% της συνολικής περιεκτικότητας σε λιπίδια, έχει αποδειχθεί ότι μειώνουν τα επίπεδα τριγλυκεριδίων στο αίμα και την αρτηριακή πίεση και επιδεικνύουν προστατευτικές ιδιότητες έναντι των καρδιακών παθήσεων. Το τοματέλαιο ανήκει στην ομάδα ελαίων λινελαϊκού-ελαϊκού οξέος με υψηλή περιεκτικότητα σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, ιδιαίτερα σε λινελαϊκό οξύ (έως και 57%). Περιέχει επίσης μονοακόρεστα λιπαρά οξέα, όπως ελαϊκό οξύ (έως 30%) και κορεσμένα λιπαρά οξέα (παλμιτικό, στεατικό και αραχιδονικό οξύ).

Το έλαιο σπόρων τομάτας περιέχει επίσης φαινολικά οξέα, πολυφαινόλες και φλαβονοειδή που παρέχουν αντιοξειδωτικές και αντιβακτηριδιακές ιδιότητες στο έλαιο. Είναι πλούσιο σε βιοδραστικές ενώσεις όπως τοκοφερόλη (282 mg/kg), λυκοπένιο (95 mg/kg), πολυκοζανόλη (70 mg/kg), φυτοστερόλη (11 mg/kg), β-καροτίνη (4,5 mg/kg) και φαινολική ενώσεις (20μgGA/100g). Το τοματέλαιο παρουσιάζει οξειδωτική και θερμική σταθερότητα υψηλότερη από εκείνη άλλων εμπορικών ελαίων με παρόμοιο επίπεδο ακόρεστου και αυτό μπορεί να αποδοθεί στα αντιοξειδωτικά που υπάρχουν στο έλαιο σπόρων τομάτας, όπως οι τοκοφερόλες και οι πολυφαινόλες. [16]

**Πίνακας 18.** Σύνθεση λιπαρών οξέων του ελαίου των σπόρων της τομάτας [16]

Fatty acid	Concentration (%)
Linoleic acid (C18:2)	37-57
Palmitic acid (C16:0)	7-24
Oleic acid (C18:1)	18-30
Stearic acid (C18:0)	4-13
Linolenic acid (C18:3)	1-6
Myristic acid (C14:0)	0.1-2.3
Palmitoleic acid (C16:1)	0.3-7
Margaric acid (C17:0)	0.1-0.3
Arachidic acid (C20:0)	0.2-3

#### 2.4.6.4.2 Πρωτεϊνικά προϊόντα από σπόρους τομάτας

Μετά την εκχύλιση του ελαίου από τους σπόρους της τομάτας, παραμένει ένα υπόλειμμα που ονομάζεται «απελαιωμένο άλευρο από τοματόσπορο». Μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ζωοτροφή ή να καθαριστεί και να τυποποιηθεί ως εμπορεύσιμο προϊόν με την ονομασία «άλευρο από απελαιωμένους σπόρους τομάτας». Η υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη (38-55% ξηρού βάρους) και η υψηλή πρωτεϊνική αξία του άλευρου σπόρων τομάτας το καθιστούν κατάλληλο για απομόνωση πρωτεΐνων. Έτσι, το άλευρο σπόρων τομάτας μπορεί να χρησιμοποιηθεί περαιτέρω για την παραλαβή πρωτεϊνικών προϊόντων χρησιμοποιώντας τεχνολογικές διαδικασίες παρόμοιες με αυτές που εφαρμόζονται στους ελαιούχους σπόρους. Η μέση σύσταση του απελαιωμένου άλευρου σπόρων τομάτας (σε ξηρή βάση) παρουσιάζεται στον Πίνακα 21.<sup>[16]</sup>

**Πίνακας 21.** Μέση σύνθεση του απελαιωμένου αλεύρου των σπόρων τομάτας<sup>[16]</sup>

Components (% w/w)	Tomato pomace
Protein	38-55
Oil	1.2-4.2
Fibers	15.1-32.5
Carbohydrates	5.4-29.1
Ash	3.9-9.6

Ανάλογα με την περιεκτικότητά τους σε πρωτεΐνη, τα πρωτεϊνικά προϊόντα κατηγοριοποιούνται σε πρωτεϊνικά άλευρα, συμπυκνώματα και υπερσυμπυκνώματα με περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη περίπου 50%, 70% και υψηλότερη από 90-95%, αντίστοιχα. Τα πρωτεϊνούχα άλευρα προκύπτουν άμεσα με την απελαίωση από τους σπόρους της τομάτας. Σε περίπτωση που τα πρωτεϊνικά άλευρα προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση, απαιτείται προεπεξεργασία των σπόρων (καθαρισμός από ξένα υλικά και προσμίξεις) προκειμένου να διασφαλιστεί η ποιότητά τους. Τα πρωτεϊνικά άλευρα είναι τυποποιημένα ως προς την περιεκτικότητά τους σε πρωτεΐνες και διατίθενται στην αγορά για χρήση σε τρόφιμα.

Τα συμπυκνώματα πρωτεΐνης προέρχονται από απελαιωμένες νιφάδες σπόρων τομάτας είτε μετά από εκχύλιση υδατανθράκων, αλάτων και άλλων ουσιών χαμηλού μοριακού βάρους, έτσι ώστε οι αδιάλυτες πρωτεΐνες λαμβάνονται ή μετά από διαχωρισμό των πρωτεϊνικών συστατικών με αέριους κυκλώνες. Τα προϊόντα που προκύπτουν παρουσιάζουν διαφορετικές λειτουργικές ιδιότητες ανάλογα με τη μέθοδο που εφαρμόζεται και παρουσιάζουν

περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη 70-72% και βελτιωμένες οργανοληπτικές ιδιότητες. Έχουν 2-2,5 φορές μεγαλύτερη αξία σε πρωτεϊνική βάση σε σύγκριση με το πρωτεϊνικό άλευρο.

Η παραγωγή υπερσυμπυκνωμάτων βασίζεται στην εκχύλιση, τον καθαρισμό και την ανάκτηση των πρωτεϊνών από απελαιωμένες νιφάδες σπόρων τομάτας. Σε αντίθεση με τα συμπυκνώματα πρωτεϊνών, η προσέγγιση απομόνωσης επιτυγχάνεται με διάλυση των πρωτεϊνών με τις περισσότερες προσμίξεις που παραμένουν στο στερεό κλάσμα. Οι απελαιωμένες νιφάδες προτιμώνται έναντι των πλήρους λιπαρών νιφάδων για να διευκολυνθεί η διαδικασία εκχύλισης. Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες των υπερσυμπυκνωμάτων που απαντώνται ξεπερνά το 90%, παρέχοντάς τους χαρακτηριστικές ιδιότητες που τα καθιστούν κατάλληλα για εφαρμογές τροφίμων.<sup>[16]</sup>

#### 2.4.6.4.3 Λειτουργικές ιδιότητες των σπόρων τομάτας

Μελέτες έχουν δείξει ότι οι πρωτεΐνες που απομονώνονται από τους σπόρους τομάτας παρουσιάζουν υψηλή σταθερότητα και καλή ικανότητα γαλακτωματοποίησης, αφρισμού και απορρόφησης ελαίου. Μετά από αξιολόγηση των θρεπτικών ιδιοτήτων και των τεχνολειτουργικών ιδιοτήτων του αλεύρου σπόρων τομάτας (TSM) παρατηρήθηκε ότι οι αλκαλικές συνθήκες (pH 8-9) βελτίωσαν τις τεχνο-λειτουργικές του ιδιότητες. Το απελαιωμένο TSM εμφάνισε υψηλότερη σταθερότητα γαλακτώματος, ενισχυμένη γαλακτωματοποιητική δραστικότητα, 50 φορές μεγαλύτερη σταθερότητα αφρού, 10 φορές μεγαλύτερη δραστικότητα αφρισμού και υψηλότερη ικανότητα συγκράτησης νερού (WHC) και ελαίου (OHC). Οι υδατάνθρακες που υπάρχουν στο TSM περιέχουν επίσης υδρόφιλα μέρη, όπως φορτισμένες ή πολικές πλευρικές αλυσίδες, οι οποίες μπορούν να ενισχύσουν την WHC. Οι υδρόφιβες πρωτεϊνικές περιοχές και οι μη πολικές πλευρικές αλυσίδες αμινοξέων μπορούν να ενσωματωθούν με μόρια ελαίου, αυξάνοντας περαιτέρω την OHC.<sup>[22]</sup>

Εκτός από τις λειτουργικές ιδιότητες των διαφόρων συστατικών των σπόρων τομάτας, τα βιοενεργά συστατικά των σπόρων τομάτας προσδίδουν πολυάριθμα οφέλη για την υγεία στον άνθρωπο. Συνοψίζοντας, τα διάφορα βιοενεργά συστατικά και οι επιπτώσεις τους στην ανθρώπινη υγεία φαίνονται στον Πίνακα 22.

**Πίνακας 22.** Βιοδραστικές ενώσεις σε σπόρους τομάτας και η επίδρασή τους στην ανθρώπινη υγεία.<sup>[22]</sup>

Compound	Major Effects
<b>Carotenoids</b>	
Lycopene	Anti-oxidant Anti-inflammatory Positive effects in case of colitis Positive effects in case of cardiovascular diseases
β-carotene	Anti-cancerous Prevention of atherosclerosis Prevention of photooxidative processes Prevention of congestive heart disease
β-lutein	Preservation of eye sight Role in atrophic age-related muscular degeneration Positive effects in case of cardiovascular diseases Anti-oxidant, enforces DNA against damages
<b>Vitamins</b>	
Folates	Regulation of metabolism homocysteine; anemia alleviation Decreases the risk of prostate cancer
Vitamin E	Prevention of type II diabetes Prevention of cardiovascular diseases Anti-inflammatory Role in atrophic age-related muscular degeneration Antithrombotic
Vitamin C	Regulation of inflammation Anti-cancerous Insulin metabolism
<b>Minerals</b>	
	Blood pressure maintenance Muscle contraction Neuro-muscular coordination Prevents excitotoxicity Vasodilator Bone formation and maintenance

#### 2.4.6.4 Εφαρμογές των σπόρων της τομάτας ως συστατικό σε λειτουργικά τρόφιμα

Οι σπόροι τομάτας είναι εμπλουτισμένοι σε συστατικά που έχουν αποδειχθεί σε πρόσφατες έρευνες ότι έχουν θρεπτικές, τεχνολογικές και διατροφικές επιδράσεις. Ως αποτέλεσμα, οι ερευνητές έχουν επικεντρωθεί στη χρήση των σπόρων τομάτας για τη διατροφή των ζώων, ως συστατικό αρτοποιίας και ως πρώτη ύλη για την εξαγωγή ελαίου και πρωτεΐνων, προκειμένου να μειωθούν τα περιβαλλοντικά προβλήματα που προκαλούνται από τα απόβλητα τομάτας, ενώ παράλληλα λαμβάνουν υπόψη τις ιδιότητες από τους σπόρους τομάτας. Λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς τους σε πρωτεΐνες, οι περισσότερες εναλλακτικές χρήσεις των υπολειμμάτων σπόρων τομάτας επικεντρώνονται στις ζωοτροφές, χρησιμοποιούνται ως συμπλήρωμα για ζωοτροφές επειδή ενισχύουν την παραγωγή και την περιεκτικότητα σε λιπαρά του αγελαδινού γάλακτος και την ανάπτυξη των προβάτων.

Η σκόνη σπόρων τομάτας έχουν χρησιμοποιηθεί σε πολλά παραδείγματα έρευνας για την παρασκευή κράκερ και ψωμιού, αντίστοιχα. Η προσθήκη σκόνης σπόρων τομάτας αύξησε την ακατέργαστη πρωτεΐνη, τις διαλυτές, αδιάλυτες και συνολικές διαιτητικές ίνες, τα μέταλλα, το συνολικό περιεχόμενο φαινολών και τη συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα των κράκερ. Τα κράκερ που είχαν σκόνη σπόρων τομάτας είχαν υψηλότερες τιμές χρώματος α και β από τον

έλεγχο και τα χρώματα των TP4 και TP8 είχαν υψηλότερες βαθμολογίες στην οργανοληπτική ανάλυση. Οι δοκιμαστές εξέφρασαν την αρέσκειά τους για τα κράκερ εξίσου από την άποψη του χρώματος, της μυρωδιάς, της γεύσης, της τραγανότητας και της συνολικής αποδοχής. Αν και η αντικατάσταση του αλεύρου σίτου ενίσχυσε το επίπεδο πρωτεΐνης των νέων προϊόντων, οι αλλαγές στην υφή και την ποιότητα γεύσης των νέων προϊόντων μπορεί να επηρεάσουν την αποδοχή σε κάποιο βαθμό.<sup>[23]</sup>

Η σύνθεση των σπόρων τομάτας έδειξε ότι αυτοί οι σπόροι είναι κατάλληλοι για χρήση στην παρασκευή ψωμιού. Μπορεί να συναχθεί το συμπέρασμα ότι η προσθήκη αλεύρου τομάτας στο ψωμί από αλεύρι σίτου αυξάνει τη θρεπτική αξία και την τεχνολογική του ποιότητα. Η προσθήκη αλεύρου τομάτας επηρεάζει τις φυσικές παραμέτρους, το χρώμα και την υφή του ψωμιού. Η προσθήκη αλεύρου τομάτας στη σύνθεση ψωμιού προκάλεσε μείωση στις τιμές L\* και b\*, ενώ οι τιμές a\* αυξήθηκαν στο χρώμα της ψίχας ψωμιού. Αυτή η μελέτη έδειξε ότι το αλεύρι από σπόρους τομάτας μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να αντικαταστήσει το αλεύρι σίτου στην παραγωγή ψωμιού έως και 10%, με μέτρια επίδραση στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του ψωμιού. Η ανάλυση του κύριου συστατικού του συνόλου δεδομένων έδειξε υψηλές συσχετίσεις μεταξύ των φυσικών χαρακτηριστικών του ψωμιού και ορισμένων από τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του ψωμιού.<sup>[24]</sup>

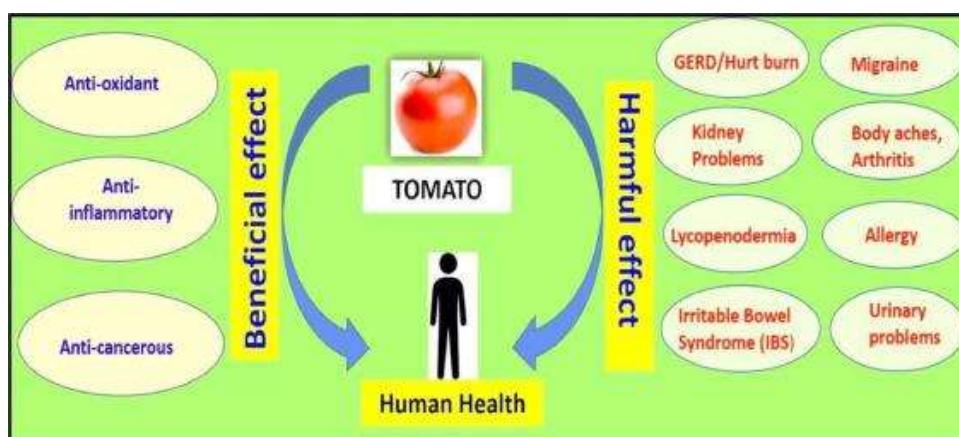
Οι παράμετροι σύνθετων αλεύρων σίτου-τομάτας που αναλύονται, δηλαδή πρωτεΐνη, λίπος και τέφρα, αυξάνονται με το επίπεδο αύξησης της προσθήκης σπόρων τομάτας στο αλεύρι σίτου, υποδεικνύοντας το γεγονός ότι το ψωμί με αλεύρι από σπόρους τομάτας (TSF) θα παρουσιάζει υψηλότερη θρεπτική αξία και ενεργειακή αξία για τους καταναλωτές. Σύμφωνα με τα ρεολογικά δεδομένα, όλα τα δείγματα ζυμαριού με προσθήκη TSF είναι πιο σταθερά και ενισχυμένα σε σύγκριση με το δείγμα ελέγχου παρουσιάζοντας υψηλότερες τιμές σταθερότητας ζυμαριού και χρόνου ανάπτυξης. Αυτό το γεγονός υποδεικνύει στους αρτοποιούς ότι το ζυμάρι με προσθήκη TSF παρουσιάζει μεγαλύτερη ικανότητα να διατηρεί το σχήμα του κατά τη διάρκεια της διόγκωσης και επομένως μπορεί να ζυμωθεί για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα. Επίσης, το ζυμάρι με προσθήκη TSF θα παρουσιάζει μεγαλύτερη ικανότητα συγκράτησης του αερίου που σχηματίζεται κατά τη διαδικασία της ζύμωσης, γεγονός που θα επηρεάσει το πορώδες του ψωμιού. Η υψηλότερη αντοχή ζυμαριού για τα δείγματα με TSF δείχνει ότι το ψωμί που θα παραληφθεί, θα παρουσιάζει πιο σφιχτή υφή. Κατά τη διάρκεια της τεχνολογικής διαδικασίας τα δείγματα ζυμαριού με προσθήκη TSF παρουσιάζουν την ικανότητα να διατηρήσουν τη μορφή τους, γεγονός που θα δημιουργήσει τη δυνατότητα παράτασης της φάσης ζύμωσης λόγω μεγαλύτερης ικανότητας συγκράτησης του αερίου που σχηματίζεται κατά τη διαδικασία αυτή. Επίσης, μετά το ψήσιμο τα προϊόντα αρτοποιίας μπορεί να παρουσιάζουν μεγαλύτερους όγκους φραντζόλας και πορώδες λόγω του γεγονότος ότι με την παράταση της διαδικασίας ζύμωσης η ποσότητα του αερίου που απελευθερώνεται θα αυξηθεί και μπορεί να συγκρατηθεί από το σύστημα ζυμαριού λόγω της υψηλής ελαστικότητάς του. Έτσι, εξάγεται το συμπέρασμα ότι ο σπόρος τομάτας, ως πλήρης μορφή αλεύρου, μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην παρασκευή ψωμιού με ανάμειξη με αλεύρι σίτου ακόμη και σε υψηλά επίπεδα έως και 20%, ως εναλλακτική λύση για την ανάπτυξη νέων προϊόντων αρτοποιίας. Η προσθήκη TSF αυξάνει την αντοχή του ζυμαριού, και διά τούτου προτείνεται η χρήση του για αλεύρι σίτου καλής ποιότητας για παρασκευή ψωμιού με υψηλή περιεκτικότητα σε γλουτένη.<sup>[25]</sup>

#### 2.4.6.4.5 Επίδραση της κατανάλωσης σπόρων τομάτας στην ανθρώπινη υγεία

Οι σπόροι τομάτας μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ενίσχυση της υγείας και την πρόληψη ασθενειών λόγω των μεταλλικών στοιχείων και των φυτοχημικών συστατικών που περιέχουν. Πολλοί μύκητες, βακτήρια, ιοί και έντομα, προστατεύονται από αυτές τις ενώσεις. Οι σπόροι τομάτας δεν περιέχουν αντιθερπτικούς παράγοντες ή τοξικά στοιχεία, γεγονός που τους καθιστά καλύτερη πηγή πρωτεΐνων, λιπιδίων ή βιοδραστικών ουσιών από άλλες μη παραδοσιακές πηγές. Επιπλέον, μια μερίδα 20 g σπόρων τομάτας συνεισφέρει σχετικά ελάχιστα στο ανεκτό ανώτερο όριο πρόσληψης νατρίου, το οποίο ορίζεται ως το υψηλότερο επίπεδο ημερήσιας κατανάλωσης θρεπτικών συστατικών που είναι απίθανο να προκαλέσει δυσμενείς συνέπειες για την υγεία σχεδόν σε όλους τους ανθρώπους του γενικού πληθυσμού (2.2 %). Αυτή η συνεισφορά πρέπει να ληφθεί υπόψη, επειδή είναι γνωστό ότι η αυξημένη πρόσληψη χλωριούχου νατρίου αυξάνει την αρτηριακή πίεση και σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου. Επιπλέον, οι σπόροι συμβάλλουν σημαντικά στα κύρια αντιοξειδωτικά ( $28 \pm 7\%$  των συνολικών φαινολικών,  $25 \pm 4\%$  των συνολικών φλαβονοειδών,  $11 \pm 4\%$  του λυκοπενίου και  $19 \pm 1\%$  του ασκορβικού οξέος) και της συνολικής αντιοξειδωτικής δράσης ( $23 \pm 5\%$ ) τομάτας. Η αφαίρεση των σπόρων από τις τομάτες κατά το μαγείρεμα στο σπίτι και την επεξεργασία οδηγεί σε σημαντική απώλεια όλων των κύριων αντιοξειδωτικών της τομάτας. Ως εκ τούτου, είναι σημαντικό να καταναλώνονται οι τομάτες μαζί με τους σπόρους τους για να επιτευχθούν τα μέγιστα οφέλη για την υγεία. Η υψηλή κατανάλωση φλοιού και σπόρων τομάτας από τον άνθρωπο μπορεί να οδηγήσει σε σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου (IBS) και να προκαλέσει φούσκωμα και διάρροια.<sup>[26]</sup>

**Πίνακας 23.** Δυσμενείς επιπτώσεις από την κατανάλωση τομάτας.<sup>[22]</sup>

Disease	Reasons
Allergies	B-fructofuranosidase, Lyc e 2, Lyc e 3, profilin, superoxide dismutase, pectin esterase, polygalacturonase, lipid transfer protein cyclophilin
Gastrointestinal reflux disease (heartburn)	Organic acids (citric and malic acids) are the most potent triggers of acid reflux in prone individuals and higher tomato consumers
Kidney problems	High potassium and oxalate concentrations; oxalate can react with calcium, increasing risk of kidney stones (calcium oxalate)
Irritable bowel syndrome (IBS)	High amount consumption of skin and seeds of tomato
Lycopenodermia	High amount of lycopene in blood
Urinary problems	Organic acids
Body aches, arthritis	Glycoalkaloids (tomatine and solanine), tomato and its derived products
Migraine	Tomato and its derived products



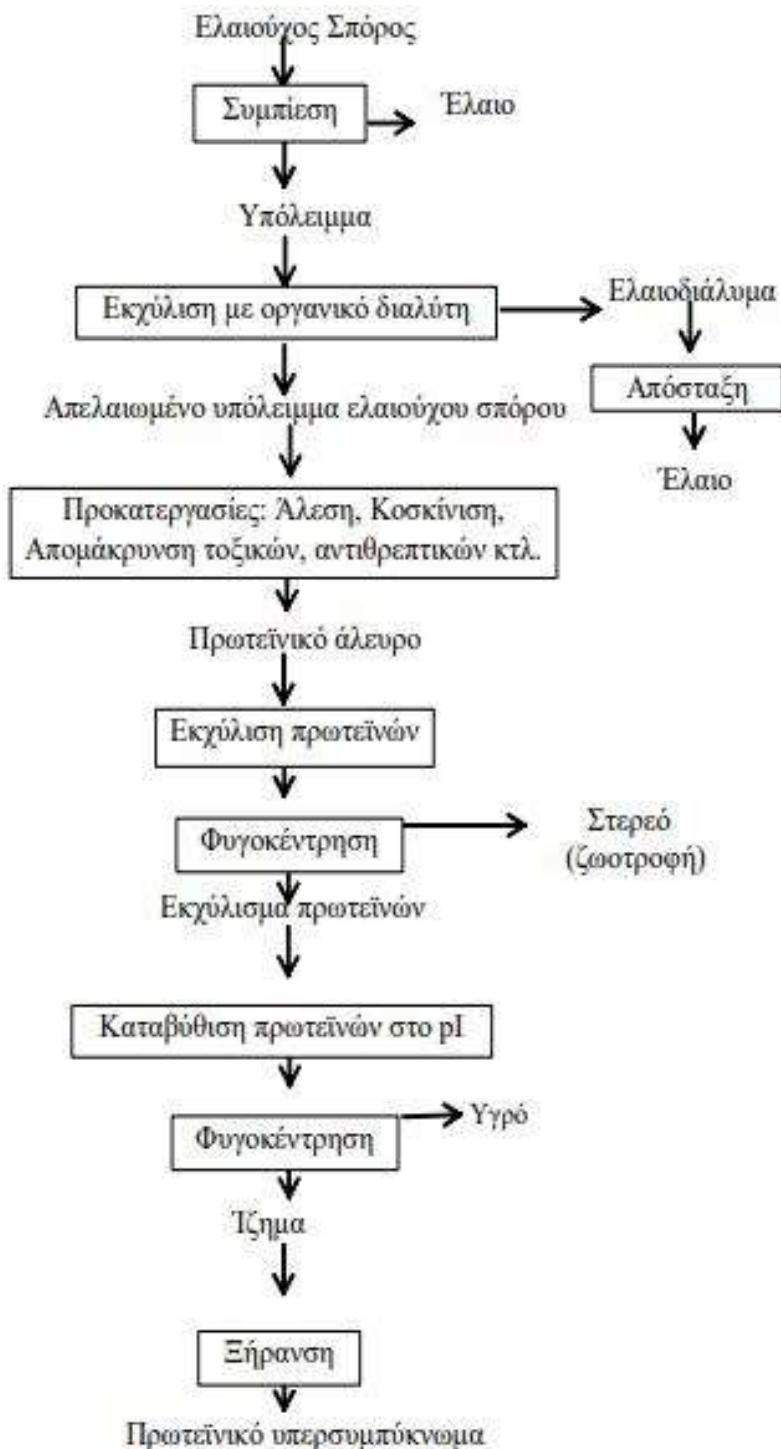
**Σχήμα 12.** Ευεργετικές και βλαβερές επιδράσεις της τομάτας στην ανθρώπινη υγεία.<sup>[27]</sup>



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΠΑΡΑΛΑΒΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ ΥΠΕΡΣΥΜΠΥΚΝΩΜΑΤΩΝ

### 3.1 Γενικά

Για την παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων χρησιμοποιείται κύρια η μέθοδος της διαλυτοποίησης - καταβύθισης των αζωτούχων συστατικών (σχήμα 13): οι πρωτεΐνες εκχυλίζονται συνήθως με αλκαλικό διάλυμα, και στη συνέχεια καταβύθιζονται στο ισοηλεκτρικό τους σημείο. Η μέθοδος της διαλυτοποίησης - καταβύθισης μπορεί να εφαρμοστεί σε άλευρο ή ακόμα και σε συμπύκνωμα. Για την αποτελεσματική εκχύλιση των πρωτεϊνών απαιτείται καταστροφή της κυτταρικής δομής. Η διάσπαση της κυτταρικής δομής είναι δυνατόν να γίνει μηχανικά, με χημική ή με ενζυμική κατεργασία, με υπερήχους ή μικροκύματα κ.λπ. Από τις παραπάνω μεθόδους προτιμάται η μηχανική καταστροφή των κυτταρικών τοιχωμάτων με άλεση, διότι είναι τεχνολογικά απλή και δεν προκαλεί πρωτεϊνική μετουσίωση. Η λεπτότητα της άλεσης του υλικού παίζει ρόλο στην εκχύλιση, συνήθως ικανοποιητικές εκχυλίσεις επιτυγχάνονται με μέγεθος σωματιδίων 200-400μμ. Οι πρωτεΐνες του άλευρου μπορούν να διαλυτοποιηθούν σε αλκαλικό διάλυμα και κατόπιν να διηθηθούν ή να φυγοκεντρηθούν για να απομακρυνθεί το στερεό υπόλειμμα (πολυσακχαρίτες, ίνες, αδιάλυτες αζωτούχες ενώσεις). Η καταβύθιση των πρωτεϊνών στο ισοηλεκτρικό σημείο ακολουθείται από φυγοκέντρηση και έκπλυνση του πρωτεϊνικού ιζήματος ώστε να απομακρυνθούν ολιγοσακχαρίτες, άλατα και άλλες διαλυτές ουσίες που συγκαταβύθιζονται με τις πρωτεΐνες. Η ξήρανση πραγματοποιείται με διάφορες τεχνικές υπό κενό, με ψεκασμό, υπό κατάψυξη. Μετά την ξήρανση παραλαμβάνεται ένα πρωτεϊνικό υπερσυμπύκνωμα που περιέχει 90% πρωτεΐνη ή και περισσότερο. Όσον αφορά τα πρωτεϊνικά συμπυκνώματα, αυτά μετά την ξήρανση προκύπτουν να περιέχουν περίπου 65-75% πρωτεΐνες, 15-25% αδιάλυτους υδατάνθρακες, 4-6% ανόργανα άλατα και 0.3-1.2% λιπαρά.<sup>[1]</sup>



**Σχήμα 13.** Παραλαβή πρωτεΐνικών υπερσυμπυκνωμάτων<sup>[1]</sup>

Τα πρωτεΐνικά υπερσυμπυκνώματα είναι ακριβότερα από τα συμπυκνώματα λόγω των πρόσθετων φυσικών και χημικών διεργασιών, αλλά και λόγω της επιτυγχανόμενης ανάκτησης των πρωτεΐνων του αρχικού υλικού, η οποία μπορεί να φτάσει το πολύ σε 75%. Άλλος ένας λόγος είναι ότι οι ολιγοσακχαρίτες και τα ανόργανα άλατα δεν απομακρύνονται πλήρως κατά τη μέθοδο παραλαβής πρωτεΐνικού συμπυκνώματος. Η απομάκρυνση των ανεπιθύμητων συστατικών και η γνώση της καμπύλης διαλυτότητας της πρωτεΐνης είναι οι κυριότερες παράμετροι που πρέπει να ληφθούν υπ' όψη προκειμένου να επιτευχθεί υψηλή ανάκτηση και

ικανοποιητικός καθαρισμός των πρωτεϊνικών συστατικών. Με τις περισσότερες πίτες ή άλευρα, οι μέθοδοι με την υγρή κατεργασία απομακρύνουν ένα μεγάλο μέρος των αντιθρεπτικών ή τοξικών παραγόντων (γκοσσυπόλη, αφλατοξίνες), αλλά αυξάνουν τη συγκέντρωση αντιθρεπτικών παραγόντων πρωτεϊνικής φύσης (αναστολείς τρυψίνης, αιματογλουτίνες). Η αδρανοποίηση αυτών δεν γίνεται σε υγρή κατάσταση με θέρμανση προς αποφυγή της μεταβολής των λειτουργικών ιδιοτήτων, αλλά εφαρμόζεται μετά την προσθήκη του συμπυκνώματος στο τρόφιμο κατά το ψήσιμο.<sup>[1]</sup>

### 3.2 Εκχύλιση των πρωτεϊνών των σπόρων της τομάτας

Η διαδικασία εκχύλισης βασίζεται στη διάλυση πρωτεΐνης με τη χρήση ορισμένων διαλυτών. Υδατικοί ή μη υδατικοί οργανικοί διαλύτες έχουν εξεταστεί, ανάλογα με τη διαλυτότητα των πρωτεϊνών. Για παράδειγμα, οι αλβουμίνες είναι διαλυτές στο νερό (pH 6-8), οι γλοβουλίνες σε αραιά διαλύματα αλάτων και οι γλουτελίνες σε αραιά όξινα ή αλκαλικά διαλύματα. Διάφοροι παράγοντες θα πρέπει να ληφθούν υπόψη για να επιτευχθεί η μέγιστη ικανότητα εκχύλισης των πρωτεϊνών χωρίς να επηρεάζεται η δομή και η λειτουργικότητά τους, συμπεριλαμβανομένων των μέσων εκχύλισης, της θερμοκρασίας, του pH, της ανάδευσης, της αναλογίας υγρού προς στερεό, του μεγέθους σωματιδίων του αλεσμένου στερεού υλικού και του χρόνου εκχύλισης. Οι συνθήκες διεργασίας θα πρέπει να σχεδιάζονται προσεκτικά ώστε να βελτιώνουν την εκχύλιση πρωτεϊνών και να μεγιστοποιούν την απόδοση πρωτεΐνης χωρίς να μετουσιώνονται οι πρωτεΐνες ή να επηρεάζονται οι λειτουργικές τους ιδιότητες. Στη βιβλιογραφία, εκτός από το αλκαλικό σύστημα, διαλύματα αλάτων ( $\text{NaCl}$  ή  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) εξετάστηκαν επίσης κατά την εκχύλιση πρωτεΐνης από σπόρους τομάτας με αποτέλεσμα χαμηλότερες αποδόσεις εκχύλισης αλλά υπερσυμπυκνώματα με αυξημένη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη (93% κατά  $\text{NaCl}$  5%). Ο διαχωρισμός του υδατικού εκχυλίσματος πρωτεΐνης από τα στερεά επιτυγχάνεται με φυγοκέντρηση.<sup>[16]</sup>

#### 3.2.1 Τεχνικές εκχύλισης πρωτεϊνών

##### 3.2.1.1 Συμβατικές μέθοδοι εκχύλισης πρωτεϊνών

Οι συμβατικές μέθοδοι αναφέρονται στις κοινώς χρησιμοποιούμενες τεχνικές που μερικές φορές μπορεί να έχουν ως αποτέλεσμα χαμηλότερες αποδόσεις εκχύλισης λόγω αποικοδόμησης πρωτεΐνης. Αυτή η μείωση στην απόδοση πρωτεΐνης διέπεται από διάφορους παράγοντες, όπως ο χρόνος εκχύλισης, οι διαλύτες, το pH και η θερμοκρασία. Ως εκ τούτου, οι μη θερμικές πράσινες τεχνολογίες χρησιμοποιούνται σε μεγαλύτερο βαθμό για τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας της εκχύλισης και τη μείωση της αποικοδόμησης των πρωτεϊνών κατά την εκχύλιση.

Οι χημικές μέθοδοι ταξινομούνται με βάση τους διαφορετικούς διαλύτες εκχύλισης που χρησιμοποιούνται όπως νερό, βάσεις, διαλύτες και οξέα. Η αποτελεσματικότητα της μεθόδου απομόνωσης πρωτεΐνης εξαρτάται κυρίως από τη φύση του δείγματος πρωτεΐνης. Η επεξεργασία του φυτικού δείγματος για εκχύλιση πρωτεΐνης συνήθως χωρίζεται σε τρία στάδια, δηλαδή, απελαύωση του δείγματος, εκχύλιση και καθίζηση πρωτεΐνης. Στην απελαύωση, διαλύτες όπως ο πετρελαϊκός αιθέρας, το n-εξάνιο και το n-πεντάνιο χρησιμοποιούνται για την απομάκρυνση των ενώσεων που παρεμβαίνουν στην εκχύλιση πρωτεϊνών. Στη συνέχεια, οι πρωτεΐνες εκχυλίζονται σε υδατική εκχύλιση με βάση ζεστό ή

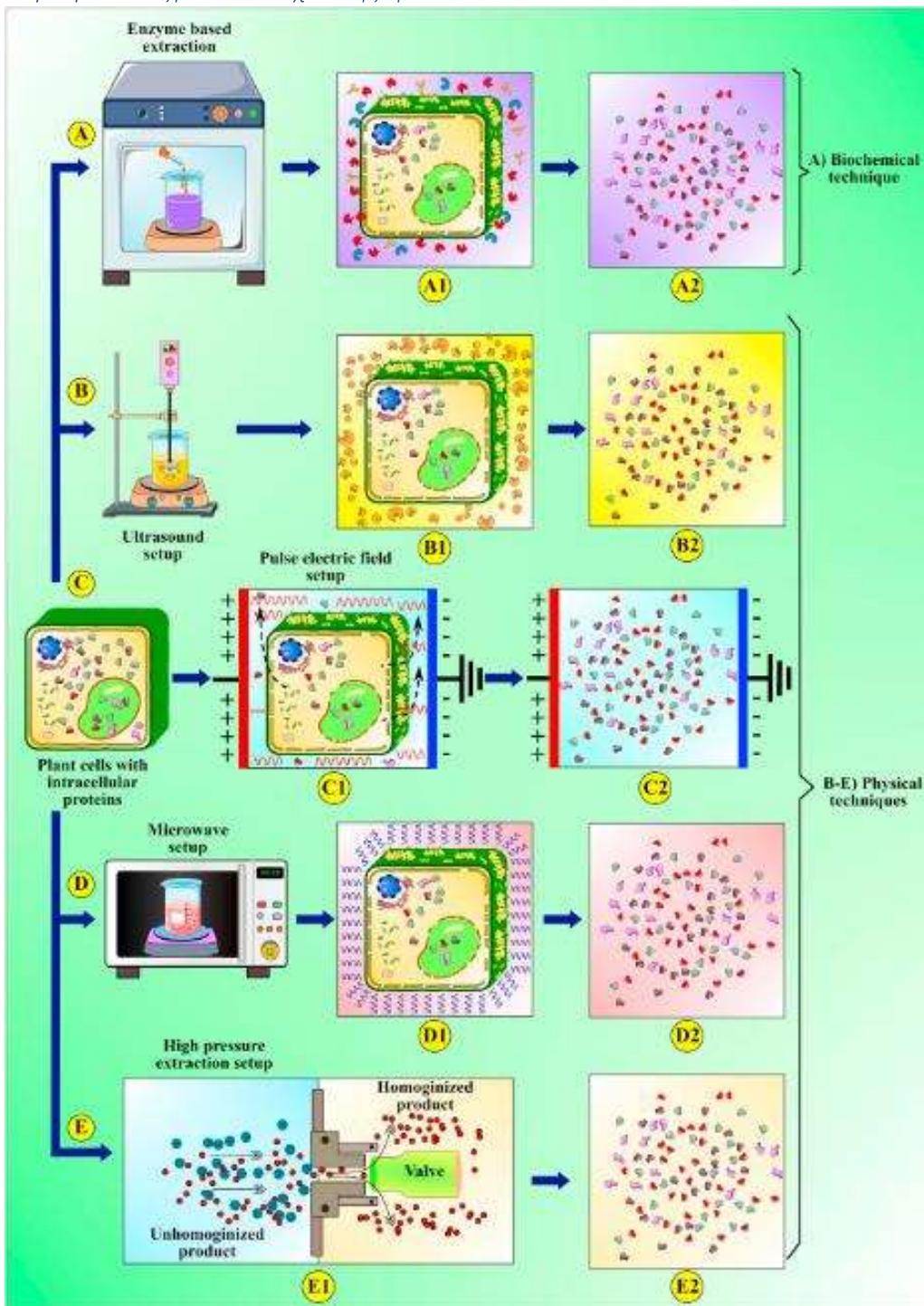
κρύο νερό. Αλκοόλες (αιθανόλη, μεθανόλη), ρυθμιστικά διαλύματα/ισχυρά μετουσιωτικά (για παράδειγμα ουρία ή Tris-HCl, φαινόλη) χρησιμοποιούνται στην εκχύλιση. Τέλος, η απομονωμένη πρωτεΐνη καταβυθίζεται με χρήση χημικών ή διαλυτών όπως θεικό αμμώνιο, αιθανόλη, μεθανόλη, ακετόνη, κιτρικό οξύ, τριχλωροξικό οξύ, υδροχλωρικό οξύ στο ισοηλεκτρικό σημείο. Το ίζημα περιέχει πρωτεΐνη η οποία μπορεί να ανακτηθεί με φυγοκέντρηση.<sup>[28]</sup>

### 3.2.1.1.1 Αλκαλική εκχύλιση πρωτεΐνών

Η αλκαλική εκχύλιση είναι η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη συμβατική μέθοδος για την εκχύλιση πρωτεΐνών με βάση τα φυτικά υλικά. Τα αλκάλια όπως το NaOH και το KOH χρησιμοποιούνται συνήθως για τη διατήρηση του βασικού pH και την επίτευξη υψηλότερης απόδοσης εκχύλισης. Το βασικό pH είχε ως αποτέλεσμα τη διάσπαση των δισουλφιδικών δεσμών στην πρωτεΐνη που με τη σειρά της βελτιώνει την ανάκτηση και την απόδοση της πρωτεΐνης. Η διαλυτότητα των πρωτεΐνών αυξάνεται με την αύξηση του pH του διαλύτη λόγω του ιονισμού όξινων και ουδέτερων αμινοξέων σε υψηλό pH. Επομένως, η εκχύλιση πρωτεΐνης σε αλκαλικό περιβάλλον δίνει υψηλότερες αποδόσεις πρωτεΐνης. Η θερμοκρασία παίζει καθοριστικό ρόλο στην αλκαλική εκχύλιση σταθεροποιώντας τη δομή της πρωτεΐνης και την αναδίπλωσή της, ενώ βοηθά επίσης στη διατήρηση των ομοιοπολικών αλληλεπιδράσεων εντός της πρωτεΐνικής δομής. Πολλές μελέτες ανέφεραν ότι συνθήκες όπως η αναλογία δείγματος προς διαλύτη, η συγκέντρωση του διαλύτη, το χρονικό διάστημα και η θερμοκρασία μπορούν να βελτιστοποιηθούν για να επιτευχθεί η μέγιστη απόδοση πρωτεΐνης με χαμηλό κόστος. Η αλκαλική εκχύλιση φυτικών πρωτεΐνών ενισχύει τη βιοδιαθεσιμότητα και την πεπτικότητα της εκχυλισμένης φυτικής πρωτεΐνης ενώ επίσης υποβαθμίζει την ποιότητα της πρωτεΐνης με μετουσίωση, τον σχηματισμός λυσινοαλανίνης, τη διασύνδεση, την υδρόλυση πρωτεΐνών και απώλεια αμινοξέων.<sup>[29]</sup>

Οι συμβατικές τεχνικές εκχύλισης είναι χρονοβόρες, ενεργοβόρες και δεν είναι φιλικές προς το περιβάλλον λόγω της χρήσης διαλυτών, βάσεων και οξέων. Η συμβατική εκχύλιση με βάση το οξύ είναι λιγότερο ελπιδοφόρα λόγω της χαμηλότερης και κατώτερης ποιότητας των εκχυλισμένων πρωτεΐνών. Από την άλλη πλευρά, η αλκαλική εκχύλιση σε υψηλό pH μπορεί να παράγει μία πρωτεΐνική απόδοση μεγαλύτερη από 90% από καλλιέργειες σόγιας, ελαιοκράμβης και άλλων ελαιούχων σπόρων. Αν και η αλκαλική εκχύλιση μπορεί αναμφίβολα να βελτιώσει την απόδοση της εκχύλισης από τα άλευρα ελαιούχων σπόρων, ταυτόχρονα επηρεάζει σοβαρά την πεπτικότητα των πρωτεΐνών και αποσυνθέτει τη δομή της λυσίνης και του αμινοξέος κυστεΐνης, μειώνοντας τη συνολική ποιότητα και αποδοχή της εκχυλισμένης πρωτεΐνης. Αυτό μπορεί να αποφευχθεί διατηρώντας μία ισορροπία μεταξύ της ισχύος της βάσης και της αποτελεσματικότητας εξαγωγής πρωτεΐνών. Ως εκ τούτου, η προσαρμογή της συγκέντρωσης και της ποσότητας της βάσης, ειδικά για την πηγή πρωτεΐνης μπορεί να βοηθήσει στην ανάκτηση πρωτεΐνών υψηλής ποιότητας χωρίς να επηρεαστούν τα λειτουργικά τους χαρακτηριστικά. Η εφαρμογή των συμβατικών μεθόδων για την εκχύλιση πρωτεΐνών μπορεί να εφαρμοστεί σε έναν ευρύτερο αριθμό φυτικών μητρώων, συμπεριλαμβανομένων των ελαιούχων σπόρων, των οσπρίων, των δημητριακών και των αγρο-υπολειμμάτων.<sup>[28]</sup>

### 3.2.1.2 Μη συμβατικές μέθοδοι εκχύλισης πρωτεΐνών



**Σχήμα 14.** Μη συμβατικές μέθοδοι εκχύλισης πρωτεΐνών. Α) Βιοχημική μέθοδος εκχύλισης πρωτεΐνης. Αυτή η τεχνική περιλαμβάνει την εκχύλιση πρωτεΐνης με τη χρήση ενός ή μείγματος πολλαπλών ενζύμων. Αυτά τα ένζυμα υδρολύουν τον φραγμό του κυτταρικού τοιχώματος (Α1) και βοηθούν στην απελευθέρωση των πρωτεΐνικών συστατικών στο περιβάλλον μέσο (Α2). Τα Β, Κ, Δ και Ε είναι οι φυσικές μέθοδοι εκχύλισης πρωτεΐνης από τις φυτικές μήτρες. Όπου, Β) Εκχύλιση με υπερήχους (UAE) πρωτεΐνών. Τα ενεργειακά κύματα από τον υπέρηχο οδηγούν στο σχηματισμό φυσαλίδων σπηλαιώσης στην επιφάνεια του κυτταρικού τοιχώματος, διαταράσσοντας τελικά το κυτταρικό τοίχωμα (Β1) και τη μεμβράνη του κυττάρου απελευθερώνοντας την ενδοκυτταρική πρωτεΐνη στον περιβάλλοντα διαλύτη (Β2). Γ) Εκχύλιση με παλμικό ηλεκτρικό πεδίο (PEFAE)

πρωτεϊνών. Σε αυτή την τεχνική τα φυτικά δείγματα υποβάλλονται σε υψηλή ένταση ηλεκτρικού πεδίου για σύντομο χρονικό διάστημα από μικρού ύψους χιλιοστά του δευτερολέπτου (C1). Αυτό το ηλεκτρικό πεδίο δημιουργεί πόρους στην κυτταρική μεμβράνη και βοηθά στην απελευθέρωση των ενδοκυτταρικών πρωτεϊνών στον διαλύτη εκχύλισης, βελτιώνοντας έτσι τις αποδόσεις εκχύλισης (C2). Δ) Εκχύλιση πρωτεϊνών με τη βοήθεια μικροκυμάτων (MAE). Η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία που παράγεται στο σύστημα μικροκυμάτων ενισχύει τη διείσδυση του διαλύτη στη φυτική μήτρα (D1) και διευκολύνει τη μετακίνηση των διαλυτών πρωτεϊνών στον διαλύτη, αυξάνοντας την ανάκτηση της πρωτεΐνης (D2). Ε) Υψηλής πίεσης υποβοηθούμενη εκχύλιση (HPE) πρωτεϊνών. Η πίεση αποσυνθέτει τους ιστούς και τα κύτταρα των φυτών διαταράσσοντας το κυτταρικό τοίχωμα (E1), αυτό ενισχύει τη μεταφορά μάζας των γύρω διαλυτών στο φυτικό κυτταρικό τοίχωμα και βελτιώνει την απόδοση εκχύλισης των πρωτεϊνών (E2).<sup>[28]</sup>

### 3.2.1.2.1 Εκχύλιση με τη βοήθεια ενζύμων

Η εκχύλιση με τη βοήθεια ενζύμων (ΕΑΕ) είναι μια αξιόπιστη προσέγγιση για την εμπορική ανάκτηση φυτικών πρωτεϊνών υψηλής ποιότητας. Ένα άκαμπτο κυτταρικό τοίχωμα λειτουργεί ως εμπόδιο για την εξαγωγή κυτταρικών πρωτεϊνών. Κυρίως, η ΕΑΕ επικεντρώνεται στο να σπάει το κυτταρικό τοίχωμα μέσω της ενζυμικής αποικοδόμησης των συστατικών του κυτταρικού τοιχώματος (ημικυτταρίνη, κυτταρίνη και πηκτίνη). Οι ειδικές δραστικότητες πηκτινασών στην αποσύνθεση του κυτταρικού τοιχώματος βοηθούν στην οργανωμένη απελευθέρωση κυτταρικών πρωτεϊνών από τους σπόρους των οσπρίων, των ελαιούχων σπόρων και των δημητριακών. Οι πρωτεάσες αυξάνουν την απόδοση πρωτεΐνης αποσυνδέοντας τις πρωτεΐνες από τη πολυσακχαριτική μήτρα. Η αποικοδόμηση του κυτταρικού τοιχώματος βοηθά στην απελευθέρωση κυτταρικών πρωτεϊνών. Μετά την απελευθέρωση αυτών των πρωτεϊνών, οι πρωτεάσες κλασματοποιούν τις πρωτεΐνες υψηλού μοριακού βάρους σε μικρότερα και πιο διαλυτά τμήματα, παρέχοντας έτσι ευνοϊκές συνθήκες εκχύλισης. Επιπλέον, οι πρωτεάσες λειτουργούν υπό το βέλτιστο pH, αποφεύγοντας τη μετουσίωση της πρωτεΐνης. Μία τυπική δόση 1-5% g ή mL ενζύμου/g υποστρώματος πρωτεάσης θεωρείται η βέλτιστη για διάφορες διαδικασίες εκχύλισης. Αυτά τα ένζυμα μπορούν επίσης να αποτρέψουν το σχηματισμό συμπλόκου μεταξύ των απελευθερωμένων πρωτεϊνών και των διακριτών κυτταρικών συστατικών όπως οι υδατάνθρακες και τα φυτικά υπό συγκεκριμένες φυσιολογικές συνθήκες. Τα ένζυμα χρειάζονται μία σειρά από όξινα και αλκαλικά περιβάλλοντα για να λειτουργήσουν με τη βέλτιστη καταλυτική τους απόδοση. Γενικά, οι υδατάνθρακες λειτουργούν σε ήπια όξινα περιβάλλοντα ενώ αρκετές πρωτεάσες λειτουργούν υπό ήπιες αλκαλικές συνθήκες. Οι πρωτεάσες που λειτουργούν σε αλκαλικό περιβάλλον έχουν βέλτιστο εύρος pH και θερμοκρασίας 8–10 και 45–60 °C, αντίστοιχα. Οι πολύ μεγάλες περίοδοι επώασης με πρωτεάσες θα μπορούσαν να μεταμορφώσουν το προϊόν και επίσης να αυξήσουν τη μικροβιακή ανάπτυξη και το κόστος επεξεργασίας.<sup>[30]</sup>

Η βιοχημική εκχύλιση χρησιμοποιώντας μεμονωμένα ή πολλαπλά ένζυμα χρησιμοποιεί τυπικά ένζυμα αποικοδόμησης του κυτταρικού τοιχώματος (κυτταρινάσες και αλκαλάσες), τα οποία βοηθούν στην ανάκτηση πρωτεϊνών ανώτερης ποιότητας με καλές ιδιότητες γαλακτωματοποίησης. Οι πρωτεΐνες που εκχυλίζονται με αυτές τις βιοχημικές μεθόδους (χρησιμοποιώντας μεμονωμένα ή πολλαπλά ένζυμα) παρουσιάζουν υψηλή θερμική σταθερότητα, χαμηλό ιξώδες και χαμηλότερη αντοχή σε οξειδωτική βλάβη. Αυτή η στρατηγική εκχύλισης μπορεί δυνητικά να προσαρμοστεί για την επίτευξη προϊόντων πρωτεΐνης με βελτιωμένες λειτουργικές ιδιότητες (αφρισμός, διαλυτότητα, δραστικότητα γαλακτωματοποίησης και σταθερότητα) και βιολογικές ιδιότητες (χηλίωσης μετάλλων,

αντιοξειδωτική και σάρωση ελεύθερων ριζών). Επομένως, η εκχύλιση πρωτεϊνών με τη μεσολάβηση των ενζύμων μπορεί να είναι κατάλληλη για τη μεγάλης κλίμακας παραγωγή πρωτεϊνών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανάπτυξη μίας ποικιλίας λειτουργικών τροφίμων. Οι αποδόσεις του προϊόντος μπορούν να αυξηθούν περαιτέρω εάν αυτή η στρατηγική ενσωματωθεί διαδοχικά με τεχνικές φυσικής εκχύλισης (μικροκύματα, υπέρηχοι ή υψηλή πίεση) για την εκχύλιση πρωτεΐνης από φυτικές μήτρες. Παρόλο που η ΕΑΕ έχει επίσης πολλά μειονεκτήματα όπως: είναι αργή, λειτουργικά ακριβή (η υπερβολική τιμή των ενζύμων), υπάρχει δυσκολία στην κλιμάκωση της εκχύλισης, παρουσιάζονται κακές αποδόσεις και πρόκειται για ενεργοβόρα τεχνική, εξακολουθεί να θεωρείται αποτελεσματική καθώς προκαλεί ελάχιστες αρνητικές επιπτώσεις στην περιβάλλον με υψηλή απόδοση πρωτεΐνης. Αυτή η τεχνική εκχύλισης αποδίδει προϊόντα διατροφής ανώτερης ποιότητας, κατάλληλα για ανθρώπινη κατανάλωση. Επίσης, η επαναχρησιμοποίηση ακινητοποιημένων ενζύμων θα μπορούσε να μειώσει αποτελεσματικά το κόστος της εκχύλισης πρωτεΐνης χρησιμοποιώντας αυτή τη μέθοδο. Τα οικονομικά ένζυμα ποιότητας τροφίμων θα μπορούσαν να βοηθήσουν στην παροχή μιας χρήσιμης εναλλακτικής λύσης στη χημική και φυσική εκχύλιση.<sup>[28]</sup>

Στη βιβλιογραφία παρουσιάζεται υψηλότερη απόδοση πρωτεΐνης που προκύπτει από την εκχύλιση πρωτεϊνών από άλευρα σόγιας και ελαιοκράμβης όταν χρησιμοποιήθηκαν σερίνη, ενδο- και εξωπρωτεάσες σε σύγκριση με την απόδοση πρωτεΐνης που προέκυψε χωρίς προσθήκη ενζύμου. Διαπιστώθηκε επίσης ότι η ΕΑΕ (αλκαλάση) πρωτεϊνών από άλευρο παραπροϊόντος *sacha inchi* (*Plukenetia volubilis* L.) οδήγησε σε υψηλότερη ( $\approx 1,5$  φορές) ανάκτηση πρωτεϊνών από αυτή που λαμβάνεται μέσω αλκαλικής εκχύλισης. Πιο πρόσφατα, εφαρμόστηκαν επεξεργασίες με δύο ένζυμα(α-αμυλάση και αμυλογλυκοσιδάση) και τρία ένζυμα (α-αμυλάση, αμυλογλυκοσιδάση και  $\beta$ -1,3,4-γλυκανάση) για την εκχύλιση πρωτεϊνών από απελαιωμένο άλευρο κριθαριού, με απόδοση πρωτεΐνης 49% και 78,3%, αντίστοιχα. Ομοίως, το απελαιωμένο άλευρο σόγιας υποβλήθηκε σε επεξεργασία με ξυλανάση, πηκτινάση και κυτταρινάση, με αποτέλεσμα την αύξηση της απόδοσης πρωτεΐνης κατά 21% σε σύγκριση με την αλκαλική εκχύλιση 2 ωρών χωρίς ενζυματική επεξεργασία.<sup>[37]</sup>

### 3.2.1.2.2 Εκχύλιση με υπερήχους (UAE)

Στην εκχύλιση με υπέρηχους, το υπερηχητικό κύμα παράγει ακουστικές κοιλότητες και δημιουργεί εστίες υψηλότερης θερμοκρασίας και πίεσης, εξάγοντας έτσι τα συστατικά από τα φυτικά κύτταρα. Ο γρήγορος σχηματισμός και η κατάρρευση φυσαλίδων αερίου που δημιουργούνται από τα υπερηχητικά κύματα στην κυτταρική επιφάνεια του δείγματος, οι μικρο-ροές και τα κρουστικά κύματα ασκούν υψηλή διάτηση και μηχανική δύναμη, προκαλώντας διαταραχή της μεμβράνης και του κυτταρικού τοιχώματος. Ο περιβάλλον διαλύτης μπορεί στη συνέχεια να διεισδύσει αποτελεσματικά στα κύτταρα μέσω των ρωγμών στα κύτταρα και να απελευθερώσει τις ενδοκυτταρικές πρωτεΐνες στον διαλύτη. Η συχνότητα, η ισχύς, το χρονικό διάστημα, η θερμοκρασία, το pH, η αναλογία και η ένταση των υπερήχων είναι βασικοί παράγοντες της UAE.<sup>[31]</sup>

Η UAE είναι ασφαλής, γρήγορη, οικονομικά αποδοτική και φιλική προς τον χρήστη τεχνική εκχύλισης με εφαρμογές υψηλής κλίμακας στη βιομηχανία τροφίμων και φυσικών προϊόντων. Η μέθοδος της UAE απαιτεί λιγότερο χρόνο και έχει μειωμένες υποθερμικές επιδράσεις, καθώς

δεν απαιτεί υψηλή θερμοκρασία. Αυτό αυξάνει τις λειτουργικές ιδιότητες και μειώνει την αποικοδόμηση ή τη μετουσίωση των εκχυλισμένων πρωτεΐνων. Ως εκ τούτου, αυτή η μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί αποτελεσματικά για την επίτευξη υψηλών αποδόσεων πρωτεΐνων. Ωστόσο, η παρατεταμένη και υψηλότερη ισχύς υπερήχων μπορεί να μειώσει τις αποδόσεις των πρωτεΐνων, ανάλογα με τη φυτική πηγή. Οι ελεύθερες ρίζες υδροξυλίου που παράγονται από την UAE διεγείρουν τη συσσώρευση πρωτεΐνων λόγω του σχηματισμού δισουλφιδικών δεσμών μεταξύ των υπολειμμάτων κυστεΐνης. Η παρατεταμένη ακουστική ανάδευση που προκαλείται από τη σπηλαίωση κατά τη διάρκεια της διεργασίας UAE έχει ως αποτέλεσμα τη μετουσίωση των διαλυτών πρωτεΐνικών κλασμάτων, μειώνοντας τελικά την ανάκτηση πρωτεΐνης. Έτσι, η βελτιστοποίηση των παραμέτρων της UAE για τα διάφορα είδη φυτικών μητρώων είναι κρίσιμη για την επίτευξη υψηλών αποδόσεων και ταυτόχρονα τη διατήρηση των λειτουργικών ιδιοτήτων της πρωτεΐνης. Η UAE σε συνδυασμό με συμβατικές μεθόδους όξινης εκχύλισης ή με άλλες μη συμβατικές μεθόδους εκχύλισης (είτε φυσικές είτε βιοχημικές) μπορεί να βελτιώσει σημαντικά τις αποδόσεις πρωτεΐνης.<sup>[28]</sup>

Στη βιβλιογραφία παρουσιάζεται υψηλότερη απόδοση εκχύλισης πρωτεΐνης από πίτουρο σουσαμιού στην εκχύλιση με υπέρηχους 59,8%, σε σύγκριση με την απόδοση εκχύλισης της συμβατικής μεθόδου 24,5%. Επίσης, για άλευρο από φιστίκια, η εκχύλιση με την συμβατική μέθοδο έδειξε απόδοση πρωτεΐνης: 42,4%, ενώ η εκχύλιση με υπέρηχους έδειξε απόδοση πρωτεΐνης: 57,6% και βελτίωση της απορρόφησης νερού, της ιδιότητες αφρισμού, της γαλακτωματοποιητικής δραστικότητας και της πέψης των εκχυλιζόμενων πρωτεΐνων. Όσον αφορά τη σόγια, η εκχύλιση με υπέρηχους έδειξε καλύτερα αποτελέσματα σε μικρότερο χρόνο (20 min) σε σχέση με το μεγαλύτερο χρόνο της συμβατικής εκχύλισης (30 min). Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε αύξηση στην απόδοση εκχύλισης (40.29% με συμβατική, 44.30% με υπέρηχους), στην απόδοση καταβύθισης (45.27% με συμβατική, 52.54% με υπέρηχους), στην ολική απόδοση (18.40% με συμβατική, 23.43% με υπέρηχους) και στο πρωτεΐνικό περιεχόμενο των υπερσυμπυκνωμάτων (87.47% με συμβατική, 89.58% με υπέρηχους).<sup>[37]</sup>

### 3.2.1.2.3 Εκχύλιση με παλμικό ηλεκτρικό πεδίο (PEF).

Η εκχύλιση με PEF περιλαμβάνει την υποβολή του φυτικού υλικού σε έναν αριθμό παλμών με υψηλή ένταση ηλεκτρικού πεδίου στην περιοχή από 10–80 kV/cm για σύντομο χρονικό διάστημα από μερικά μικροδευτερόλεπτα έως χιλιοστά του δευτερολέπτου. Κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας το δείγμα συγκρατείται μεταξύ δύο ηλεκτροδίων και η τάση διαμεμβράνης επάγεται στην κυτταρική μεμβράνη, εξαρτάται από το πλάτος του ηλεκτρικού πεδίου, την ακτίνα κυψέλης και τη θέση της μεμβράνης σε σχέση με το διάνυσμα κατεύθυνσης ηλεκτρικού πεδίου. Με την έκθεση σε μεγάλη ποσότητα ηλεκτρικού πεδίου στο κύτταρο, η διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης για ιόντα και μόρια όπως το DNA και τις πρωτεΐνες αυξάνεται. Όταν αυτή η διαπερατότητα είναι παροδική φύσης, η μεμβράνη ανακτά την επιλεκτική της διαπερατότητα και το κύτταρο επιβιώνει και η ηλεκτροδιάτρηση ονομάζεται αναστρέψιμη, ενώ εάν υπάρχει κυτταρικός θάνατος, η ηλεκτροδιάτρηση είναι μη αναστρέψιμη. Το ηλεκτρικό πεδίο δημιουργεί μία σειρά από υδρόφοβους πόρους μέσα στην κυτταρική μεμβράνη. Αυτοί οι υδρόφοβοι πόροι μετατρέπονται αργότερα σε υδρόφιλους πόρους που έχουν τη δυνατότητα να μεταφέρουν βιομόρια σε όλο το κύτταρο. Η ηλεκτροδιάτρηση διευκολύνει τη μαζική μεταφορά των ενδοκυτταρικών συστατικών στην περιβάλλοντα μήτρα, επομένως βοηθά στη βελτίωση των αποδόσεων εκχύλισης βιοδραστικών ενώσεων. Η ένταση του ηλεκτρικού πεδίου ποικίλει ανάλογα με το μέγεθος

της κυψέλης π.χ. 5–20 kV/cm για μικρότερα κύτταρα όπως βακτήρια, 1–12 kV/cm για μικροφύκη και ζυμομύκητες και 0,5–5 kV/cm για φυτικά κύτταρα.<sup>[32]</sup>

Η εκχύλιση PEF είναι μία νέα μη θερμική τεχνική που χρησιμοποιείται για τη συντήρηση τροφίμων, τη μικροβιακή και ενζυμική αδρανοποίηση, την ενίσχυση της χημικής αντίδρασης και την εξαγωγή πρωτεϊνών από το κύτταρο. Αυτή η μέθοδος είναι συγκριτικά αναποτελεσματική στην επίτευξη υψηλότερων αποδόσεων πρωτεΐνης σε σύγκριση με άλλες μη συμβατικές μεθόδους. Η εκχύλιση με χρήση PEF σε χαμηλές θερμοκρασίες, με μεγαλύτερη διάρκεια παλμού και υψηλότερη ένταση ηλεκτρικού πεδίου προκαλεί μεγαλύτερη ανάκτηση των πρωτεϊνών. Ωστόσο, υπάρχει περαιτέρω ανάγκη για βελτιστοποίηση των παραγόντων εισόδου του PEF, για την εξαγωγή πρωτεϊνών στη φυσική τους κατάσταση. Είναι μία πολλά υποσχόμενη τεχνική σε σύγκριση με τις συμβατικές θερμικές επεξεργασίες, καθώς η ποιότητα της πρωτεΐνης επηρεάζεται ελάχιστα κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας και σε όλη την περίοδο αποθήκευσης. Η εκχύλιση PEF μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί ως μια πολλά υποσχόμενη μέθοδος για την απομόνωση ανασυνδυασμένων ενζύμων από μικρόβια στη φυσική τους δομική και λειτουργική διαμόρφωση με υψηλή ειδική δραστηριότητα. Η εκχύλιση πρωτεϊνών στην καθαρή τους μορφή (χωρίς την ανάγκη καθαρισμού) από βιομάζα μπορεί να κάνει αυτή την τεχνική μοναδική σε σύγκριση με άλλες συμβατικές και μη τεχνικές.<sup>[28]</sup>

Πρόσφατες μελέτες έχουν εφαρμόσει την εκχύλιση με PEF για την ανάκτηση πρωτεϊνών από διαφορετικές φυσικές πηγές. Έχει παρουσιαστεί αύξηση της απόδοσης εκχυλισμάτων πολυφαινόλης, λιγνίνης και πρωτεΐνης από σισαμόσπορο και στη βελτίωση της κινητικής της διάχυσης, μέσω της εκχύλισης με PEF. Πιο πρόσφατα, η τεχνολογία PEF εφαρμόστηκε για την απελευθέρωση και την εξαγωγή πρωτεϊνών από τα μικροφύκη Chlorella vulgaris και Neochloris oleoabundans. Η απόδοση πρωτεΐνης ήταν πολύ χαμηλότερη από αυτή που ελήφθη χρησιμοποιώντας μηχανικές προσεγγίσεις με υψηλότερη εισροή ενέργειας. Αν και η τεχνολογία PEF έχει συσχετιστεί με ολλαγές στη διαλυτότητα και στις λειτουργικές ιδιότητες των εκχυλισμένων πρωτεϊνών, αυτές οι τροποποιήσεις μπορεί να είναι ευεργετικές. Έτσι, έχει αναφερθεί ότι η επεξεργασία PEF της ελαιοκράμβης αυξάνει τη διαλυτότητα, τη γαλακτωματοποίηση και τις ιδιότητες αφρισμού των εκχυλισμένων πρωτεϊνών.<sup>[37]</sup>

### 3.2.1.2.4 Εκχύλιση με τη βοήθεια μικροκυμάτων (MAE)

Τα μικροκύματα είναι μη ιονίζουσα ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία με συχνότητα που κυμαίνεται από 300 MHz έως 300 GHz. Ο φόρνος μικροκυμάτων θερμάνει το δείγμα με τη συνδυασμένη δράση της περιστροφής του διπόλου και της ιοντικής αγωγιμότητας που οδηγεί σε διάσπαση των δεσμών H που υπάρχουν στο κυτταρικό τοίχωμα της φυτικής μήτρας. Αυτή η αντίδραση αυξάνει το πορώδες του κυτταρικού τοιχώματος διευκολύνοντας την καλύτερη διείσδυση του διαλύτη στο κύτταρο και την αποτελεσματική απελευθέρωση ενδοκυτταρικών ενώσεων στο σύστημα διαλυτών. Εφόσον τα μικροκύματα μετατρέπονται σε θερμική ενέργεια στη μήτρα, η παραγόμενη θερμότητα προκαλεί την εξάτμιση της υγρασίας που δημιουργεί υψηλή πίεση στα τοιχώματα των κυττάρων. Η MAE πραγματοποιείται σε σύστημα ανοιχτού ή κλειστού δοχείου ανάλογα με τις συνθήκες θερμοκρασίας και πίεσης. Το ανοιχτό σύστημα είναι κατάλληλο για διεργασίες σε συνθήκες περιβάλλοντος, ενώ τα κλειστά συστήματα είναι ιδανικά για συνθήκες υψηλής θερμοκρασίας και υψηλής πίεσης.<sup>[33]</sup>

Η επεξεργασία με μικροκύματα παράγει υψηλή ποσότητα θερμικής ενέργειας που προκαλεί την αποικοδόμηση των ασταθών στη θερμότητα βιοδραστικών ενώσεων, καθιστώντας την

ακατάλληλη για εκχύλιση πρωτεϊνών. Σύντομοι παλμοί μικροκυμάτων ή βελτιστοποίηση των παραμέτρων εισόδου μικροκυμάτων μπορεί να είναι μία εναλλακτική λύση για την αποτελεσματική εξαγωγή των φυτικών πρωτεϊνών. Ο ελάχιστος χρόνος εκχύλισης και η μικρότερη απαίτηση διαλύτη είναι τα βασικά οφέλη αυτής της τεχνικής. Διαδοχική εφαρμογή του φούρνου μικροκυμάτων με άλλες φυσικές ή βιοχημικές τεχνικές μπορεί να βελτιώσει την αποτελεσματικότητα της εκχύλισης πρωτεΐνης.<sup>[28]</sup>

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η χρήση ΜΑΕ έχει ως αποτέλεσμα υψηλότερες αποδόσεις φυτικών πρωτεϊνών σε σύγκριση με την τυπική αλκαλική διαδικασία. Πιο συγκεκριμένα, από την εκχύλιση των πρωτεϊνών πίτουρου ρυζιού προέκυψε με τη συμβατική μέθοδο, απόδοση εκχύλισης: 12,85% και περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη: 75,32% για χρόνο εκχύλισης 60 min. Σε πολύ μικρότερο χρόνο t=2 min, η εκχύλιση με τη βοήθεια μικροκυμάτων είχε ως αποτέλεσμα, απόδοση εκχύλισης: 15,68% και περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη: 79,98%. Για πίτουρο σουσαμιού, η συμβατική μέθοδος έδωσε περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη του υπερσυμπυκνώματος: 24,5%, ενώ η εκχύλιση με τη βοήθεια μικροκυμάτων έδωσε περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη: 43,8 έως 61,6%.<sup>[37]</sup>

### 3.2.1.2.5 Εξαγωγή με υποβοήθηση υψηλής πίεσης (HPAE)

Η HPAE επιτυγχάνεται σε τρία στάδια. Αρχικά, το προϊόν αναμιγνύεται με μέσα εκχύλισης και τοποθετείται μέσα στο δοχείο πίεσης. Η πίεση αυξάνεται από το περιβάλλον στο απαιτούμενο επίπεδο σε σύντομο χρονικό διάστημα. Η πίεση του υγρού κυμαίνεται συνήθως από 100 έως 1000 MPa. Καθώς η πίεση αυξάνεται, η διαφορική πίεση μεταξύ του εσωτερικού και του περιβάλλοντος των φυτικών κυττάρων αυξάνεται προκαλώντας παραμόρφωση των κυττάρων και καταστροφή του κυτταρικού τοιχώματος. Ο διαλύτης διεισδύει μέσω του κατεστραμμένου κυτταρικού τοιχώματος και της κυτταρικής μεμβράνης στο κύτταρο, αυξάνοντας τη μεταφορά μάζας των διαλυτών ενώσεων. Εάν η δύναμη συμπίεσης δεν υπερβαίνει το όριο παραμόρφωσης των κυψελών, ο διαλύτης διαπερνά τα τοιχώματα των κυττάρων υπό πίεση και γεμίζει τα κύτταρα γρήγορα. Στη συνέχεια, τα βιοενεργά συστατικά διαλύονται απευθείας στον διαλύτη. Εάν η συμπίεση του προϊόντος υπερβαίνει το όριο παραμόρφωσης του κυττάρου, το κυτταρικό τοίχωμα σπάει και οι δραστικές ενώσεις ρέουν έξω από το κύτταρο και διαλύονται στο διαλύτη. Στο στάδιο διατήρησης της πίεσης, η προκαθορισμένη πίεση διατηρείται για μία χρονική περίοδο για να εξισορροπηθεί η πίεση εντός και εκτός της κυψέλης. Ο διαλύτης συνεχίζει να διεισδύει μέσω του κυτταρικού τοιχώματος και να διαλύει τα συστατικά. Η απόδοση εκχύλισης μπορεί να αυξηθεί με την παράταση αυτού του σταδίου. Στο τελικό στάδιο, καθώς η πίεση απελευθερώνεται, η πίεση που συσσωρεύεται στο στοιχείο μειώνεται σε ατμοσφαιρική πίεση προκαλώντας την επέκταση του στοιχείου προκαλώντας παραμόρφωση. Με μικρότερο χρόνο απελευθέρωσης πίεσης, σχηματίζονται περισσότεροι πόροι στα κύτταρα αυξάνοντας την επιφάνεια της πρώτης ύλης και τη διάχυση μίας δραστικής ένωσης με αποτέλεσμα την υψηλή απόδοση εκχύλισης. Η HPAE εξαρτάται από διάφορους παράγοντες π.χ. πίεση εκχύλισης, χρόνος λειτουργίας, φύση και συγκέντρωση διαλύτη εκχύλισης και αναλογία στερεού-υγρού.<sup>[34]</sup>

Η HPAE είναι μια αναδυόμενη μη θερμική τεχνική που έχει μεγάλες δυνατότητες στον τομέα της προστασίας των τροφίμων, καθώς η θερμική επεξεργασία καταστρέφει τη θρεπτική αξία των τροφίμων. Η υψηλή πίεση μπορεί να εφαρμοστεί για να αδρανοποιήσει τα μικρόβια και τα ένζυμα, να τροποποιήσει τη δομή των κυττάρων χωρίς να αλλοιώσει την οργανοληπτική

ποιότητα του τροφίμου. Η εκχύλιση είναι ταχύτερη με υψηλή απόδοση. Δεδομένου ότι η εκχύλιση γίνεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, μπορεί να αποφευχθεί η θερμική αποικοδόμηση των ευαίσθητων στη θερμότητα συστατικών και των θρεπτικών ουσιών. Επειδή η HPAE είναι μια φιλική προς το περιβάλλον μέθοδος εκχύλισης, κερδίζει δημοτικότητα ως εναλλακτική λύση σε σχέση με τις συμβατικές μεθόδους εκχύλισης με βάση διαλύτες. Η εφαρμογή της HPAE μαζί με ενζυμική επεξεργασία, επεξεργασία με μικροκύματα ή επεξεργασία με υπέρηχους μπορεί να χρησιμοποιηθεί για περαιτέρω βελτίωση της ανάκτησης των φυτικών πρωτεΐνων.<sup>[28]</sup>

Η HPAE έχει χρησιμοποιηθεί πρόσφατα για την υδρόλυση πολλών πρωτεΐνων τροφίμων, συμπεριλαμβανομένων των: πρωτεΐνη φασολιών, πρωτεΐνη σόγιας, πρωτεΐνη ορού γάλακτος και πρωτεΐνη λιναρόσπορου. Η επεξεργασία υψηλής πίεσης χρησιμοποιήθηκε σε συνδυασμό με την ενζυμική υδρόλυση (ενζυμική υδρόλυση υποβοηθούμενη από HPAE) για τη βελτίωση της πρωτεόλυσης. Στην απομόνωση πρωτεΐνης σόγιας, η HPAE αύξησε σημαντικά την απελευθέρωση πεπτιδίων με αντιοξειδωτική δράση και ανασταλτική δράση καθώς ο βαθμός υδρόλυσης βελτιώθηκε σημαντικά από την αυξημένη πίεση από 0,1 σε 200 MPa.<sup>[37]</sup>

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### 4.1 Σκοπός

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων τοματόσπορου ύσηματος ως πρώτη ύλη πρωτεϊνικό άλευρο τοματόσπορου με τη χρήση νέων μεθόδων εκχύλισης πρωτεϊνών. Ειδικότερα, μελετάται η εκχύλιση με υπέρηχους και γίνεται σύγκριση αυτής με την συμβατική εκχύλιση με θερμό νερό χρησιμοποιώντας ως διαλύτη απιονισμένο νερό. Για την σύγκριση των δύο μεθόδων ως προς το εκχυλιστικό μέσο, χρησιμοποιήθηκαν ως διαλύτες ανθρακούχο νερό και ένας ευτηκτικός διαλύτης (χλωρίδιο της χολίνης:γλυκόζη, αναλογία mole 2:1). Για την παραγωγή των τελικών προϊόντων ακολουθείται η μέθοδος παραλαβής πρωτεϊνών με υδατική εκχύλιση σε λουτρό υπερήχων και καταβύθιση των πρωτεϊνών στο ισοηλεκτρικό τους σημείο. Επειδή το στάδιο της εκχύλισης αποτελεί το κυρίαρχο στάδιο της διαδικασίας παραλαβής πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων, η αριστοποίησή του είναι βασική επιδίωξη στην πορεία αριστοποίησης της όλης διεργασίας. Οι παράγοντες που εξετάζονται είναι ο χρόνος της εκχύλισης, το pH της εκχύλισης και ο λόγος του βάρους του εκχυλιζόμενου δείγματος προς τον όγκο του εκχυλιστικού μέσου. Οι παράγοντες αυτοί θεωρούνται οι σημαντικότεροι για την εκχύλιση των πρωτεϊνών από ελαιούχους σπόρους και είναι αυτοί που εξετάζονται συνηθέστερα στη βιβλιογραφία. Η διεργασία αξιολογείται ως προς την απόδοση εκχύλισης, την απόδοση καταβύθισης (ως προς τις εκχυλιζόμενες πρωτεΐνες), την ολική απόδοση και την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες των υπερσυμπυκνωμάτων. Τέλος, στα υπερσυμπυκνώματα αξιολογούνται οι λειτουργικές τους ιδιότητες και συγκεκριμένα η ικανότητα απορρόφησης νερού και η ικανότητα απορρόφησης ελαίου.

### 4.2 Υλικά – Εξοπλισμός

#### 4.2.1 Πρώτες Ύλες - Αντιδραστήρια

- Μείγμα τοματόσπορων και φλοιών τομάτας που προμηθεύτηκε από την εταιρία «KYKNOS».
- Εξάνιο
- Διάλυμα καυστικού νατρίου NaOH συγκέντρωσης 0.5 N
- Διάλυμα θειϊκού οξέος H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> συγκέντρωσης 0.5 N
- Θεικό κάλιο K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- Ένυδρος θειϊκός χαλκός CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O
- Διάλυμα πυκνού θειϊκού οξέος 95-98% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- Πυρήνες βρασμού
- Υδατικό διάλυμα NaOH 32% w/w (παρασκευασμένο από φυλλίδια στερεού NaOH)
- Απιονισμένο νερό (από τη στήλη παραγωγής απιονισμένου νερού του εργαστηρίου)
- Δείκτης ερυθρό μεθυλίου-μπλε μεθυλενίου (παρασκευασμένος στο εργαστήριο).
- Χλωρίδιο της χολίνης C<sub>5</sub>H<sub>14</sub>CINO
- Μονοϋδρική γλυκόζη C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>
- Αραβοσιτέλαιο
- Ανθρακούχο νερό (εμφιαλωμένο ανθρακούχο νερό της εταιρίας “ΖΑΓΟΡΙ”)

#### 4.2.2 Συσκευές – Όργανα

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

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

### 4.3 Πειραματική διαδικασία

#### 4.3.1 Προκατεργασία μείγματος σπόρων και φλοιών

Η αρχική πρώτη ύλη διαχωρίζεται σε σπόρους και φλοιούς με τεχνική καθίζησης. Οι σπόροι συλλέγονται και αφυδατώνονται στους 70°C για 3 ημέρες σε ξηραντήρα. Οι αποξηραμένοι σπόροι αλέθονται σε μύλο ώστε να προκύψει άλευρο ομοιόμορφου μεγέθους σωματιδίων με κοκκομετρία ίση με 0.5 mm και συλλέγεται σε δοχείο. Στο άλευρο που παραλαμβάνεται γίνεται απελαίωση χρησιμοποιώντας εξάνιο και στη συνέχεια γίνεται εξάτμιση του διαλύτη. Το εργαστηριακά απελαιωμένο άλευρο χρησιμοποιείται ως πρώτη ύλη στη διαδικασία της εκχύλισης. Η διαδικασία της απελαίωσης περιλαμβάνει τα παρακάτω βήματα:

Αρχικά ορισμένη ποσότητα πρώτης ύλης, ζυγισμένη με ακρίβεια 0.01 g, εισάγεται σε καρτούσα, η οποία στη συνέχεια τοποθετείται στη διάταξη Soxhlet. Ο διαλύτης (300-400 mL) τοποθετείται στον θερματόμενο μανδύα της διάταξης. Ρυθμίζεται η παροχή του νερού και η ένταση της θέρμανσης. Η εκχύλιση συνεχίζεται για περίπου 3-4 h, όπου παρατηρείται χρωματισμός του διαλύτη. Όταν ολοκληρωθεί η εκχύλιση, σταματά η θέρμανση και το σύστημα αφήνεται να ψυχθεί σε θερμοκρασία δωματίου. Τέλος, αφαιρείται η καρτούσα,

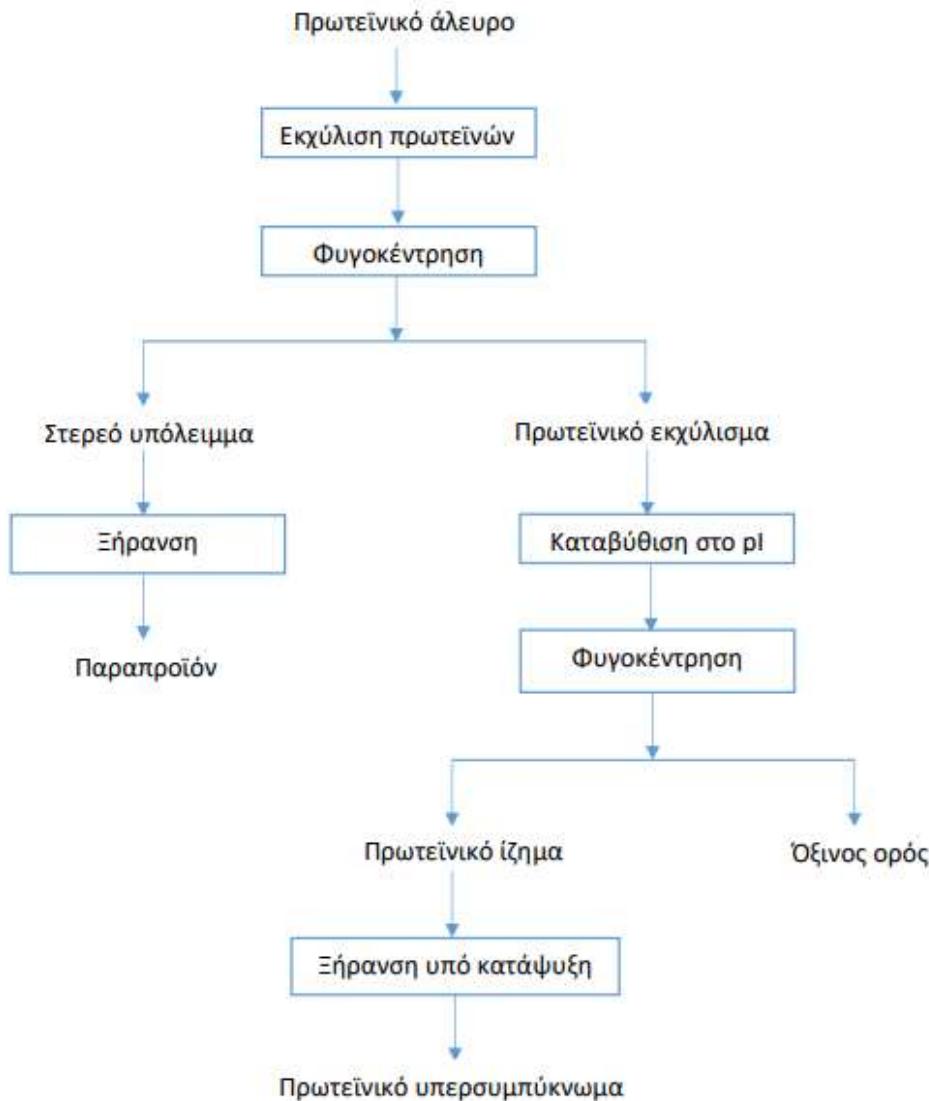
συλλέγεται το απελαιωμένο άλευρο και τοποθετείται σε κλίβανο στους 36°C για περίπου 1 h, ώστε να εξατμιστεί ο διαλύτης.



**Εικόνα 2.** Πειραματική διάταξη Soxhlet

#### 4.3.2 Παραλαβή των πρωτεΐνικών υπερσυμπυκνωμάτων

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



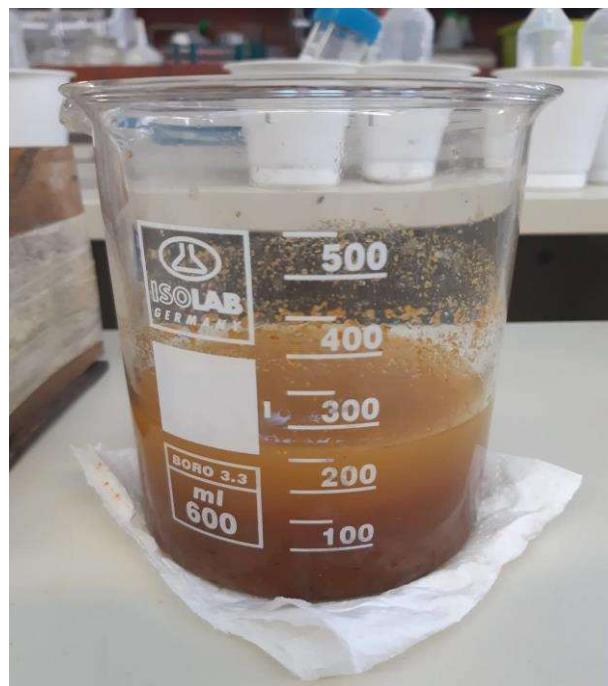
#### Εκχύλιση πρωτεΐνών:

Αρχικά 10 g δείγματος, ζυγισμένα με ακρίβεια 0.01 g, φέρονται σε ποτήρι ζέσεως 600 mL με την ανάλογη ποσότητα του εκχυλιστικού μέσου. Το ποτήρι τοποθετείται σε κατάλληλο υδατόλουντρο (συμβατικό ή λουτρό υπερήχων), όπου πραγματοποιείται η εκχύλιση των πρωτεΐνών για το χρόνο εκχύλισης που επιλέγεται, υπό συνεχή ανάδευση. Η θερμοκρασία του υδατόλουντρου διατηρείται σταθερή στην επιθυμητή τιμή, από τον ειδικό θερμοστάτη του λουτρού. Το pH του διαλύματος ρυθμίζεται και διατηρείται σταθερό καθόλη τη διάρκεια της εκχύλισης με τη χρήση του υδατικού διαλύματος NaOH συγκέντρωσης 0.5 N. Μετά το πέρας της εκχύλισης το αιώρημα φυγοκεντρείται σε 6500xg για 20 min και το υπερκείμενο υγρό (πρωτεΐνικο εκχύλισμα) ογκομετρείται και συλλέγεται. Το στερεό υπόλειμμα της εκχύλισης ξηραίνεται στους 60°C για 48 h, ζυγίζεται και χρησιμοποιείται για προσδιορισμό της

περιεκτικότητας των υπολειπόμενων πρωτεΐνών. Στις Εικόνες 3-8 φαίνονται η πειραματική διάταξη και τα στάδια της εκχύλισης των πρωτεΐνών.



**Εικόνα 3.** Πειραματική διάταξη εκχύλισης με υπέρηχους



**Εικόνα 4.** Πρωτεΐνικό αιώρημα



**Εικόνα 5.** Πρωτεϊνικό αιώρημα πριν την φυγοκέντριση



**Εικόνα 6.** Η φυγόκεντρος



**Εικόνα 7.** Πρωτεϊνικό εκχύλισμα και στερεό υπόλειμμα μετά την φυγοκέντρηση



**Εικόνα 8.** Διαχωρισμός στερεού υπολείμματος και πρωτεϊνικού εκχυλίσματος

Καταβύθιση πρωτεϊνών:

Στην ποσότητα του πρωτεϊνικού εκχυλίσματος που παραλαμβάνεται προστίθεται σταδιακά, με ήπια ανάδευση, υδατικό διάλυμα  $H_2SO_4$  συγκέντρωσης 0.5 N μέχρι την επίτευξη του επιθυμητού ισοηλεκτρικού σημείου (pI). Η όλη διαδικασία γίνεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Οι καταβυθισμένες πρωτεΐνες διαχωρίζονται με φυγοκέντρηση σε 6500xg για 20 min. Αποχύνεται το υπερκείμενο υγρό (όξινος ορός) και το πρωτεϊνικό ίζημα μεταφέρεται, με όσο το δυνατόν μικρότερη ποσότητα νερού, σε πλαστικό τρυβλίο και στη συνέχεια ξηραίνεται υπό κατάψυξη για 48 h, ζυγίζεται και χρησιμοποιείται για προσδιορισμό της περιεκτικότητας των πρωτεϊνών.

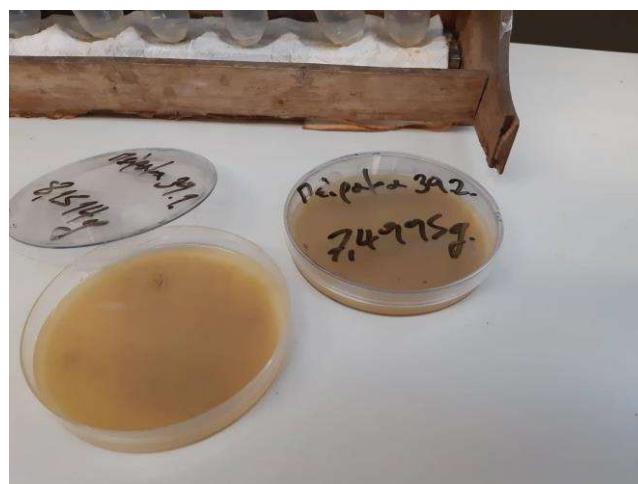
Τα διάφορα στάδια της καταβύθισης των πρωτεϊνών φαίνονται στις παρακάτω εικόνες.



**Εικόνα 9.** Προσδιορισμός ισοηλεκτρικού σημείου



**Εικόνα 10.** Πρωτεϊνικό ίζημα



**Εικόνα 11.** Μεταφορά πρωτεϊνικού ίζήματος σε τριβλία

Οι αποδόσεις υπολογίζονται από τις σχέσεις:

- Απόδοση εκχύλισης (%):

$$= \frac{\text{Εκχυλισμένες πρωτεΐνες}}{\text{Πρωτεΐνες δείγματος}} \cdot 100 = \frac{\Delta \cdot \Pi_A - \Sigma Y \cdot \Pi_{\Sigma Y}}{\Delta \cdot \Pi_A} \cdot 100$$

- Απόδοση καταβύθισης (%):

$$= \frac{\text{Πρωτεΐνες υπερσυμπυκνώματος}}{\text{Εκχυλισμένες πρωτεΐνες}} \cdot 100 = \frac{Y \cdot \Pi_Y}{\Delta \cdot \Pi_\Delta - \Sigma Y \cdot \Pi_{ΣΥ}} \cdot 100$$

- Ολική απόδοση (%):

$$= \frac{\text{Πρωτεΐνες υπερσυμπυκνώματος}}{\text{Πρωτεΐνες δείγματος}} \cdot 100 = \frac{Y \cdot \Pi_Y}{\Delta \cdot \Pi_\Delta} \cdot 100$$

όπου:

$\Delta$  : το βάρος του δείγματος (g)

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

$Y$  : το βάρος του υπερσυμπυκνώματος (g)

$\Pi_\Delta$  : η περιεκτικότητα του δείγματος σε πρωτεΐνες (%)

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

$\Pi_Y$  : η περιεκτικότητα του υπερσυμπυκνώματος σε πρωτεΐνες (%)

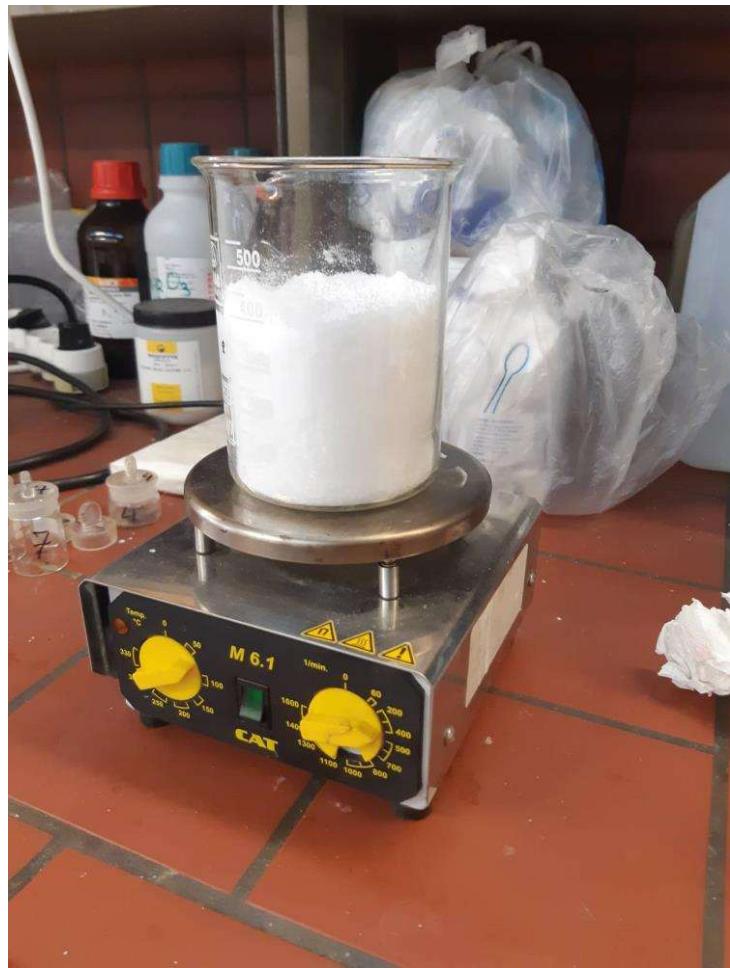
Προσδιορισμός ισοηλεκτρικού σημείου:

Το ισοηλεκτρικό σημείο των πρωτεϊνών του τοματόσπορου προσδιορίζεται ως η τιμή pH στην οποία εμφανίζεται μέγιστη καταβύθιση (ελάχιστη διαλυτότητα). Για το σκοπό αυτό πραγματοποιείται ένα πείραμα εκχύλισης των πρωτεϊνών μέχρι το στάδιο της παραλαβής του πρωτεϊνικού εκχυλίσματος και μετά τη φυγοκέντρηση του στερεού υπολείμματος, με τη διαδικασία που περιγράφηκε παραπάνω. Το πρωτεϊνικό εκχύλισμα χωρίζεται σε 8 ισόποσα δείγματα σε σωλήνες φυγόκεντρου και γίνεται σάρωση σε τιμές pH μεταξύ 3.6-4.3 με τη χρήση υδατικών διαλυμάτων  $H_2SO_4$  και  $NaOH$  συγκέντρωσης 0.5 N. Οι καταβυθισμένες πρωτεΐνες κάθε δείγματος διαχωρίζονται με φυγοκέντρηση σε 6500xg για 20 min, συλλέγεται το πρωτεϊνικό ίζημα κάθε δείγματος, ξηραίνεται σε φούρνο στους 100°C για 24 h και ζυγίζεται. Επομένως, ο προσδιορισμός του pH γίνεται άμεσα μέσω του βάρους των καταβυθισμένων πρωτεϊνών. Οι καταβυθισμένες πρωτεΐνες υπολογίζονται από τη σχέση:

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

Παρασκευή ευτηκτικού διαλύτη

Ο ευτηκτικός διαλύτης παρασκευάστηκε με την ανάμειξη του χλωρίδιου της χολίνης και της γλυκόζης σε αναλογία mol 2:1 σε θερμοκρασία 80°C υπό συνεχή ανάδευση μέχρι να σχηματιστεί ένα ομοιογενές υγρό διάλυμα. Για την παρασκευή 200 mL διαλύτη χρησιμοποιήθηκε 1 mol χλωριδίου της χολίνης και 0.5 mol γλυκόζης. Στη συνέχεια, στο ευτηκτικό διάλυμα που προέκυψε γίνεται προσθήκη 20 % v/v απιονισμένου νερού και το μίγμα αυτό χρησιμοποιείται ως διαλύτης για την εκχύλιση των πρωτεϊνών.



**Εικόνα 12.** Αρχικό στάδιο της παρασκευής του ευτηκτικού διαλύτη



**Εικόνα 13.** Τελικό στάδιο της παρασκευής του ευτηκτικού διαλύτη

#### 4.4 Αναλύσεις – Μετρήσεις

##### 4.4.1 Προσδιορισμός ελαίου

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

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

#### 4.4.2 Προσδιορισμός αζώτου και πρωτεΐνων – Μέθοδος Kjeldhal

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

Στην ειδική φιάλη Kjeldhal προστίθενται 25 mL πυκνού θειϊκού οξέος  $H_2SO_4$ , 10 g θειϊκού καλίου  $K_2SO_4$ , 1 g ένυδρου θειϊκού χαλκού  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ , πυρήνες βρασμού και ορισμένη ποσότητα δείγματος (~0.5 g για τα πρωτεϊνικά υπερσυμπυκνώματα και ~1 g για τα στερεά υπολείμματα) ζυγισμένη με ακρίβεια 0.001 g. Η φιάλη ανακινείται για λίγα λεπτά ώστε το δείγμα να διαποτιστεί καλά από το οξύ και να αποφευχθεί έτσι ο έντονος αφρισμός του διαλύματος. Υπάρχει η δυνατότητα ταυτόχρονης καύσης τεσσάρων δειγμάτων. Ο σωλήνας κενού προσαρμόζεται στις φιάλες Kjeldhal, το σύστημα τοποθετείται στην συσκευή καύσης (Digester) και συνδέεται με τη βρύση για τη δημιουργία κενού, ενώ το άλλο άκρο είναι κλεισμένο. Στην αρχή η θέρμανση είναι ήπια (στάθμη 2-3), ώστε να μην παρατηρηθεί έντονος αφρισμός, ενώ όταν δημιουργηθούν οι πρώτοι ατμοί στη φιάλη, δηλαδή όταν αρχίσει η καύση των δειγμάτων, η θέρμανση γίνεται εντονότερη και φτάνει τη μέγιστη ένταση (στάθμη 5). Όταν το διάλυμα αποκτήσει χαρακτηριστικό πράσινο χρώμα και γίνει πλήρως διαυγές, σταματά ο βρασμός. Μετά το τέλος της καύσης οι φιάλες αφήνονται να ψυχθούν στον αέρα, ενώ ο σωλήνας κενού διατηρείται για άλλα 15-20 min. Στη συνέχεια, οι κρύες φιάλες προσαρμόζονται στην ειδική συσκευή απόσταξης Kjeldhal, η οποία έχει τη δυνατότητα απόσταξης ενός δείγματος κάθε φορά. Στην έξοδο της συσκευής απόσταξης τοποθετείται κωνική φιάλη στην οποία συλλέγεται το απόσταγμα και περιέχει 50 mL πρότυπου διαλύματος θειϊκού οξέος 0.5 N. Στη φιάλη προστίθενται 75 mL απιονισμένου νερού και 125 mL διαλύματος καυστικού νατρίου  $NaOH$  32% w/w, ρυθμίζεται ο χρονοδιακόπτης στα 5 min (ώστε να συλλεχθούν περίπου 200 mL αποστάγματος) και υποβάλλεται σε απόσταξη. Τέλος, ακολουθεί τιτλοδότηση της περίσσειας του οξέος που βρίσκεται στην κωνική φιάλη με πρότυπο διάλυμα καυστικού νατρίου 0.5 N και δείκτη ερυθρό μεθυλίου-μπλε μεθυλενίου, ο οποίος προκύπτει από τη διάλυση 0.125 g ερυθρού του μεθυλίου και 0.08 g μπλε του μεθυλενίου σε 100 mL αιθανόλης. Κάτω από τις ίδιες συνθήκες απαιτείται και η πραγματοποίηση ενός τυφλού προσδιορισμού. Η επί τοις εκατό περιεκτικότητα σε αζωτό υπολογίζεται από τη σχέση:

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

όπου:

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

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

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

β: το βάρος του δείγματος

Ο προσδιορισμός των πρωτεΐνών πραγματοποιείται έμμεσα από τη σχέση:

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



**Εικόνα 14.** Προετοιμασία των δειγμάτων



**Εικόνα 15.** Πριν την έναρξη της καύσης



**Εικόνα 16.** Κατά τη διάρκεια της καύσης



**Εικόνα 17.** Μετά το τέλος της καύσης



**Εικόνα 18.** Οι φιάλες μετά την ψύξη



**Εικόνα 19.** Ειδική συσκευή απόσταξης Kjeldhal



**Εικόνα 20.** Πριν την τιτλοδότηση



**Εικόνα 21.** Μετά την τιτλοδότηση

#### 4.4.3 Μέτρηση λειτουργικών ιδιοτήτων

Η ικανότητα απορρόφησης νερού, IAN, (water absorption capacity, WAC) και η ικανότητα απορρόφησης ελαίου, IAE, (oil absorption capacity, OAC) είναι οι δύο λειτουργικές ιδιότητες που προσδιορίζονται. Για τη μέτρηση της IAN, σε 0.1 g δείγματος σε προζυγισμένο βαθμονομημένο σωλήνα φυγόκεντρου όγκου 12 mL προστίθενται 5 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:

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

όπου:

B1 : το βάρος του σωλήνα με το ενυδατωμένο δείγμα (g)

B2 : το βάρος του άδειου σωλήνα (g)

β : το βάρος του δείγματος (g)

Για τη μέτρηση της IAE, σε 0.1 g δείγματος σε βαθμονομημένο σωλήνα φυγόκεντρου όγκου 12 mL προστίθενται 5 mL αραβοσιτέλαιου. Το μίγμα αναδεύεται σε αναδευτήρα τύπου Vortex

για 1 min και φυγοκεντρείται σε 2600xg για 20 min. Τέλος, μετριέται ο όγκος του ελεύθερου ελαίου. Η IAE εκφράζεται ως ο όγκος του δεσμευμένου ελαίου ανά 100 g δείγματος. Η ικανότητα απορρόφησης ελαίου του δείγματος υπολογίζεται από την σχέση:

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

όπου:

V: ο αρχικός όγκος του ελαίου (mL)

V<sub>u</sub> : ο όγκος του υπερκείμενου ελαίου (mL)

β : το βάρος του δείγματος (g)

#### 4.5 Σχεδιασμός πειραμάτων – Στατιστική επεξεργασία

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

#### Παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με τη συμβατική μέθοδο

##### 1. Εκχύλιση με απιονισμένο νερό

Πραγματοποιήθηκε 1 πείραμα υπό τις παρακάτω συνθήκες:

T = 50°C, pH = 11.5, t = 30 min, w/v = 1/30

##### 2. Εκχύλιση με ανθρακούχο νερό

Πραγματοποιήθηκε 1 πείραμα υπό τις παρακάτω συνθήκες:

T = 50°C, pH = 11.5, t = 30 min, w/v = 1/30

#### Παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων με τους υπέρηχους

##### 1. Εκχύλιση με απιονισμένο νερό

Πραγματοποιήθηκαν 18 πειράματα υπό τις παρακάτω συνθήκες:

Σταθερές συνθήκες: T = 50°C, ισχύς υπερήχων = 320 W, συχνότητα υπερήχων = 37 kHz

Μεταβλητές συνθήκες: w/v = 1/30, 1/25 και 1/20, t = 30, 20 και 15 min, pH = 11.5, 10.8, 10.0, 9.0

## 2. Εκχύλιση με ανθρακούχο νερό

Πραγματοποιήθηκαν 4 πειράματα υπό τις παρακάτω συνθήκες:

Σταθερές συνθήκες: T = 50°C, ισχύς υπερήχων = 320 W, συχνότητα υπερήχων = 37 kHz, pH = 11.5

Μεταβλητές συνθήκες: w/v = 1/30 και 1/20, t = 30, 20 και 15 min

## 3. Εκχύλιση με ευτηκτικό διαλύτη

Πραγματοποιήθηκε 1 πείραμα υπό τις παρακάτω συνθήκες:

T = 50°C, pH = 11.5, t = 20 min, w/v = 1/20, ισχύς υπερήχων = 320 W, συχνότητα υπερήχων = 37 kHz

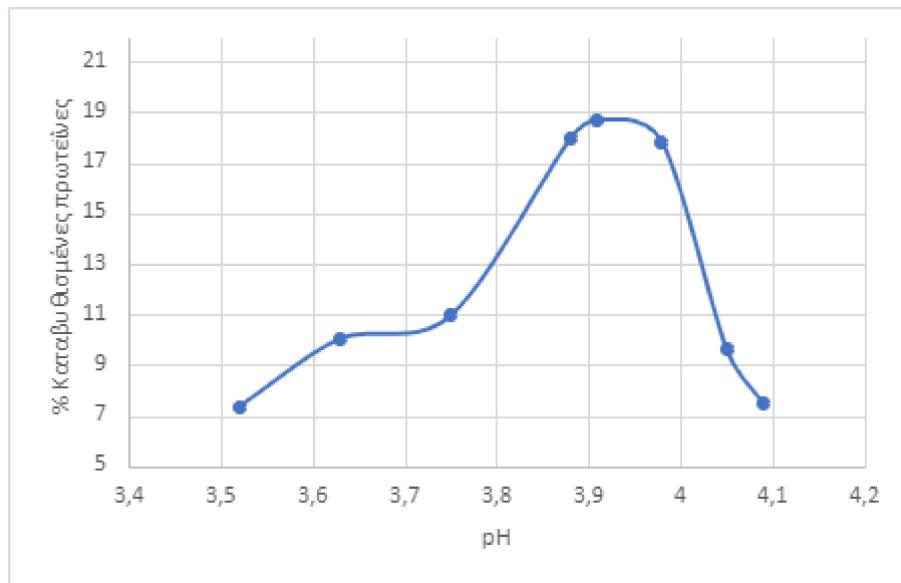
Σε όλα τα πειράματα η καταβύθιση των πρωτεϊνών πραγματοποιήθηκε σε pH ~ 3.9

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

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

### 5.1 Προσδιορισμός ισοηλεκτρικού σημείου

Το ισοηλεκτρικό σημείο (pI) των πρωτεΐνων, δηλαδή η τιμή pH που αντιστοιχεί στην ελάχιστη διαλυτότητα και άρα τη μέγιστη καταβύθισή τους, προσδιορίζεται με τη μέτρηση του βάρους των καταβυθισμένων πρωτεΐνων. Από τα προκαταρκτικά πειράματα, όπως φαίνεται στο Διάγραμμα 3, προέκυψε ότι το ισοηλεκτρικό σημείο των πρωτεΐνων από το άλευρο τοματόσπορου βρίσκεται στην περιοχή γύρω από το 3.9 (προσδιοριζόμενο ως το σημείο μέγιστης καταβύθισης των πρωτεΐνων). Η τιμή αυτή συμπίπτει με τη βιβλιογραφική τιμή και επομένως το pH αυτό επιλέχθηκε και εφαρμόστηκε στα ακόλουθα πειράματα.



Διάγραμμα 3. % Καταβύθισμένες πρωτεΐνες τοματόσπορου ανάλογα με το pH καταβύθισης

### 5.2 Παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων

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

υπέρηχους), γίνεται σχολιασμός των αποτελεσμάτων για την κάθε μέθοδο καθώς και σύγκριση μεταξύ τους.

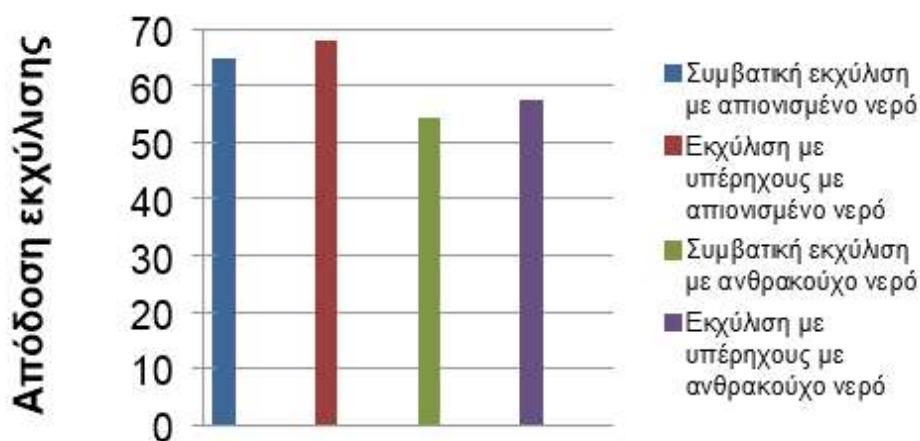
#### 5.2.1. Αποτελέσματα εκχύλισης πρωτεΐνών με τη συμβατική μέθοδο

**Πίνακας 24.** Αποτελέσματα εκχύλισης συμβατικής μεθόδου

Συνθήκες: T = 50°C, pH = 11.5, t = 30 min, w/v = 1/30		Εκχύλιση με υπέρηχους		
Εκχυλιστικό μέσο	Απιονισμένο νερό	Ανθρακούχο νερό	Απιονισμένο νερό	Ανθρακούχο νερό
Απόδοση εκχύλισης (%)	64,7	54,2	67,9	57,1
Απόδοση καταβύθισης (%)	23,9	29,5	30,1	35,2
Ολική απόδοση (%)	15,4	16,0	15,6	20,1
% Πρωτεΐνη υπερσυμπυκνώματος επί ξηρής βάσης	67,4	78,5	59,8	93,3

Σύμφωνα με τον πίνακα, παρατηρείται ότι η απόδοση εκχύλισης των πρωτεΐνών είναι μεγαλύτερη χρησιμοποιώντας απιονισμένο νερό ως εκχυλιστικό μέσο στη συμβατική μέθοδο. Ωστόσο, η απόδοση καταβύθισης των πρωτεΐνών, η ολική απόδοση του πειράματος και το ποσοστό της πρωτεΐνης του υπερσυμπυκνώματος επί ξηρής βάσης είναι μεγαλύτερα χρησιμοποιώντας ανθρακούχο νερό ως εκχυλιστικό μέσο. Τα ίδια συμπεράσματα εξάγονται και για την εκχύλιση με υπέρηχους. Η εκχύλιση υποβοηθούμενη από υπέρηχους έδειξε καλύτερα αποτελέσματα για όλες τις αποδόσεις της διεργασίας (εκχύλισης, καταβύθισης ως προς τις εκχυλισμένες πρωτεΐνες, ολική) και στην % περιεκτικότητα του υπερσυμπυκνώματος σε πρωτεΐνη. Η μέθοδος εκχύλισης είχε σημαντική επίδραση στις αποδόσεις της διεργασίας (εκχύλισης, καταβύθισης ως προς τις εκχυλισμένες πρωτεΐνες, ολική) και στην % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη.

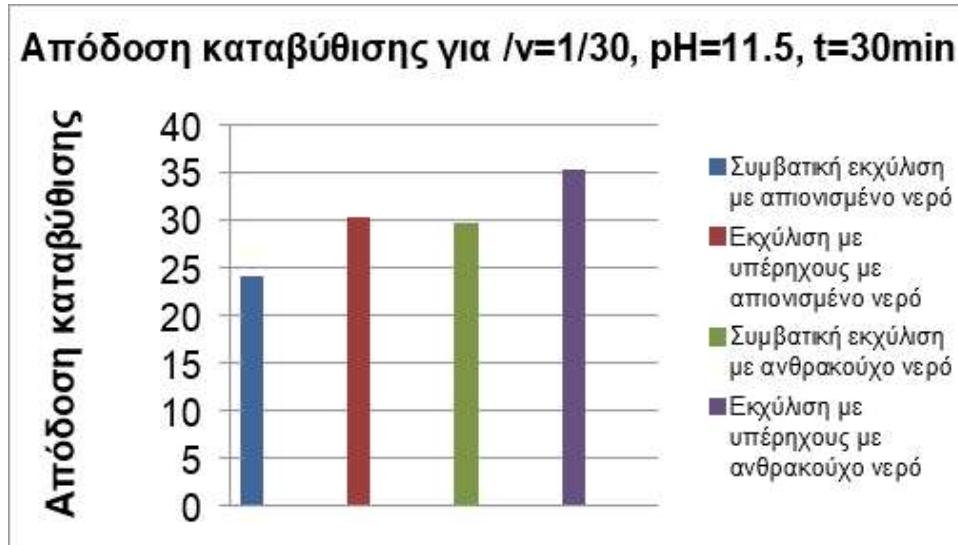
**Απόδοση εκχύλισης για /v=1/30, pH=11.5, t=30min**



**Διάγραμμα 4.** Απόδοση εκχύλισης (%) ανάλογα με το είδος και το εκχυλιστικό μέσο της μεθόδου σε σταθερές συνθήκες w/v=1/30, pH=11.5, t=30 min

Στο διάγραμμα 4 παρατηρείται ότι η εκχύλιση με υπέρηχους χρησιμοποιώντας απιονισμένο νερό έχει την υψηλότερη απόδοση εκχύλισης από τις υπόλοιπες τρεις. Η συμβατική εκχύλιση με ανθρακούχο νερό παρουσιάζει τη χαμηλότερη απόδοση εκχύλισης. Συγκρίνοντας το είδος της μεθόδου, η εκχύλιση με υπέρηχους παρουσιάζει καλύτερα αποτελέσματα από την συμβατική εκχύλιση. Συγκρίνοντας το εκχυλιστικό μέσο, το απιονισμένο νερό παρουσιάζει καλύτερα αποτελέσματα από το ανθρακούχο νερό.

Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των αποτελεσμάτων (Πίνακας Π1) παρατηρείται ότι για την απόδοση εκχύλισης σημαντικός παράγοντας σε επίπεδο σημαντικότητας 5% είναι και η μέθοδος εκχύλισης και το εκχυλιστικό μέσο. Επιπλέον, από τον έλεγχο Duncan (Πίνακας Π2, Π3) προκύπτει ότι η εκχύλιση με υπέρηχους δίνει καλύτερα αποτελέσματα και διαφέρει στατιστικά από την συμβατική εκχύλιση. Επίσης, το απιονισμένο νερό ως εκχυλιστικό μέσο δίνει καλύτερα αποτελέσματα και διαφέρει στατιστικά από το ανθρακούχο νερό.

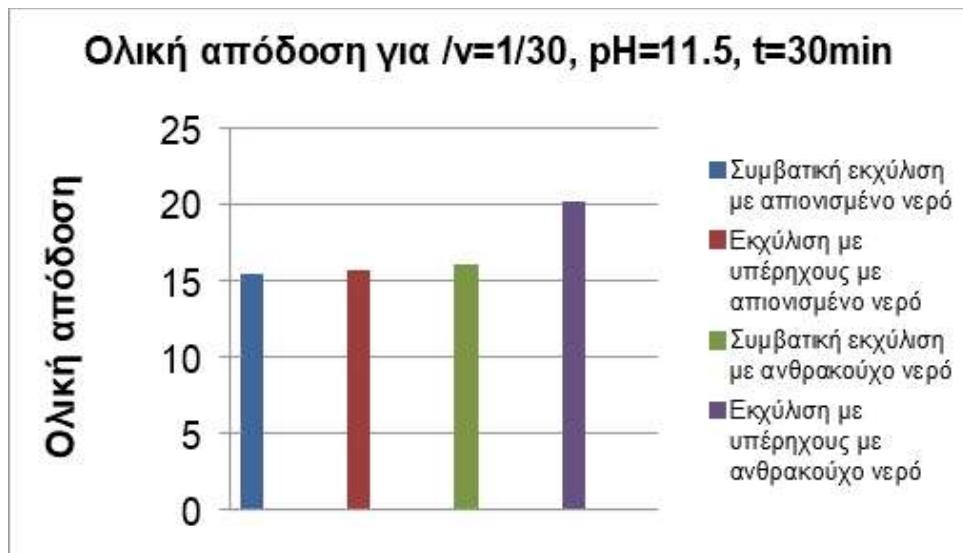


**Διάγραμμα 5.** Απόδοση καταβύθισης (%) ανάλογα με το είδος και το εκχυλιστικό μέσο της μεθόδου σε σταθερές συνθήκες w/v=1/30, pH=11.5, t=30 min

Στο διάγραμμα 5 παρατηρείται ότι η εκχύλιση με υπέρηχους χρησιμοποιώντας ανθρακούχο νερό έχει την υψηλότερη απόδοση καταβύθισης από τις υπόλοιπες τρεις. Η συμβατική εκχύλιση με απιονισμένο νερό παρουσιάζει τη χαμηλότερη απόδοση καταβύθισης. Συγκρίνοντας το είδος της μεθόδου, η εκχύλιση με υπέρηχους παρουσιάζει καλύτερα αποτελέσματα από την συμβατική εκχύλιση. Συγκρίνοντας το εκχυλιστικό μέσο, το ανθρακούχο νερό παρουσιάζει καλύτερα αποτελέσματα από το απιονισμένο νερό.

Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των αποτελεσμάτων (Πίνακας Π4) παρατηρείται ότι για την απόδοση καταβύθισης σημαντικός παράγοντας σε επίπεδο σημαντικότητας 5% είναι και η μέθοδος εκχύλισης και το εκχυλιστικό μέσο. Επιπλέον, από τον έλεγχο Duncan (Πίνακας Π5, Π6) προκύπτει ότι η εκχύλιση με υπέρηχους δίνει καλύτερα αποτελέσματα και διαφέρει στατιστικά από την συμβατική εκχύλιση. Επίσης, το ανθρακούχο νερό ως

εκχυλιστικό μέσο δίνει καλύτερα αποτελέσματα και διαφέρει στατιστικά από το απιονισμένο νερό.

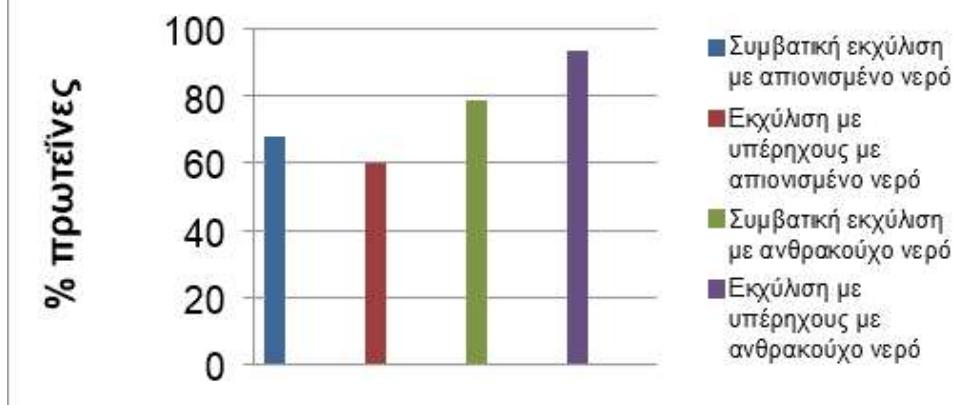


**Διάγραμμα 6.** Ολική απόδοση (%) ανάλογα με το είδος και το εκχυλιστικό μέσο της μεθόδου σε σταθερές συνθήκες  $w/v=1/30$ ,  $pH=11.5$ ,  $t=30\text{ min}$

Στο διάγραμμα 6 παρατηρείται ότι η εκχύλιση με υπέρηχους χρησιμοποιώντας ανθρακούχο νερό έχει την υψηλότερη ολική απόδοση από τις υπόλοιπες τρεις. Η συμβατική εκχύλιση με απιονισμένο νερό παρουσιάζει τη χαμηλότερη ολική απόδοση. Συγκρίνοντας το είδος της μεθόδου, η εκχύλιση με υπέρηχους παρουσιάζει καλύτερα αποτελέσματα από την συμβατική εκχύλιση. Συγκρίνοντας το εκχυλιστικό μέσο, το ανθρακούχο νερό παρουσιάζει καλύτερα αποτελέσματα από το απιονισμένο νερό.

Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των αποτελεσμάτων (Πίνακας Π7) παρατηρείται ότι για την ολική απόδοση, ούτε η μέθοδος εκχύλισης, ούτε το εκχυλιστικό μέσο αποτελούν σημαντικό παράγοντα σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

**% περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες για  $w/v=1/30$ , pH=11.5, t=30min**



**Διάγραμμα 7.** % Περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες ανάλογα με το είδος και το εκχυλιστικό μέσο της μεθόδου σε σταθερές συνθήκες  $w/v=1/30$ , pH=11.5, t=30 min

Στο διάγραμμα 7 παρατηρείται ότι η εκχύλιση με υπέρηχους χρησιμοποιώντας ανθρακούχο νερό έχει την υψηλότερη % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες από τις υπόλοιπες τρεις. Η εκχύλιση με υπέρηχους με απιονισμένο νερό παρουσιάζει τη χαμηλότερη % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες. Συγκρίνοντας το είδος της μεθόδου, η εκχύλιση με υπέρηχους παρουσιάζει καλύτερα αποτελέσματα από την συμβατική εκχύλιση. Συγκρίνοντας το εκχυλιστικό μέσο, το ανθρακούχο νερό παρουσιάζει καλύτερα αποτελέσματα από το απιονισμένο νερό.

Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των αποτελεσμάτων (Πίνακας Π8) παρατηρείται ότι για την % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη των υπερσυμπυκνωμάτων, ούτε η μέθοδος εκχύλισης, ούτε το εκχυλιστικό μέσο αποτελούν σημαντικό παράγοντα σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

#### 5.2.2 Αποτελέσματα εκχύλισης πρωτεϊνών υποβοηθούμενης από υπέρηχους

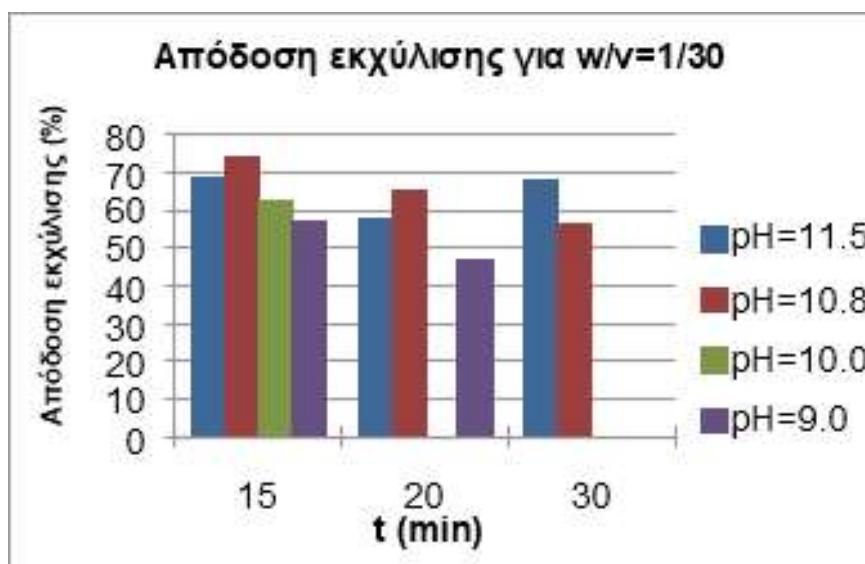
**Πίνακας 25.** Αποτελέσματα εκχύλισης με απιονισμένο νερό ως εκχυλιστικό μέσο με σταθερό  $w/v=1/30$

Συνθήκες: T = 50°C, w/v = 1/30										
pH	11.5 (*ανθρακ. νερό)	11.5			10.8			10.0	9.0	
Χρόνος (min)	30	30	20	15	30	20	15	15	20	15
Απόδοση εκχύλισης (%)	57,1	67,9	57,8	68,3	56,0	65,4	74,3	62,5	46,8	56,9
Απόδοση καταβύθισης (%)	35,2	30,1	22,7	29,4	28,5	11,8	11,4	9,9	12,3	17,2
Ολική απόδοση (%)	20,1	15,6	12,8	20,1	16,0	7,7	8,5	6,2	5,8	9,8

% Πρωτεΐνη υπερσυμπυκνώματος επί ξηρής βάσης	93,3	59,8	62,3	73,9	54,0	53,0	42,8	52,2	57,7	84,2
--	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------

Στον Πίνακα 25 παρατηρείται ότι ο βέλτιστος χρόνος εκχύλισης των πρωτεϊνών του τοματόσπορου σε συνθήκες pH=11.5 και w/v=1/30, είναι τα 15 min αφού σε αυτό το χρόνο επιτυγχάνεται μεγαλύτερη απόδοση εκχύλισης, μεγαλύτερη ολική απόδοση και μεγαλύτερο ποσοστό πρωτεΐνης υπερσυμπυκνώματος επί ξηρής βάσης. Όσον αφορά την απόδοση καταβύθισης, αυτή είναι μεγαλύτερη στα 30 min, ωστόσο η διαφορά με αυτήν στα 15 min είναι μικρότερη της μίας ποσοστιαίας μονάδας. Επίσης, για τιμή pH ίση με 10.8 παρατηρείται ότι σε χρόνο 15 min, η απόδοση εκχύλισης είναι μεγαλύτερη από αυτήν στα 20 και 30 min. Σε αντίθεση με το γεγονός αυτό, παρατηρείται ότι στα 30 min η απόδοση καταβύθισης, η ολική απόδοση και η επί τοις εκατό πρωτεΐνη υπερσυμπυκνώματος επί ξηρής βάσης είναι μεγαλύτερα από αυτά στους άλλους χρόνους.

Πέρα από τις τιμές pH 11.5 και 10.8 εξετάστηκαν και οι τιμές pH 10.0 και 9.0, οι οποίες είχαν εξεταστεί στη βιβλιογραφία σε άλευρο τοματόσπορου αλλά και σε άλλους ελαιούχους σπόρους. Για pH=10.0, ο μόνος χρόνος που παρουσίασε αποδεκτά αποτελέσματα ήταν τα 15 min. Σε συνθήκες pH=10.0, η απόδοση εκχύλισης έφτασε σε ικανοποιητικά επίπεδα (62,5%) όχι όμως και τα υπόλοιπα εξεταζόμενα μεγέθη. Για pH=9.0, οι χρόνοι 15 και 20 min παρουσίασαν αποδεκτά αποτελέσματα. Παρατηρήθηκε ότι σε χρόνο 15 min η επί τοις εκατό πρωτεΐνη υπερσυμπυκνώματος επί ξηρής βάσης φτάνει σε πολύ καλά επίπεδα (84,2%) και η απόδοση εκχύλισης είναι μεγαλύτερη από αυτήν στα 20 min (56,9%>46,8%), όσον αφορά την τιμή pH 9.0.

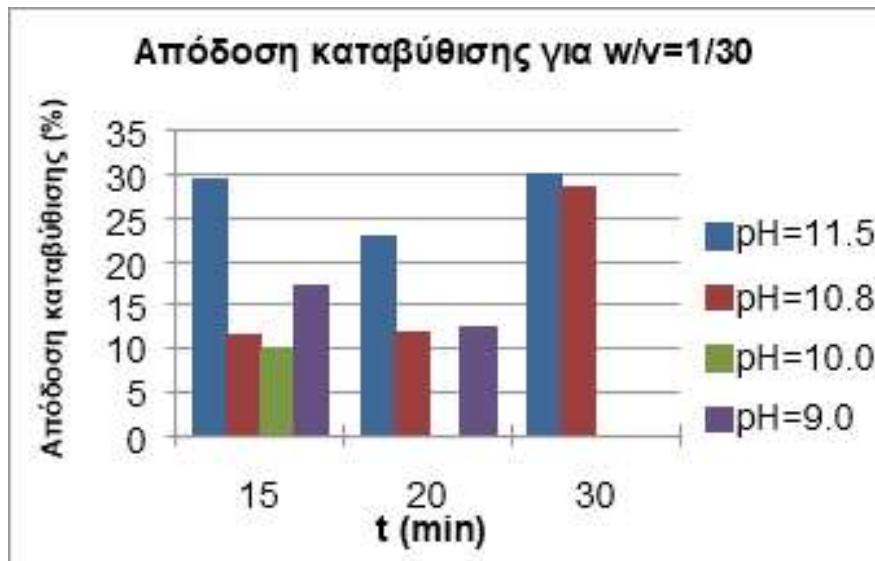


**Διάγραμμα 8.** Απόδοση εκχύλισης (%) συγκρίνοντας τα διάφορα pH σε σταθερό w/v=1/30

Στο διάγραμμα 8 παρατηρείται ότι σε pH = 10.8 και χρόνο 15 min η απόδοση εκχύλισης είναι μεγαλύτερη από οποιαδήποτε άλλη σε διαφορετικό pH και χρόνο σε σταθερό w/v = 1/30. Η μικρότερη απόδοση εκχύλισης παρατηρείται σε χρόνο 20 min και pH = 9.0. Συγκρίνοντας τους

τρεις χρόνους, από τα στοιχεία που είναι διαθέσιμα, σε χρόνο 15 min επιτυγχάνονται οι υψηλότερες αποδόσεις εκχύλισης.

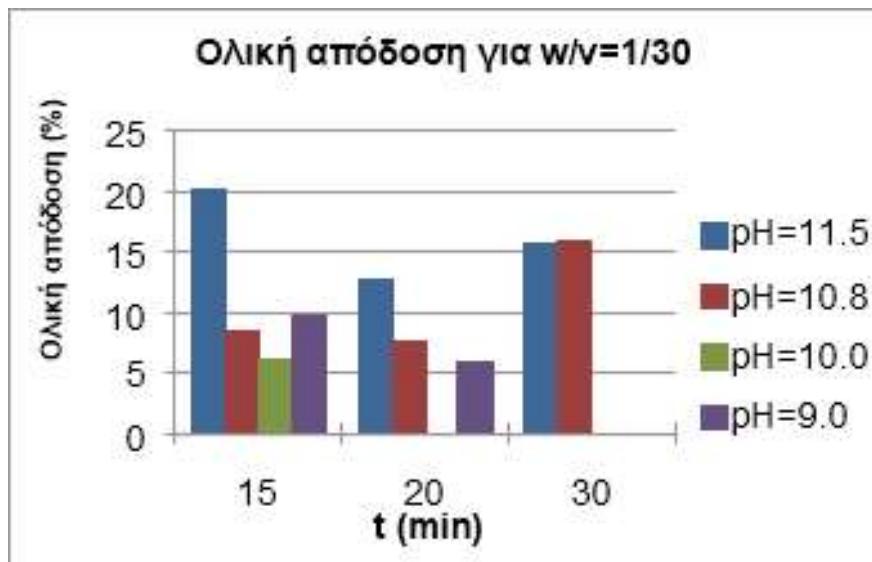
Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των αποτελεσμάτων (Πίνακας Π9) παρατηρείται ότι για την απόδοση εκχύλισης, ούτε ο χρόνος εκχύλισης, ούτε το pH αποτελούν σημαντικούς παράγοντες σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.



**Διάγραμμα 9.** Απόδοση καταβύθισης (%) συγκρίνοντας τα διάφορα pH σε σταθερό w/v=1/30

Στο διάγραμμα 9 παρατηρείται ότι σε pH = 11.5 και χρόνο 30 min η απόδοση καταβύθισης είναι μεγαλύτερη από οποιαδήποτε άλλη σε διαφορετικό pH και χρόνο σε σταθερό w/v = 1/30. Η μικρότερη απόδοση εκχύλισης παρατηρείται σε χρόνο 15 min και pH = 10.0. Συγκρίνοντας τους τρεις χρόνους, από τα στοιχεία που είναι διαθέσιμα, σε χρόνο 30 min επιτυγχάνονται οι υψηλότερες αποδόσεις εκχύλισης.

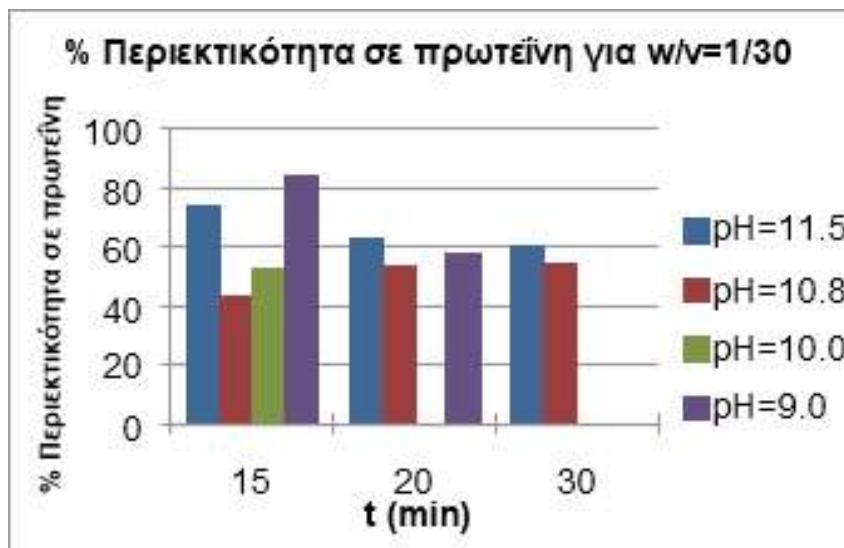
Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των αποτελεσμάτων (Πίνακας Π10) παρατηρείται ότι για την απόδοση καταβύθισης ως προς τις εκχυλιζόμενες πρωτεΐνες ούτε ο χρόνος εκχύλισης, ούτε το pH αποτελούν σημαντικούς παράγοντες σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.



**Διάγραμμα 10.** Ολική απόδοση (%) συγκρίνοντας τα διάφορα pH σε σταθερό w/v=1/30

Στο διάγραμμα 10 παρατηρείται ότι σε pH = 11.5 και χρόνο 15 min η ολική απόδοση είναι μεγαλύτερη από οποιαδήποτε άλλη σε διαφορετικό pH και χρόνο σε σταθερό w/v = 1/30. Η μικρότερη ολική απόδοση παρατηρείται σε χρόνο 20 min και pH = 9.0. Συγκρίνοντας τους τρεις χρόνους, από τα στοιχεία που είναι διαθέσιμα, σε χρόνο 30 min επιτυγχάνονται οι κατά μέσο όρο υψηλότερες ολικές αποδόσεις.

Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των αποτελεσμάτων (Πίνακας Π11) παρατηρείται ότι για την ολική απόδοση, ούτε ο χρόνος εκχύλισης, ούτε το pH αποτελούν σημαντικούς παράγοντες σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.



**Διάγραμμα 11.** % Περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη συγκρίνοντας τα διάφορα pH σε σταθερό w/v=1/30

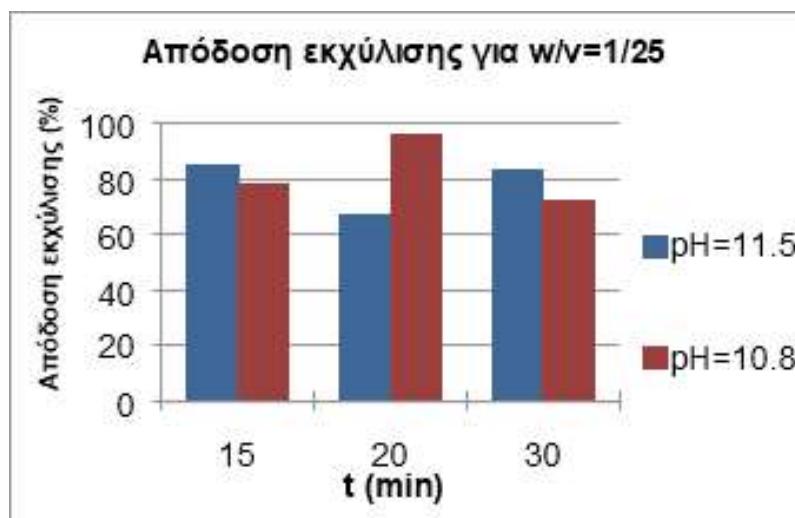
Στο διάγραμμα 11 παρατηρείται ότι σε pH = 9.0 και χρόνο 15 min η % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη είναι μεγαλύτερη από οποιαδήποτε άλλη σε διαφορετικό pH και χρόνο σε σταθερό w/v = 1/30. Η μικρότερη % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη παρατηρείται σε χρόνο 15 min και pH = 10.8. Συγκρίνοντας τους τρεις χρόνους, από τα στοιχεία που είναι διαθέσιμα, σε χρόνο 15 min επιτυγχάνονται οι υψηλότερες % περιεκτικότητες σε πρωτεΐνη.

Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των αποτελεσμάτων (Πίνακας Π12) παρατηρείται ότι για την % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες ούτε ο χρόνος εκχύλισης, ούτε το pH αποτελούν σημαντικούς παράγοντες σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

**Πίνακας 26.** Αποτελέσματα εκχύλισης με απιονισμένο νερό ως εκχυλιστικό μέσο με σταθερό w/v=1/25

Συνθήκες: T = 50°C, w/v = 1/25						
pH	11.5			10.8		
Χρόνος (min)	30	20	15	30	20	15
Απόδοση εκχύλισης (%)	83,3	66,9	84,9	72,3	95,8	78,2
Απόδοση καταβύθισης (%)	19,2	89,4	15,8	18,2	15,3	19,1
Ολική απόδοση (%)	16,0	14,9	13,4	13,1	14,7	15,0
% Πρωτεΐνη υπερσυμπυκνώματος επί ξηρής βάσης	67,3	72,2	56,5	63,2	84,2	93,4

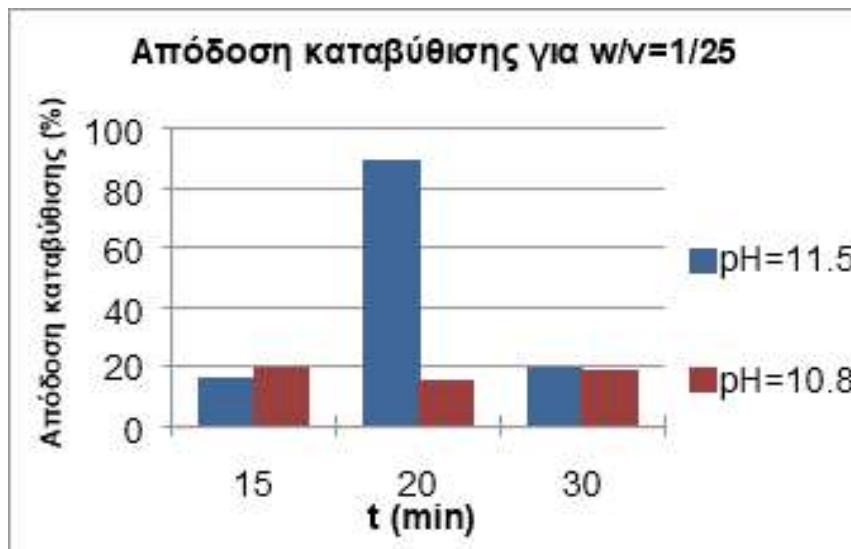
Στον Πίνακα 26 παρατηρείται ότι για τιμή pH ίση με 11.5 στα 20 min, παρά την χαμηλή απόδοση εκχύλισης σε σχέση με τους άλλους δύο χρόνους, η απόδοση καταβύθισης φτάνει σε πολύ υψηλά επίπεδα και επιτυγχάνεται υψηλή % πρωτεΐνη υπερσυμπυκνώματος σε ξηρή βάση. Επίσης, η απόδοση εκχύλισης στα 15 min είναι μεγαλύτερη από τους άλλους δύο χρόνους. Ακόμα για pH = 10.8 παρατηρείται ότι η επί τοις εκατό πρωτεΐνη υπερσυμπυκνώματος είναι μεγαλύτερη σε χρόνο 15 min και η απόδοση εκχύλισης είναι μεγαλύτερη σε χρόνο 20 min.



**Διάγραμμα 12.** Απόδοση εκχύλισης (%) συγκρίνοντας τα διάφορα pH σε σταθερό w/v=1/25

Στο διάγραμμα 12 παρατηρείται ότι σε pH = 10.8 και χρόνο 20 min η απόδοση εκχύλισης είναι μεγαλύτερη από οποιαδήποτε άλλη σε διαφορετικό pH και χρόνο σε σταθερό w/v = 1/25. Η μικρότερη απόδοση εκχύλισης παρατηρείται σε χρόνο 20 min και pH = 11.5. Συγκρίνοντας τους τρεις χρόνους, από τα στοιχεία που είναι διαθέσιμα, σε χρόνο 15 min επιτυγχάνονται οι υψηλότερες αποδόσεις εκχύλισης.

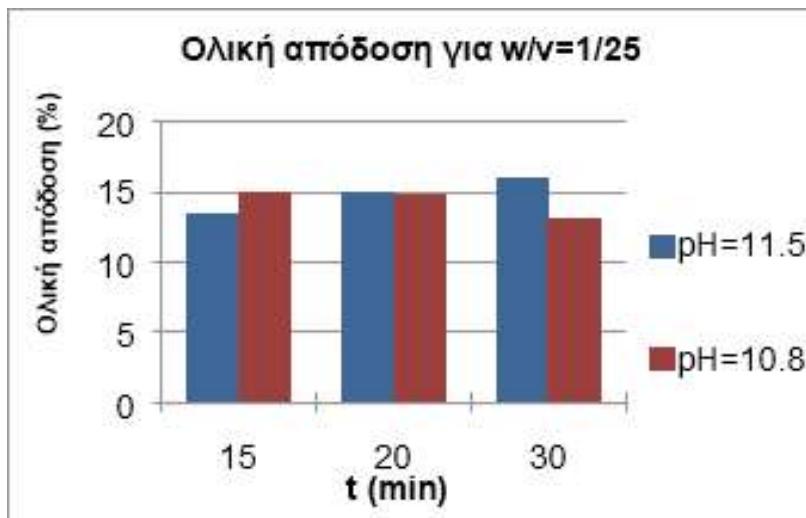
Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των αποτελεσμάτων (Πίνακας Π13) παρατηρείται ότι για την απόδοση εκχύλισης, ούτε ο χρόνος εκχύλισης, ούτε το pH αποτελούν σημαντικούς παράγοντες σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.



**Διάγραμμα 13.** Απόδοση καταβύθισης (%) συγκρίνοντας τα διάφορα pH σε σταθερό w/v=1/25

Στο διάγραμμα 13 παρατηρείται ότι σε pH = 11.5 και χρόνο 20 min η απόδοση καταβύθισης είναι μεγαλύτερη από οποιαδήποτε άλλη σε διαφορετικό pH και χρόνο σε σταθερό w/v = 1/25. Η μικρότερη απόδοση εκχύλισης παρατηρείται σε χρόνο 20 min και pH = 10.8. Συγκρίνοντας τους τρεις χρόνους, από τα στοιχεία που είναι διαθέσιμα, σε χρόνο 20 min επιτυγχάνονται οι κατά μέσο όρο υψηλότερες αποδόσεις εκχύλισης.

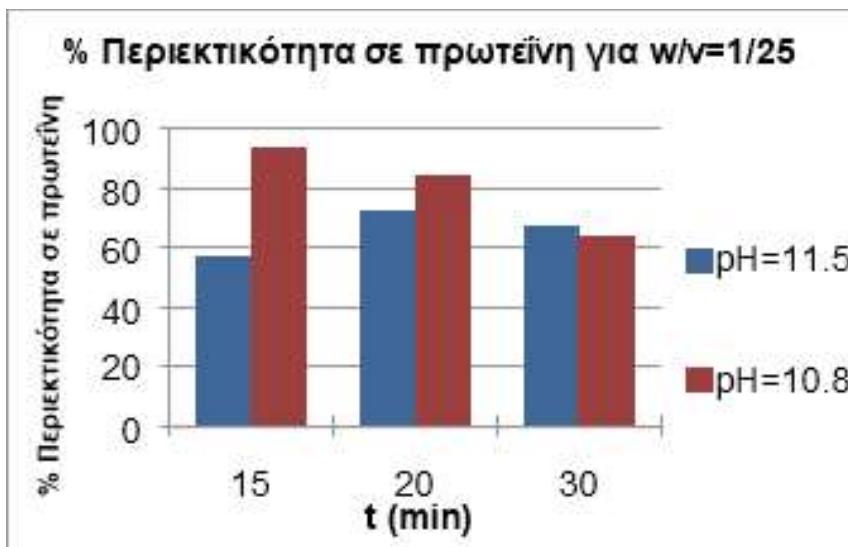
Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των αποτελεσμάτων (Πίνακας Π14) παρατηρείται ότι για την απόδοση καταβύθισης ως προς τις εκχυλιζόμενες πρωτεΐνες ούτε ο χρόνος εκχύλισης, ούτε το pH αποτελούν σημαντικούς παράγοντες σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.



**Διάγραμμα 14.** Ολική απόδοση (%) συγκρίνοντας τα διάφορα pH σε σταθερό w/v=1/25

Στο διάγραμμα 14 παρατηρείται ότι σε pH = 11.5 και χρόνο 30 min η ολική απόδοση είναι μεγαλύτερη από οποιαδήποτε άλλη σε διαφορετικό pH και χρόνο σε σταθερό w/v = 1/25. Η μικρότερη απόδοση εκχύλισης παρατηρείται σε χρόνο 30 min και pH = 10.8. Συγκρίνοντας τους τρεις χρόνους, από τα στοιχεία που είναι διαθέσιμα, σε χρόνο 20 min επιτυγχάνονται οι κατά μέσο όρο υψηλότερες αποδόσεις εκχύλισης.

Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των αποτελεσμάτων (Πίνακας Π15) παρατηρείται ότι για την ολική απόδοση, ούτε ο χρόνος εκχύλισης, ούτε το pH αποτελούν σημαντικούς παράγοντες σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.



**Διάγραμμα 15.** % Περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη συγκρίνοντας τα διάφορα pH σε σταθερό w/v=1/25

Στο διάγραμμα 15 παρατηρείται ότι σε pH = 10.8 και χρόνο 15 min η % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη είναι μεγαλύτερη από οποιαδήποτε άλλη σε διαφορετικό pH και χρόνο σε σταθερό

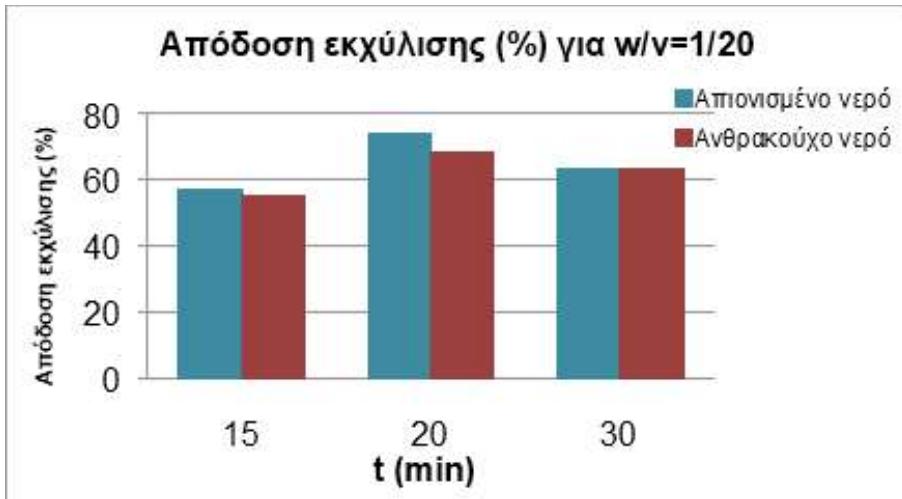
w/v = 1/25. Η μικρότερη % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη παρατηρείται σε χρόνο 15 min και pH = 11.5. Συγκρίνοντας τους τρεις χρόνους, από τα στοιχεία που είναι διαθέσιμα, σε χρόνο 20 min επιτυγχάνονται οι κατά μέσο όρο υψηλότερες % περιεκτικότητες σε πρωτεΐνη.

Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των αποτελεσμάτων (Πίνακας Π16) παρατηρείται ότι για την % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες ούτε ο χρόνος εκχύλισης, ούτε το pH αποτελούν σημαντικούς παράγοντες σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

**Πίνακας 27.** Αποτελέσματα εκχύλισης με σταθερό pH=11.5 και w/v=1/20

Συνθήκες: T = 50°C, pH = 11.5, w/v = 1/20						
Εκχυλιστικό μέσο	Απιονισμένο νερό			Ανθρακούχο νερό		
Χρόνος (min)	30	20	15	30	20	15
Απόδοση εκχύλισης (%)	63,2	73,8	57,1	63,4	68,0	54,9
Απόδοση καταβύθισης (%)	27,4	27,2	35,2	24,8	29,9	30,9
Ολική απόδοση (%)	17,3	20,3	20,1	15,7	20,3	17,0
% Πρωτεΐνη υπερσυμπυκνώματος επί ξηρής βάσης	77,9	94,8	93,3	73,0	88,8	86,5

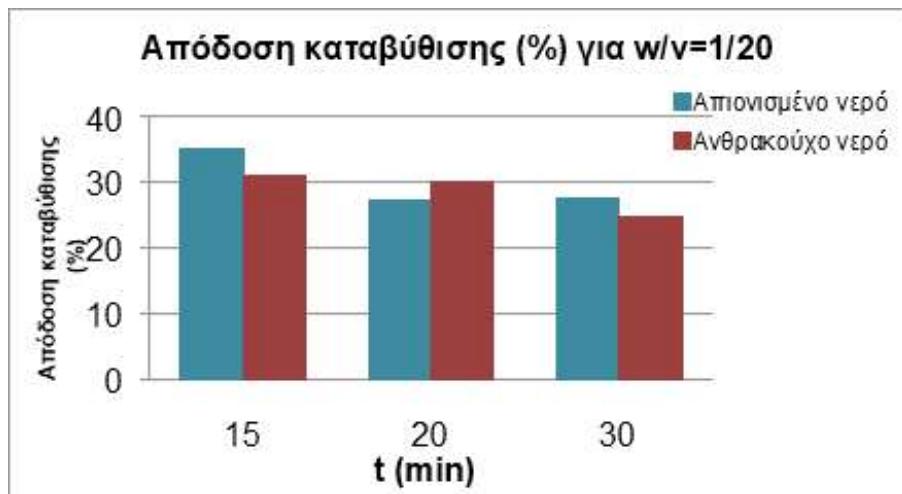
Στον Πίνακα 27 παρατηρείται ότι ο βέλτιστος χρόνος εκχύλισης των πρωτεΐνών του τοματόσπορου σε συνθήκες pH=11.5 και w/v=1/20, είναι τα 20 min αφού σε αυτό το χρόνο επιτυγχάνεται μεγαλύτερη απόδοση εκχύλισης, μεγαλύτερη ολική απόδοση και μεγαλύτερο ποσοστό πρωτεΐνης υπερσυμπυκνώματος επί ξηρής βάσης χρησιμοποιώντας απιονισμένο νερό ως εκχυλιστικό μέσο. Όσον αφορά την απόδοση καταβύθισης, αυτή είναι μεγαλύτερη στα 15 min. Η εκχύλιση με ανθρακούχο νερό ως εκχυλιστικό μέσο επιβεβαιώνει ότι ο βέλτιστος χρόνος εκχύλισης του τοματόσπορου σε συνθήκες pH=11.5 και w/v=1/20, είναι τα 20 min αφού σε αυτό το χρόνο επιτυγχάνεται μεγαλύτερη απόδοση εκχύλισης, μεγαλύτερη ολική απόδοση και μεγαλύτερο ποσοστό πρωτεΐνης υπερσυμπυκνώματος επί ξηρής βάσης. Επίσης, επιβεβαιώνεται ότι η απόδοση καταβύθισης είναι μεγαλύτερη σε χρόνο 15 min. Συγκρίνοντας τα δύο εκχυλιστικά μέσα, παρατηρείται ότι η εκχύλιση με απιονισμένο νερό υπερτερεί σε όλα εκτός από την απόδοση εκχύλισης στα 30 min και την ολική απόδοση στα 20 min, ωστόσο οι διαφορές είναι μηδαμινές.



**Διάγραμμα 16.** Απόδοση εκχύλισης (%) ανάλογα με το εκχυλιστικό μέσο της μεθόδου σε σταθερές συνθήκες  $w/v=1/20$  και  $pH=11.5$

Στο διάγραμμα 16 παρατηρείται ότι σε χρόνο 20 min και χρησιμοποιώντας απονισμένο νερό ως εκχυλιστικό μέσο, η απόδοση εκχύλισης είναι μεγαλύτερη από οποιαδήποτε άλλη σε διαφορετικό χρόνο και εκχυλιστικό μέσο σε σταθερό  $w/v = 1/20$  και  $pH=11.5$ . Η μικρότερη απόδοση εκχύλισης παρατηρείται σε χρόνο 15 min χρησιμοποιώντας ανθρακούχο νερό ως εκχυλιστικό μέσο. Συγκρίνοντας τους τρεις χρόνους, από τα στοιχεία που είναι διαθέσιμα, σε χρόνο 20 min επιτυγχάνονται οι υψηλότερες αποδόσεις εκχύλισης. Όσον αφορά το εκχυλιστικό μέσο, το απονισμένο νερό παρουσιάζει υψηλότερες αποδόσεις εκχύλισης σε σταθερό  $w/v = 1/20$  και  $pH = 11.5$ .

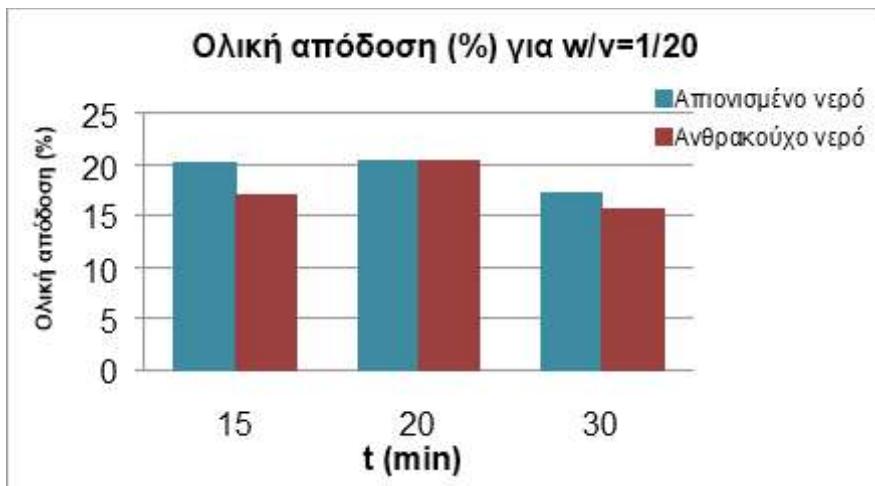
Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των αποτελεσμάτων (Πίνακας Π17) παρατηρείται ότι για την απόδοση εκχύλισης σημαντικός παράγοντας σε επίπεδο σημαντικότητας 5% είναι μόνο ο χρόνος. Επιπλέον, από τον έλεγχο Duncan (Πίνακας Π18) προκύπτει ότι ο χρόνος των 20 min δίνει τα καλύτερα αποτελέσματα και διαφέρει στατιστικά από το χρόνο των 15 min που δίνει τα χειρότερα αποτελέσματα.



**Διάγραμμα 17.** Απόδοση καταβύθισης (%) ανάλογα με το εκχυλιστικό μέσο της μεθόδου σε σταθερές συνθήκες w/v=1/20 και pH=11.5

Στο διάγραμμα 17 παρατηρείται ότι σε χρόνο 15 min και χρησιμοποιώντας απιονισμένο νερό ως εκχυλιστικό μέσο, η απόδοση καταβύθισης είναι μεγαλύτερη από οποιαδήποτε άλλη σε διαφορετικό χρόνο και εκχυλιστικό μέσο σε σταθερό w/v = 1/20 και pH=11.5. Η μικρότερη απόδοση καταβύθισης παρατηρείται σε χρόνο 30 min χρησιμοποιώντας ανθρακούχο νερό ως εκχυλιστικό μέσο. Συγκρίνοντας τους τρεις χρόνους, από τα στοιχεία που είναι διαθέσιμα, σε χρόνο 15 min επιτυγχάνονται οι υψηλότερες αποδόσεις καταβύθισης. Όσον αφορά το εκχυλιστικό μέσο, το απιονισμένο νερό παρουσιάζει κατά μέσο όρο υψηλότερες αποδόσεις καταβύθισης σε σταθερό w/v = 1/20 και pH = 11.5.

Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των αποτελεσμάτων (Πίνακας Π19) παρατηρείται ότι για την απόδοση καταβύθισης ως προς τις εκχυλιζόμενες πρωτεΐνες ούτε ο χρόνος εκχύλισης, ούτε το εκχυλιστικό μέσο αποτελούν σημαντικούς παράγοντες σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.



**Διάγραμμα 18.** Ολική απόδοση (%) ανάλογα με το εκχυλιστικό μέσο της μεθόδου σε σταθερές συνθήκες w/v=1/20 και pH=11.5

Στο διάγραμμα 18 παρατηρείται ότι σε χρόνο 20 min και χρησιμοποιώντας οποιοδήποτε εκχυλιστικό μέσο, η ολική απόδοση είναι μεγαλύτερη από οποιαδήποτε άλλη σε διαφορετικό χρόνο και εκχυλιστικό μέσο σε σταθερό w/v = 1/20 και pH=11.5. Η μικρότερη ολική απόδοση παρατηρείται σε χρόνο 30 min χρησιμοποιώντας ανθρακούχο νερό ως εκχυλιστικό μέσο. Συγκρίνοντας τους τρεις χρόνους, από τα στοιχεία που είναι διαθέσιμα, σε χρόνο 20 min επιτυγχάνονται οι υψηλότερες ολικές αποδόσεις. Όσον αφορά το εκχυλιστικό μέσο, το απιονισμένο νερό παρουσιάζει υψηλότερες ολικές αποδόσεις σε σταθερό w/v = 1/20 και pH = 11.5.

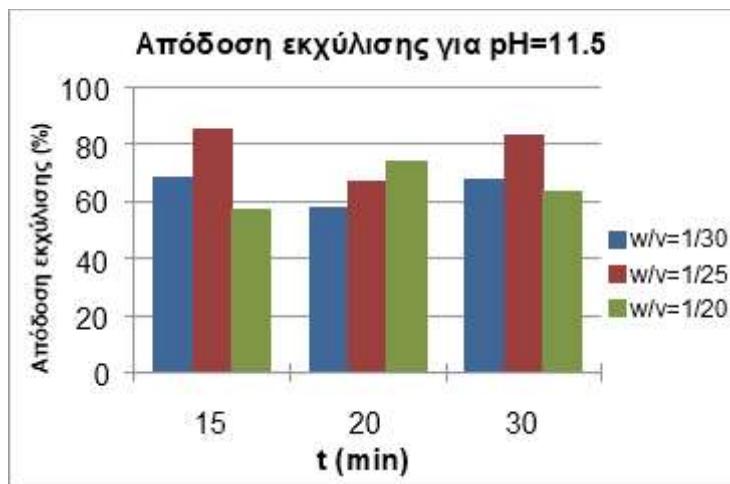
Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των αποτελεσμάτων (Πίνακας Π20) παρατηρείται ότι για την ολική απόδοση ούτε ο χρόνος εκχύλισης, ούτε το εκχυλιστικό μέσο αποτελούν σημαντικούς παράγοντες σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.



**Διάγραμμα 19.** % Περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες ανάλογα με το εκχυλιστικό μέσο της μεθόδου σε σταθερές συνθήκες  $w/v=1/20$  και  $pH=11.5$

Στο διάγραμμα 19 παρατηρείται ότι σε χρόνο 20 min και χρησιμοποιώντας απιονισμένο νερό ως εκχυλιστικό μέσο, η % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη είναι μεγαλύτερη από οποιαδήποτε άλλη σε διαφορετικό χρόνο και εκχυλιστικό μέσο σε σταθερό  $w/v = 1/20$  και  $pH=11.5$ . Η μικρότερη % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη παρατηρείται σε χρόνο 30 min χρησιμοποιώντας ανθρακούχο νερό ως εκχυλιστικό μέσο. Συγκρίνοντας τους τρεις χρόνους, από τα στοιχεία που είναι διαθέσιμα, σε χρόνο 20 min επιτυγχάνονται οι υψηλότερες αποδόσεις εκχύλισης. Όσον αφορά το εκχυλιστικό μέσο, το απιονισμένο νερό παρουσιάζει υψηλότερες αποδόσεις εκχύλισης σε σταθερό  $w/v = 1/20$  και  $pH = 11.5$ .

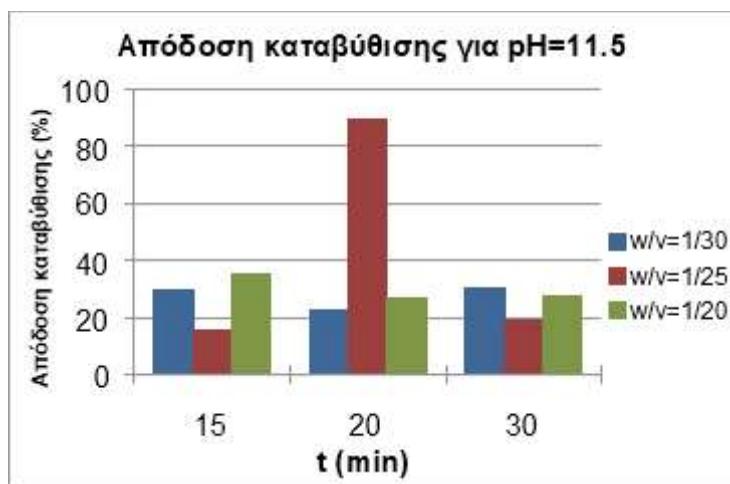
Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των αποτελεσμάτων (Πίνακας Π21) παρατηρείται ότι για την απόδοση εκχύλισης σημαντικός παράγοντας σε επίπεδο σημαντικότητας 5% είναι και ο χρόνος και το εκχυλιστικό μέσο. Επιπλέον, από τον έλεγχο Duncan (Πίνακας Π22, Π23) προκύπτει ότι ο χρόνος των 20 min δίνει τα καλύτερα αποτελέσματα και δε διαφέρει στατιστικά από τον χρόνο των 15 min, ενώ διαφέρει στατιστικά από τον χρόνο των 30 min που δίνει τα χειρότερα αποτελέσματα. Επίσης, προκύπτει ότι το απιονισμένο νερό ως εκχυλιστικό μέσο δίνει καλύτερα αποτελέσματα και διαφέρει στατιστικά από το ανθρακούχο νερό ως εκχυλιστικό μέσο.



**Διάγραμμα 20.** Απόδοση εκχύλισης (%) συγκρίνοντας τα διάφορα w/v σε σταθερό pH=11.5

Στο διάγραμμα 20 παρατηρείται ότι σε  $w/v = 1/25$  και χρόνο 15 min η απόδοση εκχύλισης είναι μεγαλύτερη από οποιαδήποτε άλλη σε διαφορετικό w/v και χρόνο σε σταθερό pH = 11.5. Η μικρότερη απόδοση εκχύλισης παρατηρείται σε χρόνο 20 min και  $w/v = 1/30$ . Συγκρίνοντας τους τρεις χρόνους, από τα στοιχεία που είναι διαθέσιμα, σε χρόνο 15 min επιτυγχάνονται οι κατά μέσο όρο υψηλότερες αποδόσεις εκχύλισης.

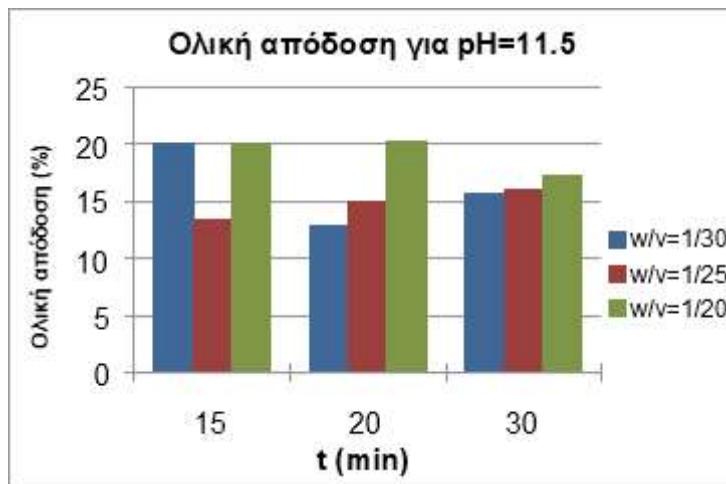
Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των αποτελεσμάτων (Πίνακας Π24) παρατηρείται ότι για την απόδοση εκχύλισης σημαντικός παράγοντας σε επίπεδο σημαντικότητας 5% δεν είναι ούτε ο χρόνος, ούτε ο λόγος στερεού/υγρού.



**Διάγραμμα 21.** Απόδοση καταβύθισης (%) συγκρίνοντας τα διάφορα w/v σε σταθερό pH=11.5

Στο διάγραμμα 21 παρατηρείται ότι σε  $w/v = 1/25$  και χρόνο 20 min η απόδοση καταβύθισης είναι μεγαλύτερη από οποιαδήποτε άλλη σε διαφορετικό w/v και χρόνο σε σταθερό pH = 11.5. Η μικρότερη απόδοση καταβύθισης παρατηρείται σε χρόνο 15 min και  $w/v = 1/25$ . Συγκρίνοντας τους τρεις χρόνους, από τα στοιχεία που είναι διαθέσιμα, σε χρόνο 20 min επιτυγχάνονται οι κατά μέσο όρο υψηλότερες αποδόσεις καταβύθισης.

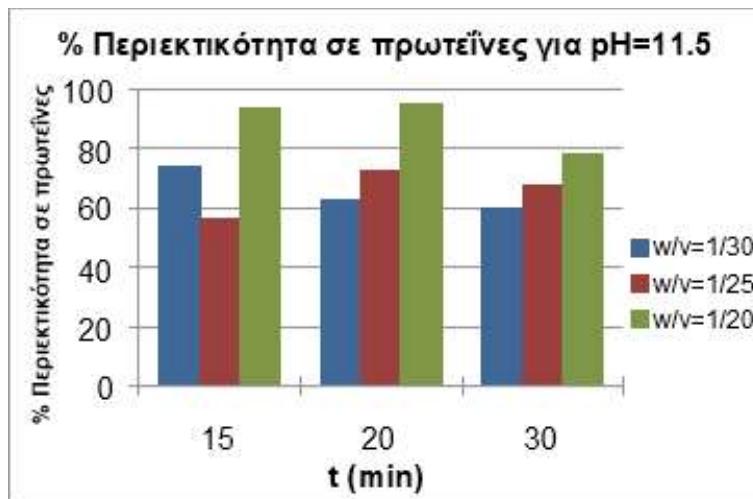
Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των αποτελεσμάτων (Πίνακας Π25) παρατηρείται ότι για την απόδοση καταβύθισης ως προς τις εκχυλιζόμενες πρωτεΐνες, ούτε ο χρόνος εκχύλισης, ούτε ο λόγος στερεού/υγρό αποτελούν σημαντικούς παράγοντες σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.



**Διάγραμμα 22.** Ολική Απόδοση (%) συγκρίνοντας τα διάφορα w/v σε σταθερό pH=11.5

Στο διάγραμμα 22 παρατηρείται ότι σε  $w/v = 1/20$  και χρόνο 20 min η ολική απόδοση είναι μεγαλύτερη από οποιαδήποτε άλλη σε διαφορετικό w/v και χρόνο σε σταθερό pH = 11.5. Η μικρότερη ολική απόδοση παρατηρείται σε χρόνο 15 min και  $w/v = 1/25$ . Συγκρίνοντας τους τρεις χρόνους, από τα στοιχεία που είναι διαθέσιμα, σε χρόνο 30 min επιτυγχάνονται οι κατά μέσο όρο υψηλότερες αποδόσεις εκχύλισης.

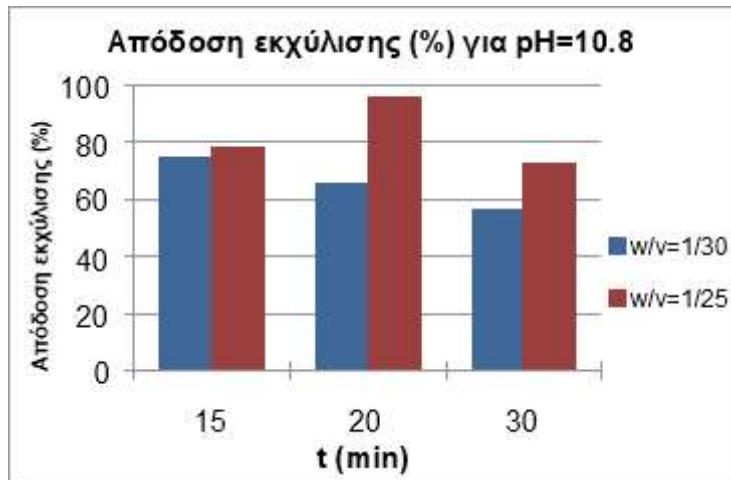
Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των αποτελεσμάτων (Πίνακας Π26) παρατηρείται ότι για την ολική απόδοση σημαντικός παράγοντας σε επίπεδο σημαντικότητας 5% δεν είναι ούτε ο χρόνος, ούτε ο λόγος στερεού/υγρού.



**Διάγραμμα 23.** % Περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες συγκρίνοντας τα διάφορα w/v σε σταθερό pH=11.5

Στο διάγραμμα 23 παρατηρείται ότι σε  $w/v = 1/20$  και χρόνο 20 min η % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη είναι μεγαλύτερη από οποιαδήποτε άλλη σε διαφορετικό  $w/v$  και χρόνο σε σταθερό  $pH = 11.5$ . Η μικρότερη % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη παρατηρείται σε χρόνο 15 min και  $w/v = 1/25$ . Συγκρίνοντας τους τρεις χρόνους, από τα στοιχεία που είναι διαθέσιμα, σε χρόνο 20 min επιτυγχάνονται οι κατά μέσο όρο υψηλότερες % περιεκτικότητες σε πρωτεΐνη.

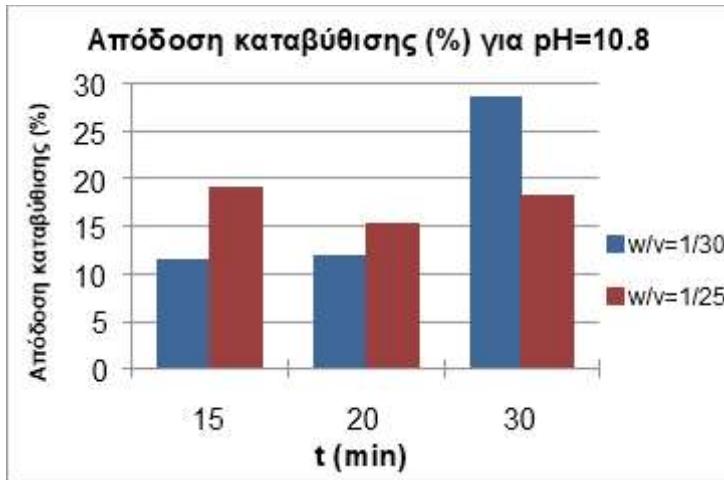
Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των αποτελεσμάτων (Πίνακας Π27) παρατηρείται ότι για την απόδοση εκχύλισης σημαντικός παράγοντας σε επίπεδο σημαντικότητας 5% είναι μόνο ο λόγος στερεού/υγρού. Επιπλέον, από τον έλεγχο Duncan (Πίνακας Π28) προκύπτει ότι ο λόγος στερεού/υγρού  $w/v=1/20$  δίνει τα καλύτερα αποτελέσματα και διαφέρει στατιστικά από τους άλλους δύο λόγους, οι οποίοι δεν διαφέρουν μεταξύ τους στατιστικά και δίνουν τα χειρότερα αποτελέσματα.



**Διάγραμμα 24.** Απόδοση εκχύλισης (%) συγκρίνοντας τα διάφορα  $w/v$  σε σταθερό  $pH=10.8$

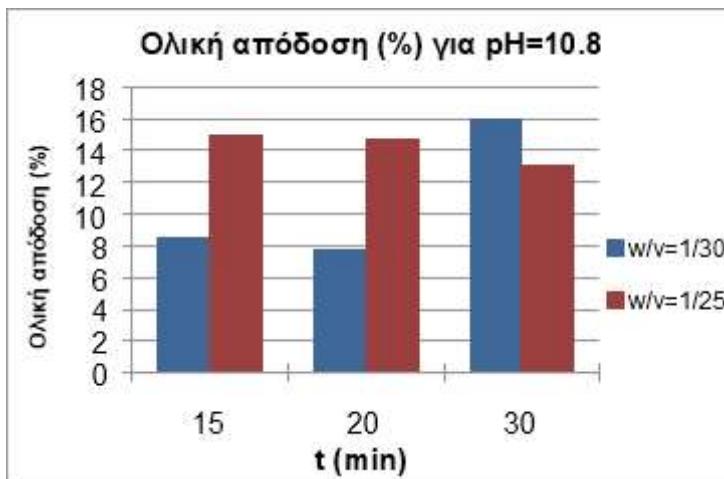
Στο διάγραμμα 24 παρατηρείται ότι σε  $w/v = 1/25$  και χρόνο 20 min η απόδοση εκχύλισης είναι μεγαλύτερη από οποιαδήποτε άλλη σε διαφορετικό  $w/v$  και χρόνο σε σταθερό  $pH = 10.8$ . Η μικρότερη απόδοση εκχύλισης παρατηρείται σε χρόνο 30 min και  $w/v = 1/30$ . Συγκρίνοντας τους τρεις χρόνους, από τα στοιχεία που είναι διαθέσιμα, σε χρόνο 20 min επιτυγχάνονται οι κατά μέσο όρο υψηλότερες αποδόσεις εκχύλισης.

Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των αποτελεσμάτων (Πίνακας Π29) παρατηρείται ότι για την απόδοση εκχύλισης, σημαντικός παράγοντας σε επίπεδο σημαντικότητας 5% δεν είναι ούτε ο χρόνος, ούτε ο λόγος στερεού/υγρού.



Στο διάγραμμα 25 παρατηρείται ότι σε  $w/v = 1/30$  και χρόνο 30 min η απόδοση καταβύθισης είναι μεγαλύτερη από οποιαδήποτε άλλη σε διαφορετικό w/v και χρόνο σε σταθερό pH = 10.8. Η μικρότερη απόδοση καταβύθισης παρατηρείται σε χρόνο 15 min και  $w/v = 1/30$ . Συγκρίνοντας τους τρεις χρόνους, από τα στοιχεία που είναι διαθέσιμα, σε χρόνο 30 min επιτυγχάνονται οι κατά μέσο όρο υψηλότερες αποδόσεις καταβύθισης.

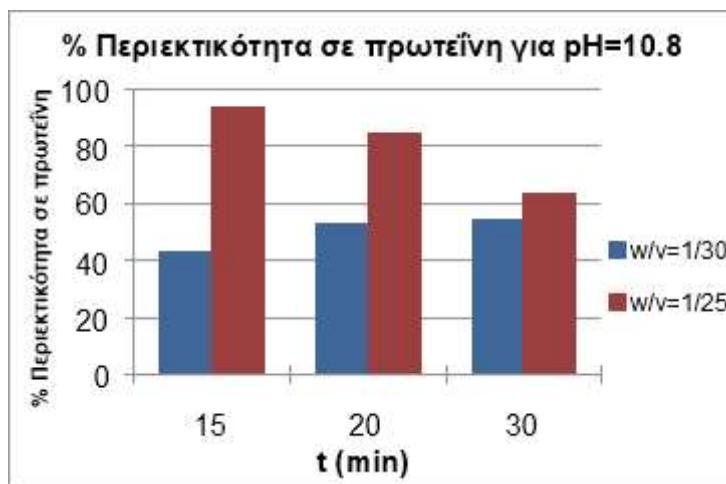
Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των αποτελεσμάτων (Πίνακας Π30) παρατηρείται ότι για την απόδοση καταβύθισης ως προς τις εκχυλιζόμενες πρωτεΐνες, ούτε ο χρόνος εκχύλισης, ούτε ο λόγος στερεού/υγρό αποτελούν σημαντικούς παράγοντες σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.



Στο διάγραμμα 26 παρατηρείται ότι σε  $w/v = 1/30$  και χρόνο 30 min η ολική απόδοση είναι μεγαλύτερη από οποιαδήποτε άλλη σε διαφορετικό w/v και χρόνο σε σταθερό pH = 10.8. Η

μικρότερη ολική απόδοση παρατηρείται σε χρόνο 20 min και  $w/v = 1/30$ . Συγκρίνοντας τους τρεις χρόνους, από τα στοιχεία που είναι διαθέσιμα, σε χρόνο 30 min επιτυγχάνονται οι κατά μέσο όρο υψηλότερες αποδόσεις εκχύλισης.

Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των αποτελεσμάτων (Πίνακας Π31) παρατηρείται ότι για την ολική απόδοση, σημαντικός παράγοντας σε επίπεδο σημαντικότητας 5% δεν είναι ούτε ο χρόνος, ούτε ο λόγος στερεού/υγρού.



**Διάγραμμα 27.** % Περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες συγκρίνοντας τα διάφορα  $w/v$  σε σταθερό  $pH=10.8$

Στο διάγραμμα 27 παρατηρείται ότι σε  $w/v = 1/25$  και χρόνο 15 min η % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη είναι μεγαλύτερη από οποιαδήποτε άλλη σε διαφορετικό  $w/v$  και χρόνο σε σταθερό  $pH = 10.8$ . Η μικρότερη % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη παρατηρείται σε χρόνο 15 min και  $w/v = 1/30$ . Συγκρίνοντας τους τρεις χρόνους, από τα στοιχεία που είναι διαθέσιμα, σε χρόνο 20 min επιτυγχάνονται οι κατά μέσο όρο υψηλότερες % περιεκτικότητες σε πρωτεΐνη.

Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) των αποτελεσμάτων (Πίνακας Π32) παρατηρείται ότι για την % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, σημαντικός παράγοντας σε επίπεδο σημαντικότητας 5% δεν είναι ούτε ο χρόνος, ούτε ο λόγος στερεού/υγρού.

**Πίνακας 28.** Αποτελέσματα εκχύλισης με ευτηκτικό διαλύτη ως εκχυλιστικό μέσο

Συνθήκες: $T = 50^{\circ}C$ , $pH = 11.5$ , $w/v = 1/20$ , $t = 20$ min	
Απόδοση εκχύλισης (%)	39,3

Στον Πίνακα 28 δεν παρουσιάζονται η απόδοση καταβύθισης ως προς τις εκχυλισμένες πρωτεΐνες, η ολική απόδοση και η % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες του υπερσυμπυκνώματος αλλά μόνο η απόδοση εκχύλισης. Κατά την πειραματική διαδικασία δεν ήταν δυνατή η καταβύθιση των πρωτεϊνών με τη μέθοδο της ισοηλεκτρικής καταβύθισης και η παραλαβή πρωτεϊνικού υπερσυμπυκνώματος.

5.2.3 Αποτελέσματα λειτουργικών ιδιοτήτων με την εκχύλιση υποβοηθούμενη από υπέρηχους

**Πίνακας 29.** Αποτελέσματα λειτουργικών ιδιοτήτων υπερσυμπυκνωμάτων τοματόσπορου σε θερμοκρασία εκχύλισης 50°C, pH = 11.5, με αναλογία στερεού/υγρό=1/20 σε χρόνο 20 min

Λειτουργική ιδιότητα	Εκχυλιστικό μέσο	
	Απιονισμένο νερό	Ανθρακούχο νερό
Ικανότητα απορρόφησης νερού WAC (g H <sub>2</sub> O/100 g δείγματος)	320	260
Ικανότητα απορρόφησης ελαίου OAC (mL ελαίου/100 g δείγματος)	300	250

Στον πίνακα 29 παρατηρείται ότι το υπερσυμπύκνωμα που εκχυλίστηκε με απιονισμένο νερό παρουσιάζει μεγαλύτερη ικανότητα απορρόφησης νερού και ελαίου από το υπερσυμπύκνωμα που εκχυλίστηκε με ανθρακούχο νερό.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ

### 6.1 Συμπεράσματα

Στην παρούσα διπλωματική εργασία μελετήθηκε η παραλαβή πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων τοματόσπορου από άλευρο αυτού. Για την παραλαβή τους πραγματοποιήθηκε εκχύλιση των πρωτεΐνών του με νέες τεχνολογίες εικχύλισης όπως και με τη συμβατική μέθοδο εικχύλισης. Οι παράγοντες που εξετάστηκαν ήταν ο χρόνος εικχύλισης, ο λόγος στερεού/υγρού και το pH. Από τη μελέτη των αποτελεσμάτων των πειραμάτων προέκυψαν τα εξής συμπεράσματα:

Αρχικά, η υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες του απελαιωμένου αλεύρου τοματόσπορου επιβεβαιώνει τις βιβλιογραφικές αναφορές πως ο τοματόσπορος αποτελεί ελαιούχο σπόρο με υψηλό πρωτεϊνικό περιεχόμενο και τις έρευνες που έχουν γίνει και γίνονται για την αξιοποίησή του προς την κατεύθυνση της παραλαβής πρωτεϊνικών προϊόντων από αυτόν.

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

- Το pH, ο λόγος στερεού/υγρού και ο χρόνος δεν επηρεάζουν σημαντικά ούτε τις αποδόσεις (εικχύλισης, καταβύθισης, ολική), ούτε την % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη του υπερσυμπυκνώματος.
- Η υψηλότερη τιμή απόδοσης εικχύλισης βρέθηκε να είναι 95,8% σε pH ίσο με 10.8, λόγο στερεού/υγρού, w/v = 1/25 και χρόνο t = 20 min. Αντίθετα, η χαμηλότερη τιμή απόδοσης εικχύλισης βρέθηκε να είναι 46,8% σε pH ίσο με 9.0, λόγο στερεού/υγρού, w/v = 1/30 και χρόνο t = 20 min.
- Η υψηλότερη τιμή απόδοσης καταβύθισης βρέθηκε να είναι 89,4% σε pH ίσο με 11.5, λόγο στερεού/υγρού, w/v = 1/25 και χρόνο t = 20 min, και η χαμηλότερη τιμή βρέθηκε να είναι 9,9% σε pH ίσο με 10.0, λόγο στερεού/υγρού, w/v = 1/30 και χρόνο t = 15 min.
- Η υψηλότερη τιμή ολικής απόδοσης βρέθηκε να είναι 20,3% σε pH ίσο με 11.5, λόγο στερεού/υγρού, w/v = 1/20 και χρόνο t = 20 min. Αντίθετα, η χαμηλότερη τιμή ολικής απόδοσης βρέθηκε να είναι 5,8% σε pH ίσο με 9.0, λόγο στερεού/υγρού, w/v = 1/30 και χρόνο t = 20 min.
- Η υψηλότερη τιμή % περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες του υπερσυμπυκνώματος βρέθηκε να είναι 94,8% σε pH ίσο με 11.5, λόγο στερεού/υγρού, w/v = 1/20 και χρόνο t = 20 min, και η χαμηλότερη τιμή βρέθηκε να είναι 42,8% σε pH ίσο με 10.8, λόγο στερεού/υγρού, w/v = 1/30 και χρόνο t = 20 min.
- Οι βέλτιστες τιμές των παραγόντων είναι: χρόνος εικχύλισης, t = 20 min, λόγος στερεού/υγρού, w/v = 1/20, και pH = 11.5, οι οποίες δίνουν απόδοση εικχύλισης 73.8%, απόδοση καταβύθισης 27.2%, ολική απόδοση 20.3% και πρωτεϊνικό περιεχόμενο του υπερσυμπυκνώματος 94.8% (ξ.β.).
- Υψηλότερες % περιεκτικότητες σε πρωτεΐνες παρατηρήθηκαν στους μικρότερους χρόνους εικχύλισης (15 και 20 min), με την υψηλότερη % περιεκτικότητα να φτάνει το 94.8% σε χρόνο 20 min, pH = 11.5 και w/v = 1/20, και τη δεύτερη υψηλότερη στο 93.4% στα 15 min, pH = 10.8 και w/v = 1/25.

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

- Η εκχύλιση υποβοηθούμενη από υπέρηχους έδειξε καλύτερα αποτελέσματα για όλες τις αποδόσεις της διεργασίας (εκχύλισης, καταβύθισης ως προς τις εκχυλισμένες πρωτεΐνες, ολική) και στην % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, σε μικρότερο χρόνο και λόγο στερεού/υγρού σε σχέση με το μεγαλύτερο χρόνο της συμβατικής εκχύλισης. Οι βέλτιστες τιμές των παραγόντων της συμβατικής εκχύλισης από την βιβλιογραφία είναι: χρόνος εκχύλισης,  $t = 30 \text{ min}$ , λόγος στερεού/υγρού,  $w/v = 1/30$ , και  $\text{pH} = 11.5$ , οι οποίες δίνουν απόδοση εκχύλισης 64,7%, απόδοση καταβύθισης 23,9%, ολική απόδοση 15,4% και πρωτεϊνικό περιεχόμενο του υπερσυμπυκνώματος 67,4% (ξ.β.). Αυτά τα αποτελέσματα είναι μικρότερα από τα αποτελέσματα που δίνουν οι βέλτιστες τιμές των παραγόντων της εκχύλισης με υπέρηχους που αναφέρονται πιο πάνω. Το γεγονός αυτό συνεπάγεται ότι η εκχύλιση με υπέρηχους είναι αποδοτικότερη και μπορεί να προσφέρει εξοικονόμηση χρόνου και κόστους. Η μέθοδος εκχύλισης είχε σημαντική επίδραση στις αποδόσεις της διεργασίας (εκχύλισης, καταβύθισης ως προς τις εκχυλισμένες πρωτεΐνες, ολική) και στην % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη.

Από τη σύγκριση του εκχυλιστικού μέσου που χρησιμοποιήθηκε κατά τη διαδικασία παραλαβής των πρωτεϊνικών υπερσυμπυκνωμάτων τοματόσπορου με εκχύλιση υποβοηθούμενη από υπέρηχους προέκυψε ότι:

- Η εκχύλιση χρησιμοποιώντας απιονισμένο νερό έδειξε καλύτερα αποτελέσματα για όλες τις αποδόσεις της διεργασίας (εκχύλισης, καταβύθισης ως προς τις εκχυλισμένες πρωτεΐνες, ολική) και στην % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη από την εκχύλιση με ανθρακούχο νερό σε οποιοδήποτε χρόνο για  $\text{pH} = 11.5$  και  $w/v = 1/20$ . Ωστόσο, για λόγο στερεού/υγρού,  $w/v = 1/30$ , μόνο η απόδοση εκχύλισης ήταν μεγαλύτερη χρησιμοποιώντας απιονισμένο νερό και αυτό για οποιαδήποτε μέθοδο εκχύλισης. Αυτό δείχνει ότι το εκχυλιστικό μέσο δεν δρα ανάλογα με την μέθοδο εκχύλισης, ούτε το  $\text{pH}$ , αλλά ανάλογα με το λόγο στερεού/υγρού. Αυτό μπορεί να οφείλεται στην παρουσία διοξειδίου του άνθρακα, το οποίο μπορεί να δρα διαφορετικά σε διάφορες αναλογίες στερεού-υγρού.

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

## 6.2 Προτάσεις

Από την όλη μελέτη προκύπτει ότι ο τοματόσπορος αλλά και οι φλοιοί της τομάτας μπορούν να αξιοποιηθούν προς πρωτεϊνικά προϊόντα υψηλής προστιθέμενης αξίας και τα προϊόντα αυτά να ενσωματωθούν ως συστατικά σε πολλά τρόφιμα, καθώς η ζήτηση των φυτικών πρωτεΐνων έχει αυξηθεί από τους καταναλωτές και οι τιμές των ζωικών πρωτεϊνών αυξάνονται μέρα με

τη μέρα. Για το γεγονός αυτό πρέπει να συνεχιστεί η έρευνα και να αξιοποιηθούν προς την κατεύθυνση αυτή και άλλοι ελαιούχοι σπόροι, όπως ο βαμβακόσπορος, ο ηλιόσπορος, ο λιναρόσπορος και το σουσάμι, οι οποίοι έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και συμβάλλουν λόγω της θρεπτικής τους αξίας στη σωστή διατροφή και στην υγεία του ανθρώπου.

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

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

Τέλος, η εκχύλιση πρωτεϊνών με ευτηκτικούς διαλύτες είναι ένα καινούργιο εγχείρημα και στη βιβλιογραφία δεν υπάρχουν πολλές αναφορές και πρέπει να υπάρξει περαιτέρω έρευνα πάνω σε αυτό το θέμα. Συγκεκριμένα, για την εκχύλιση των πρωτεϊνών του τοματόσπορου θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν άλλοι ευτηκτικοί διαλύτες, να βελτιστοποιηθεί η περιεκτικότητα του νερού στους ευτηκτικούς διαλύτες και για την παραλαβή πρωτεΐνικών υπερσυμπυκνωμάτων να εφαρμοστούν άλλες μέθοδοι καταβύθισης, όπως η καταβύθιση με ουδέτερα ή ελαφρώς όξινα άλατα ( $\text{NaCl}$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ).

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Τζιά, Κ., Ταούκης, Π., 2020, Χημεία, Μικροβιολογία και Αρχές Σχεδιασμού και Συντήρησης Προϊόντων Τροφίμων, ΕΜΠ, Αθήνα.
- [2] Fennema, O. R., & Fennema, O. R. (1996). Food chemistry. New York: Marcel Dekker.p 321-430
- [3] deMan, John M., 1999, Principles of Food Chemistry, 3rd Edition, Aspen Publishers Inc.
- [4] Alexandra E. Hall, Carmen I. Moraru, Structure and function of pea, lentil and faba bean proteins treated by high pressure processing and heat treatment, LWT, Volume 152, 2021, 112349
- [5] Petro-Turza, M. (2009). Flavor of tomato and tomato products. Food Reviews International. 2. 309-351.
- [6] <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>
- [7] Λιαδάκης Γ., 1999, Αξιοποίηση παραπροϊόντων βιομηχανίας επεξεργασίας τομάτας, Διδακτορική διατριβή, ΕΜΠ, Αθήνα.
- [8] Maestri, D.; Barrionuevo, D.; Bodoira, R.; Zafra, A.; Jiménez-López, J.C.; Alché, J.D.D. Nutritional profile and nutraceutical components of olive (*Olea europaea* L.) seeds. *J. Food Sci. Technol.* 2019, 56, 4359–4370.
- [9] Ali, M.Y.; Sina, A.A.I.; Khandker, S.S.; Neesa, L.; Tanvir, E.M.; Kabir, A.; Khalil, M.I.; Gan, S.H. Nutritional Composition and Bioactive Compounds in Tomatoes and Their Impact on Human Health and Disease: A Review. *Foods* 2021, 10, 45.
- [10] Abdullahi, I.I.; Abdullahi, N.; Abdu, A.M.; Ibrahim, A.S. Proximate, Mineral and Vitamin Analysis of Fresh and Canned Tomato. *Biosci. Biotechnol. Res. Asia* 2016, 13, 1163–1169.
- [11] Elango, R.; Laviano, A. Protein and amino acids: Key players in modulating health and disease. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 2017, 20, 69–70.
- [12] Campestrini, L.H.; Melo, P.S.; Peres, L.E.P.; Calhelha, R.C.; Ferreira, I.C.; De Alencar, S.M. A new variety of purple tomato as a rich source of bioactive carotenoids and its potential health benefits. *Heliyon* 2019, 5, e02831.
- [13] Liadakis G., Katsouli M., Chanioti S., Giannou V., Tzia C., Tomato Processing By-Products: Sustainable Applications, Chapter 1: Identification, Quantification and Characterization of Tomato processing by-products, 2021
- [14] Elbadrawy, E.; Sello, A. Evaluation of nutritional value and antioxidant activity of tomato peel extracts. *Arab. J. Chem.* 2016, 9, S1010–S1018.
- [15] Pinela, J.; Prieto, M.A.; Barreiro, M.F.; Carvalho, A.M.; Oliveira, M.B.P.; Curran, T.P.; & Ferreira, I.C. Valorisation of tomato wastes for development of nutrient-rich antioxidant ingredients: A sustainable approach towards the needs of the today's society. *IFSET 2017*, 41, 160–171.
- [16] Liadakis G., Kekes T., Frakolaki G., Giannou V., Tzia C., Tomato Processing By-Products: Sustainable Applications, Chapter 3: Ingredients for food products, 2021.

- [17] Shao, D.; Venkitasamy, C.; Li, X.; Pan, Z.; Shi, J.; Wang, B. Thermal and storage characteristics of tomato seed oil. *LWT Food Sci. Technol.* 2015, 63, 191–197.
- [18] CAC: Codex stanadard for named vegetable oils,(1999)
- [19] Giannelos, P.N.; Sxizas, S.; Lois, E.; Zannikos, F.; Anastopoulos, G. Physical, chemical and fuel related properties of tomato seed oil for evaluating its direct use in diesel engines. *Ind. Crops Prod.* 2005, 22, 193–199.
- [20] Liadakis, G. N., Tzia, C., Oreopoulou, V., & THOMOPOULOS, C. D. (1995). Protein isolation from tomato seed meal, extraction optimization. *Journal of Food Science*, 60(3), 477-482.
- [21] Sobhan Savadkoohi, Asgar Farahnaky, Dynamic rheological and thermal study of the heat-induced gelation of tomato-seed proteins, *Journal of Food Engineering*, Volume 113, Issue 3, 2012, Pages 479-485
- [22] Maldonado-Torres, R.; Morales-Camacho, J.I.; López-Valdez, F.; Huerta-González, L.; Luna-Suárez, S. Assessment of techno-functional and nutraceutical potential of tomato (*Solanum lycopersicum*) seed meal. *Molecules* 2020, 25, 4235.
- [23] Isik, F.; Topkaya, C. Effects of tomato pomace supplementation on chemical and nutritional properties of crackers. *Ital. J. Food Sci.* 2016, 28, 525–535.
- [24] Mironeasa, S.; Codina, G.G.; Oroian, M.A. Bread quality characteristics as influenced by the addition of tomato seed flour. *Bull. Univ. Agric. Sci. Vet. Med. Cluj-Napoca Food Sci. Technol.* 2016, 73, 77.
- [25] Mironeasa, S.; Codina, G.G. Dough rheological behavior and microstructure characterization of composite dough with wheat and tomato seed flours. *Foods* 2019, 8, 626
- [26] Laza, V. Tomatoes and lycopene in the athletes' diet. *Palestrica Third Millenn. Civiliz. Sport* 2014, 15, 72–79.
- [27] Salehi, B.; Sharifi-Rad, R.; Sharopov, F.; Namiesnik, J.; Rooointan, A.; Kamle, M.; Kumar, P.; Martins, N.; Sharifi-Rad, J. Beneficial effects and potential risks of tomato consumption for human health: An overview. *Nutrition* 2019, 62, 201–208.
- [28] Manoj Kumar, Maharishi Tomar, Jayashree Potkule, Reetu Verma, Sneh Punia, Archana Mahapatra, Tarun Belwal, Anil Dahuja, Shourabh Joshi, Mukesh K. Berwal, Varsha Satankar, Anilkumar G. Bhoite, Ryszard Amarowicz, Charanjit Kaur, John F. Kennedy, Advances in the plant protein extraction: Mechanism and recommendations, *Food Hydrocolloids*, Volume 115, 2021, 106595
- [29] Y.W. Sari, W.J. Mulder, J.P. Sanders, M.E. Bruins, Towards plant protein refinery: Review on protein extraction using alkali and potential enzymatic assistance, *Biotechnology Journal*, 10 (8) (2015), pp. 1138-1157
- [30] J.-J. Liu, M.A.A. Gasmalla, P. Li, R. Yang, Enzyme-assisted extraction pro- cessing from oilseeds: Principle, processing and application, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 35 (2016), pp. 184-193

- [31] F. Chemat, N. Rombaut, A.-G. Sicaire, A. Meullemiestre, A.-S. Fabiano-Tixier, M. Abert-Vian, Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review, *Ultrasonics Sonochemistry*, 34 (2017), pp. 540-560
- [32] A. Golberg, M. Sack, J. Teissie, G. Pataro, U. Pliquett, G. Saulis, et al., Energy-efficient biomass processing with pulsed electric fields for bioeconomy and sustainable development, *Biotechnology for Biofuels*, 9 (1) (2016), p. 94-96
- [33] B. Kaufmann, P. Christen, Recent extraction techniques for natural products: Microwave-assisted extraction and pressurised solvent extraction, *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 13 (2) (2002), pp. 105-113
- [34] H.W. Huang, C.P. Hsu, B.B. Yang, C.Y. Wang, Advances in the extraction of natural ingredients by high pressure extraction technology, *Trends in Food Science & Technology*, 33 (1) (2013), pp. 54-62
- [35] Isik, F.; Yapar, A. Effect of tomato seed supplementation on chemical and nutritional properties of tarhana. *J. Food Meas. Charact.* 2017, 11, 667–674.
- [36] Mechmeche, M.; Kachouri, F.; Chouabi, M.; Ksontini, H.; Setti, K.; Hamdi, M. Optimization of extraction parameters of protein isolate from tomato seed using response surface methodology. *Food Anal. Methods* 2017, 10, 809–819.
- [37] Franca-Oliveira, G.; Fornari, T.; Hernández-Ledesma, B. A Review on the Extraction and Processing of Natural Source-Derived Proteins through Eco-Innovative Approaches. *Processes* 2021, 9, 1626

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Η στατιστική επεξεργασία για της διεργασίας παραλαβής πρωτεΐνικών υπερσυμπυκνωμάτων με ANOVA έγινε με τη βοήθεια του προγράμματος STATISTICA 7.

Οι παράγοντες που εξετάστηκαν είναι το είδος της εκχύλισης (όπου 1: συμβατική εκχύλιση, 2: εκχύλιση με υπέρηχους), το εκχυλιστικό μέσο (1: απιονισμένο νερό, 2: ανθρακούχο νερό), ο χρόνος εκχύλισης (όπου 1: 30 min, 2: 20 min, 3: 15 min), ο λόγος στερεού/υγρό (όπου 1: 1/30, 2: 1/25 και 3: 1/20) και το pH (όπου 1: 11.5, 2: 10.8, 3: 10.0, 4: 9.0). Οι παράγοντες που ερευνήθηκαν είναι η απόδοση εκχύλισης, η απόδοση καταβύθισης, η ολική απόδοση και η % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες στο υπερσυμπύκνωμα.

**Πίνακας Π1.** Αποτελέσματα ANOVA για την απόδοση εκχύλισης σε pH=11.5, w/v=1/30, t=30 min

Effect	Univariate Tests of Significance for extraction yield (%) (S Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition)				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	14871.80	1	14871.80	660969.0	0.000783
type of extraction	9.30	1	9.30	413.4	0.031284
extractant	113.42	1	113.42	5041.0	0.008966
Error	0.02	1	0.02		

**Πίνακας Π2.** Αποτελέσματα Duncan test για την απόδοση εκχύλισης όσον αφορά το είδος της εκχύλισης σε pH=11.5, w/v=1/30, t=30 min

Cell No.	Duncan test; variable extraction yield (%) (Spreads Homogenous Groups, alpha = .05000 Error: Between MS = .02250, df = 1.0000)				
	type of extraction	extraction yield (%) Mean			
			1	2	
1	1	59.45000	****		
2	2	62.50000		****	

**Πίνακας Π3.** Αποτελέσματα Duncan test για την απόδοση εκχύλισης όσον αφορά το εκχυλιστικό μέσο σε pH=11.5, w/v=1/30, t=30 min

Cell No.	Duncan test; variable extraction yield (%) (Spreads Homogenous Groups, alpha = .05000 Error: Between MS = .02250, df = 1.0000)				
	extractant	extraction yield (%) Mean			
			1	2	
2	2	55.65000	****		
1	1	66.30000		****	

**Πίνακας Π4.** Αποτελέσματα ANOVA για την απόδοση καταβύθισης σε pH=11.5, w/v=1/30, t=30 min

Effect	Univariate Tests of Significance for percipitation yield (%)				
	Sigma-restricted parameterization				
	Effective hypothesis decomposition				
SS	Degr. of Freedom	MS	F	p	
<b>Intercept</b>	3522.423	1	3522.423	56358.76	0.002682
type of extraction	35.402	1	35.402	566.44	0.026733
extractant	28.623	1	28.623	457.96	0.029727
Error	0.062	1	0.062		

**Πίνακας Π5.** Αποτελέσματα Duncan test για την απόδοση καταβύθισης όσον αφορά το είδος της εκχύλισης σε pH=11.5, w/v=1/30, t=30 min

Cell No.	Duncan test; variable percipitation yield (%) (Spreads Homogenous Groups, alpha = .05000 Error: Between MS = .06250, df = 1.0000)			
	type of extraction	percipitation yield (%) Mean	1	2
1	1	26.70000	****	
2	2	32.65000		****

**Πίνακας Π6.** Αποτελέσματα Duncan test για την απόδοση καταβύθισης όσον αφορά το εκχυλιστικό μέσο σε pH=11.5, w/v=1/30, t=30 min

Cell No.	Duncan test; variable percipitation yield (%) (Spreads Homogenous Groups, alpha = .05000 Error: Between MS = .06250, df = 1.0000)			
	extractant	percipitation yield (%) Mean	1	2
1	1	27.00000	****	
2	2	32.35000		****

**Πίνακας Π7.** Αποτελέσματα ANOVA για την ολική απόδοση σε pH=11.5, w/v=1/30, t=30 min

Effect	Univariate Tests of Significance for total yield (%) (Sprint)				
	Sigma-restricted parameterization				
	Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1125.602	1	1125.602	296.0164	0.036960
type of extraction	4.622	1	4.622	1.2156	0.468970
extractant	6.503	1	6.503	1.7101	0.415615
Error	3.803	1	3.803		

**Πίνακας Π8.** Αποτελέσματα ANOVA για την % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη σε pH=11.5, w/v=1/30, t=30 min

Effect	Univariate Tests of Significance for protein content (%)				
	Sigma-restricted parameterization				
	Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	22350.25	1	22350.25	178.1748	0.047604
type of extraction	12.96	1	12.96	0.1033	0.802012
extractant	497.29	1	497.29	3.9644	0.296308
Error	125.44	1	125.44		

**Πίνακας Π9.** Αποτελέσματα ANOVA για την απόδοση εκχύλισης σε w/v=1/30 με απιονισμένο νερό ως εκχυλιστικό μέσο

Effect	Univariate Tests of Significance for extraction yield (%)				
	Sigma-restricted parameterization				
	Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	25311.02	1	25311.02	431.9163	0.002307
t(min)	121.09	2	60.54	1.0332	0.491845
pH	0.48	1	0.48	0.0082	0.936025
Error	117.20	2	58.60		

**Πίνακας Π10.** Αποτελέσματα ANOVA για την απόδοση καταβύθισης σε w/v=1/30 με απιονισμένο νερό ως εκχυλιστικό μέσο

Effect	Univariate Tests of Significance for precipitation yield (%)				
	Sigma-restricted parameterization				
	Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	2988.202	1	2988.202	88.35170	0.011130
t(min)	156.223	2	78.112	2.30952	0.302159
pH	155.042	1	155.042	4.58409	0.165591
Error	67.643	2	33.822		

**Πίνακας Π11.** Αποτελέσματα ANOVA για την ολική απόδοση σε w/v=1/30 με απιονισμένο νερό ως εκχυλιστικό μέσο

Effect	Univariate Tests of Significance for total yield (%) (Spre: Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition)				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
	1085.415	1	1085.415	60.16157	0.016219
t(min)	32.970	2	16.485	0.91372	0.522543
pH	44.282	1	44.282	2.45441	0.257702
Error	36.083	2	18.042		

**Πίνακας Π12.** Αποτελέσματα ANOVA για την % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη του υπερσυμπυκνώματος σε w/v=1/30 με απιονισμένο νερό ως εκχυλιστικό μέσο

Effect	Univariate Tests of Significance for protein content (%) (Spre: Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition)				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
	19929.61	1	19929.61	212.0961	0.004682
t(min)	2.10	2	1.05	0.0112	0.988932
pH	355.74	1	355.74	3.7859	0.191093
Error	187.93	2	93.97		

**Πίνακας Π13.** Αποτελέσματα ANOVA για την απόδοση εκχύλισης σε w/v=1/25 με απιονισμένο νερό ως εκχυλιστικό μέσο

Effect	Univariate Tests of Significance for extraction yield (%) (Spre: Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition)				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
	38624.33	1	38624.33	161.0544	0.006152
t(min)	17.80	2	8.90	0.0371	0.964211
pH	20.91	1	20.91	0.0872	0.795629
Error	479.64	2	239.82		

**Πίνακας Π14.** Αποτελέσματα ANOVA για την απόδοση καταβύθισης σε w/v=1/25 με απιονισμένο νερό ως εκχυλιστικό μέσο

Effect	Univariate Tests of Significance for precipitation yield (%) (S)				
	Sigma-restricted parameterization				
	Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	5221.500	1	5221.500	5.519138	0.143255
t(min)	1567.930	2	783.965	0.828653	0.546851
pH	859.207	1	859.207	0.908183	0.441175
Error	1892.143	2	946.072		

**Πίνακας Π15.** Αποτελέσματα ANOVA για την ολική απόδοση σε w/v=1/25 με απιονισμένο νερό ως εκχυλιστικό μέσο

Effect	Univariate Tests of Significance for total yield (%) (Sprea				
	Sigma-restricted parameterization				
	Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1264.402	1	1264.402	492.9441	0.002022
t(min)	0.363	2	0.182	0.0708	0.933859
pH	0.375	1	0.375	0.1462	0.739002
Error	5.130	2	2.565		

**Πίνακας Π16.** Αποτελέσματα ANOVA για την % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη του υπερσυμπυκνώματος σε w/v=1/25 με απιονισμένο νερό ως εκχυλιστικό μέσο

Effect	Univariate Tests of Significance for protein content (%) (				
	Sigma-restricted parameterization				
	Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	31799.04	1	31799.04	149.0452	0.006643
t(min)	181.57	2	90.79	0.4255	0.701499
pH	334.51	1	334.51	1.5679	0.337097
Error	426.70	2	213.35		

**Πίνακας Π17.** Αποτελέσματα ANOVA για την απόδοση εκχύλισης σε pH=11.5, w/v=1/20

Effect	Univariate Tests of Significance for extraction yield (%) (Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition)				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	24117.36	1	24117.36	5288.895	0.000189
t(min)	222.04	2	111.02	24.346	0.039453
extractant	10.14	1	10.14	2.224	0.274411
Error	9.12	2	4.56		

**Πίνακας Π18.** Αποτελέσματα Duncan test για την απόδοση εκχύλισης όσον αφορά τον χρόνο της εκχύλισης σε pH=11.5, w/v=1/20

Cell No.	Duncan test; variable extraction yield (%) (Homogenous Groups, alpha = .05000 Error: Between MS = 4.5600, df = 2.0000)				
	t(min)	extraction yield (%)	1	2	
			Mean		
3	3	56.00000	****		
1	1	63.30000	****	****	
2	2	70.90000		****	

**Πίνακας Π19.** Αποτελέσματα ANOVA για την απόδοση καταβύθισης σε pH=11.5, w/v=1/20

Effect	Univariate Tests of Significance for precipitation yield (%) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	5127.527	1	5127.527	769.3213	0.001297
t(min)	49.703	2	24.852	3.7287	0.211475
extractant	2.940	1	2.940	0.4411	0.574911
Error	13.330	2	6.665		

**Πίνακας Π20.** Αποτελέσματα ANOVA για την ολική απόδοση σε pH=11.5, w/v=1/20

Effect	Univariate Tests of Significance for total yield (%) (Spre: Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
	Intercept	2042.415	1	2042.415	1699.652 0.000588
t(min)	14.470	2	7.235	6.021	0.142434
extractant	3.682	1	3.682	3.064	0.222157
Error	2.403	2	1.202		

**Πίνακας Π21.** Αποτελέσματα ANOVA για την % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη σε pH=11.5, w/v=1/20

Effect	Univariate Tests of Significance for protein content (%) (: Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
	Intercept	44084.08	1	44084.08	96888.09 0.000010
t(min)	319.82	2	159.91	351.45	0.002837
extractant	52.22	1	52.22	114.76	0.008602
Error	0.91	2	0.45		

**Πίνακας Π22.** Αποτελέσματα Duncan test για την % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη όσον αφορά το εκχυλιστικό μέσο σε pH=11.5, w/v=1/20

Cell No.	Duncan test; variable protein content (%) (Spi: Homogenous Groups, alpha = .05000 Error: Between MS = .45500, df = 2.0000				
	extractant	protein content (%)	1	2	
			Mean		
2	2	82.76667	****		
1	1	88.66667		****	

**Πίνακας Π23.** Αποτελέσματα Duncan test για την % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη όσον αφορά το χρόνο σε pH=11.5, w/v=1/20

Duncan test; variable protein content (%) (S) Homogenous Groups, alpha = .05000 Error: Between MS = .45500, df = 2.0000					
Cell No.	t(min)	protein content (%)		1	2
		Mean			
1	1	75.45000		****	
3	3	89.90000	****		
2	2	91.80000	****		

Πίνακας Π24. Αποτελέσματα ANOVA για την απόδοση εκχύλισης σε σταθερό pH=11.5

Effect	Univariate Tests of Significance for extraction yield (%)				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	43153.14	1	43153.14	470.7130	0.000027
t(min)	45.43	2	22.71	0.2478	0.791693
w/v	374.47	2	187.23	2.0423	0.244789
Error	366.70	4	91.68		

Πίνακας Π25. Αποτελέσματα ANOVA για την απόδοση καταβύθισης σε σταθερό pH=11.5

Effect	Univariate Tests of Significance for percipitation yield (%)				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	9761.440	1	9761.440	14.43580	0.019113
t(min)	822.407	2	411.203	0.60811	0.588041
w/v	337.307	2	168.653	0.24941	0.790535
Error	2704.787	4	676.197		

Πίνακας Π26. Αποτελέσματα ANOVA για την ολική απόδοση σε σταθερό pH=11.5

Effect	Univariate Tests of Significance for total yield (%) (Spre)				
	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	2516.694	1	2516.694	334.0991	0.000053
t(min)	6.029	2	3.014	0.4002	0.694342
w/v	31.316	2	15.658	2.0786	0.240455
Error	30.131	4	7.533		

**Πίνακας Π27.** Αποτελέσματα ANOVA για την % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη σε σταθερό pH=11.5

Effect	Univariate Tests of Significance for protein content (%) (				
	Sigma-restricted parameterization				
	Effective hypothesis decomposition				
SS	Degr. of Freedom	MS	F	p	
<b>Intercept</b> 48107.11	1	48107.11	622.1194	0.000015	
t(min) 107.95	2	53.97	0.6980	0.549512	
w/v 1088.89	2	544.44	7.0407	0.048939	
Error 309.31	4	77.33			

**Πίνακας Π28.** Αποτελέσματα Duncan test για την % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη όσον αφορά το λόγο στερεού/υγρού σε pH=11.5

Cell No.	Duncan test; variable protein content (%) (				
	Homogenous Groups, alpha = .05000				
	Error: Between MS = 77.328, df = 4.0000				
Cell No.	w/v	protein content (%)	Mean	1	2
2	2	65.33333	*****		
1	1	65.33333	*****		
3	3	88.66667		****	

**Πίνακας Π29.** Αποτελέσματα ANOVA για την απόδοση εκχύλισης σε σταθερό pH=10.8

Effect	Univariate Tests of Significance for extraction yield (%)				
	Sigma-restricted parameterization				
	Effective hypothesis decomposition				
SS	Degr. of Freedom	MS	F	p	
<b>Intercept</b> 32560.67	1	32560.67	370.4215	0.002689	
t(min) 290.62	2	145.31	1.6531	0.376915	
w/v 426.73	1	426.73	4.8546	0.158439	
Error 175.80	2	87.90			

**Πίνακας Π30.** Αποτελέσματα ANOVA για την απόδοση καταβύθισης σε σταθερό pH=10.8

Effect	Univariate Tests of Significance for precipitation yield (%)				
	Sigma-restricted parameterization				
	Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1813.082	1	1813.082	40.89043	0.023594
t(min)	109.693	2	54.847	1.23696	0.447036
w/v	0.135	1	0.135	0.00304	0.961013
Error	88.680	2	44.340		

Πίνακας Π31. Αποτελέσματα ANOVA για την ολική απόδοση σε σταθερό pH=10.8

Effect	Univariate Tests of Significance for total yield (%) (Spre				
	Sigma-restricted parameterization				
	Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	937.5000	1	937.5000	60.28293	0.016187
t(min)	12.9100	2	6.4550	0.41507	0.706680
w/v	18.7267	1	18.7267	1.20416	0.386966
Error	31.1033	2	15.5517		

Πίνακας Π32. Αποτελέσματα ANOVA για την % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη σε σταθερό pH=10.8

Effect	Univariate Tests of Significance for protein content (%) (				
	Sigma-restricted parameterization				
	Effective hypothesis decomposition				
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	25428.06	1	25428.06	118.5310	0.008331
t(min)	127.00	2	63.50	0.2960	0.771605
w/v	1380.17	1	1380.17	6.4335	0.126586
Error	429.05	2	214.53		